

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ –
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
АЛЛЕРГОЛОГИИ И ИММУНОЛОГИИ»
ФЕДЕРАЛЬНОГО МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКОГО АГЕНТСТВА

На правах рукописи

Чернов Пётр Владимирович

ОПТИМИЗАЦИЯ ПОДХОДОВ К ДИЗАЙНУ МАЛЫХ
ИНТЕРФЕРИРУЮЩИХ РНК ДЛЯ ИММУНОРЕГУЛЯЦИИ
ОНКОЛОГИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИИ НА МОДЕЛИ *IN VITRO*

3.2.7. Иммунология

Диссертация

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
член-корреспондент РАН, доктор
биологических наук
Кофиади Илья Андреевич

Оглавление

ВВЕДЕНИЕ.....	6
Актуальность темы исследования	6
Соответствие темы диссертации паспорту научной специальности	7
Степень разработанности темы исследования	7
Цель исследования	8
Задачи исследования	8
Научная новизна работы.....	9
Теоретическая значимость работы	10
Практическая значимость работы	11
Внедрение результатов исследования в практику	12
Методология и методы исследования.....	12
Положения, выносимые на защиту	14
Степень достоверности результатов	14
Апробация результатов.....	15
Личный вклад автора	15
Полнота изложения материалов диссертации в опубликованных работах	16
Объем и структура диссертации	16
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	17
1.1. РНК-интерференция как механизм регуляции экспрессии генов.....	17
1.2. Применение миРНК в онкологии и иммунологии.....	20
1.3. Иммуноопосредованные механизмы прогрессии гепатоцеллюлярной карциномы.....	22
1.4. Современные подходы к терапии гепатоцеллюлярной карциномы	25
1.4.1. Хирургическое лечение и локорегионарные методы.....	25
1.4.2. Системная таргетная терапия	27
1.4.3. Иммунотерапия ГЦК	29
1.4.4. Экспериментальные и молекулярно-таргетные подходы.....	30
1.4.5. Ограничения существующих подходов и необходимость новых стратегий	33
1.5. Биологическая роль генов <i>ITGB1</i> и <i>CD47</i> в опухолевой прогрессии ...	34
1.6. <i>In silico</i> -дизайн миРНК: современные подходы	36
1.7. Прогнозирование нецелевых эффектов миРНК.....	39

1.8. Термодинамика и структурные факторы эффективности миРНК.....	41
1.9. Химическая модификация миРНК	43
1.10. Доставка миРНК в клетки печени	45
1.11. Нерешенные проблемы и направления развития	48
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	51
2.1. Систематический обзор релевантных молекулярных мишеней	51
2.2. <i>In silico</i> -дизайн миРНК	52
2.2.1. Дизайн последовательности миРНК	52
2.2.2. Оценка миРНК.....	53
2.2.3. Оценка нецелевых эффектов миРНК.....	54
2.2.4. Оценка вторичных структур целевого сегмента мРНК	54
2.2.5. Метод энергетической сигнатуры	55
2.2.6. Ранжирование миРНК.....	57
2.2.7. Отбор кандидатных миРНК	57
2.2.8. Дизайн химически модифицированных миРНК.....	57
2.3. Химический синтез миРНК.....	62
2.3.1. Твердофазный химический синтез.....	62
2.3.2. Удаление защитных групп	70
2.3.3. Хроматографическая очистка	71
2.3.4. Формирование дуплексов.....	71
2.3.5. Хранение дуплексов.....	72
2.3.6. Масс-спектрометрия	72
2.4. Репортерная плазида	73
2.4.1. Проектирование репортерной плазмиды.....	73
2.4.2. Синтез репортерной плазмиды	74
2.5. Исследование <i>in vitro</i>	75
2.5.1. Модель экспрессии гена	75
2.5.2. Трансфекция с использованием трансфицирующего агента.....	76
2.5.3. Исследование цитотоксического эффекта.....	76
2.6. Статистический анализ данных	77
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ.....	78
3.1. Результаты систематического обзора релевантных молекулярных мишеней	78

3.2. <i>In silico</i> -дизайн миРНК	87
3.2.1. Дизайн немодифицированных миРНК	87
3.2.2. Дизайн модифицированных миРНК	90
3.3. Химический синтез миРНК.....	90
3.4. Репортерная плазмида	91
3.5. Исследование <i>in vitro</i>	93
3.5.1. Исследование немодифицированных миРНК <i>in vitro</i>	93
3.5.2. Исследование модифицированных миРНК <i>in vitro</i>	97
3.5.3. Исследование цитотоксического эффекта.....	100
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ.....	102
4.1. <i>In silico</i> -дизайн миРНК	102
4.1.1. <i>In silico</i> -дизайн немодифицированных миРНК.....	102
4.1.2. <i>In silico</i> -дизайн модифицированных миРНК.....	104
4.2. Химический синтез миРНК.....	106
4.3. Создание модели экспрессии гена с люциферазным репортером	107
4.4. Исследование <i>in vitro</i>	108
4.4.1. Исследование немодифицированных миРНК <i>in vitro</i>	108
4.4.2. Цитотоксический эффект миРНК.....	109
4.5. Оптимизация метода модификации миРНК.....	111
4.6. Применение метода энергетической сигнатуры к другим молекулярным мишеням	113
4.7. Метод энергетической сигнатуры как платформа для рационального дизайна иммунорегуляторных миРНК.....	115
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	119
Итоги.....	119
Рекомендации	119
Перспективы дальнейшей разработки темы	120
ВЫВОДЫ	122
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	125
СПИСОК ТЕРМИНОВ	129
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	133
ПРИЛОЖЕНИЕ А. Акты внедрения	152
ПРИЛОЖЕНИЕ Б. Программный сценарий Excel/GoogleScript для подбора, оценки и модификации миРНК.....	155

ПРИЛОЖЕНИЕ В. Ранжированная библиотека последовательностей малых интерферирующих РНК против мРНК гена ITGB1 человека.....	166
ПРИЛОЖЕНИЕ Г. Ранжированная библиотека последовательностей малых интерферирующих РНК против мРНК гена CD47 человека.....	210
ПРИЛОЖЕНИЕ Д. Паспорта качества синтезированных соединений	257

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Онкологические заболевания остаются одной из ведущих причин смертности в мире, несмотря на значительный прогресс в области диагностики и лечения. Существенную роль в прогрессии опухолевого процесса играют иммуноопосредованные механизмы, обеспечивающие уклонение опухолевых клеток от иммунного надзора и формирование иммуносупрессивного микроокружения. Поиск и разработка новых подходов к таргетной регуляции экспрессии генов, вовлеченных в данные процессы, является актуальной задачей современной молекулярной иммунологии и медицины.

Одним из перспективных механизмов направленного воздействия на экспрессию генов является РНК-интерференция. Применение малых интерферирующих РНК позволяет селективно подавлять экспрессию целевых генов на посттранскрипционном уровне и рассматривается как основа для создания новых терапевтических стратегий в иммунологии и онкологии. Особый интерес представляет применение интерферирующих РНК для регуляции экспрессии генов, ассоциированных с уклонением опухолей от иммунной системы: гена *CD47*, реализующего сигнал «don't eat me» через взаимодействие с рецептором SIRPα макрофагов, и гена *ITGB1*, кодирующего $\beta 1$ -субъединицу интегринов, вовлеченных в формирование иммуносупрессивного микроокружения опухоли.

В контексте моделирования подавления иммунологически значимых мишеней *CD47* и *ITGB1* выбор системы НЕК293Т с плазмидным люциферазным репортером является обоснованным для первичной оценки интерферирующей активности миРНК. Такая репортерная модель позволяет количественно оценить подавление целевых последовательностей без влияния вариабельности эндогенной экспрессии и дополнительных регуляторных механизмов

опухолевых клеток. Высокая эффективность трансфекции НЕК293Т и чувствительность люциферазного анализа обеспечивают воспроизводимые условия для сравнения немодифицированных и химически модифицированных миРНК. В связи с этим такая модель является рациональным выбором для высокопроизводительного скрининга в рамках валидации используемых алгоритмов дизайна и ранжирования миРНК применительно к выбранным иммунологически значимым мишеням *CD47* и *ITGB1*.

Несмотря на наличие разработанных алгоритмов дизайна интерферирующих РНК, их практическое применение сопряжено с рядом ограничений: существующие подходы формируют большие библиотеки потенциально активных молекул, требующих трудоемкой валидации. Рациональные подходы к химической модификации миРНК с учетом влияния на термодинамические характеристики дуплексов и функциональную активность остаются недостаточно разработанными. Таким образом, разработка комплексных подходов, объединяющих дизайн *in silico*, термодинамическую оценку и рациональную химическую модификацию миРНК, является актуальной задачей молекулярной иммунологии.

Соответствие темы диссертации паспорту научной специальности

Тема диссертации полностью соответствует паспорту научной специальности «3.2.7. Иммунология» (№ 3, №5, №7).

Степень разработанности темы исследования

Механизмы действия малых интерферирующих РНК охарактеризованы в многочисленных экспериментальных и обзорных исследованиях. Созданы программные средства, позволяющие автоматизировать процесс

проектирования миРНК и формировать большие библиотеки кандидатных последовательностей. Вместе с тем применение существующих алгоритмов приводит к генерации значительных массивов молекул, требующих последующей ресурсоемкой валидации. Остается недостаточно изученной взаимосвязь между локальными энергетическими характеристиками дуплексов, распределением термодинамической асимметрии между цепями и эффективностью подавления экспрессии целевых генов. Отсутствуют унифицированные подходы к рациональной химической модификации, обеспечивающие прецизионное управление степенью нокдауна. Разработка методов *in silico*-оценки и химической модификации миРНК с управляемой биологической активностью представляет собой актуальную и недостаточно разработанную научную задачу.

Цель исследования

Разработка функционально активных молекул для прецизионной регуляции экспрессии генов-мишеней, обеспечивающих уклонение опухолевых клеток от иммунного надзора – *CD47* и *ITGB1* – на модели *in vitro* посредством рационального дизайна *in silico*, термодинамической оценки и направленной химической модификации малых интерферирующих РНК.

Задачи исследования

Для достижения поставленной цели в работе были сформулированы и последовательно решены следующие задачи:

1. Разработать комплексный алгоритм *in silico*-дизайна и отбора миРНК на основе метода энергетической сигнатуры дуплексов миРНК, обеспечивающего учет индивидуального вклада характеристик

нуклеотидной последовательности, термодинамических и структурных свойств целевых участков при прогнозировании функциональной активности. Сформировать с его применением библиотеку миРНК против мРНК генов *CD47* и *ITGB1*, участвующих в уклонении злокачественных опухолей от иммунного надзора.

2. Осуществить отбор и валидацию *in vitro* кандидатных миРНК против мРНК генов *CD47* и *ITGB1* человека с использованием разработанных подходов *in silico*, включая оценку цитотоксического эффекта синтезированных молекул на клеточной модели.
3. Разработать подходы к химической модификации последовательностей наиболее эффективных миРНК с использованием 2'-F- и 2'-О-метильных производных рибозы, обеспечивающие прецизионное управление энергетическим профилем дуплекса и регуляцию степени подавления экспрессии иммунорегуляторных генов-мишеней, выполнить их химический синтез, очистку и физико-химическую идентификацию.
4. Исследовать интерферирующую активность модифицированных миРНК в клеточной модели и проанализировать влияние различных схем химической модификации на функциональную активность, обосновав возможность прецизионного управления степенью подавления экспрессии генов *CD47* и *ITGB1*.

Научная новизна работы

Научная новизна исследования состоит в разработке и экспериментальном обосновании оригинального подхода к предсказуемому дизайну миРНК, основанного на учете не только последовательностных и структурных характеристик дуплекса, но и локального распределения термодинамической асимметрии между его цепями. Предложенный метод энергетической сигнатуры позволяет рассматривать энергетический профиль дуплекса как

самостоятельный параметр, влияющий на выбор направляющей цепи миРНК, ее загрузку в RISC-комплекс и последующую интерферирующую активность молекулы.

В работе продемонстрировано, что позиционно-специфическая химическая модификация миРНК может использоваться не только как способ повышения устойчивости к нуклеазам, но и как инструмент направленного изменения функциональной активности молекулы. Установлено, что рациональное размещение 2'-F- и 2'-O-метильных модификаций позволяет изменять локальный энергетический профиль дуплекса и тем самым регулировать степень подавления экспрессии иммунорегуляторных генов-мишеней без изменения нуклеотидной последовательности.

На примере иммунологически значимых генов-мишеней *CD47* и *ITGB1* обоснована возможность перехода от эмпирического подбора миРНК к проектированию молекул с прогнозируемой и дозируемой биологической активностью. Полученные результаты уточняют представления о роли химико-модификационных параметров дуплекса в регуляции РНК-интерференции и расширяют методологическую основу разработки олигонуклеотидных соединений для изучения механизмов противоопухолевого иммунного ответа.

Теоретическая значимость работы

Предложенный метод энергетической сигнатуры дуплексов миРНК углубляет фундаментальные представления о молекулярных детерминантах эффективности РНК-интерференции, раскрывая роль локального распределения термодинамической асимметрии в механизмах загрузки направляющей цепи в RISC-комплекс. Применительно к иммунологически значимым мишеням – генам *CD47* и *ITGB1* – данный подход демонстрирует принципиальную возможность предсказания функциональной активности молекул на этапе вычислительного анализа. Разработанные подходы к химической модификации

расширяют теоретические представления о взаимосвязи между локальными энергетическими характеристиками дуплекса и биологической активностью молекулы. Экспериментально обоснованная возможность прецизионного управления степенью нокдауна формирует новую концептуальную основу для создания миРНК с заданным иммунологическим эффектом – не бинарным нокдауном, а дозированной модуляцией активности молекул, обеспечивающих уклонение опухоли от иммунитета.

Практическая значимость работы

Полученные функционально активные химически модифицированные миРНК против мРНК генов *CD47* и *ITGB1* представляют собой кандидатные молекулы, готовые к изучению в исследованиях механизмов уклонения опухолевых клеток от иммунного надзора. С учетом способности данных миРНК подавлять экспрессию иммунорегуляторных генов при отсутствии выраженного цитотоксического эффекта они могут рассматриваться как перспективные объекты для последующих доклинических исследований в области противоопухолевой иммунотерапии. Разработанный комплексный алгоритм дизайна и ранжирования миРНК *in silico*, включающий метод энергетической сигнатуры, может быть применен при проектировании миРНК к различным генам-мишеням, включая гены, вовлеченные в иммунорегуляцию и механизмы уклонения опухолевых клеток от иммунного надзора. Разработанные схемы химической модификации имеют самостоятельную практическую ценность как инструмент дозированного подавления экспрессии иммунорегуляторных генов, открывая перспективу тонкой настройки иммунного ответа без полного выключения физиологических функций мишени. Разработанный программный сценарий для подбора, оценки и модификации миРНК представляет собой готовый к использованию программный модуль для научно-исследовательских

лабораторий, а также применим в образовательном процессе при подготовке специалистов в области молекулярной иммунологии.

Внедрение результатов исследования в практику

Результаты исследования внедрены в научно-исследовательскую работу отдела генетики и регуляции иммунного ответа ГНЦ ФГБУ «НМИЦ аллергологии и иммунологии» ФМБА России (ранее ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России), где используются при разработке и оптимизации интерферирующих РНК и оценке их биологической активности (акт внедрения от 01.02.2026, приложение А). В результате применения разработанных алгоритмов при выполнении работ по теме «Подавление экспрессии генов, ассоциированных с накоплением липопротеинов низкой плотности при помощи механизма интерференции РНК», шифр «Липопротеин-24» получены результаты интеллектуальной деятельности, используемые в режиме секрета производства (ноу-хау) (приложение А). Материалы диссертации используются в учебном процессе при подготовке специалистов в области молекулярной биологии и биомедицины (акт внедрения от 17.03.2026, приложение А).

Методология и методы исследования

Методологической основой диссертационного исследования послужили современные представления о молекулярных механизмах РНК-интерференции как инструмента регуляции иммуноопосредованных процессов, концепции иммунного уклонения опухолевых клеток через молекулы CD47 и ITGB1, а также принципы рационального дизайна олигонуклеотидов с заданными функциональными свойствами. Работа выполнена в рамках междисциплинарного подхода, объединяющего методологию молекулярной

иммунологии, биоинформатики, химии олигонуклеотидов и клеточной биологии, и направлена на получение терапевтических молекул-кандидатов для прецизионного воздействия на механизмы иммунного уклонения гепатоцеллюлярной карциномы.

На этапе *in silico* использованы методы биоинформатического проектирования и ранжирования миРНК против мРНК генов, опосредующих уклонение от иммунитета *CD47* и *ITGB1*, основанные на анализе нуклеотидной последовательности, термодинамических характеристик дуплексов, оценке вторичных структур целевых участков мРНК и прогнозировании нецелевых эффектов. В качестве оригинального критерия отбора применен разработанный метод энергетической сигнатуры, позволяющий использовать локальное распределение термодинамической асимметрии дуплекса как предиктор функциональной активности молекул, направленных на иммунорегуляторные мишени.

Химический этап исследования включал твердофазный фосфорамидитный синтез немодифицированных и химически модифицированных миРНК с использованием 2'-F- и 2'-O-метильных производных рибозы по трем оригинальным схемам модификации, направленным на прецизионное управление энергетическим профилем дуплекса. Структурная идентичность и чистота синтезированных молекул подтверждены методами хроматографии и масс-спектрометрии MALDI-ToF.

Иммунологическая значимость полученных молекул обоснована через оценку их биологической активности в отношении генов *CD47* и *ITGB1*, являющимися существенными участниками прогрессии гепатоцеллюлярной карциномы. Функциональная активность миРНК оценивалась с помощью репортерной экспрессионной плазмиды. Отсутствие цитотоксического эффекта синтезированных молекул, подтвержденное МТТ-тестом в широком диапазоне концентраций, обосновывает их применимость в последующих иммунологических экспериментах с участием иммунных клеток.

Статистическая обработка данных проводилась с применением параметрических и непараметрических критериев, адекватных характеру распределения данных.

Положения, выносимые на защиту

1. Разработан комплексный алгоритм *in silico*-дизайна и отбора миРНК, основанный на методе энергетической сигнатуры дуплексов, обеспечивающий двукратное повышение эффективности отбора миРНК, которые обеспечивают подавление экспрессию генов-мишеней более чем на 99%.
2. Позиционно-специфическая химическая модификация с использованием 2'-F- и 2'-О-метильных производных рибозы позволяет обеспечить устойчивость миРНК к действию нуклеаз и прецизионно изменять эффективность РНК-интерференции без нарушения комплементарности к целевому участку мРНК, в том числе для иммунологически значимых мишеней *CD47* и *ITGB1*.
3. Функционально активные химически модифицированные миРНК эффективно подавляют экспрессию иммунорегуляторных генов *CD47* и *ITGB1* при отсутствии выраженного цитотоксического эффекта, что обосновывает дальнейшее исследование их вклада в восстановление противоопухолевого иммунного ответа, а также проведение доклинических испытаний данных миРНК в качестве кандидатных средств для терапии онкологических заболеваний.

Степень достоверности результатов

Достоверность представленных результатов определяется четко сформулированными целью и задачами, планом исследования, достаточным для

статистического анализа количеством наблюдений, использованием статистических методов исследования, адекватных поставленным задачам. Приведенные в диссертации данные получены с использованием современного оборудования, прошедшего своевременную поверку. Все эксперименты выполнялись в биологических и технических повторях; статистическая обработка проводилась с применением параметрических и непараметрических критериев, адекватных характеру распределения данных. Установлено, что результаты диссертационной работы являются достоверными.

Апробация результатов

Основные результаты диссертационной работы доложены и обсуждены на профильных научных конференциях: The 19th IUIS International Congress of Immunology (IUIS 2025) (Вена, Австрия, 17–22 августа 2025 г.); Международном конгрессе по молекулярной иммунологии и аллергологии (ИМАС 25) (Москва, Россия, 4–5 декабря 2025 г.); Школе по аллергологии и иммунологии им. Академика Р.М. Хаитова (Москва, Россия, 5–6 марта 2026 г.). Апробация диссертации состоялась на заседании секции № 1 ученого совета ГНЦ ФГБУ «НМИЦ аллергологии и иммунологии» ФМБА России (ранее ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России) 14 мая 2026 г.

Личный вклад автора

Личный вклад соискателя состоит в самостоятельной постановке задач и планировании исследования; разработке алгоритмов дизайна и ранжирования миРНК *in silico*, включая метод энергетической сигнатуры; разработке и реализации программных сценариев для биоинформатического анализа; проектировании схем химической модификации миРНК; разработке дизайна и

планировании экспериментов *in vitro* по оценке интерферирующей активности и цитотоксичности; проведении статистического анализа данных и интерпретации полученных результатов; подготовке основных публикаций по теме исследования.

Полнота изложения материалов диссертации в опубликованных работах

По теме диссертации опубликовано 4 научных статьи в рецензируемых изданиях, включая статьи в журналах, входящих в перечень рецензируемых периодических научных изданий, рекомендованных для публикации основных научных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук и доктора наук.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 151 странице машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, основной части (материалы и методы, результаты, обсуждение), заключения, выводов, списка сокращений и условных обозначений, словаря терминов, списка литературы и приложений. Библиографический список включает 122 источника, из которых 9 отечественных и 113 зарубежных. Работа иллюстрирована 23 рисунками и 15 таблицами. Работа содержит 5 приложений.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. РНК-интерференция как механизм регуляции экспрессии генов

РНК-интерференция представляет собой универсальный, эволюционно консервативный биологический механизм посттранскрипционной регуляции экспрессии генов, основанный на специфическом распознавании и подавлении мРНК с участием малых некодирующих РНК. В настоящее время данный процесс рассматривается как один из ключевых уровней контроля клеточного гомеостаза, обеспечивающий тонкую настройку синтеза белков, защиту генома от экзогенных и эндогенных нуклеиновых кислот, а также адаптацию клетки к изменяющимся условиям микроокружения [84].

Открытие феномена РНК-интерференции было сделано в экспериментах на нематоде *Caenorhabditis elegans*, где было показано, что введение двуцепочечной РНК приводит к избирательному снижению экспрессии гена, комплементарного введенной последовательности. В дальнейшем аналогичные эффекты были обнаружены у широкого круга эукариотических организмов, включая млекопитающих, что позволило рассматривать РНК-интерференцию как эволюционно консервативный и фундаментальный регуляторный механизм [84].

Ключевым элементом системы РНКи является белковый комплекс RISC (RNA-induced silencing complex), обеспечивающий распознавание, связывание и инактивацию целевой мРНК. Формирование активных малых интерферирующих РНК начинается с процессинга двуцепочечных РНК эндорибонуклеазой Dicer. В результате данного этапа образуются дуплексы длиной порядка 21–23 нуклеотидов, как правило, содержащие двухнуклеотидные 3'-перевесы. Эти структуры далее вовлекаются в процесс сборки RISC [72].

После загрузки дуплекса в комплекс происходит разделение цепей: одна из них сохраняется в составе RISC в качестве направляющей, тогда как вторая – пассажирская – удаляется и подвергается деградации. Центральную роль в этом процессе играет белок Argonaute 2 (Ago2), обладающий эндонуклеазной активностью и обеспечивающий последующее расщепление целевой мРНК [3, 21].

Выбор направляющей цепи не является случайным и определяется рядом физико-химических факторов. Наиболее важным из них считается термодинамическая асимметрия концов дуплекса: предпочтительно сохраняется та цепь, 5'-конец которой характеризуется меньшей стабильностью спаривания оснований. Такой механизм способствует ориентированной загрузке функционально активной цепи в RISC и существенно влияет на эффективность интерференции [65].

Связывание направляющей цепи с комплементарным участком мРНК приводит к формированию РНК–РНК гибрида, после чего Argonaute 2 осуществляет расщепление транскрипта в строго определенной позиции, соответствующей области напротив 10–11 нуклеотидов от 5'-конца направляющей цепи. Образующиеся фрагменты мРНК быстро деградируют, что сопровождается снижением уровня транскрипта и подавлением синтеза соответствующего белка [6, 23].

Наряду с миРНК, в клетках функционируют эндогенные микроРНК, которые, как правило, взаимодействуют с мРНК при неполной комплементарности и вызывают либо торможение трансляции, либо дестабилизацию транскриптов. Несмотря на различия в механизмах распознавания, базовые этапы функционирования миРНК и микроРНК во многом сходны, что подчеркивает универсальность РНКи как регуляторной системы [57].

Многочисленные исследования показывают, что эффективность РНКи определяется не только степенью комплементарности последовательностей, но

и совокупностью дополнительных факторов. К ним относятся нуклеотидный состав, содержание GC-пар, особенности вторичной структуры целевого участка мРНК, а также пространственно-временное распределение свободной энергии в дуплексе. Особое значение имеет состояние 5'-конца антисмысловой цепи, поскольку именно этот участок в наибольшей степени влияет на вероятность ее включения в состав RISC [23, 100].

Следует отметить, что большинство существующих алгоритмов дизайна миРНК опираются преимущественно на интегральные параметры, такие как суммарная энергия гибридизации. Однако все больше данных свидетельствует о том, что локальные энергетические различия между соседними нуклеотидами и характер распределения энергетических градиентов вдоль цепей оказывают существенное влияние на функциональную активность молекулы [25].

В совокупности данные о роли РНК-интерференции в защите генома от чужеродных нуклеиновых кислот и регуляции эндогенной экспрессии генов позволяют рассматривать данный механизм не только как инструмент молекулярной биологии, но и как важный компонент систем врожденного иммунного контроля [7, 44]. Способность РНКи избирательно подавлять экспрессию конкретных генов делает ее функциональным аналогом естественных регуляторных контуров, ограничивающих патологическую активацию сигнальных каскадов и поддерживающих иммунный гомеостаз. В контексте онкологических заболеваний это приобретает особое значение, поскольку опухолевые клетки активно используют нарушения регуляции экспрессии генов для формирования иммуносупрессивного микроокружения и уклонения от иммунного надзора [120]. Следовательно, целенаправленное использование интерферирующих РНК для модуляции экспрессии генов, вовлеченных в иммунные и опухоль-ассоциированные процессы, представляет собой логическое продолжение естественных регуляторных механизмов клетки и формирует концептуальную основу для рассмотрения миРНК в качестве перспективного терапевтического инструмента [96].

1.2. Применение миРНК в онкологии и иммунологии

Появление технологий, основанных на РНКи, существенно изменило представления о возможностях целенаправленного воздействия на экспрессию генов. Если первоначально интерферирующие РНК рассматривались преимущественно как инструмент для изучения функций генов, то в настоящее время они все чаще воспринимаются как основа для формирования новых терапевтических подходов [30]. Ключевым преимуществом миРНК является их способность снижать уровень мРНК строго определенного гена, что позволяет вмешиваться в патологические процессы на этапе трансляции патогенетических белков [44].

В контексте онкологических заболеваний данное свойство приобретает особую значимость. Опухолевая клетка характеризуется не изолированным нарушением какого-либо одного сигнального пути, а системными изменениями регуляции экспрессии множества генов. Эти изменения обеспечивают поддержание пролиферации, устойчивость к апоптозу, способность к инвазии и формирование лекарственной резистентности [54]. Использование миРНК позволяет адресно воздействовать на такие молекулярные узлы, тем самым ослабляя устойчивость опухолевых клеток к внутренним и внешним стрессовым факторам [43].

Экспериментальные данные свидетельствуют о том, что подавление экспрессии онкогенов, факторов роста и компонентов внутриклеточных сигнальных каскадов с помощью миРНК может приводить к снижению жизнеспособности опухолевых клеток и замедлению их пролиферации [108]. В ряде случаев подобное воздействие сопровождается повышением чувствительности клеток к химиотерапевтическим препаратам и лучевой терапии, что создает предпосылки для использования миРНК в составе комбинированных схем лечения.

В последние годы все более отчетливо прослеживается тенденция к расширению области применения миРНК за пределы прямого воздействия на опухолевые клетки [120]. Существенное внимание уделяется возможности модуляции иммунного микроокружения опухоли. Известно, что даже при наличии иммуногенных опухолевых антигенов противоопухолевый иммунный ответ часто оказывается недостаточным вследствие действия иммуносупрессивных механизмов [34]. Эти механизмы формируются как за счет самих опухолевых клеток, так и за счет вовлеченных в процесс компонентов стромы и иммунной системы.

В этом отношении миРНК рассматриваются как инструмент селективного подавления генов, участвующих в формировании иммунного торможения. Снижение экспрессии таких мишеней может способствовать восстановлению функциональной активности Т-лимфоцитов и натуральных киллеров, а также усилению фагоцитарной активности клеток врожденного иммунитета [106]. Тем самым интерферирующие РНК способны опосредованно усиливать собственные защитные механизмы организма [106].

Отдельного внимания заслуживает возможность комплексного воздействия на различные компоненты опухолевой ниши. Подавление генов, регулирующих клеточную адгезию, миграцию и межклеточные взаимодействия, может приводить к изменению архитектуры микроокружения и снижению его поддерживающей роли в отношении опухолевого роста [75]. Такой подход позволяет рассматривать миРНК не только как средство блокирования отдельных молекулярных мишеней, но и как инструмент функционального «перепрограммирования» опухолевой среды.

Наряду с очевидными перспективами, применение миРНК сталкивается с рядом ограничений. Основными из них остаются нестабильность нуклеиновых кислот в биологических средах, трудности доставки в клетки-мишени и риск нецелевых эффектов [119]. Эти проблемы стимулируют развитие систем

доставки и стратегий химической модификации миРНК, направленных на повышение их устойчивости и биодоступности [119].

Постепенный переход от эмпирического подбора активных последовательностей к рациональному дизайну интерферирующих РНК отражает общий тренд в развитии области. Учет последовательностных и термодинамических характеристик, а также особенностей взаимодействия миРНК с компонентами молекулярной биологии и биохимии процесса РНКи, позволяет создавать молекулы с более предсказуемыми свойствами [87].

Таким образом, использование миРНК в онкологии и иммунологии формируется как самостоятельное и динамично развивающееся направление, объединяющее фундаментальные аспекты регуляции экспрессии генов и практические задачи создания новых терапевтических стратегий [99]. Данные положения служат основанием для дальнейшего рассмотрения конкретных молекулярных мишеней и принципов их выбора в рамках настоящего исследования.

1.3. Иммуноопосредованные механизмы прогрессии гепатоцеллюлярной карциномы

Гепатоцеллюлярная карцинома относится к числу злокачественных эпителиальных опухолей, развитие которых тесно связано с хроническим воспалением и длительными нарушениями иммунного гомеостаза [4, 55]. В большинстве случаев неопластическая трансформация гепатоцитов происходит на фоне фиброза или цирроза печени, формирующихся в результате вирусных инфекций, токсических воздействий или метаболических нарушений [45]. Эти состояния сопровождаются постоянной активацией иммунной системы, что создает уникальное микроокружение, одновременно способствующее повреждению тканей и поддержанию опухолевого роста [42].

На ранних этапах канцерогенеза иммунная система способна распознавать и элиминировать трансформированные клетки. Однако по мере прогрессии заболевания опухоль приобретает механизмы уклонения от иммунного надзора. В результате формируется динамическое равновесие между противоопухолевыми и иммуносупрессивными сигналами, смещающееся в сторону последних. Такое состояние принято рассматривать как иммунное редактирование опухоли, включающее фазы элиминации, равновесия и уклонения [9, 31, 111].

Одним из ключевых факторов прогрессии гепатоцеллюлярной карциномы является формирование иммуносупрессивного микроокружения. Опухолевые клетки и ассоциированные с ними стромальные элементы начинают активно секретировать цитокины и хемокины, способствующие рекрутированию регуляторных Т-лимфоцитов, миелоидных супрессорных клеток и M2-поляризованных макрофагов. Эти клеточные популяции подавляют активность эффекторных Т-клеток и натуральных киллеров, снижая эффективность противоопухолевого иммунного ответа [7, 24].

Наряду с изменением клеточного состава микроокружения, существенную роль играет экспрессия молекул, обеспечивающих прямое торможение иммунных клеток. Опухолевые клетки могут повышать мембранную концентрацию ингибирующих лигандов на своей поверхности, что приводит к функциональному истощению Т-лимфоцитов и снижению их цитотоксического потенциала. В результате даже при наличии опухолевых антигенов иммунный ответ оказывается неполноценным [27, 52].

Хроническое воспаление, характерное для заболеваний печени, также вносит вклад в прогрессию опухоли. Длительная продукция провоспалительных медиаторов формирует условия для дизруптивного естественного отбора, что формирует гено- и фенотипический полиморфизм тканей [85]. Попытки поддержания организменного гомеостаза приводят к активации пролиферативных сигнальных путей и ремоделированию внеклеточного

матрикса [55]. По мере адаптации неопластических клеток, эти условия формируют стабилизирующий естественный отбор, способствующий росту опухолевых клеток и их инвазивному поведению.

Важным аспектом является участие молекул клеточной адгезии и поверхностных рецепторов в формировании взаимодействий между опухолевыми клетками и элементами микроокружения [53]. Изменения в экспрессии таких молекул могут усиливать миграционные свойства опухолевых клеток, способствовать их выживанию и формированию метастазов. Одновременно данные молекулы могут участвовать в передаче сигналов, влияющих на активность иммунных клеток [53].

Дополнительным механизмом уклонения от иммунного надзора является нарушение процессов фагоцитоза и презентации антигенов. Опухолевые клетки способны подавлять захват и переработку опухолевых антигенов макрофагами и дендритными клетками, что приводит к ослаблению активации адаптивного иммунного ответа. Это еще больше усиливает иммуносупрессивный характер опухолевой ниши [8, 27].

В совокупности перечисленные механизмы формируют сложную сеть взаимодействий, в которой опухолевые клетки не просто избегают иммунного распознавания, но активно перестраивают микроокружение в свою пользу [42]. Именно поэтому современные подходы к терапии гепатоцеллюлярной карциномы все чаще ориентированы не только на прямое подавление опухолевого роста, но и на восстановление противоопухолевого иммунного ответа [55].

С этой точки зрения особый интерес представляет возможность целенаправленной модуляции экспрессии генов, вовлеченных в иммунные и адгезивные процессы. Такой подход позволяет рассматривать интерферирующие РНК как инструмент воздействия на ключевые узлы иммуноопосредованной прогрессии опухоли, что создает предпосылки для

выбора конкретных молекулярных мишеней, обсуждаемых в последующих разделах работы.

1.4. Современные подходы к терапии гепатоцеллюлярной карциномы

Современные представления о патогенезе гепатоцеллюлярной карциномы свидетельствуют о том, что прогрессия данного заболевания определяется не только автономными свойствами опухолевых клеток. Опухоль является сложной системой с множеством взаимодействующих компонентов микроокружения, прежде всего с иммунной системой. Это обстоятельство обуславливает необходимость комплексного подхода к лечению, включающего как методы прямого воздействия на опухолевую ткань, так и стратегии, направленные на модуляцию ключевых молекулярных и клеточных процессов, поддерживающих опухолевый рост. В клинической практике сформирован широкий спектр терапевтических подходов, различающихся по механизму действия, показаниям и эффективности. Их последовательное рассмотрение позволяет оценить достигнутые успехи, выявить ограничения существующих методов и обосновать целесообразность поиска новых молекулярно-таргетных стратегий, в том числе основанных на использовании интерферирующих РНК.

1.4.1. Хирургическое лечение и локорегионарные методы

Хирургическое вмешательство на протяжении длительного времени остается основным методом радикального лечения гепатоцеллюлярной карциномы и ассоциируется с наилучшими показателями долгосрочной выживаемости у тщательно отобранных пациентов. К данной группе подходов относят резекцию печени и трансплантацию органа, выбор между которыми

определяется стадией заболевания, функциональным состоянием печени и наличием сопутствующих патологий. При ограниченных опухолевых очагах и сохраненном резерве печеночной ткани резекция позволяет удалить первичный узел с достижением макроскопически полного иссечения [48]. Однако даже при выполнении радикальной операции сохраняется высокий риск внутripеченочных рецидивов, что во многом связано с фоновой цирротической перестройкой печени и продолжающимся действием канцерогенных факторов [4, 48].

Трансплантация печени рассматривается как метод, сочетающий удаление опухолевого очага с устранением пораженного органа-носителя, что теоретически снижает вероятность повторного возникновения опухоли. Тем не менее применение данного подхода существенно ограничено дефицитом донорских органов, строгими критериями отбора пациентов и необходимостью длительной иммуносупрессивной терапии, способной оказывать влияние на противоопухолевый иммунный контроль [15, 48].

Наряду с хирургическими вмешательствами широкое распространение получили локорегионарные методы воздействия, направленные на разрушение опухолевой ткани *in situ*. К ним относятся различные варианты абляции, включая радиочастотную и микроволновую, при которых осуществляется локальный термический некроз опухоли. Подобные методики особенно востребованы у пациентов с небольшими очагами и противопоказаниями к хирургическому лечению. Несмотря на минимальную инвазивность, эффективность абляционных подходов снижается при увеличении размеров опухоли, наличии множественных узлов и неблагоприятной локализации [15].

Отдельное место занимает трансартериальная химиоэмболизация, основанная на селективном введении химиотерапевтических препаратов в сосуды, питающие опухоль, с одновременным их эмболизированием. Такой подход позволяет создавать высокую локальную концентрацию цитостатиков и индуцировать ишемическое повреждение опухолевой ткани. Вместе с тем

трансартериальная химиоэмболизация, как правило, носит паллиативный характер и не обеспечивает полного излечения, что обуславливает необходимость повторных процедур и комбинирования с другими методами лечения [48].

Общим ограничением хирургических и локорегионарных подходов является их применимость преимущественно на ранних стадиях заболевания и зависимость от анатомических и функциональных параметров печени. Кроме того, данные методы воздействуют в основном на уже сформированные опухолевые очаги, не затрагивая молекулярные механизмы, лежащие в основе опухолевой прогрессии и формирования иммуносупрессивного микроокружения. Это обстоятельство подчеркивает необходимость дополнения локальных методов лечения системными и молекулярно-ориентированными стратегиями, направленными на контроль ключевых регуляторных процессов в опухолевых клетках и их микроокружении.

1.4.2. Системная таргетная терапия

Переход к системной таргетной терапии при гепатоцеллюлярной карциноме стал возможен благодаря накоплению данных о ключевых сигнальных путях, обеспечивающих рост, ангиогенез и выживание опухолевых клеток. В отличие от локальных методов воздействия, данные препараты предназначены для подавления молекулярных каскадов, функционирующих как в первичном очаге, так и в метастатических поражениях, что определяет их применение преимущественно у пациентов с распространенными и нерезектабельными формами заболевания [110].

Основу современной системной терапии составляют мультикиназные ингибиторы, обладающие способностью одновременно блокировать активность нескольких рецепторных и внутриклеточных киназ. К числу наиболее широко

используемых препаратов относятся сорафениб (Nexavar) и ленватиниб (Lenvima), продемонстрировавшие клинически значимое, хотя и ограниченное, улучшение показателей выживаемости у пациентов с гепатоцеллюлярной карциномой. Их противоопухолевый эффект реализуется за счет ингибирования рецепторов сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGFR), рецепторов фактора роста фибробластов (FGFR), рецепторов тромбоцитарного фактора роста (PDGFR), а также компонентов каскада RAF/MEK/ERK, участвующих в передаче митогенных сигналов [68, 110].

Подобная многонаправленность действия позволяет одновременно воздействовать на процессы ангиогенеза, пролиферации и клеточного выживания. Однако именно отсутствие строгой селективности во многом определяет ограничения данного класса препаратов. Подавление широкого спектра сигнальных путей сопровождается развитием нежелательных явлений, включая кожные реакции, артериальную гипертензию, нарушения функции желудочно-кишечного тракта и астенический синдром, что может снижать переносимость терапии и требовать коррекции доз [110].

Еще одним существенным ограничением системной таргетной терапии является умеренное увеличение общей и безрецидивной выживаемости. У значительной части пациентов эффект носит транзиторный характер, а в процессе лечения формируется лекарственная резистентность. Ее развитие связывают с активацией альтернативных сигнальных маршрутов, изменением экспрессии мишеней и клональной гетерогенностью опухолевой популяции. В результате эффективность ингибирования отдельных киназ со временем снижается, что ограничивает долгосрочный контроль над заболеванием [89].

Таким образом, несмотря на важную роль мультикиназных ингибиторов в лечении гепатоцеллюлярной карциномы, возможности данного подхода остаются ограниченными. Это подчеркивает необходимость поиска более селективных молекулярных стратегий, позволяющих избирательно воздействовать на конкретные гены и регуляторные узлы, вовлеченные в

прогрессию опухоли, и формирует предпосылки для развития новых классов терапевтических вмешательств.

1.4.3. Иммуноterapia ГЦК

Формирование представлений о ключевой роли иммунной системы в контроле опухолевого роста привело к становлению онкоиммунологии как одного из ведущих направлений современной противоопухолевой терапии. В рамках данной концепции гепатоцеллюлярная карцинома рассматривается не только как результат автономных генетических нарушений в опухолевых клетках, но и как следствие дисбаланса между противоопухолевыми и иммуносупрессивными сигналами в микроокружении печени. Это обусловило интерес к терапевтическим стратегиям, направленным на восстановление функциональной активности иммунных клеток и преодоление механизмов иммунного торможения.

Наибольшее клиническое значение в настоящее время имеют ингибиторы иммунных контрольных точек, блокирующие взаимодействия, приводящие к истощению Т-лимфоцитов и снижению их цитотоксического потенциала. Препараты данной группы, такие как ниволумаб (Opdivo) и пембролизумаб (Keytruda), продемонстрировали способность индуцировать объективные противоопухолевые ответы у части пациентов с распространенными формами гепатоцеллюлярной карциномы. Их применение связано с блокадой сигнальных осей, ограничивающих активацию Т-клеток, что приводит к усилению распознавания и уничтожения опухолевых клеток [78].

Важным этапом развития иммунотерапии стало внедрение комбинированных режимов, сочетающих иммунные препараты с агентами, воздействующими на опухолевое микроокружение. Примером такого подхода является комбинация атезолизумаб (Tecentriq) и бевацизумаб (Avastin),

направленная одновременно на активацию противоопухолевого иммунного ответа и подавление ангиогенеза. Подобные схемы позволяют повышать частоту клинического ответа по сравнению с монотерапией, что подчеркивает перспективность многофакторного воздействия на опухолевый процесс [24].

Несмотря на значительные успехи, эффективность иммунотерапии остается ограниченной. Клинически значимый ответ наблюдается лишь у части пациентов, что указывает на выраженную межиндивидуальную вариабельность чувствительности к лечению. Кроме того, возможны как первичная, так и вторичная резистентность, формирующиеся вследствие адаптации опухоли и перестройки иммунного микроокружения. Существенным аспектом также являются иммуноопосредованные нежелательные явления, затрагивающие различные органы и системы, что требует тщательного мониторинга и коррекции терапии [95].

В совокупности данные обстоятельства свидетельствуют о том, что иммунотерапия при гепатоцеллюлярной карциноме представляет собой важный, но не исчерпывающий инструмент лечения. Это формирует потребность в разработке подходов, способных избирательно модулировать экспрессию генов, вовлеченных в иммунное уклонение и поддержание опухолевого роста, и тем самым дополнять существующие иммунные стратегии на молекулярном уровне.

1.4.4. Экспериментальные и молекулярно-таргетные подходы

Ограничения хирургических, локорегионарных, таргетных и иммунных методов лечения стимулировали активное развитие экспериментальных стратегий, направленных на вмешательство в опухолевый процесс на уровне регуляции экспрессии генов. В рамках данных подходов особое внимание уделяется олигонуклеотидным технологиям, позволяющим избирательно

воздействовать на мРНК или регуляторные РНК-мишени и тем самым изменять синтез ключевых белков, участвующих в прогрессии опухоли [99].

К числу таких стратегий относятся антисмысловые РНК, представляющие собой короткие олигонуклеотиды, комплементарные целевым мРНК. Их связывание с транскриптом может приводить к блокированию трансляции или запуску механизмов деградации мРНК. Подобный подход позволяет снижать уровень экспрессии конкретных генов, участвующих в контроле пролиферации, ангиогенеза и устойчивости опухолевых клеток к апоптозу [99].

Дополнительное направление связано с использованием молекул, модулирующих активность эндогенных микроРНК. микроРНК-мимики воспроизводят функции утраченных или сниженно экспрессируемых микроРНК с опухоль-супрессорными свойствами, тогда как ингибиторы микроРНК (antagoMiR'ы) подавляют активность микроРНК, способствующих опухолевому росту. За счет этого становится возможным косвенное воздействие сразу на несколько генов, входящих в один регуляторный контур, что может усиливать терапевтический эффект [80].

Наряду с antagoMiR'ами важное место занимают антисмысловые олигонуклеотиды (АСО). Эти молекулы также представляют собой одноцепочечные некодирующие олигонуклеотиды, однако их мишенью являются транскрипты пре-мРНК или непосредственно ДНК [19]. Аллостерическая модификация комплементарной последовательности ограничивает возможность дальнейшего процессинга мишени. Практическая ценность АСО заключается в гибкости их применения: модификация определенных регуляторных фрагментов последовательности позволяет как стимулировать, так и ингибировать экспрессию целевого гена [67]. Кроме того, связывание определенных интронов в пре-мРНК позволяет оказывать влияние на процессы сплайсинга, обеспечивая исключение фрагментов, приводящих к трансляции дефектного белка [97]. Технология терапевтических АСО находит широкое применение в терапии моногенных орфанных патологий, таких как

мышечная дистрофия Дюшена [92], спинальная мышечная атрофия [81], первичная гипероксалурия I типа [64].

Особое место среди молекулярно-таргетных подходов занимают малые интерферирующие РНК (миРНК), инициирующие РНК-интерференцию. Данные молекулы обеспечивают высокоспецифичное подавление экспрессии выбранного гена за счет комплементарного взаимодействия с мРНК и последующей ее деградации. В отличие от малых молекул и антител, миРНК позволяют воздействовать на практически любой ген, включая те, продукты которых трудно поддаются прямому фармакологическому ингибированию [44].

Важным преимуществом олигонуклеотидных терапий является гибкость дизайна. Последовательность молекулы может быть рационально спроектирована с учетом структуры мРНК-мишени, термодинамических характеристик и потенциальных нецелевых эффектов. Это создает предпосылки для формирования персонализированных подходов, ориентированных на молекулярный профиль конкретной опухоли [36].

Вместе с тем экспериментальные молекулярные стратегии сталкиваются с рядом задач, включая необходимость повышения стабильности олигонуклеотидов, обеспечения их эффективной доставки в клетки-мишени и контроля биологической активности. Решение этих проблем требует развития комплексных подходов, объединяющих вычислительный дизайн, химическую модификацию и функциональную валидацию молекул [119].

Таким образом, экспериментальные и молекулярно-таргетные подходы формируют перспективное направление терапии гепатоцеллюлярной карциномы (ГЦК), ориентированное на селективное подавление конкретных генов и регуляторных узлов. Их дальнейшее развитие может существенно расширить арсенал средств, дополняющих существующие клинические стратегии.

1.4.5. Ограничения существующих подходов и необходимость новых стратегий

Несмотря на существенный прогресс в разработке методов лечения гепатоцеллюлярной карциномы, совокупность современных терапевтических подходов по-прежнему не обеспечивает устойчивого и длительного контроля над заболеванием. Хирургические и локорегионарные методы обладают наибольшим потенциалом на ранних стадиях, однако их применимость ограничена распространенностью процесса и функциональным состоянием печени. Системная таргетная терапия и иммунотерапия расширили возможности лечения пациентов с нерезектабельными формами, но сопровождаются умеренной глубиной ответа, развитием резистентности и вариабельностью клинического эффекта [48].

Одним из ключевых недостатков существующих стратегий является отсутствие возможности персонализированной регуляции экспрессии генов. В большинстве случаев терапевтическое воздействие направлено на относительно широкий класс мишеней или сигнальных путей, что не позволяет учитывать индивидуальные особенности молекулярного профиля опухоли конкретного пациента. В результате остается ограниченным контроль над внутриклеточными сигнальными каскадами, определяющими пролиферацию, выживание и иммунное уклонение опухолевых клеток [74].

Дополнительной проблемой является неспособность многих методов избирательно модулировать активность отдельных регуляторных узлов без вовлечения побочных процессов. Это приводит к развитию токсичности и снижению переносимости терапии, что ограничивает возможность ее длительного применения. Кроме того, опухолевая гетерогенность и пластичность способствуют быстрому формированию адаптивных механизмов, снижающих эффективность даже первоначально результативных схем лечения [74].

В совокупности перечисленные ограничения формируют потребность в создании молекулярных инструментов с управляемой активностью, способных обеспечивать точечное и предсказуемое вмешательство в регуляцию экспрессии генов. Особый интерес в этом контексте представляют подходы, основанные на РНК-интерференции и рациональном дизайне малых интерферирующих РНК, позволяющие селективно подавлять экспрессию выбранных мишеней и потенциально адаптировать терапию под конкретные молекулярные особенности опухоли [105].

Так, существующая необходимость интеграции вычислительных методов дизайна, термодинамической и структурной оценки олигонуклеотидов, а также рациональной химической модификации формирует концептуальную основу для разработки новых стратегий лечения гепатоцеллюлярной карциномы. Данные положения служат логическим переходом к рассмотрению биологической роли конкретных генов-мишеней и подходов к созданию интерферирующих РНК, обсуждаемых в последующих разделах работы.

1.5. Биологическая роль генов *ITGB1* и *CD47* в опухолевой прогрессии

Идентификация молекулярных мишеней, вовлеченных в поддержание опухолевого роста и иммунного уклонения, является ключевым этапом разработки новых таргетных и молекулярных терапевтических подходов. Среди множества генов, ассоциированных с прогрессией злокачественных новообразований, особый интерес представляют *ITGB1* и *CD47*, продукты которых участвуют в формировании межклеточных взаимодействий, регуляции миграции опухолевых клеток и контроле иммунного ответа [39, 53].

Ген *ITGB1* кодирует $\beta 1$ -субъединицу интегринов – трансмембранных рецепторов, обеспечивающих адгезию клеток к компонентам внеклеточного матрикса и другим клеткам. Интегрины с участием $\beta 1$ -субъединицы вовлечены

в активацию сигнальных каскадов, регулирующих пролиферацию, выживание и цитоскелетную организацию. Повышенная экспрессия *ITGB1* в опухолевых клетках ассоциируется с усилением миграционной и инвазивной активности, что способствует локальному распространению опухоли и формированию метастазов. Кроме того, активация интегринов может усиливать устойчивость опухолевых клеток к апоптозу и снижать их чувствительность к терапевтическому воздействию [1, 62].

В контексте гепатоцеллюлярной карциномы изменения экспрессии *ITGB1* рассматриваются как фактор, способствующий ремоделированию микроокружения печени и поддержанию опухолевой ниши. Нарушение баланса адгезивных взаимодействий облегчает отделение клеток от первичного очага, их миграцию и колонизацию новых участков ткани. В ряде исследований показана связь повышенного уровня *ITGB1* с неблагоприятным прогнозом и агрессивным клиническим течением заболевания, что подчеркивает его потенциальную значимость в качестве терапевтической мишени [39, 53, 62].

Ген *CD47* кодирует поверхностный белок, выполняющий функцию так называемого сигнала «don't eat me», который препятствует фагоцитозу клеток макрофагами. Связывание *CD47* с соответствующими рецепторами на иммунных клетках приводит к подавлению фагоцитарной активности и снижению эффективности врожденного иммунного ответа. Опухолевые клетки часто используют данный механизм, усиливая экспрессию *CD47* для защиты от иммунного распознавания и элиминации [9, 93].

Повышенный уровень *CD47* в различных типах опухолей, включая гепатоцеллюлярную карциному, ассоциирован с ухудшением прогноза и снижением выживаемости пациентов [35]. Это связано с тем, что блокирование фагоцитоза способствует накоплению опухолевых клеток и поддержанию иммуносупрессивного микроокружения. Таким образом, *CD47* представляет собой важный узел регуляции взаимодействий между опухолью и иммунной системой [17].

Попытки таргетирования *ITGB1* и *CD47* с использованием антител и малых молекул продемонстрировали перспективность данного направления, однако такие подходы сталкиваются с рядом ограничений, включая токсичность, неполную селективность и развитие резистентности. В этом контексте особый интерес представляет возможность подавления экспрессии указанных генов на уровне мРНК с использованием интерферирующих РНК [99].

Совокупность данных о роли *ITGB1* в адгезии, миграции и инвазии опухолевых клеток, а также о функции *CD47* в формировании сигнала иммунного уклонения обосновывает выбор данных генов в качестве мишеней настоящего исследования. Их одновременное или раздельное подавление может рассматриваться как способ комплексного воздействия как на собственно опухолевые клетки, так и на их взаимодействие с иммунной системой, что соответствует концепции молекулярно-ориентированной терапии гепатоцеллюлярной карциномы.

1.6. *In silico*-дизайн миРНК: современные подходы

Разработка эффективных молекул малых интерферирующих РНК невозможна без предварительного вычислительного анализа. Пространство потенциальных последовательностей для любого гена-мишени насчитывает сотни и тысячи вариантов, экспериментальная проверка которых в полном объеме нецелесообразна ни с точки зрения временных, ни экономических затрат. Именно поэтому этап *in silico*-дизайна занимает центральное место в современных процессах разработки терапевтических олигонуклеотидов.

Исторически первые алгоритмы отбора последовательностей миРНК опирались на простые эмпирические правила, сформулированные в начале 2000-х годов. Tuschl и соавторы предложили базовые критерии: предпочтение А/У-пар на 5'-конце антисмысловой цепи, G/С-пар на 5'-конце смысловой цепи,

длина дуплекса 19 нуклеотидов с двухнуклеотидными 3'-выступами [47]. Reynold и соавторы систематизировали эти наблюдения и сформулировали набор из восьми позиционных правил, позволяющих численно оценивать кандидатные последовательности [87]. Эти эвристики по-прежнему лежат в основе большинства современных инструментов, однако сами по себе обеспечивают лишь умеренную предсказательную точность.

Следующим этапом развития стало применение методов машинного обучения. Алгоритмы, обученные на базах экспериментально верифицированных миРНК – таких как siRecords и RNAiDB – позволили учитывать нелинейные взаимосвязи между последовательностью и эффективностью, недоступные простым правилам. Среди широко применяемых инструментов следует выделить siDirect [102], основанный на термодинамических параметрах и позиционных профилях, а также DSIR [16] и BIOPREDsi [40], использующие регрессионные модели. Общим ограничением этих подходов остается их зависимость от обучающей выборки: модели, тренированные на одних системах, нередко утрачивают предсказательную силу при переносе на другие клеточные контексты или типы генов-мишеней.

Параллельно развивались подходы, учитывающие термодинамические характеристики дуплекса. Было установлено, что асимметрия стабильности концов дуплекса – более слабое связывание на 5'-конце антисмысловой цепи относительно 3'-конца – является одним из ключевых предикторов загрузки именно антисмысловой цепи в комплекс RISC [23]. Эта закономерность нашла отражение в концепции «термодинамического профиля» или энергетической асимметрии, рассчитываемой по свободной энергии спаривания отдельных динуклеотидных ступеней дуплекса. Инструменты, реализующие этот подход, – в частности, расчеты на основе пакета RNAfold [117] и аналогичных программ – позволяют оценивать внутреннюю стабильность дуплекса вдоль его длины и прогнозировать термодинамическую асимметрию.

Отдельным направлением является оценка вторичной структуры целевого участка мРНК. Даже при идеальной последовательности миРНК высокая структурированность региона-мишени может существенно снижать эффективность интерференции за счет конкуренции между RISC-комплексом и внутримолекулярными шпильками мРНК. Для оценки доступности сайта-мишени применяются алгоритмы предсказания вторичной структуры РНК – RNAfold, Mfold [122], – а также более специализированные инструменты, такие как RNAup [113] и RNAplfold [28], рассчитывающие локальную неспаренность нуклеотидов.

Современные комплексные платформы стремятся объединить перечисленные подходы в единый аналитический конвейер. Инструменты наподобие siRNA Wizard [109], BLOCK-iT [29], Dharmacon siDesign [101] интегрируют позиционные правила, термодинамический анализ и фильтрацию по нецелевым эффектам в рамках одного интерфейса. Вместе с тем ни одна из существующих платформ не обеспечивает исчерпывающего решения задачи предсказания активности: корреляция между вычислительными оценками и экспериментальной эффективностью, как правило, ограничена, что подчеркивает необходимость дальнейшего совершенствования алгоритмов и расширения баз верифицированных данных.

Таким образом, современный *in silico*-дизайн миРНК представляет собой многоэтапный процесс, включающий анализ последовательностных и термодинамических характеристик дуплекса, оценку структуры мРНК-мишени и прогнозирование нецелевых эффектов. Совершенствование этих методов напрямую определяет эффективность перехода от вычислительного этапа к экспериментальной валидации.

1.7. Прогнозирование нецелевых эффектов миРНК

Одной из ключевых проблем терапевтического применения малых интерферирующих РНК является их способность подавлять экспрессию генов, не являющихся целевыми. Эти нецелевые эффекты (off-target effects) существенно осложняют интерпретацию экспериментальных результатов и представляют серьезное препятствие на пути клинической трансляции миРНК-препаратов [63].

Механистически нецелевые эффекты реализуются несколькими путями. Наиболее изученный из них связан с частичной комплементарностью seed-региона антисмысловой цепи – нуклеотидов 2–8 от 5'-конца – с 3'-нетранслируемыми областями нецелевых мРНК. Этот механизм аналогичен действию эндогенных микроРНК и может приводить к подавлению трансляции или деградации значительного числа транскриптов. Показано, что именно seed-регион в наибольшей степени определяет профиль нецелевого связывания, тогда как остальная часть последовательности вносит меньший вклад в специфичность [10].

Помимо RISC-опосредованных нецелевых эффектов, двуцепочечные РНК могут активировать врожденный иммунный ответ через паттерн-распознающие рецепторы – в первую очередь TLR3, TLR7 и TLR8, а также цитозольные сенсоры RIG-I и MDA5. Активация этих рецепторов приводит к продукции интерферонов I типа и провоспалительных цитокинов, что способно маскировать специфический эффект миРНК или само по себе оказывать выраженное биологическое действие. Данный тип нецелевых эффектов принципиально важно учитывать при разработке иммунологических экспериментальных моделей [98].

Для вычислительного прогнозирования нецелевых эффектов широко применяется BLAST-анализ последовательности миРНК против транскриптома организма-мишени с выявлением потенциальных сайтов частичной

комплементарности. Более специализированные инструменты – такие как siRNA Check [107], Off-Spotter [82] и Sfold [41] – позволяют оценивать вероятность нецелевого связывания с учетом термодинамики гибридизации и позиционной значимости отдельных нуклеотидных несоответствий. Отдельного внимания заслуживает инструмент TargetScan [69], изначально разработанный для предсказания мишеней микроРНК, но широко применяемый и для анализа seed-опосредованных нецелевых взаимодействий миРНК ввиду общности лежащего в основе механизма.

Практически важным критерием отбора кандидатных последовательностей является минимизация числа потенциальных нецелевых транскриптов с высоким сродством к seed-региону. Ряд алгоритмов предлагает специальную процедуру «seed-оптимизации» – перебор вариантов последовательности с сохранением активности в отношении мишени при одновременном снижении нецелевого потенциала seed-региона. Альтернативным подходом является введение химических модификаций в позиции seed-региона – в частности, 2'-О-метилирование второго нуклеотида антисмысловой цепи, которое существенно снижает микроРНК-подобные нецелевые эффекты без значимого ущерба для специфической активности [83].

Следует подчеркнуть, что ни один из существующих вычислительных инструментов не обеспечивает исчерпывающего предсказания нецелевого профиля конкретной молекулы миРНК. Транскриптомный контекст, уровни экспрессии нецелевых генов, конкуренция за компоненты RISC-комплекса и клеточно-специфические особенности процессинга РНК определяют итоговый профиль нецелевых эффектов в конкретной биологической системе. В связи с этим вычислительный этап прогнозирования нецелевых эффектов следует рассматривать как необходимый, но не достаточный фильтр, дополняемый транскриптомным анализом экспрессии после трансфекции – в идеале с применением РНК-секвенирования [63].

1.8. Термодинамика и структурные факторы эффективности миРНК

Среди параметров, определяющих функциональную активность малых интерферирующих РНК, термодинамические характеристики дуплекса занимают центральное место. Их анализ составляет основу большинства современных алгоритмов отбора кандидатных последовательностей и обеспечивает переход от эмпирических правил к рациональному молекулярному дизайну.

Наиболее важным термодинамическим параметром служит свободная энергия гибридизации (ΔG) дуплекса миРНК с мРНК-мишенью [6, 100]. Предполагается, что более высокая термодинамическая стабильность комплекса должна коррелировать с эффективностью подавления экспрессии. Однако экспериментальные данные констатируют более сложную зависимость. Дуплексы с избыточно высоким отрицательным значением ΔG демонстрируют сниженную интерферирующую активность, что объясняется затруднением разделения цепей внутри RISC-комплекса. Дуплексы с недостаточной стабильностью, в свою очередь, склонны к преждевременной диссоциации. Таким образом, суммарная свободная энергия гибридизации задает лишь допустимый диапазон значений и не обладает достаточной предсказательной силой в качестве самостоятельного критерия отбора [100].

Более информативным параметром является асимметрия термодинамической стабильности концов дуплекса. Установлено, что белки семейства Argonaute избирательно загружают в состав RISC ту цепь дуплекса, 5'-конец которой характеризуется меньшей стабильностью [65]. Данная закономерность обусловлена механизмом действия хеликазного домена комплекса: разворачивание дуплекса инициируется с того конца, где термодинамический барьер минимален, что и определяет выбор антисмысловой цепи в качестве функциональной [65, 87]. Практическим следствием этого механизма является широко применяемый критерий обогащения 5'-конца

антисмысловой цепи парами А/У – один из немногих параметров дизайна мРНК, получивших убедительное механистическое обоснование. Вместе с тем асимметрия концов характеризует исключительно крайние положения дуплекса, не отражая энергетической организации его внутренних позиций [87].

Существенное влияние на эффективность РНК-интерференции оказывает также вторичная структура мРНК-мишени в районе сайта связывания. Локальные шпильки, петли и псевдоузлы способны экранировать сайт-мишень, снижая его доступность для RISC-комплекса независимо от характеристик самой молекулы мРНК. Для количественной оценки структурной доступности применяются алгоритмы, описанные ранее. Данный параметр используется в качестве дополнительного фильтра при ранжировании кандидатных последовательностей. Однако и в этом случае речь идет об интегральных характеристиках, усредненных по всему ансамблю возможных конформаций мРНК [91].

Изложенные подходы объединяет общее методологическое ограничение: все они описывают молекулу мРНК посредством суммарных или усредненных параметров, не учитывая локального распределения свободной энергии вдоль длины дуплекса. Между тем дуплекс представляет собой не однородную структуру, а упорядоченную последовательность динуклеотидных ступеней, каждая из которых характеризуется собственным значением локальной свободной энергии, рассчитываемым по модели ближайших соседей. Чередование энергетически сильных и слабых позиций формирует уникальный профиль распределения энергии – или энергетическую сигнатуру молекулы, – который может нести предсказательную информацию, недоступную интегральным термодинамическим дескрипторам [13, 46].

Таким образом, анализ термодинамических и структурных факторов эффективности мРНК закономерно указывает на необходимость учета локального распределения энергии вдоль дуплекса как самостоятельного предиктора активности. Разработка методологии, основанной на данном

принципе, составляет одно из ключевых направлений настоящего исследования и рассматривается в последующих разделах работы.

1.9. Химическая модификация миРНК

Рассмотренные в предыдущем разделе термодинамические факторы являются предикторами активности миРНК на уровне молекулярного дизайна последовательности. Однако перевод перспективной молекулы из условий клеточной культуры в физиологическую среду организма сопряжен с принципиально иным классом ограничений, преодоление которых требует химической модификации олигонуклеотидного остова [20]. При этом модификации традиционно рассматриваются прежде всего как инструмент повышения метаболической стабильности. Подобная редукция их роли приводит к сужению спектра биологических эффектов химических модификаций. Их потенциал включает регуляцию иммуногенности, модуляцию сродства к компонентам RISC-комплекса и направленное изменение термодинамического профиля дуплекса.

Среди наиболее широко применяемых типов модификаций следует выделить замену атома кислорода в 2'-положении рибозы на фтор (2'-F) или метоксигруппу (2'-OMe) [66]. Оба варианта существенно повышают устойчивость олигонуклеотида к действию эндонуклеаз и экзонуклеаз, распознающих субстрат по структуре рибозного кольца. При этом 2'-F-модификация в большей степени сохраняет геометрию РНК-подобной конформации сахара, что обеспечивает лучшую совместимость с механизмами загрузки в RISC по сравнению с рядом других модификаций [118]. 2'-OMe-замена несколько снижает сродство дуплекса к белкам Argonaute при введении в антисмысловую цепь, однако хорошо переносится в позициях смысловой цепи и широко используется для подавления нецелевых эффектов

seed-региона [83]. Фосфоротиоатные модификации – замена одного из атомов кислорода в фосфодиэфирной связи на атом серы – дополнительно повышают устойчивость к нуклеазам и усиливают связывание с сывороточными белками, что увеличивает время циркуляции молекулы *in vivo* [33]. Вместе с тем избыточное введение фосфоротиоатов сопряжено с повышением неспецифической токсичности, что ограничивает их применение.

Принципиально важным, нередко недооцениваемым эффектом химических модификаций является их влияние на иммуногенность миРНК. Как отмечено ранее, двуцепочечные РНК распознаются паттерн-распознающими рецепторами врожденного иммунитета как молекулярные паттерны, ассоциированные с повреждениями (DAMP), что приводит к индукции интерферонового ответа и продукции провоспалительных цитокинов [98]. Введение 2'-ОМе-групп в определенные позиции антисмысловой цепи, в особенности в пиримидиновые нуклеотиды, существенно снижает активацию TLR7 и TLR8, не нарушая при этом специфической интерферирующей активности [37]. Таким образом, грамотное позиционирование модификаций позволяет разграничить два биологических эффекта – специфическое подавление мРНК-мишени и неспецифическую иммунную активацию, – которые в случае немодифицированных молекул неизбежно сопутствуют друг другу.

Отдельного рассмотрения заслуживает влияние химических модификаций на взаимодействие миРНК с компонентами RISC. Загрузка антисмысловой цепи в комплекс AGO2 предъявляет строгие структурные требования к молекуле: свободная 5'-фосфатная группа, РНК-подобная конформация сахарофосфатного остова и определенная термодинамическая асимметрия концов дуплекса [20]. Модификации, нарушающие любой из этих параметров, способны существенно снижать эффективность загрузки и, следовательно, интерферирующую активность. В то же время ряд модификаций способен направленно изменять локальную стабильность отдельных позиций дуплекса, что открывает

возможности для тонкой настройки его термодинамического профиля. В частности, введение 2'-F в позиции с исходно слабыми парами повышает локальную стабильность, тогда как введение дезоксирибонуклеотидов в позиции с сильными парами снижает – эффекты, которые могут быть использованы для целенаправленного изменения энергетической сигнатуры дуплекса [13].

Вместе с тем существующие подходы к размещению химических модификаций в структуре миРНК в значительной мере носят системный характер: модификации вводятся по унифицированным схемам – чередующимися блоками 2'-F и 2'-ОМе, сплошным метилированием смысловой цепи или фиксированными паттернами фосфоротиоатных замен [104]. Подобные схемы разработаны с целью обеспечить базовый уровень стабильности и переносимости и не предполагают учета индивидуального термодинамического профиля конкретной молекулы. В результате одна и та же схема модификации может существенно повышать активность одних дуплексов и одновременно снижать активность других – в зависимости от того, как вводимые модификации соотносятся с локальным распределением энергии в исходном дуплексе [13, 20].

1.10. Доставка миРНК в клетки печени

Эффективность терапевтического применения малых интерферирующих РНК определяется не только характеристиками самой молекулы, но и способностью системы доставки обеспечить ее поступление в клетки-мишени в функционально активной форме [104, 119]. Для большинства тканей задача адресной доставки олигонуклеотидов остается нерешенной, однако клетки печени представляют в этом отношении принципиальное исключение: наличие высокоспецифичной рецепторной системы на поверхности гепатоцитов

открывает возможности для эффективной и селективной доставки миРНК, недостижимой для других органов [104].

Среди систем доставки миРНК наибольшее клиническое и экспериментальное распространение получили липидные наночастицы (LNP) [77]. Они представляют собой многокомпонентные коллоидные системы, в состав которых входят ионизируемые катионные липиды, фосфолипиды, холестерин и полиэтиленгликоль-конъюгированные липиды. Ионизируемые липиды при физиологическом pH нейтральны, что снижает их токсичность в системном кровотоке, однако приобретают положительный заряд в кислой среде эндосом, обеспечивая дестабилизацию эндосомальной мембраны и высвобождение миРНК в цитоплазму. Липидные наночастицы обеспечивают высокую степень защиты олигонуклеотида от нуклеаз и допускают инкапсуляцию молекул без ковалентной модификации. Вместе с тем их применение сопряжено с рядом ограничений: сложностью масштабирования производства, потенциальной иммуногенностью липидных компонентов и преимущественным накоплением в печени вследствие захвата клетками Купфера и системного эндоцитоза, что одновременно является и преимуществом, и ограничением в зависимости от терапевтической цели [77].

Альтернативным и в контексте адресной доставки к гепатоцитам значительно более элегантным подходом является конъюгация миРНК с N-ацетилгалактозамином (GalNAc) [77]. GalNAc-конъюгаты представляют собой триантеннарные структуры, включающие три остатка N-ацетилгалактозамина, ковалентно присоединенных к смысловой цепи миРНК через гибкий линкер. Молекулярной основой их высокой эффективности служит специфическое взаимодействие с асиалогликопротеиновым рецептором (ASGPR), экспрессированным исключительно на поверхности гепатоцитов.

ASGPR – лектиновый рецептор С-типа, осуществляющий клиренс десиазированных гликопротеинов из кровотока. Он характеризуется исключительно высокой плотностью экспрессии на поверхности гепатоцитов –

порядка 500 000 копий на клетку – и высоким сродством к терминальным остаткам галактозы и GalNAc [22, 86]. После связывания лиганда рецептор быстро интернализируется путем рецептор-опосредованного эндоцитоза, высвобождает груз в кислой среде эндосом и рециклируется на клеточную поверхность с периодом полуоборота около 15 минут [22, 86]. Совокупность этих свойств – высокая плотность экспрессии, специфичность, быстрый оборот и эндосомальный механизм высвобождения – делает ASGPR исключительно привлекательной мишенью для адресной доставки терапевтических олигонуклеотидов.

Преимущества GalNAc-конъюгатов перед липидными наночастицами в применении к клеткам печени носят системный характер. Конъюгаты вводятся подкожно в виде простого раствора без дополнительных вспомогательных компонентов, что существенно упрощает производство и введение препарата [22]. Селективность накопления в гепатоцитах значительно превышает таковую для LNP, поскольку обусловлена специфическим рецепторным взаимодействием, а не пассивным захватом. Кроме того, химически модифицированные миРНК в составе GalNAc-конъюгатов демонстрируют длительный терапевтический эффект при однократном введении – до нескольких месяцев, – что определяется не только стабильностью молекулы, но и медленным оборотом RISC-ассоциированного комплекса в гепатоцитах. Именно на платформе GalNAc-конъюгатов основаны первые одобренные регуляторными органами препараты на основе миРНК – inclisiran и patisiran, – что подтверждает клиническую состоятельность данного подхода [11].

Клеточные линии гепатоцеллюлярной карциномы – Hep3B, HepG2, Huh7 – экспрессируют ASGPR [77, 115]. Конъюгация с GalNAc обеспечивает поступление миРНК в клетки через эндогенный рецепторный механизм без дополнительных вспомогательных агентов. Тем самым данная система доставки выступает не только как потенциальная терапевтическая платформа, но и как

необходимый инструментальный компонент экспериментальной модели, используемой в настоящей работе.

1.11. Нерешенные проблемы и направления развития

Анализ современного состояния области позволяет очертить круг ключевых нерешенных проблем, ограничивающих эффективность разработки и клинической трансляции терапевтических миРНК. Эти проблемы пронизывают все этапы исследовательского процесса – от вычислительного дизайна до модификации и доставки молекул – и в своей совокупности определяют научные задачи настоящей работы.

Первая из ключевых проблем связана с избыточностью кандидатных последовательностей, генерируемых на этапе *in silico*-дизайна. Любой ген-мишень предоставляет сотни потенциальных сайтов для связывания миРНК, и современные вычислительные инструменты позволяют быстро сформировать обширный перечень кандидатов, отвечающих базовым структурным критериям. Между тем корреляция между вычислительными оценками и экспериментально наблюдаемой эффективностью подавления экспрессии остается умеренной. Существующие алгоритмы – как основанные на эмпирических правилах, так и реализующие подходы машинного обучения – не обеспечивают достаточной разрешающей способности для надежного ранжирования кандидатов внутри выборки, прошедшей предварительную фильтрацию. В результате исследователь вынужден направлять значительные ресурсы на экспериментальную верификацию молекул, большинство из которых окажутся недостаточно активными. Данная проблема особенно остро проявляется при разработке миРНК против клинически значимых мишеней с жесткими требованиями к эффективности и специфичности.

Вторая проблема касается концептуальных ограничений применяемых параметров оценки. Большинство алгоритмов опирается на интегральные термодинамические правила, которые, несмотря на определенную предсказательную ценность, не отражают локальной энергетической организации молекулы. Между тем функциональная активность миРНК определяется не только суммарными характеристиками, но и распределением энергии вдоль дуплекса: чередованием сильных и слабых динуклеотидных пар, градиентами стабильности на функционально значимых участках цепи. Отсутствие формализованного подхода к описанию этого профиля как самостоятельного предиктора активности представляет собой методологический пробел, заполнение которого могло бы существенно повысить точность отбора кандидатных последовательностей.

Третья проблема относится к сфере химической модификации миРНК. Как показано в предшествующем разделе, существующие схемы введения модификаций носят преимущественно унифицированный, позиционно-независимый характер. Унифицированные паттерны разработаны для обеспечения базовой метаболической стабильности и переносимости и не предполагают учета индивидуального термодинамического профиля конкретной молекулы. Следствием этого является вариабельность эффектов модификации: одни молекулы демонстрируют повышение активности после модификации, другие – ее снижение, при этом предсказать направление эффекта заранее на основании имеющихся данных не представляется возможным. Разработка принципов позиционно-специфического введения модификаций, ориентированных на сохранение или целенаправленное изменение энергетического профиля дуплекса, является актуальной и не решенной задачей.

Четвертая проблема носит системный характер и связана с разобщенностью отдельных этапов разработки миРНК. Дизайн последовательности, прогнозирование нецелевых эффектов, термодинамический анализ, выбор схемы модификации и оценка совместимости

с системой доставки, как правило, решаются независимо друг от друга – каждый с помощью собственного набора инструментов и критериев. Единого алгоритмического подхода, который связывал бы все эти этапы в последовательный и внутренне согласованный аналитический процесс, до сих пор не существует.

Перечисленные проблемы указывают на необходимость разработки нового комплексного подхода к дизайну, оценке и модификации миРНК, который позволял бы: во-первых, более точно ранжировать кандидатные последовательности на этапе *in silico* отбора посредством учета локального энергетического профиля дуплекса; во-вторых, использовать характеристики этого профиля как основу для принятия позиционно-специфических решений о введении химических модификаций; в-третьих, валидировать разработанные алгоритмы в экспериментальных системах.

Именно эти направления составляют концептуальную основу настоящей диссертационной работы. Представленный литературный обзор демонстрирует как достижения в области РНКи-терапии, так и сохраняющиеся методологические упущения, преодоление которых определяет научную новизну и практическую значимость проводимого исследования.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1. Систематический обзор релевантных молекулярных мишеней

Для определения релевантных молекулярных мишеней, вносящих значительный вклад в иммуноопосредованную прогрессию онкологической патологии, выполнен литературный поиск и систематический обзор полученных результатов.

Поиск публикаций осуществлялся с использованием информационного ресурса Google Scholar и базы данных PubMed/MEDLINE. Применялись следующие поисковые запросы и их комбинации: «immune evasion hepatocellular carcinoma molecular targets», «tumor immune escape siRNA therapy», «CD47 SIRP α signaling cancer», «ITGB1 integrin tumor microenvironment immunosuppression», «siRNA knockdown immune checkpoint», «don't eat me signal cancer therapy». Поиск ограничивался публикациями за период 2015–2024 годов; для ключевых первичных источников ограничение по дате не применялось.

Анализировались следующие базы данных: GeneCards (функциональная аннотация генов и ассоциации с заболеваниями), UniProt (характеристика белковых продуктов), STRING (белок-белковые взаимодействия и сетевой анализ), TCGA (уровни экспрессии генов-кандидатов в опухолевых и нормальных тканях), а также GEO (транскриптомные данные по гепатоцеллюлярной карциноме).

Критериями включения гена в перечень кандидатных мишеней служили: функциональная вовлеченность в иммуноопосредованные механизмы прогрессии злокачественных опухолей (уклонение от фагоцитарного надзора, формирование иммуносупрессивного микроокружения, подавление активности эффекторных иммунных клеток); повышенная экспрессия в опухолевой ткани по сравнению с нормальной по данным TCGA и GEO; наличие

охарактеризованного белкового продукта с известной функцией в опухолево-иммунном взаимодействии. Критерием исключения являлась широкая конститутивная экспрессия гена в жизненно важных органах и тканях, при которой системный нокдаун сопряжен с высоким риском нежелательных явлений, несовместимых с терапевтическим применением.

2.2. *In silico*-дизайн миРНК

In silico-дизайн миРНК (siRNA) выполнен с использованием авторского программного сценария, представленного в Приложении Б.

2.2.1. Дизайн последовательности миРНК

Для дизайна последовательностей миРНК использован функционал веб-приложения siDirect. Функционал данного программного обеспечения (ПО) позволяет осуществить проектирование миРНК, комплементарных предоставленной последовательности мРНК, представляющие собой две одноцепочечные 21-нуклеотидные РНК. 19 центральных нуклеотидов этих олигонуклеотидных цепей комплементарных друг другу, по 2 нуклеотида на 3'-концах каждой цепи представлены перевесами, не имеющих комплементарной пары. Цепь миРНК, идентичная целевому фрагменту мРНК, именуется смысловой или пассажирской, комплементарная ей цепь миРНК – антисмысловой или направляющей.

2.2.2. Оценка миРНК

Оценка миРНК выполнена с использованием программного сценария в окружении программного обеспечения Excel/GoogleScript. Алгоритм и результаты его апробации представлены в работе Чернов П.В. и соавт. [5]. Программный сценарий осуществляет итеративную оценку структур цепей миРНК по критериям, отраженным в Таблице 1.

Таблица 1 – Критерии оценки миРНК

Критерий	Значение критерия	Оценка
Содержание ГЦ в антисмысловой цепи	36-52% цепи	1
Количество повторов ГЦ и АУ в антисмысловой цепи	ГЦ < 3, АУ < 4	1
Низкое содержание ГЦ в позициях 9-14 антисмысловой цепи	<50% от общего ГЦ антисмысловой цепи	2
Количество А/У в позициях 13-19 антисмысловой цепи	≥ 3	1
Г/Ц в позиции 1 смысловой цепи	Соответствует	1
А/У в позиции 10 смысловой цепи	Соответствует	1
А в позициях 3 и 19 смысловой цепи	Соответствует	1
Отсутствие Г/Ц в позиции 19 смысловой цепи	Соответствует	1
Отсутствие Г в позиции 13 смысловой цепи	Соответствует	1
А/У в позиции 1 антисмысловой цепи	Соответствует	1
А в позиции 6 антисмысловой цепи	Соответствует	1
Содержание ГЦ в позициях 2-7 и 8-18 антисмысловой цепи	2-7 $\leq$ 19% 8-18 $\leq$ 52%	1

Примечание – А – аденин, Г – гуанин, Ц – цитозин, У – Урацил

Программный сценарий осуществляет итеративный перебор нуклеотидных последовательностей, определяя установленные позиционные характеристики. В случае удовлетворения условия, последовательности

присваивается балл за его выполнение. По окончании оценки, для каждого дуплекса рассчитана сумма баллов по описанным критериям. После чего последовательности ранжируются по оценке от большей к меньшей, дуплексы, преодолевшие порог в 10 баллов считались функциональными. Особо важным в определении суммы баллов является соответствие матрице по результатам NCBI nBLAST и формирование энергетической долины в позициях «seed»-региона 9-14, что обеспечивается критерием «Низкое содержание ГЦ в позициях 9-14 антисмысловой цепи». Эти пункты оценивались в 2 балла.

2.2.3. Оценка нецелевых эффектов миРНК

Для оценки нецелевых эффектов миРНК использован функционал веб-приложения NCBI-nBLAST [26] (megablast). Данное программное обеспечение осуществляет анализ гомологичности заданной последовательности участкам генома заданного организма.

В случае, если предсказанная миРНК преодолевает порог гомологии по отношению к нецелевым генам, данная последовательность отфильтровывается. Порогом гомологии считалось соответствие исследуемой последовательности заданной в 80%, т.е. последовательность исследуемого гена содержит более 17 расположенных подряд нуклеотидов, идентичных или комплементарных цепям исследуемой миРНК [84].

2.2.4. Оценка вторичных структур целевого сегмента мРНК

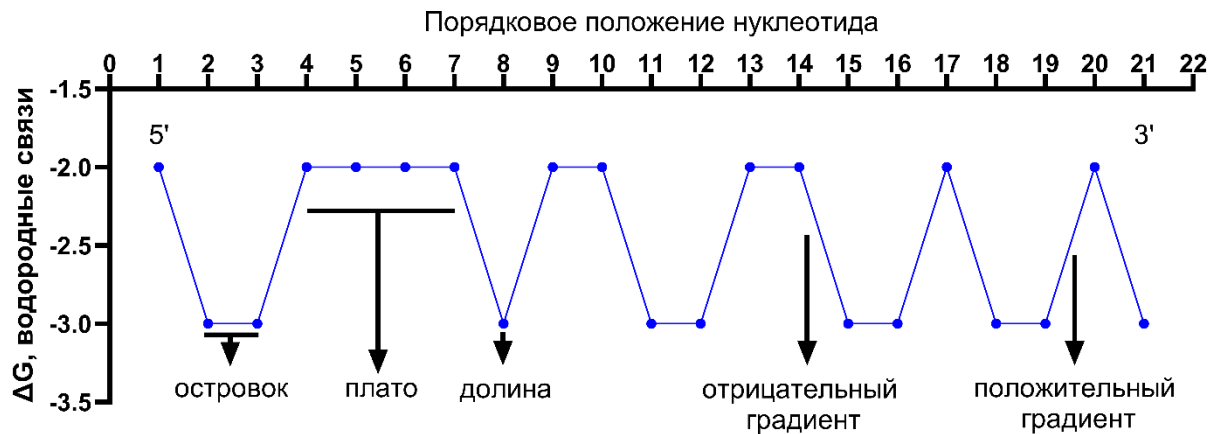
Для оценки стохастического формирования вторичных структур целевого сегмента мРНК использовано веб-приложение mFold (UnaFold). Данное приложение позволяет оценить вероятные вторичные структуры целевого

сегмента мРНК. В качестве целевого сегмента избирался фрагмент целевой мРНК, в центре которого содержится сегмент комплементарный исследуемой миРНК, дополненный 250-ью нуклеотидами целевой мРНК в направлениях 5' и 3'.

Последовательности миРНК, специфически связывающиеся (отжигающиеся) с участками мРНК, формирующими «жесткие» (обладающие высокой энергией) вторичные структуры, отфильтровываются.

2.2.5. Метод энергетической сигнатуры

Произведена оценка термодинамических профилей антисмысловых и смысловых цепей миРНК в соответствии с методикой, описанной в работе Чернова П.В. и соавт. [20]. Цепи олигонуклеотидов разделены на мономеры. Мономерам присвоены абстрактные значения свободных энергий взаимодействия, определяемые количеством образуемых водородных связей с парой-комплементом. Для этих целей используемые мономеры разделены на высокоэнергетические (образующие 3 водородных связи – Г и Ц) и низкоэнергетические (образующие 2 водородных связи – А и У). Состав цепи миРНК отложен в IV четверти координатной плоскости, где по оси абсцисс отложен порядковый номер мономера в составе цепи, ординат – энергия взаимодействия с парой-комплементом (Рисунок 1).



ΔG – свободная энергия Гиббса, выраженная в количестве образуемых водородных связей.

Рисунок 1 – Пример графика энергетической сигнатуры

На рисунке 1 обозначены структурные элементы энергетической сигнатуры, образуемые порядком расположения мономеров. Так, переходы между мономером разных энергетических уровней, обозначены градиентами: от высокой к низкой – положительный, от низкой к высокой – отрицательный. Одиночные высокоэнергетические мономеры, расположенные между двумя градиентами обозначены долинами, низкоэнергетические – пиками. Последовательности 2-3 мономеров равных энергий обозначены островками, 4-х и более – плато.

С использованием программного сценария в окружении программного обеспечения Excel/GoogleScript выполнена оценка энергетических сигнатур дуплексов миРНК. Дуплексы, антисмысловые цепи которых, содержат градиент между 10 и 11 нуклеотидами, не более 1 плато, количество положительных и отрицательных градиентов в диапазоне от $[-2;0)$ до $(0;2]$, считались оптимальными.

2.2.6. Ранжирование миРНК

Таким образом, по выполнении пп. 2.2.1–2.2.5, формируются две библиотеки последовательностей миРНК. Полная библиотека, содержащая оцененные, но не ранжированные миРНК и малая библиотека, содержащая миРНК, удовлетворяющие критериям указанных выше пунктов. Для отражения удовлетворения пп. 2.2.3. и 2.2.4. программный сценарий прибавлял к оценке исследуемого дуплекса миРНК по 1 баллу за каждый.

2.2.7. Отбор кандидатных миРНК

Последовательности дуплексов малой библиотеки миРНК отсортировывались от большего к меньшему. миРНК, набравшие 10 и более баллов, считались функциональными. Из библиотек отбиралось по 6 последовательностей дуплексов в соответствии с критериями, указанными в пп. 2.1.5. Последовательности отобранных дуплексов равномерно распределены по длине репортерной плазмиды.

2.2.8. Дизайн химически модифицированных миРНК

Для дизайна химических модификаций миРНК использовались 2'-F и 2'-ОМе-замещенные мономеры ввиду их коммерческой доступности и изученности. Оптимизированная геометрия этих мономеров предполагает, что замена 2'-гидроксила рибозы на группы с отличными от гидроксильной стерическими и электронными эффектами, ограничивает подвижность связи между сахаром и азотистым основанием, что повышает вероятность правильной

ориентации азотистого основания для образования водородных связей с комплементом. Более того, введение таких заместителей в частных случаях может влиять на равновесие кето-енольных форм, способствуя ускорению образования связей и их стабильности. Так, теоретические энергии водородных связей, образуемых модифицированными нуклеотидами отражены в Таблице 2 относительно рибонуклеотидов.

Таблица 2 – Теоретические энергии водородных связей, образуемых мономерами с их парой-комплементом

Нуклеотид	Рибоза	Дезоксирибоза	2'-F- дезокисрибоза	2'-ОМе- дезоксирибоза
А	2	2,2	1,76	1,92
Г	3	3,3	2,64	2,76
Ц	3	3,3	2,64	2,52
У/Т	2	2,2	1,76	1,84

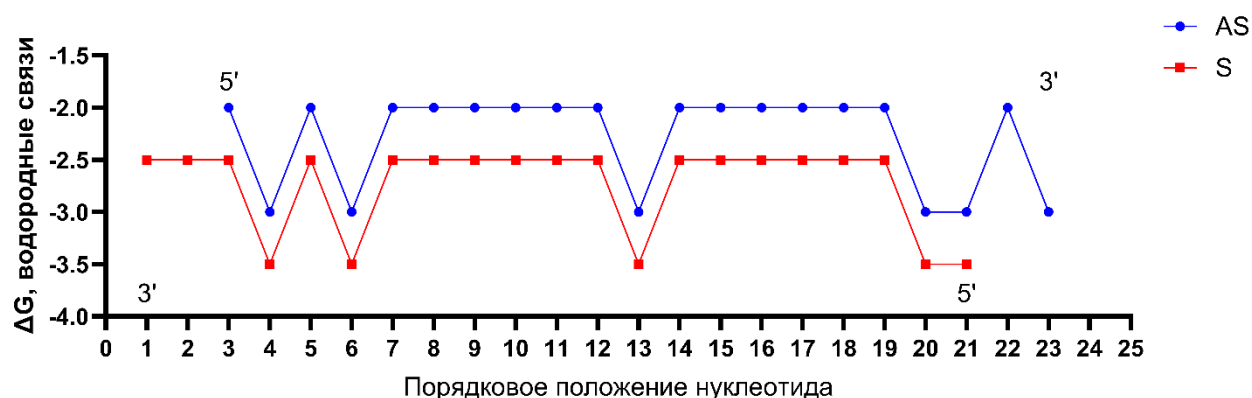
Примечание – А – аденин, Г – гуанин, Ц – цитозин, У – урацил, Т – тимин

С использованием методики энергетической сигнатуры были разработаны 3 подхода к модификации смысловых и антисмысловых миРНК. Далее представлены разработанные методы модификаций на примере рибозильного дуплекса с заданной последовательностью (Таблица 3) и энергетической сигнатурой (Рисунок 2).

Таблица 3 – Последовательность – пример

Антисмысловая 5'-3'	Смысловая 5'-3'
rArGrUrGrCrArArArUrArArCrArArUrUrUrGr GrUrG	rCrCrArArArUrUGrUrUrArUrUrUrGrCrArCr UrArA

Примечание – rA – рибоаденин, rC – рибоцитозин, rG – рибогуанин, rU – рибоурацил



ΔG – свободная энергия Гиббса, выраженная в количестве образуемых водородных связей, AS – Антисмысловая цепь, S – смысловая цепь. Смысловая цепь смещена на 0.5 ниже антисмысловой цепи для улучшения визуального восприятия.

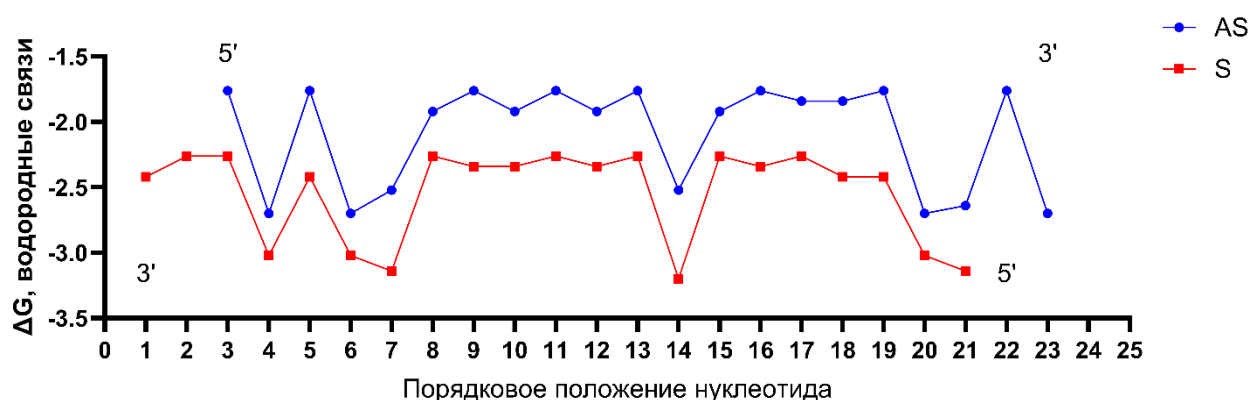
Рисунок 2 – Энергетическая сигнатура дуплекса в таблице 3

Метод 1. Внедрение химических модификаций в антисмысловую цепь было направлено на формирование положительных градиентов в островках и плато и усиление существующих мотивов. Заместители при 10 и 11 нуклеотидах всегда были разноименными с целью увеличения значения градиента. Для смысловых цепей выполнялись аналогичные обратные действия: формирование отрицательных градиентов в островках и плато и уменьшение существующих градиентов. Модификация 10 и 11 нуклеотидов при этом оставалась неизменной. Пример реализации этого метода для рибозильного дуплекса в Таблице 3: спроектирован дуплекс миРНК с последовательностью, отраженной в Таблице 4 и энергетической сигнатурой, изображенной на Рисунке 3.

Таблица 4 – Последовательность миРНК Таблицы 3, модифицированная *методом 1*

Антисмысловая 5'–3'	Смысловая 3'–5'
fAmGfUmGmCmAfAmAfUmAfAmCmAfAm UmUfUmGfGfUmG	mAfAfUmCmAmCfGfUmUmUfAmUfUmGf UmUfAmAmAmCfC

Примечание – f – 2'-F-замещенный мономер, m – 2'-ОМе-замещенный мономер, А – аденин, G – гуанин, С – цитозин, U – урацил



ΔG – свободная энергия Гиббса, выраженная в количестве образуемых водородных связей, AS – Антисмысловая цепь, S – смысловая цепь. Смысловая цепь смещена на 0.5 ниже антисмысловой цепи для улучшения визуального восприятия.

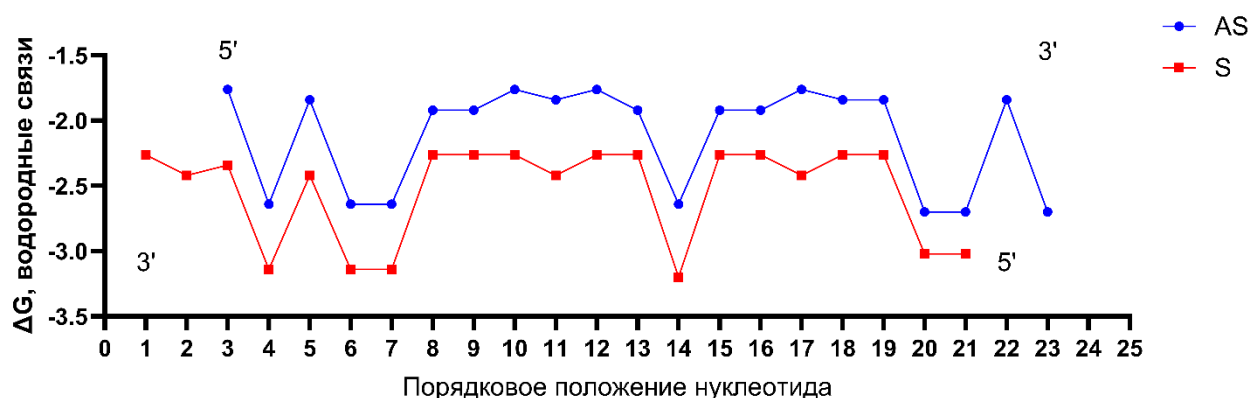
Рисунок 3 – Дуплекс миРНК Таблицы 4, модифицированный *методом 1*

Метод 2. Внедрение химических модификаций в антисмысловую цепь направлено на сохранение амплитуды существующих градиентов, подразделение плато на островки отрицательными градиентами и внедрение градиентов в центральный мономер островка. Для смысловой цепи проводились аналогичные и обратные модификации. В обеих цепях 10 и 11 нуклеотиды модифицировались согласно *Методу 1*. Пример реализации этого метода для рибозильного дуплекса в Таблице 3: спроектирован дуплекс миРНК с последовательностью, отраженной в Таблице 5 и энергетической сигнатурой, изображенной на Рисунке 4.

Таблица 5 – Последовательность миРНК Таблицы 3, модифицированная *методом 2*

Антисмысловая 5'-3'	Смысловая 3'-5'
fAfGmUfGfCmAfAmUfAmAfCmAfUm	fAmAmUfCmAfCfGfUfUfUmAfUfUmGfUf
UmUmGmGmUmG	UmAfAfAmCmC

Примечание – f – 2'-F-замещенный мономер, m – 2'-ОМе-замещенный мономер, А – аденин, G – гуанин, С – цитозин, U – урацил



ΔG – свободная энергия Гиббса, выраженная в количестве образуемых водородных связей, AS – Антисмысловая цепь, S – смысловая цепь. Смысловая цепь смещена на 0.5 ниже антисмысловой цепи для улучшения визуального восприятия.

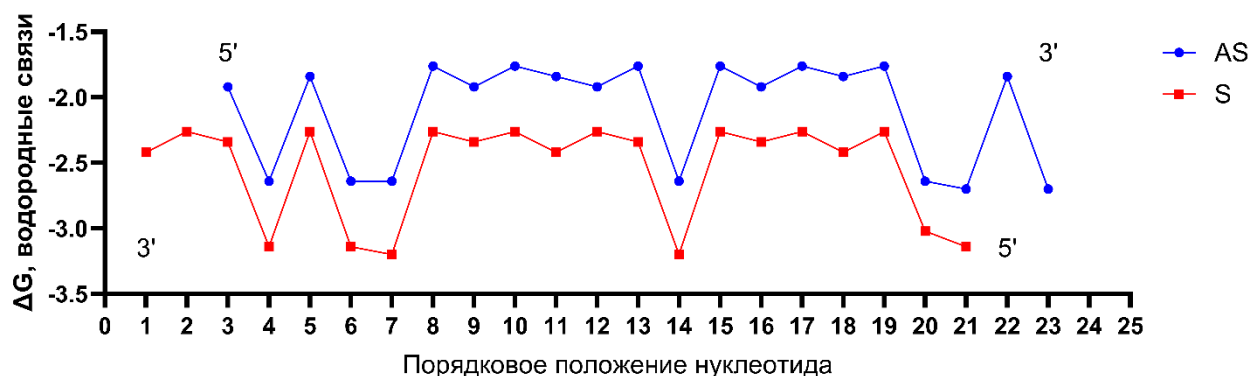
Рисунок 4 – Дуплекс миРНК Таблицы 5, модифицированный *методом 2*

Метод 3. Внедрение химических модификаций в антисмысловую цепь направленно на уменьшение амплитуды существующих градиентов, подразделение плато на островки положительными градиентами и внедрение градиентов в периферические мономеры островка. Для смысловой цепи проводились аналогичные и обратные модификации. В обеих цепях 10 и 11 нуклеотиды модифицировались согласно *Методу 1*. Пример реализации этого метода для рибозильного дуплекса в Таблице 3: спроектирован дуплекс миРНК с последовательностью, отраженной в Таблице 6 и энергетической сигнатурой, изображенной на Рисунке 5.

Таблица 6 – Последовательность миРНК Таблицы 3, модифицированная *методом 3*

Антисмысловая 5'-3'	Смысловая 3'-5'
mAfGmUfGfCfAmAfAmUmAfAfCfAmAfUm	mAfAmUfCfAfCmGfUmUfUmAfUmUmGfU
UfUfGmGmUmG	mUfAmAfAmCfC

Примечание – f – 2'-F-замещенный мономер, m – 2'-ОМе-замещенный мономер, А – аденин, G – гуанин, С – цитозин, U – урацил



ΔG – свободная энергия Гиббса, выраженная в количестве образуемых водородных связей, AS – Антисмысловая цепь, S – смысловая цепь. Смысловая цепь смещена на 0.5 ниже антисмысловой цепи для улучшения визуального восприятия.

Рисунок 5 – Дуплекс миРНК Таблицы 6, модифицированный *методом 3*

2.3. Химический синтез миРНК

2.3.1. Твердофазный химический синтез

Осуществление синтеза целевых олигонуклеотидов, проводилось классическим, твердофазным, фосфорамидитным методом.

Олигонуклеотидный синтез представляет собой набор повторяющихся циклов, состоящих из 4 химических реакций (Рисунок 6), необходимых для присоединения каждого из мономеров (фосфорамидитов).

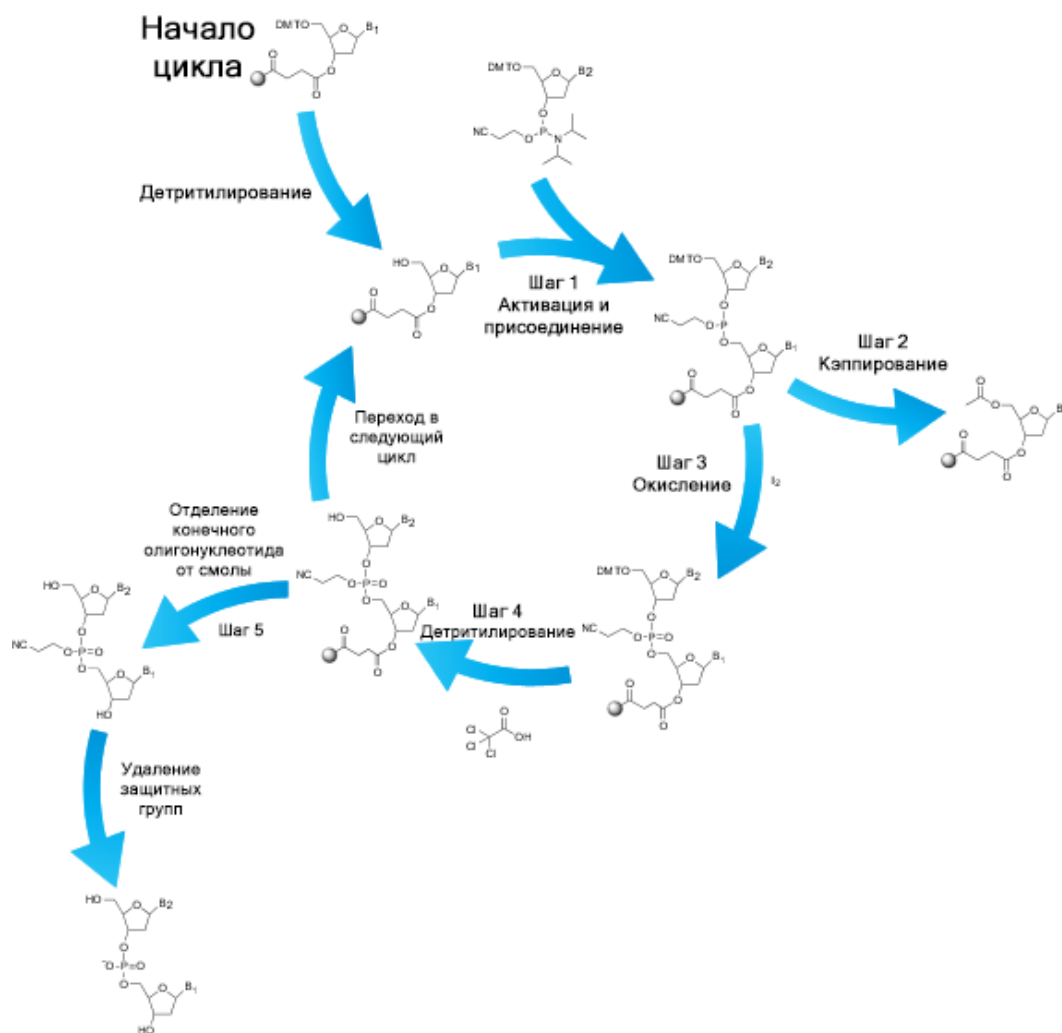
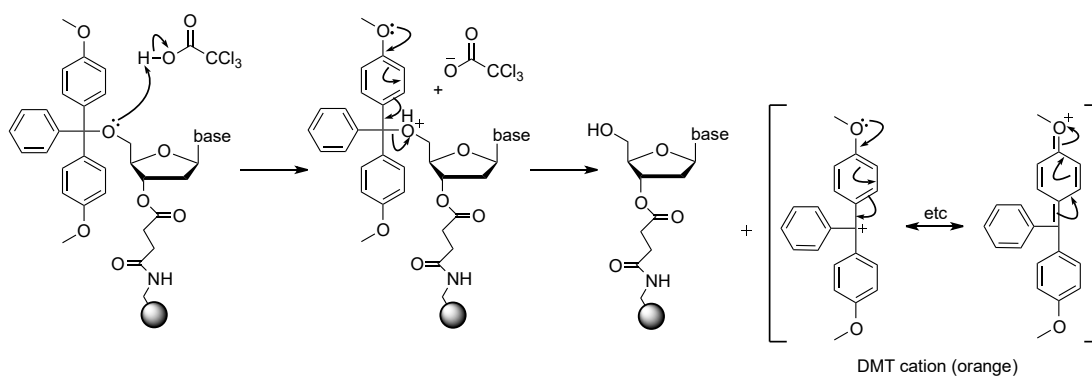


Рисунок 6 – схема цикла реакций твердофазного олигонуклеотидного синтеза фосфорамидитным методом

Первая реакция цикла (Рисунок 7) представляет собой удаление диметокситритильной защитной группы, для последующего присоединения мономера.

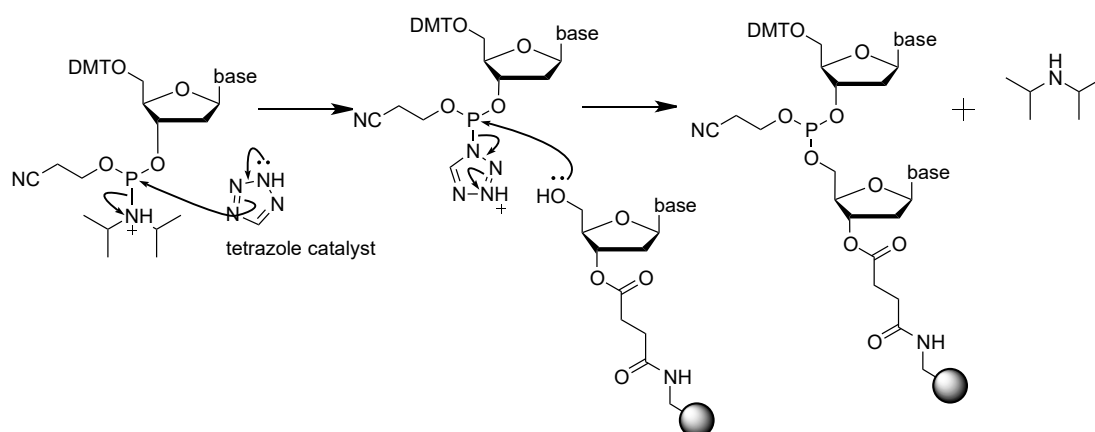


Base – основание, DMT cation (orange) – ДМТ катион (оранжевый).

Рисунок 7 – Реакция детритилирования

Для эффективного удаления диметокситритильной защитной группы необходимо использовать безводные растворы органических кислот (уксусная, трифторуксусная, дихлоруксусная, трихлоруксусная), ввиду ее кислото-лабильности. Однако при достижении низкого уровня pH может наблюдаться депуринизация (удаление пуриновых оснований под действием сильных органических кислот в высокой концентрации). Для предотвращения данного эффекта используются стандартные концентрации деблокирующих агентов, а именно 3-5 % дихлор/трихлор уксусных кислот.

Следующей реакцией синтетического цикла является реакция присоединения (каплинга, англ. Coupling) (Рисунок 8).



Base – основание, tetrazole catalyst – тетразольный катализатор.

Рисунок 8 – Реакция каплинга

Данная реакция является классическим примером нуклеофильного присоединения свободной гидроксильной группы, являющейся нуклеофильным агентом, по отношению к молекуле фосфорамидита, являющегося электрофильным субстратом. Принципиально важно в данной реакции соблюдение ряда условий:

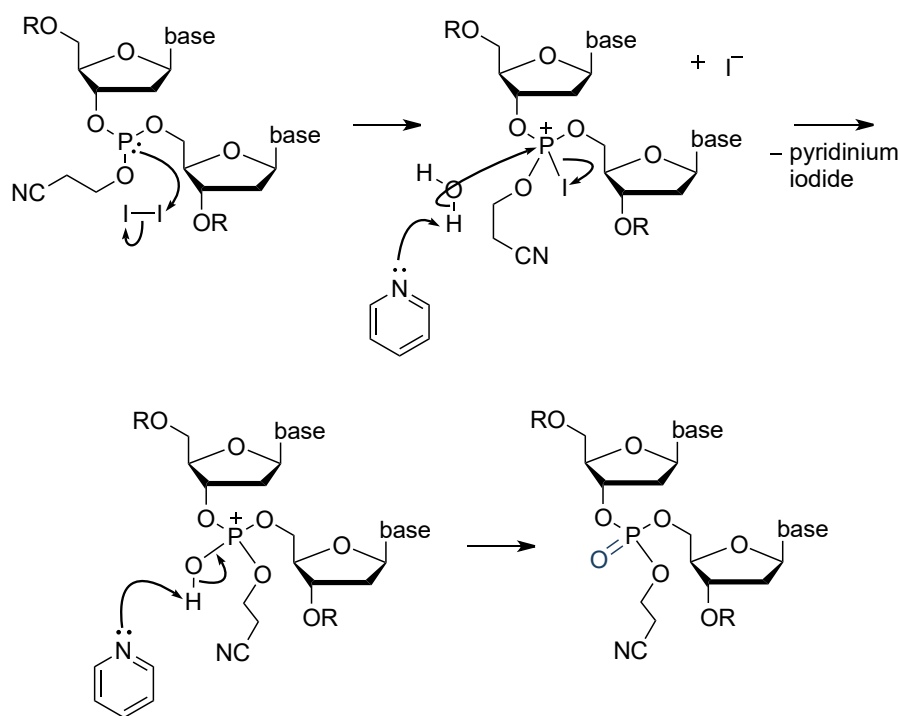
Использование активатора. На Рисунке 8, роль активатора выполняет молекула тетразола, которая индуцирует образование активированного

комплекса с фосфорамидитом, который в дальнейшем подвергается нуклеофильной атаке неподеленной электронной пары атома кислорода.

Безводная среда. Данное условие является безусловно важным критерием успешного проведения данной реакции, так как фосфорамидиты представляют собой амиды фосфористой кислоты, подверженные гидролизу. Гидролиз данной молекулы приведет к потере функциональной активности и невозможности проведения реакции каплинга.

Безвоздушная среда. Весь олигонуклеотидный синтез проводится в среде инертного газа (обычно, аргона). Эти условия необходимы для предотвращения окисления малостабильного фосфора (III) в более стабильный, но менее реакционноспособный фосфор (V).

Реакция окисления/тионирования является третьей реакцией синтетического цикла (Рисунок 9).



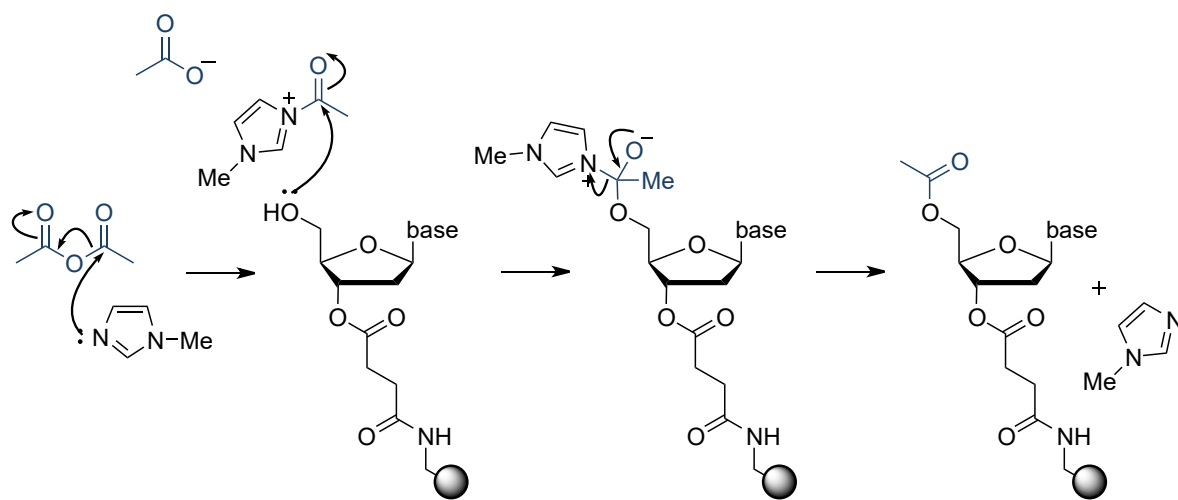
Base – основание, pyridinium iodide – пиридина иодид.

Рисунок 9 – Реакция окисления/тионирования

Для повышения стабильности олигонуклеотидов и увеличения их сродства к ферментным системам организма в ходе олигонуклеотидного синтеза

используется реакция окисления P(III) в P(V). Данная реакция, является единственной в процессе синтеза, в которой критически необходимо присутствие воды, т.к. она участвует в образовании промежуточного комплекса, с дальнейшей фиксацией гидроксильной группы при атоме фосфора.

Реакция кэпирования/ацилирования/кэппинга (Англ. capping) (Рисунок 10).

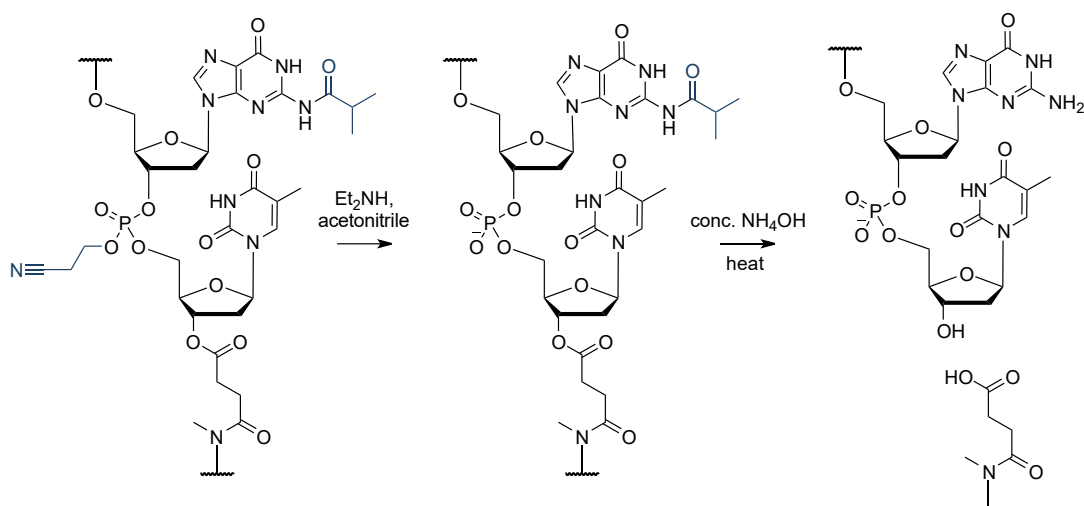


Base – основание.

Рисунок 10 – Реакция кэпирования

Так как ни одна химическая реакция не проходит с 100% выходом, данная реакция препятствует формированию побочных продуктов. В ходе этого процесса уксусным ангидридом осуществляется блокирование непрореагировавших гидроксильных групп, для предотвращения образования вырожденных последовательной и минорных примесей, что повышает общую чистоту синтезированного продукта. Законодательством РФ ограничен оборот уксусного ангидрида, как лицензируемого прекурсора. Альтернативным агентом в рамках данной работы является пропионовый ангидрид.

Последняя реакция, которая применяется по завершении олигонуклеотидного синтеза, является реакция удаления цианоэтильной защитной группы (Рисунок 11).



Acetonitrile – ацетонитрил, conc. – концентрированный, heat – нагрев.

Рисунок 11 – Реакция удаления цианоэтильной группы

Наличие цианоэтильной защитной группы критически важно в ходе проведения олигонуклеотидного синтеза, для предотвращения реакции каплинга по свободному атому кислорода, находящемуся при P (III) $\rightarrow$ P (V).

Данная реакция предотвращает образование фосфодиэфирной связи между фосфорами растущей цепи и вновь поступающими мономерам, что исключает образование минорных продуктов.

В связи с описанным выше, синтез можно осуществлять с помощью коммерчески доступных автоматических олигонуклеотидных синтезаторов и реагентов. Ниже приведена методика этапов синтеза, проведенных в ходе наработке молекул миРНК.

Деблокирующий реагент. Раствор подготавливают путем растворения 80 мл дихлоруксусной кислоты в 1920 мл безводного толуола. Растворение проводят в аргоновой среде, для предотвращения попадания воды. Затем раствор перемешивают до образования однородного раствора. Срок хранения данного раствора составляет 3 месяца при температуре $4 \pm 8^\circ\text{C}$.

Раствор активатора. Для его приготовления растворяют 18,3 г 5-этил-тио-тетразола в 500 мл безводного ацетонитрила. Растворение проводят в

токе инертного газа, для предотвращения попадания воды. Затем раствор перемешивают до образования однородного раствора и при наличии тока инертного газа добавляют молекулярные сита, для дополнительного обезвоживания. Срок хранения данного раствора составляет 1 неделя при температуре $4\pm 8^{\circ}\text{C}$.

Растворы амидитов. Для приготовления растворов мономеров 9,45 г фосфорамидита (0,1 М) растворяют в 100 мл безводного ацетонитрила. Растворение проводят в токе инертного газа, для предотвращения попадания воды. Затем раствор перемешивают до образования однородного раствора и при наличии тока инертного газа добавляют молекулярные сита, для дополнительного обезвоживания. Срок хранения данного раствора составляет 1 неделя при температуре $4\pm 8^{\circ}\text{C}$.

Раствор кэп А. Кэпирующий раствор подготавливают путем растворения 200 мл N-метил-имидазола в 800 мл безводного ацетонитрила. Растворение проводят в аргоновой среде, для предотвращения попадания воды. Затем раствор перемешивают до образования однородного раствора и при наличии тока инертного газа добавляют молекулярные сита, для дополнительного обезвоживания. Срок хранения данного раствора составляет 2 недели при температуре $4\pm 8^{\circ}\text{C}$.

Раствор кэп Б. Кэпирующий раствор подготавливают путем растворения 250 мл 2,6 – лутидина в 500 мл безводного ацетонитрила, затем добавляют 250 мл пропионового ангидрида. Растворение проводят в аргоновой среде, для предотвращения попадания воды. Затем раствор перемешивают до образования однородного раствора и при наличии тока инертного газа добавляют молекулярные сита, для дополнительного обезвоживания. Срок хранения данного раствора составляет 2 недели при температуре $4\pm 8^{\circ}\text{C}$.

Раствор окислителя. Данный раствор подготавливают путем растворения кристаллического йода массой 12,7 г в 900 мл пиридина, затем после полного растворения добавляют 100 мл деионизированной воды. Смесь активно

перемешивают на магнитной мешалке до полного растворения кристаллов йода и образования однородного раствора. Срок хранения данного раствора составляет 3 месяца при температуре $4\pm 8^{\circ}\text{C}$.

Раствор диэтиламина (ДЭА). ДЭА готовят путем растворения 40 мл диэтиламина в 160 мл безводного ацетонитрила. Растворение проводят в аргоновой среде, для предотвращения попадания воды. Затем раствор перемешивают до образования однородного раствора и при наличии тока инертного газа добавляют молекулярные сита, для дополнительного обезвоживания. Срок хранения данного раствора составляет 1 месяц при температуре $4\pm 8^{\circ}\text{C}$.

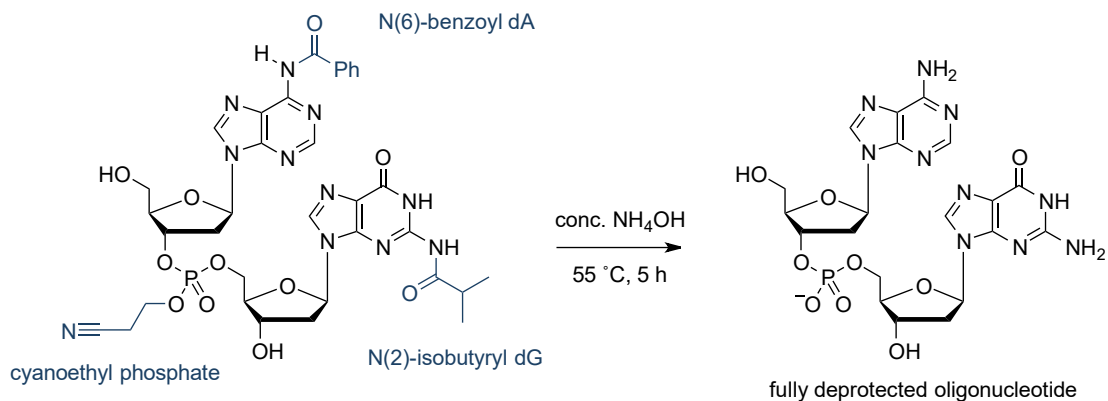
Primer Support 5G Unylinker 350 (350 мкмоль/г) (1000 мг на 1 канал) и внесение его в реактор.

Синтез проводили на автоматическом синтезаторе Polygen под управлением программы, заложенной в персональный компьютер. Синтез ведется последовательно по 1 синтезу для каждой из двух цепей РНК по стандартным протоколам синтеза.

По окончании синтеза твердый носитель с РНК в реакторе осушают током воздуха в течение 30 минут, подключив гибким шлангом реактор к вакуумному насосу. Пересыпают твердый носитель в бутылку с завинчивающейся крышкой. Вносят 100 мл 32% водного раствора аммиака. Закрытую бутылку помещают в термостат и термостатируют при 55°C в течение 15 часов. Бутылку охлаждают до $+4^{\circ}\text{C}$ и содержимое бутылки фильтруют с помощью фильтрующей системы (полиэфирсульфон, 0,22 мкм), собирая фильтрат, содержащий РНК. Для более полного удаления РНК с носителя к носителю добавляют 20 мл водно-спиртового раствора, фильтруют, собирая фильтрат. Фильтраты объединяют и переносят по 30 мл в пробирки типа Falcon объемом 50 мл (4 пробирки на 1 синтез).

2.3.2. Удаление защитных групп

Удаление защитных групп, с целевой молекул, осуществляется совместно с удалением олигонуклеотида с молекулы носителя, по механизму представленному на Рисунке 12.



Суаноethyl phosphate – цианоэтила фосфат, benzoyl – бензоил, isobutyryl – изобутирил, conc. – концентрированный, h – часы, fully deprotected oligonucleotide – олигонуклеотид с полностью удаленными защитными группами.

Рисунок 12 – Реакция удаления защитных групп

Принципиально важно этапно разграничивать удаление защитных групп с азотистых оснований и удаление защитной группы с атома фосфора, так как не соблюдение этих протоколов может привести к нежелательным последствиям представленным на Рисунке 13.

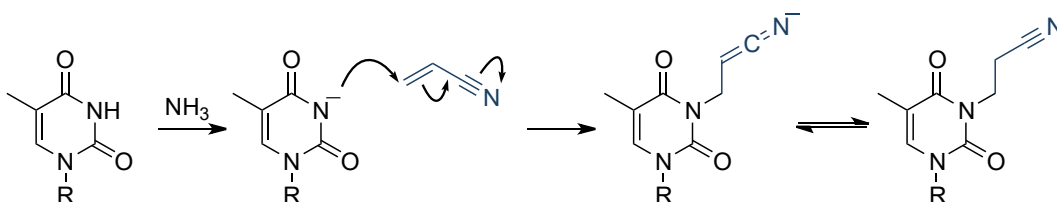


Рисунок 13 – Реакция Михаэля между акрилонитрилом и тиминном

Данная реакция представляет собой реакцию Михаэля между акрилонитрилом, образованным в ходе удаления цианоэтильной защиты во время аммонолиза, и тиминном, выступающим в роли акцептора Михаэля.

2.3.3. Хроматографическая очистка

Хроматографическая очистка, проходит двумя различными способами, в зависимости от количества синтезируемого образца.

В случае, если количества (по массе) синтезированных олигонуклеотидов не превосходят 5 мг, очистка осуществляется с использованием обращенно-фазовых картриджей GlenPack (GlenResearch, США) по протоколу производителя [50].

В случае, если количества (по массе) синтезированных олигонуклеотидов превышают 5 мг, очистка осуществляется методом ионно-обменной хроматографии, с использованием автоматизированного хроматографа. В качестве неподвижной фазы используется анионообменная смола YMC SmartSep Q30. Которая представляет собой агарозный полимер, с нанесенными на него кватернизованными аминокгруппами. В качестве подвижной фазы используется следующая система: Буфер А: 0,05М NaOH в воде первого класса чистоты, Буфер Б: 0,05М NaOH + 1,5 М NaCl в воде первого класса чистоты.

2.3.4. Формирование дуплексов

Для наиболее полного и правильного формирования дуплексов, используют следующий протокол. Проводят эквимольное смешение симплексов, растворяют симплексы в воде первого класса чистоты и термостатируют при температуре 95°C на протяжении 5 минут для обеспечения

полной денатурации. Затем, растворы охлаждаются до комнатной температуры естественным путем, на протяжении 40 минут.

2.3.5. Хранение дуплексов

Лиофилизированные дуплексы хранятся при температуре -20°C на протяжении 24 месяцев, при температуре $+4-8^{\circ}\text{C}$ на протяжении 2 месяцев, при комнатной температуре на протяжении 3 дней.

Растворы дуплексов дуплексы хранятся при температуре -20°C на протяжении 24 месяцев, при температуре $+4-8^{\circ}\text{C}$ на протяжении 1 месяца, при комнатной температуре на протяжении 1 дня. При несоблюдении правил хранения, наблюдается частичная/полная деградация синтезированных дуплексов. Неконтролируемые циклы таяния–заморозки приводят к непредсказуемым последствиям, вызывая частичное расплетание дуплекса, что значительно сокращает срок хранения (вплоть до 8 часов).

Данные условия хранения актуальны для немодифицированных олигонуклеотидов.

2.3.6. Масс-спектрометрия

Масс-спектрометрия олигонуклеотидов выполнена с использованием масс-спектрометра Bruker MicroFlex 400 MALDI-ToF (Bruker Daltonics GmbH., Германия). Для выполнения масс-спектрометрического исследования осуществляется расчет теоретической массы соединения с использованием веб-приложения калькулятора biosyn [79]. Исследуемая последовательность вводится в соответствующее поле веб-приложения, после чего программным сценарием осуществляется расчет молекулярной массы соединения. Для

определения фактической массы соединения. На металлическую мишень наносится 10 мкл водного раствора матрицы (гидроксипиколиновая кислота 100 мМ + цитрат аммония 25мМ). После полного высыхания, на металлическую мишень наносится 5 мкл исследуемого аналита. После полного высыхания на металлическую мишень наносится 5 мкл водного раствора матрицы (гидроксипиколиновая кислота 100 мМ + цитрат аммония 25мМ). После высыхания, мишень помещают в подготовленный масс-спектрометр и проводят ионизацию лазером с целью получения масс-спектров. В результате анализа формируется график, отражающий соотношение молекулярной массы аналита к интенсивности сигнала. В случае, если полученные аналитические данные соответствуют расчетным в пределах погрешности прибора, масса соединения считается подтвержденной.

2.4. Репортерная плаزمида

Для оценки эффективности РНК-интерференции *in vitro* необходимо обеспечить транскрипцию исследуемого гена в модельной культуре клеток. Для этих целей осуществляют трансфекцию модельной культуры репортерной плазмиды, несущей исследуемый ген и ген-репортер (*Luc* или *GFP*).

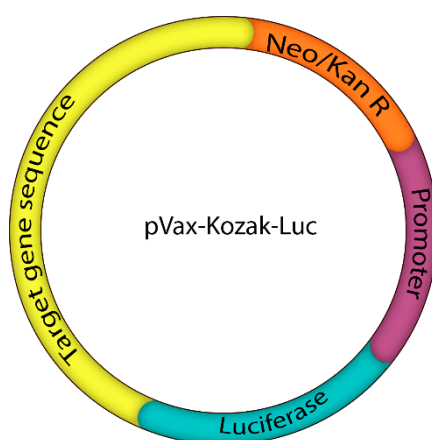
2.4.1. Проектирование репортерной плазмиды

Для осуществления целей данной работы были спроектированы плазмиды на базе вектора pVax-Kozak. Плазида на основе этого вектора представляет собой кольцевую двуцепочечную ДНК, включающую репортерный ген люциферазы светляка (*Luc*), в 3'-нетранслируемые регион которого включен полноразмерный исследуемый ген или его фрагмент под единым

CMV-промотором. Такая структура плазмиды обеспечивает транскрипцию мРНК, кодирующей как ген-репортер, так и исследуемый ген, что обеспечивает сопряженную трансляцию люциферазы и белка, кодируемого исследуемым геном.

Плазмида включает ген резистентности к антибиотикам неомицину и канамицину (Neo/KanR), позволяющий проводить ее наработку в культуре *E.coli*.

Схема репортерной плазмиды представлена на Рисунке 14.



pVax-Kozak-Luc – наименование вектора, Promoter – промотор, Luciferase – люцифераза, Target gene sequence – последовательность целевого гена, Neo/Kan R – ген резистентности к неомицину/канамицину.

Рисунок 14 – Общая схема репортерной плазмиды

2.4.2. Синтез репортерной плазмиды

Работы по синтезу и наработке первичной плазмиды выполнены компанией Евроген (Москва, Россия). Для синтеза плазмидного конструктора последовательность исследуемого гена подразделена на перекрывающиеся олигонуклеотидные фрагменты длиной 60-100 нуклеотидов. Далее осуществляли сборку линейного ДНК-конструктора методом ПЦР на основе

перекрывающихся олигонуклеотидов. После этого линейный синтетический фрагмент клонировали в плазмидный вектор методом сборки по Гибсону, содержащий бактериальный сайт начала репликации (*ori*), ген резистентности к антибиотикам (Neo/Kan^R, *nptII*), рамка считывания репортерного гена (*ORF*), поли-А сигнал для экспрессии в эукариотических клетках (*polyA signal*). Конструкт трансформирован в бактериальную культуру *E.coli* (DH5 α), проведена селекция антибиотиками (канамицин). По окончании селекции проведены ПЦР колоний и верификация последовательности методом секвенирования по Сэнгеру.

2.5. Исследование *in vitro*

2.5.1. Модель экспрессии гена

Для тестирования миРНК клетки НЕК293Т (эмбриональная почка человека) в количестве 100 тысяч клеток на лунку засевали в 24-луночный планшет (SPL, Корея) в модифицированной среде Игла по Дульбекко (DMEM, ПанЭко, Россия) с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки, 300 мг/л L-глутамин (ПанЭко, Россия), 25 мМ 4-(2-гидроксиэтил)-1-пиперазинэтансульфоновой кислоты (HEPES, ПанЭко, Россия), 50 мкг/мл гентамицина (Gibco, США), 10 мМ пирувата натрия (Servicebio, Китай). Инкубировали сутки при 37°C в 5% атмосфере CO₂.

2.5.2. Трансфекция с использованием трансфицирующего агента

Далее осуществляли трансфекцию клеток смесью 0,25 мкг плазмид pVAX-KOZAK-Luc-ITGB1 и pVAX-KOZAK-Luc-CD47 и 1 мкл коммерческого реагента Lipofectamine3000 (Thermo Fisher Scientific, США) в объеме 100 мкл среды optiMEM (Gibco, США). Через 2 часа после трансфекции плазмидой клетки обрабатывали смесью, состоящей из 0,5 мкг миРНК и 1 мкл Lipofectamine3000 (Thermo Fisher Scientific, США) в объеме 95 мкл среды optiMEM (Gibco, США). В качестве отрицательного контроля клетки обрабатывали аналогичным количеством неспецифических молекул миРНК против гена *Gfp* (siGFP). В качестве положительного контроля клетки обрабатывали аналогичным количеством молекул миРНК против репортерного гена *Luc* (siLuc) Инкубировали планшеты при 37 °C в 5%-ой атмосфере CO₂ в течение суток.

Далее клетки лизировали и определяли активность люциферазы по интенсивности люминесценции с использованием коммерческого набора реагентов Bright-Glo™ Luciferase Assay System (Promega, США).

Ко-трансфекция миРНК с репортерной плазмидой позволяет недвусмысленно судить об изменении количества мРНК исследуемого гена по изменению люминесценции люциферазы в лизатах клеток относительно контрольных образцов.

2.5.3. Исследование цитотоксического эффекта

Для исследования цитотоксического эффекта миРНК проведены МТТ-тесты. Для проведения этого теста клетки HEK293T (CellSaurus accession: CVCL_0063) засевались в 96-луночный планшет (SPL, Корея) в количестве 35000 клеток/лунку в 100 мкл полной среды DMEM (ПанЭко, Россия) с

добавлением 10% телячьей сыворотки, 300 мг/л L-глутамина (ПанЭко, Россия), 25мМ HEPES (ПанЭко, Россия), 50мкг/мл гентамицина (Gibco, США), 10мМ пирувата натрия (Servicebio, Китай). Планшеты инкубировались в течение суток при 37°C в атмосфере 5% CO₂ для достижения 75% конфлюэнтности. На следующие сутки в лунки были добавлены концентрации миРНК от 2мкг/мл до 200 мкг/мл (2 мкг/мл, 4 мкг/мл, 7 мкг/мл, 13 мкг/мл, 25 мкг/мл, 50 мкг/мл, 75 мкг/мл, 100 мкг/мл, 200 мкг/мл). После планшеты инкубировались сутки в тех же условиях. На следующие сутки в каждую лунку добавлено 25 мкл раствора МТТ (NeoFroxx, Германия) в концентрации 4 мг/мл, планшет инкубировали в течение 4 часов. Реакция останавливалась добавлением 20% раствором додецил сульфата натрия (BioFroxx, Германия). На следующие сутки определялась оптическая плотность образцов с использованием спектрофотометра (Multiskan GO, Thermo Fischer Scientific, США) при длинах волн 570 нм и 650 нм. По полученным данным рассчитывалась полужитотоксическая концентрация (CC₅₀).

2.6. Статистический анализ данных

Статистический анализ данных выполнен с использованием встроенных функций ПО GraphPad Prism (версия 10.4.0 (621), Бостон, США). Экспериментальные данные вносились в окружение ПО, обрабатывались при помощи двухстороннего анализа вариабельности (two-way ANOVA) и непараметрического критерия Краскелла-Уолиса.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ

3.1. Результаты систематического обзора релевантных молекулярных мишеней

В ходе литературного поиска и анализа баз данных были идентифицированы и оценены следующие гены-кандидаты: *PD-L1*, *YAP1*, *GPX4*, *BCL2L1*, *XIAP*, *MMP9*, *PCSK9*, *sRAGE*, *LOXL2*, *ENTPD1*, *SCD1*, *CD47* и *ITGB1* (Таблица 7). Все рассмотренные гены соответствовали общему критерию функциональной вовлеченности в иммуноопосредованную прогрессию злокачественных опухолей и имели экспериментальное или клиническое подтверждение противоопухолевого эффекта при их блокаде. Для каждого из них задокументированы положительные результаты при применении антительной блокады, что подтверждает принципиальную терапевтическую значимость этих мишеней. По итогам анализа все перечисленные гены, за исключением *CD47* и *ITGB1*, были приняты к рассмотрению в рамках параллельных исследовательских проектов ГНЦ ФГБУ «НМИЦ аллергологии и иммунологии» ФМБА России (ранее ФГБУ «ГНЦ Института иммунологии» ФМБА России).

Таблица 7 – Сводная таблица перспективных молекулярных мишеней, участвующих в иммуноопосредованной прогрессии онкологической патологии

Ген/ мишень	Механизм участия в иммуноопосредованной прогрессии опухоли	Исследованный тип блокады	Ключевые публикации	Основной вывод	Экспрессия при ГЦК	Риск НЯ при системной блокаде
CD47	Блокада фагоцитоза макрофагами через ось CD47–SIRP α ; формирование иммуносупрессивного микроокружения	Fusion анти-CD47 антитела (магролимаб); SIRP α –Fc; биспецифические антитела CD47/PD-L1	[32, 70, 71]	Блокада CD47 восстанавливает фагоцитоз опухолевых клеток; сочетание с анти-PD-L1 синергистически усиливает Т-клеточный ответ; высокая экспрессия CD47 ассоциирована с неблагоприятной общей выживаемостью (p=0,039, TCGA-LIHC)	Повышена (ассоциирована со снижением общей выживаемости, p=0,039)	Умеренный: транзиторная анемия (нежелательный фагоцитоз эритроцитов); нивелируется опухоле-специфическими сигналами «eat me»
ITGB1	Интегрин-опосредованная адгезия к ВКМ; активация FAK/AKT; формирование иммуносупрессивного микроокружения; поддержка стволовости опухолевых клеток	siRNA нокдаун (доклинические модели); ингибиторы FAK/AKT	[62, 73]	ITGB1 значительно повышен в ткани ГЦК; нокдаун миРНК снижает экспрессию PXN/YWHAZ и подавляет прогрессию ГЦК <i>in vitro</i> и <i>in vivo</i> ; высокая экспрессия коррелирует с химио- и иммунорезистентностью	Повышена (значимо в сравнении с нормой)	Умеренный: широкая экспрессия в норме; нормальные клетки толерантны к частичному снижению благодаря запасу матриксных контактов

Продолжение таблицы 7

Ген/ мишень	Механизм участия в иммуноопосредованной прогрессии опухоли	Исследованный тип блокады	Ключевые публикации	Основной вывод публикации	Экспрессия при ГЦК	Риск НЯ при системной блокаде
PD-L1	Связывание с PD-1 на Т-лимфоцитах обеспечивает функциональное истощение CTL; подавление противоопухолевого иммунного ответа	Анти-PD-1/PD- L1 антитела (ниволумаб, атезолизумаб, пембролизумаб); клинически одобрено	[24, 78]	Блокада PD-1/PD-L1 обеспечивает объективный ответ у части пациентов с ГЦК; комбинация атезолизумаб + бевацизумаб – стандарт 1-й линии при распространенной ГЦК; высокая экспрессия PD-L1 – независимый предиктор рецидива	Вариабельна (повышена в подгруппе)	Низкий при нокдауне в опухоли; системный нокдаун вызывает аутоиммунные НЯ (колит, пневмония)
YAP1	Активация Hippo-пути стимулирует стволовость, индукция PD-L1 через IL-6/STAT3, рекрутирование M2- макрофагов и MDSC; формирование иммуносупрессивного ТМО	Ингибиторы YAP1 (вертепорфин); комбинация с анти-PD-1	[112, 121]	YAP1-аттенуация снижает долю M2- макрофагов и MDSC, усиливает инфильтрацию CD8+ Т-клеток; комбинация с блокадой иммунных контрольных точек синергетически подавляет рост опухоли	Повышена	Умеренный: YAP1 участвует в регенерации тканей; нокдаун в нормальных гепатоцитах может нарушать регенерацию печени

Продолжение таблицы 7

Ген/ мишень	Механизм участия в иммуноопосредованной прогрессии опухоли	Исследованный тип блокады	Ключевые публикации	Основной вывод публикации	Экспрессия при ГЦК	Риск НЯ при системной блокаде
GPX4	Мастер-регулятор ферроптоза; сверхэкспрессия защищает опухолевые клетки от перекисного окисления липидов; снижение чувствительности к ферроптозу подавляет иммуногенность	Специфические дегрэйдеры GPX4 (N6F11, RSL3); комбинация с анти-PD-L1	[114, 116]	Опухолеспецифическая деградация GPX4 инициирует ферроптоз и запускает противоопухолевый иммунный ответ; сенситизирует к блокаде иммунных контрольных точек; иммунные клетки (в т. ч. Т-лимфоциты) устойчивы к деградации GPX4	Повышена (коррелирует с M2-макрофагами)	Умеренный: GPX4 экспрессируется в нормальных тканях; возможны НЯ в кишечном эпителии и сперматогенезе при системном нокдауне
BCL2L1 (Bcl-xL)	Антиапоптотический белок; ингибирует митохондриальный апоптоз; устойчивость опухолевых клеток к цитотоксическим Т- лимфоцитам и NK- клеткам	ВНЗ-миметики (ABT- 263/навитоклакс); миРНК нокдаун; комбинация с CTLA-4/PD-1 блокадой	[14, 103]	Одновременный нокдаун BCL2L1, BCL2, XIAP и сурвивина миРНК усиливает апоптоз и снижает жизнеспособность опухолевых клеток; навитоклакс демонстрирует противоопухолевую активность в клинических исследованиях	Повышена	Высокий: BCL2L1 критически важен для тромбоцитов; системный нокдаун вызывает тромбоцитопению

Продолжение таблицы 7

Ген/ мишень	Механизм участия в иммуноопосредованной прогрессии опухоли	Исследованный тип блокады	Ключевые публикации	Основной вывод публикации	Экспрессия при ГЦК	Риск НЯ при системной блокаде
XIAP	Ингибитор каспаз (3, 7, 9); блокада апоптотического сигнала от CTL и NK; устойчивость к TRAIL-опосредованному иммунному уничтожению	Антагонисты IAP (эмбесомид, LCL-161); миРНК нокдаун	[49, 103]	Нокдаун XIAP миРНК восстанавливает чувствительность опухолевых клеток к апоптозу; комбинированный нокдаун XIAP+BCL2 синергтически усиливает цитотоксический эффект	Повышена	Низкий: XIAP функционально избыточен в норм. тканях; компенсируется другими IAP-белками
ММР9	Ремоделирование ВКМ; деградация компонентов базальной мембраны; рекрутирование иммуносупрессивных клеток; высвобождение TGF- β из матрикса	Ингибиторы ММР (маримастат); анти-ММР9 антитела; миРНК нокдаун	[38, 67]	ММР9 коррелирует с инвазией, метастазированием и плохим прогнозом при ГЦК; блокада ММР9 снижает инвазию и нормализует ТМО; высокая экспрессия связана с инфильтрацией иммуносупрессивных клеток	Повышена	Умеренный: ММР9 участвует в заживлении ран; системное ингибирование нарушает тканевое ремоделирование

Продолжение таблицы 7

Ген/ мишень	Механизм участия в иммуноопосредованной прогрессии опухоли	Исследованный тип блокады	Ключевые публикации	Основной вывод публикации	Экспрессия при ГЦК	Риск НЯ при системной блокаде
PCSK9	Снижение экспрессии МНС-I на опухолевых клетках (через деградацию LDLR- опосредованного пути); снижение распознавания CTL	Анти-PCSK9 антитела (эволюкумаб, алирокумаб); комбинация с анти-PD-1	[59, 60]	Блокада PCSK9 повышает экспрессию МНС-I, усиливает инфильтрацию CD8+ Т-клеток; синергизм с анти-PD-1 в доклинических моделях колоректального рака; PCSK9 – эволюционно консервативный регулятор иммунного надзора	Повышена	Низкий: клинически одобренные анти-PCSK9 антитела имеют приемлемый профиль безопасности
sRAGE / RAGE	RAGE – рецептор конечных продуктов гликирования; активирует NF-κB, поддерживает хроническое воспаление в ТМО; рекрутирование MDSC через ось S100A9– RAGE–TLR4	Анти-RAGE антитела- конъюгаты (ADC); рекомбинантный sRAGE как ловушка для лигандов	[18]	Анти-RAGE ADC демонстрирует противоопухолевую активность в ксенографтных моделях рака эндометрия; экспрессия RAGE значимо повышена в опухолевой ткани; sRAGE снижает рекрутирование MDSC и подавляет иммуносупрессивный ТМО	Вариабельна (данные ограничены для ГЦК)	Низкий: sRAGE – растворимая форма, действует как внеклеточная ловушка; нокдаун мембранного RAGE умеренно нарушает воспалительную сигнализацию

Продолжение таблицы 7

Ген/ мишень	Механизм участия в иммуноопосредованной прогрессии опухоли	Исследованный тип блокады	Ключевые публикации	Основной вывод публикации	Экспрессия при ГЦК	Риск НЯ при системной блокаде
LOXL2	Сшивание коллагена ВКМ вызывает фиброз и ригидность матрикса; активация иммуносупрессивных сигналов; поддержка стволовости опухолевых клеток	Анти-LOXL2 антитела (симтузумаб); ингибиторы LOX; миРНК нокдаун	[56, 76]	Нокдаун LOXL2 снижает пролиферацию, инвазию и миграцию стволовых клеток ГЦК (CD133+HerG2/Her3B); ингибирование LOXL2 вызывает клеточное старение в линиях рака легкого и печени; экспрессия LOXL2 коррелирует с плохим прогнозом	Повышена (в раковых стволовых клетках ГЦК)	Умеренный: LOXL2 участвует в нормальном фиброзе и ремоделировании тканей
ENTPD1 (CD39)	Гидролиз внеклеточного АТФ формирует аденозин, вызывающий подавление дендритных клеток и Т-лимфоцитов через аденозиновые рецепторы; нарушение иммуногенной гибели клеток	Анти-CD39 антитела (SRF617, IPH5201); ингибиторы пуриnergических рецепторов	[51, 90]	Блокада CD39 восстанавливает рекрутирование дендритных клеток сверхэкспрессирован на Treg и опухолевых клетках при множестве онкологических заболеваний; блокада синергирует с иммуногенной клеточной гибелью	Повышена (в Treg и опухолевых клетках)	Умеренный: CD39 экспрессируется на сосудистом эндотелии и тромбоцитах; нокдаун может нарушать тромбоцитарный ответ

Продолжение таблицы 7

Ген/ мишень	Механизм участия в иммуноопосредованной прогрессии опухоли	Исследованный тип блокады	Ключевые публикации	Основной вывод публикации	Экспрессия при ГЦК	Риск НЯ при системной блокаде
SCD1	Регуляция метаболизма жирных кислот; высокая экспрессия подавляет инфильтрацию Т-клеток через Wnt/ β - catenin; создает «холодный» иммунный фенотип ТМО	Ингибиторы SCD1 (A939572, MF- 438); комбинация с анти-PD-1	[61]	Ингибирование SCD1 усиливает продукцию CCL4 опухолевыми клетками, рекрутирует дендритные клетки, повышает инфильтрацию CD8+ Т-клеток; синергизм с анти-PD-1 подтвержден в нескольких моделях; коррелирует с ответом на иммунотерапию у пациентов с НМРЛ	Повышена	Умеренный: SCD1 участвует в метаболизме липидов во всех тканях; возможны метаболические НЯ при системном ингибировании

Примечание – ГЦК – гепатоцеллюлярная карцинома, ВКМ – внеклеточный матрикс, НЯ – нежелательные явления, ТМО – опухолевое микроокружение, ОВ – общая выживаемость, НК – естественные киллеры, CTL – цитотоксические Т-лимфоциты, Treg – регуляторные Т-лимфоциты, MDSC – миелоидные супрессорные клетки, ADC – конъюгат антитело-лекарство

Для настоящего исследования были отобраны гены *CD47* и *ITGB1* как мишени, обладающие выраженным теоретическим синергизмом при одновременном нокдауне [32, 62, 70, 71, 73]. По данным анализа TCGA-LIHC, повышенная экспрессия *CD47* значимо ассоциирована с неблагоприятной общей выживаемостью пациентов с гепатоцеллюлярной карциномой ($p = 0,039$, log-rank test). Повышение экспрессии *CD47* на опухолевых клетках коррелирует со снижением общей выживаемости и выживаемости без рецидива при ГЦК; при этом инфильтрирующие опухоль макрофаги индуцируют экспрессию *CD47* через IL-6/STAT3-путь, а нейтрализация *CD47* восстанавливает способность иммунных клеток к фагоцитозу опухолевых клеток. В отношении *ITGB1* биоинформатический анализ и иммуногистохимия подтвердили значимо более высокую экспрессию гена в ткани ГЦК по сравнению с нормальными тканями; нокдаун *ITGB1* посредством siRNA приводил к снижению экспрессии паксиллина (PXN) и YWHAZ и подавлению прогрессии ГЦК [58, 62, 71].

Теоретический синергизм двух выбранных мишеней обусловлен взаимодополняющими механизмами действия. Нокдаун *ITGB1* нарушает интегрин-опосредованное взаимодействие опухолевых клеток с компонентами внеклеточного матрикса, снижая их адгезионную выживаемость и провоцируя апоптоз – гибель клеток вследствие утраты контакта с матриксом. Одновременный нокдаун *CD47* снимает блокаду фагоцитарного надзора по оси *CD47*–*SIRPα*, восстанавливая способность макрофагов к элиминации опухолевых клеток. Таким образом, сочетание нокдауна *ITGB1* и *CD47* реализует двунаправленное воздействие: индукцию гибели опухолевых клеток через апоптоз и одновременное снятие иммуносупрессии, что создает предпосылки для кооперативного противоопухолевого эффекта. Синергистический потенциал комбинированного воздействия на *CD47* совместно с другими мишенями подтвержден в ряде доклинических и клинических исследований [94].

Дополнительным критерием отбора служила относительная безопасность нокдауна в нормальных тканях. *CD47* экспрессируется на поверхности

эритроцитов, однако селективность антагонистов *CD47* в отношении опухолевых клеток обусловлена наличием на них профагоцитарных сигналов («eat me»), практически отсутствующих на нормальных клетках, что обеспечивает приемлемый профиль безопасности. *ITGB1* широко экспрессируется в нормальных тканях, однако его повышенная экспрессия характерна именно для опухолей и коррелирует с химиорезистентностью и иммунорезистентностью, тогда как нормальные клетки, располагающие физиологическим уровнем матриксных контактов, обладают достаточным запасом прочности, чтобы переносить частичное снижение его экспрессии без критических нарушений жизнеспособности [12, 73].

Таким образом, *ITGB1* и *CD47* являются не только важными молекулярными узлами в прогрессии онкологической патологии, но и обладают видимым синергизмом. Одномоментное воздействие по обеим осям регуляции соответствует современным представлениям о терапии онкологической патологии и позволяет реализовать стратегию «двойного удара».

3.2. *In silico*-дизайн миРНК

3.2.1. Дизайн немодифицированных миРНК

В результате реализации пп 2.2. получены большие библиотеки последовательностей миРНК против генов *ITGB1* и *CD47* человека, содержащие 742 и 1061 пар последовательностей соответственно. Применение описанных методов оценивания и ранжирования позволило уменьшить библиотеки до 31 и 30 кандидатных дуплексов, преодолевших минимальный порог функциональности, соответственно. Большие библиотеки последовательностей миРНК представлены в Приложениях Б, В. Из малых библиотек с применением метода энергетической

сигнатуры отобрано по 6 пар последовательностей мРНК, представленных в Таблице 8 (серии I-X и CX, где X – порядковый номер соединения в исследовании) и по 6 пар без применения этого метода (серии I-X_15 и CX_15, где X-порядковый номер соединения в исследовании, «_15» – индекс алгоритма, использованного в пп.2.2.2., Таблица 9).

Отбор по 6 дуплексов для каждого гена обусловлен совокупностью методологических и практических соображений.

Со стороны верхней границы – ограничения пропускной способности экспериментального этапа. Параллельное тестирование 6 соединений на ген в люциферазной модели с $N = 5$ биологическими повторами и включением контрольных групп (Null, siGFP, siLuc) укладывается в стандартный формат 96-луночного планшета для двух генов одновременно. Увеличение выборки потребовало бы кратного роста расходных материалов, объема синтеза и временных затрат, что нецелесообразно на этапе первичной валидации.

Со стороны нижней границы – требования к статистической и биологической репрезентативности выборки. Шесть молекул на ген позволяют охватить достаточно широкий диапазон позиций отжига вдоль репортерной плазмиды – последовательности распределены равномерно по ее длине, что снижает вероятность ошибки, связанной с недоступностью мРНК вследствие формирования энергетически стабильной вторичной структуры.

Кроме того, выборка из 6 молекул достаточна для статистически корректного сравнения двух стратегий отбора – с применением метода энергетической сигнатуры и без него – при условии соблюдения симметрии групп. С точки зрения метода энергетической сигнатуры – число 6 соответствует типичному количеству дуплексов, удовлетворяющих одновременно всем строгим критериям пп. 2.2.5 (наличие градиента между позициями 10 и 11, не более одного плато, баланс положительных и отрицательных градиентов в диапазоне ± 2) среди 30–31 кандидата малой библиотеки. Таким образом, число 6 отражает не произвольно установленный лимит, а реальную долю молекул (~20% от малой библиотеки),

прошедших финальный термодинамический фильтр, что само по себе свидетельствует о высокой селективности примененного критерия.

Таблица 8 – Последовательности немодифицированных миРНК против мРНК генов *ITGB1* и *CD47* человека, отобранные методом энергетической сигнатуры

Название	Целевой ген	Антисмысловая 5-3	Смысловая 5-3
I-1	ITGB1	UUUGCAUUCAGUGUUGUGGGA	CCACAACACUGAAUGCAAAGU
I-2	ITGB1	UAAAAAGCUUCCAUUUCAGCA	CUGAUUUGGAAGCUUUUAAUG
I-3	ITGB1	UCCUUAACUAGCUAGCAGGAC	CCUGCUAGCUAGUUAAGGAUU
I-4	ITGB1	UAAAAAGGCAAAUUGACCGCU	CGGUCAAUUUGCCUUUUUAAU
I-5	ITGB1	AAAACAAGAAUGUGACUAGUG	CUAGUCACAUUCUUGUUUUAA
I-6	ITGB1	AAUACAUCAGAGUCAAGACAU	GUCUUGACUCUGAUGUAUUUU
C1	CD47	UACUAACAAUCACGUAAGGG	CUUACGUGAUUGUUAGUUAAG
C2	CD47	UGACAGUGAUCACUAGUCCAG	GGACUAGUGAUCACUGUCAUU
C3	CD47	UUUUCAUAGAUUUCUCUGGGU	CCAGAGAUUUCUAUGAAAACC
C4	CD47	UCAAGAAGAGCUGUCUUGCUA	GCAAGACAGCUCUUCUUGAAA
C5	CD47	UAAAAAGGUACAACUUUAGUU	CUAAAGUUGUACCUUUUAAUA
C6	CD47	AGUGCAAUAACAAUUUGGUG	CCAAAUUGUUAUUUGCACUAA

Примечание – А – аденин, U – урацил, G – гуанин, C – цитозин

Таблица 9 – Последовательности немодифицированных миРНК против мРНК генов *ITGB1* и *CD47* человека, отобранные без метода энергетической сигнатуры

Название	Целевой ген	Антисмысловая 5-3	Смысловая 5-3
I-1_15	ITGB1	UUCACAUUCACAGAUGUACUG	GUACAUCUGUGAAUGUGAAUG
I-2_15	ITGB1	UAGGAACAUUCCUGUGUGCAU	GCACACAGGAAUGUCCUAUU
I-3_15	ITGB1	AAUAGAACCAACAGUCGUCAA	GACGACUGUUGGUUCUAUUUU
I-4_15	ITGB1	UUCAAAUUUAGCAAACUCCCU	GGAGUUUGCUAAAUUUGAAAA
I-5_15	ITGB1	UUUGCAUUCAGUGUUGUGGGA	CCACAACACUGAAUGCAAAGU
I-6_15	ITGB1	AAGUAAACAUACAGUGGUCUG	GACCACUGUAUGUUUACUUCU
C1_15	CD47	UUUUAAUACCAAACUGUCCCC	GGACAGUUUGGUUUUAAAACA
C2_15	CD47	UACUAACAAUCACGUAAGGG	CUUACGUGAUUGUUAGUUAAG
C3_15	CD47	UAAAAUCAAGGAGAAGAGCA	CUCUUCUCCUUGAUUUUAAAA
C4_15	CD47	UUAUUCUGACAUUCUAGGG	CUAAGAAUGUCAGAAUUAAAA
C5_15	CD47	AUCUAAUUCUCAACAAUGGCU	CCAUUGUUGAGAAUUAGAUC
C6_15	CD47	UUCAGAAAUGUGCUUGUGGUC	CCACAAGCACAUUUCUGAAAA

Примечание – А – аденин, U – урацил, G – гуанин, C – цитозин

3.2.2. Дизайн модифицированных миРНК

Для повышения стабильности и эффективности РНКи выполнена химическая модификация миРНК тремя методами, описанными в пп. 2.1.8. Получены последовательности модифицированных миРНК, представленный в Таблице 10 (серии I-1_X и C1_X, где X – метод пп. 2.1.8., использованный для модификации молекулы).

Таблица 10 – модифицированные миРНК Таблицы 9

Название	Целевой ген	Антисмысловая 5-3	Смысловая 5-3
I-1_1	ITGB1	mUmUmUmGmCmAmUmUmCmAmGmUmGmUmUmGmUmGmGmGmA	mCmCmAmCmAmAmCmAmCmUmGmA mAmUmGmCmAmAmAmGmU
I-1_2	ITGB1	mUfUfUmGmCmAfUmUmCfAmGmUmGmUfUmGmUmGfGfGmA	fCfCmAmCmAmAmfCmAmCmUfGmA mUmGfCmAmAmAmGmU
I-1_3	ITGB1	fUfUmUmGmCmAfUfUmCfAmGmUmGmUfUmGmUmGfGfGmA	fCdCmAmCmAmAfCmAmCdTmGmA mUmGfCfAmAmAmGmU
C1_1	CD47	mUmAmAmCmUmAmAmCmAmAmUmCmAmCmGmUmAmAmGmGmG	mCmUmUmAmCmGmUmGmAmUmUmGmUmUmAmGmUmUmAmAmG
C1_2	CD47	mUfAmAmCmUfAmAmCmAfAmUmCmAfCfGmUfAmAmGfGfG	fCfUfUmAmCmGmUmGfAfUmUmGmUmUmAmGmUmUmAfAfG
C1_3	CD47	mUmAfAmCmUmAfAmCmAfAmUmCmAfCfGmUmAfAmGmGdA	fCdTmUmAmCmGmUmGmAdTmUmGmUdTmAmGmUmUmAfAfG

Примечание – А – аденин, U – урацил, G – гуанин, C – цитозин, m – 2'-ОМезамещенный мономер, f – 2'-F-замещенный мономер

3.3. Химический синтез миРНК

Оптическая плотность продуктов синтеза немодифицированных цепей составила в среднем 80 ± 10 OD при длине 21 нуклеотид. После удаления защитных групп в концентрированном водном аммиаке (55°C, 16 ч) и обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографической очистки (ОФ-ВЭЖХ) (колона C18, градиент ацетонитрила 5–40% в 0,1 М ТЭАА) выход очищенных цепей составил 68–79% от синтетического. Хроматографический анализ методом

ОФ-ВЭЖХ подтвердил наличие единственного продукта с характерным его длине временем удерживания для всех синтезированных цепей. Паспорта качества синтезированных соединений представлен в Приложении Д.

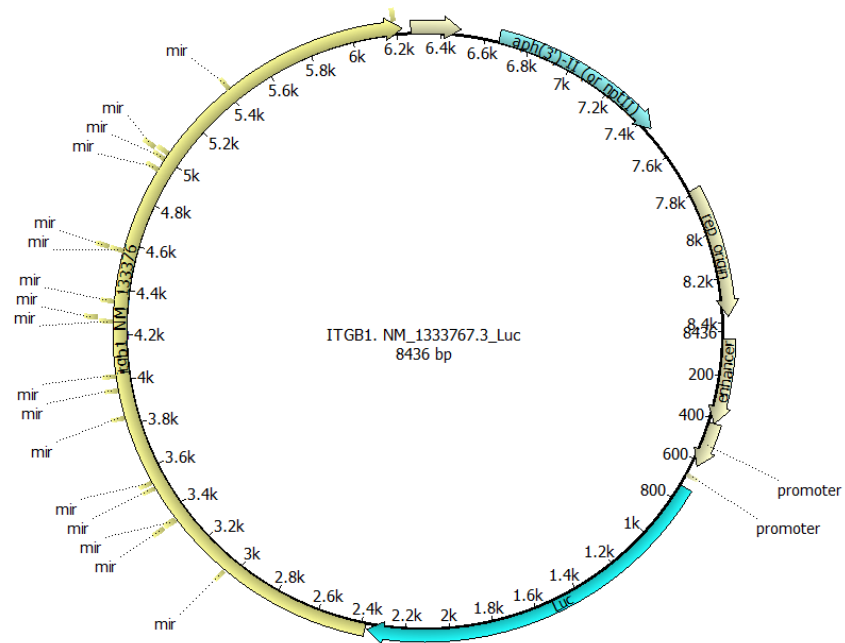
Модифицированные цепи (2'-F и 2'-ОМе производные) синтезировали с использованием коммерческих фосфорамидитов. Модификации 2'-F и 2'-ОМе демонстрировали несколько сниженную эффективность сочетания по сравнению со стандартными рибонуклеозидными фосфорамидитами (97,2–98,6% против 98,5–99,3%), что обусловлено стерическими особенностями. Итоговый выход очищенных модифицированных цепей составил 61–73%.

Структурная идентичность всех синтезированных цепей была подтверждена методом MALDI-ToF-масс-спектрометрии. Расхождение между расчетной и экспериментально определенной молярной массой не превышало $\pm 1,2$ Да ($< 0,02\%$) для всех образцов, что свидетельствует о корректном введении заявленных модификаций и отсутствии значимых примесей укороченных последовательностей.

Формирование дуплексов осуществляли путем смешения эквимольных количеств антисмысловой и смысловой цепей в деионизованной воде первого класса чистоты, свободной от нуклеаз, нагревом до 95°C с последующим медленным охлаждением до 25°C . Анализ методом ОФ-ВЭЖХ подтвердил полное дуплексирование всех вариантов: пики одноцепочечных молекул составляли менее 5% образца.

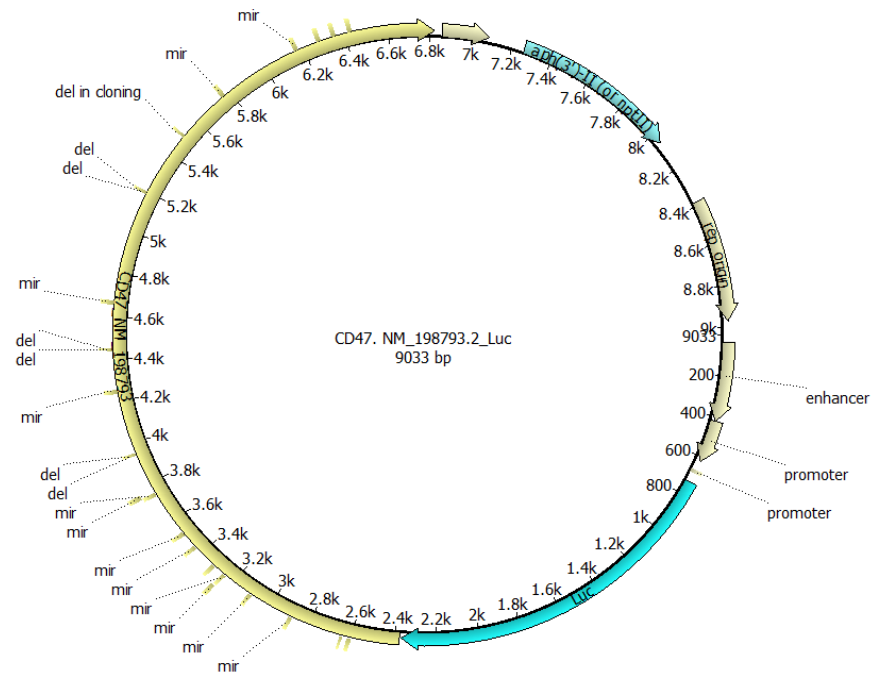
3.4. Репортерная плазмида

Получены репортерные плазмиды для генов *ITGB1* и *CD47* человека. Карты репортерных плазмид с отмеченными сайтами отжига отобранных миРНК представлены на Рисунках 15, 16.



Мiг – сайт отжига миРНК, Luc – мРНК люциферазы, promoter – промотор.

Рисунок 15 – Репортерная плаزمида, несущая мРНК гена *ITGB1*



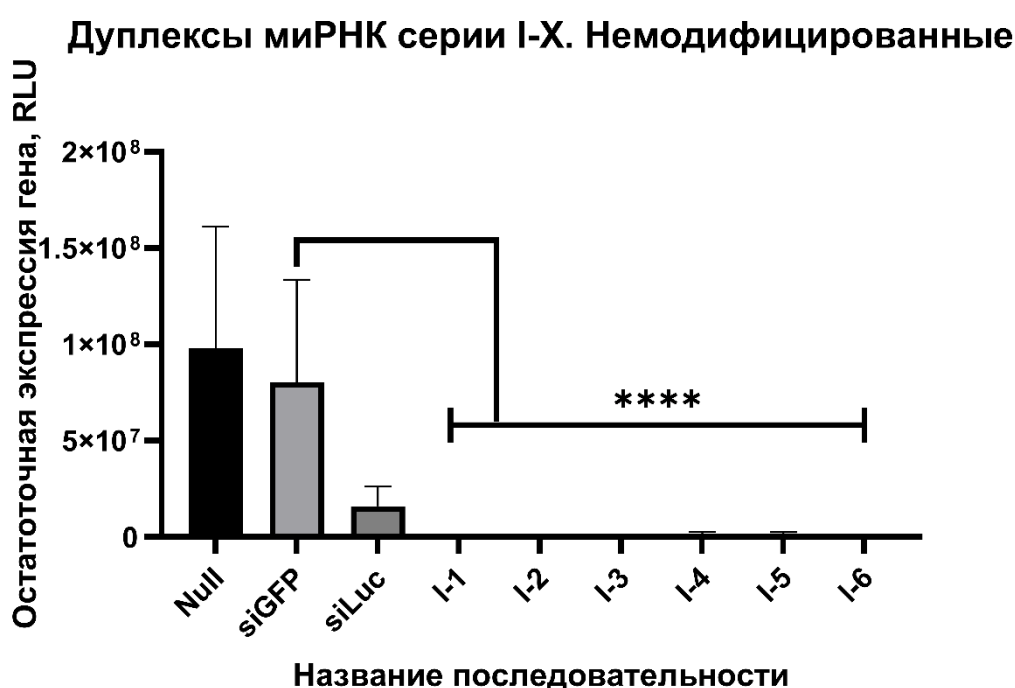
МiR – сайт отжига мiРНК, Luc – мРНК люциферазы, promoter – промотор.

Рисунок 16 – Репортерная плаزمида, несущая мРНК гена *CD47*

3.5. Исследование *in vitro*

3.5.1. Исследование немодифицированных миРНК *in vitro*

В результате проведения исследования *in vitro* определена интерферирующая способность миРНК, представленных в Таблицах 8, 9. Результаты представлены на Рисунках 17–20 и в Таблицах 11–14.

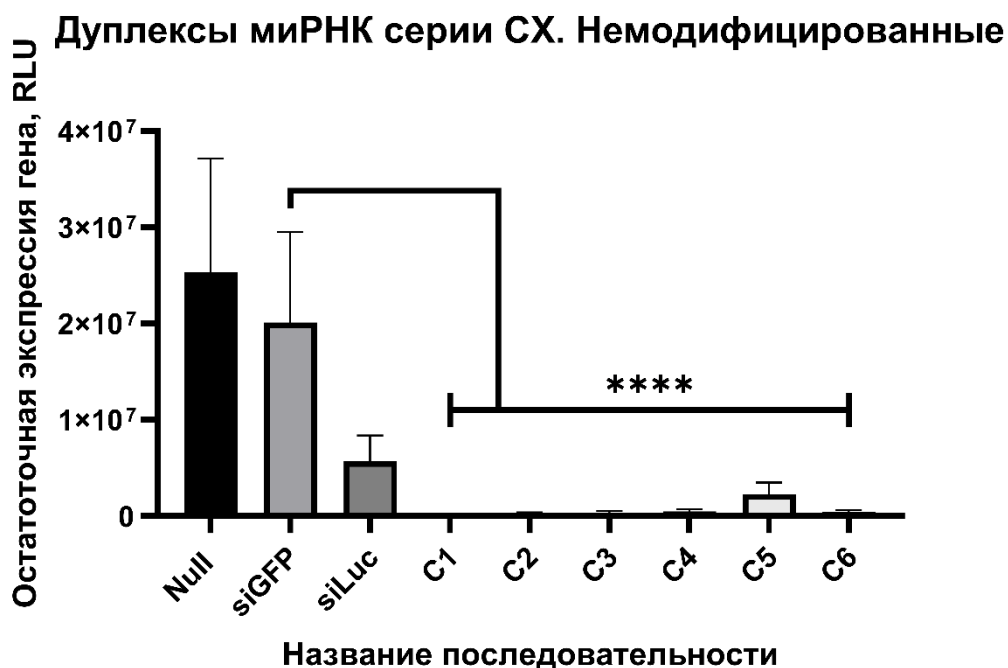


RLU – относительная световая единица, Null – нулевой контроль нулевой контроль без миРНК, siGFP – миРНК против мРНК гена GFP (зеленый флуоресцентный белок), отрицательный контроль, siLuc – миРНК против мРНК гена Luc (люциферазы), положительный контроль, * – различия статистически значимы (критерий Краскела–Уоллиса, N = 5, p < 0,0001).

Рисунок 17 – Остаточная экспрессия гена *ITGB1* после обработки клеток немодифицированными миРНК серии I-X, M±SD

Таблица 11 – Доля статочной экспрессии гена *ITGB1* после обработки клеток миРНК серии I-X, нормализация на нулевой контроль, M±SD

Соединение	Null	siGFP	siLuc	I-1	I-2	I-3	I-4	I-5	I-6
Доля остаточной экспрессии целевого гена	1±0	0,816±0,06	0,183±0,06	0,004±0,001	0,005±0,001	0,005±0,001	0,018±0,007	0,016±0,006	0,008±0,002



RLU – относительная световая единица, Null – нулевой контроль нулевой контроль без миРНК, siGFP – миРНК против мРНК гена GFP (зеленый флуоресцентный белок), отрицательный контроль, siLuc – миРНК против мРНК гена Luc (люциферазы), положительный контроль, * – различия статистически значимы (критерий Краскела–Уоллиса, N = 5, p < 0,0001).

Рисунок 18 – Остаточная экспрессия гена *CD47* после обработки клеток не модифицированными миРНК серии CX, M±SD

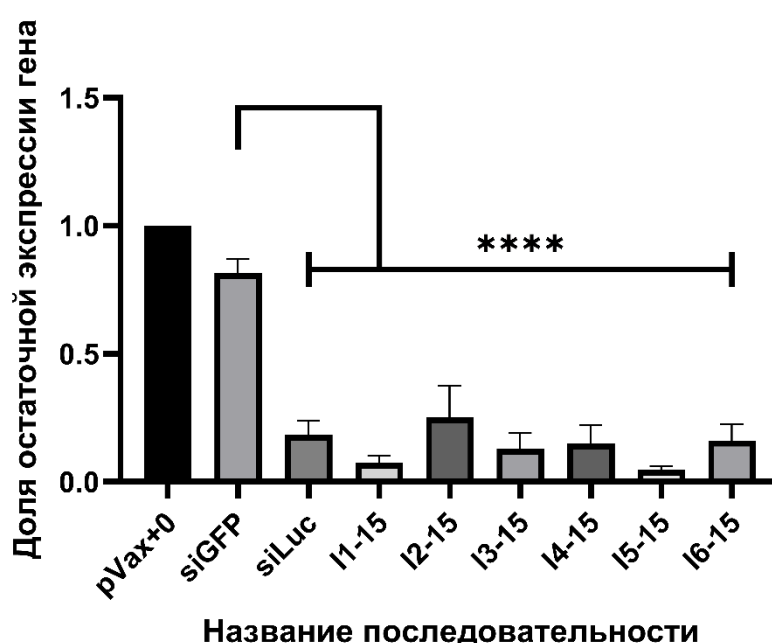
Таблица 12 – Доля остаточной экспрессии гена *CD47* после обработки клеток миРНК серии CX, нормализация на нулевой контроль, M±SD

Соединение	Null	siGFP	siLuc	C1	C2	C3	C4	C5	C6
Доля остаточной экспрессии целевого гена	1±0	0,796 ±0,05	0,235 ±0,1	0,009 7±0,0 09	0,014 7±0,0 2	0,018 ±0,01	0,027 ±0,03	0,097 ±0,05	0,022 ±0,02

Все исследованные дуплексы серий I-X и CX продемонстрировали статистически значимое подавление экспрессии целевых генов *ITGB1* и *CD47* соответственно (критерий Краскела–Уоллиса, N = 5, p < 0,0001). Доля остаточной экспрессии гена *ITGB1* при обработке миРНК серии I-X составила от 0,004±0,001 (I-1) до 0,018±0,007 (I-4), что соответствует подавлению экспрессии на уровне 98,2–99,6% относительно нулевого контроля. Доля остаточной экспрессии гена

CD47 при обработке дуплексами серии CX составила от $0,0097 \pm 0,009$ (C1) до $0,097 \pm 0,05$ (C5), что соответствует подавлению на уровне 90,3–99,0%. Следует отметить, что активность всех исследованных дуплексов существенно превышала активность положительного контроля siLuc ($0,183 \pm 0,06$ и $0,235 \pm 0,1$ для систем ITGB1 и *CD47* соответственно), что свидетельствует о высокой специфической эффективности отобранных последовательностей.

Дуплексы миРНК серии IX_15. Немодифицированные



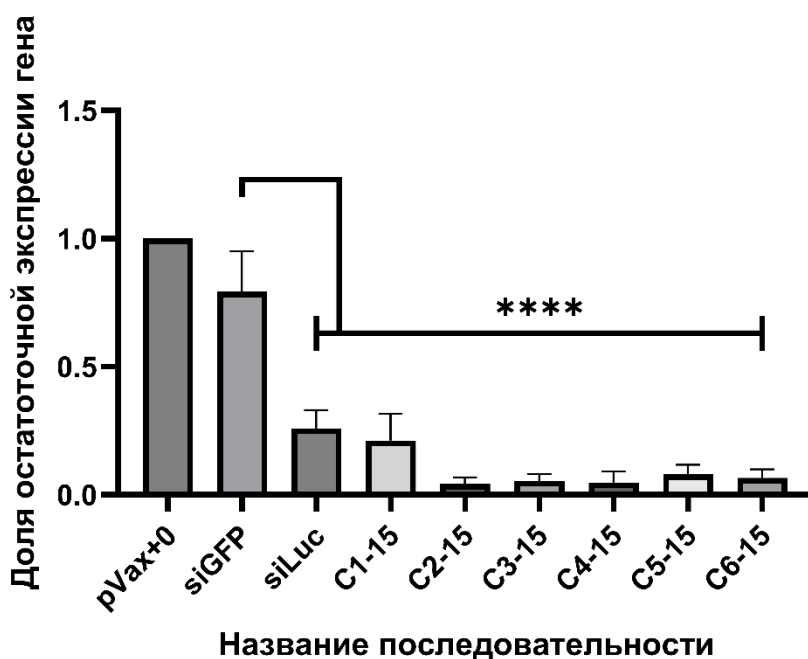
pVax+0 – нулевой контроль нулевой контроль без миРНК, siGFP – миРНК против мРНК гена GFP (зеленый флуоресцентный белок), отрицательный контроль, siLuc – миРНК против мРНК гена Luc (люциферазы), положительный контроль, * – различия статистически значимы (критерий Краскела–Уоллиса, $N = 5$, $p < 0,0001$).

Рисунок 19 – Остаточная экспрессия гена ITGB1 после обработки клеток немодифицированными миРНК серии IX_15, $M \pm SD$

Таблица 13 – Доля остаточной экспрессии гена *ITGB1* после обработки клеток миРНК серии IX_15, нормализация на нулевой контроль, $M \pm SD$

Соединение	Null	siGFP	siLuc	I1_15	I2_15	I3_15	I4_15	I5_15	I6_15
Доля остаточной экспрессии целевого гена	1±0	0,815 ±0,06	0,183 ±0,06	0,073 ±0,03	0,252 ±0,13	0,129 ±0,07	0,149 ±0,07	0,047 ±0,01 5	0,161 ±0,06

Дуплексы миРНК серии CX_15. Немодифицированные



pVax+0 – нулевой контроль нулевой контроль без миРНК, siGFP – миРНК против мРНК гена GFP (зеленый флуоресцентный белок), отрицательный контроль, siLuc – миРНК против мРНК гена Luc (люциферазы), положительный контроль, * – различия статистически значимы (критерий Краскела–Уоллиса, $N = 5$, $p < 0,0001$).

Рисунок 20 – Остаточная экспрессия гена *CD47* после обработки клеток не модифицированными миРНК серии CX_15, $M \pm SD$

Таблица 14 – Доля остаточной экспрессии гена *CD47* после обработки клеток миРНК серии CX_15, нормализация на нулевой контроль, $M \pm SD$

Соединение	Null	siGFP	siLuc	C1_15	C2_15	C3_15	C4_15	C5_15	C6_15
Доля остаточной экспрессии целевого гена	1±0	0,793 ±0,04	0,259 ±0,18	0,212 ±0,07	0,044 ±0,02	0,054 ±0,03	0,048 ±0,02	0,081 ±0,03	0,066 ±0,02

При исследовании дополнительных серий дуплексов IX_15 и CX_15, отобранных без применения метода энергетической сигнатуры, наблюдалось заметное снижение интерферирующей активности. Доля остаточной экспрессии гена *ITGB1* для серии IX_15 варьировала в диапазоне от $0,047 \pm 0,015$ (I5_15) до $0,252 \pm 0,13$ (I2_15), что соответствует подавлению на уровне 74,8–95,3%. Для серии

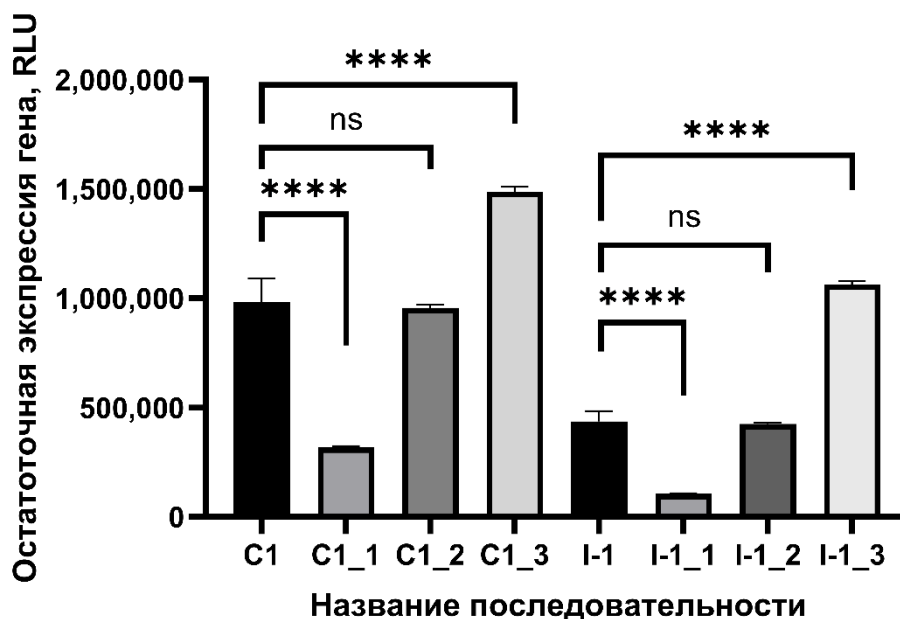
CX_15 доля остаточной экспрессии гена *CD47* составила от $0,044 \pm 0,02$ (C2_15) до $0,212 \pm 0,07$ (C1_15), то есть подавление находилось в диапазоне 78,8–95,6%. Таким образом, дуплексы, отобранные с применением метода энергетической сигнатуры (серии I-X и CX), демонстрировали стабильно более высокую интерферирующую активность по сравнению с молекулами, отобранными без его использования (серии IX_15 и CX_15), что подтверждает предсказательную ценность данного подхода.

На основании совокупности полученных результатов для дальнейшей химической модификации отобраны дуплексы I-1 и C1, проявившие наибольшую интерферирующую активность в своих сериях: доля остаточной экспрессии составила $0,004 \pm 0,001$ и $0,0097 \pm 0,009$ для генов *ITGB1* и *CD47* соответственно.

3.5.2. Исследование модифицированных миРНК *in vitro*

В результате проведения исследования *in vitro* определена интерферирующая способность миРНК, представленных в Таблице 10. Результаты представлены на Рисунке 21 и в Таблице 15.

Дуплексы миРНК серий C1_X и I-1_X. Модифицированные



RLU – относительная световая единица, ns – различия статистически незначимы, * – различия статистически значимы (критерий Краскела–Уоллиса, $N = 5$, $p < 0,0001$).

Рисунок 21 – Остаточная экспрессия генов *CD47* и *ITGB1* после обработки клеток не модифицированными миРНК C1 и I-1, соответственно и C1_X и I-1_X, соответственно, $M \pm SD$

Таблица 15 – Доля остаточной экспрессии гена *CD47* и *ITGB1* после обработки клеток не модифицированными миРНК C1 и I-1, соответственно и C1_X и I-1_X, соответственно, нормализация на отрицательный контроль, $M \pm SD$

Соединение	C1	C1 1	C1 2	C1 3	I-1	I-1_1	I-1_2	I-1_3
Доля остаточной экспрессии целевого гена	0,0097 $\pm$ 0,0006	0,003 $\pm$ 0,0003	0,0098 $\pm$ 0,001	0,015 $\pm$ 0,002	0,004 $\pm$ 0,0003	0,0009 $\pm$ 0,0001	0,0039 $\pm$ 0,005	0,0098 $\pm$ 0,001

Все исследованные модифицированные дуплексы серий C1_X и I-1_X сохранили статистически значимое подавление экспрессии целевых генов *CD47* и *ITGB1* соответственно (критерий Краскела–Уоллиса, $N = 5$, $p < 0,0001$). При этом характер изменения активности относительно немодифицированных родительских

молекул C1 ($0,0097 \pm 0,0006$) и I-1 ($0,004 \pm 0,0003$) определялся примененной схемой модификации.

Дуплексы C1_1 и I-1_1 (Метод 1), реализующие усиление энергетических градиентов в антисмысловой цепи, продемонстрировали повышение интерферирующей активности относительно немодифицированных форм: доля остаточной экспрессии составила $0,003 \pm 0,0003$ и $0,00098 \pm 0,0001$ для генов CD47 и ITGB1 соответственно, что соответствует подавлению экспрессии на уровне 99,7% и 99,9%.

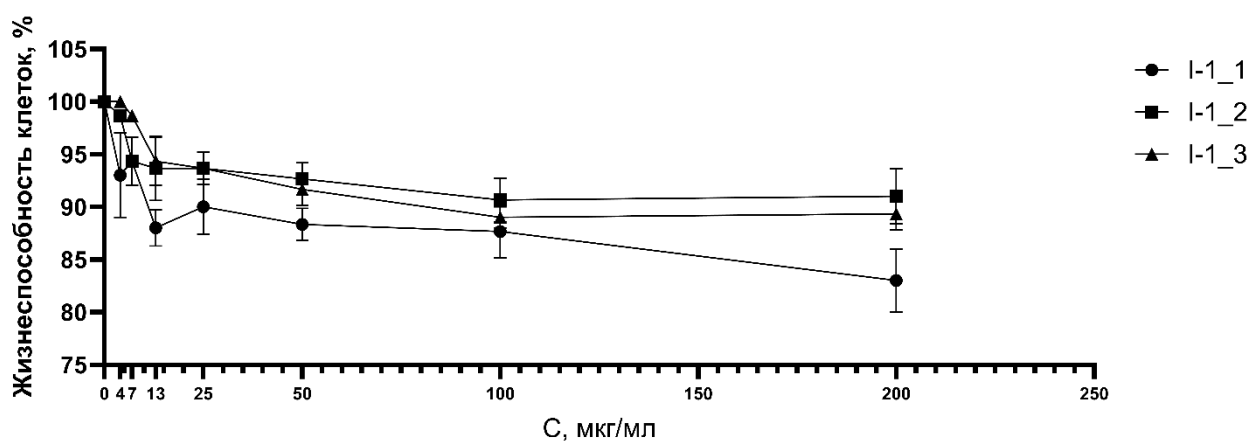
Дуплексы C1_2 и I-1_2 (Метод 2), основанные на сохранении амплитуды существующих градиентов с дополнительным структурированием плато-регионов, не проявили статистически значимых изменений активности: доля остаточной экспрессии составила $0,0098 \pm 0,001$ и $0,0039 \pm 0,005$ для CD47 и ITGB1 соответственно, что практически идентично показателям немодифицированных молекул.

Дуплексы C1_3 и I-1_3 (Метод 3), в которых вводились модификации, направленные на снижение амплитуды энергетических градиентов, демонстрировали ожидаемое снижение интерферирующей активности: доля остаточной экспрессии возросла до $0,015 \pm 0,002$ и $0,0098 \pm 0,001$ для CD47 и ITGB1 соответственно. При этом, несмотря на снижение эффективности подавления, все дуплексы данной серии сохранили специфическую интерферирующую активность, существенно превосходящую уровень отрицательного контроля siGFP.

Таким образом, полученные данные демонстрируют четкую зависимость биологического эффекта от примененной схемы химической модификации, что подтверждает управляемый характер изменений интерферирующей активности в рамках концепции метода энергетической сигнатуры.

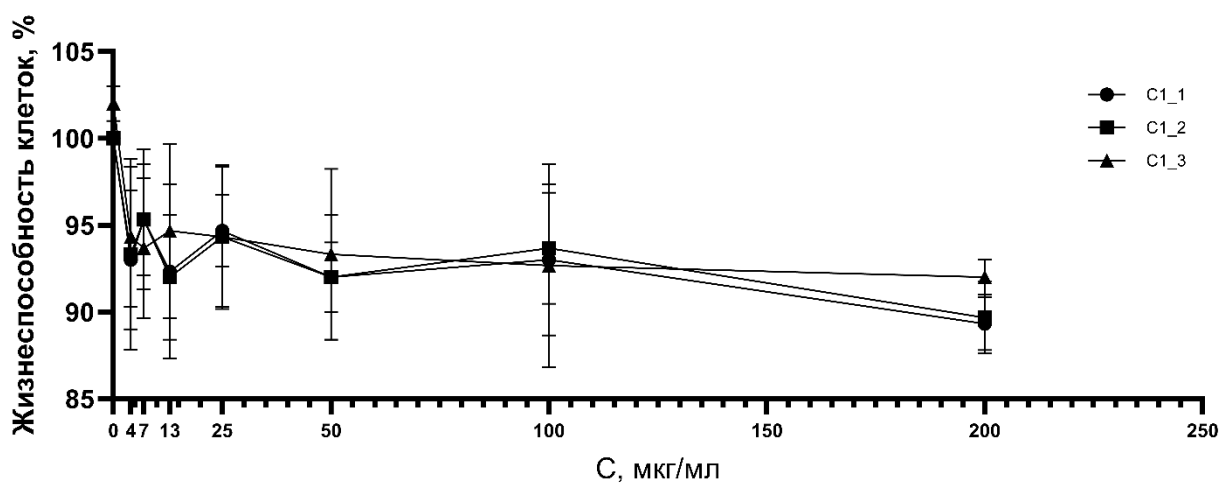
3.5.3. Исследование цитотоксического эффекта

В результате проведения исследований цитотоксического эффекта *in vitro* на культуре клеток НЕК293Т не удалось установить CC_{50} для модифицированных дуплексов C1_X и I-1_X. Результаты представлены на Рисунках 22, 23.



С – концентрация.

Рисунок 22 – Результаты МТТ-теста дуплексов серии I-1_X в культуре клеток НЕК293Т



С – концентрация.

Рисунок 23 – Результаты МТТ-теста дуплексов серии C1_X в культуре клеток НЕК293Т

Во всем исследованном диапазоне концентраций ни для одного из дуплексов серий C1_X и I-1_X не удалось установить значение CC_{50} – концентрации, при которой наблюдается гибель 50% клеток. Выживаемость клеток НЕК293Т при обработке исследованными соединениями оставалась на уровне, сопоставимом с контрольными значениями, что свидетельствует об отсутствии значимого цитотоксического эффекта в рабочем диапазоне терапевтически значимых концентраций.

Полученные данные позволяют исключить неспецифическую цитотоксичность как альтернативное объяснение наблюдаемого подавления экспрессии генов *CD47* и *ITGB1*, зафиксированного в разделе 3.4.2. Таким образом, эффект снижения люциферазной активности, наблюдаемый при обработке клеток дуплексами C1_X и I-1_X, обусловлен исключительно специфическим механизмом РНК-интерференции, а не токсическим воздействием на клеточную культуру. Введение химических модификаций на основе 2'-F- и 2'-ОМе-замещенных производных рибозы не приводит к появлению цитотоксических свойств у исследованных молекул, что согласуется с имеющимися литературными данными о безопасности данных типов модификаций для клеточных моделей *in vitro*.

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ

4.1. *In silico*-дизайн миРНК

4.1.1. *In silico*-дизайн немодифицированных миРНК

Несомненно, готовые, проверенные временем, алгоритмы, представленные в пп. 2.2. обладают значительной предсказательной способностью относительно структур миРНК. Однако их применение приводит к формированию больших массивов данных, требующих валидации *in vitro*. Проведение исследований таких масштабов на этапе разработки является крайне затратным. Это определяет актуальность усовершенствования существующих и разработки новых подходов к отбору кандидатных миРНК на этапе *in silico*. Основываясь на результатах пп. 3.5.1., можно утверждать, что используемые алгоритмы обладают высокой предсказательной мощностью. Все отобранные миРНК продемонстрировали высокую интерферирующую способность. Применение разработанных алгоритмов обеспечивает высокую активность более чем 80% отобранных молекул, что в 5 раз превышает предсказательную способность описанных ранее методов [88]. Более того, на этом этапе немаловажен и вклад метода энергетической сигнатуры. Очевидно, что молекулы, предсказанные с помощью метода энергетической сигнатуры (Таблицы 8), оказывают больший эффект подавления экспрессии, чем молекулы, выбранные без использования этого метода (Таблица 9). Несмотря на то, что на данный момент этот метод все еще представляет собой эвристический алгоритм ранжирования, его применение позволило завершить и обосновать наиболее сложный этап отбора – выбор кандидатных миРНК среди лучших и сузить выборки валидируемых молекул до 6 дуплексов для каждого гена.

В контексте сравнения двух стратегий отбора – с применением метода энергетической сигнатуры и без него – обращает на себя внимание качественное различие в интерферирующей активности полученных молекул. Дуплексы серий I-1–I-6 и C1–C6, отобранные с применением энергетической сигнатуры, демонстрировали более высокую и равномерную степень подавления экспрессии целевых генов по сравнению с дуплексами серий I-1_15–I-6_15 и C1_15–C6_15, сформированными без данного критерия. Это свидетельствует о том, что параметры энергетической асимметрии дуплекса несут в себе значимую предсказательную информацию о функциональной активности миРНК, выходящую за рамки традиционных последовательностных и термодинамических критериев.

Представленные данные согласуются с современными представлениями о механизмах загрузки направляющей цепи в RISC-комплекс. Согласно модели термодинамической асимметрии, разработанной Khvorova et al. и впоследствии детализированной рядом авторов, преимущественная загрузка антисмысловой цепи обусловлена пониженной стабильностью 5'-конца этой цепи относительно 5'-конца смысловой [66]. Предложенный в настоящей работе метод энергетической сигнатуры формализует данный принцип и позволяет в явном виде оценивать распределение термодинамических градиентов вдоль всей длины дуплекса, а не ограничиваться лишь оценкой терминальных нуклеотидов. В этом отношении предлагаемый подход представляет собой логическое развитие, а не замену существующих методов.

Таким образом, примененный алгоритм обладает значительной предсказательной способностью, обеспечивая оптимизацию перехода с этапа *in silico* к этапу *in vitro*, значительно повышая качество отобранных миРНК так, что все кандидаты демонстрируют высокую эффективность в сравнении с результатами применения предыдущих алгоритмов, предоставлявших лишь 2 функциональные молекулы из 10. Принципиально важно, что подобная оптимизация достигается без привлечения сложных вычислительных ресурсов и

может быть реализована в рамках широко доступного программного обеспечения, что определяет практическую воспроизводимость и масштабируемость предложенного подхода.

4.1.2. *In silico*-дизайн модифицированных миРНК

Химическая модификация миРНК – необходимый этап трансляции ранней научной разработки в клиническую практику. Молекулы олигонуклеотидов воспринимаются PRR как DAMP, что приводит к активации неспецифического иммунного ответа. Что важнее, среды организма изобилуют ферментами, катаболизирующими олигонуклеотиды. В основном, эти ферменты определяют субстрат по сахарам в его структуре. Однако модификация 2' положения остатка рибозы F и OMe группами достаточно модифицирует структуру молекулы так, что олигонуклеотид становится устойчивым к влиянию экзонуклеаз.

На этапе дизайна химических модификаций ключевую роль исполняла методика энергетической сигнатуры. При разработке методов модификации было выдвинуто несколько гипотез:

Амплитуда градиента между 10 и 11 нуклеотидами напрямую влияет на способность к интерференции. Чем градиент больше, тем молекула активнее.

Для антисмысловой цепи амплитуда градиентов между пиками и долинами напрямую влияет на способность к интерференции. Чем градиент больше, тем молекула активнее.

Для антисмысловой цепи амплитуда градиента между предпоследним и последним нуклеотидами островка напрямую влияет на способность к интерференции. Внедрение градиента повысит эффективность интерференции.

Для антисмысловой цепи амплитуда градиента между последним нуклеотидом островка и следующим за ним нуклеотидом напрямую влияет на способность к интерференции. Чем градиент больше, тем молекула активнее.

Обратная логика для смысловой цепи пп.2-4 данного списка.

Формирование расходящихся 5' и 3' концов дуплекса обеспечивает большую эффективность интерференции.

Для проверки выдвинутых гипотез разработаны 3 метода модификации олигонуклеотидов, представленных в пп. 2.2.8.

Основываясь на результатах, представленных в пп. 3.5.1., рационально заключить, что реализация *Метода 1* приводила к повышению интерферирующей способности миРНК, в то время как реализация *Метода 2* не приводила к статистически значимым изменениям в активности миРНК, а реализация *Метода 3* приводила к снижению подавляющей способности миРНК. Эти результаты позволяют сделать вывод о состоятельности представленных гипотез. Более того, реализация описанных методов открывает возможности «тонкой» настройки активности миРНК, позволяя как повышать ее эффективность, так и снижать или сохранять неизменной.

Важно отметить, что подобная возможность направленного изменения активности молекулы без модификации ее нуклеотидной последовательности представляет самостоятельный научный и практический интерес. С терапевтической точки зрения это открывает перспективы создания миРНК с заведомо контролируемым уровнем подавления, что особенно актуально в случаях, когда полное подавление экспрессии целевого гена нежелательно или сопряжено с рисками нецелевых эффектов на уровне транскриптома. Таким образом, разработанная система химической модификации на основе принципов энергетической сигнатуры формирует новый уровень управляемости биологической активности олигонуклеотидных терапевтических агентов.

4.2. Химический синтез миРНК

Успешный твердофазный фосфорамидитный синтез является необходимым условием реализации всей исследовательской программы, поскольку качество синтезированных олигонуклеотидов напрямую определяет достоверность последующих биологических экспериментов. В настоящей работе синтез проводился с применением стандартного автоматического синтезатора Polygen (PolyGen GmbH., Германия) с соблюдением строгих условий безводной и безвоздушной среды, что являлось критически важным для предотвращения гидролиза реактивных фосфорамидитных интермедиатов и нежелательного окисления трехвалентного фосфора.

Контроль качества синтезированных олигонуклеотидов осуществлялся методом масс-спектрометрии, позволяющей подтвердить структурную идентичность продуктов и исключить наличие нежелательных примесей. Применение ВЭЖХ-очистки обеспечивало высокую степень гомогенности финальных препаратов, необходимую для корректной интерпретации данных биологической валидации. Немодифицированные и химически модифицированные олигонуклеотиды синтезированы в достаточных количествах для проведения всех запланированных экспериментов *in vitro*.

Особое методическое значение имело использование пропионового ангидрида в качестве кэпирующего агента вместо традиционного уксусного ангидрида, оборот которого ограничен законодательством Российской Федерации как лицензируемого прекурсора. Данное решение обеспечило соблюдение нормативных требований без потери эффективности стадии кэппинга, что подтверждается качеством полученных продуктов. Это технологическое адаптирование может быть рекомендовано для воспроизведения в отечественных лабораториях олигонуклеотидного синтеза.

Успешное удаление защитных групп методом аммонолиза и последующая двухэтапная очистка продуктов подтвердили возможность получения

функционально активных немодифицированных и химически модифицированных миРНК в рамках описанного протокола. Синтез модифицированных вариантов с 2'-F- и 2'-ОМе-замещенными мономерами не потребовал принципиальных изменений процедуры, что свидетельствует о совместимости примененных модификаций со стандартным синтетическим циклом и подтверждает масштабируемость разработанных схем.

4.3. Создание модели экспрессии гена с люциферазным репортером

Применение разработанных в рамках исследования репортерных плазмид, содержащих фрагменты мРНК генов *ITGB1* и *CD47*, обеспечило создание воспроизводимой и управляемой модельной системы для количественной оценки интерферирующей активности исследуемых дуплексов. Используемая модель экспрессии гена с применением люциферазного репортера позволяет получать количественные данные об уровне подавления экспрессии в стандартизированных условиях, исключая интерференцию от эндогенной регуляции транскрипции и элиминируя вариабельность, обусловленную особенностями хромосомной укладки.

Равномерное распределение мест отжига исследуемых миРНК по длине репортерной последовательности обеспечило независимую оценку активности каждого дуплекса и позволило избежать конкурентного взаимодействия молекул при связывании с мРНК-мишенью. Конструкция плазмид верифицирована секвенированием, карты сайтов рестрикции подтверждены; полученные репортерные системы соответствуют требованиям, предъявляемым к инструментам скрининга олигонуклеотидных кандидатов.

Вместе с тем необходимо учитывать ограничения данной модельной системы: результаты, полученные при использовании репортерной конструкции, могут отличаться от таковых при работе с эндогенными мишенями в

специфических клеточных линиях. Именно поэтому последующая валидация наиболее активных дуплексов в клетках гепатоцеллюлярной карциномы с использованием метода qRT-PCR для оценки уровня эндогенной мРНК является методологически обоснованным и необходимым этапом верификации.

4.4. Исследование *in vitro*

4.4.1. Исследование немодифицированных миРНК *in vitro*

Результаты биологической валидации немодифицированных миРНК в люциферазной репортерной системе демонстрируют высокую интерферирующую активность всех 12 отобранных дуплексов против генов *ITGB1* и *CD47*, что подтверждает эффективность примененного *in silico*-алгоритма и, в частности, вклад метода энергетической сигнатуры в качество финального отбора. Уровень подавления экспрессии в группах I-1–I-6 и C1–C6 статистически значимо превышает таковой в группах I-1_15–I-6_15 и C1_15–C6_15, отобранных без применения данного критерия, что прямо подтверждает его предсказательную ценность.

Все исследованные дуплексы продемонстрировали специфичность интерферирующего действия: в контрольных группах siGFP, направленных на гетерологичные мишени, значимого подавления экспрессии репортерного гена выявлено не было, в группах положительного контроля siLuc, направленных на мРНК репортера определено значимое подавление экспрессии мишени. Отсутствие значимой цитотоксичности при использованных концентрациях олигонуклеотидов исключает неспецифическое влияние на жизнеспособность клеток как возможный механизм наблюдаемого снижения люминесценции. Это подчеркивает

биологическую безопасность синтезированных молекул в данном диапазоне доз и делает их пригодными для дальнейших исследований.

На основании совокупности полученных данных для дальнейшей химической модификации были отобраны дуплексы I-1 (против *ITGB1*) и C1 (против *CD47*), продемонстрировавшие наиболее высокую и воспроизводимую интерферирующую активность среди кандидатов своих серий. Данный выбор обоснован не только количественными показателями подавления экспрессии, но и характером распределения активности в повторных экспериментах, что свидетельствует о стабильности функциональных свойств отобранных молекул.

Полученные результаты вносят вклад в понимание взаимосвязи между структурными и термодинамическими характеристиками дуплексов миРНК и их биологической активностью. Несмотря на то, что оба гена-мишени характеризуются различной длиной кодирующей последовательности и структурой мРНК, общая закономерность, а именно превосходство дуплексов, отобранных с применением энергетической сигнатуры, сохраняется для обоих генов. Это указывает на универсальный характер предложенного подхода и его применимость к широкому спектру терапевтических мишеней.

4.4.2. Цитотоксический эффект миРНК

В ходе проведения МТТ-теста была оценена цитотоксическая активность миРНК серий C1_X и I-1_X в отношении исследуемой клеточной культуры. Анализ полученных данных показал, что во всем изученном диапазоне концентраций значение полутоксической концентрации (CC_{50}) достигнуто не было ни для одного из исследованных соединений. Данный факт является основанием для отнесения миРНК обеих серий к классу малотоксичных соединений, не оказывающих выраженного деструктивного воздействия на клеточную культуру при использованных условиях эксперимента.

Результаты для дуплексов серии C1_X представляются полностью закономерными и соответствуют ожидаемой биологической картине. По своей природе данные соединения направлены на подавление экспрессии гена *CD47*, который кодирует мембранный белок, участвующий в реализации ускользания опухолевых клеток посредством взаимодействия с рецептором SIRP α на поверхности макрофагов. В условиях монокультуры, то есть в отсутствие макрофагов и иных клеточных компонентов иммунной системы, нокдаун данного гена не должен оказывать прямого влияния на процессы клеточной пролиферации, метаболической активности и жизнеспособности. Таким образом, отсутствие выраженного цитотоксического эффекта для данной серии дуплексов полностью согласуется с предполагаемым механизмом их действия.

Иная картина наблюдается при анализе данных для дуплексов серии I-1_X. В данном случае наблюдается корреляция между эффективностью РНК-интерференции и уровнем цитотоксичности, выходящая за пределы экспериментальной погрешности. Иными словами, наиболее активные в отношении подавления экспрессии целевого гена дуплексы демонстрируют наибольший цитотоксический эффект. Данная закономерность может быть объяснена специфическим биологическим действием исследуемых миРНК на клеточные функции. В частности, подавление активности целевого гена, по всей видимости, негативно сказывается на процессах клеточной адгезии: ухудшение адгезивных свойств клеток ведет к их откреплению от субстрата, что в конечном счете запускает механизмы апоптоис-зависимой клеточной гибели. Таким образом, наблюдаемый цитотоксический эффект для серии I-1_X, вероятно, имеет преимущественно специфическую природу и обусловлен непосредственным биологическим действием миРНК на молекулярные мишени, регулирующие адгезию и выживаемость клеток.

4.5. Оптимизация метода модификации миРНК

Сравнительный анализ интерферирующей активности немодифицированных дуплексов I-1 и C1 и их химически модифицированных вариантов I-1_1–I-1_3 и C1_1–C1_3 позволил экспериментально верифицировать гипотезы о роли энергетических градиентов в регуляции функциональной активности миРНК. Полученные данные демонстрируют четкую зависимость биологического эффекта от примененной схемы модификации, что свидетельствует об управляемом характере наблюдаемых изменений.

Дуплексы I-1_1 и C1_1 (Метод 1), в которых внедрение 2'-F- и 2'-ОМе-заместителей было направлено на усиление энергетических градиентов в антисмысловой цепи и их ослабление в смысловой, демонстрировали повышение интерферирующей активности по сравнению с родительскими немодифицированными молекулами. Это наблюдение согласуется с термодинамической моделью загрузки RISC и подтверждает, что целенаправленное усиление асимметрии дуплекса способствует преимущественному захвату антисмысловой цепи комплексом Argonaute. Таким образом, первая из выдвинутых гипотез получает экспериментальное подтверждение.

Дуплексы I-1_2 и C1_2 (Метод 2), реализующие стратегию сохранения амплитуды существующих градиентов с одновременным введением дополнительной структурированности в плато-регионы, не демонстрировали статистически значимых изменений интерферирующей активности относительно немодифицированных форм. Данный результат можно интерпретировать как свидетельство того, что структурные элементы данного типа не вносят определяющего вклада в эффективность загрузки RISC при условии сохранения ключевых термодинамических градиентов. Вместе с тем возможно, что противоположно направленные модификации смысловой и антисмысловой цепей взаимно компенсировали изменения, создавая нейтральный итоговый эффект.

Дуплексы I-1_3 (Метод 3), в которых вводились изменения, направленные на снижение амплитуды энергетических градиентов и формирование протяженных плато в антисмысловой цепи, демонстрировали снижение интерферирующей активности. Этот результат подтверждает обратную зависимость между степенью термодинамической однородности антисмысловой цепи и эффективностью RISC-загрузки. Примечательно, что даже при сниженной активности данные дуплексы сохраняли специфичность интерференции, что исключает полную утрату функциональности молекулы.

В совокупности результаты изучения модифицированных миРНК убедительно демонстрируют, что метод энергетической сигнатуры является не только инструментом предсказательного отбора, но и основой для рационального дизайна химических модификаций с заданным функциональным эффектом. Это принципиально отличает предлагаемый подход от эмпирических стратегий модификации, используемых в большинстве существующих исследований. Предложенная концепция «тонкой настройки» интерферирующей активности через управление энергетическим профилем дуплекса открывает перспективы создания терапевтических миРНК с прогнозируемой активностью, что имеет практическое значение для разработки олигонуклеотидных лекарственных средств нового поколения.

Следует особо подчеркнуть, что функционально активные немодифицированные и химически модифицированные миРНК против генов *ITGB1* и *CD47*, полученные в настоящем исследовании, представляют самостоятельную научную ценность как кандидатные молекулы для изучения роли данных генов в иммуноопосредованной прогрессии гепатоцеллюлярной карциномы. *ITGB1* (интегрин $\beta 1$) и *CD47* («не ешь меня» сигнальный белок) являются значимыми медиаторами взаимодействия опухолевых клеток с компонентами иммунной системы, и их фармакологическое подавление может способствовать усилению противоопухолевого иммунного ответа. Разработанные

молекулы могут служить инструментами для дальнейших доклинических исследований в данном направлении.

4.6. Применение метода энергетической сигнатуры к другим молекулярным мишеням

В рамках данного исследования продемонстрирована эффективность метода энергетической сигнатуры применительно к миРНК против мРНК генов *ITGB1* и *CD47*. Несмотря на убедительность полученных результатов, валидация предсказательного инструмента на двух мишенях, принадлежащих к одной функциональной группе иммунорегуляторных генов, оставляет возможность для критических суждений об универсальности метода. Действительно, мишень-специфические факторы, характерные именно для онкоиммунологического контекста, могут вносить вклад в наблюдаемую эффективность отбора.

Для оценки межнозологической применимости метода были проанализированы результаты его использования применительно к генам принципиально иного терапевтического контекста – *PCSK9* и *LPA*, ключевым регуляторам метаболизма липопротеинов низкой плотности, мишеням при гиперхолестеринемии и сердечно-сосудистых заболеваниях. Указанные гены отличаются от *ITGB1* и *CD47* как по биологической функции, так и по механизму терапевтического воздействия, что делает их применение валидной моделью для проверки универсальности разработанного подхода.

Результаты применения алгоритма опубликованы в рецензируемом международном журнале [88]. В работе показано, что комплексный алгоритм дизайна и ранжирования, включающий метод энергетической сигнатуры, позволил сократить исходную библиотеку из 815 кандидатных дуплексов против мРНК *PCSK9* до 10 последовательностей для экспериментальной валидации. По результатам тестирования *in vitro* семь из десяти отобранных дуплексов подавляли

экспрессию гена более чем на 40%, из них четыре – более чем на 50% (в том числе дуплекс siPCSK9_2, обеспечивший максимальное подавление), что соответствует эффективности коммерческого препарата инклисиран, использованного в качестве положительного контроля. Доля активных молекул в финальной выборке составила 70%, что сопоставимо с результатами, полученными для *ITGB1* и *CD47* в настоящей работе, и свидетельствует о воспроизводимости предсказательной точности метода вне зависимости от функциональной принадлежности мишени. На следующем этапе той же работы была реализована химическая модификация наиболее активных дуплексов (siPCSK9_2 и siPCSK9_6) с применением 2'-F- и 2'-ОМе-замещенных мономеров по схемам, основанным на принципах метода энергетической сигнатуры. Модификации, усиливающие энергетический градиент между позициями 10 и 11 антисмысловой цепи и снижающие плотность энергии на ее 5'-конце, позволили повысить интерферирующую активность более чем в пять раз по сравнению с немодифицированным аналогом (остаточная экспрессия siPCSK9_2_12: $0,063 \pm 0,034$ против $0,271 \pm 0,032$ для немодифицированного siPCSK9_2). Этот результат воспроизводит закономерность, установленную в настоящей диссертации для мРНК серии Метод 1, и подтверждает, что влияние энергетического профиля дуплекса на эффективность RISC-загрузки является общим механизмом, не зависящим от конкретной мишени.

Дополнительным свидетельством универсальности разработанного подхода служит успешная конъюгация оптимизированного дуплекса siPCSK9_2_12 с молекулой-носителем GalNAc (N-ацетилгалактозамин) – наиболее клинически продвинутой платформой адресной доставки мРНК в гепатоциты. Тестирование конъюгата siPCSK9_2_12-С на клеточной линии гепатоцеллюлярной карциномы человека Huh7 методом qRT-ПЦР показало прогрессивное подавление экспрессии PCSK9: через 72 часа уровень мРНК составил 11,1% относительно контроля, тогда как для конъюгата на основе последовательности инклисирана – 24,6% ($p < 0,0001$). Принципиально важно, что эффективность РНК-интерференции при включении GalNAc-носителя не снизилась относительно показателей, полученных в

люциферазной модели, что свидетельствует о совместимости метода энергетической сигнатуры с конъюгированными формами миРНК и об отсутствии стерических помех со стороны лиганда-носителя при загрузке антисмысловой цепи в комплекс RISC.

Совокупность приведенных данных позволяет рассматривать метод энергетической сигнатуры как универсальный инструмент рационального дизайна миРНК, применимый к широкому кругу терапевтических мишеней вне зависимости от их функциональной принадлежности, а также совместимый с современными платформами химической модификации и адресной доставки олигонуклеотидных агентов.

4.7. Метод энергетической сигнатуры как платформа для рационального дизайна иммунорегуляторных миРНК

Таким образом, полученные в настоящем исследовании результаты выходят за рамки решения конкретной задачи подбора миРНК против генов *CD47* и *ITGB1*. Разработанный метод энергетической сигнатуры в сочетании с комплексным алгоритмом *in silico*-дизайна представляет собой воспроизводимую методологическую платформу, потенциально применимую к широкому кругу молекулярных мишеней иммунологической значимости. Рассмотрение данной платформы в иммунологическом контексте позволяет оценить ее место среди существующих инструментов управления иммунным ответом и обозначить перспективы ее развития.

Иммунная система представляет собой многоуровневую регуляторную сеть, функционирование которой определяется балансом активирующих и ингибирующих сигналов на молекулярном уровне. Нарушение этого баланса лежит в основе широкого спектра патологических состояний – от иммунодефицитов и аутоиммунных заболеваний до онкологической патологии, при которой опухолевые клетки активно эксплуатируют физиологические механизмы

иммунной толерантности в собственных целях. Терапевтическое воздействие на молекулярные узлы иммунной регуляции требует инструментов, способных обеспечивать дозированную модуляцию активности конкретных генов – с учетом того, что большинство иммунорегуляторных молекул выполняют физиологические функции в нормальных тканях и их максимальный нокдаун сопряжен с риском нежелательных явлений.

Именно эту потребность адресует разработанная платформа. Экспериментально обоснованная в настоящей работе концепция «тонкой настройки» интерферирующей активности посредством направленного изменения энергетического профиля дуплекса открывает принципиальную возможность создания миРНК с заданным уровнем подавления экспрессии. Применительно к иммунорегуляторным мишеням это означает переход от стратегии «все или ничего» к стратегии управляемой иммуномодуляции – подходу, который в наибольшей мере соответствует сложности и пластичности иммунных процессов.

Спектр потенциальных иммунологических приложений разработанной платформы охватывает несколько направлений. В области онкоиммунологии наиболее очевидными мишенями являются молекулы иммунных контрольных точек (PD-L1, CTLA-4, TIM-3, LAG-3), а также гены, обеспечивающие формирование иммуносупрессивного микроокружения опухоли: компоненты аденозиновой оси (CD39, CD73), регуляторы поляризации макрофагов и хемокинового градиента. Нокдаун данных генов в опухолевых клетках или клетках стромы потенциально способен восстанавливать эффекторные функции Т-лимфоцитов и натуральных киллеров, однако для большинства из них системное подавление экспрессии неприемлемо – именно тот сценарий, при котором возможность дозированного воздействия приобретает практическое значение.

В области аутоиммунной патологии платформа открывает возможности для направленного снижения экспрессии провоспалительных цитокинов и их рецепторов (TNF, IL-6, IL-17A, рецепторы JAK-STAT-пути) в клетках-мишенях без широкого устранения их физиологической сигнальной активности.

Принципиально важно, что подобный подход принципиально отличается от малых молекул-ингибиторов и блокирующих антител тем, что воздействие реализуется на уровне транскрипта и поддается точной количественной настройке через параметры химической модификации дуплекса.

В области трансплантационной иммунологии и иммунотолерантности перспективным направлением является модуляция экспрессии генов, участвующих в активации аллореактивных Т-клеток и отторжении трансплантата. Возможность создания миРНК с частичным, а не полным подавлением ключевых регуляторов иммунного ответа позволила бы формировать состояние управляемой гипореактивности без риска генерализованной иммуносупрессии.

Следует подчеркнуть, что реализация перечисленных направлений становится возможной именно благодаря сочетанию трех элементов разработанной платформы: высокоселективного *in silico* отбора, обеспечивающего специфичность воздействия на выбранный ген; метода энергетической сигнатуры, позволяющего прогнозировать функциональную активность еще до синтеза молекулы; и позиционно-специфической химической модификации, задающей конечный уровень биологической активности. Совместное использование этих инструментов формирует полный цикл разработки иммунорегуляторной миРНК – от идентификации мишени до получения молекулы с заданными свойствами – без избыточной зависимости от ресурсозатратного эмпирического скрининга.

Немаловажным с иммунологической точки зрения является и то, что химическая модификация по принципу энергетической сигнатуры, наряду с управлением активностью РНК-интерференции, обеспечивает снижение иммуногенности самих молекул миРНК. Введение 2'-F- и 2'-ОМе-замещенных мономеров препятствует распознаванию двуцепочечной РНК сенсорами врожденного иммунитета – рецепторами TLR3, TLR7, TLR8, RIG-I и MDA5, – что уменьшает риск нежелательной активации интерферонового ответа. Таким образом, химическая модификация, рационально спроектированная на основе метода энергетической сигнатуры, одновременно решает две задачи: управляет

уровнем специфического нокдауна и снижает неспецифическую иммуностимуляцию – требование, критически важное для терапевтического применения олигонуклеотидных агентов в иммунологической практике.

В совокупности, изложенное позволяет рассматривать разработанный методологический комплекс не как узкоспециализированный инструмент для работы с отдельными мишенями, а как универсальную иммунологическую платформу для прецизионного управления экспрессией генов, вовлеченных в регуляцию иммунного ответа. Дальнейшее развитие платформы в направлении расширения библиотек иммунорегуляторных мишеней, интеграции с системами адресной доставки и валидации на доклинических моделях иммунопатологии способно существенно усилить ее прикладной потенциал и сформировать основу для создания нового класса олигонуклеотидных иммунотерапевтических агентов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Итоги

В ходе исследования достигнута поставленная цель и решены сформулированные задачи. Разработан воспроизводимый комплекс подходов для создания функционально активных миРНК с управляемой биологической активностью, направленных на подавление иммунорегуляторных генов *CD47* и *ITGB1*.

В области *in silico*-дизайна разработан алгоритм ранжирования миРНК, объединяющий последовательностные, термодинамические и структурные критерии. Исходные библиотеки из 742 и 1061 дуплекса для *CD47* и *ITGB1* были сокращены до 31 и 30 кандидатов, а применение метода энергетической сигнатуры позволило отобрать по 6 наиболее перспективных молекул для каждого гена. Метод повышает эффективность отбора и может быть реализован с использованием доступного программного обеспечения.

Олигонуклеотиды получены твердофазным фосфорамидитным методом с подтверждением структуры методом MALDI-ToF. Разработан протокол кэпирования с пропионовым ангидридом, соответствующий нормативным требованиям. Синтез 2'-F- и 2'-OMe-модифицированных вариантов не потребовал существенного изменения стандартного синтетического цикла.

Все 12 отобранных немодифицированных дуплексов продемонстрировали высокую интерферирующую активность в люциферазной репортерной системе. Применение метода энергетической сигнатуры обеспечило более эффективное подавление экспрессии *CD47* и *ITGB1* по сравнению с контрольным отбором. Значимого цитотоксического эффекта при рабочих концентрациях не выявлено.

Разработаны три подхода к позиционно-специфической модификации миРНК с использованием 2'-F- и 2'-OMe-производных рибозы. Метод 1 усиливал нокдаун *CD47* и *ITGB1*, Метод 2 сохранял исходный уровень активности, а Метод

3 обеспечивал частичное специфическое подавление. Полученные результаты подтверждают возможность управлять степенью экспрессии иммунорегуляторных генов посредством выбора схемы химической модификации без изменения нуклеотидной последовательности миРНК.

Рекомендации

При *in silico*-дизайне миРНК рекомендуется использовать метод энергетической сигнатуры как дополнительный критерий финального отбора кандидатных молекул, позволяющий сократить объем экспериментальной валидации и повысить эффективность отбора активных дуплексов.

Для управления степенью подавления экспрессии целевого гена целесообразно применять позиционно-специфическую химическую модификацию: Метод 1 – для усиления нокдауна, Метод 2 – для сохранения исходной активности, Метод 3 – для частичного подавления экспрессии, в том числе при работе с физиологически значимыми мишенями, такими как CD47.

При первичной экспериментальной оценке кандидатных миРНК рекомендуется использовать люциферазную репортерную систему в сочетании с соответствующими контрольными дуплексами и параллельной оценкой цитотоксичности.

Разработанные подходы целесообразно применять последовательно: *in silico*-дизайн и ранжирование, отбор по энергетической сигнатуре, экспериментальная валидация и последующая химическая модификация наиболее активных миРНК.

Перспективы дальнейшей разработки темы

Проведенное исследование формирует прочную методологическую основу для нескольких взаимосвязанных направлений дальнейшей работы.

Доклиническая валидация *in vivo*. Наиболее приоритетным направлением является проверка биологической активности отобранных кандидатных молекул – дуплексов I-1 (против *ITGB1*) и C1 (против *CD47*) – на доклинических моделях гепатоцеллюлярной карциномы. Такие исследования позволят оценить фармакодинамику и фармакокинетику разработанных миРНК в условиях целостного организма, изучить их влияние на взаимодействие опухолевых клеток с компонентами противоопухолевого иммунного ответа, а также определить терапевтическое окно и возможные токсические эффекты при системном введении.

Расширение области применения метода энергетической сигнатуры. Разработанный метод был апробирован на миРНК, однако его принципы применимы и к другим классам терапевтических олигонуклеотидов – антисмысловым олигонуклеотидам (ACO), малым активирующим РНК (saRNA), а также к молекулам, используемым в системах редактирования генома на основе CRISPR. Валидация метода на этих платформах позволит существенно расширить область его практического применения и создать унифицированный инструментарий рационального дизайна олигонуклеотидных агентов.

Изучение дополнительных типов химических модификаций. В рамках разработанной концепции управления энергетическим профилем дуплекса перспективно исследование модификаций, не рассмотренных в настоящей работе: фосфоротиоатного остова (PS), усиливающего устойчивость к нуклеазам; закрытых нуклеиновых кислот (LNA), существенно повышающих термодинамическую стабильность дуплекса; а также комбинированных схем модификации, сочетающих несколько типов замещений в одной молекуле. Систематическое изучение этих подходов в контексте метода энергетической сигнатуры позволит расширить инструментарий тонкой настройки биологической активности и сформировать более полную структурно-функциональную карту пространства модифицированных миРНК.

Оценка нецелевых эффектов. Для продвижения кандидатных молекул к стадии доклинических исследований необходимо проведение транскриптомного

анализа (RNA-seq) с целью всестороннего изучения нецелевых эффектов отобранных миРНК на глобальном уровне экспрессии генов. Это позволит выявить потенциальные мишени нецелевого сайленсинга, обусловленные частичной комплементарностью, оценить активацию интерферонового ответа и других иммуностимуляторных механизмов, а также подтвердить безопасность молекул перед переходом к исследованиям *in vivo*.

Адресная доставка и конъюгация. Применение GalNAc-конъюгатов, открывает перспективу направленной доставки разработанных миРНК в гепатоциты через асиалогликопротеиновые рецепторы, что особенно актуально с учетом гепатоцеллюлярного происхождения целевых опухолей. Дальнейшие исследования в данном направлении должны включать сравнительную оценку эффективности различных конъюгатов и систем доставки – липидных наночастиц, полимерных носителей, антительных конъюгатов – применительно к разработанным терапевтическим агентам.

ВЫВОДЫ

1. Разработан оригинальный метод энергетической сигнатуры дуплексов миРНК, обоснована его научная значимость как существенного критерия прогнозирования функциональной активности, основанного на анализе локального распределения термодинамической асимметрии вдоль дуплекса. Данный подход уточняет представления о роли энергетического профиля миРНК в выборе направляющей цепи, загрузке в RISC-комплекс и последующей интерферирующей активности молекулы.
2. Разработан комплексный алгоритм *in silico*-дизайна и отбора миРНК, включающий оригинальный метод энергетической сигнатуры дуплексов миРНК и анализ характеристик нуклеотидной последовательности, термодинамических параметров и структурных особенностей целевых участков мРНК, что позволило сформировать библиотеки кандидатных

миРНК против мРНК генов *CD47* и *ITGB1*, участвующих в механизмах уклонения опухолевых клеток от иммунного надзора.

3. Показано, что с применением метода энергетической сигнатуры удалось повысить эффективность прогнозирования функционально активных миРНК. При использовании классического алгоритма для мишеней *CD47* и *ITGB1* было отобрано по 6 миРНК, из которых по 4 молекулы снижали экспрессию соответствующего гена более чем на 75%. Отбор с учетом энергетической сигнатуры позволил для каждой мишени получить по 6 миРНК, каждая из которых подавляла экспрессию соответствующей мРНК более чем на 99,3%.
4. Разработаны три метода позиционно-специфической химической модификации миРНК с использованием 2'-F- и 2'-O-метильных производных рибозы, направленные на изменение локального энергетического профиля дуплекса без нарушения комплементарности к целевому участку мРНК. Показано, что усиление энергетических градиентов в антисмысловой цепи повышает эффективность нокдауна, сохранение амплитуды градиентов стабилизирует интерферирующую активность, а снижение амплитуды градиентов обеспечивает частичное подавление экспрессии при сохранении специфичности.
5. Получена химически модифицированные варианты отобранных миРНК против мРНК генов *CD47* и *ITGB1*, обладающие высокой ингибирующей активностью и устойчивостью к действию нуклеаз при отсутствии цитотоксического эффекта, что обосновывает их изучение в моделях восстановления противоопухолевого иммунного ответа и доклиническую оценку их потенциала в качестве кандидатных средств противоопухолевой терапии.
6. Разработанная методологическая платформа, объединяющая *in silico*-дизайн, метод энергетической сигнатуры, направленную химическую модификацию, синтез и функциональную валидацию миРНК, представляет собой

эффективный инструментарий для создания молекул с прогнозируемой и управляемой биологической активностью.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

2'-F	— 2'-фтор — модификация 2'-положения рибозы с введением атома фтора;
2'-OMe	— 2'-О-метил — модификация 2'-положения рибозы с введением метоксигруппы;
AGO2	— Argonaute 2 — белок с эндонуклеазной активностью, каталитический компонент RISC;
ANOVA	— analysis of variance — дисперсионный анализ;
ASGPR	— asialoglycoprotein receptor — асиалогликопротеиновый рецептор, высокоспецифичный рецептор гепатоцитов;
BLAST	— basic local alignment search tool — инструмент локального выравнивания последовательностей;
CD47	— cluster of differentiation 47 — поверхностный белок, сигнал “don't eat me”, ингибитор фагоцитоза;
CMV	— cytomegalovirus — цитомегаловирус; промотор CMV используется для управления экспрессией репортерных генов;
DAMP	— damage-associated molecular patterns — молекулярные паттерны, ассоциированные с повреждением;
DMEM	— Dulbecco's modified eagle medium — питательная среда для культивирования клеток;
ERK	— extracellular signal-regulated kinase — киназа, регулируемая внеклеточными сигналами;
FGFR	— fibroblast growth factor receptor — рецептор фактора роста фибробластов;
GalNAc	— N-acetylgalactosamine — N-ацетилгалактозамин; лиганд ASGPR для адресной доставки миРНК в гепатоциты;
GFP	— green fluorescent protein — зеленый флуоресцентный белок; используется как репортерный маркер;

HEK293 T	— human embryonic kidney 293T – линия клеток эмбриональной почки человека, используемая для валидации миРНК;
Hep3B	— клеточная линия гепатоцеллюлярной карциномы человека;
HepG2	— клеточная линия гепатоцеллюлярной карциномы человека;
HEPES	— 4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid — буферное соединение, используемое в клеточных экспериментах;
Huh7	— клеточная линия гепатоцеллюлярной карциномы человека;
ITGB1	— integrin beta 1 — ген, кодирующий $\beta 1$ -субъединицу интегринов; участвует в адгезии, миграции и инвазии опухолевых клеток;
LNP	— lipid nanoparticles — липидные наночастицы, система доставки нуклеиновых кислот;
MALDI-ToF	— matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight — масс-спектрометрия с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией;
MDA5	— melanoma differentiation-associated protein 5 — цитозольный сенсор двуцепочечной РНК врожденного иммунитета;
MEK	— mitogen-activated protein kinase kinase — киназа митоген-активируемой протеинкиназы;
MTT	— 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide — колориметрический тест для оценки жизнеспособности клеток;
NCBI	— National center for biotechnology information — Национальный центр биотехнологической информации (США);
OD	— оптическая плотность. Мера непрозрачности или степени поглощения и рассеяния света веществом, а также характеристика среды, определяющая скорость распространения в ней света;
ORF	— open reading frame — открытая рамка считывания;
PBS	— phosphate-buffered saline — фосфатно-солевой буфер;
PDGFR	— platelet-derived growth factor receptor — рецептор тромбоцитарного фактора роста;

PRR	— Pattern Recognition Receptors — паттерн-распознающие рецепторы врожденного иммунитета;
qRT-PCR	— quantitative reverse transcription PCR — количественная ПЦР с обратной транскрипцией в реальном времени;
RAF	— rapidly accelerated fibrosarcoma — сериновая/треониновая протеинкиназа, компонент сигнального каскада RAF/MEK/ERK;
RIG-I	— retinoic acid-inducible gene I — цитозольный сенсор вирусной РНК врожденного иммунитета;
RISC	— RNA-induced silencing complex — РНК-индуцированный комплекс сайленсинга; белковый комплекс, опосредующий РНК-интерференцию;
siRNA / миРНК	— small interfering RNA — малая интерферирующая РНК; синтетический двуцепочечный олигонуклеотид длиной ~21 нт., запускающий РНК-интерференцию;
SYBR Green	— флуоресцентный краситель для детекции двуцепочечной ДНК в реакциях ПЦР в реальном времени;
TLR3	— Toll-like receptors — толл-подобные рецепторы, сенсоры нуклеиновых кислот врожденного иммунитета;
VEGFR	— vascular endothelial growth factor receptor — рецептор сосудистого эндотелиального фактора роста;
ВЭЖХ	— высокоэффективная жидкостная хроматография;
ГЦК	— гепатоцеллюлярная карцинома;
ДНК	— дезоксирибонуклеиновая кислота;
мРНК	— матричная (информационная) рибонуклеиновая кислота;
ПЦР	— полимеразная цепная реакция;
РНК	— рибонуклеиновая кислота;
РНКи	— РНК-интерференция — механизм посттранскрипционного подавления экспрессии генов;

ΔG — изменение свободной энергии Гиббса (термодинамический параметр стабильности гибридизации).

СПИСОК ТЕРМИНОВ

РНК-интерференция (РНКи): Эволюционно консервативный механизм посттранскрипционного подавления экспрессии генов, основанный на деградации или ингибировании трансляции мРНК при участии малых некодирующих РНК и белкового комплекса RISC.

малая интерферирующая РНК (миРНК, siRNA): Синтетический двуцепочечный олигонуклеотид длиной ~21 нт с двухнуклеотидными 3'-перевесами, запускающий РНК-интерференцию путем загрузки антисмысловой цепи в комплекс RISC.

RISC (RNA-induced silencing complex): РНК-индуцированный комплекс сайленсинга – белковый мультимерный комплекс, включающий белок Argonaute 2 (AGO2), который обеспечивает распознавание и расщепление целевой мРНК, комплементарной загруженной направляющей цепи миРНК.

антисмысловая (направляющая) цепь: Функциональная цепь дуплекса миРНК, комплементарная целевой мРНК, которая сохраняется в составе RISC и направляет комплекс к мишени. Выбирается преимущественно из-за пониженной термодинамической стабильности 5'-конца.

смысловая (пассажирская) цепь: Цепь дуплекса миРНК, последовательность которой совпадает с целевой мРНК. В процессе формирования активного RISC удаляется и деградирует.

термодинамическая асимметрия дуплекса: Разница в стабильности (ΔG) 5'-концов антисмысловой и смысловой цепей дуплекса. Является одним из ключевых предикторов загрузки антисмысловой цепи в RISC: предпочтительно сохраняется та цепь, 5'-конец которой менее стабилен.

метод энергетической сигнатуры: Авторский метод оценки и отбора миРНК, основанный на анализе локального распределения свободных энергий водородных связей (ΔG) вдоль всей длины дуплекса и характера градиентов между соседними нуклеотидными позициями. Позволяет выявлять молекулы с наиболее

благоприятным энергетическим профилем для загрузки антисмысловой цепи в RISC.

энергетический профиль (энергетическая сигнатура) дуплекса: Графическое или числовое представление распределения локальных значений свободной энергии ΔG для каждой динуклеотидной ступени вдоль цепей дуплекса миРНК, рассчитываемых по модели ближайших соседей.

"тонкая настройка" активности миРНК: Целенаправленное изменение интерферирующей активности молекулы миРНК без модификации ее нуклеотидной последовательности путем введения химических замен (2'-F, 2'-OMe), изменяющих локальный термодинамический профиль дуплекса.

нецелевые эффекты (off-target effects): нежелательное подавление экспрессии генов, не являющихся целевыми. Реализуются через частичную комплементарность seed-региона (нуклеотиды 2–8 от 5'-конца антисмысловой цепи) к 3'-НТО нецелевых мРНК, а также через активацию PRR врожденного иммунитета.

seed-регион: Нуклеотиды 2–8 от 5'-конца антисмысловой цепи миРНК, определяющие специфичность связывания с мРНК-мишенью. Является основным детерминантом как целевого связывания, так и нецелевых эффектов микроРНК-подобного типа.

2'-F-модификация (2'-фтор): Замена гидроксильной группы в 2'-положении рибозы на атом фтора. Повышает устойчивость олигонуклеотида к нуклеазной деградации, сохраняет РНК-подобную конформацию сахара и совместимость с загрузкой в RISC. Повышает локальную стабильность модифицированных позиций дуплекса.

2'-OMe-модификация (2'-О-метил): Замена гидроксильной группы в 2'-положении рибозы на метоксигруппу (-OCH₃). Повышает нуклеазную устойчивость, снижает иммуногенность (активацию TLR7/8), снижает сродство к белкам Argonaute при введении в антисмысловую цепь. Снижает локальную стабильность соответствующих позиций дуплекса.

твердофазный фосфорамидитный синтез: Стандартный метод химического синтеза олигонуклеотидов, основанный на последовательном наращивании цепи в направлении 3'→5' с применением защищенных фосфорамидитных мономеров. Включает 4 реакции за цикл: детритилирование, каплинг, окисление/тионилирование и кэппинг.

гепатоцеллюлярная карцинома (ГЦК): Первичная злокачественная опухоль печени, развивающаяся из гепатоцитов, как правило, на фоне хронических заболеваний печени (вирусный гепатит, цирроз). Характеризуется высокой гетерогенностью, резистентностью к терапии и выраженными иммунными нарушениями.

ITGB1 (Integrin Beta 1): Ген, кодирующий $\beta 1$ -субъединицу интегринов – молекул клеточной адгезии, опосредующих взаимодействие клетки с компонентами внеклеточного матрикса и участвующих в регуляции миграции, инвазии опухолевых клеток и их взаимодействии с иммунной системой.

CD47 ("Don't eat me" сигнал): Поверхностный белок (Cluster of Differentiation 47), экспрессируемый опухолевыми клетками, который взаимодействует с рецептором SIRP α макрофагов и подавляет их фагоцитарную активность, обеспечивая уклонение опухоли от врожденного иммунного надзора.

GalNAc-конъюгат: Конъюгат олигонуклеотида с N-ацетилгалактозамином (GalNAc) – лигандом асиалогликопротеинового рецептора (ASGPR) гепатоцитов. Обеспечивает специфическое рецептор-опосредованное поглощение мРНК клетками печени без применения трансфекционных реагентов.

люциферазная репортерная система: Экспериментальная модельная система для количественной оценки интерферирующей активности мРНК, основанная на измерении люминесценции репортерного фермента (люциферазы), экспрессируемого из плазмиды, содержащей в составе 3'-НТО фрагмент мРНК-мишени.

иммуносупрессивное микроокружение опухоли: Совокупность клеточных (регуляторные Т-клетки, MDSC, M2-макрофаги) и молекулярных (цитокины,

ингибирующие лиганды) компонентов, создающих условия, подавляющие противоопухолевый иммунный ответ и способствующие прогрессии опухоли.

in silico-дизайн миРНК: Вычислительный этап разработки миРНК, включающий: генерацию всех возможных 19-нт последовательностей против мРНК-мишени, их оценку по критериям нуклеотидного состава, термодинамики, вторичной структуры мРНК и нецелевых эффектов, а также ранжирование для выбора кандидатных молекул.

модель ближайших соседей (nearest-neighbor model): Термодинамическая модель расчета стабильности нуклеиновых кислот, учитывающая вклад каждой динуклеотидной ступени (пары соседних оснований) в суммарную свободную энергию ΔG дуплекса. Является основой расчета энергетических профилей при использовании метода энергетической сигнатуры.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гистология, цитология и эмбриология : учебник / Ю. И. Афанасьев, С. Л. Кузнецов, Н. А. Юрина [и др.] ; под ред. Ю. И. Афанасьева, С. Л. Кузнецова, Н. А. Юриной. – 6-е изд., перераб. и доп. – Москва : Медицина, 2004. – 768 с. – 5000 экз. – ISBN 5-225-04858-7. – Текст : непосредственный.
2. Кишкун, А. А. Руководство по лабораторным методам диагностики / А. А. Кишкун. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2007. – 779 с. – 3000 экз. – ISBN 5-9704-0316-4. – Текст : непосредственный.
3. Основы молекулярной биологии клетки / Б. Альбертс, Д. Брей, К. Хопкин [и др.] ; пер. с англ. под ред. С. М. Глаголева, Д. В. Ребрикова. – Москва : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2015. – 768 с. – 1000 экз. – ISBN 978-5-9963-0542-1. – Текст : непосредственный.
4. Патютко, Ю. И. Рак печени : современные подходы к лечению / Ю. И. Патютко, И. В. Сагайдак, А. Г. Котельников – Текст : электронный // Практическая онкология. – 2004. – Т. 5, № 4. – С. 248–258. – URL : <https://cyberleninka.ru/article/n/sovremennye-podhody-k-lecheniyu-bolnyh-kolorektalnym-rakom-s-metastazami-v-pechen-obzor-literatury> (дата обращения: 25.05.2026).
5. Разработка и валидация алгоритмов поиска, оценки и модификации миРНК, применимых для терапии патологий иммунной системы, на примере гена АРОВ / П. В. Чернов, Н. А. Дмитриев, А. Е. Гусев [и др.]. – Текст: электронный // Иммунология. – 2025. – Т. 46. – № 4. – С. 483-497. – URL:https://www.immunologiya-journal.ru/ru/jarticles_immunology/504.html?SSr=07E909041FE3B (дата обращения: 25.05.2026).
6. Биохимия : учебник для студентов медицинских вузов / Л. В. Авдеева [и др.] ; под ред. Е. С. Северина. – 5-е изд. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 759 с. – 3000 экз. – ISBN 978-5-9704-1195-7. – Текст : непосредственный.

7. Хаитов, Р. М. Иммунология : учебник / Р. М. Хаитов. – 4-е изд., перераб. и доп. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2023. – 520 с. – 3000 экз. – ISBN 978-5-9704-7752-6. – Текст : непосредственный.
8. Чердынцева, Н. В. Иммунологические аспекты канцерогенеза / Н. В. Чердынцева, Е. Л. Чойнзонов, И. В. Митрофанова – Текст : электронный // Сибирский онкологический журнал. – 2010. – № 4. – С. 62–70 – URL : <https://rusimmun.ru/jour/article/view/127> (дата обращения: 25.05.2026).
9. Ярилин, А. А. Иммунология : учебник / А. А. Ярилин. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 752 с. – 3000 экз. – ISBN 978-5-9704-1319-7. – Текст : непосредственный.
10. 3' UTR seed matches, but not overall identity, are associated with RNAi off-targets / A. Birmingham, E. M. Anderson, A. Reynolds [et al.]. – Text : electronic // Nature Methods. – 2006. – Vol. 3. – № 3. – P. 199-204. – URL: <https://www.nature.com/articles/nmeth854> (date accessed: 25.05.2026).
11. A Highly Durable RNAi Therapeutic Inhibitor of PCSK9 / K. Fitzgerald, S. White, A. Borodovsky [et al.]. – Text : electronic // New England Journal of Medicine. – 2017. – Vol. 376. – № 1. – P. 41-51. – URL: <http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa1609243> (date accessed: 25.05.2026).
12. A phase 2 randomized study of magrolimab combination therapy in adult patients with unresectable locally advanced or metastatic triple-negative breast cancer (mTNBC): ELEVATE-TNBC. / N. Rainey, R. Joshi, J. Chiu [et al.]. – Text : electronic // Journal of Clinical Oncology. – 2023. – Vol. 41. – № 16_suppl. – P. TPS1130-TPS1130. – URL: https://cdn.clinicaltrials.gov/large-docs/85/NCT04958785/Prot_000.pdf (date accessed: 25.05.2026).
13. A putative RNA-interference-based immune system in prokaryotes: computational analysis of the predicted enzymatic machinery, functional analogies with eukaryotic RNAi, and hypothetical mechanisms of action / K. S. Makarova, N. V. Grishin, S. A. Shabalina [et al.]. – Text : electronic // Biology Direct. – 2006. – Vol. 1. –

№ 1. – P. 7. – URL: <https://biologydirect.biomedcentral.com/articles/10.1186/1745-6150-1-7> (date accessed: 25.05.2026).

14. ABT-199, a potent and selective BCL-2 inhibitor, achieves antitumor activity while sparing platelets / A. J. Souers, J. D. Levenson, E. R. Boghaert [et al.]. – Text : electronic // *Nature Medicine*. – 2013. – Vol. 19. – № 2. – P. 202-208. – URL: <https://www.nature.com/articles/nm.3048> (date accessed: 25.05.2026).

15. Adjuvant sorafenib for hepatocellular carcinoma after resection or ablation (STORM): a phase 3, randomised, double-blind, placebo-controlled trial / J. Bruix, T. Takayama, V. Mazzaferro [et al.]. – Text : electronic // *The Lancet Oncology*. – 2015. – Vol. 16. – № 13. – P. 1344-1354. – URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1470204515001989> (date accessed: 25.05.2026).

16. An accurate and interpretable model for siRNA efficacy prediction / J.-P. Vert, N. Foveau, C. Lajaunie, Y. Vandenbrouck. – Text : electronic // *BMC Bioinformatics*. – 2006. – Vol. 7. – № 1. – P. 520. – URL: <https://bmcbioinformatics.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2105-7-520> (date accessed: 25.05.2026).

17. Anti-CD47 Antibody Synergizes with Rituximab to Promote Phagocytosis and Eradicate Non-Hodgkin Lymphoma / M. P. Chao, A. A. Alizadeh, C. Tang [et al.]. – Text : electronic // *Cell*. – 2010. – Vol. 142. – № 5. – P. 699-713. – URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0092867410008925> (date accessed: 25.05.2026).

18. Antibody drug conjugates against the receptor for advanced glycation end products (RAGE), a novel therapeutic target in endometrial cancer / G. D. Healey, B. Pan-Castillo, J. Garcia-Parra [et al.]. – Text : electronic // *Journal for ImmunoTherapy of Cancer*. – 2019. – Vol. 7. – № 1. – P. 280. – URL: <https://doi.org/10.1186/s40425-019-0765-z> (date accessed: 25.05.2026).

19. Application of Antisense Oligonucleotides as an Alternative Approach for Gene Expression Control and Functional Studies / A. Szukowska, M. Żuk, J. Sztompke

[et al.]. – Text : electronic // International Journal of Molecular Sciences. – 2025. – Vol. 26. – № 21. – P. 10524. – URL: <https://www.mdpi.com/1422-0067/26/21/10524> (date accessed: 25.05.2026).

20. Approach to Design of Potent RNA Interference-Based Preparations Against Hepatocellular Carcinoma-Related Genes / P. V. Chernov, V. N. Ivanov, N. A. Dmitriev [et al.]. – Text : electronic // International Journal of Molecular Sciences. – 2026. – Vol. 27. – № 2. – P. 603. – URL: <https://www.mdpi.com/1422-0067/27/2/603> (date accessed: 25.05.2026).

21. Argonaute2 Is the Catalytic Engine of Mammalian RNAi / J. Liu, M. A. Carmell, F. V. Rivas [et al.]. – Text : electronic // Science. – 2004. – Vol. 305. – № 5689. – P. 1437-1441. – URL: <https://www.science.org/doi/10.1126/science.1102513> (date accessed: 25.05.2026).

22. Ashwell, G. Carbohydrate-Specific Receptors of the Liver / G. Ashwell, J. Harford. – Text : electronic // Annual Review of Biochemistry. – 1982. – Vol. 51. – № 1. – P. 531-554. – URL: <https://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev.bi.51.070182.002531> (date accessed: 25.05.2026).

23. Asymmetry in the Assembly of the RNAi Enzyme Complex / D. S. Schwarz, G. Hutvagner, T. Du [et al.]. – Text : electronic // Cell. – 2003. – Vol. 115. – № 2. – P. 199-208. – URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0092867403007591> (date accessed: 25.05.2026).

24. Atezolizumab plus Bevacizumab in Unresectable Hepatocellular Carcinoma / R. S. Finn, S. Qin, M. Ikeda [et al.]. – Text : electronic // New England Journal of Medicine. – 2020. – Vol. 382. – № 20. – P. 1894-1905. – URL: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1915745> (date accessed: 25.05.2026).

25. Bartel, D. P. MicroRNAs / D. P. Bartel. – Text : electronic // Cell. – 2004. – Vol. 116. – № 2. – P. 281-297. – URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0092867404000455> (date accessed: 25.05.2026).

26. Basic local alignment search tool / S. F. Altschul, W. Gish, W. Miller [et al.]. – Text : electronic // Journal of Molecular Biology. – 1990. – Vol. 215. – № 3. – P. 403-

410. – URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022283605803602> (date accessed: 25.05.2026).

27. Beatty, G. L. Immune Escape Mechanisms as a Guide for Cancer Immunotherapy / G. L. Beatty, W. L. Gladney. – Text : electronic // *Clinical Cancer Research*. – 2015. – Vol. 21. – № 4. – P. 687-692. – URL: <https://aacrjournals.org/clincancerres/article/21/4/687/176103/Immune-Escape-Mechanisms-as-a-Guide-for-Cancer> (date accessed: 25.05.2026).

28. Bernhart, S. H. Local RNA base pairing probabilities in large sequences / S. H. Bernhart, I. L. Hofacker, P. F. Stadler. – Text : electronic // *Bioinformatics*. – 2006. – Vol. 22. – № 5. – P. 614-615. – URL: <https://academic.oup.com/bioinformatics/article/22/5/614/205542> (date accessed: 25.05.2026).

29. BLOCK-iTTM RNAi Designer [Электронный ресурс] // дата обращения: 25.03.2026). – URL: <https://rnaidesigner.thermofisher.com/> (date accessed: 25.05.2026). – Text : electronic.

30. Bobbin, M. L. RNA Interference (RNAi)-Based Therapeutics: Delivering on the Promise? / M. L. Bobbin, J. J. Rossi. – Text : electronic // *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*. – 2016. – Vol. 56. – № 1. – P. 103-122. – URL: <https://www.annualreviews.org/content/journals/10.1146/annurev-pharmtox-010715-103633> (date accessed: 25.05.2026).

31. Cancer immunoediting: from immunosurveillance to tumor escape / G. P. Dunn, A. T. Bruce, H. Ikeda [et al.]. – Text : electronic // *Nature Immunology*. – 2002. – Vol. 3. – № 11. – P. 991-998. – URL: <https://www.nature.com/articles/ni1102-991> (date accessed: 25.05.2026).

32. CD47 blockade triggers T cell-mediated destruction of immunogenic tumors / X. Liu, Y. Pu, K. Cron [et al.]. – Text : electronic // *Nature Medicine*. – 2015. – Vol. 21. – № 10. – P. 1209-1215. – URL: <https://doi.org/10.1038/nm.3931> (date accessed: 25.05.2026).

33. Chemical modification of siRNAs to improve serum stability without loss of efficacy / S. Choung, Y. J. Kim, S. Kim [et al.]. – Text : electronic // *Biochemical and*

Biophysical Research Communications. – 2006. – Vol. 342. – № 3. – P. 919-927. – URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0006291X06003366> (date accessed: 25.05.2026).

34. Chen, D. S. Oncology Meets Immunology: The Cancer-Immunity Cycle / D. S. Chen, I. Mellman. – Text : electronic // Immunity. – 2013. – Vol. 39. – № 1. – P. 1-10. – URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1074761313002963> (date accessed: 25.05.2026).

35. Chroscinski, D. Registered report: The CD47-signal regulated protein alpha (SIRPa) interaction is a therapeutic target for human solid tumors / D. Chroscinski, N. Maherali, E. Griner. – Text : electronic // eLife. – 2015. – Vol. 4. – № 4. – P. 6662–6667. – URL: <https://elifesciences.org/articles/04586> (date accessed: 25.05.2026).

36. Corey, D. R. RNA learns from antisense / D. R. Corey. – Text : electronic // Nature Chemical Biology. – 2007. – Vol. 3. – № 1. – P. 8-11. – URL: <https://www.nature.com/doifinder/10.1038/nchembio0107-8> (date accessed: 25.05.2026).

37. Deleavey, G. F. Designing Chemically Modified Oligonucleotides for Targeted Gene Silencing / G. F. Deleavey, M. J. Damha. – Text : electronic // Chemistry & Biology. – 2012. – Vol. 19. – № 8. – P. 937-954. – URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1074552112002645> (date accessed: 25.05.2026).

38. Deryugina, E. I. Matrix metalloproteinases and tumor metastasis / E. I. Deryugina, J. P. Quigley. – Text : electronic // Cancer and Metastasis Reviews. – 2006. – Vol. 25. – № 1. – P. 9-34. – URL: <https://doi.org/10.1007/s10555-006-7886-9> (date accessed: 25.05.2026).

39. Desgrosellier, J. S. Integrins in cancer: biological implications and therapeutic opportunities / J. S. Desgrosellier, D. A. Cheresh. – Text : electronic // Nature Reviews Cancer. – 2010. – Vol. 10. – № 1. – P. 9-22. – URL: <https://www.nature.com/articles/nrc2748> (date accessed: 25.05.2026).

40. Design of a genome-wide siRNA library using an artificial neural network / D. Huesken, J. Lange, C. Mickanin [et al.]. – Text : electronic // *Nature Biotechnology*. – 2005. – Vol. 23. – № 8. – P. 995-1001. – URL: <https://www.nature.com/articles/nbt1118> (date accessed: 25.05.2026).

41. Ding, Y. Sfold web server for statistical folding and rational design of nucleic acids / Y. Ding, C. Y. Chan, C. E. Lawrence. – Text : electronic // *Nucleic Acids Research*. – 2004. – Vol. 32. – № Web Server. – P. W135-W141. – URL: <https://academic.oup.com/nar/article-lookup/doi/10.1093/nar/gkh449> (date accessed: 25.05.2026).

42. Donne, R. The liver cancer immune microenvironment: Therapeutic implications for hepatocellular carcinoma / R. Donne, A. Lujambio. – Text : electronic // *Hepatology*. – 2023. – Vol. 77. – № 5. – P. 1773-1796. – URL: <https://journals.lww.com/10.1002/hep.32740> (date accessed: 25.05.2026).

43. Dorsett, Y. siRNAs: applications in functional genomics and potential as therapeutics / Y. Dorsett, T. Tuschl. – Text : electronic // *Nature Reviews Drug Discovery*. – 2004. – Vol. 3. – № 4. – P. 318-329. – URL: <https://www.nature.com/articles/nrd1345> (date accessed: 25.05.2026).

44. Duplexes of 21-nucleotide RNAs mediate RNA interference in cultured mammalian cells / S. M. Elbashir, J. Harborth, W. Lendeckel [et al.]. – Text : electronic // *Nature*. – 2001. – Vol. 411. – № 6836. – P. 494-498. – URL: <https://www.nature.com/articles/35078107> (date accessed: 25.05.2026).

45. Edwards, J. T. Hepatocellular carcinoma / J. T. Edwards, G. A. Macdonald. – Text : electronic // *Current Opinion in Gastroenterology*. – 2000. – Vol. 16. – № 3. – P. 275-281. – URL: <http://journals.lww.com/00001574-200005000-00011> (date accessed: 25.05.2026).

46. Efficient Reduction of Target RNAs by Small Interfering RNA and RNase H-dependent Antisense Agents / T. A. Vickers, S. Koo, C. F. Bennett [et al.]. – Text : electronic // *Journal of Biological Chemistry*. – 2003. – Vol. 278. – № 9. – P. 7108-7118.

– URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021925819326419> (date accessed: 25.05.2026).

47. Elbashir, S. M. RNA interference is mediated by 21- and 22-nucleotide RNAs / S. M. Elbashir, W. Lendeckel, T. Tuschl. – Text : electronic // *Genes & Development*. – 2001. – Vol. 15. – № 2. – P. 188-200. – URL: <http://genesdev.cshlp.org/lookup/doi/10.1101/gad.862301> (date accessed: 25.05.2026).

48. European Association for the Study of the Liver. European Association for the Study of the Liver. EASL Clinical Practice Guidelines: management of cholestatic liver diseases. / European Association for the Study of the Liver. – Text : electronic // *Journal of Hepatology*. – 2009. – Vol. 51. – № 2. – P. 237-67. – URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19501929> (date accessed: 25.05.2026).

49. Fulda, S. Targeting IAP proteins for therapeutic intervention in cancer. Vol. 11 / S. Fulda, D. Vucic. – 2012. – URL: <https://doi.org/10.1038/nrd3627> (date accessed: 25.05.2026). – Text : electronic.

50. GlenPak User Guide / Glen Research [Электронный ресурс] / дата обращения: 25.03.2026). – URL: https://www.glenresearch.com/media/productattach/import/tbn/GlenPak_UserGuide.pdf (date accessed: 25.05.2026). – Text : electronic.

51. Glycoengineered anti-CD39 promotes anticancer responses by depleting suppressive cells and inhibiting angiogenesis in tumor models / H. Zhang, L. Feng, P. de Andrade Mello [et al.]. – Text : electronic // *Journal of Clinical Investigation*. – 2022. – Vol. 132. – № 13. – P. 157431. – URL: <https://www.jci.org/articles/view/157431> (date accessed: 25.05.2026).

52. Grivennikov, S. I. Immunity, Inflammation, and Cancer / S. I. Grivennikov, F. R. Greten, M. Karin. – Text : electronic // *Cell*. – 2010. – Vol. 140. – № 6. – P. 883-899. – URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0092867410000607> (date accessed: 25.05.2026).

53. Hamidi, H. Every step of the way: integrins in cancer progression and metastasis / H. Hamidi, J. Ivaska. – Text : electronic // *Nature Reviews Cancer*. – 2018. –

Vol. 18. – № 9. – P. 533-548. – URL: <https://www.nature.com/articles/s41568-018-0038-z> (date accessed: 25.05.2026).

54. Hanahan, D. Hallmarks of Cancer: The Next Generation / D. Hanahan, R. A. Weinberg. – Text : electronic // Cell. – 2011. – Vol. 144. – № 5. – P. 646-674. – URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0092867411001279> (date accessed: 25.05.2026).

55. Hepatocellular carcinoma / J. M. Llovet, R. K. Kelley, A. Villanueva [et al.]. – Text : electronic // Nature Reviews Disease Primers. – 2021. – Vol. 7. – № 1. – P. 6. – URL: <https://www.nature.com/articles/s41572-020-00240-3> (date accessed: 25.05.2026).

56. HIF-1 α promoted vasculogenic mimicry formation in hepatocellular carcinoma through LOXL2 up-regulation in hypoxic tumor microenvironment / M. Wang, X. Zhao, D. Zhu [et al.]. – Text : electronic // Journal of Experimental & Clinical Cancer Research. – 2017. – Vol. 36. – № 1. – P. 60. – URL: <http://jeccr.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13046-017-0533-1> (date accessed: 25.05.2026).

57. Human Argonaute2 Mediates RNA Cleavage Targeted by miRNAs and siRNAs / G. Meister, M. Landthaler, A. Patkaniowska [et al.]. – Text : electronic // Molecular Cell. – 2004. – Vol. 15. – № 2. – P. 185-197. – URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1097276504004150> (date accessed: 25.05.2026).

58. Identification of immunological subtypes of hepatocellular carcinoma with expression profiling of immune-modulating genes / D. Cao, M.-K. Chen, Q.-F. Zhang [et al.]. – Text : electronic // Aging. – 2020. – Vol. 12. – № 12. – P. 12187-12205. – URL: <https://doi.org/10.18632/aging.103395> (date accessed: 25.05.2026).

59. Inhibition of PCSK9 enhances the antitumor effect of PD-1 inhibitor in colorectal cancer by promoting the infiltration of CD8⁺ T cells and the exclusion of Treg cells / R. Wang, H. Liu, P. He [et al.]. – Text : electronic // Frontiers in Immunology. – 2022. – Vol. 13. – P. 947756. – URL: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2022.947756/full> (date accessed: 25.05.2026).

60. Inhibition of PCSK9 potentiates immune checkpoint therapy for cancer / X. Liu, X. Bao, M. Hu [et al.]. – Text : electronic // *Nature*. – 2020. – Vol. 588. – № 7839. – P. 693-698. – URL: <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2911-7> (date accessed: 25.05.2026).

61. Inhibition of stearyl-CoA desaturase 1 (SCD1) enhances the antitumor T cell response through regulating β -catenin signaling in cancer cells and ER stress in T cells and synergizes with anti-PD-1 antibody / Y. Katoh, T. Yaguchi, A. Kubo [et al.]. – Text : electronic // *Journal for ImmunoTherapy of Cancer*. – 2022. – Vol. 10. – № 7. – P. e004616. – URL: <https://jitc.bmj.com/lookup/doi/10.1136/jitc-2022-004616> (date accessed: 25.05.2026).

62. ITGB1 Drives Hepatocellular Carcinoma Progression by Modulating Cell Cycle Process Through PXN/YWHAZ/AKT Pathways / J. Xie, T. Guo, Z. Zhong [et al.]. – Text : electronic // *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. – 2021. – Vol. 9. – № 711149. – URL: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcell.2021.711149/full> (date accessed: 25.05.2026).

63. Jackson, A. L. Recognizing and avoiding siRNA off-target effects for target identification and therapeutic application / A. L. Jackson, P. S. Linsley. – Text : electronic // *Nature Reviews Drug Discovery*. – 2010. – Vol. 9. – № 1. – P. 57-67. – URL: <https://www.nature.com/articles/nrd3010> (date accessed: 25.05.2026).

64. Kang, C. Lumasiran: A Review in Primary Hyperoxaluria Type 1 / C. Kang. – Text : electronic // *Drugs*. – 2024. – Vol. 84. – № 2. – P. 219-226. – URL: <https://link.springer.com/10.1007/s40265-023-01987-1> (date accessed: 25.05.2026).

65. Khvorova, A. Functional siRNAs and miRNAs Exhibit Strand Bias / A. Khvorova, A. Reynolds, S. D. Jayasena. – Text : electronic // *Cell*. – 2003. – Vol. 115. – № 2. – P. 209-216. – URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0092867403008018> (date accessed: 25.05.2026).

66. Khvorova, A. The chemical evolution of oligonucleotide therapies of clinical utility / A. Khvorova, J. K. Watts. – Text : electronic // *Nature Biotechnology*. – 2017. –

Vol. 35. – № 3. – P. 238-248. – URL: <https://www.nature.com/articles/nbt.3765> (date accessed: 25.05.2026).

67. Landscape of small nucleic acid therapeutics: moving from the bench to the clinic as next-generation medicines / M. Liu, Y. Wang, Y. Zhang [et al.]. – Text : electronic // *Signal Transduction and Targeted Therapy*. – 2025. – Vol. 10. – № 1. – P. 73. – URL: <https://www.nature.com/articles/s41392-024-02112-8> (date accessed: 25.05.2026).

68. Lenvatinib versus sorafenib in first-line treatment of patients with unresectable hepatocellular carcinoma: a randomised phase 3 non-inferiority trial / M. Kudo, R. S. Finn, S. Qin [et al.]. – Text : electronic // *The Lancet*. – 2018. – Vol. 391. – № 10126. – P. 1163-1173. – URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673618302071> (date accessed: 25.05.2026).

69. Lewis, B. P. Conserved Seed Pairing, Often Flanked by Adenosines, Indicates that Thousands of Human Genes are MicroRNA Targets / B. P. Lewis, C. B. Burge, D. P. Bartel. – Text : electronic // *Cell*. – 2005. – Vol. 120. – № 1. – P. 15-20. – URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0092867404012607> (date accessed: 25.05.2026).

70. Localized CD47 blockade enhances immunotherapy for murine melanoma / J. R. Ingram, O. S. Blomberg, J. T. Sockolosky [et al.]. – Text : electronic // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2017. – Vol. 114. – № 38. – P. 10184-10189. – URL: <https://pnas.org/doi/full/10.1073/pnas.1710776114> (date accessed: 25.05.2026).

71. Macrophages induce CD47 upregulation via IL-6 and correlate with poor survival in hepatocellular carcinoma patients / J. Chen, D.-X. Zheng, X.-J. Yu [et al.]. – Text : electronic // *OncoImmunology*. – 2019. – Vol. 8. – № 11. – P. 1652540. – URL: <https://doi.org/10.1080/2162402X.2019.1652540> (date accessed: 25.05.2026).

72. Meister, G. Mechanisms of gene silencing by double-stranded RNA / G. Meister, T. Tuschl. – Text : electronic // *Nature*. – 2004. – Vol. 431. – № 7006. – P. 343-349. – URL: <https://www.nature.com/articles/nature02873> (date accessed: 25.05.2026).

73. Mo, X. A Bioinformatic Investigation into the Role of ITGB1 in Cancer Prognosis and Therapeutic Resistance / X. Mo. – Text : electronic // bioRxiv. – 2025. – P. 2025.04.06.647487. – URL: <https://doi.org/10.1101/2025.04.06.647487> (date accessed: 25.05.2026).

74. Molecular therapies and precision medicine for hepatocellular carcinoma / J. M. Llovet, R. Montal, D. Sia, R. S. Finn. – Text : electronic // Nature Reviews Clinical Oncology. – 2018. – Vol. 15. – № 10. – P. 599-616. – URL: <https://www.nature.com/articles/s41571-018-0073-4> (date accessed: 25.05.2026).

75. Morrissey, M. A. CD47 Ligation Repositions the Inhibitory Receptor SIRPA to Suppress Integrin Activation and Phagocytosis / M. A. Morrissey, N. Kern, R. D. Vale. – Text : electronic // Immunity. – 2020. – Vol. 53. – № 2. – P. 290-302.e6. – URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1074761320303150> (date accessed: 25.05.2026).

76. Multiple Roles of LOXL2 in the Progression of Hepatocellular Carcinoma and Its Potential for Therapeutic Targeting / J. Radić, B. Kožik, I. Nikolić [et al.]. – Text : electronic // International Journal of Molecular Sciences. – 2023. – Vol. 24. – № 14. – P. 11745. – URL: <https://www.mdpi.com/1422-0067/24/14/11745> (date accessed: 25.05.2026).

77. Multivalent N -Acetylgalactosamine-Conjugated siRNA Localizes in Hepatocytes and Elicits Robust RNAi-Mediated Gene Silencing / J. K. Nair, J. L. S. Willoughby, A. Chan [et al.]. – Text : electronic // Journal of the American Chemical Society. – 2014. – Vol. 136. – № 49. – P. 16958-16961. – URL: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ja505986a> (date accessed: 25.05.2026).

78. Nivolumab in patients with advanced hepatocellular carcinoma (CheckMate 040): an open-label, non-comparative, phase 1/2 dose escalation and expansion trial / A. B. El-Khoueiry, B. Sangro, T. Yau [et al.]. – Text : electronic // The Lancet. – 2017. – Vol. 389. – № 10088. – P. 2492-2502. – URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673617310462> (date accessed: 25.05.2026).

79. Oligo Calculator [Электронный ресурс] // дата обращения: 25.03.2026).
– URL: <https://www.biosyn.com/Oligo-Calculator.aspx> (date accessed: 25.05.2026). – Text : electronic.
80. Peng, Y. The role of MicroRNAs in human cancer / Y. Peng, C. M. Croce.
– Text : electronic // Signal Transduction and Targeted Therapy. – 2016. – Vol. 1. – № 1.
– P. 15004. – URL: <https://www.nature.com/articles/sigtrans20154> (date accessed: 25.05.2026).
81. Pharmacokinetics of therapies approved for spinal muscular atrophy: A narrative review of current evidence / E. K. Sel, E. M. M. Gkrinia, R. Roncato [et al.]. – Text : electronic // Journal of International Medical Research. – 2025. – Vol. 53. – № 11.
– P. . – URL: <https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/03000605251397777> (date accessed: 25.05.2026).
82. Pliatsika, V. “Off-Spotter”: very fast and exhaustive enumeration of genomic lookalikes for designing CRISPR/Cas guide RNAs / V. Pliatsika, I. Rigoutsos.
– Text : electronic // Biology Direct. – 2015. – Vol. 10. – № 1. – P. 4. – URL: <http://www.biologydirect.com/content/10/1/4> (date accessed: 25.05.2026).
83. Position-specific chemical modification of siRNAs reduces “off-target” transcript silencing / A. L. Jackson, J. Burchard, D. Leake [et al.]. – Text : electronic // RNA. – 2006. – Vol. 12. – № 7. – P. 1197-1205. – URL: <http://rnajournal.cshlp.org/lookup/doi/10.1261/rna.30706> (date accessed: 25.05.2026).
84. Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans* / A. Fire, S. Xu, M. K. Montgomery [et al.]. – Text : electronic // Nature. – 1998. – Vol. 391. – № 6669. – P. 806-811. – URL: <https://www.nature.com/articles/35888> (date accessed: 25.05.2026).
85. Quail, D. F. Microenvironmental regulation of tumor progression and metastasis / D. F. Quail, J. A. Joyce. – Text : electronic // Nature Medicine. – 2013. – Vol. 19. – № 11. – P. 1423-1437. – URL: <https://www.nature.com/articles/nm.3394> (date accessed: 25.05.2026).

86. Rational design of cationic lipids for siRNA delivery / S. C. Semple, A. Akinc, J. Chen [et al.]. – Text : electronic // *Nature Biotechnology*. – 2010. – Vol. 28. – № 2. – P. 172-176. – URL: <https://www.nature.com/articles/nbt.1602> (date accessed: 25.05.2026).
87. Rational siRNA design for RNA interference / A. Reynolds, D. Leake, Q. Boese [et al.]. – Text : electronic // *Nature Biotechnology*. – 2004. – Vol. 22. – № 3. – P. 326-330. – URL: <https://www.nature.com/articles/nbt936> (date accessed: 25.05.2026).
88. Refined Design and Liquid-Phase Assembly of GalNAc-siRNA Conjugates: Comparative Efficiency Validation in PCSK9 Targeting / N. A. Dmitriev, P. V Chernov, I. S. Gongadze [et al.]. – Text : electronic // *Molecules*. – 2026. – Vol. 31. – № 3. – P. 476. – URL: <https://www.mdpi.com/1420-3049/31/3/476> (date accessed: 25.05.2026).
89. Regorafenib for patients with hepatocellular carcinoma who progressed on sorafenib treatment (RESORCE): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial / J. Bruix, S. Qin, P. Merle [et al.]. – Text : electronic // *The Lancet*. – 2017. – Vol. 389. – № 10064. – P. 56-66. – URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673616324539> (date accessed: 25.05.2026).
90. Review immune response of targeting CD39 in cancer / Y. Liu, Z. Li, X. Zhao [et al.]. – Text : electronic // *Biomarker research*. – Vol. 11. – № 1. – P. 63. – URL: <https://doi.org/10.1186/s40364-023-00500-w> (date accessed: 25.05.2026).
91. RISC Assembly Defects in the Drosophila RNAi Mutant armitage / Y. Tomari, T. Du, B. Haley [et al.]. – Text : electronic // *Cell*. – 2004. – Vol. 116. – № 6. – P. 831-841. – URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0092867404002181> (date accessed: 25.05.2026).
92. Rodrigues, M. An Overview of Recent Advances and Clinical Applications of Exon Skipping and Splice Modulation for Muscular Dystrophy and Various Genetic Diseases / M. Rodrigues, Y. Echigoya, T. Yokota. – Text : electronic // *Methods in Molecular Biology* / — DOI: — 2025. – Vol. 2964. – P. 53-83. – URL: https://link.springer.com/10.1007/978-1-0716-4730-1_3 (date accessed: 25.05.2026).

93. Role of CD47 as a Marker of Self on Red Blood Cells / P.-A. Oldenburg, A. Zheleznyak, Y.-F. Fang [et al.]. – Text : electronic // *Science*. – 2000. – Vol. 288. – № 5473. – P. 2051-2054. – URL: <https://www.science.org/doi/10.1126/science.288.5473.2051> (date accessed: 25.05.2026).

94. Role of CD47 in tumor immunity: a potential target for combination therapy / J. Huang, F. Liu, C. C. Li [et al.]. – Text : electronic // *Scientific Reports*. – 2022. – Vol. 12. – № 1. – P. 9803. – URL: <https://doi.org/10.1038/s41598-022-13764-3> (date accessed: 25.05.2026).

95. Safety, Activity, and Immune Correlates of Anti-PD-1 Antibody in Cancer / S. L. Topalian, F. S. Hodi, J. R. Brahmer [et al.]. – Text : electronic // *New England Journal of Medicine*. – 2012. – Vol. 366. – № 26. – P. 2443-2454. – URL: <http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa1200690> (date accessed: 25.05.2026).

96. Safety and Efficacy of RNAi Therapy for Transthyretin Amyloidosis / T. Coelho, D. Adams, A. Silva [et al.]. – Text : electronic // *New England Journal of Medicine*. – 2013. – Vol. 369. – № 9. – P. 819-829. – URL: <http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa1208760> (date accessed: 25.05.2026).

97. Schmok, J. C. Strategies for programmable manipulation of alternative splicing / J. C. Schmok, G. W. Yeo. – Text : electronic // *Current Opinion in Genetics & Development*. – 2024. – Vol. 89. – P. 102272. – URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0959437X24001217> (date accessed: 25.05.2026).

98. Sequence-dependent stimulation of the mammalian innate immune response by synthetic siRNA / A. D. Judge, V. Sood, J. R. Shaw [et al.]. – Text : electronic // *Nature Biotechnology*. – 2005. – Vol. 23. – № 4. – P. 457-462. – URL: <https://www.nature.com/articles/nbt1081> (date accessed: 25.05.2026).

99. Setten, R. L. The current state and future directions of RNAi-based therapeutics / R. L. Setten, J. J. Rossi, S. Han. – Text : electronic // *Nature Reviews Drug Discovery*. – 2019. – Vol. 18. – № 6. – P. 421-446. – URL: <https://www.nature.com/articles/s41573-019-0017-4> (date accessed: 25.05.2026).

100. Shabalina, S. A. Computational models with thermodynamic and composition features improve siRNA design / S. A. Shabalina, A. N. Spiridonov, A. Y. Ogurtsov. – Text : electronic // BMC Bioinformatics. – 2006. – Vol. 7. – № 1. – P. 65. – URL: <https://bmcbioinformatics.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2105-7-65> (date accessed: 25.05.2026).

101. siDesign® Center [Электронный ресурс] // дата обращения: 25.03.2026). – URL: <https://horizondiscovery.com/en/tools-and-services/tools/sidesign-center> (date accessed: 25.05.2026). – Text : electronic.

102. siDirect 2.0: updated software for designing functional siRNA with reduced seed-dependent off-target effect / Y. Naito, J. Yoshimura, S. Morishita, K. Ui-Tei. – Text : electronic // BMC Bioinformatics. – 2009. – Vol. 10. – № 1. – P. 392. – URL: <https://bmcbioinformatics.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2105-10-392> (date accessed: 25.05.2026).

103. Simultaneous siRNA-mediated knockdown of antiapoptotic BCL2, Bcl-xL, XIAP and survivin in bladder cancer cells / D. Kunze, K. Kraemer, K. Erdmann [et al.]. – Text : electronic // International Journal of Oncology. – 2012. – Vol. 41. – № 4. – P. 1271-1277. – URL: <https://doi.org/10.3892/ijo.2012.1549> (date accessed: 25.05.2026).

104. Sioud, M. Induction of Inflammatory Cytokines and Interferon Responses by Double-stranded and Single-stranded siRNAs is Sequence-dependent and Requires Endosomal Localization / M. Sioud. – Text : electronic // Journal of Molecular Biology. – 2005. – Vol. 348. – № 5. – P. 1079-1090. – URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022283605002718> (date accessed: 25.05.2026).

105. siRNA-based therapy for overcoming drug resistance in human solid tumours: Molecular and immunological approaches / H. Pallathadka, M. Jabir, K. H. Rasool [et al.]. – Text : electronic // Human Immunology. – 2025. – Vol. 86. – № 1. – P. 111221. – URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0198885924004841> (date accessed: 25.05.2026).

106. siRNA-based nanotherapeutics as emerging modalities for immune-mediated diseases: A preliminary review / S. Sargazi, R. Arshad, R. Ghamari [et al.]. –

Text : electronic // Cell Biology International. – 2022. – Vol. 46. – № 9. – P. 1320-1344.
– URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cbin.11841> (date accessed: 25.05.2026).

107. siRNA Check [Электронный ресурс] // дата обращения: 25.03.2026). – URL: <https://www.eurofinngenomics.eu> (date accessed: 25.05.2026). – Text : electronic.

108. siRNA Versus miRNA as Therapeutics for Gene Silencing / J. K. W. Lam, M. Y. T. Chow, Y. Zhang, S. W. S. Leung. – Text : electronic // Molecular Therapy - Nucleic Acids. – 2015. – Vol. 4. – № 9. – P. e252. – URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2162253116300373> (date accessed: 25.05.2026).

109. siRNA Wizard v3.1 [Электронный ресурс] // дата обращения: 25.03.2026). – URL: <https://www.invivogen.com/sirnazwizard/> (date accessed: 25.05.2026). – Text : electronic.

110. Sorafenib in Advanced Hepatocellular Carcinoma / J. M. Llovet, S. Ricci, V. Mazzaferro [et al.]. – Text : electronic // New England Journal of Medicine. – 2008. – Vol. 359. – № 4. – P. 378-390. – URL: <http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJMoa0708857> (date accessed: 25.05.2026).

111. The immunology of hepatocellular carcinoma / M. Ringelhan, D. Pfister, T. O'Connor [et al.]. – Text : electronic // Nature Immunology. – 2018. – Vol. 19. – № 3. – P. 222-232. – URL: <https://www.nature.com/articles/s41590-018-0044-z> (date accessed: 25.05.2026).

112. The role of YAP1 in survival prediction, immune modulation, and drug response: A pan-cancer perspective / X. Hu, Y. Zhang, H. Yu [et al.]. – Text : electronic // Frontiers in Immunology. – 2022. – Vol. 13. – P. 1012173. – URL: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.1012173> (date accessed: 25.05.2026).

113. Thermodynamics of RNA–RNA binding / U. Mückstein, H. Tafer, J. Hackermüller [et al.]. – Text : electronic // Bioinformatics. – 2006. – Vol. 22. – № 10. – P. 1177-1182. – URL: <https://academic.oup.com/bioinformatics/article/22/10/1177/236620> (date accessed: 25.05.2026).

114. Tumor-specific GPX4 degradation enhances ferroptosis-initiated antitumor immune response in mouse models of pancreatic cancer / J. Li, J. Liu, Z. Zhou [et al.]. – Text : electronic // *Science Translational Medicine*. – 2023. – Vol. 15. – № 720. – P. 3049. – URL: <https://www.science.org/doi/10.1126/scitranslmed.adg3049> (date accessed: 25.05.2026).

115. Two Phase 3 Trials of Inclisiran in Patients with Elevated LDL Cholesterol / K. K. Ray, R. S. Wright, D. Kallend [et al.]. – Text : electronic // *New England Journal of Medicine*. – 2020. – Vol. 382. – № 16. – P. 1507-1519. – URL: <http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa1912387> (date accessed: 25.05.2026).

116. USP8-governed GPX4 homeostasis orchestrates ferroptosis and cancer immunotherapy / H. Li, Y. Sun, Y. Yao [et al.]. – Text : electronic // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2024. – Vol. 121. – № 16. – P. 2315541121. – URL: <https://pnas.org/doi/10.1073/pnas.2315541121> (date accessed: 25.05.2026).

117. ViennaRNA Package 2.0 / R. Lorenz, S. H. Bernhart, C. Höner zu Siederdisen [et al.]. – Text : electronic // *Algorithms for Molecular Biology*. – 2011. – Vol. 6. – № 1. – P. 26. – URL: <https://almob.biomedcentral.com/articles/10.1186/1748-7188-6-26> (date accessed: 25.05.2026).

118. Watts, J. K. Chemically modified siRNA: tools and applications / J. K. Watts, G. F. Deleavey, M. J. Damha. – Text : electronic // *Drug Discovery Today*. – 2008. – Vol. 13. – № 19-20. – P. 842-855. – URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S135964460800202X> (date accessed: 25.05.2026).

119. Whitehead, K. A. Knocking down barriers: advances in siRNA delivery / K. A. Whitehead, R. Langer, D. G. Anderson. – Text : electronic // *Nature Reviews Drug Discovery*. – 2009. – Vol. 8. – № 2. – P. 129-138. – URL: <https://www.nature.com/articles/nrd2742> (date accessed: 25.05.2026).

120. Whiteside, T. L. The tumor microenvironment and its role in promoting tumor growth / T. L. Whiteside. – Text : electronic // *Oncogene*. – 2008. – Vol. 27. – № 45. – P. 5904-5912. – URL: <https://www.nature.com/articles/onc2008271> (date accessed: 25.05.2026).

121. Yap suppresses T-cell function and infiltration in the tumor microenvironment / E. Stampouloulou, N. Cheng, A. Federico [et al.]. – Text : electronic // PLoS Biology. – 2020. – Vol. 18. – № 1. – P. 3000591. – URL: <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3000591> (date accessed: 25.05.2026).

122. Zuker, M. Mfold web server for nucleic acid folding and hybridization prediction / M. Zuker. – Text : electronic // Nucleic Acids Research. – 2003. – Vol. 31. – № 13. – P. 3406-3415. – URL: <https://academic.oup.com/nar/article-lookup/doi/10.1093/nar/gkg595> (date accessed: 25.05.2026).

ПРИЛОЖЕНИЕ А



ФЕДЕРАЛЬНОЕ МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКОЕ АГЕНТСТВО
 ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
 «ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР
 «ИНСТИТУТ ИММУНОЛОГИИ»
 (ФГБУ «ГНЦ ИНСТИТУТ ИММУНОЛОГИИ» ФМБА РОССИИ)

Каширское шоссе, д. 24,
 Москва, 115522

от 12.11.2025 г. № 363-01/6

на № _____ от _____ 20 ____ г.

тел.: 8 499-311-67-78

8 499-617-10-27

факс: 8 499-612-81-51

E-mail: info@nrcii.ru

www.nrcii.ru

Начальнику Управления научно-технологического обеспечения химической, биологической и радиационной безопасности Федерального медико-биологического агентства
 И.А. Берзину

УВЕДОМЛЕНИЕ

В соответствии с пунктом 5 Правил управления принадлежащим Российской Федерации правами на результаты интеллектуальной деятельности, в том числе правами на результаты интеллектуальной деятельности, непосредственно связанные с обеспечением обороны и безопасности, утвержденных постановлением Правительства Российской Федерации от 29 декабря 2021 г. № 2550 при выполнении работ по теме «Подавление экспрессии генов, ассоциированных с накоплением липопротеинов низкой плотности при помощи механизма интерференции РНК», шифр - «Липопротеин-24», в рамках государственного задания получен результат интеллектуальной деятельности способный к правовой охране.

Наименование результата интеллектуальной деятельности: «In silico дизайн модифицированных миРНК для подавления экспрессии генов PCSK9 и LPA, ассоциированных с развитием атеросклероза».

Полученный результат целесообразно использовать в режиме секрета производства (ноу-хау). Права на результат интеллектуальной деятельности ходатайствуем закрепить за «ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России».

Пояснительная записка по объекту учета, копия приказа о введении режима коммерческой тайны и приложение № 3 приказа ФМБА России от 09.02.2024 №21 прилагаются.

Приложения:

1. Пояснительная записка по объекту учета на 1 л.
2. Копия приказа о введении режима коммерческой тайны на 2 л.
3. Приложение № 3 приказа ФМБА России от 09.02.2024 №21 на 3 л.

8701

Директор

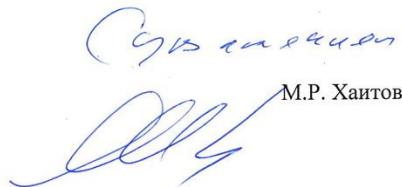

 М.Р. Хаитов

Рисунок А.1 – уведомление о получении результатов интеллектуальной деятельности, используемых в режиме секрета производства (ноу-хау)

УТВЕРЖДАЮ
 Директор ФГБУ «ГНЦ Институт
 иммунологии» ФМБА России
 академик РАН,
 доктор медицинских наук, профессор
 _____ М.Р. Хантов
 «01» 02 2026

АКТ
 о внедрении результатов НИР в практику отдела

Мы, нижеподписавшиеся, заведующий отделом генетики и регуляции иммунного ответа ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России Кофиади Илья Андреевич и заместитель директора по науке и инновациям Шиловский Игорь Петрович составили настоящий акт о том, что методика поиска, оценки и модификации миРНК на основе энергетической сигнатуры, разработанная в рамках НИР по теме: «Подавление экспрессии генов, ассоциированных с накоплением липопротеинов низкой плотности при помощи механизма интерференции РНК» (шифр "Липопротеин-24"), внедрена в отделе генетики и регуляции иммунного ответа с 1 января 2026 года и используется для проведения исследований по Государственному заданию на 2026 год.

Зав. отделом генетики и
 регуляции иммунного ответа
 ФГБУ «ГНЦ Институт
 Иммунологии» ФМБА России
 _____ Кофиади И.А.
 «01» 02 2026 г.

Зам. Директора ФГБУ «ГНЦ
 Институт Иммунологии» ФМБА
 России по науке и инновациям
 _____ Шиловский И.П.
 «01» 02 2026 г.

Рисунок А.2 – акт о внедрении результатов НИР в практику отдела

УТВЕРЖДАЮ
 Директор ФГБУ ГНЦ «Институт
 иммунологии» ФМБА России
 академик РАН,
 доктор медицинских наук, академик
 профессор
 М.Р. Хаитов
 «17» 03 2026 г.

АКТ

о внедрении результатов НИР в учебный процесс

Мы, нижеподписавшиеся, заместитель директора ФГБУ ГНЦ «Институт иммунологии» ФМБА России по науке и инновациям Шиловский Игорь Петрович и заведующий отделом генетики и регуляции иммунного ответа ФГБУ ГНЦ «Институт иммунологии» ФМБА России Кофиади Илья Андреевич, составили настоящий акт о том, что результаты научно-исследовательской работы Чернова Петра Владимировича, выполненной в рамках диссертационного исследования на тему «Оптимизация подходов к дизайну малых интерферирующих РНК для иммунорегуляции онкологической патологии на модели *in vitro*», внедрены в курс лекций в рамках образовательной программы подготовки научно-педагогических кадров в аспирантуре «Иммунология» по научной специальности 3.2.7. Иммунология в ФГБУ ГНЦ «Институт иммунологии» ФМБА России. В учебном процессе используются материалы по молекулярным механизмам РНК-интерференции, рациональному *in silico*-дизайну малых интерферирующих РНК, оценке их термодинамических и структурных характеристик, методу энергетической сигнатуры, подходам к химической модификации миРНК, а также экспериментальной оценке их функциональной активности на примере иммунологически значимых генов-мишеней CD47 и ITGB1. Результаты исследования используются при проведении лекционных и практических занятий по курсу «Молекулярная иммунология» и направлены на формирование у обучающихся современных представлений о молекулярных механизмах иммунорегуляции и технологиях направленного управления экспрессией генов.

Зав. отделом генетики и
 регуляции иммунного ответа
 ФГБУ ГНЦ «Институт
 иммунологии» ФМБА России

Кофиади И.А.
 «12» 03 2026 г.

Зам. директора ФГБУ ГНЦ
 «Институт иммунологии»
 ФМБА России по науке и
 инновациям

Шиловский И.П.
 «12» 03 2026 г.

Рисунок А.3 – акт о внедрении результатов НИР в учебный процесс

ПРИЛОЖЕНИЕ Б

Сценарий представляет собой программу для ЭВМ, выполненную на языке программирования JavaScript с интеграцией возможностей MS Excel.

Сценарий выполнен в виде программных блоков, каждый из которых выполняет определенную функцию.

Для выполнения сценария используется фрагмент программного кода, запускающий программные блоки в заданной последовательности.

В состав программных блоков входят:

Блок `importRange` (Листинг Б.1). Блок обеспечивает формирование двумерного массива данных на основе ввода предоставленного пользователем.

Блок `score_15_Q` (Листинг Б.2, Б.3). Блок осуществляет оценку переданных последовательностей по 15 критериям.

Блок `dG_Calculator` (Листинг Б.4, Б.5). Блок обеспечивает расчет энергетической сигнатуры последовательности.

Блок `exportRange` (Листинг Б.6, Б.7). Блок обеспечивает форматирование данных и вывод искомых параметров в виде таблицы.

Блок `mod_Method1` (Листинг Б.8-Б.11). Блок обеспечивает модификацию дуплекса по *Методу 1*.

Функция `siRNA_score` (Листинг Б.12). Функция исполняет программные блоки, необходимые для ввода данных, оценки последовательностей по 15-балльной шкале, расчета энергетической сигнатуры и вывода результата в виде таблицы.

Функция `mod_method1_selected` (Листинг Б.13). Функция исполняет программные блоки, необходимые для ввода данных, модификации переданных последовательностей по *Методу 1* и вывода результата в виде таблицы.

```
function importRange (SS) {
  let actSH = SS.getActiveSheet();
  let rangeIn = actSH.getRange(3,1,actSH.getLastRow()-2,4).getValues()
  return rangeIn
}
```

Листинг Б.1 – Программный блок `importRange`

```

function score_15_Q(rangeIn) {
  let rangeOut = []
  rangeIn.forEach (el => {
    let oligoAS = el[2]
    let oligoS = el[3]
    let row = []
    // Antisense GC ratio
    let gcCont = 0
    let gcRatio = 0
    oligoAS.split('').forEach(el1=>{
      if (el1=='G' || el1=='C'){gcCont++}
    })
    gcRatio = gcCont/oligoAS.length
    if (gcRatio<=0.6 && gcRatio>=0.3){row.push(1)} else {row.push(0)}
    // Antisense GC/AU repitions
    let gcReps = 0
    let auReps = 0
    for (let i = 0; i<oligoAS.length; i++){
      if(oligoAS[i]=='G' && oligoAS[i+1]=='C'){gcReps++}
      if(oligoAS[i]=='C' && oligoAS[i+1]=='G'){gcReps++}
      if(oligoAS[i]=='A' && oligoAS[i+1]=='U'){auReps++}
      if(oligoAS[i]=='U' && oligoAS[i+1]=='A'){auReps++}
    }
    if (gcReps<=3 && auReps<=4){row.push(1)} else {row.push(0)}
    // Sense TT overhang
    if (oligoS.slice(-2)=='TT' || oligoS.slice(-2)=='AA' || oligoS.slice(-2)=='UU' || oligoS.slice(-2)=='tt'){row.push(1)} else {row.push(0)}
    // Antisense GCcont 9-14, GCcont 2-7, GCcont 8-18
    let gcCont914 = 0
    let gcCont27 = 0
    let gcCont818 = 0
    for (let i = 0 ; i < oligoAS.length ; i++) {
      if (i >= 8 && i <= 13) {if (oligoAS[i] == 'G' || oligoAS[i] == 'C')
{gcCont914++}}
      if (i >= 1 && i <= 6) {if (oligoAS[i] == 'G' || oligoAS[i] == 'C')
{gcCont27++}}
      if (i >= 7 && i <= 17) {if (oligoAS[i] == 'G' || oligoAS[i] == 'C')
{gcCont818++}}
    }
    if (gcCont914/6 <= 0.5) {row.push(2)} else {row.push(0)}
    // Sense A/U 13-19
    let au139S = 0
    for (let i = 0 ; i < oligoS.length ; i++) {
      if (i >= 12 && i <=18) {if (oligoS[i] == 'A' || oligoS[i] == 'U')
{au139S++}}
    }
  })
}

```

Листинг Б.2 – Фрагмент 1 (из 2) программного блока score_15_Q

```

if (au139S >= 3) {row.push(1)} else {row.push(0)}
// Strand composition
// A/U at 19 of sense
if (oligoS[18] == 'A' || oligoS[18] == 'U') {row.push(1)} else {row.push(0)}
// G/C 1 S
if (oligoS[0] == 'G' || oligoS[0] == 'C') {row.push(1)} else {row.push(0)}
// A/U 10 S
if (oligoS[9] == 'A' || oligoS[9] == 'U') {row.push(1)} else {row.push(0)}
// a3,19 S
if (oligoS[2] == 'A' && oligoS[18] == 'A') {row.push(1)} else {row.push(0)}
// !g/c 19 S
if (oligoS[18] != 'G' && oligoS[18] != 'C') {row.push(1)} else {row.push(0)}
// !g13 S
if (oligoS[12] != 'G') {row.push(1)} else {row.push(0)}
// A/U 5' AS
if (oligoAS[0] == 'A' || oligoAS[0] == 'U') {row.push(1)} else {row.push(0)}
// A6 AS
if (oligoAS[5] == 'A') {row.push(1)} else {row.push(0)}
// GCcont in 2-7 antisense 19%, 8-18 = 52%
if (gcCont27/6 <= 0.25 && gcCont818/11 <= 0.6) {row.push(1)} else
{row.push(0)}
  let sum = 0
  let sumrow = row.reduce ((acc,el) => acc+el,sum )
  row.push(sumrow)

  rangeOut.push([sumrow])
})
return rangeOut
}

```

Листинг Б.3 – Фрагмент 2 (из 2) программного блока score_15_Q

```

function dGCalculator (rangeIn) {
  let rangeOut = []
  let dG_dict = {'A':0 , 'U':0, 'G':1, 'C':1}
  rangeIn.forEach(el => {
    let dGarr = []
    let oligoAS = el[2]
    let row = []
    oligoAS.split('').forEach(el1 => {
      dGarr.push(dG_dict[el1])
    })
    let span = 0
    let spanLength = 0
    let isletLow = 0
    let isletHigh = 0
    let plateauHigh = 0
    let plateauLow = 0
    let peak = 0
    let valley = 0
    let gradientUp = 0
    let gradientDown = 0
    let gradientDiff = 0
  })
}

```

Листинг Б.4 – Фрагмент 1 (из 2) программного блока dG_Calculator

```

let gradient_10_11 = 0
dGarr.forEach ((el1,i) => {
  if (i !== 0 ) {
    if (el1 !== dGarr[i-1] && el1 !== dGarr[i+1]) {
      if (el1 === 0) {peak++}
      else {valley++}
    }
    else {
      span += el1
      spanLength++

      if (dGarr[i+1] !== dGarr[i-1] && dGarr[i-1] === el1 || dGarr[i-1] ===
undefined || dGarr[i+1] === undefined) {
        if(spanLength < 4) {
          if (span > 0) {isletHigh++; gradientUp++}
          else {isletLow++; gradientDown++}
        }
        else if (span > 0) {plateauHigh++; gradientUp++}
        else {plateauLow++; gradientDown++; }
        span = 0; spanLength = 0
      }
    }
  }
  if (i === 9) {
    if (el1 !== dGarr[i+1]) { if(el1 > dGarr[i+1]) {gradient_10_11 = 1} else
{gradient_10_11 = -1}}
  }
})
gradientDiff = gradientUp - gradientDown
row.push(peak, valley, isletLow, isletHigh, plateauLow, plateauHigh,
gradientDiff, gradient_10_11)
rangeOut.push(row)
});
return rangeOut
}

```

Листинг Б.5 – Фрагмент 2 (из 2) программного блока dG_Calculator

```

function exportRange (SS,rangeOut) {
  //header
  formulaOrder = '=ArrayFormula(if(B2:B="";"";row(B2:B)))'
  formulaMax = '=Max(A2:A)'
  let arrHeaderRow = [[formulaMax,'Position','Target Sequence', "Antisense 5'-3'", "Sense 5'-3'",'Select_for_mod', 'Score', 'Peaks', 'Valleys', 'Islets-AU', 'Islets-GC', 'Plateau-AU', 'Plateau-GC', 'GradientDiff', 'Gradient_10-11'],
    [formulaOrder,'','','','','','','','','','','','','','']]
  let actSH = SS.getActiveSheet()
  let name = actSH.getName()
  SS.insertSheet(name+'_ranked')
  SpreadsheetApp.flush()
  let newSH = SS.getSheetByName(name+'_ranked')
  let range = newSH.getRange(3,2,rangeOut.length,rangeOut[0].length)
  newSH.getRange(1,1,arrHeaderRow.length,arrHeaderRow[0].length).setValues(arrHeaderRow)
}

```

Листинг Б.6 – Фрагмент 1 (из 2) программного блока exportRange

```

range.setValues(rangeOut)
SpreadsheetApp.flush()
newSH.getRange(3,6,newSH.getRange(1,1).getValue()-2).insertCheckboxes()
SpreadsheetApp.flush()
newSH.hideColumns(1)
newSH.hideRows(2)
}

```

Листинг Б.7 – Фрагмент 2 (из 2) программного блока exportRange

```

function mod_Method1 (SS) {
  let rangeIn =
SS.getActiveSheet().getRange(3,2,SS.getActiveSheet().getRange('A1').getValue()-
2,14).getValues()
  let dG_dict = {'A':0 , 'U':0, 'G':1, 'C':1}
  let rangeOut = []
  rangeIn.forEach((el,i) => {
    if (el[4]) {
      let oligoAS = el[2]
      let oligoS = el[3]
      let dGArrAS = []
      let dGArrS = []
      oligoAS.split('').forEach(el1 => {
        dGArrAS.push(dG_dict[el1])
      })
      oligoS.split('').forEach(el1 => {
        dGArrS.push(dG_dict[el1])
      })
      //AS
      let spanAS = 0
      let spanLengthAS = 0
      let isletLowAS = 0
      let isletHighAS = 0
      let plateauHighAS = 0
      let plateauLowAS = 0
      let peakAS = 0
      let valleyAS = 0
      let gradientUpAS = 0
      let gradientDownAS = 0
      let gradientDiffAS = 0
      let gradient_10_11AS = 0
      let modListAS = Array(21)
      //S
      let spanS = 0
      let spanLengthS = 0
      let isletLowS = 0
      let isletHighS = 0
      let plateauHighS = 0
      let plateauLowS = 0
      let peakS = 0
      let valleyS = 0
      let gradientUpS = 0
      let gradientDownS = 0
      let gradientDiffS = 0
    }
  })
}

```

Листинг Б.8 – Фрагмент 1 (из 4) программного блока mod_Method1

```

let gradient_10_11S = 0
let modListS = Array(21)
// mods S
dGArrS.forEach ((el1,i) => {
  if (i == 0) {
    if (el1 == 0) {modListS[i] = 'm'}
    else {modListS[i] = 'f'}
  }
  if (i != 0 ) {
    if (el1 != dGArrS[i-1] && el1 != dGArrS[i+1]) {
      if (el1 == 0) {modListS[i] = 'm'}
      else {modListS[i] = 'f'}
    }
    else {
      spanS += el1
      spanLengthS++
      if (el1 == 0) {modListS[i] = 'f'}
      else {modListS[i] = 'm'}
      if (dGArrS[i+1] != dGArrS[i-1] && dGArrS[i-1] == el1 || dGArrS[i-1] ==
undefined || dGArrS[i+1] == undefined) {
        modListS[i] = 'm'
        // if(spanLengthAS < 4) {
        //   if (spanAS > 0) {isletHighAS++; gradientUpAS++;}
        //   else {isletLowAS++; gradientDownAS++;}
        // }
        // else if (spanAS > 0) {plateauHighAS++; gradientUpAS++;}
        // else {plateauLowAS++; gradientDownAS++; }
        spanS = 0; spanLengthS = 0
      }
    }
  }
})
if (i == 9) {
  if (el1 != dGArrS[i+1]) { if(el1 > dGArrS[i+1]) {modListS[9] = 'm';
modListS[10] = 'f'} else {modListS[9] = 'f'; modListS[10] = 'm'}}
}
})
// mods AS
dGArrAS.forEach ((el1,i) => {
  if (i == 0) {
    if (el1 == 0) {modListAS[i] = 'f'}
    else {modListAS[i] = 'm'}
  }
})

```

Листинг Б.9 – Фрагмент 2 (из 4) программного блока mod_Method1

```
if (i != 0 ) {  
    if (el1 != dGarrAS[i-1] && el1 != dGarrAS[i+1]) {  
        if (el1 == 0) {modListAS[i] = 'f'}  
        else {modListAS[i] = 'm'}  
    }  
    else {  
        spanAS += el1  
        spanLengthAS++  
        if (el1 == 0) {modListAS[i] = 'm'}  
    }  
}
```

Листинг Б.10 – Фрагмент 3 (из 4) программного блока mod_Method1

```

        else {modListAS[i] = 'f'}
        if (dGArrAS[i+1] != dGArrAS[i-1] && dGArrAS[i-1] == el1 || dGArrAS[i-1]
== undefined || dGArrAS[i+1] == undefined) {
            modListAS[i] = 'f'
            // if(spanLengthAS < 4) {
            //     if (spanAS > 0) {isletHighAS++; gradientUpAS++;}
            //     else {isletLowAS++; gradientDownAS++;}
            // }
            // else if (spanAS > 0) {plateauHighAS++; gradientUpAS++;}
            // else {plateauLowAS++; gradientDownAS++; }
            spanAS = 0; spanLengthAS = 0
        }
    }
}
if (i == 9) {
    if (el1 != dGArrAS[i+1]) { if(el1 > dGArrAS[i+1]) {modListAS[9] = 'f';
modListAS[10] = 'm'} else {modListAS[9] = 'm'; modListAS[10] = 'f'}}}
}
})
let siRNA_AS_mod = []
oligoAS.split('').forEach ((el1,i) => {
    siRNA_AS_mod.push(modListS[i]+el1)
})
siRNA_AS_mod.join('')
let siRNA_S_mod = []
oligoS.split('').forEach ((el1,i) => {
    siRNA_S_mod.push(modListS[i]+el1)
})
siRNA_S_mod.join('')

rangeOut.push('si_'+el[0]+'_M1', siRNA_AS_mod.join(''), siRNA_S_mod.join(''))

}

})
return rangeOut
}

```

Листинг Б.11 – Фрагмент 4 (из 4) программного блока mod_Method1

```

function siRNA_score() {
  let SS = SpreadsheetApp.getActiveSpreadsheet()

  let sheetName = SpreadsheetApp.getActiveSpreadsheet().getActiveSheet().getName()

  if (sheetName.includes('ranked')) {
    SpreadsheetApp.getUi().alert('The ranking already exists.')
    return }
  else {
    let namesArr = SSgetActiveSheet().getRange(3,1,SSgetActiveSheet().getLastRow()-2, 4).getValues()
    let rangeOutScore = score_15_Q(importRange(SS))
    let rangeOutdGarr = dGCalculator(importRange(SS))
    let rangeOut = []
    namesArr.forEach ((el,i) => {
      rangeOut.push(el.concat(['']).concat(rangeOutScore[i]).concat(rangeOutdGarr[i]))
    })
    console.log(rangeOut)
    exportRange(SS,rangeOut)
  }
}

```

Листинг Б.12 – Функция siRNA_score

```

function mod_method1_selected () {
  let SS = SpreadsheetApp.getActiveSpreadsheet()
  let sheetName = SpreadsheetApp.getActiveSpreadsheet().getActiveSheet().getName()
  if (sheetName.includes('_Method1_mod')) {
    SpreadsheetApp.getUi().alert('The mod already exists.')
    return
  }
  else {
    let rangeOut = mod_Method1_I_1(SS)
    SS.insertSheet(sheetName + '_Method1_mod')
    SpreadsheetApp.flush()
    SS.getSheetByName(sheetName + '_Method1_mod').getRange(1,1,rangeOut.length,rangeOut[0].length).setValues(rangeOut)
  }
}

```

Листинг Б.13 – Функция mod_method1_selected

ПРИЛОЖЕНИЕ В

Таблица В.1 – Ранжированная библиотека последовательностей малых интерферирующих РНК против мРНК гена ITGB1 человека

Положение	Целевая последовательность	Антисмысловая 5'-3'	Смысловая 5'-3'	Оценка	Пик	Долина	Островок-AU	Островок-GC	Плато-AU	Плато-GC	Разность градиентов	Градиент_10-11
197-219	agcgcagatgaatttacaaccaa	GGUUGUAAAUUCAUCUGCGCU	CGCAGAUGAAUUUACAACCAA	9	2	3	2	1	1	1	-1	0
201-223	cagatgaatttacaaccaatttt	AAUUGGUUGUAAAUUCAUCUG	GAUGAAUUUACAACCAAUUUU	11	1	4	3	1	1	0	-3	0
203-225	gatgaatttacaaccaattttct	AAAAUUGGUUGUAAAUUCAUC	UGAAUUUACAACCAAUUUUUCU	10	0	3	2	1	2	0	-3	-1
215-237	accaattttctggattggactga	AGUCCAAUCCAGAAAAUUGGU	CAAUUUUCUGGAUUGGACUGA	11	3	2	1	3	1	0	1	1
222-244	ttctggattggactgatcagttc	ACUGAUCAGUCCAAUCCAGAA	CUGGAUUGGACUGAUCAGUUC	10	4	5	3	2	0	0	-1	-1
225-247	tggattggactgatcagttcagt	UGAACUGAUCAGUCCAAUCCA	GAUUGGACUGAUCAGUUCAGU	10	4	5	3	2	0	0	-1	1
229-251	ttggactgatcagttcagtttgc	AAACUGAACUGAUCAGUCCAA	GGACUGAUCAGUUCAGUUUGC	11	4	6	4	1	0	0	-3	-1
232-254	gactgatcagttcagtttctgt	AGCAAACUGAACUGAUCAGUC	CUGAUCAGUUCAGUUUGCUGU	11	4	7	3	1	0	0	-2	0
234-256	ctgatcagttcagtttctgtgt	ACAGCAAACUGAACUGAUCAG	GAUCAGUUCAGUUUGCUGUGU	12	4	7	3	1	0	0	-2	-1
247-269	tttgctgtgtttgctcaacaa	UUUGAGCAAACACACAGCAAA	UGCUGUGUUUUGCUCAAACA	9	4	4	3	2	0	0	-1	-1
249-271	tgctgtgtgtttgctcaaacaga	UGUUUGAGCAAACACACAGCA	CUGUGUGUUUUGCUCAAACAGA	11	5	5	2	2	0	0	0	0
251-273	ctgtgtgtttgctcaaacagatg	UCUGUUUGAGCAAACACACAG	GUGUGUUUUGCUCAAACAGAUG	10	5	7	2	1	0	0	-1	0
255-277	gtgtttgctcaaacagatgaaaa	UUCAUCUGUUUGAGCAAACAC	GUUUGCUCAAACAGAUAAAAA	12	3	6	4	1	0	0	-3	0
258-280	tttgctcaaacagatgaaaatag	AUUUUCAUCUGUUUGAGCAAA	UGCUCAAACAGAUAAAAAUAG	10	2	4	3	1	1	0	-3	-1

Положение	Целевая последовательность	Антисмысловая 5'-3'	Смысловая 5'-3'	Оценка	Пик	Долина	Островок-AU	Островок-GC	Плато-AU	Плато-GC	Разность градиентов	Градиент_10-11
266-288	aacagatgaaaatagatgtttaa	AAACAUCUAUUUUCAUCUGUU	CAGAUGAAAAUAGAUGUUUAA	10	1	5	4	0	1	0	-5	0
267-289	acagatgaaaatagatgtttaa	UAAACAUCUAUUUUCAUCUGU	AGAUGAAAAUAGAUGUUUAAA	12	2	5	3	0	1	0	-4	0
275-297	aaatagatgtttaaaagcaaatg	UUUGCUUUUAAACAUCUAUUU	AUAGAUGUUUAAAAGCAAUG	10	0	2	2	1	2	0	-3	0
288-310	aaagcaaatgccaaatcatgtgg	ACAUGAUUUGGCAUUUGCUUU	AGCAAAUGCCAAAUCAUGUGG	10	0	2	2	2	2	0	-2	0
295-317	atgccaaatcatgtggagaatgt	AUUCUCCACAUGAUUUGGCAU	GCCAAAUCAUGUGGAGAAUGU	10	2	3	3	2	1	0	-2	0
297-319	gccaaatcatgtggagaatgtat	ACAUUCUCCACAUGAUUUGGC	CAAAUCAUGUGGAGAAUGUAU	11	2	4	2	2	1	0	-1	-1
302-324	atcatgtggagaatgtatacaag	UGUAUACAUCUCCACAUGAU	CAUGUGGAGAAUGUAUACAAG	10	2	5	3	1	1	0	-3	-1
316-338	gtatacaagcagggccaaattgt	AAUUUGGCCCUGCUUGUAUAC	AUACAAGCAGGGCCAAAUUGU	7	1	2	1	1	2	1	-1	1
318-340	atacaagcagggccaaattgtgg	ACAAUUUGGCCCUGCUUGUAU	ACAAGCAGGGCCAAAUUGUGG	7	1	2	2	1	1	1	-1	0
342-364	tggtgcacaaattcaacattttt	AAAUGUUGAAUUUGUGCACCA	GUGCACAAAUUCAACAUUUUU	13	3	3	2	2	1	0	-1	0
343-365	ggtgcacaaattcaacattttta	AAAUGUUGAAUUUGUGCACC	UGCACAAAUUCAACAUUUUUA	11	2	3	1	2	2	0	-1	0
356-378	aacatttttacaggaaggaatgc	AUUCUUCUGUAUUUUUUGUU	CAUUUUUACAGGAAGGAAUGC	10	1	2	3	2	1	0	-2	-1
375-397	atgcctacttctgcacgatgtga	ACAUCGUGCAGAAGUAGGCAU	GCCUACUUCUGCACGAUGUGA	11	2	3	4	3	0	0	-1	-1
377-399	gcctacttctgcacgatgtgatg	UCACAUCGUGCAGAAGUAGGC	CUACUUCUGCACGAUGUGAUG	10	3	4	3	3	0	0	0	0
380-402	tacttctgcacgatgtgatgatt	UCAUCACAUCGUGCAGAAGUA	CUUCUGCACGAUGUGAUGAUU	9	3	5	4	2	0	0	-2	0
384-406	tctgcacgatgtgatgattaga	UAAAUCAUCACAUCGUGCAGA	UGCACGAUGUGAUGAUUUAGA	11	4	4	2	2	1	0	-1	-1
386-408	tgcacgatgtgatgattagaag	UCUAAAUCAUCACAUCGUGCA	CACGAUGUGAUGAUUUAGAAG	13	3	4	2	2	1	0	-1	-1

Положение	Целевая последовательность	Антисмысловая 5'-3'	Смысловая 5'-3'	Оценка	Пик	Долина	Островок-AU	Островок-GC	Плато-AU	Плато-GC	Разность градиентов	Градиент_10-11
387-409	gcacgatgtgatgatttagaagc	UUCUAAAUCAUCACAUCGUGC	ACGAUGUGAUGAUUUAGAAGC	12	2	4	3	2	1	0	-2	0
392-414	atgtgatgatttagaagccttaa	AAGGCUUCUAAAUCAUCACAU	GUGAUGAUUUAGAAGCCUUA	12	1	4	4	1	1	0	-4	0
395-417	tgatgatttagaagccttaaaaa	UUUAAGGCUUCUAAAUCAUCA	AUGAUUUAGAAGCCUAAAAA	10	1	3	2	1	2	0	-3	-1
397-419	atgatttagaagccttaaaaaag	UUUUUAAGGCUUCUAAAUCAU	GAUUUAGAAGCCUAAAAAAG	11	0	2	2	1	2	0	-3	1
398-420	tgatttagaagccttaaaaaaga	UUUUUUAAGGCUUCUAAAUCA	AUUUAGAAGCCUAAAAAAGA	7	1	2	1	1	2	0	-2	0
400-422	atttagaagccttaaaaaagaag	UCUUUUUUAAGGCUUCUAAAU	UUAGAAGCCUAAAAAAGAAG	11	0	2	1	1	2	0	-2	-1
417-439	aagaagggtgcctccagatga	AUCUGGAGGGCAACCCUUCUU	GAAGGGUUGCCCUCCAGAUGA	8	2	2	4	2	0	1	-1	0
427-449	gccctccagatgacatagaaaat	UUUCUAUGUCAUCUGGAGGGC	CCUCCAGAUGACAUAGAAAAU	12	3	4	3	1	0	1	-1	1
428-450	ccctccagatgacatagaaaatc	UUUUCUAUGUCAUCUGGAGGG	CUCCAGAUGACAUAGAAAAUC	12	3	4	3	2	0	0	-1	-1
429-451	cctccagatgacatagaaaatcc	AUUUUCUAUGUCAUCUGGAGG	UCCAGAUGACAUAGAAAAUCC	10	3	4	2	2	1	0	-1	1
433-455	cagatgacatagaaaatccaga	UGGGAUUUUCUAUGUCAUCUG	GAUGACAUAGAAAAUCCCAGA	10	2	5	2	1	1	0	-2	1
455-477	aggctcaaagatataaagaaaa	UUCUUUAUAUCUUUGGAGCCU	GCUCCAAAGAUUAAAAGAAAA	13	2	2	2	2	1	0	-1	-1
456-478	ggctcaaagatataaagaaaaa	UUUCUUUAUAUCUUUGGAGCC	CUCCAAAGAUUAAAAGAAAAA	13	1	2	2	2	1	0	-1	0
489-511	accaaccgtagcaaaggaacagc	UGUUCCUUUGCUACGGUUGGU	CAACCGUAGCAAAGGAACAGC	11	1	1	4	4	0	0	0	0
492-514	aaccgtagcaaaggaacagcaga	UGCUGUCCUUUGCUACGGUU	CCGUAGCAAAGGAACAGCAGA	11	1	1	4	4	0	0	0	0
494-516	ccgtagcaaaggaacagcagaga	UCUGCUGUCCUUUGCUACGG	GUAGCAAAGGAACAGCAGAGA	11	2	2	3	4	0	0	1	0
496-518	gtagcaaaggaacagcagagaag	UCUCUGCUGUCCUUUGCUAC	AGCAAAGGAACAGCAGAGAAG	9	3	4	3	3	0	0	0	0

Положение	Целевая последовательность	Антисмысловая 5'-3'	Смысловая 5'-3'	Оценка	Пик	Долина	Островок-AU	Островок-GC	Плато-AU	Плато-GC	Разность градиентов	Градиент_10-11
503-525	aggaacagcagagaagctcaagc	UUGAGCUUCUCUGCUGUUCCU	GAACAGCAGAGAAGCUCAAGC	10	5	4	3	3	0	0	0	-1
515-537	gaagctcaagccagaggatatta	AUAUCCUCUGGCUUGAGCUUC	AGCUCAAGCCAGAGGAUAUUA	9	3	3	3	3	0	0	0	0
516-538	aagctcaagccagaggatattac	AAUAUCCUCUGGCUUGAGCUU	GCUCAAGCCAGAGGAUAUUAC	8	3	2	2	3	1	0	0	-1
519-541	ctcaagccagaggatattactca	AGUAAUAUCCUCUGGCUUGAG	CAAGCCAGAGGAUAUUACUCA	9	3	4	1	2	1	0	0	1
523-545	agccagaggatattactcagatc	UCUGAGUAAUAUCCUCUGGCU	CCAGAGGAUAUUACUCAGAUC	12	5	4	0	2	1	0	1	0
524-546	gccagaggatattactcagatcc	AUCUGAGUAAUAUCCUCUGGC	CAGAGGAUAUUACUCAGAUC	11	4	4	1	2	1	0	0	0
528-550	gaggatattactcagatccaacc	UUGGAUCUGAGUAAUAUCCUC	GGUAUAUACUCAGAUCCAACC	10	3	4	2	2	1	0	-1	-1
533-555	tattactcagatccaaccacagc	UGUGGUUGGAUCUGAGUAAUA	UUACUCAGAUCCAACCACAGC	11	3	4	2	2	1	0	-1	0
538-560	ctcagatccaaccacagcagttg	ACUGCUGUGGUUGGAUCUGAG	CAGAUCCAACCACAGCAGUUG	8	5	5	2	3	0	0	1	1
550-572	cacagcagttggttttgcgatta	AUCGCAAAACCAACUGCUGUG	CAGCAGUUGGUUUUGCGAUUA	11	3	3	2	3	1	0	0	0
551-573	acagcagttggttttgcgattaa	AAUCGCAAAACCAACUGCUGU	AGCAGUUGGUUUUGCGAUUAA	11	3	2	2	3	1	0	0	-1
552-574	cagcagttggttttgcgattaag	UAAUCGCAAAACCAACUGCUG	GCAGUUGGUUUUGCGAUUAAG	11	2	2	2	3	1	0	0	0
553-575	agcagttggttttgcgattaaga	UAAUUCGCAAAACCAACUGCUG	CAGUUGGUUUUGCGAUUAAGA	11	2	1	1	3	2	0	0	0
555-577	cagttggttttgcgattaagatc	UCUUAUUCGCAAAACCAACUG	GUUGGUUUUGCGAUUAAGAUC	12	1	3	1	2	2	0	-1	1
558-580	ttggttttgcgattaagatcagg	UGAUCUUAUUCGCAAAACCAA	GGUUUUGCGAUUAAGAUCAGG	11	0	2	2	2	2	0	-2	-1
583-605	agccacagacatttacattaaaa	UUAAUGUAAAUGUCUGUGGCU	CCACAGACAUUUACAUUAAAAA	14	4	4	0	1	2	0	-1	0
584-606	gccacagacatttacattaaaat	UUUAAUGUAAAUGUCUGUGGC	CACAGACAUUUACAUUAAAAU	12	3	4	0	1	2	0	-1	0

Положение	Целевая последовательность	Антисмысловая 5'-3'	Смысловая 5'-3'	Оценка	Пик	Долина	Островок-AU	Островок-GC	Плато-AU	Плато-GC	Разность градиентов	Градиент_10-11
585-607	ccacagacatttacattaaaatt	UUUUAAUGUAAAUGUCUGUGG	ACAGACAUUUACAUAUAAAAUU	13	3	4	0	1	2	0	-1	0
586-608	cacagacatttacattaaaattc	AUUUUAAUGUAAAUGUCUGUG	CAGACAUUUACAUAUAAAAUUC	11	3	5	0	0	2	0	-2	0
587-609	acagacatttacattaaaattca	AAUUUUAAUGUAAAUGUCUGU	AGACAUUUACAUAUAAAAUUCA	8	3	4	0	0	2	0	-2	1
589-611	agacatttacattaaaattcaag	UGAAUUUUAAUGUAAAUGUCU	ACAUUUACAUAUAAAAUUCAAG	10	2	4	0	0	2	0	-2	0
590-612	gacatttacattaaaattcaaga	UUGAAUUUUAAUGUAAAUGUC	CAUUUACAUAUAAAAUUCAAGA	10	1	4	1	0	2	0	-3	0
605-627	attcaagagagctgaagactatc	UAGUCUUCAGCUCUCUUGAAU	UCAAGAGAGCUGAAGACUAUC	10	4	6	4	1	0	0	-3	0
606-628	ttcaagagagctgaagactatcc	AUAGUCUUCAGCUCUCUUGAA	CAAGAGAGCUGAAGACUAUCC	9	4	6	4	1	0	0	-3	-1
611-633	gagagctgaagactatcccattg	AUGGGAUAGUCUUCAGCUCUC	GAGCUGAAGACUAUCCCAUUG	12	4	5	3	2	0	0	-1	-1
612-634	agagctgaagactatcccattga	AAUGGGAUAGUCUUCAGCUCU	AGCUGAAGACUAUCCCAUUGA	9	4	4	3	2	0	0	-1	1
614-636	agctgaagactatcccattgacc	UCAAUGGGAUAGUCUUCAGCU	CUGAAGACUAUCCCAUUGACC	11	3	4	3	2	0	0	-1	0
620-642	agactatcccattgaccttact	UAGAGGUCAAUGGGAUAGUCU	ACUAUCCCAUUGACCUCUACU	10	4	4	3	2	0	0	-1	0
623-645	ctatcccattgaccttactacc	UAGUAGAGGUCAAUGGGAUAG	AUCCCAUUGACCUCUACUACC	9	2	4	4	2	0	0	-2	-1
626-648	tcccattgaccttactactctta	AGGUAGUAGAGGUCAAUGGGA	CCAUUGACCUCUACUACCUUA	9	3	3	3	3	0	0	0	-1
627-649	cccattgaccttactactcttat	AAGGUAGUAGAGGUCAAUGGG	CAUUGACCUCUACUACCUUAU	11	2	3	4	3	0	0	-1	1
628-650	ccattgaccttactactcttatg	UAAGGUAGUAGAGGUCAAUGG	AUUGACCUCUACUACCUUAUG	10	2	3	4	3	0	0	-1	-1
643-665	accttatggacctgtcttactca	AGUAAGACAGGUCCAUAAGGU	CUUAUGGACCUGUCUUAUCA	8	4	3	1	3	1	0	1	0
656-678	gtcttactcaatgaaagacgatt	UCGUCUUUCAUUGAGUAAGAC	CUUACUCAUUGAAAGACGAUU	12	3	6	3	1	0	0	-2	0

Положение	Целевая последовательность	Антисмысловая 5'-3'	Смысловая 5'-3'	Оценка	Пик	Долина	Островок-AU	Островок-GC	Плато-AU	Плато-GC	Разность градиентов	Градиент_10-11
659-681	ttactcaatgaaagacgatttgg	AAAUCGUCUUUCAUUGAGUAA	ACUCAAUGAAAGACGAUUUGG	9	2	4	4	1	0	0	-3	0
662-684	ctcaatgaaagacgatttggaga	UCCAAAUCGUCUUUCAUUGAG	CAAUGAAAGACGAUUUGGAGA	13	2	4	2	2	1	0	-1	-1
665-687	aatgaaagacgatttggagaatg	UUCUCCAAAUCGUCUUUCAU	UGAAAGACGAUUUGGAGAAUG	11	2	3	3	2	1	0	-2	-1
668-690	gaaagacgatttggagaatgtaa	ACAUUCUCCAAAUCGUCUUUC	AAGACGAUUUGGAGAAUGUAA	11	2	4	2	2	1	0	-1	0
669-691	aaagacgatttggagaatgtaaa	UACAUUCUCCAAAUCGUCUUU	AGACGAUUUGGAGAAUGUAAA	10	2	3	3	2	1	0	-2	1
670-692	aagacgatttggagaatgtaaaa	UUACAUUCUCCAAAUCGUCUU	GACGAUUUGGAGAAUGUAAAA	12	2	3	3	2	1	0	-2	0
678-700	ttggagaatgtaaaaagtcttgg	AAGACUUUUUACAUCUCCAA	GGAGAAUGUAAAAAGUCUUGG	10	2	4	3	1	1	0	-3	0
681-703	gagaatgtaaaaagtcttgaac	UCCAAGACUUUUACAUCUC	GAAUGUAAAAAGUCUUGGAAC	12	2	5	2	1	1	0	-2	0
692-714	aagtcttgaacagatctgatga	AUCAGAUUCUGUCCAAGACUU	GUCUUGGAACAGAUUCUGAUGA	11	3	6	5	1	0	0	-4	1
694-716	gtcttgaacagatctgatgaat	UCAUCAGAUUCUGUCCAAGAC	CUUGGAACAGAUUCUGAUGAAU	11	3	7	4	1	0	0	-3	1
695-717	tcttgaacagatctgatgaatg	UUCAUCAGAUUCUGUCCAAGA	UUGGAACAGAUUCUGAUGAAUG	10	3	6	5	1	0	0	-4	-1
698-720	tggaacagatctgatgaatgaaa	UCAUUCAGAUUCUGUCCA	GAACAGAUUCUGAUGAAUGAAA	13	3	6	4	1	0	0	-3	-1
700-722	gaacagatctgatgaatgaaatg	UUUCAUUCAGAUUCUGUUC	ACAGAUUCUGAUGAAUGAAAUG	12	2	7	5	0	0	0	-5	-1
703-725	cagatctgatgaatgaaatgagg	UCAUUCAUUCAGAUUCUG	GAUCUGAUGAAUGAAAUGAGG	10	2	7	3	0	1	0	-4	-1
706-728	atctgatgaatgaaatgaggagg	UCCUCAUUCAUUCAGAU	CUGAUGAAUGAAAUGAGGAGG	11	2	5	3	1	1	0	-3	1
726-748	aggattacttcggacttcagaat	UCUGAAGUCCGAAGUAAUCCU	GAUUACUUCGGACUUCAGAAU	9	3	4	2	2	1	0	-1	0
728-750	gattacttcggacttcagaattg	AUUCUGAAGUCCGAAGUAAUC	UUACUUCGGACUUCAGAAUUG	8	2	5	3	1	1	0	-3	-1

Положение	Целевая последовательность	Антисмысловая 5'-3'	Смысловая 5'-3'	Оценка	Пик	Долина	Островок-AU	Островок-GC	Плато-AU	Плато-GC	Разность градиентов	Градиент_10-11
734-756	ttcggacttcagaattggatttg	AAUCCAAUUCUGAAGUCCGAA	CGGACUUCAGAAUUGGAUUUG	11	2	3	3	2	1	0	-2	1
735-757	tcggacttcagaattggatttg	AAAUCCAAUUCUGAAGUCCGA	GGACUUCAGAAUUGGAUUUGG	11	3	3	2	2	1	0	-1	-1
749-771	tggatttggctcatttgggaaa	UCCACAAAUGAGCCAAAUCCA	GAUUUGGCUCAUUUGUGGAAA	10	3	2	0	3	2	0	1	1
754-776	ttggctcatttgggaaaagact	UCUUUCCACAAAUGAGCCAA	GGCUCAUUUGUGGAAAAGACU	9	2	3	1	2	2	0	-1	1
756-778	ggctcatttgggaaaagactgt	AGUCUUUCCACAAAUGAGCC	CUCAUUUGUGGAAAAGACUGU	10	3	4	0	2	2	0	0	1
758-780	ctcatttgggaaaagactgtga	ACAGUCUUUCCACAAAUGAG	CAUUUGUGGAAAAGACUGUGA	11	4	6	0	1	2	0	-1	-1
767-789	ggaaaagactgtgatgccttaca	UAAGGCAUCACAGUCUUUCC	AAAAGACUGUGAUGCCUACA	11	3	4	2	2	1	0	-1	-1
769-791	aaaagactgtgatgccttacatt	UGUAAGGCAUCACAGUCUUU	AAGACUGUGAUGCCUACA	11	3	5	2	1	1	0	-2	-1
770-792	aaagactgtgatgccttacatta	AUGUAAGGCAUCACAGUCUU	AGACUGUGAUGCCUACA	11	3	5	4	1	0	0	-3	0
772-794	agactgtgatgccttacattagc	UAAUGUAAGGCAUCACAGUCU	ACUGUGAUGCCUACA	8	4	5	3	1	0	0	-2	0
777-799	gtgatgccttacattagcacaac	UGUGCUGUAAGGCAUCAC	GAUGCCUACA	10	2	4	2	2	1	0	-1	1
780-802	atgccttacattagcacaacacc	UGUUGUGCUGUAAGGCAU	GCCUACA	11	1	3	3	2	1	0	-2	0
788-810	cattagcacaacaccagctaagc	UUAGCUGGUGUUGUGCUGUA	UUAGCACAACACCAGCUAAGC	10	3	3	2	3	1	0	0	1
791-813	tagcacaacaccagctaagctca	AGCUUAGCUGGUGUUGUGCUGUA	GCACAACACCAGCUAAGCUCA	11	3	2	3	4	0	0	1	0
807-829	aagctcaggaacccttgacaag	UGUGCAAGGGUCCUGAGCUU	GCUCAGGAACCCUUGCACAAG	9	3	2	3	4	0	0	1	1
813-835	aggaacccttgacaagtgaaca	UUCACUUGUGCAAGGGUCCU	GAACCCUUGCACAAGUGAACA	11	3	3	4	3	0	0	-1	0
817-839	acccttgacaagtgaacagaac	UCUGUUCACUUGUGCAAGGGU	CCUUGCACAAGUGAACAGAAC	10	4	5	3	2	0	0	-1	0

Положение	Целевая последовательность	Антисмысловая 5'-3'	Смысловая 5'-3'	Оценка	Пик	Долина	Островок-AU	Островок-GC	Плато-AU	Плато-GC	Разность градиентов	Градиент_10-11
818-840	cccttgcacaaagtgaacagaact	UUCUGUUCACUUGUGCAAGGG	CUUGCACAAGUGAACAGAACU	10	3	5	4	2	0	0	-2	1
845-867	cagcccatttagctacaaaatg	UUUUUGUAGCUAAAUGGGCUG	GCCCAUUUAGCUACAAAAAUG	11	1	2	1	1	2	1	-1	1
846-868	agcccatttagctacaaaatgt	AUUUUUGUAGCUAAAUGGGCU	CCCAUUUAGCUACAAAAAUGU	11	1	1	1	1	2	1	-1	0
848-870	cccatttagctacaaaatgtgc	ACAUUUUUGUAGCUAAAUGGG	CAUUUAGCUACAAAAAUGUGC	12	0	2	1	2	2	0	-1	0
855-877	agctacaaaatgtgctcagtct	ACUGAGCACAUUUUUGUAGCU	CUACAAAAAUGUGCUCAGUCU	10	4	4	1	2	1	0	0	0
858-880	tacaaaatgtgctcagtcttac	AAGACUGAGCACAUUUUUGUA	CAAAAAUGUGCUCAGUCUUAC	10	4	5	2	1	1	0	-2	1
859-881	acaaaatgtgctcagtcttact	UAAGACUGAGCACAUUUUUGU	AAAAAUGUGCUCAGUCUUACU	10	5	5	1	1	1	0	-1	0
865-887	atgtgctcagtcttactaataaa	UAUUAGUAAGACUGAGCACAU	GUGCUCAGUCUUACUAAUAAA	11	4	5	2	1	1	0	-2	1
866-888	tgtgctcagtcttactaataaag	UUAUUAGUAAGACUGAGCACA	UGCUCAGUCUUACUAAUAAAG	12	5	5	1	1	1	0	-1	-1
867-889	gtgctcagtcttactaataaagg	UUUAUUAGUAAGACUGAGCAC	GCUCAGUCUUACUAAUAAAGG	12	4	5	1	1	1	0	-1	0
870-892	ctcagtcttactaataaaggaga	UCCUUUAUUAGUAAGACUGAG	CAGUCUUACUAAUAAAGGAGA	11	3	5	1	1	1	0	-1	-1
878-900	tactaataaaggagaagtattta	AAUACUUCUCCUUUAUUAGUA	CUAAUAAAGGAGAAGUAUUUA	9	1	3	3	1	1	0	-3	0
879-901	actaataaaggagaagtatttaa	AAAUACUUCUCCUUUAUUAGU	UAAUAAAGGAGAAGUAUUUAA	10	2	3	1	1	2	0	-2	-1
882-904	aataaaggagaagtatttaataga	AUUAAAUACUUCUCCUUUAUU	UAAAGGAGAAGUAUUUAAUGA	10	1	2	1	1	2	0	-2	0
884-906	taaaggagaagtatttaatagaac	UCAUUAAAUACUUCUCCUUUA	AAGGAGAAGUAUUUAAUGAAC	10	1	3	1	1	2	0	-2	-1
885-907	aaaggagaagtatttaatagaact	UUCAUUAAAUACUUCUCCUUU	AGGAGAAGUAUUUAAUGAACU	10	1	3	3	1	1	0	-3	0
886-908	aaggagaagtatttaatagaactt	GUUCAUUAAAUACUUCUCCUU	GGAGAAGUAUUUAAUGAACUU	9	1	3	3	1	1	0	-3	0

Положение	Целевая последовательность	Антисмысловая 5'-3'	Смысловая 5'-3'	Оценка	Пик	Долина	Островок-AU	Островок-GC	Плато-AU	Плато-GC	Разность градиентов	Градиент_10-11
887-909	aggagaagtatttaatgaacttg	AGUUCAUUAAAUACUUCUCCU	GAGAAGUAUUUAAUGAACUUG	11	2	4	2	1	1	0	-2	0
888-910	ggagaagtatttaatgaacttgt	AAGUUCAUUAAAUACUUCUCC	AGAAGUAUUUAAUGAACUUGU	9	1	4	3	1	1	0	-3	0
896-918	atttaatgaacttgttgaaaac	UUUCCAACAAGUUCAUUAAAU	UUAUGAACUUGUUGGAAAAC	11	0	3	4	1	1	0	-4	-1
897-919	tttaatgaacttgttgaaaaca	UUUCCAACAAGUUCAUUAAAU	UAAUGAACUUGUUGGAAAACA	10	0	3	4	1	1	0	-4	0
907-929	ttgttgaaaacagcgcatatct	AUAUGCGCUGUUUCCAACAA	GUUGGAAAACAGCGCAUAUCU	10	1	2	3	1	1	1	-2	1
917-939	acagcgcatatctggaaatttgg	AAAUUCCAGAUUAUGCGCUGU	AGCGCAUAUCUGGAAAUUUGG	9	3	2	0	1	2	1	0	1
920-942	gcgcatatctggaaatttgatt	UCCAAAUUCCAGAUUAUGCGC	GCAUAUCUGGAAAUUUGGAUU	13	1	1	0	2	2	1	1	0
921-943	cgcatactggaaatttgattc	AUCCAAAUUCCAGAUUAUGCG	CAUAUCUGGAAAUUUGGAUUC	11	1	1	1	3	2	0	0	-1
930-952	ggaaatttgattctccagaagg	UUCUGGAGAAUCCAAAUUCC	AAAUUUGGAUUCUCCAGAAGG	11	2	2	2	3	1	0	0	0
941-963	ttctccagaaggtggttcgatg	UCGAAACCACCUUCUGGAGAA	CUCCAGAAGGUGGUUUCGAUG	10	3	2	3	4	0	0	1	0
953-975	tggtttcgatgccatcatgaag	UGCAUGAUGGCAUCGAAACCA	GUUUCGAUGCCAUCAUGCAAG	8	1	1	4	4	0	0	0	0
962-984	tgccatcatgaagttgcagttt	ACUGCAACUUGCAUGAUGGCA	CCAUCAUGCAAGUUGCAGUUU	13	2	3	4	3	0	0	-1	-1
963-985	gccatcatgaagttgcagtttg	AACUGCAACUUGCAUGAUGGC	CAUCAUGCAAGUUGCAGUUUG	11	1	3	5	3	0	0	-2	0
966-988	atcatgaagttgcagtttgttg	ACAAACUGCAACUUGCAUGAU	CAUGCAAGUUGCAGUUUGUGG	11	1	4	5	2	0	0	-3	0
969-991	atgaagttgcagtttgttgatc	UCCACAAACUGCAACUUGCAU	GCAAGUUGCAGUUUGUGGAUC	13	2	3	4	3	0	0	-1	-1
970-992	tgcaagttgcagtttgttgatca	AUCCACAAACUGCAACUUGCA	CAAGUUGCAGUUUGUGGAUCA	10	3	3	4	3	0	0	-1	1
972-994	caagttgcagtttgttgatcact	UGAUCCACAAACUGCAACUUG	AGUUGCAGUUUGUGGAUCACU	10	2	5	4	2	0	0	-2	0

Положение	Целевая последовательность	Антисмысловая 5'-3'	Смысловая 5'-3'	Оценка	Пик	Долина	Островок-AU	Островок-GC	Плато-AU	Плато-GC	Разность градиентов	Градиент_10-11
976-998	ttgcagtttgggatcactgatt	UCAGUGAUCCACAAACUGCAA	GCAGUUUGUGGAUCACUGAUU	12	4	5	3	2	0	0	-1	1
977-999	tgcagtttgggatcactgattg	AUCAGUGAUCCACAAACUGCA	CAGUUUGUGGAUCACUGAUUG	10	5	5	3	2	0	0	-1	0
993-1015	ctgattggctggaggaatgttac	AACAUUCCUCCAGCCAAUCAG	GAUUGGCUGGAGGAAUGUUAC	7	3	3	3	3	0	0	0	0
1010-1032	tgttacacggctgctggtgtttt	AACACCAGCAGCCGUGUAACA	UUACACGGCUGCUGGUGUUUU	9	5	3	2	2	0	1	1	-1
1020-1042	ctgctgggttttccacagatgc	AUCUGUGGAAAACACCAGCAG	GCUGGUGUUUCCACAGAUGC	11	5	4	1	3	1	0	1	0
1031-1053	ttccacagatgccgggtttcact	UGAAACCCGGCAUCUGUGGAA	CCACAGAUGCCGGGUUUCACU	8	2	3	3	1	0	1	-1	0
1041-1063	gccgggtttcactttgtggaga	UCCAGCAAAGUGAAACCCGGC	CGGGUUUCACUUUGCUGGAGA	10	2	2	2	2	0	1	1	1
1044-1066	gggtttcactttgtggagatgg	AUCUCCAGCAAAGUGAAACCC	GUUUCACUUUGCUGGAGAUGG	11	3	3	3	3	0	0	0	0
1063-1085	atgggaaacttggtggcattgtt	CAAUGCCACCAAGUUUCCCAU	GGGAAACUUGGUGGCAUUGUU	7	1	1	4	3	0	0	-1	1
1064-1086	tgggaaacttggtggcattgttt	ACAAUGCCACCAAGUUUCCCA	GGAAACUUGGUGGCAUUGUUU	10	2	2	3	3	0	0	0	0
1065-1087	gggaaacttggtggcattgtttt	AACAAUGCCACCAAGUUUCCC	GAAACUUGGUGGCAUUGUUUU	12	1	2	4	3	0	0	-1	-1
1076-1098	tggcattgtttacaaatgatg	UCAUUUGGUAAAACAAUGCCA	GCAUUGUUUUACCAAUAUGAUG	12	1	2	1	2	2	0	-1	0
1077-1099	ggcattgtttacaaatgatgg	AUCAUUUGGUAAAACAAUGCC	CAUUGUUUUACCAAUAUGAUGG	12	0	2	2	2	2	0	-2	0
1086-1108	ttacaaatgatggacaatgtca	ACAUUGUCCAUCAUUUGGUAA	ACCAAUAUGAUGGACAAUGUCA	10	1	3	3	2	1	0	-2	0
1088-1110	accaaatgatggacaatgtcacc	UGACAUUGUCCAUCAUUUGGU	CAAAUGAUGGACAAUGUCACC	11	3	4	2	2	1	0	-1	0
1096-1118	atggacaatgtcacctggaaaat	UUUCCAGGUGACAUUGUCCA	GGACAAUGUCACCUGGAAAAU	12	4	3	3	3	0	0	0	1
1097-1119	tggacaatgtcacctggaaaata	UUUCCAGGUGACAUUGUCCA	GACAAUGUCACCUGGAAAAUA	11	5	3	2	3	0	0	1	-1

Положение	Целевая последовательность	Антисмысловая 5'-3'	Смысловая 5'-3'	Оценка	Пик	Долина	Островок-AU	Островок-GC	Плато-AU	Плато-GC	Разность градиентов	Градиент_10-11
1098-1120	ggacaatgtcacctggaaaataa	AUUUUCCAGGUGACAUUGUCC	ACAAUGUCACCUGGAAAAUAA	7	4	3	1	3	1	0	1	1
1100-1122	acaatgtcacctggaaaataata	UUAUUUCCAGGUGACAUUGU	AAUGUCACCUGGAAAAUAAUA	9	4	3	1	2	1	0	0	-1
1102-1124	aatgtcacctggaaaataatg	UAUUAUUUCCAGGUGACAUU	UGUCACCUGGAAAAUAAUAUG	6	3	2	1	2	1	0	0	0
1103-1125	atgtcacctggaaaataatgt	AUAUUAUUUCCAGGUGACAU	GUCACCUGGAAAAUAAUAUGU	11	3	2	1	2	1	0	0	-1
1108-1130	acctggaaaataatgtacaca	UGUACAUAUUAUUUCCAGGU	CUGGAAAAUAAUAUGUACACA	10	2	2	1	2	1	0	0	0
1110-1132	ctggaaaataatgtacacaat	UGUGUACAUAUUAUUUCCAG	GGAAAAUAAUAUGUACACAAU	10	2	4	1	1	1	0	-1	0
1111-1133	tggaaaataatgtacacaatg	UUGUGUACAUAUUAUUUCCA	GAAAAUAAUAUGUACACAAUG	10	2	3	2	1	1	0	-2	0
1112-1134	ggaaaataatgtacacaatga	AUUGUGUACAUAUUAUUUCC	AAAAUAAUAUGUACACAAUGA	8	1	3	2	1	1	0	-2	0
1114-1136	aaaataatgtacacaatgagc	UCAUUGUGUACAUAUUAUUUU	AAUAAUAUGUACACAAUGAGC	8	1	4	2	0	1	0	-3	-1
1121-1143	tatgtacacaatgagccattatt	UAAUGGCUCAUUGUGUACAU	UGUACACAAUGAGCCAUAUUAU	9	2	4	4	1	0	0	-3	0
1122-1144	atgtacacaatgagccattatta	AUAAUGGCUCAUUGUGUACAU	GUACACAAUGAGCCAUAUUAU	9	2	4	3	1	1	0	-3	1
1124-1146	gtacacaatgagccattattatg	UAAUAAUGGCUCAUUGUGUAC	ACACAAUGAGCCAUAUUAUUG	11	2	4	2	1	1	0	-2	1
1125-1147	tacacaatgagccattattatga	AUAAUAAUGGCUCAUUGUGUA	CACAAUGAGCCAUAUUAUGA	8	2	3	2	1	1	0	-2	0
1127-1149	cacaatgagccattattatgatt	UCAUAAUAAUGGCUCAUUGUG	CAAUGAGCCAUAUUAUGAUU	14	2	4	1	1	1	0	-1	-1
1134-1156	agccattattatgattatccttc	AGGAUAAUCAUAAUAAUGGCU	CCAUUAUUAUGAUUAUCCUUC	10	1	1	0	2	2	0	0	0
1135-1157	gccattattatgattatccttct	AAGGAUAAUCAUAAUAAUGGC	CAUUAUUAUGAUUAUCCUUCU	8	0	1	1	2	2	0	-1	1
1140-1162	tattatgattatccttctattgc	AAUAGAAGGAUAAUCAUAAUA	UUAUGAUUAUCCUUCUAUUGC	10	0	2	2	1	2	0	-3	0

Положение	Целевая последовательность	Антисмысловая 5'-3'	Смысловая 5'-3'	Оценка	Пик	Долина	Островок-AU	Островок-GC	Плато-AU	Плато-GC	Разность градиентов	Градиент_10-11
1151-1173	tccttctattgtcaccttgtcc	ACAAGGUGAGCAAUAGAAGGA	CUUCUAUUGCUCACCUUGUCC	10	3	3	2	3	1	0	0	0
1154-1176	ttctattgtcaccttgtccaga	UGGACAAGGUGAGCAAUAGAA	CUAUUGCUCACCUUGUCCAGA	11	3	3	2	3	1	0	0	-1
1160-1182	tgctcaccttgtccagaaactga	AGUUUCUGGACAAGGUGAGCA	CUCACCUUGUCCAGAAACUGA	11	5	4	2	3	0	0	1	-1
1162-1184	ctcaccttgtccagaaactgagt	UCAGUUUCUGGACAAGGUGAG	CACCUUGUCCAGAAACUGAGU	10	5	6	2	2	0	0	0	0
1164-1186	caccttgtccagaaactgagtga	ACUCAGUUUCUGGACAAGGUG	CCUUGUCCAGAAACUGAGUGA	10	5	6	2	2	0	0	0	1
1168-1190	ttgtccagaaactgagtgaataat	UUUCACUCAGUUUCUGGACAA	GUCCAGAAACUGAGUGAAAAU	10	5	6	3	1	0	0	-2	1
1169-1191	tgtccagaaactgagtgaataat	UUUUCACUCAGUUUCUGGACA	UCCAGAAACUGAGUGAAAAUA	10	6	6	2	1	0	0	-1	-1
1171-1193	tccagaaactgagtgaataat	UAUUUUCACUCAGUUUCUGGA	CAGAAACUGAGUGAAAAUAAU	11	5	5	1	1	1	0	-1	-1
1172-1194	ccagaaactgagtgaataat	UUAUUUUCACUCAGUUUCUGG	AGAAACUGAGUGAAAAUAAUA	11	4	5	1	1	1	0	-1	1
1173-1195	cagaaactgagtgaataat	AUUAUUUUCACUCAGUUUCUG	GAAACUGAGUGAAAAUAAUAU	11	4	6	1	0	1	0	-2	-1
1174-1196	agaaactgagtgaataat	UAUUUUUUCACUCAGUUUCU	AAACUGAGUGAAAAUAAUAU	11	4	5	1	0	1	0	-2	1
1183-1205	gtgaaataatattcagacaatt	UUGUCUGAAUAUUUUUUCAC	GAAAAUAAUAUUCAGACAAUU	11	3	5	1	0	1	0	-2	0
1184-1206	tgaaataatattcagacaattt	AUUGUCUGAAUAUUUUUUC	AAAAUAAUAUUCAGACAAUUU	9	3	4	1	0	1	0	-2	0
1187-1209	aaataatattcagacaatttttg	AAAAUUGUCUGAAUAUUUUU	AUAAUAUUCAGACAAUUUUUG	9	2	3	0	0	2	0	-2	-1
1188-1210	aataatattcagacaatttttgc	AAAAUUGUCUGAAUAUUUU	UAAUAUUCAGACAAUUUUUGC	8	2	3	0	0	2	0	-2	1
1195-1217	ttcagacaatttttgcagttact	UAAUCGCAAAAAUUGUCUGAA	CAGACAAUUUUUGCAGUUACU	9	3	4	2	1	1	0	-2	0
1197-1219	cagacaatttttgcagttactga	AGUAACUGCAAAAAUUGUCUG	GACAAUUUUUGCAGUUACUGA	11	3	5	1	1	1	0	-1	0

Положение	Целевая последовательность	Антисмысловая 5'-3'	Смысловая 5'-3'	Оценка	Пик	Долина	Островок-AU	Островок-GC	Плато-AU	Плато-GC	Разность градиентов	Градиент_10-11
1199-1221	gacaattttgcagttactgaag	UCAGU AACUGCAAAAAUUGUC	CAAUUUUUGCAGUUACUGAAG	12	3	5	1	1	1	0	-1	0
1203-1225	atttttgagttactgaagaatt	UUCUUCAGU AACUGCAAAAAU	UUUUGCAGUUACUGAAGAAUU	10	2	4	3	1	1	0	-3	0
1206-1228	tttgagttactgaagaatttca	AAAUUCUUCAGU AACUGCAAAA	UGCAGUUACUGAAGAAUUUCA	10	2	4	3	1	1	0	-3	-1
1208-1230	tgagttactgaagaatttcagc	UGAAAUUCUUCAGU AACUGCA	CAGUUACUGAAGAAUUUCAGC	12	3	5	2	1	1	0	-2	-1
1219-1241	aagaatttcagcctgtttacaag	UGUAAACAGGCUGAAA UUCUU	GAAUUUCAGCCUGUUUACAAG	9	2	4	1	1	2	0	-2	0
1231-1253	ctgtttacaaggagctgaaaaac	UUUUCAGCUCCUUGUAAACAG	GUUUACAAGGAGCUGAAAAAC	11	3	4	2	2	1	0	-1	0
1232-1254	tgtttacaaggagctgaaaaact	UUUUUCAGCUCCUUGUAAACA	UUUACAAGGAGCUGAAAAACU	11	3	3	1	2	2	0	-1	-1
1244-1266	gctgaaaaacttgatccctaagt	UUAGGGAUCAAGUUUUUCAGC	UGAAAAACUUGAUCCCUAAGU	11	1	3	3	2	1	0	-2	0
1248-1270	aaaaacttgatccctaagtcagc	UGACUUAGGGAUCAAGUUUUU	AAACUUGAUCCCUAAGUCAGC	10	1	4	3	1	1	0	-3	1
1254-1276	ttgatccctaagtcagcagtagg	UACUGCUGACUUAGGGAUCAA	GAUCCCUAAGUCAGCAGUAGG	10	3	4	4	2	0	0	-2	1
1257-1279	atccctaagtcagcagtaggaac	UCCUACUGCUGACUUAGGGAU	CCCUAAGUCAGCAGUAGGAAC	11	3	3	3	3	0	0	0	-1
1258-1280	tccctaagtcagcagtaggaaca	UUCCUACUGCUGACUUAGGGA	CCUAAGUCAGCAGUAGGAACA	8	4	3	3	3	0	0	0	1
1260-1282	cctaagtcagcagtaggaacatt	UGUUCCUACUGCUGACUUAGG	UAAGUCAGCAGUAGGAACAUU	10	3	4	3	3	0	0	0	-1
1263-1285	aagtcagcagtaggaacattatc	UAAUGUCCUACUGCUGACUU	GUCAGCAGUAGGAACAUUAUC	12	3	4	4	2	0	0	-2	0
1264-1286	agtcagcagtaggaacattatct	AUAAUGUCCUACUGCUGACU	UCAGCAGUAGGAACAUUAUCU	10	4	4	2	2	1	0	-1	1
1270-1292	cagtaggaacattatctgcaaat	UUGCAGAUAAUGUCCUACUG	GUAGGAACAUUAUCUGCAAAU	12	2	4	3	2	1	0	-2	0
1272-1294	gtaggaacattatctgcaaattc	AUUUGCAGAUAAUGUCCUAC	AGGAACAUUAUCUGCAAAUUC	9	1	3	3	2	1	0	-2	0

Положение	Целевая последовательность	Антисмысловая 5'-3'	Смысловая 5'-3'	Оценка	Пик	Долина	Островок-AU	Островок-GC	Плато-AU	Плато-GC	Разность градиентов	Градиент_10-11
1273-1295	taggaacattatctgcaaattct	AAUUUGCAGAUAAUGUCCUA	GGAACAUUAUCUGCAAAUUCU	8	1	2	2	2	2	0	-2	0
1276-1298	gaacattatctgcaaattctagc	UAGAAUUUGCAGAUAAUGUUC	ACAUUAUCUGCAAAUUCUAGC	9	1	4	2	1	2	0	-3	1
1283-1305	atctgcaaattctagcaatgtaa	ACAUUGCAGAAUUUGCAGAU	CUGCAAAUUCUAGCAAUGUAA	10	1	3	3	2	1	0	-2	1
1285-1307	ctgcaaattctagcaatgaatt	UUACAUUGCAGAAUUUGCAG	GCAAAUUCUAGCAAUGUAAUU	14	1	3	3	2	1	0	-2	0
1286-1308	tgcaaattctagcaatgaattc	AUUACAUUGCAGAAUUUGCA	CAAAUUCUAGCAAUGUAAUUC	10	1	2	3	2	1	0	-2	1
1287-1309	gcaaattctagcaatgaattca	AAUUACAUUGCAGAAUUUGC	AAAUUCUAGCAAUGUAAUUC	8	0	2	2	2	2	0	-2	0
1292-1314	ttctagcaatgaattcagttga	AACUGAAUUACAUUGCAGAA	CUAGCAAUGUAAUUCAGUUGA	11	1	4	4	1	1	0	-4	-1
1301-1323	tgaattcagttgatcattgatg	UCAAUGAUCAACUGAAUUACA	UAAUUCAGUUGAUCAUUGAUG	10	2	6	3	0	1	0	-4	0
1306-1328	ttcagttgatcattgatgcatac	AUGCAUCAUGAUCAACUGAA	CAGUUGAUCAUUGAUGCAUAC	10	1	5	6	1	0	0	-5	-1
1307-1329	tcagttgatcattgatgcataca	UAUGCAUCAUGAUCAACUGA	AGUUGAUCAUUGAUGCAUACA	10	2	5	5	1	0	0	-4	0
1310-1332	gttgatcattgatgcatacaatt	UUGUAUGCAUCAUGAUCAAC	UGAUCAUUGAUGCAUACAAUU	11	0	5	6	1	0	0	-5	-1
1311-1333	ttgatcattgatgcatacaattc	AUUGUAUGCAUCAUGAUCAA	GAUCAUUGAUGCAUACAAUUC	11	0	4	6	1	0	0	-5	0
1318-1340	ttgatgcatacaattccctttcc	AAAGGGAAUUGUAUGCAUCA	GAUGCAUACAAUCCCCUUUCC	11	0	2	4	2	1	0	-3	-1
1321-1343	atgcatacaattccctttcctca	AGGAAAGGGAAUUGUAUGCAU	GCAUACAAUCCCCUUUCCUCA	12	0	1	3	3	1	0	-1	0
1332-1354	tccctttcctcagaagtcatttt	AAUGACUUCUGAGGAAAGGGA	CCUUUCCUCAGAAGUCAUUUU	10	4	4	3	2	0	0	-1	-1
1337-1359	ttcctcagaagtcattttggaaa	UCCAAAAUGACUUCUGAGGAA	CCUCAGAAGUCAUUUUGGAAA	13	3	4	2	2	1	0	-1	-1
1353-1375	ttggaaaacggcaaattgtcaga	UGACAAUUUGCCGUUUUCCAA	GGAAAACGGCAAAUUGUCAGA	10	1	2	1	1	2	1	-1	0

Положение	Целевая последовательность	Антисмысловая 5'-3'	Смысловая 5'-3'	Оценка	Пик	Долина	Островок-AU	Островок-GC	Плато-AU	Плато-GC	Разность градиентов	Градиент_10-11
1355-1377	ggaaaacggcaaattgtcagaag	UCUGACAAUUGCCGUUUUCC	AAAACGGCAAAUUGUCAGAAG	11	2	3	0	1	2	1	0	0
1365-1387	aaattgtcagaaggcgtaacaat	UGUUACGCCUUCUGACAAUUU	AUUGUCAGAAGGCGUAACAAU	10	2	4	2	0	1	1	-2	0
1368-1390	ttgtcagaaggcgtaacaataag	UAUUGUUACGCCUUCUGACAA	GUCAGAAGGCGUAACAAUAAG	9	2	4	4	0	0	1	-3	0
1369-1391	tgtcagaaggcgtaacaataagt	UUAUUGUUACGCCUUCUGACA	UCAGAAGGCGUAACAAUAAGU	9	3	4	2	0	1	1	-2	0
1375-1397	aaggcgtaacaataagttacaaa	UGUAACUUAUUGUUACGCCU	GGCGUAACAAUAAGUUACAAA	12	0	3	3	0	1	1	-3	0
1376-1398	aggcgtaacaataagttaacaat	UUGUAACUUAUUGUUACGCCU	GCGUAACAAUAAGUUACAAU	11	1	3	3	0	1	1	-3	0
1381-1403	taacaataagttacaaatcttac	AAGAUUUGUAACUUAUUGUUA	ACAAUAAGUUACAAUUCUAC	9	0	4	3	0	2	0	-5	0
1388-1410	aagttacaaatcttactgaaga	UUGCAGUAAGAUUUGUAACU	GUUACAAUUCUACUGCAAGA	9	1	4	4	1	1	0	-4	1
1404-1426	tgcaagaacgggggtgaatggaac	UCCAUUCACCCCGUUCUUGCA	CAAGAACGGGGUGAAUGGAAC	8	2	2	3	2	0	1	0	0
1416-1438	gtgaatggaacaggggaaaatgg	AUUUUCUUUUGUUCUUCAC	GAAUGGAACAGGGGAAAUGG	10	2	3	2	1	1	1	-1	-1
1420-1442	atggaacaggggaaaatggaaga	UCCAUUUUCUUUUGUUCU	GGAACAGGGGAAAUGGAAGA	9	1	1	3	2	1	1	-1	0
1435-1457	atggaagaaaatgtccaatatt	UAUUGGAACAUAUUUCUUCU	GGAAGAAAUGUUCCAAUAUU	12	0	2	4	2	1	0	-3	0
1436-1458	tggaagaaaatgtccaatattt	AUAUUGGAACAUAUUUCUUC	GAAGAAAUGUUCCAAUAUUU	10	1	2	2	2	2	0	-2	1
1438-1460	gaagaaaatgtccaatatttcc	AAAUAUUGGAACAUAUUUCU	AGAAAUGUUCCAAUAUUUCC	10	0	3	2	1	2	0	-3	0
1449-1471	tccaatatttcattggagatga	AUCUCCAAUGGAAAUAUUGGA	CAAUAUUUCCAUUGGAGAUGA	9	2	1	2	3	1	0	0	0
1457-1479	ttccattggagatgaggttcaat	UGAACCUCAUCUCCAAUGGAA	CCAUUGGAGAUGAGGUUCAAU	12	2	3	4	3	0	0	-1	-1
1458-1480	tccattggagatgaggttcaatt	UUGAACCUCAUCUCCAAUGGA	CAUUGGAGAUGAGGUUCAAU	11	3	3	4	3	0	0	-1	0

Положение	Целевая последовательность	Антисмысловая 5'-3'	Смысловая 5'-3'	Оценка	Пик	Долина	Островок-AU	Островок-GC	Плато-AU	Плато-GC	Разность градиентов	Градиент_10-11
1463-1485	tggagatgaggttcaattgaaa	UCAAUUGAACCUCaucucca	GAGAUgAGGUUCAUUUGAAA	13	3	4	2	2	1	0	-1	-1
1464-1486	ggagatgaggttcaattgaaat	UUCAAUUGAACCUCaucucc	AGAUGAGGUUCAUUUGAAAU	13	2	4	3	2	1	0	-2	0
1465-1487	gagatgaggttcaattgaaatt	UUUCAAAUUGAACCUCaucuc	GAUGAGGUUCAUUUGAAAUU	13	2	5	3	1	1	0	-3	1
1467-1489	gatgaggttcaattgaaattag	AAUUUCAAAUUGAACCUCauc	UGAGGUUCAUUUGAAAUUAG	10	1	4	2	1	2	0	-3	0
1468-1490	atgaggttcaattgaaattagc	UAAUUUCAAAUUGAACCUCAU	GAGGUUCAUUUGAAAUUAGC	10	1	3	2	1	2	0	-3	0
1471-1493	aggttcaattgaaattagcata	UGCUAUUUCAAAUUGAACCU	GUUCAUUUGAAAUUAGCAUA	10	1	2	1	2	2	0	-1	1
1474-1496	ttcaattgaaattagcataact	UUAUGCUAUUUCAAAUUGAA	CAAUUUGAAAUUAGCAUAACU	10	0	2	2	1	2	0	-3	0
1480-1502	ttgaaattagcataacttcaaat	UUGAAGUUAUGCUAUUUCAA	GAAAUUAGCAUAACUUCAAAU	11	0	3	3	1	2	0	-4	-1
1481-1503	tgaattagcataacttcaaata	UUUGAAGUUAUGCUAUUUCA	AAAUUAGCAUAACUUCAAUA	11	1	3	2	1	2	0	-3	0
1483-1505	aaattagcataacttcaaataag	UAUUUGAAGUUAUGCUAUUU	AUUAGCAUAACUUCAAUAAG	9	0	2	1	1	3	0	-3	0
1484-1506	aattagcataacttcaaataagt	UUAUUUGAAGUUAUGCUAUU	UUAGCAUAACUUCAAUAAGU	9	0	2	1	1	3	0	-3	1
1486-1508	ttagcataacttcaaataagtg	ACUUAUUUGAAGUUAUGCUA	AGCAUAACUUCAAUAAGUGU	9	0	3	2	1	2	0	-3	0
1488-1510	agcataacttcaaataagtgcc	ACACUUAUUUGAAGUUAUGCU	CAUAACUUCAAUAAGUGUCC	10	2	4	1	1	2	0	-2	-1
1493-1515	aacttcaaataagtgccaaaaa	UUUGGACACUUAUUUGAAGUU	CUUCAAAUAAGUGUCCAAAAA	11	2	4	3	1	1	0	-3	0
1495-1517	cttcaaataagtgccaaaaaag	UUUUUGGACACUUAUUUGAAG	UCAAAUAAGUGUCCAAAAAAG	10	2	4	1	1	2	0	-2	-1
1496-1518	ttcaaataagtgccaaaaaagg	UUUUUUGGACACUUAUUUGAA	CAAAUAAGUGUCCAAAAAAGG	11	2	3	1	1	2	0	-2	1
1503-1525	aagtgccaaaaaaggattctga	AGAAUCCUUUUUUGGACACUU	GUGUCCAAAAAAGGAUUCUGA	10	2	3	2	2	1	0	-1	0

Положение	Целевая последовательность	Антисмысловая 5'-3'	Смысловая 5'-3'	Оценка	Пик	Долина	Островок-AU	Островок-GC	Плато-AU	Плато-GC	Разность градиентов	Градиент_10-11
1505-1527	gtgtccaaaaagattctgaca	UCAGAAUCCUUUUUUGGACAC	GUCCAAAAAAGGAUUCUGACA	12	3	4	1	2	1	0	0	0
1512-1534	aaaaaggattctgacagcttaa	AAAGCUGUCAGAAUCCUUUUU	AAAGGAUUCUGACAGCUUUA	11	3	3	2	2	1	0	-1	-1
1516-1538	aggattctgacagctttaaatt	UUUUAAGCUGUCAGAAUCCU	GAUUCUGACAGCUUAAAAUU	14	4	3	1	2	1	0	0	-1
1519-1541	attctgacagctttaaattagg	UAAUUUUAAGCUGUCAGAAU	UCUGACAGCUUAAAAUUAGG	10	3	3	1	1	1	0	-1	-1
1545-1567	ctgggctttacggaggaagtaga	UACUCCUCCGUAAGCCAG	GGGCUUACGGAGGAAGUAGA	9	2	2	2	2	1	1	0	0
1547-1569	gggctttacggaggaagtagagg	UCUACUCCUCCGUAAGCCC	GCUUACGGAGGAAGUAGAGG	9	1	2	2	2	1	1	0	-1
1554-1576	acggaggaagtagaggttattct	AAUAACCUCUACUCCUCCGU	GGAGGAAGUAGAGGUUAUUCU	10	3	2	2	3	1	0	0	0
1555-1577	cggaggaagtagaggttattctt	GAAUAACCUCUACUCCUCCG	GAGGAAGUAGAGGUUAUUCUU	9	2	2	2	3	1	0	0	1
1564-1586	tagaggttattcttcagtacatc	UGUACUGAAGAAUAACCUCUA	GAGGUUAUUCUUCAGUACAUC	10	2	5	3	1	1	0	-3	1
1565-1587	agaggttattcttcagtacatct	AUGUACUGAAGAAUAACCUCU	AGGUUAUUCUUCAGUACAUCU	10	3	5	3	1	1	0	-3	-1
1567-1589	aggttattcttcagtacatctgt	AGAUGUACUGAAGAAUAACCU	GUUAUUCUUCAGUACAUCUGU	10	2	5	3	1	1	0	-3	1
1573-1595	ttcttcagtacatctgtgaatgt	AUUCACAGAUGUACUGAAGAA	CUUCAGUACAUCUGUGAAUGU	11	3	7	5	0	0	0	-5	-1
1575-1597	cttcagtacatctgtgaatgtga	ACAUUCACAGAUGUACUGAAG	UCAGUACAUCUGUGAAUGUGA	9	3	8	4	0	0	0	-4	1
1578-1600	cagtacatctgtgaatgtgaatg	UUCACAUUCACAGAUGUACUG	GUACAUCUGUGAAUGUGAAUG	13	4	8	4	0	0	0	-4	-1
1584-1606_I-1	atctgtgaatgtgaatgccaag	UUGGCAUUCACAUUCACAGAU	CUGUGAAUGUGAAUGCCAAAG	12	3	5	4	1	0	0	-3	-1
1616-1638	ccctgaaagtccaagtgtcatg	UGACACUUGGGACUUUCAGGG	CUGAAAGUCCCAAGUGUCAUG	8	4	5	2	2	0	0	0	0
1623-1645	agtccaagtgtcatgaaggaaa	UCCUUCAUGACACUUGGGACU	UCCCAAGUGUCAUGAAGGAAA	11	4	5	3	2	0	0	-1	-1

Положение	Целевая последовательность	Антисмысловая 5'-3'	Смысловая 5'-3'	Оценка	Пик	Долина	Островок-AU	Островок-GC	Плато-AU	Плато-GC	Разность градиентов	Градиент_10-11
1625-1647	tcccaagtgtcatgaaggaaatg	UUUCCUUCAUGACACUUGGGA	CCAAGUGUCAUGAAGGAAAUG	12	3	4	4	2	0	0	-2	-1
1635-1657	catgaaggaaatgggacatttga	AAAUGUCCCAUUUCCUUCAUG	UGAAGGAAAUGGGACAUUUGA	9	1	3	3	2	1	0	-2	0
1639-1661	aaggaaatgggacatttgagtgt	ACUCAAAUGUCCCAUUUCCUU	GGAAAUGGGACAUUUGAGUGU	10	2	3	1	2	2	0	-1	-1
1674-1696	tgcaatgaaggcggtgttgtag	ACCAACACGCCCUCUUAUGCA	CAAUGAAGGGCGUGUUGGUAG	8	2	2	3	2	0	1	0	0
1683-1705	gggctgttgtagacattgtga	ACAAUGUCUACCAACACGCCC	GCGUGUUGGUAGACAUUGUGA	11	2	4	3	1	0	1	-1	-1
1685-1707	gcgtgttgtagacattgtgaat	UCACAAUGUCUACCAACACGC	GUGUUGGUAGACAUUGUGAAU	11	3	5	3	2	0	0	-1	1
1687-1709	gtgttgtagacattgtgaatgc	AUUCACAAUGUCUACCAACAC	GUUGGUAGACAUUGUGAAUGC	10	3	6	4	1	0	0	-3	1
1690-1712	ttgtagacattgtgaatgcagc	UGCAUUCACAAUGUCUACCAA	GGUAGACAUUGUGAAUGCAGC	10	2	4	4	2	0	0	-2	0
1700-1722	tgtgaatgcagcacagatgaag	UCAUCUGUGCUGCAUUCACAA	GUGAAUGCAGCACAGAUGAAG	8	4	5	3	2	0	0	-1	1
1701-1723	tgtgaatgcagcacagatgaagt	UUCAUCUGUGCUGCAUUCACA	UGAAUGCAGCACAGAUGAAGU	8	5	5	3	2	0	0	-1	0
1710-1732	agcacagatgaagttaacagtga	ACUGUUAACUUCAUCUGUGCU	CACAGAUGAAGUUAACAGUGA	11	4	6	2	1	1	0	-2	0
1712-1734	cacagatgaagttaacagtgaag	UCACUGUUAACUUCAUCUGUG	CAGAUGAAGUUAACAGUGAAG	11	4	8	2	0	1	0	-3	-1
1713-1735	acagatgaagttaacagtgaaga	UUCACUGUUAACUUCAUCUGU	AGAUGAAGUUAACAGUGAAGA	11	4	7	3	0	1	0	-4	0
1717-1739	atgaagttaacagtgaagcatg	UGUCUUCACUGUUAACUUCAU	GAAGUUAACAGUGAAGACAUG	11	3	7	3	0	1	0	-4	-1
1727-1749	cagtgaagacatggatgcttact	UAAGCAUCCAUGUCUUCACUG	GUGAAGACAUGGAUGCUUACU	12	3	5	4	2	0	0	-2	0
1729-1751	gtgaagacatggatgcttactgc	AGUAAGCAUCCAUGUCUUCAC	GAAGACAUGGAUGCUUACUGC	9	2	5	4	2	0	0	-2	0
1732-1754	aagacatggatgcttactgcagg	UGCAGUAAGCAUCCAUGUCUU	GACAUGGAUGCUUACUGCAGG	8	2	3	4	3	0	0	-1	1

Положение	Целевая последовательность	Антисмысловая 5'-3'	Смысловая 5'-3'	Оценка	Пик	Долина	Островок-AU	Островок-GC	Плато-AU	Плато-GC	Разность градиентов	Градиент_10-11
1751-1773	caggaaagaaaacagttcagaaa	UCUGAACUGUUUUCUUUCCUG	GGAAAGAAAACAGUUCAGAAA	13	3	6	2	1	1	0	-2	0
1756-1778	aagaaaacagttcagaaatctgc	AGAUUUCUGAACUGUUUUCUU	GAAAACAGUUCAGAAAUCUGC	9	2	6	2	0	2	0	-4	0
1765-1787	gttcagaaatctgcagtaacaat	UGUUACUGCAGAUUUCUGAAC	UCAGAAAUCUGCAGUAACAAU	11	3	6	2	1	1	0	-2	-1
1766-1788	ttcagaaatctgcagtaacaatg	UUGUUACUGCAGAUUUCUGAA	CAGAAAUCUGCAGUAACAAUG	10	3	5	3	1	1	0	-3	1
1770-1792	gaaatctgcagtaacaatggaga	UCCAUUGUUACUGCAGAUUUC	AAUCUGCAGUAACAAUGGAGA	10	2	4	2	2	1	0	-1	-1
1802-1824	cggacagtgtgtttgtaggaaga	UCCCUACAAACACACUGUCCG	GACAGUGUGUUUGUAGGAAGA	11	4	5	3	2	0	0	-1	-1
1804-1826	gacagtgtgtttgtaggaagagg	UCUCCUACAAACACACUGUC	CAGUGUGUUUGUAGGAAGAGG	11	4	7	3	1	0	0	-2	0
1813-1835	ttttaggaagagggataataca	UAUUAUCCCUUCUCCUACAAA	UGUAGGAAGAGGGAUAAUACA	9	1	2	3	2	1	0	-2	-1
1818-1840	aggaagagggataatacaaatga	AUUUGUAUUAUCCCUUCUCCU	GAAGAGGGAUAAUACAAAUGA	11	2	2	2	2	1	0	-1	0
1824-1846	agggataatacaaatgaaattta	AAUUUCAUUGUAUUAUCCCU	GGAUAAUACAAUUGAAUUUA	10	1	2	0	1	3	0	-2	-1
1850-1872	tggcaaattctgcgagtgtgata	UCACACUCGCAGAAUUUGCCA	GCAAUUCUGCGAGUGUGAUA	11	5	4	0	2	1	0	1	1
1851-1873	ggcaaattctgcgagtgtgataa	AUCACACUCGCAGAAUUUGCC	CAAAUUCUGCGAGUGUGAUA	9	4	4	1	2	1	0	0	0
1852-1874	gcaaattctgcgagtgtgataat	UAUCACACUCGCAGAAUUUGC	AAAUUCUGCGAGUGUGAUAU	8	4	4	1	2	1	0	0	0
1854-1876	aaattctgcgagtgtgataattt	AUUAUCACACUCGCAGAAUUU	AUUCUGCGAGUGUGAUAUUU	9	4	4	0	1	2	0	-1	1
1856-1878	attctgcgagtgtgataatttca	AAAUUAUCACACUCGCAGAAU	UCUGCGAGUGUGAUAUUUCA	10	4	4	1	1	1	0	-1	1
1859-1881	ctgcgagtgtgataatttcaact	UUGAAAUAUCACACUCGCAG	GCGAGUGUGAUAUUUCAACU	13	4	5	1	1	1	0	-1	-1
1861-1883	gcgagtgtgataatttcaactgt	AGUUGAAAUAUCACACUCGC	GAGUGUGAUAUUUCAACUGU	12	3	5	1	1	1	0	-1	0

Положение	Целевая последовательность	Антисмысловая 5'-3'	Смысловая 5'-3'	Оценка	Пик	Долина	Островок-AU	Островок-GC	Плато-AU	Плато-GC	Разность градиентов	Градиент_10-11
1863-1885	gagtgataatttcaactgtga	ACAGUUGAAAUAUCACACUC	GUGUGAUAAUUCAACUGUGA	11	4	7	1	0	1	0	-2	0
1865-1887	gtgtgataatttcaactgtgata	UCACAGUUGAAAUAUCACAC	GUGAUAAUUCAACUGUGAUA	11	4	7	1	0	1	0	-2	0
1867-1889	gtgataatttcaactgtgataga	UAUCACAGUUGAAAUAUCAC	GAUAAUUCAACUGUGAUAGA	9	3	6	2	0	1	0	-3	-1
1869-1891	gataatttcaactgtgatagatc	UCUAUCACAGUUGAAAUAUC	UAAUUCAACUGUGAUAGAUC	8	2	6	2	0	1	0	-3	1
1875-1897	ttcaactgtgatagatccaatgg	AUUGGAUCUAUCACAGUUGAA	CAACUGUGAUAGAUCCAAUGG	12	2	5	5	1	0	0	-4	0
1880-1902	ctgtgatagatccaatggcttaa	AAGCCAUUGGAUCUAUCACAG	GUGAUAGAUCCAAUGGCUUAA	12	2	4	4	2	0	0	-2	1
1881-1903	tgtgatagatccaatggcttaat	UAAGCCAUUGGAUCUAUCACA	UGAUAGAUCCAAUGGCUUAAU	9	2	3	4	2	0	0	-2	0
1882-1904	gtgatagatccaatggcttaatt	UUAAGCCAUUGGAUCUAUCAC	GAUAGAUCCAAUGGCUUAAUU	10	1	3	4	2	0	0	-2	-1
1884-1906	gatagatccaatggcttaatttg	AAUUAAGCCAUUGGAUCUAUC	UAGAUCCAAUGGCUUAAUUUG	11	0	2	3	2	1	0	-2	0
1885-1907	atagatccaatggcttaatttgt	AAAUUAAGCCAUUGGAUCUAU	AGAUCCAAUGGCUUAAUUUGU	9	0	1	3	2	1	0	-2	1
1890-1912	tccaatggcttaattgtggagg	UCCACAAAUAAGCCAUUGGA	CAAUGGCUUAAUUUGUGGAGG	13	2	1	1	3	1	0	1	0
1896-1918	ggcttaattgtggaggaaatgg	AUUUCCUCCACAAAUUAAGCC	CUUAAUUUGUGGAGGAAAUGG	11	2	1	1	3	1	0	1	-1
1906-1928	gtggaggaaatggtgtttgcaag	UGCAAACACCAUUUCCUCCAC	GGAGGAAAUGGUGUUUGCAAG	11	3	2	1	4	1	0	2	1
1907-1929	tggaggaaatggtgtttgcaagt	UUGCAAACACCAUUUCCUCCA	GAGGAAAUGGUGUUUGCAAGU	11	3	1	2	4	1	0	1	0
1909-1931	gaggaaatggtgtttgcaagtg	ACUUGCAAACACCAUUUCCUC	GGAAAUGGUGUUUGCAAGUGU	10	2	3	2	3	1	0	0	1
1911-1933	ggaaatggtgtttgcaagtgtcg	ACACUUGCAAACACCAUUUCC	AAAUGGUGUUUGCAAGUGUCG	10	2	3	2	3	1	0	0	0
1916-1938	tggtgtttgcaagtgtcgtgtgt	ACACGACACUUGCAAACACCA	GUGUUUGCAAGUGUCGUGUGU	11	5	4	2	3	0	0	1	0

Положение	Целевая последовательность	Антисмысловая 5'-3'	Смысловая 5'-3'	Оценка	Пик	Долина	Островок-AU	Островок-GC	Плато-AU	Плато-GC	Разность градиентов	Градиент_10-11
1922-1944	ttgcaagtgtcgtgtgtgtgagt	UCACACACACGACACUUGCAA	GCAAGUGUCGUGUGUGUGAGU	11	6	6	2	2	0	0	0	0
1939-1961	gtgagtgaaccccaactacact	UGUAGUUGGGGUUGCACUCAC	GAGUGCAACCCCAACUACACU	8	3	5	3	1	0	1	-1	0
1953-1975	aactacactggcagtgcatgtga	ACAUGCACUGCCAGUGUAGUU	CUACACUGGCAGUGCAUGUGA	8	4	5	3	2	0	0	-1	0
1962-1984	ggcagtgcatgtgactgttcttt	AGAACAGUCACAUGCACUGCC	CAGUGCAUGUGACUGUUCUUU	13	5	6	2	2	0	0	0	-1
1967-1989	tgcattgtgactgttctttggata	UCCAAAGAACAGUCACAUGCA	CAUGUGACUGUUCUUUGGAUA	11	4	5	3	2	0	0	-1	1
1969-1991	catgtgactgttctttggatact	UAUCCAAAGAACAGUCACAUG	UGUGACUGUUCUUUGGAUACU	11	3	6	4	1	0	0	-3	0
1971-1993	tgtgactgttctttggatactag	AGUAUCCAAAGAACAGUCACA	UGACUGUUCUUUGGAUACUAG	9	4	6	3	1	0	0	-2	-1
1972-1994	gtgactgttctttggatactagt	UAGUAUCCAAAGAACAGUCAC	GACUGUUCUUUGGAUACUAGU	10	3	6	4	1	0	0	-3	0
1974-1996	gactgttctttggatactagtac	ACUAGUAUCCAAAGAACAGUC	CUGUUCUUUGGAUACUAGUAC	10	2	6	4	1	0	0	-3	1
2002-2024	aagccagcaacggacagatctgc	AGAUCUGUCCGUUGCUGGCUU	GCCAGCAACGGACAGAUCUGC	8	3	3	3	3	0	0	0	0
2006-2028	cagcaacggacagatctgcaatg	UUGCAGAUCUGUCCGUUGCUG	GCAACGGACAGAUCUGCAAUG	10	4	4	3	3	0	0	0	-1
2007-2029	agcaacggacagatctgcaatgg	AUUGCAGAUCUGUCCGUUGCUG	CAACGGACAGAUCUGCAAUGG	11	4	3	3	3	0	0	0	1
2033-2055	gggcatctgcgagtggtgtgtct	ACACCACACUCGCAGAUCCCC	GCAUCUGCGAGUGUGGUGUCU	8	5	4	1	2	0	1	2	-1
2039-2061	ctgcgagtggtgtctgtaagt	UUACAGACACCACACUCGCAG	GCGAGUGUGGUGUCUGUAAGU	10	7	6	1	2	0	0	1	0
2041-2063	gcgagtggtgtctgtaagtgt	ACUUACAGACACCACACUCGC	GAGUGUGGUGUCUGUAAGUGU	10	6	6	1	2	0	0	1	1
2043-2065	gagtggtgtctgtaagtgtac	ACACUUACAGACACCACACUC	GUGUGGUGUCUGUAAGUGUAC	10	7	8	1	1	0	0	0	1
2054-2076	ctgtaagtgtacagatccgaagt	UUCGGAUCUGUACACUUACAG	GUAAGUGUACAGAUCCGAAGU	12	3	6	4	1	0	0	-3	1

Положение	Целевая последовательность	Антисмысловая 5'-3'	Смысловая 5'-3'	Оценка	Пик	Долина	Островок-AU	Островок-GC	Плато-AU	Плато-GC	Разность градиентов	Градиент_10-11
2058-2080	aagtgtacagatccgaagtttca	AAACUUCGGAUCUGUACACUU	GUGUACAGAUCCGAAGUUUCA	10	2	5	5	1	0	0	-4	0
2060-2082	gtgtacagatccgaagtttcaag	UGAAACUUCGGAUCUGUACAC	GUACAGAUCCGAAGUUUCAAG	9	2	6	4	1	0	0	-3	0
2073-2095	aagtttcaagggaacgtgtga	ACACGUUUGCCCUUGAAACUU	GUUUCAAGGGCAAACGUGUGA	8	1	3	4	1	0	1	-2	0
2080-2102	aagggcaaacgtgtgagatgtgt	ACAUCUCACACGUUUGCCCUU	GGGCAAACGUGUGAGAUGUGU	10	3	4	3	1	0	1	-1	-1
2082-2104	gggcaaacgtgtgagatgtgtca	ACACAUCUCACACGUUUGCCC	GCAAACGUGUGAGAUGUGUCA	8	4	5	2	1	0	1	0	-1
2084-2106	gcaaacgtgtgagatgtgtcaga	UGACACAUCUCACACGUUUGC	AAACGUGUGAGAUGUGUCAGA	11	5	6	2	2	0	0	0	-1
2117-2139	tgtctgtgctgagcataaagaat	UCUUUAUGCUCAGCACAGACA	UCUGUGCUGAGCAUAAAGAAU	9	6	5	0	2	1	0	1	-1
2118-2140	gtctgtgctgagcataaagaatg	UUCUUUAUGCUCAGCACAGAC	CUGUGCUGAGCAUAAAGAAUG	9	5	5	1	2	1	0	0	1
2123-2145	tgctgagcataaagaatgtgttc	ACACAUUCUUUAUGCUCAGCA	CUGAGCAUAAAGAAUGUGUUC	11	4	4	1	2	1	0	0	0
2126-2148	tgagcataaagaatgtgttcagt	UGAACACAUUCUUUAUGCUCU	AGCAUAAAGAAUGUGUUCAGU	10	3	5	2	1	1	0	-2	-1
2128-2150	agcataaagaatgtgttcagtc	ACUGAACACAUUCUUUAUGCUCU	CAUAAAGAAUGUGUUCAGUGC	11	3	5	2	1	1	0	-2	0
2142-2164	gttcagtcgagagccttcaataa	AUUGAAGGCUCUGCACUGAAC	UCAGUGCAGAGCCUCAAUAA	10	4	5	3	2	0	0	-1	-1
2143-2165	ttcagtcgagagccttcaataaa	UAUUGAAGGCUCUGCACUGAA	CAGUGCAGAGCCUCAAUAAA	10	4	4	3	2	0	0	-1	1
2145-2167	cagtcgagagccttcaataaagg	UUUAUUGAAGGCUCUGCACUG	GUGCAGAGCCUCAAUAAAGG	9	4	4	1	2	1	0	0	0
2150-2172	cagagccttcaataaaggagaaa	UCUCCUUUAUUGAAGGCUCUG	GAGCCUCAAUAAAGGAGAAA	12	3	4	1	2	1	0	0	0
2152-2174	gagccttcaataaaggagaaaag	UUUCUCCUUUAUUGAAGGCUC	GCCUCAAUAAAGGAGAAAAG	10	2	3	2	2	1	0	-1	0
2153-2175	agccttcaataaaggagaaaaga	UUUUCUCCUUUAUUGAAGGCU	CCUCAAUAAAGGAGAAAAGA	10	2	2	2	2	1	0	-1	0

Положение	Целевая последовательность	Антисмысловая 5'-3'	Смысловая 5'-3'	Оценка	Пик	Долина	Островок-AU	Островок-GC	Плато-AU	Плато-GC	Разность градиентов	Градиент_10-11
2163-2185	aaaggagaaaagaaagacacatg	UGUGUCUUUCUUUUCUCCUUU	AGGAGAAAAGAAAGACACAUG	9	3	5	2	1	1	0	-2	1
2164-2186	aaggagaaaagaaagacacatgc	AUGUGUCUUUCUUUUCUCCUU	GGAGAAAAGAAAGACACAUGC	10	3	5	3	1	1	0	-3	-1
2183-2205	atgcacacaggaatgttcctatt	UAGGAACAUCCUGUGUGCAU	GCACACAGGAAUGUCCUAUU	13	3	3	4	3	0	0	-1	-1
2184-2206	tgcacacaggaatgttcctattt	AUAGGAACAUCCUGUGUGCA	CACACAGGAAUGUCCUAUUU	13	4	3	3	3	0	0	0	0
2185-2207	gcacacaggaatgttcctatttt	AAUAGGAACAUCCUGUGUGC	ACACAGGAAUGUCCUAUUUU	11	3	3	3	3	0	0	0	0
2186-2208	cacacaggaatgttcctatttta	AAAUAGGAACAUCCUGUGUG	CACAGGAAUGUCCUAUUUUA	10	3	4	2	2	1	0	-1	1
2187-2209	acacaggaatgttcctattttaa	AAAAUAGGAACAUCCUGUGU	ACAGGAAUGUCCUAUUUUAA	13	3	3	2	2	1	0	-1	-1
2188-2210	cacaggaatgttcctattttaac	UAAAAUAGGAACAUCCUGUG	CAGGAAUGUCCUAUUUUAAAC	12	2	3	2	2	1	0	-1	0
2189-2211	acaggaatgttcctattttaaca	UUAAAAUAGGAACAUCCUGU	AGGAAUGUCCUAUUUUAAACA	10	2	2	2	2	1	0	-1	1
2194-2216	aatgttcctattttaacattacc	UAAUGUUAAAAUAGGAACAUU	UGUCCUAUUUUAAACAUAUACC	9	0	2	3	1	1	0	-3	0
2208-2230	aacattaccaaggtagaaagtcg	ACUUUCUACCUUGGUAAGUU	CAUUACCAAGGUAGAAAGUCG	8	0	3	4	2	1	0	-3	1
2218-2240	aggtagaaagtcgggacaaatta	AUUUGUCCCGACUUUCUACCU	GUAGAAAGUCGGGACAAAUUA	9	3	3	3	1	0	1	-1	1
2219-2241	ggtagaaagtcgggacaaattac	AAUUUGUCCCGACUUUCUACC	UAGAAAGUCGGGACAAAUUAC	8	2	3	2	1	1	1	-1	0
2220-2242	gtagaaagtcgggacaaattacc	UAAUUUGUCCCGACUUUCUAC	AGAAAGUCGGGACAAAUUACC	9	2	4	2	0	1	1	-2	0
2258-2280	tgatcctgtgtccattgtaagg	UUACAAUGGGACACAGGAUCA	AUCCUGUGUCCCAUUGUAAGG	8	4	4	3	2	0	0	-1	1
2267-2289	gtccattgtaaggagaaggatg	UCCUUCUCCUUACAAUGGGAC	CCCAUUGUAAGGAGAAGGAUG	11	2	3	3	3	0	0	0	0
2268-2290	tccattgtaaggagaaggatgt	AUCCUUCUCCUUACAAUGGGA	CCAUUGUAAGGAGAAGGAUGU	9	2	2	4	3	0	0	-1	1

Положение	Целевая последовательность	Антисмысловая 5'-3'	Смысловая 5'-3'	Оценка	Пик	Долина	Островок-AU	Островок-GC	Плато-AU	Плато-GC	Разность градиентов	Градиент_10-11
2278-2300	aggagaaggatgttgacgactgt	AGUCGUCAACAUCUUCUCCU	GAGAAGGAUGUUGACGACUGU	9	4	4	3	3	0	0	0	1
2280-2302	gagaaggatgttgacgactgttg	ACAGUCGUCAACAUCUUCUC	GAAGGAUGUUGACGACUGUUG	11	4	6	3	2	0	0	-1	0
2284-2306	aggatgttgacgactgttggttc	ACCAACAGUCGUCAACAUCU	GAUGUUGACGACUGUUGGUUC	10	4	4	3	3	0	0	0	0
2287-2309	atgttgacgactgttggttctat	AGAACCAACAGUCGUCAACAU	GUUGACGACUGUUGGUUCUAU	9	3	5	4	2	0	0	-2	-1
2289-2311	gttgacgactgttggttctattt	AUAGAACCAACAGUCGUCAAC	UGACGACUGUUGGUUCUAUUU	11	3	5	4	2	0	0	-2	-1
2290-2312	ttgacgactgttggttctatttt	AAUAGAACCAACAGUCGUCAA	GACGACUGUUGGUUCUAUUUU	14	3	4	4	2	0	0	-2	0
2291-2313	tgacgactgttggttctatttta	AAAUAGAACCAACAGUCGUCA	ACGACUGUUGGUUCUAUUUUA	10	4	4	2	2	1	0	-1	1
2292-2314	gacgactgttggttctattttac	AAAAUAGAACCAACAGUCGUC	CGACUGUUGGUUCUAUUUUAC	12	3	4	2	2	1	0	-1	0
2293-2315	acgactgttggttctattttacg	UAAAAUAGAACCAACAGUCGU	GACUGUUGGUUCUAUUUUACG	12	3	3	2	2	1	0	-1	-1
2297-2319	ctgttggttctattttacgtatt	UACGUAAAAUAGAACCAACAG	GUUGGUUCUAUUUUACGUAUU	13	1	3	3	2	1	0	-2	0
2301-2323	tgttctattttacgtattcagt	UGAAUACGUAAAAUAGAACCA	GUUCUAUUUUACGUAUUCAGU	9	1	2	1	2	2	0	-1	0
2312-2334	tacgtattcagtgaatgggaaca	UUCCCAUUCACUGAAUACGUA	CGUAUUCAGUGAAUGGGAACA	12	2	3	3	2	1	0	-2	-1
2318-2340	ttcagtgaatgggaacaacgagg	UCGUUGUCCCAUUCACUGAA	CAGUGAAUGGGAACAACGAGG	10	2	4	4	2	0	0	-2	0
2327-2349	tgggaacaacgaggtcatggttc	ACCAUGACCUCGUUGUCCCA	GGAACAACGAGGUCAUGGUUC	11	3	2	3	4	0	0	1	-1
2328-2350	gggaacaacgaggtcatggttca	AACCAUGACCUCGUUGUCCC	GAACAACGAGGUCAUGGUUCA	8	2	2	4	4	0	0	0	1
2330-2352	gaacaacgaggtcatggttcacg	UGAACCAUGACCUCGUUGUUC	ACAACGAGGUCAUGGUUCAUG	9	2	4	4	3	0	0	-1	-1
2331-2353	aacaacgaggtcatggttcacgt	AUGAACCAUGACCUCGUUGUU	CAACGAGGUCAUGGUUCAUGU	9	2	3	5	3	0	0	-2	1

Положение	Целевая последовательность	Антисмысловая 5'-3'	Смысловая 5'-3'	Оценка	Пик	Долина	Островок-AU	Островок-GC	Плато-AU	Плато-GC	Разность градиентов	Градиент_10-11
2336-2358	cgaggatcatggttcatgttggtg	ACAACAUGAACCAUGACCUCG	AGGUCAUGGUUCAUGUUGUGG	11	2	4	4	3	0	0	-1	-1
2372-2394	tcccactgggtccagacatcattc	AUGAUGUCUGGACCAGUGGGA	CCACUGGUCCAGACAUCAUUC	8	6	4	2	3	0	0	1	0
2379-2401	ggtccagacatcattccaattgt	AAUUGGAAUGAUGUCUGGACC	UCCAGACAUCAUCCAAUUGU	9	3	3	3	3	0	0	0	1
2381-2403	tccagacatcattccaattgttag	ACAAUUGGAAUGAUGUCUGGA	CAGACAUCAUCCAAUUGUAG	11	3	4	2	2	1	0	-1	0
2382-2404	ccagacatcattccaattgttagc	UACAAUUGGAAUGAUGUCUGG	AGACAUCAUCCAAUUGUAGC	12	2	4	3	2	1	0	-2	0
2385-2407	gacatcattccaattgttagctgg	AGCUACAAUUGGAAUGAUGUC	CAUCAUCCAAUUGUAGCUGG	11	1	4	3	2	1	0	-2	-1
2405-2427	tggtgtggttgctggaattgttc	ACAAUUCCAGCAACCACACCA	GUGUGGUUGCUGGAAUUGUUC	9	4	2	1	4	1	0	2	0
2406-2428	gggtgtggttgctggaattgttct	AACAAUUCCAGCAACCACACC	UGUGGUUGCUGGAAUUGUUCU	10	3	2	2	4	1	0	1	-1
2409-2431	gtggttgctggaattgttcttat	AAGAACAAUUCCAGCAACCAC	GGUUGCUGGAAUUGUUCUUAU	11	2	3	3	3	1	0	-1	-1
2410-2432	tggttgctggaattgttcttatt	UAAGAACAAUUCCAGCAACCA	GUUGCUGGAAUUGUUCUUAUU	12	2	2	3	3	1	0	-1	0
2422-2444	ttgttctattggccttgcat	AUGCAAGGCCAAUAAGAACAA	GUUCUUAUUGGCCUUGCAUUA	11	0	2	4	1	1	1	-3	1
2424-2446	gttcttattggccttgcat	UAAUGCAAGGCCAAUAAGAAC	UCUUAUUGGCCUUGCAUUAU	7	0	2	3	1	1	1	-2	0
2426-2448	tcttattggccttgcat	AGUAAUGCAAGGCCAAUAAGA	UUAUUGGCCUUGCAUUAU	8	1	2	1	1	2	1	-1	-1
2432-2454	tggccttgcat	AUCAGCAGUAAUGCAAGGCCA	GCCUUGCAUUAUUGCUGAUUAU	11	3	2	2	2	1	1	0	0
2433-2455	ggccttgcat	UAUCAGCAGUAAUGCAAGGCC	CCUUGCAUUAUUGCUGAUUAUG	10	2	2	2	2	1	1	0	0
2434-2456	gccttgcat	AUAUCAGCAGUAAUGCAAGGC	CUUGCAUUAUUGCUGAUUAUGG	10	2	2	2	3	1	0	0	1
2437-2459	ttgcattactgcat	UCCAUAUCAGCAGUAAUGCAA	GCAUUAUUGCUGAUUAUGGAAG	11	2	2	1	3	2	0	0	0

Положение	Целевая последовательность	Антисмысловая 5'-3'	Смысловая 5'-3'	Оценка	Пик	Долина	Островок-AU	Островок-GC	Плато-AU	Плато-GC	Разность градиентов	Градиент_10-11
2438-2460	tgccattactgctgatatggaagc	UUCCAUAUCAGCAGUAAUGCA	CAUUACUGCUGAUUAUGGAAGC	8	3	2	1	3	2	0	0	-1
2443-2465	tactgctgatatggaagctttta	AAAGCUUCCAUAUCAGCAGUA	CUGCUGAUUAUGGAAGCUUUUA	11	2	2	3	3	1	0	-1	0
2444-2466	actgctgatatggaagcttttaa	AAAAGCUUCCAUAUCAGCAGU	UGCUGAUUAUGGAAGCUUUUAA	10	3	2	2	3	1	0	0	1
2445-2467	ctgctgatatggaagctttta	UAAAAGCUUCCAUAUCAGCAG	GCUGAUUAUGGAAGCUUUUAAU	9	2	2	1	3	2	0	0	0
2446-2468_I-2	tgctgatatggaagctttta	UUAAAAGCUUCCAUAUCAGCA	CUGAUUAUGGAAGCUUUUAAUG	13	2	1	1	3	2	0	0	-1
2447-2469	gctgatatggaagctttta	AUUAAAAGCUUCCAUAUCAGC	UGAUUAUGGAAGCUUUUAAUGA	11	1	1	1	3	2	0	0	0
2449-2471	tgatggaagctttta	UCAUUAAAAGCUUCCAUAUCA	AUAUGGAAGCUUUUAAUGAUA	10	1	2	1	2	2	0	-1	0
2452-2474	tatggaagctttta	UUAUCAUUAAAAGCUUCCAUA	UGGAAGCUUUUAAUGAUAAUU	11	0	1	3	2	1	0	-2	0
2453-2475	atggaagctttta	AUUAUCAUUAAAAGCUUCCAUA	GGAAGCUUUUAAUGAUAAUUC	10	0	1	2	2	2	0	-2	0
2454-2476	tggaagctttta	AAUUAUCAUUAAAAGCUUCCA	GAAGCUUUUAAUGAUAAUUCA	9	1	1	1	2	2	0	-1	0
2476-2498	atgacagaaggagtttgctaaa	UAGCAAACUCCCUUCUGUCAU	GACAGAAGGGAGUUUGCUIAAA	12	3	4	4	2	0	0	-2	0
2477-2499	tgacagaaggagtttgctaaat	UUAGCAAACUCCCUUCUGUCA	ACAGAAGGGAGUUUGCUIAAAU	10	4	4	3	2	0	0	-1	-1
2478-2500	gacagaaggagtttgctaaatt	UUUAGCAAACUCCCUUCUGUC	CAGAAGGGAGUUUGCUIAAAUU	9	3	4	3	2	0	0	-1	1
2480-2502	cagaaggagtttgctaaatttg	AAUUUAGCAAACUCCCUUCUG	GAAGGGAGUUUGCUIAAAUUUG	13	2	3	2	2	1	0	-1	0
2483-2505	aaggagtttgctaaattgaaa	UCAAAUUUAGCAAACUCCCUU	GGGAGUUUGCUIAAAUUUGAAA	12	1	2	2	2	1	0	-1	0
2484-2506	aggagtttgctaaattgaaaa	UUCAAAUUUAGCAAACUCCCU	GGAGUUUGCUIAAAUUUGAAAA	15	2	2	2	2	1	0	-1	-1
2504-2526	aaaggagaaaatgaatgccaaat	UUGGCAUUCAUUUUCUCCUUU	AGGAGAAAAUGAAUGCCAAAU	11	1	2	3	2	1	0	-2	0

Положение	Целевая последовательность	Антисмысловая 5'-3'	Смысловая 5'-3'	Оценка	Пик	Долина	Островок-AU	Островок-GC	Плато-AU	Плато-GC	Разность градиентов	Градиент_10-11
2505-2527	aaggagaaaatgaatgccaatg	UUUGGCAUUCAUUUUCUCCUU	GGAGAAAAUGAAUGCCAAAUG	11	1	2	3	2	1	0	-2	1
2534-2556	gggtgaaaatcctattataaga	UUAUAAAUAGGAUUUUCACCC	GUGAAAAUCCUAUUUAUAAGA	10	1	1	0	2	2	0	0	0
2536-2558	gtgaaatcctattataagagt	UCUUAUAAAUAGGAUUUUCAC	GAAAAUCCUAUUUAUAAGAGU	11	1	3	0	1	2	0	-1	0
2547-2569	atttataagagtgccgtaacaac	UGUUACGGCACUCUUAUAAAU	UUAUAAGAGUGCCGUAACAAC	10	2	3	1	0	1	1	-1	-1
2559-2581	gccgtaacaactgtgtgtaatcc	AUUGACCACAGUUGUUACGGC	CGUAACAACUGUGGUCAAUCC	10	3	4	3	1	0	1	-1	-1
2564-2586	aacaactgtgtgtaatccgaagt	UUCGGAUUGACCACAGUUGUU	CAACUGUGGUCAAUCCGAAGU	11	3	4	4	2	0	0	-2	-1
2570-2592	tgtgtgtaatccgaagtatgagg	UCAUACUUCGGAUUGACCACA	UGGUCAAUCCGAAGUAUGAGG	9	3	4	3	2	0	0	-1	0
2577-2599	aatccgaagtatgagggaaaatg	UUUUCCCUCAUACUUCGGAU	UCCGAAGUAUGAGGGAAAAUG	9	1	2	4	2	0	0	-2	0
2578-2600	atccgaagtatgagggaaaatga	AUUUCCCUCAUACUUCGGAU	CCGAAGUAUGAGGGAAAAUGA	9	1	2	3	2	1	0	-2	1
2580-2602	ccgaagtatgagggaaaatgagt	UCAUUUCCCUCAUACUUCGG	GAAGUAUGAGGGAAAAUGAGU	12	1	3	2	2	1	0	-1	1
2583-2605	aagtatgagggaaaatgagtact	UACUCAUUUCCCUCAUACUU	GUAUGAGGGAAAAUGAGUACU	13	2	4	3	1	1	0	-3	-1
2597-2619	atgagtactgcccgtgcaaatcc	AUUUGCACGGGCAGUACUCAU	GAGUACUGCCCGUGCAAAUCC	8	3	3	3	1	0	1	-1	0
2606-2628	gcccgtgcaaatcccacaact	UGUUGUGGGAUUUGCACGGGC	CCGUGCAAAUCCCACAACACU	11	2	2	1	2	1	1	1	0
2608-2630	ccgtgcaaatcccacaactga	AGUGUUGUGGGAUUUGCACGG	GUGCAAAUCCCACAACACUGA	10	3	3	1	3	1	0	1	0
2611-2633	tgcaaatcccacaactgaatg	UUCAGUGUUGUGGGAUUUGCA	CAAAUCCCACAACACUGAAUG	9	4	4	2	2	1	0	-1	1
2612-2634	gcaaatcccacaactgaatgc	AUUCAGUGUUGUGGGAUUUGC	AAAUCCCACAACACUGAAUGC	10	3	4	2	2	1	0	-1	-1
2616-2638	atcccacaactgaatgcaaag	UUGCAUUCAGUGUUGUGGGAU	CCCACAACACUGAAUGCAAAG	10	3	4	4	2	0	0	-2	1

Положение	Целевая последовательность	Антисмысловая 5'-3'	Смысловая 5'-3'	Оценка	Пик	Долина	Островок-AU	Островок-GC	Плато-AU	Плато-GC	Разность градиентов	Градиент_10-11
2617-2639	tcccacaacactgaatgcaaagt	UUUGCAUUCAGUGUUGUGGGA	CCACAACACUGAAUGCAAAGU	13	4	4	3	2	0	0	-1	-1
2623-2645	aacactgaatgcaaagtagcaat	UGCUCUUUGCAUUCAGUGUU	CACUGAAUGCAAAGUAGCAAU	10	2	4	4	2	0	0	-2	0
2627-2649	ctgaatgcaaagtagcaatttcc	AAAUUGCUACUUUGCAUUCAG	GAAUGCAAAGUAGCAAUUUCC	9	1	3	3	2	1	0	-2	1
2631-2653	atgcaaagtagcaatttccatag	AUGGAAAUUGCUACUUUGCAU	GCAAAGUAGCAAUUUCCAUAUAG	11	0	1	4	3	1	0	-2	0
2636-2658	aagtagcaatttccatagtcaca	UGACUAUGGAAAUUGCUACUU	GUAGCAAUUUCCAUAUAGUCACA	13	1	3	3	2	1	0	-2	0
2640-2662	agcaatttccatagtcacagtta	ACUGUGACUAUGGAAAUUGCU	CAAUUUCCAUAUAGUCACAGUUA	11	4	4	1	2	1	0	0	0
2646-2668	ttccatagtcacagttaggtagc	UACCUAACUGUGACUAUGGAA	CCAUAGUCACAGUUAGGUAGC	12	3	4	4	2	0	0	-2	1
2651-2673	tagtcacagttaggtagctttag	AAAGCUACCUAACUGUGACUA	GUCACAGUUAGGUAGCUUUAG	11	3	4	4	2	0	0	-2	0
2652-2674	agtcacagttaggtagctttagg	UAAAGCUACCUAACUGUGACU	UCACAGUUAGGUAGCUUUAGG	10	4	4	3	2	0	0	-1	1
2661-2683	taggtagctttagggcaatattg	AUAUUGCCCUAAAGCUACCUA	GGUAGCUUUAGGGCAAUAUUG	9	0	0	2	2	2	1	-1	0
2662-2684	aggtagctttagggcaatattgc	AAUAUUGCCCUAAAGCUACCU	GUAGCUUUAGGGCAAUAUUGC	10	1	0	1	2	2	1	0	1
2666-2688	agctttagggcaatattgcatg	UGGCAAUAUUGCCCUAAAGCU	CUUUAGGGCAAUAUUGCCAUG	10	1	0	0	2	2	1	1	-1
2671-2693	tagggcaatattgcatggtttt	AACCAUGGCAAUAUUGCCCUA	GGGCAAUAUUGCCAUGGUUUU	11	0	0	3	2	1	1	-1	0
2672-2694	agggcaatattgcatggtttta	AAACCAUGGCAAUAUUGCCCU	GGCAAUAUUGCCAUGGUUUUA	11	1	0	2	2	1	1	0	1
2673-2695	gggcaatattgcatggttttac	AAAACCAUGGCAAUAUUGCCC	GCAAUAUUGCCAUGGUUUUAC	10	0	0	2	2	1	1	0	0
2674-2696	ggcaatattgcatggttttact	UAAAACCAUGGCAAUAUUGCC	CAAUAUUGCCAUGGUUUUACU	9	0	0	1	3	2	0	0	0
2676-2698	caatattgcatggttttactca	AGUAAAACCAUGGCAAUAUUG	AUAUUGCCAUGGUUUUACUCA	9	0	2	1	2	2	0	-1	0

Положение	Целевая последовательность	Антисмысловая 5'-3'	Смысловая 5'-3'	Оценка	Пик	Долина	Островок-AU	Островок-GC	Плато-AU	Плато-GC	Разность градиентов	Градиент_10-11
2681-2703	ttgccatggttttactcatgtgc	ACAUGAGUAAAACCAUGGCAA	GCCAUGGUUUUACUCAUGUGC	12	1	3	3	2	1	0	-2	0
2693-2715	tactcatgtgcaggttttgaaaa	UUCAAAACCUGCACAUGAGUA	CUCAUGUGCAGGUUUUGAAAA	12	3	4	3	2	1	0	-2	-1
2694-2716	actcatgtgcaggttttgaaat	UUUCAAACCUGCACAUGAGU	UCAUGUGCAGGUUUUGAAAAU	10	4	4	2	2	1	0	-1	1
2695-2717	ctcatgtgcaggttttgaaatg	UUUCAAACCUGCACAUGAG	CAUGUGCAGGUUUUGAAAAUG	10	3	4	2	2	1	0	-1	0
2696-2718	tcatgtgcaggttttgaaatgt	AUUUCAAACCUGCACAUGA	AUGUGCAGGUUUUGAAAAUGU	11	3	3	1	2	2	0	-1	-1
2825-2847	aaggtcacattgtgccttttga	AAAAAGGCACAAUGUGACCUU	GGUCACAUUGUGCCUUUUUGA	10	3	3	2	2	1	0	-1	1
2827-2849	ggtcacattgtgccttttgacc	UCAAAAAGGCACAAUGUGACC	UCACAUUGUGCCUUUUUGACC	12	3	4	1	2	1	0	0	1
2830-2852	cacattgtgccttttgacctt	AGGUCAAAAAGGCACAAUGUG	CAUUGUGCCUUUUUGACCUUU	13	3	4	1	2	1	0	0	-1
2845-2867	tgaccttttcttctggactatt	UAGUCCAGGAAGAAAAGGUCA	ACCUUUUCUCCUGGACUAUU	11	4	3	2	3	1	0	0	0
2846-2868	gaccttttcttctggactattg	AUAGUCCAGGAAGAAAAGGUC	CCUUUUCUCCUGGACUAUUG	9	3	3	2	3	1	0	0	1
2847-2869	accttttcttctggactattga	AAUAGUCCAGGAAGAAAAGGU	CUUUUUCUCCUGGACUAUUGA	9	3	2	2	3	1	0	0	0
2849-2871	cttttcttctggactattgaaa	UCAAUAGUCCAGGAAGAAAAG	UUUCUCCUGGACUAUUGAAA	9	2	4	1	2	2	0	-1	1
2850-2872	ttttcttctggactattgaaat	UUCAAUAGUCCAGGAAGAAAA	UUCUCCUGGACUAUUGAAAAU	8	2	3	2	2	2	0	-2	0
2852-2874	ttcttctggactattgaaatca	AUUUCAAUAGUCCAGGAAGAA	CUCCUGGACUAUUGAAAUCA	12	2	3	3	2	1	0	-2	1
2855-2877	ttcttggactattgaaatcaagc	UUGAUUUCAAUAGUCCAGGAA	CCUGGACUAUUGAAAUCAAGC	12	2	3	2	2	2	0	-2	0
2858-2880	ctggactattgaaatcaagctta	AGCUUGAUUUCAAUAGUCCAG	GGACUAUUGAAAUCAAGCUUA	11	2	4	1	2	2	0	-1	-1
2859-2881	tggactattgaaatcaagcttat	AAGCUUGAUUUCAAUAGUCCA	GACUAUUGAAAUCAAGCUUAU	11	2	3	2	2	2	0	-2	0

Положение	Целевая последовательность	Антисмысловая 5'-3'	Смысловая 5'-3'	Оценка	Пик	Долина	Островок-AU	Островок-GC	Плато-AU	Плато-GC	Разность градиентов	Градиент_10-11
2861-2883	gactattgaaatcaagcttattg	AUAAGCUUGAUUCAAUAGUC	CUAUUGAAAUCAAGCUUAUUG	9	1	4	2	1	2	0	-3	0
2866-2888	ttgaaatcaagcttattggatta	AUCCAAUAAGCUUGAUUCAA	GAAAUCAAGCUUAUUGGAUUA	10	0	2	3	2	2	0	-3	0
2868-2890	gaaatcaagcttattggattaag	UAAUCCAAUAAGCUUGAUUUC	AAUCAAGCUUAUUGGAUUAAG	8	0	2	2	2	2	0	-2	0
2871-2893	atcaagcttattggattaagtga	ACUUA AUCCAAUAAGCUUGAU	CAAGCUUAUUGGAUUAAGUGA	11	0	2	2	2	2	0	-2	0
2873-2895	caagcttattggattaagtata	UCACUUA AUCCAAUAAGCUUG	AGCUUAUUGGAUUAAGUGAUA	9	1	3	1	2	2	0	-1	0
2874-2896	aagcttattggattaagtatat	AUCACUUA AUCCAAUAAGCUU	GCUUAUUGGAUUAAGUGAUUAU	9	1	2	2	2	2	0	-2	-1
2875-2897	agcttattggattaagtatat	UAUCACUUA AUCCAAUAAGCU	CUUAUUGGAUUAAGUGAUUAU	10	2	2	1	2	2	0	-1	0
2881-2903	ttggattaagtatatattctata	UAGAAAUAUCACUUA AUCCAA	GGAUUAAGUGAUUAUUCUAUA	11	1	3	2	1	2	0	-3	1
2882-2904	tggattaagtatatattctatag	AUAGAAAUAUCACUUA AUCCA	GAUUAAGUGAUUAUUCUAUAG	11	2	3	1	1	2	0	-2	-1
2883-2905	ggattaagtatatattctatagc	UAUAGAAAUAUCACUUA AUCC	AUUAAGUGAUUAUUCUAUAGC	10	1	3	1	1	2	0	-2	0
2888-2910	aagtatatattctatagcgattg	AUCGCUAUAGAAAUAUCACUU	GUGAUUAUUCUAUAGCGAUUG	8	1	3	2	1	2	0	-3	1
2891-2913	tgatatattctatagcgattgaaa	UCAAUCGCUAUAGAAAUAUCA	AUAUUCUAUAGCGAUUGAAA	10	1	3	1	1	2	0	-2	0
2903-2925	agcgattgaaagggcaatagtta	ACUAUUGCCCUUCAAUCGCU	CGAUUGAAAGGGCAAUAGUUA	10	1	2	2	1	1	1	-1	1
2904-2926	gcgattgaaagggcaatagtaa	AACUAUUGCCCUUCAAUCGC	GAUUGAAAGGGCAAUAGUUA	12	0	2	3	1	1	1	-2	0
2912-2934	aagggcaatagttaaagtaata	AUUACUUUAACUAUUGCCCUU	GGGCAAUAGUUAAGUAAUGA	10	0	2	2	0	2	1	-3	-1
2914-2936	gggcaatagttaaagtaataagc	UCAUUACUUUAACUAUUGCCC	GCAAUAGUUAAGUAAUGAGC	11	0	3	0	0	3	1	-2	0
2920-2942	tagttaaagtaataagcatgatg	UCAUGCUCUAUACUUUAACUA	GUUAAAGUAAUGAGCAUGAUG	9	1	4	2	1	2	0	-3	0

Положение	Целевая последовательность	Антисмысловая 5'-3'	Смысловая 5'-3'	Оценка	Пик	Долина	Островок-AU	Островок-GC	Плато-AU	Плато-GC	Разность градиентов	Градиент_10-11
2927-2949	agtaatgagcatgatgagagttt	ACUCUCAUCAUGCUCUACU	UAAUGAGCAUGAUGAGAGUUU	11	4	6	2	1	1	0	-2	0
2931-2953	atgagcatgatgagagtttctgt	AGAAACUCUCAUCAUGCUCU	GAGCAUGAUGAGAGUUUCUGU	10	3	6	4	1	0	0	-3	1
2933-2955	gagcatgatgagagtttctgtta	ACAGAAACUCUCAUCAUGCUC	GCAUGAUGAGAGUUUCUGUUA	11	4	7	3	1	0	0	-2	1
2934-2956	agcatgatgagagtttctgttaa	AACAGAAACUCUCAUCAUGCU	CAUGAUGAGAGUUUCUGUAAA	13	4	6	4	1	0	0	-3	-1
2936-2958	catgatgagagtttctgttaatc	UUAACAGAAACUCUCAUCAUG	UGAUGAGAGUUUCUGUAAAUC	12	3	7	4	0	0	0	-4	-1
2937-2959	atgatgagagtttctgttaatca	AUUAACAGAAACUCUCAUCAU	GAUGAGAGUUUCUGUAAAUCA	11	3	6	3	0	1	0	-4	0
2939-2961	gatgagagtttctgttaatcatg	UGAUUAACAGAAACUCUCAUC	UGAGAGUUUCUGUAAAUCAUG	12	3	7	2	0	1	0	-3	1
2940-2962	atgagagtttctgttaatcatgt	AUGAUUAACAGAAACUCUCAU	GAGAGUUUCUGUAAAUCAUGU	11	3	6	3	0	1	0	-4	-1
2942-2964	gagagtttctgttaatcatgtat	ACAUGAUUAACAGAAACUCUC	GAGUUUCUGUAAAUCAUGUAU	12	3	7	2	0	1	0	-3	-1
2948-2970	ttctgttaatcatgtattaaaac	UUUAAUACAUGAUUAACAGAA	CUGUAAUCAUGUAUUAAAAC	10	1	4	2	0	2	0	-4	-1
2949-2971	tctgttaatcatgtattaaaact	UUUAAUACAUGAUUAACAGA	UGUAAUCAUGUAUUAAAACU	10	2	4	1	0	2	0	-3	0
2951-2973	tgtaatcatgtattaaaactga	AGUUUUAAUACAUGAUUAACA	UUAUCAUGUAUUAAAACUGA	9	1	4	1	0	2	0	-3	-1
2959-2981	atgtattaaaactgatttttagc	UAAAAAUCAGUUUUAAUACAU	GUAUUAAAACUGAUUUUUAGC	11	1	3	1	0	2	0	-3	1
2967-2989	aaactgatttttagctttacaaa	UGUAAAGCUAAAAAUCAGUUU	ACUGAUUUUUAGCUUUACAAA	11	1	3	1	1	2	0	-2	0
2968-2990	aactgatttttagctttacaaat	UUGUAAAGCUAAAAAUCAGUU	CUGAUUUUUAGCUUUACAAAU	12	1	3	2	1	2	0	-3	0
2969-2991	actgatttttagctttacaaata	UUUGUAAAGCUAAAAAUCAGU	UGAUUUUUAGCUUUACAAUA	11	2	3	1	1	2	0	-2	1
2972-2994	gatttttagctttacaaatatgt	AUAUUUGUAAAGCUAAAAAUC	UUUUUAGCUUUACAAUAUGU	9	0	2	0	1	3	0	-2	0

Положение	Целевая последовательность	Антисмысловая 5'-3'	Смысловая 5'-3'	Оценка	Пик	Долина	Островок-AU	Островок-GC	Плато-AU	Плато-GC	Разность градиентов	Градиент_10-11
2978-3000	tagctttacaaatatgtcagttt	ACUGACAUAUUUGUAAAGCUA	GCUUUACAAUAUGUCAGUUU	10	2	4	1	1	2	0	-2	0
2979-3001	agctttacaaatatgtcagtttg	AACUGACAUAUUUGUAAAGCU	CUUUACAAUAUGUCAGUUUG	10	3	4	1	1	2	0	-2	0
2987-3009	aaatatgtcagtttgagttatg	UAACUGCAAACUGACAUAUUU	AUAUGUCAGUUUGCAGUUAUG	9	3	4	2	1	1	0	-2	-1
2991-3013	atgtcagtttgagttatgcaga	UGCAUAACUGCAAACUGACA	GUCAGUUUGCAGUUAUGCAGA	11	3	4	2	2	1	0	-1	0
2993-3015	gtcagtttgagttatgcagaat	UCUGCAUAACUGCAAACUGAC	CAGUUUGCAGUUAUGCAGAAU	11	4	5	1	2	1	0	0	1
2994-3016	tcagtttgagttatgcagaatc	UUCUGCAUAACUGCAAACUGA	AGUUUGCAGUUAUGCAGAAUC	10	4	4	2	2	1	0	-1	-1
2995-3017	cagtttgagttatgcagaatcc	AUUCUGCAUAACUGCAAACUG	GUUUGCAGUUAUGCAGAAUCC	10	3	4	2	2	1	0	-1	0
3000-3022	tgcagttatgcagaatccaaagt	UUUGGAUUCUGCAUAACUGCA	CAGUUAUGCAGAAUCCAAAGU	12	3	2	2	3	1	0	0	-1
3002-3024	cagttatgcagaatccaaagtaa	ACUUUGGAUUCUGCAUAACUG	GUUAUGCAGAAUCCAAAGUAA	12	2	4	2	2	1	0	-1	-1
3003-3025	agttatgcagaatccaaagtaaa	UACUUUGGAUUCUGCAUAACU	UUAUGCAGAAUCCAAAGUAAA	12	2	3	3	2	1	0	-2	0
3004-3026	gttatgcagaatccaaagtaaat	UUACUUUGGAUUCUGCAUAAC	UAUGCAGAAUCCAAAGUAAAU	11	1	3	3	2	1	0	-2	0
3006-3028	tatgcagaatccaaagtaaatgt	AUUUACUUUGGAUUCUGCAUA	UGCAGAAUCCAAAGUAAAUGU	8	1	2	3	2	1	0	-2	0
3008-3030	tgcagaatccaaagtaaatgtcc	ACAUUUACUUUGGAUUCUGCA	CAGAAUCCAAAGUAAAUGUCC	12	2	3	2	2	1	0	-1	0
3023-3045	aaatgtctgtagtagttaag	UAACUAGCUAGCAGGACAUUU	AUGUCCUGCUAGCUAGUUAAG	11	2	2	3	3	1	0	-1	-1
3027-3049_I-3	gtcctgtagtagttaaggatt	UCCUUAACUAGCUAGCAGGAC	CCUGCUAGCUAGUUAAGGAUU	13	2	2	2	4	1	0	1	-1
3031-3053	tgtagtagttaaggattgttt	ACAAUCCUUAACUAGCUAGCA	CUAGCUAGUUAAGGAUUGUUU	11	1	2	3	3	1	0	-1	0
3033-3055	ctagtagttaaggattgtttta	AAACAAUCCUUAACUAGCUAG	AGCUAGUUAAGGAUUGUUUUA	12	0	3	4	2	1	0	-3	0

Положение	Целевая последовательность	Антисмысловая 5'-3'	Смысловая 5'-3'	Оценка	Пик	Долина	Островок-AU	Островок-GC	Плато-AU	Плато-GC	Разность градиентов	Градиент_10-11
3034-3056	tagctagttaaggattgttttaa	AAAACAAUCCUUAACUAGCUA	GCUAGUUAAGGAUUGUUUUA	12	0	2	4	2	1	0	-3	1
3035-3057	agctagttaaggattgtttaaa	UAAAACAAUCCUUAACUAGCU	CUAGUUAAGGAUUGUUUUA	12	1	2	2	2	2	0	-2	0
3037-3059	ctagttaaggattgttttaaatc	UUUAAAACAAUCCUUAACUAG	AGUUAAGGAUUGUUUUA	11	0	3	2	1	2	0	-3	0
3040-3062	gttaaggattgttttaaatctgt	AGAUUUAAAACAAUCCUUAAC	UAAGGAUUGUUUUA	10	0	3	1	1	2	0	-2	-1
3044-3066	aggattgttttaaatctgttatt	UACAGAUUUAAAACAAUCCU	GAUUGUUUUA	11	2	3	2	1	1	0	-2	0
3048-3070	ttgttttaaatctgttatttgc	AAAAUAACAGAUUUAAAACAA	GUUUUA	11	1	3	1	0	2	0	-3	1
3065-3087	tttgcatttgcctgtagaca	UCUAACAGGCAAAUAGCAAAA	UUGCUAUUUGCCUGUUAGACA	9	1	2	1	2	2	0	-1	1
3067-3089	ttgctatttgcctgtagacatg	UGUCUAACAGGCAAAUAGCAA	GCUAUUUUGCCUGUUAGACAUG	11	2	3	2	2	1	0	-1	0
3068-3090	tgctatttgcctgtagacatga	AUGUCUAACAGGCAAAUAGCA	CUAUUUUGCCUGUUAGACAUGA	9	3	3	2	2	1	0	-1	-1
3074-3096	ttgcctgtagacatgactgatg	UCAGUCAUGUCUAACAGGCAA	GCCUGUUAGACAUGACUGAUG	11	4	6	3	1	0	0	-2	-1
3075-3097	tgctgtagacatgactgatga	AUCAGUCAUGUCUAACAGGCA	CCUGUUAGACAUGACUGAUGA	9	5	6	3	1	0	0	-2	1
3077-3099	cctgtagacatgactgatgaca	UCAUCAGUCAUGUCUAACAGG	UGUUAGACAUGACUGAUGACA	11	4	7	3	1	0	0	-2	0
3082-3104	tagacatgactgatgacatatct	AUAUGUCAUCAGUCAUGUCUA	GACAUGACUGAUGACAUAUCU	8	4	7	4	0	0	0	-4	1
3084-3106	gacatgactgatgacatatctga	AGAUUAUGUCAUCAGUCAUGUC	CAUGACUGAUGACAUAUCUGA	10	4	8	2	0	1	0	-3	0
3086-3108	catgactgatgacatatctgaaa	UCAGAUUAUGUCAUCAGUCAUG	UGACUGAUGACAUAUCUGAAA	11	4	8	2	0	1	0	-3	-1
3087-3109	atgactgatgacatatctgaaag	UUCAGAUUAUGUCAUCAGUCAU	GACUGAUGACAUAUCUGAAAG	10	4	7	3	0	1	0	-4	1
3090-3112	actgatgacatatctgaaagaca	UCUUUCAGAUUAUGUCAUCAGU	UGAUGACAUAUCUGAAAGACA	11	4	7	2	0	1	0	-3	0

Положение	Целевая последовательность	Антисмысловая 5'-3'	Смысловая 5'-3'	Оценка	Пик	Долина	Островок-AU	Островок-GC	Плато-AU	Плато-GC	Разность градиентов	Градиент_10-11
3093-3115	gatgacatatctgaaagacaagt	UUGUCUUUCAGAU AUGUCAUC	UGACAU AUCUGAAAGACAAGU	11	3	7	3	0	1	0	-4	-1
3106-3128	aaagacaagtatgttgagagttg	ACUCUCAACAUACUUGUCUUU	AGACAAGUAUGUUGAGAGUUG	10	3	7	4	0	0	0	-4	0
3107-3129	aagacaagtatgttgagagttgc	AACUCUCAACAUACUUGUCUU	GACAAGUAUGUUGAGAGUUGC	9	3	7	5	0	0	0	-5	1
3116-3138	atgttgagagttgctggtgtaaa	UACACCAGCAACUCUCAACAU	GUUGAGAGUUGCUGGUGUAAA	12	4	5	4	2	0	0	-2	0
3118-3140	gttgagagttgctggtgtaaaat	UUUACACCAGCAACUCUCAAC	UGAGAGUUGCUGGUGUAAAAU	10	4	5	3	2	0	0	-1	0
3119-3141	ttgagagttgctggtgtaaaata	UUUUACACCAGCAACUCUCA	GAGAGUUGCUGGUGUAAAAUA	12	4	4	2	2	1	0	-1	-1
3120-3142	tgagagttgctggtgtaaaatac	AUUUUACACCAGCAACUCUCA	AGAGUUGCUGGUGUAAAAUAC	8	5	4	1	2	1	0	0	1
3121-3143	gagagttgctggtgtaaaatacg	UAUUUUACACCAGCAACUCUC	GAGUUGCUGGUGUAAAAUACG	9	4	4	1	2	1	0	0	0
3126-3148	ttgctggtgtaaaatacgtttga	AAACGUAUUUUACACCAGCAA	GCUGGUGUAAAAUACGUUUGA	11	2	1	2	3	1	0	0	0
3129-3151	ctggtgtaaaatacgtttgaaat	UUCAAACGUAUUUUACACCAG	GGUGUAAAAUACGUUUGAAAU	11	2	3	2	2	1	0	-1	0
3130-3152	tggtgtaaaatacgtttgaaata	UUUCAAAACGUAUUUUACACCA	GUGUAAAAUACGUUUGAAUA	12	2	2	2	2	1	0	-1	0
3132-3154	gtgtaaaatacgtttgaaatagt	UAUUUCAAAACGUAUUUUACAC	GUAAAAUACGUUUGAAAUAGU	10	1	3	1	1	2	0	-2	0
3135-3157	taaaatacgtttgaaatagtga	AACUAUUUCAAAACGUAUUUUA	AAAUACGUUUGAAAUAGUUGA	9	0	2	2	1	2	0	-3	0
3140-3162	tacgtttgaaatagtgtatctac	AGAUCAACUAUUUCAAAACGUA	CGUUUGAAAUAGUUGAUCUAC	11	0	4	4	1	1	0	-4	0
3144-3166	tttgaaatagttgatctacaaag	UUGUAGAUC AACUAUUUCAAA	UGAAAUAGUUGAUCUACAAAG	10	0	5	5	0	1	0	-6	0
3145-3167	ttgaaatagttgatctacaaagg	UUUGUAGAUC AACUAUUUCA	GAAAUAGUUGAUCUACAAAGG	11	0	5	5	0	1	0	-6	1
3157-3179	atctacaaaggccatgggaaaaa	UUUCCCAUGGCCUUUGUAGAU	CUACAAAGGCCAUGGGAAAAA	10	0	2	5	1	0	1	-3	0

Положение	Целевая последовательность	Антисмысловая 5'-3'	Смысловая 5'-3'	Оценка	Пик	Долина	Островок-AU	Островок-GC	Плато-AU	Плато-GC	Разность градиентов	Градиент_10-11
3159-3181	ctacaaaggccatgggaaaaatt	UUUUUCCCAUGGCCUUUGUAG	ACAAAGGCCAUGGGAAAAAUU	9	0	2	3	1	1	1	-2	-1
3167-3189	gccatgggaaaaattcagagagt	UCUCUGAAUUUUUCCCAUGGC	CAUGGGAAAAAUUCAGAGAGU	11	2	3	1	2	1	0	0	0
3170-3192	atgggaaaaattcagagagttag	AACUCUCUGAAUUUUUCCCAU	GGGAAAAAUUCAGAGAGUUAG	10	3	4	2	1	1	0	-2	0
3171-3193	tgggaaaaattcagagagttagg	UACUCUCUGAAUUUUUCCCA	GGAAAAAUUCAGAGAGUUAGG	11	4	4	1	1	1	0	-1	1
3180-3202	ttcagagagttaggaaggaaaaa	UUUCCUCCUAACUCUCUGAA	CAGAGAGUUAGGAAGGAAAAA	12	3	4	4	2	0	0	-2	0
3182-3204	cagagagttaggaaggaaaaacc	UUUUUCCUCCUAACUCUCUG	GAGAGUUAGGAAGGAAAAACC	9	3	4	2	2	1	0	-1	0
3186-3208	gagttaggaaggaaaaaccaata	UUGGUUUUCCUCCUAACUC	GUUAGGAAGGAAAAACCAUA	10	1	2	3	3	1	0	-1	0
3191-3213	aggaaggaaaaaccaatagcttt	AGCUAUUGGUUUUCCUCCU	GAAGGAAAAACCAAUAGCUUU	12	1	0	1	4	2	0	1	0
3193-3215	gaaggaaaaaccaatagctttaa	AAAGCUAUUGGUUUUCCUUC	AGGAAAAACCAAUAGCUUUA	10	0	1	2	3	2	0	-1	0
3195-3217	aggaaaaaccaatagctttaaaa	UUAAGCUAUUGGUUUUCCU	GAAAAACCAAUAGCUUUAAAA	11	1	0	0	3	3	0	0	0
3196-3218	ggaaaaaccaatagctttaaaac	UUUAAAGCUAUUGGUUUUCC	AAAAACCAAUAGCUUUAAAAC	12	0	0	0	3	3	0	0	0
3197-3219	gaaaaaccaatagctttaaaacc	UUUAAAGCUAUUGGUUUUUC	AAAACCAAUAGCUUUAAAACC	12	0	1	0	2	3	0	-1	0
3211-3233	tttaaacctgtgtgccatttta	AAAUGGCACACAGGUUUUAAA	UAAAACCUGUGGCCAUUUUA	7	3	2	1	2	1	0	0	-1
3212-3234	tttaaacctgtgtgccattttaa	AAAUGGCACACAGGUUUUAA	AAAACCUGUGUGGCCAUUUUA	10	3	2	0	2	2	0	0	1
3213-3235	taaacctgtgtgccattttaag	UAAAUGGCACACAGGUUUUA	AAACCUGUGUGGCCAUUUUAAG	12	3	2	0	2	2	0	0	-1
3214-3236	aaacctgtgtgccattttaaga	UUAAAAUGGCACACAGGUUUU	AACCUGUGUGGCCAUUUUAAGA	8	3	2	0	2	2	0	0	1
3216-3238	aacctgtgtgccattttaagagt	UCUUAAAAUGGCACACAGGUU	CCUGUGUGGCCAUUUUAAGAGU	10	3	3	1	2	1	0	0	0

Положение	Целевая последовательность	Антисмысловая 5'-3'	Смысловая 5'-3'	Оценка	Пик	Долина	Островок-AU	Островок-GC	Плато-AU	Плато-GC	Разность градиентов	Градиент_10-11
3223-3245	gtgccattttaagagttacttaa	AAGUAAACUCUUA AAAAUGGCAC	GCCAUUUUAAGAGUUACUUA	12	2	4	2	1	1	0	-2	0
3224-3246	tgccattttaagagttactta	UAAGUAAACUCUUA AAAAUGGCA	CCAUUUUAAGAGUUACUUAU	12	2	3	2	1	1	0	-2	1
3233-3255	aagagttacttaagtgttgtaa	ACCAAACAUA AAGUAACUCUU	GAGUUACUUA AUGUUUGGUA	11	1	4	3	1	1	0	-3	0
3235-3257	gagttacttaagtgttgtaact	UUACCAAACAUA AAGUAACUC	GUUACUUA AUGUUUGGUAACU	11	1	4	3	1	1	0	-3	0
3239-3261	tacttaagtgttgtaacttta	AAAGUUACCAAACAUA AAGUA	CUUAAUGUUUGGUAACUUUA	11	0	3	4	1	1	0	-4	0
3242-3264	ttaagtgttgtaactttatgc	AUAAAAGUUACCAAACAUA	AAUGUUUGGUAACUUUAUGC	10	0	2	2	1	2	0	-3	-1
3254-3276	aactttatgccttcactttaca	UAAAGUGAAGGCAU AAAAGUU	CUUUUAUGCCUUCACUUUACA	9	1	3	3	1	1	0	-3	0
3256-3278	ctttatgccttcactttacaaa	UGUAAAGUGAAGGCAU AAAAG	UUUAUGCCUUCACUUUACAAA	10	1	4	1	1	2	0	-2	0
3257-3279	ttttatgccttcactttacaat	UUGUAAAGUGAAGGCAU AAAA	UUAUGCCUUCACUUUACAAAU	11	1	3	2	1	2	0	-3	1
3261-3283	atgccttcactttacaattcaa	GAAUUUGUAAAGUGAAGGCAU	GCCUUCACUUUACAAAUUCA	10	1	3	2	1	2	0	-3	0
3262-3284	tgcccttcactttacaattcaag	UGAAUUUGUAAAGUGAAGGCA	CCUUCACUUUACAAAUUCAAG	12	2	4	1	1	2	0	-2	0
3263-3285	gccttcactttacaattcaagc	UUGAAUUUGUAAAGUGAAGGC	CUUCACUUUACAAAUUCAAGC	12	1	4	2	1	2	0	-3	0
3268-3290	cactttacaattcaagccttag	AAGGCUUGAAUUUGUAAAGUG	CUUUACAAAUUCAAGCCUAG	11	1	4	2	1	2	0	-3	0
3273-3295	tacaattcaagccttagataaa	UAUCUAAGGCUUGAAUUUGUA	CAAAUUCAAGCCUAGAUAAA	12	0	3	4	1	1	0	-4	1
3274-3296	acaaattcaagccttagataaaa	UUAUCUAAGGCUUGAAUUUGU	AAAUUCAAGCCUAGAUAAAA	9	1	3	3	1	1	0	-3	0
3275-3297	caaattcaagccttagataaaag	UUUAUCUAAGGCUUGAAUUUG	AAUUCAAGCCUAGAUAAAAG	9	0	3	2	1	2	0	-3	0
3276-3298	aaattcaagccttagataaaaga	UUUUAUCUAAGGCUUGAAUUU	AUUCAAGCCUAGAUAAAAGA	9	0	2	2	1	2	0	-3	-1

Положение	Целевая последовательность	Антисмысловая 5'-3'	Смысловая 5'-3'	Оценка	Пик	Долина	Островок-AU	Островок-GC	Плато-AU	Плато-GC	Разность градиентов	Градиент_10-11
3278-3300	attcaagccttagataaaagaac	UCUUUUAUCUAAGGCUUGAAU	UCAAGCCUUAGAUAAAAGAAC	11	0	3	3	1	1	0	-3	0
3279-3301	ttcaagccttagataaaagaacc	UUCUUUUAUCUAAGGCUUGAA	CAAGCCUUAGAUAAAAGAACC	11	0	3	4	1	1	0	-4	1
3288-3310	tagataaaagaaccgagcaattt	AUUGCUCGGUUCUUUUAUCUA	GAUAAAAGAACCGAGCAAUUU	11	1	2	3	2	1	0	-2	0
3291-3313	ataaaagaaccgagcaattttct	AAAAUUGCUCGGUUCUUUUAU	AAAAGAACCGAGCAAUUUUCU	9	1	1	1	2	2	0	-1	0
3298-3320	aaccgagcaattttctgctaaaa	UUAGCAGAAAAUUGCUCGGUU	CCGAGCAAUUUUCUGCUAAAA	13	2	1	2	3	1	0	0	0
3299-3321	accgagcaattttctgctaaaa	UUUAGCAGAAAAUUGCUCGGU	CGAGCAAUUUUCUGCUAAAAA	13	3	1	1	3	1	0	1	0
3300-3322	ccgagcaattttctgctaaaaag	UUUUAGCAGAAAAUUGCUCGG	GAGCAAUUUUCUGCUAAAAAG	10	2	1	0	3	2	0	1	0
3301-3323	cgagcaattttctgctaaaaagt	UUUUUAGCAGAAAAUUGCUCG	AGCAAUUUUCUGCUAAAAAGU	11	2	1	0	3	2	0	1	1
3310-3332	ttctgctaaaaagtccttgattt	AUCAAGGACUUUUUAGCAGAA	CUGCUAAAAAGUCCUUGAUUU	12	2	3	3	2	1	0	-2	0
3311-3333	tctgctaaaaagtccttgattta	AAUCAAGGACUUUUUAGCAGA	UGCUIAAAAGUCCUUGAUUUUA	10	3	3	2	2	1	0	-1	1
3312-3334	ctgctaaaaagtccttgatttag	AAAUCAAGGACUUUUUAGCAG	GCUIAAAAGUCCUUGAUUUAG	13	2	3	2	2	1	0	-1	-1
3313-3335	tgctaaaaagtccttgatttagc	UAAAUCAAGGACUUUUUAGCA	CUAAAAAGUCCUUGAUUUAGC	11	2	2	1	2	2	0	-1	1
3316-3338	taaaaagtccttgatttagcact	UGCUIAAAUCAAGGACUUUUUA	AAAAGUCCUUGAUUUAGCACU	11	1	2	1	2	2	0	-1	0
3319-3341	aaagtccttgatttagcactatt	UAGUGCUIAAAUCAAGGACUUU	AGUCCUUGAUUUAGCACUAUU	11	2	3	3	2	1	0	-2	0
3320-3342	aagtccttgatttagcactattt	AUAGUGCUIAAAUCAAGGACUU	GUCCUUGAUUUAGCACUAUUU	11	2	3	3	2	1	0	-2	0
3322-3344	gtccttgatttagcactatttac	AAAUAGUGCUIAAAUCAAGGAC	CCUUGAUUUAGCACUAUUUAC	12	2	3	1	2	2	0	-1	0
3323-3345	tccttgatttagcactatttaca	UAAAUAGUGCUIAAAUCAAGGA	CUUGAUUUAGCACUAUUUACA	10	2	2	1	2	2	0	-1	1

Положение	Целевая последовательность	Антисмысловая 5'-3'	Смысловая 5'-3'	Оценка	Пик	Долина	Островок-AU	Островок-GC	Плато-AU	Плато-GC	Разность градиентов	Градиент_10-11
3325-3347	cttgatttagcactatttacata	UGUAAAUAGUGCUGUAAAUCAAG	UGAUUUAGCACUAUUUACAUA	11	1	4	1	1	2	0	-2	-1
3327-3349	tgatttagcactatttacataca	UAUGUAAAUAGUGCUGUAAAUCA	AUUUAGCACUAUUUACAUAACA	10	2	3	1	1	2	0	-2	-1
3329-3351	atttagcactatttacatacagg	UGUAUGUAAAUAGUGCUGUAAAU	UUAGCACUAUUUACAUAACAGG	9	1	3	1	1	2	0	-2	0
3339-3361	atttacatacaggccatacttta	AAGUAUGGCCUGUAUGUAAAU	UUACAUACAGGCCAUACUUUA	8	1	3	3	0	1	1	-3	1
3341-3363	ttacatacaggccatactttaca	UAAAGUAUGGCCUGUAUGUAA	ACAUACAGGCCAUACUUUACA	8	1	3	4	0	0	1	-3	0
3348-3370	caggccatactttacaaagtatt	UACUUUGUAAAGUAUGGCCUG	GGCCAUACUUUACAAAGUAUU	12	1	4	3	0	1	1	-3	0
3349-3371	aggccatactttacaaagtattt	AUACUUUGUAAAGUAUGGCCU	GCCAUACUUUACAAAGUAUUU	12	1	3	3	0	1	1	-3	0
3350-3372	ggccatactttacaaagtatttg	AAUACUUUGUAAAGUAUGGCC	CCAUACUUUACAAAGUAUUUG	11	0	3	3	0	1	1	-3	0
3351-3373	gccatactttacaaagtatttgc	AAAUACUUUGUAAAGUAUGGC	CAUACUUUACAAAGUAUUUGC	9	0	3	2	1	2	0	-3	1
3369-3391	tttgctgaatggggaccttttga	AAAAGGUCCCCAUUCAGCAAA	UGCUGAAUGGGGACCUUUUGA	9	2	1	3	2	0	1	0	0
3371-3393	tgctgaatggggaccttttgagt	UCAAAAGGUCCCCAUUCAGCA	CUGAAUGGGGACCUUUUGAGU	9	3	2	1	2	1	1	1	0
3373-3395	ctgaatggggaccttttgagttg	ACUCAAAGGUCCCCAUUCAG	GAAUGGGGACCUUUUGAGUUG	9	3	4	1	1	1	1	0	1
3379-3401	ggggaccttttgagttgaattta	AAUUCAACUCAAAAGGUCCCC	GGACCUUUUGAGUUGAAUUUA	12	2	3	2	1	1	1	-1	1
3380-3402	gggaccttttgagttgaatttat	AAAUUCAACUCAAAAGGUCCC	GACCUUUUGAGUUGAAUUUAU	12	2	3	1	2	2	0	-1	-1
3381-3403	ggaccttttgagttgaatttatt	UAAAUUCAACUCAAAAGGUCC	ACCUUUUGAGUUGAAUUUAUU	10	2	3	1	2	2	0	-1	1
3382-3404	gaccttttgagttgaatttattt	AUAAAUUCAACUCAAAAGGUC	CCUUUUGAGUUGAAUUUAUUU	12	2	4	1	1	2	0	-2	-1
3383-3405	accttttgagttgaatttatttt	AAUAAAUUCAACUCAAAAGGU	CUUUUGAGUUGAAUUUAUUUU	13	2	3	1	1	2	0	-2	0

Положение	Целевая последовательность	Антисмысловая 5'-3'	Смысловая 5'-3'	Оценка	Пик	Долина	Островок-AU	Островок-GC	Плато-AU	Плато-GC	Разность градиентов	Градиент_10-11
3387-3409	tttgagttgaatttatttatta	AUAAAAUAAAUUCAACUAAA	UGAGUUGAAUUUAUUUUAUUA	10	1	3	2	0	1	0	-3	0
3389-3411	tgagttgaatttatttattatt	UAAUAAAAUAAAUUCAACUCA	AGUUGAAUUUAUUUUAUUUAU	11	2	3	1	0	1	0	-2	0
3430-3452	tggtgtcttctgtcacctcttct	AAGAGGUGACAGAAAGCACCA	GUGCUUUCUGUCACCUCUUCU	10	6	4	2	3	0	0	1	1
3432-3454	gtgcttctgtcacctcttctaa	AGAAGAGGUGACAGAAAGCAC	GCUUUCUGUCACCUCUUCUAA	12	5	6	2	2	0	0	0	1
3433-3455	tgcttctgtcacctcttcta	UAGAAGAGGUGACAGAAAGCA	CUUUCUGUCACCUCUUCUAAU	11	5	5	3	2	0	0	-1	-1
3434-3456	gcttctgtcacctcttcta	UUAGAAGAGGUGACAGAAAGC	UUUCUGUCACCUCUUCUAAUC	8	4	5	3	2	0	0	-1	1
3441-3463	gtcacctcttcta	UAAAAGAUUAGAAGAGGUGAC	CACCUCUUCUAAUCUUUUAU	12	3	5	1	1	2	0	-2	-1
3446-3468	ctcttcta	UACAUUAAAAGAUUAGAAGAG	CUUCUAAUCUUUUAUGUAU	11	1	5	2	0	2	0	-4	-1
3470-3492	gtttgcaattttgggtaagact	UCUUACCCCCAAAAUUGCAAAC	UUGCAAUUUUGGGGUAAGACU	9	0	2	2	1	1	1	-1	0
3472-3494	ttgcaattttgggtaagacttt	AGUCUUACCCCCAAAAUUGCAA	GCAAUUUUGGGGUAAGACUUU	11	1	2	2	1	1	1	-1	0
3473-3495	tgcaattttgggtaagactttt	AAGUCUUACCCCCAAAAUUGCA	CAAUUUUGGGGUAAGACUUUU	9	2	2	2	1	1	1	-1	0
3480-3502	ttgggtaagacttttttatga	AUAAAAAAGUCUUACCCCCAA	GGGGUAAGACUUUUUUUAUGA	11	1	2	2	0	1	1	-2	1
3481-3503	ttgggtaagacttttttatgag	CAUAAAAAAGUCUUACCCCCA	GGGUAAGACUUUUUUUAUGAG	10	2	2	1	0	1	1	-1	-1
3482-3504	gggtaagacttttttatgagt	UCAUAAAAAAGUCUUACCCCC	GGUAAGACUUUUUUUAUGAGU	13	1	3	1	0	1	1	-1	0
3487-3509	aagacttttttatgagtacttt	AGUACUCAUAAAAAAGUCUU	GACUUUUUUUAUGAGUACUUU	10	2	5	2	0	1	0	-3	0
3489-3511	gacttttttatgagtactttt	AAAGUACUCAUAAAAAAGUC	CUUUUUUUUAUGAGUACUUUU	11	2	5	2	0	1	0	-3	0
3497-3519	ttatgagtacttttcttgaag	UCAAGAAAAAGUACUCAUAA	AUGAGUACUUUUUCUUUGAAG	9	1	5	2	0	2	0	-4	0

Положение	Целевая последовательность	Антисмысловая 5'-3'	Смысловая 5'-3'	Оценка	Пик	Долина	Островок-AU	Островок-GC	Плато-AU	Плато-GC	Разность градиентов	Градиент_10-11
3498-3520	tatgagtactttttcttgaagt	UUCAAAGAAAAAGUACUCAUA	UGAGUACUUUUUCUUUGAAGU	11	1	5	4	0	1	0	-5	0
3501-3523	gagtactttttcttgaagtttt	AACUUCAAAGAAAAAGUACUC	GUACUUUUUCUUUGAAGUUUU	10	1	6	4	0	1	0	-5	1
3504-3526	tactttttcttgaagtttagc	UAAAACUUCAAAGAAAAAGUA	CUUUUUCUUUGAAGUUUUAGC	11	0	4	3	0	2	0	-5	0
3514-3536	ttgaagtttagcgggtcaatttg	AAUUGACCGCUAAAACUUCAA	GAAGUUUUAGCGGUCAAUUUG	10	1	3	3	0	1	1	-3	1
3523-3545	tagcgggtcaattgaccttttaa	AAAAAGGCAAAUUGACCGCUA	GCGGUCAAUUUGCCUUUUUAA	12	1	1	1	1	2	1	-1	0
3524-3546_I-4	agcgggtcaattgaccttttaaat	UAAAAAGGCAAAUUGACCGCU	CGGUCAAUUUGCCUUUUUAAU	13	2	1	0	1	2	1	0	0
3525-3547	gcgggtcaattgaccttttaatag	UUAAAAAGGCAAAUUGACCGC	GGUCAAUUUGCCUUUUUAAUG	12	1	1	0	1	2	1	0	1
3526-3548	cgggtcaattgaccttttaataga	AUUAAAAAGGCAAAUUGACCG	GUCAAUUUGCCUUUUUAAUGA	12	1	1	0	2	2	0	0	0
3528-3550	gtcaattgaccttttaataaac	UCAUUAAAAAGGCAAAUUGAC	CAAUUUGCCUUUUUAAUGAAC	13	1	3	0	1	2	0	-1	-1
3534-3556	ttgaccttttaataaacatgtga	ACAUGUUCAUUA AAAAGGCAA	GCCUUUUUAAUGAACAUGUGA	10	0	3	3	1	1	0	-3	0
3541-3563	tttaataaacatgtgaagtata	UAACUUCACAUGUUCAUUA AAA	UAAUGAACAUGUGAAGUUAUA	9	1	5	4	0	1	0	-5	0
3543-3565	taatgaacatgtgaagtatact	UAUAACUUCACAUGUUCAUUA	AUGAACAUGUGAAGUUAUACU	9	1	5	3	0	2	0	-5	-1
3556-3578	aagttatactgtggctatgaac	UGCAUAGCCACAGUAUAACUU	GUUAUACUGUGGCUAUGCAAC	11	2	3	2	2	1	0	-1	-1
3557-3579	agttatactgtggctatgaaca	UUGCAUAGCCACAGUAUAACU	UUAUACUGUGGCUAUGCAACA	7	3	3	2	2	1	0	-1	1
3559-3581	ttatactgtggctatgaacagc	UGUUGCAUAGCCACAGUAUAA	AUACUGUGGCUAUGCAACAGC	7	2	3	2	2	1	0	-1	0
3566-3588	gtggctatgaacagctctcacc	UGAGAGCUGUUGCAUAGCCAC	GGCUAUGCAACAGCUCUCACC	10	4	4	2	3	0	0	1	0
3581-3603	ctctcacctacgcgagtcttact	UAAGACUCGCGUAGGUGAGAG	CUCACCUACGCGAGUCUUACU	8	5	5	2	1	0	1	0	0

Положение	Целевая последовательность	Антисмысловая 5'-3'	Смысловая 5'-3'	Оценка	Пик	Долина	Островок-AU	Островок-GC	Плато-AU	Плато-GC	Разность градиентов	Градиент_10-11
3583-3605	ctcacctacgcgagtcttacttt	AGUAAGACUCGCGUAGGUGAG	CACCUACGCGAGUCUUACUUU	9	4	5	2	1	0	1	0	0
3585-3607	cacctacgcgagtcttactttga	AAAGUAAGACUCGCGUAGGUG	CCUACGCGAGUCUUACUUUGA	9	3	4	3	1	0	1	-1	1
3590-3612	acgcgagtcttactttgagttag	AACUCAAGUAAGACUCGCGU	GCGAGUCUUACUUUGAGUUAG	12	4	5	3	0	0	1	-2	0
3591-3613	cgcgagtcttactttgagttagt	UAAUCUAAAGUAAGACUCGCG	CGAGUCUUACUUUGAGUUAGU	11	3	5	3	0	0	1	-2	1
3600-3622	tactttgagttagtgccataaca	UUAUGGCACUAAACUCAAGUA	CUUUGAGUUAGUGCCAUAAACA	10	2	4	4	1	0	0	-3	0
3602-3624	ctttgagttagtgccataacaga	UGUUAUGGCACUAAACUCAAG	UUGAGUUAGUGCCAUAAACAGA	10	2	5	2	1	1	0	-2	-1
3604-3626	ttgagttagtgccataacagacc	UCUGUUAUGGCACUAAACUCAA	GAGUUAGUGCCAUAAACAGACC	8	3	5	2	1	1	0	-2	0
3615-3637	ccataacagaccactgtatgttt	ACAUACAGUGGUCUGUUAUGG	AUAACAGACCACUGUAUGUUU	10	4	5	1	2	1	0	0	0
3617-3639	ataacagaccactgtatgtttac	AAACAUACAGUGGUCUGUUAU	AACAGACCACUGUAUGUUUAC	10	4	5	2	1	1	0	-2	1
3618-3640	taacagaccactgtatgtttact	UAAACAUACAGUGGUCUGUUA	ACAGACCACUGUAUGUUUACU	11	4	5	3	1	0	0	-2	-1
3620-3642	acagaccactgtatgtttacttc	AGUAAACAUACAGUGGUCUGU	AGACCACUGUAUGUUUACUUC	10	5	6	1	1	1	0	-1	-1
3621-3643	cagaccactgtatgtttacttct	AAGUAAACAUACAGUGGUCUG	GACCACUGUAUGUUUACUUCU	13	4	6	2	1	1	0	-2	0
3623-3645	gaccactgtatgtttacttctca	AGAAGUAAACAUACAGUGGUC	CCACUGUAUGUUUACUUCUCA	10	3	6	2	1	1	0	-2	1
3649-3671	tttgagttgccatctgttttca	AAACAAGAUGGGCAACUCAA	UGAGUUGCCCAUCUUGUUUCA	8	1	4	5	0	0	1	-4	0
3655-3677	ttgccatctgtttcacactag	AGUGUGAAACAAGAUGGGCAA	GCCCAUCUUGUUUCACACUAG	10	2	5	4	0	0	1	-3	1
3656-3678	tgccatctgtttcacactagt	UAGUGUGAAACAAGAUGGGCA	CCCAUCUUGUUUCACACUAGU	11	3	5	4	0	0	1	-3	-1
3658-3680	cccacatctgtttcacactagtca	ACUAGUGUGAAACAAGAUGGG	CAUCUUGUUUCACACUAGUCA	11	2	6	4	1	0	0	-3	0

Положение	Целевая последовательность	Антисмысловая 5'-3'	Смысловая 5'-3'	Оценка	Пик	Долина	Островок-AU	Островок-GC	Плато-AU	Плато-GC	Разность градиентов	Градиент_10-11
3664-3686	ttgtttcacactagtcacattct	AAUGUGACUAGUGUGAAACAA	GUUUCACACUAGUCACAUUCU	11	4	7	4	0	0	0	-4	-1
3670-3692	cacactagtcacattctgtttt	AACAAGAAUGUGACUAGUGUG	CACUAGUCACAUUCUUGUUUU	11	4	8	4	0	0	0	-4	1
3672-3694_I-5	cactagtcacattctgttttaa	AAAACAAGAAUGUGACUAGUG	CUAGUCACAUUCUUGUUUUAA	14	3	7	4	0	0	0	-4	0
3673-3695	actagtcacattctgttttaag	UAAAACAAGAAUGUGACUAGU	UAGUCACAUUCUUGUUUUAAAG	10	3	6	3	0	1	0	-4	0
3676-3698	agtcacattctgttttaagtgc	ACUUAAAACAAGAAUGUGACU	UCACAUUCUUGUUUUAAAGUGC	11	3	6	2	0	1	0	-3	0
3683-3705	ttctgttttaagtgcttagt	UAAAGGCACUUAAAACAAGAA	CUUGUUUUAAGUGCCUUUAGU	9	1	3	3	1	1	0	-3	0
3695-3717	gtgccttagtttaacagttca	AACUGUUAAAACUAAAGGCAC	GCCUUUAGUUUUAACAGUUCA	11	2	4	1	1	2	0	-2	0
3696-3718	tgcttagtttaacagttcac	GAACUGUUAAAACUAAAGGCA	CCUUUAGUUUUAACAGUUCAC	8	2	3	1	1	2	0	-2	0
3697-3719	gccttagtttaacagttcact	UGAACUGUUAAAACUAAAGGC	CUUUAGUUUUAACAGUUCACU	11	1	4	1	1	2	0	-2	0
3702-3724	tagtttaacagttcactttta	AAAAGUGAACUGUUAAAACUA	GUUUUAACAGUUCACUUUUUA	9	2	5	3	0	1	0	-4	1
3703-3725	agtttaacagttcactttttac	AAAAAGUGAACUGUUAAAACU	UUUUAACAGUUCACUUUUUAC	10	3	5	1	0	2	0	-3	-1
3704-3726	gttttaacagttcacttttaca	UAAAAAGUGAACUGUUAAAAC	UUUAACAGUUCACUUUUUACA	11	2	5	1	0	2	0	-3	0
3706-3728	tttaacagttcactttttacagt	UGUAAAAAGUGAACUGUUAAA	UAAACAGUUCACUUUUUACAGU	12	2	5	1	0	2	0	-3	-1
3716-3738	cacttttacagtgctatttact	UAAAUAGCACUGUAAAAAGUG	CUUUUUACAGUGCUAUUUACU	11	3	4	0	1	2	0	-1	1
3720-3742	ttttacagtgctatttactgaag	UCAGUAAAUAGCACUGUAAAA	UUACAGUGCUAUUUACUGAAG	11	3	4	0	1	2	0	-1	-1
3725-3747	cagtgctatttactgaagtatt	UACUUCAGUAAAUAGCACUG	GUGCUAUUUACUGAAGUUAUU	11	3	5	2	1	1	0	-2	0
3727-3749	gtgctatttactgaagttattta	AAUAACUUCAGUAAAUAGCAC	GCUAUUUACUGAAGUUAUUUA	10	2	4	1	1	2	0	-2	-1

Положение	Целевая последовательность	Антисмысловая 5'-3'	Смысловая 5'-3'	Оценка	Пик	Долина	Островок-AU	Островок-GC	Плато-AU	Плато-GC	Разность градиентов	Градиент_10-11
3728-3750	tgctatttactgaagtatttat	AAAUAACUUCAGUAAAUAGCA	CUAUUUACUGAAGUUAUUUAU	9	2	3	1	1	2	0	-2	1
3745-3767	atttattaaatgcctaaaata	UUUUAGGCAUAAUUAAUAAAU	UUAUUAAAUAUGCCUAAAAUA	9	0	0	0	1	2	0	-1	0
3746-3768	tttattaaatgcctaaaatac	AUUUUAGGCAUAAUUAAUAAA	UAUUAAAUAUGCCUAAAAUAC	10	0	0	0	1	2	0	-1	0
3750-3772	ttaaatgcctaaaatacttaa	AAGUAUUUUAGGCAUAAUUAA	AAAUAUGCCUAAAAUACUAA	10	0	1	1	1	2	0	-2	-1
3758-3780	gcctaaaatacttaaatcggatg	UCCGAUUUAAGUAUUUUAGGC	CUAAAAUACUUAAAUCGGAUG	11	0	1	0	2	2	0	0	-1
3768-3790	cttaaatcggatgtcttgactct	AGUCAAGACAUCCGAUUAAG	UAAAUCGGAUGUCUUGACUCU	9	2	5	2	1	1	0	-2	0
3772-3794	aatcggatgtcttgactctgatg	UCAGAGUCAAGACAUCCGAUU	UCGGAUGUCUUGACUCUGAUG	10	4	6	3	1	0	0	-2	-1
3773-3795	atcggatgtcttgactctgatgt	AUCAGAGUCAAGACAUCCGAU	CGGAUGUCUUGACUCUGAUGU	12	4	6	4	1	0	0	-3	0
3775-3797	cggatgtcttgactctgatgtat	ACAUCAGAGUCAAGACAUCCG	GAUGUCUUGACUCUGAUGUAU	12	4	7	3	1	0	0	-2	-1
3776-3798	ggatgtcttgactctgatgtatt	UACAUCAGAGUCAAGACAUCC	AUGUCUUGACUCUGAUGUAUU	10	4	7	4	1	0	0	-3	1
3778-3800_I-6	atgtcttgactctgatgtat	AAUACAUCAGAGUCAAGACAU	GUCUUGACUCUGAUGUAUUUU	13	4	7	4	0	0	0	-4	1
3779-3801	tgtcttgactctgatgtat	AAAUACAUCAGAGUCAAGACA	UCUUGACUCUGAUGUAUUUUUA	11	5	7	2	0	1	0	-3	-1
3780-3802	gtcttgactctgatgtat	AAAAUACAUCAGAGUCAAGAC	CUUGACUCUGAUGUAUUUUUAU	11	4	7	2	0	1	0	-3	1
3781-3803	tcttgactctgatgtat	UAAAAUACAUCAGAGUCAAGA	UUGACUCUGAUGUAUUUUUAUC	10	4	6	2	0	1	0	-3	-1
3782-3804	cttgactctgatgtat	AUAAAAUACAUCAGAGUCAAG	UGACUCUGAUGUAUUUUUAUCA	10	3	6	2	0	1	0	-3	0
3784-3806	tgactctgatgtat	UGAUAAAAUACAUCAGAGUCA	ACUCUGAUGUAUUUUUAUCAGG	10	4	6	1	0	1	0	-2	-1
3787-3809	ctctgatgtat	ACCUGAUAAAAUACAUCAGAG	CUGAUGUAUUUUUAUCAGGUUG	11	3	5	1	1	1	0	-1	0

Положение	Целевая последовательность	Антисмысловая 5'-3'	Смысловая 5'-3'	Оценка	Пик	Долина	Островок-AU	Островок-GC	Плато-AU	Плато-GC	Разность градиентов	Градиент_10-11
3799-3821	ttatcaggttgtgtgcatgaaat	UUCAUGCACACAACCUGAUA	AUCAGGUUGUGUGCAUGAAAU	9	3	4	3	2	1	0	-2	-1
3800-3822	tatcaggttgtgtgcatgaaatt	UUUCAUGCACACAACCUGAUA	UCAGGUUGUGUGCAUGAAAUU	11	3	4	4	2	0	0	-2	1
3801-3823	atcaggttgtgtgcatgaaattt	AUUUCAUGCACACAACCUGAU	CAGGUUGUGUGCAUGAAAUUU	14	3	4	4	2	0	0	-2	-1
3802-3824	tcaggttgtgtgcatgaaatttt	AAUUUCAUGCACACAACCUGA	AGGUUGUGUGCAUGAAAUUUU	9	4	4	2	2	1	0	-1	1
3803-3825	caggttgtgtgcatgaaattttt	AAAUUCAUGCACACAACCUG	GGUUGUGUGCAUGAAAUUUUU	11	3	4	2	2	1	0	-1	0
3804-3826	aggttgtgtgcatgaaattttta	AAAAUUUCAUGCACACAACCU	GUUGUGUGCAUGAAAUUUUUA	12	3	3	2	2	1	0	-1	-1
3807-3829	ttgtgtgcatgaaatttttatag	AUAAAAAUUCAUGCACACAA	GUGUGCAUGAAAUUUUUAUAG	12	2	3	2	1	1	0	-2	-1
3808-3830	tgtgtgcatgaaatttttataga	UAUAAAAAUUCAUGCACACA	UGUGCAUGAAAUUUUUAUAGA	10	3	3	1	1	1	0	-1	0
3810-3832	tgtgcatgaaatttttatagatt	UCUAUAAAAAUUCAUGCACA	UGCAUGAAAUUUUUAUAGAUU	11	2	3	1	1	1	0	-1	0
3811-3833	gtgcatgaaatttttatagatta	AUCUAUAAAAAUUCAUGCAC	GCAUGAAAUUUUUAUAGAUUA	10	1	3	2	1	1	0	-2	0
3812-3834	tgcatgaaatttttatagattaa	AAUCUAUAAAAAUUCAUGCA	CAUGAAAUUUUUAUAGAUUAA	12	1	2	2	1	1	0	-2	0
3827-3849	tagattaaagaagttgaggaaaa	UCCUCAACUUCUUUAUCUA	GAUUAAGAAGUUGAGGAAAA	11	1	4	4	1	1	0	-4	0

ПРИЛОЖЕНИЕ Г

Таблица Г.1 – Ранжированная библиотека последовательностей малых интерферирующих РНК против мРНК гена CD47 человека

Положение	Целевая последовательность	Антисмысловая 5'-3'	Смысловая 5'-3'	Оценка	Пик	Долина	Островок-AU	Островок-GC	Плато-AU	Плато-GC	Разность градиентов	Градиент_10-11
224-246	gcggatcagctcagctactattt	AUAGUAGCUGAGCUGAUCCGC	GGAUCAGCUCAGCUACUAUUU	11	3	3	3	2	0	1	0	1
225-247	cggatcagctcagctactattta	AAUAGUAGCUGAGCUGAUCCG	GAUCAGCUCAGCUACUAUUUA	10	3	3	3	3	0	0	0	-1
227-249	gatcagctcagctactatttaaat	UAAAUAGUAGCUGAGCUGAUC	UCAGCUCAGCUACUAUUUAAU	11	3	4	2	2	1	0	-1	0
228-250	atcagctcagctactatttaata	UUAAAUAGUAGCUGAGCUGAU	CAGCUCAGCUACUAUUUAAUA	11	3	3	2	2	1	0	-1	-1
230-252	cagctcagctactatttaataaaa	UAUUAAAUAGUAGCUGAGCUG	GCUCAGCUACUAUUUAAUAAA	12	3	3	1	2	1	0	0	1
231-253	agctcagctactatttaataaaa	UUAUUAAAUAGUAGCUGAGCU	CUCAGCUACUAUUUAAUAAAA	12	3	2	1	2	1	0	0	-1
232-254	gctcagctactatttaataaaac	UUUAUUAAAUAGUAGCUGAGC	UCAGCUACUAUUUAAUAAAAC	10	2	2	1	2	1	0	0	0
233-255	ctcagctactatttaataaaaca	UUUUAUUAAAUAGUAGCUGAG	CAGCUACUAUUUAAUAAAACA	10	2	3	1	1	1	0	-1	0
260-282_C1	ctgtagaattcacgttttgaat	UACAAAACGUGAAUUCUACAG	GUAGAAUUCACGUUUUGUAAU	14	2	5	2	1	2	0	-3	-1
268-290	ttcacgttttgaatgacactgt	AGUGUCAUUACAAAACGUGAA	CACGUUUUGUAAUGACACUGU	11	3	5	1	1	2	0	-2	-1
270-292	cacgttttgaatgacactgtcg	ACAGUGUCAUUACAAAACGUG	CGUUUUGUAAUGACACUGUCG	11	4	6	0	1	2	0	-1	0
276-298	ttgtaatgacactgtcgtcattc	AUGACGACAGUGUCAUUACAA	GUAUGACACUGUCGUCAUUC	10	5	6	2	1	1	0	-2	1
277-299	tgtaatgacactgtcgtcattcc	AAUGACGACAGUGUCAUUACA	UAAUGACACUGUCGUCAUUC	10	6	6	1	1	1	0	-1	-1
280-302	aatgacactgtcgtcattccatg	UGGAAUGACGACAGUGUCAUU	UGACACUGUCGUCAUUCCAUG	8	5	5	2	2	0	0	0	1

281-303	atgacactgtcgctcattccatgc	AUGGAAUGACGACAGUGUCAU	GACACUGUCGUCAUUCCAUGC	11	5	5	3	2	0	0	-1	0
285-307	cactgtcgctcattccatgctttg	AAGCAUGGAAUGACGACAGUG	CUGUCGUCAUUCCAUGC UUUG	11	4	4	3	3	0	0	0	0
290-312	tcgtcattccatgctttgttact	UAACAAAGCAUGGAAUGACGA	GUCAUCCAUGC UUUGUUACU	13	2	2	4	3	0	0	-1	0
292-314	gtcattccatgctttgttactaa	AGUAACAAAGCAUGGAAUGAC	CAUCCAUGC UUUGUUACUAA	11	1	4	4	2	0	0	-2	0
296-318	ttccatgctttgttactaatatg	UAUUAGUAACAAAGCAUGGAA	CCAUGC UUUGUUACUAAUAUG	10	0	2	4	2	1	0	-3	1
297-319	tccatgctttgttactaatatgg	AUAUUAGUAACAAAGCAUGGA	CAUGC UUUGUUACUAAUAUGG	11	1	2	3	2	1	0	-2	-1
300-322	atgctttgttactaatatggagg	UCCAUAUUAGUAACAAAGCAU	GCUUUGUUACUAAUAUGGAGG	9	0	2	3	2	1	0	-2	1
309-331	tactaatatggaggcacaaaaca	UUUUGUGCCUCCAUAUUAGUA	CUAAUAUGGAGGCACAAAACA	11	2	2	2	2	1	0	-1	-1
311-333	ctaataatggaggcacaaacact	UGUUUUGUGCCUCCAUAUUAG	AAUAUGGAGGCACAAAACACU	7	2	3	0	2	2	0	0	0
319-341	gaggcacaaacactactgaagt	UUCAGUAGUGUUUUGUGCCUC	GGCACAAAACACUACUGAAGU	10	4	6	2	1	1	0	-2	1
321-343	ggcacaaacactactgaagtat	ACUUCAGUAGUGUUUUGUGCC	CACAAAACACUACUGAAGUAU	11	3	6	2	1	1	0	-2	1
322-344	gcacaaacactactgaagtata	UACUUCAGUAGUGUUUUGUGC	ACAAAACACUACUGAAGUAUA	11	3	6	3	1	1	0	-3	-1
323-345	cacaaacactactgaagtatac	AUACUUCAGUAGUGUUUUGUG	CAAAACACUACUGAAGUAUAC	10	3	7	3	0	1	0	-4	0
328-350	aacactactgaagtatacgtaaa	UACGUAUACUUCAGUAGUGUU	CACUACUGAAGUAUACGUAAA	12	2	5	4	1	1	0	-4	0
330-352	cactactgaagtatacgtaaagt	UUUACGUAUACUUCAGUAGUG	CUACUGAAGUAUACGUAAAGU	11	2	5	3	1	1	0	-3	-1
335-357	ctgaagtatacgtaaagtggaaa	UCCACUUUACGUAUACUUCAG	GAAGUAUACGUAAAGUGGAAA	12	2	4	1	2	2	0	-1	0
337-359	gaagtatacgtaaagtggaaatt	UUUCCACUUUACGUAUACUUC	AGUAUACGUAAAGUGGAAAUU	11	1	3	2	2	2	0	-2	0
338-360	aagtatacgtaaagtggaaattt	AUUUCCACUUUACGUAUACUU	GUUAUACGUAAAGUGGAAAUUU	10	1	2	2	2	2	0	-2	0
341-363	tatacgtaaagtggaaatttaaa	UAAAUUCCACUUUACGUUAUA	UACGUAAAGUGGAAAUUUAAA	10	1	1	0	2	3	0	-1	-1
342-364	atacgtaaagtggaaatttaaag	UUAAAUUCCACUUUACGUUAU	ACGUAAAGUGGAAAUUUAAAG	8	1	1	1	2	2	0	-1	1
343-365	tacgtaaagtggaaatttaaagg	UUUAAAUUCCACUUUACGUA	CGUAAAGUGGAAAUUUAAAGG	11	1	1	1	2	2	0	-1	0
349-371	aagtggaaatttaaaggaagaga	UCUUCUUUUAAAUUCCACUU	GUGGAAAUUUAAAGGAAGAGA	10	1	2	2	2	1	0	-1	0
351-373	gtggaaatttaaaggaagagata	UCUCUUCUUUUAAAUUCCAC	GGAAAUUUAAAGGAAGAGUA	11	2	3	1	2	1	0	0	0

352-374	tggaaatttaaaggaagagatat	AUCUCUUCCUUUAAAAUUUCCA	GAAAUUUAAAGGAAGAGAUAU	10	2	2	2	2	1	0	-1	0
353-375	ggaaatttaaaggaagagatat	UAUCUCUUCCUUUAAAAUUUCC	AAAUUUAAAGGAAGAGAUUU	10	1	2	2	2	1	0	-1	1
362-384	aaggaagagatatttacaccttt	AGGUGUAAAUAUCUCUUCCUU	GGAAGAGAUUUUACACCUUU	12	2	3	2	2	1	0	-1	0
363-385	aggaagagatatttacacctttg	AAGGUGUAAAUAUCUCUUCCU	GAAGAGAUUUUACACCUUUG	11	3	3	2	2	1	0	-1	0
364-386	ggaagagatatttacacctttga	AAAGGUGUAAAUAUCUCUUCC	AAGAGAUUUUACACCUUUGA	10	2	3	2	2	1	0	-1	0
366-388	aagagatatttacacctttgatg	UCAAAGGUGUAAAUAUCUCUU	GAGAUUUUACACCUUUGAUG	10	2	4	2	1	1	0	-2	0
376-398	tacacctttgatggagctctaaa	UAGAGCUCCAUCAAAGGUGUA	CACCUUUGAUGGAGCUCUAAA	12	3	3	4	3	0	0	-1	0
377-399	acacctttgatggagctctaaac	UUAGAGCUCCAUCAAAGGUGU	ACCUUUGAUGGAGCUCUAAAC	8	4	3	3	3	0	0	0	1
378-400	cacctttgatggagctctaaaca	UUUAGAGCUCCAUCAAAGGUG	CCUUUGAUGGAGCUCUAAACA	11	3	3	3	3	0	0	0	0
380-402	cctttgatggagctctaaacaag	UGUUUAGAGCUCCAUCAAAGG	UUUGAUGGAGCUCUAAACAAG	8	2	3	2	3	1	0	0	1
381-403	ctttgatggagctctaaacaagt	UUGUUUAGAGCUCCAUCAAAG	UUGAUGGAGCUCUAAACAAGU	8	2	4	3	2	1	0	-2	0
386-408	atggagctctaaacaagtcact	UGGACUUGUUUAGAGCUCCA	GGAGCUCUAAACAAGUCCACU	12	3	3	2	3	1	0	0	0
390-412	agctctaaacaagtcactgtcc	ACAGUGGACUUGUUUAGAGCU	CUCUAAACAAGUCCACUGUCC	11	5	5	1	2	1	0	0	0
402-424	gtccactgtccccactgacttta	AAGUCAGUGGGGACAGUGGAC	CCACUGUCCCCACUGACUUUA	9	7	6	1	1	0	1	1	0
403-425	tccactgtccccactgactttag	AAAGUCAGUGGGGACAGUGGA	CACUGUCCCCACUGACUUUAG	8	7	5	1	1	0	1	1	0
412-434	cccactgacttttagtagtgcaaa	UGCACUACUAAAGUCAGUGGG	CACUGACUUUAGUAGUGCAAA	12	4	5	1	2	1	0	0	0
414-436	cactgacttttagtagtgcaaaaa	UUUGCACUACUAAAGUCAGUG	CUGACUUUAGUAGUGCAAAAA	11	4	6	2	1	1	0	-2	1
416-438	ctgacttttagtagtgcaaaaatt	UUUUUGCACUACUAAAGUCAG	GACUUUAGUAGUGCAAAAAUU	11	3	5	1	1	2	0	-2	0
417-439	tgacttttagtagtgcaaaaattg	AUUUUUGCACUACUAAAGUCA	ACUUUAGUAGUGCAAAAAUUG	9	3	4	1	1	2	0	-2	1
418-440	gacttttagtagtgcaaaaattga	AAUUUUUGCACUACUAAAGUC	CUUUAGUAGUGCAAAAAUUGA	11	2	4	1	1	2	0	-2	-1
420-442	cttttagtagtgcaaaaattgaag	UCAAUUUUUGCACUACUAAAG	UUAGUAGUGCAAAAAUUGAAG	10	1	4	1	1	2	0	-2	0
423-445	tagtagtgcaaaaattgaagtct	ACUUCAAUUUUUGCACUACUA	GUAGUGCAAAAAUUGAAGUCU	11	1	4	3	1	1	0	-3	0
429-451	tgcaaaaattgaagtctcacaat	UGUGAGACUUCAAUUUUUGCA	CAAAAAUUGAAGUCUCACAAU	12	4	5	1	1	1	0	-1	-1

433-455	aaaattgaagcttcacaattact	UAAUUGUGAGACUUCAAUUUU	AAUUGAAGUCUCACAAUUACU	9	3	5	1	0	2	0	-3	1
436-458	attgaagcttcacaattactaaa	UAGUAAUUGUGAGACUUCAAU	UGAAGUCUCACAAUUACUAAA	13	3	6	3	0	1	0	-4	-1
437-459	ttgaagcttcacaattactaaaa	UUAGUAAUUGUGAGACUUCAA	GAAGUCUCACAAUUACUAAAA	13	3	6	3	0	1	0	-4	1
439-461	gaagcttcacaattactaaaagg	UUUUAGUAAUUGUGAGACUUC	AGUCUCACAAUUACUAAAAGG	10	3	6	1	0	2	0	-3	0
442-464	gtctcacaattactaaaaggaga	UCCUUUUAGUAAUUGUGAGAC	CUCACAAUUACUAAAAGGAGA	11	3	5	0	1	2	0	-1	0
444-466	ctcacaattactaaaaggagatg	UCUCCUUUUAGUAAUUGUGAG	CACAAUUACUAAAAGGAGAUG	11	3	5	0	1	2	0	-1	-1
453-475	actaaaaggagatgcctctttga	AAAGAGGCAUCUCCUUUUAGU	UAAAAGGAGAUGCCUCUUUGA	10	3	3	2	2	1	0	-1	-1
455-477	taaaaggagatgcctctttgaag	UCAAAGAGGCAUCUCCUUUUA	AAAGGAGAUGCCUCUUUGAAG	10	2	3	2	2	1	0	-1	1
456-478	aaaaggagatgcctctttgaaga	UUCAAAGAGGCAUCUCCUUUU	AAGGAGAUGCCUCUUUGAAGA	8	2	3	3	2	1	0	-2	0
464-486	atgcctctttgaagatggataag	UAUCCAUCUUCAAAGAGGCAU	GCCUCUUUGAAGAUGGAUAAG	12	1	3	5	2	0	0	-3	-1
465-487	tgctctttgaagatggataaga	UUAUCCAUCUUCAAAGAGGCA	CCUCUUUGAAGAUGGAUAAGA	11	2	3	4	2	0	0	-2	0
471-493	tttgaagatggataagagtgtg	UCACUCUUAUCCAUCUUCAAA	UGAAGAUGGAUAAGAGUGAUG	11	2	5	3	1	1	0	-3	-1
472-494	ttgaagatggataagagtgtg	AUCACUCUUAUCCAUCUUCAA	GAAGAUGGAUAAGAGUGAUGC	10	2	5	4	1	1	0	-4	0
475-497	aagatggataagagtgtgctgt	AGCAUCACUCUUAUCCAUCUU	GAUGGAUAAGAGUGAUGCUGU	10	2	4	3	2	1	0	-2	1
481-503	gataagagtgtgctgtctcaca	UGAGACAGCAUCACUCUUAUC	UAAGAGUGAUGCUGUCUCACA	11	5	7	1	1	1	0	-1	0
483-505	taagagtgtgctgtctcacaca	UGUGAGACAGCAUCACUCUUA	AGAGUGAUGCUGUCUCACACA	10	6	7	2	1	0	0	-1	0
487-509	agtgtgtgctgtctcacacacagg	UGUGUGUGAGACAGCAUCACU	UGAUGCUGUCUCACACACAGG	10	8	8	1	1	0	0	0	1
491-513	atgtgtgtctcacacaggaac	UUCCUGUGUGUGAGACAGCAU	GCUGUCUCACACACAGGAAAC	10	7	6	2	2	0	0	0	1
492-514	tgctgtctcacacaggaact	UUUCCUGUGUGUGAGACAGCA	CUGUCUCACACACAGGAAACU	11	8	6	1	2	0	0	1	-1
494-516	ctgtctcacacaggaactac	AGUUUCCUGUGUGUGAGACAG	GUCUCACACACAGGAAACUAC	10	7	8	1	1	0	0	0	-1
496-518	gtctcacacaggaactacac	GUAGUUUCCUGUGUGUGAGAC	CUCACACACAGGAAACUACAC	9	6	7	2	1	0	0	-1	-1
497-519	tctcacacaggaactacact	UGUAGUUUCCUGUGUGUGAGA	UCACACACAGGAAACUACACU	8	6	7	2	1	0	0	-1	1
500-522	cacacacaggaactacacttgt	AAGUGUAGUUUCCUGUGUGUG	CACACAGGAAACUACACUUGU	11	5	7	3	1	0	0	-2	0

502-524	cacacaggaaactacactgtga	ACAAGUGUAGUUUCCUGUGUG	CACAGGAAACUACACUUGUGA	10	4	7	3	1	0	0	-2	1
507-529	aggaaactacactgtgaagtaa	ACUUCACAAGUGUAGUUUCCU	GAAACUACACUUGUGAAGUAA	11	3	6	4	1	0	0	-3	1
508-530	ggaaactacactgtgaagtaac	UACUUCACAAGUGUAGUUUCC	AAACUACACUUGUGAAGUAAC	11	2	6	5	1	0	0	-4	-1
511-533	aactacactgtgaagtaacaga	UGUUACUUCACAAGUGUAGUU	CUACACUUGUGAAGUAACAGA	12	2	7	5	0	0	0	-5	-1
513-535	ctacactgtgaagtaacagaat	UCUGUUACUUCACAAGUGUAG	ACACUUGUGAAGUAACAGAAU	11	3	8	4	0	0	0	-4	-1
514-536	tacactgtgaagtaacagaatt	UUCUGUUACUUCACAAGUGUA	CACUUGUGAAGUAACAGAAUU	12	3	7	5	0	0	0	-5	0
516-538	cactgtgaagtaacagaattaa	AAUUCUGUUACUUCACAAGUG	CUUGUGAAGUAACAGAAUUA	12	3	7	4	0	0	0	-4	-1
517-539	actgtgaagtaacagaattaa	UAAUUCUGUUACUUCACAAGU	UUGUGAAGUAACAGAAUUAAC	10	3	6	3	0	1	0	-4	0
521-543	gtgaagtaacagaattaaaccaga	UGGUUAAUUCUGUUACUUCAC	GAAGUAACAGAAUUAACCAGA	12	2	5	2	1	1	0	-2	1
525-547	agtaacagaattaaaccagagaag	UCUCUGGUUAAUUCUGUUACU	UAACAGAAUUAACCAGAGAAG	11	4	5	1	1	1	0	-1	0
533-555	aattaaaccagagaaggtgaaacg	UUUCACCUUCUCUGGUUAAUU	UUAACCAGAGAAGGUGAAACG	9	3	3	2	2	1	0	-1	1
537-559	aaccagagaaggtgaaacgatca	AUCGUUUCACCUUCUCUGGUU	CCAGAGAAGGUGAAACGAUCA	10	3	3	4	3	0	0	-1	0
538-560	accagagaaggtgaaacgatcat	GAUCGUUUCACCUUCUCUGGU	CAGAGAAGGUGAAACGAUCAU	8	4	3	3	3	0	0	0	-1
539-561	ccagagaaggtgaaacgatcatc	UGAUCGUUUCACCUUCUCUGG	AGAGAAGGUGAAACGAUCAUC	10	3	4	3	3	0	0	0	1
540-562	cagagaaggtgaaacgatcatcg	AUGAUCGUUUCACCUUCUCUG	GAGAAGGUGAAACGAUCAUCG	11	3	5	4	2	0	0	-2	-1
546-568	aggtgaaacgatcatcgagctaa	AGCUCGAUGAUCGUUUCACCU	GUGAAACGAUCAUCGAGCUAA	12	3	2	3	4	0	0	1	0
548-570	gtgaaacgatcatcgagctaaaa	UUAGCUCGAUGAUCGUUUCAC	GAAACGAUCAUCGAGCUAAAA	12	2	3	4	3	0	0	-1	-1
549-571	tgaaacgatcatcgagctaaaat	UUUAGCUCGAUGAUCGUUUCA	AAACGAUCAUCGAGCUAAAAU	11	2	2	4	3	0	0	-1	0
550-572	gaaacgatcatcgagctaaaata	UUUUAGCUCGAUGAUCGUUUC	AACGAUCAUCGAGCUAAAAUA	8	1	2	3	3	1	0	-1	1
551-573	aaacgatcatcgagctaaaatat	AUUUUAGCUCGAUGAUCGUUU	ACGAUCAUCGAGCUAAAAUAU	11	1	1	3	3	1	0	-1	0
552-574	aacgatcatcgagctaaaatc	UAUUUUAGCUCGAUGAUCGUU	CGAUCAUCGAGCUAAAAUAUC	12	1	1	3	3	1	0	-1	-1
553-575	acgatcatcgagctaaaatcgc	AUAUUUUAGCUCGAUGAUCGU	GAUCAUCGAGCUAAAAUAUCG	8	2	1	2	3	1	0	0	1
556-578	atcatcgagctaaaatcgtgt	ACGAUAUUUUAGCUCGAUGAU	CAUCGAGCUAAAAUAUCGUGU	11	1	1	2	3	1	0	0	0

559-581	atcgagctaaaatcgtgtgtgt	AACACGAUAUUUUAGCUCGAU	CGAGCUAAAAUAUCGUGUUGU	10	2	1	2	3	1	0	0	0
561-583	cgagctaaaatcgtgtgtgtt	ACAACACGAUAUUUUAGCUCG	AGCUAAAAUAUCGUGUUGUUU	11	2	2	1	3	1	0	1	0
562-584	gagctaaaatcgtgtgtgttc	AACAACACGAUAUUUUAGCUC	GCUAAAAUAUCGUGUUGUUUC	11	2	3	2	2	1	0	-1	0
563-585	agctaaaatcgtgtgtgttca	AAACAACACGAUAUUUUAGCU	CUAAAAUAUCGUGUUGUUUCA	9	2	2	2	2	1	0	-1	1
565-587	ctaaaatcgtgtgtgttcatg	UGAAACAACACGAUAUUUUAG	AAAAUAUCGUGUUGUUUCAUG	10	1	4	2	1	1	0	-2	-1
572-594	atcgtgtgtttcatggttttct	AAAACCAUGAAACAACACGAU	CGUGUUGUUUCAUGGUUUUCU	11	1	3	5	2	0	0	-3	0
582-604	ttcatggttttctccaatgaaa	UCAUUUGGAGAAAACCAUGAA	CAUGGUUUUCUCCAAAUGAAA	11	1	3	2	2	2	0	-2	1
583-605	tcatggttttctccaatgaaaa	UUCAUUUGGAGAAAACCAUGA	AUGGUUUUCUCCAAAUGAAAA	12	2	3	2	2	2	0	-2	-1
586-608	tggttttctccaatgaaaatat	AUUUUCAUUUGGAGAAAACCA	GUUUUCUCCAAAUGAAAAUAU	11	2	2	0	2	3	0	-1	-1
595-617	ccaatgaaaatattcttattgt	AAUAAGAAUAUUUUCAUUUGG	AAAUGAAAAUAUUCUUAUUGU	9	0	2	0	1	3	0	-2	0
598-620	aatgaaaatattcttattgtat	AACAAUAAGAAUAUUUUCAUU	UGAAAAUAUUCUUAUUGUUAU	9	0	3	2	0	2	0	-4	0
600-622	tgaaaatattcttattgtattt	AUAACAAUAAGAAUAUUUUCA	AAAAUAUUCUUAUUGUUAUUU	11	1	3	1	0	2	0	-3	-1
612-634	tattgtattttccaaatttttg	AAAAUUGGGAAAAUAACAAUA	UUGUUAUUUCCCAAUUUUUG	9	0	1	0	1	3	0	-2	0
624-646	cccaatttttctatactctgt	AGGAGUAUAGCAAAAAUUGGG	CAAUUUUUGCUAUACUCCUGU	10	1	1	0	3	2	0	1	0
640-662	ctcctgttctggggacagtttg	AAACUGUCCCCAGAACAGGAG	CCUGUUCUGGGGACAGUUUGG	8	5	5	2	1	0	1	0	0
643-665	ctgttctggggacagtttggtat	ACCAAACUGUCCCCAGAACAG	GUUCUGGGGACAGUUUGGUAU	9	4	5	2	1	0	1	0	-1
649-671	tggggacagtttggtattaaaac	UUUAAUACCAAACUGUCCCCA	GGGACAGUUUGGUAAUAAAAC	12	3	2	1	1	1	1	0	0
650-672	ggggacagtttggtattaaaaca	UUUUAAUACCAAACUGUCCCC	GGACAGUUUGGUAAUAAAACA	13	2	2	1	1	1	1	0	1
655-677	cagtttggtattaaaacacttaa	AAGUGUUUUAAUACCAAACUG	GUUUGGUAAUAAAACACUAAA	11	2	4	2	1	1	0	-2	0
658-680	tttggtattaaaacacttaata	UUUAAGUGUUUUAAUACCAAA	UGGUAAUAAAACACUAAAUA	10	1	2	1	1	2	0	-2	0
659-681	tttggtattaaaacacttaatat	AUUUAAGUGUUUUAAUACCAA	GGUAUUAAAACACUAAAUAU	11	1	2	1	1	2	0	-2	0
664-686	attaaacacttaatatagatc	UCUAUAUUUAAGUGUUUAAU	UAAAACACUUAUUUAUAGAUC	11	1	3	0	0	2	0	-2	0
686-708	ccggtggtatggtatgagaaaaca	UUUUCUCAUCCAUAACCACCGG	GGUGGUUAUGGAUGAGAAAACA	9	2	2	3	2	0	1	0	0

690-712	tggtatggatgagaaaacaattg	AUUGUUUUCUCAUCCAUAACCA	GUAUGGAUGAGAAAACAAUUG	12	2	3	3	2	1	0	-2	-1
696-718	ggatgagaaaacaattgctttac	AAAGCAAUUGUUUUCUCAUCC	AUGAGAAAACAAUUGCUUUAC	10	1	3	2	2	2	0	-2	1
697-719	gatgagaaaacaattgctttact	UAAAGCAAUUGUUUUCUCAUC	UGAGAAAACAAUUGCUUUACU	10	1	4	2	1	2	0	-3	-1
698-720	atgagaaaacaattgctttactt	GUAAAGCAAUUGUUUUCUCAU	GAGAAAACAAUUGCUUUACUU	7	1	3	1	1	3	0	-3	0
699-721	tgagaaaacaattgctttacttg	AGUAAAGCAAUUGUUUUCUCA	AGAAAACAAUUGCUUUACUUG	10	2	4	0	1	3	0	-2	0
700-722	gagaaaacaattgctttacttgt	AAGUAAAGCAAUUGUUUUCUC	GAAAACAAUUGCUUUACUUGU	12	1	4	1	1	3	0	-3	0
712-734	gctttactgttgctggactagt	UAGUCCAGCAACAAGUAAAGC	UUUACUUGUUGCUGGACUAGU	10	2	3	3	3	1	0	-1	0
716-738	tactgttgctggactagtgtatc	UCACUAGUCCAGCAACAAGUA	CUUGUUGCUGGACUAGUGAUC	9	3	5	4	2	0	0	-2	1
719-741	ttgttgctggactagtgtactc	UGAUCACUAGUCCAGCAACAA	GUUGCUGGACUAGUGAUCACU	10	3	5	4	2	0	0	-2	1
723-745	tgctggactagtgtactgtca	ACAGUGAUCACUAGUCCAGCA	CUGGACUAGUGAUCACUGUCA	11	6	6	2	2	0	0	0	-1
725-747_C2	ctggactagtgtactgtcatt	UGACAGUGAUCACUAGUCCAG	GGACUAGUGAUCACUGUCAUU	13	6	8	2	1	0	0	-1	-1
726-748	tggactagtgtactgtcattg	AUGACAGUGAUCACUAGUCCA	GACUAGUGAUCACUGUCAUUG	12	6	7	3	1	0	0	-2	0
731-753	tagtgatcactgtcattgtcatt	UGACAAUGACAGUGAUCACUA	GUGAUCACUGUCAUUGUCAUU	12	5	8	3	0	0	0	-3	1
732-754	agtgatcactgtcattgtcattg	AUGACAAUGACAGUGAUCACU	UGAUCACUGUCAUUGUCAUUG	11	6	8	3	0	0	0	-3	-1
733-755	gtgatcactgtcattgtcattgt	AAUGACAAUGACAGUGAUCAC	GAUCACUGUCAUUGUCAUUGU	10	5	8	3	0	0	0	-3	1
747-769	tgctattgttgagccattcttt	AGAAUGGCUCCAACAAUGACA	UCAUUGUUGGAGCCAUUCUUU	10	3	4	3	2	0	0	-1	0
748-770	gtcattgttgagccattctttt	AAGAAUGGCUCCAACAAUGAC	CAUUGUUGGAGCCAUUCUUUU	12	2	4	4	2	0	0	-2	-1
764-786	ttcttttcgtcccaggtgaatat	AUUCACCUUGGGACGAAAAGAA	CUUUUCGUCCCAGGUGAAUAU	7	3	2	2	3	1	0	0	0
766-788	cttttcgtcccaggtgaatattc	AUAUUCACCUUGGGACGAAAAG	UUUCGUCCCAGGUGAAUAUUC	8	3	2	0	3	2	0	1	-1
773-795	tcccaggtgaatattcattaaag	UUAAUGAAUAUUCACCUGGGA	CCAGGUGAAUAUUCAUUAAG	12	3	2	0	2	2	0	0	0
774-796	cccaggtgaatattcattaaaga	UUUAAUGAAUAUUCACCUGGG	CAGGUGAAUAUUCAUUAAGAA	11	2	2	0	2	2	0	0	0
777-799	aggtgaatattcattaaagaatg	UUCUUUAAUGAAUAUUCACCU	GUGAAUAUUCAUUAAGAAUG	9	2	3	1	1	2	0	-2	1
795-817	gaatgctactggccttggttaa	AAACCAAGGCCAGUAGCAUUC	AUGCUACUGGCCUUGGUUUA	9	1	2	4	2	0	1	-1	0

796-818	aatgctactggccttggttaaat	UAAACCAAGGCCAGUAGCAUU	UGCUACUGGCCUUGGUUUAUU	7	1	1	4	2	0	1	-1	0
797-819	atgctactggccttggttaatt	UUAACCAAGGCCAGUAGCAU	GCUACUGGCCUUGGUUUAUU	8	1	1	3	2	1	1	-1	0
805-827	ggccttggttaattgtgacttc	AGUCACAAUUAACCAAGGCC	CCUUGGUUUAUUUGUGACUUC	11	2	3	1	1	1	1	0	0
806-828	gccttggttaattgtgacttct	AAGUCACAAUUAACCAAGGC	CUUGGUUUAUUUGUGACUUCU	11	2	3	2	2	1	0	-1	0
809-831	ttggttaattgtgacttctaca	UAGAAGUCACAAUUAACCAA	GGUUUAUUUGUGACUUCUACA	9	2	4	3	1	1	0	-3	1
817-839	attgtgacttctacagggatatt	UAUCCCUGUAGAAGUCACAAU	UGUGACUUCUACAGGGAUUU	11	3	5	4	1	0	0	-3	-1
818-840	ttgtgacttctacagggatatta	AUAUCCCUGUAGAAGUCACAA	GUGACUUCUACAGGGAUUUUA	10	3	5	4	1	0	0	-3	0
819-841	tgtgacttctacagggatattaa	AAUAUCCCUGUAGAAGUCACA	UGACUUCUACAGGGAUUUUA	9	4	5	2	1	1	0	-2	1
820-842	gtgacttctacagggatattaat	UAAUAUCCCUGUAGAAGUCAC	GACUUCUACAGGGAUUUUAUU	10	3	5	2	1	1	0	-2	-1
821-843	tgacttctacagggatattaata	UUAUAUCCCUGUAGAAGUCA	ACUUCUACAGGGAUUUUAUU	10	3	4	2	1	1	0	-2	1
822-844	gacttctacagggatattaatat	AUUAAUAUCCCUGUAGAAGUC	CUUCUACAGGGAUUUUAUU	8	2	4	2	1	1	0	-2	0
823-845	acttctacagggatattaatatt	UAUUAAUAUCCCUGUAGAAGU	UUCUACAGGGAUUUUAUU	8	2	3	2	1	1	0	-2	0
825-847	ttctacagggatattaatattac	AAUAUUAAUAUCCCUGUAGAA	CUACAGGGAUUUUAUUUAC	10	1	2	2	1	1	0	-2	0
828-850	tacagggatattaatattacttc	AGUAAUAUUAAUAUCCCUGUA	CAGGGAUUUAAUAUUACUUC	10	1	2	1	1	1	0	-1	0
830-852	cagggatattaatattacttcac	GAAGUAAUAUUAAUAUCCCUG	GGGAUUAUUAAUAUUACUUCAC	8	1	2	1	1	1	0	-1	0
831-853	agggatattaatattacttcact	UGAAGUAAUAUUAAUAUCCCU	GGAUUAUUAAUAUUACUUCACU	10	1	2	1	1	1	0	-1	0
837-859	attaatattacttcactactatg	UAGUAGUGAAGUAAUAUUAAU	UAAUAUUACUUCACUACUAUG	9	1	4	3	0	1	0	-4	-1
844-866	ttacttcactactatgtgttag	AAACACAUAGUAGUGAAGUAA	ACUUCACUACUAUGUGUUUAG	8	2	6	5	0	0	0	-5	1
845-867	tacttcactactatgtgttagt	UAAACACAUAGUAGUGAAGUA	CUUCACUACUAUGUGUUUAGU	9	2	6	5	0	0	0	-5	-1
848-870	ttcactactatgtgttagtaca	UACUAAACACAUAGUAGUGAA	CACUACUAUGUGUUUAGUACA	10	2	6	4	0	1	0	-5	1
850-872	cactactatgtgttagtacagc	UGUACUAAACACAUAGUAGUG	CUACUAUGUGUUUAGUACAGC	10	2	7	3	0	1	0	-4	1
859-881	gtgttagtacagcgattggatt	UCCAAUCGCUGUACUAAACAC	GUUUAGUACAGCGAUUGGAUU	11	2	4	2	2	1	0	-1	-1
862-884	tttagtacagcgattggattaac	UAAUCCAAUCGCUGUACUAAA	UAGUACAGCGAUUGGAUUAAC	6	1	2	3	2	1	0	-2	0

863-885	ttagtacagcgattggattaacc	UUA AUCCAAUCGCUGUACUAA	AGUACAGCGAUUGGAUUAACC	8	1	2	3	2	1	0	-2	-1
875-897	ttggattaacctccttcgtcatt	UGACGAAGGAGGUUAAUCCAA	GGAUUAACCUCCUUCGUCAUU	14	2	1	2	4	1	0	1	-1
876-898	tggattaacctccttcgtcattg	AUGACGAAGGAGGUUAAUCCA	GAUUAACCUCCUUCGUCAUUG	8	3	1	2	4	1	0	1	1
882-904	aacctccttcgtcattgccatat	AUGGCAAUGACGAAGGAGGUU	CCUCCUUCGUCAUUGCCAUAU	12	2	1	4	4	0	0	0	-1
883-905	acctccttcgtcattgccatatt	UAUGGCAAUGACGAAGGAGGU	CUCCUUCGUCAUUGCCAUAU	11	3	1	3	4	0	0	1	1
885-907	ctccttcgtcattgccatattgg	AAUAUGGCAAUGACGAAGGAG	CCUUCGUCAUUGCCAUAUUGG	11	2	2	2	3	1	0	0	0
889-911	ttcgtcattgccatattggttat	AACCAAUAUGGCAAUGACGAA	CGUCAUUGCCAUAUUGGUUAU	11	1	1	3	3	1	0	-1	0
890-912	tcgtcattgccatattggttatt	UAACCAAUAUGGCAAUGACGA	GUCAUUGCCAUAUUGGUUAU	12	2	1	2	3	1	0	0	-1
891-913	cgtcattgccatattggttattc	AUAACCAAUAUGGCAAUGACG	UCAUUGCCAUAUUGGUUAUUC	9	1	1	2	3	1	0	0	0
892-914	gtcattgccatattggttattca	AAUAACCAAUAUGGCAAUGAC	CAUUGCCAUAUUGGUUAUUCA	9	1	2	1	2	2	0	-1	0
894-916	cattgccatattggttattcagg	UGAAUAACCAAUAUGGCAAUG	UUGCCAUAUUGGUUAUUCAGG	11	0	2	1	2	2	0	-1	0
897-919	tgccatattggttattcaggtga	ACCUGAAUAACCAAUAUGGCA	CCAUAUUGGUUAUUCAGGUGA	11	2	1	0	3	2	0	1	-1
905-927	tggttattcaggtgatagcctat	AGGCUAUCACCUGAAUAACCA	GUUAUUCAGGUGAUAGCCUAU	11	3	2	1	3	1	0	1	0
906-928	ggttattcaggtgatagcctata	UAGGCUAUCACCUGAAUAACC	UUAUUCAGGUGAUAGCCUAUA	8	2	2	2	3	1	0	0	-1
909-931	tattcaggtgatagcctatatcc	AUAUAGGCUAUCACCUGAAUA	UUCAGGUGAUAGCCUAUAUCC	9	2	2	1	2	2	0	-1	0
922-944	gcctatatcctcgctgtggttg	AACCACAGCGAGGAUAUAGGC	CUAUAUCCUCGCUGUGGUUGG	8	3	1	1	4	1	0	2	1
933-955	cgctgtggttgactgagtctct	AGACUCAGUCCAACCACAGCG	CUGUGGUUGGACUGAGUCUCU	10	6	5	1	3	0	0	2	0
937-959	gtggttgactgagtctctgtat	ACAGAGACUCAGUCCAACCAC	GGUUGGACUGAGUCUCUGUAU	10	7	7	1	2	0	0	1	1
938-960	tggttgactgagtctctgtatt	UACAGAGACUCAGUCCAACCA	GUUGGACUGAGUCUCUGUAU	13	7	6	2	2	0	0	0	-1
952-974	ctctgtattgcggcgtgtatacc	UAUACACGCCGCAAUACAGAG	CUGUAUUGCGGCGUGUAUACC	7	3	4	1	0	1	1	-1	0
961-983	gcggcgtgtataccaatgcatgg	AUGCAUUGGUUAUACACGCCGC	GGCGUGUAUACCAAUGCAUGG	10	1	1	2	2	1	1	0	0
982-1004	ggccctcttcgtattcaggttt	ACCUGAAAUCAGAAGAGGGCC	CCCUCUUCUGAUUUCAGGUUU	12	3	4	1	1	1	1	0	1
989-1011	ttctgattcaggtttgagtatc	UACUCAAACCUGAAAUCAGAA	CUGAUUUCAGGUUUGAGUAUC	11	3	5	3	1	1	0	-3	1

1003-1025	ttgagtatcttagctctagcaca	UGCUAGAGCUAAGAUACUCAA	GAGUAUCUUAGCUCUAGCACA	11	2	4	4	2	0	0	-2	0
1005-1027	gagtatcttagctctagcacaat	UGUGCUAGAGCUAAGAUACUC	GUAUCUUAGCUCUAGCACAAU	11	3	5	3	2	0	0	-1	0
1006-1028	agtatcttagctctagcacaatt	UUGUGCUAGAGCUAAGAUACU	UAUCUUAGCUCUAGCACAAUU	11	3	4	4	2	0	0	-2	-1
1007-1029	gtatcttagctctagcacaatta	AUUGUGCUAGAGCUAAGAUAC	AUCUUAGCUCUAGCACAAUUA	7	2	4	4	2	0	0	-2	1
1008-1030	tatcttagctctagcacaattac	AAUUGUGCUAGAGCUAAGAUAA	UCUUAGCUCUAGCACAAUUAC	9	2	3	4	2	0	0	-2	-1
1009-1031	atcttagctctagcacaattact	UAAUUGUGCUAGAGCUAAGAU	CUUAGCUCUAGCACAAUUACU	11	2	3	3	2	1	0	-2	0
1018-1040	ctagcacaattacttgactagt	UAGUCCAAGUAAUUGUGCUAG	AGCACAAUUACUUGGACUAGU	10	2	4	3	2	1	0	-2	0
1020-1042	agcacaattacttgactagttt	ACUAGUCCAAGUAAUUGUGCU	CACAAUUACUUGGACUAGUUU	11	3	4	2	2	1	0	-1	-1
1021-1043	gcacaattacttgactagttta	AACUAGUCCAAGUAAUUGUGC	ACAAUUACUUGGACUAGUUUA	10	2	4	3	2	1	0	-2	0
1022-1044	cacaattacttgactagtttat	AAACUAGUCCAAGUAAUUGUG	CAAUUACUUGGACUAGUUUAU	11	2	5	3	1	1	0	-3	1
1025-1047	aattacttgactagtttatatg	UAUAAACUAGUCCAAGUAAUU	UUACUUGGACUAGUUUAUAUG	9	1	3	2	1	2	0	-3	1
1026-1048	attacttgactagtttatatga	AUAUAAACUAGUCCAAGUAAU	UACUUGGACUAGUUUAUAUGA	10	1	3	2	1	2	0	-3	-1
1032-1054	tggactagtttatatgaatttg	AAUUUCAUAUAAACUAGUCCA	GACUAGUUUAUAUGAAAUUUG	10	2	3	1	1	2	0	-2	0
1045-1067	atgaaattgtggcttccaatca	AUUGGAAGCCACAAAUUUCAU	GAAAUUUGUGGCUUCCAAUCA	11	1	2	3	2	1	0	-2	1
1047-1069	gaaattgtggcttccaatcaga	UGAUUGGAAGCCACAAAUUUC	AAUUUGUGGCUUCCAAUCAGA	7	1	3	2	2	1	0	-1	0
1056-1078	ggcttccaatcagaagactatac	AUAGUCUUCUGAUUGGAAGCC	CUUCCAAUCAGAAGACUAUAC	11	2	4	4	2	0	0	-2	-1
1059-1081	ttccaatcagaagactatacaac	UGUAUAGUCUUCUGAUUGGAA	CCAAUCAGAAGACUAUACAAC	13	2	5	3	1	1	0	-3	0
1060-1082	tccaatcagaagactatacaacc	UUGUAUAGUCUUCUGAUUGGA	CAAUCAGAAGACUAUACAACC	12	3	5	3	1	1	0	-3	1
1063-1085	aatcagaagactatacaacctcc	AGGUUGUAUAGUCUUCUGAUU	UCAGAAGACUAUACAACCUCC	10	2	5	3	1	1	0	-3	-1
1071-1093	gactatacaacctccttaggaata	UUCCUAGGAGGUUGUAUAGUC	CUAUACAACCUCCUAGGAAUA	12	2	3	3	3	1	0	-1	0
1074-1096	tatacaacctccttaggaataact	UUAUUCCUAGGAGGUUGUAUA	UACAACCUCCUAGGAAUAACU	5	1	1	2	3	2	0	-1	0
1079-1101	aacctccttaggaataactgaagt	UUCAGUUAUUCCUAGGAGGUU	CCUCCUAGGAAUAACUGAAGU	11	2	2	3	3	1	0	-1	-1
1083-1105	tccttaggaataactgaagtgaag	UCACUUCAGUUAUUCCUAGGA	CUAGGAAUAACUGAAGUGAAG	11	3	4	2	2	1	0	-1	0

1100-1122	gtgaagtgatggactccgatttg	AAUCGGAGUCCAUCACUUCAC	GAAGUGAUGGACUCCGAUUUG	10	4	5	3	2	0	0	-1	0
1101-1123	tgaagtgatggactccgatttgg	AAAUCGGAGUCCAUCACUUCA	AAGUGAUGGACUCCGAUUUGG	10	4	4	3	2	0	0	-1	-1
1104-1126	agtgatggactccgatttggaga	UCCAAAUCGGAGUCCAUCACU	UGAUGGACUCCGAUUUGGAGA	9	4	3	1	3	1	0	1	1
1111-1133	gactccgatttggagagtagtaa	ACUACUCUCCAAAUCGGAGUC	CUCCGAUUUGGAGAGUAGUAA	10	4	5	1	2	1	0	0	1
1112-1134	actccgatttggagagtagtaag	UACUACUCUCCAAAUCGGAGU	UCCGAUUUGGAGAGUAGUAAG	9	4	4	2	2	1	0	-1	0
1113-1135	ctccgatttggagagtagtaaga	UUACUACUCUCCAAAUCGGAG	CCGAUUUGGAGAGUAGUAAGA	11	3	4	2	2	1	0	-1	-1
1115-1137	ccgatttggagagtagtaagacg	UCUUACUACUCUCCAAAUCGG	GAUUUGGAGAGUAGUAAGACG	9	2	4	2	2	1	0	-1	-1
1120-1142	ttggagagtagtaagacgtgaaa	UCACGUCUUACUACUCUCCAA	GGAGAGUAGUAAGACGUGAAA	12	4	5	3	2	0	0	-1	-1
1121-1143	tggagagtagtaagacgtgaaag	UUCACGUCUUACUACUCUCCA	GAGAGUAGUAAGACGUGAAAG	11	5	5	3	2	0	0	-1	0
1122-1144	ggagagtagtaagacgtgaaagg	UUUCACGUCUUACUACUCUCC	AGAGUAGUAAGACGUGAAAGG	11	4	5	3	2	0	0	-1	0
1125-1147	gagtagtaagacgtgaaaggaat	UCCUUUCACGUCUUACUACUC	GUAGUAAGACGUGAAAGGAAU	10	3	5	3	2	0	0	-1	1
1128-1150	tagtaagacgtgaaaggaataca	UAUUCCUUUCACGUCUUACUA	GUAAGACGUGAAAGGAAUACA	11	2	3	4	2	0	0	-2	1
1132-1154	aagacgtgaaaggaatacacttg	AGUGUAUUCCUUUCACGUCUU	GACGUGAAAGGAAUACACUUG	11	3	4	2	2	1	0	-1	1
1133-1155	agacgtgaaaggaatacacttgt	AAGUGUAUUCCUUUCACGUCU	ACGUGAAAGGAAUACACUUGU	9	4	4	2	2	1	0	-1	0
1135-1157	acgtgaaaggaatacacttgtgt	ACAAGUGUAUUCCUUUCACGU	GUGAAAGGAAUACACUUGUGU	11	3	4	2	2	1	0	-1	0
1139-1161	gaaaggaatacacttgtgtttaa	AAACACAAGUGUAUUCCUUUC	AAGGAAUACACUUGUGUUUAA	11	2	5	3	1	1	0	-3	-1
1140-1162	aaaggaatacacttgtgtttaag	UAAACACAAGUGUAUUCCUUU	AGGAAUACACUUGUGUUUAAG	8	2	4	3	1	1	0	-3	1
1141-1163	aaggaatacacttgtgtttaagc	UUAACACAAGUGUAUUCCUU	GGAAUACACUUGUGUUUAAGC	12	2	4	2	1	2	0	-3	-1
1144-1166	gaatacacttgtgtttaagcacc	UGCUUAAACACAAGUGUAUUC	AUACACUUGUGUUUAAGCACC	12	2	5	1	1	2	0	-2	-1
1160-1182	aagcaccatggccttgatgattc	AUCAUCAAGGCCAUGGUGCUU	GCACCAUGGCCUUGAUGAUUC	8	1	2	5	2	0	1	-2	0
1161-1183	agcaccatggccttgatgattca	AAUCAUCAAGGCCAUGGUGCU	CACCAUGGCCUUGAUGAUUCA	7	2	2	4	2	0	1	-1	0
1168-1190	tggccttgatgattcactgttgg	AACAGUGAAUCAUCAAGGCCA	GCCUUGAUGAUUCACUGUUGG	11	3	5	4	0	0	1	-3	-1
1179-1201	attcactgttggggagaagaac	UUCUUCUCCCCAACAGUGAAU	UCACUGUUGGGGAGAAGAAAC	8	3	5	4	0	0	1	-3	0

1180-1202	ttcactgttggggagaagaaaca	UUUCUUCUCCCCAACAGUGAA	CACUGUUGGGGAGAAGAAACA	7	3	5	4	0	0	1	-3	0
1192-1214	gagaagaaacaagaaaagtaact	UUACUUUUCUUGUUUCUUCUC	GAAGAAACAAGAAAAGUAAACU	12	1	6	4	0	1	0	-5	0
1202-1224	aagaaaagtaactgggtgtcacc	UGACAACCAGUUACUUUUCUU	GAAAAGUAAACUGGUUGUCACC	11	2	5	3	1	1	0	-3	1
1206-1228	aaagtaactgggtgtcacctatg	UAGGUGACAACCAGUUACUUU	AGUAACUGGUUGUCACCUAUG	10	3	4	4	2	0	0	-2	-1
1207-1229	aagtaactgggtgtcacctatga	AUAGGUGACAACCAGUUACUU	GUAACUGGUUGUCACCUAUGA	11	3	4	4	2	0	0	-2	0
1209-1231	gtaactgggtgtcacctatgaga	UCAUAGGUGACAACCAGUUAC	AACUGGUUGUCACCUAUGAGA	10	3	5	3	2	0	0	-1	-1
1211-1233	aactgggtgtcacctatgagacc	UCUCAUAGGUGACAACCAGUU	CUGGUUGUCACCUAUGAGACC	11	4	5	3	2	0	0	-1	-1
1222-1244	acctatgagaccctacgtgatt	UCACGUAAGGGUCUCAUAGGU	CUAUGAGACCCUACGUGAUU	10	4	3	2	3	0	0	1	0
1228-1250	gagaccctacgtgattgtagt	UAACAAUCACGUAAGGGUCUC	GACCCUACGUGAUUGUUAGU	12	3	4	3	2	0	0	-1	0
1230-1252	gaccctacgtgattgtagtta	ACUAACAAUCACGUAAGGGUC	CCCUACGUGAUUGUUAGUUA	10	2	4	3	2	0	0	-1	1
1231-1253	accctacgtgattgtagttaa	AACUAACAAUCACGUAAGGGU	CCUACGUGAUUGUUAGUUA	12	2	3	4	2	0	0	-2	-1
1232-1254	cccttacgtgattgtagttaag	UACUAACAAUCACGUAAGGG	CUACGUGAUUGUUAGUUAAG	13	1	3	4	2	0	0	-2	0
1233-1255	ccttacgtgattgtagttaagt	UUAACUAACAAUCACGUAAGG	UUACGUGAUUGUUAGUUAAGU	12	1	3	4	2	0	0	-2	0
1235-1257	ttacgtgattgtagttaagttt	ACUUAACUAACAAUCACGUAA	ACGUGAUUGUUAGUUAAGUUU	10	1	4	3	1	1	0	-3	-1
1236-1258	tacgtgattgtagttaagtttt	AACUUAACUAACAAUCACGUA	CGUGAUUGUUAGUUAAGUUUU	13	1	4	4	1	1	0	-4	0
1237-1259	acgtgattgtagttaagttttt	AAACUUAACUAACAAUCACGU	GUGAUUGUUAGUUAAGUUUUU	12	2	4	3	1	1	0	-3	0
1239-1261	gtgattgtagttaagtttttat	AAAAACUUAACUAACAAUCAC	GAUUGUUAGUUAAGUUUUUAU	11	1	5	2	0	2	0	-4	-1
1240-1262	tgattgtagttaagtttttatt	UAAAAACUUAACUAACAAUCA	AUUGUUAGUUAAGUUUUUAU	11	1	4	2	0	2	0	-4	0
1245-1267	gttagttaagtttttattcaag	UUGAAUAAAAACUUAACUAA	UAGUUAAGUUUUUAUCAAAG	10	0	4	2	0	2	0	-4	0
1261-1283	ttcaaagcagctgaatttagtt	CUAAAUUACAGCUGCUUUGAA	CAAAGCAGCUGUAAUUUAGUU	8	2	2	2	2	1	0	-1	-1
1265-1287	aagcagctgaatttagttaata	UUAACUAAAUUACAGCUGCUU	GCAGCUGUAAUUUAGUUAUA	12	2	2	2	2	1	0	-1	0
1268-1290	cagctgaatttagttaataaaa	UUAUUAACUAAAUUACAGCUG	GCUGUAAUUUAGUUAUAAAA	12	2	3	0	1	2	0	-1	0
1269-1291	agctgaatttagttaataaaat	UUUAUUAACUAAAUUACAGCU	CUGUAAUUUAGUUAUAAAAU	10	2	2	0	1	2	0	-1	0

1283-1305	taataaaataattatgatctatg	UAGAUCAUAAUUAUUUUUAUUA	AUAAAAUAAUUAUGAUCUAUG	9	0	2	2	0	1	0	-3	0
1286-1308	taaaataattatgatctatgttg	ACAUAGAUCAUAAUUAUUUUUA	AAAUAAUUAUGAUCUAUGUUG	8	0	3	2	0	1	0	-3	0
1301-1323	ctatgttgttgcccaattgaga	UCAAUUGGGCAAACAACAUAG	AUGUUGUUUGCCCAAUUGAGA	9	0	4	3	0	1	1	-3	1
1303-1325	atgttgttgcccaattgagatc	UCUCAAUUGGGCAAACAACAU	GUUGUUUGCCCAAUUGAGAUC	9	1	4	3	0	1	1	-3	0
1310-1332	tgcccaattgagatccagtttt	AACUGGAUCUCAAUUGGGCAA	GCCCAAUUGAGAUCCAGUUUU	12	2	3	3	1	1	1	-2	-1
1311-1333	tgcccaattgagatccagtttt	AAACUGGAUCUCAAUUGGGCA	CCCAAUUGAGAUCCAGUUUUU	11	3	3	2	1	1	1	-1	1
1312-1334	gccaattgagatccagttttt	AAAACUGGAUCUCAAUUGGGC	CCAAUUGAGAUCCAGUUUUUU	12	2	3	2	1	1	1	-1	-1
1313-1335	cccaattgagatccagtttttg	AAAAACUGGAUCUCAAUUGGG	CAAUUGAGAUCCAGUUUUUUG	12	2	3	1	2	2	0	-1	0
1350-1372	caattaggggcaatagtagaatg	UUCUACUAAUUGCCCCUAAUUG	AUUAGGGGCAAUAGUAGAAUG	7	0	3	2	0	2	1	-3	-1
1355-1377	aggggcaatagtagaatggacaa	GUCCAUUCUACUAAUUGCCCCU	GGGCAAUAGUAGAAUGGACAA	9	2	2	2	1	1	1	-1	-1
1356-1378	ggggcaatagtagaatggacaat	UGUCCAUUCUACUAAUUGCCCC	GGCAAUAGUAGAAUGGACAAU	12	1	3	2	1	1	1	-1	0
1357-1379	gggcaatagtagaatggacaatt	UUGUCCAUUCUACUAAUUGCCC	GCAAUAGUAGAAUGGACAAUU	12	1	3	3	1	1	1	-2	1
1358-1380	ggcaatagtagaatggacaattt	AUUGUCCAUUCUACUAAUUGCC	CAAUAGUAGAAUGGACAAUUU	10	1	3	3	2	1	0	-2	-1
1360-1382	caatagtagaatggacaatttcc	AAAUUGUCCAUUCUACUAAUUG	AUAGUAGAAUGGACAAUUUCC	9	1	4	2	1	2	0	-3	0
1363-1385	tagtagaatggacaatttccaag	UGGAAAUUGUCCAUUCUACUA	GUAGAAUGGACAAUUUCCAAG	13	1	3	3	2	1	0	-2	-1
1366-1388	tagaatggacaatttccaagaat	UCUUGGAAAUUGUCCAUUCUA	GAAUGGACAAUUUCCAAGAAU	12	1	3	3	2	1	0	-2	0
1367-1389	agaatggacaatttccaagaatg	UUCUUGGAAAUUGUCCAUUCU	AAUGGACAAUUUCCAAGAAUG	10	2	3	3	2	1	0	-2	0
1370-1392	atggacaatttccaagaatgatg	UCAUUCUUGGAAAUUGUCCA	GGACAAUUUCCAAGAAUGAUG	11	1	3	3	2	1	0	-2	1
1371-1393	tggacaatttccaagaatgatgc	AUCAUUCUUGGAAAUUGUCCA	GACAAUUUCCAAGAAUGAUGC	9	2	3	3	2	1	0	-2	0
1379-1401	ttccaagaatgatgccttcagg	UGAAAGGCAUCAUUCUUGGAA	CCAAGAAUGAUGCCUUCAGG	12	0	3	5	2	0	0	-3	-1
1414-1436	tggcctctaggtaccagtttaa	AAACUGGUUACCUAGAGGCCA	GCCUCUAGGUAACCAGUUUAA	12	3	2	3	2	0	1	0	-1
1416-1438	gcctctaggtaccagtttaaat	UUAACUGGUUACCUAGAGGC	CUCUAGGUAACCAGUUUAAA	12	2	2	2	3	1	0	0	0
1418-1440	ctctaggtaccagtttaattg	AUUUAAACUGGUUACCUAGAG	CUAGGUAACCAGUUUAAAUUG	12	2	3	2	2	1	0	-1	0

1422-1444	aggtaccagtttaaattggttc	ACCAAUUUAAACUGGUUACCU	GUAACCAGUUUAAAUUGGUUC	11	2	1	1	3	1	0	1	0
1437-1459	attggttcagggtgataactact	UAGUUAUCACCCUGAACCAU	UGGUUCAGGGUGAUAAACUACU	8	2	3	3	2	1	0	-2	0
1438-1460	ttggttcagggtgataactactt	GUAGUUAUCACCCUGAACCAA	GGUUCAGGGUGAUAAACUACUU	8	2	3	3	2	1	0	-2	-1
1439-1461	tgggttcagggtgataactactta	AGUAGUUAUCACCCUGAACCA	GUUCAGGGUGAUAAACUACUUA	8	3	4	2	2	1	0	-1	1
1444-1466	cagggtgataactacttagcact	UGCUAAGUAGUUUACACCCUG	GGGUGAUAAACUACUUAGCACU	11	2	4	2	2	1	0	-1	1
1446-1468	gggtgataactacttagcactgc	AGUGCUAAGUAGUUUACACCC	GUGAUAAACUACUUAGCACUGC	11	2	4	2	2	1	0	-1	0
1468-1490	ccctggtgattaccagagatat	AUCUCUGGGUAAUCACCAGGG	CUGGUGAUUACCCAGAGAUAU	11	4	3	1	3	1	0	1	0
1469-1491	cctggtgattaccagagatatc	UAUCUCUGGGUAAUCACCAGG	UGGUGAUUACCCAGAGAUUUC	9	4	3	1	3	1	0	1	1
1470-1492	ctggtgattaccagagatatct	AUAUCUCUGGGUAAUCACCAG	GGUGAUUACCCAGAGAUUUCU	8	4	4	1	2	1	0	0	0
1473-1495	gtgattaccagagatatctatg	UAGAUUUCUCUGGGUAAUCAC	GAUUACCCAGAGAUUUCUAUG	9	3	5	1	1	2	0	-2	1
1478-1500	taccagagatatctatgaaaac	UUUCAUAGAUUUCUCUGGGUA	CCCAGAGAUUUCUAUGAAAAC	11	2	4	3	1	1	0	-3	0
1479-1501_C3	accagagatatctatgaaaacc	UUUUCAUAGAUUUCUCUGGGU	CCAGAGAUUUCUAUGAAAACC	13	3	4	2	1	1	0	-2	0
1480-1502	cccagagatatctatgaaaacca	GUUUUCAUAGAUUUCUCUGGG	CAGAGAUUUCUAUGAAAACCA	7	2	4	1	1	2	0	-2	1
1482-1504	cagagatatctatgaaaaccagt	UGGUUUUCAUAGAUUUCUCUG	GAGAUUUCUAUGAAAACCAGU	10	2	5	1	1	2	0	-2	0
1484-1506	gagatatctatgaaaaccagtgg	ACUGGUUUUCAUAGAUUUCUC	GAUAUCUAUGAAAACCAGUGG	9	2	5	1	1	2	0	-2	1
1495-1517	gaaaaccagtggcttccatcaaa	UGAUGGAAGCCACUGGUUUUC	AAACCAGUGGCUUCCAUCAAA	9	2	3	2	3	1	0	0	0
1496-1518	aaaaccagtggcttccatcaaac	UUGAUGGAAGCCACUGGUUUU	AACCAGUGGCUUCCAUCAAAC	7	2	2	3	3	1	0	-1	0
1508-1530	ttccatcaaacctttgccaaactc	GUUGGCAAAGGUUUGAUGGAA	CCAUCAAAACCUUUGCCAACUC	7	0	1	5	3	0	0	-2	0
1511-1533	catcaaacctttgccaaactcagg	UGAGUUGGCAAAGGUUUGAUG	UCAAAACCUUUGCCAACUCAGG	11	1	4	4	2	0	0	-2	0
1541-1563	cagctttgggcagttatggcagt	UGCCAUAAACUGCCCAAAGCUG	GCUUUGGGCAGUUAUGGCAGU	9	2	2	1	2	1	1	1	-1
1549-1571	ggcagttatggcagtatggcatt	UGCCAUACUGCCAUAAACUGCC	CAGUUAUGGCAGUAUGGCAUU	11	2	2	1	3	1	0	1	0
1551-1573	cagttatggcagtatggcattag	AAUGCCAUACUGCCAUAAACUG	GUUAUGGCAGUAUGGCAUUAG	7	2	3	2	2	1	0	-1	1
1552-1574	agttatggcagtatggcattagc	UAAUGCCAUACUGCCAUAAACU	UUAUGGCAGUAUGGCAUUAGC	9	2	2	2	2	1	0	-1	-1

1557-1579	tggcagtatggcattagctgaga	UCAGCUAAUGCCAUACUGCCA	GCAGUAUGGCAUUAGCUGAGA	11	3	2	1	3	1	0	1	0
1564-1586	atggcattagctgagaggtgtct	ACACCUCUCAGCUAAUGCCAU	GGCAUUAGCUGAGAGGUGUCU	10	4	3	1	3	1	0	1	-1
1575-1597	tgagaggtgtctgccacttctgg	AGAAGUGGCAGACACCUCUCA	AGAGGUGUCUGCCACUUCUGG	10	7	6	1	2	0	0	1	-1
1586-1608	tgccacttctgggtcaatggaat	UCCAUUGACCCAGAAGUGGCA	CCACUUCUGGGUCAAUUGGAAU	9	4	3	2	3	0	0	1	0
1587-1609	gccacttctgggtcaatggaata	UUCCAUUGACCCAGAAGUGGC	CACUUCUGGGUCAAUUGGAAUA	8	3	3	3	3	0	0	0	0
1594-1616	ctgggtcaatggaataataaatt	UUUAUUAUUCCAUUGACCCAG	GGGUCAAUGGAAUAAUAAAUU	11	2	2	1	2	1	0	0	0
1602-1624	atggaataataaattaagtacag	GUACUUAUUUUUAUUUCCAU	GGAAUAAUAAAUUAAGUACAG	7	0	1	2	1	1	0	-2	0
1603-1625	tggaataataaattaagtacagg	UGUACUUAUUUUUAUUUCCAU	GAAUAAUAAAUUAAGUACAGG	10	1	2	1	1	1	0	-1	0
1613-1635	aattaagtacaggcaggaatttg	AAUUCCUGCCUGUACUAAAUU	UUAAGUACAGGCAGGAAUUUG	9	2	2	2	2	1	0	-1	1
1614-1636	attaagtacaggcaggaatttgg	AAAUUCCUGCCUGUACUAAAU	UAAGUACAGGCAGGAAUUUGG	6	2	2	1	2	2	0	-1	0
1638-1660	tgggagcatcttgtatgatctcc	AGAUCAUACAAGAUGCUCCCA	GGAGCAUCUUGUAUGAUCUCC	12	2	4	4	2	0	0	-2	0
1646-1668	tcttgtatgatctccgtatgatg	UCAUACGGAGAUCAUACAAGA	UUGUAUGAUCUCCGUAUGAUG	8	2	5	4	1	0	0	-3	1
1651-1673	tatgatctccgtatgatgtgata	UCACAUCAUACGGAGAUCAUA	UGAUCUCCGUAUGAUGUGAUA	9	2	5	4	1	0	0	-3	-1
1652-1674	atgatctccgtatgatgtgatat	AUCACAUCAUACGGAGAUCAU	GAUCUCCGUAUGAUGUGAUAU	11	2	5	5	1	0	0	-4	0
1655-1677	atctccgtatgatgtgatattga	AAUAUCACAUCAUACGGAGAU	CUCCGUAUGAUGUGAUAUUGA	11	2	4	3	1	1	0	-3	-1
1657-1679	ctccgtatgatgtgatattgatg	UCAAUAUCACAUCAUACGGAG	CCGUAUGAUGUGAUAUUGAUG	11	2	5	2	1	1	0	-2	1
1658-1680	tccgtatgatgtgatattgatgg	AUCAAUAUCACAUCAUACGGA	CGUAUGAUGUGAUAUUGAUGG	11	2	4	3	1	1	0	-3	-1
1663-1685	atgatgtgatattgatggagata	UCUCCAUCAUAUCACAUCAU	GAUGUGAUAUUGAUGGAGAU	11	2	5	3	1	1	0	-3	0
1667-1689	tgtgatattgatggagatagtg	ACUAUCUCCAUCAUAUCACA	UGAUAUUGAUGGAGAUAGUGG	9	3	5	2	1	1	0	-2	0
1677-1699	atggagatagtggtcctcattct	AAUGAGGACCACUAUCUCCA	GGAGAUAGUGGUCCUCAUUCU	10	4	3	3	3	0	0	0	1
1678-1700	tggagatagtggtcctcattctt	GAAUGAGGACCACUAUCUCCA	GAGAUAGUGGUCCUCAUUCUU	9	5	3	2	3	0	0	1	0
1679-1701	ggagatagtggtcctcattcttg	AGAAUGAGGACCACUAUCUCC	AGAUAGUGGUCCUCAUUCUUG	8	4	4	2	3	0	0	1	-1
1680-1702	gagatagtggtcctcattcttgg	AAGAAUGAGGACCACUAUCUC	GAUAGUGGUCCUCAUUCUUGG	8	4	5	3	2	0	0	-1	1

1711-1733	attcccacattcccccttcaaca	UUGAAGGGGGAAUGUGGGAAU	UCCCACAUCCCCCUUCAACA	9	1	2	4	1	0	1	-2	1
1712-1734	tcccacattcccccttcaacaa	GUUGAAGGGGGAAUGUGGGAA	CCCACAUCCCCCUUCAACAA	9	1	2	4	1	0	1	-2	0
1713-1735	tcccacattcccccttcaacaaa	UGUUGAAGGGGGAAUGUGGGA	CCACAUCCCCCUUCAACAAA	11	2	3	3	1	0	1	-1	0
1714-1736	cccacattcccccttcaacaaac	UUGUUGAAGGGGGAAUGUGGG	CACAUCCCCCUUCAACAAAC	8	1	3	4	1	0	1	-2	0
1715-1737	ccacattcccccttcaacaaaca	UUUGUUGAAGGGGGAAUGUGG	ACAUUCCCCCUUCAACAAACA	8	1	3	4	1	0	1	-2	0
1721-1743	tcccccttcaacaacagtgtaa	ACACUGUUUGUUGAAGGGGGA	CCCCUUCAACAAACAGUGUAA	11	3	5	3	0	0	1	-2	1
1722-1744	cccccttcaacaacagtgtaac	UACACUGUUUGUUGAAGGGGG	CCCUUCAACAAACAGUGUAAC	11	2	5	4	0	0	1	-3	-1
1723-1745	ccccttcaacaacagtgtaca	UUACACUGUUUGUUGAAGGGG	CCUUCAACAAACAGUGUAACA	11	2	5	4	0	0	1	-3	0
1738-1760	gtgtaacaggtccttcccagatt	UCUGGGAAGGACCUGUUACAC	GUAACAGGUCCUUCCCAGAUU	10	4	4	2	3	0	0	1	1
1740-1762	gtaacaggtccttcccagattta	AAUCUGGGAAGGACCUGUUAC	AACAGGUCCUUCCCAGAUUUA	10	3	3	3	3	0	0	0	-1
1747-1769	gtccttcccagatttaggtact	UACCCUAAAUCUGGGAAGGAC	CCUUCCCAGAUUUAGGGUACU	11	2	2	2	3	1	0	0	-1
1751-1773	ttcccagatttaggtactttta	AAAGUACCCUAAAUCUGGGAA	CCCAGAUUUAGGGUACUUUUA	11	1	2	3	2	1	0	-2	0
1752-1774	tcccagatttaggtacttttat	AAAAGUACCCUAAAUCUGGGA	CCAGAUUUAGGGUACUUUUAU	11	2	2	2	2	1	0	-1	1
1753-1775	cccagatttaggtacttttatt	UAAAAGUACCCUAAAUCUGGG	CAGAUUUAGGGUACUUUUAUU	12	1	2	1	2	2	0	-1	0
1754-1776	ccagatttaggtacttttattg	AUAAAAGUACCCUAAAUCUGG	AGAUUUAGGGUACUUUUAUUG	10	1	2	1	2	2	0	-1	0
1755-1777	cagatttaggtacttttattga	AAUAAAAGUACCCUAAAUCUG	GAUUUAGGGUACUUUUAUUGA	11	1	3	1	1	2	0	-2	-1
1758-1780	atttaggtacttttattgatgg	AUCAAUAAAAGUACCCUAAAU	UUAGGGUACUUUUAUUGAUGG	9	0	2	2	1	2	0	-3	-1
1761-1783	taggtacttttattgatggata	UCCAUCAAUAAAAGUACCCUA	GGGUACUUUUAUUGAUGGAUA	10	0	2	3	2	1	0	-2	0
1762-1784	agggtacttttattgatgatata	AUCCAUCAAUAAAAGUACCCU	GGUACUUUUAUUGAUGGAUAU	9	1	2	3	2	1	0	-2	0
1763-1785	gggtacttttattgatggatatg	UAUCCAUCAAUAAAAGUACCC	GUACUUUUAUUGAUGGAUAUG	12	0	2	3	2	1	0	-2	0
1766-1788	tacttttattgatggatatgttt	ACAUAUCCAUCAAUAAAAGUA	CUUUUAUUGAUGGAUAUGUUU	9	0	3	2	1	2	0	-3	-1
1774-1796	ttgatggatatgtttcctttta	AAAGGAAAACAUAUCCAUCAA	GAUGGAUAUGUUUCCUUUUUA	10	0	2	3	2	2	0	-3	1
1776-1798	gatggatatgtttccttttatt	UAAAAGGAAAACAUAUCCAUC	UGGAUAUGUUUCCUUUUUAUU	9	0	2	1	2	3	0	-2	0

1777-1799	atggatatgttttccttttattc	AUAAAAGGAAAACAUAUCCA	GGAUAUGUUUUCUUUUUAUUC	11	0	1	1	2	3	0	-2	0
1778-1800	tggatatgttttccttttattca	AAUAAAAGGAAAACAUAUCCA	GAUAUGUUUUCUUUUUAUUCA	11	1	1	0	2	3	0	-1	0
1784-1806	tgttttccttttattcacataac	UAUGUGAAUAAAAGGAAAACA	UUUUCUUUUUAUUCACAUAAC	9	2	3	1	1	2	0	-2	0
1794-1816	ttattcacataaccccttgaac	UUCAAGGGGUUAUGUGAAUAA	AUUCACAUAACCCCUUGAAAC	10	1	3	2	0	2	1	-3	0
1795-1817	tattcacataaccccttgaacc	UUUCAAGGGGUUAUGUGAAUA	UUCACAUAACCCCUUGAAACC	10	1	3	2	0	2	1	-3	1
1799-1821	cacataaccccttgaaccctgt	AGGGUUUCAAGGGGUUAUGUG	CAUAACCCCUUGAAACCCUGU	9	1	3	2	1	1	1	-1	-1
1804-1826	aacccttgaaccctgtcttgt	AAGACAGGGUUUCAAGGGGUU	CCCUUGAAACCCUGUCUUGU	12	2	3	4	1	0	1	-2	0
1806-1828	ccccttgaaaccctgtctgtcc	ACAAGACAGGGUUUCAAGGGG	CCUUGAAACCCUGUCUUGUCC	10	2	4	3	1	0	1	-1	0
1815-1837	accctgtctgtcctcctgttac	AACAGGAGGACAAGACAGGGU	CCUGUCUUGUCCUCCUGUUAC	11	6	4	2	3	0	0	1	-1
1816-1838	ccctgtctgtcctcctgttact	UACAGGAGGACAAGACAGGG	CUGUCUUGUCCUCCUGUUACU	10	5	4	2	3	0	0	1	1
1825-1847	gtcctcctgttactgtcttgc	AGAAGCAAGUAACAGGAGGAC	CCUCCUGUACUUGCUUCUGC	11	3	4	3	3	0	0	0	0
1828-1850	ctcctgttactgtcttctgtgt	AGCAGAAGCAAGUAACAGGAG	CCUGUACUUGCUUCUGCUGU	12	3	4	3	3	0	0	0	0
1831-1853	ctgttactgtcttctgtgtaca	UACAGCAGAAGCAAGUAACAG	GUUACUUGCUUCUGCUGUACA	11	3	5	4	2	0	0	-2	-1
1834-1856	ttacttgcttctgtgtacaaga	UUGUACAGCAGAAGCAAGUAA	ACUUGCUUCUGCUGUACAAGA	10	2	4	5	2	0	0	-3	-1
1839-1861	tgcttctgtgtacaagatgtag	ACAUCUUGUACAGCAGAAGCA	CUUCUGCUGUACAAGAUGUAG	11	3	5	4	2	0	0	-2	-1
1840-1862	gcttctgtgtacaagatgtagc	UACAUCUUGUACAGCAGAAGC	UUCUGCUGUACAAGAUGUAGC	10	2	5	5	2	0	0	-3	0
1849-1871	gtacaagatgtagcaccttttct	AAAAGGUGCUACAUCUUGUAC	ACAAGAUGUAGCACCUUUUCU	10	1	4	5	2	0	0	-3	0
1860-1882	agcaccttttctccttttgaac	UCAAGAGGAGAAAAGGUGCU	CACCUUUUCUCCUCUUUGAAC	11	4	3	1	3	1	0	1	-1
1870-1892	ctcctcttgaacatggttagt	UAGACCAUGUUCAAAGAGGAG	CCUCUUUGAACAUGGUCUAGU	11	3	5	4	2	0	0	-2	0
1876-1898	tttgacatggttagtgacacg	UGUCACUAGACCAUGUUCAAA	UGAACAUUGGUCUAGUGACACG	11	3	6	4	1	0	0	-3	-1
1893-1915	gacacggttagcaccagttgcagg	UGCAACUGGUGCUACCGUGUC	CACGGUAGCACCAGUUGCAGG	11	4	3	2	4	0	0	2	-1
1900-1922	tagcaccagttgcaggaaggagc	UCCUUCUGCAACUGGUGCUA	GCACCAGUUGCAGGAAGGAGC	10	3	1	3	5	0	0	2	1
1909-1931	ttgcaggaaggagccagactgt	AAGUCUGGCUCCUUCUGCAA	GCAGGAAGGAGCCAGACUUGU	11	4	2	3	4	0	0	1	-1

1912-1934	caggaaggagccagactgttct	AACAAGUCUGGCUCCUCCUG	GGAAGGAGCCAGACUUGUUCU	8	4	4	3	3	0	0	0	0
1923-1945	cagactgttctcagagcactgt	AGUGCUCUGAGAACAAGUCUG	GACUUGUUCUCAGAGCACUGU	10	6	8	2	1	0	0	-1	-1
1928-1950	ttgttctcagagcactgtgttca	AACACAGUGCUCUGAGAACAA	GUUCUCAGAGCACUGUGUUCA	9	6	7	3	1	0	0	-2	1
1934-1956	tcagagcactgtgttcacacttt	AGUGUGAACACAGUGCUCUGA	AGAGCACUGUGUUCACACUUU	11	8	8	1	1	0	0	0	-1
1937-1959	gagcactgtgttcacacttttca	AAAAGUGUGAACACAGUGCUC	GCACUGUGUUCACACUUUUCA	11	6	7	2	1	0	0	-1	0
1939-1961	gcactgtgttcacacttttcagc	UGAAAAGUGUGAACACAGUGC	ACUGUGUUCACACUUUUCAGC	11	5	7	1	1	1	0	-1	-1
1942-1964	ctgtgttcacacttttcagcaaa	UGCUGAAAAGUGUGAACACAG	GUGUUCACACUUUUCAGCAAA	12	5	7	1	1	1	0	-1	1
1951-1973	cacttttcagcaaaaatagctat	AGCUAUUUUUGCUGAAAAGUG	CUUUUCAGCAAAAUAAGCUAU	11	2	3	0	2	2	0	0	-1
1956-1978	ttcagcaaaaatagctatggttg	ACCAUAGCUAUUUUUGCUGAA	CAGCAAAAUAAGCUAUGGUUG	12	1	1	2	3	1	0	0	0
1957-1979	tcagcaaaaatagctatggttgt	AACCAUAGCUAUUUUUGCUGA	AGCAAAAUAAGCUAUGGUUGU	10	2	1	2	3	1	0	0	0
1959-1981	agcaaaaatagctatggttgtaa	ACAACCAUAGCUAUUUUUGCU	CAAAAUAAGCUAUGGUUGUAA	11	1	1	2	3	1	0	0	0
1960-1982	gcaaaaatagctatggttgtaac	UACAACCAUAGCUAUUUUUGC	AAAAUAAGCUAUGGUUGUAAC	9	0	1	3	3	1	0	-1	-1
1965-1987	aatagctatggttgtaacatatg	UAUGUUACAACCAUAGCUAUU	UAGCUAUGGUUGUAACAUAUG	9	0	2	4	2	1	0	-3	-1
1966-1988	atagctatggttgtaacatatgt	AUAUGUUACAACCAUAGCUAU	AGCUAUGGUUGUAACAUAUGU	9	0	2	5	2	0	0	-3	0
1968-1990	agctatggttgtaacatatgtat	ACAU AUGUUACAACCAUAGCU	CUAUGGUUGUAACAUAUGUAU	10	1	3	3	2	1	0	-2	-1
1976-1998	ttgtaacatatgtattcccttcc	AAGGGAUACAUAUGUUACAA	GUAACAUAUGUAUCCCCUCC	9	0	3	3	1	2	0	-4	1
1985-2007	atgtattcccttctctgatttg	AAUCAGAGGAAGGGAUACAU	GUAUCCCCUCCUCUGAUUUG	9	2	3	3	2	1	0	-2	0
1995-2017	ttctctgatttgaaggcaaaaa	UUUGCCUUCAAAUCAGAGGAA	CCUCUGAUUUGAAGGCAAAAA	12	2	3	3	2	1	0	-2	0
1996-2018	tcctctgatttgaaggcaaaaat	UUUUGCCUUCAAAUCAGAGGA	CUCUGAUUUGAAGGCAAAAAU	9	3	3	2	2	1	0	-1	1
1998-2020	ctctgatttgaaggcaaaaatct	AUUUUUGCCUUCAAAUCAGAG	CUGAUUUGAAGGCAAAAAUCU	12	2	4	1	1	2	0	-2	0
2000-2022	ctgatttgaaggcaaaaatctac	AGAUUUUUGCCUUCAAAUCAG	GAUUUGAAGGCAAAAAUCUAC	9	1	4	1	1	2	0	-2	0
2005-2027	ttgaaggcaaaaatctacagtgt	ACUGUAGAUUUUUGCCUUCAA	GAAGGCAAAAAUCUACAGUGU	12	1	4	3	1	1	0	-3	0
2007-2029	gaaggcaaaaatctacagtgttt	ACACUGUAGAUUUUUGCCUUC	AGGCAAAAAUCUACAGUGUUU	11	2	5	2	1	1	0	-2	0

2008-2030	aaggcaaaaatctacagtgtttc	AACACUGUAGAUUUUUGCCUU	GGCAAAAAUCUACAGUGUUUC	10	2	4	3	1	1	0	-3	1
2009-2031	aggcaaaaatctacagtgtttct	AAACACUGUAGAUUUUUGCCU	GCAAAAAUCUACAGUGUUUCU	11	3	4	2	1	1	0	-2	-1
2020-2042	tacagtgtttctcacttctttt	AAGAAGUGAAGAAACACUGUA	CAGUGUUUCUUCACUUCUUUU	12	3	7	5	0	0	0	-5	-1
2022-2044	cagtgtttctcacttcttttct	AAAAGAAGUGAAGAAACACUG	GUGUUUCUUCACUUCUUUUCU	12	3	7	4	0	0	0	-4	1
2040-2062	tttctgatctggggcatgaaaaa	UUUCAUGCCCCAGAUCAGAAA	UCUGAUCUGGGGCAUGAAAAA	8	2	4	4	0	0	1	-3	0
2041-2063	ttctgatctggggcatgaaaaa	UUUUCAUGCCCCAGAUCAGAA	CUGAUCUGGGGCAUGAAAAA	10	2	4	4	0	0	1	-3	0
2042-2064	tctgatctggggcatgaaaaag	UUUUUCAUGCCCCAGAUCAGA	UGAUCUGGGGCAUGAAAAAAG	8	3	4	2	0	1	1	-2	0
2051-2073	gggcatgaaaaagcaagattga	AAUCUUGCUUUUUUCAUGCCC	GCAUGAAAAAAGCAAGAUUGA	11	0	2	3	1	1	1	-2	0
2057-2079	gaaaaagcaagattgaaatttg	AAUUUCAUCUUGCUUUUUUC	AAAAAGCAAGAUUGAAAUUUG	9	0	3	2	1	2	0	-3	1
2060-2082	aaaagcaagattgaaattgaac	UCAAUUUCAUCUUGCUUUU	AAGCAAGAUUGAAAUUGAAC	10	0	3	2	1	2	0	-3	0
2062-2084	aagcaagattgaaattgaacta	GUUCAAUUUCAUCUUGCUU	GCAAGAUUGAAAUUGAACUA	9	0	3	4	1	1	0	-4	-1
2063-2085	agcaagattgaaattgaactat	AGUUCAAAUUUCAUCUUGCU	CAAGAUUGAAAUUGAACUAU	11	1	4	3	1	1	0	-3	0
2067-2089	agattgaaattgaactatgagt	UCAUAGUCAAUUUCAUCU	AUUGAAAUUGAACUAUGAGU	9	1	5	3	0	1	0	-4	0
2089-2111	tctcctgatggcaacaaaatgt	AUUUUGUUGCCAUGCAGGAGA	UCCUGCAUGGCAACAAAUGU	7	3	2	2	3	1	0	0	0
2091-2113	tcctgatggcaacaaaatgtgt	ACAUUUUGUUGCCAUGCAGGA	CUGCAUGGCAACAAAUGUGU	12	2	2	2	3	1	0	0	-1
2097-2119	atggcaacaaaatgtgtgtcacc	UGACACACAUUUUGUUGCCAU	GGCAACAAAUGUGUGUCACC	11	3	5	2	1	1	0	-2	0
2135-2157	cagccctgaatggggatttatt	UAAAUCCCCAUUCAAGGGCUG	GCCCUUGAAUGGGGAUUUAUU	11	1	2	2	0	1	2	-1	0
2138-2160	cccttgaatggggatttattact	UAAUAAAUCCCCAUUCAAGGG	CUUGAAUGGGGAUUUAUUACU	9	0	1	2	1	1	1	-1	0
2145-2167	atggggatttattactgtgtat	ACAACAGUAAUAAAUCCCCAU	GGGGAUUUAUUACUGUUGUAU	11	1	3	2	0	1	1	-2	0
2146-2168	tggggatttattactgtgtatc	UACAACAGUAAUAAAUCCCCA	GGGAUUUAUUACUGUUGUAUC	10	2	3	2	0	1	1	-2	0
2147-2169	ggggatttattactgtgtatct	AUACAACAGUAAUAAAUCCCC	GGAUUUUAUUACUGUUGUAUCU	10	1	3	2	0	1	1	-2	0
2151-2173	atttattactgtgtatctatgt	AUAGAUACAACAGUAAUAAAU	UUAAUUACUGUUGUAUCUAUGU	9	1	4	3	0	1	0	-4	-1
2154-2176	tattactgtgtatctatgtgtgc	AACAUAGAUACAACAGUAAUA	UUACUGUUGUAUCUAUGUUGC	9	1	5	4	0	1	0	-5	-1

2162-2184	ttgtatctatgttgcataaaa	UAUCAUGCAACAUAGAUACAA	GUAUCUAUGUUGCAUGAUAAA	11	0	4	6	1	0	0	-5	-1
2163-2185	tgtatctatgttgcataaac	UUAUCAUGCAACAUAGAUACA	UAUCUAUGUUGCAUGAUAAAC	10	1	4	5	1	0	0	-4	0
2164-2186	gtatctatgttgcataaaca	UUUAUCAUGCAACAUAGAUAC	AUCUAUGUUGCAUGAUAAACA	8	0	4	4	1	1	0	-4	1
2166-2188	atctatgttgcataaacatt	UGUUUAUCAUGCAACAUAGAU	CUAUGUUGCAUGAUAAACA	13	0	4	4	1	1	0	-4	-1
2173-2195	ttgcataaacattcatcacc	UGAUGAAUGUUUAUCAUGCAA	GCAUGAUAAACAUUCAUCACC	11	0	4	4	1	1	0	-4	0
2177-2199	atgataaacattcatcaccttc	AAGGUGAUGAAUGUUUAUCAU	GAUAAACAUUCAUCACCUUCC	9	1	4	4	1	1	0	-4	0
2186-2208	attcatcaccttctctgtagt	UACAGGAGGAAGGUGAUGAAU	UCAUCACCUUCCUCCUGUAGU	11	3	3	4	3	0	0	-1	0
2226-2248	ttccctatgattgaaaagtaaa	UACUUUUCAAUCAUAGGGGAA	CCCCUAUGAUUGAAAAGUAAA	13	0	3	4	0	1	1	-4	0
2227-2249	tccctatgattgaaaagtaaac	UUACUUUUCAAUCAUAGGGGA	CCCUAUGAUUGAAAAGUAAAC	12	1	3	3	0	1	1	-3	0
2228-2250	cccctatgattgaaaagtaaca	UUUACUUUUCAAUCAUAGGGG	CCUAUGAUUGAAAAGUAAACA	11	0	3	3	0	1	1	-3	1
2233-2255	atgattgaaaagtaaaaaacc	UUUUGUUUACUUUUCAAUCAU	GAUUGAAAAGUAAACAAAACC	10	0	4	3	0	2	0	-5	1
2241-2263	aaagtaaaaaaacccacatttc	AAUGUGGGUUUUGUUUACUUU	AGUAAACAAAACCCACA	9	1	3	2	1	2	0	-3	0
2242-2264	aagtaaaaaaacccacatttc	AAAUGUGGGUUUUGUUUACUU	GUAAACAAAACCCACA	10	1	3	2	1	2	0	-3	0
2255-2277	ccacatttctatctgttaga	UAACCAGGAUAGGAAAUGUGG	ACAUUCCUAUCCUGGUUAGA	12	2	1	2	4	1	0	1	0
2261-2283	ttctatctgttagaagaaaa	UUCUUCUAACCAGGAUAGGAA	CCUAUCCUGGUUAGAAGAAAA	9	1	2	5	3	0	0	-2	0
2262-2284	tcctatctgttagaagaaaat	UUUCUUCUAACCAGGAUAGGA	CUAUCCUGGUUAGAAGAAAAU	11	2	2	4	3	0	0	-1	-1
2263-2285	cctatctgttagaagaaaatt	UUUUCUUCUAACCAGGAUAGG	UAUCCUGGUUAGAAGAAAAUU	12	1	2	4	3	0	0	-1	0
2266-2288	atcctgttagaagaaaattaat	UAAUUUUCUUCUAACCAGGAU	CCUGGUUAGAAGAAAAUUAU	11	1	2	3	2	1	0	-2	-1
2267-2289	tcctgttagaagaaaattaatg	UUAUUUUCUUCUAACCAGGA	CUGGUUAGAAGAAAAUUAUG	11	2	2	2	2	1	0	-1	0
2268-2290	cctgttagaagaaaattaatgt	AUUAUUUUCUUCUAACCAGG	UGGUUAGAAGAAAAUUAUGU	9	1	2	2	2	1	0	-1	1
2270-2292	tgttagaagaaaattaatgttc	ACAUUAUUUUCUUCUAACCA	GUUAGAAGAAAAUUAUGUUC	12	1	3	2	1	1	0	-2	0
2277-2299	aagaaaattaatgttctgacagt	UGUCAGAACAUAUUUUUUCUU	GAAAAUUAUGUUCUGACAGU	11	2	5	2	0	1	0	-3	0
2296-2318	cagttgtgatcgctggagtact	UACUCCAGGCGAUCACAACUG	GUUGUGAUCGCCUGGAGUACU	8	4	5	3	1	0	1	-1	0

2299-2321	ttgtgatcgctggagtactttt	AAGUACUCCAGGCGAUCACAA	GUGAUCGCCUGGAGUACUUUU	10	3	4	4	1	0	1	-2	-1
2307-2329	gcctggagtacttttagactttt	AAGUCUAAAAGUACUCCAGGC	CUGGAGUACUUUUAGACUUUU	12	3	4	2	2	1	0	-1	-1
2309-2331	ctggagtacttttagacttttag	AAAAGUCUAAAAGUACUCCAG	GGAGUACUUUUAGACUUUUAG	10	3	5	2	1	1	0	-2	0
2310-2332	tggagtacttttagacttttagc	UAAAAGUCUAAAAGUACUCCA	GAGUACUUUUAGACUUUUAGC	11	3	4	1	1	2	0	-2	0
2315-2337	tacttttagacttttagcattcg	AAUGCUAAAAGUCUAAAAGUA	CUUUUAGACUUUUAGCAUUCG	10	1	3	2	1	2	0	-3	-1
2321-2343	tagacttttagcattcgttttt	AAAACGAAUGCUAAAAGUCUA	GACUUUUAGCAUUCGUUUUUU	10	1	2	3	2	1	0	-2	0
2324-2346	acttttagcattcgtttttacc	UAAAAACGAAUGCUAAAAGU	UUUUAGCAUUCGUUUUUUACC	11	1	1	1	2	2	0	-1	0
2329-2351	tagcattcgtttttacgtgtt	ACAGGUAAAAACGAAUGCUA	GCAUUCGUUUUUUACCUGUUU	12	1	1	2	3	1	0	0	0
2344-2366	acctgttgtggatgtgtgttg	AACACACAUCCACAAACAGGU	CUGUUUGUGGAUGUGUGUUUG	10	5	5	3	2	0	0	-1	0
2363-2385	tttgtatgtgcatagctatgaga	UCAUACGUAUGCACAUACAAA	UGUAUGUGCAUACGUAUGAGA	9	1	3	4	2	0	0	-2	-1
2367-2389	tatgtgcatagctatgagatagg	UAUCUCAUACGUAUGCACAU	UGUGCAUACGUAUGAGAUAGG	8	2	3	4	2	0	0	-2	0
2371-2393	tgcatacgtatgagataggcaca	UGCCUAUCUCAUACGUAUGCA	CAUACGUAUGAGAUAGGCACA	10	2	2	3	3	0	0	0	1
2380-2402	atgagataggcacatgcatttc	AGAUGCAUGUGCCUAUCUCAU	GAGAUAGGCACAUGCAUCUUC	8	2	4	4	2	0	0	-2	-1
2386-2408	taggcacatgcattctgtatg	UACAGAAGAUGCAUGUGCCUA	GGCACAUGCAUCUUCUGUAUG	12	2	4	5	2	0	0	-3	-1
2387-2409	aggcacatgcattctgtatgg	AUACAGAAGAUGCAUGUGCCU	GCACAUGCAUCUUCUGUAUGG	11	3	4	4	2	0	0	-2	0
2394-2416	tgcattctgtatggacaaagg	UUUGUCCAUACAGAAGAUGCA	CAUCUUCUGUAUGGACAAAGG	10	3	4	4	2	0	0	-2	-1
2409-2431	gacaaaggtgggtacctacagg	UGUAGGUACCCACCUUUGUC	CAAAGGUGGGGUACCUACAGG	9	2	3	3	2	0	1	0	0
2422-2444	tacctacaggagagcaaaggtta	ACCUUUGCUCUCCUGUAGGUA	CCUACAGGAGAGCAAAGGUUA	10	3	2	3	4	0	0	1	1
2425-2447	ctacaggagagcaaaggttaatt	UUAACCUUUGCUCUCCUGUAG	ACAGGAGAGCAAAGGUUAAUU	11	3	3	3	3	0	0	0	0
2426-2448	tacaggagagcaaaggttaattt	AUUAACCUUUGCUCUCCUGUA	CAGGAGAGCAAAGGUUAAUUU	11	3	2	2	3	1	0	0	-1
2431-2453	gagagcaaaggtaattttgtgc	ACAAAUAUUAACCUUUGCUCUC	GAGCAAAGGUUAAUUUUGUGC	13	2	3	1	2	1	0	0	-1
2437-2459	aaaggtaattttgtgcttttag	AAAAGCACAAAUAUUAACCUUU	AGGUUAAUUUUGUGCUUUUAG	9	1	1	2	2	1	0	-1	0
2438-2460	aaggtaattttgtgcttttagt	UAAAAGCACAAAUAUUAACCUU	GGUUAUUUUGUGCUUUUAGU	9	1	1	1	2	2	0	-1	0

2448-2470	ttgtgcttttagtaaaacattt	AUGUUUUUACUAAAAGCACAA	GUGCUUUUAGUAAAAACAUUU	11	1	3	2	1	2	0	-3	1
2450-2472	gtgcttttagtaaaacatttaa	AAAUGUUUUUACUAAAAGCAC	GCUUUUAGUAAAAACAUUUAA	12	1	3	1	1	2	0	-2	0
2468-2490	tttaatacaaaagtctttattg	AUAAAGAACUUUGUAUUUAAA	UAAAUACAAAGUUCUUUAUUG	9	0	3	2	0	2	0	-4	0
2469-2491	tttaatacaaaagtctttattgg	AAUAAAGAACUUUGUAUUUAA	AAAUACAAAGUUCUUUAUUGG	9	0	3	2	0	2	0	-4	1
2482-2504	tctttattgggtggaattatatt	UAUAAUUCCACCCAAUAAAGA	UUUAUUGGGUGGAAUUAUAAU	8	2	1	0	2	2	0	0	-1
2483-2505	ctttattgggtggaattatattt	AUAUAAUUCCACCCAAUAAAG	UUAUUGGGUGGAAUUAUAAUU	8	1	1	0	2	2	0	0	1
2493-2515	tggaattatatttgatgcaaata	UUUGCAUCAAAUAUAAUCCA	GAAUUAUAUUUGAUGCAAAUA	11	1	1	2	2	1	0	-1	0
2503-2525	tttgatgcaaatttgatcact	UGAUCAAAUAUUUGCAUCAA	UGAUGCAAAUAUUUGAUCACU	10	0	3	3	1	1	0	-3	0
2508-2530	tgcaaatatttgatcacttaaaa	UUAAGUGAUCAAAUAUUUGCA	CAAAUAUUUGAUCACUAAAA	10	2	3	2	1	1	0	-2	1
2509-2531	gcaaatatttgatcacttaaaac	UUUAAGUGAUCAAAUAUUUGC	AAUAUUUGAUCACUAAAAAC	10	1	3	1	1	2	0	-2	-1
2510-2532	caaatatttgatcacttaaaact	UUUUAAAGUGAUCAAAUAUUUG	AAUAUUUGAUCACUAAAAACU	10	1	4	1	0	2	0	-3	0
2525-2547	ttaaaacttttaaaacttctagg	UAGAAGUUUAAAAGUUUUAA	AAAACUUUAAAACUUCUAGG	10	0	3	2	0	2	0	-4	0
2533-2555	tttaaaacttctaggtaatttgc	AAAUUACCUAGAAGUUUUAAA	UAAAACUUCUAGGUAAUUUGC	10	0	2	2	1	2	0	-3	-1
2543-2565	ctaggtaatttgccacgctttt	AAAGCGUGGCAAAUUAACCUAG	AGGUAAUUUGCCACGCUUUUU	10	1	1	2	3	1	0	0	1
2544-2566	taggtaatttgccacgcttttg	AAAAGCGUGGCAAAUUAACCUA	GGUAAUUUGCCACGCUUUUUG	10	1	0	2	3	1	0	0	0
2545-2567	aggtaatttgccacgcttttga	AAAAAGCGUGGCAAAUUAACCU	GUAAUUUGCCACGCUUUUUGA	9	2	0	0	3	2	0	1	0
2547-2569	gtaatttgccacgcttttgact	UCAAAAAGCGUGGCAAAUUAAC	AAUUUGCCACGCUUUUUGACU	9	1	2	0	2	2	0	0	1
2554-2576	gccacgcttttgactgctcacc	UGAGCAGUCAAAAAGCGUGGC	CACGCUUUUUGACUGCUCACC	11	4	3	0	3	1	0	2	0
2558-2580	cgcttttgactgctcaccaata	UUGGUGAGCAGUCAAAAAGCG	CUUUUUGACUGCUCACCAAUA	11	4	3	1	3	1	0	1	-1
2560-2582	cttttgactgctcaccaatacc	UAUUGGUGAGCAGUCAAAAAG	UUUUGACUGCUCACCAAUACC	9	4	4	1	2	1	0	0	0
2564-2586	ttgactgctcaccaataccctgt	AGGGUAUUGGUGAGCAGUCAA	GACUGCUCACCAAUACCCUGU	9	4	3	1	3	1	0	1	1
2568-2590	ctgctcaccaataccctgtaaaa	UUACAGGGUAUUGGUGAGCAG	GCUCACCAAUACCCUGUAAAA	12	4	3	1	3	1	0	1	0
2569-2591	tgctcaccaataccctgtaaaaa	UUUACAGGGUAUUGGUGAGCA	CUCACCAAUACCCUGUAAAAA	13	4	2	1	3	1	0	1	0

2571-2593	ctcaccaataaccctgtaaaaata	UUUUUACAGGGUAUUGGUGAG	CACCAAUACCCUGUAAAAAUA	11	3	3	0	2	2	0	0	0
2572-2594	tcaccaataaccctgtaaaaatac	AUUUUUACAGGGUAUUGGUGA	ACCAAUACCCUGUAAAAAUAC	10	3	2	0	2	2	0	0	0
2573-2595	caccaataaccctgtaaaaatacg	UAUUUUUACAGGGUAUUGGUG	CCAAUACCCUGUAAAAAUACG	10	2	2	0	2	2	0	0	-1
2578-2600	ataccctgtaaaaatacgtatt	UUACGUUUUUUACAGGGUAU	ACCCUGUAAAAAUACGUAAUU	9	1	1	2	2	1	0	-1	0
2579-2601	taccctgtaaaaatacgtattc	AUUACGUUUUUUACAGGGUA	CCCUGUAAAAAUACGUAAUUC	9	1	1	2	2	1	0	-1	0
2580-2602	accctgtaaaaatacgtattct	AAUUACGUUUUUUACAGGGU	CCUGUAAAAAUACGUAAUUCU	9	2	1	0	2	2	0	0	0
2583-2605	ctgtaaaaatacgtattcttcc	AAGAAUUACGUUUUUUACAG	GUAAAAAUACGUAAUUCUCC	9	1	3	1	1	2	0	-2	1
2592-2614	tacgtattcttctgtttgtgt	ACAAACAGGAAGAAUUACGUA	CGUAAUUCUCCUGUUUGUGU	11	1	3	3	2	1	0	-2	0
2598-2620	attcttctgtttgtgtaataag	UAUUACACAAACAGGAAGAAU	UCUCCUGUUUGUGUAAUAAG	10	2	4	3	1	1	0	-3	0
2599-2621	ttcttctgtttgtgtaataaga	UUUUUACACAAACAGGAAGAA	CUUCCUGUUUGUGUAAUAAGA	11	2	4	3	1	1	0	-3	0
2601-2623	cttctgtttgtgtaataagata	UCUUUUUACACAAACAGGAAG	UCCUGUUUGUGUAAUAAGAU	11	2	5	2	1	1	0	-2	-1
2602-2624	ttctgtttgtgtaataagatat	AUCUUUUUACACAAACAGGAA	CCUGUUUGUGUAAUAAGAU	11	2	4	3	1	1	0	-3	1
2603-2625	tcctgtttgtgtaataagattt	UAUCUUUUUACACAAACAGGA	CUGUUUGUGUAAUAAGAUUU	11	3	4	2	1	1	0	-2	-1
2605-2627	ctgtttgtgtaataagatttca	AAUAUCUUUUUACACAAACAG	GUUUGUGUAAUAAGAUUUUCA	10	2	5	1	0	2	0	-3	0
2609-2631	ttgtgtaataagatttcatatt	UAUGAAUAUCUUUUUACACAA	GUGUAAUAAGAUUUUCAUAAU	11	1	4	2	0	2	0	-4	1
2611-2633	gtgtaataagatttcatatttg	AAUAUGAAUAUCUUUUUACAC	GUAAUAAGAUUUUCAUAAUUG	10	1	4	0	0	3	0	-3	0
2612-2634	tgtgtaataagatttcatattgt	AAUAUGAAUAUCUUUUUACA	UAAUAAGAUUUUCAUAAUUGU	9	1	3	0	0	3	0	-3	0
2614-2636	taataagatttcatattttag	ACAAUAUGAAUAUCUUUUUA	AUAAGAUUUUCAUAAUUGUAG	9	0	3	0	0	3	0	-3	0
2615-2637	aataagatttcatattttagt	UACAAUAUGAAUAUCUUUUU	UAAGAUUUUCAUAAUUGUAGU	10	0	3	1	0	3	0	-4	1
2618-2640	aagatttcatattttagtgc	AACUACAAUAUGAAUAUCUU	GAUAAUUAUAAUUGUAGUUGC	9	0	4	3	0	2	0	-5	0
2624-2646	ttcatattttagtgcattaat	UAAUGCAACUACAAUAUGAA	CAUAAUUGUAGUUGCAUAAU	9	0	3	4	1	1	0	-4	0
2625-2647	tcatattttagtgcattaata	UUAUGCAACUACAAUAUGA	AUAUUUGUAGUUGCAUAAUA	7	1	3	2	1	2	0	-3	1
2626-2648	catattttagtgcattaataa	AUUAUGCAACUACAAUAUG	UAUUUGUAGUUGCAUAAUAA	10	0	3	2	1	2	0	-3	-1

2627-2649	atattttagttagtcattaataat	UAUUA AUGCAACUACAAAU AU	AUUUGUAGUUGCAUUA AUAAU	10	0	2	2	1	2	0	-3	0
2628-2650	tattttagttagtcattaataata	UUAUUA AUGCAACUACAAAU A	UUUGUAGUUGCAUUA AUAAU A	9	0	2	2	1	2	0	-3	1
2630-2652	ttttagttagtcattaataatagt	UAUUAUUA AUGCAACUACAAA	UGUAGUUGCAUUA AUAAU AGU	9	0	2	3	1	1	0	-3	-1
2634-2656	tagttagtcattaataatagtatt	UAACUAUUAUUA AUGCAACUA	GUUGCAUUA AUAAU AGUUAU	12	0	2	3	1	1	0	-3	0
2641-2663	attaataatagtatttcttagt	UAAGAAAUAA CUAUUAUUAU	UAAUAAUAGUUAU UUCUAGU	11	0	2	1	0	2	0	-3	-1
2649-2671	tagttatttcttagtccatcaga	UGAUGGACUAAGAAAUAA CUA	GUUAU UUCUAGUCCAUCAGA	9	1	4	3	1	1	0	-3	0
2681-2703	gtgcctcttttatgccaaattga	AAUUUGGCAUAAAAGAGGCAC	GCCUCUUUAUGCCAAAUUGA	11	2	2	0	2	2	0	0	0
2683-2705	gcctcttttatgccaaattgatt	UCAAUUUGGCAUAAAAGAGGC	CUCUUUAUGCCAAAUUGAUU	12	1	2	0	2	2	0	0	1
2685-2707	ctcttttatgccaaattgattgt	AAUCAAUUUGGCAUAAAAGAG	CUUUUAUGCCAAAUUGAUUGU	11	1	3	1	1	2	0	-2	0
2691-2713	tatgccaaattgattgtcatatt	UAUGACAAUCAAUUUGGCAUA	UGCCAAAUUGAUUGUCAUAU	8	1	3	3	1	1	0	-3	1
2692-2714	atgccaaattgattgtcatattt	AUAUGACAAUCAAUUUGGCAU	GCCAAAUUGAUUGUCAUAUU	10	1	3	3	1	1	0	-3	-1
2694-2716	gccaaattgattgtcatatttca	AAUAUGACAAUCAAUUUGGC	CAAAUUGAUUGUCAUAUUUCA	10	1	3	1	1	2	0	-2	0
2696-2718	caaattgattgtcatatttcatg	UGAAAUUGACAAUCAAUUUG	AAUUGAUUGUCAUAUUUCAUG	9	1	5	1	0	2	0	-3	-1
2700-2722	ttgattgtcatatttcatgttgg	AACAUGAAAUUGACAAUCAA	GAUUGUCAUAUUUCAUGUUGG	9	1	5	4	0	1	0	-5	0
2704-2726	ttgtcatatttcatgttgggacc	UCCCAACAUGAAAUUGACAA	GUCAUAUUUCAUGUUGGGACC	10	1	4	3	1	1	0	-3	1
2711-2733	atttcatgttgggaccaagtagt	UACUUGGUCCCAACAUGAAU	UUCAUGUUGGGACCAAGUAGU	7	1	3	4	2	1	0	-3	0
2713-2735	ttcatgttgggaccaagtagttt	ACUACUUGGUCCCAACAUGAA	CAUGUUGGGACCAAGUAGUUU	10	1	4	5	2	0	0	-3	-1
2727-2749	aagtagtttgcctatggcaaacc	UUUGCCAUGGGCAAACUACU	GUAGUUUGCCAUGGCAAACC	9	0	2	5	1	0	1	-3	0
2736-2758	gcccatggcaaacctaaatttat	AAAUUUAGGUUUGCCAUGGGC	CCAUGGCAAACCUAAAUUUAU	12	0	0	2	2	1	1	0	0
2737-2759	cccatggcaaacctaaatttatg	UAAAUUUAGGUUUGCCAUGGG	CAUGGCAAACCUAAAUUUAUG	11	0	0	2	3	1	0	0	1
2738-2760	ccatggcaaacctaaatttatga	AUAAAUUUAGGUUUGCCAUGG	AUGGCAAACCUAAAUUUAUGA	9	0	0	2	3	1	0	0	0
2740-2762	atggcaaacctaaatttatgacc	UCAUAAAUUUAGGUUUGCCAU	GGCAAACCUAAAUUUAUGACC	11	0	1	2	2	1	0	-1	0
2759-2781	gacctgctgaggcctctcagaaa	UCUGAGAGGCCUCAGCAGGUC	CCUGCUGAGGCCUCUCAGAAA	8	7	5	0	2	0	1	3	0

2760-2782	acctgctgaggcctctcagaaaa	UUCUGAGAGGCCUCAGCAGGU	CUGCUGAGGCCUCUCAGAAAA	10	7	4	1	2	0	1	2	0
2770-2792	gcctctcagaaaactgagcatat	AUGCUCAGUUUUCUGAGAGGC	CUCUCAGAAAACUGAGCAUAC	11	5	5	1	2	1	0	0	0
2772-2794	ctctcagaaaactgagcatacta	GUAUGCUCAGUUUUCUGAGAG	CUCAGAAAACUGAGCAUACUA	7	5	6	1	1	1	0	-1	1
2773-2795	tctcagaaaactgagcatactag	AGUAUGCUCAGUUUUCUGAGA	UCAGAAAACUGAGCAUACUAG	9	5	6	1	1	1	0	-1	-1
2774-2796	ctcagaaaactgagcatactagc	UAGUAUGCUCAGUUUUCUGAG	CAGAAAACUGAGCAUACUAGC	10	4	6	2	1	1	0	-2	1
2777-2799	agaaaactgagcatactagcaag	UGCUAGUAUGCUCAGUUUUCU	AAAACUGAGCAUACUAGCAAG	10	3	4	2	2	1	0	-1	0
2778-2800	gaaaactgagcatactagcaaga	UUGCUAGUAUGCUCAGUUUUC	AAACUGAGCAUACUAGCAAGA	12	2	4	3	2	1	0	-2	-1
2782-2804	actgagcatactagcaagacagc	UGUCUUGCUAGUAUGCUCAGU	UGAGCAUACUAGCAAGACAGC	11	4	5	3	2	0	0	-1	-1
2793-2815_C4	tagcaagacagctcttcttgaaa	UCAAGAAGAGCUGUCUUGCUA	GCAAGACAGCUCUUCUUGAAA	13	3	5	4	2	0	0	-2	0
2795-2817	gcaagacagctcttcttgaaaaa	UUUCAAGAAGAGCUGUCUUGC	AAGACAGCUCUUCUUGAAAAA	11	3	5	4	2	0	0	-2	1
2797-2819	aagacagctcttcttgaaaaaaa	UUUUUCAAGAAGAGCUGUCUU	GACAGCUCUUCUUGAAAAAAA	13	3	5	3	1	1	0	-3	0
2873-2895	cacatgtatattcttcttgatt	UCAAGGAAGAAUUAUCAUGUG	CAUGUAUAUUCUUCUUGAUU	11	1	5	3	1	1	0	-3	0
2883-2905	ttcttcttgattgtgtagctgt	AGCUACACAAUCAAGGAAGAA	CUUCCUUGAUUGUGUAGCUGU	11	1	4	5	2	0	0	-3	0
2889-2911	cttgattgttagctgtccaaaa	UUGGACAGCUACACAAUCAAG	UGAUUGUGUAGCUGUCCAAAA	12	3	5	4	2	0	0	-2	0
2890-2912	ttgattgttagctgtccaaaat	UUUGGACAGCUACACAAUCAA	GAUUGUGUAGCUGUCCAAAAU	10	3	4	4	2	0	0	-2	1
2891-2913	tgattgttagctgtccaaaata	UUUUGGACAGCUACACAAUCA	AUUGUGUAGCUGUCCAAAAUA	9	4	4	3	2	0	0	-1	0
2892-2914	gattgttagctgtccaaaataa	AUUUUGGACAGCUACACAAUC	UUGUGUAGCUGUCCAAAAUAA	11	3	4	2	2	1	0	-1	-1
2893-2915	attgtgttagctgtccaaaataat	UAUUUUGGACAGCUACACAAU	UGUGUAGCUGUCCAAAAUAAU	10	3	3	2	2	1	0	-1	1
2896-2918	gtgtagctgtccaaaataatac	UAUUUUUUGGACAGCUACAC	GUAGCUGUCCAAAAUAAUAAC	11	3	3	1	2	1	0	0	0
2897-2919	tgtagctgtccaaaataataca	UUAUUUUUUGGACAGCUACA	UAGCUGUCCAAAAUAAUAACA	10	3	2	1	2	1	0	0	-1
2899-2921	tagctgtccaaaataataacata	UGUUAUUUUUUGGACAGCUA	GCUGUCCAAAAUAAUAACUA	10	2	2	1	2	1	0	0	0
2900-2922	agctgtccaaaataataacatat	AUGUUAUUUUUUGGACAGCU	CUGUCCAAAAUAAUAACAUAU	11	3	2	1	2	1	0	0	0
2901-2923	gctgtccaaaataataacatata	UAUGUUAUUUUUUGGACAGC	UGUCCAAAAUAAUAACAUUA	9	2	2	1	2	1	0	0	0

2902-2924	ctgtccaaaataataacatatat	AUAUGUUAUUUUUUGGACAG	GUCCAAAAUAAUAACAUUAU	10	2	3	1	1	1	0	-1	0
2905-2927	tcmetaataataacatatataga	UAUAUAUGUUAUUUUUGGA	CAAAAUAAUAACAUUAUAGA	12	1	1	0	1	2	0	-1	0
2917-2939	acatatatagaggagctgtatt	UACAGCUCUCCUCUAUAUAUGU	AUAUAUAGAGGGAGCUGUAUU	10	4	3	1	2	1	0	0	1
2919-2941	atatatagaggagctgtattcc	AAUACAGCUCUCCUCUAUAUAU	AUAUAGAGGGAGCUGUAUUCC	7	3	2	1	2	1	0	0	0
2927-2949	aggagctgtattcctttataca	UAUAAAGGAAUACAGCUCUCCU	GGAGCUGUAUUCCUUUAUACA	13	3	1	0	3	2	0	1	0
2930-2952	gagctgtattcctttatacaaat	UUGUAUAAAGGAAUACAGCUC	GCUGUAUUCCUUUAUACAAAU	10	2	3	1	2	2	0	-1	0
2931-2953	agctgtattcctttatacaaatc	UUUGUAUAAAGGAAUACAGCU	CUGUAUUCCUUUAUACAAAU	11	2	2	1	2	2	0	-1	-1
2965-2987	gcagcacttttcttctgaaaa	UUCAGAAGGAAAAAGUGCUGC	AGCACUUUUUCCUUCUGAAAA	12	3	3	2	3	1	0	0	0
2966-2988	cagcacttttcttctgaaaaat	UUUCAGAAGGAAAAAGUGCUG	GCACUUUUUCCUUCUGAAAAU	11	3	4	2	2	1	0	-1	1
2975-2997	ttccttctgaaaatatttacatt	UGUAAAUAUUUUCAGAAGGAA	CCUUCUGAAAAUAUUUACAUU	13	1	3	2	1	1	0	-2	0
2991-3013	ttacatttctgaacctagtttg	AACUAGGUUAGCAAAAUGUAA	ACAUUUUGCUAACCUAGUUUG	9	0	2	4	2	1	0	-3	-1
2992-3014	tacatttctgaacctagtttgt	AAACUAGGUUAGCAAAAUGUA	CAUUUUGCUAACCUAGUUUGU	11	0	2	4	2	1	0	-3	0
2996-3018	tttctgaacctagtttgttact	UAACAAACUAGGUUAGCAAAA	UUGCUAACCUAGUUUGUUACU	11	0	2	4	2	1	0	-3	-1
2998-3020	ttgtaacctagtttgttacttt	AGUAACAAACUAGGUUAGCAA	GCUAACCUAGUUUGUUACUUU	11	0	3	5	2	0	0	-3	1
2999-3021	tgtaacctagtttgttacttta	AAGUAACAAACUAGGUUAGCA	CUAACCUAGUUUGUUACUUUA	11	1	3	5	2	0	0	-3	-1
3000-3022	gtaacctagtttgttactttaa	AAAGUAACAAACUAGGUUAGC	UAACCUAGUUUGUUACUUUAA	13	0	3	5	2	0	0	-3	0
3001-3023	ctaactagtttgttactttaaa	UAAAGUAACAAACUAGGUUAG	AACCUAGUUUGUUACUUUAAA	11	0	4	5	1	0	0	-4	0
3002-3024	taacctagtttgttactttaaaa	UUAAGUAACAAACUAGGUUA	ACCUAGUUUGUUACUUUAAAA	10	0	3	4	1	1	0	-4	1
3003-3025	aacctagtttgttactttaaaaa	UUUAAAGUAACAAACUAGGUU	CCUAGUUUGUUACUUUAAAAA	13	0	3	4	1	1	0	-4	-1
3005-3027	cctagtttgttactttaaaaatc	UUUUUAAAGUAACAAACUAGG	UAGUUUGUUACUUUAAAAAUC	11	0	3	3	1	1	0	-3	0
3015-3037	tactttaaaaatcagttttgatg	UCAAACUGAUUUUUAAAGUA	CUUUAAAAAUCAGUUUUGAUG	10	1	4	1	0	2	0	-3	0
3019-3041	ttaaaaatcagttttgatgaag	UUCAUCAAACUGAUUUUUUAA	AAAAAUCAGUUUUGAUGAAAG	10	1	4	2	0	2	0	-4	-1
3035-3057	atgaaggagggaagcagatg	UCUGCUUUUCCCUCCUUUCAU	GAAAGGAGGGAAAAGCAGAUG	9	2	2	2	3	1	0	0	0

3044-3066	gggaaaagcagatggacttgaaa	UCAAGUCCAUCUGCUUUUCCC	GAAAAGCAGAUGGACUUGAAA	12	2	3	2	3	1	0	0	-1
3045-3067	ggaaaagcagatggacttgaaaa	UUCAAGUCCAUCUGCUUUUCC	AAAAGCAGAUGGACUUGAAAA	12	2	3	3	3	1	0	-1	0
3046-3068	gaaaagcagatggacttgaaaa	UUUCAAGUCCAUCUGCUUUUC	AAAGCAGAUGGACUUGAAAAA	12	2	4	3	2	1	0	-2	1
3047-3069	aaaagcagatggacttgaaaag	UUUUCAAGUCCAUCUGCUUUU	AAGCAGAUGGACUUGAAAAAG	11	2	3	3	2	1	0	-2	0
3048-3070	aaagcagatggacttgaaaaga	UUUUUCAAGUCCAUCUGCUUU	AGCAGAUGGACUUGAAAAAGA	11	2	3	3	2	1	0	-2	-1
3050-3072	agcagatggacttgaaaagatc	UCUUUUUCAAGUCCAUCUGCU	CAGAUGGACUUGAAAAAGAUC	12	3	4	2	2	1	0	-1	-1
3051-3073	gcagatggacttgaaaagatcc	AUCUUUUUCAAGUCCAUCUGC	AGAUGGACUUGAAAAAGAUC	11	2	4	3	2	1	0	-2	0
3055-3077	atggacttgaaaagatccaagc	UUGGAUCUUUUUCAAGUCCA	GGACUUGAAAAAGAUGCCAAGC	11	1	3	4	2	1	0	-3	0
3064-3086	aaaaagatccaagctcctattag	AAUAGGAGCUUGGAUCUUUUU	AAAGAUCCAAGCUCCUAUUAG	10	1	1	3	3	1	0	-1	0
3065-3087	aaaagatccaagctcctattaga	UAAUAGGAGCUUGGAUCUUUU	AAGAUCCAAGCUCCUAUUAGA	7	1	1	2	3	2	0	-1	1
3067-3089	aagatccaagctcctattagaaa	UCUAAUAGGAGCUUGGAUCUU	GAUCCAAGCUCCUAUUAGAAA	13	1	2	3	3	1	0	-1	-1
3069-3091	gatccaagctcctattagaaaag	UUUCUAAUAGGAGCUUGGAUC	UCCAAGCUCCUAUUAGAAAAG	9	1	2	3	3	1	0	-1	0
3070-3092	atccaagctcctattagaaaagg	UUUUCUAAUAGGAGCUUGGAU	CCAAGCUCCUAUUAGAAAAGG	13	1	1	3	3	1	0	-1	-1
3074-3096	aagctcctattagaaaaggtatg	UACCUUUUCUAAUAGGAGCUU	GCUCCUAUUAGAAAAGGUAUG	11	1	1	2	3	2	0	-1	0
3075-3097	agctcctattagaaaaggtatga	AUACCUUUUCUAAUAGGAGCU	CUCCUAUUAGAAAAGGUAUGA	9	2	1	1	3	2	0	0	1
3077-3099	ctcctattagaaaaggtatgaaa	UCAUACCUUUUCUAAUAGGAG	CCUAUUAGAAAAGGUAUGAAA	10	1	3	1	2	2	0	-1	0
3081-3103	tattagaaaaggtatgaaatct	AUUUUCAUACCUUUUCUAAUA	UUAGAAAAGGUAUGAAAAUCU	8	0	2	1	1	3	0	-3	0
3084-3106	tagaaaaggtatgaaatcttta	AAGAUUUUCAUACCUUUUCUA	GAAAAGGUAUGAAAAUCUUUA	11	0	3	3	1	2	0	-4	0
3086-3108	gaaaaggtatgaaatctttata	UAAAGAUUUUCAUACCUUUUC	AAAGGUAUGAAAAUCUUUAUA	12	0	3	2	1	2	0	-3	-1
3088-3110	aaaggtatgaaatctttatagt	UAUAAAGAUUUUCAUACCUUU	AGGUAUGAAAAUCUUUAUAGU	10	0	2	2	1	2	0	-3	0
3090-3112	aggtatgaaatctttatagtaa	ACUAUAAAGAUUUUCAUACCU	GUAUGAAAAUCUUUAUAGUAA	12	1	3	1	1	2	0	-2	0
3092-3114	gtatgaaatctttatagtaaaa	UUACUAUAAAGAUUUUCAUAC	AUGAAAAUCUUUAUAGUAAAA	11	0	4	2	0	2	0	-4	-1
3096-3118	gaaatctttatagtaaaatttt	AAUUUUACUAUAAAGAUUUUC	AAAUCUUUAUAGUAAAAUUUU	10	0	3	0	0	3	0	-3	0

3107-3129	tagtaaaatTTTTATAAactaa	AGUUUAUAAAAAUUUUACUA	GUAAAAUUUUUUAUAAACUAA	12	0	2	1	0	1	0	-2	0
3116-3138	TTTTATAAactaaagttgtacc	UACAACUUUAGUUUAUAAAA	UUUAUAAACUAAAGUUGUACC	8	0	3	2	0	2	0	-4	-1
3122-3144	taaactaaagttgtacctTTTaa	AAAAGGUACAACUUUAGUUUA	AACUAAAGUUGUACCUUUUAA	10	0	3	3	1	2	0	-4	0
3123-3145	aaactaaagttgtacctTTtaat	UAAAAGGUACAACUUUAGUUU	ACUAAAGUUGUACCUUUUAAU	8	0	3	3	1	2	0	-4	1
3124-3146_C5	aactaaagttgtacctTTtaata	UUAAAAGGUACAACUUUAGUU	CUAAAGUUGUACCUUUUAAUA	13	0	3	3	1	2	0	-4	-1
3126-3148	ctaaagttgtacctTTtaatatg	UAUUAAAAGGUACAACUUUAG	AAAGUUGUACCUUUUAAUAUG	10	0	3	2	1	2	0	-3	1
3130-3152	agttgtacctTTtaatatgtagt	UACAUAUUAAAAGGUACAACU	UUGUACCUUUUAAUAUGUAGU	10	1	3	3	1	1	0	-3	0
3132-3154	ttgtacctTTtaatatgtagtaa	ACUACAUAUUAAAAGGUACAA	GUACCUUUUAAUAUGUAGUAA	11	0	3	3	1	1	0	-3	0
3145-3167	tatgtagtaaactctcatttatt	UAAAUGAGAGUUUACUACUA	UGUAGUAAACUCUCAUUUAUU	9	2	5	2	0	2	0	-4	1
3169-3191	ggggttcgctcttgatctcatc	UGAGAUGCAAGAGCGAACCCC	GGUUCGCUCUUGGAUCUCAUC	10	2	3	3	2	0	1	0	-1
3170-3192	gggttcgctcttgatctcatcc	AUGAGAUGCAAGAGCGAACCC	GUUCGCUCUUGGAUCUCAUCC	12	2	3	4	3	0	0	-1	0
3173-3195	tcgctcttgatctcatccatc	UGGAUGAGAUGCAAGAGCGAA	CGCUCUUGGAUCUCAUCCAUC	11	2	3	4	3	0	0	-1	-1
3174-3196	tcgctcttgatctcatccatcc	AUGGAUGAGAUGCAAGAGCGA	GCUCUUGGAUCUCAUCCAUCC	11	3	3	4	3	0	0	-1	0
3181-3203	tggatctcatccatccattgtgt	ACAAUGGAUGGAUGAGAUGCA	GAUCUCAUGCAUGCAUUGUGU	10	2	3	4	3	0	0	-1	0
3186-3208	ctcatccatccattgtgtctct	AGAACACAAUGGAUGGAUGAG	CAUGCAUGCAUUGUGUUCUCU	11	2	5	4	2	0	0	-2	-1
3190-3212	tccatccattgtgtctctTTaa	AAAGAGAACACAAUGGAUGGA	CAUGCAUUGUGUUCUCUUUAA	12	3	4	4	2	0	0	-2	-1
3192-3214	catccattgtgtctctTTaatg	UUAAAGAGAACACAAUGGAUG	UCCAUGUGUUCUCUUUAAUG	11	2	5	3	1	1	0	-3	-1
3193-3215	atccattgtgtctctTTaatgc	AUUAAAGAGAACACAAUGGAU	CCAUUGUGUUCUCUUUAAUGC	12	2	4	3	1	1	0	-3	0
3217-3239	gcctgccttttgaggcattcact	UGAAUGCCUCAAAGGCAGGC	CUGCCUUUUGAGGCAUUCACU	9	2	2	1	3	1	0	1	1
3219-3241	ctgccttttgaggcattcactgc	AGUGAAUGCCUCAAAGGCAG	GCCUUUUGAGGCAUUCACUGC	11	3	4	1	2	1	0	0	1
3229-3251	aggcattcactgccttagacaat	UGUCUAGGGCAGUGAAUGCCU	GCAUUCACUGCCCUAGACAAU	10	4	4	2	1	0	1	0	1
3230-3252	ggcattcactgccttagacaatg	UUGUCUAGGGCAGUGAAUGCC	CAUUCACUGCCCUAGACAAUG	8	3	4	3	1	0	1	-1	0
3244-3266	tagacaatgccaccagagatagt	UAUCUCUGGUGGCAUUGUCUA	GACAAUGCCACCAGAGAUAGU	9	4	4	3	2	0	0	-1	-1

3246-3268	gacaatgccaccagagatagtg	ACUAUCUCUGGUGGCAUUGUC	CAAUGCCACCAGAGAUAGUGG	8	4	5	2	2	0	0	0	0
3259-3281	gagatagtgggggaaatgccaga	UGGCAUUUCCCCCACUAUCUC	GAUAGUGGGGGAAAUGCCAGA	8	2	3	1	1	1	1	0	0
3266-3288	tgggggaaatgccagatgaaacc	UUUCAUCUGGCAUUUCCCCCA	GGGGAAAUGCCAGAUGAAACC	9	2	2	2	1	1	1	-1	0
3267-3289	gggggaaatgccagatgaaacca	GUUUCAUCUGGCAUUUCCCCC	GGGAAAUGCCAGAUGAAACCA	9	1	2	2	1	1	1	-1	0
3269-3291	gggaaatgccagatgaaaccaac	UGGUUUCAUCUGGCAUUUCCC	GAAAUGCCAGAUGAAACCAAC	8	1	2	2	3	1	0	0	1
3270-3292	ggaaatgccagatgaaaccaact	UUGGUUUCAUCUGGCAUUUCC	AAAUGCCAGAUGAAACCAACU	11	1	2	3	3	1	0	-1	-1
3274-3296	atgccagatgaaaccaactcttg	AGAGUUGGUUUCAUCUGGCAU	GCCAGAUGAAACCAACUCUUG	11	2	4	4	2	0	0	-2	0
3275-3297	tgccagatgaaaccaactcttgc	AAGAGUUGGUUUCAUCUGGCA	CCAGAUGAAACCAACUCUUGC	11	3	4	4	2	0	0	-2	0
3278-3300	cagatgaaaccaactcttgctct	AGCAAGAGUUGGUUUCAUCUG	GAUGAAACCAACUCUUGCUCU	11	2	5	4	2	0	0	-2	-1
3304-3326	tagttgtcagcttctctggataa	AUCCAGAGAAGCUGACAACUA	GUUGUCAGCUUCUCUGGAUAA	12	4	5	4	2	0	0	-2	-1
3306-3328	gttgtcagcttctctggataagt	UUAUCCAGAGAAGCUGACAAC	UGUCAGCUUCUCUGGAUAAGU	9	4	5	3	2	0	0	-1	1
3317-3339	ctctggataagtaccacagaag	UCUGUGGUCACUUAUCCAGAG	CUGGAUAAGUGACCACAGAAG	11	6	6	0	2	1	0	1	-1
3321-3343	ggataagtaccacagaagcagg	UGCUCUGUGGUCACUUAUCC	AUAAGUGACCACAGAAGCAGG	10	4	4	1	3	1	0	1	0
3358-3380	ggcatcattgggccagttccttc	AGGAACUGGCCCAAUGAUGCC	CAUCAUUGGGCCAGUUCCUUC	8	1	2	3	2	0	1	0	0
3367-3389	gggccagttccttctctttaa	UUAAGAGAAGGAACUGGCCC	GCCAGUUCCUUCUCUUUAAAU	12	2	3	2	1	1	1	-1	-1
3374-3396	ttccttctctttaa	AUCUGAUUUAAAGAGAAGGAA	CCUUCUCUUUAAAUUCAGAUUU	12	2	4	3	1	1	0	-3	0
3375-3397	tccttctctttaa	AAUCUGAUUUAAAGAGAAGGA	CUUCUCUUUAAAUUCAGAUUUG	10	3	4	2	1	1	0	-2	0
3378-3400	ttcttctttaa	ACAAAUCUGAUUUAAAGAGAA	CUCUUUAAAUUCAGAUUUGUAA	10	2	5	1	0	2	0	-3	0
3380-3402	ctctttaa	UUACAAAUCUGAUUUAAAGAG	CUUUAAAUUCAGAUUUGUAAUG	12	2	5	1	0	2	0	-3	-1
3393-3415	atttgtaatggctccaaattcc	AAUUUGGGAGCCAUUACAAAU	UUGUAAUGGCUCCCAAAUUCC	9	1	1	0	2	3	0	-1	0
3396-3418	tgtaatggctccaaattccatc	UGGAAUUUGGGAGCCAUUACA	UAAUGGCUCCCAAAUUCCAUC	8	2	1	0	3	2	0	1	0
3404-3426	ctccaaattccatcacatcaca	UGAUGUGAUGGAAUUUGGGAG	CCCAAAUUCCAUCACAUCACA	10	2	4	2	2	1	0	-1	0
3410-3432	aattccatcacatcacatttaa	UAAAUGUGAUGUGAUGGAAUU	UCCAUCACAUCACAUUUAAA	10	2	4	2	1	2	0	-3	-1

3411-3433	attccatcacatcacatttaaat	UUAAAUGUGAUGUGAUGGAAU	UCCAUCACAUCACAUUUAAAU	9	2	4	3	1	1	0	-3	0
3412-3434	ttccatcacatcacatttaatt	UUUAAAUGUGAUGUGAUGGAA	CCAUCACAUCACAUUUAAAU	13	2	4	3	1	1	0	-3	1
3417-3439	tcacatcacatttaattgcaga	UGCAAUUUAAAUGUGAUGUGA	ACAUCACAUUUAAAUUGCAGA	10	3	4	1	1	1	0	-1	0
3423-3445	cacatttaattgcagacagtg	ACUGUCUGCAAUUUAAAUGUG	CAUUUAAAUUGCAGACAGUGU	11	4	5	0	1	1	0	0	0
3433-3455	ttgcagacagtggtttgcacatc	UGUGCAAAACACUGUCUGCAA	GCAGACAGUGUUUUGCACAUC	12	5	5	1	2	1	0	0	1
3434-3456	tgcagacagtggtttgcacatca	AUGUGCAAAACACUGUCUGCA	CAGACAGUGUUUUGCACAUC	11	6	5	1	2	1	0	0	-1
3440-3462	cagtggtttgcacatcatgtatc	UACAUGAUGUGCAAAACACUG	GUGUUUUGCACAUC AUGUAUC	11	3	6	3	1	1	0	-3	-1
3447-3469	ttgcacatcatgtatctgtttg	AAACAGAUACAUGAUGUGCAA	GCACAUC AUGUAUCUGUUUUG	10	2	5	5	1	0	0	-4	1
3448-3470	tgcacatcatgtatctgtttgt	AAAACAGAUACAUGAUGUGCA	CACAUC AUGUAUCUGUUUUGU	12	3	5	4	1	0	0	-3	-1
3450-3472	cacatcatgtatctgtttgtcc	ACAAAACAGAUACAUGAUGUG	CAUCAUGUAUCUGUUUUGUCC	11	2	7	3	0	1	0	-4	0
3457-3479	tgtatctgtttgtcccataata	UUAUGGGACAAAACAGAUACA	UAUCUGUUUUGUCCCAUAAUA	10	3	4	2	1	1	0	-2	0
3459-3481	tatctgtttgtcccataatatg	UAUU AUGGGACAAAACAGAU	UCUGUUUUGUCCCAUAAUAUG	9	2	3	1	1	2	0	-2	-1
3460-3482	atctgtttgtcccataatatgc	AUAUU AUGGGACAAAACAGAU	CUGUUUUGUCCCAUAAUAUGC	10	2	3	1	1	2	0	-2	1
3467-3489	ttgtcccataatatgctttttac	AAAAAGCAUAUUAUGGGACAA	GUCCCAUAAUAUGCUUUUAC	8	1	1	1	2	2	0	-1	0
3468-3490	tgtcccataatatgctttttact	UAAAAAGCAUAUUAUGGGACA	UCCCAUAAUAUGCUUUUACU	10	2	1	0	2	2	0	0	0
3469-3491	gtcccataatatgctttttactc	GUAAAAAGCAUAUUAUGGGAC	CCCAUAAUAUGCUUUUACUC	9	1	1	0	2	2	0	0	0
3470-3492	tcccataatatgctttttactcc	AGUAAAAAGCAUAUUAUGGGA	CCAUAAUAUGCUUUUACUCC	10	1	1	0	2	2	0	0	1
3489-3511	ctcctgatcccagtttctgctg	GCAGAAACUGGGAUCAGGGAG	CCCUGAUCCCAGUUUCUGCUG	8	4	4	2	3	0	0	1	0
3490-3512	tcctgatcccagtttctgctgt	AGCAGAAACUGGGAUCAGGGA	CCUGAUCCCAGUUUCUGCUGU	10	4	3	2	3	0	0	1	-1
3493-3515	ctgatcccagtttctgctgtga	AACAGCAGAAACUGGGAUCAG	GAUCCCAGUUUCUGCUGUUGA	11	4	5	3	2	0	0	-1	0
3497-3519	tcccagtttctgctgtgactct	AGUCAACAGCAGAAACUGGGA	CCAGUUUCUGCUGUUGACUCU	10	5	5	2	2	0	0	0	1
3500-3522	cagtttctgctgtgactcttcc	AAGAGUCAACAGCAGAAACUG	GUUUCUGCUGUUGACUCUCC	9	5	7	3	1	0	0	-2	1
3507-3529	tgctgtgactcttccattcag	UGAAUGGAAGAGUCAACAGCA	CUGUUGACUCUCCAUUCAGU	10	4	5	3	2	0	0	-1	1

3514-3536	gactcttcattcagttttattt	AUAAAACUGAAUGGAAGAGUC	CUCUCCAUCAGUUUUUUUU	13	3	5	2	1	1	0	-2	0
3516-3538	ctcttcattcagttttattat	AAUAAAACUGAAUGGAAGAG	CUCCAUCAGUUUUUUUUUU	12	2	4	2	1	1	0	-2	-1
3519-3541	ttccattcagttttattattgt	AAUAAAUAAAACUGAAUGGAA	CCAUUCAGUUUUUUUUUUUU	11	1	2	2	1	1	0	-2	0
3538-3560	ttgtgtgtctcacagtgcacc	UGUCACUGUGAGAACACACAA	GUGUGUUCUCACAGUGACACC	10	7	9	2	0	0	0	-2	1
3546-3568	tctcacagtgcaccattgtcc	ACAAUUGGUGUCACUGUGAGA	UCACAGUGACACCAUUUGUCC	9	7	7	0	1	1	0	0	1
3549-3571	cacagtgcaccattgtccttt	AGGACAAAUGGUGUCACUGUG	CAGUGACACCAUUUGUCCUUU	12	6	6	0	2	1	0	1	0
3554-3576	tgacaccattgtcctttctgc	AGAAAAGGACAAAUGGUGUCA	ACACCAUUUGUCCUUUUUGC	10	4	4	0	2	2	0	0	1
3557-3579	caccattgtcctttctgcaac	UGCAGAAAAGGACAAAUGGUG	CCAUUUGUCCUUUUUGCAAC	12	3	3	0	3	2	0	1	0
3558-3580	accattgtcctttctgcaaca	UUGCAGAAAAGGACAAAUGGU	CAUUUGUCCUUUUUGCAACA	11	3	2	1	3	2	0	0	-1
3560-3582	cattgtcctttctgcaacaac	UGUUGCAGAAAAGGACAAAUG	UUUGUCCUUUUUGCAACAAC	10	2	4	1	2	2	0	-1	0
3561-3583	attgtcctttctgcaacaacc	UUGUUGCAGAAAAGGACAAAU	UUGUCCUUUUUGCAACAACC	9	2	3	2	2	2	0	-2	0
3565-3587	gtcctttctgcaacaaccttc	AAGGUUGUUGCAGAAAAGGAC	CCUUUUGCAACAACCUUUC	10	2	3	3	3	1	0	-1	0
3577-3599	aacaaccttccagctacttttg	AAAGUAGCUGGAAAGGUUGUU	CAACCUUCCAGCUACUUUUG	11	1	2	5	3	0	0	-2	0
3585-3607	ttccagctacttttgccaaattc	AUUUGGCAAAAGUAGCUGGAA	CCAGCUACUUUUGCCAAAUUC	10	1	1	3	3	1	0	-1	0
3586-3608	tccagctacttttgccaaattct	AAUUUGGCAAAAGUAGCUGGA	CAGCUACUUUUGCCAAAUUCU	11	2	1	1	3	2	0	0	0
3588-3610	cagctacttttgccaaattctat	AGAAUUUGGCAAAAGUAGCUG	GCUACUUUUGCCAAAUUCUUAU	11	1	3	1	2	2	0	-1	1
3589-3611	agctacttttgccaaattctatt	UAGAAUUUGGCAAAAGUAGCU	CUACUUUUGCCAAAUUCUAUU	13	1	2	2	2	2	0	-2	0
3597-3619	ttgccaaattctattgtcttct	AAGACAAUAGAAUUUGGCAA	GCCAAAUUCUAUUUGUCUUCU	11	1	3	2	1	2	0	-3	-1
3608-3630	tattgtcttctccttcaaaaca	UUUUGAAGGAGAAGACAAUA	UUUGUCUUCUCCUUCAAAACA	11	2	4	3	1	1	0	-3	-1
3611-3633	ttgtcttctccttcaaacattc	AUGUUUUGAAGGAGAAGACAA	GUCUUCUCCUUCAAAACAUUC	12	2	5	4	1	1	0	-4	-1
3618-3640	ctcctcaaacattctcctttg	AAGGAGAAUGUUUUGAAGGAG	CCUUCAAAACAUUCUCCUUUG	10	2	4	3	2	1	0	-2	1
3619-3641	tccttcaaacattctcctttgc	AAAGGAGAAUGUUUUGAAGGA	CUUCAAAACAUUCUCCUUUGC	12	2	3	3	2	1	0	-2	-1
3622-3644	ttcaaacattctcctttgcagt	UGCAAAGGAGAAUGUUUUGAA	CAAAACAUUCUCCUUUGCAGU	12	1	3	3	2	1	0	-2	1

3631-3653	ttctcctttgcagttcctcttca	AAGAGGAACUGCAAAGGAGAA	CUCCUUUGCAGUUCCUCUUCA	11	3	3	4	3	0	0	-1	-1
3633-3655	ctcctttgcagttcctcttcac	UGAAGAGGAACUGCAAAGGAG	CCUUUGCAGUUCCUCUUAUC	12	3	4	3	3	0	0	0	-1
3634-3656	tcctttgcagttcctcttcac	AUGAAGAGGAACUGCAAAGGA	CUUUGCAGUUCCUCUUAUCU	11	3	3	4	3	0	0	-1	0
3638-3660	ttgcagttcctcttcacgtgt	ACAGAUGAAGAGGAACUGCAA	GCAGUUCCUCUUAUCUGUGU	10	3	5	4	2	0	0	-2	1
3650-3672	ttcatctgttagctgtctttt	AAGAGCAGCUACACAGAUGAA	CAUCUGUGUAGCUGCUCUUUU	12	4	5	4	2	0	0	-2	0
3660-3682	tagctgtctttgtctcttaac	UAAGAGACAAAAGAGCAGCUA	GCUGCUCUUUUGUCUCUUAAC	11	4	4	2	2	1	0	-1	0
3663-3685	ctgtctttgtctcttaactta	AGUUAAGAGACAAAAGAGCAG	GCUCUUUUGUCUCUUAACUUA	12	4	6	0	1	2	0	-1	-1
3673-3695	gtctcttaacttaccattctat	AGGAAUGGUAAGUUAAGAGAC	CUCUUAACUUAACCAUCCUAU	11	2	4	2	2	1	0	-1	0
3675-3697	ctcttaacttaccattctatag	AUAGGAAUGGUAAGUUAAGAG	CUUAACUUAACCAUCCUAUAG	10	1	3	3	2	1	0	-2	1
3676-3698	tcttaacttaccattctatagt	UAUAGGAAUGGUAAGUUAAGA	UUAACUUAACCAUCCUAUAGU	8	1	2	3	2	1	0	-2	0
3679-3701	taacttaccattctatagtact	UACUAUAGGAAUGGUAAGUUA	ACUUAACCAUCCUAUAGUACU	9	0	2	4	2	1	0	-3	0
3683-3705	ttaccattctatagtactttat	AAAGUACUAUAGGAAUGGUAA	ACCAUCCUAUAGUACUUUAU	8	0	2	4	2	1	0	-3	0
3684-3706	taccattctatagtactttatg	UAAAGUACUAUAGGAAUGGUA	CCAUCCUAUAGUACUUUAUG	11	0	2	4	2	1	0	-3	0
3685-3707	accattctatagtactttatgc	AUAAAGUACUAUAGGAAUGGU	CAUCCUAUAGUACUUUAUGC	10	1	2	2	2	2	0	-2	0
3689-3711	ttctatagtactttatgcatct	AUGCAUAAAGUACUAUAGGAA	CCUAUAGUACUUUAUGCAUCU	8	0	2	3	2	2	0	-3	1
3700-3722	ctttatgcatctctgcttagttc	ACUAAGCAGAGAUGCAUAAAG	UUAUGCAUCUCUGCUUAGUUC	9	2	4	2	2	1	0	-1	-1
3704-3726	atgcatctctgcttagttctatt	UAGAACUAAGCAGAGAUGCAU	GCAUCUCUGCUUAGUUCUAUU	12	2	4	5	2	0	0	-3	0
3705-3727	tgcattctctgcttagttctatta	AUAGAACUAAGCAGAGAUGCA	CAUCUCUGCUUAGUUCUAUUA	11	3	4	4	2	0	0	-2	-1
3707-3729	catctctgcttagttctattagt	UAAUAGAACUAAGCAGAGAUG	UCUCUGCUUAGUUCUAUUAU	10	2	5	3	1	1	0	-3	0
3710-3732	ctctgcttagttctattagtttt	AACUAAUAGAACUAAGCAGAG	CUGCUUAGUUCUAUUAGUUUU	14	2	5	3	1	1	0	-3	0
3711-3733	tctgcttagttctattagttttt	AAACUAAUAGAACUAAGCAGA	UGC UUAGUUCUAUUAGUUUUU	11	2	4	3	1	1	0	-3	1
3712-3734	ctgcttagttctattagttttt	AAAACUAAUAGAACUAAGCAG	GCUUAGUUCUAUUAGUUUUUU	12	1	4	3	1	1	0	-3	-1
3726-3748	tagtttttggcctgtctctct	AAGAGCAAGGCCAAAAAACUA	GUUUUUUGGCCUUGCUCUUCU	8	1	2	3	1	1	1	-2	0

3734-3756	tggccttgctcttctccttgatt	UCAAGGAGAAGAGCAAGGCCA	GCCUUGCUCUUCUCCUUGAUU	12	3	3	3	2	0	1	0	-1
3735-3757	ggccttgctcttctccttgattt	AUCAAGGAGAAGAGCAAGGCC	CCUUGCUCUUCUCCUUGAUUU	12	2	3	4	2	0	1	-1	0
3736-3758	gccttgctcttctccttgatttt	AAUCAAGGAGAAGAGCAAGGC	CUUGCUCUUCUCCUUGAUUUU	12	2	3	4	3	0	0	-1	1
3737-3759	ccttgctcttctccttgatttta	AAAUCAAGGAGAAGAGCAAGG	UUGCUCUUCUCCUUGAUUUUA	12	2	3	4	3	0	0	-1	-1
3738-3760	cttgctcttctccttgattttaa	AAAAUCAAGGAGAAGAGCAAG	UGCUCUUCUCCUUGAUUUUAA	11	2	4	3	2	1	0	-2	1
3739-3761	ttgctcttctccttgattttaaa	UAAAAUCAAGGAGAAGAGCAA	GCUCUUCUCCUUGAUUUUAAA	11	2	3	3	2	1	0	-2	0
3740-3762	tgctcttctccttgattttaaaa	UUAAAAUCAAGGAGAAGAGCA	CUCUUCUCCUUGAUUUUAAAA	14	3	3	2	2	1	0	-1	-1
3744-3766	cttctccttgattttaaaattcc	AAUUUUAAAAUCAAGGAGAAG	UCUCCUUGAUUUUAAAAUCC	10	1	3	2	1	1	0	-2	0
3747-3769	ctccttgattttaaaattccttc	AGGAAUUUUAAAAUCAAGGAG	CCUUGAUUUUAAAAUCCUUC	10	1	2	1	2	1	0	0	0
3748-3770	tccttgattttaaaattccttct	AAGGAAUUUUAAAAUCAAGGA	CUUGAUUUUAAAAUCCUUCU	11	1	1	2	2	1	0	-1	0
3751-3773	ttgattttaaaattccttctata	UAGAAGGAAUUUUAAAAUCA	GAUUUUAAAAUCCUUCUAUA	10	0	2	3	1	1	0	-3	0
3753-3775	gattttaaaattccttctatagc	UAUAGAAGGAAUUUUAAAAUC	UUUUAAAAUCCUUCUAUAGC	10	0	2	2	1	1	0	-2	0
3763-3785	ttccttctatagctagagctttt	AAGCUCUAGCUAUAGAAGGAA	CCUUCUAUAGCUAGAGCUUUU	11	1	2	4	3	1	0	-2	1
3764-3786	tccttctatagctagagcttttc	AAAGCUCUAGCUAUAGAAGGA	CUUCUAUAGCUAGAGCUUUUC	9	2	2	3	3	1	0	-1	0
3771-3793	atagctagagcttttcttcttt	AGAAAGAAAAGCUCUAGCUAU	AGCUAGAGCUUUUCUUUCUUU	11	1	3	3	2	1	0	-2	-1
3772-3794	tagctagagcttttcttctttc	AAGAAAGAAAAGCUCUAGCUA	GCUAGAGCUUUUCUUUCUUUC	12	1	3	4	2	1	0	-3	0
3803-3825	ttcctgcagtgtttgcatatcat	GUAUGCAAAACACUGCAGGAA	CCUGCAGUGUUUUGCAUACAU	8	3	2	2	3	1	0	0	-1
3809-3831	cagtgtttgcatatcatcagaag	UCUGAUGUAUGCAAAACACUG	GUGUUUUGCAUACAUCAGAAG	11	3	6	2	1	1	0	-2	-1
3820-3842	atacatcagaagctaggtacata	UGUACCUAGCUUCUGAUGUAU	ACAUCAGAAGCUAGGUACAUA	9	1	4	5	2	0	0	-3	1
3821-3843	tacatcagaagctaggtacataa	AUGUACCUAGCUUCUGAUGUA	CAUCAGAAGCUAGGUACAUA	9	1	4	6	2	0	0	-4	0
3822-3844	acatcagaagctaggtacataag	UAUGUACCUAGCUUCUGAUGU	AUCAGAAGCUAGGUACAUAAG	9	2	4	5	2	0	0	-3	-1
3823-3845	catcagaagctaggtacataagt	UUAUGUACCUAGCUUCUGAUG	UCAGAAGCUAGGUACAUAAGU	11	1	4	5	2	0	0	-3	0
3825-3847	tcagaagctaggtacataagtta	ACUUAUGUACCUAGCUUCUGA	AGAAGCUAGGUACAUAAGUUA	9	2	4	3	2	1	0	-2	0

3826-3848	cagaagctaggtacataagttaa	AACUUAUGUACCUAGCUUCUG	GAAGCUAGGUACAUAAAGUUA	14	1	4	4	2	1	0	-3	-1
3827-3849	agaagctaggtacataagttaaa	UAACUUAUGUACCUAGCUUCU	AAGCUAGGUACAUAAAGUUA	11	1	3	4	2	1	0	-3	0
3829-3851	aagctaggtacataagttaaatg	UUUAACUUAUGUACCUAGCUU	GCUAGGUACAUAAAGUUA	10	0	2	3	2	2	0	-3	-1
3830-3852	agctaggtacataagttaaatga	AUUUAACUUAUGUACCUAGCU	CUAGGUACAUAAAGUUA	10	1	2	2	2	2	0	-2	0
3834-3856	aggtacataagttaaatgattga	AAUCAUUUAACUUAUGUACCU	GUACAUAAAGUUA	10	1	3	2	1	2	0	-3	-1
3836-3858	gtacataagttaaatgattgaga	UCAAUCAUUUAACUUAUGUAC	ACAUAAAGUUA	9	0	5	2	0	2	0	-4	0
3850-3872	tgattgagagttggctgtattta	AAUACAGCCAACUCUCAUA	AUUGAGAGUUGGCUGUAUUUA	11	4	5	3	1	0	0	-2	0
3851-3873	gattgagagttggctgtatttag	AAAUACAGCCAACUCUCAUA	UUGAGAGUUGGCUGUAUUUA	10	3	5	2	1	1	0	-2	1
3852-3874	attgagagttggctgtatttaga	UAAAUACAGCCAACUCUCAU	UGAGAGUUGGCUGUAUUUA	9	3	4	2	1	1	0	-2	0
3854-3876	tgagagttggctgtatttagatt	UCUAAAUACAGCCAACUCUCA	AGAGUUGGCUGUAUUUA	12	4	5	1	1	1	0	-1	-1
3860-3882	tggctgtatttagatttatcac	GAUAAAUCUAAAUACAGCCAA	GGCUGUAUUUA	8	1	2	1	1	2	0	-2	0
3861-3883	tggctgtatttagatttatcact	UGAUAAAUCUAAAUACAGCCA	GCUGUAUUUA	11	2	3	0	1	2	0	-1	0
3864-3886	ctgtatttagatttatcactttt	AAGUGAUAAAUCUAAAUACAG	GUUUUA	11	2	5	1	0	2	0	-3	0
3870-3892	ttagatttatcactttttaatag	AUUAAAAAGUGAUAAAUCUAA	AGAUUUUAUCACUUUUUAUAG	10	1	3	1	0	2	0	-3	-1
3871-3893	tagatttatcactttttaatagg	UAUUAAAAAGUGAUAAAUCUA	GAUUUAUCACUUUUUAUAGG	10	1	3	1	0	2	0	-3	1
3885-3907	tttaatagggtgagcttgagagt	UCUCAAGCUCACCCUUAUAAA	UAAUAGGGUGAGCUUGAGAGU	9	3	3	1	2	1	0	0	1
3892-3914	gggtgagcttgagagtttcttt	AGAAAACUCUCAAGCUCACCC	GUGAGCUUGAGAGUUUUUUUU	12	4	5	1	2	1	0	0	-1
3965-3987	ttgactaattcacatgctctaa	AGAGCAUGUGAAAUUAGUCAA	GACUAAUUUCACAUGCUCUAA	12	3	5	2	1	1	0	-2	1
3967-3989	gactaattcacatgctctaaaa	UUAGAGCAUGUGAAAUUAGUC	CUAAUUUCACAUGCUCUAAAA	11	3	5	2	1	1	0	-2	1
3968-3990	actaattcacatgctctaaaaa	UUUAGAGCAUGUGAAAUUAGU	UAAUUUCACAUGCUCUAAAAA	12	3	4	2	1	1	0	-2	-1
3969-3991	ctaattcacatgctctaaaaac	UUUUAGAGCAUGUGAAAUUAG	AAUUUCACAUGCUCUAAAAAC	10	2	4	1	1	2	0	-2	0
3970-3992	taatttcacatgctctaaaaacc	UUUUUAGAGCAUGUGAAAUUA	AUUUCACAUGCUCUAAAAACC	10	2	3	1	1	2	0	-2	1
3974-3996	ttcatgctctaaaaaccttca	AAGGUUUUAGAGCAUGUGAA	CACAUGCUCUAAAAACCUUCA	11	2	3	3	2	1	0	-2	-1

3976-3998	cacatgctctaaaaaccttcaaa	UGAAGGUUUUUAGAGCAUGUG	CAUGCUCUAAAAACCUUCAAA	12	2	4	2	2	1	0	-1	0
3988-4010	aaaccttcaaaggtgattat	AAUAAUCACCUUUGAAGGUUU	ACCUUCAAGGUGAUUAUUUU	9	1	2	3	2	1	0	-2	1
3989-4011	aaccttcaaaggtgattat	AAAUAUCACCUUUGAAGGUU	CCUUCAAGGUGAUUAUUUU	12	1	2	3	2	1	0	-2	0
4016-4038	tggaaatccaggtccattctgt	AGAAUGGACCUGGAGUUUCCA	GAAACUCCAGGUCCAUCUGU	8	4	2	2	4	0	0	2	1
4025-4047	caggtccattctgtttaa	GAUUUAAACAGAAUGGACCUG	GGUCCAUCUGUUUAAAUCCC	10	3	3	1	2	1	0	0	-1
4028-4050	gtccattctgtttaa	AGGGAUUUAAACAGAAUGGAC	CCAUUCUGUUUAAAUCCC	12	2	3	1	2	1	0	0	0
4029-4051	tccattctgtttaa	UAGGGAUUUAAACAGAAUGGA	CAUUCUGUUUAAAUCCC	12	2	2	2	2	1	0	-1	0
4033-4055	ttctgtttaa	UUCUUAGGGAUUUAAACAGAA	CUGUUUAAAUCCC	11	1	3	3	1	1	0	-3	0
4042-4064	aatccctaagaatgtcagaatta	AUUCUGACAUUCUUAGGGAUU	UCCCUAAGAAUGUCAGAAUUA	10	2	4	4	1	0	0	-3	0
4043-4065	atccctaagaatgtcagaattaa	AAUUCUGACAUUCUUAGGGAU	CCCUAAGAAUGUCAGAAUUA	12	2	4	4	1	0	0	-3	0
4044-4066	tccctaagaatgtcagaattaa	UAAUUCUGACAUUCUUAGGGA	CCUAAGAAUGUCAGAAUUA	12	3	4	2	1	1	0	-2	1
4045-4067	ccctaagaatgtcagaattaa	UUAUUCUGACAUUCUUAGGG	CUAAGAAUGUCAGAAUUA	13	2	4	2	1	1	0	-2	-1
4046-4068	cctaagaatgtcagaattaa	UUUAAUUCUGACAUUCUUAGG	UAAGAAUGUCAGAAUUA	10	2	4	2	1	1	0	-2	1
4050-4072	agaatgtcagaattaa	UUAUUUAAUUCUGACAUUCU	AAUGUCAGAAUUAUAACA	9	3	4	1	0	1	0	-2	0
4052-4074	aatgtcagaattaa	UGUUUUUAAUUCUGACAUU	UGUCAGAAUUAUAACAGG	9	2	4	1	0	1	0	-2	0
4071-4093	cagggtatcccgaattggaaa	UCCAAUACGGGAUAGCCCUG	GGGCUAUCCCGUAAUUGGAAA	9	1	1	1	1	1	2	1	0
4072-4094	agggtatcccgaattggaaat	UCCAAUACGGGAUAGCCCU	GGCUAUCCCGUAAUUGGAAU	9	1	0	2	1	1	2	0	0
4073-4095	gggtatcccgaattggaaata	UUCCAAUACGGGAUAGCCC	GCUAUCCCGUAAUUGGAAUA	10	0	0	2	1	1	2	0	-1
4074-4096	gggtatcccgaattggaaatat	AUUUCCAAUACGGGAUAGCC	CUAUCCCGUAAUUGGAAUAU	10	0	0	2	2	1	1	0	0
4077-4099	tatcccgaattggaaatatttc	AAUAUUCCAAUACGGGAUA	UCCCGUAAUUGGAAUAUUUC	9	0	0	1	1	2	1	-1	0
4078-4100	atcccgaattggaaatatttct	AAUAUUCCAAUACGGGAU	CCCGUAAUUGGAAUAUUUCU	9	0	0	1	1	2	1	-1	1
4079-4101	tcccgaattggaaatatttctt	GAAUAUUCCAAUACGGGA	CCGUAAUUGGAAUAUUUCU	9	1	0	0	1	2	1	0	0
4080-4102	cccgaattggaaatatttcttt	AGAAUAUUCCAAUACGGG	CGUAAUUGGAAUAUUUCUU	12	0	1	0	1	2	1	0	-1

4097-4119	ttctttttcaggatgctatagt	UAUAGCAUCCUGAAAAAGAA	CUUUUUUCAGGAUGCUAUAGU	9	1	2	3	2	1	0	-2	1
4103-4125	tttcaggatgctatagtcaattt	AUUGACUAGCAUCCUGAAA	UCAGGAUGCUAUAGUCAUUU	10	2	3	3	2	1	0	-2	-1
4106-4128	caggatgctatagtcaatttagt	UAAAUUGACUAGCAUCCUG	GGAUGCUAUAGUCAUUUAGU	12	2	3	1	2	2	0	-1	0
4110-4132	atgctatagtcaatttagtaagt	UUACUAAAUUGACUAGCAU	GCUAUAGUCAUUUAGUAAGU	11	1	3	2	1	2	0	-3	-1
4122-4144	atttagtaagtaccaccaaatt	UUUGGUGGUCACUACUAAU	UUAGUAAGUGACCACCAAUU	11	3	3	2	2	1	0	-1	1
4124-4146	ttagtaagtaccaccaaattgt	AAUUUGGUGGUCACUACUAA	AGUAAGUGACCACCAAUUGU	7	3	3	2	2	1	0	-1	1
4126-4148	agtaagtaccaccaaattgta	ACAAUUUGGUGGUCACUACU	UAAGUGACCACCAAUUGUUA	9	4	4	1	2	1	0	0	-1
4134-4156	accaccaaattgttatttgact	UGCAAAUAACAAUUUGGUGU	CACCAAUUGUUAUUUGCACU	11	2	1	0	3	2	0	1	1
4136-4158_C6	caccaaattgttattgcactaa	AGUGCAAAUAACAAUUUGGUG	CCAAUUGUUAUUUGCACUAA	13	2	3	0	2	2	0	0	0
4137-4159	accaaatgttattgcactaac	UAGUGCAAAUAACAAUUUGGU	CAAAUUGUUAUUUGCACUAAC	11	2	2	1	2	2	0	-1	0
4138-4160	ccaaattgttattgcactaaca	UUAGUGCAAAUAACAAUUUGG	AAAUUGUUAUUUGCACUAACA	9	1	2	1	2	2	0	-1	0
4140-4162	aaattgttattgcactaacaaa	UGUUAGUGCAAAUAACAAUUU	AUUGUUAUUUGCACUAACAAA	10	1	3	1	1	2	0	-2	0
4150-4172	ttgcactaacaagctcaaaaca	UUUUGAGCUUUGUUAGUGCAA	GCACUAACAAAGCUCAAAACA	13	2	3	4	2	0	0	-2	0
4151-4173	tgactaacaagctcaaaacac	GUUUUGAGCUUUGUUAGUGCA	CACUAACAAAGCUCAAAACAC	9	3	3	2	2	1	0	-1	0
4157-4179	aacaagctcaaaacacgataag	UAUCGUGUUUUGAGCUUUGUU	CAAAGCUCAAAACACGAUAAG	12	2	3	3	2	1	0	-2	0
4158-4180	acaagctcaaaacacgataagt	UUAUCGUGUUUUGAGCUUUGU	AAAGCUCAAAACACGAUAAGU	11	3	3	2	2	1	0	-1	0
4160-4182	aaagctcaaaacacgataagttt	ACUUAUCGUGUUUUGAGCUUU	AGCUCAAAACACGAUAAGUUU	9	2	3	1	2	2	0	-1	1
4161-4183	aagctcaaaacacgataagtta	AACUUAUCGUGUUUUGAGCUU	GCUCAAAACACGAUAAGUUUA	13	2	3	2	2	2	0	-2	-1
4162-4184	agctcaaaacacgataagtttac	AAACUUAUCGUGUUUUGAGCU	CUCAAAACACGAUAAGUUUAC	11	3	3	1	2	2	0	-1	1
4163-4185	gctcaaaacacgataagtttact	UAAACUUAUCGUGUUUUGAGC	UCAAAACACGAUAAGUUUACU	11	2	3	1	2	2	0	-1	0
4174-4196	gataagtttactcctcatctca	AGAUGGAGGAGUAAACUUAUC	UAAGUUUACUCCUCCAUCUCA	10	2	4	1	2	2	0	-1	-1
4179-4201	gtttactcctcatctcagtaat	UACUGAGAUGGAGGAGUAAAC	UUACUCCUCCAUCUCAGUAAU	9	4	5	2	2	1	0	-1	0
4180-4202	tttactcctcatctcagtaata	UUACUGAGAUGGAGGAGUAAA	UACUCCUCCAUCUCAGUAAUA	10	4	4	2	2	1	0	-1	-1

4183-4205	actcctccatctcagtaataaaa	UUAUUACUGAGAUGGAGGAGU	UCCUCCAUCUCAGUAAUAAAA	12	5	4	1	2	1	0	0	-1
4184-4206	ctcctccatctcagtaataaaaa	UUUAUUACUGAGAUGGAGGAG	CCUCCAUCUCAGUAAUAAAAA	12	4	4	1	2	1	0	0	1
4185-4207	tcctccatctcagtaataaaaat	UUUUUAUUACUGAGAUGGAGGA	CUCCAUCUCAGUAAUAAAAAU	12	4	3	1	2	1	0	0	-1
4188-4210	tccatctcagtaataaaaaattaa	AAUUUUUAUUACUGAGAUGGA	CAUCUCAGUAAUAAAAAUAA	11	3	3	1	1	1	0	-1	0
4190-4212	catctcagtaataaaaaattaagc	UUAUUUUUAUUACUGAGAUG	UCUCAGUAAUAAAAAUUAAGC	9	2	4	1	0	1	0	-2	0
4195-4217	cagtaataaaaattaagctgtaa	ACAGCUUAAUUUUUAUUACUG	GUAUUAAAAAUUAAGCUGUAA	10	2	3	0	1	1	0	0	0
4201-4223	taaaaattaagctgtaatacaacc	UUGAUUACAGCUUAAUUUUUA	AAAAUUAAGCUGUAAUCAACC	9	1	2	1	1	2	0	-2	0
4208-4230	taagctgtaatacaacctttagg	UAGAAGGUUGAUUACAGCUUA	AGCUGUAAUCAACCUUCUAGG	9	1	3	4	2	1	0	-3	1
4217-4239	atcaaccttctaggtttctcttg	AGAGAAACCUAGAAGGUUGAU	CAACCUUCUAGGUUUCUCUUG	12	1	4	5	2	0	0	-3	0
4220-4242	aaccttctaggtttctctgtct	ACAAGAGAAACCUAGAAGGUU	CCUUCUAGGUUUCUCUUGUCU	12	1	4	5	2	0	0	-3	-1
4224-4246	ttctaggtttctctgtcttaaa	UAAGACAAGAGAAACCUAGAA	CUAGGUUUCUCUUGUCUUAAA	13	2	5	5	1	0	0	-4	-1
4226-4248	ctaggtttctctgtcttaaaat	UUUAAGACAAGAGAAACCUAG	AGGUUUCUCUUGUCUUAAAAU	11	2	5	3	1	1	0	-3	-1
4227-4249	taggtttctctgtcttaaaatg	UUUUAAGACAAGAGAAACCUA	GGUUUCUCUUGUCUUAAAAUG	12	2	4	3	1	1	0	-3	0
4228-4250	aggtttctctgtcttaaaatgg	AUUUUAAGACAAGAGAAACCU	GUUUCUCUUGUCUUAAAAUGG	11	3	4	2	1	1	0	-2	1
4232-4254	ttctctgtcttaaaatgggtat	ACCCAUUUUAAGACAAGAGAA	CUCUUGUCUUAAAAUGGGUUAU	11	2	4	2	1	1	0	-2	0
4234-4256	ctctgtcttaaaatgggtattc	AUACCCAUUUUAAGACAAGAG	CUUGUCUUAAAAUGGGUUAUUC	11	2	4	2	1	1	0	-2	0
4237-4259	ttgtcttaaaatgggtattcaaa	UGAAUACCCAUUUUAAGACAA	GUCUUAAAAUGGGUUAUUCAAA	11	1	3	1	1	2	0	-2	0
4239-4261	gtcttaaaatgggtattcaaaaa	UUUGAAUACCCAUUUUAAGAC	CUUAAAAUGGGUUAUUCAAAAA	12	1	3	1	1	2	0	-2	0
4240-4262	tcttaaaatgggtattcaaaaat	UUUUGAAUACCCAUUUUAAGA	UUAAAAUGGGUUAUUCAAAAAU	11	1	2	1	1	2	0	-2	0
4241-4263	cttaaaatgggtattcaaaaatg	UUUUUGAAUACCCAUUUUAAG	UAAAAUGGGUUAUUCAAAAAUG	11	0	2	0	1	3	0	-2	-1
4247-4269	atgggtattcaaaaatggggatc	UCCCCAUUUUUGAAUACCCAU	GGGUAAUUCAAAAUGGGGAUC	12	0	1	1	1	2	1	-1	0
4262-4284	tggggatctgtggtgtatgtatg	UACAUACACCACAGAUCCCCA	GGGAUCUGUGGUGUAUGUAUG	8	4	4	3	1	0	1	-1	1
4263-4285	ggggatctgtggtgtatgtatgg	AUACAUACACCACAGAUCCCC	GGAUCUGUGGUGUAUGUAUGG	10	3	4	3	1	0	1	-1	0

4267-4289	atctgtggtgtatgtatggaac	UCCAUACAUACACCACAGAU	CUGUGGUGUAUGUAUGGAAAC	10	3	4	4	2	0	0	-2	0
4270-4292	tgtggtgtatgtatggaacaca	UGUUUCCAUACAUACACCACA	UGGUGUAUGUAUGGAAACACA	9	3	4	3	2	0	0	-1	-1
4272-4294	tgtgtatgtatggaacacata	UGUGUUUCCAUACAUACACCA	GUGUAUGUAUGGAAACACAU	11	3	4	3	2	0	0	-1	0
4274-4296	gtgtatgtatggaacacatact	UAUGUGUUUCCAUACAUACAC	GUAUGUAUGGAAACACAUACU	10	2	5	4	1	0	0	-3	0
4281-4303	tatggaacacatactcctta	UAAGGAGUAUGUGUUUCCAU	UGGAAACACAUACUCCUAAU	10	2	3	4	2	0	0	-2	-1
4282-4304	atggaacacatactcctta	UUAAGGAGUAUGUGUUUCCAU	GGAAACACAUACUCCUAAU	13	2	3	4	2	0	0	-2	0
4283-4305	tggaacacatactcctta	AUUAAGGAGUAUGUGUUUCCA	GAAACACAUACUCCUAAU	12	3	3	2	2	1	0	-1	0
4284-4306	ggaaacacatactcctta	AAUUAAGGAGUAUGUGUUUCC	AAACACAUACUCCUAAU	11	2	3	2	2	1	0	-1	1
4286-4308	aaacacatactcctta	UAAAUUAAGGAGUAUGUGUU	ACACAUACUCCUAAU	9	2	3	2	1	1	0	-2	1
4287-4309	aacacatactcctta	GUAAAUUAAGGAGUAUGUGU	CACAUACUCCUAAU	6	2	3	2	1	1	0	-2	0
4289-4311	cacatactcctta	AGGUAAAUUAAGGAGUAUGUG	CAUACUCCUAAU	11	2	3	1	2	1	0	0	0
4295-4317	ctcctta	AACAACAGGUAAAUUAAGGAG	CCUAAUUAU	11	2	3	2	2	1	0	-1	0
4298-4320	ctta	UCCAACAACAGGUAAAUUAAG	UAAUUUACCUGUUGUUGGAA	12	1	3	2	2	1	0	-1	-1
4305-4327	tac	UCCAGUUUCCAACAACAGGUA	CCUGUUGUUGGAAACUGGAGA	10	2	3	4	3	0	0	-1	1
4314-4336	ttggaactggaga	AAUCAUUCUCCAGUUUCCAA	GGAAACUGGAGAAUGAUUGU	10	2	3	3	2	1	0	-2	-1
4329-4351	atgattgtcgggcaaccgt	AAACGGUUGCCCGACAAUCAU	GAUUGUCGGGCAACCGUUUAU	8	1	2	4	1	0	1	-2	0
4330-4352	tgattgtcgggcaaccgt	UAAACGGUUGCCCGACAAUCA	AUUGUCGGGCAACCGUUUAU	8	2	2	3	1	0	1	-1	0
4342-4364	aaccgtttattttattgt	UACAAUAAAAAUAAACGGUU	CCGUUUUUUUUAUUGUAUU	11	0	1	2	1	1	0	-2	0
4370-4392	tgggtgaggatttttata	UAUAAAAAAAUCCCUCAACCA	GUUGAGGGAUUUUUUUAUAAA	13	2	1	1	2	1	0	0	0
4374-4396	tgaggattttttataacag	UGUUUAUAAAAAAAUCCCUCA	AGGGAUUUUUUUAUAAACAGU	11	2	2	0	1	1	0	0	0
4376-4398	agggattttttataacag	ACUGUUUAUAAAAAAAUCCCU	GGAUUUUUUUUAUAAACAGUUU	11	2	2	0	1	1	0	0	0
4377-4399	gggattttttataacag	AACUGUUUAUAAAAAAAUCCC	GAUUUUUUUAUAAACAGUUUU	11	1	2	1	1	1	0	-1	0
4391-4413	aacagtttactgtgtcat	UAUGACACAAGUAAACUGUU	CAGUUUACUUGUGUCAUAU	11	3	6	3	0	1	0	-4	-1

4398-4420	ttacttggtcatattttaaaat	UUUAAAAUAUGACACAAGUAA	ACUUGUGUCAUAUUUUAAAAU	10	2	4	2	0	1	0	-3	-1
4446-4468	tccttggtaggtcattttcagt	UGAAAAUGACCUAACAAAGGA	CUUUGUUAGGUCAUUUUCAGU	12	2	3	2	2	1	0	-1	0
4450-4472	ttgtaggtcattttcagtact	UCACUGAAAAUGACCUAACAA	GUUAGGUCAUUUUCAGUGACU	11	3	5	2	1	1	0	-2	0
4453-4475	ttaggtcattttcagtactaat	UAGUCACUGAAAAUGACCUGAA	AGGUCAUUUUCAGUGACUAAU	10	4	5	2	1	1	0	-2	0
4455-4477	aggtcattttcagtactaatag	AUUAGUCACUGAAAAUGACCU	GUCAUUUUCAGUGACUAAUAG	10	5	5	1	1	1	0	-1	-1
4456-4478	gggtcattttcagtactaatagg	UAUUAGUCACUGAAAAUGACC	UCAUUUUCAGUGACUAAUAGG	11	4	5	0	1	2	0	-1	1
4462-4484	tttcagtactaatagggataat	UAUCCCUAUUAGUCACUGAAA	UCAGUGACUAAUAGGGAUAAU	10	3	4	2	1	1	0	-2	0
4463-4485	ttcagtactaatagggataatc	UUAUCCCUAUUAGUCACUGAA	CAGUGACUAAUAGGGAUAAUC	9	3	4	2	1	1	0	-2	0
4467-4489	gtgactaatagggataatccagg	UGGAUUUACCCUAUUAGUCAC	GACUAAUAGGGAUAAUCCAGG	9	2	3	0	2	2	0	0	0
4472-4494	taatagggataatccaggtaact	UUACCUGGAUUUACCCUAUUA	AUAGGGAUAAUCCAGGUAAU	10	1	0	1	3	2	0	0	0
4475-4497	tagggataatccaggtaactttg	AAGUUACCUGGAUUUACCCUA	GGGAUAAUCCAGGUAAUUCU	9	1	1	3	3	1	0	-1	0
4476-4498	agggataatccaggtaactttga	AAAGUUACCUGGAUUUACCCU	GGAUAAUCCAGGUAAUUCU	12	2	1	2	3	1	0	0	-1
4478-4500	ggataatccaggtaactttgaag	UCAAAGUUACCUGGAUUUACCC	AUAAUCCAGGUAAUUCU	8	1	2	2	3	1	0	0	0
4479-4501	gataatccaggtaactttgaaga	UUCAAAGUUACCUGGAUUUAC	UAAUCCAGGUAAUUCU	12	1	3	3	2	1	0	-2	-1
4483-4505	atccaggtaactttgaagagatg	UCUCUCAAAGUUACCUGGAU	CCAGGUAAUUCU	11	2	4	4	2	0	0	-2	-1
4484-4506	tccaggtaactttgaagagatga	AUCUCUCAAAGUUACCUGGA	CAGGUAAUUCU	11	3	4	4	2	0	0	-2	0
4486-4508	caggtaactttgaagagatgagc	UCAUCUCUCAAAGUUACCUG	GGUAAUUCU	9	2	6	4	1	0	0	-3	1
4491-4513	aactttgaagagatgagcagtga	ACUGCUCAUCUCUCAAAGUU	CUUUGAAGAGAUAGCAGUGA	9	3	6	4	1	0	0	-3	1
4495-4517	ttgaagagatgagcagtga	ACUCACUGCUCAUCUCUCAA	GAAGAGAUAGCAGUGAGUGA	11	5	7	3	1	0	0	-2	-1
4497-4519	gaagagatgagcagtga	UCACUCACUGCUCAUCUCUUC	AGAGAUAGCAGUGAGUGACC	10	6	8	2	1	0	0	-1	0
4509-4531	agtgagtaccaggcagtttttc	AAAACUGCCUGGUCACUCACU	UGAGUGACCAGGCAGUUUUUC	8	7	5	1	2	0	0	1	-1
4510-4532	gtgagtaccaggcagttttct	AAAAACUGCCUGGUCACUCAC	GAGUGACCAGGCAGUUUUUCU	8	6	5	0	2	1	0	1	1
4512-4534	gagtgaccaggcagttttctgc	AGAAAAACUGCCUGGUCACUC	GUGACCAGGCAGUUUUUCUGC	9	5	5	0	2	1	0	1	0

4519-4541	caggcagttttctgccttagc	UAAAGGCAGAAAAACUGCCUG	GGCAGUUUUUCUGCCUUUAGC	10	3	3	1	2	1	0	0	0
4531-4553	ctgccttagcttgacagttct	AACUGUCAAGCUAAAGGCAG	GCCUUUAGCUUUGACAGUUCU	10	3	4	2	2	1	0	-1	-1
4532-4554	tgccttagcttgacagttctt	GAACUGUCAAGCUAAAGGCA	CCUUUAGCUUUGACAGUUCUU	9	3	3	2	2	1	0	-1	0
4533-4555	gccttagcttgacagttctta	AGAACUGUCAAGCUAAAGGC	CUUUAGCUUUGACAGUUCUUA	11	2	4	2	2	1	0	-1	0
4537-4559	ttagcttgacagttcttaatta	AUUAAGAACUGUCAAGCUAA	AGCUUUGACAGUUCUUAUUUA	10	2	4	3	1	1	0	-3	-1
4538-4560	tagcttgacagttcttaattaa	AAUUAAGAACUGUCAAGCUA	GCUUUGACAGUUCUUAUUUA	12	2	4	3	1	1	0	-3	1
4539-4561	agcttgacagttcttaattaag	UAAUUAAGAACUGUCAAGCU	CUUUGACAGUUCUUAUUUAAG	12	3	4	2	1	1	0	-2	-1
4540-4562	gcttgacagttcttaattaaga	UUAUUUAAGAACUGUCAAGC	UUUGACAGUUCUUAUUUAAGA	10	2	4	2	1	1	0	-2	0
4542-4564	ttgacagttcttaattaagatc	UCUUAUUUAAGAACUGUCAA	UGACAGUUCUUAUUUAAGAUC	12	2	5	2	0	1	0	-3	-1
4543-4565	ttgacagttcttaattaagatca	AUCUUAUUUAAGAACUGUCA	GACAGUUCUUAUUUAAGAUCA	12	2	5	3	0	1	0	-4	0
4545-4567	gacagttcttaattaagatcatt	UGAUCUUAUUUAAGAACUGUC	CAGUUCUUAUUUAAGAUCAUU	11	2	6	2	0	1	0	-3	0
4547-4569	cagttcttaattaagatcattga	AAUGAUCUUAUUUAAGAACUG	GUUCUUAUUUAAGAUCAUUGA	8	1	5	3	0	1	0	-4	0
4550-4572	ttcttaattaagatcattgaaga	UUCAAUAGUCUUAUUUAAGAA	CUUAAUUUAAGAUCAUUGAAGA	8	0	4	4	0	1	0	-5	1
4566-4588	tgaagaccagctttctcataaa	UAUGAGAAAGCUGGUCUCAA	GAAGACCAGCUUUCUCAUAAA	10	3	4	4	2	0	0	-2	0
4567-4589	tgaagaccagctttctcataaat	UUAUGAGAAAGCUGGUCUUA	AAGACCAGCUUUCUCAUAAAU	11	4	4	3	2	0	0	-1	-1
4571-4593	gaccagctttctcataaatttct	AAAUUUUAUGAGAAAGCUGGUC	CCAGCUUUCUCAUAAAUUUCU	12	3	3	1	2	1	0	0	-1
4575-4597	agctttctcataaatttctcttt	AGAGAAAUUUUAUGAGAAAGCU	CUUUCUCAUAAAUUUCUCUUU	12	3	4	1	1	1	0	-1	0
4581-4603	ctcataaatttctcttttgaaa	UCAAAAAGAGAAAUUUUAUGAG	CAUAAAUUUCUCUUUUUGAAA	12	2	5	0	0	2	0	-2	1
4582-4604	tcataaatttctcttttgaaaa	UUCAAAAAGAGAAAUUUUAUGA	AUAAAUUUCUCUUUUUGAAAA	13	2	4	1	0	2	0	-3	-1
4603-4625	aaaaagaaagcattgtactaag	UAGUACAAAUGCUUUCUUUUU	AAAGAAAGCAUUUGUACUAAG	10	0	3	3	1	2	0	-4	-1
4604-4626	aaaagaaagcattgtactaagc	UUAGUACAAAUGCUUUCUUUU	AAGAAAGCAUUUGUACUAAGC	9	0	3	3	1	2	0	-4	0
4616-4638	ttgtactaagctcctctgtaaga	UUACAGAGGAGCUUAGUACAA	GUACUAAGCUCCUCUGUAAGA	12	3	4	4	2	0	0	-2	-1
4618-4640	gtactaagctcctctgtaagaca	UCUUACAGAGGAGCUUAGUAC	ACUAAGCUCCUCUGUAAGACA	7	3	5	3	2	0	0	-1	0

4620-4642	actaagctcctctgtaagacaac	UGUCUUACAGAGGAGCUUAGU	UAAGCUCCUCUGUAAGACAAC	10	5	5	2	2	0	0	0	1
4623-4645	aagctcctctgtaagacaacatc	UGUUGUCUUACAGAGGAGCUU	GCUCCUCUGUAAGACAACAUC	10	4	5	3	2	0	0	-1	-1
4624-4646	agctcctctgtaagacaacatct	AUGUUGUCUUACAGAGGAGCU	CUCCUCUGUAAGACAACAUCU	11	5	5	3	2	0	0	-1	0
4626-4648	ctcctctgtaagacaacatctta	AGAUGUUGUCUUACAGAGGAG	CCUCUGUAAGACAACAUCUUA	10	4	7	3	1	0	0	-2	1
4627-4649	tcctctgtaagacaacatcttaa	AAGAUGUUGUCUUACAGAGGA	CUCUGUAAGACAACAUCUUA	12	4	6	4	1	0	0	-3	-1
4630-4652	tctgtaagacaacatcttaaatc	UUUAAGAUGUUGUCUUACAGA	UGUAAGACAACAUCUUAUAUC	10	3	6	3	0	1	0	-4	0
4631-4653	ctgtaagacaacatcttaaatct	AUUUAAGAUGUUGUCUUACAG	GUAAGACAACAUCUUAUAUCU	11	2	6	3	0	1	0	-4	1
4637-4659	gacaacatcttaaatcttaaaag	UUUAAGAUUUUAAGAUGUUGUC	CAACAUCUUAUAUAUAUAAG	12	1	5	2	0	2	0	-4	0
4638-4660	acaacatcttaaatcttaaaagt	UUUUAGAUAUUUAAGAUGUUGU	AACAUCUUAUAUAUAUAAGU	11	1	4	2	0	2	0	-4	0
4640-4662	aacatcttaaatcttaaaagtg	ACUUUUAGAUAUUUAAGAUGUU	CAUCUUAUAUAUAUAAGUGU	11	0	4	2	0	2	0	-4	0
4643-4665	atcttaaatcttaaaagtggtgt	AACACUUUUAGAUAUUUAAGAU	CUUUAUAUAUAUAUAAGUGU	10	1	4	2	0	2	0	-4	0
4648-4670	aaatcttaaaagtggtgttatca	AUAACAACACUUUUAGAUAUU	AUCUUAUAUAUAUAUAUCA	10	1	4	2	0	2	0	-4	1
4650-4672	atcttaaaagtggtgttatcatg	UGAUAACAACACUUUUAGAUA	CUUUAUAUAUAUAUAUCAUG	9	1	5	2	0	2	0	-4	1
4664-4686	ggtatcatgactggtgagagaag	UCUCUCACCAGUCAUGUAAC	UAUCAUGACUGGUGAGAGAAG	10	5	7	1	1	1	0	-1	-1
4667-4689	atcatgactggtgagagaagaaa	UCUUCUCUCACCAGUCAUGAU	CAUGACUGGUGAGAGAAGAAA	9	5	7	3	1	0	0	-2	-1
4668-4690	tcatgactggtgagagaagaaaa	UUCUUCUCUCACCAGUCAUGA	AUGACUGGUGAGAGAAGAAAA	10	6	7	3	1	0	0	-2	1
4670-4692	atgactggtgagagaagaaaaca	UUUUCUUCUCUCACCAGUCAU	GACUGGUGAGAGAAGAAAACA	11	5	6	3	1	0	0	-2	1
4676-4698	ggtgagagaagaaaacatttgt	AAAUGUUUUUCUUCUCUCACC	UGAGAGAAGAAAACAUUUUGU	11	3	5	1	1	2	0	-2	-1
4698-4720	tttttattaaatggagcattatt	UAAUGCUGCAUUAUAUAAAAA	UUUAUUAUAUAUGGAGCAUUAU	9	1	0	1	2	1	0	0	0
4704-4726	ttaaattggagcattatttataaaa	UGUAAAUAUAUGCUCCAUAUUA	AAAUGGAGCAUUAUUUACAAA	12	1	1	0	2	2	0	0	-1
4708-4730	atggagcattatttataaaaagc	UUUUUGUAAAUAUAUGCUCCA	GGAGCAUUAUUUACAAAAAGC	11	1	1	1	2	2	0	-1	0
4721-4743	tacaaaaagccattgttgagaat	UCUCAACAAUGGCUUUUUGUA	CAAAAAGCCAUUGUUGAGAAU	12	1	4	3	1	1	0	-3	-1
4722-4744	acaaaaagccattgttgagaatt	UUCUCAACAAUGGCUUUUUGU	AAAAAGCCAUUGUUGAGAAUU	13	2	4	3	1	1	0	-3	0

4723-4745	caaaaagccattgttgagaatta	AUUCUCAACAAUGGCUUUUUG	AAAAGCCAUUGUUGAGAAUUA	10	1	4	3	1	1	0	-3	0
4725-4747	aaaagccattgttgagaattaga	UAAUUCUCAACAAUGGCUUUU	AAGCCAUUGUUGAGAAUAGA	10	1	3	2	1	2	0	-3	-1
4727-4749	aagccattgttgagaattagatc	UCUAAUUCUCAACAAUGGCUU	GCCAUUGUUGAGAAUAGAUC	11	1	4	3	1	1	0	-3	1
4728-4750	agccattgttgagaattagatcc	AUCUAAUUCUCAACAAUGGCU	CCAUUGUUGAGAAUAGAUC	13	2	4	3	1	1	0	-3	-1
4738-4760	gagaattagatcccacatcgat	ACGAUGUGGGAUCUAAUUCUC	GAAUAGAUCGCCACAUCGUAU	10	2	4	2	2	1	0	-1	1
4741-4763	aattagatcccacatcgataaaa	UAUACGAUGUGGGAUCUAAUU	UUAGAUCGCCACAUCGUAAAA	9	1	2	3	2	1	0	-2	-1
4747-4769	atcccacatcgataaatatcta	GAUAAUUUAUACGAUGUGGGAU	CCCACAUCGUAAAAUAUCUA	8	1	1	2	2	1	0	-1	-1
4748-4770	tcccacatcgataaatatctat	AGAAUUAUACGAUGUGGGA	CCACAUCGUAAAAUAUCUAU	11	2	2	1	2	1	0	0	0
4749-4771	cccacatcgataaatatctatt	UAGAUAUUUAUACGAUGUGG	CACAUCGUAAAAUAUCUAUU	13	1	2	2	2	1	0	-1	0
4751-4773	cacatcgataaatatctattaa	AAUAGAUAUUUAUACGAUGUG	CAUCGUAAAAUAUCUAUUA	12	1	3	2	1	1	0	-2	0
4752-4774	acatcgataaatatctattaac	UAAUAGAUAUUUAUACGAUGU	AUCGUAAAAUAUCUAUUAAC	9	1	2	1	1	2	0	-2	0
4753-4775	catcgataaatatctattaacc	UUAUAGAUAUUUAUACGAUG	UCGUAAAAUAUCUAUUAACC	10	0	2	1	1	2	0	-2	0
4754-4776	atcgataaatatctattaacca	GUUAAUAGAUAUUUAUACGAU	CGUAUAAAAUAUCUAUUAACCA	7	0	1	1	1	2	0	-2	0
4766-4788	tctattaaccattctaataaag	UUAUUUAGAAUGGUUAAUAGA	UAUUAACCAUUCUAAAUAAG	9	1	2	1	1	2	0	-2	0
4767-4789	ctattaaccattctaataaaga	UUUAUUUAGAAUGGUUAAUAG	AUUAACCAUUCUAAAUAAGA	9	0	2	1	1	2	0	-2	0
4772-4794	aaccattctaataaagagaact	UUCUCUUUAUUUAGAAUGGUU	CCAUUCUAAAUAAGAGAACU	11	1	3	3	1	1	0	-3	0
4786-4808	aagagaactccagtgttgctatg	UAGCAACACUGGAGUUCUCUU	GAGAACUCCAGUGUUGCUAUG	9	4	5	4	2	0	0	-2	-1
4793-4815	ctccagtgttgctatgtgcaaga	UUGCACAUAGCAACACUGGAG	CCAGUGUUGCUAUGUGCAAGA	11	4	4	3	3	0	0	0	0
4796-4818	cagtgttgctatgtgcaagatcc	AUCUUGCACAUAGCAACACUG	GUGUUGCUAUGUGCAAGAUC	10	3	5	4	2	0	0	-2	0
4801-4823	ttgctatgtgcaagatcctctct	AGAGGAUCUUGCACAUAGCAA	GCUAUGUGCAAGAUCUCUCU	12	2	3	4	3	0	0	-1	-1
4812-4834	aagatcctctcttgagcttttt	AAAGCUCCAAGAGAGGAUCUU	GAUCCUCUCUUGGAGCUUUUU	11	3	3	4	3	0	0	-1	-1
4818-4840	ctctcttgagctttttgcata	UGCAAAAAAGCUCCAAGAGAG	CUCUUGGAGCUUUUUUGCAUA	9	3	3	1	3	1	0	1	0
4823-4845	ttggagctttttgcatagcaat	UGCUAUGCAAAAAAGCUCCAA	GGAGCUUUUUUGCAUAGCAAU	12	1	0	2	4	1	0	1	0

4824-4846	tggagctttttgcatagcaatt	UUGCUAUGCAAAAAAGCUCCA	GAGCUUUUUUGCAUAGCAAUU	13	2	0	2	4	1	0	1	0
4825-4847	ggagctttttgcatagcaatta	AUUGCUAUGCAAAAAAGCUCC	AGCUUUUUUGCAUAGCAAUUA	9	1	0	2	4	1	0	1	1
4826-4848	gagctttttgcatagcaattaa	AAUUGCUAUGCAAAAAAGCUC	GCUUUUUUGCAUAGCAAUUA	11	1	1	2	3	1	0	0	0
4827-4849	agctttttgcatagcaattaa	UAAUUGCUAUGCAAAAAAGCU	CUUUUUUGCAUAGCAAUAAA	10	1	0	1	3	2	0	0	-1
4840-4862	agcaattaaaggtgtgctatttg	AAUAGCACACCUUUAAUUGCU	CAAUAAAAGGUGUGCUAUUUG	10	3	1	1	3	1	0	1	0
4843-4865	aattaaaggtgtgctatttgtca	ACAAAUAGCACACCUUUAAUU	UUAAGGUGUGCUAUUUGUCA	8	2	2	0	2	2	0	0	-1
4845-4867	ttaaaggtgtgctatttgtcagt	UGACAAAUAGCACACCUUUA	AAAGGUGUGCUAUUUGUCAGU	11	3	3	0	2	2	0	0	0
4848-4870	aaggtgtgctatttgtcagtagc	UACUGACAAAUAGCACACCUU	GGUGUGCUAUUUGUCAGUAGC	11	4	4	2	2	1	0	-1	0
4854-4876	tgctatttgtcagtagccatttt	AAUGGCUACUGACAAAUAGCA	CUAUUUGUCAGUAGCCAUUUU	12	3	3	2	2	1	0	-1	-1
4856-4878	ctatttgtcagtagccattttt	AAAUGGCUACUGACAAAUAG	AUUUGUCAGUAGCCAUUUUUU	11	2	4	1	1	2	0	-2	-1
4864-4886	cagtagccattttttgcagtga	ACUGCAAAAAAUGGCUACUG	GUAGCCAUUUUUUUGCAGUGA	12	2	3	1	2	1	0	0	0
4868-4890	agccattttttgcagtgtattg	AAUCACUGCAAAAAAUGGCU	CCAUUUUUUGCAGUGAUUUG	11	3	2	1	2	1	0	0	0
4869-4891	gccattttttgcagtgtattga	AAAUCACUGCAAAAAAUGGC	CAUUUUUUUGCAGUGAUUUGA	10	2	2	1	2	1	0	0	1
4878-4900	ttgcagtgtattgaagaccaaag	UUGGUCUUCAAAUCACUGCAA	GCAGUGAUUUGAAGACCAAAG	12	3	4	3	2	1	0	-2	0
4879-4901	tgcaagtgtattgaagaccaaagt	UUUGGUCUUCAAAUCACUGCA	CAGUGAUUUGAAGACCAAAGU	9	4	4	2	2	1	0	-1	1
4881-4903	cagtgtattgaagaccaaagttg	ACUUUGGUCUUCAAAUCACUG	GUGAUUUGAAGACCAAAGUUG	11	3	6	2	1	1	0	-2	0
4888-4910	ttgaagaccaaagttgtttaca	UAAAACAACUUUGGUCUUCAA	GAAGACCAAAGUUGUUUUACA	12	1	4	4	1	1	0	-4	0
4890-4912	gaagaccaaagttgtttacagc	UGUAAAACAACUUUGGUCUUC	AGACCAAAGUUGUUUUACAGC	13	1	5	3	1	1	0	-3	-1
4893-4915	gaccaaagttgtttacagctgt	AGCUGUAAAACAACUUUGGUC	CCAAAGUUGUUUUACAGCUGU	11	2	4	2	2	1	0	-1	-1
4898-4920	aagttgttttacagctgtgttac	AACACAGCUGUAAAACAACUU	GUUGUUUUACAGCUGUGUUAC	11	3	5	3	1	1	0	-3	1
4906-4928	ttacagctgtgttaccgttaaag	UUAACGGUAACACAGCUGUAA	ACAGCUGUGUUACCGUUAAG	11	3	3	3	2	0	0	-1	-1
4907-4929	tacagctgtgttaccgttaaagg	UUUAACGGUAACACAGCUGUA	CAGCUGUGUUACCGUUAAGG	11	3	3	2	2	1	0	-1	0
4910-4932	agctgtgttaccgttaaaggttt	ACCUUUAACGGUAACACAGCU	CUGUGUUACCGUUAAGGUUU	11	3	2	1	3	1	0	1	0

4912-4934	ctgtgtaccgtaaagggttttt	AAACCUUUAACGGUAACACAG	GUGUUACCGUAAAAGGUUUUU	12	2	3	2	2	1	0	-1	-1
4914-4936	gtgttaccgtaaagggtttttt	AAAAACCUUUAACGGUAACAC	GUUACCGUAAAAGGUUUUUUU	11	1	2	1	2	2	0	-1	0
4917-4939	ttaccgtaaagggtttttttt	AAAAAAAACCUUUAACGGUAA	ACCGUAAAAGGUUUUUUUUUU	11	0	0	1	2	2	0	-1	1
4918-4940	taccgtaaagggttttttttt	AAAAAAAACCUUUAACGGUA	CCGUAAAAGGUUUUUUUUUUU	12	0	0	1	2	2	0	-1	0
4933-4955	tttttttatatgtattaaatca	AUUUAAUACAUAUAAAAAAA	UUUUUUAUAUGUAUUAAAUCA	10	0	1	0	0	2	0	-2	0
4935-4957	ttttttatatgtattaaatcaat	UGAUUUAAUACAUAUAAAAA	UUUUAUAUGUAUUAAAUCAAU	9	0	2	0	0	2	0	-2	-1
4937-4959	ttttatatgtattaaatcaattt	AUUGAUUUAAUACAUUAAAA	UUAUAUGUAUUAAAUCAAUUU	10	0	2	1	0	2	0	-3	0
4940-4962	tatatgtattaaatcaattatc	UAAAUUGAUUUAAUACAUUA	UAUGUAUUAAAUCAAUUUUAUC	9	0	2	0	0	3	0	-3	0
4950-4972	aaatcaatttatcactgtttaa	UAAACAGUGAUAAAUUGAUUU	AUCAAUUUUAUCACUGUUUAAA	10	2	4	1	0	2	0	-3	0
4951-4973	aatcaatttatcactgtttaaag	UUAACAGUGAUAAAUUGAUUU	UCAAUUUUAUCACUGUUUAAAG	9	2	4	1	0	2	0	-3	1
4952-4974	atcaatttatcactgtttaaagc	UUUAAACAGUGAUAAAUUGAU	CAAUUUUAUCACUGUUUAAAGC	11	2	4	1	0	2	0	-3	-1
4962-4984	cactgtttaaagctttgaatc	UAUUCAAAGCUUUAACAGUG	CUGUUUAAAGCUUUGAAUAUC	11	2	4	2	1	1	0	-2	1
4970-4992	aaagctttgaatatctgcaatct	AUUGCAGAUAUUCAAAGCUUU	AGCUUUGAAUAUCUGCAAUCU	10	1	2	3	2	1	0	-2	0
4972-4994	agctttgaatatctgcaatcttt	AGAUUGCAGAUAUUCAAAGCU	CUUUGAAUAUCUGCAAUCUUU	11	2	3	2	2	1	0	-1	0
4983-5005	tctgcaatcttgccaaggtact	UACCUUGGCAAAGAUUGCAGA	UGCAAUCUUUGCCAAGGUACU	10	2	2	4	3	0	0	-1	0
4985-5007	tgcaatcttgccaaggtacttt	AGUACCUUGGCAAAGAUUGCA	CAAUCUUUGCCAAGGUACUUU	11	1	2	4	3	0	0	-1	0
4989-5011	atcttgccaaggtactttttta	AAAAAGUACCUUGGCAAAGAU	CUUUGCCAAGGUACUUUUUUA	9	0	2	4	2	1	0	-3	1
4991-5013	cttgccaaggtacttttttatt	UAAAAAGUACCUUGGCAAAG	UUGCCAAGGUACUUUUUUUAU	13	0	2	3	2	1	0	-2	-1
4993-5015	ttgccaaggtacttttttattta	AAUAAAAAGUACCUUGGCAA	GCCAAGGUACUUUUUUUAUUUA	11	0	1	3	2	1	0	-2	1
4996-5018	ccaaggtactttttatttaaaa	UUAAAUAAAAAAGUACCUUGG	AAGGUACUUUUUUAUUUAAAA	11	0	1	2	2	1	0	-1	0
4997-5019	caaggtactttttatttaaaaa	UUUAAAUAAAAAAGUACCUUG	AGGUACUUUUUUAUUUAAAA	12	0	2	2	1	1	0	-2	0
5019-5041	aaaaacataactttgtaaattt	UAUUUACAAAGUUAUGUUUUU	AAACAUAAACUUUGUAAAUAUU	11	0	3	1	0	3	0	-4	-1
5020-5042	aaaacataactttgtaaatttta	AUAUUUACAAAGUUAUGUUUU	AACAUAAACUUUGUAAAUAUUA	9	0	3	1	0	3	0	-4	0

5021-5043	aaacataactttgtaaatattac	AAUAUUUACAAAGUUAUGUUU	ACAUAACUUUGUAAAUAUUAC	9	0	3	2	0	2	0	-4	0
5030-5052	tttgtaaatattaccctgtaata	UUACAGGGUAAUAUUUACAAA	UGUAAAUAUUACCCUGUAAUA	8	1	2	2	1	1	0	-2	0
5031-5053	ttgtaaatattaccctgtaatat	AUUACAGGGUAAUAUUUACAA	GUAAAUAUUACCCUGUAAUAU	10	1	2	2	1	1	0	-2	0
5032-5054	tgtaaatattaccctgtaatatt	UAUUACAGGGUAAUAUUUACA	UAAAUAUUACCCUGUAAUAUU	10	2	2	0	1	2	0	-1	1
5035-5057	aatattaccctgtaatatata	UAAUAUUACAGGGUAAUAUUU	AUAUUACCCUGUAAUAUUUAU	8	1	1	0	1	2	0	-1	-1
5037-5059	atattaccctgtaatatata	UAUAAUAUUACAGGGUAAUAU	AUUACCCUGUAAUAUUUAUAU	9	1	1	0	1	2	0	-1	-1
5038-5060	tattaccctgtaatatatat	AUAUAAUAUUACAGGGUAAUA	UUACCCUGUAAUAUUUAUAU	10	1	1	0	1	2	0	-1	0
5040-5062	ttaccctgtaatatatatata	AUAUAUAAUAUUACAGGGUAA	ACCCUGUAAUAUUUAUAUAUAC	9	1	1	1	1	1	0	-1	0
5042-5064	accctgtaatatatatatactt	GUUAUAUAAUAUUACAGGGU	CCUGUAAUAUUUAUAUAUACUU	8	2	1	0	1	1	0	0	0
5058-5080	tatacttaataaaacattttaag	UAAAAUGUUUUUAUUAAGUAUA	UACUUAUAUAAAACAUUUUAAG	9	0	2	0	0	3	0	-3	0
5059-5081	atacttaataaaacattttaagc	UUAAAAUGUUUUUAUUAAGUAU	ACUUAUAUAAAACAUUUUAAGC	10	0	2	1	0	2	0	-3	0
5065-5087	aataaaacattttaagctatttt	AAUAGCUUAAAAUGUUUUUAUU	UAAAACAUUUUAAGCUAUUUU	9	0	1	1	1	2	0	-2	0
5070-5092	aacattttaagctattttgttgg	AACAAAAUAGCUUAAAAUGUU	CAUUUUUAAGCUAUUUUGUUGG	11	0	2	2	1	2	0	-3	0
5089-5111	ttgggctatttctattgtctgcta	GCAGCAAUAGAAAUAGCCCAA	GGGCUAUUUCUAUUGCUGCUA	8	1	1	1	2	2	1	0	1
5103-5125	ttgctgtacagcagaccacaag	UGUGGUCUGCUGUAGCAGCAA	GCUGCUACAGCAGACCACAAG	9	5	3	2	4	0	0	2	1
5107-5129	tgctacagcagaccacaagcaca	UGCUUGUGGUCUGCUGUAGCA	CUACAGCAGACCACAAGCACA	10	5	3	2	4	0	0	2	-1
5110-5132	tacagcagaccacaagcacattt	AUGUGCUUGUGGUCUGCUGUA	CAGCAGACCACAAGCACAUAUU	10	5	4	3	3	0	0	0	-1
5112-5134	cagcagaccacaagcacatttct	AAAUGUGCUUGUGGUCUGCUG	GCAGACCACAAGCACAUAUUCU	11	5	4	2	3	0	0	1	-1
5116-5138	agaccacaagcacatttctgaaa	UCAGAAAUGUGCUUGUGGUCU	ACCACAAGCACAUAUUCUGAAA	12	5	5	1	2	1	0	0	-1
5117-5139	gaccacaagcacatttctgaaaa	UUCAGAAAUGUGCUUGUGGUC	CCACAAGCACAUAUUCUGAAAA	13	4	5	2	2	1	0	-1	1
5118-5140	accacaagcacatttctgaaaaa	UUUCAGAAAUGUGCUUGUGGU	CACAAGCACAUAUUCUGAAAAA	12	4	4	2	2	1	0	-1	-1
5119-5141	ccacaagcacatttctgaaaaat	UUUUCAGAAAUGUGCUUGUGG	ACAAGCACAUAUUCUGAAAAAU	12	3	4	2	2	1	0	-1	0
5123-5145	aagcacatttctgaaaaatttaa	AAAUUUUUCAGAAAUGUGCUU	GCACAUUUCUGAAAAAUUUA	12	2	3	1	1	2	0	-2	-1

5125-5147	gcacatttctgaaaaatttaatt	UUAAAUUUUUCAGAAAUGUGC	ACAUUUCUGAAAAAUUAAUU	12	2	3	0	1	2	0	-1	-1
5159-5181	ttttaagttgcttatattctagg	UAGAAUAUAAGCAACUAAAA	UUAAGUUGCUUAUAUUCUAGG	10	0	2	2	1	2	0	-3	-1
5163-5185	aagttgcttatattctaggtaac	UACCUAGAAUAUAAGCAACUU	GUUGC UAUAUUCUAGGUAAC	10	0	2	4	2	1	0	-3	0
5166-5188	ttgcttatattctaggtacaat	UGUUACCUAGAAUAUAAGCAA	GCUUAUAUUCUAGGUAACAAU	7	0	2	3	2	1	0	-2	1
5167-5189	tgcttatattctaggtacaatg	UUGUUACCUAGAAUAUAAGCA	CUUAUAUUCUAGGUAACAAUG	9	1	2	3	2	1	0	-2	-1
5175-5197	ttctaggtacaatgtaaagaat	UCUUUACAUUGUUACCUAGAA	CUAGGUAACAAUGUAAAGAAU	11	0	4	4	1	1	0	-4	-1
5177-5199	ctaggtacaatgtaaagaatga	AUUCUUUACAUUGUUACCUAG	AGGUAACAAUGUAAAGAAUGA	9	0	4	4	1	1	0	-4	0
5179-5201	aggtacaatgtaaagaatgatt	UCAUUCUUUACAUUGUUACCU	GUAACAAUGUAAAGAAUGAUU	12	1	4	3	1	1	0	-3	-1
5183-5205	aacaatgtaaagaatgattaaa	UAAAUCAUUCUUUACAUUGUU	CAAUGUAAAGAAUGAUUUAAA	11	0	4	3	0	2	0	-5	1
5185-5207	caatgtaaagaatgattaaaat	UUUAAAUCAUUCUUUACAUUG	AUGUAAAGAAUGAUUUAAAAU	10	0	4	2	0	2	0	-4	0
5187-5209	atgtaaagaatgattaaaatat	AUUUUAAAUCAUUCUUUACAU	GUAAGAAUGAUUUAAAAUAU	10	0	3	2	0	2	0	-4	1
5190-5212	taaagaatgattaaaatattaa	AAUAUUUUAAAUCAUUCUUUA	AAGAAUGAUUUAAAAUAUUAA	10	0	2	1	0	2	0	-3	0
5191-5213	aaagaatgattaaaatattaat	UAAUAUUUUAAAUCAUUCUUU	AGAAUGAUUUAAAAUAUUAAU	10	0	2	2	0	1	0	-3	0
5192-5214	aagaatgattaaaatattaatt	UUAAUAUUUUAAAUCAUUCUU	GAAUGAUUUAAAAUAUUAAUU	13	0	2	2	0	1	0	-3	0
5195-5217	aatgattaaaatattaattatg	UAAUUAAUAUUUUAAAUCAUU	UGAUUUAAAAUAUUAAUUAUG	11	0	1	1	0	1	0	-2	0
5207-5229	tattaattatgaatttttgagt	UCAAAAAAUUCAUAAUUAUA	UUAAUUAUGAAUUUUUUGAGU	11	0	2	0	0	2	0	-2	-1
5211-5233	aattatgaatttttgagtataa	AUACUCAAAAAAUUCAUAAUU	UUAUGAAUUUUUUGAGUAUAA	9	1	3	1	0	2	0	-3	0
5213-5235	ttatgaatttttgagtataata	UUAUACUCAAAAAAUUCAUAA	AUGAAUUUUUUGAGUAUAAUA	9	1	3	0	0	3	0	-3	0
5214-5236	tatgaatttttgagtataatac	AUUUAUACUCAAAAAAUUCAUA	UGAAUUUUUUGAGUAUAAUAC	9	1	3	1	0	2	0	-3	0
5215-5237	atgaatttttgagtataatacc	UAUUUAUACUCAAAAAAUUCAU	GAAUUUUUUGAGUAUAAUACC	10	1	3	1	0	2	0	-3	1
5223-5245	tttgagtataataccaataagc	UUAUUGGGUAUUUAUCUCAA	UGAGUAUAAUACCCAAUAAGC	9	1	2	1	1	2	0	-2	0
5226-5248	gagtataataccaataagcttt	AGCUUAUUGGGUAUUUAUCUC	GUAUAAUACCCAAUAAGCUUU	11	1	2	0	2	2	0	0	0
5230-5252	ataataccaataagctttaat	UAAAAGCUUAUUGGGUAUUUAU	AAUACCCAAUAAGCUUUAAU	7	0	0	0	2	3	0	-1	0

5231-5253	taataaccaataagcttttaatt	UUAAAAGCUUAUUGGGUAUUA	AUACCCAAUAAGCUUUUAAUU	12	0	0	0	2	3	0	-1	0
5234-5256	taccaataagcttttaattaga	UAAUUAAAAGCUUAUUGGGUA	CCCAAUAAGCUUUUAAUUAGA	10	0	0	1	2	2	0	-1	0
5236-5258	ccaataagcttttaattagagc	UCUAAUUAAAAGCUUAUUGGG	CAAUAAGCUUUUAAUUAGAGC	11	0	1	0	2	2	0	0	0
5243-5265	agcttttaattagagcagagttt	ACUCUGCUCUAAUUAAAAGCU	CUUUUAAUUAGAGCAGAGUUU	11	4	3	0	2	1	0	1	0
5247-5269	tttaattagagcagagttttaat	UAAAACUCUGCUCUAAUUAUA	UAAUUAGAGCAGAGUUUUAAU	10	3	3	0	1	2	0	-1	0
5250-5272	aattagagcagagttttaattaa	AAUUAACUCUGCUCUAAUU	UUAGAGCAGAGUUUUAAUUAA	10	3	3	0	1	2	0	-1	-1
5251-5273	attagagcagagttttaattaa	UAAUUAACUCUGCUCUAAU	UAGAGCAGAGUUUUAAUUAAA	10	3	3	0	1	2	0	-1	1
5253-5275	tagagcagagttttaaaaaag	UUUAAUUAACUCUGCUCUA	GAGCAGAGUUUUAAUUAAAAG	11	3	3	1	1	1	0	-1	0
5254-5276	agagcagagttttaaaaaagt	UUUUAAUUAACUCUGCUCU	AGCAGAGUUUUAAUUAAAAGU	11	4	3	0	1	1	0	0	0
5256-5278	agcagagttttaaaaaagttt	ACUUUUAAUUAACUCUCU	CAGAGUUUUAAUUAAAAGUUU	12	3	3	0	1	1	0	0	0

ПРИЛОЖЕНИЕ Д

Протокол анализа №

Образец:

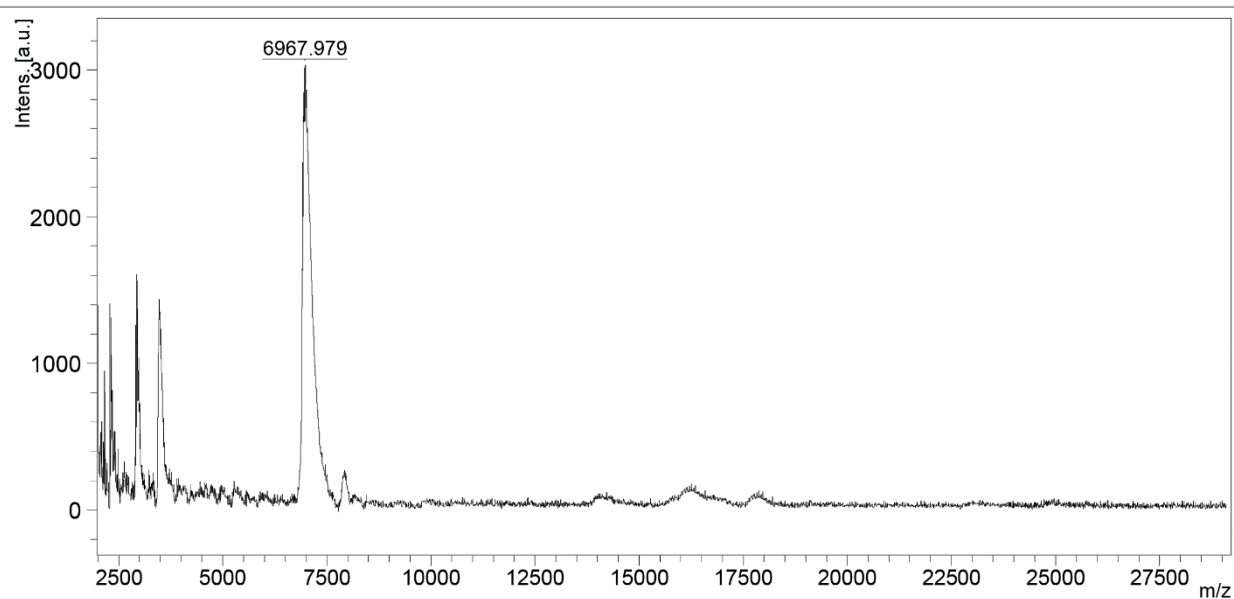
I-1_1

Методика:

Аналитик:

Дата формирования:

m/z	Rel. Intens.	Area	SN
2291.227	47	6982	6.4
2939.110	54	10133	7.9
3481.997	48	12189	7.3
6967.979	100	28058	26.0
7886.733	8	764	2.2



IN-2-12-C-D 08052026\0_D10\I

2026-05-08T12:27:50.000

Рисунок Д.1— Масс-спектрометрическое исследование дуплекса I-1

*Протокол анализа №**Образец:*

I-1_2

*Методика:**Аналитик:**Дата формирования:*

m/z	Rel. Intens.	Area	SN
2291.227	47	6982	6.4
3481.997	48	12189	7.3
6951.103	100	28058	26.0
7886.733	8	764	2.2

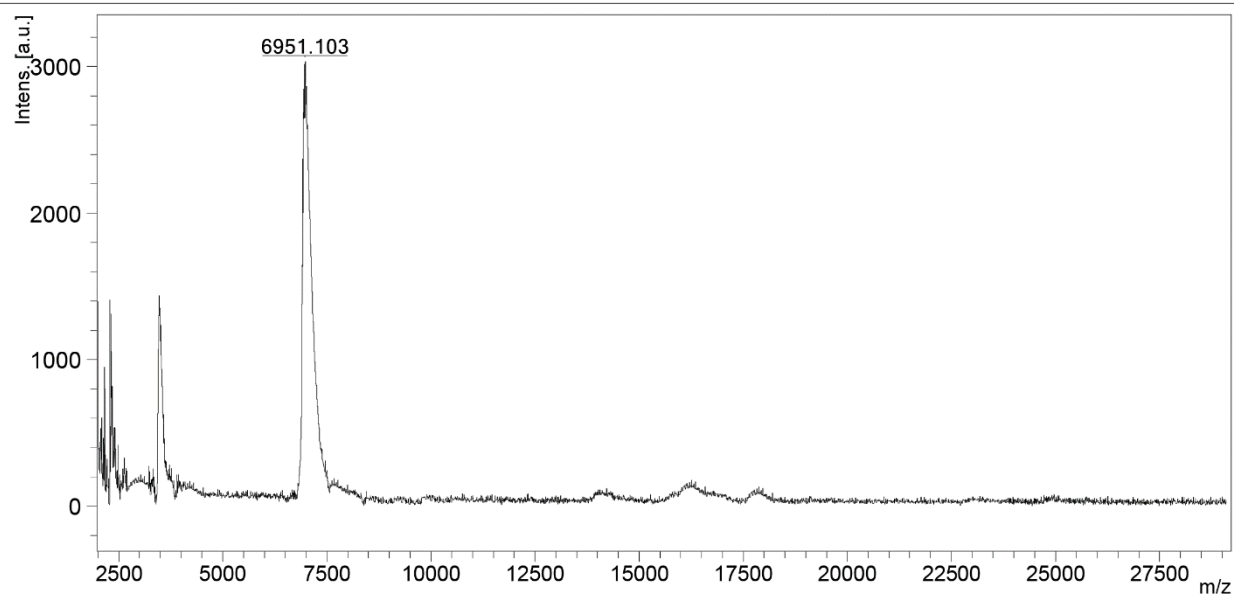


Рисунок Д.2 – Масс-спектрометрическое исследование дуплекса I-2

Протокол анализа №

Образец:

Методика:

Аналитик:

Дата формирования:

I-1_3

m/z	Rel. Intens.	Area	SN
2291.227	47	6982	6.4
3481.997	48	12189	7.3
6981.253	100	28058	26.0
7886.733	8	764	2.2

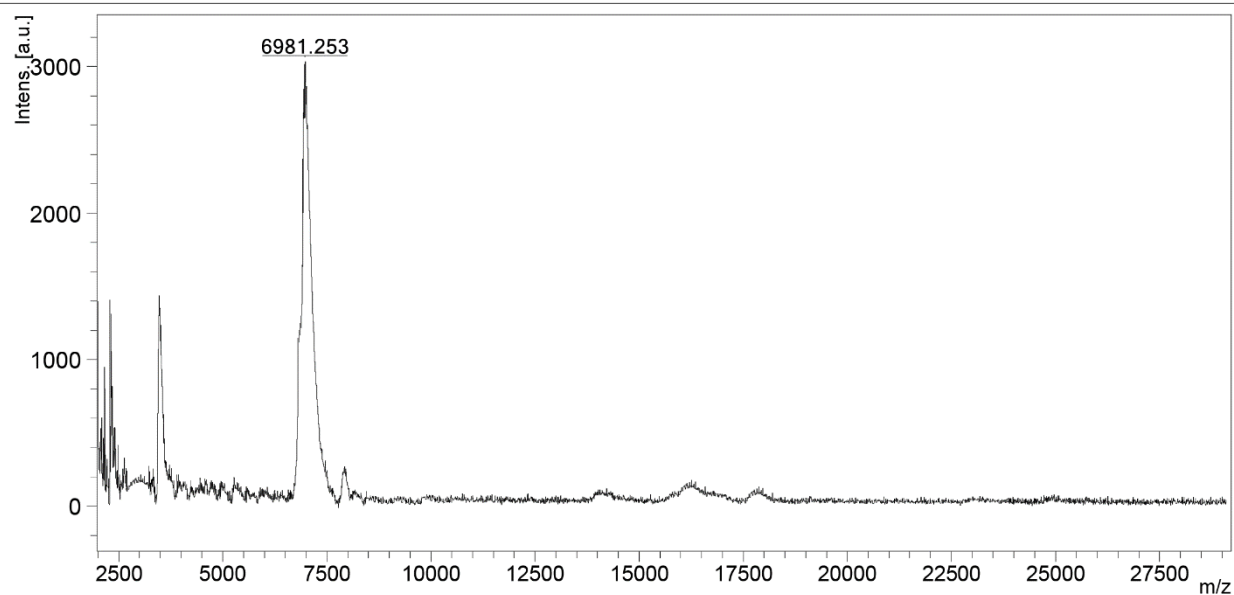


Рисунок Д.3 – Масс-спектрометрическое исследование дуплекса I-3

*Протокол анализа №**Образец:*

I-1_4

*Методика:**Аналитик:**Дата формирования:*

m/z	Rel. Intens.	Area	SN
2291.227	47	6982	6.4
3481.997	48	12189	7.3
6956.458	100	28058	26.0
7886.733	8	764	2.2

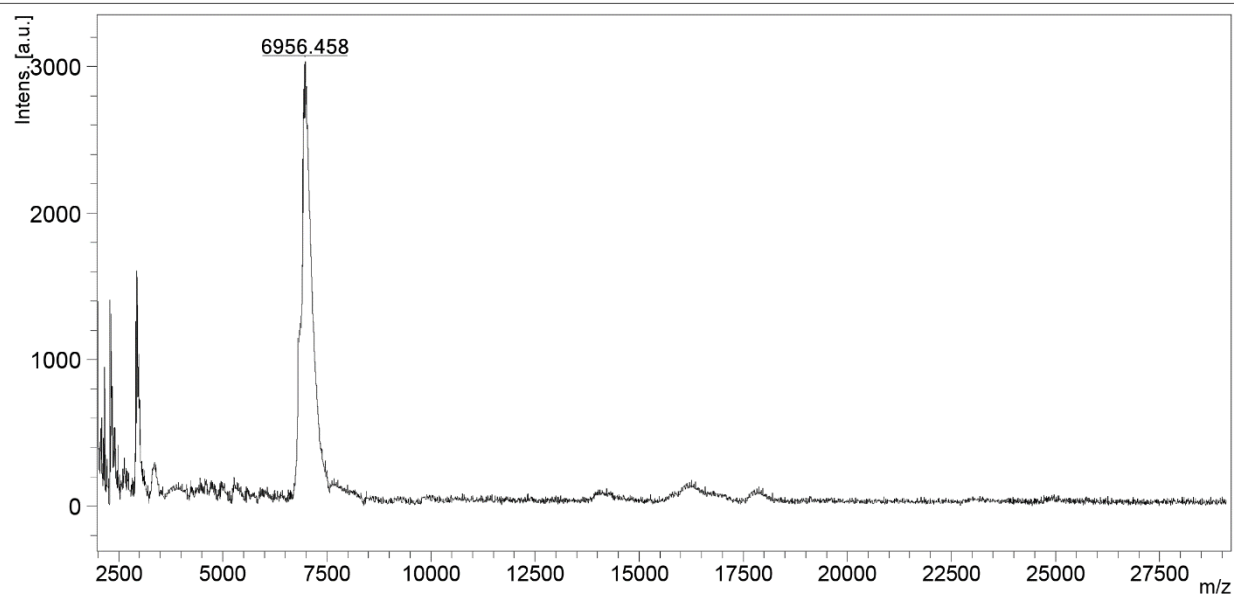


Рисунок Д.4 – Масс-спектрометрическое исследование дуплекса I-4

*Протокол анализа №**Образец:*

I-1_5

*Методика:**Аналитик:**Дата формирования:*

m/z	Rel. Intens.	Area	SN
2291.227	47	6982	6.4
3481.997	48	12189	7.3
6966.598	100	28058	26.0
7886.733	8	764	2.2

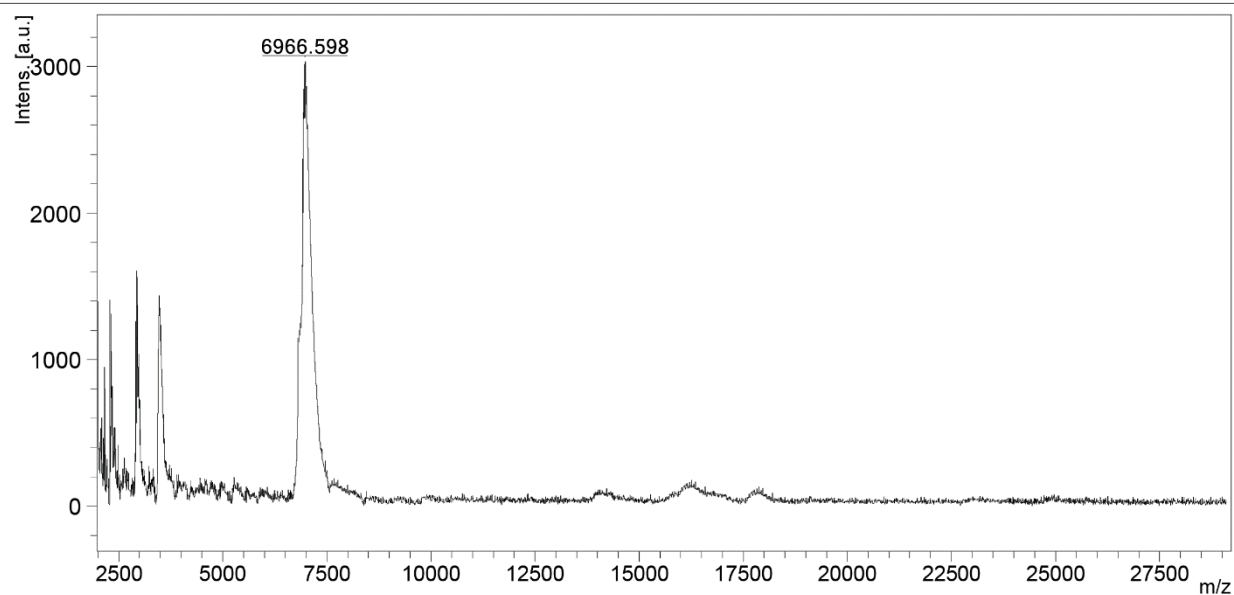


Рисунок Д.5 – Масс-спектрометрическое исследование дуплекса I-5

Протокол анализа №

Образец:

Методика:

Аналитик:

Дата формирования:

I-1_6

m/z	Rel. Intens.	Area	SN
2291.227	47	6982	6.4
3481.997	48	12189	7.3
6931.591	100	28058	26.0
7886.733	8	764	2.2

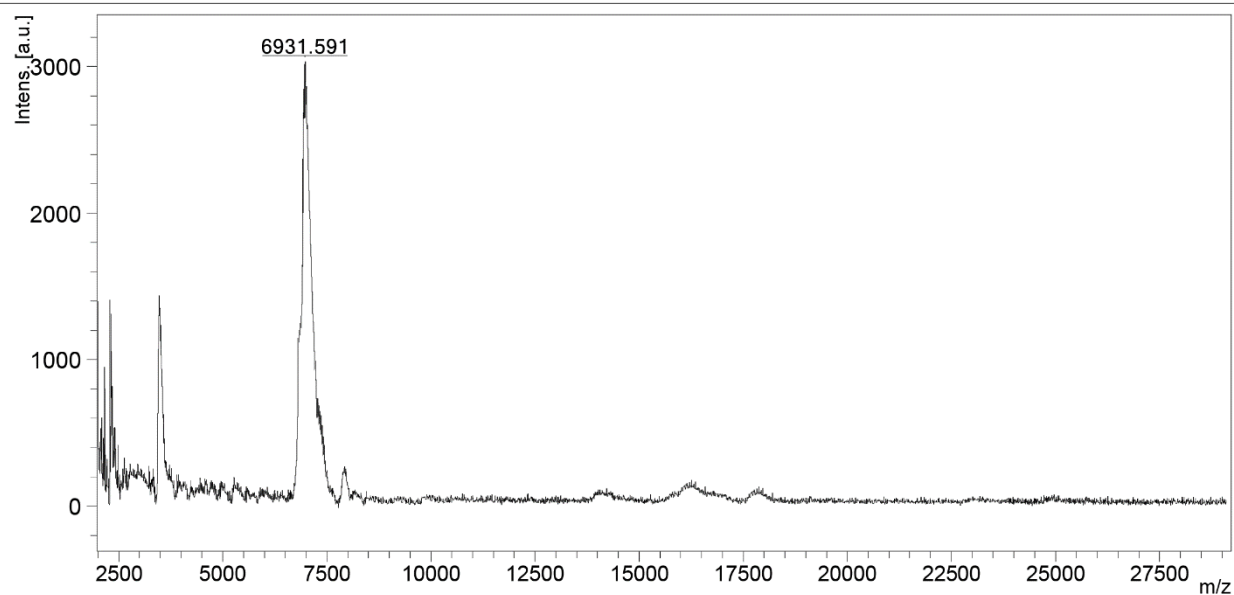


Рисунок Д.6 – Хроматографическое исследование дуплекса I-6

*Протокол анализа №**Образец:**Методика:**Аналитик:**Дата формирования:*

C1

m/z	Rel. Intens.	Area	SN
2291.227	47	6982	6.4
3481.997	48	12189	7.3
6951.711	100	28058	26.0
7886.733	8	764	2.2

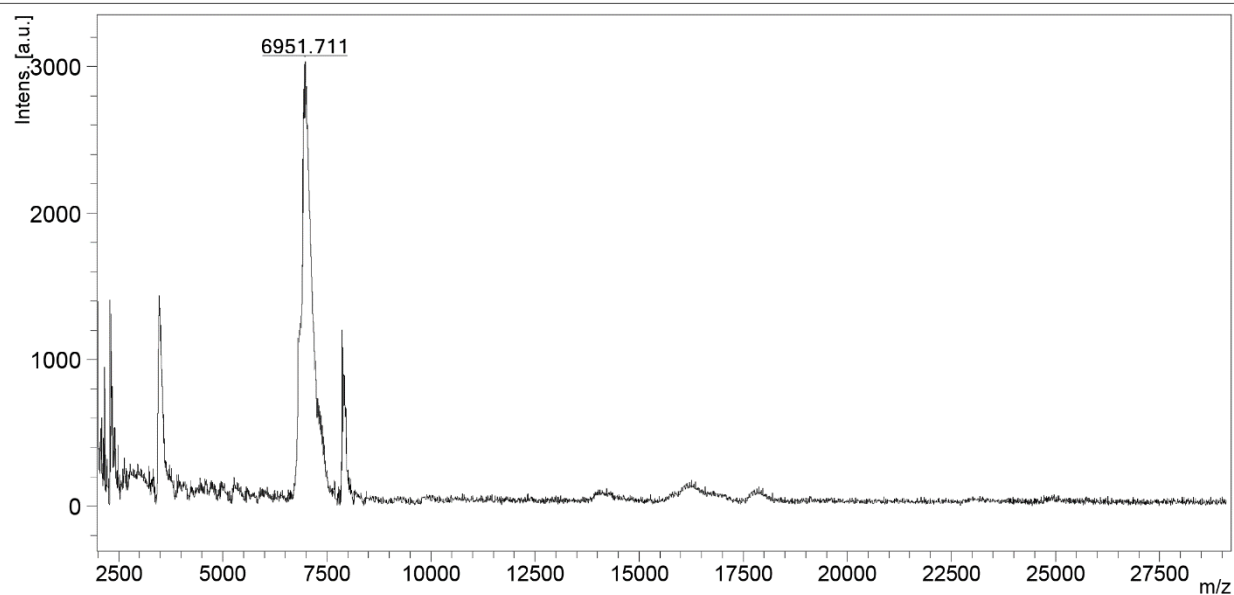


Рисунок Д.7 – Масс-спектрометрическое исследование дуплекса C1

Протокол анализа №

Образец:

Методика:

Аналитик:

Дата формирования:

C2

m/z	Rel. Intens.	Area	SN
2291.227	47	6982	6.4
3481.997	48	12189	7.3
6984.211	100	28058	26.0
7886.733	8	764	2.2

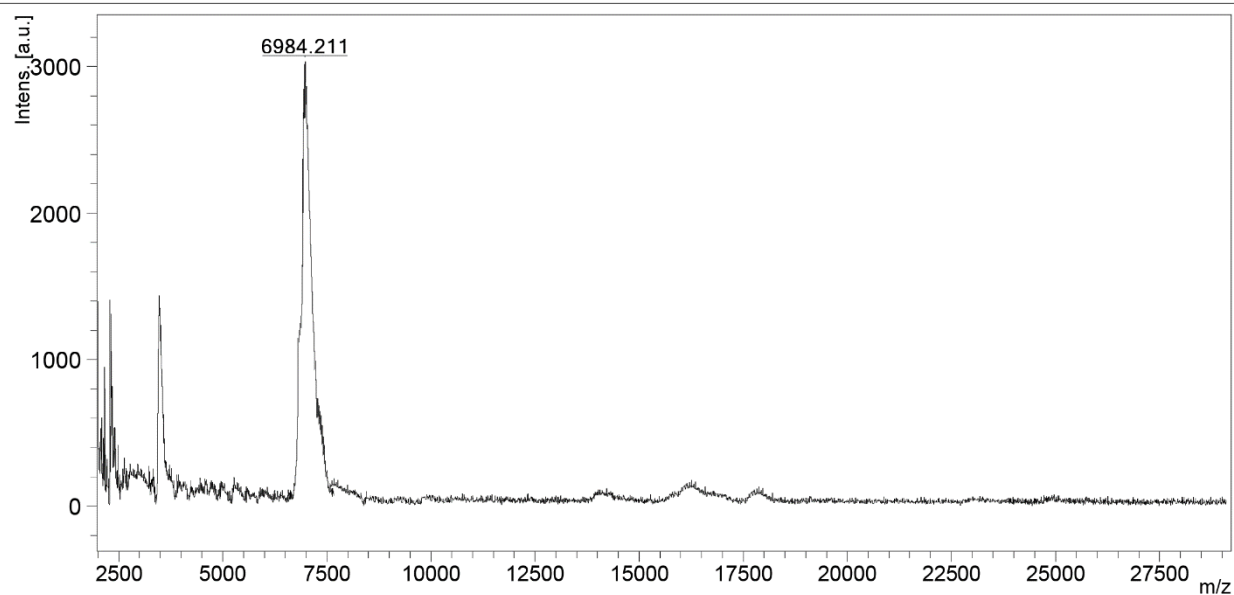


Рисунок Д.8 – Масс-спектрометрическое исследование дуплекса C2

*Протокол анализа №**Образец:**Методика:**Аналитик:**Дата формирования:***C3**

m/z	Rel. Intens.	Area	SN
4403.315	65	4176	7.2
6976.033	53	4715	7.9
11178.169	10	214	2.1

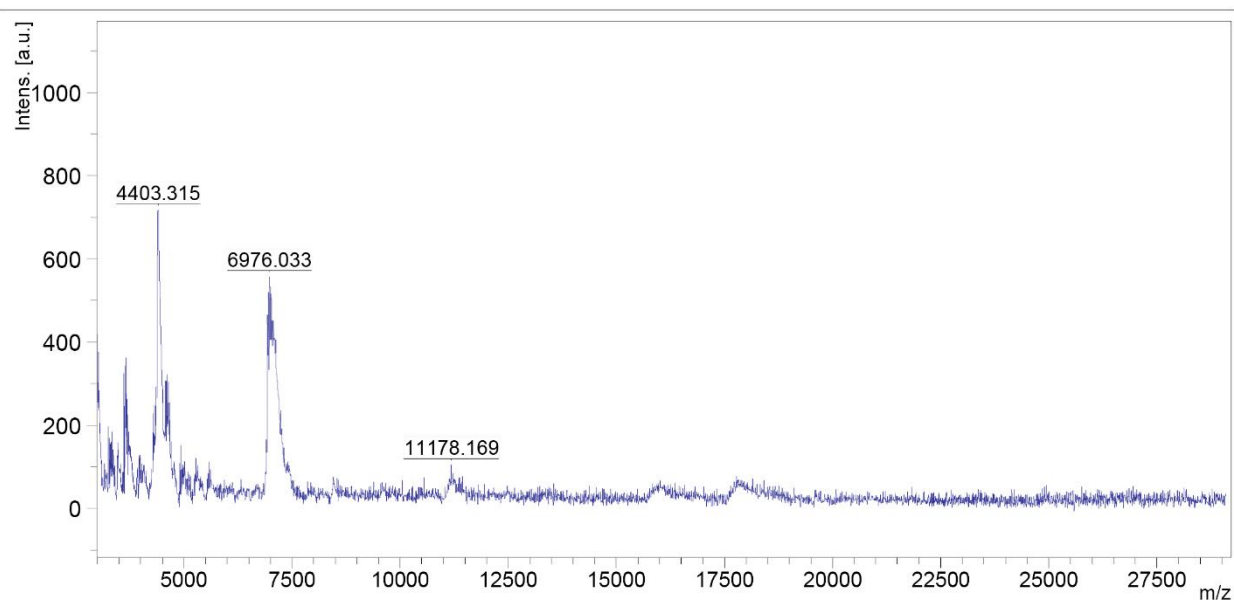


Рисунок Д.9 – Масс-спектрометрическое исследование дуплекса C3

Протокол анализа №

Образец:

Методика:

Аналитик:

Дата формирования:

C4

m/z	Rel. Intens.	Area	SN
2314.939	9	3890	5.7
3481.757	47	31338	31.7
4624.869	3	428	2.4
6666.632	3	2190	2.6
6949.260	100	139070	96.2
10460.429	2	386	3.1
14029.128	7	2854	15.3

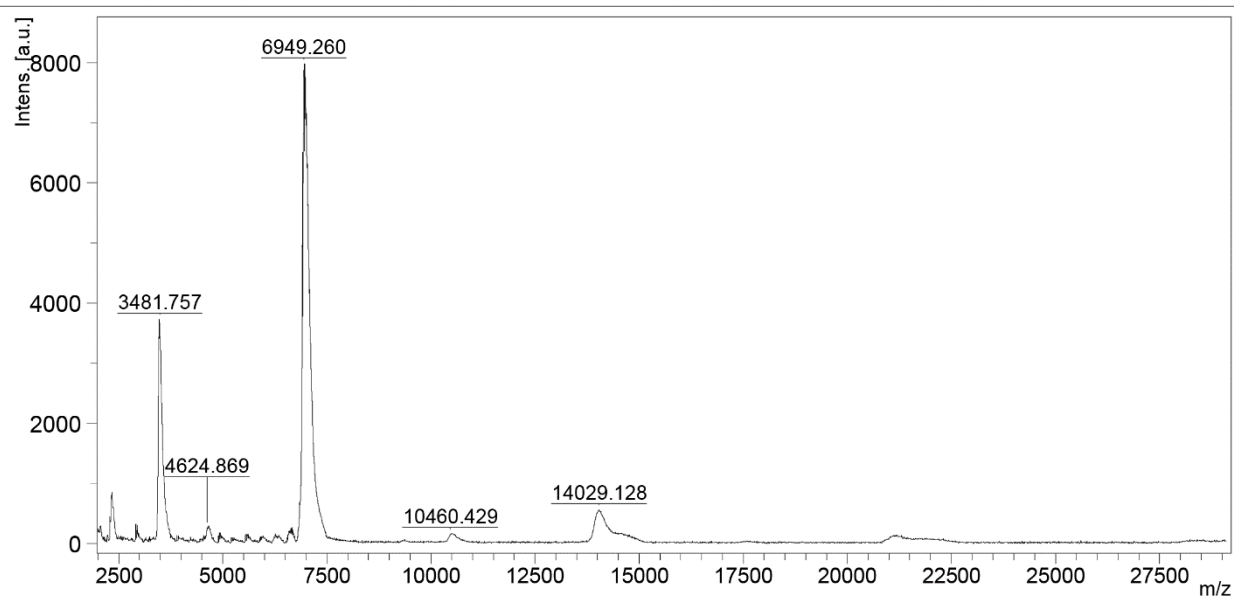


Рисунок Д.10 – Масс-спектрометрическое исследование дуплекса C4

*Протокол анализа №**Образец:**Методика:**Аналитик:**Дата формирования:*

C5

m/z	Rel. Intens.	Area	SN
2314.939	9	3890	5.7
3481.757	47	31338	31.7
6999.260	100	139070	96.2

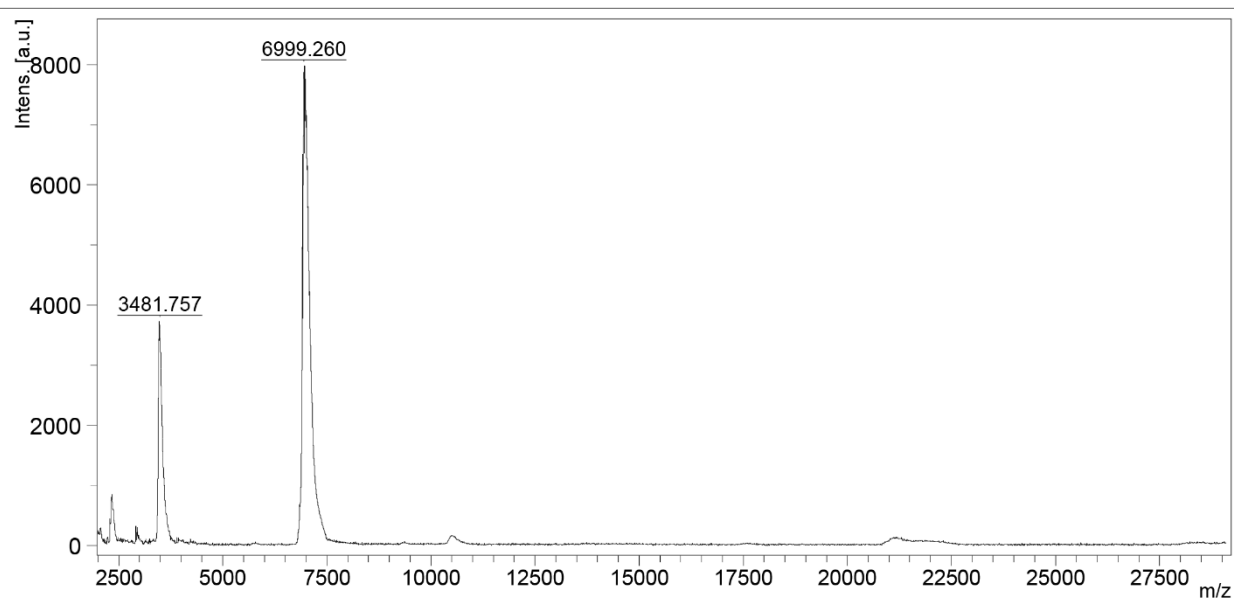


Рисунок Д.11 – Масс-спектрометрическое исследование дуплекса C5

Протокол анализа №

Образец:

Методика:

Аналитик:

Дата формирования:

C6

m/z	Rel. Intens.	Area	SN
2314.939	9	3890	5.7
3481.757	47	31338	31.7
6926.260	100	139070	96.2

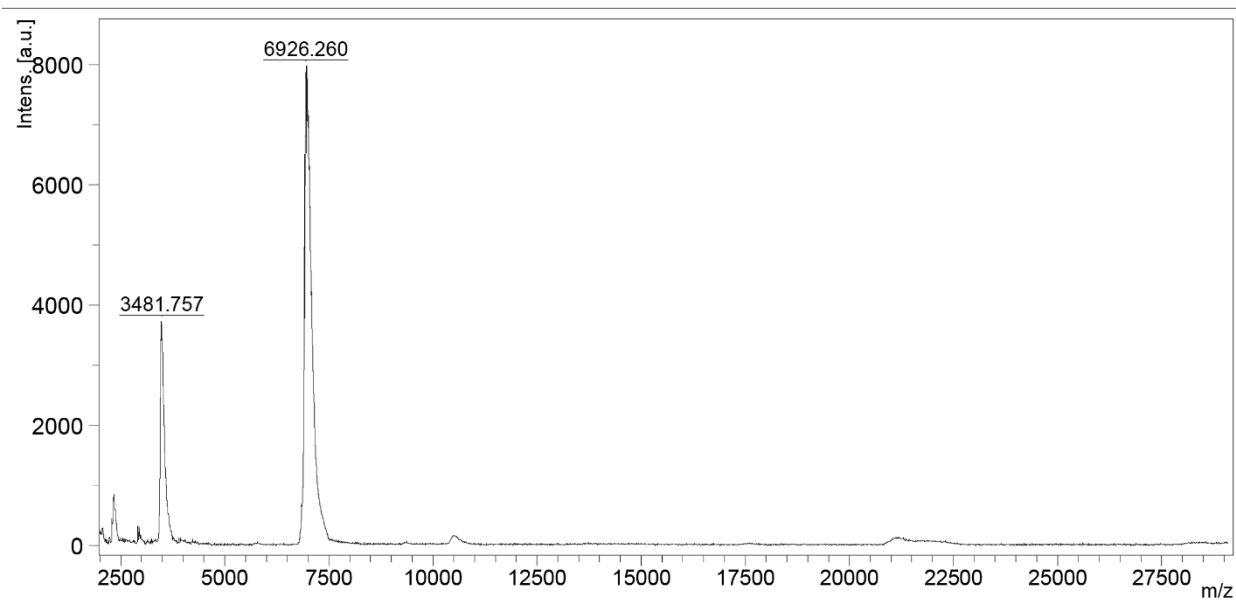


Рисунок Д.12 – Масс-спектрометрическое исследование дуплекса C6

Протокол анализа №

Образец:

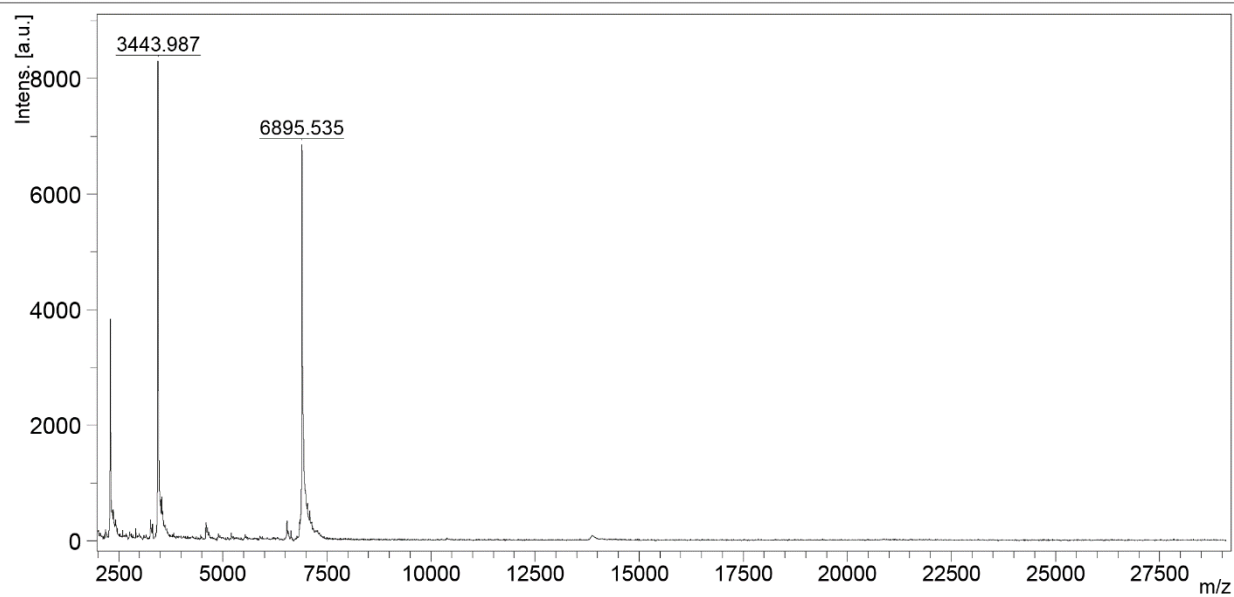
Методика:

Аналитик:

Дата формирования:

I-1_15

m/z	Rel. Intens.	Area	SN
2296.470	81	42999	11.7
3443.987	100	57172	38.2
6895.535	11	16152	9.4



o9 19022026\0_G2\I

2025-12-09T16:14:16.000

Рисунок Д.13 – Масс-спектрометрическое исследование дуплекса I-1_15

Протокол анализа №

Образец:

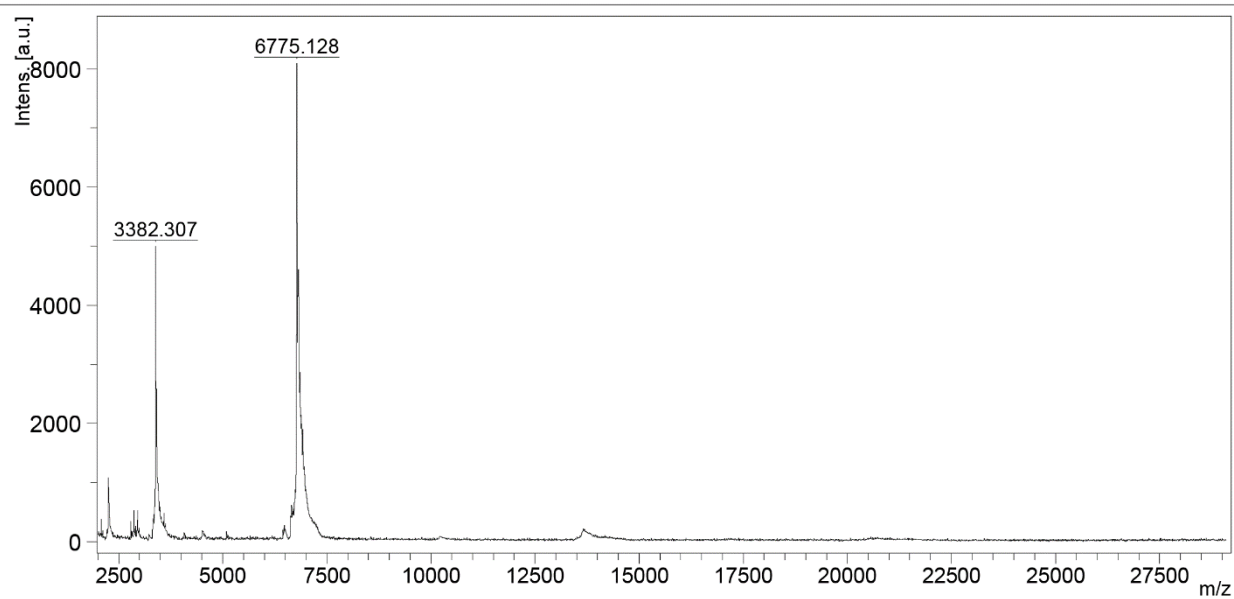
Методика:

Аналитик:

Дата формирования:

I-2_15

m/z	Rel. Intens.	Area	SN
2256.639	100	7001	9.0
3382.307	54	38614	16.9
6775.128	11	17928	10.0



10 14042026\0_C4\I

2026-04-14T14:56:20.000

Рисунок Д.14 – Масс-спектрометрическое исследование дуплекса I-2_15

Протокол анализа №

Образец:

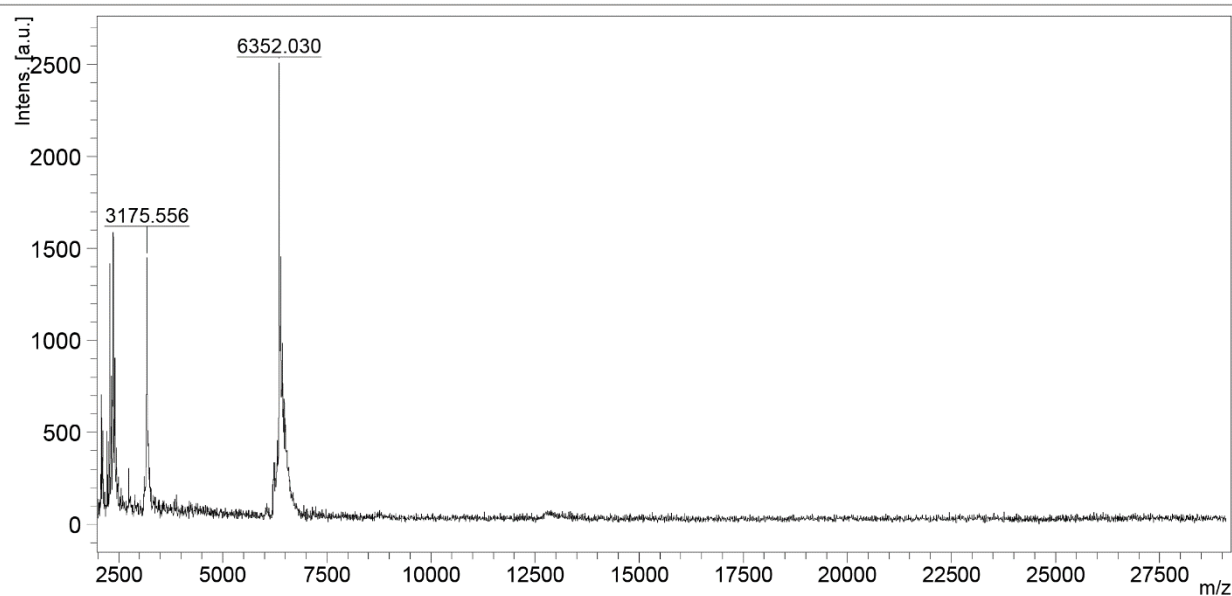
Методика:

Аналитик:

Дата формирования:

I-3_15

m/z	Rel. Intens.	Area	SN
2288.547	89	9256	11.5
2372.668	100	9993	13.0
3175.556	92	10627	13.1
6352.030	5	3602	12.6



11 14042026\0_C5\I

2026-04-14T14:56:52.000

Рисунок Д.15 – Масс-спектрометрическое исследование дуплекса I-3_15

Протокол анализа №

Образец:

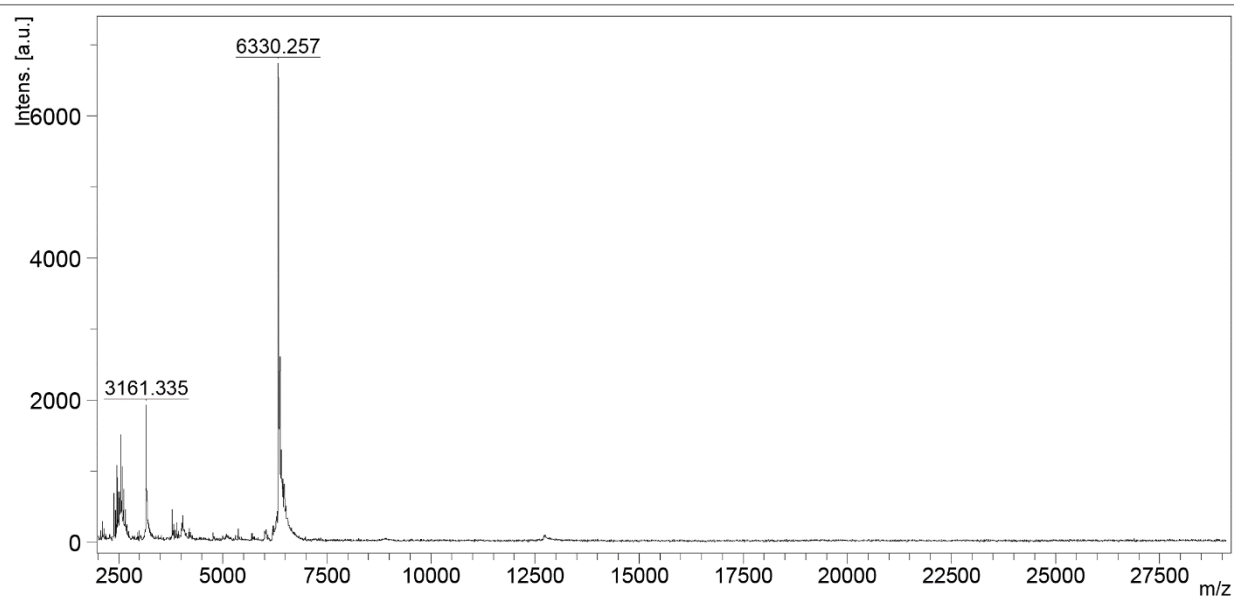
Методика:

Аналитик:

Дата формирования:

I-4_15

m/z	Rel. Intens.	Area	SN
2548.913	100	11939	16.7
3161.335	18	13338	9.2
6330.257	14	8958	61.0



I2 14042026\0_C6\I

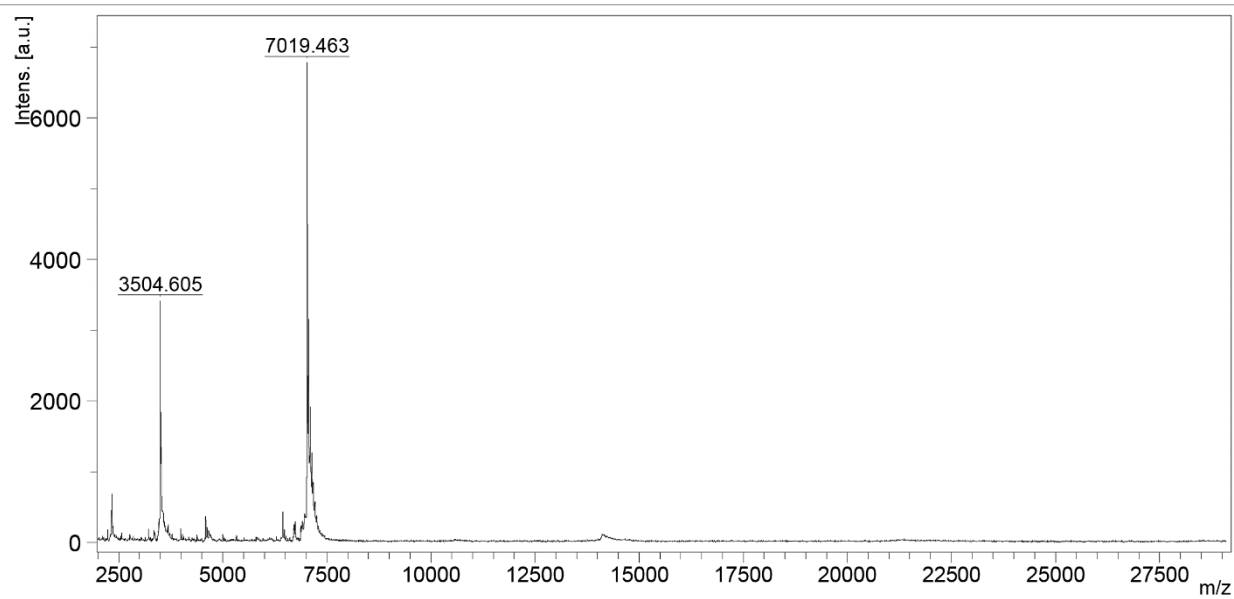
2026-04-14T14:57:04.000

Рисунок Д.16 – Масс-спектрометрическое исследование дуплекса I-4_15

*Протокол анализа №**Образец:**Методика:**Аналитик:**Дата формирования:*

I-5_15

m/z	Rel. Intens.	Area	SN
3504.605	100	19692	24.0
7019.463	34	7658	52.5



13 14042026\0_C7\1

2026-04-14T14:57:19.000

Рисунок Д.17 – Масс-спектрометрическое исследование дуплекса I-5_15

Протокол анализа №

Образец:

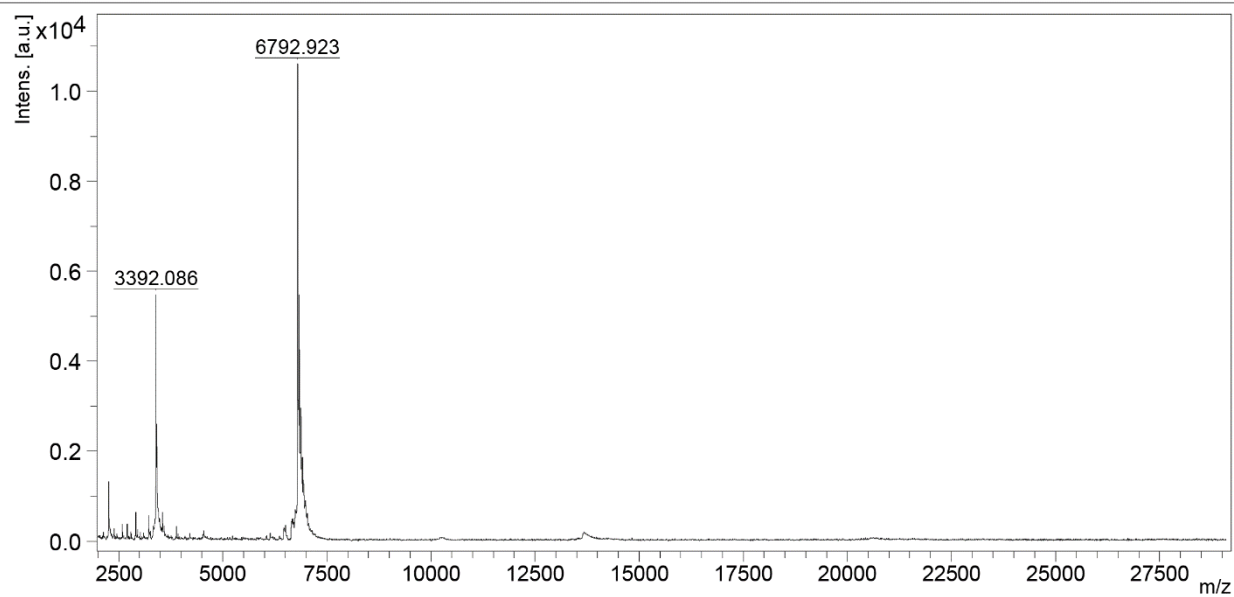
Методика:

Аналитик:

Дата формирования:

I-6_15

m/z	Rel. Intens.	Area	SN
3392.086	100	33531	16.7
6792.923	34	17201	39.1
6831.871	13	8941	8.3



I4 14042026\0_C8\I

2026-04-14T14:57:35.000

Рисунок Д.18 – Масс-спектрометрическое исследование дуплекса I-6_15

Протокол анализа №

Образец:

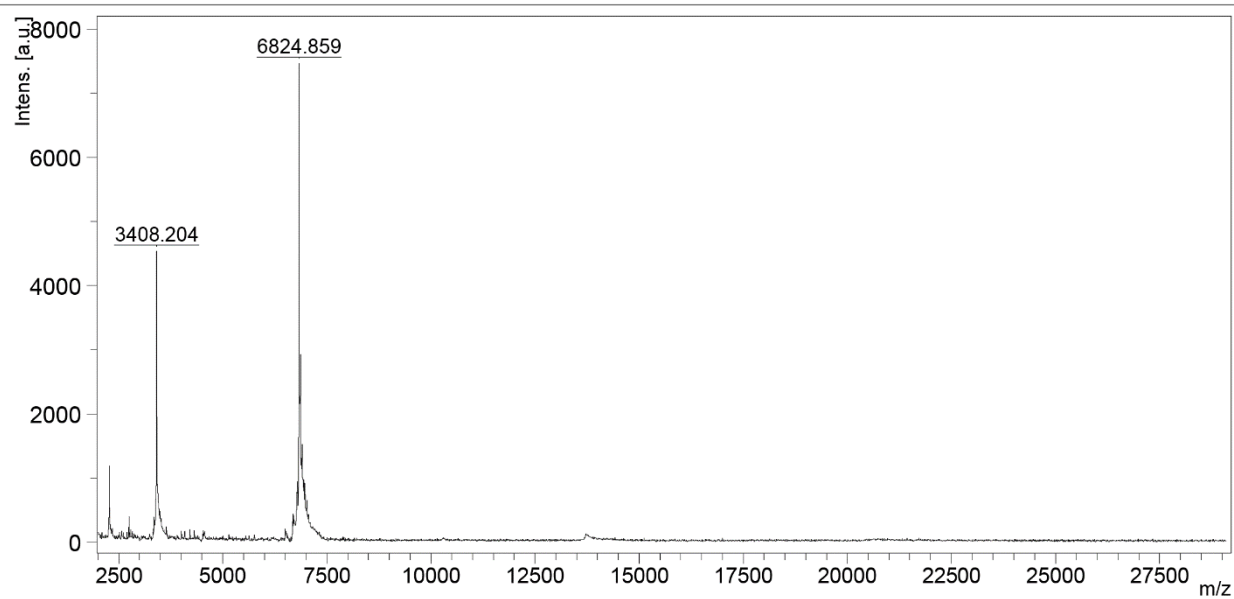
Методика:

Аналитик:

Дата формирования:

C1_15

m/z	Rel. Intens.	Area	SN
2273.703	100	6529	11.1
3408.204	42	31878	15.1
6824.859	11	9979	21.0



28 14042026\0_D10\1

2026-04-14T15:02:14.000

Рисунок Д.19 – Масс-спектрометрическое исследование дуплекса C1_15

Протокол анализа №

Образец:

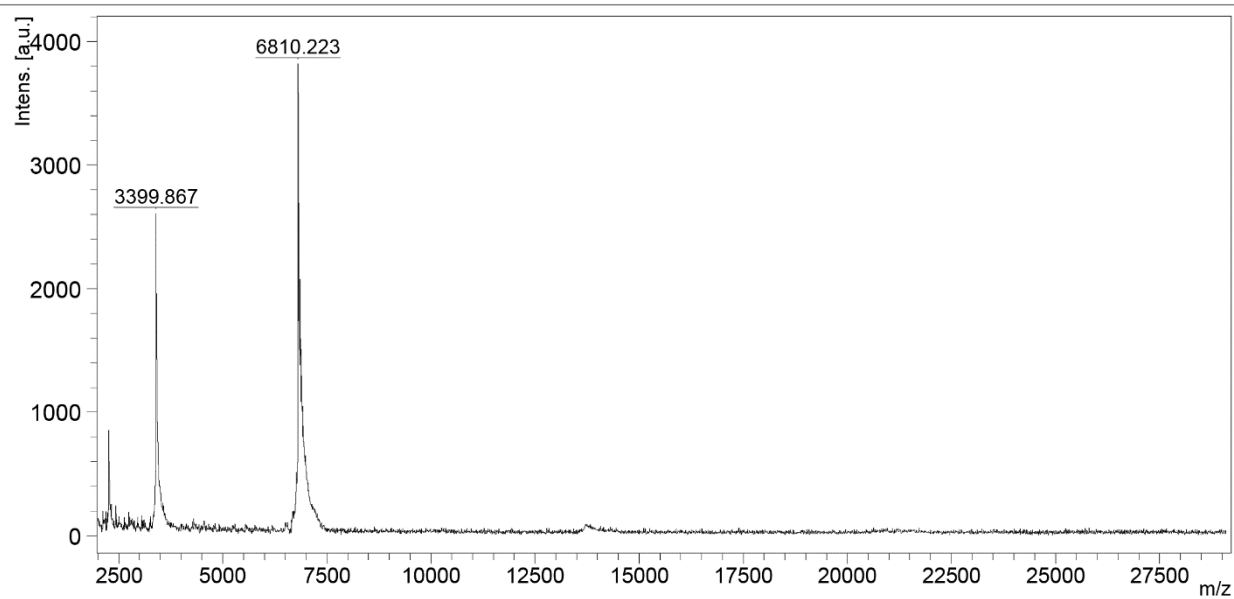
Методика:

Аналитик:

Дата формирования:

C2_15

m/z	Rel. Intens.	Area	SN
2266.532	22	5144	7.7
3399.867	68	19522	26.0
6810.223	100	50721	55.1



27 14042026\0_D9\I

2026-04-14T15:01:53.000

Рисунок Д.20 – Масс-спектрометрическое исследование дуплекса C2_15

Протокол анализа №

Образец:

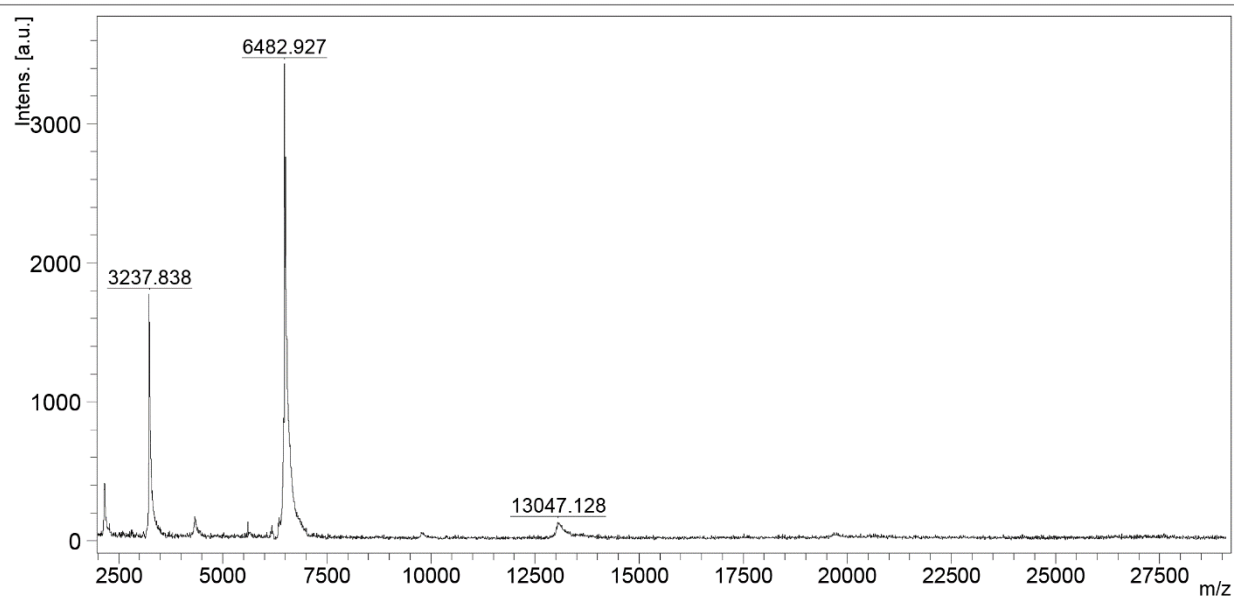
Методика:

Аналитик:

Дата формирования:

C3_15

m/z	Rel. Intens.	Area	SN
3237.838	52	13243	31.0
6482.927	100	48637	77.8
13047.128	4	486	3.8



26 14042026\0_D8\I

2026-04-14T15:01:23.000

Рисунок Д.21 – Масс-спектрометрическое исследование дуплекса C3_15

Протокол анализа №

Образец:

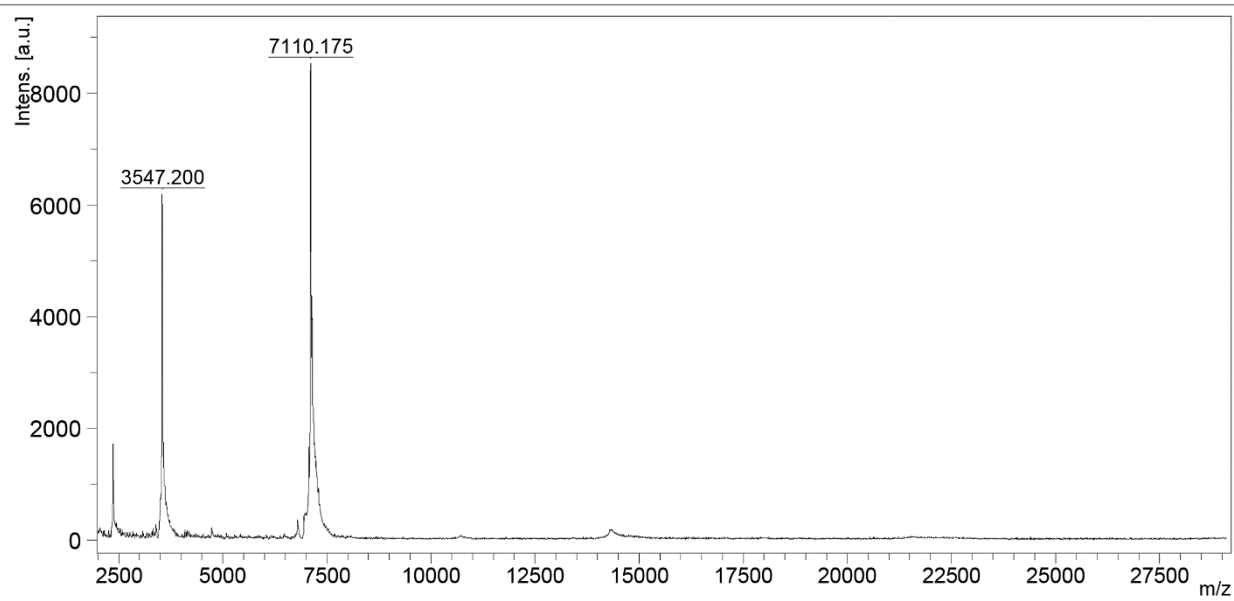
Методика:

Аналитик:

Дата формирования:

C4_15

m/z	Rel. Intens.	Area	SN
2365.995	20	12210	13.1
3547.200	7	49667	11.2
7110.175	100	128005	125.1



25 14042026\0_D7\I

2026-04-14T15:00:43.000

Рисунок Д.22 – Масс-спектрометрическое исследование дуплекса C4_15

Протокол анализа №

Образец:

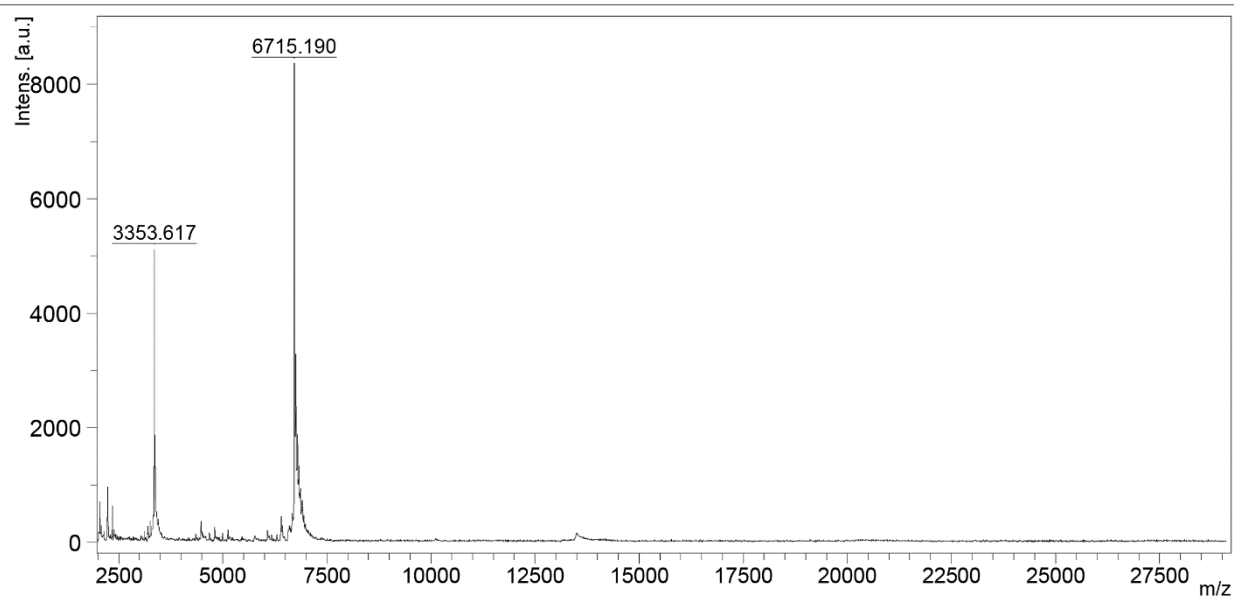
Методика:

Аналитик:

Дата формирования:

C5_15

m/z	Rel. Intens.	Area	SN
3353.617	100	28221	25.6
3372.857	28	4502	9.0
6715.190	28	12332	25.8



19 14042026\0_D1\1

2026-04-14T14:58:49.000

Рисунок Д.23 – Масс-спектрометрическое исследование дуплекса C5_15

Протокол анализа №

Образец:

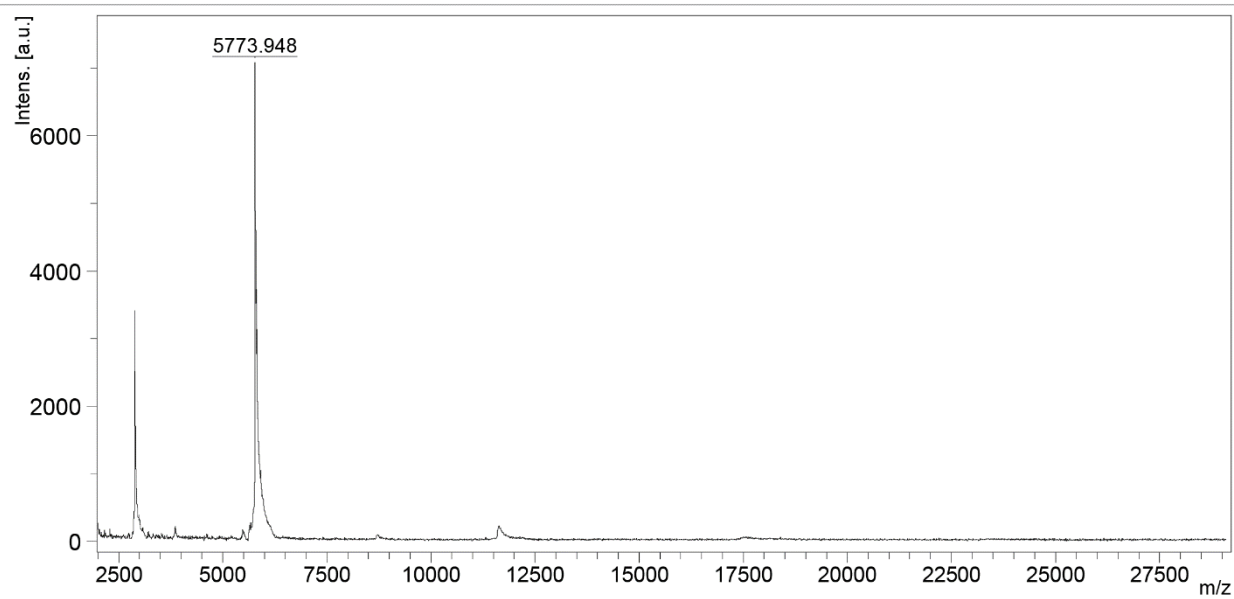
Методика:

Аналитик:

Дата формирования:

C6_15

m/z	Rel. Intens.	Area	SN
2884.022	100	36317	16.8
5773.948	34	23603	15.3



22 14042026\0_D4\1

2026-04-14T14:59:50.000

Рисунок Д.24 – Масс-спектрометрическое исследование дуплекса C6_15

Протокол анализа №

Образец:

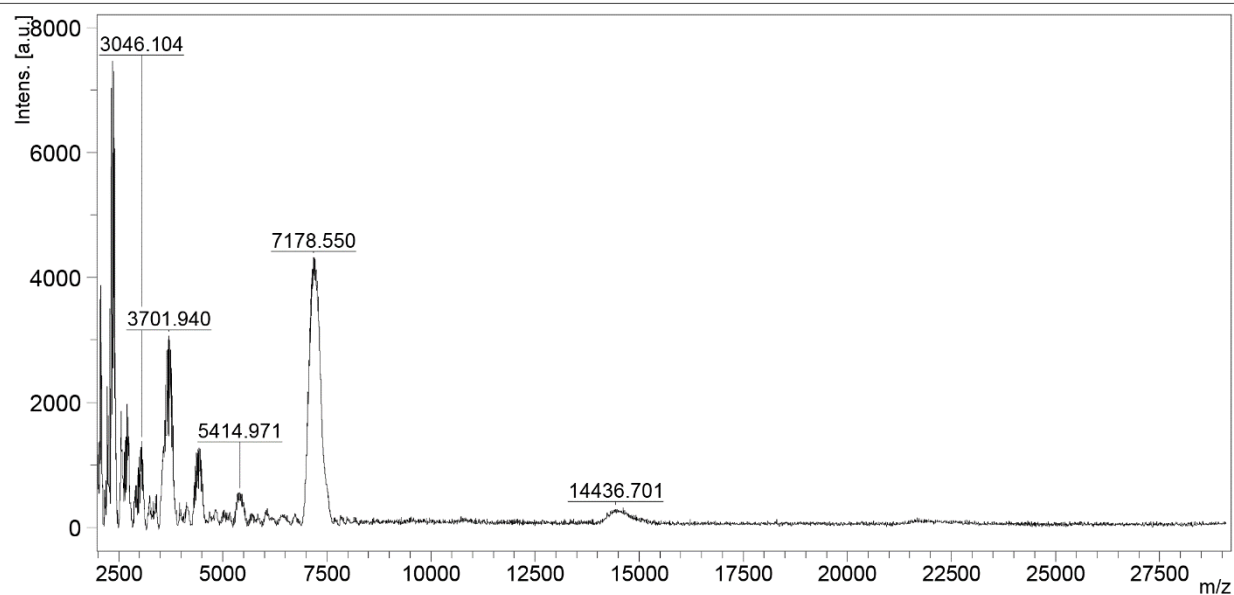
Методика:

Аналитик:

Дата формирования:

I-1_1

m/z	Rel. Intens.	Area	SN
2353.295	100	67354	14.1
2705.591	26	16959	3.9
3046.104	17	5670	2.7
3701.940	41	40347	7.2
4368.737	16	14368	3.0
5414.971	7	3571	1.8
7178.550	58	53102	19.8
14436.701	4	1167	2.9



ON-P2 06052026\0_D2\1

2026-05-06T13:41:47.000

Рисунок Д.25 – Масс-спектрометрическое исследование дуплекса I-1_1

Протокол анализа №

Образец:

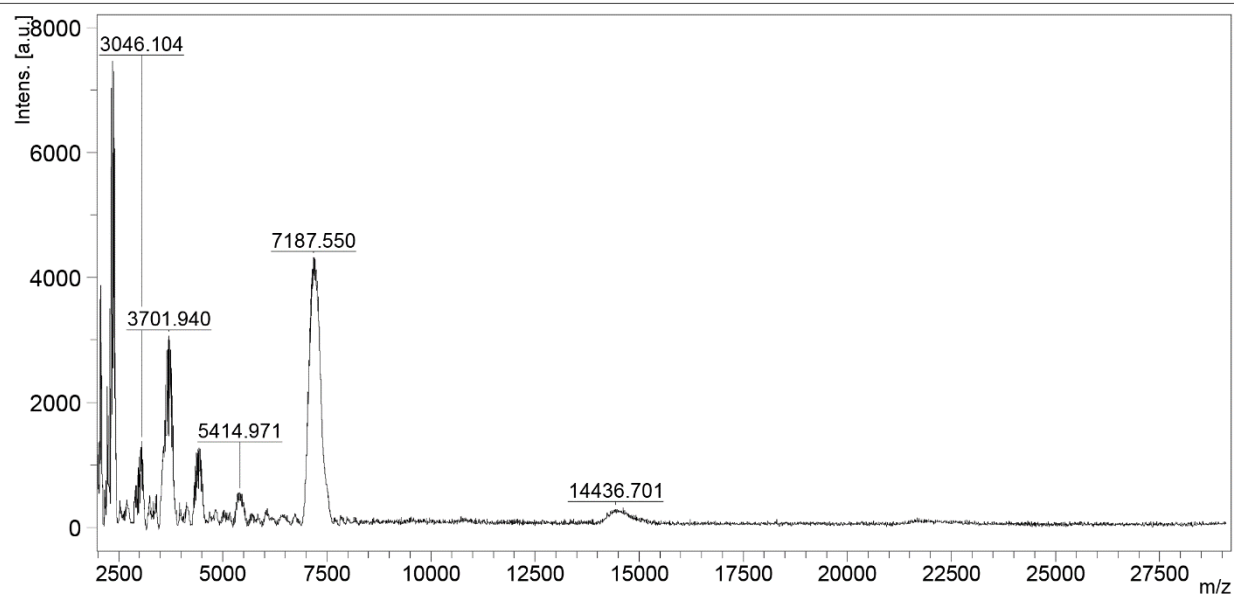
Методика:

Аналитик:

Дата формирования:

I-1_2

m/z	Rel. Intens.	Area	SN
2353.295	100	67354	14.1
2705.591	26	16959	3.9
3046.104	17	5670	2.7
3701.940	41	40347	7.2
4368.737	16	14368	3.0
5414.971	7	3571	1.8
7187.550	58	53102	19.8
14436.701	4	1167	2.9



ON-P2 06052026\0_D2\1

2026-05-06T13:41:47.000

Рисунок Д.26 – Масс-спектрометрическое исследование дуплекса I-1_2

Протокол анализа №

Образец:

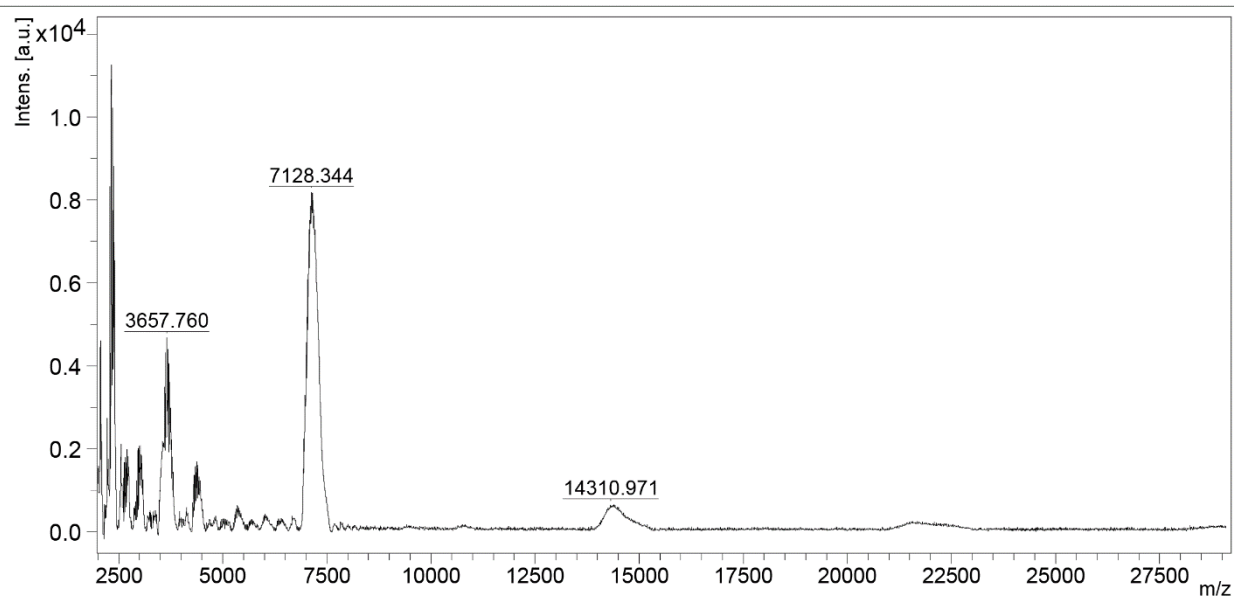
Методика:

Аналитик:

Дата формирования:

I-1_3

m/z	Rel. Intens.	Area	SN
2307.976	26	52994	7.6
2331.302	100	104331	16.6
2979.049	18	7718	3.3
3657.760	41	56564	8.7
4388.457	15	22382	3.4
7128.344	71	41857	28.9
14310.971	6	3799	6.5



ON-PI 06052026\0_DI\I

2026-05-06T13:38:55.000

Рисунок Д.27 – Масс-спектрометрическое исследование дуплекса I-1_3

Протокол анализа №

Образец:

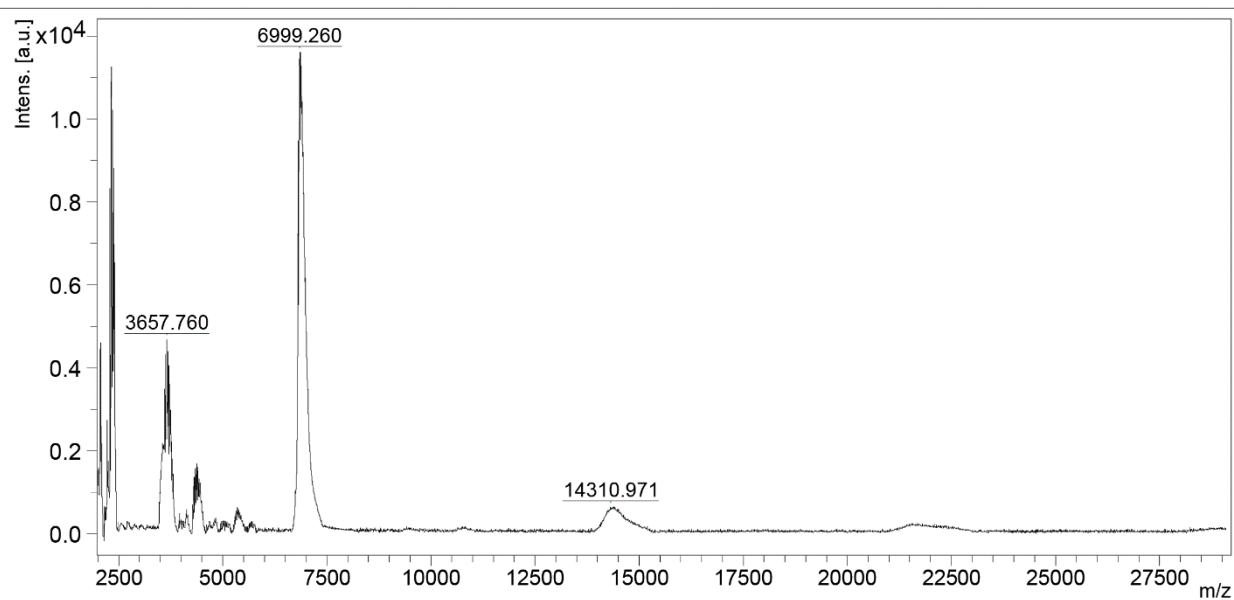
Методика:

Аналитик:

Дата формирования:

C1_1

m/z	Rel. Intens.	Area	SN
2307.976	26	52994	7.6
2331.302	100	104331	16.6
3657.760	41	56564	8.7
4388.457	15	22382	3.4
6996.260	71	41857	28.9
14310.971	6	3799	6.5



ON-PI 06052026\0_D1\1

2026-05-06T13:38:55.000

Рисунок Д.28 – Масс-спектрометрическое исследование дуплекса C1_1

Протокол анализа №

Образец:

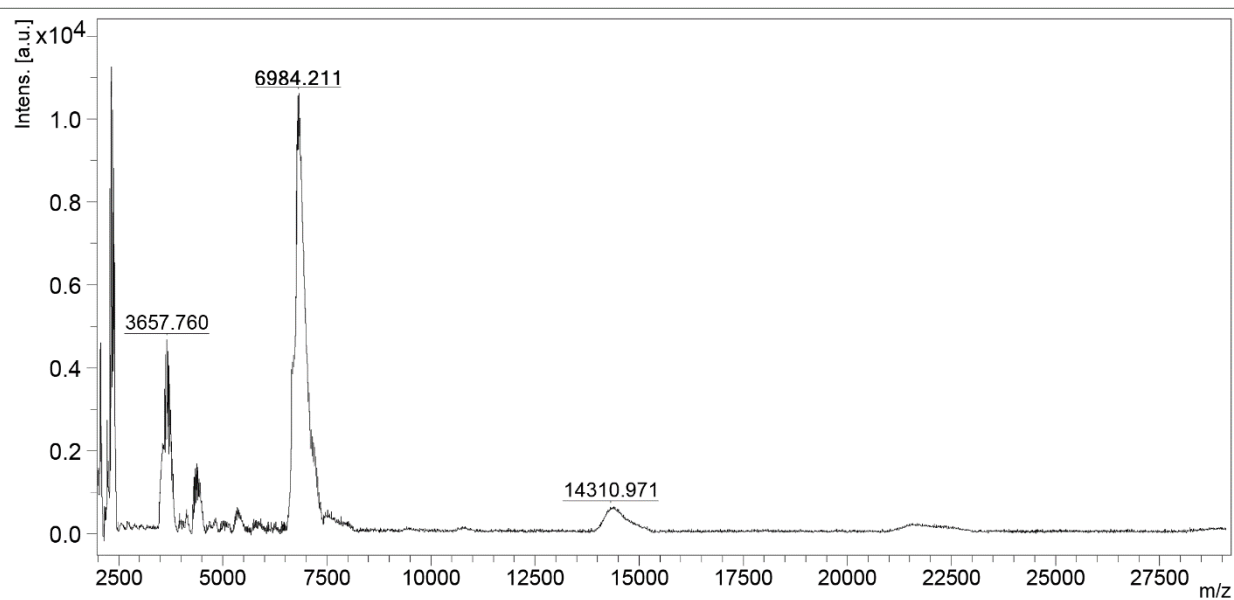
Методика:

Аналитик:

Дата формирования:

C1_2

m/z	Rel. Intens.	Area	SN
2307.976	26	52994	7.6
2331.302	100	104331	16.6
3657.760	41	56564	8.7
4388.457	15	22382	3.4
6984.211	71	41857	28.9
14310.971	6	3799	6.5



ON-PI 06052026\0_D1\1

2026-05-06T13:38:55.000

Рисунок Д.29 – Масс-спектрометрическое исследование дуплекса C1_2

Протокол анализа №

Образец:

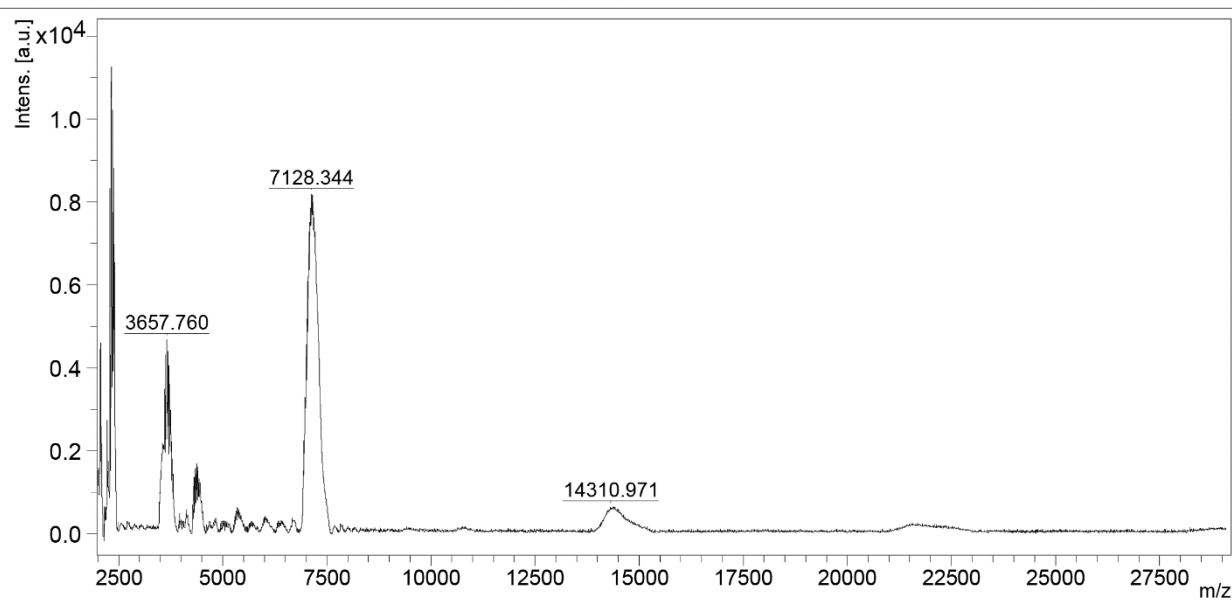
Методика:

Аналитик:

Дата формирования:

C1_3

m/z	Rel. Intens.	Area	SN
2307.976	26	52994	7.6
2331.302	100	104331	16.6
3657.760	41	56564	8.7
4388.457	15	22382	3.4
7128.344	71	41857	28.9
14310.971	6	3799	6.5



ON-PI 06052026\0_D1\1

2026-05-06T13:38:55.000

Рисунок Д.30 – Масс-спектрометрическое исследование дуплекса C1_3

Дуплексы всех синтезированных соединений вели себя идентично в процессе жидкостной хроматографии методом ион-парной обращенной фазы. Типичная хроматограмма дуплексов представлена на Рисунке Д.31.

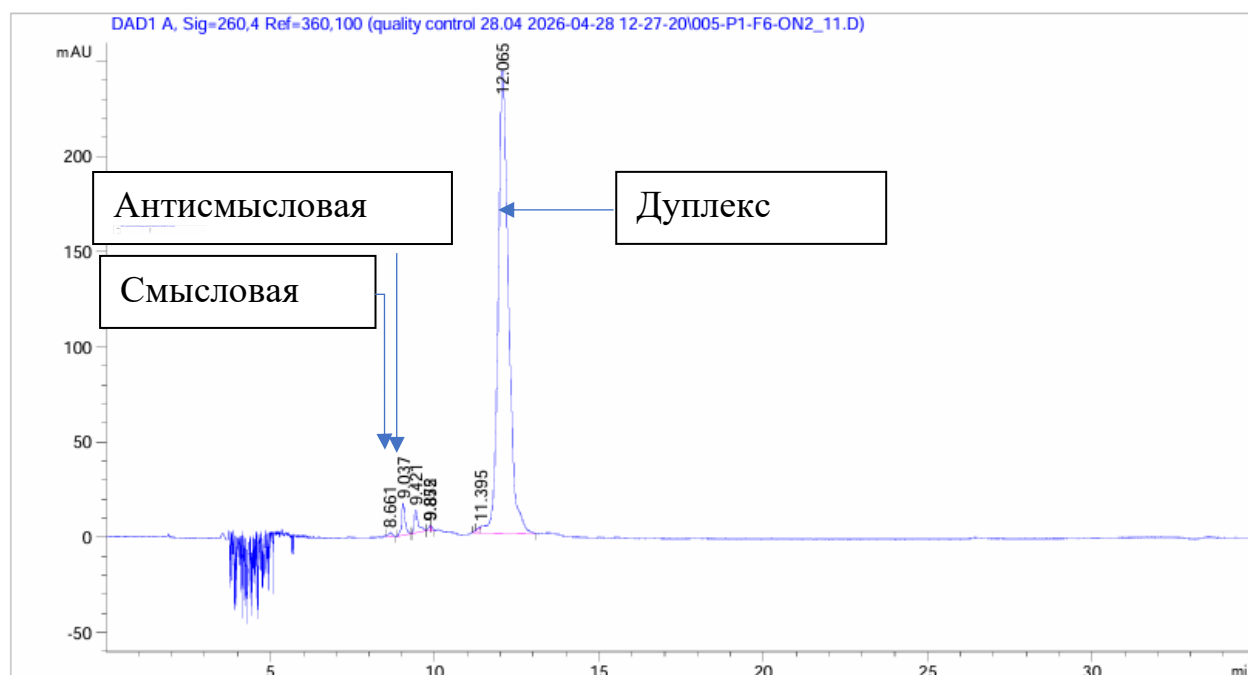


Рисунок Д.31 – Типичная хроматограмма дуплекса миРНК методом IPRP

Дополнительно для подтверждения формирования дуплекса и определения его температуры плавления выполнено плавление в высоком разрешении (HRM). Все синтезированные дуплексы продемонстрировали идентичное поведение в процессе исследования. В качестве положительного контроля использован образец лекарственного препарата *inclisiran sodium*. Типичный результат представлен на Рисунке Д.32.

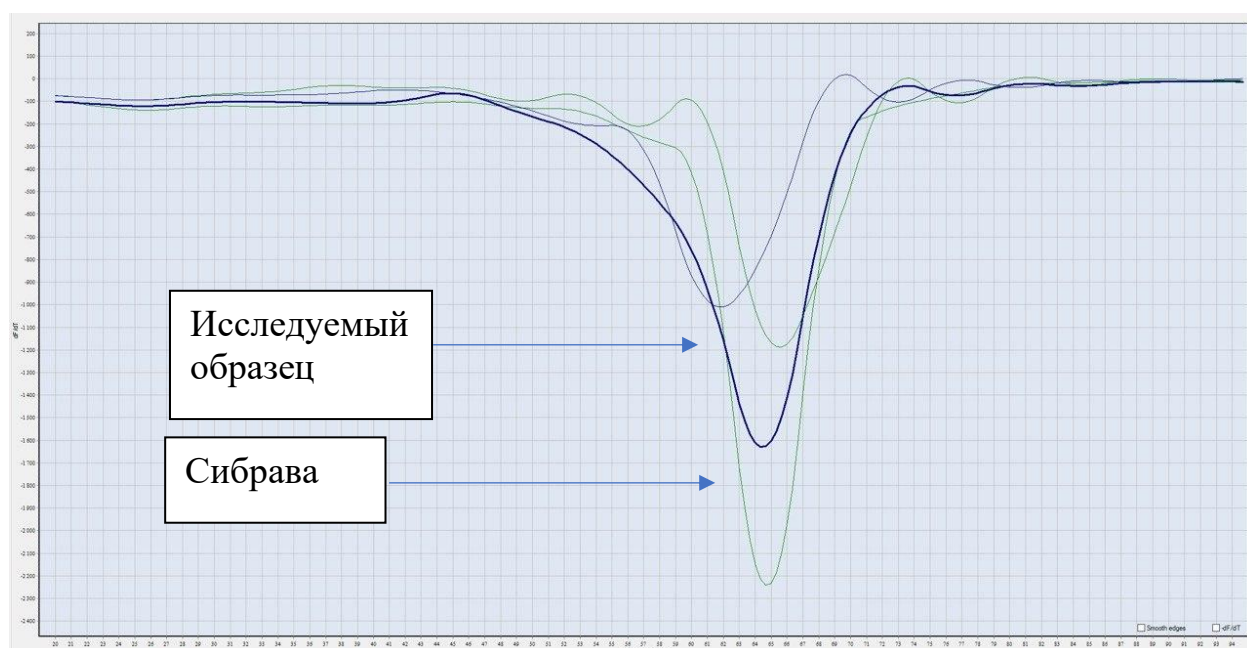


Рисунок Д.32 – Типичный результат HRM дуплекса миРНК