! " #$%&' (") #! *$%+! , ' +, ! &$
-! &) .' +.(" $, %." /$
#--0.' #+.(" %$(1$+2&$
-#! +.+.(" $1, " ' +.(" $

34$

+567894$: ;<=$

$

$

>7?87@$' 7Ⱥ=B=$

CDDE$

$

82397:; !8<1$6<O=!!
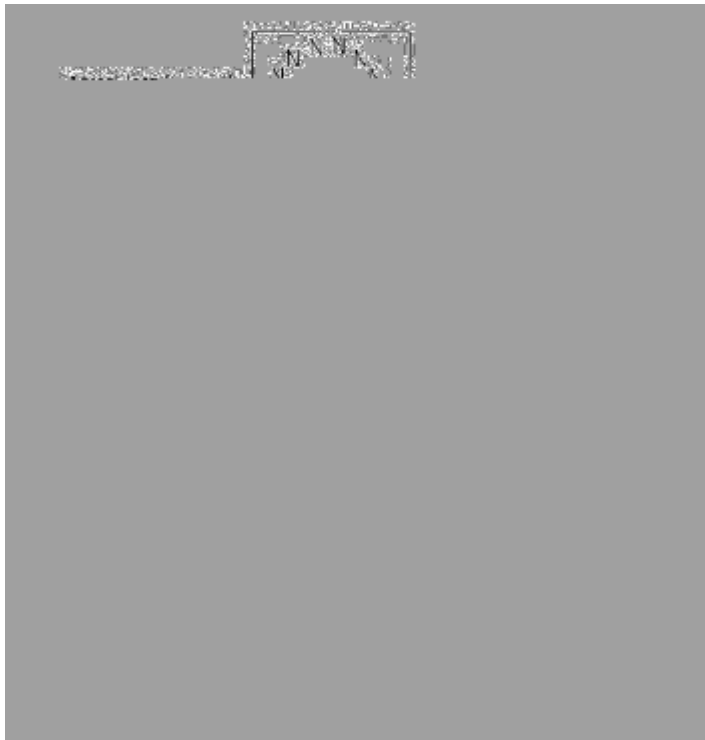+!97:1; 2!><?; 4!3O!8$$@?!<O4!A¹ᴮ!<O4!C⁷¹!324; 2!@<2D3E!@34; :?!

!
&]K;@F5@B$ LK7@$;$ M76KL8;857@;A$?MH==@5@B$;KKH7;M9$ L?=F$ 87$ 5F=@85J4$ A5<=A4$

$

KH7M=??T$+7$KH=G=@8$89=$, ／#$M7F7@$JH76$3=5@B$5@8=HKH=8=F$;?$;$?87K$M7F7@0$;?$

5?$@7H6;AA4$89=$M;?=0$H=PL5H=?$89=$KH=?=@M=$7J$;$?=A=@7M4?8=5@=$5@?=H857@$?=PL=@M=$

_%&'.%$=A=6=@8`$H=?5F5@B$5@$89=$F7N@?8H=;6$L@8H;@?A;8=F$K7H857@$7J$89=$6! "#T$

1.／UI+9=$M7@?=HG=F$%&'.%$6785J$JH76$eH4L<7G$
+9=$5@585;A$J5A8=H5@B$KH7M=??L?=?$;$H=BLA;H0=]KH=??57@$3;?=F$J5A8=H5M;AF$–;8%M;@0$

NH588=@34! 7??$(G=H3==<$;@F$?565A;H$5@$JL@M857$87$89=$877A?$L?=F$34$eH4L<7G$

;@F$O=?MLH=$5@$89=$5@585;A K9;?=?$7J$89=$5@585;A$?MH==5@@5@B$8=M9@5KL=?T$.8$;AA7N?$89=$

J7AA7N5@B$M7=?8H;@8$5@8?$87$3=-@J7HM=FI$

UT%K=M5J5M$?L30=]KH=??57@?$6;4$3=$7J$G;H5;3=$7H$J5]=F$A=@B89$

CT$#$?$L30=]KH=??57@$6;4$9;G=$;$?$K=M5J5M$@LMA=-785F=$?=PL=@M=0$7H$6;4$3=;$$$$$$$$$$$$$$$$$$$$$$

@LMA=-785F=$FH;N@$JH76$;$?=8$7J$LM9$

ET$#$?$L30=]KH=??57@$6;4$3=$M7@?8H;5@=F?LM9$89$8$58$58=$K7??53A=$5K7??535A585=?$

K;5H0$9=A5M;44$N589$;@789=H$?L30H=B57@$;@$5;?=8$7J$7J3;;?=0K;5H0$K7??535A585=0?$

_:;8?7@0'H5M<$;@$F$K78=@85;AA4$／0,`$

XT$+9=$M7@?8H;5@8$5@8?$$@$_E`6;4$3=$A77?=@=F$34$;;AA7N5@B$?K=M5J5M$B;K??7H$

65?6;8M9=?$5@@$5@9=$9=A5M;A$A$H=57@?$

X$

$

H=?8H5M857@$5⑥K7?=F$34$89=$5@585;A$J5A8=H⓪N=H=$@78$⑥=;?LH=F$J7H$89=$KLHK7?=$7J$

H;@<5@B$89=$958?$89;8$K;??=F$89=$$?MH==@T$$

$

[$

interior base pair

closing base pair

5' G   U
3' C   A

closing base pair

stacking pair

hairpin loop

interior base pair

G

A

closing base pair

5'

3'

interior base pair

closing base pair

loop

bulge

interior l

interior base pairs

G

C

A

5' — A

3' — U

base pair

closing

se loop

multi

$

!

1. ∕CI&@=HB=85M;AA4$M7@8H53L85@B$?L3?8HLM8LH=?0$JH7 6$: LM984$=8$;AT$

$

.@$89=$H=MLH?57@0$89=$J5H?8$M;?=$M7HH=?K7@F?$87$89=$$a89$3;?=$37@F5@B$N589$89=5890
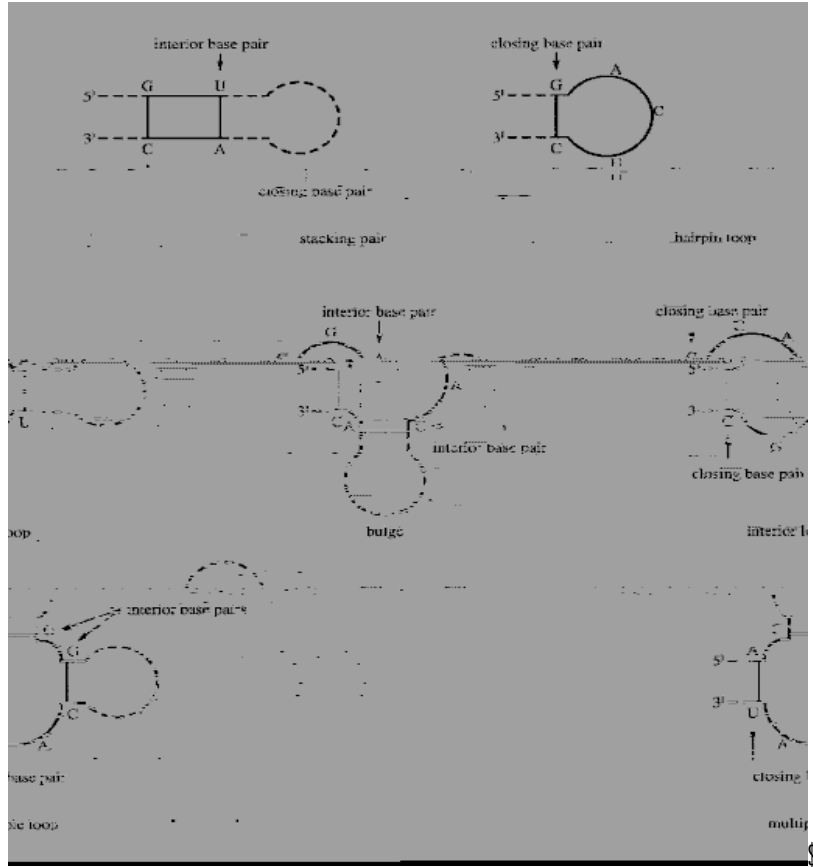
89=$@=]8$8N7$M;?=?$;H=$F;@BA=?0$;@F$89=$$A;?8$M;?=$;MM7L@8?$J7H$N9=@$89=$$a89$3;?=$

37@F?$N589$$?76=$3;?=$3=8N==@$$5$;@F$aT$

$

! =G5?5@B$'' L??@@7G$g;M73?7@87;MM7L@8$J7H$89=$;M8L;$89=H67F4@;65M$

M7@8H53L857@?$7J$?L3?8HLM8LH=?$H=PL5H=?$?=G=H;;$M;?=?$

2;5HK5@$A77K?$5@@=H57H87;$3;?=0K;5H$50aR$3LAB=?0$8;M<=F$3;?=0K;5H?$;@F$5@8=H57H$

A77K?$N95M9$H=$F=8=H65@=F$F34$8N7$3;?=0K;?$;?=@=$@5@J5BLH$5CR$;@FF6LA850

A77K?$N95M9$H=$=@MA7?=F$34$;@F$$7L8=H67?8$3;?=0K;5H$;@F$9;G=$?=G=H;;A5@@FK=K=F=@8$

$

?L3?8HLM8LH=?$M7@8;5@=F$34$58T$.@$;AA$M;?=?0$89=$7L8=H67?8$3;?=0K;5H$F7=?$@78$9;G=$

;@$=@=HB4$M7@8H53L857@T$$

2=@M=$WL<=H0%;@<7JJ$5?I$

$

$

!

!

$

@6' <?D7::J?!<:G3271BF !932!&;?1;4!$1256152;?!

$

SM' ;?<5AY?$;AB7H5896$9;?$;$F5?85@M8$;FG;@8;B=$7G=H$89=$65@56L6$JH==$=@=HB4$

?8HLM8LH=$KH=F5M857@$;AB7H5896?0$5@$89;8$58$M;K8LH=?$89=$=@85H=$=@?=63A=$7J$

$

$

+9=@$89=$H=MLHH=@M=?$J7H$89=$H=6;5@F=H$;H=I$

$

i $^6_{5a}$h89=$?L6$7G=H$5b9bha$7J$_$=n_-=@;A84`$I $i $^6_{5090U}$`ki $^{6U}_{9a}$k=n_3;?=`$N9=H=$
  -=@;A84$5?$;$JL@M857@$7J$89=$L@K;5H=F$3;?=?$5@$89=$A=J8$9;@F$K7H857@$7J$89=$$
  6LA850A77K$;@F$3;?=$5?$89=$M7@8H53L857@$7J$;@$;FF5857@;A$3;?=0K;5H$5@?5F=$;$
  6LA850A77KT$$

$

i $^3_{5a}$

$

$

1. ⁄XI#@$=A=6=@8;H4$K?=LF7<@78$

$

+9=$6;]565d;857@$H=A5=?$LK7@$?76=$L@8=?8=F$89=H67F4@;65M$K;H;6=8=H?0$FL=87
89=$H=A;85G=$5@JH=PL=@M4$7J$89=$7MMLHH=@M=$7J$K?=F7<@78?0$N95M9$N=H=$M97?=@$J7H$
89=5H$;35A584$87$H=KH7FLM=$-$]K=H56=@8;AA4$F=8=H65@=F$H=?LA8?N5897L8$L@FLA4$7G=H0
KH=F5M85@B$K?=LF7<@788=F$?8HLM8LH=?T$ +9=$K;H;6=8=H?$KL@5?9$M7@?8HLM857@$7J$
K?=LF7<@78$N5895@@$K?=LF7<@78?0$;@F$@=B;85G=$_?8;35A5d5@@B`$?=M7@F;H4$?8HLM8LH=$
M7@8H53L857@?$N5895@@$K?=LF7<@78$;H=$A=??=@=FF34$;$?M;A5@B$J;M87HT$&FF40!5G;?$
;A?7$56KA=6=@8?$8;35A5d5@B$=@=HB=85M$M7@8H53L857@?$J7H$M7;]5;A$?8;M<5@B$N9=H=$5J$5$
;@F$<$3;?=0K;5H0$;@F$A$;@F$a$3;?=0K;5H0$;@F$Ah<I U@$89=@$89=H=$5?$;$?8;35d5@B$=@=HB4$

$

$
+9=$H=MLHH=@M=?$J7H$89=?=$6;8H5M=?$H=MLH?=$7@$89=6?=AG=?$;@F$7@$89=$L@97A=F$
6;8H5M=?0$N95M9$;H=$KH=?=HG=F$A;HB=A4$5@8;M8$JH76$89=$WL<=H0%;@<7JJ$#AB7H5896T$
" 78;3A40$89=$H=MLHH=@M=?$M7@8;5@$35JLHM;85@B$M;?=?$89;8$;AA7N$J7H$;$97A=F$6;8H5]$
=A=6=@8$87$M7@8;5@$M7@8H53L857@?$JH76$89=$?L6$7J$8N7$789=H$97A=F$6;8H5M=?T$
.@$J5BLH=$Z$N=$?==$@7@0@=?8=F$35JLHM;857@?$89;8$M7@8H53L8=87N9]T$$

$

1./ZI" 7@0@=?8=F$M7@8H53L857@?$87$N9]_5%R<0A`$

$

+9=?=$@7@0@=?8=F$35JLHM;857@?$;AA7N$;H358H;H40$L@H=?8H5M8=F$K?=LF7<@78?$87$3=$
KH7FLM=FT$.@$J5BLH=$[$N=$?==$97N87M7@?8HLM8$;$K?=LF7<@78$JH89=6$&
!""'""$""#""("%$;@F$89L?$M;@$KH7FLM=$<0;H4$K?=LF7<@78?0$H=PL5H5@B$;@$
;H358H;H4$@L63=H$7J$?=8?7J$K;88H5M=?$==$?5?$LA856;8=A4$;MM7L8=F$J7H$KH7FLM5@B$
89=$7K856;?=M7F;4$?=M7@F;H;4$H4$?8HLM8LH=T$

$

!

1./$[I$-?=LF7<@78$' 7@?8HLM857@$
$

.@$&FF40!5G;?0$89=$J5@;A$M76KL8;857@$5?$8HL@M;8=F34M763$5@5@B$7@A4$8N7$97A=$
6;8H5M=?$;8$89=$87K$K$A=G=@T$$#?$;$H=?LA80$5@MAL@;8$57@$7J$7J$M=?<@78?0$?LM9$;;$?$
897?=$7J$;$K;H;AA=A$3=8;0?9==80$M;@@78$3=$F=8=H6@=FT$!
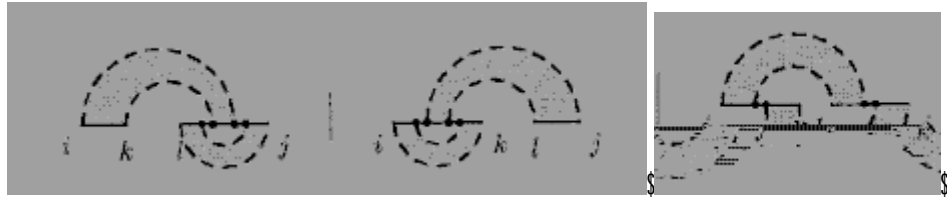
!
!

UX$

$

5@8H7FLM5@B$?L3M;?=?$ 89;8$ N=H=$ 6L8L;AA4$ =]MAL?5G=$;@F$;AA7N=F$ J7H$ K7?585G=$

$

6;8H5M=?$5?$;$M7@8H53L857@$JH76$;$?8HLM8LH=$M7@8;5@5@B$;$K?=LF7<@780$N95M9$N;?$
@78$89=$M;?=$5@$&FF40! 5G;?0$N95M9$F=K=@F=F$LK7@$89=$N=5B985@B$;@F$K=@;A5d5@B$
7J$M7635@;857@?$7J$97A=$6;8H5M=?87KH=G=@8$89=5H$3=5@B$M97?=@$;?;?7K856;A$N9=@$
89=H=$N;?$@$;G;5A;3A=$@=?8=F$?8HLM8LH=$5@$$89

UV$

&
&
&
&
&
B.!*/4#&2&GHI1!*/4#&5&+,6&789&:;<&*=J=,=4&;:&&
&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&GHID!*/4CJ/,#&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&!1#&
&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&5&+,6&789&:;<&*=,=4&;:&&
&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&-9!*51/,01#>-91!,/401#>FK&&&&&&&&&&&&&!D#&
&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&5&-.!*/?01#>B,.!?/@CA/9#&
&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&>-,.!A51/4C951/@01#>EF13F>F11&&&&&&&&&!E#&
&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&:;<&?@@&&*=?=2A=&901&=9=2@&=401&
#B;5@0$;?$6;8H5M=?$N6$;@F$N6U$;H=$5F=@85M;A$87$89=5H$M7L@8=HK;H8?$5@$SM' ;?<5AA0$

89=$ 87K67?8$ H=MLH?57@?$ _U`$ ;@F$ _C`$;H=$ 5F=@85M;A$ 87$ 89=$ @=?8=F$ M;?=$ N95A=$ _E`$

;88=6K8?87$L@5PL=A4$;MM7L@8$J7H$89=$$K?=LF7<@78$M7@8H53L857@?$T$$

$

+9=H=$;H=$89=@$89H==$;FF5857@;A$H=MLHH=@M=?$5@$89=$M;AMLA;857@$7J$89=$K;H85857@I$
N9]0$ G9]0$;@F$ d9]T$ (J$ 89=$ 89H==0$ d9]$ 5?$ 89=$ 67?8$ M7@?8H;5@=FT$ .8$ 9;?$ 3==@$
H=F=J5@=F$

$
L,.!*/4CA/@#2&-.!*51/&A#&>&-.!@/401#&5&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&!1#&
&&&&&&&&&&&&&:;<&*=,=2A&?MN&@=J=24&+,6&789&;:&
&&&&&&&&&&&&&&&&&*:&!,/J&O?M&P?76Q?*<#R&
&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&B.!*/4C,/J#>L,.!,/JCA/@#&&&&&&&&&&&&!D#&
&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&6@76R&3&
+9=$J5H?8$M;?=$9;@FA=?$?$?8HLM8LH=?$5$5@8=H57H$87$89=$$3;?=0K;5H0$;@F$89=$$?=M7@F$H=MLH?=?$

7@$G9]T$$

$
B,.!*/4CA/@#2&&
&&&&&&&*:!*/4&O?MS+&P?76Q?*<&;<&A/@&O?MS+&P?76Q?*<#R&3&&&&&&!1#&
&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&6@76&*:!*2A&?MN&@24#R&1"3&&&&&&&&&&&&&&&&&!D#&
&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&6@76&*:!*2A&;<&@24#R&3&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&!E#&
&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&6@76&
&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&-.!*51/A01#>-.!@51/401#&5&&&&&&&&&&&&&&!T#&
&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&GHI^D!*/4CA/@#&5&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&!K#&
&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&:;<&*=J=A&?MN&@= ,=4&+,6&789&;:&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&&

$$$$$$$$$$$$$$$$$$$$$$$$
&PL;857@$_U`$;@F$_E`$;H=$$3;?=$M;?=?$J7HHG9]R$89=4$KH=G=@8$89=$$8N7$$3;?=0K;5H?$
H=PL5H=F$87$$?;??$J4$89=$$M7@?8H;5@8$5@8T$&PL;857@$$_C`$5?$$;3;?=$M;?=$8$5?5?$@=M=??;H4$H4$87$$H4$87$$H4$87$&PL;857@;857@$

6;5@8;5@$89=$H=MLH?57@$7@$G9]$5@$N]$;@F$G]T$&PL;857@$_X`$5?$89=$M;?=$N9=H=$@7$
;FF5857@;A$K;5H?$MH7??$89=$97A=0$=PL;857@$_Z`$5?$89=$M7@8H53L857@$7J$G9]$;?$;$?8;M<0$
3LAB=0$7H$5@8=H57H$A77KT$&PL;857@$_[`$H=MLH?=?$5@N;HF?$7@$?8;M<=F$G9]Y?$5@8=H@;A$87$
895?$7@=T$$

15@;AA4I$

$

$

$

CU$

$

$

\#FF5857@;A\$ 8=?8\$ HL@?\$ 87\$;@?N=H\$ 89=?=\$ PL=?857@?\$ 5@\$ K;H85MLA;H\$ 6L?8\$ N;58\$ J7H\$;\$

CE\$

$

89=5H$ N7H?8$;MM7L@8$ J7H$ 67H=$ 7J$ 89=$ =@=HB=85M$ M7@8H53L857@?$ 87$ 89=$ 3;?=?$ 5@$
PL=?857@$89;@$F7=?$89=$SM' ;?<5AA$56KA=6=@8;857@$5@$f5=@@;$! " #$K;M<;B=T$$
$
1LH89=H$ N7H<$5@MALF=?$ J5@F5@B$;@$ 7K856;A$?7AL857@87 89=$ KH73A=6$ 7J$ F;@BA=?$
3;?=F$LK7@$6L8L;AA4$=]MAL?5G=$??L30M;?=?$7J$G;H57L?$6;8H5M=?$89;8;$FF5857@;AA4$N5AA$
;AA7N$ 89=$ 5@M7HK7H;857@$ 7J$ M7;]5;A$?8;M<5@B$ M7@8H53L857@?T$ #FF5857@;AA4$ 89=$

$

>.>0.(/! #-2*$

>;8=@3LHB01T$2T$) T$G;@R$/ LA84;=G0$#T-R$-A=5a0$' T: T#R$'' B0gR(A5=97=<0gR_CDDD`T$

CV$

$

" L??5@7G0$! R$g;M73?7@0$#T$>T$_U^\D`$H)19!),*8'/95$!-8'!4'&0/+9/:*!95&!1&+8:0)'I!19'#+9#'&!
8-!1/:*,&619'):0&0!2" . T$-H7M==F5@B?$7J$89=$" ;857@;A$#M;F=64$7J$%M5=@M=?$7J$
89=$, @58=F$%8;8=?$7J$#6=H5M;0$VV_UU`I[ED^00[EUET$

$

! 5G;?0$&A=@;R$&FF40$%=;@$! T$_U^^^`$