

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202192636** (13) **A1**

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

(43) Дата публикации заявки
2022.03.17

(22) Дата подачи заявки
2020.03.27

(51) Int. Cl. *A61P 25/00* (2006.01)
A61K 31/713 (2006.01)
A61P 25/28 (2006.01)
C12N 9/22 (2006.01)
C12N 15/113 (2010.01)

(54) **КОМПОЗИЦИИ И СПОСОБЫ, СОДЕРЖАЩИЕ ГИДОВУЮ РНК TTR И ПОЛИНУКЛЕОТИД, КОДИРУЮЩИЙ ДНК-СВЯЗЫВАЮЩИЙ АГЕНТ, ГИДИРУЕМЫЙ РНК**

(31) 62/825,637

(32) 2019.03.28

(33) US

(86) PCT/US2020/025513

(87) WO 2020/198697 2020.10.01

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

(72) Изобретатель:

**Чан Юн, Александер Сет С., Вуд
Кристи М., Канджолия Арти
Махендра Пракаш, Одате Сёбу,
Сайцер Джессика Линн, Лескарбо
Рейнальд Майкл, Стрэппс Уолтер**
(US)

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

(57) В данном изобретении предложены композиции и способы для редактирования, например введения двухпочечных разрывов, гена TTR. Предложены композиции и способы лечения субъектов, страдающих амилоидозом, связанным с транстиретином (ATTR).

A1

202192636

202192636

A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-570949EA/025

КОМПОЗИЦИИ И СПОСОБЫ, СОДЕРЖАЩИЕ ГИДОВУЮ РНК ТТТ И ПОЛИНУКЛЕОТИД, КОДИРУЮЩИЙ ДНК-СВЯЗЫВАЮЩИЙ АГЕНТ, ГИДИРУЕМЫЙ РНК

[0001] В данной патентной заявке заявлен приоритет по предварительной заявке на патент США 62/825637, поданной 28 марта 2019 г., содержание которой включено в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте во всех отношениях.

[0002] Данная заявка содержит Перечень последовательностей, который был представлен в электронном виде в формате ASCII и полностью включен в данный документ посредством ссылки. Указанная копия ASCII, созданная 24 марта 2020 г., называется 2020-03-24_01155-0028-00PCT_ST25.txt и имеет размер 451 КБ.

[0003] Транстиретин (ТТТ) представляет собой белок, продуцируемый геном ТТТ, который обычно выполняет функцию транспорта ретинола и тироксина по организму. ТТТ преимущественно синтезируется в печени, а небольшие фракции образуются в сосудистом сплетении и сетчатке. ТТТ обычно циркулирует в крови в виде растворимого тетрамерного белка.

[0004] Патогенные варианты ТТТ, которые могут нарушать стабильность тетрамера, могут кодироваться мутантными аллелями гена ТТТ. Мутантный ТТТ может привести к неправильно свернутому ТТТ, который может генерировать амилоиды (т.е. агрегаты неправильно свернутого белка ТТТ). В некоторых случаях патогенные варианты ТТТ могут привести к амилоидозу или заболеванию, возникающему в результате накопления амилоидов. Например, неправильно упакованные мономеры ТТТ могут полимеризоваться в амилоидные фибриллы в тканях, таких как периферические нервы, сердце и желудочно-кишечный тракт. Амилоидные бляшки также могут содержать ТТТ дикого типа, который откладывается на неправильно упакованном ТТТ.

[0005] Неправильная упаковка и отложение ТТТ дикого типа также наблюдались у мужчин в возрасте 60 лет и старше, и связаны с проблемами сердечного ритма, сердечной недостаточностью и запястным каналом.

[0006] Амилоидоз, характеризующийся отложением ТТТ, может называться как «АТТТ», «амилоидоз, связанный с ТТТ», «амилоидоз ТТТ» или «амилоидоз АТТТ», «семейный амилоидоз АТТТ» (когда он связан с генетической мутацией в семье), или «АТТТдт», или «АТТТ дикого типа» (когда возникает из-за неправильной упаковки и отложения ТТТ дикого типа).

[0007] АТТТ может проявляться широким спектром симптомов, и пациенты с разными классами АТТТ могут иметь разные характеристики и прогнозы. Некоторые классы АТТТ включают семейную амилоидную полинейропатию (FAP), семейную амилоидную кардиомиопатию (FAC) и амилоидоз ТТТ дикого типа (амилоидоз дт-ТТТ). FAP обычно проявляется сенсомоторной невропатией, в то время как амилоидоз FAC и дт-ТТТ обычно проявляется застойной сердечной недостаточностью. FAP и FAC обычно

связаны с генетической мутацией в гене TTR, а с ATTR связано более чем 100 различных мутаций в гене TTR. Напротив, амилоидоз дт-TTR связан со старением, а не с генетической мутацией в TTR. По оценкам, примерно 50000 пациентов во всем мире могут пострадать от FAP и FAS.

[0008] Хотя более 100 мутаций в TTR связаны с ATTR, некоторые мутации более тесно связаны с нейропатией и/или кардиомиопатией. Например, мутации T60 TTR связаны как с кардиомиопатией, так и с невропатией; мутации в V30 больше связаны с невропатией; и мутации в V122 больше связаны с кардиомиопатией.

[0009] Был изучен ряд подходов к лечению ATTR, но одобренных лекарственных средств, которые останавливают прогрессирование заболевания и улучшают качество жизни не существует. Хотя трансплантация печени изучалась для лечения ATTR, ее использование сокращается, поскольку она сопряжена со значительным риском, и прогрессирование заболевания иногда продолжается после трансплантации. Низкомолекулярные стабилизаторы, такие как дифлунизал и тафамидис, по-видимому, замедляют прогрессирование ATTR, но эти агенты не останавливают прогрессирование заболевания.

[0010] Подходы с использованием нокдауна малой интерферирующей РНК (миРНК), антисмыслового нокдауна или моноклонального антитела, нацеленного на амилоидные фибриллы для разрушения, также в настоящее время изучаются, но, хотя результаты краткосрочного подавления экспрессии TTR показывают обнадеживающие предварительные данные, существует потребность в способах лечения, которые могут произвести длительное подавление TTR.

[0011] Соответственно, предлагаются следующие варианты реализации. В некоторых вариантах реализации, в данном изобретении предлагаются композиции и способы с использованием гидовой РНК с ДНК-связывающим агентом, гидируемым РНК, таким как система CRISPR/Cas, для существенного снижения или нокаута экспрессии гена TTR, тем самым существенно снижая или устраняя продукцию белка TTR, связанного с ATTR. Существенное снижение или устранение продуцирования белка TTR, связанного с ATTR, посредством изменения гена TTR может быть долгосрочным снижением или устранением.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0012] В данном документе предлагаются следующие варианты реализации.

[0013] Вариант реализации 1 представляет собой композицию, содержащую: (i) нуклеиновую кислоту, содержащую открытую рамку считывания, кодирующую ДНК-связывающий агент, гидируемый РНК, причем:

открытая рамка считывания содержит последовательность, идентичную на по меньшей мере 93% SEQ ID NO: 311; и/или

открытая рамка считывания идентична на по меньшей мере 93% SEQ ID NO: 311 по меньшей мере по его первым 50, 200, 250 или 300 нуклеотидам или идентична на по меньшей мере 95% SEQ ID NO: 311 по меньшей мере по его первым 30, 50, 70, 100, 150,

200, 250 или 300 нуклеотидам; и/или

открытая рамка считывания состоит из набора кодонов, из которых по меньшей мере 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% или 100% кодонов являются кодонами, перечисленными в Таблице 4, выборке с низким содержанием А Таблицы 5 или выборке с низким содержанием А/У Таблицы 5; и/или

открытая рамка считывания содержит аденин в диапазоне от минимального содержания аденина до 123% от минимального содержания аденина; и/или

открытая рамка считывания содержит аденин адениндинуклеотид в диапазоне от минимального содержания адениндинуклеотида до 150% от минимального содержания адениндинуклеотида; и

(ii) гидовую РНК или вектор, кодирующий гидовую РНК, при этом гидовая РНК содержит гидовую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 5-72, 74-78 и 80-82.

[0014] Вариант реализации 2 представляет собой способ модификации гена TTR и/или индукции двухцепочечного разрыва (ДЦР) в гене TTR, включающий доставку композиции в клетку, причем композиция содержит: (i) нуклеиновую кислоту, содержащую открытую рамку считывания, кодирующую ДНК-связывающий агент, гидируемый РНК, причем:

открытая рамка считывания содержит последовательность, идентичную на по меньшей мере 93% SEQ ID NO:311; и/или

открытая рамка считывания идентична на по меньшей мере 93% SEQ ID NO: 311 по меньшей мере по его первым 50, 200, 250 или 300 нуклеотидам или идентична на по меньшей мере 95% SEQ ID NO: 311 по меньшей мере по его первым 30, 50, 70, 100, 150, 200, 250 или 300 нуклеотидам; и/или

открытая рамка считывания состоит из набора кодонов, из которых по меньшей мере 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% или 100% кодонов являются кодонами, перечисленными в Таблице 4, выборке с низким содержанием А Таблицы 5 или выборке с низким содержанием А/У Таблицы 5; и/или

открытая рамка считывания содержит аденин в диапазоне от минимального содержания аденина до 123% от минимального содержания аденина; и/или

открытая рамка считывания содержит аденин адениндинуклеотид в диапазоне от минимального содержания адениндинуклеотида до 150% от минимального содержания адениндинуклеотида; и

(ii) гидовую РНК или вектор, кодирующий гидовую РНК, при этом гидовая РНК содержит гидовую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 5-72, 74-78 и 80-82.

[0015] Вариант реализации 3 представляет собой способ снижения концентрации TTR в сыворотке, лечения амилоидоза, связанного с TTR (ATTR), и/или уменьшения или предотвращения накопления амилоидов или амилоидных фибрилл, содержащих TTR, у субъекта, включающий введение композиции нуждающемуся в этом субъекту, причем композиция содержит: (i) нуклеиновую кислоту, содержащую открытую рамку считывания, кодирующую ДНК-связывающий агент, гидируемый РНК, причем:

открытая рамка считывания содержит последовательность, идентичную на по меньшей мере 95% SEQ ID NO:311; и/или

открытая рамка считывания идентична на по меньшей мере 95% SEQ ID NO: 311 по меньшей мере по его первым 30, 50, 70, 100, 150, 200, 250 или 300 нуклеотидам; и/или

открытая рамка считывания состоит из набора кодонов, из которых по меньшей мере 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% или 100% кодонов являются кодонами, перечисленными в Таблице 4, выборке с низким содержанием А Таблицы 5 или выборке с низким содержанием А/У Таблицы 5; и/или

открытая рамка считывания содержит аденин в диапазоне от минимального содержания аденина до 150% от минимального содержания аденина; и/или

открытая рамка считывания содержит аденин адениндинуклеотид в диапазоне от минимального содержания адениндинуклеотида до 150% от минимального содержания адениндинуклеотида; и

(ii) гидовую РНК или вектор, кодирующий гидовую РНК, при этом гидовая РНК содержит гидовую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 5-72, 74-78 и 80-82, тем самым снижая концентрацию TTR в сыворотке, что лечит амилоидоз, связанный с TTR (ATTR) и/или уменьшая или предотвращая накопление амилоидов или амилоидных фибрилл, содержащих TTR, у субъекта.

[0016] Вариант реализации 4 представляет собой композицию или способ по любому из предшествующих вариантов реализации, причем гидовая РНК содержит гидовую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 5, 6, 7, 8, 9, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 22, 23, 27, 29, 30, 35, 36, 37, 38, 55, 61, 63, 65, 66, 68 или 69.

[0017] Вариант реализации 5 представляет собой композицию по варианту реализации 1 или 4 для применения для индукции двухцепочечного разрыва (ДЦР) в гене TTR в клетке или субъекте.

[0018] Вариант реализации 6 представляет собой композицию по варианту реализации 1, 4 или 5 для применения при модификации гена TTR в клетке или субъекте.

[0019] Вариант реализации 7 представляет собой композицию по варианту реализации 1, 4, 5 или 6 для применения при лечении амилоидоза, связанного с TTR (ATTR) у субъекта.

[0020] Вариант реализации 8 представляет собой композицию по варианту реализации 1, 4, 5, 6 или 7 для применения для снижения концентрации TTR в сыворотке у субъекта.

[0021] Вариант реализации 9 представляет собой композицию по варианту реализации 1, 4, 5, 6, 7 или 8 для применения для уменьшения или предотвращения накопления амилоидов или амилоидных фибрилл у субъекта.

[0022] Вариант реализации 10 представляет собой композицию для применения или способ по любому из вариантов реализации 2-9, причем способ включает введение композиции путем инфузии в течение более 30 минут.

[0023] Вариант реализации 11 представляет собой способ и композицию для

применения варианта реализации 10, причем композицию вводят путем инфузии в течение около 45-75 минут, 75-105 минут, 105-135 минут, 135-165 минут, 165-195 минут, 195-225 минут, 225-255 минут, 255-285 минут, 285-315 минут, 315-345 минут или 345-375 минут.

[0024] Вариант реализации 12 представляет собой способ и композицию для применения варианта реализации 10 или 11, причем композицию вводят путем инфузии в течение около 1,5-6 часов.

[0025] Вариант реализации 13 представляет собой способ и композицию для применения варианта реализации 10, причем композицию вводят путем инфузии в течение около 60 минут, около 90 минут, около 120 минут, около 150 минут, около 180 минут или около 240 минут.

[0026] Вариант реализации 14 представляет собой способ и композицию для применения варианта реализации 10, причем композицию вводят путем инфузии в течение около 120 минут.

[0027] Вариант реализации 15 представляет собой способ или композицию для применения любого из вариантов реализации 2-14, причем композиция снижает уровни TTR в сыворотке.

[0028] Вариант реализации 16 представляет собой способ или композицию для применения варианта реализации 15, причем уровни TTR в сыворотке снижены по меньшей мере на 50% по сравнению с уровнями TTR в сыворотке до введения композиции.

[0029] Вариант реализации 17 представляет собой способ или композицию для применения варианта реализации 15, причем уровни TTR в сыворотке снижены по меньшей мере на 50-60%, 60-70%, 70-80%, 80-90%, 90-95%, 95-98%, 98-99% или 99-100% по сравнению с уровнями TTR в сыворотке до введения композиции.

[0030] Вариант реализации 18 представляет собой способ или композицию для применения любого из вариантов реализации 2-17, причем композиция приводит к редактированию гена TTR.

[0031] Вариант реализации 19 представляет собой способ и композицию для применения варианта реализации 18, причем редактирование рассчитывается как процент от редактируемой популяции (процент редактирования).

[0032] Вариант реализации 20 представляет собой способ и композицию для применения варианта реализации 19, причем процент редактирования составляет от 30 до 99% популяции.

[0033] Вариант реализации 21 представляет собой способ и композицию для применения по варианту реализации 19, причем процент редактирования составляет от 30 до 35%, от 35 до 40%, от 40 до 45%, от 45 до 50%, от 50 до 55%, от 55 до 60%, от 60 до 65%, от 65 до 70%, от 70 до 75%, от 75 до 80%, от 80 до 85%, от 85 до 90%, от 90 до 95% или от 95 до 99% популяции.

[0034] Вариант реализации 22 представляет собой способ или композицию для

применения по любому из вариантов реализации 2-21, причем композиция снижает отложение амилоида по меньшей мере в одной ткани.

[0035] Вариант реализации 23 представляет собой способ или композицию для применения по варианту реализации 22, при этом по меньшей мере одна ткань необязательно включает одну или более из тканей желудка, толстой кишки, седалищного нерва или ганглий дорзального корешка.

[0036] Вариант реализации 24 представляет собой способ или композицию для применения по варианту реализации 22 или 23, причем отложение амилоида измеряют через 8 недель после введения композиции.

[0037] Вариант реализации 25 представляет собой способ или композицию для применения по любому из вариантов реализации 22-24, причем отложение амилоида сравнивают с отрицательным контролем или уровнем, измеренным перед введением композиции.

[0038] Вариант реализации 26 представляет собой способ или композицию для применения по любому из вариантов реализации 22-25, причем отложение амилоида измеряется в образце биопсии и/или путем иммуноокрашивания.

[0039] Вариант реализации 27 представляет собой способ или композицию для применения по любому из вариантов реализации 22-26, причем отложение амилоида снижается между 30 и 35%, 35 и 40%, 40 и 45%, 45 и 50%, 50 и 55%, 55 и 60%, 60 и 65%, 65 и 70%, 70 и 75%, 75 и 80%, 80 и 85%, 85 и 90%, 90 и 95% или 95 и 99% отложения амилоида, наблюдаемого в отрицательном контроле.

[0040] Вариант реализации 28 представляет собой способ или композицию для применения по любому из вариантов реализации 22-27, причем отложение амилоида снижается между 30 и 35%, 35 и 40%, 40 и 45%, 45 и 50%, 50 и 55%, 55 и 60%, 60 и 65%, 65 и 70%, 70 и 75%, 75 и 80%, 80 и 85%, 85 и 90%, 90 и 95% или 95 и 99% отложения амилоида, наблюдаемого до введения композиции.

[0041] Вариант реализации 29 представляет собой способ или композицию для применения по любому из вариантов реализации 2-28, причем композицию вводят или доставляют по меньшей мере два раза.

[0042] Вариант реализации 30 представляет собой способ или композицию для применения по варианту реализации 29, причем композицию вводят или доставляют по меньшей мере три раза.

[0043] Вариант реализации 31 представляет собой способ или композицию для применения по варианту реализации 29, причем композицию вводят или доставляют по меньшей мере четыре раза.

[0044] Вариант реализации 32 представляет собой способ или композицию для применения по варианту реализации 29, причем композицию вводят или доставляют до пяти, шести, семи, восьми, девяти или десяти раз.

[0045] Вариант реализации 33 представляет собой способ или композицию для применения по варианту реализации 29-32, причем введение или доставка происходит с

интервалом 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 или 15 дней.

[0046] Вариант реализации 34 представляет собой способ или композицию для применения по любому из вариантов реализации 29-32, причем введение или доставка происходит с интервалом 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 или 15 недель.

[0047] Вариант реализации 35 представляет собой способ или композицию для применения по любому из вариантов реализации 29-32, причем введение или доставка происходит с интервалом 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 или 15 месяцев.

[0048] Вариант реализации 36 представляет собой способ или композицию по любому из предшествующих вариантов реализации, причем гидовая РНК содержит сгРНК, которая содержит гидовую последовательность и дополнительно содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 126, причем нуклеотиды SEQ ID NO: 126 следуют после гидовой последовательности на ее 3' конце.

[0049] Вариант реализации 37 представляет собой способ или композицию по любому из предшествующих вариантов реализации, причем гидовая РНК представляет собой двойную гидовую (dgРНК).

[0050] Вариант реализации 38 представляет собой способ или композицию по варианту реализации 37, причем двойная гидовая РНК содержит сгРНК, содержащую нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 126, причем нуклеотиды SEQ ID NO: 126 следуют после гидовой последовательности на ее 3' конце и trРНК.

[0051] Вариант реализации 39 представляет собой способ или композицию по любому из вариантов реализации 1-36, причем гидовая РНК представляет собой одиночную гидовую (sgРНК).

[0052] Вариант реализации 40 представляет собой способ или композицию по варианту реализации 39, причем sgРНК содержит гидовую последовательность, имеющую паттерн SEQ ID NO: 3.

[0053] Вариант реализации 41 представляет собой способ или композицию по варианту реализации 39, причем sgРНК содержит последовательность SEQ ID NO: 3.

[0054] Вариант реализации 42 представляет собой способ или композицию по любому из вариантов реализации 39-41, причем sgРНК содержит любую одну из гидовых последовательностей SEQ ID NO: 5-72, 74-78 и 80-82 и нуклеотиды SEQ ID NO: 126.

[0055] Вариант реализации 43 представляет собой способ или композицию по любому из вариантов реализации 39-42, причем sgРНК содержит последовательность, идентичную по меньшей мере на 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 94%, 93%, 92%, 91%, или на 90% последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 87-113, 115-120 и 122-124.

[0056] Вариант реализации 44 представляет собой способ или композицию по варианту реализации 39, причем sgРНК содержит последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 87-113, 115-120 и 122-124.

[0057] Вариант реализации 45 представляет собой способ или композицию по любому из предшествующих вариантов реализации, причем гидовая РНК содержит по меньшей мере одну модификацию.

[0058] Вариант реализации 46 представляет собой способ или композицию по варианту реализации 45, причем по меньшей мере одна модификация включает 2'-О-метил (2'-О-Me) модифицированный нуклеотид.

[0059] Вариант реализации 47 представляет собой способ или композицию по варианту реализации 45 или 46, причем по меньшей мере одна модификация включает фосфоротиоатную (PS) связь между нуклеотидами.

[0060] Вариант реализации 48 представляет собой способ или композицию по любому из вариантов реализации 45-47, причем по меньшей мере одна модификация включает 2'-фтор (2'-F) модифицированный нуклеотид.

[0061] Вариант реализации 49 представляет собой способ или композицию по любому из вариантов реализации 45-48, причем по меньшей мере одна модификация включает модификацию одного или более из первых пяти нуклеотидов на 5'-конце.

[0062] Вариант реализации 50 представляет собой способ или композицию по любому из вариантов реализации 45-49, причем по меньшей мере одна модификация включает модификацию одного или более из первых пяти нуклеотидов на 3'-конце.

[0063] Вариант реализации 51 представляет собой способ или композицию по любому из вариантов реализации 45-50, причем по меньшей мере одна модификация включает связи PS между первыми четырьмя нуклеотидами.

[0064] Вариант реализации 52 представляет собой способ или композицию по любому из вариантов реализации 45-51, причем по меньшей мере одна модификация включает связи PS между первыми четырьмя нуклеотидами.

[0065] Вариант реализации 53 представляет собой способ или композицию по любому из вариантов реализации 45-52, причем по меньшей мере одна модификация включает 2'-О-Me модифицированные нуклеотиды первых трех нуклеотидов на 5'-конце.

[0066] Вариант реализации 54 представляет собой способ или композицию по любому из вариантов реализации 45-53, причем по меньшей мере одна модификация включает 2'-О-Me модифицированные нуклеотиды последних трех нуклеотидов на 3'-конце.

[0067] Вариант реализации 55 представляет собой способ или композицию по любому из вариантов реализации 45-54, причем гидовая РНК содержит модифицированные нуклеотиды SEQ ID NO: 3.

[0068] Вариант реализации 56 представляет собой способ или композицию по любому из вариантов реализации 1-55, причем композиция дополнительно содержит фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество.

[0069] Вариант реализации 57 представляет собой способ или композицию по любому из вариантов реализации 1-56, причем гидовая РНК и нуклеиновая кислота, содержащая открытую рамку считывания, кодирующую ДНК-связывающий агент, гидрируемый РНК, связаны с липидной наночастицей (LNP).

[0070] Вариант реализации 58 представляет собой способ или композицию по варианту реализации 57, причем LNP содержит липид CCD.

[0071] Вариант реализации 59 представляет собой способ или композицию по варианту реализации 58, причем липид CCD представляет собой липид А или липид В, необязательно при этом липид CCD представляет собой липид А.

[0072] Вариант реализации 60 представляет собой способ или композицию по любому из вариантов реализации 57-59, причем LNP содержит вспомогательный липид.

[0073] Вариант реализации 61 представляет собой способ или композицию по варианту реализации 60, причем вспомогательный липид представляет собой холестерин.

[0074] Вариант реализации 62 представляет собой способ или композицию по любому из вариантов реализации 57-61, причем LNP содержит липид-невидимку (например, липид ПЭГ).

[0075] Вариант реализации 63 представляет собой способ или композицию по варианту реализации 62, причем липид-невидимка представляет собой ПЭГ2k-DMG.

[0076] Вариант реализации 64 представляет собой способ или композицию по любому из вариантов реализации 57-63, причем: (i) LNP содержит липидный компонент, и липидный компонент содержит: около 50-60% мол. аминного липида, такого как липид А, около 8-10% мол. нейтрального липида; и около 2,5-4% мол. липида-невидимки (например, липида ПЭГ), причем остаток липидного компонента представляет собой вспомогательный липид, и при этом соотношение N/P в композиции LNP составляет около 6; (ii) LNP содержит около 50-60% мол. аминного липида, такого как липид А; около 27-39,5% мол. вспомогательного липида; около 8-10% мол. нейтрального липида; и около 2,5-4% мол. липида-невидимки (например, липида ПЭГ), при этом отношение N/P в композиции LNP составляет около 5-7 (например, около 6); (iii) LNP содержит липидный компонент, и липидный компонент содержит: около 50-60% мол. аминного липида, такого как липид А; около 5-15% мол. нейтрального липида; и около 2,5-4% мол. липида-невидимки (например, липида ПЭГ), причем остаток липидного компонента представляет собой вспомогательный липид, и при этом соотношение N/P в композиции LNP составляет около 3-10; (iv) LNP содержит липидный компонент, и липидный компонент содержит: около 40-60% мол. аминного липида, такого как липид А; около 5-15% мол. нейтрального липида; и около 2,5-4% мол. липида-невидимки (например, липида ПЭГ), причем остаток липидного компонента представляет собой вспомогательный липид, и при этом соотношение N/P в композиции LNP составляет около 6; (v) LNP содержит липидный компонент, и липидный компонент содержит: около 50-60% мол. аминного липида, такого как липид А; около 5-15% мол. нейтрального липида; и около 1,5-10% мол. липида-невидимки (например, липида ПЭГ), причем остаток липидного компонента представляет собой вспомогательный липид, и при этом соотношение N/P в композиции LNP составляет около 6; (vi) LNP содержит липидный компонент, и липидный компонент содержит: около 40-60% мол. аминного липида, такого как липид А; около 0-10% мол. нейтрального липида; и около 1,5-10% мол. липида-невидимки (например, липида ПЭГ), причем остаток липидного компонента представляет собой вспомогательный липид, и при этом соотношение N/P в композиции LNP составляет около 3-10; (vii) LNP содержит

липидный компонент, и липидный компонент содержит: около 40-60% мол. аминного липида, такого как липид А; менее чем около 1% мол. нейтрального липида; и около 1,5-10% мол. липида-невидимки (например, липида ПЭГ), причем остаток липидного компонента представляет собой вспомогательный липид, и при этом соотношение N/P в композиции LNP составляет около 3-10; (viii) LNP содержит липидный компонент, и липидный компонент содержит: около 40-60% мол. аминного липида, такого как липид А; и около 1,5-10% мол. липида-невидимки (например, липида ПЭГ), причем остаток липидного компонента представляет собой вспомогательный липид, и при этом соотношение N/P в композиции LNP составляет около 3-10, и при этом композиция LNP по существу не содержит или не содержит нейтральный фосфолипид; или (ix) LNP содержит липидный компонент, и липидный компонент содержит: около 50-60% мол. аминного липида, такого как липид А; около 8-10% мол. нейтрального липида; и около 2,5-4% мол. липида-невидимки (например, липида ПЭГ), причем остаток липидного компонента представляет собой вспомогательный липид, и при этом соотношение N/P в композиции LNP составляет около 3-7.

[0077] Вариант реализации 64a представляет собой способ или композицию по варианту реализации 64, причем % мол. липида ПЭГ составляет около 3.

[0078] Вариант реализации 64b представляет собой способ или композицию по варианту реализации 64 или 64a, причем % мол. аминного липида составляет около 50.

[0079] Вариант реализации 64c представляет собой способ или композицию по любому из вариантов реализации 64-64b, причем % мол. аминного липида составляет около 55.

[0080] Вариант реализации 64d представляет собой способ или композицию по любому из вариантов реализации 64-64c, причем % мол. аминного липида составляет $\pm 3\%$ мол.

[0081] Вариант реализации 64e представляет собой способ или композицию по любому из вариантов реализации 64-64d, причем % мол. аминного липида составляет $\pm 2\%$ мол.

[0082] Вариант реализации 64f представляет собой способ или композицию по любому из вариантов реализации 64-64e, причем % мол. аминного липида составляет 47-53% мол.

[0083] Вариант реализации 64g представляет собой способ или композицию по любому из вариантов реализации 64-64f, причем % мол. аминного липида составляет 48-53% мол.

[0084] Вариант реализации 64h представляет собой способ или композицию по любому из вариантов реализации 64-64g, причем % мол. аминного липида составляет 53-57% мол.

[0085] Вариант реализации 64i представляет собой способ или композицию по любому из вариантов реализации 64-64h, причем соотношение N/P составляет 6 ± 1 .

[0086] Вариант реализации 64j представляет собой способ или композицию по

любому из вариантов реализации 64-64i, причем соотношение N/P составляет $6 \pm 0,5$.

[0087] Вариант реализации 64k представляет собой способ или композицию по любому из вариантов реализации 64-64j, причем аминовый липид представляет собой липид A.

[0088] Вариант реализации 64l представляет собой способ или композицию по любому из вариантов реализации 64-64l, причем аминовый липид представляет собой аналог липида A.

[0089] Вариант реализации 64m представляет собой способ или композицию по варианту реализации 64l, причем аналог представляет собой аналог ацеталя.

[0090] Вариант реализации 64n представляет собой способ или композицию по варианту реализации 64m, причем аналог ацеталя представляет собой аналог ацеталя C4-C12.

[0091] Вариант реализации 64o представляет собой способ или композицию по варианту реализации 64m, причем аналог ацеталя представляет собой аналог ацеталя C5-C12.

[0092] Вариант реализации 64p представляет собой способ или композицию по варианту реализации 64m, причем аналог ацеталя представляет собой аналог ацеталя C5-C10.

[0093] Вариант реализации 64q представляет собой способ или композицию по варианту реализации 64m, причем аналог ацеталя выбран из аналога C4, C5, C6, C7, C9, C10, C11 и C12.

[0094] Вариант реализации 64r представляет собой способ или композицию по любому из вариантов реализации 64-64q, причем вспомогательный липид представляет собой холестерин.

[0095] Вариант реализации 64s представляет собой способ или композицию по любому из вариантов реализации 64-64r, причем нейтральный липид представляет собой DOPC.

[0096] Вариант реализации 64t представляет собой способ или композицию по любому из вариантов реализации 64-64s, причем нейтральный липид представляет собой DPPC.

[0097] Вариант реализации 64u представляет собой способ или композицию по любому из вариантов реализации 64-64t, причем липид ПЭГ включает димирристоилглицерин (DMG).

[0098] Вариант реализации 64v представляет собой способ или композицию по любому из вариантов реализации 64-64u, причем липид ПЭГ включает ПЭГ-2k.

[0099] Вариант реализации 64w представляет собой способ или композицию по любому из вариантов реализации 64-64v, причем липид ПЭГ представляет собой ПЭГ-DMG.

[00100] Вариант реализации 64x представляет собой способ или композицию по варианту реализации 64w, причем ПЭГ-DMG представляет собой ПЭГ2k-DMG.

[00101] Вариант реализации 64y представляет собой способ или композицию по любому из вариантов реализации 64-64x, причем композиция LNP по существу не содержит нейтральный липид.

[00102] Вариант реализации 64z представляет собой способ или композицию по варианту реализации 64y, причем нейтральный липид представляет собой фосфолипид.

[00103] Вариант реализации 65 представляет собой способ или композицию по любому из вариантов реализации 57-64z, причем LNP содержит нейтральный липид, необязательно, причем нейтральный липид представляет собой DOPC.

[00104] Вариант реализации 66 представляет собой способ или композицию по любому из вариантов реализации 64-65, причем аминовый липид присутствует в количестве около 50% мол.

[00105] Вариант реализации 67 представляет собой способ или композицию по любому из вариантов реализации 64-66, причем нейтральный липид присутствует в количестве около 9% мол.

[00106] Вариант реализации 68 представляет собой способ или композицию по любому из вариантов реализации 62-67, причем липид-невидимка присутствует в количестве около 3% мол.

[00107] Вариант реализации 69 представляет собой способ или композицию по любому из вариантов реализации 60-68, причем вспомогательный липид присутствует в количестве около 38% мол.

[00108] Вариант реализации 70 представляет собой способ или композицию по любому из предшествующих вариантов реализации, причем соотношение N/P в композиции LNP составляет около 6.

[00109] Вариант реализации 71 представляет собой способ или композицию по варианту реализации 70, причем LNP содержит липидный компонент, и липидный компонент содержит: около 50% мол. аминового липида, такого как липид А; около 9% мол. нейтрального липида, такого как DOPC; около 3% мол. липида-невидимки, такого как липид ПЭГ, такой как ПЭГ2k-DMG, а оставшаяся часть липидного компонента представляет собой вспомогательный липид, такой как холестерин, причем соотношение N/P в композиции LNP составляет около 6.

[00110] Вариант реализации 72 представляет собой способ или композицию по любому из вариантов реализации 64-71, причем аминовый липид представляет собой липид А.

[00111] Вариант реализации 73 представляет собой способ или композицию по любому из вариантов реализации 64-72, причем нейтральный липид представляет собой DOPC.

[00112] Вариант реализации 74 представляет собой способ или композицию по любому из вариантов реализации 62-73, причем липид-невидимка представляет собой ПЭГ2k-DMG.

[00113] Вариант реализации 75 представляет собой способ или композицию по

любому из вариантов реализации 60-74, причем вспомогательный липид представляет собой холестерин.

[00114] Вариант реализации 76 представляет собой способ или композицию по любому из вариантов реализации 70, причем LNP содержит липидный компонент, и липидный компонент содержит: около 50% мол. липида А; около 9% мол. DOPC; около 3% мол. ПЭГ2k-DMG, а остаток липидного компонента представляет собой холестерин, причем соотношение N/P в композиции LNP составляет около 6.

[00115] Вариант реализации 77 представляет собой способ или композицию по любому из предшествующих вариантов реализации, причем ДНК-связывающий агент, гидрируемый РНК, представляет собой расщепляющую Cas.

[00116] Вариант реализации 78 представляет собой способ или композицию по варианту реализации 77, причем ДНК-связывающий агент, гидрируемый РНК, представляет собой Cas9.

[00117] Вариант реализации 79 представляет собой способ или композицию по любому из предшествующих вариантов реализации, причем ДНК-связывающий агент, гидрируемый РНК, модифицирован.

[00118] Вариант реализации 80 представляет собой способ или композицию по варианту реализации 79, причем модифицированный ДНК-связывающий агент, гидрируемый РНК, необязательно содержит сигнал ядерной локализации (NLS).

[00119] Вариант реализации 81 представляет собой способ или композицию по любому из предшествующих вариантов реализации, причем ДНК-связывающий агент, гидрируемый РНК, представляет собой Cas из системы CRISPR/Cas типа II.

[00120] Вариант реализации 82 представляет собой способ или композицию по любому из предшествующих вариантов реализации, причем композиция представляет собой фармацевтическую композицию и дополнительно содержит фармацевтически приемлемый носитель.

[00121] Вариант реализации 83 представляет собой способ или композицию для применения по любому из вариантов реализации 2-82, причем композиция снижает или предотвращает амилоиды или амилоидные фибриллы, содержащие TTR.

[00122] Вариант реализации 84 представляет собой способ или композицию для применения по варианту реализации 83, причем амилоиды или амилоидные фибриллы находятся в нервах, сердце или желудочно-кишечном тракте.

[00123] Вариант реализации 85 представляет собой способ или композицию для применения по любому из вариантов реализации 2-84, причем соединение негомологичных концов (NHEJ) приводит к мутации во время репарации ДЦР в гене TTR.

[00124] Вариант реализации 86 представляет собой способ или композицию для применения по варианту реализации 85, причем NHEJ приводит к делеции или вставке нуклеотида(ов) во время репарации ДЦР в гене TTR.

[00125] Вариант реализации 87 представляет собой способ или композицию для применения по варианту реализации 86, причем делеция или вставка нуклеотида(ов)

вызывает сдвиг рамки считывания или нонсенс-мутацию в гене TTR.

[00126] Вариант реализации 88 представляет собой способ или композицию для применения по варианту реализации 86, причем сдвиг рамки считывания или нонсенс-мутация индуцируется в гене TTR по меньшей мере 50% клеток печени.

[00127] Вариант реализации 89 представляет собой способ или композицию для применения по варианту реализации 88, причем сдвиг рамки считывания или нонсенс-мутация индуцируется в гене TTR 50%-60%, 60%-70%, 70% или 80%, 80%-90%, 90-95%, 95%-99% или 99%-100% клеток печени.

[00128] Вариант реализации 90 представляет собой способ или композицию для применения по любому из вариантов реализации 86-89, причем делеция или вставка нуклеотида(ов) происходит в гене TTR по меньшей мере в 50 раз или чаще, чем в сайтах, не являющихся мишенями.

[00129] Вариант реализации 91 представляет собой способ или композицию для применения по варианту реализации 90, причем делеция или вставка нуклеотида(ов) происходит в гене TTR в от 50 раз до 150 раз, от 150 раз до 500 раз, от 500 раз до 1500 раз, от 1500 раз до 5000 раз, от 5000 раз до 15000 раз, от 15000 раз до 30000 раз, или от 30000 раз до 60000 раз чаще, чем в сайтах, не являющихся мишенями.

[00130] Вариант реализации 92 представляет собой способ или композицию для применения по любому из вариантов реализации 86-91, причем делеция или вставка нуклеотида(ов) в менее чем или равном 3, 2, 1 или 0 нецелевом сайте (сайтах), в первичных гепатоцитах человека, необязательно при этом нецелевой сайт (сайты) не встречается в кодирующей белок области в геноме первичных гепатоцитах человек.

[00131] Вариант реализации 93 представляет собой способ или композицию для применения по варианту реализации 92, причем делеция или вставка нуклеотида(ов) происходит в количестве нецелевых сайтов в первичных гепатоцитах человека, которое меньше количества нецелевых сайтов, в которых делеция или вставка нуклеотида(ов) происходит в клетках, сверхэкспрессирующих Cas9, необязательно при этом нецелевой сайт(ы) не встречается(не встречаются) в кодирующей белок области в геноме первичных гепатоцитов человека.

[00132] Вариант реализации 94 представляет собой способ или композицию для применения по варианту реализации 93, причем клетки, сверхэкспрессирующие Cas9, представляют собой клетки НЕК293, стабильно экспрессирующие Cas9.

[00133] Вариант реализации 95 представляет собой способ или композицию для применения по любому из вариантов реализации 92-94, причем количество нецелевых сайтов в первичных гепатоцитах человека определяют путем анализа геномной ДНК из первичных гепатоцитов человека, трансфицированных *in vitro* мРНК Cas9 и гидовой РНК, необязательно при этом нецелевой(ые) сайт(сайты) не встречается(не встречаются) в кодирующей белок области в геноме первичных гепатоцитов человека.

[00134] Вариант реализации 96 представляет собой способ или композицию для применения по любому из вариантов реализации 92-94, причем количество нецелевых

сайтов в первичных гепатоцитах человека определяют с помощью анализа вставки олигонуклеотидов, включающего анализ геномной ДНК из первичных гепатоцитов человека, трансфицированных *in vitro* с помощью мРНК Cas9, гидовая РНК и донорный олигонуклеотид, необязательно при этом нецелевой(ые) сайт(ы) не встречается (не встречаются) в кодирующей белок области в геноме первичных гепатоцитов человека.

[00135] Вариант реализации 97 представляет собой способ или композицию по любому из вариантов реализации 1-36 или 39-96, причем последовательность гидовой РНК представляет собой: а) SEQ ID NO: 92 или 104; б) SEQ ID NO: 87, 89, 96 или 113; в) SEQ ID NO: 100, 102, 106, 111 или 112; или д) SEQ ID NO: 88, 90, 91, 93, 94, 95, 97, 101, 103, 108 или 109.

[00136] Вариант реализации 98 представляет собой способ или композицию по варианту реализации 97, причем гидовая РНК не образует инсерционно-делеционных мутаций в нецелевых сайтах, которые встречаются в кодирующей белок области в геноме первичных гепатоцитов человека.

[00137] Вариант реализации 99 представляет собой способ или композицию для применения по любому из вариантов реализации 2-98, причем введение композиции снижает уровни ТТР у субъекта.

[00138] Вариант реализации 100 представляет собой способ или композицию для применения по варианту реализации 99, причем уровни ТТР снижены по меньшей мере на 50%.

[00139] Вариант реализации 101 представляет собой способ или композицию для применения по варианту реализации 100, причем уровни ТТР снижены на 50%-60%, 60%-70%, 70% или 80%, 80%-90%, 90-95%, 95%-99% или 99%-100%.

[00140] Вариант реализации 102 представляет собой способ или композицию для применения по варианту реализации 100 или 101, причем уровни ТТР измеряются в сыворотке, плазме, крови, спинномозговой жидкости или мокроте.

[00141] Вариант реализации 103 представляет собой способ или композицию для применения по варианту реализации 100 или 101, причем уровни ТТР измеряются в печени, сосудистом сплетении и/или сетчатке.

[00142] Вариант реализации 104 представляет собой способ или композицию для применения по любому из вариантов реализации 99-103, причем уровни ТТР измеряются с помощью иммуноферментного анализа (ИФА).

[00143] Вариант реализации 105 представляет собой способ или композицию для применения по любому из вариантов реализации 2-104, причем субъект имеет АТТР.

[00144] Вариант реализации 106 представляет собой способ или композицию для применения по любому из вариантов реализации 2-105, причем субъектом является человек.

[00145] Вариант реализации 107 представляет собой способ или композицию для применения по варианту реализации 105 или 106, причем субъект имеет АТТРдт.

[00146] Вариант реализации 108 представляет собой способ или композицию для

применения по варианту реализации 105 или 106, причем субъект имеет наследственный ATTR.

[00147] Вариант реализации 109 представляет собой способ или композицию для применения по любому из вариантов реализации 2-106 или 108, причем субъект имеет ATTR в семейном анамнезе.

[00148] Вариант реализации 110 представляет собой способ или композицию для применения по любому из вариантов реализации 2-106 или 108-109, причем субъект имеет семейную амилоидную полинейропатию.

[00149] Вариант реализации 111 представляет собой способ или композицию для применения по любому из вариантов реализации 2-110, причем субъект имеет только или преимущественно нервные симптомы ATTR.

[00150] Вариант реализации 112 представляет собой способ или композицию для применения по любому из вариантов реализации 2-111, причем субъект имеет семейную амилоидную кардиомиопатию.

[00151] Вариант реализации 113 представляет собой способ или композицию для применения по любому из вариантов реализации 2-110 или 112, причем субъект имеет только или преимущественно сердечные симптомы ATTR.

[00152] Вариант реализации 114 представляет собой способ или композицию для применения по любому из вариантов реализации 2-113, причем что субъект экспрессирует TTR, имеющий мутацию V30.

[00153] Вариант реализации 115 представляет собой способ или композицию для применения по варианту реализации 114, причем мутация V30 представляет собой V30A, V30G, V30L или V30M.

[00154] Вариант реализации 116 представляет собой способ или композицию для применения по любому из вариантов реализации 2-113, причем субъект экспрессирует TTR, имеющий мутацию T60.

[00155] Вариант реализации 117 представляет собой способ или композицию для применения по варианту реализации 116, причем мутация T60 представляет собой T60A.

[00156] Вариант реализации 118 представляет собой способ или композицию для применения по любому из вариантов реализации 2-113, причем субъект экспрессирует TTR, имеющий мутацию V122.

[00157] Вариант реализации 119 представляет собой способ или композицию для применения по варианту реализации 118, причем мутация V122 представляет собой V122A, V122I или V122(-).

[00158] Вариант реализации 120 представляет собой способ или композицию для применения по любому из вариантов реализации 2-113, причем субъект экспрессирует TTR дикого типа.

[00159] Вариант реализации 121 представляет собой способ или композицию для применения по любому из вариантов реализации 2-107 или 120, причем субъект не экспрессирует TTR, имеющий мутацию V30, T60 или V122.

[00160] Вариант реализации 122 представляет собой способ или композицию для применения по любому из вариантов реализации 2-107 или 120-121, причем субъект не экспрессирует TTR, имеющий патологическую мутацию.

[00161] Вариант реализации 123 представляет собой способ или композицию для применения по варианту реализации 122, причем субъект является гомозиготным по TTR дикого типа.

[00162] Вариант реализации 124 представляет собой способ или композицию для применения по любому из вариантов реализации 2-123, причем после введения у субъекта наблюдается улучшение, стабилизация или замедление изменения симптомов сенсомоторной нейропатии.

[00163] Вариант реализации 125 представляет собой способ или композицию для применения по варианту реализации 124, причем улучшение, стабилизация или замедление изменения сенсорной невропатии измеряется с помощью электромиограммы, тестов нервной проводимости или результатов, сообщаемых пациентом.

[00164] Вариант реализации 126 представляет собой способ или композицию для применения по любому из вариантов реализации 2-125, причем у субъекта наблюдается улучшение, стабилизация или замедление изменения симптомов застойной сердечной недостаточности.

[00165] Вариант реализации 127 представляет собой способ или композицию для применения по варианту реализации 126, причем улучшение, стабилизацию или замедление изменений при застойной сердечной недостаточности измеряют с использованием тестов на сердечные биомаркеры, функциональных тестов легких, рентгенографии грудной клетки или электрокардиографии.

[00166] Вариант реализации 128 представляет собой способ или композицию для применения по любому из вариантов реализации 2-127, причем композицию или фармацевтический состав вводят через вирусный вектор.

[00167] Вариант реализации 129 представляет собой способ или композицию для применения по любому из вариантов реализации 2-127, причем композицию или фармацевтический состав вводят через липидные наночастицы.

[00168] Вариант реализации 130 представляет собой способ или композицию для применения по любому из вариантов реализации 2-129, причем субъект тестируется на наличие специфических мутаций в гене TTR перед введением композиции или состава.

[00169] Вариант реализации 131 представляет собой способ или композицию по любому из предшествующих вариантов реализации, причем последовательность, выбранная из SEQ ID NO: 5-72, 74-78 и 80-82 представляет собой SEQ ID NO: 5, 6, 9, 13, 14, 15, 16, 17, 22, 23, 27, 30, 35, 36, 37, 38, 55, 63, 65, 66, 68 или 69.

[00170] Вариант реализации 132 представляет собой способ или композицию по любому из вариантов реализации 1-130, причем последовательность, выбранная из SEQ ID NO: 5-72, 74-78 и 80-82 представляет собой SEQ ID NO: 5.

[00171] Вариант реализации 133 представляет собой способ или композицию по

[00238] Вариант реализации 200 представляет собой способ или композицию по любому из вариантов реализации 1-130, причем последовательность, выбранная из SEQ ID NO: 5-72, 74-78 и 80-82 представляет собой SEQ ID NO: 74.

[00239] Вариант реализации 201 представляет собой способ или композицию по любому из вариантов реализации 1-130, причем последовательность, выбранная из SEQ ID NO: 5-72, 74-78 и 80-82 представляет собой SEQ ID NO: 75.

[00240] Вариант реализации 202 представляет собой способ или композицию по любому из вариантов реализации 1-130, причем последовательность, выбранная из SEQ ID NO: 5-72, 74-78 и 80-82 представляет собой SEQ ID NO: 76.

[00241] Вариант реализации 203 представляет собой способ или композицию по любому из вариантов реализации 1-130, причем последовательность, выбранная из SEQ ID NO: 5-72, 74-78 и 80-82 представляет собой SEQ ID NO: 77.

[00242] Вариант реализации 204 представляет собой способ или композицию по любому из вариантов реализации 1-130, причем последовательность, выбранная из SEQ ID NO: 5-72, 74-78 и 80-82 представляет собой SEQ ID NO: 78.

[00243] Вариант реализации 205 представляет собой способ или композицию по любому из вариантов реализации 1-130, причем последовательность, выбранная из SEQ ID NO: 5-72, 74-78 и 80-82 представляет собой SEQ ID NO: 80.

[00244] Вариант реализации 206 представляет собой способ или композицию по любому из вариантов реализации 1-130, причем последовательность, выбранная из SEQ ID NO: 5-72, 74-78 и 80-82 представляет собой SEQ ID NO: 81.

[00245] Вариант реализации 207 представляет собой способ или композицию по любому из вариантов реализации 1-130, причем последовательность, выбранная из SEQ ID NO: 5-72, 74-78 и 80-82 представляет собой SEQ ID NO: 82.

[00246] Вариант реализации 208 представляет собой композицию или способ по любому из предшествующих вариантов реализации, причем открытая рамка считывания идентична на по меньшей мере 95% SEQ ID NO: 311 по меньшей мере по его первым 10%, 12%, 15%, 20%, 25%, 30% или 35% последовательности.

[00247] Вариант реализации 209 представляет собой композицию или способ по любому из предшествующих вариантов реализации, причем открытая рамка считывания содержит последовательность, идентичную на по меньшей мере 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% или 100% SEQ ID NO: 311.

[00248] Вариант реализации 210 представляет собой композицию или способ по любому из предшествующих вариантов реализации, причем по меньшей мере 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% или 100% кодонов открытой рамки считывания представляют собой кодоны, перечисленные в Таблице 4, Таблице 5 или Таблице 7.

[00249] Вариант реализации 211 представляет собой композицию или способ по варианту реализации 210, причем кодоны, перечисленные в Таблице 4, Таблице 5 или Таблице 7, представляют собой кодоны, перечисленные в Таблице 4.

[00250] Вариант реализации 212 представляет собой композицию или способ по

варианту реализации 210, причем кодоны, перечисленные в Таблице 4, Таблице 5 или Таблице 7, являются кодонами из набора кодонов с низким содержанием U из Таблицы 5.

[00251] Вариант реализации 213 представляет собой композицию или способ по варианту реализации 210, причем кодоны, перечисленные в Таблице 4, Таблице 5 или Таблице 7, являются кодонами из набора кодонов с низким содержанием A из Таблицы 5.

[00252] Вариант реализации 214 представляет собой композицию или способ по варианту реализации 210, причем кодоны, перечисленные в Таблице 4, Таблице 5 или Таблице 7, являются кодонами из набора кодонов с низким содержанием A/U из Таблицы 5.

[00253] Вариант реализации 215 представляет собой композицию или способ по варианту реализации 210, причем кодоны, перечисленные в Таблице 4, Таблице 5 или Таблице 7, представляют собой кодоны, перечисленные в Таблице 7.

[00254] Вариант реализации 216 представляет собой композицию или способ по любому из предшествующих вариантов реализации, причем открытая рамка считывания содержит аденин в диапазоне от минимального содержания аденина до 101%, 102%, 103%, 105%, 110%, 115%, 120%, или 123% от минимального содержания аденина.

[00255] Вариант реализации 217 представляет собой композицию или способ по любому из предшествующих вариантов реализации, причем открытая рамка считывания содержит адениндинуклеотид в диапазоне от минимального содержания адениндинуклеотида до 101%, 102%, 103%, 105%, 110%, 115%, 120%, 125%, 130%, 135%, 140%, 145% или 150% от минимального содержания адениндинуклеотида.

[00256] Вариант реализации 218 представляет собой композицию или способ по любому из предшествующих вариантов реализации, причем нуклеиновая кислота содержит 5' UTR идентичный по меньшей мере на 90% любой из SEQ ID NO: 232, 234, 236, 238, 241 или 275-277.

[00257] Вариант реализации 219 представляет собой композицию или способ по любому из предшествующих вариантов реализации, причем нуклеиновая кислота содержит 3' UTR идентичный по меньшей мере на 90% любой из SEQ ID NO: 233, 235, 237, 239 или 240.

[00258] Вариант реализации 220 представляет собой композицию или способ по любому из предшествующих вариантов реализации, причем нуклеиновая кислота содержит 5' UTR и 3' UTR из одного источника.

[00259] Вариант реализации 221 представляет собой композицию или способ по любому из предшествующих вариантов реализации, причем нуклеиновая кислота представляет собой мРНК, содержащую 5'-кэп, выбранный из Cap0, Cap1 и Cap2.

[00260] Вариант реализации 222 представляет собой композицию или способ по любому из предшествующих вариантов реализации, причем открытая рамка считывания содержит последовательность, идентичную на по меньшей мере 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% или 100% SEQ ID NO: 377.

[00261] Вариант реализации 223 представляет собой композицию или способ по

любому из предшествующих вариантов реализации, причем нуклеиновая кислота представляет собой мРНК, в которой по меньшей мере 10% уридина в ней замещено модифицированным уридином.

[00262] Вариант реализации 224 представляет собой композицию или способ по варианту реализации 223, причем модифицированный уридин представляет собой один или более из N1-метил-псевдоуридина, псевдоуридина, 5-метоксиуридина или 5-йодуридина

[00263] Вариант реализации 225 представляет собой композицию или способ по варианту реализации 223, причем модифицированный уридин представляет собой один или оба из N1-метил-псевдоуридина или 5-метоксиуридина.

[00264] Вариант реализации 226 представляет собой композицию или способ по варианту реализации 223, причем модифицированный уридин представляет собой из N1-метил-псевдоуридин.

[00265] Вариант реализации 227 представляет собой композицию или способ по варианту реализации 223, причем модифицированный уридин представляет собой N5-метоксиуридин.

[00266] Вариант реализации 228 представляет собой композицию или способ по любому из вариантов реализации 223-210, причем от 15% до 45% уридина в мРНК заменено модифицированным уридином.

[00267] Вариант реализации 229 представляет собой композицию или способ по любому из вариантов реализации 223-211, причем по меньшей мере 20% или по меньшей мере 30% уридина в мРНК заменено модифицированным уридином.

[00268] Вариант реализации 230 представляет собой композицию или способ по варианту реализации 229, причем по меньшей мере 80% или по меньшей мере 90% уридина в мРНК заменено модифицированным уридином.

[00269] Вариант реализации 231 представляет собой композицию или способ по варианту реализации 229, причем 100% уридина в мРНК заменено модифицированным уридином.

[00270] Вариант реализации 232 представляет собой применение композиции или состава по любому из вариантов реализации 1 или 4-231 для приготовления лекарственного средства для лечения человека, имеющего АТТР.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

[00271] На Фиг. 1А-1В продемонстрирован % редактирования в первичных гепатоцитах человека от двух доноров, как описано в Примере 2.

[00272] На Фиг. 2 продемонстрирован % редактирования в первичных гепатоцитах яванского макака, как описано в Примере 2.

[00273] На Фиг. 3А-С продемонстрированы уровни ТТР в сыворотке (Фиг. 3А), редактирование ТТР печени (Фиг. 3В) и уровни циркулирующей АЛТ (Фиг. 3С) в исследовании *in vivo* на приматах, не относящихся к человеку, сравниваемом 30 минут введение LNP с длительным протоколом дозирования.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[00274] Ниже следует подробное описание некоторых вариантов реализации данного изобретения, примеры которых проиллюстрированы на прилагаемых графических материалах. Хотя данное изобретение будет описано в связи с проиллюстрированными вариантами реализации, следует понимать, что они не предназначены для ограничения данного изобретения данными вариантами реализации. Напротив, данное изобретение предназначено для охвата всех альтернатив, модификаций и эквивалентов, которые могут быть включены в данное изобретение, как определено прилагаемой формулой изобретения.

[00275] Перед подробным описанием настоящих принципов следует понимать, что данное изобретение не ограничивается конкретными композициями или стадиями способа, поскольку таковые могут отличаться. Следует отметить, что, как используется в данном описании и прилагаемой формуле изобретения, слова в единственном числе означают также и множественное число, если контекст явно не указывает иное. Таким образом, например, ссылка на «конъюгат» включает множество конъюгатов, а ссылка на «клетку» включает множество клеток и т.п.

[00276] Числовые диапазоны включают числа, определяющие диапазон. Подразумевается, что измеренные и измеряемые значения являются приблизительными с учетом значащих цифр и погрешности, связанной с измерением. Кроме того, использование терминов «содержать», «содержит», «содержащий», «содержать», «содержит», «включает», «включать», «включает» и «включающий» не предназначены для ограничения. Следует понимать, что как предшествующее общее описание, так и подробное описание являются только иллюстративными и пояснительными и не ограничивают принципы.

[00277] Если специально не указано в вышеприведенном описании, варианты реализации в описании, которые повторяют «содержащие» различные компоненты, также рассматриваются как «состоящие из» или «состоящие по существу из» перечисленных компонентов; варианты реализации в описании, которые повторяют «состоящие из» различных компонентов, также рассматриваются как «содержащие» или «состоящие по существу из» перечисленных компонентов; и варианты реализации в описании, которые повторяют «состоящие по существу из» различных компонентов, также рассматриваются как «состоящие из» или «содержащие» перечисленные компоненты (эта взаимозаменяемость не применяется к использованию этих терминов в формуле изобретения). Термин «или» используется во включительном смысле, то есть эквивалентно «и/или», если контекст явно не указывает иное.

[00278] Заголовки разделов, используемые в данном документе, предназначены только для организационных целей и никоим образом не должны рассматриваться как ограничение желаемого объекта изобретения. В случае, если какой-либо материал, включенный посредством ссылки, противоречит любому термину, определенному в данном описании, или любому другому явному содержанию данного описания, данное

описание имеет преимущественную силу. Хотя настоящие идеи описаны в связи с различными вариантами реализации, не предполагается, что настоящие идеи ограничиваются такими вариантами реализации. Напротив, настоящие идеи охватывают различные альтернативы, модификации и эквиваленты, что будет понятно специалистам в данной области техники.

Определения

[00279] Если не указано иное, следующие термины и фразы, используемые в данном документе, имеют следующие значения:

[00280] «Полинуклеотид» и «нуклеиновая кислота» используются в данном документе для обозначения мультимерного соединения, включающего нуклеозиды или аналоги нуклеозидов, которые имеют азотистые гетероциклические основания или аналоги оснований, связанные вместе вдоль остова, включая обычные РНК, ДНК, смешанные РНК-ДНК и полимеры, которые являются его аналогами. «Остов» нуклеиновой кислоты может состоять из множества связей, включая одну или более связей сахар-фосфодиэфир, связи пептид-нуклеиновая кислота («пептидные нуклеиновые кислоты» или ПНК; РСТ № WO 95/32305), фосфоротиоатные связи, метилфосфонатные связи или их комбинации. Сахарные фрагменты нуклеиновой кислоты могут представлять собой рибозу, дезоксирибозу или аналогичные соединения с замещениями, например, 2'-метокси или 2'-галогенидные замены. Азотистые основания могут быть обычными основаниями (A, G, C, T, U), их аналогами (например, модифицированные уридины, такие как 5-метоксиуридин, псевдоуридин или N1-метилпсевдоуридин, или другие); инозин; производные пуринов или пиримидинов (например, N⁴-метил дезоксигуанозин, дезаза- или азапурины, дезаза- или азапиримидины, пиримидиновые основания с группами заместителей в 5 или 6 положении (например, 5-метилцитозин), пуриновые основания с заместителем в положениях 2, 6 или 8, 2-амино-6-метиламинопурин, O⁶-метилгуанин, 4-тиопиримидины, 4-аминопиримидины, 4-диметилгидразин-пиримидины и O⁴-алкил-пиримидины; патент США № 5378825 и РСТ № WO 93/13121). Для общего обсуждения см. *The Biochemistry of the Nucleic Acids* 5-36, Adams et al., ed., 11th ed., 1992). Нуклеиновые кислоты могут включать один или более остатков «лишенных азотистого основания», в которых основная цепь не включает азотистое основание для положения (положений) полимера (патент США № 5585481. Нуклеиновая кислота может содержать только обычные РНК или ДНК, сахара, основания и связи, или может включать как обычные компоненты, так и замены (например, обычные основания с 2'-метокси-связями или полимеры, содержащие как обычные основания, так и одно или более аналогов оснований). Нуклеиновая кислота включает «заблокированную нуклеиновую кислоту» (ЗНК), аналог, содержащий один или более нуклеотидных мономеров ЗНК с бициклической фуранозной единицей, заблокированной в конформации, имитирующей РНК, что увеличивает сродство гибридизации к комплементарным последовательностям РНК и ДНК (Vester and Wengel, 2004, *Biochemistry* 43(42):13233-41). РНК и ДНК имеют разные сахарные фрагменты и могут отличаться наличием урацила или его аналогов в

РНК, и тимины или его аналогов в ДНК.

[00281] Термин «полипептид», в контексте данного документа, относится к мультимерному соединению, содержащему аминокислотные остатки, которые могут принимать трехмерную конформацию. Полипептиды включают, но не ограничиваются ими, ферменты, белки-предшественники ферментов, регуляторные белки, структурные белки, рецепторы, белки, связывающие нуклеиновые кислоты, антитела и т.д. Полипептиды могут, но не обязательно, включать посттрансляционные модификации, неестественные аминокислоты, простетические группы и т.п.

[00282] «Гидовая РНК», «гРНК» и «гидовая» используются в данном документе взаимозаменяемо для обозначения либо crРНК (также известной как CRISPR РНК), либо комбинации crРНК и trРНК (также известной как tracrРНК). crРНК и trРНК могут быть связаны как одна молекула РНК (одиночная гидовая РНК, sgРНК) или как две отдельные молекулы РНК (двойная гидовая РНК, dgРНК). «Гидовая РНК» или «гРНК» относится к каждому типу. trРНК может быть природной последовательностью или последовательностью trРНК с модификациями или вариациями по сравнению с встречающимися в природе последовательностями. Гидовые РНК могут включать модифицированные РНК, как описано в данном документе.

[00283] В контексте данного документа «гидовая последовательность» относится к последовательности в гидовой РНК, которая комплементарна целевой последовательности и функционирует, чтобы направлять гидовую РНК к целевой последовательности для связывания или модификации (например, расщепления) с помощью ДНК-связывающего агента, гидуемого РНК. «Гидовая последовательность» также может называться «нацеливающей последовательностью» или «спейсерной последовательностью». Гидовая последовательность может иметь длину 20 пар оснований, например, в случае *Streptococcus pyogenes* (т.е. Spy Cas9) и родственных гомологов/ортологов Cas9. Более короткие или более длинные последовательности также могут использоваться в качестве гидовых, например, длиной 15, 16, 17, 18, 19, 21, 22, 23, 24 или 25 нуклеотидов. В некоторых вариантах реализации, гидовая последовательность и целевая область могут быть на 100% комплементарными или идентичными. В других вариантах реализации, гидовая последовательность и целевая область могут содержать по меньшей мере одну ошибку спаривания. Например, гидовая последовательность и целевая последовательность могут содержать 1, 2, 3 или 4 ошибки спаривания, где общая длина целевой последовательности составляет по меньшей мере 17, 18, 19, 20 или более пар оснований. В некоторых вариантах реализации, гидовая последовательность и целевая область могут содержать 1-4 ошибок спаривания, где гидовая последовательность содержит по меньшей мере 17, 18, 19, 20 или более нуклеотидов. В некоторых вариантах реализации, гидовая последовательность и целевая область могут содержать 1, 2, 3 или 4 ошибки спаривания, где гидовая последовательность содержит 20 нуклеотидов.

[00284] Последовательности-мишени для белков Cas включают как положительные, так и отрицательные цепи геномной ДНК (т.е. данную

последовательность и обратный комплемент последовательности), поскольку субстратом нуклеиновой кислоты для белка Cas является двухцепочечная нуклеиновая кислота. Соответственно, когда говорится, что гидовая последовательность «комплементарна целевой последовательности», следует понимать, что гидовая последовательность может направлять гидовую РНК на связывание с обратным комплементом целевой последовательности. Таким образом, в некоторых вариантах реализации, где гидовая последовательность связывает обратный комплемент целевой последовательности, гидовая последовательность идентична определенным нуклеотидам целевой последовательности (например, целевая последовательность, не включающая PAM), за исключением замены U на T в гидовой последовательности.

[00285] Используемый в данном документе термин «ДНК-связывающий агент, гидируемый РНК», означает полипептид или комплекс полипептидов, обладающих активностью связывания РНК и ДНК, или субъединицу связывания ДНК такого комплекса, где активность связывания ДНК является специфичной для последовательности и зависит от последовательности РНК. Типовые ДНК-связывающие агенты, гидируемые РНК, включают расщепляющие белки/никазы Cas и их инактивированные формы («ДНК-связывающие агенты dCas»). «Нуклеаза Cas», также называемая «белком Cas», в контексте данного документа охватывает Cas-расщепление, Cas-никазы и ДНК-связывающие агенты dCas. Расщепляющие белки/никазы Cas и ДНК-связывающие агенты dCas включают комплекс Csm или Cmr системы CRISPR типа III, ее субъединицу Cas10, Csm1 или Cmr2, комплекс Cascade системы CRISPR типа I, ее субъединицу Cas3 и нуклеазы Cas 2 класса. В данном контексте «нуклеаза Cas 2 класса» представляет собой одноцепочечный полипептид с ДНК-связывающей активностью, гидируемой РНК, такой как нуклеаза Cas9 или нуклеаза Cpf1. Нуклеазы Cas 2 класса включают расщепление Cas 2 класса и никазы Cas 2 класса (например, варианты H840A, D10A или N863A), которые дополнительно обладают РНК-гидируемой ДНК-расщепляющей или никазной активностью, а также ДНК-связывающие агенты класса 2 dCas, в которых активность расщепления/никазы инактивирована. Нуклеазы Cas 2 класса включают, например, белки Cas9, Cpf1, C2c1, C2c2, C2c3, HF Cas9 (например, варианты N497A, R661A, Q695A, Q926A), НураCas9 (например, варианты N692A, M694A, Q695A, H698A), eSPCas9(1.0) (например, варианты K810A, K1003A, R1060A) и eSPCas9(1.1) (например, варианты K848A, K1003A, R1060A) и их модификации. Белок Cpf1, Zetsche et al., Cell, 163: 1-13 (2015), гомологичен Cas9 и содержит RuvC-подобный нуклеазный домен. Последовательности Cpf1 Zetsche полностью включены в качестве ссылки. See, e.g., Zetsche, Tables S1 and S3. «Cas9» охватывает Spy Cas9, варианты Cas9, перечисленные в данном документе, и их эквиваленты. См., например, Makarova et al., Nat Rev Microbiol, 13(11): 722-36 (2015); Shmakov et al., Molecular Cell, 60:385-397 (2015).

[00286] «Модифицированный уридин» используется в данном документе для обозначения нуклеозида, отличного от тимидина, с теми же акцепторами водородных связей, что и уридин, и одним или более структурными отличиями от уридина. В

некоторых вариантах реализации, модифицированный уридин представляет собой замещенный уридин, то есть уридин, в котором один или более непротонных заместителей (например, алкокси, такой как метокси) занимает место протона. В некоторых вариантах реализации, модифицированный уридин представляет собой псевдоуридин. В некоторых вариантах реализации, модифицированный уридин представляет собой замещенный псевдоуридин, то есть псевдоуридин, в котором один или более непротонных заместителей (например, алкил, такой как метил) занимает место протона, например, N1-метилпсевдоуридин. В некоторых вариантах реализации, модифицированный уридин представляет собой любой замещенный уридин, псевдоуридин или замещенный псевдоуридин.

[00287] «Положение уридина» в контексте данного документа относится к положению в полинуклеотиде, занимаемому уридином или модифицированным уридином. Таким образом, например, полинуклеотид, в котором «100% положений уридина являются модифицированными уридинами», содержит модифицированный уридин в каждом положении, которое могло бы быть уридином в обычной РНК (где все основания являются стандартными основаниями А, U, C или G) той же последовательности. Если не указано иное, U в полинуклеотидной последовательности таблицы последовательностей или перечня последовательностей в данном раскрытии или сопровождающем его может быть уридином или модифицированным уридином.

[00288] В данном контексте первая последовательность считается «содержащей последовательность с идентичностью по меньшей мере X%» второй последовательности, если выравнивание первой последовательности со второй последовательностью показывает, что X% или более положений второй последовательности во всей полноте целиком соответствует первой последовательности. Например, последовательность AAGA содержит последовательность со 100% идентичностью с последовательностью AAG, поскольку выравнивание даст 100% идентичность в том смысле, что есть совпадения по всем трем положениям второй последовательности. Различия между РНК и ДНК (обычно обмен уридина на тимидин или наоборот) и присутствие аналогов нуклеозидов, таких как модифицированные уридины, не влияют на различия в идентичности или комплементарности полинуклеотидов, если соответствующие нуклеотиды (такие как тимидин, уридин или модифицированный уридин) имеют один и тот же комплемент (например, аденозин для всего тимидина, уридина или модифицированного уридина; другим примером является цитозин и 5-метилцитозин, оба из которых содержат гуанозин или модифицированный гуанозин в качестве дополнения). Таким образом, например, последовательность 5'-AXG, где X представляет собой любой модифицированный уридин, такой как псевдоуридин, N1-метил псевдоуридин или 5-метоксиуридин, считается на 100% идентичной AUG в том смысле, что оба они полностью комплементарны одной и той же последовательности (5'-CAU). Типовые алгоритмы выравнивания представляют собой алгоритмы Смита-Уотермана и Нидлмана-Вунша, которые хорошо известны в данной области техники. Специалист в данной области техники поймет, какой выбор

алгоритма и настроек параметров подходит для данной пары последовательностей, подлежащих выравниванию; для последовательностей в целом одинаковой длины и ожидаемой идентичности >50% для аминокислот или >75% для нуклеотидов алгоритм Нидлмана-Вунша с настройками по умолчанию интерфейса алгоритма Нидлмана-Вунша, предоставленными EBI на сайте www.ebi.ac.uk, как правило, подходят.

[00289] «мРНК» используется в данном документе для обозначения полинуклеотида, который представляет собой РНК или модифицированную РНК и включает открытую рамку считывания, которая может транслироваться в полипептид (т.е. может служить субстратом для трансляции рибосомой и аминоацелированными тРНК). мРНК может включать фосфатно-сахарный остов, включая остатки рибозы или их аналоги, например, остатки 2'-метокси-рибозы. В некоторых вариантах реализации, сахара фосфатно-сахарного остова нуклеиновой кислоты состоят по существу из остатков рибозы, остатков 2'-метокси-рибозы или их комбинации. Как правило, мРНК не содержат значительного количества остатков тимидина (например, 0 остатков или менее 30, 20, 10, 5, 4, 3 или 2 остатков тимидина; или менее 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 4%, 3%, 2%, 1%, 0,5%, 0,2% или 0,1% тимидина). мРНК может содержать модифицированные уридины в некоторых или во всех положениях уридина.

[00290] В данном контексте «минимальное содержание уридина» данной ОРС представляет собой содержание уридина в ОРС, которая (а) использует кодон с минимальным содержанием уридина в каждом положении и (б) кодирует ту же аминокислотную последовательность, что и данная ОРС. Кодон(ы) с минимальным содержанием уридина для данной аминокислоты представляет собой кодон(ы) с наименьшим количеством уридинов (обычно 0 или 1, за исключением кодона для фенилаланина, где кодон с минимальным содержанием уридина содержит 2 уридина). Модифицированные остатки уридина считаются эквивалентными уридинам с целью оценки минимального содержания уридина.

[00291] В данном контексте «минимальное содержание уридина» данной ОРС представляет собой содержание уридина в ОРС, которая (а) использует кодон с минимальным содержанием уридина в каждом положении и (б) кодирует ту же аминокислотную последовательность, что и данная ОРС. Содержание уридиндинуклеотидов (UU) может быть выражено в абсолютных величинах как количество динуклеотидов UU в ОРС или на основе отношения, как процент позиций, занимаемых уридинами в уридиндинуклеотидах (например, AUUAU будет иметь содержание уридиндинуклеотидов 40%, поскольку 2 из 5 положений заняты уридинами уридиндинуклеотида). Модифицированные остатки уридина считаются эквивалентными уридинам с целью оценки минимального содержания уридиндинуклеотида. В данном контексте «минимальное содержание аденина» данной открытой рамки считывания (ОРС) представляет собой содержание аденина в ОРС, которая (а) использует минимальный кодон аденина в каждом положении и (б) кодирует ту же аминокислотную последовательность, что и данная ОРС. Кодон(ы) с минимальным содержанием аденина

для данной аминокислоты представляет собой кодон(ы) с наименьшим количеством аденинов (обычно 0 или 1, за исключением кодона для лизина и аспарагина, где кодон с минимальным содержанием аденина содержит 2 аденина). Модифицированные остатки аденина считаются эквивалентными аденинам с целью оценки минимального содержания аденина.

[00292] В данном контексте «минимальное содержание адениндинуклеотида» данной открытой рамки считывания (ОРС) представляет собой минимально возможное содержание адениндинуклеотида (АА) в ОРС, которая (а) использует кодон с минимальным содержанием аденина (как обсуждалось выше) в каждом положении и (b) кодирует ту же аминокислотную последовательность, что и данная ОРС. Содержание адениндинуклеотидов (АА) может быть выражено в абсолютных величинах как количество динуклеотидов АА в ОРС или на основе отношения, как процент позиций, занимаемых аденинами в адениндинуклеотидах (например, UAAUA будет иметь содержание адениндинуклеотидов 40%, поскольку 2 из 5 положений заняты аденинами адениндинуклеотида). Модифицированные остатки аденина считаются эквивалентными аденинам с целью оценки минимального содержания адениндинуклеотида.

[00293] Используемый в данном документе термин «TTR» относится к транстретину, который является генным продуктом гена TTR.

[00294] Используемый в данном документе термин «амилоид» относится к аномальным агрегатам белков или пептидов, которые обычно растворимы. Амилоиды нерастворимы, и амилоиды могут создавать белковые отложения в органах и тканях. Белки или пептиды в амилоидах могут быть неправильно свернуты в форму, которая позволяет множеству копий белка слипаться вместе с образованием фибрилл. Хотя некоторые формы амилоида могут выполнять нормальные функции в организме человека, термин «амилоиды», в контексте данного документа, относится к аномальным или патологическим агрегатам белка. Амилоиды могут включать один белок или пептид, такой как TTR, или они могут включать несколько белков или пептидов, таких как TTR и дополнительные белки.

[00295] Используемый в данном документе термин «амилоидные фибриллы» относится к нерастворимым амилоидным волокнам, устойчивым к разрушению. Амилоидные фибриллы могут вызывать симптомы в зависимости от конкретного белка или пептида, а также ткани и типа клеток, в которых они агрегированы.

[00296] Используемый в данном документе термин «амилоидоз» относится к заболеванию, характеризующемуся симптомами, вызванными отложением амилоидных или амилоидных фибрилл. Амилоидоз может поражать многие органы, включая сердце, почки, печень, селезенку, нервную систему и пищеварительный тракт.

[00297] Используемые в данном документе термины «ATTR», «связанный с TTR амилоидоз», «амилоидоз TTR», «амилоидоз ATTR» или «амилоидоз, связанный с TTR» относятся к амилоидозу, связанному с отложением TTR.

[00298] Используемый в данном документе термин «семейная амилоидная кардиомиопатия» или «FAC» относится к наследственному транстиретиновому амилоидозу (ATTR), характеризующемуся в первую очередь рестриктивной кардиомиопатией. Застойная сердечная недостаточность часто встречается при FAC. Средний возраст начала заболевания составляет приблизительно 60-70 лет, а ожидаемая продолжительность жизни после постановки диагноза составляет 4-5 лет.

[00299] Используемый в данном документе термин «семейная амилоидная полинейропатия» или «FAP» относится к наследственному транстиретиновому амилоидозу (ATTR), характеризующемуся в первую очередь сенсомоторной нейропатией. Вегетативная невропатия часто встречается при FAP. Хотя невропатия является основным признаком, симптомы FAP могут также включать кахексию, почечную недостаточность и заболевание сердца. Средний возраст начала FAP составляет приблизительно 30-50 лет, а ожидаемая продолжительность жизни после постановки диагноза составляет 5-15 лет.

[00300] Используемый в данном документе термин «ATTR дикого типа» и «ATTRдт» относятся к ATTR, не связанному с патологической мутацией TTR, такой как T60A, V30M, V30A, V30G, V30L, V122I, V122A или V122(-). ATTRдт также называют старческим системным амилоидозом. Начало обычно возникает у мужчин в возрасте 60 лет и старше, при этом наиболее распространенными симптомами являются застойная сердечная недостаточность и нарушение сердечного ритма, например, фибрилляция предсердий. Дополнительные симптомы включают последствия плохой функции сердца, такие как одышка, усталость, головокружение, отек (особенно в ногах), тошнота, стенокардия, нарушение сна и потеря массы. Наличие в анамнезе синдрома запястного канала указывает на повышенный риск ATTRдт и в некоторых случаях может указывать на раннюю стадию заболевания. ATTRдт обычно приводит к снижению функции сердца с течением времени, но может иметь лучший прогноз, чем наследственный ATTR, поскольку отложения TTR дикого типа накапливаются медленнее. Существующие методы лечения аналогичны другим формам ATTR (кроме трансплантации печени) и обычно направлены на поддержку или улучшение функции сердца, начиная от диуретиков и ограниченного потребления жидкости и соли и заканчивая антикоагулянтами и, в тяжелых случаях, трансплантацией сердца. Тем не менее, как и FAC, ATTRдт может привести к смерти от сердечной недостаточности, иногда в течение 3-5 лет после постановки диагноза.

[00301] Гидовые последовательности, используемые в описанных в данном документе композициях и способах гидовых РНК, показаны в Таблице 1 и во всей заявке.

[00302] Используемый в данном документе термин «наследственный ATTR» относится к ATTR, который связан с мутацией в последовательности гена TTR. Известные мутации в гене TTR, связанные с ATTR, включают мутации, приводящие к TTR с заменами T60A, V30M, V30A, V30G, V30L, V122I, V122A или V122(-).

[00303] В контексте данного документа термин «инсерции» относится к мутациям инсерции/делеции, состоящим из ряда нуклеотидов, которые либо вставлены, либо удалены в месте двухцепочечных разрывов (DSB) в целевой нуклеиновой кислоте.

[00304] Термин «нокдаун», в контексте данного документа, относится к снижению экспрессии конкретного генного продукта (например, белка, мРНК или того и другого). Нокдаун белка может быть измерен либо путем обнаружения белка, секретируемого тканью или популяцией клеток (например, в сыворотке или клеточной среде), либо путем определения общего клеточного количества белка в ткани или популяции клеток, представляющих интерес. Способы измерения нокдауна мРНК известны и включают секвенирование мРНК, выделенной из представляющей интерес ткани или популяции клеток. В некоторых вариантах реализации, «нокдаун» может относиться к некоторой потере экспрессии конкретного генного продукта, например, к уменьшению количества транскрибируемой мРНК или уменьшению количества белка, экспрессируемого или секретируемого популяцией клеток (включая *in vivo* популяции, например, в тканях).

[00305] Используемый в данном документе термин «мутантный TTR» относится к генному продукту TTR (т.е. белку TTR), имеющему изменение в аминокислотной последовательности TTR по сравнению с аминокислотной последовательностью TTR дикого типа. Последовательность TTR дикого типа человека доступна по адресу NCBI Gene ID: 7276; Ensembl: Ensembl: ENSG00000118271. Мутантные формы TTR, связанные с ATTR, например, у людей, включают T60A, V30M, V30A, V30G, V30L, V122I, V122A или V122(-).

[00306] Термин «рибонуклеопротеин» (РНП) или «комплекс РНП», в контексте данного документа, относится к гидовой РНК вместе с ДНК-связывающим агентом, гидируемым РНК, таким как нуклеаза Cas, расщепление Cas, никаза Cas или ДНК-связывающий агент dCas (например, Cas9). В некоторых вариантах реализации, гидовая РНК направляет ДНК-связывающий агент, гидируемым РНК, такой как Cas9, к целевой последовательности, а гидовая РНК гибридизуется с целевой последовательностью и связывается с ней; в случаях, когда агент представляет собой расщепление или никазу, за связыванием может следовать отщепление или разрыв.

[00307] В контексте данного документа «целевая последовательность» относится к последовательности нуклеиновой кислоты в целевом гене, которая комплементарна гидовой последовательности гРНК. Взаимодействие целевой последовательности и гидовой последовательности заставляет ДНК-связывающий агент, гидируемый РНК, связываться и потенциально разрывать или расщеплять (в зависимости от активности агента) внутри целевой последовательности.

[00308] В контексте данного документа «лечение» относится к любому введению или применению терапевтического средства для лечения заболевания или расстройства у субъекта и включает ингибирование заболевания, остановку его развития, облегчение одного или более симптомов заболевания, излечение заболевания или предотвращение

рецидива одного или более симптомов заболевания. Например, лечение АТТР может включать облегчение симптомов АТТР.

[00309] Используемый в данном документе термин «патологическая мутация» относится к мутации, которая делает генный продукт, такой как ТТР, более вероятным, чтобы вызывать, способствовать, содействовать или не ингибировать развитие заболевания, такого как АТТР.

[00310] В контексте данного документа термин «липидная наночастица» (LNP) относится к частице, которая содержит множество (т.е. более одной) липидных молекул, физически связанных друг с другом межмолекулярными силами. LNP могут быть, например, микросферами (включая однослойные и многослойные везикулы, например, «липосомы» - липидные бислои ламеллярной фазы, которые в некоторых вариантах реализации являются по существу сферическими - и, в более конкретных вариантах реализации, могут содержать водное ядро, например, включая значительную часть молекул РНК), дисперсную фазу в эмульсии, мицеллы или внутреннюю фазу в суспензии. Также см., например, WO2017173054A1 и WO2019067992A1, содержание которой полностью включено в данный документ посредством ссылки. Любую LNP, известную специалистам в данной области техники как способная доставлять нуклеотиды субъектам, можно использовать с гидовыми РНК и нуклеиновой кислотой, кодирующей ДНК-связывающий агент, гидруемый РНК, описанный в данном документе.

[00311] Используемые в данном документе термины «донорный олигонуклеотид» или «донорная матрица» относятся к олигонуклеотиду, который включает желаемую последовательность нуклеиновой кислоты, которая должна быть вставлена в целевой сайт (например, целевой участок геномной ДНК). Донорный олигонуклеотид может быть одноцепочечным олигонуклеотидом или двухцепочечным олигонуклеотидом. В некоторых вариантах реализации, донорный олигонуклеотид может быть доставлен с гидовой РНК и последовательностью нуклеиновой кислоты, кодирующей ДНК-связывающий агент, гидруемый РНК (например, Cas9), посредством использования LNP или трансфекции.

[00312] В контексте данного документа термины «сигнал ядерной локализации» (NLS) или «последовательность ядерной локализации» относятся к аминокислотной последовательности, которая индуцирует транспорт молекул, содержащих такие последовательности или связанных с такими последовательностями, в ядро эукариотических клеток. Сигнал ядерной локализации может составлять часть транспортируемой молекулы. В некоторых вариантах реализации, NLS может быть связан с остальными частями молекулы ковалентными связями, водородными связями или ионными взаимодействиями.

[00313] В контексте данного документа термин «фармацевтически приемлемый» означает то, что полезно при приготовлении фармацевтической композиции, которая обычно нетоксична и не является нежелательной с биологической точки зрения, и которая в других отношениях не является неприемлемой для фармацевтического применения.

[00314] Используемый в данном документе термин «инфузия» относится к активному введению одного или более агентов со временем инфузии, например, приблизительно от 30 минут до 12 часов. В некоторых вариантах реализации, один или более агентов содержат LNP, например, содержащую мРНК, кодирующую ДНК-связывающий агент, гидрируемый РНК (такой как Cas9), описанный в данном документе, и гРНК, описанную в данном документе.

[00315] В данном контексте «инфузионная профилактика» относится к схеме, вводимой субъекту перед лечением (например, включающей введение LNP), включающей один или более или все внутривенные кортикостероиды (например, дексаметазон 10 мг или эквивалент), жаропонижающее (например, ацетаминофен для перорального введения или парацетамол 500 мг), блокатор H1 для внутривенного введения (например, дифенгидрамин 50 мг или его эквивалент) и блокатор H2 для внутривенного введения (например, ранитидин 50 мг или эквивалент). Инфузионная профилактика необязательно сочетается с предварительным введением кортикостероида для перорального введения (например, дексаметазона 8 мг или его эквивалента). В некоторых вариантах реализации, кортикостероид для перорального введения вводят за 8-24 часа до лечения. В некоторых вариантах реализации, один или более, или все кортикостероиды для внутривенного введения (например, дексаметазон 10 мг или эквивалент), ацетаминофен для перорального введения 500 мг, блокатор H1 для внутривенного введения (например, дифенгидрамин 50 мг или эквивалент), блокатор H2 для внутривенного введения (например, ранитидин 50 мг или эквивалент) вводят за 1-2 часа до начала лечения. В некоторых вариантах реализации, блокатор H1 и/или блокатор H2 вводятся перорально.

[00316] Термин «около» или «приблизительно» означает допустимую ошибку для конкретного значения, определенную специалистом в данной области техники, которая частично зависит от того, как значение измеряется или определяется.

Способы и композиции, направленные на ген TTR

[00317] В данном документе раскрыты способы индукции двухцепочечного разрыва (ДЦР) в гене TTR в клетке или субъекте, модификации гена TTR в субъекте, лечения амилоидоза, связанного с TTR (ATTR), у субъекта, снижение концентрации TTR в сыворотке у субъекта и/или уменьшение или предотвращение накопления амилоидов или амилоидных фибрилл у субъекта, и родственные композиции, включая композиции для применения в таких способах. В общем, раскрытые композиции содержат гидовую РНК, нацеленную на TTR, и нуклеиновую кислоту, содержащую открытую рамку считывания, кодирующую ДНК-связывающий агент, гидрируемый РНК (например, систему CRISPR/Cas). Субъекты, получающие лечение такими способами и композициями, могут иметь последовательности генов TTR дикого или недикого типа, такие как, например, субъекты с ATTR, который может быть ATTR дт или наследственной или семейной формой ATTR.

[00318] В некоторых вариантах реализации, композицию вводят путем инфузии в течение более 30 минут. В некоторых вариантах реализации, композицию вводят путем

30-минутной инфузии. В некоторых вариантах реализации, композицию вводят путем инфузии в течение более 60 минут. В некоторых вариантах реализации, композицию вводят путем инфузии в течение более 90 минут. В некоторых вариантах реализации, композицию вводят путем инфузии в течение более 120 минут, более 150 минут, более 180 минут, более 240 минут, более 300 минут или более 360 минут. В некоторых вариантах реализации, композицию вводят путем инфузии в течение по меньшей мере 1 часа, по меньшей мере 2 часов, по меньшей мере 4 часов, по меньшей мере 6 часов, по меньшей мере 7 часов, по меньшей мере 8 часов, по меньшей мере 9 часов, по меньшей мере 10 часов, по меньшей мере 11 часов или по меньшей мере 12 часов. В некоторых вариантах реализации, композицию вводят путем инфузии в течение 0,5-1,5 часов, 1,5-2,5 часов, 2,5-3,5 часов, 3,5-4,5 часов, 4,5-5,5 часов, 5,5-6,5 часов, 6,5-7,5 часов, 7,5-8,5 часов, 8,5-9,5 часов, 9,5-10,5 часов, 10,5-11,5 часов или 11,5-12,5 часов. В некоторых вариантах реализации, композицию вводят путем инфузии в течение около 60 минут, около 90 минут, около 120 минут, около 150 минут, около 180 минут, около 240 минут, около 300 минут или около 360 минут. В некоторых вариантах реализации, композицию вводят путем инфузии в течение около 45-75 минут, 75-105 минут, 105-135 минут, 135-165 минут, 165-195 минут, 195-225 минут, 225-255 минут, 255-285 минут, 285-315 минут, 315-345 минут или 345-375 минут. В некоторых вариантах реализации, композицию вводят путем инфузии в течение около 1,5-6 часов.

Гидовая РНК (гРНК)

[00319] Гидовая РНК, используемая в раскрытых способах и композициях, содержит гидовую последовательность, нацеленную на ген TTR. Типовые гидовые последовательности, нацеленные на ген TTR, показаны в Таблице 1 как SEQ ID: 5-82.

Таблица 1: Нацеленные на TTR гидовые последовательности, номенклатура, хромосомные координаты и последовательность.

SEQ ID No:	ID гида	Описание	Виды	Хромосомное расположение	Гидовая последовательность*
5	CR003335	TTR (Экзон 1)	Человек	chr18:31591917-31591937	CUGCUCUCCUCUGC CUUGC
6	CR003336	TTR (Экзон 1)	Человек	chr18:31591922-31591942	CCUCCUCUGCCUUGC UGGAC
7	CR003337	TTR (Экзон 1)	Человек	chr18:31591925-31591945	CCAGUCCAGCAAGGC AGAGG
8	CR003338	TTR (Экзон 1)	Человек	chr18:31591928-31591948	AUACCAGUCCAGCAA GGCAG
9	CR003339	TTR (Экзон 1)	Человек	chr18:31591934-31591954	ACACAAAUACCAGUC CAGCA

10	CR003340	TTR (Экзон 1)	Человек	chr18:31591937- 31591957	UGGACUGGUAUUUGU GUCUG
11	CR003341	TTR (Экзон 1)	Человек	chr18:31591941- 31591961	CUGGUAUUUGUGUCU GAGGC
12	CR003342	TTR (Экзон 2)	Человек	chr18:31592880- 31592900	CUUCUCUACACCCAG GGCAC
13	CR003343	TTR (Экзон 2)	Человек	chr18:31592902- 31592922	CAGAGGACACUUGGA UUCAC
14	CR003344	TTR (Экзон 2)	Человек	chr18:31592911- 31592931	UUUGACCAUCAGAGG ACACU
15	CR003345	TTR (Экзон 2)	Человек	chr18:31592919- 31592939	UCUAGAACUUUGACC AUCAG
16	CR003346	TTR (Экзон 2)	Человек	chr18:31592928- 31592948	AAAGUUCUAGAUGCU GUCCG
17	CR003347	TTR (Экзон 2)	Человек	chr18:31592948- 31592968	CAUUGAUGGCAGGAC UGCCU
18	CR003348	TTR (Экзон 2)	Человек	chr18:31592948- 31592968	AGGCAGUCCUGCCA CAAUG
19	CR003349	TTR (Экзон 2)	Человек	chr18:31592958- 31592978	UGCACGGCCACA AUGGC
20	CR003350	TTR (Экзон 2)	Человек	chr18:31592962- 31592982	CACAUGCACGGCC AUUGA
21	CR003351	TTR (Экзон 2)	Человек	chr18:31592974- 31592994	AGCCUUUCUGAAC AUGCA
22	CR003352	TTR (Экзон 2)	Человек	chr18:31592986- 31593006	GAAAGGCUGCUGA ACACC
23	CR003353	TTR (Экзон 2)	Человек	chr18:31592987- 31593007	AAAGGCUGCUGA CACCU
24	CR003354	TTR (Экзон 2)	Человек	chr18:31593003- 31593023	ACCUGGGAGCCA GCCUC
25	CR003355	TTR (Экзон 2)	Человек	chr18:31593007- 31593027	CCCAGAGGCAA CUCCC
26	CR003356	TTR (Экзон 2)	Человек	chr18:31593015- 31593035	GCAACUUACCCAG GCAA

27	CR003357	TTR (Экзон 2)	Человек	chr18:31593022- 31593042	UUCUUUGGCAACUUA CCCAG
28	CR003358	TTR (Экзон 3)	Человек	chr18:31595127- 31595147	AUGCAGCUCUCCAGA CUCAC
29	CR003359	TTR (Экзон 3)	Человек	chr18:31595126- 31595146	AGUGAGUCUGGAGAG CUGCA
30	CR003360	TTR (Экзон 3)	Человек	chr18:31595127- 31595147	GUGAGUCUGGAGAGC UGCAU
31	CR003361	TTR (Экзон 3)	Человек	chr18:31595140- 31595160	GCUGCAUGGGCUCAC AACUG
32	CR003362	TTR (Экзон 3)	Человек	chr18:31595143- 31595163	GCAUGGGCUCACAAC UGAGG
33	CR003363	TTR (Экзон 3)	Человек	chr18:31595156- 31595176	ACUGAGGAGGAAUUU GUAGA
34	CR003364	TTR (Экзон 3)	Человек	chr18:31595157- 31595177	CUGAGGAGGAAUUUG UAGAA
35	CR003365	TTR (Экзон 3)	Человек	chr18:31595170- 31595190	UGUAGAAGGGUAUA CAAAG
36	CR003366	TTR (Экзон 3)	Человек	chr18:31595193- 31595213	AAAUAGACACCAAU CUUAC
37	CR003367	TTR (Экзон 3)	Человек	chr18:31595197- 31595217	AGACACCAAUCUUA CUGGA
38	CR003368	TTR (Экзон 3)	Человек	chr18:31595205- 31595225	AAGUGCCUCCAGUA AGAUA
39	CR003369	TTR (Экзон 3)	Человек	chr18:31595235- 31595255	CUCUGCAUGCUC AUG GAAUG
40	CR003370	TTR (Экзон 3)	Человек	chr18:31595236- 31595256	CCUCUGCAUGCUC AU GGAAU
41	CR003371	TTR (Экзон 3)	Человек	chr18:31595237- 31595257	ACCUCUGCAUGCUC A UGGAA
42	CR003372	TTR (Экзон 3)	Человек	chr18:31595242- 31595262	UACUCACCUCUGCAU GCUCA
43	CR003373	TTR (Экзон 4)	Человек	chr18:31598570- 31598590	GUAUUCACAGCCAAC GACUC

44	CR003374	TTR (Экзон 4)	Человек	chr18:31598583- 31598603	GCGGCGGGGGCCGGA GUCGU
45	CR003375	TTR (Экзон 4)	Человек	chr18:31598592- 31598612	AAUGGUGUAGCGGCG GGGGC
46	CR003376	TTR (Экзон 4)	Человек	chr18:31598596- 31598616	CGGCAAUGGUGUAGC GGCGG
47	CR003377	TTR (Экзон 4)	Человек	chr18:31598597- 31598617	GCGGCAAUGGUGUAG CGGCG
48	CR003378	TTR (Экзон 4)	Человек	chr18:31598598- 31598618	GGCGGCAAUGGUGUA GCGGC
49	CR003379	TTR (Экзон 4)	Человек	chr18:31598599- 31598619	GGGCGGCAAUGGUGU AGCGG
50	CR003380	TTR (Экзон 4)	Человек	chr18:31598602- 31598622	GCAGGGCGGCAAUGG UGUAG
51	CR003381	TTR (Экзон 4)	Человек	chr18:31598610- 31598630	GGGGCUCAGCAGGGC GGCAA
52	CR003382	TTR (Экзон 4)	Человек	chr18:31598616- 31598636	GGAGUAGGGGCUCAG CAGGG
53	CR003383	TTR (Экзон 4)	Человек	chr18:31598619- 31598639	AUAGGAGUAGGGGCU CAGCA
54	CR003384	TTR (Экзон 4)	Человек	chr18:31598620- 31598640	AAUAGGAGUAGGGGC UCAGC
55	CR003385	TTR (Экзон 4)	Человек	chr18:31598626- 31598646	CCCCUACUCCUAUUC CACCA
56	CR003386	TTR (Экзон 4)	Человек	chr18:31598629- 31598649	CCGUGGUGGAAUAGG AGUAG
57	CR003387	TTR (Экзон 4)	Человек	chr18:31598630- 31598650	GCCGUGGUGGAAUAG GAGUA
58	CR003388	TTR (Экзон 4)	Человек	chr18:31598637- 31598657	GACGACAGCCGUGGU GGAAU
59	CR003389	TTR (Экзон 4)	Человек	chr18:31598643- 31598663	AUUGGUGACGACAGC CGUGG
60	CR003390	TTR (Экзон 4)	Человек	chr18:31598646- 31598666	GGGAUUGGUGACGAC AGCCG

61	CR003391	TTR (Экзон 4)	Человек	chr18:31598647- 31598667	GGCUGUCGUCACCAA UCCCA
62	CR003392	TTR (Экзон 4)	Человек	chr18:31598661- 31598681	AGUCCCUCAUUCCUU GGGAU
63	CR005298	TTR (Экзон 1)	Человек	chr18:31591883- 31591903	UCCACUCAUUCUUGG CAGGA
64	CR005299	TTR (Экзон 4)	Человек	chr18:31598631- 31598651	AGCCGUGGUGGAAUA GGAGU
65	CR005300	TTR (Экзон 1)	Человек	chr18:31591967- 31591987	UCACAGAAACACUCA CCGUA
66	CR005301	TTR (Экзон 1)	Человек	chr18:31591968- 31591988	GUCACAGAAACACUC ACCGU
67	CR005302	TTR (Экзон 2)	Человек	chr18:31592874- 31592894	ACGUGUCUUCUCUAC ACCCA
68	CR005303	TTR (Экзон 2)	Человек	chr18:31592903- 31592923	UGAAUCCAAGUGUCC UCUGA
69	CR005304	TTR (Экзон 2)	Человек	chr18:31592969- 31592989	GGCCGUGCAUGUGUU CAGAA
70	CR005305	TTR (Экзон 3)	Человек	chr18:31595114- 31595134	UAUAGGAAAACCAGU GAGUC
71	CR005306	TTR (Экзон 3)	Человек	chr18:31595204- 31595224	AAAUCUUACUGGAAG GCACU
72	CR005307	TTR (Экзон 4)	Человек	chr18:31598548- 31598568	UGUCUGUCUUCUCUC AUAGG
73	CR000689	TTR	Явански й макак	chr18:50681533- 50681553	ACACAAAUACCAGUC CAGCG
74	CR005364	TTR	Явански й макак	chr18:50680481- 50680501	AAAGGCUGCUGAUGA GACCU
75	CR005365	TTR	Явански й макак	chr18:50680520- 50680540	CAUUGACAGCAGGAC UGCCU
76	CR005366	TTR	Явански й макак	chr18:50681539- 50681559	AUACCAGUCCAGCGA GGCAG
77	CR005367	TTR	Явански й макак	chr18:50681542- 50681562	CCAGUCCAGCGAGGC AGAGG

78	CR005368	TTR	Явански й макак	chr18:50681545- 50681565	CCUCCUCUGCCUCGC UGGAC
79	CR005369	TTR	Явански й макак	chr18:50680540- 50680560	AAAGUUCUAGAUGCC GUCCG
80	CR005370	TTR	Явански й макак	chr18:50680594- 50680614	ACUUGUCUUCUCUAU ACCCA
81	CR005371	TTR	Явански й макак	chr18:50678216- 50678236	AAGUGACUCCAGUA AGAUU
82	CR005372	TTR	Явански й макак	chr18:50680482- 50680502	AAAAGGCUGCUGAUG AGACC

[00320] Каждая из приведенных выше гидовых последовательностей может дополнительно содержать дополнительные нуклеотиды для образования crPHK, например, со следующей иллюстративной нуклеотидной последовательностью, следующей за гидовой последовательностью на ее 3' конце: GUUUUAGAGCUAUGCUGUUUUG (SEQ ID NO: 126). В случае sgPHK указанные выше гидовые последовательности могут дополнительно содержать дополнительные нуклеотиды для образования sgPHK, например, со следующей иллюстративной нуклеотидной последовательностью, следующей за 3' концом гидовой последовательности:

GUUUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGA
AAAAGUGGCACCGAGUCGGUGCUUUU (SEQ ID NO: 125) в ориентации от 5' до 3'.

[00321] В некоторых вариантах реализации, sgPHK является модифицированной. В некоторых вариантах реализации sgPHK содержит образец модификации, показанный ниже в SEQ ID NO: 3, где N является любым природным или неприродным нуклеотидом, и где совокупность N составляет гидовую последовательность, как описано в данном документе, и модифицированный sgPHK содержит следующую последовательность: mN*mN*mN*NNNNNNNNNNNNNNNNNGUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUm
AmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmA
mGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU (SEQ ID
NO: 3), где «N» может быть любым природным или неприродным нуклеотидом. Например, в данном документе содержится SEQ ID NO: 3, где N заменены любой из описанных в данном документе гидовых последовательностей. Модификации остаются такими, как показано в SEQ ID NO: 3, несмотря на замену нуклеотидов в гидовой последовательности на N. То есть, хотя нуклеотиды в гидовой последовательности справочнике заменяют на «N», первые три нуклеотида модифицированы 2'OMe, и между первым и вторым нуклеотидами, вторым и третьим нуклеотидами, а также третьим и четвертым нуклеотидами имеются фосфоротионатные связи.

[00322] В некоторых вариантах реализации охватывается любая из последовательностей, перечисленных в Таблице 2.

Таблица 2: Последовательности sgРНК, нацеленные на TTR

SEQ ID No:	ID гида	Цель и описание	Виды	Последовательность
87	G000480	Модифицированная последовательность sgРНК TTR	Человек	mA*mA*mA*GGCUGCUGAUGACACCUG UUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmU mAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUC CGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmA mAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGm UmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
88	G000481	Модифицированная последовательность sgРНК TTR	Человек	mU*mC*mU*AGAACUUUGACCAUCAGG UUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmU mAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUC CGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmA mAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGm UmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
89	G000482	Модифицированная последовательность sgРНК TTR	Человек	mU*mG*mU*AGAAGGGAUUAACAAGG UUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmU mAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUC CGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmA mAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGm UmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
90	G000483	Модифицированная последовательность sgРНК TTR	Человек	mU*mC*mC*ACUCAUUCUUGGCAGGAG UUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmU mAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUC CGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmA mAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGm UmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
91	G000484	Модифицированная последовательность sgРНК TTR	Человек	mA*mG*mA*CACCAAAUCUUACUGGAG UUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmU mAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUC CGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmA mAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGm

				UmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
92	G000485	Модифицированная последовательность sgPHK TTR	Человек	mC*mC*mU*CCUCUGCCUUGCUGGACG UUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmU mAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUC CGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmA mAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGm UmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
93	G000486	Модифицированная последовательность sgPHK TTR	Человек	mA*mC*mA*CAAAUACCAGUCCAGCAG UUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmU mAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUC CGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmA mAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGm UmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
94	G000487	Модифицированная последовательность sgPHK TTR	Человек	mU*mU*mC*UUUGGCAACUACCCAGG UUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmU mAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUC CGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmA mAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGm UmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
95	G000488	Модифицированная последовательность sgPHK TTR	Человек	mA*mA*mA*GUUCUAGAUGCUGUCCGG UUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmU mAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUC CGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmA mAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGm UmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
96	G000489	Модифицированная последовательность sgPHK TTR	Человек	mU*mU*mU*GACCAUCAGAGGACACUG UUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmU mAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUC CGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmA mAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGm UmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU

97	G000490	Модифицированная последовательность sgPHK TTR	Человек	mA*mA*mA*UAGACACCAAUCUUACG UUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmU mAmGmCAAGUUAAAUAAGGCUAGUC CGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmA mAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGm UmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
98	G000491	Модифицированная последовательность sgPHK TTR	Человек	mA*mU*mA*CCAGUCCAGCAAGGCAGG UUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmU mAmGmCAAGUUAAAUAAGGCUAGUC CGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmA mAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGm UmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
99	G000492	Модифицированная последовательность sgPHK TTR	Человек	mC*mU*mU*CUCUACACCCAGGGCACG UUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmU mAmGmCAAGUUAAAUAAGGCUAGUC CGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmA mAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGm UmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
100	G000493	Модифицированная последовательность sgPHK TTR	Человек	mA*mA*mG*UGCCUCCAGUAAGAUUG UUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmU mAmGmCAAGUUAAAUAAGGCUAGUC CGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmA mAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGm UmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
101	G000494	Модифицированная последовательность sgPHK TTR	Человек	mG*mU*mG*AGUCUGGAGAGCUGCAUG UUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmU mAmGmCAAGUUAAAUAAGGCUAGUC CGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmA mAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGm UmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
102	G000495	Модифицированная последовательность sgPHK TTR	Человек	mC*mA*mG*AGGACACUUGGAUUCACG UUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmU mAmGmCAAGUUAAAUAAGGCUAGUC CGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmA mAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGm

				UmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
103	G000496	Модифицированная последовательность sgPHK TTR	Человек	mG*mG*mC*CGUGCAUGUGUUCAGAAG UUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmU mAmGmCAAGUUAAAUAAGGCUAGUC CGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmA mAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGm UmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
104	G000497	Модифицированная последовательность sgPHK TTR	Человек	mC*mU*mG*CUCCUCCUCUGCCUUGCG UUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmU mAmGmCAAGUUAAAUAAGGCUAGUC CGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmA mAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGm UmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
105	G000498	Модифицированная последовательность sgPHK TTR	Человек	mA*mG*mU*GAGUCUGGAGAGCUGCAG UUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmU mAmGmCAAGUUAAAUAAGGCUAGUC CGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmA mAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGm UmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
106	G000499	Модифицированная последовательность sgPHK TTR	Человек	mU*mG*mA*AUCCAAGUGUCCUCUGAG UUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmU mAmGmCAAGUUAAAUAAGGCUAGUC CGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmA mAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGm UmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
107	G000500	Модифицированная последовательность sgPHK TTR	Человек	mC*mC*mA*GUCCAGCAAGGCAGAGGG UUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmU mAmGmCAAGUUAAAUAAGGCUAGUC CGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmA mAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGm UmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU

108	G000501	Модифицированная последовательность sgPHK TTR	Человек	mU*mC*mA*CAGAAACACUCACCGUAG UUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmU mAmGmCAAGUUAAAUAAGGCUAGUC CGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmA mAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGm UmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
109	G000567	Модифицированная последовательность sgPHK TTR	Человек	mG*mA*mA*AGGCUGCUGAUGACACCG UUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmU mAmGmCAAGUUAAAUAAGGCUAGUC CGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmA mAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGm UmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
110	G000568	Модифицированная последовательность sgPHK TTR	Человек	mG*mG*mC*UGUCGUCACCAAUCCCAG UUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmU mAmGmCAAGUUAAAUAAGGCUAGUC CGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmA mAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGm UmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
111	G000570	Модифицированная последовательность sgPHK TTR	Человек	mC*mA*mU*UGAUGGCAGGACUGCCUG UUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmU mAmGmCAAGUUAAAUAAGGCUAGUC CGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmA mAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGm UmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
112	G000571	Модифицированная последовательность sgPHK TTR	Человек	mG*mU*mC*ACAGAAACACUCACCGUG UUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmU mAmGmCAAGUUAAAUAAGGCUAGUC CGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmA mAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGm UmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
113	G000572	Модифицированная последовательность sgPHK TTR	Человек	mC*mC*mC*CUACUCCUAUUCCACCAGU UUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUm AmGmCAAGUUAAAUAAGGCUAGUCC GUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmA mAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGm

				UmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
114	G000502	Специфическая к TTR яванского макака модифицированная последовательность sgРНК	Яванский макак	mA*mC*mA*CAAAUACCAGUCCAGCGG UUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmU mAmGmCAAGUUAAAUAAGGCUAGUC CGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmA mAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGm UmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
115	G000503	Специфическая к TTR яванского макака модифицированная последовательность sgРНК	Яванский макак	mA*mA*mA*AGGCUGCUGAUGAGACCG UUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmU mAmGmCAAGUUAAAUAAGGCUAGUC CGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmA mAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGm UmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
116	G000504	Специфическая к TTR яванского макака модифицированная последовательность sgРНК	Яванский макак	mA*mA*mA*GGCUGCUGAUGAGACCUG UUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmU mAmGmCAAGUUAAAUAAGGCUAGUC CGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmA mAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGm UmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
117	G000505	Специфическая к TTR яванского макака модифицированная последовательность sgРНК	Яванский макак	mC*mA*mU*UGACAGCAGGACUGCCUG UUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmU mAmGmCAAGUUAAAUAAGGCUAGUC CGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmA mAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGm

		ованная последовательность sgРНК		UmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
118	G000506	Специфическая к TTR яванского макака модифицированная последовательность sgРНК	Яванский макак	mA*mU*mA*CCAGUCCAGCGAGGCAGG UUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmU mAmGmCAAGUUAAAUAAGGCUAGUC CGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmA mAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGm UmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
119	G000507	Специфическая к TTR яванского макака модифицированная последовательность sgРНК	Яванский макак	mC*mC*mA*GUCCAGCGAGGCAGAGGG UUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmU mAmGmCAAGUUAAAUAAGGCUAGUC CGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmA mAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGm UmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
120	G000508	Специфическая к TTR яванского макака модифицированная последовательность sgРНК	Яванский макак	mC*mC*mU*CCUCUGCCUCGCUGGACG UUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmU mAmGmCAAGUUAAAUAAGGCUAGUC CGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmA mAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGm UmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
121	G000509	Специфическая к TTR яванского макака	Яванский макак	mA*mA*mA*GUUCUAGAUGCCGUCCGG UUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmU mAmGmCAAGUUAAAUAAGGCUAGUC CGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmA

		модифицированная последовательность sgРНК		mAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
122	G000510	Специфическая к TTR яванского макака модифицированная последовательность sgРНК	Яванский макак	mA*mC*mU*UGUCUUCUCUAUACCCAGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUA AAAUAAGGCUAGUCGUAUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
123	G000511	Специфическая к TTR яванского макака модифицированная последовательность sgРНК	Яванский макак	mA*mA*mG*UGACUCCAGUAAGAUUGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUA AAAUAAGGCUAGUCGUAUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
124	G000282	TTR	Мышь	mU*mU*mA*CAGCCACGUCUACAGCAGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUA AAAUAAGGCUAGUCGUAUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU

*=Связь PS; 'm'=2'-O-Ме нуклеотид

[00323] Сопоставление идентификаторов Guide ID с соответствующими идентификаторами sgРНК, а также гомология с геномом суно и совпадающими идентификаторами суно приведены в Таблице 3.

Таблица 3: Картирование идентификаторов целевых гидовых последовательностей TTR и гомология Суно

Описание	ID двойной гидовой человека	ID одиночной гидовой человека	Число несоответствий генома яванского макака	ID соответствий dgPHK яванского макака	ID соответстви й dgPHK яванского макака
TTR	CR003335	G000497	1		
TTR	CR003336	G000485	1	CR005368	G000508
TTR	CR003337	G000500	1	CR005367	G000507
TTR	CR003338	G000491	1	CR005366	G000506
TTR	CR003339	G000486	1	CR000689	G000502
TTR	CR003340		0		
TTR	CR003341		0		
TTR	CR003342	G000492	без PAM у яванского макака		
TTR	CR003343	G000495	без PAM у яванского макака		
TTR	CR003344	G000489	0		
TTR	CR003345	G000481	0		
TTR	CR003346	G000488	1	CR005369	G000509
TTR	CR003347	G000570	2	CR005365	G000505
TTR	CR003348		2		
TTR	CR003349		>3		
TTR	CR003350		без PAM у яванского макака		
TTR	CR003351		без PAM у яванского макака		
TTR	CR003352	G000567	2	CR005372	G000503
TTR	CR003353	G000480	1	CR005364	G000504
TTR	CR003354		1		
TTR	CR003355		1		

TTR	CR003356		3		
TTR	CR003357	G000487	>3		
TTR	CR003358		0		
TTR	CR003359	G000498	0		
TTR	CR003360	G000494	0		
TTR	CR003361		0		
TTR	CR003362		0		
TTR	CR003363		0		
TTR	CR003364		0		
TTR	CR003365	G000482	0		
TTR	CR003366	G000490	0		
TTR	CR003367	G000484	без ПАМ у яванского макака		
TTR	CR003368	G000493	1	CR005371	G000511
TTR	CR003369		0		
TTR	CR003370		0		
TTR	CR003371		0		
TTR	CR003372		0		
TTR	CR003373		1		
TTR	CR003374		2		
TTR	CR003375		2		
TTR	CR003376		2		
TTR	CR003377		2		
TTR	CR003378		2		
TTR	CR003379		2		
TTR	CR003380		1		
TTR	CR003381		1		
TTR	CR003382		0		
TTR	CR003383		0		
TTR	CR003384		0		
TTR	CR003385	G000572	0		
TTR	CR003386		0		
TTR	CR003387		0		

TTR	CR003388		0		
TTR	CR003389	G000569	0		
TTR	CR003390		0		
TTR	CR003391	G000568	0		
TTR	CR003392		0		
TTR	CR005298	G000483	1		
TTR	CR005299		0		
TTR	CR005300	G000501	без PAM у яванского макака		
TTR	CR005301	G000571	0		
TTR	CR005302		2	CR005370	G000510
TTR	CR005303	G000499	0		
TTR	CR005304	G000496	>3		
TTR	CR005305		0		
TTR	CR005306		1		
TTR	CR005307		0		

[00324] В некоторых вариантах реализации, гРНК содержит гидовую последовательность, которая направляет ДНК-связывающий агент, гирируемый РНК, который может быть нуклеазой (например, нуклеазой Cas, такой как Cas9), к целевой последовательности ДНК в ТТР. гРНК может содержать сгРНК, содержащую гидовую последовательность, показанную в Таблице 1. гРНК может содержать сгРНК, содержащую 17, 18, 19 или 20 смежных нуклеотидов из гидовой последовательности, показанной в Таблице 1. В некоторых вариантах реализации, гРНК содержит сгРНК, содержащую последовательность, идентичную по меньшей мере на около 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% смежным нуклеотидам 17, 18, 19 или 20 гидовой последовательности, показанной в Таблице 1. В некоторых вариантах реализации, гРНК содержит сгРНК, содержащую последовательность, идентичную по меньшей мере на около 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% гидовой последовательности, показанной в Таблице 1. гРНК может дополнительно содержать трРНК. В каждом варианте композиции и способа, описанных в данном документе, сгРНК и трРНК могут быть связаны как одна РНК (sgРНК) или могут находиться на отдельных РНК (dgРНК). В контексте sgРНК компоненты сгРНК и трРНК могут быть связаны ковалентно, например, через фосфодиэфирную связь или другую ковалентную связь.

[00325] В каждом из вариантов композиции, применения и способа, описанных в данном документе, гидовая РНК может содержать две молекулы РНК в виде «двойной гидовой РНК» или «dgРНК». dgРНК содержит первую молекулу РНК, содержащую

сгРНК, содержащую, например, гидовую последовательность, показанную в таблице 1, и вторую молекулу РНК, содержащую trРНК. Первая и вторая молекулы РНК могут не быть связаны ковалентно, но могут образовывать дуплекс РНК через спаривание оснований между частями сгРНК и trРНК.

[00326] В каждом из вариантов композиции, применения и способа, описанных в данном документе, гидовая РНК может содержать одну молекулу РНК в виде «одиночной гидовой РНК» или «sgРНК». sgРНК может содержать сгРНК (или ее часть), содержащую гидовую последовательность, показанную в Таблице 1, ковалентно связанную с trРНК. sgРНК может содержать 17, 18, 19 или 20 смежных нуклеотидов из гидовой последовательности, показанной в Таблице 1. В некоторых вариантах реализации, сгРНК и trРНК ковалентно связаны через линкер. В некоторых вариантах реализации, sgРНК образует шпилечную структуру посредством спаривания оснований между частями сгРНК и trРНК. В некоторых вариантах реализации, сгРНК и trРНК ковалентно связаны через одну или более связей, которые не являются фосфодиэфирной связью.

[00327] В некоторых вариантах реализации, trРНК может содержать всю или часть последовательности trРНК, полученной из естественной системы CRISPR/Cas. В некоторых вариантах реализации, trРНК содержит усеченную или модифицированную trРНК дикого типа. Длина trРНК зависит от используемой системы CRISPR/Cas. В некоторых вариантах реализации, trРНК содержит или состоит из 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100 или более 100 нуклеотидов. В некоторых вариантах реализации, trРНК может содержать определенные вторичные структуры, такие как, например, одна или более структур шпильки или шпилечная структура, или одна или более структур выпетливания.

[00328] В некоторых вариантах реализации, композиция содержит одну или более гидовых РНК, содержащих гидовую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 5-82.

[00329] В некоторых вариантах реализации, композиция содержит gРНК, которая содержит гидовую последовательность, которая по меньшей мере на 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 94%, 93%, 92%, 91% или 90% идентична последовательности, выбранную из SEQ ID NO: 5-82.

[00330] В некоторых вариантах реализации, композиция содержит одну или более гидовых РНК, содержащих гидовую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 5-72, 74-78 и 80-82. В некоторых вариантах реализации, композиция содержит gРНК, которая содержит гидовую последовательность, которая по меньшей мере на 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 94%, 93%, 92%, 91% или 90% идентична последовательности, выбранную из SEQ ID NO: 5-72, 74-78 и 80-82. В некоторых вариантах реализации, последовательность выбрана из SEQ ID NO: 5-72, 74-78 и 80-82 представляет собой SEQ ID NO: 5, 6, 7, 8, 9, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 22, 23, 27, 29, 30, 35, 36, 37, 38, 55, 61, 63, 65, 66, 68 или 69. В некоторых вариантах реализации, последовательность выбрана из SEQ ID NO: 5-72, 74-78 и 80-82 представляет собой SEQ ID NO: 5, 6, 9, 13, 14, 15, 16, 17, 22, 23, 27, 30, 35, 36, 37, 38, 55, 63, 65, 66, 68 или 69. В частности, гидовая РНК, содержащая гидовую последовательность,

выбранную из SEQ ID NO: 5-72, 74-78 и 80-82 могут быть sgРНК. Гидовая РНК, содержащая гидовую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 5-72, 74-78 и 80-82 могут быть химически модифицированной sgРНК, такой как модифицированная по концам РНК. Гидовая РНК, содержащая гидовую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 5-72, 74-78 и 80-82 могут быть dgРНК, такой как химически модифицированная dgРНК.

[00331] В других вариантах реализации, композиция содержит по меньшей мере одну, например, по меньшей мере две гРНК, содержащие гидовые последовательности, выбранные из любых двух или более гидовых последовательностей SEQ ID NO: 5-82. В некоторых вариантах реализации, композиция содержит по меньшей мере две гРНК, каждая из которых содержит гидовую последовательность, идентичную по меньшей мере на 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 94%, 93%, 92%, 91% или 90% любой из нуклеиновых кислот SEQ ID NO: 5-82.

[00332] В других вариантах реализации, композиция содержит по меньшей мере одну, например, по меньшей мере две гРНК, содержащие гидовые последовательности, выбранные из любых двух или более гидовых последовательностей, выбранных из SEQ ID NO: 5-72, 74-78 и 80-82. В некоторых вариантах реализации, композиция содержит по меньшей мере две гРНК, каждая из которых содержит гидовую последовательность, идентичную по меньшей мере на 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 94%, 93%, 92%, 91% или 90% любой из последовательностей, выбранных из SEQ ID NO: 5-72, 74-78 и 80-82. В некоторых вариантах реализации, последовательности, выбранные из SEQ ID NO: 5-72, 74-78 и 80-82 содержат последовательность или две последовательности, выбранные из SEQ ID NO: 5, 6, 7, 8, 9, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 22, 23, 27, 29, 30, 35, 36, 37, 38, 55, 61, 63, 65, 66, 68 или 69. В некоторых вариантах реализации, последовательность выбрана из SEQ ID NO: 5-72, 74-78 и 80-82 содержат последовательность или две последовательности, выбранные из SEQ ID NO: 5, 6, 9, 13, 14, 15, 16, 17, 22, 23, 27, 30, 35, 36, 37, 38, 55, 63, 65, 66, 68 или 69.

[00333] В некоторых вариантах реализации, гРНК представляет собой sgРНК, содержащую любую из последовательностей, показанных в таблице 2 (SEQ ID NO: 87-124). В некоторых вариантах реализации, гРНК представляет собой sgРНК, содержащую любую из последовательностей, показанных в таблице 2 (SEQ ID NO: 87-124, но без модификаций, как показано) (т.е. немодифицированные SEQ ID NO: 87-124). В некоторых вариантах реализации, sgРНК содержит последовательность, идентичную по меньшей мере на 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 94%, 93%, 92%, 91% или на 90% любой из нуклеиновых кислот SEQ ID NO: 87-124. В некоторых вариантах реализации, sgРНК содержит последовательность, идентичную по меньшей мере на 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 94%, 93%, 92%, 91% или на 90% любой из нуклеиновых кислот SEQ ID NO: 87-124, но без модификаций, как показано (т.е. немодифицированные SEQ ID NO: 87-124). В некоторых вариантах реализации, sgРНК содержит любую одну из гидовых последовательностей, показанных в таблице 1, вместо гидовых последовательностей,

показанных в последовательностях sgРНК в таблице 2 под SEQ ID NO: 87-124, с модификациями или без них.

[00334] В некоторых вариантах реализации, gРНК представляет собой sgРНК, содержащую любую из SEQ ID NO: 87-113, 115-120 или 122-124. В некоторых вариантах реализации, gРНК представляет собой sgРНК, содержащую любую из SEQ ID NO: 87-113, 115-120 или 122-124, но без модификаций, как показано в таблице 2 (т.е. немодифицированные SEQ ID NO: 87-113, 115-120 или 122-124). В некоторых вариантах реализации, gРНК представляет собой sgРНК, содержащую любую из SEQ ID NO: 87-113, 115-120 или 122-124, но с по меньшей мере одной химической модификацией и без модели модификации, как показано в таблице 2 (т.е. химически модифицированные SEQ ID NO: 87-113, 115-120 или 122-124). Химически модифицированные гидовые РНК могут содержать одну или более модификаций, как показано в таблице 2. В некоторых вариантах реализации, химически модифицированные SEQ ID NO: 87-113, 115-120 или 122-124 без паттерна модификации, показанной в таблице 2, содержат модификации 5' и/или 3' конца. В некоторых вариантах реализации, sgРНК содержит последовательность, идентичную по меньшей мере на 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 94%, 93%, 92%, 91% или на 90% любой из нуклеиновых кислот SEQ ID NO: 87-113, 115-120 или 122-124. В некоторых вариантах реализации, sgРНК содержит последовательность, идентичную по меньшей мере на 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 94%, 93%, 92%, 91% или на 90% любой из нуклеиновых кислот SEQ ID NO: 87-113, 115-120 или 122-124, но без модификаций, как показано (т.е. немодифицированные SEQ ID NO: 87-113, 115-120 или 122-124). В некоторых вариантах реализации, sgРНК содержит любую одну из гидовых последовательностей, показанных в таблице 1, вместо гидовых последовательностей, показанных в последовательностях sgРНК в таблице 2 под SEQ ID NO: 87-113, 115-120 или 122-124, с модификациями или без них.

[00335] Представленные в данном документе гидовые РНК могут быть полезны для распознавания (например, гибридизации с) целевой последовательности в гене TTR. Например, последовательность-мишень TTR может распознаваться и расщепляться предоставленной расщепляющей Cas, содержащей гидовую РНК. Таким образом, ДНК-связывающий агент, гидуемый РНК, такой как расщепляющая Cas, может быть направлен с помощью гидовой РНК к целевой последовательности гена TTR, где гидовая последовательность гидовой РНК гибридизируется с целевой последовательностью и ДНК-связывающий агент, гидуемый РНК, такой как расщепляющая Cas, расщепляет целевую последовательность.

[00336] В некоторых вариантах реализации, выбор одной или более гидовых РНК определяется на основе целевых последовательностей в гене TTR.

[00337] Без привязки к какой-либо конкретной теории, мутации (например, мутации сдвига рамки считывания, возникающие в результате инсерций, возникающих в результате опосредованного нуклеазой ДЦР) в определенных областях гена могут быть менее переносимыми, чем мутации в других областях гена, таким образом, расположение

ДЦР является важным фактором количества или типа нокдауна белка, который может произойти. В некоторых вариантах реализации, гРНК, комплементарная или имеющая комплементарность целевой последовательности в TTR, используется для направления ДНК-связывающего агента, гидрируемого РНК в конкретное место в гене TTR. В некоторых вариантах реализации, гРНК конструируются так, чтобы иметь гидовые последовательности, которые комплементарны или комплементарны последовательностям-мишеням в экзоне 1, экзоне 2, экзоне 3 или экзоне 4 TTR.

Модификации гРНК

[00338] В некоторых вариантах реализации, гРНК является химически модифицированной. гРНК, содержащая один или более модифицированных нуклеозидов или нуклеотидов, называется «модифицированной» гРНК или «химически модифицированной» гРНК для описания присутствия одного или более не встречающихся в природе и/или встречающихся в природе компонентов или конфигураций, которые используются вместо или в дополнение к каноническим вычетам А, G, C и U. В некоторых вариантах реализации, модифицированная гРНК синтезируется с неканоническим нуклеозидом или нуклеотидом, в данном документе называется «модифицированной». Модифицированные нуклеозиды и нуклеотиды могут включать одно или более из: (i) изменения, например, замены одного или обоих несвязывающих фосфатных атомов кислорода и/или одного или более связывающих фосфатных атомов кислорода в связи фосфодиэфирного скелета (типовая модификация скелета); (ii) изменение, например, замена одного из компонентов сахара рибозы, например 2'-гидроксила в сахаре рибозы (типовая модификация сахара); (iii) полную замену фосфатной части линкерами «дефосфо» (типовая модификация скелета); (iv) модификация или замена встречающегося в природе азотистого основания, в том числе неканоническим азотистым основанием (типовая модификация основания); (v) замена или модификация рибозо-фосфатного скелета (примерная модификация скелета); (vi) модификация 3'-конца или 5'-конца олигонуклеотида, например, удаление, модификация или замена концевой фосфатной группы или конъюгация фрагмента, кэпа или линкера (такие модификации 3'-или 5'-кэпа могут включать сахар и/или модификация скелета); и (vii) модификация или замена сахара (типовая модификация сахара).

Химические модификации, такие как перечисленные выше, могут быть объединены для получения модифицированных гРНК, содержащих нуклеозиды и нуклеотиды (вместе «остатки»), которые могут иметь две, три, четыре или более модификаций. Например, модифицированный остаток может иметь модифицированный сахар и модифицированное азотистое основание. В некоторых вариантах реализации, каждое основание гРНК модифицировано, например, все основания имеют модифицированную фосфатную группу, такую как фосфоротиоатную группу. В некоторых вариантах реализации, все или практически все фосфатные группы молекулы гРНК заменены фосфоротиоатными группами. В некоторых вариантах реализации, модифицированные гРНК содержат по меньшей мере один модифицированный остаток на

5'-конце РНК или рядом с ним. В некоторых вариантах реализации, модифицированные гРНК содержат по меньшей мере один модифицированный остаток на 3'-конце РНК или рядом с ним.

[00339] В некоторых вариантах реализации, гРНК содержит один, два, три или более модифицированных остатков. В некоторых вариантах реализации, по меньшей мере 5% (например, по меньшей мере 5%, по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или 100%) положений в модифицированной гРНК представляют собой модифицированные нуклеозиды или нуклеотиды.

[00340] Немодифицированные нуклеиновые кислоты могут быть подвержены деградации, например, внутриклеточными нуклеазами или нуклеазами, обнаруженными в сыворотке. Например, нуклеазы могут гидролизовать фосфодиэфирные связи нуклеиновых кислот. Соответственно, в одном аспекте описанные в данном документе гРНК могут содержать один или более модифицированных нуклеозидов или нуклеотидов, например, для придания стабильности по отношению к внутриклеточным нуклеазам или нуклеазам на основе сыворотки. В некоторых вариантах реализации, описанные в данном документе модифицированные молекулы гРНК могут проявлять сниженный врожденный иммунный ответ при введении в популяцию клеток как *in vivo*, так и *ex vivo*. Термин «врожденный иммунный ответ» включает клеточный ответ на экзогенные нуклеиновые кислоты, включая одноцепочечные нуклеиновые кислоты, который включает индукцию экспрессии и высвобождения цитокинов, особенно интерферонов, и гибель клеток.

[00341] В некоторых вариантах реализации, модификации основной цепи фосфатная группа модифицированного остатка может быть модифицирована путем замены одного или более атомов кислорода другим заместителем. Кроме того, модифицированный остаток, например модифицированный остаток, присутствующий в модифицированной нуклеиновой кислоте, может включать полную замену немодифицированного фосфатного фрагмента модифицированной фосфатной группой, как описано в данном документе. В некоторых вариантах реализации, модификация основной цепи фосфатной основной цепи может включать изменения, которые приводят либо к незаряженному линкеру, либо к заряженному линкеру с несимметричным распределением заряда.

[00342] Примеры модифицированных фосфатных групп включают фосфоротиоат, фосфороселенаты, боранофосфаты, сложные эфиры боранофосфата, гидрофосфонаты, фосфоамидаты, алкил- или арилфосфонаты и фосфотриэфиры. Атом фосфора в немодифицированной фосфатной группе является ахиральным. Однако замена одного из атомов кислорода без образования мостиков к одному из вышеуказанных атомов или групп атомов может сделать атом фосфора хиральным. Стереогенный атом фосфора

может иметь конфигурацию «R» (в данном документе Rp) или конфигурацию «S» (в данном документе Sp). Основная цепь также можно модифицировать путем замены мостикового кислорода (то есть кислорода, который связывает фосфат с нуклеозидом) на азот (мостиковые фосфорамидаты), серу (мостиковые фосфоротиоаты) и углерод (мостиковые метиленфосфонаты). Замена может происходить либо у связывающего кислорода, либо у обоих связывающих атомов кислорода.

[00343] Фосфатная группа может быть заменена не содержащими фосфор соединителями в некоторых модификациях основной цепи. В некоторых вариантах реализации, заряженная фосфатная группа может быть заменена нейтральным фрагментом. Примеры фрагментов, которые могут заменять фосфатную группу, могут включать, без ограничения, например, метилфосфонат, гидроксиламино, силоксан, карбонат, карбоксиметил, карбамат, амид, тиозфир, линкер этиленоксида, сульфонат, сульфонамид, тиоформацеталь, формацеталь, оксим, метиленимино, метиленметилямино, метиленгидразо, метилендиметилгидразо и метиленоксиметилямино.

Каркасы, которые могут имитировать нуклеиновые кислоты, также могут быть сконструированы, в которых фосфатный линкер и сахар рибозы заменены нуклеозидными или нуклеотидными заместителями, устойчивыми к нуклеазе. Такие модификации могут включать модификации остова и сахара. В некоторых вариантах реализации, азотистые основания могут быть связаны с помощью замещающего остова. Примеры могут включать, без ограничения, заместители нуклеозидов морфолино, циклобутила, пирролидина и пептидной нуклеиновой кислоты (PNA).

[00344] Модифицированные нуклеозиды и модифицированные нуклеотиды могут включать одну или более модификаций сахарной группы, то есть модификации сахара. Например, 2'-гидроксильная группа (ОН) может быть модифицирована, например, заменены рядом различных «окси» или «дезокси» заместителей. В некоторых вариантах реализации, модификации 2'-гидроксильной группы могут повысить стабильность нуклеиновой кислоты, поскольку гидроксил больше не может быть депротонирован с образованием 2'-алкоксидного иона.

[00345] Примеры модификаций 2' гидроксильных групп могут включать алкокси или арилокси (OR, где «R» может означать, например, алкил, циклоалкил, арил, аралкил, гетероарил или сахар); полиэтиленгликоли (ПЭГ), $O(CH_2CH_2O)_nCH_2CH_2OR$, где R может быть, например, H или необязательно замещенным алкилом, а n может быть целым числом от 0 до 20 (например, от 0 до 4, от 0 до 8, от 0 до 10, от 0 до 16, от 1 до 4, от 1 до 8, от 1 до 10, от 1 до 16, от 1 до 20, от 2 до 4, от 2 до 8, от 2 до 10, от 2 до 16, от 2 до 20, от 4 до 8, от 4 до 10, от 4 до 16 и от 4 до 20). В некоторых вариантах реализации, модификация 2'-гидроксильной группы может представлять собой 2'-O-Me. В некоторых вариантах реализации, модификация 2'-гидроксильной группы может быть 2'-фторо модификацией, которая заменяет 2'-гидроксильную группу фторидом. В некоторых вариантах реализации, модификация 2'-гидроксильной группы может включать «заблокированные» нуклеиновые кислоты (LNA), в которых 2'-гидроксил может быть связан, например, с помощью C₁₋₆

алкиленового или C_{1-6} гетероалкиленового мостика с 4'-атомным атомом углерода того же сахара-рибозы, где иллюстративные мостики могут включать метиленовые, пропиленовые, простые эфирные или аминные мостики; О-амино (где амино может быть, например, NH_2 ; алкиламино, диалкиламино, гетероцикл, ариламино, диариламино, гетероариламино или дигетероариламино, этилендиамин или полиамино) и аминоалкокси, $O(CH_2)_n$ -амино (где амино может быть, например, NH_2 ; алкиламино, диалкиламино, гетероцикл, ариламино, диариламино, гетероариламино или дигетероариламино, этилендиамин или полиамино). В некоторых вариантах реализации, модификация 2'-гидроксильной группы может включать «разблокированные» нуклеиновые кислоты (UNA), в которых рибозное кольцо лишено связи $C2'-C3'$. В некоторых вариантах реализации, модификация 2'-гидроксильной группы может включать метоксиэтильную группу (МОЕ), $(OCH_2CH_2OCH_3)$, например, производное ПЭГ).

[00346] 2' модификации «дезокси» могут включать водород (т.е. сахара дезоксирибозы, например, в выступающих частях частично dsРНК); галоген (например, бром, хлор, фтор или йод); амино (где амино может быть, например, NH_2 ; алкиламино, диалкиламино, гетероцикл, ариламино, диариламино, гетероариламино, дигетероариламино или аминокислотой); $NH(CH_2CH_2NH)_nCH_2CH_2$ -амино (где амино может быть, например, таким, как описано в данном документе), $-NHC(O)R$ (где R может быть, например, алкилом, циклоалкилом, арилом, аралкилом, гетероарилом или сахаром), циано; меркапто; алкилтиоалкил; тиоалкокси; и алкил, циклоалкил, арил, алкенил и алкинил, которые могут быть необязательно замещены, например, амино, как описано в данном документе.

Модификация сахара может включать группу сахара, которая также может содержать один или более атомов углерода, которые обладают стереохимической конфигурацией, противоположной конфигурации соответствующего углерода в рибозе. Таким образом, модифицированная нуклеиновая кислота может включать нуклеотиды, содержащие, например, арабинозу в качестве сахара. Модифицированные нуклеиновые кислоты могут также включать сахар с удаленным азотистым основанием. Данные сахара с удаленным азотистым основанием также могут быть дополнительно модифицированы по одному или более составляющим атомам сахара. Модифицированные нуклеиновые кислоты могут также включать один или более сахаров в L-форме, например, L-нуклеозиды.

[00347] Описанные в данном документе модифицированные нуклеозиды и модифицированные нуклеотиды, которые могут быть включены в модифицированную нуклеиновую кислоту, могут включать модифицированное основание, также называемое азотистым основанием. Примеры азотистых оснований включают, но не ограничиваются ими, аденин (A), гуанин (G), цитозин (C) и урацил (U). Эти азотистые основания могут быть модифицированы или полностью заменены для получения модифицированных остатков, которые могут быть включены в модифицированные нуклеиновые кислоты. Азотистое основание нуклеотида может быть независимо выбрано из пурина,

пиримидина, аналога пурина или аналога пиримидина. В некоторых вариантах реализации, азотистое основание может включать, например, встречающиеся в природе и синтетические производные основания.

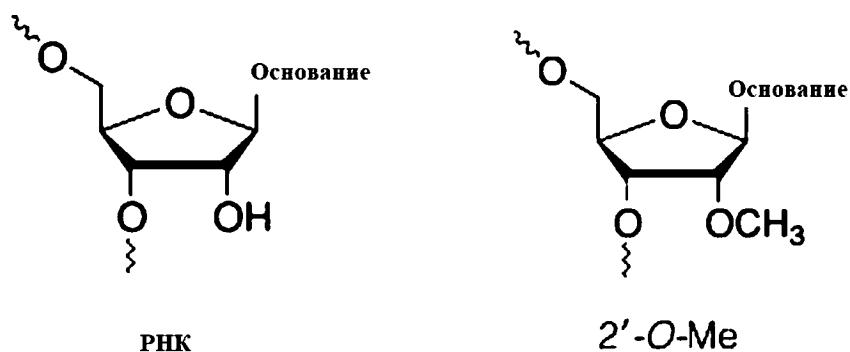
В вариантах реализации, в которых используется двойная гидовая РНК, каждая из crРНК и tracrРНК может содержать модификации. Такие модификации могут быть на одном или обоих концах crРНК и/или tracrРНК. В вариантах реализации, содержащих sgРНК, один или более остатков на одном или обоих концах sgРНК могут быть химически модифицированы, или вся sgРНК может быть химически модифицирована. Некоторые варианты реализации содержат модификацию 5' конца. Некоторые варианты реализации содержат модификацию 3' конца. В некоторых вариантах реализации один или более, или все нуклеотиды в одноцепочечном выступе молекулы гидовой РНК являются дезоксинуклеотидами.

[00348] В некоторых вариантах реализации, гидовая РНК, раскрытая в данном документе, содержат один из паттернов модификации, раскрытых в патенте США 62/431756, поданном 8 декабря 2016 г., под названием «Chemically Modified Guide RNAs», содержание которого полностью включено в данное описание посредством ссылки.

В некоторых вариантах реализации, данное изобретение включает гРНК, содержащую одну или более модификаций. В некоторых вариантах реализации, модификация включает модифицированный 2'-О-метил (2'-О-Ме) нуклеотид. В некоторых вариантах реализации, модификация включает фосфоротиоатную (PS) связь между нуклеотидами.

[00349] Термины «mA», «mC», «mU» или «mG» могут использоваться для обозначения нуклеотида, который был модифицирован 2'-О-Ме.

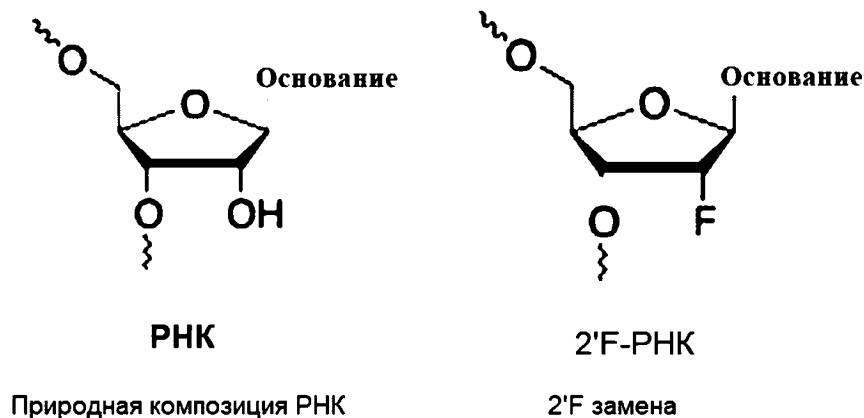
[00350] Модификация 2'-О-метил может быть изображен как:



[00351] Другая химическая модификация, которая, как было показано, влияет на кольца нуклеотидных сахаров, представляет собой замещение галогена. Например, замена 2'-фтор (2'-F) в кольцах нуклеотидных сахаров может повысить аффинность связывания олигонуклеотидов и стабильность нуклеаз.

[00352] Термины «mA», «mC», «mU» или «mG» могут использоваться для обозначения нуклеотида, который был модифицирован 2'-F.

[00353] Замена 2'-F может быть изображена как:

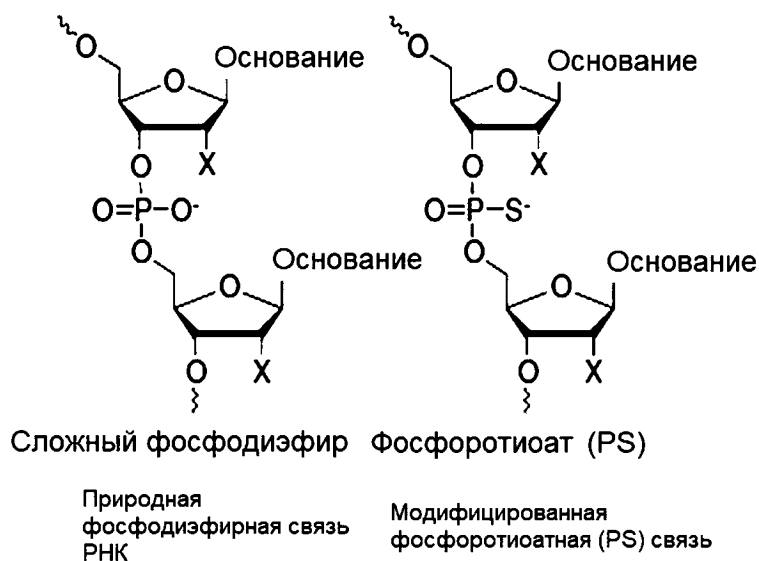


[00354] Фосфоротиоатная (PS) связь или связь относится к связи, в которой сера замещена одним немостиковым фосфатным кислородом в фосфодиэфирной связи, например, в связях между нуклеотидными основаниями. Когда фосфоротиоаты используются для создания олигонуклеотидов, модифицированные олигонуклеотиды также могут называться S-олигонуклеотидами.

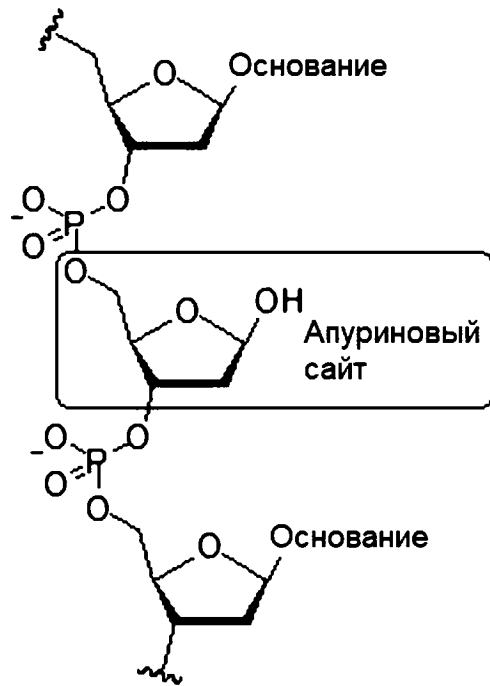
[00355] «*» Может использоваться для обозначения модификации PS. В данной заявке термины A*, C*, U* или G* могут использоваться для обозначения нуклеотида, который связан со следующим (например, 3') нуклеотидом с помощью связи PS.

[00356] В данной заявке термины «mA*», «mC*», «mU*» или «mG*» могут использоваться для обозначения нуклеотида, который был замещен 2'-O-Me и который связан со следующим (например, 3') нуклеотидом связью PS.

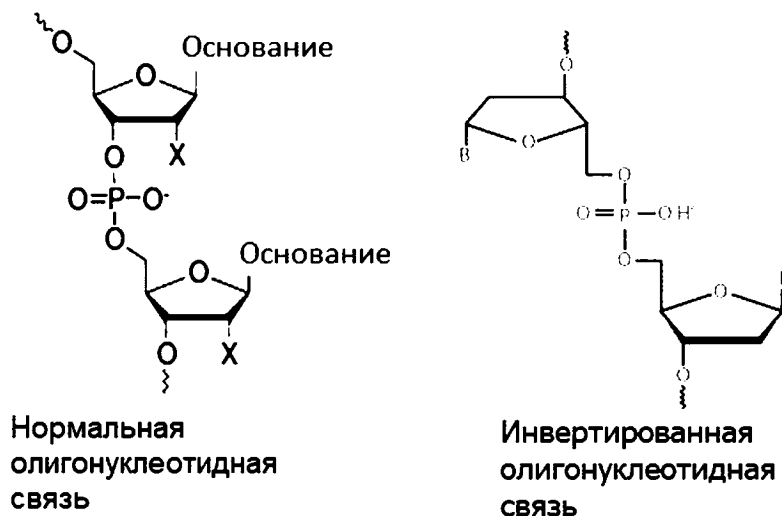
[00357] На диаграмме ниже показано замещение S- на немостиковый фосфатный кислород с образованием связи PS вместо фосфодиэфирной связи:



[00358] Абазические нуклеотиды относятся к нуклеотидам, в которых отсутствуют азотистые основания. На фигуре ниже изображен олигонуклеотид с абазическим (также известным как апуриновым) сайтом, в котором отсутствует основание:



[00359] Перевернутые основания относятся к тем, у которых связи инвертированы от нормальной связи 5' к 3' (то есть связь либо от 5' к 5', либо к связи от 3' к 3'). Например:



[00360] Абазический нуклеотид может быть присоединен с помощью перевернутой связи. Например, абазический нуклеотид может быть присоединен к концевому 5' нуклеотиду посредством связи от 5' к 5', или абазический нуклеотид может быть присоединен к концевому 3' нуклеотиду через связь 3' к 3'. Инвертированный абазический нуклеотид на концевом 5' или 3' нуклеотиде также можно назвать перевернутым абазическим концевым кэпом.

[00361] В некоторых вариантах реализации, модифицированы один или более из первых трех, четырех или пяти нуклеотидов на 5'-конце и один или более из последних трех, четырех или пяти нуклеотидов на 3'-конце. В некоторых вариантах реализации,

модификация представляет собой 2'-O-Me, 2'-F, инвертированный абазический нуклеотид, связь PS или другую модификацию нуклеотидов, хорошо известную в данной области техники, для повышения стабильности и/или производительности.

[00362] В некоторых вариантах реализации, первые четыре нуклеотида на 5'-конце и последние четыре нуклеотида на 3'-конце связаны фосфоротиоатными (PS) связями.

[00363] В некоторых вариантах реализации, первые три нуклеотида на 5'-конце и последние три нуклеотида на 3'-конце содержат 2'-O-метил (2'-O-Me) модифицированный нуклеотид. В некоторых вариантах реализации, первые три нуклеотида на 5'-конце и последние три нуклеотида на 3'-конце содержат 2'-фтор (2'-F) модифицированный нуклеотид. В некоторых вариантах реализации, первые три нуклеотида на 5'-конце и последние три нуклеотида на 3'-конце содержат инвертированный абазический нуклеотид.

[00364] В некоторых вариантах реализации, гидовая РНК содержит модифицированную sgРНК. В некоторых вариантах реализации sgРНК содержит образец модификации, показанный в SEQ ID NO: 3, где N представляет собой любой природный или неприродный нуклеотид, и где совокупность N составляет гидовую последовательность, которая направляет нуклеазу к целевой последовательности.

[00365] В некоторых вариантах реализации, гидовая РНК включает sgРНК, показанную в любой из SEQ ID No: 87-124. В некоторых вариантах реализации, гидовая РНК включает sgРНК, содержащую любую из гидовых последовательностей SEQ ID No: 5-82 и нуклеотиды SEQ ID No: 125, причем нуклеотиды SEQ ID NO: 125 находятся на 3' конце гидовой последовательности, и при этом гидовая последовательность может быть модифицирована, как показано в SEQ ID No: 3.

[00366] В некоторых вариантах реализации, гидовая РНК включает sgРНК, содержащую гидовую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 5-72, 74-78 и 80-82 и нуклеотиды SEQ ID NO: 125, причем нуклеотиды SEQ ID NO: 125 находятся на 3' конце гидовой последовательности, и при этом гидовая последовательность может быть модифицирована, как показано в SEQ ID No: 3.

Нуклеиновая кислота, содержащая открытую рамку считывания, кодирующую ДНК-связывающий агент, гидируемый РНК

[00367] Любая нуклеиновая кислота, содержащая OРС, кодирующую ДНК-связывающий агент, гидируемый РНК, например, нуклеаза Cas9, такая как *S. pyogenes* Cas9, раскрытая в настоящем документе, может быть объединена в композиции или способе с любой из гРНК, раскрытых в настоящем документе. В любом из вариантов реализации, изложенных в настоящем документе, нуклеиновая кислота, содержащая открытую рамку считывания, кодирующую ДНК-связывающий агент, гидируемый РНК, может представлять собой мРНК.

1. OРС с низким содержанием аденина

[00368] В некоторых вариантах реализации, OРС, кодирующая ДНК-связывающий агент, гидируемый РНК, например, нуклеаза Cas9, такая как *S. pyogenes* Cas9, имеет содержание аденина в диапазоне от минимального содержания аденина до около 150% от

некоторых вариантах реализации, ОРС имеет содержание адениндинуклеотида, менее чем или равное около 103% от ее минимального содержания адениндинуклеотида. В некоторых вариантах реализации, ОРС имеет содержание адениндинуклеотида, менее чем или равное около 102% от ее минимального содержания адениндинуклеотида. В некоторых вариантах реализации, ОРС имеет содержание адениндинуклеотида, менее чем или равное около 101% от ее минимального содержания адениндинуклеотида.

[00370] В некоторых вариантах реализации, ОРС имеет содержание адениндинуклеотида в диапазоне от минимального содержания адениндинуклеотида до содержания адениндинуклеотида, которое составляет 90% или ниже от максимального содержания адениндинуклеотида в эталонной последовательности, которая кодирует тот же белок, что и рассматриваемая мРНК. В некоторых вариантах реализации, содержание адениндинуклеотида в ОРС менее чем или равное около 85%, 80%, 75%, 70%, 65%, 60%, 55%, 50%, 45%, 40%, 35%, 30%, 25%, 20%, 15%, 10% или 5% от максимального содержания адениндинуклеотида в контрольной последовательности, которая кодирует тот же белок, что и рассматриваемая мРНК.

[00371] В некоторых вариантах реализации, ОРС имеет содержание аденинтринуклеотида в диапазоне от 0 аденинтринуклеотидов до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40 или 50 аденинтринуклеотидов (где a более длинный ряд аденинов считается числом уникальных трехадениновых сегментов в нем, например, аденинтетрануклеотид содержит два аденинтринуклеотида, аденинпентануклеотид содержит три аденинтринуклеотида и т.д.). В некоторых вариантах реализации ОРС имеет содержание аденинтринуклеотида в диапазоне от 0% аденинтринуклеотида до 0,1%, 0,2%, 0,3%, 0,4%, 0,5%, 0,6%, 0,7%, 0,8%, 0,9%, 1%, 1,5% или 2% аденинтринуклеотидов, где процентное содержание аденинтринуклеотидов рассчитывается как процент положений в последовательности, которые заняты аденинами, которые образуют часть аденинтринуклеотида (или более длинного ряда аденинов), так что последовательности UUUAAA и каждый UUUUAAAA будет содержать 50% аденинтринуклеотида. Например, в некоторых вариантах реализации, ОРС имеет содержание аденинтринуклеотида менее чем или равное 2%. Например, в некоторых вариантах реализации, ОРС имеет содержание аденинтринуклеотида менее чем или равное 1,5%. В некоторых вариантах реализации, ОРС имеет содержание аденинтринуклеотида менее чем или равное 1%. В некоторых вариантах реализации, ОРС имеет содержание аденинтринуклеотида менее чем или равное 0,9%. В некоторых вариантах реализации, ОРС имеет содержание аденинтринуклеотида менее чем или равное 0,8%. В некоторых вариантах реализации, ОРС имеет содержание аденинтринуклеотида менее чем или равное 0,7%. В некоторых вариантах реализации, ОРС имеет содержание аденинтринуклеотида менее чем или равное 0,6%. В некоторых вариантах реализации, ОРС имеет содержание аденинтринуклеотида менее чем или равное 0,5%. В некоторых вариантах реализации, ОРС имеет содержание аденинтринуклеотида менее чем или равное 0,4%. В некоторых вариантах реализации, ОРС имеет содержание аденинтринуклеотида менее чем или

равное 0,3%. В некоторых вариантах реализации, ОРС имеет содержание аденинтринуклеотида менее чем или равное 0,2%. В некоторых вариантах реализации, ОРС имеет содержание аденинтринуклеотида менее чем или равное 0,1%. В некоторых вариантах реализации, предлагается нуклеиновая кислота, которая кодирует ДНК-связывающий агент, гирируемый РНК, содержащий ОРС, не содержащую тринуклеотидов аденина.

[00372] В некоторых вариантах реализации, ОРС имеет содержание аденинтринуклеотида в диапазоне от минимального содержания аденинтринуклеотида до содержания аденинтринуклеотида, которое составляет 90% или ниже от максимального содержания аденинтринуклеотида в эталонной последовательности, которая кодирует тот же белок, что и рассматриваемая мРНК. В некоторых вариантах реализации, содержание аденинтринуклеотида в ОРС менее чем или равное около 85%, 80%, 75%, 70%, 65%, 60%, 55%, 50%, 45%, 40%, 35%, 30%, 25%, 20%, 15%, 10% или 5% от максимального содержания аденинтринуклеотида в контрольной последовательности, которая кодирует тот же белок, что и рассматриваемая мРНК.

[00373] Данная ОРС может быть уменьшена в содержании аденина или содержания адениндинуклеотида или содержания аденинтринуклеотида, например, с использованием минимальных кодонов аденина в достаточной части ОРС. Например, аминокислотная последовательность ДНК-связывающего агента, гирируемого РНК может быть обратно транслирована в последовательность ОРС путем преобразования аминокислот в кодоны, где некоторые или все ОРС используют типовые минимальные кодоны аденина, показанные ниже. В некоторых вариантах реализации по меньшей мере около 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% кодонов в ОРС являются кодонами, перечисленными в Таблице 4.

Таблица 4. Примеры кодонов с минимальным содержанием аденина

	Аминокислота	Кодон с минимальным содержанием аденина
A	Аланин	GCU или GCC или GCG
G	Глицин	GGU или GGC или GGG
V	Валин	GUC или GUU или GUG
D	Аспарагиновая кислота	GAC или GAU
E	Глютаминовая кислота	GAG
I	Изолейцин	AUC или AUU
T	Треонин	ACU или ACC или ACG
N	Аспарагин	AAC или AAU
K	Лизин	AAG
S	Серин	UCU или UCC или UCG
R	Аргинин	CGU или CGC или CGG
L	Лейцин	CUG или CUC или CUU

P	Пролин	CCG или CCU или CCC
H	Гистидин	CAC или CAU
Q	Глутамин	CAG
F	Фенилаланин	UUC или UUU
Y	Тирозин	UAC или UAU
C	Цистеин	UGC или UGU
W	Триптофан	UGG
M	Метионин	AUG

[00374] В некоторых вариантах реализации, предлагается нуклеиновая кислота, кодирующая ДНК-связывающий агент, гидрируемый РНК, например, нуклеаза Cas9, такая как *S. pyogenes* Cas9, содержащая ОРС, состоящую из набора кодонов, из которых по меньшей мере около 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% кодонов являются кодонами, перечисленными в Таблице 4. В некоторых вариантах реализации, ОРС содержит минимальное количество нуклеотидных гомополимеров, например, повторяющиеся цепи одних и тех же нуклеотидов. Например, в некоторых вариантах реализации при выборе кодона с минимальным содержанием уридина из кодонов, перечисленных в Таблице 4, нуклеиновая кислота конструируется путем выбора минимальных кодонов аденина, которые уменьшают количество и длину нуклеотидных гомополимеров, например, выбирая GCG вместо GCC для аланина или выбирая GGC вместо GGG для глицина.

[00375] В любом из вышеупомянутых вариантов реализации нуклеиновая кислота может представлять собой мРНК.

2. Кодоны, которые увеличивают трансляцию и/или соответствуют высокоэкспрессируемым тРНК; примерные наборы кодонов

[00376] В некоторых вариантах реализации, нуклеиновая кислота содержит ОРС, имеющую кодоны, которые увеличивают трансляцию у млекопитающего, такого как человек. В дополнительных вариантах реализации, нуклеиновая кислота содержит ОРС, имеющую кодоны, которые увеличивают трансляцию в органе, таком как печень, млекопитающего, например, человека. В дополнительных вариантах реализации, нуклеиновая кислота содержит ОРС, имеющую кодоны, которые увеличивают трансляцию в клетках такого типа, как гепатоцит, млекопитающего, например, человека. Увеличение трансляции у млекопитающего, типа клеток, органа млекопитающего, человека, органа человека и т. д., может быть определено относительно степени трансляции последовательности ОРС дикого типа или относительно ОРС, имеющей распределение кодонов соответствующее распределению кодонов в организме, из которого была получена ОРС, или в организме, который содержит наиболее похожую ОРС на аминокислотном уровне, например, *S. pyogenes*, *S. aureus* или другой прокариот, в зависимости от случая прокариотически производной нуклеазы Cas, такие как нуклеазы Cas из других прокариот, описанных ниже. Альтернативно, в некоторых вариантах

реализации, увеличение трансляции последовательности Cas9 у млекопитающего, типа клеток, органа млекопитающего, человека, органа человека и т.д. определяется относительно трансляции OPC с последовательностью SEQ ID NO: 205 при всех прочих равных условиях, включая любые применимые точечные мутации, гетерологичные домены и т.п. Кодоны, полезные для увеличения экспрессии у человека, включая печень человека и гепатоциты человека, могут быть кодонами, соответствующими высокоэкспрессируемым тРНК в печени человека/гепатоцитах, которые обсуждаются в Dittmar KA, PLoS Genetics 2 (12): e221 (2006). В некоторых вариантах реализации по меньшей мере около 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% кодонов в OPC являются кодонами, соответствующими таковым высокоэкспрессируемым в тРНК (например, тРНК с наибольшей экспрессией для каждой аминокислоты) у млекопитающего, такого как человек. В некоторых вариантах реализации по меньшей мере 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% кодонов в OPC являются кодонами, соответствующими таковым высокоэкспрессируемым тРНК (например, тРНК с наибольшей экспрессией для каждой аминокислоты) в органе млекопитающего, таком как орган человека. В некоторых вариантах реализации по меньшей мере 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% кодонов в OPC являются кодонами, соответствующими таковым высокоэкспрессируемым тРНК (например, тРНК с наибольшей экспрессией для каждой аминокислоты) в печени млекопитающего, такой как печень человека. В некоторых вариантах реализации по меньшей мере 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% кодонов в OPC являются кодонами, соответствующими таковым высокоэкспрессируемым тРНК (например, тРНК с наибольшей экспрессией для каждой аминокислоты) в гепатоците млекопитающего, таком как гепатоцит человека.

[00377] Альтернативно, могут использоваться кодоны, соответствующие таковым высокоэкспрессируемым тРНК в организме (например, человека) в целом.

[00378] Любой из вышеуказанных подходов к выбору кодонов можно комбинировать с кодонами с минимальным содержанием аденина, показанными выше, например, начиная с кодонов из Таблицы 4, а затем, если доступно более одного варианта, с применением кодона, который соответствует таковому более высокоэкспрессированному в тРНК, либо в организме (например, человек) в целом или в интересующем органе или типе клеток, таком как печень или гепатоциты (например, печень человека или гепатоциты человека).

[00379] В некоторых вариантах реализации по меньшей мере около 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% кодонов в OPC являются кодонами из набора кодонов, представленных в Таблице 5 (например, набор кодонов с низким содержанием U, с низким содержанием A или с низким содержанием A/U). Кодоны в наборах с низким содержанием A и с низким содержанием A/U используют кодоны, которые минимизируют указанные нуклеотиды, а также используют кодоны, соответствующие высокоэкспрессируемым тРНК, где доступно более одного варианта. В некоторых

вариантах реализации по меньшей мере около 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% кодонов в ОРС являются кодоном из набора кодонов с низким содержанием U, представленных в Таблице 5. В некоторых вариантах реализации по меньшей мере около 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% кодонов в ОРС являются кодоном из набора кодонов с низким содержанием A, представленных в Таблице 5. В некоторых вариантах реализации по меньшей мере около 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% кодонов в ОРС являются кодоном из набора кодонов с низким содержанием A/U, представленных в Таблице 5.

Таблица 5. Типовые наборы кодонов.

Аминокислота	Низкое содержание U	Низкое содержание A	Низкое содержание A/U
Gly	GGC	GGC	GGC
Glu	GAG	GAG	GAG
Asp	GAC	GAC	GAC
Val	GTG	GTG	GTG
Ala	GCC	GCC	GCC
Arg	AGA	CGG	CGG
Ser	AGC	TCC	AGC
Lys	AAG	AAG	AAG
Asn	AAC	AAC	AAC
Met	ATG	ATG	ATG
Ile	ATC	ATC	ATC
Thr	ACC	ACC	ACC
Trp	TGG	TGG	TGG
Cys	TGC	TGC	TGC
Tyr	TAC	TAC	TAC
Leu	CTG	CTG	CTG
Phe	TTC	TTC	TTC
Gln	CAG	CAG	CAG

His	CAC	CAC	CAC
------------	-----	-----	-----

3. Примерные последовательности

[00380] В некоторых вариантах реализации ОРС, кодирующая ДНК-связывающий агент, гидрируемый РНК, содержит последовательность, идентичную по меньшей мере на 93% SEQ ID NO: 311; и/или ОРС по меньшей мере на 93% идентична SEQ ID NO: 311 по меньшей мере по его первым 50, 200, 250 или 300 нуклеотидам или идентична на по меньшей мере 95% SEQ ID NO: 311 по меньшей мере над его первыми 30, 50, 70, 100, 150, 200, 250 или 300 нуклеотидами; и/или ОРС состоит из набора кодонов, из которых по меньшей мере 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% или 100% кодонов являются кодонами, перечисленными в Таблице 4 или 5; и/или ОРС имеет содержание аденина в диапазоне от минимального содержания аденина до 123% от минимального содержания аденина; и/или ОРС имеет содержание адениндинуклеотида в диапазоне от минимального содержания адениндинуклеотида до 150% от минимального содержания адениндинуклеотида.

[00381] В некоторых вариантах реализации ОРС, кодирующая ДНК-связывающий агент, гидрируемый РНК, содержит последовательность, идентичную по меньшей мере на 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% или 100% SEQ ID NO: 377.

[00382] В некоторых вариантах реализации ОРС, кодирующая ДНК-связывающий агент, гидрируемый РНК, содержит последовательность, идентичную по меньшей мере на 90% любой из SEQ ID NO: 311-313, 328, 329, 346-348, 355, 356, 363 или 364. В некоторых вариантах реализации, мРНК содержит ОРС, кодирующую ДНК-связывающий агент, гидрируемый РНК, при этом ДНК-связывающий агент, гидрируемый РНК, содержит аминокислотную последовательность, идентичную по меньшей мере на 90% любой из SEQ ID NO: 203, 213, 268 или 386-396, причем ОРС имеет содержание аденина в диапазоне от минимального содержания аденина до 150% от минимального содержания аденина и/или имеет содержание адениндинуклеотида в диапазоне от минимального содержания адениндинуклеотида до 150% от минимального содержания адениндинуклеотида. В некоторых вариантах реализации, кодируемый ДНК-связывающий агент, гидрируемый кодированной РНК, содержит аминокислотную последовательность, идентичную по меньшей мере на 90% любой из SEQ ID NO: 203, 213, 268 или 386-396, причем ОРС имеет содержание уридина в диапазоне от минимального содержания уридина до 150% от минимального содержания уридина и/или имеет содержание уридиндинуклеотида в диапазоне от минимального содержания уридиндинуклеотида до 150% от минимального содержания уридиндинуклеотида. В некоторых таких вариантах реализации содержание нуклеотидов как аденина, так и уридина менее чем или равно 150% от их соответствующих минимумов. В некоторых вариантах реализации содержание как адениндинуклеотида, так и уридиндинуклеотида менее чем или равно 150% от их соответствующих минимумов. В некоторых вариантах реализации любой из вышеуказанных уровней идентичности составляет по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%.

[00383] В некоторых вариантах реализации ОРС, кодирующая ДНК-связывающий агент, гидрируемый РНК, идентична по меньшей мере на 90% любой из SEQ ID NO: 311-313, 328, 329, 346-348, 355, 356, 363 или 364 по меньшей мере по его первым 30, 50, 70, 100, 150, 200, 250 или 300 нуклеотидам. Первые 30, 50, 70, 100, 150, 200, 250 или 300 нуклеотидов измеряются от первого нуклеотида стартового кодона (обычно ATG), так что А представляет собой нуклеотид 1, Т представляет собой нуклеотид 2 и т.д. В некоторых вариантах реализации, открытая рамка считывания идентична по меньшей мере на 90% любой из SEQ ID NO: 311-313, 328, 329, 346-348, 355, 356, 363 или 364 по меньшей мере по его первым 10%, 12%, 15%, 20%, 25%, 30% или 35% последовательности. Длина последовательности ОРС представляет собой количество нуклеотидов от начала стартового кодона до конца стоп-кодона и первых 10%, 12%, 15%, 20%, 25%, 30% или 35% его последовательности соответствует количеству нуклеотидов, начиная с первого нуклеотида стартового кодона, которые составляют указанный процент длины всей последовательности.

[00384] В некоторых вариантах реализации, нуклеиновая кислота, содержащая ОРС, кодирующую ДНК-связывающий агент, гидрируемый РНК, содержит последовательность, идентичную по меньшей мере на 90% SEQ ID NO: 243, в которой ОРС SEQ ID NO: 243 (т.е., SEQ ID NO: 204) заменена ОРС любой из SEQ ID NO: 311-313, 328, 329, 346-348, 355, 356, 363 или 364.

[00385] В некоторых вариантах реализации, нуклеиновая кислота, содержащая ОРС, кодирующую ДНК-связывающий агент, гидрируемый РНК, содержит последовательность, идентичную по меньшей мере на 90% SEQ ID NO: 244, в которой ОРС SEQ ID NO: 244 (т.е., SEQ ID NO: 204) заменена ОРС любой из SEQ ID NO: 311-313, 328, 329, 346-348, 355, 356, 363 или 364.

[00386] В некоторых вариантах реализации, нуклеиновая кислота, содержащая ОРС, кодирующую ДНК-связывающий агент, гидрируемый РНК, содержит последовательность, идентичную по меньшей мере на 90% SEQ ID NO: 256, в которой ОРС SEQ ID NO: 256 (т.е., SEQ ID NO: 204) заменена ОРС любой из SEQ ID NO: 311-313, 328, 329, 346-348, 355, 356, 363 или 364.

[00387] В некоторых вариантах реализации, нуклеиновая кислота, содержащая ОРС, кодирующую ДНК-связывающий агент, гидрируемый РНК, содержит последовательность, идентичную по меньшей мере на 90% SEQ ID NO: 257, в которой ОРС SEQ ID NO: 257 (т.е., SEQ ID NO: 204) заменена ОРС любой из SEQ ID NO: 311-313, 328, 329, 346-348, 355, 356, 363 или 364.

[00388] В некоторых вариантах реализации, нуклеиновая кислота, содержащая ОРС, кодирующую ДНК-связывающий агент, гидрируемый РНК, содержит последовательность, идентичную по меньшей мере на 90% SEQ ID NO: 258, в которой ОРС SEQ ID NO: 258 (т.е., SEQ ID NO: 204) заменена ОРС любой из SEQ ID NO: 311-313, 328, 329, 346-348, 355, 356, 363 или 364.

[00389] В некоторых вариантах реализации, нуклеиновая кислота, содержащая OPC, кодирующую ДНК-связывающий агент, гидрируемый РНК, содержит последовательность, идентичную по меньшей мере на 90% SEQ ID NO: 259, в которой OPC SEQ ID NO: 259 (т.е., SEQ ID NO: 204) заменена OPC любой из SEQ ID NO: 311-313, 328, 329, 346-348, 355, 356, 363 или 364.

[00390] В некоторых вариантах реализации, нуклеиновая кислота, содержащая OPC, кодирующую ДНК-связывающий агент, гидрируемый РНК, содержит последовательность, идентичную по меньшей мере на 90% SEQ ID NO: 260, в которой OPC SEQ ID NO: 260 (т.е., SEQ ID NO: 204) заменена OPC любой из SEQ ID NO: 311-313, 328, 329, 346-348, 355, 356, 363 или 364.

[00391] В некоторых вариантах реализации, нуклеиновая кислота, содержащая OPC, кодирующую ДНК-связывающий агент, гидрируемый РНК, содержит последовательность, идентичную по меньшей мере на 90% SEQ ID NO: 261, в которой OPC SEQ ID NO: 261 (т.е., SEQ ID NO: 204) заменена OPC любой из SEQ ID NO: 311-313, 328, 329, 346-348, 355, 356, 363 или 364.

[00392] В некоторых вариантах реализации, нуклеиновая кислота, содержащая OPC, кодирующую ДНК-связывающий агент, гидрируемый РНК, содержит последовательность, идентичную по меньшей мере на 90% SEQ ID NO: 376, необязательно при этом OPC SEQ ID NO: 376 заменена альтернативной OPC любой из SEQ ID NO: 311-313, 328, 329, 346-348, 355, 356, 363 или 364.

[00393] В некоторых вариантах реализации, нуклеиновая кислота, содержащая OPC, кодирующую ДНК-связывающий агент, гидрируемый РНК, содержит последовательность, идентичную по меньшей мере на 90% SEQ ID NO: 377, необязательно при этом OPC SEQ ID NO: 377 заменена альтернативной OPC любой из SEQ ID NO: 311-313, 328, 329, 346-348, 355, 356, 363 или 364.

[00394] В некоторых вариантах реализации, нуклеиновая кислота, содержащая OPC, кодирующую ДНК-связывающий агент, гидрируемый РНК, содержит последовательность, идентичную по меньшей мере на 90% SEQ ID NO: 378, необязательно при этом OPC SEQ ID NO: 378 заменена альтернативной OPC любой из SEQ ID NO: 311-313, 328, 329, 346-348, 355, 356, 363 или 364.

[00395] В некоторых вариантах реализации, нуклеиновая кислота, содержащая OPC, кодирующую ДНК-связывающий агент, гидрируемый РНК, содержит последовательность, идентичную по меньшей мере на 90% SEQ ID NO: 379, в которой OPC SEQ ID NO: 379 заменена OPC любой из SEQ ID NO: 311-313, 328, 329, 346-348, 355, 356, 363 или 364.

[00396] В некоторых вариантах реализации, нуклеиновая кислота, содержащая OPC, кодирующую ДНК-связывающий агент, гидрируемый РНК, содержит последовательность, идентичную по меньшей мере на 90% SEQ ID NO: 380, в которой OPC SEQ ID NO: 380 заменена OPC любой из SEQ ID NO: 311-313, 328, 329, 346-348, 355, 356, 363 или 364.

[00397] В некоторых вариантах реализации, нуклеиновая кислота, содержащая ОРС, кодирующую ДНК-связывающий агент, гидируемый РНК, содержит последовательность, идентичную по меньшей мере на 90% SEQ ID NO: 381, в которой ОРС SEQ ID NO: 381 заменена ОРС любой из SEQ ID NO: 311-313, 328, 329, 346-348, 355, 356, 363 или 364.

[00398] В некоторых вариантах реализации, нуклеиновая кислота, содержащая ОРС, кодирующую ДНК-связывающий агент, гидируемый РНК, содержит последовательность, идентичную по меньшей мере на 90% SEQ ID NO: 382, в которой ОРС SEQ ID NO: 382 заменена ОРС любой из SEQ ID NO: 311-313, 328, 329, 346-348, 355, 356, 363 или 364.

[00399] В некоторых вариантах реализации, нуклеиновая кислота, содержащая ОРС, кодирующую ДНК-связывающий агент, гидируемый РНК, содержит последовательность, идентичную по меньшей мере на 90% SEQ ID NO: 383, в которой ОРС SEQ ID NO: 383 заменена ОРС любой из SEQ ID NO: 311-313, 328, 329, 346-348, 355, 356, 363 или 364.

[00400] В некоторых вариантах реализации, нуклеиновая кислота, содержащая ОРС, кодирующую ДНК-связывающий агент, гидируемый РНК, содержит последовательность, идентичную по меньшей мере на 90% SEQ ID NO: 384, в которой ОРС SEQ ID NO: 384 заменена ОРС любой из SEQ ID NO: 311-313, 328, 329, 346-348, 355, 356, 363 или 364.

[00401] В некоторых вариантах реализации, нуклеиновая кислота, содержащая ОРС, кодирующую ДНК-связывающий агент, гидируемый РНК, содержит последовательность, идентичную по меньшей мере на 90% SEQ ID NO: 385, в которой ОРС SEQ ID NO: 385 заменена ОРС любой из SEQ ID NO: 311-313, 328, 329, 346-348, 355, 356, 363 или 364.

[00402] В некоторых вариантах реализации, степень идентичности необязательно замещенных последовательностей SEQ ID NO: 243, 244, 256-261 или 376-385 составляет по меньшей мере 95%. В некоторых вариантах реализации, степень идентичности необязательно замещенных последовательностей SEQ ID NO: 243, 244, 256-261 или 376-385 составляет по меньшей мере 98%. В некоторых вариантах реализации, степень идентичности необязательно замещенных последовательностей SEQ ID NO: 243, 244, 256-261 или 176-385 составляет по меньшей мере 99%. В некоторых вариантах реализации, степень идентичности необязательно замещенных последовательностей SEQ ID NO: 243, 244, 256-261 или 376-385 составляет 100%.

4. Дополнительные характеристики нуклеиновых кислот, мРНК и ОРС

[00403] Любые из дополнительных функций, описанных в данном документе, могут быть объединены, насколько это возможно, с любым из вариантов реализации, описанных выше.

Низкое содержанием уридина

[00404] В некоторых вариантах реализации, ОРС, кодирующая ДНК-связывающий

некоторых вариантах реализации, ОРС имеет содержание уридиндинуклеотида, менее чем или равное около 104% от ее минимального содержания уридиндинуклеотида. В некоторых вариантах реализации, ОРС имеет содержание уридиндинуклеотида, менее чем или равное около 103% от ее минимального содержания уридиндинуклеотида. В некоторых вариантах реализации, ОРС имеет содержание уридиндинуклеотида, менее чем или равное около 102% от ее минимального содержания уридиндинуклеотида. В некоторых вариантах реализации, ОРС имеет содержание уридиндинуклеотида, менее чем или равное около 101% от ее минимального содержания уридиндинуклеотида.

[00406] В некоторых вариантах реализации, ОРС имеет содержание уридиндинуклеотида в диапазоне от минимального содержания уридиндинуклеотида до содержания уридиндинуклеотида, которое составляет 90% или ниже максимального содержания уридиндинуклеотида в эталонной последовательности, которая кодирует тот же белок, что и рассматриваемая мРНК. В некоторых вариантах реализации, содержание уридиндинуклеотида в ОРС менее чем или равное около 85%, 80%, 75%, 70%, 65%, 60%, 55%, 50%, 45%, 40%, 35%, 30%, 25%, 20%, 15%, 10% или 5% от максимального содержания уридиндинуклеотида в эталонной последовательности, которая кодирует тот же белок, что и рассматриваемая мРНК.

[00407] В некоторых вариантах реализации, ОРС имеет содержание уридинтринуклеотида в диапазоне от 0 уридинтринуклеотида до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40 или 50 уридинтринуклеотида (где a более длинный ряд уридинов учитывается как количество уникальных трехуридиновых сегментов в нем, например, уридинтетрануклеотид содержит два уридинтринуклеотида, уридинпентануклеотид содержит три уридинтринуклеотида и т.д.). В некоторых вариантах реализации ОРС имеет содержание уридинтринуклеотида в диапазоне от 0% уридинтринуклеотида до 0,1%, 0,2%, 0,3%, 0,4%, 0,5%, 0,6%, 0,7%, 0,8%, 0,9%, 1%, 1,5% или 2% уридинтринуклеотидов, где процентное содержание уридинтринуклеотидов рассчитывается как процент положений в последовательности, которые заняты уридинами, которые образуют часть уридинтринуклеотида (или более длинного ряда уридинов), так что последовательности UUUAAA и каждый UUUUAAAA будет содержать 50% уридинтринуклеотида. Например, в некоторых вариантах реализации, ОРС имеет содержание уридинтринуклеотида менее чем или равное 2%. Например, в некоторых вариантах реализации, ОРС имеет содержание уридинтринуклеотида менее чем или равное 1,5%. В некоторых вариантах реализации, ОРС имеет содержание уридинтринуклеотида менее чем или равное 1%. В некоторых вариантах реализации, ОРС имеет содержание уридинтринуклеотида менее чем или равное 0,9%. В некоторых вариантах реализации, ОРС имеет содержание уридинтринуклеотида менее чем или равное 0,8%. В некоторых вариантах реализации, ОРС имеет содержание уридинтринуклеотида менее чем или равное 0,7%. В некоторых вариантах реализации, ОРС имеет содержание уридинтринуклеотида менее чем или равное 0,6%. В некоторых вариантах реализации, ОРС имеет содержание уридинтринуклеотида менее чем или равное 0,5%. В некоторых вариантах реализации,

ОРС имеет содержание уридинтринуклеотида менее чем или равное 0,4%. В некоторых вариантах реализации, ОРС имеет содержание уридинтринуклеотида менее чем или равное 0,3%. В некоторых вариантах реализации, ОРС имеет содержание уридинтринуклеотида менее чем или равное 0,2%. В некоторых вариантах реализации, ОРС имеет содержание уридинтринуклеотида менее чем или равное 0,1%. В некоторых вариантах реализации, ОРС не содержит уридинтринуклеотидов.

[00408] В некоторых вариантах реализации, ОРС имеет содержание уридинтринуклеотида в диапазоне от минимального содержания уридинтринуклеотида до содержания уридинтринуклеотида, которое составляет 90% или ниже от максимального содержания уридинтринуклеотида в эталонной последовательности, которая кодирует тот же белок, что и рассматриваемая мРНК. В некоторых вариантах реализации, содержание уридинтринуклеотида в ОРС менее чем или равное около 85%, 80%, 75%, 70%, 65%, 60%, 55%, 50%, 45%, 40%, 35%, 30%, 25%, 20%, 15%, 10% или 5% от максимального содержания уридинтринуклеотида в эталонной последовательности, которая кодирует тот же белок, что и рассматриваемая мРНК.

[00409] Данная ОРС может быть уменьшена в содержании уридина или содержания уридинтринуклеотида или содержания уридинтринуклеотида, например, с использованием минимальных кодонов уридина в достаточной части ОРС. Например, аминокислотная последовательность ДНК-связывающего агента, гидрируемого РНК может быть обратно транслирована в последовательность ОРС путем преобразования аминокислот в кодоны, где некоторые или все ОРС используют типовые кодоны с минимальным содержанием уридина, показанные ниже. В некоторых вариантах реализации по меньшей мере около 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% кодонов в ОРС являются кодонами, перечисленными в Таблице 6.

Таблица 6. Примеры кодонов с минимальным содержанием уридина

	Аминокислота	Кодоны с минимальным содержанием уридина
A	Аланин	GCA или GCC или GCG
G	Глицин	GGA или GGC или GGG
V	Валин	GUC или GUA или GUG
D	Аспарагиновая кислота	GAC
E	Глютаминовая кислота	GAA или GAG
I	Изолейцин	AUC или AUA
T	Треонин	ACA или ACC или ACG
N	Аспарагин	AAC
K	Лизин	AAG или AAA
S	Серин	AGC
R	Аргинин	AGA или AGG

L	Лейцин	CUG или CUA или CUC
P	Пролин	CCG или CCA или CCC
H	Гистидин	CAC
Q	Глутамин	CAG или CAA
F	Фенилаланин	UUC
Y	Тирозин	UAC
C	Цистеин	UGC
W	Триптофан	UGG
M	Метионин	AUG

[00410] В некоторых вариантах реализации, OPC состоит из набора кодонов, из которых по меньшей мере около 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% кодонов являются кодонами, перечисленными в Таблице 6.

Низкое содержание аденина и уридина

[00411] Насколько это возможно, любые характеристики, описанные в данном документе в отношении низкого содержания аденина, могут быть объединены с любыми характеристиками, описанными в данном документе в отношении низкого содержания уридина. Например, может быть предоставлена нуклеиновая кислота (например, мРНК), которая кодирует ДНК-связывающий агент, гидрируемый РНК, например, нуклеаза Cas9, такая как *S. pyogenes* Cas9, содержащая OPC, имеющую содержание уридина в диапазоне от его минимального содержания уридина до около 150% от его минимального содержания уридина (например, содержание уридина в OPC менее чем или равное около 145%, 140%, 135%, 130%, 125%, 120%, 115%, 110%, 105%, 104%, 103%, 102% или 101% от его минимального содержания уридина) и содержание аденина в диапазоне от его минимального содержания аденина до около 150% его минимального содержания аденина (например, менее чем или равное около 145%, 140%, 135%, 130%, 125%, 120%, 115%, 110%, 105%, 104%, 103%, 102% или 101% от минимального содержания аденина). То же самое и с уридин- и адениндинуклеотидами. Точно так же содержание уридиннуклеотидов и адениндинуклеотидов в OPC может быть таким, как указано выше. Точно так же содержание уридиндинуклеотидов и адениннуклеотидов в OPC может быть таким, как указано выше.

[00412] Данная OPC может быть уменьшена в содержании уридиновых и адениновых нуклеотидов и/или динуклеотидов, например, с использованием кодонов с минимальным содержанием уридина и аденина в достаточной части OPC. Например, аминокислотная последовательность ДНК-связывающего агента, гидрируемого РНК может быть обратно транслирована в последовательность OPC путем преобразования аминокислот в кодоны, где некоторые или все OPC используют типовые кодоны с минимальным содержанием уридина и аденина, показанные ниже. В некоторых вариантах реализации по меньшей мере около 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%,

98%, 99% или 100% кодонов в ОРС являются кодонами, перечисленными в Таблице 7.

Таблица 7. Примеры кодонов с минимальным содержанием уридина и аденина

	Аминокислота	Кодоны с минимальным содержанием уридина
A	Аланин	GCC или GCG
G	Глицин	GGC или GGG
V	Валин	GUC или GUG
D	Аспарагиновая кислота	GAC
E	Глутаминовая кислота	GAG
I	Изолейцин	AUC
T	Треонин	ACC или ACG
N	Аспарагин	AAC
K	Лизин	AAG
S	Серин	AGC или UCC или UCG
R	Аргинин	CGC или CGG
L	Лейцин	CUG или CUC
P	Пролин	CCG или CCC
H	Гистидин	CAC
Q	Глутамин	CAG
F	Фенилаланин	UUC
Y	Тирозин	UAC
C	Цистеин	UGC
W	Триптофан	UGG
M	Метионин	AUG

[00413] В некоторых вариантах реализации, ОРС состоит из набора кодонов, из которых по меньшей мере около 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% кодонов являются кодонами, перечисленными в Таблице 7. Как можно видеть в Таблице 7, каждый из трех перечисленных сериновых кодонов содержит либо один А, либо один U. В некоторых вариантах реализации минимизация количества уридиновых кодонов является приоритетной за счет использования кодонов AGC для серина. В некоторых вариантах реализации минимизация количества адениновых кодонов является приоритетной за счет использования кодонов UCC и/или UCG для серина.

ДНК-связывающий агент, гидрируемый кодированной РНК

[00414] В некоторых вариантах реализации ДНК-связывающий агент, гидрируемый РНК, представляет собой нуклеазу Cas 2 класса. В некоторых вариантах реализации ДНК-

связывающий агент, гидрируемый РНК, обладает расщепляющей активностью, которую также можно назвать двухцепочечной эндонуклеазной активностью. В некоторых вариантах реализации ДНК-связывающий агент, гидрируемый РНК включает нуклеазу Cas, такую как нуклеаза Cas 2 класса (которая может быть, например, нуклеазой Cas типа II, V или VI). Нуклеазы Cas 2 класса включают, например, белки Cas9, Cpf1, C2c1, C2c2 и C2c3 и их модификации. Примеры нуклеаз Cas9 включают нуклеазы системы CRISPR типа II *S. pyogenes*, *S. aureus* и других прокариот (см., например, список в следующем абзаце) и их модифицированные (например, сконструированные или мутантные) версии. См., например, US2016/0312198 A1; US2016/0312199 A1. Другие примеры нуклеаз Cas включают комплекс Csm или Cmr системы CRISPR типа III или ее субъединицу Cas10, Csm1 или Cmr2; и каскадный комплекс системы CRISPR типа I или ее субъединицу Cas3. В некоторых вариантах реализации нуклеаза Cas может происходить из системы типа IIA, типа IIB или типа IIC. Для обсуждения различных систем CRISPR и нуклеаз Cas см., например, Makarova et al., *Nat. Rev. Microbiol.* 9:467-477 (2011); Makarova et al., *Nat. Rev. Microbiol.* 13: 722-36 (2015); Shmakov et al., *Molecular Cell*, 60:385-397 (2015). В некоторых вариантах реализации ДНК-связывающий агент, гидрируемый РНК, представляет собой расщепляющую Cas, например, расщепление Cas9. В некоторых вариантах реализации ДНК-связывающий агент, гидрируемый РНК, представляет собой нуклеазу Cas, например, нуклеазу Cas9. В некоторых вариантах реализации ДНК-связывающий агент, гидрируемый РНК, представляет собой нуклеазу Cas9 *S. pyogenes*, например, расщепление.

[00415] Неограничивающие иллюстративные виды, из которых может быть получена нуклеаза Cas, включают *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus thermophilus*, *Streptococcus sp.*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria innocua*, *Lactobacillus gasseri*, *Francisella novicida*, *Wolinella succinogenes*, *Sutterella wadsworthensis*, *Gammaproteobacterium*, *Neisseria meningitidis*, *Campylobacter jejuni*, *Pasteurella multocida*, *Fibrobacter succinogenes*, *Rhodospirillum rubrum*, *Nocardiopsis dassonvillei*, *Streptomyces pristinaespiralis*, *Streptomyces viridochromogenes*, *Streptomyces viridochromogenes*, *Streptosporangium roseum*, *Streptosporangium roseum*, *Alicyclobacillus acidocaldarius*, *Bacillus pseudomycooides*, *Bacillus selenitireducens*, *Exiguobacterium sibiricum*, *Lactobacillus delbrueckii*, *Lactobacillus salivarius*, *Lactobacillus buchneri*, *Treponema denticola*, *Microscilla marina*, *Burkholderiales bacterium*, *Polaromonas naphthalenivorans*, *Polaromonas sp.*, *Crocospaera watsonii*, *Cyanothece sp.*, *Microcystis aeruginosa*, *Synechococcus sp.*, *Acetohalobium arabaticum*, *Ammonifex degensii*, *Caldicelulosiruptor beccii*, *Candidatus Desulfurudis*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium difficile*, *Fingoldia magna*, *Natronaerobius thermophilus*, *Pelotomaculum thermopropionicum*, *Acidithiobacillus caldus*, *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Allochromatium vinosum*, *Marinobacter sp.*, *Nitrosococcus halophilus*, *Nitrosococcus watsoni*, *Pseudoalteromonas haloplanktis*, *Ktedonobacter racemifer*, *Methanohalobium evestigatum*, *Anabaena variabilis*, *Nodularia spumigena*, *Nostoc sp.*, *Arthrospira maxima*, *Arthrospira platensis*, *Arthrospira sp.*, *Lyngbya sp.*, *Microcoleus chthonoplastes*, *Oscillatoria sp.*, *Petrogona mobilis*, *Thermosiphon africanus*, *Streptococcus pasteurianus*, *Neisseria cinerea*, *Campylobacter*

lari, *Parvibaculum lavamentivorans*, *Corynebacterium diphtheria*, *Acidaminococcus* sp., *Lachnospiraceae* bacterium ND2006 и *Acaryochloris marina*.

[00416] В некоторых вариантах реализации нуклеаза Cas представляет собой нуклеазу Cas9 из *Streptococcus pyogenes*. В некоторых вариантах реализации нуклеаза Cas представляет собой нуклеазу Cas9 из *Streptococcus thermophilus*. В некоторых вариантах реализации нуклеаза Cas представляет собой нуклеазу Cas9 из *Neisseria meningitidis*. В некоторых вариантах реализации нуклеаза Cas представляет собой нуклеазу Cas9 из *Staphylococcus aureus*. В некоторых вариантах реализации нуклеаза Cas представляет собой нуклеазу Cpf1 из *Francisella novicida*. В некоторых вариантах реализации нуклеаза Cas представляет собой нуклеазу Cpf1 из *Acidaminococcus* sp. В некоторых вариантах реализации нуклеаза Cas представляет собой нуклеазу Cpf1 из бактерии *Lachnospiraceae* ND2006. В дополнительных вариантах реализации настоящего изобретения нуклеаза Cas представляет собой нуклеазу Cpf1 из *Francisella tularensis*, *Lachnospiraceae* bacterium, *Butyrivibrio proteoclasticus*, *Peregrinibacteria bacterium*, *Parcubacteria bacterium*, *Smithella*, *Acidaminococcus*, *Candidatus Methanoplasma termitum*, *Eubacterium eligens*, *Moraxella bovoculi*, *Leptospira inadai*, *Porphyromonas crevioricanis*, *Prevotella disiens* или *Porphyromonas macasaе*. В некоторых вариантах реализации нуклеаза Cas представляет собой нуклеазу Cpf1 из *Acidaminococcus* или *Lachnospiraceae*.

[00417] Cas9 дикого типа имеет два нуклеазных домена: RuvC и HNH. Домен RuvC расщепляет цепь ДНК, не являющуюся мишенью, а домен HNH расщепляет цепь ДНК-мишени. В некоторых вариантах реализации нуклеаза Cas9 содержит более одного домена RuvC и/или более одного домена HNH. В некоторых вариантах реализации нуклеаза Cas9 представляет собой Cas9 дикого типа. В некоторых вариантах реализации Cas9 способен индуцировать двухцепочечный разрыв в ДНК-мишени. В некоторых вариантах реализации нуклеаза Cas может расщеплять дцДНК, она может расщеплять одну цепь дцДНК или может не обладать ДНК-расщепляющей или никазой активностью. Примерная аминокислотная последовательность Cas9 представлена как SEQ ID NO: 203. Типовая последовательность ОРС мРНК Cas9, которая включает стартовый и стоп-кодены, представлена как SEQ ID NO: 311. Типовая кодирующая последовательность мРНК Cas9, подходящая для включения в слитый белок, представлена как SEQ ID NO: 346.

[00418] В некоторых вариантах реализации используются химерные нуклеазы Cas, в которых один домен или область белка заменяется частью другого белка. В некоторых вариантах реализации домен нуклеазы Cas может быть заменен доменом другой нуклеазы, такой как FokI. В некоторых вариантах реализации нуклеаза Cas может быть модифицированной нуклеазой.

[00419] В других вариантах реализации нуклеаза Cas может происходить из системы CRISPR/Cas типа I. В некоторых вариантах реализации нуклеаза Cas может быть компонентом комплекса Cascade системы CRISPR/Cas типа I. В некоторых вариантах реализации нуклеаза Cas может быть белком Cas3. В некоторых вариантах реализации

нуклеаза Cas может происходить из системы CRISPR/Cas типа III. В некоторых вариантах реализации нуклеаза Cas может обладать активностью расщепления РНК.

Гетерологичные функциональные домены; сигналы ядерной локализации

[00420] В некоторых вариантах реализации ДНК-связывающий агент, гидрируемый РНК, например, нуклеаза Cas9, такая как *S. pyogenes* Cas9, содержит один или более гетерологичных функциональных доменов (например, представляет собой или содержит слитый полипептид).

[00421] В некоторых вариантах реализации гетерологичный функциональный домен может способствовать транспорту ДНК-связывающего агента, гидрируемого РНК, например, нуклеазы Cas9, такой как *S. pyogenes* Cas9, в ядро клетки. Например, гетерологичный функциональный домен может быть сигналом ядерной локализации (NLS). В некоторых вариантах реализации ДНК-связывающий агент, гидрируемый РНК, может быть слит с 1-10 NLS. В некоторых вариантах реализации ДНК-связывающий агент, гидрируемый РНК, может быть слит с 1-5 NLS. В некоторых вариантах реализации ДНК-связывающий агент, гидрируемый РНК, может быть слит с одним NLS. Если используется один NLS, он может быть связан с N-концом или C-концом последовательности ДНК-связывающего агента, гидрируемого РНК. В некоторых вариантах реализации ДНК-связывающий агент, гидрируемый РНК, может быть слит на C-конце по меньшей мере с одним NLS. NLS также может быть вставлен в последовательность ДНК-связывающего агента, гидрируемого РНК. В других вариантах реализации ДНК-связывающий агент, гидрируемый РНК, может быть слит с более чем одним NLS. В некоторых вариантах реализации ДНК-связывающий агент, гидрируемый РНК, может быть слит с 2, 3, 4 или 5 NLS. В некоторых вариантах реализации ДНК-связывающий агент, гидрируемый РНК, может быть слит с двумя NLS. В определенных обстоятельствах два NLS могут быть одинаковыми (*например*, два SV40 NLS) или разными. В некоторых вариантах реализации ДНК-связывающий агент, гидрируемый РНК, слит с двумя последовательностями NLS SV40, связанными на карбокси-конце. В некоторых вариантах реализации ДНК-связывающий агент, гидрируемый РНК, может быть слит с двумя NLS, один связан с N-концом, а другой с C-концом. В некоторых вариантах реализации ДНК-связывающий агент, гидрируемый РНК, может быть слит с 3 NLS. В некоторых вариантах реализации ДНК-связывающий агент, гидрируемый РНК, может быть не слит ни с одним NLS. В некоторых вариантах реализации NLS может быть одночастной последовательностью, такой как, например, SV40 NLS, PKKKRKV (SEQ ID NO: 278) или PKKKRRV (SEQ ID NO: 290). В некоторых вариантах реализации NLS может представлять собой двучастную последовательность, такую как NLS нуклеоплазмина, KRPAATKKAGQAKKKK (SEQ ID NO: 291). В некоторых вариантах реализации последовательность NLS может содержать LAAKRSRTT (SEQ ID NO: 279), QAAKRSRTT (SEQ ID NO: 280), PAAKRRRTT (SEQ ID NO: 281), QAAKRPRTT (SEQ ID NO: 282), RAAKRPRTT (SEQ ID NO: 283), AAARKRSWSMAA (SEQ ID NO: 284), AAARKRVWSMAF (SEQ ID NO: 285), AAARKRSWSMAF (SEQ ID NO: 286),

AAAKRKYFAA (SEQ ID NO: 287), RAAKRKAFAA (SEQ ID NO: 288) или RAAKRKYFAV (SEQ ID NO: 289). В конкретном варианте реализации единственный PKKKRKV (SEQ ID NO: 278) NLS может быть связан на С-конце ДНК-связывающего агента, гидрируемого РНК. Один или более линкеров необязательно включены в сайт слияния. В некоторых вариантах реализации один или более NLS согласно любому из вышеперечисленных вариантов реализации присутствуют в ДНК-связывающем агенте, гидрируемым РНК в комбинации с одним или более дополнительными гетерологичными функциональными доменами, такими как любой из гетерологичных функциональных доменов, описанных ниже. Типичные кодирующие последовательности для NLS представлены как SEQ ID NO: 292-304.

[00422] В некоторых вариантах реализации гетерологичный функциональный домен может быть способен изменять внутриклеточный период полужизни ДНК-связывающего агента, гидрируемого РНК, например, нуклеаза Cas9, такая как Cas9 *S. pyogenes*. В некоторых вариантах реализации может быть увеличен период полужизни ДНК-связывающего агента, гидрируемого РНК. В некоторых вариантах реализации период полужизни ДНК-связывающего агента, гидрируемого РНК, может быть уменьшен. В некоторых вариантах реализации гетерологичный функциональный домен может быть способен повышать стабильность ДНК-связывающего агента, гидрируемого РНК. В некоторых вариантах реализации гетерологичный функциональный домен может снижать стабильность ДНК-связывающего агента, гидрируемого РНК. В некоторых вариантах реализации гетерологичный функциональный домен может действовать как сигнальный пептид для деградации белка. В некоторых вариантах реализации изобретения деградация белка может быть опосредована протеолитическими ферментами, такими как, например, протеасомы, протеазы лизосом или протеазы кальпаина. В некоторых вариантах реализации гетерологичный функциональный домен может содержать последовательность PEST. В некоторых вариантах реализации ДНК-связывающий агент, гидрируемый РНК, может быть модифицирован путем добавления убиквитина или полиубиквитиновой цепи. В некоторых вариантах реализации убиквитин может быть убиквитин-подобным белком (UBL). Неограничивающие примеры убиквитин-подобных белков включают небольшой убиквитин-подобный модификатор (SUMO), перекрестно-реактивный белок убиквитин (UCRP, также известный как интерферон-стимулированный ген-15 (ISG15)), убиквитин-связанный модификатор-1 (URM1), белок-8, экспрессируемый клетками-предшественниками нейронов (NEDD8, также называемый Rub1 в *S. cerevisiae*), лейкоцитарный F-связанный антиген человека (FAT10), белок аутофагии-8 (ATG8) и -12 (ATG12), убиквитин Fau-подобный белок (FUB1), закрепленный на мембране UBL (MUB), убиквитиновый модификатор-1 (UFM1) и убиквитин-подобный белок-5 (UBL5).

[00423] В некоторых вариантах реализации гетерологичный функциональный домен может быть маркерным доменом. Неограничивающие примеры маркерных доменов включают флуоресцентные белки, метки очистки, метки эпитопов и последовательности репортерных генов. В некоторых вариантах реализации маркерный домен может быть

флуоресцентным белком. Неограничивающие примеры подходящих флуоресцентных белков включают зеленые флуоресцентные белки (например, GFP, GFP-2, tagGFP, turboGFP, sfGFP, EGFP, Emerald, Azami Green, мономерный Azami Green, CopGFP, AceGFP, ZsGreen1), желтые флуоресцентные белки (например, YFP, EYFP, Citrine, Venus, YPet, PhiYFP, ZsYellow1), голубые флуоресцентные белки (например, EBFP, EBFP2, Azurite, mKalamal, GFPuv, Sapphire, T-sapphire,), циановые флуоресцентные белки (например, ECFP, Cerulean, CyPet, AmCyan1, Midoriishi-Cyan), красные флуоресцентные белки (например, mKate, mKate2, mPlum, мономер DsRed, mCherry, mRFP1, DsRed-Express, DsRed2, DsRed-Monomer, HcRed-Tandem, HcRed1, AsRed2, eqFP611, mRaspberry, mStrawberry, Jred) и оранжевые флуоресцентные белки (mOrange, mKO, Kusabira-Orange, Monomeric Kusabira-Orange, mTangerine, tdTomato) или любой другой подходящий флуоресцентный белок. В других вариантах реализации маркерный домен может быть тегом очистки и/или тегом эпитопа. Неограничивающие иллюстративные теги включают глутатион-S-трансферазу (GST), хитин-связывающий белок (CBP), мальтозосвязывающий белок (MBP), тиоредоксин (TRX), поли(NANP), тег тандемной аффинной очистки (TAP), myc, AcV5, AU1, AU5, E, ECS, E2, FLAG, HA, nus, Softag 1, Softag 3, Strep, SBP, Glu-Glu, HSV, KT3, S, S1, T7, V5, VSV-G, 6xHis, 8xHis, белок-носитель карбоксила биотина (BCCP), поли-His и кальмодулин. Неограничивающие иллюстративные репортерные гены включают глутатион-S-трансферазу (GST), пероксидазу хрена (HRP), хлорамфениколацетилтрансферазу (CAT), бета-галактозидазу, бета-глюкуронидазу, люциферазу или флуоресцентные белки.

[00424] В дополнительных вариантах реализации гетерологичный функциональный домен может нацеливать ДНК-связывающий агент, гидрируемый РНК, например, нуклеазу Cas9, такую как Cas9 *S. pyogenes*, на конкретную органеллу, тип клетки, ткань или орган. В некоторых вариантах реализации гетерологичный функциональный домен может нацеливать ДНК-связывающий агент, гидрируемый РНК на митохондрии.

[00425] В дополнительных вариантах реализации гетерологичный функциональный домен может быть эффекторным доменом. Когда ДНК-связывающий агент, гидрируемый РНК направлен на свою последовательность-мишень, *например*, когда нуклеаза Cas направлена на последовательность-мишень с помощью гРНК, эффекторный домен может модифицировать или влиять на последовательность-мишень. В некоторых вариантах реализации эффекторный домен может быть выбран из домена связывания нуклеиновой кислоты, домена нуклеазы (например, домена нуклеазы, отличного от Cas), домена эпигенетической модификации, домена активации транскрипции или домена репрессора транскрипции. В некоторых вариантах реализации гетерологичный функциональный домен представляет собой нуклеазу, такую как нуклеаза FokI. См., например, патент США No. № 9023649. В некоторых вариантах реализации гетерологичный функциональный домен представляет собой активатор или репрессор транскрипции. См., например, Qi et al., "Repurposing CRISPR as an RNA-guided platform for

sequence-specific control of gene expression,” *Cell* 152:1173-83 (2013); Perez-Pinera et al., “RNA-guided gene activation by CRISPR-Cas9-based transcription factors,” *Nat. Methods* 10:973-6 (2013); Mali et al., “CAS9 transcriptional activators for target specificity screening and paired nickases for cooperative genome engineering,” *Nat. Biotechnol.* 31:833-8 (2013); Gilbert et al., “CRISPR-mediated modular RNA-guided regulation of transcription in eukaryotes,” *Cell* 154:442-51 (2013). Таким образом, ДНК-связывающий агент, гидрируемый РНК по существу становится фактором транскрипции, который может быть направлен на связывание желаемой целевой последовательности с применением гидовой РНК. В некоторых вариантах реализации доменов модификации ДНК представляет собой домен метилирования, такой как домен деметилирования или домен метилтрансферазы. В некоторых вариантах реализации эффекторный домен представляет собой домен модификации ДНК, такой как домен редактирования основания. В конкретных вариантах реализации доменов модификации ДНК представляет собой домен редактирования нуклеиновой кислоты, который вводит конкретную модификацию в ДНК, такой как домен дезаминазы. См., например, WO 2015/089406; US 2016/0304846. Домены редактирования нуклеиновых кислот, домены дезаминаз и варианты Cas9, описанные в WO 2015/089406 и US 2016/0304846, включены в данный документ посредством ссылки.

UTR; Последовательности Козак

[00426] В некоторых вариантах реализации полинуклеотид (например, мРНК) содержит 5' UTR, 3' UTR или 5' и 3' UTR. В некоторых вариантах реализации полинуклеотид (например, мРНК) содержит по меньшей мере один UTR из гидроксистероид 17-бета-дегидрогеназы 4 (HSD17B4 или HSD), например 5' UTR из HSD. В некоторых вариантах реализации полинуклеотид (например, мРНК) содержит по меньшей мере одну UTR из мРНК глобина, например, мРНК альфа-глобина человека (HBA), мРНК бета-глобина человека (HBB) или мРНК бета-глобина *Xenopus laevis* (XBG). В некоторых вариантах реализации полинуклеотид (например, мРНК) содержит 5' UTR, 3' UTR или 5' и 3' UTR из мРНК глобина, такого как HBA, HBB или XBG. В некоторых вариантах реализации полинуклеотид (например, мРНК) содержит 5' UTR от бычьего гормона роста, цитомегаловируса (CMV), Hba-a1 мыши, HSD, гена альбумина, HBA, HBB или XBG. В некоторых вариантах реализации полинуклеотид (например, мРНК) содержит 3'-UTR из бычьего гормона роста, цитомегаловируса, Hba-a1 мыши, HSD, гена альбумина, HBA, HBB или XBG. В некоторых вариантах реализации полинуклеотид (например, мРНК) содержит 5' и 3' UTR из бычьего гормона роста, цитомегаловируса, Hba-a1 мыши, HSD, гена альбумина, HBA, HBB, XBG, белка теплового шока 90 (Hsp90), глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы. (GAPDH), бета-актина, альфа-тубулина, опухолевого белка (p53) или рецептора эпидермального фактора роста (EGFR).

[00427] В некоторых вариантах реализации полинуклеотид (например, мРНК) содержит 5' и 3' UTR из одного источника, например, конститутивно экспрессируемую мРНК, такую как мРНК актина, альбумина, или глобина, такого как HBA, HBB или XBG.

[00428] В некоторых вариантах реализации нуклеиновая кислота, раскрытая в данном документе, содержит 5' UTR идентичную по меньшей мере на 90% любой из SEQ ID NO: 232, 234, 236, 238, 241 или 275-277. В некоторых вариантах реализации нуклеиновая кислота, раскрытая в данном документе, содержит 3' UTR идентичную по меньшей мере на 90% любой из SEQ ID NO: 233, 235, 237, 239 или 240. В некоторых вариантах реализации любой из вышеуказанных уровней идентичности составляет по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%. В некоторых вариантах реализации нуклеиновая кислота, раскрытая в данном документе, содержит 5' UTR, имеющую последовательность любой из SEQ ID NO: 232, 234, 236, 238 или 241. В некоторых вариантах реализации нуклеиновая кислота, раскрытая в данном документе, содержит 3' UTR, имеющую последовательность любой из SEQ ID NO: 233, 235, 237, 239 или 240.

[00429] В некоторых вариантах реализации полинуклеотид (например, мРНК) не содержит 5'-UTR, например, нет дополнительных нуклеотидов между 5'-кэпом и стартовым кодоном. В некоторых вариантах реализации полинуклеотид (например, мРНК) содержит последовательность Козак (описанную ниже) между 5'-кэпом и стартовым кодоном, но не имеет каких-либо дополнительных 5'-UTR. В некоторых вариантах реализации полинуклеотид (например, мРНК) не содержит 3'-UTR, например, нет дополнительных нуклеотидов между стоп-кодоном и поли-А-хвостом.

[00430] В некоторых вариантах реализации полинуклеотид (например, мРНК) содержит последовательность Козак. Последовательность Козак может влиять на инициацию трансляции и общий выход полипептида, транслируемого с нуклеиновой кислоты. Последовательность Козак включает кодон метионина, который может функционировать как стартовый кодон. Минимальная последовательность Козак представляет собой NNNRUGN, где верно по крайней мере одно из следующего: первый N представляет собой A или G, а второй N представляет собой G. В контексте нуклеотидной последовательности R означает пурин (A или G). В некоторых вариантах реализации последовательность Козак представляет собой RNNRUGN, NNNRUGG, RNNRUGG, RNNAUGN, NNNAUGG или RNNAUGG. В некоторых вариантах реализации последовательность Козак представляет собой gccRUGg с нулевым несовпадением или с одним или двумя несовпадениями в положениях в нижнем регистре. В некоторых вариантах реализации последовательность Козак представляет собой gccAUGg с нулевым несовпадением или с одним или двумя несовпадениями в положениях в нижнем регистре. В некоторых вариантах реализации последовательность Козак представляет собой gccRccAUGG (нуклеотиды 4-13 SEQ ID NO: 305) с нулевым количеством несовпадений или с одним, двумя или тремя несовпадениями относительно положений в нижнем регистре. В некоторых вариантах реализации последовательность Козак представляет собой gccAccAUG с нулевым несоответствием или с одним, двумя, тремя или четырьмя несоответствиями положениям в нижнем регистре. В некоторых вариантах реализации последовательность Козак представляет собой GCCACCAUG. В некоторых вариантах

реализации последовательность Козак представляет собой gccgccRccAUGG (SEQ ID NO: 305) с нулевым несоответствием или с одним, двумя, тремя или четырьмя несоответствиями положениям в нижнем регистре.

Поли-А хвост

[00431] В некоторых вариантах реализации полинуклеотид (например, мРНК) дополнительно содержит полиаденилированный (поли-А) хвост. В некоторых случаях поли-А-хвост «прерывается» одним или более неадениновыми нуклеотидными «якорями» в одном или более местах внутри поли-А-хвоста. Поли-А-хвосты могут содержать по меньшей мере 8 последовательных адениновых нуклеотидов, но также могут содержать один или более неадениновых нуклеотидов. Используемый в данном документе термин «неадениновые нуклеотиды» относится к любым природным или неприродным нуклеотидам, которые не содержат аденин. Гуанин, тимин и цитозин являются типичными неадениновыми нуклеотидами. Таким образом, поли-А-хвосты на полинуклеотиде (например, мРНК), описанной в данном документе, могут содержать последовательные нуклеотиды аденина, расположенные от 3' до нуклеотидов, кодирующих ДНК-связывающий, гидрируемый РНК агент или интересующую последовательность. В некоторых случаях поли-А-хвосты на мРНК содержат непоследовательные адениновые нуклеотиды, расположенные 3' от нуклеотидов, кодирующих ДНК-связывающий агент, гидрируемый РНК или интересующую последовательность, где неадениновые нуклеотиды прерывают адениновые нуклеотиды через регулярные или нерегулярные интервалы.

[00432] В некоторых вариантах реализации поли-А-хвост кодируется в плазмиде, используемой для транскрипции мРНК *in vitro*, и становится частью транскрипта. Последовательность поли-А, кодируемая в плазмиде, то есть количество последовательных нуклеотидов аденина в последовательности поли-А, может быть неточным, например, последовательность 100 поли-А в плазмиде может не дать точно 100 поли-А-последовательность транскрибируемой мРНК. В некоторых вариантах реализации поли-А-хвост не кодируется в плазмиде и добавляется с помощью ПЦР или ферментативно, например, с применением поли(А) полимеразы *E. coli*.

[00433] В некоторых вариантах реализации один или более неадениновых нуклеотидов расположены так, чтобы прерывать последовательные нуклеотиды аденина, так что поли(А) связывающий белок может связываться с отрезком последовательных нуклеотидов аденина. В некоторых вариантах реализации один или более неадениновых нуклеотидов расположены по меньшей мере после 8, 9, 10, 11 или 12 последовательных нуклеотидов аденина. В некоторых вариантах реализации один или более неадениновых нуклеотидов расположены по меньшей мере после 8-50 последовательных адениновых нуклеотидов. В некоторых вариантах реализации один или более неадениновых нуклеотидов расположены по меньшей мере после 8-100 последовательных адениновых нуклеотидов. В некоторых вариантах реализации неадениновый нуклеотид находится после одного, двух, трех, четырех, пяти, шести или семи адениновых нуклеотидов и сопровождается по меньшей мере 8 последовательными адениновыми нуклеотидами.

[00434] Поли-А-хвост по настоящему раскрытию может содержать одну последовательность последовательных нуклеотидов аденина, за которой следует один или более неадениновых нуклеотидов, необязательно за которыми следуют дополнительные адениновые нуклеотиды.

[00435] В некоторых вариантах реализации поли-А-хвост включает или содержит один неадениновый нуклеотид или один последовательный участок из 2-10 неадениновых нуклеотидов. В некоторых вариантах реализации неадениновый нуклеотид(ы) расположен по меньшей мере после 8, 9, 10, 11 или 12 последовательных адениновых нуклеотидов. В некоторых случаях один или более неадениновых нуклеотидов расположены по меньшей мере после 8-50 последовательных адениновых нуклеотидов. В некоторых вариантах реализации один или более неадениновых нуклеотидов расположены по меньшей мере после 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49 или 50 последовательных адениновых нуклеотидов.

[00436] В некоторых вариантах реализации неадениновый нуклеотид представляет собой гуанин, цитозин или тимин. В некоторых случаях неадениновый нуклеотид представляет собой гуаниновый нуклеотид. В некоторых вариантах реализации неадениновый нуклеотид представляет собой цитозиновый нуклеотид. В некоторых вариантах реализации неадениновый нуклеотид представляет собой тиминовый нуклеотид. В некоторых случаях, когда присутствует более одного неаденинового нуклеотида, неадениновый нуклеотид может быть выбран из: а) гуанина и тимина; б) гуанина и цитозина; с) тимина и цитозина; или d) гуанина, тимина и цитозина. Типичный поли-А-хвост, содержащий неадениновые нуклеотиды, представлен как SEQ ID NO: 262.

Модифицированные нуклеотиды

[00437] В некоторых вариантах реализации нуклеиновая кислота, содержащая ОРС, кодирующую ДНК-связывающий агент, гидрируемый РНК, содержит модифицированный уридин в некоторых или во всех положениях уридина. В некоторых вариантах реализации модифицированный уридин представляет собой уридин, модифицированный в положении 5, например, галогеном или С1-С3 алкокси. В некоторых вариантах реализации модифицированный уридин представляет собой псевдоуридин, модифицированный в положении 1, например, С1-С3-алкилом. Модифицированный уридин может представлять собой, например, псевдоуридин, N1-метил-псевдоуридин, 5-метоксиуридин, 5-йодуридин или их комбинацию. В некоторых вариантах реализации модифицированный уридин представляет собой 5-метоксиуридин. В некоторых вариантах реализации модифицированный уридин представляет собой 5-йодуридин. В некоторых вариантах реализации модифицированный уридин представляет собой псевдоуридин. В некоторых вариантах реализации модифицированный уридин представляет собой N1-метил-псевдоуридин. В некоторых вариантах реализации модифицированный уридин представляет собой комбинацию псевдоуридина и N1-метил-псевдоуридина. В некоторых вариантах реализации модифицированный уридин

представляет собой комбинацию псевдоуридина и 5-метоксиуридина. В некоторых вариантах реализации модифицированный уридин представляет собой комбинацию N1-метил псевдоуридина и 5-метоксиуридина. В некоторых вариантах реализации модифицированный уридин представляет собой комбинацию 5-йодуридина и N1-метилпсевдоуридина. В некоторых вариантах реализации модифицированный уридин представляет собой комбинацию псевдоуридина и 5-йодуридина. В некоторых вариантах реализации модифицированный уридин представляет собой комбинацию 5-йодуридина и 5-метоксиуридина.

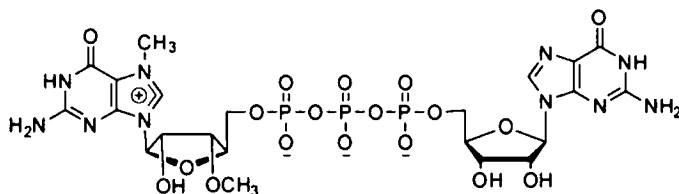
[00438] В некоторых вариантах реализации по меньшей мере 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% положений уридина в нуклеиновой кислоте представляют собой модифицированные уридины. В некоторых вариантах реализации 10-25%, 15-25%, 25-35%, 35-45%, 45-55%, 55-65%, 65-75%, 75-85%, 85-95%, или 90-100% положений уридина в нуклеиновой кислоте представляют собой модифицированные уридины, например, 5-метоксиуридин, 5-йодуридин, N1-метил псевдоуридин, псевдоуридин или их комбинацию. В некоторых вариантах реализации 10-25%, 15-25%, 25-35%, 35-45%, 45-55%, 55-65%, 65-75%, 75-85%, 85-95%, или 90-100% положений уридина в нуклеиновой кислоте представляют собой 5-метоксиуридин. В некоторых вариантах реализации 10-25%, 15-25%, 25-35%, 35-45%, 45-55%, 55-65%, 65-75%, 75-85%, 85-95%, или 90-100% положений уридина в нуклеиновой кислоте представляют собой псевдоуридин. В некоторых вариантах реализации 10-25%, 15-25%, 25-35%, 35-45%, 45-55%, 55-65%, 65-75%, 75-85%, 85-95%, или 90-100% положений уридина в нуклеиновой кислоте представляют собой N1-метил псевдоуридин. В некоторых вариантах реализации 10-25%, 15-25%, 25-35%, 35-45%, 45-55%, 55-65%, 65-75%, 75-85%, 85-95%, или 90-100% положений уридина в нуклеиновой кислоте представляют собой 5-йодуридин. В некоторых вариантах реализации 10-25%, 15-25%, 25-35%, 35-45%, 45-55%, 55-65%, 65-75%, 75-85%, 85-95%, или 90-100% положений уридина в нуклеиновой кислоте представляют собой 5-метоксиуридин, а остальные представляют собой N1-метил псевдоуридин. В некоторых вариантах реализации 10-25%, 15-25%, 25-35%, 35-45%, 45-55%, 55-65%, 65-75%, 75-85%, 85-95%, или 90-100% положений уридина в нуклеиновой кислоте представляют собой 5-йодуридин, а остальные представляют собой N1-метил псевдоуридин.

5' Кэп

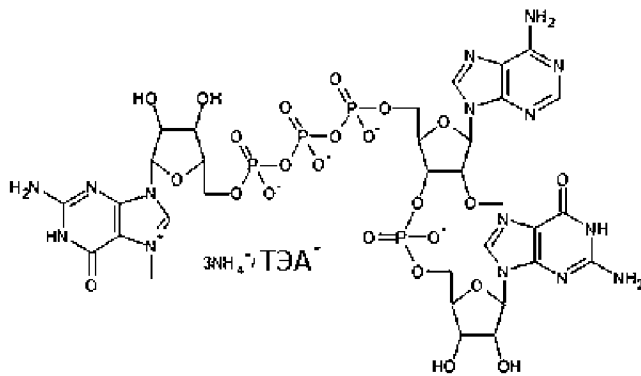
[00439] В некоторых вариантах реализации нуклеиновая кислота (например, мРНК), содержащая ОРС, кодирующая ДНК-связывающий агент, гидрируемый РНК, содержит 5' кэп, такой как Cap0, Cap1 или Cap2. 5'-кэп обычно представляет собой 7-метилгуанин-рибонуклеотид (который может быть дополнительно модифицирован, как обсуждается ниже, например, в отношении ARCA), связанный через 5'-трифосфат с 5'-положением первого нуклеотида 5'-к-3'-цепи нуклеиновой кислоты, т.е. первый кэп-проксимальный нуклеотид. В Cap0 рибозы первого и второго кэп-проксимальных нуклеотидов мРНК содержат 2'-гидроксил. В Cap1 рибозы первого и второго

транскрибируемых нуклеотидов мРНК содержат 2'-метокси и 2'-гидроксил, соответственно. В Cap2 рибозы первого и второго кэп-проксимальных нуклеотидов мРНК содержат 2'-метокси. См., например, Katibah et al. (2014) Proc Natl Acad Sci USA 111(33):12025-30; Abbas et al. (2017) Proc Natl Acad Sci USA 114(11):E2106-E2115. Большинство эндогенных мРНК высших эукариот, включая нуклеиновые кислоты млекопитающих, такие как нуклеиновые кислоты человека, содержат Cap1 или Cap2. Cap0 и другие структуры cap, отличные от Cap1 и Cap2, могут быть иммуногенными у млекопитающих, таких как люди, из-за распознавания как «чужого» компонентами врожденной иммунной системы, такими как IFIT-1 и IFIT-5, что может привести к повышенному уровню цитокинов, включая интерферон I типа. Компоненты врожденной иммунной системы, такие как IFIT-1 и IFIT-5, также могут конкурировать с eIF4E за связывание нуклеиновой кислоты с кэпом, отличным от Cap1 или Cap2, потенциально ингибируя трансляцию мРНК.

[00440] Кэп может быть включен в РНК ко-транскрипционно. Например, ARCA (аналог антиреверсивного кэпа; Thermo Fisher Scientific Cat. № AM8045) представляет собой аналог кэпа, содержащий 7-метилгуанин-3'-метокси-5'-трифосфат, связанный с 5'-положением гуанин-рибонуклеотида, который может быть включен *in vitro* в транскрипт при инициации. ARCA приводит к Cap0, в котором 2'-положение первого кэп-проксимального нуклеотида является гидроксилом. См., например, Stepinski et al., (2001) "Synthesis and properties of mRNAs containing the novel 'anti-reverse' cap analogs 7-methyl(3'-O-methyl)GpppG and 7-methyl(3' deoxy)GpppG," RNA 7: 1486-1495. Структура ARCA показана ниже.



[00441] CleanCap™ AG (m7G(5')ppp(5')(2'OMeA)pG; TriLink Biotechnologies кат. № N-7113) или CleanCap™ GG (m7G(5')ppp(5')(2'OMeG)pG; TriLink Biotechnologies кат. № N-7133) может быть использован для котранскрипции структуры Cap1. 3'-О-метилованные версии CleanCap™ AG и CleanCap™ GG также доступны от TriLink Biotechnologies как кат. № N-7413 и N-7433, соответственно. Структура CleanCap™ AG показана ниже. Структуры CleanCap™ иногда упоминаются в данном документе с применением последних трех цифр каталожных номеров, перечисленных выше (например, «CleanCap™ 113» для TriLink Biotechnologies кат. № N-7113).



[00442] Альтернативно кэп может быть добавлен к РНК посттранскрипционно. Например, кэп фермент осповакцины коммерчески доступен (New England Biolabs кат. № M2080S) и обладает активностью РНК-трифосфатазы и гуанилилтрансферазы, обеспечиваемой ее субъединицей D1, и гуанинметилтрансферазой, обеспечиваемой ее субъединицей D12. Таким образом, он может добавлять 7-метилгуанин к РНК с образованием Cap0 в присутствии S-аденозилметионина и ГТФ. См., например, Guo, P. и Moss, B. (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87, 4023-4027; Mao, X. и Shuman, S. (1994) J. Biol. Chem. 269, 24472-24479. Дополнительное обсуждение кэпов и подходов к кэпированию см., например, в WO2017/053297 и Ishikawa et al., Nucl. Acids. Symp. Ser. (2009) No. 53, 129-130.

Определение эффективности РНК

[00443] В некоторых вариантах реализации эффективность гРНК определяется при доставке вместе с другими компонентами, например, нуклеиновой кислотой, кодирующей ДНК-связывающий агент, гидрируемый РНК, такой как любой из описанных в данном документе. В некоторых вариантах реализации определяется эффективность комбинации гРНК и нуклеиновой кислоты, кодирующей ДНК-связывающий агент, гидрируемый РНК.

[00444] Как описано в данном документе, использование ДНК нуклеазы, гидрируемой РНК и гидовой РНК, раскрытых в данном документе, может приводить к двухцепочечным разрывам в ДНК, которые могут приводить к ошибкам в виде мутаций вставок/делеций (инсерций) при репарации клеточным механизмом. Многие мутации из-за инсерционно-делеционных мутаций изменяют рамку считывания или вводят преждевременные стоп-кодона и, следовательно, производят нефункциональный белок.

[00445] В некоторых вариантах реализации эффективность конкретных гРНК или комбинаций определяется на основе моделей *in vitro*. В некоторых вариантах реализации модель *in vitro* представляет собой клетки НЕК293. В некоторых вариантах реализации модель *in vitro* представляет собой клетки гепатокарциномы человека HUH7. В некоторых вариантах реализации модель *in vitro* представляет собой клетки HepG2. В некоторых вариантах реализации модель *in vitro* представляет собой первичные гепатоциты человека. В некоторых вариантах реализации модель *in vitro* представляет собой первичные гепатоциты яванского макака. Что касается использования первичных гепатоцитов человека, можно использовать коммерчески доступные первичные гепатоциты человека для обеспечения большей согласованности между экспериментами. В некоторых

вариантах реализации количество нецелевых сайтов, в которых происходит делеция или вставка, в модели *in vitro* (например, в первичных гепатоцитах человека) определяется, например, путем анализа геномной ДНК из первичных гепатоцитов человека, трансфицированных *in vitro* мРНК Cas9 и гидовой РНК. В некоторых вариантах реализации такое определение включает анализ геномной ДНК из первичных гепатоцитов человека, трансфицированных *in vitro* мРНК Cas9, гидовой РНК и донорного олигонуклеотида. Примерные процедуры для таких определений представлены в рабочих примерах ниже.

[00446] В некоторых вариантах реализации эффективность конкретных гРНК или комбинаций определяется на множестве моделей клеток *in vitro* для процесса отбора гРНК. В некоторых вариантах реализации выполняется сравнение данных клеточной линии с выбранными гРНК. В некоторых вариантах реализации выполняется перекрестный скрининг на нескольких моделях клеток.

[00447] В некоторых вариантах реализации эффективность конкретных гРНК или комбинаций определяется на основе моделей *in vivo*. В некоторых вариантах реализации модель *in vivo* представляет собой модель грызуна. В некоторых вариантах реализации модель грызуна представляет собой мышь, которая экспрессирует ген *TTR человека*, который может быть мутантным геном *TTR человека*. В некоторых вариантах реализации модель *in vivo* представляет собой модель примата, не являющийся человеком, например, яванского макака.

[00448] В некоторых вариантах реализации эффективность гидовой РНК или комбинации измеряется процентным редактированием *TTR*. В некоторых вариантах реализации процент редактирования *TTR* сравнивается с процентом редактирования, необходимым для достижения нокдауна белка *TTR*, например, в среде для культивирования клеток в случае модели *in vitro* или в сыворотке или ткани в случае модели *in vivo*.

[00449] В некоторых вариантах реализации эффективность гидовой РНК или комбинации измеряется количеством и/или частотой инсерционно-делеционных мутаций на нецелевых последовательностях в геноме целевого типа клетки. В некоторых вариантах реализации представлены эффективные гидующие РНК и комбинации, которые продуцируют инсерционно-делеционные мутации на сайтах-мишенях с очень низкими частотами (например, <5%) в популяции клеток и/или относительно частоты создания инсерционно-делеционных мутаций на целевом сайте. Таким образом, в описании предложены гидовые РНК, которые не проявляют образования инсерционно-делеционных мутаций на нецелевых последовательностях в геноме целевого типа клетки (например, гепатоцит) или которые вызывают частоту образования инсерционно-делеционных мутаций на нецелевых последовательностях в геноме целевого типа клетки <5% и/или относительно частоты образования инсерционно-делеционных мутаций в целевом сайте. В некоторых вариантах реализации в описании предложены гидующие РНК и комбинации, которые не проявляют образования каких-либо образований инсерционно-

делеционных мутаций на нецелевых последовательностях в геноме целевого типа клетки (например, гепатоцитах). В некоторых вариантах реализации предложены гидовые РНК и комбинации, которые образуют инсерционно-делеционные мутации на менее чем 5 нецелевых последовательностях в геноме целевого типа клетки, например, при оценке одним или более способами, описанными в данном документе. В некоторых вариантах реализации предложены гидирующие РНК и комбинации, которые производят инделки на менее чем или равном 4, 3, 2 или 1 нецелевых последовательностях в геноме целевого типа клетки, например, при оценке одним или более способами, описанными в данном документе. В некоторых вариантах реализации нецелевой сайт (сайты) не встречается в кодирующей белок области в геноме целевого типа клетки (например, гепатоцита).

[00450] В некоторых вариантах реализации изобретения для обнаружения событий редактирования генов, таких как образование вставок/делеций («инсерция») мутаций и событий гомологически направленной репарации (HDR) в целевой ДНК, используют линейную амплификацию с меченым праймером и выделение меченых продуктов амплификации (в данном документе ниже называемый методом «LAM-PCR» или «линейной амплификации (LA)»), как описано в WO2018/067447 или Schmidt et al., *Nature Methods* 4: 1051-1057 (2007).

[00451] В некоторых вариантах реализации изобретения для обнаружения событий редактирования генов, таких как образование вставок/делеций («инсерция») мутаций и событий гомологически направленной репарации (HDR) в целевой ДНК, дополнительно включает секвенирование линейных амплифицированных продуктов или дополнительно амплифицированных продуктов. Секвенирование может включать любой метод, известный специалистам в данной области техники, включая секвенирование следующего поколения и клонирование продуктов линейной амплификации или дополнительных продуктов амплификации в плазмиду и секвенирование плазмиды или части плазмиды. Примеры способов секвенирования следующего поколения обсуждаются, например, в Shendure et al., *Nature* 26: 1135-1145 (2008). В других аспектах обнаружение событий редактирования генов, таких как образование мутаций вставки/удаления («инсерционно-делеционных мутаций») и событий гомологически направленной репарации (HDR) в целевой ДНК, дополнительно включает выполнение цифровой ПЦР (dPCR) или капельной цифровой ПЦР (ddPCR) на линейных амплифицированных продуктах или дополнительных амплифицированных продуктах, или приведение в контакт амплифицированных продуктов или дополнительных амплифицированных продуктов с зондом нуклеиновой кислоты, предназначенным для идентификации ДНК, содержащей матричную последовательность HDR, и обнаружения зондов, которые связались с линейным амплифицированным продуктом(ами) или дополнительно амплифицированным продуктом(ами). В некоторых вариантах реализации способ дополнительно включает определение местоположения матрицы HDR в целевой ДНК.

[00452] В некоторых вариантах реализации способ дополнительно включает определение последовательности сайта вставки в целевой ДНК, где сайт вставки

представляет собой место, где матрица HDR включается в целевую ДНК, и где сайт вставки может включать некоторую последовательность целевой ДНК и некоторую последовательность матрицы HDR.

[00453] В некоторых вариантах реализации эффективность геновой РНК или комбинации измеряется секрецией TTR. В некоторых вариантах реализации секреция TTR измеряется с использованием твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) со средой для культивирования клеток или сывороткой. В некоторых вариантах реализации секреция TTR измеряется в тех же системах или моделях *in vitro* или *in vivo*, которые используются для измерения редактирования. В некоторых вариантах реализации секреция TTR измеряется в первичных гепатоцитах человека. В некоторых вариантах реализации секреция TTR измеряется в клетках HUH7. В некоторых вариантах реализации секреция TTR измеряется в клетках HepG2.

[00454] Анализы ИФА обычно известны специалистам в данной области техники и могут быть разработаны для определения уровней TTR в сыворотке. В одном варианте реализации собирают кровь и выделяют сыворотку. Общие уровни TTR в сыворотке могут быть определены с использованием набора ИФА для преальбумина мыши (транстиретина) (Aviva Systems Biology, Cat. OKIA00111) или аналогичного набора для измерения TTR человека. Если набора нет, можно разработать ИФА с использованием планшетов, которые предварительно покрыты захватывающими антителами, специфичными для измеряемого TTR. Затем планшет инкубируют при комнатной температуре в течение определенного периода времени перед промывкой. Добавляют конъюгат фермент-антитело к TTR и инкубируют. Несвязанный конъюгат антитела удаляют и планшет промывают перед добавлением раствора хромогенного субстрата, который вступает в реакцию с ферментом. Планшет считывается на подходящем устройстве для чтения планшетов при поглощении, специфичном для используемых ферментов и субстрата.

[00455] В некоторых вариантах реализации количество TTR в клетках (включая клетки из ткани) измеряет эффективность гРНК или комбинации. В некоторых вариантах реализации количество TTR в клетках измеряется с помощью вестерн-блоттинга. В некоторых вариантах реализации используемая клетка представляет собой клетки HUH7. В некоторых вариантах реализации используемая клетка представляет собой первичный гепатоцит человека. В некоторых вариантах реализации используемая клетка представляет собой первичную клетку, полученную от животного. В некоторых вариантах реализации количество TTR сравнивается с количеством глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы GAPDH (конститутивный ген) для контроля изменений числа клеток.

Составы LNP и лечение ATTR

[00456] В некоторых вариантах реализации предложен способ индукции двухпочечного разрыва (ДЦР) в гене TTR, включающий введение композиции, содержащей описанную в данном документе геновую РНК, например, содержащую

любую одну или более гидовых последовательностей SEQ ID NO: 5-82, или любую одну или более sgPНК SEQ ID NO: 87-124. В некоторых вариантах реализации гPНК, содержащие любую одну или более гидовых последовательностей SEQ ID NO: 5-82 вводят для индукции ДЦР в гене TTR. Гидовая PНК вводится вместе с нуклеиновой кислотой (например, мPНК) или вектором, описанным в данном документе, кодирующим ДНК нуклеазу, гидируемую PНК, такую как нуклеаза Cas (например, Cas9). ДНК нуклеаза, гидируемая PНК может быть Cas9 *S. pyogenes*. В конкретных вариантах реализации гидовая PНК химически модифицирована. В некоторых вариантах реализации гидовая PНК и нуклеиновая кислота, кодирующая ДНК нуклеазу, гидируемую PНК, вводятся в LNP, описанном в данном документе, таком как LNP, включающий липид CCD (например, аминовый липид, такой как липид A), вспомогательный липид (например, холестерин), скрытый липид (например, липид ПЭГ, такой как ПЭГ2k-DMG) и необязательно нейтральный липид (например, DSPC).

[00457] В некоторых вариантах реализации предложен способ индукции двухцепочечного разрыва (ДЦР) в гене TTR, включающий введение композиции, содержащей гидовую PНК, такую как химически модифицированная гидовая PНК, содержащая любую одну или более гидовых последовательностей SEQ ID NO: 5-72, 74-78 и 80-82, или любую одну или более sgPНК SEQ ID NO: 87-113, 115-120 и 122-124. В некоторых вариантах реализации любая одну или более sgPНК SEQ ID NO: 87-113, 115-120 и 122-124 или гPНК, содержащих любую одну или более гидовых последовательностей SEQ ID NO: 5-72, 74-78 и 80-82 вводят для индукции ДЦР в гене TTR. Гидовая PНК вводится вместе с нуклеиновой кислотой или вектором, описанным в данном документе, кодирующим ДНК нуклеазу, гидируемую PНК, такую как нуклеаза Cas (например, Cas9). ДНК нуклеаза, гидируемая PНК может быть Cas9 *S. pyogenes*. В конкретных вариантах реализации гидовая PНК химически модифицирована. В некоторых вариантах реализации гидовая PНК и нуклеиновая кислота, кодирующая ДНК нуклеазу, гидируемую PНК, вводятся в LNP, описанном в данном документе, таком как LNP, включающий липид CCD (например, аминовый липид, такой как липид A), вспомогательный липид (например, холестерин), скрытый липид (например, липид ПЭГ, такой как ПЭГ2k-DMG) и необязательно нейтральный липид (например, DSPC).

[00458] В некоторых вариантах реализации предложен способ модификации гена TTR, включающий введение композиции, содержащей описанную в данном документе направляющую PНК, например, содержащую любую одну или более гидовых последовательностей SEQ ID NO: 5-82, или любую одну или более sgPНК SEQ ID NO: 87-124. В некоторых вариантах реализации гPНК, содержащие любую одну или более гидовых последовательностей SEQ ID NO: 5-82, или любую одну или более sgPНК SEQ ID NO: 87-124, вводят для модификации гена TTR. Гидовая PНК вводится вместе с нуклеиновой кислотой или вектором, описанным в данном документе, кодирующим ДНК нуклеазу, гидируемую PНК, такую как нуклеаза Cas (например, Cas9). ДНК нуклеаза, гидируемая PНК может быть Cas9 *S. pyogenes*. В конкретных вариантах реализации

гидовая РНК химически модифицирована. В некоторых вариантах реализации гидовая РНК и нуклеиновая кислота, кодирующая ДНК нуклеазу, гидируемую РНК, вводятся в LNP, описанном в данном документе, таком как LNP, включающий липид CCD (например, аминовый липид, такой как липид А), вспомогательный липид (например, холестерин), скрытый липид (например, липид ПЭГ, такой как ПЭГ2k-DMG) и необязательно нейтральный липид (например, DSPC).

[00459] В некоторых вариантах реализации предложен способ модификации гена TTR, включающий введение композиции, содержащей гидовую РНК, содержащую любую одну или более гидовых последовательностей SEQ ID NO: 5-72, 74-78 и 80-82, или любую одну или более sgРНК SEQ ID NO: 87-113, 115-120 и 122-124. В некоторых вариантах реализации гРНК, содержащие любую одну или более гидовых последовательностей SEQ ID NO: 5-72, 74-78 и 80-82, или любую одну или более sgРНК SEQ ID NO: 87-113, 115-120 и 122-124 вводят для модификации гена TTR. Гидовая РНК вводится вместе с нуклеиновой кислотой или вектором, описанным в данном документе, кодирующим ДНК нуклеазу, гидируемую РНК, такую как нуклеаза Cas (например, Cas9). ДНК нуклеаза, гидируемая РНК может быть Cas9 *S. pyogenes*. В конкретных вариантах реализации гидовая РНК химически модифицирована. В некоторых вариантах реализации гидовая РНК и нуклеиновая кислота, кодирующая ДНК нуклеазу, гидируемую РНК, вводятся в LNP, описанном в данном документе, таком как LNP, включающий липид CCD (например, аминовый липид, такой как липид А), вспомогательный липид (например, холестерин), скрытый липид (например, липид ПЭГ, такой как ПЭГ2k-DMG) и необязательно нейтральный липид (например, DSPC).

[00460] В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения ATTR, включающий введение композиции, содержащей описанную в данном документе направляющую РНК, например, содержащую любую одну или более гидовых последовательностей SEQ ID NO: 5-82, или любую одну или более sgРНК SEQ ID NO: 87-124. В некоторых вариантах реализации гРНК, содержащие любую одну или более гидовых последовательностей SEQ ID NO: 5-82, или любую одну или более sgРНК SEQ ID NO: 87-124 вводят для лечения ATTR. Гидовая РНК вводится вместе с нуклеиновой кислотой или вектором, описанным в данном документе, кодирующим ДНК нуклеазу, гидируемую РНК, такую как нуклеаза Cas (например, Cas9). ДНК нуклеаза, гидируемая РНК может быть Cas9 *S. pyogenes*. В конкретных вариантах реализации гидовая РНК химически модифицирована. В некоторых вариантах реализации гидовая РНК и нуклеиновая кислота, кодирующая ДНК нуклеазу, гидируемую РНК, вводятся в LNP, описанном в данном документе, таком как LNP, включающий липид CCD (например, аминовый липид, такой как липид А), вспомогательный липид (например, холестерин), скрытый липид (например, липид ПЭГ, такой как ПЭГ2k-DMG) и необязательно нейтральный липид (например, DSPC).

[00461] В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения ATTR, включающий введение композиции, содержащей гидовую РНК, содержащую любую одну

или более гидовых последовательностей SEQ ID NO: 5-72, 74-78 и 80-82, или любую одну или более sgPНК SEQ ID NO: 87-113, 115-120 и 122-124. В некоторых вариантах реализации гPНК, содержащие любую одну или более гидовых последовательностей SEQ ID NO: 5-72, 74-78 и 80-82, или любую одну или более sgPНК SEQ ID NO: 87-113, 115-120 и 122-124 вводят для лечения ATTR. Гидовая PНК вводится вместе с нуклеиновой кислотой или вектором, описанным в данном документе, кодирующим ДНК нуклеазу, гидируемую PНК, такую как нуклеаза Cas (например, Cas9). ДНК нуклеаза, гидируемая PНК может быть Cas9 *S. pyogenes*. В конкретных вариантах реализации гидовая PНК химически модифицирована. В некоторых вариантах реализации гидовая PНК и нуклеиновая кислота, кодирующая ДНК нуклеазу, гидируемую PНК, вводятся в LNP, описанном в данном документе, таком как LNP, включающий липид CCD (например, аминовый липид, такой как липид А), вспомогательный липид (например, холестерин), скрытый липид (например, липид ПЭГ, такой как ПЭГ2k-DMG) и необязательно нейтральный липид (например, DSPC).

[00462] В некоторых вариантах реализации предложен способ уменьшения концентрации TTR в сыворотке, включающий введение гидовой PНК, например, содержащей любую одну или более гидовых последовательностей SEQ ID NO: 5-82, или любую одну или более sgPНК SEQ ID NO: 87-124. В некоторых вариантах реализации гPНК, содержащие любую одну или более гидовых последовательностей SEQ ID NO: 5-82, или любую одну или более sgPНК SEQ ID NO: 87-124 вводят для уменьшения или предотвращения накопления TTR в амилоидах или амилоидных фибриллах. гPНК вводится вместе с нуклеиновой кислотой или вектором, описанным в данном документе, кодирующим ДНК нуклеазу, гидируемую PНК, такую как нуклеаза Cas (например, Cas9). ДНК нуклеаза, гидируемая PНК может быть Cas9 *S. pyogenes*. В конкретных вариантах реализации гидовая PНК химически модифицирована. В некоторых вариантах реализации гидовая PНК и нуклеиновая кислота, кодирующая ДНК нуклеазу, гидируемую PНК, вводятся в LNP, описанном в данном документе, таком как LNP, включающий липид CCD (например, аминовый липид, такой как липид А), вспомогательный липид (например, холестерин), скрытый липид (например, липид ПЭГ, такой как ПЭГ2k-DMG) и необязательно нейтральный липид (например, DSPC).

[00463] В некоторых вариантах реализации предложен способ уменьшения концентрации TTR в сыворотке, включающий введение гидовой PНК, например, содержащей любую одну или более гидовых последовательностей SEQ ID NO: 5-72, 74-78 и 80-82, или любую одну или более sgPНК SEQ ID NO: 87-113, 115-120 и 122-124. В некоторых вариантах реализации гPНК, содержащие любую одну или более гидовых последовательностей SEQ ID NO: 5-72, 74-78 и 80-82, или любую одну или более sgPНК SEQ ID NO: 87-113, 115-120 и 122-124 вводят для уменьшения или предотвращения накопления TTR в амилоидах или амилоидных фибриллах. гPНК вводится вместе с нуклеиновой кислотой или вектором, описанным в данном документе, кодирующим ДНК нуклеазу, гидируемую PНК, такую как нуклеаза Cas (например, Cas9). ДНК нуклеаза,

гидируемая РНК может быть Cas9 *S. pyogenes*. В конкретных вариантах реализации гидовая РНК химически модифицирована. В некоторых вариантах реализации гидовая РНК и нуклеиновая кислота, кодирующая ДНК нуклеазу, гидируемую РНК, вводятся в LNP, описанном в данном документе, таком как LNP, включающий липид CCD (например, аминовый липид, такой как липид А), вспомогательный липид (например, холестерин), скрытый липид (например, липид ПЭГ, такой как ПЭГ2k-DMG) и необязательно нейтральный липид (например, DSPC).

[00464] В некоторых вариантах реализации предложен способ уменьшения или предотвращения накопления TTR в амилоидах или амилоидных фибриллах у субъекта, включающий введение композиции, содержащей описанную в данном документе гидовую РНК, например, содержащую любую одну или более гидовых последовательностей SEQ ID NO: 5-82, или любую одну или более sgРНК SEQ ID NO: 87-124. В некоторых вариантах реализации предложен способ уменьшения или предотвращения накопления TTR в амилоидах или амилоидных фибриллах у субъекта, включающий введение композиции, содержащую любую одну или более sgРНК SEQ ID NO: 87-113. В некоторых вариантах реализации гРНК, содержащие любую одну или более гидовых последовательностей SEQ ID NO: 5-82, или любую одну или более sgРНК SEQ ID NO: 87-124 вводят для уменьшения или предотвращения накопления TTR в амилоидах или амилоидных фибриллах. гРНК вводится вместе с нуклеиновой кислотой или вектором, описанным в данном документе, кодирующим ДНК нуклеазу, гидируемую РНК, такую как нуклеаза Cas (например, Cas9). ДНК нуклеаза, гидируемая РНК может быть Cas9 *S. pyogenes*. В конкретных вариантах реализации гидовая РНК химически модифицирована. В некоторых вариантах реализации гидовая РНК и нуклеиновая кислота, кодирующая ДНК нуклеазу, гидируемую РНК, вводятся в LNP, описанном в данном документе, таком как LNP, включающий липид CCD (например, аминовый липид, такой как липид А), вспомогательный липид (например, холестерин), скрытый липид (например, липид ПЭГ, такой как ПЭГ2k-DMG) и необязательно нейтральный липид (например, DSPC).

[00465] В некоторых вариантах реализации предложен способ уменьшения или предотвращения накопления TTR в амилоидах или амилоидных фибриллах у субъекта, включающий введение композиции, содержащей описанную в данном документе гидовую РНК, например, содержащую любую одну или более гидовых последовательностей SEQ ID NO: 5-72, 74-78 и 80-82, или любую одну или более sgРНК SEQ ID NO: 87-124. В некоторых вариантах реализации предложен способ уменьшения или предотвращения накопления TTR в амилоидах или амилоидных фибриллах у субъекта, включающий введение композиции, содержащую любую одну или более sgРНК SEQ ID NO: 87-113, 115-120 и 122-124. В некоторых вариантах реализации гРНК, содержащие любую одну или более гидовых последовательностей SEQ ID NO: 5-72, 74-78 и 80-82, или любую одну или более sgРНК SEQ ID NO: 87-113, 115-120 и 122-124 вводят для уменьшения или предотвращения накопления TTR в амилоидах или амилоидных фибриллах. гРНК вводится вместе с нуклеиновой кислотой или вектором, описанным в данном документе,

кодирующим ДНК нуклеазу, гидрируемую РНК, такую как нуклеаза Cas (например, Cas9). ДНК нуклеаза, гидрируемая РНК может быть Cas9 *S. pyogenes*. В конкретных вариантах реализации гидрируемая РНК химически модифицирована. В некоторых вариантах реализации гидрируемая РНК и нуклеиновая кислота, кодирующая ДНК нуклеазу, гидрируемую РНК, вводятся в LNP, описанном в данном документе, таком как LNP, включающий липид CCD (например, аминовый липид, такой как липид А), вспомогательный липид (например, холестерин), скрытый липид (например, липид ПЭГ, такой как ПЭГ2k-DMG) и необязательно нейтральный липид (например, DSPC).

[00466] В некоторых вариантах реализации гРНК, содержащая гидрируемую последовательность из Таблицы 1 или одну или более sgРНК из Таблицы 2 вместе с ДНК нуклеазой, гидрируемой РНК, такой как нуклеаза Cas, транскрибируемая из нуклеиновой кислоты, индуцирует ДЦР, и нехомологичное соединение концов (NHEJ) во время репарации и приводит к мутации в гене TTR. В некоторых вариантах реализации NHEJ приводит к делеции или вставке нуклеотида(ов), что вызывает сдвиг рамки считывания или нонсенс-мутацию в гене TTR.

[00467] В некоторых вариантах реализации введение гидрируемой РНК и нуклеиновой кислоты, кодирующей ДНК-связывающий агент, гидрируемый РНК (например, в композиции, представленной в данном документе), снижает уровни (например, уровни в сыворотке) TTR у субъекта и, следовательно, предотвращает накопление и агрегацию TTR в амилоидах или амилоидных фибриллах.

[00468] В некоторых вариантах реализации уменьшение или предотвращение накопления TTR в амилоидах или амилоидных фибриллах субъекта включает уменьшение или предотвращение накопления TTR в одной или более тканях субъекта, таких как желудок, толстая кишка или нервная ткань. В некоторых вариантах реализации нервная ткань включает седалищный нерв или ганглий дорзального корешка. В некоторых вариантах реализации накопление TTR снижается в двух, трех или четырех из желудка, толстой кишки, ганглия задних корешков и седалищного нерва. Уровень отложения в данной ткани можно определить, используя образец биопсии, например, используя иммуноокрашивание. В некоторых вариантах реализации уменьшение или предотвращение накопления TTR в амилоидах или амилоидных фибриллах субъекта и/или уменьшение или предотвращение накопления TTR делается на основании снижения уровней TTR в сыворотке в течение определенного периода времени. Как обсуждается в примерах, было обнаружено, что снижение уровней TTR в сыворотке в соответствии со способами и применениями, представленными в данном документе, может привести к удалению отложенного TTR из тканей, таких как те, которые обсуждались выше и в примерах, например, при измерении через 8 недель после введения композиции.

[00469] В некоторых вариантах реализации субъект является млекопитающим. В некоторых вариантах реализации субъект является человеком. В некоторых вариантах реализации субъект представляет собой корову, свинью, обезьяну, овцу, собаку, кошку, рыбу или домашнюю птицу.

[00470] В некоторых вариантах реализации изобретения использование одной или более гидовых РНК, как описано в данном документе, например, содержащих любую одну или более гидовых последовательностей из Таблицы 1 или одну или более sgРНК из Таблицы 2 (например, в композиции, представленной в данном документе) и нуклеиновую кислоту (например, мРНК), описанную в данном документе, кодирующую ДНК-связывающий агент, гидируемый РНК, предлагается для приготовления лекарственного средства для лечения человека, имеющего АТТР. ДНК-связывающий агент, гидируемый РНК может представлять собой Cas9, например, Cas9 *S. pyogenes*. В конкретных вариантах реализации гидовая РНК химически модифицирована.

[00471] В некоторых вариантах реализации композицию, содержащую гидовую РНК и нуклеиновую кислоту, вводят внутривенно. В некоторых вариантах реализации композиция, содержащая гидовую РНК и нуклеиновую кислоту, вводится в печеночный кровоток.

[00472] В некоторых вариантах реализации однократного введения композиции, содержащей гидовую РНК и нуклеиновую кислоту, предложенных в данном документе, достаточно для подавления экспрессии мутантного белка. В некоторых вариантах реализации однократного введения композиции, содержащей гидовую РНК и нуклеиновую кислоту, предложенных в данном документе, достаточно для прерывания экспрессии мутантного белка в популяции клеток. В других вариантах реализации более одного введения композиции, содержащей гидовую РНК и нуклеиновую кислоту, предложенных в данном документе, может быть полезным для максимального увеличения редактирования за счет кумулятивных эффектов. Например, предложенная в данном документе композиция может быть введена 2, 3, 4, 5 или более раз, например 2 раза. Введения могут быть разделены периодом времени, например, от 1 дня до 2 лет, например, от 1 до 7 дней, от 7 до 14 дней, от 14 дней до 30 дней, от 30 дней до 60 дней, от 60 дней до 120 дней, от 120 дней до 183 дней, от 183 дней до 274 дней, от 274 дней до 366 дней или от 366 дней до 2 лет.

[00473] В некоторых вариантах реализации композицию вводят в эффективном количестве в диапазоне от 0,01 до 10 мг/кг (мг/кг), например, от 0,01 до 0,1 мг/кг, от 0,1 до 0,3 мг/кг, от 0,3 до 0,5 мг/кг, от 0,5 до 1 мг/кг, от 1 до 2 мг/кг, от 2 до 3 мг/кг, от 3 до 5 мг/кг, от 5 до 10 мг/кг или 0,1, 0,2, 0,3, 0,5, 1, 2, 3, 5 или 10 мг/кг. В некоторых вариантах реализации композицию вводят в количестве 2-4 мг/кг, например 2,5-3,5 мг/кг. В некоторых вариантах реализации композицию вводят в количестве около 3 мг/кг.

[00474] В некоторых вариантах реализации эффективность лечения композициями по данному изобретению проявляется через 1 год, 2 года, 3 года, 4 года, 5 лет или 10 лет после родов. В некоторых вариантах реализации эффективность лечения композициями по данному изобретению оценивают путем измерения уровней ТТР в сыворотке до и после лечения. В некоторых вариантах реализации эффективность лечения композициями, оцениваемая по снижению уровней ТТР в сыворотке, наблюдается через 1 неделю, 2

недели, 3 недели, 4 недели, 2 месяца, 3 месяца, 4 месяца, 5 месяцев, 6 месяцев, 7 месяцев, 8 месяцев, 9 месяцев, 10 месяцев или 11 месяцев.

[00475] В некоторых вариантах реализации лечение замедляет или останавливает прогрессирование заболевания.

[00476] В некоторых вариантах реализации лечение замедляет или останавливает прогрессирование FAP. В некоторых вариантах реализации лечение приводит к улучшению, стабилизации или замедлению изменения симптомов сенсомоторной нейропатии или вегетативной невропатии.

[00477] В некоторых вариантах реализации лечение приводит к улучшению, стабилизации или замедлению изменения симптомов FAS. В некоторых вариантах реализации лечение приводит к улучшению, стабилизации или замедлению симптомов рестриктивной кардиомиопатии или застойной сердечной недостаточности.

[00478] В некоторых вариантах реализации эффективность лечения измеряется увеличением времени выживания субъекта.

[00479] В некоторых вариантах реализации эффективность лечения измеряется улучшением или замедлением прогрессирования симптомов сенсомоторной или вегетативной невропатии. В некоторых вариантах реализации эффективность лечения измеряется увеличением или замедлением снижения способности перемещать участок тела или чувствовать в любой области тела. В некоторых вариантах реализации эффективность лечения измеряется улучшением или замедлением снижения способности глотать; дышать; использовать руки, ладони, ноги или ступни; или ходить. В некоторых вариантах реализации эффективность лечения измеряется улучшением или замедлением прогрессирования невралгии. В некоторых вариантах реализации невралгия характеризуется болью, жжением, покалыванием или ненормальным ощущением. В некоторых вариантах реализации эффективность лечения измеряется улучшением или замедлением нарастания постуральной гипотензии, головокружения, нарушения моторики желудочно-кишечного тракта, дисфункции мочевого пузыря или сексуальной дисфункции. В некоторых вариантах реализации эффективность лечения измеряется по улучшению или замедлению прогрессирования слабости. В некоторых вариантах реализации эффективность лечения измеряется с помощью электромиограммы, тестов нервной проводимости или результатов, сообщаемых пациентом.

[00480] В некоторых вариантах реализации эффективность лечения измеряется улучшением или замедлением прогрессирования симптомов застойной сердечной недостаточности или ЗСН. В некоторых вариантах реализации эффективность лечения измеряется уменьшением или замедлением нарастания одышки, затрудненного дыхания, утомляемости или отека в лодыжках, ступнях, ногах, животе или венах на шее. В некоторых вариантах реализации эффективность лечения измеряется улучшением или замедлением прогрессирования накопления жидкости в организме, что может быть оценено такими измерениями, как увеличение массы тела, частое мочеиспускание или ночной кашель. В некоторых вариантах реализации эффективность лечения измеряется с

использованием тестов на сердечные биомаркеры (таких как натрийуретический пептид В-типа [BNP] или N-концевой натрийуретический пептид pro b-типа [NT-proBNP]), функциональных тестов легких, рентгенографии грудной клетки, или электрокардиографии.

Комбинированная терапия

[00481] В некоторых вариантах реализации изобретение включает комбинированную терапию, включающую введение любой одной из гРНК, как описано в данном документе, например, содержащей любую одну или более гидовых последовательностей, раскрытых в Таблице 1, или любой одной или более из sgРНК в Таблице 2 и нуклеиновой кислоты, кодирующей ДНК-связывающий агент, гидируемый РНК (например, в композиции, представленной в данном документе), как описано в данном документе, такой как нуклеиновая кислота (например, мРНК) или вектор, описанный в данном документе, кодирующий Cas9 *S. pyogenes*, вместе с дополнительной терапией, подходящей для облегчения симптома ATTR. В конкретных вариантах реализации гидовая РНК химически модифицирована. В некоторых вариантах реализации гидовая РНК и нуклеиновая кислота, кодирующая ДНК нуклеазу, гидируемую РНК, вводятся в LNP, описанном в данном документе, таком как LNP, включающий липид CCD (например, аминовый липид, такой как липид А), вспомогательный липид (например, холестерин), скрытый липид (например, липид ПЭГ, такой как ПЭГ2k-DMG) и необязательно нейтральный липид (например, DSPC).

[00482] В некоторых вариантах реализации дополнительная терапия ATTR представляет собой лечение сенсомоторной или вегетативной невропатии. В некоторых вариантах реализации изобретения лечение сенсомоторной или вегетативной нейропатии представляет собой нестероидное противовоспалительное лекарственное средство, антидепрессант, противосудорожное лекарственное средство, противоаритмическое лекарственное средство или наркотическое средство. В некоторых вариантах реализации антидепрессант представляет собой трициловый агент или ингибитор обратного захвата серотонина-норэпинефрина. В некоторых вариантах реализации антидепрессант представляет собой amitриптилин, дулоксетин или венлафаксин. В некоторых вариантах реализации противосудорожное средство представляет собой габапентин, прегабалин, топирамат или карбамазепин. В некоторых вариантах реализации дополнительная терапия сенсомоторной нейропатии представляет собой чрескожную электрическую стимуляцию нервов.

[00483] В некоторых вариантах реализации дополнительная терапия ATTR представляет собой лечение рестриктивной кардиомиопатии или застойной сердечной недостаточности (ЗСН). В некоторых вариантах реализации изобретения лечение ЗСН представляет собой введение ингибитора ACE, антагониста альдостерона, блокатора рецепторов ангиотензина, бета-блокатора, дигоксина, диуретика или динитрата изосорбида/гидрохлорида гидралазина. В некоторых вариантах реализации ингибитор ACE представляет собой эналаприл, каптоприл, рамиприл, периндоприл, имидаприл или

квинаприл. В некоторых вариантах реализации антагонист альдостерона представляет собой эплеренон или спиронолактон. В некоторых вариантах реализации блокатор рецепторов ангиотензина представляет собой азилсартан, кадесартан, эпросартан, ирбесартан, лозартан, олмесартан, телмисартан или валсартан. В некоторых вариантах реализации бета-блокатор представляет собой ацебутолол, атенолол, бисопролол, метопролол, надолол, небиволол или пропранолол. В некоторых вариантах реализации диуретик представляет собой хлоротиазид, хлорталидон, гидрохлоротиазид, индапамид, метолазон, буметанид, фуросемид, торсемид, амилорид или триаметерен.

[00484] В некоторых вариантах реализации комбинированная терапия включает введение любой одной из гРНК содержащей любую одну или более гидовых последовательностей, раскрытых в Таблице 1, или любой одной или более из sgРНК в Таблице 2 и нуклеиновой кислоты, кодирующей ДНК-связывающий агент, гидируемый РНК (например, в композиции, представленной в данном документе), вместе с миРНК, которая нацелена на TTR или мутантный TTR. В некоторых вариантах реализации миРНК представляет собой любую миРНК, способную дополнительно снижать или устранять экспрессию TTR дикого типа или мутантного TTR. В некоторых вариантах реализации миРНК представляет собой лекарственное средство патисиран (ALN-TTR02) или ALN-TTRsc02. В некоторых вариантах реализации миРНК вводят после любой одной из гРНК, содержащей любую одну или более гидовых последовательностей, раскрытых в Таблице 1, или любую одну или более sgРНК в Таблице 2 (например, в композиции, представленной в данном документе). В некоторых вариантах реализации миРНК вводят на регулярной основе после лечения любой из композиций гРНК, представленных в данном документе.

[00485] В некоторых вариантах реализации комбинированная терапия включает введение любой одной из гРНК содержащей любую одну или более гидовых последовательностей, описанных в данном документе, например, раскрытых в Таблице 1, или любой одной или более из sgРНК в Таблице 2 и нуклеиновой кислоты, кодирующей ДНК-связывающий агент, гидируемый РНК описанных в данном документе (например, в композиции, представленной в данном документе), вместе с антисмысловым нуклеотидом, который нацелен на TTR или мутантный TTR. В некоторых вариантах реализации антисмысловой нуклеотид представляет собой любой антисмысловой нуклеотид, способный дополнительно снижать или устранять экспрессию TTR дикого типа или мутантного типа. В некоторых вариантах реализации антисмысловой нуклеотид представляет собой лекарственное средство Инотерсен (IONS-TTR_{Rx}). В некоторых вариантах реализации антисмысловой нуклеотид вводят после любой одной из гРНК, содержащих любую одну или более гидовых последовательностей, раскрытых в Таблице 1, или любой одной или более sgРНК в Таблице 2 и нуклеиновой кислоты, кодирующей ДНК-связывающий агент, гидируемый РНК (например, в композиции, представленной в данном документе). В некоторых вариантах реализации антисмысловой нуклеотид вводят

на регулярной основе после лечения любой из композиций гРНК, представленных в данном документе.

[00486] В некоторых вариантах реализации комбинированная терапия включает введение любой одной из гРНК содержащей любую одну или более направляющих последовательностей, раскрытых в Таблице 1, или любой одной или более из sgРНК в Таблице 2 и нуклеиновой кислоты, кодирующей ДНК-связывающий агент, гидрируемый РНК (например, в композиции, представленной в данном документе), вместе с низкомолекулярным стабилизатором, который способствует кинетической стабилизации правильно упакованной тетрамерной формы ТТР. В некоторых вариантах реализации малая молекула стабилизатора представляет собой тафамидис (Vyndaqel[®]) или дифлунизал. В некоторых вариантах реализации низкомолекулярный стабилизатор вводят после любой одной из гРНК, содержащей любую одну или более гидовых последовательностей, раскрытых в Таблице 1, или любую одну или более sgРНК в Таблице 2 (например, в композиции, представленной в данном документе). В некоторых вариантах реализации низкомолекулярный стабилизатор вводят на регулярной основе после лечения любой из представленных в данном документе композиций.

[00487] В любом из вышеупомянутых вариантов реализации гидовые последовательности, раскрытые в Таблице 1, могут быть выбраны из SEQ ID NO: 5-72, 74-78 и 80-82, и/или sgРНК в Таблице 2 могут быть выбраны из SEQ ID NO: 87-113, 115-120 и 122-124, и/или гидовая РНК может быть химически модифицированной гидовой РНК.

[00488] В некоторых вариантах реализации описанный в данном документе способ включает инфузионную профилактику. В некоторых вариантах реализации инфузионную профилактику вводят субъекту перед композицией для редактирования генов. В некоторых вариантах реализации инфузионную профилактику вводят субъекту за 8-24 часа или 1-2 часа до введения композиции нуклеиновой кислоты. В некоторых вариантах реализации инфузионная профилактика включает кортикостероид. В некоторых вариантах реализации инфузионная профилактика включает один или более, или все, кортикостероид, жаропонижающее (например, ацетаминофен для приема внутрь (также называемый парацетамолом), который может уменьшать боль и жар и/или ингибировать ферменты СОХ и/или простагландины), блокатор H1 или блокатор H2. В некоторых вариантах реализации инфузионная профилактика включает внутривенный кортикостероид (например, дексаметазон 8-12 мг, такой как 10 мг или его эквивалент) и жаропонижающее (например, пероральный ацетаминофен или парацетамол 500 мг). В некоторых вариантах реализации блокатор H1 (например, дифенгидрамин 50 мг или эквивалент) и/или блокатор H2 (например, ранитидин 50 мг или эквивалент) вводят перорально. В некоторых вариантах реализации блокатор H1 (например, дифенгидрамин 50 мг или эквивалент) и/или блокатор H2 (например, ранитидин 50 мг или эквивалент) вводятся внутривенно. В некоторых вариантах реализации инфузионную профилактику вводят внутривенно за 1-2 часа до инфузии композиции нуклеиновой кислоты. В некоторых вариантах реализации изобретения внутривенный блокатор H1 и/или

внутривенный блокатор H₂ заменяется пероральным эквивалентом. Инфузионная профилактика может снижать побочные реакции, связанные с введением композиции нуклеиновой кислоты. В некоторых вариантах реализации инфузионную профилактику вводят в качестве необходимого прелечения перед введением композиции нуклеиновых кислот. Дозировку, частоту и способ введения кортикостероида, инфузионной профилактики и композиции, содержащей гидовую РНК, описанную в данном документе, можно контролировать независимо.

[00489] Кортикостероид, используемый в раскрытых способах, можно вводить согласно схемам введения, известным в данной области, например, схемам, одобренным FDA США. В некоторых вариантах реализации, например, включающих введение человеку или применение у человека, кортикостероид можно вводить в количестве от около 0,75 мг до около 25 мг. В некоторых вариантах реализации, например, включающих введение человеку или применение у человека, кортикостероид можно вводить в количестве, которое находится в диапазоне от около 0,01 до около 0,5 мг/кг, например 0,1-0,40 мг/кг или 0,25-0,40 мг/кг.

[00490] В некоторых вариантах реализации кортикостероид вводят перед описанной в данном документе композицией, содержащей гидовую РНК. В некоторых вариантах реализации кортикостероид вводят после описанной в данном документе композиции, содержащей гидовую РНК. В некоторых вариантах реализации кортикостероид вводят одновременно с описанной в данном документе композицией, содержащей гидовую РНК. В некоторых вариантах реализации многократные дозы кортикостероида вводят до или после введения композиции, содержащей гидовую РНК. В некоторых вариантах реализации многократные дозы композиции, содержащей гидовую РНК, вводят до или после введения кортикостероида. В некоторых вариантах реализации вводят несколько доз кортикостероида и несколько доз композиции, содержащей гидовую РНК.

[00491] При необходимости доза кортикостероида может вводиться в виде по меньшей мере двух субдоз, вводимых отдельно с соответствующими интервалами. В некоторых вариантах реализации кортикостероид вводят по меньшей мере два раза перед введением описанной в данном документе композиции, содержащей гидовую РНК. В некоторых вариантах реализации дозу кортикостероида вводят по меньшей мере два раза после введения описанной в данном документе композиции, содержащей гидовую РНК. В некоторых вариантах реализации кортикостероид вводят (например, до, с и/или после введения описанной в данном документе композиции, содержащей гидовую РНК) с интервалом в 1 час, 2 часа, 3 часа, 4 часа, 6 часов, 12 часов, 18 часов; 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 или 15 дней; 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 или 15 недель; или количество времени в диапазоне, ограниченном любыми двумя из предыдущих значений. В некоторых вариантах реализации кортикостероид вводят до введения описанной в данном документе композиции, содержащей гидовую РНК с интервалом в 1 час, 2 часа, 3 часа, 4 часа, 6 часов, 12 часов, 18 часов; 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 или 15 дней;

3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 недель; или количество времени в диапазоне, ограниченном любыми двумя из предыдущих значений. В некоторых вариантах реализации кортикостероид вводят после введения описанной в данном документе композиции, содержащей гидовую РНК с интервалом в 1 час, 2 часа, 3 часа, 4 часа, 6 часов, 12 часов, 18 часов; 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 или 15 дней; 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 недель; или количество времени в диапазоне, ограниченном любыми двумя из предыдущих значений.

[00492] В некоторых вариантах реализации кортикостероид вводят по меньшей мере два раза. В некоторых вариантах реализации кортикостероид вводят по меньшей мере три раза. В некоторых вариантах реализации кортикостероид вводят по меньшей мере четыре раза. В некоторых вариантах реализации кортикостероид вводят до пяти, шести, семи, восьми, девяти или десяти раз. Первая доза может быть пероральной, а вторая или последующая доза могут быть парентеральным введением, например инфузией. Альтернативно, первая доза может быть парентеральной, а вторая или последующая доза могут быть пероральными.

[00493] В некоторых вариантах реализации кортикостероид вводят перорально перед внутривенным введением описанной в данном документе композиции, содержащей гидовую РНК. В некоторых вариантах реализации кортикостероид вводят перорально во время или после внутривенного введения описанной в данном документе композиции, содержащей гидовую РНК.

[00494] В некоторых вариантах реализации кортикостероид представляет собой дексаметазон. В некоторых вариантах реализации дексаметазон вводят внутривенно за 1-2 часа до инфузии композиции нуклеиновой кислоты. В некоторых вариантах реализации дексаметазон вводят внутривенно в количестве 8-12 мг, например 10 мг, за 1-2 часа до инфузии композиции нуклеиновой кислоты. В некоторых вариантах реализации дексаметазон вводят перорально за 8-24 часа до инфузии композиции нуклеиновой кислоты. В некоторых вариантах реализации дексаметазон вводят перорально в количестве 8-12 мг, например, 8 мг, за 8-24 часа до инфузии композиции нуклеиновой кислоты. В некоторых вариантах реализации дексаметазон вводят перорально в количестве 8-12 мг, например 8 мг, за 8-24 часа до инфузии композиции нуклеиновой кислоты, и дексаметазон вводят внутривенно в количестве 8-12 мг, например 10 мг, за 1-2 часа до инфузии композиции нуклеиновой кислоты.

Доставка композиций нуклеиновых кислот

[00495] В некоторых вариантах реализации описанные в данном документе композиции нуклеиновых кислот, содержащие гРНК и описанную в данном документе нуклеиновую кислоту, кодирующую ДНК-связывающий агент, гидируемый РНК в виде РНК или кодируемый одним или более векторами, составлены или вводятся через липидную наночастицу; см., например, WO2017173054A1, озаглавленный «ЛИПИДНЫЕ НАНОЧАСТИЦЫ ДЛЯ КОМПОНЕНТОВ CRISPR/CAS», и WO2019067992A1, озаглавленный «СОСТАВЫ», содержание которых полностью включено в настоящее

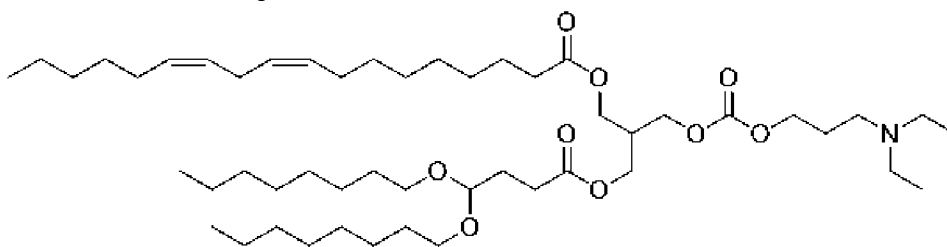
описание посредством ссылки. Любая липидная наночастица (LNP), известная специалистам в данной области техники как способная доставлять нуклеотиды субъектам, может быть использована с описанными в данном документе гидовыми РНК и нуклеиновой кислотой, кодирующей ДНК нуклеазу, гидируемую РНК.

[00496] В данном документе раскрыты различные варианты реализации составов LNP для РНК, включая CRISPR/Cas. Такие составы LNP могут включать (i) липид CCD, такой как аминовый липид, (ii) нейтральный липид, (iii) вспомогательный липид и (iv) скрытый липид, такой как липид ПЭГ. Некоторые варианты реализации составов LNP включают «аминовый липид» вместе со вспомогательным липидом, нейтральным липидом и скрытым липидом, таким как липид ПЭГ. В некоторых вариантах реализации составы LNP содержат менее 1% нейтрального фосфолипида. В некоторых вариантах реализации составы LNP содержат менее 0,5% нейтрального фосфолипида. Под «липидной наночастицей» подразумевается частица, которая содержит множество (т.е. более одной) липидных молекул, физически связанных друг с другом межмолекулярными силами.

[00497] CCD липиды

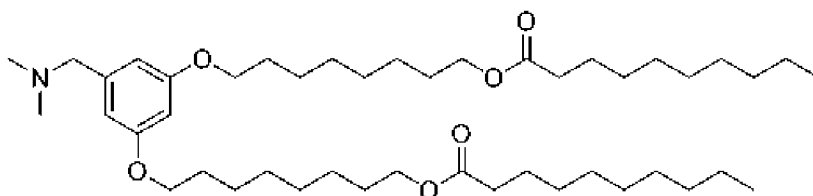
[00498] Липидные композиции для доставки мРНК CRISPR/Cas и компонентов гидовой РНК в клетку печени содержат липид CCD.

[00499] В некоторых вариантах реализации липид CCD представляет собой липид А, который представляет собой (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-диеноат. Липид А может быть изображен как:



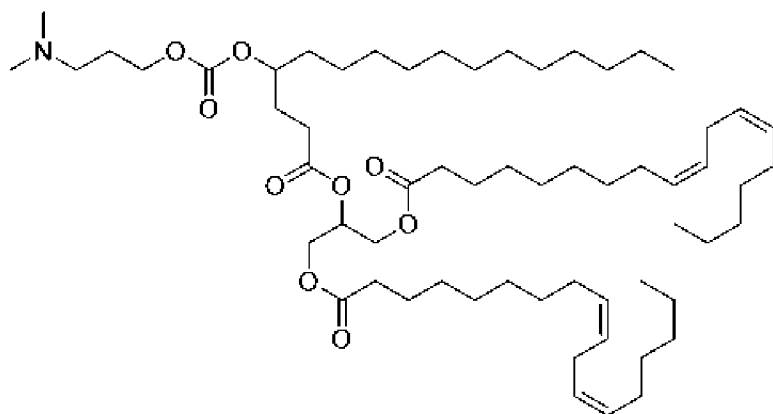
[00500] Липид А можно синтезировать согласно WO2015/095340 (например, стр. 84-86).

[00501] В некоторых вариантах реализации липид CCD представляет собой липид В, который представляет собой ((5-((диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(окси))бис(октан-8,1-диил)бис(деcanoат), также называется ((5-((диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(окси))бис(октан-8,1-диил)бис(деcanoат). Липид В может быть изображен как:



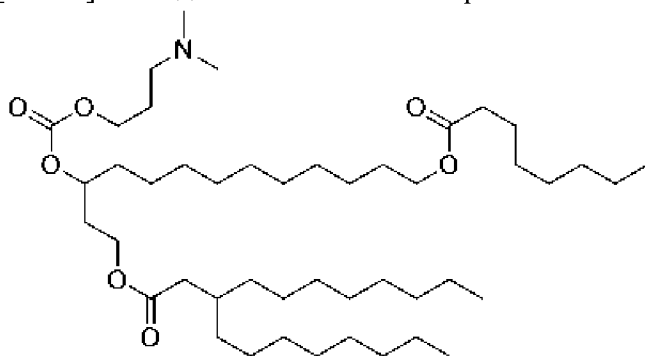
[00502] Липид В можно синтезировать согласно WO2014/136086 (например, стр. 107-09).

[00503] В некоторых вариантах реализации липид CCD представляет собой липид С, который представляет собой 2-((4-(((3-(диметиламино)пропокси)карбонил)окси)гексадеcanoил)окси)пропан-1,3-диил(9Z,9'Z,12Z,12'Z)-бис(октадека-9,12-диеноат). Липид С может быть изображен как:



[00504] В некоторых вариантах реализации липид CCD представляет собой липид D, который представляет собой 3-(((3-(диметиламино)пропокси)карбонил)окси)-13-(октаноилокси) тридецил-3-октилундеcanoат.

[00505] Липид D может быть изображен как:



[00506] Липид С и липид D могут быть синтезированы согласно WO2015/095340.

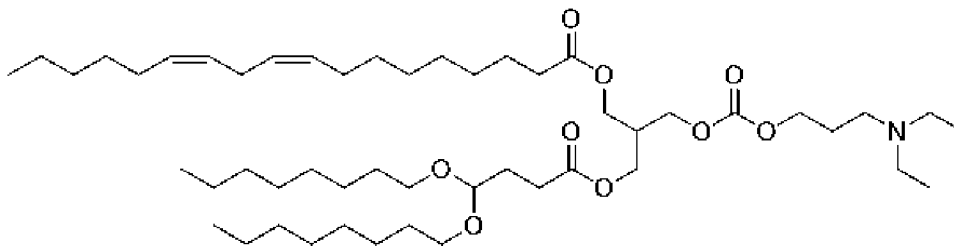
[00507] Липид CCD также может быть эквивалентом липида А, липида В, липида С или липида D. В некоторых вариантах реализации липид CCD является эквивалентом липида А, эквивалентом липида В, эквивалентом липида С или эквивалентом липида D.

[00508] Аминовые липиды

[00509] В некоторых вариантах реализации композиции LNP для доставки биологически активных агентов содержат «аминовый липид», который определяется как липид А, липид В, липид С, липид D или эквиваленты липида А (включая ацетальные

аналоги липида А), эквиваленты липида В, эквиваленты липида С и эквиваленты липида D.

[00510] В некоторых вариантах реализации аминный липид представляет собой липид А, который представляет собой (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-диеноат. Липид А может быть изображен как:



[00511] Липид А можно синтезировать согласно WO2015/095340 (например, стр. 84-86). В некоторых вариантах реализации аминный липид является эквивалентом липида А.

[00512] В некоторых вариантах реализации аминный липид является аналогом липида А. В некоторых вариантах реализации аналог липида А представляет собой ацетальный аналог липида А. В конкретных композициях LNP аналог ацетала представляет собой аналог ацетального C4-C12. В некоторых вариантах реализации аналог ацетала представляет собой аналог ацетала C5-C12. В дополнительных вариантах реализации аналог ацетала представляет собой аналог ацетала C5-C10. В дополнительных вариантах реализации аналог ацетала выбирают из аналога ацетала C4, C5, C6, C7, C9, C10, C11 и C12.

[00513] Аминовые липиды, подходящие для использования в описанных в данном документе LNP, являются биоразлагаемыми *in vivo* и подходят для доставки биологически активного агента, такого как РНК, в клетку. Аминовые липиды обладают низкой токсичностью (например, на животных моделях они переносятся без побочных эффектов в количествах, превышающих или равных 10 мг/кг груза РНК). В некоторых вариантах реализации LNP, содержащие аминный липид, включают те, в которых по меньшей мере 75% аминного липида выводится из плазмы в течение 8, 10, 12, 24 или 48 часов, или 3, 4, 5, 6, 7 или 10 дней. В некоторых вариантах реализации LNP, содержащие аминный липид, включают те, в которых по меньшей мере 50% мРНК или гРНК выводится из плазмы в течение 8, 10, 12, 24 или 48 часов, или 3, 4, 5, 6, 7 или 10 дней. В некоторых вариантах реализации LNP, содержащие аминный липид, включают те, в которых по меньшей мере 50% LNP выводится из плазмы в течение 8, 10, 12, 24 или 48 часов, или 3, 4, 5, 6, 7 или 10 дней, например, путем измерения количества липида (например, аминного липида), РНК (например, мРНК) или другого компонента. В некоторых

вариантах реализации измеряется количество инкапсулированного липида по сравнению со свободным липидом, РНК или компонентом нуклеиновой кислоты LNP.

[00514] Липидный клиренс можно измерить, как описано в литературе. См. Maier, M.A., et al. "Biodegradable Lipids Enabling Rapidly Eliminated Lipid Nanoparticles for Systemic Delivery of RNAi Therapeutics," *Mol. Ther.* 2013, 21(8), 1570-78 ("публикация Майера"). Например, в публикации Майера системы LNP-миРНК, содержащие миРНК, нацеленные на люциферазы, вводили самцам мышей C57Bl/6 в возрасте от шести до восьми недель в дозе 0,3 мг/кг путем внутривенной болюсной инъекции через боковую хвостовую вену. Образцы крови, печени и селезенки собирали через 0,083, 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 8, 24, 48, 96 и 168 часов после введения дозы. Мышей перфузировали физиологическим раствором перед забором тканей и обрабатывали образцы крови для получения плазмы. Все образцы были обработаны и проанализированы с помощью ЖХ-МС. Кроме того, Майер описывает процедуру оценки токсичности после введения составов LNP-миРНК. Например, миРНК, нацеленную на люциферазу, вводили самцам крыс Sprague-Dawley в дозе 0, 1, 3, 5 и 10 мг/кг (5 животных в группе) путем однократной внутривенной болюсной инъекции в дозе 5 мл/кг. Через 24 часа из яремной вены находившихся в сознании животных получали около 1 мл крови и выделяли сыворотку. Через 72 часа после введения дозы всех животных умерщвляли для вскрытия. Была проведена оценка клинических признаков, массы тела, химического состава сыворотки, массы органов и гистопатологии. Хотя Майер описывает способы оценки составов миРНК-LNP, эти методы можно применять для оценки клиренса, фармакокинетики и токсичности введения композиций LNP по настоящему изобретению.

[00515] Аминовые липиды могут приводить к увеличению скорости клиренса. В некоторых вариантах реализации скорость клиренса представляет собой скорость клиренса липидов, например, скорость, с которой липид удаляется из крови, сыворотки или плазмы. В некоторых вариантах реализации скорость клиренса представляет собой скорость клиренса РНК, например, скорость, с которой аминовый мРНК или гРНК удаляется из крови, сыворотки или плазмы. В некоторых вариантах реализации скорость клиренса представляет собой скорость, с которой LNP удаляется из крови, сыворотки или плазмы. В некоторых вариантах реализации скорость клиренса представляет собой скорость, с которой LNP удаляется из ткани, такой как ткань печени или ткань селезенки. В некоторых вариантах реализации высокий клиренс приводит к профилю безопасности без существенных побочных эффектов. Аминовые липиды могут уменьшать накопление LNP в кровотоке и в тканях. В некоторых вариантах реализации снижение накопления LNP в кровотоке и в тканях приводит к профилю безопасности без существенных побочных эффектов.

[00516] Липиды аминов по данному изобретению являются ионизируемыми (например, могут образовывать соль) в зависимости от pH среды, в которой они находятся. Например, в слабнокислой среде аминовые липиды могут протонироваться и, таким образом, нести положительный заряд. И наоборот, в слабощелочной среде, такой

как, например, кровь, где рН составляет около 7,35, аминовые липиды могут не протонироваться и, таким образом, не иметь заряда. В некоторых вариантах реализации аминовые липиды по настоящему раскрытию могут быть протонированы при рН по меньшей мере около 9. В некоторых вариантах реализации аминовые липиды по настоящему раскрытию могут быть протонированы при рН по меньшей мере около 9. В некоторых вариантах реализации аминовые липиды по настоящему раскрытию могут быть протонированы при рН по меньшей мере около 10.

[00517] рН, при котором аминовый липид преимущественно протонируется, связан с его собственным рКа. В некоторых вариантах реализации аминовые липиды по данному изобретению могут каждый независимо иметь рКа в диапазоне от около 5,1 до около 7,4. В некоторых вариантах реализации аминовые липиды по данному изобретению могут каждый независимо иметь рКа в диапазоне от около 5,5 до около 6,6. В некоторых вариантах реализации аминовые липиды по данному изобретению могут каждый независимо иметь рКа в диапазоне от около 5,6 до около 6,4. В некоторых вариантах реализации аминовые липиды по данному изобретению могут каждый независимо иметь рКа в диапазоне от около 5,8 до около 6,2. Например, аминовые липиды по настоящему изобретению могут каждый независимо иметь рКа в диапазоне от около 5,8 до около 6,5. Значение рКа аминного липида может быть важным фактором при составлении LNP, поскольку было обнаружено, что катионные липиды с рКа в диапазоне от около 5,1 до около 7,4 эффективны для доставки груза *in vivo*, например, в печень. Кроме того, было обнаружено, что катионные липиды с рКа в диапазоне от около 5,3 до около 6,4 эффективны для доставки *in vivo*, например, в опухоли. См., например, WO 2014/136086.

[00518] **Дополнительные липиды**

[00519] «Нейтральные липиды», подходящие для использования в липидной композиции по настоящему описанию, включают, например, множество нейтральных, незаряженных или цвиттерионных липидов. Примеры нейтральных фосфолипидов, подходящих для использования в настоящем раскрытии, включают, но не ограничиваются ими, 5-гептадецилбензол-1,3-диол (резорцин), дипальмитоилфосфатидилхолин (DPPC), дистеароилфосфатидилхолин (DSPC), пошфохолин (DOPC), димиристоилфосфатидилхолин (DMPC), фосфатидилхолин (PLPC), 1,2-дистеароил-sn-глицеро-3-фосфохолин (DAPC), фосфатидилэтаноламин (PE), яичный фосфатидилхолин (EPC), дилаурилоилфосфатидилхолин (DLPC), димиристоилфосфатидилхолин-1 (DMPC), 1-миристоил-2-пальмитоилфосфатидилхолин (MPPC), 1-пальмитоил-2-миристоилфосфатидилхолин (PMPC), 1-пальмитоил-2-стеароилфосфатидилхолин (PSPC), 1,2-диарахидоил-sn-глицеро-3-фосфохолин (DBPC), 1-стеароил-2-пальмитоилфосфатидилхолин (SPPC), 1,2-диикозеноил-sn-глицеро-3-фосфохолин (DEPC), пальмитоилолеилфосфатидилхолин (POPC), лизофосфатидилхолин, диолеоилфосфатидиэтилэтаноламин (DOPE), дилинолеоилфосфатидилхолин дистеароилфосфатидилэтаноламин (DSPE), димиристоилфосфатидилэтаноламин (DMPE), дипальмитоилфосфатидилэтаноламин (DPPE), пальмитоилолеилфосфатидилэтаноламин

(POPE), лизофосфатидилэтаноламин и их комбинации. В одном варианте реализации нейтральный фосфолипид может быть выбран из группы, состоящей из дистеароилфосфатидилхолина (DSPC) и димиристоилфосфатидилэтаноламина (DMPE). В другом варианте реализации нейтральный фосфолипид может представлять собой дистеароилфосфатидилхолин (DSPC). В другом варианте реализации нейтральный фосфолипид может представлять собой дипальмитоилфосфатидилхолин (DPPC).

[00520] «Вспомогательные липиды» включают стероиды, стерины и алкилрезорцины. Хелперные липиды, подходящие для использования в настоящем раскрытии, включают, но не ограничиваются ими, холестерин, 5-гептадецилрезорцин и гемисукцинат холестерина. В одном варианте реализации вспомогательный липид может представлять собой холестерин. В одном варианте реализации вспомогательный липид может представлять собой гемисукцинат холестерина.

[00521] «Липиды-невидимки» - это липиды, которые изменяют продолжительность существования наночастиц *in vivo* (например, в крови). Липиды-невидимки могут способствовать процессу составления, например, уменьшая агрегацию частиц и контролируя размер частиц. Используемые в данном документе липиды-невидимки могут модулировать фармакокинетические свойства LNP. Липиды-невидимки, подходящие для использования в липидной композиции по настоящему описанию, включают, но не ограничиваются ими, липиды-невидимки, имеющие гидрофильную головную группу, связанную с липидным фрагментом. Липиды-невидимки, подходящие для использования в липидной композиции настоящего описания, и информацию о биохимии таких липидов можно найти в Romberg et al., *Pharmaceutical Research*, Vol. 25, № 1, 2008 г., pg. 55-71 и Hoekstra et al., *Biochimica et Biophysica Acta* 1660 (2004) 41-52. Дополнительные подходящие липиды ПЭГ описаны, например, в WO 2006/007712.

[00522] В одном варианте реализации гидрофильная головная группа липида-невидимки включает полимерный фрагмент, выбранный из полимеров на основе ПЭГ. Липиды-невидимки могут содержать липидный фрагмент. В некоторых вариантах реализации липид-невидимку представляет собой липид ПЭГ. Липиды ПЭГ могут способствовать процессу составления, например, уменьшая агрегацию частиц и контролируя размер частиц. Используемые в данном документе липиды ПЭГ могут модулировать фармакокинетические свойства LNP. Обычно липид ПЭГ включает липидный фрагмент и полимерный фрагмент на основе ПЭГ.

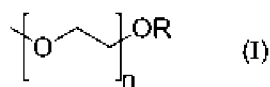
[00523] В одном варианте реализации липид-невидимка включает полимерный фрагмент, выбранный из полимеров на основе ПЭГ (иногда называемого поли(этиленоксидом)), поли(оксазолином), поли(виниловым спиртом), поли(глицерином), поли(N-винилпирролидоном), полиаминокислотой и поли[N-(2-гидроксипропил)метакриламидом].

[00524] В одном варианте реализации липид ПЭГ включает полимерный фрагмент на основе ПЭГ (иногда называемый поли(этиленоксидом)).

[00525] Липид ПЭГ дополнительно содержит липидную составляющую. В некоторых вариантах реализации липидный фрагмент может быть производным диацилглицерина или диацилгликамида, включая группы, содержащие диалкилглицерин или диалкилгликамидную группу, имеющую длину алкильной цепи, независимо содержащую от около C4 до около C40 насыщенных или ненасыщенных атомов углерода, где цепь может содержать одну или более функциональных группы, такие как, например, амид или сложный эфир. В некоторых вариантах реализации длина алкильной цепи составляет от около C10 до C20. Группа диалкилглицерина или диалкилгликамида может дополнительно содержать одну или более замещенных алкильных групп. Длины цепи могут быть симметричными или асимметричными.

[00526] Если не указано иное, термин «ПЭГ» в контексте настоящего описания означает любой полиэтиленгликоль или другой полимер на основе простого полиалкиленового эфира. В одном варианте реализации ПЭГ представляет собой необязательно замещенный линейный или разветвленный полимер этиленгликоля или этиленоксида. В одном варианте реализации ПЭГ не замещен. В одном варианте реализации ПЭГ замещен, например, одной или более алкильными, алкокси, ацильными, гидроксильными или арильными группами. В одном варианте реализации термин включает сополимеры ПЭГ, такие как ПЭГ-полиуретан или ПЭГ-полипропилен (см., например, J. Milton Harris, Poly(ethylene glycol) chemistry: biotechnical and biomedical applications (1992)); в другом варианте реализации термин не включает сополимеры ПЭГ. В одном варианте реализации ПЭГ имеет молекулярную массу от около 130 до около 50000, в дополнительном варианте реализации от около 150 до около 30000, в дополнительном варианте реализации от около 150 до около 20000, в дополнительном варианте реализации от около 150 до около 15000, в подварианте от около 150 до около 10000, в подварианте от около 150 до около 6000, в подварианте от около 150 до около 5000, в подварианте от около 150 до около 4000, в дополнительном варианте реализации от около 150 до около 3000, в дополнительном варианте реализации от около 300 до около 3000, в дополнительном варианте реализации от около 1000 до около 3000 и в дополнительном варианте реализации от около 1500 до около 2500.

[00527] В некоторых вариантах реализации ПЭГ (например, конъюгированный с липидным фрагментом или липидом, таким как липид-невидимка) представляет собой «ПЭГ-2К», также называемый «ПЭГ 2000», который имеет среднюю молекулярную массу около 2000 дальтон. ПЭГ-2К представлен в данном документе следующей формулой (I), где n равно 45, что означает, что средняя степень полимеризации включает около 45



субъединиц. Однако могут быть использованы другие варианты реализации ПЭГ, известные в данной области, включая, например, те, в которых усредненная по числу степень полимеризации составляет около 23 субъединиц (n=23) и/или 68 субъединиц (n=68). В некоторых вариантах реализации n может находиться в

диапазоне от около 30 до около 60. В некоторых вариантах реализации *n* может находиться в диапазоне от около 35 до около 55. В некоторых вариантах реализации *n* может находиться в диапазоне от около 40 до около 50. В некоторых вариантах реализации *n* может находиться в диапазоне от около 42 до около 48. В некоторых вариантах реализации *n* может составлять 45. В некоторых вариантах реализации *R* может быть выбран из *H*, замещенного алкила и незамещенного алкила. В некоторых вариантах реализации *R* может быть незамещенным алкилом. В некоторых вариантах *R* может быть метилом.

[00528] В любом из вариантов реализации, описанных в данном документе, липид ПЭГ может быть выбран из ПЭГ-дилауроилглицерина, ПЭГ-димиристоилглицерина (ПЭГ-DMG) (номер по каталогу GM-020 от NOF, Токио, Япония), ПЭГ-дипальмитоилглицерина, ПЭГ-дистеароилглицерина (ПЭГ -DSPE) (номер по каталогу DSPE-020CN, NOF, Токио, Япония), ПЭГ-дилаурилгликамида, ПЭГ-димиристилгликамида, ПЭГ-дипальмитоилгликамида и ПЭГ-дистеароилгликамида, ПЭГ-холестерина (1-[8'-(Холест-5-ен -3 [бета] -окси)карбоксамидо-3',6'-диоксооктанил]карбамоил-[омега]-метил-поли(этиленгликоля), ПЭГ-DMB (3,4-дитетрадекоксилбензил-[омега]-метил-поли(этиленгликоль)эфира), 1,2-димиристоил-sn-глицеро-3-фосфоэтаноламин-N-[метокси(полиэтиленгликоля)-2000] (ПЭГ2k-DMG), 1,2-дистеароил-sn-глицеро-3-фосфоэтаноламин-N-[метокси(полиэтиленгликоля)-2000] (ПЭГ2k-DSPE) (каталожный № 880120С от Avanti Polar Lipids, Алабастер, Алабама, США), 1,2-дистеароил-sn-глицерин, метоксиполиэтиленгликоля (ПЭГ2k-DSG; GS-020, NOF Tokyo, Japan), поли(этиленгликоль)-2000-диметакрилата (ПЭГ2k-D MA) и 1,2-дистеарилоксипропил-3-амин-N-[метокси (полиэтиленгликоля)-2000] (ПЭГ2k-DSA). В одном варианте реализации липид ПЭГ может представлять собой ПЭГ2k-DMG. В некоторых вариантах реализации липид ПЭГ может представлять собой ПЭГ2k-DSG. В одном варианте реализации липид ПЭГ может представлять собой ПЭГ2k-DSPE. В одном варианте реализации липид ПЭГ может представлять собой ПЭГ2k-DMA. В одном варианте реализации липид ПЭГ может представлять собой ПЭГ2k-C-DMA. В одном варианте реализации липид ПЭГ может представлять собой соединение S027, раскрытое в WO2016/010840 (абзацы с [00240] по [00244]). В одном варианте реализации липид ПЭГ может представлять собой ПЭГ2k-DSA. В одном варианте реализации липидом ПЭГ может представлять собой ПЭГ2k-C11. В некоторых вариантах реализации липид ПЭГ может представлять собой ПЭГ2k-C14. В некоторых вариантах реализации липид ПЭГ может представлять собой ПЭГ2k-C16. В некоторых вариантах реализации липид ПЭГ может представлять собой ПЭГ2k-C18.

[00529] Составы LNP

[00530] LNP может содержать (i) аминовый липид для инкапсуляции и для эндосомального ускользания, (ii) нейтральный липид для стабилизации, (iii)

вспомогательный липид, также для стабилизации, и (iv) липид-невидимку, такой как липид ПЭГ. Нейтральный липид можно не включать.

[00531] В некоторых вариантах реализации композиция LNP может содержать компонент РНК, который включает один или более из ДНК-связывающего агента, гидрируемого РНК, мРНК нуклеазы Cas, мРНК нуклеазы Cas 2-го класса, мРНК Cas9 и мРНК. В некоторых вариантах реализации композиция LNP включает мРНК, кодирующую нуклеазу Cas 2 класса, и гРНК в качестве компонента РНК. В некоторых вариантах реализации композиция LNP может содержать компонент РНК, аминокислотный липид, вспомогательный липид, нейтральный липид и липид-невидимку. В некоторых композициях LNP вспомогательный липид представляет собой холестерин. В других композициях нейтральный липид представляет собой DSPC. В дополнительных вариантах реализации липид-невидимка представляет собой ПЭГ2k-DMG или ПЭГ2k-C11. В некоторых вариантах реализации композиция LNP содержит липид А или эквивалент липида А; вспомогательный липид; нейтральный липид; липид-невидимку; и гидрируемую РНК. В некоторых композициях аминокислотный липид представляет собой липид А. В некоторых композициях аминокислотный липид представляет собой липид А или его ацетальный аналог; вспомогательный липид представляет собой холестерин; нейтральный липид представляет собой DSPC; и липид-невидимка представляет собой ПЭГ2k-DMG.

[00532] В некоторых вариантах реализации липидные композиции описаны в соответствии с соответствующими молярными соотношениями компонентов липидов в составе. Варианты реализации настоящего раскрытия предлагают липидные композиции, описанные в соответствии с соответствующими молярными соотношениями компонентов липидов в составе. В одном из вариантов реализации % мол. аминокислотного липида может составлять от около 30% % мол. до около 60% мол. В одном из вариантов реализации % мол. аминокислотного липида может составлять от около 40% % мол. до около 60% мол. В одном из вариантов реализации % мол. аминокислотного липида может составлять от около 45% % мол. до около 60% мол. В одном из вариантов реализации % мол. аминокислотного липида может составлять от около 50% % мол. до около 60% мол. В одном из вариантов реализации % мол. аминокислотного липида может составлять от около 55% % мол. до около 60% мол. В одном из вариантов реализации % мол. аминокислотного липида может составлять от около 50% % мол. до около 55% мол. В одном из вариантов реализации % мол. аминокислотного липида может составлять около 50% мол. В одном из вариантов реализации % мол. аминокислотного липида может составлять около 55% мол. В некоторых вариантах реализации % мол. аминокислотного липида в партии LNP будет составлять $\pm 30\%$, $\pm 25\%$, $\pm 20\%$, $\pm 15\%$, $\pm 10\%$, $\pm 5\%$ или $\pm 2,5\%$ от целевого % мол. В некоторых вариантах реализации, % мол. аминокислотного липида в партии LNP будет составлять $\pm 4\%$ мол., $\pm 3\%$ мол., $\pm 2\%$ мол., $\pm 1,5\%$ мол., $\pm 1\%$ мол., $\pm 0,5\%$ мол. или $\pm 0,25\%$ мол. от целевого % мол. Все числа в молярных процентах даны как доли липидного компонента композиций LNP. В некоторых вариантах реализации вариативность % мол. аминокислотного липида между партиями LNP будет менее чем 15%, менее чем 10% или менее чем 5%.

[00537] В некоторых вариантах реализации, % мол. нейтрального липида в партии LNP будет составлять $\pm 30\%$, $\pm 25\%$, $\pm 20\%$, $\pm 15\%$, $\pm 10\%$, $\pm 5\%$ или $\pm 2,5\%$ от целевого % мол. нейтрального липида. В некоторых вариантах реализации вариабельность LNP между партиями будет менее чем 15%, менее чем 10% или менее чем 5%.

[00538] В одном из вариантов реализации % мол. вспомогательного липида может составлять от около 20% мол. до около 60% мол. В одном из вариантов реализации % мол. вспомогательного липида может составлять от около 25% мол. до около 55% мол. В одном из вариантов реализации % мол. вспомогательного липида может составлять от около 25% мол. до около 50% мол. В одном из вариантов реализации % мол. вспомогательного липида может составлять от около 25% мол. до около 40% мол. В одном из вариантов реализации % мол. вспомогательного липида может составлять от около 30% мол. до около 50% мол. В одном из вариантов реализации % мол. вспомогательного липида может составлять от около 30% мол. до около 40% мол. В одном варианте реализации % мол. вспомогательного липида регулируется на основе концентраций аминного липида, нейтрального липида и липида ПЭГ, чтобы довести содержание липидного компонента до 100% мол. В одном варианте реализации % мол. вспомогательного липида регулируется на основе концентраций аминного липида и липида ПЭГ, чтобы довести содержание липидного компонента до 100% мол. В одном варианте реализации % мол. вспомогательного липида регулируется на основе концентраций аминного липида и липида ПЭГ, чтобы довести содержание липидного компонента до по меньшей мере 99% мол. В некоторых вариантах реализации % мол. вспомогательного липида в партии LNP будет составлять $\pm 30\%$, $\pm 25\%$, $\pm 20\%$, $\pm 15\%$, $\pm 10\%$, $\pm 5\%$ или $\pm 2,5\%$ от целевого % мол. В некоторых вариантах реализации вариабельность LNP между партиями будет менее чем 15%, менее чем 10% или менее чем 5%.

[00539] В одном из вариантов реализации % мол. ПЭГ липида может составлять от около 1% мол. до около 10% мол. В одном из вариантов реализации % мол. ПЭГ липида может составлять от около 2% мол. до около 10% мол. В одном из вариантов реализации % мол. ПЭГ липида может составлять от около 2% мол. до около 8% мол. В одном из вариантов реализации % мол. ПЭГ липида может составлять от около 2% мол. до около 4% мол. В одном из вариантов реализации % мол. ПЭГ липида может составлять от около 2,5% мол. до около 4% мол. В одном из вариантов реализации % мол. ПЭГ липида может составлять около 3% мол. В одном из вариантов реализации % мол. ПЭГ липида может составлять около 2,5% мол. В некоторых вариантах реализации, % мол. ПЭГ липида в партии LNP будет составлять $\pm 30\%$, $\pm 25\%$, $\pm 20\%$, $\pm 15\%$, $\pm 10\%$, $\pm 5\%$ или $\pm 2,5\%$ от целевого % мол. ПЭГ липида. В некоторых вариантах реализации вариабельность LNP между партиями будет менее чем 15%, менее чем 10% или менее чем 5%.

[00540] В некоторых вариантах реализации груз включает нуклеиновую кислоту, кодирующую ДНК-связывающий агент, гидрируемый РНК (например, нуклеазу Cas, нуклеазу Cas 2 класса или Cas9), и гРНК или нуклеиновую кислоту, кодирующую гРНК,

или комбинацию мРНК и гРНК. В одном варианте реализации композиция LNP может содержать липид А или его эквиваленты. В некоторых аспектах аминовый липид представляет собой липид А. В некоторых аспектах аминовый липид представляет собой эквивалент липида А, например, аналог липида А. В определенных аспектах аминовый липид представляет собой ацетальный аналог липида А. В различных вариантах реализации изобретения композиция LNP включает аминовый липид, нейтральный липид, вспомогательный липид и липид ПЭГ. В некоторых вариантах реализации вспомогательный липид представляет собой холестерин. В некоторых вариантах реализации нейтральный липид представляет собой DSPC. В конкретных вариантах реализации липид ПЭГ представляет собой ПЭГ2k-DMG. В некоторых вариантах реализации композиция LNP может содержать липид А, вспомогательный липид, нейтральный липид и липид ПЭГ. В некоторых вариантах реализации композиция LNP содержит аминовый липид, DSPC, холестерин и липид ПЭГ. В некоторых вариантах реализации композиция LNP содержит липид ПЭГ, содержащий DMG. В некоторых вариантах реализации аминовый липид выбран из липида А и эквивалента липида А, включая ацетальный аналог липида А. В дополнительных вариантах реализации композиция LNP содержит липид А, холестерин, DSPC и ПЭГ2k-DMG.

[00541] В различных вариантах реализации композиция LNP содержит аминовый липид, вспомогательный липид, нейтральный липид и липид ПЭГ. В различных вариантах реализации композиция LNP содержит аминовый липид, вспомогательный липид, нейтральный фосфолипид и липид ПЭГ. В различных вариантах реализации композиция LNP содержит липидный компонент, который состоит из аминового липида, вспомогательного липида, нейтрального липида и липида ПЭГ. В различных вариантах реализации композиция LNP содержит аминовый липид, вспомогательный липид и липид ПЭГ. В некоторых вариантах реализации композиция LNP не содержит нейтральный липид, такой как нейтральный фосфолипид. В различных вариантах реализации композиция LNP содержит липидный компонент, который состоит из аминового липида, вспомогательного липида и липида ПЭГ. В некоторых вариантах реализации нейтральный липид выбран из одного или более из DSPC, DPPC, DAPC, DMPC, DOPC, DOPE и DSPE. В некоторых вариантах реализации нейтральный липид представляет собой DSPC. В некоторых вариантах реализации нейтральный липид представляет собой DPPC. В некоторых вариантах реализации нейтральный липид представляет собой DAPC. В некоторых вариантах реализации нейтральный липид представляет собой DMPC. В некоторых вариантах реализации нейтральный липид представляет собой DOPC. В некоторых вариантах реализации нейтральный липид представляет собой DOPE. В некоторых вариантах реализации нейтральный липид представляет собой DSPE. В некоторых вариантах реализации вспомогательный липид представляет собой холестерин. В конкретных вариантах реализации липид ПЭГ представляет собой ПЭГ2k-DMG. В некоторых вариантах реализации композиция LNP может содержать липид А, вспомогательный липид и липид ПЭГ. В некоторых вариантах реализации композиция

LNP может содержать липидный компонент, который состоит из липида А, вспомогательного липида и липида ПЭГ. В некоторых вариантах реализации композиция LNP содержит аминовый липид, холестерин и липид ПЭГ. В некоторых вариантах реализации композиция LNP содержит липидный компонент, который состоит из аминного липида, холестерина и липида ПЭГ. В некоторых вариантах реализации композиция LNP содержит липид ПЭГ, содержащий DMG. В некоторых вариантах реализации аминовый липид выбран из липида А и эквивалента липида А, включая ацетальный аналог липида А. В некоторых вариантах реализации аминовый липид представляет собой C5-C12 или C4-C12 ацетальный аналог липида А. В дополнительных вариантах реализации композиция LNP содержит липид А, холестерин и ПЭГ2k-DMG.

[00542] Варианты реализации настоящего раскрытия также предложены липидные композиции, описанные в соответствии с молярным соотношением между положительно заряженными аминными группами аминного липида (N) и отрицательно заряженными фосфатными группами (P) нуклеиновой кислоты, которую необходимо инкапсулировать. Математически это может быть представлено уравнением N/P. В некоторых вариантах реализации композиция LNP может содержать липидный компонент, который включает аминовый липид, вспомогательный липид, нейтральный липид и липид ПЭГ; и компонент нуклеиновой кислоты, где отношение N/P составляет от около 3 до 10. В некоторых вариантах реализации композиция LNP может содержать липидный компонент, который включает аминовый липид, вспомогательный липид и липид ПЭГ; и компонент нуклеиновой кислоты, где отношение N/P составляет от около 3 до 10. В некоторых вариантах реализации композиция LNP может содержать липидный компонент, который включает аминовый липид, вспомогательный липид, нейтральный липид и вспомогательный липид; и компонент РНК, в котором соотношение N/P составляет от около 3 до 10. В некоторых вариантах реализации композиция LNP может содержать липидный компонент, который включает аминовый липид, вспомогательный липид и липид ПЭГ; и компонент РНК, в котором соотношение N/P составляет от около 3 до 10. В одном варианте реализации соотношение N/P может составлять от около 5 до 7. В одном варианте реализации соотношение N/P может составлять от около 3 до 7. В одном варианте реализации соотношение N/P может составлять от около 4,5 до 8. В одном варианте реализации соотношение N/P может составлять около 6. В одном варианте реализации соотношение N/P может составлять 6 ± 1 . В одном варианте реализации соотношение N/P может составлять $6 \pm 0,5$. В некоторых вариантах реализации отношение N/P будет составлять $\pm 30\%$, $\pm 25\%$, $\pm 20\%$, $\pm 15\%$, $\pm 10\%$, $\pm 5\%$ или $\pm 2,5\%$ от целевого отношения N/P. В некоторых вариантах реализации вариативность LNP между партиями будет менее чем 15%, менее чем 10% или менее чем 5%.

[00543] В некоторых вариантах реализации компонент РНК может содержать нуклеиновую кислоту, такую как нуклеиновая кислота, описанная в данном документе, например, кодирующая нуклеазу Cas, описанную в данном документе (например, мРНК Cas9, описанную в данном документе), и гРНК, описанную в данном документе. В

некоторых вариантах реализации компонент РНК содержит мРНК нуклеазы Cas, описанной в данном документе, и гРНК, описанную в данном документе. В некоторых вариантах реализации компонент РНК включает мРНК нуклеазы Cas 2 класса, описанной в данном документе, и гРНК, описанную в данном документе. В любом из вышеупомянутых вариантов реализации гРНК может представлять собой sgРНК, описанную в данном документе, такую как химически модифицированная sgРНК, описанная в данном документе.

[00544] В некоторых вариантах реализации композиция LNP может содержать компонент РНК, как обсуждалось выше, аминовый липид, вспомогательный липид, нейтральный липид и липид ПЭГ. В некоторых композициях LNP вспомогательный липид представляет собой холестерин; нейтральный липид представляет собой DSPC; и/или липид ПЭГ представляет собой ПЭГ2k-DMG или ПЭГ2k-C11. В конкретных композициях аминовый липид выбран из липида А и его эквивалентов, таких как ацетальный аналог липида А. В одном варианте липидный компонент композиции LNP состоит из аминного липида, вспомогательного липида, нейтрального липида и липида ПЭГ. В одном варианте реализации липидный компонент композиции LNP состоит из аминного липида, вспомогательного липида и липида ПЭГ. В некоторых композициях, содержащих мРНК, кодирующую нуклеазу Cas и гРНК, вспомогательным липидом является холестерин. В некоторых композициях, содержащих мРНК, кодирующую нуклеазу Cas и гРНК, нейтральным липидом является DSPC. Некоторые композиции, содержащие мРНК, кодирующую нуклеазу Cas, и гРНК, содержат менее чем около 1% мол. нейтрального липида, например, нейтрального фосфолипида. Некоторые композиции, содержащие мРНК, кодирующую нуклеазу Cas, и гРНК, содержат менее чем около 0,5% мол. нейтрального липида, например, нейтрального фосфолипида. В некоторых композициях LNP не содержит нейтральный липид, например нейтральный фосфолипид. В дополнительных вариантах реализации, содержащих мРНК, кодирующую нуклеазу Cas и гРНК, липид ПЭГ представляет собой ПЭГ2k-DMG или ПЭГ2k-C11. В некоторых вариантах реализации аминовый липид выбран из липида А и его эквивалентов, таких как ацетальные аналоги липида А.

[00545] В некоторых вариантах реализации композиции LNP включают мРНК нуклеазу Cas (например, мРНК Cas 2 класса), описанную в данном документе, и по меньшей мере одну описанную в данном документе мРНК. В некоторых вариантах реализации композиция LNP включает отношение гРНК к мРНК нуклеазы Cas, такой как мРНК нуклеазы Cas 2 класса, от около 25: 1 до около 1:25. В некоторых вариантах реализации состав LNP включает отношение гРНК к мРНК нуклеазы Cas, такой как мРНК нуклеазы Cas 2 класса, от около 10: 1 до около 1:10. В некоторых вариантах реализации состав LNP включает отношение гРНК к мРНК нуклеазы Cas, такой как мРНК нуклеазы Cas 2 класса, от около 8: 1 до около 1:8. Как измерено в данном документе, отношения даны по массе. В некоторых вариантах реализации состав LNP включает соотношение гРНК и мРНК нуклеазы Cas, например мРНК Cas 2 класса, от около 5: 1 до около 1: 5. В

некоторых вариантах реализации диапазон соотношений составляет от около 3: 1 до 1: 3, от около 2: 1 до 1: 2, от около 5: 1 до 1: 2, от около 5: 1 до 1: 1, около от 3: 1 до 1: 2, около от 3: 1 до 1: 1, около 3: 1, около от 2: 1 до 1: 1. В некоторых вариантах реализации соотношение гРНК к мРНК составляет около 3: 1 или около 2: 1. В некоторых вариантах реализации соотношение гРНК и мРНК нуклеазы Cas, такой как нуклеаза Cas 2 класса, составляет около 1: 1. Соотношение может составлять около 25: 1, 10: 1, 5: 1, 3: 1, 1: 1, 1: 3, 1: 5, 1: 10 или 1: 25.

[00546] В некоторых вариантах реализации LNP образуются путем смешивания водного раствора РНК с липидным раствором на основе органического растворителя, например, 100% этанолом. Подходящие растворы или растворители включают или могут содержать: воду, ФСБ, трис-буфер, NaCl, цитратный буфер, этанол, хлороформ, диэтиловый эфир, циклогексан, тетрагидрофуран, метанол, изопропанол. Можно использовать фармацевтически приемлемый буфер, например, для введения LNP *in vivo*. В некоторых вариантах реализации буфер используется для поддержания pH композиции, содержащей LNP, на уровне или выше pH 6,5. В некоторых вариантах реализации буфер используется для поддержания pH композиции, содержащей LNP, на уровне pH 7,0 или выше. В некоторых вариантах реализации композиция имеет pH в диапазоне от около 7,2 до около 7,7. В дополнительных вариантах реализации композиция имеет pH в диапазоне от около 7,3 до около 7,7 или в диапазоне от около 7,4 до около 7,6. В дополнительных вариантах реализации композиция имеет pH около 7,2, 7,3, 7,4, 7,5, 7,6 или 7,7. pH композиции можно измерить с помощью микрозонда pH. В некоторых вариантах реализации в композицию включен криопротектор. Неограничивающие примеры криопротекторов включают сахарозу, трегалозу, глицерин, ДМСО и этиленгликоль. Типичные композиции могут включать до 10% криопротектора, такого как, например, сахароза. В некоторых вариантах реализации композиция LNP может включать около 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10% криопротектора. В некоторых вариантах реализации композиция LNP может включать около 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10% сахарозы. В некоторых вариантах реализации композиция LNP может включать буфер. В некоторых вариантах реализации буфер может содержать фосфатный буфер (ФСБ), Трис-буфер, цитратный буфер и их смеси. В некоторых примерных вариантах реализации буфер содержит NaCl. В некоторых вариантах реализации NaCl не используется. Типичные количества NaCl могут находиться в диапазоне от около 20 мМ до около 45 мМ. Типичные количества NaCl могут находиться в диапазоне от около 40 мМ до около 50 мМ. В некоторых вариантах реализации количество NaCl составляет около 45 мМ. В некоторых вариантах реализации буфер представляет собой Трис-буфер. Типичные количества Трис могут варьироваться от около 20 мМ до около 60 мМ. Типичные количества Трис могут варьироваться от около 40 мМ до около 60 мМ. В некоторых вариантах реализации количество Трис составляет около 50 мМ. В некоторых вариантах реализации буфер содержит NaCl и Трис. Некоторые иллюстративные варианты реализации композиций LNP содержат 5% сахарозы и 45 мМ NaCl в Трис-буфере. В других иллюстративных вариантах реализации

композиции содержат сахарозу в количестве около 5% масс./об., около 45 мМ NaCl и около 50 мМ Трис при pH 7,5. Количество соли, буфера и криопротектора можно варьировать таким образом, чтобы поддерживать осмоляльность всего состава. Например, конечная осмоляльность может поддерживаться на уровне менее 450 мОсм/л. В дополнительных вариантах осмоляльность составляет от 350 до 250 мОсм/л. Некоторые варианты реализации имеют конечную осмоляльность 300 +/- 20 мОсм/л.

[00547] В некоторых вариантах реализации используется микрожидкостное смешение, Т-смешение или перекрестное смешение. В некоторых аспектах скорости потока, размер соединения, геометрия соединения, форма соединения, диаметр трубки, растворы и/или концентрации РНК и липидов могут варьироваться. LNP или композиции LNP могут быть сконцентрированы или очищены, *например*, с помощью диализа, фильтрования в тангенциальном потоке или хроматографии. LNP могут храниться, *например*, в виде суспензии, эмульсии или лиофилизованного порошка. В некоторых вариантах реализации композиция LNP хранится при 2-8 °С, в некоторых аспектах композиции LNP хранятся при комнатной температуре. В дополнительных вариантах реализации композиция LNP хранится в замороженном виде, *например*, при -20°С или -80 °С. В других вариантах реализации композиция LNP хранится при температуре в диапазоне от около 0°С до около -80 °С. Композиции LNP можно разморозить перед применением, *например*, на льду, при комнатной температуре или при 25 °С.

[00548] LNP могут быть, *например*, микросферами (включая однослойные и многослойные везикулы, *например*, «липосомы» - липидные бислои ламеллярной фазы, которые в некоторых вариантах реализации являются по существу сферическими и, в более конкретных вариантах реализации, могут содержать водное ядро, *например*, включающее значительную часть молекул РНК), дисперсной фазой в эмульсии, мицеллами или внутренней фазой в суспензии.

[00549] Более того, композиции LNP являются биоразлагаемыми, поскольку они не накапливаются до цитотоксических уровней *in vivo* при терапевтически эффективной дозе. В некоторых вариантах реализации композиции LNP не вызывают врожденного иммунного ответа, который приводит к существенным побочным эффектам на уровне терапевтических доз. В некоторых вариантах реализации композиции LNP, представленные в данном документе, не вызывают токсичности на уровне терапевтических доз.

[00550] В некоторых вариантах реализации коэффициент полидисперстности может находиться в диапазоне от около 0,005 до около 0,75. В некоторых вариантах реализации коэффициент полидисперстности может находиться в диапазоне от около 0,01 до около 0,5. В некоторых вариантах реализации коэффициент полидисперстности может находиться в диапазоне от около нуля до около 0,4. В некоторых вариантах реализации коэффициент полидисперстности может находиться в диапазоне от около нуля до около 0,35. В некоторых вариантах реализации коэффициент полидисперстности может находиться в диапазоне от около нуля до около 0,35. В некоторых вариантах реализации

коэффициент полидисперстности может находиться в диапазоне от около нуля до около 0,3. В некоторых вариантах реализации коэффициент полидисперстности может находиться в диапазоне от около нуля до около 0,25. В некоторых вариантах реализации коэффициент полидисперстности может находиться в диапазоне от около нуля до около 0,2. В некоторых вариантах реализации коэффициент полидисперстности может составлять менее чем около 0,08, 0,1, 0,15, 0,2 или 0,4.

[00551] Описанные в данном документе LNP имеют размер (например, Z-средний диаметр) от около 1 до около 250 нм. В некоторых вариантах реализации LNP имеют размер от около 10 до около 200 нм. В дополнительных вариантах реализации LNP имеют размер от около 20 до около 150 нм. В некоторых вариантах реализации LNP имеют размер от около 50 до около 150 нм. В некоторых вариантах реализации LNP имеют размер от около 50 до около 100 нм. В некоторых вариантах реализации LNP имеют размер от около 50 до около 120 нм. В некоторых вариантах реализации LNP имеют размер от около 60 до около 100 нм. В некоторых вариантах реализации LNP имеют размер от около 75 до около 150 нм. В некоторых вариантах реализации LNP имеют размер от около 75 до около 120 нм. В некоторых вариантах реализации LNP имеют размер от около 75 до около 100 нм. Если не указано иное, все упомянутые в данном документе размеры представляют собой средние размеры (диаметры) полностью сформированных наночастиц, измеренные с помощью динамического светорассеяния на Malvern Zetasizer. Образец наночастиц разбавляя фосфатно-солевым буфером (ФСБ) так, чтобы скорость счета составляла около 200-400 кгц/с. Данные представлены как средневзвешенное значение показателя интенсивности (Z-средний диаметр).

[00552] В некоторых вариантах реализации LNP сформированы со средней эффективностью инкапсуляции в диапазоне от около 50% до около 100%. В некоторых вариантах реализации LNP сформированы со средней эффективностью инкапсуляции в диапазоне от около 50% до около 70%. В некоторых вариантах реализации LNP сформированы со средней эффективностью инкапсуляции в диапазоне от около 70% до около 90%. В некоторых вариантах реализации LNP сформированы со средней эффективностью инкапсуляции в диапазоне от около 90% до около 100%. В некоторых вариантах реализации LNP сформированы со средней эффективностью инкапсуляции в диапазоне от около 75% до около 95%.

[00553] В некоторых вариантах реализации LNP образуются со средней молекулярной массой в диапазоне от около $1,00E+05$ г/моль до около $1,00E+10$ г/моль. В некоторых вариантах реализации LNP образуются со средней молекулярной массой в диапазоне от около $5,00E+05$ г/моль до около $7,00E+07$ г/моль. В некоторых вариантах реализации LNP образуются со средней молекулярной массой в диапазоне от около $1,00E+06$ г/моль до около $1,00E+10$ г/моль. В некоторых вариантах реализации LNP образуются со средней молекулярной массой в диапазоне от около $1,00E+07$ г/моль до около $1,00E+09$ г/моль. В некоторых вариантах реализации LNP образуются со средней молекулярной массой в диапазоне от около $5,00E+06$ г/моль до около $5,00E+09$ г/моль.

[00554] В некоторых вариантах реализации полидисперсность (M_w/M_n ; отношение усредненной по массе молярной массы (M_w) к числовой усредненной молярной массе (M_n)) может находиться в диапазоне от около 1,000 до около 2,000. В некоторых вариантах реализации M_w/M_n может находиться в диапазоне от около 1,00 до около 1,500. В некоторых вариантах реализации M_w/M_n может находиться в диапазоне от около 1,020 до около 1,400. В некоторых вариантах реализации M_w/M_n может находиться в диапазоне от около 1,010 до около 1,100. В некоторых вариантах реализации M_w/M_n может находиться в диапазоне от около 1,100 до около 1,350.

[00555] Динамическое рассеяние света («DLS») можно использовать для характеристики коэффициента полидисперсности (« PDI ») и размера LNP согласно настоящему раскрытию. DLS измеряет рассеяние света, которое возникает в результате воздействия на образец источника света. PDI, как определено из измерений DLS, представляет собой распределение размера частиц (около среднего размера частиц) в популяции с совершенно однородной популяцией, имеющей PDI, равный нулю. В некоторых вариантах реализации коэффициент полидисперсности может находиться в диапазоне от 0,005 до 0,75. В некоторых вариантах реализации коэффициент полидисперсности может находиться в диапазоне от 0,01 до 0,5. В некоторых вариантах реализации коэффициент полидисперсности может находиться в диапазоне от 0,02 до 0,4. В некоторых вариантах реализации коэффициент полидисперсности может находиться в диапазоне от 0,03 до 0,35. В некоторых вариантах реализации коэффициент полидисперсности может находиться в диапазоне от 0,1 до 0,35.

[00556] В некоторых вариантах реализации раскрытые в данном документе LNP имеют размер от 1 до 250 нм. В некоторых вариантах реализации LNP имеют размер от 10 до 200 нм. В дополнительных вариантах реализации LNP имеют размер от 20 до 150 нм. В некоторых вариантах реализации LNP имеют размер от 50 до 150 нм. В некоторых вариантах реализации LNP имеют размер от 50 до 100 нм. В некоторых вариантах реализации LNP имеют размер от 50 до 120 нм. В некоторых вариантах реализации LNP имеют размер от 75 до 150 нм. В некоторых вариантах реализации LNP имеют размер от 30 до 200 нм. Если не указано иное, все упомянутые в данном документе размеры представляют собой средние размеры (диаметры) полностью сформированных наночастиц, измеренные с помощью динамического светорассеяния на Malvern Zetasizer. Образец наночастиц разбавлялся фосфатно-солевым буфером (ФСБ) так, чтобы скорость счета составляла около 200-400 кгц/с. Данные представлены как средневзвешенное значение показателя интенсивности. В некоторых вариантах реализации LNP сформированы со средней эффективностью инкапсуляции в диапазоне от 50% до 100%. В некоторых вариантах реализации LNP сформированы со средней эффективностью инкапсуляции в диапазоне от 50% до 70%. В некоторых вариантах реализации LNP сформированы со средней эффективностью инкапсуляции в диапазоне от 70% до 90%. В некоторых вариантах реализации LNP сформированы со средней эффективностью

инкапсуляции в диапазоне от 90% до 100%. В некоторых вариантах реализации LNP сформированы со средней эффективностью инкапсуляции в диапазоне от 75% до 95%.

[00557] В некоторых вариантах реализации LNP, связанные с гРНК, раскрытыми в данном документе, и нуклеиновые кислоты (например, мРНК), кодирующие ДНК-связывающий агент, гидрируемый РНК (например, Cas9, Spy Cas9), описанные в данном документе, предназначены для использования при получении лекарственного средства для лечения АТТР. В некоторых вариантах реализации LNP, связанные с гРНК, раскрытыми в данном документе, и нуклеиновые кислоты (например, мРНК), кодирующие ДНК-связывающий агент, гидрируемый РНК (например, Cas9, Spy Cas9), описанные в данном документе, предназначены для использования при приготовлении лекарственного средства для уменьшения или предотвращения накопления и агрегации ТТР в амилоидах или амилоидных фибриллах у субъектов, имеющих АТТР. В некоторых вариантах реализации LNP, связанные с гРНК, раскрытыми в данном документе, и нуклеиновые кислоты (например, мРНК), кодирующие ДНК-связывающий агент, гидрируемый РНК (например, Cas9, Spy Cas9), описанные в данном документе, предназначены для снижения концентрации ТТР в сыворотке. В некоторых вариантах реализации LNP, связанные с гРНК, раскрытыми в данном документе, и нуклеиновые кислоты (например, мРНК), кодирующие ДНК-связывающий агент, гидрируемый РНК (например, Cas9, Spy Cas9), описанные в данном документе, предназначены для использования при лечении АТТР у субъекта, такого как млекопитающее, например, примат, такой как человек. В некоторых вариантах реализации LNP, связанные с гРНК, раскрытыми в данном документе, и нуклеиновые кислоты (например, мРНК), кодирующие ДНК-связывающий агент, гидрируемый РНК (например, Cas9, Spy Cas9), описанные в данном документе, предназначены для использования для уменьшения или предотвращения накопления и агрегации ТТР в амилоидах или амилоидных фибриллах у субъектов, имеющих АТТР, таких как млекопитающие, например приматы, такие как человек. В некоторых вариантах реализации LNP, связанные с гРНК, раскрытыми в данном документе, и нуклеиновые кислоты (например, мРНК), кодирующие ДНК-связывающий агент, гидрируемый РНК (например, Cas9, Spy Cas9), описанные в данном документе, предназначены для использования для снижения концентрации ТТР в сыворотке у субъекта, такого как млекопитающее, например, примат, такой как человек.

[00558] Электропорация также является хорошо известным средством доставки груза, и любая методология электропорации может быть использована для доставки любой из гРНК, описанных в данном документе. В некоторых вариантах реализации электропорация может быть использована для доставки любой из описанных в данном документе гРНК и РНК-управляемой ДНК-нуклеазы, такой как Cas9, или нуклеиновой кислоты, кодирующей ДНК нуклеазу, гидрируемую РНК, такую как Cas9.

[00559] В некоторых вариантах реализации изобретение включает способ доставки любой из гРНК, раскрытых в данном документе, и нуклеиновых кислот (например, мРНК), кодирующих ДНК-связывающий агент, гидрируемый РНК (например, Cas9, Spy

Cas9), раскрытый в данном документе, в клетку *ex vivo*, где мРНК и нуклеиновая кислота связаны с LNP.

[00560] В некоторых вариантах реализации изобретение включает векторы ДНК или РНК, кодирующие любую из гидовых РНК, содержащих любую одну или более гидовых последовательностей, описанных в данном документе. В некоторых вариантах реализации, помимо гидовых последовательностей РНК, векторы дополнительно содержат нуклеиновые кислоты, которые не кодируют гидовые РНК. Нуклеиновые кислоты, которые не кодируют гидовую РНК, включают, но не ограничиваются ими, промоторы, энхансеры, регуляторные последовательности и нуклеиновые кислоты, кодирующие ДНК нуклеазу, гидируемую РНК, которая может быть нуклеазой, такой как Cas9. В некоторых вариантах реализации вектор содержит одну или более нуклеотидных последовательностей, кодирующих *cr*РНК, *tr*РНК или *cr*РНК и *tr*РНК. В некоторых вариантах реализации вектор содержит одну или более нуклеотидных последовательностей, кодирующих *sg*РНК и нуклеиновую кислоту, кодирующую ДНК нуклеазу, гидируемую РНК, которая может быть нуклеазой Cas, такой как Cas9 или Cpf1. В некоторых вариантах реализации вектор содержит одну или более нуклеотидных последовательностей, кодирующих *cr*РНК, *tr*РНК и нуклеиновую кислоту, кодирующую ДНК нуклеазу, гидируемую РНК, которая может быть белком Cas, например Cas9. В одном варианте реализации Cas9 происходит из *Streptococcus pyogenes* (т.е. *Spy* Cas9). В некоторых вариантах реализации нуклеотидная последовательность, кодирующая *cr*РНК, *tr*РНК или *cr*РНК и *tr*РНК (которая может быть *sg*РНК), включает или состоит из гидовой последовательности, фланкированной всей или частью повторяющейся последовательности из естественной системы CRISPR/Cas. Нуклеиновая кислота, содержащая *cr*РНК, *tr*РНК или *cr*РНК и *tr*РНК или состоящая из них, может дополнительно содержать векторную последовательность, где векторная последовательность содержит или состоит из нуклеиновых кислот, которые в природе не встречаются вместе с *cr*РНК, *tr*РНК или *cr*РНК и *tr*РНК.

[00561] В некоторых вариантах реализации *cr*РНК и *tr*РНК кодируются несмежными нуклеиновыми кислотами в одном векторе. В других вариантах реализации *cr*РНК и *tr*РНК могут кодироваться смежной нуклеиновой кислотой. В некоторых вариантах реализации *cr*РНК и *tr*РНК кодируются противоположными цепями одной нуклеиновой кислоты. В других вариантах реализации *cr*РНК и *tr*РНК кодируются одной и той же цепью одной нуклеиновой кислоты.

[00562] В некоторых вариантах реализации вектор может быть кольцевым. В других вариантах реализации вектор может быть линейным. В некоторых вариантах реализации вектор может быть заключен в липидную наночастицу, липосому, нелипидную наночастицу или вирусный капсид. Неограничивающие иллюстративные векторы включают плазмиды, фагмиды, космиды, искусственные хромосомы, минихромосомы, транспозоны, вирусные векторы и векторы экспрессии.

[00563] В некоторых вариантах реализации вектор может быть вирусным вектором. В некоторых вариантах реализации вирусный вектор может быть генетически модифицирован по сравнению с его аналогом дикого типа. Например, вирусный вектор может содержать вставку, делецию или замену одного или более нуклеотидов для облегчения клонирования или для изменения одного или более свойств вектора. Такие свойства могут включать способность упаковки, эффективность трансдукции, иммуногенность, интеграцию генома, репликацию, транскрипцию и трансляцию. В некоторых вариантах реализации часть вирусного генома может быть удалена, так что вирус способен упаковывать экзогенные последовательности большего размера. В некоторых вариантах реализации вирусный вектор может иметь повышенную эффективность трансдукции. В некоторых вариантах реализации иммунный ответ, индуцированный вирусом у хозяина, может быть снижен. В некоторых вариантах реализации вирусные гены (такие как, например, интеграза), которые способствуют интеграции вирусной последовательности в геном хозяина, могут быть мутированы так, что вирус становится неинтегрирующимся. В некоторых вариантах реализации вирусный вектор может быть дефектным по репликации. В некоторых вариантах реализации вирусный вектор может содержать экзогенные последовательности контроля транскрипции или трансляции для управления экспрессией кодирующих последовательностей в векторе. В некоторых вариантах реализации вирус может быть хелпер-зависимым. Например, вирусу может потребоваться один или более вспомогательных вирусов для доставки вирусных компонентов (таких как, например, вирусные белки), необходимых для амплификации и упаковки векторов в вирусные частицы. В таком случае один или более вспомогательных компонентов, включая один или более векторов, кодирующих вирусные компоненты, могут быть введены в клетку-хозяин вместе с описанной в данном документе векторной системой. В других вариантах реализации вирус может не нуждаться во вспомогательных компонентах. Например, вирус может быть способен амплифицировать и упаковывать векторы без какого-либо вспомогательного вируса. В некоторых вариантах реализации описанная в данном документе векторная система может также кодировать вирусные компоненты, необходимые для амплификации и упаковки вируса.

[00564] Неограничивающие иллюстративные вирусные векторы включают вектор аденоассоциированного вируса (AAV), лентивирусные векторы, аденовирусные векторы, вспомогательные аденовирусные векторы (HDAd), векторы вируса простого герпеса (HSV-1), бактериофаг T4, бакуловирусные векторы и ретровирусные векторы. В некоторых вариантах реализации вирусный вектор может быть вектором AAV. В некоторых вариантах реализации вирусный вектор представляет собой AAV2, AAV3, AAV3B, AAV5, AAV6, AAV6.2, AAV7, AAVrh.64R1, AAVhu.37, AAVrh.8, AAVrh.32.33, AAV8, AAV9, AAVrh10 или AAVLK03. В других вариантах реализации вирусный вектор может быть лентивирусным вектором.

[00565] В некоторых вариантах реализации лентивирус может быть неинтегрирующимся. В некоторых вариантах реализации вирусный вектор может быть аденовирусным вектором. В некоторых вариантах реализации аденовирус может представлять собой аденовирус с высокой клонирующей способностью или «выпотрошенный» аденовирус, где все кодирующие вирусные области, кроме 5' и 3' инвертированных концевых повторов (ITR) и сигнала упаковки (Ψ), удалены из вируса, чтобы увеличить его упаковочную способность. В еще других вариантах реализации вирусный вектор может быть вектором HSV-1. В некоторых вариантах реализации вектор на основе HSV-1 является хелпер-зависимым, а в других вариантах-хелпер-независимым. Например, вектор ампликона, который сохраняет только последовательность упаковки, требует вспомогательный вирус со структурными компонентами для упаковки, в то время как вектор HSV-1 с удаленными 30 КБ, который удаляет второстепенные вирусные функции, не требует вспомогательного вируса. В дополнительных вариантах реализации вирусный вектор может быть бактериофагом T4. В некоторых вариантах реализации бактериофаг T4 может быть способен упаковывать любые линейные или кольцевые молекулы ДНК или РНК, когда головка вируса опорожняется. В дополнительных вариантах реализации вирусный вектор может быть бакуловирусным вектором. В еще дополнительных вариантах реализации вирусный вектор может быть ретровирусным вектором. В вариантах реализации с применением AAV или лентивирусных векторов, которые обладают меньшей способностью к клонированию, может быть необходимо использовать более одного вектора для доставки всех компонентов векторной системы, как раскрыто в данном документе. Например, один вектор AAV может содержать последовательности, кодирующие ДНК нуклеазу, гидрируемую РНК, такую как Cas нуклеазу, а второй вектор AAV может содержать одну или более направляющих последовательностей.

[00566] В некоторых вариантах реализации вектор может быть способен управлять экспрессией одной или более кодирующих последовательностей в клетке. В некоторых вариантах реализации клетка может быть прокариотической клеткой, такой как, например, бактериальная клетка. В некоторых вариантах реализации клетка может быть эукариотической клеткой, такой как, например, клетка дрожжей, растений, насекомых или млекопитающих. В некоторых вариантах реализации эукариотическая клетка может быть клеткой млекопитающего. В некоторых вариантах реализации эукариотическая клетка может быть клеткой грызунов. В некоторых вариантах реализации эукариотическая клетка может быть клеткой человека. Подходящие промоторы для управления экспрессией в различных типах клеток известны в данной области техники. В некоторых вариантах реализации промотор может быть промотером дикого типа. В других вариантах реализации промотор можно модифицировать для более эффективной или действенной экспрессии. В еще других вариантах реализации промотор может быть усечен, но при этом сохранять свою функцию. Например, промотор может иметь нормальный или уменьшенный размер, который подходит для правильной упаковки вектора в вирус.

[00567] В некоторых вариантах осуществления вектор может содержать нуклеотидную последовательность, кодирующую ДНК нуклеазу, гидрируемую РНК, такую как нуклеаза, описанная в данном документе. В некоторых вариантах реализации нуклеаза, кодируемая вектором, может быть белком Cas. В некоторых вариантах реализации векторная система может содержать одну копию нуклеотидной последовательности, кодирующей нуклеазу. В других вариантах реализации векторная система может содержать более одной копии нуклеотидной последовательности, кодирующей нуклеазу. В некоторых вариантах реализации нуклеотидная последовательность, кодирующая нуклеазу, может быть функционально связана с меньшей мере на с одной транскрипционной или трансляционной контрольной последовательностью. В некоторых вариантах реализации нуклеотидная последовательность, кодирующая нуклеазу, может быть функционально связана с меньшей мере на с одним промотором.

[00568] В некоторых вариантах реализации промотор может быть конститутивным, индуцибельным или тканеспецифичным. В некоторых вариантах реализации промотор может быть конститутивным промотором. Неограничивающие примеры конститутивных промоторов включают немедленный ранний промотор цитомегаловируса (CMV), промотор обезьяньего вируса (SV40), промотор большого позднего аденовируса (MLP), промотор вируса саркомы Рауса (RSV), промотор вируса опухоли молочной железы мыши (MMTV), промотор фосфоглицераткиназы (PGK), промотор фактора элонгации-альфа (EF1a), промоторы убиквитина, промоторы актина, промоторы тубулина, промоторы иммуноглобулина, их функциональный фрагмент или комбинацию любого из вышеперечисленного. В некоторых вариантах реализации промотор может быть промотором CMV. В некоторых вариантах реализации промотор может быть усеченным промотором CMV. В других вариантах реализации промотор может быть промотором EF1a. В некоторых вариантах реализации промотор может быть индуцибельным промотором. Неограничивающие примеры индуцируемых промоторов включают те, которые индуцируются тепловым шоком, светом, химическими веществами, пептидами, металлами, стероидами, антибиотиками или алкоголем. В некоторых вариантах реализации индуцибельный промотор может быть промотором, который имеет низкий базальный (неиндуцированный) уровень экспрессии, таким как, например, промотор Tet-On[®] (Clontech).

[00569] В некоторых вариантах реализации промотор может быть тканеспецифическим промотором, например, промотором, специфичным для экспрессии в печени.

[00570] Вектор может дополнительно содержать нуклеотидную последовательность, кодирующую описанную в данном документе гидрируемую РНК. В некоторых вариантах реализации вектор содержит одну копию гидриваемой РНК. В других вариантах реализации вектор содержит более одной копии гидриваемой РНК. В вариантах реализации с более чем одной гидриваемой РНК гидриваемые РНК могут быть неидентичными, так

что они нацелены на разные последовательности-мишени, или могут быть идентичными, поскольку они нацелены на одну и ту же последовательность-мишень. В некоторых вариантах реализации, где векторы содержат более одной гидовой РНК, каждая гидовая РНК может иметь другие различные свойства, такие как активность или стабильность в составе комплекса с ДНК-связывающим агентом, гидируемым РНК, таким как комплекс Cas RNP. В некоторых вариантах реализации нуклеотидная последовательность, кодирующая гидовую РНК, может быть функционально связана с по меньшей мере одной транскрипционной или трансляционной контрольной последовательностью, такой как промотор, 3' UTR или 5' UTR. В одном варианте реализации промотор может быть промотором тРНК, *например*, тРНК^{Lys3} или химерой тРНК. См. Mefferd et al., RNA. 2015 21:1683-9; Scherer et al., Nucleic Acids Res. 2007 35: 2620-2628. В некоторых вариантах реализации промотор может распознаваться РНК-полимеразой III (Pol III). Неограничивающие примеры промоторов Pol III включают промоторы U6 и H1. В некоторых вариантах реализации нуклеотидная последовательность, кодирующая гидовую РНК, может быть функционально связана с промотором U6 мыши или человека. В других вариантах реализации нуклеотидная последовательность, кодирующая гидовую РНК, может быть функционально связана с промотором H1 мыши или человека. В вариантах реализации с более чем одной гидовой РНК промоторы, используемые для управления экспрессией, могут быть одинаковыми или разными. В некоторых вариантах реализации нуклеотид, кодирующий sgРНК гидовой РНК, и нуклеотид, кодирующий trРНК гидовой РНК, могут находиться в одном и том же векторе. В некоторых вариантах реализации нуклеотид, кодирующий sgРНК, и нуклеотид, кодирующий trРНК, могут управляться одним и тем же промотором. В некоторых вариантах реализации sgРНК и trРНК могут быть транскрибированы в один транскрипт. Например, sgРНК и trРНК могут быть обработаны из одного транскрипта с образованием двухмолекулярной гидовой РНК. Альтернативно, sgРНК и trРНК могут быть транскрибированы в одномолекулярную гидовую РНК (sgРНК). В других вариантах реализации sgРНК и trРНК могут управляться соответствующими промоторами в одном и том же векторе. В еще других вариантах реализации sgРНК и trРНК могут кодироваться разными векторами.

[00571] В некоторых вариантах реализации нуклеотидная последовательность, кодирующая гидирующую РНК, может быть расположена в том же векторе, содержащем нуклеотидную последовательность, кодирующую ДНК нуклеазу, гидируемую РНК, такую как нуклеаза Cas. В некоторых вариантах реализации экспрессия гидовой РНК и ДНК нуклеазы, гидируемой РНК, такой как белок Cas, может управляться их собственными соответствующими промоторами. В некоторых вариантах осуществления экспрессия гидовой РНК может управляться тем же промотором, который управляет экспрессией ДНК нуклеазы, гидируемой РНК, такой как белок Cas. В некоторых вариантах реализации гидовая РНК и ДНК нуклеаза, гидируемая РНК, такая как транскрипт белка Cas, могут содержаться в одном транскрипте. Например, гидовая РНК может находиться в нетранслируемой области (UTR) ДНК нуклеазы, гидируемой РНК, такой как транскрипт

белка Cas. В некоторых вариантах реализации гидовая РНК может находиться в пределах 5' UTR транскрипта. В других вариантах реализации гидовая РНК может находиться в пределах 3' UTR транскрипта. В некоторых вариантах реализации внутриклеточный период полужизни транскрипта может быть уменьшен за счет содержания гидовой РНК в ее 3' UTR и, таким образом, сокращения длины ее 3' UTR. В дополнительных вариантах реализации гидовая РНК может находиться внутри интрона транскрипта. В некоторых вариантах реализации подходящие сайты сплайсинга могут быть добавлены к интрону, внутри которого расположена гидовая РНК, так что гидовая РНК правильно сплайсируется из транскрипта. В некоторых вариантах реализации экспрессия РНК-управляемой ДНК-нуклеазы, такой как белок Cas, и гидовой РНК из одного и того же вектора в тесной временной близости может способствовать более эффективному образованию комплекса CRISPR RNP.

[00572] В некоторых вариантах реализации композиции содержат векторную систему. В некоторых вариантах реализации векторная система может содержать один единственный вектор. В других вариантах реализации векторная система может содержать два вектора. В дополнительных вариантах реализации векторная система может содержать три вектора. Когда для мультиплексирования используются разные гидующие РНК или когда используются несколько копий гидовой РНК, векторная система может включать более трех векторов.

[00573] В некоторых вариантах реализации векторная система может содержать индуцируемые промоторы, чтобы начать экспрессию только после того, как она будет доставлена в клетку-мишень. Неограничивающие примеры индуцируемых промоторов включают те, которые индуцируются тепловым шоком, светом, химическими веществами, пептидами, металлами, стероидами, антибиотиками или алкоголем. В некоторых вариантах реализации индуцибельный промотор может быть промотором, который имеет низкий базальный (неиндуцированный) уровень экспрессии, таким как, например, промотор Tet-On[®] (Clontech).

В дополнительных вариантах реализации векторная система может содержать тканеспецифические промоторы, чтобы начать экспрессию только после того, как она будет доставлена в конкретную ткань.

Вектор может быть доставлен липосомой, наночастицей, экзосомой или микровезикулой. Вектор также может быть доставлен липидной наночастицей (LNP); см., например, WO2017/173054, опубликованный 5 октября 2017 г. и озаглавленный «ЛИПИДНЫЕ НАНОЧАСТИЦЫ ДЛЯ КОМПОНЕНТОВ CRISPR/CAS», и WO2019067992A1, опубликованный 4 апреля 2019 г., озаглавленный «СОСТАВЫ», содержание каждого из которых полностью включено в настоящее описание посредством ссылки. Любой из описанных в данном документе составов LNP и LNP подходит для доставки гидов по отдельности или вместе с нуклеазой cas или нуклеиновой кислотой, кодирующей нуклеазу cas. В некоторых вариантах реализации композиция LNP охватывает: компонент РНК и липидный компонент, где липидный компонент включает

аминовый липид, нейтральный липид, вспомогательный липид и липид-невидимку; и где соотношение N/P составляет около 1-10.

В некоторых случаях липидный компонент содержит липид А или его ацетальный аналог, холестерин, DSPC и PEG-DMG; и где отношение N/P составляет около 1-10. В некоторых вариантах реализации липидный компонент содержит: около 40-60% мол. аминного липида; около 5-15% мол. нейтрального липида; и около 1,5-10% мол. липида ПЭГ, где остаток липидного компонента представляет собой вспомогательный липид, и где соотношение N/P в композиции LNP составляет около 3-10. В некоторых вариантах реализации липидный компонент содержит: около 50-60% мол. аминного липида; около 8-10% мол. нейтрального липида; и около 2,5-4% мол. липида ПЭГ, где остаток липидного компонента представляет собой вспомогательный липид, и где соотношение N/P в композиции LNP составляет около 3-8. В некоторых случаях липидный компонент содержит: около 50-60% мол. аминного липида; около 5-15% мол. DSPC; и около 2,5-4% мол. липида ПЭГ, где остаток липидного компонента представляет собой холестерин, и где соотношение N/P в композиции LNP составляет около 3-8. В некоторых случаях липидный компонент содержит: 48-53% мол. липида А; около 8-10% мол. DSPC; и около 1,5-10% мол. липида ПЭГ, где остаток липидного компонента представляет собой холестерин, и где соотношение N/P в композиции LNP составляет $3-8 \pm 0,2$.

В некоторых вариантах реализации LNP содержит липидный компонент, а липидный компонент содержит, состоит по существу из или состоит из: около 50% мол. аминного липида, такого как липид А; около 9% мол. нейтрального липида, такого как DSPC; около 3% мол. липида-невидимки, такого как липид ПЭГ, такой как ПЭГ2k-DMG, а оставшаяся часть липидного компонента представляет собой вспомогательный липид, такой как холестерин, где соотношение N/P в композиции LNP составляет около 6. В некоторых вариантах реализации аминный липид представляет собой липид А. В некоторых вариантах реализации нейтральный липид представляет собой DSPC. В некоторых вариантах реализации липид-невидимку представляет собой липид ПЭГ. В некоторых вариантах реализации липид-невидимка представляет собой ПЭГ2k-DMG. В некоторых вариантах реализации вспомогательный липид представляет собой холестерин. В некоторых вариантах реализации LNP содержит липидный компонент, а липидный компонент содержит: около 50% мол. липида А; около 9% мол. DSPC; около 3% мол. ПЭГ2k-DMG, а остаток липидного компонента представляет собой холестерин, где соотношение N/P в композиции LNP составляет около 6.

[00574] В некоторых вариантах реализации вектор можно доставлять системно. В некоторых вариантах реализации вектор может быть доставлен в печеночный кровоток.

[00575] Это описание и примерные варианты реализации не следует рассматривать как ограничивающие. Для целей данного описания и прилагаемой формулы изобретения, если не указано иное, все числа, выражающие количества, проценты или пропорции, а также другие числовые значения, используемые в описании и формуле изобретения, следует понимать как измененные во всех случаях термином «около», в той степени, в

которой они еще не были так модифицированы. Соответственно, если не указано иное, числовые параметры, изложенные в нижеследующем описании и прилагаемой формуле изобретения, являются приблизительными, которые могут варьироваться в зависимости от желаемых свойств, которые должны быть получены. По крайней мере, а не как попытка ограничить применение доктрины эквивалентов к объему формулы изобретения, каждый числовой параметр должен, по меньшей мере, толковаться в свете количества сообщенных значащих цифр и с применением обычных методов округления.

[00576] Следует отметить, что, как используется в данном описании и прилагаемой формуле изобретения, формы единственного числа и любое использование любого слова в единственном числе включают множественные референты, если явно и недвусмысленно не ограничены одним референтом. Используемый в данном документе термин «включать» и его грамматические варианты не предназначены для ограничения, так что перечисление элементов в списке не исключает других подобных элементов, которые могут быть заменены или добавлены к перечисленным элементам.

ПРИМЕРЫ

[00577] Следующие ниже примеры представлены для иллюстрации определенных раскрытых вариантов реализации и никоим образом не должны истолковываться как ограничивающие объем этого раскрытия.

Общие реагенты и Способы.

[00578] Если не указано иное, мРНК синтезировали транскрипцией *in vitro* (IVT) с использованием линеаризованной плазмидной ДНК-матрицы и РНК-полимеразы T7. Транскрипцию обычно выполняли из конструкций, содержащих промотор T7, последовательность транскрипта, описанную в данном документе, такую как SEQ ID NO: 243 (которая кодирует OPC РНК из SEQ ID NO: 204) и поли-А-хвост (SEQ ID NO: 263), кодируемых в плазмиде.

[00579] Для всех способов, концентрацию транскрипта определяли путем измерения поглощения света при 260 нм (Nanodrop), а транскрипт анализировали капиллярным электрофорезом с помощью Bioanalyzer (Agilent).

[00580] Состав LNP

[00581] Липидные компоненты растворяли в 100% этаноле с молярными отношениями липидных компонентов, описанными ниже. Химически модифицированную sgРНК и мРНК Cas9 объединяли и растворяли в 25 мМ цитрате, 100 мМ NaCl, pH 5,0, в результате чего концентрация общей РНК составляла около 0,45 мг/мл. LNP были составлены с соотношением N/P около 6, с соотношением химически модифицированной sgРНК: мРНК Cas9 в соотношении 1: 2 масс./масс., как описано ниже. Если не указано иное, LNP были приготовлены с 50% липида А, 9% DSPC, 38% холестерина и 3% ПЭГ2k-DMG.

[00582] LNP были составлены путем смешивания липида в этаноле с двумя объемами раствора РНК и одним объемом воды. Липид в этаноле смешивали через крестообразный переходник с двумя объемами раствора РНК. Четвертый поток воды

смешивали с выходным потоком крестообразного переходника через встроенный тройник. (См., например, WO2016010840, Фиг. 2.) Во время смешивания поддерживали соотношение водного растворителя и органического растворителя 2: 1 с применением различных скоростей потока. LNP выдерживали в течение 1 часа при комнатной температуре, а затем разбавляли водой (около 1: 1 об./об.). Разбавленные LNP концентрировали с применением фильтрования в тангенциальном потоке на плоском картридже (Sartorius, 100 кДа MWCO), а затем заменяли буфер путем диафильтрации на 50 мМ Трис, 45 мМ NaCl, 5% (масс./об.) сахарозы, pH 7,5 (TSS). Затем полученную смесь фильтровали с применением стерильного фильтра 0,2 мкм. Конечный LNP хранили при 4°C или -80°C до дальнейшего использования.

[00583] Аналитика композиции LNP

[00584] Динамическое рассеяние света («DLS») используется для характеристики индекса полидисперсности («pdi») и размера LNP согласно настоящему раскрытию. DLS измеряет рассеяние света, которое возникает в результате воздействия на образец источника света. PDI, как определено из измерений DLS, представляет собой распределение размера частиц (около среднего размера частиц) в популяции с совершенно однородной популяцией, имеющей PDI, равное нулю.

[00585] Электроферетическое рассеяние света используется для характеристики поверхностного заряда LNP при заданном pH. Поверхностный заряд или дзета-потенциал является мерой величины электростатического отталкивания/притяжения между частицами в суспензии LNP.

[00586] Фракционирование потока с асимметричным полем-многоугловое рассеяние света (AF4-MALS) используется для разделения частиц в составе по гидродинамическому радиусу, а затем для измерения молекулярных масс, гидродинамических радиусов и среднеквадратичных радиусов фракционированных частиц. Это позволяет оценить распределение молекулярной массы и размеров, а также вторичные характеристики, такие как график Бурхарда-Стокмейера (отношение среднеквадратичного («среднеквадратичного») радиуса к гидродинамическому радиусу с течением времени, что указывает на внутреннюю плотность ядра частицы) и график среднеквадратичной конформации (логарифм среднеквадратичного радиуса по сравнению с логарифмом молекулярной массы, где наклон полученной линейной аппроксимации дает степень компактности по сравнению с удлинением).

[00587] Анализ слежения за наночастицами (NTA, Malvern Nanosight) можно использовать для определения распределения частиц по размерам, а также концентрации частиц. Образцы LNP соответствующим образом разбавляют и вводят на предметное стекло микроскопа. Камера записывает рассеянный свет по мере того, как частицы медленно проходят через поле зрения. После записи видео анализ отслеживания наночастиц обрабатывает видео, отслеживая пиксели и вычисляя коэффициент диффузии. Этот коэффициент диффузии можно перевести в гидродинамический радиус частицы.

Прибор также подсчитывает количество отдельных частиц, подсчитанных в анализе, чтобы определить концентрацию частиц.

[00588] Криоэлектронная микроскопия («крио-ЭМ») может использоваться для определения размера частиц, морфологии и структурных характеристик LNP.

[00589] Анализ состава липидов LNP может быть определен с помощью жидкостной хроматографии с последующим обнаружением заряженного аэрозоля (LC-CAD). Этот анализ может обеспечить сравнение фактического содержания липидов с теоретическим содержанием липидов.

[00590] Композиции LNP анализируют на средний размер частиц, индекс полидисперсности (pdi), общее содержание РНК, эффективность инкапсуляции РНК и дзета-потенциал. Композиции LNP можно дополнительно охарактеризовать с помощью анализа липидов, AF4-MALS, NTA и/или крио-ЕМ. Средний размер частиц и полидисперсность измеряют методом динамического рассеяния света (DLS) с применением прибора Malvern Zetasizer DLS. Образцы LNP были разбавлены буфером ФСБ перед измерением с помощью DLS. Z-средний диаметр, который является измерением среднего размера частиц на основе интенсивности, сообщается вместе со среднечисленным диаметром и pdi. Также использовали инструмент Malvern Zetasizer для измерения дзета-потенциала LNP. Перед измерением образцы разбавляли 1: 17 (50 мкл на 800 мкл) в 0,1X ФСБ, pH 7,4.

[00591] Анализ на основе флуоресценции (Ribogreen®, ThermoFisher Scientific) использовали для определения общей концентрации РНК и свободной РНК. Эффективность инкапсуляции рассчитывали как (Общая РНК-Свободная РНК)/Общая РНК. Образцы LNP соответствующим образом разбавляли 1x TE-буфером, содержащим 0,2% Triton-X 100, для определения общей РНК или 1x TE-буфером для определения свободной РНК. Стандартные кривые получали с применением исходного раствора РНК, используемого для приготовления композиций, и его разбавления в буфере 1x TE +/- 0,2% Triton-X 100. Затем разбавленный краситель RiboGreen® (в соответствии с инструкциями производителя) добавляли к каждому из стандартов и образцов и инкубировали в течение около 10 минут при комнатной температуре в отсутствие света. Считывающее устройство для микропланшетов SpectraMax M5 (Molecular Devices) использовали для считывания образцов с длинами волн возбуждения, автоматической отсечки и излучения, установленными на 488 нм, 515 нм и 525 нм соответственно. Суммарную РНК и свободную РНК определяют по соответствующим стандартным кривым.

[00592] Эффективность инкапсуляции рассчитывали как (Общая РНК-Свободная РНК)/Общая РНК. Ту же процедуру можно использовать для определения эффективности инкапсуляции компонента на основе ДНК. В анализе на основе флуоресценции для одноцепочечной ДНК может использоваться краситель Oligreen, а для двухцепочечной ДНК-краситель Picogreen. Альтернативно, общая концентрация РНК может быть определена методом ВЭЖХ с обращенной фазой со спариванием ионов (RP-IP). Triton X-100 использовали для разрушения LNP, высвобождая РНК. Затем РНК отделяли от

липидных компонентов хроматографически с помощью RP-IP HPLC и количественно определяли по стандартной кривой с применением УФ-поглощения при 260 нм.

[00593] AF4-MALS использовали для анализа распределения молекулярной массы и размера, а также вторичной статистики этих расчетов. LNP разбавляли соответствующим образом и вводили в канал разделения AF4 с применением автоматического пробоотборника ВЭЖХ, где они фокусировались, а затем элюировались с экспоненциальным градиентом поперечного потока через канал. Вся жидкость приводилась в действие насосом ВЭЖХ и прибором Wyatt Eclipse. Частицы, выходящие из канала AF4, проходили через УФ-детектор, детектор многоугольного светорассеяния, детектор квазиупругого светорассеяния и детектор дифференциального показателя преломления. Необработанные данные обрабатывали с применением модели Дебая для определения молекулярной массы и среднеквадратичного радиуса по сигналам детектора.

[00594] Липидные компоненты в LNP количественно анализировали с помощью ВЭЖХ в сочетании с детектором заряженных аэрозолей (CAD). Хроматографическое разделение 4 липидных компонентов достигали обращенно-фазовой ВЭЖХ. CAD-это разрушающий массовый детектор, который обнаруживает все нелетучие соединения, и сигнал остается неизменным независимо от структуры анализируемого вещества.

[00595] Грузы мРНК Cas9 и гРНК

[00596] Груз мРНК Cas9 получали транскрипцией *in vitro*. Кепированную и полиаденилированную Cas9 мРНК получали путем транскрипции *in vitro* с применением линейаризованной плазмидной ДНК-матрицы и РНК-полимеразы T7 и нижеописанного способа. Плазмидную ДНК, содержащую промотор T7 и область поли (A/T) из 90-100 нуклеотидов, линейаризовали путем инкубации при 37°C в течение 2 часов с XbaI в следующих условиях: 200 нг/мкл плазмиды, 2 U/мкл XbaI (NEB) и 1x реакционного буфера. XbaI инактивировали нагреванием реакционной смеси при 65°C в течение 20 минут. Линейаризованную плазмиду очищали от фермента и буфера. Реакцию IVT для получения модифицированной мРНК Cas9 выполняли путем инкубации при 37°C в течение 1,5-4 часов в следующих условиях: 50 нг/мкл линейаризованной плазмиды; по 2- 5 mM каждого из ГТФ, АТФ, ЦТФ и N1-метил псевдо-UTP (Trilink); 10-25 mM ARCA (Trilink); 5 ед/мкл РНК-полимеразы T7 (NEB); 1 ед/мкл ингибитора мышьяковой РНКазы (NEB); 0,004 Ед/мкл неорганической пирофосфатазы *E. coli* (NEB); и 1x реакционный буфер. TURBO DNase (ThermoFisher) добавляли до конечной концентрации 0,01 Ед/мкл, и реакционную смесь инкубировали в течение дополнительных 30 минут для удаления матрицы ДНК. мРНК Cas9 очищали с помощью TFF и/или способа, включающего осаждение с LiCl.

[00597] sgРНК в следующих примерах были химически синтезированы известными способами с использованием фосфорамидитов.

[00598] мРНК Cas9 и доставка гидовой РНК *in vitro* с помощью LNP

[00599] Первичные гепатоциты печени человека (PHH) (Gibco) и первичные гепатоциты печени яванского макака (PCH) (InVitro Admet Laborotories) размораживали и ресуспендировали в среде для размораживания гепатоцитов с добавками (Gibco, Cat. CM7500) с последующим центрифугированием. Супернатант удаляли, а осажденные клетки ресуспендировали в среде для посева гепатоцитов с добавкой (Invitrogen, Cat. A1217601 и CM3000). Клетки подсчитывали и высевали на 96-луночные планшеты, покрытые коллагеном I Bio-coat (ThermoFisher, Cat. 877272) при плотности 33000 клеток/лунку для PHH и 50 000 клеток/лунку для PCH. Посеяным клеткам давали возможность осесть и прикрепиться в течение 5 часов в инкубаторе для тканевых культур при 37°C и атмосфере 5% CO₂. После инкубации клетки проверяли на образование монослоя и один раз промывали культуральной средой для гепатоцитов (Invitrogen, Cat. A1217601 и CM4000).

[00600] PHH и PCH обрабатывали LNP, как описано ниже. Клетки инкубировали при 37 °C, 5% CO₂ в течение 24 часов перед обработкой LNP. LNP инкубировали в среде, содержащей 3% сыворотки яванского макака или 3% фетальной бычьей сыворотки, при 37°C в течение 5 минут и вводили в клетки в количествах, как дополнительно предусмотрено в данном документе.

[00601] Выделение геномной ДНК

[00602] Обработанные клетки собирали после обработки через 72 часа. Клетки лизировали из каждой лунки 96-луночного планшета, используя 50 мкл/лунку раствора для экстракции ДНК Quick Extract (Epicenter, Cat. QE09050) согласно протоколу производителя. Все образцы ДНК подвергали ПЦР и последующему NGS анализу, как описано в данном документе.

[00603] Секвенирование NGS

[00604] Вкратце, для количественного определения эффективности редактирования в целевом участке генома была выделена геномная ДНК и использовано глубокое секвенирование для выявления присутствия вставок и делеций, внесенных при редактировании гена.

[00605] Праймеры для ПЦР были сконструированы вокруг сайта-мишени (например, TTR), и интересующая область генома была амплифицирована. Дополнительную ПЦР выполняли в соответствии с протоколами производителя (Illumina), чтобы добавить необходимый химический состав для секвенирования. Ампликоны секвенировали на приборе Illumina MiSeq. Считывания были сопоставлены с соответствующим эталонным геномом (например, hg38, macFas5) после исключения тех, которые имели низкие качественные оценки. Полученные файлы, содержащие считывания, были сопоставлены с эталонным геномом (файлы BAM), где были выбраны считывания, которые перекрывали интересующую целевую область, и рассчитывали количество считываний дикого типа по сравнению с количеством считываний, содержащих вставку, замену или удаление.

[00606] Процент редактирования (например, «эффективность редактирования» или «процент редактирования») определяется как общее количество считываний последовательности со вставками или удалениями по сравнению с общим количеством считываний последовательностей, включая дикий тип.

Пример 1 - Дозозависимый ответ при доставке мРНК Cas9 с помощью LNP в первичные гепатоциты

[00607] Эффективность различных комбинаций геновых и мРНК оценивали *in vitro* на первичных гепатоцитах яванского макака (PCH) и первичных гепатоцитах человека (PHN). Клетки PHN и PCH высевали, как описано выше, а затем обрабатывали различными дозами LNP, как описано в Таблицах 8 и 9 соответственно. LNP содержали G000502 (SEQ ID №: 114) и либо мРНК000001 (SEQ ID №: 1), либо мРНК000042 (SEQ ID №: 377) в качестве мРНК. Клетки лизировали через 72 часа, и % редактирования определяли с помощью NGS. Каждое условие было проанализировано в трех повторностях, и в Таблицах 8 и 9 показаны среднее значение и стандартное отклонение для % Редактирования.

Таблица 8. Редактирование *in vitro* с использованием доставки LNP в PHN

ID гена	ID мРНК	Доза мРНК Cas9 (нг)	Средний % редактирования	СОС
G000502	мРНК01	50	46,1	3,97
G000502	мРНК01	10	32,37	2,64
G000502	мРНК01	5	24,87	0,06
G000502	мРНК01	1	5,2	0,75
G000502	мРНК01	0,01	0,43	0,12
G000502	мРНК01	0	0,23	0,15
G000502	мРНК42	50	42,27	1,8
G000502	мРНК42	10	41,67	0,81
G000502	мРНК42	5	32,7	2,93
G000502	мРНК42	1	10,13	1,62
G000502	мРНК42	0,01	0,8	0
G000502	мРНК42	0	0,13	0,06

Таблица 9. Редактирование *in vitro* с использованием доставки LNP в PCH

ID гена	ID мРНК	Доза мРНК Cas9 (нг)	Средний % инсерционно- делеционных мутаций	СОС
G000502	мРНК01	50	71,8	1,99

G000502	мРНК01	10	33,23	2,32
G000502	мРНК01	5	15,23	1,36
G000502	мРНК01	1	1,27	0,12
G000502	мРНК01	0,01	0,1	0
G000502	мРНК01	0	0,1	0
G000502	мРНК42	50	82,8	1,77
G000502	мРНК42	10	59,5	1,1
G000502	мРНК42	5	38,37	1
G000502	мРНК42	1	5,6	0,4
G000502	мРНК42	0,01	0,3	0,1
G000502	мРНК42	0	0,1	0

Пример 2 - Дозозависимый ответ при доставке мРНК Cas9 с помощью LNP в первичные гепатоциты

[00608] Различные комбинации гидовых и мРНК оценивали *in vitro* в клетках РСН и РНН. Клетки РНН от двух доноров и клетки РСН высевали, как описано выше, и обрабатывали дозами LNP, как описано в Таблицах 10 и 11 соответственно. LNP содержали мРНК Cas 000042 (SEQ ID NO: 377) и одну из 4 одиночных гидовых РНК. Гидовые G000480 и G000486 (SEQ ID NO: 87 и 93) идеально нацелены на ген TTR человека. Гидовая G000502 (SEQ ID NO: 114) нацелена на ген TTR человека с одним несоответствием в целевой области. G000739 (SEQ ID NO: 2) представляет собой отрицательный контроль. Клетки лизировали через 72 часа, и % редактирования определяли с помощью NGS. Каждое условие анализировали в трех повторностях. Таблица 10 и Фиг. 1 показывают результаты % редактирования в клетках РНН. Таблица 11 и Фиг. 2 показывают результаты % редактирования в клетках РСН.

Таблица 10 - Редактирование *in vitro* в клетках РНН

Гид	Концентрация гида (нМ)	РНН - Донор 1		РНН - Донор 2	
		Средний % редактирования	СОС	Средний % редактирования	СОС
G000480	15,51724	90,97	0,91	90,33	1,71
G000480	5,172414	92,23	0,85	87,57	3,63
G000480	1,724138	90,83	0,68	86,37	1,50
G000480	0,574713	85,37	1,86	80,53	1,97
G000480	0,191571	73,53	0,91	62,37	5,98
G000480	0,063857	51,57	0,40	32,80	3,10
G000480	0,021286	25,37	1,48	9,07	0,67
G000480	0,007095	7,23	0,40	1,97	0,57

G000486	15,51724	79,07	0,74	86,73	1,63
G000486	5,172414	82,83	1,69	88,03	2,69
G000486	1,724138	71,87	0,67	81,43	1,68
G000486	0,574713	54,33	0,32	66,90	2,10
G000486	0,191571	33,70	1,06	41,70	2,52
G000486	0,063857	16,67	0,67	17,33	1,29
G000486	0,021286	5,10	0,26	4,27	0,76
G000486	0,007095	1,33	0,06	1,37	0,15
G000502	15,51724	68,93	0,90	78,20	0,17
G000502	5,172414	72,90	0,53	80,73	1,70
G000502	1,724138	53,83	0,71	65,13	0,71
G000502	0,574713	31,23	1,33	37,53	0,84
G000502	0,191571	14,17	0,98	17,70	1,71
G000502	0,063857	5,03	0,32	5,27	0,12
G000502	0,021286	1,57	0,31	1,13	0,35
G000502	0,007095	0,33	0,06	0,33	0,06
G000739	15,51724	0,47	0,06	0,20	0,10
G000739	5,172414	0,40	0,10	0,20	0,10
G000739	1,724138	0,13	0,06	0,07	0,06
G000739	0,574713	0,10	0,00	0,07	0,06
G000739	0,191571	0,07	0,06	0,10	0,00
G000739	0,063857	0,07	0,06	0,07	0,06
G000739	0,021286	0,03	0,06	0,07	0,06
G000739	0,007095	0,10	0,00	0,03	0,06

Таблица 11 - Редактирование *in vitro* в клетках РСН

Гид	Концентрация гида (нМ)	Средний % редактирования	СОС
G000480	15,51724	8,87	1,29
G000480	5,172414	4,43	0,71
G000480	1,724138	0,80	0,20
G000480	0,574713	0,23	0,12
G000480	0,191571	0,23	0,06
G000480	0,063857	0,10	0,00
G000480	0,021286	0,10	0,00

G000480	0,007095	0,10	0,00
G000486	15,51724	73,10	2,00
G000486	5,172414	58,27	0,47
G000486	1,724138	23,23	1,40
G000486	0,574713	5,93	0,25
G000486	0,191571	1,43	0,21
G000486	0,063857	0,53	0,15
G000486	0,021286	0,40	0,17
G000486	0,007095	0,47	0,12
G000502	15,51724	88,10	0,53
G000502	5,172414	83,53	0,55
G000502	1,724138	73,07	2,68
G000502	0,574713	47,87	1,38
G000502	0,191571	18,37	0,86
G000502	0,063857	4,80	0,26
G000502	0,021286	1,27	0,50
G000502	0,007095	0,57	0,12
G000739	15,51724	0,10	0,00
G000739	5,172414	0,13	0,06
G000739	1,724138	0,13	0,06
G000739	0,574713	0,10	0,00
G000739	0,191571	0,10	0,00
G000739	0,063857	0,10	0,00
G000739	0,021286	0,10	0,00
G000739	0,007095	0,10	0,00

Пример 3 - Характеристика дополнительных мРНК

[00609] Материалы и способы для этого примера были такими, как описано в Международной патентной заявке № PCT/US2018/053439, поданной 28 сентября 2018 г. Последовательности Cas9 с использованием различных схем кодонов были разработаны для тестирования улучшенной экспрессии белка. Каждая последовательность была разработана для кодирования аминокислоты Cas9 SEQ ID №: 203 с использованием отличного набора кодонов. В каждой последовательности открытой рамки считывания использовали один кодон для кодирования каждой аминокислоты. Последовательности варьируются в зависимости от частоты, с которой кодоны встречаются в полных генах, кодирующих белок, у Homo sapiens на основе NCBI-GenBank Flat File Release 160.0 (Nakamura et al. (2000) Nucl. Acids Res. 28, 292; Benson et al. (2006) Nucleic Acids Res. 34

(выпуск базы данных), D16-20) и количество конкретного нуклеотида среди кодонов. На основе схем кодонов, показанных в Таблице 5, было сконструировано несколько различных открытых рамок считывания для Cas9 (SEQ ID NO: 252, 311 и 312), которые кодируют белок Cas9 SEQ ID NO: 203. Их включали в конструкции, также содержащие 5' UTR HSD (SEQ ID NO: 241), 3' UTR альбумина, промотор T7 и полиА-хвост. Примерная последовательность, содержащая 3' UTR альбумина и хвост полиА, представляет собой SEQ ID NO: 253, в которой 3' UTR и полиА-хвост следуют за 5' UTR HSD и OРС SEQ ID NO: 252.

[00610] Информационную РНК получали для каждой конструкции с помощью IVT с использованием 100% N1-метилпсевдоуридина вместо уридина. Клетки HepG2 трансфицировали 800 нг каждой мРНК Cas9 с применением реагента для трансфекции Lipofectamine™ MessengerMAX™ (ThermoFisher). Через шесть часов после трансфекции клетки лизировали замораживанием-оттаиванием и очищали центрифугированием. Уровни белка Cas9 определяли с помощью анализа ИФА. Вкратце, концентрацию общего белка определяли с помощью анализа бицинхониновой кислоты. 96-луночный планшет MSD GOLD со стрептавидином SECTOR (Meso Scale Diagnostics, Cat. L15SA-1) готовили согласно протоколу производителя с применением антитела к Cas9 мыши (Origene, Cat. CF811179) в качестве улавливающего антитеал и mAb Cas9 мыши (7A9-3A3) (Cell Signaling Technology, Cat. 14697) в качестве детектирующего антитеала. Рекомбинантный белок Cas9 использовали в качестве калибровочного стандарта в Diluent 39 (Meso Scale Diagnostics) с коктейлем 1X Halt™ ингибитора протеазы, без ЭДТА (ThermoFisher, номер в каталоге 78437). Планшеты для ИФА считывали с применением прибора Meso Quickplex SQ120 (Meso Scale Discovery), а данные анализировали с помощью программного пакета Discovery Workbench 4.0 (Meso Scale Discovery).

[00611] Эффективность редактирования оценивали *in vitro* путем трансфекции мРНК вместе с гидом (G502; SEQ ID NO: 114), нацеленным на транстиретин (TTR) в клетки HepG2, и измерения процента редактирования. мРНК Cas9, содержащие SEQ ID NO, указанные в Таблице 12, оценивали при концентрациях мРНК от 3 нг до 100 нг. Необработанные клетки не подвергались заметному редактированию. В Таблице 12 показано влияние различных наборов кодонов на экспрессию и редактирование белка Cas9 *in vitro*.

Таблица 12. Редактирование *in vitro* и экспрессия OРС с разными наборами кодонов

OPC (набор кодонов)	нг Cas9/мг общего белка	нг Cas9/мг общего белка СОС	% Редактирования (трансфицировано 30 нг мРНК)	Редактирование СОС
SEQ ID No: 252 (Таблица 4, обедненная U 1)	31,23	4,47	22,2	2,83

SEQ ID No: 311 (Таблица 4, обедненная А)	74,62	15,53	41,3	3,56
SEQ ID No: 312 (Таблица 4, обедненная А/У)	77,32	10,60	34,8	7,32

[00612] Чтобы определить эффективность схем кодонов *in vivo*, измеряли экспрессию белка Cas9 при экспрессии *in vivo* из мРНК, кодирующих Cas9, с применением схем кодонов, описанных в Таблице 4. Информационные РНК, указанные в Таблице 26, были составлены в виде LNP с гидовой РНК, нацеленной на TTR (G282; SEQ ID NO: 242). LNP были получены с использованием процедуры поперечного потока и содержали 50% липида А, 9% DSPC, 38% холестерина и 3% ПЭГ2k-DMG в молярном соотношении 50: 38: 9: 3, соответственно, и имели соотношение N: P 6,0. LNP очищали с использованием фильтров Amicon PD-10 (GE Healthcare) и использовали в концентрации 0,32 мг/мл (концентрация LNP). Самкам мышей CD-1 (n=5 на группу) внутривенно вводили дозу 1 мг/кг. Через 3 часа после введения дозы животных умерщвляли, собирали печень и измеряли экспрессию Cas9 в печени. Экспрессию белка Cas9 измеряли в печени, используя анализ ИФА Meso Scale Discovery, описанный выше. Около 40-50 мг ткани печени гомогенизировали с помощью бисерной мельницы в буфере RIPA (Boston Bioproducts BP-115) с 1x таблеткой полного ингибитора протеазы (Roche, Cat.11836170001). В Таблице 13 показаны результаты экспрессии Cas9 в печени. мРНК для схем кодонов обедненных А и обедненных А/У (ОПС из SEQ ID NO: 311 и 312) показали самую высокую экспрессию Cas9 из протестированных ОПС. Экспрессия белка Cas9 отрицательного контроля была ниже нижнего предела количественного определения (LLOQ).

Таблица 13

ОПС	Среднее значение Cas9 (нг/г печени)	СОС
TSS	<LLOQ	0,0
SEQ ID No: 204	1644	1172
SEQ ID NO: 252	1562	951
SEQ ID NO: 311	2630	730
SEQ ID NO: 312	2134	362

[00613] Чтобы определить эффективность схем кодонов *in vivo*, редактирование генома измерялось *in vivo* по мРНК, кодирующей Cas9, с использованием различных схем кодонов. Информационные РНК, указанные в Таблице 27, были составлены в виде LNP с гидовой РНК, нацеленной на TTR (G282; SEQ ID NO: 242). LNP были получены с

использованием процедуры поперечного потока и содержали 50% липида А, 9% DSPC, 38% холестерина и 3% ПЭГ2k-DMG в молярном соотношении 50: 38: 9: 3, соответственно, и имели соотношение N: P 6,0. LNP очищали с использованием фильтров Amicon PD-10 (GE Healthcare) и использовали в концентрации 0,05 мг/мл (концентрация LNP). Самкам мышей CD-1 (n=5 на группу, за исключением n=4 для группы, обработанной SEQ ID NO: 252) внутривенно вводили дозу 0,1 мг/кг. Через 6 дней после введения дозы животных умерщвляли, собирали кровь и печень и измеряли уровень TTR в сыворотки и редактирование клеток печени. В Таблице 14 показаны результаты редактирования *in vivo* и уровни TTR в сыворотке.

Таблица 14

ОРС	Средний % редактирования	Редактирование СОС	Уровень TTR в сыворотке (мкг/мл)	Уровень TTR в сыворотке СОС	n
TSS	0,06	0,05	856	68	5
SEQ ID No: 204	40,96	8,41	329	143	5
SEQ ID No: 252	60,10	8,07	143	78	4
SEQ ID No: 311	57,26	4,15	216	62	5
SEQ ID No: 312	61,44	4,50	100	79	5

[00614] Чтобы определить эффективность схем кодонов при различных концентрациях мРНК, был проведен эксперимент *in vivo* «доза-ответ». Информационные РНК, указанные в Таблице 15, были составлены в виде LNP с гидовой РНК, нацеленной на TTR (G282; SEQ ID NO: 242). LNP были получены с использованием процедуры поперечного потока и содержали 50% липида А, 9% DSPC, 38% холестерина и 3% ПЭГ2k-DMG. LNP очищали с использованием фильтров Amicon PD-10 (GE Healthcare) и использовали в концентрации 0,7 мг/мл (концентрация LNP). Самкам мышей CD-1 (n=5 на группу) внутривенно вводили дозу 0,03, 0,1 или 0,3 мг/кг. Через 7 дней после введения дозы животных умерщвляли, собирали кровь и печень и измеряли уровень TTR в сыворотки и редактирование клеток печени. В Таблице 14 показаны результаты редактирования *in vivo* и уровни TTR в сыворотке.

Таблица 15

ОРС	Доза (мг/кг)	Редактирование клеток печени (%)	TTR в сыворотке (мкг/мл)	TTR в сыворотке (% KD)
TSS	н/д	0,1	576,8	0,0
SEQ ID No: 204	0,3	51,3	165,6	71,3
	0,1	17,3	540,7	6,3
	0,03	1,9	761,4	-32,0
SEQ ID No: 252	0,3	57,0	100,8	82,5
	0,1	29,6	336,1	41,7
	0,03	5,0	636,4	-10,3
SEQ ID NO: 311	0,3	59,4	93,8	83,7
	0,1	30,6	373,5	35,2
	0,03	5,9	559,6	3,0
SEQ ID NO: 312	0,3	60,6	92,0	87,2
	0,1	25,5	397,5	31,1
	0,03	7,8	555,3	3,7

[00615] Чтобы определить эффективность схем кодонов с различными UTR, редактирование генома измеряли *in vivo* после введения мРНК, кодирующих Cas9. Информационные РНК, указанные в Таблице 15, были составлены в виде LNP с гидовой РНК, нацеленной на TTR (G282; SEQ ID NO: 242). LNP были получены с использованием процедуры поперечного потока и содержали 50% липида А, 9% DSPC, 38% холестерина и 3% ПЭГ2k-DMG в молярном соотношении 50: 38: 9: 3, соответственно, и имели соотношение N: P 6,0. LNP очищали с использованием фильтров Amicon PD-10 (GE Healthcare) и использовали в концентрации 0,05 мг/мл (концентрация LNP). Самкам мышей CD-1 (n=5 на группу; n=4 для SEQ ID NO: 243 редактирования) внутривенно вводили дозу 0,1 мг/кг. Через 6 дней после введения дозы животных умерщвляли, собирали кровь и печень и измеряли уровень TTR в сыворотки и редактирование клеток печени. В Таблице 16 показаны результаты редактирования *in vivo* и уровни TTR в сыворотке.

Таблица 16

конструкция мРНК	% Редактирования	СОС	Уровень TTR в сыворотке (мкг/мл)	СОС
TSS	0	0	1274	214
SEQ ID No: 243	28	4	630	152

SEQ ID No: 376	35	8	482	138
SEQ ID No: 377	37	9	316	143
SEQ ID No: 378	42	6	524	192

Пример 4 - Исследование множественных доз LNP, вводимых посредством 30-минутной и 2-часовой внутривенной инфузии на яванских макаках

[00616] Самцам яванских макак в когортах из n=3 вводили дексаметазон (Dex) путем внутривенной болюсной инъекции в дозе 2 мг/кг минимум за 1 час до введения LNP или контрольного носителя. Каждая когорта получала различные дозы LNP, чтобы обеспечить 3 мг/кг или 6 мг/кг (PHK) на NHP. Группы дозирования представлены в Таблице 17. Две группы получили дозу LNP 3 мг/кг для сравнения времени инфузии. Композиции содержат мPHK Cas9, содержащую SEQ ID No. 377), и гидовую PHK (gPHK) G000502 (SEQ ID No. 114) в соотношении гPHK: мPHK 1: 2 по массе. Группы, получавшие дозу LNP 3 мг/кг (общее содержание PHK), получали внутривенную инфузию в течение 30 или 120 минут. Всем другим когортам с различными дозами LNP (в мг/кг, общего содержания PHK) вводили 120-минутную внутривенную инфузию.

Таблица 17: Группы дозирования для исследования инфузий

Номер группы	Тестовый материал	Уровень дозы	Продолжительность инфузии (мин)	Кол-во животных
1	TSS	0	120	3
2	Суп-LNP0837	3,0	120	3
3	Суп-LNP0837	3,0	30	3
4	Суп-LNP0837	6,0	120	3

Таблица 18: % редактирования и уровень TTR в сыворотке

Номер группы	Редактирование клеток печени (%)	Снижение уровня TTR %
1	0,0 (0,0, 0,0, 0,0)	-28 (-34, -23, -27)
2	63,3 (50,8, 69,0, 69,9)	85 (66, 95, 94)
3	63,3 (65,0, 66,0, 58,8)	88 (90, 89,86)
4	74,5 (75,3, 74,6, 73,6)	96 (97, 96, 95)

[00617] На 29 день после введения дозы образцы печени собирали с помощью однократной чрескожной биопсии с помощью ультразвукового контроля, нацеленной на правую долю/сторону печени, с использованием иглы для биопсии SuperCore 16 калибра под внутримышечной инъекцией кетамина/ксилазина. Образец общей биопсии печени от 1,0 см³ до 1,5 см³ собирали от каждого животного. Каждый образец биопсии мгновенно замораживали в жидком азоте и хранили при -80 °C. Анализа редактирования образцов печени выполнялся посредством секвенирования NGS, как описано ранее. Результаты редактирования клеток печени показали, что редактирование составляет около 70%.

Предварительно введение кортикостероидов перед введением LNP хорошо переносилось.

Таблица 19: Уровни аланинтрансаминазы (АЛТ)

	Отбор материала перед началом лечения		6 ч		24 ч		48 ч		7 д		29 д	
	Средн.	СОС	Средн.	СОС	Средн.	СОС	Средн.	СОС	Средн.	СОС	Средн.	СОС
Группа 1 - TSS	49,0	11,1	173,6	30,2	175,3	29,1	155,6	21,7	76,0	4,5	49,0	8,8
Группа 2 - 3 мг/кг, 2 ч инфузия	40,3	9,0	77,6	18,4	74,0	19,3	56,0	16,3	44,0	7,5	37,3	7,0
Группа 3 - 3 мг/кг, 30 мин инфузия	50,3	7,5	149,0	130,0	285,3	352,2	236,3	294,1	88,3	88,1	35,6	6,3
Группа 4 - 6 мг/кг, 2 ч инфузия	30,6	12,5	108,3	48,4	162,0	87,1	209,0	174,6	65,0	32,0	27,0	7,5

[00618] Образцы печени отбирали для биопсии и анализировали на предмет редактирования в процентах, уровня TTR в сыворотке и уровней аланинтрансаминазы (АЛТ), как показано в Таблице 18 и на Фиг. 3А-В, и в Таблице 19 и на Фиг. 3С, соответственно. Результаты редактирования клеток печени и данные уровней TTR в сыворотке показывают, что нет значительной разницы в эффективности между дозой 3 мг/кг при времени инфузии 30 минут и дозой 3 мг/кг при времени инфузии 120 минут. Однако введение более 30 минут инфузии демонстрирует более низкие уровни АЛТ, биомаркера повреждения печени. Уровни АЛТ были выше при дозе 3 мг/кг при времени инфузии 30 минут, что указывало на потенциальный стресс для печени.

[00619] **Материалы и способы для Примера 4.** мРНК синтезировали транскрипцией *in vitro* (IVT) с использованием линейаризованной плазмидной ДНК-матрицы и РНК-полимеразы T7. Транскрипцию обычно выполняли из конструкций, содержащих промотор T7 (SEQ ID NO: 231), последовательность транскрипта, описанную в данном документе, такую как SEQ ID NO: 377 (которая кодирует ОРС РНК из SEQ ID NO: 311) и поли-А-хвост (SEQ ID NO: 263), кодируемых в плазмиде.

[00620] Для всех способов, концентрацию транскрипта определяли путем измерения поглощения света при 260 нм (Nanodrop), а транскрипт анализировали капиллярным электрофорезом с помощью Bioanalyzer (Agilent).

[00621] **Состав LNP**

[00622] Липидные компоненты растворяли в 100% этаноле с молярными отношениями липидных компонентов, описанными ниже. Химически модифицированную sgРНК и мРНК Cas9 объединяли и растворяли в 25 мМ цитрате, 100 мМ NaCl, pH 5,0, в результате чего концентрация общей РНК составляла около 1,5 мг/мл. LNP были составлены с соотношением N/P около 6, с соотношением химически модифицированной sgРНК: мРНК Cas9 в соотношении 1: 2 масс./масс., как описано ниже. LNP были получены из 50% липида А, 9% DSPC, 38% холестерина и 3% ПЭГ2k-DMG, и LNP были сформированы методом перекрестного потока, как описано в Примере 1. Во время смешивания поддерживали соотношение водного растворителя и органического растворителя 2: 1 с применением различных скоростей потока. Разбавленные LNP концентрировали с использованием фильтрации с тангенциальным потоком, а затем заменяли буфер с помощью диафильтрации перед фильтрацией и хранением.

[00623] **Грузы мРНК Cas9 и гРНК**

[00624] Кепированную и полиаденилированную Cas9 мРНК получали путем транскрипции *in vitro* с применением линейаризованной плазмидной ДНК-матрицы и РНК-полимеразы T7 и испособа описанного в Примере 1.

[00625] **Выделение геномной ДНК**

[00626] Геномную ДНК экстрагировали из образцов печени, используя 50 мкл/лунку раствора для экстракции ДНК RNeasyLys (Qiagen, Cat. 970040) согласно протоколу производителя. Все образцы ДНК подвергали ПЦР и последующему NGS анализу, как описано в данном документе.

[00627] Секвенирование NGS

[00628] Вкратце, для количественного определения эффективности редактирования в целевом участке генома была выделена геномная ДНК и использовано глубокое секвенирование для выявления присутствия вставок и делеций, внесенных при редактировании гена.

[00629] Праймеры для ПЦР были сконструированы вокруг сайта-мишени (например, TTR), и интересующая область генома была амплифицирована. Последовательности праймеров представлены ниже. Дополнительную ПЦР выполняли в соответствии с протоколами производителя (Illumina), чтобы добавить необходимый химический состав для секвенирования. Ампликоны секвенировали на приборе Illumina MiSeq. Считывания были сопоставлены с соответствующим эталонным геномом яванского макака (например, macFas5) после исключения тех, которые имели низкие качественные оценки. Полученные файлы, содержащие считывания, были сопоставлены с эталонным геномом (файлы BAM), где были выбраны считывания, которые перекрывали интересующую целевую область, и рассчитывали количество считываний дикого типа по сравнению с количеством считываний, содержащих вставку, замену или удаление.

[00630] Процент редактирования (например, «эффективность редактирования» или «процент редактирования») определяется как общее количество считываний последовательности со вставками или удалениями по сравнению с общим количеством считываний последовательностей, включая дикий тип.

Таблица последовательностей

[00631] В следующей таблице последовательностей представлен список описанных в данном документе последовательностей. Понятно, что если последовательность ДНК (содержащая Т) упоминается относительно РНК, то Т следует заменить на U (который может быть модифицированным или немодифицированным в зависимости от контекста), и наоборот.

Описание	Последовательность	SEQ ID No.
Транскрипт Cas9 с 5' UTR HSD, OPC, соответствующая SEQ ID NO: 204, последовательность Козак и 3' UTR ALB	GGGTCCCGCAGTCGGCGTCCAGCGGCTCTGCTTG TTCGTGTGTGTGTCGTTGCAGGCCTTATTCGGATC CGCCACCATGGACAAGAAGTACAGCATCGGACT GGACATCGGAACAAACAGCGTCGGATGGGCAGT CATCACAGACGAATACAAGGTCCCGAGCAAGAA GTTCAAGGTCCTGGGAAACACAGACAGACACAG CATCAAGAAGAACCTGATCGGAGCACTGCTGTTC GACAGCGGAGAAACAGCAGAAGCAACAAGACTG AAGAGAACAGCAAGAAGAAGATACACAAGAAGA AAGAACAGAATCTGCTACCTGCAGGAAATCTTCA	1

GCAACGAAATGGCAAAGGTCGACGACAGCTTCTT
CCACAGACTGGAAGAAAGCTTCCTGGTCTGAAGA
AGACAAGAAGCACGAAAGACACCCGATCTTCGG
AAACATCGTCGACGAAGTCGCATACCACGAAAA
GTACCCGACAATCTACCACCTGAGAAAGAAGCTG
GTCGACAGCACAGACAAGGCAGACCTGAGACTG
ATCTACCTGGCACTGGCACACATGATCAAGTTCA
GAGGACACTTCCTGATCGAAGGAGACCTGAACCC
GGACAACAGCGACGTCGACAAGCTGTTCATCCAG
CTGGTCCAGACATAACAACCAGCTGTTCGAAGAAA
ACCCGATCAACGCAAGCGGAGTCGACGCAAAGG
CAATCCTGAGCGCAAGACTGAGCAAGAGCAGAA
GACTGGAAAACCTGATCGCACAGCTGCCGGGAG
AAAAGAAGAACGGACTGTTCGGAAACCTGATCG
CACTGAGCCTGGGACTGACACCGAACTTCAAGAG
CAACTTCGACCTGGCAGAAGACGCAAAGCTGCA
GCTGAGCAAGGACACATACGACGACGACCTGGA
CAACCTGCTGGCACAGATCGGAGACCAGTACGCA
GACCTGTTCTGGCAGCAAAGAACCTGAGCGACG
CAATCCTGCTGAGCGACATCCTGAGAGTCAACAC
AGAAATCACAAAGGCACCGCTGAGCGCAAGCAT
GATCAAGAGATACGACGAACACCACCAGGACCT
GACACTGCTGAAGGCACTGGTCAGACAGCAGCTG
CCGGAAAAGTACAAGGAAATCTTCTTCGACCAGA
GCAAGAACGGATACGCAGGATACATCGACGGAG
GAGCAAGCCAGGAAGAATTCTACAAGTTCATCAA
GCCGATCCTGGAAAAGATGGACGGAACAGAAGA
ACTGCTGGTCAAGCTGAACAGAGAAGACCTGCTG
AGAAAGCAGAGAACATTTCGACAACGGAAGCATC
CCGCACCAGATCCACCTGGGAGAAGTGCACGCAA
TCCTGAGAAGACAGGAAGACTTCTACCCGTTCT
GAAGGACAACAGAGAAAAGATCGAAAAGATCCT
GACATTCAGAATCCCGTACTACGTCGGACCGCTG
GCAAGAGGAAACAGCAGATTCGCATGGATGACA
AGAAAGAGCGAAGAAACAATCACACCGTGGAAC

TTCGAAGAAGTCGTCGACAAGGGAGCAAGCGCA
CAGAGCTTCATCGAAAGAATGACAAACTTCGACA
AGAACCTGCCGAACGAAAAGGTCCTGCCGAAGC
ACAGCCTGCTGTACGAATACTTCACAGTCTACAA
CGAACTGACAAAGGTCAAGTACGTCACAGAAGG
AATGAGAAAGCCGGCATTCTGAGCGGAGAACA
GAAGAAGGCAATCGTCGACCTGCTGTTCAAGACA
AACAGAAAGGTCACAGTCAAGCAGCTGAAGGAA
GACTACTTCAAGAAGATCGAATGCTTCGACAGCG
TCGAAATCAGCGGAGTCGAAGACAGATTCAACG
CAAGCCTGGGAACATACCACGACCTGCTGAAGAT
CATCAAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAAGA
AAACGAAGACATCCTGGAAGACATCGTCCTGACA
CTGACACTGTTCTGAAGACAGAGAAATGATCGAA
GAAAGACTGAAGACATACGCACACCTGTTTCGACG
ACAAGGTCATGAAGCAGCTGAAGAGAAGAAGAT
ACACAGGATGGGGAAGACTGAGCAGAAAGCTGA
TCAACGGAATCAGAGACAAGCAGAGCGGAAAGA
CAATCCTGGACTTCCTGAAGAGCGACGGATTCCG
AACAGAACTTCATGCAGCTGATCCACGACGAC
AGCCTGACATTCAAGGAAGACATCCAGAAGGCA
CAGGTCAGCGGACAGGGAGACAGCCTGCACGAA
CACATCGCAAACCTGGCAGGAAGCCCGGCAATC
AGAAGGGAATCCTGCAGACAGTCAAGGTCGTC
GACGAACTGGTCAAGGTCATGGGAAGACACAAG
CCGAAAACATCGTCATCGAAATGGCAAGAGAA
AACCAGACAACACAGAAGGGACAGAAGAACAGC
AGAGAAAGAATGAAGAGAATCGAAGAAGGAATC
AAGGAACTGGGAAGCCAGATCCTGAAGGAACAC
CCGGTCGAAAACACACAGCTGCAGAACGAAAAG
CTGTACCTGTACTACCTGCAGAACGGAAGAGACA
TGTACGTCGACCAGGAAGTGGACATCAACAGACT
GAGCGACTACGACGTCGACCACATCGTCCCGCAG
AGCTTCCTGAAGGACGACAGCATCGACAACAAG
GTCCTGACAAGAAGCGACAAGAACAGAGGAAAG

AGCGACAACGTCCCGAGCGAAGAAGTCGTCAAG
AAGATGAAGAACTACTGGAGACAGCTGCTGAAC
GCAAAGCTGATCACACAGAGAAAGTTCGACAAC
CTGACAAAGGCAGAGAGAGGAGGACTGAGCGAA
CTGGACAAGGCAGGATTCATCAAGAGACAGCTG
GTCGAAACAAGACAGATCACAAAGCACGTCGCA
CAGATCCTGGACAGCAGAATGAACACAAAGTAC
GACGAAAACGACAAGCTGATCAGAGAAGTCAAG
GTCATCACACTGAAGAGCAAGCTGGTCAGCGACT
TCAGAAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTCAGAGA
AATCAACAACCTACCACCACGCACACGACGCATAC
CTGAACGCAGTCGTCGGAACAGCACTGATCAAGA
AGTACCCGAAGCTGGAAAGCGAATTCGTCTACGG
AGACTACAAGGTCTACGACGTCAGAAAGATGATC
GCAAAGAGCGAACAGGAAATCGGAAAGGCAACA
GCAAAGTACTTCTTCTACAGCAACATCATGAACT
TCTTCAAGACAGAAATCACACTGGCAAACGGAG
AAATCAGAAAGAGACCGCTGATCGAAACAAACG
GAGAAACAGGAGAAATCGTCTGGGACAAGGGAA
GAGACTTCGCAACAGTCAGAAAGGTCCTGAGCAT
GCCGCAGGTCAACATCGTCAAGAAGACAGAAGT
CCAGACAGGAGGATTCAGCAAGGAAAGCATCCT
GCCGAAGAGAAACAGCGACAAGCTGATCGCAAG
AAAGAAGGACTGGGACCCGAAGAAGTACGGAGG
ATTCGACAGCCCGACAGTCGCATACAGCGTCCTG
GTCGTGCGCAAAGGTCGAAAAGGGAAAGAGCAAG
AAGCTGAAGAGCGTCAAGGAACTGCTGGGAATC
ACAATCATGGAAAGAAGCAGCTTCGAAAAGAAC
CCGATCGACTTCTGGAAGCAAAGGGATACAAG
GAAGTCAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCG
AAGTACAGCCTGTTCTGAACTGGAAAACGGAAGA
AAGAGAATGCTGGCAAGCGCAGGAGAACTGCAG
AAGGGAAACGAACTGGCACTGCCGAGCAAGTAC
GTCAACTTCTGTACCTGGCAAGCCACTACGAAA
AGCTGAAGGGAAGCCCGAAGACAACGAACAGA

	AGCAGCTGTTTCGTCTGAACAGCACAAGCACTACCT GGACGAAATCATCGAACAGATCAGCGAATTCAG CAAGAGAGTCATCCTGGCAGACGCAAACCTGGA CAAGGTCCTGAGCGCATAACAACAAGCACAGAGA CAAGCCGATCAGAGAACAGGCAGAAAACATCAT CCACCTGTTCACTGACAAACCTGGGAGCACCG GCAGCATTCAAGTACTTCGACACAACAATCGACA GAAAGAGATACACAAGCACAAAGGAAGTCCTGG ACGCAAACTGATCCACCAGAGCATCACAGGACT GTACGAAACAAGAATCGACCTGAGCCAGCTGGG AGGAGACGGAGGAGGAAGCCCGAAGAAGAAGA GAAAGGTCTAGCTAGCCATCACATTTAAAAGCAT CTCAGCCTACCATGAGAATAAGAGAAAAGAAAAT GAAGATCAATAGCTTATTCATCTCTTTTTCTTTTT CGTTGGTGTAAGCCAACACCCTGTCTAAAAAAC ATAAATTTCTTTAATCATTTTGCCTCTTTTCTCTGT GCTTCAATTAATAAAAAATGGAAAGAACCTCGAG	
G000739 - отрицательный контроль sgPHK	mG*mA*mU*CACGUCGGCCGUUGGCGGUUUUAG AmGmCmUmAmGmAmAmUmAmGmCAAGUUA AAAU AAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmG mAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAm GmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	2
модифицированная последовательность sgPHK («N» может быть любым природным или неприродным нуклеотидом)	mN*mN*mN*NNNNNNNNNNNNNNNNNNNGUUUAG AmGmCmUmAmGmAmAmUmAmGmCAAGUUA AAAU AAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmG mAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAm GmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	3
30/30/39 последовательность поли-А	AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAGC GAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAC CGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAA	4
CR003335 гPHK, нацеленная на TTR	CUGCUCUCCUCUGCCUUGC	5

человека (экзон 1)		
CR003336 гРНК, нацеленная на TTR человека (экзон 1)	CCUCCUCUGCCUUGCUGGAC	6
CR003337 гРНК, нацеленная на TTR человека (экзон 1)	CCAGUCCAGCAAGGCAGAGG	7
CR003338 гРНК, нацеленная на TTR человека (экзон 1)	AUACCAGUCCAGCAAGGCAG	8
CR003339 гРНК, нацеленная на TTR человека (экзон 1)	ACACAAAUACCAGUCCAGCA	9
CR003340 гРНК, нацеленная на TTR человека (экзон 1)	UGGACUGGUAAUUUGUGUCUG	10
CR003341 гРНК, нацеленная на TTR человека (экзон 1)	CUGGUAAUUUGUGUCUGAGGC	11
CR003342 гРНК, нацеленная на TTR человека (экзон 2)	CUUCUCUACACCCAGGGCAC	12
CR003343 гРНК, нацеленная на TTR человека (экзон 2)	CAGAGGACACUUGGAUUCAC	13
CR003344 гРНК, нацеленная на TTR человека (экзон 2)	UUUGACCAUCAGAGGACACU	14
CR003345 гРНК, нацеленная на TTR человека (экзон 2)	UCUAGAACUUUGACCAUCAG	15
CR003346 гРНК, нацеленная на TTR человека (экзон 2)	AAAGUUCUAGAUGCUGUCCG	16

CR003347 гРНК, нацеленная на TTR человека (экзон 2)	CAUUGAUGGCAGGACUGCCU	17
CR003348 гРНК, нацеленная на TTR человека (экзон 2)	AGGCAGUCCUGCCAUCA AUG	18
CR003349 гРНК, нацеленная на TTR человека (экзон 2)	UGCACGGCCACA UUGAUGGC	19
CR003350 гРНК, нацеленная на TTR человека (экзон 2)	CACAUGCACGGCCACA UUGA	20
CR003351 гРНК, нацеленная на TTR человека (экзон 2)	AGCCUUUCUGAACACAUGCA	21
CR003352 гРНК, нацеленная на TTR человека (экзон 2)	GAAAGGCUGCUGAUGACACC	22
CR003353 гРНК, нацеленная на TTR человека (экзон 2)	AAAGGCUGCUGAUGACACCU	23
CR003354 гРНК, нацеленная на TTR человека (экзон 2)	ACCUGGGAGCCA UUGCCUC	24
CR003355 гРНК, нацеленная на TTR человека (экзон 2)	CCCAGAGGCAA AUGGCUCCC	25
CR003356 гРНК, нацеленная на TTR человека (экзон 2)	GCAACUUACCCAGAGGCAAA	26
CR003357 гРНК, нацеленная на TTR человека (экзон 2)	UUCUUUGGCAACUUACCCAG	27
CR003358 гРНК, нацеленная на TTR человека (экзон 2)	AUGCAGCUCUCCAGACUCAC	28

нацеленная на TTR человека (экзон 3)		
CR003359 гРНК, нацеленная на TTR человека (экзон 3)	AGUGAGUCUGGAGAGCUGCA	29
CR003360 гРНК, нацеленная на TTR человека (экзон 3)	GUGAGUCUGGAGAGCUGCAU	30
CR003361 гРНК, нацеленная на TTR человека (экзон 3)	GCUGCAUGGGCUCACAACUG	31
CR003362 гРНК, нацеленная на TTR человека (экзон 3)	GCAUGGGCUCACAACUGAGG	32
CR003363 гРНК, нацеленная на TTR человека (экзон 3)	ACUGAGGAGGAAUUUGUAGA	33
CR003364 гРНК, нацеленная на TTR человека (экзон 3)	CUGAGGAGGAAUUUGUAGAA	34
CR003365 гРНК, нацеленная на TTR человека (экзон 3)	UGUAGAAGGGAUUAACAAAG	35
CR003366 гРНК, нацеленная на TTR человека (экзон 3)	AAAUAGACACCAAUCUAC	36
CR003367 гРНК, нацеленная на TTR человека (экзон 3)	AGACACCAAUCUACUGGA	37
CR003368 гРНК, нацеленная на TTR человека (экзон 3)	AAGUGCCUCCAGUAAGAUU	38
CR003369 гРНК, нацеленная на TTR	CUCUGCAUGCUC AUGGAAUG	39

человека (экзон 3)		
CR003370 гРНК, нацеленная на TTR человека (экзон 3)	CCUCUGCAUGCUC AUGGAAU	40
CR003371 гРНК, нацеленная на TTR человека (экзон 3)	ACCUCUGCAUGCUC AUGGAA	41
CR003372 гРНК, нацеленная на TTR человека (экзон 3)	UACUCACCUCUGCAUGCUC A	42
CR003373 гРНК, нацеленная на TTR человека (экзон 4)	GUAUUCACAGCCAACGACUC	43
CR003374 гРНК, нацеленная на TTR человека (экзон 4)	GCGGCGGGGGCCGGAGUCGU	44
CR003375 гРНК, нацеленная на TTR человека (экзон 4)	AAUGGUGUAGCGGCGGGGGC	45
CR003376 гРНК, нацеленная на TTR человека (экзон 4)	CGGCAAUGGUGUAGCGGCGG	46
CR003377 гРНК, нацеленная на TTR человека (экзон 4)	GCGGCAAUGGUGUAGCGGCG	47
CR003378 гРНК, нацеленная на TTR человека (экзон 4)	GGCGGCAAUGGUGUAGCGGC	48
CR003379 гРНК, нацеленная на TTR человека (экзон 4)	GGGCGGCAAUGGUGUAGCGG	49
CR003380 гРНК, нацеленная на TTR человека (экзон 4)	GCAGGGCGGCAAUGGUGUAG	50

CR003381 гРНК, нацеленная на TTR человека (экзон 4)	GGGGCUCAGCAGGGCGGCAA	51
CR003382 гРНК, нацеленная на TTR человека (экзон 4)	GGAGUAGGGGCUCAGCAGGG	52
CR003383 гРНК, нацеленная на TTR человека (экзон 4)	AUAGGAGUAGGGGCUCAGCA	53
CR003384 гРНК, нацеленная на TTR человека (экзон 4)	AAUAGGAGUAGGGGCUCAGC	54
CR003385 гРНК, нацеленная на TTR человека (экзон 4)	CCCCUCCUAUUCCACCA	55
CR003386 гРНК, нацеленная на TTR человека (экзон 4)	CCGUGGUGGAAUAGGAGUAG	56
CR003387 гРНК, нацеленная на TTR человека (экзон 4)	GCCGUGGUGGAAUAGGAGUA	57
CR003388 гРНК, нацеленная на TTR человека (экзон 4)	GACGACAGCCGUGGUGGAAU	58
CR003389 гРНК, нацеленная на TTR человека (экзон 4)	AUUGGUGACGACAGCCGUGG	59
CR003390 гРНК, нацеленная на TTR человека (экзон 4)	GGGAUUGGUGACGACAGCCG	60
CR003391 гРНК, нацеленная на TTR человека (экзон 4)	GGCUGUCGUCACCAAUCCCA	61
CR003392 гРНК, нацеленная на TTR человека (экзон 4)	AGUCCCUCAUUCUUGGGAU	62

нацеленная на TTR человека (экзон 4)		
CR005298 гРНК, нацеленная на TTR человека (экзон 1)	UCCACUCAUUCUUGGCAGGA	63
CR005299 гРНК, нацеленная на TTR человека (экзон 4)	AGCCGUGGUGGAAUAGGAGU	64
CR005300 гРНК, нацеленная на TTR человека (экзон 1)	UCACAGAAACACUCACCGUA	65
CR005301 гРНК, нацеленная на TTR человека (экзон 1)	GUCACAGAAACACUCACCGU	66
CR005302 гРНК, нацеленная на TTR человека (экзон 2)	ACGUGUCUUCUCUACACCCA	67
CR005303 гРНК, нацеленная на TTR человека (экзон 2)	UGAAUCCAAGUGUCCUCUGA	68
CR005304 гРНК, нацеленная на TTR человека (экзон 2)	GGCCGUGCAUGUGUUCAGAA	69
CR005305 гРНК, нацеленная на TTR человека (экзон 3)	UAUAGGAAAACCAGUGAGUC	70
CR005306 гРНК, нацеленная на TTR человека (экзон 3)	AAAUCUUACUGGAAGGCACU	71
CR005307 гРНК, нацеленная на TTR человека (экзон 4)	UGUCUGUCUUCUCUCAUAGG	72
CR000689 гРНК, нацеленная на TTR	ACACAAAUACCAGUCCAGCG	73

яванского макака		
CR005364 гРНК, нацеленная на TTR яванского макака	AAAGGCUGCUGAUGAGACCU	74
CR005365 гРНК, нацеленная на TTR яванского макака	CAUUGACAGCAGGACUGCCU	75
CR005366 гРНК, нацеленная на TTR яванского макака	AUACCAGUCCAGCGAGGCAG	76
CR005367 гРНК, нацеленная на TTR яванского макака	CCAGUCCAGCGAGGCAGAGG	77
CR005368 гРНК, нацеленная на TTR яванского макака	CCUCCUCUGCCUCGCUGGAC	78
CR005369 гРНК, нацеленная на TTR яванского макака	AAAGUUCUAGAUGCCGUCCG	79
CR005370 гРНК, нацеленная на TTR яванского макака	ACUUGUCUUCUCUAUACCCA	80
CR005371 гРНК, нацеленная на TTR яванского макака	AAGUGACUCCAGUAAGAUU	81
CR005372 гРНК, нацеленная на TTR яванского макака	AAAAGGCUGCUGAUGAGACC	82
	Не используется	83
	Не используется	84
	Не используется	85
	Не используется	86
G000480 модифицированная	mA*mA*mA*GGCUGCUGAUGACACCUGUUUUAG AmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUA	87

последовательность sgPHK, нацеленная на TTR человека	AAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmG mAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAm GmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	
G000481 модифицированная последовательность sgPHK, нацеленная на TTR человека	mU*mC*mU*AGAACUUUGACCAUCAGGUUUUAG AmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUA AAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmG mAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAm GmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	88
G000482 модифицированная последовательность sgPHK, нацеленная на TTR человека	mU*mG*mU*AGAAGGGAUUAACAAAGGUUUUAG AmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUA AAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmG mAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAm GmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	89
G000483 модифицированная последовательность sgPHK, нацеленная на TTR человека	mU*mC*mC*ACUCAUUCUUGGCAGGAGUUUUAG AmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUA AAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmG mAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAm GmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	90
G000484 модифицированная последовательность sgPHK, нацеленная на TTR человека	mA*mG*mA*CACCAAUCUUACUGGAGUUUUAG AmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUA AAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmG mAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAm GmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	91
G000485 модифицированная последовательность sgPHK, нацеленная на TTR человека	mC*mC*mU*CCUCUGCCUUGCUGGACGUUUUAG AmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUA AAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmG mAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAm GmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	92
G000486 модифицированная последовательность sgPHK, нацеленная на TTR человека	mA*mC*mA*CAAAUACCAGUCCAGCAGUUUUAG AmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUA AAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmG mAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAm GmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	93
G000487	mU*mU*mC*UUUGGCAACUUACCCAGGUUUUAG	94

модифицированная последовательность sgPHK, нацеленная на TTR человека	AmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUA AAAUAAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmG mAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAm GmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	
G000488 модифицированная последовательность sgPHK, нацеленная на TTR человека	mA*mA*mA*GUUCUAGAUGCUGUCCGGUUUUAG AmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUA AAAUAAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmG mAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAm GmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	95
G000489 модифицированная последовательность sgPHK, нацеленная на TTR человека	mU*mU*mU*GACCAUCAGAGGACACUGUUUUAG AmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUA AAAUAAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmG mAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAm GmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	96
G000490 модифицированная последовательность sgPHK, нацеленная на TTR человека	mA*mA*mA*UAGACACCAAUCUUACGUUUUAG AmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUA AAAUAAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmG mAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAm GmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	97
G000491 модифицированная последовательность sgPHK, нацеленная на TTR человека	mA*mU*mA*CCAGUCCAGCAAGGCAGGUUUUAG AmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUA AAAUAAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmG mAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAm GmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	98
G000492 модифицированная последовательность sgPHK, нацеленная на TTR человека	mC*mU*mU*CUCUACACCCAGGGCACGUUUUAG AmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUA AAAUAAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmG mAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAm GmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	99
G000493 модифицированная последовательность sgPHK, нацеленная на TTR человека	mA*mA*mG*UGCCUCCAGUAAGAUUGUUUUAG AmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUA AAAUAAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmG mAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAm GmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	100

G000494 модифицированная последовательность sgPHK, нацеленная на TTR человека	mG*mU*mG*AGUCUGGAGAGCUGCAUGUUUUAG AmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUA AAAU AAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmG mAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAm GmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	101
G000495 модифицированная последовательность sgPHK, нацеленная на TTR человека	mC*mA*mG*AGGACACUUGGAUUCACGUUUUAG AmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUA AAAU AAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmG mAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAm GmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	102
G000496 модифицированная последовательность sgPHK, нацеленная на TTR человека	mG*mG*mC*CGUGCAUGUGUUCAGAAGUUUUAG AmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUA AAAU AAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmG mAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAm GmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	103
G000497 модифицированная последовательность sgPHK, нацеленная на TTR человека	mC*mU*mG*CUCCUCCUCUGCCUUGCGUUUUAGA mGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUA AAUA AAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGm AmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmG mUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	104
G000498 модифицированная последовательность sgPHK, нацеленная на TTR человека	mA*mG*mU*GAGUCUGGAGAGCUGCAGUUUUAG AmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUA AAAU AAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmG mAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAm GmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	105
G000499 модифицированная последовательность sgPHK, нацеленная на TTR человека	mU*mG*mA*AUCCAAGUGUCCUCUGAGUUUUAG AmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUA AAAU AAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmG mAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAm GmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	106
G000500 модифицированная последовательность sgPHK, нацеленная на TTR человека	mC*mC*mA*GUCCAGCAAGGCAGAGGGUUUUAG AmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUA AAAU AAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmG mAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAm GmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	107

G000501 модифицированная последовательность sgPHK, нацеленная на TTR человека	mU*mC*mA*CAGAAACACUCACCGUAGUUUUAG AmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUA AAAU AAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmG mAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAm GmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	108
G000567 модифицированная последовательность sgPHK, нацеленная на TTR человека	mG*mA*mA*AGGCUGCUGAUGACACCGUUUUAG AmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUA AAAU AAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmG mAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAm GmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	109
G000568 модифицированная последовательность sgPHK, нацеленная на TTR человека	mG*mG*mC*UGUCGUCACCAAUCCCAGUUUUAG AmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUA AAAU AAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmG mAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAm GmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	110
G000570 модифицированная последовательность sgPHK, нацеленная на TTR человека	mC*mA*mU*UGAUGGCAGGACUGCCUGUUUUAG AmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUA AAAU AAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmG mAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAm GmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	111
G000571 модифицированная последовательность sgPHK, нацеленная на TTR человека	mG*mU*mC*ACAGAAACACUCACCGUGUUUUAG AmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUA AAAU AAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmG mAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAm GmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	112
G000572 модифицированная последовательность sgPHK, нацеленная на TTR человека	mC*mC*mC*CUACUCCUAUUCCACCAGUUUUAGA mGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUA AAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGm AmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmG mUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	113
G000502 модифицированная последовательность sgPHK, нацеленная на TTR яванского	mA*mC*mA*CAAAUACCAGUCCAGCGGUUUUAG AmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUA AAAU AAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmG mAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAm GmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	114

макака		
G000503 модифицированная последовательность sgPHK, нацеленная на TTR яванского макака	mA*mA*mA*AGGCUGCUGAUGAGACCGUUUUAG AmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUA AAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmG mAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAm GmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	115
G000504 модифицированная последовательность sgPHK, нацеленная на TTR яванского макака	mA*mA*mA*GGCUGCUGAUGAGACCGUUUUAG AmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUA AAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmG mAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAm GmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	116
G000505 модифицированная последовательность sgPHK, нацеленная на TTR яванского макака	mC*mA*mU*UGACAGCAGGACUGCCUGUUUUAG AmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUA AAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmG mAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAm GmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	117
G000506 модифицированная последовательность sgPHK, нацеленная на TTR яванского макака	mA*mU*mA*CCAGUCCAGCGAGGCAGGUUUUAG AmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUA AAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmG mAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAm GmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	118
G000507 модифицированная последовательность sgPHK, нацеленная на TTR яванского макака	mC*mC*mA*GUCCAGCGAGGCAGAGGGUUUUAG AmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUA AAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmG mAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAm GmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	119
G000508 модифицированная последовательность sgPHK, нацеленная	mC*mC*mU*CCUCUGCCUCGCUGGACGUUUUAGA mGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUA AAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmG AmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmG	120

на ТТР яванского макака	mUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	
G000509 модифицированная последовательность sgPHK, нацеленная на ТТР яванского макака	mA*mA*mA*GUUCUAGAUGCCGUCCGGUUUUAG AmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUA AAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmG mAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAm GmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	121
G000510 модифицированная последовательность sgPHK, нацеленная на ТТР яванского макака	mA*mC*mU*UGUCUUCUCUAUACCCAGUUUUAG AmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUA AAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmG mAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAm GmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	122
G000511 модифицированная последовательность sgPHK, нацеленная на ТТР яванского макака	mA*mA*mG*UGACUUCAGUAAGAUUGUUUUAG AmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUA AAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmG mAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAm GmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	123
G000282 модифицированная последовательность sgPHK, нацеленная на ТТР мыши	mU*mU*mA*CAGCCACGUCUACAGCAGUUUUAG AmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUA AAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmG mAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAm GmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	124
Примерная нуклеотидная последовательность, следующая за 3'-концом гидовой последовательности для образования sgPHK	GUUUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUAAAAUAA GGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCAC CGAGUCGGUGCUUUU	125
Примерная нуклеотидная	GUUUUAGAGCUAUGCUGUUUUG	126

последовательность, следующая за 3'- концом гидовой последовательности для образования сгРНК		
	Не используется	от 127 до 202
Аминокислотная последовательность Cas9	MDKKYSIGLDIGTNSVGWAVITDEYKVPSKKFKVL GNTDRHSIKKNLIGALLFDSGETAEATRLKRTARRR YTRRKNRICYLQEIFSNEMAKVDDSFHRLSEESFLV EEDKKHERHPIFGNIVDEVAYHEKYPTIYHLRKKLV DSTDKADLRLIYLALAHMIKFRGHFLIEGDLNPDNS DVDKLFIQLVQTYNQLFEENPINASGVDAKAILSAR LSKSRLENLIAQLPGEKKNGLFGNLIASLGLTPNF KSNFDLAEDAQLQSKDTYDDDLDNLLAQIGDQYA DLFLAAKNLSDAILLSDILRVNTEITKAPLSASMIKR YDEHHQDLTLLKALVRQQLPEKYKEIFFDQSKNGY AGYIDGGASQEEFYKFIKPILEKMDGTEELLVKLNR EDLLRKQRTFDNGSIPHQIHLGELHAILRRQEDFYPF LKDNREKIEKILTFRIPYYVGPLARGNSRFAWMTRK SEETITPWNFEVVDKGGASAQSFIERMTNFDKNLPN EKVLPKHSLLYEYFTVYNELTKVKYVTEGMRKPAF LSGEQKKAIVDLLFKTNRKVTVKQLKEDYFKKIECF DSVEISGVEDRFNASLGTYHDLLKIIKDKDFLDNEE NEDILEDIVLTLTLFEDREMIEERLKTYAHLFDDKV MKQLKRRRYTGWGRLSRKLINGIRDKQSGKTILDF LKSDGFANRNFMQLIHDDSLFKEDIQKAQVSGQG DSLHEHIANLAGSPAIKKGILQTVKVVDELVKVMG RHKPENIVIAMARENQTTQKGQKNSRERMKRIEEGI KELGSQILKEHPVENTQLQNEKLYLYYLQNGRDMY VDQELDINRLSDYVDHIVPQSFLKDDSIDNKVLTR SDKNRGKSDNVPSEEVVKKMKNYWRQLLNAKLIT QRKFDNLTKAERGGLSELDKAGFIKRQLVETRQITK HVAQILDSRMNTKYDENDKLIREVKVITLKSCLVSD	203

	FRKDFQFYKVREINNYHHAHDAYLNAVVG TALIKK YPKLESEFVYGDYKVYDVRKMIAKSEQEIGKATAK YFFYSNIMNFFKTEITLANGEIRKRPLIETNGETGEIV WDKGRDFATVRKVL SMPQVNIVKKTEVQTGGFSK ESILPKRNSDKLIARKKDWD PKKYGGFDSPTVAYS VLVVAKVEKGKSKKLKSVKELLGITIMERS SFEKNP IDFLEAKGYKEVKKDLI IKLPKYSLFELENGRKRML ASAGELQKGNELALPSKYVNFLYLASHYEKLGKSP EDNEQKQLFVEQHKHYLDEIIEQISEFSKR VILADAN LDKVLSA YNKHRDKPIREQAENIHLFTLTNLGAPA AFKYFDTTIDRKRYTSTKEVLDATLIHQ SITGLYETR IDLSQLGGDGGGSPKKKRKV	
Открытая рамка считывания мРНК Cas9 (OPC) 2	AUGGACAAGAAGUACAGCAUCGGACUGGACAUC GGAACAAACAGCGUCGGAUGGGCAGUCAUCACA GACGAAUACAAGGUCCCGAGCAAGAAGUUCAAG GUCCUGGGAAACACAGACAGACACAGCAUCAAG AAGAACCUGAUCGGAGCACUGCUGUUCGACAGC GGAGAAACAGCAGAAGCAACAAGACUGAAGAG AACAGCAAGAAGAAGAUACACAAGAAGAAAGA ACAGAAUCUGCUACCUGCAGGAAAUCUUCAGCA ACGAAAUGGCAAAGGUCGACGACAGCUUCUUC ACAGACUGGAAGAAAGCUUCCUGGUCGAAGAAG ACAAGAAGCACGAAAGACACCCGAUCUUCGGAA ACAUCGUCGACGAAGUCGCAUACCACGAAAAGU ACCCGACAAUCUACCACCUGAGAAAGAAGCUGG UCGACAGCACAGACAAGGCAGACCUGAGACUGA UCUACCUGGCACUGGCACACAUGAUCAAGUUCA GAGGACACUUCUGAUCGAAGGAGACCUGAACC CGGACAACAGCGACGUCGACAAGCUGUUCAUCC AGCUGGUCCAGACAUACAACCAGCUGUUCGAAG AAAACCCGAUCAACGCAAGCGGAGUCGACGCAA AGGCAAUCCUGAGCGCAAGACUGAGCAAGAGCA GAAGACUGGAAAACCUGAUCGCACAGCUGCCGG GAGAAAAGAAGAACGGACUGUUCGGAAACCUG AUCGCACUGAGCCUGGGACUGACACCGAACUUC	204

AAGAGCAACUUCGACCUGGCAGAAGACGCAAAG
CUGCAGCUGAGCAAGGACACAUACGACGACGAC
CUGGACAACCUGCUGGCACAGAUCGGAGACCAG
UACGCAGACCUGUUCUGGCAGCAAAGAACCUG
AGCGACGCAAUCCUGCUGAGCGACAUCCUGAGA
GUCAACACAGAAAUCACAAAGGCACCGCUGAGC
GCAAGCAUGAUCAAGAGAUACGACGAACACCAC
CAGGACCUGACACUGCUGAAGGCACUGGUCAGA
CAGCAGCUGCCGGAAAAGUACAAGGAAAUCUUC
UUCGACCAGAGCAAGAACGGAUACGCAGGAUAC
AUCGACGGAGGAGCAAGCCAGGAAGAAUUCUAC
AAGUUCAUCAAGCCGAUCCUGGAAAAGAUGGAC
GGAACAGAAGAACUGCUGGUCAAGCUGAACAGA
GAAGACCUGCUGAGAAAGCAGAGAACAUCGAC
AACGGAAGCAUCCCGCACCAGAUCACCUGGGA
GAACUGCACGCAAUCCUGAGAAGACAGGAAGAC
UUCUACCCGUUCCUGAAGGACAACAGAGAAAAG
AUCGAAAAGAUCCUGACAUCAGAAUCCCGUAC
UACGUCGGACCGCUGGCAAGAGGAAACAGCAGA
UUCGCAUGGAUGACAAGAAAGAGCGAAGAAAC
AAUCACACCGUGGAACUUCGAAGAAGUCGUCGA
CAAGGGAGCAAGCGCACAGAGCUUCAUCGAAAG
AAUGACAAACUUCGACAAGAACCUGCCGAACGA
AAAGGUCCUGCCGAAGCACAGCCUGCUGUACGA
AUACUUCACAGUCUACAACGAACUGACAAAGGU
CAAGUACGUCACAGAAGGAAUGAGAAAGCCGGC
AUUCCUGAGCGGAGAACAGAAGAAGGCAAUCGU
CGACCUGCUGUUCAAGACAAACAGAAAGGUCAC
AGUCAAGCAGCUGAAGGAAGACUACUUCAAGAA
GAUCGAAUGCUUCGACAGCGUCGAAAUCAGCGG
AGUCGAAGACAGAUUCAACGCAAGCCUGGGAAC
AUACCACGACCUGCUGAAGAUAUCAAGGACAA
GGACUUCUGGACAACGAAGAAAACGAAGACAU
CCUGGAAGACAUCGUCCUGACACUGACACUGUU
CGAAGACAGAGAAAUGAUCGAAGAAAGACUGA

AGACAUACGCACACCUGUUCGACGACAAGGUCA
UGAAGCAGCUGAAGAGAAGAAGAUACACAGGA
UGGGGAAGACUGAGCAGAAAGCUGAUAACGG
AAUCAGAGACAAGCAGAGCGGAAAGACAAUCCU
GGACUUCCUGAAGAGCGACGGAUUCGCAAACAG
AAACUUCAUGCAGCUGAUCCACGACGACAGCCU
GACAUUCAAGGAAGACAUCCAGAAGGCACAGGU
CAGCGGACAGGGAGACAGCCUGCACGAACACAU
CGCAAACCUGGCAGGAAGCCCGGCAAUCAAGAA
GGGAAUCCUGCAGACAGUCAAGGUCGUCGACGA
ACUGGUCAAGGUCAUGGGAAGACACAAGCCGGA
AAACAUCGUCAUCGAAAUGGCAAGAGAAAACCA
GACAACACAGAAGGGACAGAAGAACAGCAGAGA
AAGAAUGAAGAGAAUCGAAGAAGGAAUCAAGG
AACUGGGAAGCCAGA UCCUGAAGGAACACCCGG
UCGAAAACACACAGCUGCAGAACGAAAAGCUGU
ACCUGUACUACCUGCAGAACGGAAGAGACAUGU
ACGUCGACCAGGAACUGGACAUCAACAGACUGA
GCGACUACGACGUCGACCACAUCGUCCCGCAGA
GCUUCCUGAAGGACGACAGCAUCGACAACAAGG
UCCUGACAAGAAGCGACAAGAACAGAGGAAAGA
GCGACAACGUCCCGAGCGAAGAAGUCGUCAAGA
AGAUGAAGAACUACUGGAGACAGCUGCUGAACG
CAAAGCUGAUCACACAGAGAAAGUUCGACAACC
UGACAAAGGCAGAGAGAGGAGGACUGAGCGAA
CUGGACAAGGCAGGAUUCAUCAAGAGACAGCUG
GUCGAAACAAGACAGAUCACAAAGCACGUCGCA
CAGAUCCUGGACAGCAGAAUGAACACAAAGUAC
GACGAAAACGACAAGCUGAUCAGAGAAGUCAAG
GUCAUCACACUGAAGAGCAAGCUGGUCAGCGAC
UUCAGAAAGGACUUC CAGUUCUACAAGGUCAGA
GAAAUCAACAACUACCACCACGCACACGACGCA
UACCUGAACGCAGUCGUCGGAACAGCACUGAUC
AAGAAGUACCCGAAGCUGGAAAGCGAAUUCGUC
UACGGAGACUACAAGGUCUACGACGUCAGAAAG

	<p> AUGAUCGCAAAGAGCGAACAGGAAAUCGGAAA GGCAACAGCAAAGUACUUCUUCUACAGCAACAU CAUGAACUUCUUCAAGACAGAAAUCACACUGGC AAACGGAGAAAUCAGAAAGAGACCGCUGAUCGA AACAAACGGAGAAACAGGAGAAAUCGUCUGGG ACAAGGGAAGAGACUUCGCAACAGUCAGAAAGG UCCUGAGCAUGCCGCAGGUCAACAUCGUCAAGA AGACAGAAGUCCAGACAGGAGGAUUCAGCAAGG AAAGCAUCCUGCCGAAGAGAAACAGCGACAAGC UGAUCGCAAGAAAGAAGGACUGGGACCCGAAGA AGUACGGAGGAUUCGACAGCCCGACAGUCGCAU ACAGCGUCCUGGUCGUCGCAAAGGUCGAAAAGG GAAAGAGCAAGAAGCUGAAGAGCGUCAAGGAA CUGCUGGGAAUCACAAUCAUGGAAAGAAGCAGC UUCGAAAAGAACCCGAUCGACUUCUGGAAGCA AAGGGAUACAAGGAAGUCAAGAAGGACCUGAU CAUCAAGCUGCCGAAGUACAGCCUGUUCGAACU GGAAAACGGAAGAAAGAGAAUGCUGGCAAGCG CAGGAGAACUGCAGAAGGGAAACGAACUGGCAC UGCCGAGCAAGUACGUCAACUUCUGUACCUGG CAAGCCACUACGAAAAGCUGAAGGGAAGCCCGG AAGACAACGAACAGAAGCAGCUGUUCGUCGAAC AGCACAAGCACUACCUGGACGAAAUCAUCGAAC AGAUCAGCGAAUUCAGCAAGAGAGUCAUCCUGG CAGACGCAAACCUGGACAAGGUCCUGAGCGCAU ACAACAAGCACAGAGACAAGCCGAUCAGAGAAC AGGCAGAAAACAUCAUCCACCUGUUCACACUGA CAAACCUGGGAGCACCGGCAGCAUUCAAGUACU UCGACACAACAAUCGACAGAAAGAGAUACACAA GCACAAAGGAAGUCCUGGACGCAACACUGAUCC ACCAGAGCAUCACAGGACUGUACGAAACAAGAA UCGACCUGAGCCAGCUGGGAGGAGACGGAGGAG GAAGCCCGAAGAAGAAGAGAAAGGUCUAG </p>	
<p>OPC 1 mPHK Cas9</p>	<p> AUGGAUAAGAAGUACUCAAUCCGGGCUGGAU CGGAACUAAUCCGUGGGUUGGGCAGUGAUCAC </p>	<p>205</p>

GGAUGAAUACAAAGUGCCGUCCAAGAAGUUCAA
GGUCCUGGGGAACACCGAUAGACACAGCAUCAA
GAAAAAUCUCAUCGGAGCCCUGCUGUUUGACUC
CGGCGAAACCGCAGAAGCGACCCGGCUCAAACG
UACCGCGAGGGCAGCGCUACACCCGGCGGAAGAA
UCGCAUCUGCUAUCUGCAAGAGAUCUUUUCGAA
CGAAAUGGCAAAGGUCGACGACAGCUUCUCCA
CCGCCUGGAAGAAUCUUUCCUGGUGGAGGAGGA
CAAGAAGCAUGAACGGCAUCCUAUCUUUGGAAA
CAUCGUCGACGAAGUGGGCGUACCACGAAAAGUA
CCCGACCAUCUACCAUCUGCGGAAGAAGUUGGU
UGACUCAACUGACAAGGCCGACCUCAGAUUGAU
CUACUUGGCCUCGCCCAUAUGAUCAAAUCCG
CGGACACUUCUGAUCGAAGGCGAUCUGAACCC
UGAUAACUCCGACGUGGAUAAGCUUUUCAUUA
ACUGGUGCAGACCUACAACCAACUGUUCGAAGA
AAACCCAAUCA AUGCUAGCGGCGUCGAUGCCAA
GGCCAUCCUGUCCGCCCGGCGUCGAAGUCGCG
GCGCCUCGAAAACCUGAUCGCACAGCUGCCGGG
AGAGAAAAAGAACGGACUUUUCGGCAACUUGA
UCGCUCUCUCACUGGGACUCACUCCCAAUUUCA
AGUCCAAUUUUGACCUGGCCGAGGACGCGAAGC
UGCAACUCUCA AAGGACACCUACGACGACGACU
UGGACAAUUUGCUGGCACAAAUUGGCGAUCAGU
ACGCGGAUCUGUCCUUGCCGCUAAGAACCUUU
CGGACGCAAUCUUGCUGUCCGAUAUCCUGCGCG
UGAACACCGAAAUAACCAAAGCGCCGCUUAGCG
CCUCGAUGAUUAAGCGGUACGACGAGCAUCACC
AGGAUCUCACGCUGCUCAAAGCGCUCGUGAGAC
AGCAACUGCCUGAAAAGUACAAGGAGAUCUUCU
UCGACCAGUCCAAGAAUGGGUACGCAGGGUACA
UCGAUGGAGGCGCUAGCCAGGAAGAGUUCUAUA
AGUUCAUCAAGCCAAUCCUGGAAAAGAUGGACG
GAACCGAAGAACUGCUGGUCAAGCUGAACAGGG
AGGAUCUGCUCCGGAAACAGAGAACCUUUGACA

ACGGAUCCA U U C C C C A C C A G A U C C A U C U G G G G U G
A G C U G C A C G C C A U C U U G C G G C G C C A G G A G G A C U
U U U A C C C A U U C C U C A A G G A C A A C C G G G A A A A G A
U C G A G A A A A U U C U G A C G U U C C G C A U C C C G U A U U
A C G U G G G C C C A C U G G C G C G C G G C A A U U C G C G C U
U C G C G U G G A U G A C U A G A A A A U C A G A G G A A A C C A
U C A C U C C U U G G A A U U U C G A G G A A G U U G U G G A U
A A G G G A G C U U C G G C A C A A A G C U U C A U C G A A C G A
A U G A C C A A C U U C G A C A A G A A U C U C C C A A A C G A G
A A G G U G C U U C C U A A G C A C A G C C U C C U U U A C G A A
U A C U U C A C U G U C U A C A A C G A A C U G A C U A A A G U G
A A A U A C G U U A C U G A A G G A A U G A G G A A G C C G G C C
U U U C U G U C C G G A G A A C A G A A G A A A G C A A U U G U C
G A U C U G C U G U U C A A G A C C A A C C G C A A G G U G A C C
G U C A A G C A G C U U A A A G A G G A C U A C U U C A A G A A G
A U C G A G U G U U U C G A C U C A G U G G A A A U C A G C G G G
G U G G A G G A C A G A U U C A A C G C U U C G C U G G G A A C C
U A U C A U G A U C U C C U G A A G A U C A U C A A G G A C A A G
G A C U U C C U U G A C A A C G A G G A G A A C G A G G A C A U C
C U G G A A G A U A U C G U C C U G A C C U U G A C C C U U U U C
G A G G A U C G C G A G A U G A U C G A G G A G A G G C U U A A
G A C C U A C G C U C A U C U C U U C G A C G A U A A G G U C A U
G A A A C A A C U C A A G C G C C G C C G G U A C A C U G G U U G
G G G C C G C C U C U C C C G C A A G C U G A U C A A C G G U A U
U C G C G A U A A A C A G A G C G G U A A A A C U A U C C U G G A
U U U C C U C A A A U C G G A U G G C U U C G C U A A U C G U A A
C U U C A U G C A A U U G A U C C A C G A C G A C A G C C U G A C
C U U U A A G G A G G A C A U C C A A A A A G C A C A A G U G U C
C G G A C A G G G A G A C U C A C U C C A U G A A C A C A U C G C
G A A U C U G G C C G G U U C G C C G G C G A U U A A G A A G G G
A A U U C U G C A A A C U G U G A A G G U G G U C G A C G A G C U
G G U G A A G G U C A U G G G A C G G C A C A A A C C G G A G A A
U A U C G U G A U U G A A A U G G C C C G A G A A A A C C A G A C
U A C C C A G A A G G G C C A G A A A A A C U C C C G C G A A A G
G A U G A A G C G G A U C G A A G A A G G A A U C A A G G A G C

UGGGCAGCCAGA UCCUGAAAGAGCACCCGGUGG
AAAACACGCAGCUGCAGAACGAGAAGCUCUACC
UGUACUAUUUGCAAAAUGGACGGGACAUGUAC
GUGGACCAAGAGCUGGACAUCAAUCCGGUUGUCU
GAUUACGACGUGGACCACAUCGUUCCACAGUCC
UUUCUGAAGGAUGACUCGAUCGAUAACAAGGU
GUUGACUCGCAGCGACAAGAACAGAGGGGAAGUC
AGAUA AUGUGCCAUCGGAGGAGGUCGUGAAGA
AGAUGAAGAAUUACUGGCGGCAGCUCCUGAAUG
CGAAGCUGAUUACCCAGAGAAAGUUUGACAAUC
UCACUAAAGCCGAGCGCGGGCAGCUCUCAGAGC
UGGAUAAGGCUGGAUUCAUCAACGGCAGCUGG
UCGAGACUCGGCAGAUUACCAAGCACGUGGCGC
AGAUCUUGGACUCCCGCAUGAACACUAAAUACG
ACGAGAACGAUAAGCUCAUCCGGGAAGUGAAGG
UGAUUACCCUGAAAAGCAAACUUGUGUCGGACU
UUCGGAAGGACUUUCAGUUUUACAAGUGAGA
GAAAUCAACAACUACCAUCACGCGCAUGACGCA
UACCUCAACGCUGUGGUCGGUACCGCCCUGAUC
AAAAAGUACCCUAAACUUGAAUCGGAGUUUGU
GUACGGAGACUACAAGGUCUACGACGUGAGGAA
GAUGAUAGCCAAGUCCGAACAGGAAAUCGGGAA
AGCAACUGCGAAAUAUCUUUUUACUCAACAUC
CAUGAACUUUUUCAAGACUGAAAUAACGCUGGC
CAAUGGAGAAAUCAGGAAGAGGCCACUGAUCGA
AACUAACGGAGAAACGGGCGAAAUCGUGUGGG
ACAAGGGCAGGGACUUCGCAACUGUUCGCAAAG
UGCUCUCUAUGCCGCAAGUCAAUUUGUGAAGA
AAACCGAAGUGCAAACCGGCGGAUUUCAAAGG
AAUCGAUCCUCCCAAAGAGAAAUAAGCGACAAGC
UCAUUGCACGCAAGAAAGACUGGGACCCGAAGA
AGUACGGAGGAUUCGAUUCGCCGACUGUCGCAU
ACUCCGUCCUCGUGGUGGCCAAGGUGGAGAAGG
GAAAGAGCAAAAAGCUCAAAUCCGUCAAAGAGC
UGCUGGGGAUUACCAUCAUGGAACGAUCCUCGU

	<p>UCGAGAAGAACCCGAUUGAUUUCCUCGAGGCGA AGGGUUACAAGGAGGUGAAGAAGGAUCUGAUC AUCAAACUCCCCAAGUACUCACUGUUCGAACUG GAAA AUGGUCGGAAGCGCAUGCUGGCUUCGGCC GGAGAACUCCAAAAAGGAAAUGAGCUGGCCUUG CCUAGCAAGUACGUCAACUCCUCUAUCUUGCU UCGCACUACGAAAAACUCAAGGGUCACCGGAA GAUAACGAACAGAAGCAGCUUUUCGUGGAGCAG CACAAGCAUUAUCUGGAUGAAAUCAUCGAACAA AUCUCCGAGUUUCAAAGCGCGUGAUCCUCGCC GACGCCAACCU CGACAAAGUCCUGUCGGCCUAC AAUAAGCAUAGAGAU AAGCCGAUCAGAGAACA GGCCGAGAACAUAUCCACUUGUUCACCCUGAC UAACCUGGGAGCCCCAGCCGCCUUCAAGUACUU CGAUACUACUAUCGAUCGAAAAGAUACACGUC CACCAAGGAAGUUCUGGACGCGACCCUGAUCCA CCAAAGCAUCACUGGACUCUACGAAACUAGGAU CGAUCUGUCGACGUGGGUGGCGAUGGCGGUGG AUCUCCGAAAAAGAAGAGAAAGGUGUAAUGA</p>	
	Не используется	206-212
<p>Аминокислотная последовательность Cas9 (без NLS)</p>	<p>MDKKYSIGLDIGTNSVGWAVITDEYKVPSKKFKVL GNTDRHSIKKNLIGALLFDSGETAEATRLKRTARRR YTRRKNRICYLQEIFSNEMAKVDDSFHRLEESFLV EEDKKHERHPIFGNIVDEVAYHEKYPTIYHLRKKLV DSTDKADLRLIYLALAHMIKFRGHFLIEGDLNPDNS DVDKLFIQLVQTYNQLFEENPINASGVDAKAILSAR LSKSRLENLIAQLPGEKKNGLFGNLIASLGLTPNF KSNFDLAEDAQLQSKDTYDDDLNLLAQIGDQYA DLFLAAKNLSDAILLSDILRVNTEITKAPLSASMIKR YDEHHQDLTLLKALVRQQLPEKYKEIFFDQSKNGY AGYIDGGASQEEFYKFIKPILEKMDGTEELLVKLNR EDLLRKQRTFDNGSIPHQIHLGELHAILRRQEDFYPF LKDNREKIEKILTFRIPYYVGPLARGNSRFAWMTRK SEETITPWNFEVVDKGASAQSFIERMTNFDKNLPN EKVLPKHSLLYEYFTVYNELTKVKYVTEGMRKPAF</p>	213

	<p>LSGEQKKAIVDLLFKTNRKVTVKQLKEDYFKKIECF DSVEISGVEDRFNASLGTYHDLLKIIKDKDFLDNEE NEDILEDIVLTLTLFEDREMIEERLKTYAHLFDDKV MKQLKRRRYTGWGRLSRKLLINGIRDKQSGKTILDF LKSDGFANRNFMQLIHDDSLTFKEDIQKAQVSGQG DSLHEHIANLAGSPAIKKGILQTVKVVDELVKVMG RHKPENIVIAMARENQTTQKGQKNSRERMKRIEEGI KELGSQILKEHPVENTQLQNEKLYLYYLQNGRDMY VDQELDINRLSDYDVDHIVPQSFLKDDSIDNKVLTR SDKNRGKSDNVPSEEVVKKMKNYWRQLLNAKLIT QRKFDNLTKAERGGLSELDKAGFIKRQLVETRQITK HVAQILDSRMNTKYDENDKLIREVKVITLKSCLVSD FRKDFQFYKVVREINNYHHAHDAYLNAVVGTAIIK YPKLESEFVYGDYKVYDVRKMIKSEQEIGKATAK YFFYSNIMNFFKTEITLANGEIRKRPLIETNGETGEIV WDKGRDFATVRKVL SMPQVNIVKKTEVQTGGFSK ESILPKRNSDKLIARKKDWDPKKYGGFDSPTVAYS VLVVAKVEKGKSKKLKSVKELLGITIMERSSEFKNP IDFLEAKGYKEVKKDLIIKLPKYSLFELENGRKRML ASAGELQKGNELALPSKYVNFLYLASHYEKLGSP EDNEQKQLFVEQHKHYLDEIIEQISEFSKRVLADAN LDKVLSAYNKHRDKPIREQAENIIHLFTLTNLGAPA AFKYFDTTIDRKRYTSTKEVLDATLIHQSIITGLYETR IDLSQLGGD</p>	
	Не используется	214-221
<p>Аминокислотная последовательность Cas9 с двумя сигналами ядерной локализации в качестве С-концевых аминокислот</p>	<p>MDKKYSIGLDIGTNSVGWAVITDEYKVPSSKFKVL GNTDRHSIKKNLIGALLFDSGETAEAATRLKRTARRR YTRRKNRICYLQEIFSNEMAKVDDSFHRLEESFLV EEDKKHERHPIFGNIVDEVAYHEKYPTIYHLRKKLV DSTDKADRLIYLALAHMIKFRGHFLIEGDLNPDNS DVDKLFIQLVQTYNQLFEENPINASGVDAKAILSAR LSKSRLENLIAQLPGEKKNGLFGNLIASLGLTPNF KSNFDLAEDAQLQSKDQTYDDDLNLLAQIGDQYA DLFLAAKNLSDAILSDILRVNTEITKAPLSASMIKR YDEHHQDLTLLKALVRQQLPEKYKEIFFDQSKNGY</p>	222

	AGYIDGGASQEEFYKFIKPILEKMDGTEELLVCLNR EDLLRKQRTFDNGSIPHQIHLGELHAILRRQEDFYPF LKDNREKIEKILTFRIPYYVGPLARGNSRFAWMTRK SEETITPWNFEVVDKGSASAQSFIERMTNFDKNLPN EKVLPKHSLLYEYFTVYNELTKVKYVTEGMRKPAF LSGEQKKAIVDLLFKTNRKVTVKQLKEDYFKKIECF DSVEISGVEDRFNASLGTYHDLLKIIKDKDFLDNEE NEDILEDIVLTLTLFEDREMIEERLKTYAHLFDDKV MKQLKRRRYTGWGRLSRKLINGIRDKQSGKTILDF LKSDGFANRNFMQLIHDDSLTFKEDIQKAQVSGQG DSLHEHIANLAGSPAIIKKGILQTVKVVDELVKVMG RHKPENIVIAMARENQTTQKGQKNSRERMKRIEEGI KELGSQILKEHPVENTQLQNEKLYLYLQNGRDMY VDQELDINRLSDYVDHIVPQSFLKDDSIDNKVLTR SDKNRGKSDNVPSEEVVKKMKNYWRQLLNAKLIT QRKFDNLTKAERGGLSELDKAGFIKRQLVETRQITK HVAQILDSRMNTKYDENDKLIREVKVITLKSCLVSD FRKDFQFYKVREINNYHHAHDAYLNAVVGTAIIK YPKLESEFVYGDYKVYDVRKMIKSEQEIGKATAK YFFYSNIMNFFKTEITLANGEIRKRPLIETNGETGEIV WDKGRDFATVRKVL SMPQVNIVKKTEVQTGGFSK ESILPKRNSDKLIARKKDWDPKKYGGFDSPTVAYS VLVVAKVEKGKSKKLKSVKELLGITIMERSSEKPNP IDFLEAKGYKEVKKDLIILPKYSLFELENGRKRML ASAGELQKGNELALPSKYVNFLYLASHYEKLKQSP EDNEQKQLFVEQHKHYLDEIIEQISEFSKRVLADAN LDKVLSAYNKHRDKPIREQAENIIHLFTLTNLGAPA AFKYFDTTIDRKRYTSTKEVLDATLIHQSI TGLYETR IDLSQLGGD GSGSPKKKRKVDGSPKKKRKVDSG	
	Не используется	223-230
Промотор T7	TAATACGACTCACTATA	231
5' UTR бета-глобина человека	ACATTTGCTTCTGACACA ACTGTGTTCACTAGCA ACCTCAAACAGACACC	232
3' UTR бета-глобина человека	GCTCGCTTTCTTGCTGTCCAATTTCTATTAAAGGT TCCTTTGTTCCCTAAGTCCA ACTACTAAACTGGGG	233

	GATATTATGAAGGGCCTTGAGCATCTGGATTCTG CCTAATAAAAAACATTTATTTTCATTGC	
5' UTR альфа-глобина человека	CATAAACCCCTGGCGCGCTCGCGGCCCGGCACTCT TCTGGTCCCCACAGACTCAGAGAGAACCCACC	234
3' UTR альфа-глобина человека	GCTGGAGCCTCGGTGGCCATGCTTCTTGCCCCTTG GGCCTCCCCCAGCCCCTCCTCCCCTTCCTGCACC CGTACCCCCGTGGTCTTTGAATAAAGTCTGAGTG GGCGGC	235
5' UTR бета-глобина <i>Xenopus laevis</i>	AAGCTCAGAATAAACGCTCAACTTTGGCC	236
3' UTR бета-глобина <i>Xenopus laevis</i>	ACCAGCCTCAAGAACACCCGAATGGAGTCTCTAA GCTACATAATACCAACTTACACTTTACAAAATGT TGTCCCCCAAAATGTAGCCATTCGTATCTGCTCCT AATAAAAAGAAAGTTTCTTCACATTCT	237
5' UTR гормона роста крупного рогатого скота	CAGGGTCCTGTGGACAGCTCACCAGCT	238
3' UTR гормона роста крупного рогатого скота	TTGCCAGCCATCTGTTGTTTGCCCCTCCCCCGTGC CTTCCTTGACCCTGGAAGGTGCCACTCCCCTGTC CTTCCTAATAAAAATGAGGAAATTGCATCGCA	239
Альфа-гемоглобин <i>Mus musculus</i> , цепь 1 взрослого (Hba-a1), 3' UTR	GCTGCCTTCTGCGGGGCTTGCCTTCTGGCCATGCC CTTCTTCTCTCCCTTGACCTGTACCTCTTGGTCTT TGAATAAAGCCTGAGTAGGAAG	240
HSD17B4 5' UTR	TCCCGCAGTCGGCGTCCAGCGGCTCTGCTTGTTT GTGTGTGTGTCGTTGCAGGCCTTATTC	241
G282 гидовая РНК, нацеленная на TTR	mU*mU*mA*CAGCCACGUCUACAGCAGUUUUAG AmGmCmUmAmGmAmAmUmAmGmCAAGUUA AAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmG mAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAm GmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	242
Транскрипт Cas9 с 5' UTR HSD, OPC, соответствующая	GGGTCCCGCAGTCGGCGTCCAGCGGCTCTGCTTG TTCGTGTGTGTGTCGTTGCAGGCCTTATTCGGATC CGCCACCATGGACAAGAAGTACAGCATCGGACT	243

SEQ ID NO: 204, последовательность Козак и 3' UTR ALB	GGACATCGGAACAAACAGCGTCGGATGGGCAGT CATCACAGACGAATACAAGGTCCCGAGCAAGAA GTTCAAGGTCCTGGGAAACACAGACAGACACAG CATCAAGAAGAACCTGATCGGAGCACTGCTGTTC GACAGCGGAGAAACAGCAGAAGCAACAAGACTG AAGAGAACAGCAAGAAGAAGATACACAAGAAGA AAGAACAGAATCTGCTACCTGCAGGAAATCTTCA GCAACGAAATGGCAAAGGTCGACGACAGCTTCTT CCACAGACTGGAAGAAAGCTTCCTGGTCGAAGA AGACAAGAAGCACGAAAGACACCCGATCTTCGG AAACATCGTCGACGAAGTCGCATACCACGAAAA GTACCCGACAATCTACCACCTGAGAAAGAAGCTG GTCGACAGCACAGACAAGGCAGACCTGAGACTG ATCTACCTGGCACTGGCACACATGATCAAGTTCA GAGGACACTTCCTGATCGAAGGAGACCTGAACCC GGACAACAGCGACGTCGACAAGCTGTTCATCCAG CTGGTCCAGACATAACAACCAGCTGTTCGAAGAAA ACCCGATCAACGCAAGCGGAGTCGACGCAAAGG CAATCCTGAGCGCAAGACTGAGCAAGAGCAGAA GACTGGAAAACCTGATCGCACAGCTGCCGGGAG AAAAGAAGAACGGACTGTTCGGAAACCTGATCG CACTGAGCCTGGGACTGACACCGAACTTCAAGAG CAACTTCGACCTGGCAGAAGACGCAAAGCTGCA GCTGAGCAAGGACACATACGACGACGACCTGGA CAACCTGCTGGCACAGATCGGAGACCAGTACGCA GACCTGTTCCTGGCAGCAAAGAACCTGAGCGACG CAATCCTGCTGAGCGACATCCTGAGAGTCAACAC AGAAATCACAAGGCACCGCTGAGCGCAAGCAT GATCAAGAGATACGACGAACACCACCAGGACCT GACACTGCTGAAGGCACTGGTCAGACAGCAGCTG CCGGAAAAGTACAAGGAAATCTTCTTCGACCAGA GCAAGAACGGATACGCAGGATACATCGACGGAG GAGCAAGCCAGGAAGAATTCTACAAGTTCATCAA GCCGATCCTGGAAAAGATGGACGGAACAGAAGA ACTGCTGGTCAAGCTGAACAGAGAAGACCTGCTG
---	---

AGAAAGCAGAGAACATTCGACAACGGAAGCATC
CCGCACCAGATCCACCTGGGAGAACTGCACGCAA
TCCTGAGAAGACAGGAAGACTTCTACCCGTTCT
GAAGGACAACAGAGAAAAGATCGAAAAGATCCT
GACATTCAGAATCCCGTACTACGTCCGACCGCTG
GCAAGAGGAAACAGCAGATTCGCATGGATGACA
AGAAAGAGCGAAGAAACAATCACACCGTGGAAC
TTCGAAGAAGTCGTTCGACAAGGGAGCAAGCGCA
CAGAGCTTCATCGAAAGAATGACAACTTCGACA
AGAACCTGCCGAACGAAAAGGTCCTGCCGAAGC
ACAGCCTGCTGTACGAATACTTCACAGTCTACAA
CGAACTGACAAAGGTCAAGTACGTACAGAAAGG
AATGAGAAAGCCGGCATTCTGAGCGGAGAACA
GAAGAAGGCAATCGTCGACCTGCTGTTCAAGACA
AACAGAAAGGTCACAGTCAAGCAGCTGAAGGAA
GACTACTTCAAGAAGATCGAATGCTTCGACAGCG
TCGAAATCAGCGGAGTCGAAGACAGATTCAACG
CAAGCCTGGGAACATACCACGACCTGCTGAAGAT
CATCAAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAAGA
AAACGAAGACATCCTGGAAGACATCGTCCTGACA
CTGACACTGTTCTGAAGACAGAGAAATGATCGAA
GAAAGACTGAAGACATACGCACACCTGTTTCGACG
ACAAGGTCATGAAGCAGCTGAAGAGAAGAAGAT
ACACAGGATGGGGAAGACTGAGCAGAAAGCTGA
TCAACGGAATCAGAGACAAGCAGAGCGGAAAGA
CAATCCTGGACTTCCTGAAGAGCGACGGATTCCG
AACAGAACTTCATGCAGCTGATCCACGACGAC
AGCCTGACATTCAAGGAAGACATCCAGAAGGCA
CAGGTCAGCGGACAGGGAGACAGCCTGCACGAA
CACATCGCAAACCTGGCAGGAAGCCCGGCAATC
AAGAAGGGAATCCTGCAGACAGTCAAGGTCGTC
GACGAACTGGTCAAGGTCATGGGAAGACACAAG
CCGAAAACATCGTCATCGAAATGGCAAGAGAA
AACCAGACAACACAGAAGGGACAGAAGAACAGC
AGAGAAAGAATGAAGAGAATCGAAGAAGGAATC

AAGGAACTGGGAAGCCAGATCCTGAAGGAACAC
CCGGTCGAAAACACACAGCTGCAGAACGAAAAG
CTGTACCTGTACTACCTGCAGAACGGAAGAGACA
TGTACGTCGACCAGGAACTGGACATCAACAGACT
GAGCGACTACGACGTCGACCACATCGTCCCGCAG
AGCTTCCTGAAGGACGACAGCATCGACAACAAG
GTCCTGACAAGAAGCGACAAGAACAGAGGAAAG
AGCGACAACGTCCCGAGCGAAGAAGTCGTCAAG
AAGATGAAGAACTACTGGAGACAGCTGCTGAAC
GCAAAGCTGATCACACAGAGAAAGTTCGACAAC
CTGACAAAGGCAGAGAGAGGAGGACTGAGCGAA
CTGGACAAGGCAGGATTCATCAAGAGACAGCTG
GTCGAAACAAGACAGATCACAAAGCACGTCGCA
CAGATCCTGGACAGCAGAATGAACACAAAGTAC
GACGAAAACGACAAGCTGATCAGAGAAGTCAAG
GTCATCACACTGAAGAGCAAGCTGGTCAGCGACT
TCAGAAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTCAGAGA
AATCAACAACCTACCACCACGCACACGACGCATAC
CTGAACGCAGTCGTCGGAACAGCACTGATCAAGA
AGTACCCGAAGCTGGAAAGCGAATTCGTCTACGG
AGACTACAAGGTCTACGACGTCAGAAAGATGATC
GCAAAGAGCGAACAGGAAATCGGAAAGGCAACA
GCAAAGTACTTCTTCTACAGCAACATCATGAACT
TCTTCAAGACAGAAATCACACTGGCAAACGGAG
AAATCAGAAAGAGACCGCTGATCGAAACAAACG
GAGAAACAGGAGAAATCGTCTGGGACAAGGGAA
GAGACTTCGCAACAGTCAGAAAGGTCCTGAGCAT
GCCGCAGGTCAACATCGTCAAGAAGACAGAAGT
CCAGACAGGAGGATTCAGCAAGGAAAGCATCCT
GCCGAAGAGAAACAGCGACAAGCTGATCGCAAG
AAAGAAGGACTGGGACCCGAAGAAGTACGGAGG
ATTCGACAGCCCGACAGTCGCATACAGCGTCCTG
GTCGTCGCAAAGGTGCGAAAAGGGAAAGAGCAAG
AAGCTGAAGAGCGTCAAGGAACTGCTGGGAATC
ACAATCATGGAAAGAAGCAGCTTCGAAAAGAAC

	<p>CCGATCGACTTCCTGGAAGCAAAGGGATACAAG GAAGTCAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCG AAGTACAGCCTGTTCTGAACTGGAAAACGGAAGA AAGAGAATGCTGGCAAGCGCAGGAGAACTGCAG AAGGGAAACGAACTGGCACTGCCGAGCAAGTAC GTCAACTTCCTGTACCTGGCAAGCCACTACGAAA AGCTGAAGGGAAGCCCGGAAGACAACGAACAGA AGCAGCTGTTCTGTCGAACAGCACAAAGCACTACCT GGACGAAATCATCGAACAGATCAGCGAATTCAG CAAGAGAGTCATCCTGGCAGACGCAAACCTGGA CAAGGTCCTGAGCGCATAACAAGCACAGAGA CAAGCCGATCAGAGAACAGGCAGAAAACATCAT CCACCTGTTCACTGACAAACCTGGGAGCACCG GCAGCATTCAAGTACTTCGACACAACAATCGACA GAAAGAGATACACAAGCACAAAGGAAGTCCTGG ACGCAAACTGATCCACCAGAGCATCACAGGACT GTACGAAACAAGAATCGACCTGAGCCAGCTGGG AGGAGACGGAGGAGGAAGCCCGAAGAAGAAGA GAAAGGTCTAGCTAGCCATCACATTTAAAAGCAT CTCAGCCTACCATGAGAATAAGAGAAAGAAAAT GAAGATCAATAGCTTATTCATCTCTTTTTCTTTTT CGTTGGTGTAAAGCCAACACCCTGTCTAAAAAAC ATAAATTTCTTTAATCATTTTGCCTCTTTTCTCTGT GCTTCAATTAATAAAAAATGGAAAGAACCTCGAG</p>	
<p>Транскрипт Cas9 с 5' UTR HSD, OPC, соответствующая SEQ ID NO: 204 и 3' UTR ALB</p>	<p>GGGTCCCGCAGTCGGCGTCCAGCGGCTCTGCTTG TTCGTGTGTGTGTCGTTGCAGGCCTTATTCGGATC CATGGACAAGAAGTACAGCATCGGACTGGACAT CGGAACAACAGCGTCGGATGGGCAGTCATCAC AGACGAATACAAGGTCCCGAGCAAGAAGTTCAA GGTCCTGGGAAACACAGACAGACACAGCATCAA GAAGAACCTGATCGGAGCACTGCTGTTCTGACAGC GGAGAAACAGCAGAAGCAACAAGACTGAAGAGA ACAGCAAGAAGAAGATACACAAGAAGAAAGAAC AGAATCTGCTACCTGCAGGAAATCTTCAGCAACG AAATGGCAAAGGTCGACGACAGCTTCTTCCACAG</p>	<p>244</p>

ACTGGAAGAAAGCTTCCTGGTCGAAGAAGACAA
GAAGCACGAAAGACACCCGATCTTCGGAAACAT
CGTCGACGAAGTCGCATACCACGAAAAGTACCCG
ACAATCTACCACCTGAGAAAGAAGCTGGTCGACA
GCACAGACAAGGCAGACCTGAGACTGATCTACCT
GGCACTGGCACACATGATCAAGTTCAGAGGACAC
TTCCTGATCGAAGGAGACCTGAACCCGGACAACA
GCGACGTCGACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTCCA
GACATACAACCAGCTGTTCGAAGAAAACCCGATC
AACGCAAGCGGAGTCGACGCAAAGGCAATCCTG
AGCGCAAGACTGAGCAAGAGCAGAAGACTGGAA
AACCTGATCGCACAGCTGCCGGGAGAAAAGAAG
AACGGACTGTTCGGAAACCTGATCGCACTGAGCC
TGGGACTGACACCGAACTTCAAGAGCAACTTCGA
CCTGGCAGAAGACGCAAAGCTGCAGCTGAGCAA
GGACACATACGACGACGACCTGGACAACCTGCTG
GCACAGATCGGAGACCAGTACGCAGACCTGTTCC
TGGCAGCAAAGAACCTGAGCGACGCAATCCTGCT
GAGCGACATCCTGAGAGTCAACACAGAAATCAC
AAAGGCACCGCTGAGCGCAAGCATGATCAAGAG
ATACGACGAACACCACCAGGACCTGACACTGCTG
AAGGCACTGGTCAGACAGCAGCTGCCGGAAAAG
TACAAGGAAATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACG
GATACGCAGGATACATCGACGGAGGAGCAAGCC
AGGAAGAATTCTACAAGTTCATCAAGCCGATCCT
GGAAAAGATGGACGGAACAGAAGAAGACTGCTGGT
CAAGCTGAACAGAGAAGACCTGCTGAGAAAGCA
GAGAACATTCGACAACGGAAGCATCCCGCACCA
GATCCACCTGGGAGAACTGCACGCAATCCTGAGA
AGACAGGAAGACTTCTACCCGTTCTGAAGGACA
ACAGAGAAAAGATCGAAAAGATCCTGACATTCA
GAATCCCGTACTACGTCCGACCGCTGGCAAGAGG
AAACAGCAGATTCGCATGGATGACAAGAAAGAG
CGAAGAAACAATCACACCGTGGAACCTTCGAAGA
AGTCGTCGACAAGGGAGCAAGCGCACAGAGCTT

CATCGAAAGAATGACAAACTTCGACAAGAACCT
GCCGAACGAAAAGGTCCTGCCGAAGCACAGCCT
GCTGTACGAATACTTCACAGTCTACAACGAACTG
ACAAAGGTCAAGTACGTACAGAAAGGAATGAGA
AAGCCGGCATTCTGAGCGGAGAACAGAAGAAG
GCAATCGTCGACCTGCTGTTCAAGACAAACAGAA
AGGTCACAGTCAAGCAGCTGAAGGAAGACTACTT
CAAGAAGATCGAATGCTTCGACAGCGTCGAAATC
AGCGGAGTCGAAGACAGATTCAACGCAAGCCTG
GGAACATACCACGACCTGCTGAAGATCATCAAGG
ACAAGGACTTCTGGACAACGAAGAAAACGAAG
ACATCCTGGAAGACATCGTCCTGACACTGACACT
GTTCGAAGACAGAGAAATGATCGAAGAAAGACT
GAAGACATACGCACACCTGTTTCGACGACAAGGTC
ATGAAGCAGCTGAAGAGAAGAAGATACACAGGA
TGGGGAAGACTGAGCAGAAAGCTGATCAACGGA
ATCAGAGACAAGCAGAGCGGAAAGACAATCCTG
GACTTCTGAAGAGCGACGGATTTCGAAACAGA
AACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACAGCCTGA
CATTCAAGGAAGACATCCAGAAGGCACAGGTCA
GCCGACAGGGAGACAGCCTGCACGAACACATCG
CAAACCTGGCAGGAAGCCCGGCAATCAAGAAGG
GAATCCTGCAGACAGTCAAGGTCGTCGACGAACT
GGTCAAGGTCATGGGAAGACACAAGCCGGAAAA
CATCGTCATCGAAATGGCAAGAGAAAACCAGAC
AACACAGAAGGGACAGAAGAACAGCAGAGAAA
GAATGAAGAGAATCGAAGAAGGAATCAAGGAAC
TGGGAAGCCAGATCCTGAAGGAACACCCGGTCG
AAAACACACAGCTGCAGAACGAAAAGCTGTACC
TGTACTIONCTGCAGAACGGAAGAGACATGTACGT
CGACCAGGAACTGGACATCAACAGACTGAGCGA
CTACGACGTCGACCACATCGTCCCGCAGAGCTTC
CTGAAGGACGACAGCATCGACAACAAGGTCCTG
ACAAGAAGCGACAAGAACAGAGGAAAGAGCGAC
AACGTCCCGAGCGAAGAAGTCGTCAAGAAGATG

AAGAACTACTGGAGACAGCTGCTGAACGCAAAG
CTGATCACACAGAGAAAGTTCGACAACCTGACAA
AGGCAGAGAGAGGAGGACTGAGCGAACTGGACA
AGGCAGGATTCATCAAGAGACAGCTGGTCGAAA
CAAGACAGATCACAAAGCACGTCGCACAGATCCT
GGACAGCAGAATGAACACAAAGTACGACGAAAA
CGACAAGCTGATCAGAGAAGTCAAGGTCATCAC
ACTGAAGAGCAAGCTGGTCAGCGACTTCAGAAA
GGACTTCCAGTTCTACAAGGTCAGAGAAATCAAC
AACTACCACCACGCACACGACGCATACCTGAACG
CAGTCGTCGGAACAGCACTGATCAAGAAGTACCC
GAAGCTGGAAAGCGAATTCGTCTACGGAGACTAC
AAGGTCTACGACGTCAGAAAGATGATCGCAAAG
AGCGAACAGGAAATCGGAAAGGCAACAGCAAAG
TACTTCTTCTACAGCAACATCATGAACTTCTTCAA
GACAGAAATCACACTGGCAAACGGAGAAATCAG
AAAGAGACCGCTGATCGAAACAAACGGAGAAAC
AGGAGAAATCGTCTGGGACAAGGGAAGAGACTT
CGCAACAGTCAGAAAGGTCCTGAGCATGCCGCA
GGTCAACATCGTCAAGAAGACAGAAGTCCAGAC
AGGAGGATTCAGCAAGGAAAGCATCCTGCCGAA
GAGAAACAGCGACAAGCTGATCGCAAGAAAGAA
GGACTGGGACCCGAAGAAGTACGGAGGATTCGA
CAGCCCGACAGTCGCATACAGCGTCCTGGTCGTC
GCAAAGGTCGAAAAGGGAAAGAGCAAGAAGCTG
AAGAGCGTCAAGGAACTGCTGGGAATCACAATC
ATGGAAAGAAGCAGCTTCGAAAAGAACCCGATC
GACTTCTTGGAAAGCAAAGGGATACAAGGAAGTC
AAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCGAAGTAC
AGCCTGTTCGAACTGGAAAACGGAAGAAAGAGA
ATGCTGGCAAGCGCAGGAGAACTGCAGAAGGGA
AACGAACTGGCACTGCCGAGCAAGTACGTCAACT
TCCTGTACCTGGCAAGCCACTACGAAAAGCTGAA
GGGAAGCCCGAAGACAACGAACAGAAGCAGCT
GTTTCGTCGAACAGCACAAGCACTACCTGGACGAA

	<p>ATCATCGAACAGATCAGCGAATTCAGCAAGAGA GTCATCCTGGCAGACGCAAACCTGGACAAGGTCC TGAGCGCATAACAAGCACAGAGACAAGCCGA TCAGAGAACAGGCAGAAAACATCATCCACCTGTT CACACTGACAAACCTGGGAGCACCGGCAGCATT AAGTACTTCGACACAACAATCGACAGAAAGAGA TACACAAGCACAAAGGAAGTCCTGGACGCAACA CTGATCCACCAGAGCATCACAGGACTGTACGAAA CAAGAATCGACCTGAGCCAGCTGGGAGGAGACG GAGGAGGAAGCCCGAAGAAGAAGAGAAAGGTCT AGCTAGCCATCACATTTAAAAGCATCTCAGCCTA CCATGAGAATAAGAGAAAGAAAATGAAGATCAA TAGCTTATTCATCTCTTTTTCTTTTTCGTTGGTGTA AAGCCAACACCCTGTCTAAAAACATAAATTTCT TTAATCATTTTGCCTCTTTTCTCTGTGCTTCAATTA ATAAAAAATGGAAAGAACCTCGAG</p>	
	Не используется	245
<p>Транскрипт Cas9 с 5' UTR HSD, OPC, соответствующая SEQ ID NO: 245, последовательность Козак и 3' UTR ALB</p>	<p>GGGTCCCAGTCGGCGTCCAGCGGCTCTGCTTG TTCGTGTGTGTGTCGTTGCAGGCCTTATTCGGATC TGCCACCATGGATAAGAAGTACTCGATCGGGCTG GATATCGGAACTAATTCCGTGGGTTGGGCAGTGA TCACGGATGAATACAAAGTGCCGTCCAAGAAGTT CAAGGTCCTGGGGAACACCGATAGACACAGCAT CAAGAAGAATCTCATCGGAGCCCTGCTGTTTGAC TCCGGCGAAACCGCAGAAGCGACCCGGCTCAAA CGTACCGCGAGGCGACGCTACACCCGGCGGAAG AATCGCATCTGCTATCTGCAAGAAATCTTTTCGA ACGAAATGGCAAAGGTGGACGACAGCTTCTTCCA CCGCCTGGAAGAATCTTTCCTGGTGGAGGAGGAC AAGAAGCATGAACGGCATCCTATCTTTGGAAACA TCGTGGACGAAGTGGCGTACCACGAAAAGTACCC GACCATCTACCATCTGCGGAAGAAGTTGGTTGAC TCAACTGACAAGGCCGACCTCAGATTGATCTACT TGGCCCTCGCCCATATGATCAAATTCGCGGACA CTTCTGATCGAAGGCGATCTGAACCCTGATAAC</p>	246

TCCGACGTGGATAAGCTGTTTCATTCAACTGGTGC
AGACCTACAACCAACTGTTTCGAAGAAAACCCAAT
CAATGCCAGCGGCGTCGATGCCAAGGCCATCCTG
TCCGCCCGGCTGTCGAAGTCGCGGCGCCTCGAAA
ACCTGATCGCACAGCTGCCGGGAGAGAAGAAGA
ACGGACTTTTCGGCAACTTGATCGCTCTCTCACTG
GGACTCACTCCCAATTTCAAGTCCAATTTTGACCT
GGCCGAGGACGCGAAGCTGCAACTCTCAAAGGA
CACCTACGACGACGACTTGGACAATTTGCTGGCA
CAAATTGGCGATCAGTACGCGGATCTGTTCTTG
CCGCTAAGAACCTTTCGGACGCAATCTTGCTGTC
CGATATCCTGCGCGTGAACACCGAAATAACCAAA
GCGCCGCTTAGCGCCTCGATGATTAAGCGGTACG
ACGAGCATCACCAGGATCTCACGCTGCTCAAAGC
GCTCGTGAGACAGCAACTGCCTGAAAAGTACAA
GGAGATTTTCTTCGACCAGTCCAAGAATGGGTAC
GCAGGGTACATCGATGGAGGGCGCCAGCCAGGAA
GAGTTCTATAAGTTCATCAAGCCAATCCTGGAAA
AGATGGACGGAACCGAAGAAGTCTGCTGGTCAAGC
TGAACAGGGAGGATCTGCTCCGCAAACAGAGAA
CCTTTGACAACGGAAGCATTCCACACCAGATCCA
TCTGGGTGAGCTGCACGCCATCTTGCGGGCGCCAG
GAGGACTTTTACCCATTCTCAAGGACAACCGGG
AAAAGATCGAGAAAATTCTGACGTTCCGCATCCC
GTATTACGTGGGCCCACTGGCGCGCGGCAATTCC
CGCTTCGCGTGGATGACTAGAAAATCAGAGGAA
ACCATCACTCCTTGGAATTTTCGAGGAAGTTGTGG
ATAAGGGAGCTTCGGCACAATCCTTCATCGAACG
AATGACCAACTTCGACAAGAATCTCCCAAACGAG
AAGGTGCTTCCTAAGCACAGCCTCCTTTACGAAT
ACTTCACTGTCTACAACGAACTGACTAAAGTGAA
ATACGTTACTGAAGGAATGAGGAAGCCGGCCTTT
CTGAGCGGAGAACAGAAGAAAGCGATTGTCGAT
CTGCTGTTCAAGACCAACCGCAAGGTGACCGTCA
AGCAGCTTAAAGAGGACTACTTCAAGAAGATCG

AGTGTTTCGACTCAGTGGAAATCAGCGGAGTGGA
GGACAGATTCAACGCTTCGCTGGGAACCTATCAT
GATCTCCTGAAGATCATCAAGGACAAGGACTTCC
TTGACAACGAGGAGAACGAGGACATCCTGGAAG
ATATCGTCCTGACCTTGACCCTTTTCGAGGATCGC
GAGATGATCGAGGAGAGGCTTAAGACCTACGCTC
ATCTCTTCGACGATAAAGGTCATGAAACAACCTCAA
GCGCCGCCGTACACTGGTTGGGGCCGCCTCTCC
CGCAAGCTGATCAACGGTATTCGCGATAAACAGA
GCGGTAAACTATCCTGGATTTCTCAAATCGGA
TGGCTTCGCTAATCGTAACTTCATGCAGTTGATCC
ACGACGACAGCCTGACCTTTAAGGAGGACATCCA
GAAAGCACAAGTGAGCGGACAGGGAGACTCACT
CCATGAACACATCGCGAATCTGGCCGGTTCGCCG
GCGATTAAGAAGGGAATCCTGCAAACCTGTGAAG
GTGGTGGACGAGCTGGTGAAGGTCATGGGACGG
CACAAACCGGAGAATATCGTGATTGAAATGGCCC
GAGAAAACCAGACTACCCAGAAGGGCCAGAAGA
ACTCCCGCGAAAGGATGAAGCGGATCGAAGAAG
GAATCAAGGAGCTGGGCAGCCAGATCCTGAAAG
AGCACCCGGTGGAAAACACGCAGCTGCAGAACG
AGAAGCTCTACCTGTACTATTTGCAAATGGACG
GGACATGTACGTGGACCAAGAGCTGGACATCAAT
CGGTTGTCTGATTACGACGTGGACCACATCGTTC
CACAGTCCTTTCTGAAGGATGACTCCATCGATAA
CAAGGTGTTGACTCGCAGCGACAAGAACAGAGG
GAAGTCAGATAATGTGCCATCGGAGGAGGTCGTG
AAGAAGATGAAGAATTACTGGCGGCAGCTCCTG
AATGCGAAGCTGATTACCCAGAGAAAGTTTGACA
ATCTCACTAAAGCCGAGCGCGGCGGACTCTCAGA
GCTGGATAAGGCTGGATTCATCAAACGGCAGCTG
GTCGAGACTCGGCAGATTACCAAGCACGTGGCGC
AGATCCTGGACTCCCGCATGAACACTAAATACGA
CGAGAACGATAAGCTCATCCGGGAAGTGAAGGT
GATTACCCTGAAAAGCAAACCTTGTGTCCGACTTT

CGGAAGGACTTTCAGTTTTACAAAGTGAGAGAAA
TCAACAACACTACCATCACGCGCATGACGCATACCT
CAACGCTGTGGTCGGCACCGCCCTGATCAAGAAG
TACCCTAAACTTGAATCGGAGTTTGTGTACGGAG
ACTACAAGGTCTACGACGTGAGGAAGATGATAG
CCAAGTCCGAACAGGAAATCGGGAAAGCAACTG
CGAAATACTTCTTTTACTCAAACATCATGAACTTC
TTCAAGACTGAAATTACGCTGGCCAATGGAGAAA
TCAGGAAGAGGCCACTGATCGAAACTAACGGAG
AAACGGGCGAAATCGTGTGGGACAAGGGCAGGG
ACTTCGCAACTGTTCGCAAAGTGCTCTCTATGCC
GCAAGTCAATATTGTGAAGAAAACCGAAGTGCA
AACCGGCGGATTTTCAAAGGAATCGATCCTCCCA
AAGAGAAATAGCGACAAGCTCATTGCACGCAAG
AAAGACTGGGACCCGAAGAAGTACGGAGGATTC
GATTCGCCGACTGTTCGCATACTCCGTCCTCGTGGT
GGCCAAGGTGGAGAAGGGAAAGAGCAAGAAGCT
CAAATCCGTCAAAGAGCTGCTGGGGATTACCATC
ATGGAACGATCCTCGTTCGAGAAGAACCCGATTG
ATTCCTGGAGGCGAAGGGTTACAAGGAGGTGA
AGAAGGATCTGATCATCAAACACTGCCCAAGTACTC
ACTGTTCGAACTGGAAAATGGTCGGAAGCGCATG
CTGGCTTCGGCCGGAGAACTCCAGAAAGGAAAT
GAGCTGGCCTTGCCTAGCAAGTACGTCAACTTCC
TCTATCTTGCTTCGCACTACGAGAAACTCAAAGG
GTCACCGGAAGATAACGAACAGAAGCAGCTTTTC
GTGGAGCAGCACAAGCATTATCTGGATGAAATCA
TCGAACAAATCTCCGAGTTTTCAAAGCGCGTGAT
CCTCGCCGACGCCAACCTCGACAAAGTCCTGTGC
GCCTACAATAAGCATAGAGATAAGCCGATCAGA
GAACAGGCCGAGAACATTATCCACTTGTTACCCC
TGACTAACCTGGGAGCTCCAGCCGCCTTCAAGTA
CTTCGATACTACTATCGACCGCAAAGATAACCG
TCCACCAAGGAAGTTCTGGACGCGACCCTGATCC
ACCAAAGCATCACTGGACTCTACGAAACTAGGAT

	<p>CGATCTGTCGCAGCTGGGTGGCGATGGTGGCGGT GGATCCTACCCATACGACGTGCCTGACTACGCCT CCGGAGGTGGTGGCCCCAAGAAGAAACGGAAGG TGTGATAGCTAGCCATCACATTTAAAAGCATCTC AGCCTACCATGAGAATAAGAGAAAAGAAAATGAA GATCAATAGCTTATTCATCTCTTTTTCTTTTTCGTT GGTGTAAGCCAACACCCTGTCTAAAAAACATAA ATTTCTTTAATCATTTTGCCTCTTTTCTCTGTGCTT CAATTAATAAAAAATGGAAAGAACCTCGAG</p>	
<p>Транскрипт Cas9 с 5' UTR HSD, OPC, соответствующая SEQ ID NO: 245 и 3' UTR ALB</p>	<p>GGGTCCCGCAGTCGGCGTCCAGCGGCTCTGCTTG TTCGTGTGTGTGTCGTTGCAGGCCTTATTCGGATC TATGGATAAGAAGTACTCGATCGGGCTGGATATC GGAACATAATCCGTGGGTTGGGCAGTGATCACGG ATGAATACAAAGTGCCGTCCAAGAAGTTCAAGGT CCTGGGGAACACCGATAGACACAGCATCAAGAA GAATCTCATCGGAGCCCTGCTGTTTGACTCCGGC GAAACCGCAGAAGCGACCCGGCTCAAACGTACC GCGAGGCGACGCTACACCCGGCGGAAGAATCGC ATCTGCTATCTGCAAGAAATCTTTTCGAACGAAA TGGCAAAGGTGGACGACAGCTTCTTCCACCGCCT GGAAGAATCTTTCCTGGTGGAGGAGGACAAGAA GCATGAACGGCATCCTATCTTTGGAAACATCGTG GACGAAGTGGCGTACCACGAAAAGTACCCGACC ATCTACCATCTGCGGAAGAAGTTGGTTGACTCAA CTGACAAGGCCGACCTCAGATTGATCTACTTGGC CCTCGCCATATGATCAAATTCGCGGACACTTC CTGATCGAAGGCGATCTGAACCCTGATAACTCCG ACGTGGATAAGCTGTTCACTCAACTGGTGCAGAC CTACAACCAACTGTTTCGAAGAAAACCCAATCAAT GCCAGCGGCGTCGATGCCAAGGCCATCCTGTCCG CCCGGCTGTGGAAGTCGCGGCGCCTCGAAAACCT GATCGCACAGCTGCCGGGAGAGAAGAAGAACGG ACTTTTCGGCAACTTGATCGCTCTCTCACTGGGAC TCACTCCCAATTTCAAGTCCAATTTTGACCTGGCC GAGGACGCGAAGCTGCAACTCTCAAAGGACACC</p>	<p>247</p>

TACGACGACGACTTGGACAATTTGCTGGCACAAA
TTGGCGATCAGTACGCGGATCTGTTCCCTTGCCGCT
AAGAACCTTTCGGACGCAATCTTGCTGTCCGATA
TCCTGCGCGTGAACACCGAAATAACCAAAGCGCC
GCTTAGCGCCTCGATGATTAAGCGGTACGACGAG
CATCACCAGGATCTCACGCTGCTCAAAGCGCTCG
TGAGACAGCAACTGCCTGAAAAGTACAAGGAGA
TTTTCTTCGACCAGTCCAAGAATGGGTACGCAGG
GTACATCGATGGAGGCGCCAGCCAGGAAGAGTT
CTATAAGTTCATCAAGCCAATCCTGGAAAAGATG
GACGGAACCGAAGAAGTACTGCTGGTCAAGCTGAAC
AGGGAGGATCTGCTCCGCAAACAGAGAACCTTTG
ACAACGGAAGCATTCCACACCAGATCCATCTGGG
TGAGCTGCACGCCATCTTGCGGCGCCAGGAGGAC
TTTTACCCATTCCCTCAAGGACAACCGGGAAAAGA
TCGAGAAAATTCTGACGTTCCGCATCCCGTATTA
CGTGGGCCCACTGGCGCGCGGCAATTCGCGCTTC
GCGTGGATGACTAGAAAATCAGAGGAAACCATC
ACTCCTTGGAATTTTCGAGGAAGTTGTGGATAAGG
GAGCTTCGGCACAATCCTTCATCGAACGAATGAC
CAACTTCGACAAGAATCTCCCAAACGAGAAGGTG
CTTCCTAAGCACAGCCTCCTTTACGAATACTTCAC
TGTCTACAACGAACTGACTAAAGTGAAATACGTT
ACTGAAGGAATGAGGAAGCCGGCCTTTCTGAGCG
GAGAACAGAAGAAAGCGATTGTCGATCTGCTGTT
CAAGACCAACCGCAAGGTGACCGTCAAGCAGCTT
AAAGAGGACTACTTCAAGAAGATCGAGTGTTTCG
ACTCAGTGGAATCAGCGGAGTGGAGGACAGAT
TCAACGCTTCGCTGGGAACCTATCATGATCTCCT
GAAGATCATCAAGGACAAGGACTTCCTTGACAAC
GAGGAGAACGAGGACATCCTGGAAGATATCGTC
CTGACCTTGACCCTTTTCGAGGATCGCGAGATGA
TCGAGGAGAGGCTTAAGACCTACGCTCATCTCTT
CGACGATAAGGTTCATGAAACAACCTCAAGCGCCG
CCGGTACACTGGTTGGGGCCGCCTCTCCCGCAAG

CTGATCAACGGTATTCGCGATAAACAGAGCGGTA
AAACTATCCTGGATTCCTCAAATCGGATGGCTT
CGCTAATCGTAACTTCATGCAGTTGATCCACGAC
GACAGCCTGACCTTTAAGGAGGACATCCAGAAA
GCACAAGTGAGCGGACAGGGAGACTCACTCCAT
GAACACATCGCGAATCTGGCCGGTTCGCCGGCGA
TTAAGAAGGGAATCCTGCAAACCTGTGAAGGTGGT
GGACGAGCTGGTGAAGGTCATGGGACGGCACAA
ACCGGAGAATATCGTGATTGAAATGGCCCGAGA
AAACCAGACTACCCAGAAGGGCCAGAAGAATC
CCGCGAAAGGATGAAGCGGATCGAAGAAGGAAT
CAAGGAGCTGGGCAGCCAGATCCTGAAAGAGCA
CCCGGTGGAAAACACGCAGCTGCAGAACGAGAA
GCTCTACCTGTACTATTTGCAAATGGACGGGAC
ATGTACGTGGACCAAGAGCTGGACATCAATCGGT
TGTCTGATTACGACGTGGACCACATCGTTCCACA
GTCCTTTCTGAAGGATGACTCCATCGATAACAAG
GTGTTGACTCGCAGCGACAAGAACAGAGGGAAG
TCAGATAATGTGCCATCGGAGGAGGTCGTGAAGA
AGATGAAGAATTACTGGCGGCAGCTCCTGAATGC
GAAGCTGATTACCCAGAGAAAGTTTGACAATCTC
ACTAAAGCCGAGCGCGGCGGACTCTCAGAGCTG
GATAAGGCTGGATTCATCAAACGGCAGCTGGTCG
AGACTCGGCAGATTACCAAGCACGTGGCGCAGAT
CCTGGACTCCCGCATGAACACTAAATACGACGAG
AACGATAAGCTCATCCGGGAAGTGAAGGTGATTA
CCCTGAAAAGCAAACCTTGTGTCTGGACTTTCGGAA
GGACTTTCAGTTTTACAAAGTGAGAGAAATCAAC
AACTACCATCACGCGCATGACGCATACCTCAACG
CTGTGGTCTGGCACCGCCCTGATCAAGAAGTACCC
TAAACTTGAATCGGAGTTTGTGTACGGAGACTAC
AAGGTCTACGACGTGAGGAAGATGATAGCCAAG
TCCGAACAGGAAATCGGGAAAGCAACTGCGAAA
TACTTCTTTTACTCAAACATCATGAACTTCTTCAA
GACTGAAATTACGCTGGCCAATGGAGAAATCAG

GAAGAGGCCACTGATCGAACTAACGGAGAAAC
GGGCGAAATCGTGTGGGACAAGGGCAGGGACTT
CGCAACTGTTTCGCAAAGTGCTCTCTATGCCGCAA
GTCAATATTGTGAAGAAAACCGAAGTGCAAACC
GGCGGATTTTCAAAGGAATCGATCCTCCCAAAGA
GAAATAGCGACAAGCTCATTGCACGCAAGAAAG
ACTGGGACCCGAAGAAGTACGGAGGATTCGATTC
GCCGACTGTTCGATACTCCGTCCTCGTGGTGGCC
AAGGTGGAGAAGGGAAAGAGCAAGAAGCTCAAA
TCCGTCAAAGAGCTGCTGGGGATTACCATCATGG
AACGATCCTCGTTCGAGAAGAACCCGATTGATTT
CCTGGAGGCGAAGGGTTACAAGGAGGTGAAGAA
GGATCTGATCATCAAAGTCCCAAGTACTCACTG
TTCGAACTGGAAAATGGTCGGAAGCGCATGCTGG
CTTCGGCCGGAGAACTCCAGAAAGGAAATGAGC
TGGCCTTGCCCTAGCAAGTACGTCAACTTCCTCTAT
CTTGCTTCGCACTACGAGAACTCAAAGGGTCAC
CGGAAGATAACGAACAGAAGCAGCTTTTCGTGG
AGCAGCACAAGCATTATCTGGATGAAATCATCGA
ACAAATCTCCGAGTTTTCAAAGCGCGTGATCCTC
GCCGACGCCAACCTCGACAAAGTCCTGTCCGGCCT
ACAATAAGCATAGAGATAAGCCGATCAGAGAAC
AGGCCGAGAACATTATCCACTTGTTACCCCTGAC
TAACCTGGGAGCTCCAGCCGCCTTCAAGTACTTC
GATACTACTATCGACCGCAAAGATAACAGTCCA
CCAAGGAAGTTCTGGACGCGACCCTGATCCACCA
AAGCATCACTGGACTCTACGAAACTAGGATCGAT
CTGTCGCAGCTGGGTGGCGATGGTGGCGGTGGAT
CCTACCCATACGACGTGCCTGACTACGCCTCCGG
AGGTGGTGGCCCCAAGAAGAAACGGAAGGTGTG
ATAGCTAGCCATCACATTTAAAAGCATCTCAGCC
TACCATGAGAATAAGAGAAAGAAAATGAAGATC
AATAGCTTATTCATCTCTTTTTCTTTTTTCGTTGGTG
TAAAGCCAACACCCTGTCTAAAAAACATAAATTT
CTTTAATCATTTTGCCTCTTTTCTCTGTGCTTCAAT

	ТААТААААААТГГАААГААССТСГА	
	Не используется	248-251
<p>Cas9 OPC с минимальным содержанием кодонов уридина, часто используемых у людей в целом; 12,75% содержания U</p>	<p>ATGGACAAGAAGTACAGCATCGGCCTGGACATC GGCACCAACAGCGTGGGCTGGGCCGTGATCACCG ACGAGTACAAGGTGCCAGCAAGAAGTTCAAGG TGCTGGGCAACACCGACAGACACAGCATCAAGA AGAACCTGATCGGCGCCCTGCTGTTTCGACAGCGG CGAGACCGCCGAGGCCACCAGACTGAAGAGAAC CGCCAGAAGAAGATACACCAGAAGAAAGAACAG AATCTGCTACCTGCAGGAGATCTTCAGCAACGAG ATGGCCAAGGTGGACGACAGCTTCTTCCACAGAC TGGAGGAGAGCTTCCCTGGTGGAGGAGGACAAGA AGCACGAGAGACACCCCATCTTCGGCAACATCGT GGACGAGGTGGCCTACCACGAGAAGTACCCAC CATCTACCACCTGAGAAAGAAGCTGGTGGACAGC ACCGACAAGGCCGACCTGAGACTGATCTACCTGG CCCTGGCCACATGATCAAGTTCAGAGGCCACTT CCTGATCGAGGGCGACCTGAACCCCGACAACAGC GACGTGGACAAGCTGTTTCATCCAGCTGGTGCAGA CCTACAACCAGCTGTTTCGAGGAGAACCCCATCAA CGCCAGCGGCGTGGACGCCAAGGCCATCCTGAGC GCCAGACTGAGCAAGAGCAGAAGACTGGAGAAC CTGATCGCCCAGCTGCCCGGCGAGAAGAAGAAC GGCCTGTTCGGCAACCTGATCGCCCTGAGCCTGG GCCTGACCCCAACTTCAAGAGCAACTTCGACCT GGCCGAGGACGCCAAGCTGCAGCTGAGCAAGGA CACCTACGACGACGACCTGGACAACCTGCTGGCC CAGATCGGCGACCAGTACGCCGACCTGTTCTGG CCGCCAAGAACCTGAGCGACGCCATCCTGCTGAG CGACATCCTGAGAGTGAACACCGAGATCACCAA GGCCCCCTGAGCGCCAGCATGATCAAGAGATAC GACGAGCACCACCAGGACCTGACCCTGCTGAAG GCCCTGGTGGACAGCAGCTGCCCGAGAAGTAC AAGGAGATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGCT ACGCCGGCTACATCGACGGCGGCCAGCCAGG</p>	252

AGGAGTTCTACAAGTTCATCAAGCCCATCCTGGA
GAAGATGGACGGCACCGAGGAGCTGCTGGTGAA
GCTGAACAGAGAGGACCTGCTGAGAAAGCAGAG
AACCTTCGACAACGGCAGCATCCCCACCAGATC
CACCTGGGCGAGCTGCACGCCATCCTGAGAAGAC
AGGAGGACTTCTACCCCTTCCTGAAGGACAACAG
AGAGAAGATCGAGAAGATCCTGACCTTCAGAATC
CCCTACTACGTGGGCCCCCTGGCCAGAGGCAACA
GCAGATTCGCCTGGATGACCAGAAAGAGCGAGG
AGACCATCACCCCCTGGA ACTTCGAGGAGGTGGT
GGACAAGGGCGCCAGCGCCCAGAGCTTCATCGA
GAGAATGACCAACTTCGACAAGAACCTGCCCAAC
GAGAAGGTGCTGCCCAAGCACAGCCTGCTGTACG
AGTACTTCACCGTGTACAACGAGCTGACCAAGGT
GAAGTACGTGACCGAGGGCATGAGAAAGCCCGC
CTTCCTGAGCGGGCAGCAGAAGAAGGCCATCGTG
GACCTGCTGTTCAAGACCAACAGAAAGGTGACCG
TGAAGCAGCTGAAGGAGGACTACTTCAAGAAGA
TCGAGTGCTTCGACAGCGTGGAGATCAGCGGCGT
GGAGGACAGATTCAACGCCAGCCTGGGCACCTAC
CACGACCTGCTGAAGATCATCAAGGACAAGGACT
TCCTGGACAACGAGGAGAACGAGGACATCCTGG
AGGACATCGTGCTGACCCTGACCCTGTTCGAGGA
CAGAGAGATGATCGAGGAGAGACTGAAGACCTA
CGCCCACCTGTTTCGACGACAAGGTGATGAAGCAG
CTGAAGAGAAGAAGATACACCGGCTGGGGCAGA
CTGAGCAGAAAGCTGATCAACGGCATCAGAGAC
AAGCAGAGCGGCAAGACCATCCTGGACTTCCTGA
AGAGCGACGGCTTCGCCAACAGAACTTCATGCA
GCTGATCCACGACGACAGCCTGACCTTCAAGGAG
GACATCCAGAAGGCCAGGTGAGCGGCCAGGGC
GACAGCCTGCACGAGCACATCGCCAACCTGGCCG
GCAGCCCCGCCATCAAGAAGGGCATCCTGCAGAC
CGTGAAGGTGGTGGACGAGCTGGTGAAGGTGAT
GGGCAGACACAAGCCCGAGAACATCGTGATCGA

GATGGCCAGAGAGAACCAGACCACCCAGAAGGG
CCAGAAGAACAGCAGAGAGAGAATGAAGAGAAT
CGAGGAGGGCATCAAGGAGCTGGGCAGCCAGAT
CCTGAAGGAGCACCCCGTGGAGAACACCCAGCT
GCAGAACGAGAAGCTGTACCTGTACTACCTGCAG
AACGGCAGAGACATGTACGTGGACCAGGAGCTG
GACATCAACAGACTGAGCGACTACGACGTGGAC
CACATCGTGCCCCAGAGCTTCCTGAAGGACGACA
GCATCGACAACAAGGTGCTGACCAGAAGCGACA
AGAACAGAGGCAAGAGCGACAACGTGCCCAGCG
AGGAGGTGGTGAAGAAGATGAAGAACTACTGGA
GACAGCTGCTGAACGCCAAGCTGATCACCCAGAG
AAAGTTCGACAACCTGACCAAGGCCGAGAGAGG
CGGCCTGAGCGAGCTGGACAAGGCCGGCTTCATC
AAGAGACAGCTGGTGGAGACCAGACAGATCACC
AAGCACGTGGCCCAGATCCTGGACAGCAGAATG
AACACCAAGTACGACGAGAACGACAAGCTGATC
AGAGAGGTGAAGGTGATCACCCCTGAAGAGCAAG
CTGGTGAGCGACTTCAGAAAGGACTTCCAGTTCT
ACAAGGTGAGAGAGATCAACA ACTACCACCACG
CCCACGACGCCTACCTGAACGCCGTGGTGGGCAC
CGCCCTGATCAAGAAGTACCCCAAGCTGGAGAGC
GAGTTCGTGTACGGCGACTACAAGGTGTACGACG
TGAGAAAGATGATCGCCAAGAGCGAGCAGGAGA
TCGGCAAGGCCACCGCCAAGTACTTCTTCTACAG
CAACATCATGAACTTCTTCAAGACCGAGATCACC
CTGGCCAACGGCGAGATCAGAAAGAGACCCCTG
ATCGAGACCAACGGCGAGACCGGCGAGATCGTG
TGGGACAAGGGCAGAGACTTCGCCACCGTGAGA
AAGGTGCTGAGCATGCCCCAGGTGAACATCGTGA
AGAAGACCGAGGTGCAGACCGGCGGCTTCAGCA
AGGAGAGCATCCTGCCCAAGAGAAACAGCGACA
AGCTGATCGCCAGAAAGAAGGACTGGGACCCCA
AGAAGTACGGCGGCTTCGACAGCCCCACCGTGGC
CTACAGCGTGCTGGTGGTGGCCAAGGTGGAGAA

	<p>GGGCAAGAGCAAGAAGCTGAAGAGCGTGAAGGA GCTGCTGGGCATCACCATCATGGAGAGAAGCAGC TTCGAGAAGAACCCCATCGACTTCCTGGAGGCCA AGGGCTACAAGGAGGTGAAGAAGGACCTGATCA TCAAGCTGCCCAAGTACAGCCTGTTCGAGCTGGA GAACGGCAGAAAGAGAATGCTGGCCAGCGCCGG CGAGCTGCAGAAGGGCAACGAGCTGGCCCTGCC CAGCAAGTACGTGAACTTCCTGTACCTGGCCAGC CACTACGAGAAGCTGAAGGGCAGCCCCGAGGAC AACGAGCAGAAGCAGCTGTTCGTGGAGCAGCAC AAGCACTACCTGGACGAGATCATCGAGCAGATCA GCGAGTTCAGCAAGAGAGTGATCCTGGCCGACGC CAACCTGGACAAGGTGCTGAGCGCCTACAACAA GCACAGAGACAAGCCATCAGAGAGCAGGCCGA GAACATCATCCACCTGTTACCCTGACCAACCTG GGCGCCCCCGCCGCCTTCAAGTACTTCGACACCA CCATCGACAGAAAGAGATACACCAGCACCAAGG AGGTGCTGGACGCCACCCTGATCCACCAGAGCAT CACCGGCCTGTACGAGACCAGAATCGACCTGAGC CAGCTGGGCGGGCAGCGGCGGGCAGCCCCAAG AAGAAGAGAAAGGTGTGA</p>	
<p>Транскрипт Cas9 с 5' UTR HSD, OPC, соответствующая SEQ ID NO: 252, последовательность Козак и 3' UTR ALB</p>	<p>GGGTCCCGCAGTCGGCGTCCAGCGGCTCTGCTTG TTCGTGTGTGTGTCGTTGCAGGCCTTATTCGGATC CGCCACCATGGACAAGAAGTACAGCATCGGCCTG GACATCGGCACCAACAGCGTGGGCTGGGCCGTG ATCACCGACGAGTACAAGGTGCCAGCAAGAAG TTCAAGGTGCTGGGCAACACCGACAGACACAGC ATCAAGAAGAACCTGATCGGCGCCCTGCTGTTCG ACAGCGGCGAGACCGCCGAGGCCACCAGACTGA AGAGAACCGCCAGAAGAAGATACACCAGAAGAA AGAACAGAATCTGCTACCTGCAGGAGATCTTCAG CAACGAGATGGCCAAGGTGGACGACAGCTTCTTC CACAGACTGGAGGAGAGCTTCCTGGTGGAGGAG GACAAGAAGCACGAGAGACACCCCATCTTCGGC AACATCGTGGACGAGGTGGCCTACCACGAGAAG</p>	<p>253</p>

TACCCACCATCTACCACCTGAGAAAGAAGCTGG
TGGACAGCACCGACAAGGCCGACCTGAGACTGA
TCTACCTGGCCCTGGCCCACATGATCAAGTTCAG
AGGCCACTTCTGATCGAGGGCGACCTGAACCCC
GACAACAGCGACGTGGACAAGCTGTTCATCCAGC
TGGTGCAGACCTACAACCAGCTGTTCGAGGAGAA
CCCCATCAACGCCAGCGGGCGTGGACGCCAAGGCC
ATCCTGAGCGCCAGACTGAGCAAGAGCAGAAGA
CTGGAGAACCTGATCGCCCAGCTGCCCGGCGAGA
AGAAGAACGGCCTGTTCGGCAACCTGATCGCCCT
GAGCCTGGGCCTGACCCCCAACTTCAAGAGCAAC
TTCGACCTGGCCGAGGACGCCAAGCTGCAGCTGA
GCAAGGACACCTACGACGACGACCTGGACAACC
TGCTGGCCCAGATCGGGCACCAGTACGCCGACCT
GTTCTGGCCGCCAAGAACCTGAGCGACGCCATC
CTGCTGAGCGACATCCTGAGAGTGAACACCGAGA
TCACCAAGGCCCCCCTGAGCGCCAGCATGATCAA
GAGATACGACGAGCACCACCAGGACCTGACCCT
GCTGAAGGCCCTGGTGAGACAGCAGCTGCCCGA
GAAGTACAAGGAGATCTTCTTCGACCAGAGCAAG
AACGGCTACGCCGGCTACATCGACGGCGGCCCA
GCCAGGAGGAGTTCTACAAGTTCATCAAGCCCAT
CCTGGAGAAGATGGACGGCACCGAGGAGCTGCT
GGTGAAGCTGAACAGAGAGGACCTGCTGAGAAA
GCAGAGAACCTTCGACAACGGCAGCATCCCCAC
CAGATCCACCTGGGCGAGCTGCACGCCATCCTGA
GAAGACAGGAGGACTTCTACCCCTTCTGAAGGA
CAACAGAGAGAAGATCGAGAAGATCCTGACCTT
CAGAATCCCCTACTACGTGGGCCCCCTGGCCAGA
GGCAACAGCAGATTTCGCCTGGATGACCAGAAAG
AGCGAGGAGACCATCACCCCCTGGAACCTTCGAGG
AGGTGGTGGACAAGGGCGCCAGCGCCCAGAGCT
TCATCGAGAGAATGACCAACTTCGACAAGAACCT
GCCCAACGAGAAGGTGCTGCCCAAGCACAGCCT
GCTGTACGAGTACTTCACCGTGTACAACGAGCTG

ACCAAGGTGAAGTACGTGACCGAGGGCATGAGA
AAGCCCGCCTTCCTGAGCGGCGAGCAGAAGAAG
GCCATCGTGGACCTGCTGTTCAAGACCAACAGAA
AGGTGACCGTGAAGCAGCTGAAGGAGGACTACT
TCAAGAAGATCGAGTGCTTCGACAGCGTGGAGAT
CAGCGGCGTGGAGGACAGATTCAACGCCAGCCT
GGGCACCTACCACGACCTGCTGAAGATCATCAAG
GACAAGGACTTCCTGGACAACGAGGAGAACGAG
GACATCCTGGAGGACATCGTGCTGACCCTGACCC
TGTTTCGAGGACAGAGAGATGATCGAGGAGAGAC
TGAAGACCTACGCCACCTGTTTCGACGACAAGGT
GATGAAGCAGCTGAAGAGAAGAAGATACACCGG
CTGGGGCAGACTGAGCAGAAAGCTGATCAACGG
CATCAGAGACAAGCAGAGCGGCAAGACCATCCT
GGACTTCCTGAAGAGCGACGGCTTCGCCAACAGA
AACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACAGCCTGA
CCTTCAAGGAGGACATCCAGAAGGCCAGGTGA
GCGGCCAGGGCGACAGCCTGCACGAGCACATCG
CCAACCTGGCCGGCAGCCCCGCCATCAAGAAGG
GCATCCTGCAGACCGTGAAGGTGGTGGACGAGCT
GGTGAAGGTGATGGGCAGACACAAGCCCGAGAA
CATCGTGATCGAGATGGCCAGAGAGAACCAGAC
CACCCAGAAGGGCCAGAAGAACAGCAGAGAGAG
AATGAAGAGAATCGAGGAGGGCATCAAGGAGCT
GGGCAGCCAGATCCTGAAGGAGCACCCCGTGGA
GAACACCCAGCTGCAGAACGAGAAGCTGTACCT
GTACTACCTGCAGAACGGCAGAGACATGTACGTG
GACCAGGAGCTGGACATCAACAGACTGAGCGAC
TACGACGTGGACCACATCGTGCCCCAGAGCTTCC
TGAAGGACGACAGCATCGACAACAAGGTGCTGA
CCAGAAGCGACAAGAACAGAGGCAAGAGCGACA
ACGTGCCAGCGAGGAGGTGGTGAAGAAGATGA
AGAACTACTGGAGACAGCTGCTGAACGCCAAGCT
GATCACCCAGAGAAAGTTCGACAACCTGACCAA
GGCCGAGAGAGGGCGGCCTGAGCGAGCTGGACAA

GGCCGGCTTCATCAAGAGACAGCTGGTGGAGACC
AGACAGATCACCAAGCACGTGGCCCAGATCCTGG
ACAGCAGAATGAACACCAAGTACGACGAGAACG
ACAAGCTGATCAGAGAGGTGAAGGTGATCACCT
GAAGAGCAAGCTGGTGAGCGACTTCAGAAAGGA
CTTCCAGTTCTACAAGGTGAGAGAGATCAACAAC
TACCACCACGCCCACGACGCCTACCTGAACGCCG
TGGTGGGCACCGCCCTGATCAAGAAGTACCCCAA
GCTGGAGAGCGAGTTCGTGTACGGCGACTACAAG
GTGTACGACGTGAGAAAGATGATCGCCAAGAGC
GAGCAGGAGATCGGCAAGGCCACCGCCAAGTAC
TTCTTCTACAGCAACATCATGAACTTCTTCAAGAC
CGAGATCACCTGGCCAACGGCGAGATCAGAAA
GAGACCCCTGATCGAGACCAACGGCGAGACCGG
CGAGATCGTGTGGGACAAGGGCAGAGACTTCGC
CACCGTGAGAAAGGTGCTGAGCATGCCCCAGGTG
AACATCGTGAAGAAGACCGAGGTGCAGACCGGC
GGCTTCAGCAAGGAGAGCATCCTGCCCAAGAGA
AACAGCGACAAGCTGATCGCCAGAAAGAAGGAC
TGGGACCCCAAGAAGTACGGCGGCTTCGACAGCC
CCACCGTGGCCTACAGCGTGCTGGTGGTGGCCAA
GGTGGAGAAGGGCAAGAGCAAGAAGCTGAAGAG
CGTGAAGGAGCTGCTGGGCATCACCATCATGGAG
AGAAGCAGCTTCGAGAAGAACCCCATCGACTTCC
TGGAGGCCAAGGGCTACAAGGAGGTGAAGAAGG
ACCTGATCATCAAGCTGCCCAAGTACAGCCTGTT
CGAGCTGGAGAACGGCAGAAAGAGAATGCTGGC
CAGCGCCGGCGAGCTGCAGAAGGGCAACGAGCT
GGCCCTGCCAGCAAGTACGTGAACTTCCTGTAC
CTGGCCAGCCACTACGAGAAGCTGAAGGGCAGC
CCCGAGGACAACGAGCAGAAGCAGCTGTTCGTG
GAGCAGCACAAGCACTACCTGGACGAGATCATC
GAGCAGATCAGCGAGTTCAGCAAGAGAGTGATC
CTGGCCGACGCCAACCTGGACAAGGTGCTGAGCG
CCTACAACAAGCACAGAGACAAGCCCATCAGAG

	AGCAGGCCGAGAACATCATCCACCTGTTACCCCT GACCAACCTGGGCGCCCCCGCCGCCTTCAAGTAC TTCGACACCACCATCGACAGAAAGAGATACACCA GCACCAAGGAGGTGCTGGACGCCACCCTGATCCA CCAGAGCATCACCGGCCTGTACGAGACCAGAATC GACCTGAGCCAGCTGGGCGGGCAGCGGCGGGC AGCCCCAAGAAGAAGAGAAAGGTGTGACTAGCC ATCACATTTAAAAGCATCTCAGCCTACCATGAGA ATAAGAGAAAGAAAATGAAGATCAATAGCTTAT TCATCTCTTTTTCTTTTTTCGTTGGTGTAAGCCAA CACCTGTCTAAAAAACATAAATTTCTTTAATCAT TTTGCCTCTTTTCTCTGTGCTTCAATTAATAAAAA ATGGAAAGAACCTCGAG	
	Не используется	254-255
<p>Транскрипт Cas9 с AGG в качестве первых трех нуклеотидов для использования с CleanCap™, 5' UTR HSD, OPC, соответствующая SEQ ID NO: 204, последовательность Козак и 3' UTR ALB</p>	AGGTCCCGCAGTCGGCGTCCAGCGGCTCTGCTTG TTCGTGTGTGTGTCGTTGCAGGCCTTATTCGGATC CGCCACCATGGACAAGAAGTACAGCATCGGACT GGACATCGGAACAAACAGCGTCGGATGGGCAGT CATCACAGACGAATACAAGGTCCCGAGCAAGAA GTTCAAGGTCCTGGGAAACACAGACAGACACAG CATCAAGAAGAACCTGATCGGAGCACTGCTGTTT GACAGCGGAGAAACAGCAGAAGCAACAAGACTG AAGAGAACAGCAAGAAGAAGATACACAAGAAGA AAGAACAGAATCTGCTACCTGCAGGAAATCTTCA GCAACGAAATGGCAAAGGTCGACGACAGCTTCTT CCACAGACTGGAAGAAAGCTTCCTGGTCAAGA AGACAAGAAGCACGAAAGACACCCGATCTTCGG AAACATCGTCGACGAAGTCGCATACCACGAAAA GTACCCGACAATCTACCACCTGAGAAAGAAGCTG GTCGACAGCACAGACAAGGCAGACCTGAGACTG ATCTACCTGGCACTGGCACACATGATCAAGTTCA GAGGACACTTCCTGATCGAAGGAGACCTGAACCC GGACAACAGCGACGTCGACAAGCTGTTTCATCCAG CTGGTCCAGACATAACAACCAGCTGTTTCAAGAAA ACCCGATCAACGCAAGCGGAGTCGACGCAAAGG	256

CAATCCTGAGCGCAAGACTGAGCAAGAGCAGAA
GACTGGAAAACCTGATCGCACAGCTGCCGGGAG
AAAAGAAGAACGGACTGTTCGGAAACCTGATCG
CACTGAGCCTGGGACTGACACCGAACTTCAAGAG
CAACTTCGACCTGGCAGAAGACGCAAAGCTGCA
GCTGAGCAAGGACACATACGACGACGACCTGGA
CAACCTGCTGGCACAGATCGGAGACCAGTACGCA
GACCTGTTCTTGGCAGCAAAGAACCTGAGCGACG
CAATCCTGCTGAGCGACATCCTGAGAGTCAACAC
AGAAATCACAAAGGCACCGCTGAGCGCAAGCAT
GATCAAGAGATACGACGAACACCACCAGGACCT
GACACTGCTGAAGGCACTGGTCAGACAGCAGCTG
CCGGAAAAGTACAAGGAAATCTTCTTCGACCAGA
GCAAGAACGGATACGCAGGATACATCGACGGAG
GAGCAAGCCAGGAAGAATTCTACAAGTTCATCAA
GCCGATCCTGGAAAAGATGGACGGAACAGAAGA
ACTGCTGGTCAAGCTGAACAGAGAAGACCTGCTG
AGAAAGCAGAGAACATTCGACAACGGAAGCATC
CCGCACCAGATCCACCTGGGAGAACTGCACGCAA
TCCTGAGAAGACAGGAAGACTTCTACCCGTTCT
GAAGGACAACAGAGAAAAGATCGAAAAGATCCT
GACATTCAGAATCCCGTACTACGTCGGACCGCTG
GCAAGAGGAAACAGCAGATTCGCATGGATGACA
AGAAAGAGCGAAGAAACAATCACACCGTGGAAC
TTCGAAGAAGTCGTCGACAAGGGAGCAAGCGCA
CAGAGCTTCATCGAAAGAATGACAACTTCGACA
AGAACCTGCCGAACGAAAAGGTCCTGCCGAAGC
ACAGCCTGCTGTACGAATACTTCACAGTCTACAA
CGAACTGACAAAGGTCAAGTACGTACAGAAGG
AATGAGAAAGCCGGCATTCTGAGCGGAGAACA
GAAGAAGGCAATCGTCGACCTGCTGTTCAAGACA
AACAGAAAGGTCACAGTCAAGCAGCTGAAGGAA
GACTACTTCAAGAAGATCGAATGCTTCGACAGCG
TCGAAATCAGCGGAGTCGAAGACAGATTCAACG
CAAGCCTGGGAACATACCACGACCTGCTGAAGAT

CATCAAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAAGA
AAACGAAGACATCCTGGAAGACATCGTCCTGACA
CTGACACTGTTCTGAAGACAGAGAAATGATCGAA
GAAAGACTGAAGACATACGCACACCTGTTTCGACG
ACAAGGTCATGAAGCAGCTGAAGAGAAGAAGAT
ACACAGGATGGGGAAGACTGAGCAGAAAGCTGA
TCAACGGAATCAGAGACAAGCAGAGCGGAAAGA
CAATCCTGGACTTCCTGAAGAGCGACGGATTCGC
AAACAGAACTTCATGCAGCTGATCCACGACGAC
AGCCTGACATTCAAGGAAGACATCCAGAAGGCA
CAGGTCAGCGGACAGGGAGACAGCCTGCACGAA
CACATCGCAAACCTGGCAGGAAGCCCGGCAATC
AAGAAGGGAATCCTGCAGACAGTCAAGGTCGTC
GACGAACTGGTCAAGGTCATGGGAAGACACAAG
CCGAAAACATCGTCATCGAAATGGCAAGAGAA
AACCAGACAACACAGAAGGGACAGAAGAACAGC
AGAGAAAGAATGAAGAGAATCGAAGAAGGAATC
AAGGAACTGGGAAGCCAGATCCTGAAGGAACAC
CCGGTCGAAAACACACAGCTGCAGAACGAAAAG
CTGTACCTGTACTACCTGCAGAACGGAAGAGACA
TGTACGTCGACCAGGAACTGGACATCAACAGACT
GAGCGACTACGACGTCGACCACATCGTCCCGCAG
AGCTTCCTGAAGGACGACAGCATCGACAACAAG
GTCCTGACAAGAAGCGACAAGAACAGAGGAAAG
AGCGACAACGTCCCGAGCGAAGAAGTCGTCAAG
AAGATGAAGA ACTACTGGAGACAGCTGCTGAAC
GCAAAGCTGATCACACAGAGAAAGTTCGACAAC
CTGACAAAGGCAGAGAGAGGAGGACTGAGCGAA
CTGGACAAGGCAGGATTCATCAAGAGACAGCTG
GTCGAAACAAGACAGATCACAAAGCACGTCGCA
CAGATCCTGGACAGCAGAATGAACACAAAGTAC
GACGAAAACGACAAGCTGATCAGAGAAGTCAAG
GTCATCACACTGAAGAGCAAGCTGGTCAGCGACT
TCAGAAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTCAGAGA
AATCAACA ACTACCACCACGCACACGACGCATAC

CTGAACGCAGTCGTCGGAACAGCACTGATCAAGA
AGTACCCGAAGCTGGAAAGCGAATTCGTCTACGG
AGACTACAAGGTCTACGACGTCAGAAAGATGATC
GCAAAGAGCGAACAGGAAATCGGAAAGGCAACA
GCAAAGTACTTCTTCTACAGCAACATCATGAACT
TCTTCAAGACAGAAATCACACTGGCAAACGGAG
AAATCAGAAAGAGACCGCTGATCGAAACAAACG
GAGAAACAGGAGAAATCGTCTGGGACAAGGGAA
GAGACTTCGCAACAGTCAGAAAGGTCCTGAGCAT
GCCGCAGGTCAACATCGTCAAGAAGACAGAAGT
CCAGACAGGAGGATTCAGCAAGGAAAGCATCCT
GCCGAAGAGAAACAGCGACAAGCTGATCGCAAG
AAAGAAGGACTGGGACCCGAAGAAGTACGGAGG
ATTCGACAGCCCGACAGTCGCATACAGCGTCCTG
GTCGTCGCAAAGGTGCGAAAAGGGAAAGAGCAAG
AAGCTGAAGAGCGTCAAGGAACTGCTGGGAATC
ACAATCATGGAAAGAAGCAGCTTCGAAAAGAAC
CCGATCGACTTCCTGGAAGCAAAGGGATACAAG
GAAGTCAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCG
AAGTACAGCCTGTTCGAACTGGAAAACGGAAGA
AAGAGAATGCTGGCAAGCGCAGGAGAACTGCAG
AAGGGAAACGAACTGGCACTGCCGAGCAAGTAC
GTCAACTTCCTGTACCTGGCAAGCCACTACGAAA
AGCTGAAGGGAAGCCCGAAGACAACGAACAGA
AGCAGCTGTTTCGTCGAACAGCACAAAGCACTACCT
GGACGAAATCATCGAACAGATCAGCGAATTCAG
CAAGAGAGTCATCCTGGCAGACGCAAACCTGGA
CAAGGTCCTGAGCGCATAACAAGCACAGAGA
CAAGCCGATCAGAGAACAGGCAGAAAACATCAT
CCACCTGTTCACTGACAAACCTGGGAGCACCG
GCAGCATTCAAGTACTTCGACACAACAATCGACA
GAAAGAGATACACAAGCACAAAGGAAGTCCTGG
ACGCAACACTGATCCACCAGAGCATCACAGGACT
GTACGAAACAAGAATCGACCTGAGCCAGCTGGG
AGGAGACGGAGGAGGAAGCCCGAAGAAGAAGA

	<p>GAAAGGTCTAGCTAGCCATCACATTTAAAAGCAT CTCAGCCTACCATGAGAATAAGAGAAAAGAAAT GAAGATCAATAGCTTATTCATCTCTTTTTCTTTTT CGTTGGTGTAAAGCCAACACCCTGTCTAAAAAAC ATAAATTTCTTTAATCATTTTGCCTCTTTTCTCTGT GCTTCAATTAATAAAAAATGGAAAGAACCTCGAG</p>	
<p>Транскрипт Cas9 с 5' UTR CMV, OPC, соответствующая SEQ ID NO: 204, последовательность Козак и 3' UTR ALB</p>	<p>GGGCAGATCGCCTGGAGACGCCATCCACGCTGTT TTGACCTCCATAGAAGACACCGGGACCGATCCAG CCTCCGCGGGCCGGGAACGGTGCATTGGAACGCGG ATCCCCGTGCCAAGAGTGA CTACCCGTCCTTGA CACGGCCACCATGGACAAGAAGTACAGCATCGG ACTGGACATCGGAACAAACAGCGTCGGATGGGC AGTCATCACAGACGAATAACAAGGTCCCGAGCAA GAAGTTCAAGGTCCTGGGAAACACAGACAGACA CAGCATCAAGAAGAACCTGATCGGAGCACTGCTG TTCGACAGCGGAGAAACAGCAGAAGCAACAAGA CTGAAGAGAACAGCAAGAAGAAGATACACAAGA AGAAAGAACAGAATCTGCTACCTGCAGGAAATCT TCAGCAACGAAATGGCAAAGGTCGACGACAGCT TCTTCCACAGACTGGAAGAAAGCTTCTGGTCGA AGAAGACAAGAAGCACGAAAGACACCCGATCTT CGGAAACATCGTCGACGAAGTCGCATACCACGA AAAGTACCCGACAATCTACCACCTGAGAAAGAA GCTGGTCGACAGCACAGACAAGGCAGACCTGAG ACTGATCTACCTGGCACTGGCACACATGATCAAG TTCAGAGGACACTTCCTGATCGAAGGAGACCTGA ACCCGGACAACAGCGACGTCGACAAGCTGTTCAT CCAGCTGGTCCAGACATAACAACCAGCTGTTCGAA GAAAACCCGATCAACGCAAGCGGAGTCGACGCA AAGGCAATCCTGAGCGCAAGACTGAGCAAGAGC AGAAGACTGGAAAACCTGATCGCACAGCTGCCG GGAGAAAAGAAGAACGGACTGTTCGGAAACCTG ATCGCACTGAGCCTGGGACTGACACCGAACTTCA AGAGCAACTTCGACCTGGCAGAAGACGCAAAGC TGCAGCTGAGCAAGGACACATACGACGACGACC</p>	<p>257</p>

TGGACAACCTGCTGGCACAGATCGGAGACCAGTA
CGCAGACCTGTTCTGTCAGCAAAGAACCTGAGC
GACGCAATCCTGCTGAGCGACATCCTGAGAGTCA
ACACAGAAATCACAAAGGCACCGCTGAGCGCAA
GCATGATCAAGAGATACGACGAACACCACCAGG
ACCTGACACTGCTGAAGGCACTGGTCAGACAGCA
GCTGCCGGAAAAGTACAAGGAAATCTTCTTCGAC
CAGAGCAAGAACGGATACGCAGGATACATCGAC
GGAGGAGCAAGCCAGGAAGAATTCTACAAGTTC
ATCAAGCCGATCCTGGAAAAGATGGACGGAACA
GAAGAACTGCTGGTCAAGCTGAACAGAGAAGAC
CTGCTGAGAAAGCAGAGAACATTCGACAACGGA
AGCATCCCGCACCAGATCCACCTGGGAGAACTGC
ACGCAATCCTGAGAAGACAGGAAGACTTCTACCC
GTTCTGAAGGACAACAGAGAAAAGATCGAAAA
GATCCTGACATTCAGAATCCCGTACTACGTCGGA
CCGCTGGCAAGAGGAAACAGCAGATTCGCATGG
ATGACAAGAAAGAGCGAAGAAACAATCACACCG
TGGAACTTCGAAGAAGTCGTCGACAAGGGAGCA
AGCGCACAGAGCTTCATCGAAAGAATGACAAAC
TTCGACAAGAACCTGCCGAACGAAAAGGTCCTGC
CGAAGCACAGCCTGCTGTACGAATACTTCACAGT
CTACAACGAACTGACAAAGGTCAAGTACGTCACA
GAAGGAATGAGAAAGCCGGCATTCTGAGCGGA
GAACAGAAGAAGGCAATCGTCGACCTGCTGTTCA
AGACAAACAGAAAGGTCACAGTCAAGCAGCTGA
AGGAAGACTACTTCAAGAAGATCGAATGCTTCGA
CAGCGTCGAAATCAGCGGAGTCGAAGACAGATT
CAACGCAAGCCTGGGAACATACCACGACCTGCTG
AAGATCATCAAGGACAAGGACTTCTGGACAAC
GAAGAAAACGAAGACATCCTGGAAGACATCGTC
CTGACACTGACACTGTTCTGAAGACAGAGAAATGA
TCGAAGAAAGACTGAAGACATACGCACACCTGTT
CGACGACAAGGTCATGAAGCAGCTGAAGAGAAG
AAGATACACAGGATGGGGAAGACTGAGCAGAAA

GCTGATCAACGGAATCAGAGACAAGCAGAGCGG
AAAGACAATCCTGGACTTCCTGAAGAGCGACGG
ATTCGCAAACAGAACTTCATGCAGCTGATCCAC
GACGACAGCCTGACATTCAAGGAAGACATCCAG
AAGGCACAGGTCAGCGGACAGGGAGACAGCCTG
CACGAACACATCGCAAACCTGGCAGGAAGCCCG
GCAATCAAGAAGGGAATCCTGCAGACAGTCAAG
GTCGTCGACGAACTGGTCAAGGTCATGGGAAGAC
ACAAGCCGGAAAACATCGTCATCGAAATGGCAA
GAGAAAACCAGACAACACAGAAGGGACAGAAGA
ACAGCAGAGAAAGAATGAAGAGAATCGAAGAAG
GAATCAAGGAACTGGGAAGCCAGATCCTGAAGG
AACACCCGGTCGAAAACACACAGCTGCAGAACG
AAAAGCTGTACCTGTACTACCTGCAGAACGGAAG
AGACATGTACGTCGACCAGGAACTGGACATCAAC
AGACTGAGCGACTACGACGTCGACCACATCGTCC
CGCAGAGCTTCCTGAAGGACGACAGCATCGACA
ACAAGGTCCTGACAAGAAGCGACAAGAACAGAG
GAAAGAGCGACAACGTCCCGAGCGAAGAAGTCG
TCAAGAAGATGAAGAACTACTGGAGACAGCTGC
TGAACGCAAAGCTGATCACACAGAGAAAGTTCG
ACAACCTGACAAAGGCAGAGAGAGGAGGACTGA
GCGAACTGGACAAGGCAGGATTCATCAAGAGAC
AGCTGGTCGAAACAAGACAGATCACAAAGCACG
TCGCACAGATCCTGGACAGCAGAATGAACACAA
AGTACGACGAAAACGACAAGCTGATCAGAGAAG
TCAAGGTCATCACACTGAAGAGCAAGCTGGTCAG
CGACTTCAGAAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTC
AGAGAAATCAACAACCTACCACCACGCACACGAC
GCATACCTGAACGCAGTCGTCGGAACAGCACTGA
TCAAGAAGTACCCGAAGCTGGAAAGCGAATTCGT
CTACGGAGACTACAAGGTCTACGACGTCAGAAA
GATGATCGCAAAGAGCGAACAGGAAATCGGAAA
GGCAACAGCAAAGTACTTCTTCTACAGCAACATC
ATGAACTTCTTCAAGACAGAAATCACACTGGCAA

ACGGAGAAATCAGAAAGAGACCGCTGATCGAAA
CAAACGGAGAAACAGGAGAAATCGTCTGGGACA
AGGGAAGAGACTTCGCAACAGTCAGAAAGGTCC
TGAGCATGCCGCAGGTCAACATCGTCAAGAAGAC
AGAAGTCCAGACAGGAGGATTCAGCAAGGAAAG
CATCCTGCCGAAGAGAAACAGCGACAAGCTGAT
CGCAAGAAAGAAGGACTGGGACCCGAAGAAGTA
CGGAGGATTCGACAGCCCGACAGTCGCATACAGC
GTCCTGGTCGTCGCAAAGGTGCGAAAAGGGAAAG
AGCAAGAAGCTGAAGAGCGTCAAGGAACTGCTG
GGAATCACAATCATGGAAAGAAGCAGCTTCGAA
AAGAACCCGATCGACTTCCTGGAAGCAAAGGGA
TACAAGGAAGTCAAGAAGGACCTGATCATCAAG
CTGCCGAAGTACAGCCTGTTCGAACTGGAAAACG
GAAGAAAGAGAATGCTGGCAAGCGCAGGAGAAC
TGCAGAAGGGAAACGAACTGGCACTGCCGAGCA
AGTACGTCAACTTCCTGTACCTGGCAAGCCACTA
CGAAAAGCTGAAGGGAAGCCCGGAAGACAACGA
ACAGAAGCAGCTGTTCGTCGAACAGCACAAGCA
CTACCTGGACGAAATCATCGAACAGATCAGCGAA
TTCAGCAAGAGAGTCATCCTGGCAGACGCAAACC
TGGACAAGGTCCTGAGCGCATAACAAGCACA
GAGACAAGCCGATCAGAGAACAGGCAGAAAACA
TCATCCACCTGTTCACTGACAAACCTGGGAGC
ACCGGCAGCATTCAAGTACTTCGACACAACAATC
GACAGAAAGAGATACACAAGCACAAAGGAAGTC
CTGGACGCAAACTGATCCACCAGAGCATCACAG
GACTGTACGAAACAAGAATCGACCTGAGCCAGCT
GGGAGGAGACGGAGGAGGAAGCCCGAAGAAGA
AGAGAAAGGTCTAGCTAGCCATCACATTTAAAAG
CATCTCAGCCTACCATGAGAATAAGAGAAAGAA
AATGAAGATCAATAGCTTATTCATCTCTTTTCTT
TTTCGTTGGTGTAAGCCAACACCCTGTCTAAAA
AACATAAATTTCTTTAATCATTTTGCCTCTTTTCT
CTGTGCTTCAATTAATAAAAAATGGAAAGAACCT

	CGAG	
<p>Транскрипт Cas9 с 5' UTR HBB, OPC, соответствующая SEQ ID NO: 204, последовательность Козак и 3' UTR HBB</p>	<p>GGGacatttgcttctgacacaactgtgtcactageaacctcaaacagacaccg gatctgccaccATGGACAAGAAGTACAGCATCGGACTG GACATCGGAACAAACAGCGTCCGGATGGGCAGTC ATCACAGACGAATACAAGGTCCCGAGCAAGAAG TTCAAGGTCCTGGGAAACACAGACAGACACAGC ATCAAGAAGAACCTGATCGGAGCACTGCTGTTCG ACAGCGGAGAAACAGCAGAAGCAACAAGACTGA AGAGAACAGCAAGAAGAAGATACACAAGAAGAA AGAACAGAATCTGCTACCTGCAGGAAATCTTCAG CAACGAAATGGCAAAGGTCGACGACAGCTTCTTC CACAGACTGGAAGAAAGCTTCCTGGTTCGAAGAA GACAAGAAGCACGAAAGACACCCGATCTTCGGA AACATCGTCGACGAAGTCGCATACCACGAAAAGT ACCCGACAATCTACCACCTGAGAAAGAAGCTGGT CGACAGCACAGACAAGGCAGACCTGAGACTGAT CTACCTGGCACTGGCACACATGATCAAGTTCAGA GGCACTTCCTGATCGAAGGAGACCTGAACCCGG ACAACAGCGACGTCGACAAGCTGTTCATCCAGCT GGTCCAGACATACAACCAGCTGTTCGAAGAAAAC CCGATCAACGCAAGCGGAGTCGACGCAAAGGCA ATCCTGAGCGCAAGACTGAGCAAGAGCAGAAGA CTGGAAAACCTGATCGCACAGCTGCCGGGAGAA AAGAAGAACGGACTGTTCGGAAACCTGATCGCA CTGAGCCTGGGACTGACACCGAACTTCAAGAGCA ACTTCGACCTGGCAGAAGACGCAAAGCTGCAGCT GAGCAAGGACACATACGACGACGACCTGGACAA CCTGCTGGCACAGATCGGAGACCAGTACGCAGAC CTGTTCTTCCTGGCAGCAAAGAACCTGAGCGACGCAA TCCTGCTGAGCGACATCCTGAGAGTCAACACAGA AATCACAAAGGCACCGCTGAGCGCAAGCATGAT CAAGAGATACGACGAACACCACCAGGACCTGAC ACTGCTGAAGGCACTGGTCAGACAGCAGCTGCCG GAAAAGTACAAGGAAATCTTCTTCGACCAGAGCA AGAACGGATACGCAGGATACATCGACGGAGGAG</p>	258

CAAGCCAGGAAGAATTCTACAAGTTCATCAAGCC
GATCCTGGAAAAGATGGACGGAACAGAAGAACT
GCTGGTCAAGCTGAACAGAGAAGACCTGCTGAG
AAAGCAGAGAACATTCGACAACGGAAGCATCCC
GCACCAGATCCACCTGGGAGAACTGCACGCAATC
CTGAGAAGACAGGAAGACTTCTACCCGTTCTGA
AGGACAACAGAGAAAAGATCGAAAAGATCCTGA
CATTCAGAATCCCGTACTACGTTCGGACCGCTGGC
AAGAGGAAACAGCAGATTCGCATGGATGACAAG
AAAGAGCGAAGAAACAATCACACCGTGGAACCTT
CGAAGAAGTCGTCGACAAGGGAGCAAGCGCACA
GAGCTTCATCGAAAGAATGACAAACTTCGACAAG
AACCTGCCGAACGAAAAGGTCCTGCCGAAGCAC
AGCCTGCTGTACGAATACTTCACAGTCTACAACG
AACTGACAAAGGTCAAGTACGTACAGAAAGGAA
TGAGAAAGCCGGCATTCTGAGCGGAGAACAGA
AGAAGGCAATCGTCGACCTGCTGTTCAAGACAAA
CAGAAAGGTCACAGTCAAGCAGCTGAAGGAAGA
CTACTTCAAGAAGATCGAATGCTTCGACAGCGTC
GAAATCAGCGGAGTCGAAGACAGATTCAACGCA
AGCCTGGGAACATACCACGACCTGCTGAAGATCA
TCAAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAAGAAA
ACGAAGACATCCTGGAAGACATCGTCCTGACACT
GACACTGTTCTGAAGACAGAGAAATGATCGAAGA
AAGACTGAAGACATACGCACACCTGTTTCGACGAC
AAGGTCATGAAGCAGCTGAAGAGAAGAAGATAC
ACAGGATGGGGAAGACTGAGCAGAAAGCTGATC
AACGGAATCAGAGACAAGCAGAGCGGAAAGACA
ATCCTGGACTTCCTGAAGAGCGACGGATTTCGCAA
ACAGAACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACAG
CCTGACATTCAAGGAAGACATCCAGAAGGCACA
GGTCAGCGGACAGGGAGACAGCCTGCACGAACA
CATCGCAAACCTGGCAGGAAGCCCGGCAATCAA
GAAGGGAATCCTGCAGACAGTCAAGGTCGTCGA
CGAACTGGTCAAGGTCATGGGAAGACACAAGCC

GGAAAACATCGTCATCGAAATGGCAAGAGAAAA
CCAGACAACACAGAAGGGACAGAAGAACAGCAG
AGAAAGAATGAAGAGAATCGAAGAAGGAATCAA
GGAAGTGGGAAGCCAGATCCTGAAGGAACACCC
GGTCGAAAACACACAGCTGCAGAACGAAAAGCT
GTACCTGTACTACCTGCAGAACGGAAGAGACATG
TACGTCGACCAGGAACTGGACATCAACAGACTGA
GCGACTACGACGTCGACCACATCGTCCCGCAGAG
CTTCTGAAGGACGACAGCATCGACAACAAGGTC
CTGACAAGAAGCGACAAGAACAGAGGAAAGAGC
GACAACGTCCCGAGCGAAGAAGTCGTCAAGAAG
ATGAAGAACTACTGGAGACAGCTGCTGAACGCA
AAGCTGATCACACAGAGAAAGTTCGACAACCTG
ACAAAGGCAGAGAGAGGAGGACTGAGCGAACTG
GACAAGGCAGGATTCATCAAGAGACAGCTGGTC
GAAACAAGACAGATCACAAAGCACGTCGCACAG
ATCCTGGACAGCAGAATGAACACAAAGTACGAC
GAAAACGACAAGCTGATCAGAGAAGTCAAGGTC
ATCACACTGAAGAGCAAGCTGGTCAGCGACTTCA
GAAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTCAGAGAAAT
CAACAACCTACCACCACGCACACGACGCATACCTG
AACGCAGTCGTCGGAACAGCACTGATCAAGAAG
TACCCGAAGCTGGAAAGCGAATTCGTCTACGGAG
ACTACAAGGTCTACGACGTCAGAAAGATGATCGC
AAAGAGCGAACAGGAAATCGGAAAGGCAACAGC
AAAGTACTTCTTCTACAGCAACATCATGAACTTC
TTCAAGACAGAAATCACACTGGCAAACGGAGAA
ATCAGAAAGAGACCGCTGATCGAAACAAACGGA
GAAACAGGAGAAATCGTCTGGGACAAGGGAAGA
GACTTCGCAACAGTCAGAAAGGTCCTGAGCATGC
CGCAGGTCAACATCGTCAAGAAGACAGAAGTCC
AGACAGGAGGATTCAGCAAGGAAAGCATCCTGC
CGAAGAGAAACAGCGACAAGCTGATCGCAAGAA
AGAAGGACTGGGACCCGAAGAAGTACGGAGGAT
TCGACAGCCCGACAGTCGCATACAGCGTCCTGGT

	<p>CGTCGCAAAGGTCGAAAAGGGAAAGAGCAAGAA GCTGAAGAGCGTCAAGGAACTGCTGGGAATCAC AATCATGGAAAGAAGCAGCTTCGAAAAGAACCC GATCGACTTCCTGGAAGCAAAGGGATACAAGGA AGTCAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCGAA GTACAGCCTGTTTCGAACTGGAAAACGGAAGAAA GAGAATGCTGGCAAGCGCAGGAGAAGTGCAGAA GGGAAACGAACTGGCACTGCCGAGCAAGTACGT CAACTTCCTGTACCTGGCAAGCCACTACGAAAAG CTGAAGGGAAGCCCGGAAGACAACGAACAGAAG CAGCTGTTCGTCGAACAGCACAAGCACTACCTGG ACGAAATCATCGAACAGATCAGCGAATTCAGCA AGAGAGTCATCCTGGCAGACGCAAACCTGGACA AGGTCCTGAGCGCATAACAAGCACAGAGACA AGCCGATCAGAGAACAGGCAGAAAACATCATCC ACCTGTTCACTGACAAACCTGGGAGCACCGGC AGCATTCAAGTACTTCGACACAACAATCGACAGA AAGAGATACACAAGCACAAAGGAAGTCCTGGAC GCAACACTGATCCACCAGAGCATCACAGGACTGT ACGAAACAAGAATCGACCTGAGCCAGCTGGGAG GAGACGGAGGAGGAAGCCCGAAGAAGAAGAGA AAGGTCTAGctagegctcgcttcttctgtccaatttctattaaagggtcctt tgttcctaagtccaactactaaactgggggatattatgaaggccttgagcatctg gattctgcctaataaaaaacatttatttcattgcctcgag</p>	
<p>Транскрипт Cas9 с 5' UTR XBG, OPC, соответствующая SEQ ID NO: 204, последовательность Козак и 3' UTR XBG</p>	<p>GGGaaagctcagaataaacgctcaacttggccggatctgccacCATGGA CAAGAAGTACAGCATCGGACTGGACATCGGAAC AAACAGCGTCGGATGGGCAGTCATCACAGACGA ATACAAGGTCCCGAGCAAGAAGTTCAAGGTCTTG GGAAACACAGACAGACACAGCATCAAGAAGAAC CTGATCGGAGCACTGCTGTTTCGACAGCGGAGAAA CAGCAGAAGCAACAAGACTGAAGAGAACAGCAA GAAGAAGATACACAAGAAGAAGAACAGAAATCT GCTACCTGCAGGAAATCTTCAGCAACGAAATGGC AAAGGTCGACGACAGCTTCTTCCACAGACTGGAA GAAAGCTTCCTGGTCGAAGAAGACAAGAAGCAC</p>	<p>259</p>

GAAAGACACCCGATCTTCGGAAACATCGTCGACG
AAGTCGCATACCACGAAAAGTACCCGACAATCTA
CCACCTGAGAAAGAAGCTGGTCGACAGCACAGA
CAAGGCAGACCTGAGACTGATCTACCTGGCACTG
GCACACATGATCAAGTTCAGAGGACACTTCCTGA
TCGAAGGAGACCTGAACCCGGACAACAGCGACG
TCGACAAGCTGTTTCATCCAGCTGGTCCAGACATA
CAACCAGCTGTTTCGAAGAAAACCCGATCAACGCA
AGCGGAGTCGACGCAAAGGCAATCCTGAGCGCA
AGACTGAGCAAGAGCAGAAGACTGGAAAACCTG
ATCGCACAGCTGCCGGGAGAAAAGAAGAACGGA
CTGTTTCGGAAACCTGATCGCACTGAGCCTGGGAC
TGACACCGAACTTCAAGAGCAACTTCGACCTGGC
AGAAGACGCAAAGCTGCAGCTGAGCAAGGACAC
ATACGACGACGACCTGGACAACCTGCTGGCACAG
ATCGGAGACCAGTACGCAGACCTGTTCTGGCAG
CAAAGAACCTGAGCGACGCAATCCTGCTGAGCG
ACATCCTGAGAGTCAACACAGAAATCACAAAGG
CACCGCTGAGCGCAAGCATGATCAAGAGATACG
ACGAACACCACCAGGACCTGACACTGCTGAAGG
CACTGGTCAGACAGCAGCTGCCGGAAAAGTACA
AGGAAATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGATA
CGCAGGATACATCGACGGAGGAGCAAGCCAGGA
AGAATTCTACAAGTTCATCAAGCCGATCCTGGAA
AAGATGGACGGAACAGAAGAACTGCTGGTCAAG
CTGAACAGAGAAGACCTGCTGAGAAAGCAGAGA
ACATTCGACAACGGAAGCATCCCGCACCAGATCC
ACCTGGGAGAACTGCACGCAATCCTGAGAAGAC
AGGAAGACTTCTACCCGTTCTGAAGGACAACAG
AGAAAAGATCGAAAAGATCCTGACATTCAGAAT
CCCGTACTACGTCGGACCGCTGGCAAGAGGAAAC
AGCAGATTCGCATGGATGACAAGAAAGAGCGAA
GAAACAATCACACCGTGGAACCTCGAAGAAGTC
GTCGACAAGGGAGCAAGCGCACAGAGCTTCATC
GAAAGAATGACAACTTCGACAAGAACCTGCCG

AACGAAAAGGTCCTGCCGAAGCACAGCCTGCTGT
ACGAATACTTCACAGTCTACAACGAACTGACAAA
GGTCAAGTACGTCACAGAAGGAATGAGAAAGCC
GGCATTCCCTGAGCGGAGAACAGAAGAAGGCAAT
CGTCGACCTGCTGTTCAAGACAAACAGAAAGGTC
ACAGTCAAGCAGCTGAAGGAAGACTACTTCAAG
AAGATCGAATGCTTCGACAGCGTCGAAATCAGCG
GAGTCGAAGACAGATTCAACGCAAGCCTGGGAA
CATACCACGACCTGCTGAAGATCATCAAGGACAA
GGACTTCCTGGACAACGAAGAAAACGAAGACAT
CCTGGAAGACATCGTCCTGACACTGACACTGTTC
GAAGACAGAGAAATGATCGAAGAAAGACTGAAG
ACATACGCACACCTGTTCGACGACAAGGTCATGA
AGCAGCTGAAGAGAAGAAGATACACAGGATGGG
GAAGACTGAGCAGAAAGCTGATCAACGGAATCA
GAGACAAGCAGAGCGGAAAGACAATCCTGGACT
TCCTGAAGAGCGACGGATTCGCAAACAGAACTT
CATGCAGCTGATCCACGACGACAGCCTGACATTC
AAGGAAGACATCCAGAAGGCACAGGTCAGCGGA
CAGGGAGACAGCCTGCACGAACACATCGCAAAC
CTGGCAGGAAGCCCGGCAATCAAGAAGGGAATC
CTGCAGACAGTCAAGGTCGTCGACGAACTGGTCA
AGGTCATGGGAAGACACAAGCCGGAAAACATCG
TCATCGAAATGGCAAGAGAAAACAGACAACAC
AGAAGGGACAGAAGAACAGCAGAGAAAGAATG
AAGAGAATCGAAGAAGGAATCAAGGAACTGGGA
AGCCAGATCCTGAAGGAACACCCGGTCGAAAAC
ACACAGCTGCAGAACGAAAAGCTGTACCTGTACT
ACCTGCAGAACGGAAGAGACATGTACGTCGACC
AGGAACTGGACATCAACAGACTGAGCGACTACG
ACGTCGACCACATCGTCCCGCAGAGCTTCCTGAA
GGACGACAGCATCGACAACAAGGTCCTGACAAG
AAGCGACAAGAACAGAGGAAAGAGCGACAACGT
CCCGAGCGAAGAAGTCGTCAAGAAGATGAAGAA
CTACTGGAGACAGCTGCTGAACGCAAAGCTGATC

ACACAGAGAAAGTTTCGACAACCTGACAAAGGCA
GAGAGAGGAGGACTGAGCGAACTGGACAAGGCA
GGATTCATCAAGAGACAGCTGGTTCGAAACAAGA
CAGATCACAAAGCACGTCGCACAGATCCTGGACA
GCAGAATGAACACAAAGTACGACGAAAACGACA
AGCTGATCAGAGAAGTCAAGGTCATCACACTGAA
GAGCAAGCTGGTCAGCGACTTCAGAAAGGACTTC
CAGTTCTACAAGGTCAGAGAAATCAACA ACTACC
ACCACGCACACGACGCATACCTGAACGCAGTCGT
CGGAACAGCACTGATCAAGAAGTACCCGAAGCT
GGAAAGCGAATTCGTCTACGGAGACTACAAGGTC
TACGACGTCAGAAAGATGATCGCAAAGAGCGAA
CAGGAAATCGGAAAGGCAACAGCAAAGTACTTC
TTCTACAGCAACATCATGAACTTCTTCAAGACAG
AAATCACACTGGCAAACGGAGAAATCAGAAAGA
GACCGCTGATCGAAACAAACGGAGAAACAGGAG
AAATCGTCTGGGACAAGGGAAGAGACTTCGCAA
CAGTCAGAAAGGTCCTGAGCATGCCGCAGGTCAA
CATCGTCAAGAAGACAGAAGTCCAGACAGGAGG
ATTCAGCAAGGAAAGCATCCTGCCGAAGAGAAA
CAGCGACAAGCTGATCGCAAGAAAGAAGGACTG
GGACCCGAAGAAGTACGGAGGATTCGACAGCCC
GACAGTCGCATACAGCGTCCTGGTCGTCGCAAAG
GTCGAAAAGGGAAAGAGCAAGAAGCTGAAGAGC
GTCAAGGAACTGCTGGGAATCACAATCATGGAA
AGAAGCAGCTTCGAAAAGAACCCGATCGACTTCC
TGGAAGCAAAGGGATACAAGGAAGTCAAGAAGG
ACCTGATCATCAAGCTGCCGAAGTACAGCCTGTT
CGAACTGGAAAACGGAAGAAAGAGAATGCTGGC
AAGCGCAGGAGAACTGCAGAAGGGAAACGAACT
GGCACTGCCGAGCAAGTACGTCAACTTCCTGTAC
CTGGCAAGCCACTACGAAAAGCTGAAGGGAAAGC
CCGGAAGACAACGAACAGAAGCAGCTGTTCGTC
GAACAGCACAAGCACTACCTGGACGAAATCATC
GAACAGATCAGCGAATTCAGCAAGAGAGTCATC

	<p>CTGGCAGACGCAAACCTGGACAAGGTCCTGAGC GCATACAACAAGCACAGAGACAAGCCGATCAGA GAACAGGCAGAAAACATCATCCACCTGTTCACAC TGACAAACCTGGGAGCACCGGCAGCATTCAAGTA CTTCGACACAACAATCGACAGAAAGAGATACAC AAGCACAAGGAAGTCCTGGACGCAACACTGAT CCACCAGAGCATCACAGGACTGTACGAAACAAG AATCGACCTGAGCCAGCTGGGAGGAGACGGAGG AGGAAGCCCGAAGAAGAAGAGAAAGGTCTAGcta gcaccagcctcaagaacacccgaatggagtctctaaactacataataccaactta cactttacaaaatgttgcccccaaatgtagccattcgatatctgctcctaataaaaa gaaagtttctcacattctctcgag</p>	
<p>Транскрипт Cas9 с AGG в качестве первых трех нуклеотидов для использования с CleanCap™, 5' UTR XBG, OPC, соответствующая SEQ ID NO: 204, последовательность Козак и 3' UTR XBG</p>	<p>AGGaagctcagaataaacgctcaacttggccgatctgccacCATGGA CAAGAAGTACAGCATCGGACTGGACATCGGAAC AAACAGCGTCGGATGGGCAGTCATCACAGACGA ATACAAGGTCCCGAGCAAGAAGTTCAAGGTCCTG GGAAACACAGACAGACACAGCATCAAGAAGAAC CTGATCGGAGCACTGCTGTTTCGACAGCGGAGAAA CAGCAGAAGCAACAAGACTGAAGAGAACAGCAA GAAGAAGATACACAAGAAGAAGAACAGAATCT GCTACCTGCAGGAAATCTTCAGCAACGAAATGGC AAAGGTCGACGACAGCTTCTTCCACAGACTGGAA GAAAGCTTCTGGTTCGAAGAAGACAAGAAGCAC GAAAGACACCCGATCTTCGGAAACATCGTCGACG AAGTCGCATACCACGAAAAGTACCCGACAATCTA CCACCTGAGAAAGAAGCTGGTTCGACAGCACAGA CAAGGCAGACCTGAGACTGATCTACCTGGCACTG GCACACATGATCAAGTTCAGAGGACACTTCCTGA TCGAAGGAGACCTGAACCCGGACAACAGCGACG TCGACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTCCAGACATA CAACCAGCTGTTCGAAGAAAACCCGATCAACGCA AGCGGAGTCGACGCAAAGGCAATCCTGAGCGCA AGACTGAGCAAGAGCAGAAGACTGGAAAACCTG ATCGCACAGCTGCCGGGAGAAAAGAAGAACGGA CTGTTCGGAAACCTGATCGCACTGAGCCTGGGAC</p>	<p>260</p>

TGACACCGAACTTCAAGAGCAACTTCGACCTGGC
AGAAGACGCAAAGCTGCAGCTGAGCAAGGACAC
ATACGACGACGACCTGGACAACCTGCTGGCACAG
ATCGGAGACCAGTACGCAGACCTGTTCTGGCAG
CAAAGAACCTGAGCGACGCAATCCTGCTGAGCG
ACATCCTGAGAGTCAACACAGAAATCACAAAGG
CACCGCTGAGCGCAAGCATGATCAAGAGATACG
ACGAACACCACCAGGACCTGACACTGCTGAAGG
CACTGGTCAGACAGCAGCTGCCGGAAAAGTACA
AGGAAATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGATA
CGCAGGATACATCGACGGAGGAGCAAGCCAGGA
AGAATTCTACAAGTTCATCAAGCCGATCCTGGAA
AAGATGGACGGAACAGAAGAAGCTGCTGGTCAAG
CTGAACAGAGAAGACCTGCTGAGAAAGCAGAGA
ACATTCGACAACGGAAGCATCCCGCACCAGATCC
ACCTGGGAGAAGCTGCACGCAATCCTGAGAAGAC
AGGAAGACTTCTACCCGTTCTGAAGGACAACAG
AGAAAAGATCGAAAAGATCCTGACATTCAGAAT
CCCGTACTACGTCGGACCGCTGGCAAGAGGAAAC
AGCAGATTCGCATGGATGACAAGAAAGAGCGAA
GAAACAATCACACCGTGGAAGCTCGAAGAAGTC
GTCGACAAGGGAGCAAGCGCACAGAGCTTCATC
GAAAGAATGACAACTTCGACAAGAAGCTGCCG
AACGAAAAGGTCCTGCCGAAGCACAGCCTGCTGT
ACGAATACTTCACAGTCTACAACGAACTGACAAA
GGTCAAGTACGTCACAGAAGGAATGAGAAAGCC
GGCATTCTGAGCGGAGAACAGAAGAAGGCAAT
CGTCGACCTGCTGTTCAAGACAAACAGAAAGGTC
ACAGTCAAGCAGCTGAAGGAAGACTACTTCAAG
AAGATCGAATGCTTCGACAGCGTCGAAATCAGCG
GAGTCGAAGACAGATTCAACGCAAGCCTGGGAA
CATACCACGACCTGCTGAAGATCATCAAGGACAA
GGACTTCTGGACAACGAAGAAAACGAAGACAT
CCTGGAAGACATCGTCCTGACACTGACACTGTTC
GAAGACAGAGAAATGATCGAAGAAAGACTGAAG

ACATACGCACACCTGTTTCGACGACAAGGTCATGA
AGCAGCTGAAGAGAAGAAGATACACAGGATGGG
GAAGACTGAGCAGAAAGCTGATCAACGGAATCA
GAGACAAGCAGAGCGGAAAGACAATCCTGGACT
TCCTGAAGAGCGACGGATTCGCAAACAGAACTT
CATGCAGCTGATCCACGACGACAGCCTGACATTC
AAGGAAGACATCCAGAAGGCACAGGTCAGCGGA
CAGGGAGACAGCCTGCACGAACACATCGCAAAC
CTGGCAGGAAGCCCGGCAATCAAGAAGGGAATC
CTGCAGACAGTCAAGGTCGTGACGAACTGGTCA
AGGTCATGGGAAGACACAAGCCGGAAAACATCG
TCATCGAAATGGCAAGAGAAAACCAGACAACAC
AGAAGGGACAGAAGAACAGCAGAGAAAGAATG
AAGAGAATCGAAGAAGGAATCAAGGAAGTGGGA
AGCCAGATCCTGAAGGAACACCCGGTCGAAAAC
ACACAGCTGCAGAACGAAAAGCTGTACCTGTACT
ACCTGCAGAACGGAAGAGACATGTACGTCGACC
AGGAACTGGACATCAACAGACTGAGCGACTACG
ACGTCGACCACATCGTCCCGCAGAGCTTCTGAA
GGACGACAGCATCGACAACAAGGTCCTGACAAG
AAGCGACAAGAACAGAGGAAAGAGCGACAACGT
CCCGAGCGAAGAAGTCGTCAAGAAGATGAAGAA
CTACTGGAGACAGCTGCTGAACGCAAAGCTGATC
ACACAGAGAAAGTTCGACAACCTGACAAAGGCA
GAGAGAGGAGGACTGAGCGAACTGGACAAGGCA
GGATTCATCAAGAGACAGCTGGTCGAAACAAGA
CAGATCACAAAGCACGTCGCACAGATCCTGGACA
GCAGAATGAACACAAAGTACGACGAAAACGACA
AGCTGATCAGAGAAGTCAAGGTCATCACACTGAA
GAGCAAGCTGGTCAGCGACTTCAGAAAGGACTTC
CAGTTCTACAAGGTCAGAGAAATCAACAACCTACC
ACCACGCACACGACGCATACCTGAACGCAGTCGT
CGGAACAGCACTGATCAAGAAGTACCCGAAGCT
GGAAAGCGAATTCGTCTACGGAGACTACAAGGTC
TACGACGTCAGAAAGATGATCGCAAAGAGCGAA

CAGGAAATCGGAAAGGCAACAGCAAAGTACTTC
TTCTACAGCAACATCATGAACTTCTTCAAGACAG
AAATCACACTGGCAAACGGAGAAATCAGAAAGA
GACCGCTGATCGAAACAAACGGAGAAACAGGAG
AAATCGTCTGGGACAAGGGAAGAGACTTCGCAA
CAGTCAGAAAGGTCCTGAGCATGCCGCAGGTCAA
CATCGTCAAGAAGACAGAAGTCCAGACAGGAGG
ATTCAGCAAGGAAAGCATCCTGCCGAAGAGAAA
CAGCGACAAGCTGATCGCAAGAAAGAAGGACTG
GGACCCGAAGAAGTACGGAGGATTGACAGCCC
GACAGTCGCATACAGCGTCCTGGTCGTGCAAAG
GTCGAAAAGGGAAAGAGCAAGAAGCTGAAGAGC
GTCAAGGAACTGCTGGGAATCACAATCATGGAA
AGAAGCAGCTTCGAAAAGAACCCGATCGACTTCC
TGGAAGCAAAGGGATACAAGGAAGTCAAGAAGG
ACCTGATCATCAAGCTGCCGAAGTACAGCCTGTT
CGAACTGGAAAACGGAAGAAAGAGAATGCTGGC
AAGCGCAGGAGAACTGCAGAAGGGAAACGAACT
GGCACTGCCGAGCAAGTACGTCAACTTCCTGTAC
CTGGCAAGCCACTACGAAAAGCTGAAGGGAAAGC
CCGGAAGACAACGAACAGAAGCAGCTGTTCGTC
GAACAGCACAAGCACTACCTGGACGAAATCATC
GAACAGATCAGCGAATTCAGCAAGAGAGTCATC
CTGGCAGACGCAAACCTGGACAAGGTCCTGAGC
GCATACAACAAGCACAGAGACAAGCCGATCAGA
GAACAGGCAGAAAACATCATCCACCTGTTACAC
TGACAAACCTGGGAGCACCGGCAGCATTCAAGTA
CTTCGACACAACAATCGACAGAAAGAGATACAC
AAGCACAAGGAAGTCCTGGACGCAACACTGAT
CCACCAGAGCATCACAGGACTGTACGAAACAAG
AATCGACCTGAGCCAGCTGGGAGGAGACGGAGG
AGGAAGCCCGAAGAAGAAGAGAAAGGTCTAGcta
gcaccagcctcaagaacacccgaatggagtctctaagctacataataccaactta
cacttfacaaaatgttgccccaaaatgtagccattcgtatctgctcetaataaaaa
gaaagtttcttcacattctctcgag

<p>Транскрипт Cas9 с AGG в качестве первых трех нуклеотидов для использования с CleanCap™, 5' UTR HSD, OPC, соответствующая SEQ ID NO: 204, последовательность Козак и 3' UTR ALB</p>	<p>AGGTCCCGCAGTCGGCGTCCAGCGGCTCTGCTTG TTCGTGTGTGTGTCGTTGCAGGCCTTATTCGGATC CGCCACCATGGACAAGAAGTACAGCATCGGACT GGACATCGGAACAAACAGCGTCGGATGGGCAGT CATCACAGACGAATACAAGGTCCCGAGCAAGAA GTTCAAGGTCCTGGGAAACACAGACAGACACAG CATCAAGAAGAACCTGATCGGAGCACTGCTGTTC GACAGCGGAGAAACAGCAGAAGCAACAAGACTG AAGAGAACAGCAAGAAGAAGATACACAAGAAGA AAGAACAGAATCTGCTACCTGCAGGAAATCTTCA GCAACGAAATGGCAAAGGTCGACGACAGCTTCTT CCACAGACTGGAAGAAAGCTTCCTGGTCGAAGA AGACAAGAAGCACGAAAGACACCCGATCTTCGG AAACATCGTCGACGAAGTCGCATACCACGAAAA GTACCCGACAATCTACCACCTGAGAAAGAAGCTG GTCGACAGCACAGACAAGGCAGACCTGAGACTG ATCTACCTGGCACTGGCACACATGATCAAGTTCA GAGGACACTTCCTGATCGAAGGAGACCTGAACCC GGACAACAGCGACGTCGACAAGCTGTTTCATCCAG CTGGTCCAGACATAACAACCAGCTGTTTCGAAGAAA ACCCGATCAACGCAAGCGGAGTCGACGCAAAGG CAATCCTGAGCGCAAGACTGAGCAAGAGCAGAA GACTGGAAAACCTGATCGCACAGCTGCCGGGAG AAAAGAAGAACGGACTGTTCGGAAACCTGATCG CACTGAGCCTGGGACTGACACCGAACTTCAAGAG CAACTTCGACCTGGCAGAAGACGCAAAGCTGCA GCTGAGCAAGGACACATACGACGACGACCTGGA CAACCTGCTGGCACAGATCGGAGACCAGTACGCA GACCTGTTCTGGCAGCAAAGAACCTGAGCGACG CAATCCTGCTGAGCGACATCCTGAGAGTCAACAC AGAAATCACAAAGGCACCGCTGAGCGCAAGCAT GATCAAGAGATACGACGAACACCACCAGGACCT GACACTGCTGAAGGCACTGGTCAGACAGCAGCTG CCGGAAAAGTACAAGGAAATCTTCTTCGACCAGA GCAAGAACGGATACGCAGGATACATCGACGGAG</p>	<p>261</p>
---	---	------------

GAGCAAGCCAGGAAGAATTCTACAAGTTCATCAA
GCCGATCCTGGAAAAGATGGACGGAACAGAAGA
ACTGCTGGTCAAGCTGAACAGAGAAGACCTGCTG
AGAAAGCAGAGAACATTCGACAACGGAAGCATC
CCGCACCAGATCCACCTGGGAGAACTGCACGCAA
TCCTGAGAAGACAGGAAGACTTCTACCCGTTCT
GAAGGACAACAGAGAAAAGATCGAAAAGATCCT
GACATTCAGAATCCCGTACTACGTCGGACCGCTG
GCAAGAGGAAACAGCAGATTCGCATGGATGACA
AGAAAGAGCGAAGAAACAATCACACCGTGGAAC
TTCGAAGAAGTCGTCGACAAGGGAGCAAGCGCA
CAGAGCTTCATCGAAAGAATGACAAACTTCGACA
AGAACCTGCCGAACGAAAAGGTCCTGCCGAAGC
ACAGCCTGCTGTACGAATACTTCACAGTCTACAA
CGAACTGACAAAGGTCAAGTACGTCACAGAAGG
AATGAGAAAGCCGGCATTCTGAGCGGAGAACA
GAAGAAGGCAATCGTCGACCTGCTGTTCAAGACA
AACAGAAAGGTCACAGTCAAGCAGCTGAAGGAA
GACTACTTCAAGAAGATCGAATGCTTCGACAGCG
TCGAAATCAGCGGAGTCGAAGACAGATTCAACG
CAAGCCTGGGAACATACCACGACCTGCTGAAGAT
CATCAAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAAGA
AAACGAAGACATCCTGGAAGACATCGTCCTGACA
CTGACACTGTTCGAAGACAGAGAAATGATCGAA
GAAAGACTGAAGACATACGCACACCTGTTCGACG
ACAAGGTCATGAAGCAGCTGAAGAGAAGAAGAT
ACACAGGATGGGGAAGACTGAGCAGAAAGCTGA
TCAACGGAATCAGAGACAAGCAGAGCGGAAAGA
CAATCCTGGACTTCCTGAAGAGCGACGGATTTCG
AAACAGAACTTCATGCAGCTGATCCACGACGAC
AGCCTGACATTCAAGGAAGACATCCAGAAGGCA
CAGGTCAGCGGACAGGGAGACAGCCTGCACGAA
CACATCGCAAACCTGGCAGGAAGCCCGGCAATC
AAGAAGGGAATCCTGCAGACAGTCAAGGTCGTC
GACGAACTGGTCAAGGTCATGGGAAGACACAAG

CCGAAAACATCGTCATCGAAATGGCAAGAGAA
AACCAGACAACACAGAAGGGACAGAAGAACAGC
AGAGAAAGAATGAAGAGAATCGAAGAAGGAATC
AAGGAACTGGGAAGCCAGATCCTGAAGGAACAC
CCGGTCGAAAACACACAGCTGCAGAACGAAAAG
CTGTACCTGTACTACCTGCAGAACGGAAGAGACA
TGTACGTCGACCAGGAACTGGACATCAACAGACT
GAGCGACTACGACGTCGACCACATCGTCCCGCAG
AGCTTCCTGAAGGACGACAGCATCGACAACAAG
GTCCTGACAAGAAGCGACAAGAACAGAGGAAAG
AGCGACAACGTCCCGAGCGAAGAAGTCGTCAAG
AAGATGAAGAACTACTGGAGACAGCTGCTGAAC
GCAAAGCTGATCACACAGAGAAAGTTCGACAAC
CTGACAAAGGCAGAGAGAGGAGGACTGAGCGAA
CTGGACAAGGCAGGATTCATCAAGAGACAGCTG
GTCGAAACAAGACAGATCACAAAGCACGTCGCA
CAGATCCTGGACAGCAGAATGAACACAAAGTAC
GACGAAAACGACAAGCTGATCAGAGAAGTCAAG
GTCATCACACTGAAGAGCAAGCTGGTCAGCGACT
TCAGAAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTCAGAGA
AATCAACAACACTACCACCACGCACACGACGCATAC
CTGAACGCAGTCGTCGGAACAGCACTGATCAAGA
AGTACCCGAAGCTGGAAAGCGAATTCGTCTACGG
AGACTACAAGGTCTACGACGTCAGAAAGATGATC
GCAAAGAGCGAACAGGAAATCGGAAAGGCAACA
GCAAAGTACTTCTTCTACAGCAACATCATGAACT
TCTTCAAGACAGAAATCACACTGGCAAACGGAG
AAATCAGAAAGAGACCGCTGATCGAAACAAACG
GAGAAACAGGAGAAATCGTCTGGGACAAGGGAA
GAGACTTCGCAACAGTCAGAAAGGTCCTGAGCAT
GCCGCAGGTCAACATCGTCAAGAAGACAGAAGT
CCAGACAGGAGGATTCAGCAAGGAAAGCATCCT
GCCGAAGAGAAACAGCGACAAGCTGATCGCAAG
AAAGAAGGACTGGGACCCGAAGAAGTACGGAGG
ATTCGACAGCCCGACAGTCGCATACAGCGTCCTG

	<p>GTCGTCGCAAAGGTTCGAAAAGGGAAAGAGCAAG AAGCTGAAGAGCGTCAAGGAACTGCTGGGAATC ACAATCATGGAAAGAAGCAGCTTCGAAAAGAAC CCGATCGACTTCCTGGAAGCAAAGGGATACAAG GAAGTCAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCG AAGTACAGCCTGTTCGAACTGGAAAACGGAAGA AAGAGAATGCTGGCAAGCGCAGGAGAACTGCAG AAGGGAAACGAACTGGCACTGCCGAGCAAGTAC GTCAACTTCCTGTACCTGGCAAGCCACTACGAAA AGCTGAAGGGAAGCCCGGAAGACAACGAACAGA AGCAGCTGTTCGTCGAACAGCACAAGCACTACCT GGACGAAATCATCGAACAGATCAGCGAATTCAG CAAGAGAGTCATCCTGGCAGACGCAAACCTGGA CAAGGTCCTGAGCGCATAACAAGCACAGAGA CAAGCCGATCAGAGAACAGGCAGAAAACATCAT CCACCTGTTCACTGACAAACCTGGGAGCACCG GCAGCATTCAAGTACTTCGACACAACAATCGACA GAAAGAGATACACAAGCACAAGGAAGTCCTGG ACGCAACACTGATCCACCAGAGCATCACAGGACT GTACGAAACAAGAATCGACCTGAGCCAGCTGGG AGGAGACGGAGGAGGAAGCCCGAAGAAGAAGA GAAAGGTCTAGCTAGCCATCACATTTAAAAGCAT CTCAGCCTACCATGAGAATAAGAGAAAGAAAAT GAAGATCAATAGCTTATTCATCTCTTTTTCTTTTT CGTTGGTGTAAGCCAACACCCTGTCTAAAAAAC ATAAATTTCTTTAATCATTTTGCCTCTTTTCTCTGT GCTTCAATTAATAAAAAATGGAAAGAACCTCGAG</p>	
30/30/39 последовательность поли-А	<p>AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAGC GAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAC CGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAA</p>	262
поли-А 100 последовательность	<p>AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA</p>	263
G209 гидовая РНК	mC*mC*mA*GUCCAGCGAGGCAAAGGGUUUUAG	264

	AGCUAGAAAUAGCAAGUAAAAUAAGGCUAGU CCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUCG GUGCmU*mU*mU*U	
	Не используется	265-267
Аминокислотная последовательность <i>Neisseria meningitidis</i> Cas9	MAAFKPNSINYILGLDIGIASVGWAMVEIDEEENPIR LIDLGVRVFERAEVPKTGDSLAMARRLARSVRRLT RRRAHRLLRTRLLKREGVLQAANFDENGLIKSLP NTPWQLRAAALDRKLTPLEWSAVLLHLIKHRGYLS QRKNEGETADKELGALLKGVAGNAHALQTGDFRT PAELALNKFEKESGHIRNQRSDYSHTFSRKDLQ AEL ILLFEKQKEFGNPHVSGGLKEGIETLLMTQRPALSG DAVQKMLGHCTFEP AEPKAAKNTYTAERFIWLTKL NNLRILEQGSRPLTDTERATLMDEPYRKSCLTYAQ ARKLLGLEDTAFFKGLRYGKDNAEASTLMEMKAY HAISRALEKEGLKDKKSPLNLSPELQDEIGTAFSLFK TDEDITGRLKDRIQPEILEALLKHISFDKQVQISL KAL RRIVPLMEQGKRYDEACA E IYGDHYGKKNTEEKIY LPPIPADEIRNPVVLRALSQARKVINGV VRRY GSPA RIHIETAREVGKSFKDRKEIEKRQEENRKDREKAAA KFREYFPNFVGE PKSKDILKLRLYEQQHGKCLYSGK EINLGR LNEKGYVEIDHALPFSRTWDDSFNNKVLVL GSENQNKGNQTPYEYFNGKDNSREWQEFKARVET SRFPRSKKQRILLQKFDEEDGFKERNLNDTRYVNRFL CQFVADRMRLTGKGGKRVFASNGQITNLLRGFWG LRKVRAENDRH HALDAVVVACSTVAMQQKITRFV RYKEMNAFDGKTIDKETGEVLHQKTHFPQPWEFFA QEV MIRVFGKPDGKPEFEEADTLEKLRTLLAEKLSS RPEAVHEYVTPLFVSRAPNRKMSGQGHMETVKSA KRLDEGVSVLRVPLTQLKLDLEKMVNREREPKLY EALKARLEAHKDDPAKAFAPFYKYDKAGNRTQQ VKAVRVEQVQKTGVWVRNHNGIADNATMVRVDV FEKGDKYLVPIYSWQVAKGILPDRAVVQGKDEED WQLIDDSFNFKFSLHPNDLVEVITKKARMFGYFASC HRGTGNINIRIHDLDHKIGKNGILEGIGVKTALS FQK YQIDELGKEIRPCRLKKRPPVRS GKRTADGSEFESPK	268

	KKRKVE	
	Не используется	269
G502 гидовая РНК	mA*mC*mA*CAAAUACCAGUCCAGCGGUUUUAG AmGmCmUmAmGmAmAmUmAmGmCAAGUUA AAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmG mAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAm GmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	270
	Не используется	271
	Не используется	272
Кодирующая последовательность ДНК eGFP	TCGCGCGTTTCGGTGATGACGGTGAAAACCTCTG ACACATGCAGCTCCCGGAGACGGTCACAGCTTGT CTGTAAGCGGATGCCGGGAGCAGACAAGCCCGT CAGGGCGCGTCAGCGGGTGTGGCGGGTGTCCGG GCTGGCTTAACTATGCGGCATCAGAGCAGATTGT ACTGAGAGTGCACCATATGCGGTGTGAAATACCG CACAGATGCGTAAGGAGAAAATACCGCATCAGG CGCCATTCGCCATTCAGGCTGCGCAACTGTTGGG AAGGGCGATCGGTGCGGGCCTCTTCGCTATTACG CCAGCTGGCGAAAGGGGGATGTGCTGCAAGGCG ATTAAGTTGGGTAACGCCAGGGTTTTCCAGTCA CGACGTTGTAAAACGACGGCCAGTGAATTCTAAT ACGACTCACTATAGGGTCCCGCAGTCGGCGTCCA GCGGCTCTGCTTGTTCGTGTGTGTGTCGTTGCAGG CCTTATTCGGATCCATGGTGAGCAAGGGCGAGGA GCTGTTACCGGGGTGGTGCCCATCCTGGTCGAG CTGGACGGCGACGTAAACGGCCACAAGTTCAGC GTGTCCGGCGAGGGCGAGGGCGATGCCACCTAC GGCAAGCTGACCCTGAAGTTCATCTGCACCACCG GCAAGCTGCCCGTGCCCTGGCCCACCCTCGTGAC CACCTGACCTACGGCGTGCAGTGCTTCAGCCGC TACCCCGACCACATGAAGCAGCACGACTTCTTCA AGTCCGCCATGCCCGAAGGCTACGTCCAGGAGCG CACCATCTTCTTCAAGGACGACGGCAACTACAAG ACCCGCGCCGAGGTGAAGTTCGAGGGCGACACC CTGGTGAACCGCATCGAGCTGAAGGGCATCGACT	273

TCAAGGAGGACGGCAACATCCTGGGGCACAAGC
TGGAGTACAACACTACAACAGCCACAACGTCTATAT
CATGGCCGACAAGCAGAAGAACGGCATCAAGGT
GAACTTCAAGATCCGCCACAACATCGAGGACGGC
AGCGTGCAGCTCGCCGACCACTACCAGCAGAACA
CCCCATCGGCGACGGCCCCGTGCTGCTGCCCCGA
CAACCACTACCTGAGCACCCAGTCCGCCCTGAGC
AAAGACCCCAACGAGAAGCGCGATCACATGGTC
CTGCTGGAGTTCGTGACCGCCGCCGGGATCACTC
TCGGCATGGACGAGCTGTACAAGTAATAGGAATT
ATGCAGTCTAGCCATCACATTTAAAAGCATCTCA
GCCTACCATGAGAATAAGAGAAAGAAAATGAAG
ATCAATAGCTTATTCATCTCTTTTTCTTTTTCGTTG
GTGTAAGCCAACACCCTGTCTAAAAAACATAAA
TTTCTTTAATCATTTCCTCTTTTCTCTGTGCTTC
AATTAATAAAAAATGGAAAGAACCTCGAGAAAA
AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
TCTAGACTTAAGCTTGATGAGCTCTAGCTTGGCG
TAATCATGGTCATAGCTGTTTCCTGTGTGAAATTG
TTATCCGCTCACAATTCCACACAACATACGAGCC
GGAAGCATAAAGTGTAAGCCTGGGGTGCCTAAT
GAGTGAGCTAACTCACATTAATTGCGTTGCGCTC
ACTGCCCGCTTTCCAGTCGGGAAACCTGTGCTGCTC
CAGCTGCATTAATGAATCGGCCAACGCGCGGGGA
GAGGCGGTTTTCGTATTGGGCGCTCTTCCGCTTCC
TCGCTCACTGACTCGCTGCGCTCGGTCGTTCCGGCT
GCGGCGAGCGGTATCAGCTCACTCAAAGGCGGTA
ATACGGTTATCCACAGAATCAGGGGATAACGCAG
GAAAGAACATGTGAGCAAAGGCCAGCAAAGG
CCAGGAACCGTAAAAAGGCCGCGTTGCTGGCGTT
TTCCATAGGCTCCGCCCCCTGACGAGCATCAC
AAAAATCGACGCTCAAGTCAGAGGTGGCGAAAC
CCGACAGGACTATAAAGATACCAGGCGTTTCCCC

CTGGAAGCTCCCTCGTGCGCTCTCCTGTTCCGACC
CTGCCGCTTACCGGATACCTGTCCGCCTTTCTCCC
TTCGGGAAGCGTGGCGCTTTCTCATAGCTCACGC
TGTAGGTATCTCAGTTCGGTGTAGGTCGTTTCGCTC
CAAGCTGGGCTGTGTGCACGAACCCCCGTTTCAG
CCCGACCGCTGCGCCTTATCCGGTAACTATCGTCT
TGAGTCCAACCCGGTAAGACACGACTTATCGCCA
CTGGCAGCAGCCACTGGTAACAGGATTAGCAGA
GCGAGGTATGTAGGCGGTGCTACAGAGTTCTTGA
AGTGGTGGCCTAACTACGGCTACACTAGAAGAAC
AGTATTTGGTATCTGCGCTCTGCTGAAGCCAGTT
ACCTTCGGAAAAAGAGTTGGTAGCTCTTGATCCG
GCAAACAACCACCGCTGGTAGCGGTGGTTTTTT
TGTTTGCAAGCAGCAGATTACGCGCAGAAAAAA
AGGATCTCAAGAAGATCCTTTGATCTTTTCTACG
GGGTCTGACGCTCAGTGGAACGAAAACCTCACGTT
AAGGGATTTTGGTCATGAGATTATCAAAAAGGAT
CTTCACCTAGATCCTTTTAAATTA AAAATGAAGTT
TTAAATCAATCTAAAGTATATATGAGTAAACTTG
GTCTGACAGTTACCAATGCTTAATCAGTGAGGCA
CCTATCTCAGCGATCTGTCTATTTTCGTTTCATCCAT
AGTTGCCTGACTCCCCGTCGTGTAGATAACTACG
ATACGGGAGGGCTTACCATCTGGCCCCAGTGCTG
CAATGATACCGCGAGACCCACGCTCACCGGCTCC
AGATTTATCAGCAATAAACCAGCCAGCCGGAAG
GGCCGAGCGCAGAAGTGGTCCTGCAACTTTATCC
GCCTCCATCCAGTCTATTAATTGTTGCCGGGAAG
CTAGAGTAAGTAGTTCGCCAGTTAATAGTTTGCG
CAACGTTGTTGCCATTGCTACAGGCATCGTGGTG
TCACGCTCGTCGTTTGGTATGGCTTCATTCAGCTC
CGGTTCCCAACGATCAAGGCGAGTTACATGATCC
CCCATGTTGTGCAAAAAAGCGGTTAGCTCCTTCG
GTCCTCCGATCGTTGTCAGAAGTAAGTTGGCCGC
AGTGTTATCACTCATGGTTATGGCAGCACTGCAT
AATTCTCTTACTGTCATGCCATCCGTAAGATGCTT

	TTCTGTGACTGGTGAGTACTCAACCAAGTCATTCT GAGAATAGTGTATGCGGCGACCGAGTTGCTCTTG CCCGGCGTCAATACGGGATAATACCGCGCCACAT AGCAGAACTTTAAAAGTGCTCATCATTGGAAAAC GTTCTTCGGGGCGAAAACCTCTCAAGGATCTTACC GCTGTTGAGATCCAGTTCGATGTAACCCACTCGT GCACCCAACCTGATCTTCAGCATCTTTTACTTTTAC CAGCGTTTCTGGGTGAGCAAAAACAGGAAGGCA AAATGCCGCAAAAAAGGGAATAAGGGGCGACACG GAAATGTTGAATACTCATACTCTTCCTTTTTCAAT ATTATTGAAGCATTATCAGGGTTATTGTCTCATG AGCGGATACATATTTGAATGTATTTAGAAAATA AACAAATAGGGGTTCGCGCACATTTCCCCGAAA AGTGCCACCTGACGTCTAAGAAACCATTATTATC ATGACATTAACCTATAAAAATAGGCGTATCACGA GGCCCTTTCGTCG	
Модифицированный паттерн sgРНК, где N - нуклеотиды, кодирующие гидовую последовательность	mN*mN*mN*NNNNNNNNNNNNNNNNNNNGUUUAG AmGmCmUmAmGmAmAmUmAmGmCAAGUUA AA AUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmA m AmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmU mC mGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	274
CMV-1 5' UTR	CAGATCGCCTGGAGACGCCATCCACGCTGTTTTG ACCTCCAT	275
CMV-2 5' UTR	AGAAGACACCGGGACCGATCCAGCCTCCGCGGC CGGGAACGG	276
CMV-3 5' UTR	TGCATTGGAACGCGGATTCCCCGTGCCAAGAGTG ACTCACCG	277
SV40 NLS	PKKKRKV	278
Примерная NLS 1	LAAKRSRTT	279
Примерная NLS 2	QAAKRSRTT	280
Примерная NLS 3	PAPAKRERTT	281

Примерная NLS 4	QAAKRPRTT	282
Примерная NLS 5	RAAKRPRTT	283
Примерная NLS 6	AAAKRSWSMAA	284
Примерная NLS 7	AAAKRVWSMAF	285
Примерная NLS 8	AAAKRSWSMAF	286
Примерная NLS 9	AAAKRKYFAA	287
Примерная NLS 10	RAAKRKAFAA	288
Примерная NLS 11	RAAKRKYFAV	289
Альтернативная SV40 NLS	PKKKRRV	290
Нуклеоплазминовая NLS	KRPAATKKAGQAKKKK	291
Примерная кодирующая последовательность для SV40 NLS	CCGAAGAAGAAGAGAAAGGTC	292
Примерная кодирующая последовательность для NLS1	CTGGCAGCAAAGAGAAGCAGAACAACA	293
Примерная кодирующая последовательность для NLS2	CAGGCAGCAAAGAGAAGCAGAACAACA	294
Примерная кодирующая последовательность для NLS3	CCGGCACCGGCAAAGAGAGAAAGAACAACA	295
Примерная кодирующая последовательность для NLS4	CAGGCAGCAAAGAGACCGAGAACAACA	296

Примерная кодирующая последовательность для NLS5	AGAGCAGCAAAGAGACCGAGAACAACA	297
Примерная кодирующая последовательность для NLS6	GCAGCAGCAAAGAGAAGCTGGAGCATGGCAGCA	298
Примерная кодирующая последовательность для NLS7	GCAGCAGCAAAGAGAGTCTGGAGCATGGCATTTC	299
Примерная кодирующая последовательность для NLS8	GCAGCAGCAAAGAGAAGCTGGAGCATGGCATTTC	300
Примерная кодирующая последовательность для NLS9	GCAGCAGCAAAGAGAAAGTACTTCGCAGCA	301
Примерная кодирующая последовательность для NLS10	AGAGCAGCAAAGAGAAAGGCATTTCGCAGCA	302
Примерная кодирующая последовательность для NLS11	AGAGCAGCAAAGAGAAAGTACTTCGCAGTC	303
Примерная кодирующая последовательность для альтернативной SV40 NLS	CCGAAGAAGAAGAGAAGAGTC	304
Примерная	gccgccRccAUGG	305

последовательность Козак		
	Не используется	306-310
Cas9 OPC с использованием кодонов с низким содержанием А из Таблицы 5, со стартовыми кодонами и стоп-кодонами	<p>ATGGACAAGAAGTACTCCATCGGCCTGGACATCG GCACCAACTCCGTGGGCTGGGCCGTGATCACCGA CGAGTACAAGGTGCCCTCCAAGAAGTTCAAGGTG CTGGGCAACACCGACCGGCACTCCATCAAGAAG AACCTGATCGGCGCCCTGCTGTTCTGACTCCGGCG AGACCGCCGAGGCCACCCGGCTGAAGCGGACCG CCCGGCGGGCGGTACACCCGGCGGAAGAACCGGA TCTGCTACCTGCAGGAGATCTTCTCCAACGAGAT GGCCAAGGTGGACGACTCCTTCTTCCACCGGCTG GAGGAGTCCTTCCTGGTGGAGGAGGACAAGAAG CACGAGCGGCACCCCATCTTCGGCAACATCGTGG ACGAGGTGGCCTACCACGAGAAGTACCCACCAT CTACCACCTGCGGAAGAAGCTGGTGGACTCCACC GACAAGGCCGACCTGCGGCTGATCTACCTGGCCC TGGCCACATGATCAAGTTCGGGGCCACTTCCT GATCGAGGGCGACCTGAACCCCGACAACCTCCGAC GTGGACAAGCTGTTTCATCCAGCTGGTGCAGACCT ACAACCAGCTGTTTCGAGGAGAACCCCATCAACGC CTCCGGCGTGGACGCCAAGGCCATCCTGTCCGCC CGGCTGTCCAAGTCCC GGCGGCTGGAGAACCTGA TCGCCCAGCTGCCC GGCGAGAAGAAGAACGGCC TGTTTCGGCAACCTGATCGCCCTGTCCCTGGGCCT GACCCCAACTTCAAGTCCAACCTTCGACCTGGCC GAGGACGCCAAGCTGCAGCTGTCCAAGGACACCT ACGACGACGACCTGGACAACCTGCTGGCCCAGAT CGGCGACCAGTACGCCGACCTGTTCCCTGGCCGCC AAGAACCTGTCCGACGCCATCCTGCTGTCCGACA TCCTGCGGGTGAACACCGAGATACCAAGGCCCC CCTGTCCGCCTCCATGATCAAGCGGTACGACGAG</p>	311

CACCACCAGGACCTGACCCTGCTGAAGGCCCTGG
TGCGGCAGCAGCTGCCCCGAGAAGTACAAGGAGA
TCTTCTTCGACCAGTCCAAGAACGGCTACGCCGG
CTACATCGACGGCGGCCTCCCAGGAGGAGTTC
TACAAGTTCATCAAGCCCATCCTGGAGAAGATGG
ACGGCACCGAGGAGCTGCTGGTGAAGCTGAACC
GGGAGGACCTGCTGCGGAAGCAGCGGACCTTCG
ACAACGGCTCCATCCCCACCAGATCCACCTGGG
CGAGCTGCACGCCATCCTGCGGCGGCAGGAGGA
CTTCTACCCCTTCCTGAAGGACAACCGGGAGAAG
ATCGAGAAGATCCTGACCTTCCGGATCCCCTACT
ACGTGGGCCCCCTGGCCCGGGCAACTCCC GGTT
CGCCTGGATGACCCGGAAGTCCGAGGAGACCATC
ACCCCTGGAACTTCGAGGAGGTGGTGGACAAG
GGCGCCTCCGCCAGTCCTTCATCGAGCGGATGA
CCA ACTTCGACAAGAACCTGCCCAACGAGAAGGT
GCTGCCCAAGCACTCCCTGCTGTACGAGTACTTC
ACCGTGTACAACGAGCTGACCAAGGTGAAGTAC
GTGACCGAGGGCATGCGGAAGCCCGCCTTCCTGT
CCGGCGAGCAGAAGAAGGCCATCGTGGACCTGC
TGTTCAAGACCAACCGGAAGGTGACCGTGAAGC
AGCTGAAGGAGGACTACTTCAAGAAGATCGAGT
GCTTCGACTCCGTGGAGATCTCCGGCGTGGAGGA
CCGGTTCAACGCCTCCCTGGGCACCTACCACGAC
CTGCTGAAGATCATCAAGGACAAGGACTTCCTGG
ACAACGAGGAGAACGAGGACATCCTGGAGGACA
TCGTGCTGACCCTGACCCTGTTCGAGGACCGGGA
GATGATCGAGGAGCGGCTGAAGACCTACGCCCA
CCTGTTTCGACGACAAGGTGATGAAGCAGCTGAAG
CGGCGGCGGTACACCGGCTGGGGCCGGCTGTCCC
GGAAGCTGATCAACGGCATCCGGGACAAGCAGT
CCGGCAAGACCATCCTGGACTTCCTGAAGTCCGA
CGGCTTCGCCAACCGGA ACTTCATGCAGCTGATC
CACGACGACTCCCTGACCTTCAAGGAGGACATCC
AGAAGGCCAGGTGTCCGGCCAGGGCGACTCCCT

GCACGAGCACATCGCCAACCTGGCCGGCTCCCC
GCCATCAAGAAGGGCATCCTGCAGACCGTGAAG
GTGGTGGACGAGCTGGTGAAGGTGATGGGCCGG
CACAAGCCCGAGAACATCGTGATCGAGATGGCCC
GGGAGAACCAGACCACCAGAAGGGCCAGAAGA
ACTCCCGGGAGCGGATGAAGCGGATCGAGGAGG
GCATCAAGGAGCTGGGCTCCCAGATCCTGAAGGA
GCACCCCGTGGAGAACACCAGCTGCAGAACGA
GAAGCTGTACCTGTACTACCTGCAGAACGGCCGG
GACATGTACGTGGACCAGGAGCTGGACATCAACC
GGCTGTCCGACTACGACGTGGACCACATCGTGCC
CCAGTCCTTCCTGAAGGACGACTCCATCGACAAC
AAGGTGCTGACCCGGTCCGACAAGAACCGGGGC
AAGTCCGACAACGTGCCCTCCGAGGAGGTGGTGA
AGAAGATGAAGAACTACTGGCGGCAGCTGCTGA
ACGCCAAGCTGATCACCCAGCGGAAGTTCGACAA
CCTGACCAAGGCCGAGCGGGGCGGCCTGTCCGA
GCTGGACAAGGCCGGCTTCATCAAGCGGCAGCTG
GTGGAGACCCGGCAGATCACCAAGCACGTGGCC
CAGATCCTGGACTCCCGGATGAACACCAAGTACG
ACGAGAACGACAAGCTGATCCGGGAGGTGAAGG
TGATCACCTGAAGTCCAAGCTGGTGTCCGACTT
CCGGAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTGCGGGAG
ATCAACAACCTACCACCACGCCACGACGCCTACC
TGAACGCCGTGGTGGGCACCGCCCTGATCAAGAA
GTACCCCAAGCTGGAGTCCGAGTTCGTGTACGGC
GACTACAAGGTGTACGACGTGCGGAAGATGATC
GCCAAGTCCGAGCAGGAGATCGGCAAGGCCACC
GCCAAGTACTTCTTCTACTCCAACATCATGAACTT
CTTCAAGACCGAGATCACCTGGCCAACGGCGAG
ATCCGGAAGCGGCCCTGATCGAGACCAACGGC
GAGACCGGCGAGATCGTGTGGGACAAGGGCCGG
GACTTCGCCACCGTGCAGGAAGGTGCTGTCCATGC
CCCAGGTGAACATCGTGAAGAAGACCGAGGTGC
AGACCGGCGGCTTCTCCAAGGAGTCCATCCTGCC

	<p>CAAGCGGA ACTCCGACAAGCTGATCGCCCCGGAA GAAGGACTGGGACCCCAAGAAGTACGGCGGCTT CGACTCCCCACCGTGGCCTACTCCGTGCTGGTG GTGGCCAAGGTGGAGAAGGGCAAGTCCAAGAAG CTGAAGTCCGTGAAGGAGCTGCTGGGCATCACCA TCATGGAGCGGTCCTCCTTCGAGAAGAACCCCAT CGACTTCCTGGAGGCCAAGGGCTACAAGGAGGT GAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCCAAGTAC TCCCTGTTCGAGCTGGAGAACGGCCGGAAGCGGA TGCTGGCCTCCGCCGGCGAGCTGCAGAAGGGCAA CGAGCTGGCCCTGCCCTCCAAGTACGTGAACTTC CTGTACCTGGCCTCCCCTACGAGAAGCTGAAGG GCTCCCCCGAGGACAACGAGCAGAAGCAGCTGTT CGTGGAGCAGCACAAGCACTACCTGGACGAGAT CATCGAGCAGATCTCCGAGTTCTCCAAGCGGGTG ATCCTGGCCGACGCCAACCTGGACAAGGTGCTGT CCGCCTACAACAAGCACCGGGACAAGCCCATCCG GGAGCAGGCCGAGAACATCATCCACCTGTTACCC CTGACCAACCTGGGCGCCCCCGCCGCCTTCAAGT ACTTCGACACCACCATCGACCGGAAGCGGTACAC CTCCACCAAGGAGGTGCTGGACGCCACCCTGATC CACCAGTCCATCACCGGCCTGTACGAGACCCGGA TCGACCTGTCCCAGCTGGGCGGGCGACGGCGGCGG CTCCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTGTGA</p>	
<p>Cas9 OPC с использованием кодонов с низким содержанием A/U из Таблицы 5, со старт- кодонами и стоп- кодонами</p>	<p>ATGGACAAGAAGTACAGCATCGGCCTGGACATC GGCACCAACAGCGTGGGCTGGGCCGTGATCACCG ACGAGTACAAGGTGCCAGCAAGAAGTTCAAGG TGCTGGGCAACACCGACCGGCACAGCATCAAGA AGAACCTGATCGGCGCCCTGCTGTTTCGACAGCGG CGAGACCGCCGAGGCCACCCGGCTGAAGCGGAC CGCCCGGCGGCGGTACACCCGGCGGAAGAACCG GATCTGCTACCTGCAGGAGATCTTCAGCAACGAG ATGGCCAAGGTGGACGACAGCTTCTTCCACCGGC TGGAGGAGAGCTTCCCTGGTGGAGGAGGACAAGA AGCACGAGCGGCACCCCATCTTCGGCAACATCGT</p>	<p>312</p>

GGACGAGGTGGCCTACCACGAGAAGTACCCAC
CATCTACCACCTGCGGAAGAAGCTGGTGGACAGC
ACCGACAAGGCCGACCTGCGGCTGATCTACCTGG
CCCTGGCCACATGATCAAGTCCGGGGCCACTT
CCTGATCGAGGGCGACCTGAACCCCGACAACAGC
GACGTGGACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTGCAGA
CCTACAACCAGCTGTTCGAGGAGAACCCCATCAA
CGCCAGCGGCGTGGACGCCAAGGCCATCCTGAGC
GCCCCGGCTGAGCAAGAGCCGGCGGCTGGAGAAC
CTGATCGCCCAGCTGCCCGGCGAGAAGAAGAAC
GGCCTGTTCGGCAACCTGATCGCCCTGAGCCTGG
GCCTGACCCCCAACTTCAAGAGCAACTTCGACCT
GGCCGAGGACGCCAAGCTGCAGCTGAGCAAGGA
CACCTACGACGACGACCTGGACAACCTGCTGGCC
CAGATCGGCGACCAGTACGCCGACCTGTTCTG
CCGCCAAGAACCTGAGCGACGCCATCCTGCTGAG
CGACATCCTGCGGGTGAACACCGAGATCACCAAG
GCCCCCTGAGCGCCAGCATGATCAAGCGGTACG
ACGAGCACCACCAGGACCTGACCCTGCTGAAGGC
CCTGGTGCGGCAGCAGCTGCCCGAGAAGTACAA
GGAGATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGCTAC
GCCGGCTACATCGACGGCGGCCAGCCAGGAG
GAGTTCTACAAGTTCATCAAGCCCATCCTGGAGA
AGATGGACGGCACCGAGGAGCTGCTGGTGAAGC
TGAACCGGGAGGACCTGCTGCGGAAGCAGCGGA
CCTTCGACAACGGCAGCATCCCCACCAGATCCA
CCTGGGCGAGCTGCACGCCATCCTGCGGCGGCAG
GAGGACTTCTACCCCTTCTGAAGGACAACCGGG
AGAAGATCGAGAAGATCCTGACCTTCCGGATCCC
CTACTACGTGGGCCCCCTGGCCCCGGGGCAACAGC
CGGTTCGCCTGGATGACCCGGAAGAGCGAGGAG
ACCATCACCCCTGGAACCTTCGAGGAGGTGGTGG
ACAAGGGCGCCAGCGCCCAGAGCTTCATCGAGC
GGATGACCAACTTCGACAAGAACCTGCCCAACGA
GAAGGTGCTGCCAAGCACAGCCTGCTGTACGAG

TACTTCACCGTGTACAACGAGCTGACCAAGGTGA
AGTACGTGACCGAGGGCATGCGGAAGCCCGCCTT
CCTGAGCGGCGAGCAGAAGAAGGCCATCGTGGA
CCTGCTGTTCAAGACCAACCGGAAGGTGACCGTG
AAGCAGCTGAAGGAGGACTACTTCAAGAAGATC
GAGTGCTTCGACAGCGTGGAGATCAGCGGCGTGG
AGGACCGGTTCAACGCCAGCCTGGGCACCTACCA
CGACCTGCTGAAGATCATCAAGGACAAGGACTTC
CTGGACAACGAGGAGAACGAGGACATCCTGGAG
GACATCGTGCTGACCCTGACCCTGTTTCGAGGACC
GGGAGATGATCGAGGAGCGGCTGAAGACCTACG
CCCACCTGTTCGACGACAAGGTGATGAAGCAGCT
GAAGCGGCGGCGGTACACCGGCTGGGGCCGGCT
GAGCCGGAAGCTGATCAACGGCATCCGGGACAA
GCAGAGCGGCAAGACCATCCTGGACTTCCTGAAG
AGCGACGGCTTCGCCAACCGGAACTTCATGCAGC
TGATCCACGACGACAGCCTGACCTTCAAGGAGGA
CATCCAGAAGGCCAGGTGAGCGGCCAGGGCGA
CAGCCTGCACGAGCACATCGCCAACCTGGCCGGC
AGCCCCGCCATCAAGAAGGGCATCCTGCAGACCG
TGAAGGTGGTGGACGAGCTGGTGAAGGTGATGG
GCCGGCACAAGCCCGAGAACATCGTGATCGAGA
TGGCCCGGGAGAACCAGACCACCCAGAAGGGCC
AGAAGAACAGCCGGGAGCGGATGAAGCGGATCG
AGGAGGGCATCAAGGAGCTGGGCAGCCAGATCC
TGAAGGAGCACCCCGTGGAGAACACCCAGCTGC
AGAACGAGAAGCTGTACCTGTACTACCTGCAGAA
CGGCCGGGACATGTACGTGGACCAGGAGCTGGA
CATCAACCGGCTGAGCGACTACGACGTGGACCAC
ATCGTGCCCCAGAGCTTCCTGAAGGACGACAGCA
TCGACAACAAGGTGCTGACCCGGAGCGACAAGA
ACCGGGGCAAGAGCGACAACGTGCCAGCGAGG
AGGTGGTGAAGAAGATGAAGA ACTACTGGCGGC
AGCTGCTGAACGCCAAGCTGATCACCCAGCGGAA
GTTTCGACAACCTGACCAAGGCCGAGCGGGGCGG

CCTGAGCGAGCTGGACAAGGCCGGCTTCATCAAG
CGGCAGCTGGTGGAGACCCGGCAGATCACCAAG
CACGTGGCCCAGATCCTGGACAGCCGGATGAACA
CCAAGTACGACGAGAACGACAAGCTGATCCGGG
AGGTGAAGGTGATCACCCCTGAAGAGCAAGCTGG
TGAGCGACTTCCGGAAGGACTTCCAGTTCTACAA
GGTGCGGGAGATCAACAACCTACCACCACGCCAC
GACGCCTACCTGAACGCCGTGGTGGGCACCGCCC
TGATCAAGAAGTACCCCAAGCTGGAGAGCGAGTT
CGTGTACGGCGACTACAAGGTGTACGACGTGCGG
AAGATGATCGCCAAGAGCGAGCAGGAGATCGGC
AAGGCCACCGCCAAGTACTTCTTCTACAGCAACA
TCATGAACTTCTTCAAGACCGAGATCACCCCTGGC
CAACGGCGAGATCCGGAAGCGGCCCTGATCGA
GACCAACGGCGAGACCGGCGAGATCGTGTGGGA
CAAGGGCCGGGACTTCGCCACCGTGCGGAAGGT
GCTGAGCATGCCCCAGGTGAACATCGTGAAGAA
GACCGAGGTGCAGACCGGCGGCTTCAGCAAGGA
GAGCATCCTGCCAAGCGGAACAGCGACAAGCT
GATCGCCCGGAAGAAGGACTGGGACCCCAAGAA
GTACGGCGGCTTCGACAGCCCCACCGTGGCCTAC
AGCGTGCTGGTGGTGGCCAAGGTGGAGAAGGGC
AAGAGCAAGAAGCTGAAGAGCGTGAAGGAGCTG
CTGGGCATCACCATCATGGAGCGGAGCAGCTTCG
AGAAGAACCCCATCGACTTCCTGGAGGCCAAGG
GCTACAAGGAGGTGAAGAAGGACCTGATCATCA
AGCTGCCCAAGTACAGCCTGTTCGAGCTGGAGAA
CGGCCGGAAGCGGATGCTGGCCAGCGCCGGCGA
GCTGCAGAAGGGCAACGAGCTGGCCCTGCCAG
CAAGTACGTGAACTTCCTGTACCTGGCCAGCCAC
TACGAGAAGCTGAAGGGCAGCCCCGAGGACAAC
GAGCAGAAGCAGCTGTTCGTGGAGCAGCACAAG
CACTACCTGGACGAGATCATCGAGCAGATCAGCG
AGTTCAGCAAGCGGGTGATCCTGGCCGACGCCAA
CCTGGACAAGGTGCTGAGCGCCTACAACAAGCAC

	<p>CGGGACAAGCCCATCCGGGAGCAGGCCGAGAAC ATCATCCACCTGTTACCCCTGACCAACCTGGGCG CCCCCGCCGCCTTCAAGTACTTCGACACCACCAT CGACCGGAAGCGGTACACCAGCACCAAGGAGGT GCTGGACGCCACCCTGATCCACCAGAGCATCACC GGCCTGTACGAGACCCGGATCGACCTGAGCCAGC TGGGCGGCGACGGCGGGCAGCCCCAAGAAGA AGCGGAAGGTGTGA</p>	
<p>Cas9 OPC с использованием кодонов с низким содержанием А из Таблицы 5, с двумя С-концевыми последовательности ми NLS и стартовым и стоп-кодонами</p>	<p>ATGGACAAGAAGTACTCCATCGGCCTGGACATCG GCACCAACTCCGTGGGCTGGGCCGTGATCACCGA CGAGTACAAGGTGCCCTCCAAGAAGTTCAAGGTG CTGGGCAACACCGACCGGCACTCCATCAAGAAG AACCTGATCGGCGCCCTGCTGTTCTGACTCCGGCG AGACCGCCGAGGCCACCCGGCTGAAGCGGACCG CCCGGCGGGCGGTACACCCGGCGGAAGAACCGGA TCTGCTACCTGCAGGAGATCTTCTCCAACGAGAT GGCCAAGGTGGACGACTCCTTCTTCCACCGGCTG GAGGAGTCCTTCTGTTGGAGGAGGACAAGAAG CACGAGCGGCACCCCATCTTCGGCAACATCGTGG ACGAGGTGGCCTACCACGAGAAGTACCCACCAT CTACCACCTGCGGAAGAAGCTGGTGGACTCCACC GACAAGGCCGACCTGCGGCTGATCTACCTGGCCC TGGCCCACATGATCAAGTTCCGGGGCCACTTCT GATCGAGGGCGACCTGAACCCCGACAACCTCCGAC GTGGACAAGCTGTTTCATCCAGCTGGTGCAGACCT ACAACCAGCTGTTTCGAGGAGAACCCCATCAACGC CTCCGGCGTGGACGCCAAGGCCATCCTGTCCGCC CGGCTGTCCAAGTCCC GGCGGCTGGAGAACCTGA TCGCCCAGCTGCCCGGCGAGAAGAAGAACGGCC TGTTCCGGCAACCTGATCGCCCTGTCCCTGGGCCT GACCCCAACTTCAAGTCCAACCTTCGACCTGGCC GAGGACGCCAAGCTGCAGCTGTCCAAGGACACCT ACGACGACGACCTGGACAACCTGCTGGCCCAGAT CGGCGACCAGTACGCCGACCTGTTCTGGCCGCC AAGAACCTGTCCGACGCCATCCTGCTGTCCGACA</p>	<p>313</p>

TCCTGCGGGTGAACACCGAGATCACCAAGGCCCC
CCTGTCCGCCTCCATGATCAAGCGGTACGACGAG
CACCACCAGGACCTGACCCTGCTGAAGGCCCTGG
TGCGGCAGCAGCTGCCCCGAGAAGTACAAGGAGA
TCTTCTTCGACCAGTCCAAGAACGGCTACGCCGG
CTACATCGACGGCGGCCTCCCAGGAGGAGTTC
TACAAGTTCATCAAGCCCATCCTGGAGAAGATGG
ACGGCACCGAGGAGCTGCTGGTGAAGCTGAACC
GGGAGGACCTGCTGCGGAAGCAGCGGACCTTCG
ACAACGGCTCCATCCCCACCAGATCCACCTGGG
CGAGCTGCACGCCATCCTGCGGCGGCAGGAGGA
CTTCTACCCCTTCTGAAGGACAACCGGGAGAAG
ATCGAGAAGATCCTGACCTTCGGATCCCCTACT
ACGTGGGCCCCCTGGCCCGGGCAACTCCCGGTT
CGCCTGGATGACCCGGAAGTCCGAGGAGACCATC
ACCCCTGGAACTTCGAGGAGGTGGTGGACAAG
GGCGCCTCCGCCAGTCCTTCATCGAGCGGATGA
CCAACTTCGACAAGAACCTGCCCAACGAGAAGGT
GCTGCCCAAGCACTCCCTGCTGTACGAGTACTTC
ACCGTGTACAACGAGCTGACCAAGGTGAAGTAC
GTGACCGAGGGCATGCGGAAGCCCGCCTTCCTGT
CCGGCGAGCAGAAGAAGGCCATCGTGGACCTGC
TGTTCAAGACCAACCGGAAGGTGACCGTGAAGC
AGCTGAAGGAGGACTACTTCAAGAAGATCGAGT
GCTTCGACTCCGTGGAGATCTCCGGCGTGGAGGA
CCGGTTCAACGCCTCCCTGGGCACCTACCACGAC
CTGCTGAAGATCATCAAGGACAAGGACTTCCTGG
ACAACGAGGAGAACGAGGACATCCTGGAGGACA
TCGTGCTGACCCTGACCCTGTTTCGAGGACCGGGA
GATGATCGAGGAGCGGCTGAAGACCTACGCCCA
CCTGTTTCGACGACAAGGTGATGAAGCAGCTGAAG
CGGCGGCGGTACACCGGCTGGGGCCGGCTGTCCC
GGAAGCTGATCAACGGCATCCGGGACAAGCAGT
CCGGCAAGACCATCCTGGACTTCCTGAAGTCCGA
CGGCTTCGCCAACCGGAACCTTCATGCAGCTGATC

CACGACGACTCCCTGACCTTCAAGGAGGACATCC
AGAAGGCCAGGTGTCCGGCCAGGGCGACTCCCT
GCACGAGCACATCGCCAACCTGGCCGGCTCCCC
GCCATCAAGAAGGGCATCCTGCAGACCGTGAAG
GTGGTGGACGAGCTGGTGAAGGTGATGGGCCGG
CACAAGCCCAGAACATCGTGATCGAGATGGCCC
GGGAGAACCAGACCACCAGAAGGGCCAGAAGA
ACTCCCGGGAGCGGATGAAGCGGATCGAGGAGG
GCATCAAGGAGCTGGGCTCCCAGATCCTGAAGGA
GCACCCCGTGGAGAACACCCAGCTGCAGAACGA
GAAGCTGTACCTGTACTACCTGCAGAACGGCCGG
GACATGTACGTGGACCAGGAGCTGGACATCAACC
GGCTGTCCGACTACGACGTGGACCACATCGTGCC
CCAGTCCTTCCTGAAGGACGACTCCATCGACAAC
AAGGTGCTGACCCGGTCCGACAAGAACCGGGGC
AAGTCCGACAACGTGCCCTCCGAGGAGGTGGTGA
AGAAGATGAAGAACTACTGGCGGCAGCTGCTGA
ACGCCAAGCTGATCACCCAGCGGAAGTTCGACAA
CCTGACCAAGGCCGAGCGGGGGCGGCCTGTCCGA
GCTGGACAAGGCCGGCTTCATCAAGCGGCAGCTG
GTGGAGACCCGGCAGATCACCAAGCACGTGGCC
CAGATCCTGGACTCCCGGATGAACACCAAGTACG
ACGAGAACGACAAGCTGATCCGGGAGGTGAAGG
TGATCACCTGAAGTCCAAGCTGGTGTCCGACTT
CCGGAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTGCGGGAG
ATCAACAACCTACCACCACGCCCACGACGCCTACC
TGAACGCCGTGGTGGGCACCGCCCTGATCAAGAA
GTACCCCAAGCTGGAGTCCGAGTTCGTGTACGGC
GACTACAAGGTGTACGACGTGCGGAAGATGATC
GCCAAGTCCGAGCAGGAGATCGGCAAGGCCACC
GCCAAGTACTTCTTCTACTCCAACATCATGAACTT
CTTCAAGACCGAGATCACCTGGCCAACGGCGAG
ATCCGGAAGCGGCCCTGATCGAGACCAACGGC
GAGACCGGCGAGATCGTGTGGGACAAGGGCCGG
GACTTCGCCACCGTGCAGGAAGGTGCTGTCCATGC

	<p>CCCAGGTGAACATCGTGAAGAAGACCGAGGTGC AGACCGGCGGCTTCTCCAAGGAGTCCATCCTGCC CAAGCGGAACTCCGACAAGCTGATCGCCCGGAA GAAGGACTGGGACCCCAAGAAGTACGGCGGCTT CGACTCCCCACCGTGGCCTACTCCGTGCTGGTG GTGGCCAAGGTGGAGAAGGGCAAGTCCAAGAAG CTGAAGTCCGTGAAGGAGCTGCTGGGCATCACCA TCATGGAGCGGTCCTCCTTCGAGAAGAACCCCAT CGACTTCTGGAGGCCAAGGGCTACAAGGAGGT GAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCCAAGTAC TCCCTGTTTCGAGCTGGAGAACGGCCGGAAGCGGA TGCTGGCCTCCGCCGGCGAGCTGCAGAAGGGCAA CGAGCTGGCCCTGCCCTCCAAGTACGTGAACTTC CTGTACCTGGCCTCCCACTACGAGAAGCTGAAGG GCTCCCCCGAGGACAACGAGCAGAAGCAGCTGTT CGTGGAGCAGCACAAGCACTACCTGGACGAGAT CATCGAGCAGATCTCCGAGTTCTCCAAGCGGGTG ATCCTGGCCGACGCCAACCTGGACAAGGTGCTGT CCGCCTACAACAAGCACCGGGACAAGCCCATCCG GGAGCAGGCCGAGAACATCATCCACCTGTTACC CTGACCAACCTGGGGCGCCCCCGCCGCCTTCAAGT ACTTCGACACCACCATCGACCGGAAGCGGTACAC CTCCACCAAGGAGGTGCTGGACGCCACCCTGATC CACCAGTCCATCACCGGCCTGTACGAGACCCGGA TCGACCTGTCCCAGCTGGGGCGGCGACGGCTCCGG CTCCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTGGACGGCTC CCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTGGACTCCGGCTG A</p>	
	Не используется	314-328
Nme Cas9 OPC с использованием кодонов с низким содержанием А из	<p>ATGGCCGCCTTCAAGCCCAACTCCATCAACTACA TCCTGGGCCTGGACATCGGCATCGCCTCCGTGGG CTGGGCCATGGTGGAGATCGACGAGGAGGAGAA CCCCATCCGGCTGATCGACCTGGGCGTGCGGGTG</p>	328

Таблицы 5, со старт-
кодонами и стоп-
кодонами

TTCGAGCGGGCCGAGGTGCCCAAGACCGGCGACT
CCCTGGCCATGGCCCCGGCGGCTGGCCCCGGTCCGT
GCGGCGGCTGACCCGGCGGCGGGCCCACCGGCT
GCTGCGGACCCGGCGGCTGCTGAAGCGGGAGGG
CGTGCTGCAGGCCGCCAACTTCGACGAGAACGGC
CTGATCAAGTCCCTGCCCAACACCCCCTGGCAGC
TGCGGGCCCGCCGCCCTGGACCGGAAGCTGACCCC
CCTGGAGTGGTCCGCCGTGCTGCTGCACCTGATC
AAGCACCGGGGCTACCTGTCCAGCGGAAGAAC
GAGGGCGAGACCGCCGACAAGGAGCTGGGGCGCC
CTGCTGAAGGGCGTGGCCGGCAACGCCACGCC
TGCAGACCGGCGACTTCCGGACCCCCGCCGAGCT
GGCCCTGAACAAGTTCGAGAAGGAGTCCGGCCA
CATCCGGAACCAGCGGTCCGACTACTCCCACACC
TTCTCCCGGAAGGACCTGCAGGCCGAGCTGATCC
TGCTGTTCGAGAAGCAGAAGGAGTTCGGCAACCC
CCACGTGTCCGGCGGCCTGAAGGAGGGCATCGA
GACCCTGCTGATGACCCAGCGGCCCGCCCTGTCC
GGCGACGCCGTGCAGAAGATGCTGGGGCCACTGC
ACCTTCGAGCCCGCCGAGCCCAAGGCCGCCAAGA
ACACCTACACCGCCGAGCGGTTCATCTGGCTGAC
CAAGCTGAACAACCTGCGGATCCTGGAGCAGGG
CTCCGAGCGGCCCTGACCGACACCGAGCGGGCC
ACCCTGATGGACGAGCCCTACCGGAAGTCCAAGC
TGACCTACGCCAGGCCCGGAAGCTGCTGGGCCT
GGAGGACACCGCCTTCTTCAAGGGCCTGCGGTAC
GGCAAGGACAACGCCGAGGCCTCCACCCTGATG
GAGATGAAGGCCTACCACGCCATCTCCCGGGCCC
TGGAGAAGGAGGGCCTGAAGGACAAGAAGTCCC
CCCTGAACCTGTCCCCCGAGCTGCAGGACGAGAT
CGGCACCGCCTTCTCCCTGTTCAAGACCGACGAG
GACATCACCGGCCGGCTGAAGGACCGGATCCAG
CCCGAGATCCTGGAGGCCCTGCTGAAGCACATCT
CCTTCGACAAGTTCGTGCAGATCTCCCTGAAGGC
CCTGCGGCGGATCGTGCCCCTGATGGAGCAGGGC

AAGCGGTACGACGAGGCCTGCGCCGAGATCTAC
GGCGACCACTACGGCAAGAAGAACACCGAGGAG
AAGATCTACCTGCCCCCATCCCCGCCGACGAGA
TCCGGAACCCCGTGGTGCTGCGGGCCCTGTCCCA
GGCCCCGGAAGGTGATCAACGGCGTGGTGCGGGCG
GTACGGCTCCCCCGCCCGGATCCACATCGAGACC
GCCCCGGGAGGTGGGCAAGTCCTTCAAGGACCGG
AAGGAGATCGAGAAGCGGCAGGAGGAGAACCGG
AAGGACCGGGAGAAGGCCGCCGCAAGTTCCGG
GAGTACTTCCCCAACTTCGTGGGCGAGCCCAAGT
CCAAGGACATCCTGAAGCTGCGGGCTGTACGAGCA
GCAGCACGGCAAGTGCCTGTACTCCGGCAAGGA
GATCAACCTGGGCCGGCTGAACGAGAAGGGCTA
CGTGGAGATCGACCACGCCCTGCCCTTCTCCCGG
ACCTGGGACGACTCCTTCAACAACAAGGTGCTGG
TGCTGGGCTCCGAGAACCAGAACAAGGGCAACC
AGACCCCCTACGAGTACTTCAACGGCAAGGACAA
CTCCCGGGAGTGGCAGGAGTTCAAGGCCCGGGTG
GAGACCTCCCGGTTCCCCCGGTCCAAGAAGCAGC
GGATCCTGCTGCAGAAGTTCGACGAGGACGGCTT
CAAGGAGCGGAACCTGAACGACACCCGGTACGT
GAACCGGTTCCCTGTGCCAGTTCGTGGCCGACCGG
ATGCGGCTGACCGGCAAGGGCAAGAAGCGGGTG
TTCGCCTCCAACGGCCAGATCACCAACCTGCTGC
GGGGCTTCTGGGGCCTGCGGAAGGTGCGGGCCG
AGAACGACCGGCACCACGCCCTGGACGCCGTGGT
GGTGGCCTGCTCCACCGTGGCCATGCAGCAGAAG
ATCACCCGGTTCGTGCGGTACAAGGAGATGAACG
CCTTCGACGGCAAGACCATCGACAAGGAGACCG
GCGAGGTGCTGCACCAGAAGACCCACTTCCCCCA
GCCCTGGGAGTTCTTCGCCCAGGAGGTGATGATC
CGGGTGTTCCGGCAAGCCCGACGGCAAGCCCGAGT
TCGAGGAGGCCGACACCCTGGAGAAGCTGCGGA
CCCTGCTGGCCGAGAAGCTGTCTCCCGGCCCGA
GGCCGTGCACGAGTACGTGACCCCCCTGTTCGTG

	<p>TCCCGGGCCCCCAACCGGAAGATGTCCGGCCAGG GCCACATGGAGACCGTGAAGTCCGCCAAGCGGCT GGACGAGGGCGTGTCCGTGCTGCGGGTGCCCCTG ACCCAGCTGAAGCTGAAGGACCTGGAGAAGATG GTGAACCGGGAGCGGGAGCCCAAGCTGTACGAG GCCCTGAAGGCCCGGCTGGAGGCCACAAGGAC GACCCCGCCAAGGCCTTCGCCGAGCCCTTCTACA AGTACGACAAGGCCGGCAACCGGACCCAGCAGG TGAAGGCCGTGCGGGTGGAGCAGGTGCAGAAGA CCGGCGTGTGGGTGCGGAACCACAACGGCATCGC CGACAACGCCACCATGGTGCGGGTGGACGTGTTT GAGAAGGGCGACAAGTACTACCTGGTGCCCATCT ACTCCTGGCAGGTGGCCAAGGGCATCCTGCCCGA CCGGGCCGTGGTGCAGGGCAAGGACGAGGAGGA CTGGCAGCTGATCGACGACTCCTTCAACTTCAAG TTCTCCCTGCACCCCAACGACCTGGTGGAGGTGA TCACCAAGAAGGCCCGGATGTTCCGGCTACTTCGC CTCCTGCCACCGGGGCACCGGCAACATCAACATC CGGATCCACGACCTGGACCACAAGATCGGCAAG AACGGCATCCTGGAGGGCATCGGCGTGAAGACC GCCCTGTCCTTCCAGAAGTACCAGATCGACGAGC TGGGCAAGGAGATCCGGCCCTGCCGGCTGAAGA AGCGGCCCCCCGTGCGGTCCGGCAAGCGGACCGC CGACGGCTCCGAGTTCGAGTCCCCCAAGAAGAAG CGGAAGGTGGAGTGA</p>	
<p>Nme Cas9 OPC с использованием кодонов с низким содержанием A/U из Таблицы 5, со старт- кодонами и стоп- кодонами</p>	<p>ATGGCCGCCTTCAAGCCCAACAGCATCAACTACA TCCTGGGCCTGGACATCGGCATCGCCAGCGTGGG CTGGGCCATGGTGGAGATCGACGAGGAGGAGAA CCCCATCCGGCTGATCGACCTGGGCGTGCGGGTG TTCGAGCGGGCCGAGGTGCCCAAGACCGGCGAC AGCCTGGCCATGGCCCGGCGGCTGGCCCGGAGCG TGCGGCGGCTGACCCGGCGGCGGGCCCACCGGCT GCTGCGGACCCGGCGGCTGCTGAAGCGGGAGGG CGTGCTGCAGGCCGCCAACTTCGACGAGAACGGC CTGATCAAGAGCCTGCCCAACACCCCCTGGCAGC</p>	<p>329</p>

TGCGGGCCGCGCCCTGGACCGGAAGCTGACCCC
CCTGGAGTGGAGCGCCGTGCTGCTGCACCTGATC
AAGCACCGGGGCTACCTGAGCCAGCGGAAGAAC
GAGGGCGAGACCGCCGACAAGGAGCTGGGGCGCC
CTGCTGAAGGGCGTGGCCGGCAACGCCACGCCC
TGCAGACCGGCGACTTCCGGACCCCCGCCGAGCT
GGCCCTGAACAAGTTCGAGAAGGAGAGCGGCCA
CATCCGAACCAGCGGAGCGACTACAGCCACAC
CTTCAGCCGGAAGGACCTGCAGGCCGAGCTGATC
CTGCTGTTTCGAGAAGCAGAAGGAGTTCGGCAACC
CCCACGTGAGCGGCGGCCTGAAGGAGGGGCATCG
AGACCCTGCTGATGACCCAGCGGCCCGCCCTGAG
CGGCGACGCCGTGCAGAAGATGCTGGGCCACTGC
ACCTTCGAGCCCGCCGAGCCCAAGGCCGCCAAGA
ACACCTACACCGCCGAGCGGTTTCATCTGGCTGAC
CAAGCTGAACAACCTGCGGATCCTGGAGCAGGG
CAGCGAGCGGCCCTGACCGACACCGAGCGGGC
CACCTGATGGACGAGCCCTACCGGAAGAGCAA
GCTGACCTACGCCAGGCCCGGAAGCTGCTGGGC
CTGGAGGACACCGCCTTCTTCAAGGGCCTGCGGT
ACGGCAAGGACAACGCCGAGGCCAGCACCTGA
TGGAGATGAAGGCCTACCACGCCATCAGCCGGGC
CCTGGAGAAGGAGGGCCTGAAGGACAAGAAGAG
CCCCCTGAACCTGAGCCCCGAGCTGCAGGACGAG
ATCGGCACCGCCTTCAGCCTGTTCAAGACCGACG
AGGACATCACCGGCCGGCTGAAGGACCGGATCC
AGCCCGAGATCCTGGAGGCCCTGCTGAAGCACAT
CAGCTTCGACAAGTTCGTGCAGATCAGCCTGAAG
GCCCTGCGGCGGATCGTGCCCCTGATGGAGCAGG
GCAAGCGGTACGACGAGGCCTGCGCCGAGATCT
ACGGCGACCACTACGGCAAGAAGAACACCGAGG
AGAAGATCTACCTGCCCCCCATCCCCGCCGACGA
GATCCGGAACCCCGTGGTGCTGCGGGCCCTGAGC
CAGGCCCGGAAGGTGATCAACGGCGTGGTGCGG
CGGTACGGCAGCCCCGCCCGGATCCACATCGAGA

CCGCCCCGGGAGGTGGGCAAGAGCTTCAAGGACC
GGAAGGAGATCGAGAAGCGGCAGGAGGAGAACC
GGAAGGACCGGGAGAAGGCCGCCCAAGTTCC
GGGAGTACTTCCCCAACTTCGTGGGCGAGCCCAA
GAGCAAGGACATCCTGAAGCTGCGGCTGTACGA
GCAGCAGCACGGCAAGTGCCTGTACAGCGGCAA
GGAGATCAACCTGGGCCGGCTGAACGAGAAGGG
CTACGTGGAGATCGACCACGCCCTGCCCTTCAGC
CGGACCTGGGACGACAGCTTCAACAACAAGGTG
CTGGTGCTGGGCAGCGAGAACCAGAACAAGGGC
AACCAGACCCCTACGAGTACTTCAACGGCAAGG
ACAACAGCCGGGAGTGGCAGGAGTTCAAGGCC
GGGTGGAGACCAGCCGTTCCCCGGAGCAAGA
AGCAGCGGATCCTGCTGCAGAAGTTCGACGAGG
ACGGCTTCAAGGAGCGGAACCTGAACGACACCC
GGTACGTGAACCGGTTCTGTGCCAGTTCGTGGC
CGACCGGATGCGGCTGACCGGCAAGGGCAAGAA
GCGGGTGTTCCGCCAGCAACGGCCAGATCACCAAC
CTGCTGCGGGGCTTCTGGGGCCTGCGGAAGGTGC
GGGCCGAGAACGACCGGCACCACGCCCTGGACG
CCGTGGTGGTGGCCTGCAGCACCGTGGCCATGCA
GCAGAAGATCACCCGGTTCGTGCGGTACAAGGA
GATGAACGCCTTCGACGGCAAGACCATCGACAA
GGAGACCGGCGAGGTGCTGCACCAGAAGACCCA
CTTCCCCAGCCCTGGGAGTTCTTCGCCCAGGAG
GTGATGATCCGGGTGTTCCGGCAAGCCCGACGGCA
AGCCCGAGTTCGAGGAGGCCGACACCCTGGAGA
AGCTGCGGACCCTGCTGGCCGAGAAGCTGAGCA
GCCGGCCCGAGGCCGTGCACGAGTACGTGACCCC
CCTGTTTCGTGAGCCGGGCCCCCAACCGGAAGATG
AGCGGCCAGGGCCACATGGAGACCGTGAAGAGC
GCCAAGCGGCTGGACGAGGGCGTGAGCGTGCTG
CGGGTGCCCTGACCCAGCTGAAGCTGAAGGACC
TGGAGAAGATGGTGAACCGGGAGCGGGAGCCCA
AGCTGTACGAGGCCCTGAAGGCCCGGCTGGAGG

	<p>CCCACAAGGACGACCCCGCCAAGGCCTTCGCCGA GCCCTTCTACAAGTACGACAAGGCCGGCAACCGG ACCCAGCAGGTGAAGGCCGTGCGGGTGGAGCAG GTGCAGAAGACCGGCGTGTGGGTGCGGAACCAC AACGGCATCGCCGACAACGCCACCATGGTGCGG GTGGACGTGTTCGAGAAGGGCGACAAGTACTACC TGGTGCCCATCTACAGCTGGCAGGTGGCCAAGGG CATCCTGCCCCGACCGGGCCGTGGTGCAGGGCAAG GACGAGGAGGACTGGCAGCTGATCGACGACAGC TTCAACTTCAAGTTCAGCCTGCACCCCAACGACC TGGTGGAGGTGATCACCAAGAAGGCCCGGATGTT CGGCTACTTCGCCAGCTGCCACCGGGGCACCGGC AACATCAACATCCGGATCCACGACCTGGACCACA AGATCGGCAAGAACGGCATCCTGGAGGGCATCG GCGTGAAGACCGCCCTGAGCTTCCAGAAGTACCA GATCGACGAGCTGGGCAAGGAGATCCGGCCCTG CCGGCTGAAGAAGCGGCCCCCGTGCGGAGCGG CAAGCGGACCGCCGACGGCAGCGAGTTCGAGAG CCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTGGAGTGA</p>	
	Не используется	330-345
<p>Cas9 OPC с использованием кодонов с низким содержанием А из Таблицы 5 (без старт-кодонов или стоп-кодонов; подходит для включения в последовательность, кодирующую</p>	<p>GACAAGAAGTACTCCATCGGCCTGGACATCGGCA CCAACTCCGTGGGCTGGGCCGTGATCACCGACGA GTACAAGGTGCCCTCCAAGAAGTTCAAGGTGCTG GGCAACACCGACCGGCACTCCATCAAGAAGAAC CTGATCGGCGCCCTGCTGTTCGACTCCGGCGAGA CCGCCGAGGCCACCCGGCTGAAGCGGACCGCCC GGCGGCGGTACACCCGGCGGAAGAACCGGATCT GCTACCTGCAGGAGATCTTCTCCAACGAGATGGC CAAGGTGGACGACTCCTTCTTCCACCGGCTGGAG GAGTCCTTCTGGTGGAGGAGGACAAGAAGCAC GAGCGGCACCCATCTTCGGCAACATCGTGGACG</p>	346

слитый белок)

AGGTGGCCTACCACGAGAAGTACCCACCATCTA
CCACCTGCGGAAGAAGCTGGTGGACTCCACCGAC
AAGGCCGACCTGCGGCTGATCTACCTGGCCCTGG
CCCACATGATCAAGTTCGGGGGCCACTTCCTGAT
CGAGGGCGACCTGAACCCCGACAACCTCCGACGTG
GACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTGCAGACCTACA
ACCAGCTGTTCGAGGAGAACCCCATCAACGCCTC
CGGCGTGGACGCCAAGGCCATCCTGTCCGCCCGG
CTGTCCAAGTCCCGGCGGCTGGAGAACCTGATCG
CCCAGCTGCCCCGGCGAGAAGAAGAACGGCCTGTT
CGGCAACCTGATCGCCCTGTCCCTGGGCCTGACC
CCCAACTTCAAGTCCAACTTCGACCTGGCCGAGG
ACGCCAAGCTGCAGCTGTCCAAGGACACCTACGA
CGACGACCTGGACAACCTGCTGGCCCAGATCGGC
GACCAGTACGCCGACCTGTTCCCTGGCCGCCAAGA
ACCTGTCCGACGCCATCCTGCTGTCCGACATCCT
GCGGGTGAACACCGAGATCACCAAGGCCCCCTG
TCCGCCTCCATGATCAAGCGGTACGACGAGCACC
ACCAGGACCTGACCCTGCTGAAGGCCCTGGTGCG
GCAGCAGCTGCCCCGAGAAGTACAAGGAGATCTTC
TTCGACCAGTCCAAGAACGGCTACGCCGGCTACA
TCGACGGCGGCGCCTCCCAGGAGGAGTTCTACAA
GTTTCATCAAGCCCATCCTGGAGAAGATGGACGGC
ACCGAGGAGCTGCTGGTGAAGCTGAACCGGGAG
GACCTGCTGCGGAAGCAGCGGACCTTCGACAACG
GCTCCATCCCCCACCAGATCCACCTGGGCGAGCT
GCACGCCATCCTGCGGCGGCAGGAGGACTTCTAC
CCCTTCCTGAAGGACAACCGGGAGAAGATCGAG
AAGATCCTGACCTTCCGGATCCCCTACTACGTGG
GCCCCCTGGCCCCGGGGCAACTCCCGGTTTCGCCTG
GATGACCCGGAAGTCCGAGGAGACCATCACCCCC
TGGAACTTCGAGGAGGTGGTGGACAAGGGCGCC
TCCGCCCAGTCCTTCATCGAGCGGATGACCAACT
TCGACAAGAACCTGCCCAACGAGAAGGTGCTGCC
CAAGCACTCCCTGCTGTACGAGTACTTCACCGTG

TACAACGAGCTGACCAAGGTGAAGTACGTGACC
GAGGGCATGCGGAAGCCCGCCTTCCTGTCCGGCG
AGCAGAAGAAGGCCATCGTGGACCTGCTGTTCAA
GACCAACCGGAAGGTGACCGTGAAGCAGCTGAA
GGAGGACTACTTCAAGAAGATCGAGTGCTTCGAC
TCCGTGGAGATCTCCGGCGTGGAGGACCGGTTCA
ACGCCTCCCTGGGCACCTACCACGACCTGCTGAA
GATCATCAAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGA
GGAGAACGAGGACATCCTGGAGGACATCGTGCT
GACCCTGACCCTGTTCGAGGACCGGGAGATGATC
GAGGAGCGGCTGAAGACCTACGCCACCTGTTCG
ACGACAAGGTGATGAAGCAGCTGAAGCGGCGGC
GGTACACCGGCTGGGGCCGGCTGTCCCGGAAGCT
GATCAACGGCATCCGGGACAAGCAGTCCGGCAA
GACCATCCTGGACTTCCTGAAGTCCGACGGCTTC
GCCAACCGGAACTTCATGCAGCTGATCCACGACG
ACTCCCTGACCTTCAAGGAGGACATCCAGAAGGC
CCAGGTGTCCGGCCAGGGCGACTCCCTGCACGAG
CACATCGCCAACCTGGCCGGCTCCCCCGCCATCA
AGAAGGGCATCCTGCAGACCGTGAAGGTGGTGG
ACGAGCTGGTGAAGGTGATGGGCCGGCACAAGC
CCGAGAACATCGTGATCGAGATGGCCCCGGGAGA
ACCAGACCACCCAGAAGGGCCAGAAGAACTCCC
GGGAGCGGATGAAGCGGATCGAGGAGGGCATCA
AGGAGCTGGGCTCCAGATCCTGAAGGAGCACCC
CGTGGAGAACACCCAGCTGCAGAACGAGAAGCT
GTACCTGTACTACCTGCAGAACGGCCGGGACATG
TACGTGGACCAGGAGCTGGACATCAACCGGCTGT
CCGACTACGACGTGGACCACATCGTGCCCCAGTC
CTTCCTGAAGGACGACTCCATCGACAACAAGGTG
CTGACCCGGTCCGACAAGAACCGGGGCAAGTCC
GACAACGTGCCCTCCGAGGAGGTGGTGAAGAAG
ATGAAGAATACTGGCGGCAGCTGCTGAACGCCA
AGCTGATCACCCAGCGGAAGTTCGACAACCTGAC
CAAGGCCGAGCGGGGCGGCCTGTCCGAGCTGGA

CAAGGCCGGCTTCATCAAGCGGCAGCTGGTGGAG
ACCCGGCAGATCACCAAGCACGTGGCCCAGATCC
TGGACTCCCGGATGAACACCAAGTACGACGAGA
ACGACAAGCTGATCCGGGAGGTGAAGGTGATCA
CCCTGAAGTCCAAGCTGGTGTCCGACTTCCGGAA
GGACTTCCAGTTCTACAAGGTGCGGGAGATCAAC
AACTACCACCACGCCCACGACGCCTACCTGAACG
CCGTGGTGGGCACCGCCCTGATCAAGAAGTACCC
CAAGCTGGAGTCCGAGTTCGTGTACGGCGACTAC
AAGGTGTACGACGTGCGGAAGATGATCGCCAAG
TCCGAGCAGGAGATCGGCAAGGCCACCGCCAAG
TACTTCTTCTACTCCAACATCATGAACTTCTTCAA
GACCGAGATCACCTGGCCAACGGCGAGATCCG
GAAGCGGCCCTGATCGAGACCAACGGCGAGAC
CGGCGAGATCGTGTGGGACAAGGGCCGGGACTT
CGCCACCGTGCGGAAGGTGCTGTCCATGCCCCAG
GTGAACATCGTGAAGAAGACCGAGGTGCAGACC
GGCGGCTTCTCCAAGGAGTCCATCCTGCCCAAGC
GGA ACTCCGACAAGCTGATCGCCCCGGAAGAAGG
ACTGGGACCCCAAGAAGTACGGCGGCTTCGACTC
CCCCACCGTGGCCTACTCCGTGCTGGTGGTGGCC
AAGGTGGAGAAGGGCAAGTCCAAGAAGCTGAAG
TCCGTGAAGGAGCTGCTGGGCATCACCATCATGG
AGCGGTCCTCCTTCGAGAAGAACCCCATCGACTT
CCTGGAGGCCAAGGGCTACAAGGAGGTGAAGAA
GGACCTGATCATCAAGCTGCCCAAGTACTCCCTG
TTCGAGCTGGAGAACGGCCGGAAGCGGATGCTG
GCCTCCGCCGGCGAGCTGCAGAAGGGCAACGAG
CTGGCCCTGCCCTCCAAGTACGTGAACTTCCTGT
ACCTGGCCTCCC ACTACGAGAAGCTGAAGGGCTC
CCCCGAGGACAACGAGCAGAAGCAGCTGTTCGT
GGAGCAGCACAAGCACTACCTGGACGAGATCAT
CGAGCAGATCTCCGAGTTCTCCAAGCGGGTGATC
CTGGCCGACGCCAACCTGGACAAGGTGCTGTCCG
CCTACAACAAGCACCGGGACAAGCCCATCCGGG

	AGCAGGCCGAGAACATCATCCACCTGTTACCCCT GACCAACCTGGGCGCCCCCGCCGCCTTCAAGTAC TTCGACACCACCATCGACCGGAAGCGGTACACCT CCACCAAGGAGGTGCTGGACGCCACCCTGATCCA CCAGTCCATCACCGGCCTGTACGAGACCCGGATC GACCTGTCCCAGCTGGGCGGCGACGGCGGGCGGCT CCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTG	
<p>Cas9 OPC с использованием кодонов с низким содержанием A/U из Таблицы 5 (без старт-кодонов или стоп-кодонов; подходит для включения в последовательность, кодирующую слитый белок)</p>	GACAAGAAGTACAGCATCGGCCTGGACATCGGC ACCAACAGCGTGGGCTGGGCCGTGATCACCGACG AGTACAAGGTGCCAGCAAGAAGTTCAAGGTGCT GGGCAACACCGACCGGCACAGCATCAAGAAGAA CCTGATCGGGCGCCCTGCTGTTTCGACAGCGGCGAG ACCGCCGAGGCCACCCGGCTGAAGCGGACCGCC CGGCGGGCGGTACACCCGGCGGAAGAACCGGATC TGCTACCTGCAGGAGATCTTCAGCAACGAGATGG CCAAGGTGGACGACAGCTTCTTCCACCGGCTGGA GGAGAGCTTCTGGTGGAGGAGGACAAGAAGCA CGAGCGGCACCCCATCTTCGGCAACATCGTGGAC GAGGTGGCCTACCACGAGAAGTACCCACCATCT ACCACCTGCGGAAGAAGCTGGTGGACAGCACCG ACAAGGCCGACCTGCGGCTGATCTACCTGGCCCT GGCCACATGATCAAGTTCGGGGGCCACTTCCTG ATCGAGGGCGACCTGAACCCCGACAACAGCGAC GTGGACAAGCTGTTTCATCCAGCTGGTGCAGACCT ACAACCAGCTGTTTCGAGGAGAACCCCATCAACGC CAGCGGCGTGGACGCCAAGGCCATCCTGAGCGCC CGGCTGAGCAAGAGCCGGCGGCTGGAGAACCTG ATCGCCCAGCTGCCCGGCGAGAAGAAGAACGGC CTGTTTCGGCAACCTGATCGCCCTGAGCCTGGGCC TGACCCCCAACTTCAAGAGCAACTTCGACCTGGC CGAGGACGCCAAGCTGCAGCTGAGCAAGGACAC CTACGACGACGACCTGGACAACCTGCTGGCCCAG ATCGGCGACCAGTACGCCGACCTGTTCTGGCCG CCAAGAACCTGAGCGACGCCATCCTGCTGAGCGA CATCCTGCGGGTGAACACCGAGATCACCAAGGCC	347

CCCCTGAGCGCCAGCATGATCAAGCGGTACGACG
AGCACCACCAGGACCTGACCCTGCTGAAGGCCCT
GGTGCGGCAGCAGCTGCCCGAGAAGTACAAGGA
GATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGCTACGCC
GGCTACATCGACGGCGGCCAGCCAGGAGGAG
TTCTACAAGTTCATCAAGCCCATCCTGGAGAAGA
TGGACGGCACCGAGGAGCTGCTGGTGAAGCTGA
ACCGGGAGGACCTGCTGCGGAAGCAGCGGACCT
TCGACAACGGCAGCATCCCCACCAGATCCACCT
GGGCGAGCTGCACGCCATCCTGCGGCGGCAGGA
GGACTTCTACCCCTTCCTGAAGGACAACCGGGAG
AAGATCGAGAAGATCCTGACCTTCCGGATCCCCT
ACTACGTGGGCCCCCTGGCCCGGGGCAACAGCCG
GTTCGCCTGGATGACCCGGAAGAGCGAGGAGAC
CATCACCCCTGGAACCTTCGAGGAGGTGGTGGAC
AAGGGCGCCAGCGCCCAGAGCTTCATCGAGCGG
ATGACCAACTTCGACAAGAACCTGCCCAACGAGA
AGGTGCTGCCCAAGCACAGCCTGCTGTACGAGTA
CTTCACCGTGTACAACGAGCTGACCAAGGTGAAG
TACGTGACCGAGGGCATGCGGAAGCCCGCCTTCC
TGAGCGGCGAGCAGAAGAAGGCCATCGTGGACC
TGCTGTTCAAGACCAACCGGAAGGTGACCGTGAA
GCAGCTGAAGGAGGACTACTTCAAGAAGATCGA
GTGCTTCGACAGCGTGGAGATCAGCGGCGTGGAG
GACCGGTTCAACGCCAGCCTGGGCACCTACCACG
ACCTGCTGAAGATCATCAAGGACAAGGACTTCCT
GGACAACGAGGAGAACGAGGACATCCTGGAGGA
CATCGTGCTGACCCTGACCCTGTTCGAGGACCGG
GAGATGATCGAGGAGCGGCTGAAGACCTACGCC
CACCTGTTCGACGACAAGGTGATGAAGCAGCTGA
AGCGGCGGCGGTACACCGGCTGGGGCCGGCTGA
GCCGGAAGCTGATCAACGGCATCCGGGACAAGC
AGAGCGGCAAGACCATCCTGGACTTCCTGAAGAG
CGACGGCTTCGCCAACCGGAACTTCATGCAGCTG
ATCCACGACGACAGCCTGACCTTCAAGGAGGACA

TCCAGAAGGCCAGGTGAGCGGCCAGGGCGACA
GCCTGCACGAGCACATCGCCAACCTGGCCGGCAG
CCCCGCCATCAAGAAGGGCATCCTGCAGACCGTG
AAGGTGGTGGACGAGCTGGTGAAGGTGATGGGC
CGGCACAAGCCCGAGAACATCGTGATCGAGATG
GCCCCGGGAGAACCAGACCACCCAGAAGGGCCAG
AAGAACAGCCGGGAGCGGATGAAGCGGATCGAG
GAGGGCATCAAGGAGCTGGGCAGCCAGATCCTG
AAGGAGCACCCCGTGGAGAACACCCAGCTGCAG
AACGAGAAGCTGTACCTGTACTACCTGCAGAACG
GCCGGGACATGTACGTGGACCAGGAGCTGGACA
TCAACCGGCTGAGCGACTACGACGTGGACCACAT
CGTGCCCCAGAGCTTCCTGAAGGACGACAGCATC
GACAACAAGGTGCTGACCCGGAGCGACAAGAAC
CGGGGCAAGAGCGACAACGTGCCAGCGAGGAG
GTGGTGAAGAAGATGAAGA ACTACTGGCGGCAG
CTGCTGAACGCCAAGCTGATCACCCAGCGGAAGT
TCGACAACCTGACCAAGGCCGAGCGGGGCGGCC
TGAGCGAGCTGGACAAGGCCGGCTTCATCAAGCG
GCAGCTGGTGGAGACCCGGCAGATCACCAAGCA
CGTGGCCCAGATCCTGGACAGCCGGATGAACACC
AAGTACGACGAGAACGACAAGCTGATCCGGGAG
GTGAAGGTGATCACCTGAAGAGCAAGCTGGTG
AGCGACTTCCGGAAGGACTTCCAGTTCTACAAGG
TGCGGGAGATCAACA ACTACCACCACGCCACGA
CGCCTACCTGAACGCCGTGGTGGGCACCGCCCTG
ATCAAGAAGTACCCCAAGCTGGAGAGCGAGTTC
GTGTACGGCGACTACAAGGTGTACGACGTGCGGA
AGATGATCGCCAAGAGCGAGCAGGAGATCGGCA
AGGCCACCGCCAAGTACTTCTTCTACAGCAACAT
CATGAACTTCTTCAAGACCGAGATCACCTGGCC
AACGGCGAGATCCGGAAGCGGCCCTGATCGAG
ACCAACGGCGAGACCGGCGAGATCGTGTGGGAC
AAGGGCCGGGACTTCGCCACCGTGCGGAAGGTG
CTGAGCATGCCCCAGGTGAACATCGTGAAGAAG

	ACCGAGGTGCAGACCGGCGGCTTCAGCAAGGAG AGCATCCTGCCAAGCGGAACAGCGACAAGCTG ATCGCCCGGAAGAAGGACTGGGACCCCAAGAAG TACGGCGGCTTCGACAGCCCCACCGTGGCCTACA GCGTGCTGGTGGTGGCCAAGGTGGAGAAGGGCA AGAGCAAGAAGCTGAAGAGCGTGAAGGAGCTGC TGGGCATCACCATCATGGAGCGGAGCAGCTTCGA GAAGAACCCCATCGACTTCCTGGAGGCCAAGGGC TACAAGGAGGTGAAGAAGGACCTGATCATCAAG CTGCCCAAGTACAGCCTGTTTCGAGCTGGAGAACG GCCGGAAGCGGATGCTGGCCAGCGCCGGCGAGC TGCAGAAGGGCAACGAGCTGGCCCTGCCCAGCA AGTACGTGAACTTCCTGTACCTGGCCAGCCACTA CGAGAAGCTGAAGGGCAGCCCCGAGGACAACGA GCAGAAGCAGCTGTTCGTGGAGCAGCACAAAGCA CTACCTGGACGAGATCATCGAGCAGATCAGCGAG TTCAGCAAGCGGGTGATCCTGGCCGACGCCAACC TGGACAAGGTGCTGAGCGCCTACAACAAGCACC GGGACAAGCCCATCCGGGAGCAGGCCGAGAACA TCATCCACCTGTTACCCTGACCAACCTGGGCGC CCCCGCCGCTTCAAGTACTTCGACACCACCATC GACCGGAAGCGGTACACCAGCACCAAGGAGGTG CTGGACGCCACCCTGATCCACCAGAGCATCACCG GCCTGTACGAGACCCGGATCGACCTGAGCCAGCT GGGCGGCGACGGCGGGCAGCCCCAAGAAGAA GCCGAAGGTG	
Cas9 OPC с использованием кодонов с низким содержанием А из Таблицы 5, с двумя С-концевыми последовательности ми NLS (без старт- кодонов или стоп-	GACAAGAAGTACTCCATCGGCCTGGACATCGGCA CCA ACTCCGTGGGCTGGGCCGTGATCACCGACGA GTACAAGGTGCCCTCCAAGAAGTTCAAGGTGCTG GGCAACACCGACCGGCACTCCATCAAGAAGAAC CTGATCGGCGCCCTGCTGTTTCGACTCCGGCGAGA CCGCCGAGGCCACCCGGCTGAAGCGGACCGCCC GGCGGGCGGTACACCCGGCGGAAGAACCGGATCT GCTACCTGCAGGAGATCTTCTCCAACGAGATGGC CAAGGTGGACGACTCCTTCTTCCACCGGCTGGAG	348

кодонов; подходит для включения в последовательность, кодирующую слитый белок)	GAGTCCTTCCTGGTGGAGGAGGACAAGAAGCAC GAGCGGCACCCCATCTTCGGCAACATCGTGGACG AGGTGGCCTACCACGAGAAGTACCCCACCATCTA CCACCTGCGGAAGAAGCTGGTGGACTCCACCGAC AAGGCCGACCTGCGGCTGATCTACCTGGCCCTGG CCCACATGATCAAGTTCGGGGGCCACTTCCTGAT CGAGGGCGACCTGAACCCCGACAACCTCCGACGTG GACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTGCAGACCTACA ACCAGCTGTTCGAGGAGAACCCCATCAACGCCTC CGGCGTGGACGCCAAGGCCATCCTGTCCGCCCGG CTGTCCAAGTCCCGGCGGCTGGAGAACCTGATCG CCCAGCTGCCCCGGCGAGAAGAAGAACGGCCTGTT CGGCAACCTGATCGCCCTGTCCCTGGGCCTGACC CCCAACTTCAAGTCCAACCTTCGACCTGGCCGAGG ACGCCAAGCTGCAGCTGTCCAAGGACACCTACGA CGACGACCTGGACAACCTGCTGGCCCAGATCGGC GACCAGTACGCCGACCTGTTCTGGCCGCCAAGA ACCTGTCCGACGCCATCCTGCTGTCCGACATCCT GCGGGTGAACACCGAGATCACCAAGGCCCCCTG TCCGCCTCCATGATCAAGCGGTACGACGAGCACC ACCAGGACCTGACCCTGCTGAAGGCCCTGGTGGC GCAGCAGCTGCCCCGAGAAGTACAAGGAGATCTTC TTCGACCAGTCCAAGAACGGCTACGCCGGCTACA TCGACGGCGGCGCCTCCCAGGAGGAGTTCTACAA GTTTCATCAAGCCCATCCTGGAGAAGATGGACGGC ACCGAGGAGCTGCTGGTGAAGCTGAACCGGGAG GACCTGCTGCGGAAGCAGCGGACCTTCGACAACG GCTCCATCCCCCACCAGATCCACCTGGGCGAGCT GCACGCCATCCTGCGGCGGCAGGAGGACTTCTAC CCCTTCCTGAAGGACAACCGGGAGAAGATCGAG AAGATCCTGACCTTCCGGATCCCCTACTACGTGG GCCCCCTGGCCCGGGGCAACTCCCGGTTTCGCCTG GATGACCCGGAAGTCCGAGGAGACCATCACCCCC TGGAACCTTCGAGGAGGTGGTGGACAAGGGCGCC TCCGCCCAGTCCTTCATCGAGCGGATGACCAACT	
--	---	--

TCGACAAGAACCTGCCCAACGAGAAGGTGCTGCC
CAAGCACTCCCTGCTGTACGAGTACTTCACCGTG
TACAACGAGCTGACCAAGGTGAAGTACGTGACC
GAGGGCATGCGGAAGCCCGCCTTCCTGTCCGGCG
AGCAGAAGAAGGCCATCGTGGACCTGCTGTTCAA
GACCAACCGGAAGGTGACCGTGAAGCAGCTGAA
GGAGGACTACTTCAAGAAGATCGAGTGCTTCGAC
TCCGTGGAGATCTCCGGCGTGGAGGACCGGTTCA
ACGCCTCCCTGGGCACCTACCACGACCTGCTGAA
GATCATCAAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGA
GGAGAACGAGGACATCCTGGAGGACATCGTGCT
GACCCTGACCCTGTTCGAGGACCGGGAGATGATC
GAGGAGCGGCTGAAGACCTACGCCACCTGTTCG
ACGACAAGGTGATGAAGCAGCTGAAGCGGCGGC
GGTACACCGGCTGGGGCCGGCTGTCCCGGAAGCT
GATCAACGGCATCCGGGACAAGCAGTCCGGCAA
GACCATCCTGGACTTCCTGAAGTCCGACGGCTTC
GCCAACCGGAACTTCATGCAGCTGATCCACGACG
ACTCCCTGACCTTCAAGGAGGACATCCAGAAGGC
CCAGGTGTCCGGCCAGGGCGACTCCCTGCACGAG
CACATCGCCAACCTGGCCGGCTCCCCCGCCATCA
AGAAGGGCATCCTGCAGACCGTGAAGGTGGTGG
ACGAGCTGGTGAAGGTGATGGGCCGGCACAAGC
CCGAGAACATCGTGATCGAGATGGCCCGGGAGA
ACCAGACCACCCAGAAGGGCCAGAAGAACTCCC
GGGAGCGGATGAAGCGGATCGAGGAGGGCATCA
AGGAGCTGGGCTCCAGATCCTGAAGGAGCACCC
CGTGGAGAACACCCAGCTGCAGAACGAGAAGCT
GTACCTGTACTACCTGCAGAACGGCCGGGACATG
TACGTGGACCAGGAGCTGGACATCAACCGGCTGT
CCGACTACGACGTGGACCACATCGTGCCCCAGTC
CTTCCTGAAGGACGACTCCATCGACAACAAGGTG
CTGACCCGGTCCGACAAGAACCGGGGCAAGTCC
GACAACGTGCCCTCCGAGGAGGTGGTGAAGAAG
ATGAAGAATACTGGCGGCAGCTGCTGAACGCCA

AGCTGATCACCCAGCGGAAGTTCGACAACCTGAC
CAAGGCCGAGCGGGGCGGCCTGTCCGAGCTGGA
CAAGGCCGGCTTCATCAAGCGGCAGCTGGTGGAG
ACCCGGCAGATACCAAGCACGTGGCCAGATCC
TGGACTCCCGGATGAACACCAAGTACGACGAGA
ACGACAAGCTGATCCGGGAGGTGAAGGTGATCA
CCCTGAAGTCCAAGCTGGTGTCCGACTTCCGGAA
GGACTTCCAGTTCTACAAGGTGCGGGAGATCAAC
AACTACCACCACGCCCACGACGCCTACCTGAACG
CCGTGGTGGGCACCGCCCTGATCAAGAAGTACCC
CAAGCTGGAGTCCGAGTTCGTGTACGGCGACTAC
AAGGTGTACGACGTGCGGAAGATGATCGCCAAG
TCCGAGCAGGAGATCGGCAAGGCCACCGCCAAG
TACTTCTTCTACTCCAACATCATGAACTTCTTCAA
GACCGAGATCACCTGGCCAACGGCGAGATCCG
GAAGCGGCCCTGATCGAGACCAACGGCGAGAC
CGGCGAGATCGTGTGGGACAAGGGCCGGGACTT
CGCCACCGTGCGGAAGGTGCTGTCCATGCCCCAG
GTGAACATCGTGAAGAAGACCGAGGTGCAGACC
GGCGGCTTCTCCAAGGAGTCCATCCTGCCCAAGC
GGAACTCCGACAAGCTGATCGCCCGGAAGAAGG
ACTGGGACCCCAAGAAGTACGGCGGCTTCGACTC
CCCCACCGTGGCCTACTCCGTGCTGGTGGTGGCC
AAGGTGGAGAAGGGCAAGTCCAAGAAGCTGAAG
TCCGTGAAGGAGCTGCTGGGCATCACCATCATGG
AGCGGTCCTCCTTCGAGAAGAACCCCATCGACTT
CCTGGAGGCCAAGGGCTACAAGGAGGTGAAGAA
GGACCTGATCATCAAGCTGCCCAAGTACTCCCTG
TTCGAGCTGGAGAACGGCCGGAAGCGGATGCTG
GCCTCCGCCGGCGAGCTGCAGAAGGGCAACGAG
CTGGCCCTGCCCTCCAAGTACGTGAACTTCCTGT
ACCTGGCCTCCCACTACGAGAAGCTGAAGGGCTC
CCCCGAGGACAACGAGCAGAAGCAGCTGTTTCGT
GGAGCAGCACAAGCACTACCTGGACGAGATCAT
CGAGCAGATCTCCGAGTTCTCCAAGCGGGTGATC

	<p>CTGGCCGACGCCAACCTGGACAAGGTGCTGTCCG CCTACAACAAGCACCGGGACAAGCCCATCCGGG AGCAGGCCGAGAACATCATCCACCTGTTCACCCT GACCAACCTGGGCGCCCCCGCCGCCTTCAAGTAC TTCGACACCACCATCGACCGGAAGCGGTACACCT CCACCAAGGAGGTGCTGGACGCCACCCTGATCCA CCAGTCCATCACCGGCCTGTACGAGACCCGGATC GACCTGTCCCAGCTGGGCGGCGACGGCTCCGGCT CCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTGGACGGCTCCC CCAAGAAGAAGCGGAAGGTGGACTCCGGC</p>	
	Не используется	349-355
<p>Cas9 OPC с использованием кодонов с низким содержанием A/U из Таблицы 4, с двумя С-концевыми последовательности ми NLS (без старт- кодонов или стоп- кодонов; подходит для включения в последовательность, кодирующую слитый белок)</p>	<p>GACAAGAAGTACAGCATCGGCCTGGACATCGGC ACCAACAGCGTGGGCTGGGCCGTGATCACCGACG AGTACAAGGTGCCAGCAAGAAGTTCAAGGTGCT GGGCAACACCGACCGGCACAGCATCAAGAAGAA CCTGATCGGCGCCCTGCTGTTCGACAGCGGCGAG ACCGCCGAGGCCACCCGGCTGAAGCGGACCGCC CGGCGGCGGTACACCCGGCGGAAGAACCGGATC TGCTACCTGCAGGAGATCTTCAGCAACGAGATGG CCAAGGTGGACGACAGCTTCTTCCACCGGCTGGA GGAGAGCTTCTGGTGGAGGAGGACAAGAAGCA CGAGCGGCACCCCATCTTCGGCAACATCGTGGAC GAGGTGGCCTACCACGAGAAGTACCCACCATCT ACCACCTGCGGAAGAAGCTGGTGGACAGCACCG ACAAGGCCGACCTGCGGCTGATCTACCTGGCCCT GGCCACATGATCAAGTTCCGGGGCCACTTCCTG ATCGAGGGCGACCTGAACCCCGACAACAGCGAC GTGGACAAGCTGTTTCATCCAGCTGGTGCAGACCT ACAACCAGCTGTTTCGAGGAGAACCCCATCAACGC CAGCGGCGTGGACGCCAAGGCCATCCTGAGCGCC CGGCTGAGCAAGAGCCGGCGGCTGGAGAACCTG ATCGCCCAGCTGCCCGGCGAGAAGAAGAACGGC CTGTTTCGGCAACCTGATCGCCCTGAGCCTGGGCC</p>	355

TGACCCCCAACTTCAAGAGCAACTTCGACCTGGC
CGAGGACGCCAAGCTGCAGCTGAGCAAGGACAC
CTACGACGACGACCTGGACAACCTGCTGGCCCAG
ATCGGCGACCAGTACGCCGACCTGTTCTGGCCG
CCAAGAACCTGAGCGACGCCATCCTGCTGAGCGA
CATCCTGCGGGTGAACACCGAGATCACCAAGGCC
CCCCTGAGCGCCAGCATGATCAAGCGGTACGACG
AGCACCACCAGGACCTGACCCTGCTGAAGGCCCT
GGTGCGGCAGCAGCTGCCCGAGAAGTACAAGGA
GATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGCTACGCC
GGCTACATCGACGGCGGCCAGCCAGGAGGAG
TTCTACAAGTTCATCAAGCCCATCCTGGAGAAGA
TGGACGGCACCGAGGAGCTGCTGGTGAAGCTGA
ACCGGGAGGACCTGCTGCGGAAGCAGCGGACCT
TCGACAACGGCAGCATCCCCACCAGATCCACCT
GGGCGAGCTGCACGCCATCCTGCGGCGGCAGGA
GGACTTCTACCCCTTCCTGAAGGACAACCGGGAG
AAGATCGAGAAGATCCTGACCTTCCGGATCCCCT
ACTACGTGGGCCCCCTGGCCCCGGGGCAACAGCCG
GTTCGCCTGGATGACCCGGAAGAGCGAGGAGAC
CATCACCCCTGGA ACTTCGAGGAGGTGGTGGAC
AAGGGCGCCAGCGCCAGAGCTTCATCGAGCGG
ATGACCAACTTCGACAAGAACCTGCCCAACGAGA
AGGTGCTGCCCAAGCACAGCCTGCTGTACGAGTA
CTTACCGTGTACAACGAGCTGACCAAGGTGAAG
TACGTGACCGAGGGCATGCGGAAGCCCGCCTTCC
TGAGCGGCGAGCAGAAGAAGGCCATCGTGGACC
TGCTGTTCAAGACCAACCGGAAGGTGACCGTGAA
GCAGCTGAAGGAGGACTACTTCAAGAAGATCGA
GTGCTTCGACAGCGTGGAGATCAGCGGCGTGGAG
GACCGGTTCAACGCCAGCCTGGGCACCTACCACG
ACCTGCTGAAGATCATCAAGGACAAGGACTTCCT
GGACAACGAGGAGAACGAGGACATCCTGGAGGA
CATCGTGCTGACCCTGACCCTGTTCGAGGACCGG
GAGATGATCGAGGAGCGGCTGAAGACCTACGCC

CACCTGTTCGACGACAAGGTGATGAAGCAGCTGA
AGCGGCGGCGGTACACCGGCTGGGGCCGGCTGA
GCCGGAAGCTGATCAACGGCATCCGGGACAAGC
AGAGCGGCAAGACCATCCTGGACTTCTGAAGAG
CGACGGCTTCGCCAACCGGAACTTCATGCAGCTG
ATCCACGACGACAGCCTGACCTTCAAGGAGGACA
TCCAGAAGGCCAGGTGAGCGGCCAGGGGCGACA
GCCTGCACGAGCACATCGCCAACCTGGCCGGCAG
CCCCGCCATCAAGAAGGGCATCCTGCAGACCGTG
AAGGTGGTGGACGAGCTGGTGAAGGTGATGGGC
CGGCACAAGCCCAGAACATCGTGATCGAGATG
GCCCCGGGAGAACCAGACCACCCAGAAGGGCCAG
AAGAACAGCCGGGAGCGGATGAAGCGGATCGAG
GAGGGCATCAAGGAGCTGGGCAGCCAGATCCTG
AAGGAGCACCCCGTGGAGAACACCCAGCTGCAG
AACGAGAAGCTGTACCTGTACTACCTGCAGAACG
GCCGGGACATGTACGTGGACCAGGAGCTGGACA
TCAACCGGCTGAGCGACTACGACGTGGACCACAT
CGTGCCCCAGAGCTTCTGAAGGACGACAGCATC
GACAACAAGGTGCTGACCCGGAGCGACAAGAAC
CGGGGCAAGAGCGACAACGTGCCAGCGAGGAG
GTGGTGAAGAAGATGAAGAACTACTGGCGGCAG
CTGCTGAACGCCAAGCTGATCACCCAGCGGAAGT
TCGACAACCTGACCAAGGCCGAGCGGGGCGGCC
TGAGCGAGCTGGACAAGGCCGGCTTCATCAAGCG
GCAGCTGGTGGAGACCCGGCAGATCACCAAGCA
CGTGGCCCAGATCCTGGACAGCCGGATGAACACC
AAGTACGACGAGAACGACAAGCTGATCCGGGAG
GTGAAGGTGATCACCTGAAGAGCAAGCTGGTG
AGCGACTTCCGGAAGGACTTCCAGTTCTACAAGG
TGCGGGAGATCAACA ACTACCACCGCCACGA
CGCTACCTGAACGCCGTGGTGGGCACCGCCCTG
ATCAAGAAGTACCCAAGCTGGAGAGCGAGTTC
GTGTACGGCGACTACAAGGTGTACGACGTGCGGA
AGATGATCGCCAAGAGCGAGCAGGAGATCGGCA

	AGGCCACCGCCAAGTACTTCTTCTACAGCAACAT CATGAACTTCTTCAAGACCGAGATCACCTGGCC AACGGCGAGATCCGGAAGCGGCCCTGATCGAG ACCAACGGCGAGACCGGCGAGATCGTGTGGGAC AAGGGCCGGGACTTCGCCACCGTGCGGAAGGTG CTGAGCATGCCCCAGGTGAACATCGTGAAGAAG ACCGAGGTGCAGACCGGCGGCTTCAGCAAGGAG AGCATCCTGCCCAAGCGGAACAGCGACAAGCTG ATCGCCCGGAAGAAGGACTGGGACCCCAAGAAG TACGGCGGCTTCGACAGCCCCACCGTGGCCTACA GCGTGCTGGTGGTGGCCAAGGTGGAGAAGGGCA AGAGCAAGAAGCTGAAGAGCGTGAAGGAGCTGC TGGGCATCACCATCATGGAGCGGAGCAGCTTCGA GAAGAACCCCATCGACTTCCTGGAGGCCAAGGGC TACAAGGAGGTGAAGAAGGACCTGATCATCAAG CTGCCCAAGTACAGCCTGTTCGAGCTGGAGAACG GCCGGAAGCGGATGCTGGCCAGCGCCGGCGAGC TGCAGAAGGGCAACGAGCTGGCCCTGCCAGCA AGTACGTGAACTTCCTGTACCTGGCCAGCCACTA CGAGAAGCTGAAGGGCAGCCCCGAGGACAACGA GCAGAAGCAGCTGTTCGTGGAGCAGCACAAGCA CTACCTGGACGAGATCATCGAGCAGATCAGCGAG TTCAGCAAGCGGGTGATCCTGGCCGACGCCAACC TGGACAAGGTGCTGAGCGCCTACAACAAGCACC GGGACAAGCCCATCCGGGAGCAGGCCGAGAACA TCATCCACCTGTTACCCTGACCAACCTGGGCGC CCCCGCCGCCTTCAAGTACTTCGACACCACCATC GACCGGAAGCGGTACACCAGCACCAAGGAGGTG CTGGACGCCACCCTGATCCACCAGAGCATCACCG GCCTGTACGAGACCCGGATCGACCTGAGCCAGCT GGGCGGCGACGGCAGCGGCAGCCCCAAGAAGAA GCGGAAGGTGGACGGCAGCCCCAAGAAGAAGCG GAAGGTGGACAGCGGC	
Cas9 OPC с использованием	GACAAGAAGTACAGCATCGGCCTGGACATCGGC ACCAACAGCGTGGGCTGGGCCGTGATCACCGACG	356

<p>кодонов с низким содержанием A/U из Таблицы 4 (без NLS и без старт-кодонов или стоп-кодонов; подходит для включения в последовательность, кодирующую слитый белок)</p>	<p>AGTACAAGGTGCCAGCAAGAAGTTCAAGGTGCT GGGCAACACCGACCGGCACAGCATCAAGAAGAA CCTGATCGGGGCCCTGCTGTTTCGACAGCGGCGAG ACCGCCGAGGCCACCCGGCTGAAGCGGACCGCC CGGCGGCGGTACACCCGGCGGAAGAACCGGATC TGCTACCTGCAGGAGATCTTCAGCAACGAGATGG CCAAGGTGGACGACAGCTTCTTCCACCGGCTGGA GGAGAGCTTCTGGTGGAGGAGGACAAGAAGCA CGAGCGGCACCCCATCTTCGGCAACATCGTGGAC GAGGTGGCCTACCACGAGAAGTACCCACCATCT ACCACCTGCGGAAGAAGCTGGTGGACAGCACCG ACAAGGCCGACCTGCGGCTGATCTACCTGGCCCT GGCCACATGATCAAGTTCCGGGGCCACTTCCTG ATCGAGGGCGACCTGAACCCCGACAACAGCGAC GTGGACAAGCTGTTTCATCCAGCTGGTGCAGACCT ACAACCAGCTGTTCGAGGAGAACCCCATCAACGC CAGCGGCGTGGACGCCAAGGCCATCCTGAGCGCC CGGCTGAGCAAGAGCCGGCGGCTGGAGAACCTG ATCGCCCAGCTGCCCCGGCGAGAAGAAGAACGGC CTGTTTCGGCAACCTGATCGCCCTGAGCCTGGGCC TGACCCCCAACTTCAAGAGCAACTTCGACCTGGC CGAGGACGCCAAGCTGCAGCTGAGCAAGGACAC CTACGACGACGACCTGGACAACCTGCTGGCCCAG ATCGGCGACCAGTACGCCGACCTGTTCTGGCCG CCAAGAACCTGAGCGACGCCATCCTGCTGAGCGA CATCCTGCGGGTGAACACCGAGATACCAAGGCC CCCCTGAGCGCCAGCATGATCAAGCGGTACGACG AGCACCACCAGGACCTGACCCTGCTGAAGGCCCT GGTGCGGCAGCAGCTGCCCGAGAAGTACAAGGA GATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGCTACGCC GGCTACATCGACGGCGGCGCCAGCCAGGAGGAG TTCTACAAGTTCATCAAGCCCATCCTGGAGAAGA TGGACGGCACCGAGGAGCTGCTGGTGAAGCTGA ACCGGGAGGACCTGCTGCGGAAGCAGCGGACCT TCGACAACGGCAGCATCCCCACCAGATCCACCT</p>
---	---

GGGCGAGCTGCACGCCATCCTGCGGCGGCAGGA
GGACTTCTACCCCTTCCTGAAGGACAACCGGGAG
AAGATCGAGAAGATCCTGACCTTCCGGATCCCCT
ACTACGTGGGCCCCCTGGCCCGGGGCAACAGCCG
GTTCGCCTGGATGACCCGGAAGAGCGAGGAGAC
CATCACCCCTGGAACCTTCGAGGAGGTGGTGGAC
AAGGGCGCCAGCGCCAGAGCTTCATCGAGCGG
ATGACCAACTTCGACAAGAACCTGCCCAACGAGA
AGGTGCTGCCCAAGCACAGCCTGCTGTACGAGTA
CTTCACCGTGTACAACGAGCTGACCAAGGTGAAG
TACGTGACCGAGGGCATGCGGAAGCCCGCCTTCC
TGAGCGGCGAGCAGAAGAAGGCCATCGTGGACC
TGCTGTTCAAGACCAACCGGAAGGTGACCGTGAA
GCAGCTGAAGGAGGACTACTTCAAGAAGATCGA
GTGCTTCGACAGCGTGGAGATCAGCGGCGTGGAG
GACCGGTTCAACGCCAGCCTGGGCACCTACCACG
ACCTGCTGAAGATCATCAAGGACAAGGACTTCCT
GGACAACGAGGAGAACGAGGACATCCTGGAGGA
CATCGTGCTGACCCTGACCCTGTTCGAGGACCGG
GAGATGATCGAGGAGCGGCTGAAGACCTACGCC
CACCTGTTCGACGACAAGGTGATGAAGCAGCTGA
AGCGGCGGCGGTACACCGGCTGGGGCCGGCTGA
GCCGGAAGCTGATCAACGGCATCCGGGACAAGC
AGAGCGGCAAGACCATCCTGGACTTCCTGAAGAG
CGACGGCTTCGCCAACCGGAACTTCATGCAGCTG
ATCCACGACGACAGCCTGACCTTCAAGGAGGACA
TCCAGAAGGCCAGGTGAGCGGCCAGGGCGACA
GCCTGCACGAGCACATCGCCAACCTGGCCGGCAG
CCCCGCCATCAAGAAGGGCATCCTGCAGACCGTG
AAGGTGGTGGACGAGCTGGTGAAGGTGATGGGC
CGGCACAAGCCCGAGAACATCGTGATCGAGATG
GCCCCGGGAGAACCAGACCACCAGAAGGGCCAG
AAGAACAGCCGGGAGCGGATGAAGCGGATCGAG
GAGGGCATCAAGGAGCTGGGCAGCCAGATCCTG
AAGGAGCACCCCGTGGAGAACACCAGCTGCAG

AACGAGAAGCTGTACCTGTACTACCTGCAGAACG
GCCGGGACATGTACGTGGACCAGGAGCTGGACA
TCAACCGGCTGAGCGACTACGACGTGGACCACAT
CGTGCCCCAGAGCTTCCTGAAGGACGACAGCATC
GACAACAAGGTGCTGACCCGGAGCGACAAGAAC
CGGGGCAAGAGCGACAACGTGCCAGCGAGGAG
GTGGTGAAGAAGATGAAGAACTACTGGCGGCAG
CTGCTGAACGCCAAGCTGATCACCCAGCGGAAGT
TCGACAACCTGACCAAGGCCGAGCGGGGCGGCC
TGAGCGAGCTGGACAAGGCCGGCTTCATCAAGCG
GCAGCTGGTGGAGACCCGGCAGATCACCAAGCA
CGTGGCCCAGATCCTGGACAGCCGGATGAACACC
AAGTACGACGAGAACGACAAGCTGATCCGGGAG
GTGAAGGTGATCACCTGAAGAGCAAGCTGGTG
AGCGACTTCCGGAAGGACTTCCAGTTCTACAAGG
TGCGGGAGATCAACA ACTACCACCACGCCACGA
CGCCTACCTGAACGCCGTGGTGGGCACCGCCCTG
ATCAAGAAGTACCCCAAGCTGGAGAGCGAGTTC
GTGTACGGCGACTACAAGGTGTACGACGTGCGGA
AGATGATCGCCAAGAGCGAGCAGGAGATCGGCA
AGGCCACCGCCAAGTACTTCTTCTACAGCAACAT
CATGAACTTCTTCAAGACCGAGATCACCTGGCC
AACGGCGAGATCCGGAAGCGGCCCTGATCGAG
ACCAACGGCGAGACCGGCGAGATCGTGTGGGAC
AAGGGCCGGGACTTCGCCACCGTGCGGAAGGTG
CTGAGCATGCCCCAGGTGAACATCGTGAAGAAG
ACCGAGGTGCAGACCGGCGGCTTCAGCAAGGAG
AGCATCCTGCCCAAGCGGAACAGCGACAAGCTG
ATCGCCCGGAAGAAGGACTGGGACCCCAAGAAG
TACGGCGGCTTCGACAGCCCCACCGTGGCCTACA
GCGTGCTGGTGGTGGCCAAGGTGGAGAAGGGCA
AGAGCAAGAAGCTGAAGAGCGTGAAGGAGCTGC
TGGGCATCACCATCATGGAGCGGAGCAGCTTCGA
GAAGAACCCCATCGACTTCCTGGAGGCCAAGGGC
TACAAGGAGGTGAAGAAGGACCTGATCATCAAG

	<p>CTGCCCAAGTACAGCCTGTTCGAGCTGGAGAACG GCCGGAAGCGGATGCTGGCCAGCGCCGGCGAGC TGCAGAAGGGCAACGAGCTGGCCCTGCCAGCA AGTACGTGAACTTCCTGTACCTGGCCAGCCACTA CGAGAAGCTGAAGGGCAGCCCCGAGGACAACGA GCAGAAGCAGCTGTTCGTGGAGCAGCACAAGCA CTACCTGGACGAGATCATCGAGCAGATCAGCGAG TTCAGCAAGCGGGTGATCCTGGCCGACGCCAACC TGGACAAGGTGCTGAGCGCCTACAACAAGCACC GGGACAAGCCCATCCGGGAGCAGGCCGAGAACA TCATCCACCTGTTCACCCTGACCAACCTGGGCGC CCCCGCCGCCTTCAAGTACTTCGACACCACCATC GACCGGAAGCGGTACACCAGCACCAAGGAGGTG CTGGACGCCACCCTGATCCACCAGAGCATCACCG GCCTGTACGAGACCCGGATCGACCTGAGCCAGCT GGGCGGCGAC</p>	
	Не используется	357-362
<p>Nme Cas9 OPC с использованием кодонов с низким содержанием А из Таблицы 5 (без старт-кодонов или стоп-кодонов; подходит для включения в последовательность, кодирующую слитый белок)</p>	<p>GCCGCCTTCAAGCCCAACTCCATCAACTACATCC TGGGCCTGGACATCGGCATCGCCTCCGTGGGCTG GGCCATGGTGGAGATCGACGAGGAGGAGAACCC CATCCGGCTGATCGACCTGGGCGTGCGGGTGTTC GAGCGGGCCGAGGTGCCCAAGACCGGCGACTCC CTGGCCATGGCCC GGCGGCTGGCCCCGGTCCGTGC GGCGGCTGACCCGGCGGGCGGGCCCACCGGCTGCT GCGGACCCGGCGGCTGCTGAAGCGGGAGGGCGT GCTGCAGGCCGCCAACTTCGACGAGAACGGCCTG ATCAAGTCCCTGCCCAACACCCCCTGGCAGCTGC GGGCCGCCGCCCTGGACCGGAAGCTGACCCCCCT GGAGTGGTCCGCCGTGCTGCTGCACCTGATCAAG CACCGGGGCTACCTGTCCCAGCGGAAGAACGAG GGCGAGACCGCCGACAAGGAGCTGGGCGCCCTG CTGAAGGGCGTGGCCGGCAACGCCACGCCCTGC AGACCGGCGACTTCCGGACCCCCGCCGAGCTGGC CCTGAACAAGTTCGAGAAGGAGTCCGGCCACATC</p>	363

CGGAACCAGCGGTCCGACTACTCCCACACCTTCT
CCCGGAAGGACCTGCAGGCCGAGCTGATCCTGCT
GTTCGAGAAGCAGAAGGAGTTCGGCAACCCCCA
CGTGTCCGGCGGCCTGAAGGAGGGCATCGAGAC
CCTGCTGATGACCCAGCGGCCCGCCCTGTCCGGC
GACGCCGTGCAGAAGATGCTGGGCCACTGCACCT
TCGAGCCCGCCGAGCCCAAGGCCGCCAAGAACA
CCTACACCGCCGAGCGGTTCATCTGGCTGACCAA
GCTGAACAACCTGCGGATCCTGGAGCAGGGCTCC
GAGCGGCCCTGACCGACACCGAGCGGGCCACC
CTGATGGACGAGCCCTACCGGAAGTCCAAGCTGA
CCTACGCCCAGGCCCGGAAGCTGCTGGGCCTGGA
GGACACCGCCTTCTTCAAGGGCCTGCGGTACGGC
AAGGACAACGCCGAGGCCCTCCACCCTGATGGAG
ATGAAGGCCTACCACGCCATCTCCCGGGCCCTGG
AGAAGGAGGGCCTGAAGGACAAGAAGTCCCCC
TGAACCTGTCCCCCGAGCTGCAGGACGAGATCGG
CACCGCCTTCTCCCTGTTCAAGACCGACGAGGAC
ATCACCGGCCGGCTGAAGGACCGGATCCAGCCCG
AGATCCTGGAGGCCCTGCTGAAGCACATCTCCTT
CGACAAGTTCGTGCAGATCTCCCTGAAGGCCCTG
CGGCGGATCGTGCCCCTGATGGAGCAGGGCAAG
CGGTACGACGAGGCCTGCGCCGAGATCTACGGCG
ACCACTACGGCAAGAAGAACACCGAGGAGAAGA
TCTACCTGCCCCCATCCCCGCCGACGAGATCCG
GAACCCCGTGGTGCTGCGGGCCCTGTCCCAGGCC
CGGAAGGTGATCAACGGCGTGGTGCGGCGGTAC
GGCTCCCCCGCCCGGATCCACATCGAGACCGCCC
GGGAGGTGGGCAAGTCCTTCAAGGACCGGAAGG
AGATCGAGAAGCGGCAGGAGGAGAACCGGAAGG
ACCGGGAGAAGGCCGCCGCCAAGTTCCGGGAGT
ACTTCCCCAACTTCGTGGGCGAGCCCAAGTCCAA
GGACATCCTGAAGCTGCGGCTGTACGAGCAGCAG
CACGGCAAGTGCCTGTACTCCGGCAAGGAGATCA
ACCTGGGCCGGCTGAACGAGAAGGGCTACGTGG

AGATCGACCACGCCCTGCCCTTCTCCCGGACCTG
GGACGACTCCTTCAACAACAAGGTGCTGGTGCTG
GGCTCCGAGAACCAGAACAAGGGCAACCAGACC
CCCTACGAGTACTTCAACGGCAAGGACAACCTCCC
GGGAGTGGCAGGAGTTCAAGGCCCGGGTGGAGA
CCTCCCGGTTCCCCCGGTCCAAGAAGCAGCGGAT
CCTGCTGCAGAAGTTCGACGAGGACGGCTTCAAG
GAGCGGAACCTGAACGACACCCGGTACGTGAAC
CGGTTCTGTGCCAGTTCGTGGCCGACCGGATGC
GGCTGACCGGCAAGGGCAAGAAGCGGGTGTTCG
CCTCCAACGGCCAGATCACCAACCTGCTGCGGGG
CTTCTGGGGCCTGCGGAAGGTGCGGGCCGAGAAC
GACCGGCACCACGCCCTGGACGCCGTGGTGGTGG
CCTGCTCCACCGTGGCCATGCAGCAGAAGATCAC
CCGGTTCGTGCGGTACAAGGAGATGAACGCCTTC
GACGGCAAGACCATCGACAAGGAGACCGGCGAG
GTGCTGCACCAGAAGACCCACTTCCCCAGCCCT
GGGAGTTCTTCGCCAGGAGGTGATGATCCGGGT
GTTTCGGCAAGCCCGACGGCAAGCCCGAGTTCGAG
GAGGCCGACACCCTGGAGAAGCTGCGGACCCTG
CTGGCCGAGAAGCTGTCCTCCCGGCCCGAGGCCG
TGCACGAGTACGTGACCCCCCTGTTTCGTGTCCCG
GGCCCCAACCGGAAGATGTCCGGCCAGGGCCA
CATGGAGACCGTGAAGTCCGCCAAGCGGCTGGA
CGAGGGCGTGTCCGTGCTGCGGGTGCCCTGACC
CAGCTGAAGCTGAAGGACCTGGAGAAGATGGTG
AACCGGGAGCGGGAGCCCAAGCTGTACGAGGCC
CTGAAGGCCCGGCTGGAGGCCACAAGGACGAC
CCCGCCAAGGCCTTCGCCGAGCCCTTCTACAAGT
ACGACAAGGCCGGCAACCGGACCCAGCAGGTGA
AGGCCGTGCGGGTGGAGCAGGTGCAGAAGACCG
GCGTGTGGGTGCGGAACCACAACGGCATCGCCG
ACAACGCCACCATGGTGCGGGTGGACGTGTTCGA
GAAGGGCGACAAGTACTACCTGGTGCCCATCTAC
TCCTGGCAGGTGGCCAAGGGCATCCTGCCCGACC

	GGGCCGTGGTGCAGGGCAAGGACGAGGAGGACT GGCAGCTGATCGACGACTCCTTCAACTTCAAGTT CTCCCTGCACCCCAACGACCTGGTGGAGGTGATC ACCAAGAAGGCCCGGATGTTTCGGCTACTTCGCT CCTGCCACCGGGGCACCGGCAACATCAACATCCG GATCCACGACCTGGACCACAAGATCGGCAAGAA CGGCATCCTGGAGGGCATCGGCGTGAAGACCGCC CTGTCCTTCCAGAAGTACCAGATCGACGAGCTGG GCAAGGAGATCCGGCCCTGCCGGCTGAAGAAGC GGCCCCCGTGCGGTCCGGCAAGCGGACCGCCGA CGGCTCCGAGTTCGAGTCCCCCAAGAAGAAGCGG AAGGTGGAG	
Nme Cas9 OPC с использованием кодонов с низким содержанием A/U из Таблицы 5 (без старт-кодонов или стоп-кодонов; подходит для включения в последовательность, кодирующую слитый белок)	GCCGCCTTCAAGCCCAACAGCATCAACTACATCC TGGGCCTGGACATCGGCATCGCCAGCGTGGGCTG GGCCATGGTGGAGATCGACGAGGAGGAGAACCC CATCCGGCTGATCGACCTGGGCGTGCGGGTGTTT GAGCGGGCCGAGGTGCCCAAGACCGGCGACAGC CTGGCCATGGCCCGGCGGCTGGCCCGGAGCGTGC GGCGGCTGACCCGGCGGCGGGCCACCGGCTGCT GCGGACCCGGCGGCTGCTGAAGCGGGAGGGCGT GCTGCAGGCCGCCAACTTCGACGAGAACGGCCTG ATCAAGAGCCTGCCAACACCCCCTGGCAGCTGC GGGCCGCCGCCCTGGACCGGAAGCTGACCCCCCT GGAGTGGAGCGCCGTGCTGCTGCACCTGATCAAG CACCGGGGCTACCTGAGCCAGCGGAAGAACGAG GGCGAGACCGCCGACAAGGAGCTGGGCGCCCTG CTGAAGGGCGTGGCCGGCAACGCCACGCCCTGC AGACCGGCGACTTCCGGACCCCCGCCGAGCTGGC CCTGAACAAGTTCGAGAAGGAGAGCGGCCACAT CCGGAACCAGCGGAGCGACTACAGCCACACCTTC AGCCGGAAGGACCTGCAGGCCGAGCTGATCCTGC TGTTTCGAGAAGCAGAAGGAGTTCGGCAACCCCA CGTGAGCGGCGGCTGAAGGAGGGCATCGAGAC CCTGCTGATGACCCAGCGGCCCGCCCTGAGCGGC GACGCCGTGCAGAAGATGCTGGGCCACTGCACCT	364

TCGAGCCCGCCGAGCCCAAGGCCGCCAAGAACA
CCTACACCGCCGAGCGGTTTCATCTGGCTGACCAA
GCTGAACAACCTGCGGATCCTGGAGCAGGGCAG
CGAGCGGCCCTGACCGACACCGAGCGGGCCAC
CCTGATGGACGAGCCCTACCGGAAGAGCAAGCT
GACCTACGCCCAGGCCCGGAAGCTGCTGGGCCTG
GAGGACACCGCCTTCTTCAAGGGCCTGCGGTACG
GCAAGGACAACGCCGAGGCCAGCACCTGATGG
AGATGAAGGCCTACCACGCCATCAGCCGGGCCCT
GGAGAAGGAGGGCCTGAAGGACAAGAAGAGCCC
CCTGAACCTGAGCCCCGAGCTGCAGGACGAGATC
GGCACCGCCTTCAGCCTGTTCAAGACCGACGAGG
ACATCACCGGCCGGCTGAAGGACCGGATCCAGCC
CGAGATCCTGGAGGCCCTGCTGAAGCACATCAGC
TTCGACAAGTTCGTGCAGATCAGCCTGAAGGCC
TGCGGCGGATCGTGCCCCTGATGGAGCAGGGCAA
GCGGTACGACGAGGCCTGCGCCGAGATCTACGGC
GACCACTACGGCAAGAAGAACACCGAGGAGAAG
ATCTACCTGCCCCCATCCCCGCCGACGAGATCC
GGAACCCCGTGGTGCTGCGGGCCCTGAGCCAGGC
CCGGAAGGTGATCAACGGCGTGGTGCGGCGGTA
CGGCAGCCCCGCCCGGATCCACATCGAGACCGCC
CGGGAGGTGGGCAAGAGCTTCAAGGACCGGAAG
GAGATCGAGAAGCGGCAGGAGGAGAACCGGAAG
GACCGGGAGAAGGCCCGCCCAAGTTCGGGGAG
TACTTCCCCAACTTCGTGGGCGAGCCCAAGAGCA
AGGACATCCTGAAGCTGCGGCTGTACGAGCAGCA
GCACGGCAAGTGCCTGTACAGCGGCAAGGAGAT
CAACCTGGGCCGGCTGAACGAGAAGGGCTACGT
GGAGATCGACCACGCCCTGCCCTTCAGCCGGACC
TGGGACGACAGCTTCAACAACAAGGTGCTGGTGC
TGGGCAGCGAGAACCAGAACAAGGGCAACCAGA
CCCCCTACGAGTACTTCAACGGCAAGGACAACAG
CCGGGAGTGGCAGGAGTTCAAGGCCCGGGTGGA
GACCAGCCGGTTCCCCCGGAGCAAGAAGCAGCG

GATCCTGCTGCAGAAGTTCGACGAGGACGGCTTC
AAGGAGCGGAACCTGAACGACACCCGGTACGTG
AACCGGTTCTGTGCCAGTTCGTGGCCGACCGGA
TGCGGCTGACCGGCAAGGGCAAGAAGCGGGTGT
TCGCCAGCAACGGCCAGATCACCAACCTGCTGCG
GGGCTTCTGGGGCCTGCGGAAGGTGCGGGCCGA
GAACGACCGGCACCACGCCCTGGACGCCGTGGTG
GTGGCCTGCAGCACCGTGGCCATGCAGCAGAAG
ATCACCCGGTTCGTGCGGTACAAGGAGATGAACG
CCTTCGACGGCAAGACCATCGACAAGGAGACCG
GCGAGGTGCTGCACCAGAAGACCCACTTCCCCCA
GCCCTGGGAGTTCTTCGCCCAGGAGGTGATGATC
CGGGTGTTCGGCAAGCCCGACGGCAAGCCCGAGT
TCGAGGAGGCCGACACCCTGGAGAAGCTGCGGA
CCCTGCTGGCCGAGAAGCTGAGCAGCCGGCCCGA
GGCCGTGCACGAGTACGTGACCCCCCTGTTCGTG
AGCCGGGCCCCCAACCGGAAGATGAGCGGCCAG
GGCCACATGGAGACCGTGAAGAGCGCCAAGCGG
CTGGACGAGGGCGTGAGCGTGCTGCGGGTGCCCC
TGACCCAGCTGAAGCTGAAGGACCTGGAGAAGA
TGGTGAACCGGGAGCGGGAGCCCAAGCTGTACG
AGGCCCTGAAGGCCCGGCTGGAGGCCACAAGG
ACGACCCCGCCAAGGCCTTCGCCGAGCCCTTCTA
CAAGTACGACAAGGCCGGCAACCGGACCCAGCA
GGTGAAGGCCGTGCGGGTGGAGCAGGTGCAGAA
GACCGGCGTGTGGGTGCGGAACCACAACGGCAT
CGCCGACAACGCCACCATGGTGCGGGTGGACGTG
TTCGAGAAGGGCGACAAGTACTACCTGGTGCCCA
TCTACAGCTGGCAGGTGGCCAAGGGCATCCTGCC
CGACCGGGCCGTGGTGCAGGGCAAGGACGAGGA
GGACTGGCAGCTGATCGACGACAGCTTCAACTTC
AAGTTCAGCCTGCACCCCAACGACCTGGTGGAGG
TGATCACCAAGAAGGCCCGGATGTTTCGGCTACTT
CGCCAGCTGCCACCGGGGCACCGGCAACATCAAC
ATCCGGATCCACGACCTGGACCACAAGATCGGCA

	AGAACGGCATCCTGGAGGGCATCGGCGTGAAGA CCGCCCTGAGCTTCCAGAAGTACCAGATCGACGA GCTGGGCAAGGAGATCCGGCCCTGCCGGCTGAA GAAGCGGCCCCCGTGCGGAGCGGCAAGCGGAC CGCCGACGGCAGCGAGTTCGAGAGCCCCAAGAA GAAGCGGAAGGTGGAG	
	Не используется	365-375
Транскрипт мРНК с UTR XBG и OPC Cas9	GGGAAGCUCAGAAUAAACGCUCAACUUUGGCCG GAUCUGCCACCAUGGACAAGAAGUACAGCAUCG GCCUGGACAUCGGCACCAACAGCGUGGGCUGGG CCGUGAUCACCGACGAGUACAAGGUGCCCAGCA AGAAGUUCAAGGUGCUGGGCAACACCGACAGAC ACAGCAUCAAGAAGAACCUGAUCGGCGCCCUGC UGUUCGACAGCGGCGAGACCGCCGAGGCCACCA GACUGAAGAGAACCGCCAGAAGAAGAUACACCA GAAGAAAGAACAGAAUCUGCUACCUGCAGGAGA UCUUCAGCAACGAGAUGGCCAAGGUGGACGACA GCUUCUCCACAGACUGGAGGAGAGCUUCCUGG UGGAGGAGGACAAGAAGCACGAGAGACACCCCA UCUUCGGCAACAUCGUGGACGAGGUGGCCUACC ACGAGAAGUACCCACCAUCUACCACCUGAGAA AGAAGCUGGUGGACAGCACCGACAAGGCCGACC UGAGACUGAUCUACCUGGCCUGGCCACAUGA UCAAGUUCAGAGGCCACUUCCUGAUCGAGGGCG ACCUGAACCCCGACAACAGCGACGUGGACAAGC UGUUCAUCCAGCUGGUGCAGACCUACAACCAGC UGUUCGAGGAGAACCCCAUCAACGCCAGCGGCG UGGACGCCAAGGCCAUCCUGAGCGCCAGACUGA GCAAGAGCAGAAGACUGGAGAACCUGAUCGCCC AGCUGCCCGGCGAGAAGAAGAACGGCCUGUUCG GCAACCUGAUCGCCCUGAGCCUGGGCCUGACCC CCAACUUCAAGAGCAACUUCGACCUGGCCGAGG ACGCCAAGCUGCAGCUGAGCAAGGACACCUACG ACGACGACCUGGACAACCUGCUGGCCCAGAUCG	376

GCGACCAGUACGCCGACCUGUUCCUGGCCGCCA
AGAACCUGAGCGACGCCAUCCUGCUGAGCGACA
UCCUGAGAGUGAACACCGAGAUCACCAAGGCC
CCCUGAGCGCCAGCAUGAUCAAGAGAUACGACG
AGCACCACCAGGACCUGACCCUGCUGAAGGCC
UGGUGAGACAGCAGCUGCCCGAGAAGUACAAGG
AGAUCUUCUUCGACCAGAGCAAGAACGGCUACG
CCGGCUACAUCGACGGCGGCCAGCCAGGAGG
AGUUCUACAAGUUCAUCAAGCCAUCCUGGAGA
AGAUGGACGGCACCGAGGAGCUGCUGGUGAAGC
UGAACAGAGAGGACCUGCUGAGAAAGCAGAGA
ACCUUCGACAACGGCAGCAUCCCCACCAGAUC
CACCUGGGCGAGCUGCACGCCAUCCUGAGAAGA
CAGGAGGACUUCUACCCCUUCCUGAAGGACAAC
AGAGAGAAGAUCGAGAAGAUCUGACCUUCAGA
AUCCCUACUACGUGGGCCCCUGGCCAGAGGC
AACAGCAGAUUCGCCUGGAUGACCAGAAAGAGC
GAGGAGACCAUCACCCCUUGGAACUUCGAGGAG
GUGGUGGACAAGGGCGCCAGCGCCAGAGCUUC
AUCGAGAGAAUGACCAACUUCGACAAGAACCUG
CCCAACGAGAAGGUGCUGCCAAGCACAGCCUG
CUGUACGAGUACUUCACCGUGUACAACGAGCUG
ACCAAGGUGAAGUACGUGACCGAGGGCAUGAGA
AAGCCCGCCUUCUGAGCGGCGAGCAGAAGAAG
GCCAUCGUGGACCUGCUGUUCAAGACCAACAGA
AAGGUGACCGUGAAGCAGCUGAAGGAGGACUAC
UUCAAGAAGAUCGAGUGCUUCGACAGCGUGGAG
AUCAGCGGCGUGGAGGACAGAUUCAACGCCAGC
CUGGGCACCUACCACGACCUGCUGAAGAUCAUC
AAGGACAAGGACUUCUGGACAACGAGGAGAAC
GAGGACAUCCUGGAGGACAUCGUGCUGACCCUG
ACCCUGUUCGAGGACAGAGAGAUGAUCGAGGAG
AGACUGAAGACCUACGCCACCUGUUCGACGAC
AAGGUGAUGAAGCAGCUGAAGAGAAGAAGUA
CACCGGCUGGGGCAGACUGAGCAGAAAGCUGAU

CAACGGCAUCAGAGACAAGCAGAGCGGCAAGAC
CAUCCUGGACUCCUGAAGAGCGACGGCUUCGC
CAACAGAAACUUCAUGCAGCUGAUCCACGACGA
CAGCCUGACCUUCAAGGAGGACAUCCAGAAGGC
CCAGGUGAGCGGCCAGGGCGACAGCCUGCACGA
GCACAUCGCCAACCUGGCCGGCAGCCCCGCCAU
CAAGAAGGGCAUCCUGCAGACCGUGAAGGUGGU
GGACGAGCUGGUGAAGGUGAUGGGCAGACACA
AGCCCGAGAACAUCGUGAUCGAGAUGGCCAGAG
AGAACCAGACCACCCAGAAGGGCCAGAAGAACA
GCAGAGAGAGAAUGAAGAGAAUCGAGGAGGGC
AUCAAGGAGCUGGGCAGCCAGAUCCUGAAGGAG
CACCCCGUGGAGAACACCCAGCUGCAGAACGAG
AAGCUGUACCUGUACUACCUGCAGAACGGCAGA
GACAUGUACGUGGACCAGGAGCUGGACAUCAAC
AGACUGAGCGACUACGACGUGGACCACAUCGUG
CCCCAGAGCUUCCUGAAGGACGACAGCAUCGAC
AACAAGGUGCUGACCAGAAGCGACAAGAACAGA
GGCAAGAGCGACAACGUGCCCAGCGAGGAGGUG
GUGAAGAAGAUGAAGAACUACUGGAGACAGCU
GCUGAACGCCAAGCUGAUCACCCAGAGAAAGUU
CGACAACCUGACCAAGGCCGAGAGAGGGCGGCCU
GAGCGAGCUGGACAAGGCCGGCUUCAUCAAGAG
ACAGCUGGUGGAGACCAGACAGAUACCAAGCA
CGUGGCCCAGAUCCUGGACAGCAGAAUGAACAC
CAAGUACGACGAGAACGACAAGCUGAUCAGAGA
GGUGAAGGUGAUCACCCUGAAGAGCAAGCUGGU
GAGCGACUUCAGAAAGGACUCCAGUUCUACAA
GGUGAGAGAGAUCAACAACUACCACCACGCCCA
CGACGCCUACCUGAACGCCGUGGUGGGCACCCG
CCUGAUCAAGAAGUACCCCAAGCUGGAGAGCGA
GUUCGUGUACGGCGACUACAAGGUGUACGACGU
GAGAAAGAUGAUCGCCAAGAGCGAGCAGGAGA
UCGGCAAGGCCACCGCCAAGUACUUCUUCUACA
GCAACAUCAUGAACUUCUUCAAGACCGAGAUCA

CCCUGGCCAACGGCGAGAUCAGAAAGAGACCCC
UGAUCGAGACCAACGGCGAGACCGGCGAGAUCG
UGUGGGACAAGGGCAGAGACUUCGCCACCGUGA
GAAAGGUGCUGAGCAUGCCCCAGGUGAACAUUCG
UGAAGAAGACCGAGGUGCAGACCGGCGGCUUCA
GCAAGGAGAGCAUCCUGCCCAAGAGAAACAGCG
ACAAGCUGAUCGCCAGAAAGAAGGACUGGGACC
CCAAGAAGUACGGCGGCUUCGACAGCCCCACCG
UGGCCUACAGCGUGCUGGUGGUGGCCAAGGUGG
AGAAGGGCAAGAGCAAGAAGCUGAAGAGCGUG
AAGGAGCUGCUGGGCAUCACCAUCAUGGAGAGA
AGCAGCUUCGAGAAGAACCCCAUCGACUUCUG
GAGGCCAAGGGCUACAAGGAGGUGAAGAAGGA
CCUGAUCAUCAAGCUGCCCAAGUACAGCCUGUU
CGAGCUGGAGAACGGCAGAAAGAGAAUGCUGGC
CAGCGCCGGCGAGCUGCAGAAGGGCAACGAGCU
GGCCCUGCCCAGCAAGUACGUGAACUUCUGUA
CCUGGCCAGCCACUACGAGAAGCUGAAGGGCAG
CCCCGAGGACAACGAGCAGAAGCAGCUGUUCGU
GGAGCAGCACAAGCACUACCUGGACGAGAUCAU
CGAGCAGAUACGCGAGUUCAGCAAGAGAGUGAU
CCUGGCCGACGCCAACCUGGACAAGGUGCUGAG
CGCCUACAACAAGCACAGAGACAAGCCCAUCAG
AGAGCAGGCCGAGAACAUCAUCCACCUGUUCAC
CCUGACCAACCUGGGCGCCCCCGCCGCCUUCAA
GUACUUCGACACCACCAUCGACAGAAAGAGUA
CACCAGCACCAAGGAGGUGCUGGACGCCACCCU
GAUCCACCAGAGCAUACCGGCCUGUACGAGAC
CAGAAUCGACCUGAGCCAGCUGGGCGGCGACGG
CGGCGGCAGCCCCAAGAAGAAGAGAAAGGUGUG
ACUAGCACCAGCCUCAAGAACACCCGAAUGGAG
UCUCUAAGCUACAUAUACCAACUUACACUUUA
CAAAAUGUUGUCCCCCAAAAUGUAGCCAUUCGU
AUCUGCUCUAAUAAAAAGAAAGUUUCUUCACA
UUCUCUCGAGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

	<p>AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA</p>	
<p>Транскрипт мРНК с UTR XBG и OPC Cas9 с низким содержанием А из Таблицы 5</p>	<p>GGGAAGCUCAGAAUAAACGCUCAACUUUGGCCG GAUCUGCCACCAUGGACAAGAAGUACUCCAUCG GCCUGGACAUCGGCACCAACUCCGUGGGCUGGG CCGUGAUCACCGACGAGUACAAGGUGCCCUCCA AGAAGUUCAAGGUGCUGGGCAACACCGACCGGC ACUCCAUCAAGAAGAACCUGAUCGGCGCCCUGC UGUUCGACUCCGGCGAGACCGCCGAGGCCACCC GGCUGAAGCGGACCGCCCGGCGGCGGUACACCC GGCGGAAGAACCUGAUCUGCUACCUGCAGGAGA UCUUCUCCAACGAGAUGGCCAAGGUGGACGACU CCUUCUCCACCGGCUGGAGGAGUCCUCCUGG UGGAGGAGGACAAGAAGCACGAGCGGCACCCCA UCUUCGGCAACAUCGUGGACGAGGUGGCCUACC ACGAGAAGUACCCACCAUCUACCACCUGCGGA AGAAGCUGGUGGACUCCACCGACAAGGCCGACC UGC GGCUGAUCUACCUGGCCCUGGCCCACAUGA UCAAGUCCGGGGCCACUCCUGAUCGAGGGCG ACCUGAACCCCGACAACUCCGACGUGGACAAGC UGUUCAUCCAGCUGGUGCAGACCUACAACCAGC UGUUCGAGGAGAACCCCAUCAACGCCUCCGGCG UGGACGCCAAGGCCAUCCUGUCCGCCCGGCUGU CCAAGUCCCGGCGGCUGGAGAACCUGAUCGCCC AGCUGCCCGGCGAGAAGAAGAACGGCCUGUUCG GCAACCUGAUCGCCUGUCCUGGGCCUGACCC CCAACUUCAAGUCCAACUUCGACCUGGCCGAGG ACGCCAAGCUGCAGCUGUCCAAGGACACCUACG ACGACGACCUGGACAACCUGCUGGCCAGAUUCG GCGACCAGUACGCCGACCUGUUCUGGCCGCCA AGAACCUGUCCGACGCCAUCCUGCUGUCCGACA UCCUGCGGGUGAACACCGAGAUCACCAAGGCC CCCUGUCCGCCUCCAUGAUC AAGCGGUACGACG AGCACCACCAGGACCUGACCCUGCUGAAGGCC UGGUGCGGCAGCAGCUGCCCGAGAAGUACAAGG</p>	<p>377</p>

AGAUCUUCUUCGACCAGUCCAAGAACGGCUACG
CCGGCUACAUCGACGGCGGGGCCUCCCAGGAGG
AGUUCUACAAGUUCAUCAAGCCCAUCCUGGAGA
AGAUGGACGGCACCGAGGAGCUGCUGGUGAAGC
UGAACCGGGAGGACCUGCUGCUGGGAAGCAGCGGA
CCUUCGACAACGGCUCCAUCCCCACCAGAUC
ACCUGGGCGAGCUGCACGCCAUCCUGC GGCGGC
AGGAGGACUUCUACCCCUUCCUGAAGGACAACC
GGGAGAAGAUCGAGAAGAUCUGACCUUCCGGA
UCCCCUACUACGUGGGCCCCUGGCCCGGGGCA
ACUCCCGGUUCGCCUGGAUGACCCGGAAGUCCG
AGGAGACCAUCACCCCUUGGAACUUCGAGGAGG
UGGUGGACAAGGGCGCCUCCGCCAGUCCUUCA
UCGAGCGGAUGACCAACUUCGACAAGAACCUGC
CCAACGAGAAGGUGCUGCCCAAGCACUCCUGC
UGUACGAGUACUUCACCGUGUACAACGAGCUGA
CCAAGGUGAAGUACGUGACCGAGGGCAUGCGGA
AGCCCGCCUUCUGUCCGGCGAGCAGAAGAAGG
CCAUCGUGGACCUGCUGUUCAAGACCAACCGGA
AGGUGACCGUGAAGCAGCUGAAGGAGGACUACU
UCAAGAAGAUCGAGUGCUUCGACUCCGUGGAGA
UCUCCGGCGUGGAGGACCGGUUCAACGCCUCCC
UGGGCACCUACCACGACCUGCUGAAGAUCAUCA
AGGACAAGGACUUCUUGGACAACGAGGAGAACG
AGGACAUCCUGGAGGACAUCGUGCUGACCCUGA
CCCUGUUCGAGGACCGGGAGAUGAUCGAGGAGC
GGCUGAAGACCUACGCCACCUGUUCGACGACA
AGGUGAUGAAGCAGCUGAAGCGGGCGGGUACA
CCGGCUGGGGCCGGCUGUCCCGGAAGCUGAUCA
ACGGCAUCCGGGACAAGCAGUCCGGCAAGACCA
UCCUGGACUUCUGAAGUCCGACGGCUUCGCCA
ACCGGAACUUCAUGCAGCUGAUCCACGACGACU
CCCUGACCUUCAAGGAGGACAUCAGAAAGCCC
AGGUGUCCGGCCAGGGCGACUCCUGCACGAGC
ACAUCGCCAACCGGCCGGCUCCCCGCCAUCA

AGAAGGGCAUCCUGCAGACCGUGAAGGUGGUGG
ACGAGCUGGUGAAGGUGAUGGGCCGGCACAAGC
CCGAGAACAUCGUGAUCGAGAUGGCCCGGGAGA
ACCAGACCACCCAGAAGGGCCAGAAGAACUCCC
GGGAGCGGAUGAAGCGGAUCGAGGAGGGCAUC
AAGGAGCUGGGCUCCCAGA UCCUGAAGGAGCAC
CCCGUGGAGAACACCCAGCUGCAGAACGAGAAG
CUGUACCUGUACUACCUGCAGAACGGCCGGGAC
AUGUACGUGGACCAGGAGCUGGACAUCAACCGG
CUGUCCGACUACGACGUGGACCACAUCGUGCCC
CAGUCCU UCCUGAAGGACGACUCCAUCGACAAC
AAGGUGCUGACCCGGUCCGACAAGAACCGGGGC
AAGUCCGACAACGUGCCCUCCGAGGAGGUGGUG
AAGAAGAUGAAGAACUACUGGCGGCAGCUGCUG
AACGCCAAGCUGAUCACCCAGCGGAAGUUCGAC
AACCUGACCAAGGCCGAGCGGGGCGGCCUGUCC
GAGCUGGACAAGGCCGGCUUCAUCAAGCGGCAG
CUGGUGGAGACCCGGCAGAUACCAAGCACGUG
GCCCAGA UCCUGGACUCCCGGAUGAACACCAAG
UACGACGAGAACGACAAGCUGAUCCGGGAGGUG
AAGGUGAUCACCCUGAAGUCCAAGCUGGUGUCC
GACU UCCGGAAGGACU UCCAGUUCUACAAGGUG
CGGGAGAUCAACAACUACCACCACGCCACGAC
GCCUACCUGAACGCCGUGGUGGGCACCGCCCUG
AUCAAGAAGUACCCCAAGCUGGAGUCCGAGUUC
GUGUACGGCGACUACAAGGUGUACGACGUGCGG
AAGAUGAUCGCCAAGUCCGAGCAGGAGAUCGGC
AAGGCCACCGCCAAGUACUUCUUCUACUCCAAC
AUCAUGAACUUCUUCAAGACCGAGAUCACCCUG
GCCAACGGCGAGAUCCGGAAGCGGCCCCUGAUC
GAGACCAACGGCGAGACCGGCGAGAU CGUGUGG
GACAAGGGCCGGGACUUCGCCACCGUGCGGAAG
GUGCUGUCCAUGCCCCAGGUGAACAUCGUGAAG
AAGACCGAGGUGCAGACCGGCGGCUUCUCCAAG
GAGUCCA UCCUGCCCAAGCGGAACUCCGACAAG

	<p> CUGAUCGCCCGGAAGAAGGACUGGGACCCCAAG AAGUACGGCGGCUUCGACUCCCCACCGUGGCC UACUCCGUGCUGGUGGUGGCCAAGGUGGAGAAG GGCAAGUCCAAGAAGCUGAAGUCCGUGAAGGAG CUGCUGGGCAUCACCAUCAUGGAGCGGUCCUCC UUCGAGAAGAACCCCAUCGACUUCCUGGAGGCC AAGGGCUACAAGGAGGUGAAGAAGGACCUGAU CAUCAAGCUGCCCAAGUACUCCUGUUCGAGCU GGAGAACGGCCGGAAGCGGAUGCUGGCCUCCGC CGGCGAGCUGCAGAAGGGCAACGAGCUGGCCCU GCCCUCCAAGUACGUGAACUUCUGUACCUGGC CUCCCACUACGAGAAGCUGAAGGGCUCCCCGA GGACAACGAGCAGAAGCAGCUGUUCGUGGAGCA GCACAAGCACUACCUGGACGAGAUCAUCGAGCA GAUCUCCGAGUUCUCCAAGCGGGUGAUCCUGGC CGACGCCAACCUGGACAAGGUGCUGUCCGCCUA CAACAAGCACCGGGACAAGCCAUCCGGGAGCA GGCCGAGAACAUCAUCCACCGUUCACCCUGAC CAACCUGGGCGCCCCCGCCGCCUUCAAGUACUU CGACACCACCAUCGACCGGAAGCGGUACACCUC CACCAAGGAGGUGCUGGACGCCACCCUGAUCCA CCAGUCCAUCACCGGCCUGUACGAGACCCGGAU CGACCUGUCCCAGCUGGGCGGCGACGGCGGGCGG CUCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGUGUGACUAGC ACCAGCCUCAAGAACACCCGAAUGGAGUCUCUA AGCUACAUAUACCAACUACACUUACAAAAU GUUGUCCCCCAAUAGUAGCCAUUCGUAUCUGC UCCUAAUAAAAAGAAAGUUUCUUCACAUUCUCU CGAGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA </p>	
<p> Транскрипт мРНК с UTR XBG и OPC Cas9 с низким содержанием U/A из </p>	<p> GGGAAGCUCAGAAUAAACGCUCAACUUUGGCCG GAUCUGCCACCAUGGACAAGAAGUACAGCAUCG GCCUGGACAUCGGCACCAACAGCGUGGGCUGGG CCGUGAUCACCGACGAGUACAAGGUGCCCAGCA </p>	<p>378</p>

Таблицы 5

AGAAGUUCAAGGUGCUGGGCAACACCGACCGGC
ACAGCAUCAAGAAGAACCUGAUCGGCGCCCUGC
UGUUCGACAGCGGCGAGACCGCCGAGGCCACCC
GGCUGAAGCGGACCGCCCGGCGGCGGUACACCC
GGCGGAAGAACCGGAUCUGCUACCUGCAGGAGA
UCUUCAGCAACGAGAUGGCCAAGGUGGACGACA
GCUUCUUCACCGGCUGGAGGAGAGCUUCCUGG
UGGAGGAGGACAAGAAGCACGAGCGGCACCCCA
UCUUCGGCAACAUCGUGGACGAGGUGGCCUACC
ACGAGAAGUACCCCAUCAUACCACCGCGGA
AGAAGCUGGUGGACAGCACCGACAAGGCCGACC
UGCGGCUGAUCUACCUGGCCUUGGCCACAUGA
UCAAGUUCGGGGCCACUCCUGAUCGAGGGCG
ACCUGAACCCCGACAACAGCGACGUGGACAAGC
UGUUCAUCCAGCUGGUGCAGACCUACAACCAGC
UGUUCGAGGAGAACCCCAUCAACGCCAGCGGCG
UGGACGCCAAGGCCAUCCUGAGCGCCCGGCUGA
GCAAGAGCCGGCGGCUGGAGAACCUGAUCGCC
AGCUGCCCGGCGAGAAGAAGAACGGCCUGUUCG
GCAACCUGAUCGCCUGAGCCUGGGCCUGACCC
CCAACUUCAAGAGCAACUUCGACCUGGCCGAGG
ACGCCAAGCUGCAGCUGAGCAAGGACACCUACG
ACGACGACCUGGACAACCUGCUGGCCCAGAUCG
GCGACCAGUACGCCGACCUGUUCUGGCCGCCA
AGAACCUGAGCGACGCCAUCCUGCUGAGCGACA
UCCUGCGGGUGAACACCGAGAUCACCAAGGCC
CCCUGAGCGCCAGCAUGAUCAAGCGGUACGACG
AGCACCACCAGGACCUGACCCUGCUGAAGGCC
UGGUGCGGCAGCAGCUGCCCGAGAAGUACAAGG
AGAUCUUCUUCGACCAGAGCAAGAACGGCUACG
CCGGCUACAUCGACGGCGGCGCCAGCCAGGAGG
AGUUCUACAAGUUCAUCAAGCCCAUCCUGGAGA
AGAUGGACGGCACCGAGGAGCUGCUGGUGAAGC
UGAACCGGGAGGACCUGCUGCGGAAGCAGCGGA
CCUUCGACAACGGCAGCAUCCCCACCAGAUC

ACCUGGGCGAGCUGCACGCCAUCCUGCGGGCGGC
AGGAGGACUUCUACCCCUUCCUGAAGGACAACC
GGGAGAAGAUCGAGAAGAUCUGACCUUCCGGA
UCCCUACUACGUGGGCCCCUGGCCCGGGGCA
ACAGCCGGUUCGCCUGGAUGACCCGGAAGAGCG
AGGAGACCAUCACCCCUUGGAACUUCGAGGAGG
UGGUGGACAAGGGCGCCAGCGCCCAGAGCUUCA
UCGAGCGGAUGACCAACUUCGACAAGAACCUGC
CCAACGAGAAGGUGCUGCCCAAGCACAGCCUGC
UGUACGAGUACUUCACCGUGUACAACGAGCUGA
CCAAGGUGAAGUACGUGACCGAGGGCAUGCGGA
AGCCCGCCUUCCUGAGCGGCGAGCAGAAGAAGG
CCAUCGUGGACCUGCUGUUCAAGACCAACCGGA
AGGUGACCGUGAAGCAGCUGAAGGAGGACUACU
UCAAGAAGAUCGAGUGCUUCGACAGCGUGGAGA
UCAGCGGCGUGGAGGACCGGUUCAACGCCAGCC
UGGGCACCUACCACGACCUGCUGAAGAUCAUCA
AGGACAAGGACUUCCUGGACAACGAGGAGAACG
AGGACAUCCUGGAGGACAUCGUGCUGACCCUGA
CCCUGUUCGAGGACCGGGAGAUGAUCGAGGAGC
GGCUGAAGACCUACGCCACCUGUUCGACGACA
AGGUGAUGAAGCAGCUGAAGCGGGCGGGCGGUACA
CCGGCUGGGGCCGGCUGAGCCGGAAGCUGAUCA
ACGGCAUCCGGGACAAGCAGAGCGGCAAGACCA
UCCUGGACUUCCUGAAGAGCGACGGCUUCGCCA
ACCGGAACUUCAUGCAGCUGAUCCACGACGACA
GCCUGACCUUCAAGGAGGACAUCCAGAAGGCC
AGGUGAGCGGCCAGGGCGACAGCCUGCACGAGC
ACAUCGCCAACCUGGCCGGCAGCCCCGCCAUCA
AGAAGGGCAUCCUGCAGACCGUGAAGGUGGUGG
ACGAGCUGGUGAAGGUGAUGGGCCGGCACAAGC
CCGAGAACAUCGUGAUCGAGAUGGCCCGGGAGA
ACCAGACCACCAGAAGGGCCAGAAGAACAGCC
GGGAGCGGAUGAAGCGGAUCGAGGAGGGCAUC
AAGGAGCUGGGCAGCCAGAUCUGAAGGAGCAC

CCCGUGGAGAACACCCAGCUGCAGAACGAGAAG
CUGUACCUGUACUACCUGCAGAACGGCCGGGAC
AUGUACGUGGACCAGGAGCUGGACAUCAACCGG
CUGAGCGACUACGACGUGGACCACAUCGUGCCC
CAGAGCUUCCUGAAGGACGACAGCAUCGACAAC
AAGGUGCUGACCCGGAGCGACAAGAACCGGGGC
AAGAGCGACAACGUGCCCAGCGAGGAGGUGGUG
AAGAAGAUGAAGAACUACUGGCGGCAGCUCUG
AACGCCAAGCUGAUCACCCAGCGGAAGUUCGAC
AACCUGACCAAGGCCGAGCGGGGCGGCCUGAGC
GAGCUGGACAAGGCCGCUUCAUCAAGCGGCAG
CUGGUGGAGACCCGGCAGAUCACCAAGCACGUG
GCCCAGAUCUGGACAGCCGGAUGAACACCAAG
UACGACGAGAACGACAAGCUGAUCCGGGAGGUG
AAGGUGAUCACCCUGAAGAGCAAGCUGGUGAGC
GACUUCCGGAAGGACUUCAGUUCUACAAGGUG
CGGGAGAUCAACAACUACCACCACGCCACGAC
GCCUACCUGAACGCCGUGGUGGGCACCGCCCUG
AUCAAGAAGUACCCCAAGCUGGAGAGCGAGUUC
GUGUACGGCGACUACAAGGUGUACGACGUGCGG
AAGAUGAUCGCCAAGAGCGAGCAGGAGAUCGGC
AAGGCCACCGCCAAGUACUUCUUCUACAGCAAC
AUCAUGAACUUCUUCAAGACCGAGAUCACCCUG
GCCAACGGCGAGAUCCGGAAGCGGCCCCUGAUC
GAGACCAACGGCGAGACCGGCGAGAUCGUGUGG
GACAAGGGCCGGGACUUCGCCACCGUGCGGAAG
GUGCUGAGCAUGCCCCAGGUGAACAUCGUGAAG
AAGACCGAGGUGCAGACCGGCGGCUUCAGCAAG
GAGAGCAUCCUGCCCAAGCGGAACAGCGACAAG
CUGAUCGCCCCGGAAGAAGGACUGGGACCCCAAG
AAGUACGGCGGCUUCGACAGCCCCACCGUGGCC
UACAGCGUGCUGGUGGUGGCCAAGGUGGAGAA
GGGCAAGAGCAAGAAGCUGAAGAGCGUGAAGG
AGCUGCUGGGCAUCACCAUCAUGGAGCGGAGCA
GCUUCGAGAAGAACCCCAUCGACUUCUGGAGG

	<p>CCAAGGGCUACAAGGAGGUGAAGAAGGACCUGA UCAUCAAGCUGCCCAAGUACAGCCUGUUCGAGC UGGAGAACGGCCGGAAGCGGAUGCUGGCCAGCG CCGGCGAGCUGCAGAAGGGCAACGAGCUGGCC UGCCCAGCAAGUACGUGAACUUCCUGUACCUGG CCAGCCACUACGAGAAGCUGAAGGGCAGCCCCG AGGACAACGAGCAGAAGCAGCUGUUCGUGGAGC AGCACAAGCACUACCUGGACGAGAUCAUCGAGC AGAUCAGCGAGUUCAGCAAGCGGGUGAUCCUGG CCGACGCCAACCUGGACAAGGUGCUGAGCGCCU ACAACAAGCACCGGGACAAGCCAUCCGGGAGC AGGCCGAGAACAUCAUCCACCUGUUCACCCUGA CCAACCUGGGCGCCCCCGCCGCCUUCAAGUACU UCGACACCACCAUCGACCGGAAGCGGUACACCA GCACCAAGGAGGUGCUGGACGCCACCCUGAUCC ACCAGAGCAUCACCGGCCUGUACGAGACCCGGA UCGACCUGAGCCAGCUGGGCGGGCAGCGGCGG GCAGCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGUGUGACUAG CACCAGCCUCAAGAACACCCGAAUGGAGUCUCU AAGCUACAUAUUACCAACUUCACUUUACAAAA UGUUGUCCCCCAAAAUGUAGCCAUUCGUAUCUG CUCCUAAUAAAAAGAAAGUUUCUUCACAUUCUC UCGAGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA</p>	
<p>Транскрипт мРНК с ОПС, кодирующей Cas9 с тегом HiBiT, HSD 5' UTR и ALB 3' UTR человека</p>	<p>GGGTCCCGCAGTCGGCGTCCAGCGGCTCTGCTTG TTCGTGTGTGTGTCGTTGCAGGCCTTATTCGGATC CGCCACCATGGACAAGAAGTACAGCATCGGACT GGACATCGGAACAAACAGCGTCGGATGGGCAGT CATCACAGACGAATACAAGGTCCCGAGCAAGAA GTTCAAGGTCCTGGGAAACACAGACAGACACAG CATCAAGAAGAACCTGATCGGAGCACTGCTGTTC GACAGCGGAGAAACAGCAGAAGCAACAAGACTG AAGAGAACAGCAAGAAGAAGATACACAAGAAGA AAGAACAGAATCTGCTACCTGCAGGAAATCTTCA</p>	<p>379</p>

GCAACGAAATGGCAAAGGTCGACGACAGCTTCTT
CCACAGACTGGAAGAAAGCTTCCTGGTCGAAGA
AGACAAGAAGCACGAAAGACACCCGATCTTCGG
AAACATCGTCGACGAAGTCGCATACCACGAAAA
GTACCCGACAATCTACCACCTGAGAAAGAAGCTG
GTCGACAGCACAGACAAGGCAGACCTGAGACTG
ATCTACCTGGCACTGGCACACATGATCAAGTTCA
GAGGACACTTCCTGATCGAAGGAGACCTGAACCC
GGACAACAGCGACGTCGACAAGCTGTTCATCCAG
CTGGTCCAGACATAACAACCAGCTGTTCGAAGAAA
ACCCGATCAACGCAAGCGGAGTCGACGCAAAGG
CAATCCTGAGCGCAAGACTGAGCAAGAGCAGAA
GACTGGAAAACCTGATCGCACAGCTGCCGGGAG
AAAAGAAGAACGGACTGTTCGGAAACCTGATCG
CACTGAGCCTGGGACTGACACCGAACTTCAAGAG
CAACTTCGACCTGGCAGAAGACGCAAAGCTGCA
GCTGAGCAAGGACACATACGACGACGACCTGGA
CAACCTGCTGGCACAGATCGGAGACCAGTACGCA
GACCTGTTCTGGCAGCAAAGAACCTGAGCGACG
CAATCCTGCTGAGCGACATCCTGAGAGTCAACAC
AGAAATCACAAAGGCACCGCTGAGCGCAAGCAT
GATCAAGAGATACGACGAACACCACCAGGACCT
GACACTGCTGAAGGCACTGGTCAGACAGCAGCTG
CCGGAAAAGTACAAGGAAATCTTCTTCGACCAGA
GCAAGAACGGATACGCAGGATACATCGACGGAG
GAGCAAGCCAGGAAGAATTCTACAAGTTCATCAA
GCCGATCCTGGAAAAGATGGACGGAACAGAAGA
ACTGCTGGTCAAGCTGAACAGAGAAGACCTGCTG
AGAAAGCAGAGAACATTTCGACAACGGAAGCATC
CCGCACCAGATCCACCTGGGAGAACTGCACGCAA
TCCTGAGAAGACAGGAAGACTTCTACCCGTTCT
GAAGGACAACAGAGAAAAGATCGAAAAGATCCT
GACATTCAGAATCCCGTACTACGTCGGACCGCTG
GCAAGAGGAAACAGCAGATTCGCATGGATGACA
AGAAAGAGCGAAGAAACAATCACACCGTGGAAC

TTCGAAGAAGTCGTCGACAAGGGAGCAAGCGCA
CAGAGCTTCATCGAAAGAATGACAACTTCGACA
AGAACCTGCCGAACGAAAAGGTCCTGCCGAAGC
ACAGCCTGCTGTACGAATACTTCACAGTCTACAA
CGAACTGACAAAGGTCAAGTACGTACAGAAAGG
AATGAGAAAGCCGGCATTCTGAGCGGAGAACA
GAAGAAGGCAATCGTCGACCTGCTGTTCAAGACA
AACAGAAAGGTCACAGTCAAGCAGCTGAAGGAA
GACTACTTCAAGAAGATCGAATGCTTCGACAGCG
TCGAAATCAGCGGAGTCGAAGACAGATTCAACG
CAAGCCTGGGAACATACCACGACCTGCTGAAGAT
CATCAAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAAGA
AAACGAAGACATCCTGGAAGACATCGTCCTGACA
CTGACACTGTTTGAAGACAGAGAAATGATCGAA
GAAAGACTGAAGACATACGCACACCTGTTTCGACG
ACAAGGTCATGAAGCAGCTGAAGAGAAGAAGAT
ACACAGGATGGGGAAGACTGAGCAGAAAGCTGA
TCAACGGAATCAGAGACAAGCAGAGCGGAAAGA
CAATCCTGGACTTCCTGAAGAGCGACGGATTTCGC
AAACAGAACTTCATGCAGCTGATCCACGACGAC
AGCCTGACATTCAAGGAAGACATCCAGAAGGCA
CAGGTCAGCGGACAGGGAGACAGCCTGCACGAA
CACATCGCAAACCTGGCAGGAAGCCCGGCAATC
AAGAAGGGAATCCTGCAGACAGTCAAGGTCGTC
GACGAACTGGTCAAGGTCATGGGAAGACACAAG
CCGAAAACATCGTCATCGAAATGGCAAGAGAA
AACCAGACAACACAGAAGGGACAGAAGAACAGC
AGAGAAAGAATGAAGAGAATCGAAGAAGGAATC
AAGGAACTGGGAAGCCAGATCCTGAAGGAACAC
CCGGTCGAAAACACACAGCTGCAGAACGAAAAG
CTGTACCTGTACTACCTGCAGAACGGAAGAGACA
TGTACGTCGACCAGGAACTGGACATCAACAGACT
GAGCGACTACGACGTCGACCACATCGTCCCGCAG
AGCTTCCTGAAGGACGACAGCATCGACAACAAG
GTCCTGACAAGAAGCGACAAGAACAGAGGAAAG

AGCGACAACGTCCCGAGCGAAGAAGTCGTCAAG
AAGATGAAGAACTACTGGAGACAGCTGCTGAAC
GCAAAGCTGATCACACAGAGAAAGTTCGACAAC
CTGACAAAGGCAGAGAGAGGAGGACTGAGCGAA
CTGGACAAGGCAGGATTCATCAAGAGACAGCTG
GTCGAAACAAGACAGATCACAAAGCACGTCGCA
CAGATCCTGGACAGCAGAATGAACACAAAGTAC
GACGAAAACGACAAGCTGATCAGAGAAGTCAAG
GTCATCACACTGAAGAGCAAGCTGGTCAGCGACT
TCAGAAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTCAGAGA
AATCAACAACCTACCACCACGCACACGACGCATAC
CTGAACGCAGTCGTCGGAACAGCACTGATCAAGA
AGTACCCGAAGCTGGAAAGCGAATTCGTCTACGG
AGACTACAAGGTCTACGACGTCAGAAAGATGATC
GCAAAGAGCGAACAGGAAATCGGAAAGGCAACA
GCAAAGTACTTCTTCTACAGCAACATCATGAACT
TCTTCAAGACAGAAATCACACTGGCAAACGGAG
AAATCAGAAAGAGACCGCTGATCGAAACAAACG
GAGAAACAGGAGAAATCGTCTGGGACAAGGGAA
GAGACTTCGCAACAGTCAGAAAGGTCCTGAGCAT
GCCGCAGGTCAACATCGTCAAGAAGACAGAAGT
CCAGACAGGAGGATTCAGCAAGGAAAGCATCCT
GCCGAAGAGAAACAGCGACAAGCTGATCGCAAG
AAAGAAGGACTGGGACCCGAAGAAGTACGGAGG
ATTCGACAGCCCGACAGTCGCATACAGCGTCCTG
GTCGTGCGCAAAGGTCGAAAAGGGAAAGAGCAAG
AAGCTGAAGAGCGTCAAGGAACTGCTGGGAATC
ACAATCATGGAAAGAAGCAGCTTCGAAAAGAAC
CCGATCGACTTCCTGGAAGCAAAGGGATACAAG
GAAGTCAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCG
AAGTACAGCCTGTTCTGAACTGGAAAACGGAAGA
AAGAGAATGCTGGCAAGCGCAGGAGAACTGCAG
AAGGGAAACGAACTGGCACTGCCGAGCAAGTAC
GTCAACTTCCTGTACCTGGCAAGCCACTACGAAA
AGCTGAAGGGAAGCCCGAAGACAACGAACAGA

	AGCAGCTGTTTCGTCGAACAGCACAAGCACTACCT GGACGAAATCATCGAACAGATCAGCGAATTCAG CAAGAGAGTCATCCTGGCAGACGCAAACCTGGA CAAGGTCCTGAGCGCATAACAAGCACAGAGA CAAGCCGATCAGAGAACAGGCAGAAAACATCAT CCACCTGTTCACTGACAAACCTGGGAGCACCG GCAGCATTCAAGTACTTCGACACAACAATCGACA GAAAGAGATACACAAGCACAAAGGAAGTCCTGG ACGCAAACTGATCCACCAGAGCATCACAGGACT GTACGAAACAAGAATCGACCTGAGCCAGCTGGG AGGAGACGGAGGAGGAAGCCCGAAGAAGAAGA GAAAGGTCAGCGAAAGCGCAACACCGGAAAGCG TCAGCGGATGGAGACTGTTCAAGAAGATCAGCTA GCTAGCCATCACATTTAAAAGCATCTCAGCCTAC CATGAGAATAAGAGAAAGAAAATGAAGATCAAT AGCTTATTCATCTCTTTTTCTTTTTTCGTTGGTGTA AGCCAACACCCTGTCTAAAAACATAAATTTCTT TAATCATTTTGCCTCTTTTCTCTGTGCTTCAATTA ATAAAAAATGGAAAGAACCTCGAGAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAA	
<p>Транскрипт мРНК с ОПС, кодирующей Cas9 с тегом HiBiT, CMV-1 5' UTR и ALB 3' UTR человека</p>	GGGCAGATCGCCTGGAGACGCCATCCACGCTGTT TTGACCTCCATCGCCACCATGGACAAGAAGTACA GCATCGGACTGGACATCGGAACAAACAGCGTCG GATGGGCAGTCATCACAGACGAATACAAGGTCCC GAGCAAGAAGTTCAAGGTCCTGGGAAACACAGA CAGACACAGCATCAAGAAGAACCTGATCGGAGC ACTGCTGTTTCGACAGCGGAGAAACAGCAGAAGC AACAAGACTGAAGAGAACAGCAAGAAGAAGATA CACAAGAAGAAAGAACAGAATCTGCTACCTGCA GGAAATCTTCAGCAACGAAATGGCAAAGGTTCGA CGACAGCTTCTTCCACAGACTGGAAGAAAGCTTC CTGGTCGAAGAAGACAAGAAGCACGAAAGACAC CCGATCTTCGGAAACATCGTCGACGAAGTCGCAT	380

ACCACGAAAAGTACCCGACAATCTACCACCTGAG
AAAGAAGCTGGTCGACAGCACAGACAAGGCAGA
CCTGAGACTGATCTACCTGGCACTGGCACACATG
ATCAAGTTCAGAGGACACTTCCTGATCGAAGGAG
ACCTGAACCCGGACAACAGCGACGTCGACAAGC
TGTTTCATCCAGCTGGTCCAGACATAACAACCAGCT
GTTCGAAGAAAACCCGATCAACGCAAGCGGAGT
CGACGCAAAGGCAATCCTGAGCGCAAGACTGAG
CAAGAGCAGAAGACTGGAAAACCTGATCGCACA
GCTGCCGGGAGAAAAGAAGAACGGACTGTTCGG
AAACCTGATCGCACTGAGCCTGGGACTGACACCG
AACTTCAAGAGCAACTTCGACCTGGCAGAAGACG
CAAAGCTGCAGCTGAGCAAGGACACATACGACG
ACGACCTGGACAACCTGCTGGCACAGATCGGAG
ACCAGTACGCAGACCTGTTCCCTGGCAGCAAAGAA
CCTGAGCGACGCAATCCTGCTGAGCGACATCCTG
AGAGTCAACACAGAAATCACAAAGGCACCGCTG
AGCGCAAGCATGATCAAGAGATACGACGAACAC
CACCAGGACCTGACACTGCTGAAGGCACTGGTCA
GACAGCAGCTGCCGGAAAAGTACAAGGAAATCT
TCTTCGACCAGAGCAAGAACGGATACGCAGGAT
ACATCGACGGAGGAGCAAGCCAGGAAGAATTCT
ACAAGTTCATCAAGCCGATCCTGGAAAAGATGGA
CGGAACAGAAGAAGTCTGGTCAAGCTGAACAG
AGAAGACCTGCTGAGAAAGCAGAGAACATTCGA
CAACGGAAGCATCCCGCACCAAGATCCACCTGGGA
GAACTGCACGCAATCCTGAGAAGACAGGAAGAC
TTCTACCCGTTCTGAAGGACAACAGAGAAAAGA
TCGAAAAGATCCTGACATTCAGAATCCCGTACTA
CGTCGGACCGCTGGCAAGAGGAAACAGCAGATT
CGCATGGATGACAAGAAAGAGCGAAGAAACAAT
CACACCGTGGAACTTCGAAGAAGTCGTCGACAAG
GGAGCAAGCGCACAGAGCTTCATCGAAAGAATG
ACAAACTTCGACAAGAACCTGCCGAACGAAAAG
GTCCTGCCGAAGCACAGCCTGCTGTACGAATACT

TCACAGTCTACAACGAACTGACAAAGGTCAAGTA
CGTCACAGAAGGAATGAGAAAGCCGGCATTCT
GAGCGGAGAACAGAAGAAGGCAATCGTCGACCT
GCTGTTCAAGACAAACAGAAAGGTACAGTCAA
GCAGCTGAAGGAAGACTACTTCAAGAAGATCGA
ATGCTTCGACAGCGTCGAAATCAGCGGAGTCGAA
GACAGATTCAACGCAAGCCTGGGAACATACCAC
GACCTGCTGAAGATCATCAAGGACAAGGACTTCC
TGGACAACGAAGAAAACGAAGACATCCTGGAAG
ACATCGTCCTGACACTGACACTGTTCGAAGACAG
AGAAATGATCGAAGAAAGACTGAAGACATACGC
ACACCTGTTTCGACGACAAGGTCATGAAGCAGCTG
AAGAGAAGAAGATACACAGGATGGGGAAGACTG
AGCAGAAAGCTGATCAACGGAATCAGAGACAAG
CAGAGCGGAAAGACAATCCTGGACTTCCTGAAG
AGCGACGGATTTCGCAAACAGAACTTCATGCAGC
TGATCCACGACGACAGCCTGACATTCAAGGAAGA
CATCCAGAAGGCACAGGTCAGCGGACAGGGAGA
CAGCCTGCACGAACACATCGCAAACCTGGCAGG
AAGCCCGGCAATCAAGAAGGGAATCCTGCAGAC
AGTCAAGGTCGTCGACGAACTGGTCAAGGTCATG
GGAAGACACAAGCCGGAAAACATCGTCATCGAA
ATGGCAAGAGAAAACCAGACAACACAGAAGGGA
CAGAAGAACAGCAGAGAAAGAATGAAGAGAATC
GAAGAAGGAATCAAGGAACTGGGAAGCCAGATC
CTGAAGGAACACCCGGTCGAAAACACACAGCTG
CAGAACGAAAAGCTGTACCTGTACTACCTGCAGA
ACGGAAGAGACATGTACGTCGACCAGGAACTGG
ACATCAACAGACTGAGCGACTACGACGTCGACCA
CATCGTCCCGCAGAGCTTCCTGAAGGACGACAGC
ATCGACAACAAGGTCCTGACAAGAAGCGACAAG
AACAGAGGAAAGAGCGACAACGTCCCGAGCGAA
GAAGTCGTCAAGAAGATGAAGAACTACTGGAGA
CAGCTGCTGAACGCAAAGCTGATCACACAGAGA
AAGTTCGACAACCTGACAAAGGCAGAGAGAGGA

GGACTGAGCGAACTGGACAAGGCAGGATTCATC
AAGAGACAGCTGGTCGAAACAAGACAGATCACA
AAGCACGTCGCACAGATCCTGGACAGCAGAATG
AACACAAAGTACGACGAAAACGACAAGCTGATC
AGAGAAGTCAAGGTCATCACACTGAAGAGCAAG
CTGGTCAGCGACTTCAGAAAGGACTTCCAGTTCT
ACAAGGTCAGAGAAATCAACAACCTACCACCACG
CACACGACGCATACCTGAACGCAGTCGTCGGAAC
AGCACTGATCAAGAAGTACCCGAAGCTGGAAAG
CGAATTCGTCTACGGAGACTACAAGGTCTACGAC
GTCAGAAAGATGATCGCAAAGAGCGAACAGGAA
ATCGGAAAGGCAACAGCAAAGTACTTCTTCTACA
GCAACATCATGAACTTCTTCAAGACAGAAATCAC
ACTGGCAAACGGAGAAATCAGAAAGAGACCGCT
GATCGAAACAAACGGAGAAACAGGAGAAATCGT
CTGGGACAAGGGAAGAGACTTCGCAACAGTCAG
AAAGGTCCTGAGCATGCCGCAGGTCAACATCGTC
AAGAAGACAGAAGTCCAGACAGGAGGATTCAGC
AAGGAAAGCATCCTGCCGAAGAGAAACAGCGAC
AAGCTGATCGCAAGAAAGAAGGACTGGGACCCG
AAGAAGTACGGAGGATTCGACAGCCCGACAGTC
GCATACAGCGTCCTGGTCGTCGCAAAGGTGCGAAA
AGGGAAAGAGCAAGAAGCTGAAGAGCGTCAAGG
AACTGCTGGGAATCACAATCATGGAAAGAAGCA
GCTTCGAAAAGAACCCGATCGACTTCTGGAAGC
AAAGGGATACAAGGAAGTCAAGAAGGACCTGAT
CATCAAGCTGCCGAAGTACAGCCTGTTGAACTG
GAAAACGGAAGAAAGAGAATGCTGGCAAGCGCA
GGAGAACTGCAGAAGGGAAACGAACTGGCACTG
CCGAGCAAGTACGTCAACTTCTGTACCTGGCAA
GCCACTACGAAAAGCTGAAGGGAAGCCCGGAAG
ACAACGAACAGAAGCAGCTGTTCGTGGAACAGC
ACAAGCACTACCTGGACGAAATCATCGAACAGAT
CAGCGAATTCAGCAAGAGAGTCATCCTGGCAGAC
GCAAACCTGGACAAGGTCCTGAGCGCATAACAAC

	<p>AAGCACAGAGACAAGCCGATCAGAGAACAGGCA GAAAACATCATCCACCTGTTCACTGACAAACC TGGGAGCACCGGCAGCATTCAAGTACTTCGACAC ACAATCGACAGAAAGAGATACACAAGCACAAA GGAAGTCCTGGACGCAACACTGATCCACCAGAGC ATCACAGGACTGTACGAAACAAGAATCGACCTG AGCCAGCTGGGAGGAGACGGAGGAGGAAGCCCG AAGAAGAAGAGAAAGGTCAGCGAAAGCGCAACA CCGGAAAGCGTCAGCGGATGGAGACTGTTCAAG AAGATCAGCTAGCTAGCCATCACATTTAAAAGCA TCTCAGCCTACCATGAGAATAAGAGAAAGAAAA TGAAGATCAATAGCTTATTCATCTCTTTTTCTTT TCGTTGGTGTAAGCCAACACCCTGTCTAAAAAA CATAAATTTCTTTAATCATTTTGCCTCTTTTCTCTG TGCTTCAATTAATAAAAAATGGAAAGAACCTCGA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAA</p>	
<p>Транскрипт мРНК с ОПС, кодирующей Cas9 с тегом HiBiT, CMV-2 5' UTR и ALB 3' UTR человека</p>	<p>GGGAGAAGACACCGGGACCGATCCAGCCTCCGC GGCCGGGAACGGCGCCACCATGGACAAGAAGTA CAGCATCGGACTGGACATCGGAACAAACAGCGT CGGATGGGCAGTCATCACAGACGAATACAAGGT CCCGAGCAAGAAGTTCAAGGTCCTGGGAAACAC AGACAGACACAGCATCAAGAAGAACCTGATCGG AGCACTGCTGTTTCGACAGCGGAGAAACAGCAGA AGCAACAAGACTGAAGAGAACAGCAAGAAGAAG ATACACAAGAAGAAAGAACAGAATCTGCTACCT GCAGGAAATCTTCAGCAACGAAATGGCAAAGGT CGACGACAGCTTCTCCACAGACTGGAAGAAAGC TTCCTGGTCGAAGAAGACAAGAAGCACGAAAGA CACCCGATCTTCGGAAACATCGTCGACGAAGTCG CATACCACGAAAAGTACCCGACAATCTACCACCT GAGAAAGAAGCTGGTTCGACAGCACAGACAAGGC AGACCTGAGACTGATCTACCTGGCACTGGCACAC ATGATCAAGTTCAGAGGACACTTCTGATCGAAG</p>	<p>381</p>

GAGACCTGAACCCGGACAACAGCGACGTCGACA
AGCTGTTTCATCCAGCTGGTCCAGACATAACAACCA
GCTGTTTCGAAGAAAACCCGATCAACGCAAGCGG
AGTCGACGCAAAGGCAATCCTGAGCGCAAGACT
GAGCAAGAGCAGAAGACTGGAAAACCTGATCGC
ACAGCTGCCGGGAGAAAAGAAGAACGGACTGTT
CGGAAACCTGATCGCACTGAGCCTGGGACTGACA
CCGAACTTCAAGAGCAACTTCGACCTGGCAGAAG
ACGCAAAGCTGCAGCTGAGCAAGGACACATACG
ACGACGACCTGGACAACCTGCTGGCACAGATCGG
AGACCAGTACGCAGACCTGTTCTTGGCAGCAAAG
AACCTGAGCGACGCAATCCTGCTGAGCGACATCC
TGAGAGTCAACACAGAAATCACAAAGGCACCGC
TGAGCGCAAGCATGATCAAGAGATACGACGAAC
ACCACCAGGACCTGACACTGCTGAAGGCACTGGT
CAGACAGCAGCTGCCGGAAAAGTACAAGGAAAT
CTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGATACGCAGGA
TACATCGACGGAGGAGCAAGCCAGGAAGAATTC
TACAAGTTCATCAAGCCGATCCTGGAAAAGATGG
ACGGAACAGAAGAAGCTGCTGGTCAAGCTGAACA
GAGAAGACCTGCTGAGAAAGCAGAGAACATTCG
ACAACGGAAGCATCCCGCACCCAGATCCACCTGGG
AGAACTGCACGCAATCCTGAGAAGACAGGAAGA
CTTCTACCCGTTCTTGAAGGACAACAGAGAAAAG
ATCGAAAAGATCCTGACATTCAGAATCCCGTACT
ACGTCGGACCGCTGGCAAGAGGAAACAGCAGAT
TCGCATGGATGACAAGAAAGAGCGAAGAAACAA
TCACACCGTGGAACCTCGAAGAAGTCGTCGACAA
GGGAGCAAGCGCACAGAGCTTCATCGAAAGAAT
GACAACTTCGACAAGAACCTGCCGAACGAAAA
GGTCCTGCCGAAGCACAGCCTGCTGTACGAATAC
TTCACAGTCTACAACGAACTGACAAAGGTCAAGT
ACGTACAGAAGGAATGAGAAAGCCGGCATTCC
TGAGCGGAGAACAGAAGAAGGCAATCGTCGACC
TGCTGTTCAAGACAAACAGAAAGGTCACAGTCAA

GCAGCTGAAGGAAGACTACTTCAAGAAGATCGA
ATGCTTCGACAGCGTCGAAATCAGCGGAGTCGAA
GACAGATTCAACGCAAGCCTGGGAACATACCAC
GACCTGCTGAAGATCATCAAGGACAAGGACTTCC
TGGACAACGAAGAAAACGAAGACATCCTGGAAG
ACATCGTCCTGACACTGACACTGTTCGAAGACAG
AGAAATGATCGAAGAAAGACTGAAGACATACGC
ACACCTGTTTCGACGACAAGGTCATGAAGCAGCTG
AAGAGAAGAAGATACACAGGATGGGGAAGACTG
AGCAGAAAGCTGATCAACGGAATCAGAGACAAG
CAGAGCGGAAAGACAATCCTGGACTTCTGAAG
AGCGACGGATTTCGCAAACAGAACTTCATGCAGC
TGATCCACGACGACAGCCTGACATTCAAGGAAGA
CATCCAGAAGGCACAGGTCAGCGGACAGGGAGA
CAGCCTGCACGAACACATCGCAAACCTGGCAGG
AAGCCCGGCAATCAAGAAGGGAATCCTGCAGAC
AGTCAAGGTCGTCGACGAACTGGTCAAGGTCATG
GGAAGACACAAGCCGGAAAACATCGTCATCGAA
ATGGCAAGAGAAAACCAGACAACACAGAAGGGA
CAGAAGAACAGCAGAGAAAGAATGAAGAGAATC
GAAGAAGGAATCAAGGAACTGGGAAGCCAGATC
CTGAAGGAACACCCGGTCGAAAACACACAGCTG
CAGAACGAAAAGCTGTACCTGTACTACCTGCAGA
ACGGAAGAGACATGTACGTCGACCAGGAACTGG
ACATCAACAGACTGAGCGACTACGACGTCGACCA
CATCGTCCCGCAGAGCTTCTGAAGGACGACAGC
ATCGACAACAAGGTCCTGACAAGAAGCGACAAG
AACAGAGGAAAGAGCGACAACGTCCCGAGCGAA
GAAGTCGTCAAGAAGATGAAGAACTACTGGAGA
CAGCTGCTGAACGCAAAGCTGATCACACAGAGA
AAGTTCGACAACCTGACAAAGGCAGAGAGAGGA
GGACTGAGCGAACTGGACAAGGCAGGATTCATC
AAGAGACAGCTGGTCGAAACAAGACAGATCACA
AAGCACGTCGCACAGATCCTGGACAGCAGAATG
AACACAAAGTACGACGAAAACGACAAGCTGATC

AGAGAAGTCAAGGTCATCACACTGAAGAGCAAG
CTGGTCAGCGACTTCAGAAAGGACTTCCAGTTCT
ACAAGGTCAGAGAAATCAACAACCTACCACCACG
CACACGACGCATACCTGAACGCAGTCGTCGGAAC
AGCACTGATCAAGAAGTACCCGAAGCTGGAAAG
CGAATTCGTCTACGGAGACTACAAGGTCTACGAC
GTCAGAAAGATGATCGCAAAGAGCGAACAGGAA
ATCGGAAAGGCAACAGCAAAGTACTTCTTCTACA
GCAACATCATGAACTTCTTCAAGACAGAAATCAC
ACTGGCAAACGGAGAAATCAGAAAGAGACCGCT
GATCGAAACAAACGGAGAAACAGGAGAAATCGT
CTGGGACAAGGGAAGAGACTTCGCAACAGTCAG
AAAGGTCCTGAGCATGCCGCAGGTCAACATCGTC
AAGAAGACAGAAGTCCAGACAGGAGGATTCAGC
AAGGAAAGCATCCTGCCGAAGAGAAACAGCGAC
AAGCTGATCGCAAGAAAGAAGGACTGGGACCCG
AAGAAGTACGGAGGATTCGACAGCCCGACAGTC
GCATACAGCGTCCTGGTCGTCGCAAAGGTGCAAA
AGGGAAAGAGCAAGAAGCTGAAGAGCGTCAAGG
AACTGCTGGGAATCACAATCATGGAAAGAAGCA
GCTTCGAAAAGAACCCGATCGACTTCCCTGGAAGC
AAAGGGATACAAGGAAGTCAAGAAGGACCTGAT
CATCAAGCTGCCGAAGTACAGCCTGTTCGAACTG
GAAAACGGAAGAAAGAGAATGCTGGCAAGCGCA
GGAGAACTGCAGAAGGGAAACGAACTGGCACTG
CCGAGCAAGTACGTCAACTTCCCTGTACCTGGCAA
GCCACTACGAAAAGCTGAAGGGAAAGCCCGGAAG
ACAACGAACAGAAGCAGCTGTTCGTGCAACAGC
ACAAGCACTACCTGGACGAAATCATCGAACAGAT
CAGCGAATTCAGCAAGAGAGTCATCCTGGCAGAC
GCAAACCTGGACAAGGTCCTGAGCGCATACAAC
AAGCACAGAGACAAGCCGATCAGAGAACAGGCA
GAAAACATCATCCACCTGTTCACTGACAAACC
TGGGAGCACCGGCAGCATTCAAGTACTTCGACAC
ACAATCGACAGAAAGAGATACACAAGCACAAA

	<p>GGAAGTCCTGGACGCAACACTGATCCACCAGAGC ATCACAGGACTGTACGAAACAAGAATCGACCTG AGCCAGCTGGGAGGAGACGGAGGAGGAAGCCCG AAGAAGAAGAGAAAGGTCAGCGAAAGCGCAACA CCGGAAAGCGTCAGCGGATGGAGACTGTTCAAG AAGATCAGCTAGCTAGCCATCACATTTAAAAGCA TCTCAGCCTACCATGAGAATAAGAGAAAGAAAA TGAAGATCAATAGCTTATTCATCTCTTTTCTTTT TCGTTGGTGTAAGCCAACACCCTGTCTAAAAAA CATAAATTTCTTTAATCATTTTGCCTCTTTTCTCTG TGCTTCAATTAATAAAAAATGGAAAGAACCTCGA GAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA</p>	
<p>Транскрипт мРНК с ОПС, кодирующей Cas9 с тегом HiBiT, CMV-3 5' UTR и ALB 3' UTR человека</p>	<p>GGGTGCATTGGAACGCGGATTCCCCGTGCCAAGA GTGACTCACCGCGCCACCATGGACAAGAAGTACA GCATCGGACTGGACATCGGAACAAACAGCGTCG GATGGGCAGTCATCACAGACGAATACAAGGTCCC GAGCAAGAAGTTCAAGGTCCTGGGAAACACAGA CAGACACAGCATCAAGAAGAACCTGATCGGAGC ACTGCTGTTGACAGCGGAGAACAGCAGAAGC ACAAGACTGAAGAGAACAGCAAGAAGAAGATA CACAAGAAGAAAGAACAGAATCTGCTACCTGCA GGAAATCTTCAGCAACGAAATGGCAAAGGTCTGA CGACAGCTTCTTCCACAGACTGGAAGAAAGCTTC CTGGTCGAAGAAGACAAGAAGCACGAAAGACAC CCGATCTTCGGAAACATCGTCGACGAAGTCGCAT ACCACGAAAAGTACCCGACAATCTACCACCTGAG AAAGAAGCTGGTCGACAGCACAGACAAGGCAGA CCTGAGACTGATCTACCTGGCACTGGCACACATG ATCAAGTTCAGAGGACACTTCTGATCGAAGGAG ACCTGAACCCGGACAACAGCGACGTCGACAAGC TGTTTCATCCAGCTGGTCCAGACATAACAACAGCT GTTTCGAAGAAAACCCGATCAACGCAAGCGGAGT CGACGCAAAGGCAATCCTGAGCGCAAGACTGAG</p>	<p>382</p>

CAAGAGCAGAAGACTGGAAAACCTGATCGCACA
GCTGCCGGGAGAAAAGAAGAACGGACTGTTCGG
AAACCTGATCGCACTGAGCCTGGGACTGACACCG
AACTTCAAGAGCAACTTCGACCTGGCAGAAGACG
CAAAGCTGCAGCTGAGCAAGGACACATACGACG
ACGACCTGGACAACCTGCTGGCACAGATCGGAG
ACCAGTACGCAGACCTGTTCCCTGGCAGCAAAGAA
CCTGAGCGACGCAATCCTGCTGAGCGACATCCTG
AGAGTCAACACAGAAATCACAAAGGCACCGCTG
AGCGCAAGCATGATCAAGAGATACGACGAACAC
CACCAGGACCTGACACTGCTGAAGGCACTGGTCA
GACAGCAGCTGCCGGAAAAGTACAAGGAAATCT
TCTTCGACCAGAGCAAGAACGGATACGCAGGAT
ACATCGACGGAGGAGCAAGCCAGGAAGAATTCT
ACAAGTTCATCAAGCCGATCCTGGAAAAGATGGA
CGGAACAGAAGAAGCTGCTGGTCAAGCTGAACAG
AGAAGACCTGCTGAGAAAGCAGAGAACATTCGA
CAACGGAAGCATCCCGCACCAGATCCACCTGGGA
GAACTGCACGCAATCCTGAGAAGACAGGAAGAC
TTCTACCCGTTCCCTGAAGGACAACAGAGAAAAGA
TCGAAAAGATCCTGACATTCAGAATCCCGTACTA
CGTCGGACCGCTGGCAAGAGGAAACAGCAGATT
CGCATGGATGACAAGAAAGAGCGAAGAAACAAT
CACACCGTGGAACCTTCGAAGAAGTCGTCGACAAG
GGAGCAAGCGCACAGAGCTTCATCGAAAGAATG
ACAACTTCGACAAGAACCTGCCGAACGAAAAG
GTCCTGCCGAAGCACAGCCTGCTGTACGAATACT
TCACAGTCTACAACGAACTGACAAAGGTCAAGTA
CGTCACAGAAGGAATGAGAAAGCCGGCATTCCCT
GAGCGGAGAACAGAAGAAGGCAATCGTCGACCT
GCTGTTCAAGACAAACAGAAAGGTCACAGTCAA
GCAGCTGAAGGAAGACTACTTCAAGAAGATCGA
ATGCTTCGACAGCGTCGAAATCAGCGGAGTCGAA
GACAGATTCAACGCAAGCCTGGGAACATACCAC
GACCTGCTGAAGATCATCAAGGACAAGGACTTCC

TGGACAACGAAGAAAACGAAGACATCCTGGAAG
ACATCGTCCTGACACTGACACTGTTCGAAGACAG
AGAAATGATCGAAGAAAGACTGAAGACATACGC
ACACCTGTTTCGACGACAAGGTCATGAAGCAGCTG
AAGAGAAGAAGATACACAGGATGGGGAAGACTG
AGCAGAAAGCTGATCAACGGAATCAGAGACAAG
CAGAGCGGAAAGACAATCCTGGACTTCCTGAAG
AGCGACGGATTCGCAAACAGAACTTCATGCAGC
TGATCCACGACGACAGCCTGACATTCAAGGAAGA
CATCCAGAAGGCACAGGTCAGCGGACAGGGAGA
CAGCCTGCACGAACACATCGCAAACCTGGCAGG
AAGCCCGGCAATCAAGAAGGGAATCCTGCAGAC
AGTCAAGGTCGTCGACGAACTGGTCAAGGTCATG
GGAAGACACAAGCCGGAAAACATCGTCATCGAA
ATGGCAAGAGAAAACCAGACAACACAGAAGGGA
CAGAAGAACAGCAGAGAAAGAATGAAGAGAATC
GAAGAAGGAATCAAGGAACTGGGAAGCCAGATC
CTGAAGGAACACCCGGTCGAAAACACACAGCTG
CAGAACGAAAAGCTGTACCTGTACTACCTGCAGA
ACGGAAGAGACATGTACGTCGACCAGGAACTGG
ACATCAACAGACTGAGCGACTACGACGTCGACCA
CATCGTCCCGCAGAGCTTCCTGAAGGACGACAGC
ATCGACAACAAGGTCCTGACAAGAAGCGACAAG
AACAGAGGAAAGAGCGACAACGTCCCGAGCGAA
GAAGTCGTCAAGAAGATGAAGAACTACTGGAGA
CAGCTGCTGAACGCAAAGCTGATCACACAGAGA
AAGTTCGACAACCTGACAAAGGCAGAGAGAGGA
GGACTGAGCGAACTGGACAAGGCAGGATTCATC
AAGAGACAGCTGGTCGAAACAAGACAGATCACA
AAGCACGTCGCACAGATCCTGGACAGCAGAATG
AACACAAAGTACGACGAAAACGACAAGCTGATC
AGAGAAGTCAAGGTCATCACACTGAAGAGCAAG
CTGGTCAGCGACTTCAGAAAGGACTTCCAGTTCT
ACAAGGTCAGAGAAATCAACAACCTACCACCAG
CACACGACGCATACCTGAACGCAGTCGTCGGAAC

AGCACTGATCAAGAAGTACCCGAAGCTGGAAAG
CGAATTCGTCTACGGAGACTACAAGGTCTACGAC
GTCAGAAAGATGATCGCAAAGAGCGAACAGGAA
ATCGGAAAGGCAACAGCAAAGTACTTCTTCTACA
GCAACATCATGAACTTCTTCAAGACAGAAATCAC
ACTGGCAAACGGAGAAATCAGAAAGAGACCGCT
GATCGAAACAAACGGAGAAACAGGAGAAATCGT
CTGGGACAAGGGAAGAGACTTCGCAACAGTCAG
AAAGGTCCTGAGCATGCCGCAGGTCAACATCGTC
AAGAAGACAGAAGTCCAGACAGGAGGATTCAGC
AAGGAAAGCATCCTGCCGAAGAGAAACAGCGAC
AAGCTGATCGCAAGAAAGAAGGACTGGGACCCG
AAGAAGTACGGAGGATTCGACAGCCCGACAGTC
GCATACAGCGTCCTGGTCGTCGCAAAGGTGCGAAA
AGGGAAAGAGCAAGAAGCTGAAGAGCGTCAAGG
AACTGCTGGGAATCACAATCATGGAAAGAAGCA
GCTTCGAAAAGAACCCGATCGACTTCTGGAAGC
AAAGGGATACAAGGAAGTCAAGAAGGACCTGAT
CATCAAGCTGCCGAAGTACAGCCTGTTGAACTG
GAAAACGGAAGAAAGAGAATGCTGGCAAGCGCA
GGAGAACTGCAGAAGGGAAACGAACTGGCACTG
CCGAGCAAGTACGTCAACTTCCTGTACCTGGCAA
GCCACTACGAAAAGCTGAAGGGAAGCCCGGAAG
ACAACGAACAGAAGCAGCTGTTCGTCGAACAGC
ACAAGCACTACCTGGACGAAATCATCGAACAGAT
CAGCGAATTCAGCAAGAGAGTCATCCTGGCAGAC
GCAAACCTGGACAAGGTCCTGAGCGCATACAAC
AAGCACAGAGACAAGCCGATCAGAGAACAGGCA
GAAAACATCATCCACCTGTTCACTGACAAACC
TGGGAGCACCGGCAGCATTCAAGTACTTCGACAC
AACAATCGACAGAAAGAGATACACAAGCACAAA
GGAAGTCCTGGACGCAACACTGATCCACCAGAGC
ATCACAGGACTGTACGAAACAAGAATCGACCTG
AGCCAGCTGGGAGGAGACGGAGGAGGAAGCCCG
AAGAAGAAGAGAAAGGTCAGCGAAAGCGCAACA

	<p>CCGGAAAGCGTCAGCGGATGGAGACTGTTCAAG AAGATCAGCTAGCTAGCCATCACATTTAAAAGCA TCTCAGCCTACCATGAGAATAAGAGAAAGAAAA TGAAGATCAATAGCTTATTCATCTCTTTTTCTTT TCGTTGGTGTAAGCCAACACCCTGTCTAAAAAA CATAAATTTCTTTAATCATTTTGCCTCTTTTCTCTG TGCTTCAATTAATAAAAAATGGAAAGAACCTCGA GAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAA</p>	
<p>Транскрипт мРНК с ОПС, кодирующей Cas9 с тегом HiBiT, HBA 5' UTR и ALB 3' UTR человека</p>	<p>GGGCATAAACCCCTGGCGCGCTCGCGGCCCGGCAC TCTTCTGGTCCCCACAGACTCAGAGAGAACCCAC CCGCCACCATGGACAAGAAGTACAGCATCGGACT GGACATCGGAACAAACAGCGTCGGATGGGCAGT CATCACAGACGAATACAAGGTCCCGAGCAAGAA GTTCAAGGTCCTGGGAAACACAGACAGACACAG CATCAAGAAGAACCTGATCGGAGCACTGCTGTTC GACAGCGGAGAAACAGCAGAAGCAACAAGACTG AAGAGAACAGCAAGAAGAAGATACACAAGAAGA AAGAACAGAATCTGCTACCTGCAGGAAATCTTCA GCAACGAAATGGCAAAGGTCGACGACAGCTTCTT CCACAGACTGGAAGAAAGCTTCCTGGTCAAGA AGACAAGAAGCACGAAAGACACCCGATCTTCGG AAACATCGTCGACGAAGTCGCATACCACGAAAA GTACCCGACAATCTACCACCTGAGAAAGAAGCTG GTCGACAGCACAGACAAGGCAGACCTGAGACTG ATCTACCTGGCACTGGCACACATGATCAAGTTCA GAGGACACTTCCTGATCGAAGGAGACCTGAACCC GGACAACAGCGACGTGACAAGCTGTTTCATCCAG CTGGTCCAGACATAACAACCAGCTGTTCAAGAAA ACCCGATCAACGCAAGCGGAGTCGACGCAAAGG CAATCCTGAGCGCAAGACTGAGCAAGAGCAGAA GACTGGAAAACCTGATCGCACAGCTGCCGGGAG AAAAGAAGAACGGACTGTTCGGAAACCTGATCG CACTGAGCCTGGGACTGACACCGAACTTCAAGAG</p>	<p>383</p>

CAACTTCGACCTGGCAGAAGACGCAAAGCTGCA
GCTGAGCAAGGACACATACGACGACGACCTGGA
CAACCTGCTGGCACAGATCGGAGACCAGTACGCA
GACCTGTTCTGGCAGCAAAGAACCTGAGCGACG
CAATCCTGCTGAGCGACATCCTGAGAGTCAACAC
AGAAATCACAAAGGCACCGCTGAGCGCAAGCAT
GATCAAGAGATACGACGAACACCACCAGGACCT
GACACTGCTGAAGGCACTGGTCAGACAGCAGCTG
CCGGAAAAGTACAAGGAAATCTTCTTCGACCAGA
GCAAGAACGGATACGCAGGATACATCGACGGAG
GAGCAAGCCAGGAAGAATTCTACAAGTTCATCAA
GCCGATCCTGGAAAAGATGGACGGAACAGAAGA
ACTGCTGGTCAAGCTGAACAGAGAAGACCTGCTG
AGAAAGCAGAGAACATTCGACAACGGAAAGCATC
CCGCACCAGATCCACCTGGGAGAACTGCACGCAA
TCCTGAGAAGACAGGAAGACTTCTACCCGTTCT
GAAGGACAACAGAGAAAAGATCGAAAAGATCCT
GACATTCAGAATCCCGTACTACGTCGGACCGCTG
GCAAGAGGAAACAGCAGATTCGCATGGATGACA
AGAAAGAGCGAAGAAACAATCACACCGTGGAAC
TTCGAAGAAGTCGTCGACAAGGGAGCAAGCGCA
CAGAGCTTCATCGAAAGAATGACAAACTTCGACA
AGAACCTGCCGAACGAAAAGGTCCTGCCGAAGC
ACAGCCTGCTGTACGAATACTTCACAGTCTACAA
CGAACTGACAAAGGTCAAGTACGTCACAGAAGG
AATGAGAAAGCCGGCATTCTGAGCGGAGAACA
GAAGAAGGCAATCGTCGACCTGCTGTTCAAGACA
AACAGAAAGGTCACAGTCAAGCAGCTGAAGGAA
GACTACTTCAAGAAGATCGAATGCTTCGACAGCG
TCGAAATCAGCGGAGTCGAAGACAGATTCAACG
CAAGCCTGGGAACATACCACGACCTGCTGAAGAT
CATCAAGGACAAGGACTTCTGGACAACGAAGA
AAACGAAGACATCCTGGAAGACATCGTCCTGACA
CTGACACTGTTCTGAAGACAGAGAAATGATCGAA
GAAAGACTGAAGACATACGCACACCTGTTTCGACG

ACAAGGTCATGAAGCAGCTGAAGAGAAGAAGAT
ACACAGGATGGGGAAGACTGAGCAGAAAGCTGA
TCAACGGAATCAGAGACAAGCAGAGCGGAAAGA
CAATCCTGGACTTCCTGAAGAGCGACGGATTCGC
AAACAGAACTTCATGCAGCTGATCCACGACGAC
AGCCTGACATTCAAGGAAGACATCCAGAAGGCA
CAGGTCAGCGGACAGGGAGACAGCCTGCACGAA
CACATCGCAAACCTGGCAGGAAGCCCGGCAATC
AAGAAGGGAATCCTGCAGACAGTCAAGGTCGTC
GACGAACTGGTCAAGGTCATGGGAAGACACAAG
CCGAAAACATCGTCATCGAAATGGCAAGAGAA
AACCAGACAACACAGAAGGGACAGAAGAACAGC
AGAGAAAGAATGAAGAGAATCGAAGAAGGAATC
AAGGAACTGGGAAGCCAGATCCTGAAGGAACAC
CCGGTCGAAAACACACAGCTGCAGAACGAAAAG
CTGTACCTGTACTACCTGCAGAACGGAAGAGACA
TGTACGTCGACCAGGAACTGGACATCAACAGACT
GAGCGACTACGACGTCGACCACATCGTCCCGCAG
AGCTTCCTGAAGGACGACAGCATCGACAACAAG
GTCCTGACAAGAAGCGACAAGAACAGAGGAAAG
AGCGACAACGTCCCGAGCGAAGAAGTCGTCAAG
AAGATGAAGAATACTGGAGACAGCTGCTGAAC
GCAAAGCTGATCACACAGAGAAAGTTCGACAAC
CTGACAAAGGCAGAGAGAGGAGGACTGAGCGAA
CTGGACAAGGCAGGATTCATCAAGAGACAGCTG
GTCGAAACAAGACAGATCACAAAGCACGTCGCA
CAGATCCTGGACAGCAGAATGAACACAAAGTAC
GACGAAAACGACAAGCTGATCAGAGAAGTCAAG
GTCATCACACTGAAGAGCAAGCTGGTCAGCGACT
TCAGAAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTCAGAGA
AATCAACAATAACCACCACGCACACGACGCATAC
CTGAACGCAGTCGTCGGAACAGCACTGATCAAGA
AGTACCCGAAGCTGGAAAGCGAATTCGTCTACGG
AGACTACAAGGTCTACGACGTCAGAAAGATGATC
GCAAAGAGCGAACAGGAAATCGGAAAGGCAACA

GCAAAGTACTTCTTCTACAGCAACATCATGAACT
TCTTCAAGACAGAAATCACACTGGCAAACGGAG
AAATCAGAAAGAGACCGCTGATCGAAACAAACG
GAGAAACAGGAGAAATCGTCTGGGACAAGGGAA
GAGACTTCGCAACAGTCAGAAAGGTCCTGAGCAT
GCCGCAGGTCAACATCGTCAAGAAGACAGAAGT
CCAGACAGGAGGATTCAGCAAGGAAAGCATCCT
GCCGAAGAGAAACAGCGACAAGCTGATCGCAAG
AAAGAAGGACTGGGACCCGAAGAAGTACGGAGG
ATTCGACAGCCCGACAGTCGCATACAGCGTCCTG
GTCGTGCGCAAAGGTGCGAAAAGGGAAAGAGCAAG
AAGCTGAAGAGCGTCAAGGAACTGCTGGGAATC
ACAATCATGGAAAGAAGCAGCTTCGAAAAGAAC
CCGATCGACTTCTTGGGAAGCAAAGGGATACAAG
GAAGTCAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCG
AAGTACAGCCTGTTTGAAGTGGAAAACGGAAGA
AAGAGAATGCTGGCAAGCGCAGGAGAAGTGCAG
AAGGGAAACGAACTGGCACTGCCGAGCAAGTAC
GTCAACTTCTGTACCTGGCAAGCCACTACGAAA
AGCTGAAGGGAAGCCCGGAAGACAACGAACAGA
AGCAGCTGTTTCGTGGAACAGCACAAGCACTACCT
GGACGAAATCATCGAACAGATCAGCGAATTCAG
CAAGAGAGTCATCCTGGCAGACGCAAACCTGGA
CAAGGTCCTGAGCGCATAACAAGCACAGAGA
CAAGCCGATCAGAGAACAGGCAGAAAACATCAT
CCACCTGTTTCAACTGACAAACCTGGGAGCACCG
GCAGCATTCAAGTACTTCGACACAACAATCGACA
GAAAGAGATACACAAGCACAAGGAAGTCCTGG
ACGCAACACTGATCCACCAGAGCATCACAGGACT
GTACGAAACAAGAATCGACCTGAGCCAGCTGGG
AGGAGACGGAGGAGGAAGCCCGAAGAAGAAGA
GAAAGGTCAGCGAAAGCGCAACACCGGAAAGCG
TCAGCGGATGGAGACTGTTCAAGAAGATCAGCTA
GCTAGCCATCACATTTAAAAGCATCTCAGCCTAC
CATGAGAATAAGAGAAAGAAAATGAAGATCAAT

	AGCTTATTCATCTCTTTTTCTTTTTTCGTTGGTGTAA AGCCAACACCCTGTCTAAAAAACATAAATTTCTT TAATCATTTTGCCTCTTTTCTCTGTGCTTCAATTA ATAAAAAATGGAAAGAACCTCGAGAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAA	
<p>Транскрипт мРНК с ОПС, кодирующей Cas9 с тегом HiBiT, HBB 5' UTR и ALB 3' UTR человека</p>	GGGACATTTGCTTCTGACACAACCTGTGTTCACTA GCAACCTCAAACAGACACCGGATCTCGCCACCAT GGACAAGAAGTACAGCATCGGACTGGACATCGG AACAAACAGCGTCGGATGGGCAGTCATCACAGA CGAATACAAGGTCCCGAGCAAGAAGTTCAAGGT CCTGGGAAACACAGACAGACACAGCATCAAGAA GAACCTGATCGGAGCACTGCTGTTTCGACAGCGGA GAAACAGCAGAAGCAACAAGACTGAAGAGAACA GCAAGAAGAAGATACACAAGAAGAAAGAACAGA ATCTGCTACCTGCAGGAAATCTTCAGCAACGAAA TGGCAAAGGTTCGACGACAGCTTCTCCACAGACT GGAAGAAAGCTTCCTGGTCGAAGAAGACAAGAA GCACGAAAGACACCCGATCTTCGGAAACATCGTC GACGAAGTCGCATACCACGAAAAGTACCCGACA ATCTACCACCTGAGAAAGAAGCTGGTTCGACAGCA CAGACAAGGCAGACCTGAGACTGATCTACCTGGC ACTGGCACACATGATCAAGTTCAGAGGACACTTC CTGATCGAAGGAGACCTGAACCCGGACAACAGC GACGTCGACAAGCTGTTTCATCCAGCTGGTCCAGA CATAACAACCAGCTGTTTCGAAGAAAACCCGATCAA CGCAAGCGGAGTCGACGCAAAGGCAATCCTGAG CGCAAGACTGAGCAAGAGCAGAAGACTGGAAAA CCTGATCGCACAGCTGCCGGGAGAAAAGAAGAA CGGACTGTTTCGGAAACCTGATCGCACTGAGCCTG GGACTGACACCGAACTTCAAGAGCAACTTCGACC TGGCAGAAGACGCAAAGCTGCAGCTGAGCAAGG ACACATACGACGACGACCTGGACAACCTGCTGGC ACAGATCGGAGACCAGTACGCAGACCTGTTCTCTG	<p>384</p>

GCAGCAAAGAACCTGAGCGACGCAATCCTGCTG
AGCGACATCCTGAGAGTCAACACAGAAATCACA
AAGGCACCGCTGAGCGCAAGCATGATCAAGAGA
TACGACGAACACCACCAGGACCTGACACTGCTGA
AGGCACTGGTCAGACAGCAGCTGCCGGAAAAGT
ACAAGGAAATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACG
GATACGCAGGATACATCGACGGAGGAGCAAGCC
AGGAAGAATTCTACAAGTTCATCAAGCCGATCCT
GGAAAAGATGGACGGAACAGAAGAACTGCTGGT
CAAGCTGAACAGAGAAGACCTGCTGAGAAAGCA
GAGAACATTCGACAACGGAAGCATCCCGCACCA
GATCCACCTGGGAGAACTGCACGCAATCCTGAGA
AGACAGGAAGACTTCTACCCGTTCTGAAGGACA
ACAGAGAAAAGATCGAAAAGATCCTGACATTCA
GAATCCCGTACTACGTTCGGACCGCTGGCAAGAGG
AAACAGCAGATTCGCATGGATGACAAGAAAGAG
CGAAGAAACAATCACACCGTGGAACCTTCGAAGA
AGTCGTTCGACAAGGGAGCAAGCGCACAGAGCTT
CATCGAAAGAATGACAAACTTCGACAAGAACCT
GCCGAACGAAAAGGTCCTGCCGAAGCACAGCCT
GCTGTACGAATACTTCACAGTCTACAACGAACTG
ACAAAGGTCAAGTACGTACAGAAAGGAATGAGA
AAGCCGGCATTCTGAGCGGAGAACAGAAGAAG
GCAATCGTCGACCTGCTGTTCAAGACAAACAGAA
AGGTCACAGTCAAGCAGCTGAAGGAAGACTACTT
CAAGAAGATCGAATGCTTCGACAGCGTCGAAATC
AGCGGAGTCGAAGACAGATTCAACGCAAGCCTG
GGAACATAACCACGACCTGCTGAAGATCATCAAGG
ACAAGGACTTCTGGACAACGAAGAAAACGAAG
ACATCCTGGAAGACATCGTCCTGACACTGACACT
GTTCGAAGACAGAGAAATGATCGAAGAAAGACT
GAAGACATACGCACACCTGTTTCGACGACAAGGTC
ATGAAGCAGCTGAAGAGAAGAAGATACACAGGA
TGGGGAAGACTGAGCAGAAAGCTGATCAACGGA
ATCAGAGACAAGCAGAGCGGAAAGACAATCCTG

GACTTCCTGAAGAGCGACGGATTTCGCAAACAGA
AACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACAGCCTGA
CATTCAAGGAAGACATCCAGAAGGCACAGGTCA
GCGGACAGGGAGACAGCCTGCACGAACACATCG
CAAACCTGGCAGGAAGCCCGGCAATCAAGAAGG
GAATCCTGCAGACAGTCAAGGTCGTCGACGAACT
GGTCAAGGTCATGGGAAGACACAAGCCGGAAAA
CATCGTCATCGAAATGGCAAGAGAAAACCAGAC
AACACAGAAGGGACAGAAGAACAGCAGAGAAA
GAATGAAGAGAATCGAAGAAGGAATCAAGGAAC
TGGGAAGCCAGATCCTGAAGGAACACCCGGTCG
AAAACACACAGCTGCAGAACGAAAAGCTGTACC
TGTACTACCTGCAGAACGGAAGAGACATGTACGT
CGACCAGGAACTGGACATCAACAGACTGAGCGA
CTACGACGTCGACCACATCGTCCCGCAGAGCTTC
CTGAAGGACGACAGCATCGACAACAAGGTCCTG
ACAAGAAGCGACAAGAACAGAGGAAAGAGCGAC
AACGTCCCGAGCGAAGAAGTCGTCAAGAAGATG
AAGA ACTACTGGAGACAGCTGCTGAACGCAAAG
CTGATCACACAGAGAAAGTTCGACAACCTGACAA
AGGCAGAGAGAGGAGGACTGAGCGAACTGGACA
AGGCAGGATTCATCAAGAGACAGCTGGTCGAAA
CAAGACAGATCACAAAGCACGTCGCACAGATCCT
GGACAGCAGAATGAACACAAAGTACGACGAAAA
CGACAAGCTGATCAGAGAAGTCAAGGTCATCAC
ACTGAAGAGCAAGCTGGTCAGCGACTTCAGAAA
GGACTTCCAGTTCTACAAGGTCAGAGAAATCAAC
AACTACCACCACGCACACGACGCATACCTGAACG
CAGTCGTCGGAACAGCACTGATCAAGAAGTACCC
GAAGCTGGAAAGCGAATTCGTCTACGGAGACTAC
AAGGTCTACGACGTCAGAAAGATGATCGCAAAG
AGCGAACAGGAAATCGGAAAGGCAACAGCAAAG
TACTTCTTCTACAGCAACATCATGAACTTCTTCAA
GACAGAAATCACACTGGCAAACGGAGAAATCAG
AAAGAGACCGCTGATCGAAACAAACGGAGAAAC

AGGAGAAATCGTCTGGGACAAGGGAAGAGACTT
CGCAACAGTCAGAAAGGTCCTGAGCATGCCGCA
GGTCAACATCGTCAAGAAGACAGAAGTCCAGAC
AGGAGGATTCAGCAAGGAAAGCATCCTGCCGAA
GAGAAACAGCGACAAGCTGATCGCAAGAAAGAA
GGACTGGGACCCGAAGAAGTACGGAGGATTCGA
CAGCCCGACAGTCGCATACAGCGTCCTGGTCGTC
GCAAAGGTCGAAAAGGGAAAGAGCAAGAAGCTG
AAGAGCGTCAAGGAACTGCTGGGAATCACAATC
ATGGAAAGAAGCAGCTTCGAAAAGAACCCGATC
GACTTCCTGGAAGCAAAGGGATACAAGGAAGTC
AAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCGAAGTAC
AGCCTGTTCGAACTGGAAAACGGAAGAAAGAGA
ATGCTGGCAAGCGCAGGAGAAGTGCAGAAGGGA
AACGAACTGGCACTGCCGAGCAAGTACGTCAACT
TCCTGTACCTGGCAAGCCACTACGAAAAGCTGAA
GGGAAGCCCGAAGACAACGAACAGAAGCAGCT
GTTCGTCGAACAGCACAAGCACTACCTGGACGAA
ATCATCGAACAGATCAGCGAATTCAGCAAGAGA
GTCATCCTGGCAGACGCAAACCTGGACAAGGTCC
TGAGCGCATAACAAGCACAGAGACAAGCCGA
TCAGAGAACAGGCAGAAAACATCATCCACCTGTT
CACACTGACAAACCTGGGAGCACCGGCAGCATT
AAGTACTTCGACACAACAATCGACAGAAAGAGA
TACACAAGCACAAAGGAAGTCCTGGACGCAACA
CTGATCCACCAGAGCATCACAGGACTGTACGAAA
CAAGAATCGACCTGAGCCAGCTGGGAGGAGACG
GAGGAGGAAGCCCGAAGAAGAAGAGAAAGGTCA
GCGAAAGCGCAACACCGGAAAGCGTCAGCGGAT
GGAGACTGTTCAAGAAGATCAGCTAGCTAGCCAT
CACATTTAAAAGCATCTCAGCCTACCATGAGAAT
AAGAGAAAGAAAATGAAGATCAATAGCTTATTC
ATCTCTTTTTCTTTTTCTGTTGGTGTAAGCCAACA
CCCTGTCTAAAAAACATAAATTTCTTTAATCATT
TGCTCTTTTTCTCTGTGCTTCAATTAATAAAAAAT

	GGAAAGAACCTCGAGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA	
<p>Транскрипт мРНК с ОПС, кодирующей Cas9 с тегом HiBiT, XBG 5' UTR и ALB 3' UTR человека</p>	GGGAAGCTCAGAATAAACGCTCAACTTTGGCCGG ATCTCGCCACCATGGACAAGAAGTACAGCATCGG ACTGGACATCGGAACAAACAGCGTCGGATGGGC AGTCATCACAGACGAATACAAGGTCCCGAGCAA GAAGTTCAAGGTCCTGGGAAACACAGACAGACA CAGCATCAAGAAGAACCTGATCGGAGCACTGCTG TTCGACAGCGGAGAAACAGCAGAAGCAACAAGA CTGAAGAGAACAGCAAGAAGAAGATACACAAGA AGAAAGAACAGAATCTGCTACCTGCAGGAAATCT TCAGCAACGAAATGGCAAAGGTCGACGACAGCT TCTTCCACAGACTGGAAGAAAGCTTCCTGGTCGA AGAAGACAAGAAGCACGAAAGACACCCGATCTT CGGAAACATCGTCGACGAAGTCGCATACCACGA AAAGTACCCGACAATCTACCACCTGAGAAAGAA GCTGGTTCGACAGCACAGACAAGGCAGACCTGAG ACTGATCTACCTGGCACTGGCACACATGATCAAG TTCAGAGGACACTTCCTGATCGAAGGAGACCTGA ACCCGGACAACAGCGACGTCGACAAGCTGTTCAT CCAGCTGGTCCAGACATAACAACCAGCTGTTCGAA GAAAACCCGATCAACGCAAGCGGAGTCGACGCA AAGGCAATCCTGAGCGCAAGACTGAGCAAGAGC AGAAGACTGGAAAACCTGATCGCACAGCTGCCG GGAGAAAAGAAGAACGGACTGTTCGGAAACCTG ATCGCACTGAGCCTGGGACTGACACCGAACTTCA AGAGCAACTTCGACCTGGCAGAAGACGCAAAGC TGCAGCTGAGCAAGGACACATACGACGACGACC TGGACAACCTGCTGGCACAGATCGGAGACCAGTA CGCAGACCTGTTCCTGGCAGCAAAGAACCTGAGC GACGCAATCCTGCTGAGCGACATCCTGAGAGTCA ACACAGAAATCACAAAGGCACCGCTGAGCGCAA GCATGATCAAGAGATACGACGAACACCACCAGG ACCTGACACTGCTGAAGGCACTGGTCAGACAGCA	385

GCTGCCGAAAAGTACAAGGAAATCTTCTTCGAC
CAGAGCAAGAACGGATACGCAGGATACATCGAC
GGAGGAGCAAGCCAGGAAGAATTCTACAAGTTC
ATCAAGCCGATCCTGGAAAAGATGGACGGAACA
GAAGAACTGCTGGTCAAGCTGAACAGAGAAGAC
CTGCTGAGAAAGCAGAGAACATTCGACAACGGA
AGCATCCCGCACCCAGATCCACCTGGGAGAAGTGC
ACGCAATCCTGAGAAGACAGGAAGACTTCTACCC
GTTCTGAAGGACAACAGAGAAAAGATCGAAAA
GATCCTGACATTCAGAATCCCGTACTACGTGCGA
CCGCTGGCAAGAGGAAACAGCAGATTCGCATGG
ATGACAAGAAAGAGCGAAGAAACAATCACACCG
TGGAACTTCGAAGAAGTCGTGACAAGGGAGCA
AGCGCACAGAGCTTCATCGAAAGAATGACAAAC
TTCGACAAGAACCTGCCGAACGAAAAGGTCCTGC
CGAAGCACAGCCTGCTGTACGAATACTTCACAGT
CTACAACGAACTGACAAAGGTCAAGTACGTCACA
GAAGGAATGAGAAAGCCGGCATTCTGAGCGGA
GAACAGAAGAAGGCAATCGTCGACCTGCTGTTCA
AGACAAACAGAAAGGTCACAGTCAAGCAGCTGA
AGGAAGACTACTTCAAGAAGATCGAATGCTTCGA
CAGCGTCGAAATCAGCGGAGTCGAAGACAGATT
CAACGCAAGCCTGGGAACATACCACGACCTGCTG
AAGATCATCAAGGACAAGGACTTCCTGGACAAC
GAAGAAAACGAAGACATCCTGGAAGACATCGTC
CTGACACTGACACTGTTCTGAAGACAGAGAAATGA
TCGAAGAAAGACTGAAGACATACGCACACCTGTT
CGACGACAAGGTCATGAAGCAGCTGAAGAGAAG
AAGATACACAGGATGGGGAAGACTGAGCAGAAA
GCTGATCAACGGAATCAGAGACAAGCAGAGCGG
AAAGACAATCCTGGACTTCCTGAAGAGCGACGG
ATTCGCAAACAGAACTTCATGCAGCTGATCCAC
GACGACAGCCTGACATTCAAGGAAGACATCCAG
AAGGCACAGGTCAGCGGACAGGGAGACAGCCTG
CACGAACACATCGCAAACCTGGCAGGAAGCCCG

GCAATCAAGAAGGGAATCCTGCAGACAGTCAAG
GTCGTCGACGAACTGGTCAAGGTCATGGGAAGAC
ACAAGCCGGAAAACATCGTCATCGAAATGGCAA
GAGAAAACCAGACAACACAGAAGGGACAGAAGA
ACAGCAGAGAAAGAATGAAGAGAATCGAAGAAG
GAATCAAGGAACTGGGAAGCCAGATCCTGAAGG
AACACCCGGTTCGAAAACACACAGCTGCAGAACG
AAAAGCTGTACCTGTACTACCTGCAGAACGGAAG
AGACATGTACGTCGACCAGGAACTGGACATCAAC
AGACTGAGCGACTACGACGTCGACCACATCGTCC
CGCAGAGCTTCTGAAGGACGACAGCATCGACA
ACAAGGTCCTGACAAGAAGCGACAAGAACAGAG
GAAAGAGCGACAACGTCCCGAGCGAAGAAGTCG
TCAAGAAGATGAAGAACTACTGGAGACAGCTGC
TGAACGCAAAGCTGATCACACAGAGAAAGTTCG
ACAACCTGACAAAGGCAGAGAGAGGAGGACTGA
GCGAACTGGACAAGGCAGGATTCATCAAGAGAC
AGCTGGTTCGAAACAAGACAGATCACAAAGCACG
TCGCACAGATCCTGGACAGCAGAATGAACACAA
AGTACGACGAAAACGACAAGCTGATCAGAGAAG
TCAAGGTCATCACACTGAAGAGCAAGCTGGTCAG
CGACTTCAGAAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTC
AGAGAAATCAACA ACTACCACCACGCACACGAC
GCATACCTGAACGCAGTCGTCGGAACAGCACTGA
TCAAGAAGTACCCGAAGCTGGAAAGCGAATTCGT
CTACGGAGACTACAAGGTCTACGACGTCAGAAA
GATGATCGCAAAGAGCGAACAGGAAATCGGAAA
GGCAACAGCAAAGTACTTCTTCTACAGCAACATC
ATGAACTTCTTCAAGACAGAAATCACACTGGCAA
ACGGAGAAATCAGAAAGAGACCGCTGATCGAAA
CAAACGGAGAAACAGGAGAAATCGTCTGGGACA
AGGGAAGAGACTTCGCAACAGTCAGAAAGGTCC
TGAGCATGCCGCAGGTCAACATCGTCAAGAAGAC
AGAAGTCCAGACAGGAGGATTCAGCAAGGAAAG
CATCCTGCCGAAGAGAAACAGCGACAAGCTGAT

	<p>CGCAAGAAAGAAGGACTGGGACCCGAAGAAGTA CGGAGGATTCGACAGCCCGACAGTCGCATACAGC GTCCTGGTCGTCGCAAAGGTCGAAAAGGGAAAG AGCAAGAAGCTGAAGAGCGTCAAGGAACTGCTG GGAATCACAATCATGGAAAGAAGCAGCTTCGAA AAGAACCCGATCGACTTCCTGGAAGCAAAGGGA TACAAGGAAGTCAAGAAGGACCTGATCATCAAG CTGCCGAAGTACAGCCTGTTTGAAGTGGAAAACG GAAGAAAGAGAATGCTGGCAAGCGCAGGAGAAC TGCAGAAGGGAAACGAACTGGCACTGCCGAGCA AGTACGTCAACTTCCTGTACCTGGCAAGCCACTA CGAAAAGCTGAAGGGAAGCCCGGAAGACAACGA ACAGAAGCAGCTGTTTCGTCGAACAGCACAAGCA CTACCTGGACGAAATCATCGAACAGATCAGCGAA TTCAGCAAGAGAGTCATCCTGGCAGACGCAAACC TGGACAAGGTCCTGAGCGCATACAACAAGCACA GAGACAAGCCGATCAGAGAACAGGCAGAAAACA TCATCCACCTGTTTCACTGACAAACCTGGGAGC ACCGGCAGCATTCAAGTACTTCGACACAACAATC GACAGAAAGAGATACACAAGCACAAGGAAGTC CTGGACGCAACACTGATCCACCAGAGCATCACAG GACTGTACGAAACAAGAATCGACCTGAGCCAGCT GGGAGGAGACGGAGGAGGAAGCCCGAAGAAGA AGAGAAAGGTCAGCGAAAGCGCAACACCCGAAA GCGTCAGCGGATGGAGACTGTTCAAGAAGATCA GCTAGCTAGCCATCACATTTAAAAGCATCTCAGC CTACCATGAGAATAAGAGAAAGAAAATGAAGAT CAATAGCTTATTCATCTCTTTTTCTTTTTCGTTGGT GTAAAGCCAACACCCTGTCTAAAAAACATAAATT TCTTTAATCATTTTGCCTCTTTTCTCTGTGCTTCAA TTAATAAAAAATGGAAAGAACCTCGAGAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAA</p>	
Аминокислотная	MDKKYSIGLDIGTNSVGWAVITDEYKVPSKKFKVL	386

<p>последовательность Cas9 с NLS1</p>	<p>GNTDRHSIKKNLIGALLFDSGETAEATRLKRTARRR YTRRKNRICYLQEIFSNEMAKVDDSSFFHRLEESFLV EEDKKHERHPIFGNIVDEVAYHEKYPTIYHLRKKLV DSTDKADRLIYLALAHMIKFRGHFLIEGDLNPDNS DVDKLFIQLVQTYNQLFEENPINASGVDAKAILSAR LSKSRLENLIAQLPGEKKNGLFGNLIASLGLTPNF KSNFDLAEDAQLQSKDTYDDDLDNLLAQIGDQYA DLFLAAKNLSDAILLSDILRVNTEITKAPLSASMIKR YDEHHQDLTLLKALVRQQLPEKYKEIFFDQSKNGY AGYIDGGASQEEFYKFIKPILEKMDGTEELLVKLNR EDLLRKQRTFDNGSIPHQIHLGELHAILRRQEDFYPF LKDNREKIEKILTFRIPYYVGPLARGNSRFAWMTRK SEETITPWNFEVVDKGAQAQSFIERMTNFDKNLPN EKVLPKHSLLYEYFTVYNELTKVKYVTEGMRKPAF LSGEQKKAIVDLLFKTNRKVTVKQLKEDYFKKIECF DSVEISGVEDRFNASLGTYHDLLKIIKDKDFLDNEE NEDILEDIVLTLTLFEDREMIEERLKTYAHLFDDKV MKQLKRRRYTGWGRLSRKLINGIRDKQSGKTILDF LKSDGFANRNFMQLIHDDSLTFKEDIQKAQVSGQG DSLHEHIANLAGSPAIKKGILQTVKVVDELVKVMG RHKPENIVIAMARENQTTQKGQKNSRERMKRIEEGI KELGSQILKEHPVENTQLQNEKLYLYLQNGRDMY VDQELDINRLSDYVDHIVPQSFLKDDSIDNKVLTR SDKNRGKSDNVPSEEVVKKMKNYWRQLLNAKLIT QRKFDNLTKAERGGLSELDKAGFIKRQLVETRQITK HVAQILDSRMNTKYDENDKLIREVKVITLKSCLVSD FRKDFQFYKVVREINNYHHAHDAYLNAVVGTAIIK YPKLESEFVYGDYKVYDVRKMIKSEQEIGKATAK YFFYSNIMNFFKTEITLANGEIRKRPLIETNGETGEIV WDKGRDFATVRKVLSPQVNVKKTQVQTTGGFSK ESILPKRNSDKLIARKKDWDPKKGFFSPTVAYS VLVVAKVEKGKSKKLKSVKELLGITIMERSSEFEKNP IDFLEAKGYKEVKKDLIILPKYSLFELENGRKRML ASAGELQKGNELALPSKYVNFLYLASHYEKLGKSP EDNEQKQLFVEQHKHYLDEIIEQISEFSKRVLADAN</p>
---	---

	<p>LDKVLSAYNKHRDKPIREQAENIIHLFTLTNLGAPA AFKYFDTTIDRKRYTSTKEVLDATLIHQSI TGLYETR IDLSQLGGDGGGSLAAKRSRTT</p>	
<p>Аминокислотная последовательность Cas9 с NLS2</p>	<p>MDKKYSIGLDIGTNSVGWAVITDEYKVPSKKFKVL GNTDRHSIKKNLIGALLFDSGETAEATRLKRTARRR YTRRKNRICYLQEIFSNEMAKVDDSFHRLEESFLV EEDKKHERHPIFGNIVDEVAYHEKYPTIYHLRKKLV DSTDKADRLIYLALAHMIKFRGHFLIEGDLNPDNS DVDKLFIQLVQTYNQLFEENPINASGVDAKAILSAR LSKSRLENLIAQLPGEKKNGLFGNLIASLGLTPNF KSNFDLAEDAQLQSKDTYDDDLDNLLAQIGDQYA DLFLAAKNLSDAILLSDILRVNTEITKAPLSASMIKR YDEHHQDLTLLKALVRQQLPEKYKEIFFDQSKNGY AGYIDGGASQEEFYKFIKPILEKMDGTEELLVKLNR EDLLRKQRTFDNGSIPHQIHLGELHAILRRQEDFYF LKDNRKIEKILTFRIPYYVGPLARGNSRFAWMTRK SEETITPWNFEVVDK GASAQSFIERMTNFDKNLPN EKVLPKHSLLYEYFTVYNELTKVKYVTEGMRKPAF LSGEQKKAIVDLLFKTNRKVTVKQLKEDYFKKIECF DSVEISGVEDRFNASLGTYHDLLKIIKDKDFLDNEE NEDILEDIVLTLTLFEDREMIEERLKTYAHLFDDKV MKQLKRRRYTGWGRLSRKCLINGIRDKQSGKTILDF LKSDGFANRNFMQLIHDDSLTFKEDIQKAQVSGQG DSLHEHIANLAGSPAIKKGILQTVKVVDELVKVMG RHKPENIVIAMARENQTTQKGQKNSRERMKRIEEGI KELGSQILKEHPVENTQLQNEKLYLYLQNGRDMY VDQELDINRLSDYDVDHIVPQSFLKDDSIDNKVLTR SDKNRGKSDNVPSEEVVKKMKNYWRQLLNAKLIT QRKFDNLTKAERGGLSELDKAGFIKRQLVETRQITK HVAQILDSRMNTKYDENDKLIREVKVITLKSCLVSD FRKDFQFYKVREINNYHHAHDAYLNAVVG TALIKK YPKLESEFVYGDYKVYDVRKMIKSEQEIGKATAK YFFYSNIMNFFKTEITLANGEIRKRPLIETNGETGEIV WDKGRDFATVRKVL SMPQVNIVKKTEVQTGGFSK ESILPKRNSDKLIARKKDWDPKKYGGFDSPTVAYS</p>	<p>387</p>

	<p>VLVVAKVEK GKSKK LKSVKELLGITIMERS SFEKNP IDFLEAKGYKEVKKDLI IKLPKYSLFELENGRKRML ASAGELQKGNELALPSKYVNFLYLASHYEKLK GSP EDNEQKQLFVEQHKHYLDEIIEQISEFSKR VILADAN LDKVLSA YNKHRDKPIREQAENIHLFTLTNLGAPA AFKYFDTTIDRKRYTSTKEVLDATLIHQ SITGLYETR IDLSQLGGDGGGSQA AKRSRTT</p>	
<p>Аминокислотная последовательность Cas9 с NLS3</p>	<p>MDKKYSIGLDIGTNSVGWAVITDEYKVP SKKFKVL GNTDRHSIKKNLIGALLFDSGETAEATRLKRTARRR YTRRKNRICYLQEIFSNEMAKVDDSFHRLEESFLV EEDKKHERHPIFGNIVDEVAYHEKYPTIYHLRKKLV DSTDKADRLIYLALAHMIKFRGHFLIEGDLNPDNS DVKLFIQLVQTYNQLFEENPINASGVDAKAILSAR LSKSRLENLIAQLPGEKKNGLFGNLIASLGLTPNF KSNFDLAEDAQLQSKDTYDDDLDNLLAQIGDQYA DLFLAAKNLS DAILSDILRVNTEITKAPLSASMIKR YDEHHQDLTLLKALVRQQLPEKYKEIFFDQSKNGY AGYIDGGASQEEFYKFIKPILEKMDGTEELLVKLNR EDLLRKQRTFDNGSIPHQIHLGELHAILRRQEDFYPF LKDNREKIEKILTFRIPIYYVGPLARGNSRFAWMTRK SEETITPWNFEVVDK GASAQSFIERMTNFDKNLPN EKVLPKHSLLYEYFTVYNELTKVKYVTEGMRKPAF LSGEQKKAIVDLLFKTNRKVTVKQLKEDYFKKIECF DSVEISGVEDRFNASLGTYHDLLKIIKDKDFLDNEE NEDILEDIVLTLTLFEDREMIEERLKTYAHLFDDKV MKQLKRRRYTGWGRLSRK LINGIRDKQSGKTILDF LKSDGFANRNFMQLIHDDSLTFKEDIQKAQVSGQG DSLHEHIANLAGSPA IKKGILQTVKVVDELVKVMG RHKPENIVIAMARENQTTQKGQKNSRERMKRIEEGI KELGSQILKEHPVENTQLQNEKLYLYYLQNGRDMY VDQELDINRLSDYVDHIVPQSFLKDDSIDNKVLTR SDKNRGKSDNVPSEE VVKMKNYWRQLLNAKLIT QRKFDNLTKAERGGLSELDKAGFIKRQLVETRQITK HVAQILDSRMNTKYDENDKLIREVKVITLKS KLVSD FRKDFQFYKVREINNYHHAHDAYLNAVVG TALIKK</p>	<p>388</p>

	<p>YPKLESEFVYGDYKVYDVRKMIKSEQEIGKATAK YFFYSNIMNFFKTEITLANGEIRKRPLIETNGETGEIV WDKGRDFATVRKVL SMPQVNIVKKTEVQTGGFSK ESILPKRNSDKLIARKKDWDPKKYGGFDSPTVAYS VLVVAKVEKGKSKKLSVKELLGITIMERSSEFEKNP IDFLEAKGYKEVKKDLIJKLPKYSLFELENGRKRML ASAGELQKGNELALPSKYVNFLYLASHYEKLKGGSP EDNEQKQLFVEQHKHYLDEIIEQISEFSKRVLADAN LDKVLSAYNKHRDKPIREQAENIIHLFTLTNLGAPA AFKYFDTTIDRKRYTSTKEVLDATLIHQSI TGLYETR IDLSQLGGDGGGSPAPAKRERTT</p>	
<p>Аминокислотная последовательность Cas9 с NLS4</p>	<p>MDKKYSIGLDIGTNSVGWAVITDEYKVPSKKFKVL GNTDRHSIKKNLIGALLFDSGETAEATRLKRTARRR YTRRKNRICYLQEIFS NEMAKVDDSFHRLEESFLV EEDKKHERHPIFGNIVDEVAYHEKYPTIYHLRKKLV DSTDKADRLIYLALAHMIKFRGHFLIEGDLNPDNS DVKLFIQLVQTYNQLFEENPINASGVDAKAILSAR LSKSRLENLIAQLPGEKKNGLFGNLIASLGLTPNF KSNFDLAEDAQLQSKDTYDDDLNLLAQIGDQYA DLFLAAKNLS DAILLSDILRVNTEITKAPLSASMIKR YDEHHQDLTLLKALVRQQLPEKYKEIFFDQSKNGY AGYIDGGASQEEFYKFIKPILEKMDGTEELLVKLNR EDLLRKQRTFDNGSIPHQIHLGELHAILRRQEDFYPF LKDNREKIEKILTFRIPYYVGPLARGNSRFAWMTRK SEETITPWNFEVVDK GASAQSFIERMTNFDKNLPN EKVLPKHSLLYEYFTVYNELTKVKYVTEGMRKPAF LSGEQKKAIVDLLFKTNRKVTVKQLKEDYFKKIECF DSVEISGVEDRFNASLGTYHDLLKIKDKDFLDNEE NEDILEDIVLTLTLFEDREMIEERLKYAHLFDDKV MKQLKRRRYTGWGRLSRKLINGIRDKQSGKTILDF LKSDGFANRNF MQLIHDDSLTFKEDIQKAQVSGQG DSLHEHIANLAGSPA IKKGILQTVKVVDDELVKVMG RHKPENIVIAMARENQTTQKGQKNSRERMKRIEEGI KELGSQILKEHPVENTQLQNEKLYLYYLQNGRDMY VDQELDINRLSDYDVDHIVPQSFLKDDSIDNKVLTR</p>	<p>389</p>

	<p>SDKNRGKSDNVPSEEVVKKMKNYWRQLLNAKLIT QRKFDNLTKAERGGLSELDKAGFIKRQLVETRQITK HVAQILDSRMNTKYDENDKLIREVKVITLKSCLVSD FRKDFQFYKVVREINNYHHAHDAYLNAVVGITALIKK YPKLESEFVYGDYKVYDVRKMIKSEQEIGKATAK YFFYSNIMNFFKTEITLANGEIRKRPLIETNGETGEIV WDKGRDFATVRKVLSPQVNIKKTEVQTGGFSK ESILPKRNSDKLIARKKDWDPKKGFFSPTVAYS VLVVAKVEKGKSKKLKSVKELLGITIMERSSEKPNP IDFLEAKGYKEVKKDLIKLPKYSLFELENGRKRML ASAGELQKGNELALPSKYVNFLYLASHYEKLGKSP EDNEQKQLFVEQHKHYLDEIIEQISEFSKRVILADAN LDKVLSAYNKHRDKPIREQAENIIHLFTLTNLGAPA AFKYFDTTIDRKRYTSTKEVLDTLIHQSIQGLYETR IDLSQLGGDGGGSQAARKPRTT</p>	
<p>Аминокислотная последовательность Cas9 с NLS5</p>	<p>MDKKYSIGLDIGTNSVGWAVITDEYKVPSSKFKVL GNTDRHSIKKNLIGALLFDSGETAEATRLKRTARRR YTRRKNRICYLQEIFSNEMAKVDDSFHRLSEESFLV EEDKKHERHPIFGNIVDEVAYHEKYPTIYHLRKKLV DSTDKADRLIYLALAHMIKFRGHFLIEGDLNPDNS DVKLFIQLVQTYNQLFEENPINASGVDAKAILSAR LSKSRRLENLIAQLPGEKKNLFGNLIALSLGLTPNF KSNFDLAEDAQLSKDQYDDDLNLLAQIGDQYA DLFLAAKNLSDAILLSDILRVNTEITKAPLSASMIKR YDEHHQDLTLLKALVRQQLPKEYKEIFFDQSKNGY AGYIDGGASQEEFYKFIKPILEKMDGTEELLVKLNR EDLLRKQRTFDNGSIPHQIHLGELHAILRRQEDFYFP LKDNREKIEKILTFRIPYYVGPLARGNSRFAWMTRK SEETITPWNFEVVDKGSASAQSFIERMTNFDKNLPN EKVLPKHSLLYEYFTVYNELTKVKYVTEGMRKPAF LSGEQKKAIVDLLFKTNRKVTVKQLKEDYFKKIECF DSVEISGVEDRFNASLGTYHDLLKIKDKDFLDNEE NEDILEDIVLTLTFEDREMIEERLKYAHLFDDKV MKQLKRRRYTGWGRLSRKLINGIRDKQSGKTILDF LKSDGFANRNFMLIHDDSLTFKEDIQKAQVSGQG</p>	<p>390</p>

	<p> DSLHEHIANLAGSPAIKKILQTVKVVDELVKVMG RHKPENIVIAMARENQTTQKGQKNSRERMKRIEEGI KELGSQILKEHPVENTQLQNEKLYLYYLQNGRDMY VDQELDINRLSDYDVDHIVPQSFLKDDSIDNKVLTR SDKNRGKSDNVPSEEVVKKMKNYWRQLLNAKLIT QRKFDNLTKAERGGLSELDKAGFIKRQLVETRQITK HVAQILDSRMNTKYDENDKLIREVKVITLKSCLVSD FRKDFQFYKVREINNYHHAHDAYLNAVVGTAIIKK YPKLESEFVYGDYKVYDVRKMIKSEQEIGKATAK YFFYSNIMNFFKTEITLANGEIRKRPLIETNGETGEIV WDKGRDFATVRKVLSPQVNVKKTETVQTGGFSK ESILPKRNSDKLIARKKDWDPKKYGGFDSPTVAYS VLVVAKVEKGKSKKLKSVKELLGITIMERSSEKPNP IDFLEAKGYKEVKKDLIKLPKYSLELENGRKRML ASAGELQKGNELALPSKYVNFLYLASHYEKLGKSP EDNEQKQLFVEQHKHYLDEIIEQISEFSKRVLADAN LDKVLSAYNKHRDKPIREQAENIHLFTLTNLGAPA AFKYFDTTIDRKRYTSTKEVLDATLIHQSI TGLYETR IDLSQLGGDGGGSRAAKRPRTT </p>	
<p> Аминокислотная последовательность Cas9 с NLS6 </p>	<p> MDKKYSIGLDIGTNSVGWAVITDEYKVPSKKFKVL GNTDRHSIKKNLIGALLFDSGETAEATRLKRTARRR YTRRKNRICYLQEIFSNEMAKVDDSFHRLEESFLV EEDKKHERHPIFGNIVDEVAYHEKYPTIYHLRKKLV DSTDKADRLIYLALAHMIKFRGHFLIEGDLNPDNS DVDKLFIQLVQTYNQLFEENPINASGVDAKAILSAR LSKSRLENLIAQLPGEKKNGLFGNLIASLGLTPNF KSNFDLAEDAQLQSKDTYDDDLNLLAQIGDQYA DLFLAAKNLSDAILLSDILRVNTEITKAPLSASMIKR YDEHHQDLTLLKALVRQQLPEKYKEIFFDQSKNGY AGYIDGGASQEEFYKFIKPILEKMDGTEELLVKLNR EDLLRKQRTFDNGSIPHQIHLGELHAILRRQEDFYPF LKDNREKIEKILTFRIPYYVGPLARGNSRFAWMTRK SEETITPWNFEVVDKGSASAQSFIERMTNFDKNLNP EKVLPKHSLLYEYFTVYNELTKVKYVTEGMRKPAF LSGEQKKAIVDLLFKTNRKVTVKQLKEDYFKKIECF </p>	<p>391</p>

	<p>DSVEISGVEDRFNASLGTYHDLLKIIKDKDFLDNEE NEDILEDIVLTLTLFEDREMIEERLKTYAHLFDDKV MKQLKRRRYTGWGRLSRKLINGIRDKQSGKTILDF LKSDGFANRFNFMQLIHDDSLTFKEDIQKAQVSGQG DSLHEHIANLAGSPAIKKGILQTVKVVDELVKVMG RHKPENIVIAMARENQTTQKGQKNSRERMKRIEEGI KELGSQILKEHPVENTQLQNEKLYLYYLQNGRDMY VDQELDINRLSDYDVDHIVPQSFLKDDSIDNKVLTR SDKNRGKSDNVPSEEVVKKMKNYWRQLLNAKLIT QRKFDNLTKAERGGLSELDKAGFIKRQLVETRQITK HVAQILDSRMNTKYDENDKLIREVKVITLKSCLVSD FRKDFQFYKVREINNYHHAHDAYLNAVVGTAIIKK YPKLESEFVYGDYKVYDVRKMIKSEQEIGKATAK YFFYSNIMNFFKTEITLANGEIRKRPLIETNGETGEIV WDKGRDFATVRKVLSPQVNIKKTEVQTGGFSK ESILPKRNSDKLIARKKDWDPKKYGGFDSPTVAYS VLVVAKVEKGKSKKLKSVKELLGITIMERSSEKPNP IDFLEAKGYKEVKKDLIILPKYSLFELENGRKRML ASAGELQKGNELALPSKYVNFLYLASHYEKLKGGSP EDNEQKQLFVEQHKHYLDEIIEQISEFSKRVLADAN LDKVLSAYNKHRDKPIREQAENIHLFTLTNLGAPA AFKYFDTTIDRKRYTSTKEVLDATLIHQSIQGLYETR IDLSQLGGDGGGSAAAKRSWSMAA</p>	
<p>Аминокислотная последовательность Cas9 с NLS7</p>	<p>MDKKYSIGLDIGTNSVGWAVITDEYKVPSKKFKVL GNTDRHSIKKNLIGALLFDSGETAEAATRLKRTARRR YTRRKNRICYLQEIFSNEMAKVDDSFHRLEESFLV EEDKKHERHPIFGNIVDEVAYHEKYPTIYHLRKKLV DSTDKADRLIYLALAHMIKFRGHFLIEGDLNPDNS DVDKLFIQLVQTYNQLFEENPINASGVDAKAILSAR LSKSRLENLIAQLPGEKKNGLFGNLIASLGLTPNF KSNFDLAEDAQLQSKDTYDDDLDNLLAQIGDQYA DLFLAAKNLSDAILLSDILRVNTEITKAPLSASMIKR YDEHHQDLTLLKALVRQQLPEKYKEIFFDQSKNGY AGYIDGGASQEEFYKFIKPILEKMDGTEELLVKLNR EDLLRKQRTFDNGSIPHQIHLGELHAILRRQEDFYFP</p>	<p>392</p>

	<p>LKDNREKIEKILTFRIPYYVGPLARGNSRFAWMTRK SEETITPWNFEVVDKGGASAQSFIERMTNFDKNLPN EKVLPKHSLLYEYFTVYNELTKVKYVTEGMRKPAF LSGEQKKAIVDLLFKTNRKVTVKQLKEDYFKKIECF DSVEISGVEDRFNASLGTYHDLLKIIKDKDFLDNEE NEDILEDIVLTLTLFEDREMIEERLKTYAHLFDDKV MKQLKRRRYTGWGRLSRKLINGIRDKQSGKTILDF LKSDGFANRNFMQLIHDDSLTFKEDIQKAQVSGQG DSLHEHIANLAGSPAIKKGILQTVKVVDELVKVMG RHKPENIVIAMARENQTTQKGQKNSRERMKRIEEGI KELGSQILKEHPVENTQLQNEKLYLYYLQNGRDMY VDQELDINRLSDYVDHIVPQSFLKDDSIDNKVLTR SDKNRGKSDNVPSEEVVKKMKNYWRQLLNAKLIT QRKFDNLTKAERGGLSELDKAGFIKRQLVETRQITK HVAQILDSRMNTKYDENDKLIREVKVITLKSCLVSD FRKDFQFYKVVREINNYHHAHDAYLNAVVGTAIIKK YPKLESEFVYGDYKVVYDVRKMIKSEQEIGKATAK YFFYSNIMNFFKTEITLANGEIRKRPLIETNGETGEIV WDKGRDFATVRKVLSPQVNIKKTEVQTGGFSK ESILPKRNSDKLIARKKDWDPKKYGGFDSPTVAYS VLVVAKVEKGKSKKLKSVKELLGITIMERSSEKPNP IDFLEAKGYKEVKKDLIIKLPKYSLFELENGRKRML ASAGELQKGNELALPSKYVNFLYLASHYEKLGKSP EDNEQKQLFVEQHKHYLDEIIEQISEFSKRVILADAN LDKVLSAYNHRDKPIREQAENIIHLFTLTNLGAPA AFKYFDTTIDRKRYTSTKEVLDATLIHQSIITGLYETR IDLSQLGGDGGGSAAAKRVWSMAF</p>	
<p>Аминокислотная последовательность Cas9 с NLS8</p>	<p>MDKKYSIGLDIGTNSVGWAVITDEYKVPSSKFKVL GNTDRHSIKKNLIGALLFDSGETAEATRLKRTARRR YTRRKNRICYLQEIFSNEMAKVDDSFHRLEESFLV EEDKKHERHPIFGNIVDEVAYHEKYPTIYHLRKKLV DSTDKADLRLIYLALAHMIKFRGHFLIEGDLNPDNS DVDKLFIQLVQTYNQLFEENPINASGVDAKAILSAR LSKSRRLENLIAQLPGEKKNGLFGNLIASLGLTPNF KSNFDLAEDAQLQSKDTYDDDLNLLAQIGDQYA</p>	<p>393</p>

	<p>DLFLAAKNLSDAILLSDILRVNTEITKAPLSASMIKR YDEHHQDLTLLKALVRQQLPEKYKEIFFDQSKNGY AGYIDGGASQEEFYKFIKPILEKMDGTEELLVKLNR EDLLRKQRTFDNGSIPHQIHLGELHAILRRQEDFYPF LKDNREKIEKILTFRIPYYVGPLARGNSRFAWMTRK SEETITPWNFEVVDKASQAQSFIERMTNFDKNLPN EKVLPKHSLLYEYFTVYNELTKVKYVTEGMRKPAF LSGEQKKAIVDLLFKTNRKVTVKQLKEDYFKKIECF DSVEISGVEDRFNASLGTYHDLLKIIKDKDFLDNEE NEDILEDIVLTLTLFEDREMIEERLKTYAHLFDDKV MKQLKRRRYTGWGRLSRKLINGIRDKQSGKTILDF LKSDGFANRNFMQLIHDDSLTFKEDIQKAQVSGQG DSLHEHIANLAGSPAIKKGILQTVKVVDELVKVMG RHKPENIVIAMARENQTTQKGQKNSRERMKRIEEGI KELGSQILKEHPVENTQLQNEKLYLYLQNGRDMY VDQELDINRLSDYDVDHIVPQSFLKDDSIDNKVLTR SDKNRGKSDNVPSEEVVKKMKNYWRQLLNAKLIT QRKFDNLTKAERGGLSELDKAGFIKRQLVETRQITK HVAQILDSRMNTKYDENDKLIREVKVITLKSCLVSD FRKDFQFYKVVREINNYHHAHDAYLNAVVGTAIIK YPKLESEFVYGDYKVYDVRKMIKSEQEIGKATAK YFFYSNIMNFFKTEITLANGEIRKRPLIETNGETGEIV WDKGRDFATVRKVL SMPQVNIVKKTEVQTGGFSK ESILPKRNSDKLIARKKDWDPKKYGGFDSPTVAYS VLVVAKVEKGKSKKLKSVKELLGITIMERSSEFEKNP IDFLEAKGYKEVKKDLIKLPKYSLFELENGRKRML ASAGELQKGNELALPSKYVNFLYLASHYEKLGSP EDNEQKQLFVEQHKHYLDEIIEQISEFSKRVLADAN LDKVLSAYNKHRDKPIREQAENIIHLFTLTNLGAPA AFKYFDTTIDRKRYTSTKEVLDATLIHQSIITGLYETR IDLSQLGGDGGGSAAAKRSWSMAF</p>	
<p>Аминокислотная последовательность Cas9 с NLS9</p>	<p>MDKKYSIGLDIGTNSVGWAVITDEYKVPSSKFKVL GNTDRHSIKKNLIGALLFDSGETAEATRLKRTARRR YTRRKNRICYLQEIFSNEMAKVDDSFHRLEESFLV EEDKKHERHPIFGNIVDEVAYHEKYPTIYHLRKKLV</p>	<p>394</p>

DSTDKADLRLIYLALAHMIKFRGHFLIEGDLNPDNS
 DVDKLFIQLVQTYNQLFEENPINASGVDAKAILSAR
 LSKSRLENLIAQLPGEKKNGLFGNLIASLGLTPNF
 KSNFDLAEDAKLQLSKDTYDDDLDNLLAQIGDQYA
 DLFLAAKNLSDAILSDILRVNTEITKAPLSASMIKR
 YDEHHQDLTLLKALVRQQLPEKYKEIFFDQSKNGY
 AGYIDGGASQEEFYKFIKPILEKMDGTEELLVKLNR
 EDLLRKQRTFDNGSIPHQIHLGELHAILRRQEDFYPF
 LKDNREKIEKILTRIPYYVGPLARGNSRFAWMTRK
 SEETITPWNFEVVDKGGASAQSFIERMTNFDKNLPN
 EKVLPHKSHLLYEYFTVYNELTKVKYVTEGMRKPAF
 LSGEQKKAIVDLLFKTNRKVTVKQLKEDYFKKIECF
 DSVEISGVEDRFNASLGTYHDLLKIIKDKDFLDNEE
 NEDILEDIVLTLTLFEDREMIEERLKYAHLFDDKV
 MKQLKRRRYTGWGRLSRKLINGIRDKQSGKTILDF
 LKSDGFANRNFMQLIHDDSLTFKEDIQKAQVSGQG
 DSLHEHIANLAGSPAIKKGILQTVKVVDELVKVMG
 RHKPENIVIAMARENQTTQKGQKNSRERMKRIEEGI
 KELGSQILKEHPVENTQLQNEKLYLYYLQNGRDMY
 VDQELDINRLSDYDVDHIVPQSFLKDDSIDNKVLTR
 SDKNRGKSDNVPSEEVVKMKMKNYWRQLLNAKLIT
 QRKFDNLTKAERGGLSELKAGFIKRQLVETRQITK
 HVAQILDSRMNTKYDENDKLIREVKVITLKSCLVSD
 FRKDFQFYKVREINNYHHAHDAYLNAVVGTAIIK
 YPKLESEFVYGDYKVYDVRKMIKSEQEIGKATAK
 YFFYSNIMNFFKTEITLANGEIRKRPLIETNGETGEIV
 WDKGRDFATVRKVLSPQVNIKKTEVQTGGFSK
 ESILPKRNSDKLIARKKDWDPKKYGGFDSPTVAYS
 VLVVAKVEKGKSKKLKSVKELLGITIMERSSEKPNP
 IDFLEAKGYKEVKKDLIKLPKYSLFELENGRKRML
 ASAGELQKGNELALPSKYVNFLYLASHYEKLGSP
 EDNEQKQLFVEQHKHYLDEIIEQISEFSKRVLADAN
 LDKVLSAYNKHRDKPIREQAENIHLFTLTNLGAPA
 AFKYFDTTIDRKRYTSTKEVLDATLIHQSIITGLYETR
 IDLSQLGGDGGGSAAAKRKYFAA

<p>Аминокислотная последовательность Cas9 с NLS10</p>	<p>MDKKYSIGLDIGTNSVGWAVITDEYKVPSKKFKVL GNTDRHSIKKNLIGALLFDSGETAEATRLKRTARRR YTRRKNRICYLQEIFSNEMAKVDDSFHRLEESFLV EEDKKHERHPIFGNIVDEVAYHEKYPTIYHLRKKLV DSTDKADLRLIYLALAHMIKFRGHFLIEGDLNPDNS DVKLFIQLVQTYNQLFEENPINASGVDAKAILSAR LSKSRRLENLIAQLPGEKKNGLFGNLIASLGLTPNF KSNFDLAEDAQLQSKDTYDDDLNLLAQIGDQYA DLFLAAKNLSDAILLSDILRVNTEITKAPLSASMIKR YDEHHQDLTLLKALVRQQLPEKYKEIFFDQSKNGY AGYIDGGASQEEFYKFIKPILEKMDGTEELLVKLNR EDLLRKQRTFDNGSIPHQIHLGELHAILRRQEDFYPF LKDNREKIEKILTFRIPIYYVGPLARGNSRFAWMTRK SEETITPWNFEVVDKGGASAQSFIERMTNFDKNLNP EKVLPKHSLLYEYFTVYNELTKVKYVTEGMRKPAF LSGEQKKAIVDLLFKTNRKVTVKQLKEDYFKKIECF DSVEISGVEDRFNASLGTYHDLLKIKDKDFLDNEE NEDILEDIVLTLTLFEDREMIEERLKYAHLFDDKV MKQLKRRRYTGWGRLSRKCLINGIRDKQSGKTILDF LKSDGFANRNFMQLIHDDSLTFKEDIQKAQVSGQG DSLHEHIANLAGSPAIKKGIQTVMVDELVKVMG RHKPENIVIAMARENQTTQKGQKNSRERMKRIEEGI KELGSQILKEHPVENTQLQNEKLYLYLQNGRDMY VDQELDINRLSDYVDHIVPQSFLKDDSIDNKVLTR SDKNRGKSDNVPSEEVVKKMKNYWRQLLNAKLIT QRKFDNLTKAERGGLSELDKAGFIKRQLVETRQITK HVAQILDSRMNTKYDENDKLIREVKVITLKSCLVSD FRKDFQFYKVREINNYHHAHDAYLNAVVGTAIIK YPKLESEFVYGDYKVYDVRKMIKSEQEIGKATAK YFFYSNIMNFFKTEITLANGEIRKRPLIETNGETGEIV WDKGRDFATVRKVLSPQVNVKKTETVQTTGGFSK ESILPKRNSDKLIARKKDWDPKKGFFSPTVAYS VLVVAKVEKGKSKKLKSVKELLGITIMERSSEKPNP IDFLEAKGYKEVKKDLIKLPKYSLFELENGRKRML ASAGELQKGNELALPSKYVNFLYLASHYEKLGKSP</p>	<p>395</p>
---	--	------------

	EDNEQKQLFVEQHKHYLDEIIEQISEFSKRVLADAN LDKVLSAYNKHRDKPIREQAENIIHLFTLTNLGAPA AFKYFDTTIDRKRYTSTKEVLDTLIHQSIITGLYETR IDLSQLGGDGGGSRAAKRKAFAA	
Аминокислотная последовательность Cas9 с NLS11	MDKKYSIGLDIGTNSVGWAVITDEYKVPSKKFKVL GNTDRHSIKKNLIGALLFDSGETAEATRLKRTARRR YTRRKNRICYLQEIFSNEMAKVDDSFHRLEESFLV EEDKKHERHPIFGNIVDEVAYHEKYPTIYHLRKKLV DSTDKADRLIYLALAHMIKFRGHFLIEGDLNPDNS DVKLFIQLVQTYNQLFEENPINASGVDAKAILSAR LSKSRLENLIAQLPGEKKNLFGNLIALSLGLTPNF KSNFDLAEDAQLQSKDTYDDDLDNLLAQIGDQYA DLFLAAKNLSDAILLSDILRVNTEITKAPLSASMIKR YDEHHQDLTLLKALVRQQLPEKYKEIFFDQSKNGY AGYIDGGASQEEFYKFIKPILEKMDGTEELLVKLNR EDLLRKQRTFDNGSIPHQIHLGELHAILRRQEDFYPF LKDNREKIEKILTFRIPYYVGPLARGNSRFAWMTRK SEETITPWNFEVVDKGGASAQSFIERMTNFDKNLPN EKVLPKHSLLYEYFTVYNELTKVKYVTEGMRKPAF LSGEQKKAIVDLLFKTNRKVTVKQLKEDYFKKIECF DSVEISGVEDRFNASLGTYHDLLKIKDKDFLDNEE NEDILEDIVLTLTLFEDREMIEERLKYAHLFDDKV MKQLKRRRYTGWGRLSRKLINGIRDKQSGKTILDF LKSDGFANRNFMQLIHDDSLTFKEDIQKAQVSGQG DSLHEHIANLAGSPAIKKGILQTVKVDELVKVMG RHKPENIVIAMARENQTTQKGQKNSRERMKRIEEGI KELGSQILKEHPVENTQLQNEKLYLYLQNGRDMY VDQELDINRLSDYVDHIVPQSFLKDDSIDNKVLTR SDKNRGKSDNVPSEEVVKKMKNYWRQLLNAKLIT QRKFDNLTKAERGGLSELDKAGFIKRQLVETRQITK HVAQILDSRMNTKYDENDKLIREVKVITLKSCLVSD FRKDFQFYKVREINNYHHAHDAYLNAVVGTAIIKK YPKLESEFVYGDYKVYDVRKMIKSEQEIGKATAK YFFYSNIMNFFKTEITLANGEIRKRPLIETNGETGEIV WDKGRDFATVRKVLSPQVNVKTEVQTTGGFSK	396

	ESILPKRNSDKLIARKKDWDPKKYGGFDSPTVAYS VLVVAKVEKGKSKKLKSVKELLGITIMERSSEKPNP IDFLEAKGYKEVKKDLIIKLPKYSLFELENGRKRML ASAGELQKGNELALPSKYVNFLYLASHYEKLGSP EDNEQKQLFVEQHKHYLDEIEQISEFSKRVLADAN LDKVLSAYNKHRDKPIREQAENIIHLFTLTNLGAPA AFKYFDTTIDRKRYTSTKEVLDTLIHQSI TGLYETR IDLSQLGGDGGGSRAAKRKYFAV	
--	--	--

*=Связь PS; 'm'=2'-O-Me нуклеотид

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Композиция, содержащая: (i) нуклеиновую кислоту, содержащую открытую рамку считывания, кодирующую ДНК-связывающий агент, гидрируемый РНК, причем:

открытая рамка считывания содержит последовательность, идентичную на по меньшей мере 93% SEQ ID NO: 311; и/или

открытая рамка считывания идентична на по меньшей мере 93% SEQ ID NO: 311 по меньшей мере по его первым 50, 200, 250 или 300 нуклеотидам или идентична на по меньшей мере 95% SEQ ID NO: 311 по меньшей мере по его первым 30, 50, 70, 100, 150, 200, 250 или 300 нуклеотидам; и/или

открытая рамка считывания состоит из набора кодонов, из которых по меньшей мере 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% или 100% кодонов являются кодонами, перечисленными в Таблице 4, выборке с низким содержанием А из Таблицы 5 или выборке с низким содержанием А/У из Таблицы 5; и/или

открытая рамка считывания содержит аденин в диапазоне от минимального содержания аденина до 123% от минимального содержания аденина; и/или

открытая рамка считывания содержит адениндинуклеотид в диапазоне от минимального содержания адениндинуклеотида до 150% от минимального содержания адениндинуклеотида; и

(ii) гидовую РНК или вектор, кодирующий гидовую РНК, при этом гидовая РНК содержит гидовую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 5-72, 74-78 и 80-82.

2. Способ модификации гена TTR и/или индукции двухцепочечного разрыва (ДЦР) в гене TTR, включающий доставку композиции в клетку, причем композиция содержит: (i) нуклеиновую кислоту, содержащую открытую рамку считывания, кодирующую ДНК-связывающий агент, гидрируемый РНК, причем:

открытая рамка считывания содержит последовательность, идентичную на по меньшей мере 93% SEQ ID NO:311; и/или

открытая рамка считывания идентична на по меньшей мере 93% SEQ ID NO: 311 по меньшей мере по его первым 50, 200, 250 или 300 нуклеотидам или идентична на по меньшей мере 95% SEQ ID NO: 311 по меньшей мере по его первым 30, 50, 70, 100, 150, 200, 250 или 300 нуклеотидам; и/или

открытая рамка считывания состоит из набора кодонов, из которых по меньшей мере 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% или 100% кодонов являются кодонами, перечисленными в Таблице 4, выборке с низким содержанием А Таблицы 5 или выборке с низким содержанием А/У Таблицы 5; и/или

открытая рамка считывания содержит аденин в диапазоне от минимального содержания аденина до 123% от минимального содержания аденина; и/или

открытая рамка считывания содержит адениндинуклеотид в диапазоне от минимального содержания адениндинуклеотида до 150% от минимального содержания адениндинуклеотида; и

(ii) гидовую РНК или вектор, кодирующий гидовую РНК, при этом гидовая РНК

содержит гидовую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 5-72, 74-78 и 80-82.

3. Способ снижения концентрации TTR в сыворотке, лечения амилоидоза, связанного с TTR (ATTR), и/или уменьшения или предотвращения накопления амилоидов или амилоидных фибрилл, содержащих TTR, у субъекта, включающий введение композиции нуждающемуся в этом субъекту, причем композиция содержит: (i) нуклеиновую кислоту, содержащую открытую рамку считывания, кодирующую ДНК-связывающий агент, гидируемый РНК, причем:

открытая рамка считывания содержит последовательность, идентичную на по меньшей мере 95% SEQ ID NO:311; и/или

открытая рамка считывания идентична на по меньшей мере 95% SEQ ID NO: 311 по меньшей мере по его первым 30, 50, 70, 100, 150, 200, 250 или 300 нуклеотидам; и/или

открытая рамка считывания состоит из набора кодонов, из которых по меньшей мере 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% или 100% кодонов являются кодонами, перечисленными в Таблице 4, выборке с низким содержанием А Таблицы 5 или выборке с низким содержанием А/У Таблицы 5; и/или

открытая рамка считывания содержит аденин в диапазоне от минимального содержания аденина до 150% от минимального содержания аденина; и/или

открытая рамка считывания содержит адениндинуклеотид в диапазоне от минимального содержания адениндинуклеотида до 150% от минимального содержания адениндинуклеотида; и

(ii) гидовую РНК или вектор, кодирующий гидовую РНК, при этом гидовая РНК содержит гидовую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 5-72, 74-78 и 80-82, тем самым снижая концентрацию TTR в сыворотке, что лечит амилоидоз, связанный с TTR (ATTR) и/или уменьшая или предотвращая накопление амилоидов или амилоидных фибрилл, содержащих TTR, у субъекта.

4. Композиция или способ по любому из пп. 1-3, отличающиеся тем, что гидовая РНК содержит гидовую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 5, 6, 7, 8, 9, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 22, 23, 27, 29, 30, 35, 36, 37, 38, 55, 61, 63, 65, 66, 68 или 69.

5. Композиция по п. 1 или 4 для применения для индукции двухцепочечного разрыва (ДЦР) в гене TTR в клетке или у субъекта, модификации гена TTR в клетке или у субъекта, лечения амилоидоза, связанного с TTR (ATTR), у субъекта, снижение концентрации TTR в сыворотке у субъекта или уменьшение или предотвращение накопления амилоидов или амилоидных фибрилл у субъекта.

6. Композиция для применения или способ по любому из пп. 2-5, отличающиеся тем, что способ включает введение композиции путем инфузии в течение более 30 минут, например, около 45-75 минут, 75-105 минут, 105-135 минут, 135-165 минут, 165-195 минут, 195-225 минут, 225-255 минут, 255-285 минут, 285-315 минут, 315-345 минут, 345-375 минут, около 1,5-6 часов, около 60 минут, около 90 минут, около 120 минут, около 150 минут, около 180 минут или около 240 минут.

7. Способ или композиция для применения по любому из пп. 2-6, отличающиеся тем, что композиция снижает уровни TTR в сыворотке, например, по меньшей мере на 50% по сравнению с уровнями TTR в сыворотке до введения композиции, или на 50-60%, 60-70%, 70-80%, 80-90%, 90-95%, 95-98%, 98-99% или 99-100% по сравнению с уровнями TTR в сыворотке до введения композиции.

8. Способ или композиция для применения по любому из пп. 2-7, отличающиеся тем, что композиция приводит к редактированию гена TTR, причем редактирование необязательно рассчитывается как процент от редактируемой популяции (редактирование в процентах), дополнительно необязательно при этом процент редактирования составляет между 30 и 99% популяции, например, между 30 и 35%, 35 и 40%, 40 и 45%, 45 и 50%, 50 и 55%, 55 и 60%, 60 и 65%, 65 и 70%, 70 и 75%, 75 и 80%, 80 и 85%, 85 и 90%, 90 и 95% или 95 и 99% популяции.

9. Способ или композиция для применения по любому из пп. 2-8, отличающиеся тем, что композиция снижает отложение амилоида по меньшей мере в одной ткани, при этом по меньшей мере одна ткань необязательно включает одну или более из тканей желудка, толстой кишки, седалищного нерва или ганглий дорзального корешка.

10. Способ или композиция для применения по п. 9, отличающиеся тем, что отложение амилоида измеряют через 8 недель после введения композиции.

11. Способ или композиция для применения по любому из пп. 9-10, отличающиеся тем, что отложение амилоида снижается между 30 и 35%, 35 и 40%, 40 и 45%, 45 и 50%, 50 и 55%, 55 и 60%, 60 и 65%, 65 и 70%, 70 и 75%, 75 и 80%, 80 и 85%, 85 и 90%, 90 и 95% или 95 и 99% отложения амилоида, наблюдаемого до введения композиции.

12. Способ или композиция для применения по любому из пп. 2-11, отличающиеся тем, что композицию вводят или доставляют по меньшей мере два раза.

13. Способ или композиция для применения по п. 12, отличающиеся тем, что введение или доставка происходит с интервалом 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 или 15 дней или с интервалом в 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 или 15 недель или с интервалом в 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 или 15 месяцев.

14. Способ или композиция по любому из пп. 1-13, отличающиеся тем, что гидовая РНК содержит sgРНК, которая содержит гидовую последовательность и дополнительно содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 126, причем нуклеотиды SEQ ID NO: 126 следуют после гидовой последовательности на ее 3' конце.

15. Способ или композиция по любому из пп. 1-14, отличающиеся тем, что гидовая РНК представляет собой одиночную гидовую (sgРНК).

16. Способ или композиция по п. 15, отличающиеся тем, что sgРНК содержит гидовую последовательность, имеющую паттерн SEQ ID NO: 3.

17. Способ или композиция по п. 15 или 16, отличающиеся тем, что sgРНК содержит последовательность SEQ ID NO: 3.

18. Способ или композиция по любому из пп. 15-17, отличающиеся тем, что sgРНК содержит любую одну из гидовых последовательностей SEQ ID NO: 5-72, 74-78 и 80-82 и нуклеотиды SEQ ID NO: 126.

19. Способ или композиция по любому из пп. 15-17, отличающиеся тем, что sgРНК содержит последовательность, идентичную по меньшей мере на 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 94%, 93%, 92%, 91% или на 90% последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 87-113, 115-120 и 122-124.

20. Способ или композиция по п. 19, отличающиеся тем, что sgРНК содержит последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 87-113, 115-120 и 122-124.

21. Способ или композиция по любому из пп. 1-20, отличающиеся тем, что гидовая РНК содержит по меньшей мере одну модификацию.

22. Способ или композиция по п. 21, отличающиеся тем, что по меньшей мере одна модификация включает 2'-О-метил (2'-О-Ме) модифицированный нуклеотид, фосфоротиоатную (PS) связь между нуклеотидами или 2'-фтор (2'-F) модифицированный нуклеотид.

23. Способ или композиция по любому из пп. 21-22, отличающиеся тем, что по меньшей мере одна модификация включает модификацию одного или более из первых пяти нуклеотидов на 5'-конце и/или одного или более из последних пяти нуклеотидов на 3'-конце.

24. Способ или композиция по любому из пп. 21-23, отличающиеся тем, что по меньшей мере одна модификация включает связи PS между первыми четырьмя нуклеотидами и/или между последними четырьмя нуклеотидами.

25. Способ или композиция по любому из пп. 21-24, отличающиеся тем, что по меньшей мере одна модификация включает 2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды первых трех нуклеотидов на 5'-конце и/или 2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды последних трех нуклеотидов на 3'-конце.

26. Способ или композиция по любому из пп. 21-25, отличающаяся тем, что гидовая РНК содержит модифицированные нуклеотиды SEQ ID NO: 3.

27. Способ или композиция по любому из пп. 1-26, отличающиеся тем, что гидовая РНК и нуклеиновая кислота, содержащая открытую рамку считывания, кодирующую ДНК-связывающий агент, гидируемый РНК, связаны с липидной наночастицей (LNP).

28. Способ или композиция по п. 27, отличающиеся тем, что LNP содержит липид CCD, причем необязательно липид CCD представляет собой липид А или липид В, при этом дополнительно необязательно липид CCD представляет собой липид А.

29. Способ или композиция по любому из пп. 27-28, отличающиеся тем, что LNP содержит вспомогательный липид, причем вспомогательный липид необязательно представляет собой холестерин.

30. Способ или композиция по любому из пп. 27-29, отличающиеся тем, что LNP содержит липид-невидимку (например, липид ПЭГ), причем необязательно липид-невидимка представляет собой ПЭГ2k-DMG.

31. Способ или композиция по любому из пп. 27-30, отличающиеся тем, что: (i) LNP содержит липидный компонент, и липидный компонент содержит: около 50-60% мол. аминного липида, такого как липид А, около 8-10% мол. нейтрального липида; и около 2,5-4% мол. липида-невидимки (например, липида ПЭГ), причем остаток липидного компонента представляет собой вспомогательный липид, и при этом соотношение N/P в композиции LNP составляет около 6; (ii) LNP содержит около 50-60% мол. аминного липида, такого как липид А; около 27-39,5% мол. вспомогательного липида; около 8-10% мол. нейтрального липида; и около 2,5-4% мол. липида-невидимки (например, липида ПЭГ), при этом соотношение N/P в композиции LNP составляет около 5-7 (например, около 6); (iii) LNP содержит липидный компонент, и липидный компонент содержит: около 50-60% мол. аминного липида, такого как липид А; около 5-15% мол. нейтрального липида; и около 2,5-4% мол. липида-невидимки (например, липида ПЭГ), причем остаток липидного компонента представляет собой вспомогательный липид, и при этом соотношение N/P в композиции LNP составляет около 3-10; (iv) LNP содержит липидный компонент, и липидный компонент содержит: около 40-60% мол. аминного липида, такого как липид А; около 5-15% мол. нейтрального липида; и около 2,5-4% мол. липида-невидимки (например, липида ПЭГ), причем остаток липидного компонента представляет собой вспомогательный липид, и при этом соотношение N/P в композиции LNP составляет около 6; (v) LNP содержит липидный компонент, и липидный компонент содержит: около 50-60% мол. аминного липида, такого как липид А; около 5-15% мол. нейтрального липида; и около 1,5-10% мол. липида-невидимки (например, липида ПЭГ), причем остаток липидного компонента представляет собой вспомогательный липид, и при этом соотношение N/P в композиции LNP составляет около 6; (vi) LNP содержит липидный компонент, и липидный компонент содержит: около 40-60% мол. аминного липида, такого как липид А; около 0-10% мол. нейтрального липида; и около 1,5-10% мол. липида-невидимки (например, липида ПЭГ), причем остаток липидного компонента представляет собой вспомогательный липид, и при этом соотношение N/P в композиции LNP составляет около 3-10; (vii) LNP содержит липидный компонент, и липидный компонент содержит: около 40-60% мол. аминного липида, такого как липид А; менее чем около 1% мол. нейтрального липида; и около 1,5-10% мол. липида-невидимки (например, липида ПЭГ), причем остаток липидного компонента представляет собой вспомогательный липид, и при этом соотношение N/P в композиции LNP составляет около 3-10; (viii) LNP содержит липидный компонент, и липидный компонент содержит: около 40-60% мол. аминного липида, такого как липид А; и около 1,5-10% мол. липида-невидимки (например, липида ПЭГ), причем остаток липидного компонента представляет собой вспомогательный липид, и при этом соотношение N/P в композиции LNP составляет около 3-10, и при этом композиция LNP по существу не содержит или не содержит нейтральный фосфолипид; или (ix) LNP содержит липидный компонент, и липидный компонент содержит: около 50-60% мол. аминного липида, такого как липид А; около 8-10% мол. нейтрального липида; и около 2,5-4% мол. липида-невидимки

(например, липида ПЭГ), причем остаток липидного компонента представляет собой вспомогательный липид, и при этом соотношение N/P в композиции LNP составляет около 3-7.

32. Способ или композиция по любому из пп. 26-31, отличающиеся тем, что соотношение N/P в композиции LNP составляет около 6.

33. Способ или композиция по пп. 26-32, отличающиеся тем, что LNP содержит нейтральный липид, причем необязательно нейтральный липид представляет собой DSPC.

34. Способ или композиция по любому из пп. 32, отличающиеся тем, что LNP содержит липидный компонент, и липидный компонент содержит: около 50% мол. аминового липида, такого как липид А; около 9% мол. нейтрального липида, такого как DSPC; около 3% мол. липида-невидимки, такого как липид ПЭГ, такой как ПЭГ2k-DMG, а оставшаяся часть липидного компонента представляет собой вспомогательный липид, такой как холестерин, причем соотношение N/P в композиции LNP составляет около 6.

35. Способ или композиция по любому из пп. 32, отличающиеся тем, что LNP содержит липидный компонент, и липидный компонент содержит: около 50% мол. липида А; около 9% мол. DSPC; около 3% мол. ПЭГ2k-DMG, а остаток липидного компонента представляет собой холестерин, причем соотношение N/P в композиции LNP составляет около 6.

36. Способ или композиция по любому из пп. 1-35, отличающиеся тем, что ДНК-связывающий агент, гидрируемый РНК, представляет собой расщепляющую Cas.

37. Способ или композиция по п. 36, отличающиеся тем, что ДНК-связывающий агент, гидрируемый РНК, представляет собой Cas9.

38. Способ или композиция по любому из пп. 1-37, отличающиеся тем, что ДНК-связывающий агент, гидрируемый РНК, модифицирован, причем модифицированный ДНК-связывающий агент, гидрируемый РНК, необязательно содержит сигнал ядерной локализации (NLS).

39. Способ или композиция по любому из пп. 1-38, отличающаяся тем, что ДНК-связывающий агент, гидрируемый РНК, представляет собой Cas из системы CRISPR/Cas типа II.

40. Способ или композиция по любому из пп. 1-39, отличающиеся тем, что композиция представляет собой фармацевтическую композицию и дополнительно содержит фармацевтически приемлемый носитель.

41. Способ или композиция для применения по п. 40, отличающиеся тем, что соединение негомологичных концов (NHEJ) приводит к мутации во время репарации ДЦР в гене TTR, которое вызывает сдвиг рамки считывания или нонсенс-мутацию в гене TTR.

42. Способ или композиция для применения по п. 41, отличающиеся тем, что сдвиг рамки считывания или нонсенс-мутация индуцируется в гене TTR по меньшей мере 50% клеток печени.

43. Способ или композиция для применения по любому из пп. 41-42, отличающиеся тем, что делеция или вставка нуклеотида(ов) происходит в гене TTR по меньшей мере в 50 раз или чаще, чем в сайтах, не являющихся мишенями.

44. Способ или композиция по любому из пп. 1-43, отличающиеся тем, что последовательность гидовой РНК представляет собой: а) SEQ ID NO: 92 или 104; б) SEQ ID NO: 87, 89, 96 или 113; в) SEQ ID NO: 100, 102, 106, 111 или 112; или д) SEQ ID NO: 88, 90, 91, 93, 94, 95, 97, 101, 103, 108 или 109,

причем необязательно гидовая РНК не образует инсерционно-делеционных мутаций в нецелевых сайтах, которые встречаются в кодирующей белок области в геноме первичных гепатоцитов человека.

45. Способ или композиция для применения по любому из пп. 2-44, отличающиеся тем, что введение композиции снижает уровни TTR у субъекта.

46. Способ или композиция для применения по любому из пп. 2-45, отличающиеся тем, что субъект имеет ATTR, такой как ATTRдт или наследственный ATTR.

47. Способ или композиция для применения по любому из пп. 2-46, отличающиеся тем, что субъектом является человек.

48. Способ или композиция для применения по любому из пп. 2-47, отличающиеся тем, что субъект имеет семейную амилоидную полинейропатию, только или преимущественно нервные симптомы ATTR, семейную амилоидную кардиомиопатию или только или преимущественно сердечные симптомы ATTR.

49. Способ или композиция для применения по любому из пп. 2-48, отличающиеся тем, что субъект экспрессирует TTR, имеющий мутацию V30, такую как V30A, V30G, V30L или V30M; субъект экспрессирует TTR, имеющий мутацию T60, такую как T60A; субъект экспрессирует TTR, имеющий мутацию V122, такую как V122A, V122I или V122 (-); или субъект экспрессирует TTR дикого типа.

50. Способ или композиция для применения по любому из пп. 2-49, отличающиеся тем, что после введения у субъекта наблюдается улучшение, стабилизация или замедление изменения симптомов сенсомоторной нейропатии, и/или у субъекта наблюдается улучшение, стабилизация или замедление изменения симптомов застойной сердечной недостаточности.

51. Способ или композиция для применения по любому из пп. 2-50, отличающиеся тем, что композицию или фармацевтический состав вводят через вирусный вектор.

52. Способ или композиция для применения по любому из пп. 2-50, отличающиеся тем, что композицию или фармацевтический состав вводят через липидные наночастицы.

53. Способ или композиция по любому из предыдущих пунктов, отличающиеся тем, что последовательность, выбранная из SEQ ID NO: 5-72, 74-78 и 80-82 представляет собой SEQ ID NO: 5, 6, 9, 13, 14, 15, 16, 17, 22, 23, 27, 30, 35, 36, 37, 38, 55, 63, 65, 66, 68 или 69.

54. Композиция или способ по любому из пп. 1-53, отличающиеся тем, что открытая рамка считывания содержит последовательность, идентичную на по меньшей мере 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% или 100% SEQ ID NO: 311.

55. Композиция или способ по любому из пп. 1-54, отличающиеся тем, что по меньшей мере 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% или 100% кодонов открытой рамки считывания представляют собой кодоны, перечисленные в Таблице 4, Таблице 5 или Таблице 7.

56. Композиция или способ по любому из пп. 1-55, отличающиеся тем, что открытая рамка считывания содержит последовательность, идентичную на по меньшей мере 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% или 100% SEQ ID NO: 377.

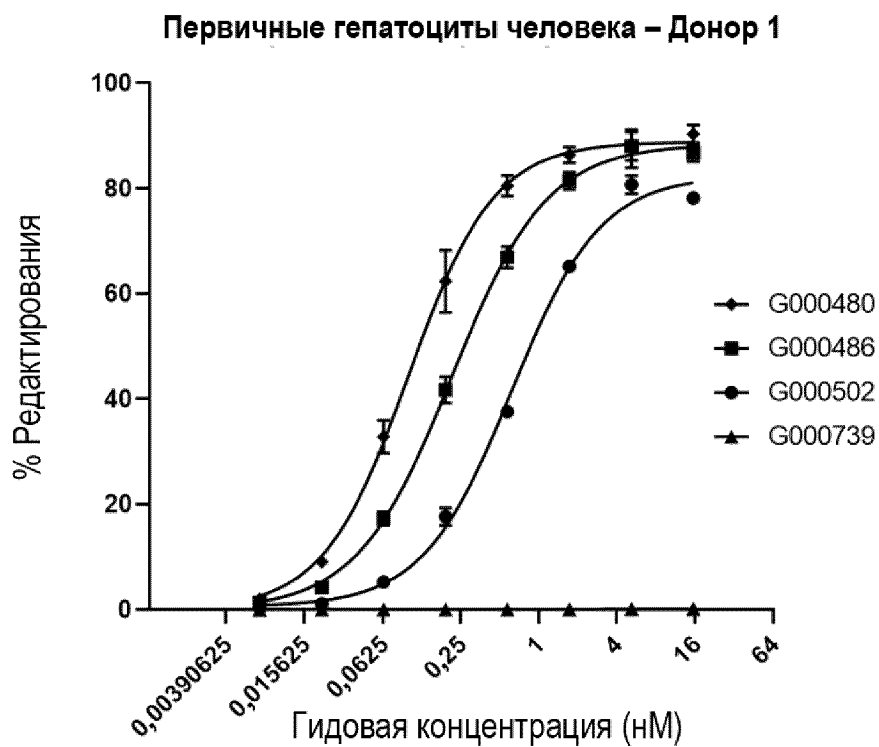
57. Композиция или способ по любому из пп. 1-56, отличающиеся тем, что нуклеиновая кислота представляет собой мРНК, причем по меньшей мере 10% уридина в ней замещено модифицированным уридином.

58. Композиция или способ по п. 57, отличающиеся тем, что модифицированный уридин представляет собой одно или более из N1-метил-псевдоуридина, псевдоуридина, 5-метоксиуридина или 5-иодуридина.

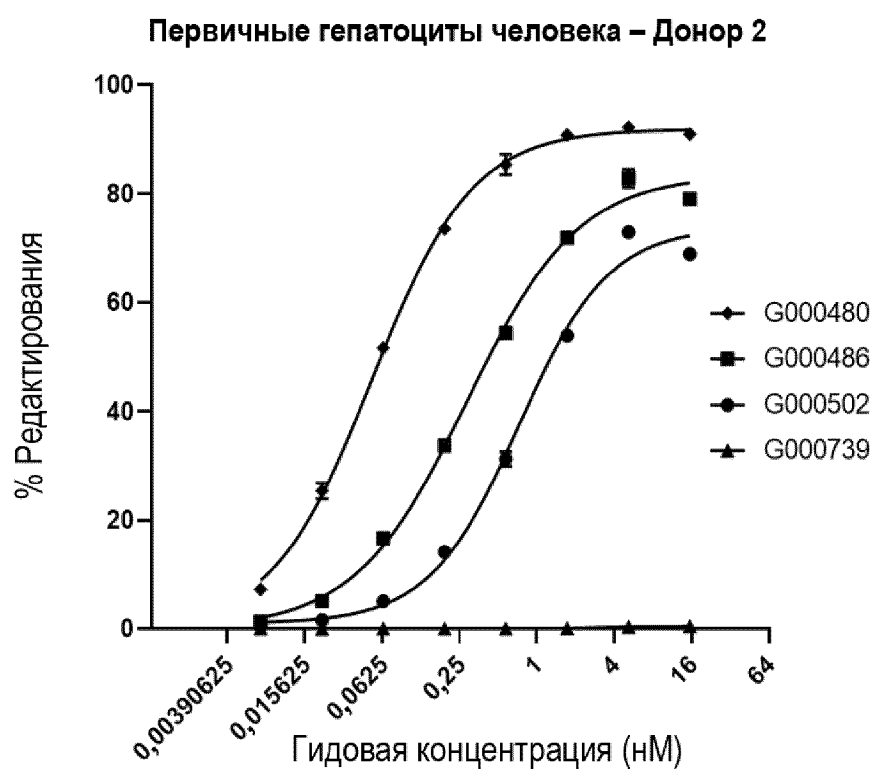
59. Применение композиции или состава по любому из пп. 1 или 4-58 для приготовления лекарственного средства для лечения человека, имеющего АТТР.

По доверенности

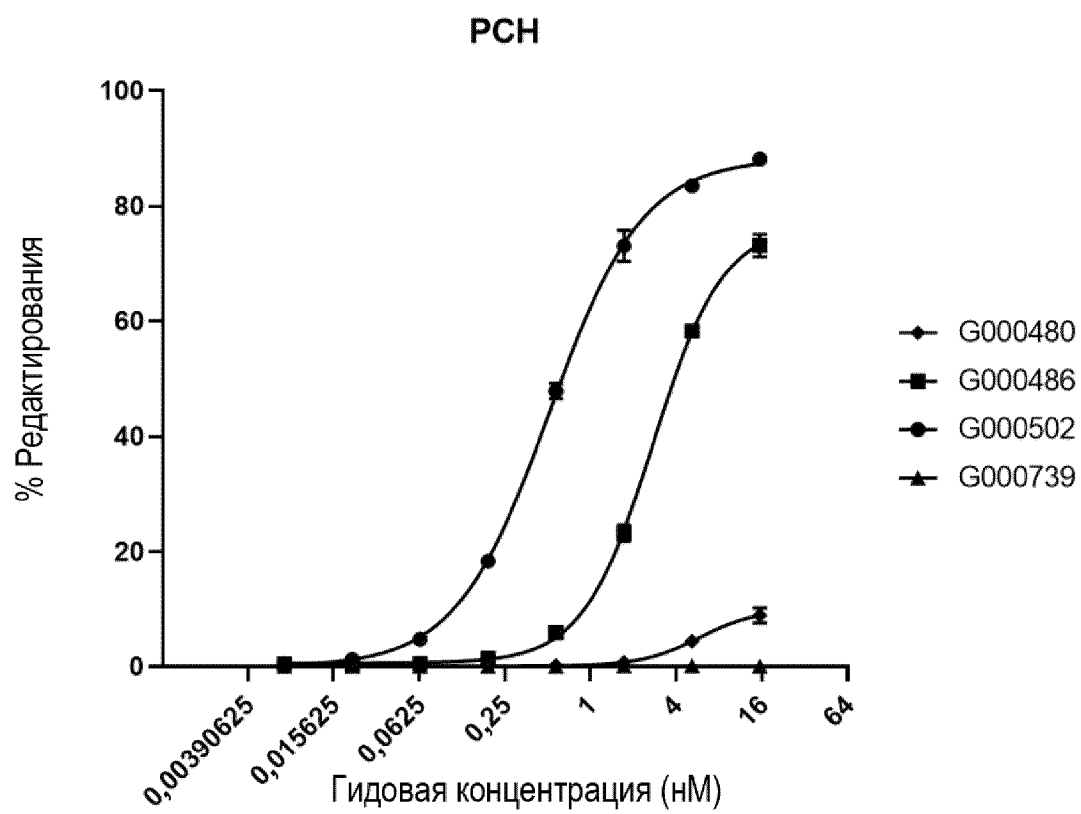
1/5



Фиг. 1А

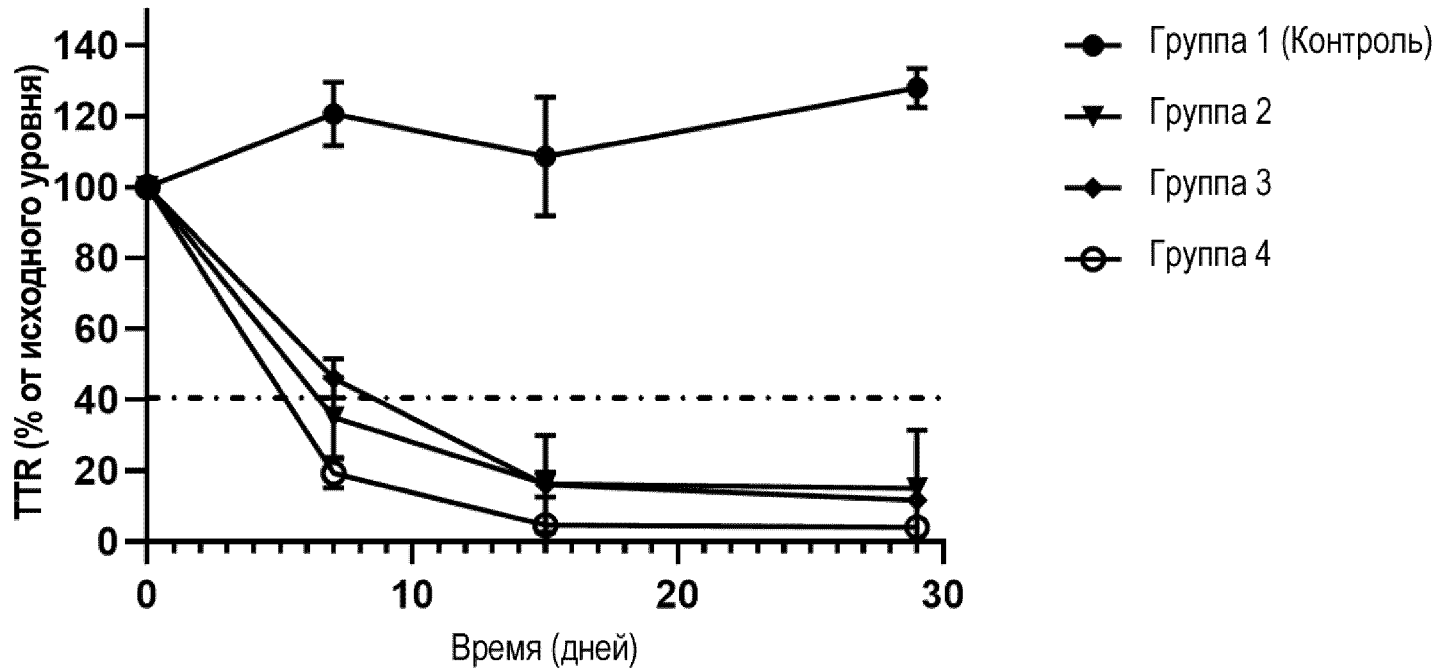


Фиг. 1В

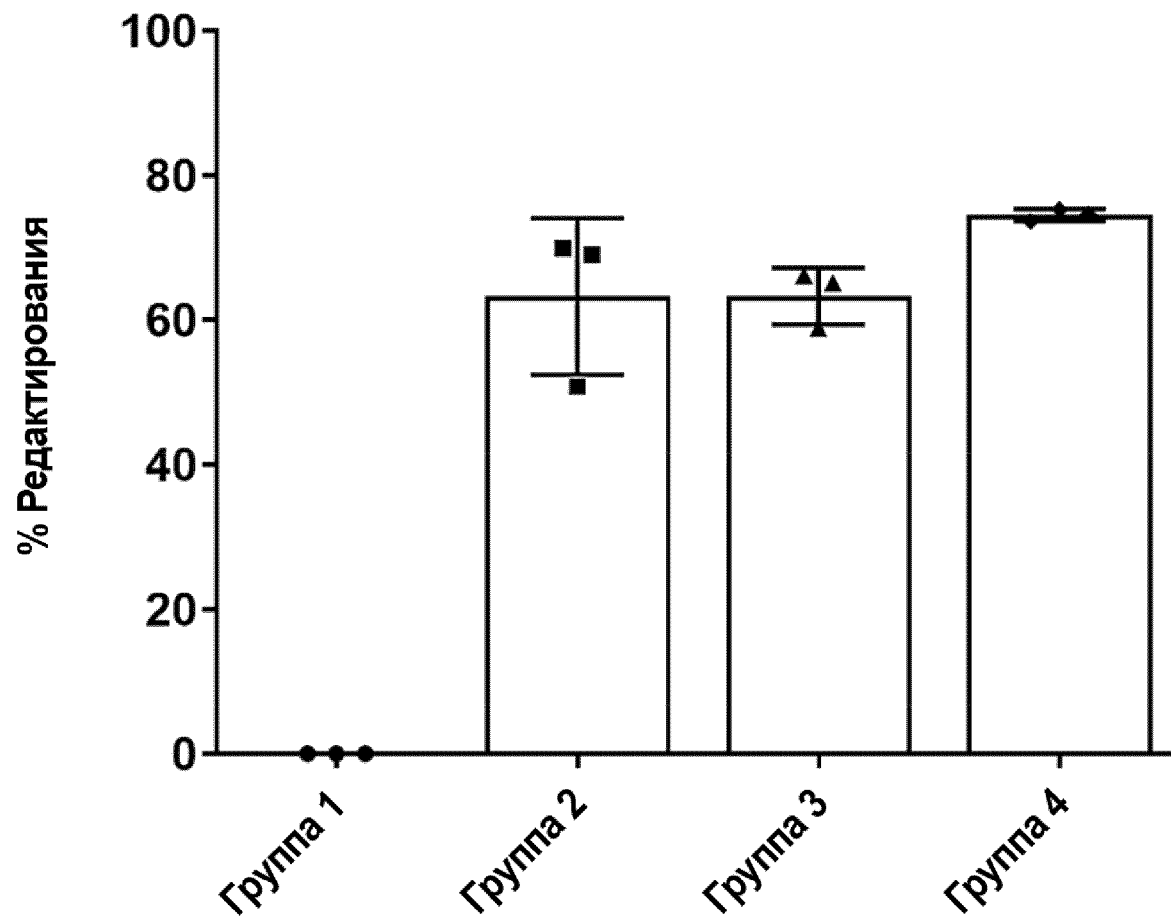


Фиг. 2

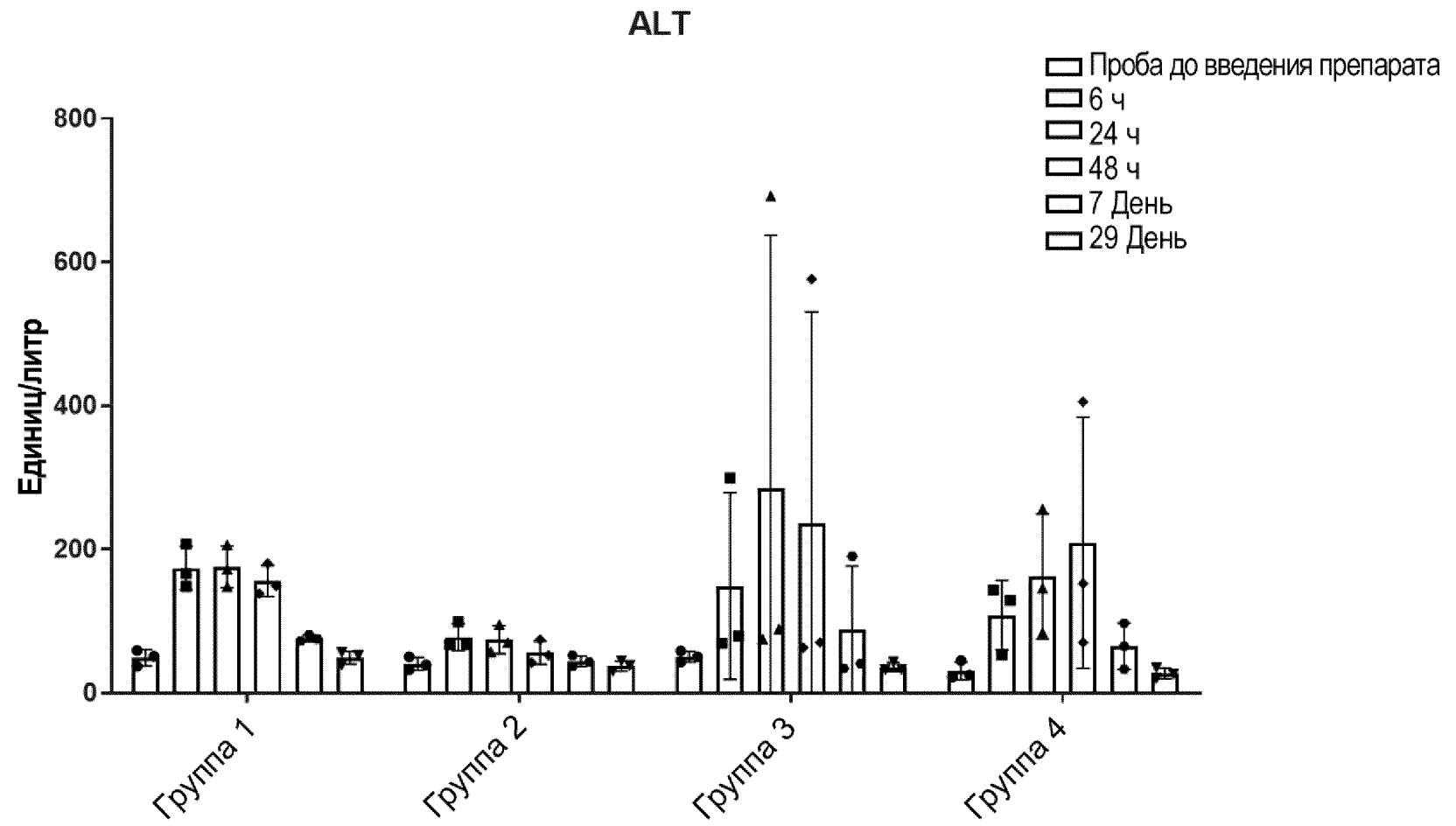
Сывороточный TTR



Фиг. 3А



Фиг. 3В



Фиг. 3С