



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК
A01N 57/16 (2020.08); C12N 15/113 (2020.08)

(21)(22) Заявка: 2017141541, 03.05.2016

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
03.05.2016

Дата регистрации:
14.09.2021

Приоритет(ы):
(30) Конвенционный приоритет:
04.05.2015 US 62/156,751

(43) Дата публикации заявки: 04.06.2019 Бюл. № 16

(45) Опубликовано: 14.09.2021 Бюл. № 26

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: 04.12.2017

(86) Заявка РСТ:
US 2016/030579 (03.05.2016)

(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2016/179180 (10.11.2016)

Адрес для переписки:
129090, Москва, ул. Б.Спасская, 25, строение 3,
ООО "Юридическая фирма Городисский и
Партнеры"

(72) Автор(ы):
ИНБЕРГ, Алекс (US),
КАПУР, Махак (US)

(73) Патентообладатель(и):
МОНСАНТО ТЕКНОЛОДЖИ ЛЛС (US),
БИОЛОДЖИКС, ИНК. (US)

(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: WO 2015066681 A1, 07.05.2015.
GEORGE HEATH et al. RNA Interference
Technology to Control Pest Sea Lampreys - A
Proof-of-Concept, PLoS One, 2014, Vol.9, N.2,
e88387. ХАНБЕКОВА Е. М. и др. Поражение
медоносной пчелы *apis mellifera caucasica* Gorb.
Вирусами и паразитами и состояние пчелиных
семей в разных эколого-географических
условиях Большого (см. прод.)

(54) КОМПОЗИЦИИ И СПОСОБЫ КОНТРОЛЯ ЗАРАЖЕНИЯ ЧЛЕНИСТОНОГИХ ПАЗАРИТАМИ И ВРЕДИТЕЛЯМИ

(57) Реферат:

Изобретение относится к области биохимии, в частности к композиции селективного инсектицида для борьбы с клещами *Varroa destructor*. Также раскрыта конструкция нуклеиновой кислоты для борьбы с *Varroa destructor*, содержащая молекулу нуклеиновой кислоты, которая по существу идентична или по существу комплементарна участку целевой последовательности гена кальмодулина *Varroa destructor*, или РНК, транскрибируемой с него.

Изобретение также относится к способу предоставления композиции медоносной пчеле, к способу снижения паразитирования *Varroa destructor* на медоносной пчеле, к способу снижения нагрузки *Varroa destructor* медоносной пчелы в улье медоносных пчел, а также к способу селективной обработки вида членистоногих от *Varroa destructor*. Изобретение позволяет эффективно осуществлять борьбу с *Varroa destructor*. 7 н. и 29 з.п. ф-лы, 11 ил., 7 табл., 13 пр.

(56) (продолжение):
Кавказа, Сельскохозяйственная биология. - 2013.

R U 2 7 5 5 2 7 5 C 2

R U 2 7 5 5 2 7 5 C 2



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC

A01N 57/16 (2020.08); C12N 15/113 (2020.08)(21)(22) Application: **2017141541, 03.05.2016**(24) Effective date for property rights:
03.05.2016Registration date:
14.09.2021

Priority:

(30) Convention priority:
04.05.2015 US 62/156,751(43) Application published: **04.06.2019 Bull. № 16**(45) Date of publication: **14.09.2021 Bull. № 26**(85) Commencement of national phase: **04.12.2017**(86) PCT application:
US 2016/030579 (03.05.2016)(87) PCT publication:
WO 2016/179180 (10.11.2016)

Mail address:

129090, Moskva, ul. B.Spaskaya, 25, stroenie 3,
OOO "Yuridicheskaya firma Gorodisskij i
Partnery"

(72) Inventor(s):

**INBERG, Alex (US),
KAPOOR, Mahak (US)**

(73) Proprietor(s):

**MONSANTO TECHNOLOGY LLC (US),
BEEOLOGICS, INC. (US)**

(54) **COMPOSITIONS AND METHODS OF CONTROLLING PARASITE AND PEST INFECTION OF ARTHROPODS**

(57) Abstract:

FIELD: biochemistry.

SUBSTANCE: invention relates to a selective insecticide composition for controlling *Varroa destructor* mites. Also disclosed is a nucleic acid construct for combating *Varroa destructor*, comprising a nucleic acid molecule, which is substantially identical or substantially complementary to a portion of the target sequence of the calmodulin gene *Varroa destructor*, or RNA transcribed therefrom. Invention also relates to a

method for providing a honey bee composition, a method of reducing *Varroa destructor* parasitism on a honey bee, method of reducing load of *Varroa destructor* of a honey bee in a hive of honey bees, as well as to a method for selective treatment of a species of arthropods from *Varroa destructor*.

EFFECT: invention provides effective control of *Varroa destructor*.

36 cl, 11 dwg, 7 tbl, 13 ex

ВКЛЮЧЕНИЕ ПЕРЕЧНЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

Машиночитаемая форма перечня последовательностей подана вместе с настоящей заявкой путем подачи в электронном виде и полностью включена в настоящую заявку посредством ссылки. Перечень последовательностей содержится в файле, созданном 3 мая 2016 г., имеющем название "SEQUENCE_LISTING_61478_ST25.txt", размер которого составляет 67223 байтов (согласно измерению в операционной системе MS-Windows®).

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

Предложены способы и композиции для контроля заражения членистоногих паразитами и вредителями. Также предложены способы и композиции для контроля заражения пчел клещом *Varroa*.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Различные виды членистоногих во все большем объеме культивируются в коммерческом масштабе. Насекомые и их личинки питательны, и их употребляют в пищу во многих культурах как сырыми, так и приготовленными. Ракообразных, таких как крабы, омары, речные раки, мелкие и крупные креветки, искусственно выращивают в крупном коммерческом масштабе, и они составляют важную часть диеты человека. Дополнительно к культивированию видов членистоногих для употребления в пищу, членистоногих также культивируют в рамках стратегии борьбы с вредителями, включая биологический контроль над другими членистоногими, например, культивирование паразитических ос (наездников) для контроля над тараканами и огненными муравьями. Членистоногие также могут служить источником сырья, такого как красители, лекарственные средства, медикаменты и антибиотики. Наряду с возрастающим значением культивирования членистоногих, растут популяции различных вредителей и паразитов, которые уничтожают колонии членистоногих или сильно уменьшают выход продуктов, полученных из культур членистоногих. Соответственно, существует все возрастающая потребность в способах контроля вредителей и паразитов членистоногих.

Среди наиболее важных видов культивируемых членистоногих находится медоносная пчела. Медоносные пчелы *Apis mellifera* необходимы для эффективного опыления сельскохозяйственных культур и, следовательно, особо важны для мирового сельского хозяйства. Медоносные пчелы также производят экономически важные продукты, включая мед и пчелиный воск. Медоносные пчелы восприимчивы ко множеству паразитов и патогенов, включая эктопаразитарного клеща *Varroa destructor*.

Клещи *Varroa* (*Varroa destructor*) представляют собой паразита номер один для выращиваемых медоносных пчел (*Apis mellifera*) и являются основной глобальной угрозой коммерческому пчеловодству (Rosenkranz и др. 2010). Взрослый клещ обычно проникает в ячейки с расплодом рабочей и трутневой пчелы перед тем, как они запечатываются, привлеченный феромоном расплода медоносных пчел. Клещ погружается в пищу расплода, которую пчелы помещают внутрь ячейки в преддверии запечатывания, наиболее вероятно, чтобы избежать распознавания и удаления пчелами-кормилицами. После запечатывания ячеек с расплодом пчелами-кормилицами клещ прикрепляется к личинке и начинает поглощать гемолимфу личинки пчелы. Этот процесс запускает оогенез у клещей, и несколько дней спустя за ним следует откладывание мужских и женских яиц. В конце концов, взрослый *Varroa* выходит из ячейки и прикрепляется к высвободившейся пчеле. *Varroa* непосредственно повреждает медоносных пчел несколькими путями, наиболее значительно путем истощения их запасов, оказывая неблагоприятное влияние на врожденную иммунную систему медоносных пчел, и вследствие того, что он является очень эффективным переносчиком вирусов (Di Prisco

и др. 2011), некоторые из которых, как известно, реплицируются внутри клеща, таким образом резко повышая вирусную нагрузку.

Безопасное, эффективное и долгосрочное решение проблемы *Varroa* является текущей задачей, которую все еще необходимо решить. В настоящее время пчеловоды используют множество способов контролирования уровней *Varroa*, которые включают различные химические противоклещевые средства (майтициды), большинство из которых утратили эффективность и являются токсичными и/или проникают в воск и мед. Другие способы включают применение щавелевой или муравьиной кислоты, монотерпенов (тимола) и различных других практик контроля с крайне неустойчивыми результатами, включая токсичность для подвергнутых обработке колоний. Выведение пчел, устойчивых к *Varroa*, например, селекция на основании гигиеничного поведения, которое приводит к удалению зараженного паразитами расплода, позволила добиться умеренного практического успеха.

Синдром разрушения колоний (CCD) медоносных пчел является угрозой полного уничтожения сельского хозяйства в США и во всем мире. В действительности, во время недавней вспышки CCD в США зимой 2006-2007 г. приблизительно 25% или более из 2,4 миллиона ульев медоносных пчел были утрачены вследствие CCD. По оценке 23% пчеловодных хозяйств в Соединенных Штатах пострадали от CCD за зиму 2006-2007 г., который затронул в среднем 45% хозяйств пчеловодов. Зимой 2007-2008 г. инициативная группа по CCD сельскохозяйственной научно-исследовательской службы Министерства сельского хозяйства США (USDA-ARS) оценила, что всего 36% всех ульев из коммерческих хозяйств были уничтожены CCD.

CCD характеризуется быстрым покиданием колонии популяцией взрослых пчел, при этом на некотором расстоянии от колонии обычно находят мертвых взрослых пчел. На конечной стадии разрушения о матке заботится лишь несколько вновь появившихся взрослых пчел. В разрушенных колониях часто находят значительное количество запечатанного расплода и запасов пищи. О явлении CCD впервые сообщили в 2006 г.; тем не менее, пчеловоды заметили единичные распады колоний, связанные с CCD, еще в 2004 г. В качестве причин были предположительно названы различные факторы, такие как клещи и инфекционные агенты, погодные условия, электромагнитное излучение (антенны сотовой связи), пестициды, недостаточное питание и стресс. На сегодняшний день контроль CCD сосредоточен на контроле клеща *Varroa*, санации и удалении пораженных ульев, лечении условно патогенных инфекций (таких как нозема (*Nosema*)) и улучшении питания. На сегодняшний день не разработано эффективных профилактических мер.

Клещи *Varroa* паразитируют на куколках и взрослых пчелах и репродуцируются в ячейках с куколками. Клещи с помощью рта прокалывают экзоскелет и кормятся за счет гемолимфы пчелы. В таких ранах в экзоскелете скапливаются бактериальные инфекции, такие как *Melissococcus pluton*, который вызывает Европейский гнилец пчел. Вдобавок к паразитному действию предполагают, что клещи *Varroa* являются переносчиками множества патогенов медоносных пчел, включая вирус деформации крыла (DWV), кашмирский вирус пчел (KBV), вирус острого паралича пчел (ABPV) и вирус черного маточника (BQCV), и могут ослаблять иммунную систему хозяев, делая их восприимчивыми к инфекциям. Если заражение паразитами *Varroa* оставить без лечения, то это, как правило, приведет к смертности на уровне колоний.

Современные способы лечения заражений паразитами *Varroa* оказываются неэффективными, так как у данных клещей развивается устойчивость к существующим майтицидам. Кроме того, применение таких майтицидов может привести к попаданию

вредных химических веществ в мед, который предназначен для потребления человеком.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

В настоящем изобретении предложены и включены в него композиции селективного инсектицида, содержащие направленную против паразитов, против вредителей или инсектицидную молекулу нуклеиновой кислоты, имеющую последовательность, которая по существу комплементарна или по существу идентична участку последовательности гена кальмодулина или РНК, транскрибируемой с него. В некоторых аспектах указанная композиция дополнительно содержит вспомогательное вещество.

В некоторых вариантах реализации предложена направленная против паразитов, против вредителей или инсектицидная молекула нуклеиновой кислоты, которая по существу комплементарна или по существу идентична участку последовательности гена кальмодулина *Varroa*, или РНК, транскрибируемой с него, и не содержит последовательность из 19 или более смежных нуклеотидов, которые на 100% идентичны или комплементарны последовательности гена нецелевого организма. В некоторых вариантах реализации из направленной против паразитов, против вредителей или инсектицидной молекулы нуклеиновой кислоты удалены одна или более нуклеиновых кислот по сравнению с эталонной последовательностью гена кальмодулина *Varroa*, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 1-4, 6, 23, 26-35, 69-89 и 93, так что указанная направленная против паразитов, против вредителей или инсектицидная молекула нуклеиновой кислоты не содержит последовательность из 19 или более смежных нуклеотидов, которые на 100% идентичны или комплементарны последовательности гена нецелевого организма. В некоторых вариантах реализации указанная последовательность гена нецелевого организма является ортологом последовательности гена кальмодулина *Varroa*. В некоторых вариантах реализации указанная последовательность гена нецелевого организма является гомологом последовательности гена кальмодулина *Varroa*. В некоторых вариантах реализации указанная последовательность гена нецелевого организма неродственна последовательности гена кальмодулина *Varroa*. В одном аспекте из направленной против паразитов, против вредителей или инсектицидной молекулы нуклеиновой кислоты удален по меньшей мере один нуклеотид в указанном участке по сравнению с целевой последовательностью гена кальмодулина. В некоторых вариантах реализации из направленной против паразитов, против вредителей или инсектицидной молекулы нуклеиновой кислоты удалены по меньшей мере два, по меньшей мере три или по меньшей мере четыре нуклеотида в указанном участке по сравнению с целевой последовательностью гена кальмодулина. В некоторых вариантах реализации указанные по меньшей мере два, по меньшей мере три или по меньшей мере четыре удаленных нуклеотида являются смежными в целевой последовательности гена кальмодулина. В других вариантах реализации указанные по меньшей мере два, по меньшей мере три или по меньшей мере четыре удаленных нуклеотида не являются смежными в целевой последовательности гена кальмодулина. В некоторых вариантах реализации направленная против паразитов, против вредителей или инсектицидная нуклеиновая кислота включает последовательность, по существу идентичную или по существу комплементарную последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 90-92 и 94.

В одном аспекте молекула нуклеиновой кислоты в селективной инсектицидной композиции представляет собой двухцепочечную РНК (дцРНК). В некоторых аспектах дцРНК представляет собой малую интерферирующую (миРНК).

В одном аспекте последовательность направленной против паразитов, против вредителей или инсектицидной молекулы нуклеиновой кислоты по меньшей мере на

80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 1-4, 6, 23, 26-35, 69-89 и 93. В другом аспекте последовательность направленной против паразитов, против вредителей или инсектицидной молекулы нуклеиновой кислоты по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 90-92 и 94. В некоторых аспектах направленная против паразитов, против вредителей или инсектицидная молекула нуклеиновой кислоты содержит по меньшей мере 18 смежных нуклеотидов из последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 1-4, 6, 23, 26-35 и 69-93. В некоторых аспектах направленная против паразитов, против вредителей или инсектицидная нуклеиновая кислота не содержит последовательность из 19 или более смежных нуклеотидов, которые на 100% идентичны или комплементарны последовательности гена нецелевого организма. В некоторых аспектах направленная против паразитов, против вредителей или инсектицидная молекула нуклеиновой кислоты состоит из последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 1-4, 6, 23, 26-35 и 69-93.

В одном аспекте композиция селективного инсектицида дополнительно содержит одну или более направленных против паразитов, против вредителей или инсектицидных молекул нуклеиновой кислоты, которые по существу комплементарны или по существу идентичны первому участку последовательности гена кальмодулина. В некоторых аспектах указанная одна или более молекул нуклеиновой кислоты содержит вторую последовательность нуклеиновой кислоты, комплементарную второму участку последовательности гена кальмодулина. В некоторых вариантах реализации направленная против паразитов, против вредителей или инсектицидная нуклеиновая кислота не содержит последовательность из 19 или более смежных нуклеотидов, которые на 100% идентичны или комплементарны последовательности гена нецелевого организма. В некоторых вариантах реализации из направленной против паразитов, против вредителей или инсектицидной молекулы нуклеиновой кислоты удалены по меньшей мере один, по меньшей мере два, по меньшей мере три или по меньшей мере четыре нуклеотида в указанном первом участке и/или втором участке по сравнению с целевой последовательностью гена кальмодулина. В некоторых вариантах реализации целевая последовательность гена кальмодулина по существу идентична или по существу комплементарна последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 1-4, 6, 23, 26-35, 69-89 и 93, или ее фрагменту. В некоторых вариантах реализации указанные по меньшей мере два, по меньшей мере три или по меньшей мере четыре удаленных нуклеотида являются смежными в целевой последовательности гена кальмодулина. В других вариантах реализации указанные по меньшей мере два, по меньшей мере три или по меньшей мере четыре удаленных нуклеотида не являются смежными в целевой последовательности гена кальмодулина. В некоторых вариантах реализации направленная против паразитов, против вредителей или инсектицидная нуклеиновая кислота включает последовательность, по существу идентичную или по существу комплементарную последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 90-92.

В одном аспекте композиция селективного инсектицида поглощается пчелой, абсорбируется пчелой, поглощается клещом или абсорбируется клещом.

В одном аспекте вспомогательное вещество выбрано из группы, состоящей из белка, пыльцы, углевода, полимера, жидкого растворителя, сахарного сиропа, твердого сахара и полутвердого корма. В некоторых аспектах жидкий растворитель выбран из группы, состоящей из раствора сахарозы и раствора кукурузного сиропа. В некоторых аспектах белок выбран из группы, состоящей из пыльцы и соевого белка. В другом аспекте вспомогательное вещество представляет собой твердое вещество, выбранное из сахара,

заменителя сахара или сахарной добавки. В некоторых аспектах твердый сахар включает микрочастицы сахара, пропитанные нуклеиновой кислотой - дцРНК.

В одном аспекте настоящего изобретения предложены композиции для поглощения пчелами, содержащие пчелиный корм и молекулу нуклеиновой кислоты, последовательность которой по существу идентична или по существу комплементарна одному или более участкам последовательности гена кальмодулина, или РНК, транскрибируемой с него. В некоторых вариантах реализации молекула нуклеиновой кислоты по существу комплементарна или по существу идентична участку последовательности гена кальмодулина *Varroa*, или РНК, транскрибируемой с него, и не содержит последовательность из 19 или более смежных нуклеотидов, которые на 100% идентичны или комплементарны последовательности гена нецелевого организма. В некоторых вариантах реализации из указанной молекулы нуклеиновой кислоты удалены по меньшей мере один, по меньшей мере два, по меньшей мере три или по меньшей мере четыре нуклеотида в указанном одном или более участках по сравнению с целевой последовательностью гена кальмодулина *Varroa*. В некоторых вариантах реализации целевая последовательность гена кальмодулина *Varroa* по существу комплементарна или по существу идентична последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 1-4, 6, 23, 26-35, 69-89 и 93, или ее фрагменту. В некоторых вариантах реализации указанные по меньшей мере два, по меньшей мере три или по меньшей мере четыре удаленных нуклеотида являются смежными в целевой последовательности гена кальмодулина. В других вариантах реализации указанные по меньшей мере два, по меньшей мере три или по меньшей мере четыре удаленных нуклеотида не являются смежными в целевой последовательности гена кальмодулина. В некоторых вариантах реализации молекула нуклеиновой кислоты включает последовательность, по существу идентичную или по существу комплементарную последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 90-92 и 94. В некоторых аспектах пчелиный корм включает продукт питания пчелы, выбранный из группы, состоящей из кукурузного сиропа, заменителя пыльцы, пыльцы, лепешки из пыльцы и помадки. В некоторых аспектах пчелиный корм дополнительно содержит один или более из следующих компонентов: минеральную соль, эфирное масло, пивные дрожжи, дрожжевой экстракт, трегалозу, триптон, сухое молоко, лецитин и витамин С. Примеры эфирных масел включают, но не ограничены перечисленными: винтергреновое масло, масло кудрявой мяты, масло перечной мяты, масло лемонграсса и масло чайного дерева.

В другом аспекте настоящего изобретения предложена конструкция нуклеиновой кислоты, кодирующая направленную против паразитов, против вредителей или инсектицидную последовательность нуклеиновой кислоты, которая по существу идентична или комплементарна участку последовательности гена кальмодулина, или РНК, транскрибируемой с него, функционально связанную с последовательностью промотора, функционирующей в клетке-хозяине, и способную продуцировать дцРНК при ее внедрении в указанную клетку-хозяина. В некоторых вариантах реализации направленная против паразитов, против вредителей или инсектицидная нуклеиновая кислота по существу комплементарна или по существу идентична участку целевой последовательности гена кальмодулина, или РНК, транскрибируемой с него, и не содержит последовательность из 19 или более смежных нуклеотидов, которые на 100% идентичны или комплементарны последовательности гена нецелевого организма. В некоторых вариантах реализации из направленной против паразитов, против вредителей или инсектицидной последовательности нуклеиновой кислоты удалены по меньшей мере один, по меньшей мере два, по меньшей мере три или по меньшей мере четыре

нуклеотида по сравнению с целевой последовательностью гена кальмодулина. В некоторых вариантах реализации целевая последовательность гена кальмодулина по существу идентична или по существу комплементарна последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 1-4, 6, 23, 26-35, 69-89 и 93, или ее фрагменту. В некоторых вариантах реализации указанные по меньшей мере два, по меньшей мере три или по меньшей мере четыре удаленных нуклеотида являются смежными в целевой последовательности гена кальмодулина. В других вариантах реализации указанные по меньшей мере два, по меньшей мере три или по меньшей мере четыре удаленных нуклеотида не являются смежными в целевой последовательности гена кальмодулина. В некоторых вариантах реализации направленная против паразитов, против вредителей или инсектицидная нуклеиновая кислота включает последовательность, по существу идентичную или по существу комплементарную последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 90-92 и 94. В некоторых аспектах указанная конструкция нуклеиновой кислоты дополнительно содержит по меньшей мере один регуляторный элемент, выбранный из группы, состоящей из лидерных последовательностей трансляции, интронов, энхансеров, структур типа «стебель-петля», связывающих репрессор последовательностей, терминирующих последовательностей, последовательностей паузы и последовательностей узнавания полиаденилирования. В некоторых аспектах клетка-хозяин представляет собой клетку бактерии или дрожжей.

В другом аспекте настоящего изобретения предложен способ предоставления композиции медоносной пчеле, включающий предоставление пчеле эффективного количества композиции, содержащей направленную против паразитов, против вредителей или инсектицидную нуклеиновую кислоту, которая по существу идентична или по существу комплементарна одному или более участкам последовательности гена кальмодулина, или РНК, транскрибируемой с него, в результате чего указанная нуклеиновая кислота присутствует в ткани медоносной пчелы. В некоторых вариантах реализации направленная против паразитов, против вредителей или инсектицидная нуклеиновая кислота по существу комплементарна или по существу идентична участку целевой последовательности гена кальмодулина, или РНК, транскрибируемой с него, и не содержит последовательность из 19 или более смежных нуклеотидов, которые на 100% идентичны или комплементарны последовательности гена нецелевого организма. В некоторых вариантах реализации нецелевой организм представляет собой медоносную пчелу. В некоторых вариантах реализации из направленной против паразитов, против вредителей или инсектицидной нуклеиновой кислоты удалены по меньшей мере один, по меньшей мере два, по меньшей мере три или по меньшей мере четыре нуклеотида в указанном одном или более участках по сравнению с целевой последовательностью гена кальмодулина. В некоторых вариантах реализации целевая последовательность гена кальмодулина по существу идентична или по существу комплементарна последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 1-4, 6, 23, 26-35, 69-89 и 93, или ее фрагменту. В некоторых вариантах реализации указанные по меньшей мере два, по меньшей мере три или по меньшей мере четыре удаленных нуклеотида являются смежными в целевой последовательности гена кальмодулина. В других вариантах реализации указанные по меньшей мере два, по меньшей мере три или по меньшей мере четыре удаленных нуклеотида не являются смежными в целевой последовательности гена кальмодулина. В некоторых вариантах реализации направленная против паразитов, против вредителей или инсектицидная нуклеиновая кислота включает последовательность, по существу идентичную или по существу комплементарную последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 90-92 и 94. В другом аспекте настоящего

изобретения предложен способ лечения или предотвращения заболевания в колонии медоносных пчел, включающий предоставление эффективного количества композиции, содержащей направленную против паразитов, против вредителей или инсектицидную нуклеиновую кислоту, которая по существу идентична или по существу комплементарна одному или более участкам последовательности гена кальмодулина, медоносной пчеле, в результате чего указанная нуклеиновая кислота присутствует в ткани медоносной пчелы. В некоторых аспектах последовательность гена кальмодулина представляет собой последовательность гена кальмодулина *Varroa destructor*. В некоторых вариантах реализации направленная против паразитов, против вредителей или инсектицидная нуклеиновая кислота по существу комплементарна или по существу идентична участку последовательности гена кальмодулина *Varroa*, или РНК, транскрибируемой с него, и не содержит последовательность из 19 или более смежных нуклеотидов, которые на 100% идентичны или комплементарны последовательности гена нецелевого организма. В некоторых вариантах реализации из направленной против паразитов, против вредителей или инсектицидной нуклеиновой кислоты удалены по меньшей мере один, по меньшей мере два, по меньшей мере три или по меньшей мере четыре нуклеотида в одном или более участках по сравнению с целевой последовательностью гена кальмодулина. В некоторых вариантах реализации целевая последовательность гена кальмодулина по существу комплементарна или по существу идентична последовательности нуклеиновой кислоты, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 1-4, 6, 23, 26-35, 69-89 и 93, или ее фрагменту. В некоторых вариантах реализации указанные по меньшей мере два, по меньшей мере три или по меньшей мере четыре удаленных нуклеотида являются смежными в целевой последовательности гена кальмодулина. В других вариантах реализации указанные по меньшей мере два, по меньшей мере три или по меньшей мере четыре удаленных нуклеотида не являются смежными в целевой последовательности гена кальмодулина.

В другом аспекте настоящего изобретения предложен способ снижения паразитирования на пчеле клеща *Varroa destructor*, включающий предоставление пчеле эффективного количества направленной против паразитов, против вредителей или инсектицидной композиции нуклеиновой кислоты, в которой указанная нуклеиновая кислота по существу идентична или по существу комплементарна одному или более участкам последовательности гена кальмодулина *Varroa destructor*, или РНК, транскрибируемой с него, тем самым снижая паразитирование на пчеле клеща *Varroa destructor*. В некоторых вариантах реализации направленная против паразитов, против вредителей или инсектицидная нуклеиновая кислота включает последовательность, по существу идентичную или по существу комплементарную последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 90-92 и 94.

В другом аспекте настоящего изобретения предложен способ снижения паразитарной нагрузки на улей медоносных пчел, включающий предоставление указанному улью эффективного количества направленной против паразитов, против вредителей или инсектицидной нуклеиновой кислоты, которая по существу идентична или по существу комплементарна одному или более участкам последовательности гена кальмодулина паразита, или РНК, транскрибируемой с него, в результате чего снижается паразитарная нагрузка на указанный улей. В некоторых вариантах реализации направленная против паразитов, против вредителей или инсектицидная нуклеиновая кислота не содержит последовательность из 19 или более смежных нуклеотидов, которые на 100% идентичны или комплементарны последовательности гена нецелевого организма. В некоторых вариантах реализации из направленной против паразитов, против вредителей или

инсектицидной молекулы нуклеиновой кислоты удалены по меньшей мере один, по меньшей мере два, по меньшей мере три или по меньшей мере четыре нуклеотида в одном или более участках по сравнению с целевой последовательностью гена кальмодулина паразита. В некоторых вариантах реализации целевая последовательность гена кальмодулина паразита по существу комплементарна или по существу идентична последовательности нуклеиновой кислоты, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 1-4, 6, 23, 26-35, 69-89 и 93. В некоторых вариантах реализации указанные по меньшей мере два, по меньшей мере три или по меньшей мере четыре удаленных нуклеотида являются смежными в целевой последовательности гена кальмодулина. В других вариантах реализации указанные по меньшей мере два, по меньшей мере три или по меньшей мере четыре удаленных нуклеотида не являются смежными в целевой последовательности гена кальмодулина. В некоторых вариантах реализации направленная против паразитов, против вредителей или инсектицидная нуклеиновая кислота включает последовательность, по существу идентичную или по существу комплементарную последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 90-92 и 94.

В другом аспекте настоящего изобретения предложен способ селективного лечения вида членистоногих от паразитов, включающий доставку эффективного количества направленной против паразитов, против вредителей или инсектицидной нуклеиновой кислоты, которая по существу идентична или по существу комплементарна одному или более участкам последовательности гена кальмодулина паразита, или РНК, транскрибируемой с него, в вид членистоногих. В некоторых вариантах реализации направленная против паразитов, против вредителей или инсектицидная нуклеиновая кислота не содержит последовательность из 19 или более смежных нуклеотидов, которые на 100% идентичны или комплементарны последовательности гена нецелевого организма. В некоторых вариантах реализации из направленной против паразитов, против вредителей или инсектицидной нуклеиновой кислоты удалены по меньшей мере один, по меньшей мере два, по меньшей мере три или по меньшей мере четыре нуклеотида в одном или более участках по сравнению с целевой последовательностью гена кальмодулина членистоногого. В некоторых вариантах реализации целевая последовательность гена кальмодулина членистоногого по существу комплементарна или по существу идентична последовательности, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 1-4, 6, 23, 26-35, 69-89 и 93, или ее фрагменту. В некоторых вариантах реализации указанные по меньшей мере два, по меньшей мере три или по меньшей мере четыре удаленных нуклеотида являются смежными в целевой последовательности гена кальмодулина. В других вариантах реализации указанные по меньшей мере два, по меньшей мере три или по меньшей мере четыре удаленных нуклеотида не являются смежными в целевой последовательности гена кальмодулина. В некоторых вариантах реализации направленная против паразитов, против вредителей или инсектицидная нуклеиновая кислота включает последовательность, по существу идентичную или по существу комплементарную последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 90-92 и 94.

В другом аспекте настоящего изобретения предложен и раскрыт способ лечения или предотвращения синдрома разрушения колоний медоносных пчел, включающий предоставление колонии медоносных пчел эффективного количества композиции, содержащей направленную против паразитов, против вредителей или инсектицидную молекулу нуклеиновой кислоты, последовательность которой по существу идентична или по существу комплементарна одному или более участкам последовательности гена кальмодулина *Varroa destructor*, в результате чего уровень заражения паразитами *Varroa destructor* снижается или заражение предотвращается. В некоторых вариантах реализации

направленная против паразитов, против вредителей или инсектицидная нуклеиновая кислота не содержит последовательность из 19 или более смежных нуклеотидов, которые на 100% идентичны или комплементарны последовательности гена нецелевого организма. В некоторых вариантах реализации из направленной против паразитов, против вредителей или инсектицидной нуклеиновой кислоты удалены по меньшей мере один, по меньшей мере два, по меньшей мере три или по меньшей мере четыре нуклеотида в одном или более участках по сравнению с целевой последовательностью гена кальмодулина. В некоторых вариантах реализации целевая последовательность гена кальмодулина членистоногого по существу комплементарна или по существу идентична последовательности, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 1-4, 6, 23, 26-35, 69-89 и 93, или ее фрагменту. В некоторых вариантах реализации указанные по меньшей мере два, по меньшей мере три или по меньшей мере четыре удаленных нуклеотида являются смежными в целевой последовательности гена кальмодулина. В других вариантах реализации указанные по меньшей мере два, по меньшей мере три или по меньшей мере четыре удаленных нуклеотида не являются смежными в целевой последовательности гена кальмодулина.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ФИГУР

На **фиг. 1** представлено филогенетическое дерево генов кальмодулина (CAM) из различных видов. Число, находящееся непосредственно перед названием вида, соответствует идентификационному номеру последовательности (SEQ ID NO).

На **фиг. 2** представлен уровень выживаемости клещей, подвергнутых воздействию нуклеиновой кислоты, включающей последовательность, идентичную или комплементарную последовательности SEQ ID NO: 3 (CAM373), в биоанализе кормления напрямую на 3 день после обработки по сравнению с не подвергнутым обработке контролем (CNTR) или обработкой неспецифической последовательностью (SCRAM, SEQ ID NO: 5).

На **фиг. 3**, панель А, представлен анализ экспрессии генов на пятый день после лечения нуклеиновой кислотой, включающей последовательность, идентичную или комплементарную последовательности SEQ ID NO: 3 (CAM373), или нуклеиновой кислотой, включающей последовательность, идентичную или комплементарную последовательности SEQ ID NO: 4 (CAM186), по сравнению с контролями. На панели В показан уровень выживаемости клещей, подвергнутых воздействию нуклеиновых кислот, включающих последовательность, идентичную или комплементарную последовательности SEQ ID NOS: 3 (CAM373) или 4 (CAM186), по сравнению с контролями.

На **фиг. 4** представлена клещевая нагрузка/100 пчел из подвергнутых обработке ульев по сравнению с неподвергнутыми обработке контролями на протяжении различного периода времени.

На **фиг. 5** представлен % выживаемости клещей, подвергнутых воздействию нуклеиновых кислот, включающих последовательность, идентичную или комплементарную последовательности SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 88 или SEQ ID NO: 89, по сравнению с неподвергнутыми воздействию (NTC) в день 5 (Д%) или день 6 (Дб) после воздействия.

На **фиг. 6** представлен % выживаемости клещей, подвергнутых воздействию нуклеиновой кислоты, включающей последовательность, идентичную или комплементарную последовательности SEQ ID NO: 3, или смеси нуклеиновых кислот, содержащей последовательность, идентичную или комплементарную последовательности SEQ ID NO: 88 или SEQ ID NO: 89, по сравнению с неподвергнутыми

воздействию (NTC) в день 5 (5), день 6 (6) и день 7 (7).

На **фиг. 7** представлена нагрузка клеща *Varroa/100* пчел из подвергнутых обработке ульев по сравнению с неподвергнутыми обработке контролями в течение периода времени 17 недель. Крайние слева столбики представляют ульи, подвергнутые обработке неспецифической последовательностью (SCRAM, SEQ ID NO: 5), средние столбики представляют ульи, оставленные необработанными, и крайние справа столбики представляют ульи, подвергнутые обработке нуклеиновой кислотой, включающей последовательность, идентичную или комплементарную последовательности SEQ ID NO: 3 (SAM 373).

На **фиг. 8** представлен % выживаемости клещей, подвергнутых обработке нуклеиновой кислотой, включающей последовательность, идентичную или комплементарную последовательности SEQ ID NO: 3, нуклеиновой кислотой, включающей последовательность, идентичную или комплементарную последовательности SEQ ID NO: 90, или нуклеиновой кислотой, включающей последовательность, идентичную или комплементарную последовательности SEQ ID NO: 92, по сравнению с неподвергнутыми обработке (NTC) в день 5 (Д5) или день 6 (Д6).

На **фиг. 9** представлен % выживаемости клещей, подвергнутых обработке нуклеиновой кислотой, включающей последовательность, идентичную или комплементарную последовательности SEQ ID NO: 3, нуклеиновой кислотой, включающей последовательность, идентичную или комплементарную последовательности SEQ ID NO: 91, или смесью нуклеиновых кислот, содержащей последовательность, идентичную или комплементарную последовательности SEQ ID NO: 90 или SEQ ID NO: 92, по сравнению с неподвергнутыми обработке контролями (NTC) в день 4 (Д4).

На **фиг. 10** представлен анализ экспрессии гена кальмодулина, измеренной с помощью Quantigene[™] (QG), для обработок с помощью SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 91 и смеси последовательностей SEQ ID NO: 90 и SEQ ID NO: 92 по сравнению с неподвергнутыми обработке контролями (NTC) в день 4.

На **фиг. 11** представлена нагрузка клеща *Varroa/100* пчел из подвергнутых обработке ульев по сравнению с неподвергнутыми обработке контролями в течение периода времени 19 недель. Крайние слева столбики представляют неподвергнутые обработке ульи, средние столбики представляют ульи, подвергнутые обработке нуклеиновой кислотой, включающей последовательность, идентичную или комплементарную последовательности SEQ ID NO: 94, и крайние справа столбики представляют ульи, подвергнутые обработке нуклеиновой кислотой, включающей последовательность, идентичную или комплементарную последовательности SEQ ID NO: 91.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Если не указано иначе, технические и научные термины в данном тексте имеют такие же значения, которые обычно подразумевает средний специалист в данной области. Специалисту в данной области известно множество способов, которые можно применять для осуществления настоящего изобретения. В действительности, настоящее описание никаким образом не ограничено описанными способами и материалами. Любые ссылочные материалы, цитируемые в данном тексте, полностью включены в настоящую заявку посредством ссылки. Для целей настоящего описания ниже приведены определения следующих терминов.

Должно быть очевидно, что любой идентификационный номер последовательности (SEQ ID NO), описанный в данном тексте, может относиться либо к последовательности ДНК, либо к последовательности РНК, в зависимости от контекста, в котором упомянут данный SEQ ID NO, даже если этот SEQ ID NO выражен только в формате

последовательности ДНК или в формате последовательности РНК. Например, SEQ ID NO: 1 выражен в формате последовательности ДНК (например, содержит Т для обозначения тимина), но он также может относиться либо к последовательности ДНК, которая соответствует зрелой последовательности нуклеиновой кислоты кальмодулина *Varroa destructor*, либо к последовательности РНК зрелой последовательности нуклеиновой кислоты молекулы кальмодулина *Varroa destructor*. Аналогично, хотя SEQ ID NO: 3 выражен в формате последовательности РНК (например, содержит U для обозначения урацила), в зависимости от фактического типа молекулы, которую описывают, SEQ ID NO: 3 может относиться либо к смысловой или антисмысловой цепи дцРНК, либо к последовательности молекулы ДНК, которая соответствует показанной последовательности РНК. В любом случае предусмотрены обе молекулы ДНК и РНК с описанными последовательностями, содержащие любые замены.

В данной заявке термин "приблизительно" относится к $\pm 10\%$.

В данном тексте ссылочные материалы в форме единственного числа включают указанные материалы в форме множественного числа, если в контексте явно не указано иное. Например, термин "соединение" или "по меньшей мере одно соединение" может включать множество соединений, включая их смеси.

В данном тексте термин "по существу идентична" или "по существу комплементарна" относится к нуклеиновой кислоте (или по меньшей мере к одной цепи двухцепочечной нуклеиновой кислоты или ее части, или к части одноцепочечной нуклеиновой кислоты), которая гибридизуется при физиологических условиях с эндогенным геном, с РНК, транскрибируемой с него, или с их фрагментом, чтобы повлиять на регуляцию или подавление (супрессию) эндогенного гена. Например, в некоторых аспектах последовательность нуклеиновой кислоты на 100 процентов идентична или по меньшей мере приблизительно на 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 или 99 процентов идентична при сравнении с участком из 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, 57, 58, 59, 60 или более смежных нуклеотидов в целевом гене или в РНК, транскрибированной с целевого гена. В некоторых аспектах последовательность нуклеиновой кислоты на 100 процентов комплементарна или по меньшей мере приблизительно на 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 или 99 процентов комплементарна при сравнении с участком из 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, 57, 58, 59, 60 или более смежных нуклеотидов в целевом гене или в РНК, транскрибированной с целевого гена. В некоторых аспектах последовательность нуклеиновой кислоты на 100 процентов идентична или комплементарна одной аллели или одному представителю семейства данного целевого гена (кодирующей или некодирующей последовательности гена). В некоторых аспектах последовательность нуклеиновой кислоты по меньшей мере приблизительно на 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 или 99 процентов идентична или комплементарна множеству аллелей или представителей семейства данного целевого гена. В некоторых аспектах последовательность нуклеиновой кислоты на 100 процентов идентична или комплементарна множеству аллелей или представителей семейства данного целевого гена.

В некоторых аспектах нуклеиновая кислота по существу идентична или по существу комплементарна по меньшей мере приблизительно 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70 или более смежным нуклеотидам эндогенного гена кальмодулина целевого вредителя, или РНК, транскрибируемой с него. В некоторых аспектах указанная

нуклеиновая кислота не содержит последовательность из 19 или более смежных нуклеотидов, которые на 100% идентичны или комплементарны последовательности гена нецелевого организма. В некоторых аспектах из нуклеиновой кислоты удален по меньшей мере один нуклеотид по сравнению с целевой последовательностью гена кальмодулина, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 1-4, 6, 23, 26-35, 69-89 и 93. В некотором аспекте из последовательности нуклеиновой кислоты удален по меньшей мере один нуклеотид по сравнению с эндогенной эталонной последовательностью гена кальмодулина целевого вредителя, или РНК, транскрибируемой с него, таким образом, что указанная нуклеиновая кислота не содержит последовательность из 19 или более смежных нуклеотидов, которые на 100% идентичны или комплементарны последовательности гена нецелевого организма. Нуклеиновая кислота может представлять собой одноцепочечную ДНК, одноцепочечную РНК, двухцепочечную РНК, двухцепочечную ДНК или двухцепочечный гибрид ДНК/РНК. В некоторых аспектах целевая последовательность гена кальмодулина представляет собой последовательность гена кальмодулина *Varroa destructor*. В некотором аспекте целевая последовательность гена кальмодулина представляет собой последовательность гена кальмодулина, выбранную из SEQ ID NO: 1. В некотором аспекте целевая последовательность гена кальмодулина представляет собой последовательность гена кальмодулина, выбранную из SEQ ID NO: 2. В некотором аспекте целевая последовательность гена кальмодулина представляет собой последовательность гена кальмодулина, выбранную из SEQ ID NO: 3. В некотором аспекте целевая последовательность гена кальмодулина представляет собой последовательность гена кальмодулина, выбранную из SEQ ID NO: 4. В некотором аспекте целевая последовательность гена кальмодулина представляет собой последовательность гена кальмодулина, выбранную из SEQ ID NO: 69. В некотором аспекте целевая последовательность гена кальмодулина представляет собой последовательность гена кальмодулина, выбранную из SEQ ID NO: 70. В некотором аспекте целевая последовательность гена кальмодулина представляет собой последовательность гена кальмодулина, выбранную из последовательностей SEQ ID NO: 71-87. В некотором аспекте целевая последовательность гена кальмодулина представляет собой последовательность гена кальмодулина, выбранную из SEQ ID NO: 88. В некотором аспекте целевая последовательность гена кальмодулина представляет собой последовательность гена кальмодулина, выбранную из SEQ ID NO: 89. В некотором аспекте целевая последовательность гена кальмодулина представляет собой последовательность гена кальмодулина, выбранную из SEQ ID NO: 93. В некотором аспекте из указанной нуклеиновой кислоты удален по меньшей мере один нуклеотид по сравнению с эндогенной последовательностью гена кальмодулина целевого вредителя, или РНК, транскрибируемой с него. В некотором аспекте из нуклеиновой кислоты удалены по меньшей мере два, по меньшей мере три, по меньшей мере четыре, по меньшей мере пять, по меньшей мере шесть, по меньшей мере семь, по меньшей мере восемь, по меньшей мере девять или по меньшей мере десять нуклеотидов по сравнению с эндогенной последовательностью гена кальмодулина целевого вредителя, или РНК, транскрибируемой с него. В некоторых аспектах по меньшей мере два, по меньшей мере три, по меньшей мере четыре, по меньшей мере пять, по меньшей мере шесть, по меньшей мере семь, по меньшей мере восемь, по меньшей мере девять или по меньшей мере десять удаленных нуклеотидов являются смежными в целевых эндогенных последовательностях гена кальмодулина. В других аспектах по меньшей мере два, по меньшей мере три, по меньшей мере четыре, по меньшей мере пять, по меньшей мере

шесть, по меньшей мере семь, по меньшей мере восемь, по меньшей мере девять или по меньшей мере десять удаленных нуклеотидов не являются смежными в целевых эндогенных последовательностях гена кальмодулина. В одном аспекте целевая последовательность гена кальмодулина по существу комплементарна или по существу идентична последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 1-4, 6, 23, 26-35, 69-89 и 93. В одном аспекте указанная нуклеиновая кислота включает последовательность, выбранную из последовательностей SEQ ID NO: 90-92 и 94.

В данном тексте термин "лечение" включает прекращение, значительное ингибирование, замедление или обращение прогрессирования состояния, значительное облегчение клинических или эстетических симптомов состояния или значительное предотвращение возникновения клинических или эстетических симптомов состояния. В некотором аспекте настоящего изобретения композицию можно применять для лечения организма или колонии организмов от результатов паразитирования. В некотором аспекте композиции нуклеиновой кислоты можно применять для лечения организма-хозяина или колонии организмов-хозяев от паразитов. В некотором аспекте указанный организм-хозяин представляет собой пчелу и указанный паразит представляет собой клеща *Varroa destructor*.

В данном тексте формулировка "замалчивание РНК" относится к группе регуляторных механизмов (например, РНК-интерференции (РНКи), транскрипционному замалчиванию гена (TGS), посттранскрипционному замалчиванию гена (PTGS), подавлению, косупрессии и репрессии трансляции), опосредуемых молекулами РНК, которые приводят к ингибированию или "замалчиванию" экспрессии соответствующего кодирующего белок гена или последовательности РНК патогена пчелы. Замалчивание РНК наблюдают во многих типах организмов, включая растений, животных и грибов. В аспектах настоящего описания композиции нуклеиновых кислот приводят к замалчиванию РНК. В некоторых аспектах указанные композиции нуклеиновых кислот приводят к замалчиванию РНК и смертности паразита.

В данном тексте термин "замалчивающий РНК агент" относится к нуклеиновой кислоте, которая по существу гомологична или комплементарна полинуклеотидной последовательности целевого гена или РНК, экспрессируемой с указанного целевого гена, или их фрагменту, и способна ингибировать или "замалчивать" экспрессию целевого гена. Замалчивающие РНК агенты, как правило, описывают в отношении целевой последовательности, против которой направлен замалчивающий РНК агент. Целевая последовательность может включать, но не ограничена перечисленными последовательностями: область промотора, 5'-нетранслируемые области, кодирующие транскрипт области, которые могут содержать интронные области, 3'-нетранслируемые области или комбинации данных областей. В некоторых вариантах реализации целевая последовательность может содержать кодирующую или некодирующую последовательность, или обе указанные последовательности. В некоторых вариантах реализации целевая последовательность идентична или комплементарна информационной РНК, например, в вариантах реализации, в которых целевая последовательность представляет собой кДНК. В некоторых вариантах реализации целевая последовательность представляет собой нативную последовательность гена кальмодулина, которая эндогенно экспрессируется в целевом вредителе. В некоторых вариантах реализации целевая последовательность представляет собой последовательность гена кальмодулина, выбранную из последовательностей SEQ ID NO: 1-4, 6, 23, 26-35, 69-89 и 93, или часть указанной последовательности. В некоторых вариантах реализации эталонная последовательность гена кальмодулина содержит по

меньшей мере 18 смежных нуклеотидов, по меньшей мере 19 смежных нуклеотидов, по меньшей мере 20 смежных нуклеотидов, по меньшей мере 21 смежный нуклеотид, по меньшей мере 22 смежных нуклеотида или более из последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 1-4, 6, 23, 26-35, 69-89 и 93.

5 В некоторых аспектах замалчивающий РНК агент способен предотвращать полный процессинг (например, полную трансляцию и/или экспрессию) молекулы мРНК посредством механизма посттранскрипционного замалчивания. Замалчивающие РНК агенты могут представлять собой одно- или двухцепочечную РНК, или одно- или двухцепочечную ДНК, или двухцепочечные гибриды ДНК/РНК, или модифицированные
 10 аналоги перечисленных молекул. В некоторых аспектах замалчивающие РНК агенты выбраны из группы, состоящей из: (a) молекулы одноцепочечной РНК (оцРНК), (b) молекулы оцРНК, которая самогибридуется с образованием молекулы двухцепочечной РНК, (c) молекулы двухцепочечной РНК (дцРНК), (d) молекулы одноцепочечной ДНК (оцДНК), (e) молекулы оцДНК, которая самогибридуется с образованием молекулы
 15 двухцепочечной ДНК, и (f) молекулы одноцепочечной ДНК, содержащей модифицированный ген Pol III, которая транскрибируется с образованием молекулы РНК, (g) молекулы двухцепочечной ДНК (дцДНК), (h) молекулы двухцепочечной ДНК, содержащей модифицированный промотор Pol III, которая транскрибируется с образованием молекулы РНК, (i) двухцепочечной гибридной молекулы РНК/
 20 ДНК, или комбинации перечисленных молекул. В некоторых аспектах данные полинуклеотиды содержат химически модифицированные нуклеотиды или неканонические нуклеотиды. В некоторых аспектах замалчивающие РНК агенты представляют собой некодирующие молекулы РНК, например, дуплексы РНК, содержащие спаренные цепи, а также РНК-предшественники, из которых можно
 25 получить такие малые некодирующие РНК. В некоторых аспектах замалчивающие РНК агенты представляют собой дцРНК, такие как малые интерферирующие РНК (миРНК), микроРНК и малые шпилечные РНК (мшРНК). В одном аспекте замалчивающий РНК агент способен вызывать РНК-интерференцию. В другом аспекте замалчивающий РНК агент способен опосредовать репрессию трансляции. В некотором
 30 аспекте замалчивающий РНК агент способен ингибировать экспрессию гена кальмодулина. В другом аспекте замалчивающий РНК агент можно применять в способах ингибирования экспрессии целевого гена и уничтожения посредством этого целевого организма. В некоторых аспектах целевой ген представляет собой ген кальмодулина и целевой организм представляет собой *Varroa destructor*.

35 РНК-интерференция относится к процессу специфичного к последовательности посттранскрипционного замалчивания гена у животных, опосредованного малыми РНК. Соответствующий процесс у растений обычно называют посттранскрипционным замалчиванием гена или замалчиванием РНК, и его также называют подавлением у грибов. Без ограничения какой-либо конкретной теорией, процесс
 40 посттранскрипционного замалчивания гена считают эволюционно-консервативным механизмом защиты клеток, используемым для предотвращения экспрессии чужеродных генов, и он широко распространен в разнообразной флоре и таксонометрических типах. Такая защита от экспрессии чужеродных генов могла эволюционировать в ответ на продукцию двухцепочечных РНК (дцРНК), возникших в результате вирусной инфекции
 45 или в результате произвольного встраивания мобильных элементов - транспозонов - в геном хозяина, посредством клеточного ответа, который специфично уничтожает гомологичную одноцепочечную РНК или вирусную геномную РНК. В аспектах настоящего изобретения композиция нуклеиновой кислоты приводит к РНК-

интерференции в целевом организме. В некоторых аспектах указанная композиция нуклеиновой кислоты приводит к РНК-интерференции в *Varroa destructor*, когда он присутствует в организме-хозяине - пчеле. В соответствии с аспектами настоящего изобретения селективный инсектицид может вызывать РНК-интерференцию в целевом

5 организме и при этом не способен вызывать РНК-интерференцию в нецелевых организмах.

В данном тексте термин "малая РНК" относится к любой молекуле РНК, длина которой составляет по меньшей мере 15 пар оснований, обычно составляет 15-30 нуклеотидов, предпочтительно составляет 20-24 нуклеотида. В аспектах настоящего

10 изобретения длина "малой РНК" больше, чем 50 пар оснований. В некотором аспекте длина малой РНК больше, чем 50 пар оснований, но меньше, чем приблизительно 500 пар оснований. В некотором аспекте длина малой РНК больше, чем 100 пар оснований, но меньше, чем приблизительно 500 пар оснований. В некотором аспекте длина малой РНК больше, чем 200 пар оснований, но меньше, чем приблизительно 500 пар оснований.

15 Малая РНК может быть либо двухцепочечной, либо одноцепочечной. Малая РНК включает, без ограничения, микроРНК, та-миРНК (трансактивирующую малую интерферирующую РНК), миРНК, активирующую РНК (РНКa), пас-миРНК (природную антисмысловую миРНК), гх-миРНК (гетерохроматическую миРНК), действующую в цис-положении миРНК, дмикроРНК (длинную микроРНК), дмиРНК (длинную миРНК)

20 и замиРНК (эпигенетически активируемую миРНК), и соответствующие предшественники перечисленных молекул. В некоторых вариантах реализации молекулы миРНК согласно настоящему описанию представляют собой молекулы микроРНК, молекулы та-миРНК и молекулы РНКa, и соответствующие предшественники перечисленных молекул. Малая РНК может подвергнуться процессингу *in vivo* в

25 организме с образованием активной формы. В соответствии с аспектами настоящего изобретения селективный инсектицид может представлять собой малую РНК.

В аспектах настоящего изобретения малая РНК непосредственно представлена в композиции. В других аспектах малая РНК продуцируется организмом *in vivo* либо из ДНК-предшественника, либо из РНК-предшественника. В некоторых аспектах малую

30 РНК получают как продукт транскрипции в организме, например, в дрожжевой или бактериальной клетке. В некоторых аспектах малую РНК, полученную как продукт транскрипции, получают в виде предшественника, который подвергается процессингу *in vivo* после поглощения или абсорбции организмом. В других аспектах малую РНК, полученную как продукт транскрипции, получают в виде предшественника, который

35 подвергается процессингу *in vivo* после поглощения или абсорбции организмом.

В некоторых аспектах замалчивающий РНК агент может представлять собой искусственную микроРНК. В данном тексте "искусственная микроРНК" (имикроРНК) представляет собой тип микроРНК, который получают путем замены нативных дуплексов микроРНК из природного предшественника микроРНК. Как правило,

40 искусственная миРНК представляет собой не существующую в природе молекулу микроРНК, полученную из остова молекулы пре-микроРНК, сконструированного путем замены последовательности микроРНК существующей в природе молекулы пре-микроРНК на интересующую последовательность, которая соответствует последовательности искусственной микроРНК. В аспектах настоящего изобретения композиция нуклеиновой кислоты может представлять собой композицию имикроРНК.

45

В различных исследованиях продемонстрировали, что длинные дцРНК можно применять для замалчивания экспрессии генов, не вызывая стрессовую реакцию или значительных побочных эффектов, см., например Strat и др., *Nucleic Acids Research*,

2006, том 34, № 13 3803-3810; Bhargava A и др. Brain Res. Protoc. 2004;13:115-125; Diallo M., и др., Oligonucleotides. 2003;13:381-392; Paddison P.J., и др., Proc. Natl Acad. Sci. USA. 2002;99:1443-1448; Tran N., и др., FEBS Lett. 2004;573:127-134. В настоящем изобретении предложены и включены в него способы и композиции с использованием длинных

5 дцРНК.

В данном тексте, в отношении последовательности нуклеиновой кислоты, молекулы нуклеиновой кислоты или гена, термин "природный" или "нативный" означает, что соответствующая последовательность или молекула присутствует в организме дикого типа, который не был генетически модифицирован или изменен человеком. Молекула

10

малой РНК, по природе направленная на целевой ген, означает молекулу малой РНК, присутствующую в организме или клетке дикого типа, которые не были генетически модифицированы или изменены человеком, которая направлена на целевой ген, встречающийся в природе в соответствующем организме.

В данном тексте термины "гомология" и "идентичность", когда их используют по отношению к нуклеиновым кислотам, описывают степень подобия между двумя или более последовательностями нуклеотидов. Процент "идентичности последовательностей" между двумя последовательностями определяют путем сравнения двух оптимально выровненных последовательностей по всему окну сравнения, таким образом, что часть указанной последовательности в окне сравнения может содержать вставки или делеции

20

(разрывы) относительно эталонной последовательности (которая не содержит вставки или делеции) для оптимального выравнивания двух последовательностей. Указанный процент рассчитывают путем определения количества положений, в которых встречается идентичное основание нуклеиновой кислоты или идентичный аминокислотный остаток в обеих последовательностях, с получением количества совпадающих положений, деления указанного количества совпадающих положений на общее количество

25

положений в окне сравнения и умножения полученного результата на 100 с получением процента идентичности последовательностей. Последовательность, которая идентична в каждом положении по сравнению с эталонной последовательностью, называют идентичной эталонной последовательности, и наоборот. Выравнивание двух или более последовательностей можно осуществить, применяя любую подходящую компьютерную

30

программу. Например, широко применяемая и утвержденная компьютерная программа для проведения выравниваний последовательностей представляет собой CLUSTALW версии 1.6 (Thompson, и др. Nucl. Acids Res., 22: 4673-4680, 1994).

В данном тексте термины "экзогенный полинуклеотид" и "экзогенная молекула нуклеиновой кислоты" по отношению к организмам относятся к гетерологичной последовательности нуклеиновой кислоты, которая в природе не экспрессируется в данном организме. Экзогенную молекулу нуклеиновой кислоты можно внедрить в организм стабильным или временным способом. Экзогенная молекула нуклеиновой кислоты может включать последовательность нуклеиновой кислоты, которая идентична

40

или частично гомологична эндогенной последовательности нуклеиновой кислоты указанного организма или вредителя или патогена указанного организма. В некоторых аспектах "экзогенный полинуклеотид" и "экзогенная молекула нуклеиновой кислоты" может относиться к последовательности нуклеиновой кислоты паразита,

45

экспрессируемой или присутствующей в хозяине, либо временно, либо стабильно. В настоящем изобретении предложены и включены в него композиции, содержащие экзогенные полинуклеотиды и экзогенные молекулы нуклеиновой кислоты, и способы их внедрения в целевой организм. В некоторых аспектах в настоящем изобретении предложены и включены в него композиции, содержащие экзогенные полинуклеотиды

и экзогенные молекулы нуклеиновой кислоты и способы их внедрения в нецелевой организм, который представляет собой хозяина целевого организма.

В данном тексте "контрольный организм" означает организм, который не содержит рекомбинантную ДНК, малую РНК или другую нуклеиновую кислоту (например, белок, микроРНК, устойчивую к малой РНК целевую мРНК, дцРНК, целевой мимик), который является контролем вредителя или паразита. Контрольные организмы, как правило, относятся к тем же видам и находятся на той же стадии развития, а также выращиваются при таких же условиях роста, как и организм, который лечат. Аналогично "контрольная колония" означает колонии организмов, которые не содержат рекомбинантную ДНК, малую РНК или другую нуклеиновую кислоту (например, белок, микроРНК, устойчивую к малой РНК целевую мРНК, целевой мимик), которые являются контролем вредителя или паразита. Контрольные колонии организмов, как правило, относятся к тем же видам и находятся на той же стадии развития, а также выращиваются при таких же условиях роста, как и подвергнутая лечению колония организмов. В качестве лишь одного из примеров, контрольный организм может представлять собой пчелу, которая получила композицию, не содержащую нуклеиновую кислоту согласно настоящему описанию. В качестве другого лишь одного из примеров, контрольный организм может представлять собой пчелу, которая получила композицию, содержащую нуклеиновую кислоту, которая не способна замалчивать РНК ни в пчеле, ни в паразите, такую как SEQ ID NO: 5.

В данном тексте термины "улучшение", "улучшенный", "повышение" и "повышенный" относятся к по меньшей мере приблизительно на 2%, по меньшей мере приблизительно на 3%, по меньшей мере приблизительно на 4%, по меньшей мере приблизительно на 5%, по меньшей мере приблизительно на 10%, по меньшей мере приблизительно на 15%, по меньшей мере приблизительно на 20%, по меньшей мере приблизительно на 25%, по меньшей мере приблизительно на 30%, по меньшей мере приблизительно на 35%, по меньшей мере приблизительно на 40%, по меньшей мере приблизительно на 45%, по меньшей мере приблизительно на 50%, по меньшей мере приблизительно на 60%, по меньшей мере приблизительно на 70%, по меньшей мере приблизительно на 80%, по меньшей мере приблизительно на 90% или большему увеличению популяции организмов или колонии, повышению производительности организма или колонии (например, повышенной продукции меда), увеличению скорости роста организма или колонии, или увеличению скорости репродукции по сравнению с контрольным организмом или колонией. В настоящем изобретении предложены способы улучшения здоровья организма или колонии путем предоставления им селективной инсектицидной композиции.

В данном тексте "снижение" уровня агента, такого как белок или мРНК, означает, что указанный уровень снижен по сравнению с организмом или колонией, в которых нет нуклеиновой кислоты, способной снижать уровень указанного агента. Также в данном тексте "снижение" по отношению к паразитированию или паразитарной нагрузке означает, что указанный уровень снижен по сравнению с организмом или колонией, в которых нет нуклеиновой кислоты, такой как молекула дцРНК, способной снижать жизнеспособность, плодовитость или количество паразитов. В настоящем изобретении предложены и включены в него способы и композиции для снижения уровня белка или мРНК и снижения уровня или количества паразитов.

В данном тексте термин "по меньшей мере частичное снижение" уровня агента, такого как белок или мРНК, означает, что уровень снижен по меньшей мере на 25% по сравнению с организмом или колонией, в которых нет нуклеиновой кислоты, такой

как молекула дцРНК, способной снижать уровень агента. Также в данном тексте "по меньшей мере частичное снижение" по отношению к паразитированию или паразитарной нагрузке означает, что уровень снижен по меньшей мере на 25% по сравнению с организмом или колонией, в которых нет нуклеиновой кислоты, такой как молекула дцРНК, способной снижать жизнеспособность, плодовитость или количество паразитов. В настоящем изобретении предложены и включены в него способы и композиции для по меньшей мере частичного снижения уровня белка или мРНК и по меньшей мере частичного снижения уровня или количества паразитов.

В данном тексте "существенное снижение" уровня агента, такого как белок или мРНК, означает, что указанный уровень снижен по сравнению с организмом или колонией, в которых нет нуклеиновой кислоты, такой как молекула дцРНК, способной снижать уровень агента, при этом снижение уровня указанного агента составляет по меньшей мере 75%. Также в данном тексте "существенное снижение" по отношению к паразитированию или паразитарной нагрузке означает, что уровень снижен по меньшей мере на 75% по сравнению с организмом или колонией, в которых нет нуклеиновой кислоты, такой как молекула дцРНК, способной снижать жизнеспособность, плодовитость или количество паразитов. В настоящем изобретении предложены и включены в него способы и композиции для существенного снижения уровня белка или мРНК и существенного снижения уровня или количества паразитов.

В данном тексте "эффективное элиминирование" агента, такого как белок или мРНК, сравнивают с организмом или колонией, в которых нет молекулы дцРНК, способной снижать уровень агента, при этом снижение уровня указанного агента происходит более чем на 95%. Агент, такой как молекула дцРНК, предпочтительно способен приводить к по меньшей мере частичному снижению, более предпочтительно к существенному снижению или наиболее предпочтительно к эффективному элиминированию другого агента, такого как белок или мРНК, или паразит, при этом указанный агент оставляет уровень второго агента, или организма-хозяина, по существу неизменным, существенно не измененным или частично не измененным. Также в данном тексте "эффективное элиминирование" по отношению к паразитированию или паразитарной нагрузке означает, что уровень снижен по меньшей мере на 95% по сравнению с организмом или колонией, в которых нет нуклеиновой кислоты, такой как молекула дцРНК, способной снижать жизнеспособность, плодовитость или количество паразитов. В настоящем изобретении предложены и включены в него способы и композиции для эффективного элиминирования белка или мРНК и эффективного элиминирования паразитов.

В данном тексте термины "подавлять", "репрессировать" и "снижать" по отношению к экспрессии или активности молекулы нуклеиновой кислоты в организме используют эквивалентно, и они означают, что уровень экспрессии или активности молекулы нуклеиновой кислоты в клетке организма после осуществления способа согласно настоящему описанию ниже, чем ее экспрессия или активность в клетке организма до осуществления способа или по сравнению с контрольным организмом, в котором нет молекулы нуклеиновой кислоты согласно настоящему описанию. В настоящем изобретении предложены и включены в него способы и композиции для подавления, репрессирования и снижения уровня белка или мРНК и подавления, репрессирования и снижения уровня или количества паразитов.

Термины "подавленный", "репрессированный" и "с пониженной экспрессией" в данном тексте синонимичны и означают более низкую, предпочтительно значительно более низкую экспрессию или активность целевой молекулы нуклеиновой кислоты. Также в

данном тексте "подавленный", "репрессированный" и "сниженный" по отношению к паразитированию или паразитарной нагрузке означает, что уровень паразитирования или паразитарной нагрузки более низкий, предпочтительно значительно более низкий по сравнению с таковым в организме или колонии, в которых нет нуклеиновой кислоты, такой как молекула дцРНК, способной снижать жизнеспособность, плодовитость или количество паразитов. В настоящем изобретении предложены и включены в него способы и композиции для подавления, репрессирования и снижения экспрессии или активности белка или мРНК и подавления, репрессирования и снижения активности паразитов.

В данном тексте "подавление", "репрессия" или "снижение" уровня или активности агента, такого как белок, мРНК или РНК, означает, что уровень или активность снижена по сравнению с по существу идентичной клеткой, организмом или колонией, которые росли при по существу идентичных условиях, в которых нет молекулы нуклеиновой кислоты согласно настоящему описанию, например, в которых нет участка, комплементарного дцРНК или миРНК, рекомбинантной конструкции или рекомбинантного вектора согласно настоящему описанию. В данном тексте "подавление", "репрессия" или "снижение" уровня или активности агента, такого как, например, пре-РНК, мРНК, рРНК, тРНК, мякРНК, мяРНК, экспрессируемого с целевого гена, и/или белкового продукта, кодируемого им, означает, что указанное количество снижено на 10% или более, например, на 20% или более, предпочтительно на 30% или более, более предпочтительно на 50% или более, еще более предпочтительно на 70% или более, наиболее предпочтительно на 80% или более, например, на 90% по сравнению с таковым в клетке, организме или колонии, в которых нет рекомбинантной молекулы нуклеиновой кислоты согласно настоящему описанию. В настоящем изобретении предложены и включены в него способы и композиции для подавления, репрессии и снижения уровня агента, такого как белок, мРНК, РНК или паразит, по сравнению с неподвергнутым обработке организмом или колонией.

В данном тексте термин "членистоногое" относится как к взрослой особи, так и к куколке беспозвоночных животных, имеющих экзоскелет (внешний скелет), фрагментированное тело и соединенные конечности. Членистоногие являются представителями типа *Arthropoda* и включают насекомых, паукообразных и ракообразных. Членистоногие согласно настоящему описанию включают, но не ограничены перечисленными: *Apis mellifera*, *Apis cerana*, *Trigona minima*, *Halictidae*, *Bombus sp.*, блох, мух, вшей, зудней, клещей и полезных насекомых. В настоящем изобретении предложены и включены в него способы и композиции для лечения членистоногих либо в качестве хозяев, либо в качестве паразита или вредителя.

В некотором аспекте членистоногое может представлять собой насекомое. В некоторых аспектах насекомое может представлять собой пчелу. В данном тексте термин "пчела" относится как к взрослой пчеле, так и к ячейкам с куколкой пчелы. Согласно одному аспекту пчела находится в улье. Взрослую пчелу определяют как любое из имеющих несколько крыльев и мохнатое тело, обычно жалящих насекомых из надсемейства *Apoidea* в отряде Перепончатокрылые (*Hymenoptera*), включая как одиночные, так и социальные виды, и характеризуемых сосущим и жующим ротовым аппаратом для сбора нектара и пыльцы. Примеры видов пчел включают, но не ограничены перечисленными: *Apis*, *Bombus*, *Trigona*, *Osmia* и тому подобные виды. В одном аспекте пчелы включают, но не ограничены перечисленными: шмелей (*Bombus terrestris*), медоносных пчел (*Apis mellifera*) (включая пчел-сборщиц и домашних пчел) и *Apis cerana*. В настоящем изобретении предложены и включены в него способы и

композиции для лечения пчел как хозяев паразитов, таких как клещи *Varroa*.

Согласно одному аспекту пчела является частью колонии. Термин "колония" относится к популяции пчел, содержащей от дюжин до обычно нескольких десятков тысяч пчел, которые сообща строят ульи, собирают пищу и вскармливают расплод. В колонии обычно есть одна матка, остальные пчелы являются либо "рабочими пчелами" (самками), либо "трутнями" (самцами). Общественное устройство колонии поддерживается маткой и рабочими пчелами и зависит от эффективной системы коммуникации. Разделение труда внутри касты рабочих пчел, главным образом, зависит от возраста пчелы, но может изменяться в зависимости от потребности колонии. Размножение и численность колонии зависят от матки, количества запасов пищи и размера армии рабочих пчел. Медоносных пчел также можно подразделить на категории "домашних пчел", обычно, в течение первой части жизни рабочих пчел, во время которой "домашняя пчела" выполняет задачи внутри улья, и "пчел-сборщиц" в течение последней части жизни пчел, во время которой "сборщица" находит и собирает пыльцу и нектар за пределами улья и приносит нектар или пыльцу в улей для питания и хранения. В настоящем изобретении предложены и включены в него способы и композиции для лечения колоний насекомых.

В данном тексте термин "вредитель" относится как к взрослой, так и к незрелой форме организма, инвазивного или способного к размножению, вредоносного, доставляющего неприятности, токсичного, губительного, доставляющего беспокойство растениям или животным, или экосистемам. Паразит представляет собой тип вредителя. Организм может быть вредителем в одном случае, но быть полезным, одомашненным или приемлемым в другом случае.

В данном тексте термин "паразит" относится как к взрослой, так и к незрелой формам организмов, которые напрямую получают пользу за счет другого организма - хозяина, например, путем питания кровью или жидкостями хозяина, проживания внутри клетки организма-хозяина или проживания внутри тела организма-хозяина. Паразиты включают организмы, которые представляют собой животных, грибов, бактерий или растений, и их определяют по отрицательному или вредному взаимодействию с хозяином. В некоторых аспектах паразит, используемый в данном тексте, может, в свою очередь, служить в качестве хозяина для второго паразита. В некоторых аспектах паразит и хозяин могут принадлежать к одному и тому же типу организмов (например, членистоногий хозяин и членистоногий паразит). Паразиты включают, но не ограничены перечисленными: *Acar*i (зудней, клещей), *Hippoboscoidea* (мух), *Ichneumonoidea* (паразитических ос), *Oestridae* (носоглоточных оводов), *Phthiraptera* (вшей), *Siphonaptera* (блох), *Tantulocarida*, краба-горошинку и *Sacculina*. В данном тексте вредитель может находиться как на паразитарной, так и на непаразитарной стадии жизни. В настоящем изобретении предложены и включены в него способы и композиции для лечения от паразитов. В некотором аспекте паразит может представлять собой *Varroa destructor*.

В настоящем изобретении предложены и включены в него паразиты и/или вредители, включающие: *Varroa destructor*, *Ixodes scapularis*, *Solenopsis invicta*, *Tetranychus urticae*, *Aedes aegypti*, *Culex quinquefasciatus*, *Acyrtosiphon pisum* и *Pediculus humanus*. В аспектах настоящего изобретения селективные инсектициды могут быть селективны по отношению к *Varroa destructor*, *Ixodes scapularis*, *Solenopsis invicta*, *Tetranychus urticae*, *Aedes aegypti*, *Culex quinquefasciatus*, *Acyrtosiphon pisum* и *Pediculus humanus* и неактивны, или значительно менее активны, по отношению к нецелевому организму, такому как организм-хозяин.

В данном тексте термин "вспомогательное вещество" относится к любому

неактивному веществу в лекарственной форме, содержащей активный ингредиент, такой как направленная против паразитов, против вредителей или инсектицидная нуклеиновая кислота, включая, без ограничения, дцРНК, малую РНК, миРНК и антисмысловую РНК. В некоторых вариантах реализации вспомогательное вещество

5 включает вещества, которые могут придать композиции дополнительные функциональные возможности, которые отличны от направленных против паразитов, против вредителей или инсектицидных нуклеиновых кислот. Функции вспомогательных веществ включают, но не ограничены перечисленными: "объемообразующие агенты", "наполнители", "разбавители" и "носители". Увеличение объема позволяет удобное и

10 точное распределение композиций согласно настоящему описанию. Вспомогательные вещества также могут служить для того, чтобы способствовать поеданию композиций организмами, и включают различные углеводы, белки, жирные кислоты, пыльцу и заменители пыльцы. Вспомогательные вещества также могут служить для того, чтобы способствовать абсорбции композиций организмами, и включают, например, как

15 водные, так и неводные растворы активных ингредиентов. Лишь некоторые из примеров вспомогательных веществ включают кукурузный сироп, сахарный сироп, твердый сахар, полутвердые сахара, пыльцу, соевый белок, смеси пыльцы и белка. Вспомогательные вещества могут дополнительно включать привлекающие вещества (аттрактанты), буферы и пищевые добавки. Композиции согласно настоящему описанию

20 могут быть покрыты, инкапсулированы, растворены, смешаны или другим способом объединены со вспомогательным веществом. В данном тексте термин вспомогательное вещество может относиться к смеси неактивных веществ.

В настоящей заявке предложены и раскрыты направленные против паразитов, против вредителей или инсектицидные молекулы нуклеиновой кислоты, которые по существу

25 гомологичны или комплементарны полинуклеотидной последовательности целевого гена кальмодулина, или РНК, которая экспрессируется с целевого гена кальмодулина, или их фрагментам, и осуществляют подавление экспрессии целевого гена кальмодулина или приводят к образованию нокдаун-фенотипа. В некоторых аспектах направленная против паразитов, против вредителей или инсектицидная нуклеиновая кислота не

30 содержит последовательность из 19 или более смежных нуклеотидов, которые на 100% идентичны или комплементарны последовательности гена нецелевого организма. В некоторых аспектах из направленной против паразитов, против вредителей или инсектицидной молекулы нуклеиновой кислоты удалены одна или более нуклеиновых кислот по сравнению с целевым геном кальмодулина, так что указанная направленная

35 против паразитов, против вредителей или инсектицидная молекула нуклеиновой кислоты не содержит последовательность из 19 или более смежных нуклеотидов, которые на 100% идентичны или комплементарны последовательности гена нецелевого организма. Указанные направленные против паразитов, против вредителей или инсектицидные молекулы нуклеиновой кислоты способны ингибировать или "замалчивать" экспрессию

40 целевого гена кальмодулина у целевого вида. В некоторых вариантах реализации направленные против паразитов, против вредителей или инсектицидные молекулы нуклеиновой кислоты не влияют на экспрессию гена кальмодулина в нецелевом организме, тем не менее, способны ингибировать или "замалчивать" экспрессию целевого гена кальмодулина у целевого вида. Указанные направленные против паразитов, против

45 вредителей или инсектицидные молекулы нуклеиновой кислоты, как правило, описаны в отношении их "целевой последовательности". В некоторых вариантах реализации целевую последовательность выбирают из последовательностей SEQ ID NO: 1, 2 и 6-77. В некоторых вариантах реализации из направленных против паразитов, против

вредителей или инсектицидных молекул нуклеиновой кислоты удалены по меньшей мере один, по меньшей мере два, по меньшей мере три или по меньшей мере четыре нуклеотида по сравнению с целевой последовательностью. В некоторых вариантах реализации указанные по меньшей мере один, по меньшей мере два, по меньшей мере три или по меньшей мере четыре удаленных нуклеотида являются смежными в целевой последовательности. В других вариантах реализации указанные по меньшей мере один, по меньшей мере два, по меньшей мере три или по меньшей мере четыре удаленных нуклеотида не являются смежными в целевой последовательности. Указанные направленные против паразитов, против вредителей или инсектицидные молекулы нуклеиновой кислоты могут представлять собой одноцепочечную ДНК (оцДНК), одноцепочечную РНК (оцРНК), двухцепочечную РНК (дцРНК), двухцепочечную ДНК (дцДНК) или двухцепочечные гибриды ДНК/РНК. Указанные молекулы нуклеиновой кислоты могут содержать встречающиеся в природе нуклеотиды, модифицированные нуклеотиды, аналоги нуклеотидов или любую комбинацию перечисленных молекул. В некоторых вариантах реализации направленная против паразитов, против вредителей или инсектицидная молекула нуклеиновой кислоты может быть включена в более длинный полинуклеотид, например, в молекулу прай-микроРНК. В некоторых вариантах реализации направленную против паразитов, против вредителей или инсектицидную молекулу нуклеиновой кислоты можно подвергнуть процессингу с получением малой интерферирующей РНК (миРНК). В некоторых вариантах реализации предложены или раскрыты молекулы нуклеиновой кислоты, которые селективно действуют против паразитов или убивают клещей, и способы модуляции экспрессии или активности целевых для них генов для снижения количества или устранения паразитов из колонии или популяции. В некоторых вариантах реализации предложены или раскрыты молекулы нуклеиновой кислоты, которые селективно действуют против паразитов или убивают клещей, модулируя экспрессию или активность гена кальмодулина *Varroa*, чтобы уменьшить количество или устранить паразитов *Varroa* из колонии или популяции пчел, при этом не влияя на ген кальмодулина в нецелевых организмах.

В аспектах настоящего изобретения направленная против паразитов, против вредителей или инсектицидная молекула нуклеиновой кислоты включает последовательность нуклеотидов, идентичную по меньшей мере на 80%, 85%, 88%, 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% последовательности или части последовательности, выбранной из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 1-94. В некоторых аспектах молекула нуклеиновой кислоты выбрана из группы, состоящей из оцДНК, оцРНК, дцРНК, дцДНК или гибридов ДНК/РНК. В некоторых вариантах реализации предложена дцРНК, включающая последовательность нуклеотидов, которая идентична по меньшей мере на 80%, 85%, 88%, 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% последовательности или части последовательности, выбранной из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 1-94. В некоторых вариантах реализации предложена дцРНК, включающая последовательность нуклеотидов, которая идентична по меньшей мере на 100% последовательности или части последовательности, выбранной из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 1-94. В другом аспекте предложена ДНК, кодирующая по меньшей мере одну нуклеиновую кислоту, такую как оцРНК или дцРНК, включающая последовательность нуклеотидов или часть последовательности нуклеотидов, выбранную из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 1-94, или идентичную по меньшей мере на 80%, 85%, 88%, 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% последовательностям SEQ ID NO: 1-94 или частям указанных последовательностей. В другом дополнительном аспекте предложена

рекомбинантная ДНК, кодирующая по меньшей мере одну нуклеиновую кислоту, такую как оцРНК или дцРНК, которая содержит последовательность нуклеотидов, или часть последовательности нуклеотидов, выбранную из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 1-94, последовательность гетерологичного промотора и последовательность терминатора транскрипции. В другом аспекте настоящего изобретения предложена рекомбинантная ДНК, кодирующая по меньшей мере одну нуклеиновую кислоту, такую как оцРНК или дцРНК, которая содержит последовательность нуклеотидов, идентичную по меньшей мере на 80%, 85%, 88%, 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% последовательности или части последовательности, выбранной из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 1-94, и дополнительно содержит гетерологичный промотор и терминатор транскрипции.

В аспектах настоящего изобретения композиция содержит направленную против паразитов, против вредителей или инсектицидную молекулу нуклеиновой кислоты, последовательность которой на 100 процентов идентична участку, состоящему из от 10 до 17 или более смежных нуклеотидов, в целевом гене или в РНК, транскрибированной с целевого гена. В некотором аспекте композиция содержит направленную против паразитов, против вредителей или инсектицидную молекулу нуклеиновой кислоты, последовательность которой на 100 процентов идентична участку, состоящему из от 18 до 25 или более смежных нуклеотидов, в целевом гене или в РНК, транскрибированной с целевого гена. В некотором аспекте композиция содержит направленную против паразитов, против вредителей или инсектицидную молекулу нуклеиновой кислоты, последовательность которой на 100 процентов идентична участку, состоящему из от 20 до 30 или более смежных нуклеотидов, в целевом гене или в РНК, транскрибированной с целевого гена. В некотором аспекте композиция содержит направленную против паразитов, против вредителей или инсектицидную молекулу нуклеиновой кислоты, последовательность которой на 100 процентов идентична участку, состоящему из от 25 до 35 или более смежных нуклеотидов, в целевом гене или в РНК, транскрибированной с целевого гена. В некотором аспекте композиция содержит направленную против паразитов, против вредителей или инсектицидную молекулу нуклеиновой кислоты, последовательность которой на 100 процентов идентична участку, состоящему из от 30 до 40 или более смежных нуклеотидов, в целевом гене или в РНК, транскрибированной с целевого гена. В некотором аспекте композиция содержит направленную против паразитов, против вредителей или инсектицидную молекулу нуклеиновой кислоты, последовательность которой на 100 процентов идентична участку, состоящему из от 40 до 50 или более смежных нуклеотидов, в целевом гене или в РНК, транскрибированной с целевого гена. В некотором аспекте композиция содержит направленную против паразитов, против вредителей или инсектицидную молекулу нуклеиновой кислоты, последовательность которой на 100 процентов идентична участку, состоящему из от 50 до 60 или более смежных нуклеотидов, в целевом гене или в РНК, транскрибированной с целевого гена. В некотором аспекте композиция содержит направленную против паразитов, против вредителей или инсектицидную молекулу нуклеиновой кислоты, последовательность которой на 100 процентов идентична участку, состоящему из от 45 до 60 или более смежных нуклеотидов, в целевом гене или в РНК, транскрибированной с целевого гена. В некотором аспекте композиция содержит направленную против паразитов, против вредителей или инсектицидную молекулу нуклеиновой кислоты, последовательность которой на 100 процентов идентична участку, состоящему из вплоть до 60 смежных нуклеотидов, в целевом гене или в РНК,

транскрибированной с целевого гена. В некотором аспекте композиция содержит направленную против паразитов, против вредителей или инсектицидную молекулу нуклеиновой кислоты, последовательность которой на 100 процентов идентична участку, состоящему из вплоть до 50 смежных нуклеотидов, в целевом гене или в РНК,

5 транскрибированной с целевого гена. В некотором аспекте композиция содержит направленную против паразитов, против вредителей или инсектицидную молекулу нуклеиновой кислоты, последовательность которой на 100 процентов идентична участку, состоящему из вплоть до 40 смежных нуклеотидов, в целевом гене или в РНК,

10 транскрибированной с целевого гена. В некотором аспекте композиция содержит направленную против паразитов, против вредителей или инсектицидную молекулу нуклеиновой кислоты, последовательность которой на 100 процентов идентична участку, состоящему из по меньшей мере 25 смежных нуклеотидов, в целевом гене или в РНК,

15 транскрибированной с целевого гена. В некотором аспекте композиция содержит направленную против паразитов, против вредителей или инсектицидную молекулу нуклеиновой кислоты, последовательность которой на 100 процентов идентична участку, состоящему из по меньшей мере 35 смежных нуклеотидов, в целевом гене или в РНК,

20 транскрибированной с целевого гена. В некотором аспекте композиция содержит направленную против паразитов, против вредителей или инсектицидную молекулу нуклеиновой кислоты, последовательность которой на 100 процентов идентична участку, состоящему из по меньшей мере 40 смежных нуклеотидов, в целевом гене или в РНК,

25 транскрибированной с целевого гена. В некотором аспекте композиция содержит направленную против паразитов, против вредителей или инсектицидную молекулу нуклеиновой кислоты, последовательность которой на 100 процентов идентична участку, состоящему из по меньшей мере 60 смежных нуклеотидов, в целевом гене или в РНК,

30 транскрибированной с целевого гена. В некотором аспекте целевой ген может представлять собой ген, включающий последовательность SEQ ID NO: 1-89 или 93. В некотором аспекте целевой ген может представлять собой ген, включающий последовательность SEQ ID NO: 1. В некотором аспекте целевой ген может представлять собой ген, включающий последовательность SEQ ID NO: 2. В некотором аспекте целевой ген может представлять собой ген, включающий последовательность SEQ ID NO: 3. В

35 некотором аспекте целевой ген может представлять собой ген, включающий последовательность SEQ ID NO: 4. В некотором аспекте целевой ген может представлять собой ген, включающий последовательность SEQ ID NO: 69. В некотором аспекте целевой ген может представлять собой ген, включающий последовательность SEQ ID NO: 70. В некотором аспекте целевой ген может представлять собой ген, включающий последовательность SEQ ID NO: 88. В некотором аспекте целевой ген может представлять собой ген, включающий последовательность SEQ ID NO: 89. В некотором аспекте целевой ген может представлять собой ген, включающий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 71-87. В некотором аспекте целевой ген может представлять собой ген, включающий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 6-68.

45 В аспектах настоящего изобретения композиция содержит направленную против паразитов, против вредителей или инсектицидную молекулу нуклеиновой кислоты, последовательность которой на 99 процентов идентична участку, состоящему из от 10 до 17 или более смежных нуклеотидов, в целевом гене или в РНК, транскрибированной

идентична участку целевого гена. В некотором аспекте последовательность направленной против паразитов, против вредителей или инсектицидной нуклеиновой кислоты по меньшей мере на 93 процента идентична участку целевого гена. В некоторых аспектах последовательность направленной против паразитов, против вредителей или инсектицидной нуклеиновой кислоты по меньшей мере на 92 процента идентична участку целевого гена. В некотором аспекте последовательность направленной против паразитов, против вредителей или инсектицидной нуклеиновой кислоты по меньшей мере на 91 процент идентична участку целевого гена. В некотором аспекте последовательность направленной против паразитов, против вредителей или инсектицидной нуклеиновой кислоты по меньшей мере приблизительно на 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90 процентов идентична участку целевого гена, представленному выше. В некотором аспекте целевой ген может представлять собой ген, включающий последовательность SEQ ID NO: 1-89. В некотором аспекте целевой ген может представлять собой ген, включающий последовательность SEQ ID NO: 1. В некотором аспекте целевой ген может представлять собой ген, включающий последовательность SEQ ID NO: 2. В некотором аспекте целевой ген может представлять собой ген, включающий последовательность SEQ ID NO: 3. В некотором аспекте целевой ген может представлять собой ген, включающий последовательность SEQ ID NO: 4. В некотором аспекте целевой ген может представлять собой ген, включающий последовательность SEQ ID NO: 69. В некотором аспекте целевой ген может представлять собой ген, включающий последовательность SEQ ID NO: 70. В некотором аспекте целевой ген может представлять собой ген, включающий последовательность SEQ ID NO: 88. В некотором аспекте целевой ген может представлять собой ген, включающий последовательность SEQ ID NO: 89. В некотором аспекте целевой ген может представлять собой ген, включающий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 71-87. В некотором аспекте целевой ген может представлять собой ген, включающий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 6-68. В некотором аспекте целевой ген может представлять собой ген, включающий последовательность SEQ ID NO: 93.

В аспектах настоящего изобретения композиция содержит направленную против паразитов, против вредителей или инсектицидную молекулу нуклеиновой кислоты, последовательность которой на 100 процентов идентична участку, состоящему из от 10 до 17 или более смежных нуклеотидов, в целевом гене или в РНК, транскрибированной с целевого гена, при этом указанная направленная против паразитов, против вредителей или инсектицидная молекула нуклеиновой кислоты не содержит последовательность, которая на 100% идентична или комплементарна 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 или более смежным нуклеотидам в последовательности гена нецелевого организма. В некотором аспекте композиция содержит направленную против паразитов, против вредителей или инсектицидную молекулу нуклеиновой кислоты, последовательность которой на 100 процентов идентична участку, состоящему из от 18 до 25 или более смежных нуклеотидов, в целевом гене или в РНК, транскрибированной с целевого гена, при этом указанная направленная против паразитов, против вредителей или инсектицидная молекула нуклеиновой кислоты не содержит последовательность, которая на 100% идентична или комплементарна 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 или более смежным нуклеотидам в последовательности гена нецелевого организма. В некотором аспекте композиция содержит направленную против паразитов, против вредителей или инсектицидную молекулу нуклеиновой кислоты, последовательность которой на 100 процентов идентична участку, состоящему из от

18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 или более смежным нуклеотидам в последовательности гена нецелевого организма. В некотором аспекте композиция содержит направленную против паразитов, против вредителей или инсектицидную молекулу нуклеиновой кислоты, последовательность которой на 100 процентов идентична участку, состоящему

5 из по меньшей мере 50 смежных нуклеотидов, в целевом гене или в РНК, транскрибированной с целевого гена, при этом указанная направленная против паразитов, против вредителей или инсектицидная молекула нуклеиновой кислоты не содержит последовательность, которая на 100% идентична или комплементарна 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 или более смежным

10 нуклеотидам в последовательности гена нецелевого организма. В некотором аспекте композиция содержит направленную против паразитов, против вредителей или инсектицидную молекулу нуклеиновой кислоты, последовательность которой на 100 процентов идентична участку, состоящему из по меньшей мере 60 смежных нуклеотидов, в целевом гене или в РНК, транскрибированной с целевого гена, при этом указанная

15 направленная против паразитов, против вредителей или инсектицидная молекула нуклеиновой кислоты не содержит последовательность, которая на 100% идентична или комплементарна 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 или более смежным нуклеотидам в последовательности гена нецелевого организма. В некотором аспекте целевой ген может представлять собой ген, включающий

20 последовательность SEQ ID NO: 1-89 или 93. В некотором аспекте целевой ген может представлять собой ген, включающий последовательность SEQ ID NO: 1. В некотором аспекте целевой ген может представлять собой ген, включающий последовательность SEQ ID NO: 2. В некотором аспекте целевой ген может представлять собой ген, включающий последовательность SEQ ID NO: 3. В некотором аспекте целевой ген

25 может представлять собой ген, включающий последовательность SEQ ID NO: 4. В некотором аспекте целевой ген может представлять собой ген, включающий последовательность SEQ ID NO: 69. В некотором аспекте целевой ген может представлять собой ген, включающий последовательность SEQ ID NO: 70. В некотором аспекте целевой ген может представлять собой ген, включающий последовательность SEQ ID

30 NO: 88. В некотором аспекте целевой ген может представлять собой ген, включающий последовательность SEQ ID NO: 89. В некотором аспекте целевой ген может представлять собой ген, включающий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 71-87. В некотором аспекте целевой ген может представлять собой ген, включающий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 6-68.

35 В аспектах настоящего изобретения композиция содержит направленную против паразитов, против вредителей или инсектицидную молекулу нуклеиновой кислоты, последовательность которой на 99 процентов идентична участку, состоящему из от 10 до 17 или более смежных нуклеотидов, в целевом гене или в РНК, транскрибированной с целевого гена, при этом указанная направленная против паразитов, против вредителей

40 или инсектицидная молекула нуклеиновой кислоты не содержит последовательность, которая на 100% идентична или комплементарна 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 или более смежным нуклеотидам в последовательности гена нецелевого организма. В некотором аспекте композиция содержит направленную против паразитов, против вредителей или инсектицидную молекулу нуклеиновой

45 кислоты, последовательность которой на 99 процентов идентична участку, состоящему из от 18 до 25 или более смежных нуклеотидов, в целевом гене или в РНК, транскрибированной с целевого гена, при этом указанная направленная против паразитов, против вредителей или инсектицидная молекула нуклеиновой кислоты не

целевой ген может представлять собой ген, включающий последовательность SEQ ID NO: 89. В некотором аспекте целевой ген может представлять собой ген, включающий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 71-87.

В некоторых вариантах реализации в направленной против паразитов, против вредителей или инсектицидной нуклеиновой кислоте по меньшей мере один нуклеотид удален по сравнению с целевой последовательностью гена. В одном аспекте направленная против паразитов, против вредителей или инсектицидная нуклеиновая кислота не содержит последовательность из 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 или более последовательных нуклеотидов, которые идентичны или комплементарны последовательности гена в нецелевом организме. В одном варианте реализации нецелевой организм представляет собой пчелу. В другом варианте реализации нецелевой организм представляет собой человека. В другом варианте реализации нецелевой организм представляет собой бабочку монарх. В некоторых вариантах реализации из направленной против паразитов, против вредителей или инсектицидной нуклеиновой кислоты удалены по меньшей мере один, по меньшей мере два, по меньшей мере три, по меньшей мере четыре, по меньшей мере пять, по меньшей мере шесть, по меньшей мере семь, по меньшей мере восемь, по меньшей мере девять, по меньшей мере десять, по меньшей мере одиннадцать, по меньшей мере двенадцать, по меньшей мере тринадцать, по меньшей мере четырнадцать, по меньшей мере пятнадцать или более нуклеотидов по сравнению с целевой последовательностью. В некоторых вариантах реализации указанные по меньшей мере два, по меньшей мере три, по меньшей мере четыре, по меньшей мере пять или по меньшей мере шесть удаленных нуклеотидов являются смежными в эталонной последовательности гена кальмодулина. В других вариантах реализации указанные по меньшей мере один, по меньшей мере два, по меньшей мере три, по меньшей мере четыре, по меньшей мере пять, по меньшей мере шесть, по меньшей мере семь, по меньшей мере восемь, по меньшей мере девять, по меньшей мере десять, по меньшей мере одиннадцать, по меньшей мере двенадцать, по меньшей мере тринадцать, по меньшей мере четырнадцать, по меньшей мере пятнадцать или более удаленных нуклеотидов не являются смежными в целевой последовательности. В некотором аспекте целевая последовательность может быть выбрана из последовательностей SEQ ID NO: 1-89, 93 или их частей. В некотором аспекте целевая последовательность может представлять собой ген, включающий последовательность SEQ ID NO: 1 или ее часть. В некотором аспекте целевая последовательность может представлять собой ген, включающий последовательность SEQ ID NO: 2 или ее часть. В некотором аспекте целевая последовательность может представлять собой ген, включающий последовательность SEQ ID NO: 3 или ее часть. В некотором аспекте целевая последовательность может представлять собой ген, включающий последовательность SEQ ID NO: 4 или ее часть. В некотором аспекте целевая последовательность может представлять собой ген, включающий последовательность SEQ ID NO: 69 или ее часть. В некотором аспекте целевая последовательность может представлять собой ген, включающий последовательность SEQ ID NO: 70 или ее часть. В некотором аспекте целевая последовательность может представлять собой ген, включающий последовательность SEQ ID NO: 88 или ее часть. В некотором аспекте целевая последовательность может представлять собой ген, включающий последовательность SEQ ID NO: 89 или ее часть. В некотором аспекте целевая последовательность может представлять собой ген, включающий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 71-87 или их частей. В некоторых вариантах реализации направленная против паразитов, против вредителей или инсектицидная нуклеиновая

кислота включает последовательность, которая по меньшей мере приблизительно на 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 или 100 процентов идентична последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 90-92 или 94 или их частей. В некоторых вариантах реализации направленная против паразитов, против вредителей или инсектицидная нуклеиновая кислота включает обратный комплемент последовательности, которая по меньшей мере приблизительно на 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 или 100 процентов идентична последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 90-92 или 94 или их частей. В некоторых вариантах реализации направленная против паразитов, против вредителей или инсектицидная нуклеиновая кислота содержит по меньшей мере 18 смежных нуклеотидов из последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 90-92 или 94. В некоторых вариантах реализации направленная против паразитов, против вредителей или инсектицидная нуклеиновая кислота включает последовательность, выбранную из последовательностей SEQ ID NO: 90-92 или 94 или их частей. В некоторых вариантах реализации направленная против паразитов, против вредителей или инсектицидная нуклеиновая кислота включает последовательность, выбранную из последовательностей SEQ ID NO: 90-92 и 94, и обратный комплемент последовательности, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 90-92 и 94.

В настоящей заявке предложены и раскрыты композиции, содержащие направленную против паразитов, против вредителей или инсектицидную молекулу нуклеиновой кислоты и вспомогательное вещество. В некотором аспекте вспомогательное вещество может представлять собой комбинацию одного или более неактивных компонентов. В некоторых аспектах вспомогательное вещество включает сахар. Примеры сахаров включают гексозы, дисахариды, трисахариды и высшие сахара. Вспомогательные сахара включают, например, фруктозу, глюкозу, сахарозу, трегалозу, лактозу, галактозу, рибозу. В других аспектах вспомогательное вещество включает сахар и растворитель. В других аспектах вспомогательное вещество включает белок. В некотором аспекте белок представляет собой соевый белок. В других аспектах вспомогательное вещество может представлять собой пыльцу. В аспектах настоящего изобретения вспомогательное вещество может представлять собой продукт питания пчелы. В некоторых аспектах вспомогательное вещество включает триптон. В некоторых аспектах вспомогательное вещество включает дрожжевой экстракт. В некоторых аспектах вспомогательное вещество включает эфирное масло.

Кормление пчел является обычной практикой среди пчеловодов как для обеспечения их питанием, так и для других, например, дополнительных нужд. Пчелы обычно питаются медом и пыльцой, но также известно, что кроме этого они употребляют неприродные корма. Пчел можно кормить различными продуктами питания, включая, но не ограничиваясь перечисленными: Wheast (молочные дрожжи, выращенные на домашнем сыре), соевую муку, дрожжи (например, пивные дрожжи, дрожжи торула) и дрожжевые продукты, которыми кормят отдельно или в комбинации, и соевую муку, которой кормят в виде сухой смеси или в виде влажной лепешки, находящейся внутри улья, или в виде сухой смеси в открытых кормушках за пределами улья. Также пригоден сахар или сахарный сироп. Добавление от 10 до 12 процентов пыльцы в кормовую добавку, которую дают пчелам, улучшает вкусовые качества. Добавление 25 процентов пыльцы улучшает качество и количество незаменимых питательных веществ, которые необходимы для жизнедеятельности пчел. Тростниковый или свекловичный сахар, изомеризованный кукурузный сироп и сахарный сироп "type-50" являются удовлетворительными заменителями меда в естественном питании медоносных пчел.

Последние два можно давать пчелам только в виде жидкости. Жидкий корм можно давать пчелам внутри улья, например, с помощью любого из следующих устройств: бак с притертой крышкой, соты внутри гнездового корпуса улья, рамочная кормушка, кормушка Бордмана и т.д. Сухой сахар можно давать, поместив фунт или два фунта на перевернутую внутреннюю крышку. Запас воды должен быть доступен пчелам в любой момент времени. В одном аспекте предусмотрены поддоны или лотки, в которых присутствуют плавучие опоры, такие как древесные стружки, пробка или пластиковая губка. Подробное описание дополнительных кормов для пчел можно найти, например, в публикации USDA, Standifer, и др., 1977 г., названной "Supplemental Feeding of Honey Bee Colonies" (USDA, Agriculture Information Bulletin № 413).

В аспектах настоящего изобретения направленная против паразитов, против вредителей или инсектицидная нуклеиновая кислота, например, дцРНК, является абсорбируемой. В данном тексте "абсорбируемый" относится к механизмам, с помощью которых осуществляется поглощение нуклеиновой кислоты путем, отличным от приема внутрь. В некотором аспекте направленная против паразитов, против вредителей или инсектицидная нуклеиновая кислота может абсорбироваться через кожу организма или через экзоскелет членистоногого. В некотором аспекте абсорбируемая нуклеиновая кислота растворена во вспомогательном веществе. В других аспектах абсорбируемая нуклеиновая кислота суспендирована во вспомогательном веществе. Вспомогательные вещества для растворения или суспендирования могут быть водными или безводными. В некоторых аспектах направленная против паразитов, против вредителей или инсектицидная нуклеиновая кислота абсорбируется организмом-хозяином и переносится в организм паразита в процессе его питания. В других аспектах направленная против паразитов, против вредителей или инсектицидная нуклеиновая кислота абсорбируется организмом хозяина и переносится в организм паразита путем абсорбции. В некотором аспекте направленная против паразитов, против вредителей или инсектицидная нуклеиновая кислота согласно настоящему описанию абсорбируется непосредственно паразитом.

В аспектах настоящего изобретения направленная против паразитов, против вредителей или инсектицидная нуклеиновая кислота, например, дцРНК, объединена со вспомогательным веществом. В некотором аспекте нуклеиновая кислота может быть предложена в виде некоторого отношения нуклеиновой кислоты к вспомогательному веществу. В некотором аспекте отношение может представлять собой одну часть нуклеиновой кислоты к 4 частям вспомогательного вещества. В некотором аспекте отношение нуклеиновой кислоты к вспомогательному веществу может составлять 1:1, 1:2, 1:5 или 1:10. В других аспектах отношение нуклеиновой кислоты к вспомогательному веществу может составлять 1:20, 1:25, 1:30, 1:40 или более. В некотором аспекте отношение нуклеиновой кислоты к вспомогательному веществу может составлять 1:50. В аспектах настоящего изобретения отношение может быть установлено как отношение объема к объему (об/об), отношение масса:масса (м/м). В некоторых аспектах отношение может быть выражено как отношение масса:объем (м/об). В некоторых аспектах нуклеиновая кислота и вспомогательное вещество могут представлять собой дцРНК и вспомогательное вещество.

В аспектах настоящего изобретения композиция может содержать некоторую массу направленной против паразитов, против вредителей или инсектицидной нуклеиновой кислоты, объединенную со вспомогательным веществом. В некотором аспекте нуклеиновая кислота может составлять некоторый процент от общей массы композиции. В некотором аспекте нуклеиновая кислота может составлять приблизительно 0,1% от

массы композиции. В некотором аспекте нуклеиновая кислота может составлять приблизительно 0,2% от массы композиции. В некотором аспекте нуклеиновая кислота может составлять приблизительно 0,3% от массы композиции. В другом аспекте нуклеиновая кислота может составлять приблизительно 0,4% от массы композиции. В некотором аспекте нуклеиновая кислота может составлять до 0,5% от массы композиции. В некотором аспекте нуклеиновая кислота может составлять до 0,6% от массы композиции. В некотором аспекте нуклеиновая кислота может составлять до 0,7% от массы композиции. В некотором аспекте нуклеиновая кислота может составлять до 0,8% от массы композиции. В другом аспекте нуклеиновая кислота может составлять до 1,0% от массы композиции. В других аспектах нуклеиновая кислота может составлять до 1,5% от массы композиции. В других дополнительных аспектах нуклеиновая кислота может составлять до 2,0% от массы, или до 2,5% от массы композиции. В некоторых аспектах нуклеиновая кислота и вспомогательное вещество могут представлять собой дцРНК и вспомогательное вещество.

В настоящем изобретении предложены и включены в него композиции, содержащие от 0,1% до 5% по массе одной или более направленных против паразитов, против вредителей или инсектицидных нуклеиновых кислот. В других аспектах композиция может содержать от 0,1 до 4%, от 0,1 до 3%, от 0,1 до 2%, от 0,1 до 1%, от 0,1 до 2%, от 0,1 до 3% или от 0,1 до 4% по массе нуклеиновой кислоты. В некотором аспекте композиция может содержать от 0,2% до 5% по массе нуклеиновой кислоты. В других аспектах композиция может содержать от 0,2 до 4%, от 0,2 до 3%, от 0,2 до 2%, от 0,2 до 1%, от 0,2 до 2%, от 0,2 до 3% или то 0,2 до 4% по массе нуклеиновой кислоты. В других аспектах композиция может содержать до 1%, до 2%, до 3%, до 4% или до 5% нуклеиновой кислоты. В других аспектах композиция может содержать до 7,5%, до 10% или до 15% нуклеиновой кислоты. В некоторых аспектах нуклеиновая кислота и вспомогательное вещество могут представлять собой дцРНК и вспомогательное вещество.

В настоящем изобретении предложены и включены в него композиции, содержащие от 0,1 до 10 мг/мл одной или более направленных против паразитов, против вредителей или инсектицидных нуклеиновых кислот. В других аспектах композиция может содержать от 0,1 до 1,0 мг/мл, от 0,1 до 2,0 мг/мл, от 0,1 до 2,5 мг/мл, от 0,1 до 5 мг/мл, от 0,1 до 10 мг/мл, от 0,1 до 15 мг/мл или от 0,1 до 20 мг/мл нуклеиновой кислоты. В некоторых аспектах композиция может содержать по меньшей мере 0,1 мкг/мл нуклеиновой кислоты. В некоторых других аспектах композиция может содержать по меньшей мере 1,0 мкг/мл нуклеиновой кислоты. В других дополнительных аспектах композиция может содержать по меньшей мере 10 мкг/мл нуклеиновой кислоты. В некотором аспекте композиция может содержать от 0,5 до 10 мг/мл нуклеиновой кислоты. В других аспектах композиция может содержать от 0,5 до 1,0 мг/мл, от 0,5 до 2,0 мг/мл, от 0,5 до 2,5 мг/мл, от 0,5 до 5 мг/мл, от 0,5 до 10 мг/мл, от 0,5 до 15 мг/мл или от 0,5 до 20 мг/мл нуклеиновой кислоты. В некотором аспекте композиция может содержать от 1,0 до 10 мг/мл нуклеиновой кислоты. В других аспектах композиция может содержать от 1,0 до 2,0 мг/мл, от 1,0 до 2,5 мг/мл, от 1,0 до 5 мг/мл, от 1,0 до 10 мг/мл, от 1,0 до 15 мг/мл или от 1,0 до 20 мг/мл нуклеиновой кислоты. В некоторых аспектах направленная против паразитов, против вредителей или инсектицидная нуклеиновая кислота в указанной композиции включает дцРНК.

В настоящем изобретении предложены и включены в него композиции селективного инсектицида и способы применения композиций селективного инсектицида.

В данном тексте "композиция селективного инсектицида" представляет собой

композицию, которая более эффективна для одного или более видов членистоногих и менее эффективна для одного или более отличных видов членистоногих. Композиция селективного инсектицида включает композиции, которые убивают взрослых или незрелых членистоногих, и включает композиции, которые убивают личинок (ларвициды) и яйца (овициды) членистоногих. Селективный инсектицид может представлять собой системные инсектициды, входящие в состав обработанной пищи, включая кровь или гемолимфу, полученную из организмов-хозяев. Селективный инсектицид может представлять собой контактные инсектициды, которые токсичны для некоторых насекомых, с которыми они вступили в непосредственный контакт, и нетоксичны или минимально токсичны для некоторых других насекомых. В некоторых вариантах реализации композиция селективного инсектицида направлена против вредителей. В некоторых вариантах реализации композиция селективного инсектицида является противопаразитарной. В некоторых вариантах реализации композиция селективного инсектицида представляет собой майтицид. В некоторых вариантах реализации композиция селективного инсектицида является токсичной для целевого насекомого паразита или вредителя и нетоксичной или минимально токсичной для нецелевых организмов. Примеры нецелевых организмов включают, но не ограничены перечисленными: полезных насекомых, нематод, птиц, млекопитающих и растений. В некоторых вариантах реализации композиция селективного инсектицида токсична для паразитирующего насекомого, например, клеща *Varroa*, и нетоксична или минимально токсична для организма-хозяина, например, пчелы. В некоторых вариантах реализации композиция селективного инсектицида токсична для одного или более насекомых вредителей или паразитов, выбранных из группы, состоящей из: *Varroa destructor*, *Ixodes scapularis*, *Solenopsis invicta*, *Tetranychus urticae*, *Aedes aegypti*, *Culex quinquefasciatus*, *Acyrtosiphon pisum* и *Pediculus humanus*.

В некоторых аспектах настоящего изобретения селективный инсектицид можно внедрить в бактерии или дрожжи путем генетической модификации (например, трансгенные бактерии или дрожжи, сконструированные таким образом, чтобы они экспрессировали нуклеиновую кислоту согласно настоящему описанию). Селективный инсектицид, внедренный путем генетической модификации бактерий или дрожжей, может действовать на организм-вредитель непосредственно или опосредованно после того, как его поглощает хозяин организма вредителя.

В некотором аспекте настоящего изобретения селективный инсектицид может быть более эффективным инсектицидом против одного или более первых насекомых, чем против одного или более вторых насекомых. В некотором аспекте селективный инсектицид может быть токсичным для первого насекомого и не оказывать влияния на второго насекомого. В некотором аспекте селективный инсектицид может быть токсичным для первого насекомого и требовать значительно более высоких концентраций или количеств, чтобы оказать влияние на второе насекомое. В некотором аспекте селективный инсектицид может быть в 2 раза или более токсичным для первого насекомого по сравнению со вторым насекомым. В некотором аспекте селективный инсектицид может быть в 4 раза или более токсичным для первого насекомого по сравнению со вторым насекомым. В некотором аспекте селективный инсектицид может быть в 5 раз или более токсичным для первого насекомого по сравнению со вторым насекомым. В некотором аспекте селективный инсектицид может быть в 10 раз или более токсичным для первого насекомого по сравнению со вторым насекомым.

В некотором аспекте селективный инсектицид может ингибировать рост, развитие или плодовитость первого насекомого и не оказывать влияния на второе насекомое.

В некотором аспекте селективный инсектицид может ингибировать рост, развитие или плодовитость первого насекомого и требовать значительно более высоких концентраций или количеств, чтобы оказывать аналогичное действие на второе насекомое. В некотором аспекте может потребоваться большее в 2 раза или более количество активного ингредиента в селективном инсектициде, чтобы ингибировать рост, развитие или плодовитость второго насекомого. В некотором аспекте может потребоваться большее в 4 раза или более количество активного ингредиента в селективном инсектициде, чтобы ингибировать рост, развитие или плодовитость второго насекомого. В некотором аспекте может потребоваться большее в 5 раз или более количество активного ингредиента в селективном инсектициде, чтобы ингибировать рост, развитие или плодовитость второго насекомого. В некотором аспекте может потребоваться большее в 10 раз или более количество активного ингредиента в селективном инсектициде, чтобы ингибировать рост, развитие или плодовитость второго насекомого.

В некоторых вариантах реализации предложен способ изменения направленной против паразитов, против вредителей или инсектицидной молекулы нуклеиновой кислоты для уменьшения или устранения участков комплементарности или идентичности последовательности гена нецелевого организма. В некоторых вариантах реализации последовательности потенциальных направленных против паразитов, против вредителей или инсектицидных нуклеиновых кислот сравнивают с подходящей базой данных геномов одного или более нецелевых организмов (лишь некоторые из примеров нецелевых организмов включают человека, пчелу, бабочку монарх, мышь, крысу и т.д.), применяя любое программное обеспечение для выравнивания последовательностей, такое как программное обеспечение BLAST, доступное на сервере NCBI (доступно на странице в сети Интернет по адресу www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/). В некоторых вариантах реализации предполагаемые направленные против паразитов, против вредителей или инсектицидные молекулы нуклеиновой кислоты, которые проявляют существенную гомологию с последовательностями генов одного или более нецелевых организмов, отсеивают. В некоторых вариантах реализации последовательность нуклеотидов предполагаемых направленных против паразитов, против вредителей или инсектицидных молекул нуклеиновой кислоты, которые содержат участки комплементарности или идентичности с последовательностью гена нецелевого организма, изменяют, чтобы уменьшить, устранить или прервать такие участки комплементарности или идентичности последовательностей. В некоторых вариантах реализации один или более нуклеотидов заменены, вставлены или удалены по сравнению с целевой последовательностью, чтобы прервать последовательности, содержащие 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30 или более смежных нуклеотидов, которые идентичны или комплементарны последовательности гена нецелевого организма. В некоторых вариантах реализации 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более нуклеотидов заменены, вставлены или удалены по сравнению с целевой последовательностью, так что указанная направленная против паразитов, против вредителей или инсектицидная молекула нуклеиновой кислоты не содержит последовательность из 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, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100 или более смежных нуклеотидов, которые идентичны или комплементарны последовательности гена нецелевого организма.

В настоящее изобретение дополнительно включены и предложены способы лечения

или предотвращения синдрома разрушения колоний медоносных пчел, включающие предоставление медоносной пчеле эффективного количества композиции, содержащей нуклеиновую кислоту, которая по существу идентична или по существу комплементарна участку последовательности гена кальмодулина *Varroa destructor*, в результате чего

5 уровень заражения паразитами *Varroa destructor* снижается. В некотором аспекте указанный способ включает предоставление эффективного количества композиции, содержащей нуклеиновую кислоту, которая по существу идентична или по существу комплементарна по меньшей мере 19 смежным нуклеотидам в последовательности SEQ ID NO: 1 и не содержит последовательность из 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17,

10 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 или более смежных нуклеотидов, которые на 100% идентичны или комплементарны последовательности гена нецелевого организма. В некотором аспекте указанный способ включает предоставление эффективного количества композиции, содержащей нуклеиновую кислоту, которая по существу идентична или по существу комплементарна по меньшей мере 19 смежным нуклеотидам в

15 последовательности SEQ ID NO: 2 и не содержит последовательность из 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 или более смежных нуклеотидов, которые на 100% идентичны или комплементарны последовательности гена нецелевого организма. В некотором аспекте указанный способ включает предоставление эффективного количества композиции, содержащей нуклеиновую кислоту, которая по

20 существу идентична или по существу комплементарна по меньшей мере 19 смежным нуклеотидам в последовательности SEQ ID NO: 69 и не содержит последовательность из 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 или более смежных нуклеотидов, которые на 100% идентичны или комплементарны последовательности гена нецелевого организма. В некотором аспекте указанный способ включает

25 предоставление эффективного количества композиции, содержащей нуклеиновую кислоту, которая по существу идентична или по существу комплементарна по меньшей мере 19 смежным нуклеотидам в последовательности SEQ ID NO: 70 и не содержит последовательность из 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 или более смежных нуклеотидов, которые на 100% идентичны или комплементарны

30 последовательности гена нецелевого организма. В некотором аспекте указанный способ включает предоставление эффективного количества композиции, содержащей нуклеиновую кислоту согласно SEQ ID NO: 3 и не содержащей последовательность из 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 или более смежных нуклеотидов, которые на 100% идентичны или комплементарны последовательности гена нецелевого организма. В некотором аспекте указанный способ включает

35 предоставление эффективного количества композиции, содержащей нуклеиновую кислоту согласно SEQ ID NO: 4 и не содержащей последовательность из 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 или более смежных нуклеотидов, которые на 100% идентичны или комплементарны последовательности гена нецелевого

40 организма. В некотором аспекте указанный способ включает предоставление эффективного количества композиции, содержащей нуклеиновую кислоту согласно SEQ ID NO: 88 и не содержащей последовательность из 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 или более смежных нуклеотидов, которые на 100% идентичны или комплементарны последовательности гена нецелевого организма. В

45 некотором аспекте указанный способ включает предоставление эффективного количества композиции, содержащей нуклеиновую кислоту согласно SEQ ID NO: 89 и не содержащей последовательность из 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 или более смежных нуклеотидов, которые на 100% идентичны или

комплементарны последовательности гена нецелевого организма. В некотором аспекте
указанный способ включает предоставление эффективного количества композиции,
содержащей нуклеиновую кислоту согласно SEQ ID NO: 90. В некотором аспекте
указанный способ включает предоставление эффективного количества композиции,
содержащей нуклеиновую кислоту согласно SEQ ID NO: 91. В некотором аспекте
указанный способ включает предоставление эффективного количества композиции,
содержащей нуклеиновую кислоту согласно SEQ ID NO: 92. В некотором аспекте
указанный способ включает предоставление эффективного количества композиции,
содержащей нуклеиновую кислоту согласно SEQ ID NO: 93. В некотором аспекте
указанный способ включает предоставление эффективного количества композиции,
содержащей нуклеиновую кислоту согласно SEQ ID NO: 94. В некотором аспекте
указанный способ включает предоставление эффективного количества композиции,
которая является обратным комплементом последовательности SEQ ID NO: 90. В
некотором аспекте указанный способ включает предоставление эффективного
количества композиции, содержащей нуклеиновую кислоту согласно SEQ ID NO: 91 и
нуклеиновую кислоту, которая является обратным комплементом последовательности
SEQ ID NO: 91. В некотором аспекте указанный способ включает предоставление
эффективного количества композиции, содержащей нуклеиновую кислоту согласно
SEQ ID NO: 92 и нуклеиновую кислоту, которая является обратным комплементом
последовательности SEQ ID NO: 92. В некотором аспекте указанный способ включает
предоставление эффективного количества композиции, содержащей нуклеиновую
кислоту согласно SEQ ID NO: 93 и нуклеиновую кислоту, которая является обратным
комплементом последовательности SEQ ID NO: 93. В некотором аспекте указанный
способ включает предоставление эффективного количества композиции, содержащей
нуклеиновую кислоту согласно SEQ ID NO: 94 и нуклеиновую кислоту, которая является
обратным комплементом последовательности SEQ ID NO: 94. В некотором аспекте
указанный способ включает предоставление эффективного количества композиции,
содержащей две или более нуклеиновых кислот с последовательностью, выбранной из
группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 3, 4, 88, 89, 90-93. В некотором
аспекте указанный способ включает предоставление эффективного количества
композиции, содержащей нуклеиновую кислоту, которая по существу идентична или
по существу комплементарна по меньшей мере 19 смежным нуклеотидам в
последовательности, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 71-87, и не содержит
последовательность из 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24,
25 или более смежных нуклеотидов, которые на 100% идентичны или комплементарны
последовательности гена нецелевого организма. В некотором аспекте указанный способ
включает предоставление эффективного количества композиции, содержащей
нуклеиновую кислоту, которая по существу идентична или по существу комплементарна
по меньшей мере 23 смежным нуклеотидам в последовательности, выбранной из
последовательностей SEQ ID NO: 71-87, и не содержит последовательность из 5,
6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 или более смежных
нуклеотидов, которые на 100% идентичны или комплементарны последовательности
гена нецелевого организма. В некотором аспекте указанный способ включает
предоставление эффективного количества композиции, содержащей нуклеиновую
кислоту, которая по существу идентична или по существу комплементарна по меньшей
мере 30 смежным нуклеотидам в последовательности, выбранной из
последовательностей SEQ ID NO: 71-87, и не содержит последовательность из 5, 6, 7, 8,

или комплементарны последовательности гена нецелевого организма. В некотором аспекте указанный способ включает предоставление эффективного количества композиции, содержащей нуклеиновую кислоту, которая по существу идентична или по существу комплементарна по меньшей мере 110 смежным нуклеотидам в последовательности, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 71-87, и не содержит последовательность из 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 или более смежных нуклеотидов, которые на 100% идентичны или комплементарны последовательности гена нецелевого организма. В некотором аспекте указанный способ включает предоставление эффективного количества композиции, содержащей нуклеиновую кислоту, которая по существу идентична или по существу комплементарна по меньшей мере 120 смежным нуклеотидам в последовательности, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 71-87, и не содержит последовательность из 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 или более смежных нуклеотидов, которые на 100% идентичны или комплементарны последовательности гена нецелевого организма. В некотором аспекте указанный способ включает предоставление эффективного количества композиции, содержащей нуклеиновую кислоту, которая по существу идентична или по существу комплементарна по меньшей мере 130 смежным нуклеотидам в последовательности, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 71-87, и не содержит последовательность из 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 или более смежных нуклеотидов, которые на 100% идентичны или комплементарны последовательности гена нецелевого организма. В некотором аспекте указанный способ включает предоставление эффективного количества композиции, содержащей нуклеиновую кислоту, которая по существу идентична или по существу комплементарна по меньшей мере 140 смежным нуклеотидам в последовательности, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 71-87, и не содержит последовательность из 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 или более смежных нуклеотидов, которые на 100% идентичны или комплементарны последовательности гена нецелевого организма. В некотором аспекте указанный способ включает предоставление эффективного количества композиции, содержащей нуклеиновую кислоту, соответствующую последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 71-87. В некотором аспекте указанный способ включает предоставление эффективного количества композиции, содержащей нуклеиновую кислоту, соответствующую последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 90-94.

В настоящем изобретении предложены и включены в него способы снижения паразитарной нагрузки на организм хозяина. В некотором аспекте паразитарная нагрузка относится к количеству паразитов на отдельного хозяина. В некотором аспекте паразитарная нагрузка относится к среднему количеству паразитов на 100 организмов-хозяев. В некотором аспекте паразитарная нагрузка может относиться к количеству паразитов на колонию паразитов хозяев. В аспектах настоящего изобретения указанный паразит представляет собой *Varroa destructor* и указанный хозяин представляет собой медоносную пчелу *Apis mellifera*. В некоторых аспектах паразитарная нагрузка относится к количеству паразитов *Varroa destructor* на 100 медоносных пчел в колонии. В некоторых вариантах реализации в настоящем изобретении предложены и включены в него способы и композиции для снижения паразитарной нагрузки до менее чем 6 паразитов *Varroa destructor* на 100 медоносных пчел в колонии. В некоторых вариантах реализации в

настоящем изобретении предложены и включены в него способы и композиции для снижения паразитарной нагрузки до менее чем 5 паразитов *Varroa destructor* на 100 медоносных пчел в колонии. В некоторых вариантах реализации в настоящем изобретении предложены и включены в него способы и композиции для снижения паразитарной нагрузки до менее чем 4 паразитов *Varroa destructor* на 100 медоносных пчел в колонии. В некоторых вариантах реализации в настоящем изобретении предложены и включены в него способы и композиции для снижения паразитарной нагрузки до менее чем 2 паразитов *Varroa destructor* на 100 медоносных пчел в колонии.

В некотором аспекте способы снижения паразитарной нагрузки включают предоставление эффективного количества направленной против паразитов, против вредителей или инсектицидной композиции нуклеиновой кислоты организму-хозяину. Эффективное количество композиции согласно настоящему описанию приводит к снижению паразитарной нагрузки за некоторый период времени. В некотором аспекте снижение паразитарной нагрузки можно измерить в течение одного дня с момента предоставления эффективного количества композиции нуклеиновой кислоты. В некотором аспекте паразитарную нагрузку можно измерить через два дня. В некотором аспекте паразитарную нагрузку можно измерить через 3 дня. В других аспектах паразитарную нагрузку можно измерить через 5 дней или через 1 неделю. В другом аспекте паразитарную нагрузку можно измерить более одного раза, например, раз в 3 дня, раз в 5 дней, раз в неделю или раз в месяц. В некоторых аспектах настоящего изобретения уменьшение количества паразитов можно измерить и сравнить с неподвергнутым обработке контрольным организмом или колонией. В аспектах настоящего изобретения указанный паразит представляет собой *Varroa destructor* и указанный хозяин представляет собой медоносную пчелу *Apis mellifera*.

В аспектах настоящего изобретения снижение паразитарной нагрузки через некоторый период времени означает уменьшение количества паразитов. В некотором аспекте количество паразитов может уменьшиться между измерениями на 10%, 20%, 30% или более. В другом аспекте количество паразитов может уменьшиться между измерениями на 40% или более. В другом аспекте количество паразитов может уменьшиться между измерениями на 50% или более. В другом аспекте количество паразитов может уменьшиться между измерениями на 60% или более. В другом аспекте количество паразитов может уменьшиться между измерениями на 70% или более. В другом аспекте количество паразитов может уменьшиться между измерениями на 80% или более. В другом аспекте количество паразитов может уменьшиться между измерениями на 90% или более.

В других аспектах паразитарную нагрузку можно измерить как среднее количество паразитов на организм-хозяин. В некотором аспекте сниженная паразитарная нагрузка может включать менее 20 паразитов на 100 организмов-хозяев. В некотором аспекте сниженная паразитарная нагрузка может включать менее 15 паразитов на 100 организмов-хозяев. В некотором аспекте сниженная паразитарная нагрузка может включать менее 10 паразитов на 100 организмов-хозяев. В некотором аспекте сниженная паразитарная нагрузка может включать менее 5 паразитов на 100 организмов-хозяев. В некотором аспекте сниженная паразитарная нагрузка может включать менее 4 паразитов на 100 организмов-хозяев. В некотором аспекте сниженная паразитарная нагрузка может включать менее 3 паразитов на 100 организмов-хозяев. В некотором аспекте сниженная паразитарная нагрузка может включать менее 2 паразитов на 100 организмов-хозяев. В некотором аспекте сниженная паразитарная нагрузка может включать менее 1 паразита на 100 организмов-хозяев. В некотором аспекте сниженная

паразитарная нагрузка может включать менее 20 паразитов на 1000 организмов-хозяев. В некотором аспекте сниженная паразитарная нагрузка может включать менее 15 паразитов на 1000 организмов-хозяев. В некотором аспекте сниженная паразитарная нагрузка может включать менее 10 паразитов на 1000 организмов-хозяев. В некотором аспекте сниженная паразитарная нагрузка может включать менее 5 паразитов на 1000 организмов-хозяев. В некотором аспекте сниженная паразитарная нагрузка может включать менее 4 паразитов на 1000 организмов-хозяев. В некотором аспекте сниженная паразитарная нагрузка может включать менее 3 паразитов на 1000 организмов-хозяев. В некотором аспекте сниженная паразитарная нагрузка может включать менее 2 паразитов на 1000 организмов-хозяев. В некотором аспекте сниженная паразитарная нагрузка может включать менее 1 паразита на 1000 организмов-хозяев.

В аспектах настоящего изобретения у колонии организмов-хозяев была первоначальная паразитарная нагрузка перед тем, как ей предоставили источник эффективного количества нуклеиновой кислоты. В некотором аспекте первоначальная паразитарная нагрузка может включать менее 20 паразитов на 100 организмов-хозяев. В некотором аспекте первоначальная паразитарная нагрузка может включать менее 15 паразитов на 100 организмов-хозяев. В некотором аспекте первоначальная паразитарная нагрузка может включать менее 10 паразитов на 100 организмов-хозяев. В некотором аспекте первоначальная паразитарная нагрузка может включать менее 5 паразитов на 100 организмов-хозяев. В некотором аспекте первоначальная паразитарная нагрузка может включать менее 4 паразитов на 100 организмов-хозяев. В некотором аспекте первоначальная паразитарная нагрузка может включать менее 3 паразитов на 100 организмов-хозяев. В некотором аспекте первоначальная паразитарная нагрузка может включать менее 2 паразитов на 100 организмов-хозяев. В некотором аспекте первоначальная паразитарная нагрузка может включать менее 1 паразита на 100 организмов-хозяев.

В аспектах настоящего изобретения эффективное количество можно предоставлять через определенные промежутки времени или непрерывно. В некотором аспекте эффективное количество направленной против паразитов, против вредителей или инсектицидной композиции нуклеиновой кислоты можно предоставлять один, два или три раза в день. В других аспектах эффективное количество направленной против паразитов, против вредителей или инсектицидной композиции нуклеиновой кислоты можно предоставлять раз в день. В другом аспекте эффективное количество направленной против паразитов, против вредителей или инсектицидной композиции нуклеиновой кислоты можно предоставлять один или более раз в два дня. В некотором аспекте эффективное количество направленной против паразитов, против вредителей или инсектицидной композиции нуклеиновой кислоты можно предоставлять раз в два дня, раз в три дня или раз в неделю. В некотором аспекте эффективное количество направленной против паразитов, против вредителей или инсектицидной композиции нуклеиновой кислоты можно предоставлять раз в две недели. В некотором аспекте эффективное количество направленной против паразитов, против вредителей или инсектицидной композиции нуклеиновой кислоты можно предоставлять раз в три недели. В некотором аспекте эффективное количество направленной против паразитов, против вредителей или инсектицидной композиции нуклеиновой кислоты можно предоставлять раз в месяц. В некотором аспекте эффективное количество направленной против паразитов, против вредителей или инсектицидной композиции нуклеиновой кислоты можно предоставлять раз в два месяца. В некотором аспекте эффективное количество композиции нуклеиновой кислоты можно предоставлять нуждающемуся

организму постоянно, например, предоставляя постоянный источник питания. В одном аспекте эффективное количество композиции нуклеиновой кислоты можно предоставлять постоянно в виде композиции для поглощения пчелами. В аспектах настоящего изобретения указанный паразит представляет собой *Varroa destructor* и указанный хозяин представляет собой медоносную пчелу *Apis mellifera*. В аспектах настоящего изобретения направленная против паразитов, против вредителей или инсектицидная нуклеиновая кислота может представлять собой дцРНК.

В аспектах настоящего изобретения паразитарная нагрузка может снизиться за некоторый период времени. В некотором аспекте период времени, необходимый для снижения паразитарной нагрузки, может составлять 15 недель. В другом аспекте период времени для снижения паразитарной нагрузки может составлять 12 недель. В некотором аспекте снижение паразитарной нагрузки происходит за период времени, составляющий 10 недель. В некотором аспекте период времени, необходимый для снижения паразитарной нагрузки, может составлять 5 недель. В другом аспекте период времени для снижения паразитарной нагрузки может составлять 2 недели. В некотором аспекте снижение паразитарной нагрузки происходит за период времени, составляющий 1 неделю. В некоторых аспектах паразитарная нагрузка может снизиться через один день, через два дня или через три дня.

В настоящем изобретении предложены способы снижения паразитирования на колонии медоносных пчел, включающие предоставление колонии пчел эффективного количества направленной против паразитов, против вредителей или инсектицидной композиции нуклеиновой кислоты. Эффективное количество композиции согласно настоящему описанию приводит к снижению паразитирования за некоторый период времени. В некотором аспекте снижение уровня паразитирования можно измерить в течение одного дня с момента предоставления эффективного количества направленной против паразитов, против вредителей или инсектицидной композиции нуклеиновой кислоты. В некотором аспекте снижение уровня паразитирования можно измерить через два дня. В некотором аспекте снижение уровня паразитирования можно измерить через 3 дня. В других аспектах снижение уровня паразитирования можно измерить через 5 дней или через 1 неделю. В другом аспекте снижение уровня паразитирования можно измерить более одного раза, например, раз в 3 дня, раз в 5 дней, раз в неделю или раз в месяц. В некоторых аспектах настоящего изобретения снижение уровня паразитирования можно измерить и сравнить с неподвергнутым обработке контрольным организмом или колонией.

В аспектах настоящего изобретения снижение уровня паразитирования через некоторый период времени означает уменьшение общего количества паразитов. В некотором аспекте количество паразитов может уменьшиться между измерениями на 10%, 20%, 30% или более. В другом аспекте количество паразитов может уменьшиться между измерениями на 40% или более. В другом аспекте количество паразитов может уменьшиться между измерениями на 50% или более. В другом аспекте количество паразитов может уменьшиться между измерениями на 60% или более. В другом аспекте количество паразитов может уменьшиться между измерениями на 70% или более. В другом аспекте количество паразитов может уменьшиться между измерениями на 80% или более. В другом аспекте количество паразитов может уменьшиться между измерениями на 90% или более.

В других аспектах снижение уровня паразитирования можно измерить как среднее количество паразитов на организм-хозяин. В некотором аспекте снижение уровня паразитирования может включать менее 20 паразитов на 100 организмов-хозяев. В

некотором аспекте снижение уровня паразитирования может включать менее 15 паразитов на 100 организмов-хозяев. В некотором аспекте снижение уровня паразитирования может включать менее 10 паразитов на 100 организмов-хозяев. В некотором аспекте снижение уровня паразитирования может включать менее 5 паразитов на 100 организмов-хозяев. В некотором аспекте снижение уровня паразитирования может включать менее 4 паразитов на 100 организмов-хозяев. В некотором аспекте снижение уровня паразитирования может включать менее 3 паразитов на 100 организмов-хозяев. В некотором аспекте снижение уровня паразитирования может включать менее 2 паразитов на 100 организмов-хозяев. В некотором аспекте снижение уровня паразитирования может включать менее 1 паразита на 100 организмов-хозяев.

В аспектах настоящего изобретения эффективное количество направленной против паразитов, против вредителей или инсектицидной нуклеиновой кислоты, которое приводит к снижению уровня паразитирования, можно предоставлять через определенные промежутки времени или непрерывно. В некотором аспекте эффективное количество композиции нуклеиновой кислоты можно предоставлять один, два или три раза в день. В других аспектах эффективное количество направленной против паразитов, против вредителей или инсектицидной композиции нуклеиновой кислоты можно предоставлять раз в день. В другом аспекте эффективное количество направленной против паразитов, против вредителей или инсектицидной композиции нуклеиновой кислоты можно предоставлять один или более раз каждые два дня. В некотором аспекте эффективное количество направленной против паразитов, против вредителей или инсектицидной композиции нуклеиновой кислоты можно предоставлять раз в два дня, раз в три дня или раз в неделю. В некотором аспекте эффективное количество направленной против паразитов, против вредителей или инсектицидной композиции нуклеиновой кислоты можно предоставлять нуждающемуся организму постоянно, например, предоставляя постоянный источник питания. В одном аспекте эффективное количество направленной против паразитов, против вредителей или инсектицидной композиции нуклеиновой кислоты можно предоставлять постоянно в виде композиции для поглощения пчелами. В аспектах настоящего изобретения указанный паразит представляет собой *Varroa destructor* и указанный хозяин представляет собой медоносную пчелу *Apis mellifera*. В аспектах настоящего изобретения направленная против паразитов, против вредителей или инсектицидная нуклеиновая кислота может представлять собой дцРНК.

В аспектах настоящего изобретения снижение уровня паразитирования может уменьшаться за некоторый период времени. В некотором аспекте период времени, необходимый для снижения уровня паразитирования, может составлять 15 недель. В другом аспекте период времени, необходимый для снижения уровня паразитирования, может составлять 12 недель. В некотором аспекте снижение уровня паразитирования происходит за период времени, составляющий 10 недель. В некотором аспекте период времени, необходимый для снижения уровня паразитирования, может составлять 5 недель. В другом аспекте период времени, необходимый для снижения уровня паразитирования, может составлять 2 недели. В некотором аспекте снижение уровня паразитирования происходит за период времени, составляющий 1 неделю. В некоторых аспектах снижение уровня паразитирования может происходить через один день, через два дня или через три дня.

В аспектах настоящего изобретения снижение уровня паразитирования измеряют по количеству выживших паразитов по сравнению с первоначальным измерением

количества паразитов в колонии организмов-хозяев. В некотором аспекте указанный паразит может представлять собой клеща *Varroa destructor* и указанный хозяин может представлять собой медоносную пчелу *Apis mellifera*. В некотором аспекте количество выживших паразитов может составлять 25% от первоначального количества паразитов.

5 В некотором аспекте количество выживших паразитов может составлять 15% от первоначального количества паразитов. В некотором аспекте количество выживших паразитов может составлять 10% от первоначального количества паразитов. В некотором аспекте количество выживших паразитов может составлять 5% от первоначального количества паразитов. В некотором аспекте количество выживших паразитов может составлять менее 5% или даже быть недетектируемым после предоставления колонии хозяев эффективного количества направленной против паразитов, против вредителей или инсектицидной композиции нуклеиновой кислоты.

В некотором аспекте в настоящем изобретении предложены способы и композиции для снижения восприимчивости пчел к заражению клещом *Varroa*. В других аспектах в настоящем изобретении предложены способы и композиции для предотвращения заражения паразитами колоний пчел. В другом аспекте настоящего изобретения предложены способы и композиции для снижения уровня паразитирования клеща *Varroa destructor* на медоносных пчелах.

Согласно настоящему описанию хозяин, которому предоставили источник направленной против паразитов, против вредителей или инсектицидной нуклеиновой кислоты, может накапливать нуклеиновую кислоту в своем организме, обычно в гемолимфе. Накапливая нуклеиновую кислоту, такие организмы хозяева становятся устойчивыми или менее восприимчивыми к паразитированию. В других аспектах колония организмов-хозяев, которым предоставили источник нуклеиновой кислоты, может накапливать нуклеиновую кислоту в организмах нескольких представителей колонии, что обеспечит устойчивость или сниженную восприимчивость к паразиту.

Нуклеиновую кислоту, находящуюся в организмах-хозяевах, которым предоставили источник нуклеиновой кислоты, можно обнаружить, применяя способы, известные средним специалистам в данной области. В аспектах настоящего изобретения направленная против паразитов, против вредителей или инсектицидная нуклеиновая кислота может представлять собой дцРНК.

В некотором аспекте настоящего изобретения предложены способы и композиции для лечения заражения пчел клещом *Varroa* путем снижения экспрессии кальмодулина и связанных с кальмодулином продуктов генов варриатозного клеща. В некотором аспекте указанные композиции содержат направленную против паразитов, против вредителей или инсектицидную нуклеиновую кислоту, соответствующую последовательности кальмодулина *Varroa destructor*, представленной в SEQ ID NO: 1. В некотором аспекте указанные композиции содержат направленную против паразитов, против вредителей или инсектицидную нуклеиновую кислоту, соответствующую последовательности кальмодулина *Varroa destructor*, представленной в SEQ ID NO: 2. В некотором аспекте указанные композиции содержат направленную против паразитов, против вредителей или инсектицидную нуклеиновую кислоту, соответствующую последовательности кальмодулина *Varroa destructor*, представленной в SEQ ID NO: 69. В некотором аспекте указанные композиции содержат направленную против паразитов, против вредителей или инсектицидную нуклеиновую кислоту, соответствующую последовательности кальмодулина *Varroa destructor*, представленной в SEQ ID NO: 70. В некоторых аспектах указанные композиции содержат направленную против паразитов, против вредителей или инсектицидную нуклеиновую кислоту, соответствующую

против вредителей или инсектицидную нуклеиновую кислоту, соответствующую участку последовательности SEQ ID NO: 1 или 2. В других аспектах настоящего изобретения композиция может содержать направленную против паразитов, против вредителей или инсектицидную нуклеиновую кислоту, соответствующую участку последовательности SEQ ID NO: 69 или 70. В других дополнительных аспектах настоящего изобретения композиция может содержать нуклеиновую кислоту, соответствующую участку последовательности, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 3, 4, 88 и 89. В других дополнительных аспектах настоящего изобретения композиция может содержать нуклеиновую кислоту, соответствующую участку последовательности, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 90-94.

Клещи *Varroa* паразитируют на куколках и взрослых пчелах и репродуцируются в ячейках с куколками. Клещи с помощью рта прокалывают экзоскелет и кормятся за счет гемолимфы пчелы. Авторы настоящего изобретения неожиданно обнаружили, что полинуклеотидные агенты, которые вводили пчелам для лечения заражения клещом *Varroa*, присутствовали в гемолимфе пчелы, благодаря чему становились доступными для клеща.

Авторы настоящего изобретения показали, что нацеленные на кальмодулин фрагменты дцРНК можно успешно передавать клещам *Varroa* (см., например, ФИГ. 2), что указанная дцРНК может служить для снижения экспрессии генов кальмодулина в клеще *Varroa* (см., например, ФИГ. 3, панель А) и дополнительно что нацеливание на гены кальмодулина для снижения экспрессии может привести к уменьшению количества клещей *Varroa* (см., например, ФИГ. 3, панель В).

Таким образом, согласно одному аспекту настоящего изобретения предложен способ предотвращения или лечения заражения пчелы клещом *Varroa destructor*, указанный способ включает введение пчеле эффективного количества агента нуклеиновой кислоты, содержащего последовательность нуклеиновой кислоты, которая снижает экспрессию гена кальмодулина клеща *Varroa destructor*, тем самым предотвращая или вылечивая заражение пчелы клещом *Varroa destructor*.

Согласно данному аспекту настоящего изобретения агенты согласно настоящему описанию применяют для предотвращения проживания клеща *Varroa destructor* как паразита на пчеле, или его личинок. Формулировка "клещ *Varroa destructor*" относится к внешнему паразитирующему клещу, который нападает на медоносных пчел *Apis cerana* и *Apis mellifera*. Указанный клещ может находиться на стадии взрослой особи, кормящейся от пчелы, или на стадии личинки внутри ячейки с расплодом медоносной пчелы.

Как уже было упомянуто, агенты согласно настоящему описанию способны селективно снижать экспрессию продукта гена клеща *Varroa destructor*. В данном тексте формулировка "продукт гена" относится к молекуле РНК или к белку. Согласно одному аспекту продукт гена клеща *Varroa destructor* представляет собой такой продукт, который необходим для жизнеспособности клеща. Снижение экспрессии такого продукта гена, как правило, будет приводить к гибели клеща *Varroa*. Согласно другому аспекту продукт гена клеща *Varroa destructor* представляет собой такой продукт, который необходим для репродукции клеща. Снижение экспрессии такого продукта гена, как правило, будет приводить к предотвращению репродукции варриатозного клеща и к окончательному истреблению популяции клещей. Согласно еще одному аспекту продукт гена клеща *Varroa destructor* представляет собой такой продукт, который необходим для формирования патогенных симптомов у пчелы. В некоторых аспектах продукт гена *Varroa destructor* представляет собой продукт гена кальмодулина. В некоторых аспектах

ген кальмодулина может включать последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 1 или SEQ ID NO: 2. В некоторых аспектах ген кальмодулина может включать последовательность нуклеиновой кислоты согласно SEQ ID NO: 69 или SEQ ID NO: 70.

5 Примеры продуктов генов, экспрессию которых можно снижать в соответствии с данным аспектом настоящего изобретения, включают, но не ограничены геном кальмодулина.

В некотором аспекте настоящего изобретения агенты, способные снижать экспрессию продукта гена клеща *Varroa destructor* или другого паразита, могут снижать в меньшей степени экспрессию продукта гена у других животных, таких как пчела или другой нецелевой организм. Соответственно, некоторые агенты согласно настоящему изобретению способны различать ген клеща и ген пчелы и снижать экспрессию первого из упомянутых в большей степени, чем последнего. В некоторых аспектах некоторые агенты согласно настоящему изобретению способны различать целевой ген в целевом организме и ортологи в нецелевых организмах, снижая экспрессию первого из упомянутых в большей степени, чем последнего. В других аспектах экспрессия целевого гена указанного паразита снижена, тогда как экспрессия гомологичного гена хозяина - нет. В другом дополнительном аспекте у целевого гена паразита нет гомолога в указанном хозяине. Согласно другому аспекту агенты согласно настоящему изобретению вообще не снижают экспрессию гена пчелы. Например, это можно осуществить, нацеливаясь на ген, который избирательно экспрессируется у клеща, но не у пчелы, например, ген натриевого канала клеща - FJ216963. В качестве альтернативы агенты согласно настоящему изобретению могут быть нацелены на специфичные для клеща последовательности в генах, которые экспрессируются как у клеща, так и у пчелы.

15 Согласно одному аспекту агенты согласно настоящему изобретению нацелены на фрагменты генов *Varroa*, длина которых составляет по меньшей мере 100 оснований и которые не несут какую-либо последовательность длиннее 5 оснований, которая полностью гомологична любой последовательности из генома пчелы или последовательности из генома человека. Согласно одному аспекту агенты согласно настоящему изобретению нацелены на фрагменты генов *Varroa*, длина которых составляет по меньшей мере 100 оснований и которые не несут какую-либо последовательность длиннее 6 оснований, которая полностью гомологична любой последовательности из генома пчелы или последовательности из генома человека. Согласно одному аспекту агенты согласно настоящему изобретению нацелены на фрагменты генов *Varroa*, длина которых составляет по меньшей мере 100 оснований и которые не несут какую-либо последовательность длиннее 7 оснований, которая полностью гомологична любой последовательности из генома пчелы или последовательности из генома человека. Согласно одному аспекту агенты согласно настоящему изобретению нацелены на фрагменты генов *Varroa*, длина которых составляет по меньшей мере 100 оснований и которые не несут какую-либо последовательность длиннее 8 оснований, которая полностью гомологична любой последовательности из генома пчелы или последовательности из генома человека. Согласно одному аспекту агенты согласно настоящему изобретению нацелены на фрагменты генов *Varroa*, длина которых составляет по меньшей мере 100 оснований и которые не несут какую-либо последовательность длиннее 9 оснований, которая полностью гомологична любой последовательности из генома пчелы или последовательности из генома человека. Согласно одному аспекту агенты согласно настоящему изобретению нацелены на фрагменты генов *Varroa*, длина которых

композиция будет представлять собой композицию селективного инсектицида, так как способность вступать в перекрестные реакции с другими насекомыми может быть снижена.

5 Согласно одному аспекту можно получить композицию дцРНК, соответствующую генам кальмодулина-1 и кальмодулина-2 *Varroa destructor* (например, применяя агенты нуклеиновые кислоты, последовательность которых представлена в последовательностях SEQ ID NO: 1-4 и с 69 по 89, комплементарные им последовательности или нуклеиновые кислоты, направленные на их участки).

10 Должно быть очевидно, что наряду со снижением экспрессии некоторого количества генов, в настоящем изобретении дополнительно предложено и включено в него применение некоторого количества агентов для снижения экспрессии одного и того же гена (например, множества нуклеиновых кислот, или дцРНК, каждая из которых гибридизуется с отличным фрагментом одного и того же гена). Например, в некотором аспекте комбинацию одной или более нуклеиновых кислот, соответствующих 15 последовательности, выбранный из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 1-4, 6, 23, с 26 по 35 и с 69 по 89, можно применять для увеличения цитотоксического и противопаразитарного действия указанной композиции. для данной цели можно применять средства, которые способны идентифицировать видоспецифические последовательности: например, BLASTN и другие подобные 20 компьютерные программы. В публикациях патентов США с номерами 20090118214 и 20120108497 предложено применение дцРНК для предотвращения и лечения вирусных инфекций у медоносных пчел. В публикациях патентов США с номерами 20120258646 предложено применение дцРНК для контролирования *Varroa destructor* у медоносной пчелы. Каждая публикация настоящим полностью включена в данную заявку.

25 В настоящем изобретении предложены и включены в него композиции и способы снижения экспрессии гена в целевом организме. В некотором аспекте целевой организм может представлять собой паразита. В некоторых аспектах паразит может представлять собой *Varroa destructor*. В данном тексте термин "снижение экспрессии" относится к 30 непосредственной или опосредованной индукции снижения уровня транскрипции желательного гена, уменьшению количества, стабильности или способности транслироваться продуктов транскрипции гена (например, РНК), и/или к снижению уровня трансляции полипептида(-ов), кодируемого(-ых) желательным геном. Снижение уровня экспрессии продукта гена клеща *Varroa destructor* можно отслеживать, например, путем непосредственного обнаружения транскриптов гена (например, с помощью 35 ПЦР), путем обнаружения полипептида(-ов), кодируемого(-ых) РНК гена или патогена пчелы (например, с помощью вестерн-блоттинга или иммунопреципитации), путем обнаружения биологической активности полипептидов, кодируемых геном (например, каталитической активности, связывания лиганда и тому подобных активностей), или путем отслеживания изменений в клеще *Varroa destructor* (например, снижения 40 пролиферации клеща, снижения вирулентности клеща, снижения подвижности клеща и т.д.) и путем анализа инфективности/патогенности для пчелы.

Снижение уровня экспрессии продукта гена вредителя или паразита можно осуществить на уровне генома и/или транскрипта, применяя различные агенты, которые препятствуют транскрипции и/или трансляции (например, замалчивающие РНК агенты, 45 рибозим, дезоксирибозим и антисмысловые молекулы нуклеиновой кислоты). Снижение уровня экспрессии продукта гена клеща *Varroa destructor* можно осуществить на уровне генома и/или транскрипта, применяя различные агенты, которые препятствуют транскрипции и/или трансляции (например, замалчивающие РНК агенты, рибозим,

дезоксирибозим и антисмысловые молекулы нуклеиновой кислоты).

Согласно одному аспекту агент, который снижает уровень экспрессии продукта гена вредителя или паразита, представляет собой малую РНК, такую как замалчивающий РНК агент. Согласно данному аспекту длина малой РНК больше, чем 15 пар оснований.

5 В другом аспекте длина малой РНК больше, чем 50 пар оснований. В некотором аспекте длина малой РНК больше, чем 50 пар оснований, но меньше, чем приблизительно 500 пар оснований. В некотором аспекте длина малой РНК больше, чем 100 пар оснований, но меньше, чем приблизительно 500 пар оснований. В некотором аспекте длина малой РНК больше, чем 200 пар оснований, но меньше, чем приблизительно 500 пар оснований.

10 В некотором аспекте указанный вредитель или паразит может представлять собой клеща *Varroa destructor*.

Другой способ снижения уровня экспрессии продукта гена вредителя или паразита состоит во внедрении малых ингибиторных РНК (миРНК). Другой способ снижения уровня экспрессии продукта гена клеща *Varroa* состоит во внедрении малых ингибиторных РНК (миРНК).

15 РНК (миРНК).

В одном аспекте настоящего изобретения, синтез замалчивающих РНК агентов, подходящих для применения в настоящем изобретении, можно осуществить, как описано далее. Во-первых, целевую мРНК вредителя или паразита сканируют по ходу транскрипции от иницирующего кодона AUG для выявления последовательности

20 динуклеотида AA. Местонахождение каждого AA и 19 смежных с ним с 3'-стороны нуклеотидов регистрируют как потенциальные целевые сайты миРНК. Предпочтительно, целевые сайты миРНК выбирают из открытой рамки считывания, так как нетранслируемые области (НТО) более богаты сайтами связывания регуляторных белков. Белки, связывающиеся с НТО, и/или комплексы инициации трансляции могут

25 препятствовать связыванию комплекса эндонуклеазы миРНК (Tuschl ChemBiochem. 2: 239-245). Тем не менее, должно быть очевидно, что миРНК, направленные на нетранслируемые области, также могут быть эффективными, что продемонстрировали для GAPDH, где миРНК, направленная на 5'-НТО, опосредовала снижение

30 приблизительно на 90% уровня мРНК клеточного GAPDH и полностью нарушала синтез белка (доступно в сети Интернет по адресу www.ambion.com/techlib/tn/91/912.html).

Во-вторых, потенциальные целевые сайты сравнивают с подходящей базой данных геномов нецелевых организмов (например, человека, пчелы, бабочки монарх, мыши, крысы и т.д.), применяя любое программное обеспечение для выравнивания последовательностей, такое как программное обеспечение BLAST, доступное на сервере

35 NCBI (доступно в сети Интернет по адресу www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/). В некоторых вариантах реализации предполагаемые целевые сайты, для которых выявлена существенная гомология с другими кодирующими последовательностями, отсеивают. В некоторых вариантах реализации один или более нуклеотидов заменены или удалены по сравнению с целевой последовательностью, чтобы прервать последовательности,

40 содержащие 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 или более смежных нуклеотидов, которые на 100% идентичны или комплементарны последовательности гена нецелевого организма.

Удовлетворяющие требованиям целевые последовательности выбирают для использования в качестве матрицы для синтеза миРНК. Предпочтительные

45 последовательности представляют собой последовательности с низким содержанием G/C, так как было доказано, что такие последовательности более эффективно опосредуют замалчивание гена по сравнению с последовательностями, содержание G/C в которых выше, чем 55%. Предпочтительно для оценки выбирают несколько

целевых сайтов по всей длине целевого гена или последовательности. Для лучшей оценки выбранных миРНК, предпочтительно вместе с ней используют отрицательный контроль. МиРНК отрицательного контроля предпочтительно имеют такой же нуклеотидный состав, как и миРНК, но у них нет существенной гомологии с геномом. Таким образом, предпочтительно применяют перемешанную последовательность нуклеотидов миРНК, при условии, что она не проявляет какой-либо существенной гомологии с любым другим геном или целевой последовательностью вредителя или паразита. Пример перемешанной последовательности нуклеотидов представлен в SEQ ID NO. 5.

Например, миРНК, которую можно применять в данном аспекте настоящего изобретения, представляет собой такую миРНК, которая нацелена на специфический для клеща ген кальмодулина. Примеры миРНК представлены в последовательностях SEQ ID NO: 3,4, 88 и 89.

Должно быть очевидно, что замалчивающий РНК агент согласно настоящему описанию не обязательно должен быть ограничен молекулами, содержащими только РНК, и может дополнительно содержать химически модифицированные нуклеотиды и не относящиеся к нуклеотидам молекулы.

В некоторых аспектах замалчивающий РНК агент, предложенный в данной заявке, может быть функционально связан с проникающим в клетку пептидом. В данном тексте "проникающий в клетку пептид" представляет собой пептид, который содержит короткую (состоящую приблизительно из 12 остатков) последовательность аминокислот или функциональный мотив, придающий ему способность к транслокации энергетически независимым путем (т.е., не путем эндоцитоза), относящуюся к транспорту проникающего через мембрану комплекса через плазматическую и/или ядерную мембраны клетки. Проникающий в клетку пептид, используемый в проникающем через мембрану комплексе согласно настоящему описанию, предпочтительно содержит по меньшей мере один нефункциональный остаток цистеина, который либо свободен, либо дериватизирован для образования дисульфидной связи с двухцепочечной рибонуклеиновой кислотой, которую модифицируют для такой связи. Примеры мотивов аминокислот, придающих такие свойства, перечислены в патенте США номер 6348185, содержание которого явно включено в данную заявку посредством ссылки.

Проникающие в клетку пептиды согласно настоящему описанию предпочтительно включают, но не ограничены перечисленными: пенетратин, транспортан, plsl, TAT(48-60), pVEC, MTS и MAP.

Другой агент, способный снижать уровень экспрессии продукта гена вредителя или паразита, представляет собой молекулу дезоксирибозима, способную специфично расщеплять мРНК-транскрипт или последовательность ДНК полипептида патогена пчелы. Дезоксирибозимы представляют собой одноцепочечные полинуклеотиды, которые способны расщеплять как одноцепочечные, так и двухцепочечные целевые последовательности (Breaker, R.R. и Joyce, G. Chemistry и Biology 1995;2:655; Santoro, S.W. & Joyce, G.F. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1997;943:4262). Была предложена обобщенная модель (модель "10-23") дезоксирибозима. Дезоксирибозимы "10-23" содержат каталитический домен из 15 дезоксирибонуклеотидов, фланкированный двумя распознающими субстрат доменами, каждый из которых состоит из от семи до девяти дезоксирибонуклеотидов. Данный тип дезоксирибозима может эффективно расщеплять субстрат РНК в местах соединения пурин:пиримидин (Santoro, S.W. & Joyce, G.F. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1999; обзор дезоксирибозимов см. в Khachigian, LM, Curr Opin Mol Ther 4:119-21 (2002)). В некотором аспекте продукт гена вредителя или паразита может представлять собой продукт гена клеща *Varroa*. Снижения уровня экспрессии продуктов

генов вредителя или паразита также можно добиться, применяя антисмысловой полинуклеотид, способный специфично гибридизоваться с мРНК-транскриптом, кодирующим продукт гена вредителя или паразита. При разработке антисмысловых молекул, которые можно применять для эффективного снижения уровня экспрессии продукт гена вредителя или паразита, необходимо учитывать два аспекта, важных для антисмыслового подхода. Первый аспект представляет собой доставку олигонуклеотида в цитоплазму подходящих клеток, тогда как второй аспект представляет собой разработку олигонуклеотида, который специфично связывает указанную целевую последовательность мРНК или РНК внутри клетки таким образом, что ингибирует ее трансляцию. В некотором аспекте продукт гена вредителя или паразита может представлять собой продукт гена клеща *Varroa*. В другом аспекте продукт гена вредителя или паразита может представлять собой продукт гена кальмодулина.

Можно применять множество стратегий доставки для эффективной доставки олигонуклеотидов в большое разнообразие типов клеток (см., например, Luft J Mol Med 76: 75-6 (1998); Kronenwett и др. Blood 91: 852-62 (1998); Rajur и др. Bioconjug Chem 8: 935-40 (1997); Lavigne и др. Biochem Biophys Res Commun 237: 566-71 (1997) и Aoki и др. (1997) Biochem Biophys Res Commun 231: 540-5 (1997)).

Кроме того, также доступны алгоритмы идентификации последовательностей с наиболее высокой предсказанной аффинностью связывания с целевой мРНК на основании термодинамического цикла, который учитывает энергетiku структурных изменений как в целевой мРНК, так и в олигонуклеотиде (см., например, Walton и др. Biotechnol Bioeng 65: 1-9 (1999)). Такие алгоритмы успешно применялись для реализации антисмыслового подхода в клетках. Например, алгоритм, разработанный Walton и др., позволил ученым успешно разработать антисмысловые олигонуклеотиды для транскриптов бета-глобина кролика (RBG) и фактора некроза опухоли-альфа (TNF-альфа) мышцы. Та же группа исследователей позже сообщила, что антисмысловая активность рационально выбранных олигонуклеотидов против трех модельных целевых мРНК (лактатдегидрогеназы А и В человека и gp1 крысы) в культуре клеток, которую оценивали с помощью методики кинетической ПЦР, оказалась эффективной почти во всех случаях, включая анализы против трех различных мишеней в двух типах клеток с фосфодиэфирными и фосфоротиоатными взаимодействиями олигонуклеотидов. Кроме того, также было опубликовано несколько подходов к разработке и прогнозированию эффективности специфических олигонуклеотидов с применением системы *in vitro* (Matveeva и др., Nature Biotechnology 16: 1374-1375 (1998)].

Другой агент, способный снижать уровень экспрессии продукта гена вредителя или паразита, представляет собой молекулу рибозима, способную специфично расщеплять мРНК-транскрипт, кодирующий продукт гена клеща *Varroa*. Рибозимы все чаще применяют для специфического к последовательности ингибирования экспрессии генов путем расщепления мРНК, кодирующей интересующие белки (Welch и др., Curr Opin Biotechnol. 9:486-96 (1998)). Возможность разработки рибозимов для расщепления любой специфической целевой РНК, включая вирусную РНК, сделала их полезными средствами как в фундаментальных исследованиях, так и для применения в терапии. В некотором аспекте продукт гена вредителя или паразита может представлять собой продукт гена клеща *Varroa*. В другом аспекте продукт гена вредителя или паразита может представлять собой продукт гена кальмодулина.

Дополнительный способ снижения уровня экспрессии продукта гена вредителя или паразита в клетках состоит в использовании образующих триплекс олигонуклеотидов (ТФО). Недавние исследования показали, что можно разработать ТФО, которые могут

распознавать и связываться с участками полипурина/полипиримидина в двухцепочечной спиральной ДНК специфическим к последовательности образом. Такие правила распознавания в общих чертах описаны в Maher III, L. J., и др., Science (1989) 245:725-7; Moser, H. E., и др., Science, (1987) 238:645-6; Beal, P. A., и др., Science (1992) 251:1360-1363; 5 Cooney, M., и др., Science (1988) 241:456-459; и Hogan, M. E., и др., публикация EP 375408. Модификация олигонуклеотидов, такая как внедрение интеркаляторов и замен в остове, и оптимизация условий связывания (рН и концентрация катионов) помогла преодолеть внутренние ограничения, препятствующие активности ТФО, такие как отталкивание зарядов и нестабильность, и недавно было показано, что синтетические 10 олигонуклеотиды могут быть нацелены на специфические последовательности (недавний обзор см. в Seidman и Glazer, J Clin Invest 2003;112:487-94). В некотором аспекте продукт гена вредителя или паразита может представлять собой продукт гена клеща *Varroa*. В другом аспекте продукт гена вредителя или паразита может представлять собой продукт гена кальмодулина.

15 Как правило, у образующего триплекс олигонуклеотида наблюдают соответствие последовательностей:

олиго	3'--А	G	G	T
дуплекс	5'--А	G	C	T
дуплекс	3'--Т	C	G	A

20 Тем не менее, было показано, что у триплетов А-АТ и G-GC наиболее стабильная тройная спираль (Reither и Jeltsch, BMC Biochem, 12 сентября 2002 г., Epub). Те же авторы продемонстрировали, что ТФО, разработанные согласно правилу А-АТ и G-GC, не образуют неспецифических триплексов, свидетельствуя о том, что образование триплекса 25 в действительности специфично для последовательности.

Длина образующих триплекс олигонуклеотидов предпочтительно составляет по меньшей мере 15, более предпочтительно 25, еще более предпочтительно или более нуклеотидов, до 50 или 100 п.о.

30 Трансфекция клеток ТФО (например, посредством катионных липосом) и образование структуры тройной спирали с целевой ДНК приводит к стерическим и функциональным изменениям, блокированию инициации и элонгации транскрипции, что позволяет вносить желательные изменения в последовательность эндогенной ДНК и приводит к специфическому снижению уровня экспрессии генов.

35 Подробное описание разработки, синтеза и внедрения эффективных ТФО можно найти в публикациях патентов США с номерами 2003/017068 и 2003/0096980, Froehler и др., и 2002/0128218 и 2002/0123476, Emanuele и др., и патенте США номер 5721138, Lawn.

40 Агенты, снижающие экспрессию полинуклеотида, согласно настоящему описанию можно получить с помощью любого способа синтеза полинуклеотидов, известного в данной области, такого как ферментативный синтез или твердофазный синтез. Оборудование и реагенты для осуществления твердофазного синтеза доступны для приобретения, например, у Applied Biosystems. Также можно применять любые другие средства для такого синтеза; эффективный синтез полинуклеотидов находится в рамках компетенции специалиста в данной области, и его можно осуществить с помощью 45 общепринятых методик, подробно описанных, например, в "Molecular Cloning: A laboratory Manual" Sambrook и др., (1989); "Current Protocols in Molecular Biology" тома I-III Ausubel, R. M., ред. (1994); Ausubel и др., "Current Protocols in Molecular Biology", John Wiley and Sons, Балтимор, Мэриленд (1989); Perbal, "A Practical Guide to Molecular Cloning",

John Wiley & Sons, Нью-Йорк (1988) и "Oligonucleotide Synthesis" Gait, M. J., ред. (1984), используя химические реакции с твердофазными материалами, например, цианоэтилфосфорамидитом, с последующим снятием защитных групп, обессоливанием и очисткой, например, с помощью автоматизированного способа без снятия тритила (trityl-on) или ВЭЖХ.

Полинуклеотидные агенты согласно настоящему изобретению могут содержать гетероциклические нуклеозиды, состоящие из оснований пуринов и пиримидинов, связанных 3' с 5' фосфодиэфирной связью. Предпочтительно применяемые полинуклеотидные агенты представляют собой агенты, с модификациями либо в остове, либо в межнуклеозидных связях, либо в основаниях, что в общих чертах описано ниже в данном тексте.

Конкретные примеры полинуклеотидных агентов, полезных согласно данному аспекту настоящего изобретения, включают полинуклеотидные агенты, содержащие модифицированные остовы или неприродные межнуклеозидные связи.

Полинуклеотидные агенты, содержащие модифицированные остовы, включают агенты, в остове которых сохранен атом фосфора, описанные в патентах США с номерами: 4469863; 4476301; 5023243; 5177196; 5188897; 5264423; 5276019; 5278302; 5286717; 5321131; 5399676; 5405939; 5453496; 5455233; 5466677; 5476925; 5519126; 5536821; 5541306; 5550111; 5563253; 5571799; 5587361 и 5625050.

Модифицированные остовы полинуклеотидов включают, например, фосфоротиоаты, хиральные фосфоротиоаты, фосфородитиоаты, фосфотриэфиры, аминокилфосфотриэфиры, метилфосфонаты и фосфонаты другого алкила, включая 3'-алкиленфосфонаты и хиральные фосфонаты, фосфинаты, фосфорамидаты, включая 3' аминокилфосфорамидат и аминокилфосфорамидаты, тионофосфорамидаты, тионоалкилфосфонаты, тионоалкилфосфотриэфиры и боранофосфаты, содержащие нормальные связи 3'-5', их аналоги со связями 2'-5', а также указанные молекулы с обратной ориентацией, в которых смежные пары нуклеозидных единиц связаны 3'-5' с 5'-3' или 2'-5' с 5'-2'. Также можно применять формы различных солей, смешанных солей и свободных кислот.

В качестве альтернативы, модифицированные остовы полинуклеотидов, которые не содержат атом фосфора, представляют собой такие остовы, которые образованы алкильными с короткой цепью или циклоалкильными межнуклеозидными связями, смешанными гетероатомными и алкильными или циклоалкильными межнуклеозидными связями или одной или более гетероатомными с короткой цепью или гетероциклическими межнуклеозидными связями. Такие остовы включают остовы, содержащие морфолиновые связи (образованные частично сахаром нуклеозида); силоксановые остовы; сульфидные, сульфоксидные и сульфоновые остовы; формацетильные и тиоформацетильные остовы; метиленформацетильные и тиоформацетильные остовы; алкенсодержащие остовы; сульфаматные остовы; метилениминовые и метиленигидразиновые остовы; сульфонатные и сульфонамидные остовы; амидные остовы; и другие остовы, содержащие смешанные компоненты N, O, S и CH₂, описанные в патентах США с номерами 5034506; 5166315; 5185444; 5216141; 5235033; 5264562; 5264564; 5405938; 5470967; 5489677; 5541307; 5561225; 5596086; 5602240; 5602240; 5608046; 5610289; 5618704; 5623070; 5663312; 5214134; 5466677; 5610289; 5633360; 5677437 и 5677439.

Другие полинуклеотидные агенты, которые можно применять согласно настоящему описанию, представляют собой агенты, в которых модифицированы как сахар, так и межнуклеозидная связь, т.е. остов, нуклеотидных единиц, которые заменены новыми

группами. Основания сохраняют для гибридизации с подходящим целевым полинуклеотидом. Пример такого полинуклеотидного миметика включает пептидо-нуклеиновую кислоту (ПНК). Полинуклеотид ПНК относится к полинуклеотиду, в котором сахарный остов заменен амидсодержащим остовом, в частности, 5 аминоэтилглициновым остовом. Основания сохранены и связаны непосредственно или опосредованно с азотными атомами азагрупп амидной части остова. Патенты Соединенных Штатов, в которых описано получение ПНК-соединений, включают, не ограничиваясь перечисленными, патенты США № 5539082; 5714331 и 5719262, каждый из которых включен в настоящую заявку посредством ссылки. Другие модификации 10 остова, которые можно использовать в настоящем изобретении, раскрыты в патенте США № 6303374.

Полинуклеотидные агенты согласно настоящему изобретению также могут содержать модификации или замены оснований. В данном тексте "немодифицированные" или "природные" основания включают пуриновые основания - аденин (A) и гуанин (G), и 15 пиримидиновые основания - тимин (T), цитозин (C) и урацил (U). Модифицированные основания включают, но не ограничены другими синтетическими и природными основаниями, такими как 5-метилцитозин (5-me-C), 5-гидроксиметилцитозин, ксантин, гипоксантин, 2-аминоаденин, 6-метильные и другие алкильные производные аденина и гуанина, 2-пропил и другие алкильные производные аденина и гуанина, 2-тиоурацил, 20 2-тиотимин и 2-тиоцитозин, 5-галоген-урацил и -цитозин, 5-пропинил-урацил и -цитозин, 6-азо-урацил, -цитозин и -тимин, 5-урацил (псевдоурацил), 4-тиоурацил, 8-галоген-, 8-амино-, 8-тиол-, 8-тиоалкил-, 8-гидроксил- и другие 8-замещенные аденины и гуанины, 5-галоген-, особенно 5-бром-, 5-трифторметил- и другие 5-замещенные урацилы и цитозины, 7-метилгуанин и 7-метиладенин, 8-азагуанин и 8-азааденин, 7-дезагуанин 25 и 7-дезааденин и 3-дезагуанин и 3-дезааденин. Дополнительные основания включают основания, раскрытые в патенте США № 3687808, основания, раскрытые в The Concise Encyclopedia Of Polymer Science And Engineering, страницы 858-859, Kroschwitz, J. I., ред. John Wiley & Sons, 1990, основания, раскрытые в Englisch и др., Angewandte Chemie, международное издание, 1991, 613, и основания, раскрытые в Sanghvi, Y. S., Глава 15, 30 Antisense Research and Applications, страницы 289-2, Crooke, S. T. и Lebleu, B., ред., CRC Press, 1993. Такие основания особенно полезны для повышения аффинности связывания олигомерных соединений согласно настоящему описанию. Они включают содержащие заместители в положении 5 пиримидины, 6-азапиримидины и содержащие заместители в положениях N-2, N-6 и O-6 пурины, включая 2-аминопропиладенин, 5-пропинилурацил 35 и 5-пропинилцитозин. Было показано, что замены на 5-метилцитозин повышают стабильность дуплекса нуклеиновых кислот на 0,6-1,2°C (Sanghvi YS и др. (1993) Antisense Research and Applications, CRC Press, Boca Raton 276-278) и в настоящее время являются предпочтительными заменами оснований, особенно когда их комбинируют с модификациями сахара 2'-O-метоксиэтилом.

40 После синтеза полинуклеотидные агенты согласно настоящему изобретению необязательно можно очистить. Например, полинуклеотиды можно очистить из смеси путем экстрагирования растворителем или смолой, преципитации, электрофореза, хроматографии или комбинации перечисленных способов очистки. В качестве альтернативы полинуклеотиды можно применять без очистки или с минимальной 45 очисткой, чтобы избежать потерь при обработке образца. Полинуклеотиды можно сушить для хранения или растворять в водном растворе. Раствор может содержать буферы или соли, способствующие отжигу и/или стабилизирующие цепи дуплекса.

Должно быть очевидно, что полинуклеотидный агент согласно настоящему описанию

может быть предложен сам по себе или в виде конструкции нуклеиновой кислоты, содержащей последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую указанный полинуклеотидный агент. Как правило, конструкция нуклеиновой кислоты содержит последовательность промотора, который функционален в клетке хозяина, что подробно описано ниже в данном тексте.

Полинуклеотидные последовательности согласно настоящему описанию, под контролем функционально связанной с ними последовательности промотора, дополнительно могут быть фланкированы дополнительными последовательностями, которые положительно влияют на транскрипцию и/или стабильность полученного транскрипта. Такие последовательности, как правило, расположены против хода транскрипции от промотора и/или по ходу транскрипции от 3'-конца экспрессирующей конструкции.

Термин "функционально связанный", используемый по отношению к регуляторной последовательности и структурной последовательности нуклеотидов, означает, что регуляторная последовательность вызывает регулируемую экспрессию связанной с ней структурной последовательности нуклеотидов. "Регуляторные последовательности" или "контролирующие элементы" относятся к последовательности нуклеотидов, расположенной против хода транскрипции, внутри или по ходу транскрипции от структурной последовательности нуклеотидов, и влияющей на распределение по времени и уровень или величину транскрипции, процессинга РНК или стабильности, или трансляции ассоциированной с ней структурной последовательности нуклеотидов. Регуляторные последовательности могут включать промоторы, лидерные последовательности трансляции, интроны, энхансеры, структуры типа «стебель-петля», связывающие репрессор последовательности, терминирующие последовательности, последовательности паузы, последовательности узнавания полиаденилирования и тому подобные последовательности.

Должно быть очевидно, что агенты нуклеиновой кислоты можно доставлять вредителю или паразиту большим разнообразием способов. Согласно одному аспекту указанные агенты нуклеиновой кислоты доставляют непосредственно вредителю или паразиту (например, путем опрыскивания зараженного клещами улья). Агенты нуклеиновой кислоты или конструкции, кодирующие их, могут проникать в организмы клещей путем диффузии. В данном аспекте промотор конструкции нуклеиновой кислоты обычно функционален в клетках клеща. В некотором аспекте вредитель или паразит может представлять собой *Varroa destructor*.

Должно быть очевидно, что поскольку многие паразиты с помощью своих ртов прокалывают экзоскелет членистоногого хозяина и кормятся за счет гемолимфы членистоногого, в настоящем описании предложена доставка полинуклеотидных агентов согласно настоящему описанию членистоногому, в результате чего они присутствуют в гемолимфе членистоногого, становясь доступными для вредителя или паразита. Таким образом, согласно другому аспекту агенты нуклеиновой кислоты доставляют опосредованно вредителю или паразиту (например, клещу через пчелу-хозяина). В данном аспекте промотор конструкции нуклеиновой кислоты обычно функционален в клетках хозяина. В некоторых аспектах вредитель или паразит может представлять собой *Varroa destructor* и хозяин-членистоногое может представлять собой пчелу.

Согласно одному аспекту агенты нуклеиновой кислоты доставляют зараженным паразитами хозяевам путем распыления. Указанные агенты нуклеиновой кислоты или конструкции, кодирующие их, могут проникать в организмы хозяев путем диффузии.

В некоторых аспектах вредитель или паразит может представлять собой *Varroa destructor* и хозяин-членистоногое может представлять собой пчелу.

Согласно другому аспекту агенты нуклеиновой кислоты доставляют хозяину через пищу. Авторы настоящего изобретения считают, что после употребления в пищу агентов нуклеиновой кислоты согласно настоящему описанию, указанные агенты могут присутствовать, например, в гемолимфе указанного хозяина членистоногого, в результате чего они становятся доступными для паразита, например, клеща *Varroa*.

Таким образом, полинуклеотиды согласно настоящему описанию можно синтезировать *in vitro* или *in vivo*, например, в бактериальной или дрожжевой клетке, и добавлять в пищу. Например, двухцепочечную РНК можно синтезировать путем добавления двух противоположно направленных промоторов (например, промоторов T7) к концам фрагментов гена, при этом указанный промотор располагают непосредственно с 5'-стороны от гена и указанный промотор располагают непосредственно с 3'-стороны от фрагмента гена в противоположной ориентации. Затем можно получить дцРНК путем транскрипции *in vitro* с помощью T7 РНК-полимеразы.

Примеры последовательностей для синтеза нуклеиновых кислот, включая дцРНК, в соответствии с аспектами настоящего описания представлены в SEQ ID NO: 1-4, 6, 23, с 26 по 35 и с 69 по 93.

Должно быть очевидно, что некоторые вредители или паразиты создают раневые поверхности в экзоскелете членистоногого хозяина. В таких раневых поверхностях накапливаются бактериальные инфекции. Например, в раневой поверхности пчелы-хозяина могут накапливаться такие бактерии, как *Melissococcus pluton*, который вызывает Европейский гнилец пчел. Известно, что помимо паразитного действия паразиты действуют как переносчики для множества других патогенов и паразитов. Например, предполагают, что клещи *Varroa* действуют как переносчики для множества патогенов медоносных пчел, включая вирус деформации крыла (DWV), Кашмирский вирус пчел (KBV), вирус острого паралича пчел (ABPV) и вирус черного маточника (BQCV), и могут ослаблять иммунную систему хозяев, делая их восприимчивыми к инфекциям.

Таким образом, убивая вредителя или паразита (или предотвращая его репродукцию), направленные против паразитов, против вредителей или инсектицидные агенты согласно настоящему изобретению можно применять для предотвращения и/или лечения бактериального инфицирования организмов-хозяев, например, инфицирования *Melissococcus pluton* и вирусных инфекций у хозяев-пчел, вызванных перечисленными выше вирусами. Поскольку считают, что заражение клещом *Varroa* и вирусные инфекции ответственны за синдром разрушения колоний (CCD), агенты согласно настоящему изобретению также можно применять для предотвращения или уменьшения восприимчивости колонии пчел к CCD.

Должно быть очевидно, что дополнительно к кормлению направленными против паразитов, против вредителей или инсектицидными агентами нуклеиновой кислоты для снижения инфицирования патогенами и заражения паразитами пчел, обязательное проведение надлежащей санации (например, отказ от повторного использования зараженных паразитами ульев) может повысить эффективность лечения и предотвращения инфекций.

В настоящем изобретении также предложены и включены в него трансгенные бактериальные и дрожжевые клетки, которые экспрессируют селективный инсектицид. В одном аспекте нуклеиновая кислота, кодирующая малую РНК, дцРНК, микроРНК, или устойчивая к малой РНК или микроРНК целевая молекула нуклеиновой кислоты, применяемая в настоящем изобретении, функционально связана с промотором и

необязательно с терминатором. В некоторых вариантах реализации трансгенные бактериальные и дрожжевые клетки убивают, например, воздействуя на них нагреванием или давлением. В некоторых вариантах реализации трансгенные бактериальные и дрожжевые клетки лизируют перед предоставлением селективного инсектицида целевому организму. В некоторых вариантах реализации трансгенные бактериальные и дрожжевые клетки не лизируют.

В одном аспекте экзогенная молекула нуклеиновой кислоты, применяемая в настоящем изобретении, представляет собой или кодирует малую РНК, или, в конкретном аспекте, микроРНК, которая может модулировать экспрессию гена в целевом организме. В некотором аспекте экзогенная нуклеиновая кислота кодирует малую РНК, которая идентична по меньшей мере на 80%, 85%, 88%, 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% последовательности, выбранной из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 1-4 и 6-94. В дополнительном аспекте экзогенная молекула нуклеиновой кислоты, применяемая в настоящем изобретении, представляет собой или кодирует дцРНК. В другом аспекте экзогенная молекула нуклеиновой кислоты, применяемая в настоящем изобретении, представляет собой или кодирует синтетическую микроРНК. В дополнительном аспекте экзогенная молекула нуклеиновой кислоты, применяемая в настоящем изобретении, представляет собой или кодирует миРНК. В одном аспекте экзогенная молекула нуклеиновой кислоты, применяемая в настоящем изобретении, представляет собой или кодирует предшественник малой РНК. В другом аспекте экзогенная молекула нуклеиновой кислоты, применяемая в настоящем изобретении, представляет собой или кодирует предшественник микроРНК или миРНК. В одном аспекте экзогенная молекула нуклеиновой кислоты, применяемая в настоящем изобретении, представляет собой встречающуюся в природе молекулу. В другом аспекте экзогенная молекула нуклеиновой кислоты, применяемая в настоящем изобретении, представляет собой синтетическую молекулу.

В одном аспекте экзогенная молекула нуклеиновой кислоты, применяемая в настоящем изобретении, представляет собой или кодирует предшественник со структурой «петля-на-стебле» малой РНК или, в конкретном аспекте, микроРНК, включающий последовательность, которая идентична по меньшей мере на 80%, 85%, 88%, 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% последовательности, выбранной из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 1-4 и 6-94. Предшественник со структурой «петля-на-стебле», применяемый в настоящем изобретении, включает последовательность, которая идентична по меньшей мере на 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 88%, 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% последовательности, выбранной из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 1-4 и 6-94.

В одном аспекте экзогенная молекула нуклеиновой кислоты, применяемая в настоящем изобретении, представляет собой свободную РНК или экспрессируется с экспрессионной конструкцией нуклеиновой кислоты, где она функционально связана с регуляторной последовательностью.

В одном аспекте конструкция рекомбинантной ДНК или трансген, описанный в данном тексте, дополнительно содержит терминатор транскрипции.

Ожидается, что во время действия патента, начиная с настоящей заявки, может быть разработано множество подходящих способов снижения уровня экспрессии продуктов генов, и предполагается, что в объем термина "снижение уровня экспрессии продукта гена клеща *Varroa destructor*" априори входят все такие новые методики.

Должно быть очевидно, что некоторые свойства настоящего изобретения, которые для ясности описаны в контексте отдельных аспектов, также могут быть предложены

в комбинации в одном аспекте. И наоборот, различные свойства настоящего изобретения, которые для краткости описаны в контексте одного аспекта, также могут быть предложены отдельно или в любой подходящей подкомбинации или подходящим образом в любом другом описанном аспекте настоящего изобретения. Некоторые свойства, описанные в контексте различных аспектов, не должны рассматриваться как необходимые свойства указанных аспектов, за исключением случаев, когда указанный аспект не действует без данных элементов. Различные аспекты и аспекты настоящего описания, описанные в общих чертах выше в данном тексте и заявленные в разделе формулы изобретения ниже, получили экспериментальное подтверждение в следующих примерах.

ПРИМЕРЫ

Пример 1. Последовательности гена кальмодулина клеща *Varroa*

Гены кальмодулина (CAM), приведенные в таблице 1 (SEQ ID NO: 1 и 2), или соответствующие транскрипты, использовали в качестве мишеней для полинуклеотидных композиций, содержащих полинуклеотид, который представляет собой по меньшей мере 18 смежных нуклеотидов, идентичных или комплементарных указанным генам или транскриптам. Последовательности генов, приведенные в таблице 1, последовательности белков, кодируемых указанными генами, или последовательности, содержащиеся в указанных генах использовали для получения ортологичных генов кальмодулина (CAM) из других видов вредителей и паразитов членистоногих, не перечисленных в таблице 1. Такие ортологичные гены и их транскрипты затем могут служить в качестве мишеней для полинуклеотидов, предложенных в настоящем изобретении, или в качестве источника направленных против паразитов, против вредителей или инсектицидных полинуклеотидов, которые специально разработаны, чтобы нацеливаться на ортологичные гены или транскрипты.

Таблица 1. Целевые гены кальмодулина (CAM) *Varroa destructor*.

Название гена	SEQ ID	Открытая рамка считывания последовательности ДНК
CAM-1	1	ATGGCTGATCAGCTAACTGAGGAACAGATCGCCGAGTTCAAAGAGGCGTTTAGCCTGTTTGA CAAGGACGGAGATGGCAGCATCACGACAAAGGAGCTCGGTACGGTAATGCGATCTCTCGGCC AGAACCCCACTGAGGCTGAACTGCAGGACATGATCAACGAGGTCGACGCCGACGGCTCCGGA ACGATAGATTTCCCTGAGTTCCTCACAATGATGGCAAGAAAGATGAAGGACACCGACTCGGA GGAGGAGATCCGAGAGGCGTTCCGCGTATTCGACAAGGATGGCAACGGTTTCATTTCCGGCGG CCGAGCTCAGGCACGTTATGACCAACCTTGGCGAGAAGCTTACGGACGAGGAGGTAGATGAG ATGATTCGGGAGGCAGATATTGACGGTATGGTCAAGTCAACTACGAGGAGTTCGTACCAT GATGACGTCCAAGTAA
CAM-2	2	ATGGCGGATCAGCTGACCGAGGAGCAAATCGCCGAATTCAGGAGGCTTTCAGCCTGTTTCGA TAAAGACGGTATGGCACAATTACGACCAAGGAAGTACGGACCGTCATGCGGTCCCTCGGCC AGAACCCTACTGAGGCTGAGCTTCAAGACATGATCAACGAGGTCGACGCTGACGGTAACGGC ACTATTGACTTTCCAGAGTTTCTCAGATGATGGCGCGTAAAATGAAGGACACCGACTCCGAG GAGGAGATCCGGGAAGCTTTTAGGGTTTTTGATAAAGACGGAAATGGCTTCATTTCCGGCTGCA GAGCTGAGGCACGTAATGACCAACCTTGGCGAAAAGCTCACGGACGAGGAAGTGGACGAGA TGATCCGCGAGGCGGATATCGACGGCGACGGACAGGTCAACTACGAGGAGTTCGTACGATG ATGACATCAAATGA

Для каждой последовательности ДНК кальмодулина, представленной в SEQ ID NO: 1 и 2, фрагментами одноцепочечной или двухцепочечной ДНК или РНК в смысловой или антисмысловой ориентации, или обоими, вводили *in vitro* клещам *Varroa*, выращиваемым на чашке Петри, или наносили на поверхность ульев пчел, чтобы повлиять на экспрессию целевых генов CAM и добиться уменьшения популяции клещей *Varroa destructor*.

Пример 2. Супрессия генов кальмодулина (CAM) *Varroa destructor*

Предложены полинуклеотиды для подавления экспрессии генов кальмодулина (CAM) у клеща *Varroa destructor*, соответствующие последовательностям SEQ ID NO: 3 и 4 (таблица 2), которые применяли для подавления экспрессии генов кальмодулина (CAM)

у клеща *Varroa destructor*. В последовательностях SEQ ID NO: 3 и 4 описана полинуклеотидная последовательность дцРНК длиной 373 п.о. и полинуклеотидная последовательность дцРНК длиной 186 п.о., соответственно, выбранные из CAM-1 (SEQ ID NO: 1). SEQ ID NO: 3, соответствующая полинуклеотиду дцРНК CAM_L/CAM373, покрывает большую часть открытой рамки считывания гена кальмодулина CAM-1 (SEQ ID NO: 1). SEQ ID NO 4, соответствующая полинуклеотиду дцРНК CAM_S/CAM186, представляет собой частичный фрагмент CAM_L/CAM373 (SEQ ID NO: 3), и она также получена из CAM-1 (SEQ ID NO: 1). SEQ ID NO: 5 в таблице 2 представляет собой контрольную полинуклеотидную последовательность дцРНК, не более чем на 19 п.о. идентичную последовательности любого известного гена *Varroa destructor*.

Таблица 2. дцРНК, нацеленные на гены кальмодулина (CAM) *Varroa destructor*.

Название дцРНК	SEQ ID	Последовательность нуклеиновой кислоты
CAM_L/CAM373	3	ACAGAUCCGCGAGUUCAAAGAGGCGUUUAGCCUGUUUGACAAGGACGGAGAUAGGCACGAU CACGACAAAGGAGCUCGGUACGGUAUUGCGAUCUCUCGGCCAGAACCCACUGAGGCUGAA CUGCAGGACAUCAACGAGUUCGACGCGGACGGCUCGGAACGAUAGAUUCCUGAGU UCCUCACA AUGAUGGCAAGAAGAUGAAGGACACCGACUCGAGGAGGAGAUCCGAGAGG CGUCCGCGUAUUCGACAAGGAUGGCAACGGUUUCAUUUCGGCGGCCGAGCUCAGGCACGU UAUGACCAACCUUGGCGAGAAGCUUACGGACGAGGAGGUAGAUAGAUAGAUUCGGGAGGC AGAUUUGAC
CAM_S/CAM186	4	ACAUGAUGGCAAGAAAGAUAGAGGACACCGACUCGGAGGAGGAGAUCCGAGAGGCGUUC CGCGUAUUCGACAAGGAUGGCAACGGUUUCAUUUCGGCGGCCGAGCUCAGGCACGUUAUG ACCAACCUUGGCGAGAAGCUUACGGACGAGGAGGUAGAUAGAUAGAUUCGGGAGGCAGAU AUUGAC
SCRAM	5	AUACUACUGGUGCUAAUUUUUAUCGAGGAUGCCCAACUCCCCACUUUAAAACUGCGAU CAUACUAACGAACUCCGAAGGAGUGAAAGGUGUCUAUGUUGAGCUUAUAACCUACCUU GCGAGCAAAGAAGGACUAGUUGACCCUGGGCACCCUAUAUUGUUAUGUUGUUUCGAACUG AGUUGGCACCAUGCUGCACAUGCAACAACAUGUCGGCCUUCGUGUCUAUCCUAGAAAAG UACCUGUGAACUUGGCGUCUAUCAUCAUCAUC

Пример 3. Биоанализ *Varroa destructor* в день 3 после обработки специфическими дцРНК.

Взрослых самок клещей собирали из колоний медоносных пчел и помещали в чашку Петри на поверхность искусственной питательной среды, содержащей смесь 1% триптона, 0,5% дрожжевого экстракта, 1% NaCl и 15 мг/мл агара. В данном примере питательную среду дополняли 50 мкг канамицина на 1 мл питательной среды. Раствор питательной среды/агара также дополняли 200-500 мкг/мл дцРНК, и полученный в результате этого раствор выливали на чашку Петри. дцРНК в данном примере состояла либо из SEQ ID NO: 3 (CAM_L/CAM373), либо из SEQ ID NO: 5 (SCRAM). На каждую чашку наносили по пятнадцать клещей, и эксперимент проводили в трех повторах. Чашки с питательной средой и клещами инкубировали при 29°C и при относительной влажности 50-60%. Через определенные промежутки времени осматривали чашки и мертвых клещей подсчитывали и удаляли. Для исследования летальности клещей подсчитывали через три дня после того, как их помещали на питательную среду (ФИГ. 2). На ФИГ. 2 показано, что все клещи были мертвы через три дня после обработки, по сравнению с неподвергнутыми обработке чашками или чашками, в которых клещи питались средой, дополненной неспецифическим (SCRAM) полинуклеотидом дцРНК.

Пример 4. Биоанализ *Varroa destructor* в день 5 после обработки дцРНК, направленной на кальмодулин.

Взрослых самок клещей собирали из колоний медоносных пчел и помещали в чашку Петри на поверхность искусственной питательной среды. Искусственная питательная среда содержала смесь 1% триптона, 0,5% дрожжевого экстракта, 1% NaCl и 15 мг/мл агара. В данном примере питательную среду также дополняли противогрибковым раствором (100x, Sigma Aldrich) в конечной 8x концентрации, 500 мкг/мл канамицина и 220 ед/мл нистатина. Раствор питательной среды/агара также дополняли 200-500 мкг/

мл дцРНК и полученный в результате этого раствор выливали на чашку Петри. дцРНК в данном примере состояла либо из SEQ ID NO: 3 (CAM_L/CAM373), либо из SEQ ID NO: 4 (CAM_S/CAM186), либо из SEQ ID NO: 5 (SCRAM). На каждую чашку наносили по пятнадцать клещей и эксперимент проводили в трех повторах. Чашки с питательной средой и клещами инкубировали при 29°C и при относительной влажности 50-60%. Через определенные промежутки времени осматривали чашки и мертвых клещей подсчитывали и удаляли. Для исследования летальности клещей подсчитывали через пять дней после того, как их помещали на питательную среду (ФИГ. 3). Для молекулярного анализа живых клещей удаляли с чашек, быстро замораживали в жидком азоте и проводили анализ TAQMAN™, чтобы оценить уровни РНК кальмодулина (CAM). ФИГ. 3, панель А. Уровни РНК генов кальмодулина (CAM) в клещах, подвергнутых воздействию SEQ ID NO: 3 (CAM_L/CAM373) или SEQ ID NO: 4 (CAM_S/CAM186), сильно уменьшились по сравнению с неспецифической (SCRAM) обработкой или отсутствием обработки (CNTR). ФИГ. 3, панель В. Статистически значимую летальность клещей, которые были подвергнуты воздействию дцРНК против кальмодулина (CAM), наблюдали через 5 дней после обработки.

Пример 5. Способ доставки полинуклеотидов дцРНК, нацеленных на гены *Varroa*, с применением высушенной распылением или полутвердой лекарственной формы.

дцРНК, используемую для того, чтобы подавлять экспрессию целевых генов кальмодулина (CAM) *Varroa*, получали в лекарственной форме, содержащей 1 часть дцРНК и ~14 частей трегалозы в фосфатном буфере (раствор из 1,15 мМ КН₂Р₄ (одноосновной) и 8 мМ Na₂НР₄ (двухосновной), рН 8,0), как показано в таблице 3. Применяя устройство для сушки распылением Büchi В-290 mini, жидкую лекарственную форму распыляли с получением капель и нагревали с газом для получения жидкотекучего порошка.

Таблица 3. Получение лекарственной формы.

дцРНК	Исходный буфер (X % масса/объем трегалозы+фосфатный буфер)	Конечный буфер (X % масса/объем трегалозы+фосфатный буфер)	Общий объем (мл)	Исходный буфер (мл)	Исходный раствор дцРНК (мл)	Отношение	Конц. активного ингредиента (АИ) (мг/мл)	Конц. активного ингредиента (АИ) (% твердого вещества)	Отношение АИ (дцРНК) к буферу (трегалоза+фосфатный буфер)
CAM_L/CAM373	40	10	1100	275,00	825,00	1/4	7,20	0,720	13,9
CAM_S/CAM186	40	10	1285	321,21	963,75	1/4	6,75	0,675	14,8

Полученные частицы смешивали с порошковым сахаром и равномерно наносили на ульи путем равномерного распределения порошкового сахара по поверхности рамок. В других аспектах полутвердый препарат высушенного распылением материала получали в воде, и сахарно-водную лекарственную форму ("конфету для пчел") скармливали ульям пчел, позволяя пчелам ею кормиться.

Пример 6. Уменьшение количества клещей *Varroa* в ульях пчел *in vivo* после обработки дцРНК, нацеленной на гены кальмодулина (CAM).

Варриатозных клещей, паразитирующих на взрослых медоносных пчелах в ульях, собирали и подсчитывали, используя стандартную методику подсчета клещей. Ульи подвергали обработке высушенной распылением дцРНК согласно примеру 7, содержащей SEQ ID NO: 3 (CAM-L), SEQ ID NO: 4 (CAM-S), или не подвергали обработке (контроль). Клещевую нагрузку на каждый улей оценивали в начале эксперимента и через 2 недели, 4 недели и 12 недель после обработки. На ФИГ. 4 показана клещевая нагрузка на подвергнутые обработке ульи по сравнению с ульями, которые не

подвергали обработке. Подсчитанное количество клещей нормировали на 100 взрослых пчел, и оно представляло собой типичную нагрузку клещом *Varroa*.

Пример 7. Обнаружение переходных малых РНК в *Varroa* после обработки дцРНК, нацеленной на гены кальмодулина (CAM).

5 Клещей *Varroa* собирали из ульев, подвергнутых обработке полинуклеотидами дцРНК с последовательностью SEQ ID NO: 3, через 7 дней после обработки. Экстрагировали РНК *Varroa* и проводили анализ секвенирования малых РНК, применяя платформу SOLiD. Большая часть молекул малых РНК была обнаружена за пределами участка последовательности дцРНК и, в частности, в направлении 3'-части участка дцРНК с
10 последовательностью SEQ ID NO: 3. Кроме того, большая часть переходных считываний находилась в антисмысловой ориентации по сравнению с последовательностью транскрипта гена кальмодулина (CAM). Кроме того, в данном эксперименте обнаружили малые РНК, специфичные к CAM-2 (SEQ ID NO: 2), несмотря на то, что ульи были подвергнуты обработке дцРНК против SEQ ID NO: 3, которая, как было предсказано,
15 специфична к CAM-1 (SEQ ID NO: 1). Данное наблюдение подкрепляет гипотезу, состоящую в том, что подавление экспрессии РНК и образования переходных малых РНК в *Varroa* работает, даже когда лишь малый фрагмент полностью идентичен между двумя генами на уровне ДНК (в данном случае 23 нуклеотида).

Пример 8. Гомологи гена кальмодулина (CAM) из видов вредителей и паразитов членистоногих и соответствующие полинуклеотиды дцРНК.

20 Применяя стандартную методику биоинформатики и последовательности SEQ ID NO: 1 и 2 для *Varroa destructor*, идентифицировали набор из 31 консервативной последовательности генов кальмодулина (CAM) у видов вредителей членистоногих, которые паразитируют либо на другом членистоногом, либо на млекопитающем, и
25 которые будут мишенью для регуляции генов. Данные последовательности идентифицировали и представляли в виде филогенетического дерева на ФИГ. 1. Последовательности ДНК на ФИГ. 1 дополнительно анализировали путем идентификации консервативного домена из 373 п.о. внутри каждой последовательности, который соответствует последовательности SEQ ID NO: 3 (CAM_L/CAM373). В таблице
30 4 приведен перечень SEQ ID NO вновь идентифицированных последовательностей генов кальмодулина (CAM), а также соответствующие триггерные последовательности полинуклеотида дцРНК длиной 373 п.о. Последовательности полинуклеотида дцРНК длиной 373 п.о. тестируют либо отдельно, либо в комбинации в анализах кормления непосредственно на соответствующих видах членистоногих.

35 **Таблица 4.** Последовательности генов кальмодулина (CAM), идентифицированные у вредителей или паразитов членистоногих, и соответствующие полинуклеотиды РНК длиной 373 п.о.

SEQ ID NO	Название гена	Организм/вид	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	Culex quinquefasciatus	PHK
	18	CAM-1	Acyrtosiphon pisum	PHK
	19	CAM-1	Harpegnathos saltator	PHK
	20	CAM-1	Pediculus humanus corporis	PHK
5	21	CAM-1	Anopheles gambiae	PHK
	22	CAM-1	Solenopsis invicta	PHK
	23	CAM-3	Varroa destructor	PHK
	24	CAM-1	Tetranychus urticae	кДНК
	25	CAM-1	Tetranychus urticae	PHK
	26	CAM-4	Varroa destructor	кДНК
10	27	CAM-4	Varroa destructor	PHK
	28	CAM-5	Varroa destructor	кДНК
	29	CAM-5	Varroa destructor	PHK
	30	CAM-7	Varroa destructor	кДНК
	31	CAM-7	Varroa destructor	PHK
	32	CAM-8	Varroa destructor	кДНК
15	33	CAM-8	Varroa destructor	PHK
	34	CAM-9	Varroa destructor	кДНК
	35	CAM-9	Varroa destructor	PHK
	36	CAM	Ixodes scapularis	кДНК
	37	CAM	Ixodes scapularis	PHK
	38	CAM	Ixodes scapularis	кДНК
20	39	CAM	Ixodes scapularis	PHK
	40	CAM	Ixodes scapularis	кДНК
	41	CAM	Ixodes scapularis	кДНК
	42	CAM	Ixodes scapularis	PHK
	43	CAM	Aedes aegypti	кДНК
	44	CAM	Aedes aegypti	PHK
25	45	CAM	Aedes aegypti	кДНК
	46	CAM	Aedes aegypti	PHK
	47	CAM	Aedes aegypti	кДНК
	48	CAM	Aedes aegypti	PHK
	49	CAM	Culex quinquefasciatus	кДНК
	50	CAM	Culex quinquefasciatus	PHK
30	51	CAM	Culex quinquefasciatus	кДНК
	52	CAM	Culex quinquefasciatus	PHK
	53	CAM	Culex quinquefasciatus	кДНК
	54	CAM	Culex quinquefasciatus	PHK
	55	CAM	Culex quinquefasciatus	кДНК
	56	CAM	Culex quinquefasciatus	PHK
35	57	CAM	Acyrtosiphon pisum	кДНК
	58	CAM	Acyrtosiphon pisum	PHK
	59	CAM	Acyrtosiphon pisum	кДНК
	60	CAM	Acyrtosiphon pisum	PHK
	61	CAM	Pediculus humanus	кДНК
	62	CAM	Pediculus humanus	PHK
40	63	CAM	Pediculus humanus	кДНК
	64	CAM	Pediculus humanus	PHK
	65	CAM	Pediculus humanus	кДНК
	66	CAM	Pediculus humanus	PHK
	67	CAM	Pediculus humanus	кДНК
45	68	CAM	Pediculus humanus	PHK

Пример 9. Транскрипты гена кальмодулина (CAM) *Varroa* и триггерные последовательности дцРНК.

Последовательности кальмодулина (CAM), приведенные в таблице 5 (SEQ ID NO: 69

и 70), или соответствующие транскрипты использовали в качестве мишеней для полинуклеотидных композиций, содержащих полинуклеотид, который представляет собой по меньшей мере 18 смежных нуклеотидов, идентичных или комплементарных указанным генам или транскриптам. Последовательности 5'- и 3'-НТО последовательностей кальмодулина *Varroa* идентифицировали путем секвенирования РНК.

Таблица 5. Целевые транскрипты генов кальмодулина (СМ) *Varroa destructor*.

Название гена и вид	SEQ ID NO	Тип
СМ-1; <i>Varroa destructor</i>	69	РНК
СМ-2; <i>Varroa destructor</i>	70	РНК

Последовательности SEQ ID NO: 69 и 70 покрывали фрагментами длиной 150 п.о. В таблице 6 проиллюстрирована верхняя цепь (5'-3') для фрагментов длиной 150 п.о., которые целиком покрывают последовательности SEQ ID NO: 69 и 70.

Таблица 6. Покрытые полинуклеотидные последовательности генов СМ-1 и СМ-2.

Название гена	SEQ ID NO	Положение внутри последовательности транскрипта
СМ-1	71	1-150
СМ-1	72	151-300
СМ-1	73	301-450
СМ-1	74	451-600
СМ-1	75	601-750
СМ-1	76	751-900
СМ-1	77	901-1050
СМ-1	78	1051-1200
СМ-1	79	1201-1350
СМ-1	80	1351-1500
СМ-2	81	1-150
СМ-2	82	151-300
СМ-2	83	301-450
СМ-2	84	451-600
СМ-2	85	601-750
СМ-2	86	751-900
СМ-2	87	901-1050

Одну или более дцРНК, включающих последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 71-87, предоставляли *in vitro* клещам *Varroa*, которых растили на чашке Петри, или наносили на поверхности ульев пчел, чтобы повлиять на экспрессию целевых генов СМ и добиться уменьшения популяции клещей *Varroa destructor*.

Пример 10. Биоанализ *in vitro* нацеленных на кальмодулин (СМ) триггеров в клеще *Varroa*.

Полинуклеотидные триггерные последовательности, нацеленные на кальмодулин (СМ)-1 и 2, получали на основании перекрытия консервативных последовательностей СМ-1 и СМ-2. Они представлены как последовательности SEQ ID NO: 88 и 89 (нацеленные на СМ-1 и СМ-2, соответственно).

Способность полинуклеотидных последовательностей, выбранных из последовательностей SEQ ID NO: 88 и 89, подавлять жизнеспособность взрослых клещей *Varroa* исследовали в биоанализе *in vitro*. Взрослых самок клещей собирали из колоний медоносных пчел и помещали в чашку Петри на поверхность искусственной питательной среды. Искусственная питательная среда содержала смесь 1% триптона, 0,5% дрожжевого экстракта, 1% NaCl и 15 мг/мл агара. В данном примере питательную среду

также дополняли противогрибковым раствором (100х, Sigma Aldrich) в конечной 8х концентрации, 500 мкг/мл канамицина и 220 ед/мл нистатина. Раствор питательной среды/агара также дополняли 200-500 мкг/мл дцРНК, и полученный в результате этого раствор выливали на чашку Петри. дцРНК в данном примере состояла либо из SEQ ID NO: 3 (САМ373), либо из SEQ ID NO: 88 (САМ-1), либо из SEQ ID NO: 89 (САМ-2), либо из не подвергнутого обработке контроля (NTC). На каждую чашку наносили по пятнадцать клещей и эксперимент проводили в трех повторах. Чашки с питательной средой и клещами инкубировали при 29°C и при относительной влажности 50-60%. Через определенные промежутки времени осматривали чашки и мертвых клещей подсчитывали и удаляли. Для исследования летальности, клещей подсчитывали через пять и шесть дней после того, как их помещали на питательную среду (ФИГ. 5.). Кроме того, дцРНК для SEQ ID NO: 88 (САМ-1) и SEQ ID NO: 89 (САМ-2) смешивали в эквимолярном количестве и кормили ими клещей, как описано выше. На ФИГ. 6 показан результат настоящего изобретения.

Для молекулярного анализа живых клещей удаляли с чашек, быстро замораживали в жидком азоте и проводили анализ ТАQMAN™, чтобы оценить уровни РНКкальмодулина (САМ).

Пример 11. Снижение уровня заражения клещом *Varroa in vivo* подвергнутых обработке в поле ульев пчел после обработки дцРНК, нацеленной на ген кальмодулина (САМ).

дцРНК, которую используют для подавления экспрессии целевых генов кальмодулина (САМ) *Varroa*, получали путем смешивания исходного раствора дцРНК в фосфатном буфере с 66% сахарным сиропом. Жидкую лекарственную форму давали в виде сиропа пчелам, позволяли им кормиться до тех пор, пока они его не съели (приблизительно 2-3 дня). Каждая группа полевого испытания состояла из 33 ульев. Указанные группы состояли из неподвергнутых обработке ульев, подвергнутых обработке неспецифическим триггером (SEQ ID NO: 5) ульев и подвергнутых обработке специфическим триггером (SEQ ID NO: 3) ульев. Пчел подвергали двум циклам обработки, каждый цикл состоял из двух кормлений с интервалом в две недели: в начале доставки (неделя 0) и две недели спустя (неделя 2), а затем снова в недели 13 и 15. Оценку выживаемости пчел проводили через 4, 9, 13, 15 и 17 недель (ФИГ. 7). Существенное подавление популяции *Varroa* наблюдали после обработки специфическим триггером (SEQ ID NO:3) через 9 недель.

Пример 12. Биоанализ *in vitro* нацеленных на кальмодулин (САМ) триггеров в клеще *Varroa*.

Полинуклеотидные триггерные последовательности, нацеленные на кальмодулин (САМ)-1 и 2, получали на основании перекрытия консервативных последовательностей САМ-1 и САМ-2. Они представлены в таблице 7 как последовательность SEQ ID NO: 3. Кроме того, указанные полинуклеотидные последовательности модифицировали, чтобы избежать наличия в них непрерывного участка последовательности из 19 оснований, которые идентичны или комплементарны последовательности гена нецелевого организма. Данные модификации представлены в полинуклеотидных последовательностях SEQ ID NO: 90-92.

Таблица 7. Триггеры, нацеленные на САМ-1 и САМ-2.

Целевой ген	SEQ ID NO	Нативная или модифицированная
САМ-1	3	Нативная
САМ-1	90	Делеция 4 п.о.
САМ-1	91	Делеция 4 п.о.
САМ-2	92	Делеция 1 п.о.

В биоанализе *in vitro* исследовали способность полинуклеотидных последовательностей подавлять жизнеспособность взрослых клещей *Varroa*. Взрослых самок клещей собирали из колоний медоносных пчел и помещали в чашку Петри на поверхность искусственной питательной среды. Искусственная питательная среда содержала смесь 1% триптона, 0,5% дрожжевого экстракта, 1% NaCl и 15 мг/мл агара. В данном примере питательную среду также дополняли противогрибковым раствором (100x, Sigma Aldrich) в конечной 8x концентрации, 500 мкг/мл канамицина и 220 ед/мл нистатина. Раствор питательной среды/агара также дополняли 200-500 мкг/мл дцРНК (либо SEQ ID NO: 3 (CAM373), либо SEQ ID NO: 90 (CAM-1), либо SEQ ID NO: 92 (CAM-2)), и полученный в результате этого раствор выливали на чашку Петри. Также получали чашки, содержащие искусственную питательную среду без дцРНК (не подвергнутый обработке контроль (NTC)). На каждую чашку наносили по пятнадцать клещей и эксперимент проводили в трех повторах. Чашки с питательной средой и клещами инкубировали при 29°C и при относительной влажности 50-60%. Через определенные промежутки времени осматривали чашки, и мертвых клещей подсчитывали и удаляли. Клещей подсчитывали через пять и шесть дней после того, как их помещали на питательную среду, чтобы определить смертность.

На ФИГ. 8 показано, что наблюдали повышенную смертность клещей, подвергнутых обработке дцРНК (либо SEQ ID NO: 3 (CAM373), либо SEQ ID NO: 90 (CAM-1), либо SEQ ID NO: 92 (CAM-2)), через 5 и 6 дней после обработки по сравнению с клещами, которые не получали РНК.

Проводили дополнительный биоанализ *in vitro*, описанный выше, в котором клещей подвергали обработке: эквимольной смесью дцРНК, содержащей SEQ ID NO: 90 (CAM-1) и SEQ ID NO: 92 (CAM-2); дцРНК, включающей SEQ ID NO: 3 (CAM373), или дцРНК, включающей SEQ ID NO: 91 (CAM-1). На ФИГ. 9 показано, что у клещей, подвергнутых обработке дцРНК, включающей SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 91, или смесью дцРНК, содержащей SEQ ID NO: 90 и SEQ ID NO: 92, выявили пониженную жизнеспособность в день 4 (Д4). Проводили молекулярный анализ на живых клещах. Клещей удаляли с чашки, быстро замораживали в жидком азоте и проводили анализ Quantigene™, чтобы оценить уровни РНК кальмодулина (CAM). Результаты показаны на ФИГ. 10.

Пример 13. Снижение уровня заражения клещом *Varroa in vivo* подвергнутых обработке в поле ульев пчел после обработки дцРНК, нацеленной на ген кальмодулина (CAM).

дцРНК, которую используют для подавления экспрессии целевых генов кальмодулина (CAM) *Varroa*, получали путем смешивания исходного раствора дцРНК в фосфатном буфере с 66% сахарным сиропом. Жидкую лекарственную форму давали в виде сиропа пчелам, позволяли им кормиться до тех пор, пока они его не съели (приблизительно 2-3 дня). Каждая группа полевого испытания состояла из 40 ульев. Указанные группы состояли из неподвергнутых обработке ульев и подвергнутых обработке специфическим триггером (SEQ ID NO: 91 или SEQ ID NO: 94) ульев. Последовательность SEQ ID NO 94 идентична SEQ ID NO 3, за исключением вставки от трех оснований на 5'-конце триггера. Пчел подвергали двум циклам лечения, каждый цикл состоял из двух кормлений с интервалом в две недели: в начале доставки (неделя 0) и две недели спустя (неделя 2), а затем снова в недели 13 и 15. Дозировка составляла приблизительно 200 мг триггера на улей. Оценку выживаемости пчел проводили через 0, 3, 6, 8, 14 и 19 недель (ФИГ. 11). Существенное подавление популяции *Varroa* наблюдали после обработки специфическими триггерами (SEQ ID NO: 91 и 94) уже в неделю 3.

СПИСОК ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

<110> Beeologics, Inc
Monsanto Technology LLC
Inberg, Alex
Капоор, Махак

5 <120> КОМПОЗИЦИИ И СПОСОБЫ КОНТРОЛЯ
ЗАРАЖЕНИЯ ЧЛЕНИСТОНОГИХ ПАРАЗИТАМИ И ВРЕДИТЕЛЯМИ
<130> P34304W000
<160> 94
<170> PatentIn версии 3.5

10 <210> 1
<211> 450
<212> ДНК
<213> Varroa destructor
<400> 1

15 atggctgatc agctaactga ggaacagatc gccgagttca aagaggcgtt tagcctgttt 60
gacaaggacg gagatggcac gatcacgaca aaggagctcg gtacggtaat gcgatctctc 120
ggccagaacc ccaactgaggc tgaactgcag gacatgatca acgaggtcga cgccgacggc 180
tccggaacga tagatthccc tgagttcctc acaatgatgg caagaaagat gaaggacacc 240
gactcggagg aggagatccg agaggcgttc cgcgtattcg acaaggatgg caacggtttc 300
20 atttcggcgg ccgagctcag gcacgttatg accaaccttg gcgagaagct tacggacgag 360
gaggtagatg agatgattcg ggaggcagat attgacgggt atggtcaggt caactacgag 420
gagttcgtca ccatgatgac gtccaagtaa 450
<210> 2
<211> 450

25 <212> ДНК
<213> Varroa destructor
<400> 2

atggcggatc agctgaccga ggagcaaatc gccgaattca aggaggcttt cagcctgttc 60
gataaagacg gtgatggcac aattacgacc aaggaactag ggaccgtcat gcggtccctc 120
30 ggccagaacc ctactgaggc tgagcttcaa gacatgatca acgaggtcga cgctgacggg 180
aacggcacta ttgactttcc agagtttctc acgatgatgg cgcgtaaaat gaaggacacc 240
gactccgagg aggagatccg ggaagctttt agggtttttg ataaagacgg aatggcttc 300
atthcggctg cagagctgag gcacgtaatg accaaccttg gcgaaaagct cacggacgag 360
gaagtggacg agatgatccg cgaggcggat atcgacggcg acggacaggt caactacgag 420
35 gagttcgtca cgatgatgac atcaaaatga 450
<210> 3
<211> 373
<212> РНК
<213> Varroa destructor

40 <400> 3

acagaucgcc gaguucaaaг aggcguuuag ccuguuugac aaggacggag auggcacgau 60
cacgacaaaг gagcucggua cgguaaugcg aucucucggc cagaaccса cugaggcuga 120
acugcaggac augaуcaacг aggucgacgc cgacggcucc ggaacgauag auuucccuga 180
guuccucaca augauggcaa gaaagaugaa ggacaccgac ucggaggagg agauccgaga 240
45 ggcguuccgc гуаиисгаса аггаиисгсаа cgguuucauu ucggcgccg агсисаггса 300
cguaaugacc aaccuuggcg agaagcuuac ggacgaggag гуагаиисага uгаиисггга 360
ggcagaуаиис гас 373
<210> 4

	<211>	186	
	<212>	PHK	
	<213>	Varroa destructor	
	<400>	4	
5		acaaugaugg caagaaagau gaaggacacc gacucggagg aggagauccg agaggcguuc	60
		cgcguaauucg acaaggaugg caacgguuuc auuucggcgg ccgagcucag gcacguuaug	120
		accaaccuug gcgagaagcu uacggacgag gagguagaug agaugauucg ggaggcagau	180
		auugac	186
	<210>	5	
10	<211>	274	
	<212>	PHK	
	<213>	Неизвестно	
	<400>	5	
		auacuuacug gugcuaauuu uuaucgagga ugcccaacuc cccccacuuu aaaacugcga	60
15		ucauacuaac gaacucccga aggagugaaa ggugucuaug uugagcuuaa uaaccuaccu	120
		ugcgagcaaa gaaggacuag uugaccucgg gcaccuuaa uuguuauguu guuucgaacu	180
		gaguuggcac ccaugcugca caugcaacaa acaugucggc cuucgugucu auccuagaaa	240
		aguaccugug aacuuggcug ucuacaucan cauc	274
	<210>	6	
20	<211>	432	
	<212>	ДНК	
	<213>	Varroa destructor	
	<400>	6	
		ctgccggagg aacaggtggc tgaatttaaa gaggcctttc ttttgtttga caaggacgcc	60
25		gatggaatga ttacggccgc cgaactaggc gtcgtcatgc gatcgcttgg ccagcgacct	120
		acggagcaag agctcaagaa aatggttacc atggttgacc aggacggcaa tggtaacaatc	180
		gagttcaacg agtttttgat gatgatgtct cgcaagatga aggaggcaga ctccggaggaa	240
		gaactccggg aggcgttccg tgtgttcgat cgagacggtg acggattcat ctccggggac	300
		gagctcagtg tcgtcatgaa caacctcggc gaaaaattaa gtgacgatga tgttgaggat	360
30		atgattcgag aggccgatct ggacggcgat ggcaagatta actaccaaga gtttgtgctc	420
		attatcacct cc	432
	<210>	7	
	<211>	480	
	<212>	ДНК	
35	<213>	Ixodes scapularis	
	<400>	7	
		atggctgata agcttacaga agaacagatt gcagttcaag gaggcgttct tcgctgttcg	60
		acaaggacgg aggatggcac catcacgacc aaggagctgg gcacggatcat gcgctcgctc	120
		ggccagaacc cgacggaggc ggagctgcag gacatgatca acgagggtga cgcagacggc	180
40		aacggaacga tcgacttccc cgagttcctt acgatgatgg cgcgcaagat gaaggacacg	240
		gactctgagg aggatgccg ggaggcgttc cgggtgttcg acaaggacgg caacggcttc	300
		atctctgcgg cggagctgcg ccacgtcatg accaacctgg gcgagaagct gacggacgag	360
		gaggtggacg agatgatccg ggaggcggac atcgacgggg acgggcaggt caactacgaa	420
		ggtgggcacg ctttccctcc cttgggttatc ctctgtctat gctttctgca gttgctgtga	480
45	<210>	8	
	<211>	450	
	<212>	ДНК	
	<213>	Aedes aegypti	

	<400>	8							
			atggccgatac	aacttacaga	agagcagatt	gccgaattca	aagaagcggt	ttcgcgtgttc	60
			gacaaagacg	gtgacggcac	aatcacaacc	aaggaactgg	gaaccgtgat	gcgatcgtta	120
			ggccagaacc	ccacagaagc	agaactgcaa	gatatgataa	acgaagtcga	cgcgacggc	180
5			aacggcacga	tcgatttccc	cgaattcctg	accatgatgg	ctcgcaaaaat	gaaggacacc	240
			gatagcgaag	aggaaatccg	ggaggcgttc	cgagtcttcg	acaaggacgg	caacggcttc	300
			atctcggcag	ctgagctgcg	tcatgtcatg	accaatctcg	gcgagaagct	aacggacgag	360
			gaggtggatg	agatgatccg	cgaagccgac	atagatggcg	atggccaagt	taattatgaa	420
			gaattcgtaa	caatgatgac	atcgaagtga			450	
10			<210>	9					
			<211>	450					
			<212>	ДНК					
			<213>	<i>Culex quinquefasciatus</i>					
			<400>	9					
15			atggccgatac	aacttacaga	ggaacagatc	gccgagttca	aagaagcggt	ctcgcgtgttc	60
			gacaaagacg	gtgacggcac	gatcacgacc	aaggagctgg	gcaccgtgat	gcgatcgtta	120
			ggccagaacc	ccacagaagc	agagctgcaa	gacatgataa	acgaggtcga	tgcgacggc	180
			aacggcacga	tcgacttccc	cgagtttctc	accatgatgg	ctcgcaaaaat	gaaggacacc	240
			gatagcgaag	aggaaatccg	ggaggcgttc	cgagtcttcg	acaaggacgg	caacggcttc	300
20			atctcggcgg	ccgagctgcg	ccacgtcatg	accaatctcg	gcgagaagct	cacggacgag	360
			gaggtggatg	agatgatccg	cgaagccgac	attgacggcg	atggccaagt	taattatgaa	420
			gaattcgtaa	caatgatgac	atcgaagtga			450	
			<210>	10					
			<211>	450					
25			<212>	ДНК					
			<213>	<i>Acyrtosiphon pisum</i>					
			<400>	10					
			atggctgatac	aactaacaga	agaacagatt	gccgaattca	aagaggcggt	ttcgcctattc	60
			gacaaggacg	gagatggtag	catcaccacc	aaagaacttg	gaaccgtcat	gaggtcttta	120
30			ggccaaaatc	cgactgaagc	tgaactccaa	gatatgatta	acgaggtcga	tgctgatggc	180
			aacggcacga	tagatttccc	agagttcttg	actatgatgg	cccgcaaaaat	gaaggatacc	240
			gatagtgagg	aagaaatcag	agaggctttc	cgtgtatttg	ataaggatgg	aaacggcttt	300
			attagtgcag	ctgagctgcg	tcatgtgatg	actaaccttg	gagaaaagct	caccgatgaa	360
			gaggttgatg	aatgatcag	ggaagctgac	attgatgggtg	atgggtcaagt	caactatgaa	420
35			gagttcgtga	ccatgatgac	ttctaagtga			450	
			<210>	11					
			<211>	441					
			<212>	ДНК					
			<213>	<i>Harpegnathos saltator</i>					
40			<400>	11					
			caactcacag	aggaacagat	cgcagagttt	aaggaagcct	tctcgcctatt	cgacaaagat	60
			ggcgatggca	ctataacgac	taaagaattg	ggtacagtca	tgcgatccct	gggtcaaaaat	120
			cccacagagg	ccgagttaca	agacatgatt	aatgaagtag	acgcagatgg	taacggtaga	180
			atcgactttc	cggagttcct	gaccatgatg	gcacgcaaaa	tgaaggatac	ggacagcgag	240
45			gaggagatca	gggaggcctt	cagagtgttc	gataaggatg	gaaatggttt	catatccgca	300
			gcggaactca	gacatgttat	gacaaaatctg	ggcgagaaac	tgaccgatga	ggaagtagat	360
			gaaatgatac	gggaggcaga	tatcgacggc	gatggccaag	tgaattatga	agaatttggtg	420
			acgatgatga	catcaaagtg	a			441	

	<210>	12						
	<211>	459						
	<212>	ДНК						
	<213>	<i>Pediculus humanus corporis</i>						
5	<400>	12						
		atggtttctt	tttttttgcg	agctgatcag	ttgaccgaag	aacaaattgc	cgaattcaag	60
		gaagcatttt	ccttattcga	caaagatggc	gatggtacca	taacaactaa	ggaattgggt	120
		acggttatga	gatcactcgg	tcagaatccc	acagaagcag	aattacaaga	tatgattaat	180
		gaagtggatg	cagatggtaa	tggtaccatc	gattttcccg	agttcctcac	catgatggct	240
10		agaaaaatga	aggatacaga	cagcgaagaa	gaaattagag	aagcattcag	agttttcgat	300
		aaggatggta	atggttttat	atcggcagcc	gagctaaggc	acgtcatgac	gaacctgggt	360
		gaaaaattaa	cagacgaaga	agtggatgaa	atgattcgag	aggctgatat	cgacggagat	420
		ggacaagtga	attacgaaga	atthgtggaa	aacttgtga			459
	<210>	13						
15	<211>	459						
	<212>	ДНК						
	<213>	<i>Anopheles gambiae</i>						
	<400>	13						
		atggccgatc	aacttacgga	agaacagatc	gctgaattca	aagaagcgtt	ctcgtctgtc	60
20		gacaaggacg	gcgatggcac	aatcaccacc	aaggaattag	gcaccgtgat	gcgatcgcta	120
		ggccagaacc	ccacagaagc	tgaattgcaa	gacatgatca	acgaagtcga	cgcgacgggt	180
		aacggcacga	tcgatttccc	cgagtttcta	acaatgatgg	ctcgtaaaat	gaaggacacg	240
		gacagtgaag	aggaaatccg	ggagggcattc	cgagtcttcg	acaaggacgg	caacggtttt	300
		atctctgcag	ctgagctgcg	ccacgtcatg	actaatctgg	gcgagaagct	aacagacgag	360
25		gaggctgcag	agatgatccg	tgaagccgat	atagatggcg	atggccaggt	taattatgaa	420
		ggtaagagtt	gcctttcgcg	cccacaccaa	gcattgttt			459
	<210>	14						
	<211>	501						
	<212>	ДНК						
30	<213>	<i>Solenopsis invicta</i>						
	<400>	14						
		atgatcggca	cgataacgac	gagaaaattcc	attattttcag	aattcaaaga	ggcattttatg	60
		cttttcgaca	aggacgaaga	tggcacgatt	acgatggcgg	aattaggggt	tgtcatgcgg	120
		tctctcggtc	aaagaccgtc	ggagacggaa	ctgcgcgata	tggtgaatga	ggtagatcaa	180
35		gatggaaatg	gtaccatcga	gtttaacgaa	tttctgcaga	tgatgtcgaa	gaagatgaaa	240
		agcgccgacg	gagaggacga	acttcgcgag	gcgttccgag	tgttcgataa	gaacaacgat	300
		ggcttaatat	cttcgaaaaga	gttgcgacac	gtaatgacga	atcttgggtga	aaagctctct	360
		gaggaggagg	tcgatgatat	gattaaggag	gcggatctag	atggcgacgg	aatggccaac	420
		tacgaaggta	acattttggt	ttgcctagat	gtttatttcta	taatagattt	agaatttatt	480
40		ctaagcgata	tagatgaatt	g				501
	<210>	15						
	<211>	364						
	<212>	PHK						
	<213>	<i>Ixodes scapularis</i>						
45	<400>	15						
		aguucaagga	ggcguucuuc	gcuguucgac	aaggacggag	gauggcacca	ucacgaccaa	60
		ggagcugggc	acggucaugc	gcucgucg	ccagaacccg	acggaggcgg	agcugcagga	120
		caugaucaac	gagguggacg	cagacggcaa	cggaacgauc	gacuuccccg	aguuccuac	180

	gaugauggcg	cgcaagauga	aggacacgga	cucugaggag	gagauccggg	aggcguuccg	240
	gguguucgac	aaggacggca	acggcuucau	cucugcggcg	gagcugcgcc	acgucaugac	300
	caaccugggc	gagaagcuga	cggacgagga	gguggacgag	augauccggg	aggcggacau	360
	cgac						364
5	<210>	16					
	<211>	372					
	<212>	PHK					
	<213>	Aedes aegypti					
	<400>	16					
10	gcagauugcc	gaauucaaaag	aagcguuuuc	gcuguucgac	aaagacggug	acggcacaau	60
	cacaaccaag	gaacugggaa	ccgugaugcg	aucguuaggc	cagaacccca	cagaagcaga	120
	acugcaagau	augauaaaacg	aagucgacgc	ggacggcaac	ggcacgaucg	auuuccccga	180
	auuccugacc	augauggcuc	gcaaaaugaa	ggacaccgau	agcgaagagg	aaauccggga	240
	ggcguuccga	gucuucgaca	aggacggcaa	cggcuucauc	ucggcagcug	agcugcguca	300
15	ugucaugacc	aaucucggcg	agaagcuaac	ggacgaggag	guggaugaga	ugauccgcga	360
	agccgacaua	ga					372
	<210>	17					
	<211>	373					
	<212>	PHK					
20	<213>	Culex quinquefasciatus					
	<400>	17					
	acagaucgcc	gaguucaaaag	aagcguucuc	gcuguucgac	aaagacggug	acggcacgau	60
	cacgaccaag	gagcugggca	ccgugaugcg	aucguuaggc	cagaacccca	cagaagcaga	120
	gcugcaagac	augauaaaacg	aggucgaugc	ggacggcaac	ggcacgaucg	acuuccccga	180
25	guuucucacc	augauggcuc	gcaaaaugaa	ggacaccgau	agcgaagagg	aaauccggga	240
	ggcguuccga	gucuucgaca	aggacggcaa	cggcuucauc	ucggcggccg	agcugcgcca	300
	cgucaugacc	aaucucggcg	agaagcucac	ggacgaggag	guggaugaga	ugauccgcga	360
	ggccgacauu	gac					373
	<210>	18					
30	<211>	372					
	<212>	PHK					
	<213>	Acyrtosiphon pisum					
	<400>	18					
	acagauugcc	gaauucaaaag	aggcguuuuc	gcuauucgac	aaggacggag	augguaccu	60
35	caccaccaaaa	gaacuuggaa	ccgucaugag	gucuuuaggc	caaaauccga	cugaagcuga	120
	acuccaagau	augauuaacg	aggucgaugc	ugauggcaac	ggcacgauag	auuucccaga	180
	guucuugacu	augauggccc	gcaaaaugaa	ggauaccgau	agugaggaag	aaucagaga	240
	ggcuuuccgu	guauuugaua	aggauuggaaa	cggcuuuauu	agugcagcug	agcugcguca	300
	ugugaugacu	aaccuuggag	aaaagcucac	cgaugaagag	guugaugaaa	ugaucaggga	360
40	agcugacauu	ga					372
	<210>	19					
	<211>	373					
	<212>	PHK					
	<213>	Harpegnathos saltator					
45	<400>	19					
	acagaucgca	gaguuaaagg	aagccuucuc	gcuauucgac	aaagauggcg	auggcacuau	60
	aacgacuaaaa	gaauugggua	cagucaugcg	aucccguggu	caaaauccca	cagaggccga	120
	guuacaagac	augauuaaag	aaguagacgc	agaugguaac	gguacaauucg	acuuccccga	180

	guucuugacc	augauggcac	gcaaaaugaa	ggauacggac	agcgaggagg	agaucagggg	240
	ggccuucaga	guguucgaua	aggauaggaa	ugguuucaua	uccgcagcgg	aacucagaca	300
	uguuauagaca	aaucugggcg	agaaacugac	cgaugaggaa	guagaugaaa	ugauacggga	360
	ggcagauauc	gac					373
5	<210>	20					
	<211>	373					
	<212>	PHK					
	<213>	Pediculus humanus corporis					
	<400>	20					
10	acaaaugcc	gaauucaagg	aagcauuuuc	cuuauucgac	aaagauggcg	augguaccou	60
	aacaacuaag	gaauugggua	cgguuauagag	aucacucggu	cagaauccca	cagaagcaga	120
	auuacaagau	augauuaaug	aaguggaugc	agaugguaau	gguaccaucg	auuuucccga	180
	guuccucacc	augauggcua	gaaaaaugaa	ggauacagac	agcgaagaag	aaauuagaga	240
	agcauucaga	guuuucgaua	aggauagguaa	ugguuuuaua	ucggcagccg	agcuaaggca	300
15	cgucaugacg	aaccugggug	aaaaauaac	agacgaagaa	guggaugaaa	ugauucgaga	360
	ggcugauauc	gac					373
	<210>	21					
	<211>	372					
	<212>	PHK					
20	<213>	Anopheles gambiae					
	<400>	21					
	acagaucgcu	gaauucaaag	aagcguucuc	gcuguucgac	aaggacggcg	auggcacaau	60
	caccaccaag	gaauuaggca	ccgugaugcg	aucgcuaggc	cagaacccca	cagaagcuga	120
	auugcaagac	augaucaacg	aagucgacgc	ggacgguaac	ggcacgaucg	auuuccccga	180
25	guuucuaaca	augauggcuc	guaaaaugaa	ggacacggac	agugaagagg	aaauccggga	240
	ggcauuccga	gucuucgaca	aggacggcaa	cgguuuuauc	ucugcagcug	agcugcgcca	300
	cgucaugacu	aaucugggcg	agaagcuaac	agacgaggag	gucgacgaga	ugauccguga	360
	agccgauaua	ga					372
	<210>	22					
30	<211>	364					
	<212>	PHK					
	<213>	Solenopsis invicta					
	<400>	22					
	cagaauuca	agaggcauuu	augcuuuucg	acaaggacga	agauggcacg	auuacgaugg	60
35	cggaaauagg	gguugucaug	cggucucucg	gucaaagacc	gucggagacg	gaacugcgcg	120
	auauggugaa	ugagguagau	caagauggaa	augguaccou	cgaguuuuac	gaauuucugc	180
	agaugauguc	gaagaagaug	aaaagcgccg	acggagagga	cgaacuucg	gaggcggucc	240
	gaguguucga	uaagaacaac	gauggcuuaa	uaucuucgaa	agaguugcga	cacguaauga	300
	cgaaucuugg	ugaaaagcuc	ucugaggagg	aggucgauga	uauuuuag	gaggcggauc	360
40	uaga						364
	<210>	23					
	<211>	373					
	<212>	PHK					
	<213>	Varroa destructor					
45	<400>	23					
	acagguggcu	gaauuuuuaag	aggccuuucu	uuuguuugac	aaggacgccg	auggaugau	60
	uacggccgcc	gaacuaggcg	ucgucaugcg	aucgcuuggc	cagcgaccua	cggagcaaga	120
	gcucaagaaa	augguuacca	ugguugacca	ggacggcaau	gguacaucg	aguucaacga	180

	guuuuugaug augaugucuc gcaaugaugaa ggaggcagac ucggaggaag aacuccggga	240
	ggcguuccgu guguucgauc gagacgguga cggauucauc ucgcgggacg agcucagugu	300
	cgucaugaac aaccucggcg agaaaauaag ugacgaugau guugaggaua ugauucgaga	360
	ggccgaucug gac	373
5	<210> 24	
	<211> 627	
	<212> ДНК	
	<213> Tetranychus urticae	
	<400> 24	
10	attcatcaga tttaaaatta ttcaccttgt acctgaatta aaacaatagt attatataag	60
	atggctgacc agctaactga agagcaaatt gctgaattta aggaggcctt ttcattgttt	120
	gataaagatg gtgatggtac aattaccacc aaggaattgg gaactgttat gagaagtcta	180
	ggtcaaaatc caacagaagc ggaattacaa gatatgatca atgaagttga tgccgatggt	240
	aatggtaacta ttgatTTTTCC tgaattcttg actatgatgg ctagaaaaat gaaggataca	300
15	gactcagagg aggaaatccg tgaagctttc cgtgtttttg ataaagatgg taatggTTTT	360
	atTTctgctg ctgaattgag acatgtaatg accaatttgg gtgaaaaatt gaccgacgaa	420
	gaagtagatg aaatgattcg tgaagccgat attgacggtg atggtcaagt taattatgaa	480
	gaatttgtaa cgatgatgac atccaaatga ataaaagcac aaggTTaatt gttcatttta	540
	attagatcca atggatccca tcagtgcacg ggataaaaaat taatcaataa aagatgaaaa	600
20	gcaaaaaata catggaagct atcatca	627
	<210> 25	
	<211> 372	
	<212> РНК	
	<213> Tetranychus urticae	
25	<400> 25	
	caauuugcug aauuuuagga ggccuuuuca uuguuugaua aagaugguga ugguacaauu	60
	accaccaagg aaуgggaac uгуuаugаgа агисuаgгис ааааиссаас агааgсgгaa	120
	uuacaagaua ugaусаауга агуuгаugсc гауггуаауг гуасuаuуга uuuuccugaa	180
	uuуuгасuа uгаugгсuаg аааааугааg гаuасаgасu саgаgгаgга ааиссгugaa	240
30	гсуииссгиг uuuuugauaa агауггуааu ггуuuuаuuu сугсугсуга ауггасаu	300
	гуааугасса аууggгуга ааааугасс гасгаагааg uагаугаааu гауисгugaa	360
	гссгаuауug ас	372
	<210> 26	
	<211> 1114	
35	<212> ДНК	
	<213> Varroa destructor	
	<220>	
	<221> Неясно	
	<222> (1)..(1114)	
40	<223> неясно во всех n положениях	
	<220>	
	<221> misc_feature	
	<222> (1100)..(1110)	
	<223> n представляет собой a, c, g или t	
45	<400> 26	
	ggctcgtaca ccgagagaga acggtggact ccattgctgt cctgagtgcg tttctcgtcg	60
	gctgtgtcgt attgcgtgtc tgtccgtgct ttcgtgcaca taagttttct ttccacattg	120
	gagatattgt gaatagtatc ctttgtgttt agtgcctgaa caatatttga aatcgtcgaa	180

RU 2 755 275 C2

cgtatcaaga cataaaaaacg agccaaaaatg gctgatcaac ttacggaaga acaaatcgca 240
 gaatttaagg aagcattttc actatttgat aaagatggag atggtacat cacaactaaa 300
 gagttgggta cagttatgcg atcactaggt caaaatccca cagaagctga gcttcaggat 360
 atgattaatg aagttgatgc agatggtaat ggcaaatcg attttccgga attcttaact 420
 5 atgatggctc gtaaaatgaa agatactgat agtgaggaag aaattagga ggccttcaga 480
 gtatttgata aggatggaaa tggtttcata tccgcagcag aactcagaca tgttatgaca 540
 aatcttggcg agaaactcac tgatgaagaa gttgatgaaa tgattcggga ggctgacatt 600
 gatggtgatg gccaaagtaa ttatgaagaa ttcgtcacia tgatgacatc aaagtgaatg 660
 caacctgtgt aatggaaaaa cttgcaactt ggagtgggtg tgacgtatta agataaatca 720
 10 agaaacaaag aaaaaataaa tgttaacaaa aaacgaatcg accagaaagt gaaaaaatc 780
 ttgtatctgg acgcaaagat gtctataaaa cgcgaaaaat taacgtcaa cacgcgtaa 840
 tcatcattaa cgataagtaa tacagggcaa ttgtttaatt aaaagagtta taccactaaa 900
 aatcattatc tctaaataca caaaacttaa ttacacaaca tgaacataaa aatacatatt 960
 actcgcgcac atacatgaat acaaaaaaat atacagcaca cagaaatacc atctacataa 1020
 15 aagataatth atttccgtat taaaaagtat ataattaaaa aatgtagag atatatatat 1080
 ataatatata tatatatatn nnnnnnnnnn gtaa 1114
 <210> 27
 <211> 372
 <212> PHK
 20 <213> Varroa destructor
 <400> 27
 acaaaucgca gaauuuuagg aagcauuuuc acuauuugau aaagauggag augguaccuu 60
 cacaacuaaa gaguugggua caguuaugcg aucacuaggu caaaaucca cagaagcuga 120
 gcuucaggau augauuuuagg aaguugaugc agauugguaau ggcaaaucg auuuuccgga 180
 25 auucuuuacu augauggcuc guaaaaugaa agauacugau agugaggaag aaauuagggg 240
 ggccuucaga guauuuugaa aggauggaaa ugguuucaua uccgcagcag aacucagaca 300
 uguuaugaca aaucuuuggcg agaaacucac ugaugaagaa guugaugaaa ugauucggga 360
 ggcugacauu ga 372
 <210> 28
 30 <211> 822
 <212> ДНК
 <213> Varroa destructor
 <400> 28
 tttttttttt ttttogaaga aatcgtatca tcgaacatcg gatcgaatth cgatccacga 60
 35 cgctcgaatt acatgcaacg aagtgaatgt cagagggggg ggggcagggg aaaagtatgc 120
 gacgaacgtg tacgtccgtc gtccgctggc tcgtcgttaa ttcgttctat ctaacacaga 180
 cacgagaata agtaagatcc tagtagcccg gggacagcac ctctctctc tcgtctctct 240
 cgctcgtcgc gatccccggc tctccgagcg cgtggacgaa ttcgtagaaa tcgatacggc 300
 cgtctccgtc cacgtccact tccttgatca tatcctcgat ctcttcttcc gacaagtctc 360
 40 cgccgagaca ttgcagcact gccctcaaat cggatgcggt gatgtatcct cgattgtggt 420
 tatcgaatac ccggaacgca tccctcagct cctgctcttc ctgatcctga tccgtggggg 480
 cggtttcatt cgcacctatg ttgctcacga tttccacgaa ctcttcgaag ctgacatttc 540
 catccccgtc gatgtcgcgc tcttgcaaca tgggtgcgag ctctcggcc ctgcgcaatt 600
 gccccaacga ggcgatcacc ctcccagct cctcctcgt gatgctcccg tccccgtcct 660
 45 tgtcgaacag tctgaacgct tccctgaatt ctttcatttg agatttggat atattgctcg 720
 gtatcttggg ggacgactca gaggcggatt ttttcggcga cgcaggaag gagaagagga 780
 cgttgggtcga caatttgccg gcctccgtgg acgaggaggc cg 822
 <210> 29

<211> 300
 <212> PHK
 <213> Varroa destructor
 <400> 29

5 aacguguacg uccgucgucc gcuggcucgu cguuaauucg uucuaucuaa cacagacacg 60
 agaauaagua agauccuagu agccccggga 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

10 <210> 30
 <211> 2577
 <212> ДНК
 <213> Varroa destructor
 <400> 30

15 ctgctgctgc tgctgctgct gctgctgccg tgtaagaac tagacaaagg caacaaccgg 60
 aagacatctg ttaggccagt tgggtgaagg gaaataaact cgcaacaaag agctactgtt 120
 gcaaaagcta tctgttctga gtcctagact agactgggat cgactaacia ctctgcaggc 180
 cgtggaccac tatcactgaa caacgccgca ggaccgagcg attgagaagt tggccgcggc 240
 tgggacgctc tggtcactt gatctgatta ctacttacac caggtcaatt taaccaagcc 300

20 gttgaaccac tcctacatgg aaacacacat ctacactctc atccaattgt gtacacgcga 360
 agcaaacgac aacggtatta gcagcgacac taacaaaaac gaatctgcca gaaaccgagt 420
 aacgctgatt tctgcagcgg cgttcctacg aacttaccac agaccgggtc ggacacaatag 480
 tttgaagggt agcatcggcc cgtgaactat agtgaaagga actgagcgaa atactatagt 540
 tgttgaacag caggcttcaa agtaaagaag tgaatattct tatggtgaca acaaatTTTg 600

25 tctgtagtgg tcaagaccct actcaatgaa gtgagaagcg aattcatatg tgctcagtta 660
 tagcagttgt ttgtcgtaat gccgccaata tacgacgtct gtgtgtctcg atactggcgt 720
 atctgactga ttccgatcgg tgtcattgat ctgcaaagcc aattgtttc tttacgtccc 780
 ggatagagca aacgatcatg gcaacggaaa catttggcct gccggaggaa caggtggctg 840
 aatttaaaga ggcctttctt ttgtttgaca aggacgccga tggaatgatt acggccgccg 900

30 aactaggcgt cgtcatgcga tcgcttggcc agcgacctac ggagcaagag ctcaagaaaa 960
 tggttaccat ggttgaccag gacggcaatg gtacaatcga gttcaacgag tttttgatga 1020
 tgatgtctcg caagatgaag gaggcagact cggaggaaga actccgggag gcgttccgtg 1080
 tgttcgatcg agacggtgac ggattcatct cgcgggacga gctcagtgtc gtcatgaaca 1140
 acctcggcga gaaattaagt gacgatgatg ttgaggatat gattcgagag gccgatctgg 1200

35 acggcgatgg caagattaac taccaagagt ttgtgctcat taccacctcc gccaaagtagg 1260
 ccttgaggtt gctcgcgcac acacatgcta ttcctcttgt cctacacgac aaacactata 1320
 cacgttacia tacggaaaaa tgaaataaaa gcacagtcac acttattcat tcattcacag 1380
 aggatcactg gcgtgtcctc attaatatgg ctgacaaata ctattgattt gtctcgactg 1440
 agctatcagg cacacgcata ttgtctgttc cgatacgtgc aataataggt aaagtgggtg 1500

40 tagcttgagc accttacggt ttacatttat tccgtattaa cggtagctatg tctcaatagt 1560
 catgtcgcag cattagccag ctaacattaa atttagttga tttttatTTT atTTTTTTac 1620
 acaacaagaa ttatcttact atttggcaag ctgactgcga gtagtaaaat taccctagta 1680
 aaaaaaaaa gctttaaaaa cgatttaaca aaggtgcgtc catttaaaaa agtatgacac 1740
 aagctaattg gttcgatcgc ggtcggttgc attcggccag tttgtgagac gcgaaattta 1800

45 ccagcagccg tcaacaacga tggaataatt atatattaaa tataaataat aaaatatctg 1860
 ttacacattc tatgtgaata aagttataca tatatatata catacaacag caatgatata 1920
 tatgatgata cgtatactat atagaagtat ccactgatat aggataatgg gaaattctgg 1980
 aaaggagaaa acatattctt ctttcataat taatgaatta tcatcgagca cctcaagaat 2040

RU 2 755 275 C2

	ttgcttagac atattacaaa aaaaaaatta attcactata tataaataat cgcaattaat	2100
	caaaaaaaaa atacgggcat ttatggcata ccctagggta ataaacttca taaagggtacc	2160
	tatatatata tctttttttac tgtctcttta atcgtcatta tacatagtga cgattaaaga	2220
	gagagagtaa aaaagaggtc aaaataaaaag acttgaagtc gattgagggtt aatTTTTtatt	2280
5	ctagggttata tgtgttttag cggatttata gtgtgctcgt tgtaaaagtt gacgtaagga	2340
	gttgaaacgc ggagagcagt ataacagtaa aatggagagg aagtttagaa gttgggaaat	2400
	aatgatttg ctactaattg gaaattacaa aatgacat ttaaagaact tatcattaga	2460
	atTTtaatat ctgccacact gaaccgtttt gtcattattt cgacatagc gattttcaca	2520
	cagttgtctc acgtttgagg ccttatcgtt taaaggctaa cggaaatttc tctaaag	2577
10	<210> 31	
	<211> 373	
	<212> PHK	
	<213> Varroa destructor	
	<400> 31	
15	acagguggcu gaauuuuaag aggccuuucu uuuguugac aaggacgccc auggaaugau	60
	uacggccgcc gaacuaggcg ucgucaugcg aucgcuuggc cagcgaccua cggagcaaga	120
	gcucaagaaa augguuacca ugguuagacca ggacggcaau gguacaaucg aguucaacga	180
	guuuuugaug augaugucuc gcaagaugaa ggaggcagac ucggaggaag aacuccggga	240
	ggcguuccgu guguucgauc gagacgguga cggauucauc ucgcgggacg agcucagugu	300
20	cgucaugaac aaccucggcg agaaauuaag ugacgaugau guugaggaua ugauucgaga	360
	ggccgaucug gac	373
	<210> 32	
	<211> 693	
	<212> ДНК	
25	<213> Varroa destructor	
	<400> 32	
	cgctctata cagtgaaaa gtcggataag gttatgttac tcagtaactt aaccttatct	60
	tgataacgt tatttgacac gtaaacgaaa agtaataaca aagttttgta ttatggctcg	120
	ttattttcga gaggaagata tagatgaatt cagggaatgt ttttatctat ttgcaaggaa	180
30	tggtcaaata cgtactttgg atgagcttac aatcattatg agatcattag gattaagtcc	240
	aactattgca gaattaaata aatatttgaa agataaagggt ggaaaaatgt cttttgccga	300
	tttcttggaa gttatgcatc taaaaactag agctgaagat ttaccaaag aagtgataga	360
	tgcttttcaa gctgcagata aatttaggac tggcactata ccagctagac agttagcgca	420
	tatgttactc cactggggtg aacaattaag taacaaagaa gtggagcaaa ttttcagaga	480
35	ggcaaatgtg tctccaaatg gacaagtaaa gtacgaagat tttgttaaaa tagcttgtgc	540
	acctgtacct gattactatt aaaataaata tttttcatat tttttaaaga tatttatata	600
	ctttttacac aatacacacg tattttaatta ataaaaggat aaaaatgatc ataaaagaaa	660
	aagaatttat tcttccagca acttatcttc gac	693
	<210> 33	
40	<211> 315	
	<212> PHK	
	<213> Varroa destructor	
	<400> 33	
	augcuuuuca agcugcagau aaauuuagga cuggcacuau accagcuaga caguuagcgc	60
45	auauguuacu ccacuggggu gaacaauuaa guaacaaga aguggagcaa auuuucagag	120
	aggcaaaugu gucuccaaau ggacaaguaa aguacgaaga uuuuguuaaa auagcuugug	180
	caccuguacc ugauuacuau uaaaauaaa auuuuucaua uuuuuuaaag auauuuauau	240
	acuuuuuaca caauacacac guauuuuuuu auuuuuuagga uaaaaaugau cauuuuuagaa	300

	aaagaauuuu uucuu	315
	<210> 34	
	<211> 612	
	<212> ДНК	
5	<213> Varroa destructor	
	<400> 34	
	cgtttttttta atttcaaaga ctcttgattt tcttttcttt tcctttccta caaaccaaac	60
	acaagctaga aagaggttcg atttttgcag gaagaagaag gaacaatggc tgatcagctc	120
	accgatgacc agatctctga gtttaaggaa gccttcagcc tcttcgataa ggatggagat	180
10	ggttgtatca ccaccaagga gcttggaact gtgatgaggt ctcttggcca gaaccccact	240
	gaggcagagc tccaggacat gatcaacgag gtggatgctg atggcaatgg aacaattgac	300
	tttctgagt tcttaaacct catggccagg aagatgaagg atactgattc tgaggaggag	360
	ctcaaggaag ctttccgcgt gtttgacaag gaccagaatg gcttcatttc tgcggctgag	420
	ctccgccatg ttatgacgaa tcttggtgag aagctcacag acgaggaagt tgatgagatg	480
15	atccgtgagg ctgatgtaga tggtgacggc cagattaact acgaggagtt tgtcaaagtc	540
	atgatggcca agtgaggatc attaaccaaa ccttaaaatt tcgaaagcat aaacatttaa	600
	aaaaaaaaaa aa	612
	<210> 35	
	<211> 371	
20	<212> PHK	
	<213> Varroa destructor	
	<400> 35	
	cagaucucug aguuaaagga agccuucagc cucuucgaua aggauggaga ugguuguauc	60
	accaccaagg agcuuggaac ugugaugagg ucucuuggcc agaaccaccac ugaggcagag	120
25	cuccaggaca ugaucaacga gguggaugcu gauggcaaug gaacaauuga cuuuccugag	180
	uucuuuaacc ucauggccag gaagaugaag gauacugauu cugaggagga gcucaaggaa	240
	gcuuuccgcg uguuugacaa ggaccagaau ggcuucauuu cugcggcuga gcuccgccau	300
	guuaugacga aucuugguga gaagcucaca gacgaggaag uugaugagau gaucggugag	360
	gcugauguag a	371
30	<210> 36	
	<211> 659	
	<212> ДНК	
	<213> Ixodes scapularis	
	<400> 36	
35	acaccgcgct cgacgagaac tcgcgcaagg agcgcgtgct aacgccgata gctctcgtac	60
	aaaagaaaac taaagacttg acacgctcaa taccgatctt tcacattttc agcaaaattt	120
	gagcattccg aatatggacc tgactccgga agagatcgcg gacatcaagg gagcgtttct	180
	gctgtttgac cgcaacggcg acggaaccat ctccacgact gagctagaga tggtcctccg	240
	cgccatgggc gaacggccca gtccttccca gctggcccgt atagtgcggc aaattgacag	300
40	cgaccgcaat ggaagcatcg acttccaaga gtttctcttt ttcattggccg gcaggatttc	360
	ccacaaaggc ctctccaaaa gcgcagtcct caaggccttc caactcttcg accgcgatgg	420
	caatggatc atcaccaggg aggaactcgt ccacattttc acgcacgctg ggacagagcat	480
	gagccaagaa gacgccgaaa agataatccg cgaagtggat gtggacaagg acggaaagat	540
	ccattacact gaattgggtca acaagggtgct gccaccaag aagcaaaaag aagaaaccaa	600
45	aacctagaag gtcgctcgctt ggcacggtct ttattattaa acaagtgctt tctcgttg	659
	<210> 37	
	<211> 374	
	<212> PHK	

<213> Ixodes scapularis
 <400> 37

agaucgcgga caucaaggga gcguuucugc uguuugaccg caacggcgac ggaaccaucu 60
 ccacgacuga gcuagagaug guccuccgcg ccaugggcga acggcccagu ccuucccagc 120
 5 uggcccguau agugcggcaa auugacagcg accgcaaugg aagcaucgac uuccaagagu 180
 uucucuuuuu cauggccggc aggauuuccc acaaaggccu cuccaaaagc gcaguccuca 240
 aggccuucca acucuucgac cgcgauggca auggauacau caccagggag gaacucgucc 300
 acauuuucac gcacguuggg cagagcauga gccaaagaaga cgccgaaaag auaauccgcg 360
 aaguggaugu ggac 374

10 <210> 38
 <211> 549
 <212> ДНК
 <213> Ixodes scapularis
 <400> 38

15 gattcgtcca cttatthttgt ccctattctt cgtccgcagt cgtcctcgag gaaaagtgcg 60
 tcaggtgcgg gctacaagcg gaaactgagc ggaaagccag aaccgagcga ggagcagaag 120
 aatgacatga aggaagcggt cagtctcttc gatcccagtg gcacgggctt catggagtct 180
 aaagatatga agtttgcaat gagagcactg ggthttgaa caaaaaagga ggaagtgaaa 240
 aaactgatag cagagattga caagcagggg actggaaaaa ttcccttggg ggagttcatg 300
 20 agcgtcatgt ccacgaggct ggctgagaaa gacataaatg aggagattat gaaggcgttt 360
 cagctgtttg atgaggatgg cactgggaag atthctthta agaacctcaa gaatgtggcc 420
 aaggaactgt cggagaacct cacagatgag gagcttcagg aatgatcaa tgaagctgac 480
 agggatggag atggcgaagt gaaccaagag gagthcctta ggataatgaa gaagacctgc 540
 ctctactga 549

25 <210> 39
 <211> 373
 <212> PHK
 <213> Ixodes scapularis
 <400> 39

30 ugaaggaagc guucagucuc uucgauccea guggcacggg cuucauggag ucuaaagaua 60
 ugaaguuuugc aaugagagca cuggguuuug aaccaaaaaa ggaggaagug aaaaaacuga 120
 uagcagagau ugacaagcag gggacuggaa aaauucuuu ggaggaguuc augagcguca 180
 uguccacgag gcuggcugag aaagacauaa augaggagau uaugaaggcg uuucagcugu 240
 uugaugagga uggcacuggg aagauuuuu uuaagaaccu caagaaugug gccaaaggaac 300
 35 ugucggagaa ccucacagau gaggagcuuc aggaaaugau caaugaagcu gacagggau 360
 gagauggcga agu 373

<210> 40
 <211> 234
 <212> ДНК

40 <213> Ixodes scapularis
 <400> 40

atggccaaga acgtccgcgc cctggacacc gaggaggaga thttggaggc cttcaaagtc 60
 ttcgaccgca acggcgacgg cttcgtgagc acagccgagc tccgtcacgt gatgaccagc 120
 ttaggcgaga agttgacgca cgaagaagtg gacgagatga tccgcgaggc cgaccgcgac 180
 45 ggcgacggac agatcaacta cgacgagttc gtggccatga tgacttcaa gtga 234

<210> 41
 <211> 213
 <212> ДНК

<213> Ixodes scapularis
 <400> 41
 cctggaaccg aggaggagat tctggaggcc ttcaaagtct tcgaccgcaa cggcgacggc 60
 ttcgtgagca cggccgagct ccgtcacgtg atgaccacgc taggcgagaa gttgacgcac 120
 5 gaagaagtgg acgagatgat ccgcgaggcc gaccgtgacg gcgacggaca gatcaactac 180
 gacgagttcg tggccatgat gacctccaag tga 213
 <210> 42
 <211> 200
 <212> PHK
 10 <213> Ixodes scapularis
 <400> 42
 gaggaggaga uucuggaggc cuucaaaguc uucgaccgca acggcgacgg cuucgugagc 60
 acggccgagc uccgucacgu gaugaccacg cuaggcgaga aguugacgca cgaagaagug 120
 gacgagauga ucccgagggc cgaccgugac ggcgacggac agaucaacua cgacgaguuc 180
 15 guggccauga ugaccuccaa 200
 <210> 43
 <211> 450
 <212> ДНК
 <213> Aedes aegypti
 20 <400> 43
 atgtccgccc atagtctaac agaggaacaa gggcgccagt tccgtcagat gttcgagatg 60
 ttcgacaaaa atggcgacgg ttcgatcagc acatcggaac tgggatcggc cattcgggcc 120
 ttgggtatga atccctccat tgcggaaatc gagcaaatga tccacgaggt cgatttgac 180
 ggaagtgggt cgattgagtt gaacgaatct ctactactga tggcacgtaa gtcacgggag 240
 25 ggttccacac aggaagagct acgggatgcg ttcaaaatct ttgacaagga tggagatgga 300
 tttctcacgg ttgacgagtt gtcggctggt atgaagaact ttggcgagag attgaccgat 360
 gacgaactag cagatctgct ggaggaagcc gacatcgatg gagacggaaa gatcaactat 420
 gaagaatttg tcatcatggt gagcaagtga 450
 <210> 44
 30 <211> 300
 <212> PHK
 <213> Aedes aegypti
 <400> 44
 acagaggaac aaggcgcca guuccgucag auguucgaga uguucgacaa aauggcgac 60
 35 gguucgauca gcacaucgga acugggaucg gucauucggg ccuuggguau gaaucccucc 120
 auugcggaaa ucgagcaaau gauccacgag gucgauuugg acggaagugg gucgauugag 180
 uugaacgaau uucucauacu gauggcacgu aagucacggg agggauccac acaggaagag 240
 cuacgggaug cguucaaaaau uuuugacaag gauggagaug gauuucucac gguugacgag 300
 <210> 45
 40 <211> 465
 <212> ДНК
 <213> Aedes aegypti
 <400> 45
 atgtccgccc aaaccccgcc agacaagctt tcccaggatc aatcgaaga actgcgggaa 60
 45 gctttctccc tgttcgacac caacggcgac ggaaccataa cctgttcaga acttggcaca 120
 gtccttcgat cccttgcaa aatgtatcc gacgcggaag tggagaact gctcaaagaa 180
 gtcaacgtcg accacgaag aatgatccac tttccggact tctgtggcaat gatgtccatc 240
 cgattgcggg acttcaatag cgaggaggaa ctcaaggaag ccttccggat cttcgaccgc 300

	aacggagatg	ggctgatttc	ggcggacgaa	ttgcgagcgg	ctctccaatc	tttcggggaa	360
	cagctggccg	aggaggaaat	cgaagaactg	ctccgggagg	cggatgtcaa	ctgcgacgga	420
	caaatagact	acgaggagtt	tgttaaaatg	atcacgctga	aataa		465
	<210>	46					
5	<211>	300					
	<212>	PHK					
	<213>	Aedes aegypti					
	<400>	46					
	caaaucgaag	aacugcggga	agcuuucucc	cuguucgaca	ccaacggcga	cggaaccaua	60
10	accuguucag	aacuuggcac	aguccuucga	ucccuuggca	aaaauguau	cgacgcggaa	120
	guggaagaac	ugcucaaaga	agucaacguc	gaccacgaag	gaaugaucca	cuuuccggac	180
	uucguggcaa	ugauguccau	ccgauugcgg	gacuucuaau	gcgaggagga	acucaaggaa	240
	gccuuccgga	ucuucgaccg	caacggagau	gggcugauuu	cggcggacga	auugcgagcg	300
	<210>	47					
15	<211>	1150					
	<212>	ДНК					
	<213>	Aedes aegypti					
	<400>	47					
	tcgtcaagga	tatccggcaa	ctgattatga	cccggcaaac	caacgatccc	aacggccagc	60
20	aacaggaaca	gaacgaacca	gaatccagtc	agaacacca	gagcgaccaa	agcaacaacc	120
	agcccacgca	gcgattggga	ggaaccacct	cggacttcag	tgtcagctcc	gcggccacta	180
	atcgaagtat	gccccgccac	caggaggaca	atcccaatca	accggccagc	gactgttcca	240
	gcctcgaggg	aaatgtattc	gtcgaaggcg	gatccggcac	cggagcgcac	ccgaaaacac	300
	gocgctcgca	aacttccgat	tcgatcacct	ccagcaactt	caactacagt	ctcaaccgga	360
25	ggttcatatc	gaagaaccag	atgaaggagt	ttcgagaagc	gttccggctg	ttcgacaagg	420
	ataatgacgg	ctcaatcacc	aaggaagaac	tgggaactgt	catgaggctg	ttgggacaat	480
	ttgctcgcgt	ggaagaatta	caagagatgt	tactggagat	tgatggtgat	ggcgatggaa	540
	acgtaagttt	cgaagagttt	gtcgacatca	tgtccaacat	gacggatacc	gtggcggaaa	600
	catcggccga	ccaggaggaa	cgtgagctac	gtgatgcctt	ccgtgtcttc	gacaagcaca	660
30	atcgaggtta	cattacggca	tcagatctac	gggcggttct	tcaatgtctg	ggcgaagatt	720
	tggatgaaga	agaaattgaa	gacatgatca	aagaagtgga	cgtggatgga	gacggacgga	780
	tcgatttcta	cgaattcgta	catgctcttg	gagaaccgga	agattcccaa	gaaaacgacg	840
	acgaagacga	ggcagtgctc	ccccattcgc	tgtcctgtga	cgtgcatgtc	taagaaccgc	900
	caggagaaaa	atagctaacg	ccaacgaatc	gcattcctaa	caaaatgtcg	aacaatctag	960
35	agacattgac	cagatTTTTT	ttaaataattt	aacacacaaa	aaaacttcgc	ttaacgccat	1020
	tgtacttctc	catacgcttg	ataacagatt	ccagaacacc	taatgaattt	atcaatctat	1080
	acataataac	tattcatctc	taatcacgaa	aaaagttaa	ataaacatat	caaattgagc	1140
	aaccaataag						1150
	<210>	48					
40	<211>	300					
	<212>	PHK					
	<213>	Aedes aegypti					
	<400>	48					
	gaguuucgag	aagcguuccg	gcuguucgac	aaggauaaug	acggcucaau	caccaaggaa	60
45	gaacugggaa	cugucaugag	gucguuggga	cauuuugcuc	gcguggaaga	auuacaagag	120
	auguuacugg	agauugaugu	ugauggcgau	ggaaacguaa	guuucgaaga	guuugucgac	180
	aucaugucca	acaugacgga	uaccguggcg	gaaacaucgg	ccgaccagga	ggaacgugag	240
	cuacgugaug	ccuuccgugu	cuucgacaag	cacaaucgag	guuacauuac	ggcaucagau	300

<210> 49
 <211> 450
 <212> ДНК
 <213> Culex quinquefasciatus
 5 <400> 49
 atgtcggccc actcgcctcac cgacgaacag cagcgccagt accggcaaat gttcgaaacg 60
 ttcgacaagg atggcaacgg ttccatcacg acgacggaac tgggaacgct agtgcgagcg 120
 ctaggtctta atccttcgat cgccgagatc gagcagatga tccacgaggt cgacctggac 180
 ggaagcggga cgatcgagct gaacgagttt tacgtgctga tggcccggaa gcatcgggaa 240
 10 gcctcgtcgg aggacgagct gaggcaggct ttcaaggtgt ttgacaagaa cgaggatggg 300
 ttcttgacgg tggaggaact gtcgatggtg atgaagaact ttggtgagcg gttgagcgat 360
 gaagagttgg cggatttggt ggaggaggcg gatggtgaca aggacggtcg gattaattac 420
 gaggaatttg tgaccatggt gaccaagtag 450
 <210> 50
 15 <211> 300
 <212> PHK
 <213> Culex quinquefasciatus
 <400> 50
 acagcagcgc caguaccggc aaauguucga aacguucgac aaggauaggca acgguuccau 60
 20 caccgacgacg gaacugggaa cgcuaugugc agcgcuaaggu cuuaauccuu cgauccgcca 120
 gaucgagcag augauccacg aggucgaccu ggacggaagc gggacgaucg agcugaacga 180
 guuuuacgug cugauggccc ggaagcaucg ggaagccucg ucggaggacg agcugaggca 240
 ggcuuucgag guguuugaca agaacgagga uggguucuuu acgguggagg aacugucgau 300
 <210> 51
 25 <211> 477
 <212> ДНК
 <213> Culex quinquefasciatus
 <400> 51
 atgtcatcgt cttcccgcc aacccaaacc accgcgacc ccctgaccaa ggagcaaadc 60
 30 gaagaactgc gcgaagcgtt caccctgttc gacaccaacg gcgacggaac gatttccggc 120
 tcggaactgt ccaccgtgct gcgggcccctc ggcaagaacg tctcggacgc cgaagtgcgag 180
 gaactgctga aggaggtccg caccgacgac gagggccgca tccggttcgg ggactttgtg 240
 gccatgatga cgggtccggtt gaaggacttt aacaacgagg accagctgca ggaggcggtt 300
 cggatcttcg atcgggacgg gaatgggagg atttcggcgg aagagctacg ggtcgcggtg 360
 35 aggtcgtttg gggagcagtt gaccgaagag gagctggagg agttgctgcg cgaggcggac 420
 gtcaacagtg acggccagat tgactacggg gagtttgtgc ggatgataac gcagtga 477
 <210> 52
 <211> 300
 <212> PHK
 40 <213> Culex quinquefasciatus
 <400> 52
 gcgaagcguu cacccuguuc gacaccaacg gcgacggaac gauuuccggc ucggaacugu 60
 ccaccgugcu gcgggcccuc ggcaagaacg ucucggacgc cgaagucgag gaacugcuga 120
 aggagguccg caccgacgac gagggccgca uccgguucgg ggacuugug gccaugauga 180
 45 cgguccgguu gaaggacuuu aacaacgagg accagcugca ggaggcguuu cggaucucg 240
 aucgggacgg gaaugggagg auuucggcgg aagagcuacg ggucgcguug aggucguuug 300
 <210> 53
 <211> 927

<212> ДНК
 <213> Culex quinquefasciatus
 <400> 53

5 atgaccgatt ttctccagct tcccacatgc aataactcgac aaaccaacga cccaaacagc 60
 gccgagcagc aacaacagag cgaacccgaa tcgaaccaga gcagcacgca ccagagcagc 120
 agccacagct accagcagcc gtcgtcaacg cagcaccggt tggccggatc tccgtcagc 180
 agtgccaacg cgagtcccgt gatcggccgg aacatgcccc gccaccagca ccaggacacc 240
 gcgcccagtg acgatgggac ctcgagcagt ctggacggga gtgtctttgc cgcgcagcga 300
 actccgaccg ctccgggggc gttggccagg acgcgccgct cgcagacctc ggaatcgatc 360
 10 acctccagca acttcaacta cagtttgaac cggaggttca tctccaagaa ccagatgaaa 420
 gagttccggg aggcgttccg gctgtttgac aaggacaacg acgggtcgat cacgaaggag 480
 gagctgggca cggatgatgc atcactgggg cagtttgccc gtgtcgagga actgcaggag 540
 atgctgctgg agattgacgt cgatggtgat ggcaacgta gcttcgagga gtttgtcgac 600
 atcatgtcca acatgaccga cacggtggcg gaggcattcc cgcaccagga ggagcgcgaa 660
 15 ctccgggatg cgttccgcgt gtttgacaag cacaaccggg gctacatcac ggcgtctgat 720
 ctgcgggccc ttctgcagtg tctgggagaa gatttggacg aggaagaaat cgaagacatg 780
 atcaaggagg tggacgtcga cggcgatgga cggatcgact tttacgagtt tgtgcagccc 840
 ctcgagagac cgaagattc acaggagAAC gacgacgagg aggaccccct gtcacctccg 900
 tcaactgctg gtgacgtaaa cgcctaa 927

20 <210> 54
 <211> 300
 <212> PHK
 <213> Culex quinquefasciatus
 <400> 54

25 gaguuccggg aggcguuccg gcuguuugac aaggacaacg acgggucgau cacgaaggag 60
 gagcugggca cggugaugcg aucacugggg caguuugccc gugucgagga acugcaggag 120
 augcugcugg agauugacgu cgauggugau ggcaacguca gcuucgagga guuugucgac 180
 aucaugucca acaugaccga cacgguggcg gaggcuaacc cgcaccagga ggagcgcgaa 240
 cuccgggaug cguucccgcu guuugacaag cacaaccggg gcuacaucac ggcgucugau 300

30 <210> 55
 <211> 333
 <212> ДНК
 <213> Culex quinquefasciatus
 <400> 55

35 atggtcgggtg tccaagctgg ccatttgata tctcaatcac ggcggggagg ctccgcgtgc 60
 gaaaacgggg aaattttgat tgatgacggc ggcgggggg agcggcgggt tttaaacctg 120
 ttctacaagg ggaataaaaa tgccgatcaa cttacagagg aacagatcgc cgagttcaaa 180
 gaagcgttct cgctgttcga caaagacggt gacggcacga tcacgaccaa ggagctgggc 240
 accgtgatgc gatcgttagg ccagaacccc acagaagcag agctgcaaga catgataaac 300
 40 gaggtcagatg cggacggact gcatccgctt taa 333

<210> 56
 <211> 300
 <212> PHK
 <213> Culex quinquefasciatus

45 <400> 56

gucggugucc aagcuggcca uuugauaucu caaucacggc ggggaggcuc cgcgugcgaa 60
 aacggggaaa uuuugauuga ugacggcggc ggcggggagc ggcggguuuu aaaccuguuc 120
 uacaagggga auaaaaaugc cgaucaacuu acagaggaac agaucgccga guucaaagaa 180

	gcguucucgc uguucgacaa agacggugac ggcacgauca cgaccaagga gcugggcacc	240
	gugaugcgau cguuaggcca gaaccccaca gaagcagagc ugcaagacau gauaaacgag	300
	<210> 57	
	<211> 934	
5	<212> ДНК	
	<213> Acyrthosiphon pisum	
	<400> 57	
	gctgtgcacg ttttgtttac ccgaaaaatg tgattcaaac tttcagtttt ttaaacttta	60
	actgcgttgt ttaagaaaaa aaaaacccta aatttattat tgtttattaa taataaatca	120
10	atcgatcgaa taatcgtttg cgggtataacc taagtacgaa gtaaaatatg agtgcacaaa	180
	atagtataaa tgaccgttat aaaaaggaat attcgagaat aaggaaactg acgagtagat	240
	atgacatacg gactcaatca aatgaatttg gtttgctcga agatcaagtt gcggaattca	300
	aagaagcatt tatgttggtc gataaagacc atgatggacg gattactgag gcagaactag	360
	gagtggatcat gagatctttg ggtcaaaggc ctactgaaac tgatttgcca ggtatggta	420
15	aagaagtgga taaagatggc aatggtagta ttgagtttga tgaattcctg ctaatgatgg	480
	ctagaaaact aaaagcagca gatggcgagg aagaaatgca ccaagctttt aaagtatttg	540
	acaaaaatgg cgatggattc ataacatttg atgaactcaa acgtgttatg tgcagtatcg	600
	gagaaaggct cactgatgaa gaaattgagg acatgataaa agaagcagat ttaaattggtg	660
	ataaaaaaat tgattataaa gaatttatta caataataag ttctaagaaa taaaacgaat	720
20	tacggacttg gatgtaccct catatggcat tcgttcctca tctgcatctg tgcattggc	780
	tgctaagact ttacttaata ataaaccttg atcttctcta ctagaataaa atagctctgg	840
	atcctaaagt aaaatataca gtataatttt aaaatagtcg tatacaaatt tttttttaa	900
	tattgagtgt acctcatcca ttccagcaag tttc	934
	<210> 58	
25	<211> 372	
	<212> PHK	
	<213> Acyrthosiphon pisum	
	<400> 58	
	ucaaguucg gaauucaaag aagcauuuau guuguucgau aaagaccaug auggacggau	60
30	uacugaggca gaacuaggag uggucaugag aucuuugggu caaaggccua cugaaacuga	120
	uuugcgagggu augguuaaag aaguggauaa agauggcaau gguaguauug aguuugauga	180
	auuccugcua augauggcua gaaaacuaaa agcagcagau ggcgaggaag aaaugcacca	240
	agcuuuuaaa guauuugaca aaaauggcga uggauucaua acuuuugaug aacucaaacg	300
	uguuaugugc aguauccggag aaaggcucac ugaugaagaa auugaggaca ugauaaaaga	360
35	agcagauuuu aa	372
	<210> 59	
	<211> 2509	
	<212> ДНК	
	<213> Acyrthosiphon pisum	
40	<400> 59	
	gatttttctg ttaaataaacc cccccgggtt tcggataaac tcggtgtgcg tgtggacgcc	60
	gccgccgccg cgtgagcggt atttcgctcg ctgtgattac gaacgctcgt gcagtcgctg	120
	tcatgcagca tctccgagac ccggcgaaaag accatcagag tacgtgaaca ctgcacatca	180
	cactccatcg cgatatactt atctgttagga cgacaccctt taccgaggac acaatgatat	240
45	acacgttata atactatcgt acatcgtata tattgtattc ttatcatcta atattatatt	300
	atcacaatcg ttatattgta ttatagaatt attgtatc gttttaattt gacacgatac	360
	gacatttggt gttgagaatc gcgcagagag agaaagagag agagaaaaag agagaataga	420
	tattttgatg taaataatta ttacaatata atattgtatt tgaaaataga aacagataat	480

	tggtcgttga	ggcagttctc	accttttttaa	gatatacata	ttatattata	tataaacagt	540
	atattgtttt	actcctttga	gtgaacattt	cgtttaacta	taccacaatt	tattaatatt	600
	atataatata	tatcatggac	ggtaaaaatat	catcgggtatt	cgaaaaatac	ttttcacctt	660
	caccgctggg	gaaccaaata	aggaattttg	tcaatcggca	aatagacgag	caaacgccac	720
5	aaaacgtaag	cacacaacca	accgctgtag	cgaaacttca	cagtaataat	gtagtgaacg	780
	gcaccactcc	gaaacccatc	acaagcaacg	aaaaaccaac	ggaagtccaa	gtacatccac	840
	aaccactca	gcctgccgat	agaaacttag	tgcacgttac	taaagcacag	atgaaagaat	900
	ttcaagaagc	atntaggtta	tttgataaag	acggtgacgg	cagcatcact	aaagaggaat	960
	tgggctcgagt	tatgcggagt	cttggacagt	ttgctagaga	agaagaattg	gagacaatgt	1020
10	tacaagaagt	cgacatcgat	ggcgatggag	cgttcagttt	tcaagagttt	gtagaaattg	1080
	tgtacaatat	gggtggtaca	gcagaaaaga	cggcggacca	agaggaaaaa	gagctccgag	1140
	acgcatttag	ggtatattgac	aaacataacc	gaggatata	aagtgcgtcg	gacttgagag	1200
	ctgtccttca	atgtttgggt	gaagatttgt	cagaagaaga	aatcgaggat	atgatcaagg	1260
	aagtagacgt	ggacggagat	ggaagaatcg	atttttacga	atttgtgaat	gcccttgag	1320
15	aaccaggaga	tgattatgat	gaaaacgacg	aagatgaaga	agatatttat	ccccattgg	1380
	acattcaaac	ataacttata	aacaattaca	cgttttagta	tgatgcgata	acaagttcag	1440
	ttaaaattga	attatcaaaa	atgataacaa	tattttttgt	aaacttaggt	taaaatgtta	1500
	aaaacttacc	cattttgtaa	tttctatcag	gaataaacac	accaatatct	gttttttttt	1560
	tgccaactaa	tgatctctaa	taagtaaaac	atattttact	ttaatatcaa	tgtactactg	1620
20	tagtattggt	aagtaattta	tgtcattttc	aatgtttaat	gtataaatta	atcatttaat	1680
	ggtacaatca	gtaattcacc	ttaagaccca	attattttatt	aaaaacatat	tatatcatta	1740
	atctacttaa	tgtatacatt	ttagtcaaaa	aacattcagt	tatatgttat	aagtcgttat	1800
	aactatttat	ttaagaaact	ataaaaaaatt	attattttatt	ataatagttt	acgtatctat	1860
	ttacttccat	ggaagggtatt	tataaataga	aaatgttaag	gtaacttaat	taaaacaata	1920
25	attatgaaca	agtatttttta	ctttaaaaaaa	attacataat	tatattgtca	gtattctttc	1980
	aaatacaatt	aattcaaaatt	tgtgaaattg	tccattcctc	ctttatgctt	tgtgaaactaa	2040
	atthaaatac	attaagaacc	agagtacaat	taaaggaaat	agtcagctgc	gtgttttttt	2100
	gttggcattc	ctcggttttc	ttgtgggtgct	gcctcaaata	ttgtaaaatc	tctttgaagt	2160
	gtttcactga	gttccaatat	tgccgcaacg	ttaccacatc	tattatttac	aattagattt	2220
30	aacaattaa	taacagcatt	aataaataaa	tagtataatg	taatttttag	agtagtattt	2280
	accgataaca	atagttgggt	gctgaccaa	cagtaagcac	ggtttcatca	aaatgccatt	2340
	tatatccttc	catgactagt	tgatgagctc	gacaaaataat	atctatatca	tttgtagtat	2400
	taaactggga	gacaacatca	gaaccaaata	ggtatccagc	accccgagga	ctcacacccc	2460
	atccctgagt	atctaaaata	attgtgtatg	ttaaaaatct	atttttttt		2509
35	<210>	60					
	<211>	294					
	<212>	PHK					
	<213>	Acyrthosiphon pisum					
	<400>	60					
40	acagaugaaa	gaauuucaag	aagcauuuag	guuuuuugau	aaagacggug	acggcagcau	60
	cacuaaagag	gaauuggguc	gaguuauvcg	gagucuugga	caguuugcua	gagaagaaga	120
	auuggagaca	auguuacaag	aagucgacau	cgauggcgau	ggagcguuca	guuuucaaga	180
	guuuguagaa	auuguguaca	auaugggugg	uacagcagaa	aagacggcgg	accaagagga	240
	aaaagagcuc	cgagacgcgu	uuaggguauu	ugacaaacau	aaccgaggau	auau	294
45	<210>	61					
	<211>	477					
	<212>	ДНК					
	<213>	Pediculus humanus					

<400> 61
atggccgacg aaacgacgac ggaattaccg gaggaaaatc tttcggttga aaaaatcgca 60
gaattccgcg aagctttcaa ccttttcgac aaagatggcg acggtaacat aacgacccaa 120
gaattgggta cttgcatgag gtctctcggg cagaatccga cggaaagcga aatcgcgag 180
5 ctgatttgcg aagtagacgt agagggaaaca ggtttaatcg atttcacatc gttcgttttg 240
ataatggcta aaaagataaa agacgtcgac aacgaggaag aactcagaga agcttttaga 300
atattcgata aggaaggtaa cggattcata accgcatccg agctcaggca cataatgatg 360
aacttggtg aaaaattaac ggaagaagaa tgcgacgaaa tgattaggga agcggatgtc 420
atgggtgacg gaaatatcaa ttacgaagaa ttcgtcacca tgatgatgtc aaagtga 477
10 <210> 62
<211> 379
<212> PHK
<213> Pediculus humanus
<400> 62
15 aaaaaucgca gaauuccgcg aagcuuucua ccuuuucgac aaagauggcg acgguaacau 60
aacgacccaa gaauugggua cuugcaugag gucucucggg cagaauccga cggaaagcga 120
aaucgcgag cugauuugcg aaguagacgu agagggaaaca gguuuauucg auuucacauc 180
guucguuuug auauuggcua aaaagauaaa agacgucgac aacgaggaag aacucagaga 240
agcuuuuaga auauucgaa aggaagguaa cggauucaua accgcauccg agcucaggca 300
20 cauaaugaug aacuugggug aaaaauaac ggaagaagaa ugcgacgaaa ugauuaggga 360
agcggauguc augggugac 379
<210> 63
<211> 537
<212> ДНК
25 <213> Pediculus humanus
<400> 63
atggatgcta ggaatgaagt ttacaacacc gaatataatc gtttaagaaa attgacgtgt 60
agaacggaaa ttaaattatc ttgctctgaa tatggtctta cggaggaaca agtcgctgaa 120
tttaaagaag cttttatgct ttttgacaaa gatgaagatg gacaaataac aatggccgaa 180
30 ttaggagtcg ttatgagatc tttgggacaa cgtccgacag aaacggaatt aagagacatg 240
gttaaagagg ttgatcaaga tggaaatggt acaatcgaat tcaatgaatt ttacaaatg 300
atggcaaaaa aaatgaaagg agctgatggt gaagaagaac ttcgagaagc attcagggtg 360
tttgataaaa ataacgatgg actcatttca tccattgaac ttcgacatgt catgacaaat 420
ttaggtgaga aactttcaga cgaagaagtt gatgatatga taaaagaagc agatttagat 480
35 ggagatggta tggttaacta caatgaattt gtaacgatat taacatcaaa aaattaa 537
<210> 64
<211> 417
<212> PHK
<213> Pediculus humanus
40 <400> 64
acaagucgcu gaauuuuaag aagcuuuuau gcuuuuugac aaagaugaag auggacaaau 60
aacaauaggc gaauuaggag ucguuauagag aucuuuggga caacguccga cagaacgga 120
auuaagagac augguuaaag agguugauca agauggaaau gguacaauucg aaaucaauga 180
auuuuuacaa augauggcaa aaaaaaugaa aggagcugau ggugaagaag aacuucgaga 240
45 agcauucagg guguuugaua aaaaauaacga uggacucauu ucauccauug aacuucgaca 300
ugucaugaca aauuaggug agaaacuuuc agacgaagaa guugaugaua ugauaaaaga 360
agcagaauua gauggagaug guaugguuaa cuacaaukaa uuuguaacga uauuaac 417
<210> 65

<211> 648
 <212> ДНК
 <213> Pediculus humanus
 <400> 65
 5 atgactacga aacataatat atctggaaga atacgggacg aaccaggggg acaaagggaa 60
 aaaaatggaa atgtaaccgg tcgaacaata acatatccaa caacagggaa caaaagaaat 120
 attgatacaa tgacgaaaaa taacatatca aaatcgcaa tgaaggaatt tcgagaagct 180
 tttcgacttt ttgacaaaaga tggatgatgg agtataactc aagaagaact tggagagatt 240
 atgagatcct taggacaatt tgccagagaa gaagaactac aagaaatgct taaggaagtt 300
 10 gatatagatg gagatggaaa ttttagcttt gaagaatttg ttgaaatcgt atcaaatatg 360
 ggaggtgcag caactgaaaa aacagctgat gaagaagaga aagaacttag agatgctttt 420
 agagtatttg ataaacataa tcgaggtttt ataagtgctt ctgatcttcg agctgttttg 480
 caatgtctgg gtgaagaatt atcagaagaa gaaaaaatga taagagaagt tgatgtggat 540
 ggagatggta gaattgattt tttcgaattt gttcgagctt tgggtacaca ctacaggcaa 600
 15 aatttctttt tcaggtttct atccatttat attattagca cagtttga 648
 <210> 66
 <211> 449
 <212> PHK
 <213> Pediculus humanus
 20 <400> 66
 aucgcaauug aaggaaauuc gagaagcuuu ucgacuuuuu gacaaagaug gugaugguag 60
 uauaacucaa gaagaacuug gaagaguau gagaucuuu ggacaaauug ccagagaaga 120
 agaacucaa gaaaugcuua aggaaguuga uauagaugga gauggaaauu uuagcuuga 180
 agaauuuugu gaaaucguau caaaauaggg aggugcagca acugaaaaaa cagcugauga 240
 25 agaagagaaa gaacuuagag augcuuuuag aguauuuugau aaacauaauc gagguuuuau 300
 aagugcuucu gaucuucgag cuguuuugca augucugggu gaagaauuau cagaagaaga 360
 aaaaugaua agagaaguug auguggaugg agaugguaga auugauuuuu ucgaauuugu 420
 ucgagcuuug gguacacacu acaggcaaa 449
 <210> 67
 30 <211> 648
 <212> ДНК
 <213> Pediculus humanus
 <400> 67
 atgatgaaaa acaaaaactga cagcagtctc ggagctgagc attcagattt gaaacattcg 60
 35 acgagtgaaa ccgaagaact ccaatcctcg gaactcgaag tgataaaaga tgaagagcct 120
 caaatagatc tgagacagtt tctgacgaaa gaacaagtgc aagaattcaa aagaattttc 180
 caggcttacg atgtcaacaa cgaagataaa atcccggatc aagccatcgg aatcattttg 240
 agaaacatgg gattgaatcc gtccaaggcg atttctcaaga gaatgacaaa ggaaatcgat 300
 ccggataaaa acggttacgt ggatttcgaa atgtttttac atcccatggc acgaatgata 360
 40 cacgaagtcc cgaaaaatca cgaggacata atcgcagcat tcaaagtttt cgacgaagac 420
 gacgaaggtt tcgtatccgt taaagctttg accgaatacc tcacgaacct gggcgaagat 480
 ttggaagatt tcgaaattga taatttgatt aaaatggcgg atcccaaagg cacgggccga 540
 gtctactacg aaggattcgt cgagaaaatt ttcggaatcg taagaaacgg gaaaaaaaag 600
 aaaaatctca aagggaaaaa gggaaaaaaa cgaaaaaaa atgaatga 648
 45 <210> 68
 <211> 451
 <212> PHK
 <213> Pediculus humanus

	<400>	68							
			ucaaauagau	cugagacagu	uucugacgaa	agaacaagug	caagaauuca	aaagaauuuu	60
			ccaggcuuac	gaugucaaca	acgaagauaa	aaucccguc	aaagccaucg	gaucauuuu	120
			gagaaacaug	ggauugaauc	cguccaaggc	gauucucaag	agaaugacaa	aggaaucga	180
5			uccggauaaa	aacgguuacg	uggauuucga	aauguuuuua	caucccaugg	cacgaaugau	240
			acacgaaguc	ccggaaaauc	acgaggacau	aaucgcagca	uucaaaguuu	ucgacgaaga	300
			cgacgaaggu	uucguaucgg	uuaaagcuuu	gaccgaauac	cucacgaacc	ugggcgaaga	360
			uuuggaagau	uucgaaaauug	auaaauugau	uaaaauggcg	gaucccaaag	gcacgggccg	420
			agucuacuac	gaaggauucg	ucgagaaaau	u			451
10			<210>	69					
			<211>	1546					
			<212>	PHK					
			<213>	Varroa destructor					
			<400>	69					
15			guuuagccca	uuuucgcgcu	gugucugucg	gcgacugcgg	aaguacugag	cuagcugagu	60
			cguggugcuu	agaaggcagu	ggcagugagu	ggcaucagcg	guaauaagug	agggacaaca	120
			gccggagagu	cgugucgguu	gguaggucgg	uucguugccg	auuaaugccc	cacaugugag	180
			uuacgugcgg	ugcuuguucc	gcugugcauu	ggacguuaca	uacagagagu	cagguguagu	240
			uuauuuuaga	cgaaaaacua	ccagcacuac	cugauacagc	gacccaacgu	agagagggaa	300
20			agagaaagag	cuguuguuuc	gcuagguuag	uucugaacaa	uuggauugau	ucgaaaugu	360
			acgcuuguac	ggcuaacggu	ugaacggacu	gugcaaacug	cggauagugc	gugaacuagc	420
			agacaacaua	uccaauaacu	aacuacacgg	uuauuuuuga	uacaaacacc	uaguucagac	480
			agacaauuuc	gguuugcuuu	guuggcacua	uaaggaguaa	gugauauugu	uuuuuguuuu	540
			ucagucggcc	uaguauuguc	ggugcacuuu	cggauaacag	gagaggcagu	acaaaggcaa	600
25			cucgauucac	uaucguucac	gggcgcuauu	acagcgaaau	auuaauaggc	aaagcaagca	660
			agccagccgg	ccaagcccaa	accccggcg	aaacgcagau	accaacagcg	cugaagugcg	720
			uggcaaacga	caacgggaca	guagggcaua	agcuagacag	cauauagcuu	uucuaaccu	780
			ggcugaucag	cuaacugagg	aacagaucgc	cgaguucaaa	gaggcguuu	gccuguuuga	840
			caaggacgga	gauggcacga	ucacgacaaa	ggagcucggu	acgguaaugc	gaucucucgg	900
30			ccagaacccc	acugaggcug	aacugcagga	caugaucaac	gaggucgacg	ccgacggcuc	960
			cggaacgaua	gauuucccug	aguuccucac	aaugauggca	agaaagauga	aggacaccga	1020
			cucggaggag	gagauccgag	aggcguuccg	cguauucgac	aaggauaggca	acgguuuc	1080
			uucggcggcc	gagcucaggc	acguuauagc	caaccuuggc	gagaagcuu	cggacgagga	1140
			gguagaugag	augauucggg	aggcagauau	ugacggugau	ggucagguca	acuacgagga	1200
35			guucgucacc	augaugacgu	ccaaguaaa	auaugauaa	guuggcuguc	ucguguaaug	1260
			ucgugagaaa	gaaagcgcg	gcgaaagaaa	gagagaaaag	aaugaaaaac	uauaaaagc	1320
			uuguuguuaa	agcaacgcaa	caacaagcug	uaagcaacaa	acaauuuu	cgaaguauac	1380
			gauaaugaaa	gucgacaggg	aagcaagcac	ggauauauau	gaaaacuaag	cgaaaugacg	1440
			ucgucaucau	caccagcagc	agcagcagca	gcagcagcag	cagcagcagc	accaccacca	1500
40			ccaccaucac	gaccaccacc	accaccacca	ccaucacgac	caccac		1546
			<210>	70					
			<211>	1136					
			<212>	PHK					
			<213>	Varroa destructor					
45			<400>	70					
			guucggcucg	gggacuagcu	gaucggucgg	uguguauugu	uggcuauugg	caaagaccgu	60
			uguugagugg	gcucgcugca	cugagcguuu	aaaucuggug	aaaucguugg	caauggcgga	120
			ucagcugacc	gaggagcaaa	ucgccgaaau	caaggaggcu	uucagccugu	ucgauaaaga	180

	cggugauggc acaauuacga ccaaggaacu agggaccguc augcgguccc ucggccagaa	240
	cccuacugag gcugagcuuc aagacaugau caacgagguc gacgcugacg guaacggcac	300
	uauugacuuu ccagaguuuu ucacgaugau ggcgcguaaa augaaggaca ccgacuccga	360
	ggaggagauc cgggaagcuu uuaggguuuu ugaauaaagac ggaaauggcu ucauuucggc	420
5	ugcagagcug aggcascuaa ugaccaaccu uggcgaaaaag cucacggacg aggaagugga	480
	cgagaugauc cgcgagggcg auaucgacgg cgacggacag gucaacuacg aggaguucgu	540
	сacgaugaug аcaucaaaau гаaggгсuca cuauugcgcg ggaaaagcag cccaacaaag	600
	aaaccuagag ugcgaaaagcg agaacguuaa acacgaugau augcuuauga uauuacauac	660
	гacuaгaggа сагаагаса гacagacaga cugagcagac гаacgggcaa гуугаагаа	720
10	agccgaguug aacuggcuaa ccguugggua cucauucaua uucgauaguu acagacaaca	780
	асаугааааа сгасагсаас аауссгсаас ааасасасгг агауугсаса сааугагггу	840
	aaacugaaca ugugcagcg gaaguuggau ggсagcgua cacagugcug cuacugcugc	900
	ugcugcaaaу гсuaасасuc ааuaаугаua аuaаuaаua uааuuаuага ааuaугаua	960
	uguuгucсаа аагагаааса аасаасасаа асааагсуаu uаааааucug ааuaааагcu	1020
15	aagaagaaui саагуагсаг ucгacauggg гaгуггсааа сгаuaагагу ccacagaaaa	1080
	cugaagcggc cгааагаааа сacгaggсаа ааггсааугu аuсauuааг acгagg	1136
	<210> 71	
	<211> 150	
	<212> РНК	
20	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетическая последовательность	
	<400> 71	
	guuuagssca uuuucgсgcu гугucugucg гсгacugcgг aагуacugag cuagcugagu	60
25	сгуггугсуu агааггсагу ггсагугагу ггсаucagcg гуааuaагуг agggacaaca	120
	гссггагагу сгугucггуu ггуаггucгг	150
	<210> 72	
	<211> 150	
	<212> РНК	
30	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетическая последовательность	
	<400> 72	
	uucguugccg auuaаugccc сасаугугаг uуacгugcgг ugcuuguucc гсugugcauu	60
35	ггacгuuaca uacagagagu саггугуагу uаuuuuага сгааааасua ccagcасuac	120
	сугаuасагс гacссаасгu агагагггаа	150
	<210> 73	
	<211> 150	
	<212> РНК	
40	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетическая последовательность	
	<400> 73	
	агагааагаг cuгуuгуuuс гсuaггuuаг uucugaacaа uuggauugau ucгcaааугu	60
45	acгcuugуac ггcuаасггу uгаасггacu гугсааасуг сггаuагугс гугаасuагс	120
	агасаасаua ucсааuaасu аасuасасгг	150
	<210> 74	
	<211> 150	

	<212>	РНК	
	<213>	Искусственная последовательность	
	<220>		
	<223>	Синтетическая последовательность	
5	<400>	74	
		ииаиииуига иасааасасс иагиисагас агасааииис ггииуигсиии гиуггсасиа	60
		иааггагуаа гигаииииги ииииигиииа исагисггсс иагуаиуигис ггигсасииа	120
		сггаиаасаг гагаггсаги асаааггсаа	150
	<210>	75	
10	<211>	150	
	<212>	РНК	
	<213>	Искусственная последовательность	
	<220>		
	<223>	Синтетическая последовательность	
15	<400>	75	
		сисгаиисас иаисгиисас гггсгсиааи асагсгаааи аииааиaggc аагсаагса	60
		агссагссгг ссаагсссаа ассссгггсг ааасгсагаи ассаасгсг сигаагигсг	120
		иггсааасга саасгггаса гуагггсаиа	150
	<210>	76	
20	<211>	150	
	<212>	РНК	
	<213>	Искусственная последовательность	
	<220>		
	<223>	Синтетическая последовательность	
25	<400>	76	
		агсиагасаг саиааагсиу иисиаассаи ггсигаусаг сиаасигagg аасагаусгс	60
		сгагиусааа гаггсггиииа гссигиуига сааггасгга гауггсасга исагсасааа	120
		ггагсисггги асггиаааигс гаусисисгг	150
	<210>	77	
30	<211>	150	
	<212>	РНК	
	<213>	Искусственная последовательность	
	<220>		
	<223>	Синтетическая последовательность	
35	<400>	77	
		ссагаасссс асигаггсиг аасигсагга саугаусаас гаггисгасг ссгасггсис	60
		сггаасгаиа гаииисссиг агииссисас ааугауггса агааагауга аггасассга	120
		сисггагггаг гагаиссгаг аггсгииссг	150
	<210>	78	
40	<211>	150	
	<212>	РНК	
	<213>	Искусственная последовательность	
	<220>		
	<223>	Синтетическая последовательность	
45	<400>	78	
		сгиаиисгас ааггауaggc асгггиисаи иисггсггсс гагсисаггс асгиааугас	60
		саассиуaggc гагаагсииа сггасгагга ггуагауаг аугаиисггг аггсагаиаи	120
		игасггггаи ггисаггуса асиасгагга	150

	<210>	79	
	<211>	150	
	<212>	РНК	
	<213>	Искусственная последовательность	
5	<220>		
	<223>	Синтетическая последовательность	
	<400>	79	
		гиисггисасс аугаугасгу ссаагуаааи аиаугаиааи гуиуггсигис исгигиааиуг	60
		исгигагааа гааагсгсгс гсгааагааа гагагааагг ааиагаааас иаиаааиугс	120
10		иуиуиуиаа агсаасгсаа саасаагсиг	150
	<210>	80	
	<211>	150	
	<212>	РНК	
	<213>	Искусственная последовательность	
15	<220>		
	<223>	Синтетическая последовательность	
	<400>	80	
		иаагсаасаа асааиаиша сгаагуаиас гаиааигааа гисгасаггг аагсаагсас	60
		ггаиаиаиаи гаааасиааг сгаааиугасг исгисаисаи сассагсасг агсасгасга	120
20		гсасгасгасг сасгасгасг ассассасса	150
	<210>	81	
	<211>	150	
	<212>	РНК	
	<213>	Искусственная последовательность	
25	<220>		
	<223>	Синтетическая последовательность	
	<400>	81	
		гиисггсисг гггасиагси гаисггисгг иуиуиаиуи иггсиаиугг сааагасгси	60
		иуиуагигг гсисгсигса сигагсгиш иааисиггиг аааисгиугг сааиггсгга	120
30		исагсигасс гаггагсааа исгссгааи	150
	<210>	82	
	<211>	150	
	<212>	РНК	
	<213>	Искусственная последовательность	
35	<220>		
	<223>	Синтетическая последовательность	
	<400>	82	
		сааггаггси иисагсгиги исгаиааага сггигауггс асааиасга ссааггааси	60
		агггасггис аугсггисс исггссагаа сссиасигаг гсигагсиис аагасаугаи	120
40		саасгаггис гасгсигасг гуаасггсас	150
	<210>	83	
	<211>	150	
	<212>	РНК	
	<213>	Искусственная последовательность	
45	<220>		
	<223>	Синтетическая последовательность	
	<400>	83	
		иаиугасиш ссаагуишс исасгаугаи ггсгсгуааа аугааггаса ссгасиссга	60

	ggaggagauc cgggaagcui uiaaggguuuu ugaiaaaagac ggaauuggcu ucauuucggc	120
	ugcagagcug aggcascuaa ugaccaassu	150
	<210> 84	
	<211> 150	
5	<212> РНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетическая последовательность	
	<400> 84	
10	uggcgaaaaag cucasggacg aggaagugga cgaugauc cgcgaggcgg auaucgacgg	60
	cgacggacag gucaascuacg aggauiucg caccugaug acaucaaaa ugaagggcua	120
	cuauucgscg ggaauagcag cccaacaag	150
	<210> 85	
	<211> 150	
15	<212> РНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетическая последовательность	
	<400> 85	
20	aaassuagag ucsgaaagcg agaascuuua acascugaui augcuauaga uauacauac	60
	gacuagagga cagaagaca gacagacaga cugagcagac gaacgggcaa guugaagaa	120
	agccgaguiug aacuggcuaa ccgucggua	150
	<210> 86	
	<211> 150	
25	<212> РНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетическая последовательность	
	<400> 86	
30	cuaucuaia uicgauagui acagacaaca acaugaaaa cgcagcaac aaucsgcaac	60
	aaacacacgg acauucgaca caaugaggu aaacugaaca ugugcagcg gaagucgau	120
	ggcagcggua cacagucguc cuacugcugc	150
	<210> 87	
	<211> 150	
35	<212> РНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетическая последовательность	
	<400> 87	
40	ugcugsaau gcuaacacuc aauaauaga auaauaaua uauuuuaga aauaugaua	60
	ugucugcuaa aagagaaca aacaacaca acaaacgcuu uaaaaaucg auaaaagcu	120
	aagaagaa uaaugagcag ucgacaugg	150
	<210> 88	
	<211> 156	
45	<212> РНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетическая последовательность	

	<400>	88		
			ggcaacgguu ucauuucggc ggccgagcuc aggcacguua ugaccaaccu uggcgagaag	60
			cuuacggacg aggagguaga ugagaugauu cgggagggcag auuuugacgg ugauggucag	120
			gucaacuacg aggaguucgu caccaugaug acgucc	156
5	<210>	89		
	<211>	257		
	<212>	РНК		
	<213>	Искусственная последовательность		
	<220>			
10	<223>	Синтетическая последовательность		
	<400>	89		
			ggcggaucag cugaccgagг агсаааусгс сгаауусааг gaggcuuuca gccugucga	60
			uaaagacggu гауггсасаа uuacgaccaа ggaacuggg accgucaugc gguccucgg	120
			ссагаассси асугаггсуг агсуусаага саугаусаас gaggucgacg cugacgguaa	180
15			сггсасиауи гасиуиссаг агуиуисас гаугауггсг сгуаааауга аггасacca	240
			сиссгагггаг гагауисс	257
	<210>	90		
	<211>	420		
	<212>	РНК		
20	<213>	Искусственная последовательность		
	<220>			
	<223>	Синтетическая последовательность		
	<400>	90		
			ggaacagauc gccgaguuca aagaggcguu uagccuguuu gacaaggacg gagauggcac	60
25			гаукасгаса ааггагсисг гуасггуаау гсгауисис гсccagaacc cacugaggcu	120
			гаасигсггг асаугаусаа сггггисгас гсccгггсгс ссггаасгау агаууисссу	180
			гагуиссиса сааугаугса агааагауга аггасaccга сисггггггг ггауисггага	240
			ggcguiiccgc гуауиссгаса аггаугсаас ггуиуисаууи сггсггсccга гсисаггсас	300
			гуиуаугасса ассиуггсга гаагсуиасг гасгггггггг uагаугагау гауисгггггг	360
30			гсагауаууиг асггугауггг uсагггусаас uасгггггггггг ucгucaccau гаугасггсс	420
	<210>	91		
	<211>	372		
	<212>	РНК		
	<213>	Искусственная последовательность		
35	<220>			
	<223>	Синтетическая последовательность		
	<400>	91		
			ggaacagauc gccgaguuca aagaggcguu uagccuguuu gacaaggacg gagauggcac	60
			гаукасгаса ааггагсисг гуасггуаау гсгауисис гсccagaacc cacugaggcu	120
40			гаасигсггг асаугаусаа сггггисгас гсccгггсгс ссггаасгау агаууисссу	180
			гагуиссиса сааугаугса агааагауга аггасaccга сисггггггг ггауисггага	240
			ggcguiiccgc гуауиссгаса аггаугсаас ггуиуисаууи сггсггсccга гсисаггсас	300
			гуиуаугасса ассиуггсга гаагсуиасг гасгггггггг uагаугагау гауисгггггг	360
			гсагауаууиг ас	372
45	<210>	92		
	<211>	477		
	<212>	РНК		
	<213>	Искусственная последовательность		

	<220>		
	<223>	Синтетическая последовательность	
	<400>	92	
5		ggcggaucaag cugaccgagg agcaaaucgc cgaauucaag gaggcuuucg gccuguuuca 60	
		uaaagacggg gauggcасаа uиасгассаа gгаасиaggg accgucaugc ggucccucgg 120	
		ссагаассси асигaggcug агсииусаага саугаисаас gaggucgacg cugacgguaa 180	
		сггсасиаии гасиииссаг агиииссисас гаугаuggcg cгуааааауга aggacaccga 240	
		сиссгaggag gгаиссггга агсииуиagg гуиуиугаиа аагасggaaa uggcuucauu 300	
		исггсигсаг агсигaggca cгуаааугасс аассиuggcg аааагсисас ggacgaggaa 360	
10		гиггасгага uгаиссгсга ggcggauauc гасггсгасг гасaggucaa сиасгaggag 420	
		иисгисасга uгаугасаис ааааугаagg гсисасиаиу гсгсгггaaa агсagcc 477	
	<210>	93	
	<211>	373	
	<212>	ДНК	
15	<213>	Искусственная последовательность	
	<220>		
	<223>	Синтетическая последовательность	
	<400>	93	
20		ggagatcgcc gagttcaaaг aggcgtttag cctgtttgac aaggacggag atggcacgat 60	
		сасгасаааг gagctcggta cggtaatgcg atctctcggc cagaaccca ctgaggctga 120	
		actgcaggac atgatcaacg aggtcgacgc cgacggctcc ggaacgatag atttccctga 180	
		gttcctcaca atgatggcaa gaaagatgaa ggacaccgac tcggaggagg агатccгага 240	
		ggcgttccgc gtattcgaca aggatggcaa cggtttcatt tcggcggccg агctcaggca 300	
		cgttatgacc аассттггсг агаагсттас ggacgaggag gtagatgaga tgattcggga 360	
25		ggcagatatt гас 373	
	<210>	94	
	<211>	376	
	<212>	РНК	
	<213>	Искусственная последовательность	
30	<220>		
	<223>	Синтетическая последовательность	
	<400>	94	
35		gгаасагаис gссгагииса аагaggсгии uагссигиуи гасаaggacg gагаuggсac 60	
		гаисасгаса аaggagсисг гуасггуааи гсгаисисис ggccagaacc ccacugaggc 120	
		uгаасигсаг гасаиугаиса асгaggucгa cгссгасггс uccggaacga uагаиуиссс 180	
		игагииссис асааиугаиг саагааагаи гааггасасс гасисггagg aggагаиссг 240	
		агаггсгиис сгсгуаиисг асааггаигг саасггиуис аиуисггсгг ссгagсисаг 300	
		гсасгииаиг ассаассиуг гсгагаагси иасггасгag gagguaгаиг агаиугаиисг 360	
40		ggaggсагаи аиугас 376	

(57) Формула изобретения

1. Композиция селективного инсектицида для борьбы с клещами *Varroa destructor*, содержащая эффективное количество молекулы нуклеиновой кислоты, имеющей последовательность, которая по существу комплементарна или по существу идентична участку целевой последовательности гена кальмодулина *Varroa destructor*, или РНК, транскрибируемой с него, где молекула нуклеиновой кислоты обладает по меньшей мере 90% идентичностью с последовательностью, выбранной из SEQ ID NO: 90-92 и 94, и где указанная молекула нуклеиновой кислоты не содержит последовательность из

19 или более последовательных нуклеотидов, которые на 100% идентичны или комплементарны последовательности гена нецелевого организма.

2. Композиция для борьбы с *Varroa destructor*, содержащая пчелиный корм и эффективное количество молекулы нуклеиновой кислоты, имеющей последовательность, которая по существу комплементарна или по существу идентична участку целевой последовательности гена кальмодулина *Varroa destructor*, или РНК, транскрибируемой с него, где молекула нуклеиновой кислоты обладает по меньшей мере 90% идентичностью с последовательностью, выбранной из SEQ ID NO: 90-92 и 94, и где указанная молекула нуклеиновой кислоты не содержит последовательность из 19 или более последовательных нуклеотидов, которые на 100% идентичны или комплементарны последовательности гена нецелевого организма.

3. Конструкция нуклеиновой кислоты для борьбы с *Varroa destructor*, содержащая молекулу нуклеиновой кислоты, которая по существу идентична или по существу комплементарна участку целевой последовательности гена кальмодулина *Varroa destructor*, или РНК, транскрибируемой с него, функционально связанной с последовательностью промотора, функционирующей в клетке-хозяине, и способна продуцировать дцРНК при введении в указанную клетку-хозяина, где молекула нуклеиновой кислоты обладает по меньшей мере 90% идентичностью с последовательностью, выбранной из SEQ ID NO: 90-92 и 94, и где указанная молекула нуклеиновой кислоты не содержит последовательность из 19 или более последовательных нуклеотидов, которые на 100% идентичны или комплементарны последовательности гена нецелевого организма.

4. Способ предоставления композиции медоносной пчеле, включающий предоставление пчеле эффективного количества композиции, содержащей молекулу нуклеиновой кислоты, которая по существу идентична или по существу комплементарна участку целевой последовательности гена кальмодулина *Varroa destructor*, или РНК, транскрибируемой с него, где молекула нуклеиновой кислоты обладает по меньшей мере 90% идентичностью с последовательностью, выбранной из SEQ ID NO: 90-92 и 94, и где указанная молекула нуклеиновой кислоты не содержит последовательность из 19 или более последовательных нуклеотидов, которые на 100% идентичны или комплементарны последовательности гена нецелевого организма, в результате чего указанная нуклеиновая кислота присутствует в ткани медоносной пчелы.

5. Способ снижения паразитирования *Varroa destructor* на медоносной пчеле, включающий предоставление пчеле эффективного количества композиции молекулы нуклеиновой кислоты, при этом указанная молекула нуклеиновой кислоты по существу идентична или по существу комплементарна участку целевой последовательности гена кальмодулина *Varroa destructor*, или РНК, транскрибируемой с него, где молекула нуклеиновой кислоты обладает по меньшей мере 90% идентичностью с последовательностью, выбранной из SEQ ID NO: 90-92 и 94, и где указанная молекула нуклеиновой кислоты не содержит последовательность из 19 или более последовательных нуклеотидов, которые на 100% идентичны или комплементарны последовательности гена нецелевого организма, тем самым снижая паразитирование *Varroa destructor* на указанной пчеле.

6. Способ снижения нагрузки *Varroa destructor* медоносной пчелы в улье медоносных пчел, включающий предоставление указанной медоносной пчеле эффективного количества молекулы нуклеиновой кислоты, которая по существу идентична или по существу комплементарна участку целевой последовательности гена кальмодулина *Varroa destructor*, или РНК, транскрибируемой с него, где молекула нуклеиновой кислоты

обладает по меньшей мере 90% идентичностью с последовательностью, выбранной из SEQ ID NO: 90-92 и 94, и где указанная молекула нуклеиновой кислоты не содержит последовательность из 19 или более последовательных нуклеотидов, которые на 100% идентичны или комплементарны последовательности гена нецелевого организма, в результате чего снижается паразитарная нагрузка на указанную медоносную пчелу.

7. Способ селективной обработки вида членистоногих от *Varroa destructor*, включающий доставку эффективного количества молекулы нуклеиновой кислоты, которая по существу идентична или по существу комплементарна участку целевой последовательности гена кальмодулина *Varroa destructor*, или РНК, транскрибируемой с него, в вид членистоногих, где молекула нуклеиновой кислоты обладает по меньшей мере 90% идентичностью с последовательностью, выбранной из SEQ ID NO: 90-92 и 94, и где указанная молекула нуклеиновой кислоты не содержит последовательность из 19 или более последовательных нуклеотидов, которые на 100% идентичны или комплементарны последовательности гена нецелевого организма.

8. Композиция по любому из пп. 1 и 2, или способ по любому из пп. 4-7, или конструкция по п. 3, где из указанной молекулы нуклеиновой кислоты удален по меньшей мере один нуклеотид по сравнению с указанной целевой последовательностью гена кальмодулина *Varroa destructor*.

9. Композиция по любому из пп. 1 и 2, или способ по любому из пп. 4-7, или конструкция по п. 3, где указанная молекула нуклеиновой кислоты содержит по меньшей мере одну замену нуклеотида по сравнению с указанной целевой последовательностью гена кальмодулина.

10. Композиция по любому из пп. 1 и 2, или способ по любому из пп. 4-7, или конструкция по п. 3, где указанная молекула нуклеиновой кислоты представляет собой дцРНК.

11. Композиция или способ по п. 10, где указанная дцРНК представляет собой миРНК.

12. Композиция или способ по п. 10, где указанная дцРНК содержит последовательность нуклеиновой кислоты, выбранную из последовательностей SEQ ID NO: 90-92 или 94.

13. Композиция селективного инсектицида по п. 1, дополнительно содержащая вспомогательное вещество.

14. Композиция селективного инсектицида по п. 13, отличающаяся тем, что указанная композиция поглощается клещом или абсорбируется клещом.

15. Композиция селективного инсектицида по п. 13, отличающаяся тем, что указанное вспомогательное вещество выбрано из группы, состоящей из белка, пыльцы, углевода, полимера, жидкого растворителя, сахарного сиропа, твердого сахара и полутвердого корма.

16. Композиция селективного инсектицида по п. 15, отличающаяся тем, что указанный жидкий растворитель выбран из группы, состоящей из раствора сахарозы и раствора кукурузного сиропа.

17. Композиция селективного инсектицида по п. 15, отличающаяся тем, что указанный белок выбран из группы, состоящей из пыльцы и соевого белка.

18. Композиция селективного инсектицида по п. 13, отличающаяся тем, что указанное вспомогательное вещество выбрано из твердого сахара, заменителя сахара или сахарной добавки.

19. Композиция селективного инсектицида по п. 18, отличающаяся тем, что указанный твердый сахар содержит микрочастицы сахара, пропитанные указанной молекулой нуклеиновой кислоты.

20. Композиция селективного инсектицида по п. 1, отличающаяся тем, что указанная композиция дополнительно содержит одну или более молекул нуклеиновой кислоты.

21. Композиция селективного инсектицида по п. 20, отличающаяся тем, что указанная одна или более молекул нуклеиновой кислоты содержит вторую последовательность нуклеиновой кислоты, комплементарную второму участку целевой последовательности гена кальмодулина.

22. Композиция селективного инсектицида по п. 21, отличающаяся тем, что указанная вторая молекула нуклеиновой кислоты содержит один или более фрагментов нуклеиновой кислоты.

23. Композиция по п. 2, отличающаяся тем, что указанный пчелиный корм содержит продукт питания пчелы, выбранный из группы, состоящей из кукурузного сиропа, заменителя пыльцы, пыльцы, лепешки из пыльцы и помадки.

24. Конструкция нуклеиновой кислоты по п. 3, дополнительно содержащая по меньшей мере один регуляторный элемент, выбранный из группы, состоящей из лидерных последовательностей трансляции, интронов, энхансеров, структур типа «стебель-петля», связывающих репрессор последовательностей, терминирующих последовательностей, последовательностей паузы и последовательностей узнавания полиаденилирования.

25. Конструкция нуклеиновой кислоты по п. 3, отличающаяся тем, что указанная клетка-хозяин выбрана из группы, состоящей из клетки бактерии и клетки дрожжей.

26. Способ по п. 4, отличающийся тем, что указанная медоносная пчела представляет собой пчелу из колонии и указанное кормление уменьшает чувствительность указанной колонии пчел к *Varroa destructor*.

27. Способ по п. 4 или 5, отличающийся тем, что указанная медоносная пчела представляет собой пчелу-сборщицу или домашнюю пчелу.

28. Способ по п. 5, отличающийся тем, что указанная медоносная пчела представляет собой пчелу из колонии и указанное кормление снижает паразитирование *Varroa destructor* на указанной колонии пчел.

29. Способ по п. 28, отличающийся тем, что указанное снижение уровня паразитирования на указанной колонии пчел включает выживаемость менее чем 25%, 15%, 10% или 5% указанного *Varroa destructor*.

30. Способ по п. 6, отличающийся тем, что исходная нагрузка *Varroa destructor* указанного улья медоносных пчел составляет по меньшей мере 1, 2, 3, 5, 10 или более *Varroa destructor* на 100 пчел.

31. Способ по п. 30, отличающийся тем, что указанная нагрузка *Varroa destructor* снижается до менее чем 2, до менее чем 3, до менее чем 5 или до менее 10 *Varroa destructor* на 100 пчел.

32. Способ по п. 7, отличающийся тем, что указанная обработка снижает паразитарную нагрузку указанного вида членистоногих, снижает смертность указанного вида членистоногих или предотвращает паразитирование на указанном виде членистоногих.

33. Способ по п. 7, отличающийся тем, что указанный вид членистоногих выбран из группы, состоящей из *Apis mellifera*, *Apis cerana*, *Trigona minima*, *Halictidae*, *Bombus sp.*, *Ichneumonoidea* (паразитических ос), блох, мух, вшей, зудней и клещей.

34. Способ по п. 7, отличающийся тем, что указанный вид членистоногих представляет собой образующий колонии вид.

35. Способ по п. 7, отличающийся тем, что указанный вид членистоногих представляет собой *Apis mellifera*.

36. Способ по п. 7, отличающийся тем, что указанная доставка включает способ, выбранный из группы, состоящей из доставки через кормушку, распыления на рамки улья и контактирования с применением находящегося внутри улья устройства, пропитанного указанной композицией.

5

10

15

20

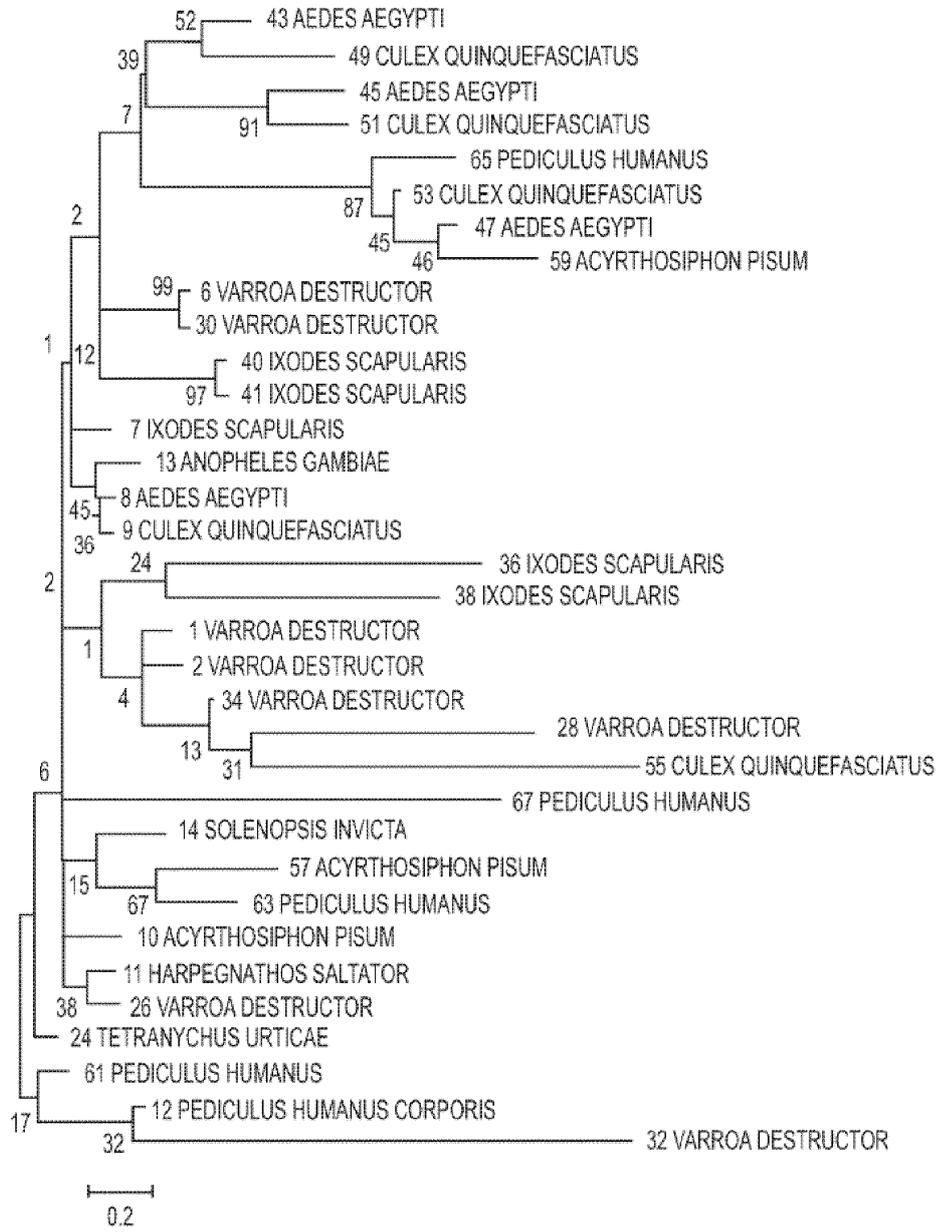
25

30

35

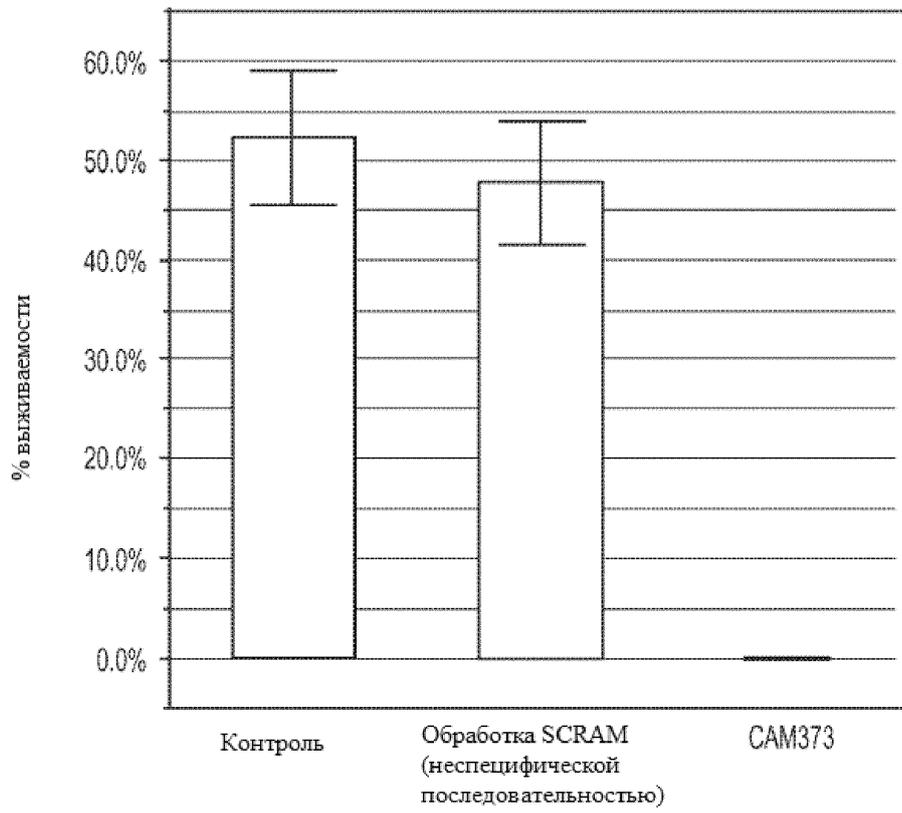
40

45



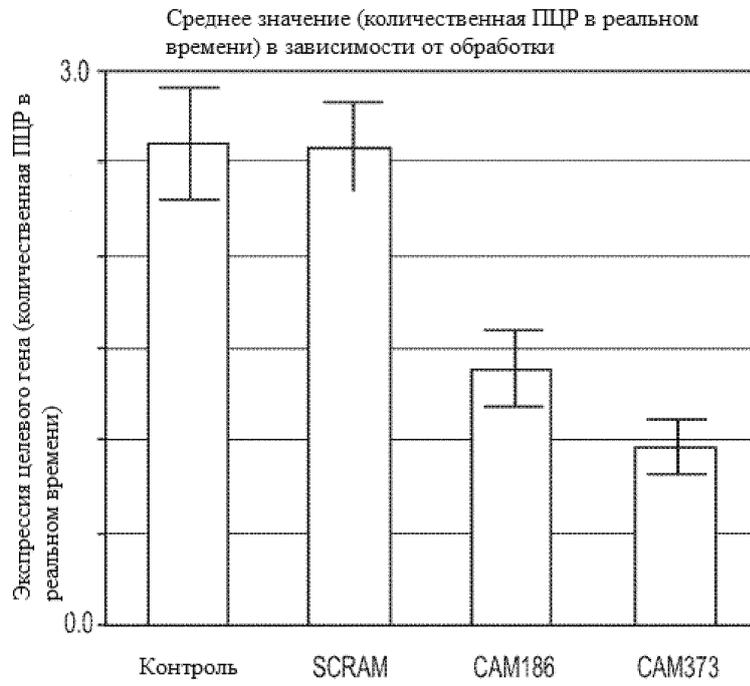
Фиг. 1

2/11

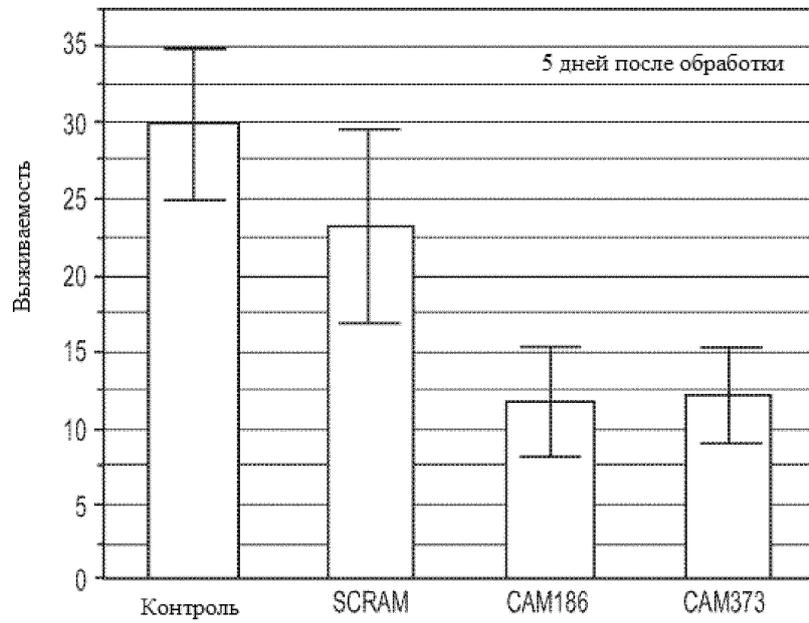


Фиг. 2

3/11

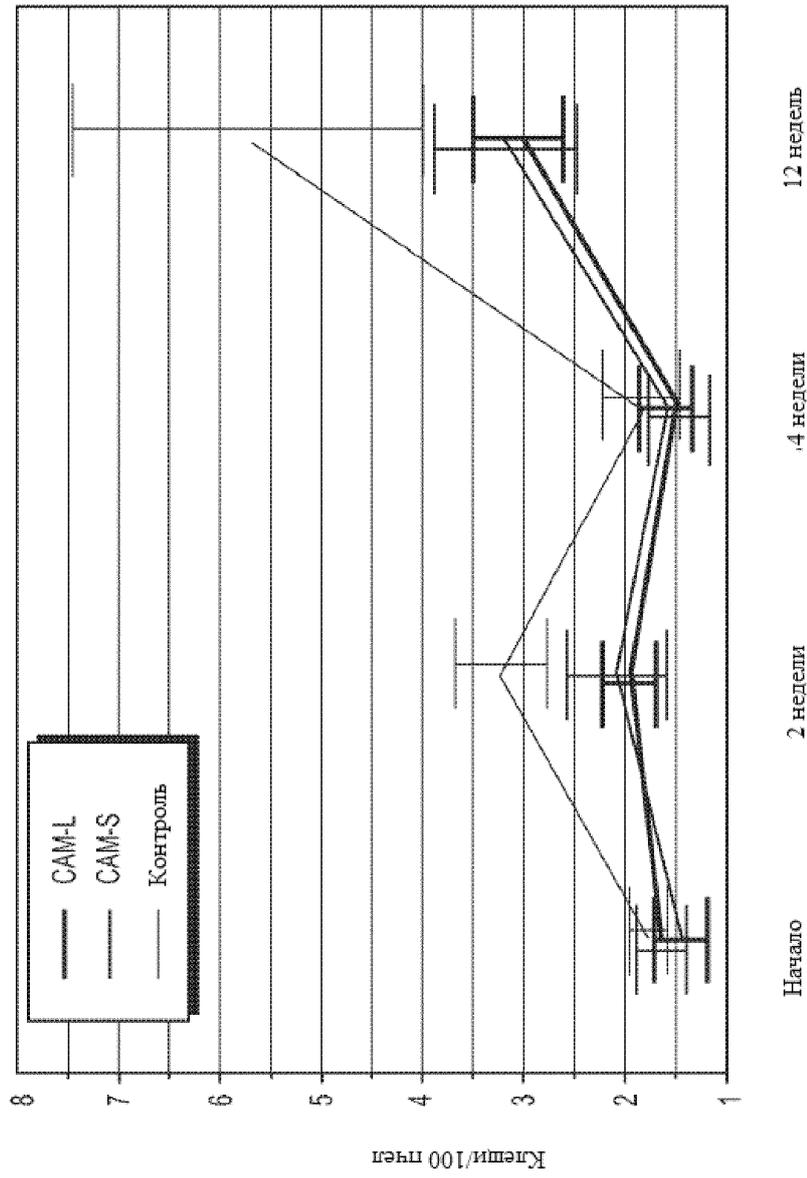


Фиг. 3А



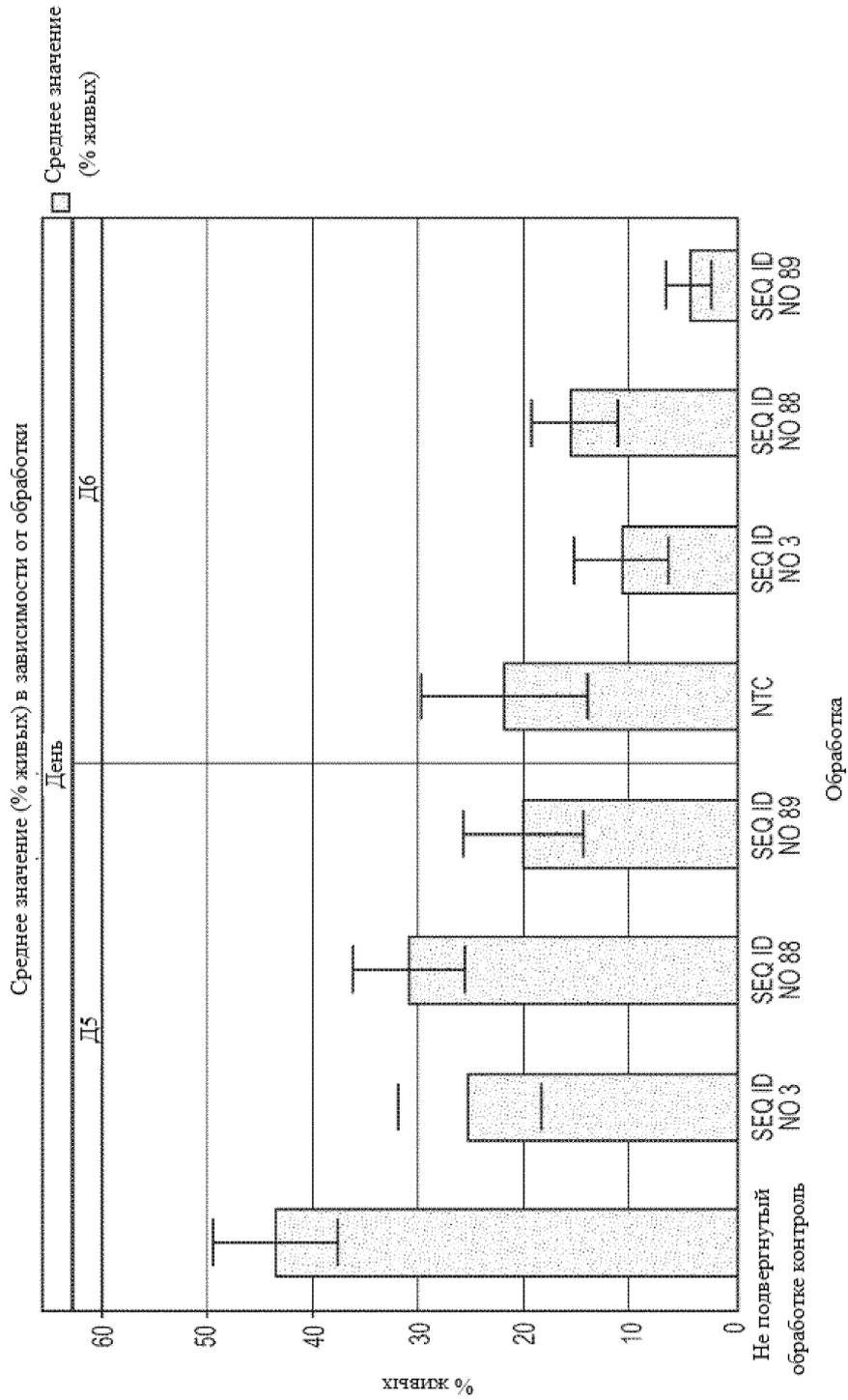
Фиг. 3В

4/11

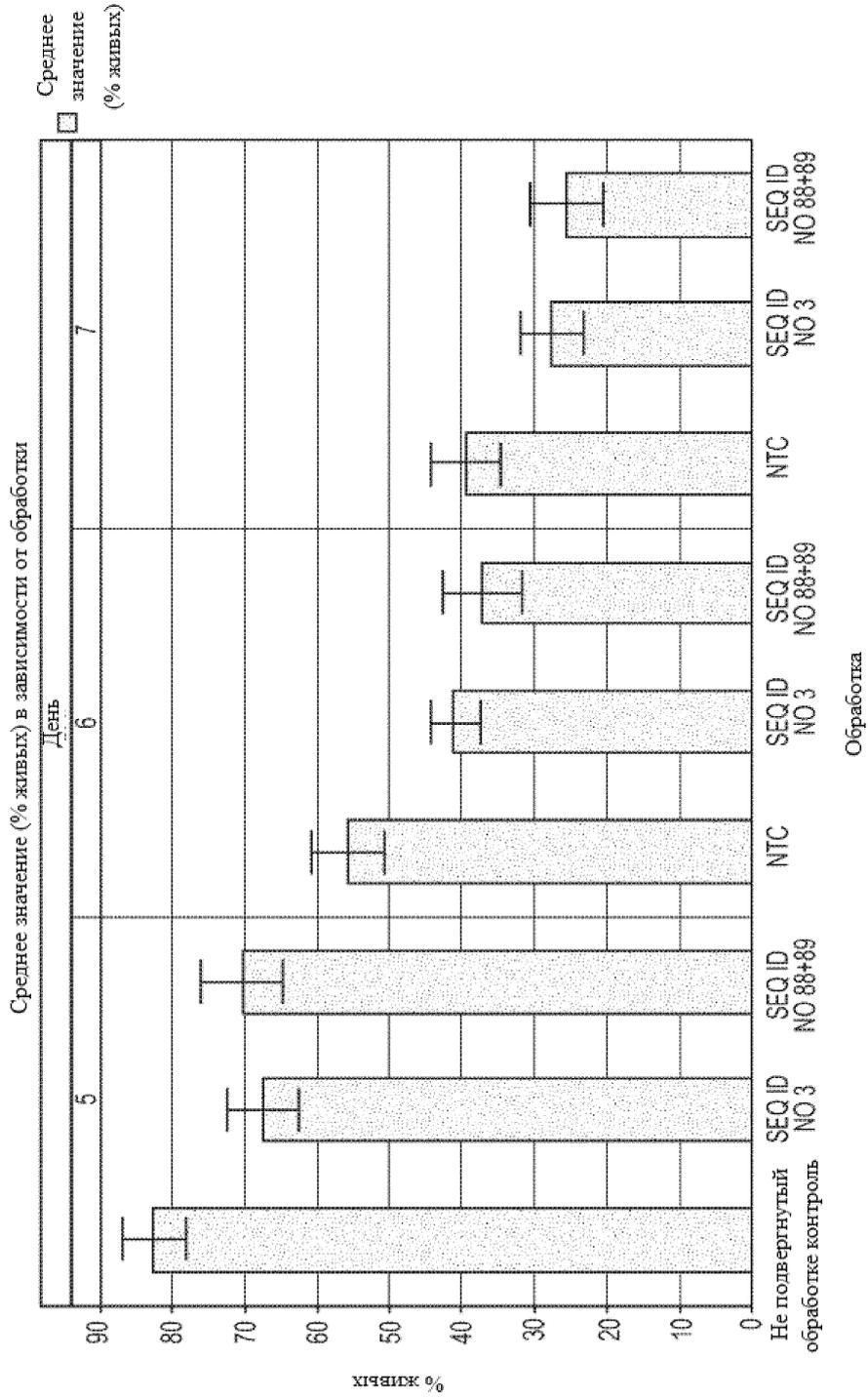


Фиг. 4

5/11

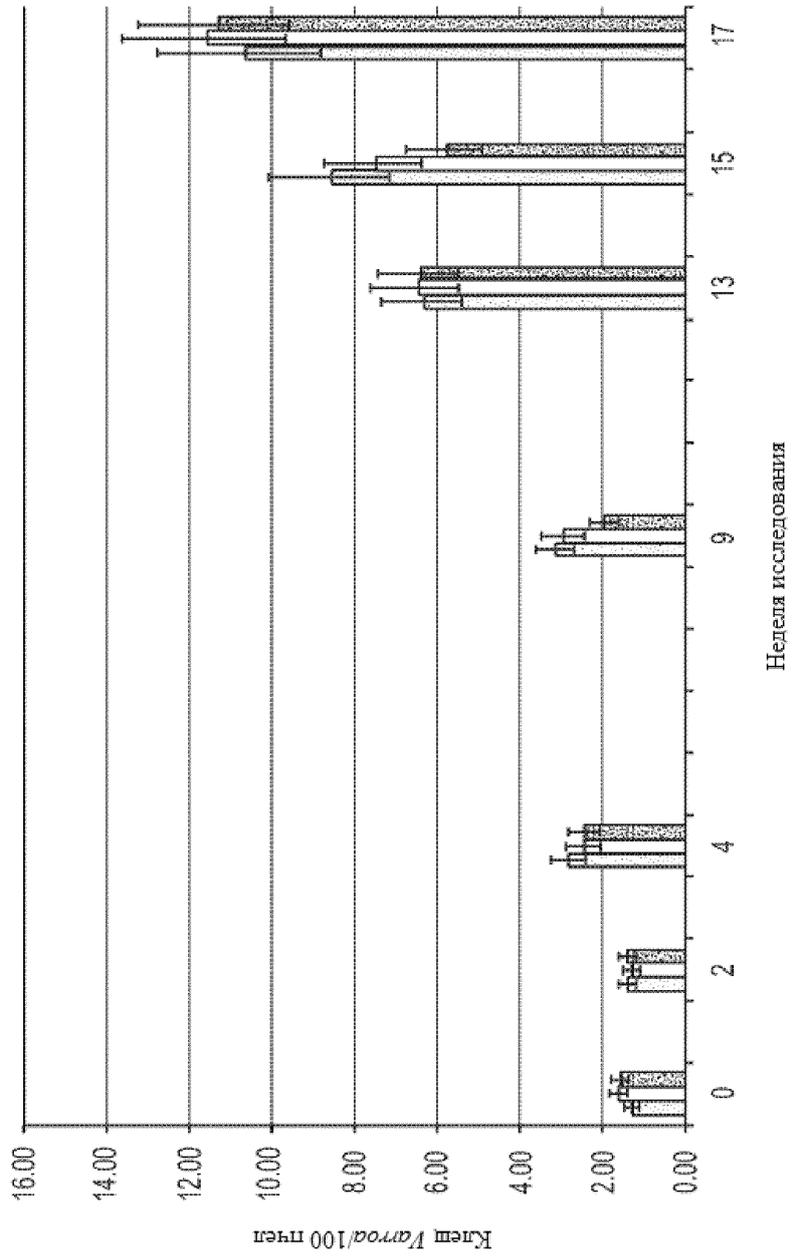


Фиг. 5

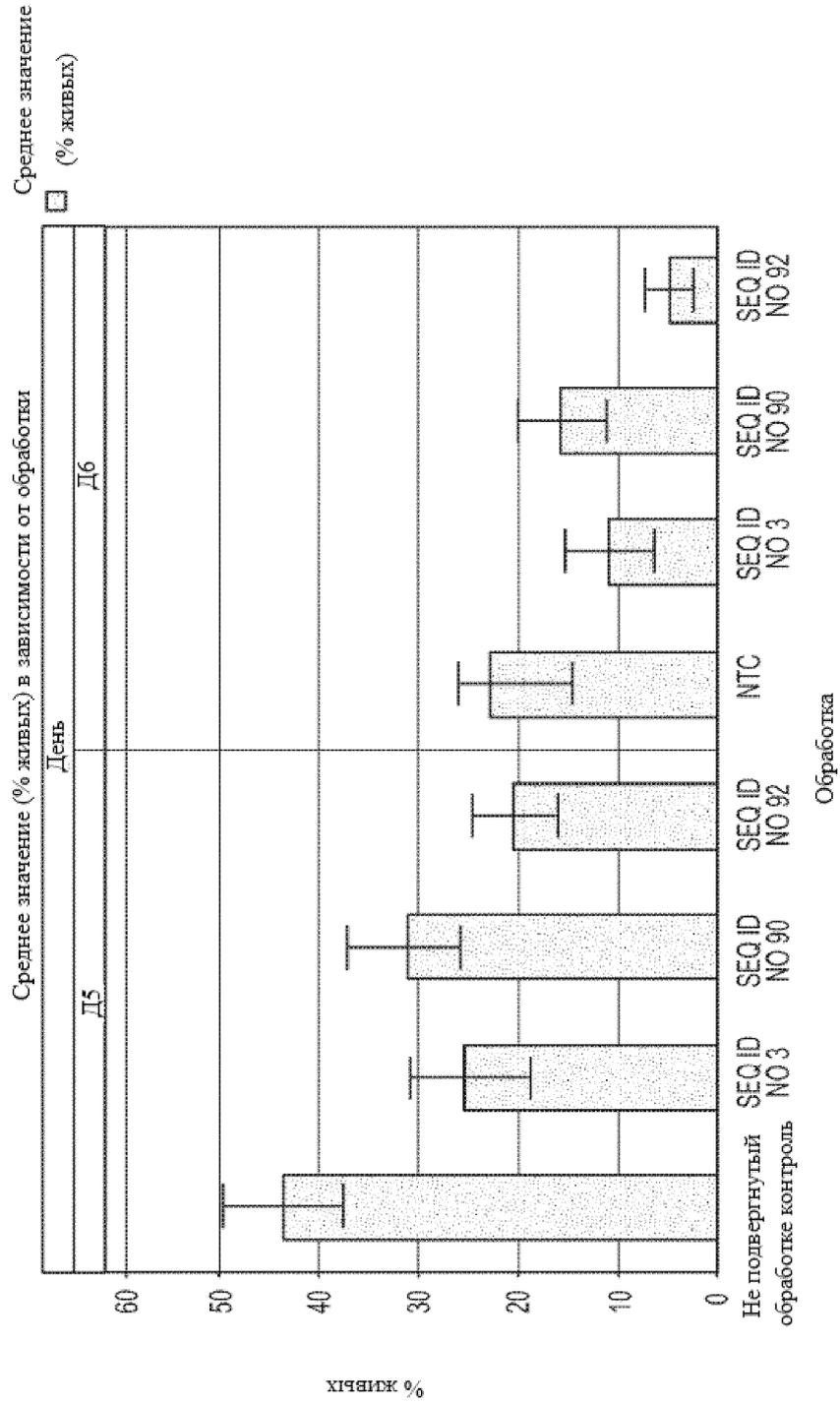


Фиг. 6

7/11

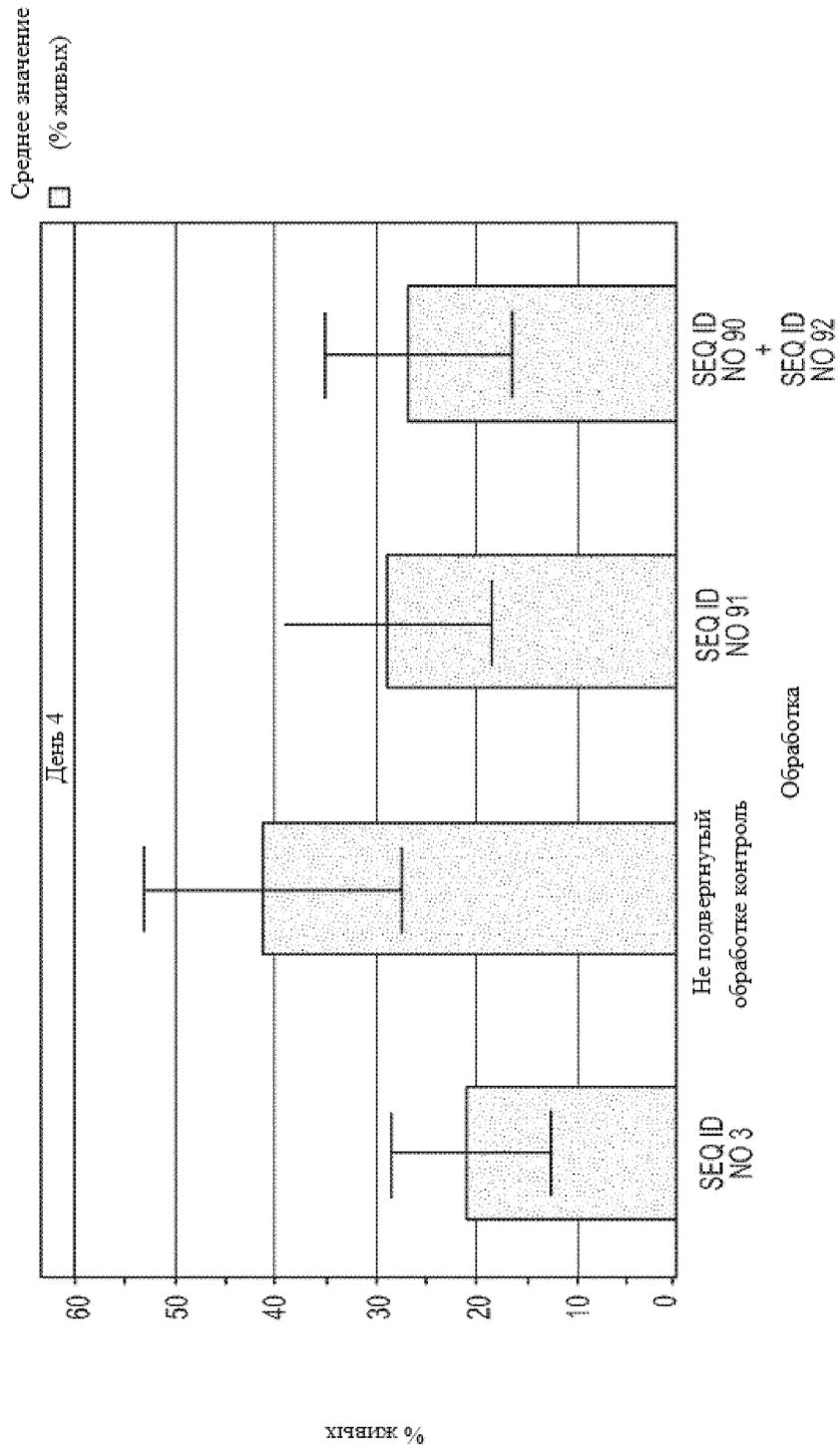


Фиг. 7

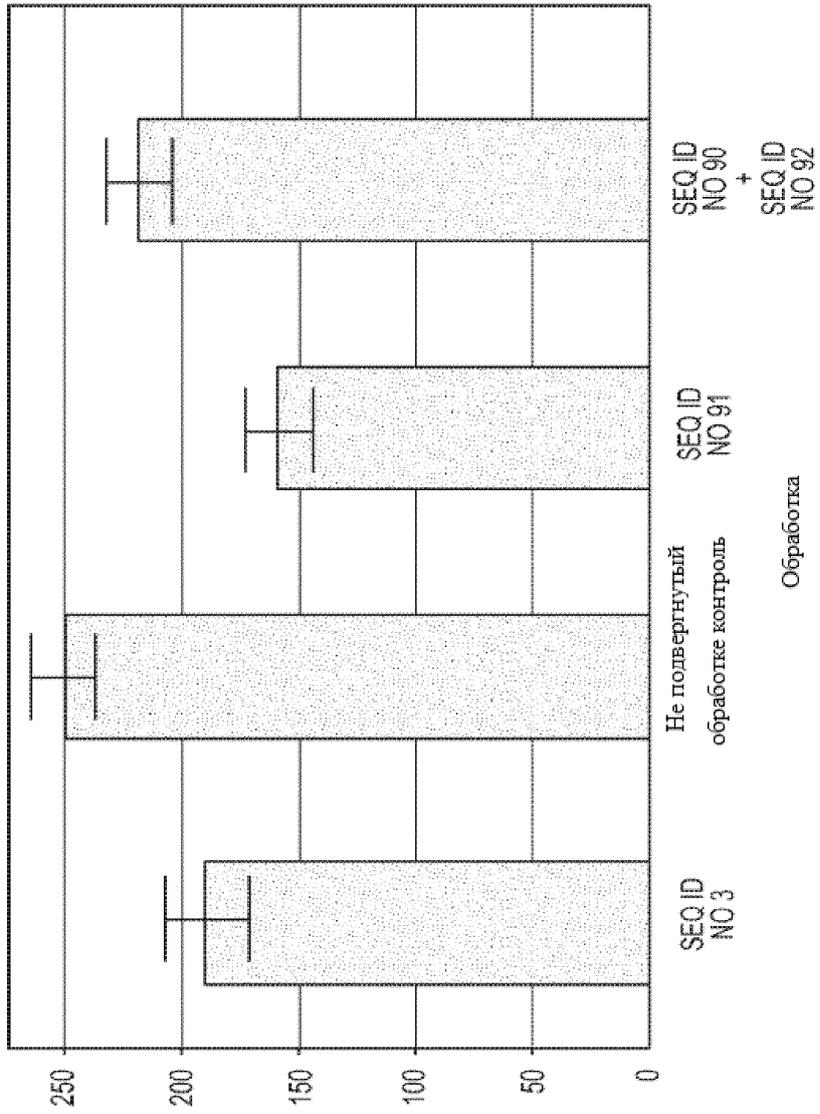


Фиг. 8

9/11

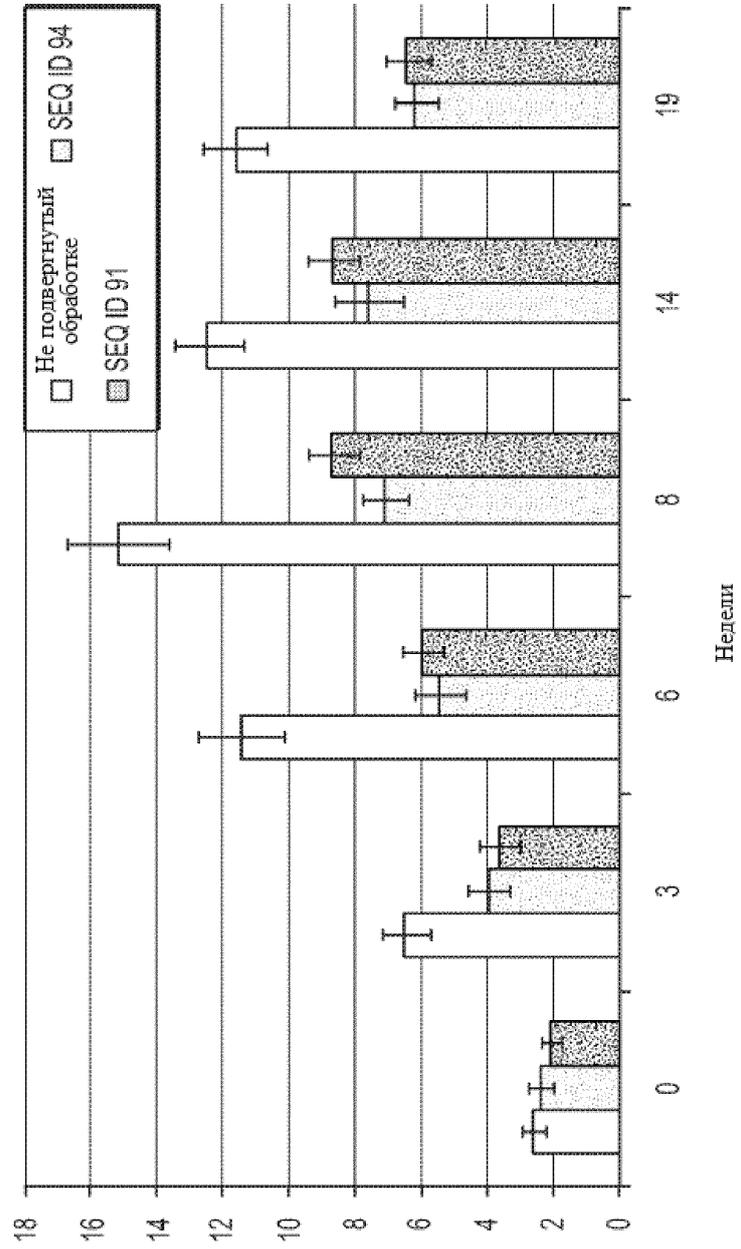


Фиг. 9



Фиг. 10

11/11



Фиг. 11