

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202293348 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2023.02.17

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

(22) Дата подачи заявки
2021.06.17

(54) КОМПОЗИЦИИ iRNA ПРОТИВ КСАНТИНДЕГИДРОГЕНАЗЫ (XDH) И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

(31) 63/040,587; 63/153,983

(32) 2020.06.18; 2021.02.26

(33) US

(86) PCT/US2021/037748

(87) WO 2021/257782 2021.12.23

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

(72) Изобретатель:

Макининч Джеймс Д., Лю
Дзингсюань, Шлегель Марк К.,
Касторено Адам, Бородовский Анна
(US)

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

(57) Изобретение относится к РНКи-средствам, например дцРНК-средствам, нацеленным на ген ксантиндегидрогеназы (XDH). Изобретение также относится к способам применения таких РНКи-средств для ингибирования экспрессии гена XDH и способам лечения или профилактики XDH-ассоциированного заболевания у индивидуума.

A1

202293348

202293348

A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-576594EA/042

КОМПОЗИЦИИ iRNA ПРОТИВ КСАНТИНДЕГИДРОГЕНАЗЫ (ХДН) И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

По настоящей заявке испрашивается приоритет по временной заявке США № 63/040587, поданной 18 июня 2020 года, и временной заявке США № 63/153983, поданной 26 февраля 2021 года. Содержание каждой из указанных выше заявок включено в настоящее описание в качестве ссылки в полном объеме.

СПИСОК ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

Настоящая заявка содержит список последовательностей, поданный в электронном виде в формате ASCII и включенный, таким образом, в настоящее описание в качестве ссылки в полном объеме. Указанная копия ASCII, созданная 10 июня 2021 года, названа 121301-12920_SL.txt и имеет размер 714554 байт.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Сниженный почечный клиренс мочевой кислоты является результатом ряда факторов, включая дефекты белков-транспортеров мочевой кислоты, таких как SLC2A9, ABCG2 и др., сниженная почечная экскреция из-за заболевания почек, гипотиреоза, сокращения объема жидкости и дефицит объема внеклеточной жидкости, ацидоза, отравления свинцом и семейной нефропатии по причине отложений уромодулина; и измененного почечного клиренса из-за гиперинсулинемии или резистентности к инсулину при диабете. Повышенный синтез мочевой кислоты ассоциирован с гиперурикемией и гиперурикозурией; врожденными дефектами метаболизма, такими как синдром Леша-Нихана/недостаточность HPRT, гиперактивность PRPP-синтетазы и дефицит глюкоза-6-фосфатдегидрогеназы (болезнь Гирке/гликогеноз типа Ia); некоторыми случаями высокой скорости обновления популяции клеток (например, синдром лизиса опухоли); некоторыми случаями высоко оборота АТФ (например, гликогенозы, ишемия ткани). Кроме того, такие состояния, как хроническая болезнь почек, гипертензия, метаболический синдром и высокое потребление фруктозы, могут приводить к повышенному синтезу мочевой кислоты и снижению клиренсу мочевой кислоты.

Хронически повышенная мочевая кислота в сыворотке (хроническая гиперурикемия), как правило, определяемая как уровни урата в сыворотке выше 6,8 мг/дл (выше 360 ммоль/л), уровень, превышающий пороговое значение физиологического насыщения (Mandell, *Cleve. Clin. Med.* 75:S5-S8, 2008), ассоциирована с рядом заболеваний. Например, подагра отличается рецидивирующими приступами острого воспалительного артрита, вызвана воспалительной реакцией на кристаллы мочевой кислоты в суставе, как правило, по причине недостаточного почечного клиренса мочевой кислоты или избыточной продукции мочевой кислоты. Фруктозо-ассоциированная подагра ассоциирована с вариантами транспортеров, экспрессирующимися в почке, кишечнике и печени. Хронически повышенная мочевая кислота также ассоциирована с неалкогольным

стеатогепатитом (НАСГ), неалкогольной жировой болезнью печени (НАЖБП), нарушением обмена веществ, сердечно-сосудистым заболеванием, диабетом 2 типа и состояниями, связанными с оксидативным стрессом, хроническим неспецифическим воспалением и резистентность к инсулину (Xu *et al.*, *J. Hepatol.* 62:1412-1419, 2015; Cardoso *et al.*, *J. Pediatr.* 89:412-418, 2013; Sertoglu *et al.*, *Clin. Biochem.*, 47:383-388, 2014).

Мочевая кислота (также обозначаемая в настоящем описании как урат) является конечным метаболитом метаболизма эндогенного и алиментарного пурина. Ксантиноксидаза (ХО) (ЕС 1.1.3.22) и ксантиндегидрогеназа (XDH) (ЕС 1.17.1.4), катализирующие окисление гипоксантина до ксантина и ксантина до мочевой кислоты, соответственно, являются взаимно превращающимися формами одного и того же фермента. Ферменты являются молибдопротеин-содержащими флавопротеинами, состоящими из двух идентичных субъединиц массой приблизительно 145 кДа. Фермент млекопитающих, включая человека, синтезируется в виде дегидрогеназной формы, но он легко может превращаться в оксидазную форму посредством окисления сульфгидрильных остатков или протеолиза. XDH, главным образом, экспрессируется в кишечнике и печени, но также и в других тканях, включая жировую ткань.

Аллопуринол и фебуксостат (Uloric®), ингибиторы XDH-формы фермента, являются общеупотребительными для лечения подагры. Однако, их использование противопоказано пациентам с сопутствующими заболеваниями, характерными для подагры, особенно сниженной функцией почек, например, по причине хронической болезни почек или печеночной недостаточности. Их использование также может быть ограничено у пациентов с метаболическим синдромом, гипертензией, дислипидемией, неалкогольным стеатогепатитом (НАСГ) или неалкогольной жировой болезнью печени (НАЖБП), сердечно-сосудистым заболеванием или диабетом (1 типа или 2 типа) из-за ограниченной по причине заболевания или состояния функцией органа или из-за нежелательных лекарственных взаимодействий со средствами, используемыми для лечения таких состояний.

В настоящее время лечение подагры не полностью удовлетворяет потребности пациента. Таким образом, существует потребность в дополнительных способах терапии для индивидуумов, которым могло бы принести пользу снижение экспрессии гена XDH, таких как индивидуум, имеющий XDH-ассоциированное заболевание или нарушение, например, подагру.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Настоящее изобретение относится к композициям iRNA, влияющим на опосредованное РНК-индуцируемым сайленсинг-комплексом (RISC) расщепление транскриптов РНК гена, кодирующего ксантиндегидрогеназу (XDH). XDH может находиться в клетке, например, клетке в организме индивидуума, такого как человек.

Таким образом, в одном из аспектов изобретение относится к средству двухцепочечной рибонуклеиновой кислоты (дцРНК) для ингибирования экспрессии XDH в клетке, где дцРНК-средство содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь,

образующие двухцепочечную область, где смысловая цепь содержит по меньшей мере 15 смежных нуклеотидов, отличающихся на не более, чем 0, 1, 2 или 3 нуклеотида от нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 1, и антисмысловая цепь содержит по меньшей мере 15 смежных нуклеотидов, отличающихся на не более, чем 1, 2 или 3 нуклеотида от нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 2. В некоторых вариантах осуществления смысловая цепь содержит по меньшей мере 15 смежных нуклеотидов нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 1, и антисмысловая цепь содержит по меньшей мере 15 смежных нуклеотидов нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 2. В некоторых вариантах осуществления смысловая цепь содержит по меньшей мере 17 смежных нуклеотидов нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 1, и антисмысловая цепь содержит по меньшей мере 17 смежных нуклеотидов нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 2. В некоторых вариантах осуществления смысловая цепь содержит по меньшей мере 19 смежных нуклеотидов нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 1, и антисмысловая цепь содержит по меньшей мере 19 смежных нуклеотидов нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 2.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к двухцепочечной рибонуклеиновой кислоте (дцРНК) для ингибирования экспрессии ксантиндегидрогеназы (XDH) в клетке, где указанная дцРНК содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, образующие двухцепочечную область, где антисмысловая цепь содержит область комплементарности в отношении мРНК, кодирующей XDH, и где область комплементарности содержит по меньшей мере 15 смежных нуклеотидов, отличающихся на не более, чем 0, 1, 2 или 3 нуклеотида от любой из антисмысловых нуклеотидных последовательностей в любой из таблиц 2-3 и 6-7. В некоторых вариантах осуществления область комплементарности содержит по меньшей мере 15 смежных нуклеотидов любой из антисмысловых нуклеотидных последовательностей в любой из таблиц 2-3 и 6-7. В некоторых вариантах осуществления область комплементарности содержит по меньшей мере 17 смежных нуклеотидов любой из антисмысловых нуклеотидных последовательностей в любой из таблиц 2-3 и 6-7. В некоторых вариантах осуществления область комплементарности содержит по меньшей мере 19 смежных нуклеотидов любой из антисмысловых нуклеотидных последовательностей в любой из таблиц 2-3 и 6-7. В некоторых вариантах осуществления область комплементарности содержит по меньшей мере 20 смежных нуклеотидов любой из антисмысловых нуклеотидных последовательностей в любой из таблиц 2-3 и 6-7. В некоторых вариантах осуществления область комплементарности содержит по меньшей мере 21 смежных нуклеотидов любой из антисмысловых нуклеотидных последовательностей в любой из таблиц 2-3 и 6-7.

В одном из аспектов настоящее изобретение относится к двухцепочечной рибонуклеиновой кислоте (дцРНК) для ингибирования экспрессии ксантиндегидрогеназы (XDH) в клетке, где указанная дцРНК содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, образующие двухцепочечную область, где смысловая цепь содержит по меньшей мере 15 смежных нуклеотидов, отличающихся на не более, чем 3 нуклеотида от любой из

нуклеотидных последовательностей нуклеотидов 226-269; 1318-1352; 1953-1998; 2351-2394; 2679-2730; 3867-3916 или 4510-4574 SEQ ID NO: 1, и антисмысловая цепь содержит по меньшей мере 15 смежных нуклеотидов из соответствующей нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 2.

В одном из аспектов настоящее изобретение относится к двухцепочечной рибонуклеиновой кислоте (дцРНК) для ингибирования экспрессии ксантиндегидрогеназы (XDH) в клетке, где указанная дцРНК содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, образующие двухцепочечную область, где смысловая цепь содержит по меньшей мере 15 смежных нуклеотидов, отличающихся на не более, чем 3 нуклеотида от любой из нуклеотидных последовательностей нуклеотидов 15-45; 121-162; 226-292; 306-338; 379-402; 428-458; 495-521; 873-907; 1318-1344; 1381-1407; 1604-1643; 1700-1723; 1960-1991; 1996-2029; 2044-2067; 2128-2174; 2186-2208; 2289-2345; 2359-2419; 2689-2722; 2699-2721; 2774-2797; 2930-2958; 2987-3064; 3083-3158; 3195-3221; 3248-3293; 3352-3405; 3460-3520; 3524-3571; 3575-3644; 3870-3963; 4143-4176; 4259-4315; 4355-4379; 4395-4467; 4502-4562; 4577-4648; 4658-4752; 4815-4854; 5199-5277; 5284-5310; 5358-5446 или 5677-5713 SEQ ID NO: 1, и антисмысловая цепь содержит по меньшей мере 15 смежных нуклеотидов из соответствующей нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 2.

В одном из аспектов настоящее изобретение относится к двухцепочечной рибонуклеиновой кислоте (дцРНК) для ингибирования экспрессии ксантиндегидрогеназы (XDH) в клетке, где указанная дцРНК содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, образующие двухцепочечную область, где смысловая цепь содержит по меньшей мере 15 смежных нуклеотидов, отличающихся на не более, чем 3 нуклеотида от любой из нуклеотидных последовательностей нуклеотидов 123-143; 229-249; 229-251, 230-250; 237-259; 241-263; 271-291; 1320-1342; 1321-1341; 1965-1987; 1971-1993; 2130-2150; 2682-2704; 2689-2711; 2690-2710; 2699-2721; 3880-3900 или 3883-3903 SEQ ID NO: 1, и антисмысловая цепь содержит по меньшей мере 15 смежных нуклеотидов из соответствующей нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 2.

В некоторых вариантах осуществления антисмысловая цепь содержит по меньшей мере 15 смежных нуклеотидов, отличающихся на не более, чем три нуклеотида от любой из нуклеотидных последовательностей антисмысловой цепи дуплекса, выбранного из группы, состоящей из AD-1395794.1; AD-1136038.3; AD-1395797.1; AD-1135991.3; AD-1297597.2; AD-1395803.1; AD-1395805.1; AD-1395807.1; AD-1395811.1; AD-1297663.2; AD-1136008.2; AD-1395816.1; AD-1136061.2; AD-1135987.2; AD-1395823.1; AD-1136166.3 и AD-1136169.

В некоторых вариантах осуществления антисмысловая цепь содержит по меньшей мере 15 смежных нуклеотидов, отличающихся на не более, чем три нуклеотида от любой из нуклеотидных последовательностей антисмысловой цепи дуплекса, выбранного из группы, состоящей из AD-1136091, AD-1395794, AD-1395805, AD-1136008, AD-1136038, AD-1395823, AD-1395816, AD-1136061, AD-1395811 и AD-1136166.

В некоторых вариантах осуществления смысловая цепь содержит по меньшей мере 15 смежных нуклеотидов, отличающихся на не более, чем 3 нуклеотида от нуклеотидных

последовательностей нуклеотидов 2699-2721 SEQ ID NO: 1, и антисмысловая цепь содержит по меньшей мере 15 смежных нуклеотидов из соответствующей нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 2.

В некоторых вариантах осуществления антисмысловая цепь содержит по меньшей мере 15 смежных нуклеотидов, отличающихся на не более, чем три нуклеотида от нуклеотидной последовательности антисмысловой цепи дуплекса AD-1136091.

В одном из вариантов осуществления дцРНК-средство содержит по меньшей мере один модифицированный нуклеотид.

В одном из вариантов осуществления по существу все нуклеотиды смысловой цепи; по существу все нуклеотиды антисмысловой цепи содержат модификацию; или по существу все нуклеотиды смысловой цепи и по существу все нуклеотиды антисмысловой цепи содержат модификацию.

В одном из вариантов осуществления все нуклеотиды смысловой цепи содержат модификацию; все нуклеотиды антисмысловой цепи содержат модификацию; или все нуклеотиды смысловой цепи и все нуклеотиды антисмысловой цепи содержат модификацию.

В одном из вариантов осуществления по меньшей мере один из модифицированных нуклеотидов выбран из группы, состоящей из дезоксинуклеотида, 3'-концевого дезокситимидинового (dT) нуклеотида, 2'-О-метил-модифицированного нуклеотида, 2'-фтор-модифицированного нуклеотида, 2'-дезоксид-модифицированного нуклеотида, замкнутого нуклеотида, незамкнутого нуклеотида, конформационно ограниченного нуклеотида, нуклеотида с затрудненным этилом, нуклеотида с удаленным азотистым основанием, 2'-амино-модифицированного нуклеотида, 2'-О-аллил-модифицированного нуклеотида, 2'-С-алкил-модифицированного нуклеотида, 2'-метоксиэтил-модифицированного нуклеотида, 2'-О-алкил-модифицированного нуклеотида, морфолино-нуклеотида, фосфорамидата, нуклеотида, содержащего неприродное основание, тетрагидропиран-модифицированного нуклеотида, 1,5-ангидрогекситол-модифицированного нуклеотида, циклогексенил-модифицированного нуклеотида, нуклеотида, содержащего фосфотиоатную группу, нуклеотида, содержащего метилфосфонатную группу, нуклеотида, содержащего 5'-фосфат, нуклеотида, содержащего миметик 5'-фосфата, нуклеотида, содержащего 2'-фосфат, например, цитидин-2'-фосфат (C2p); гуанозин-2'-фосфат (G2p); уридин-2'-фосфат (U2p); аденозин-2'-фосфат (A2p); термически дестабилизирующий нуклеотид, гликоль-модифицированного нуклеотида (GNA), 2'-О-(N-метилацетамид)-модифицированного нуклеотида и их комбинаций.

В одном из вариантов осуществления модификации нуклеотидов выбраны из группы, состоящей из ЗНК, гликоль-нуклеиновой кислоты (GNA), гекситол-нуклеиновой кислоты (HNA), CeNA, 2'-метоксиэтила, 2'-О-алкила, 2'-О-аллила, 2'-С-аллила, 2'-фтора, 2'-дезоксигруппы, 2'-гидроксила, гликоля и их комбинаций.

В одном из вариантов осуществления по меньшей мере один из модифицированных нуклеотидов выбран из группы, состоящей из дезоксинуклеотида, 2'-О-метил-

модифицированного нуклеотида, 2'-фтор-модифицированного нуклеотида, 2'-дезоксимодифицированного нуклеотида, нуклеотида, содержащего 2'-фосфат, гликоль-модифицированного нуклеотида (GNA), например, Ggn, Cgn, Tgn или Agn, винилфосфонатного нуклеотида и их комбинаций.

В другом варианте осуществления по меньшей мере одна из модификаций нуклеотидов является модификацией термически дестабилизирующего нуклеотида.

В одном из вариантов осуществления модификация термически дестабилизирующего нуклеотида выбрана из группы, состоящей из модификации удаления азотистого основания; ошибочного спаривания с противоположным нуклеотидом в дуплексе и дестабилизирующей модификации сахара, 2'-дезоксимодификации, ациклического нуклеотида, незамкнутой нуклеиновой кислоты (UNA) и гликоль-нуклеиновой кислоты (GNA).

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

В одном из вариантов осуществления каждая цепь независимо составляет не более 30 нуклеотидов в длину.

В одном из вариантов осуществления смысловая цепь составляет 21 нуклеотид в длину, и антисмысловая цепь составляет 23 нуклеотида в длину.

Область комплементарности может составлять по меньшей мере 17 нуклеотидов в длину; 19-23 нуклеотидов в длину или 19 нуклеотидов в длину.

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

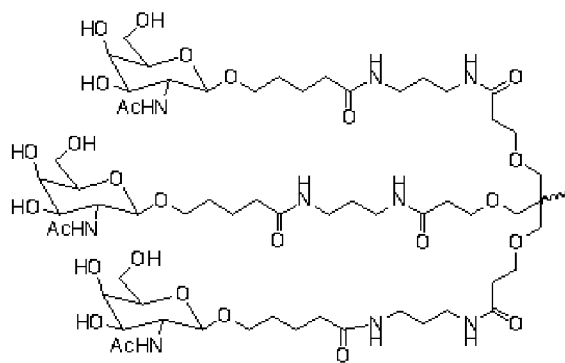
В одном из вариантов осуществления дцРНК-средство дополнительно содержит лиганд.

В одном из вариантов осуществления лиганд конъюгирован с 3'-концом смысловой цепи дцРНК-средства.

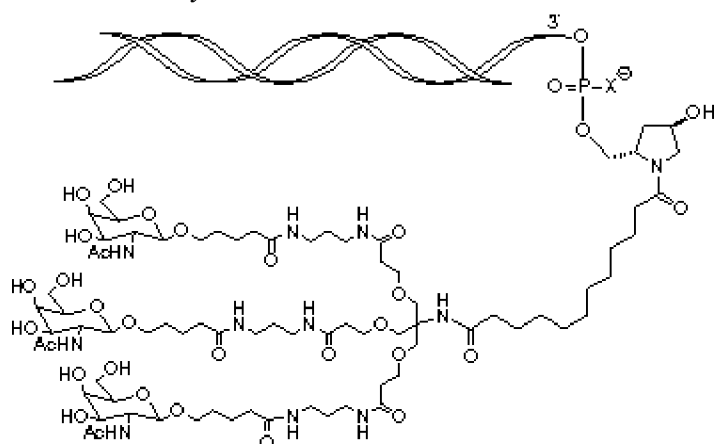
В одном из вариантов осуществления лиганд является производным N-ацетилгалактозамина (GalNAc).

В одном из вариантов осуществления лиганд является одним или более производными GalNAc, соединенными через моновалентный, бивалентный или тривалентный разветвленный линкер.

В одном из вариантов осуществления лиганд представляет собой



В одном из вариантов осуществления дцРНК-средство конъюгировано с лигандом, как показано на следующей схеме



и, где X представляет собой O или S.

В одном из вариантов осуществления X представляет собой O.

В одном из вариантов осуществления дцРНК-средство дополнительно содержит по меньшей мере одну фосфотиоатную или метилфосфонатную межнуклеотидную связь.

В одном из вариантов осуществления фосфотиоатная или метилфосфонатная межнуклеотидная связь находится на 3'-конце одной цепи, например, антисмысловой цепи или смысловой цепи.

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

В одном из вариантов осуществления фосфотиоатная или метилфосфонатная межнуклеотидная связь находится и на 5'-, и на 3'-конце одной цепи. В одном из вариантов осуществления цепь является антисмысловой цепью.

В одном из вариантов осуществления пара оснований в 1 положении 5'-конца антисмысловой цепи дуплекса является парой оснований AU.

Настоящее изобретение также относится к клеткам, содержащим любые из дцРНК-средств по изобретению, и фармацевтическим композициям, содержащим любые из дцРНК-средств по изобретению.

Фармацевтическая композиция по изобретению может включать дцРНК-средство в незабуферном растворе, например, физиологическом растворе или воде, или

фармацевтическая композиция по изобретению может включать дцРНК-средство, находящееся в буферном растворе, например, буферном растворе, содержащем ацетат, цитрат, проламин, карбонат, фосфат или любую их комбинацию; или фосфатно-солевым буфере (PBS).

В одном из аспектов настоящее изобретение относится к способу ингибирования экспрессии гена ксантиндегидрогеназа (XDH) в клетке. Способ включает приведение клетки в контакт с любыми из дцРНК по изобретению или любыми из фармацевтических композиций по изобретению и, таким образом, ингибирование экспрессии гена XDH в клетке.

В одном из вариантов осуществления клетка находится в организме индивидуума, например, человека, например, индивидуума, имеющего ксантиндегидрогеназа-(XDH)-ассоциированное заболевание. Такие заболевания, как правило, ассоциированы с избытком мочевой кислоты, например, мочевой кислоты в сыворотке.

В одном из вариантов осуществления XDH-ассоциированное заболевание является гиперурикемией. В другом варианте осуществления XDH-ассоциированное заболевание является подагрой.

В одном из вариантов осуществления приведение клетки в контакт с дцРНК-средством ингибирует экспрессию XDH на по меньшей мере 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или 95%.

В одном из вариантов осуществления ингибирование экспрессии XDH снижает уровень белка XDH в сыворотке индивидуума на по меньшей мере 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или 95%.

В одном из аспектов настоящее изобретение относится к способу лечения индивидуума, имеющего нарушение, при котором получают пользу от снижения экспрессии ксантиндегидрогеназы (XDH). Способ включает введение индивидууму терапевтически эффективного количества любых из дцРНК по изобретению или любых из фармацевтических композиций по изобретению и, таким образом, лечение индивидуума, имеющего нарушение, при котором получают пользу от снижения экспрессии XDH.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к способу профилактики развития нарушения, при котором получают пользу от снижения экспрессии ксантиндегидрогеназы (XDH) у индивидуума, имеющего по меньшей мере один признак или симптом нарушения, еще не соответствующий диагностическим критериям этого нарушения. Способ включает введение индивидууму профилактически эффективного количества любых из дцРНК по изобретению или любых из фармацевтических композиций по изобретению и, таким образом, профилактику прогрессирования у индивидуума до соответствия диагностическим критериям нарушения, при котором получают пользу от снижения экспрессии XDH.

В одном из вариантов осуществления нарушение является ксантиндегидрогеназа-(XDH)-ассоциированным нарушением.

В одном из вариантов осуществления индивидуум является человеком.

В одном из вариантов осуществления дцРНК-средство вводят индивидууму в дозе от приблизительно 0,01 мг/кг до приблизительно 50 мг/кг.

В одном из вариантов осуществления дцРНК-средство вводят индивидууму подкожно.

В одном из вариантов осуществления уровень XDH в образцах индивидуума является уровнем белка XDH в образцах крови или сыворотки.

В одном из вариантов осуществления введение индивидууму средства вызывает снижение уровня мочевой кислоты (например, мочевой кислоты в сыворотке) или снижение накопления белка XDH.

В некоторых вариантах осуществления способы по изобретению дополнительно включают введение индивидууму дополнительного терапевтического средства.

В некоторых вариантах осуществления композиции и способы по изобретению используют в комбинации с другими композициями и способами для лечения гиперурикемии и/или подагры, например, аллопуринолом, оксипуринолом, фебуксостатом, анальгетиком или противовоспалительными средствами, например, НПВС.

Настоящее изобретение также относится к наборам, содержащим любые из дцРНК по изобретению или любые из фармацевтических композиций по изобретению и, необязательно, инструкции по использованию.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

Фигура 1 является схемой, на которой показан метаболический путь мочевой кислоты. На схеме XDH указана как XO.

На фигуре 2 показаны уровни белка XDH в образцах печени, полученных из обезьян *Сynomolgus* после введения указанных XDH-нацеленных миРНК или аллопуринола.

На фигуре 3 показаны уровни мРНК XDH в образцах печени, полученных из обезьян *Сynomolgus* после введения указанных XDH-нацеленных миРНК или аллопуринола.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Настоящее изобретение относится к композициям iRNA, вызывающим опосредованное РНК-индуцируемым сайленсинг-комплексом (RISC) расщепление транскриптов РНК гена ксантиндегидрогеназы (XDH). Ген может находиться в клетке, например, клетке в организме индивидуума, такого как человек. Использование этих iRNA делает возможным направленную деградацию мРНК соответствующего гена (гена ксантиндегидрогеназы) у млекопитающих.

iRNA по изобретению сконструированы для таргетинга гена ксантиндегидрогеназы человека, включая части гена, являющиеся консервативными в ортологах ксантиндегидрогеназы других видов млекопитающих. Не желая быть связанными какой-либо теорией, полагают, что комбинация или подкомбинации указанных выше свойств и конкретных целевых участков или конкретных модификаций в этих iRNA придают iRNA по изобретению улучшенную эффективность, стабильность, активность, устойчивость и безопасность.

Таким образом, настоящее изобретение относится к способам лечения и профилактики ксантиндегидрогеназа-ассоциированного нарушения, заболевания или состояния, например, нарушения, заболевания или состояния, ассоциированного с повышенными уровнями мочевой кислоты в сыворотке, например, гиперурикемией и подагрой, с использованием композиций iRNA, вызывающих опосредованное РНК-индуцируемым сайленсинг-комплексом (RISC) расщепление транскриптов РНК гена ксантиндегидрогеназы.

iRNA по изобретению включают цепь РНК (антисмысловую цепь), имеющую область, составляющую до приблизительно 30 нуклеотидов или менее в длину, например, 19-30, 19-29, 19-28, 19-27, 19-26, 19-25, 19-24, 19-23, 19-22, 19-21, 19-20, 20-30, 20-29, 20-28, 20-27, 20-26, 20-25, 20-24, 20-23, 20-22, 20-21, 21-30, 21-29, 21-28, 21-27, 21-26, 21-25, 21-24, 21-23 или 21-22 нуклеотида в длину, область которых, по существу, комплементарна по меньшей мере части транскрипта мРНК гена ксантиндегидрогеназы. В некоторых вариантах осуществления РНКи-средства по изобретению включают цепь РНК (антисмысловую цепь), имеющую область, составляющую приблизительно 21-23 нуклеотида в длину, по существу, комплементарную по меньшей мере части транскрипта мРНК гена ксантиндегидрогеназы.

В некоторых вариантах осуществления одна или обе цепи двухцепочечных РНКи-средств по изобретению составляют до 66 нуклеотидов в длину, например, 36-66, 26-36, 25-36, 31-60, 22-43, 27-53 нуклеотида в длину, с областью по меньшей мере 19 смежных нуклеотидов, по существу, комплементарной по меньшей мере части транскрипта мРНК гена ксантиндегидрогеназы. В некоторых вариантах осуществления такие iRNA-средства, имеющие более длинные антисмысловые цепи, например, могут включать вторую цепь РНК (смысловую цепь) 20-60 нуклеотидов в длину, где смысловые и антисмысловые цепи образуют дуплекс из 18-30 смежных нуклеотидов.

Использование iRNA по изобретению делает возможной направленную деградацию мРНК соответствующего гена (гена ксантиндегидрогеназы) у млекопитающих. Используя анализы *in vitro* и *in vivo*, авторы настоящего изобретения показали, что iRNA, нацеленные на ген ксантиндегидрогеназы, могут эффективно опосредовать РНКи, что приводит к значительному ингибированию экспрессии гена ксантиндегидрогеназы. Таким образом, способы и композиции, включающие эти iRNA, можно использовать для лечения индивидуума, имеющего ксантиндегидрогеназа-ассоциированное нарушение, например, гиперурикемию и подагру.

Таким образом, настоящее изобретение относится к способам и средствам комбинированного лечения для лечения индивидуума, имеющего нарушение, при котором получают пользу от ингибирования или снижения экспрессии гена ксантиндегидрогеназы, например, ксантиндегидрогеназа-ассоциированное заболевание, такое как гиперурикемия и подагра, с использованием композиций iRNA, вызывающих опосредованное РНК-индуцируемым сайленсинг-комплексом (RISC) расщепление транскриптов РНК гена XDH.

Настоящее изобретение также относится к способам профилактики по меньшей мере одного симптома у индивидуума, имеющего нарушение, при котором получают пользу от ингибирования или снижения экспрессии гена ксантиндегидрогеназы, например, гиперурикемию и подагру.

В некоторых вариантах осуществления введение индивидууму дцРНК вызывает снижение уровня мРНК XDH, уровня белка XDH и уровня мочевой кислоты в сыворотке.

В следующем подробном описании показано, как получать и использовать композиции, содержащие iRNA, для ингибирования экспрессии гена ксантиндегидрогеназы, а также композиции, применение и способы лечения индивидуумов, которые получают пользу от ингибирования или снижения экспрессии гена ксантиндегидрогеназы, например, индивидуумов, предрасположенных к ксантиндегидрогеназа-ассоциированному нарушению, или у которых оно диагностировано.

I. Определения

Чтобы настоящее изобретение было более понятным, сначала определены некоторые термины. Кроме того, следует отметить, что каждый раз, когда указано значение или диапазон значений параметра, следует понимать, что значения и диапазоны, являющиеся промежуточными относительно указанных значений, также предназначены быть частью настоящего изобретения.

Термины в единственном числе используют в настоящем описании для обозначения одного или более одного (т.е. по меньшей мере одного) грамматических объектов. В качестве примера, термин "элемент" означает один элемент или более одного элемента, например, множество элементов.

Термин "включающий" используют в настоящем описании взаимозаменяемо с фразой "включая в качестве неограничивающих примеров".

Термин "или" используют в настоящем описании взаимозаменяемо с термином "и/или", если контекст четко не указывает на иное. Например, выражение "смысловая цепь или антисмысловая цепь" следует понимать как "смысловая цепь, или антисмысловая цепь, или смысловая цепь и антисмысловая цепь".

Термин "приблизительно" используют в настоящем описании для обозначения нахождения в типичных диапазонах допустимых значений в этой области. Например, термин "приблизительно" можно понимать как приблизительно 2 стандартных отклонения от среднего значения. В некоторых вариантах осуществления термин "приблизительно" означает $\pm 10\%$. В некоторых вариантах осуществления термин "приблизительно" означает $\pm 5\%$. Если термин "приблизительно" приведен перед последовательностью чисел или диапазонов, следует понимать, что с помощью термина "приблизительно" можно модифицировать каждое из чисел в последовательности или диапазоне.

Термины "по меньшей мере", "не менее чем" или "или более" перед числом или последовательностью чисел следует понимать как включение числа, смежного с термином "по меньшей мере" и всех последующих чисел или целых чисел, которые логически можно

включить, как очевидно из контекста. Например, число нуклеотидов в молекуле нуклеиновой кислоты должно быть целым числом. Например, "по меньшей мере 19 нуклеотидов из 21-нуклеотидной молекулы нуклеиновой кислоты" означает, что указанным свойствам обладают 19, 20 или 21 нуклеотид. Если термин "по меньшей мере" находится перед последовательностью чисел или диапазоном, следует понимать, что с помощью термина "по меньшей мере" можно модифицировать каждое из чисел в последовательности или диапазоне.

В рамках изобретения термины "не более чем" или "или менее" следует понимать как значение, смежное с фразой и последовательные меньшие значения или целые числа, как следует из контекста, до нуля. Например, дуплекс с липким концом из "не более 2 нуклеотидов" имеет липкий конец из 2, 1 или 0 нуклеотидов. Когда термин "не более чем" находится перед последовательностью чисел или диапазоном, следует понимать, что с помощью термина "не более чем" можно модифицировать каждое из чисел в последовательности или диапазоне. В рамках изобретения диапазоны включают верхний и нижний предел.

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

В случае противоречия между указанным целевым участком и нуклеотидной последовательностью для смысловой или антисмысловой цепью, указанная последовательность обладает приоритетом.

В случае противоречия между последовательностью и ее указанным участком на транскрипте или другой последовательности, нуклеотидная последовательность, приведенная в описании, обладает приоритетом.

В рамках изобретения термин "ксантиндегидрогеназа", используемый взаимозаменяемо с термином "XDH", относится к хорошо известному гену и полипептиду, также известному в этой области как ксантиндегидрогеназа/оксидаза, ксантиноксидоредуктаза, XAN1, XDHA, XOR, XO, EC 1.17.1.4 и EC 1.7.2.2.

XDH принадлежит к группе молибден-содержащих гидроксилаз, участвующих в окислительном метаболизме пуринов. Кодированный белок идентифицирован как "совместительствующий" белок с учетом его способности выполнять механистически разные функции. Ксантиндегидрогеназа может превращаться в ксантиноксидазу посредством обратимого окисления сульфгидрилов или необратимой протеолитической модификации. В рамках изобретения, если контекст четко не указывает на иное, термин "ксантиндегидрогеназа" или "XDH" следует понимать как включающий и ксантиндегидрогеназную, и ксантиноксидазную ("XO" или "XOR") форму белка. Белок преимущественно экспрессируется в кишечнике и печени, но также и в жировой ткани. Идентифицировано два варианта транскрипта для изоформы гена человека.

Термин "XDH" включает XDH человека, аминокислотную и нуклеотидную последовательности которой можно найти, например, под регистрационными номерами GenBank GI:91823270, GI: 1519244313 и GI:767915203; XDH мыши, аминокислотную и

нуклеотидную последовательности которой можно найти, например, под регистрационными номерами GenBank GI:575501724; XDH крысы, аминокислотную и нуклеотидную последовательности которой можно найти, например, под регистрационным номером GenBank GI:8394543; и XDH *Macaca fascicularis*, вариант транскрипта X1, аминокислотную и нуклеотидную последовательности которого можно найти, например, под регистрационными номерами GenBank GI:544482046 и GI:544482048. Дополнительные примеры последовательностей мРНК XDH доступны, например, в GenBank, UniProt, OMIM и на веб-сайте проекта генома *Macaca*.

Примеры нуклеотидных последовательностей XDH также можно найти в SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11 и 15. SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12 и 16 являются бессмысленными последовательностями SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11 и 15, соответственно.

В рамках изобретения термин "XDH" также относится к природным вариантам последовательности ДНК гена XDH. В рамках изобретения термин "XDH" также относится к однонуклеотидным полиморфизмам в гене XDH. Идентифицировано множество вариаций последовательности в гене XDH, и их можно найти, например, в dbSNP NCBI и UniProt (см., например, www.ncbi.nlm.nih.gov/snp?LinkName=gene_snp&from_uid=7498 (включенный в настоящее описание в качестве ссылки на дату подачи настоящей заявки), где приведено более 3000 SNP в XDH человека). В некоторых вариантах осуществления такие встречающиеся в природе варианты включены в объем последовательности гена XDH.

Дополнительную информацию о XDH можно найти, например, по адресу www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/7498 (включенный в настоящее описание в качестве ссылки на дату подачи настоящей заявки).

Дополнительные примеры последовательностей мРНК XDH доступны в общедоступных базах данных, например, GenBank, UniProt, OMIM и веб-сайт проекта генома *Macaca*.

Полное содержание каждой из указанных выше регистрационных номеров Genbank и базы данных Gene NCBI включено в настоящее описание в качестве ссылки на дату подачи настоящей заявки.

В рамках изобретения термин "целевая последовательность" относится к смежной части нуклеотидной последовательности молекулы мРНК, образованной во время транскрипции гена ксантиндегидрогеназы, включая мРНК, являющуюся продуктом процессинга РНК первичного продукта транскрипции. Целевая часть последовательности будет по меньшей мере достаточно длинной, чтобы служить в качестве субстрата для направляемого iRNA расщепления в этой части нуклеотидной последовательности молекулы мРНК, образованной во время транскрипции гена XDH, или вблизи нее. В одном из вариантов осуществления целевая последовательность находится в кодирующей белок области XDH.

Целевая последовательность может составлять приблизительно от 19-36 нуклеотидов в длину, например, приблизительно 19-30 нуклеотидов в длину. Например,

целевая последовательность может составлять приблизительно 19-30 нуклеотидов, 19-30, 19-29, 19-28, 19-27, 19-26, 19-25, 19-24, 19-23, 19-22, 19-21, 19-20, 20-30, 20-29, 20-28, 20-27, 20-26, 20-25, 20-24, 20-23, 20-22, 20-21, 21-30, 21-29, 21-28, 21-27, 21-26, 21-25, 21-24, 21-23 или 21-22 нуклеотида в длину. В некоторых вариантах осуществления целевая последовательность составляет от приблизительно 19 до приблизительно 30 нуклеотидов в длину. В других вариантах осуществления целевая последовательность составляет от приблизительно 19 до приблизительно 25 нуклеотидов в длину. В других вариантах осуществления целевая последовательность составляет от приблизительно 19 до приблизительно 23 нуклеотидов в длину. В некоторых вариантах осуществления целевая последовательность составляет от приблизительно 21 до приблизительно 23 нуклеотидов в длину. Диапазоны и длины, промежуточные относительно приведенных выше диапазонов и длин, также предназначены быть частью настоящего изобретения.

В рамках изобретения термин "цепь, содержащая последовательность" относится к олигонуклеотиду, содержащему цепь нуклеотидов, описываемую последовательностью, обозначаемой с использованием стандартной номенклатуры нуклеотидов.

Каждый из "G", "C", "A", "T" и "U", как правило, обозначает нуклеотид, содержащий гуанин, цитозин, аденин, тимидин и урацил в качестве основания, соответственно. Однако следует понимать, что термин "рибонуклеотид" или "нуклеотид" также может относиться к модифицированному нуклеотиду, как подробно описано ниже, или суррогатной замещающей функциональной группе (см., например, таблицу 1). Специалисту в этой области известно, что гуанин, цитозин, аденин и урацил можно заменять другими функциональными группами без значительного изменения свойств спаривания оснований олигонуклеотида, содержащего нуклеотид, несущий такую замещающую функциональную группу. В качестве неограничивающих примеров, нуклеотид, содержащий инозин в качестве своего основания, может спариваться с нуклеотидами, содержащими аденин, цитозин или урацил. Таким образом, нуклеотиды, содержащие урацил, гуанин или аденин, можно заменять в нуклеотидных последовательностях дцРНК по изобретению нуклеотидом, содержащим, например, инозин. В другом примере аденин и цитозин где-либо в олигонуклеотиде можно заменять гуанином и урацилом, соответственно, для получения неоднозначного спаривания оснований G-U с мРНК-мишенью. Последовательности, содержащие такие замещающие функциональные группы, подходят для композиций и способов по изобретению.

Термины "iRNA", "РНКи-средство", "iRNA-средство", "средство РНК-интерференции", как взаимозаменяемо используют в настоящем описании, относятся к средству, содержащему РНК в том виде, как этот термин определен в настоящем описании, и опосредующему направленное расщепление транскрипта РНК с помощью пути РНК-индуцируемого сайленсинг-комплекса (RISC). iRNA направляет специфическую в отношении последовательности деградацию мРНК с помощью процесса, известного как РНК-интерференция (РНКи). iRNA модулирует, например, ингибирует, экспрессию гена

ксантиндегидрогеназы в клетке, например, клетке в организме индивидуума, такого как млекопитающее.

В одном из вариантов осуществления РНКи-средство по изобретению включает одноцепочечную РНК, взаимодействующую с целевой последовательностью РНК, например, целевой последовательностью мРНК ксантиндегидрогеназы, для направления расщепления целевой РНК. Не желая быть связанными какой-либо теорией полагают, что длинная двухцепочечная РНК, встроенная в клетки, расщепляется на миРНК эндонуклеазой типа III, известной как Dicer (Sharp *et al.* (2001) *Genes Dev.* 15:485). Dicer, рибонуклеаза-III-подобный фермент, процессирует дцРНК в малую интерферирующую РНК длиной 19-23 пары оснований с характерными 3'-липкими концами из двух оснований (Bernstein, *et al.*, (2001) *Nature* 409:363). Затем миРНК встраиваются в РНК-индуцируемый сайленсинг-комплекс (RISC), где один или более хеликаз распускает дуплекс миРНК, позволяя комплементарной антисмысловой цепи направлять распознавание мишени (Nykanen, *et al.*, (2001) *Cell* 107:309). После связывания с подходящей мРНК-мишенью одна или более эндонуклеаз в RISC расщепляет мишень, индуцируя сайленсинг (Elbashir, *et al.*, (2001) *Genes Dev.* 15:188). Таким образом, в одном из аспектов изобретение относится к одноцепочечной РНК (миРНК), образующейся в клетке и способствующей образованию комплекса RISC для осуществления сайленсинга гена-мишени, т.е. гена ксантиндегидрогеназы (XDH). Таким образом, термин "миРНК" также используют в настоящем описании для обозначения iRNA, как описано выше.

В некоторых вариантах осуществления РНКи-средство может являться одноцепочечной миРНК (ssRNAi), встраиваемой в клетку или организм для ингибирования мРНК-мишени. Одноцепочечные РНКи-средства связываются с эндонуклеазой RISC, Argonaute 2, которая затем расщепляет мРНК-мишень. Одноцепочечные миРНК, как правило, составляют 15-30 нуклеотидов и химически модифицированы. Дизайн и тестирование одноцепочечных миРНК описан в патенте США № 8101348 и Lima *et al.*, (2012) *Cell* 150:883-894, содержание каждой из которых, таким образом, включено в настоящее описание в качестве ссылки в полном объеме. Любые из антисмысловых нуклеотидных последовательностей, представленных в настоящем описании, можно использовать в качестве одноцепочечной миРНК, как представлено в настоящем описании или в виде, химически модифицированным способами, описанными в Lima *et al.*, (2012) *Cell* 150:883-894.

В некоторых вариантах осуществления "iRNA" для использования в композициях, применении и способах по изобретению является двухцепочечной РНК, и ее обозначают в настоящем описании как "двухцепочечное РНК-средство", "молекула двухцепочечной РНК (дцРНК)", "дцРНК-средство" или "дцРНК". Термин "дцРНК", относится к комплексу молекул рибонуклеиновой кислоты, имеющих дуплексную структуру, содержащую две антипараллельные и, по существу, комплементарные цепи нуклеиновой кислоты, обозначаемые как имеющие "смысловую" и "антисмысловую" ориентации в отношении целевой РНК, т.е. гена ксантиндегидрогеназы (XDH). В некоторых вариантах

осуществления изобретения, двухцепочечная РНК (дцРНК) запускает деградацию целевой РНК, например, мРНК, с помощью механизма посттранскрипционного сайленсинга гена, обозначаемого в настоящем описании как РНК-интерференция или РНКи.

В рамках изобретения термин "модифицированный нуклеотид" относится нуклеотиду, независимо имеющему модифицированный остаток сахара, модифицированную межнуклеотидную связь, или модифицированное нуклеиновое основание, или любую их комбинацию. Таким образом, термин "модифицированный нуклеотид" включает замены, добавления или удаление, например, функциональной группы или атома, в отношении межнуклеозидных связей, остатков сахаров или нуклеиновых оснований. Модификации, подходящие для использования в средствах по изобретению, включают все типы модификаций, представленных в настоящем описании или известных в этой области. Любые такие модификации, используемые в молекуле типа мРНК, включены в термин "iRNA" или "РНКи-средство" для целей настоящего описания и формулы изобретения.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения включение дезоксинуклеотида, известного как природная форма нуклеотида, если он присутствует в РНКи-средстве, можно рассматривать как составляющую модифицированного нуклеотида.

Область дуплекс может иметь любую длину, делающую возможной специфическую деградацию желаемой целевой РНК с помощью пути RISC, и может находиться в диапазоне приблизительно от 19 до 36 пар оснований в длину, например, приблизительно 19-30 пар оснований в длину, например, приблизительно 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35 или 36 пар оснований в длину, например, приблизительно 19-30, 19-29, 19-28, 19-27, 19-26, 19-25, 19-24, 19-23, 19-22, 19-21, 19-20, 20-30, 20-29, 20-28, 20-27, 20-26, 20-25, 20-24, 20-23, 20-22, 20-21, 21-30, 21-29, 21-28, 21-27, 21-26, 21-25, 21-24, 21-23 или 21-22 пары оснований в длину. В некоторых вариантах осуществления область дуплекса составляет 19-21 пару оснований в длину, например, 21 пару оснований в длину. Диапазоны и длины, промежуточные относительно приведенных выше диапазонов и длин, также предназначены быть частью настоящего изобретения.

Две цепи, образующие дуплексную структуру, могут являться разными частями одной более крупной молекулы РНК или отдельными молекулами РНК. Если две цепи являются частью одной более крупной молекулы и, таким образом, соединены непрерывной цепью нуклеотидов между 3'-концом одной цепи и 5'-концом соответствующей другой цепи, образующей дуплексную структуру, соединительную цепь РНК обозначают как "петля-шпилька". Петля-шпилька может содержать по меньшей мере один неспаренный нуклеотид. В некоторых вариантах осуществления петля-шпилька может содержать по меньшей мере 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 23 или более неспаренных нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления петля-шпилька может содержать 10 или менее нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления петля-шпилька может содержать 8 или менее неспаренных нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления

петля-шпилька может содержать 4-10 неспаренных нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления петля-шпилька может содержать 4-8 нуклеотидов.

В некоторых вариантах осуществления две цепи двухцепочечного олигомерного соединения можно связывать друг с другом. Две цепи можно связывать друг с другом на обоих концах или на только одном конце. Связывание на одном конце означает, что 5'-конец первой цепи связан с 3'-концом второй цепи, или 3'-конец первой цепи связан с 5'-конец второй цепи. Если две цепи связаны друг с другом на обоих концах, 5'-конец первой цепи связан с 3'-концом второй цепи, и 3'-конец первой цепи связан с 5'-концом второй цепи. Две цепи можно связывать друг с другом с помощью олигонуклеотидного линкера, включая, в качестве неограничивающих примеров, (N)_n; где N независимо представляет собой модифицированный или немодифицированный нуклеотид, и n составляет 3-23. В некоторых вариантах осуществления n составляет 3-10, например, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10. В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид линкер выбран из группы, состоящей из GNRA, (G)₄, (U)₄ и (dT)₄, где N представляет собой модифицированный или немодифицированный нуклеотид, и R представляет собой модифицированный или немодифицированный пуриновый нуклеотид. Некоторые нуклеотиды в линкере могут участвовать во взаимодействиях пар оснований с другими нуклеотидами в линкере. Две цепи также можно связывать друг с другом с помощью ненуклеозидного линкера, например, линкера, представленного в настоящем описании. Специалисту в этой области понятно, что любые химические модификации или вариации олигонуклеотида, представленные в настоящем описании, можно использовать олигонуклеотидном линкере.

Олигомерные соединения типа шпилька и гантель будут иметь область дуплекса, равную или составляющую по меньшей мере 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 или 25 пар нуклеотидов. Область дуплекса может быть равна или составлять менее 200, 100 или 50 в длину. В некоторых вариантах осуществления диапазоны для области дуплекса составляют 15-30, от 17 до 23, от 19 до 23 и от 19 до 21 пары нуклеотидов в длину.

Олигомерный соединения-шпильки могут иметь одноцепочечный липкий конец или концевую неспаренную область, в некоторых вариантах осуществления на 3'-конце, и в некоторых вариантах осуществления - на антисмысловой стороне шпильки. В некоторых вариантах осуществления липкие концы составляют 1-4, более типично - 2-3 нуклеотида в длину. Олигомерный соединения-шпильки, которые могут индуцировать РНК-интерференцию, также обозначают в настоящем описании как "shRNA".

Если две, по существу, комплементарные цепи дцРНК содержатся в разных молекулах РНК, эти молекулы, необязательно, могут быть ковалентно соединены. Если две цепи соединены ковалентно иными средствами, чем непрерывная цепь нуклеотидов между 3'-концом одной цепи и 5'-концом соответствующей другой цепи, образующей дуплексную структуру, соединительную структуру обозначают как "линкер". Цепи РНК могут иметь одинаковое или разное количество нуклеотидов. Максимальное количество пар оснований является количеством нуклеотидов в самой короткой цепи дцРНК минус любые липкие концы, присутствующие в дуплексе. В дополнение к дуплексной структуре, РНКи может

содержать один или более нуклеотидных липких концов. В одном из вариантов осуществления РНКи-средства по меньшей мере одна цепь содержит 3'-липкий конец из по меньшей мере 1 нуклеотида. В другом варианте осуществления по меньшей мере одна цепь содержит 3'-липкий конец из по меньшей мере 2 нуклеотидов, например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 11, 12, 13, 14 или 15 нуклеотидов. В других вариантах осуществления по меньшей мере одна цепь РНКи-средства содержит 5'-липкий конец из по меньшей мере 1 нуклеотида. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна цепь содержит 5'-липкий конец из по меньшей мере 2 нуклеотидов, например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 11, 12, 13, 14 или 15 нуклеотидов. В других вариантах осуществления и 3'-, и 5'-конец одной цепи РНКи-средства содержат липкий конец из по меньшей мере 1 нуклеотида.

В некоторых вариантах осуществления iRNA-средство по изобретению является дцРНК, каждая цепь которой содержит 19-23 нуклеотида, взаимодействующих с целевой последовательностью РНК, например, геном ксантиндегидрогеназы (XDH), для направления расщепления целевой РНК.

В некоторых вариантах осуществления iRNA по изобретению является дцРНК из 24-30 нуклеотидов, взаимодействующей с целевой последовательностью РНК, например, целевой последовательностью мРНК XDH, для направления расщепления целевой РНК.

В рамках изобретения термин "нуклеотидный липкий конец" относится по меньшей мере к одному неспаренному нуклеотиду, выступающему из дуплексной структуры двухцепочечной iRNA. Например, если 3'-конец одной цепи дцРНК тянется за пределы 5'-конца другой цепи или наоборот, существует нуклеотидный липкий конец. дцРНК может содержать липкий конец из по меньшей мере одного нуклеотида; альтернативно, липкий конец может содержать по меньшей мере два нуклеотида, по меньшей мере три нуклеотида, по меньшей мере четыре нуклеотида, по меньшей мере пять нуклеотидов или более. Нуклеотидный липкий конец может содержать или состоять из аналога нуклеотида/нуклеозид, включая дезоксинуклеотид/нуклеозид. Липкие концы могут находиться на смысловой цепи, антисмысловой цепи или любой их комбинации. Кроме того, нуклеотиды липкого конца могут находиться на 5'-конце, 3'-конце или обоих антисмысловой или смысловой цепи дцРНК.

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

В одном из вариантов осуществления антисмысловая цепь дцРНК содержит 1-10 нуклеотидов, например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 нуклеотидов, липкий конец на 3'-конце

или 5'-конце. В одном из вариантов осуществления смысловая цепь дцРНК содержит 1-10 нуклеотидов, например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 нуклеотидов, липкий конец на 3'-конце или 5'-конце. В другом варианте осуществления один или более нуклеотидов в липком конце заменяют нуклеозидтиофосфатом.

В некоторых вариантах осуществления антисмысловая цепь дцРНК содержит 1-10 нуклеотидов, например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 нуклеотидов, липкий конец на 3'-конце или 5'-конце. В некоторых вариантах осуществления липкий конец на смысловой цепи, или антисмысловой цепи, или обеих может включать большие длины более 10 нуклеотидов, например, 1-30 нуклеотидов, 2-30 нуклеотидов, 10-30 нуклеотидов, 10-25 нуклеотидов, 10-20 нуклеотидов или 10-15 нуклеотидов в длину. В некоторых вариантах осуществления удлиненный липкий конец находится на смысловой цепи дуплекса. В некоторых вариантах осуществления удлиненный липкий конец находится на 3'-конце смысловой цепи дуплекса. В некоторых вариантах осуществления удлиненный липкий конец находится на 5'-конце смысловой цепи дуплекса. В некоторых вариантах осуществления удлиненный липкий конец находится на антисмысловой цепи дуплекса. В некоторых вариантах осуществления удлиненный липкий конец находится на 3'-конце антисмысловой цепи дуплекса. В некоторых вариантах осуществления удлиненный липкий конец находится на 5'-конце антисмысловой цепи дуплекса. В некоторых вариантах осуществления один или более из нуклеотидов в удлиненном липком конце заменяют нуклеозидтиофосфатом. В некоторых вариантах осуществления липкий конец включает самокомплементарную часть таким образом, что липкий конец может образовывать шпильчатую структуру, являющуюся стабильной в физиологических условиях.

Термин "тупой конец" означает, что отсутствуют неспаренные нуклеотиды на этом конце двухцепочечного РНК-средства, т.е. отсутствует нуклеотидный липкий конец. Двухцепочечное РНК-средство с "тупым концом" является двухцепочечным по всей длине, т.е. отсутствует нуклеотидный липкий конец на любом конце молекулы. РНКи-средства по изобретению включают РНКи-средства без нуклеотидного липкого конца на одном конце (т.е. средства с одним липким концом и одним тупым концом) или без нуклеотидных липких концов на любом конце. Чаще всего такая молекула будет двухцепочечной по всей длине.

Термин "антисмысловая цепь" или "направляющая цепь" относится к цепи iRNA, например, дцРНК, включающей область, являющуюся, по существу, комплементарной целевой последовательности, например, мРНК XDH.

В рамках изобретения термин "область комплементарности" относится к области на антисмысловой цепи, являющейся, по существу, комплементарной последовательности, например, целевой последовательности, например, нуклеотидной последовательности ксантиндегидрогеназы, как определено в настоящем описании. Если область комплементарности не полностью комплементарна целевой последовательности, ошибочно спаренные нуклеотиды могут находиться во внутренних или концевых областях молекулы. Как правило, наиболее переносимые ошибочно спаренные нуклеотиды

находятся в концевых областях, например, в пределах 5, 4 или 3 нуклеотидов от 5'- или 3'-конца iRNA. В некоторых вариантах осуществления двухцепочечное РНК-средство по изобретению включает ошибочное спаривание нуклеотидов в антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления антисмысловая цепь двухцепочечного РНК-средства по изобретению включает не более 4 ошибочных спариваний с мРНК-мишенью, например, антисмысловая цепь включает 4, 3, 2, 1 или 0 ошибочных спариваний с мРНК-мишенью. В некоторых вариантах осуществления антисмысловая цепь двухцепочечного РНК-средства по изобретению включает не более 4 ошибочных спариваний со смысловой цепью, например, антисмысловая цепь включает 4, 3, 2, 1 или 0 ошибочных спариваний со смысловой цепью. В некоторых вариантах осуществления двухцепочечное РНК-средство по изобретению включает ошибочное спаривание нуклеотидов в смысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления смысловая цепь двухцепочечного РНК-средства по изобретению включает не более 4 ошибочных спариваний с антисмысловой цепью, например, смысловая цепь включает 4, 3, 2, 1 или 0 ошибочных спариваний с антисмысловой цепью. В некоторых вариантах осуществления ошибочно спаренный нуклеотид находится, например, в пределах 5, 4, 3 нуклеотидов от 3'-конца iRNA. В другом варианте осуществления ошибочно спаренный нуклеотид находится, например, в 3'-концевом нуклеотиде iRNA-средства. В некоторых вариантах осуществления ошибочно спаренные нуклеотиды не находятся в затравочной области.

Таким образом, РНКи-средство по изобретению может содержать одно или более ошибочных спариваний с целевой последовательностью. В одном из вариантов осуществления РНКи-средство по изобретению содержит не более 3 ошибочно спаренных нуклеотидов (т.е. 3, 2, 1 или 0 ошибочно спаренных нуклеотидов). В одном из вариантов осуществления РНКи-средство по изобретению содержит не более 2 ошибочно спаренных нуклеотидов. В одном из вариантов осуществления РНКи-средство по изобретению содержит не более 1 ошибочно спаренного нуклеотида. В одном из вариантов осуществления РНКи-средство по изобретению содержит 0 ошибочно спаренных нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления, если антисмысловая цепь РНКи-средства содержит ошибочные спаривания с целевой последовательностью, ошибочно спаренный нуклеотид, необязательно, может быть ограничен нахождением в пределах последних 5 нуклеотидов от 5'- или 3'-конца области комплементарности. Например, в таких вариантах осуществления в случае 23-нуклеотидного РНКи-средства, цепь, комплементарная области гена XDH, как правило, не содержит какого-либо ошибочного спаривания в центральных 13 нуклеотидах. Способы, представленный в настоящем описании или известные в этой области, можно использовать для определения того, является ли РНКи-средство, содержащее ошибочное спаривание с целевой последовательностью, эффективным в ингибировании экспрессии гена XDH. Рассмотрение эффективности РНКи-средств с ошибочно спаренными нуклеотидами в ингибировании экспрессии гена XDH важно, особенно если известно, что конкретная область

комплементарности в гене XDH имеет полиморфный вариант последовательности в популяции.

В рамках изобретения термин "смысловая цепь" или "пассажирская цепь" относится к цепи iRNA, включающей область, являющуюся, по существу, комплементарной области антисмысловой цепи, как этот термин определяют в настоящем описании.

В рамках изобретения выражение "по существу все нуклеотиды являются модифицированными" означает, что они в значительной степени, но не полностью модифицированы и могут включать не более 5, 4, 3, 2 или 1 немодифицированного нуклеотида.

В рамках изобретения термин "область расщепления" относится к области, находящейся непосредственно смежно с участком расщепления. Участок расщепления является участком на мишени, в котором происходит расщепление. В некоторых вариантах осуществления область расщепления содержит три основания на любом конце участка расщепления и непосредственно смежно с ним. В некоторых вариантах осуществления область расщепления содержит два основания на любом конце участка расщепления и непосредственно смежно с ним. В некоторых вариантах осуществления участок расщепления конкретно находится в участке, связываемом нуклеотидами 10 и 11 антисмысловой цепи, и область расщепления содержит нуклеотиды 11, 12 и 13.

В рамках изобретения, и если не указано иначе, термин "комплементарный" при использовании для описания первой нуклеотидной последовательности относительно второй нуклеотидной последовательности относится к способности олигонуклеотида или полинуклеотида, содержащего первую нуклеотидную последовательность, гибридизоваться и образовывать дуплексную структуру в некоторых условиях с олигонуклеотидом или полинуклеотидом, содержащим вторую нуклеотидную последовательность, как будет понятно специалисту в этой области. Такие условия могут являться, например, "строгими условиями", где строгие условия могут включать: 400 mM NaCl, 40 mM PIPES pH 6,4, 1 mM ЭДТА, 50°C или 70°C в течение 12-16 часов с последующей промывкой (см., например, "Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Sambrook, et al. (1989) Cold Spring Harbor Laboratory Press). Можно использовать другие условия, такие как физиологические условия, которые могут иметь место внутри организма. Специалист в этой области может определять набор условий, наиболее подходящих для тестирования комплементарности двух последовательностей в соответствии с конечным использованием гибридизуемых нуклеотидов.

Комплементарные последовательности в iRNA, например, в дцРНК по изобретению, включают спаривание оснований олигонуклеотида или полинуклеотида, содержащего первую нуклеотидную последовательность, с олигонуклеотидом или полинуклеотидом, содержащим вторую нуклеотидную последовательность, по всей длине одной или обеих нуклеотидных последовательностей. Такие последовательности можно обозначать в настоящем описании как "полностью комплементарные" в отношении друг друга. Однако если первую последовательность в настоящем описании обозначают как "по существу,

комплементарную" второй последовательности, две последовательности могут являться полностью комплементарными, или они могут образовывать одну или более, но, как правило, не более 5, 4, 3 или 2 ошибочно спаренных пар оснований после гибридизации для дуплекса до 30 пар оснований, при сохранении способности гибридизоваться в условиях, наиболее подходящих для конечного использования, например, ингибирования экспрессии гена, *in vitro* или *in vivo*. Однако если два олигонуклеотида сконструированы для образования после гибридизации одного или более одноцепочечных липких концов, такие липкие концы не следует считать ошибочными спариваниями в соответствии с определением комплементарности. Например, дцРНК, содержащую один олигонуклеотид 21 нуклеотид в длину и другой олигонуклеотид 23 нуклеотида в длину, где более длинный олигонуклеотид содержит последовательность из 21 нуклеотида, полностью комплементарную более короткому олигонуклеотиду, все равно можно обозначать как "полностью комплементарную" для целей по изобретению.

В рамках изобретения "комплементарные" последовательности также могут включать или быть образованными полностью из не-уотсон-криковских пар оснований или пар оснований, образованных из неприродных и модифицированных нуклеотидов, пока удовлетворены указанные выше требования в отношении их способности гибридизоваться. Такие не-уотсон-криковские пары оснований включают в качестве неограничивающих примеров, неоднозначные пары оснований G:U или спаривание оснований по Хугстену.

Термины "комплементарный", "полностью комплементарный" и "по существу, комплементарный" в настоящем описании можно использовать в отношении спаривания оснований между смысловой цепи и антисмысловой цепи дцРНК или между двумя олигонуклеотидами или полинуклеотидами, такими как антисмысловая цепь двухцепочечного РНК-средства и целевая последовательность, как будет понятно из контекста.

В рамках изобретения полинуклеотид, являющийся "по существу, комплементарным по меньшей мере части" матричной РНК (мРНК), относится к полинуклеотиду, являющемуся по существу, комплементарным смежной части интересующей мРНК (например, мРНК, кодирующей ген ксантиндегидрогеназы). Например, полинуклеотид комплементарен по меньшей мере части мРНК ксантиндегидрогеназы, если последовательность, по существу, комплементарна непрерывной части мРНК, кодирующей ген ксантиндегидрогеназы.

Таким образом, в некоторых вариантах осуществления антисмысловые полинуклеотиды, представленные в настоящем описании, полностью комплементарны целевой последовательности XDH.

В других вариантах осуществления антисмысловые полинуклеотиды, представленные в настоящем описании, по существу, комплементарны целевой последовательности XDH и содержат смежную нуклеотидную последовательность, являющуюся на по меньшей мере 80% комплементарной по всей длине эквивалентной области нуклеотидной последовательности любой из SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11 или 15 или

фрагменту любой из SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11 или 15, например, на приблизительно 85%, приблизительно 90%, приблизительно 91%, приблизительно 92%, приблизительно 93%, приблизительно 94%, приблизительно 95%, приблизительно 96%, приблизительно 97%, приблизительно 98% или приблизительно 99% комплементарной.

В других вариантах осуществления антисмысловые полинуклеотиды, представленные в настоящем описании, по существу, комплементарны целевой последовательности XDH и содержат смежную нуклеотидную последовательность, являющуюся на, по меньшей мере приблизительно 80% комплементарной по всей длине любой из нуклеотидных последовательностей смысловой цепи в любой из таблиц 2-3 и 6-7 или фрагменту любой из нуклеотидных последовательностей смысловой цепи в любой из таблиц 2-3 и 6-7, например, на приблизительно 85%, приблизительно 90%, приблизительно 95%, или полностью комплементарной.

В некоторых вариантах осуществления антисмысловые полинуклеотиды, представленные в настоящем описании, по существу, комплементарны целевой последовательности XDH и содержат смежную нуклеотидную последовательность, являющуюся по меньшей мере на приблизительно 80% комплементарной по всей длине фрагменту SEQ ID NO: 1, выбранному из группы нуклеотидов 226-269; 1318-1352; 1953-1998; 2351-2394; 2679-2730; 3867-3916 или 4510-4574 SEQ ID NO: 1, например, на приблизительно 85%, приблизительно 90%, приблизительно 95% или полностью комплементарной.

В некоторых вариантах осуществления антисмысловые полинуклеотиды, представленные в настоящем описании, по существу, комплементарны целевой последовательности XDH и содержат смежную нуклеотидную последовательность, являющуюся на по меньшей мере приблизительно 80% комплементарной по всей длине фрагменту SEQ ID NO: 1, выбранному из группы нуклеотидов 15-45; 121-162; 226-292; 306-338; 379-402; 428-458; 495-521; 873-907; 1318-1344; 1381-1407; 1604-1643; 1700-1723; 1960-1991; 1996-2029; 2044-2067; 2128-2174; 2186-2208; 2289-2345; 2359-2419; 2689-2722; 2699-2721; 2774-2797; 2930-2958; 2987-3064; 3083-3158; 3195-3221; 3248-3293; 3352-3405; 3460-3520; 3524-3571; 3575-3644; 3870-3963; 4143-4176; 4259-4315; 4355-4379; 4395-4467; 4502-4562; 4577-4648; 4658-4752; 4815-4854; 5199-5277; 5284-5310; 5358-5446 или 5677-5713 SEQ ID NO: 1, например, на приблизительно 85%, приблизительно 90%, приблизительно 95% или полностью комплементарной.

В некоторых вариантах осуществления антисмысловые полинуклеотиды, представленные в настоящем описании, по существу, комплементарны целевой последовательности XDH и содержат смежную нуклеотидную последовательность, являющуюся на по меньшей мере приблизительно 80% комплементарной по всей длине фрагменту SEQ ID NO: 1, выбранному из группы нуклеотидов 123-143; 229-249; 229-251; 230-250; 237-259; 241-263; 271-291; 1320-1342; 1321-1341; 1965-1987; 1971-1993; 2130-2150; 2682-2704; 2689-2711; 2690-2710; 2699-2721; 3880-3900 или 3883-3903 SEQ ID NO: 1,

например, на приблизительно 85%, приблизительно 90%, приблизительно 95% или полностью комплементарной.

В некоторых вариантах осуществления антисмысловые полинуклеотиды, представленные в настоящем описании, по существу, комплементарны целевой последовательности XDH и содержат смежную нуклеотидную последовательность, являющуюся на по меньшей мере приблизительно 80% комплементарной по всей длине фрагменту SEQ ID NO: 1, например, нуклеотидам 2699-2721 SEQ ID NO: 1, например, на приблизительно 85%, приблизительно 90%, приблизительно 95% или полностью комплементарной.

В одном из вариантов осуществления РНКи-средство по изобретению включает смысловую цепь, являющуюся, по существу, комплементарной антисмысловому полинуклеотиду, который, в свою очередь, является таким же, как целевая последовательность XDH, и где полинуклеотид смысловой цепи содержит смежную нуклеотидную последовательность, являющуюся на по меньшей мере приблизительно 80% комплементарной по всей длине эквивалентной области нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12 или 16 или фрагменту любой из SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12 или 16, например, приблизительно 85%, приблизительно 90%, приблизительно 95% или полностью комплементарной.

В некоторых вариантах осуществления РНКи-средство по изобретению включает смысловую цепь, являющуюся, по существу, комплементарной антисмысловому полинуклеотиду, который, в свою очередь, является комплементарным целевой последовательности ксантиндегидрогеназы, и где полинуклеотид смысловой цепи содержит смежную нуклеотидную последовательность, являющуюся по меньшей мере приблизительно 80% комплементарной по всей длине любой из нуклеотидных последовательностей антисмысловой цепи в любой из таблиц 2-3 и 6-7 или фрагменту любой из нуклеотидных последовательностей антисмысловой цепи в любой из таблиц 2-3 и 6-7, например, на приблизительно 85%, приблизительно 90%, приблизительно 95% или полностью комплементарной.

В некоторых вариантах осуществления двухцепочечная область двухцепочечного iRNA-средства равна или составляет по меньшей мере 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30 или более пар нуклеотидов в длину.

В некоторых вариантах осуществления антисмысловая цепь двухцепочечного iRNA-средства равна или составляет по меньшей мере 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 или 30 нуклеотидов в длину.

В некоторых вариантах осуществления смысловая цепь двухцепочечного iRNA-средства равна или составляет по меньшей мере 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 или 30 нуклеотидов в длину.

В одном из вариантов осуществления каждая из смысловых и антисмысловых цепей двухцепочечного iRNA-средства составляет от 18 до 30 нуклеотидов в длину.

В одном из вариантов осуществления каждая из смысловых и антисмысловых цепей двухцепочечного iRNA-средства составляет от 19 до 25 нуклеотидов в длину.

В одном из вариантов осуществления каждая из смысловых и антисмысловых цепей двухцепочечного iRNA-средства составляет от 21 до 23 нуклеотидов в длину.

В одном из вариантов осуществления смысловая цепь iRNA-средства составляет 21 нуклеотид в длину, и антисмысловая цепь составляет 23 нуклеотида в длину, где цепи образуют двухцепочечную область из 21 последовательной пары оснований, имеющую 2-нуклеотидные одноцепочечные липкие концы на 3'-конце.

В некоторых вариантах осуществления большинство нуклеотидов каждой цепи являются рибонуклеотидами, но, как подробно описано в настоящем описании, каждая цепь или обе цепи также могут включать один или более не-рибонуклеотидов, например, дезоксирибонуклеотид или модифицированный нуклеотид. Кроме того, "iRNA" может включать рибонуклеотиды с химическими модификациями. Такие модификации могут включать все типы модификаций, представленных в настоящем описании или известных в этой области. Любые такие модификации, используемые в молекуле iRNA, включены в термин "iRNA" для целей настоящего описания и формулы изобретения.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения включение дезоксинуклеотида, при его наличии в РНКи-средстве, можно рассматривать как составляющую модифицированного нуклеотида.

В одном из вариантов осуществления по меньшей мере частичную супрессию экспрессии гена XDH оценивают по снижению количества мРНК XDH, которое можно выделить или определить в первой клетке или группе клеток, в которых ген XDH транскрибируется, и которые обработаны таким образом, что экспрессия гена XDH ингибирована по сравнению с второй клеткой или группой клеток, по существу, идентичных первой клетке или группе клеток, но которые не подвергали такой обработке (контрольные клетки). Степень ингибирования можно выражать следующим образом:

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

Фраза "приведение клетки в контакт с iRNA", такой как дцРНК, в рамках изобретения включает приведение клетки в контакт любыми возможными способами. Приведение клетки в контакт с iRNA включает приведение клетки в контакт *in vitro* с iRNA или приведение клетки в контакт *in vivo* с iRNA. Приведение в контакт можно осуществлять прямо или косвенно. Таким образом, например, индивидуум, осуществляющий способ, может приводить iRNA в физический контакт с клеткой, или, альтернативно, iRNA можно помещать в условия, которые затем заставят или вызовут ее контакт с клеткой.

Приведение клетки в контакт *in vitro* можно осуществлять, например, посредством инкубации клетки с iRNA. Приведение клетки в контакт *in vivo* можно осуществлять, например, посредством инъекции iRNA в ткань или вблизи ткани, в которой находится клетка, или посредством инъекции iRNA в другую область, например, кровоток или подкожное пространство, таким образом, что средство затем будет достигать ткани, в

которой находится клетка, подлежащая приведению в контакт. Например, iRNA может содержать лиганд или быть связанной с лигандом, например, GalNAc, направляющим iRNA в интересующее место, например, печень. Также возможны комбинации способов приведения в контакт *in vitro* и *in vivo*. Например, клетку также можно приводить в контакт с iRNA *in vitro*, а затем трансплантировать индивидууму.

В некоторых вариантах осуществления приведение клетки в контакт с iRNA включает "встраивание" или "доставку iRNA в клетку" посредством облегчения или осуществления захвата или абсорбции в клетку. Абсорбция или захват iRNA может происходить посредством неуправляемой диффузии или активных клеточных процессов или с помощью вспомогательных средств или устройств. Встраивание iRNA в клетку можно осуществлять *in vitro* или *in vivo*. Например, в случае встраивания *in vivo* iRNA можно инъектировать в участок ткани или вводить системно. Встраивание *in vitro* в клетку включает известные в этой области способы, такие как электропорация и липофекция. Дополнительные подходы представлены в настоящем описании ниже или известны в этой области.

Термин "липидная наночастица" или "LNP" означает везикулу, содержащую липидный слой, инкапсулирующий фармацевтически активную молекулу, такую как молекула нуклеиновой кислоты, например, iRNA или плазида, с которой транскрибируется iRNA. LNP описаны, например, в патентах США №№ 6858225, 6815432, 8158601 и 8058069, включенных, таким образом, в настоящее описание в качестве ссылки в полном объеме.

В рамках изобретения "индивидуум" представляет собой животное, такое как млекопитающее, включая примата (такого как человек, не являющийся человеком примат, например, мартышку и шимпанзе), не-примата (такого как кролик, овца, хомяк, морская свинка, собака, крыса или мышь), или птицу, экспрессирующую ген-мишень эндогенно или гетерологично. В варианте осуществления индивидуум является человеком, таким как человек, подвергаемый лечению или оценке на предмет заболевания или нарушения, при котором получают пользу от снижения экспрессии XDH; человек, имеющий риск развития заболевания или нарушения, при котором получают пользу от снижения экспрессии XDH; человек, имеющий заболевание или нарушение при котором получают пользу от снижения экспрессии XDH; или человек, подвергаемый лечению заболевания или нарушения, при котором получают пользу от снижения экспрессии XDH, как представлено в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления индивидуум является женщиной. В других вариантах осуществления индивидуум является мужчиной. В одном из вариантов осуществления индивидуум является взрослым индивидуумом. В другом варианте осуществления индивидуум является ребенком.

В рамках изобретения термин "лечение" относится к благоприятному или желаемому результату, такому как уменьшение по меньшей мере одного признака или симптома XDH-ассоциированного нарушения у индивидуума. Лечение также включает уменьшение одного или более признаков или симптомов, ассоциированных с

нежелательной экспрессией XDH; уменьшение степени нежелательной активации или стабилизации XDH; улучшение или временное облегчение нежелательной активации или стабилизации XDH. Термин "лечение" также может означать пролонгированное выживание по сравнению с ожидаемым выживанием в отсутствие лечения.

Термин "более низкий" в отношении уровня XDH индивидуума или маркера или симптома заболевания относится к статистически значимому снижению такого уровня. Снижение может составлять, например, по меньшей мере 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, %, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или более. В некоторых вариантах осуществления снижение составляет по меньшей мере 20%. В некоторых вариантах осуществления снижение составляет по меньшей мере 50% в случае маркера заболевания, например, уровня белка или экспрессии гена. Термин "более низкий" в контексте уровня XDH индивидуума означает снижение до уровня, приемлемого, как в диапазоне нормы для индивидуума без такого нарушения. В некоторых вариантах осуществления экспрессию мишени нормализуют, т.е. снижают в направлении или до уровня, приемлемого, как в диапазоне нормы для индивидуума без такого нарушения, например, нормализуют уровень мочевой кислоты в сыворотке. В рамках изобретения термин "более низкий" у индивидуума может относиться к снижению экспрессии гена или продукции белка в клетке индивидуума, не требующему снижения экспрессии во всех клетках или тканях индивидуума. Например, в рамках изобретения снижение у индивидуума может включать снижение экспрессии гена или продукции белка в печени индивидуума.

Термин "более низкий" также можно использовать в связи с нормализацией симптома заболевания или состояния, т.е. уменьшения различий между уровнем у индивидуума, страдающим XDH-ассоциированным заболеванием, в направлении или до уровня у нормального индивидуума, не страдающего XDH-ассоциированным заболеванием.

В рамках изобретения, если заболевание ассоциировано с повышенным значением симптома, "нормальным" считают верхний предел нормы. Если заболевание ассоциировано со сниженным значением симптома, "нормальным" считают нижний предел нормы.

В рамках изобретения термины "предотвращение" или "профилактика" при использовании в отношении заболевания, нарушения или состояния, при котором получают пользу от снижения экспрессии гена XDH или продукции белка XDH, относится к профилактике у индивидуума, имеющего по меньшей мере один признак или симптом заболевания, развития дополнительных признаков и симптомов, таким образом, удовлетворяющих диагностическим критериям этого заболевания. В некоторых вариантах осуществления термин "профилактика" включает замедление прогрессирования для удовлетворения диагностических критериев заболевания на дни, недели, месяцы или годы по сравнению с тем, что можно было бы спрогнозировать с помощью исследований течения заболевания или из типичного прогрессирования заболевания.

В рамках изобретения термины "ксантиндегидрогеназа-ассоциированное заболевание" или "XDH-ассоциированное заболевание" включают заболевание, нарушение или состояние, при котором получают пользу от снижения экспрессии и репликации гена XDH или активности белка. Такие нарушения вызваны или ассоциированы с повышенными уровнями мочевой кислоты в сыворотке, такими как гиперурикемия, включая бессимптомную гиперурикемию.

Термин "гиперурикемия" означает повышенный уровень мочевой кислоты в крови. Верхний предел нормы составляет 6,8 мг/дл, и что-либо выше 7 мг/дл считают насыщенным, и могут возникать симптомы. Дополнительные показатели гиперурикемии включают, например, ускоренную деградацию пурина, состояния с высокой скоростью обновления популяции клеток (гемолиз, рабдомиолиз и лизис опухоли) и сниженную экскрецию (почечная недостаточность и метаболический ацидоз). В этой области известны способы детекции и мониторинга мочевой кислоты в сыворотке или других образцах индивидуума. Уровни мочевой кислоты можно определять, например, карбонат-фосфовольфраматным способом, спектрофотометрическим способом с использованием уриказы или хроматографическими способами, такими как ВЭЖХ или LCMS.

Гиперурикемия ассоциирована с рядом заболеваний и состояний, включая, в качестве неограничивающих примеров, подагру, НАЖБП, НАСГ, нарушение обмена веществ, резистентность к инсулину, сердечно-сосудистое заболевание, гипертензию, диабет 2 типа и состояния, связанные с оксидативным стрессом, например, хроническое неспецифическое воспаление; или другим XDH-ассоциированным заболеванием. Таким образом, композиции и способы по изобретению, приводящие к снижению уровней мочевой кислоты в сыворотке, например, приводящие к снижению уровней мочевой кислоты в сыворотке до приблизительно 6,8 мг/дл или менее (уровень растворимости мочевой кислоты в сыворотке), также подходят для лечения индивидуумов, имеющих подагру, НАЖБП, НАСГ, нарушение обмена веществ, резистентность к инсулину, сердечно-сосудистое заболевание, гипертензию, диабет 2 типа или состояния, связанные с оксидативным стрессом, даже в отсутствие симптомов.

"Подагра" является нарушением, делающим возможным накопление мочевой кислоты в крови и тканях. Это приводит к осаждению кристаллов моногидрата урата внутри сустава. Если ткани насыщены уратом, кристаллы будут осажаться. Осаждение усиливается в кислых средах и холодных средах, что приводит к осаждению в периферических суставах, таких как большой палец ноги. В целом, подагра преобладает среди мужчин с соотношением мужчин и женщин 4:1. Уровни мочевой кислоты могут повышаться за 10-15 лет до клинических проявлений подагры.

НАЖБП ассоциирована с гиперурикемией (Xu *et al.*, J. Hepatol. 62:1412-1419, 2015). Диагноз "неалкогольная жировая болезнь печени" ("НАЖБП") требует того, чтобы (a) имели место признаки жирового гепатоза по результатам визуализации или гистологического исследования, и (b) нет причин вторичного накопления жира в печени, такое как значительное потребление алкоголя, использование стеатогенного

лекарственного средства или наследственные нарушения. У большинства пациентов НАЖБП ассоциирована с метаболическими факторами риска, такими как ожирение, сахарный диабет и дислипидемия. НАЖБП дополнительно гистологически классифицируют на "неалкогольное ожирение печени" ("NAFL") и "неалкогольный стеатогепатит" ("НАСГ"). "NAFL" определяют как наличие жирового гепатоза без признаков печеночно-клеточного повреждения в форме баллонной дистрофии гепатоцитов. "НАСГ" определяют как наличие жирового гепатоза и воспаления с повреждением гепатоцитов (баллонной дистрофией) и фиброзом или без него (Chalasani *et al.*, *Hepatol.* 55:2005-2023, 2012). Как правило, считают, что пациенты с простым стеатозом имеют очень медленное, если оно вообще есть, гистологическое прогрессирование, в то время как пациенты с НАСГ могут демонстрировать гистологическое прогрессирование до циррозной стадии заболевания. Долговременные исходы у пациентов с НАЖБП и НАСГ описаны в нескольких исследованиях. Их результаты можно обобщить следующим образом: (а) пациенты с НАЖБП имеют повышенную общую смертность по сравнению с совпадающими контрольными популяциями, (b) наиболее распространенной причиной смерти у пациентов с НАЖБП, NAFL и НАСГ является сердечно-сосудистое заболевание, и (c) пациенты с НАСГ (но не NAFL) имеют повышенную связанную с поражением печени смертность. В модели НАЖБП на мышах лечение аллопуринолом приводило к профилактике развития жирового гепатоза, а также значительно улучшало уже развившийся жировой гепатоз у мышей (Xu *et al.*, *J. Hepatol.* 62:1412-1419, 2015).

Сердечно-сосудистое заболевание ассоциировано с гиперурикемией. Показано, что аллопуринол эффективен при лечении сердечно-сосудистого заболевания в моделях на животных и у людей, включая инфаркт миокарда, повреждение при ишемии-реперфузии, гипоксию, ишемическую болезнь сердца, сердечную недостаточность, гиперхолестеринемию и гипертензию (Pacher *et al.*, *Pharma. Rev.* 58:87-114, 2006). Как указано выше, лечение аллопуринолом противопоказано ряду популяций, особенно при нарушенной функции почек.

Метаболический синдром, резистентность к инсулину и диабет 2 типа ассоциированы с гиперурикемией (Cardoso *et al.*, *J. Pediatr.* 89:412-418, 2013).

"Метаболический синдром" охарактеризован как группа состояний, определяемых по меньшей мере по трем из пяти следующих метаболических факторов риска, включающих: большой обхват талии (≥ 35 дюймов у женщин или ≥ 40 дюймов у мужчин); высокий уровень триглицеридов (≥ 150 мг/дл); низкий холестерин HDL (≤ 50 мг/дл у женщин или ≤ 40 мг/дл у мужчин); повышенное артериальное давление ($\geq 130/85$) или использование лекарственных средств для лечения высокого артериального давления; и высокий уровень сахара крови натощак (≥ 100 мг/дл) или использование лекарственных средств для лечения высокого уровня сахара крови.

"Резистентность к инсулину" отличается наличием по меньшей мере одного из: уровня глюкозы в крови натощак 100-125 мг/дл, проанализированного в два разных

момента времени; или перорального глюкозотолерантного теста с результатом по уровню глюкозы 140-199 мг/дл через 2 часа после потребления глюкозы.

"Диабет 2 типа" отличается по меньшей мере одним из: уровня глюкозы в крови натощак ≥ 126 мг/дл, проанализированного в два разных момента времени; анализа гемоглобина A1c (A1C) с результатом $\geq 6,5\%$ или выше; или перорального глюкозотолерантного теста с результатом по уровню глюкозы ≥ 200 мг/дл через 2 часа после потребления глюкозы.

Метаболический синдром, резистентность к инсулину и диабет 2 типа зачастую ассоциированы со сниженной функцией почек или вероятностью снижения функции почек.

Дополнительные подробности, касающиеся признаков и симптомов различных заболеваний или состояний, приведены в настоящем описании и хорошо известны в этой области.

В одном из вариантов осуществления изобретения XDH-ассоциированное заболевание является гиперурикемией.

В другом варианте осуществления изобретения XDH-ассоциированное заболевание является подагрой.

В некоторых вариантах осуществления XDH-ассоциированное заболевание является НАСГ или НАЖБП.

В рамках изобретения термин "терапевтически эффективное количество" предназначен для включения количества РНКи-средства, которого при введении индивидууму, имеющему XDH-ассоциированное заболевание, достаточно для лечения заболевания (например, посредством уменьшения, улучшения или поддержания существующего заболевания или одного или более симптомов заболевания). "Терапевтически эффективное количество" может варьироваться в зависимости от РНКи-средства, способа введения средства, заболевания и его тяжести и анамнеза, возраста, массы тела, семейного анамнеза, генетического фона, типов предшествующего или сопутствующего лечения, при его наличии, и других отдельных характеристик индивидуума, подлежащего лечению. В некоторых вариантах осуществления лечение с использованием iRNA по изобретению будет приводить к уровням мочевой кислоты в сыворотке 2-6,8 мг/дл, таким как 2-6 мг/дл, у индивидуумов. Поддержание таких уровней мочевой кислоты будет приводить к лечению или профилактике XDH-ассоциированных заболеваний.

В рамках изобретения термин "профилактически эффективное количество" предназначен для включения количества РНКи-средства, которого при введении индивидууму, имеющему по меньшей мере один признак или симптом XDH-ассоциированного нарушения, достаточно для профилактики или задержки прогрессирования у индивидуума до соответствия полным диагностическим критерия заболевания. Профилактика заболевания включает замедление течения прогрессирования до полностью развившегося заболевания. "Профилактически эффективное количество" может варьироваться в зависимости от РНКи-средства, способа введения средства, степени

риска развития заболевания и анамнеза, возраста, массы тела, семейного анамнеза, генетического фона, типов предшествующего или сопутствующего лечения, при его наличии, и других отдельных характеристик пациента, подлежащего лечению.

"Терапевтически-эффективное количество" или "профилактически эффективное количество" также включает количество РНКи-средства, приводящее к некоторому желаемому эффекту при целесообразном соотношении польза/риск, подходящему для любого лечения. iRNA, используемую в способах по настоящему изобретению, можно вводить в достаточном количестве для достижения целесообразного соотношения польза/риск, подходящего для такого лечения.

Фразу "фармацевтически приемлемый" используют в настоящем описании для обозначения соединений, материалов, композиций или лекарственных форм, с медицинской точки зрения подходящих для использования в контакте с тканями людей и животных без избыточной токсичности, раздражения, аллергического ответа или другой проблемы или осложнения в соответствии с целесообразным соотношением польза/риск.

В рамках изобретения фраза "фармацевтически приемлемый носитель" означает фармацевтически приемлемый материал, композицию или носитель, такой как жидкий или твердый наполнитель, дилуент, эксципиент, производственную добавку (например, смазочное средство, талькомагнезит, стеарат кальция или цинка или стеариновую кислоту) или инкапсулирующий растворитель материал, используемый для переноса или транспортировки определенного соединения из одного органа или части тела в другой орган или часть тела. Каждый носитель должен являться "приемлемым" в смысле совместимости с другими ингредиентами состава и не приносить вред индивидууму, подвергаемому лечению. В этой области известны такие носители. Фармацевтически приемлемые носители включают носители для введения посредством инъекции.

В рамках изобретения термин "образец" включает сбор схожих жидкостей, клеток или тканей, выделенных из индивидуума, а также жидкостей, клеток или тканей, находящихся в организме индивидуума. Примеры биологических жидкостей включают кровь, сыворотку и серозные жидкости, плазму, спинномозговую жидкость, глазные жидкости, лимфу, мочу, слюну и т.п. Образцы ткани могут включать образцы из тканей, органов или локализованных областей. Например, образцы можно получать из конкретных органов, частей органов или жидкостей или клеток в этих органах. В некоторых вариантах осуществления образцы можно получать из печени (например, целую печень, или некоторые сегменты печени, или некоторые типы клеток в печени, такие как, например, гепатоциты). В некоторых вариантах осуществления выражение "образец, полученный из индивидуума" относится к моче, полученной из индивидуума. Выражение "образец, полученный от индивидуума" может относиться к крови или полученной из крови сыворотке из плазме индивидуума.

II. iRNA по изобретению

Настоящее изобретение относится к iRNA, ингибирующим экспрессию гена ксантиндегидрогеназы. В некоторых вариантах осуществления iRNA включает молекулы

двухцепочечной рибонуклеиновой кислоты (дцРНК) для ингибирования экспрессии гена XDH в клетке, такой как клетка в организме индивидуума, например, млекопитающего, такого как человек, предрасположенный к развитию ксантиндегидрогеназа-ассоциированного нарушения. дцРНКи-средство включает антисмысловую цепь, имеющую область комплементарности, комплементарную по меньшей мере части мРНК, образованной при экспрессии гена XDH. Область комплементарности составляет приблизительно 19-30 нуклеотидов в длину (например, приблизительно 30, 29, 28, 27, 26, 25, 24, 23, 22, 21, 20 или 19 нуклеотидов в длину). После контакта с клеткой, экспрессирующей ген XDH, iRNA ингибирует экспрессию гена XDH (например, гена XDH человека, примата, не-примата или крысы) на по меньшей мере приблизительно 50%, что анализируют, например, посредством ПЦР, или способом на основе разветвленной ДНК (bDNA), или способом на основе белка, таким как иммунофлуоресцентный анализ, с использованием, например, вестерн-блоттинга или способов проточной цитометрии. В некоторых вариантах осуществления ингибирование экспрессии определяют способом qPCR, представленным в примерах в настоящем описании, с использованием миРНК, например, в концентрации 10 нМ, в клетке или линии клеток подходящего организма, представленных в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления ингибирование экспрессии *in vivo* определяют по нокдауну гена человека у грызуна, экспрессирующего ген человека, например, мыши или инфицированной AAV мыши, экспрессирующей ген-мишень человека, например, при введении в виде однократной дозы, например, 3 мг/кг, в точке максимального снижения экспрессии РНК.

дцРНК включает две цепи РНК, комплементарные и гибридизующиеся с образованием дуплексной структуры в условиях, в которых дцРНК будут использовать. Одна цепь дцРНК (антисмысловая цепь) включает область комплементарности, являющуюся, по существу, комплементарной и, как правило, полностью комплементарной целевой последовательности. Целевая последовательность может происходить из последовательности мРНК, образованной во время экспрессии гена XDH. Другая цепь (смысловая цепь) включает область, комплементарную антисмысловой цепи, таким образом, что две цепи гибридизуются и образуют дуплексную структуру при комбинировании в подходящих условиях. Как представлено где-либо в настоящем описании и известно в этой области, комплементарные последовательности дцРНК также могут содержаться в виде самокомплементарных областей одной молекулы нуклеиновой кислоты в противоположность расположению на отдельных олигонуклеотидах.

Как правило, дуплексная структура составляет от 15 до 30 пар оснований в длину, например, 15-29, 15-28, 15-27, 15-26, 15-25, 15-24, 15-23, 15-22, 15-21, 15-20, 15-19, 15-18, 15-17, 18-30, 18-29, 18-28, 18-27, 18-26, 18-25, 18-24, 18-23, 18-22, 18-21, 18-20, 19-30, 19-29, 19-28, 19-27, 19-26, 19-25, 19-24, 19-23, 19-22, 19-21, 19-20, 20-30, 20-29, 20-28, 20-27, 20-26, 20-25, 20-24, 20-23, 20-22, 20-21, 21-30, 21-29, 21-28, 21-27, 21-26, 21-25, 21-24, 21-23 или 21-22 пары оснований в длину. В некоторых вариантах осуществления дуплексная структура составляет от 18 до 25 пар оснований в длину, например, 18-25, 18-24, 18-23, 18-

22, 18-21, 18-20, 19-25, 19-24, 19-23, 19-22, 19-21, 19-20, 20-25, 20-24, 20-23, 20-22, 20-21, 21-25, 21-24, 21-23, 21-22, 22-25, 22-24, 22-23, 23-25, 23-24 или 24-25 пар оснований в длину, например, 19-21 пару оснований в длину. Диапазоны и длины, промежуточные относительно приведенных выше диапазонов и длин, также предназначены быть частью настоящего изобретения.

Аналогично, область комплементарности целевой последовательности составляет от 15 до 30 нуклеотидов в длину, например, 15-29, 15-28, 15-27, 15-26, 15-25, 15-24, 15-23, 15-22, 15-21, 15-20, 15-19, 15-18, 15-17, 18-30, 18-29, 18-28, 18-27, 18-26, 18-25, 18-24, 18-23, 18-22, 18-21, 18-20, 19-30, 19-29, 19-28, 19-27, 19-26, 19-25, 19-24, 19-23, 19-22, 19-21, 19-20, 20-30, 20-29, 20-28, 20-27, 20-26, 20-25, 20-24, 20-23, 20-22, 20-21, 21-30, 21-29, 21-28, 21-27, 21-26, 21-25, 21-24, 21-23 или 21-22 нуклеотида в длину, например, 19-23 нуклеотида в длину или 21-23 нуклеотида в длину. Диапазоны и длины, промежуточные относительно приведенных выше диапазонов и длин, также предназначены быть частью настоящего изобретения.

В некоторых вариантах осуществления дуплексная структура составляет от 19 до 30 пар оснований в длину. Аналогично, область комплементарности целевой последовательности составляет от 19 до 30 нуклеотидов в длину.

В некоторых вариантах осуществления дцРНК составляет приблизительно от 19 до приблизительно 23 нуклеотидов в длину или от приблизительно 25 до приблизительно 30 нуклеотидов в длину. В основном, дцРНК является достаточно длинной, чтобы служить в качестве субстрата для фермента Dicer. Например, в этой области хорошо известно, что дцРНК длиннее приблизительно 21-23 нуклеотидов в длину могут служить в качестве субстратов для Dicer. Как правило, специалисту в этой области также будет понятно, что область РНК, нацеленной на расщепление, чаще всего будет частью более крупной молекулы РНК, зачастую - молекулы мРНК. В соответствующих случаях "часть" мРНК-мишени представляет собой смежную последовательность мРНК-мишени достаточной длины, чтобы быть субстратом для РНКи-регулируемого расщепления (т.е. расщепления с помощью пути RISC).

Специалисту в этой области также будет понятно, что область дуплекс является первичной функциональной частью дцРНК, например, область дуплекса из от приблизительно 19 до приблизительно 30 пар оснований, например, приблизительно 19-30, 19-29, 19-28, 19-27, 19-26, 19-25, 19-24, 19-23, 19-22, 19-21, 19-20, 20-30, 20-29, 20-28, 20-27, 20-26, 20-25, 20-24, 20-23, 20-22, 20-21, 21-30, 21-29, 21-28, 21-27, 21-26, 21-25, 21-24, 21-23 или 21-22 пар оснований. Таким образом, в одном из вариантов осуществления в той степени, в которой она становится процессированной в функциональный дуплекс из, например, 15-30 пар оснований, нацеленный на желаемую РНК для расщепления, молекула РНК или комплекс молекул РНК, имеющий область дуплекса более 30 пар оснований, является дцРНК. Таким образом, как правило, специалистам в этой области понятно, что в одном из вариантов осуществления мРНК является дцРНК. В другом варианте осуществления дцРНК не является природной мРНК. В другом варианте осуществления

iRNA-средство, которое можно использовать для таргетинга экспрессии гена ксантиндегидрогеназы, не образуется в клетке-мишени посредством расщепления более крупной дцРНК.

В рамках изобретения дцРНК может дополнительно включать один или более одноцепочечных нуклеотидных липких концов, например, из 1-4, 2-4, 1-3, 2-3, 1, 2, 3 или 4 нуклеотидов. дцРНК, имеющие по меньшей мере один нуклеотидный липкий конец, могут иметь лучшие ингибиторные свойства, чем соответствующие дцРНК с тупыми концами. Нуклеотидный липкий конец может содержать или состоять из аналога нуклеотида/нуклеозида, включая дезоксинуклеотид/нуклеозид. Липкие концы могут находиться на смысловой цепи, антисмысловой цепи или любой их комбинации. Кроме того, нуклеотиды липкого конца могут находиться на 5'-конце, 3'-конце или обоих концах антисмысловой или смысловой цепи дцРНК.

дцРНК можно синтезировать стандартными, известными в этой области способами. Двухцепочечные РНКи-соединения по изобретению можно получать двухстадийным способом. Сначала отдельные цепи двухцепочечной молекулы РНК получают отдельно. Затем цепи-компоненты отжигают. Отдельные цепи соединения миРНК можно получать с использованием жидкофазного или твердофазного органического синтеза или и того, и другого. Органический синтез обладает преимуществом, заключающимся в том, что легко можно получать олигонуклеотидные цепи, содержащие неприродные или модифицированные нуклеотиды. Аналогично, одноцепочечные олигонуклеотиды по изобретению можно получать с использованием жидкофазного или твердофазного органического синтеза или и того, и другого.

Независимо от способа синтеза, препарат миРНК можно получать в растворе (например, водном или органическом растворе), подходящем для состава. Например, препарат миРНК можно осаждать и перерастворять в чистой, дважды дистиллированной воде и лиофилизировать. Затем высушенную миРНК можно ресуспендировать в растворе, подходящем для предполагаемого способа составления.

В одном из аспектов дцРНК по изобретению включает по меньшей мере две нуклеотидные последовательности, смысловую последовательность и антисмысловую последовательность. Смысловая цепь выбрана из группы последовательностей, представленных в любой из таблиц 2-3 и 6-7, и антисмысловая цепь, соответствующая смысловой цепи, выбрана из группы последовательностей из любой из таблиц 2-3 и 6-7. В этом аспекте одна из двух последовательностей комплементарна другой из двух последовательностей, при этом одна из последовательностей в значительной степени комплементарна последовательности мРНК, образованной при экспрессии гена ксантиндегидрогеназы. В связи с этим, в этом аспекте дцРНК будет включать два олигонуклеотида, где один олигонуклеотид описан как смысловая цепь в любой из таблиц 2-3 и 6-7, и второй олигонуклеотид описан как антисмысловая цепь, соответствующая смысловой цепи, в любой из таблиц 2-3 и 6-7.

В некоторых вариантах осуществления в значительной степени комплементарные последовательности дцРНК содержатся на отдельных олигонуклеотидах. В других вариантах осуществления в значительной степени комплементарные последовательности дцРНК содержатся на одном олигонуклеотиде.

Следует понимать, что, хотя последовательности в таблицах 2 и 6 не описаны как модифицированные или конъюгированные последовательности, РНК из *i*RNA по изобретению, например, дцРНК по изобретению, может содержать любую из последовательностей, приведенных в любой из таблиц 2-3 и 6-7, являющуюся немодифицированной, неконъюгированной, или модифицированной или конъюгированной иначе, чем описанная последовательность. Другими словами, настоящее изобретение относится к дцРНК из таблиц 2-3 и 6-7, являющимся немодифицированными, неконъюгированными, модифицированными или конъюгированными, как представлено в настоящем описании.

Специалисту в этой области известно, что дцРНК, имеющие дуплексную структуру из приблизительно от 20 до 23 пар оснований, например, 21 пары оснований, считают особенно эффективными в индуцировании РНК-интерференции (Elbashir et al., EMBO 2001, 20:6877-6888). Однако другие обнаружили, что более короткие или более длинные дуплексные структуры РНК также могут являться эффективными (Chu and Rana (2007) RNA 14:1714-1719; Kim et al. (2005) Nat Biotech 23:222-226). В описанных выше вариантах осуществления, в силу природы олигонуклеотидных последовательностей, представленных в любой из таблиц 2-3 и 6-7, дцРНК, представленные в настоящем описании, могут включать по меньшей мере одну цепь длиной по меньшей мере 21 нуклеотид. Можно с полным основанием ожидать, что более короткие дуплексы, имеющие любую из последовательностей в любой из таблиц 2-3 и 6-7 минус лишь несколько нуклеотидов на одном или обоих концах, могут являться аналогично эффективными по сравнению с дцРНК, описанными выше. Таким образом, дцРНК, имеющие последовательность из по меньшей мере 19, 20 или более смежных нуклеотидов, полученную из любой из последовательностей из любой из таблиц 2-3 и 6-7, и отличающиеся своей способностью ингибировать экспрессию гена ксантиндегидрогеназы на не более чем приблизительно 5, 10, 15, 20, 25 или 30% ингибирования посредством дцРНК, содержащих полноразмерную последовательность, предусмотрены для включения в объем настоящего изобретения.

Кроме того, в РНК, представленных в таблицах 2-3 и 6-7, указаны участки в транскрипте ксантиндегидрогеназы, восприимчивые к RISC-опосредованному расщеплению. В связи с этим, настоящее изобретение дополнительно относится к *i*RNA, нацеленным на один из этих участков. В рамках изобретения указывают, что *i*RNA нацелена на конкретный участок транскрипта РНК, если *i*RNA способствует расщеплению транскрипта где-либо в пределах конкретного участка. Такая *i*RNA, как правило, будет включать по меньшей мере приблизительно 19 смежных нуклеотидов из любой из последовательностей, представленных в любой из таблиц 2-3 и 6-7, сопряженными с

дополнительными нуклеотидными последовательностями, взятыми из области, смежной с выбранной последовательностью в гене ксантиндегидрогеназы.

РНКи-средство по изобретению может содержать одно или более ошибочных спариваний с целевой последовательностью. В одном из вариантов осуществления РНКи-средство по изобретению содержит не более 3 ошибочно спаренных нуклеотидов (т.е. 3, 2, 1 или 0 ошибочно спаренных нуклеотидов). В одном из вариантов осуществления РНКи-средство по изобретению содержит не более 2 ошибочно спаренных нуклеотидов. В одном из вариантов осуществления РНКи-средство по изобретению содержит не более 1 ошибочно спаренного нуклеотида. В одном из вариантов осуществления РНКи-средство по изобретению содержит 0 ошибочно спаренных нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления, если антисмысловая цепь РНКи-средства содержит ошибочные спаривания с целевой последовательностью, ошибочное спаривание, необязательно, можно ограничивать так, чтобы оно находилось в пределах последних 5 нуклеотидов от 5'-, или 3'-конца области комплементарности. Например, в таких вариантах осуществления в случае 23-нуклеотидного РНКи-средства цепь, комплементарная области гена XDH, как правило, не содержит какое-либо ошибочное спаривание в пределах центральных 13 нуклеотидов. Способы, представленные в настоящем описании или известные в этой области, можно использовать для определения того, является ли РНКи-средство, содержащее ошибочное спаривание с целевой последовательностью, эффективным в ингибировании экспрессии гена XDH. Рассмотрение эффективности РНКи-средств с ошибочными спариваниями в ингибировании экспрессии гена XDH является важным, особенно если известно, что конкретная область комплементарности в гене XDH имеет полиморфную вариацию последовательности в популяции.

III. Модифицированные iRNA по изобретению

В некоторых вариантах осуществления РНК из iRNA по изобретению, например, дцРНК, является немодифицированной и не содержит, например, химические модификации или конъюгации, известные в этой области и представленные в настоящем описании. В других вариантах осуществления РНК из iRNA по изобретению, например, дцРНК, является химически модифицированной для повышения стабильности или других полезных характеристик. В некоторых вариантах осуществления по существу все нуклеотиды iRNA по изобретению являются модифицированными. В других вариантах осуществления изобретения все нуклеотиды iRNA или по существу все нуклеотиды iRNA являются модифицированными, т.е. в цепи iRNA находится не более 5, 4, 3, 2 или 1 немодифицированного нуклеотида.

Нуклеиновые кислоты по изобретению можно синтезировать или модифицировать хорошо известными в этой области способами, такими как описываемые в "Current protocols in nucleic acid chemistry," Beaucage, S.L. *et al.* (Edrs.), John Wiley & Sons, Inc., New York, NY, USA, включенной, таким образом, в настоящее описание в качестве ссылки. Модификации включают, например, концевые модификации, например, модификации 5'-конца (фосфорилирование, конъюгацию, инвертированные связи) или модификации 3'-конца

(конъюгацию, ДНК-нуклеотиды, инвертированные связи и т.д.); модификации оснований, например, замену стабилизирующими основаниями, дестабилизирующими основаниями или основаниями, спаривающимися с расширенным репертуаром партнеров, удаление оснований (нуклеотиды с удаленным азотистым основанием) или конъюгированные основания; модификации сахара (например, в 2'-положении или 4'-положении) или замену сахара; или модификации остова, включая модификацию или замену фосфодиэфирных связей. Конкретные примеры iRNA-соединений, которые можно использовать в вариантах осуществления, представленных в настоящем описании, включают, в качестве неограничивающих примеров, РНК, содержащую модифицированные остовы или не содержащую природные межнуклеозидные связи. РНК, имеющие модифицированные остовы включают, помимо прочего, РНК, не имеющие атома фосфора в остова. В целях по настоящему изобретению, и как иногда указывают в этой области, модифицированные РНК, не имеющие атома фосфора в своем межнуклеозидном остова, также можно считать олигонуклеозидами. В некоторых вариантах осуществления модифицированная iRNA будет иметь атом фосфора в своем межнуклеозидном остова.

Модифицированные остовы РНК включают, например, фосфотиоаты, хиральные фосфотиоаты, фосфодитиоаты, фосфотриэфиры, аминоксилфосфотриэфиры, метил- и другие алкилфосфонаты, включая 3'-алкиленфосфонаты и хиральные фосфонаты, фосфинаты, фосфорамидаты, включая 3'-аминофосфорамидат и аминоксилфосфорамидаты, тионофосфорамидаты, тиоалкилфосфонаты, тиоалкилфосфотриэфиры и боранофосфаты, имеющие нормальные 3'-5'-связи, их 2'-5'-связанные аналоги и те из них, которые имеют обратную полярность, где смежные пары нуклеозидных единиц связаны от 3'-5' к 5'-3' или от 2'-5' к 5'-2'. Также включены различные соли, смешанные соли и свободные кислоты. В некоторых вариантах осуществления изобретения дцРНК-средства по изобретению находятся в форме свободной кислоты. В других вариантах осуществления изобретения дцРНК-средства по изобретению находятся в форме соли. В одном из вариантов осуществления дцРНК-средства по изобретению находятся в форме натриевой соли. В некоторых вариантах осуществления, если дцРНК-средства по изобретению находятся в форме натриевой соли, ионы натрия присутствуют в средстве в виде противоионов для по существу всех из фосфодиэфирных или фосфотиоатных групп, присутствующих в средстве. Средства, в которых по существу все из фосфодиэфирных или фосфотиоатных связей имеют противоион натрия, включают не более 5, 4, 3, 2 или 1 фосфодиэфирной или фосфотиоатной связи без противоиона натрия. В некоторых вариантах осуществления, если дцРНК-средства по изобретению находятся в форме натриевой соли, ионы натрия присутствуют в средстве в виде противоионов для всех из фосфодиэфирных или фосфотиоатных групп, присутствующих в средстве.

Типичные патенты США, в которых описано получение указанных выше фосфорсодержащих связей, включают, в качестве неограничивающих примеров, патенты США №№ 3687808; 4469863; 4476301; 5023243; 5177195; 5188897; 5264423; 5276019; 5278302; 5286717; 5321131; 5399676; 5405939; 5453496; 5455233; 5466677; 5476925;

5519126; 5536821; 5541316; 5550111; 5563253; 5571799; 5587361; 5625050; 6028188; 6124445; 6160109; 6169170; 6172209; 6, 239,265; 6277603; 6326199; 6346614; 6444423; 6531590; 6534639; 6608035; 6683167; 6858715; 6867294; 6878805; 7015315; 7041816; 7273933; 7321029 и патент США № RE39464, содержание каждого из которых, таким образом, включено в настоящее описание в качестве ссылки в полном объеме.

Модифицированные остовы РНК, не включающие атом фосфора, имеют остовы, образованные короткоцепочечными алкильными или циклоалкильными межнуклеозидными связями, смешанными гетероатомами и алкильными или циклоалкильными межнуклеозидными связями или одной или более короткоцепочечными гетероатомными или гетероциклическими межнуклеозидными связями. Они включают остовы, имеющие морфолиновые связи (частично образованные сахарной частью нуклеозида); силоксановые остовы; сульфидные, сульфоксидные и сульфоновые остовы; формацетильные и тиоформацетильные остовы; метиленформацетильные и тиоформацетильные остовы; алкен-содержащие остовы; сульфаматные остовы; метилениминовые и метиленигидразиновые остовы; сульфонатные и сульфонамидные остовы; амидные остовы и другие остовы, имеющие смешанные компоненты N, O, S, и CH₂.

Типичные патенты США, в которых описано получение указанных выше олигонуклеозидов, включают, в качестве неограничивающих примеров, патенты США №№ 5034506; 5166315; 5185444; 5214134; 5216141; 5235033; 5,64,562; 5264564; 5405938; 5434257; 5466677; 5470967; 5489677; 5541307; 5561225; 5596086; 5602240; 5608046; 5610289; 5618704; 5623070; 5663312; 5633360; 5677437 и 5677439, содержание каждого из которых, таким образом, включено в настоящее описание в качестве ссылки в полном объеме.

Подходящий миметик РНК предусмотрены для использования в iRNA, представленных в настоящем описании, в которых и сахар, и межнуклеозидную связь, т.е. остов, нуклеотидных единиц заменяют новыми группами. Единицы оснований сохраняют для гибридизации с соответствующим целевым соединением нуклеиновой кислоты. Одно из таких олигомерных соединений, в которых миметик РНК, показавший исключительные гибридизационные свойства, обозначают как пептид-нуклеиновую кислоту (ПНК). В соединениях ПНК сахарный остов РНК заменяют амид-содержащим остовом, в частности, аминоксилотным остовом. Нуклеиновые основания сохраняют и связывают прямо или косвенно с атомами азота азот-группы амидной части остова. Типичные патенты США, в которых описано получение соединений ПНК, включают, в качестве неограничивающих примеров, патенты США №№ 5539082; 5714331 и 5719262, содержание каждого из которых, таким образом, включено в настоящее описание в качестве ссылки в полном объеме. Дополнительные соединения ПНК, подходящие для использования в iRNA по изобретению, описаны, например, в Nielsen *et al.*, *Science*, 1991, 254, 1497-1500.

Некоторые варианты осуществления по изобретению включают РНК с фосфотиоатными остовами и олигонуклеозиды с гетероатомными остовами и, в частности, --CH₂--NH--CH₂--, --CH₂--N(CH₃)--O--CH₂--[известным как метиленовый (метиляминовый)]

или MMI остов], $--CH_2--O--N(CH_3)--CH_2--$, $--CH_2--N(CH_3)--N(CH_3)--CH_2--$ и $--N(CH_3)--CH_2--CH_2--$ из указанного выше патента США № 5489677, и амидными остовами из указанного выше патента США № 5602240. В некоторых вариантах осуществления РНК по изобретению имеют морфолиновые структуры остова из указанного выше патента США № 5034506. Нативный фосфодиэфирный остов можно представлять как $O-P(O)(OH)-OCH_2-$.

Модифицированные РНК также могут содержать один или более замещенных остатка сахара. iRNA, например, дцРНК, по изобретению могут включать одно из следующих в 2'-положении: OH; F; O-, S- или N-алкил; O-, S- или N-алкенил; O-, S- или N-алкинил; или O-алкил-O-алкил, где алкил, алкенил и алкинил могут являться замещенным или незамещенным C_1 - C_{10} -алкилом или C_2 - C_{10} -алкенилом и алкинилом. Примеры подходящих модификаций включают $O[(CH_2)_nO]_mCH_3$, $O(CH_2)_nOCH_3$, $O(CH_2)_nNH_2$, $O(CH_2)_nCH_3$, $O(CH_2)_nONH_2$, и $O(CH_2)_nON[(CH_2)_nCH_3]_2$, где n и m составляют от 1 до приблизительно 10. В других вариантах осуществления дцРНК включают одно из следующих в 2'-положении: низший C_1 - C_{10} -алкил, замещенный низший алкил, алкарил, аралкил, O-алкарил или O-аралкил, SH, SCH_3 , OCN, Cl, Br, CN, CF_3 , OCF_3 , $SOCH_3$, SO_2CH_3 , ONO_2 , NO_2 , N_3 , NH_2 , гетероциклоалкил, гетероциклоалкарил, аминоалкиламиногруппу, полиалкиламиногруппу, замещенный силлил, РНК-расщепляющую группу, репортерную группу, интеркалятор, группу для улучшения фармакокинетических свойств iRNA или группу для улучшения фармакодинамических свойств iRNA и другие заместители, имеющие схожие свойства. В некоторых вариантах осуществления модификация включает 2'-метоксиэтоксигруппу (2'-O-- $CH_2CH_2OCH_3$, также известную как 2'-O-(2-метоксиэтил) или 2'-MOE) (Martin *et al.*, *Helv. Chim. Acta*, 1995, 78:486-504) т.е. алкокси-алкоксигруппу. Другим примером модификации является 2'-диметиламинооксиэтоксигруппа, т.е. группа $O(CH_2)_2ON(CH_3)_2$, также известная как 2'-DMAOE, как описано в примерах в настоящем описании ниже, и 2'-диметиламиноэтоксигруппа (также известная в этой области как 2'-O-диметиламиноэтоксигруппа или 2'-DMAEOE), т.е. 2'-O-- $CH_2--O--CH_2--N(CH_3)_2$. Дополнительные примеры модификаций включают: 5'-Me-2'-F-нуклеотиды, 5'-Me-2'-OMe-нуклеотиды, 5'-Me-2'-дезоксинуклеотиды (R- и S-изомеры в этих трех семействах); 2'-алкоксиалкил и 2'-NMA (N-метилацетамид).

Другие модификации включают 2'-метоксигруппу (2'-OCH₃), 2'-аминопропоксигруппу (2'-OCH₂CH₂CH₂NH₂) и 2'-фтор (2'-F). Схожие модификации также можно осуществлять в других положениях в РНК из iRNA, в частности, в 3'-положении сахара на 3'-концевом нуклеотиде или в 2'-5'-связанной дцРНК и 5'-положении 5'-концевой нуклеотида. iRNAs также могут содержать миметики сахаров, такие как циклобутиловые функциональные фрагменты вместо пентофуранозилового сахара. Типичные патенты США, в которых описано получение таких модифицированных структур сахаров, включают, в качестве неограничивающих примеров, патенты США №№ 4981957; 5118800; 5319080; 5359044; 5393878; 5446137; 5466786; 5514785; 5519134; 5567811; 5576427; 5591722; 5597909; 5610300; 5627053; 5639873; 5646265; 5658873; 5670633 и 5700920, некоторые из которых относятся к настоящей заявке. Содержание

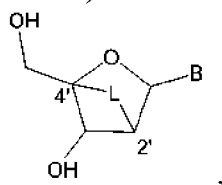
каждого из указанных выше патентов, таким образом, включено в настоящее описание в качестве ссылки в полном объеме.

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

Типичные патенты США, в которых описано получение некоторых из указанных выше модифицированных нуклеиновых оснований, а также других модифицированных нуклеиновых оснований, включают, в качестве неограничивающих примеров, указанные выше патенты США №№ 3687808, 4845205; 5,130,30; 5134066; 5175273; 5367066; 5432272; 5457187; 5459255; 5484908; 5502177; 5525711; 5552540; 5587469; 5594121, 5596091; 5614617; 5681941; 5750692; 6015886; 6147200; 6166197; 6222025; 6235887; 6380368; 6528640; 6639062; 6617438; 7045610; 7427672 и 7495088, содержание каждого из которых, таким образом, включено в настоящее описание в качестве ссылки в полном объеме.

iRNA-средство по изобретению также можно модифицировать так, чтобы оно включало один или более остатков бициклических сахаров. "Бициклический сахар" представляет собой фуранозильное кольцо, модифицированное с помощью кольца, образованного с помощью образования мостика между двумя углеродами, являются ли они смежными или несмежными. "Бициклический нуклеозид" ("BNA") является нуклеозидом, имеющим остаток сахара, содержащий кольцо, образованное с помощью образования мостика между двумя углеродами, смежными или несмежными, кольца сахара и, таким образом, образования бициклической кольцевой системы. В некоторых вариантах осуществления мостиком соединяют 4'-углерод и 2'-углерод кольца сахара, необязательно, через 2'-ациклический атом кислорода. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления средство по изобретению может включать одну или более замкнутых нуклеиновых кислот (ЗНК). Замкнутая нуклеиновая кислота является нуклеотидом, имеющим модифицированный остаток рибозы, содержащий дополнительный мостик, соединяющий 2'- и 4'-углероды. Другими словами, ЗНК является нуклеотидом, содержащим бициклический остаток сахара, содержащий мостик 4'-CH₂-O-2'. Эта структура эффективно "замыкает" рибозу в 3'-эндоструктурную конформацию. Показано, что добавление замкнутых нуклеиновых кислот в миРНК повышает стабильность миРНК в сыворотке и снижает нецелевые эффекты (Elmen, J. *et al.*, (2005) *Nucleic Acids Research* 33(1):439-447; Mook, OR. *et al.*, (2007) *Mol Canc Ther* 6(3):833-843; Grunweller, A. *et al.*, (2003) *Nucleic Acids Research* 31(12):3185-3193). Неограничивающие примеры бициклических нуклеозидов для использования в полинуклеотидах по изобретению включают нуклеозиды, содержащие мостик между 4'- и 2'-атомами рибозильного кольца. В некоторых вариантах осуществления антисмысловые полинуклеотидные средства по изобретению включают один или более бициклических нуклеозидов, содержащих 4'-2'-мостик.

Замкнутый нуклеозид может быть представлен структурой (при опущении стереохимии)



где В является нуклеиновым основанием или модифицированным нуклеиновым основанием, и L является связывающей группой, соединяющим 2'-углерод с 4'-углеродом кольца рибозы.

Неограничивающие примеры таких 4'-2'-мостиковых бициклических нуклеозидов включают 4'-(CH₂)-O-2' (ЗНК); 4'-(CH₂)-S-2'; 4'-(CH₂)₂-O-2' (ENA); 4'-CH(CH₃)-O-2' (также обозначаемый как "затрудненный этил" или "сEt") и 4'-CH(CH₂OCH₃)-O-2' (и их аналоги; см., например, патент США № 7399845); 4'-C(CH₃)(CH₃)-O-2' (и его аналоги; см., например, патент США № 8278283); 4'-CH₂-N(OCH₃)-2' (и его аналоги; см., например, патент США № 8278425); 4'-CH₂-O-N(CH₃)-2' (см., например, патентную публикацию США №

2004/0171570); 4'-CH₂-N(R)-O-2', где R представляет собой H, C1-C12-алкил или азотзащитную группу (см., например, патент США № 7427672); 4'-CH₂-C(H)(CH₃)-2' (см., например, Chattopadhyaya *et al.*, *J. Org. Chem.*, 2009, 74, 118-134); и 4'-CH₂-C(=CH₂)-2' (и его аналоги; см., например, патент США № 8278426). Содержание каждой из указанных выше ссылок, таким образом, включено в настоящее описание в качестве ссылки в полном объеме.

Дополнительные типичные патенты США и патентные публикации США, в которых описано получение нуклеотидов замкнутой нуклеиновой кислоты включают, в качестве неограничивающих примеров, следующие: патенты США №№ 6268490; 6525191; 6670461; 6770748; 6794499; 6998484; 7053207; 7034133; 7084125; 7399845; 7427672; 7569686; 7741457; 8022193; 8030467; 8278425; 8278426; 8278283; патентную публикацию США № 2008/0039618 и патентную публикацию США № 2009/0012281, содержание каждой из которых, таким образом, включено в настоящее описание в качестве ссылки в полном объеме.

Можно получать любые из указанных выше бициклических нуклеозидов, имеющих одну или более стереохимических конфигураций сахаров, включая, например, α-L-рибофуранозу и β-D-рибофуранозу (см. WO 99/14226).

РНК из iRNA также можно модифицировать так, чтобы она включала один или более нуклеотидов с затрудненным этилом. В рамках изобретения "нуклеотид с затрудненным этилом" или "cEt" является замкнутой нуклеиновой кислотой, содержащей бициклический остаток сахара, содержащий мостик 4'-CH(CH₃)-O-2' (т.е. L в предыдущей структуре). В одном из вариантов осуществления нуклеотид с затрудненным этилом находится в S-конформации, обозначаемой в настоящем описании как "S-cEt".

iRNA по изобретению также может включать один или более "конформационно ограниченных нуклеотидов" ("CRN"). CRN являются аналогами нуклеотидов с линкером, соединяющим углероды C2' и C4' рибозы или углероды C3 и C5' рибозы. CRN замыкает кольцо рибозы в стабильную конформацию и повышает аффинность гибридизации с мРНК. Линкер имеет длину, достаточную для расположения кислорода в положении, оптимальном для стабильности и аффинности, что приводит к меньшей кольцевой складчатости рибозы.

Типичные публикации, в которых описано получение некоторых из указанных выше CRN, включают, в качестве неограничивающих примеров, US2013/0190383 и WO2013/036868, содержание каждой из которых, таким образом, включено в настоящее описание в качестве ссылки в полном объеме.

В некоторых вариантах осуществления iRNA по изобретению содержит один или более мономеров, являющихся нуклеотидами UNA (незамкнутой нуклеиновой кислоты). UNA является незамкнутой ациклической нуклеиновой кислотой, где любая из связей сахара удалена, что приводит к образованию незамкнутого остатка "сахара". В одном из примеров UNA также включает мономер с удаленными связями между C1'-C4' (т.е. ковалентная связь углерод-кислород-углерод между углеродами C1' и C4'). В другом примере удалена связь C2'-C3' (т.е. ковалентная углерод-углеродная связь между

углеродами C2' и C3') сахара (см. *Nuc. Acids Symp. Series*, 52, 133-134 (2008) и *Fluiter et al., Mol. Biosyst.*, 2009, 10, 1039, включенную, таким образом, в настоящее описание в качестве ссылки).

Типичные патентные публикации США, в которых описано получение UNA, включают, в качестве неограничивающих примеров, патент США № 8314227 и патентные заявки США №№ 2013/0096289; 2013/0011922 и 2011/0313020, содержание каждой из которых, таким образом, включено в настоящее описание в качестве ссылки в полном объеме.

Потенциально стабилизирующие модификации концов молекул РНК могут включать N-(ацетиламинокапроил)-4-гидроксипролинол (Нур-С6-NHAc), N-(капроил-4-гидроксипролинол (Нур-С6), N-(ацетил-4-гидроксипролинол (Нур-NHAc), тимидин-2'-0-дезокситимидин (простой эфир), N-(аминокапроил)-4-гидроксипролинол (Нур-С6-амино), 2-докозаноил-уридин-3"-фосфат, инвертированное основание dT(idT) и др. Описание этой модификации можно найти в WO2011/005861.

Другие модификации нуклеотидов iRNA по изобретению включают 5'-фосфат или миметик 5'-фосфата, например, 5'-концевой фосфат или миметик фосфата на антисмысловой цепи iRNA. Подходящие миметики фосфата описано, например, в US2012/0157511, содержание которой включено в настоящее описание в качестве ссылки в полном объеме.

А. Модифицированные iRNA, содержащие мотивы по изобретению

В некоторых аспектах по изобретению двухцепочечные РНК-средства по изобретению включают средства с химическими модификациями, как описано, например, в WO2013/075035, содержание которой включено в настоящее описание в качестве ссылки в полном объеме. Как представлено в настоящем описании и WO2013/075035, один или более мотивов трех идентичных модификаций на трех последовательных нуклеотидах можно включать в смысловую цепь или антисмысловую цепь дцРНКи-средства, в частности, в участок расщепления или вблизи него. В некоторых вариантах осуществления смысловая цепь и антисмысловая цепь дцРНКи-средства может быть иным образом полностью модифицирована. Встраивание этих мотивов нарушает паттерн модификации, при его наличии, смысловой или антисмысловой цепи. дцРНКи-средство, необязательно, можно конъюгировать с лигандом-производным GalNAc, например, на смысловой цепи.

Более конкретно, если смысловая цепь и антисмысловая цепь двухцепочечного РНК-средства полностью модифицированы так, чтобы содержать один или более мотивов по три идентичных модификации на трех последовательных нуклеотидов в участке расщепления по меньшей мере одной цепи дцРНКи-средства или вблизи него, наблюдали сайленсинговую активность дцРНКи-средства.

Таким образом, изобретение относится к двухцепочечным РНК-средствам, способным ингибировать экспрессию гена-мишени (т.е. гена XDH) *in vivo*. РНКи-средство содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь. Каждая цепь РНКи-средства может составлять, например, 17-30 нуклеотидов в длину, 25-30 нуклеотидов в длину, 27-30

нуклеотидов в длину, 19-25 нуклеотидов в длину, 19-23 нуклеотида в длину, 19-21 нуклеотид в длину, 21-25 нуклеотидов в длину или 21-23 нуклеотида в длину.

Смысловая цепь и антисмысловая цепь, как правило, образуют дуплекс двухцепочечной РНК ("дцРНК"), также обозначаемый в настоящем описании как "дцРНКи-средство". Область дуплекса дцРНКи-средства может составлять, например, 27-30 пар нуклеотидов в длину, 19-25 пар нуклеотидов в длину, 19-23 пары нуклеотидов в длину, 19-21 пару нуклеотидов в длину, 21-25 пар нуклеотидов в длину или 21-23 пары нуклеотидов в длину. В другом примере область дуплекса выбрана из области 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26 и 27 нуклеотидов в длину.

В некоторых вариантах осуществления дцРНКи-средство может содержать один или более областей липких концов или кэпирующих групп на 3'-конце, 5'-конце или обоих концах одной или обеих цепей. Липкий конец независимо может составлять 1-6 нуклеотидов в длину, например, 2-6 нуклеотидов в длину, 1-5 нуклеотидов в длину, 2-5 нуклеотидов в длину, 1-4 нуклеотида в длину, 2-4 нуклеотида в длину, 1-3 нуклеотида в длину, 2-3 нуклеотида в длину или 1-2 нуклеотида в длину. В некоторых вариантах осуществления области липких концов могут включать удлиненные области липких концов, как описано выше. Липкие концы могут являться результатом того, что одна цепь длиннее другой, или того, что две цепи одной длины расположены ступенчато. Липкий конец может образовывать ошибочное спаривание с мРНК-мишенью, или может являться комплементарным последовательностям гена, подвергаемого таргетингу, или может являться другой последовательностью. Первую и вторую цепи также можно соединять, например, дополнительными основаниями для образования шпильки или другими линкерами, состоящими не из оснований.

В некоторых вариантах осуществления каждый из нуклеотидов в области липкого конца дцРНКи-средства независимо может являться модифицированным или немодифицированным нуклеотидом, включая, в качестве неограничивающих примеров, 2'-сахар-модифицированный нуклеотид, такой как 2'-F-, 2'-О-метил-тимидин (Т), 2'-О-метоксиэтил-5-метилуридин (Тео), 2'-О-метоксиэтиладенозин (Аео), 2'-О-метоксиэтил-5-метилцитидин (m5Сео) и любые их комбинации.

Например, ТТ может являться последовательностью липкого конца для любого конца на любой цепи. Липкий конец может образовывать ошибочное спаривание с мРНК-мишенью или может являться комплементарным последовательностям гена, подвергаемым таргетингу, или может являться другой последовательностью.

5'- или 3'-липкие концы на смысловой цепи, антисмысловой цепи или обеих цепях дцРНКи-средства могут являться фосфорилированными. В некоторых вариантах осуществления области липких концов содержат два нуклеотида, имеющие фосфотиоат между собой, где два нуклеотида могут являться одинаковыми или отличаться. В некоторых вариантах осуществления липкий конец находится на 3'-конце смысловой цепи, антисмысловой цепи или обеих цепей. В некоторых вариантах осуществления этот 3'-

липкий конец присутствует в антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления этот 3'-липкий конец присутствует в смысловой цепи.

дцРНКи-средство может содержать только один липкий конец, который может повышать интерферирующую активность РНКи, не влияя на ее общую стабильность. Например, одноцепочечный липкий конец может находиться на 3'-конце смысловой цепи или, альтернативно, на 3'-конце антисмысловой цепи. РНКи также может иметь тупой конец, находящийся на 5'-конце антисмысловой цепи (или 3'-конце смысловой цепи) или наоборот. Как правило, антисмысловая цепь дцРНКи-средства имеет нуклеотидный липкий конец на 3'-конце, и 5'-конец является тупым. Не желая быть связанными какой-либо теорией, полагают, что асимметричный тупой конец на 5'-конце антисмысловой цепи и липкий конец на 3'-конце антисмысловой цепи способствуют нагрузке направляющей цепи в RISC.

В некоторых вариантах осуществления дцРНКи-средство является средством 19 нуклеотидов в длину с двойными тупыми концами, где смысловая цепь содержит по меньшей мере один мотив из трех 2'-F-модификаций на трех последовательных нуклеотидах в положениях 7, 8 и 9 от 5'-конца. Антисмысловая цепь содержит по меньшей мере один мотив из трех 2'-О-метил-модификаций на трех последовательных нуклеотидах в положениях 11, 12 и 13 от 5'-конца.

В других вариантах осуществления дцРНКи-средство является средством 20 нуклеотидов в длину с двойными тупыми концами, где смысловая цепь содержит по меньшей мере один мотив из трех 2'-F-модификации на трех последовательных нуклеотидах в положениях 8, 9 и 10 от 5'-конца. Антисмысловая цепь содержит по меньшей мере один мотив из трех 2'-О-метил-модификаций на трех последовательных нуклеотидах в положениях 11, 12 и 13 от 5'-конца.

В других вариантах осуществления дцРНКи-средство является средством 21 нуклеотида в длину с двойными тупыми концами, где смысловая цепь содержит по меньшей мере один мотив из трех 2'-F-модификаций на трех последовательных нуклеотидах в положениях 9, 10 и 11 от 5'-конца. Антисмысловая цепь содержит по меньшей мере один мотив из трех 2'-О-метил-модификаций на трех последовательных нуклеотидах в положениях 11, 12 и 13 от 5'-конца.

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

Если 2-нуклеотидный липкий конец находится на 3'-конце антисмысловой цепи, между концевыми тремя нуклеотидами могут находиться две фосфотиоатные межнуклеотидные связи, где два из трех нуклеотидов являются нуклеотидами липкого конца, и третий нуклеотид является спаренным нуклеотидом рядом с нуклеотидом липкого конца. В одном из вариантов осуществления РНКи-средство дополнительно имеет две фосфотиоатные межнуклеотидные связи между концевыми тремя нуклеотидами на 5'-конце смысловой цепи и на 5'-конце антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления каждый нуклеотид в смысловой цепи и антисмысловой цепи дцРНКи-средства, включая нуклеотиды, являющиеся частью мотивов, являются модифицированными нуклеотидами. В некоторых вариантах осуществления каждый остаток независимо модифицирован с помощью 2'-О-метила или 3'-фтора, например, в чередующемся мотиве. Необязательно, дцРНКи-средство дополнительно содержит лиганд (такой как GalNAc).

В некоторых вариантах осуществления дцРНКи-средство содержит смысловую и антисмысловую цепь, где смысловая цепь составляет 25-30 остатков нуклеотидов в длину, где, начиная с 5'-концевого нуклеотида (положение 1), положения 1-23 первой цепи содержат по меньшей мере 8 рибонуклеотидов; антисмысловая цепь составляет 36-66 остатков нуклеотидов в длину и, начиная с 3'-концевого нуклеотида, содержит по меньшей мере 8 рибонуклеотидов в положениях, спаренных с положениями 1-23 смысловой цепи с образованием дуплекса; где по меньшей мере 3'-концевой нуклеотид антисмысловой цепи не спарен со смысловой цепью, и до 6 последовательных 3'-концевых нуклеотидов не спарены со смысловой цепью, таким образом, образуя одноцепочечный 3'-липкий конец из 1-6 нуклеотидов; где 5'-конец антисмысловой цепи содержит 10-30 последовательных нуклеотидов, неспаренных со смысловой цепью, таким образом, образующих одноцепочечный 5'-липкий конец из 10-30 нуклеотидов; где по меньшей мере 5'-концевые и 3'-концевые нуклеотиды смысловой цепи спарены с нуклеотидами антисмысловой цепи, если смысловая и антисмысловая цепи выровнены для максимальной комплементарности, таким образом, образуя в значительной степени дуплексную область между смысловой и антисмысловой цепью; и антисмысловая цепь является достаточно комплементарной для таргетинга РНК по по меньшей мере 19 рибонуклеотидам антисмысловой цепи для снижения экспрессии гена-мишени, когда двухцепочечную нуклеиновую кислоту встраивают в клетку млекопитающего; и где смысловая цепь содержит по меньшей мере один мотив из трех 2'-F-модификаций на трех последовательных нуклеотидах, где по меньшей мере один из мотивов находится в участке расщепления или вблизи него. Антисмысловая цепь содержит по меньшей мере один мотив из трех 2'-О-метилмодификаций на трех последовательных нуклеотидах в участке расщепления или вблизи него.

В некоторых вариантах осуществления дцРНКи-средство содержит смысловую и антисмысловую цепи, где дцРНКи-средство содержит первую цепь, имеющую длину, составляющую по меньшей мере 25 и по большей мере 29 нуклеотидов, и вторую цепь,

имеющую длину, составляющую по большей мере 30 нуклеотидов с по меньшей мере одним мотивом из трех 2'-О-метил-модификаций на трех последовательных нуклеотидах в положении 11, 12 и 13 от 5'-конца; где 3'-конец первой цепи и 5'-конец второй цепи образуют тупой конец, и вторая цепь на 1-4 нуклеотида длиннее первой цепи на своем 3'-конце, где область дуплекса составляет по меньшей мере 25 нуклеотидов в длину, и вторая цепь достаточно комплементарна мРНК-мишени по по меньшей мере 19 нуклеотидам второй цепи для снижения экспрессии гена-мишени, когда РНКи-средство встраивают в клетку млекопитающего, и где расщепление Dicer дцРНКи-средства приводит к образованию миРНК, содержащей 3'-конец второй цепи и, таким образом, снижающей экспрессию гена-мишени у млекопитающего. Необязательно, дцРНКи-средство дополнительно содержит лиганд.

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

В некоторых вариантах осуществления антисмысловая цепь дцРНКи-средства также может содержать по меньшей мере один мотив из трех идентичных модификаций на трех последовательных нуклеотидах, где один из мотивов находится в участке расщепления или вблизи него в антисмысловой цепи.

В случае дцРНКи-средства, имеющего область дуплекса 19-23 нуклеотида в длину, участок расщепления антисмысловой цепи, как правило, находится приблизительно в 10, 11 и 12 положениях от 5'-конца. Таким образом, мотивы из трех идентичных модификаций могут находиться в 9, 10 и 11 положениях; 10, 11 и 12 положениях; 11, 12 и 13 положениях; 12, 13 и 14 положениях или 13, 14 и 15 положениях антисмысловой цепи, при этом отсчет начинают от первого нуклеотида от 5'-конца антисмысловой цепи, или отсчет начинают от первого спаренного нуклеотида в области дуплекса от 5'-конца антисмысловой цепи. Участок расщепления в антисмысловой цепи также можно изменять в соответствии с длиной области дуплекса дцРНКи-средства от 5'-конца.

Смысловая цепь дцРНКи-средства может содержать по меньшей мере один мотив из трех идентичных модификаций на трех последовательных нуклеотидах в участке расщепления цепи; и антисмысловая цепь может иметь по меньшей мере один мотив из трех идентичных модификаций на трех последовательных нуклеотидах в участке расщепления цепи или вблизи него. Если смысловая цепь и антисмысловая цепь образуют дуплекс дцРНК, смысловая цепь и антисмысловая цепь могут выравниваться таким образом, что один мотив из трех нуклеотидов на смысловой цепи и один мотив из трех нуклеотидов на антисмысловой цепи имеют перекрывание по меньшей мере в один нуклеотид, т.е. по меньшей мере один из трех нуклеотидов мотива в смысловой цепи образует пару оснований с по меньшей мере одним из трех нуклеотидов мотива в антисмысловой цепи. Альтернативно, могут перекрываться по меньшей мере два нуклеотида или все три нуклеотида.

В некоторых вариантах осуществления смысловая цепь дцРНКи-средства может содержать более одного мотива из трех идентичных модификаций на трех последовательных нуклеотидах. Первый мотив может находиться в участке расщепления цепи или вблизи него, а другие мотивы могут представлять собой модификацию "крыло". Термин "модификация "крыло"" в настоящем описании относится к мотиву, находящемуся на другой части цепи, отделенной от мотива в участке расщепления той же цепи или вблизи него. Модификация "крыло" является смежной с первым мотивом или отделена по меньшей мере одним или более нуклеотидами. Если мотивы являются непосредственно смежными друг с другом, то химическая природа мотивов отличается, и если мотивы разделены одним или более нуклеотидами, химическая природа может являться одной и той же или отличаться. Могут присутствовать две или более модификации "крыло". Например, если присутствуют две модификации "крыло", каждая модификация "крыло" может находиться на одном конце относительно первого мотива, находящегося в участке расщепления, или вблизи него, или на любой стороне лидирующего мотива.

Подобно смысловой цепи, антисмысловая цепь дцРНКи-средства может содержать более одного мотива из трех идентичных модификаций на трех последовательных нуклеотидах, при этом по меньшей мере один из мотивов находится в участке расщепления цепи или вблизи него. Эта антисмысловая цепь также может содержать одну или более модификаций "крыло" при выравнивании, схожем с модификациями "крыло", которые могут находиться на смысловой цепи.

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

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

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

Если каждая из смысловой цепи и антисмысловой цепи дцРНКи-средства содержит по меньшей мере две модификации "крыло", смысловая цепь и антисмысловая цепь могут выравниваться таким образом, что две модификации из одной цепи попадают на один конец области дуплекса, имея перекрывание одного, двух или трех нуклеотидов; две модификации из одной цепи попадают на другой конец области дуплекса, имея перекрывание одного, двух или трех нуклеотидов; две модификации одной цепи попадают на каждую сторону лидирующего мотива, имея перекрывание одного, двух или трех нуклеотидов в области дуплекса.

В некоторых вариантах осуществления каждый нуклеотид в смысловой цепи и антисмысловой цепи дцРНКи-средства, включая нуклеотиды, являющиеся частью мотивов,

может являться модифицированным. Каждый нуклеотид может являться модифицированным с помощью одной и той же или разных модификаций, которые могут включать одно или более изменений одного или обоих несвязывающих атомов кислорода фосфата или одного или более из связывающих атомов кислорода фосфата; изменение составляющей сахара рибозы, например, 2'-гидроксил на сахаре рибозе; массовую замену остатков фосфата "дефосфо"-линкерами; модификацию или замену природного основания; и замену или модификацию рибозо-фосфатного остова.

Т.к. нуклеиновые кислоты являются полимерами субъединиц, многие из модификаций находятся в положении, повторяющемся в нуклеиновой кислоте, например, модификация основания, или остатка фосфата, или несвязывающего О остатка фосфата. В некоторых случаях модификация будет находиться во всех из рассматриваемых положений в нуклеиновой кислоте, но во многих случаях - нет. В качестве примера, модификация может находиться только в 3'- или 5'-концевом положении, может находиться только в концевой области, например, в положении на концевом нуклеотиде или в последних 2, 3, 4, 5 или 10 нуклеотидах цепи. Модификация может находиться в двухцепочечной области, одноцепочечной области или и той, и другой. Модификация может находиться только в двухцепочечной области РНК или только в одноцепочечной области РНК. Например, фосфотиоатная модификация в несвязывающем положении О может находиться только в одном или обоих концах, может находиться только в концевой области, например, в положении на концевом нуклеотиде или в последних 2, 3, 4, 5 или 10 нуклеотидах цепи, или может находиться в двухцепочечной и одноцепочечной областях, в частности, на концах. 5'-конец или концы могут являться фосфорилированными.

Можно, например, повышать стабильность, включать конкретные основания в липкие концы или включать модифицированные нуклеотиды или суррогаты нуклеотидов в одноцепочечные липкие концы, например, в 5'- или 3'-липкий конец или и тот, и другой. Например, желательным может являться включение пуриновых нуклеотидов в липкие концы. В некоторых вариантах осуществления все или некоторые из оснований в 3'- или 5'-липком конце могут являться модифицированными, например, с использованием модификации, представленной в настоящем описании. Модификации могут включать, например, использование модификаций в 2'-положении сахара рибозы с модификациями, известными в этой области, например, использованием дезоксирибонуклеотидов, 2'-дезоксидезокси-2'-фтор- (2'-F) или 2'-О-метил-модифицированных, вместо рибонуклеинового основания, и модификации фосфатной группы, например, фосфотиоатные модификации. Липкие концы могут не являться гомологичными целевой последовательности.

В некоторых вариантах осуществления каждый остаток смысловой цепи и антисмысловой цепи независимо модифицирован с использованием ЗНК, CRN, сЕТ, UNA, HNA, CeNA, 2'-метоксиэтила, 2'-О-метила, 2'-О-аллила, 2'-С-аллила, 2'-дезоксигруппы, 2'-гидроксила или 2'-фтора. Цепи могут содержать более одной модификации. В одном из вариантов осуществления каждый остаток смысловой цепи и антисмысловой цепи независимо модифицирован с использованием 2'-О-метила или 2'-фтора.

На смысловой цепи и антисмысловой цепи, как правило, присутствуют по меньшей мере две разные модификации. Эти две модификации могут являться 2'-О-метил- или 2'-фтор-модификациями или др.

В некоторых вариантах осуществления N_a или N_b содержат модификации паттерна чередования. В рамках изобретения термин "чередующийся мотив" относится к мотиву, имеющему одну или более модификаций, при этом каждая модификация находится на чередующихся нуклеотидах одной цепи. Термин "чередующийся нуклеотид" может относиться к каждому второму нуклеотиду, или каждому третьему нуклеотиду, или схожему паттерну. Например, если каждый из А, В и С представляет один тип модификации нуклеотида, чередующийся мотив может представлять собой "АВАВАВАВАВ...", "ААВВААВВААВВ...", "ААВААВААВААВ...", "АААВАААВАААВ...", "АААВВВВВВВВВ..." или "АВСАВСАВСАВС..." и т.д.

Тип модификаций, содержащихся в чередующемся мотиве, может являться одним и тем же или отличаться. Например, если каждый из А, В, С, D представляет один тип модификации нуклеотида, паттерн чередования, т.е. модификации на каждом втором нуклеотиде, может являться одинаковым, но каждую из смысловой цепи или антисмысловой цепи можно выбирать из нескольких вариантов модификаций в чередующемся мотиве, таком как "АВАВАВ...", "АСАСАС...", "ВДВДВД..." или "СДСДСД..." и т.д.

В некоторых вариантах осуществления дцРНКи-средство по изобретению содержит паттерн модификаций для чередующегося мотива на смысловой цепи, сдвинутый относительно паттерна модификации для чередующегося мотива на антисмысловой цепи. Сдвиг может являться таким, что модифицированная группа нуклеотидов смысловой цепи соответствует иначе модифицированной группе нуклеотидов антисмысловой цепи, и наоборот. Например, в случае смысловой цепи при спаривании с антисмысловой цепью в дуплексе дцРНК, чередующийся мотив в смысловой цепи может начинаться с "АВАВАВ" от 5' к 3' цепи, и чередующийся мотив в антисмысловой цепи может начинаться с "ВАВАВА" от 5' к 3' цепи в области дуплекса. В качестве другого примера, чередующийся мотив в смысловой цепи может начинаться с "ААВВААВВ" от 5' к 3' цепи, и чередующийся мотив в антисмысловой цепи может начинаться с "ВВААВВАА" от 5' к 3' цепи в области дуплекса, таким образом, что имеет место полный или частичный сдвиг паттернов модификации между смысловой цепью и антисмысловой цепью.

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

Встраивание одного или более мотивов из трех идентичных модификаций на трех последовательных нуклеотидах в смысловую цепь или антисмысловую цепь нарушает исходный паттерн модификаций, присутствующий в смысловой цепи или антисмысловой цепи. Это нарушение паттерна модификации смысловой или антисмысловой цепи посредством встраивания одного или более мотивов из трех идентичных модификаций на трех последовательных нуклеотидах в смысловую цепь или антисмысловую цепь может повышать сайленсинговую активность против гена-мишени.

В некоторых вариантах осуществления, если мотив из трех идентичных модификаций на трех последовательных нуклеотидах встраивают в любые из цепей, модификация нуклеотида рядом с мотивом является иной модификацией, чем модификация мотива. Например, часть последовательности, содержащая мотив, представляет собой "...N_aYYYN_b...", где "Y" представляет модификацию мотива из трех идентичных модификаций на трех последовательных нуклеотидах, и "N_a" и "N_b" представляет модификацию нуклеотида рядом с мотивом "YYY", иную, чем модификация Y, и где N_a и N_b может являться одинаковыми или разными модификациями. Альтернативно, N_a или N_b могут присутствовать или отсутствовать, если присутствует модификация "крыло".

iRNA может дополнительно содержать по меньшей мере одну фосфотиоатную или метилфосфонатную межнуклеотидную связь. Модификация фосфотиоатной или метилфосфонатной межнуклеотидной связи может находиться на любом нуклеотиде смысловой цепи, антисмысловой цепи или обеих цепей в любом положении цепи. Например, модификация межнуклеотидной связи может находиться на каждом нуклеотиде на смысловой цепи или антисмысловой цепи; каждая модификация межнуклеотидной связи может находиться в паттерне чередования на смысловой цепи или антисмысловой цепи; или смысловая цепь или антисмысловая цепь может содержать обе модификации межнуклеотидной связи в паттерне чередования. Паттерн чередования модификации межнуклеотидной связи на смысловой цепи может являться таким же, что и на антисмысловой цепи, или отличаться, и паттерн чередования модификации межнуклеотидной связи на смысловой цепи может иметь сдвиг относительно паттерна чередования модификации межнуклеотидной связи на антисмысловой цепи. В одном из вариантов осуществления двухцепочечное РНКи-средство содержит 6-8 фосфотиоатных межнуклеотидных связей. В некоторых вариантах осуществления антисмысловая цепь содержит две фосфотиоатные межнуклеотидные связи на 5'-конце и два фосфотиоатные межнуклеотидные связи на 3'-конце, и смысловая цепь содержит по меньшей мере две фосфотиоатные межнуклеотидные связи на 5'-конце или 3'-конце.

В некоторых вариантах осуществления дцРНКи-средство содержит модификацию фосфотиоатной или метилфосфонатной межнуклеотидной связи в области липкого конца. Например, область липкого конца может содержать два нуклеотида, имеющие фосфотиоатную или метилфосфонатную межнуклеотидную связь между собой. Модификации межнуклеотидной связи также можно осуществлять для связывания нуклеотидов липких концов в концевыми спаренными нуклеотидами в области дуплекса.

Например, по меньшей мере, 2, 3, 4 или все нуклеотиды липких концов можно связывать с помощью фосфотиоатной или метилфосфонатной межнуклеотидной связи и, необязательно, можно включать дополнительные фосфотиоатные или метилфосфонатные межнуклеотидные связи, связывающие нуклеотид липкого конца со спаренным нуклеотидом, находящимся рядом с нуклеотидом липкого конца. Например, между концевыми тремя нуклеотидами могут находиться по меньшей мере две фосфотиоатные межнуклеотидные связи, где два из трех нуклеотидов являются нуклеотидами липкого конца, и третий является спаренным нуклеотидом рядом с нуклеотидом липкого конца. Эти концевые три нуклеотида могут находиться на 3'-конце антисмысловой цепи, 3'-конце смысловой цепи, 5'-конце антисмысловой цепи или 5'-конце антисмысловой цепи.

В некоторых вариантах осуществления 2-нуклеотидный липкий конец находится на 3'-конце антисмысловой цепи, и между концевыми тремя нуклеотидами находятся две фосфотиоатные межнуклеотидные связи, где два из трех нуклеотидов являются нуклеотидами липкого конца, и третий нуклеотид является спаренным нуклеотидом рядом с нуклеотидом липкого конца. Необязательно, дцРНКи-средство может дополнительно иметь две фосфотиоатные межнуклеотидные связи между концевыми тремя нуклеотидами и на 5'-конце смысловой цепи, и на 5'-конце антисмысловой цепи.

В одном из вариантов осуществления дцРНКи-средство содержит ошибочные спаривания с мишенью в дуплексе или их комбинации. Ошибочное спаривание может находиться в области липкого конца или области дуплекса. Пары оснований можно ранжировать по склонности к диссоциации или плавлению (например, по свободной энергии ассоциации или диссоциации конкретной пары, простейшим подходом является исследование пар на индивидуальной основе, хотя также можно использовать способ "ближайшего соседа" или схожий анализ). В терминах способствования диссоциации: A:U предпочтительнее G:C; G:U предпочтительнее G:C; и I:C предпочтительнее G:C (I=инозин). Ошибочные спаривания, например, неканонические или иные, чем канонические, пары (как представлено где-либо в настоящем описании) предпочтительнее канонических пар (A:T, A:U, G:C); и пары, включающие универсальное основание, предпочтительнее канонических пар.

В некоторых вариантах осуществления дцРНКи-средство содержит по меньшей мере одну из первых 1, 2, 3, 4 или 5 пар оснований в областях дуплекса от 5'-конца антисмысловой цепи, независимо выбранных из группы: A:U, G:U, I:C и ошибочное спаренных пар, например, неканонических или иных, чем канонические, пар или пар, включающих универсальное основание, для стимуляции диссоциации антисмысловой цепи на 5'-конце дуплекса.

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

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

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



где:

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

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

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

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

каждый n_p и n_q независимо представляет собой нуклеотид липкого конца;

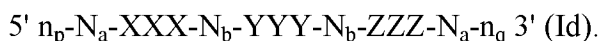
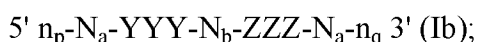
где N_b и Y не имеют одинаковую модификацию; и

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

В некоторых вариантах осуществления N_a или N_b содержит модификации паттерна чередования.

В некоторых вариантах осуществления мотив YYY находится в участке расщепления смысловой цепи или вблизи него. Например, если дцРНКи-средство имеет область дуплекса 17-23 нуклеотида в длину, мотив YYY может находиться в участке расщепления или вблизи него (например: может находиться в положениях 6, 7, 8; 7, 8, 9; 8, 9, 10; 9, 10, 11; 10, 11, 12; или 11, 12, 13) смысловой цепи, при этом отсчет начинают с первого нуклеотида от 5'-конца; или, необязательно, при этом отсчет начинают с первого спаренного нуклеотида в области дуплекса от 5'-конца.

В одном из вариантов осуществления i представляет собой 1, и j представляет собой 0, или i представляет собой 0, и j представляет собой 1, или оба из i и j представляют собой 1. Таким образом, смысловая цепь может быть представлена следующими формулами:



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

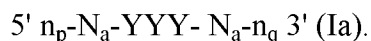
олигонуклеотидную последовательность, содержащую 2-20, 2-15 или 2-10 модифицированных нуклеотидов.

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

Если смысловая цепь представлена формулой (Id), каждый N_b независимо представляет собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 0-10, 0-7, 0-5, 0-4, 0-2 или 0 модифицированных нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления N_b представляет собой 0, 1, 2, 3, 4, 5 или 6. Каждый N_a независимо может представлять собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 2-20, 2-15 или 2-10 модифицированных нуклеотидов.

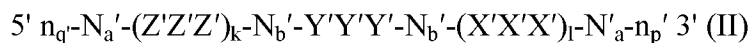
Каждый из X, Y и Z может являться одним и тем же или отличаться.

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



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

В одном из вариантов осуществления последовательность антисмысловой цепи РНКи может быть представлено формулой (II):



где:

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

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

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

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

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

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

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

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

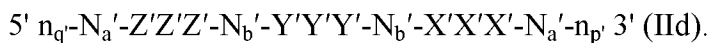
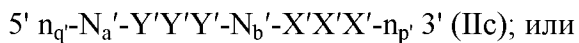
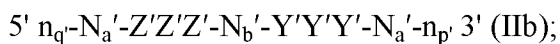
Мотив Y'Y'Y' находится в участке расщепления антисмысловой цепи или вблизи него. Например, если дцРНКи-средство имеет область дуплекса 17-23 нуклеотида в длину,

мотив $Y'Y'Y'$ может находиться в положениях 9, 10, 11; 10, 11, 12; 11, 12, 13; 12, 13, 14; или 13, 14, 15 антисмысловой цепи, при этом отсчет начинают с первого нуклеотида от 5'-конца; или, необязательно, отсчет начинают с первого спаренного нуклеотида в области дуплекса от 5'-конца. В некоторых вариантах осуществления мотив $Y'Y'Y'$ находится в положениях 11, 12, 13.

В некоторых вариантах осуществления все в мотиве $Y'Y'Y'$ представляют собой 2'-ОМе-модифицированные нуклеотиды.

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

Таким образом, антисмысловая цепь может быть представлена следующими формулами:

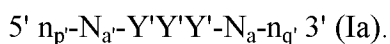


Если антисмысловая цепь представлена формулой (IIb), N_b' представляет собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 0-10, 0-7, 0-10, 0-7, 0-5, 0-4, 0-2 или 0 модифицированных нуклеотидов. Каждый N_a' независимо представляет собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 2-20, 2-15 или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

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

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

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



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

Каждый из X' , Y' и Z' может являться одним и тем же или отличаться.

Каждый нуклеотид смысловой цепи и антисмысловой цепи может являться независимо модифицированным с использованием ЗНК, CRN, UNA, cEt, HNA, CeNA, 2'-

метоксиэтила, 2'-О-метила, 2'-О-аллила, 2'-С- аллила, 2'-гидроксила или 2'-фтора. Например, каждый нуклеотид смысловой цепи и антисмысловой цепи независимо модифицирован с использованием 2'-О-метила или 2'-фтора. Каждый из X, Y, Z, X', Y' и Z', в частности, может представлять собой 2'-О-метил-модификацию или 2'-фтор-модификацию.

В некоторых вариантах осуществления смысловая цепь дцРНКи-средства может содержать мотив YYY, находящийся в 9, 10 и 11 положениях цепи, если область дуплекса составляет 21 нуклеотид, при этом отсчет начинают с первого нуклеотида от 5'-конца или, необязательно, отсчет начинают с первого спаренного нуклеотида в области дуплекса от 5'-конца; и Y представляет собой 2'-F-модификацию. Смысловая цепь может дополнительно содержать мотив XXX или мотивы ZZZ в виде модификаций "крыло" на противоположном конце области дуплекса; и каждый из XXX и ZZZ независимо представляет собой 2'-ОМе-модификацию или 2'-F-модификацию.

В некоторых вариантах осуществления антисмысловая цепь может содержать мотив Y'Y'Y', находящийся в положениях 11, 12, 13 цепи, при этом отсчет начинают с первого нуклеотида от 5'-конца или, необязательно, отсчет начинают с первого спаренного нуклеотида в области дуплекса от 5'-конца; и Y' представляет собой 2'-О-метил-модификацию. Антисмысловая цепь может дополнительно содержать мотив X'X'X' или мотивы Z'Z'Z' в виде модификаций "крыло" на противоположном конце области дуплекса; и каждый из X'X'X' и Z'Z'Z' независимо представляет собой 2'-ОМе-модификацию или 2'-F-модификацию.

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

Таким образом, дцРНКи-средства для использования в способах по изобретению могут содержать смысловую цепь и антисмысловую цепь, при этом каждая цепь содержит от 14 до 30 нуклеотидов, дуплекс iRNA, представленный формулой (III):

смысловая цепь: 5' n_p -N_a-(X X X)_i-N_b-YYY-N_b-(ZZZ)_j-N_a-n_q 3'

антисмысловая цепь: 3' $n_{p'}$ -N_a'-(X'X'X')_k-N_b'-Y'Y'Y'-N_b'-(Z'Z'Z')_l-N_a'-n_{q'} 5'

(III)

где:

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

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

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

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

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

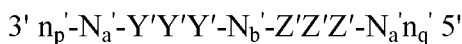
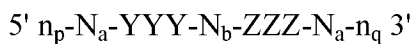
каждый из XXX, YYY, ZZZ, X'X'X', Y'Y'Y' и Z'Z'Z' независимо представляет собой один мотив из трех идентичных модификаций на трех последовательных нуклеотидах.

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

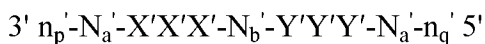
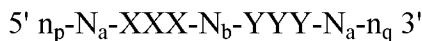
Примеры комбинаций смысловой цепи и антисмысловой цепи, образующий дуплекс iRNA, включают приведенные ниже формулы:



(IIIa)



(IIIb)



(IIIc)



(IIId)

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

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

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

Если дцРНКи-средство представлено формулой (IIId), каждый из N_b , N_b' независимо представляет собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 0-10, 0-7, 0-10,

0-7, 0-5, 0-4, 0-2 или 0 модифицированных нуклеотидов. Каждый из N_a , N_a' независимо представляет собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 2-20, 2-15 или 2-10 модифицированных нуклеотидов. Каждый из N_a , N_a' , N_b и N_b' независимо содержит модификации паттерна чередования.

Каждый из X, Y и Z в формулах (III), (IIIa), (IIIb), (IIIc) и (IIId) может являться одним и тем же или отличаться.

Если дцРНКи-средство представлено формулой (III), (IIIa), (IIIb), (IIIc) и (IIId), по меньшей мере один из нуклеотидов Y может образовывать пару оснований с одним из нуклеотидов Y'. Альтернативно, по меньшей мере два из нуклеотидов Y образуют пары оснований с соответствующими нуклеотидами Y'; или все три из нуклеотидов Y образуют пары оснований с соответствующими нуклеотидами Y'.

Если дцРНКи-средство представлено формулой (IIIb) или (IIId), по меньшей мере один из нуклеотидов Z может образовывать пару оснований с одним из нуклеотидов Z'. Альтернативно, по меньшей мере два из нуклеотидов Z образуют пары оснований с соответствующими нуклеотидами Z'; или все три из нуклеотидов Z образуют пары оснований с соответствующими нуклеотидами Z'.

Если дцРНКи-средство представлено формулой (IIIc) или (IIId), по меньшей мере один из нуклеотидов X может образовывать пару оснований с одним из нуклеотидов X'. Альтернативно, по меньшей мере два из нуклеотидов X образуют пары оснований с соответствующими нуклеотидами X'; или все три из нуклеотидов X образуют пары оснований с соответствующими нуклеотидами X'.

В некоторых вариантах осуществления модификация в нуклеотиде Y отличается от модификации в нуклеотиде Y', модификация в нуклеотиде Z отличается от модификации в нуклеотиде Z', или модификация в нуклеотиде X отличается от модификации в нуклеотиде X'.

В некоторых вариантах осуществления, если дцРНКи-средство представлено формулой (IIId), модификации N_a представляют собой 2'-О-метил- или 2'-фтор-модификации. В других вариантах осуществления, если РНКи-средство представлено формулой (IIId), модификации N_a представляют собой 2'-О-метил- или 2'-фтор-модификации, и $n_p' > 0$, и по меньшей мере один n_p' связан с соседним нуклеотидом фосфотиоатной связью. В других вариантах осуществления, если РНКи-средство представлено формулой (IIId), модификации N_a представляют собой 2'-О-метил- или 2'-фтор-модификации, $n_p' > 0$, и по меньшей мере один n_p' связан с соседним нуклеотидом фосфотиоатной связью, и смысловая цепь конъюгирована с одним или более производными GalNAc, присоединенными через бивалентный или тривалентный разветвленный линкер (описан ниже). В других вариантах осуществления, если РНКи-средство представлено формулой (IIId), модификации N_a представляют собой 2'-О-метил- или 2'-фтор-модификации, $n_p' > 0$, и по меньшей мере один n_p' связан с соседним нуклеотидом фосфотиоатной связью, смысловая цепь содержит по меньшей мере одну фосфотиоатную

связь, и смысловая цепь конъюгирована с одним или более производными GalNAc, присоединенными через бивалентный или тривалентный разветвленный линкер.

В некоторых вариантах осуществления, если дцРНКи-средство представлено формулой (IIIa), N_a модификации представляют собой 2'-О-метил- или 2'-фтор-модификации, $n_p' > 0$, и по меньшей мере один n_p' связан с соседним нуклеотидом фосфотиоатной связью, смысловая цепь содержит по меньшей мере одну фосфотиоатную связь, и смысловая цепь конъюгирована с одним или более производными GalNAc, присоединенными через бивалентный или тривалентный разветвленный линкер.

В некоторых вариантах осуществления дцРНКи-средство является мультимером, содержащим по меньшей мере два дуплекса, представленных формулой (III), (IIIa), (IIIb), (IIIc) и (IIId), где дуплексы соединены линкером. Линкер может являться расщепляемым или нерасщепляемым. Необязательно, мультимер дополнительно содержит лиганд. Каждый из дуплексов может быть нацелен на один и тот же ген или разные гены; или каждый из дуплексов может быть нацелен на один и тот же ген в двух разных целевых участках.

В некоторых вариантах осуществления дцРНКи-средство является мультимером, содержащим три, четыре, пять, шесть или более дуплексов, представленных формулой (III), (IIIa), (IIIb), (IIIc) и (IIId), где дуплексы соединены линкером. Линкер может являться расщепляемым или нерасщепляемым. Необязательно, мультимер дополнительно содержит лиганд. Каждый из дуплексов может быть нацелен на один и тот же ген или разные гены; или каждый из дуплексов может быть нацелен на один и тот же ген в двух разных целевых участках.

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

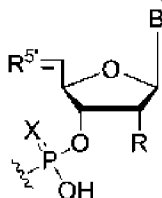
В некоторых вариантах осуществления РНКи-средство по изобретению может содержать малое количество нуклеотидов, содержащих 2'-фтор-модификацию, например, 10 или менее нуклеотидов с 2'-фтор-модификацией. Например, РНКи-средство может содержать 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 или 0 нуклеотидов с 2'-фтор-модификацией.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

В других вариантах осуществления РНКи-средство по изобретению может содержать очень малое количество нуклеотидов, содержащих 2'-фтор-модификацию,

например, 2 или менее нуклеотидов, содержащих 2'-фтор-модификацию. Например, РНКи-средство может содержать 2, 1 или 0 нуклеотидов с 2'-фтор-модификацией. В конкретном варианте осуществления РНКи-средство может содержать 2 нуклеотида с 2'-фтор-модификацией, например, 0 нуклеотидов с 2'-фтор-модификацией в смысловой цепи и 2 нуклеотида с 2'-фтор-модификацией в антисмысловой цепи.

В различных публикациях описывают мультимерные iRNA, которые можно использовать в способах по изобретению. Такие публикации включают WO2007/091269, патент США № 7858769, WO2010/141511, WO2007/117686, WO2009/014887 и WO2011/031520, содержание каждой из которых, таким образом, включено в настоящее описание в качестве ссылки в полном объеме.

В некоторых вариантах осуществления композиции и способы по изобретению включают винилфосфонатную (VP) модификацию РНКи-средства по изобретению. В иллюстративных вариантах осуществления 5'-винилфосфонат-модифицированный нуклеотид по изобретению имеет структуру:



где X представляет собой O или S;

R представляет собой водород, гидроксигруппу, фтор или C₁₋₂₀-алкоксигруппу (например, метоксигруппу или n-гексадецилоксигруппу);

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

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

Винилфосфонат по изобретению можно присоединять к антисмысловой или смысловой цепи дцРНК по изобретению. В некоторых вариантах осуществления винилфосфонат по изобретению присоединен к антисмысловой цепи дцРНК, необязательно, на 5'-конце антисмысловой цепи дцРНК.

Винилфосфонатные модификации также предусмотрены для композиций и способов по изобретению. Пример винилфосфонатной структуры включает предыдущую структуру, где R^{5'} представляет собой =C(H)-OP(O)(OH)₂, и двойная связь между углеродом C5' и R^{5'} находится в *E*- или *Z*-ориентации (например, *E*-ориентации).

Как подробнее описано ниже, с помощью iRNA, содержащей конъюгации одной или более молекул углеводов с iRNA, можно оптимизировать одно или более свойств iRNA. Во многих случаях молекулу углевода будут присоединять к модифицированной субъединице iRNA. Например, сахар рибозу одной или более рибонуклеотидных субъединиц iRNA можно заменять другим функциональным фрагментом, например, неуглеводным

(например, циклическим) носителем, к которому присоединен углеводный лиганд. Рибонуклеотидную субъединицу, в которой сахар рибоза субъединицы заменен таким образом, обозначают в настоящем описании как субъединицу с модификацией-заменой рибозы (RRMS). Циклический носитель может являться карбоциклической кольцевой системой, т.е. все атомы кольца являются атомами углерода, или гетероциклической кольцевой системой, т.е. один или более атомов кольца может являться гетероатомом, например, азотом, кислородом, серой. Циклический носитель может являться моноциклической кольцевой системой или может содержать два или более колец, например, конденсированные кольца. Циклический носитель может являться полностью насыщенной кольцевой системой или может содержать одну или более двойных связей.

Лиганд можно присоединять к полинуклеотиду с помощью носителя. Носители включают (i) по меньшей мере одну "точку присоединения остова", например, две "точки присоединения остова", и (ii) по меньшей мере одну "точку прикрепления связи". В рамках изобретения термин "точка присоединения остова" относится к функциональной группе, например, гидроксильной группе или, как правило, связи, доступной и подходящей для встраивания носителя в остов, например, фосфатный или модифицированный фосфатный, например, серосодержащий, остов, рибонуклеиновой кислоты. В некоторых вариантах осуществления термин "точка прикрепления связи" (TAP) относится к атому кольцевого компонента циклического носителя, например, атому углерода или гетероатому (отличающемуся от атома, представляющего точку присоединения остова), к которому присоединяют выбранный функциональный фрагмент. Функциональный фрагмент может являться, например, углеводом, например, моносахаридом, дисахаридом, трисахаридом, тетрасахаридом, олигосахаридом или полисахаридом. Необязательно, выбранный функциональный фрагмент соединяют с циклическим носителем с помощью промежуточной связи. Таким образом, циклический носитель зачастую будет включать функциональную группу, например, аминогруппу, или, как правило, представлять связь, подходящий для встраивания или прикрепления другого химического вещества, например, лиганда, к кольцевому компоненту.

iRNA можно конъюгировать с лигандом с помощью носителя, где носитель может являться циклической группой или ациклической группой. В некоторых вариантах осуществления циклическая группа выбрана из пирролидинила, пиразолидинила, пиразолидинила, имидазолидинила, имидазолидинила, пиперидинила, пиперазинила, [1,3]диоксолана, оксазолидинила, изоксазолидинила, морфолинила, тиазолидинила, изотиазолидинила, хиноксалинил, пиридазинонила, тетрагидрофурила и декалина. В некоторых вариантах осуществления ациклическая группа является сериоловым остовом или диэтанолламиновым остовом.

i. Термически дестабилизирующие модификации

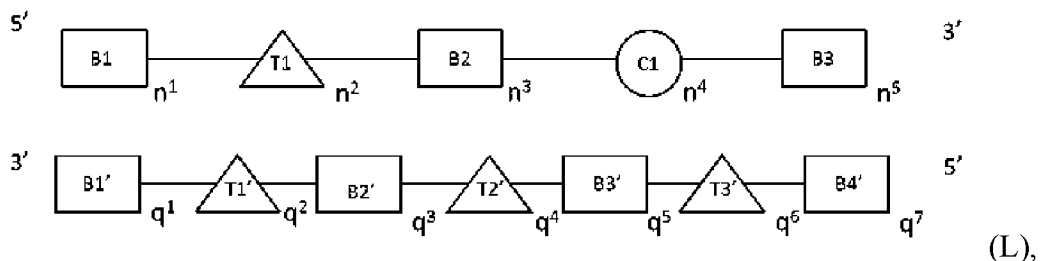
В некоторых вариантах осуществления молекулу дцРНК можно оптимизировать для РНК-интерференции посредством включения термически дестабилизирующих модификаций в затравочную область антисмысловой цепи. В рамках изобретения термин

"затравочная область" означает положения 2-9 5'-конца указанной цепи. Например, термически дестабилизирующие модификации можно включать в затравочную область антисмысловой цепи для снижения или ингибирования нецелевого сайленсинга генов.

Термин "термически дестабилизирующие модификации" включает модификации, которые будут приводить к получению дцРНК с более низкой общей температурой плавления (T_m), чем T_m дцРНК без таких модификаций. Например, термически дестабилизирующие модификации могут приводить к снижению T_m дцРНК на 1-4°C, например, на один, два, три или четыре градуса Цельсия. Кроме того, термин "термически дестабилизирующий нуклеотид" относится к нуклеотиду, содержащему одну или более термически дестабилизирующих модификаций.

Обнаружено, что дцРНК с антисмысловой цепью, содержащей по меньшей мере одну термически дестабилизирующую модификацию дуплекса в первых 9 положениях нуклеотидов, отсчитывая от 5'-конца антисмысловой цепи, имеют сниженную активность нецелевого сайленсинга генов. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления антисмысловая цепь содержит по меньшей мере одну (например, одну, две, три, четыре, пять или более) термически дестабилизирующих модификаций дуплекса в первых 9 положениях нуклеотидов 5'-области антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления одна или более термически дестабилизирующих модификаций дуплекса находятся в положениях 2-9, таких как положения 4-8, от 5'-конца антисмысловой цепи. В некоторых дополнительных вариантах осуществления термически дестабилизирующие модификации дуплекса находятся в положении 6, 7 или 8 от 5'-конца антисмысловой цепи. В дополнительных вариантах осуществления термически дестабилизирующая модификация дуплекса находится в положении 7 от 5'-конца антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления термически дестабилизирующая модификация дуплекса находится в положении 2, 3, 4, 5 или 9 от 5'-конца антисмысловой цепи.

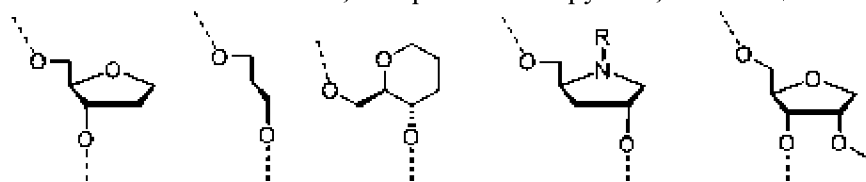
iRNA-средство содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, при этом каждая цепь содержит от 14 до 40 нуклеотидов. РНКи-средство может быть представлено формулой (L):



В формуле (L) каждый из B1, B2, B3, B1', B2', B3' и B4' независимо представляет собой нуклеотид, содержащий модификацию, выбранную из группы, состоящей из 2'-О-алкила, 2'-замещенной алкоксигруппы, 2'-замещенного алкила, 2'-галогена, ENA и BNA/ЗНК. В одном из вариантов осуществления каждый из B1, B2, B3, B1', B2', B3' и B4' содержит 2'-ОМе-модификации. В одном из вариантов осуществления каждый из B1, B2, B3, B1', B2', B3' и B4' содержит 2'-ОМе- или 2'-F-модификации. В одном из вариантов

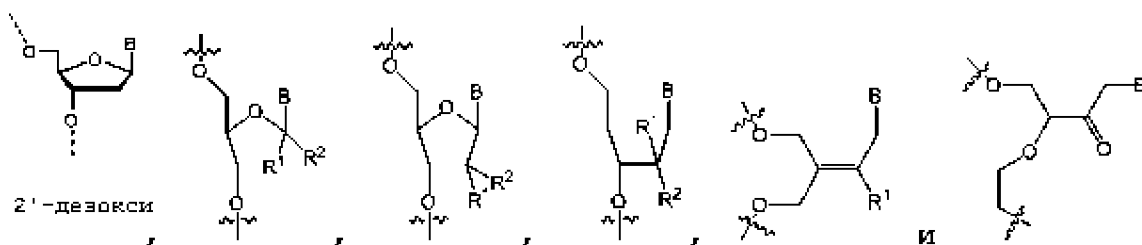
осуществления по меньшей мере один из B1, B2, B3, B1', B2', B3' и B4' содержит 2'-O-N-метилацетидамо-модификацию (2'-O-NMA, 2'O-CH₂C(O)N(Me)H).

C1 представляет собой термически дестабилизирующий нуклеотид, расположенный в участке, противоположном затравочной области антисмысловой цепи (т.е. в положениях 2-8 5'-конца антисмысловой цепи). Например, C1 находится в положении смысловой цепи, спаривающемся с нуклеотидом в положениях 2-8 5'-конца антисмысловой цепи. В одном из примеров C1 находится в положении 15 от 5'-конца смысловой цепи. Нуклеотид C1 несет термически дестабилизирующую модификацию, которая может включать модификацию удаления азотистого основания; ошибочное спаривание с противоположным нуклеотидом в дуплексе; и модификацию сахара, такую как 2'-дезоксид-модификация, или ациклический нуклеотид, например, незамкнутые нуклеиновые кислоты (UNA) или гликоль-нуклеиновую кислоту (GNA). В одном из вариантов осуществления C1 имеет термически дестабилизирующую модификацию, выбранную из группы, состоящей из: i) ошибочного спаривания с противоположным нуклеотидом в антисмысловой цепи; ii) модификации удаления азотистого основания, выбранной из группы, состоящей из:

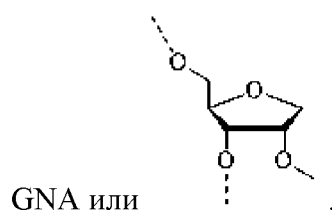


; и iii) модификацию

сахара, выбранную из группы, состоящей из:



, где B является модифицированным или немодифицированным нуклеиновым основанием, R¹ и R² независимо представляют собой H, галоген, OR₃ или алкил; и R₃ представляет собой H, алкил, циклоалкил, арил, аралкил, гетероарил или сахар. В одном из вариантов осуществления термически дестабилизирующая модификация в C1 представляют собой ошибочное спаривание, выбранное из группы, состоящей из G:G, G:A, G:U, G:T, A:A, A:C, C:C, C:U, C:T, U:U, T:T и U:T; и необязательно по меньшей мере одно нуклеиновое основание в ошибочное спаренной паре является 2'-дезоксинуклеиновым основанием. В одном из примеров термически дестабилизирующая модификация в C1 представляет собой



Каждый из T1, T1', T2' и T3' независимо представляет собой нуклеотид, содержащий модификацию, обеспечивающую нуклеотид стерическим объемом, меньшим или равным стерическому объему 2'-ОМе-модификации. Термин "стерический объем" относится к сумме стерических эффектов модификации. Специалисту в этой области известны способы определения стерических эффектов модификации нуклеотида. Модификация может находиться в 2'-положении сахара рибозы нуклеотида или являться модификацией в нерибозильном нуклеотиде, ациклическом нуклеотиде или осто́ве нуклеотида, схожей или эквивалентной 2'-положению сахара рибозы и обеспечивать нуклеотид стерическим объемом, меньшим или равным стерическому объему 2'-ОМе-модификации. Например, каждый из T1, T1', T2' и T3' независимо выбран из ДНК, РНК, ЗНК, 2'-F и 2'-F-5'-метила. В одном из вариантов осуществления T1 представляет собой ДНК. В одном из вариантов осуществления T1' представляет собой ДНК, РНК или ЗНК. В одном из вариантов осуществления T2' представляет собой ДНК или РНК. В одном из вариантов осуществления T3' представляет собой ДНК или РНК.

n^1 , n^3 и q^1 независимо составляют от 4 до 15 нуклеотидов в длину.

n^5 , q^3 и q^7 независимо составляют 1-6 нуклеотидов в длину.

n^4 , q^2 и q^6 независимо составляют 1-3 нуклеотида в длину; альтернативно, n^4 составляет 0.

q^5 независимо составляет 0-10 нуклеотидов в длину.

n^2 и q^4 независимо составляют 0-3 нуклеотида в длину.

Альтернативно, n^4 составляет 0-3 нуклеотидов в длину.

В одном из вариантов осуществления n^4 может составлять 0. В одном из примеров n^4 составляет 0, и q^2 и q^6 составляют 1. В другом примере n^4 составляет 0, и q^2 и q^6 составляют 1 с двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положении 1-5 смысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца смысловой цепи), и двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положениях 1 и 2, и двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положениях 18-23 антисмысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца антисмысловой цепи).

В одном из вариантов осуществления каждый из n^4 , q^2 и q^6 составляет 1.

В одном из вариантов осуществления каждый из n^2 , n^4 , q^2 , q^4 , и q^6 составляет 1.

В одном из вариантов осуществления C1 находится в положении 14-17 5'-конца смысловой цепи, если смысловая цепь составляет 19-22 нуклеотида в длину, и n^4 составляет 1. В одном из вариантов осуществления C1 находится в положении 15 5'-конца смысловой цепи.

В одном из вариантов осуществления T3' начинается в положении 2 от 5'-конца антисмысловой цепи. В одном из примеров T3' находится в положении 2 от 5'-конца антисмысловой цепи, и q^6 равен 1.

В одном из вариантов осуществления T1' начинается в положении 14 от 5'-конца антисмысловой цепи. В одном из примеров T1' находится в положении 14 от 5'-конца антисмысловой цепи, и q^2 равен 1.

В примере варианта осуществления ТЗ' начинается в положении 2 от 5'-конца антисмысловой цепи, и Т1' начинается в положении 14 от 5'-конца антисмысловой цепи. В одном из примеров ТЗ' начинается в положении 2 от 5'-конца антисмысловой цепи, и q^6 равен 1, и Т1' начинается в положении 14 от 5'-конца антисмысловой цепи, и q^2 равен 1.

В одном из вариантов осуществления Т1' и ТЗ' разделены 11 нуклеотидами в длину (т.е. не считая нуклеотиды Т1' и ТЗ').

В одном из вариантов осуществления Т1' находится в положении 14 от 5'-конца антисмысловой цепи. В одном из примеров Т1' находится в положении 14 от 5'-конца антисмысловой цепи, и q^2 равен 1, и модификация в 2'-положении или положениях в нерибозильном, ациклическом нуклеотиде или осто́ве обеспечивает меньший стерический объем, чем 2'-ОМе-рибоза.

В одном из вариантов осуществления ТЗ' находится в положении 2 от 5'-конца антисмысловой цепи. В одном из примеров ТЗ' находится в положении 2 от 5'-конца антисмысловой цепи, и q^6 равен 1, и модификация в 2'-положении или положениях в нерибозильном, ациклическом нуклеотиде или осто́ве обеспечивает стерический объем меньший или равный 2'-ОМе-рибозе.

В одном из вариантов осуществления Т1 находится в участке расщепления смысловой цепи. В одном из примеров Т1 находится в положении 11 от 5'-конца смысловой цепи, если смысловая цепь составляет 19-22 нуклеотида в длину, и n^2 составляет 1. В примере варианта осуществления Т1 находится в участке расщепления смысловой цепи в положении 11 от 5'-конца смысловой цепи, если смысловая цепь составляет 19-22 нуклеотида в длину, и n^2 составляет 1.

В одном из вариантов осуществления Т2' начинается в положении 6 от 5'-конца антисмысловой цепи. В одном из примеров Т2' находится в положениях 6-10 от 5'-конца антисмысловой цепи, и q^4 составляет 1.

В примере варианта осуществления Т1 находится в участке расщепления смысловой цепи, например, в положении 11 от 5'-конца смысловой цепи, если смысловая цепь составляет 19-22 нуклеотида в длину, и n^2 составляет 1; Т1' находится в положении 14 от 5'-конца антисмысловой цепи, и q^2 равен 1, и модификация Т1' находится в 2'-положении сахара рибозы или в положениях в нерибозильном, ациклическом нуклеотиде или осто́ве, обеспечивающих меньший стерический объем, чем 2'-ОМе-рибоза; Т2' находится в положениях 6-10 от 5'-конца антисмысловой цепи, и q^4 составляет 1; и ТЗ' находится в положении 2 от 5'-конца антисмысловой цепи, и q^6 равен 1, и модификация ТЗ' находится в 2'-положении или в положениях в нерибозильном, ациклическом нуклеотиде или осто́ве, обеспечивающих стерический объем, меньший или равный 2'-ОМе-рибозе.

В одном из вариантов осуществления Т2' начинается в положении 8 от 5'-конца антисмысловой цепи. В одном из примеров Т2' начинается в положении 8 от 5'-конца антисмысловой цепи, и q^4 составляет 2.

В одном из вариантов осуществления В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n¹ составляет 8, Т1 представляет собой 2'-F, n² составляет 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n³ составляет 7, n⁴ составляет 0, В3 представляет собой 2'-ОМе, n⁵ составляет 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q¹ составляет 9, Т1' представляет собой 2'-F, q² составляет 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q³ составляет 4, Т2' представляет собой 2'-F, q⁴ составляет 2, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q⁵ составляет 5, Т3' представляет собой 2'-F, q⁶ составляет 1, В4' представляет собой 2'-ОМе, и q⁷ составляет 1; с двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положениях 1-5 смысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца смысловой цепи), и двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положениях 1 и 2, и двумя модификациями

В одном из вариантов осуществления В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n^1 составляет 8, Т1 представляет собой 2'-F, n^2 составляет 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n^3 составляет 7, n^4 составляет 0, В3 представляет собой 2'-ОМе, n^5 составляет 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^1 составляет 9, Т1' представляет собой 2'-F, q^2 составляет 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^3 составляет 4, q^4 составляет 0, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^5 составляет 7, Т3' представляет собой 2'-F, q^6 составляет 1, В4' представляет собой 2'-ОМе, и q^7 составляет 1; с двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положениях 1-5 смысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца), и двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положениях 1 и 2, и двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положениях 18-23 антисмысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца).

В одном из вариантов осуществления В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n^1 составляет 8, Т1 представляет собой 2'-F, n^2 составляет 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n^3 составляет 7, n^4 составляет 0, В3 представляет собой 2'-ОМе, n^5 составляет 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^1 составляет 9, Т1' представляет собой 2'-F, q^2 составляет 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^3 составляет 4, Т2' представляет собой 2'-F, q^4 составляет 2, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^5 составляет 5, Т3' представляет собой 2'-F, q^6 составляет 1, В4' представляет собой 2'-F, и q^7 составляет 1.

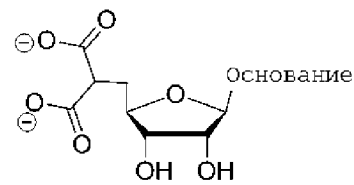
В одном из вариантов осуществления В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n^1 составляет 8, Т1 представляет собой 2'-F, n^2 составляет 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n^3 составляет 7, n^4 составляет 0, В3 представляет собой 2'-ОМе, n^5 составляет 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^1 составляет 9, Т1' представляет собой 2'-F, q^2 составляет 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^3 составляет 4, Т2' представляет собой 2'-F, q^4 составляет 2, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^5 составляет 5, Т3' представляет собой 2'-F, q^6 составляет 1, В4' представляет собой 2'-F, и q^7 составляет 1; с двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положениях 1-5 смысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца смысловой цепи), и двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положениях 1 и 2, и двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положениях 18-23 антисмысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца антисмысловой цепи).

В одном из вариантов осуществления В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n^1 составляет 8, Т1 представляет собой 2'-F, n^2 составляет 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n^3 составляет 7, n^4 составляет 0, В3 представляет собой 2'-ОМе, n^5 составляет 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^1 составляет 9, Т1' представляет собой 2'-F, q^2 составляет 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^3 составляет 4, q^4 составляет 0, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^5 составляет 7, Т3' представляет собой 2'-F, q^6 составляет 1, В4' представляет собой 2'-F, и q^7 составляет 1.

В одном из вариантов осуществления В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n^1 составляет 8, Т1 представляет собой 2'-F, n^2 составляет 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n^3 составляет 7, n^4 составляет 0, В3 представляет собой 2'-ОМе, n^5 составляет 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^1 составляет 9, Т1' представляет собой 2'-F, q^2 составляет 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^3 составляет 4, q^4 составляет 0, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^5 составляет 7, Т3' представляет собой 2'-F, q^6 составляет 1, В4' представляет собой 2'-F, и q^7 составляет 1; с двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положениях 1-5 смысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца смысловой цепи), и двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положениях 1 и 2, и двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положениях 18-23 антисмысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца антисмысловой цепи).

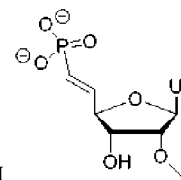
РНКи-средство может содержать фосфорсодержащую группу на 5'-конце смысловой цепи или антисмысловая цепь. 5'-концевая фосфорсодержащая группа может являться 5'-концевым фосфатом (5'-P), 5'-концевым фосфотиоатом (5'-PS), 5'-концевым

фосфодитиоатом ($5'\text{-PS}_2$), $5'$ -концевым винилфосфонатом ($5'\text{-VP}$), $5'$ -концевым

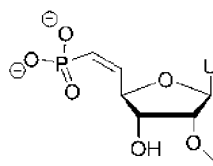


метилфосфонатом (MePhos) или $5'$ -дезокси- $5'$ - C -малонилом ().

Если $5'$ -концевая фосфорсодержащая группа является $5'$ -концевым винилфосфонатом ($5'$ -



VP), $5'$ -VP может являться изомером $5'\text{-E-VP}$ (т.е. *транс*-винилфосфонатом



изомером $5'\text{-Z-VP}$ (т.е. *цис*-винилфосфонатом) или их смесями.

В одном из вариантов осуществления РНКи-средство содержит фосфорсодержащую группу на $5'$ -конце смысловой цепи. В одном из вариантов осуществления РНКи-средство содержит фосфорсодержащую группу на $5'$ -конце антисмысловой цепи.

В одном из вариантов осуществления РНКи-средство содержит $5'\text{-P}$. В одном из вариантов осуществления РНКи-средство содержит $5'\text{-P}$ в антисмысловой цепи.

В одном из вариантов осуществления РНКи-средство содержит $5'\text{-PS}$. В одном из вариантов осуществления РНКи-средство содержит $5'\text{-PS}$ в антисмысловой цепи.

В одном из вариантов осуществления РНКи-средство содержит $5'\text{-VP}$. В одном из вариантов осуществления РНКи-средство содержит $5'\text{-VP}$ в антисмысловой цепи. В одном из вариантов осуществления РНКи-средство содержит $5'\text{-E-VP}$ в антисмысловой цепи. В одном из вариантов осуществления РНКи-средство содержит $5'\text{-Z-VP}$ в антисмысловой цепи.

В одном из вариантов осуществления РНКи-средство содержит $5'\text{-PS}_2$. В одном из вариантов осуществления РНКи-средство содержит $5'\text{-PS}_2$ в антисмысловой цепи.

В одном из вариантов осуществления РНКи-средство содержит $5'\text{-PS}_2$. В одном из вариантов осуществления РНКи-средство содержит $5'$ -дезокси- $5'$ - C -малонил в антисмысловой цепи.

В одном из вариантов осуществления В1 представляет собой $2'\text{-OMe}$ или $2'\text{-F}$, n^1 составляет 8, Т1 представляет собой $2'\text{-F}$, n^2 составляет 3, В2 представляет собой $2'\text{-OMe}$, n^3 составляет 7, n^4 составляет 0, В3 представляет собой $2'\text{-OMe}$, n^5 составляет 3, В1' представляет собой $2'\text{-OMe}$ или $2'\text{-F}$, q^1 составляет 9, Т1' представляет собой $2'\text{-F}$, q^2 составляет 1, В2' представляет собой $2'\text{-OMe}$ или $2'\text{-F}$, q^3 составляет 4, Т2' представляет собой $2'\text{-F}$, q^4 составляет 2, В3' представляет собой $2'\text{-OMe}$ или $2'\text{-F}$, q^5 составляет 5, Т3' представляет собой $2'\text{-F}$, q^6 составляет 1, В4' представляет собой $2'\text{-OMe}$, и q^7 составляет 1. РНКи-средство также содержит $5'\text{-PS}$.

В одном из вариантов осуществления В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n^1 составляет 8, Т1 представляет собой 2'-F, n^2 составляет 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n^3 составляет 7, n^4 составляет 0, В3 представляет собой 2'-ОМе, n^5 составляет 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^1 составляет 9, Т1' представляет собой 2'-F, q^2 составляет 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^3 составляет 4, Т2' представляет собой 2'-F, q^4 составляет 2, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^5 составляет 5, Т3' представляет собой 2'-F, q^6 составляет 1, В4' представляет собой 2'-ОМе, и q^7 составляет 1;

В одном из вариантов осуществления В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n^1 составляет 8, Т1 представляет собой 2'-F, n^2 составляет 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n^3 составляет 7, n^4 составляет 0, В3 представляет собой 2'-ОМе, n^5 составляет 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^1 составляет 9, Т1' представляет собой 2'-F, q^2 составляет 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^3 составляет 4, Т2' представляет собой 2'-F, q^4 составляет 2, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^5 составляет 5, Т3' представляет собой 2'-F, q^6 составляет 1, В4' представляет собой 2'-ОМе, и q^7 составляет 1; с двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положении 1-5 смысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца смысловой цепи), и двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положениях 1 и 2, и двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положениях 18-23 антисмысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца антисмысловой цепи). РНКи-средство также содержит 5'-VP. 5'-VP может являться 5'-E-VP, 5'-Z-VP или их комбинацией.

В одном из вариантов осуществления В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n^1 составляет 8, Т1 представляет собой 2'-F, n^2 составляет 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n^3 составляет 7, n^4 составляет 0, В3 представляет собой 2'-ОМе, n^5 составляет 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^1 составляет 9, Т1' представляет собой 2'-F, q^2 составляет 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^3 составляет 4, Т2' представляет собой 2'-F, q^4 составляет 2, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^5 составляет 5, Т3' представляет собой 2'-F, q^6 составляет 1, В4' представляет собой 2'-ОМе, и q^7 составляет 1; с двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положении 1-5 смысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца смысловой цепи), и двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положениях 1 и 2, и двумя модификациями

фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положениях 18-23 антисмысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца антисмысловой цепи). РНКи-средство также содержит 5'-PS₂.

В одном из вариантов осуществления В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n¹ составляет 8, T1 представляет собой 2'-F, n² составляет 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n³ составляет 7, n⁴ составляет 0, В3 представляет собой 2'-ОМе, n⁵ составляет 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q¹ составляет 9, T1' представляет собой 2'-F, q² составляет 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q³ составляет 4, T2' представляет собой 2'-F, q⁴ составляет 2, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q⁵ составляет 5, T3' представляет собой 2'-F, q⁶ составляет 1, В4' представляет собой 2'-ОМе, и q⁷ составляет 1; с двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положении 1-5 смысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца смысловой цепи), и двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положениях 1 и 2, и двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положениях 18-23 антисмысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца антисмысловой цепи). РНКи-средство также содержит 5'-дезоксигуанозин-5'-С-малонил.

В одном из вариантов осуществления В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n¹ составляет 8, T1 представляет собой 2'-F, n² составляет 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n³ составляет 7, n⁴ составляет 0, В3 представляет собой 2'-ОМе, n⁵ составляет 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q¹ составляет 9, T1' представляет собой 2'-F, q² составляет 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q³ составляет 4, q⁴ составляет 0, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q⁵ составляет 7, T3' представляет собой 2'-F, q⁶ составляет 1, В4' представляет собой 2'-ОМе, и q⁷ составляет 1. РНКи-средство также содержит 5'-Р.

В одном из вариантов осуществления В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n¹ составляет 8, T1 представляет собой 2'-F, n² составляет 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n³ составляет 7, n⁴ составляет 0, В3 представляет собой 2'-ОМе, n⁵ составляет 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q¹ составляет 9, T1' представляет собой 2'-F, q² составляет 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q³ составляет 4, q⁴ составляет 0, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q⁵ составляет 7, T3' представляет собой 2'-F, q⁶ составляет 1, В4' представляет собой 2'-ОМе, и q⁷ составляет 1. дцРНК-средство также содержит 5'-PS.

В одном из вариантов осуществления В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n¹ составляет 8, T1 представляет собой 2'-F, n² составляет 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n³ составляет 7, n⁴ составляет 0, В3 представляет собой 2'-ОМе, n⁵ составляет 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q¹ составляет 9, T1' представляет собой 2'-F, q² составляет 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q³ составляет 4, q⁴ составляет 0, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q⁵ составляет 7, T3' представляет собой 2'-F, q⁶ составляет 1, В4' представляет собой 2'-ОМе, и q⁷ составляет 1. РНКи-средство также содержит 5'-VP. 5'-VP может являться 5'-E-VP, 5'-Z-VP или их комбинацией.

составляет 7, n^4 составляет 0, В3 представляет собой 2'-ОМе, n^5 составляет 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^1 составляет 9, Т1' представляет собой 2'-F, q^2 составляет 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^3 составляет 4, q^4 составляет 0, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^5 составляет 7, Т3' представляет собой 2'-F, q^6 составляет 1, В4' представляет собой 2'-ОМе, и q^7 составляет 1; с двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положении 1-5 смысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца), и двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положениях 1 и 2, и двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положениях 18-23 антисмысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца). РНКи-средство также содержит 5'-VP. 5'-VP может являться 5'-E-VP, 5'-Z-VP или их комбинацией.

В одном из вариантов осуществления В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n^1 составляет 8, Т1 представляет собой 2'-F, n^2 составляет 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n^3 составляет 7, n^4 составляет 0, В3 представляет собой 2'-ОМе, n^5 составляет 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^1 составляет 9, Т1' представляет собой 2'-F, q^2 составляет 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^3 составляет 4, q^4 составляет 0, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^5 составляет 7, Т3' представляет собой 2'-F, q^6 составляет 1, В4' представляет собой 2'-ОМе, и q^7 составляет 1; с двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положении 1-5 смысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца), и двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положениях 1 и 2, и двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положениях 18-23 антисмысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца). РНКи-средство также содержит 5'-PS₂.

В одном из вариантов осуществления В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n^1 составляет 8, Т1 представляет собой 2'-F, n^2 составляет 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n^3 составляет 7, n^4 составляет 0, В3 представляет собой 2'-ОМе, n^5 составляет 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^1 составляет 9, Т1' представляет собой 2'-F, q^2 составляет 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^3 составляет 4, q^4 составляет 0, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^5 составляет 7, Т3' представляет собой 2'-F, q^6 составляет 1, В4' представляет собой 2'-ОМе, и q^7 составляет 1; с двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положении 1-5 смысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца), и двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положениях 1 и 2, и двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положениях 18-23 антисмысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца). РНКи-средство также содержит 5'-дезоксид-5'-C-малонил.

В одном из вариантов осуществления В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n^1 составляет 8, Т1 представляет собой 2'-F, n^2 составляет 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n^3 составляет 7, n^4 составляет 0, В3 представляет собой 2'-ОМе, n^5 составляет 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^1 составляет 9, Т1' представляет собой 2'-F, q^2 составляет 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^3 составляет 4, Т2' представляет собой 2'-F, q^4 составляет 2, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^5 составляет 5, Т3'

собой 2'-F, q⁴ составляет 2, B3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q⁵ составляет 5, T3' представляет собой 2'-F, q⁶ составляет 1, B4' представляет собой 2'-F, и q⁷ составляет 1; с двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положении 1-5 смысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца смысловой цепи), и двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положениях 1 и 2, и двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положениях 18-23 антисмысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца антисмысловой цепи). РНКи-средство также содержит 5'-Р.

В одном из вариантов осуществления В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n^1 составляет 8, Т1 представляет собой 2'-F, n^2 составляет 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n^3 составляет 7, n^4 составляет 0, В3 представляет собой 2'-ОМе, n^5 составляет 3, В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^1 составляет 9, Т1' представляет собой 2'-F, q^2 составляет 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^3 составляет 4, Т2' представляет собой 2'-F, q^4 составляет 2, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^5 составляет 5, Т3' представляет собой 2'-F, q^6 составляет 1, В4' представляет собой 2'-F, и q^7 составляет 1; с двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положении 1-5 смысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца смысловой цепи), и двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положениях 1 и 2, и двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положениях 18-23 антисмысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца антисмысловой цепи). РНКи-средство также содержит 5'-PS.

В одном из вариантов осуществления В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n^1 составляет 8, Т1 представляет собой 2'-F, n^2 составляет 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n^3 составляет 7, n^4 составляет 0, В3 представляет собой 2'-ОМе, n^5 составляет 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^1 составляет 9, Т1' представляет собой 2'-F, q^2 составляет 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^3 составляет 4, Т2' представляет собой 2'-F, q^4 составляет 2, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^5 составляет 5, Т3' представляет собой 2'-F, q^6 составляет 1, В4' представляет собой 2'-F, и q^7 составляет 1; с двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положении 1-5 смысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца смысловой цепи), и двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положениях 1 и 2, и двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положениях 18-23 антисмысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца антисмысловой цепи). РНКи-средство также содержит 5'-VP. 5'-VP может являться 5'-E-VP, 5'-Z-VP или их комбинацией.

В одном из вариантов осуществления В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n^1 составляет 8, Т1 представляет собой 2'-F, n^2 составляет 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n^3 составляет 7, n^4 составляет 0, В3 представляет собой 2'-ОМе, n^5 составляет 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^1 составляет 9, Т1' представляет собой 2'-F, q^2 составляет 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^3 составляет 4, Т2' представляет собой 2'-F, q^4 составляет 2, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^5 составляет 5, Т3' представляет собой 2'-F, q^6 составляет 1, В4' представляет собой 2'-F, и q^7 составляет 1; с двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положении 1-5

смысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца смысловой цепи), и двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положениях 1 и 2, и двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положениях 18-23 антисмысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца антисмысловой цепи). РНКи-средство также содержит 5'-PS₂.

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

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

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

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

составляет 1, В4' представляет собой 2'-F, и q⁷ составляет 1. РНКи-средство также содержит 5'-VP. 5'-VP может являться 5'-E-VP, 5'-Z-VP или их комбинацией.

В одном из вариантов осуществления В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n¹ составляет 8, Т1 представляет собой 2'-F, n² составляет 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n³ составляет 7, n⁴ составляет 0, В3 представляет собой 2'-ОМе, n⁵ составляет 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q¹ составляет 9, Т1' представляет собой 2'-F, q² составляет 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q³ составляет 4, q⁴ составляет 0, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q⁵ составляет 7, Т3' представляет собой 2'-F, q⁶ составляет 1, В4' представляет собой 2'-F, и q⁷ составляет 1. РНКи-средство также содержит 5'-PS₂.

В одном из вариантов осуществления В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n¹ составляет 8, Т1 представляет собой 2'-F, n² составляет 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n³ составляет 7, n⁴ составляет 0, В3 представляет собой 2'-ОМе, n⁵ составляет 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q¹ составляет 9, Т1' представляет собой 2'-F, q² составляет 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q³ составляет 4, q⁴ составляет 0, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q⁵ составляет 7, Т3' представляет собой 2'-F, q⁶ составляет 1, В4' представляет собой 2'-F, и q⁷ составляет 1. РНКи-средство также содержит 5'-дезоксигуанозин-5'-С-малонил.

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

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

в положениях 18-23 антисмысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца антисмысловой цепи). РНКи-средство также содержит 5'-PS.

В одном из вариантов осуществления В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n^1 составляет 8, T1 представляет собой 2'-F, n^2 составляет 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n^3 составляет 7, n^4 составляет 0, В3 представляет собой 2'-ОМе, n^5 составляет 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^1 составляет 9, T1' представляет собой 2'-F, q^2 составляет 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^3 составляет 4, q^4 составляет 0, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^5 составляет 7, ТЗ' представляет собой 2'-F, q^6 составляет 1, В4' представляет собой 2'-F, и q^7 составляет 1; с двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положении 1-5 смысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца смысловой цепи), и двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положениях 1 и 2, и двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положениях 18-23 антисмысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца антисмысловой цепи). РНКи-средство также содержит 5'-VP. 5'-VP может являться 5'-E-VP, 5'-Z-VP или их комбинацией.

В одном из вариантов осуществления В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n^1 составляет 8, T1 представляет собой 2'-F, n^2 составляет 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n^3 составляет 7, n^4 составляет 0, В3 представляет собой 2'-ОМе, n^5 составляет 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^1 составляет 9, T1' представляет собой 2'-F, q^2 составляет 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^3 составляет 4, q^4 составляет 0, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^5 составляет 7, ТЗ' представляет собой 2'-F, q^6 составляет 1, В4' представляет собой 2'-F, и q^7 составляет 1; с двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положении 1-5 смысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца смысловой цепи), и двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положениях 1 и 2, и двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положениях 18-23 антисмысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца антисмысловой цепи). РНКи-средство также содержит 5'-PS₂.

В одном из вариантов осуществления В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n^1 составляет 8, T1 представляет собой 2'-F, n^2 составляет 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n^3 составляет 7, n^4 составляет 0, В3 представляет собой 2'-ОМе, n^5 составляет 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^1 составляет 9, T1' представляет собой 2'-F, q^2 составляет 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^3 составляет 4, q^4 составляет 0, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^5 составляет 7, ТЗ' представляет собой 2'-F, q^6 составляет 1, В4' представляет собой 2'-F, и q^7 составляет 1; с двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положении 1-5 смысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца смысловой цепи), и двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положениях 1 и 2, и двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положениях 18-23 антисмысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца антисмысловой цепи). РНКи-средство также содержит 5'-дезоксиг-5'-С-малонил.

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

В одном из вариантов осуществления 5'-VP находится на 5'-конце антисмысловой цепи, и нацеливающий лиганд находится на 3'-конце смысловой цепи.

В одном из вариантов осуществления В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n^1 составляет 8, Т1 представляет собой 2'-F, n^2 составляет 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n^3 составляет 7, n^4 составляет 0, В3 представляет собой 2'-ОМе, n^5 составляет 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^1 составляет 9, Т1' представляет собой 2'-F, q^2 составляет 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^3 составляет 4, Т2' представляет собой 2'-F, q^4 составляет 2, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^5 составляет 5, Т3' представляет собой 2'-F, q^6 составляет 1, В4' представляет собой 2'-ОМе, и q^7 составляет 1; с двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положении 1-5 смысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца смысловой цепи), и двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положениях 1 и 2, и двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положениях 18-23 антисмысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца антисмысловой цепи). РНКи-средство также содержит 5'-PS₂ и нацеливающий лиганд. В одном из вариантов осуществления 5'-PS₂ находится на 5'-конце антисмысловой цепи, и нацеливающий лиганд находится на 3'-конце смысловой цепи.

В одном из вариантов осуществления В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n^1 составляет 8, Т1 представляет собой 2'-F, n^2 составляет 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n^3 составляет 7, n^4 составляет 0, В3 представляет собой 2'-ОМе, n^5 составляет 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^1 составляет 9, Т1' представляет собой 2'-F, q^2 составляет 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^3 составляет 4, Т2' представляет собой 2'-F, q^4 составляет 2, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^5 составляет 5, Т3' представляет собой 2'-F, q^6 составляет 1, В4' представляет собой 2'-ОМе, и q^7 составляет 1; с двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положении 1-5 смысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца смысловой цепи), и двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положениях 1 и 2, и двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положениях 18-23 антисмысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца антисмысловой цепи). РНКи-средство также содержит 5'-дезоксидезокси-5'-С-малонил и нацеливающий лиганд. В одном из вариантов осуществления 5'-дезоксидезокси-5'-С-малонил находится на 5'-конце антисмысловой цепи, и нацеливающий лиганд находится на 3'-конце смысловой цепи.

В одном из вариантов осуществления В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n^1 составляет 8, Т1 представляет собой 2'-F, n^2 составляет 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n^3 составляет 7, n^4 составляет 0, В3 представляет собой 2'-ОМе, n^5 составляет 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^1 составляет 9, Т1' представляет собой 2'-F, q^2 составляет 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^3 составляет 4, q^4 составляет 0, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^5 составляет 7, Т3' представляет собой 2'-F, q^6 составляет 1, В4' представляет собой 2'-ОМе, и q^7 составляет 1; с двумя модификациями

фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положении 1-5 смысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца), и двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положениях 1 и 2, и двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положениях 18-23 антисмысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца). РНКи-средство также содержит 5'-Р и нацеливающий лиганд. В одном из вариантов осуществления 5'-Р находится на 5'-конце антисмысловой цепи, и нацеливающий лиганд находится на 3'-конце смысловой цепи.

В одном из вариантов осуществления В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n^1 составляет 8, Т1 представляет собой 2'-F, n^2 составляет 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n^3 составляет 7, n^4 составляет 0, В3 представляет собой 2'-ОМе, n^5 составляет 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^1 составляет 9, Т1' представляет собой 2'-F, q^2 составляет 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^3 составляет 4, q^4 составляет 0, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^5 составляет 7, Т3' представляет собой 2'-F, q^6 составляет 1, В4' представляет собой 2'-ОМе, и q^7 составляет 1; с двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положении 1-5 смысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца), и двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положениях 18-23 антисмысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца). РНКи-средство также содержит 5'-PS и нацеливающий лиганд. В одном из вариантов осуществления 5'-PS находится на 5'-конце антисмысловой цепи, и нацеливающий лиганд находится на 3'-конце смысловой цепи.

В одном из вариантов осуществления В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n^1 составляет 8, Т1 представляет собой 2'-F, n^2 составляет 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n^3 составляет 7, n^4 составляет 0, В3 представляет собой 2'-ОМе, n^5 составляет 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^1 составляет 9, Т1' представляет собой 2'-F, q^2 составляет 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^3 составляет 4, q^4 составляет 0, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^5 составляет 7, Т3' представляет собой 2'-F, q^6 составляет 1, В4' представляет собой 2'-ОМе, и q^7 составляет 1; с двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положении 1-5 смысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца), и двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положениях 18-23 антисмысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца). РНКи-средство также содержит 5'-VP (например, 5'-E-VP, 5'-Z-VP или их комбинацию) и нацеливающий лиганд. В одном из вариантов осуществления 5'-VP находится на 5'-конце антисмысловой цепи, и нацеливающий лиганд находится на 3'-конце смысловой цепи.

В одном из вариантов осуществления В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n^1 составляет 8, Т1 представляет собой 2'-F, n^2 составляет 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n^3 составляет 7, n^4 составляет 0, В3 представляет собой 2'-ОМе, n^5 составляет 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^1 составляет 9, Т1' представляет собой 2'-F, q^2 составляет 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^3 составляет 4, q^4 составляет 0, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^5 составляет 7, Т3' представляет собой 2'-F, q^6 составляет 1, В4' представляет собой 2'-ОМе, и q^7 составляет 1; с двумя модификациями

фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положении 1-5 смысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца), и двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положениях 1 и 2, и двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положениях 18-23 антисмысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца). РНКи-средство также содержит 5'-PS₂ и нацеливающий лиганд. В одном из вариантов осуществления 5'-PS₂ находится на 5'-конце антисмысловой цепи, и нацеливающий лиганд находится на 3'-конце смысловой цепи.

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

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

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

представляет собой 2'-F, q⁶ составляет 1, B4' представляет собой 2'-F, и q⁷ составляет 1; с двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положении 1-5 смысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца смысловой цепи), и двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положениях 1 и 2, и двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положениях 18-23 антисмысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца антисмысловой цепи). РНКи-средство также содержит 5'-PS и нацеливающий лиганд. В одном из вариантов осуществления 5'-PS находится на 5'-конце антисмысловой цепи, и нацеливающий лиганд находится на 3'-конце смысловой цепи.

В одном из вариантов осуществления B1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n¹ представляет собой 8, T1 представляет собой 2'-F, n² представляет собой 3, B2 представляет собой 2'-ОМе, n³ представляет собой 7, n⁴ представляет собой 0, B3 представляет собой 2'-ОМе, n⁵ представляет собой 3, B1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q¹ представляет собой 9, T1' представляет собой 2'-F, q² представляет собой 1, B2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q³ представляет собой 4, T2' представляет собой 2'-F, q⁴ представляет собой 2, B3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q⁵ представляет собой 5, T3' представляет собой 2'-F, q⁶ представляет собой 1, B4' представляет собой 2'-F, и q⁷ представляет собой 1; с двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положении 1-5 смысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца смысловой цепи), и двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положениях 1 и 2, и двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положениях 18-23 антисмысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца антисмысловой цепи). РНКи-средство также содержит 5'-VP (например, 5'-E-VP, 5'-Z-VP или их комбинацию) и нацеливающий лиганд. В одном из вариантов осуществления 5'-VP находится на 5'-конце антисмысловой цепи, и нацеливающий лиганд находится на 3'-конце смысловой цепи.

В одном из вариантов осуществления B1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n¹ представляет собой 8, T1 представляет собой 2'-F, n² представляет собой 3, B2 представляет собой 2'-ОМе, n³ представляет собой 7, n⁴ представляет собой 0, B3 представляет собой 2'-ОМе, n⁵ представляет собой 3, B1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q¹ представляет собой 9, T1' представляет собой 2'-F, q² представляет собой 1, B2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q³ представляет собой 4, T2' представляет собой 2'-F, q⁴ представляет собой 2, B3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q⁵ представляет собой 5, T3' представляет собой 2'-F, q⁶ представляет собой 1, B4' представляет собой 2'-F, и q⁷ представляет собой 1; с двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положении 1-5 смысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца смысловой цепи), и двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положениях 1 и 2, и двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положениях 18-23 антисмысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца антисмысловой цепи). РНКи-средство также содержит 5'-PS₂ и нацеливающий лиганд. В одном из вариантов осуществления 5'-PS₂ находится на 5'-конце антисмысловой цепи, и нацеливающий лиганд находится на 3'-конце смысловой цепи.

В одном из вариантов осуществления В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n^1 представляет собой 8, T1 представляет собой 2'-F, n^2 представляет собой 3, B2 представляет собой 2'-ОМе, n^3 представляет собой 7, n^4 представляет собой 0, B3 представляет собой 2'-ОМе, n^5 представляет собой 3, B1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^1 представляет собой 9, T1' представляет собой 2'-F, q^2 представляет собой 1, B2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^3 представляет собой 4, T2' представляет собой 2'-F, q^4 представляет собой 2, B3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^5 представляет собой 5, T3' представляет собой 2'-F, q^6 представляет собой 1, B4' представляет собой 2'-F, и q^7 представляет собой 1; с двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положении 1-5 смысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца смысловой цепи), и двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положениях 1 и 2, и двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положениях 18-23 антисмысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца антисмысловой цепи). РНКи-средство также содержит 5'-дезоксипентозин-3'-малонил и нацеливающий лиганд. В одном из вариантов осуществления 5'-дезоксипентозин-3'-малонил находится на 5'-конце антисмысловой цепи, и нацеливающий лиганд находится на 3'-конце смысловой цепи.

В одном из вариантов осуществления В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n^1 представляет собой 8, T1 представляет собой 2'-F, n^2 представляет собой 3, B2 представляет собой 2'-ОМе, n^3 представляет собой 7, n^4 представляет собой 0, B3 представляет собой 2'-ОМе, n^5 представляет собой 3, B1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^1 представляет собой 9, T1' представляет собой 2'-F, q^2 представляет собой 1, B2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^3 представляет собой 4, q^4 представляет собой 0, B3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^5 представляет собой 7, T3' представляет собой 2'-F, q^6 представляет собой 1, B4' представляет собой 2'-F, и q^7 представляет собой 1; с двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положении 1-5 смысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца смысловой цепи), и двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положениях 1 и 2, и двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положениях 18-23 антисмысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца антисмысловой цепи). РНКи-средство также содержит 5'-Р и нацеливающий лиганд. В одном из вариантов осуществления 5'-Р находится на 5'-конце антисмысловой цепи, и нацеливающий лиганд находится на 3'-конце смысловой цепи.

В одном из вариантов осуществления В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n^1 представляет собой 8, T1 представляет собой 2'-F, n^2 представляет собой 3, B2 представляет собой 2'-ОМе, n^3 представляет собой 7, n^4 представляет собой 0, B3 представляет собой 2'-ОМе, n^5 представляет собой 3, B1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^1 представляет собой 9, T1' представляет собой 2'-F, q^2 представляет собой 1, B2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^3 представляет собой 4, q^4 представляет собой 0, B3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^5 представляет собой 7, T3' представляет собой 2'-F, q^6 представляет собой 1, B4' представляет собой 2'-F, и q^7 представляет собой 1; с двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положении 1-5 смысловой цепи (отсчитывая от

5'-конца смысловой цепи), и двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положениях 1 и 2, и двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положениях 18-23 антисмысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца антисмысловой цепи). РНКи-средство также содержит 5'-PS и нацеливающий лиганд. В одном из вариантов осуществления 5'-PS находится на 5'-конце антисмысловой цепи, и нацеливающий лиганд находится на 3'-конце смысловой цепи.

В одном из вариантов осуществления B1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n^1 представляет собой 8, T1 представляет собой 2'-F, n^2 представляет собой 3, B2 представляет собой 2'-ОМе, n^3 представляет собой 7, n^4 представляет собой 0, B3 представляет собой 2'-ОМе, n^5 представляет собой 3, B1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^1 представляет собой 9, T1' представляет собой 2'-F, q^2 представляет собой 1, B2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^3 представляет собой 4, q^4 представляет собой 0, B3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^5 представляет собой 7, T3' представляет собой 2'-F, q^6 представляет собой 1, B4' представляет собой 2'-F, и q^7 представляет собой 1; с двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положении 1-5 смысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца смысловой цепи), и двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положениях 1 и 2, и двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положениях 18-23 антисмысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца антисмысловой цепи). РНКи-средство также содержит 5'-VP (например, 5'-E-VP, 5'-Z-VP или их комбинацию) и нацеливающий лиганд. В одном из вариантов осуществления 5'-VP находится на 5'-конце антисмысловой цепи, и нацеливающий лиганд находится на 3'-конце смысловой цепи.

В одном из вариантов осуществления B1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n^1 представляет собой 8, T1 представляет собой 2'-F, n^2 представляет собой 3, B2 представляет собой 2'-ОМе, n^3 представляет собой 7, n^4 представляет собой 0, B3 представляет собой 2'-ОМе, n^5 представляет собой 3, B1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^1 представляет собой 9, T1' представляет собой 2'-F, q^2 представляет собой 1, B2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^3 представляет собой 4, q^4 представляет собой 0, B3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^5 представляет собой 7, T3' представляет собой 2'-F, q^6 представляет собой 1, B4' представляет собой 2'-F, и q^7 представляет собой 1; с двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положении 1-5 смысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца смысловой цепи), и двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положениях 1 и 2, и двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положениях 18-23 антисмысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца антисмысловой цепи). РНКи-средство также содержит 5'-PS₂ и нацеливающий лиганд. В одном из вариантов осуществления 5'-PS₂ находится на 5'-конце антисмысловой цепи, и нацеливающий лиганд находится на 3'-конце смысловой цепи.

В одном из вариантов осуществления B1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n^1 представляет собой 8, T1 представляет собой 2'-F, n^2 представляет собой 3, B2 представляет собой 2'-ОМе, n^3 представляет собой 7, n^4 представляет собой 0, B3 представляет собой 2'-ОМе, n^5 представляет собой 3, B1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^1 представляет

собой 9, T1' представляет собой 2'-F, q² представляет собой 1, B2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q³ представляет собой 4, q⁴ представляет собой 0, B3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q⁵ представляет собой 7, T3' представляет собой 2'-F, q⁶ представляет собой 1, B4' представляет собой 2'-F, и q⁷ представляет собой 1; с двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положении 1-5 смысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца смысловой цепи), и двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положениях 1 и 2, и двумя модификациями фосфотиоатной межнуклеотидной связи в положениях 18-23 антисмысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца антисмысловой цепи). РНКи-средство также содержит 5'-дезоксигуанозин-5'-С-малонил и нацеливающий лиганд. В одном из вариантов осуществления 5'-дезоксигуанозин-5'-С-малонил находится на 5'-конце антисмысловой цепи, и нацеливающий лиганд находится на 3'-конце смысловой цепи.

В конкретном варианте осуществления РНКи-средство по настоящему изобретению содержит:

- (а) смысловую цепь, имеющую:
 - (i) длину 21 нуклеотид;
 - (ii) лиганд ASGPR, соединенный с 3'-концом, где указанный лиганд ASGPR содержит три производных GalNAc, присоединенные через тривалентный разветвленный линкер; и
 - (iii) 2'-F модификации в положениях 1, 3, 5, 7, 9-11, 13, 17, 19 и 21 и 2'-ОМе-модификации в положениях 2, 4, 6, 8, 12, 14-16, 18 и 20 (отсчитывая от 5'-конца);
 - и
 - (b) антисмысловую цепь, имеющую:
 - (i) длину 23 нуклеотида;
 - (ii) 2'-ОМе-модификации в положениях 1, 3, 5, 9, 11-13, 15, 17, 19, 21 и 23 и 2'-F модификации в положениях 2, 4, 6-8, 10, 14, 16, 18, 20 и 22 (отсчитывая от 5'-конца); и
 - (iii) фосфотиоатные межнуклеотидные связи между положениями нуклеотидов 21 и 22 и между положениями нуклеотидов 22 и 23 (отсчитывая от 5'-конца);
- где дцРНК-средства имеют двухнуклеотидный липкий конец на 3'-конце антисмысловой цепи и тупой конец на 5'-конце антисмысловой цепи.

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

- (а) смысловую цепь, имеющую:
 - (i) длину 21 нуклеотид;
 - (ii) лиганд ASGPR, соединенный с 3'-концом, где указанный лиганд ASGPR содержит три производных GalNAc, присоединенные через тривалентный разветвленный линкер;
 - (iii) 2'-F модификации в положениях 1, 3, 5, 7, 9-11, 13, 15, 17, 19 и 21, и 2'-ОМе-модификации в положениях 2, 4, 6, 8, 12, 14, 16, 18 и 20 (отсчитывая от 5'-конца); и
 - (iv) фосфотиоатные межнуклеотидные связи между положениями нуклеотидов 1 и 2 и между положениями нуклеотидов 2 и 3 (отсчитывая от 5'-конца);

и

(b) антисмысловую цепь, имеющую:

(i) длину 23 нуклеотида;

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

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

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

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

(a) смысловую цепь, имеющую:

(i) длину 21 нуклеотид;

(ii) лиганд ASGPR, соединенный с 3'-концом, где указанный лиганд ASGPR содержит три производных GalNAc, присоединенные через тривалентный разветвленный линкер;

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

(iv) фосфотиоатные межнуклеотидные связи между положениями нуклеотидов 1 и 2 и между положениями нуклеотидов 2 и 3 (отсчитывая от 5'-конца);

и

(b) антисмысловую цепь, имеющую:

(i) длину 23 нуклеотида;

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

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

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

В другом конкретном варианте осуществления RNAi-средство по настоящему изобретению содержит:

(a) смысловую цепь, имеющую:

(i) длину 21 нуклеотид;

(ii) лиганд ASGPR, соединенный с 3'-концом, где указанный лиганд ASGPR содержит три производных GalNAc, присоединенные через тривалентный разветвленный линкер;

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

(iv) фосфотиоатные межнуклеотидные связи между положениями нуклеотидов 1 и 2 и между положениями нуклеотидов 2 и 3 (отсчитывая от 5'-конца);

и

(b) антисмысловую цепь, имеющую:

(i) длину 23 нуклеотида;

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

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

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

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

(a) смысловую цепь, имеющую:

(i) длину 21 нуклеотид;

(ii) лиганд ASGPR, соединенный с 3'-концом, где указанный лиганд ASGPR содержит три производных GalNAc, присоединенные через тривалентный разветвленный линкер;

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

(iv) фосфотиоатные межнуклеотидные связи между положениями нуклеотидов 1 и 2 и между положениями нуклеотидов 2 и 3 (отсчитывая от 5'-конца);

и

(b) антисмысловую цепь, имеющую:

(i) длину 23 нуклеотида;

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

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

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

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

(a) смысловую цепь, имеющую:

(i) длину 21 нуклеотид;

(ii) лиганд ASGPR, соединенный с 3'-концом, где указанный лиганд ASGPR содержит три производных GalNAc, присоединенные через тривалентный разветвленный линкер;

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

(iv) фосфотиоатные межнуклеотидные связи между положениями нуклеотидов 1 и 2 и между положениями нуклеотидов 2 и 3 (отсчитывая от 5'-конца);

и

(b) антисмысловую цепь, имеющую:

(i) длину 23 нуклеотида;

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

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

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

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

(a) смысловую цепь, имеющую:

(i) длину 21 нуклеотид;

(ii) лиганд ASGPR, соединенный с 3'-концом, где указанный лиганд ASGPR содержит три производных GalNAc, присоединенные через тривалентный разветвленный линкер;

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

(iv) фосфотиоатные межнуклеотидные связи между положениями нуклеотидов 1 и 2 и между положениями нуклеотидов 2 и 3 (отсчитывая от 5'-конца);

и

(b) антисмысловую цепь, имеющую:

(i) длину 25 нуклеотидов;

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

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

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

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

(a) смысловую цепь, имеющую:

(i) длину 21 нуклеотид;

(ii) лиганд ASGPR, соединенный с 3'-концом, где указанный лиганд ASGPR содержит три производных GalNAc, присоединенные через тривалентный разветвленный линкер;

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

(iv) фосфотиоатные межнуклеотидные связи между положениями нуклеотидов 1 и 2 и между положениями нуклеотидов 2 и 3 (отсчитывая от 5'-конца);

и

(b) антисмысловую цепь, имеющую:

(i) длину 23 нуклеотида;

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

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

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

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

(a) смысловую цепь, имеющую:

(i) длину 21 нуклеотид;

(ii) лиганд ASGPR, соединенный с 3'-концом, где указанный лиганд ASGPR содержит три производных GalNAc, присоединенные через тривалентный разветвленный линкер;

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

(iv) фосфотиоатные межнуклеотидные связи между положениями нуклеотидов 1 и 2 и между положениями нуклеотидов 2 и 3 (отсчитывая от 5'-конца);

и

(b) антисмысловую цепь, имеющую:

(i) длину 23 нуклеотида;

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

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

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

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

(a) смысловую цепь, имеющую:

(i) длину 19 нуклеотидов;

(ii) лиганд ASGPR, соединенный с 3'-концом, где указанный лиганд ASGPR содержит три производных GalNAc, присоединенные через тривалентный разветвленный линкер;

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

(iv) фосфотиоатные межнуклеотидные связи между положениями нуклеотидов 1 и 2 и между положениями нуклеотидов 2 и 3 (отсчитывая от 5'-конца);

и

(b) антисмысловую цепь, имеющую:

(i) длину 21 нуклеотид;

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

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

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

В некоторых вариантах осуществления iRNA для использования в способах по изобретению является средством, выбранным из средств, приведенных в любой из таблиц 2-3 и 6-7. Эти средства могут дополнительно содержать лиганд.

III. iRNA, конъюгированные с лигандами

Другая модификация РНК из iRNA по изобретению включает химическое связывание с iRNA одного или более лигандов, функциональных фрагментов или конъюгатов, повышающих активность, клеточное распределение или захват клетками iRNA, например, в клетку. такие функциональные фрагменты включают, в качестве неограничивающих примеров, липидные остатки, такие как остаток холестерина (Letsinger *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1989, 86: 6553-6556). В других вариантах осуществления лиганд является холевой кислотой (Manoharan *et al.*, *Biorg. Med. Chem. Lett.*, 1994, 4:1053-1060), тиоэфиром, например, берил-S-тритилтиолом (Manoharan *et al.*, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1992, 660:306-309; Manoharan *et al.*, *Biorg. Med. Chem. Lett.*, 1993, 3:2765-2770), а тиохолестерином (Oberhauser *et al.*, *Nucl. Acids Res.*, 1992, 20:533-538), алифатической цепью, например, остатками додекандиола или ундецила (Saison-Behmoaras *et al.*, *EMBO J*, 1991, 10:1111-1118; Kabanov *et al.*, *FEBS Lett.*, 1990, 259:327-330; Svinarchuk *et al.*, *Biochimie*, 1993, 75:49-54), фосфолипидом, например, ди-гексадецил-гас-глицерином или 1,2-ди-О-

гексадецил-гас-глицеро-3-фосфонатом триэтиламмония (Manoharan *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, 1995, 36:3651-3654; Shea *et al.*, *Nucl. Acids Res.*, 1990, 18:3777-3783), полиамином или полиэтиленгликолевой цепью (Manoharan *et al.*, *Nucleosides & Nucleotides*, 1995, 14:969-973) или адамантануксусной кислотой (Manoharan *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, 1995, 36:3651-3654), пальмитиловым остатком (Mishra *et al.*, *Biochim. Biophys. Acta*, 1995, 1264:229-237) или остатком октадециламина или гексиламино-карбонилкохлестерина (Crooke *et al.*, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1996, 277:923-937).

В некоторых вариантах осуществления лиганд изменяет распределения, таргетинга или времени полужизни iRNA-средства, в которое он встроен. В некоторых вариантах осуществления лиганд обеспечивает повышенную аффинность к выбранной мишени, например, молекуле, клетке или типу клеток, компартменту, например, клеточному или органному компартменту, ткани, органу или области организма, например, по сравнению с видом, у которого отсутствует такой лиганд. В некоторых вариантах осуществления лиганды не участвуют в спаривании дуплекса в дуплексной нуклеиновой кислоте.

Лиганды могут включать природное вещество, такое как белок (например, сывороточный альбумин человека (HSA), липопротеин низкой плотности (LDL) или глобулин); углевод (например, декстран, пуллулан, хитин, хитозан, инулин, циклодекстрин, N-ацетилглюкозамин, N-ацетилгалактозамин или гиалуроновая кислота); или липид. Лиганд также может являться рекомбинантной или синтетической молекулой, такой как синтетический полимер, например, синтетическая полиаминокислота. Примеры полиаминокислот включают полилизин (PLL), поли-L-аспарагиновую кислоту, поли-L-глутаминовую кислоту, сополимер стирола и ангидрида малеиновой кислоты, сополимер поли(L-лактид-со-гликолид), сополимер дивиниловый простой эфир-малеиновый ангидрид, сополимер N-(2-гидроксипропил)метакриламид (НМРА), полиэтиленгликоль (PEG), поливиниловый спирт (PVA), полиуретан, поли(2-этилакриловая кислота), полимеры N-изопропилакриламида или полифосфазин. Примеры полиаминов включают: полиэтиленмин, полилизин (PLL), спермин, спермидин, полиамин, псевдопептид-полиамин, пептидомиметический полиамин, дендримерный полиамин, аргинин, амидин, протамин, катионный липид, катионный порфирина, четвертичную соль полиамина или альфа-спиральный пептид.

Лиганды также могут включать нацеливающие группы, например, нацеливающее на клетку или ткань средство, например, лектин, гликопротеин, липид или белок, например, антитело, связывающееся с определенным типом клеток, таким как клетка почки. Нацеливающая группа может представлять собой тиреотропин, меланотропин, лектин, гликопротеин, сурфактантный белок А, муциновый углевод, мультивалентную лактозу, мультивалентную галактозу, N-ацетилгалактозамин, N-ацетилглюкозамин, мультивалентную маннозу, мультивалентную фукозу, гликозилированные полиаминокислоты, мультивалентную галактозу, трансферрин, бисфосфонат, полиглутамат, полиаспарат, липид, холестерин, стероид, желчную кислоту, фолата, витамин B12, витамин А, биотин или пептид RGD или миметик пептида RGD. В некоторых

вариантах осуществления лиганд является мультивалентной галактозой, например, N-ацетилгалактозамином.

Другие примеры лигандов включают красители, интеркаляторы (например, акридины), кросслинкеры (например, псорален, митомицин C), порфирины (TPPC4, тексаферин, сапфирин), полициклические ароматические углеводороды (например, феназин, дигидрофеназин), искусственные эндонуклеазы (например, ЭДТА), липофильные молекулы, например, холестерин, холевую кислоту, адамантануксусную кислоту, 1-пирен-масляную кислоту, дигидротестостерон, 1,3-бис-О(гексадецил)глицерин, геранилосигексильную группу, гексадецилглицерин, борнеол, ментол, 1,3-пропандиол, гептадецильную группу, пальмитиновую кислоту, миристиновую кислоту, ОЗ-(олеоил)литохолевую кислоту, ОЗ-(олеоил)холеновую кислоту, диметокситритил или феноксазин, и пептидные конъюгаты (например, пептид Antennapedia, пептид Tat), алкилирующие средства, фосфат, аминогруппу, меркаптогруппу, PEG (например, PEG-40K), MPEG, [MPEG]₂, полиаминогруппу, алкил, замещенный алкил, радиоактивно меченые маркеры, ферменты, гаптены (например, биотин), факторы, облегчающие транспорт/абсорбцию (например, аспирин, витамин E, фолиевую кислоту), синтетические рибонуклеазы (например, имидазол, бисимидазол, гистамин, имидазоловые кластеры, конъюгаты акридин-имидазол, Eu³⁺ комплексы тетраазамакроциклов), динитрофенил, HRP или AP.

Лиганды могут являться белками, например, гликопротеинами, или пептидами, например, молекулами, имеющими специфическую аффинность к колиганду, или антителами, например, антителом, связывающимся с определенным типом клеток, таким как клетка печени. Лиганды также могут включать гормоны и рецепторы гормонов. Они также могут включать непептидные вещества, такие как липиды, лектины, углеводы, витамины, кофакторы, мультивалентная лактоза, мультивалентная галактоза, N-ацетилгалактозамин, N-ацетилглюкозамин, мультивалентная манноза или мультивалентная фукоза. Лиганд может являться, например, липополисахаридом, активатором киназы p38 MAP или активатором NF-κB.

Лиганд может являться веществом, например, лекарственным средством, которое может повышать захват iRNA-средства в клетку, например, нарушая цитоскелет клетки, например, разрушая микротрубочки, микрофиламенты или промежуточные филаменты клетки. Лекарственное средство может являться, например, таксолом, винкристином, винбластином, цитохалазином, нокадазолом, джасплакинолидом, латрункулином A, фаллоидином, свинголидом A, инданоцином или миосервином.

В некоторых вариантах осуществления лиганд, присоединенный к iRNA по изобретению, действует как фармакокинетический модулятор (модулятор PK). Модуляторы PK включают липофильные вещества, желчные кислоты, стероиды, аналоги фосфолипидов, пептиды, белок-связывающие средства, PEG, витамины и т.д. Неограничивающие примеры модуляторов PK включают холестерин, жирные кислоты, холевую кислоту, литохоловую кислоту, диалкилглицериды, диацилглицерид,

фосфолипиды, сфинголипиды, напроксен, ибупрофен, витамин Е, биотин. Олигонуклеотиды, содержащие ряд фосфотиоатных связей, также известны связыванием с белками сыворотки, таким образом, короткие олигонуклеотиды, например, олигонуклеотиды из приблизительно 5 оснований, 10 оснований, 15 оснований или 20 оснований, содержащие множество фосфотиоатных связей в остове, также подходят для настоящего изобретения в качестве лигандов (например, в качестве лигандов, модулирующих РК). Кроме того, аптамеры, связывающие компоненты сыворотки (например, белки сыворотки), также подходят для использования в качестве лигандов, модулирующих РК, в вариантах осуществления, представленных в настоящем описании.

Лиганд-конъюгированные iRNA по изобретению можно синтезировать с использованием олигонуклеотида, несущего пendantsкую реакционноспособную функциональную группу, такую как группа, полученная при присоединении связывающей молекулы к олигонуклеотиду (описан ниже). Этот реакционноспособный олигонуклеотид можно подвергать реакции напрямую с коммерчески доступными лигандами, лигандами, синтезированными несущими любые из множества защитных групп, или лигандами, имеющими присоединенный к ним связывающий функциональный фрагмент.

Олигонуклеотиды, используемые в конъюгатах по настоящему изобретению, можно удобно и рутинно получать хорошо известным способом твердофазного синтеза. Оборудование для такого синтеза коммерчески доступно у нескольких поставщиков, включая, например, Applied Biosystems® (Foster City, Calif.). Дополнительно или альтернативно, можно использовать любые другие способы такого синтеза, известные в этой области. Также известно использование схожих способов для получения других олигонуклеотидов, таких как фосфотиоаты и алкилированные производные.

В лиганд-конъюгированных iRNA и несущих молекулу лиганда, специфических в отношении последовательности, связанных нуклеозидах по настоящему изобретению олигонуклеотиды и олигонуклеозиды можно собирать с помощью подходящего ДНК-синтезатора с использованием стандартных предшественников нуклеотидов или нуклеозидов, или предшественников конъюгатов нуклеотидов или нуклеозидов, уже несущих связывающий функциональный фрагмент, предшественников конъюгатов лиганд-нуклеотид или -нуклеозид, уже несущих молекулу лиганда, или ненуклеозидных, несущих лиганд структурных блоков.

При использовании предшественников конъюгатов нуклеотидов, уже несущих связывающий функциональный фрагмент, синтез специфических в отношении последовательности, связанных нуклеозидов, как правило, является полным, и молекулу лиганда затем подвергают реакции со связывающим функциональным фрагментом с образованием лиганд-конъюгированного олигонуклеотида. В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотиды или связанные нуклеозиды по настоящему изобретению синтезируют с помощью автоматизированного синтезатора с использованием фосфорамидитов, полученных из конъюгатов лиганд-нуклеозид, в дополнение к

стандартным фосфорамидитам и нестандартным фосфорамидитам, являющимися коммерчески доступными и рутинно используемыми в синтезе олигонуклеотидов.

А. Липидные конъюгаты

В некоторых вариантах осуществления лиганд или конъюгат является липидом или молекулой на основе липида. В некоторых вариантах осуществления такой липид или молекула на основе липида связывается с белком сыворотки, например, сывороточным альбумином человека (HSA). HSA-связывающий лиганд делает возможным распределение конъюгата в целевую ткань, например, целевую ткань организма, не являющуюся почкой. Например, целевая ткань может представлять собой печень, включая паренхиматозные клетки печени. В качестве лигандов также можно использовать другие молекулы, которые могут связываться с HSA. Например, можно использовать напроксен или аспирин. Липид или лиганд на основе липида может (а) повышать резистентность к деградации конъюгата, (b) повышать таргетинг или транспорт в клетку-мишень или клеточную мембрану, или (с) его можно использовать для коррекции связывания с белком сыворотки, например, HSA.

Лиганд на основе липида можно использовать для ингибирования, например, контроля, связывания конъюгата с целевой тканью. Например, липид или лиганд на основе липида, связывающийся с HSA сильнее, с меньшей вероятностью будет нацелен в почку и, таким образом, с меньшей вероятностью подвергнется клиренсу из организма. Липид или лиганд на основе липида, связывающийся с HSA слабее, можно использовать для нацеливания конъюгата в почку.

В некоторых вариантах осуществления лиганд на основе липида связывается с HSA. В некоторых вариантах осуществления он связывается с HSA с достаточной аффинностью таким образом, что конъюгат будет распределяться в ткань, не являющуюся почкой. Однако, предпочтительно, аффинность не является настолько сильной, что связывание HSA-лиганд нельзя было бы реверсировать.

В других вариантах осуществления лиганд на основе липида связывается с HSA слабо или не связывается, таким образом, что конъюгат будет распределяться в почку. Вместо или в дополнение к лиганду на основе липида также можно использовать другие функциональные фрагменты, нацеливающие в клетки почки.

В другом аспекте лиганд является функциональным фрагментом, например, витамином, захватываемым клеткой-мишенью, например, пролиферирующей клеткой. Это особенно полезно для лечения нарушений, отличающихся нежелательной пролиферацией клеток, например, злокачественного или незлокачественного типа, например, злокачественных клеток. Примеры витаминов включают витамин А, Е и К. Другие примеры витаминов включают витамины группы В, например, фолиевую кислоту, В12, рибофлавин, биотин, пиридоксаль, или другие витамины или питательные вещества, захватываемые клетками-мишенями, такими как клетки печени. Также включены HSA и липопротеин низкой плотности (LDL).

В. Проникающие в клетку средства

В другом аспекте лиганд является проникающим в клетку средством, таким как спиральное проникающее в клетку средство. В некоторых вариантах осуществления средство является амфипатическим. Примером средства является пептид, такой как Tat или Antennopedia. Если средство является пептидом, оно может являться модифицированным, включающим пептидилмиметик, инвертомеры, непептидные или псевдопептидные связи и использование D-аминокислот. В некоторых вариантах осуществления спиральное средство является альфа-спиральным средством, имеющим липофильную и липофобную фазу.

Лиганд может являться пептидом или пептидомиметиком. Пептидомиметик (также обозначаемый в настоящем описании как олигопептидомиметик) представляет собой молекулу, способную к фолдингу в определенную трехмерную структуру, схожую с природным пептидом. Присоединение пептида и пептидомиметиков к iRNA-средствам может влиять на фармакокинетическое распределение iRNA, например, посредством повышения клеточного распознавания и абсорбции. Остаток пептида или пептидомиметика может иметь длину приблизительно 5-50 аминокислот, например, приблизительно 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 или 50 аминокислот.

Пептид или пептидомиметик может являться, например, проникающим в клетку пептидом, катионным пептидом, амфипатическим пептидом или гидрофобным пептидом (например, состоящим, главным образом, из Tyr, Trp или Phe). Пептидный остаток может являться дендримерным пептидом, затрудненным пептид или перекрестно сшитым пептидом. В другом альтернативном примере пептидный остаток может включать гидрофобную последовательность транслокации в мембрану (MTS). Примером гидрофобного MTS-содержащего пептида является RFGF, имеющий аминокислотную последовательность AAVALLPAVLLALLAP (SEQ ID NO: 17). Аналог RFGF (например, аминокислотная последовательность AALLPVLLAAP (SEQ ID NO: 18)), содержащий гидрофобную MTS, также может являться нацеливающим функциональным фрагментом. Пептидный остаток может являться пептидом "для доставки", который может нести крупные полярные молекулы, включая пептиды, олигонуклеотиды и белок, через клеточные мембраны. Например, обнаружено, что последовательности из белка Tat ВИЧ (GRKKRRQRRRPPQ (SEQ ID NO: 19) и белка Antennopedia *Drosophila* (RQIKIWFQNRRMKWKK (SEQ ID NO: 20) могут функционировать как пептиды для доставки. Пептид или пептидомиметик может кодироваться случайной последовательностью ДНК, например, пептид, идентифицированный с помощью библиотеки фагового дисплея или комбинаторной библиотеки "одна частица-одно соединение" (OBOC) (Lam *et al.*, Nature, 354:82-84, 1991). Примерами пептида или пептидомиметика, связанного с дцРНК-средством с помощью встроенной мономерной единицы в целях таргетинга клеток, являются пептид аргинин-глицин-аспарагиновая кислота (RGD) или миметик RGD. Пептидный остаток может иметь длину в диапазоне от приблизительно 5 аминокислот до приблизительно 40 аминокислот. Пептидные остатки могут иметь структурную модификацию, например, для повышения стабильности или

регуляции конформационных свойств. Можно использовать любые из описанных ниже структурных модификаций.

Пептид RGD для использования в композициях и способах по изобретению может являться линейным или циклическим и может являться модифицированным, например, гликозилированным или метилированным, для облегчения таргетинга в специфические ткани. RGD-содержащие пептиды и пептидомиметики могут включать D-аминокислоты, а также синтетические миметики RGD. В дополнение к RGD, можно использовать другие функциональные фрагменты, нацеленные на интегриновый лиганд, например, PECAM-1 или VEGF.

"Проникающий в клетку пептид" может проникать в клетку, например, клетку микроорганизма, такую как бактериальная или грибовая клетка, или клетку млекопитающего, такую как клетка человека. Проникающий в клетку микроорганизма пептид может являться, например, α -спиральным линейным пептидом (например, LL-37 или цекропином P1), содержащим дисульфидную связь пептидом (например, α -дефензином, β -дефензином или бактенецином) или пептидом, содержащим только одну или две доминирующие аминокислоты (например, PR-39 или индолицидин). Проникающий в клетку пептид также может включать сигнал ядерной локализации (NLS). Например, проникающий в клетку пептид может являться двухкомпонентным амфипатическим пептидом, таким как MPG, полученным из слитого пептида домена ВИЧ-1 gp41 и NLS большого Т-антигена SV40 (Simeoni *et al.*, Nucl. Acids Res. 31:2717-2724, 2003).

С. Углеводные конъюгаты

В некоторых вариантах осуществления композиций и способов по изобретению iRNA дополнительно содержит углеводов. Углевод-конъюгированная iRNA является предпочтительной для доставки *in vivo* нуклеиновых кислот, а также композиций, подходящих для терапевтического использования *in vivo*, как представлено в настоящем описании. В рамках изобретения термин "углевод" относится к соединению, являющемуся углеводом как таковым, состоящим из одной или более моносахаридных единиц, имеющих по меньшей мере 6 атомов углерода (который может являться линейным, разветвленным или циклическим) с атомом кислорода, азота или серы, соединенным с каждым атомом углерода; или соединением, имеющим в качестве своей части молекулу углевода, состоящую из одной или более моносахаридных единиц, каждая из которых содержит по меньшей мере шесть атомов углерода (который может являться линейным, разветвленным или циклическим) с атомом кислорода, азота или серы, соединенным с каждым атомом углерода. Типичные углеводы включают сахара (моно-, ди-, три- и олигосахариды, содержащие приблизительно 4, 5, 6, 7, 8 или 9 моносахаридных единиц) и полисахариды, такие как крахмалы, гликоген, целлюлозу и полисахаридные камеди. Конкретные моносахариды включают сахара C5 и выше (например, C5, C6, C7 или C8); ди- и трисахариды включают сахара, имеющие две или три моносахаридные единицы (например, C5, C6, C7 или C8).

В некоторых вариантах осуществления углеводный конъюгат для использования в композициях и способах по изобретению является моносахаридом.

В некоторых вариантах осуществления моносахарид является N-ацетилгалактозамином (GalNAc). Конъюгаты GalNAc, содержащие одно или более производных N-ацетилгалактозамина (GalNAc), описаны, например, в патенте США № 8106022, включенном в настоящее описание в качестве ссылки в полном объеме. В некоторых вариантах осуществления конъюгат GalNAc служит в качестве лиганда, нацеливающего iRNA на конкретные клетки. В некоторых вариантах осуществления конъюгат GalNAc нацеливает iRNA на клетки печени, например, служа в качестве лиганда для рецептора асиалогликопротеина клеток печени (например, гепатоцитов).

В некоторых вариантах осуществления углеводный конъюгат содержит одно или более производных GalNAc. Производные GalNAc можно присоединять с помощью линкера, например, бивалентного или тривалентного разветвленного линкера. В некоторых вариантах осуществления конъюгат GalNAc конъюгирован с 3'-концом смысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления конъюгат GalNAc конъюгирован с iRNA-средством (например, с 3'-концом смысловой цепи) с помощью линкера, например, линкера, как представлено в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления конъюгат GalNAc конъюгирован с 5'-концом смысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления конъюгат GalNAc конъюгирован с iRNA-средством (например, с 5'-концом смысловой цепи) с помощью линкера, например, линкера, как представлено в настоящем описании.

В некоторых вариантах осуществления GalNAc или производное GalNAc присоединено к iRNA-средству по изобретению с помощью моновалентного линкера. В некоторых вариантах осуществления GalNAc или производное GalNAc присоединено к iRNA-средству по изобретению с помощью бивалентного линкера. В других вариантах осуществления изобретения GalNAc или производное GalNAc присоединено к iRNA-средству по изобретению с помощью тривалентного линкера. В других вариантах осуществления изобретения GalNAc или производное GalNAc присоединено к iRNA-средству по изобретению с помощью тетравалентного линкера.

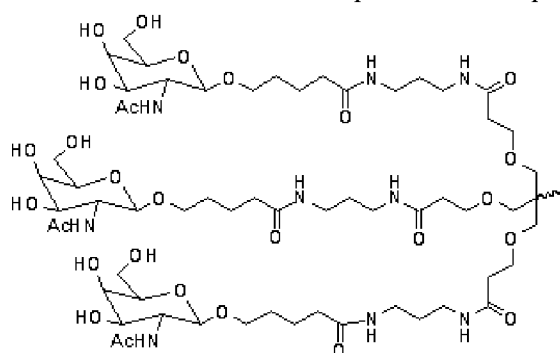
В некоторых вариантах осуществления двухцепочечные РНКи-средства по изобретению содержат один GalNAc или производное GalNAc, присоединенное к iRNA-средству. В некоторых вариантах осуществления двухцепочечные РНКи-средства по изобретению содержат множество (например, 2, 3, 4, 5 или 6) GalNAc или производных GalNAc, каждое из которых независимо присоединено к множеству нуклеотидов двухцепочечного РНКи-средств с помощью множества моновалентных линкеров.

В некоторых вариантах осуществления, например, если две цепи iRNA-средства по изобретению являются частью одной более крупной молекулы, соединенные непрерывной частью нуклеотидов между 3'-концом одной цепи и 5'-концом соответствующей другой цепи, образующей петлю-шпильку, содержащую множество неспаренных нуклеотидов, каждый неспаренный нуклеотид в петле-шпильке может независимо содержать GalNAc или производное GalNAc, присоединенное с помощью моновалентного линкера. Петля-

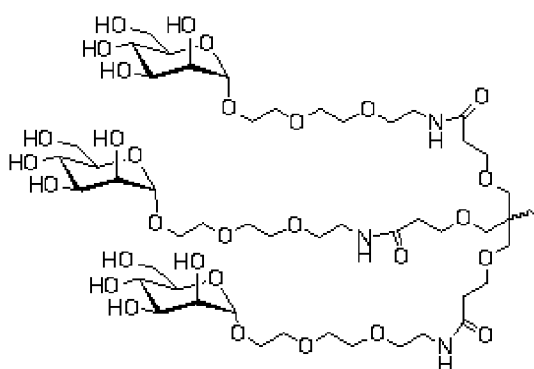
шпилька также может быть образована удлинённым липким концом на одной цепи дуплекса.

В некоторых вариантах осуществления, например, если две цепи iRNA-средства по изобретению являются частью одной более крупной молекулы, соединённые непрерывной частью нуклеотидов между 3'-концом одной цепи и 5'-концом соответствующей другой цепи, образующей петлю-шпильку, содержащую множество неспаренных нуклеотидов, каждый неспаренный нуклеотид в петле-шпильке может независимо содержать GalNAc или производное GalNAc, присоединённое с помощью моновалентного линкера. Петля-шпилька также может быть образована удлинённым липким концом на одной цепи дуплекса.

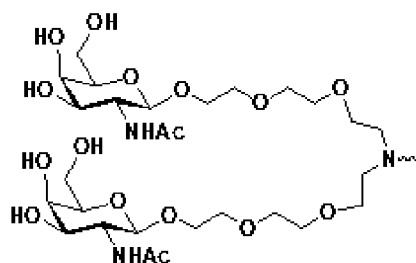
В одном из вариантов осуществления углеводный конъюгат для использования в композициях и способах по изобретению выбран из группы, состоящей из:



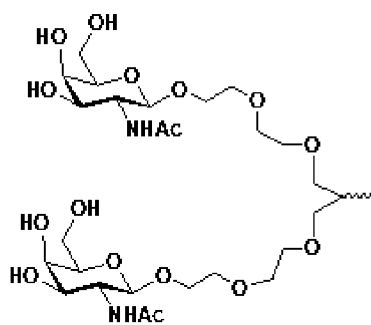
формулы II,



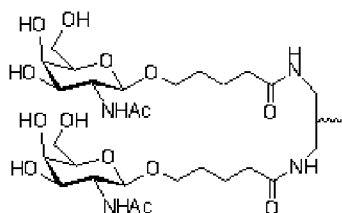
формулы III,



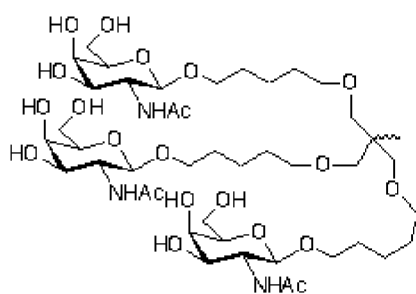
формулы IV,



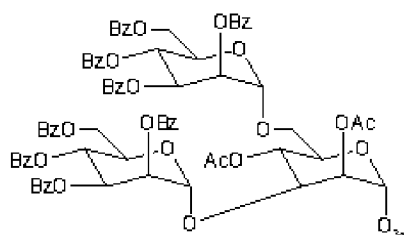
формулы V,



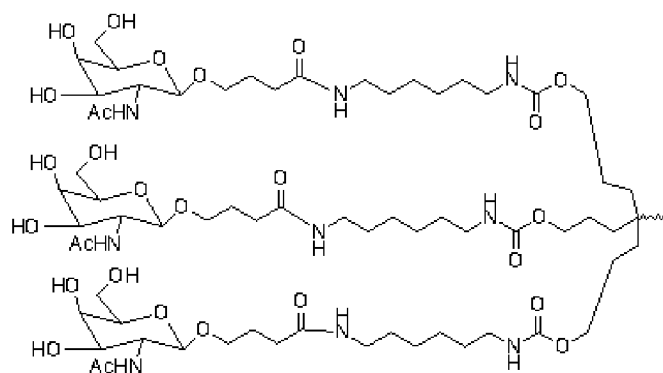
формулы VI,



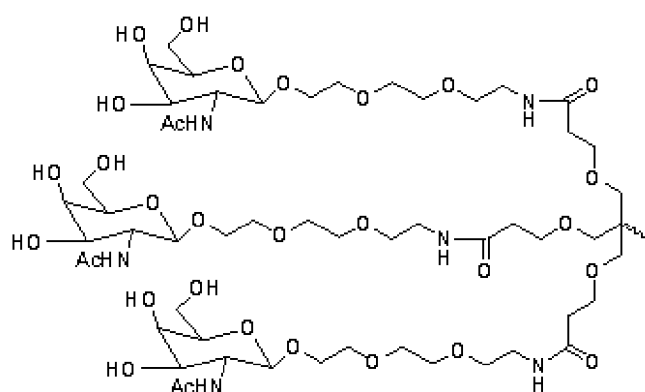
формулы VII,



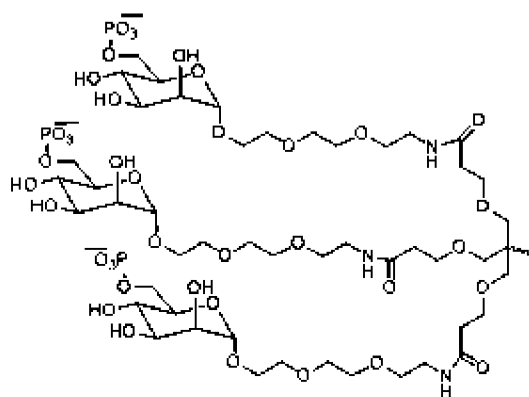
формулы VIII,



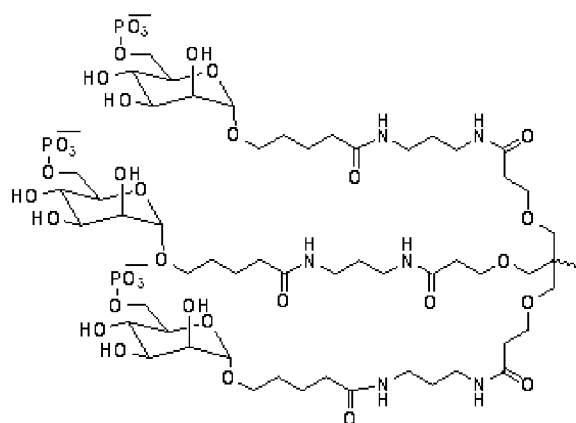
формулы IX,



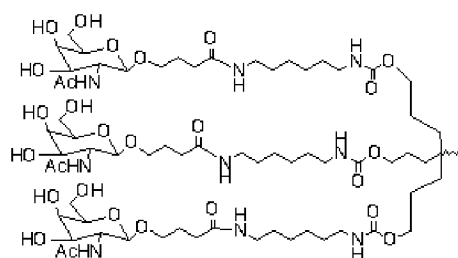
формулы X,



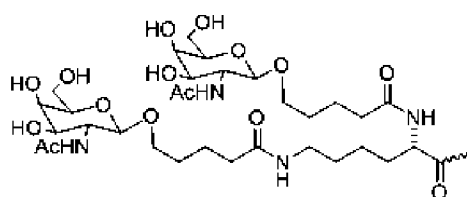
формулы XI,



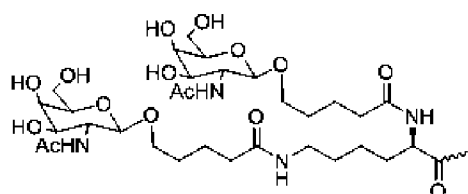
формулы XII,



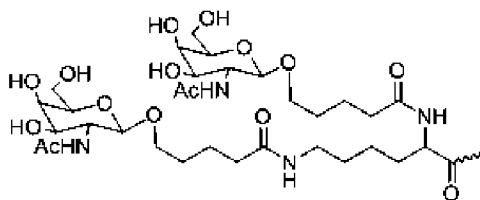
формулы XIII,



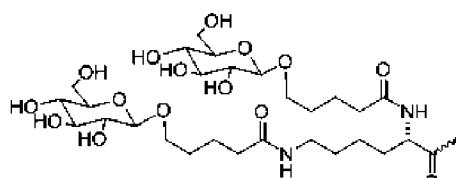
формулы XIV,



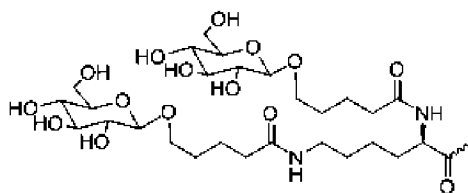
формулы XV,



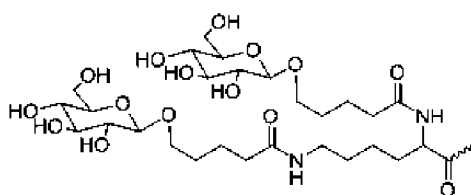
формулы XVI,



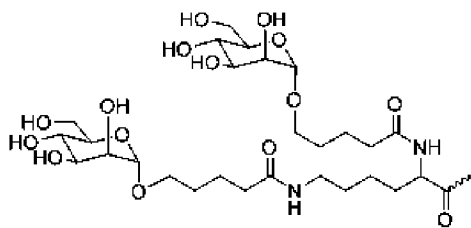
формулы XVII,



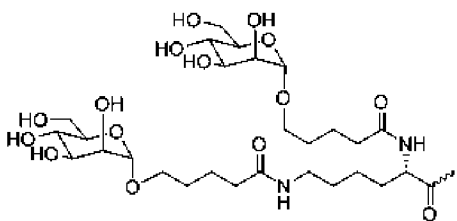
формулы XVIII,



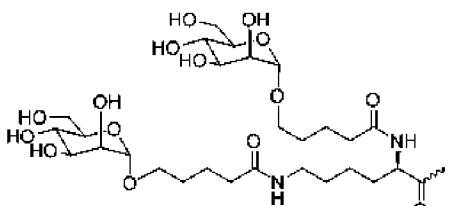
формулы XIX,



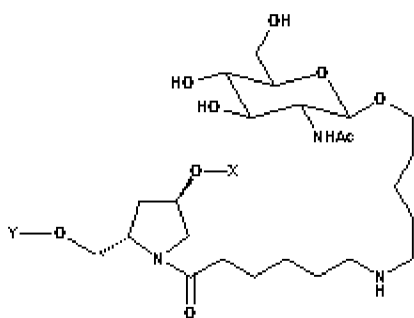
формулы XX,



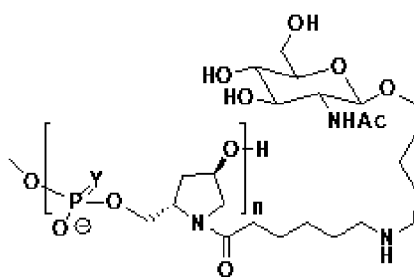
формулы XXI,



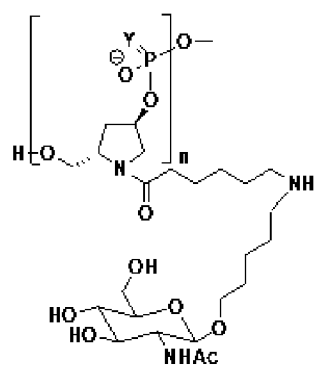
формулы XXII,



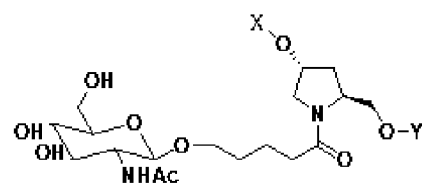
формулы XXIII;



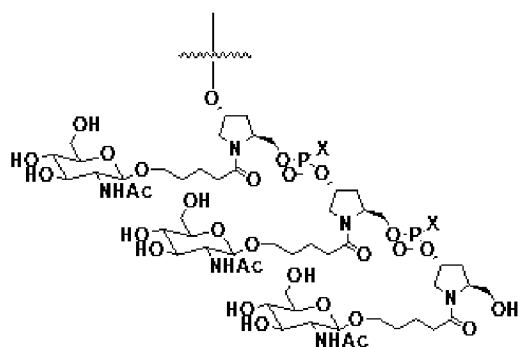
, где Y представляет собой O или S, и n представляет собой 3-6 (формула XXIV);



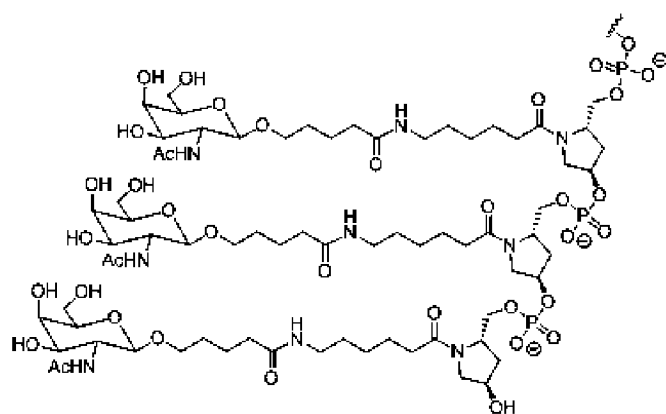
, где Y представляет собой O или S, и n представляет собой 3-6 (формула XXV);



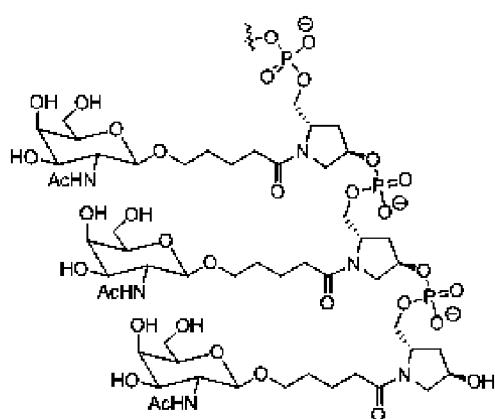
формулы XXVI;



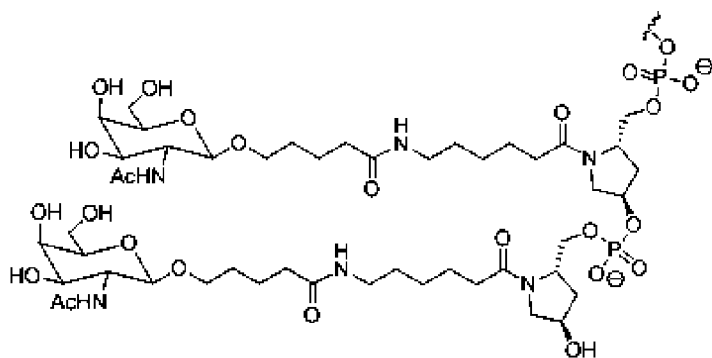
, где X представляет собой O или S (формула XXVII);



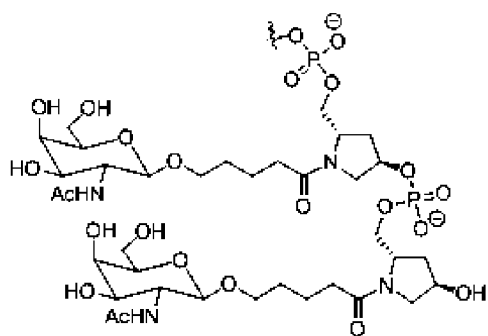
формулы XXVII;



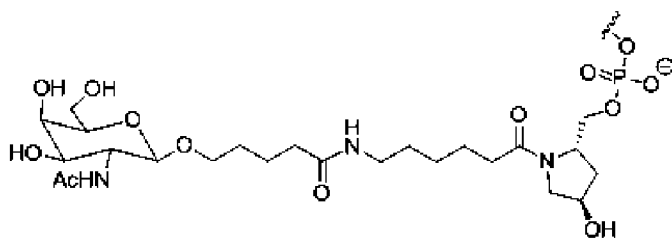
формулы XXIX;



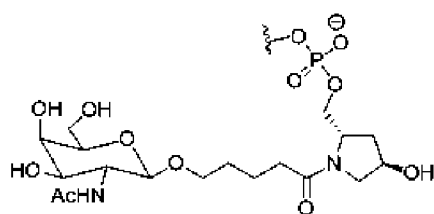
формулы XXX;



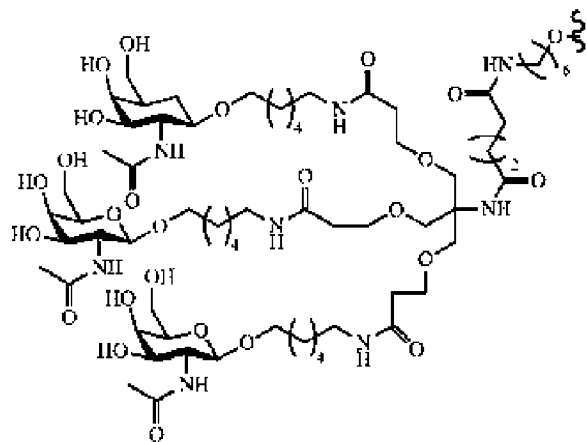
формулы XXXI;



формулы XXXII; и

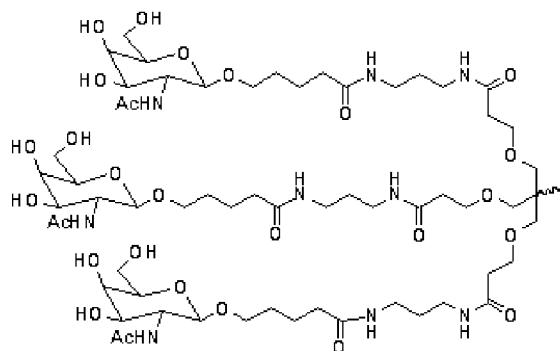


формулы XXXIII.



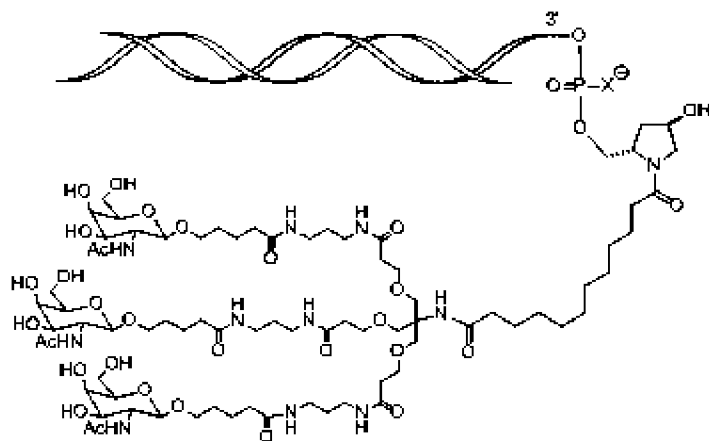
формула XXXIV.

В другом варианте осуществления углеводный конъюгат для использования в композициях и способах по изобретению является моносахаридом. В одном из вариантов осуществления моносахарид является N-ацетилгалактозамином, таким как

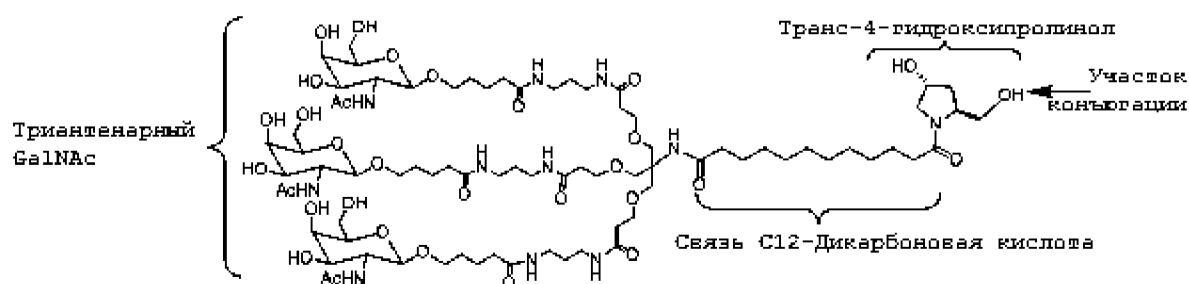


формула II.

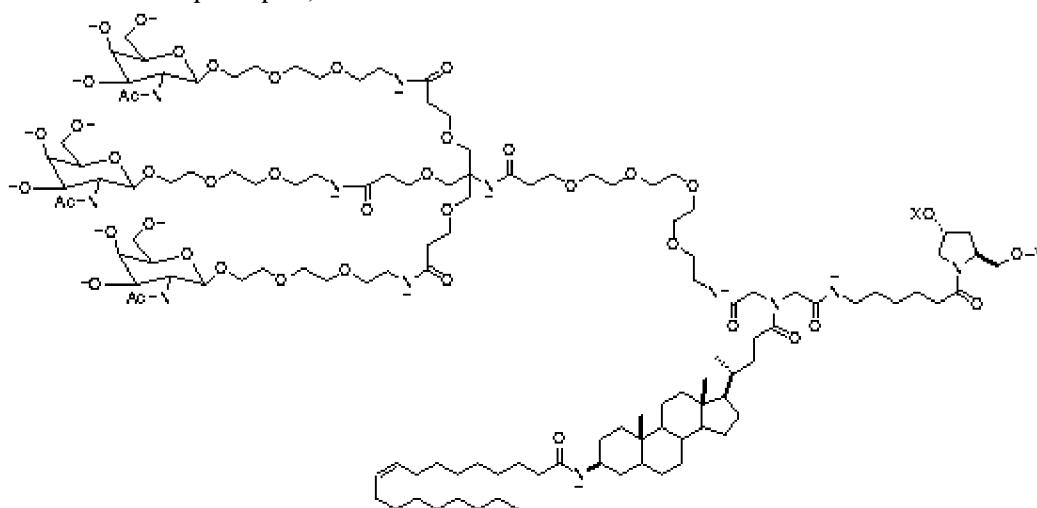
В некоторых вариантах осуществления РНК-средство присоединено к углеводному конъюгату с помощью линкера, как показано на следующей схеме, где X представляет собой O или S



В некоторых вариантах осуществления РНКи-средство конъюгировано с L96, как определено в таблице 1 и показано ниже:

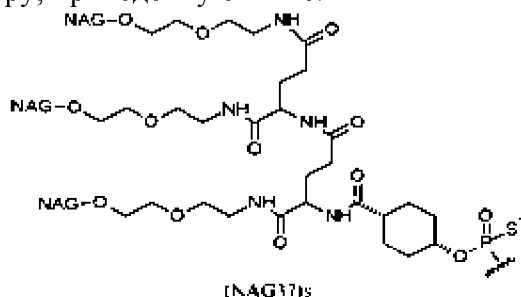


Другой типичный углеводный конъюгат для использования в вариантах осуществления, представленных в настоящем описании, включает, в качестве неограничивающих примеров,



(Формула XXXVI), где один из X или Y представляет собой олигонуклеотид, а другой представляет собой водород.

В некоторых вариантах осуществления подходящий лиганд является лигандом, описанным в WO 2019/055633, содержание которой включено в настоящее описание в качестве ссылки в полном объеме. В одном из вариантов осуществления лиганд содержит структуру, приведенную ниже:



В некоторых вариантах осуществления GalNAc или производное GalNAc присоединено к iRNA-средству по изобретению с помощью моновалентного линкера. В некоторых вариантах осуществления GalNAc или производное GalNAc присоединено к

iRNA-средству по изобретению с помощью бивалентного линкера. В других вариантах осуществления изобретения GalNAc или производное GalNAc присоединено к iRNA-средству по изобретению с помощью тривалентного линкера.

В одном из вариантов осуществления двухцепочечные РНКи-средства по изобретению содержат один или более GalNAc или производных GalNAc, присоединенных к iRNA-средству. GalNAc можно присоединять к любому нуклеотиду с помощью линкера на смысловой цепи или антисмысловой цепи. GalNAc можно присоединять к 5'-концу смысловой цепи, 3'-концу смысловой цепи, 5'-концу антисмысловой цепи или 3'-концу антисмысловой цепи. В одном из вариантов осуществления GalNAc присоединен к 3'-концу смысловой цепи, например, с помощью тривалентного линкера.

В других вариантах осуществления двухцепочечные РНКи-средства по изобретению содержат множество (например, 2, 3, 4, 5 или 6) GalNAc или производных GalNAc, каждое из которых независимо присоединено к множеству нуклеотидов двухцепочечного РНКи-средства с помощью множества линкеров, например, моновалентных линкеров.

В некоторых вариантах осуществления, например, если две цепи iRNA-средства по изобретению являются частью одной более крупной молекулы, соединенные непрерывной цепью нуклеотидов между 3'-концом одной цепи и 5'-концом соответствующей другой цепи, образующие петлю-шпильку, содержащую множество неспаренных нуклеотидов, каждый неспаренный нуклеотид в петле-шпильке может независимо содержать GalNAc или производное GalNAc, присоединенное с помощью моновалентного линкера.

В некоторых вариантах осуществления углеводный конъюгат дополнительно содержит один или более дополнительных лигандов, как описано выше, в качестве неограничивающих примеров, таких как модулятор РК или проникающий в клетку пептид.

Дополнительные углеводные конъюгаты и линкеры, подходящие для использования в настоящем изобретении, включают описанные в публикациях РСТ №№ WO 2014/179620 и WO 2014/179627, содержание каждой из которых включено в настоящее описание в качестве ссылки в полном объеме.

D. Линкеры

В некоторых вариантах осуществления конъюгат или лиганд, представленный в настоящем описании, можно присоединять к олигонуклеотиду iRNA с использованием различных линкеров, которые могут являться расщепляемыми или нерасщепляемыми.

Термин "линкер" или "связывающая группа" означает органический остаток, соединяющий две части соединения, например, ковалентно соединяющий две части соединения. Линкеры, как правило, содержат прямую связь или атом, такой как кислород или сера, единицу, такую как NR₈, C(O), C(O)NH, SO, SO₂, SO₂NH, или цепь атомов, в качестве неограничивающих примеров, такие как замещенный или незамещенный алкил, замещенный или незамещенный алкенил, замещенный или незамещенный алкинил, арилалкил, арилалкенил, арилалкинил, гетероарилалкил, гетероарилалкенил, гетероарилалкинил, гетероциклилалкил, гетероциклилалкенил, гетероциклилалкинил, арил, гетероарил, гетероциклил, циклоалкил, циклоалкенил, алкиларилалкил,

алкиларилалкенил, алкиларилалкинил, алкениларилалкил, алкениларилалкенил, алкениларилалкинил, алкиниларилалкил, алкиниларилалкенил, алкиниларилалкинил, алкилгетероарилалкил, алкилгетероарилалкенил, алкилгетероарилалкинил, алкенилгетероарилалкил, алкенилгетероарилалкенил, алкенилгетероарилалкинил, алкинилгетероарилалкил, алкинилгетероарилалкенил, алкинилгетероарилалкинил, алкилгетероциклилалкил, алкилгетероциклилалкенил, алкилгетероциклилалкинил, алкенилгетероциклилалкил, алкенилгетероциклилалкенил, алкенилгетероциклилалкинил, алкинилгетероциклилалкил, алкинилгетероциклилалкенил, алкинилгетероциклилалкинил, алкиларил, алкениларил, алкиниларил, алкилгетероарил, алкенилгетероарил, алкинилгетероарил, где один или более метиленов могут быть прерваны или терминированы O, S, S(O), SO₂, N(R8), C(O), замещенный или незамещенный арил, замещенный или незамещенный гетероарил или замещенный или незамещенный гетероцикл; где R8 представляет собой водород, ацил, алифатическую группу или замещенную алифатическую группу. В одном из вариантов осуществления линкер составляет приблизительно 1-24 атома, 2-24, 3-24, 4-24, 5-24, 6-24, 6-18, 7-18, 8-18, 7-17, 8-17, 6-16, 7-17 или 8-16 атомов.

Расщепляемая связывающая группа является группой, достаточно стабильной вне клетки, но которая после проникновения в клетку-мишень расщепляется с высвобождением двух частей, которые линкер удерживает вместе. В одном из вариантов осуществления расщепляемая связывающая группа расщепляется в по меньшей мере приблизительно 10 раз, 20 раз, 30 раз, 40 раз, 50 раз, 60 раз, 70 раз, 80 раз, 90 раз или более или по меньшей мере 100 раз быстрее в клетке-мишени или в первых референсных условиях (которые, например, можно выбирать для имитации или представления внутриклеточных условий), чем в крови индивидуума или во вторых референсных условиях (которые, например, можно выбирать для имитации или представления условий, обнаруживаемых в крови или сыворотке).

Расщепляемые связывающие группы восприимчивы к расщепляющим средствам, например, pH, окислительно-восстановительному потенциалу или наличию молекул деградации. Как правило, расщепляющие средства преобладают или обнаруживаются на более высоких уровнях или с более высокой активностью внутри клеток, чем в сыворотке или крови. Примеры таких средств деградации включают: окислительно-восстановительные средства, выбранные для конкретных субстратов или неимеющие субстратной специфичности, включая, например, окислительные или восстановительные ферменты или восстановительные средства, такие как меркаптаны, присутствующие в клетках, которые могут приводить к деградации редокс-расщепляемой связывающей группы посредством восстановления; эстеразы; эндосомы или средства, которые могут создавать кислую среду, например, приводящие к pH пять или ниже; ферменты, которые могут гидролизовать или приводить к деградации кислоторасщепляемой связывающей группы, действуя в качестве общей кислоты, пептидазы (которые могут являться субстрат-специфическими) и фосфатазы.

Расщепляемая связывающая группа, такая как дисульфидная связь, может быть восприимчивой к pH. pH сыворотки человека составляет 7,4, в то время как средний внутриклеточный pH немного ниже, в диапазоне приблизительно 7,1-7,3. Эндосомы имеют более кислый pH в диапазоне 5,5-6,0, и лизосомы имеют даже более кислый pH приблизительно 5,0. Некоторые линкеры будут иметь расщепляемую связывающую группу, расщепляемую при выбранном pH, таким образом, высвобождающую катионный липид из лиганда внутри клетки или в желаемый компартмент клетки.

Линкер может включать расщепляемую связывающую группу, расщепляемую конкретным ферментом. Тип расщепляемой связывающей группы, встроенной в линкер, может зависеть от клетки, подлежащей таргетингу. Например, нацеливающий на печень лиганд можно связывать с катионным липидом с помощью линкера, включающего сложноэфирную группу. Клетки печени богаты эстеразами, и, таким образом, линкер будет расщепляться эффективнее в клетках печени, чем в небогатых эстеразами типах клеток. Другие типы клеток, богатых эстеразами, включают клетки легких, коркового вещества почки и яичка.

Линкеры, содержащие пептидные связи, можно использовать, если целевые типы клеток богаты пептидазами, такие как клетки печени и синовиоциты.

В основном, пригодность расщепляемой связывающей группы-кандидата можно оценивать посредством способности средства деградации (или условия) расщеплять связывающую группу-кандидата. Также будет желательным тестировать расщепляемую связывающую группу-кандидата на способность к сопротивлению расщеплению в крови или при контакте с другой нецелевой тканью. Таким образом, можно определять относительную восприимчивость к расщеплению между первыми и вторыми условиями, если первые выбирают как свидетельствующие о расщеплении в клетке-мишени, а вторые выбирают как свидетельствующие о расщеплении в других тканях или биологических жидкостях, например, крови или сыворотке. Оценки можно осуществлять в бесклеточных системах, клетках, культуре клеток, культуре органа или ткани или целых животных. Может быть полезно провести исходную оценку в бесклеточных или культуральных условиях и подтвердить ее посредством дальнейших оценок на целых животных. В некоторых вариантах осуществления полезные соединения-кандидаты расщепляются в по меньшей мере приблизительно 2, 4, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 или 100 раз быстрее в клетке (или в условиях *in vitro*, выбранных для имитации внутриклеточных условий) по сравнению с кровью или сывороткой (или условиями *in vitro*, выбранными для имитации внеклеточных условий).

i. Редокс-расщепляемые связывающие группы

В некоторых вариантах осуществления расщепляемая связывающая группа является редокс-расщепляемой связывающей группой, расщепляемой после восстановления или окисления. Примером расщепляемой в восстановительных условиях связывающей группы является дисульфидная связывающая группа (-S-S-). Для определения того, является ли расщепляемая связывающая группа-кандидат подходящей "расщепляемой в

восстановительных условиях связывающей группой" или, например, подходит ли для использования с конкретным остатком iRNA и конкретным нацеливающим средством, можно использовать способы, представленные в настоящем описании. Например, кандидата можно оценивать посредством инкубации с дитиотреитолом (DTT) или другим восстановителем с использованием реагентов, известных в этой области, имитирующих скорость расщепления, которую наблюдали бы в клетке, например, клетке-мишени. Кандидатов также можно оценивать в условиях, выбранных для имитации условий в крови или сыворотке. В одном из примеров соединения-кандидаты расщепляются на по большей мере приблизительно 10% в крови. В других вариантах осуществления полезные соединения-кандидаты деградируют в по меньшей мере приблизительно 2, 4, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 или приблизительно 100 раз быстрее в клетке (или в условиях *in vitro*, выбранных для имитации внутриклеточных условий) по сравнению с кровью (или условиями *in vitro*, выбранными для имитации внеклеточных условий). Скорость расщепления соединений-кандидатов можно определять с использованием стандартных анализов кинетики ферментов в условиях, выбранных для имитации внутриклеточных сред, и сравнивать с условиями, выбранными для имитации внеклеточных сред.

ii. Расщепляемые связывающие группы на основе фосфата

В других вариантах осуществления расщепляемый линкер содержит расщепляемую связывающую группу на основе фосфата. Расщепляемая связывающая группа на основе фосфата расщепляется средствами, приводящими к деградации или гидролизу фосфатной группы. Примером средства, расщепляющего фосфатные группы в клетках, являются ферменты, такие как фосфатазы, в клетках. Примерами связывающих групп на основе фосфата являются -O-P(O)(ORk)-O-, -O-P(S)(ORk)-O-, -O-P(S)(SRk)-O-, -S-P(O)(ORk)-O-, -O-P(O)(ORk)-S-, -S-P(O)(ORk)-S-, -O-P(S)(ORk)-S-, -S-P(S)(ORk)-O-, -O-P(O)(Rk)-O-, -O-P(S)(Rk)-O-, -S-P(O)(Rk)-O-, -S-P(S)(Rk)-O-, -S-P(O)(Rk)-S-, -O-P(S)(Rk)-S-, где Rk в каждом случае независимо может представлять собой C1-C20-алкил, C1-C20-галогеналкил, C₆-C₁₀-арил или C₇-C₁₂-аралкил. Примеры вариантов осуществления включают -O-P(O)(OH)-O-, -O-P(S)(OH)-O-, -O-P(S)(SH)-O-, -S-P(O)(OH)-O-, -O-P(O)(OH)-S-, -S-P(O)(OH)-S-, -O-P(S)(OH)-S-, -S-P(S)(OH)-O-, -O-P(O)(H)-O-, -O-P(S)(H)-O-, -S-P(O)(H)-O-, -S-P(S)(H)-O-, -S-P(O)(H)-S- и -O-P(S)(H)-S-. В некоторых вариантах осуществления связывающая группа на основе фосфата представляет собой -O-P(O)(OH)-O-. Этих кандидатов можно оценивать способами, аналогичными описанным выше.

iii. Кислоторасщепляемые связывающие группы

В других вариантах осуществления расщепляемый линкер содержит кислоторасщепляемую связывающую группу. Кислоторасщепляемая связывающая группа является связывающей группой, расщепляемой в кислых условиях. В некоторых вариантах осуществления кислоторасщепляемые связывающие группы расщепляются в кислой среде с pH приблизительно 6,5 или ниже (например, приблизительно 6,0, 5,5, 5,0 или ниже) или средствами, такими как ферменты, которые могут действовать как общая кислота. В клетке специальные органеллы с низким pH, такие как эндосомы и лизосомы, могут обеспечивать

расщепляющую среду для кислоторасщепляемых связывающих групп. Неограничивающие примеры кислоторасщепляемых связывающих групп включают гидразоны, сложные эфиры и сложные эфиры аминокислот. Кислоторасщепляемые группы могут иметь общую формулу $-C=NN-$, $C(O)O$ или $-OC(O)$. Пример варианта осуществления - это когда углерод, присоединенный к кислороду сложного эфира (алкоксигруппа), представляет собой арильную группу, замещенную алкильную группу или третичную алкильную группу, такую как диметилпентил или трет-бутил. Этих кандидатов можно оценивать способами, аналогичными описанным выше.

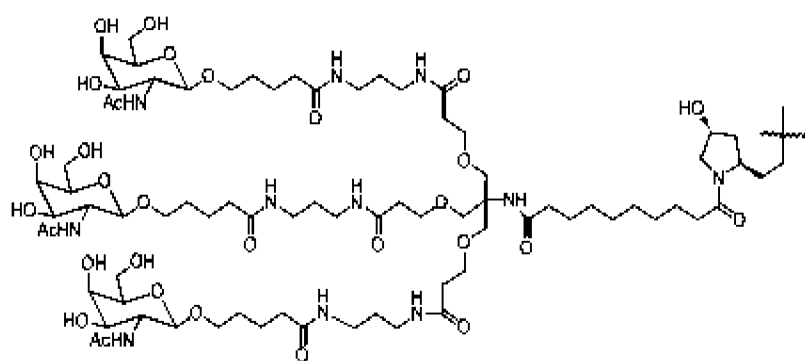
iv. Сложноэфирные связывающие группы

В других вариантах осуществления расщепляемый линкер содержит сложноэфирную расщепляемую связывающую группу. Сложноэфирная расщепляемая связывающая группа расщепляется ферментами, такими как эстеразы и амидазы, в клетках. Неограничивающие примеры сложноэфирных расщепляемых связывающих групп включают сложные эфиры алкилена, алкенилен и алкиниленовые группы. Сложноэфирные расщепляемые связывающие группы имеют общую формулу $-C(O)O-$ или $-OC(O)-$. Этих кандидатов можно оценивать способами, аналогичными описанным выше.

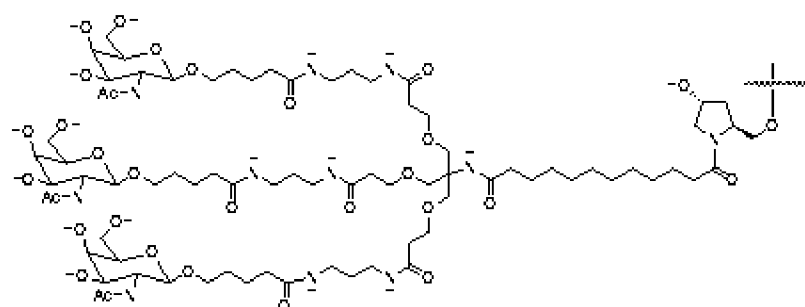
v. Пептидные расщепляемые группы

В других вариантах осуществления расщепляемый линкер содержит пептидную расщепляемую связывающую группу. Пептидная расщепляемая связывающая группа расщепляется ферментами, такими как пептидазы и протеазы, в клетках. Пептидные расщепляемые связывающие группы представляют собой пептидные связи, образующиеся между аминокислотами с образованием олигопептидов (например, дипептидов, трипептидов и т.д.) и полипептидов. Пептидные расщепляемые группы не включают амидную группу ($-C(O)NH-$). Амидная группа может образовываться между любым алкиленом, алкениленом или алкиниленом. Пептидная связь представляет собой особый тип амидной связи, образующийся между аминокислотами с образованием пептидов и белков. Пептидная расщепляемая группа, как правило, ограничена пептидной связью (т.е. амидной связью), образованной между аминокислотами, что приводит к образованию пептидов и белков, и не включает целую амидную функциональную группу. Пептидные расщепляемые связывающие группы имеют общую формулу $-NHCH(RA)C(O)NHCH(RB)C(O)-$, где RA и RB являются R-группами двух смежных аминокислот. Этих кандидатов можно оценивать способами, аналогичными описанным выше.

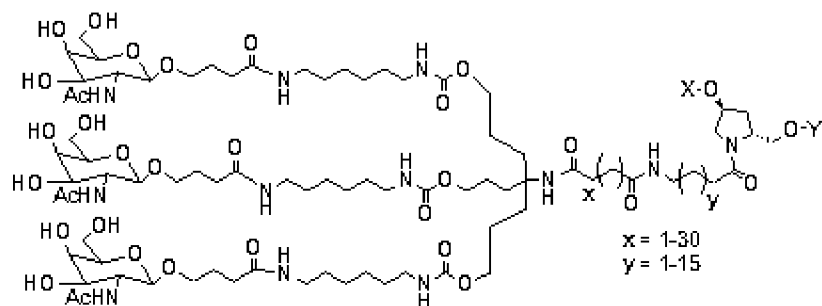
В некоторых вариантах осуществления iRNA по изобретению конъюгирована с углеводом с помощью линкера. Неограничивающие примеры углеводных конъюгатов iRNA с линкерами из композиций и способов по изобретению включают



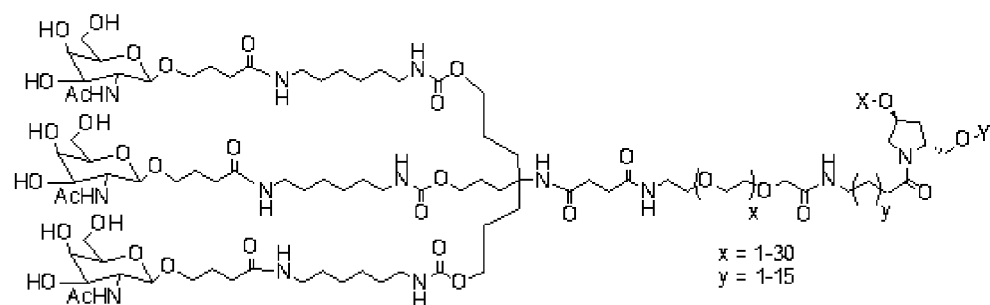
(формулу XXXVII),



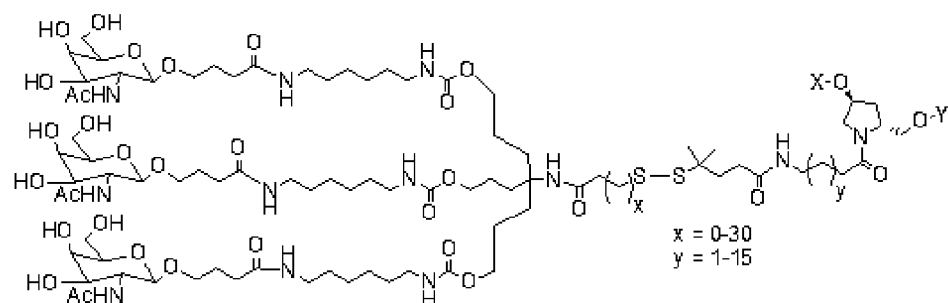
(формулу XXXVIII),



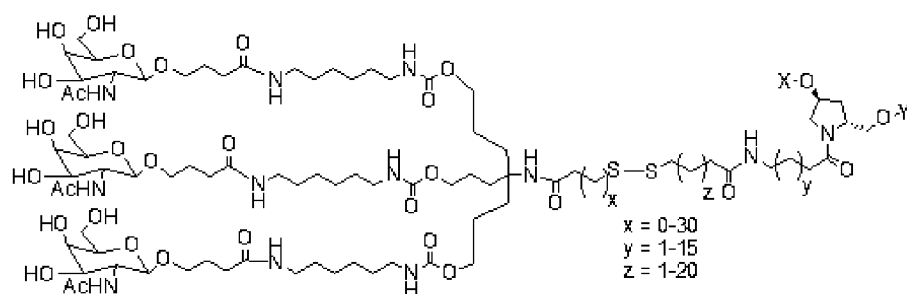
(формулу XXXIX),



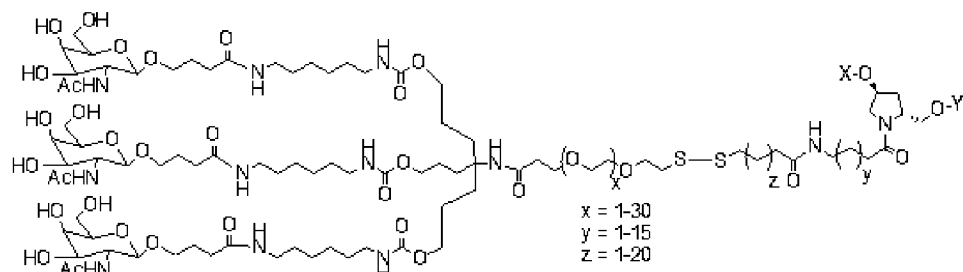
(формулу XL),



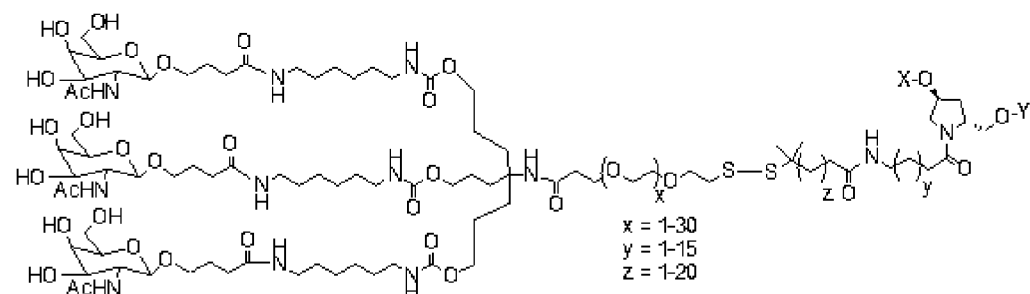
(формулу XLI),



(формулу XLII),



(формулу XLIII) и



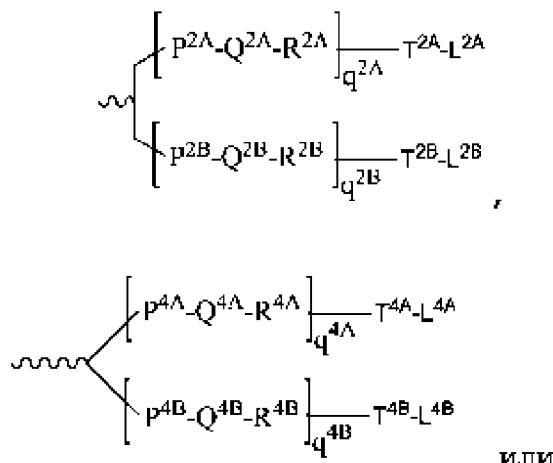
(формулу

XLIV), если один из X или Y представляет собой олигонуклеотид, другой представляет собой водород.

В некоторых вариантах осуществления композиций и способов по изобретению лиганд является одним или более производными "GalNAc" (N-ацетилгалактозамина), присоединенными с помощью бивалентного или тривалентного разветвленного линкера.

В одном из вариантов осуществления дцРНК по изобретению конъюгирована с бивалентным или тривалентным разветвленным линкером, выбранным из группы структур, приведенных в любой из формул (XLV)-(XLVIII):

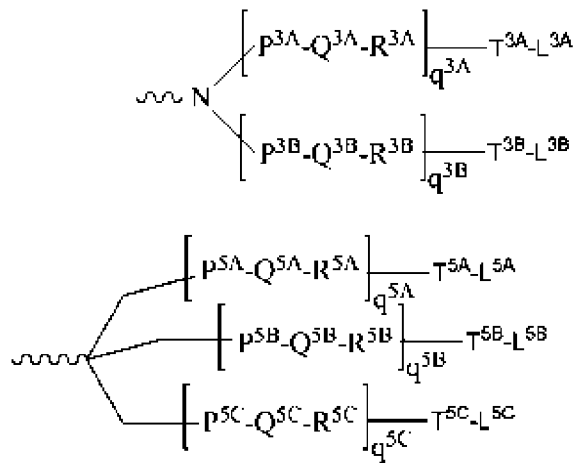
формула ·XLV



или

формула ·XLVII

формула ·XLVI



формула ·XLVIII

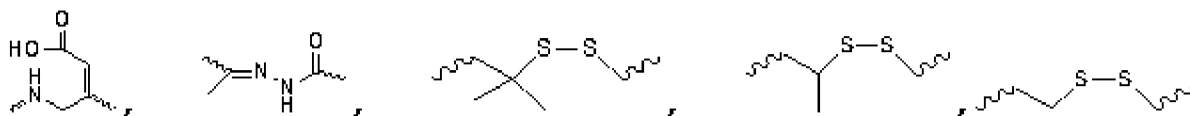
где:

q^{2A}, q^{2B}, q^{3A}, q^{3B}, q^{4A}, q^{4B}, q^{5A}, q^{5B} и q^{5C} независимо в каждом случае представляют собой 0-20, и где повторяющаяся единица может являться одной и той же или отличаться;

каждый из p^{2A}, p^{2B}, p^{3A}, p^{3B}, p^{4A}, p^{4B}, p^{5A}, p^{5B}, p^{5C}, t^{2A}, t^{2B}, t^{3A}, t^{3B}, t^{4A}, t^{4B}, t^{4A}, t^{5B}, t^{5C} независимо в каждом случае отсутствует, представляет собой CO, NH, O, S, OC(O), NHC(O), CH₂, CH₂NH или CH₂O;

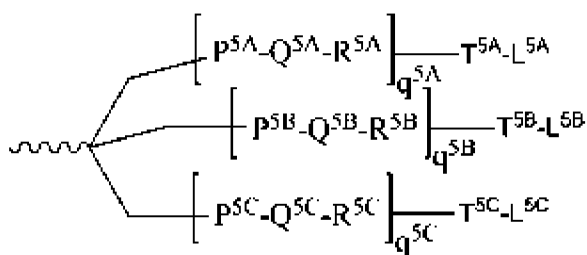
Q^{2A}, Q^{2B}, Q^{3A}, Q^{3B}, Q^{4A}, Q^{4B}, Q^{5A}, Q^{5B}, Q^{5C} независимо в каждом случае отсутствует, представляет собой алкилен, замещенный алкилен, где один или более метиленов могут быть прерваны или терминированы одним или более из O, S, S(O), SO₂, N(R^N), C(R')=C(R''), C≡C или C(O);

каждый из R^{2A}, R^{2B}, R^{3A}, R^{3B}, R^{4A}, R^{4B}, R^{5A}, R^{5B}, R^{5C} независимо в каждом случае отсутствует, представляет собой NH, O, S, CH₂, C(O)O, C(O)NH, NHCH(R^a)C(O), -C(O)-CH(R^a)-NH-, CO, CH=N-O,



или гетероцикл;

L^{2A}, L^{2B}, L^{3A}, L^{3B}, L^{4A}, L^{4B}, L^{5A}, L^{5B} и L^{5C} представляют собой лиганд; т.е. каждый независимо в каждом случае представляет собой моносахарид (такой как GalNAc), дисахарид, трисахарид, тетрасахарид, олигосахарид или полисахарид; и R^a представляет собой H или боковую цепь аминокислоты. Тривалентные конъюгирующие производные GalNAc особенно подходят для использования со РНК-средствами для ингибирования экспрессии гена-мишени, такие как производные GalNAc формулы (XLIX):



формула XLIX,

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

Неограничивающие примеры подходящих бивалентных и тривалентных разветвленных линкерных групп, конъюгирующих производные GalNAc, включают структуры, приведенные выше в виде формул II, VII, XI, X и XIII.

Типичные патенты США, в которых описано получение конъюгатов РНК включают, в качестве неограничивающих примеров, патенты США №№ 4828979; 4948882; 5218105; 5525465; 5541313; 5545730; 5552538; 5578717; 5580731; 5591584; 5109124; 5118802; 5138045; 5414077; 5486603; 5512439; 5578718; 5608046; 4587044; 4605735; 4667025; 4762779; 4789737; 4824941; 4835263; 4876335; 4904582; 4958013; 5082830; 5112963; 5214136; 5082830; 5112963; 5214136; 5245022; 5254469; 5258506; 5262536; 5272250; 5292873; 5317098; 5371241; 5391723; 5416203; 5451463; 5510475; 5512667; 5514785; 5565552; 5567810; 5574142; 5585481; 5587371; 5595726; 5597696; 5599923; 5599928; 5688941; 6294664; 6320017; 6576752; 6783931; 6900297; 7037646 и 8106022, содержание каждого из которых, таким образом, включено в настоящее описание в качестве ссылки в полном объеме.

Необязательно, чтобы все положения в указанном соединении являлись единообразно модифицированными, и, фактически, в одно соединение или даже в один нуклеозид в iRNA можно встраивать более одной из указанных выше модификаций. Настоящее изобретение также относится к соединениям iRNA, являющимся химерными соединениями.

В контексте настоящего изобретения "химерные" соединения iRNA или "химеры" являются соединениями iRNA, такими как дцРНКи-средства, содержащими две или более химически разных области, каждая из которых состоит из по меньшей мере одной мономерной единицы, т.е. нуклеотида в случае соединения дцРНК. Эти iRNA, как правило, содержат по меньшей мере одну область, где РНК модифицирована так, чтобы придавать iRNA повышенную резистентность к деградации нуклеазами, повышенный захват клетками или повышенную аффинность связывания с целевой нуклеиновой кислотой. Дополнительная область iRNA может служить в качестве субстрата для ферментов, способных расщеплять гибриды РНК:ДНК или РНК:РНК. В качестве примера, РНКазы Н являются клеточной эндонуклеазой, расщепляющей цепь РНК дуплекса РНК:ДНК. Таким образом, активация РНКазы Н приводит к расщеплению РНК-мишени, таким образом, значительно повышая эффективность ингибирования iRNA экспрессии гена. Таким образом, зачастую можно получать сравнимые результаты с использованием более коротких iRNA при использовании химерных дцРНК по сравнению с фосфотиоат-дезоксидцРНК,

гибридизирующимися с той же целевой областью. Расщепление РНК-мишени можно рутинно определять с помощью электрофореза в геле и, при необходимости, соответствующих способов гибридизации нуклеиновых кислот, известных в этой области.

В некоторых случаях РНК из iRNA можно модифицировать с помощью нелигандной группы. Ряд нелигандных молекул конъюгировали с iRNA для повышения активности, клеточного распределения или захвата iRNA клетками, и способы такой конъюгации доступны в научной литературе. Такие нелигандные функциональные фрагменты включали липидные остатки, такие как холестерин (Kubo, T. *et al.*, *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 2007, 365(1):54-61; Letsinger *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1989, 86:6553), холевая кислота (Manoharan *et al.*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 1994, 4:1053), тиоэфир, например, гексил-S-тритилтиол (Manoharan *et al.*, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1992, 660:306; Manoharan *et al.*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 1993, 3:2765), тиохолестерин (Oberhauser *et al.*, *Nucl. Acids Res.*, 1992, 20:533), алифатическую цепь, например, остатки додекандиола или ундецила (Saison-Behmoaras *et al.*, *EMBO J.*, 1991, 10:111; Kabanov *et al.*, *FEBS Lett.*, 1990, 259:327; Svinarchuk *et al.*, *Biochimie*, 1993, 75:49), фосфолипид, например, ди-гексадецил-гас-глицерин или, 2-ди-О-гексадецил-гас-глицеро-3-фосфонат триэтиламмония (Manoharan *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, 1995, 36:3651; Shea *et al.*, *Nucl. Acids Res.*, 1990, 18:3777), полиамин или полиэтиленгликолевую цепь (Manoharan *et al.*, *Nucleosides & Nucleotides*, 1995, 14:969) или адамантануксусную кислоту (Manoharan *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, 1995, 36:3651), пальмитиловый остатком (Mishra *et al.*, *Biochim. Biophys. Acta*, 1995, 1264:229) или остаток октадециламина или гексиламино-карбонилосихолестерина (Crooke *et al.*, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1996, 277:923). Типичные патенты США, в которых описано получение таких конъюгатов РНК, указаны выше. Типичные способы конъюгации включают синтез РНК, несущей аминокислоты в одном или более положениях последовательности. Затем аминокислотную группу подвергают реакции с молекулой, конъюгированной с использованием соответствующих реагентов для реакции сопряжения или активации. Реакцию конъюгации можно осуществлять с использованием РНК, все еще связанной с твердой подложкой, или после расщепления РНК в жидкой фазе. Очистка конъюгата РНК посредством ВЭЖХ, как правило, приводит к получению чистого конъюгата.

IV. Доставка iRNA по изобретению

Доставки iRNA по изобретению в клетку, например, клетку в организме индивидуума, такого как человек (например, нуждающийся в этом индивидуум, такой как индивидуум, имеющий предрасположенность или диагноз ксантиндегидрогеназа-ассоциированного нарушения), можно достигать рядом разных способов. Например, доставку можно осуществлять посредством приведения клетки в контакт с iRNA по изобретению *in vitro* или *in vivo*. Доставку *in vivo* также можно осуществлять непосредственно с помощью введения индивидууму композиции, содержащей iRNA, например, дцРНК. Альтернативно, доставку *in vivo* можно осуществлять косвенно посредством введения одного или более векторов, кодирующих и направляющих экспрессию iRNA. Эти альтернативы дополнительно описаны ниже.

В основном, любой способ доставки молекулы нуклеиновой кислоты (*in vitro* или *in vivo*) можно адаптировать для использования с iRNA по изобретению (см., например, Akhtar S. и Julian RL. (1992) *Trends Cell. Biol.* 2(5):139-144 и WO94/02595, включенные в настоящее описание в качестве ссылки в полном объеме). В случае доставки *in vivo* факторы, подлежащие рассмотрению для доставки молекулы iRNA, включают, например, биологическую стабильность доставляемой молекулы, предотвращение неспецифических эффектов и накопление доставляемой молекулы в целевой ткани. Также показан успех РНК-интерференции при локальной доставке в ЦНС посредством прямой инъекции (Dorn, G., *et al.* (2004) *Nucleic Acids* 32:e49; Tan, PH., *et al* (2005) *Gene Ther.* 12:59-66; Makimura, H., *et al* (2002) *BMC Neurosci.* 3:18; Shishkina, GT., *et al* (2004) *Neuroscience* 129:521-528; Thakker, ER., *et al* (2004) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 101:17270-17275; Akaneya, Y., *et al* (2005) *J. Neurophysiol.* 93:594-602). Модификация РНК или фармацевтического носителя также может сделать возможным таргетинг iRNA в целевую ткань и избежание нежелательных нецелевых эффектов. Молекулы iRNA можно модифицировать посредством химической конъюгации с липофильными группами, такими как холестерин, для повышения захвата клетками и предотвращения деградации. Например, iRNA, нацеленную против AroB, конъюгированную с липофильным остатком холестерина, инъецировали системно мышам и достигали нокдауна мРНК ароВ в печение и тощей кишке (Soutschek, J., *et al* (2004) *Nature* 432:173-178).

В альтернативном варианте осуществления iRNA можно доставлять с использованием систем доставки лекарственных средств, таких как наночастица, дендример, полимер, липосомы или катионная система доставки. Положительно заряженные катионные системы доставки облегчают связывание молекулы iRNA (отрицательно заряженной), в также повышают взаимодействия на отрицательно заряженной клеточной мембране, делая возможным эффективный захват iRNA клеткой. Катионные липиды, дендримеры или полимеры можно связывать с iRNA или заставлять образовывать везикулу или мицеллу (см., например, Kim SH, *et al* (2008) *Journal of Controlled Release* 129(2):107-116), в которую упаковывается iRNA. Образование везикул или мицелл дополнительно предотвращает деградацию iRNA при системном введении. Способы получения и введение комплексов катион-iRNA хорошо известны специалисту в этой области (см., например, Sorensen, DR, *et al* (2003) *J. Mol. Biol* 327:761-766; Verma, UN, *et al* (2003) *Clin. Cancer Res.* 9:1291-1300; Arnold, AS *et al* (2007) *J. Hypertens.* 25:197-205, включенные в настоящее описание в качестве ссылки в полном объеме). Некоторые неограничивающие примеры систем доставки лекарственных средств, которые можно использовать для системной доставки iRNA, включают DOTAP (Sorensen, DR., *et al* (2003), выше; Verma, UN, *et al* (2003), выше), "твердые липидные частицы с нуклеиновыми кислотами" (Zimmermann, TS, *et al* (2006) *Nature* 441:111-114), кардиолипид (Chien, PY, *et al* (2005) *Cancer Gene Ther.* 12:321-328; Pal, A, *et al* (2005) *Int J. Oncol.* 26:1087-1091), полиэтиленмин (Bonnet ME, *et al* (2008) *Pharm. Res.* Aug 16 Epub ahead of print; Aigner, A. (2006) *J. Biomed. Biotechnol.* 71659), пептиды Arg-Gly-Asp (RGD) (Liu, S. (2006) *Mol. Pharm.*

3:472-487) и полиамидоамины (Tomalia, DA, *et al* (2007) *Biochem. Soc. Trans.* 35:61-67; Yoo, H., *et al* (1999) *Pharm. Res.* 16:1799-1804). В некоторых вариантах осуществления iRNA образует комплекс с циклодекстрином для системного введения. Способы введения и фармацевтические композиции iRNA и циклодекстринов можно найти в патенте США № 7427605, включенном в настоящее описание в качестве ссылки в полном объеме.

A. Кодированные вектором iRNA по изобретению

iRNA, нацеленную на ген ксантиндегидрогеназы, можно экспрессировать с транскрипционных единиц, встроенных в units ДНК- или РНК-векторы (см., например, Couture, A, *et al.*, *TIG.* (1996), 12:5-10; Skillern, A, *et al.*, международная публикация PCT № WO 00/22113, Conrad, международная публикация PCT № WO 00/22114, и Conrad, патент США № 6054299). Экспрессия может являться транзиторной (от часов до недель) или постоянной (от недель до месяцев или более) в зависимости от конкретной используемой конструкции и целевого типа ткани или клеток. Эти трансгены можно встраивать в виде линейной конструкции, кольцевой плазмиды или вирусного вектора, который может являться интегрирующимся или неинтегрирующимся вектор. Трансген также можно конструировать так, чтобы он наследовался в виде экстрахромосомной плазмиды (Gassmann, *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (1995) 92:1292).

Вирусные векторные системы, которые можно использовать со способами и композициями, представленными в настоящем описании, включают, в качестве неограничивающих примеров, (a) аденовирусные векторы; (b) ретровирусные векторы, включая, в качестве неограничивающих примеров, лентивирусные векторы, вирус мышиного лейкоза Молони и т.д.; (c) векторы аденоассоциированных вирусов; (d) векторы вирусов простого герпеса; (e) векторы SV40; (f) векторы вируса полиомы; (g) векторы вируса папилломы; (h) пикорнавирусные векторы; (i) поксвирусные векторы, такие как ортопоксвирусные, например, векторы вируса осповакцины, или авипоксвирусные, например, вирус оспы канареек или вирус оспы птиц; и (j) хелпер-зависимый или "выпотрошенный" аденовирус. Также предпочтительными могут являться репликационно-дефектные вирусы. Разные векторы будут встраиваться или не будут встраиваться в геном клетки. При желании, конструкции могут включать вирусные последовательности для трансфекции. Альтернативно, конструкцию можно встраивать в векторы, способные к эпизомной репликации, например, векторы EPV и EBV. В случае конструкций для рекомбинантной экспрессии iRNA, как правило, будут необходимы регуляторные элементы, например, промоторы, энхансеры и т.д., для обеспечения экспрессии iRNA в клетках-мишенях. В этой области известны другие аспекты, подлежащие рассмотрению в случае векторов и конструкций.

V. Фармацевтические композиции по изобретению

Настоящее изобретение также относится к фармацевтическим композициям и составам, включающим iRNA по изобретению. В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение относится к фармацевтическим композициям, содержащим iRNA по изобретению и фармацевтически приемлемый носитель. Фармацевтические

композиции, содержащие iRNA можно использовать, для профилактики или лечения ксантиндегидрогеназа-ассоциированного нарушения. Такие фармацевтические композиции составляют с учетом способа введения. Одним из примеров являются композиции, составляемые для системного введения парентеральным путем, например, подкожным (SC), внутримышечным (IM) или внутривенным (IV) путем. Фармацевтические композиции по изобретению можно вводить в дозах, достаточных для ингибирования экспрессии гена ксантиндегидрогеназы.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции по изобретению являются стерильными. В другом варианте осуществления фармацевтические композиции по изобретению не содержат пирогены.

Фармацевтические композиции по изобретению можно вводить в дозах, достаточных для ингибирования экспрессии гена ксантиндегидрогеназы. В основном, подходящая доза iRNA по изобретению будет находиться в диапазоне от приблизительно 0,001 до приблизительно 200,0 миллиграммов на килограмм массы тела реципиента в сутки, как правило, в диапазоне приблизительно от 1 до 50 мг на килограмм массы тела в сутки. Как правило, подходящая доза iRNA по изобретению будет находиться в диапазоне от приблизительно 0,1 мг/кг до приблизительно 5,0 мг/кг или от приблизительно 0,3 мг/кг до приблизительно 3,0 мг/кг. Схема лечения с повторными дозами может включать введение терапевтического количества iRNA на регулярной основе, например, раз в месяц, раз в 3-6 месяцев или раз в год. В некоторых вариантах осуществления iRNA вводят от приблизительно раза в месяц до приблизительно раза в шесть месяцев.

После исходной схемы лечения лекарственные средства можно вводить реже. Продолжительность лечения можно определять с учетом тяжести заболевания.

В других вариантах осуществления однократная доза фармацевтических композиций может иметь длительное действие, таким образом, что дозы вводят с интервалами не более 1, 2, 3 или 4 месяцев. В некоторых вариантах осуществления изобретения однократную дозу фармацевтических композиций по изобретению вводят приблизительно раз в месяц. В других вариантах осуществления изобретения однократную дозу фармацевтических композиций по изобретению вводят раз в квартал (т.е. приблизительно раз в три месяца). В других вариантах осуществления изобретения однократную дозу фармацевтических композиций по изобретению вводят дважды в год (т.е. приблизительно раз в шесть месяцев).

Специалистам в этой области будет понятно, что некоторые факторы могут влиять на дозу и временной режим, необходимые для эффективного лечения индивидуума, включая, в качестве неограничивающих примеров, мутации, имеющиеся у индивидуума, предшествующее лечение, общее состояние здоровья или возраст индивидуума и другие присутствующие заболевания. Кроме того, лечение индивидуума с использованием профилактически или терапевтически эффективного количества композиции, при необходимости, может включать однократное лечение или последовательность лечения.

iRNA можно вводить для таргетинга конкретной ткани (например, гепатоцитов).

Фармацевтические композиции по настоящему изобретению включают, в качестве неограничивающих примеров, растворы, эмульсии и содержащие липосомы составы. Эти композиции можно получать из различных компонентов, включающих, в качестве неограничивающих примеров, заранее составленные жидкости, самоэмульгирующиеся твердые вещества и самоэмульгирующиеся полутвердые вещества. Составы включают составы, нацеленные на печень.

Фармацевтические составы по настоящему изобретению, которые удобно представлять в стандартной лекарственной форме, можно получать общепринятыми способами, хорошо известными в области фармацевтики. Такие способы включают стадию объединения активных ингредиентов с фармацевтическими носителями или эксципиентами. В основном, составы получают посредством однородного и непосредственного объединения активных ингредиентов с жидкими носителями.

А. Дополнительные составы

i. Эмульсии

Композиции по настоящему изобретению можно получать и составлять в виде эмульсий. Эмульсии, как правило, являются гетерогенными системами, где одна жидкость диспергирована в другой в виде капель, как правило, превышающих 0,1 мкм в диаметре (см., например, Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Allen, LV., Popovich NG., and Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (8th ed.), New York, NY; Idson, в Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 199; Rosoff, в Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., Volume 1, p. 245; Block in Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 2, p. 335; Higuchi *et al.*, в Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, Pa., 1985, p. 301). Эмульсии часто являются двухфазными системами, содержащими две несмешиваемые жидкие фазы, непосредственно смешиваемые и диспергируемые друг в друге. В основном, эмульсии могут иметь тип "вода-в-масле" (w/o) или "масло-в-воде" (o/w). Если водная фаза тонко разделена и диспергирована в виде мелких капель в объемной масляной фазе, полученную композицию называют эмульсией "вода-в-масле" (w/o). Альтернативно, если масляная фаза тонко разделена и диспергирована в виде мелких капель в объемной водной фазе, полученную композицию называют эмульсией "масло-в-воде" (o/w). Эмульсии могут содержать дополнительные компоненты в дополнение к диспергированным фазам и активное лекарственное средство, которое может присутствовать в виде раствора в водной фазе, масляной фазе или как таковое в виде отдельной фазы. При необходимости, в эмульсиях также могут присутствовать фармацевтические эксципиенты, такие как эмульгаторы, стабилизаторы, красители и антиоксиданты. Фармацевтические эмульсии также могут являться множественными эмульсиями, состоящими из более чем двух фаз, такими как, например, эмульсии "масло-в-воде-в-масле" (o/w/o) и "вода-в-масле-в-воде" (w/o/w). Такие сложные составы часто обеспечивают некоторые преимущества, в отличие

от простых бинарных эмульсий. Множественные эмульсии, в которых отдельные капли масла эмульсии o/w заключают небольшие капли воды, представляют собой эмульсию w/o/w. Аналогично, система капель масла, заключенных в глобулы воды, стабилизированные в непрерывной масляной фазе, представляют собой эмульсию o/w/o.

Эмульсии отличаются небольшой термодинамической стабильностью или ее отсутствием. Зачастую дисперсная или дискретная фаза эмульсии хорошо диспергирована во внешней или непрерывной фазе, и ее поддерживают в этой форме с помощью эмульгаторов или вязкости состава. Другие средства стабилизации эмульсий включают использование эмульгаторов, которые можно включать в любую фазу эмульсии. Эмульгаторы можно условно разделить на четыре категории: синтетические поверхностно-активные вещества, природные эмульгаторы, абсорбционные базы и тонкодисперсные твердые вещества (см., например, Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Allen, LV., Popovich NG., and Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (8th ed.), New York, NY; Idson, в Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 199).

Синтетические поверхностно-активные вещества, также известные как поверхностно-активные средства, нашли широкое применение в составлении эмульсий, и их обзоры представлены в литературе (см., например, Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Allen, LV., Popovich NG., and Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (8th ed.), New York, NY; Rieger, в Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 285; Idson, в Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., 1988, volume 1, p. 199). Поверхностно-активные вещества, как правило, являются амфифильными и содержат гидрофильную и гидрофобную часть. Соотношение гидрофильной и гидрофобной части поверхностно-активного вещества обозначают как гидрофильно-липофильный баланс (HLB), и он является важным инструментом для классификации и выбора поверхностно-активных веществ для получения составов. Поверхностно-активные вещества можно разделять на разные классы по природе гидрофильной группы: неионные, анионные, катионные и амфотерные (см., например, Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Allen, LV., Popovich NG., and Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (8th ed.), New York, NY; Rieger, в Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 285).

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

Введение составов эмульсий дерматологическим, пероральным и парентеральными путями и способы их производства описаны в литературе (см., например, Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Allen, LV., Popovich NG., and Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (8th ed.), New York, NY; Idson, в Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 199).

ii. Микроэмульсии

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиции iRNA и нуклеиновые кислоты составляют в виде микроэмульсий. Микроэмульсию можно определять как систему воды, масла и амфифильного вещества, являющуюся единым оптически изотропным и термодинамически стабильным жидким раствором (см., например, Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Allen, LV., Popovich NG., and Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (8th ed.), New York, NY; Rosoff, в Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 245). Как правило, микроэмульсии являются системами, получаемыми посредством начального диспергирования масла в водном растворе поверхностно-активного вещества, а затем добавления достаточного количества четвертого компонента, как правило, спирта с цепью промежуточной длины, для получения прозрачной системы. Таким образом, микроэмульсии также описаны как термодинамически стабильные, изотропно прозрачные дисперсии двух несмешиваемых жидкостей, стабилизируемые межфазными пленками поверхностно-активных молекул (Leung and Shah, в: Controlled Release of Drugs: Polymers and Aggregate Systems, Rosoff, M., Ed., 1989, VCH Publishers, New York, pages 185-215).

iii. Микрочастицы

iRNA по изобретению можно включать в частицу, например, микрочастицу. Микрочастицы можно получать посредством сушки распылением, но также и другими способами, включая лиофилизацию, выпаривание, сушку в псевдоожиженном слое, сушку вакуумом или комбинацию этих способов.

iv. Усилители проникающей способности

В одном из вариантов осуществления в настоящем изобретении используют различные усилители проникающей способности для осуществления эффективной доставки нуклеиновых кислот, в частности iRNA, в кожу животных. Большинство лекарственных средств присутствуют в растворе в ионизированной и неионизированной формах. Однако, как правило, только растворимые в липидах или липофильные лекарственные средства легко пересекают клеточные мембраны. Обнаружено, что даже нелипофильные лекарственные средства могут пересекать клеточные мембраны, если пересекаемую мембрану обработать усилителем проникающей способности. В дополнение к облегчению диффузии нелипофильных лекарственных средств через клеточные мембраны, усилители проникающей способности также повышают проникающую способность липофильных лекарственных средств.

Усилители проникающей способности можно разделить на пять обширных категорий, т.е. поверхностно-активные вещества, жирные кислоты, соли желчных кислот, хелатирующие средства и нехелатирующие не-поверхностно-активные вещества (см., например, Malmsten, M. *Surfactants and polymers in drug delivery*, Informa Health Care, New York, NY, 2002; Lee et al., *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*, 1991, p.92). Каждый из упомянутых выше классов усилителей проникающей способности и их использование в производстве фармацевтических композиций и доставке фармацевтических средств хорошо известны в этой области.

v. Эксципиенты

В отличие от соединения-носителя, "фармацевтический носитель" или "эксципиент" является фармацевтически приемлемым растворителем, суспендирующим средством или любым другим фармакологически инертным носителем для введения одной или более нуклеиновых кислот животному. Эксципиент может являться жидким или твердым, и его выбирают, учитывая планируемый способ введения, для обеспечения желаемого объема, консистенции и т.д. при комбинировании с нуклеиновой кислотой и другими компонентами указанной фармацевтической композиции. Такие средства хорошо известны в этой области.

vi. Другие компоненты

Композиции по настоящему изобретению могут дополнительно содержать другие вспомогательные компоненты, общепринято обнаруживаемые в фармацевтических композициях, на их используемых в этой области уровнях. Таким образом, например, композиции могут содержать дополнительные, совместимые, фармацевтически активные материалы, такие как, например, противозудные средства, вяжущие средства, местные анестетики или противовоспалительные средства, или могут содержать дополнительные материалы, которые можно использовать при физическом составлении различных лекарственных форм композиций по настоящему изобретению, такие как красители, ароматизаторы, консерванты, антиоксиданты, замутнители, загустители и стабилизаторы. Однако, такие материалы при добавлении не должны чрезмерно мешать биологической активности компонентой композиций по настоящему изобретению. Составы можно стерилизовать и, при желании, смешивать с вспомогательными средствами, например, смазочными средствами, консервантами, стабилизаторами, увлажнителями, эмульгаторами, солями для регуляции осмотического давления, буферами, красителями, вкусовыми добавками или ароматизаторами и т.п., не взаимодействующими неблагоприятно с нуклеиновыми кислотами состава.

Водные суспензии могут содержать вещества, повышающие вязкость суспензии, включая, например, натрий-карбоксиметилцеллюлозу, сорбит или декстран. Суспензия также может содержать стабилизаторы.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции по изобретению включают (a) одну или более iRNA и (b) одно или более средств, функционирующих с помощью иного механизма, чем iRNA, и которые можно использовать в лечении ксантиндегидрогеназа-ассоциированного нарушения.

Токсичность и профилактическую эффективность таких соединений можно определять стандартными фармацевтическими способами в культурах клеток или на экспериментальных животных, например, для определения LD_{50} (дозы, летальной для 50% популяции) и ED_{50} (дозы, профилактически эффективной для 50% популяции). Соотношение доз между токсическими и терапевтическими эффектами представляет собой терапевтический индекс, и его можно выражать как соотношение LD_{50}/ED_{50} . Предпочтительными являются соединения, демонстрирующие высокие терапевтические индексы.

Данные, полученные в анализах культур клеток и исследованиях на животных, можно использовать при составлении диапазона доз для использования на людях. Доза композиций по изобретению, как правило, находится в диапазоне концентраций в кровотоке, включающих ED_{50} , например, ED_{80} или ED_{90} , с небольшой токсичностью или без нее. Доза может варьироваться в этом диапазоне в зависимости от используемой лекарственной формы и пути введения. Для любого соединения, используемого в способах по изобретению, профилактически эффективную дозу можно определять исходно с помощью анализов культур клеток. Дозу можно определять в моделях на животных для достижения диапазона концентрации соединения в плазме или, при необходимости, полипептидного продукта целевой последовательности (например, достигая сниженной концентрации полипептида), включающего IC_{50} (т.е. концентрации тестируемого соединения, при которой достигают полумаксимального ингибирования симптомов) или более высокие уровни ингибирования, что определяют в культуре клеток. Такую информацию можно использовать для более точного определения доз, которые можно использовать на людях. Уровни в плазме можно измерять, например, с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии.

В дополнение к их введению, указанному выше, iRNA по изобретению можно вводить в комбинации с другими известными средствами, используемыми для профилактики или лечения ксантиндегидрогеназа-ассоциированного нарушения. В любом случае, осуществляющий введение лечащий врач может корректировать дозу и временной режим введения iRNA с учетом результатов, наблюдаемых с использованием стандартных показателей эффективности, известных в этой области или представленных в настоящем описании.

VI. Способы ингибирования экспрессии ксантиндегидрогеназы

Настоящее изобретение также относится к способам ингибирования экспрессии гена XDH в клетке. Способы включают приведение клетки в контакт с РНКи-средством, например, двухцепочечным РНК-средством, в количестве, эффективном для ингибирования экспрессии XDH в клетке, и, таким образом, ингибирование экспрессии XDH в клетке.

Приведение клетки в контакт с iRNA, например, двухцепочечным РНК-средством, можно осуществлять *in vitro* или *in vivo*. Приведение клетки в контакт *in vivo* с iRNA включает приведение клетки или группы клеток в контакт в организме индивидуума,

например, человека, с iRNA. Также возможны комбинации способов приведения клетки в контакт *in vitro* и *in vivo*. Приведение клетки в контакт может являться прямым или косвенным, как указано выше. Кроме того, приведение клетки в контакт можно осуществлять с помощью нацеливающего лиганда, включая любой лиганд, представленный в настоящем описании или известный в этой области. В некоторых вариантах осуществления нацеливающий лиганд является молекулой углевода, например, лиганд GalNAc, или любым другим лигандом, направляющим РНКи-средство в интересующее место.

В рамках изобретения термин "ингибирование" используют взаимозаменяемо с терминами "снижение", "сайленсинг", "отрицательная регуляция", "супрессия" и другими схожими терминами, и он включает любой уровень ингибирования.

Фраза "ингибирование экспрессии гена ксантиндегидрогеназы" предназначен для обозначения ингибирования экспрессии любого гена ксантиндегидрогеназы (такого как, например, ген ксантиндегидрогеназы мыши, ген ксантиндегидрогеназы крысы, ген ксантиндегидрогеназы обезьяны или ген ксантиндегидрогеназы человека), а также вариантов или мутантов гена ксантиндегидрогеназы. Таким образом, ген ксантиндегидрогеназы может являться геном ксантиндегидрогеназы дикого типа, мутантным геном ксантиндегидрогеназы или трансгенным геном ксантиндегидрогеназы в контексте подвергшейся генетическому воздействию клетки, группы клеток, или организма.

"Ингибирование экспрессии гена ксантиндегидрогеназы" включает любой уровень ингибирования гена ксантиндегидрогеназы, например, по меньшей мере частичную супрессию экспрессии гена ксантиндегидрогеназы, такую как клинически значимый уровень супрессии. Экспрессию гена ксантиндегидрогеназы можно оценивать с учетом уровня или изменения уровня любой переменной, ассоциированной с экспрессией гена ксантиндегидрогеназы, например, уровня мРНК ксантиндегидрогеназы или уровня белка ксантиндегидрогеназы, или, например, уровней мочевой кислоты в сыворотке. Ингибирование можно оценивать по снижению абсолютного или относительного уровня одной или более из этих переменных по сравнению с контрольным уровнем. Этот уровень можно оценивать в отдельной клетке или группе клеток, включая, например, образец, полученный от индивидуума. Следует понимать, что ксантиндегидрогеназа экспрессируется, главным образом, в печени, и присутствует в кровотоке.

Ингибирование можно оценивать по снижению абсолютного или относительного уровня одной или более переменных, ассоциированных с экспрессией ксантиндегидрогеназы по сравнению с контрольным уровнем. Контрольный уровень может являться любым типом контрольного уровня, используемым в этой области, например, начальным уровнем до введения дозы или уровнем, определенном на схожем индивидууме, клетке или образце, являющимся необработанным или обработанным контролем (таким как, например, контроль только с буфером или контрольное неактивное средство).

В некоторых вариантах осуществления способов по изобретению экспрессию гена ксантиндегидрогеназы ингибирую на по меньшей мере, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% или ниже уровня обнаружения анализа. В некоторых вариантах осуществления экспрессию гена ксантиндегидрогеназы ингибируют на по меньшей мере 70%. Также следует понимать, что желательным может являться ингибирование экспрессии ксантиндегидрогеназы в некоторых тканях, например, в желчном пузыре, без значительного ингибирования экспрессии в других тканях, например, головном мозге. В некоторых вариантах осуществления уровень экспрессии определяют способом анализа, представленного в примере 2, с использованием концентрации 10 нМ миРНК в подходящей, совпадающей по биологическому виду линии клеток.

В некоторых вариантах осуществления ингибирование экспрессии *in vivo* определяют по нокдауну гена человека у грызуна, экспрессирующего ген человека, например, инфицированной AAV мыши, экспрессирующей ген-мишень человека (т.е. ксантиндегидрогеназу), например, при введении в виде однократной дозы, например, 3 мг/кг, в точке максимального снижения РНК экспрессия. Нокдаун экспрессии эндогенного гена в модельной системе на животных также можно определять, например, после введения однократной дозы, например, 3 мг/кг, в точке максимального снижения экспрессии РНК. Такие системы можно использовать, если последовательность нуклеиновой кислоты гена человека и гена модельного животного достаточно близки, чтобы iRNA человека обеспечивала эффективный нокдаун гена модельного животного. Экспрессию РНК в печени определяют способами ПЦР, представленными в примере 2.

Ингибирование экспрессии гена ксантиндегидрогеназы может проявляться снижением количества мРНК, экспрессируемой первой клеткой или группой клеток (такие клетки могут присутствовать, например, в образце, полученном от индивидуума), в которых транскрибируется ген ксантиндегидрогеназы и которые обработаны (например, посредством приведения клетки или клеток в контакт с iRNA по изобретению или введения iRNA по изобретению индивидууму, в котором клетки присутствуют или присутствовали) таким образом, что ингибируют экспрессию гена ксантиндегидрогеназы по сравнению со второй клеткой или группой клеток, по существу, идентичных первой клетке или группе клеток, не подвергнутых такой обработке (контрольные клетки, необработанные iRNA или необработанные iRNA, нацеленной на интересующий ген). В некоторых вариантах осуществления ингибирование оценивают способом, представленным в примере 2, используя, например, концентрацию 10 нМ миРНК в совпадающей по биологическому виду линии клеток и выражая уровень мРНК в обработанных клетках как процент от уровня мРНК в контрольных клетках по следующей формуле:

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

В других вариантах осуществления ингибирование экспрессии гена ксантиндегидрогеназы можно оценивать в терминах снижения параметра, функционально связанного с экспрессией гена ксантиндегидрогеназы, например, уровня белка

ксантиндегидрогеназы в крови или сыворотке индивидуума. Сайленсинг гена ксантиндегидрогеназы можно определять в любой клетке, экспрессирующей ксантиндегидрогеназу, эндогенную или гетерологичную с экспрессирующей конструкции, с помощью любого анализа, известного в этой области.

Ингибирование экспрессии белка ксантиндегидрогеназы может проявляться снижением уровня белка ксантиндегидрогеназы, экспрессируемого клеткой или группой клеток или в образце от индивидуума (например, уровня белка в образце крови, полученном от индивидуума). Как описано выше, для оценки супрессии мРНК ингибирование уровней экспрессии белка в обработанной клетке или группе клеток можно аналогичным образом выражать как процент от уровня белка в контрольной клетке или группе клетки или изменение уровня белка в образце от индивидуума, например, полученной от него крови или сыворотке.

Контрольная клетка, группа клеток или образец от индивидуума, которые можно использовать для оценки ингибирования экспрессии гена ксантиндегидрогеназы, включает клетку, группу клеток или образец от индивидуума, еще не приведенные в контакт с РНКи-средством по изобретению. Например, контрольную клетку, группу клеток или образец от индивидуума можно получать из индивидуума (например, человека или животного) перед лечением индивидуума с использованием РНКи-средства или соответствующим образом совпадающего популяционного контроля.

Уровень мРНК ксантиндегидрогеназы, экспрессируемой клеткой или группой клеток можно определять любым известным в этой области способом оценки экспрессии мРНК. В одном из вариантов осуществления уровень экспрессии ксантиндегидрогеназы в образце определяют посредством детекции транскрибированного полинуклеотида или его части, например, мРНК гена ксантиндегидрогеназы. РНК можно выделять из клеток способами выделения РНК, включая, например, с использованием выделения кислым фенолом/гуанидин изотиоцианатом (RNAzol B; Biogenesis), наборов для получения РНК RNeasy™ (Qiagen®) или PAXgene™ (PreAnalytix™, Switzerland). Типичные форматы анализа с использованием гибридизации рибонуклеиновой кислоты включают анализ ядерной run-on-транскрипции, RT-ПЦР, анализы защиты от РНКаз, "нозерн"-блоттинг, гибридизацию *in situ* и микроматричный анализ.

В некоторых вариантах осуществления уровень экспрессии ксантиндегидрогеназы определяют с использованием зонда нуклеиновой кислоты. В рамках изобретения термин "зонд" относится к любой молекуле, способной селективно связываться с конкретной ксантиндегидрогеназой. Зонды может синтезировать специалист в этой области, или их можно получать из подходящих биологических препаратов. Зонды можно специально конструировать для мечения. Неограничивающие примеры молекул, которые можно использовать в качестве зондов включают РНК, ДНК, белки, антитела и органические молекулы.

Выделенную мРНК можно использовать в анализах гибридизации или амплификации, включающих, в качестве неограничивающих примеров, Саузерн- или

нозерн-блоттинг, полимеразную цепную реакцию (ПЦР) и анализы матрицы зондов. Один из способов определения уровней мРНК включает приведение выделенной мРНК в контакт с молекулой нуклеиновой кислоты (зондом), которая может гибридизоваться с мРНК ксантиндегидрогеназы. В одном из вариантов осуществления мРНК иммобилизуют на твердой поверхности и приводят в контакт с зондом, например, прогоняя выделенную мРНК на агарозном геле и перенося мРНК с геля на мембрану, такую как нитроцеллюлоза. В альтернативном варианте осуществления зонды иммобилизуют на твердой поверхности и мРНК приводят в контакт с зондами, например, в анализе на генетическом чипе Affymetrix®. Специалисты в этой области легко могут адаптировать известные способы детекции мРНК для использования в определении уровня мРНК ксантиндегидрогеназы.

Альтернативный способ определения уровня экспрессии ксантиндегидрогеназы в образце включает способ амплификации нуклеиновой кислоты или обратной транскрипции (для получения кДНК), например, мРНК, в образце, например, посредством RT-ПЦР (экспериментальный вариант осуществления приведен в Mullis, 1987, патенте США № 4683202), лигазной цепной реакции (Barany (1991) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88:189-193), самоподдерживающейся репликации последовательностей (Guatelli *et al.* (1990) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87:1874-1878), системы транскрипционной амплификации (Kwoh *et al.* (1989) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:1173-1177), репликазы Q-бета (Lizardi *et al.* (1988) *Bio/Technology* 6:1197), репликации по типу "катящегося кольца" (Lizardi *et al.*, патент США № 5854033) или любого другого способа амплификации нуклеиновой кислоты с последующей детекцией амплифицированных молекул способами, хорошо известными специалистам в этой области. Эти схемы детекции особенно полезны для детекции молекул нуклеиновой кислоты, если такие молекулы присутствуют в очень малых количествах. В конкретных аспектах изобретения уровень экспрессии XDH определяют посредством количественной флуоресцентной RT-ПЦР (т.е. системы TaqMan™). В некоторых вариантах осуществления экспрессия уровень определяют способом, представленным в примере 2, с использованием, например, концентрации 10 нМ миРНК, в совпадающей по биологическому виду линии клеток.

Уровни экспрессии мРНК ксантиндегидрогеназы можно подвергать мониторингу с использованием блоттинга на мембранах (такого как используемый в анализе гибридизации, таком как нозерн-блоттинг, Саузерн-блоттинг, дот-блоттинг и т.п.) или микролунок, пробирок для образцов, гелей, бусин или волокон (или любой твердой подложки, содержащей связанные нуклеиновые кислоты). См. патенты США №№ 5770722, 5874219, 5744305, 5677195 и 5445934, включенные в настоящее описание в качестве ссылки. Определение уровня экспрессии ксантиндегидрогеназы также может включать использование зондов нуклеиновой кислоты в растворе.

В некоторых вариантах осуществления уровень экспрессии мРНК оценивают с использованием анализов разветвленной ДНК (bDNA) или ПЦР в реальном времени (qPCR). Использование этих способов описано и приведено в примерах, представленных в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления уровень экспрессии

определяют способом, представленным в примере 2, с использованием концентрации 10 нМ миРНК в совпадающей по биологическому виду линии клеток.

Уровень экспрессии белка XDH можно определять любым известным в этой области способом измерения уровней белка. Такие способы включают, например, электрофорез, капиллярный электрофорез, высокоэффективную жидкостную хроматографию (ВЭЖХ), тонкослойную хроматографию (TLC), гипердиффузионную хроматографию, реакции преципитации в жидкости или гели, абсорбционную спектроскопию, колориметрические анализы, спектрофотометрические анализы, проточную цитометрию, иммунодиффузию (одномерную или двойную), иммуноэлектрофорез, вестерн-блоттинг, радиоиммунологический анализ (RIA), твердофазные иммуноферментные анализы (ELISA), иммунофлуоресцентные анализы, электрохемилюминесцентные анализы, и т.п.

В некоторых вариантах осуществления эффективность способов по изобретению оценивают по снижению уровня мРНК или белка XDH (например, в биоптате печени).

В некоторых вариантах осуществления способов по изобретению iRNA вводят индивидууму таким образом, что iRNA доставляется в конкретный участок в организме индивидуума. Ингибирование экспрессии ксантиндегидрогеназы можно оценивать с использованием измерений уровня или изменения уровня мРНК ксантиндегидрогеназы или белка ксантиндегидрогеназы в образце, полученной из жидкости или ткани из конкретного участка в организме индивидуума (например, печени или крови).

В рамках изобретения термины "детекция" или "определение" уровня аналита следует понимать как означающие осуществление стадий для определения наличия материала, например, белка, РНК. В рамках изобретения способы детекции или определения включают детекцию или определение уровня аналита ниже уровня обнаружения для используемого способа.

VII. Способы профилактики и лечения по изобретению

Настоящее изобретение также относится к способам применения iRNA по изобретению или композиции, содержащей iRNA по изобретению, для ингибирования экспрессии ксантиндегидрогеназы и, таким образом, профилактики или лечения ксантиндегидрогеназа-ассоциированного нарушения, например, гиперурикемии, подагры, НАЖБП, НАСГ, нарушения обмена веществ, резистентности к инсулину, сердечно-сосудистого заболевания, гипертензии, диабета 2 типа и состояний, связанных с оксидативным стрессом, например, хронического неспецифического воспаления.

В одном из вариантов осуществления ксантиндегидрогеназа-ассоциированное заболевание является гиперурикемией.

В другом варианте осуществления ксантиндегидрогеназа-ассоциированное заболевание является подагрой.

В способах по изобретению клетку можно приводить в контакт с миРНК *in vitro* или *in vivo*, т.е. клетка может находиться в организме индивидуума.

Клетка, подходящая для обработки способами по изобретению, может являться любой клеткой, экспрессирующей ген ксантиндегидрогеназы, например, клеткой печени,

клеткой головного мозга, клеткой желчного пузыря, клеткой сердца или клеткой почки. В некоторых вариантах осуществления клетка является клеткой печени. Клетка, подходящая для использования в способах по изобретению, может являться клеткой млекопитающего, например, клетками приматов (такими как клетка человека, включая клетку человека в химерном, не являющемся человеком животном или клетку не являющегося человеком примата, например, клетку мартышки или клетку шимпанзе) или клетками, не принадлежащими приматами. В некоторых вариантах осуществления клетка является клеткой человека, например, клеткой печени человека. В способах по изобретению экспрессию ксантиндегидрогеназы ингибируют в клетке на по меньшей мере 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90 или 95% или до уровня ниже уровня обнаружения для анализа.

Способы по изобретению *in vivo* могут включать введение индивидууму композиции, содержащей iRNA, где iRNA включает нуклеотидную последовательность, комплементарную по меньшей мере части транскрипта РНК гена ксантиндегидрогеназы млекопитающего, которому будут вводить РНКи-средство. Композицию можно вводить любыми способами, известными в этой области, включая, в качестве неограничивающих примеров, пероральный, интраперитонеальный или парентеральный пути, включая внутрочерепное (например, внутрижелудочковое, интрапаренхиматозное и интратекальное), внутривенное, внутримышечное, подкожное, трансдермальное введение, введение в дыхательные пути (аэрозольное), назальное, ректальное и топическое (включая буккальное и сублингвальное) введение. В некоторых вариантах осуществления композиции вводят посредством внутривенной инфузии или инъекции. В некоторых вариантах осуществления композиции вводят посредством подкожной инъекции. В некоторых вариантах осуществления композиции вводят посредством внутримышечной инъекции.

В некоторых вариантах осуществления введение осуществляют посредством депо-инъекции. Депо-инъекция может высвобождать iRNA последовательно в течение длительного периода времени. Таким образом, депо-инъекция может приводить к снижению частоты введения, необходимой для достижения желаемого эффекта, например, желаемого ингибирования XDH, или терапевтического или профилактического эффекта. Депо-инъекция также может обеспечивать более устойчивые концентрации в сыворотке. Депо-инъекции могут включать подкожные инъекции или внутримышечные инъекции. В некоторых вариантах осуществления депо-инъекция является подкожной инъекцией.

В некоторых вариантах осуществления введение осуществляют посредством насоса. Насос может являться внешним насосом или хирургически имплантированным насосом. В некоторых вариантах осуществления насос является подкожно имплантированным осмотическим насосом. В других вариантах осуществления насос является инфузионным насосом. Инфузионный насос можно использовать для внутривенных, подкожных, артериальных или эпидуральных инфузий. В некоторых вариантах осуществления инфузионный насос является подкожным инфузионным насосом. В других вариантах

осуществления насос является хирургически имплантированным насосом, доставляющим iRNA в печень.

Способ введения можно выбирать в зависимости от того, является ли желаемым локальное или системное лечение, и в зависимости от площади, подвергаемой обработке. Путь и участок введения можно выбирать для повышения таргетинга.

В одном из аспектов настоящее изобретение также относится к способам ингибирования экспрессии гена ксантиндегидрогеназы у млекопитающего. Способы включают введение млекопитающему композиции, содержащей дцРНК, нацеленной на ген ксантиндегидрогеназы в клетке млекопитающего, и поддержание млекопитающего в течение периода времени, достаточного для достижения деградации транскрипта мРНК гена ксантиндегидрогеназы и, таким образом, ингибирования экспрессии гена ксантиндегидрогеназы в клетке. Снижение экспрессии гена можно оценивать любыми известными в этой области способами и способами, например qRT-ПЦР, представленными в настоящем описании, например, в примере 2. Снижение продукции белка можно оценивать любыми способами, известными в этой области, например, ELISA. В некоторых вариантах осуществления пункционный биоптат печени служит в качестве материала ткани для мониторинга снижения экспрессии гена или белка ксантиндегидрогеназы. В других вариантах осуществления образец крови служит в качестве рассматриваемого образца для мониторинга снижения экспрессии белка ксантиндегидрогеназы.

Настоящее изобретение дополнительно относится к способам лечения нуждающегося в этом индивидуума, например, индивидуума, у которого диагностировано ксантиндегидрогеназа-ассоциированное нарушение, такое как гиперурикемия, подагра, НАЖБП, НАСГ, нарушение обмена веществ, резистентность к инсулину, сердечно-сосудистое заболевание, гипертензия, диабет 2 типа и состояния, связанные с оксидативным стрессом, например, хроническое неспецифическое воспаление.

Настоящее изобретение дополнительно относится к способам профилактики у нуждающегося в этом индивидуума. Способы лечения по изобретению включают введение iRNA по изобретению индивидууму, например, индивидууму, который получит пользу от снижения экспрессии ксантиндегидрогеназы, в профилактически эффективном количестве iRNA, нацеленной на ген ксантиндегидрогеназы, или фармацевтической композиции, содержащей iRNA, нацеленную на ген ксантиндегидрогеназы.

В одном из вариантов осуществления ксантиндегидрогеназа-ассоциированное заболевание является гиперурикемией.

В другом варианте осуществления ксантиндегидрогеназа-ассоциированное заболевание является подагрой.

iRNA по изобретению можно вводить в виде "свободной iRNA". Свободную iRNA вводят в отсутствие фармацевтической композиции. "Голая" iRNA может находиться в подходящем буферном растворе. Буферный раствор может содержать ацетат, цитрат, проламин, карбонат или фосфат или любую их комбинацию. В одном из вариантов осуществления буферный раствор является фосфатно-солевым буфером (PBS). pH и

осмолярность буферного раствора, содержащего iRNA, можно корректировать так, чтобы он подходил для введения индивидууму.

Альтернативно, iRNA по изобретению можно вводить в виде фармацевтической композиции, такой как липосомальный состав дцРНК.

Индивидуумы, которые получают пользу от ингибирования экспрессии ксантиндегидрогеназы, являются индивидуумами, имеющими предрасположенность или диагноз XDH-ассоциированного нарушения, например, гиперурикемии или подагры.

В варианте осуществления способ включает введение композиции по изобретению таким образом, что снижают экспрессию целевого гена ксантиндегидрогеназы, например, в течение приблизительно 1, 2, 3, 4, 5, 6, 1-6, 1-3 или 3-6 месяцев на дозу. В некоторых вариантах осуществления композицию вводят раз в 3-6 месяцев.

В некоторых вариантах осуществления iRNA, которые можно использовать в способах и композициях по изобретению, специфически нацелены на РНК (первичную или процессированную) целевого гена ксантиндегидрогеназы. Композиции и способы для ингибирования экспрессии этих генов с использованием iRNA можно получать и осуществлять, как представлено в настоящем описании.

Введение iRNA способами по изобретению может приводить к профилактике или лечению ксантиндегидрогеназа-ассоциированного нарушения, например, гиперурикемии и подагры.

Индивидуумам можно вводить терапевтическое количество iRNA, такое как от приблизительно 0,01 мг/кг до приблизительно 200 мг/кг. Индивидуумам можно вводить терапевтическое количество iRNA, такое как от приблизительно 5 мг до приблизительно 1000 мг, в виде фиксированной дозы, независимо от масса тела.

В некоторых вариантах осуществления iRNA вводят подкожно, т.е. посредством подкожной инъекции. Можно использовать одну или более инъекций для введения желаемой дозы iRNA индивидууму. Инъекции можно повторять в течение периода времени.

Введение можно повторять на регулярной основе. В некоторых вариантах осуществления после исходной схемы лечения лекарственное средство можно вводить реже. Схема лечения с повторными дозами может включать введение терапевтического количества iRNA на регулярной основе, например, от раза в месяц до раза в год. В некоторых вариантах осуществления iRNA вводят от приблизительно раза в месяц до приблизительно раза в три месяца или от приблизительно раза в три месяца до приблизительно раза в шесть месяцев.

Изобретение дополнительно относится к способам и применению iRNA-средства или его фармацевтической композиции для лечения индивидуума, который получит пользу от снижения или ингибирования экспрессии гена XDH, например, индивидуума, имеющего XDH-ассоциированное заболевание, в комбинации с другими фармацевтическими средствами или другими терапевтическими способами, например, с известными фармацевтическими средствами или известными терапевтическими способами, такими как,

например, используемые в настоящее время для лечения этих нарушений. Примеры фармацевтических средств включают аллопуринол, оксипуринол, пробенецид, расбуриказу, фебуксостат, анальгетик или противовоспалительные средства, например, НПВС.

Таким образом, в некоторых аспектах по изобретению способы, включающие любое отдельное iRNA-средство по изобретению, дополнительно включают введение индивидууму одного или более дополнительных терапевтических средств. iRNA-средство и дополнительное терапевтическое средство или способ лечения можно использовать в одно время или в одной комбинации, например, парентерально, или дополнительное терапевтическое средство можно вводить как часть отдельной композиции, или в отдельные моменты времени, или другим способом, известным в этой области или представленным в настоящем описании.

В одном из вариантов осуществления iRNA-средство вводят в комбинации с аллопуринолом. В одном из вариантов осуществления iRNA-средство вводят пациенту, а затем пациенту вводят дополнительное терапевтическое средство (или наоборот). В другом варианте осуществления iRNA-средство и дополнительное терапевтическое средство вводят одновременно.

iRNA-средство и дополнительное терапевтическое средство или способ лечения можно использовать в одно время или в одной комбинации, например, парентерально, или дополнительное терапевтическое средство можно вводить как часть отдельной композиции, или в отдельные моменты времени, или другим способом, известным в этой области или представленным в настоящем описании.

VIII. Наборы

В некоторых аспектах настоящее изобретение относится к наборам, включающим подходящий контейнер, содержащий фармацевтический состав соединения миРНК, например, двухцепочечного соединения миРНК или соединения ssiRNA, (например, предшественника, например, более крупного соединения миРНК, которое может процессироваться в соединение ssiRNA, или ДНК, кодирующей соединение миРНК, например, двухцепочечное соединение миРНК, или соединения ssiRNA, или его предшественника).

Такие наборы включают одно или более дцРНК-средств и инструкции по использованию, например, инструкции по введению профилактически или терапевтически эффективного количества дцРНК-средств. дцРНК-средство может находиться во флаконе или заранее наполненном шприце. Наборы, необязательно, могут дополнительно содержать средства для введения дцРНК-средства (например, инъекционное устройство, такое как заранее наполненный шприц) или средства для измерения ингибирования XDH (например, средства для измерения ингибирования мРНК XDH, белка XDH или активности XDH). Такие средства для измерения ингибирования XDH могут содержать средства для получения образца из индивидуума, такого как, например, образец плазмы. Наборы по

изобретению, необязательно, могут дополнительно содержать средства для определения терапевтически эффективного или профилактически эффективного количества.

В некоторых вариантах осуществления отдельные компоненты фармацевтического состава можно предоставлять в одном контейнере, например, флаконе или заранее наполненном шприце. Альтернативно, желательным может являться предоставление компонентов фармацевтического состава отдельно в двух или более контейнерах, например, одном контейнере для препарата соединения миРНК и по меньшей мере другом для соединения-носителя. Набор можно упаковывать в ряде разных конфигураций, таких как один или более контейнеров в одной коробке. Разные компоненты можно комбинировать, например, по инструкциям, предоставленным в наборе. Компоненты можно комбинировать способом, представленным в настоящем описании, например, для получения и введения фармацевтической композиции. Набор также может включать устройство для доставки.

Настоящее изобретение дополнительно проиллюстрировано следующими примерами, которые не следует истолковывать как ограничивающие. Содержание всех ссылок, патентов и опубликованных патентных заявок, процитированных на всем протяжении настоящей заявки, а также неформальный список последовательностей и фигуры, таким образом, включены в настоящее описание в качестве ссылки в полном объеме.

ПРИМЕРЫ

Пример 1. Синтез iRNA

Происхождение реагентов

Если в настоящем описании происхождение реагента конкретно не указано, такой реагент можно получать от любого поставщика реагентов для молекулярной биологии с уровнем стандарта качества/чистоты для использования в молекулярной биологии.

Дизайн миРНК

миРНК, нацеленные на ген ксантиндегидрогеназы (XDH), (человек: NCBI refseqID NM_000379; NCBI GeneID: 7498) конструировали с использованием собственных сценариев для R и Python. мРНК человека NM_000379 REFSEQ, версии 4, имеет длину 5715 оснований. Подробные списки немодифицированных нуклеотидных последовательностей смысловой и антисмысловой цепей XDH приведены в таблице 2. Подробные списки модифицированных нуклеотидных последовательностей смысловой и антисмысловой цепей XDH приведены в таблице 3.

Следует понимать, что на всем протяжении настоящей заявки название дуплекса без десятичного знака эквивалентно названию дуплекса с десятичным знаком, который просто относится к номеру партии дуплекса. Например, AD-959917 эквивалентен AD-959917.1.

Синтез миРНК

миРНК синтезировали и отжигали рутинными, известными в этой области способами.

В кратком изложении, последовательности мРНК синтезировали в масштабе 1 мкмоль с помощью синтезатора Mermade 192 (BioAutomation) с использованием фосфорамидитной химии на твердых подложках. Твердая подложка представляла собой стекло с контролируемым размером пор (500-1000 Å), нагруженное собственным лигандом GalNAc (конъюгатами 3'-GalNAc), универсальную твердую подложку (AM Chemicals) или первый интересующий нуклеотид. Вспомогательные реагенты для синтеза и стандартные 2-цианоэтилфосфорамидитные мономеры (2'-дезоксид-2'-фтор, 2'-О-метил, РНК, ДНК) получали в Thermo-Fisher (Milwaukee, WI), HONGGENE (China) или Chemgenes (Wilmington, MA, USA). Дополнительные фосфорамидитные мономеры приобретали у коммерческих поставщиков, получали собственными силами или приобретали с использованием синтеза на заказ в различных СМО. Фосфорамидиты получали в концентрации 100 мМ в ацетонитриле или ацетонитриле:DMF 9:1 и подвергали реакции сопряжения с использованием 5-этилтио-1Н-тетразола (ETT, 0,25 М в ацетонитриле) с временем реакции 400 сек. Фосфотиоатные связи получали с использованием 100 мМ раствора 3-((диметиламино-метилен)амино)-3Н-1,2,4-дитиазол-3-тиона (DDTT, полученного в Chemgenes (Wilmington, MA, USA)) в безводном ацетонитриле/пиридине (9:1 об./об.). Время окисления составляло 5 минут. Все последовательности синтезировали с конечным удалением группы DMT ("DMT-Off").

После завершения твердофазного синтеза связанные с твердой подложкой олигорибонуклеотиды обрабатывали 300 мкл метиламина (40%, водного) при комнатной температуре в 96-луночных планшетах в течение приблизительно 2 часов для достижения отщепления от твердой подложки и последующего удаления всех дополнительных неустойчивых к основаниям защитных групп. В случае последовательностей, содержащих какие-либо природные рибонуклеотидные связи (2'-ОН), защищенные трет-бутил-диметилсилиловой (TBDMS) группой, вторую стадию снятия защитных групп осуществляли с использованием TEA.3HF (триэтиламин тригидрофторида). В раствор каждого олигонуклеотида в водном метиламине добавляли 200 мкл диметилсульфоксида (DMSO) и 300 мкл TEA.3HF и раствор инкубировали в течение приблизительно 30 мин при 60°C. После инкубации планшету позволяли достичь комнатной температуры и неочищенные олигонуклеотиды осаждали добавлением 1 мл 9:1 ацетонитрила:этанола или 1:1 этанола:изопропанол. Затем планшет центрифугировали при 4°C в течение 45 мин и супернатант осторожно переливали с помощью многоканальной пипетки. Осадок олигонуклеотидов ресуспендировали в 20 мМ NaOAc, а затем обессоливали с использованием эксклюзионной колонки HiTrap (5 мл, GE Healthcare) на системе Agilent LC, оборудованной автосемплером, УФ-датчиком, кондуктометром и коллектором фракций. Обессоленные образцы собирали в 96-луночные планшеты, а затем анализировали посредством LC-MS и УФ-спектроскопии для подтверждения идентичности и анализа количества материала, соответственно.

Дуплексирование отдельных цепей осуществляли с помощью жидкостного манипулятора Tecan. Отдельные смысловые и антисмысловые цепи комбинировали в

эквимольном соотношении до конечной концентрации 10 мкМ в 1-кратном PBS в 96-луночных планшетах, планшеты герметично закрывали, инкубировали при 100°C в течение 10 минут, а затем позволяли им медленно достичь комнатной температуры в течение 2-3 часов. Подтверждали концентрацию и идентичность каждого дуплекса, а затем использовали для скрининговых анализов *in vitro*.

Пример 2. Способы скрининга *in vitro*

Культура клеток и эксперименты по свободному захвату

Первичные гепатоциты мыши (РМН) или первичные гепатоциты человека (РНН) выделяли менее чем за 1 час до трансфекции и выращивали в средах для первичных гепатоцитов.

Эксперименты по свободному захвату осуществляли посредством добавления 2,5 мкл дуплексов миРНК в PBS на лунку в 96-луночный планшет. Затем к миРНК добавляли полные среды для выращивания (47,5 мкл), содержащие приблизительно $1,5 \times 10^4$ РМН или РНН. Клетки инкубировали в течение 48 часов до очистки РНК и RT-qPCR. Эксперименты с однократной дозой осуществляли при конечной концентрации дуплекса 500 нМ, 100 нМ, 10 нМ и/или 0,1 нМ для РНН и 500 нМ, 100 нМ, нМ и 1 нМ для РМН.

Выделение тотальной РНК осуществляли с использованием Dynabeads. В кратком изложении, клетки лизировали в 10 мкл лизирующего/связывающего буфера, содержащего 3 мкл бус на лунку, и смешивали в течение 10 минут на электростатическом шейкере. Стадии промывки автоматизировали с помощью Biotek EL406 с использованием магнитной опоры для планшетов. Бусы промывали (в 3 мкл) однократно в буфере А, однократно в буфере В и дважды в буфере Е со стадиями аспирации между ними. После конечной аспирации в каждую лунку добавляли полные 12 мкл смеси RT, как описано ниже.

Для синтеза кДНК в лунку добавляли мастер-микс из 1,5 мкл 10-кратного буфера, 0,6 мкл 10-кратных dNTP, 1,5 мкл случайных праймеров, 0,75 мкл обратной транскриптазы, 0,75 мкл ингибитора РНКаз и 9,9 мкл H₂O на реакцию. Планшеты герметично закрывали, встряхивали в течение 10 минут на электростатическом шейкере, а затем инкубировали при 37°C в течение 2 часов. После этого планшеты встряхивали при 80°C в течение 8 минут.

Для RT-qPCR два микролитра (мкл) кДНК добавляли в мастер-микс, содержащий 0,5 мкл зонда TaqMan для GAPDH человека (4326317E), 0,5 мкл APOC3 человека, 2 мкл несодержащей нуклеазы воды и 5 мкл мастер-микса зонда Lightcycler 480 (Roche кат. № 04887301001) на лунку в 384-луночных планшетах (Roche кат. № 04887301001). ПЦР в реальном времени осуществляли с помощью системы для ПЦР в реальном времени LightCycler480 (Roche).

Для вычисления относительного кратного изменения данные анализировали способом $\Delta\Delta C_t$ и нормализовали по анализам, проведенным на клетках, трансфицированных с использованием 10 нМ AD-1955, или ложнотрансфицированных клетках. Вычисляли IC₅₀ с использованием 4-параметрической модели аппроксимации с использованием XLFit и нормализовали по клеткам, трансфицированным с использованием AD-1955 или ложнотрансфицированным. Смысловые и антисмысловые

последовательности AD-1955 представляют собой: смысловая: cuuAcGcuGAGuAciucGAdTsdT (SEQ ID NO: 21) и антисмысловая UCGAAGuACUcAGCGuAAGdTsdT (SEQ ID NO: 22).

Результаты экспериментов по свободному захвату дцРНК-средств, указанных в таблицах 2 и 3, в РНН приведены в таблице 4 и результаты экспериментов по свободному захвату дцРНК-средств, указанных в таблицах 2 и 3, в РМН приведены в таблице 5.

Таблица 1. Сокращенные обозначения мономеров нуклеотидов, используемые в представлении последовательности нуклеиновой кислоты. Следует понимать, что эти мономеры, если присутствуют в олигонуклеотиде, взаимно связаны 5'-3'-фосфодиэфирными связями; и следует понимать, что, если нуклеотид содержит 2'-фтор-модификацию, то фтором заменяют гидроксигруппу в этом положении в родительском нуклеотиде (т.е. он является 2'-дезоксид-2'-фторнуклеотидом).

Сокращение	Нуклеотиды
A	Аденозин-3'-фосфат
Ab	Бета-L-аденозин-3'-фосфат
Abs	Бета-L-аденозин-3'-фосфотиоат
Af	2'-фтораденозин-3'-фосфат
Afs	2'-фтораденозин-3'-фосфотиоат
As	Аденозин-3'-фосфотиоат
C	Цитидин-3'-фосфат
Cb	Бета-L-цитидин-3'-фосфат
Cbs	Бета-L-цитидин-3'-фосфотиоат
Cf	2'-фторцитидин-3'-фосфат
Cfs	2'-фторцитидин-3'-фосфотиоат
Cs	Цитидин-3'-фосфотиоат
G	Гуанозин-3'-фосфат
Gb	Бета-L-гуанозин-3'-фосфат
Gbs	Бета-L-гуанозин-3'-фосфотиоат
Gf	2'-фторгуанозин-3'-фосфат
Gfs	2'-фторгуанозин-3'-фосфотиоат
Gs	Гуанозин-3'-фосфотиоат
T	5'-метилуридин-3'-фосфат
Tf	2'-фтор-5-метилуридин-3'-фосфат
Tfs	2'-фтор-5-метилуридин-3'-фосфотиоат
Ts	5-метилуридин-3'-фосфотиоат
U	Уридин-3'-фосфат

Uf	2'-фторуридин-3'-фосфат
Ufs	2'-фторуридин -3'-фосфотиоат
Us	Уридин -3'-фосфотиоат
N	Любой нуклеотид, модифицированный или немодифицированный
a	2'-О-метиладенозин-3'-фосфат
as	2'-О-метиладенозин-3'-фосфотиоат
c	2'-О-метилцитидин-3'-фосфат
cs	2'-О-метилцитидин-3'-фосфотиоат
g	2'-О-метилгуанозин-3'-фосфат
gs	2'-О-метилгуанозин-3'-фосфотиоат
t	2'-О-метил-5-метилуридин-3'-фосфат
ts	2'-О-метил-5-метилуридин-3'-фосфотиоат
u	2'-О-метилуридин-3'-фосфат
us	2'-О-метилуридин-3'-фосфотиоат
s	Фосфотиоатная связь
L10	N-(холестерилкарбоксамидокапроил)-4-гидроксипролинол (Нур-С6-Chol)
L96	N-[трис(GalNAc-алкил)-амидодеканоил]-4-гидроксипролинол (Нур-(GalNAc-алкил)3)
Y34	2-гидроксиметил-тетрагидрофуран-4-метокси-3-фосфат (2'-ОМе-фураноза с удаленным азотистым основанием)
Y44	Инвертированная ДНК с удаленным азотистым основанием (2-гидроксиметил-тетрагидрофуран-5-фосфат)
(Agn)	Аденозин-гликоль-нуклеиновая кислота (GNA)
(Cgn)	Цитидин-гликоль-нуклеиновая кислота (GNA)
(Ggn)	Гуанозин-гликоль-нуклеиновая кислота (GNA)
(Tgn)	S-изомер тимидин-гликоль-нуклеиновой кислоты (GNA)

P	Фосфат
VP	Винилфосфонат
да	2'-дезоксиаденозин-3'-фосфат
dAs	2'-дезоксиаденозин-3'-фосфотиоат
dC	2'-дезоксцитидин-3'-фосфат
dCs	2'-дезоксцитидин-3'-фосфотиоат
dG	2'-дезоксигуанозин-3'-фосфат
dGs	2'-дезоксигуанозин-3'-фосфотиоат
dT	2'-дезокситимидин-3'-фосфат
dTs	2'-дезокситимидин-3'-фосфотиоат
dU	2'-деоксиуридин
dUs	2'-деоксиуридин-3'-фосфотиоат
(C2p)	Цитидин-2'-фосфат
(G2p)	Гуанозин-2'-фосфат
(U2p)	Уридин-2'-фосфат
(A2p)	Аденозин-2'-фосфат
(Ahd)	2'-О-гексадецил-аденозин-3'-фосфат
(Chd)	2'-О-гексадецил-цитидин-3'-фосфат
(Ghd)	2'-О-гексадецил-гуанозин-3'-фосфат
(Uhd)	2'-О-гексадецил-уридин-3'-фосфат
(Aams)	2'-О-(N-метилацетамид)аденозин-3'-фосфотиоат
(Gams)	2'-О-(N-метилацетамид)гуанозин-3'-фосфотиоат
(Tams)	2'-О-(N-метилацетамид)тимидин-3'-фосфотиоат

Таблица 2. Немодифицированный последовательности смысловой и антисмысловой цепей дцРНК-средств против ксантиндегидрогеназы

Название дуплекса	Смысловая последовательность 5'-3'	SEQ ID NO:	Диапазон в NM_000379.4	Антисмысловая последовательность 5'-3'	SEQ ID NO:	Диапазон в NM_000379.4
AD-1135979.1	UACCUGCCAGUGUCUCUUAGU	23	17-37	ACUAAGAGACACUGGCAGGUAGU	382	15-37
AD-1135980.1	ACCUGCCAGUGUCUCUUAGGU	24	18-38	ACCUAAGAGACACUGGCAGGUAG	383	16-38
AD-1135981.1	CCUGCCAGUGUCUCUUAGGAU	25	19-39	AUCCUAAGAGACACUGGCAGGUA	384	17-39
AD-1135982.1	UGCCAGUGUCUCUUAGGAGUU	26	21-41	AACUCCUAAGAGACACUGGCAGG	385	19-41
AD-1135983.1	GCCAGUGUCUCUUAGGAGUGU	27	22-42	ACACTCCUAAGAGACACUGGCAG	386	20-42
AD-1135984.1	CCAGUGUCUCUUAGGAGUGAU	28	23-43	AUCACUCCUAAGAGACACUGGCA	387	21-43
AD-1135985.1	CAGUGUCUCUUAGGAGUGAGU	29	24-44	ACUCACUCCUAAGAGACACUGGC	388	22-44
AD-1135986.1	AGUGUCUCUUAGGAGUGAGGU	30	25-45	ACCUCACUCCUAAGAGACACUGG	389	23-45
AD-1135987.1	UGGAGAAAAAUGCAGAUCCA	31	123-143	AUGGAUCUGCAUUUUUUCUCCACC	390	121-143

AD- 1135988.1	CCAGAGACAACCCUUU UGGCU	32	140-160	AGCCAAAAGGGUUGUC UCUGGAU	391	138-160
AD- 1135989.1	AGAGACAACCCUUUUG GCCUU	33	142-162	AAGGCCAAAAGGGUUG UCUCUGG	392	140-162
AD- 1135990.1	GCACAGUGAUGCUCUC CAAGU	34	228-248	ACUUGGAGAGCAUCAC UGUGCAA	393	226-248
AD- 1135991.1	CACAGUGAUGCUCUCC AAGUU	35	229-249	AACUTGGAGAGCAUCAC UGUGCA	394	227-249
AD- 1135992.1	GAUGCUCUCCAAGUAU GAUCU	36	235-255	AGAUCAUACUUGGAGA GCAUCAC	395	233-255
AD- 1135993.1	AUGCUCUCCAAGUAUG AUCGU	37	236-256	ACGAUCAUACUUGGAG AGCAUCA	396	234-256
AD- 1135994.1	UGCUCUCCAAGUAUGA UCGUU	38	237-257	AACGAUCAUACUUGGA GAGCAUC	397	235-257
AD- 1135995.1	GCUCUCCAAGUAUGAU CGUCU	39	238-258	AGACGAUCAUACUUGG AGAGCAU	398	236-258
AD- 1135996.1	CUCUCCAAGUAUGAUC GUCUU	40	239-259	AAGACGAUCAUACUUG GAGAGCA	399	237-259
AD- 1135997.1	GAUCGUCUGCAGAACA AGAUA	41	251-271	AAUCTUGUUCUGCAGAC GAUCAU	400	249-271
AD- 1135998.1	CGUCUGCAGAACAAGA UCGUU	42	254-274	AACGAUCUUGUUCUGC AGACGAU	401	252-274

AD- 1135999.1	GUCUGCAGAACAAGAU CGUCU	43	255-275	AGACGAUCUUGUUCUG CAGACGA	402	253-275
AD- 1136000.1	UCUGCAGAACAAGAUC GUCCU	44	256-276	AGGACGAUCUUGUUCU GCAGACG	403	254-276
AD- 1136001.1	GCAGAACAAGAUCGUC CACUU	45	259-279	AAGUGGACGAUCUUGU UCUGCAG	404	257-279
AD- 1136002.1	CAGAACAAGAUCGUCC ACUUU	46	260-280	AAAGTGGACGAUCUUG UUCUGCA	405	258-280
AD- 1136003.1	GAACAAGAUCGUCCAC UUUUU	47	262-282	AAAAAGTGGACGAUCU UGUUCUG	406	260-282
AD- 1136004.1	AACAAGAUCGUCCACU UUUCU	48	263-283	AGAAAAGUGGACGAUC UUGUUCU	407	261-283
AD- 1136005.1	ACAAGAUCGUCCACUU UUCUU	49	264-284	AAGAAAAGUGGACGAU CUUGUUC	408	262-284
AD- 1136006.1	CAAGAUCGUCCACUUU UCUGU	50	265-285	ACAGAAAAGUGGACGA UCUUGUU	409	263-285
AD- 1136007.1	AAGAUCGUCCACUUUU CUGCU	51	266-286	AGCAGAAAAGUGGACG AUCUUGU	410	264-286
AD- 1136008.1	CGUCCACUUUUCUGCC AAUGU	52	271-291	ACAUTGGCAGAAAAGU GGACGAU	411	269-291
AD- 1136009.1	GUCCACUUUUCUGCCA AUGCU	53	272-292	AGCATUGGCAGAAAAG UGGACGA	412	270-292

AD- 1136010.1	UGCUCUUGCACCAUG UUGCU	54	308-328	AGCAACAUGGUGCAAG GAGCAGA	413	306-328
AD- 1136011.1	UCCUUGCACCAUGUUG CAGUU	55	311-331	AACUGCAACAUGGUGC AAGGAGC	414	309-331
AD- 1136012.1	UUGCACCAUGUUGCAG UGACU	56	314-334	AGUCACTGCAACAUGGU GCAAGG	415	312-334
AD- 1136013.1	CACCAUGUUGCAGUGA CAACU	57	317-337	AGUUGUCACUGCAACA UGGUGCA	416	315-337
AD- 1136014.1	ACCAUGUUGCAGUGAC AACUU	58	318-338	AAGUTGTCACUGCAACA UGGUGC	417	316-338
AD- 1136015.1	AGGAGAGAAUUGCCAA AAGCU	59	381-401	AGCUTUTGGCAAUUCUC UCCUGC	418	379-401
AD- 1136016.1	GGAGAGAAUUGCCAAA AGCCU	60	382-402	AGGCTUTUGGCAAUUCU CUCCUG	419	380-402
AD- 1136017.1	UGGCAUCGUCAUGAGU AUGUU	61	430-450	AACAUACUCAUGACGA UGCCAGG	420	428-450
AD- 1136018.1	GGCAUCGUCAUGAGUA UGUAU	62	431-451	AUACAUACUCAUGACG AUGCCAG	421	429-451
AD- 1136019.1	GCAUCGUCAUGAGUAU GUACU	63	432-452	AGUACAUACUCAUGAC GAUGCCA	422	430-452
AD- 1136020.1	CAUCGUCAUGAGUAUG UACAU	64	433-453	AUGUACAUACUCAUGA CGAUGCC	423	431-453

AD- 1136021.1	AUCGUCAUGAGUAUGU ACACU	65	434-454	AGUGTACAUACUCAUGA CGAUGC	424	432-454
AD- 1136022.1	CGUCAUGAGUAUGUAC ACACU	66	436-456	AGUGTGTACAUACUCAU GACGAU	425	434-456
AD- 1136023.1	GUCAUGAGUAUGUACA CACUU	67	437-457	AAGUGUGUACAUCUC AUGACGA	426	435-457
AD- 1136024.1	UCAUGAGUAUGUACAC ACUGU	68	438-458	ACAGTGTGUACAUCUC AUGACG	427	436-458
AD- 1136025.1	AAUGCCUCCAAGGAA AUCUU	69	497-517	AAGATUTCCUUGGAAGG CAUUCU	428	495-517
AD- 1136026.1	AUGCCUCCAAGGAAA UCUGU	70	498-518	ACAGAUUCCUUGGAA GGCAUUC	429	496-518
AD- 1136027.1	UGCCUCCAAGGAAAU CUGUU	71	499-519	AACAGAUUCCUUGGA AGGCAUU	430	497-519
AD- 1136028.1	GCCUCCAAGGAAAUC UGUGU	72	500-520	ACACAGAUUCCUUGG AAGGCAU	431	498-520
AD- 1136029.1	CCUCCAAGGAAAUCU GUGCU	73	501-521	AGCACAGAUUCCUUG GAAGGCA	432	499-521
AD- 1136030.1	GAGAUGAAGUUCAAGA AUAUU	74	875-895	AAUATUCUUGAACUUCA UCUCAA	433	873-895
AD- 1136031.1	GAUGAAGUUCAAGAAU AUGCU	75	877-897	AGCAUAUUCUUGAACU UCAUCUC	434	875-897

AD- 1136032.1	AAGUUCAAGAAUAUGC UGUUU	76	881-901	AAACAGCAUAUUCUUG AACUUCA	435	879-901
AD- 1136033.1	AGUUCAAGAAUAUGCU GUUUU	77	882-902	AAAACAGCAUAUUCUU GAACUUC	436	880-902
AD- 1136034.1	GUUCAAGAAUAUGCUG UUUCU	78	883-903	AGAAACAGCAUAUUCU UGAACUU	437	881-903
AD- 1136035.1	UUCAAGAAUAUGCUGU UUCCU	79	884-904	AGGAAACAGCAUAUUC UUGAACU	438	882-904
AD- 1136036.1	AAGAAUAUGCUGUUUC CUAUU	80	887-907	AAUAGGAAACAGCAUA UUCUUGA	439	885-907
AD- 1136037.1	GGGAGUAUUUCUCAGC AUUCU	81	1320-1340	AGAATGCUGAGAAAUA CUCCCC	440	1318-1340
AD- 1136038.1	GGAGUAUUUCUCAGCA UUCAU	82	1321-1341	AUGAAUGCUGAGAAAU ACUCCCC	441	1319-1341
AD- 1136039.1	GAGUAUUUCUCAGCAU UCAAU	83	1322-1342	AUUGAAUGCUGAGAAA UACUCCC	442	1320-1342
AD- 1136040.1	AGUAUUUCUCAGCAUU CAAGU	84	1323-1343	ACUUGAAUGCUGAGAA AUACUCC	443	1321-1343
AD- 1136041.1	GUAUUUCUCAGCAUUC AAGCU	85	1324-1344	AGCUTGAAUGCUGAGA AAUACUC	444	1322-1344
AD- 1136042.1	GUGGCAUGAGAGUUUU AUUCU	86	1383-1403	AGAAUAAAACUCUCAU GCCACUG	445	1381-1403

AD- 1136043.1	GGCAUGAGAGUUUUUAU UCAAU	87	1385-1405	AUUGAAUAAAACUCUC AUGCCAC	446	1383-1405
AD- 1136044.1	CAUGAGAGUUUUUAUUC AAGCU	88	1387-1407	AGCUTGAAUAAAACUCU CAUGCC	447	1385-1407
AD- 1136045.1	CCUCACCCUCAGCUUC UUCUU	89	1606-1626	AAGAAGAAGCUGAGGG UGAGGGU	448	1604-1626
AD- 1136046.1	UCACCCUCAGCUUCUU CUUCU	90	1608-1628	AGAAGAAGAAGCUGAG GGUGAGG	449	1606-1628
AD- 1136047.1	UCUUCAAGUUCUACCU GACAU	91	1623-1643	AUGUCAGGUAGAACUU GAAGAAG	450	1621-1643
AD- 1136048.1	UUUCGCCAGUGCAACU UUACU	92	1702-1722	AGUAAAGUUGCACUGG CGAAAGU	451	1700-1722
AD- 1136049.1	UUCGCCAGUGCAACUU UACUU	93	1703-1723	AAGUAAAGUUGCACUG GCGAAAG	452	1701-1723
AD- 1136050.1	UUCCAGGGUUUGUUUG UUUCU	94	1962-1982	AGAAACAAACAAACCCU GGAACC	453	1960-1982
AD- 1136051.1	CAGGGUUUGUUUGUUU CAUUU	95	1965-1985	AAUUGAAACAAACAAA CCCUGGA	454	1963-1985
AD- 1136052.1	GGGUUUGUUUGUUUCA UUUCU	96	1967-1987	AGAAAUGAAACAAACA AACCCUG	455	1965-1987
AD- 1136053.1	GGUUUGUUUGUUUCAU UUCCU	97	1968-1988	AGGAAAUGAAACAAAC AAACCCU	456	1966-1988

AD- 1136054.1	UUGUUUGUUUCAUUUC CGCUU	98	1971-1991	AAGCGGAAAUGAAACA AACAAAC	457	1969-1991
AD- 1136055.1	UUCCUGGGAGUAACAU AACUU	99	1998-2018	AAGUUAUGUUACUCCC AGGAACA	458	1996-2018
AD- 1136056.1	GGGAGUAACAUAACUG GAAUU	100	2003-2023	AAUUCCAGUUAUGUUA CUCCCAG	459	2001-2023
AD- 1136057.1	UAACAUAACUGGAAUU UGUAU	101	2008-2028	AUACAAAUUCCAGUUA UGUUACU	460	2006-2028
AD- 1136058.1	AACAUAACUGGAAUUU GUAUU	102	2009-2029	AUUACAAAUUCCAGUU AUGUUAC	461	2007-2029
AD- 1136059.1	CGAAGGAUAAGGUUAC UUGUU	103	2046-2066	AACAAGUAACCUUAUCC UUCGCA	462	2044-2066
AD- 1136060.1	GAAGGAUAAGGUUACU UGUGU	104	2047-2067	ACACAAGUAACCUUAUC CUUCGC	463	2045-2067
AD- 1136061.1	GGGUGAAAAUCACCUA UGAAU	105	2130-2150	AUUCAUAGGUGAUUUU CACCCCU	464	2128-2150
AD- 1136062.1	AAUCACCUAUGAAGAA CUACU	106	2137-2157	AGUAGUTCUUCAUAGG UGAUUUU	465	2135-2157
AD- 1136063.1	AUCACCUAUGAAGAAC UACCU	107	2138-2158	AGGUAGTUCUUCAUAG GUGAUUU	466	2136-2158
AD- 1136064.1	UACCAGCCAUAUAUCAC AAUUU	108	2154-2174	AAAUTGTGAUAAUGGCU GGUAGU	467	2152-2174

AD- 1136065.1	GAACAACUCCUUUUAU GGACU	109	2188-2208	AGUCCAUAAAAGGAGU UGUUCUU	468	2186-2208
AD- 1136066.1	GGCCAAGAGCACUUCU ACCUU	110	2291-2311	AAGGTAGAAGUGCUCU UGGCCAC	469	2289-2311
AD- 1136067.1	GAGCACUUCUACCUGG AGACU	111	2297-2317	AGUCTCCAGGUAGAAGU GCUCUU	470	2295-2317
AD- 1136068.1	GCACUUCUACCUGGAG ACUCU	112	2299-2319	AGAGTCTCCAGGUAGAA GUGCUC	471	2297-2319
AD- 1136069.1	CACUUCUACCUGGAGA CUCAU	113	2300-2320	AUGAGUCUCCAGGUAG AAGUGCU	472	2298-2320
AD- 1136070.1	UCACUGCACCAUUGC GUUCU	114	2317-2337	AGAACAGCAAUGGUGC AGUGAGU	473	2315-2337
AD- 1136071.1	CACUGCACCAUUGCUG UUCCU	115	2318-2338	AGGAACAGCAAUGGUG CAGUGAG	474	2316-2338
AD- 1136072.1	CCAUUGCUGUCCAAA AGGCU	116	2325-2345	AGCCUUUUGGAACAGC AAUGGUG	475	2323-2345
AD- 1136073.1	AGCUCUUUGUGUCUAC ACAGU	117	2361-2381	ACUGTGTAGACACAAAG AGCUCC	476	2359-2381
AD- 1136074.1	GCUCUUUGUGUCUACA CAGAU	118	2362-2382	AUCUGUGUAGACACAA AGAGCUC	477	2360-2382
AD- 1136075.1	CUCUUUGUGUCUACAC AGAAU	119	2363-2383	AUUCTGTGUAGACACAA AGAGCU	478	2361-2383

AD- 1136076.1	UCUUUGUGUCUACACA GAACU	120	2364-2384	AGUUCUGUGUAGACAC AAAGAGC	479	2362-2384
AD- 1136077.1	CUUUGUGUCUACACAG AACAU	121	2365-2385	AUGUTCTGUGUAGACAC AAAGAG	480	2363-2385
AD- 1136078.1	UUUGUGUCUACACAGA ACACU	122	2366-2386	AGUGTUCUGUGUAGAC ACAAAGA	481	2364-2386
AD- 1136079.1	ACACAGAACACCAUGA AGACU	123	2375-2395	AGUCTUCAUGGUGUUCU GUGUAG	482	2373-2395
AD- 1136080.1	GAGCUUUGUUGCAAAA AUGUU	124	2398-2418	AACAUUUUUGCAACAA AGCUCUG	483	2396-2418
AD- 1136081.1	AGCUUUGUUGCAAAAA UGUUU	125	2399-2419	AAACAUUUUUGCAACA AAGCUCU	484	2397-2419
AD- 1136082.1	AGGAUCUCUCUCAGAG UAUUU	126	2691-2711	AAAUACTCUGAGAGAG AUCCUGG	485	2689-2711
AD- 1136083.1	GGAUCUCUCUCAGAGU AUUAU	127	2692-2712	AUAATACUCUGAGAGA GAUCCUG	486	2690-2712
AD- 1136084.1	GAUCUCUCUCAGAGUA UUAUU	128	2693-2713	AAUAAUACUCUGAGAG AGAUCU	487	2691-2713
AD- 1136085.1	AUCUCUCUCAGAGUAU UAUGU	129	2694-2714	ACAUAUACUCUGAGA GAGAUCC	488	2692-2714
AD- 1136086.1	UCUCUCUCAGAGUAU AUGGU	130	2695-2715	ACCAUAUACUCUGAG AGAGAUC	489	2693-2715

AD-1136087.1	CUCUCUCAGAGUAUUA UGGAU	131	2696-2716	AUCCAUAUACUCUGA GAGAGAU	490	2694-2716
AD-1136088.1	UCUCUCAGAGUAUUAU GGAAU	132	2697-2717	AUCCAUAUACUCUG AGAGAGA	491	2695-2717
AD-1136089.1	CUCUCAGAGUAUUAUG GAACU	133	2698-2718	AGUCCAUAUACUCU GAGAGAG	492	2696-2718
AD-1136090.1	UCUCAGAGUAUUAUGG AACGU	134	2699-2719	ACGUCCAUAUACUCU GAGAGA	493	2697-2719
AD-1136091.1	UCAGAGUAUUAUGGAA CGAGU	135	2701-2721	ACUCGUCCAUAUACU CUGAGA	494	2699-2721
AD-1136092.1	CAGAGUAUUAUGGAAC GAGCU	136	2702-2722	AGCUCGUCCAUAUAC UCUGAG	495	2700-2722
AD-1136093.1	GCUGUGCAAAACCAAC CUUCU	137	2776-2796	AGAAGGTUGGUUUUGC ACAGCCG	496	2774-2796
AD-1136094.1	CUGUGCAAAACCAACC UUCCU	138	2777-2797	AGGAAGGUUGGUUUUG CACAGCC	497	2775-2797
AD-1136095.1	CCUGACACACUUCAAC CAGAU	139	2932-2952	AUCUGGTUGAAGUGUG UCAGGUC	498	2930-2952
AD-1136096.1	UGACACACUUCAACCA GAAGU	140	2934-2954	ACUUCUGGUUGAAGUG UGUCAGG	499	2932-2954
AD-1136097.1	GACACACUUCAACCAG AAGCU	141	2935-2955	AGCUTCTGGUUGAAGUG UGUCAG	500	2933-2955

AD-1136098.1	ACACUUCAACCAGAAG CUUGU	142	2938-2958	ACAAGCUUCUGGUUGA AGUGUGU	501	2936-2958
AD-1136099.1	AUGCCUAGCAAGCUCU CAGUU	143	2989-3009	AACUGAGAGCUUGCUA GGCAUUC	502	2987-3009
AD-1136100.1	CCUAGCAAGCUCUCAG UAUCU	144	2992-3012	AGAUACTGAGAGCUUGC UAGGCA	503	2990-3012
AD-1136101.1	CUAGCAAGCUCUCAGU AUCAU	145	2993-3013	AUGATACUGAGAGCUU GCUAGGC	504	2991-3013
AD-1136102.1	UAGCAAGCUCUCAGUA UCAUU	146	2994-3014	AAUGAUACUGAGAGCU UGCUAGG	505	2992-3014
AD-1136103.1	AGCAAGCUCUCAGUAU CAUGU	147	2995-3015	ACAUGAUACUGAGAGC UUGCUAG	506	2993-3015
AD-1136104.1	CAAGCUCUCAGUAUCA UGCUU	148	2997-3017	AAGCAUGAUACUGAGA GCUUGCU	507	2995-3017
AD-1136105.1	CUCGGAAGAGUGAGGU UGACU	149	3015-3035	AGUCAACCUCACUCUUC CGAGCA	508	3013-3035
AD-1136106.1	AAGGAGAAUUGUUGGA AAAAU	150	3044-3064	AUUUTUCCAACAAUUCU CCUUGU	509	3042-3064
AD-1136107.1	CACCAAGUUUGGAAUA AGCUU	151	3085-3105	AAGCUUAUUCCAAACU UGGUGGG	510	3083-3105
AD-1136108.1	ACCAAGUUUGGAAUAA GCUUU	152	3089-3109	AAAGCUUAUUCCAAAC UUGGUGG	511	3087-3109

AD- 1136109.1	AGUUCCUUUUCUGAAU CAGGU	153	3109-3129	ACCUGAUUCAGAAAAG GAACUGU	512	3107-3129
AD- 1136110.1	GUUCCUUUUCUGAAUC AGGCU	154	3110-3130	AGCCTGAUUCAGAAAAG GAACUG	513	3108-3130
AD- 1136111.1	UUCCUUUUCUGAAUCA GGCAU	155	3111-3131	AUGCCUGAUUCAGAAA AGGAACU	514	3109-3131
AD- 1136112.1	UACUUCAUGUGUACAC AGA UU	156	3138-3158	AAUCTGTGUACACAUGA AGUAGG	515	3136-3158
AD- 1136114.1	CAAGGCCUUCAUACCA AAAUU	157	3197-3217	AAUUTUGGUAUGAAGG CCUUGGC	516	3195-3217
AD- 1136115.1	AAGGCCUUCAUACCAA AAUGU	158	3198-3218	ACAUUUUGGUAUGAAG GCCUUGG	517	3196-3218
AD- 1136116.1	GCCUUCAUACCAAAAU GGUCU	159	3201-3221	AGACCAUUUUGGUAUG AAGGCCU	518	3199-3221
AD- 1136117.1	CACCUCUAAGAUUUUAU AUCAU	160	3250-3270	AUGAUUAAAUCUUAG AGGUGGG	519	3248-3270
AD- 1136118.1	ACCUCUAAGAUUUUAUA UCAGU	161	3251-3271	ACUGAUUAAAUCUUA GAGGUGG	520	3249-3271
AD- 1136119.1	GCGAGACAAGCACUAA CACUU	162	3270-3290	AAGUGUTAGUGCUUGU CUCGCUG	521	3268-3290
AD- 1136120.1	CGAGACAAGCACUAAC ACUGU	163	3271-3291	ACAGTGTUAGUGCUUGU CUCGCU	522	3269-3291

AD- 1136121.1	GAGACAAGCACUAACA CUGUU	164	3272-3292	AACAGUGUUAGUGCUU GUCUCGC	523	3270-3292
AD- 1136122.1	AGACAAGCACUAACAC UGUGU	165	3273-3293	ACACAGTGUUAGUGCUU GUCUCG	524	3271-3293
AD- 1136123.1	CGGCUUGUCAGACCAU CUUGU	166	3354-3374	ACAAGAUGGUCUGACA AGCCGCA	525	3352-3374
AD- 1136124.1	GGCUUGUCAGACCAUC UUGAU	167	3355-3375	AUCAAGAUGGUCUGAC AAGCCGC	526	3353-3375
AD- 1136125.1	GCUUGUCAGACCAUCU UGAAU	168	3356-3376	AUUCAAGAUGGUCUGA CAAGCCG	527	3354-3376
AD- 1136126.1	CUUGUCAGACCAUCUU GAAAU	169	3357-3377	AUUUCAAGAUGGUCUG ACAAGCC	528	3355-3377
AD- 1136127.1	UUGUCAGACCAUCUUG AAAAU	170	3358-3378	AUUUTCAAGAUGGUCU GACAAGC	529	3356-3378
AD- 1136128.1	UGUCAGACCAUCUUGA AAAGU	171	3359-3379	ACUUUUCAAGAUGGUC UGACAAG	530	3357-3379
AD- 1136129.1	GUCAGACCAUCUUGAA AAGGU	172	3360-3380	ACCUUUUCAAGAUGGU CUGACAA	531	3358-3380
AD- 1136130.1	UCAGACCAUCUUGAAA AGGCU	173	3361-3381	AGCCUUUUCAAGAUGG UCUGACA	532	3359-3381
AD- 1136131.1	ACCCUACAAGAAGAAG AAUCU	174	3385-3405	AGAUTCTUCUUCUUGUA GGGUUC	533	3383-3405

AD- 1136132.1	CUGCCACUGGGUUUUA UAGAU	175	3462-3482	AUCUAUAAAACCCAGU GGCAGAC	534	3460-3482
AD- 1136133.1	UGCCACUGGGUUUUAU AGAAU	176	3463-3483	AUUCUAUAAAACCCAG UGGCAGA	535	3461-3483
AD- 1136134.1	CACUGGGUUUUAUAGA ACACU	177	3466-3486	AGUGTUCUAUAAAACCC AGUGGC	536	3464-3486
AD- 1136135.1	ACUGGGUUUUAUAGAA CACCU	178	3467-3487	AGGUGUTCUAUAAAACC CAGUGG	537	3465-3487
AD- 1136136.1	GGGUUUUAUAGAACAC CCAAU	179	3470-3490	AUUGGGTGUUCUAUAA AACCCAG	538	3468-3490
AD- 1136137.1	GGUUUUAUAGAACACC CAAUU	180	3471-3491	AAUUGGGUGUUCUAUA AAACCCA	539	3469-3491
AD- 1136138.1	UGGGCUACAGCUUUGA GACUU	181	3492-3512	AAGUCUCAAAAGCUGUA GCCCAGA	540	3490-3512
AD- 1136139.1	GGGCUACAGCUUUGAG ACUAU	182	3493-3513	AUAGTCTCAAAGCUGUA GCCCAG	541	3491-3513
AD- 1136140.1	GCUACAGCUUUGAGAC UAACU	183	3495-3515	AGUUAGTCUCAAAAGCUG UAGCCC	542	3493-3515
AD- 1136141.1	CUACAGCUUUGAGACU AACUU	184	3496-3516	AAGUTAGUCUCAAAAGCU GUAGCC	543	3494-3516
AD- 1136142.1	UACAGCUUUGAGACUA ACUCU	185	3497-3517	AGAGTUAGUCUCAAAAGC UGUAGC	544	3495-3517

AD- 1136143.1	ACAGCUUUGAGACUAA CUCAU	186	3498-3518	AUGAGUTAGUCUCAA GCUGUAG	545	3496-3518
AD- 1136144.1	CAGCUUUGAGACUAA UCAGU	187	3499-3519	ACUGAGUUAGUCUAA AGCUGUA	546	3497-3519
AD- 1136145.1	AGCUUUGAGACUAA CAGGU	188	3500-3520	ACCUGAGUUAGUCUA AAGCUGU	547	3498-3520
AD- 1136146.1	CUUCCACUACUUCAGC UAUGU	189	3526-3546	ACAUAGCUGAAGUAGU GGAAGGG	548	3524-3546
AD- 1136147.1	UUCCACUACUUCAGCU AUGGU	190	3527-3547	ACCAUAGCUGAAGUAG UGGAAGG	549	3525-3547
AD- 1136148.1	GUGGCUUGCUCUGAAG UAGAU	191	3548-3568	AUCUACTUCAGAGCAAG CCACCC	550	3546-3568
AD- 1136149.1	UGGCUUGCUCUGAAGU AGAAU	192	3549-3569	AUUCTACUUCAGAGCAA GCCACC	551	3547-3569
AD- 1136150.1	GGCUUGCUCUGAAGUA GAAAU	193	3550-3570	AUUUCUACUUCAGAGC AAGCCAC	552	3548-3570
AD- 1136151.1	GCUUGCUCUGAAGUAG AAAUU	194	3551-3571	AAUUTCTACUUCAGAGC AAGCCA	553	3549-3571
AD- 1136152.1	CCUAACAGGAGAUCAU AAGAU	195	3577-3597	AUCUUAUGAUCUCCUG UUAGGCA	554	3575-3597
AD- 1136153.1	CUAACAGGAGAUCAUA AGAAU	196	3578-3598	AUUCTUAUGAUCUCCUG UUAGGC	555	3576-3598

AD- 1136154.1	UAACAGGAGAUCAUAA GAACU	197	3579-3599	AGUUCUUAUGAUCUCC UGUUAGG	556	3577-3599
AD- 1136155.1	AACAGGAGAUCAUAAG AACCU	198	3580-3600	AGGUTCTUAUGAUCUCC UGUUAG	557	3578-3600
AD- 1136156.1	CCUCCGCACAGAUAAU GUCAU	199	3598-3618	AUGACAAUAUCUGUGC GGAGGUU	558	3596-3618
AD- 1136157.1	CUCCGCACAGAUAAUUG UCAUU	200	3599-3619	AAUGACAAUAUCUGUG CGGAGGU	559	3597-3619
AD- 1136158.1	UUGGCUCCAGUCUAAA CCCUU	201	3624-3644	AAGGGUTUAGACUGGA GCCAACA	560	3622-3644
AD- 1136159.1	UUCCUGGCUGCUUCUA UCUUU	202	3872-3892	AAAGAUAGAAGCAGCC AGGAAGA	561	3870-3892
AD- 1136160.1	UCCUGGCUGCUUCUAU CUUCU	203	3873-3893	AGAAGAUAGAAGCAGC CAGGAAG	562	3871-3893
AD- 1136161.1	CCUGGCUGCUUCUAUC UUCUU	204	3874-3894	AAGAAGAUAGAAGCAG CCAGGAA	563	3872-3894
AD- 1136162.1	CUGGCUGCUUCUAUCU UCUUU	205	3875-3895	AAAGAAGAUAGAAGCA GCCAGGA	564	3873-3895
AD- 1136163.1	UGGCUGCUUCUAUCUU CUUUU	206	3876-3896	AAAAGAAGAUAGAAGC AGCCAGG	565	3874-3896
AD- 1136164.1	GCUGCUUCUAUCUUCU UUGCU	207	3878-3898	AGCAAAGAAGAUAGAA GCAGCCA	566	3876-3898

AD- 1136165.1	CUGCUUCUAUCUUCUU UGCCU	208	3879-3899	AGGCAAAGAAGAUAGA AGCAGCC	567	3877-3899
AD- 1136166.1	UGCUUCUAUCUUCUUU GCCAU	209	3880-3900	AUGGCAAAGAAGAUAG AAGCAGC	568	3878-3900
AD- 1136167.1	GCUUCUAUCUUCUUUG CCAUU	210	3881-3901	AAUGGCAAAGAAGUA GAAGCAG	569	3879-3901
AD- 1136168.1	CUUCUAUCUUCUUUGC CAUCU	211	3882-3902	AGAUGGCAAAGAAGAU AGAAGCA	570	3880-3902
AD- 1136169.1	UUCUAUCUUCUUUGCC AUCAU	212	3883-3903	AUGATGGCAAAGAAGA UAGAAGC	571	3881-3903
AD- 1136170.1	UCUAUCUUCUUUGCCA UCAAU	213	3884-3904	AUUGAUGGCAAAGAAG AUAGAAG	572	3882-3904
AD- 1136171.1	CUAUCUUCUUUGCCAU CAAAU	214	3885-3905	AUUUGATGGCAAAGAA GAUAGAA	573	3883-3905
AD- 1136172.1	UAUCUUCUUUGCCAUC AAAGU	215	3886-3906	ACUUUGAUGGCAAAGA AGAUAGA	574	3884-3906
AD- 1136173.1	AUCUUCUUUGCCAUCA AAGAU	216	3887-3907	AUCUTUGAUGGCAAAG AAGAUAG	575	3885-3907
AD- 1136174.1	CUUCUUUGCCAUCAAA GAUGU	217	3889-3909	ACAUCUUUGAUGGCAA AGAAGAU	576	3887-3909
AD- 1136175.1	GAGCUCAGCACACAGG UAAUU	218	3924-3944	AAUUACCUGUGUGCUG AGCUCGA	577	3922-3944

AD- 1136176.1	CUCAGCACACAGGUAA UAACU	219	3927-3947	AGUUAUUACCUGUGUG CUGAGCU	578	3925-3947
AD- 1136177.1	UCAGCACACAGGUAAU AACGU	220	3928-3948	ACGUUAUUACCUGUGU GCUGAGC	579	3926-3948
AD- 1136178.1	CAGCACACAGGUAAUA ACGUU	221	3929-3949	AACGUUAUUACCUGUG UGCUGAG	580	3927-3949
AD- 1136179.1	ACAGGUAAUAACGUGA AGGAU	222	3935-3955	AUCCTUCACGUUAUUAC CUGUGU	581	3933-3955
AD- 1136180.1	CAGGUAAUAACGUGAA GGAAU	223	3936-3956	AUUCCUTCACGUUAUUA CCUGUG	582	3934-3956
AD- 1136181.1	AGGUAAUAACGUGAAG GAACU	224	3937-3957	AGUUCCTUCACGUUAUU ACCUGU	583	3935-3957
AD- 1136182.1	AUAACGUGAAGGAACU CUUCU	225	3942-3962	AGAAGAGUCCUUCAC GUUAUUA	584	3940-3962
AD- 1136183.1	UAACGUGAAGGAACUC UUCCU	226	3943-3963	AGGAAGAGUCCUUCA CGUUAUU	585	3941-3963
AD- 1136184.1	CCCAGAAAACUGCAAA CCCUU	227	4042-4062	AAGGGUTUGCAGUUUU CUGGGAC	586	4040-4062
AD- 1136185.1	CACAGAACAUGGAUCU AUUAU	228	4145-4165	AUAATAGAUGCAUGUUC UGUGGU	587	4143-4165
AD- 1136186.1	ACAGAACAUGGAUCUA UUAAU	229	4146-4166	AUUAUAUGAUGCAUGU UCUGUGG	588	4144-4166

AD- 1136187.1	CAGAACAUGGAUCUAU UAAAU	230	4147-4167	AUUUAAUAGAUCCAUG UUCUGUG	589	4145-4167
AD- 1136188.1	AGAACAUGGAUCUAUU AAAGU	231	4148-4168	ACUUUAAUAGAUCCA GUUCUGU	590	4146-4168
AD- 1136189.1	GAACAUGGAUCUAUUA AAGUU	232	4149-4169	AACUUUAAUAGAUCCA UGUUCUG	591	4147-4169
AD- 1136190.1	AACAUGGAUCUAUUA AGUCU	233	4150-4170	AGACUUUAAUAGAUCC AUGUUCU	592	4148-4170
AD- 1136191.1	ACAUGGAUCUAUUA GUCAU	234	4151-4171	AUGACUTUAAUAGAUCC AUGUUC	593	4149-4171
AD- 1136192.1	CAUGGAUCUAUUA UCACU	235	4152-4172	AGUGACTUAAUAGAU CCAUGUU	594	4150-4172
AD- 1136193.1	AUGGAUCUAUUA CACAU	236	4153-4173	AUGUGACUUUAAUAGA UCCAUGU	595	4151-4173
AD- 1136194.1	UGGAUCUAUUA ACAGU	237	4154-4174	ACUGTGACUUUAAUAG AUCCAUG	596	4152-4174
AD- 1136195.1	GGAUCUAUUA CAGAU	238	4155-4175	AUCUGUGACUUUAAUA GAUCCA	597	4153-4175
AD- 1136196.1	GAUCUAUUA AGAAU	239	4156-4176	AUUCTGTGACUUUAAUA GAUCCA	598	4154-4176
AD- 1136197.1	ACAAUGAUAAAGCAAU UCAAU	240	4261-4281	AUUGAAUUUGCUUAUC AUUGUGU	599	4259-4281

AD- 1136198.1	CAAUGAUAAGCAAAU CAAAU	241	4262-4282	AUUUGAAUUUGCUU CAUUGUG	600	4260-4282
AD- 1136199.1	AUGAUAAGCAAAU AAACU	242	4264-4284	AGUUTUGAAUUUGCU AUCAUUG	601	4262-4284
AD- 1136200.1	AUGCCUAAAUGGUGA UAUGU	243	4288-4308	ACAUAUUCACCAUU GGCAUAA	602	4286-4308
AD- 1136201.1	UGCCUAAAUGGUGAA AUGCU	244	4289-4309	AGCAUAUUCACCAUU AGGCAUA	603	4287-4309
AD- 1136202.1	GCCUAAAUGGUGAA UGCAU	245	4290-4310	AUGCAUAUUCACCAU UAGGCAU	604	4288-4310
AD- 1136203.1	CCUAAAUGGUGAAUA GCAAU	246	4291-4311	AUUGCATAUUCACCAU UAGGCA	605	4289-4311
AD- 1136204.1	CUAAAUGGUGAAUA CAAUU	247	4292-4312	AAUUGCAUAUUCACCA UUUAGGC	606	4290-4312
AD- 1136205.1	AAUGGUGAAUAUGCA UUAGU	248	4295-4315	ACUAAUUGCAUAUUC CCAUUUA	607	4293-4315
AD- 1136206.1	CGGGAAGGGUUUGUG UAUUU	249	4357-4377	AAAUAGCACAAACCCU CCCGAC	608	4355-4377
AD- 1136207.1	GGGAAGGGUUUGUGC AUUCU	250	4358-4378	AGAATAGCACAAACCC UCCCGA	609	4356-4378
AD- 1136208.1	GGAAGGGUUUGUGCU UUCCU	251	4359-4379	AGGAAUAGCACAAACCC UUCCCG	610	4357-4379

AD- 1136209.1	GUAUAACCUCAAGUUC UGAUU	252	4397-4417	AAUCAGAACUUGAGGU UAUACAG	611	4395-4417
AD- 1136210.1	UAUAACCUCAAGUUCU GAUGU	253	4398-4418	ACAUCAGAACUUGAGG UUAUACA	612	4396-4418
AD- 1136211.1	CCUCAAGUUCUGAUGG UGUCU	254	4403-4423	AGACACCAUCAGAACUU GAGGUU	613	4401-4423
AD- 1136212.1	CAAGUUCUGAUGGUGU CUGUU	255	4406-4426	AACAGACACCAUCAGAA CUUGAG	614	4404-4426
AD- 1136213.1	CCACAAACCUCUAGAA GCUUU	256	4442-4462	AAAGCUTCUAGAGGUU UGUGGGA	615	4440-4462
AD- 1136214.1	ACAAACCUCUAGAAGC UUAUU	257	4444-4464	AUUAAGCUUCUAGAGG UUUGUGG	616	4442-4464
AD- 1136215.1	AAACCUCUAGAAGCUU AAACU	258	4446-4466	AGUUUAAGCUUCUAGA GGUUUGU	617	4444-4466
AD- 1136216.1	AACCUCUAGAAGCUUA AACCU	259	4447-4467	AGGUUUAAGCUUCUAG AGGUUUG	618	4445-4467
AD- 1136217.1	UGGCCUUCAAACCAAU GAACU	260	4504-4524	AGUUCAUUGGUUUGAA GGCCAGG	619	4502-4524
AD- 1136218.1	GGCCUUCAAACCAAUG AACAU	261	4505-4525	AUGUTCAUUGGUUUGA AGGCCAG	620	4503-4525
AD- 1136219.1	GCCUUCAAACCAAUGA ACAGU	262	4506-4526	ACUGUUCAUUGGUUUG AAGGCCA	621	4504-4526

AD- 1136220.1	UCAAACCAAUGAACAG CAAAU	263	4510-4530	AUUUGCTGUUCAUUGG UUUGAAG	622	4508-4530
AD- 1136221.1	GAACAGCAAAGCAUAA CCUUU	264	4520-4540	AAAGGUUAUGCUUUGC UGUUCAU	623	4518-4540
AD- 1136222.1	AACAGCAAAGCAUAAC CUUGU	265	4521-4541	ACAAGGTUAUGCUUUGC UGUUCA	624	4519-4541
AD- 1136223.1	AGCAAAGCAUAACCUU GAAUU	266	4524-4544	AAUUCAAGGUUAUGCU UUGCUGU	625	4522-4544
AD- 1136224.1	GCAAAGCAUAACCUUG AAUCU	267	4525-4545	AGAUTCAAGGUUAUGC UUUGCUG	626	4523-4545
AD- 1136225.1	CAAAGCAUAACCUUGA AUCUU	268	4526-4546	AAGATUCAAGGUUAUG CUUUGCU	627	4524-4546
AD- 1136226.1	GCAUAACCUUGAAUCU AUACU	269	4530-4550	AGUAUAGAUUCAAGGU UAUGCUU	628	4528-4550
AD- 1136227.1	CAUAACCUUGAAUCUA UACUU	270	4531-4551	AAGUAUAGAUUCAAGG UUAUGCU	629	4529-4551
AD- 1136228.1	AUAACCUUGAAUCUAU ACUCU	271	4532-4552	AGAGUAUAGAUUCAAG GUUAUGC	630	4530-4552
AD- 1136229.1	UAACCUUGAAUCUAUA CUCAU	272	4533-4553	AUGAGUAUAGAUUCAA GGUUAUG	631	4531-4553
AD- 1136230.1	AACCUUGAAUCUAUAC UCAAU	273	4534-4554	AUUGAGTAUAGAUUCA AGGUUAU	632	4532-4554

AD- 1136231.1	ACCUUGAAUCUAUACU CAAAU	274	4535-4555	AUUUGAGUAUAGAUUC AAGGUUA	633	4533-4555
AD- 1136232.1	CCUUGAAUCUAUACUC AAAUU	275	4536-4556	AAUUTGAGUAUAGAUU CAAGGUU	634	4534-4556
AD- 1136233.1	AAUCUAUACUCAAAUU UUGCU	276	4541-4561	AGCAAAAUUUGAGUAU AGAUUCA	635	4539-4561
AD- 1136234.1	AUCUAUACUCAAAUUU UGCAU	277	4542-4562	AUGCAAAAUUUGAGUA UAGAUUC	636	4540-4562
AD- 1136235.1	GGUUAUAAUCCUCUAAC CAUCU	278	4579-4599	AGAUGGTUAGAGGAUU UAACCUU	637	4577-4599
AD- 1136236.1	UAAAUCCUCUAACCAU CUUUU	279	4582-4602	AAAAGATGGUUAGAGG AUUUAAC	638	4580-4602
AD- 1136237.1	AAAUCCUCUAACCAUC UUUGU	280	4583-4603	ACAAAGAUGGUUAGAG GAUUUAA	639	4581-4603
AD- 1136238.1	AAUCCUCUAACCAUCU UUGAU	281	4584-4604	AUCAAGAUGGUUAGA GGAUUUA	640	4582-4604
AD- 1136239.1	AUCCUCUAACCAUCUU UGAAU	282	4585-4605	AUUCAAAGAUGGUUAG AGGAUUU	641	4583-4605
AD- 1136240.1	UCCUCUAACCAUCUUU GAAUU	283	4586-4606	AAUUCAAAGAUGGUUA GAGGAUU	642	4584-4606
AD- 1136241.1	CCUCUAACCAUCUUUG AAUCU	284	4587-4607	AGAUTCAAAGAUGGUU AGAGGAU	643	4585-4607

AD- 1136242.1	CUCUAACCAUCUUUGA AUCAU	285	4588-4608	AUGATUCAAGAUGGU UAGAGGA	644	4586-4608
AD- 1136243.1	UCUAACCAUCUUUGAA UCAUU	286	4589-4609	AAUGAUUCAAGAUGG UUAGAGG	645	4587-4609
AD- 1136244.1	CUAACCAUCUUUGAAU CAUUU	287	4590-4610	AAAUGATUCAAGAUG GUUAGAG	646	4588-4610
AD- 1136245.1	UAACCAUCUUUGAAUC AUUGU	288	4591-4611	ACAATGAUUCAAGAU GGUUAGA	647	4589-4611
AD- 1136246.1	AACCAUCUUUGAAUCA UUGGU	289	4592-4612	ACCAAUGAUUCAAGA UGGUUAG	648	4590-4612
AD- 1136247.1	CCAUCUUUGAAUCAUU GGAAU	290	4594-4614	AUCCAAUGAUUCAA GAUGGUU	649	4592-4614
AD- 1136248.1	CAUCUUUGAAUCAUUG GAAAU	291	4595-4615	AUUCCAAUGAUUCAA AGAUGGU	650	4593-4615
AD- 1136249.1	AUCUUUGAAUCAUUGG AAAGU	292	4596-4616	ACUUTCCAAUGAUUCAA AGAUGG	651	4594-4616
AD- 1136250.1	CUUUGAAUCAUUGGAA AGAAU	293	4598-4618	AUUCTUTCCAAUGAUUC AAAGAU	652	4596-4618
AD- 1136251.1	GAAAGAAUAAAGAAUG AAACU	294	4611-4631	AGUUTCAUUCUUUAUUC UUUCCA	653	4609-4631
AD- 1136252.1	AAAGAAUAAAGAAUGA AACAU	295	4612-4632	AUGUTCAUUCUUUAU UCUUUCC	654	4610-4632

AD- 1136253.1	GAAUGAAACAAAUUCA AGGUU	296	4622-4642	AACCUUGAAUUUGUUU CAUUCUU	655	4620-4642
AD- 1136254.1	AUGAAACAAAUUCAAG GUUAU	297	4624-4644	AUAACCTUGAAUUUGU UUCAUUC	656	4622-4644
AD- 1136255.1	AACAAAUUCAAGGUUA AUUGU	298	4628-4648	ACAAUUAACCUUGAAU UUGUUUC	657	4626-4648
AD- 1136256.1	UGAAGCUGCAUAAAGC AAGAU	299	4660-4680	AUCUTGCUUUAUGCAGC UUCACA	658	4658-4680
AD- 1136257.1	AAGCUGCAUAAAGCAA GAUUU	300	4662-4682	AAAUCUTGCUUUAUGCA GCUUCA	659	4660-4682
AD- 1136258.1	AGCUGCAUAAAGCAAG AUUAU	301	4663-4683	AUAATCTUGCUUUAUGC AGCUUC	660	4661-4683
AD- 1136259.1	GCUGCAUAAAGCAAGA UUACU	302	4664-4684	AGUAAUCUUGCUUUAU GCAGCUU	661	4662-4684
AD- 1136260.1	CUGCAUAAAGCAAGAU UACUU	303	4665-4685	AAGUAAUCUUGCUUUA UGCAGCU	662	4663-4685
AD- 1136261.1	UGCAUAAAGCAAGAUU ACUCU	304	4666-4686	AGAGUAAUCUUGCUUU AUGCAGC	663	4664-4686
AD- 1136262.1	CAUAAAGCAAGAUUAC UCUAU	305	4668-4688	AUAGAGTAAUCUUGCU UUAUGCA	664	4666-4688
AD- 1136263.1	UAAAGCAAGAUUACUC UAUAU	306	4670-4690	AUAUAGAGUAAUCUUG CUUUAUG	665	4668-4690

AD- 1136264.1	AUACAAAAUCCAACC AACUU	307	4690-4710	AAGUTGGUUGGAUUUU UGUAUUA	666	4688-4710
AD- 1136265.1	UACAAAAAUCCAACCA ACUCU	308	4691-4711	AGAGTUGGUUGGAUUU UUGUAUU	667	4689-4711
AD- 1136266.1	ACAAAAAUCCAACCAA CUCAU	309	4692-4712	AUGAGUTGGUUGGAUU UUUGUAU	668	4690-4712
AD- 1136267.1	CAAAAAUCCAACCAAC UCAAU	310	4693-4713	AUUGAGTUGGUUGGAU UUUUGUA	669	4691-4713
AD- 1136268.1	AAAAAUCCAACCAACU CAAUU	311	4694-4714	AAUUGAGUUGGUUGGA UUUUUGU	670	4692-4714
AD- 1136269.1	AAAAUCCAACCAACUC AAUUU	312	4695-4715	AAAUTGAGUUGGUUGG AUUUUUG	671	4693-4715
AD- 1136270.1	AAAUCCAACCAACUCA AUUAU	313	4696-4716	AUAATUGAGUUGGUUG GAUUUUU	672	4694-4716
AD- 1136271.1	AAUCCAACCAACUCAA UUAUU	314	4697-4717	AAUAAUUGAGUUGGUU GGAUUUU	673	4695-4717
AD- 1136272.1	AUCCAACCAACUCAAU UAUUU	315	4698-4718	AAAUAAUUGAGUUGGU UGGAUUU	674	4696-4718
AD- 1136273.1	UCCAACCAACUCAAUU AUUGU	316	4699-4719	ACAAUAAUUGAGUUGG UUGGAUU	675	4697-4719
AD- 1136274.1	CCAACCAACUCAAUUA UUGAU	317	4700-4720	AUCAAUAAUUGAGUUG GUUGGAU	676	4698-4720

AD- 1136275.1	CAACCAACUCAAUUAU UGAGU	318	4701-4721	ACUCAAUAAUUGAGUU GGUUGGA	677	4699-4721
AD- 1136276.1	AACCAACUCAAUUAU GAGCU	319	4702-4722	AGCUCAAUAAUUGAGU UGGUUGG	678	4700-4722
AD- 1136277.1	ACCAACUCAAUUAUUG AGCAU	320	4703-4723	AUGCTCAAUAAUUGAG UUGGUUG	679	4701-4723
AD- 1136278.1	CCAACUCAAUUAUUGA GCACU	321	4704-4724	AGUGCUCUAAUAAUUGA GUUGGUU	680	4702-4724
AD- 1136279.1	CGUACAAUGUUCUAGA UUUCU	322	4723-4743	AGAAAUCUAGAACA GUACGUG	681	4721-4743
AD- 1136280.1	GUACAAUGUUCUAGAU UUCUU	323	4724-4744	AAGAAAUCUAGAACA UGUACGU	682	4722-4744
AD- 1136281.1	UACAAUGUUCUAGAUU UCUUU	324	4725-4745	AAAGAAAUCUAGAACA UUGUACG	683	4723-4745
AD- 1136282.1	ACAAUGUUCUAGAUUU CUUUU	325	4726-4746	AAAAGAAAUCUAGAAC AUUGUAC	684	4724-4746
AD- 1136283.1	CAAUGUUCUAGAUUUC UUUCU	326	4727-4747	AGAAAGAAAUCUAGAA CAUUGUA	685	4725-4747
AD- 1136284.1	AAUGUUCUAGAUUUCU UCCU	327	4728-4748	AGGAAAGAAAUCUAGA ACAUUGU	686	4726-4748
AD- 1136285.1	GUUCUAGAUUUCUUUC CCUUU	328	4731-4751	AAAGGGAAAGAAAUCU AGAACA	687	4729-4751

AD- 1136286.1	UUCUAGAUUUCUUCC CUUCU	329	4732-4752	AGAAGGGAAAGAAAUC UAGAACA	688	4730-4752
AD- 1136287.1	UCUUUACAUUUGAAGC CAAAU	330	4817-4837	AUUUGGCUUCAAAUGU AAAGAUU	689	4815-4837
AD- 1136288.1	CUUUACAUUUGAAGCC AAAGU	331	4818-4838	ACUUTGGCUUCAAAUGU AAAGAU	690	4816-4838
AD- 1136289.1	UUUACAUUUGAAGCCA AAGUU	332	4819-4839	AACUTUGGCUUCAAAUG UAAAGA	691	4817-4839
AD- 1136290.1	ACAUUUGAAGCCAAAG UAAUU	333	4822-4842	AAUUACTUUGGCUUCAA AUGUAA	692	4820-4842
AD- 1136291.1	AUUUGAAGCCAAAGUA AUUUU	334	4824-4844	AAA AUUACUUUGGCUU CAA AUGU	693	4822-4844
AD- 1136292.1	GAAGCCAAAGUAAUUU CCACU	335	4828-4848	AGUGGAAA AUUACUUUG GCUUCAA	694	4826-4848
AD- 1136293.1	AAGCCAAAGUAAUUUC CACCU	336	4829-4849	AGGUGGAAA AUUACUUU GGCUUCA	695	4827-4849
AD- 1136294.1	CCAAAGUAAUUUCCAC CUAGU	337	4832-4852	ACUAGGTGGAAA AUUAC UUUGGCU	696	4830-4852
AD- 1136295.1	CAAAGUAAUUUCCACC UAGAU	338	4833-4853	AUCUAGGUGGAAA UUA CUUUGGC	697	4831-4853
AD- 1136296.1	AAAGUAAUUUCCACCU AGAAU	339	4834-4854	AUUCTAGGUGGAAA AUU ACUUUGG	698	4832-4854

AD- 1136297.1	GCAAGAUCUUGUCUCU GAAGU	340	5134-5154	ACUUCAGAGACAAGAU CUUGCUC	699	5132-5154
AD- 1136298.1	AGGUAGAAGAGCCAAG AAGCU	341	5201-5221	AGCUTCTUGGCUCUUCU ACCUCU	700	5199-5221
AD- 1136299.1	CUAGCUCUGUCUCUUC UGUCU	342	5234-5254	AGACAGAAGAGACAGA GCUAGGA	701	5232-5254
AD- 1136300.1	UAGCUCUGUCUCUUCU GUCUU	343	5235-5255	AAGACAGAAGAGACAG AGCUAGG	702	5233-5255
AD- 1136301.1	AGCUCUGUCUCUUCUG UCUCU	344	5236-5256	AGAGACAGAAGAGACA GAGCUAG	703	5234-5256
AD- 1136302.1	AUCUUUGUGAUCUUGG ACUGU	345	5257-5277	ACAGUCCAAGAUCACAA AGAUAG	704	5255-5277
AD- 1136303.1	CUUCCUGUGAUCCAUI UUACU	346	5286-5306	AGUAAAAUGGAUCACA GGAAGGG	705	5284-5306
AD- 1136304.1	UUCCUGUGAUCCAUI UACUU	347	5287-5307	AAGUAAAAUGGAUCAC AGGAAGG	706	5285-5307
AD- 1136305.1	UCCUGUGAUCCAUI ACUGU	348	5288-5308	ACAGUAAAAUGGAUCA CAGGAAG	707	5286-5308
AD- 1136306.1	CCUGUGAUCCAUI CUGCU	349	5289-5309	AGCAGUAAAAUGGAUC ACAGGAA	708	5287-5309
AD- 1136307.1	CUGUGAUCCAUI UGCAU	350	5290-5310	AUGCAGTAAAAUGGAU CACAGGA	709	5288-5310

AD-1136308.1	CUAUAUAAUAUAUGACC UGAAU	351	5360-5380	AUUCAGGUCAUAUAUU UAUAGGC	710	5358-5380
AD-1136309.1	UGACCUGAAAACUCCA GUUAU	352	5371-5391	AUAACUGGAGUUUUCA GGUCAUA	711	5369-5391
AD-1136310.1	GACCUGAAAACUCCAG UUACU	353	5372-5392	AGUAAGTGGAGUUUUC AGGUCAU	712	5370-5392
AD-1136311.1	AAGGAUCUGCAGCUAU CUAAU	354	5395-5415	AUUAGATAGCUGCAGA UCCUUUA	713	5393-5415
AD-1136312.1	AGGAUCUGCAGCUAUC UAAGU	355	5396-5416	ACUUAGAUAGCUGCAG AUCCUUU	714	5394-5416
AD-1136313.1	GCUAUCUAAGGCUUGG UUUUU	356	5406-5426	AAAAACCAAGCCUUAG AUAGCUG	715	5404-5426
AD-1136314.1	CUAUCUAAGGCUUGGU UUUCU	357	5407-5427	AGAAAACCAAGCCUUA GAUAGCU	716	5405-5427
AD-1136315.1	AUCUAAGGCUUGGUUU UCUUU	358	5409-5429	AAAGAAAACCAAGCCU UAGAUAG	717	5407-5429
AD-1136316.1	UCUAAGGCUUGGUUUU CUUAU	359	5410-5430	AUAAGAAAACCAAGCC UUAGAU	718	5408-5430
AD-1136317.1	CUAAGGCUUGGUUUUC UUACU	360	5411-5431	AGUAAGAAAACCAAGC CUUAGAU	719	5409-5431
AD-1136318.1	UAAGGCUUGGUUUUCU UACUU	361	5412-5432	AAGUAAGAAAACCAAG CCUUAGA	720	5410-5432

AD- 1136319.1	GGCUUGGUUUUCUUAC UGUCU	362	5415-5435	AGACAGTAAGAAAACCA AGCCUU	721	5413-5435
AD- 1136320.1	GCUUGGUUUUCUUACU GUCAU	363	5416-5436	AUGACAGUAAGAAAAC CAAGCCU	722	5414-5436
AD- 1136321.1	CUUGGUUUUCUUACUG UCAUU	364	5417-5437	AAUGACAGUAAGAAAA CCAAGCC	723	5415-5437
AD- 1136322.1	UUGGUUUUCUUACUGU CAUAU	365	5418-5438	AUAUGACAGUAAGAAA ACCAAGC	724	5416-5438
AD- 1136323.1	UGGUUUUCUUACUGUC AUAUU	366	5419-5439	AAUATGACAGUAAGAA AACCAAG	725	5417-5439
AD- 1136324.1	GGUUUUCUUACUGUCA UAUGU	367	5420-5440	ACAUAUGACAGUAAGA AAACCAA	726	5418-5440
AD- 1136325.1	UUUCUUACUGUCAUA UGAUU	368	5422-5442	AAUCAUAUGACAGUAA GAAAACC	727	5420-5442
AD- 1136326.1	UUUCUUACUGUCAUAU GAUAU	369	5423-5443	AUAUCAUAUGACAGUA AGAAAAC	728	5421-5443
AD- 1136327.1	UCUUACUGUCAUAUGA UACCU	370	5425-5445	AGGUAUCAUAUGACAG UAAGAAA	729	5423-5445
AD- 1136328.1	CUUACUGUCAUAUGAU ACCUU	371	5426-5446	AAGGUAUCAUAUGACA GUAAGAA	730	5424-5446
AD- 1136329.1	UCUGCGGUUGGUAAAAG AGAAU	372	5481-5501	AUUCTCTUUACCAACCG CAGAAA	731	5479-5501

AD- 1136330.1	UGGUGAUUUAUCCCU ACAUU	373	5537-5557	AAUGTAGGGAUUAAAU CACCAUU	732	5535-5557
AD- 1136331.1	GGUGAUUUAUCCCUA CAUGU	374	5538-5558	ACAUGUAGGGAUUAAA UCACCAU	733	5536-5558
AD- 1136332.1	UGUAUAAAUCCAACCU UCUGU	375	5597-5617	ACAGAAGGUUGGAUUU AUACAGU	734	5595-5617
AD- 1136333.1	GUGCUUGAUGUCACUA AUAUU	376	5679-5699	AUUATUAGUGACAUC AGCACCA	735	5677-5699
AD- 1136334.1	UGCUUGAUGUCACUAA UAAAU	377	5680-5700	AUUUAUUAGUGACAUC AAGCACC	736	5678-5700
AD- 1136335.1	GCUUGAUGUCACUAAU AAAUU	378	5681-5701	AAUUUAUUAGUGACAU CAAGCAC	737	5679-5701
AD- 1136336.1	AUGUCACUAAUAAAUG AAACU	379	5686-5706	AGUUTCAUUUAUUAGU GACAUC	738	5684-5706
AD- 1136337.1	UGUCACUAAUAAAUGA AACUU	380	5687-5707	AAGUTUCAUUUAUUAG UGACAUC	739	5685-5707
AD- 1136338.1	UAAUAAAUGAAACUGU CAGCU	381	5693-5713	AGCUGACAGUUUCAUU UAUUAGU	740	5691-5713

Таблица 3. Модифицированные последовательности смысловой и антисмысловой цепей дцРНК-средств против ксантиндегидрогеназы

Название дуплекса	Смысловая последовательность 5'-3'	SEQ ID NO:	Антисмысловая последовательность 5'-3'	SEQ ID NO:	Целевая последовательность мРНК	SEQ ID NO:
AD-1135979.1	usascugCfcAfGfUfgucucuag uL96	741	asCfsuaaGfagacacuGfgCfagguasgsu	1100	ACUACCUGCCAGUGUC UCUUAGG	1459
AD-1135980.1	ascscugcCfaGfUfGfucucuagg uL96	742	asCfscuaAfgagacacUfgGfcaggusasg	1101	CUACCUGCCAGUGUCU CUUAGGA	1460
AD-1135981.1	cscsugccAfgUfGfUfcucuaggga uL96	743	asUfscuAfgagacaCfuGfgcaggsusa	1102	UACCUGCCAGUGUCUC UUAGGAG	1461
AD-1135982.1	usgscagUfgUfCfUfcuuaggagu uL96	744	asAfcscuCfuaagagaCfaCfuggcasgsg	1103	CCUGCCAGUGUCUCUU AGGAGUG	1462
AD-1135983.1	gscscaguGfuCfUfCfuaggagug uL96	745	asCfsacdTc(C2p)uaagagAfcAfcuggcsa sg	1104	CUGCCAGUGUCUCUU AGGAGUGA	1463
AD-1135984.1	cscsagugUfcUfCfUfuaggaguga uL96	746	asUfscadCu(C2p)cuaagaGfaCfacuggsc sa	1105	UGCCAGUGUCUCUUA GGAGUGAG	1464
AD-1135985.1	csasguguCfuCfUfUfaggagugag uL96	747	asCfsucaCfuccuaagAfgAfcacugsgsc	1106	GCCAGUGUCUCUUAG GAGUGAGG	1465
AD-1135986.1	asgsugucUfcUfUfAfggagugagg uL96	748	asCfscucAfcuccuaaGfaGfacacusgsg	1107	CCAGUGUCUCUUAGG AGUGAGGU	1466
AD-1135987.1	usgsgagaAfaAfAfUfgcagaucca uL96	749	asUfsggdAu(C2p)ugcauuUfuUfcuccas csc	1108	GGUGGAGAAAAAUGC AGAUCAG	1467

AD-1135988.1	cscsagagAfcAfAfCfccuuuuggc uL96	750	asGfscCaAfaaggguuGfuCfucuggsasu	1109	AUCCAGAGACAACCCU UUUGGCC	1468
AD-1135989.1	asgsagacAfaCfCfCfuuuuggccu uL96	751	asAfsggdCc(Agn)aaagggUfuGfucucus gsg	1110	CCAGAGACAACCCUUU UGGCCUA	1469
AD-1135990.1	gscsacagUfgAfUfGfcucuccaag uL96	752	asCfsuudGg(Agn)gagcauCfaCfugugcsa sa	1111	UUGCACAGUGAUGCU CUCCAAGU	1470
AD-1135991.1	csascaguGfaUfGfCfucuccaaguu L96	753	asAfscudTg(G2p)agagcaUfcAfcugugsc sa	1112	UGCACAGUGAUGCUC UCCAAGUA	1471
AD-1135992.1	gsasugcuCfuCfCfAfaguaugauc uL96	754	asGfsaucAfuacuuggAfgAfgcaucsasc	1113	GUGAUGCUCUCCAAG UAUGAUCG	1472
AD-1135993.1	asusgcucUfcCfAfAfaguaugaucg uL96	755	asCfsgauCfauacuugGfaGfagcauscsa	1114	UGAUGCUCUCCAAGU AUGAUCGU	1473
AD-1135994.1	usgscucuCfcAfAfGfuaugaucgu uL96	756	asAfscgaUfcuacuugGfgAfgagcasusc	1115	GAUGCUCUCCAAGUA UGAUCGUC	1474
AD-1135995.1	gscsucucCfaAfGfUfaugaucguc uL96	757	asGfsacgAfucacuUfgGfagagcsasu	1116	AUGCUCUCCAAGUAU GAUCGUCU	1475
AD-1135996.1	csuscuccAfaGfUfAfugaucgucu uL96	758	asAfsgacGfaucauacUfuGfgagagcsa	1117	UGCUCUCCAAGUAUG AUCGUCUG	1476
AD-1135997.1	gsasucguCfuGfCfAfgaacaagau uL96	759	asAfsucdTu(G2p)uucugcAfgAfcgaucsa su	1118	AUGAUCGUCUGCAGA ACAAGAUC	1477
AD-1135998.1	csgsucugCfaGfAfAfcaagaucgu uL96	760	asAfscgaUfcuuguucUfgCfagacgsasu	1119	AUCGUCUGCAGAACA AGAUCGUC	1478

AD-1135999.1	gsuscugcAfgAfAfCfaagaucguc uL96	761	asGfsacgAfucuuguuCfuGfcagacsgsa	1120	UCGUCUGCAGAACAA GAUCGUCC	1479
AD-1136000.1	uscsugcaGfaAfCfAfagaucgucc uL96	762	asGfsgacGfaucuuguUfcUfgcagascsg	1121	CGUCUGCAGAACAAG AUCGUCCA	1480
AD-1136001.1	gscsagaaCfaAfGfAfucguccacuu L96	763	asAfsagdGg(Agn)cgaucuUfgUfucugcs asg	1122	CUGCAGAACAAGAUC GUCCACUU	1481
AD-1136002.1	csasgaacAfaGfAfUfcguccacuuu L96	764	asAfsagdTg(G2p)acgaucUfuGfuucugsc sa	1123	UGCAGAACAAGAUCG UCCACUUU	1482
AD-1136003.1	gsasacaaGfaUfCfGfuccacuuuuu L96	765	asAfsaadAg(Tgn)ggacgaUfcUfuguucsu sg	1124	CAGAACAAGAUCGUC CACUUUUC	1483
AD-1136004.1	asascaagAfuCfGfUfccacuuuuu L96	766	asGfsaaaAfguggacgAfuCfuuguuscsu	1125	AGAACAAGAUCGUCC ACUUUUCU	1484
AD-1136005.1	ascsaagaUfcGfUfCfcacuuuuu L96	767	asAfsгааAfaguggacGfaUfcuugususc	1126	GAACAAGAUCGUCCA CUUUUCUG	1485
AD-1136006.1	csasagauCfGfUfCfcacuuuuu uL96	768	asCfsagaAfaaguggaCfGfAfucuugsusu	1127	AACAAGAUCGUCCAC UUUUCUGC	1486
AD-1136007.1	asasgaucGfuCfCfAfcuuuuucugc uL96	769	asGfscagAfaaguggAfcGfaucuusgsu	1128	ACAAGAUCGUCCACU UUUCUGCC	1487
AD-1136008.1	csgsuccaCfuUfUfUfcugccaaug uL96	770	asCfsaudTg(G2p)cagaaaAfgUfggacgsa su	1129	AUCGUCCACUUUUCU GCCAUGC	1488
AD-1136009.1	gsusccacUfuUfUfCfugccaaugc uL96	771	asGfscadTu(G2p)gcagaaAfaGfuggacsg sa	1130	UCGUCCACUUUUCUGC CAAUGCC	1489

AD- 1136010.1	usgscuccUfuGfCfAfccauguugc uL96	772	asGfscaaCfauggugcAfaGfgagcasgsa	1131	UCUGCUCCUUGCACCA UGUUGCA	1490
AD- 1136011.1	uscscuugCfaCfCfAfuguugcagu uL96	773	asAfscudGc(Agn)acauggUfgCfaaggasg sc	1132	GCUCCUUGCACCAUGU UGCAGUG	1491
AD- 1136012.1	usugcacCfaUfGfUfugcagugac uL96	774	asGfsucdAc(Tgn)gcaacaUfgGfugcaasg sg	1133	CCUUGCACCAUGUUGC AGUGACA	1492
AD- 1136013.1	csasccauGfuUfGfCfagugacaacu L96	775	asGfsuudGu(C2p)acugcaAfcAfuggugs csa	1134	UGCACCAUGUUGCAG UGACAACU	1493
AD- 1136014.1	ascscaugUfuGfCfAfgugacaacu uL96	776	asAfsgudTg(Tgn)cacugcAfaCfauggusg sc	1135	GCACCAUGUUGCAGU GACAACUG	1494
AD- 1136015.1	asgsgagaGfaAfUfUfgccaaaagcu L96	777	asGfscudTu(Tgn)ggcaauUfcUfcuccusg sc	1136	GCAGGAGAGAAUUGC CAAAAGCC	1495
AD- 1136016.1	gsgsagagAfaUfUfGfccaaaagccu L96	778	asGfsgcdTu(Tgn)uggcaaUfuCfucuccsu sg	1137	CAGGAGAGAAUUGCC AAAAGCCA	1496
AD- 1136017.1	usgsgcauCfgUfCfAfugaguaugu uL96	779	asAfscauAfcucaugaCfgAfugccasgsg	1138	CCUGGCAUCGUCAUG AGUAUGUA	1497
AD- 1136018.1	gsgscaucGfuCfAfUfgaguaugua uL96	780	asUfsacdAu(Agn)cucaugAfcGfaugccsa sg	1139	CUGGCAUCGUCAUGA GUAUGUAC	1498
AD- 1136019.1	gscsaucgUfcAfUfGfaguauguac uL96	781	asGfsuacAfuacucauGfaCfgaugccsa	1140	UGGCAUCGUCAUGAG UAUGUACA	1499
AD- 1136020.1	csasucguCfaUfGfAfaguauguaca uL96	782	asUfsgudAc(Agn)uacucaUfgAfcgaugs csc	1141	GGCAUCGUCAUGAGU AUGUACAC	1500

AD-1136021.1	asuscgucAfuGfAfGfuauguacac uL96	783	asGfsugdTa(C2p)auacucAfuGfacgausg sc	1142	GCAUCGUCAUGAGUA UGUACACA	1501
AD-1136022.1	csgsucauGfaGfUfAfuguacacac uL96	784	asGfsugdTg(Tgn)acauacUfcAfugacgsa su	1143	AUCGUCAUGAGUAUG UACACACU	1502
AD-1136023.1	gsuscaugAfgUfAfUfuguacacacu uL96	785	asAfsugdGu(G2p)uacauaCfuCfaugacsg sa	1144	UCGUCAUGAGUAUGU ACACACUG	1503
AD-1136024.1	uscsaugaGfuAfUfGfuacacacug uL96	786	asCfsagdTg(Tgn)guacauAfcUfcaugasc sg	1145	CGUCAUGAGUAUGUA CACACUGC	1504
AD-1136025.1	asasugccUfuCfCfAfaggaaauuu L96	787	asAfsgadTu(Tgn)ccuuggAfaGfgcauusc su	1146	AGAAUGCCUUCCAAG GAAAUCUG	1505
AD-1136026.1	asusgccuUfcCfAfAfggaaauucug uL96	788	asCfsagaUfuuccuugGfaAfggcaususc	1147	GAAUGCCUUCCAAGG AAAUCUGU	1506
AD-1136027.1	usgsccuuCfcAfAfGfgaaauucugu uL96	789	asAfscagAfuuccuuGfgAfaggcasusu	1148	AAUGCCUUCCAAGGA AAUCUGUG	1507
AD-1136028.1	gscscuucCfaAfGfGfaaaucugug uL96	790	asCfsacaGfauuuccuUfgGfaaggcsasu	1149	AUGCCUUCCAAGGAA AUCUGUGC	1508
AD-1136029.1	cscsuuccAfaGfGfAfaaucugugc uL96	791	asGfscacAfgauuuccUfuGfgaaggscsa	1150	UGCCUUCCAAGGAAA UCUGUGCC	1509
AD-1136030.1	gsasgaugAfaGfUfUfcaagaauau uL96	792	asAfsuadTu(C2p)uugaacUfuCfaucusa sa	1151	UUGAGAUGAAGUUCA AGAAUAUG	1510
AD-1136031.1	gsasugaaGfuUfCfAfagaauaugc uL96	793	asGfscauAfuuccuugaAfcUfucaucsusc	1152	GAGAUGAAGUUCAAG AAUAUGCU	1511

AD- 1136032.1	asasguucAfaGfAfAfuaugcuguu uL96	794	asAfsacdAg(C2p)auauucUfuGfaacuusc sa	1153	UGAAGUUCAAGAAUA UGCUGUUU	1512
AD- 1136033.1	asgsuucAfgAfAfUfaugcuguuu uL96	795	asAfsaadCa(G2p)cauauuCfuUfgaacusu sc	1154	GAAGUUCAAGAAUAU GCUGUUUC	1513
AD- 1136034.1	gsusucAaGfaAfUfAfugcuguuuu uL96	796	asGfsaadAc(Agn)gc auauUfcUfugaacsu su	1155	AAGUUCAAGAAUAUG CUGUUUCC	1514
AD- 1136035.1	ususcaagAfaUfAfUfgcuguuuucc uL96	797	asGfsgaaAfcagcauaUfuCfuugaascsu	1156	AGUUCAAGAAUAUGC UGUUUCCU	1515
AD- 1136036.1	asasgaauAfuGfCfUfguuuccuau uL96	798	asAfsuadGg(Agn)aacagcAfuAfuucuu gsa	1157	UCAAGAAUAUGCUGU UUCCUAUG	1516
AD- 1136037.1	gsgsgaguAfuUfUfCfucagcauuc uL96	799	asGfsaadTg(C2p)ugagaaAfuAfcuccesc sc	1158	GGGGGAGUAUUUCUC AGCAUUCA	1517
AD- 1136038.1	gsgsaguaUfuUfCfUfcagcauua uL96	800	asUfsgadAu(G2p)cugagaAfaUfacuccsc sc	1159	GGGGAGUAUUUCUCA GCAUUCAA	1518
AD- 1136039.1	gsasguauUfuCfUfCfagcauuaa uL96	801	asUfsugaAfugcugagAfaAfuacucscsc	1160	GGGAGUAUUUCUCAG CAUUCAAG	1519
AD- 1136040.1	asgsuauuUfcUfCfAfgcauuaag uL96	802	asCfsuugAfaugcugaGfaAfauacuscsc	1161	GGAGUAUUUCUCAGC AUUCAAGC	1520
AD- 1136041.1	gsusauuuCfuCfAfGfcauuaagc uL96	803	asGfscudTg(Agn)augcugAfgAfaauacsu sc	1162	GAGUAUUUCUCAGCA UUCAAGCA	1521
AD- 1136042.1	gsusggcaUfgAfGfAfguuuuauuc uL96	804	asGfsaaUAfaaacucuCfaUfgccacsusg	1163	CAGUGGCAUGAGAGU UUUAUUCA	1522

AD- 1136043.1	gsgscaugAfgAfGfUfuuuaucaa uL96	805	asUfsugaAfuaaaacuCfuCfaugccsasc	1164	GUGGCAUGAGAGUUU UAUUCAAG	1523
AD- 1136044.1	csasugagAfgUfUfUfuauucaagc uL96	806	asGfscudTg(Agn)auaaaaCfuCfucaugsc sc	1165	GGCAUGAGAGUUUUA UUCAAGCC	1524
AD- 1136045.1	cscsucacCfcUfCfAfgcuucuucuu L96	807	asAfsgaaGfaagcugaGfgGfugaggsgsu	1166	ACCCUCACCCUCAGCU UCUUCUU	1525
AD- 1136046.1	uscsaccUfcAfGfCfuucuucuu uL96	808	asGfsaadGa(Agn)gaagcuGfaGfggugas gsg	1167	CCUCACCCUCAGCUUC UUCUUCA	1526
AD- 1136047.1	uscsuucAfgUfUfCfuaccugaca uL96	809	asUfsgudCa(G2p)guagaaCfuUfgaagasa sg	1168	CUUCUUCAAGUUCUA CCUGACAG	1527
AD- 1136048.1	ususucgcCfaGfUfGfcaacuuuac uL96	810	asGfsuaaAfguugcacUfgGfcgaaasgsu	1169	ACUUUCGCCAGUGCA ACUUUACU	1528
AD- 1136049.1	ususcgccAfgUfGfCfaacuuuacu uL96	811	asAfsguaAfaguugcaCfuGfgcgaasasg	1170	CUUUCGCCAGUGCAAC UUUACUG	1529
AD- 1136050.1	ususcagGfgUfUfUfguuuguuuc uL96	812	asGfsaaaCfaaaciaaCfcCfuggaascsc	1171	GGUUCAGGGUUUGU UUGUUUCA	1530
AD- 1136051.1	csasggguUfuGfUfUfuguuucuu uL96	813	asAfsaugAfaaciaaAfaAfccugsgsa	1172	UCCAGGGUUUGUUUG UUUCAUUU	1531
AD- 1136052.1	gsgsguuuGfuUfUfGfuuucauuuc uL96	814	asGfsaaaUfgaaaciaAfcAfaaccsusg	1173	CAGGGUUUGUUUGUU UCAUUUCC	1532
AD- 1136053.1	gsgsuuugUfuUfGfUfuucauuucc uL96	815	asGfsgaaAfugaaaciaAfaCfaaaccscsu	1174	AGGGUUUGUUUGUUU CAUUUCCG	1533

AD- 1136054.1	ususguuuGfuUfUfCfauuuccgcu uL96	816	asAfsgcgGfaaugaaAfcAfaacaasasc	1175	GUUUGUUUGUUUCAU UUCCGCUG	1534
AD- 1136055.1	ususcugGfgAfGfUfaacauacu uL96	817	asAfsguuAfuguuacuCfcCfaggaascsa	1176	UGUUCCUGGGAGUAA CAUAAACUG	1535
AD- 1136056.1	gsgsgaguAfaCfAfUfaacuggaau uL96	818	asAfsuudCc(Agn)guuugUfuAfcucccs asg	1177	CUGGGAGUAACAUA CUGGAAUU	1536
AD- 1136057.1	usasacauAfaCfUfGfgaauuugua uL96	819	asUfsacaAfauccagUfuAfuguuascsu	1178	AGUAACAUAACUGGA AUUUGUAA	1537
AD- 1136058.1	asascauaAfcUfGfGfaauuugua uL96	820	asUfsuacAfaauuccaGfuUfauguusasc	1179	GUAACAUAACUGGAA UUUGUAAU	1538
AD- 1136059.1	csgsaaggAfuAfAfGfguuacuugu uL96	821	asAfscaaGfuaaccuuAfuCfcuucgscsa	1180	UGCGAAGGAUAAGGU UACUUGUG	1539
AD- 1136060.1	gsasaggaUfaAfGfGfuacuugug uL96	822	asCfsacaAfguaaccuUfaUfccuucsgsc	1181	GCGAAGGAUAAGGU ACUUGUGU	1540
AD- 1136061.1	gsgsgugaAfaAfUfCfaccuugaa uL96	823	asUfsucaUfaggugauUfuUfcacccscsu	1182	AGGGGUGAAAAUCAC CUAUGAAG	1541
AD- 1136062.1	asasucacCfuAfUfGfaagaacuacu L96	824	asGfsuadGu(Tgn)cuucauAfgGfugauus usu	1183	AAAUCACCUAUGAA GAACUACC	1542
AD- 1136063.1	asuscaccUfaUfGfAfagaacuaccu L96	825	asGfsgudAg(Tgn)ucuucaUfaGfgugaus usu	1184	AAAUCACCUAUGAAG AACUACCA	1543
AD- 1136064.1	usascagCfcAfUfUfaucacauuu L96	826	asAfsaudTg(Tgn)gauaaUGfgCfugguasg su	1185	ACUACCAGCCAUUAUC ACAAUUG	1544

AD- 1136065.1	gsasacaaCfuCfCfUfuuuauaggacu L96	827	asGfsuccAfuaaaaggAfgUfuguucsusu	1186	AAGAACAACUCCUUU UAUGGACC	1545
AD- 1136066.1	gsgsccaaGfaGfCfAfcuucuaccuu L96	828	asAfsggdTa(G2p)aagugcUfcUfuggccsa sc	1187	GUGGCCAAGAGCACU UCUACCUG	1546
AD- 1136067.1	gsasgcacUfuCfUfAfccuggagac uL96	829	asGfsucdTc(C2p)agguagAfaGfugcucs su	1188	AAGAGCACUUCUACC UGGAGACU	1547
AD- 1136068.1	gscsacuuCfuAfCfCfuggagacuc uL96	830	asGfsagdTc(Tgn)ccagguAfgAfagugcsu sc	1189	GAGCACUUCUACCUG GAGACUCA	1548
AD- 1136069.1	csascuucUfaCfCfUfggagacucau L96	831	asUfsgadGu(C2p)uccaggUfaGfaagugsc su	1190	AGCACUUCUACCUGG AGACUCAC	1549
AD- 1136070.1	uscsacugCfaCfCfAfuugcuguuc uL96	832	asGfsaadCa(G2p)caauggUfgCfagugasg su	1191	ACUCACUGCACCAUUG CUGUUCC	1550
AD- 1136071.1	csascugcAfcCfAfUfugcuguucc uL96	833	asGfsgadAc(Agn)gcaaugGfuGfcagugs asg	1192	CUCACUGCACCAUUGC UGUUCCA	1551
AD- 1136072.1	cscsauugCfuGfUfUfcaaaaaggcu L96	834	asGfscuUfuuggaacAfgCfaauggsusg	1193	CACCAUUGCUGUUCCA AAAGGCG	1552
AD- 1136073.1	asgscucuUfuGfUfGfucuacacag uL96	835	asCfsugdTg(Tgn)agacacAfaAfgagcusc sc	1194	GGAGCUCUUUGUGUC UACACAGA	1553
AD- 1136074.1	gscsucuuUfgUfGfUfcuacacaga uL96	836	asUfscudGu(G2p)uagacaCfaAfagagcsu sc	1195	GAGCUCUUUGUGUCU ACACAGAA	1554
AD- 1136075.1	csuscuuuGfuGfUfCfuacacagaa uL96	837	asUfsucdTg(Tgn)guagacAfcAfaagagsc su	1196	AGCUCUUUGUGUCUA CACAGAAC	1555

AD-1136076.1	uscsuuugUfgUfCfUfacacagaac uL96	838	asGfsuudCu(G2p)uguagaCfaCfaaagasg sc	1197	GCUCUUUGUGUCUAC ACAGAACA	1556
AD-1136077.1	csusuuguGfuCfUfAfcacagaaca uL96	839	asUfsgudTc(Tgn)guguagAfcAfcaaagsa sg	1198	CUCUUUGUGUCUACA CAGAACAC	1557
AD-1136078.1	ususugugUfcUfAfCfacagaacac uL96	840	asGfsugdTu(C2p)uguguaGfaCfacaasg sa	1199	UCUUUGUGUCUACAC AGAACACC	1558
AD-1136079.1	ascsacagAfaCfAfCfcaugaagacu L96	841	asGfsucdTu(C2p)auggugUfuCfugugus asg	1200	CUACACAGAACACCAU GAAGACC	1559
AD-1136080.1	gsasgcuuUfgUfUfGfcaaaaugu uL96	842	asAfscauUfuuuugcaaCfaAfagcucsusg	1201	CAGAGCUUUGUUGCA AAAUGUU	1560
AD-1136081.1	asgscuuuGfuUfGfCfaaaauguu uL96	843	asAfsacaUfuuuugcaaCfaAfaagcusc su	1202	AGAGCUUUGUUGCAA AAAUGUUG	1561
AD-1136082.1	asgsgaucUfcUfCfUfcagaguauu uL96	844	asAfsaudAc(Tgn)cugagaGfaGfauccusg sg	1203	CCAGGAUCUCUCUCAG AGUAUUA	1562
AD-1136083.1	gsgsauCuCfCfUfCfagaguauua uL96	845	asUfsaadTa(C2p)ucugagAfgAfgauccsu sg	1204	CAGGAUCUCUCUCAG AGUAUUAU	1563
AD-1136084.1	gsasucucUfcUfCfAfgaguauuau uL96	846	asAfsuaaUfacucugaGfaGfagaucscsu	1205	AGGAUCUCUCUCAGA GUAUUAUG	1564
AD-1136085.1	asuscucuCfuCfAfGfaguauuuau uL96	847	asCfsauaAfuacucugAfgAfgagauscsc	1206	GGAUCUCUCUCAGAG UAUUAUGG	1565
AD-1136086.1	uscsucucUfcAfGfAfguauuuagg uL96	848	asCfscauAfaucucuGfaGfagagasusc	1207	GAUCUCUCUCAGAGU AUUAUGGA	1566

AD-1136087.1	csuscucuCfaGfAfGfuauuaugga uL96	849	asUfscCaUfaauacucUfgAfgagagsasu	1208	AUCUCUCUCAGAGUA UUAUGGAA	1567
AD-1136088.1	uscsucucAfgAfGfUfauuauggaa uL96	850	asUfsuccAfuaauacuCfuGfagagasgsa	1209	UCUCUCUCAGAGUAU UAUGGAAC	1568
AD-1136089.1	csuscucaGfaGfUfAfuauggaac uL96	851	asGfsuudCc(Agn)uaauacUfcUfgagagsa sg	1210	CUCUCUCAGAGUAUU AUGGAACG	1569
AD-1136090.1	uscsucagAfgUfAfUfuauggaacg uL96	852	asCfsguuCfcauaauaCfuCfugagasgsa	1211	UCUCUCAGAGUAUUA UGGAACGA	1570
AD-1136091.1	uscsagagUfaUfUfAfuggaacgag uL96	853	asCfsucgUfuccauaaUfaCfucugasgsa	1212	UCUCAGAGUAUUAUG GAACGAGC	1571
AD-1136092.1	csasgaguAfuUfAfUfggaacgagc uL96	854	asGfscucGfuuccauaAfuAfcucugsasg	1213	CUCAGAGUAUUAUGG AACGAGCU	1572
AD-1136093.1	gscsugugCfaAfAfAfccaaccuuc uL96	855	asGfsaadGg(Tgn)ugguuuUfgCfacagcsc sg	1214	CGGCUGUGCAAAACC AACCUUCC	1573
AD-1136094.1	csusgugcAfaAfAfCfcaaccuuccu L96	856	asGfsgadAg(G2p)uugguuUfuGfcacags csc	1215	GGCUGUGCAAAACCA ACCUUCCC	1574
AD-1136095.1	cscsugacAfcAfCfUfucaaccagau L96	857	asUfscudGg(Tgn)ugaaguGfuGfucaggs usc	1216	GACCUGACACACUUCA ACCAGAA	1575
AD-1136096.1	usgsacacAfcUfUfCfaaccagaagu L96	858	asCfsuudCu(G2p)guugaaGfuGfugucas gsg	1217	CCUGACACACUUCAAC CAGAAGC	1576
AD-1136097.1	gsascacaCfuUfCfAfaccagaagcu L96	859	asGfscudTc(Tgn)gguugaAfgUfgugucsa sg	1218	CUGACACACUUCAACC AGAAGCU	1577

AD-1136098.1	ascscacuCfaAfCfCfagaagcuugu L96	860	asCfsaagCfuucugguUfgAfagugusgsu	1219	ACACACUUCAACCAGA AGCUUGA	1578
AD-1136099.1	asusgccuAfgCfAfAfgcucucagu uL96	861	asAfscudGa(G2p)agcuugCfuAfggcaus usc	1220	GAAUGCCUAGCAAGC UCUCAGUA	1579
AD-1136100.1	cscsuagcAfaGfCfUfcucaguaucu L96	862	asGfsaudAc(Tgn)gagagcUfuGfcuaggsc sa	1221	UGCCUAGCAAGCUCUC AGUAUCA	1580
AD-1136101.1	csusagcaAfgCfUfCfucaguaucuu L96	863	asUfsgadTa(C2p)ugagagCfuUfgcuagsg sc	1222	GCCUAGCAAGCUCUCA GUAUCAU	1581
AD-1136102.1	usasgcaaGfcUfCfUfcaguaucuu L96	864	asAfsugaUfacugagaGfcUfugcuasgsg	1223	CCUAGCAAGCUCUCAG UAUCAUG	1582
AD-1136103.1	asgscaagCfuCfUfCfaguaucaugu L96	865	asCfsaugAfuacugagAfgCfuugcusasg	1224	CUAGCAAGCUCUCAG UAUCAUGC	1583
AD-1136104.1	csasagcuCfuCfAfGfuaucaugcu uL96	866	asAfsgcdAu(G2p)auacugAfgAfgcuugs csu	1225	AGCAAGCUCUCAGUA UCAUGCUC	1584
AD-1136105.1	csuscggaAfgAfGfUfgagguugac uL96	867	asGfsucdAa(C2p)cucacuCfuUfccgagsc sa	1226	UGCUCGGAAGAGUGA GGUUGACA	1585
AD-1136106.1	asasggagAfaUfUfGfuuggaaaaa uL96	868	asUfsuudTu(C2p)caacaaUfuCfuccuusg su	1227	ACAAGGAGAAUUGUU GGAAAAAG	1586
AD-1136107.1	csasccaaGfuUfUfGfgaauaagcuu L96	869	asAfsgcuUfauuccaaAfcUfuggugsgsg	1228	CCCACCAAGUUUGGA AUAAGCUU	1587
AD-1136108.1	ascscagUfuUfGfGfaauaagcuu uL96	870	asAfsagcUfuauuccaAfaCfuuggusgsg	1229	CCACCAAGUUUGGAA UAAGCUUU	1588

AD-1136109.1	asgsuuccUfuUfUfCfugaauagg uL96	871	asCfscugAfuucagaaAfaGfgaacusgsu	1230	ACAGUUCCUUUUCUG AAUCAGGC	1589
AD-1136110.1	gsusuccuUfuUfCfUfgaauaggc uL96	872	asGfscddTg(Agn)uucagaAfaAfggaacsu sg	1231	CAGUUCCUUUUCUGA AUCAGGCA	1590
AD-1136111.1	ususccuuUfuCfUfGfaauaggca uL96	873	asUfsgcdCu(G2p)auucagAfaAfaggaasc su	1232	AGUUCCUUUUCUGAA UCAGGCAG	1591
AD-1136112.1	usascuucAfuGfUfGfuacacagau uL96	874	asAfsucdTg(Tgn)guacacAfuGfaaguasg sg	1233	CCUACUUCAUGUGUA CACAGAUG	1592
AD-1136114.1	csasaggcCfuUfCfAfuacaaaauu L96	875	asAfsuudTu(G2p)guaugaAfgGfccuugs gsc	1234	GCCAAGGCCUUCAUAC CAAAAUG	1593
AD-1136115.1	asasggccUfuCfAfUfaccaaaaugu L96	876	asCfsauuUfugguaugAfaGfgccuusgsg	1235	CCAAGGCCUUCAUACC AAAAUGG	1594
AD-1136116.1	gscscuucAfuAfCfCfaaaugguc uL96	877	asGfsaccAfuuuugguAfuGfaaggcscsu	1236	AGGCCUUCAUACCAA AAUGGUCC	1595
AD-1136117.1	csasccucUfaAfGfAfuuuauauca uL96	878	asUfsgauAfuaaaucuUfaGfaggugsgsg	1237	CCCACCUCUAAGAUIIU AUAUCAG	1596
AD-1136118.1	ascscucuAfaGfAfUfuauauaucag uL96	879	asCfsugaUfaaaaaucUfuAfgaggusgsg	1238	CCACCUCUAAGAUIIU AUAUCAGC	1597
AD-1136119.1	gscsgagaCfaAfGfCfacuaacacuu L96	880	asAfsugdGu(Tgn)agugcuUfgUfcucgcs usg	1239	CAGCGAGACAAGCAC UAACACUG	1598
AD-1136120.1	csgsagacAfaGfCfAfcuaacacugu L96	881	asCfsagdTg(Tgn)uagugcUfuGfucucgsc su	1240	AGCGAGACAAGCACU AACACUGU	1599

AD- 1136121.1	gsasgacaAfgCfAfCfuaacacuguu L96	882	asAfscadGu(G2p)uuagugCfuUfgucucs gsc	1241	GCGAGACAAGCACUA ACACUGUG	1600
AD- 1136122.1	asgsacaaGfcAfCfUfaacacugugu L96	883	asCfsacdAg(Tgn)guuaguGfcUfugucusc sg	1242	CGAGACAAGCACUAA CACUGUGC	1601
AD- 1136123.1	csgsgcuuGfuCfAfGfaccacuug uL96	884	asCfsaagAfuggucugAfcAfagccgscsa	1243	UGCGGCUUGUCAGAC CAUCUUGA	1602
AD- 1136124.1	gsgscuugUfcAfGfAfccacuuga uL96	885	asUfscAAGfauggucuGfaCfaagccsgsc	1244	GCGGCUUGUCAGACC AUCUUGAA	1603
AD- 1136125.1	gscsuuguCfaGfAfCfcaucuugaa uL96	886	asUfsucdAa(G2p)auggucUfgAfcaagcsc sg	1245	CGGCUUGUCAGACCA UCUUGAAA	1604
AD- 1136126.1	csusugucAfgAfCfCfcaucuugaaa uL96	887	asUfsuudCa(Agn)gaugguCfuGfacaagsc sc	1246	GGCUUGUCAGACCAU CUUGAAAA	1605
AD- 1136127.1	ususgucaGfaCfCfAfucuugaaaa uL96	888	asUfsuudTc(Agn)agauggUfcUfgacaasg sc	1247	GCUUGUCAGACCAUC UUGAAAAG	1606
AD- 1136128.1	usgsucagAfcCfAfUfcuugaaaag uL96	889	asCfsuuuUfcaagaugGfuCfugacasasg	1248	CUUGUCAGACCAUCU UGAAAAGG	1607
AD- 1136129.1	gsuscagaCfcAfUfCfuugaaaagg uL96	890	asCfscuuUfucaagauGfgUfcugacsasa	1249	UUGUCAGACCAUCUU GAAAAGGC	1608
AD- 1136130.1	uscsagacCfaUfCfUfugaaaaggcu L96	891	asGfscuuUfuucaagaUfgGfucugascsa	1250	UGUCAGACCAUCUUG AAAAGGCU	1609
AD- 1136131.1	ascscuaCfaAfGfAfagaagaau cu L96	892	asGfsaudTc(Tgn)ucuucuUfgUfagggsu sc	1251	GAACCCUACAAGAAG AAGAAUCC	1610

AD-1136132.1	csusgccACfuGfGfGfuuuuauaga uL96	893	asUfscuaUfaaaacccAfgUfggcagsasc	1252	GUCUGCCACUGGGUU UUAUAGAA	1611
AD-1136133.1	usgscacUfgGfGfUfuuuauagaa uL96	894	asUfsucuAfuaaaaccCfaGfuggcasgsa	1253	UCUGCCACUGGGUUU UAUAGAAC	1612
AD-1136134.1	csascuggGfuUfUfUfauagaacac uL96	895	asGfsugdTu(C2p)uauaaaAfcCfcagugsg sc	1254	GCCACUGGGUUUUUAU AGAACACC	1613
AD-1136135.1	ascsugggUfuUfUfAfuaagaacacc uL96	896	asGfsgudGu(Tgn)cuauaaAfaCfccagugsg	1255	CCACUGGGUUUUUAUA GAACACCC	1614
AD-1136136.1	gsgsguuuUfaUfAfGfaacacccaa uL96	897	asUfsugdGg(Tgn)guucuaUfaAfaacccsa sg	1256	CUGGGUUUUUAUAGAA CACCCAAU	1615
AD-1136137.1	gsgsuuuuAfuAfGfAfacacccaau uL96	898	asAfsuudGg(G2p)uguucuAfuAfaaacscsa	1257	UGGGUUUUUAUAGAAC ACCCAAUC	1616
AD-1136138.1	usgsggcuAfcAfGfCfuugagacu uL96	899	asAfsgudCu(C2p)aaagcuGfuAfgcccasg sa	1258	UCUGGGCUACAGCUU UGAGACUA	1617
AD-1136139.1	gsgsgcuAfaGfCfUfuugagacua uL96	900	asUfsagdTc(Tgn)caaagcUfgUfagcccsas g	1259	CUGGGCUACAGCUUU GAGACUAA	1618
AD-1136140.1	gscsuacaGfcUfUfUfgagacuaacu L96	901	asGfsuudAg(Tgn)cucaaaGfcUfguagcsc sc	1260	GGGCUACAGCUUUGA GACUAACU	1619
AD-1136141.1	csusacagCfuUfUfGfagacuaacuu L96	902	asAfsgudTa(G2p)ucucaaAfgCfuguagsc sc	1261	GGCUACAGCUUUGAG ACUAACUC	1620
AD-1136142.1	usascagcUfuUfGfAfgacuaacuc uL96	903	asGfsagdTu(Agn)gucucaAfaGfcuguasg sc	1262	GCUACAGCUUUGAGA CUAACUCA	1621

AD- 1136143.1	ascsagcuUfuGfAfGfacuaacucau L96	904	asUfsgadGu(Tgn)agucucAfaAfgcugusa sg	1263	CUACAGCUUUGAGAC UAACUCAG	1622
AD- 1136144.1	csasgcuuUfgAfGfAfcuaacucag uL96	905	asCfsugaGfuuagucuCfaAfagcugsusa	1264	UACAGCUUUGAGACU AACUCAGG	1623
AD- 1136145.1	asgscuuuGfaGfAfCfuaacucagg uL96	906	asCfscudGa(G2p)uuagucUfcAfaagcusg su	1265	ACAGCUUUGAGACUA ACUCAGGG	1624
AD- 1136146.1	csusuccaCfuAfCfUfucagcuau uL96	907	asCfsaudAg(C2p)ugaaguAfgUfggaags gsg	1266	CCCUUCCACUACUUCA GCUAUGG	1625
AD- 1136147.1	ususccacUfaCfUfUfcagcuau uL96	908	asCfscauAfgcugaagUfaGfuggaasgsg	1267	CCUUCCACUACUUCAG CUAUGGG	1626
AD- 1136148.1	gsusggcuUfgCfUfCfugaaguaga uL96	909	asUfscudAc(Tgn)ucagagCfaAfgccacsc sc	1268	GGGUGGCUUGCUCUG AAGUAGAA	1627
AD- 1136149.1	usgsgcuuGfcUfCfUfgaaguagaa uL96	910	asUfsucdTc(C2p)uucagaGfcAfagccasc sc	1269	GGUGGCUUGCUCUGA AGUAGAAA	1628
AD- 1136150.1	gsgscuugCfuCfUfGfaaguagaaa uL96	911	asUfsuudCu(Agn)cuucagAfgCfaagccsa sc	1270	GUGGCUUGCUCUGAA GUAGAAAU	1629
AD- 1136151.1	gscsuugcUfcUfGfAfaguagaaau uL96	912	asAfsuudTc(Tgn)acuucaGfaGfcaagcsc sa	1271	UGGCUUGCUCUGAAG UAGAAAUC	1630
AD- 1136152.1	cscsuaacAfgGfAfGfaucauaagau L96	913	asUfscuuAfugaucucCfuGfuuaaggscsa	1272	UGCCUAAACAGGAGAU CAUAAGAA	1631
AD- 1136153.1	csusaacaGfgAfGfAfucuaaagaau L96	914	asUfsucdTc(Agn)ugaucuCfcUfguuags gsc	1273	GCCUAAACAGGAGAUC AUAAGAAC	1632

AD-1136154.1	usasacagGfaGfAfUfcuaaagaacu L96	915	asGfsuucUfuaugaucUfcCfuguuasgsg	1274	CCU AACAGGAGAUCA UAAGAACC	1633
AD-1136155.1	asascaggAfgAfUfCfauaagaaccu L96	916	asGfsgudTc(Tgn)uagauCfuCfcuguusa sg	1275	CUAACAGGAGAUCAU AAGAACCU	1634
AD-1136156.1	cscsuccgCfaCfAfGfauauuguc <u>au</u> L96	917	asUfsgacAfauaucugUfgCfaggagsusu	1276	AACCUCCGCACAGAU UUGUCAU	1635
AD-1136157.1	csusccgcAfcAfGfAfua <u>u</u> uguc <u>au</u> uL96	918	asAfsugaCfaauaucuGfuGfcggagsgsu	1277	ACCUCCGCACAGAU UGUCAUG	1636
AD-1136158.1	ususggcuCfcAfGfUfcuaaaccu uL96	919	asAfsggdGu(Tgn)uagacuGfgAfgccaasc sa	1278	UGUUGGCUCCAGUCU AAACCCUG	1637
AD-1136159.1	ususccugGfcUfGfCfuucuauc <u>u</u> uL96	920	asAfsagaUfagaagcaGfcCfaggaasgsa	1279	UCUUCCUGGCUGCUUC UAUCUUC	1638
AD-1136160.1	uscscuggCfuGfCfUfucuauc <u>u</u> uL96	921	asGfsaagAfuagaagcAfgCfcaggasasg	1280	CUUCCUGGCUGCUUCU AUCUUCU	1639
AD-1136161.1	cscsuggcUfgCfUfUfcuauc <u>u</u> uL96	922	asAfsгааGfauagaagCfaGfccagggsasa	1281	UUCCUGGCUGCUUCU AUCUUCUU	1640
AD-1136162.1	csusggcuGfcUfUfCfuauuc <u>u</u> uL96	923	asAfsagaAfgauagaaGfcAfgccagsgsa	1282	UCCUGGCUGCUUCUA UCUUCUUU	1641
AD-1136163.1	usgsgcugCfuUfCfUfauc <u>u</u> uL96	924	asAfsaagAfagauagaAfgCfagccasgsg	1283	CCUGGCUGCUUCUAUC UUCUUUG	1642
AD-1136164.1	gscsugcuUfcUfAfUfcuuc <u>u</u> uL96	925	asGfscaaAfgaagauaGfaAfgcagcscsa	1284	UGGCUGCUUCUAUCU UCUUUGCC	1643

AD-1136165.1	csusgcuuCfuAfUfCfuucuugccuL96	926	asGfsgcaAfagaagauAfgAfagcagscsc	1285	GGCUGCUUCUAUCUUCUUUGCCA	1644
AD-1136166.1	usgscuucUfaUfCfUfucuuugccaL96	927	asUfsggdCa(Agn)agaagaUfaGfaagcasgsc	1286	GCUGCUUCUAUCUUCUUUGCCAU	1645
AD-1136167.1	gscsuucUfuCfUfUfucuuugccauL96	928	asAfsugdGc(Agn)aagaagAfuAfgaagcsa sg	1287	CUGCUUCUAUCUUCUUCUUGCCAUC	1646
AD-1136168.1	csusucuaUfcUfUfCfuugccaucuL96	929	asGfsaudGg(C2p)aaagaaGfaUfagaagscsa	1288	UGCUUCUAUCUUCUUCUUGCCAUCA	1647
AD-1136169.1	ususcuaUfuUfCfUfuugccaucuL96	930	asUfsgadTg(G2p)caaagaAfgAfuagaasgsc	1289	GCUUCUAUCUUCUUCUUGCCAUCAA	1648
AD-1136170.1	uscsuauCfuCfUfUfugccaucaauL96	931	asUfsugdAu(G2p)gcaaagAfaGfauagasa sg	1290	CUUCUAUCUUCUUCUUGCCAUCAAA	1649
AD-1136171.1	csusauCuUfcUfUfUfgccaucaauL96	932	asUfsuudGa(Tgn)ggcaaaGfaAfgauagsasa	1291	UUCUAUCUUCUUCUUGCCAUCAAAG	1650
AD-1136172.1	usasucuuCfuUfUfGfccaucaaaguL96	933	asCfsuuuGfauggcaaAfgAfagauasgsa	1292	UCUAUCUUCUUCUUGCCAUCAAAGA	1651
AD-1136173.1	asuscuucUfuUfGfCfcaucaaagauL96	934	asUfscudTu(G2p)auggcaAfaGfaagausa sg	1293	CUAUCUUCUUCUUGCCAUCAAAGAU	1652
AD-1136174.1	csusucuuUfgCfCfAfucuaaagaugL96	935	asCfsaucUfuugauggCfaAfagaagsasu	1294	AUCUUCUUCUUGCCAUCAAAGAUGC	1653
AD-1136175.1	gsasgcucAfgCfAfCfacagguaauL96	936	asAfsuudAc(C2p)ugugugCfuGfagcucs gsa	1295	UCGAGCUCAGCACACAGGUAUA	1654

AD-1136176.1	csuscagcAfcAfCfAfgguaauaacu L96	937	asGfsuuaUfuaccuguGfuGfcugagscsu	1296	AGCUCAGCACACAGG UAAUAACG	1655
AD-1136177.1	uscsagcaCfaCfAfGfguaauaacgu L96	938	asCfsguuAfuuaccugUfgUfgcugasgsc	1297	GCUCAGCACACAGGU AAUAACGU	1656
AD-1136178.1	csasgcacAfcAfGfGfuaauaacguu L96	939	asAfscguUfauuaccuGfuGfugcugsasg	1298	CUCAGCACACAGGUA AUAACGUG	1657
AD-1136179.1	ascsagguAfaUfAfAfcgugaagga uL96	940	asUfscddTu(C2p)acguuaUfuAfccugusg su	1299	ACACAGGUAAUAACG UGAAGGAA	1658
AD-1136180.1	csasgguaAfuAfAfCfugaaggaa uL96	941	asUfsucdCu(Tgn)cacguuAfuUfaccugsu sg	1300	CACAGGUAAUAACGU GAAGGAAC	1659
AD-1136181.1	asgsguaaUfaAfCfGfugaaggaa uL96	942	asGfsuudCc(Tgn)ucacguUfaUfuaccusg su	1301	ACAGGUAAUAACGUG AAGGAACU	1660
AD-1136182.1	asusaacgUfgAfAfGfgaacucuuc uL96	943	asGfsaadGa(G2p)uuccuuCfaCfguuausu sa	1302	UAAUAACGUGAAGGA ACUCUUCC	1661
AD-1136183.1	usasacguGfaAfGfGfaacucuucc uL96	944	asGfsgadAg(Agn)guuccuUfcAfcguuas usu	1303	AAUAACGUGAAGGAA CUCUUCCG	1662
AD-1136184.1	cscscagaAfaAfCfUfgcaaaccuu L96	945	asAfsggdGu(Tgn)ugcaguUfuUfcugggs asc	1304	GUCCCAGAAAACUGC AAACCCUG	1663
AD-1136185.1	csascagaAfcAfUfGfgaucuauua uL96	946	asUfsaadTa(G2p)auccauGfuUfcugugsg su	1305	ACCACAGAACAUGGA UCUAUUA	1664
AD-1136186.1	ascsagaaCfaUfGfGfaucuauuaau L96	947	asUfsuaaUfagaaccaUfgUfucugusgsg	1306	CCACAGAACAUGGAU CUAUUAAA	1665

AD-1136187.1	csasgaacAfuGfGfAfucuaauuaa uL96	948	asUfsuuaAfuagauccAfuGfuucugsusg	1307	CACAGAACAUGGAUC UAUUAAG	1666
AD-1136188.1	asgsaacaUfgGfAfUfcuaauuaag uL96	949	asCfsuuuAfaugaucCfaUfguucsgsu	1308	ACAGAACAUGGAUCU AUUAAAGU	1667
AD-1136189.1	gsasacauGfgAfUfCfuauuaagu uL96	950	asAfscuuUfaauagauCfcAfuguucsusg	1309	CAGAACAUGGAUCUA UUAAGUC	1668
AD-1136190.1	asascaugGfaUfCfUfaauaaagucu L96	951	asGfsacuUfuaauagaUfcCfauguuscsu	1310	AGAACAUGGAUCUAU UAAAGUCA	1669
AD-1136191.1	ascsauggAfuCfUfAfuuaaaguca uL96	952	asUfsgadCu(Tgn)uaauagAfuCfcaugusu sc	1311	GAACAUGGAUCUAUU AAAGUCAC	1670
AD-1136192.1	csasuggaUfcUfAfUfuaaagucac uL96	953	asGfsugdAc(Tgn)uaaauaGfaUfccaugsu su	1312	AACAUGGAUCUAUUA AAGUCACA	1671
AD-1136193.1	asusggauCfuAfUfUfaaagucaca uL96	954	asUfsgudGa(C2p)uuuaauAfgAfuccaus gsu	1313	ACAUGGAUCUAUUA AGUCACAG	1672
AD-1136194.1	usgsgaucUfaUfUfAfaagucacag uL96	955	asCfsugdTg(Agn)cuuaaUfaGfauccasu sg	1314	CAUGGAUCUAUUA GUCACAGA	1673
AD-1136195.1	gsgsaucuAfuUfAfAfagucacaga uL96	956	asUfscudGu(G2p)acuuuaAfuAfgauccs asu	1315	AUGGAUCUAUUAAG UCACAGAA	1674
AD-1136196.1	gsasucuaUfuAfAfAfgucacagaa uL96	957	asUfsucdTg(Tgn)gacuuuAfaUfagaucsc sa	1316	UGGAUCUAUUAAGU CACAGAAU	1675
AD-1136197.1	ascsaaugAfuAfAfGfcaauucaau L96	958	asUfsugaAfuuugcuuAfuCfauugsgsu	1317	ACACAAUGAUAAAGCA AAUUCAAA	1676

AD- 1136198.1	csasaugaUfaAfGfCfaaaaucaau L96	959	asUfsuudGa(Agn)uuugcuUfaUfcuugs usg	1318	CACAAUGAUAAAGCAA AUUCAAAA	1677
AD- 1136199.1	asusgauaAfgCfAfafauucaaacu L96	960	asGfsuudTu(G2p)aaauugCfuUfauc usg	1319	CAAUGAUAAAGCAAU UCAAAACU	1678
AD- 1136200.1	asusgccuAfaAfUfGfgugaauaug uL96	961	asCfsauaUfucaccuUfuAfggcausasa	1320	UUAUGCCUAAAUGGU GAAUAUGC	1679
AD- 1136201.1	usgscuaAfaUfGfGfugaauaugc uL96	962	asGfscuAfuucaccaUfuUfaggcasusa	1321	UAUGCCUAAAUGGUG AAUAUGCA	1680
AD- 1136202.1	gscscuaaAfuGfGfUfgaauaugca uL96	963	asUfsgcdAu(Agn)uucaccAfuUfuaggcs asu	1322	AUGCCUAAAUGGUGA AUAUGCAA	1681
AD- 1136203.1	cscsuaaaUfgGfUfGfaauaugcaau L96	964	asUfsugdCa(Tgn)auucacCfaUfuaggsc sa	1323	UGCCUAAAUGGUGAA UAUGCAAU	1682
AD- 1136204.1	csusaaauGfgUfGfAfauaugcaau uL96	965	asAfsuudGc(Agn)uauucaCfcAfuuuags gsc	1324	GCCUAAAUGGUGAAU AUGCAAUU	1683
AD- 1136205.1	asasugguGfaAfUfAfugcaauuag uL96	966	asCfsuaaUfugcauauUfcAfccauususa	1325	UAAAUGGUGAAUAUG CAAUUAGG	1684
AD- 1136206.1	csgsggaaGfgGfUfUfugugcuauu uL96	967	asAfsaudAg(C2p)acaaacCfcUfucccgsa sc	1326	GUCGGGAAGGGUUUG UGCUAUUC	1685
AD- 1136207.1	gsgsgaagGfgUfUfUfugugcuauuc uL96	968	asGfsaadTa(G2p)cacaaaCfcCfucccsgs a	1327	UCGGGAAGGGUUUGU GCUAUUCC	1686
AD- 1136208.1	gsgsaaggGfuUfUfGfugcuauucc uL96	969	asGfsgaaUfagcaciaAfcCfcuuccscsg	1328	CGGGAAGGGUUUGUG CUAUUCCC	1687

AD-1136209.1	gsusauaaCfcUfCfAfaguucugau uL96	970	asAfsucaGfaacuugaGfgUfuauacsasg	1329	CUGUAUAACCUCAAG UUCUGAUG	1688
AD-1136210.1	usasuaacCfuCfAfAfguucugaug uL96	971	asCfsaudCa(G2p)aacuugAfgGfuauasc sa	1330	UGUAUAACCUCAAGU UCUGAUGG	1689
AD-1136211.1	cscsucaaGfuUfCfUfgaugguguc uL96	972	asGfsacdAc(C2p)aucagaAfcUfugaggsu su	1331	AACCUCAAGUUCUGA UGGUGUCU	1690
AD-1136212.1	csasaguuCfuGfAfUfggugucugu uL96	973	asAfs cadGa(C2p)accaucAfgAfacuugsa sg	1332	CUCAAGUUCUGAUGG UGUCUGUC	1691
AD-1136213.1	cscsacaaAfcCfUfCfuagaagcuuu L96	974	asAfsagdCu(Tgn)cuagagGfuUfuguggs gsa	1333	UCCCACAAACCUCUAG AAGCUUA	1692
AD-1136214.1	ascsaaacCfuCfUfAfgaagcuuaau L96	975	asUfsuadAg(C2p)uucuagAfgGfuuuugus gsg	1334	CCACAAACCUCUAGAA GCUUAAA	1693
AD-1136215.1	asasaccuCfuAfGfAfagcuuaaacu L96	976	asGfsuuuAfagcuucuAfgAfgguuusgsu	1335	ACAAACCUCUAGAAG CUUAAACC	1694
AD-1136216.1	asascucUfaGfAfAfgcuuaaaccu L96	977	asGfsguuUfaagcuucUfaGfagguususg	1336	CAAACCUCUAGAAGC UUAAACCG	1695
AD-1136217.1	usgsgccuUfcAfAfAfccaaugaac uL96	978	asGfsuucAfuugguuuGfaAfggccasgsg	1337	CCUGGCCUUCAAACCA AUGAACA	1696
AD-1136218.1	gsgsccuuCfaAfAfCfaaugaacau L96	979	asUfsgudTc(Agn)uugguuUfgAfaggccs asg	1338	CUGGCCUUCAAACCAA UGAACAG	1697
AD-1136219.1	gscscuucAfaAfCfCfaaugaacagu L96	980	asCfsuguUfcuuugguUfuGfaaggcscsa	1339	UGGCCUUCAAACCAA UGAACAGC	1698

AD- 1136220.1	uscsaaacCfaAfUfGfaacagcaaau L96	981	asUfsuudGc(Tgn)guucauUfgGfuugas asg	1340	CUUCAAAACCAAUGAA CAGCAAAG	1699
AD- 1136221.1	gsasacagCfaAfAfGfcuaaaccuuu L96	982	asAfsaggUfuaugcuUfgCfuguucsasu	1341	AUGAACAGCAAAGCA UAACCUUG	1700
AD- 1136222.1	asascagcAfaAfGfCfauaaccuugu L96	983	asCfsaadGg(Tgn)uaugcuUfuGfcuguusc sa	1342	UGAACAGCAAAGCAU AACCUUGA	1701
AD- 1136223.1	asgscaaaGfcAfUfAfacuugaauu L96	984	asAfsuucAfagguuauGfcUfuugcusgsu	1343	ACAGCAAAGCAUAAC CUUGAAUC	1702
AD- 1136224.1	gscsaaagCfaUfAfAfccuugaaucu L96	985	asGfsaudTc(Agn)agguuaUfgCfuugcs usg	1344	CAGCAAAGCAUAACC UUGAAUCU	1703
AD- 1136225.1	csasaagcAfuAfAfCfcuugaaucu uL96	986	asAfsgadTu(C2p)aagguuAfuGfcuuugs csu	1345	AGCAAAGCAUAACCU UGAAUCUA	1704
AD- 1136226.1	gscsauaaCfcUfUfGfaaucuauacu L96	987	asGfsuauAfgauucaGfgUfuaugcsusu	1346	AAGCAUAACCUUGAA UCUAUACU	1705
AD- 1136227.1	csasuaacCfuUfGfAfaucuaauacuu L96	988	asAfsguaUfagauucaAfgGfuuaugscsu	1347	AGCAUAACCUUGAAU CUAUACUC	1706
AD- 1136228.1	asusaaccUfuGfAfAfucuaauacuc uL96	989	asGfsaguAfuagauucAfaGfguuausgsc	1348	GCAUAACCUUGAAUC UAUACUCA	1707
AD- 1136229.1	usasaccuUfgAfAfUfcuaauacuca uL96	990	asUfsgadGu(Agn)uagauuCfaAfgguuas usg	1349	CAUAACCUUGAAUCU AUACUCAA	1708
AD- 1136230.1	asasccuuGfaAfUfCfuauacucaa L96	991	asUfsugdAg(Tgn)auagauUfcAfagguus asu	1350	AUAACCUUGAAUCUA UACUCAA	1709

AD- 1136231.1	ascscuugAfaUfCfUfauacucaaa L96	992	asUfsuudGa(G2p)uauagaUfuCfaaggus usa	1351	UAACCUUGAAUCUAU ACUCAAAU	1710
AD- 1136232.1	cscsuugaAfuCfUfAfuacucaaa uL96	993	asAfsuudTg(Agn)guauagAfuUfcaaggs usu	1352	AACCUUGAAUCUAUA CUCAAAUU	1711
AD- 1136233.1	asasucuaUfaCfUfCfaaauuuugcu L96	994	asGfscaaAfaauugagUfaUfagauuscsa	1353	UGAAUCUAUACUCAA AUUUUGCA	1712
AD- 1136234.1	asuscuaUfCfUfAfaauuuugca uL96	995	asUfsgcaAfaauuugaGfuAfuagaususc	1354	GAAUCUAUACUCAAA UUUUGCAA	1713
AD- 1136235.1	gsgsuuaaAfuCfCfUfcuaaccaucu L96	996	asGfsaudGg(Tgn)uagaggAfuUfuaaccsu su	1355	AAGGUUAAAUCCUCU AACCAUCU	1714
AD- 1136236.1	usasaucCfuCfUfAfaccaucuuuu L96	997	asAfsaadGa(Tgn)gguuagAfgGfauuuasa sc	1356	GUUAAAUCCUCUAAC CAUCUUUG	1715
AD- 1136237.1	asasaucUfcUfAfAfcaucuuug uL96	998	asCfsaaaGfaugguuaGfaGfgauuusasa	1357	UUAAAUCCUCUAACC AUCUUUGA	1716
AD- 1136238.1	asasuccuCfuAfAfCfcaucuuuga uL96	999	asUfscAAfgaugguuAfgAfggauususa	1358	UAAAUCCUCUAACCA UCUUUGAA	1717
AD- 1136239.1	asusccucUfaAfCfCfaucuuugaau L96	1000	asUfsucaAfagaugguUfaGfaggausus	1359	AAAUCCUCUAACCAUC UUUGAAU	1718
AD- 1136240.1	uscscucuAfaCfCfAfucuuugaau uL96	1001	asAfsuucAfaagauggUfuAfgaggasusu	1360	AAUCCUCUAACCAUCU UUGAAUC	1719
AD- 1136241.1	cscsucuaAfcCfAfUfcuuugauc uL96	1002	asGfsaudTc(Agn)aagaugGfuUfagaggsa su	1361	AUCCUCUAACCAUCUU UGAAUCA	1720

AD- 1136242.1	csuscuaaCfcAfUfCfuugaaucau L96	1003	asUfsgadTu(C2p)aaagauGfgUfuagagsg sa	1362	UCCUCUAACCAUCUUU GAAUCAU	1721
AD- 1136243.1	uscsuaacCfaUfCfUfuugaaucauu L96	1004	asAfsugaUfucaaagaUfgGfuugagsgsg	1363	CCUCUAACCAUCUUUG AAUCAUU	1722
AD- 1136244.1	csusaaccAfuCfUfUfugaaucauu uL96	1005	asAfsaudGa(Tgn)ucaaagAfuGfguuagsa sg	1364	CUCUAACCAUCUUUG AAUCAUUG	1723
AD- 1136245.1	usasaccaUfcUfUfUfgaaucuuug uL96	1006	asCfsaadTg(Agn)uucaaaGfaUfgguuasg sa	1365	UCUAACCAUCUUUGA AUCAUUGG	1724
AD- 1136246.1	asasccauCfuUfUfGfaaucauugg uL96	1007	asCfscaaUfgauucaAfgAfugguusasg	1366	CUAACCAUCUUUGAA UCAUUGGA	1725
AD- 1136247.1	cscsauceUfuGfAfAfucuuuggaa uL96	1008	asUfsuccAfaugauucAfaAfgauggsusu	1367	AACCAUCUUUGAAUC AUUGGAAA	1726
AD- 1136248.1	csasucuuUfgAfAfUfcuuuggaaa uL96	1009	asUfsuudCc(Agn)augauuCfaAfagaugs gsu	1368	ACCAUCUUUGAAUCA UUGGAAAG	1727
AD- 1136249.1	asuscuuuGfaAfUfCfauuggaaag uL96	1010	asCfsuudTc(C2p)aaugauUfcAfaagaugsg	1369	CCAUCUUUGAAUCAU UGGAAAGA	1728
AD- 1136250.1	csusuugaAfuCfAfUfuggaaagaa uL96	1011	asUfsucdTu(Tgn)ccaugAfuUfcaaagsa su	1370	AUCUUUGAAUCAUUG GAAAGAAU	1729
AD- 1136251.1	gsasaagaAfuAfAfAfgaaugaaac uL96	1012	asGfsuudTc(Agn)uucuuuAfuUfcuuucs csa	1371	UGGAAAGAAUAAAGA AUGAAACA	1730
AD- 1136252.1	asasagaaUfaAfAfGfaaugaaacau L96	1013	asUfsgudTu(C2p)auucuuUfaUfucuuus csc	1372	GGAAAGAAUAAAGAA UGAAACAA	1731

AD-1136253.1	gsasaugaAfaCfAfAfaaucaagguuL96	1014	asAfscuUfgaauuugUfuUfcuucsusu	1373	AAGAAUGAAACAAAUUCAAGGUU	1732
AD-1136254.1	asusgaaaCfaAfAfUfucaagguuaL96	1015	asUfsaadCc(Tgn)ugaauuUfgUfuucaususc	1374	GAAUGAAACAAAUUCAAGGUUAA	1733
AD-1136255.1	asascaaaUfuCfAfAfgguuaauugL96	1016	asCfsaauUfaaccuugAfaUfuuguususc	1375	GAAACAAAUUCAAGGUUAAUUGG	1734
AD-1136256.1	usgsaagcUfgCfAfUfaaagcaagauL96	1017	asUfscudTg(C2p)uuuugCfaGfcuucascsa	1376	UGUGAAGCUGCAUAAAGCAAGAU	1735
AD-1136257.1	asasgcugCfaUfAfAfagcaagauuL96	1018	asAfsaudCu(Tgn)gcuuuUfgCfagcuuscsa	1377	UGAAGCUGCAUAAAGCAAGAUUA	1736
AD-1136258.1	asgscugcAfuAfAfAfgcaagauuaL96	1019	asUfsaadTc(Tgn)ugcuuuAfuGfcagcuscsc	1378	GAAGCUGCAUAAAGCAAGAUUAC	1737
AD-1136259.1	gscsugcaUfaAfAfGfcaagauuacL96	1020	asGfsuadAu(C2p)uugcuUfaUfgcagcsusu	1379	AAGCUGCAUAAAGCAAGAUUACU	1738
AD-1136260.1	csusgcAuAfaAfGfCfaagauuacuL96	1021	asAfsguaAfucuugcuUfuAfugcagcsusu	1380	AGCUGCAUAAAGCAAGAUUACUC	1739
AD-1136261.1	usgscauaAfaGfCfAfagauuacucL96	1022	asGfsaguAfaucuugcUfuUfaugcagsgsc	1381	GCUGCAUAAAGCAAGAUUACUCU	1740
AD-1136262.1	csasuaaaGfcAfAfGfauuacucuauL96	1023	asUfsagdAg(Tgn)aaucuuGfcUfuuaugscsa	1382	UGCAUAAAGCAAGAUUACUCUAU	1741
AD-1136263.1	usasaagcAfaGfAfUfuacucuauaL96	1024	asUfsaudAg(Agn)gaaucUfuGfcuuuasusg	1383	CAUAAAGCAAGAUUAUCUCUAUAA	1742

AD- 1136264.1	asusacaaAfaAfUfCfcaaccaacuu L96	1025	asAfs gudTg(G2p)uuggauUfuUfuguau usa	1384	UAAUACAAAAAUCCA ACCAACUC	1743
AD- 1136265.1	usascaaaAfaUfCfCfaaccaacucu L96	1026	asGfsagdTu(G2p)guuggaUfuUfuuguas usu	1385	AAUACAAAAAUCCAA CCAACUCA	1744
AD- 1136266.1	ascsaaaaAfuCfCfAfaccaacucuu L96	1027	asUfsagdGu(Tgn)gguuggAfuUfuuuugs asu	1386	AUACAAAAAUCCAAC CAACUCAA	1745
AD- 1136267.1	csasaaaaUfcCfAfAfccaacucauu L96	1028	asUfsugdAg(Tgn)ugguugGfaUfuuuugs usa	1387	UACAAAAAUCCAACC AACUCAAU	1746
AD- 1136268.1	asasaaaCfcAfAfCfcaacucauuu L96	1029	asAfsuudGa(G2p)uugguuGfgAfuuuuus gsu	1388	ACAAAAAUCCAACCA ACUCAAUU	1747
AD- 1136269.1	asasaauCfaAfCfCfaacucauuuu L96	1030	asAfsaudTg(Agn)guugguUfgGfauuuus usg	1389	CAAAAAUCCAACCAAC UCAAUUA	1748
AD- 1136270.1	asasaucAfaCfCfAfacucauuuu L96	1031	asUfsaadTu(G2p)aguuggUfuGfgauuus usu	1390	AAAAAUCCAACCAAC UCAAUUAU	1749
AD- 1136271.1	asasuccAfcCfAfAfcucauuuuuu L96	1032	asAfsuaaUfugaguugGfuUfggauususu usu	1391	AAAAUCCAACCAACUC AAUUAUU	1750
AD- 1136272.1	asusccaaCfcAfAfCfucauuuuuuu L96	1033	asAfsaauAfuugaguGfgUfuggaususu usu	1392	AAAUCCAACCAACUCA AUUAUUG	1751
AD- 1136273.1	uscscAACfAfcCfUfcauuuuuugu L96	1034	asCfsaauAfaugaguUfgGfuuggasusu usu	1393	AAUCCAACCAACUCAA UUAUUGA	1752
AD- 1136274.1	cscsaaccAfaCfUfCfauuuuuugau L96	1035	asUfscaaUfaauugagUfuGfguuggsas usu	1394	AUCCAACCAACUCAAU UAUUGAG	1753

AD- 1136275.1	csasaccaAfcUfCfAfauuauugagu L96	1036	asCfsucaAfuaauugaGfuUfgguugsgsa	1395	UCCAACCAACUCAAUU AUUGAGC	1754
AD- 1136276.1	asasccaaCfuCfAfAfuaauugagcu L96	1037	asGfscucAfuaauugAfgUfugguusgsg	1396	CCAACCAACUCAAUUA UUGAGCA	1755
AD- 1136277.1	ascsaacUfcAfAfUfuaauugagcau L96	1038	asUfsgcdTc(Agn)auaaauGfaGfuuggus usg	1397	CAACCAACUCAAUUA UUGAGCAC	1756
AD- 1136278.1	cscsaacuCfaAfUfUfauugagcacu L96	1039	asGfsugdCu(C2p)aaauauUfgAfguuggs usu	1398	AACCAACUCAAUUAU UGAGCACG	1757
AD- 1136279.1	csgsuacaAfuGfUfUfcuagauuuc uL96	1040	asGfsaadAu(C2p)uagaacAfuUfguacgsu sg	1399	CACGUACAAUGUUCU AGAUUUCU	1758
AD- 1136280.1	gsusacaaUfgUfUfCfuagauuucu uL96	1041	asAfsгааAfucuagaaCfaUfuguacsgsu	1400	ACGUACAAUGUUCUA GAUUUCUU	1759
AD- 1136281.1	usascaauGfuUfCfUfagauuucuu uL96	1042	asAfsagaAfaucuagaAfcAfuuguascsg	1401	CGUACAAUGUUCUAG AUUUCUUU	1760
AD- 1136282.1	ascsaauGfuCfUfAfgauuucuuu uL96	1043	asAfsaagAfaaucuagAfaCfauugusasc	1402	GUACAAUGUUCUAGA UUUCUUUC	1761
AD- 1136283.1	csasauguUfcUfAfGfauuucuuuc uL96	1044	asGfsaaaGfaaaucaGfaAfcuugsusa	1403	UACAAUGUUCUAGAU UUCUUUCC	1762
AD- 1136284.1	asasuguuCfuAfGfAfuuucuuucc uL96	1045	asGfsgaaAfgaaucuAfgAfacauusgsu	1404	ACAAUGUUCUAGAUU UCUUUCCC	1763
AD- 1136285.1	gsusucuaGfaUfUfUfcuuuccuu uL96	1046	asAfsagdGg(Agn)aagaaaUfcUfagaacsa su	1405	AUGUUCUAGAUUUCU UUCCCUUC	1764

AD- 1136286.1	ususcuagAfuUfUfCfuucccuuc uL96	1047	asGfsaadGg(G2p)aaagaaAfuCfuagaasc sa	1406	UGUUCUAGAUAUUCUU UCCCUUCC	1765
AD- 1136287.1	uscsuuuaCfaUfUfUfgaagccaaau L96	1048	asUfsuudGg(C2p)uucaaaUfgUfaaagasu su	1407	AAUCUUUACAUAUUGA AGCCAAAG	1766
AD- 1136288.1	csusuuaCfaUfUfGfaagccaaag uL96	1049	asCfsuudTg(G2p)cuucaaAfuGfuaaagsa su	1408	AUCUUUACAUAUUGAA GCCAAAGU	1767
AD- 1136289.1	ususuacaUfuUfGfAfagccaaagu uL96	1050	asAfscudTu(G2p)gcuucaAfaUfguaaasg sa	1409	UCUUUACAUAUUGAAG CCAAAGUA	1768
AD- 1136290.1	ascsauuuGfaAfGfCfcaaguaauu L96	1051	asAfsuudAc(Tgn)uuggcuUfcAfaaugus asa	1410	UUACAUAUUGAAGCCA AAGUAAUU	1769
AD- 1136291.1	asusuugaAfgCfCfAfaaguaauuu uL96	1052	asAfsaauUfacuuuggCfuUfcaaausgsu	1411	ACAUAUUGAAGCCAAA GUAAUUUC	1770
AD- 1136292.1	gsasagccAfaAfGfUfaauuuccacu L96	1053	asGfsuggAfaauuacuUfuGfgcuucsasa	1412	UUGAAGCCAAAGUAA UUUCCACC	1771
AD- 1136293.1	asasgccaAfaGfUfAfauuuccaccu L96	1054	asGfsgudGg(Agn)aauiacUfuUfggcuus csa	1413	UGAAGCCAAAGUAAU UCCACCU	1772
AD- 1136294.1	cscsaaagUfaAfUfUfuccaccuagu L96	1055	asCfsuadGg(Tgn)ggaaauUfaCfuuggsc su	1414	AGCCAAAGUAAUUUC CACCUAGA	1773
AD- 1136295.1	csasaaguAfaUfUfUfccaccuagau L96	1056	asUfscudAg(G2p)uggaaaUfuAfcuuugs gsc	1415	GCCAAAGUAAUUUCC ACCUAGAA	1774
AD- 1136296.1	asasaguaAfuUfUfCfcaccuagaau L96	1057	asUfsucdTa(G2p)guggaaAfuUfacuuus gsg	1416	CCAAAGUAAUUUCCA CCUAGAAA	1775

AD-1136297.1	gscsaagaUfcUfUfGfucucugaag uL96	1058	asCfsuucAfgagacaaGfaUfcuugcsusc	1417	GAGCAAGAUCUUGUC UCUGAAGA	1776
AD-1136298.1	asgsguagAfaGfAfGfccaagaagc uL96	1059	asGfscudTc(Tgn)uggcucUfuCfuaccusc su	1418	AGAGGUAGAAGAGCC AAGAAGCC	1777
AD-1136299.1	csusagcuCfuGfUfCfucucuguc uL96	1060	asGfsacaGfaagagacAfgAfgcuagsgsa	1419	UCCUAGCUCUGUCUCU UCUGUCU	1778
AD-1136300.1	usasgcucUfgUfCfUfcuucugucu uL96	1061	asAfsgadCa(G2p)aagagaCfaGfagcuasg sg	1420	CCUAGCUCUGUCUCUU CUGUCUC	1779
AD-1136301.1	asgscucuGfuCfUfCfuucugucuc uL96	1062	asGfsagdAc(Agn)gaagagAfcAfgagcusa sg	1421	CUAGCUCUGUCUCUUC UGUCUCU	1780
AD-1136302.1	asuscuuuGfuGfAfUfcuuggacug uL96	1063	asCfsaguCfcaagaucAfcAfaagaugasg	1422	CUAUCUUUGUGAUCU UGGACUGU	1781
AD-1136303.1	csusuccuGfuGfAfUfccauuuuac uL96	1064	asGfsuaaAfauggaucAfcAfggaagsgsg	1423	CCCUUCCUGUGAUCCA UUUUACU	1782
AD-1136304.1	ususccugUfgAfUfCfcauuuuacu uL96	1065	asAfsguaAfaauggauCfaCfaggaasgsg	1424	CCUUCCUGUGAUCCA UUUACUG	1783
AD-1136305.1	uscscuguGfaUfCfCfauuuuacug uL96	1066	asCfsaguAfaaauggaUfcAfcaggasasg	1425	CUUCCUGUGAUCCA UUUACUGC	1784
AD-1136306.1	cscsugugAfuCfCfAfuuuuacugc uL96	1067	asGfscagUfaaaauggAfuCfacaggsasa	1426	UUCCUGUGAUCCA UUACUGCA	1785
AD-1136307.1	csusgugaUfcCfAfUfuuuacugca uL96	1068	asUfsgcdAg(Tgn)aaaaugGfaUfcacagsg sa	1427	UCCUGUGAUCCA UACUGCAA	1786

AD-1136308.1	csusauaaAfuAfUfAfugaccugaa uL96	1069	asUfsucdAg(G2p)ucauauAfuUfuauags gsc	1428	GCCUAUAAAUAUAUG ACCUGAAA	1787
AD-1136309.1	usgsaccuGfaAfAfAfcuccaguua uL96	1070	asUfsaadCu(G2p)gaguuUfcAfggucas usa	1429	UAUGACCUGAAAACU CCAGUUAC	1788
AD-1136310.1	gsasccugAfaAfAfCfuccaguua uL96	1071	asGfsuadAc(Tgn)ggaguuUfuCfaggucsa su	1430	AUGACCUGAAAACUC CAGUUACA	1789
AD-1136311.1	asasggauCfuGfCfAfgcuaucuaa uL96	1072	asUfsuadGa(Tgn)agcugcAfgAfuccuusu sa	1431	UAAAGGAUCUGCAGC UAUCUAAG	1790
AD-1136312.1	asgsgaucUfgCfAfGfcuaucuaag uL96	1073	asCfsuuaGfauagcugCfaGfauccususu	1432	AAAGGAUCUGCAGCU AUCUAAGG	1791
AD-1136313.1	gscsuaucUfaAfGfGfcuugguuuu uL96	1074	asAfsaaaCfcaagccuUfaGfauagcsusg	1433	CAGCUAUCUAAGGCU UGGUUUUC	1792
AD-1136314.1	csusaucuAfaGfGfCfuugguuuuuc uL96	1075	asGfsaaaAfccaagccUfuAfgauagscsu	1434	AGCUAUCUAAGGCUU GGUUUUCU	1793
AD-1136315.1	asuscuaaGfgCfUfUfgguuuuucuu uL96	1076	asAfsagaAfaaccaagCfcUfuagausasg	1435	CUAUCUAAGGCUUGG UUUUCUUA	1794
AD-1136316.1	uscsuaagGfcUfUfGfguuuuucua uL96	1077	asUfsaadGa(Agn)aaccuaGfcCfuagasu sa	1436	UAUCUAAGGCUUGGU UUUCUUAC	1795
AD-1136317.1	csusaaggCfuUfGfGfuuuuucuuac uL96	1078	asGfsuaaGfaaaaccaAfgCfcuuagsasu	1437	AUCUAAGGCUUGGUU UUCUUACU	1796
AD-1136318.1	usasaggcUfuGfGfUfuuuuucuuac uL96	1079	asAfsguaAfgaaaaccAfaGfccuuasgsa	1438	UCUAAGGCUUGGUUU UCUUACUG	1797

AD-1136319.1	gsgscuugGfuUfUfUfcuuacuguc uL96	1080	asGfsacdAg(Tgn)aagaaaAfcCfaagccsu su	1439	AAGGCUUGGUUUUCU UACUGUCA	1798
AD-1136320.1	gscsuuggUfuUfUfCfuacuguca uL96	1081	asUfsgadCa(G2p)uaagaaAfaCfcaagcsc su	1440	AGGCUUGGUUUUCUU ACUGUCAU	1799
AD-1136321.1	csusugguUfuUfCfUfuacugucau uL96	1082	asAfsugdAc(Agn)guaagaAfaAfccaagsc sc	1441	GGCUUGGUUUUCUUA CUGUCAUA	1800
AD-1136322.1	ususgguuUfuCfUfUfacugucaua uL96	1083	asUfsaudGa(C2p)aguaagAfaAfaccaasg sc	1442	GCUUGGUUUUCUUA UGUCAUUAU	1801
AD-1136323.1	usgsguuuUfcUfUfAfcugucauau uL96	1084	asAfsuadTg(Agn)caguaaGfaAfaaccasa sg	1443	CUUGGUUUUCUUA GUCAUAUG	1802
AD-1136324.1	gsgsuuuuUfuUfAfCfugucauau uL96	1085	asCfsauaUfgacaguaAfgAfaaaccsasa	1444	UUGGUUUUCUUA UCAUAUGA	1803
AD-1136325.1	ususuucuUfaCfUfGfucauaugau uL96	1086	asAfsucaUfaugacagUfaAfgaaaascsc	1445	GGUUUUCUUA AUAUGAUA	1804
AD-1136326.1	ususucuuAfcUfGfUfcuauaugau uL96	1087	asUfsaucAfuaugacaGfuAfagaaasasc	1446	GUUUUCUUA UAUGAUAC	1805
AD-1136327.1	uscsuuacUfgUfCfAfuaugauacc uL96	1088	asGfsgudAu(C2p)auaugaCfaGfuaagasa sa	1447	UUUCUUA UGAUACCU	1806
AD-1136328.1	csusuacuGfuCfAfUfaugauaccu uL96	1089	asAfsggUafucauauAfcAfguaagsasa	1448	UUCUUA GAUACCUG	1807
AD-1136329.1	uscsugcgGfuUfGfGfuaaagagaa uL96	1090	asUfsucdTc(Tgn)uuaccaAfcCfgcagasas a	1449	UUUCUGCGGUUGGUA AAGAGAAC	1808

AD- 1136330.1	usgsgugaUfuUfAfAfucccuacau uL96	1091	asAfsugdTa(G2p)ggauuaAfaUfcaccasu su	1450	AAUGGUGAUUUAAUC CCUACAUG	1809
AD- 1136331.1	gsgsugauUfuUfAfAfUfccuacaug uL96	1092	asCfsaugUfagggauuAfaAfucaccsas u	1451	AUGGUGAUUUAAUCC CUACAUGG	1810
AD- 1136332.1	usgsuauaAfaUfCfCfaaccuucug uL96	1093	asCfsagaAfgguuggaUfuUfauacasgsu u	1452	ACUGUAUAAAUCCAA CCUUCUGC	1811
AD- 1136333.1	gsusgcuuGfaUfGfUfcacuaauaa uL96	1094	asUfsuadTu(Agn)gugacaUfcAfagcacsc sa	1453	UGGUGCUUGAUGUCA CUAAUAAA	1812
AD- 1136334.1	usgscuugAfuGfUfCfacuaauaaa uL96	1095	asUfsuuaUfuagugacAfuCfaagcacsc u	1454	GGUGCUUGAUGUCAC UAAUAAAU	1813
AD- 1136335.1	gscsuugaUfgUfCfAfcuaauaaa uL96	1096	asAfsuuuAfuuagugaCfaUfcaagcsasc u	1455	GUGCUUGAUGUCACU AAUAAAUG	1814
AD- 1136336.1	asusgucaCfuAfAfUfaaaugaaacu L96	1097	asGfsuudTc(Agn)uuuuuAfgUfgacaus csa	1456	UGAUGUCACUAAUAA AUGAAACU	1815
AD- 1136337.1	usgsucacUfaAfUfAfaaugaaacu uL96	1098	asAfsugdTu(C2p)auuuauUfaGfugacasu sc	1457	GAUGUCACUAAUAAA UGAAACUG	1816
AD- 1136338.1	usasauaaAfuGfAfAfacugucagc uL96	1099	asGfscudGa(C2p)aguuucAfuUfuauuas gsu	1458	ACUAAUAAAUGAAAC UGUCAGCU	1817

Таблица 4. Скрининги однократной дозы дцРНК-средств против ксантиндегидрогеназы *in vitro* в первичных гепатоцитах человека

ID дуплекса	РНК					
	500 нМ		100 нМ		10 нМ	
	% средней оставшейся мРНК	STDEV	% средней оставшейся мРНК	STDEV	% средней оставшейся мРНК	STDEV
AD-1135979.1	78,6	8,5	81,4	6,5	68,6	25,5
AD-1135980.1	98,2	10,7	92,0	18,8	64,8	1,2
AD-1135981.1	79,5	14,5	92,4	19,2	60,7	9,1
AD-1135982.1	66,7	6,7	80,3	6,8	67,5	4,1
AD-1135983.1	68,7	9,7	75,0	3,5	62,8	6,8
AD-1135984.1	69,4	14,9	66,0	5,0	68,3	13,1
AD-1135985.1	59,8	10,9	69,5	26,8	69,2	9,4
AD-1135986.1	94,2	30,7	54,0	21,9	58,0	7,8
AD-1135987.1	29,0	5,3	47,3	10,4	44,4	7,8
AD-1135988.1	82,4	15,5	85,9	4,8	63,9	1,9
AD-1135989.1	36,6	8,6	58,0	10,7	52,9	3,2
AD-1135990.1	86,8	31,4	94,2	5,1	73,2	16,0
AD-1135991.1	36,0	6,7	45,8	9,5	54,3	9,2
AD-1135992.1	66,2	18,6	81,8	9,3	78,3	14,7
AD-1135993.1	68,7	16,2	56,9	17,0	62,7	7,4
AD-1135994.1	60,5	21,8	71,3	22,4	70,5	18,1
AD-1135995.1	51,2	5,0	76,5	6,1	54,8	6,4
AD-1135996.1	38,6	8,3	56,5	8,9	54,8	7,4
AD-1135997.1	63,7	13,1	78,9	6,3	67,4	7,1
AD-1135998.1	45,7	6,7	42,2	3,3	59,4	18,4
AD-1135999.1	39,8	6,5	61,4	10,2	67,1	14,9
AD-1136000.1	59,6	8,2	60,7	15,3	58,8	4,7
AD-1136001.1	29,4	7,6	42,2	11,7	47,3	3,1
AD-1136002.1	35,2	6,9	35,1	6,1	36,4	6,1
AD-1136003.1	59,4	9,1	55,3	8,4	51,2	7,4
AD-1136004.1	39,8	4,4	59,7	4,9	62,2	12,8
AD-1136005.1	74,9	7,7	97,7	35,8	81,3	11,8

AD-1136006.1	53,9	7,3	87,2	11,7	68,6	11,2
AD-1136007.1	34,0	7,7	55,2	5,3	55,5	2,9
AD-1136008.1	26,6	9,2	46,9	22,0	55,4	9,7
AD-1136009.1	41,9	11,4	69,5	25,5	65,4	10,1
AD-1136010.1	86,3	20,6	100,7	20,6	77,0	10,3
AD-1136011.1	84,9	11,0	91,8	14,5	63,6	6,0
AD-1136012.1	43,6	11,3	59,6	4,9	67,0	8,4
AD-1136013.1	74,1	8,8	96,5	30,1	68,6	13,1
AD-1136014.1	82,1	16,3	83,9	13,5	68,5	6,9
AD-1136015.1	47,4	6,1	78,1	3,4	67,1	10,2
AD-1136016.1	45,3	19,8	69,7	10,5	63,3	5,7
AD-1136017.1	41,3	5,8	77,8	14,2	59,2	4,0
AD-1136018.1	47,4	10,9	64,5	11,1	64,4	10,8
AD-1136019.1	85,6	9,7	97,4	9,3	67,8	2,9
AD-1136020.1	54,7	8,5	68,9	9,4	59,7	1,8
AD-1136021.1	40,9	16,6	60,7	5,1	71,3	24,0
AD-1136022.1	43,0	8,0	57,9	12,5	62,5	9,2
AD-1136023.1	46,1	20,5	71,9	8,1	60,6	4,8
AD-1136024.1	43,4	3,0	68,9	12,2	57,3	15,8
AD-1136025.1	61,1	9,2	74,0	6,2	69,6	13,1
AD-1136026.1	108,6	14,0	107,0	13,2	75,9	11,1
AD-1136027.1	120,4	32,7	104,1	23,0	77,3	11,7
AD-1136028.1	84,3	14,0	101,4	13,8	71,1	2,5
AD-1136029.1	120,4	32,1	94,0	7,1	86,3	17,7
AD-1136030.1	37,1	4,1	48,1	4,1	56,4	4,2
AD-1136031.1	55,4	26,1	75,1	14,6	69,7	16,4
AD-1136032.1	33,4	7,4	47,8	10,1	38,4	3,3
AD-1136033.1	57,6	20,1	77,1	7,3	60,6	4,2
AD-1136034.1	51,7	9,7	59,4	9,0	63,8	6,7
AD-1136035.1	58,2	10,8	89,8	10,8	64,4	3,0
AD-1136036.1	50,8	6,1	63,8	4,7	65,1	12,6
AD-1136037.1	41,8	7,7	50,4	3,1	64,3	17,4
AD-1136038.1	29,8	12,3	46,9	2,6	46,6	8,7
AD-1136039.1	28,7	11,8	37,0	5,6	64,7	29,0

AD-1136040.1	49,1	7,4	87,9	12,5	57,7	21,1
AD-1136041.1	66,6	18,3	99,9	8,1	78,2	14,9
AD-1136042.1	45,1	15,3	72,3	5,2	77,1	17,8
AD-1136043.1	37,3	21,7	53,9	6,4	60,2	9,1
AD-1136044.1	74,8	24,4	106,8	8,2	76,4	8,0
AD-1136045.1	43,6	10,2	92,3	15,6	69,8	12,7
AD-1136046.1	36,5	10,3	66,8	5,5	75,4	12,4
AD-1136047.1	40,5	10,3	71,0	9,0	67,4	19,4
AD-1136048.1	48,8	14,4	60,1	7,6	57,8	7,1
AD-1136049.1	82,5	19,0	91,0	17,0	63,6	6,6
AD-1136050.1	50,0	4,6	73,8	14,9	62,4	4,0
AD-1136051.1	28,7	1,3	44,3	7,6	47,7	8,2
AD-1136052.1	27,2	7,6	55,7	11,4	49,6	3,7
AD-1136053.1	33,6	22,8	49,1	7,9	54,4	4,7
AD-1136054.1	41,4	21,2	61,3	6,3	55,8	6,9
AD-1136055.1	58,3	16,1	78,4	6,8	63,1	9,9
AD-1136056.1	50,5	13,4	76,7	10,5	65,5	11,3
AD-1136057.1	47,0	13,0	70,4	15,6	55,4	2,8
AD-1136058.1	47,9	10,2	83,8	6,9	65,6	11,6
AD-1136059.1	76,2	14,1	95,4	17,7	67,3	11,0
AD-1136060.1	48,0	17,1	79,8	14,6	68,9	14,5
AD-1136061.1	28,0	5,2	53,9	10,6	53,8	13,6
AD-1136062.1	42,1	10,4	55,4	7,3	56,7	4,8
AD-1136063.1	90,1	40,7	79,3	2,8	62,9	11,6
AD-1136064.1	58,7	14,6	77,9	3,2	72,4	16,2
AD-1136065.1	78,2	16,0	83,8	11,7	62,9	6,1
AD-1136066.1	50,9	17,0	74,0	7,0	64,3	13,4
AD-1136067.1	60,6	11,1	78,6	5,1	60,6	7,6
AD-1136068.1	46,9	20,3	64,2	8,0	57,4	3,4
AD-1136069.1	33,5	10,4	34,8	10,9	54,5	4,7
AD-1136070.1	33,7	5,6	38,2	6,2	55,9	12,2
AD-1136071.1	43,7	7,9	47,8	5,6	82,7	10,9
AD-1136072.1	53,1	16,0	52,0	15,3	82,5	4,1
AD-1136073.1	37,8	9,0	38,5	9,0	56,7	11,1

AD-1136074.1	59,0	7,7	56,7	13,9	53,4	14,8
AD-1136075.1	25,9	5,2	36,6	6,8	32,5	10,8
AD-1136076.1	38,0	11,5	40,0	15,3	42,6	9,8
AD-1136077.1	33,2	4,7	39,2	10,9	70,9	15,7
AD-1136078.1	53,5	7,7	59,0	4,6	84,5	5,9
AD-1136079.1	52,0	18,0	63,3	13,1	91,1	12,3
AD-1136080.1	49,3	19,0	67,8	16,7	97,7	18,9
AD-1136081.1	29,0	5,4	40,0	13,8	63,7	12,3
AD-1136082.1	28,9	19,2	26,2	4,5	39,4	5,4
AD-1136083.1	17,6	1,9	18,7	2,7	24,6	2,9
AD-1136084.1	27,4	3,7	32,3	7,8	43,4	8,6
AD-1136085.1	35,0	8,9	41,8	18,1	83,9	20,0
AD-1136086.1	74,4	23,0	78,3	11,0	102,6	14,3
AD-1136087.1	67,6	29,6	33,7	7,6	81,8	16,9
AD-1136088.1	27,4	4,9	52,3	2,4	78,4	5,9
AD-1136089.1	37,2	18,0	33,6	1,7	61,0	15,7
AD-1136090.1	56,0	24,2	67,8	5,6	77,0	5,9
AD-1136091.1	23,2	4,3	32,6	13,8	44,2	7,7
AD-1136092.1	35,3	11,0	58,7	23,6	87,8	22,4
AD-1136093.1	44,8	11,5	43,7	14,0	81,5	18,1
AD-1136094.1	47,6	12,0	47,8	9,7	94,1	28,6
AD-1136095.1	69,2	14,9	69,7	8,4	96,6	11,1
AD-1136096.1	67,0	21,6	73,8	5,2	94,4	4,7
AD-1136097.1	84,8	9,5	76,0	8,6	93,5	15,0
AD-1136098.1	58,1	3,2	49,0	3,3	74,4	15,8
AD-1136099.1	63,7	17,1	72,7	21,6	112,8	14,8
AD-1136100.1	40,7	4,6	39,7	9,2	76,0	13,5
AD-1136101.1	49,5	11,9	39,8	3,4	67,2	2,7
AD-1136102.1	49,3	3,4	40,5	4,4	77,7	11,2
AD-1136103.1	44,7	6,8	49,9	4,6	82,0	11,3
AD-1136104.1	56,9	13,7	52,9	5,4	87,6	5,3
AD-1136105.1	69,7	29,4	60,4	10,7	79,9	9,4
AD-1136106.1	28,3	8,4	36,9	7,8	54,4	9,8
AD-1136107.1	35,4	8,3	61,2	18,1	84,4	3,2

AD-1136108.1	49,1	20,7	49,7	12,8	75,4	17,4
AD-1136109.1	65,0	17,5	63,6	10,2	95,5	10,9
AD-1136110.1	121,2	18,0	91,7	14,5	102,9	7,7
AD-1136111.1	85,6	9,1	80,8	17,2	96,8	12,5
AD-1136112.1	49,6	3,0	46,6	8,9	72,9	12,9
AD-1136114.1	45,2	9,2	37,7	18,3	71,0	4,6
AD-1136115.1	76,2	8,7	80,3	16,2	94,8	6,0
AD-1136116.1	108,7	15,0	105,2	23,4	119,1	31,1
AD-1136117.1	45,8	8,8	37,1	4,1	56,7	6,1
AD-1136118.1	51,8	12,1	43,7	10,2	64,7	8,0
AD-1136119.1	68,7	9,8	53,1	7,7	83,8	6,9
AD-1136120.1	54,9	7,9	45,6	5,9	80,8	20,4
AD-1136121.1	52,4	19,3	64,3	12,8	79,1	19,4
AD-1136122.1	103,8	15,0	91,1	13,4	113,7	22,7
AD-1136123.1	57,7	5,0	62,6	13,3	95,9	7,3
AD-1136124.1	69,7	5,7	74,6	5,3	96,5	21,5
AD-1136125.1	47,0	9,3	49,2	5,0	75,2	20,0
AD-1136126.1	58,9	1,7	57,8	13,0	84,7	9,7
AD-1136127.1	50,2	11,1	33,2	5,1	58,2	5,2
AD-1136128.1	111,8	17,4	81,9	3,7	104,2	25,1
AD-1136129.1	77,6	34,6	100,1	45,8	79,2	12,9
AD-1136130.1	51,5	2,4	62,2	9,0	98,9	17,0
AD-1136131.1	78,0	13,8	66,1	4,7	95,2	12,6
AD-1136132.1	73,5	9,3	68,8	3,1	104,0	12,2
AD-1136133.1	65,9	4,8	66,8	16,8	89,7	9,7
AD-1136134.1	72,8	13,6	57,5	4,6	84,9	5,0
AD-1136135.1	57,0	17,8	59,3	9,0	86,4	6,9
AD-1136136.1	49,1	25,8	58,5	4,6	63,5	7,5
AD-1136137.1	50,4	8,5	57,1	18,7	91,4	19,0
AD-1136138.1	83,8	21,2	72,2	13,5	92,9	7,0
AD-1136139.1	44,6	9,9	39,8	7,5	60,0	10,4
AD-1136140.1	75,1	8,6	64,3	2,4	89,1	11,8
AD-1136141.1	36,6	3,5	30,3	2,9	61,7	13,8
AD-1136142.1	38,7	11,0	38,3	7,1	63,9	4,8

AD-1136143.1	34,9	13,9	46,9	16,2	66,0	23,0
AD-1136144.1	39,1	6,9	50,6	2,9	75,2	16,3
AD-1136145.1	58,8	3,7	55,3	7,0	84,5	19,3
AD-1136146.1	69,4	4,6	67,7	12,3	93,8	12,6
AD-1136147.1	118,8	30,5	93,9	15,8	99,0	8,6
AD-1136148.1	65,9	17,7	62,0	4,9	82,9	3,2
AD-1136149.1	60,1	23,6	43,5	4,7	81,8	7,4
AD-1136150.1	30,2	6,2	43,5	12,6	86,1	10,5
AD-1136151.1	47,3	10,5	70,6	23,5	66,4	9,4
AD-1136152.1	56,8	25,0	63,5	18,1	70,5	25,6
AD-1136153.1	52,3	8,3	49,4	13,5	77,7	7,8
AD-1136154.1	47,3	17,6	49,5	5,8	85,6	20,7
AD-1136155.1	106,6	1,5	76,3	15,7	92,6	6,2
AD-1136156.1	36,6	9,6	50,8	32,7	65,3	8,2
AD-1136157.1	30,2	16,8	36,8	15,8	67,0	8,9
AD-1136158.1	54,9	10,5	68,4	15,9	78,3	18,4
AD-1136159.1	27,6	5,5	50,6	19,2	93,9	20,2
AD-1136160.1	31,7	5,8	53,7	16,2	121,0	34,1
AD-1136161.1	32,0	5,4	62,0	25,2	68,9	9,8
AD-1136162.1	27,5	4,8	46,0	10,9	98,4	37,9
AD-1136163.1	21,6	7,4	33,8	6,6	52,8	26,7
AD-1136164.1	47,9	25,0	64,4	13,8	81,3	9,8
AD-1136165.1	31,9	6,9	62,1	2,0	56,8	11,0
AD-1136166.1	20,5	3,9	35,5	6,5	52,0	26,5
AD-1136167.1	55,5	10,9	88,1	31,7	87,4	8,2
AD-1136168.1	53,0	3,7	64,5	18,7	91,7	31,7
AD-1136169.1	27,7	2,4	32,0	6,6	50,6	7,6
AD-1136170.1	28,0	2,5	39,1	16,3	61,7	6,3
AD-1136171.1	78,1	6,6	54,6	21,1	96,7	4,1
AD-1136172.1	43,7	9,8	58,0	19,0	82,1	7,5
AD-1136173.1	34,8	6,7	62,4	10,9	78,4	9,5
AD-1136174.1	29,3	6,9	59,8	15,4	61,3	22,5
AD-1136175.1	39,0	6,3	57,8	26,0	70,6	16,2
AD-1136176.1	71,2	7,3	64,8	22,4	107,7	18,8

AD-1136177.1	66,4	5,4	64,9	27,3	90,1	8,1
AD-1136178.1	47,5	8,5	61,3	17,3	87,4	8,7
AD-1136179.1	45,9	2,8	45,9	15,6	80,8	17,7
AD-1136180.1	56,6	18,0	59,3	7,1	66,9	5,1
AD-1136181.1	28,8	5,9	41,2	4,2	35,8	3,4
AD-1136182.1	66,9	34,9	82,1	28,4	129,7	48,8
AD-1136183.1	100,7	16,6	54,8	18,7	105,8	8,5
AD-1136184.1	72,6	9,2	51,5	8,0	113,2	16,5
AD-1136185.1	35,6	8,3	36,4	11,7	63,9	12,1
AD-1136186.1	40,0	14,4	35,5	13,1	49,2	8,6
AD-1136187.1	28,6	2,8	29,7	11,3	34,5	9,3
AD-1136188.1	42,9	6,3	53,5	11,6	74,4	49,5
AD-1136189.1	42,1	7,5	27,5	6,4	82,1	4,1
AD-1136190.1	52,0	21,2	51,7	20,4	102,1	6,2
AD-1136191.1	34,8	5,6	42,0	17,6	51,1	10,0
AD-1136192.1	53,3	7,0	47,9	12,6	62,1	3,1
AD-1136193.1	44,7	6,5	46,9	5,6	44,0	8,3
AD-1136194.1	41,4	5,9	58,6	17,5	60,4	16,8
AD-1136195.1	55,5	6,3	47,9	19,4	58,2	14,3
AD-1136196.1	37,3	4,0	45,8	11,9	47,8	11,2
AD-1136197.1	39,2	7,4	40,0	12,2	71,4	25,0
AD-1136198.1	68,5	16,0	78,5	25,7	91,1	11,8
AD-1136199.1	55,3	5,4	93,1	18,1	71,0	21,0
AD-1136200.1	70,6	4,0	89,1	9,9	75,5	23,2
AD-1136201.1	57,1	10,4	76,0	12,2	88,0	13,0
AD-1136202.1	69,9	15,3	68,6	6,4	53,2	11,9
AD-1136203.1	57,4	8,3	103,7	29,4	44,9	4,9
AD-1136204.1	38,2	7,2	55,3	8,9	104,7	41,6
AD-1136205.1	47,9	5,5	88,6	26,9	111,5	23,5
AD-1136206.1	81,7	13,0	109,4	16,9	107,2	13,7
AD-1136207.1	68,2	7,2	101,3	10,3	78,6	14,3
AD-1136208.1	71,8	4,9	102,4	18,6	76,5	33,1
AD-1136209.1	74,7	10,1	100,9	37,2	65,8	17,0
AD-1136210.1	56,3	2,9	73,5	19,8	57,7	10,7

AD-1136211.1	65,2	7,3	100,2	28,2	56,4	4,2
AD-1136212.1	68,0	9,0	80,4	27,1	95,4	30,6
AD-1136213.1	61,3	11,2	83,6	7,5	87,1	11,6
AD-1136214.1	42,3	7,1	64,9	10,9	67,7	12,0
AD-1136215.1	52,8	3,6	65,0	6,1	55,1	16,4
AD-1136216.1	69,3	8,4	97,1	12,4	77,4	15,7
AD-1136217.1	53,8	6,9	87,4	22,9	81,9	20,1
AD-1136218.1	54,8	7,2	71,0	21,4	66,1	9,4
AD-1136219.1	46,9	10,2	67,7	26,7	44,6	4,5
AD-1136220.1	53,5	18,0	53,3	17,1	71,6	48,4
AD-1136221.1	33,1	2,5	61,5	2,1	82,6	28,7
AD-1136222.1	79,1	6,2	88,6	8,3	65,8	16,5
AD-1136223.1	47,6	1,8	68,0	6,1	58,6	12,7
AD-1136224.1	40,2	4,4	63,3	7,5	50,3	16,6
AD-1136225.1	29,8	4,6	53,7	10,7	61,3	44,7
AD-1136226.1	46,1	5,2	68,0	23,6	63,3	23,9
AD-1136227.1	40,9	3,9	63,0	10,2	73,8	19,3
AD-1136228.1	51,9	4,9	96,7	7,6	87,7	22,9
AD-1136229.1	44,5	4,0	74,2	3,7	72,2	22,1
AD-1136230.1	47,2	10,2	59,5	3,9	61,6	14,2
AD-1136231.1	41,2	4,9	61,0	13,5	59,6	20,1
AD-1136232.1	38,2	3,0	54,9	10,1	47,9	7,5
AD-1136233.1	37,2	3,9	63,7	12,1	52,9	12,6
AD-1136234.1	41,4	6,6	48,2	6,9	81,9	30,6
AD-1136235.1	87,4	19,0	80,6	22,0	119,7	40,0
AD-1136236.1	64,4	12,3	81,2	7,2	85,9	35,2
AD-1136237.1	80,5	4,3	125,8	18,4	97,4	21,2
AD-1136238.1	72,1	9,4	85,2	13,8	136,5	56,4
AD-1136239.1	63,0	18,5	96,0	28,1	103,5	37,2
AD-1136240.1	45,1	5,4	70,7	10,4	54,5	15,1
AD-1136241.1	56,8	3,7	72,3	32,0	56,3	14,8
AD-1136242.1	40,6	11,9	63,1	28,3	88,7	39,4
AD-1136243.1	30,8	4,4	51,7	10,8	65,4	29,0
AD-1136244.1	63,3	2,2	90,1	36,7	95,2	36,8

AD-1136245.1	94,6	13,8	91,9	26,1	116,1	27,6
AD-1136246.1	70,0	3,9	76,0	20,1	73,2	13,3
AD-1136247.1	45,3	7,2	46,7	16,3	70,7	51,5
AD-1136248.1	63,1	4,0	73,3	19,8	57,4	23,2
AD-1136249.1	59,2	14,4	59,4	6,1	81,5	11,1
AD-1136250.1	64,4	13,2	67,4	9,5	95,8	4,8
AD-1136251.1	87,5	17,7	63,5	11,6	97,1	17,0
AD-1136252.1	60,1	7,2	63,5	7,9	88,6	27,3
AD-1136253.1	75,8	10,0	84,2	13,3	95,7	37,6
AD-1136254.1	64,6	11,0	59,6	7,9	91,7	9,5
AD-1136255.1	56,8	7,8	70,0	22,1	97,7	19,5
AD-1136256.1	24,7	2,9	38,0	4,3	88,3	24,6
AD-1136257.1	54,9	10,8	46,2	6,8	68,8	7,2
AD-1136258.1	71,1	4,1	64,2	8,4	95,1	11,8
AD-1136259.1	85,2	13,4	69,2	3,5	106,0	23,0
AD-1136260.1	59,0	9,7	60,9	7,5	95,2	21,8
AD-1136261.1	70,1	19,7	63,3	1,9	122,1	31,3
AD-1136262.1	68,1	9,8	67,6	4,5	105,6	11,9
AD-1136263.1	39,0	9,5	46,6	8,0	97,1	20,0
AD-1136264.1	26,3	2,8	37,6	9,3	72,9	19,0
AD-1136265.1	53,2	6,5	50,2	7,8	77,0	8,4
AD-1136266.1	79,7	14,9	65,4	9,1	99,3	7,4
AD-1136267.1	100,0	13,4	81,8	4,3	98,6	9,9
AD-1136268.1	54,4	4,0	55,7	7,5	91,8	23,7
AD-1136269.1	32,0	8,1	40,6	8,0	90,8	20,1
AD-1136270.1	37,5	10,0	50,7	16,5	81,7	19,1
AD-1136271.1	32,3	8,5	42,5	8,3	60,6	11,8
AD-1136272.1	57,7	6,4	67,2	9,9	78,6	6,4
AD-1136273.1	87,8	21,5	95,4	16,5	103,5	17,7
AD-1136274.1	80,1	9,4	69,6	7,3	119,3	16,5
AD-1136275.1	71,4	12,2	76,8	14,1	139,8	50,5
AD-1136276.1	61,3	18,8	63,9	11,2	91,0	15,3
AD-1136277.1	41,7	2,0	43,6	10,3	92,3	11,5
AD-1136278.1	30,2	5,0	45,4	5,2	77,8	6,3

AD-1136279.1	52,3	0,2	49,2	9,6	80,5	12,8
AD-1136280.1	65,8	6,6	62,5	5,6	90,5	16,8
AD-1136281.1	70,3	4,6	68,3	3,8	124,4	52,7
AD-1136282.1	64,0	9,5	55,3	5,9	94,2	2,1
AD-1136283.1	58,9	14,2	62,4	6,3	103,8	7,2
AD-1136284.1	53,3	7,0	79,0	14,2	148,3	31,4
AD-1136285.1	48,7	4,5	53,6	7,0	93,2	15,7
AD-1136286.1	29,4	1,9	50,9	11,8	58,6	6,9
AD-1136287.1	57,6	14,7	52,6	6,2	63,6	9,9
AD-1136288.1	96,4	35,9	74,5	7,6	98,4	13,6
AD-1136289.1	66,2	10,5	69,8	12,1	110,1	12,8
AD-1136290.1	59,7	19,2	54,8	3,9	108,6	10,5
AD-1136291.1	57,5	11,2	56,6	8,5	85,8	5,4
AD-1136292.1	57,3	6,2	59,8	6,7	109,5	9,9
AD-1136293.1	66,8	6,3	55,7	7,6	90,5	24,6
AD-1136294.1	86,8	11,5	68,2	4,1	103,1	15,7
AD-1136295.1	83,1	6,9	84,9	6,3	103,9	18,6
AD-1136296.1	90,8	8,5	67,7	5,9	124,8	20,9
AD-1136297.1	86,0	13,8	91,8	16,6	132,2	29,3
AD-1136298.1	116,6	18,2	73,3	8,6	140,8	57,1
AD-1136299.1	84,6	12,3	70,7	14,7	100,7	27,4
AD-1136300.1	78,1	12,2	73,0	17,7	111,8	27,6
AD-1136301.1	58,9	3,1	64,4	7,4	76,3	6,0
AD-1136302.1	72,2	12,6	76,2	16,9	111,1	24,3
AD-1136303.1	91,1	11,6	99,4	17,6	130,4	26,5
AD-1136304.1	113,3	17,8	90,2	16,8	129,1	22,4
AD-1136305.1	129,1	31,2	98,9	7,3	132,2	19,6
AD-1136306.1	114,5	12,4	91,2	5,5	115,6	8,2
AD-1136307.1	102,8	22,0	91,1	9,2	132,4	22,8
AD-1136308.1	53,3	7,5	55,0	7,1	65,8	12,9
AD-1136309.1	31,8	3,9	51,1	4,8	55,0	13,3
AD-1136310.1	77,5	10,6	55,6	8,8	79,3	14,8
AD-1136311.1	79,4	13,0	73,2	4,2	95,4	19,9
AD-1136312.1	93,1	9,0	75,6	15,4	102,9	20,8

AD-1136313.1	63,2	5,1	53,8	4,0	103,8	33,1
AD-1136314.1	62,9	7,5	54,4	7,4	67,1	13,3
AD-1136315.1	60,1	7,5	59,3	10,2	90,7	46,5
AD-1136316.1	39,6	8,1	56,6	9,3	81,4	8,6
AD-1136317.1	77,6	28,1	55,9	9,6	61,6	10,0
AD-1136318.1	73,8	12,7	58,3	4,1	98,9	37,1
AD-1136319.1	76,7	7,6	61,5	2,8	112,7	15,4
AD-1136320.1	80,1	23,9	61,2	6,0	109,4	18,5
AD-1136321.1	56,6	3,5	45,1	10,5	72,2	8,3
AD-1136322.1	63,0	11,0	44,2	11,9	71,4	9,7
AD-1136323.1	55,4	6,9	58,5	9,1	82,9	33,3
AD-1136324.1	53,8	12,8	55,5	17,5	59,5	18,1
AD-1136325.1	71,9	2,9	70,4	9,6	70,8	14,0
AD-1136326.1	64,3	5,6	59,0	11,8	63,3	18,4
AD-1136327.1	124,1	12,1	78,0	8,7	82,4	18,6
AD-1136328.1	68,2	15,9	57,0	7,0	74,3	2,4
AD-1136329.1	63,1	1,4	42,8	4,8	65,1	17,1
AD-1136330.1	81,2	11,6	58,3	15,0	59,9	8,6
AD-1136331.1	67,7	12,3	56,1	17,5	48,3	2,3
AD-1136332.1	77,2	11,5	61,1	8,7	60,2	43,9
AD-1136333.1	67,6	8,3	46,4	9,6	63,5	13,5
AD-1136334.1	54,7	4,7	47,0	6,7	49,5	19,6
AD-1136335.1	70,7	23,3	55,9	7,3	72,2	6,0
AD-1136336.1	61,4	16,0	47,3	9,7	48,6	3,0
AD-1136337.1	68,7	11,8	58,5	16,7	57,7	8,7
AD-1136338.1	78,3	18,3	57,4	13,1	64,1	15,3

Таблица 5. Скрининги однократной дозы диРНК-средств против ксантиндегидрогеназы *in vitro* в первичных гепатоцитах яванского макака

ID Дуплекса	PCN							
	500 нМ		100 нМ		10 нМ		0,1 нМ	
	% средней оставшейся мРНК	STD EV	% средней оставше	STDE V	% средней оставше	STDE V	% средней оставшей ся мРНК	STDE V

			йся мРНК		йся мРНК			
AD-1135979.1	138,0	20,2	110,0	11,0	94,0	82,2	113,3	10,0
AD-1135980.1	60,3	11,1	124,1	15,0	152,1	57,1	124,6	23,3
AD-1135981.1	115,1	33,6	112,6	19,9	173,7	5,1	132,5	6,6
AD-1135982.1	100,6	20,8	140,8	25,5	119,8	74,8	146,2	17,9
AD-1135983.1	103,9	29,8	138,0	20,5	181,2	36,9	116,5	27,6
AD-1135984.1	104,4	31,9	138,2	33,1	93,9	74,7	105,6	4,1
AD-1135985.1	72,3	0,4	149,0	11,5	131,7	32,2	92,2	9,0
AD-1135986.1	101,6	34,7	122,8	34,9	160,1	42,9	107,8	2,1
AD-1135987.1	77,8	7,0	99,5	37,7	102,4	24,9	96,8	1,4
AD-1135988.1	107,4	22,1	141,2	40,1	118,1	22,1	103,6	7,9
AD-1135989.1	76,6	28,0	154,9	44,7	134,2	15,6	117,2	30,5
AD-1135990.1	110,7	26,7	115,4	32,1	172,5	27,7	118,0	18,5
AD-1135991.1	89,0	18,5	117,4	40,9	118,0	37,5	109,0	28,3
AD-1135992.1	82,2	22,3	132,5	15,0	131,4	17,8	113,9	8,5
AD-1135993.1	84,9	17,3	137,0	22,9	107,0	18,4	112,8	6,2
AD-1135994.1	94,1	3,2	101,9	23,4	124,7	25,3	109,1	24,7

AD-1135995.1	93,4	21,3	111,5	28,2	120,0	14,0	87,7	12,5
AD-1135996.1	85,0	6,0	157,7	64,6	142,4	17,5	134,1	30,0
AD-1135997.1	67,4	6,9	117,1	35,1	128,1	33,4	125,0	20,4
AD-1135998.1	77,2	11,3	131,9	62,5	99,5	27,0	111,0	19,9
AD-1135999.1	75,6	11,2	94,3	4,3	102,1	20,1	103,1	23,0
AD-1136000.1	82,0	11,1	125,5	37,5	106,1	13,5	118,5	14,2
AD-1136001.1	59,7	5,8	103,7	32,6	94,7	38,1	110,8	2,2
AD-1136002.1	60,2	4,1	92,6	20,9	127,4	14,7	96,5	14,6
AD-1136003.1	66,1	8,7	102,6	31,8	116,8	15,5	124,7	18,1
AD-1136004.1	77,0	18,8	85,8	32,3	134,9	22,7	140,4	22,5
AD-1136005.1	88,5	10,2	86,9	41,1	113,1	28,5	101,3	29,5
AD-1136006.1	83,2	2,1	99,4	40,8	89,2	11,1	95,8	7,1
AD-1136007.1	56,8	16,1	116,8	44,8	121,3	23,8	103,6	13,2
AD-1136008.1	79,6	17,1	93,4	27,4	155,3	32,6	81,5	25,5
AD-1136009.1	65,8	4,8	95,4	34,1	156,8	25,5	101,6	15,2
AD-1136010.1	87,1	18,6	81,0	24,9	94,1	34,9	109,8	12,7
AD-1136011.1	82,3	5,7	93,9	40,1	94,0	19,6	130,1	19,9

AD-1136012.1	71,5	14,2	114,2	12,5	116,8	38,3	124,7	9,9
AD-1136013.1	68,9	8,8	129,5	46,1	91,6	6,2	119,2	9,8
AD-1136014.1	73,4	10,5	68,6	10,6	106,6	56,2	104,1	7,0
AD-1136015.1	71,8	4,9	90,5	16,0	98,2	41,2	101,7	16,1
AD-1136016.1	78,6	5,7	82,7	10,9	130,1	140,2	120,4	4,7
AD-1136017.1	59,2	6,3	83,5	24,7	82,3	56,2	81,9	1,2
AD-1136018.1	57,7	12,0	64,2	19,9	105,4	11,3	98,8	22,8
AD-1136019.1	67,2	10,5	93,1	25,7	102,7	15,4	107,9	10,1
AD-1136020.1	75,4	19,4	87,3	38,5	101,6	22,5	126,2	13,2
AD-1136021.1	61,3	3,6	65,8	6,1	77,1	14,4	113,4	17,8
AD-1136022.1	59,2	22,6	75,0	13,3	116,4	48,4	107,3	17,4
AD-1136023.1	71,9	21,4	76,1	14,2	100,8	38,3	91,6	16,3
AD-1136024.1	82,1	8,1	81,4	35,1	116,6	5,3	83,7	4,5
AD-1136025.1	75,8	30,1	107,4	32,7	115,5	5,3	87,4	15,6
AD-1136026.1	69,2	11,6	127,8	46,6	97,5	24,8	95,5	18,1
AD-1136027.1	86,9	8,3	118,5	19,4	124,4	28,7	116,4	24,3
AD-1136028.1	84,2	30,1	139,7	31,6	95,7	7,5	125,4	18,6

AD-1136029.1	75,1	8,4	82,5	19,0	74,3	8,3	93,3	12,2
AD-1136030.1	44,5	5,6	84,2	33,7	120,3	51,2	99,0	14,8
AD-1136031.1	66,2	9,8	96,0	46,4	117,0	67,0	80,8	16,5
AD-1136032.1	62,1	16,0	65,9	13,8	91,3	60,9	82,6	11,3
AD-1136033.1	61,5	7,8	83,1	16,5	123,6	23,4	102,5	17,5
AD-1136034.1	54,3	16,6	80,6	13,2	101,9	7,7	105,9	6,3
AD-1136035.1	78,6	19,3	93,1	20,7	112,6	15,2	117,2	4,8
AD-1136036.1	79,4	5,2	77,1	19,8	159,8	86,1	105,2	23,1
AD-1136037.1	59,5	16,2	89,9	32,7	71,5	11,2	100,6	3,3
AD-1136038.1	56,9	11,1	68,5	10,1	98,6	41,5	95,9	15,9
AD-1136039.1	49,4	7,2	61,8	25,1	153,5	77,6	74,7	13,8
AD-1136040.1	52,1	13,1	84,6	35,1	155,3	9,7	72,5	7,5
AD-1136041.1	71,9	17,8	75,0	29,6	89,4	10,9	91,1	9,1
AD-1136042.1	85,2	25,0	76,0	6,6	120,5	23,3	113,6	14,8
AD-1136043.1	89,3	21,7	89,1	45,3	110,0	4,8	92,9	23,7
AD-1136044.1	81,6	16,4	66,5	15,2	101,0	38,9	92,7	23,4
AD-1136045.1	68,2	3,6	75,1	13,4	84,4	22,8	92,8	12,6

AD-1136046.1	75,8	7,4	90,3	25,3	71,8	12,2	71,5	3,7
AD-1136047.1	94,8	5,1	98,7	40,9	134,8	25,3	70,6	2,4
AD-1136048.1	78,6	18,3	84,4	22,1	92,4	15,9	71,7	4,1
AD-1136049.1	91,4	32,0	84,3	19,5	111,3	17,6	113,8	13,0
AD-1136050.1	64,1	15,1	89,4	27,9	101,3	45,3	97,5	23,8
AD-1136051.1	44,3	7,4	67,5	28,3	86,1	18,7	107,4	25,9
AD-1136052.1	62,3	17,5	69,8	32,2	86,2	19,2	77,4	21,0
AD-1136053.1	57,0	5,6	77,8	20,7	131,4	35,3	68,9	22,1
AD-1136054.1	59,2	17,7	75,6	21,8	97,2	26,8	80,9	6,7
AD-1136055.1	74,7	13,5	94,8	20,5	74,2	19,1	88,6	11,4
AD-1136056.1	70,8	19,5	85,1	20,8	117,7	26,0	92,1	4,1
AD-1136057.1	78,2	3,3	125,3	24,0	127,3	31,9	93,4	12,6
AD-1136058.1	73,7	15,3	64,5	13,5	113,2	21,3	81,7	23,1
AD-1136059.1	84,5	9,5	90,3	28,2	118,2	61,6	81,6	15,8
AD-1136060.1	72,5	14,4	70,5	22,8	80,7	13,0	65,1	14,1
AD-1136061.1	60,8	20,7	84,8	15,8	99,7	27,0	54,9	1,6
AD-1136062.1	96,7	25,3	60,3	2,9	75,1	18,2	56,1	29,9

AD-1136063.1	87,6	7,4	63,4	14,6	72,7	15,4	69,6	9,6
AD-1136064.1	77,7	11,2	91,6	7,0	152,9	110,5	99,5	32,0
AD-1136065.1	64,0	13,4	80,7	20,6	81,6	22,8	72,8	5,9
AD-1136066.1	45,0	9,3	93,1	22,7	91,3	24,0	74,5	11,0
AD-1136067.1	82,1	15,8	71,3	9,4	111,2	40,5	65,7	7,6
AD-1136068.1	59,5	7,1	65,8	7,8	46,3	3,4	59,5	9,9
AD-1136069.1	70,5	11,2	110,1	34,4	93,5	9,2	116,6	15,6
AD-1136070.1	72,7	14,9	97,8	10,1	123,2	9,0	119,7	19,3
AD-1136071.1	89,3	29,7	147,2	32,6	116,4	9,6	120,2	22,4
AD-1136072.1	95,5	10,2	119,5	39,2	126,8	29,4	122,5	5,6
AD-1136073.1	87,5	9,9	109,6	20,4	129,3	13,0	129,0	17,8
AD-1136074.1	79,1	16,2	120,6	3,2	109,1	10,5	130,8	13,1
AD-1136075.1	82,2	18,7	96,5	22,5	105,9	9,6	126,9	18,4
AD-1136076.1	91,2	18,0	85,6	27,6	85,6	12,4	110,3	23,2
AD-1136077.1	74,5	16,0	99,0	10,9	104,5	14,7	104,4	13,8
AD-1136078.1	100,1	9,6	130,6	11,9	113,5	15,7	135,4	21,0
AD-1136079.1	101,0	14,8	143,2	10,1	127,3	15,3	140,5	24,4

AD- 1136080.1	96,1	19,2	146,9	13,4	135,5	16,3	117,8	19,4
AD- 1136081.1	83,7	28,2	82,3	18,0	115,2	19,9	106,3	10,7
AD- 1136082.1	72,0	11,5	97,0	19,0	94,7	23,0	101,9	10,1
AD- 1136083.1	69,3	10,0	115,8	28,1	101,8	10,0	113,2	9,7
AD- 1136084.1	81,1	10,4	94,1	15,0	85,7	4,8	120,1	29,3
AD- 1136085.1	85,9	15,2	118,5	28,7	96,3	12,8	107,9	6,7
AD- 1136086.1	83,1	19,4	129,9	14,1	141,3	1,7	119,5	25,6
AD- 1136087.1	100,3	8,6	137,9	31,5	118,5	23,2	105,9	21,7
AD- 1136088.1	97,3	20,8	140,1	6,0	113,2	25,0	95,9	7,5
AD- 1136089.1	98,5	16,6	121,8	27,9	101,3	13,0	94,3	31,5
AD- 1136090.1	106,2	20,8	140,4	15,5	101,2	11,2	99,1	9,0
AD- 1136091.1	73,4	7,7	96,1	17,9	91,4	11,8	107,2	18,0
AD- 1136092.1	72,0	15,5	107,6	7,0	94,3	10,6	100,8	19,5
AD- 1136093.1	85,7	19,5	105,7	25,1	126,6	14,6	122,6	27,1
AD- 1136094.1	82,4	14,4	141,4	17,8	128,2	4,1	143,9	43,9
AD- 1136095.1	85,0	16,7	112,5	26,9	118,6	13,7	97,8	25,1
AD- 1136096.1	104,5	14,0	119,3	28,0	113,7	15,1	111,6	8,6

AD- 1136097.1	94,4	18,7	121,0	28,7	99,6	22,6	81,0	7,2
AD- 1136098.1	66,1	19,4	100,5	41,4	79,1	15,3	70,6	7,3
AD- 1136099.1	68,3	4,4	88,1	9,5	111,4	7,6	105,9	10,8
AD- 1136100.1	64,9	19,9	99,2	3,7	112,4	17,2	123,6	20,1
AD- 1136101.1	67,7	12,8	107,3	26,3	121,3	16,0	117,7	18,2
AD- 1136102.1	86,3	24,3	132,6	11,5	138,2	14,7	144,2	15,2
AD- 1136103.1	81,7	18,6	121,1	32,7	100,0	19,9	124,6	27,2
AD- 1136104.1	69,6	6,9	101,7	5,5	106,3	12,3	99,0	14,6
AD- 1136105.1	83,9	26,6	96,0	28,4	88,3	6,1	95,9	16,0
AD- 1136106.1	74,4	18,2	121,1	39,6	73,2	10,2	97,2	13,7
AD- 1136107.1	69,3	9,2	102,7	12,1	78,9	11,3	74,4	3,5
AD- 1136108.1	69,5	9,8	105,9	9,3	96,8	19,0	111,2	8,6
AD- 1136109.1	72,8	11,1	111,8	12,9	114,2	8,7	122,4	20,9
AD- 1136110.1	100,8	9,3	128,7	27,3	125,8	17,6	124,7	17,2
AD- 1136111.1	94,8	10,0	95,0	18,0	104,9	15,7	100,7	15,9
AD- 1136112.1	82,1	10,6	113,0	19,4	84,3	17,3	114,3	18,2
AD- 1136114.1	56,6	8,9	101,7	21,4	90,1	5,0	98,0	36,5

AD-1136115.1	72,9	15,9	121,0	29,4	116,4	21,1	95,7	12,5
AD-1136116.1	82,9	5,1	110,2	7,2	100,3	8,4	88,8	11,4
AD-1136117.1	63,2	26,4	97,7	4,8	119,2	27,4	90,4	13,0
AD-1136118.1	61,6	4,3	95,5	25,6	84,9	10,6	86,1	11,7
AD-1136119.1	82,1	15,1	116,6	5,7	93,1	17,2	95,9	8,6
AD-1136120.1	74,9	9,7	93,3	18,1	77,3	10,4	92,8	11,7
AD-1136121.1	83,0	20,0	69,1	21,8	65,5	6,7	73,5	8,7
AD-1136122.1	68,4	10,0	90,0	11,9	97,5	12,8	90,8	8,0
AD-1136123.1	76,3	14,8	109,2	6,3	108,2	19,9	85,4	25,2
AD-1136124.1	76,1	9,4	97,8	18,2	98,9	14,5	96,9	16,9
AD-1136125.1	77,7	21,2	100,9	17,9	115,5	27,9	109,8	18,2
AD-1136126.1	91,7	16,1	92,7	13,9	104,3	27,1	101,7	11,3
AD-1136127.1	58,6	8,7	82,4	24,5	88,4	17,5	83,0	11,3
AD-1136128.1	76,2	22,3	99,3	18,3	92,0	9,4	81,3	13,0
AD-1136129.1	68,2	14,1	68,7	22,7	71,5	17,4	66,4	15,3
AD-1136130.1	80,8	13,1	97,9	6,2	97,0	11,2	76,9	7,8
AD-1136131.1	76,6	19,3	113,4	2,7	103,2	26,0	89,0	8,9

AD-1136132.1	78,2	9,9	123,5	16,4	132,2	21,3	110,4	19,0
AD-1136133.1	84,8	19,3	87,9	18,4	108,8	23,8	101,2	7,4
AD-1136134.1	79,4	5,0	94,6	5,1	96,5	15,0	110,6	21,3
AD-1136135.1	87,2	14,7	75,4	25,0	90,2	11,1	79,6	25,2
AD-1136136.1	65,1	6,8	55,1	31,4	69,7	12,2	63,4	15,5
AD-1136137.1	83,6	9,9	107,0	0,5	102,7	17,4	96,2	6,1
AD-1136138.1	59,1	7,9	116,3	22,9	92,4	6,3	110,3	12,6
AD-1136139.1	80,1	7,5	102,2	15,4	123,0	15,0	113,0	26,8
AD-1136140.1	77,9	15,8	73,4	17,7	107,6	12,2	103,5	24,3
AD-1136141.1	63,5	7,4	73,2	15,7	78,5	10,8	96,1	16,1
AD-1136142.1	72,4	15,8	63,2	11,8	76,8	14,6	73,9	22,0
AD-1136143.1	69,1	6,8	63,6	11,9	68,0	17,8	64,6	9,4
AD-1136144.1	80,1	8,4	75,1	10,5	99,9	19,3	83,1	4,2
AD-1136145.1	83,3	5,0	97,0	21,2	96,8	9,8	97,4	19,6
AD-1136146.1	94,1	16,7	104,8	32,0	95,2	23,4	97,1	15,9
AD-1136147.1	97,9	8,6	112,2	15,3	114,9	7,5	100,2	10,3
AD-1136148.1	86,8	11,6	72,8	24,6	95,8	12,9	100,1	20,1

AD-1136149.1	81,9	12,9	85,2	10,2	90,9	17,0	97,5	34,3
AD-1136150.1	71,1	5,3	80,7	16,4	87,1	12,8	94,7	34,4
AD-1136151.1	89,7	19,7	63,0	38,6	67,7	3,9	62,1	22,2
AD-1136152.1	84,8	17,6	93,9	21,0	105,4	14,2	67,3	8,3
AD-1136153.1	80,9	9,8	105,6	2,5	101,6	8,9	87,8	12,2
AD-1136154.1	86,4	7,8	83,5	15,1	103,4	9,4	97,1	10,3
AD-1136155.1	90,9	23,6	112,1	16,9	109,5	7,9	88,2	6,4
AD-1136156.1	69,2	12,9	82,9	26,6	93,4	9,8	88,3	12,9
AD-1136157.1	76,5	9,5	75,5	16,4	96,3	12,5	82,6	10,7
AD-1136158.1	78,1	10,3	85,5	6,5	88,7	7,4	71,2	9,2
AD-1136159.1	43,3	40,2	121,4	41,6	109,5	11,3	143,7	73,3
AD-1136160.1	95,8	25,4	118,1	53,7	115,4	13,3	130,2	33,1
AD-1136161.1	156,0	58,2	158,0	40,7	114,7	14,2	132,5	23,9
AD-1136162.1	69,3	23,9	120,9	33,9	119,8	12,2	160,5	24,0
AD-1136163.1	74,1	4,3	94,9	15,8	101,1	19,6	107,3	18,3
AD-1136164.1	102,0	13,5	162,8	81,5	97,7	33,3	128,5	10,1
AD-1136165.1	78,9	28,8	144,5	32,9	92,1	21,7	134,9	48,1

AD- 1136166.1	75,5	34,6	129,8	26,6	75,9		136,2	54,8
AD- 1136167.1	168,2	35,6	110,6	17,3	98,8	47,9	77,2	42,5
AD- 1136168.1	107,5	25,5	98,5	14,6	132,1	8,3	124,0	24,5
AD- 1136169.1	77,7	14,0	93,4	13,3	87,9	24,6	99,9	8,8
AD- 1136170.1	87,2	23,0	113,2	28,8	115,9	4,3	145,8	19,7
AD- 1136171.1	88,8	28,1	141,1	2,8	125,2	33,6	140,4	6,1
AD- 1136172.1	101,1	18,3	106,3	21,5	106,1	29,3	135,0	23,7
AD- 1136173.1	89,1	26,0	105,4	20,8	96,5	17,9	88,9	10,9
AD- 1136174.1	98,9	17,1	56,1	33,7	94,9	17,2	122,7	64,3
AD- 1136175.1	119,8	18,5	130,4	31,7	73,5	23,3	129,4	10,1
AD- 1136176.1	95,1	17,7	132,3	10,0	128,0	17,0	125,7	17,9
AD- 1136177.1	111,2	12,0	129,7	18,6	130,1	30,2	109,7	6,2
AD- 1136178.1	81,9	12,8	111,7	15,8	120,8	18,5	124,3	49,9
AD- 1136179.1	103,0	13,1	123,6	10,8	129,2	12,7	94,3	10,2
AD- 1136180.1	94,1	14,4	119,8	20,6	109,1	8,7	104,5	5,6
AD- 1136181.1	80,4	8,6	61,1	4,8	103,7	32,6	98,9	20,2
AD- 1136182.1	146,5	24,7	113,3	14,7	124,3	60,8	117,5	3,7

AD-1136183.1	81,8	16,0	114,8	23,7	130,1	19,2	129,3	19,0
AD-1136184.1	100,5	10,5	140,0	26,6	119,3	27,8	109,2	18,4
AD-1136185.1	86,3	13,5	113,6	20,7	137,7	7,9	129,4	27,5
AD-1136186.1	68,2	10,7	114,0	3,0	130,5	24,9	104,8	11,0
AD-1136187.1	85,9	20,0	97,3	17,9	103,1	18,0	91,6	4,3
AD-1136188.1	87,2	6,2	126,8	6,8	103,7	17,8	95,3	25,2
AD-1136189.1	87,1	34,4	138,2	21,0	126,3	18,3	122,3	27,9
AD-1136190.1	116,7	40,3	121,6	10,3	134,5	15,8	163,3	48,0
AD-1136191.1	105,2	15,4	130,1	34,0	124,4	16,8	121,0	27,5
AD-1136192.1	97,3	17,1	151,8	11,8	131,1	30,0	145,5	16,0
AD-1136193.1	93,6	21,5	110,8	20,2	130,3	34,5	116,7	25,5
AD-1136194.1	91,0	17,6	125,2	22,1	126,9	7,4	103,6	23,3
AD-1136195.1	109,6	21,9	92,9	19,4	108,0	13,5	81,9	12,5
AD-1136196.1	85,2	33,9	85,2	27,3	104,2	20,9	100,2	10,9
AD-1136197.1	104,7	12,5	86,5	17,1	127,6	39,6	132,2	40,1
AD-1136198.1	122,2	24,1	103,0	19,9	138,2	18,1	124,0	34,7
AD-1136199.1	76,7	17,3	95,9	7,4	116,7	12,3	111,4	12,1

AD-1136200.1	91,6	16,2	123,1	25,2	126,9	32,2	104,0	36,0
AD-1136201.1	73,6	15,4	99,6	26,1	83,8	11,3	71,5	19,1
AD-1136202.1	72,7	8,6	95,9	24,1	114,6	28,7	87,1	17,2
AD-1136203.1	69,9	11,0	74,6	18,4	126,8	20,6	85,4	20,3
AD-1136204.1	99,9	53,1	89,2	16,7	137,2	4,5	138,9	4,8
AD-1136205.1	73,4	17,8	107,7	17,5	144,7	21,8	136,0	38,7
AD-1136206.1	87,3	18,9	120,5	11,0	107,3	20,5	115,5	40,3
AD-1136207.1	85,5	21,6	112,6	26,2	81,9	28,3	74,5	4,6
AD-1136208.1	83,6	5,3	115,1	15,6	79,9	26,1	80,1	7,7
AD-1136209.1	74,1	16,9	83,9	7,0	101,2	33,8	68,2	18,6
AD-1136210.1	79,2	15,2	92,9	17,0	92,2	25,5	80,1	12,7
AD-1136211.1	77,9	18,3	75,0	8,5	110,5	6,5	80,6	6,9
AD-1136212.1	76,2	41,5	109,6	24,4	118,0	16,6	139,1	3,9
AD-1136213.1	95,4	20,3	92,9	11,9	123,4	16,0	109,1	16,9
AD-1136214.1	62,4	14,1	76,6	6,7	89,2	17,3	102,8	27,1
AD-1136215.1	63,4	16,7	105,3	15,1	100,4	34,7	73,6	25,3
AD-1136216.1	66,8	17,6	82,2	29,4	127,5	22,5	108,9	16,2

AD-1136217.1	60,3	20,1	63,7	10,4	64,0	13,9	61,2	27,6
AD-1136218.1	66,6	13,3	60,5	8,7	70,1	14,6	65,6	16,3
AD-1136219.1	65,6	9,5	107,3	32,2	95,2	19,9	75,7	3,7
AD-1136220.1	111,3	22,6	129,8	14,7	135,3	32,2	155,5	85,4
AD-1136221.1	85,1	10,8	101,0	8,3	102,0	23,9	105,4	25,9
AD-1136222.1	85,7	2,2	108,6	13,3	74,7	29,6	60,8	13,5
AD-1136223.1	76,1	23,3	65,4	13,2	76,0	30,7	79,3	17,7
AD-1136224.1	66,5	6,4	62,6	14,6	47,6	6,1	48,1	11,1
AD-1136225.1	67,1	7,3	51,4	20,4	48,0	11,6	55,6	13,0
AD-1136226.1	59,5	6,6	68,7	10,4	96,1	19,1	78,7	6,3
AD-1136227.1	107,2	4,1	125,4	21,5	80,0	13,7	112,2	74,8
AD-1136228.1	87,8	35,4	104,9	2,0	102,5	28,2	94,9	16,3
AD-1136229.1	74,8	21,7	70,0	10,9	58,6	14,0	52,2	1,6
AD-1136230.1	60,7	17,2	77,6	6,4	54,3	5,5	48,5	8,1
AD-1136231.1	60,2	15,3	64,9	17,5	62,8	25,9	39,2	8,6
AD-1136232.1	53,8	19,5	49,8	7,0	71,1	15,0	64,2	12,0
AD-1136233.1	67,8	10,5	75,0	16,4	99,8	9,7	89,5	18,3

AD-1136234.1	135,9	39,0	99,5	7,3	76,8	6,8	86,4	32,5
AD-1136235.1	106,5	18,7	97,4	17,9	92,2	11,3	81,5	18,2
AD-1136236.1	73,8	11,1	83,1	7,2	85,4	12,0	81,7	5,4
AD-1136237.1	72,0	45,6	79,6	5,5	58,9	17,0	52,5	7,6
AD-1136238.1	73,1	3,2	75,4	12,1	52,1	4,1	45,3	7,1
AD-1136239.1	59,5	17,2	66,6	18,3	57,2	8,8	58,9	27,6
AD-1136240.1	61,1	7,6	63,8	2,7	89,7	21,7	75,9	6,2
AD-1136241.1	93,9	37,4	81,2	7,6	74,3	19,1	131,9	66,6
AD-1136242.1	119,9	28,2	142,2	79,5	94,5	17,8	89,0	65,8
AD-1136243.1	81,2	2,4	69,7	15,0	94,7	32,0	109,6	46,7
AD-1136244.1	66,9	32,5	66,8	3,3	67,7	11,6	53,6	1,6
AD-1136245.1	89,6	25,0	85,4	14,5	79,9	32,3	54,9	11,8
AD-1136246.1	70,6	9,3	67,8	7,7	69,2	18,8	47,9	14,6
AD-1136247.1	99,4	30,6	69,9	11,6	51,5	14,4	64,9	23,9
AD-1136248.1	68,2	10,9	66,0	7,4	82,0	32,8	62,3	9,7
AD-1136249.1	137,1	53,3	111,3	46,1	66,0	44,0	101,4	105,9
AD-1136250.1	112,9	11,1	143,8	8,3	121,6	19,0	104,3	22,7

AD-1136251.1	108,3	30,3	149,1	26,0	135,9	15,9	160,4	106,8
AD-1136252.1	94,4	5,2	127,0	37,2	125,2	5,1	97,7	35,3
AD-1136253.1	112,3	16,8	130,1	14,8	127,2	23,0	182,7	108,0
AD-1136254.1	148,8	15,9	129,8	30,2	140,8	26,9	82,2	50,6
AD-1136255.1	103,0	20,9	119,4	32,1	141,8	42,9	90,3	54,0
AD-1136256.1	124,3	41,8	108,0	22,9	89,3	27,9	118,4	27,6
AD-1136257.1	123,8	50,0	97,2	20,6	104,0	6,6	52,4	7,6
AD-1136258.1	61,2	10,2	124,6	23,8	118,5	24,8	117,7	16,9
AD-1136259.1	89,2	26,4	120,0	20,2	143,7	13,9	98,8	5,8
AD-1136260.1	93,3	22,2	135,4	22,6	152,5	34,4	150,5	27,6
AD-1136261.1	80,6	17,3	111,9	13,8	125,0	33,0	127,6	29,7
AD-1136262.1	71,8	12,8	113,2	7,6	133,9	2,7	104,6	9,0
AD-1136263.1	81,0	20,7	93,6	19,1	105,3	24,0	101,2	8,5
AD-1136264.1	73,3	13,3	82,8	20,6	85,6	8,3	N/A	N/A
AD-1136265.1	102,0	12,2	122,2	19,5	103,1	11,1	N/A	N/A
AD-1136266.1	95,9	22,1	117,0	27,4	120,9	15,0	100,2	22,0
AD-1136267.1	102,3	18,1	149,1	13,2	156,4	45,6	197,8	80,6

AD-1136268.1	95,8	20,1	161,8	23,0	96,2	20,3	N/A	N/A
AD-1136269.1	83,5	12,5	129,0	9,1	113,2	17,3	153,8	51,2
AD-1136270.1	116,6	19,9	112,3	10,5	115,9	21,3	91,9	27,5
AD-1136271.1	82,9	24,6	81,1	12,3	68,2	20,5	67,0	28,6
AD-1136272.1	71,3	14,3	86,2	8,9	94,2	15,6	78,1	10,3
AD-1136273.1	77,6	16,4	125,1	10,3	129,3	21,4	107,4	17,7
AD-1136274.1	96,3	30,6	169,2	39,0	104,4	19,2	333,6	177,6
AD-1136275.1	103,6	13,0	146,3	17,2	97,7	21,7	N/A	N/A
AD-1136276.1	101,7	13,3	143,9	30,2	133,7	27,5	129,2	42,3
AD-1136277.1	82,3	22,6	103,5	6,1	106,7	33,3	80,3	17,4
AD-1136278.1	69,5	29,9	93,6	24,6	85,4	23,3	72,6	22,4
AD-1136279.1	64,1	9,0	94,7	12,9	78,5	33,4	76,7	31,1
AD-1136280.1	74,3	22,3	107,2	15,8	108,0	23,7	85,2	28,9
AD-1136281.1	123,8	23,0	148,2	30,4	117,0	11,9	135,4	32,4
AD-1136282.1	86,4	24,8	147,3	39,3	153,6	19,2	257,4	178,0
AD-1136283.1	63,2	20,2	85,5	26,9	110,6	32,6	N/A	N/A
AD-1136284.1	84,0	14,1	114,3	11,9	77,9	18,0	208,9	84,2

AD-1136285.1	88,8	16,1	93,0	29,4	103,1	17,1	82,9	20,6
AD-1136286.1	66,0	10,5	59,8	8,7	51,2	30,0	60,3	14,0
AD-1136287.1	76,6	25,4	97,0	12,8	89,7	14,3	145,0	110,3
AD-1136288.1	73,0	23,3	99,8	28,2	107,0	10,2	86,6	11,2
AD-1136289.1	79,0	9,3	104,0	20,5	144,6	8,6	141,6	41,6
AD-1136290.1	75,1	17,2	117,4	20,4	80,4	14,3	N/A	N/A
AD-1136291.1	50,6	10,3	73,9	19,4	80,5	34,1	N/A	N/A
AD-1136292.1	65,8	10,9	93,5	14,3	84,7	26,4	113,4	37,8
AD-1136293.1	78,3	7,4	82,1	9,9	65,6	20,3	71,4	17,4
AD-1136294.1	59,4	7,5	81,6	12,2	62,3	38,5	114,0	82,5
AD-1136295.1	68,9	9,1	98,9	19,2	115,6	12,7	93,5	16,7
AD-1136296.1	85,6	23,0	121,5	13,0	91,4	14,3	107,7	15,6
AD-1136297.1	92,2	24,2	126,8	24,1	73,8	13,7	218,7	44,7
AD-1136298.1	89,7	11,3	91,1	3,2	75,8	11,0	N/A	N/A
AD-1136299.1	75,7	4,3	112,6	26,8	76,8	9,4	98,1	10,5
AD-1136300.1	79,9	23,9	99,6	13,2	85,8	28,4	77,2	1,8
AD-1136301.1	81,3	16,5	58,9	10,8	75,2	18,8	52,9	10,3

AD-1136302.1	69,9	22,1	102,0	40,8	70,5	23,3	73,7	9,2
AD-1136303.1	73,6	20,6	92,2	16,0	104,6	26,4	103,9	6,0
AD-1136304.1	80,4	13,2	108,2	16,5	102,0	12,2	106,9	40,0
AD-1136305.1	79,2	12,9	114,0	17,1	105,6	28,9	N/A	N/A
AD-1136306.1	78,0	6,6	111,2	15,3	100,5	23,9	N/A	N/A
AD-1136307.1	76,1	12,7	115,6	28,5	83,8	15,3	96,8	21,5
AD-1136308.1	67,4	17,1	66,7	21,3	63,3	17,1	67,4	5,6
AD-1136309.1	65,1	26,6	79,8	11,5	74,5	4,1	60,7	23,8
AD-1136310.1	71,3	22,6	76,1	16,3	108,9	35,2	71,2	25,5
AD-1136311.1	59,3	9,8	94,5	8,0	96,2	14,4	89,3	17,7
AD-1136312.1	63,7	6,0	105,0	12,9	90,5	5,7	89,3	11,6
AD-1136313.1	75,7	3,9	105,1	37,5	89,8	21,6	88,8	19,0
AD-1136314.1	108,8	17,9	95,8	12,0	83,8	21,1	87,0	23,5
AD-1136315.1	92,0	15,8	83,7	15,5	77,1	13,5	73,5	18,1
AD-1136316.1	85,1	16,3	66,7	10,9	60,0	8,0	49,3	11,8
AD-1136317.1	64,5	7,9	72,5	16,7	89,9	21,4	77,8	9,4
AD-1136318.1	88,2	12,5	86,4	13,6	91,0	17,1	105,4	24,8

AD-1136319.1	63,9	18,5	120,7	38,2	119,4	20,1	92,4	19,3
AD-1136320.1	68,9	15,0	100,9	9,9	105,8	27,7	89,6	9,0
AD-1136321.1	96,1	24,6	91,0	32,8	90,1	16,5	73,3	9,0
AD-1136322.1	101,9	24,1	80,8	18,8	63,5	11,5	71,3	20,1
AD-1136323.1	73,2	15,8	62,6	22,8	61,0	18,6	68,1	27,7
AD-1136324.1	110,1	12,5	88,6	18,2	87,0	9,3	63,6	11,8
AD-1136325.1	83,4	16,1	90,3	7,4	81,7	17,5	65,5	25,1
AD-1136326.1	87,7	28,8	101,2	12,0	70,3	15,4	59,2	11,4
AD-1136327.1	142,0	57,3	137,3	10,5	63,4	8,7	85,7	13,0
AD-1136328.1	90,4	10,6	85,2	11,8	91,7	31,9	63,8	21,7
AD-1136329.1	79,2	17,1	89,8	26,0	49,4	9,6	52,0	7,9
AD-1136330.1	125,2	36,0	78,1	21,5	76,5	9,9	67,1	22,8
AD-1136331.1	100,0	34,1	81,0	2,9	86,7	13,1	64,3	25,9
AD-1136332.1	106,9	22,8	72,0	38,2	69,4	23,1	54,3	20,7
AD-1136333.1	76,4	29,8	110,9	45,1	61,2	8,1	59,3	14,5
AD-1136334.1	105,3	58,3	93,3	14,6	49,5	19,3	47,3	21,0
AD-1136335.1	71,5	11,5	113,4	24,5	76,3	28,7	70,0	40,8

AD-1136336.1	136,1	69,8	104,1	23,7	81,2	23,9	57,7	18,1
AD-1136337.1	87,1	35,7	100,8	20,0	59,4	28,2	38,8	8,9
AD-1136338.1	124,5	31,0	86,8	14,0	51,3	4,8	77,9	75,1

Пример 3. Дополнительные дуплексы, нацеленные на XDH.

Дополнительный дуплексы, нацеленные на ген ксантиндегидрогеназы (XDH) (человек: NCBI refseqID NM_000379; NCBI GeneID: 7498), конструировали с использованием собственных сценариев R и Python. мРНК человека NM_000379 REFSEQ, версии 4, имеет длину 5715 оснований.

миРНК синтезировали и отжигали с использованием рутинных, известных в этой области способов, описанных выше.

Подробные списки немодифицированных нуклеотидных последовательностей смысловой и антисмысловой цепей XDH приведены в таблице 6. Подробные списки модифицированных нуклеотидных последовательностей смысловой и антисмысловой цепей XDH приведены в таблице 7.

Дополнительные дуплексы подвергали скринингу на активность *in vitro*.

Эксперименты по свободному захвату осуществляли посредством добавления 2,5 мкл дуплексов миРНК в PBS на лунку в 96-луночный планшет. Затем к миРНК добавляли полные среды для выращивания (47,5 мкл), содержащие приблизительно $1,5 \times 10^4$ РМН или РНН. Клетки инкубировали в течение 48 часов до очистки РНК и RT-qPCR. Эксперименты с однократной дозой осуществляли при конечной концентрации дуплекса 500 нМ, 100 нМ, 10 нМ и/или 0,1 нМ для РНН и 500 нМ, 100 нМ, нМ и 1 нМ для РМН.

Для трансфекции клетки РНН выращивали приблизительно до достижения конfluence при 37°C в атмосфере 5% CO₂ в минимальной поддерживающей среде Игла (Gibco), дополненной 10% FBS (ATCC), перед удалением с планшета для трипсинизации. Трансфекцию осуществляли посредством добавления 7,5 мкл Opti-MEM с 0,1 мкл липофектамина RNAiMax на лунку (Invitrogen, Carlsbad CA. кат. № 13778-150) к 2,5 мкл каждого дуплекса миРНК в отдельной лунке в 384-луночном планшете. Затем смесь инкубировали при комнатной температуре в течение 15 минут. Затем к смеси миРНК добавляли сорок мкл полных сред для выращивания без антибиотика, содержащих $\sim 1,5 \times 10^4$ клеток РНН. Клетки инкубировали в течение 24 часов до очистки РНК. Эксперименты с однократной дозой осуществляли при конечной концентрации дуплекса 100 нМ, 20 нМ, 4 нМ, 0,8 нМ, 0,16 нМ, 0,032 нМ, 0,0064 нМ, 0,00128 нМ и 0,0001256 нМ.

Выделение тотальной РНК осуществляли с использованием Dynabeads. В кратком изложении, клетки лизировали в 10 мкл лизирующего/связывающего буфера, содержащего 3 мкл бус на лунку, и смешивали в течение 10 минут на электростатическом шейкере. Стадии промывки автоматизировали с помощью Biotek EL406 с использованием магнитной

опоры для планшетов. Бусы промывали (в 3 мкл) однократно в буфере А, однократно в буфере В и дважды в буфере Е со стадиями аспирации между ними. После конечной аспирации в каждую лунку добавляли полные 12 мкл смеси RT, как описано ниже.

Для синтеза кДНК в лунку добавляли мастер-микс из 1,5 мкл 10-кратного буфера, 0,6 мкл 10-кратных dNTP, 1,5 мкл случайных праймеров, 0,75 мкл обратной транскриптазы, 0,75 мкл ингибитора РНКаз и 9,9 мкл H₂O на реакцию. Планшеты герметично закрывали, встряхивали в течение 10 минут на электростатическом шейкере, а затем инкубировали при 37°C в течение 2 часов. После этого планшеты встряхивали при 80°C в течение 8 минут.

RT-qPCR осуществляли, как описано выше, и вычисляли относительное кратное изменение, как описано выше.

Результаты экспериментов по свободному захвату дцРНК-средств, указанных в таблицах 6 и 7, в РНН приведены в таблицах 8 и 9. Результаты экспериментов по трансфекции с использованием дцРНК-средств, указанных в таблицах 6 и 7, в РНН приведены в таблицах 10-12. Значения IC₅₀ для дцРНК-средств из таблиц 10-12 приведены в таблице 13.

Таблица 6. Немодифицированные последовательности смысловой и антисмысловой цепей дцРНК-средств против ксантиндегидрогеназы

Название дуплекса	Смысловая последовательность 5'-3'	SEQ ID NO:	Диапазон в NM_000379.4	Антисмысловая последовательность 5'-3'	SEQ ID NO:	Диапазон в NM_000379.4
AD-1135990.2	GCACAGUGAUGCUCUCC AAGU	34	228-248	ACUUGGAGAGCAUCACUGUGC AA	393	226-248
AD-1135991.2	CACAGUGAUGCUCUCCA AGUU	35	229-249	AACUTGGAGAGCAUCACUGUG CA	394	227-249
AD-1297597.1	ACAGUGAUGCUCUCCAA GUAU	1818	230-250	AUACTUGGAGAGCAUCACUGU GC	1934	228-250
AD-1297598.1	CAGUGAUGCUCUCCAAG UAUU	1819	231-251	AAUACUUGGAGAGCAUCACUG UG	1935	229-251
AD-1297599.1	AGUGAUGCUCUCCAAGU AUGU	1820	232-252	ACAUACUUGGAGAGCAUCACU GU	1936	230-252
AD-1297600.1	GUGAUGCUCUCCAAGUA UGAU	1821	233-253	AUCAUACUUGGAGAGCAUCAC UG	1937	231-253
AD-1297601.1	UGAUGCUCUCCAAGUAU GAUU	1822	234-254	AAUCAUACUUGGAGAGCAUCA CU	1938	232-254
AD-1135992.2	GAUGCUCUCCAAGUAUG AUCU	36	235-255	AGAUCAUACUUGGAGAGCAUC AC	395	233-255
AD-1135993.2	AUGCUCUCCAAGUAUGA UCGU	37	236-256	ACGAUCAUACUUGGAGAGCAU CA	396	234-256

AD-1135994.2	UGCUCUCCAAGUAUGAU CGUU	38	237-257	AACGAUCAUACUUGGAGAGCA UC	397	235-257
AD-1135995.2	GCUCUCCAAGUAUGAUC GUCU	39	238-258	AGACGAUCAUACUUGGAGAGC AU	398	236-258
AD-1135996.2	CUCUCCAAGUAUGAUCG UCUU	40	239-259	AAGACGAUCAUACUUGGAGAG CA	399	237-259
AD-1297602.1	UCUCCAAGUAUGAUCGU CUGU	1823	240-260	ACAGACGAUCAUACUUGGAGA GC	1939	238-260
AD-1297603.1	CUCCAAGUAUGAUCGUC UGCU	1824	241-261	AGCAGACGAUCAUACUUGGAG AG	1940	239-261
AD-1297604.1	UCCAAGUAUGAUCGUCU GCAU	1825	242-262	AUGCAGACGAUCAUACUUGGA GA	1941	240-262
AD-1297605.1	CCAAGUAUGAUCGUCUG CAGU	1826	243-263	ACUGCAGACGAUCAUACUUGG AG	1942	241-263
AD-1297606.1	CAAGUAUGAUCGUCUGC AGAU	1827	244-264	AUCUGCAGACGAUCAUACUUG GA	1943	242-264
AD-1297607.1	AAGUAUGAUCGUCUGCA GAAU	1828	245-265	AUUCTGCAGACGAUCAUACUU GG	1944	243-265
AD-1297608.1	AGUAUGAUCGUCUGCAG AACU	1829	246-266	AGUUCUGCAGACGAUCAUACU UG	1945	244-266
AD-1297609.1	GUAUGAUCGUCUGCAGA ACAU	1830	247-267	AUGUTCTGCAGACGAUCAUACU U	1946	245-267

AD-1297610.1	UAUGAUCGUCUGCAGAA CAAU	1831	248-268	AUUGTUCUGCAGACGAUCAU CU	1947	246-268
AD-1297611.1	AUGAUCGUCUGCAGAAC AAGU	1832	249-269	ACUUGUUCUGCAGACGAUCAU AC	1948	247-269
AD-1136037.2	GGGAGUAUUUCUCAGCA UUCU	81	1320-1340	AGAATGCUGAGAAAUACUCCCC C	440	1318-1340
AD-1136038.2	GGAGUAUUUCUCAGCAU UCAU	82	1321-1341	AUGAAUGCUGAGAAAUACUCC CC	441	1319-1341
AD-1136039.2	GAGUAUUUCUCAGCAUU CAAU	83	1322-1342	AUUGAAUGCUGAGAAAUACUC CC	442	1320-1342
AD-1136040.2	AGUAUUUCUCAGCAUUC AAGU	84	1323-1343	ACUUGAAUGCUGAGAAAUACU CC	443	1321-1343
AD-1136041.2	GUAUUUCUCAGCAUUCA AGCU	85	1324-1344	AGCUTGAAUGCUGAGAAAUAC UC	444	1322-1344
AD-1297612.1	UAUUUCUCAGCAUUCAA GCAU	1833	1325-1345	AUGCTUGAAUGCUGAGAAAUA CU	1949	1323-1345
AD-1297613.1	AUUUCUCAGCAUUCAAG CAGU	1834	1326-1346	ACUGCUUGAAUGCUGAGAAAU AC	1950	1324-1346
AD-1297614.1	UUUCUCAGCAUUCAAGC AGGU	1835	1327-1347	ACCUGCTUGAAUGCUGAGAAA UA	1951	1325-1347
AD-1297615.1	UUCUCAGCAUUCAAGCA GGCU	1836	1328-1348	AGCCTGCUUGAAUGCUGAGAA AU	1952	1326-1348

AD-1297616.1	UCUCAGCAUUCAAGCAG GCCU	1837	1329-1349	AGGCCUGCUUGAAUGCUGAGA AA	1953	1327-1349
AD-1297617.1	CUCAGCAUUCAAGCAGG CCUU	1838	1330-1350	AAGGCCTGCUUGAAUGCUGAG AA	1954	1328-1350
AD-1297618.1	UCAGCAUUCAAGCAGGC CUCU	1839	1331-1351	AGAGGCCUGCUUGAAUGCUGA GA	1955	1329-1351
AD-1297619.1	CAGCAUUCAAGCAGGCC UCCU	1840	1332-1352	AGGAGGCCUGCUUGAAUGCUG AG	1956	1330-1352
AD-1297620.1	AAGAAGGUUCCAGGGUU UGUU	1841	1955-1975	AACAAACCCUGGAACCUUCU AG	1957	1953-1975
AD-1297621.1	AGAAGGUUCCAGGGUUU GUUU	1842	1956-1976	AAACAAACCCUGGAACCUUCU UA	1958	1954-1976
AD-1297622.1	GAAGGUUCCAGGGUUUG UUUU	1843	1957-1977	AAAACAAACCCUGGAACCUUC UU	1959	1955-1977
AD-1297623.1	AAGGUUCCAGGGUUUGU UUGU	1844	1958-1978	ACAAACAAACCCUGGAACCUUC U	1960	1956-1978
AD-1297624.1	AGGUUCCAGGGUUUGUU UGUU	1845	1959-1979	AACAAACAAACCCUGGAACCU UC	1961	1957-1979
AD-1297625.1	GGUUCCAGGGUUUGUUU GUUU	1846	1960-1980	AAACAAACAAACCCUGGAACC UU	1962	1958-1980
AD-1297626.1	GUUCCAGGGUUUGUUUG UUUU	1847	1961-1981	AAAACAAACAAACCCUGGAAC CU	1963	1959-1981

AD-1136050.2	UUCCAGGGUUUGUUUGU UUCU	94	1962-1982	AGAAACAAACAAACCCUGGAA CC	453	1960-1982
AD-1297627.1	UCCAGGGUUUGUUUGUU UCAU	1848	1963-1983	AUGAAACAAACAAACCCUGGA AC	1964	1961-1983
AD-1297628.1	CCAGGGUUUGUUUGUUU CAUU	1849	1964-1984	AAUGAAACAAACAAACCCUGG AA	1965	1962-1984
AD-1136051.2	CAGGGUUUGUUUGUUUC AUUU	95	1965-1985	AAAUGAAACAAACAAACCCUG GA	454	1963-1985
AD-1136052.2	GGGUUUGUUUGUUUCAU UUCU	96	1967-1987	AGAAAUGAAACAAACAAACCC UG	455	1965-1987
AD-1136053.2	GGUUUGUUUGUUUCAU UCCU	97	1968-1988	AGGAAAUGAAACAAACAAACC CU	456	1966-1988
AD-1297629.1	GUUUGUUUGUUUCAUUU CCGU	1850	1969-1989	ACGGAAAUGAAACAAACAAAC CC	1966	1967-1989
AD-1297630.1	UUUGUUUGUUUCAUUUC CGCU	1851	1970-1990	AGCGGAAAUGAAACAAACAAA CC	1967	1968-1990
AD-1136054.2	UUGUUUGUUUCAUUUCC GCUU	98	1971-1991	AAGCGGAAAUGAAACAAACAA AC	457	1969-1991
AD-1297631.1	UGUUUGUUUCAUUUCCG CUGU	1852	1972-1992	ACAGCGGAAAUGAAACAAACA AA	1968	1970-1992
AD-1297632.1	GUUUGUUUCAUUUCCGC UGAU	1853	1973-1993	AUCAGCGGAAAUGAAACAAAC AA	1969	1971-1993

AD-1297633.1	UUUGUUUCAUUUCCGCU GAUU	1854	1974-1994	AAUCAGCGGAAAUGAAACAAA CA	1970	1972-1994
AD-1297634.1	UUGUUUCAUUUCCGCUG AUGU	1855	1975-1995	ACAUCAGCGGAAAUGAAACAA AC	1971	1973-1995
AD-1297635.1	UGUUUCAUUUCCGCUGA UGAU	1856	1976-1996	AUCATCAGCGGAAAUGAAACA AA	1972	1974-1996
AD-1297636.1	GUUUCAUUUCCGCUGAU GAUU	1857	1977-1997	AAUCAUCAGCGGAAAUGAAAC AA	1973	1975-1997
AD-1297637.1	UUUCAUUUCCGCUGAUG AUGU	1858	1978-1998	ACAUCAUCAGCGGAAAUGAAA CA	1974	1976-1998
AD-1297638.1	GGAGAUGGAGCUCUUUG UGUU	1859	2353-2373	AACACAAAGAGCUCCAUCUCCC C	1975	2351-2373
AD-1297639.1	GAGAUGGAGCUCUUUGU GUCU	1860	2354-2374	AGACACAAAGAGCUCCAUCUCC C	1976	2352-2374
AD-1297640.1	AGAUGGAGCUCUUUGUG UCUU	1861	2355-2375	AAGACACAAAGAGCUCCAUCU CC	1977	2353-2375
AD-1297641.1	GAUGGAGCUCUUUGUGU CUAU	1862	2356-2376	AUAGACACAAAGAGCUCCAUC UC	1978	2354-2376
AD-1297642.1	AUGGAGCUCUUUGUGUC UACU	1863	2357-2377	AGUAGACACAAAGAGCUCCA CU	1979	2355-2377
AD-1297643.1	UGGAGCUCUUUGUGUCU ACAU	1864	2358-2378	AUGUAGACACAAAGAGCUCCA UC	1980	2356-2378

AD-1297644.1	GGAGCUCUUUGUGUCUA CACU	1865	2359-2379	AGUGTAGACACAAAGAGCUCC AU	1981	2357-2379
AD-1297645.1	GAGCUCUUUGUGUCUAC ACAU	1866	2360-2380	AUGUGUAGACACAAAGAGCUC CA	1982	2358-2380
AD-1136073.2	AGCUCUUUGUGUCUACA CAGU	117	2361-2381	ACUGTGTAGACACAAAGAGCUC C	476	2359-2381
AD-1136074.2	GCUCUUUGUGUCUACAC AGAU	118	2362-2382	AUCUGUGUAGACACAAAGAGC UC	477	2360-2382
AD-1136075.2	CUCUUUGUGUCUACACA GAAU	119	2363-2383	AUUCTGTGUAGACACAAAGAGC U	478	2361-2383
AD-1136076.2	UCUUUGUGUCUACACAG AACU	120	2364-2384	AGUUCUGUGUAGACACAAAGA GC	479	2362-2384
AD-1136077.2	CUUUGUGUCUACACAGA ACAU	121	2365-2385	AUGUTCTGUGUAGACACAAAG AG	480	2363-2385
AD-1136078.2	UUUGUGUCUACACAGAA CACU	122	2366-2386	AGUGTUCUGUGUAGACACAAA GA	481	2364-2386
AD-1297646.1	UUGUGUCUACACAGAAC ACCU	1867	2367-2387	AGGUGUTCUGUGUAGACACAA AG	1983	2365-2387
AD-1297647.1	UGUGUCUACACAGAACAA CCAU	1868	2368-2388	AUGGTGTUCUGUGUAGACACA AA	1984	2366-2388
AD-1297648.1	GUGUCUACACAGAACAC CAUU	1869	2369-2389	AAUGGUGUUCUGUGUAGACAC AA	1985	2367-2389

AD-1297649.1	UGUCUACACAGAACACC AUGU	1870	2370-2390	ACAUGGTGUUCUGUGUAGACA CA	1986	2368-2390
AD-1297650.1	GUCUACACAGAACACCA UGAU	1871	2371-2391	AUCATGGUGUUCUGUGUAGAC AC	1987	2369-2391
AD-1297651.1	UCUACACAGAACACCAU GAAU	1872	2372-2392	AUUCAUGGUGUUCUGUGUAGA CA	1988	2370-2392
AD-1297652.1	CUACACAGAACACCAUG AAGU	1873	2373-2393	ACUUCAUGGUGUUCUGUGUAG AC	1989	2371-2393
AD-1297653.1	UACACAGAACACCAUGA AGAU	1874	2374-2394	AUCUTCAUGGUGUUCUGUGUA GA	1990	2372-2394
AD-1297654.1	GGGAACACCCAGGAUCU CUCU	1875	2681-2701	AGAGAGAUCCUGGGUGUUCCC CA	1991	2679-2701
AD-1297655.1	GGAACACCCAGGAUCUC UCUU	1876	2682-2702	AAGAGAGAUCCUGGGUGUUCC CC	1992	2680-2702
AD-1297656.1	GAACACCCAGGAUCUCU CUCU	1877	2683-2703	AGAGAGAGAUCCUGGGUGUUC CC	1993	2681-2703
AD-1297657.1	AACACCCAGGAUCUCUC UCAU	1878	2684-2704	AUGAGAGAGAUCCUGGGUGUU CC	1994	2682-2704
AD-1297658.1	ACACCCAGGAUCUCUCUC AGU	1879	2685-2705	ACUGAGAGAGAUCCUGGGUGU UC	1995	2683-2705
AD-1297659.1	CACCCAGGAUCUCUCUCA GAU	1880	2686-2706	AUCUGAGAGAGAUCCUGGGUG UU	1996	2684-2706

AD-1297660.1	ACCCAGGAUCUCUCUCA GAGU	1881	2687-2707	ACUCTGAGAGAGAUCCUGGGU GU	1997	2685-2707
AD-1297661.1	CCCAGGAUCUCUCUCAG AGUU	1882	2688-2708	AACUCUGAGAGAGAUCCUGGG UG	1998	2686-2708
AD-1297662.1	CCAGGAUCUCUCUCAGA GUAU	1883	2689-2709	AUACTCTGAGAGAGAUCCUGGG U	1999	2687-2709
AD-1297663.1	CAGGAUCUCUCUCAGAG UAUU	1884	2690-2710	AAUACUCUGAGAGAGAUCCUG GG	2000	2688-2710
AD-1136082.2	AGGAUCUCUCUCAGAGU AUUU	126	2691-2711	AAUACTCUGAGAGAGAUCCU GG	485	2689-2711
AD-1136083.2	GGAUCUCUCUCAGAGUA UUAU	127	2692-2712	AUAATACUCUGAGAGAGAUCC UG	486	2690-2712
AD-1136084.2	GAUCUCUCUCAGAGUAU UAUU	128	2693-2713	AAUAAUACUCUGAGAGAGAU CU	487	2691-2713
AD-1136085.2	AUCUCUCUCAGAGUAUU AUGU	129	2694-2714	ACAUAAUACUCUGAGAGAGAU CC	488	2692-2714
AD-1136086.2	UCUCUCUCAGAGUAUUA UGGU	130	2695-2715	ACCAUAAUACUCUGAGAGAGA UC	489	2693-2715
AD-1136087.2	CUCUCUCAGAGUAUUAU GGAU	131	2696-2716	AUCCAUAUACUCUGAGAGAG AU	490	2694-2716
AD-1136088.2	UCUCUCAGAGUAUUAUG GAAU	132	2697-2717	AUCCAUAUACUCUGAGAGA GA	491	2695-2717

AD-1136089.2	CUCUCAGAGUAUUAUGG AACU	133	2698-2718	AGUUCCAUAUACUCUGAGAG AG	492	2696-2718
AD-1136090.2	UCUCAGAGUAUUAUGGA ACGU	134	2699-2719	ACGUUCCAUAUACUCUGAGA GA	493	2697-2719
AD-1297664.1	CUCAGAGUAUUAUGGAA CGAU	1885	2700-2720	AUCGTUCCAUAUACUCUGAG AG	2001	2698-2720
AD-1136091.2	UCAGAGUAUUAUGGAAC GAGU	135	2701-2721	ACUCGUUCCAUAUACUCUGA GA	494	2699-2721
AD-1136092.2	CAGAGUAUUAUGGAACG AGCU	136	2702-2722	AGCUCGUUCCAUAUACUCUG AG	495	2700-2722
AD-1297665.1	AGAGUAUUAUGGAACGA GCUU	1886	2703-2723	AAGCTCGUUCCAUAUACUCUG A	2002	2701-2723
AD-1297666.1	GAGUAUUAUGGAACGAG CUUU	1887	2704-2724	AAAGCUCGUUCCAUAUACUC UG	2003	2702-2724
AD-1297667.1	AGUAUUAUGGAACGAGC UUUU	1888	2705-2725	AAAAGCTCGUUCCAUAUACUC U	2004	2703-2725
AD-1297668.1	GUAUUAUGGAACGAGCU UUAU	1889	2706-2726	AUAAAGCUCGUUCCAUAUAC UC	2005	2704-2726
AD-1297669.1	UAUUAUGGAACGAGCUU UAUU	1890	2707-2727	AAUAAAGCUCGUUCCAUAUA CU	2006	2705-2727
AD-1297670.1	AUUAUGGAACGAGCUUU AUUU	1891	2708-2728	AAAUAAAGCUCGUUCCAUAU AC	2007	2706-2728

AD-1297671.1	UUAUGGAACGAGCUUUA UUCU	1892	2709-2729	AGAAUAAAGCUCGUUCCAUA UA	2008	2707-2729
AD-1297672.1	UAUGGAACGAGCUUUAU UCCU	1893	2710-2730	AGGAAUAAAGCUCGUUCCAUA AU	2009	2708-2730
AD-1297673.1	CUCUUCCUGGCUGCUUC UAUU	1894	3869-3889	AAUAGAAGCAGCCAGGAAGAG GG	2010	3867-3889
AD-1297674.1	UCUUCCUGGCUGCUUCU AUCU	1895	3870-3890	AGAUAGAAGCAGCCAGGAAGA GG	2011	3868-3890
AD-1297675.1	CUUCCUGGCUGCUUCUA UCUU	1896	3871-3891	AAGAUAGAAGCAGCCAGGAAG AG	2012	3869-3891
AD-1136159.2	UUCCUGGCUGCUUCUAU CUUU	202	3872-3892	AAAGAUAGAAGCAGCCAGGAA GA	561	3870-3892
AD-1136160.2	UCCUGGCUGCUUCUAUC UUCU	203	3873-3893	AGAAGAUAGAAGCAGCCAGGA AG	562	3871-3893
AD-1136161.2	CCUGGCUGCUUCUAUCU UCUU	204	3874-3894	AAGAAGAUAGAAGCAGCCAGG AA	563	3872-3894
AD-1136162.2	CUGGCUGCUUCUAUCUU CUUU	205	3875-3895	AAAGAAGAUAGAAGCAGCCAG GA	564	3873-3895
AD-1136163.2	UGGCUGCUUCUAUCUUC UUUU	206	3876-3896	AAAAGAAGAUAGAAGCAGCCA GG	565	3874-3896
AD-1297676.1	GGCUGCUUCUAUCUUCU UUGU	1897	3877-3897	ACAAAGAAGAUAGAAGCAGCC AG	2013	3875-3897

AD-1136164.2	GCUGCUUCUAUCUUCUU UGCU	207	3878-3898	AGCAAAGAAGAUAGAAGCAGC CA	566	3876-3898
AD-1136165.2	CUGCUUCUAUCUUCUUU GCCU	208	3879-3899	AGGCAAAGAAGAUAGAAGCAG CC	567	3877-3899
AD-1136166.2	UGCUUCUAUCUUCUUUG CCAU	209	3880-3900	AUGGCAAAGAAGAUAGAAGCA GC	568	3878-3900
AD-1136167.2	GCUUCUAUCUUCUUUGC CAUU	210	3881-3901	AAUGGCAAAGAAGAUAGAAGC AG	569	3879-3901
AD-1136168.2	CUUCUAUCUUCUUUGCC AUCU	211	3882-3902	AGAUGGCAAAGAAGAUAGAAG CA	570	3880-3902
AD-1136169.2	UUCUAUCUUCUUUGCCA UCAU	212	3883-3903	AUGATGGCAAAGAAGAUAGAA GC	571	3881-3903
AD-1136170.2	UCUAUCUUCUUUGCCAU CAAU	213	3884-3904	AUUGAUGGCAAAGAAGAUAGA AG	572	3882-3904
AD-1136171.2	CUAUCUUCUUUGCCAUC AAAU	214	3885-3905	AUUUGATGGCAAAGAAGAUAG AA	573	3883-3905
AD-1136172.2	UAUCUUCUUUGCCAUCA AAGU	215	3886-3906	ACUUUGAUGGCAAAGAAGAU GA	574	3884-3906
AD-1136173.2	AUCUUCUUUGCCAUCAA AGAU	216	3887-3907	AUCUTUGAUGGCAAAGAAGAU AG	575	3885-3907
AD-1297677.1	UCUUCUUUGCCAUCAAA GAUU	1898	3888-3908	AAUCUUUGAUGGCAAAGAAGA UA	2014	3886-3908

AD-1136174.2	CUUCUUUGCCAUCAAAG AUGU	217	3889-3909	ACAUCUUUGAUGGCAAAGAAG AU	576	3887-3909
AD-1297678.1	UUCUUUGCCAUCAAAGA UGCU	1899	3890-3910	AGCATCTUUGAUGGCAAAGAA GA	2015	3888-3910
AD-1297679.1	UCUUUGCCAUCAAAGAU GCCU	1900	3891-3911	AGGCAUCUUUGAUGGCAAAGA AG	2016	3889-3911
AD-1297680.1	CUUUGCCAUCAAAGAUG CCAU	1901	3892-3912	AUGGCATCUUUGAUGGCAAAG AA	2017	3890-3912
AD-1297681.1	UUUGCCAUCAAAGAUGC CAUU	1902	3893-3913	AAUGGCAUCUUUGAUGGCAAA GA	2018	3891-3913
AD-1297682.1	UUGCCAUCAAAGAUGCC AUCU	1903	3894-3914	AGAUGGCAUCUUUGAUGGCAA AG	2019	3892-3914
AD-1297683.1	UGCCAUCAAAGAUGCCA UCCU	1904	3895-3915	AGGATGGCAUCUUUGAUGGCA AA	2020	3893-3915
AD-1297684.1	GCCAUCAAAGAUGCCAU CCGU	1905	3896-3916	ACGGAUGGCAUCUUUGAUGGC AA	2021	3894-3916
AD-1297685.1	AAACCAAUGAACAGCAA AGCU	1906	4512-4532	AGCUTUGCUGUUCAUUGGUUU GA	2022	4510-4532
AD-1297686.1	AACCAAUGAACAGCAAA GCAU	1907	4513-4533	AUGCTUTGCUGUUCAUUGGUU UG	2023	4511-4533
AD-1297687.1	ACCAAUGAACAGCAAAG CAUU	1908	4514-4534	AAUGCUTUGCUGUUCAUUGGU UU	2024	4512-4534

AD-1297688.1	CCAAUGAACAGCAAAGC AUAU	1909	4515-4535	AUAUGCTUUGCUGUUCAUUGG UU	2025	4513-4535
AD-1297689.1	CAAUGAACAGCAAAGCA UAAU	1910	4516-4536	AUUATGCUUUGCUGUUCAUUG GU	2026	4514-4536
AD-1297690.1	AAUGAACAGCAAAGCAU AACU	1911	4517-4537	AGUUAUGCUUUGCUGUUCAU GG	2027	4515-4537
AD-1297691.1	AUGAACAGCAAAGCAUA ACCU	1912	4518-4538	AGGUTATGCUUUGCUGUUCAU UG	2028	4516-4538
AD-1297692.1	UGAACAGCAAAGCAUAA CCUU	1913	4519-4539	AAGGUUAUGCUUUGCUGUUCA UU	2029	4517-4539
AD-1136221.2	GAACAGCAAAGCAUAAC CUUU	264	4520-4540	AAAGGUUAUGCUUUGCUGUUC AU	623	4518-4540
AD-1136222.2	AACAGCAAAGCAUAACC UUGU	265	4521-4541	ACAAGGTUAUGCUUUGCUGUU CA	624	4519-4541
AD-1297693.1	ACAGCAAAGCAUAACCU UGAU	1914	4522-4542	AUCAAGGUUAUGCUUUGCUGU UC	2030	4520-4542
AD-1297694.1	CAGCAAAGCAUAACCUU GAAU	1915	4523-4543	AUUCAAGGUUAUGCUUUGCUG UU	2031	4521-4543
AD-1136223.2	AGCAAAGCAUAACCUUG AAUU	266	4524-4544	AAUUCAAGGUUAUGCUUUGC GU	625	4522-4544
AD-1136224.2	GCAAAGCAUAACCUUGA AUCU	267	4525-4545	AGAUTCAAGGUUAUGCUUUGC UG	626	4523-4545

AD-1136225.2	CAAAGCAUAACCUUGAA UCUU	268	4526-4546	AAGATUCAAGGUUAUGCUUUG CU	627	4524-4546
AD-1297695.1	AAAGCAUAACCUUGAAU CUAU	1916	4527-4547	AUAGAUTCAAGGUUAUGCUUU GC	2032	4525-4547
AD-1297696.1	AAGCAUAACCUUGAAUC UAUU	1917	4528-4548	AAUAGAUUCAAGGUUAUGCUU UG	2033	4526-4548
AD-1297697.1	AGCAUAACCUUGAAUCU AUAU	1918	4529-4549	AUAUAGAUUCAAGGUUAUGCU UU	2034	4527-4549
AD-1136226.2	GCAUAACCUUGAAUCUA UACU	269	4530-4550	AGUAUAGAUUCAAGGUUAUGC UU	628	4528-4550
AD-1136227.2	CAUAACCUUGAAUCUAU ACUU	270	4531-4551	AAGUAUAGAUUCAAGGUUAUG CU	629	4529-4551
AD-1136228.2	AUAACCUUGAAUCUAUA CUCU	271	4532-4552	AGAGUAUAGAUUCAAGGUUAU GC	630	4530-4552
AD-1136229.2	UAACCUUGAAUCUAUAC UCAU	272	4533-4553	AUGAGUAUAGAUUCAAGGUUA UG	631	4531-4553
AD-1136230.2	AACCUUGAAUCUAUACU CAAU	273	4534-4554	AUUGAGTAUAGAUUCAAGGUU AU	632	4532-4554
AD-1136231.2	ACCUUGAAUCUAUACUC AAAU	274	4535-4555	AUUUGAGUAUAGAUUCAAGGU UA	633	4533-4555
AD-1136232.2	CCUUGAAUCUAUACUCA AAUU	275	4536-4556	AAUUTGAGUAUAGAUUCAAGG UU	634	4534-4556

AD-1297698.1	CUUGAAUCUAUACUCAA AUUU	1919	4537-4557	AAAUTUGAGUAUAGAUUCAAG GU	2035	4535-4557
AD-1297699.1	UUGAAUCUAUACUCAA UUUU	1920	4538-4558	AAAAUUUGAGUAUAGAUUCA GG	2036	4536-4558
AD-1297700.1	GAAUCUAUACUCAAA UUGU	1921	4540-4560	ACAAAAUUUGAGUAUAGAUUC AA	2037	4538-4560
AD-1136233.2	AAUCUAUACUCAAA UGCU	276	4541-4561	AGCAAAAUUUGAGUAUAGAU CA	635	4539-4561
AD-1136234.2	AUCUAUACUCAAA GCAU	277	4542-4562	AUGCAAAAUUUGAGUAUAGAU UC	636	4540-4562
AD-1297701.1	UCUAUACUCAAA CAAU	1922	4543-4563	AUUGCAAAAUUUGAGUAUAGA UU	2038	4541-4563
AD-1297702.1	CUAUACUCAAA AAUU	1923	4544-4564	AAUUGCAAAAUUUGAGUAUAG AU	2039	4542-4564
AD-1297703.1	UAUACUCAAA AUGU	1924	4545-4565	ACAUTGCAAAAUUUGAGUAUA GA	2040	4543-4565
AD-1297704.1	AUACUCAAA UGAU	1925	4546-4566	AUCATUGCAAAAUUUGAGUAU AG	2041	4544-4566
AD-1297705.1	UACUCAAA GAGU	1926	4547-4567	ACUCAUUGCAAAAUUUGAGUA UA	2042	4545-4567
AD-1297706.1	ACUCAAA AGGU	1927	4548-4568	ACCUCAUUGCAAAAUUUGAGU AU	2043	4546-4568

AD-1297707.1	CUCAAAUUUUGCAAUGA GGCU	1928	4549-4569	AGCCTCAUUGCAAAAUUUGAG UA	2044	4547-4569
AD-1297708.1	UCAAUUUUGCAAUGAG GCAU	1929	4550-4570	AUGCCUCAUUGCAAAAUUUGA GU	2045	4548-4570
AD-1297709.1	CAAAUUUUGCAAUGAGG CAGU	1930	4551-4571	ACUGCCTCAUUGCAAAAUUUG AG	2046	4549-4571
AD-1297710.1	AAAUUUUGCAAUGAGGC AGUU	1931	4552-4572	AACUGCCUCAUUGCAAAAUUU GA	2047	4550-4572
AD-1297711.1	AAUUUUGCAAUGAGGCA GUGU	1932	4553-4573	ACACTGCCUCAUUGCAAAAUUU G	2048	4551-4573
AD-1297712.1	AUUUUGCAAUGAGGCAG UGGU	1933	4554-4574	ACCACUGCCUCAUUGCAAAAU UU	2049	4552-4574
AD-1395794.1	CUCUCCAAGUAUGAUCG UCUU	40	239-259	AAGACGAUCAUACUUGGAGAG CG	2050	237-259
AD-1395797.1	AGGAUCUCUCUCAGAGU AUUU	126	2691-2711	AAAUACTCUGAGAGAGAUCCU GG	485	2689-2711
AD-1395803.1	CAGUGAUGCUCUCCAAG UAUU	1819	231-251	AAUACUTGGAGAGCAUCACUG UG	2051	229-251
AD-1395805.1	CCAAGUAUGAUCGUCUG CAGU	1826	243-263	ACUGCAGACGATCAUACUUGG AG	2052	241-263
AD-1395807.1	GUUUGUUUCAUUUCCGC UGAU	1853	1973-1993	ATCAGCGGAAATGAAACAAACG G	2053	1971-1993

AD-1395811.1	AACACCCAGGAUCUCUC UCAU	1878	2684-2704	ATGAGAGAGAUCCUGGGUGUU CC	2054	2682-2704
AD-1395816.1	GGGUUUGUUUGUUUCAU UUCU	96	1967-1987	AGAAAUGAAACAAACAAACCC UG	455	1965-1987
AD-1395823.1	GAGUAUUUCUCAGCAUU CAAU	83	1322-1342	ATUGAATGCUGAGAAAUACUCC C	2055	1320-1342

Таблица 7. Модифицированные последовательности смысловой и антисмысловой цепей дцРНК-средств против ксантиндегидрогеназы

Название дуплекса	Смысловая последовательность 5'-3'	SEQ ID NO:	Антисмысловая последовательность 5'-3'	SEQ ID NO:	Целевая последовательность мРНК	SEQ ID NO:
AD-1135990.2	gscsacagUfgAfUfGfcuccaagu L96	752	asCfsuudGg(Agn)gagcauCfaCfugugcsa sa	1111	UUGCACAGUGAUGC UCUCCAAGU	1470
AD-1135991.2	csascaguGfaUfGfCfuccaagu L96	753	asAfsrudTg(G2p)agagcaUfcAfcugugsc sa	1112	UGCACAGUGAUGCU CUCCAAGUA	1471
AD-1297597.1	ascagugAfuGfCfUfcuccaaguau L96	2056	asUfsacdTu(G2p)gagagcAfuCfacugusg sc	2180	GCACAGUGAUGCUC UCCAAGUAU	2304
AD-1297598.1	csasgugaUfgCfUfCfuccaaguau L96	2057	asAfsuacUfuggagagCfaUfcacugsusg	2181	CACAGUGAUGCUCU CCAAGUAUG	2305
AD-1297599.1	asgsugauGfcUfCfUfccaaguau L96	2058	asCfsauaCfuuggagaGfcAfuacacugsu	2182	ACAGUGAUGCUCUC CAAGUAUGA	2306
AD-1297600.1	gsusgaugCfuCfUfCfcaaguaugau L96	2059	asUfscauAfcuuggagAfgCfaucacsusg	2183	CAGUGAUGCUCUCC AAGUAUGAU	2307
AD-1297601.1	usgsaugcUfcUfCfCfaaguaugau L96	2060	asAfsucaUfacuuggaGfaGfcaucacsu	2184	AGUGAUGCUCUCCA AGUAUGAUC	2308
AD-1135992.2	gsasugcuCfuCfCfAfaguaugaucu L96	754	asGfsaucAfuacuuggAfgAfgcaucasc	1113	GUGAUGCUCUCCAA GUAUGAUCG	1472
AD-1135993.2	asusgcucUfcCfAfAfaguaugaucu L96	755	asCfsgauCfauacuugGfaGfagcauscsa	1114	UGAUGCUCUCCAAG UAUGAUCGU	1473

AD-1135994.2	usgscucuCfcAfAfGfuaugaucguu L96	756	asAfscgaUfcuacuGfgAfgagcasusc	1115	GAUGCUCUCCAAGU AUGAUCGUC	1474
AD-1135995.2	gscsucuCfaAfGfUfaugaucgucu L96	757	asGfsacgAfcuacuUfgGfagagcsasu	1116	AUGCUCUCCAAGUA UGAUCGUCU	1475
AD-1135996.2	csuscuccAfaGfUfAfugaucgucuu L96	758	asAfsgacGfaucauacUfuGfgagagscsa	1117	UGCUCUCCAAGUAU GAUCGUCUG	1476
AD-1297602.1	uscsuccaAfgUfAfUfgaucgucugu L96	2061	asCfsagaCfgaucauacCfuUfggagasgsc	2185	GCUCUCCAAGUAUG AUCGUCUGC	2309
AD-1297603.1	csusccaaGfuAfUfGfaucgucugcu L96	2062	asGfscadGa(C2p)gaucauAfcUfuggagsa sg	2186	CUCUCCAAGUAUGA UCGUCUGCA	2310
AD-1297604.1	uscscaagUfaUfGfAfucgucugcau L96	2063	asUfsgcdAg(Agn)cgaucaUfaCfuuggasg sa	2187	UCUCCAAGUAUGAU CGUCUGCAG	2311
AD-1297605.1	cscsaaguAfuGfAfUfcgucugcagu L96	2064	asCfsugcAfgacgaucAfuAfcuuggsasg	2188	CUCCAAGUAUGAUC GUCUGCAGA	2312
AD-1297606.1	csasaguaUfgAfUfCfgucugcagau L96	2065	asUfscudGc(Agn)gacgauCfaUfacuugsg sa	2189	UCCAAGUAUGAUCG UCUGCAGAA	2313
AD-1297607.1	asasguauGfaUfCfGfucugcagaau L96	2066	asUfsucdTg(C2p)agacgaUfcAfuacuusg sg	2190	CCAAGUAUGAUCGU CUGCAGAAC	2314
AD-1297608.1	asgsuaugAfuCfGfUfcugcagaacu L96	2067	asGfsuudCu(G2p)cagacgAfuCfauacusu sg	2191	CAAGUAUGAUCGUC UGCAGAACAA	2315
AD-1297609.1	gsusaugaUfcGfUfCfugcagaacau L96	2068	asUfsgudTc(Tgn)gcagacGfaUfcuacu su	2192	AAGUAUGAUCGUCU GCAGAACAA	2316

AD-1297610.1	usasugauCfGUfCfUfgcagaacaau L96	2069	asUfsugdTu(C2p)ugcagaCfGAfucauasc su	2193	AGUAUGAUCGUCUG CAGAACAAG	2317
AD-1297611.1	asusgaucGfuCfUfGfcagaacaagu L96	2070	asCfsuugUfucugcagAfcGfaucausasc	2194	GUAUGAUCGUCUGC AGAACAAGA	2318
AD-1136037.2	gsgsgaguAfuUfUfCfucagcauucu L96	799	asGfsaadTg(C2p)ugagaaAfuAfcuccsc sc	1158	GGGGGAGUAUUUCU CAGCAUUCA	1517
AD-1136038.2	gsgsaguaUfuUfCfUfcagcauucan L96	800	asUfsgadAu(G2p)cugagaAfaUfacuccsc sc	1159	GGGAGUAUUUCUC AGCAUUCAA	1518
AD-1136039.2	gsasguauUfuCfUfCfagcauucan L96	801	asUfsugaAfugcugagAfaAfuacuscsc	1160	GGGAGUAUUUCUCA GCAUUCAAG	1519
AD-1136040.2	asgsuauUfCfUfCfAfgcauucan L96	802	asCfsuugAfaugcugaGfaAfaucuscsc	1161	GGAGUAUUUCUCAG CAUUCAAGC	1520
AD-1136041.2	gsusauuuCfuCfAfGfcauucaagcu L96	803	asGfscudTg(Agn)augcugAfgAfaauacsu sc	1162	GAGUAUUUCUCAGC AUUCAAGCA	1521
AD-1297612.1	usasuuucUfCfAfGfCfauucaagcau L96	2071	asUfsgcdTu(G2p)aaugcuGfaGfaauasc su	2195	AGUAUUUCUCAGCA UUCAAGCAG	2319
AD-1297613.1	asusuucCfaGfCfAfuucaagcagu L96	2072	asCfsugcUfugaaugcUfgAfgaausasc	2196	GUAUUUCUCAGCAU UCAAGCAGG	2320
AD-1297614.1	ususucucAfgCfAfUfcaagcaggu L96	2073	asCfscudGc(Tgn)ugaugCfuGfagaaasu sa	2197	UAUUUCUCAGCAUU CAAGCAGGC	2321
AD-1297615.1	ususcucaGfcAfUfUfcaagcaggu L96	2074	asGfscddTg(C2p)uugaauGfcUfgagaasa su	2198	AUUUCUCAGCAUUC AAGCAGGCC	2322

AD-1297616.1	uscsucagCfaUfUfCfaagcaggccuL 96	2075	asGfsgcdCu(G2p)cuugaaUfgCfugagasa sa	2199	UUUCUCAGCAUUCA AGCAGGCCU	2323
AD-1297617.1	csuscagcAfuUfCfAfagcaggccuu L96	2076	asAfsaggdCc(Tgn)gcuugaAfuGfcugagsa sa	2200	UUCUCAGCAUUCAA GCAGGCCUC	2324
AD-1297618.1	uscsagcaUfuCfAfAfgcaggccucu L96	2077	asGfsagdGc(C2p)ugcuugAfaUfgcugas gsa	2201	UCUCAGCAUUCAAG CAGGCCUCC	2325
AD-1297619.1	csasgcauUfcAfAfGfcaggccuccu L96	2078	asGfsgadGg(C2p)cugcuuGfaAfugcugs asg	2202	CUCAGCAUUCAAGC AGGCCUCCC	2326
AD-1297620.1	asasgaagGfuUfCfCfaggguuuguu L96	2079	asAfscaaAfcccuggaAfcCfuucuasg	2203	CUAAGAAGGUUCCA GGGUUUGUU	2327
AD-1297621.1	asgsaaggUfuCfCfAfgguuuguuu L96	2080	asAfsacaAfaccuggAfaCfcuucususa	2204	UAAGAAGGUUCCAG GGUUUGUUU	2328
AD-1297622.1	gsasagguUfcCfAfGfgguuuguuuu L96	2081	asAfsaacAfaaccugGfaAfccuucsusu	2205	AAGAAGGUUCCAGG GUUUGUUUG	2329
AD-1297623.1	asasgguuCfcAfGfGfguuuguuugu L96	2082	asCfsaaaCfaaaccuGfgAfacuuscsu	2206	AGAAGGUUCCAGGG UUUGUUUGU	2330
AD-1297624.1	asgsuucCfaGfGfGfuuguuuguu L96	2083	asAfscaaAfcaaaccUfgGfaaccususc	2207	GAAGGUUCCAGGGU UUGUUUGUU	2331
AD-1297625.1	gsgsuuccAfgGfGfUfuuguuuguuu L96	2084	asAfsacaAfacaaaccCfuGfgaaccsusu	2208	AAGGUUCCAGGGUU UGUUUGUUU	2332
AD-1297626.1	gsusuccaGfgGfUfUfuguuuguuuu L96	2085	asAfsaacAfaacaaacCfcUfggaacscsu	2209	AGGUUCCAGGGUUU GUUUGUUUC	2333

AD-1136050.2	ususcagGfgUfUfUfguuuguuucu L96	812	asGfsaaaCfaaaciaaCfcCfuggaascsc	1171	GGUCCAGGGUUUG UUUGUUUCA	1530
AD-1297627.1	uscscaggGfuUfUfGfuuguuucau L96	2086	asUfsgaaAfcaaciaaAfcCfcuggasasc	2210	GUCCAGGGUUUGU UUGUUUCAU	2334
AD-1297628.1	cscsagggUfuUfGfUfuuguuucauu L96	2087	asAfsugaAfaciaaAfaCfccugggsasa	2211	UCCAGGGUUUGUU UGUUUCAUU	2335
AD-1136051.2	csasggguUfuGfUfUfuguuucauuu L96	813	asAfsaugAfaaciaaAfaAfccugsgsa	1172	UCCAGGGUUUGUU GUUUCAUUU	1531
AD-1136052.2	gsgsguuuGfuUfUfGfuuucauuucu L96	814	asGfsaaaUfgaaaciaAfcAfaacccsusg	1173	CAGGGUUUGUUUGU UUCAUUUCC	1532
AD-1136053.2	gsgsuuugUfuUfGfUfuucauuuccu L96	815	asGfsgaaAfugaaiaAfaCfaaacscsu	1174	AGGGUUUGUUUGUU UCAUUUCCG	1533
AD-1297629.1	gsusuuguUfuGfUfUfucuuuccgu L96	2088	asCfsggaAfaugaaAfaAfcaaacscsc	2212	GGGUUUGUUUGUUU CAUUUCCGC	2336
AD-1297630.1	ususuguUfgUfUfUfcuuuccgcu L96	2089	asGfscggAfaugaaaCfaAfaciaascsc	2213	GGUUUGUUUGUUUC AUUUCCGCU	2337
AD-1136054.2	ususguuuGfuUfUfCfauuuccgcuu L96	816	asAfsgcgGfaaugaaAfcAfaacaasasc	1175	GUUUGUUUGUUUCA UUUCCGCUG	1534
AD-1297631.1	usgsuuugUfuUfCfAfuuuccgcugu L96	2090	asCfsagcGfgaaugaAfaCfaaacasasa	2214	UUUGUUUGUUUCAU UCCGCUGA	2338
AD-1297632.1	gsusuuguUfuCfAfUfuuccgcugau L96	2091	asUfscadGc(G2p)gaaugAfaAfcaaacsa sa	2215	UUGUUUGUUUCAUU UCCGCUGAU	2339

AD-1297633.1	ususuguuUfcAfUfUfccgcugauu L96	2092	asAfsucdAg(C2p)ggaaauGfaAfacaaasc sa	2216	UGUUUGUUUCAUUU CCGCUGAUG	2340
AD-1297634.1	ususguuuCfaUfUfUfccgcugaugu L96	2093	asCfsaudCa(G2p)cggaaaUfgAfaacaasa sc	2217	GUUUGUUUCAUUUC CGCUGAUGA	2341
AD-1297635.1	usgsuuucAfuUfUfCfcgcugaugau L96	2094	asUfscadTc(Agn)gcggaaAfuGfaaacasa sa	2218	UUUGUUUCAUUUCC GCUGAUGAU	2342
AD-1297636.1	gsusuucaUfuUfCfCfcgcugaugauu L96	2095	asAfsucdAu(C2p)agcggaAfaUfgaaacsa sa	2219	UUGUUUCAUUUCCG CUGAUGAUG	2343
AD-1297637.1	ususucauUfuCfCfGfcugaugaugu L96	2096	asCfsaucAfucagcggAfaAfugaaascsa	2220	UGUUUCAUUUCCGC UGAUGAUGU	2344
AD-1297638.1	gsgsagauGfgAfGfCfucuuuguguu L96	2097	asAfsacAfaagagcuCfCfucuccscsc	2221	GGGAGAUGGAGCU CUUUGUGUC	2345
AD-1297639.1	gsasgaugGfaGfCfUfcuuugugucu L96	2098	asGfsacaCfaagagcUfcCfaucuscsc	2222	GGGAGAUGGAGCUC UUUGUGUCU	2346
AD-1297640.1	asgsauggAfgCfUfCfuugugucuu L96	2099	asAfsgadCa(C2p)aaagagCfuCfaucusc sc	2223	GGAGAUGGAGCUCU UUGUGUCUA	2347
AD-1297641.1	gsasuggaGfcUfCfUfuugugucua L96	2100	asUfsagdAc(Agn)caaagaGfcUfccaucsu sc	2224	GAGAUGGAGCUCUU UGUGUCUAC	2348
AD-1297642.1	asusggagCfuCfUfUfugugucuacu L96	2101	asGfsuadGa(C2p)acaaagAfgCfuccausc su	2225	AGAUGGAGCUCUUU GUGUCUACA	2349
AD-1297643.1	usgsgagcUfcUfUfUfgugucuacau L96	2102	asUfsgudAg(Agn)cacaaaGfaGfcuccasu sc	2226	GAUGGAGCUCUUUG UGUCUACAC	2350

AD-1297644.1	gsgsagcuCfuUfUfGfugucuacacu L96	2103	asGfsugdTa(G2p)acacaaAfgAfgcuccsa su	2227	AUGGAGCUCUUUGU GUCUACACA	2351
AD-1297645.1	gsasgcucUfuUfGfUfgucuacacau L96	2104	asUfsgudGu(Agn)gacacaAfaGfagcusc sa	2228	UGGAGCUCUUUGUG UCUACACAG	2352
AD-1136073.2	asgscucuUfuGfUfGfucuacacagu L96	835	asCfsugdTg(Tgn)agacacAfaAfgagcusc sc	1194	GGAGCUCUUUGUGU CUACACAGA	1553
AD-1136074.2	gscsucuuUfgUfGfUfcuacacagau L96	836	asUfscudGu(G2p)uagacaCfaAfagagcsu sc	1195	GAGCUCUUUGUGUC UACACAGAA	1554
AD-1136075.2	csuscuuuGfuGfUfCfuacacagaau L96	837	asUfsudTg(Tgn)guagacAfcAfaagagsc su	1196	AGCUCUUUGUGUCU ACACAGAAC	1555
AD-1136076.2	uscsuuugUfgUfCfUfacacagaacu L96	838	asGfsuudCu(G2p)uguagaCfaCfaaagag sc	1197	GCUCUUUGUGUCUA CACAGAACA	1556
AD-1136077.2	csusuuguGfuCfUfAfcacagaacau L96	839	asUfsgudTc(Tgn)guguagAfcAfcaaagsa sg	1198	CUCUUUGUGUCUAC ACAGAACAC	1557
AD-1136078.2	ususugugUfcUfAfCfacagaacacu L96	840	asGfsugdTu(C2p)uguguaGfaCfacaaasg sa	1199	UCUUUGUGUCUACA CAGAACACC	1558
AD-1297646.1	ususguguCfuAfCfAfcagaacaccu L96	2105	asGfsgudGu(Tgn)cuguguAfgAfcacaasa sg	2229	CUUUGUGUCUACAC AGAACACCA	2353
AD-1297647.1	usgsugucUfaCfAfCfagaacaccauL 96	2106	asUfsggdTg(Tgn)ucugugUfaGfacacasa sa	2230	UUUGUGUCUACACA GAACACCAU	2354
AD-1297648.1	gsusgucuAfcAfCfAfgaacaccauu L96	2107	asAfsugdGu(G2p)uucuguGfuAfgacacs asa	2231	UUGUGUCUACACAG AACACCAUG	2355

AD-1297649.1	usgsucuaCfaCfAfGfaacaccauguL 96	2108	asCfsaudGg(Tgn)guucugUfgUfagacasc sa	2232	UGUGUCUACACAGA ACACCAUGA	2356
AD-1297650.1	gsuscuacAfcAfGfAfacaccaugau L96	2109	asUfscadTg(G2p)uguucuGfuGfuagacsa sc	2233	GUGUCUACACAGAA CACCAUGAA	2357
AD-1297651.1	uscsuacaCfaGfAfAfcaccaugaauL 96	2110	asUfsucdAu(G2p)guguucUfgUfguagas csa	2234	UGUCUACACAGAAC ACCAUGAAG	2358
AD-1297652.1	csusacacAfgAfAfCfaccaugaaguL 96	2111	asCfsuucAfugguguuCfuGfuguagsasc	2235	GUCUACACAGAACA CCAUGAAGA	2359
AD-1297653.1	usascacaGfaAfCfAfccaugaagauL 96	2112	asUfscudTc(Agn)ugguguUfcUfguguas gsa	2236	UCUACACAGAACAC CAUGAAGAC	2360
AD-1297654.1	gsgsgaacAfcCfCfAfggaucucucu L96	2113	asGfsagdAg(Agn)uccuggGfuGfuucccs csa	2237	UGGGGAACACCCAG GAUCUCUCU	2361
AD-1297655.1	gsgsaacaCfcCfAfGfgaucucucuu L96	2114	asAfsgadGa(G2p)auccugGfgUfguuccsc sc	2238	GGGGAACACCCAGG AUCUCUCUC	2362
AD-1297656.1	gsasacacCfcAfGfGfaucucucucuL 96	2115	asGfsagdAg(Agn)gauccuGfgGfuguucs csc	2239	GGGAACACCCAGGA UCUCUCUCA	2363
AD-1297657.1	asascaccCfaGfGfAfucucucucauL 96	2116	asUfsgadGa(G2p)agauccUfgGfguguus csc	2240	GGAACACCCAGGAU CUCUCUCAG	2364
AD-1297658.1	ascsaccAfgGfAfUfcucucucagu L96	2117	asCfsugaGfagagaucCfuGfggugususc	2241	GAACACCCAGGAUC UCUCUCAGA	2365
AD-1297659.1	csascccaGfgAfUfCfucucucagauL 96	2118	asUfscudGa(G2p)agagauCfcUfgggugs usu	2242	AACACCCAGGAUCU CUCUCAGAG	2366

AD-1297660.1	ascscagGfaUfCfUfcucucagaguL96	2119	asCfsucdTg(Agn)gagagaUfcCfugggusg su	2243	ACACCCAGGAUCUC UCUCAGAGU	2367
AD-1297661.1	cscscaggAfuCfUfCfucucagaguuL96	2120	asAfsucdCu(G2p)agagagAfuCfcugggs usg	2244	CACCCAGGAUCUCU CUCAGAGUA	2368
AD-1297662.1	cscsaggaUfcUfCfUfcucagaguauL96	2121	asUfsacdTc(Tgn)gagagaGfaUfccuggsg su	2245	ACCCAGGAUCUCUC UCAGAGUAU	2369
AD-1297663.1	csasggauCfuCfUfCfucagaguauuL96	2122	asAfsuadCu(C2p)ugagagAfgAfuccugs gsg	2246	CCCAGGAUCUCUCU CAGAGUAUU	2370
AD-1136082.2	asgsgaucUfcUfCfUfcagaguauuuL96	844	asAfsaudAc(Tgn)cugagaGfaGfauccusg sg	1203	CCAGGAUCUCUCUC AGAGUAUUA	1562
AD-1136083.2	gsgsaucUfcUfCfUfcagaguauuuL96	845	asUfsaadTa(C2p)ucugagAfgAfgauccsu sg	1204	CAGGAUCUCUCUCA GAGUAUUAU	1563
AD-1136084.2	gsasucucUfcUfCfAfgaguauuuuL96	846	asAfsuaaUfacucugaGfaGfagaucscsu	1205	AGGAUCUCUCUCAG AGUAUUAUG	1564
AD-1136085.2	asuscucuCfuCfAfGfaguauuuauL96	847	asCfsauaAfuacucugAfgAfgagauscsc	1206	GGAUCUCUCUCAGA GUAUUAUGG	1565
AD-1136086.2	uscsucucUfcAfGfAfguauuuauL96	848	asCfscAuAfaucucuGfaGfagagasusc	1207	GAUCUCUCUCAGAG UAUUAUGGA	1566
AD-1136087.2	csuscucuCfaGfAfGfuauuuauL96	849	asUfscCaUfaauacucUfgAfgagagsasu	1208	AUCUCUCUCAGAGU AUUAUGGAA	1567
AD-1136088.2	uscsucucAfgAfGfUfaauuauL96	850	asUfsuccAfuauacuCfuGfagagasgsa	1209	UCUCUCUCAGAGUA UUAUGGAAC	1568

AD-1136089.2	csuscucaGfaGfUfAfuauggaacu L96	851	asGfsuudCc(Agn)uaauacUfcUfgagagsa sg	1210	CUCUCUCAGAGUAU UAUGGAACG	1569
AD-1136090.2	uscsucagAfgUfAfUfuauggaacgu L96	852	asCfsguuCfcauaauaCfuCfugagasgsa	1211	UCUCUCAGAGUAUU AUGGAACGA	1570
AD-1297664.1	csuscagaGfuAfUfUfauggaacgau L96	2123	asUfscgdTu(C2p)cauaauAfcUfcugagsa sg	2247	CUCUCAGAGUAUUA UGGAACGAG	2371
AD-1136091.2	uscsagagUfaUfUfAfuggaacgagu L96	853	asCfsucgUfuccauaaUfaCfucugasgsa	1212	UCUCAGAGUAUUUAU GGAACGAGC	1571
AD-1136092.2	csasgaguAfuUfAfUfggaacgagcu L96	854	asGfscucGfuuccauaAfuAfcucugsasg	1213	CUCAGAGUAUUUAUG GAACGAGCU	1572
AD-1297665.1	asgsaguaUfuAfUfGfgaacgagcuu L96	2124	asAfsgcdTc(G2p)uuccauAfaUfacucusg sa	2248	UCAGAGUAUUUAUGG AACGAGCUU	2372
AD-1297666.1	gsasguauUfaUfGfGfaacgagcuuu L96	2125	asAfsagdCu(C2p)guuccaUfaAfuacucusu sg	2249	CAGAGUAUUUAUGGA ACGAGCUUU	2373
AD-1297667.1	asgsuauuAfuGfGfAfacgagcuuuu L96	2126	asAfsaadGc(Tgn)cguuccAfuAfauacusc su	2250	AGAGUAUUUAUGGAA CGAGCUUUA	2374
AD-1297668.1	gsusauuaUfgGfAfAfcgagcuuuau L96	2127	asUfsaadAg(C2p)ucguucCfaUfaauacsu sc	2251	GAGUAUUUAUGGAAC GAGCUUUUAU	2375
AD-1297669.1	usasuuauGfgAfAfCfagagcuuuauu L96	2128	asAfsuadAa(G2p)cucguuCfcAfuaauasc su	2252	AGUAUUUAUGGAACG AGCUUUUAU	2376
AD-1297670.1	asusuaugGfaAfCfGfagcuuuuuu L96	2129	asAfsauaAfagcucguUfcCfauaausasc	2253	GUAUUUAUGGAACGA GCUUUUAUC	2377

AD-1297671.1	ususauggAfaCfGfAfgcuuuauucu L96	2130	asGfsaauAfaagcucgUfuCfcauaasusa	2254	UAUUAUGGAACGAG CUUUAUUCC	2378
AD-1297672.1	usasuggaAfcGfAfGfcuuuauuccu L96	2131	asGfsgaaUfaaagcucGfuUfccauasasu	2255	AUUAUGGAACGAGC UUUAUUCCA	2379
AD-1297673.1	csuscuucCfuGfGfCfugcuucuaau L96	2132	asAfsuagAfacgagccAfgGfaagagsgsg	2256	CCCUCUUCCUGGCU GCUUCUAUC	2380
AD-1297674.1	uscsuuccUfgGfCfUfgcuucuaucu L96	2133	asGfsaudAg(Agn)agcagcCfaGfgaagasg sg	2257	CCUCUUCCUGGCUG CUUCUAUCU	2381
AD-1297675.1	csusuccuGfgCfUfGfucuucuaucuu L96	2134	asAfsgauAfgaagcagCfcAfggaagsasg	2258	CUCUUCCUGGCUGC UUCUAUCUU	2382
AD-1136159.2	ususccugGfcUfGfCfuucuaucuuu L96	920	asAfsagaUfagaagcaGfcCfaggaasgsa	1279	UCUUCCUGGCUGCU UCUAUCUUC	1638
AD-1136160.2	uscscuggCfuGfCfUfucuaucuuu L96	921	asGfsaagAfuagaagcAfgCfcaggasasg	1280	CUUCCUGGCUGCUU CUAUCUUCU	1639
AD-1136161.2	cscsuggcUfgCfUfUfcuaucuuu L96	922	asAfsгааGfauagaagCfaGfccaggsasa	1281	UUCCUGGCUGCUUC UAUCUUCUU	1640
AD-1136162.2	csusggcuGfcUfUfCfuaucuuuuu L96	923	asAfsagaAfgauagaaGfcAfgccagsgsa	1282	UCCUGGCUGCUUCU AUCUUCUUU	1641
AD-1136163.2	usgsgcugCfuUfCfUfauucuuuuu L96	924	asAfsaagAfacauagaAfgCfagccasgsg	1283	CCUGGCUGCUUCUA UCUUCUUUG	1642
AD-1297676.1	gsgscugcUfuCfUfAfucuucuuugu L96	2135	asCfsaaaGfaagauagAfaGfcagccsasg	2259	CUGGCUGCUUCUAU CUUCUUUGC	2383

AD-1136164.2	gscsugcuUfcUfAfUfcuucuugcu L96	925	asGfscaaAfgaagauaGfaAfgcagcscsa	1284	UGGCUGCUUCUAUC UUCUUUGCC	1643
AD-1136165.2	csusgcuuCfuAfUfCfuucuugccu L96	926	asGfsgcaAfagaagauAfgAfagcagscsc	1285	GGCUGCUUCUAUCU UCUUUGCCA	1644
AD-1136166.2	usgsuucUfaUfCfUfucuuugccau L96	927	asUfsggdCa(Agn)agaagaUfaGfaagcasg sc	1286	GCUGCUUCUAUCUU CUUUGCCAU	1645
AD-1136167.2	gscsuucUfuCfUfUfcuuugccauu L96	928	asAfsugdGc(Agn)aagaagAfuAfgaagcsa sg	1287	CUGCUUCUAUCUUC UUUGCCAUC	1646
AD-1136168.2	csusucuaUfcUfUfCfuugccaucu L96	929	asGfsaudGg(C2p)aaagaaGfaUfagaagsc sa	1288	UGCUUCUAUCUUCU UUGCCAUCA	1647
AD-1136169.2	ususcuauCfuUfCfUfuugccaucu L96	930	asUfsgadTg(G2p)caaagaAfgAfuagaasg sc	1289	GCUUCUAUCUUCUU UGCCAUCAA	1648
AD-1136170.2	uscsuauCfuUfUfUfugccaucaau L96	931	asUfsugdAu(G2p)gcaaagAfaGfauagasa sg	1290	CUUCUAUCUUCUUU GCCAUCAAA	1649
AD-1136171.2	csusaucUfcUfUfUfgccaucaau L96	932	asUfsuudGa(Tgn)ggcaaaGfaAfgauagsa sa	1291	UUCUAUCUUCUUUG CCAUCAAAG	1650
AD-1136172.2	usasucuuCfuUfUfGfccaucaaaagu L96	933	asCfsuuuGfauggcaaAfgAfagauasgsa	1292	UCUAUCUUCUUUGC CAUCAAAGA	1651
AD-1136173.2	asuscuucUfuUfGfCfcucaaagau L96	934	asUfscudTu(G2p)auggcaAfaGfaagausa sg	1293	CUAUCUUCUUUGCC AUCAAAGAU	1652
AD-1297677.1	uscsuucUfuGfCfCfaucaaagauu L96	2136	asAfsucuUfugauggcAfaAfgaagasusa	2260	UAUCUUCUUUGCCA UCAAAGAUG	2384

AD-1136174.2	csusucuuUfgCfCfAfucaaagaugu L96	935	asCfsaucUfuugauggCfaAfagaagsasu	1294	AUCUUCUUUGCCAU CAAAGAUGC	1653
AD-1297678.1	ususcuuuGfcCfAfUfcaaagaugcu L96	2137	asGfscadTc(Tgn)uugaugGfcAfaagaasg sa	2261	UCUUCUUUGCCAUC AAAGAUGCC	2385
AD-1297679.1	uscsuuugCfcAfUfCfaaagaugccu L96	2138	asGfsgcdAu(C2p)uuugauGfgCfaaagasa sg	2262	CUUCUUUGCCAUCA AAGAUGCCA	2386
AD-1297680.1	csusuugcCfaUfCfAfaagaugccau L96	2139	asUfsggdCa(Tgn)cuuugaUfgGfcaaagsa sa	2263	UUCUUUGCCAUCAA AGAUGCCAU	2387
AD-1297681.1	ususugccAfuCfAfAfagaugccauu L96	2140	asAfsugdGc(Agn)ucuuugAfuGfgcaaas gsa	2264	UCUUUGCCAUCAAA GAUGCCAUC	2388
AD-1297682.1	usugccaUfcAfAfAfagaugccaucu L96	2141	asGfsaudGg(C2p)aucuuuGfaUfggcaasa sg	2265	CUUUGCCAUCAAAG AUGCCAUC	2389
AD-1297683.1	usgsccauCfaAfAfGfaugccaucu L96	2142	asGfsgadTg(G2p)caucuuUfgAfuggcasa sa	2266	UUUGCCAUCAAAGA UGCCAUCCG	2390
AD-1297684.1	gscscaucAfaAfGfAfugccaucu L96	2143	asCfsggaUfggcaucuUfuGfauggcsasa	2267	UUGCCAUCAAAGAU GCCAUCCGU	2391
AD-1297685.1	asasaccaAfuGfAfAfcagcaaagcuL 96	2144	asGfscudTu(G2p)cuguucAfuUfgguuus gsa	2268	UCAAACCAAUGAAC AGCAAAGCA	2392
AD-1297686.1	asasccaaUfgAfAfCfagcaaagcauL 96	2145	asUfsgcdTu(Tgn)gcuguuCfaUfugguusu sg	2269	CAAACCAAUGAACA GCAAAGCAU	2393
AD-1297687.1	ascscaaUGfaAfCfAfgcaaagcauuL 96	2146	asAfsugdCu(Tgn)ugcuguUfcAfuuggus usu	2270	AAACCAAUGAACAG CAAAGCAUA	2394

AD-1297688.1	cscsaaugAfaCfAfGfcaaagcauauL 96	2147	asUfsaudGc(Tgn)uugcugUfuCfauuggs usu	2271	AACCAAUGAACAGC AAAGCAUAA	2395
AD-1297689.1	csasaugaAfcAfGfCfaagcauaauL 96	2148	asUfsuadTg(C2p)uuugcuGfuUfcuuggs gsu	2272	ACCAAUGAACAGCA AAGCAUAAC	2396
AD-1297690.1	asasugaaCfaGfCfAfaagcauaacuL 96	2149	asGfsuudAu(G2p)cuuugcUfgUfucuuus gsg	2273	CCAAUGAACAGCAA AGCAUAACC	2397
AD-1297691.1	asusgaacAfgCfAfAfagcauaaccuL 96	2150	asGfsgudTa(Tgn)gcuuugCfuGfuucausu sg	2274	CAAUGAACAGCAAA GCAUAACCU	2398
AD-1297692.1	usgsaacaGfcAfAfAfgcauaaccuu L96	2151	asAfsggUfaugcuuuGfcUfguucasusu	2275	AAUGAACAGCAAAG CAUAACCUU	2399
AD-1136221.2	gsasacagCfaAfAfGfcauaaccuuuL 96	982	asAfsaggUfuaugcuUfgCfuguucasu	1341	AUGAACAGCAAAGC AUAACCUUG	1700
AD-1136222.2	asascagcAfaAfGfCfauaaccuuguL 96	983	asCfsaadGg(Tgn)uugcuUfuGfcuguusc sa	1342	UGAACAGCAAAGCA UAACCUUGA	1701
AD-1297693.1	asc sagcaAfaGfCfAfuaaccuugauL 96	2152	asUfscadAg(G2p)uuauugcUfuUfgcugus usc	2276	GAACAGCAAAGCAU AACCUUGAA	2400
AD-1297694.1	csasgcaaAfgCfAfUfaaccuugaauL 96	2153	asUfsucdAa(G2p)guuaugCfuUfugcugs usu	2277	AACAGCAAAGCAUA ACCUUGAAU	2401
AD-1136223.2	asgscaaaGfcAfUfAfaccuugaauu L96	984	asAfsuucAfagguuauGfcUfuugcusgsu	1343	ACAGCAAAGCAUAA CCUUGAAUC	1702
AD-1136224.2	gscsaaagCfaUfAfAfccuugaaucu L96	985	asGfsaudTc(Agn)agguuaUfgCfuugcsu sg	1344	CAGCAAAGCAUAAC CUUGAAUCU	1703

AD-1136225.2	csasaagcAfuAfAfCfcuugaauuu L96	986	asAfsgadTu(C2p)aagguuAfuGfcuuugsc su	1345	AGCAAAGCAUAACC UUGAAUCUA	1704
AD-1297695.1	asasagcaUfaAfCfCfuugaauuuL 96	2154	asUfsagdAu(Tgn)caagguUfaUfgcuuusg sc	2278	GCAAAGCAUAACCU UGAAUCUAU	2402
AD-1297696.1	asasgcauAfaCfCfUfugaauuu L96	2155	asAfsuagAfuucaaggUfuAfugcuusug	2279	CAAAGCAUAACCUU GAAUCUAUA	2403
AD-1297697.1	asgscauaAfcCfUfUfgaauuuL L96	2156	asUfsaudAg(Agn)uucaagGfuUfaugcus usu	2280	AAAGCAUAACCUUG AAUCUAUAC	2404
AD-1136226.2	gscsauaaCfcUfUfGfaauuuL 96	987	asGfsuauAfgauucaGfgUfuaugcsusu	1346	AAGCAUAACCUUGA AUCUAUACU	1705
AD-1136227.2	csasuaacCfuUfGfAfaucuuuu L96	988	asAfsguaUfagauucaAfgGfuuaugscsu	1347	AGCAUAACCUUGAA UCUAUACUC	1706
AD-1136228.2	asusaaccUfuGfAfAfucuuuu L96	989	asGfsaguAfuagauucAfaGfguuauugsc	1348	GCAUAACCUUGAAU CUAUACUCA	1707
AD-1136229.2	usasaccUfgAfAfUfcuuuuL L96	990	asUfsgadGu(Agn)uaguuCfaAfgguuas usg	1349	CAUAACCUUGAAUC UAUACUCAA	1708
AD-1136230.2	asasccuuGfaAfUfCfuauuuL 96	991	asUfsugdAg(Tgn)auagauUfcAfagguusa su	1350	AUAACCUUGAAUCU AUACUCAA	1709
AD-1136231.2	ascscuugAfaUfCfUfauuuL 96	992	asUfsuudGa(G2p)uauagaUfuCfaaggus usa	1351	UAACCUUGAAUCUA UACUCAAU	1710
AD-1136232.2	cscsuugaAfuCfUfAfuuuL L96	993	asAfsuudTg(Agn)guauagAfuUfcaaggs usu	1352	AACCUUGAAUCUAU ACUCAAAU	1711

AD-1297698.1	csusugaaUfcUfAfUfacucaaauuu L96	2157	asAfsaudTu(G2p)aguauaGfaUfucaagsg su	2281	ACCUUGAAUCUAUA CUCAAAUUU	2405
AD-1297699.1	ususgaauCfuAfUfAfcucaaauuuu L96	2158	asAfsaauUfugaguauAfgAfuucaasgsg	2282	CCUUGAAUCUAUAC UCAAUUUU	2406
AD-1297700.1	gsasaucuAfuAfCfUfcaaauuuugu L96	2159	asCfsaaaAfuuuugaguAfuAfgauucsasa	2283	UUGAAUCUAUACUC AAAUUUUGC	2407
AD-1136233.2	asasucuaUfaCfUfCfaaauuuugcu L96	994	asGfscaaAfaauugagUfaUfagauuscsa	1353	UGAAUCUAUACUCA AAUUUUGCA	1712
AD-1136234.2	asuscuauAfcUfCfAfaauuuugcau L96	995	asUfsgcaAfaauuugaGfuAfuagaususc	1354	GAAUCUAUACUCAA AUUUUGCAA	1713
AD-1297701.1	uscsuauaCfuCfAfAfauuuugcaau L96	2160	asUfsugcAfaaauuugAfgUfauagasusu	2284	AAUCUAUACUCAAA UUUUGCAAU	2408
AD-1297702.1	csusauacUfcAfAfAfuuuugcaauu L96	2161	asAfsuudGc(Agn)aaaauuGfaGfuauagsa su	2285	AUCUAUACUCAAAU UUUGCAAUG	2409
AD-1297703.1	usasuacuCfaAfAfUfuuuugcaaugu L96	2162	asCfsaudTg(C2p)aaaauuUfgAfguauasg sa	2286	UCUAUACUCAAAUU UUGCAAUGA	2410
AD-1297704.1	asusacucAfaAfUfUfuugcaaugau L96	2163	asUfscadTu(G2p)caaaauUfuGfaguausa sg	2287	CUAUACUCAAAUUU UGCAAUGAG	2411
AD-1297705.1	usascucaAfaUfUfUfugcaaugagu L96	2164	asCfsucaUfugcaaaaUfuUfgaguasusa	2288	UAUACUCAAAUUUU GCAAUGAGG	2412
AD-1297706.1	ascsucaaAfuUfUfUfgcaaugaggu L96	2165	asCfscucAfuugcaaaAfuUfugagusasu	2289	AUACUCAAAUUUUG CAAUGAGGC	2413

AD-1297707.1	csuscaaaUfuUfUfGfcaaugaggcu L96	2166	asGfscddTc(Agn)uugcaaAfaUfuugagsu sa	2290	UACUCAAAUUUUGC AAUGAGGCA	2414
AD-1297708.1	uscsaaauUfuUfGfCfaaugaggcau L96	2167	asUfsgcdCu(C2p)auugcaAfaAfuugasg su	2291	ACUCAAAUUUUGCA AUGAGGCAG	2415
AD-1297709.1	csasaauuUfuGfCfAfaugaggcagu L96	2168	asCfsugdCc(Tgn)cauugcAfaAfaauugsa sg	2292	CUCAAAUUUUGCAA UGAGGCAGU	2416
AD-1297710.1	asasaauuUfgCfAfAfugaggcaguu L96	2169	asAfscudGc(C2p)ucauugCfaAfaauuug sa	2293	UCAAAUUUUGCAAU GAGGCAGUG	2417
AD-1297711.1	asasuuiuGfcAfAfUfgaggcagugu L96	2170	asCfsacdTg(C2p)cucauuGfcAfaaausu sg	2294	CAAUUUUUGCAAUG AGGCAGUGG	2418
AD-1297712.1	asusuugCfaAfUfGfaggcaguggu L96	2171	asCfscacUfgccucauUfgCfaaaususu	2295	AAAUUUUGCAAUGA GGCAGUGGG	2419
AD-1395794.1	csuscuccaagUfAfUfgaucgucuuL 96	2172	asdAsgadCgdAucaudAcUfuggagagscs g	2296	UGCUCUCCAAGUAU GAUCGUCUG	1476
AD-1395797.1	asgsgaucucUfCfUfcagaguauuuL 96	2173	asdAsaudAc(Tgn)cugadGadGadGaucc usgsg	2297	CCAGGAUCUCUCUC AGAGUAUUA	1562
AD-1395803.1	csasgugaugCfUfCfuccaaguauuL 96	2174	asdAsuadCudTggagdAgCfaucacugsusg	2298	CACAGUGAUGCUCU CCAAGUAUG	2305
AD-1395805.1	cscsaaguauGfAfUfcgucugcaguL 96	2175	asdCsugdCadGacgadTcAfuacuuggsasg	2299	CUCCAAGUAUGAUC GUCUGCAGA	2312
AD-1395807.1	gsusuuguuuCfAfUfuuccgcugauL 96	2176	asdTscadGc(G2p)gaaadTgAfaacaaacsg sg	2300	UUGUUUGUUUCAUU UCCGCUGAU	2339

AD-1395811.1	asascaccaGfGfAfucucucucauL9 6	2177	asdTsgadGa(G2p)agaudCcUfggguguus csc	2301	GGAACACCCAGGAU CUCUCUCAG	2364
AD-1395816.1	gsgsguuuguUfudGUfucauuucu L96	2178	asdGsaadAudGaaacdAaAfcaaaccsusg	2302	CAGGGUUUGUUUGU UUCAUUUCC	1532
AD-1395823.1	gsasguauuuCfUfCfagcauucuuL 96	2179	asdTsugdAadTgcugdAgAfaauacucscsc	2303	GGGAGUAUUUCUCA GCAUUCAAG	1519

Таблица 8. Скрининги однократной дозы дцРНК-средств против ксантиндегидрогеназы *in vitro* в первичных гепатоцитах человека

ID дуплекса	РНК							
	500 нМ		100 нМ		10 нМ		0,1 нМ	
	% средней оставше йся мРНК	STD EV	% средней оставше йся мРНК	STD EV	% средней оставше йся мРНК	STD EV	% средней оставше йся мРНК	STD EV
AD- 1135990.2	69,5	32,5	49,2	13,7	87,8	12,8	68,7	9,1
AD- 1135991.2	36,5	5,0	47,2	4,8	73,1	16,7	85,6	18,1
AD- 1297597.1	34,7	7,4	36,6	15,2	80,0	23,2	76,5	5,6
AD- 1297598.1	29,7	8,7	37,2	5,8	65,1	13,4	51,9	27,4
AD- 1297599.1	47,9	15,5	59,7	6,3	110,0	22,3	74,3	23,6
AD- 1297600.1	37,7	11,6	60,6	5,6	87,2	4,5	67,7	15,9
AD- 1297601.1	43,3	7,9	61,2	19,4	91,8	11,2	93,9	12,0
AD- 1135992.2	34,0	6,5	31,7	16,9	64,5	31,3	90,8	26,9
AD- 1135993.2	54,4	5,9	60,8	13,9	107,4	31,0	111,3	5,6
AD- 1135994.2	84,8	8,6	95,6	8,2	109,1	15,8	119,7	11,0
AD- 1135995.2	59,0	4,3	75,2	14,3	94,9	26,1	95,8	15,0
AD- 1135996.2	31,1	4,3	50,8	7,1	63,5	16,7	80,2	21,7
AD- 1297602.1	74,7	7,3	73,2	12,7	104,5	7,3	84,3	21,0

AD-1297603.1	91,4	9,7	142,7	74,0	117,3	17,7	110,9	14,0
AD-1297604.1	50,1	10,9	57,4	8,8	95,0	29,8	120,8	28,8
AD-1297605.1	30,8	4,7	35,7	25,5	86,0	26,2	140,8	33,5
AD-1297606.1	86,7	18,6	68,4	12,6	85,1	7,2	89,8	6,6
AD-1297607.1	47,3	3,0	56,6	18,7	70,1	7,6	103,3	8,5
AD-1297608.1	47,2	7,7	49,6	10,5	65,7	9,5	84,7	20,3
AD-1297609.1	63,2	6,4	61,0	7,5	96,6	16,7	112,8	22,7
AD-1297610.1	60,3	9,7	78,9	10,5	104,7	12,3	118,0	17,4
AD-1297611.1	65,7	14,9	70,0	9,6	88,0	10,6	116,1	13,8
AD-1136037.2	35,8	3,7	27,7	7,9	78,2	13,9	138,3	0,0
AD-1136038.2	37,6	1,1	26,3	10,8	77,8	8,7	86,1	27,4
AD-1136039.2	42,2	7,7	75,4	8,1	88,3	9,9	96,2	22,8
AD-1136040.2	63,0	9,8	89,8	7,8	86,4	21,0	89,9	11,6
AD-1136041.2	83,0	16,4	70,0	21,5	105,9	21,4	98,7	5,0
AD-1297612.1	84,2	17,1	83,6	5,9	106,2	14,6	103,2	7,8
AD-1297613.1	52,7	20,3	89,6	28,1	97,3	15,1	85,6	12,9
AD-1297614.1	72,6	14,9	70,6	30,7	74,5	17,3	96,5	12,5

AD- 1297615.1	73,9	6,0	94,3	31,6	96,2	10,0	113,8	37,2
AD- 1297616.1	69,5	12,7	89,8	4,4	103,9	23,4	102,4	31,5
AD- 1297617.1	62,5	17,7	53,4	8,0	79,5	9,8	87,2	5,8
AD- 1297618.1	48,2	0,0	76,0	12,7	106,7	35,5	81,6	10,8
AD- 1297619.1	90,3	21,9	81,4	9,4	106,3	14,9	96,6	24,9
AD- 1297620.1	48,1	11,5	47,7	4,6	90,3	28,9	111,2	26,6
AD- 1297621.1	43,9	12,6	54,0	12,5	88,6	18,3	84,4	20,6
AD- 1297622.1	52,2	17,4	65,1	23,1	103,5	8,3	105,1	25,5
AD- 1297623.1	79,5	3,9	78,2	21,8	107,4	6,1	107,4	14,9
AD- 1297624.1	46,9	22,9	66,8	22,5	94,6	10,2	102,2	24,4
AD- 1297625.1	71,6	25,9	88,4	16,0	84,4	34,9	110,2	31,1
AD- 1297626.1	74,1	21,9	61,7	12,1	89,4	14,6	98,4	13,2
AD- 1136050.2	47,9	27,7	62,8	27,3	89,2	16,2	102,8	34,7
AD- 1297627.1	42,7	21,0	43,9	10,8	90,9	28,5	112,4	29,7
AD- 1297628.1	27,2	2,8	40,3	11,7	63,8	22,0	73,5	28,0
AD- 1136051.2	37,4	5,3	44,9	12,0	45,0	11,8	91,8	11,6
AD- 1136052.2	41,2	10,0	44,4	11,2	76,3	4,5	70,5	28,6

AD-1136053.2	38,7	7,0	68,6	8,4	82,4	38,3	129,7	35,5
AD-1297629.1	53,8	17,9	57,9	11,7	89,1	15,3	137,6	34,8
AD-1297630.1	58,7	23,3	85,6	17,4	96,6	21,8	70,5	33,0
AD-1136054.2	53,3	22,5	62,8	10,3	85,7	25,7	107,7	24,2
AD-1297631.1	48,2	15,8	80,4	15,6	107,1	16,3	110,5	25,1
AD-1297632.1	42,1	7,2	43,0	10,0	96,2	9,7	103,3	1,0
AD-1297633.1	43,2	8,9	90,4	11,0	96,5	20,0	93,0	6,0
AD-1297634.1	54,6	15,4	88,7	21,6	85,9	16,7	106,6	12,6
AD-1297635.1	67,7	14,5	74,6	16,9	102,2	24,8	84,7	26,6
AD-1297636.1	80,8	15,9	93,2	14,2	106,6	23,4	120,7	34,7
AD-1297637.1	40,7	4,8	73,3	18,4	72,2	11,8	105,2	17,1
AD-1297638.1	79,9	14,7	98,6	15,9	120,9	20,9	97,7	31,5
AD-1297639.1	41,6	9,7	84,5	15,6	107,2	11,6	128,2	9,5
AD-1297640.1	82,8	18,5	82,7	23,1	97,3	15,4	199,9	12,3
AD-1297641.1	74,2	6,0	90,5	31,3	92,7	6,3	101,5	20,7
AD-1297642.1	50,8	13,4	87,0	13,3	82,3	6,7	101,5	15,8
AD-1297643.1	44,1	6,1	79,7	n/a	102,6	15,2	120,1	24,2

AD-1297644.1	73,8	19,0	87,5	23,9	80,4	22,3	99,8	36,1
AD-1297645.1	80,8	26,6	100,5	15,6	92,8	31,6	103,2	15,6
AD-1136073.2	54,6	20,8	125,2	25,4	135,6	21,5	114,8	14,6
AD-1136074.2	72,1	n/a	79,6	7,4	88,6	19,7	129,9	3,6
AD-1136075.2	38,2	9,0	52,3	15,5	90,8	28,0	76,2	15,0
AD-1136076.2	82,6	15,6	114,4	55,2	116,3	29,6	116,6	26,6
AD-1136077.2	58,6	19,5	72,0	8,4	82,5	19,2	102,0	33,4
AD-1136078.2	86,7	5,2	129,5	18,3	118,8	14,8	108,6	19,1
AD-1297646.1	69,8	17,8	123,8	58,6	93,4	10,9	137,9	28,8
AD-1297647.1	58,3	9,4	56,0	16,9	122,6	18,1	119,8	18,6
AD-1297648.1	86,3	12,5	90,3	0,0	95,0	23,8	140,1	35,6
AD-1297649.1	42,0	13,5	70,2	14,8	92,5	15,1	90,3	4,5
AD-1297650.1	68,8	6,7	80,5	18,9	103,1	8,2	121,7	8,8
AD-1297651.1	68,3	5,8	99,0	28,3	73,4	14,4	105,5	22,0
AD-1297652.1	99,0	30,9	109,3	18,4	111,7	25,7	103,6	8,6
AD-1297653.1	53,3	15,2	88,9	62,0	111,2	27,5	95,2	16,1
AD-1297654.1	126,3	16,6	110,5	19,0	105,7	10,3	91,4	8,1

AD-1297655.1	116,3	11,7	124,4	22,3	87,0	8,5	126,4	11,7
AD-1297656.1	83,3	14,8	65,2	6,7	101,1	18,3	90,7	18,0
AD-1297657.1	22,0	8,2	51,6	49,2	62,9	8,9	107,5	30,9
AD-1297658.1	71,1	3,5	78,2	14,6	103,9	10,2	106,4	11,4
AD-1297659.1	63,9	18,4	73,0	22,4	89,1	10,1	95,7	18,8
AD-1297660.1	54,6	13,9	70,9	44,2	101,9	19,1	90,4	19,2
AD-1297661.1	67,9	35,5	61,7	14,7	91,0	23,6	81,0	33,3
AD-1297662.1	74,3	15,3	69,9	16,7	97,1	21,9	79,0	19,9
AD-1297663.1	77,0	24,1	36,6	7,8	85,9	25,6	103,4	7,0
AD-1136082.2	57,0	0,6	65,1	13,3	47,7	8,6	n/d	n/d
AD-1136083.2	82,2	8,9	76,8	26,0	41,1	19,0	n/d	n/d
AD-1136084.2	81,8	7,2	87,4	13,5	50,2	8,6	n/d	n/d
AD-1136085.2	98,6	21,4	102,9	38,2	75,8	30,0	n/d	n/d
AD-1136086.2	91,7	33,5	102,1	10,8	67,5	8,4	n/d	n/d
AD-1136087.2	87,2	23,0	63,5	1,9	54,8	12,9	n/d	n/d
AD-1136088.2	99,5	11,4	73,3	24,0	69,1	7,2	n/d	n/d
AD-1136089.2	87,8	11,4	96,4	43,3	57,6	18,6	n/d	n/d

AD-1136090.2	101,3	15,8	116,1	14,8	74,6	20,4	n/d	n/d
AD-1297664.1	73,8	12,3	84,0	6,5	65,7	3,8	n/d	n/d
AD-1136091.2	52,3	14,5	58,2	11,3	55,3	15,3	n/d	n/d
AD-1136092.2	62,4	6,9	71,3	10,6	55,6	26,6	n/d	n/d
AD-1297665.1	62,9	10,6	75,5	6,9	62,1	11,5	n/d	n/d
AD-1297666.1	54,8	13,8	59,6	15,2	51,1	7,3	n/d	n/d
AD-1297667.1	65,8	5,0	66,6	24,9	63,3	14,4	n/d	n/d
AD-1297668.1	66,2	10,2	68,8	3,7	54,6	15,8	n/d	n/d
AD-1297669.1	73,4	9,4	72,2	2,5	65,9	13,6	n/d	n/d
AD-1297670.1	57,1	7,3	73,4	19,6	61,2	8,5	n/d	n/d
AD-1297671.1	63,1	13,1	94,9	24,4	88,0	6,3	n/d	n/d
AD-1297672.1	123,7	12,5	124,9	10,9	101,4	27,4	n/d	n/d
AD-1297673.1	60,0	10,8	66,5	4,4	71,3	16,0	n/d	n/d
AD-1297674.1	96,2	26,1	111,6	8,5	110,5	9,5	n/d	n/d
AD-1297675.1	75,1	3,9	95,9	3,3	73,9	48,8	n/d	n/d
AD-1136159.2	56,0	6,6	106,5	19,2	55,0	9,8	n/d	n/d
AD-1136160.2	69,8	15,3	84,4	6,2	81,7	8,5	n/d	n/d

AD-1136161.2	75,8	24,6	96,5	20,6	93,1	5,0	n/d	n/d
AD-1136162.2	73,6	8,4	74,9	19,7	76,2	10,7	n/d	n/d
AD-1136163.2	62,4	14,7	86,2	18,7	55,2	20,3	n/d	n/d
AD-1297676.1	59,9	11,9	65,8	22,6	88,1	36,6	n/d	n/d
AD-1136164.2	94,5	11,4	100,5	14,2	92,6	23,3	n/d	n/d
AD-1136165.2	69,2	16,2	71,0	6,2	64,7	9,2	n/d	n/d
AD-1136166.2	47,1	9,8	56,5	21,4	70,8	5,0	n/d	n/d
AD-1136167.2	107,0	14,0	102,6	27,8	86,2	9,9	n/d	n/d
AD-1136168.2	104,9	22,3	86,7	26,5	98,1	15,2	n/d	n/d
AD-1136169.2	64,4	21,6	54,5	16,6	67,6	15,3	n/d	n/d
AD-1136170.2	64,6	14,6	66,7	12,0	80,8	12,9	n/d	n/d
AD-1136171.2	100,8	17,6	111,3	13,2	106,0	21,1	n/d	n/d
AD-1136172.2	72,0	14,2	88,1	23,7	69,4	28,7	n/d	n/d
AD-1136173.2	97,4	26,7	103,0	57,7	78,0	1,1	n/d	n/d
AD-1297677.1	96,1	26,8	106,2	38,5	93,4	26,2	n/d	n/d
AD-1136174.2	75,2	20,0	96,4	10,3	100,4	10,2	n/d	n/d
AD-1297678.1	118,3	19,4	111,5	20,6	103,2	15,4	n/d	n/d

AD- 1297679.1	116,0	12,2	112,6	31,9	111,8	7,4	n/d	n/d
AD- 1297680.1	90,0	27,9	95,8	29,6	105,8	20,4	n/d	n/d
AD- 1297681.1	105,9	13,9	109,2	10,6	111,6	16,4	n/d	n/d
AD- 1297682.1	77,2	14,6	92,4	4,5	76,6	16,7	n/d	n/d
AD- 1297683.1	64,0	14,8	90,5	16,1	71,8	14,7	n/d	n/d
AD- 1297684.1	87,4	2,0	87,7	15,4	71,7	31,3	n/d	n/d
AD- 1297685.1	90,2	15,1	94,3	5,2	113,9	38,3	n/d	n/d
AD- 1297686.1	94,7	9,8	80,8	7,5	117,1	21,2	n/d	n/d
AD- 1297687.1	58,8	11,8	79,6	2,4	106,6	18,3	n/d	n/d
AD- 1297688.1	82,2	5,0	78,0	26,0	78,6	6,3	n/d	n/d
AD- 1297689.1	59,7	21,1	86,7	1,7	74,8	25,1	n/d	n/d
AD- 1297690.1	74,9	26,2	86,5	11,0	74,1	25,1	n/d	n/d
AD- 1297691.1	88,5	22,1	103,7	14,2	90,9	18,6	n/d	n/d
AD- 1297692.1	105,8	21,4	103,4	26,9	86,1	8,3	n/d	n/d
AD- 1136221.2	67,9	32,7	72,6	12,3	100,3	10,7	n/d	n/d
AD- 1136222.2	94,3	12,7	127,7	28,6	93,0	4,6	n/d	n/d
AD- 1297693.1	77,2	25,7	97,6	22,6	113,9	12,6	n/d	n/d

AD-1297694.1	81,4	10,1	109,5	5,5	94,1	9,6	n/d	n/d
AD-1136223.2	64,0	8,4	61,8	21,1	98,3	20,4	n/d	n/d
AD-1136224.2	63,4	2,3	62,9	15,0	67,7	25,1	n/d	n/d
AD-1136225.2	87,1	19,2	92,7	11,0	63,9	14,1	n/d	n/d
AD-1297695.1	80,2	16,5	77,9	3,4	100,9	21,4	n/d	n/d
AD-1297696.1	71,7	12,4	70,7	21,0	90,1	16,0	n/d	n/d
AD-1297697.1	108,1	5,3	89,0	12,7	119,6	13,2	n/d	n/d
AD-1136226.2	92,0	4,1	95,4	29,2	100,4	14,5	n/d	n/d
AD-1136227.2	60,5	15,7	91,0	1,8	74,5	17,4	n/d	n/d
AD-1136228.2	61,2	4,0	77,8	18,6	57,0	13,0	n/d	n/d
AD-1136229.2	78,3	12,0	80,1	8,3	89,1	18,7	n/d	n/d
AD-1136230.2	92,2	19,3	106,9	14,0	82,9	14,7	n/d	n/d
AD-1136231.2	96,9	12,5	85,5	14,0	95,5	14,0	n/d	n/d
AD-1136232.2	79,5	8,3	73,1	24,7	87,6	15,3	n/d	n/d
AD-1297698.1	76,3	7,0	79,1	23,3	101,6	21,5	n/d	n/d
AD-1297699.1	44,5	12,0	67,5	17,5	87,0	19,1	n/d	n/d
AD-1297700.1	86,3	19,6	82,6	19,5	58,2	8,5	n/d	n/d

AD-1136233.2	86,6	14,4	80,5	9,5	73,6	11,6	n/d	n/d
AD-1136234.2	85,4	15,2	77,1	13,1	80,3	17,2	n/d	n/d
AD-1297701.1	79,3	8,4	84,4	14,6	72,0	24,3	n/d	n/d
AD-1297702.1	100,3	3,2	83,1	11,3	95,1	14,0	n/d	n/d
AD-1297703.1	78,0	26,3	117,3	16,3	112,4	34,5	n/d	n/d
AD-1297704.1	85,1	8,4	95,1	24,5	111,8	37,5	n/d	n/d
AD-1297705.1	74,4	17,9	84,1	56,6	103,6	6,6	n/d	n/d
AD-1297706.1	101,6	28,1	68,8	32,4	47,8	6,1	n/d	n/d
AD-1297707.1	94,1	21,1	86,9	8,5	62,1	23,6	n/d	n/d
AD-1297708.1	80,7	18,7	76,0	12,5	82,0	13,4	n/d	n/d
AD-1297709.1	78,1	8,8	74,3	26,0	72,2	18,5	n/d	n/d
AD-1297710.1	68,9	12,3	79,7	20,2	79,0	14,7	n/d	n/d
AD-1297711.1	78,2	17,6	95,3	27,3	72,0	9,0	n/d	n/d
AD-1297712.1	86,2	10,5	88,8	16,4	90,9	26,1	n/d	n/d

Таблица 9. Скрининги однократной дозы диРНК-средств против ксантиндегидрогеназы *in vitro* в первичных гепатоцитах человека

ID дуплекса	РНК			
	500 нМ	100 нМ	10 нМ	0,1 нМ

	% средней оставше йся мРНК	STD EV	% средней оставшей ся мРНК	STDE V	% средней оставше йся мРНК	STDE V	% средней оставше йся мРНК	STD EV
AD-1135990.2	77,7	14,6	46,5	24,5	40,3	26,2	53,9	33,2
AD-1135991.2	60,7	15,3	35,9	16,3	41,1	14,3	75,1	36,6
AD-1297597.1	56,8	25,9	36,9	11,8	72,0	45,0	51,9	24,4
AD-1297598.1	44,7	28,8	69,4	28,7	48,5	26,4	79,8	25,9
AD-1297599.1	83,4	29,1	97,6	37,6	50,7	15,3	78,5	20,8
AD-1297600.1	88,1	21,6	43,5	12,7	45,6	7,3	70,4	21,5
AD-1297601.1	57,5	40,4	46,3	11,3	49,5	9,4	72,6	21,3
AD-1135992.2	50,9	17,5	43,7	6,5	33,5	7,4	38,5	25,0
AD-1135993.2	58,0	16,6	79,5	21,3	63,4	48,2	71,4	39,9
AD-1135994.2	117,8	14,1	81,7	22,1	103,8	30,2	102,9	39,5
AD-1135995.2	131,8	27,0	78,5	22,8	152,4	18,4	120,4	28,1
AD-1135996.2	47,0	16,3	49,9	19,2	115,5	18,3	89,3	22,1
AD-1297602.1	48,7	31,0	106,6	39,7	97,9	27,4	82,2	16,9
AD-1297603.1	108,1	42,1	88,7	18,4	81,5	35,9	72,8	14,8

AD-1297604.1	62,9	36,3	66,1	16,0	69,7	15,9	90,1	9,7
AD-1297605.1	49,1	14,5	45,4	14,3	69,5	44,7	48,9	16,4
AD-1297606.1	74,2	20,6	79,3	13,2	43,3	7,8	63,1	7,3
AD-1297607.1	68,6	35,0	63,8	30,0	44,3	10,3	99,1	19,8
AD-1297608.1	75,7	39,0	85,4	38,0	85,7	21,5	87,4	11,7
AD-1297609.1	114,4	26,2	99,9	35,8	98,8	16,2	95,8	34,8
AD-1297610.1	87,7	8,0	73,1	31,8	72,3	22,7	102,1	23,6
AD-1297611.1	93,5	18,0	71,8	20,5	57,3	26,1	81,0	15,2
AD-1136037.2	53,2	8,0	48,1	22,9	65,4	8,6	52,6	22,2
AD-1136038.2	58,1	25,6	26,4	3,6	37,2	13,9	67,7	21,8
AD-1136039.2	72,8	19,0	54,2	30,3	75,6	28,9	82,3	30,9
AD-1136040.2	122,9	44,6	123,6	56,7	89,2	31,0	67,6	8,7
AD-1136041.2	123,5	38,0	138,3	31,7	85,7	28,1	131,5	22,0
AD-1297612.1	132,7	41,5	137,2	41,0	107,2	34,9	123,0	17,7
AD-1297613.1	73,8	31,3	88,3	31,9	83,8	24,7	98,0	22,7
AD-1297614.1	79,8	12,9	103,4	36,9	67,2	N/A	68,9	30,2
AD-1297615.1	123,9	44,3	94,2	69,5	86,7	40,1	96,3	43,2

AD-1297616.1	106,0	35,0	85,7	41,7	84,4	29,8	112,5	12,9
AD-1297617.1	60,7	22,5	99,8	66,2	85,9	46,1	141,1	32,9
AD-1297618.1	111,7	43,5	135,2	44,2	98,6	46,9	109,9	21,0
AD-1297619.1	110,0	14,8	133,3	29,2	126,3	42,2	120,9	39,1
AD-1297620.1	84,4	26,6	135,3	39,8	91,7	15,7	114,7	15,3
AD-1297621.1	60,2	20,8	77,7	7,4	88,2	32,9	85,4	15,5
AD-1297622.1	77,1	19,3	96,8	29,0	105,2	55,1	69,2	37,5
AD-1297623.1	85,5	40,2	82,6	28,3	148,1	48,2	92,7	42,3
AD-1297624.1	44,0	5,7	61,2	9,0	91,6	1,6	104,6	69,2
AD-1297625.1	117,2	42,9	121,1	41,8	131,3	43,9	120,6	47,1
AD-1297626.1	112,4	26,9	118,6	66,3	134,0	24,6	145,2	41,0
AD-1136050.2	62,9	27,3	74,8	13,0	149,8	50,5	142,6	26,7
AD-1297627.1	95,4	39,7	79,4	26,9	110,3	32,9	129,4	16,4
AD-1297628.1	79,7	27,1	59,1	15,5	68,3	19,3	96,1	16,2
AD-1136051.2	39,1	21,5	34,8	18,9	53,6	49,8	62,8	16,7
AD-1136052.2	77,1	17,9	65,1	44,0	95,6	49,0	98,3	36,1
AD-1136053.2	76,2	40,2	100,9	6,9	108,5	44,0	101,0	11,9

AD- 1297629.1	90,8	46,5	97,0	23,5	108,3	33,9	122,0	41,3
AD- 1297630.1	119,0	29,3	141,6	67,2	151,1	46,4	138,4	32,1
AD- 1136054.2	123,4	8,4	104,4	32,9	117,1	27,4	113,9	15,5
AD- 1297631.1	78,3	9,5	118,5	49,3	127,7	20,5	116,4	36,1
AD- 1297632.1	53,1	10,2	35,8	9,4	93,9	17,2	59,1	19,8
AD- 1297633.1	80,5	31,1	68,3	50,4	102,5	61,9	91,1	8,7
AD- 1297634.1	107,7	25,2	101,7	40,4	112,3	18,7	137,5	36,5
AD- 1297635.1	126,7	22,6	138,4	77,3	142,0	40,9	132,4	15,3
AD- 1297636.1	126,6	23,1	169,9	18,8	157,9	51,9	143,2	13,6
AD- 1297637.1	92,1	39,5	166,8	55,2	131,7	39,1	134,5	44,5
AD- 1297638.1	148,5	15,3	131,7	64,4	142,3	44,7	127,2	11,1
AD- 1297639.1	106,8	43,2	115,6	12,7	152,9	32,2	112,3	14,5
AD- 1297640.1	95,4	33,6	74,2	35,4	80,9	39,9	65,6	24,0
AD- 1297641.1	62,6	40,2	75,2	38,8	101,0	40,2	91,7	35,7
AD- 1297642.1	94,0	27,1	87,7	25,2	107,6	42,4	100,7	26,6
AD- 1297643.1	171,8	19,3	163,5	59,8	148,8	39,6	144,6	47,4
AD- 1297644.1	120,4	27,8	116,4	74,3	159,7	41,0	146,9	35,2

AD-1297645.1	132,7	16,5	124,9	68,2	135,4	47,3	131,8	14,5
AD-1136073.2	107,0	29,3	84,4	19,5	110,2	40,6	87,2	13,5
AD-1136074.2	64,0	37,4	75,5	9,9	77,0	43,9	46,7	17,6
AD-1136075.2	57,4	28,4	55,8	14,3	75,8	54,4	105,1	2,4
AD-1136076.2	134,2	49,0	77,6	41,8	113,1	45,4	129,4	22,5
AD-1136077.2	113,0	39,9	120,7	46,9	137,8	37,8	142,3	14,0
AD-1136078.2	131,8	55,1	178,5	56,6	162,1	67,7	123,9	5,3
AD-1297646.1	93,7	34,8	136,6	47,1	166,9	10,2	131,9	14,5
AD-1297647.1	93,6	35,1	64,8	30,2	114,4	17,8	102,2	31,1
AD-1297648.1	93,2	37,3	71,0	18,1	105,6	16,3	50,9	6,0
AD-1297649.1	42,1	9,3	48,7	24,7	42,6	20,2	53,8	11,5
AD-1297650.1	99,4	15,2	152,2	18,6	135,9	21,5	121,5	16,7
AD-1297651.1	95,1	26,3	108,1	38,1	85,9	24,5	102,8	21,6
AD-1297652.1	154,3	23,3	135,2	52,7	139,4	29,3	132,3	10,5
AD-1297653.1	83,7	34,5	76,3	32,5	138,2	47,7	140,0	10,9
AD-1297654.1	117,1	41,4	71,0	25,4	141,1	68,1	90,2	6,9
AD-1297655.1	86,2	32,0	94,8	23,8	108,4	27,9	83,0	19,5

AD-1297656.1	82,2	45,6	59,4	28,2	75,7	44,5	38,7	16,3
AD-1297657.1	26,2	3,2	23,2	11,8	54,0	51,9	55,2	27,3
AD-1297658.1	72,2	16,6	82,9	48,2	72,9	51,9	84,7	25,9
AD-1297659.1	64,9	27,0	60,3	13,8	91,4	40,8	66,0	24,7
AD-1297660.1	63,0	27,9	98,7	51,5	77,7	69,3	93,3	33,9
AD-1297661.1	39,7	24,5	68,4	30,8	69,3	32,7	93,8	25,5
AD-1297662.1	58,6	25,8	42,1	12,7	48,2	30,1	64,3	16,4
AD-1297663.1	50,3	11,1	24,4	8,9	39,7	19,9	53,4	15,9
AD-1136082.2	16,1	10,8	64,9	27,2	81,5	20,2	81,5	20,2
AD-1136083.2	51,2	13,6	72,2	16,5	102,0	14,1	102,0	14,1
AD-1136084.2	55,5	32,4	98,3	30,3	112,8	22,6	112,8	22,6
AD-1136085.2	57,8	35,2	84,0	23,8	124,3	4,7	124,3	4,7
AD-1136086.2	79,6	24,1	112,1	8,6	92,6	29,1	92,6	29,1
AD-1136087.2	62,4	7,5	80,3	19,8	93,5	13,7	93,5	13,7
AD-1136088.2	64,3	10,4	96,8	8,3	94,2	30,4	94,2	30,4
AD-1136089.2	40,8	31,0	55,3	15,4	88,4	23,2	88,4	23,2
AD-1136090.2	61,4	30,3	131,1	32,5	137,3	33,0	137,3	33,0

AD-1297664.1	96,5	25,0	100,0	21,1	135,0	35,2	135,0	35,2
AD-1136091.2	74,3	29,0	84,0	28,1	95,3	11,3	95,3	11,3
AD-1136092.2	83,0	31,0	66,2	14,4	108,0	7,5	108,0	7,5
AD-1297665.1	62,2	25,2	68,7	20,6	88,4	9,3	88,4	9,3
AD-1297666.1	51,2	13,0	47,1	7,5	78,9	12,0	78,9	12,0
AD-1297667.1	55,4	18,2	67,5	21,1	70,5	10,2	70,5	10,2
AD-1297668.1	50,9	18,1	70,6	15,2	98,5	19,5	98,5	19,5
AD-1297669.1	52,7	18,5	99,2	21,6	103,8	19,6	103,8	19,6
AD-1297670.1	80,5	26,4	88,7	32,0	113,9	8,1	113,9	8,1
AD-1297671.1	71,4	24,3	71,7	7,8	98,7	7,6	98,7	7,6
AD-1297672.1	103,0	4,8	97,6	3,4	119,4	33,0	119,4	33,0
AD-1297673.1	47,8	19,5	60,8	21,7	98,4	10,1	98,4	10,1
AD-1297674.1	96,5	17,6	86,3	14,8	93,4	11,4	93,4	11,4
AD-1297675.1	42,9	9,7	72,8	16,2	80,5	10,6	80,5	10,6
AD-1136159.2	76,7	20,7	65,0	25,8	107,4	22,5	107,4	22,5
AD-1136160.2	74,6	15,1	77,2	20,1	131,3	1,6	131,3	1,6
AD-1136161.2	81,1	33,0	80,1	20,6	103,6	26,3	103,6	26,3

AD-1136162.2	66,4	12,3	88,3	37,3	124,8	13,6	124,8	13,6
AD-1136163.2	69,6	18,4	50,6	8,3	89,5	11,6	89,5	11,6
AD-1297676.1	55,7	30,9	51,5	14,1	78,1	17,8	78,1	17,8
AD-1136164.2	41,7	11,4	79,9	27,9	72,8	23,5	72,8	23,5
AD-1136165.2	57,4	18,9	91,6	15,6	109,6	20,4	109,6	20,4
AD-1136166.2	70,7	19,9	62,2	24,4	110,2	28,8	110,2	28,8
AD-1136167.2	117,2	19,8	100,5	32,0	145,2	13,9	145,2	13,9
AD-1136168.2	72,9	11,4	69,2	12,1	115,2	25,9	115,2	25,9
AD-1136169.2	52,4	6,6	39,9	7,6	105,5	15,2	105,5	15,2
AD-1136170.2	60,2	13,0	58,5	34,9	88,9	22,0	88,9	22,0
AD-1136171.2	93,8	9,6	75,3	11,1	72,9	15,5	72,9	15,5
AD-1136172.2	55,6	25,3	65,7	17,7	83,9	21,8	83,9	21,8
AD-1136173.2	79,0	36,1	120,7	34,2	127,9	14,1	127,9	14,1
AD-1297677.1	89,9	17,7	100,3	37,6	90,2	34,0	90,2	34,0
AD-1136174.2	84,7	10,4	94,9	28,6	113,4	16,5	113,4	16,5
AD-1297678.1	110,9	29,0	76,8	13,1	140,0	13,6	140,0	13,6
AD-1297679.1	115,4	5,5	120,9	35,8	122,2	23,8	122,2	23,8

AD-1297680.1	98,6	13,3	102,9	31,1	103,7	0,8	103,7	0,8
AD-1297681.1	97,1	14,8	84,5	27,3	95,6	17,1	95,6	17,1
AD-1297682.1	95,1	15,9	111,8	16,7	116,9	32,7	116,9	32,7
AD-1297683.1	101,0	20,4	85,3	21,6	128,9	12,9	128,9	12,9
AD-1297684.1	92,9	24,8	69,1	12,3	109,7	21,6	109,7	21,6
AD-1297685.1	54,7	12,1	67,4	27,5	103,5	5,8	103,5	5,8
AD-1297686.1	81,4	10,3	98,4	30,3	115,9	14,0	115,9	14,0
AD-1297687.1	62,0	8,1	63,0	18,0	102,1	8,7	102,1	8,7
AD-1297688.1	41,4	12,5	49,4	10,4	74,8	20,3	74,8	20,3
AD-1297689.1	61,0	16,6	51,0	12,1	58,3	8,2	58,3	8,2
AD-1297690.1	64,4	28,9	89,6	27,5	116,6	25,3	116,6	25,3
AD-1297691.1	75,7	22,0	99,7	24,9	123,5	26,7	123,5	26,7
AD-1297692.1	130,0	27,2	100,0	30,0	127,8	23,3	127,8	23,3
AD-1136221.2	86,4	21,5	72,9	42,0	107,5	5,2	107,5	5,2
AD-1136222.2	142,1	15,6	109,6	38,9	113,9	6,6	113,9	6,6
AD-1297693.1	75,4	15,8	88,4	20,8	95,6	11,1	95,6	11,1
AD-1297694.1	77,5	15,8	55,3	3,2	76,3	13,9	76,3	13,9

AD-1136223.2	64,0	15,5	46,8	13,9	57,7	9,7	57,7	9,7
AD-1136224.2	69,5	29,1	66,2	20,4	101,5	27,0	101,5	27,0
AD-1136225.2	98,8	35,1	70,1	20,9	117,7	25,2	117,7	25,2
AD-1297695.1	69,5	18,8	88,6	37,0	128,0	25,9	128,0	25,9
AD-1297696.1	61,8	23,2	50,8	18,2	102,3	23,1	102,3	23,1
AD-1297697.1	95,3	13,1	68,6	5,8	100,1	15,8	100,1	15,8
AD-1136226.2	47,2	12,2	63,1	9,2	80,5	41,8	80,5	41,8
AD-1136227.2	55,1	8,6	44,5	7,5	64,3	11,1	64,3	11,1
AD-1136228.2	84,9	13,5	94,7	27,3	91,2	17,2	91,2	17,2
AD-1136229.2	91,9	10,5	95,3	27,5	116,4	23,4	116,4	23,4
AD-1136230.2	119,7	22,0	68,4	23,2	106,2	9,2	106,2	9,2
AD-1136231.2	85,7	6,8	76,5	31,1	94,5	13,6	94,5	13,6
AD-1136232.2	72,4	12,4	67,0	11,6	94,9	23,9	94,9	23,9
AD-1297698.1	61,6	13,7	54,5	8,9	83,4	26,1	83,4	26,1
AD-1297699.1	46,0	5,9	55,4	14,6	66,6	14,0	66,6	14,0
AD-1297700.1	92,2	41,6	95,2	10,8	114,1	24,6	114,1	24,6
AD-1136233.2	117,7	27,6	117,3	16,1	110,6	8,0	110,6	8,0

AD-1136234.2	108,2	22,1	62,1	4,6	87,5	17,3	87,5	17,3
AD-1297701.1	102,5	11,9	84,4	12,8	74,9	8,8	74,9	8,8
AD-1297702.1	121,5	19,7	76,0	6,6	91,9	21,3	91,9	21,3
AD-1297703.1	104,9	10,6	67,7	10,4	79,2	10,8	79,2	10,8
AD-1297704.1	61,2	22,3	75,7	9,8	85,7	9,3	85,7	9,3
AD-1297705.1	68,6	36,2	89,9	32,2	71,0	7,8	71,0	7,8
AD-1297706.1	49,9	41,2	93,7	9,8	95,2	24,0	95,2	24,0
AD-1297707.1	83,3	18,6	107,2	7,7	106,5	8,3	106,5	8,3
AD-1297708.1	95,8	15,7	93,9	27,1	86,3	10,0	86,3	10,0
AD-1297709.1	89,9	23,6	92,7	20,2	83,5	14,1	83,5	14,1
AD-1297710.1	74,2	20,8	94,7	10,3	74,2	3,5	74,2	3,5
AD-1297711.1	59,4	36,2	114,5	22,5	72,3	3,0	72,3	3,0
AD-1297712.1	87,3	12,2	88,3	7,6	88,9	10,3	88,9	10,3

Таблица 10. Скрининги однократной дозы дцРНК-средств против ксантиндегидрогеназы *in vitro* в первичных гепатоцитах человека

	Доза (нМ)	100	20	4	0,8	0,16	0,032	0,0064	0,00128	0,000256	5,12E-05
% средней оставшейся мРНК	AD-1395794.1	30,7	30,6	40,2	35,9	36,1	33,5	55,7	53,3	69,1	60,5
	AD-1136038.3	43,5	36,9	40,5	35,5	43,0	59,8	61,4	61,1	94,7	76,9
	AD-1395797.1	45,8	45,8	53,6	68,5	58,9	70,2	100,1	89,7	128,6	105,1
	AD-1135991.3	42,0	44,8	32,0	54,1	54,0	61,7	68,4	71,8	91,1	104,4
	AD-1297597.2	56,7	51,3	46,3	43,4	56,9	76,7	86,5	89,4	75,7	84,5
	AD-1395803.1	39,4	43,6	35,7	42,3	53,2	48,2	82,5	79,5	79,1	69,3
	AD-1395805.1	32,7	45,1	34,5	43,1	43,3	81,0	84,0	76,3	85,7	100,7
	PBS средн.	106,5									
Stdev	AD-1395794.1	9	7	8	7	10	2	18	11	19	17
	AD-1136038.3	11	11	8	9	5	10	16	16	19	10
	AD-1395797.1	1	10	9	8	18	22	10	14	13	34
	AD-1135991.3	13	14	15	15	17	10	18	18	22	35
	AD-1297597.2	7	8	4	14	9	16	12	16	31	8
	AD-1395803.1	10	5	4	15	18	17	14	28	16	19
	AD-1395805.1	8	16	6	6	9	27	24	20	15	25

Таблица 11. Скрининги однократной дозы дцРНК-средств против ксантиндегидрогеназы *in vitro* в первичных гепатоцитах человека

	Доза (нМ)	100	20	4	0,8	0,16	0,032	0,0064	0,00128	0,000256	5,12E-05
% средней оставшейся мРНК	AD-1395807.1	40,3	36,9	38,3	29,8	43,8	53,9	67,0	75,2	82,8	94,4
	AD-1395811.1	45,7	42,5	39,9	47,9	64,4	64,7	80,8	99,3	114,2	98,0
	AD-1297663.2	45,6	37,8	36,3	44,2	48,4	57,6	60,0	73,9	92,3	85,7
	AD-1136008.2	46,4	50,6	39,3	42,2	49,6	69,4	86,4	94,2	120,7	102,0
	AD-1395816.1	49,1	56,9	54,4	52,0	47,0	60,6	79,4	115,4	96,7	97,6
	AD-1136061.2	46,9	52,1	48,3	49,4	45,5	66,8	77,0	103,3	129,1	99,5
	AD-1135987.2	43,4	35,6	34,5	38,2	35,6	52,6	67,4	84,2	88,2	89,4
	PBS средн.	100,3									
Stdev	AD-1395807.1	12	7	7	5	8	14	10	11	11	13
	AD-1395811.1	9	9	9	7	9	3	11	21	13	20
	AD-1297663.2	5	12	10	12	4	7	8	18	26	19
	AD-1136008.2	2	12	9	9	7	9	18	24	27	22
	AD-1395816.1	6	1	7	7	5	11	6	29	17	30
	AD-1136061.2	4	7	10	6	8	6	24	18	28	13
	AD-1135987.2	4	8	8	6	6	14	23	12	8	23

Таблица 12. Скрининги однократной дозы дцРНК-средств против ксантиндегидрогеназы *in vitro* в первичных гепатоцитах человека

	Доза (нМ)	100	20	4	0,8	0,16	0,032	0,0064	0,00128	0,000256
% средней оставшейся мРНК	AD-1395823.1	37,7	47,3	42,1	44,0	48,8	64,9	74,3	93,8	89,7
	AD-1136166.3	47,2	50,7	42,3	49,4	64,4	77,1	86,3	98,9	102,1
	AD-1136169.3	48,0	49,2	38,7	45,8	61,7	67,0	64,8	81,2	111,5
	PBS средн.	100,5								
Stdev	AD-1395823.1	11	9	13	10	21	12	11	30	15
	AD-1136166.3	15	14	14	12	12	11	8	23	14
	AD-1136169.3	23	5	13	8	9	18	9	5	28

Таблица 13. IC₅₀ выбранных дцРНК-средств против ксантиндегидрогеназы, определенная при скринингах однократной дозы *in vitro* в первичных гепатоцитах человека

Дуплекс ID	IC ₅₀ (нМ)
AD-1395794.1	0,005
AD-1136038.3	0,057
AD-1395797.1	17,28
AD-1135991.3	0,369
AD-1297597.2	0,338
AD-1395803.1	0,127
AD-1395805.1	0,345
AD-1395807.1	0,055
AD-1395811.1	0,614
AD-1297663.2	0,087
AD-1136008.2	0,311
AD-1395816.1	0,25
AD-1136061.2	0,4
AD-1135987.2	0,032
AD-1395823.1	0,184
AD-1136166.3	1,149
AD-1136169.3	0,435

Пример 4. Скрининг *in vivo* на не являющихся человеком приматах

Интересующие дуплексы, идентифицированные в исследованиях *in vitro*, оценивали *in vivo*. В частности, фармакодинамическую активность различных GalNAc-конъюгированных миРНК, нацеленных на XDH, анализировали на обезьянах *Cynomolgus* после однократной подкожной инъекции миРНК. Обезьянам *Cynomolgus* (3 самки/группу) в группах 1-12 подкожно вводили носитель (1-кратный PBS) или однократную дозу 10 мг/кг AD-1136091, AD-1395794, AD-1395805, AD-1136008, AD-1136038, AD-1395823, AD-1395816, AD-1136061, AD-1395811 или AD-1136166 или однократную дозу 5 мг/кг AD-1135991. Группе 13 вводили аллопуринол в носителе 0,5%-ной натрий-карбоксиметилцеллюлозе (полученном в стерильной воде для инъекций) в дозе 10 мг/кг посредством ежедневного введения с помощью желудочного зонда.

Образцы печени собирали в группах 1, 2, 5, 9 и 12 в дни -15, 21, 43 и день 64. Образцы печени собирали в группах 3, 4, 6, 7, 8, 10 и 11 в дни -15, 21 и 42. Образцы печени собирали в группе 13 в день -15 и день 15. Все образцы анализировали на уровне матричной РНК XDH (RT-qPCR) и белка XDH (вестерн-блоттинг).

Для анализа RT-qPCR средний уровень мРНК XDH в печени относительно глицерин-3-фосфат-дегидрогеназы (GAPDH) для каждого отдельного животного нормализовали по соответствующему образцу до введения дозы для определения процента мРНК XDH относительно уровня до введения дозы в каждый конкретный момент времени (фигура 2).

Уровни белка XDH в печени анализировали с использованием вестерн-блоттинга. Уровень белка XDH в печени относительно бета-актина для каждого отдельного животного нормализовали по соответствующему уровню до введения дозы для определения процента белка XDH относительно уровня до введения дозы в каждый конкретный момент времени (фигура 3).

Как показано на фигурах 2 и 3, наиболее высокий сайленсинг мРНК XDH наблюдали в день 21 после введения дозы с максимальной супрессией 66%, наблюдаемой в группе AD-1136091. Наблюдали частичное восстановление в дни 43 и 64. Более высокую степень сайленсинга наблюдали для уровня белка XDH в печени, при этом максимальную супрессию наблюдали в дни 21 или 43 в зависимости от тестируемого дуплекса. Наблюдали до 91%-ного снижения уровня белка XDH в печени у животных, которым вводили AD-1136091, при этом наблюдали частичное восстановление ко дню 64 после введения дозы. Эти результаты свидетельствуют о том, что лечение с использованием примеров дуплексных средств, нацеленных на XDH, эффективно снижало уровень мРНК и уровень белка XDH *in vivo*.

ЭКВИВАЛЕНТЫ

Специалистам в этой области будут понятны многие эквиваленты конкретных вариантов осуществления и способов, представленных в настоящем описании, или они смогут определить их с использованием не более чем рутинного экспериментирования. Такие эквиваленты предназначены для включения в объем следующей формулы изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Двухцепочечная рибонуклеиновая кислота (дцРНК) для ингибирования экспрессии ксантиндегидрогеназы (XDH) в клетке, где указанная дцРНК содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, образующие двухцепочечную область, где антисмысловая цепь содержит по меньшей мере 15 смежных нуклеотидов, отличающихся на не более, чем 3 нуклеотида от любой из антисмысловых нуклеотидных последовательностей в любой из таблиц 2-3 и 6-7.

2. Двухцепочечная рибонуклеиновая кислота (дцРНК) для ингибирования экспрессии ксантиндегидрогеназы (XDH) в клетке, где указанная дцРНК содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, образующие двухцепочечную область, где смысловая цепь содержит по меньшей мере 15 смежных нуклеотидов, отличающихся на не более, чем 3 нуклеотида от любой из нуклеотидных последовательностей нуклеотидов 15-45; 121-162; 226-292; 306-338; 379-402; 428-458; 495-521; 873-907; 1318-1344; 1381-1407; 1604-1643; 1700-1723; 1960-1991; 1996-2029; 2044-2067; 2128-2174; 2186-2208; 2289-2345; 2359-2419; 2689-2722; 2699-2721; 2774-2797; 2930-2958; 2987-3064; 3083-3158; 3195-3221; 3248-3293; 3352-3405; 3460-3520; 3524-3571; 3575-3644; 3870-3963; 4143-4176; 4259-4315; 4355-4379; 4395-4467; 4502-4562; 4577-4648; 4658-4752; 4815-4854; 5199-5277; 5284-5310; 5358-5446 или 5677-5713 SEQ ID NO: 1, и антисмысловая цепь содержит по меньшей мере 15 смежных нуклеотидов из соответствующей нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 2.

3. Двухцепочечная рибонуклеиновая кислота (дцРНК) для ингибирования экспрессии ксантиндегидрогеназы (XDH) в клетке, где указанная дцРНК содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, образующие двухцепочечную область, где смысловая цепь содержит по меньшей мере 15 смежных нуклеотидов, отличающихся на не более, чем 3 нуклеотида от любой из нуклеотидных последовательностей нуклеотидов 226-269; 1318-1352; 1953-1998; 2351-2394; 2679-2730; 3867-3916 или 4510-4574 SEQ ID NO: 1, и антисмысловая цепь содержит по меньшей мере 15 смежных нуклеотидов из соответствующей нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 2.

4. Двухцепочечная рибонуклеиновая кислота (дцРНК) для ингибирования экспрессии ксантиндегидрогеназы (XDH) в клетке, где указанная дцРНК содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, образующие двухцепочечную область, где смысловая цепь содержит по меньшей мере 15 смежных нуклеотидов, отличающихся на не более, чем 3 нуклеотида от любой из нуклеотидных последовательностей нуклеотидов 123-143; 229-249; 229-251, 230-250; 237-259; 241-263; 271-291; 1320-1342; 1321-1341; 1965-1987; 1971-1993; 2130-2150; 2682-2704; 2689-2711; 2690-2710; 2699-2721; 3880-3900 или 3883-3903 SEQ ID NO: 1, и антисмысловая цепь содержит по меньшей мере 15 смежных нуклеотидов из соответствующей нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 2.

5. дцРНК-средство по любому из пп.1-4, где антисмысловая цепь содержит по меньшей мере 15 смежных нуклеотидов, отличающихся на не более, чем три нуклеотида от любой из нуклеотидных последовательностей антисмысловой цепи дуплекса, выбранного

из группы, состоящей из AD-1395794.1; AD-1136038.3; AD-1395797.1; AD-1135991.3; AD-1297597.2; AD-1395803.1; AD-1395805.1; AD-1395807.1; AD-1395811.1; AD-1297663.2; AD-1136008.2; AD-1395816.1; AD-1136061.2; AD-1135987.2; AD-1395823.1; AD-1136166.3 и AD-1136169.

6. дцРНК-средство по любому из пп.1-4, где антисмысловая цепь содержит по меньшей мере 15 смежных нуклеотидов, отличающихся на не более, чем три нуклеотида от любой из нуклеотидных последовательностей антисмысловой цепи дуплекса, выбранного из группы, состоящей из AD-1136091, AD-1395794, AD-1395805, AD-1136008, AD-1136038, AD-1395823, AD-1395816, AD-1136061, AD-1395811 и AD-1136166.

7. дцРНК-средство по любому из пп.1-4, где смысловая цепь содержит по меньшей мере 15 смежных нуклеотидов, отличающихся на не более, чем 3 нуклеотида от нуклеотидных последовательностей нуклеотидов 2699-2721 SEQ ID NO: 1.

8. дцРНК-средство по любому из пп.1-4, где антисмысловая цепь содержит по меньшей мере 15 смежных нуклеотидов, отличающихся на не более, чем три нуклеотида от нуклеотидной последовательности антисмысловой цепи дуплекса AD-1136091.

9. дцРНК-средство по любому из пп.1-8, где дцРНК-средство содержит по меньшей мере один модифицированный нуклеотид.

10. дцРНК-средство по любому из пп.1-9, где по существу все нуклеотиды смысловой цепи; по существу все нуклеотиды антисмысловой цепи содержат модификацию; или по существу все нуклеотиды смысловой цепи и по существу все нуклеотиды антисмысловой цепи содержат модификацию.

11. дцРНК-средство по любому из пп.1-10, где все нуклеотиды смысловой цепи содержат модификацию; все нуклеотиды антисмысловой цепи содержат модификацию; или все нуклеотиды смысловой цепи и все нуклеотиды антисмысловой цепи содержат модификацию.

12. дцРНК-средство по любому из пп.9-11, где по меньшей мере один из модифицированных нуклеотидов выбран из группы, состоящей из дезоксинуклеотида, 3'-концевого нуклеотида дезокситимидина (dT), 2'-О-метил-модифицированного нуклеотида, 2'-фтор-модифицированного нуклеотида, 2'-дезоксид-модифицированного нуклеотида, замкнутого нуклеотида, незамкнутого нуклеотида, конформационно ограниченного нуклеотида, нуклеотида с затрудненным этилом, нуклеотида с удаленным азотистым основанием, 2'-амино-модифицированного нуклеотида, 2'-О-аллил-модифицированного нуклеотида, 2'-С-алкил-модифицированного нуклеотида, 2'-метоксиэтил-модифицированного нуклеотида, 2'-О-алкил-модифицированного нуклеотида, морфолино-нуклеотида, фосфорамидата, нуклеотида, содержащего неприродное основание, тетрагидропиран-модифицированного нуклеотида, 1,5-ангидрогекситол-модифицированного нуклеотида, циклогексенил-модифицированного нуклеотида, нуклеотида, содержащего фосфотиоатную группу, нуклеотида, содержащего метилфосфонатную группу, нуклеотида, содержащего 5'-фосфат, нуклеотида, содержащего миметик 5'-фосфата, нуклеотида, содержащего 2'-фосфат, термически дестабилизирующего

нуклеотида, гликоль-модифицированного нуклеотида (GNA), 2'-O-(N-метилацетамид)-модифицированного нуклеотида и их комбинаций.

13. дцРНК-средство по любому из пп.9-12, где по меньшей мере один из модифицированных нуклеотидов выбран из группы, состоящей из ЗНК, HNA, CeNA, 2'-метоксиэтила, 2'-О-алкила, 2'-О-аллила, 2'-С-аллила, 2'-фтора, 2'-дезоксигруппы, 2'-гидроксил и гликоль-модифицированного нуклеотида (GNA) и их комбинаций.

14. дцРНК по любому из пп.9-12, где по меньшей мере один из модифицированных нуклеотидов выбран из группы, состоящей из дезоксинуклеотида, 2'-О-метил-модифицированного нуклеотида, 2'-фтор-модифицированного нуклеотида, 2'-дезоксимо-модифицированного нуклеотида, нуклеотида, содержащего 2'-фосфат, гликоль-модифицированного нуклеотида (GNA), винилфосфонатного нуклеотида и 2'-О-гексадецил-нуклеотида и их комбинаций.

15. дцРНК по любому из пп.9-12, где по меньшей мере одна из модификаций нуклеотидов является модификацией термически дестабилизирующего нуклеотида.

16. дцРНК по п.15, где модификация термически дестабилизирующего нуклеотида выбрана из группы, состоящей из модификации удаления азотистого основания; ошибочного спаривания с противоположным нуклеотидом в дуплексе; и дестабилизирующей модификации сахара, 2'-дезоксимо-модификации, ациклического нуклеотида, незамкнутых нуклеиновых кислот (UNA) и гликоль-модифицированной нуклеиновой кислоты (GNA).

17. дцРНК-средство по любому из пп.1-16, где двухцепочечная область составляет 19-30 пар нуклеотидов в длину.

18. дцРНК-средство по п.17, где двухцепочечная область составляет 19-25 пар нуклеотидов в длину.

19. дцРНК-средство по п.17, где двухцепочечная область составляет 19-23 пары нуклеотидов в длину.

20. дцРНК-средство по п.17, где двухцепочечная область составляет 23-27 пар нуклеотидов в длину.

21. дцРНК-средство по п.17, где двухцепочечная область составляет 21-23 пары нуклеотидов в длину.

22. дцРНК-средство по любому из пп.1-21, где каждая цепь независимо составляет не более 30 нуклеотидов в длину.

23. дцРНК-средство по любому из пп.1-22, где смысловая цепь составляет 21 нуклеотид в длину, и антисмысловая цепь составляет 23 нуклеотида в длину.

24. дцРНК-средство по любому из пп.1-23, где антисмысловая цепь составляет по меньшей мере 17 нуклеотидов в длину.

25. дцРНК-средство по любому из пп.1-22, где антисмысловая цепь составляет 19-23 нуклеотида в длину.

26. дцРНК-средство по любому из пп.1-23, где антисмысловая цепь составляет 19-21 нуклеотид в длину.

27. дцРНК-средство по любому из пп.1-26, где по меньшей мере одна цепь содержит 3'-липкий конец из по меньшей мере 1 нуклеотида.

28. дцРНК-средство по любому из пп.1-26, где по меньшей мере одна цепь содержит 3'-липкий конец из по меньшей мере 2 нуклеотидов.

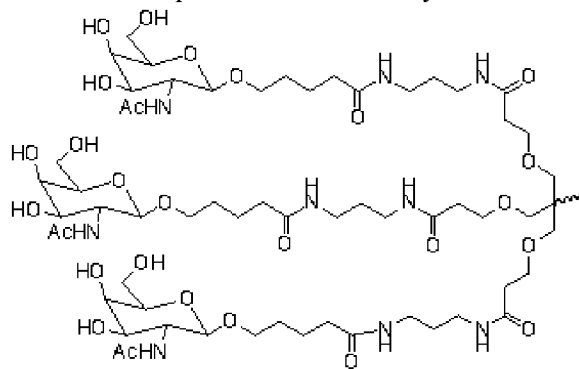
29. дцРНК-средство по любому из пп.1-28, дополнительно содержащее лиганд.

30. дцРНК-средство по п.29, где лиганд конъюгирован с 3'-концом смысловой цепи дцРНК-средства.

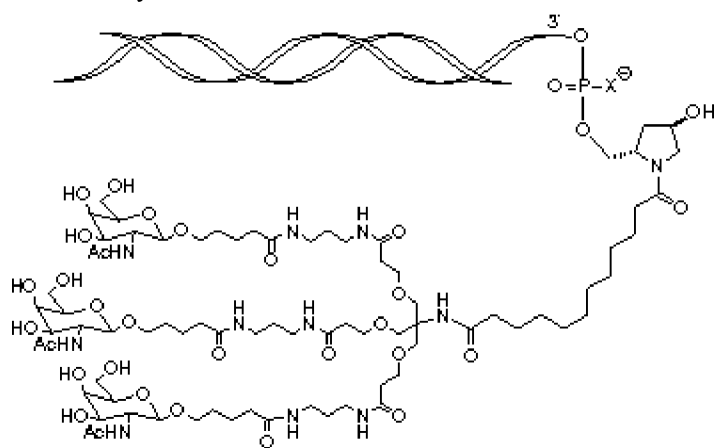
31. дцРНК-средство по п.29 или 30, где лиганд является производным N-ацетилгалактозамина (GalNAc).

32. дцРНК-средство по любому из пп.29-31, где лиганд является одним или более производными GalNAc, присоединенными через моновалентный, бивалентный или тривалентный разветвленный линкер.

33. дцРНК-средство по любому из пп.29-32, где лиганд представляет собой



34. дцРНК-средство по п.33, где дцРНК-средство конъюгировано с лигандом, как показано на следующей схеме



и, где X представляет собой O или S.

35. дцРНК-средство по п.34, где X представляет собой O.

36. дцРНК-средство по любому из пп.1-35, где дцРНК-средство дополнительно содержит по меньшей мере одну фосфотиоатную или метилфосфонатную межнуклеотидную связь.

37. дцРНК-средство по п.36, где фосфотиоатная или метилфосфонатная межнуклеотидная связь находится на 3'-конце одной цепи.

38. дцРНК-средство по п.37, где цепь является антисмысловой цепью.
39. дцРНК-средство по п.37, где цепь является смысловой цепью.
40. дцРНК-средство по п.36, где фосфотиоатная или метилфосфонатная межнуклеотидная связь находится на 5'-конце одной цепи.
41. дцРНК-средство по п.40, где цепь является антисмысловой цепью.
42. дцРНК-средство по п.40, где цепь является смысловой цепью.
43. дцРНК-средство по п.36, где фосфотиоатная или метилфосфонатная межнуклеотидная связь находится и на 5'-, и на 3'-конце одной цепи.
44. дцРНК-средство по п.43, где цепь является антисмысловой цепью.
45. дцРНК-средство по любому из пп.1-44, где пара оснований в 1 положении 5'-конца антисмысловой цепи дуплекса является парой оснований AU.
46. Клетка, содержащая дцРНК-средство по любому из пп.1-45.
47. Фармацевтическая композиция для ингибирования экспрессии гена, кодирующего ксантиндегидрогеназу (XDH), содержащая дцРНК-средство по любому из пп.1-45.
48. Фармацевтическая композиция по п.47, где дцРНК-средство находится в незабуференном растворе.
49. Фармацевтическая композиция по п.48, где незабуференный раствор является физиологическим раствором или водой.
50. Фармацевтическая композиция по п.47, где указанное дцРНК-средство находится в буферном растворе.
51. Фармацевтическая композиция по п.50, где буферный раствор содержит ацетат, цитрат, проламин, карбонат, фосфат или любую их комбинацию.
52. Фармацевтическая композиция по п.51, где буферный раствор является фосфатно-солевым буфером (PBS).
53. Способ ингибирования экспрессии гена ксантиндегидрогеназы (XDH) в клетке, включающий приведение клетки в контакт с дцРНК-средством по любому из пп.1-45 или фармацевтической композицией по любому из пп.47-52 и, таким образом, ингибирование экспрессии гена XDH в клетке.
54. Способ по п.53, где клетка находится в организме индивидуума.
55. Способ по п.54, где индивидуум является человеком.
56. Способ по п.55, где индивидуум имеет ксантиндегидрогеназа-(XDH)-ассоциированное нарушение.
57. Способ по любому из пп.53-56, где приведение клетки в контакт с дцРНК-средством ингибирует экспрессию ксантиндегидрогеназы по меньшей мере на 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или 95%.
58. Способ по любому из пп.53-57, где ингибирование экспрессии ксантиндегидрогеназы приводит к снижению уровней белка ксантиндегидрогеназы в сыворотке индивидуума по меньшей мере на 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или 95%.
59. Способ лечения индивидуума, имеющего нарушение, при котором получают

пользу от снижения экспрессии ксантиндегидрогеназы (XDH), включающий введение индивидууму терапевтически эффективного количества дцРНК-средства по любому из пп.1-45 или фармацевтической композиции по любому из пп.47-52 и, таким образом, лечение индивидуума, имеющего нарушение, при котором получают пользу от снижения экспрессии XDH.

60. Способ профилактики по меньшей мере одного симптома у индивидуума, имеющего нарушение, при котором получают пользу от снижения экспрессии ксантиндегидрогеназы (XDH), включающий введение индивидууму профилактически эффективного количества дцРНК-средства по любому из пп.1-45 или фармацевтической композиции по любому из пп.47-52 и, таким образом, профилактику по меньшей мере одного симптома у индивидуума, имеющего нарушение, при котором получают пользу от снижения экспрессии XDH.

61. Способ по п.59 или 60, где введение дцРНК-средства индивидууму приводит к снижению мочевой кислоты в сыворотке.

62. Способ по п.59 или 60, где нарушение является XDH-ассоциированным заболеванием.

63. Способ по п.62, где XDH-ассоциированное заболевание является гиперурикемией.

64. Способ по п.62, где XDH-ассоциированное заболевание является подагрой.

65. Способ по любому из пп.59-64, где индивидуум является человеком.

66. Способ по любому из пп.59-65, где дцРНК-средство вводят индивидууму в дозе приблизительно от 0,01 мг/кг до 50 мг/кг или в фиксированной дозе приблизительно от 5 мг до 1000 мг.

67. Способ по любому из пп.59-66, где дцРНК-средство вводят индивидууму подкожно.

68. Способ по любому из пп.59-67, дополнительно включающий введение индивидууму средства для лечения XDH-ассоциированного заболевания.

69. Способ по любому из пп.59-68, дополнительно включающий определение уровня XDH в образцах индивидуума.

70. Способ по п.69, где уровень XDH в образцах индивидуума является уровнем белка ксантиндегидрогеназы в образцах крови или сыворотки.

71. Набор, содержащий дцРНК-средство по любому из пп.1-45 или фармацевтическую композицию по любому из пп.47-52.

72. Флакон, содержащий дцРНК-средство по любому из пп.1-45 или фармацевтическую композицию по любому из пп.47-52.

73. Шприц, содержащий дцРНК-средство по любому из пп.1-45 или фармацевтическую композицию по любому из пп.47-52.

74. РНК-индуцируемый сайленсинг-комплекс (RISC), содержащий антисмысловую цепь, выбранную из группы, состоящей из:

(а) антисмысловой цепи, содержащей по меньшей мере 15 смежных нуклеотидов,

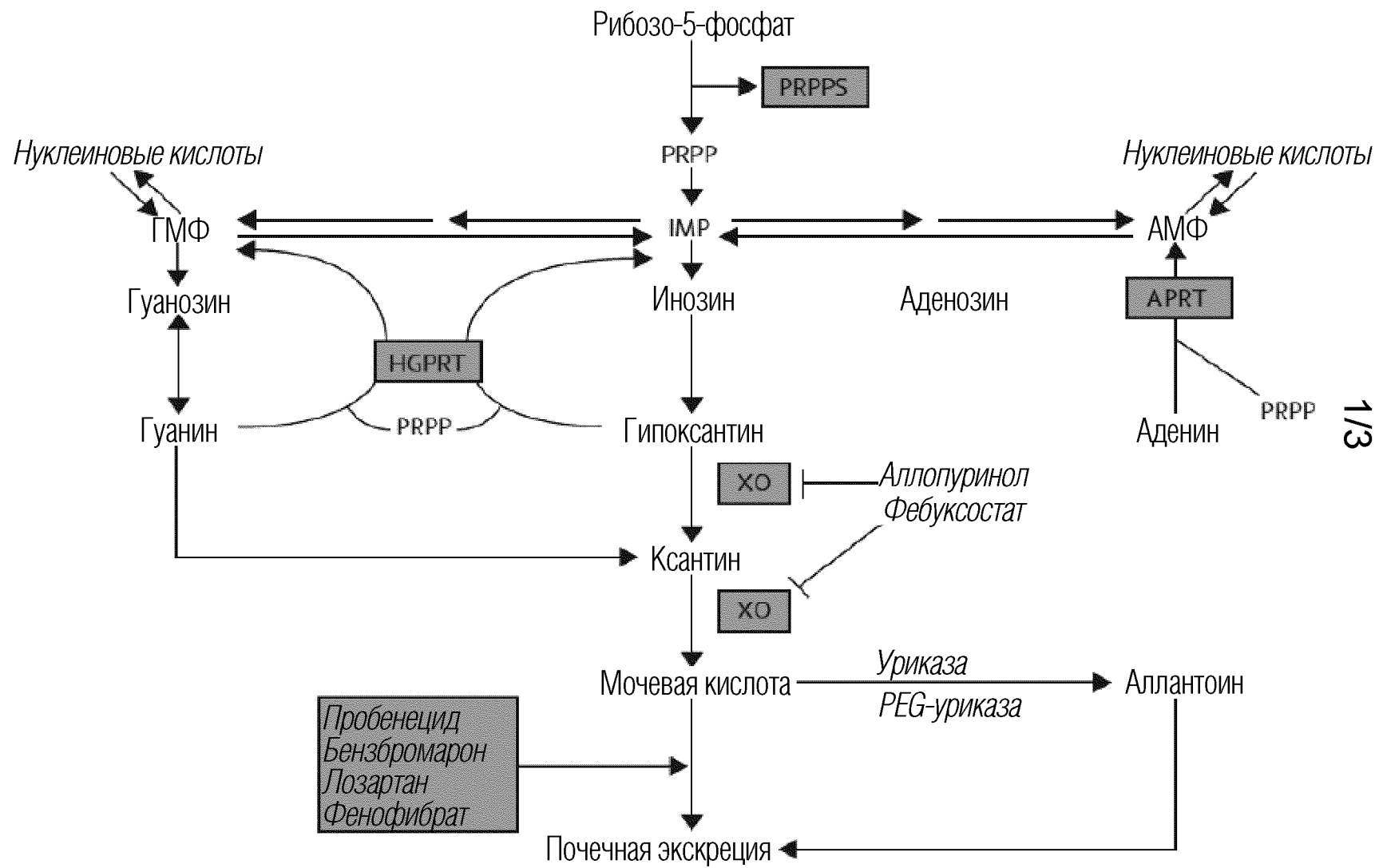
отличающихся на не более, чем 3 нуклеотида от любой из антисмысловых нуклеотидных последовательностей в любой из таблиц 2-3 и 6-7;

(b) антисмысловой цепи, содержащей по меньшей мере 15 смежных нуклеотидов, отличающихся на не более, чем три нуклеотида от любой из нуклеотидных последовательностей антисмысловой цепи дуплекса, выбранного из группы, состоящей из AD-1395794.1; AD-1136038.3; AD-1395797.1; AD-1135991.3; AD-1297597.2; AD-1395803.1; AD-1395805.1; AD-1395807.1; AD-1395811.1; AD-1297663.2; AD-1136008.2; AD-1395816.1; AD-1136061.2; AD-1135987.2; AD-1395823.1; AD-1136166.3 и AD-1136169; и

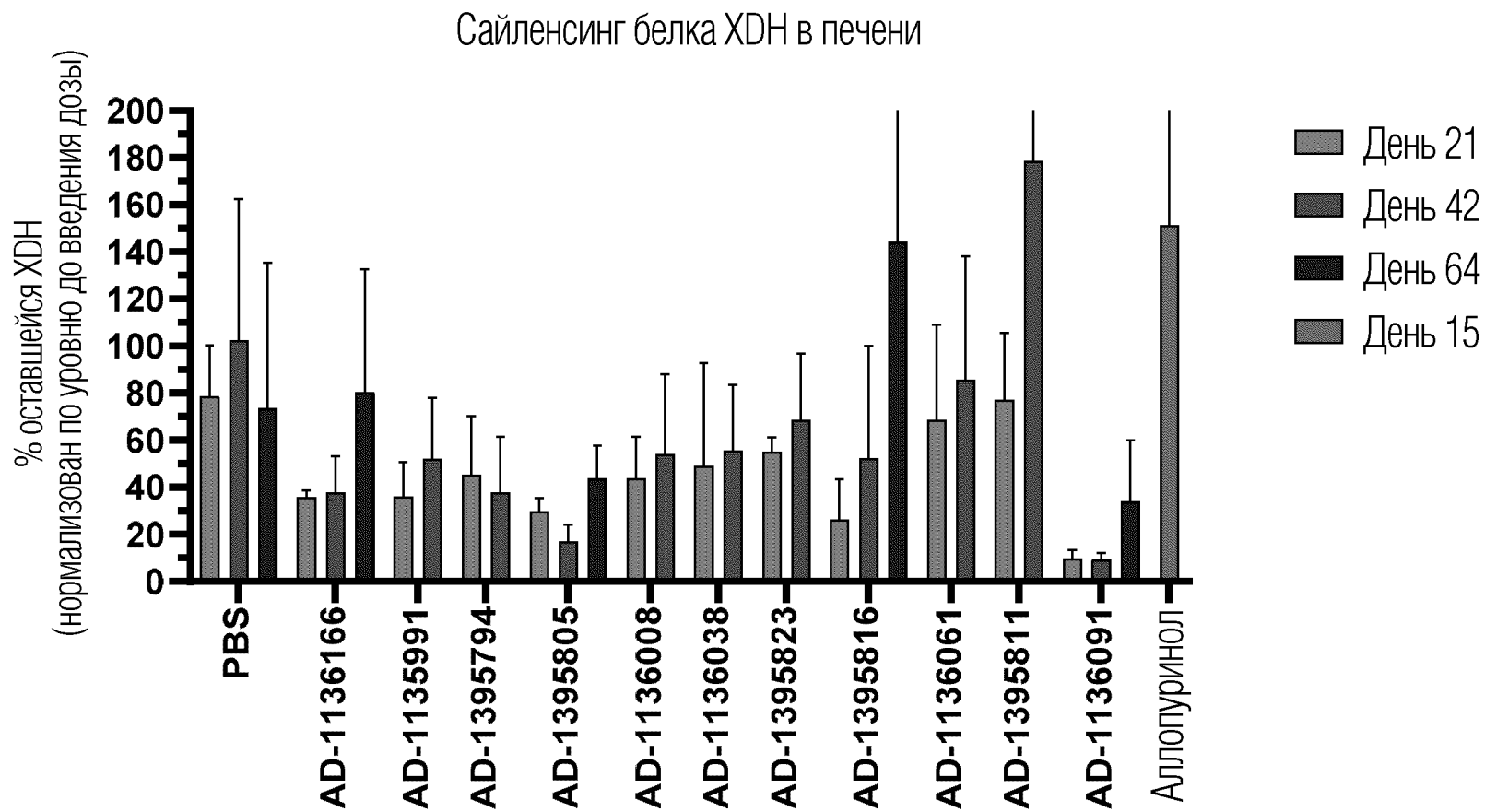
(c) антисмысловой цепи, содержащей по меньшей мере 15 смежных нуклеотидов, отличающихся на не более, чем три нуклеотида от любой из нуклеотидных последовательностей антисмысловой цепи дуплекса, выбранного из группы, состоящей из AD-1136091, AD-1395794, AD-1395805, AD-1136008, AD-1136038, AD-1395823, AD-1395816, AD-1136061, AD-1395811 и AD-1136166.

По доверенности

ФИГ. 1



ФИГ. 2



ФИГ. 3

