



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **120426** (13) **C2**

(51) МПК (2019.01)

C12N 15/113 (2010.01)

A01N 37/46 (2006.01)

A61K 31/713 (2006.01)

A01K 51/00

A01N 63/02 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО РОЗВИТКУ
ЕКОНОМІКИ, ТОРГІВЛІ ТА
СІЛЬСЬКОГО ГОСПОДАРСТВА
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(21) Номер заявки: **а 2016 05962**

(22) Дата подання заявки: **04.11.2014**

(24) Дата, з якої є чинними
права на винахід: **10.12.2019**

(31) Номер попередньої
заявки відповідно до
Паризької конвенції: **61/899,772**

(32) Дата подання
попередньої заявки
відповідно до
Паризької конвенції: **04.11.2013**

(33) Код держави-учасниці
Паризької конвенції,
до якої подано
попередню заявку: **US**

(41) Публікація відомостей
про заявку: **26.12.2016, Бюл.№ 24**

(46) Публікація відомостей
про видачу патенту: **10.12.2019, Бюл.№ 23**

(86) Номер та дата
подання міжнародної
заявки, поданої
відповідно до
Договору РСТ **PCT/US2014/063832,
04.11.2014**

(72) Винахідник(и):

**Інберг Алекс (US),
Капур Магак (US),
Іванс Джей (US)**

(73) Власник(и):

**МОНСАНТО ТЕКНОЛОДЖІ ЕЛЕЛСІ,
800 North Lindbergh Boulevard, Mail Zone
E1NA, St. Louis, Missouri 63167, United
States of America (US),
БІОЛОДЖИКС, ІНК.,
800 North Lindbergh Boulevard, Mail Zone
E1NA, St. Louis, Missouri 63167, United
States of America (US),
ЗЕ ЮНАЙТЕД СТЕЙТС ОФ АМЕРИКА, ЕЗ
РЕПРЕЗЕНТЕД БАЙ ЗЕ СЕКРЕТЕРІ ОФ
ЕГРІКАЛЧЕР,
1400 Independence Avenue SW, Washington,
District of Columbia 20250, United States of
America (US)**

(74) Представник:

**Бочаров Максим Анатолійович, реєстр.
№367**

(56) Перелік документів, взятих до уваги
експертизою:

WO 2008042231 A2, 10.04.2008
Bing Xu et al, "Characterization and Functional
Analysis of the Calmodulin-Binding Domain of
Rac1 GTPase", Plos One, 15.08.2012), vol. 7,
no. 8, P. e42975
Christine M Coticchia et al, "Calmodulin
modulates Akt activity in human breast cancer
cell lines", Breast cancer research and
treatment, (28.06.2008), vol. 115, no. 3, P. 545
– 560
Vincent Dietemann et al, "Varroa destructor:
research avenues towards sustainable
control", Journal of Apicultural research,
(01.02.2012), vol. 51, no. 1, P. 125 – 132
Yael Garbian et al, "Bidirectional Transfer of
RNAi between Honey Bee and Varroa
destructor: Varroa Gene Silencing Reduces
Varroa Population", Plos Pathogens,
(20.12.2012), vol. 8, no. 12, P. e1003035
WO 2013153553 A2, 17.10.2013
WO 2011045796 A1, 21.04.2011

UA 120426 C2

(54) КОМПОЗИЦІЯ ТА СПОСІБ ДЛЯ БОРОТЬБИ З ЧЛЕНИСТОНОГИМИ ПАРАЗИТАМИ ТА ЗАРАЖЕННЯМ ШКІДНИКАМИ

(57) Реферат:

Винахід стосується композиції та її застосування, яка поглинається бджолою, яка поглинається *Varroa destructor* або абсорбується *Varroa destructor*, що містить допоміжну речовину та молекулу нуклеїнової кислоти, яка має послідовність, яка комплементарна або ідентична щонайменше 21 суміжному нуклеотиду послідовності, вибраної з групи, яка складається з SEQ ID NO: 1-4, 88 і 89, або РНК, що транскрибується з неї.

Перелік послідовностей в машиночитаній формі подано з цією заявою в електронному форматі та включений в цю заявку за допомогою посилання у повному обсязі. Перелік послідовностей міститься у файлі, який був створений 27 жовтня 2014 року, з назвою

"P34094US01_SEQ.txt і розміром 64,002 байтів (розмір вказаний в операційній системі Microsoft Windows ®)

Галузь техніки

Запропоновані способи та композиції для боротьби з членистоногим паразитом і збудником інфекцій. Також запропоновані композиції та способи для боротьби з зараженням бджіл кліщем Варроа.

Рівень техніки

Різні види членистоногих все більше та більше культивують у промислових масштабах. Комахи та їх личинки поживні та вживаються в їжу у багатьох культурах як сирими, так і приготованими. Ракоподібні, такі як краби, омари, раки, морські та річкові креветки, що вирощуються у великому промисловому масштабі та представляють собою важливу частину раціону людини. Поряд з культурою видів членистоногих для виробництва продуктів харчування, членистоногих також культивують у рамках стратегій боротьби зі шкідниками, у тому числі для біологічного контролю інших членистоногих, наприклад, культуру паразитичних ос для контролю над тарганами та мурахами. Членистоногі також можуть служити джерелом сировини, такого як барвники, лікарські препарати, медикаменти й антибіотики. Культивування, разом із зростаючою важливістю культури членистоногих, супроводжується різними шкідниками та паразитами, які руйнують колонії членистоногих або значно зменшують вихід продуктів, отриманих з культури членистоногих. Відповідно, існує зростаюча потреба в способах боротьби з членистоногими шкідниками та паразитами.

Серед найбільш важливих видів членистоногих, що культивуються, є медоносна бджола. Медоносні бджоли *Apis mellifera* необхідні для ефективного запилення культур і, отже, мають найважливіше значення для світового сільського господарства. Також медоносні бджоли виробляють економічно важливі продукти, включаючи мед і бджолиний віск. Бджоли чутливі до ряду паразитів та патогенів, у тому числі, до ектопаразитарного кліща *Varroa destructor*.

Кліщ *Varroa* (*Varroa destructor*) є одним із паразитів, що регулює чисельність медоносних бджіл (*Apis mellifera*), та становить найбільшу глобальну загрозу комерційному бджільництву (Rosenkranz et al. 2010). Дорослий кліщ, як правило, проникає у стільники трупів і трутневого розплоду перш ніж вони запечатуються, піддаючись впливу феромоном розплоду медоносної бджоли. Кліщ занурюється у личинковий корм, який бджоли поміщають всередину стільників, в очікуванні запечатування, скоріше за все, щоб уникнути впізнавання та видалення бджолою-годувальницею. Після запечатування чарунок бджолою-годувальницею, кліщ прилипає до личинки та починає поглинати гемолімфу бджолиних личинок. Цей процес представляє собою первинний оогенез у кліщів, через кілька днів настає кладка чоловічих і жіночих яєць. Зрештою, дорослий Варроа залишає чарунок і чіпляється за бджіл, що розвиваються. Варроа безпосередньо завдає шкоди медоносним бджолам кількома способами, в першу чергу за рахунок виснаження ресурсів, що негативно впливає на вроджену імунну систему медоносної бджоли, і, також являють собою досить ефективних переносників вірусів (Di Prisco et al. 2011), деякі з яких, як відомо, реплікуються у кліщі, що значно збільшує рівень вірусного навантаження.

Безпечне, ефективне та довговічне рішення проблеми Варроа є актуальною задачею, яка досі не вирішена. В цей час бджолярі використовують безліч способів для контролю рівня Варроа, які включають різні хімічні акарициди, більшість з яких втратили ефективність і є токсичними та/або залишають залишкові речовини у воску та меду. Інші способи включають застосування щавлевої або мурашиної кислоти, монотерпенов (тимолу), а також різних інших способів контролю, з сильно змінними результатами, включаючи токсичність для оброблених колоній. Розведення бджіл на стійкість до Варроа, таке як селекція гігієнічної поведінки, яка забезпечує видалення інфікованого розплоду, забезпечило обмежений практичний успіх.

Синдром руйнування бджолиних колоній (СРК) ставить під загрозу знищення світове сільське господарство та сільське господарство США. Дійсно, у зв'язку з недавнім спалахом СРК у США в зимовий період 2006–2007 років, за оцінками 25 % або більше 2,4 млн бджолиних вуликів були втрачені із-за СРК. За оцінками 23 % пасік у Сполучених Штатах постраждали від СРК за зиму 2006–2007 років, зачепивши в середньому 45 % пасік. В зимовий період 2007–2008 років, ініціативна група Служби сільськогосподарських досліджень (США) з СРК підрахували, що СРК в цілому знищили 36 % всіх вуликів комерційних пасік.

СРК характеризується швидкою втратою дорослих бджіл колонії, причому мертвих дорослих бджіл зазвичай знаходять на деякій відстані від колонії. На завершальній стадії розпаду

королеву відвідують тільки кілька новопосталих дорослих бджіл. Зруйновані колонії часто мають чималу кількість запечатаного розплоду та запасів їжі. Явище СРК вперше було описано у 2006 році; тим не менш, пасічники відзначали унікальне зниження колоній через СРК ще в 2004 році. В якості причин припускали різні фактори, такі як кліщі та інфекційні агенти, погодні умови, електромагнітне випромінювання (стільникових антен), пестициди, погане харчування та стрес. На сьогоднішній день, контроль СРК сфокусований на боротьбі з кліщем Варроа, санітарії та видаленні уражених вуликів, лікуванні опортуністичних інфекцій (таких як нозематоз) та поліпшенні харчування. В цей час, немає розроблених ефективних профілактичних заходів.

Кліщі Варроа паразитують на лялечках і дорослих бджолах і розмножуються в лялечках печатного розплоду. Кліщі використовують свої роти, щоб проколоти екзоскелет, і харчуються гемолімфою бджоли. Ці пошкоджені ділянки екзоскелету являють собою місце скупчення бактеріальних інфекцій, таких як *Melissococcus pluton*, який викликає європейський гнилець. Крім того, до їх паразитарного впливу, кліщі Варроа підозрюються в якості векторів для низки бджолиних патогенів, включаючи вірус деформації крила (DWV), Кашмір-вірус (KBV), вірус гострого паралічу бджіл (ABPV) і вірус чорних маточників (BQCV), і можуть послабити імунну систему своїх власників, роблячи їх вразливими до інфекцій. Якщо не лікувати зараження паразитами Варроа, як правило, колонія гине.

Сучасні методи лікування інвазії Варроа виявляються неефективними, так як кліщ розвиває стійкість до існуючих акарицидів. Крім того, використання таких акарицидів може призвести до потрапляння шкідливих хімічних речовин у мед, який призначений для вживання людиною.

Короткий опис суті винаходу

Цей винахід пропонує та включає селективні інсектицидні композиції, що містять антипаразитарну, дезінсекційну або інсектицидну молекулу нуклеїнової кислоти, яка має послідовність, що по суті комплементарна або по суті ідентична області послідовності гена кальмодуліну або РНК, що транскрибується з неї. В деяких аспектах цього винаходу композиція додатково містить допоміжну речовину.

В аспекті цього винаходу молекула нуклеїнової кислоти у селективній інсектицидній композиції являє собою длРНК. У деяких аспектах цього винаходу длРНК являє собою міРНК.

В аспекті цього винаходу послідовність гена кальмодуліну має щонайменше 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентичності послідовності з послідовністю, вибраною з SEQ ID NO: 1–4, 6, 23, 26–35 і 69–89. У деяких аспектах цього винаходу послідовність гена кальмодуліну містить щонайменше 18 суміжних нуклеотидів послідовності, вибраною з SEQ ID NO: 1–4, 6, 23, 26–35 і 69–89.

В аспекті цього винаходу селективна інсектицидна композиція додатково містить одну або більше антипаразитарну, дезінсекційну або інсектицидну молекулу нуклеїнової кислоти, яка по суті комплементарна або по суті ідентична першій області генної послідовності кальмодуліну. У деяких аспектах цього винаходу одна або більше молекул нуклеїнових кислот містить другу послідовність нуклеїнової кислоти комплементарну другій області послідовності гена кальмодуліну.

В аспекті цього винаходу селективна інсектицидна композиція поглинається бджолою, абсорбується бджолою, поглинається кліщем або абсорбується кліщем.

В аспекті цього винаходу засіб для досягнення мети вибрано з групи, що складається з білка, пилку, вуглеводів, полімеру, рідкого розчинника, цукрового сиропу, кристалічного цукру та напіврідкого корму. У деяких аспектах цього винаходу рідкий розчинник вибирають із групи, що складається з розчину сахарози та розчину кукурудзяного сиропу. У деяких аспектах цього винаходу білок вибирають із групи, що складається з пилку та соєвого білка. В іншому аспекті цього винаходу допоміжна речовина являє собою тверду речовину, вибрану з цукру, замінника цукру або цукрової добавки. У деяких аспектах цього винаходу кристалічний цукор містить мікрочастинки цукру, насичені послідовністю нуклеїнової кислоти длРНК.

В одному аспекті ця заявка розкриває композиції, що поглинаються бджолою, які містять корм бджоли та молекулу нуклеїнової кислоти, що має послідовність, яка по суті ідентична або по суті комплементарна одній або більше областей послідовності гена кальмодуліну або РНК, що транскрибується з неї. В деяких аспектах цього винаходу корм бджоли містить їжу бджоли вибрану з групи, що містить кукурудзяний сироп, замінник пилку, пилку, коржі з пилку та помадну масу. У деяких аспектах цього винаходу корм бджоли додатково містить одну або кілька мінеральних солей, ефірну олію, пивні дріжджі, дріжджовий екстракт, трегалозу, триптон, сухе молоко, лецитин, вітамін С. Приклади ефірних масел включають, але не обмежуються ними, олія гаультерії лежачої, олія м'яти кучерявої, олія м'яти перцевої, олія лимонника й олія чайного дерева.

В іншому аспекті ця заявка розкриває конструкт нуклеїнової кислоти, що містить

антипаразитарну, дезінсекційну або інсектицидну послідовність нуклеїнової кислоти, яка по суті ідентична або комплементарна області генної послідовності кальмодуліну або РНК, що транскрибується з неї, функціонально пов'язаної з промоторної послідовністю, функціональною у клітині хазяїна, і здатної виробляти длРНК при введенні у вказану клітину-хазяїна. В деяких аспектах цього винаходу конструкт нуклеїнової кислоти додатково містить щонайменше один регуляторний елемент їх групи, що складається з лідерних послідовностей трансляції, інтронів, енхансерів, структур "петля-на-стеблі", послідовностей-зв'язуючих репресорів, послідовностей термінації, послідовностей, котрі не читаються, та послідовностей розпізнавання поліаденілювання. У деяких аспектах цього винаходу клітина-хазяїн являє собою бактеріальну або дріжджову клітину.

В іншому аспекті ця заявка розкриває спосіб отримання композиції для медоносних бджіл, що включає забезпечення бджоли ефективною кількістю композиції, що містить антипаразитарну, дезінсекційну або інсектицидну нуклеїнову кислоту, яка по суті ідентична або по суті комплементарна однієї або більше областей послідовності гена кальмодуліну або РНК, що транскрибується з неї, в результаті чого нуклеїнова кислота міститься в тканині медоносної бджоли.

В іншому аспекті ця заявка розкриває спосіб лікування чи профілактики захворювання у колонії медоносної бджоли, що включає забезпечення ефективною кількістю композиції, що містить антипаразитарну, дезінсекційну або інсектицидну нуклеїнову кислоту, яка по суті ідентична або по суті комплементарна однією або більше областей послідовності гена кальмодуліну медоносної бджоли в якому нуклеїнова кислота присутня в тканинах медоносної бджоли. В деяких аспектах цього винаходу послідовність гена кальмодуліну являє собою послідовність гена кальмодуліну *Varroa destructor*.

В іншому аспекті ця заявка розкриває спосіб зниження зараження бджоли *Varroa destructor*, що включає забезпечення бджоли ефективною кількістю антипаразитарної, дезінсекційної або інсектицидної композиції нуклеїнової кислоти, де нуклеїнова кислота являє собою по суті ідентичну або по суті комплементарну однієї або більше областей послідовності гена кальмодуліну *Varroa destructor*, або РНК, що транскрибується з неї, тим самим знижуючи паразитизм *Varroa destructor* на бджолах.

В іншому аспекті ця заявка розкриває спосіб зниження паразитарного навантаження на вулик бджіл, що включає забезпечення вказаних вуликів ефективною кількістю антипаразитарної, дезінсекційної або інсектицидної нуклеїнової кислоти, яка по суті ідентична або по суті комплементарна однієї або більше областей генної послідовності кальмодуліну паразита або РНК, що транскрибується з неї, в результаті чого паразитарне навантаження вказаного вулика знижується.

В іншому аспекті ця заявка розкриває спосіб селективної обробки видів членистоногих паразитів, що включає доставку ефективною кількістю антипаразитарної, дезінсекційної або інсектицидної нуклеїнової кислоти, яка по суті ідентична або по суті комплементарна однієї або більше областей послідовності гена кальмодуліну паразита або РНК, що транскрибується з неї, до видів членистоногих.

В іншому аспекті ця заявка пропонує та розкриває спосіб лікування або профілактики синдрому руйнування колонії в бджолиній колонії, що включає забезпечення ефективною кількістю композиції в бджолиній колонії, що містить антипаразитарну, дезінсекційну або інсектицидну молекулу нуклеїнової кислоти, що має послідовність, яка по суті ідентична або по суті комплементарна однієї або більше областей послідовності гена кальмодуліну *Varroa destructor*, в результаті чого рівень інвазії *Varroa destructor* знижують або запобігають зараження.

Короткий опис графічних матеріалів

На фігурі 1 представлено філогенетичне дерево генів кальмодуліну (CAM) різних видів. Число, яке безпосередньо передуює назві виду, відповідає ідентифікаційному номеру послідовності (SEQ ID NO).

На фігурі 2 представлено виживаність кліщів, які зазнали впливу нуклеїнової кислоти SEQ ID NO: 3 (CAM373) шляхом прямого годування на 3 день після обробки по відношенню до необробленого контролю (КОНТРОЛЬ) або неспецифічної послідовності (SCRAM, SEQ ID NO: 5).

Фігура 3. На панелі А представлено аналіз експресії генів на п'ятий день після обробки нуклеїновою кислотою SEQ ID NO: 3 (CAM373) або SEQ ID NO: 4 (CAM186) по відношенню до контрольної групи. Панель Б показує виживаність кліщів, які зазнали обробку нуклеїновими кислотами SEQ ID NO: 3 (CAM373) та 4 (CAM186) по відношенню до контрольної групи.

На фігурі 4 представлено навантаження кліщ/100 бджіл оброблених вуликів по відношенню

до необробленого контролю за звітний період часу.

На фігурі 5 представлено % виживаності кліщів оброблених SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 88 або SEQ ID NO: 89 по відношенню до необроблених (НОК) на 5-й день (День %) або 6-й день (День 6) після обробки.

5 На фігурі 6 представлено % виживаності кліщів оброблених SEQ ID NO: 3 або сумішшю SEQ ID NO: 88 або SEQ ID NO: 89 по відношенню до необроблених (НОК) на 5-й день (5), 6-й день (6) або 7-й день (7).

10 На фігурі 7 представлено навантаження кліща Varroa/100 бджіл оброблених вуликів по відношенню до необробленого контролю за 17-тижневий період. Ліві стовпці показують вулики оброблені неспецифічними послідовностями (SCRAM, SEQ ID NO: 5), середні стовпці показують необроблені вулики, а крайній правий стовпець вулики, які оброблені SEQ ID NO: 3 (CAM 373).

Детальний опис суті винаходу

15 Якщо не вказано інше, технічні та наукові терміни, що використовуються в цьому документі, мають те ж значення, як їх зазвичай розуміє фахівець у цій області техніки. Фахівцям у цій області техніки будуть очевидні численні способи застосовувані в практиці цього винаходу. Більш того, цей винахід жодним чином не обмежується описаними способами та матеріалами. Всі посилання на джерела, цитовані в цьому документі, повністю включені в цей документ за допомогою посилань. У контексті цього винаходу такі терміни визначені нижче.

20 Слід розуміти, що будь-який ідентифікаційний номер послідовності (SEQ ID NO), описаний в цій заявці може відноситися або до послідовності ДНК, або до послідовності РНК, в залежності від контексту, в якому згадується SEQ ID NO, навіть якщо SEQ ID NO виражається тільки у вигляді послідовності ДНК або тільки у вигляді послідовності РНК. Наприклад, SEQ ID NO: 1 виражається у вигляді ДНК-послідовності (наприклад, розуміючи під Т тимін), але він може відноситися або до ДНК-послідовності, яка відповідає зрілій послідовності нуклеїнової кислоти кальмодуліну Varroa destructor, або послідовності РНК зрілої послідовності нуклеїнової кислоти кальмодуліну Varroa destructor. Точно так само, хоча і SEQ ID NO: 3 експресується у вигляді послідовності РНК (наприклад, розуміючи під U урацил), залежно від описаного фактичного типу молекули, SEQ ID NO: 3 може відноситися або до послідовності молекули РНК, що містить длРНК, або до послідовності молекули ДНК, яка відповідає наведеній послідовності РНК. У 30 будь-якому випадку, як для ДНК, так і РНК молекул, що мають описані послідовності, передбачені будь-які заміни.

Як використовують у цьому документі термін "близько" відноситься до $\pm 10\%$.

35 Як використовують в цьому документі форми однини включають посилання на множину, якщо з контексту явно не випливає інше. Наприклад, термін "сполука" або "щонайменше одна сполука", може включати безліч сполук, в тому числі їх суміші.

Як використовують у цьому документі термін "по суті ідентичні" або "по суті комплементарні" відноситься до нуклеїнової кислоти (або щонайменше однієї нитки дволанцюгової нуклеїнової кислоти або її частини, або частини однієї нитки нуклеїнової кислоти), яка гібридується у фізіологічних умовах ендogenous гена, РНК, що транскрибується з неї, або її фрагмента, для регуляції або пригнічення ендogenous гена. Наприклад, у деяких аспектах цього винаходу 40 нуклеїнова кислота має 100-відсоткову ідентичність послідовності або щонайменше близько 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, або 99 відсотків ідентичності послідовності у порівнянні з областю 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 45 57, 58, 59, 60 або більше суміжних нуклеотидів у гені-мішені або РНК, що транскрибується з гена-мішені. Наприклад, в деяких аспектах цього винаходу нуклеїнова кислота має 100-відсоткову ідентичність послідовності або щонайменше близько 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, або 99 відсотків ідентичності послідовності у порівнянні з областю 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 50 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60 або більше суміжних нуклеотидів у гені-мішені або РНК, що транскрибується з гена-мішені. В деяких аспектах цього винаходу нуклеїнова кислота має 100-відсоткову ідентичність або комплементарність послідовності до одного аллелю або до одного члена сім'ї цього гена-мішені (кодуючої або некодуючої послідовності гена). В деяких аспектах цього винаходу нуклеїнова 55 кислота має щонайменше близько 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, або 99 відсотків ідентичності або комплементарності послідовності з множинними алелями або членами сім'ї цього гена-мішені. В деяких аспектах цього винаходу нуклеїнова кислота має 100-відсоткову ідентичність або комплементарність послідовності з множинними алелями або членами сім'ї цього гена-мішені.

60 У деяких аспектах цього винаходу нуклеїнова кислота по суті ідентична або по суті

комплементарна щонайменше близько 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70 або більше суміжним нуклеотидам ендегенного гена кальмодуліну цільового шкідника або РНК, що транскрибується з нього. Нуклеїнова кислота може бути одноланцюговою ДНК, одноланцюговою РНК, дволанцюговою РНК, дволанцюговою ДНК або дволанцюговим гібридом ДНК/РНК. В деяких аспектах цього винаходу послідовність гена кальмодуліну являє собою послідовність гена кальмодуліну *Varroa destructor*. В аспекті цього винаходу послідовність гена кальмодуліну являє собою послідовність гена кальмодуліну, вибрану з SEQ ID NO: 1. В аспекті цього винаходу послідовність гена кальмодуліну являє собою послідовність гена кальмодуліну, вибрану з SEQ ID NO: 2. В аспекті цього винаходу послідовність гена кальмодуліну являє собою послідовність гена кальмодуліну, вибрану з SEQ ID NO: 3. В аспекті цього винаходу послідовність гена кальмодуліну являє собою послідовність гена кальмодуліну, вибрану з SEQ ID NO: 4. В аспекті цього винаходу послідовність гена кальмодуліну являє собою послідовність гена кальмодуліну, вибрану з SEQ ID NO: 69. В аспекті цього винаходу послідовність гена кальмодуліну являє собою послідовність гена кальмодуліну, вибрану з SEQ ID NO: 70. В аспекті цього винаходу послідовність гена кальмодуліну являє собою послідовність гена кальмодуліну, вибрану з SEQ ID NO: 71-87. В аспекті цього винаходу послідовність гена кальмодуліну являє собою послідовність гена кальмодуліну, вибрану з SEQ ID NO: 88. В аспекті цього винаходу послідовність гена кальмодуліну являє собою послідовність гена кальмодуліну, вибрану з SEQ ID NO: 89.

Як використовують у цьому документі термін "лікування" включає пригнічення по суті інгібування, уповільнення або реверсію прогресування стану, по суті полегшення характеру клінічних або естетичних симптомів, або по суті запобігання появи клінічних або естетичних симптомів. Згідно з ще одним аспектом цього винаходу композиція може бути використана для лікування організму або колонії організмів від зараження. В аспекті цього винаходу композиція нуклеїнової кислоти може бути використана для лікування організму-хазяїна або колонії від паразитів. В аспекті цього винаходу організм-хазяїн являє собою бджолу і паразит являє собою кліща *Varroa destructor*.

Як використовується в цьому документі термін "РНК-сайленсинг" відноситься до групи регуляторних механізмів (наприклад, РНК-інтерференція (РНКі), транскрипційні гени сайленсинга (ТГС), посттранскрипційні гени сайленсинга (ПТГС), пригнічення, косупресія та трансляційна репресія) опосередковані молекулами РНК, які призводять до уповільнення або "сайленсингу" експресії відповідних білок-кодуючих генів або послідовностей РНК збудника бджоли. РНК-сайленсинг спостерігається у багатьох типах організмів, включаючи рослини, тварини та гриби. Згідно з аспектами цього винаходу композиції нуклеїнових кислот забезпечують РНК-сайленсинг. У деяких аспектах цього винаходу композиції нуклеїнових кислот забезпечують РНК-сайленсинг і смертність паразита.

Як використовують у цьому документі термін "агент РНК-сайленсинга" відноситься до нуклеїнової кислоти, яка здатна інгібувати або "пригнічувати" експресію гена-мішені. У деяких аспектах цього винаходу агент РНК-сайленсинга здатний запобігти повний процесинг (наприклад, повну трансляцію та/або експресію) молекули мРНК через посттранскрипційний механізм сайленсинга. Агенти РНК-сайленсинга можуть бути одно- або дволанцюговою РНК, або одно- або дволанцюговою ДНК, або дволанцюговими гібридами ДНК/РНК або їх модифікованими аналогами. В деяких аспектах цього винаходу агенти РНК-сайленсинга вибрані з групи, що складається з (а) одноланцюгової молекули РНК (олРНК), (б) олРНК молекули, які самостійно гібридизуються з утворенням дволанцюгової молекули РНК, (в) дволанцюгової молекули РНК (длРНК), (г) одноланцюгової молекули ДНК (олДНК), (д) молекули олДНК, яка самогібридується з утворенням дволанцюгової молекули ДНК, та (е) одноланцюгової молекули ДНК, включаючи модифікований ген Pol III, який транскрибується з РНК-молекули, (ж) дволанцюгової молекули ДНК (длДНК), (з) молекули дволанцюгової ДНК, включаючи модифікований промотор Pol III, який транскрибується РНК-молекули, (і) дволанцюгової гібридної молекули РНК/ДНК, або їх комбінації. В деяких аспектах цього винаходу ці полінуклеотиди включають хімічно модифіковані нуклеотиди або неканонічні нуклеотиди. В деяких аспектах цього винаходу агенти РНК-сайленсинга являють собою некодуючі молекули РНК, наприклад, РНК-дуплекси, містять спарені нитки, а також РНК-попередники, з яких можуть бути утворені такі малі некодуючі РНК. В деяких аспектах цього винаходу агенти РНК-сайленсинга являють собою длРНК, такі як міРНК, мікроРНК та короткі РНК. В аспекті цього винаходу агент РНК-сайленсинга здатний індукувати РНК-інтерференцію. В іншому аспекті цього винаходу агент РНК-сайленсинга здатний до опосередкованої трансляційної репресії. В аспекті цього винаходу агент РНК-сайленсинга здатний пригнічувати експресію гена кальмодуліну. В іншому аспекті цього винаходу агент РНК-сайленсинга може

бути використаний у способах інгібування експресії гена-мішені та тим самим вбити організм-мішень. В деяких аспектах цього винаходу ген-мішень являє собою ген кальмодуліну цільового організму *Varroa destructor*.

РНК-інтерференція відноситься до процесу сіквенс-специфічного посттранскрипційного сайленсинга генів у тварин, опосередкованих малими РНК. Відповідний процес у рослин зазвичай називають посттранскрипційним сайленсингом генів або РНК-сайленсингом і також згадується як пригнічення у грибів. У той же час, не обмежуючись будь-якою конкретною теорією, процес посттранскрипційного сайленсинга генів, як вважають, еволюційно-консервативний механізм клітинного захисту, який використовується для запобігання експресії чужорідних генів і зазвичай розділяє різноманітну флору та таксономічні групи. Такий захист від експресії чужорідного гена, можливо, розвинувся у відповідь на продукцію дволанцюгових РНК (длРНК), одержаних від вірусної інфекції або від випадкової інтеграції транспозонів у геном хазяїна через клітинну відповідь, яка специфічно руйнує гомологічну одноланцюгову РНК або геномну РНК вірусу. Згідно з аспектами цього винаходу композиції нуклеїнової кислоти призводять до РНК-інтерференції в організмі-мішені. У деяких аспектах цього винаходу ген-мішень являє собою ген кальмодуліну цільового організму *Varroa destructor*, коли він присутній в організмі-хазяїні, бджоли. Згідно з аспектами цього винаходу селективний інсектицид може викликати РНК-інтерференцію в цільовому організмі, при цьому не мати інтерференційну активність РНК у нецільових організмів.

Як використовують у цьому документі термін "малі РНК" відноситься до будь-якої молекули РНК, що щонайменше має 15 пар нуклеотидів у довжину, як правило, довжиною 15–30 нуклеотидів, з бажаною довжиною 20–24 нуклеотидів. Згідно з аспектами цього винаходу "мала РНК" більше 50 пар основ у довжину. В аспекті цього винаходу мала РНК більше 50 пар основ у довжину, але менш ніж близько 500 пар основ. В аспекті цього винаходу мала РНК більше 100 пар основ у довжину, але менш ніж близько 500 пар основ. В аспекті цього винаходу мала РНК понад 200 пар основ у довжину, але менш ніж близько 500 пар основ. Мала РНК може бути дволанцюговою або одноланцюговою. Малі РНК включають, без обмеження, мікроРНК (мікроРНК), та-міРНК (транс-активуючі малі інтерферуючі РНК), міРНК, активуюча РНК (РНК_a), нат-міРНК (натуральна антисмислова міРНК), гх-міРНК (гетерохроматинова міРНК), цис-активуюча міРНК, дмікроРНК (довга мікроРНК), дміРНК (довга міРНК) та еа-міРНК (епігенетично активована міРНК) та їх попередники. У деяких варіантах реалізації цього винаходу описані молекули міРНК являють собою молекули мікроРНК, молекули та-міРНК і молекули РНК_a та їх відповідні попередники. Мала РНК процесується *in vivo* організмом в активну форму. Згідно з аспектами цього винаходу селективний інсектицид може бути малою РНК.

Згідно з аспектами цього винаходу мала РНК утворюється безпосередньо в композиції. В інших аспектах цього винаходу мала РНК продукується *in vivo* організмом або з ДНК, або з РНК-попередника. У деяких аспектах цього винаходу мала РНК утворюється як продукт трансгена в організмі, наприклад, дріжджової або бактеріальної клітини. У деяких аспектах цього винаходу мала РНК в якості продукту трансгена утворюється в якості попередника, який переробляється *in vivo* після прийому всередину або поглинання організмом. В інших аспектах цього винаходу мала РНК в якості продукту трансгена утворюється в якості попередника, який переробляється *in vivo* після прийому всередину або поглинання організмом.

У деяких аспектах цього винаходу агент РНК-сайленсинга може представляти собою штучну мікроРНК. Як використовують в цьому документі термін "штучна мікроРНК" (шмікроРНК) являє собою тип мікроРНК, який отримано шляхом заміни нативних дуплексів мікроРНК з природного попередника мікроРНК. Як правило, штучна мікроРНК являє собою молекулу мікроРНК, що не зустрічається в природі, яку отримують зі сконструйованої молекули попередника мікроРНК шляхом заміни послідовності мікроРНК молекулою попередником мікро-РНК, що зустрічається в природі, послідовністю, яка цікавить та відповідає послідовності штучної мікроРНК. Згідно з аспектами цього винаходу композиція нуклеїнової кислоти може представляти собою композицію мікроРНК.

Різні дослідження показують, що довгі длРНК можуть бути використані для пригнічення експресії гена, не знижуючи відповідь на стрес або викликаючи значні нецільові ефекти, див., наприклад, (Strat et al., *Nucleic Acids Research*, 2006, Vol. 34, No. 13 3803–3810; Bhargava A et al. *Brain Res. Protoc.* 2004;13:115-125; Diallo M., et al., *Oligonucleotides*. 2003;13:381–392; Paddison P.J., et al., *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2002;99:1443–1448; Tran N., et al., *FEBS Lett.* 2004;573:127–134). Цей винахід пропонує та включає способи та композиції, що мають довгі длРНК.

Як використовують у цьому документі по відношенню до послідовності нуклеїнової кислоти, молекули нуклеїнової кислоти або гена, термін "природний" чи "нативний" означає, що відповідна послідовність або молекула присутня в дикому типі організму, який не був генетично

змінений або модифікований людиною. Мала РНК молекула природним чином націлена на ген-мішень означає малу РНК молекулу, присутню в дикому організмі, клітина якої не була генетично модифікована або змінена людиною, націлена на ген-мішень, що зустрічається в природі у відповідному організмі.

Як використовують у цьому документі термін "гомологія" та "ідентичність" використовується стосовно нуклеїнових кислот, описуючи ступінь подібності між двома або більше нуклеотидними послідовностями. Відсоток "ідентичності послідовності" між двома послідовностями визначається шляхом порівняння двох оптимально вирівняних послідовностей у вікні порівняння, таким чином, що частина послідовності у вікні порівняння може містити вставки або делеції (пропуски) у порівнянні з еталонною послідовністю (яка не містить вставок або делецій) для оптимального вирівнювання двох послідовностей. Відсоток розраховується шляхом визначення числа положень, в яких ідентичні основи нуклеїнових кислот або амінокислотні залишки в обох послідовностях, з отриманням числа співпадаючих положень, ділення числа співпадаючих положень на загальне число положень у вікні порівняння та помноження результату на 100 для отримання відсотка ідентичності послідовностей. Послідовність, яка ідентична в кожному положенні в порівнянні з еталонною послідовністю називається ідентичною еталонній послідовності, і навпаки. Вирівнювання двох або більше послідовностей, може бути виконано з використанням будь-якої відповідної комп'ютерної програми. Наприклад, CLUSTALW v1.6 являє собою широко використовувану та загальноприйняту комп'ютерну програму для виконання вирівнювань (Thompson et al. Nucl. Acids Res., 22: 4673-4680, 1994).

Як використовують у цьому документі терміни "екзогенний полінуклеотид" та "екзогенна молекула нуклеїнової кислоти" стосовно організмів відносяться до гетерологічної послідовності нуклеїнової кислоти, яка неприродним шляхом експресується в цьому організмі. Екзогенні молекули нуклеїнової кислоти можуть бути введені в організм у стабільному або нестійкому вигляді. Екзогенна молекула нуклеїнової кислоти може включати послідовність нуклеїнової кислоти, яка ідентична або частково гомологічна ендогенній послідовності нуклеїнової кислоти організму або шкідника, або патогена цього організму. У деяких аспектах цього винаходу терміни "екзогенний полінуклеотид" та "екзогенна молекула нуклеїнової кислоти" може відноситися до послідовності нуклеїнової кислоти паразита, що експресується чи присутня у хазяїна або тимчасово, або стабільно. Цей винахід пропонує та включає композиції, що містять екзогенні полінуклеотиди й екзогенні молекули нуклеїнових кислот і способи їх введення в організм-мішень. У деяких аспектах цього винаходу пропонують і включають композиції, що містять екзогенні полінуклеотиди й екзогенні молекули нуклеїнових кислот і способи їх введення в нецільовий організм, який є хазяїном для організму-мішені.

Як використовують у цьому документі термін "контрольний організм" означає організм, який не містить рекомбінантну ДНК, малу РНК, або іншу нуклеїнову кислоту (наприклад, білок, мікроРНК, малу РНК-резистентну мішені мРНК, длРНК, цільовий мімік), що забезпечує контроль шкідника або паразита. Контрольні організми, як правило, того ж виду і тій же стадії розвитку, що вирощуються в тих же умовах, як і оброблений організм. Аналогічним чином "контрольна колонія" означає колонію організмів, яка не містить рекомбінантну ДНК, малу РНК, або іншу нуклеїнову кислоту (наприклад, білок, мікроРНК, малу РНК-резистентну мішені мРНК, длРНК, цільовий мімік), що забезпечує контроль шкідника або паразита. Контрольні організми, як правило, того ж виду та тієї ж стадії розвитку, що вирощуються у тих же умовах, як і оброблений організм. В якості необмежуючого прикладу, контрольний організм може бути бджолою за умови, якщо композиція не містить нуклеїнову кислоту за цим винаходом. В якості іншого необмежуючого прикладу, контрольний організм може бути бджолою за умови, якщо композиція, що містить нуклеїнову кислоту, яка не діє на бджолу або паразита як сайленсер РНК, такий як SEQ ID NO: 5.

Як використовується в цьому документі терміни "покращення", "покращений", "збільшення" та "збільшений" відносяться до щонайменше близько 2 %, щонайменше близько 3 %, щонайменше близько 4 %, щонайменше близько 5 %, щонайменше близько 10 %, щонайменше близько 15 %, щонайменше близько 20 %, щонайменше близько 25 %, щонайменше близько 30 %, щонайменше близько 35 %, щонайменше близько 40 %, щонайменше близько 45 %, щонайменше близько 50 %, щонайменше близько 60 %, щонайменше близько 70 %, щонайменше близько 80 %, щонайменше близько 90 %, або більше збільшення в організмі або популяції колонії, у підвищеній продуктивності організму або колонії (наприклад, збільшення виробництва меду), збільшення швидкості росту організму або колонії, або підвищеної репродуктивної швидкості в порівнянні з контрольною колонією чи організмом. Цей винахід відноситься до способів поліпшення здоров'я організму або колонії, забезпечувані селективною інсектицидною композицією.

Як використовують у цьому документі термін "зниження" рівня агента такого як білок або мРНК означає, що рівень знижений по відношенню до організму або колонії, у яких відсутня нуклеїнова кислота здатна пригнічувати агента. Крім того, в цьому документі термін "зниження" в посиланні на паразитизм або паразитарне навантаження, означає, що рівень знижений відносно організму або колонії, у яких відсутня нуклеїнова кислота, така як молекула дЛРНК, здатна до зниження життєздатності, плідності, або кількості паразита. Цей винахід пропонує та включає способи та композиції для зниження рівня білка або мРНК, і зниження рівня або кількості паразитів.

Як використовують у цьому документі термін "щонайменше часткове зниження" рівня агента такого як білок або мРНК означає, що рівень знижується щонайменше на 25 % по відношенню до організму або колонії, у яких відсутня нуклеїнова кислота, така як молекула дЛРНК, яка здатна пригнічувати агента. Крім того, в цьому документі термін "щонайменше часткове зниження" в посиланні на паразитизм або паразитарне навантаження, означає, що рівень знижений щонайменше на 25 % відносно організму або колонії, у яких відсутня нуклеїнова кислота, така як молекула дЛРНК, яка здатна до зниження життєздатності, плідності, або кількості паразита. Цей винахід пропонує та включає способи та композиції щонайменше частково знижують рівень білка або мРНК, і щонайменше частково знижують рівень або кількість паразитів.

Як використовують у цьому документі "істотне зниження" рівня агента, такого як білок або мРНК означає, що рівень знижений відносно організму або колонії, у якого відсутня нуклеїнова кислота, така як молекула дЛРНК, здатна подавити агента, при цьому зниження рівня агента становить щонайменше 75 %. Крім того, в цьому документі термін "істотне зниження" з посиланням на паразитизм або паразитарне навантаження, означає, що рівень знижується щонайменше на 75 % по відношенню до організму або колонії, у яких відсутня нуклеїнова кислота, така як молекула дЛРНК, здатна до зниження життєздатності, плідності, або кількості паразита. Цей винахід пропонує та включає способи та композиції для істотного зниження рівня білка або мРНК, так і в значній мірі зниження рівня або кількості паразитів.

Як використовують у цьому документі термін "ефективне усунення" агента, такого як білок або мРНК по відношенню до організму або колонії, у яких відсутня молекула дЛРНК, яка здатна пригнічувати агента, при цьому зниження рівня агента становить понад 95 %. Агент, такий як молекула дЛРНК, бажано здатний забезпечити щонайменше часткове зниження, більш бажано істотне зниження або найбільш бажано ефективне усунення іншого агента, такого як білок або мРНК, або паразита, де агент залишає рівень другого агента або організму-хазяїна по суті незачепленим, значно незачепленим, або частково незачепленим. Крім того, в цьому документі термін "ефективне усунення" щодо паразитизму або паразитарного навантаження означає, що рівень знижується щонайменше на 95 % по відношенню до організму або колонії, у яких відсутня нуклеїнова кислота, така як молекула дЛРНК, яка здатна знижувати життєздатність, плодючість або кількість паразита. Цей винахід пропонує та включає способи та композиції для зниження рівня білка або мРНК, і зниження рівня або кількості паразитів.

Як використовується в цьому документі терміни "супресія", "репресія" та "пригнічення", коли посиляються на експресію або активність молекули нуклеїнової кислоти в організмі, використовують те ж саме тут, і означають, що рівень експресії або активності молекули нуклеїнової кислоти в клітині організму після застосування способу за цим винаходом нижче ніж його експресія або активність у клітині організму перед застосуванням способу, або порівняно з контрольним організмом, у якого відсутня молекула нуклеїнової кислоти за цим винаходом. Цей винахід пропонує та включає способи та композиції для супресії, репресії та зниження рівня білка або мРНК і супресії, репресії та зниження рівня або кількості паразитів.

Терміни "супресовано", "репресовано" та "пригнічуються", що використовуються в цьому документі, є синонімами й означають в цьому документі низьку, бажано значно більш низьку експресію або активність цільової молекули нуклеїнової кислоти. Крім того, як використовується в цьому документі терміни "супресовано", "репресовано" та "пригнічуються" з посиланням на паразитизм або паразитарне навантаження означає, що рівень паразитизму або паразитарного навантаження нижче, бажано значно нижче по відношенню до організму або колонії, у яких відсутня нуклеїнова кислота, така як молекула дЛРНК, здатна до зниження життєздатності, плідності, або кількості паразита. Цей винахід пропонує та включає способи та композиції для супресії, репресії та пригнічення експресії або активності білка чи мРНК, і супресії, репресії та зниження активності паразитів.

Як використовується в цьому документі термін "супресія", "репресія", або "зниження" рівня або активності агента, такого як білок, мРНК або РНК означає, що рівень або активність знижується порівняно з практично ідентичною клітиною, організмом або колонією, вирощуваною

в практично ідентичних умовах, у яких відсутні описані молекули нуклеїнової кислоти, наприклад, відсутня комплементарна область щонайменше частини описаної молекули попередника длРНК або міРНК, рекомбінантного конструкту або рекомбінантного вектора. Як використовується в цьому документі термін "супресія", "репресія", або "зниження" рівня або активності агента, такого як, наприклад, попередника РНК, мРНК, рРНК, тРНК, мякРНК, мяРНК експресії гена-мішені та/або білкового продукту, що кодується цими агентами, означає, що кількість знижується на 10 % або більше, наприклад, на 20 %, або більш бажано на 30 % або більше, більш бажано на 50 % або більше, ще більш бажано на 70 % або більше, найбільш бажано на 80 % або більше, наприклад, на 90 %, по відношенню до клітини, організму, або колонії, у яких відсутня рекомбінантна молекула нуклеїнової кислоти за цим винаходом. Цей винахід пропонує та включає способи та композиції для супресії, репресії та пригнічення агента, такого як білок, мРНК, РНК або паразита порівняно з необробленим організмом або колонією.

Як використовується в цьому документі термін "членистоногі" відноситься як до дорослих безхребетних тварин, так і до лялечок, які мають екзоскелет (зовнішній скелет), сегментоване тіло та членисті придатки. Членистоногі входять до складу типу Arthropoda та включають комах, павукоподібних і ракоподібних. Членистоногі згідно з цим винаходом, включають, але не обмежуються, *Apis mellifera*, *Apis cerana*, *Trigona minima*, *Halictidae*, *Bombus* sp., бліх, мух, вошей, кліщів, кліщиків та корисних комах. Цей винахід пропонує та включає способи та композиції для лікування членистоногих як хазяїна, так і паразита або шкідника.

В аспекті цього винаходу членистоноге може бути комахою. В деяких аспектах цього винаходу комаха може бути бджолою. Як використовується в цьому документі термін «бджола» відноситься як до дорослої бджоли, так і до лялечки. Згідно з одним аспектом цього винаходу бджола перебуває в вулику. Доросла бджола визначається як будь-яка з кількох крилатих, волохатих, як правило, жалких комах надродина Apoidea у порядку Hymenoptera, включаючи як одиночні, так і соціальні види, та характеризуються сисними та гризучими ротовими апаратами для збору нектару та пилку. Приклади видів бджіл включають, але не обмежуються ними, *Apis*, *Bombus*, *Trigona*, *Osmia*, тощо. В аспекті цього винаходу бджоли включають, але не обмежуються, шмелів (*Bombus terrestris*), медоносних бджол (*Apis mellifera*) (включаючи польових і медоносних бджіл) і *Apis cerana*. Цей винахід пропонує та включає способи та композиції для лікування бджіл як хазяїв від паразитів, таких як кліщ Варроа.

Згідно з одним аспектом цього винаходу бджола є частиною колонії. Термін "колонія" відноситься до популяції бджіл, які містять безліч, як правило, кілька десятків тисяч бджіл, які взаємодіють в гніздобудуванні, збиранні продуктів харчування, виведенні розплоду. Колонія зазвичай має одну королеву, частина бджіл є «робочими» (самки) або "трутнями" (самці). Соціальна структура колонії підтримується королевою та робітниками та залежить від ефективної системи комунікації. Поділ роботи в межах касти в першу чергу залежить від віку бджоли, але змінюється в залежності від потреб колонії. Репродукція та сила колонії залежить від королеви, кількості продовольчих запасів і величини робочої сили. Бджіл також можна віднести до категорії "вуликових бджіл", як правило, на першому етапі робочого життя "вуликові бджоли" виконують завдання у вулику, а на пізньому етапі життя являють собою вже "бджіл-фуражирів", "фуражири" знаходять і збирають пилок і нектар за межами вулика, і приносять нектар або пилок у вулик для споживання та зберігання. Цей винахід пропонує та включає способи та композиції для лікування колоній комах.

Як використовується в цьому документі термін "шкідник" відноситься як до дорослих, так і до незрілих форм організму, який є інвазивним або плідним, заподіює шкоду, є небезпечним, отруйним, деструктивним, несприятливим для рослин або тварин або для екосистем. Паразит являє собою один із видів шкідників. Цілком можливо організм може бути шкідником в одних умовах, але корисним, одомашненим або прийнятним в інших.

Як використовується в цьому документі термін "паразит" відноситься як до дорослих, так і до незрілих форм організмів, які безпосередньо існують за рахунок іншого, організму хазяїна, наприклад, шляхом живлення кров'ю або рідиною організму хазяїна, живуть внутрішньоклітинно в клітині організму-хазяїна, або живуть в тілі організму-хазяїна. Паразити включають організми тварин, грибів, бактерій або рослин та ідентифікуються їх негативною або шкідливою взаємодією з хазяїном. В деяких аспектах цього винаходу паразит, який використовується в цьому документі, може в свою чергу, служити в якості хазяїна для другого паразита. В деяких аспектах цього винаходу паразит і хазяїн можуть бути одного і того ж типу організму (наприклад, членистоногий хазяїн і членистоногий паразит). Паразити включають, але не обмежуються ними, Acari (кліщі, кліщики), Hippoboscoidea (мухи), Ichneumonidae (паразитичні оси), Oestridae (носоглоткові оводи), Phthiraptera (воші), Siphonaptera (блохи), Tantulocarida, краба-горошину і Sacculina. Як використовується в цьому документі шкідник може включати як

паразитарні, так і непаразитарні стадії життя. Цей винахід пропонує та включає способи та композиції для обробки паразитів. В аспекті цього винаходу паразит може бути *Varroa destructor*.

Як це запроновано та включено в цей винахід паразити та/або шкідники включають *Varroa destructor*, *Ixodes scapularis*, *Solenopsis invicta*, *Tetranychus urticae*, *Aedes aegypti*, *Culex quinquefasciatus*, *Acyrtosiphon pisum* і *Pediculus humanus*. Згідно з аспектами цього винаходу селективні інсектициди можуть бути селективними для *Varroa destructor*, *Ixodes scapularis*, *Solenopsis invicta*, *Tetranychus urticae*, *Aedes aegypti*, *Culex quinquefasciatus*, *Acyrtosiphon pisum* і *Pediculus humanus* та неактивними, або менш активними проти нецільового організму, такого як організм-хазяїн.

Як використовується в цьому документі термін "допоміжна речовина" відноситься до будь-якої неактивної речовини, включеної в лікарську форму, що має активний інгредієнт, такий як антипаразитарна, дезінсекційна або інсектицидна нуклеїнова кислота, включаючи без обмеження, длРНК, малі РНК, мікроРНК і антисмислові РНК. У деяких варіантах реалізації цього винаходу допоміжна речовина містить речовини, які можуть забезпечувати додаткові функціональні можливості для композиції, яка відрізняється антипаразитарною, дезінсекційною або інсектицидною нуклеїновою кислотою. Функції допоміжної речовини включають, але не обмежуються ними, "баластні речовини", "наповнювачі", "розчинники" та "носії". Допоміжні речовини, які збільшують об'єм газів, дозволяють зручно і точно розподіляти композиції за цим винаходом. Допоміжні речовини можуть також служити для полегшення проковтування композицій організмами та містять різні вуглеводи, білки, жирні кислоти, пилок і заміники пилку. Допоміжні речовини можуть також служити для полегшення абсорбції композицій організмами, включаючи, наприклад, як водні, так і неводні розчини активних інгредієнтів. Необмежуючи приклади допоміжних речовин містять кукурудзяний сироп, цукровий сироп, кристалічний цукор, напіврідкий цукор, пилок, соєвий білок та білкові суміші. Допоміжні речовини можуть додатково містити аттрактанти, буфера та поживні добавки. Композиції за цим винаходом можуть бути покриті, інкапсульовані, розчинені в, змішані з або іншим чином комбіновані з допоміжною речовиною. Як використовується в цьому документі термін допоміжна речовина може відноситися до суміші неактивних речовин.

Ця заявка пропонує та розкриває антипаразитарні, дезінсекційні або інсектицидні молекули нуклеїнових кислот, які по суті гомологічні або комплементарні полінуклеотидній послідовності гена-мішені кальмодуліну або РНК, що експресується з цільового гена кальмодуліну або його фрагмента, та функції для пригнічення експресії гена-мішені кальмодуліну або отримання нокдаун фенотипу. Антипаразитарні, дезінсекційні або інсектицидні молекули нуклеїнової кислоти здатні інгібувати або "пригнічувати" експресію цільового гена кальмодуліну. Ці молекули нуклеїнових кислот, як правило, описані в зв'язку з їх "послідовністю-мішенню." В деяких варіантах реалізації цього винаходу послідовність-мішень вибрана з SEQ ID NO: 1, 2 і 6–77. Антипаразитарні, дезінсекційні або інсектицидні молекули нуклеїнових кислот можуть бути одноланцюговою ДНК (олДНК), одноланцюговою РНК (олРНК), дволанцюговою РНК (длРНК), дволанцюговою ДНК (длДНК) або дволанцюговим гібридом ДНК/РНК. Молекули нуклеїнової кислоти можуть містити нуклеотиди, що зустрічаються в природі, модифіковані нуклеотиди, аналоги нуклеотидів або будь-які їх комбінації. В деяких варіантах реалізації цього винаходу антипаразитарні, дезінсекційні або інсектицидні молекули нуклеїнової кислоти можуть міститися у складі більш великого полінуклеотиду, наприклад, молекули первинної мікроРНК. В деяких варіантах реалізації винаходу антипаразитарна, дезінсекційна або інсектицидна молекула нуклеїнової кислоти може процесувати в малу інтерферуючу РНК (міРНК). В деяких варіантах реалізації цього винаходу запропоновані або розкриті молекули нуклеїнових кислот як селективні антипаразитарні або акарицидні, і способи модуляції експресії або їх активності генів-мішеней для зниження або усунення паразитів з колонії або популяції.

Згідно з аспектами цього винаходу антипаразитарна, дезінсекційна або інсектицидна молекула нуклеїнової кислоти містить нуклеотидну послідовність, що має щонайменше 80 %, 85 %, 88 %, 90 %, 92 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % ідентичності послідовності з послідовністю або частиною послідовності, вибраної з групи, що складається з SEQ ID NO: з 1 по 89. В деяких аспектах цього винаходу молекула нуклеїнової кислоти вибрана з групи, що складається з одноланцюгової ДНК, олРНК, длРНК, длДНК або ДНК/РНК-гібридів. Кілька варіантів реалізації цього винаходу відносяться до длРНК, що містить нуклеотидну послідовність, яка має щонайменше 80 %, 85 %, 88 %, 90 %, 92 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % ідентичності послідовності з послідовністю або частиною послідовності, вибраної з групи, що складається з SEQ ID NO: з 1 по 89. В іншому аспекті цього винаходу ДНК, яка кодує щонайменше одну нуклеїнову кислоту, таку як олРНК або длРНК, містить нуклеотидну

послідовність або частину нуклеотидної послідовності, вибраної з групи, що складається з SEQ ID NO: з 1 по 89, або має щонайменше 80 %, 85 %, 88 %, 90 %, 92 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % ідентичності послідовності з SEQ ID NO: від 1 до 89 або частини запропонованого. У ще одному аспекті цього винаходу рекомбінантна ДНК, що кодує щонайменше одну нуклеїнову кислоту, таку як олРНК або длРНК, містить нуклеотидну послідовність або частину нуклеотидної послідовності, вибраної з групи, що складається з SEQ ID NO: з 1 по 89, запропонованих гетерологічного промотора та послідовності термінації транскрипції. В іншому аспекті цей винахід відноситься до рекомбінантної ДНК, що кодує щонайменше одну нуклеїнову кислоту, таку як олРНК або длРНК, яка містить нуклеотидну послідовність, яка має щонайменше 80 %, 85 %, 88 %, 90 %, 92 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % ідентичності послідовності з послідовністю, або частиною послідовності, вибраної з групи, що складається з SEQ ID NO: з 1 по 89, і додатково містить гетерологічний промотор та термінатор транскрипції.

[illegible]

60 суміжних нуклеотидів у гені-мішені або РНК, що транскрибується з гена-мішені. В аспекті цього винаходу ген-мішень може бути геном, що містить SEQ ID NO: з 1 по 89. В аспекті цього винаходу ген-мішень може бути геном, що містить SEQ ID NO: 1. В аспекті цього винаходу ген-мішень може бути геном, що містить SEQ ID NO: 2. В аспекті цього винаходу ген-мішень може бути геном, що містить SEQ ID NO: 3. В аспекті цього винаходу ген-мішень може бути геном, що містить SEQ ID NO: 4. В аспекті цього винаходу ген-мішень може бути геном, що містить SEQ ID NO: 69. В аспекті цього винаходу ген-мішень може бути геном, що містить SEQ ID NO: 70. В аспекті цього винаходу ген-мішень може бути геном, що містить SEQ ID NO: 88. В аспекті цього винаходу ген-мішень може бути геном, що містить SEQ ID NO: 89. В аспекті цього винаходу ген-мішень може бути геном, що містить послідовність, вибрану з SEQ ID NO: 71–87. В аспекті цього винаходу ген-мішень може бути геном, що містить послідовність, вибрану з SEQ ID NO: 6–68.

[illegible]

мішені або РНК, що транскрибується з гена-мішені. В аспекті цього винаходу антипаразитарна, дезінсекційна або інсектицидна нуклеїнова кислота має 98-відсоткову ідентичність послідовності з областю гена-мішені. В аспекті цього винаходу антипаразитарна, дезінсекційна або інсектицидна нуклеїнова кислота має 97-відсоткову ідентичність послідовності з областю гена-мішені. В деяких аспектах цього винаходу антипаразитарна, дезінсекційна або інсектицидна нуклеїнова кислота має 96-відсоткову ідентичність послідовності з областю гена-мішені. В аспекті цього винаходу антипаразитарна, дезінсекційна або інсектицидна нуклеїнова кислота має 95-відсоткову ідентичність послідовності з областю гена-мішені. В аспекті цього винаходу антипаразитарна, дезінсекційна або інсектицидна нуклеїнова кислота має 94-відсоткову ідентичність послідовності з областю гена-мішені. В аспекті цього винаходу антипаразитарна, дезінсекційна або інсектицидна нуклеїнова кислота має 93-відсоткову ідентичність послідовності з областю гена-мішені. В деяких аспектах цього винаходу антипаразитарна, дезінсекційна або інсектицидна нуклеїнова кислота має 92-відсоткову ідентичність послідовності з областю гена-мішені. В аспекті цього винаходу антипаразитарна, дезінсекційна або інсектицидна нуклеїнова кислота має 91-відсоткову ідентичність послідовності з областю гена-мішені. В аспекті цього винаходу антипаразитарна, дезінсекційна або інсектицидна нуклеїнова кислота має щонайменше близько 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90 відсотків ідентичності з областю гена-мішені, як зазначено вище. В аспекті цього винаходу ген-мішень може бути геном, що містить SEQ ID NO: з 1 по 89. В аспекті цього винаходу ген-мішень може бути геном, що містить SEQ ID NO: 1. В аспекті цього винаходу ген-мішень може бути геном, що містить SEQ ID NO: 2. В аспекті цього винаходу ген-мішень може бути геном, що містить SEQ ID NO: 3. В аспекті цього винаходу ген-мішень може бути геном, що містить SEQ ID NO: 4. В аспекті цього винаходу ген-мішень може бути геном, що містить SEQ ID NO: 69. В аспекті цього винаходу ген-мішень може бути геном, що містить SEQ ID NO: 70. В аспекті цього винаходу ген-мішень може бути геном, що містить SEQ ID NO: 88. В аспекті цього винаходу ген-мішень може бути геном, що містить SEQ ID NO: 89. В аспекті цього винаходу ген-мішень може бути геном, що містить послідовність, вибрану з SEQ ID NO: 71–87. В аспекті цього винаходу ген-мішень може бути геном, що містить послідовність, вибрану з SEQ ID NO: 6–68.

[illegible]

антипаразитарну, дезінсекційну або інсектицидну молекулу нуклеїнової кислоти, що має 100-відсоткову ідентичність послідовності з областю до 40 суміжних нуклеотидів до однієї алелі або до одного члену сім'ї цього гена-мішені. В аспекті цього винаходу композиція містить антипаразитарну, дезінсекційну або інсектицидну молекулу нуклеїнової кислоти, що має 100-відсоткову ідентичність послідовності з областю щонайменше 25 суміжних нуклеотидів до однієї алелі або до одного члену сім'ї цього гена-мішені. В аспекті цього винаходу композиція містить антипаразитарну, дезінсекційну або інсектицидну молекулу нуклеїнової кислоти, що має 100-відсоткову ідентичність послідовності з областю щонайменше 35 суміжних нуклеотидів до однієї алелі або до одного члену сім'ї цього гена-мішені. В аспекті цього винаходу композиція містить антипаразитарну, дезінсекційну або інсектицидну молекулу нуклеїнової кислоти, що має 100-відсоткову ідентичність послідовності з областю щонайменше 40 суміжних нуклеотидів до однієї алелі або до одного члену сім'ї цього гена-мішені. В аспекті цього винаходу композиція містить антипаразитарну, дезінсекційну або інсектицидну молекулу нуклеїнової кислоти, що має 100-відсоткову ідентичність послідовності з областю щонайменше 50 суміжних нуклеотидів до однієї алелі або до одного члену сім'ї цього гена-мішені. В аспекті цього винаходу композиція містить антипаразитарну, дезінсекційну або інсектицидну молекулу нуклеїнової кислоти, що має 100-відсоткову ідентичність послідовності з областю щонайменше 60 суміжних нуклеотидів до однієї алелі або до одного члену сім'ї цього гена-мішені. В аспекті цього винаходу ген-мішень може бути геном, що містить SEQ ID NO: з 1 по 89. В аспекті цього винаходу ген-мішень може бути геном, що містить SEQ ID NO: 1. В аспекті цього винаходу ген-мішень може бути геном, що містить SEQ ID NO: 2. В аспекті цього винаходу ген-мішень може бути геном, що містить SEQ ID NO: 3. В аспекті цього винаходу ген-мішень може бути геном, що містить SEQ ID NO: 4. В аспекті цього винаходу ген-мішень може бути геном, що містить SEQ ID NO: 69. В аспекті цього винаходу ген-мішень може бути геном, що містить SEQ ID NO: 70. В аспекті цього винаходу ген-мішень може бути геном, що містить SEQ ID NO: 88. В аспекті цього винаходу ген-мішень може бути геном, що містить SEQ ID NO: 89. В аспекті цього винаходу ген-мішень може бути геном, що містить послідовність, вибрану з SEQ ID NO: 71–87. В аспекті цього винаходу ген-мішень може бути геном, що містить послідовність, вибрану з SEQ ID NO: 6–68.

[illegible]

[illegible]

[illegible]

Згідно з аспектами цього винаходу композиція містить антипаразитарну, дезінсекційну або інсектицидну молекулу нуклеїнової кислоти, яка має 99-відсоткову ідентичність послідовності з областю від 10 до 17 або більше суміжних нуклеотидів ідентичних або комплементарних множинним алелям або членам сім'ї цього гена-мішені. В аспекті цього винаходу композиція містить антипаразитарну, дезінсекційну або інсектицидну молекулу нуклеїнової кислоти, яка має 99-відсоткову ідентичність послідовності з областю від 18 до 25 або більше суміжних нуклеотидів ідентичних або комплементарних множинним алелям або членам сім'ї цього гена-мішені. В аспекті цього винаходу композиція містить антипаразитарну, дезінсекційну або інсектицидну молекулу нуклеїнової кислоти, яка має 99-відсоткову ідентичність послідовності з

областю гена-мішені. В аспекті цього винаходу антипаразитарна, дезінсекційна або інсектицидна нуклеїнова кислота має щонайменше 91-відсоткову ідентичність послідовності з областю гена-мішені. В аспекті цього винаходу антипаразитарна, дезінсекційна або інсектицидна нуклеїнова кислота має щонайменше близько 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90 відсотків ідентичності з областю гена-мішені, як зазначено вище. В аспекті цього винаходу ген-мішень може бути геном, що містить SEQ ID NO: з 1 по 89. В аспекті цього винаходу ген-мішень може бути геном, що містить SEQ ID NO: 1. В аспекті цього винаходу ген-мішень може бути геном, що містить SEQ ID NO: 2. В аспекті цього винаходу ген-мішень може бути геном, що містить SEQ ID NO: 3. В аспекті цього винаходу ген-мішень може бути геном, що містить SEQ ID NO: 4. В аспекті цього винаходу ген-мішень може бути геном, що містить SEQ ID NO: 69. В аспекті цього винаходу ген-мішень може бути геном, що містить SEQ ID NO: 70. В аспекті цього винаходу ген-мішень може бути геном, що містить SEQ ID NO: 88. В аспекті цього винаходу ген-мішень може бути геном, що містить SEQ ID NO: 89. В аспекті цього винаходу ген-мішень може бути геном, що містить послідовність, вибрану з SEQ ID NO: 71–87. В аспекті цього винаходу ген-мішень може бути геном, що містить послідовність, вибрану з SEQ ID NO: 6–68.

Ця заявка пропонує та розкриває композиції, що містять антипаразитарну, дезінсекційну або інсектицидну молекулу нуклеїнової кислоти та допоміжну речовину. В аспекті цього винаходу допоміжна речовина може являти собою поєднання одного або декількох неактивних компонентів. В деяких аспектах цього винаходу допоміжна речовина містить цукор. Приклади цукрів включають гексози, дисахариди, трисахариди та вищі цукри. Допоміжні речовини включають цукри, наприклад, фруктозу, глюкозу, сахарозу, трегалозу, лактозу, галактозу, рибозу. В інших аспектах цього винаходу допоміжна речовина містить цукор і розчинник. В інших аспектах цього винаходу допоміжна речовина містить білок. В аспекті цього винаходу білок являє собою соєвий білок. В інших аспектах цього винаходу допоміжна речовина може бути пилком. Згідно з аспектами цього винаходу допоміжна речовина може бути кормом бджоли. У деяких аспектах цього винаходу допоміжна речовина містить триптон. У деяких аспектах цього винаходу допоміжна речовина містить дріжджовий екстракт. У деяких аспектах цього винаходу допоміжна речовина містить ефірну олію.

Годівля бджіл є звичайною практикою серед бджолярів, для забезпечення як харчових, так і інших, наприклад, додаткових потреб. Бджоли, як правило, харчуються медом і пилком, але, як відомо, заодно ковтають ненатуральні корми. Бджоли можуть харчуватися різними харчовими продуктами, включаючи, але не обмежуючись, Wheast (молочні дріжджі, вирощені на домашньому сири), соєве борошно, дріжджі (наприклад, пивні дріжджі, дріжджі торула) і дріжджові продукти, продукти давали в їжу окремо або в комбінації, та соєве борошно подавали у вигляді сухої суміші або вологого коржа в середину вулика або у вигляді сухої суміші у відкритих годівницях за межами вулика. Також корисним є цукор або цукровий сироп. Додавання від 10 до 12 відсотків пилку в якості добавки до корму бджолам покращує його смакову привабливість. Додавання від 25 відсотків пилку покращує якість і кількість необхідних поживних речовин, які необхідні для життєдіяльності бджіл. Тростинний чи буряковий цукор, ізомеризований кукурудзяний сироп і цукровий сироп тип-50 є задовільними заміниками меду в природному раціоні медоносних бджіл. Останні два можуть подаватися тільки у вигляді рідини для бджіл. Рідкий корм може подаватися бджолам всередину вулика, наприклад, будь-яким з наступних способів: відром з отвором, гребінками в межах гніздового корпусу вулика, високим контейнером з декількома отворами, годівницею Бродмана та ін. Сухий цукор може бути поданий шляхом розміщення фунта або двох на перевернутій внутрішній кришці. Запас води повинен бути доступний для бджіл в усі часи. В одному з аспектів цього винаходу в мисках або лотках передбачені плавучі опори, такі як деревні стружки, пробки або пластикові губки. Докладний опис додаткового корму для бджіл можна знайти, наприклад, у публікації USDA Standifer, et al. 1977, озаглавлену "Supplemental Feeding of Honey Bee Colonies" (USDA, Agriculture Information Bulletin No 413).

Згідно з аспектами цього винаходу антипаразитарна, дезінсекційна або інсектицидна нуклеїнова кислота, наприклад, дЛРНК, абсорбується. Як використовується в цьому документі термін "абсорбований" відноситься до механізмів, які забезпечують поглинання нуклеїнової кислоти не за допомогою заковтування. В аспекті цього винаходу антипаразитарна, дезінсекційна або інсектицидна нуклеїнова кислота може поглинатися через шкіру організму, або екзоскелет членистоногого. В аспекті цього винаходу нуклеїнова кислота, що абсорбується, розчинена у допоміжній речовині. В інших аспектах цього винаходу нуклеїнова кислота, що абсорбується, суспензована у допоміжній речовині. Допоміжні речовини для розчину або суспензії можуть бути водними або неводними. В деяких аспектах цього винаходу антипаразитарна, дезінсекційна або інсектицидна нуклеїнова кислота абсорбується організмом-

хазяїном та переноситься в паразитичний організм шляхом годування. В інших аспектах цього винаходу антипаразитарна, дезінсекційна або інсектицидна нуклеїнова кислота, що абсорбується організмом-хазяїном і переноситься в паразитичний організм шляхом абсорбції. В аспекті цього винаходу антипаразитарна, дезінсекційна або інсектицидна нуклеїнова кислота абсорбується

5 безпосередньо паразитом.

Згідно з аспектами цього винаходу антипаразитарна, дезінсекційна або інсектицидна нуклеїнова кислота, наприклад, длРНК, комбінується з допоміжною речовиною. В аспекті цього винаходу нуклеїнова кислота може бути представлена у вигляді співвідношення нуклеїнової кислоти до допоміжної речовини. В аспекті цього винаходу це співвідношення може

10 дорівнювати одній частини нуклеїнової кислоти до 4 частин допоміжної речовини. В аспекті цього винаходу співвідношення нуклеїнової кислоти до допоміжної речовини може бути 1:1, 1:2, 1:5 або 1:10. В інших аспектах цього винаходу співвідношення нуклеїнової кислоти до допоміжної речовини може бути 1:20, 1: 25, 1:30, 1:40 або більше. В аспекті цього винаходу співвідношення нуклеїнової кислоти до допоміжної речовини може бути 1:50. Згідно з аспектами

15 цього винаходу співвідношення може бути визначено як відношення об'єм до об'єму (об'єм/об'єм), маса:маса (маса/маса). В деяких аспектах цього винаходу відношення може бути виражено як маса:об'єм (маса/об'єм). В деяких аспектах цього винаходу нуклеїнова кислота та допоміжна речовина можуть бути длРНК і допоміжною речовиною.

Згідно з аспектами цього винаходу композиція може містити масу антипаразитарної, дезінсекційної або інсектицидної нуклеїнової кислоти в поєднанні з допоміжною речовиною. В аспекті цього винаходу нуклеїнова кислота може містити відсоток від загальної маси композиції. В аспекті цього винаходу нуклеїнова кислота може містити близько 0,1 % від маси композиції. В аспекті цього винаходу нуклеїнова кислота може містити близько 0,2 % від маси композиції. В аспекті цього винаходу нуклеїнова кислота може містити близько 0,3 % від маси композиції. В

25 іншому аспекті цього винаходу нуклеїнова кислота може містити близько 0,4 % від маси композиції. В аспекті цього винаходу нуклеїнова кислота може містити до 0,5 % від маси композиції. В аспекті цього винаходу нуклеїнова кислота може містити до 0,6 % від маси композиції. В аспекті цього винаходу нуклеїнова кислота може містити до 0,7 % від маси композиції. В аспекті цього винаходу нуклеїнова кислота може містити до 0,8 % від маси композиції. В іншому аспекті цього винаходу нуклеїнова кислота може містити до 1,0 % від маси композиції. В інших аспектах цього винаходу нуклеїнова кислота може містити до 1,5 % від маси композиції. У ще одному аспекті цього винаходу нуклеїнова кислота може містити до 2,0 % від маси або 2,5 % від маси композиції. В деяких аспектах цього винаходу нуклеїнова кислота і допоміжна речовина можуть бути длРНК і допоміжною речовиною.

Цей винахід пропонує і включає композиції, що містять від 0,1 % до 5 % за масою однієї чи більше антипаразитарних, дезінсекційних або інсектицидних нуклеїнових кислот. В іншому аспекті цього винаходу композиція може містити від 0,1 до 4 %, від 0,1 до 3 %, від 0,1 до 2 %, від 0,1 до 1 %, від 0,1 до 2 %, від 0,1 до 3 %, або від 0,1 до 4 % за масою нуклеїнової кислоти. В аспекті цього винаходу композиція може містити від 0,2 % до 5 % за масою нуклеїнової кислоти.

40 В інших аспектах цього винаходу композиція може містити від 0,2 до 4 %, від 0,2 до 3 %, від 0,2 до 2 %, від 0,2 до 1 %, від 0,2 до 2 %, від 0,2 до 3 % або від 0,2 до 4 % за масою нуклеїнової кислоти. В інших аспектах цього винаходу композиція може містити до 1 %, до 2 %, до 3 % до 4 % або до 5 % нуклеїнової кислоти. В інших аспектах цього винаходу композиція може містити до 7,5 %, до 10 % або 15 % нуклеїнової кислоти. В деяких аспектах цього винаходу нуклеїнова

45 кислота і допоміжна речовина можуть бути длРНК і допоміжною речовиною.

Цей винахід пропонує та включає, композиції, що містять від 0,1 до 10 мг/мл однієї чи більше антипаразитарних, дезінсекційних або інсектицидних нуклеїнових кислот. В іншому аспекті цього винаходу композиція може містити від 0,1 до 1,0 мг/мл, від 0,1 до 2,0 мг/мл, від 0,1 до 2,5 мг/мл, від 0,1 до 5 мг/мл, від 0,1 до 10 мг/мл, від 0,1 до 15 мг/мл або від 0,1 до 20 мг/мл нуклеїнової кислоти. В деяких аспектах цього винаходу композиція може містити щонайменше 0,1 мкг/мл нуклеїнової кислоти. В деяких інших аспектах цього винаходу композиція може містити щонайменше 1,0 мкг/мл нуклеїнової кислоти. У ще інших аспектах цього винаходу композиція може містити щонайменше 10 мкг/мл нуклеїнової кислоти. В аспекті цього винаходу композиція може містити від 0,5 до 10 мкг/мл нуклеїнової кислоти. В іншому аспекті цього

55 винаходу композиція може містити від 0,5 до 1,0 мг/мл, від 0,5 до 2,0 мг/мл, від 0,5 до 2,5 мг/л, від 0,5 до 5 мг/мл, від 0,5 до 10 мг/мл, від 0,5 до 15 мг/мл, або від 0,5 до 20 мг/мл нуклеїнової кислоти. В аспекті цього винаходу композиція може містити від 1,0 до 10 мг/мл нуклеїнової кислоти. В іншому аспекті цього винаходу композиція може містити від 1,0 до 2,0 мг/мл, від 1,0 до 2,5 мг/мл, від 1,0 до 5 мг/мл, від 1,0 до 10 мг/мл, від 1,0 до 15 мг/мл або від 1,0 до 20 мг/мл нуклеїнової кислоти. В деяких аспектах цього винаходу антипаразитарна, дезінсекційна або

60 нуклеїнової кислоти. В деяких аспектах цього винаходу антипаразитарна, дезінсекційна або

інсектицидна нуклеїнова кислота в композиції містить дЛРНК.

Цей винахід пропонує та включає селективні інсектицидні композиції та способи застосування селективних інсектицидних композицій.

5 Як використовується в цьому документі термін "селективна інсектицидна композиція" представляє собою композицію, яка більш ефективна для одного або декількох видів членистоногих і менш ефективна для одного або більше різних видів членистоногих. Селективна інсектицидна композиція включає композиції, які вбивають дорослих або незрілих членистоногих і включає композиції ларвіцидів і овіцидів. Селективний інсектицид може представляти собою системний інсектицид, включений в оброблену їжу, в тому числі кров або гемолімфу, отриману від організму-хазяїна. Селективний інсектицид може бути контактним інсектицидом, який токсичний для деяких комах при безпосередньому контакті, та нетоксичний або мінімально токсичний для деяких інших комах. В деяких варіантах реалізації винаходу селективна інсектицидна композиція є дезінсекційною. В деяких варіантах реалізації винаходу селективна інсектицидна композиція є антипаразитарною. В деяких варіантах реалізації винаходу селективна інсектицидна композиція є акарицидною. В деяких варіантах реалізації винаходу селективна інсектицидна композиція є токсичною для цільових паразитів або комах-шкідників і нетоксичною або мінімально токсичною для нецільових організмів. Приклади нецільових організмів включають, не обмежуючись цим, корисних комах, нематод, птахів, ссавців і рослин. В деяких варіантах реалізації винаходу селективна інсектицидна композиція є токсичною для паразитичної комахи, наприклад кліща *Varoa*, і нетоксичною або мінімально токсичною для організму-хазяїна, наприклад, бджіл. У деяких варіантах реалізації винаходу селективна інсектицидна композиція є токсичною для одного або декількох шкідників або комах-паразитів, вибраних з групи, що складається з : *Varroa destructor*, *Ixodes scapularis*, *Solenopsis invicta*, *Tetranychus urticae*, *Aedes aegypti*, *Culex quinquefasciatus*, *Acyrtosiphon pisum* і *Pediculus humanus*.

У деяких аспектах згідно з цим винаходом селективний інсектицид може бути включений в бактерії або дріжджі шляхом генетичної модифікації (наприклад, трансгенні бактерії або дріжджі, сконструйовані для експресії нуклеїнової кислоти за цим винаходом). Селективний інсектицид, введений шляхом генетичної модифікації бактерій або дріжджів, може впливати безпосередньо на організм шкідника, або опосередковано шляхом заковтування хазяїном організму-шкідника.

Згідно з ще одним аспектом цього винаходу селективний інсектицид може бути більш ефективним інсектицидом проти однієї або декількох перших комах, ніж у відношенні до однієї або більше других комах. В аспекті цього винаходу селективний інсектицид може бути токсичним для першої комахи та не здійснювати ніякого впливу на другу комаху. В аспекті цього винаходу селективний інсектицид може бути токсичний по відношенню до першої комахи та вимагає значно більш високих концентрацій або кількостей, щоб впливати на другу комаху. В аспекті цього винаходу селективний інсектицид може бути в 2 рази або більш токсичний по відношенню до першої комахи у порівнянні з другою комахою. В аспекті цього винаходу селективний інсектицид може бути в 4 рази або більш токсичний по відношенню до першої комахи порівняно з другою комахою. В аспекті цього винаходу селективний інсектицид може бути в 5 разів більш токсичний по відношенню до першої комахи порівняно з другою комахою. В аспекті цього винаходу селективний інсектицид може бути в 10 разів більш токсичний по відношенню до першої комахи у порівнянні з другою комахою.

В аспекті цього винаходу селективний інсектицид може пригнічувати ріст, розвиток або плодючість першої комахи та не надавати ніякого впливу на другу комаху. В аспекті цього винаходу селективний інсектицид може пригнічувати ріст, розвиток або плодючість першої комахи та вимагають значно більш високих концентрацій або кількостей, щоб мати такий же ефект на другу комаху. В аспекті цього винаходу селективний інсектицид може вимагати в 2 рази або більше активного інгредієнта для інгібування росту, розвитку чи плодючості другої комахи. В аспекті цього винаходу селективний інсектицид може вимагати в 4 рази або більш активного інгредієнта для інгібування росту, розвитку чи плодючості другої комахи. В аспекті цього винаходу селективний інсектицид може вимагати у 5 разів або більш активного інгредієнта для інгібування росту, розвитку чи плодючості другої комахи. В аспекті цього винаходу селективний інсектицид може вимагати в 10 разів або більш активного інгредієнта для інгібування росту, розвитку чи плодючості другої комахи.

Цей винахід додатково включає та пропонує способи лікування або профілактики синдрому руйнування бджолиних колоній, що включають забезпечення ефективною кількістю композиції, яка містить нуклеїнову кислоту, яка по суті ідентична або по суті комплементарна до області послідовності гена кальмодуліну *Varroa destructor* до медоносною бджолою в результаті чого

[illegible]

вибраної з SEQ ID NO: 71-87. В аспекті цього винаходу спосіб включає забезпечення ефективною кількістю композиції, яка містить нуклеїнову кислоту, у відповідності з послідовністю, вибраної з SEQ ID NO: 71-87.

Цей винахід пропонує та включає способи зниження паразитарного навантаження організму-хазяїна. В аспекті цього винаходу паразитарне навантаження відноситься до числа паразитів на особину хазяїна. В аспекті цього винаходу паразитарне навантаження відноситься до середнього числа паразитів на 100 організмів-хазяїв. В аспекті цього винаходу паразитарне навантаження може відноситися до числа паразитів на колонію хазяїв паразитів. Згідно з аспектами цього винаходу паразит являє собою *Varroa destructor* і хазяїн являє собою медоносну бджолу *Apis mellifera*. В деяких аспектах цього винаходу паразитарне навантаження відноситься до числа паразитів *Varroa destructor* на 100 бджіл в колонії. В деяких варіантах реалізації цей винахід пропонує та включає способи та композиції для зниження паразитарного навантаження до рівня менше 6 паразитів *Varroa destructor* на 100 бджіл в колонії. В деяких варіантах реалізації цей винахід пропонує та включає способи та композиції для зниження паразитарного навантаження до рівня менше 5 паразитів *Varroa destructor* на 100 бджіл в колонії. В деяких варіантах реалізації цей винахід пропонує та включає способи та композиції для зниження паразитарного навантаження до рівня менше 4 паразитів *Varroa destructor* на 100 бджіл в колонії. В деяких варіантах реалізації цей винахід пропонує та включає способи та композиції для зниження паразитарного навантаження до рівня менше 2 паразитів *Varroa destructor* на 100 бджіл в колонії.

В аспекті цього винаходу способи зниження навантаження паразита включають забезпечення ефективною кількістю антипаразитарної, дезінсекційної або інсектицидної композиції нуклеїнової кислоти організму хазяїна. Ефективна кількість композиції за цим винаходом призводить до зниження паразитарного навантаження протягом певного періоду часу. В аспекті цього винаходу зниження паразитарного навантаження може вимірюватися протягом дня внесення ефективною кількістю композиції нуклеїнової кислоти. В аспекті цього винаходу паразитарне навантаження може бути виміряне після 2-х днів. В аспекті цього винаходу паразитарне навантаження може бути виміряне після 3-х днів. В інших аспектах цього винаходу паразитарне навантаження може бути виміряне після 5 днів або після одного тижня. Ще в одному аспекті цього винаходу паразитарне навантаження може бути виміряне більш ніж один раз, наприклад, кожні 3 дні, кожні 5 днів, кожен тиждень або один раз на місяць. Згідно з деякими аспектами цього винаходу зниження числа паразитів може бути виміряне та порівняно з необробленим контрольним організмом або колонією. Згідно з аспектами цього винаходу паразит являє собою *Varroa destructor* і хазяїн являє собою медоносну бджолу *Apis mellifera*.

Згідно з аспектами цього винаходу зниження паразитарного навантаження після певного періоду часу означає зниження числа паразитів. В аспекті цього винаходу кількість паразитів може знизитися на 10 %, 20 %, 30 % або більше між вимірюваннями. В іншому аспекті цього винаходу кількість паразитів може знизитися на 40 % або більше між вимірюваннями. В іншому аспекті цього винаходу кількість паразитів може знизитися на 50 % або більше між вимірюваннями. В іншому аспекті цього винаходу чисельність паразитів може знизитися на 60 % або більше між вимірюваннями. В іншому аспекті цього винаходу чисельність паразитів може знизитися на 70 % або більше між вимірюваннями. В іншому аспекті цього винаходу чисельність паразитів може знизитися на 80 % або більше між вимірюваннями. В іншому аспекті цього винаходу чисельність паразитів може знизитися на 90 % або більше між вимірюваннями.

В інших аспектах цього винаходу паразитарне навантаження може бути виміряне як середнє число паразитів в організмі хазяїна. В аспекті цього винаходу знижене паразитарне навантаження може складати менше 20 паразитів на 100 організмів-хазяїв. В аспекті цього винаходу знижене паразитарне навантаження може становити менше 15 паразитів на 100 організмів-хазяїв. В аспекті цього винаходу знижене паразитарне навантаження може нараховувати менше 10 паразитів на 100 організмів-хазяїв. В аспекті цього винаходу знижене паразитарне навантаження може нараховувати менше 5 паразитів на 100 організмів-хазяїв. В аспекті цього винаходу знижене паразитарне навантаження може складати менше 4 паразитів на 100 організмів-хазяїв. В аспекті цього винаходу знижене паразитарне навантаження може нараховувати менше 3 паразитів на 100 організмів-хазяїв. В аспекті цього винаходу знижене паразитарне навантаження може нараховувати менше 2 паразитів на 100 організмів-хазяїв. В аспекті цього винаходу знижене паразитарне навантаження може складати менше 1 паразита на 100 організмів-хазяїв. В аспекті цього винаходу знижене паразитарне навантаження може складати менше 20 паразитів на 1000 організмів-хазяїв. В аспекті цього винаходу знижене паразитарне навантаження може складати менше 15 паразитів на 1000 організмів-хазяїв. В аспекті цього винаходу знижене паразитарне навантаження може нараховувати не менше 10

паразитів на 1000 організмів-хазяїв. В аспекті цього винаходу знижене паразитарне навантаження може складати менше 5 паразитів на 1000 організмів-хазяїв. В аспекті цього винаходу знижене паразитарне навантаження може складати менше 4 паразитів на 1000 організмів-хазяїв. В аспекті цього винаходу знижене паразитарне навантаження може

5 нараховувати не менше 3 паразитів на 1000 організмів-хазяїв. В аспекті цього винаходу знижене паразитарне навантаження може складати менше 2 паразитів на 1000 організмів-хазяїв. В аспекті цього винаходу знижене паразитарне навантаження може складати менше 1 паразита на 1000 організмів-хазяїв.

Згідно з аспектами цього винаходу колонія організмів-хазяїв має початкове паразитарне навантаження до того, як забезпечується джерелом ефективної кількості нуклеїнової кислоти. В аспекті цього винаходу початкове паразитарне навантаження може складати менше 20 паразитів на 100 організмів-хазяїв. В аспекті цього винаходу початкове паразитарне навантаження може складати менше 15 паразитів на 100 організмів-хазяїв. В аспекті цього винаходу початкове паразитарне навантаження може нараховувати не менше 10 паразитів на

10 100 організмів-хазяїв. В аспекті цього винаходу початкове паразитарне навантаження може складати менше 5 паразитів на 100 організмів-хазяїв. В аспекті цього винаходу початкове паразитарне навантаження може становити менше 4 паразитів на 100 організмів-хазяїв. В аспекті цього винаходу початкове паразитарне навантаження може нараховувати менше 3 паразитів на 100 організмів-хазяїв. В аспекті цього винаходу початкове паразитарне навантаження може складати менше 2 паразитів на 100 організмів-хазяїв. В аспекті цього винаходу початкове паразитарне навантаження може складати менше 1 паразита на 100 організмів-хазяїв.

Згідно з аспектами цього винаходу ефективна кількість може вноситися періодично або безперервно. В аспекті цього винаходу ефективна кількість антипаразитарної, дезінсекційної або інсектицидної композиції нуклеїнової кислоти може бути внесено один раз, два рази або три рази на день. В інших аспектах цього винаходу ефективна кількість антипаразитарної, дезінсекційної або інсектицидної композиції нуклеїнової кислоти вноситься один раз на день. В іншому аспекті цього винаходу ефективна кількість антипаразитарної, дезінсекційної або інсектицидної композиції нуклеїнової кислоти вноситься один або кілька разів через день. В

25 аспекті цього винаходу ефективна кількість антипаразитарної, дезінсекційної або інсектицидної композиції нуклеїнової кислоти може бути внесено кожні два дні, кожні три дні або один раз на тиждень. В аспекті цього винаходу ефективна кількість антипаразитарної, дезінсекційної або інсектицидної композиції нуклеїнової кислоти може вноситися кожні два тижні. В аспекті цього винаходу ефективна кількість антипаразитарної, дезінсекційної або інсектицидної композиції нуклеїнової кислоти може вноситися кожні три тижні. В аспекті цього винаходу ефективна кількість антипаразитарної, дезінсекційної або інсектицидної композиції нуклеїнової кислоти може вноситися один раз в місяць. В аспекті цього винаходу ефективна кількість антипаразитарної, дезінсекційної або інсектицидної композиції нуклеїнової кислоти може вноситися кожні два місяці. В аспекті цього винаходу ефективна кількість композиції нуклеїнової

30 кислоти може вноситися безперервно в організм, який потребує, наприклад, забезпечуючи постійне джерело корму. В аспекті цього винаходу ефективна кількість композиції нуклеїнової кислоти може постійно вноситися в якості композиції, що поглинається бджолою. Згідно з аспектами цього винаходу паразит являє собою *Varroa destructor* і хазяїн являє собою медоносну бджолу *Apis mellifera*. Згідно з аспектами цього винаходу антипаразитарна, дезінсекційна або інсектицидна нуклеїнова кислота може бути длРНК.

Згідно з аспектами цього винаходу паразитарне навантаження може знизитися протягом певного періоду часу. В аспекті цього винаходу період часу необхідний для зниження паразитарного навантаження може становити 15 тижнів. В іншому аспекті цього винаходу період часу зниження паразитарного навантаження може становити 12 тижнів. В аспекті цього винаходу зниження паразитарного навантаження відбувається протягом 10 тижнів. В аспекті цього винаходу період часу необхідний для зниження паразитарного навантаження може становити 5 тижнів. В іншому аспекті цього винаходу період часу зниження паразитарного навантаження може становити 2 тижні. В аспекті цього винаходу зниження паразитарного навантаження відбувається протягом 1 тижня. В деяких аспектах цього винаходу паразитарне навантаження може знизитися після одного дня, двох або трьох днів.

50 55

Цей винахід пропонує способи зниження паразитизму в колонії медоносної бджоли, що включають забезпечення колонії бджіл ефективною кількістю антипаразитичної, дезінсекційної або інсектицидної композиції нуклеїнової кислоти. Ефективна кількість композиції за цим винаходом призводить до зниження паразитизму протягом певного періоду часу. В одному

60 аспекті цього винаходу зниження паразитизму може вимірюватися не пізніше одного дня після

внесення ефективної кількості антипаразитарної, дезінсекційної або інсектицидної композиції нуклеїнових кислот. В аспекті цього винаходу зниження паразитизму може бути виміряно після 2-х днів. В аспекті цього винаходу зниження паразитизму може бути виміряно після 3-х днів. В інших аспектах цього винаходу зниження паразитизму може бути виміряно після 5 днів або після одного тижня. Ще в одному аспекті цього винаходу зниження паразитизму може бути виміряно більш ніж один раз, наприклад, кожні 3 дні, кожні 5 днів, кожен тиждень або один раз на місяць. Згідно з деякими аспектами цього винаходу зниження паразитизму може бути виміряно та порівняно з необробленим контрольним організмом або колонією.

Згідно з аспектами цього винаходу зниження паразитизму після певного періоду часу означає зниження загальної чисельності паразитів. В аспекті цього винаходу кількість паразитів може знизитися на 10 %, 20 %, 30 % або більше між вимірюваннями. В іншому аспекті цього винаходу кількість паразитів може знизитися на 40 % або більше між вимірюваннями. В іншому аспекті цього винаходу кількість паразитів може знизитися на 50 % або більше між вимірюваннями. В іншому аспекті цього винаходу чисельність паразитів може знизитися на 60 % або більше між вимірюваннями. В іншому аспекті цього винаходу чисельність паразитів може знизитися на 70 % або більше між вимірюваннями. В іншому аспекті цього винаходу чисельність паразитів може знизитися на 80 % або більше між вимірюваннями. В іншому аспекті цього винаходу чисельність паразитів може знизитися на 90 % або більше між вимірюваннями.

В інших аспектах цього винаходу зниження паразитизму може бути виміряно як середнє число паразитів на організм хазяїна. В аспекті цього винаходу зниження паразитизму може складати менше 20 паразитів на 100 організмів-хазяїв. В аспекті цього винаходу зниження паразитизму може складати менше 15 паразитів на 100 організмів-хазяїв. В аспекті цього винаходу зниження паразитизму може складати менше 10 паразитів на 100 організмів-хазяїв. В аспекті цього винаходу зниження паразитизму може складати менше 5 паразитів на 100 організмів-хазяїв. В аспекті цього винаходу зниження паразитизму може складати менше 4 паразитів на 100 організмів-хазяїв. В аспекті цього винаходу зниження паразитизму може складати менше 3 паразитів на 100 організмів-хазяїв. В аспекті цього винаходу зниження паразитизму може складати менше 2 паразитів на 100 організмів-хазяїв. В аспекті цього винаходу зниження паразитизму може складати менше 1 паразита на 100 організмів-хазяїв.

Згідно з аспектами цього винаходу антипаразитарна, дезінсекційна або інсектицидна нуклеїнова кислота, яка призводить до зниження паразитизму, вноситься періодично або постійно. В аспекті цього винаходу ефективна кількість композиції нуклеїнової кислоти може бути внесена один раз, два рази або три рази на день. В інших аспектах цього винаходу ефективна кількість антипаразитарної, дезінсекційної або інсектицидної композиції нуклеїнової кислоти вноситься один раз на день. В іншому аспекті цього винаходу ефективна кількість антипаразитарної, дезінсекційної або інсектицидної композиції нуклеїнової кислоти вноситься один або кілька разів через день. В аспекті цього винаходу ефективна кількість антипаразитарної, дезінсекційної або інсектицидної композиції нуклеїнової кислоти вноситься кожні два дні, кожні три дні або один раз на тиждень. В аспекті цього винаходу ефективна кількість антипаразитарної, дезінсекційної або інсектицидної композиції нуклеїнової кислоти вноситься безперервно організм, що потребує, наприклад, забезпечуючи постійне джерело їжі. В одному аспекті цього винаходу ефективна кількість антипаразитарної, дезінсекційної або інсектицидної композиції нуклеїнової кислоти безперервно вноситься в якості композиції, що поглинається бджолою. Згідно з аспектами цього винаходу паразит являє собою *Varroa destructor* і хазяїн являє собою медоносну бджолу *Apis mellifera*. Згідно з аспектами цього винаходу антипаразитарна, дезінсекційна або інсектицидна нуклеїнова кислота може бути длРНК.

Згідно з аспектами цього винаходу паразитарне навантаження може знизитися протягом певного періоду часу. В аспекті цього винаходу період часу необхідний для зниження паразитизму може становити 15 тижнів. В іншому аспекті цього винаходу період часу зниження паразитизму може становити 12 тижнів. В аспекті цього винаходу зниження паразитизму відбувається протягом 10 тижнів. В аспекті цього винаходу період часу необхідний для зниження паразитизму може становити 5 тижнів. В іншому аспекті цього винаходу період часу зниження паразитизму може становити 2 тижні. В аспекті цього винаходу зниження паразитизму відбувається протягом 1 тижня. В деяких аспектах цього винаходу паразитизм може знизитися через один день, два дні чи три дні.

Згідно з деякими аспектами цього винаходу зниження паразитизму вимірюється за кількістю виживших паразитів у порівнянні з початковим вимірюванням кількості паразитів в колонії організмів-хазяїв. В аспекті цього винаходу паразит може бути кліщем *Varroa destructor* і хазяїн може бути медоносною бджолою *Apis mellifera*. В аспекті цього винаходу кількість виживших

паразитів може складати 25 % від початкової кількості паразитів. В аспекті цього винаходу кількість виживших паразитів може складати 15 % від початкової кількості паразитів. В аспекті цього винаходу кількість виживших паразитів може складати 10 % від початкової кількості паразитів. В аспекті цього винаходу кількість виживших паразитів може складати 5 % від початкової кількості паразитів. В аспекті цього винаходу кількість виживших паразитів може бути менше, ніж 5 % або можуть бути не виявлені після забезпечення колонії хазяїна ефективною кількістю антипаразитарної, дезінсекційної або інсектицидної композиції нуклеїнових кислот.

В одному аспекті цей винахід пропонує способи та композиції для зниження чутливості бджіл до інвазії кліща Варроа. В іншому аспекті цей винахід пропонує способи та композиції для запобігання зараження колонії бджіл. В інших аспектах цей винахід пропонує способи та композиції для зниження зараження медоносних бджіл кліщем *Varroa destructor*.

Згідно з аспектами цього винаходу організм-хазяїн, забезпечений джерелом антипаразитарної, дезінсекційної або інсектицидної нуклеїнової кислоти, може накопичувати нуклеїнову кислоту в тілі хазяїна, зазвичай в гемолімфі. Організми-хазяїва, що накопичують нуклеїнову кислоту, і стають стійкими, або менш чутливими до паразитів. В інших аспектах цього винаходу колонія організмів-хазяїв, яка забезпечена джерелом нуклеїнової кислоти, може накопичувати нуклеїнову кислоту в тілах багатьох членів колонії хазяїна, тим самим забезпечуючи стійкість або зниження чутливості до паразита. Нуклеїнова кислота, що міститься в організмі хазяїна, яка забезпечується джерелом нуклеїнової кислоти, може бути виявлена за допомогою способів відомих фахівцям у цій області техніки. Згідно з аспектами цього винаходу антипаразитарна, дезінсекційна або інсектицидна нуклеїнова кислота може бути длРНК.

В аспекті цей винахід пропонує способи та композиції для лікування інвазій кліща Вароа у бджіл шляхом регуляції в сторону зменшення кальмодуліну та кальмодулін-пов'язаних генних продуктів кліща Варроа. В аспекті цього винаходу композиція містить антипаразитарну, дезінсекційну або інсектицидну нуклеїнову кислоту, яка відповідає послідовності кальмодуліну *Varroa destructor* SEQ ID NO: 1. В аспекті цього винаходу композиція містить антипаразитарну, дезінсекційну або інсектицидну нуклеїнову кислоту, яка відповідає послідовності кальмодуліну *Varroa destructor* SEQ ID NO: 2. В аспекті цього винаходу композиція містить антипаразитарну, дезінсекційну або інсектицидну нуклеїнову кислоту, яка відповідає послідовності кальмодуліну *Varroa destructor* SEQ ID NO: 69. В аспекті цього винаходу композиція містить антипаразитарну, дезінсекційну або інсектицидну нуклеїнову кислоту, яка відповідає послідовності кальмодуліну *Varroa destructor* SEQ ID NO: 70. В деяких аспектах цього винаходу композиція містить антипаразитарну, дезінсекційну або інсектицидну нуклеїнову кислоту, яка відповідає послідовності кальмодуліну *Varroa destructor* SEQ ID NO: 71-87. В іншому аспекті цього винаходу композиція містить антипаразитарну, дезінсекційну або інсектицидну нуклеїнову кислоту, яка відповідає послідовності кальмодуліну *Varroa destructor* SEQ ID NO: 3, 4, 88 та 89. В аспекті цього винаходу композиції містять малу РНК, яка відповідає послідовності кальмодуліну *Varroa destructor* SEQ ID NO: 1. В аспекті цього винаходу композиції містять малу РНК, яка відповідає послідовності кальмодуліну *Varroa destructor* SEQ ID NO: 2. В аспекті цього винаходу композиції містять малу РНК, яка відповідає послідовності кальмодуліну *Varroa destructor* SEQ ID NO: 69. В аспекті цього винаходу композиції містять малу РНК, яка відповідає послідовності кальмодуліну *Varroa destructor* SEQ ID NO: 70. В деяких аспектах цього винаходу композиції містять малу РНК, яка відповідає послідовності кальмодуліну *Varroa destructor* SEQ ID NO: 71-87. В іншому аспекті цього винаходу композиції містять малу РНК, яка відповідає послідовності кальмодуліну *Varroa destructor* SEQ ID NO: 3, 4, 88 та 89. В аспекті цього винаходу композиції містять длРНК, яка відповідає послідовності кальмодуліну *Varroa destructor* SEQ ID NO: 1. В аспекті цього винаходу композиції містять длРНК, яка відповідає послідовності кальмодуліну *Varroa destructor* SEQ ID NO: 2. В аспекті цього винаходу композиції містять длРНК, яка відповідає послідовності кальмодуліну *Varroa destructor* SEQ ID NO: 69. В аспекті цього винаходу композиції містять длРНК, яка відповідає послідовності кальмодуліну *Varroa destructor* SEQ ID NO: 70. В деяких аспектах цього винаходу композиції містять длРНК, яка відповідає послідовності кальмодуліну *Varroa destructor* SEQ ID NO: 71-87. В іншому аспекті цього винаходу композиції містять міРНК, яка відповідає послідовності кальмодуліну *Varroa destructor* SEQ ID NO: 1. В аспекті цього винаходу композиції містять міРНК, яка відповідає послідовності кальмодуліну *Varroa destructor* SEQ ID NO: 2. В аспекті цього винаходу композиції містять міРНК, яка відповідає послідовності кальмодуліну *Varroa destructor* SEQ ID NO: 69. В аспекті цього винаходу композиції містять міРНК, яка відповідає послідовності кальмодуліну *Varroa destructor* SEQ ID NO: 70. В деяких аспектах цього винаходу композиції містять міРНК, яка відповідає послідовності кальмодуліну *Varroa destructor* SEQ ID NO: 71-87. В іншому аспекті

цього винаходу композиції містять міРНК, яка відповідає послідовності кальмодуліну *Varroa destructor* SEQ ID NO: 3, 4, 88 та 89. Згідно з аспектами цього винаходу композиція може містити антипаразитарну, дезінсекційну або інсектицидну нуклеїнову кислоту, яка відповідає області SEQ ID NO: 1 або 2. Згідно з іншими аспектами цього винаходу композиція може містити

антипаразитарну, дезінсекційну або інсектицидну нуклеїнову кислоту, яка відповідає області SEQ ID NO: 69 або 70. Згідно з ще іншими аспектами цього винаходу композиція може містити антипаразитарну, дезінсекційну або інсектицидну нуклеїнову кислоту, яка відповідає області послідовності, вибраної з SEQ ID NO: 3, 4, 88 та 89.

Кліщі Варроа паразитують на лялечках і дорослих бджолах і розмножуються в лялечках печатного розплоду. Кліщі використовують свої роти, щоб проколоти екзоскелет і харчуються гемолімфою бджоли. Автори цього винаходу несподівано виявили, що полінуклеотидні агенти, що вводяться бджолам для лікування заражень кліщами Варроа, що представлені в гемолімфі бджол, таким чином, стають доступними для кліща.

Автори цього винаходу показали, що фрагменти длРНК спрямовані на вплив на ген кальмодуліну можуть бути успішно перенесені кліщам Варроа (дивись, наприклад, фігуру 2), що длРНК може служити для пригнічення експресії генів кальмодуліну кліща Варроа (дивись, наприклад, фігуру 3А) і, крім того, спрямований вплив на ген кальмодуліну для пригнічення експресії може призвести до зменшення кількості кліщів Варроа (див., наприклад, фігура 3Б).

Таким чином, згідно з одним аспектом цього винаходу запропоновано спосіб профілактики або лікування інвазії кліща *Varroa destructor* у бджоли, причому вказаний спосіб включає введення бджолі ефективної кількості агента нуклеїнової кислоти, що містить послідовність нуклеїнової кислоти, яка пригнічує експресію гена кальмодуліну кліща *Varroa destructor*, тим самим попереджаючи або лікуючи інвазії кліщем *Varroa destructor* у бджоли.

Згідно з аспектами цього винаходу агенти цього винаходу використовуються для попередження кліща *Varroa destructor*, який живе як паразит на бджолі або її личинках.

Термін "кліщ *Varroa destructor*" відноситься до поверхневого паразитичного кліща, який нападає на медоносних бджіл *Apis cerana* та *Apis mellifera*. Кліщ може бути на імагінальній стадії, харчуючись бджолами, або на личинковій стадії, всередині чарунок стільників медоносної бджоли.

Як вже згадувалося, агенти цього винаходу здатні селективно пригнічувати експресію продукту гена кліща *Varroa destructor*. Як використовується в цьому описі, термін "генний продукт" відноситься до молекули РНК або білку. Згідно з одним аспектом цього винаходу генний продукт кліща *Varroa destructor* має важливе значення для життєздатності кліща. Зниження експресії такого генного продукту зазвичай призводить до загибелі кліща *Varroa*. Згідно з іншим аспектом цього винаходу кліщ *Varroa destructor* має важливе значення для розмноження кліща. Зниження експресії такого генного продукту зазвичай призводить до запобігання розмноження кліща Варроа та можливого знищення популяції кліщів. Згідно з ще одним аспектом цього винаходу генний продукт кліща *Varroa destructor* необхідний для розвитку хвороботворних симптомів у бджоли. В деяких аспектах цього винаходу генний продукт *Varroa destructor* представляє собою ген кальмодуліну. В деяких аспектах цього винаходу ген кальмодуліну може містити послідовність нуклеїнової кислоти у відповідності з SEQ ID NO: 1 або SEQ ID NO: 2. У деяких аспектах цього винаходу ген кальмодуліну може містити послідовність нуклеїнової кислоти у відповідності з SEQ ID NO: 69 або SEQ ID NO: 70.

Приклади продуктів генів, експресія яких можуть бути пригнічена згідно з цим аспектом цього винаходу включають, не обмежуючись цим, ген кальмодуліну.

Згідно з аспектом цього винаходу агенти здатні пригнічувати експресію генного продукту кліща *Varroa destructor* або іншого паразита, можуть меншою мірою пригнічувати експресію генного продукту у інших тварин, таких як бджоли або інші нецільові організми. Відповідно, деякі агенти з цим винаходом здатні розрізняти ген кліща та ген бджоли, пригнічуючи більшою мірою перший, ніж останній. У деяких аспектах деякі агенти за цим винаходом здатні розрізнити ген-мішені в організмі-мішені й ортологи у нецільових організмів, пригнічуючи більшою мірою перший, ніж останній. В інших аспектах цього винаходу ген-мішень паразита пригнічується, в той час як гомологічний ген хазяїна - ні. У ще одному аспекті цього винаходу ген-мішень паразита не має гомолога у хазяїна. Згідно з іншим аспектом агенти за цим винаходом взагалі не пригнічують ген бджоли. Наприклад, це може бути здійснено шляхом орієнтації гена, який експресується по-різному у кліща та бджоли, наприклад, ген натрієвого каналу кліща FJ216963. В альтернативному варіанті агенти цього винаходу можуть бути спрямовані на конкретні послідовності гена кліща, який експресується як у кліща, так і у бджоли.

Згідно з аспектом цього винаходу агенти цільових сегментів генів Варроа завдовжки щонайменше 100 основ і які не несуть ніякої послідовності більш, ніж 19 основ, які повністю є

гомологічними будь-якій послідовності геному бджоли або послідовності людського геному. В цей же час слід розуміти, що більш ніж один ген може бути спрямований на мішень для максимального цитотоксичного ефекту у кліщів Varroa, композиції, які містять одну або кілька малих РНК, збільшують ймовірність того, що селективна інсектицидна композиція у вигляді

5 перехресної специфічності з іншими комахами може бути знижена.

Згідно з одним аспектом длРНК композиції може бути приготовлена аналогічною гену кальмодуліну-1 та кальмодуліну-2 *Varroa destructor* (наприклад, з використанням агентів нуклеїнових кислот, що мають послідовність, яка представлена в SEQ ID NO: від 1 до 4 і від 69 до 89, їх комплементів або нуклеїнових кислот, спрямованих на їх області).

10 Слід взяти до уваги, що в якості пригнічення експресії ряду генів цей винахід також пропонує та включає використання ряду агентів для пригнічення експресії того ж гена (наприклад, кількість нуклеїнових кислот або длРНК кожна з яких гібридує інший сегмент того ж гена). Наприклад, в аспекті цього винаходу комбінація однієї або декількох нуклеїнових кислот, яка відповідає послідовності, вибраної з групи, що складається з SEQ ID NO: від 1 до 4, 6, 23, від 26

15 до 35 і від 69 до 89 можуть бути використані для збільшення цитотоксичних і антипаразитарних ефектів композиції. Інструменти, які можуть ідентифікувати видоспецифічні послідовності, використовують для цієї мети, наприклад BLASTN та інші подібні комп'ютерні програми. Публікація патенту США № 20090118214 і 20120108497 пропонує використання длРНК для профілактики та лікування вірусних інфекцій медоносних бджіл. Публікація патенту США №

20 20120258646 пропонує використання длРНК для контролю *Varroa destructor* у медоносної бджоли. Кожна публікація включена в цей документ у повному обсязі.

Цей винахід пропонує та включає композиції та способи пригнічення експресії гена в організмі-мішені. В аспекті цього винаходу організм-мішень може бути паразитом. В деяких аспектах цього винаходу паразит може бути *Varroa destructor*. Як використовується в цьому документі термін "пригнічення експресії" належить до причини, прямо або опосередковано,

25 знижуючи транскрипцію цільового гена, знижуючи кількість, стабільність або переносимість продуктів транскрипції (наприклад, РНК) гена, та/або зниження трансляції поліпептида(ів), що кодуються цільовим геном. Пригнічення експресії генних продуктів кліща *Varroa destructor* можна контролювати, наприклад, шляхом прямого виявлення генних транскриптів (наприклад,

30 за допомогою ПЛР), шляхом виявлення поліпептиду (ів), що кодується геном, або РНК патогена бджоли (наприклад, за допомогою вестерн-блота або імунопреципітації), шляхом виявлення біологічної активності поліпептидів, що кодується геном (наприклад, каталітичної активності, зв'язування ліганду і тому подібним), або шляхом моніторингу змін у кліща *Varroa destructor* (наприклад, зниження розповсюдження кліщів, зниження вірулентності кліща, зниження

35 рухливості кліща і т. д.) і тестуванням інфекційності/патогенності у бджіл.

Пригнічення генного продукту шкідника або паразита може бути здійснено на рівні транскрипту або геному з використанням різних агентів, які перешкоджають транскрипції та/або трансляції (наприклад, агенти РНК-сайленсинга, рибозим, ДНКзим і антисмислові молекули нуклеїнових кислот). Пригнічення генного продукту шкідника або паразита може бути здійснено

40 на рівні транскрипту або геному з використанням різних агентів, які перешкоджають транскрипції та/або трансляції (наприклад, агенти РНК-сайленсинга, рибозим, ДНКзим і антисмислові молекули нуклеїнових кислот).

Згідно з одним аспектом цього винаходу агент, який знижує експресію генного продукту шкідника або паразита, являє собою малу РНК, таку як агент РНК-сайленсинга. Згідно з цим

45 аспектом цього винаходу мала РНК більше 15 пар основ у довжину. В іншому аспекті цього винаходу мала РНК більше 50 пар основ у довжину. В аспекті цього винаходу мала РНК більше 50 пар основ в довжину, але менш ніж близько 500 пар основ. В аспекті цього винаходу мала РНК більше 100 пар основ в довжину, але менш ніж близько 500 пар основ. В аспекті винаходу мала РНК понад 200 пар основ у довжину, але менш ніж близько 500 пар основ. В аспекті цього

50 винаходу організм-хазяїн являє собою бджолу і паразит являє собою кліща *Varroa destructor*.

Інший спосіб пригнічення експресії генного продукту шкідника або паразита являє собою введення малих інтерферуючих РНК (міРНК). Інший спосіб пригнічення експресії генного продукту Варроа являє собою введення малих інтерферуючих РНК (міРНК).

В одному з аспектів цього винаходу синтез агентів РНК-сайленсинга придатних для

55 використання в цьому винаході можуть впливати наступним чином. По-перше, мішень мРНК шкідника або паразита сканується в прямому напрямку від стартового кодона AUG до динуклеотидної послідовності AA. Зустрічальність кожного AA і 3'-прилеглих 19 нуклеотидів, записується в якості потенційних мішеней областей міРНК. Переважно, цільові області міРНК вибирають з відкритої рамки зчитування, так як нетрансльовані області (НТО) багатше областей

60 зв'язування з регуляторним білком. НТО-зв'язуючі білки та/або комплекси ініціації трансляції

можуть перешкоджати зв'язуванню комплексу ендонуклеази та міРНК (Tuschl ChemBiochem. 2:239–245). Слід розуміти, однак, що міРНК, які спрямовані на нетрансльовані області, також можуть бути ефективними, як показано для GAPDH, при цьому міРНК, які спрямовані на опосередковані 5'-НТО, зменшили клітинну мРНК GAPDH на близько 90 % і повністю усунули

вміст білка (доступний в інтернеті за адресою www.ambion.com/techlib/tn/91/912.html). По-друге, потенційні цільові області порівнювали з відповідною геномною базою даних (наприклад, людини, бджоли, данаїди монарха, миші, щура тощо) за допомогою будь-якого програмного забезпечення вирівнювання послідовностей, такого як програмне забезпечення BLAST, доступне з сервера NCBI (доступне в інтернеті за адресою www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/). Передбачувані сайти-мішені, які володіють значною гомологією з іншими кодуєчими послідовностями, відфільтровували.

Відповідні вимогам цільові послідовності вибрані в якості матриці для синтезу міРНК. Бажані послідовності представляють собою послідовності, в тому числі з низьким вмістом G/C, оскільки вони виявилися більш ефективними в опосередкуванні генів сайленсинга порівняно з тими, де вміст G/C вище 55 %. Для оцінки декілька цільових областей бажано вибирають по довжині гена-мішені або послідовності. Для кращої оцінки вибраних міРНК негативний контроль використовують бажано в комбінації.

Негативний контроль міРНК переважно містить один і той же нуклеотидний склад як і міРНК, але не має значної гомології з геномом. Таким чином, бажано використовують скрембловану нуклеотидну послідовність міРНК, за умови, що вона не показує будь-якої значної гомології з будь-яким іншим геном послідовності-мішені або шкідника, або паразита. Приклад скрембленої нуклеотидної послідовності наводиться в SEQ ID NO: 5.

Наприклад, для міРНК, які можуть бути використані у цьому аспекті цього винаходу, метою є кліщ-специфічний ген кальмодуліну. Приклади міРНК представлені в SEQ ID NO: 3, 4, 88 та 89.

Слід взяти до уваги, що агенти РНК-сайленсинга за цим винаходом не обмежені молекулами, що містять тільки РНК, але додатково містять хімічно модифіковані нуклеотиди та "ненуклеотиди".

У деяких аспектах цього винаходу агент РНК-сайленсинга, запропонований в цьому документі, може бути функціонально пов'язаний з проникаючим пептидом. Як використовується в цьому документі термін "проникаючий пептид" являє собою пептид, який включає коротку (близько 12-ти залишків) амінокислотну послідовність або функціональний мотив, який надає енергонезалежні властивості транслокації (наприклад, не ендоцитоз), пов'язані з транспортом мембранно-проникаючого комплексу через плазму та/або ядерні мембрани клітини. Проникаючий в клітину пептид, використовуваний в мембранно-проникаючому комплексі за цим винаходом, бажано містить щонайменше один нефункціональний залишок цистеїну, який є вільним або дериватизованим, для формування зв'язку дисульфідів з дволанцюговою рибонуклеїновою кислотою, яка була модифікована для такого зв'язку. Характерні амінокислотні мотиви, що надають такі властивості, перераховані в патенті США № 6348185, зміст якого включено в цей документ за допомогою посилання. Проникаючі пептиди за цим винаходом переважно включають, не обмежуючись цим, пенетратин, транспортан plsl, TAT (48-60), pVEC, MTC і MAP.

Інший агент, здатний знижувати кількість генного продукту шкідника або паразита, являє собою молекулу ДНКзима здатну специфічно розщеплювати транскрипт мРНК або ДНК-послідовність поліпептиду патогена бджоли. Днкзими являють собою одностанцюгові полінуклеотиди, які здатні розщеплювати як поодинокі, так і дволанцюгові послідовності-мішені (Breaker, R. R. и Joyce, G. Chemistry and Biology 1995;2:655; Santoro, S.W. & Joyce, G.F. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1997;94:4262). Була запропонована загальна модель (модель "10–23") для ДНКзима. ДНКзим "10–23" має каталітичний домен з 15 дезоксирибонуклеотидів, з боків два домени, що розпізнають субстрат, по сім-дев'ять дезоксирибонуклеотидів кожен. Цей тип ДНКзима може ефективно розщеплювати субстрат РНК на пуринові: піримідинові переходи (Santoro, S. W. & Joyce, G. F. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1999; для огляду ДНКзимів дивись Khachigian, LM, Curr Opin Mol Ther 4:119–21 (2002)). В аспекті цього винаходу генний продукт шкідника або паразита може бути генним продуктом кліща Варроа. Зниження кількості генних продуктів шкідника або паразита може бути також здійснено з використанням антисмислового полінуклеотида здатного до специфічної гібридизації транскриптом мРНК, кодуєчим генний продукт шкідника або паразита. Структура антисмислової молекули, яка може бути використана для ефективного зниження кількості генного продукту шкідника або паразита, може бути здійснена при розгляді двох аспектів важливих для антисмислового підходу. Перший аспект являє собою доставку олігонуклеотида у цитоплазму відповідних клітин, в той час як другий аспект являє собою структуру олігонуклеотида, який специфічно зв'язується з означеною мРНК

або послідовністю РНК-мішені в клітинах таким чином, що перешкоджає їх трансляції. В аспекті цього винаходу генний продукт шкідника або паразита може бути генним продуктом кліща Варроа. В іншому аспекті цього винаходу генний продукт шкідника або паразита може бути продуктом гена кальмодуліну.

5 Існує кілька методів доставки, які можуть бути використані для ефективної доставки олігонуклеотидів найрізноманітнішим типам клітин (див., наприклад, Luft, J Mol Med 76: 75–6 (1998); Kronenwett et al. Blood 91: 852–62 (1998); Rajur et al. Bioconjug Chem 8: 935–40 (1997); Lavigne et al. Biochem Biophys Res Commun 237: 566–71 (1997) and Aoki et al. (1997) Biochem Biophys Res Commun 231: 540–5 (1997)).

10 Крім того, також доступні алгоритми для визначення тих послідовностей з високою прогнозованою афінністю зв'язування з їх мРНК-мішенями на підставі термодинамічного циклу, який враховує енергетику структурних змін в обох мРНК-мішенях та олігонуклеотиді (див., наприклад, Walton et al. Biotechnol Bioeng 65: 1–9 (1999)). Такі алгоритми були успішно використані для реалізації антисмислового підходу в клітинах. Наприклад, алгоритм, розроблений Walton та ін. дозволили вченим успішно розробляти антисмислові олігонуклеотиди для транскриптів бета-глобіну кролика (RBG) і фактора некрозу пухлин-альфа миші (TNF-альфа). Та ж дослідницька група нещодавно повідомила про те, що антисмислова активність раціонально відібраних олігонуклеотидів проти трьох модельних мРНК мішеней (людська лактатдегідрогеназа А та В та GP1 щура) в культурі клітин, яку оцінювали за допомогою методу ПЛР в реальному часі, довели свою ефективність майже у всіх випадках, включаючи тести проти трьох різних цілей в двох типах клітин з фосфодіефірними та тіофосфатними олігонуклеотидними структурами. Крім того, також були опубліковані кілька підходів до розробки та прогнозування ефективності специфічних олігонуклеотидів з використанням систем *in vitro* (Matveeva et al., Nature Biotechnology 16: 1374–1375 (1998)).

25 Інший агент, здатний знижувати кількість генного продукту шкідника або паразита являє собою молекулу рибозима здатну специфічно розщеплювати транскрипт мРНК, що кодує продукт гена кліща Варроа. Рибозими все частіше використовуються для сіквенс-специфічного інгібування експресії гена шляхом розщеплення мРНК, які кодують білки, що представляють інтерес (Welch et al., Curr Opin Biotechnol. 9:486–96 (1998)). Можливість конструювання рибозимів, що розщеплюють будь-яку специфічну РНК-мішень, в тому числі вірусну РНК, надає цінні інструменти, як в області фундаментальних досліджень, так і у застосуванні в терапевтичних цілях. В аспекті цього винаходу генний продукт шкідника або паразита може бути генним продуктом кліща Варроа. В іншому аспекті цього винаходу генний продукт шкідника або паразита може бути продуктом гена кальмодуліну.

35 Додатковий спосіб пригнічення експресії продукту гена шкідника або паразита в клітинах являє собою утворення триплексу олігонуклеотидів (TFO). Недавні дослідження показали, що сконструйовані TFO можуть розпізнавати та зв'язуватися з поліпуриновими/поліпіримідиновими областями спіральної дволанцюгової ДНК сіквенс-специфічним способом. Ці правила розпізнавання викладено Maher III, L. J., et al., Science (1989) 245:725–7; Moser, H. E., et al., Science, (1987) 238:645–6; Beal, P. A., et al., Science (1992) 251:1360–1363; Cooney, M., et al., Science (1988) 241:456–459; and Hogan, M. E., et al., EP Publication 375408. Модифікація олігонуклеотидів, така як введення інтеркаляторів і замін в послідовності, та оптимізація умов зв'язування (рН і концентрація катіонів) допомогли в подоланні перешкод властивих для активності TFO, такі як сила відштовхування зарядів і нестабільність, і нещодавно було показано, що синтетичні олігонуклеотиди можуть бути спрямовані на конкретні послідовності (останній огляд, див., Seidman and Glazer, J Clin Invest 2003;112:487–94). В аспекті цього винаходу генний продукт шкідника або паразита може бути генним продуктом кліща Варроа. В іншому аспекті цього винаходу генний продукт шкідника або паразита може бути продуктом гена кальмодуліну.

50 Загалом, триплекс-утворюючі олігонуклеотиди мають відповідну послідовність:

oligo	3'--A	G	G	T
duplex	5'--A	G	C	T
duplex	3'--T	C	G	A

Однак, було показано, що триплекси A-AT і G-GC мають найбільшу потрібну спіральну стійкість (Reither and Jeltsch, BMC Biochem, 2002, Sept12, Epub). Ті ж автори показали, що TFO сконструйовані згідно з правилом A-AT і G-GC не утворюють неспецифічні триплекси, вказуючи на те, що утворений триплекс дійсно є сіквенс-специфічним.

55 Триплекс-утворюючі олігонуклеотиди бажано щонайменше 15, більш бажано 25 або ще більш бажано більше нуклеотидів у довжину, аж до 50 або 100 пар основ.

Трансфекція клітин (наприклад, через катіонні ліпосоми) з TFO і формування потрійної спіральної структури ДНК-мішенню індукуює стеричні та функціональні зміни, блокування ініціації транскрипції та відносно подовження, що дозволяє впроваджувати бажані зміни послідовності в ендогенної ДНК і призводить до специфічного пригнічення експресії генів.

5 Детальний опис конструювання, синтезу та введення ефективних TFO можна знайти в Публікації патенту США № 2003/017068 і 2003/0096980 Froehler et al., та 2002/0128218 та 2002/0123476 Emanuele et al., і патенту США № 5,721,138 Lawn.

10 Полінуклеотидні агенти знижуючого регулювання цього винаходу можуть бути отримані відповідно до будь-якого способу синтезу полінуклеотидів, відомим в цій області техніки, таким як ферментативний синтез або твердофазний синтез. Обладнання та реагенти для виконання твердофазного синтезу є у продажу, наприклад, у Applied Biosystems. Також можуть бути використані будь-які інші засоби для такого синтезу; цей синтез полінуклеотидів в межах

15 можливостей фахівця в цій області техніки і може бути виконаний за допомогою встановлених методик, як докладно викладено, наприклад, в "Molecular Cloning: A laboratory Manual" Sambrook et al., (1989); "Current Protocols in Molecular Biology" Volumes I-III Ausubel, R. M., ed. (1994); Ausubel et al., "Current Protocols in Molecular Biology", John Wiley and Sons, Baltimore, Maryland (1989); Perbal, "A Practical Guide to Molecular Cloning", John Wiley & Sons, New York (1988) and "Oligonucleotide Synthesis" Gait, M. J., ed. (1984) з використанням твердофазної хімічної

20 структури, наприклад, цианоетіламідифосфітом з подальшим зняттям захисту, знесолюванням і очищенням за допомогою, наприклад, автоматизованого способу без зняття трітільної групи або ВЕРХ.

Полінуклеотидні агенти цього винаходу можуть містити гетероциклічні нуклеозиди, що складаються з основ пурину та піримідину, пов'язаних 3' - 5' фосфодіефірним зв'язком. Бажано використовують полінуклеотидні агенти з модифікованими послідовностями, та

25 міжнуклеотидними зв'язками або основами, як в загальних рисах описано нижче.

Конкретні приклади полінуклеотидних агентів, що використовуються згідно з цим аспектом цього винаходу включають полінуклеотидні агенти, що містять модифіковані скелети або штучні міжнуклеотидні зв'язки. Полінуклеотидні агенти, які мають модифіковані скелети, містять ті, які зберігають атом фосфору в послідовності, як описано в патентах США №№ 4469863; 4476301;

30 5023243; 5177196; 5188897; 5264423; 5276019; 5278302; 5286717; 5321131; 5399676; 5405939; 5453496; 5455233; 5466677; 5476925; 5519126; 5536821; 5541306; 5550111; 5563253; 5571799; 5587361; і 5625050.

Модифіковані полінуклеотидні ланцюги містять, наприклад, тіофосфати, хіральні тіофосфати, дітіофосфати, фосфотриєфіри, аміноалкілфосфотриєфіри, метил- та інші алкіл фосфонати, включаючи 3'-алкілен фосфонати та хіральні фосфонати, фосфінати, фосфороамідати, включаючи 3'-амінофосфороамідат і аміноалкілфосфороамідати, тіофосфороамідати, тіоноалкілфосфонати, тіоноалкілфосфотриєфіри та боронофосфати, що

35 мають нормальні 3'-5' зв'язки, 2'-5' пов'язані аналоги цих, і тих, які мають обернену полярність, де суміжні пари нуклеозидних одиниць пов'язані 3'-5' 'к 5'-3', чи 2'-5 к '5'-2'. Також можуть бути використані різні солі, змішані солі та вільні кислоти.

40

В якості альтернативи, модифіковані полінуклеотидні ланцюги, які не містять атом фосфору, мають скелети, які утворені коротким алкільним ланцюгом або циклоалкільними міжнуклеотидними зв'язками, змішаним гетероатомом і алкіл або циклоалкіл міжнуклеотидними зв'язками, або однією чи більш коротким ланцюгом гетероатомним або гетероциклічним

45 міжнуклеотидним зв'язком. В їх число входять ті, які мають зв'язки морфоліно (утворені частково з цукрової частини нуклеозиду); силосанові скелети; сульфіді, сульфоксиди та сульфононі скелети; скелети формацетильні та тіоформацетильні; метиленформацетильні та тіоформацетильні скелети; ланцюги, що містять алкени; сульфаматні скелети; метіленімінові- і метіленгідразінові скелети; сульфонатні та сульфонамідні скелети; амідні скелети; та інші змішані N, O, S і CH₂ складові частини, як описано в патенті США №№ 5034506; 5166315;

50 5,185444; 5216141; 5235033; 5264562; 5264564; 5405938; 5470967; 5489677; 5541307; 5561225; 5596086; 5602240; 5602240; 5608046; 5610289; 5618704; 5623070; 5663312; 5214134; 5466677; 5610289; 5633360; 5677437 і 5677439.

Інші полінуклеотидні агенти, які можуть бути використані згідно з цим винаходом, модифіковані в цукрі, так і в міжнуклеотидному зв'язку, наприклад, послідовність нуклеотидних

55 одиниць замінюється новими групами. Основи зберігають комплементарність відповідним цільовим полінуклеотидам. Прикладом такого полінуклеотидного міметика є пептидо-нуклеїнова кислота (ПНК). Полінуклеотид ПНК відноситься до полінуклеотиду, де цукровий скелет замінений аміда, що містить скелет, зокрема, скелет аміноетилгліцину. Основи, що

60 утримуються і пов'язані безпосередньо або опосередковано з аза атомами азоту амідної

частини скелета. Патенти США, які описують одержання сполук ПНК містять, не обмежуючись цим, патенти США №№ 5539082; 5714331; і 5719262, кожен з яких включений в цей документ за допомогою посилання. Інші модифікації скелета, які можуть бути використані у цьому винаході, описані в патенті США № 6303374.

Полінуклеотидні агенти цього винаходу можуть також включати модифікації основ або заміни. Як використовується в цьому документі термін "модифіковані" або "природні" основи містять пуринові основи аденін (A) і гуанін (G), та піримідинові основи тимін (T), цитозин (C) та урацил (U). Модифіковані основи містять, не обмежуючись цим, інші синтетичні та природні основи, такі як 5-метилцитозин (5-Mo-C), 5-гідроксиметилцитозин, ксантин, гіпоксантин, 2-аміноаденін, 6-метил та інші алкілові похідні аденіну та гуаніна, 2-пропіл й інші алкілові похідні аденіну та гуаніну, 2-тіоурацил, 2-тіотимін і 2-тіоцитозин, 5-галоген урацил і цитозин, 5-пропінілурацил і цитозин, 6-азоурацил, цитозин і тимін, 5-урацил (псевдоурацил), 4-тіоурацил, 8-галоген, 8-аміно, 8-тіол, 8-тіоалкіл, 8-гідроксил і інші 8-заміщені аденіну і гуаніну, 5-галоген зокрема, 5-бром, 5-трифторметил і інші 5-заміщені урацилу і цитозину, 7-метилгуанін і 7-метиладенін, 8-азагуанін і 8-азааденін, 7-деазагуанін і 7-деазааденін і 3-деазагуанін і 3-деазааденін. Додаткові основи містять ті, що описані в патенті США № 3687808, які описані в The Concise Encyclopedia Of Polymer Science And Engineering, pages 858–859, Kroschwitz, J. I., ed. John Wiley & Sons, 1990, які описані Englisch et al., Angewandte Chemie, International Edition, 1991, , 613, та які описані Sanghvi, Y. S., Chapter 15, Antisense Research and Applications, pages 289–2, Crooke, S. T. and Lebleu, B., ed., CRC Press, 1993. Такі основи є особливо корисними для збільшення афінності зв'язування олігомерних сполук цього винаходу. В їх число входять 5-заміщені піримідини, 6-азапіримідини та N-2 N-6 та O-6 заміщені пурини, в тому числі 2-амінопропіладенін, 5-пропінілурацил і 5-пропінілцитозин. Було показано, що заміни 5-метилцитозином збільшують стабільність нуклеїнової кислоти на 0,6–1,2 °C. (Sanghvi YS et al. (1993) Antisense Research and Applications, CRC Press, Boca Raton 276–278) і в цей час заміни основ є бажаними, ще більш конкретно в поєднанні з 2'-O-метоксіетил модифікованим цукром.

Полінуклеотидні агенти цього винаходу можуть також включати модифікації основ або заміни. Наприклад, полінуклеотиди можуть бути очищені із суміші шляхом екстракції розчинником або смолою, осадженням, електрофорезом, хроматографією або їх комбінаціями. В якості альтернативи полінуклеотиди можуть бути використані без будь-якого очищення, або з мінімальним очищенням, щоб уникнути втрат у результаті обробки зразків. Полінуклеотиди можуть бути висушені для зберігання або розчинені у водному розчині. Розчин може містити буфери та солі для підтримки відпалу, та/або стабілізації подвійної нитки.

Слід взяти до уваги, що полінуклеотидний агент за цим винаходом може бути забезпечений сам по собі або у вигляді конструктора нуклеїнової кислоти, що містить послідовність нуклеїнової кислоти, яка кодує полінуклеотидний агент. Як правило, конструктор нуклеїнової кислоти містить промоторну послідовність, яка є функціональною у клітині-хазяїні, як детально описано в цьому документі нижче.

Полінуклеотидні послідовності згідно з цим винаходом знаходяться під контролем функціонально пов'язаної послідовності промотору, можуть бути додатково фланковані додатковими послідовностями, які переважно впливають на їх транскрипцію та/або стабільність результуючого транскрипту. Такі послідовності зазвичай розташовані проти ходу транскрипції від промотору та/або по ходу від 3'-кінця конструктора експресії.

Термін "функціонально зв'язаний", як він використовується у якості посилання з регуляторною послідовністю та структурною нуклеотидною послідовністю, означає, що регуляторна послідовність викликає регульовану експресію пов'язаної структурної нуклеотидної послідовності. "Регуляторні послідовності" або "регуляторні елементи" відносяться до нуклеотидних послідовностей, розташованих вище, в межах або нижче структурної нуклеотидної послідовності, і які впливають на час і рівень або обсяг транскрипції, процесингу або стабільність РНК, або трансляцію відповідної структурної нуклеотидної послідовності. Регуляторні послідовності можуть містити промотори, лідерну послідовність трансляції, інтрони, енхансери, структуру "петля-на-стеблі", репресор-зв'язуючі послідовності, послідовності термінації, нечитабельні послідовності та послідовності розпізнавання поліаденілювання тощо.

Слід взяти до уваги, що агенти нуклеїнових кислот можуть бути доставлені до шкідника або паразита у великій різноманітності шляхів. Згідно з одним аспектом цього винаходу агенти нуклеїнових кислот доставляються безпосередньо до шкідника або паразита (наприклад, шляхом розпилення над вуликом, зараженим кліщем). Агенти нуклеїнових кислот або конструктори, що кодують теж саме можуть проникати в тіла кліщів шляхом дифузії. У цьому аспекті цього винаходу промотор полінуклеотида конструктора, як правило, діє в клітинах кліща. В аспекті цього винаходу шкідник або паразит являє собою кліща Varroa destructor

Слід взяти до уваги, що, оскільки чимало паразитів використовують свої роти для проколювання екзоскелету членистоногого хазяїна і харчуються гемолімфою членистоногих, цей винахід пропонує доставку полінуклеотидних агентів за цим винаходом до членистоногих, в результаті чого полінуклеотидні агенти виявляються в гемолімфі членистоногих, таким чином, стають доступними для шкідника або паразита. Таким чином, згідно з іншим аспектом цього винаходу агенти нуклеїнових кислот непрямо доставляються до шкідника або паразита (наприклад, до кліща через хазяїна, бджолу). В цьому аспекті цього винаходу промотор полінуклеотида конструкту, як правило, діє в клітинах кліща. В деяких аспектах цього винаходу шкідник або паразит може бути *Varroa destructor* і членистоногий хазяїн може бути бджолою.

Згідно з одним із аспектів цього винаходу агенти нуклеїнової кислоти доставляються інфікованим хазяїнам шляхом розпилення. Агенти нуклеїнових кислот або конструкти, що кодують теж саме можуть проникати в тіла кліщів шляхом дифузії. В деяких аспектах цього винаходу шкідник або паразит може бути *Varroa destructor* і членистоногий хазяїн може бути бджолою.

Згідно з іншим аспектом цього винаходу агенти нуклеїнової кислоти надходять в харчування хазяїну. Автори цього винаходу вважають, що після вживання в їжу агентів нуклеїнових кислот за цим винаходом, агенти можуть бути виявлені, наприклад, в членистоногому хазяїні в гемолімфі хазяїна, в результаті чого вони стають доступними для паразита, наприклад, кліща *Varroa*.

Таким чином, полінуклеотиди за цим винаходом можуть бути синтезовані *in vitro* або *in vivo*, наприклад, в бактеріальній або дріжджовій клітині, і додані в їжу. Наприклад, дволанцюгова РНК може бути синтезована шляхом додавання протилежно орієнтованих промоторів (наприклад, T7 промотори) на кінцях сегментів гена, в якому промотор поміщений безпосередньо до 5' гена та промотору, який поміщений безпосередньо в положення 3' до генного сегменту у протилежній орієнтації. ДлРНК може бути отримана транскрибуванням *in vitro* з використанням T7 РНК-полімерази.

Приклади послідовностей для синтезу нуклеїнових кислот, в тому числі міРНК, згідно з аспектами цього винаходу представлені в SEQ ID NO: від 1 до 4, 6, 23, від 26 до 35 і від 69 до 89.

Слід взяти до уваги, що деякі шкідливі організми або паразити є причиною ран в екзоскелеті членистоногого хазяїна. Такі ранові ділянки є місцем скупчення бактеріальних інфекцій. Наприклад, ранові ділянки бджоли-хазяїна можуть бути місцем скупчення таких бактерій як *Melissococcus pluton*, які викликають гнилець відкритого розплоду. Крім того, до їх паразитарних ефектів, паразити, як відомо, виступають в якості векторів для ряду інших патогенних мікроорганізмів та паразитів. Наприклад, кліщ *Varroa* підозрюється в якості векторів для ряду бджолиних патогенів, включаючи вірус деформації крила (DWV), Кашмір-вірус (KBV), вірус гострого паралічу бджіл (ABPV) і вірус чорних маточників (BQCV), і можуть послабити імунну систему своїх власників, роблячи їх вразливими до інфекцій.

Таким чином, вбиваючи шкідника або паразита (або запобігаючи їх розмноження), антипаразитарні, дезінсекційні або інсектицидні агенти цього винаходу можуть бути використані для профілактики та/або лікування бактеріальних інфекцій організмів-хазяїв. Наприклад, *Melissococcus pluton* і вірусні інфекції у бджіл-хазяїв, викликані вищеназваними вірусами. Оскільки інвазії кліща *Varroa* та вірусні інфекції, як вважається, відповідальні за синдром руйнування (бджолиних) сімей (СРК), то ці агенти також можуть бути використані для запобігання або зменшення чутливості бджіл колонії до СРК.

Слід взяти до уваги, що крім вигодовування антипаразитарними, дезінсекційними або інсектицидними агентами нуклеїнових кислот для зниження збудників інфекцій та інвазій бджіл, дотримання належних санітарних умов (наприклад, відмова від повторного використання інвазованих вуликів) може посилити ефективність лікування та профілактики інфекцій.

Також цей винахід включає та пропонує трансгенні бактеріальні та дріжджові клітини, які експресують селективний інсектицид. В одному з аспектів цього винаходу нуклеїнова кислота, що кодує малу РНК, длРНК, мікроРНК, або малу РНК або молекулу нуклеїнової кислоти стійку до мікроРНК-мішені, що використовується у цьому документі, функціонально пов'язана з промотором і необов'язково з термінатором. В деяких варіантах реалізації винаходу трансгенні бактеріальні та дріжджові клітини вбивають, наприклад, шляхом нагрівання або тиску. В деяких варіантах реалізації винаходу трансгенні бактеріальні та дріжджові клітини лізують для забезпечення селективним інсектицидом організму-мішені. В деяких варіантах реалізації винаходу трансгенні бактеріальні та дріжджові клітини не лізують.

Згідно з одним із аспектів цього винаходу екзогенна молекула нуклеїнової кислоти, яка використовується в цьому документі, або кодує малу РНК, або в певному аспекті міРНК, яка

може модулювати експресію гена в організмі-мішені. В аспекті цього винаходу екзогенна нуклеїнова кислота кодує малу РНК, яка має щонайменше 80 %, 85 %, 88 %, 90 %, 92 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % ідентичності послідовності з послідовністю вибраної із групи, що складається з SEQ ID NO: 1–4 і 6–89. У додатковому аспекті цього винаходу екзогенна молекула нуклеїнової кислоти, яка використовується в цьому документі, або кодує молекулу длРНК. В іншому аспекті цього винаходу екзогенна молекула нуклеїнової кислоти, яка використовується в цьому документі, або кодує штучну мікроРНК. У додатковому аспекті цього винаходу екзогенна молекула нуклеїнової кислоти, яка використовується в цьому документі, або кодує міРНК. В одному з аспектів цього винаходу екзогенна молекула нуклеїнової кислоти, яка використовується в цьому документі, або кодує попередника малої РНК. В іншому аспекті цього винаходу екзогенна молекула нуклеїнової кислоти, яка використовується в цьому документі, або кодує попередника мікроРНК або малої РНК. У додатковому аспекті цього винаходу екзогенна молекула нуклеїнової кислоти, яка використовується в цьому документі, або кодує молекулу природного походження. В іншому аспекті цього винаходу екзогенна молекула нуклеїнової кислоти, яка використовується в цьому документі, являє собою синтетичну молекулу.

В одному з аспектів цього винаходу екзогенна молекула нуклеїнової кислоти, яка використовується в цьому документі, або кодує попередника "петлі-на-стеблі" малої РНК або в конкретному аспекті мікроРНК, що містить послідовність, має щонайменше 80 %, 85 %, 88 %, 90 %, 92 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % ідентичності послідовності з послідовністю, вибраної з групи, що складається з SEQ ID NO: 1–4 і 6–89. Попередник "петлі на стеблі", що використовується в цьому документі, містить послідовність, має щонайменше 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 88 %, 90 %, 92 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % ідентичності послідовності з послідовністю, вибраної з групи, що складається з SEQ ID NO: 1–4 і 6–89.

В одному з аспектів цього винаходу екзогенна молекула нуклеїнової кислоти, яка використовується в цьому документі, представляє собою відкриту РНК або експресуючий конструкт нуклеїнової кислоти, де вона функціонально пов'язана з регуляторною послідовністю.

В одному аспекті цього винаходу рекомбінантний ДНК-конструкт або трансген, описаний у цьому документі, додатково містить термінатор транскрипції.

Очікується, що протягом строку дії патенту цієї заявки можуть бути розроблені відповідні багато методів пригнічення експресії генних продуктів і об'єм терміна "пригнічення експресії продукту гена кліща *Varroa destructor*" призначений для включення всіх таких нових технологій апріорі.

Слід розуміти, що певні відмітні ознаки винаходу, які для ясності описані в контексті окремих аспектів, також можуть бути представлені у комбінації в одному аспекті. З іншого боку, різні ознаки винаходу, які для стислості описані в контексті одного аспекту, можуть також бути подано окремо або у будь-який підходящий підкомбінації або в якості придатних в будь-якому іншому описаному аспекті цього винаходу. Деякі особливості, описані в контексті різних аспектів цього винаходу, не слід розглядати як істотні ознаки цих аспектів, якщо аспект не функціонує без цих елементів. Різні особливості та аспекти цього винаходу, які позначені вище, і заявлено у формулі винаходу знаходять експериментальне підтвердження в наступних прикладах.

Приклади

Приклад 1. Послідовності гена кальмодуліну кліща Варроа

Гени кальмодуліну (CAM) представлені в таблиці 1 (SEQ ID NO: 1 і 2), або їх відповідні транскрипти, які використовуються в якості мішеней полінуклеотидних композицій, що містять полінуклеотид, який має щонайменше 18 суміжних нуклеотидів ідентичних або комплементарних цим генам або транскриптам. Генні послідовності, представлені в таблиці 1, білкові послідовності, які кодуються цими генами, або послідовностями, які містяться в цих генах, були використані для отримання ортологічних генів кальмодуліну (CAM) від інших шкідників і паразитичних видів членистоногих, не вказаних у таблиці 1. Такі ортологічні гени та їх транскрипти можуть служити в якості мішеней полінуклеотидів, представлених в цьому документі, або в якості джерела антипаразитарних, дезінсекційних або інсектицидних полінуклеотидів, які спеціально призначені для цільових ортологічних генів або транскриптів.

Таблиця 1

Цільові гени кальмодуліну (CAM) *Varroa destructor*

Назва гена	SEQ ID	Відкриті рамки зчитування послідовності ДНК
CAM-1	1	ATGGCTGATCAGCTAACTGAGGAACAGATCGCCGAGTTCAAAGAGGCG TTTAGCCTGTTTGACAAGG ACGGAGATGGCACGATCACGACAAAGGAGCTCGGTACGGTAATGCGA TCTCTCGGCCAGAACCCAC TGAGGCTGAACTGCAGGACATGATCAACGAGGTCGACGCCGACGGCT CCGGAACGATAGATTTCCCT GAGTTCCTCACAATGATGGCAAGAAAGATGAAGGACACCGACTCGGAG GAGGAGATCCGAGAGGCGT TCCGCGTATTCGACAAGGATGGCAACGGTTTCATTTTCGGCGGCCGAGC TCAGGCACGTTATGACCAA CCTTGGCGAGAAGCTTACGGACGAGGAGGTAGATGAGATGATTCGGG AGGCAGATATTGACGGTGAT GGTCAGGTCAACTACGAGGAGTTCGTCACCATGATGACGTCCAAGTAA
CAM-2	2	ATGGCGGATCAGCTGACCGAGGAGCAAATCGCCGAATTCAAGGAGGC TTTCAGCCTGTTTCGATAAAG ACGGTGATGGCACAATTACGACCAAGGAACTAGGGACCGTCATGCGGT CCCTCGGCCAGAACCCTAC TGAGGCTGAGCTTCAAGACATGATCAACGAGGTCGACGCTGACGGTAA CGGCACTATTGACTTTCCA GAGTTTCTCACGATGATGGCGCGTAAAATGAAGGACACCGACTCCGAG GAGGAGATCCGGGAAGCTT TTAGGGTTTTTGATAAAGACGGAAATGGCTTCATTTTCGGCTGCAGAGCT GAGGCACGTAATGACCAA CCTTGGCGAAAAGCTCACGGACGAGGAAGTGGACGAGATGATCCGCG AGGCGGATATCGACGGCGAC GGACAGGTCAACTACGAGGAGTTCGTCACGATGATGACATCAAATGA

Для кожної послідовності ДНК гена кальмодуліну, представленої в SEQ ID NO: 1 і 2, одностандартної або двостандартної ДНК або фрагментів РНК в смисловій або антисмисловій орієнтації, обидві згодують *in vitro* кліщами Вароа, вирощуваних в чашці Петрі або місцево наносять на бджолині вулики, для експресії генів-мішеней CAM і зниження чисельності кліщів *Varroa destructor*.

Приклад 2. Пригнічення генів кальмодуліну (CAM) *Varroa destructor*.

Полінуклеотиди для пригнічення експресії генів кальмодуліну (CAM) у кліщів *Varroa destructor*, відповідні SEQ ID NO: 3 і 4 (таблиця 2) запропоновані та були використані для пригнічення експресії генів кальмодуліну (CAM) кліща *Varroa destructor*. SEQ ID NO: 3 і 4 описують 373 п. н. полінуклеотидної послідовності длРНК і 186 п. н. Полінуклеотидні послідовності длРНК, відповідно, вибрані з CAM-1 (SEQ ID NO: 1). SEQ ID NO: 3, відповідної полінуклеотидної длРНК CAM_L/CAM 373, що покриває велику частину відкритої рамки зчитування гена кальмодуліну CAM-1 (SEQ ID NO: 1). SEQ ID NO: 4, відповідної полінуклеотидної длРНК CAM_S/CAM186, яка являє собою частковий фрагмент CAM_L/CAM373 (SEQ ID NO: 3) і також виводиться з CAM-1 (SEQ ID NO: 1). SEQ ID NO: 5 в таблиці 2 представляє собою полінуклеотидну послідовність контрольної послідовності длРНК, з ідентичністю послідовностей не більше 19 пар нуклеотидів до будь-якого відомого гена *Varroa destructor*.

Таблиця 2

длПНК спрямовані на гени кальмодуліну (CAM) *Varroa destructor*

назва длПНК	SEQ ID	Послідовність нуклеїнової кислоти.
CAM_L/CAM 373	3	ACAGAUCGCCGAGUUCAAAGAGGGCGUUUAGCCUGUUUGACAAGGACG GAGAUGGCACGAUCACGACAAAGGAG CUCGGUACGGUAAUUGCGAUCUCUCGGCCAGAACCCACUGAGGCUGA ACUGCAGGACAUGAUCAACGAGGUCG ACGCCGACGGCUCCGGAACGAUAGAUUUUCCUGAGUUCUCACAAUGA UGGCAAGAAAGAUGAAGGACACCGA CUCGGAGGAGGAGAUCCGAGAGGCGUCCGCGUAUUCGACAAGGAUG GCAACGGUUUCAUUUCGGCGGCCGAG CUCAGGCACGUUAUGACCAACCUUGGCGAGAAGCUUACGGACGAGGA GGUAGAUGAGAUGAUUCGGGAGGCAG AUAUUGAC
CAM_S/CAM 186	4	ACAAUGAUGGCAAGAAAGAUGAAGGACACCGACUCGGAGGAGGAGAUC CGAGAGGCGUUCGCGUAUUCGACA AGGAUGGCAACGGUUUCAUUUCGGCGGCCGAGCUCAGGCACGUUAUG ACCAACCUUGGCGAGAAGCUUACGGA CGAGGAGGUAGAUGAGAUGAUUCGGGAGGCAGAUUUGAC
SCRAM	5	AUACUUACUGGUGCUAAUUUUUAUCGAGGAUGCCCAACUCCCCCACU UUAAAACUGCGAUCAUACUAACGAA CUCCCGAAGGAGUGAAAGGUGUCUAUGUUGAGCUUAAUAACCUACCUU GCGAGCAAAGAAGGACUAGUUGACC CUGGGCACCCUAUAUUGUUAUGUUGUUUCGAACUGAGUUGGCACCCA UGCUGCACAUGCAACAAACAUGUCGG CCUUCGUGUCUAUCCUAGAAAAGUACCUGUGAACUUGGCUGUCUACAU CAUCAUC

Приклад 3. Біологічний аналіз *Varroa destructor* на 3 день після обробки специфічними длПНК

- 5 Дорослі самки кліща були зібрані з колоній бджіл і поміщені у чашку Петрі, зверху розчину штучного живильного середовища, що містить суміш 1 % триптона, 0,5 % дріжджового екстракту, 1 % NaCl і 15 мг/мл агару. У цьому прикладі їжа була доповнена 50 мкг канаміцину на 1 мл розчину живильного середовища. Розчин їжа/агар також доповнено 200–500 мкг/мл длПНК, і отриманий розчин наливали в чашку Петрі. ДлПНК у цьому прикладі складається з послідовності SEQ ID NO: 3 (CAM_L/CAM373) або SEQ ID NO: 5 (SCRAM). У кожен чашку Петрі поміщали п'ятнадцять кліщів і експеримент проводили у трьох повторностях. Чашки Петрі з їжею та кліщами інкубували при 29° і при відносній вологості 50–60 %. Через певні проміжки часу чашки Петрі оглядали та мертвих кліщів підраховували та видаляли. Для дослідження смертності кліщів підраховували через три дні після їх розміщення на поживному розчині (фіг. 2). Фіг. 2 показує, що всі кліщі були мертві через три дні після обробки порівняно з необробленими чашками Петрі або чашками Петрі, де кліщів годували їжею, доповненої неспецифічним полінуклеотидом длПНК (SCRAM).

Приклад 4. Біологічний аналіз *Varroa destructor* на 5 день після обробки кальмодулін-цільовим длПНК.

- 20 Дорослі самки кліща були зібрані з колоній бджіл і поміщені у чашку Петрі зверху штучного живильного розчину. Штучний корм містив суміш 1 % триптона, 0,5 % дріжджового екстракту, 1 % NaCl і 15 мг/мл агару. У цьому прикладі їжа була доповнена антимікотичним розчином (100x, Sigma Aldrich) у 8-кратній кінцевій концентрації 500 мкг/мл канаміцину та 220 од./мл ністатину. Розчин їжа/агар також доповнено 200–500 мкг/мл длПНК і отриманий розчин наливали в чашку Петрі. ДлПНК у цьому прикладі складається з послідовності SEQ ID NO: 3 (CAM_L/CAM373) або SEQ ID NO: 4 (CAM_S/CAM186) або SEQ ID NO: 5 (SCRAM). У кожен чашку Петрі поміщали п'ятнадцять кліщів і експеримент проводили у трьох повторностях. Чашки Петрі з їжею і кліщами інкубували при 29 °C і при відносній вологості 50–60 %. Через певні проміжки часу чашки Петрі оглядали і мертвих кліщів підраховували та видаляли. Для дослідження смертності кліщів підраховували через п'ять днів після їх розміщення на поживному розчині (фіг. 3). Для молекулярного аналізу живих кліщів знімали з чашок Петрі, заморожували в рідкому азоті та

проводили TaqMan™ аналіз для оцінки рівня РНК кальмодуліну (CAM). На фіг. 3, панелі А продемонстрований рівень РНК генів кальмодуліну кліщів, які піддалися впливу SEQ ID NO: 3 (CAM_L/CAM373) або SEQ ID NO: 4 (CAM_S/CAM186) сильно знижений порівняно з неспецифічною обробкою (SCRAM) або без обробки (КОНТРОЛЬ). На фіг. 3, панелі Б продемонстрована статистично значуща смертність кліщів, яких піддавали впливу длРНК проти кальмодуліну (CAM), протягом 5 днів після обробки.

Приклад 5. Спосіб доставки полінуклеотидів длРНК, націлених на гени Варроа з використанням напіврідкої композиції або висушеної розпиленням.

ДлРНК, використовувана для придушення експресії цільового гена кальмодуліну, була приготована в композиції, що містить 1 частину длРНК і ~14 частин трегалози у фосфатному буфері (розчин 1,15 мМ KH_2PO_4 (одноосновної) і 8 мМ Na_2HPO_4

(двоосновної), рН 8,0, як продемонстровано в таблиці 3. З використанням мінірозпилювальної сушарки Büchi B-290, рідкий препарат розпилювали у краплі та нагрівали з газом для отримання сипучого порошку.

Таблиця 3

Приготування композиції

длРНК	Матковий буферний розчин (X % маса/об'єм трегалози + фосфатний буфер)	Буферний розчин (X % маса/об'єм трегалози + фосфатний буфер)	Загальний об'єм (мл)	Матковий буферний розчин (мл)	Початкова длРНК (мл)	Співвідношення	Активний інгредієнт (AI) конц. (мг/мл)	Активний інгредієнт (AI) конц. (% сухої речовини)	Відношення А (длРНК) до буферу (трегалоза + фосфатний буфер)
CAM_L/CAM 373	40	10	1100	275,00	825,00	1/4	7,20	0,720	13,9
CAM_S/CAM 186	40	10	1285	321,21	963,75	1/4	6,75	0,675	14,8

Отримані частинки були приготовані з цукровою пудрою та рівномірно нанесени на вулики, рівномірно розподіляючи цукрову пудру по верхній частині рами. В інших аспектах цього винаходу напіврідкий препарат, висушений розпиленням матеріалу, приготований з водою та цукровою водою ("цукерка-бджола"), надходить у бджолині вулики, дозволяючи бджолам харчуватися їм.

Приклад 6. Зниження кількості кліща Варроа in vivo в бджолиних вуликах після обробки за допомогою длРНК, націлених на гени кальмодуліну (CAM).

Кліщі Варроа, що паразитують на дорослих медоносних бджолах у вуликах, були зібрані та підраховані з використанням стандартної методики підрахунку кліщів. Вулики обробляли розпиленням сухої длРНК у відповідності з прикладом 7, що містить SEQ ID NO: 3 (CAM-L), SEQ ID NO: 4 (CAM_S) або без обробки (КОНТРОЛЬ). Кліщове навантаження кожного вулика оцінювали на початку експерименту та через 2 тижні, 4 тижні та 12 тижнів після обробки. Фіг. 4 показує кліщове навантаження оброблених вуликів порівняно з вуликами, які не обробляли. Кількість підрахованих кліщів нормалізували до 100 дорослих бджіл, і характеризували особливості кліщового навантаження Варроа.

Приклад 7. Виявлення транзитивних малих РНК Варроа після обробки з використанням длРНК, націлених на гени кальмодуліну (CAM).

Кліщ Варроа були зібрані з вуликів, оброблених полінуклеотидами длРНК SEQ ID NO: 3, на 7-й день після обробки. РНК Варроа екстрагували і проводили аналіз секвенування малих РНК з використанням платформи SOLiD. У більшості молекул малі РНК були виявлені за межами області послідовності длРНК і конкретно в напрямку частини 3' длРНК області SEQ ID NO: 3. Крім того, більшість транзитивних читались в антисмисловій орієнтації по відношенню до послідовності транскрипту гена кальмодуліну (CAM). Крім того, малі РНК специфічні для CAM-2 (SEQ ID NO: 2), виявлені у цьому експерименті, незважаючи на обробку вуликів длРНК SEQ ID NO: 3, за прогнозами будуть специфічними для CAM-1 (SEQ ID NO: 1). Це спостереження підтверджує гіпотезу про те, що пригнічення експресії РНК і отримання перехідної малої РНК у Варроа працює навіть тоді, коли тільки невеликий фрагмент між двома генами повністю

ідентичний на рівні ДНК (у цьому випадку 23 нуклеотиди).

Приклад 8. Гомологи гена кальмодуліну (CAM) шкідників і паразитів видів членистоногих і відповідних полінуклеотидів длРНК.

З використанням стандартної біоінформатичної методики і послідовностей SEQ ID NO: 1 і 2 для *Varroa destructor* був ідентифікований набір з 31 консервативної послідовності гена кальмодуліну (CAM) у видів членистоногих шкідників, які паразитують на інших членистоногих або ссавців, і які будуть націлені на регуляцію генів. Ці послідовності були ідентифіковані і представлені у вигляді філогенетичного дерева на фіг. 1. Послідовності ДНК на фіг. 1 далі аналізували шляхом ідентифікації консервативного домену 373 п. н. у межах кожної послідовності, відповідної SEQ ID NO: 3 (CAM_L/CAM373). У таблиці 4 наведено перелік SEQ ID NO знов ідентифікованих послідовностей гена кальмодуліну (CAM), а також відповідних 373 п. н. олінуклеотидних тригерних послідовностей длРНК. 373 п. н. полінуклеотидні послідовності длРНК будуть протестовані або окремо, або в комбінації з тестами безпосередньої годівлі у боротьбі з відповідними видами членистоногих.

Таблица 4

Послідовності гена кальмодуліну (CAM), ідентифіковані у членистоногих шкідників і паразитів і їх відповідні 373 п. н. полінуклеотидні РНК

SEQ ID NO	Назва гена	Організм/Види	Тип
6	CAM-3	<i>Varroa destructor</i>	кДНК
7	CAM-1	<i>Ixodes scapularis</i>	кДНК
8	CAM-1	<i>Aedes aegypti</i>	кДНК
9	CAM-1	<i>Culex quinquefasciatus</i>	кДНК
10	CAM-1	<i>Acyrtosiphon pisum</i>	кДНК
11	CAM-1	<i>Harpegnathos saltator</i>	кДНК
12	CAM-1	<i>Pediculus humanus corporis</i>	кДНК
13	CAM-1	<i>Anopheles gambiae</i>	кДНК
14	CAM-1	<i>Solenopsis invicta</i>	кДНК
15	CAM-1	<i>Ixodes scapularis</i>	РНК
16	CAM-1	<i>Aedes aegypti</i>	РНК
17	CAM-1	<i>Culex quinquefasciatus</i>	РНК
18	CAM-1	<i>Acyrtosiphon pisum</i>	РНК
19	CAM-1	<i>Harpegnathos saltator</i>	РНК
20	CAM-1	<i>Pediculus humanus corporis</i>	РНК
21	CAM-1	<i>Anopheles gambiae</i>	РНК
22	CAM-1	<i>Solenopsis invicta</i>	РНК
23	CAM-3	<i>Varroa destructor</i>	РНК
24	CAM-1	<i>Tetranychus urticae</i>	кДНК
25	CAM-1	<i>Tetranychus urticae</i>	РНК
26	CAM-4	<i>Varroa destructor</i>	кДНК
27	CAM-4	<i>Varroa destructor</i>	РНК
28	CAM-5	<i>Varroa destructor</i>	кДНК
29	CAM-5	<i>Varroa destructor</i>	РНК
30	CAM-7	<i>Varroa destructor</i>	кДНК
31	CAM-7	<i>Varroa destructor</i>	РНК
32	CAM-8	<i>Varroa destructor</i>	кДНК
33	CAM-8	<i>Varroa destructor</i>	РНК
34	CAM-9	<i>Varroa destructor</i>	кДНК
35	CAM-9	<i>Varroa destructor</i>	РНК
36	CAM	<i>Ixodes scapularis</i>	кДНК
37	CAM	<i>Ixodes scapularis</i>	РНК
38	CAM	<i>Ixodes scapularis</i>	кДНК
39	CAM	<i>Ixodes scapularis</i>	РНК
40	CAM	<i>Ixodes scapularis</i>	кДНК
41	CAM	<i>Ixodes scapularis</i>	кДНК
42	CAM	<i>Ixodes scapularis</i>	РНК
43	CAM	<i>Aedes aegypti</i>	кДНК

Продовження таблиці 4

44	CAM	Aedes aegypti	РНК
45	CAM	Aedes aegypti	кДНК
46	CAM	Aedes aegypti	РНК
47	CAM	Aedes aegypti	кДНК
48	CAM	Aedes aegypti	РНК
49	CAM	Culex quinquefasciatus	кДНК
50	CAM	Culex quinquefasciatus	РНК
51	CAM	Culex quinquefasciatus	кДНК
52	CAM	Culex quinquefasciatus	РНК
53	CAM	Culex quinquefasciatus	кДНК
54	CAM	Culex quinquefasciatus	РНК
55	CAM	Culex quinquefasciatus	кДНК
56	CAM	Culex quinquefasciatus	РНК
57	CAM	Acyrtosiphon pisum	кДНК
58	CAM	Acyrtosiphon pisum	РНК
59	CAM	Acyrtosiphon pisum	кДНК
60	CAM	Acyrtosiphon pisum	РНК
61	CAM	Pediculus humanus	кДНК
62	CAM	Pediculus humanus	РНК
63	CAM	Pediculus humanus	кДНК
64	CAM	Pediculus humanus	РНК
65	CAM	Pediculus humanus	кДНК
66	CAM	Pediculus humanus	РНК
67	CAM	Pediculus humanus	кДНК
68	CAM	Pediculus humanus	РНК

Приклад 9. Транскрипт гена кальмодуліну (CAM) Варроа і тригерна послідовність длРНК.

- 5 Послідовності кальмодуліну (CAM) представлені в таблиці 5 (SEQ ID NO: 69 і 70), або їх відповідні транскрипти, які використовуються в якості мішеней полінуклеотидних композицій, що містять полінуклеотид, який має щонайменше 18 суміжних нуклеотидів ідентичних або комплементарних цим генам або транскриптам. 5' і 3'-НТО послідовності кальмодуліну Варроа були ідентифіковані за допомогою секвенування РНК.

Таблиця 5

Цільові транскрипти генів кальмодуліну (CAM) *Varroa destructor*

Назва гена і види	SEQ ID NO	Тип
CAM-1; <i>Varroa destructor</i>	69	РНК
CAM-2; <i>Varroa destructor</i>	70	РНК

10

SEQ ID NO: 69 або 70 з неперекриваючими 150 п. н. фрагментами. У таблиці 6 продемонстровано верхній ланцюг (5'-3') для 150 п. н. фрагментів, які не перекривають SEQ ID NO: 69 або 70.

Таблиця 6

Неперекриваючі полінуклеотидні послідовності генів CAM-1 та CAM-2

Назва гена	SEQ ID NO	Положення в межах послідовності транскрипту
CAM-1	71	1–150
CAM-1	72	151–300
CAM-1	73	301–450
CAM-1	74	451–600
CAM-1	75	601–750

Продовження таблиці 6

CAM-1	76	751–900
CAM-1	77	901–1050
CAM-1	78	1051–1200
CAM-1	79	1201–1350
CAM-1	80	1351–1500
CAM-2	81	1–150
CAM-2	82	151–300
CAM-2	83	301–450
CAM-2	84	451–600
CAM-2	85	601–750
CAM-2	86	751–900
CAM-2	87	901–1050

Одна або більше длРНК, що містить послідовність, яка вибрана з SEQ ID NO: 71–87, забезпечує у кліщів Варроа *in vitro*, вирощуваних в чашці Петрі або наносяться місцево на бджолині вулики, експресію генів-мішеней CAM та зниження чисельності кліщів *Varroa destructor*.

Приклад 10. Біологічний аналіз *in vitro* кальмодуліну (CAM), націленого на тригери кліща Варроа.

Полінуклеотидні тригерні послідовності, націлені на кальмодулін (CAM)-1, (CAM)-2, були отримані на основі перекритої консервативної послідовності між послідовностями CAM-1 і CAM-2. Вони представлені як SEQ ID NO: 88 і 89 (націлені на CAM-1 і CAM-2, відповідно).

Полінуклеотидні послідовності, вибрані з SEQ ID NO: 88 і 89, були протестовані біологічним аналізом *in vitro* в їх здатності пригнічувати життєздатність дорослих кліщів Варроа. Дорослі самки кліща були зібрані з колоній бджіл і поміщені у чашку Петрі на вершину штучного живильного розчину. Штучний корм містив суміш 1 % триптона, 0,5 % дріжджового екстракту, 1 % NaCl і 15 мг/мл агару. У цьому прикладі, корм також було доповнено антимікотичним розчином (100x, Sigma Aldrich) у 8-кратної кінцевої концентрації 500 мкг/мл канаміцину та 220 од./мл ністатину. Розчин їжа/агар також доповнено 200–500 мкг/мл длРНК, і отриманий розчин наливали в чашку Петрі. ДлРНК у цьому прикладі складається з послідовності SEQ ID NO: 3 (CAM373), SEQ ID NO: 88 (CAM-1) або SEQ ID NO: 89 (CAM-2) або необроблений контроль (НОК). У кожену чашку Петрі поміщали п'ятнадцять кліщів й експеримент проводили у трьох повторностях. Чашки Петрі з їжею та кліщами інкубували при 29 °C і при відносній вологості 50–60 %. Через певні проміжки часу чашки Петрі оглядали та мертвих кліщів підраховували та видаляли. Для дослідження смертності кліщів підраховували на п'ятий і шостий дні після їх розміщення на поживному розчині (фіг. 5). Крім того, длРНК для SEQ ID NO: 88 (CAM-1) або SEQ ID NO: 89 (CAM-2) змішували в еквімолярній кількості та згодовували, як описано вище, кліщам. На малюнку 6 показані результати цієї заявки.

Для молекулярного аналізу живих кліщів знімали з чашок Петрі, заморожували в рідкому азоті та проводили TaqMan™ аналіз для оцінки рівня РНК кальмодуліну (CAM).

Приклад 11. Зменшення області ураження кліщем Варроа *in vivo* оброблених областей вуликів бджіл після обробки длРНК, націлених на ген кальмодуліну (CAM).

ДлРНК, що використовували для пригнічення експресії цільових генів кальмодуліну (CAM) Варроа, які отримували шляхом змішування вихідної длРНК у фосфатному буфері з 66 % цукровим сиропом. Рідкий препарат готується у вигляді сиропу для бджіл, що дозволяє харчуватися їм до повного поглинання (приблизно 2–3 дні). Кожна група польових випробувань містила 33 вулика. Групи складалися з необроблених вуликів, неспецифічної тригерної обробки (SEQ ID NO: 5) і специфічної тригерної обробки (SEQ ID NO: 3). Бджіл лікували в два етапи, кожен етап складався з двох підгодівель з розривом у два тижні: годували на самому початку (0 тиждень) і через два тижні (2 тиждень), а потім знову на 13 та 15 тиждів. Оцінку виживаності бджіл проводили на 4, 9, 13, 15 і 17 тиждів (фіг. 7). Значне зниження чисельності Варроа спостерігали після обробки специфічним тригером (SEQ ID NO: 3) на 9 тиждень.

ПЕРЕЛІК ПОСЛІДОВНОСТЕЙ

<110> Monsanto Technology LLC

Beeologics Inc

The United States of America, as represented by the

5 Secretary of Agriculture

Inberg, Alex

Kapoor, Mahak

Evans, Jay

<120> Композиції та способи для боротьби з членистоногими паразитами та зараженням

10 шкідниками

<130> P34094US01

<150> 61/899772

<151> 2013-11-04

<160> 89

15 <170> PatentIn версія 3.5

<210> 1

<211> 450

<212> ДНК

<213> Varroa destructor

20 <400> 1

atggctgac agctaactga ggaacagatc gccgagtca aagaggcgtt tagcctgttt 60
gacaaggacg gagatggcac gatcacgaca aaggagctcg gtacggtaat gcatctctc 120
ggccagaacc cactgaggc tgaactgcag gacatgatca acgaggtcga cgccgacggc 180
tccggaacga tagattccc tgagttcctc acaatgatgg caagaaagat gaaggacacc 240
25 gactcggagg aggagatccg agaggcgttc cgcgtattcg acaaggatgg caacggtttc 300
atttcggcgg ccgagctcag gcacgttatg accaaccttg gcgagaagct tacggacgag 360
gaggttagatg agatgattcg ggaggcagat attgacggtg atggtcaggt caactacgag 420
gagttcgtca ccatgatgac gtccaagtaa 450

<210> 2

30 <211> 450

<212> ДНК

<213> Varroa destructor

<400> 2

atggcggac agctgaccga ggagcaaatc gccgaattca aggaggcttt cagcctgttc 60
35 gataaagacg gtgatggcac aattacgacc aaggaactag ggaccgtcat gcgtccctc 120
ggccagaacc ctactgaggc tgagttcaa gacatgatca acgaggtcga cgctgacggt 180
aacggcacta ttactttcc agagtttctc acgatgatgg cgcgtaaaaa gaaggacacc 240
gactccgagg aggagatccg ggaagctttt agggttttg ataaagacgg aaatggcttc 300
atttcggctg cagagctgag gcacgtaatg accaaccttg gcgaaaagct cacggacgag 360
40 gaagtggacg agatgatccg cgaggcggat atcgacggcg acggacaggt caactacgag 420
gagttcgtca cgatgatgac atcaaatga 450

<210> 3

<211> 373

<212> РНК

45 <213> Varroa destructor

<400> 3

acagaucgcc gaguucaaaag aggcguuuag ccuguuugac aaggacggag auggcacgau 60
cacgacaaaag gagcucgguu cguuaaugcg aucucucggc cagaacccca cugaggcuga 120
acugcaggac augaacaacg agguccgacg cgacggcucc ggaacgauag auuucccuga 180
50 guuccucaca augauggcaa gaaagaugaa ggacaccgac ucggaggagg agauccgaga 240
ggcguuccgc guauucgaca aggauggcaa cgguuucauu ucggcggccg agcucaggca 300
cguuaugacc aaccuugggc agaagcuuac ggacgaggag guagaugaga ugaauccgga 360
ggcagaauuu gac 373

<210> 4

55 <211> 186

<212> РНК

<213> Varroa destructor

<400> 4

acaaugaugg caagaaagau gaaggacacc gacucggagg aggagaucg agaggcguuc 60
60 cgcguauucg acaaggaugg caacgguuuc auuucggcgg ccgagcucag gcacguuau 120

accuaccuug gcgagaagcu uacggacgag gagguagaug agaugauucg ggaggcagau 180
auugac 186
<210> 5
<211> 274
5 <212> РНК
<213> Невідомий
<400> 5
auacuacug gugcuauuu uuaucgagga ugcccaacuc cccccacuuu aaaacugcga 60
ucauacuac gaacucccgaggagugaaa ggugucuauug uugagcuuaa uaaccuaccu 120
10 ugcgagcaaa gaaggacuag uugacccugg gcaccuaua uuguuauuu guuucgaacu 180
gaguuggcac ccaugcugca caugcaacaa acaugucggc cuucgugucu auccuagaaa 240
aguaccugug aacuuggcug ucuacaucau cauc 274
<210> 6
<211> 432
15 <212> ДНК
<213> Varroa destructor
<400> 6
ctgccggagg aacaggtggc tgaattaaa gaggccttc tttgttga caaggacgcc 60
gatggaatga ttacggccgc cgaactaggc gtcgtcatgc gatcgcttg ccagcgacct 120
20 acggagcaag agctcaagaa aatggtacc atggtgacc aggacggcaa tggtaaatc 180
gagttcaacg agttttgat gatgatgtct cgcaagatga aggaggcaga ctccggaggaa 240
gaactccggg aggcgttccg tgtgttcgat cgagacggtg acggattcat ctccggggac 300
gagctcagtg tcgtcatgaa caacctcggc gagaaattaa gtgacgatga tgttgaggat 360
atgattcgag aggccgatct ggacggcgat ggcaagatta actaccaaga gttgtgctc 420
25 attatcacct cc 432
<210> 7
<211> 480
<212> ДНК
<213> Ixodes scapularis
30 <400> 7
atggctgatc agcttacaga agaacagatt gcagtcaag gaggcgttct tcgctgttcg 60
acaaggacgg aggatggcac catcacgacc aaggagctgg gcacggtcat gcgctgctc 120
ggccagaacc cgacggaggc ggagctgcag gacatgatca acgaggtgga cgcagacggc 180
aacggaacga tcgactccc cgagttcctt acgatgatgg cgcgcaagat gaaggacacg 240
35 gactctgagg aggagatccg ggaggcgttc cgggtgttcg acaaggacgg caacggcttc 300
atctctcggc cggagctgcg ccacgtcatg accaacctgg cgcgagaagct gacggacgag 360
gaggtggacg agatgatccg ggaggcggac atcgacgggg acgggcaggc caactacgaa 420
ggtgggcacg cttccctcc cttggttatc ctctgctat gcttctgca gttgctgtga 480
<210> 8
40 <211> 450
<212> ДНК
<213> Aedes aegypti
<400> 8
atggccgatc aacttacaga agagcagatt gccgaattca aagaagcgtt ttcgctgttc 60
45 gacaaagacg gtgacggcac aatcacacc aaggactgg gaaccgtgat gcgatcgtta 120
ggccagaacc ccacagaagc agaactgcaa gatatgataa acgaagtcga cgcggacggc 180
aacggcacga tcgattccc cgaattctg accatgatgg ctgcacaaat gaaggacacc 240
gatagcgaag aggaatccg ggaggcgttc cgagtcttcg acaaggacgg caacggcttc 300
atctcggcag ctgagctgcg tcatgtcatg accaatctcg cgcgagaagct aacggacgag 360
50 gaggtggatg agatgatccg cgaagccgac atagatggcg atggccaagt taattatgaa 420
gaattcgtaa caatgatgac atcgaagtga 450
<210> 9
<211> 450
<212> ДНК
55 <213> Culex quinquefasciatus
<400> 9
atggccgatc aacttacaga ggaacagatc gccgagttca aagaagcgtt ctgctgttc 60
gacaaagacg gtgacggcac gatcacgacc aaggagctgg gcacggtgat gcgatcgtta 120
ggccagaacc ccacagaagc agagctgcaa gacatgataa acgaggtcga tgcggacggc 180
aacggcacga tcgactccc cgagttctc accatgatgg ctgcacaaat gaaggacacc 240
60 gatagcgaag aggaatccg ggaggcgttc cgagtcttcg acaaggacgg caacggcttc 300
atctcggcag ctgagctgcg tcatgtcatg accaatctcg cgcgagaagct aacggacgag 360
gaggtggatg agatgatccg cgaagccgac atagatggcg atggccaagt taattatgaa 420
gaattcgtaa caatgatgac atcgaagtga 450
<210> 9
<211> 450
<212> ДНК
55 <213> Culex quinquefasciatus
<400> 9
atggccgatc aacttacaga ggaacagatc gccgagttca aagaagcgtt ctgctgttc 60
gacaaagacg gtgacggcac gatcacgacc aaggagctgg gcacggtgat gcgatcgtta 120
ggccagaacc ccacagaagc agagctgcaa gacatgataa acgaggtcga tgcggacggc 180
aacggcacga tcgactccc cgagttctc accatgatgg ctgcacaaat gaaggacacc 240
60 gatagcgaag aggaatccg ggaggcgttc cgagtcttcg acaaggacgg caacggcttc 300
atctcggcag ctgagctgcg tcatgtcatg accaatctcg cgcgagaagct aacggacgag 360
gaggtggatg agatgatccg cgaagccgac atagatggcg atggccaagt taattatgaa 420
gaattcgtaa caatgatgac atcgaagtga 450
<210> 9
<211> 450
<212> ДНК
55 <213> Culex quinquefasciatus
<400> 9
atggccgatc aacttacaga ggaacagatc gccgagttca aagaagcgtt ctgctgttc 60
gacaaagacg gtgacggcac gatcacgacc aaggagctgg gcacggtgat gcgatcgtta 120
ggccagaacc ccacagaagc agagctgcaa gacatgataa acgaggtcga tgcggacggc 180
aacggcacga tcgactccc cgagttctc accatgatgg ctgcacaaat gaaggacacc 240
60 gatagcgaag aggaatccg ggaggcgttc cgagtcttcg acaaggacgg caacggcttc 300
atctcggcag ctgagctgcg tcatgtcatg accaatctcg cgcgagaagct aacggacgag 360
gaggtggatg agatgatccg cgaagccgac atagatggcg atggccaagt taattatgaa 420
gaattcgtaa caatgatgac atcgaagtga 450
<210> 9
<211> 450
<212> ДНК
55 <213> Culex quinquefasciatus
<400> 9
atggccgatc aacttacaga ggaacagatc gccgagttca aagaagcgtt ctgctgttc 60
gacaaagacg gtgacggcac gatcacgacc aaggagctgg gcacggtgat gcgatcgtta 120
ggccagaacc ccacagaagc agagctgcaa gacatgataa acgaggtcga tgcggacggc 180
aacggcacga tcgactccc cgagttctc accatgatgg ctgcacaaat gaaggacacc 240
60 gatagcgaag aggaatccg ggaggcgttc cgagtcttcg acaaggacgg caacggcttc 300
atctcggcag ctgagctgcg tcatgtcatg accaatctcg cgcgagaagct aacggacgag 360
gaggtggatg agatgatccg cgaagccgac atagatggcg atggccaagt taattatgaa 420
gaattcgtaa caatgatgac atcgaagtga 450
<210> 9
<211> 450
<212> ДНК
55 <213> Culex quinquefasciatus
<400> 9
atggccgatc aacttacaga ggaacagatc gccgagttca aagaagcgtt ctgctgttc 60
gacaaagacg gtgacggcac gatcacgacc aaggagctgg gcacggtgat gcgatcgtta 120
ggccagaacc ccacagaagc agagctgcaa gacatgataa acgaggtcga tgcggacggc 180
aacggcacga tcgactccc cgagttctc accatgatgg ctgcacaaat gaaggacacc 240
60 gatagcgaag aggaatccg ggaggcgttc cgagtcttcg acaaggacgg caacggcttc 300
atctcggcag ctgagctgcg tcatgtcatg accaatctcg cgcgagaagct aacggacgag 360
gaggtggatg agatgatccg cgaagccgac atagatggcg atggccaagt taattatgaa 420
gaattcgtaa caatgatgac atcgaagtga 450
<210> 9
<211> 450
<212> ДНК
55 <213> Culex quinquefasciatus
<400> 9
atggccgatc aacttacaga ggaacagatc gccgagttca aagaagcgtt ctgctgttc 60
gacaaagacg gtgacggcac gatcacgacc aaggagctgg gcacggtgat gcgatcgtta 120
ggccagaacc ccacagaagc agagctgcaa gacatgataa acgaggtcga tgcggacggc 180
aacggcacga tcgactccc cgagttctc accatgatgg ctgcacaaat gaaggacacc 240
60 gatagcgaag aggaatccg ggaggcgttc cgagtcttcg acaaggacgg caacggcttc 300
atctcggcag ctgagctgcg tcatgtcatg accaatctcg cgcgagaagct aacggacgag 360
gaggtggatg agatgatccg cgaagccgac atagatggcg atggccaagt taattatgaa 420
gaattcgtaa caatgatgac atcgaagtga 450
<210> 9
<211> 450
<212> ДНК
55 <213> Culex quinquefasciatus
<400> 9
atggccgatc aacttacaga ggaacagatc gccgagttca aagaagcgtt ctgctgttc 60
gacaaagacg gtgacggcac gatcacgacc aaggagctgg gcacggtgat gcgatcgtta 120
ggccagaacc ccacagaagc agagctgcaa gacatgataa acgaggtcga tgcggacggc 180
aacggcacga tcgactccc cgagttctc accatgatgg ctgcacaaat gaaggacacc 240
60 gatagcgaag aggaatccg ggaggcgttc cgagtcttcg acaaggacgg caacggcttc 300
atctcggcag ctgagctgcg tcatgtcatg accaatctcg cgcgagaagct aacggacgag 360
gaggtggatg agatgatccg cgaagccgac atagatggcg atggccaagt taattatgaa 420
gaattcgtaa caatgatgac atcgaagtga 450
<210> 9
<211> 450
<212> ДНК
55 <213> Culex quinquefasciatus
<400> 9
atggccgatc aacttacaga ggaacagatc gccgagttca aagaagcgtt ctgctgttc 60
gacaaagacg gtgacggcac gatcacgacc aaggagctgg gcacggtgat gcgatcgtta 120
ggccagaacc ccacagaagc agagctgcaa gacatgataa acgaggtcga tgcggacggc 180
aacggcacga tcgactccc cgagttctc accatgatgg ctgcacaaat gaaggacacc 240
60 gatagcgaag aggaatccg ggaggcgttc cgagtcttcg acaaggacgg caacggcttc 300
atctcggcag ctgagctgcg tcatgtcatg accaatctcg cgcgagaagct aacggacgag 360
gaggtggatg agatgatccg cgaagccgac atagatggcg atggccaagt taattatgaa 420
gaattcgtaa caatgatgac atcgaagtga 450
<210> 9
<211

gatagcgaag aggaaatccg ggaggcggtc cgagtcttcg acaaggacgg caacggcttc 300
atctcggcgg ccgagctgcg ccacgtcatg accaatctcg gcgagaagct cacggacgag 360
gagggtgatg agatgatccg cgaggccgac attgacggcg atggccaagt taattatgaa 420
gaattcgtaa caatgatgac atcgaagtga 450

5 <210> 10
<211> 450
<212> ДНК
<213> Acyrthosiphon pisum
<400> 10

10 atggctgatc aactaacaga agaacagatt gccgaattca aagaggcggt ttcgctattc 60
gacaaggacg gagatggtac catcaccacc aaagaacttg gaaccgtcat gaggcttta 120
ggccaaaatc cgactgaagc tgaactccaa gatatgatta acgaggtcga tctgatggc 180
aacggcacga tagatttccc agagttcttg actatgatgg cccgcaaaat gaaggatacc 240
gatagtgaag aagaaatcag agaggcttc cgtgtattg ataaggatgg aaacggcttt 300

15 attagtgcag ctgagctgcg tcatgtgatg actaaccttg gagaaaagct caccgatgaa 360
gagggtgatg aaatgatcag ggaagctgac attgatggtg atggcaagt caactatgaa 420
gagttcgtga ccatgatgac ttctaagtga 450
<210> 11
<211> 441

20 <212> ДНК
<213> Harpegnathos saltator
<400> 11

caactcacag aggaacagat cgcagagttt aaggaagcct tctcgtatt cgacaaagat 60
ggcgatggca ctataacgac taaagaattg ggtacagtc tgcgatccct gggcaaaaat 120

25 cccacagagg ccgagttaca agacatgatt aatgaagtag acgcagatgg taacggtaca 180
atcgacttcc cggagttctt gaccatgatg gcacgcaaaa tgaaggatac ggacagcgag 240
gaggagatca gggaggcctt cagagtgttc gataaggatg gaaatggtt catatccgca 300
gcggaactca gacatgttat gacaaatctg ggcgagaaac tgaccgatga ggaagtagat 360
gaaatgatac gggaggcaga tatcgacggc gatggccaag tgaattatga agaattgtg 420
acgatgatga catcaaagt a 441

30 <210> 12
<211> 459
<212> ДНК
<213> Pediculus humanus corporis
<400> 12

35 atggtttctt ttttttgcg agctgatcag ttgaccgaag aacaaattgc cgaattcaag 60
gaagcatttt ccttattcga caaagatggc gatggtacca taacaactaa ggaattgggt 120
acggttatga gatcactcgg tcagaatccc acagaagcag aattacaaga tatgattaat 180
gaagtggatg cagatggtaa tggtaaccatc gatttcccg agttcctcac catgatggct 240

40 agaaaaatga aggatacaga cagcgaagaa gaaattagag aagcattcag agtttctgat 300
aaggatggta atggttttat atcggcagcc gagtaaggc acgtcatgac gaacctgggt 360
gaaaaattaa cagacgaaga agtggatgaa atgattcgag aggctgatat cgacggagat 420
ggacaagtga attacgaaga atttgggaa aactgtga 459
<210> 13

45 <211> 459
<212> ДНК
<213> Anopheles gambiae
<400> 13

atggccgatc aacttacgga agaacagatc gctgaattca aagaagcgtt ctcgctgttc 60
gacaaggacg gcgatggcac aatcaccacc aaggaattag gcaccgtgat gcgatcgcta 120
ggccagaacc ccacagaagc tgaattgcaa gacatgatca acgaagtcca cgcgacgggt 180
aacggcacga tcatgttccc cgagtttcta acaatgatgg ctcgtaaaat gaaggacacg 240
gacagtgaag aggaaatccg ggaggcattc cgagtcttcg acaaggacgg caacggttt 300
atctctcag ctgagctgcg ccacgtcatg actaatctgg gcgagaagct aacagacgag 360

55 gaggctgacg agatgatccg tgaagccgat atagatggcg atggccaggt taattatgaa 420
ggtaagagtt gccttcgcg cccacaccaa gcattgtt 459
<210> 14
<211> 501
<212> ДНК

60 <213> Solenopsis invicta

<400> 14
atgatcggca cgataacgac gagaaattcc attatttcag aattcaaaga ggcatttatg 60
cttttcgaca aggacgaaga tggcacgatt acgatggcgg aattaggggt tgcattgcgg 120
tctctcggtc aaagaccgtc ggagacggaa ctgcgcgata tggatgaatga ggtagatcaa 180
5 gatggaaatg gtaccatcga gttaacgaa ttctgcaga tgatgtcgaa gaagatgaaa 240
agcgcggacg gagaggacga acttcgcgag gcgttcggag tgttcgataa gaacaacgat 300
ggcttaatat cttcgaaaga gttgcgacac gtaatgacga atcttggtga aaagctctct 360
gaggaggagg tcgatgatat gattaaggag gcggatctag atggcgacgg aatggtcaac 420
tacgaaggta acattttgtt ttgcctagat gttatttcta taatagattt agaatttatt 480
10 ctaagcgata tagatgaatt g 501
<210> 15
<211> 364
<212> PHK
<213> Ixodes scapularis
15 <400> 15
aguucaagga ggcuuucgac gcuguucgac aaggacggag gauggcacca ucacgaccaa 60
ggagcugggc acggucaugc gcucgcucgg ccagaacccg acggaggcgg agcugcagga 120
caugaucaac gagguggacg cagacggcaa cggaacgauc gacuuccccg aguuccuuac 180
gaugauggag cgcaagauga aggacacgga cucugaggag gagaucgggg aggcguuccg 240
20 gguguucgac aaggacggca acggcuuau cucugcggcg gacugcgcc acguaugac 300
caaccugggc gagaagcuga cggacgagga gguggacgag augaugggg aggcggacau 360
cgac 364
<210> 16
<211> 372
25 <212> PHK
<213> Aedes aegypti
<400> 16
gcagauugcc gaauucaaaag aagcguuuuc gcuguucgac aaagacggug acggcacaau 60
cacaaccaag gaacugggaa ccgugaugcg aucguuaggc cagaacccca cagaagcaga 120
30 acugcaagau augauaaacg aagucgacgc ggacggcaac ggcacgaucg auuuccccga 180
auuccugacc augauggcuc gcaaaaugaa ggacaccgau agcgaagagg aaauccggga 240
ggcguuccga gucuucgaca aggacggcaa cggcuuauuc ucggcagcug agcugcgua 300
ugucaugacc aaucucggcg agaagcuaac ggacgaggag guggaugaga ugaucggcga 360
agccgacaua ga 372
35 <210> 17
<211> 373
<212> PHK
<213> Culex quinquefasciatus
<400> 17
40 acagauugcc gaguucaaaag aagcguuuc gcuguucgac aaagacggug acggcacgau 60
cacgaccaag gacgugggca ccgugaugcg aucguuaggc cagaacccca cagaagcaga 120
gcugcaagac augauaaacg aggucgaugc ggacggcaac ggcacgaucg acuuccccga 180
guuucucacc augauggcuc gcaaaaugaa ggacaccgau agcgaagagg aaauccggga 240
ggcguuccga gucuucgaca aggacggcaa cggcuuauuc ucggcggccg agcugcgcca 300
45 cgucaugacc aaucucggcg agaagcucac ggacgaggag guggaugaga ugaucggcga 360
ggccgacauu gac 373
<210> 18
<211> 372
<212> PHK
50 <213> Acyrthosiphon pisum
<400> 18
acagauugcc gaauucaaaag aggcguuuuc gcuauucgac aaggacggag augguaccu 60
caccaccaa gaacuuggaa ccgucaugag gucuuaggc caaaauccga cugaagcuga 120
acuccaagau augauuaacg aggucgaugc ugauggcaac ggcacgauag auuucccaga 180
55 guucuugacu augaugggcc gcaaaaugaa ggauaccgau agugaggaag aaucagaga 240
ggcuuuccgu guauuugaua aggauggaaa cggcuuuuu agugcagcug agcugcgua 300
ugugaugacu aaccuuggag aaaagcucac cgaugaagag guugaugaaa ugaucaggga 360
agcugacauu ga 372
<210> 19
60 <211> 373

<212> PHK
 <213> Harpegnathos saltator
 <400> 19
 acagaucgca gaguuuaagg aagccuucuc gcuauucgac aaagauggcg auggcacau 60
 5 aacgacuaaa gaauugggua cagucaugcg auccuggggu caaaauccca cagaggccga 120
 guuacaagac augauuaaag aaguagacgc agaugguaac gguacaaucg acuuuccgga 180
 guucuugacc augauggcac gcaaaaugaa ggauacggac agcgaggagg agaucaggga 240
 ggccuucaga guguucgava aggauggaaa ugguuucava uccgcagcgg aacucagaca 300
 uguuaugaca aaucugggcg agaaacugac cgaugaggaa guagaugaaa ugauacggga 360
 10 ggcagauauc gac 373
 <210> 20
 <211> 373
 <212> PHK
 <213> Pediculus humanus corporis
 15 <400> 20
 acaaaugcc gaauucaagg aagcauuuc cuuauucgac aaagauggcg augguaccau 60
 aacaacuaag gaauugggua cgguaugag aucacucggu cagaauccca cagaagcaga 120
 auuacaagau augauuaaag aaguggaugc agaugguaau gguaccaucg auuuuccgga 180
 guuccucacc augauggcua gaaaaaugaa ggauacagac agcgaagaag aaauuagaga 240
 20 agcauucaga guuuucgava aggaugguaa ugguuuuava ucggcagccg agcuaaggca 300
 cgucaugacg aaccugggug aaaaauuac agacgaaga guggaugaaa ugauucgaga 360
 ggcugauauc gac 373
 <210> 21
 <211> 372
 25 <212> PHK
 <213> Anopheles gambiae
 <400> 21
 acagaucgcu gaauucaaaag aagcguucuc gcuguucgac aaggacggcg auggcacaau 60
 caccaccaag gaauuaggca ccgugaugcg aucgcuaggc cagaacccca cagaagcuga 120
 30 auugcaagac augaucaacg aagucgacgc ggacgguaac ggcacgaucg auuuccccga 180
 guuucuaaca augauggcuc guaaaaugaa ggacacggac agugaagagg aaauccggga 240
 ggcauuccga gucuucgaca aggacggcaa cgguuuuau ucugcagcug agcugcgcca 300
 cgucaugacu aaucugggcg agaagcuaac agacgaggag gucgacgaga ugauccguga 360
 agccgauava ga 372
 35 <210> 22
 <211> 364
 <212> PHK
 <213> Solenopsis invicta
 <400> 22
 40 cagaauucaaa agaggcauuu augcuuuucg acaaggacga agauggcacg auuacgaugg 60
 cggaauuagg gguugucaug cggucucucg gucaaagacc gucgagacg gaacugcgcg 120
 auauuggugaa ugagguagau caagauggaa augguaccau cgaguuaaac gaauuucugc 180
 agaugaugc gaagaagau gaaagcgccg acggagagga cgaacuucgc gaggcguucc 240
 gaguguucga uaagaacaac gauggcuuaa uaucuucgaa agaguugcga cacguaauga 300
 45 cgaaucugg ugaaaagcuc ucugaggagg agguugauga uauuuuag gaggcggau 360
 uaga 364
 <210> 23
 <211> 373
 <212> PHK
 50 <213> Varroa destructor
 <400> 23
 acagguggcu gaauuuuaag aggccuuuc uuuguuugac aaggacgccg auggaau 60
 uacggccgcc gaacuaggcg ucgucaugcg aucguuggc cagcgaccua cggagcaaga 120
 gcuaagaaa augguuacca ugguugacca ggacggcau gguacaaucg aguucacga 180
 55 guuuuugaug augaugucuc gcaagaugaa ggaggcagac ucggaggaag aacuccggga 240
 ggcguuccgu guguucgac gagacgguga cggauuau ucgcgggacg agcucagugu 300
 cgucaugaac aaccucggcg agaaauuaag ugacgaugau guugaggava ugauucgaga 360
 ggccgaucug gac 373
 <210> 24
 60 <211> 627

<212> ДНК
 <213> Tetranychus urticae
 <400> 24
 attcatcaga tttaaaatta ttcacctgt acctgaatta aaacaatagt attatataag 60
 5 atggctgacc agctaactga agagcaaatt gctgaattta aggaggcctt tcattgttt 120
 gataaagatg gtgatggtag aattaccacc aaggaattgg gaactgttat gagaagtcta 180
 ggtcaaaatc caacagaagc ggaattacaa gatatgatca atgaagttga tgccgatggt 240
 aatggtacta ttgattttcc tgaattcttg actatgatgg ctgaaaaat gaaggataca 300
 gactcagagg aggaaatccg tgaagcttc cgtgttttg ataaagatgg taatggttt 360
 10 atttctgtc ctgaattgag acatgtaatg accaatttgg gtgaaaaatt gaccgacgaa 420
 gaagtagatg aatgattcg tgaagccgat attgacggtg atggtcaagt taattatgaa 480
 gaattgtaa cgatgatgac atccaaatga ataaaagcac aaggtaatt gttcattta 540
 attagatcca atggaatccca tcatgacag ggataaaaat taatcaataa aagatgaaaa 600
 gcaaaaaata catggaagct atcatca 627
 15 <210> 25
 <211> 372
 <212> РНК
 <213> Tetranychus urticae
 <400> 25
 20 caaaauugcug aauuuuagga ggccuuuua uuguuugaua aagaugguga ugguacaauu 60
 accaccaagg aauggggaac uguuugaga agucuagguc aaaauccaac agaagcggaa 120
 uuacaagaua ugaucsauga aguugaugcc gaugguuaug guacuauuga uuuuccugaa 180
 uucuugacua ugauggcuaa aaaaaugaag gauacagacu cagaggagga aaucgugaa 240
 gcuuuccgug uuuuugauaa agaugguaau gguuuuuuuu cugcugcuga auugagacau 300
 25 guaaugacca auuuggguga aaaaauagacc gacgaagaag uagaugaaau gauucgugaa 360
 gccgaauuug ac 372
 <210> 26
 <211> 1114
 <212> ДНК
 30 <213> Varroa destructor
 <220>
 <221> невизначений
 <222> (1)..(1114)
 <223> невизначений за всіма п положеннями
 35 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1100)..(1110)
 <223> п являю собою а, с, г або т
 <400> 26
 40 ggctcgtaca ccgagagaga acggtggact ccattgctgt cctgagtgcg ttctcgtcg 60
 gctgtgctg attgctgtgc tgtccgtgct ttcgtgcaca taagtttct tccacattg 120
 gagatattgt gaatagtatc ctttgtgtt agtgccctgaa caatatttga aatcgtcgaa 180
 cgtatcaaga cataaaaacg agccaaaatg gctgatcaac ttacggaaga acaaatcgca 240
 gaatttaagg aagcatttcc actatttgat aaagatggag atggtaccat cacaactaaa 300
 45 gagttgggta cagttatgag atcactaggt caaaatccca cagaagctga gcttcaggat 360
 atgattaatg aagttgatgc agatggtaat ggcacaatcg atttccgga attcttaact 420
 atgatggctc gtaaaatgaa agatactgat agtgaggaag aaattaggga ggccttcaga 480
 gtatttgata aggatggaaa tggttcata tccgcagcag aactcagaca tgttatgaca 540
 aatcttgccg agaaactcac tgatgaagaa gttgatgaaa tgattcgga ggctgacatt 600
 50 gatggatgat gccaaagttaa ttatgaagaa ttcgtcaca tgatgacatc aaagtgaatg 660
 caacctgtgt aatggaaaaa ctgcaactt ggagtgggtg tgacgtatta agataaatca 720
 agaaacaag aaaaatataa tgtaacaaa aaacgaatcg accagaaagt gaaaaaatc 780
 ttgtatctgg acgcaaatg gtctataaaa cgcgaaaaat taactgcaa cagcggttaa 840
 tcatcattaa cgataagtaa tacagggcaa ttgttaatt aaaagagtta taccactaaa 900
 55 aatcattatc tctaaatata caaaacttaa ttacacaaca tgaacataaa aatacatatt 960
 actcgcgcac atacatgaat acaaaaaaat atacagcaca cagaaatacc atctacataa 1020
 aagataattt atttccgtat taaaaagtat ataattaaaa aatgtagag atatatatat 1080
 ataatatata tatatatatn nnnnnnnnnn gtaa 1114
 <210> 27
 60 <211> 372

<212> PHK
 <213> Varroa destructor
 <400> 27
 acaaaucgca gaauuuuagg aagcauuuuc acuaauugau aaagauggag augguaccau 60
 5 cacaacuaaa gaguugggua caguuaugcg aucacuaggu caaaauccca cagaagcuga 120
 gcuucaggau augauuaaag aaguugaugc agaugguaau ggcacaauugc auuuuccgga 180
 auucuuaacu augauggcuc guaaaaugaa agauacugau agugaggaag aaauuaggga 240
 ggccuucaga guauuugaua aggauggaaa ugguuucuaa uccgcagcag aacucagaca 300
 uguuaugaca aaucuuggcg agaaacucac ugaugaagaa guugaugaaa ugauucggga 360
 10 ggcugacauu ga 372
 <210> 28
 <211> 822
 <212> ДНК
 <213> Varroa destructor
 15 <400> 28
 tttttttt ttttgaaga aatcgatca tcgaacatcg gatcgaattt cgatccacga 60
 cgctcgaatt acatgcaacg aagtgaatgt cagagggggg ggggcagggg aaaagtatgc 120
 gacgaacgtg tacgtccgtc gtccgctggc tcgtcgtaa ttcgttctat ctaacacaga 180
 cacgagaata agtaagatcc tagtagcccg gggacagcac ctctctctcc tcgtctctct 240
 20 cgctcgtcgtc gatccccggc tctccgagcg cgtggacgaa ttcgtagaaa tcgatacggc 300
 cgctcctcgtc cagctccact tcctgatca tctcctgat ctctcttcc gacaagtct 360
 cgccgagaca ttgcagcact gccctcaaat cggatgcggt gatgtatctt cgatttgttt 420
 tatcgaatac ccggaacgca tccctcagct cctgctctc ctgactctga tccgtggggg 480
 cggtttcatt cgcacctatg ttgtcacga ttccacgaa ctcttgaag ctgacatttc 540
 25 catccccgtc gatgtcgatc tcttgaaca tgggtcgcag ctctcggcc ctgcgcaatt 600
 gcccacgca ggcgatcacc ctcccgagct cctcctcgt gatgtctccg tccccgtct 660
 tgcgaacag tctgaacgct tccctgaatt ctttcattg agatttggat atattgctcg 720
 gtatcttggg ggacgactca gaggcggatt tttcggcga cgcaggtaag gagaagagga 780
 cgttggctga caattggcg gcctccgtgg acgaggaggc cg 822
 30 <210> 29
 <211> 300
 <212> PHK
 <213> Varroa destructor
 <400> 29
 35 aacguguacg uccgucgucc gcuggcucgu cguuaauucg uucuaucuaa cacagacacg 60
 agaauaagua agauccuagu agcccgggga cagcaccucc uccuccucgu ccuccucguc 120
 gucgucgauc cccggcucuc cgagcgcgug gacgaauucg uagaaaucga uacggccguc 180
 uccguccacg uccacuuccu ugaucuauc cucgaucucu ucuuccgaca aguccucgcc 240
 gagacauugc agcacugccc ucaaaucgga ugcggugaug uauccucgau uguguuuauc 300
 40 <210> 30
 <211> 2577
 <212> ДНК
 <213> Varroa destructor
 <400> 30
 45 ctgctgctgc tgctgctgct gctgctgccg tgtaagaac tagacaaagg caacaaccgg 60
 aagacatctg ttaggccagt tgggtgaagg gaaataaact cgcaacaaag agctactgtt 120
 gcaaaagcta tctgttctga gtcttagact agactgggat cgactaaca ctctgcaggc 180
 cgtggaccac tatcactgaa caacgccgca ggaccgagcg attgagaagt tggccgcgcc 240
 tgggacgctc tggctcactt gatctgatta ctacttacac caggtaatt taaccaagcc 300
 50 gttgaaccac tctacatgg aaacacacat ctactctc atccaattgt gtacacgcga 360
 agcaaacgac aacggtatta gcagcgacac taacaaaaac gaatctgcca gaaaccgagt 420
 aacgctgatt tctgcagcgg cgttctacg aacttaccac agaccgggtc ggcacaatag 480
 tttgaagggt agcatcgcc cgtgaactat agtgaaagga actgagcgaa atactatagt 540
 tgttgaacag caggctcaa agtaagaag tgaatattct tatggtgaca acaaatattg 600
 55 tctgtagtgg tcaagacct actcaatgaa gtgagaagcg aattcatatg tgctcagta 660
 tagcagttgt ttgtcgaat gccgccaata tacgacgtct gtgtgtctcg atactggcgt 720
 atctgactga ttccgatcgg tgcattgat ctgcaaagcc aattgtttc ttacgtccc 780
 ggatagagca aacgatcatg gcaacggaaa catttggcct gccggaggaa caggtggctg 840
 aatttaaaga ggcctttctt ttgttgaca aggacgccga tggaatgatt acggccgccg 900
 60 aactaggcgt cgcatcgca tcgcttgcc agcgacctac ggagcaagag ctcaagaaaa 960

tggttacat ggttgaccag gacggcaatg gtacaatcga gttcaacgag ttttgatga 1020
 tgaatgctcg caagatgaag gaggcagact cggaggaaga actccgggag gcgttccgtg 1080
 tgttcgatcg agacggtgac ggattcatct cgcgggacga gctcagtgtc gtcataaaca 1140
 acctggcgga gaaattaagt gacgatgatg ttgaggatat gattcgagag gccgatctgg 1200
 5 acggcgatgg caagattaac taccaagagt ttgtgctcat tatcacctcc gccaaagtagg 1260
 ccttggaggt gctcgcgcac acacatgcta ttctcttgt cctacacgac aaacactata 1320
 cacgttaca tacggaaaaa tgaaataaaa gcacagtcac acttattcat tcattcacag 1380
 aggatcactg gcgtgtcctc attaatatgg ctgacaaata ctattgatt gtctcgactg 1440
 agctatcagg cacacgcata ttgtctgtc cgatacgtgc aataataggt aaagtgggtg 1500
 10 tagcttgagc acctacggg ttacatttat tccgtattaa cggtagctatg tctcaatag 1560
 catgtcgcag cattagccag ctaacattaa atttagtgga tttttttt attttttac 1620
 acaacaagaa ttacttact atttggaag ctgactgcga gtagtaaaat taccctagta 1680
 aaaaaaaaaa gctttaaaaa cgatttaaca aagggtgcgc catttaaaaa agtatgacac 1740
 aagctaagt gtctgatcgc ggtcgggtgc attcggccag ttgtgagac gcgaaatta 1800
 15 ccagcagccg tcaacaacga tggaataatt atatattaaa tataaataat aaaatatctg 1860
 ttacacattc tatgtgaata aagtataca tatatatata catacaacag caatgatata 1920
 tatgatgata cgtatactat atagaagtat ccactgatag aggataatgg gaaattctgg 1980
 aaaggagaaa acatatctt ctttcataat taatgaatta tcatcgagca cctcaagaat 2040
 ttgcttagac atattacaaa aaaaaaatta attcactata tataaataat cgcaattaat 2100
 20 caaaaaaaaa atacggtcat ttatggcata ccctagggtta ataaacttca taaaggtagc 2160
 tatatatata tctttttac tgtctctta atcgtcatta tacatagtg cgattaaaga 2220
 gagagagtaa aaaagaggtc aaaataaaag actgaagtc gattgaggtt aatttttatt 2280
 ctagggtata tgtgttttg cggatttata gtgtgctcgt tgtaaaagt gacgtaagga 2340
 gttgaaacgc ggagagcagt ataacagtaa aatggagagg aagtttagaa gttgggaaat 2400
 25 aatgatttg ctactaattg gaaattacaa aaatgacct taaagaact tatcattaga 2460
 attttaatat ctgccacact gaaccgttt gtcatattt cgacatagc gatttcaca 2520
 cagttgtctc acgtttgagg cttatcgtt taaaggctaa cggaaatttc tctaaag 2577
 <210> 31
 <211> 373
 30 <212> PHK
 <213> Varroa destructor
 <400> 31
 acagguggcu gaauuuuag aggccuuucu uuuguuugac aaggacgccg auggaugau 60
 uacggccgcc gaacuaggcg ucgucaugcg aucguuaggc cagcgaccua cggagcaaga 120
 35 gcucaagaaa augguuacca ugguugacca ggacggcaau gguacaaucg aguucacga 180
 guuuuuugaug augaugucuc gcaagaugaa ggagggcagc ucggaggaag aacuccggga 240
 ggcguuccgu guguucgauc gagacgguga cggauucauc ucgcgggacg agcucagugu 300
 cgucaugaac aaccucggcg agaaauuag ugacgaugau guugaggaua uguuucgaga 360
 ggccgaucug gac 373
 40 <210> 32
 <211> 693
 <212> ДНК
 <213> Varroa destructor
 <400> 32
 45 cgctctata cagtgaataa gtcggataag gttatgttac tcagtaactt aaccttatct 60
 tggataacgt tatttgacac gtaaacgaaa agtaataaca aagttttgta ttatggctcg 120
 ttattttcga gaggaagata tagatgaatt cagggaatgt tttatctat ttgcaaggaa 180
 tggtaaaata cgtactttgg atgagcttac aatcattatg agatcattag gattaagtcc 240
 aactattgca gaattaaata aatatttgaa agataaagggt gaaaaaatgt ctttgccga 300
 50 ttcttggaa gttatgcac tacaaactag agctgaagat ttacaaaag aagtataga 360
 tgctttcaa gctgcagata aatttaggac tggcactata ccagctagac agttagcgca 420
 tatgttactc cactgggtg aacaattaag taacaagaa gtggagcaaa tttcagaga 480
 ggcaaatgtg tctcaaag gacaagtaaa gtacgaagat ttgttaaaa tagctgtgc 540
 acctgtacct gattactatt aaaataaata ttttcatat ttttaaaaga tatttatata 600
 55 ctttttacac aatacacag tatttaatta ataaaaggat aaaaatgac ataaaagaaa 660
 aagaatttat tctccagca acttatctc gac 693
 <210> 33
 <211> 315
 <212> PHK
 60 <213> Varroa destructor

<400> 33
 augcuuuuca agcugcagau aaauuuagga cuggcacuau accagcuaga caguuagcgc 60
 auauguuacu ccacuggggg gaacaauuaa guaacaaga aguggagcaa auuuucagag 120
 aggcaaaugu gucuccaaau ggacaagua aguacgaaga uuuuguuaaa auagcuugug 180
 5 caccuguacc ugauuacuaa uaaaauaaa auuuuucuaa uuuuuuaaag auauuuauau 240
 acuuuuuaca caauacacac guauuuuaau auaaaaagga uaaaaaugau cauaaaagaa 300
 aaagaauuuu uucuu 315
 <210> 34
 <211> 612
 10 <212> ДНК
 <213> Varroa destructor
 <400> 34
 cgtttttta atttcaaaga ctctgtatt tctttctt tccttccta caaaccaaac 60
 acaagctaga aagagggtcg attttgcag gaagaagaag gaacaatggc tgatcagctc 120
 15 accgatgacc agatctctga gttaaggaa gccttcagcc tcttcgataa ggatggagat 180
 ggttgatca ccaccaagga gcttgaact gtgatgaggt ctctggcca gaacccact 240
 gaggcagagc tccaggacat gatcaacgag gtggatgctg atggcaatgg aacaattgac 300
 tttcctgagt tctaaacct catggccagg aagatgaagg atactgattc tgaggaggag 360
 ctcaaggaag ctttccgcgt gttgacaag gaccagaatg gcttcattc tgcggctgag 420
 20 ctccgccatg ttatgacgaa tcttggtgag aagctcacag acgaggaagt tgatgagatg 480
 atccgtgagg ctgatgtaga tggtagcggc cagattaact acgaggagtt tgtcaaagtc 540
 atgatggcca agtgaggatc attaaccaaa ccttaaaatt tcgaaagcat aaacatttaa 600
 aaaaaaaaaa aa 612
 <210> 35
 25 <211> 371
 <212> PHK
 <213> Varroa destructor
 <400> 35
 cagaucucug aguuaaagga agccuucagc cucuucgaua aggauggaga ugguuguauc 60
 30 accaccaagg agcuuggaac ugugaugagg ucucuuggcc agaaccacac ugaggcagag 120
 cuccaggaca ugaucacga gguggaugcu gauggcaug gaacaauuga cuuuccugag 180
 uucuuaaacc ucauggccag gaagaugaag gauacugauu cugaggagga gcuaaggaa 240
 gcuuuccgcg uguugacaa ggaccagaau ggcuucauuu cugcggcuga gcuccgcau 300
 guuaugacga aucuugguga gaagcucaca gacgaggaag uugaugagau gaucgugag 360
 35 gcugauguag a 371
 <210> 36
 <211> 659
 <212> ДНК
 <213> Ixodes scapularis
 40 <400> 36
 acaccgcgct cgacgagaac tcgcgcaagg agcgcgtgct aacgccgata gctctctac 60
 aaaagaaaac taaagacttg acacgtcaa taccgatctt tcacatttc agcaaaattt 120
 gagcattccg aatatggacc tgactccgga agagatcgcg gacatcaagg gagcgtttct 180
 gctgttgac cgcaacggcg acggaacct ctccacgact gagctagaga tggctctccg 240
 45 cgccatgggc gaacggccca gtccttcca gctggcccgt atagtgcggc aaattgacag 300
 cgaccgcaat ggaagcatcg actccaaga gtttcttt tcatggccg gcaggatttc 360
 ccacaaaggc ctctcaaaa gcgcagtct caaggccttc caactctcg accgcgatgg 420
 caatggatac ataccaggg aggaactcgt ccacatttc acgcacgttg ggcagagcat 480
 gagccaagaa gacgccgaaa agataatccg cgaagtggat gtgacaagg acggaagat 540
 50 ccattacact gaattgtgta acaaggtgct gccaccaag aagcaaaaag aagaaacaa 600
 aacctagaag gtcgtcgctt ggcacgtct tattattaa acaagtgtt tatcgcttg 659
 <210> 37
 <211> 374
 <212> PHK
 55 <213> Ixodes scapularis
 <400> 37
 agaucgcgga caucaaggga gcguuucugc uguugaccg caacggcgac ggaaccauc 60
 ccacgacuga gcuagagaug guccuccgcg ccaugggcga acggcccagu ccuucccagc 120
 uggcccguau agugcgga aauagacagc accgcauug aagcaucgac uuccaagagu 180
 60 uucucuuuu cauggccggc aggaauucc acaaaggccu cuccaaaagc gcaguccuca 240

aggccuucca acucuucgac cgcgauaggca auggauacau caccagggag gaacucgucc 300
 acauuuucac gcacguuggg cagagcauga gccagaaga cgccgaaaag auaauccgcg 360
 aaguggaugu ggac 374
 <210> 38
 5 <211> 549
 <212> ДНК
 <213> Ixodes scapularis
 <400> 38
 gattcgtcca cttatttgt ccctattctt cgtccgcagt cgtcctcgag gaaaagtgcg 60
 10 tcagggtcgg gctacaagcg gaaactgagc ggaaagccag aaccgagcga ggagcagaag 120
 aatgacatga aggaagcgtt cagtctctc gatccagtg gcacgggctt catggagtct 180
 aaagatatga agtttgaat gagagcactg gggtttgaac caaaaaagga ggaagtgaag 240
 aaactgatag cagagattga caagcagggg actggaaaaa ttccttgga ggagttcatg 300
 agcgtcatgt ccacgaggct ggctgagaaa gacataaatg aggagattat gaaggcgtt 360
 15 cagctgttg atgaggatgg cactgggaag attcttta agaacctcaa gaatgtggcc 420
 aaggaactgt cggagaacct cacagatgag gagcttcagg aatgatcaa tgaagctgac 480
 agggatggag atggcgaagt gaaccaagag gagttccta ggataatgaa gaagacctgc 540
 ctctactga 549
 <210> 39
 20 <211> 373
 <212> PHK
 <213> Ixodes scapularis
 <400> 39
 ugaaggaagc guucagucuc uucgauccea guggcacggg cuucauggag ucuaaagaua 60
 25 ugaaguuugc aaugagagca cuggguuuug aaccaaaaaa ggaggaagug aaaaaacuga 120
 uagcagagau ugacaagcag gggacuggaa aaauucccuu ggaggaguuc augagcgua 180
 uguccacgag gcuggcugag aaagacauaa augaggagau uaugaaggcg uuucagcugu 240
 uugaugagga uggcacuggg aagauuuuuu uuaagaaccu caagaugug gccaaaggaac 300
 ugucggagaa ccucacagau gaggagcuuc aggaauugau caaugaagcu gacagggau 360
 30 gagauggcga agu 373
 <210> 40
 <211> 234
 <212> ДНК
 <213> Ixodes scapularis
 <400> 40
 35 atggccaaga acgtccgcgc cctggacacc gaggaggaga tttggaggc ctcaaagtc 60
 ttcgaccgca acggcgacgg cttcgtgagc acagccgagc tccgtcacgt gatgaccacg 120
 ttaggcgaga agttgacgca cgaagaagtg gacgagatga tccgcgaggc cgaccgcgac 180
 ggcgacggac agatcaacta cgacgagttc gtggccatga tgacttcaa gtga 234
 40 <210> 41
 <211> 213
 <212> ДНК
 <213> Ixodes scapularis
 <400> 41
 45 cctggaaccg aggaggagat tctggaggcc ttcaaagtct tcgaccgcaa cggcgacggc 60
 ttcgtgagca cggccgagct ccgtcacgtg atgaccacgc taggcgagaa gttgacgcac 120
 gaagaagtgg acgagatgat ccgcgaggcc gaccgtgacg gcgacggaca gatcaactac 180
 gacgagttcg tggcatgat gacctcaag tga 213
 <210> 42
 50 <211> 200
 <212> PHK
 <213> Ixodes scapularis
 <400> 42
 gaggaggaga uucuggaggc cuucaaguc uucgaccgca acggcgacgg cuucgugagc 60
 55 acggccgagc uccgucacgu gaugaccacg cuaggcgaga aguugacgca cgaagaagug 120
 gacgagauga uccgcgaggc cgaccgugac ggcgacggac agaucaacua cgacgaguuc 180
 guggccauga ugaccuccaa 200
 <210> 43
 <211> 450
 60 <212> ДНК

<213> Aedes aegypti
 <400> 43
 atgtccgccc atagtctaac agaggaacaa gggcgccagt tccgtcagat gttcgagatg 60
 ttgcacaaaa atggcgacgg ttgatcagc acatcggaac tgggatcggg cattcggggc 120
 5 ttgggtatga atccctccat tgcggaaatc gagcaaatga tccacgaggt cgatttggac 180
 ggaagtgggt cgattgagtt gaacgaattt ctcatactga tggcacgtaa gtcacgggag 240
 ggttccacac aggaagagct acgggatgcg ttcaaaattt ttgacaagga tggagatgga 300
 ttctcacgg ttgacgagtt gtcggctgtt atgaagaact ttggcgagag attgaccgat 360
 gacgaactag cagatctgct ggaggaagcc gacatcgatg gagacggaaa gatcaactat 420
 10 gaagaatttg tcatcatgtt gagcaagtga 450
 <210> 44
 <211> 300
 <212> PHK
 <213> Aedes aegypti
 15 <400> 44
 acagaggaac aagggcgcca guuccgucag auguucgaga uguucgacaa aaauggcgac 60
 gguucgauca gcacaucgga acugggaucg gucauucggg ccuuggguau gaaucccucc 120
 auugcggaau ucgagcaaau gauccacgag gucgauuugg acggaagugg gucgauugag 180
 uugaacgaau uucucuaacu gauggcacgu aagucacggg agggauccac acaggaagag 240
 20 cuacgggaug cguucaaaau uuugacaag gauggagaug gauuucucac gguugacgag 300
 <210> 45
 <211> 465
 <212> ДНК
 <213> Aedes aegypti
 25 <400> 45
 atgtccgccc aaaccccgcc agacaagctt tcccaggatc aaatcgaaga actgcgggaa 60
 gctttctccc tgttcgacac caacggcgac ggaaccataa cctgttcaga acttggcaca 120
 gtccttcgat cccttggcaa aaatgtatcc gacgcggaag tggagaact gctcaaagaa 180
 gtcaacgtcg accacgaagg aatgatccac ttccggact tcttgcaat gatgtccatc 240
 30 cgattgcggg acttcaatag cgaggaggaa ctcaaggaag ccttccggat ctctgaccgc 300
 aacggagatg ggtctatttc ggcggacgaa ttgcgagcgg ctctccaatc ttccgggaa 360
 cagctggccg aggaggaaat cgaagaactg ctccgggagg cggatgtcaa ctgcgacgga 420
 caaatagact acgaggagtt tgtaaaatg atcacgctga aataa 465
 <210> 46
 <211> 300
 <212> PHK
 <213> Aedes aegypti
 35 <400> 46
 caaaucgaag aacugcgga agcuuucucc cuguucgaca ccaacggcga cggaaccava 60
 40 accuguucag aacuuggcac aguccuucga ucccuuggca aaaauguauc cgacgcggaa 120
 guggaagaac ugcuaaaga agucaacguc gaccacgaag gaugaacca cuuuccggac 180
 uucguggcaa ugauguccau ccgauugcgg gacuucuaa gcgaggagga acucaaggaa 240
 gccuuccgga ucuucgaccg caacggagau gggcugauuu cggcgacgga auugcgagcg 300
 <210> 47
 45 <211> 1150
 <212> ДНК
 <213> Aedes aegypti
 <400> 47
 tctcaagga tatccggcaa ctgattatga cccggcaaac caacgatccc aacggccagc 60
 50 aacaggaaca gaacgaacca gaatccagtc agaacacca gagcgaccaa agcaacaacc 120
 agcccacgca gcgattgga ggaaccacct cggacttcag tgcagctcc gcgccacta 180
 atcgaagtat gcccggccac caggaggaca atcccaatca accggccagc gactgttcca 240
 gcctcgaggg aaatgtattc tgcgaaggcg gatccggcac cggagcgac ccgaaaacac 300
 gccgctcgca aacttccgat tcatcacct ccagcaactt caactacgt ctcaaccgga 360
 55 ggttcatac gaagaaccag atgaaggagt ttcgagaagc gttccggctg ttgacaagg 420
 ataagacgg ctcaatcacc aaggaagaac tgggaactgt catgaggtcg ttgggacaat 480
 ttgctcgcgt ggaagaatta caagagatgt tactggagat tgatgtgat ggcgatggaa 540
 acgtaagttt cgaagagttt gtcgacatca tctcaacat gacggatacc gtggcgga 600
 catcgccga ccaggaggaa cgtgagctac gtgatgcctt ccgtgtcttc gacaagcaca 660
 60 atcgaggtta cattacgga tcagatctac gggcggttct tcaatgtctg ggcgaagatt 720

tggatgaaga agaaattgaa gacatgatca aagaagtgga cgtggatgga gacggacgga 780
 tcgatttcta cgaattcgta catgctcttg gagaaccgga agattccaa gaaaacgacg 840
 acgaagacga ggcagtgtcc cccattcgc tgcctgtga cgtgcatgic taagaaccgc 900
 caggagaaaa atagctaacg ccaacgaatc gcattcctaa caaatgtcg aacaatctag 960
 5 agacattgac cagattttt ttaatatatt aacacacaaa aaaacttcgc ttaacgccat 1020
 tgtactctc catacgcttg ataacagatt ccagaacacc taatgaattt atcaatctat 1080
 acataataac tattcatctc taatcacgaa aaaagttaa ataaacatat caaattgagc 1140
 aaccaataag 1150
 <210> 48
 10 <211> 300
 <212> PHK
 <213> Aedes aegypti
 <400> 48
 gaguuucgag aagcguuccg gcuguucgac aaggauaau acggcucaau caccaaggaa 60
 15 gaacugggaa cugcaugag gcuguuggga caauuugcuc gcguggaaga auuacaagag 120
 auguuacugg agauugaugu ugauggcgau ggaacguua guuucgaaga guuugucgac 180
 aucaugucca acaugacgga uaccguggcg gaaacaucg ccgaccagga ggaacgugag 240
 cuacgugaug ccuuccgugu cuucgacaag cacaucgag guuacauuac ggcaucagau 300
 <210> 49
 20 <211> 450
 <212> ДНК
 <213> Culex quinquefasciatus
 <400> 49
 atgtcgccc actcgctcac cgacgaacag cagcgccagt accggcaa atgtcgaaacg 60
 25 ttgcacaagg atggcaacg ttccatcac acgacggaac tgggaacgct agtgcgagcg 120
 ctaggctta atcctcgat cgccgagatc gagcagatga tccacgaggt cgacctggac 180
 ggaagcggga cgtcgcgct gaacgagttt tacgtgtga tggcccgga gcatcggga 240
 gcctcgctgg aggacgagct gaggcaggct tcaagggtg ttgacaagaa cgaggatggg 300
 ttcttgacgg tggaggaaact gtcgatggtg atgaagaact ttggtgagcg gttgagcgat 360
 30 gaagagtgg cggtattgtt ggaggaggcg gatgtgaca aggacggctg gattaattac 420
 gaggaattt tgacctgtt gaccaagtag 450
 <210> 50
 <211> 300
 <212> PHK
 35 <213> Culex quinquefasciatus
 <400> 50
 acagcagcg caguaccggc aauguucga aacguucgac aaggauaggc acgguuccau 60
 cagcagcagc gaacugggaa cguagugcg agcgcuaggu cuuaauccu cgaucgccga 120
 augcagcagc augauccagc agguccgaccu ggacggaagc gggacgaucg agcugaacga 180
 40 guuuuacgug cugauggccc ggaagcaucg ggaagccucg ucggaggacg agcugaggca 240
 ggcuuuaag guguuugaca agaacgagga ugguuucug acgguggagg aacugucgau 300
 <210> 51
 <211> 477
 <212> ДНК
 45 <213> Culex quinquefasciatus
 <400> 51
 atgtcatgt cttcccgcca ccccaaacc accgcgacc ccctgacaa ggagcaaact 60
 gaagaactgc gcgaagcgtt caccctgttc gacaccaacg gcgacggaac gattccggc 120
 tcggaactgt ccaccgtgt cggggccctc ggcaagaacg tctcgacgc cgaagtcgag 180
 50 gaactgtga aggaggtccg caccgacgac gagggccgca tccggttcgg ggactttgtg 240
 gccatgatga cggtcgggtt gaaggactt aacaacgagg accagctgca ggaggcgtt 300
 cggatcttc atcgggacgg gaattggcg atttcggcg aagagctacg ggtcgcttg 360
 aggtcgtttt gggagcagtt gaccgaagag gagctggagg agttgctgc cgaggcggac 420
 gtcaacagt acggccagat tgactacggg gagtttgtc ggatgataac gcagtga 477
 55 <210> 52
 <211> 300
 <212> PHK
 <213> Culex quinquefasciatus
 <400> 52
 60 gcgaagcguu caccuguuu gacaccaacg gcgacggaac gauuuccggc ucggaacugu 60

ccaccgugcu gcgggcccuc ggcaagaacg ucucggacgc cgaagucgag gaacugcuga 120
 agggaguccg caccgacgac gagggccgca uccgguucgg ggacuuugug gccaugauga 180
 cgguccgguu gaaggacuuu aacaacgagg accagcugca ggaggcguuu cggaucucg 240
 aucgggacgg gaaugggacg auuucggcgg aagagcuacg ggucgcguug aggucguuug 300

5 <210> 53
 <211> 927
 <212> ДНК
 <213> Culex quinquefasciatus
 <400> 53

10 atgaccgatt ttctccagct tccccaatgc aatactcgac aaaccaacga cccaacacgc 60
 gccgagcagc aacaacagag cgaacccgaa tcgaaccaga gcagcacgca ccagagcagc 120
 agccacagct accagcagcc gtcgtcaacg cagcaccggt tggccggtat tccgtcgagc 180
 agtgccaacg cgagtcccgt gatcgccggg aacatgccc gccaccagca ccaggacacc 240
 gcgcccagtg acgatgggac ctcgagcagt ctggacggga gtgtctttgc cgccgacgga 300

15 actccgaccg ctccgggggc gttggccagg acgcgccgct cgcagacctc ggaatcgatc 360
 acctccagca acttcaacta cagttgaac cggagggtca tctccaagaa ccagatgaaa 420
 gagttccggg aggcgttccg gctgtttgac aaggacaacg acgggtcgat cacgaaggag 480
 gagctgggca cggtagtgcg atcactgggg cagtttgccc gtgtcgagga actgcaggag 540
 atgtctgtgg agattgacgt cgtggtgat ggcaacgtca gcttcgagga gttgtcgac 600

20 atcatgtcca acatgaccga cacggtggcg gaggcacccg ccgaccagga ggagcgcgaa 660
 ctccgggatg cgttccgctg gtttgacaag cacaaccggg gctacatcac ggcgtctgat 720
 ctgcgggcgg ttctgcagtg tctgggagaa gatttgacg aggaagaaat cgaagacatg 780
 atcaaggagg tggacgtcga cggcgatgga cggatcgact ttacgagtt tgtgcacgcc 840
 ctcgagagc cggaagattc acaggagaac gacgacgagg aggacccct gtcacctccg 900

25 tctactgtctg gtgacgtaaa cgcctaa 927
 <210> 54
 <211> 300
 <212> PHK
 <213> Culex quinquefasciatus
 <400> 54

30 gaguuccggg aggcguuccg gcuguuugac aaggacaacg acgggucgau cacgaaggag 60
 gagcugggca cggugaugcg aucacugggg caguugccc gugucgagga acugcaggag 120
 augcugcugg agauugacgu cgaugugau ggcaacguca gcuucgagga guuugucgac 180
 aucaugucca acaugaccga cagguggcg gaggauccg ccgaccagga ggagcgcgaa 240

35 cuccgggaug cguucccgcu guuugacaag cacaaccggg gcuacaucac ggcgucugau 300
 <210> 55
 <211> 333
 <212> ДНК
 <213> Culex quinquefasciatus
 <400> 55

40 atggtcgggt tccaagctgg ccatttgata tctcaatcac ggcgggggcg ctccgcgtgc 60
 gaaaacgggg aaattttgat tgatgacggc ggcggggggg agcggcgggt tttaaacctg 120
 ttctacaagg ggaataaaaa tgccgatcaa ctacagagg aacagatcgc cgagttcaa 180
 gaagcgttct cgctgttca caaagacggt gacggcacga tcacgacca ggagctgggc 240

45 accgtgatgc gatcgtagg ccagaacccc acagaagcag agctgcaaga catgataaac 300
 gaggtcgatg cggacggact gcatccgctt taa 333
 <210> 56
 <211> 300
 <212> PHK
 <213> Culex quinquefasciatus
 <400> 56

50 gucggugucc aagcuggcca uuugauaucu caaucacggc gggcgggcuc cgcgugcgaa 60
 aacggggaaa uuugauuga ugacggcggc ggcggggagc ggcggguuuu aaaccuguuc 120
 uacaagggga auaaaaauc cgaucacuu acagaggaac agaucgccga guucacagaa 180

55 gcguucucgc uguucgacaa agacggugac ggcacgauca cgaccaagga gcugggcacc 240
 gugaugcgau cguuaggcca gaacccaca gaagcagagc ugcaagacau gauaaacgag 300
 <210> 57
 <211> 934
 <212> ДНК
 <213> Acyrthosiphon pisum

60

<400> 57
gctgtgcacg tttgtttac ccgaaaaatg tgattcaaac ttcagtttt ttaaatttta 60
actgcgttgt ttaagaaaaa aaaaacccta aatttattat tgtttattaa taataaatca 120
atcgatcgaa taatcgtttg cgggtatacc taagtacgaa gtaaaatag agtgcacaaa 180
5 atagtataa tgaccgttat aaaaaggaat attcgagaat aaggaaactg acgagtagat 240
atgacatacg gactcaatca aatgaattg gttgtcga agatcaagtt gcggaattca 300
aagaagcatt tatgtgttc gataaagacc atgatggacg gattactgag gcagaactag 360
gagtggcat gagatcttg ggtcaaaggc ctactgaaac tgatttgcga ggtatggta 420
aagaagtga taaagatggc aatggtagta ttgagttga tgaattcctg ctaatgatgg 480
10 ctagaaaact aaaagcagca gatggcgagg aagaaatgca ccaagctttt aaagtattg 540
acaaaaatgg cgatggattc ataacatttg atgaactcaa acgtgttatg tgcagtatcg 600
gagaaaggct cactgatgaa gaaattgagg acatgataaa agaagcagat ttaaatggg 660
ataaaaaat tgattataaa gaatttatta caataataag ttctaagaaa taaaacgaat 720
tacggacttg gatgtaccct catatggcat tcgttctca tctgactctg tgcattggc 780
15 tgctaagact ttacttaata ataaacctg atcttctcta ctagaataaa atagctctgg 840
atcctaaagt aaaatataca gtataatttt aaaatagtcg tatacaaatt ttttttaa 900
tattgagtgt acctcatcca ttccagcaag tttc 934
<210> 58
<211> 372
20 <212> PHK
<213> Acyrthosiphon pisum
<400> 58
ucaaguugcg gaauucaaaag aagcauuuau guuguucgau aaagaccaug auggacggau 60
uacugaggca gaacuaggag uggucaugag aucuuugggu caaaggccua cugaaacuga 120
25 uuugcgaggu augguuaaag aaguggauaa agauggcaau gguaguauug aguuugauga 180
auuccugcua augauggcua gaaaacuaaa agcagcagau ggcgaggaag aaugcacca 240
agcuuuuaaa guauuugaca aaaauggcga uggauucaua acauuugaug aacucaaacg 300
uguuauuguc agauucggag aaaggcucac ugaugaagaa auugaggaca ugauaaaaa 360
agcagauuuu aa 372
30 <210> 59
<211> 2509
<212> ДНК
<213> Acyrthosiphon pisum
<400> 59
35 gatttttctg taaataacc cccccgggtt tcggataaac tcggtgtgcg tgtggacgcc 60
gccgccgccg cgtgagcgtt attcgctcg ctgtgattac gaacgctcgt gcagtcgtcg 120
tcatgcagca tctccgagac ccggcgaaag accatcagag tacgtgaaca ctgcacatca 180
cactccatcg cgatatactt atctgttaga cgacaccctt taccgaggac acaatgatat 240
acacgttata atactatcgt acatcgtata tattgtattc ttatcatcta atattatatt 300
40 atcacaatcg ttatattgta ttatagaatt attgtatc gtttaattt gacacgatac 360
gacatttggg gttgagaatc gcgcagagag agaaagagag agagaaaaag agagaataga 420
tattttgatg taaataatta ttacaatata atattgtatt tgaaaataga aacagataat 480
tggtcgttga ggcagttctc accttttaa gatatacata ttatattata tataaacagt 540
atttgtttt actccttga gtgaacattt cgtttaacta taccacaatt tattaatatt 600
45 atataatc tatcatggac ggtaaaatat catcgttatt cgaaaaatac tttcacctt 660
caccgctggg gaaccaaata aggaattttg tcaatcggca aatagacgag caaacgccac 720
aaaacgtaag cacacaacca accgctgtag cgaaacttca cagtaataat gtagtgaacg 780
gcaccactcc gaaaccatc acaagcaacg aaaaaccaac ggaagtccaa gtacatccac 840
aaccacttca gcctgccgat agaaacttag tgcacgttac taaagcacag atgaaagaat 900
50 ttaagaagc atttaggtta ttgataaag acggtgacgg cagcatcact aaagaggaat 960
tgggtcagat tatgcggagt ctggacagt ttgctagaga agaagaattg gagacaatgt 1020
tacaagaagt cgacatcgat ggcgatggag cgttcagttt tcaagagttt gtgaaattg 1080
tgtacaatat ggggtgtaca gcagaaaaga cggcggacca agaggaaaaa gagctccgag 1140
acgcatttag ggtatttgac aaacataacc gaggatataat aagtgcgtcg gacttgagag 1200
55 ctgtccttca atgtttggg gaagatttgt cagaagaaga aatcgaggat atgatcaagg 1260
aagtagacgt ggacggagat ggaagaatcg attttacga atttgtgaat gcccttgag 1320
aaccaggaga tgattatgat gaaaacgacg aagatgaaga agatatttat cccaattgg 1380
acattcaaac ataactata acaattaca cgttttagta tgatcgata acaagttcag 1440
ttaaattga attatcaaaa atgataacaa tatttttgt aaacttaggt taaatgtta 1500
60 aaacttacc cattttgtaa ttctatcag gaataaacac accaataatct gttttttt 1560

tgccaactaa tgatctctaa taagtaaac atattttact ttaatatcaa tgtactactg 1620
tagtattgtt aagtaattta tgcattttc aatgtttaat gtataaatta atcatttaat 1680
ggtagaatca gtaattcacc ttaagacca attatttatt aaaaacatat tatatcatta 1740
attacttaa tgtatacat ttagtcaaaa aacattcagt tatatgttat aagtcgttat 1800
5 aactatttat ttaagaaact ataaaaaatt attatttatt ataatagttt acgtatctat 1860
ttacttccat ggaaggtatt tataaataga aaatgttaag gtaactaat taaaacaata 1920
attatgaaca agtattttta ctttaaaaaa attacataat tatattgtca gtattcttc 1980
aaatacaatt aattcaaatt tgtgaaattg tccattcttc ctttatgctt tgtgaactaa 2040
atttaaatac attaagaacc agagtacaat taaaggaaat agtcagctgc gtgtttttt 2100
10 gttggcattc ctggttttc ttgtggtgct gcctcaata ttgtaaaatc tctttgaagt 2160
gtttactga gtccaatat tgccgcaacg ttaccacatc tattatttac aattagtatt 2220
aacaattaaa taacagcatt aataaataaa tagtataatg taatttttag agtagtatt 2280
accgataaca atagtgggt gctgaccaa cagtaagcac ggtttcatca aaatgccatt 2340
tatatccttc catgactagt tgatgagctc gacaaataat atctatatca ttttagtat 2400
15 taaactggga gacaacatca gaacaaata ggtatccagc acccgagga ctacacccc 2460
atccctgagt atctaaaata attgtgtatg taaaaaatct attttttt 2509
<210> 60
<211> 294
<212> PHK
20 <213> Acyrthosiphon pisum
<400> 60
acagaugaaa gaauuugaag aagcauuuag guuauuugau aaagacggug acggcagcau 60
cacuaaagag gaauuggguc gaguuugcg gagucuugga caguugcua gagaagaaga 120
auuggagaca auguacaag aagucgacau cgauggcgau ggagcguuca guuuucaaga 180
25 guuuguagaa auuguguaca auauugggug uacagcagaa aagacggcgg accaagagga 240
aaaagagcuc cgagacgcau uuaggguaau ugacaaacau aaccgaggau auau 294
<210> 61
<211> 477
<212> ДНК
30 <213> Pediculus humanus
<400> 61
atggccgacg aaacgacgac ggaattaccg gaggaatac tttcggtga aaaaatcgca 60
gaattccgag aagctttcaa cttttcgac aaagatggcg acggtaacat aacgaccaa 120
gaattgggta ctgcatgag gtctctcggg cagaatccga cgaagcggga aatcgcgag 180
35 ctgatttgcg aagtagacgt agagggaaca ggttaatcg attcacatc gttcgtttg 240
ataatggcta aaaagataaa agacgtcgac aacgaggaag aactcagaga agctttaga 300
atatcgata aggaaggtaa cggattcata accgcatcg agtcaggca cataatgatg 360
aacttgggtg aaaaattaac ggaagaagaa tgcgacgaaa tgattagga agcggtatgc 420
atgggtgacg gaaatatcaa ttacgaagaa ttcgtacca tgatgatgtc aaagtga 477
40 <210> 62
<211> 379
<212> PHK
<213> Pediculus humanus
<400> 62
45 aaaaaucgca gaauuccgag aagcuuucac cccuuucgac aaagauggcg acgguaacau 60
aacgaccaa gaauugggua cuugcaugag gucucucggg cagaauccga cgaagcggga 120
aaucgcgag cugauuugcg aaguagacgu agagggaaca gguuuauucg auuucacau 180
guucguuuug auauugcua aaaagauaaa agacgucgac aacgaggaag aacucagaga 240
agcuuuuaga auauucgaa aggaagguua cggauucaua accgcauccg agcucaggca 300
50 cauaaungau aacuugggug aaaaauaac ggaagaagaa ugcgacgaaa ugauuaggga 360
agcggauugc augggugac 379
<210> 63
<211> 537
<212> ДНК
55 <213> Pediculus humanus
<400> 63
atgatgcta ggaatgaagt ttacaacacc gaatataatc gtttaagaaa attgacgtgt 60
agaacggaaa ttaattatc ttgctctgaa tatggtcta cggaggaaca agtcgctgaa 120
tttaaagaag ctttatgct tttgacaaa gatgaagatg gacaaataac aatggccgaa 180
60 ttaggagtcg ttatgagatc ttgggacaa cgtccgacag aaacggaatt aagagacatg 240

gttaaagagg ttgatcaaga tggaaatggt acaatcgaat tcaatgaatt ttacaaatg 300
atggcaaaaa aaatgaaagg agctgatggt gaagaagaac ttcgagaagc attcaggggtg 360
tttgataaaa ataacgatgg actcatttca tccattgaac ttcgacatgt catgacaaat 420
ttagggtgaga aactttcaga cgaagaagtt gatgatatga taaaagaagc agatttagat 480
5 ggagatggta tggtaacta caatgaattt gtaacgatat taacatcaaa aaattaa 537
<210> 64
<211> 417
<212> PHK
<213> Pediculus humanus
10 <400> 64
acaagucgcu gaauuuuaag aagcuuuuau gcuuuuugac aaagaugaag auggacaaau 60
aacaauaggcc gaauuaggag ucguuaugag aucuuuugga caacguccga cagaaacgga 120
auuaagagac augguuaaag agguugauc aagaugaaau gguacaauuc aaaucauga 180
auuuuuacaa augauggcaa aaaaaaugaa aggagcugau ggugaagaag aacuucgaga 240
15 agcauucagg guguuugaua aaaaauacga uggacucau ucauccauug aacuucgaca 300
ugucaugaca aaauuaggug agaaacuuuc agacgaagaa guugaugaua ugauaaaaga 360
agcagauuuu gauggagaug guaugguuua cuacaugaa uuuguaacga uauuaac 417
<210> 65
<211> 648
20 <212> ДНК
<213> Pediculus humanus
<400> 65
atgactacga aacataatat atctggaaga atacgggacg aaccaggggg acaaagggaa 60
aaaaatggaa atgaaccgg tcgaacaata acatatcaa caacagggaa caaaagaaat 120
25 attgatacaa tgacgaaaaa taacatatca aaatcgcaa tgaaggaatt tcgagaagct 180
tttcgacttt ttgacaaaga tggatggtg agtataactc aagaagaact tggaagagtt 240
atgagatctt taggacaatt tgccagagaa gaagaactac aagaaatgct taaggaagtt 300
gatatagatg gagatggaaa ttttagcttt gaagaatttg tgaaatcgt atcaaatatg 360
ggaggtgcag caactgaaaa aacagctgat gaagaagaga aagaacttag agatgctttt 420
30 agagtatttg ataaacataa tcgaggtttt ataagtgtt ctgatcttcg agctgttttg 480
caatgtctgg gtgaagaatt atcagaagaa gaaaaaatga taagagaagt tgatgtggat 540
ggagatggta gaattgattt ttctgaattt gttcgagctt tgggtacaca ctacaggcaa 600
aatttctttt tcaggtttct atccatttat attattagca cagtttga 648
<210> 66
35 <211> 449
<212> PHK
<213> Pediculus humanus
<400> 66
aucgcaaaug aaggaauuuc gagaagcuuu ucgacuuuuu gacaaagaug gugaugguag 60
40 uauaacucua gaagaacuug gaagaguuaa gagaucuuua ggacaauuug ccagagaaga 120
agaacuacaa gaaauvcuaa aggaaguuga uauagaugga gauggaaaau uuagcuuuga 180
agaauuuugu gaaauvcuaa caaaauaggg agguvcagca acugaaaaaa cagcugauga 240
agaagagaaa gaacuugag augcuuuuag aguauuugau aaacauaauc gagguuuuau 300
aagugcuucu gaucuucgag cuguuuugca augucugggu gaagaauuau cagaagaaga 360
45 aaaaauugau agagaaguug auguggaugg aagaugguaga auugauuuuu ucgaauuugu 420
ucgagcuuug gguacacacu acaggcaaa 449
<210> 67
<211> 648
<212> ДНК
50 <213> Pediculus humanus
<400> 67
atgatgaaaa acaaaactga cagcagtctc ggagctgagc attcagattt gaaacattcg 60
acgagtgaaa ccgaagaact ccaatcctcg gaactcgaag tgataaaaga tgaagagcct 120
caaatagatc tgagacagtt tctgacgaaa gaacaagtgc aagaattcaa aagaattttc 180
55 caggcttacg atgtcaacaa cgaagataaa atcccgttca aagccatcgg aatcattttg 240
agaaacatgg gattgaatcc gtccaaggcg atttcaaga gaatgacaaa ggaaatcgat 300
ccggataaaa acggttacgt ggatttcgaa atgtttttac atcccatggc acgaatgata 360
cacgaagtc cggaatatca cgaggacata atcgagcat tcaaagtttt cgacgaagac 420
gacgaaggtt tctatccgt taaagctttg accgaatacc tcacgaacct gggcgaagat 480
60 ttggaagatt tcgaaattga taatttgatt aaaatggcgg atcccaaagg cacgggccga 540

gtctactacg aaggattcgt cgagaaaatt ttcggaatcg taagaaacgg gaaaaaaaag 600
 aaaaatctca aagggaaaaaa gggaaaaaaa cgaaaaaaa atgaatga 648
 <210> 68
 <211> 451
 5 <212> PHK
 <213> Pediculus humanus
 <400> 68
 ucaauagau cugagacagu uucugacgaa agaacaagug caagaauuca aaagaauuuu 60
 ccaggcuuac gaugucaaca acgaagauaa aaucccgugc aaagccaucg gaaucauuuu 120
 10 gagaaacaug ggauugaau cguccaaggc gauucucaag agaaugaca aggaaucga 180
 uccggauaaa aacgguuacg uggauuucga aauguuuuu caucccaugg cacgaugau 240
 acacgaaguc ccggaauac acgaggacau aaucgcagca uucaaguuu ucgacgaaga 300
 cgacgaaggu uucguauccg uuaaagcuuu gaccgaauac cucacgaacc ugggcgaaga 360
 uuuggaagau uucgaaauug auaauuugau uaaaauggcg gaucaccaaag gcacgggccg 420
 15 agucuacuac gaaggauucg ucgagaaaau u 451
 <210> 69
 <211> 1546
 <212> PHK
 <213> Varroa destructor
 20 <400> 69
 guuuagccca uuucgcgcu gugucugucg gcgacugcgg aaguacugag cuagcugagu 60
 cguggugcuu agaaggcagu ggcagugagu ggcaucagcg guauaagug agggacaaca 120
 gccggagagu cgugucgguu gguaggucgg uucguugccg auuaauagcc cacaugugag 180
 uuacgugcg ucuuguuucc gcugugcauu ggacguuaca uacagagagu cagguguagu 240
 25 uuauuuuaga cgaaaaacua ccagcacuac cugauacagc gaccaacgu agagagggaa 300
 agagaaagag cuguuguuuc gcuagguuag uucugaaca uuggauugau ucgaaaugu 360
 acguuguuac ggcuaacggu ugaacggacu gugcaaacug cggauagugc gugaacuagc 420
 agacaacua uccaauaacu aacuacacgg uuauuuuuga uacaaacacc uaguucagac 480
 agacaauuuc gguuugcuuu guuggcacua uaaggaguaa gugauuugu uuuuuguuuu 540
 30 ucagucggcc uaguauuguc ggugcacuaa cggauaacag gagaggcagu acaaaggcaa 600
 cucgauucac uaucguuac gggcgcuau acagcgaaau auuaauaggg aaagcaagca 660
 agccagcccg ccaagccaa acccgggcg aaacgcagau accaacagcg cugaagugcg 720
 uggcaaacga caacgggaca guagggcaua agcuagacag cauauagcuu uucuaaccau 780
 ggugaucag cuaucagagg aacagaucgc cgaguucaaa gaggcguuu gccuguuuga 840
 35 caaggacgga gauggcacga ucacgacaaa ggagcucggu acgguaaucg gaucucucg 900
 ccagaacccc acugagggcug aacugcagga caugaucaac gagguagcag ccgacggcuc 960
 cggaaacga uauuuccug aguuccucac aaugauggca agaaagaua aggacaccga 1020
 cucggaggag gagauccgag aggcguuccg cguauucgac aaggauaggc acgguuuc 1080
 uuucggcgcc gagcucaggc acguuagac caaccuuggc gagaagcuu cggacgagga 1140
 40 gguagaugag augauucggg aggcagauau ugacggugau ggucaggua acucagagga 1200
 guucgucacc augaugacgu ccaaguaau auauagauau guuggcuguc ucguuauug 1260
 ucgugagaaa gaaagcgcg gcgaaagaaa gagagaaagg aaugaaaaac uauaaauagc 1320
 uuuguuuua agcaacgcaa caacaagcug uaagcaaca acauuuuu cgaaguauac 1380
 gaaauagaaa gucgacaggg aagcaagcac ggauauauau gaaaacuaag cgaaugacg 1440
 45 ucguaucau caccagcagc agcagcagca gcagcagcag cagcagcagc accaccacca 1500
 ccaccaucac gaccaccacc accaccacca ccaucacgac caccac 1546
 <210> 70
 <211> 1136
 <212> PHK
 50 <213> Varroa destructor
 <400> 70
 guucggcucg gggacuagcu gaucggucgg uguguauugu uggcuauugg caaagaccgu 60
 uguugagugg gcucgcugca cugagcguuu aaucugugug aaucguugg caauggcgga 120
 ucagcugacc gaggagcaaa ucgccgaau caaggaggcu ucagccugu ucgaauaaga 180
 55 cggugauggc acauuacga ccaaggaacu agggaccguc augcgguccc ucggccagaa 240
 ccuacugag gcugagcuu aagacaugau caacgagguc gacgcugacg gaaacggcac 300
 uauugacuuu ccagaguuu ucacgaugau ggcgcuuaa augaaggaca ccgacuccga 360
 ggaggagau cgggaagcu uuaggguuuu ugauaaagac ggaauggcu ucauuucggc 420
 ugagagcug aggcacguua ugaccaaccu uggcgaaaag cucacggacg aggaagugga 480
 60 cgagaugauc cgcgaggcg auaucgacgg cgacggacag gucaacuacg aggaugucgu 540

[illegible]

<210> 76
 <211> 150
 <212> РНК
 <213> Штучна послідовність
 5 <220>
 <223> Синтетична послідовність
 <400> 76
 агсиагасаг саиуагсиу иисиаассаи ggсигаисаг сиаасигаgg аасагаисгс 60
 сгаиисааа gaggсгиииа gссигиуига саaggасggа gauggсасга исасгасааа 120
 10 ggасгисggи асgиааигс гаисисгсgg 150
 <210> 77
 <211> 150
 <212> РНК
 <213> Штучна послідовність
 15 <220>
 <223> Синтетична послідовність
 <400> 77
 ссагаасссс асигаggсиг аасигсagga саугаисаас gaggисгасг ссгасggсис 60
 сgгаасгаиа гаиуиссгиг агииссисас ааугаuggса агааагауга aggасассга 120
 20 сисggaggаg гагаиссгаг аггсгиисгг 150
 <210> 78
 <211> 150
 <212> РНК
 <213> Штучна послідовність
 25 <220>
 <223> Синтетична послідовність
 <400> 78
 сгиаиисгас аaggаuggса асgиуисаи иисggсggсс gасгисaggg асгиуаугас 60
 саассиuggс гагаагсгиа сggасгagga gиагаугаг аугаиисgg аггсagаиаи 120
 30 угасggигаи ggисaggиса асиасгagga 150
 <210> 79
 <211> 150
 <212> РНК
 <213> Штучна послідовність
 35 <220>
 <223> Синтетична послідовність
 <400> 79
 гиисгисасс аугаугасги ссаагиаааи аиаугаиааи гиuggсигис исгигиаауг 60
 исгигагааа гааагсгсгс гсгааагааа гагагааagg ааагаааас иаиааиагс 120
 40 иигиигиааа агсаасгсаа саасаагсиг 150
 <210> 80
 <211> 150
 <212> РНК
 <213> Штучна послідовність
 45 <220>
 <223> Синтетична послідовність
 <400> 80
 иаагсаасаа асааиуиуа сгаагиаиас гаиааугааа гисгасaggg аагсаагсас 60
 gиаиаиаиаи гаааасиааг сгаааугасг исгисаисаи сассагсасг асгасгасга 120
 50 гсасгасгасг сасгасгасг ассассасса 150
 <210> 81
 <211> 150
 <212> РНК
 <213> Штучна послідовність
 55 <220>
 <223> Синтетична послідовність
 <400> 81
 гиисggсисг gggасиасги гаисggисгг игигиаиуги иggсиаиугг сааагассги 60
 игиигадигг гсисгсигса сгасгсгиуи аааисггиг аааисгиугг сааиggсгга 120
 60 исасгисасс gaggагсааа исгссгаиу 150

<210> 82
 <211> 150
 <212> РНК
 <213> Штучна послідовність
 5 <220>
 <223> Синтетична послідовність
 <400> 82
 сааggaggсси иисаgсссиgи исгаиіааага сggиgаиggс асаиіиасга ссааggааси 60
 10 аggгассгис аиgсggиссс исggссагаа сссиасигаg гсигаgсиис аагасаиgаи 120
 саасgаggиs гасгсигасg гиаасggсас 150
 <210> 83
 <211> 150
 <212> РНК
 <213> Штучна послідовність
 15 <220>
 <223> Синтетична послідовність
 <400> 83
 иаиигасиіи ссагагиіиis исасгаиgаи ggcгсгиааа аиgааggаса ссгасиссга 60
 ggаggагаиs сggгааgси иааggиіиіи игаиіаагас ggаааиggси исаиіисggс 120
 20 игсагагсиг аggсасгиаа игассааси 150
 <210> 84
 <211> 150
 <212> РНК
 <213> Штучна послідовність
 25 <220>
 <223> Синтетична послідовність
 <400> 84
 иggсгааааg сисасggасg аggааиggа сgагаиgаиs сгсgаggсgg аиаисгасgg 60
 сгасggасаg гисаасиасg аggагиисги сасгаиgаиg асаисааааи гааggгсиса 120
 30 сиаиигсгсг ggаааагсаg сссаасаааg 150
 <210> 85
 <211> 150
 <212> РНК
 <213> Штучна послідовність
 35 <220>
 <223> Синтетична послідовність
 <400> 85
 ааассиагаg игсгааагсg агаасгиіаа асасгаиgаи аигсиаага иаиіасаиас 60
 гасиагаggа сагааагаса гасагасага сигагсагас гаасggгсаа гиігаагааа 120
 40 агссгагииg аасиггсиаа ссгииggгиа 150
 <210> 86
 <211> 150
 <212> РНК
 <213> Штучна послідовність
 45 <220>
 <223> Синтетична послідовність
 <400> 86
 сисаиісаиа иисгаиагиі асагасааса асаиgааааа сгасагсаас ааиссгсаас 60
 ааасасасgg агаиигсаса сааиgаggги ааасигааса иggиgсгсг гаагииggаи 120
 50 ggсaгсggиa сасагигсиг сиасигсигс 150
 <210> 87
 <211> 150
 <212> РНК
 <213> Штучна послідовність
 55 <220>
 <223> Синтетична послідовність
 <400> 87
 игсигсаааи гсиаасасис ааиіаиgаи аиіаиіаиіа иаиіиіага ааиіаиіаа 60
 игиіигсисаа аагагаааса аасаасасаа асаагсиаи іаіаіаісиг ааіаіаагси 120
 60 аагаагаааи саагиагсаg исгасаиggg 150

<210> 88
 <211> 156
 <212> РНК
 <213> Штучна послідовність
 5 <220>
 <223> Синтетична послідовність
 <400> 88
 ggcaacgggii ucaaiiicggc ggccgagcuc aggcacguua ugaccaacsi uggcgagaag 60
 cuuacggacg agggagguaga ugaugaaii cgggagggag aiaaiugacgg ugauggucag 120
 10 gusaasiacg aggaaiucsi caccuauug acsiuc 156
 <210> 89
 <211> 257
 <212> РНК
 <213> Штучна послідовність
 15 <220>
 <223> Синтетична послідовність
 <400> 89
 ggcggaucag cugaccgagg agcaaiucgc cgaaiiuaag gaggcuiiua gccuuiucga 60
 uaaagacggu gauggcaca uucagacca ggaaiaggg accgucaguc ggucscucgg 120
 20 ccaaacssu acugaggguc agciuaaga caugaucac gagguccagc cugacgguaa 180
 cggcasaii uacuiiucag auiiucisac gaugauggcg cuaaaauga aggacaccga 240
 ciscgaggag gagauc 257

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

25 1. Композиція, яка поглинається бджолою, яка поглинається Varroa destructor або абсорбується Varroa destructor, що містить допоміжну речовину та молекулу нуклеїнової кислоти, яка має послідовність, яка комплементарна або ідентична щонайменше 21 суміжному нуклеотиду послідовності, вибраної з групи, яка складається з SEQ ID NO: 1-4, 88 і 89, або РНК, що
 30 транскрибується з неї.
 2. Композиція за п. 1, яка **відрізняється** тим, що вказана молекула нуклеїнової кислоти являє собою дволанцюжкову РНК (длРНК).
 3. Композиція за п. 1, яка **відрізняється** тим, що вказану допоміжну речовину вибрано з групи, що складається з білку, пилку, вуглеводу полімеру, рідкого розчинника, цукрового сиропу,
 35 кристалічного цукру і напіврідкої їжі.
 4. Композиція за п. 2, яка **відрізняється** тим, що вказана длРНК являє собою міРНК.
 5. Композиція за п. 1, яка **відрізняється** тим, що вказана послідовність містить щонайменше 23 суміжних нуклеотиди послідовності, яка вибрана з SEQ ID NO: 1-4, 88 і 89.
 6. Композиція за п. 2, яка **відрізняється** тим, що вказана послідовність длРНК являє собою
 40 длРНК, яка відповідає послідовності нуклеїнової кислоти, яка вибрана з SEQ ID NO: 3, 4, 88 і 89.
 7. Рекombінантний конструкт нуклеїнової кислоти, що містить нуклеїнову кислоту, яка ідентична або комплементарна області зі щонайменше 21 суміжного нуклеотиду послідовності, вибраної з групи, яка складається з SEQ ID NO: 1-4, 88 і 89, або РНК, яка транскрибується з неї, функціонально зв'язаний з промоторною послідовністю.
 45 8. Конструкт нуклеїнової кислоти за п. 7, який додатково містить щонайменше один регуляторний елемент, вибраний з групи, що складається з лідерних послідовностей трансляції, інтронів, ехансерів, структур "петля-на-стеблі", послідовність-зв'язуючих репресорів, послідовностей термінації, послідовностей паузи та послідовностей розпізнавання поліаденілювання.
 50 9. Клітина-хазяїн, яка містить рекombінантний конструкт нуклеїнової кислоти за п. 8.
 10. Застосування ефективної кількості композиції за п. 1 для забезпечення композиції медоносній бджолі.
 11. Застосування за п. 10, яке **відрізняється** тим, що вказана медоносна бджола являє собою фуражира або вуликову бджолу.
 55 12. Застосування за п. 10, яке **відрізняється** тим, що вказана медоносна бджола являє собою бджолу з бджолоїної колонії та вказане забезпечення знижує сприйнятливість вказаної колонії бджіл до Varroa destructor, знижує паразитизм Varroa destructor у вказаній колонії бджіл або знижує паразитарне навантаження Varroa destructor вказаної колонії бджіл.
 13. Застосування за п. 10, де вказане забезпечення знижує сприйнятливість вказаної
 60 медоносної бджоли до Varroa destructor, знижує паразитизм Varroa destructor вказаної

медоносної бджоли *Varroa destructor* або знижує паразитарне навантаження *Varroa destructor* вказаної медоносної бджоли.

5 14. Спосіб селективної обробки виду бджіл від *Varroa destructor*, який включає доставку ефективної кількості нуклеїнової кислоти, яка ідентична або комплементарна щонайменше 21 суміжному нуклеотиду послідовності гена кальмодуліну, вибраної з групи, яка складається з SEQ ID NO: 1-4, 88 і 89, або РНК, що транскрибується з неї, до видів бджіл.

15. Спосіб за п. 14, який **відрізняється** тим, що вказана обробка знижує паразитарне навантаження вказаного виду бджіл, знижує загибель вказаного виду бджіл або попереджає зараження вказаного виду бджіл.

10 16. Спосіб за п. 14, який **відрізняється** тим, що вказаний вид бджіл вибирають із групи, що складається з *Apis mellifera*, *Apis cerana*, *Trigona minima*, *Halictidae* і *Bombus* sp.

17. Спосіб за п. 14, який **відрізняється** тим, що вказаний вид бджіл являє собою *Apis mellifera*.

15 18. Спосіб за п. 14, який **відрізняється** тим, що вказана доставка включає доставку за допомогою годівниці, розпилення на рамки вулика або доставку за допомогою контакту із застосуванням внутрішньовуликового пристрою, просоченого вказаною композицією.

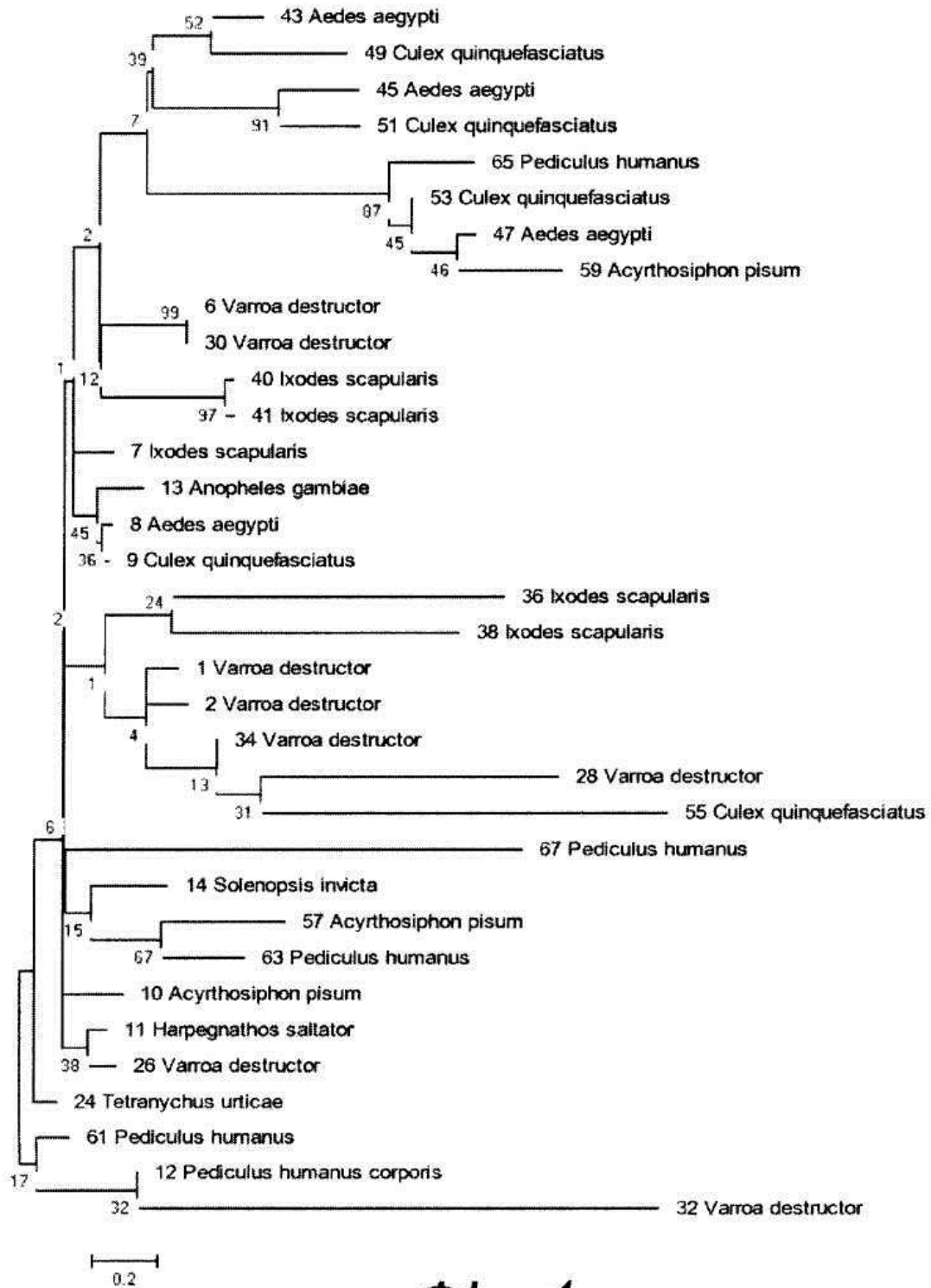
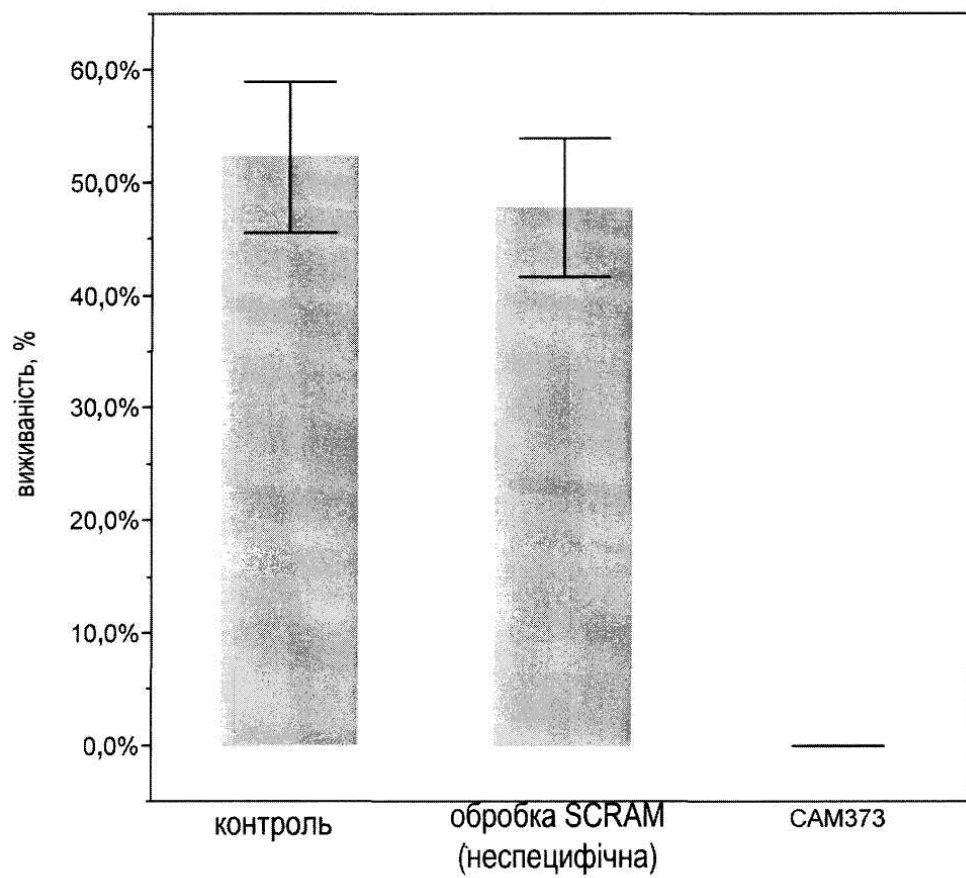
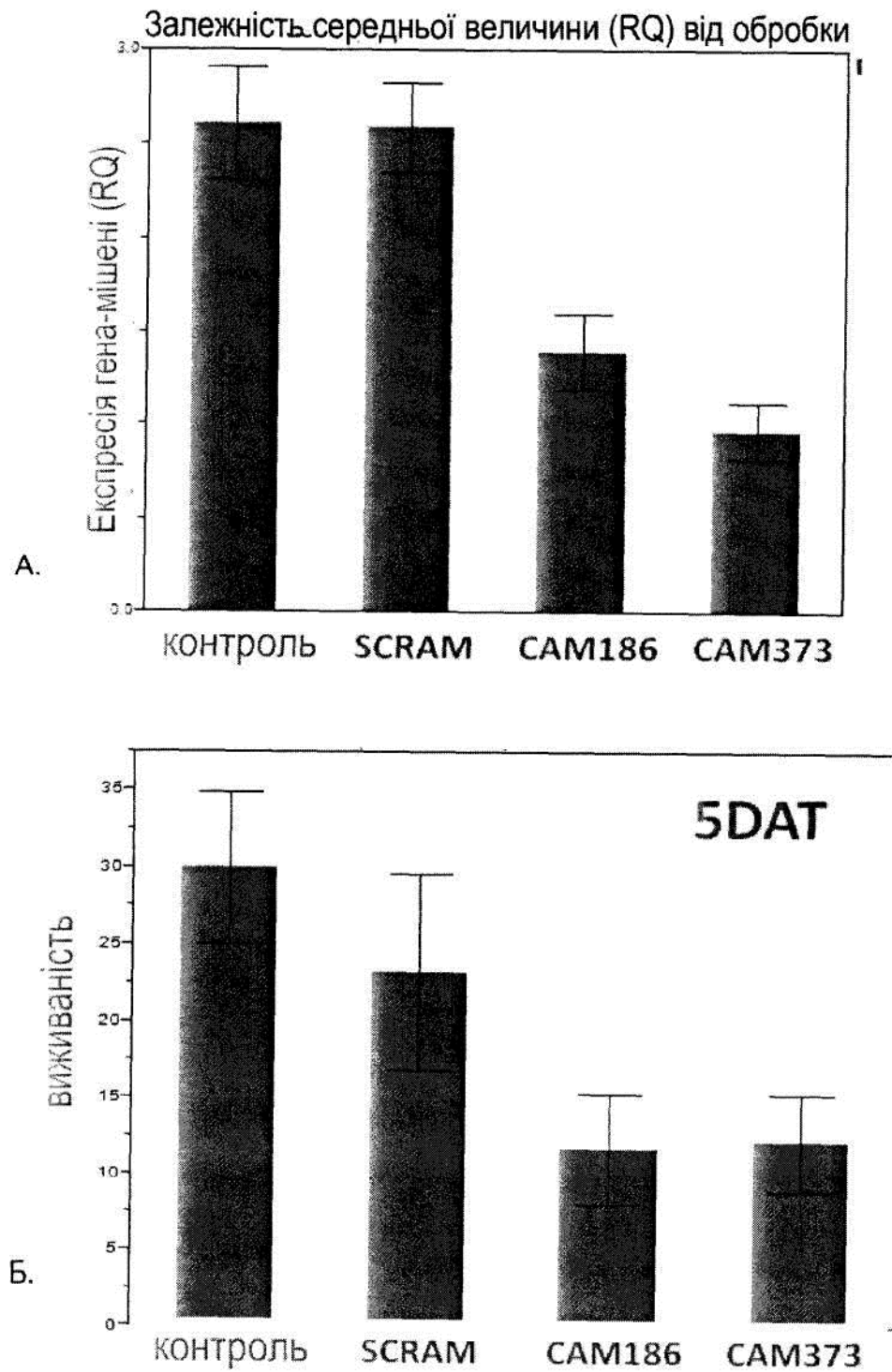


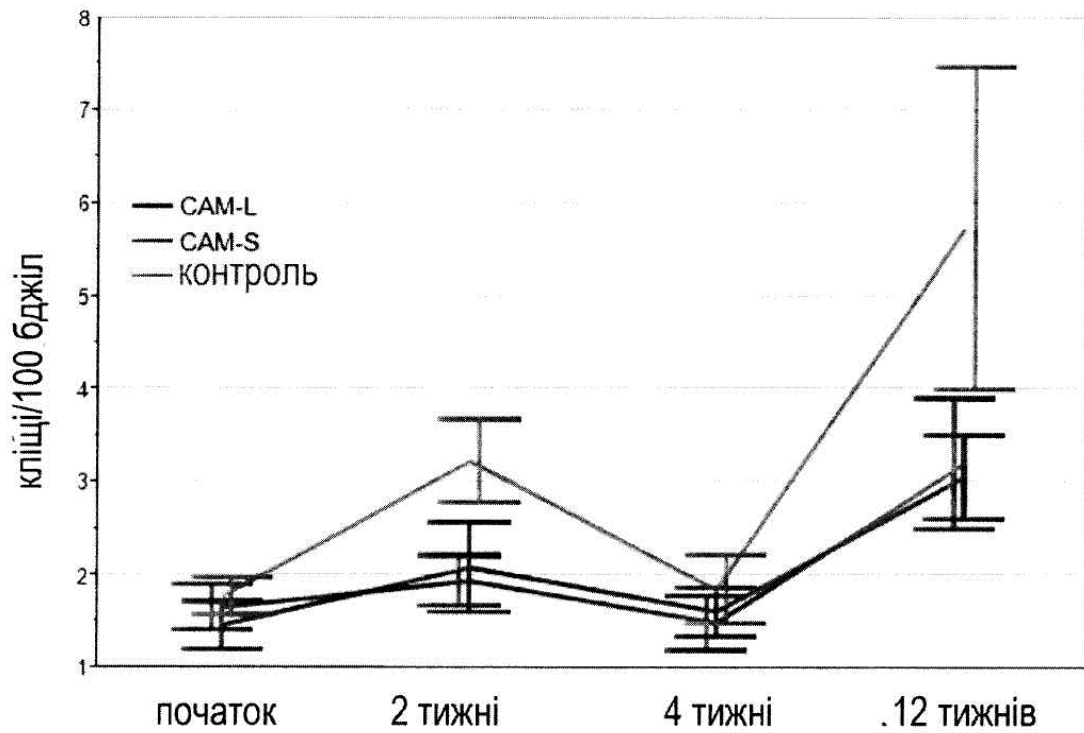
Fig. 1



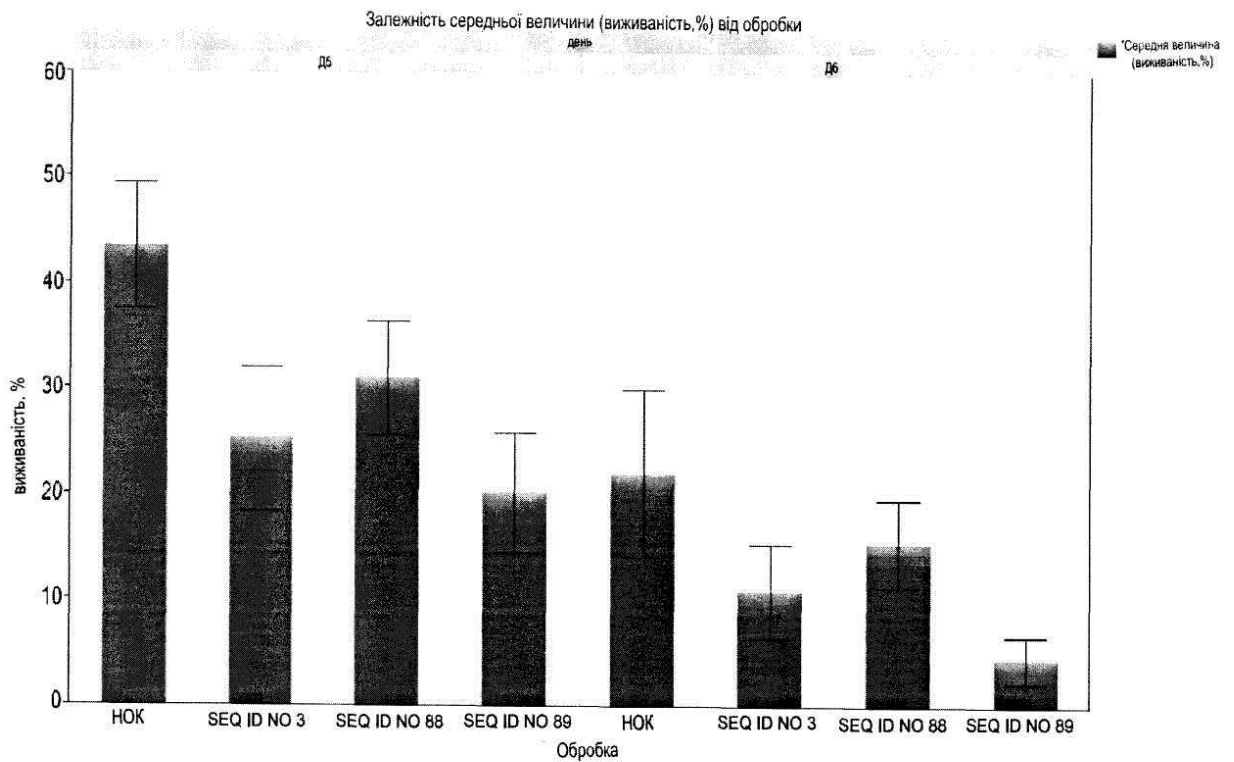
Фіг. 2



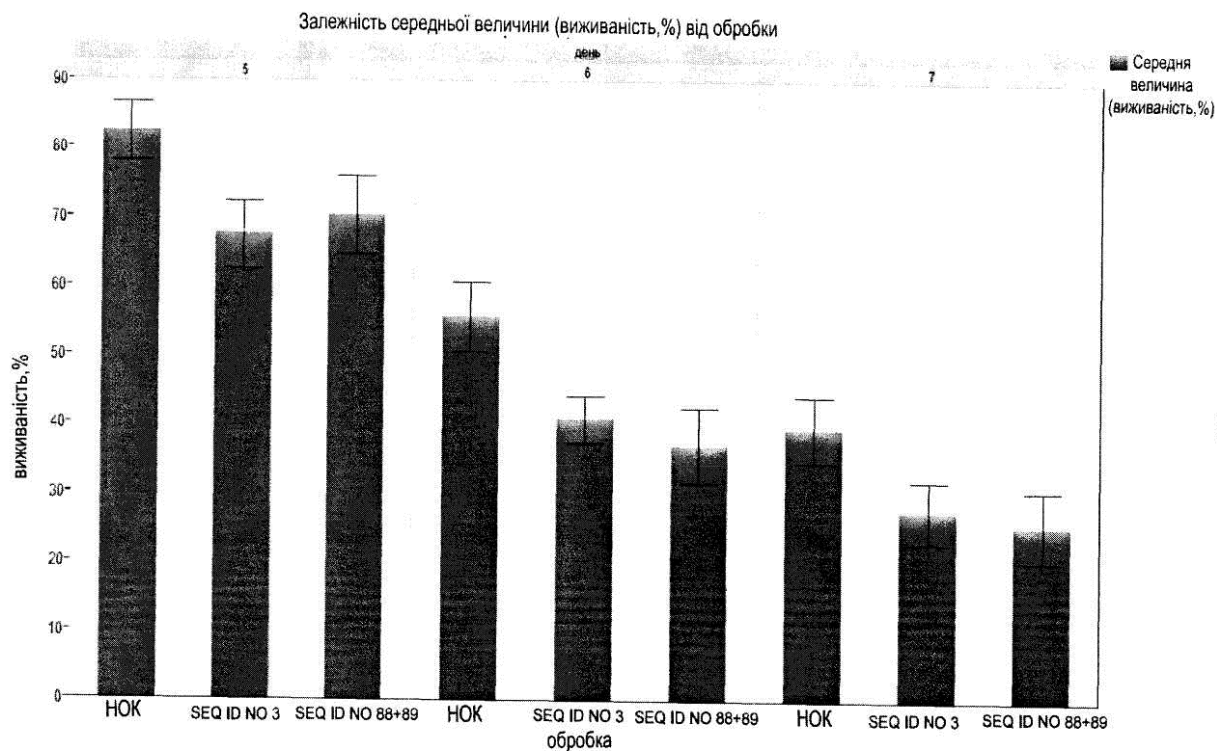
Фіг. 3



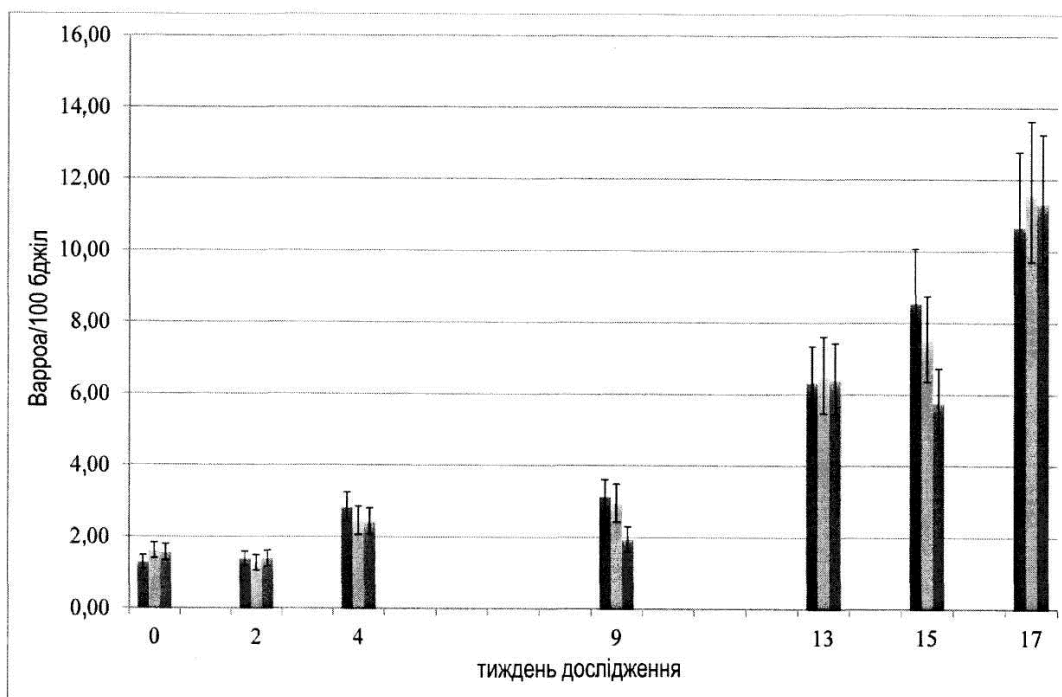
Фіг. 4



Фіг. 5



Фіг. 6



Фіг. 7

Комп'ютерна верстка Г. Паяльніков

Міністерство розвитку економіки, торгівлі та сільського господарства України,
вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601