



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110691849 A

(43)申请公布日 2020.01.14

(21)申请号 201880036053.5

(22)申请日 2018.05.30

(30)优先权数据

17173964.2 2017.06.01 EP

17209407.0 2017.12.21 EP

17209535.8 2017.12.21 EP

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2019.11.29

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/EP2018/064221 2018.05.30

(87)PCT国际申请的公布数据

W02018/220034 EN 2018.12.06

(71)申请人 豪夫迈·罗氏有限公司

地址 瑞士巴塞尔

(72)发明人 鲁文·阿尔瓦雷斯·桑切斯

罗伯托·依阿哥尼

彼得·哈哲多恩 苏珊娜·凯姆乐

索仁·奥托森

辛德瑞·特劳斯塔森

海迪·赖伊·胡德布施

吕克·彼泽森 马尔科·贝雷拉

安德雷斯·迪克曼

(74)专利代理机构 中科专利商标代理有限责任

公司 11021

代理人 张国梁 张莹

(51)Int.Cl.

C12N 15/113(2006.01)

A61K 31/712(2006.01)

A61K 31/7125(2006.01)

A61P 27/02(2006.01)

权利要求书2页 说明书57页

序列表82页 附图20页

按照条约第19条修改的权利要求书2页

(54)发明名称

用于调节HTRA1表达的反义寡核苷酸

(57)摘要

本发明涉及与HTRA1互补的反义寡核苷酸(寡聚体),其导致HTRA1表达的调节。HTRA1表达的调节对于一系列医学病症诸如黄斑变性如年龄相关的黄斑变性有益。

1. 长度为10-30个核苷酸的反义寡核苷酸,其中所述反义寡核苷酸靶向HTRA1核酸,并包含10-22个核苷酸的连续核苷酸区域,所述连续核苷酸区域与SEQ ID NO 113至少有90%诸如100%的互补性。

2. 权利要求1所述的反义寡核苷酸,其中所述连续的核苷酸区域与选自SEQ ID No 231,186,192和205组成的组的序列完全互补。

3. 权利要求1或2所述的反义寡核苷酸,其中所述连续核苷酸区域包含与选自SEQ ID NO 124-230组成的组的序列完全互补的至少12个连续核苷酸。

4. 权利要求1-3中任一项所述的反义寡核苷酸,其中所述连续核苷酸区域包含与SEQ ID NO 113完全互补的至少12个连续核苷酸。

5. 权利要求1-4中任一项所述的反义寡核苷酸,其中所述连续核苷酸区域包含与SEQ ID NO 113完全互补的至少14个连续核苷酸。

6. 权利要求1-5中任一项所述的反义寡核苷酸,其中所述寡核苷酸的连续核苷酸区域由下述序列组成或包含下述序列:选自SEQ ID NO 67,73和86中的任一个,或其至少12个连续核苷酸。

7. 权利要求1-6中任一项的反义寡核苷酸,其中所述寡核苷酸的连续核苷酸区域包含一个或更多个2'糖修饰的核苷,诸如独立地选自以下各项组成的组的一个或更多个2'糖修饰的核苷:2'-O-烷基-RNA,2'-O-甲基-RNA,2'-烷氧基-RNA,2'-O-甲氧基乙基-RNA,2'-氨基-DNA,2'-氟-DNA,阿拉伯糖核酸(ANA),2'-氟-ANA和LNA核苷。

8. 权利要求1-7中任一项所述的反义寡核苷酸,其中所述寡核苷酸的连续核苷酸区域包含至少一个经修饰的核苷间连接,诸如一个或多个硫代磷酸酯核苷间连接,或诸如所述连续核苷酸区域内的所有核苷间连接是硫代磷酸酯核苷间连接。

9. 权利要求1-8中任一项所述的反义寡核苷酸,其中所述寡核苷酸或其连续核苷酸序列是或包含gapmer,诸如式5'-F-G-F'-3'的gapmer,其中区域F和F'独立地包含1-7个糖修饰的核苷,且G是能够募集RNA酶H的6-16个核苷的区域,其中与区域G相邻的区域F和F'的核苷是糖修饰的核苷。

10. 权利要求9所述的反义寡核苷酸,其中,区域F和F'中的至少一个或两者各自包含至少一个LNA核苷。

11. 权利要求1-10中任一项的反义寡核苷酸,其中所述连续核苷酸区域选自以下各项的组:

TTCtatctacgcaTTG (SEQ ID NO 67),

CTTCttctatctacgCAT (SEQ ID NO 73), 和

TACTttaatagcTCAA (SEQ ID NO86);

其中大写字母是LNA核苷酸,小写字母是DNA核苷,且胞嘧啶残基任选是5-甲基胞嘧啶。

12. 权利要求10或11所述的反义寡核苷酸,其中所述LNA核苷为β-D-氧基LNA核苷。

13. 权利要求1-12中任一项所述的反义寡核苷酸,其中所述连续核苷酸区域的核苷酸之间的核苷间连接都是硫代磷酸酯核苷酸间连接。

14. 寡核苷酸,其包含选自下述组成的组的寡核苷酸或由其组成:

$T_s T_s^m C_s t_s a_s t_s C_s t_s a_s^m C_s g_s C_s a_s T_s T_s G$ (SEQ ID NO 67,1),

$^m C_s T_s T_s^m C_s t_s t_s C_s t_s a_s t_s C_s t_s a_s^m C_s g_s C_s A_s T$ (SEQ ID NO 73,1), 和

$T_s A_s^m C_s T_s t_s t_s a_s a_s t_s a_s g_s C_s T_s^m C_s A_s A$ (SEQ ID NO 86, 1);

其中大写字母代表 β -D-氧基LNA核苷,小写字母是DNA核苷,下标s代表硫代磷酸酯核苷间连接,^mC代表5甲基胞嘧啶 β -D-氧基LNA核苷,且^mc代表5甲基胞嘧啶DNA核苷。

15. 权利要求1-14中任一项所述的寡核苷酸的药学上可接受的盐。

16. 缀合物,其包含权利要求1-15中任一项所述的寡核苷酸和至少一个共价附接至所述寡核苷酸的缀合物部分。

17. 药物组合物,其包含权利要求1-15所述的寡核苷酸或权利要求16所述的缀合物和药学上可接受的稀释剂,溶剂,载体,盐和/或佐剂。

18. 用于在表达HTRA1的靶细胞中调节HTRA1表达的体内或体外方法,所述方法包括以有效量施用权利要求1-15中任一项所述的寡核苷酸或权利要求16所述的缀合物或权利要求17所述的药物组合物至所述细胞。

19. 一种治疗或预防疾病的方法,该方法包括向患有或易患所述疾病的受试者施用治疗或预防有效量的权利要求1-15中任一项所述的寡核苷酸或权利要求16所述的缀合物或权利要求17所述的药物组合物。

20. 权利要求1-15中任一项所述的寡核苷酸或权利要求16所述的缀合物或权利要求17所述的药物组合物,其用于药物中。

21. 权利要求1-15中任一项所述的寡核苷酸或权利要求16的缀合物或权利要求17的药物组合物,其用于治疗或预防选自以下各项组成的组的疾病:黄斑变性(诸如湿性AMD,干性AMD,地图状萎缩,中期dAMD,糖尿病性视网膜病),帕金森病,阿尔茨海默病,迪谢内肌营养不良,关节炎(如骨关节炎)和家族性缺血性脑小血管疾病。

22. 权利要求1-15中任一项所述的寡核苷酸或权利要求16的缀合物或权利要求17的药物组合物在制备用于治疗或预防选自以下各项组成的组的疾病的药物中的用途:黄斑变性(诸如湿性AMD,干性AMD,地图状萎缩,中期dAMD,糖尿病性视网膜病),帕金森病,阿尔茨海默病,迪谢内肌营养不良,关节炎,如骨关节炎,和家族性缺血性脑小血管疾病。

23. 权利要求19-22中任一项所述的用途或方法,其中所述方法或用途是用于治疗黄斑变性。

用于调节HTRA1表达的反义寡核苷酸

发明领域

[0001] 本发明涉及与HTRA1互补的反义寡核苷酸(寡聚体),其导致HTRA1表达的调节。HTRA1表达的调节对于一系列医学病症诸如黄斑变性如年龄相关的黄斑变性有益。

背景技术

[0002] 人高温需求A(human high temperature requirement A,HTRA)家族的丝氨酸蛋白酶普遍表达的PDZ蛋白酶,其通过蛋白酶和分子伴侣的双重功能,参与维持细胞外区室的蛋白质稳态。HTRA蛋白酶与细胞外基质的组织,细胞增殖和衰老有关。HTRA活性的调节与严重疾病有关,所述严重疾病包括迪谢内肌营养不良(Bakay等2002, *Neuromuscul. Disord.* 12:125-141),关节炎(诸如骨关节炎(Grau等2006, *JBC* 281:6124-6129),癌症,家族性缺血性脑小血管疾病和年龄相关的黄斑变性,以及帕金森病和阿尔茨海默病。人HTRA1含有胰岛素样生长因子(IGF)结合结构域。已经提出其调节IGF的可用性和细胞生长(Zumbrunn和Trueb,1996, *FEES Letters* 398:189-192)并展现出肿瘤抑制特性。HTRA1表达在转移性黑色素瘤中下调,并因此可能指示黑色素瘤的进展程度。转移性黑素瘤细胞系中HTRA1的过表达减少了体外增殖和侵袭,并且在异种移植小鼠模型中减少了肿瘤的生长(Baldi等,2002, *Oncogene* 21:6684-6688)。在卵巢癌中,HTRA1表达也下调。在卵巢癌细胞系中,HTRA1过度表达诱导细胞死亡,而反义HTRA1表达促进锚定非依赖性生长(Chien等,2004, *Oncogene* 23:1636-1644)。

[0003] 除了对IGF途径的作用外,HTRA1还抑制TGF β 家族生长因子的信号传导(Oka等,2004, *Development* 131:1041-1053)。HTRA1能够切割淀粉样前体蛋白(APP),HTRA1抑制剂引起A β 肽在培养细胞中的积累。因此,HTRA1也与阿尔茨海默病有关(Grau等,2005, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 102:6021-6026)。

[0004] 此外,已经观察到HTRA1上调并且似乎与迪谢内肌营养不良(Bakay等2002, *Neuromuscul. Disord.* 12:125-141)和骨关节炎(Grau等2006, *JBC* 281:6124-6129)和AMD(Fritsche,等 *Nat Gen* 2013 45(4):433-9)有关。

[0005] HTRA1启动子区域(rs11200638)中的单核苷酸多态性(SNP)与发生年龄相关的黄斑变性(AMD)的风险增加了10倍有关。此外,HTRA1 SNP与发展年龄相关的黄斑变性(AMD)的风险增加有关的ARMS2 SNP(rs10490924)存在连锁不平衡。风险等位基因与HTRA1 mRNA和蛋白质表达增加2-3倍相关,并且HTRA在AMD患者的玻璃疣中存在(Dewan等,2006, *Science* 314:989-992;Yang等,2006, *Science* 314:992-993)。Htra1的过表达在小鼠中诱导AMD样表型。hHTRA转基因小鼠(Veierkott, *PlosOne* 2011)揭示了Bruch膜弹性层的降解,确定脉络膜血管异常(Jones, *PNAS*, 2011年),并增加了息肉状脉络膜血管病变(Polypoidal choroidal vasculopathy,PCV)病变(Kumar, *IOVS* 2014)。此外,已报道hHTRA1 Tg小鼠中的Bruch膜损伤,这决定了其暴露于香烟烟雾后增加CNV 3倍(Nakayama, *IOVS* 2014)。

[0006] 年龄相关的黄斑变性(AMD)是65岁以上人群不可逆视力丧失的主要原因。随着AMD的发作,眼后部的光敏感光感受器细胞,在代谢上支持他们的下层色素上皮细胞以及他们

提供的清晰的中央视觉逐渐丧失。年龄是AMD发病的主要危险因素:55岁后患AMD的可能性增至三倍。吸烟,浅的虹膜颜色,性别(女性风险更大),肥胖以及反复暴露于UV辐射也会增加患AMD的风险。AMD进展可分为三个阶段:1)早期AMD,2)中期AMD和3)晚期AMD。晚期AMD有两种形式:干性AMD(也称为地图状萎缩,GA)和湿性AMD(也称为渗出性AMD)。干性AMD的特征在于光感受器和视网膜色素上皮细胞的丧失,其导致视觉丧失。湿性AMD与病理性脉络膜的(也称为视网膜下的)新血管形成有关。在此过程中形成的异常血管的泄漏会破坏黄斑并损伤视力,最终导致失明。在某些情况下,患者可以表现出与两种类型的晚期AMD相关的病理。湿性AMD的治疗策略需要经常注射到眼睛中,并且主要集中在延迟疾病的进展上。目前尚无用于干性AMD的治疗方法。因此,在提供治疗黄斑变性病况例如湿性和干性AMD的有效药物方面存在未满足的医学需求。WO 2008/013893要求保护用于治疗患有年龄相关的黄斑变性的受试者的组合物,其包含核酸分子,所述核酸分子包含与HTRA1基因或mRNA杂交的反义序列:没有公开反义分子。

[0007] WO2009/006460提供靶向HTRA1的siRNA及其在治疗AMD中的用途。

[0008] 发明目的

[0009] 本发明提供体内或体外调节HTRA1的反义寡核苷酸。本发明鉴定了存在于人HTRA1 mRNA(包括前mRNA)中的隐蔽靶序列基序,其可以被反义寡核苷酸靶向以产生有效的HTRA1抑制。本发明还提供能够抑制HTRA1的有效的反义寡核苷酸序列和化合物,以及它们在治疗指示HTRA1的疾病或病症中的用途。

发明内容

[0010] 本发明涉及靶向哺乳动物HTRA1核酸的寡核苷酸,即是能够抑制HTRA1的表达并治疗或预防与HTRA1的功能有关的疾病的。靶向HTRA1的寡核苷酸是反义寡核苷酸,即是与其HTRA1核酸靶标互补的。

[0011] 本发明的寡核苷酸可以是药学上可接受的盐的形式,例如钠盐或钾盐。

[0012] 因此,本发明提供反义寡核苷酸,其包含长度为10-30个核苷酸的,具有与哺乳动物HTRA1核酸的至少90%的互补性的(诸如完全互补的)连续核苷酸序列,诸如SEQ ID NO 1,SEQ ID NO 2,SEQ ID NO 3或SEQ ID NO 4。

[0013] 在另一方面,本发明提供包含本发明的寡核苷酸和药学上可接受的稀释剂,载体,盐和/或佐剂的药物组合物。

[0014] 本发明提供LNA反义寡核苷酸,诸如LNA gapmer寡核苷酸,其包含长度为10-30个核苷酸的,具有与HTRA1核酸至少90%的互补性的(诸如完全互补的)连续核苷酸序列,诸如选自自由SEQ ID NO 1,SEQ ID NO 2,SEQ ID NO 3或SEQ ID NO 4组成的组的序列。

[0015] 本发明提供一种反义寡核苷酸,其包含在10-30个(诸如12至22个)核苷酸的连续核苷酸区域,其中所述连续核苷酸区域与SEQ ID NO 113至少90%互补,诸如100%互补。

[0016] 本发明提供长度为10-30个核苷酸的反义寡核苷酸,其中所述反义寡核苷酸包含10-30个(诸如12-22个)核苷酸的连续核苷酸区域,所述连续核苷酸区域与以下序列至少90%(诸如100%)互补:SEQ ID NO 113:

- 5'
 GACAGTCAGCATTTGTCTCCTCCTTTAACTGAGTCATCATCTTAGTCCAACTAATGCAGTCG
 ATACAATGCGTAGATAGAAGAAGCCCCACGGGAGCCAGGATGGGACTGGTCGTGTTTGTG
 [0017] CTTTTCTCCAAGTCAGCACCCAAAGGTCAATGCACAGAGACCCCGGGTGGGTGAGCGCTG
 GCTTCTCAAACGGCCGAAGTTGCCTCTTTTAGGAATCTCTTTGGAATTGGGAGCACGATGA
 CTCTGAGTTTGAGCTATTAAGTACTTCTTAC 3'。
- [0018] SEQ ID NO 113的反向互补序列是SEQ ID NO 119:
 GTAAGAAGTACTTTAATAGCTCAAACCTCAGAGTCATCGTGCTCCCAATTCCAAAGAGATTCC
 TAAAAGAGGCAACTTCGGCCGTTTGAGAAGCCAGCGCTCACCCACCCGGGGTCTCTGTGC
 [0019] ATTGACCTTTGGGTGCTGACTTGGAGAAAAGCACAAACACGACCAGTCCCATCCTGGCTCC
 CGTGGGGCTTCTTCTATCTACGCATTGTATCGACTGCATTAGTTGGACTAAGATGATGACT
 CAGTTAAAGGAGGAGACAAATGCTGACTGTC。
- [0020] 本发明提供一种反义寡核苷酸,其包含10-30个(诸如12至22个)核苷酸的连续核
 苷酸区域,其中所述连续核苷酸区域与SEQ ID NO 114至少90%互补,诸如100%互补。
- [0021] 本发明提供长度为10-30个核苷酸的反义寡核苷酸,其中所述反义寡核苷酸包含
 10-30个(诸如12-22个)核苷酸的连续核苷酸区域,所述连续核苷酸区域与以下序列至少
 90%(诸如100%)互补:SEQ ID NO 114:5'
 GACAGTCAGCATTTGTCTCCTCCTTTAACTGAGTCATCATCTTAGTCCAACTAATGCAGTCG
 ATACAATGCGTAGATAGAAGAAGCCCCACGGGAGCCAGGATGGGACTGGTCGTGTTTGTG
 [0022] CTTTTCTCCAAGTCAGCACCCAAAGGTCAATGCACAGAGACCCCGGGTGGGTGAGCGCTG
 GCTTCTCAAACGGCCGAAGTTGCCTCTTTTAGGAATCTCTTTGGAATTGGGAGCACGATGA
 CTCTGAGTTTGAGCTATTAAGTACTTCTTACACATTGC 3'。
- [0023] SEQ ID NO 114的反向互补序列是SEQ ID NO 120:
 GCAATGTGTAAGAAGTACTTTAATAGCTCAAACCTCAGAGTCATCGTGCTCCCAATTCCAAAG
 AGATTCCTAAAAGAGGCAACTTCGGCCGTTTGAGAAGCCAGCGCTCACCCACCCGGGGTC
 [0024] TCTGTGCATTGACCTTTGGGTGCTGACTTGGAGAAAAGCACAAACACGACCAGTCCCATCC
 TGGCTCCCGTGGGGCTTCTTCTATCTACGCATTGTATCGACTGCATTAGTTGGACTAAGAT
 GATGACTCAGTTAAAGGAGGAGACAAATGCTGACTGTC。
- [0025] 本发明提供一种反义寡核苷酸,其包含10-30个(诸如12至22个)核苷酸的连续核
 苷酸区域,其中所述连续核苷酸区域与SEQ ID NO 115至少90%互补,诸如100%互补。
- [0026] 本发明提供长度为10-30个核苷酸的反义寡核苷酸,其中所述反义寡核苷酸包含
 10-30个(诸如12-22个)核苷酸的连续核苷酸区域,所述连续核苷酸区域与以下序列至少
 90%(诸如100%)互补:SEQ ID NO 115:5'
 GACAGTCAGCATTTGTCTCCTCCTTTAACTGAGTCATCATCTTAGTCCAACTAATGCAGTCG
 ATACAATGCGTAGATAGAAGAAGCCCCACGGGAGCCAGGATGGGACTGGTCGTGTTTGTG
 [0027] CTTTTCTCCAAGTCAGCACCCAAAGGTCAATGCACAGAGACCCCGGGTGGGTGAGCGCTG
 GCTTCTCAAACGGCCGAAGTTGCCTCTTTTAGGAATCTCTTTGGAATTGGGAGCACGATGA
 CTCTGAGTTTGAGCTATTAAGT 3'。
- [0028] SEQ ID NO 115的反向互补序列是SEQ ID NO 121:

ACTTTAATAGCTCAAACCTCAGAGTCATCGTGCTCCCAATTCCAAAGAGATTCTAAAAGAGG
CAACTTCGGCCGTTTGGAGAAGCCAGCGCTCACCCACCCGGGGTCTCTGTGCATTGACCTT
[0029] TGGGTGCTGACTTGGAGAAAAGCACAAACACGACCAGTCCCATCCTGGCTCCCGTGGGGC
TTCTTCTATCTACGCATTGTATCGACTGCATTAGTTGGACTAAGATGATGACTCAGTTAAAG
GAGGAGACAAATGCTGACTGTC。

[0030] 本发明提供一种反义寡核苷酸,其包含10-30个(诸如12至22个)核苷酸的连续核苷酸区域,其中所述连续核苷酸区域与SEQ ID NO 116至少90%互补,诸如100%互补。

[0031] 本发明提供长度为10-30个核苷酸的反义寡核苷酸,其中所述反义寡核苷酸包含10-30个(诸如12-22个)核苷酸的连续核苷酸区域,所述连续核苷酸区域与以下序列至少90%(诸如100%)互补:SEQ ID NO 116:5'

CAACTAATGCAGTCGATACAATGCGTAGATAGAAGAAGCCCCACGGGAGCCAGGATGGGA
[0032] CTGGTTCGTGTTTGTGCTTTTCTCCAAGTCAGCACCCAAAGGTCAATGCACAGAGACCCCGG
GTGGGTGAGCGCTGGCTTCTCAAACGGCCGAAGTTGCCTCTTTTAGGAATCTCTTTGGAAT
TGGGAGCACGATGACTCTGAGTTTGGCTATTAAGTACTTCTTACACATTGC 3'。

[0033] SEQ ID NO 116的反向互补序列是SEQ ID NO 122:

GCAATGTGTAAGAAGTACTTTAATAGCTCAAACCTCAGAGTCATCGTGCTCCCAATTCCAAAG
[0034] AGATTCTAAAAGAGGCAACTTCGGCCGTTTGGAGAAGCCAGCGCTCACCCACCCGGGGTC
TCTGTGCATTGACCTTTGGGTGCTGACTTGGAGAAAAGCACAAACACGACCAGTCCCATCC
TGGCTCCCGTGGGGCTTCTTCTATCTACGCATTGTATCGACTGCATTAGTTG。

[0035] 本发明提供一种反义寡核苷酸,其包含10-30个(诸如12至22个)核苷酸的连续核苷酸区域,其中所述连续核苷酸区域与SEQ ID NO 117至少90%互补,诸如100%互补。

[0036] 本发明提供长度为10-30个核苷酸的反义寡核苷酸,其中所述反义寡核苷酸包含10-30个(诸如12-22个)核苷酸的连续核苷酸区域,所述连续核苷酸区域与以下序列至少90%(诸如100%)互补:SEQ ID NO 117:5'

CAACTAATGCAGTCGATACAATGCGTAGATAGAAGAAGCCCCACGGGAGCCAGGATGGGA
[0037] CTGGTTCGTGTTTGTGCTTTTCTCCAAGTCAGCACCCAAAGGTCAATGCACAGAGACCCCGG
GTGGGTGAGCGCTGGCTTCTCAAACGGCCGAAGTTGCCTCTTTTAGGAATCTCTTTGGAAT
TGGGAGCACGATGACTCTGAGTTTGGCTATTAAGTACTTCTTAC 3'。

[0038] SEQ ID NO 117的反向互补序列是SEQ ID NO 123:

GTAAGAAGTAACTTTAATAGCTCAAACCTCAGAGTCATCGTGCTCCCAATTCCAAAGAGATTC
[0039] CTTAAAAGAGGCAACTTCGGCCGTTTGGAGAAGCCAGCGCTCACCCACCCGGGGTCTCTGTG
CATTGACCTTTGGGTGCTGACTTGGAGAAAAGCACAAACACGACCAGTCCCATCCTGGCTC
CCGTGGGGCTTCTTCTATCTACGCATTGTATCGACTGCATTAGTTG。

[0040] 在一些实施方案中,本发明的反义寡核苷酸不是序列5' gcaatgtgtaagaagt 3' (SEQ ID NO 112)。在一些实施方案中,本发明的反义寡核苷酸不包含序列5' gcaatgtgtaagaagt 3' 或不由其组成。在一些实施方案中,本发明的反义寡核苷酸不包含序列5' gcaatgtgtaagaagt 3' 中存在的10个或更多个连续核苷酸或不由其组成。在一些实施方案中,本发明的寡核苷酸不是5' GCAatgtgtaagaAGT 3',其中大写字母代表LNA核苷(使用β-D-氧基LNA核苷),所有LNA胞嘧啶是5-甲基胞嘧啶,小写字母代表DNA核苷,带有上标m的

DNA胞嘧啶代表5-甲基C-DNA核苷。所有核苷间连接(linkages)都是硫代磷酸酯核苷间连接。

[0041] 本发明提供一种反义寡核苷酸,其包含存在于SEQ ID NO 5-111中的任何一个中的至少10个连续核苷酸的连续核苷酸区域。本发明提供一种反义寡核苷酸,其包含存在于SEQ ID NO 5-111中的任何一个中的至少12个连续核苷酸的连续核苷酸区域。本发明提供一种反义寡核苷酸,其包含存在于SEQ ID NO 5-111中的任何一个中的至少14个连续核苷酸的连续核苷酸区域。本发明提供一种反义寡核苷酸,其包含存在于SEQ ID NO 5-111中的任何一个中的至少15个或至少16个连续核苷酸的连续核苷酸区域。本发明提供一种反义寡核苷酸,其中所述寡核苷酸的连续核苷酸序列包含选自SEQ ID NO 5-111中的任何一个组成的组的核碱基序列,或由所述核碱基序列组成。

[0042] 本发明提供一种反义寡核苷酸,其包含存在于SEQ ID NO 118:5' CTTCTTCTATCTACGCATTG 3' 的至少10个或至少12个,或至少14个或至少15个或至少16个连续核苷酸的连续核苷酸区域。SEQ ID NO 118的反向互补序列是SEQ ID NO 231: CAATGCGTAGATAGAAGAAG。

[0043] 本发明提供一种反义寡核苷酸,其包含与SEQ ID NO 231互补的至少10个或至少12个,至少13个,或至少14个或至少15个或至少16个连续核苷酸的连续核苷酸区域。

[0044] 本发明提供一种反义寡核苷酸,其包含存在于SEQ ID NO 67的至少10个或至少12个,或至少13个,或至少14个或至少15个或16个连续核苷酸的连续核苷酸区域。

[0045] 本发明提供一种反义寡核苷酸,其包含存在于SEQ ID NO 86的至少10个或至少12个,或至少13个,或至少14个或至少15个或16个连续核苷酸的连续核苷酸区域。

[0046] 本发明提供一种反义寡核苷酸,其包含存在于SEQ ID NO 73的至少10个或至少12个,或至少13个,或至少14个或至少15个或至少16个或至少17或18个连续核苷酸的连续核苷酸区域。

[0047] 本发明提供一种反义寡核苷酸,其包含与SEQ ID NO 186互补的至少10个或至少12个,或至少13个,或至少14个或至少15个或16个连续核苷酸的连续核苷酸区域。

[0048] 本发明提供一种反义寡核苷酸,其包含与SEQ ID NO 205互补的至少10个或至少12个,或至少13个,或至少14个或至少15个或16个连续核苷酸的连续核苷酸区域。

[0049] 本发明提供一种反义寡核苷酸,其包含与SEQ ID NO 192互补的至少10个或至少12个,或至少13个,或至少14个或至少15个或至少16个或至少17或18个连续核苷酸的连续核苷酸区域。

[0050] 本发明提供一种寡核苷酸,其包含选自以下各项组成的组的寡核苷酸或由其组成:

[0051] $T_s T_s^m C_s t_s a_s t_s C_s t_s a_s^m C_s g_s C_s a_s T_s T_s G$ (SEQ ID NO 67, 1),

[0052] $^m C_s T_s T_s^m C_s t_s t_s C_s t_s a_s t_s C_s t_s a_s^m C_s g_s C_s A_s T$ (SEQ ID NO 73, 1), 和

[0053] $T_s A_s^m C_s T_s t_s t_s a_s a_s t_s a_s g_s C_s T_s^m C_s A_s A$ (SEQ ID NO 86, 1);

[0054] 其中大写字母代表 β -D-氧基LNA核苷,小写字母是DNA核苷,下标 s 代表硫代磷酸酯核苷间连接, $^m C$ 代表5甲基胞嘧啶 β -D-氧基LNA核苷,且 $^m c$ 代表5甲基胞嘧啶DNA核苷。

[0055] 本发明提供下式的寡核苷酸:

[0056] $T_s T_s^m C_s t_s a_s t_s C_s t_s a_s^m C_s g_s C_s a_s T_s T_s G$ (SEQ ID NO 67, 1),

[0057] 其中大写字母代表β-D-氧基LNA核苷,小写字母是DNA核苷,下标s代表硫代磷酸酯核苷间连接,^mC代表5甲基胞嘧啶β-D-氧基LNA核苷,且^mc代表5甲基胞嘧啶DNA核苷。

[0058] 本发明提供下式的寡核苷酸:

[0059] ^mC_sT_sT_s^mC_st_st_sC_st_sa_st_sC_st_sa_s^mC_sg_sC_sA_sT (SEQ ID NO 73,1)

[0060] 其中大写字母代表β-D-氧基LNA核苷,小写字母是DNA核苷,下标s代表硫代磷酸酯核苷间连接,^mC代表5甲基胞嘧啶β-D-氧基LNA核苷,且^mc代表5甲基胞嘧啶DNA核苷。

[0061] 本发明提供下式的寡核苷酸:

[0062] T_sA_s^mC_sT_st_st_sa_sa_st_sa_sg_sC_sT_s^mC_sA_sA (SEQ ID NO 86,1)

[0063] 其中大写字母代表β-D-氧基LNA核苷,小写字母是DNA核苷,下标s代表硫代磷酸酯核苷间连接,^mC代表5甲基胞嘧啶β-D-氧基LNA核苷,且^mc代表5甲基胞嘧啶DNA核苷。

[0064] 本发明提供实施例中提供的寡核苷酸。

[0065] 本发明提供缀合物,其包含根据本发明的寡核苷酸和与共价附接所述寡核苷酸的至少一个缀合物部分。

[0066] 本发明提供本发明的寡核苷酸或缀合物的药学上可接受的盐。

[0067] 在另一方面,本发明提供通过向表达HTRA1的细胞中施用有效量的本发明的寡核苷酸,缀合物或组合物来调节所述细胞中的HTRA1表达的体内或体外方法。

[0068] 在另一方面,本发明提供用于治疗或预防与HTRA1的体内活性相关的疾病,病症或功能障碍的方法,所述方法包括向患有或易患所述疾病,病症或功能障碍的受试者施用治疗或预防有效量的本发明的寡核苷酸或其缀合物。

[0069] 在另一方面,本发明的寡核苷酸或组合物用于治疗或预防黄斑变性,和与HTRA1有关的其他病症。

[0070] 本发明提供本发明的寡核苷酸或缀合物,其用于治疗选自包含下述各项的列表的疾病或病症:迪谢内肌营养不良 (Duchenne muscular dystrophy),关节炎,诸如骨关节炎,家族性缺血性脑小血管疾病 (familial ischemic cerebral small-vessel disease),阿尔茨海默病和帕金森病。

[0071] 本发明提供本发明的寡核苷酸或缀合物,其用于治疗黄斑变性,诸如与湿性或干性年龄相关的黄斑变性 (诸如wAMD,dAMD,地图状萎缩,早期AMD,中期AMD) 或糖尿病性视网膜病。

[0072] 本发明提供本发明的寡核苷酸,缀合物或组合物在制备用于治疗黄斑变性诸如湿性或干性黄斑变性 (wAMD,dAMD,地图状萎缩,中期dAMD) 或糖尿病性视网膜病的药物中的用途。

[0073] 本发明提供本发明的寡核苷酸,缀合物或化合物在制备用于治疗选自由以下各项组成的组的疾病或病症的药物中的用途:迪谢内肌营养不良,关节炎,诸如骨关节炎,家族性缺血性脑小血管疾病,阿尔茨海默病和帕金森病。

[0074] 本发明提供一种治疗患有选自由以下各项组成的组的疾病或病症的受试者的方法:迪谢内肌营养不良,关节炎,诸如骨关节炎,家族性缺血性脑小血管疾病,阿尔茨海默病和帕金森病,所述方法包括向所述受试者施用有效量的本发明的寡核苷酸,缀合物或组合物的步骤。

[0075] 本发明提供一种治疗患有眼疾病,诸如黄斑变性,诸如与湿性或干性年龄相关的

黄斑变性(例如wAMD,dAMD,地图状萎缩,中期dAMD)或糖尿病性视网膜病的受试者的方法,该方法包括向所述受试者施用有效量的本发明的寡核苷酸,缀合物或组合物的步骤。

[0076] 本发明提供一种治疗患有眼疾病,诸如黄斑变性,诸如与湿性或干性年龄相关的黄斑变性(例如wAMD,dAMD,地图状萎缩,中期AMD)或糖尿病性视网膜病的受试者的方法,所述方法包括以约10 μ g-200 μ g的剂量在眼内注射中施用至少两个剂量的本发明的寡核苷酸或其药学上可接受的盐,其中连续施用之间的剂量间隔为至少4周(即“剂量间隔 \geq 4周)或至少一个月(即剂量间隔 \geq 1个月)。

[0077] 附图简述

[0078] 图1.在U251细胞系中以5 μ M筛选n=231 HTRA1 LNA寡核苷酸文库。残留的HTRA1 mRNA表达水平通过qPCR测定,并显示为对照(PBS处理的细胞)的%。位于位置53113-53384之间的n=10个寡核苷酸相对活跃。

[0079] 图2.在U251细胞系中以5 μ M筛选n=210 HTRA1 LNA寡核苷酸文库。残留的HTRA1 mRNA表达水平通过qPCR测定,并显示为对照(PBS处理的细胞)的%。位于位置53113-53384之间的n=33个寡核苷酸相对活跃。

[0080] 图3.在U251和ARPE19细胞系中分别以5和25 μ M筛选n=305个HTRA1 LNA寡核苷酸文库。残留的HTRA1 mRNA表达水平通过qPCR测定,并显示为对照(PBS处理的细胞)的%。位于位置53113-53384之间的n=95个寡核苷酸与其余位置相比相对活跃。

[0081] 图4.用LNA寡核苷酸治疗人原代RPE细胞后HTRA1 mRNA水平的剂量应答,治疗10天。乱序的(scrambled)序列是具有与Htra1靶序列无关的乱序的序列的对照寡核苷酸。

[0082] 图5.NHP PK/PD研究,IVT给药,25 μ g/眼。A)通过qPCR测量的视网膜中HTRA1 mRNA水平。B)通过寡核苷酸ELISA测量的视网膜中的寡核苷酸含量。C)由ISH说明的HTRA1 mRNA水平。D-E)通过IP-MS分别定量视网膜和玻璃体中HTRA1蛋白水平。点显示个体动物的数据。误差线显示了技术重复的标准误差(n=3)。F-G)视网膜和玻璃体中HTRA1蛋白水平的降低,其分别通过蛋白质印迹(western blot)进行了说明。

[0083] 图6.本发明的A化合物(化合物ID NO 67,1)。该化合物可以是药用盐的形式,诸如钠盐或钾盐。

[0084] 图7.本发明的A化合物(化合物ID NO 86,1)。该化合物可以是药用盐的形式,诸如钠盐或钾盐。

[0085] 图8.本发明的化合物(化合物ID N073,1)。该化合物可以是药用盐的形式,诸如钠盐或钾盐。

[0086] 图9.化合物67,1:M⁺的药用盐的实例是合适的阳离子,通常是正金属离子,诸如钠或钾离子。阳离子与寡核苷酸阴离子的化学计量比将取决于所用阳离子的电荷。适当地,带有一个,两个或三个正电荷的阳离子(可以使用M⁺,M⁺⁺或M⁺⁺⁺)。出于说明目的,与二价阳离子(如Ca²⁺)相比,需要二倍量的带单个+电荷的阳离子(单价的),如Na⁺或K⁺。

[0087] 图10.化合物86,1的药用盐的实例:有关阳离子M⁺的说明,请参见图9的图例。

[0088] 图11.化合物73,1的药用盐的示例:有关阳离子M⁺的说明,请参见图9的图例。

[0089] 图12A.在食蟹猴(cynomolgus monkeys)中玻璃体内施用化合物#15,3和#17,并在注射后第3,8,15和22天收集房水样品。来自未稀释样品的蛋白质使用Peggy Sue设备通过毛细管电泳分析(蛋白样品)。HTRA1使用定制的多克隆兔抗血清检测。呈现了来自动物#

J60154 (赋形剂), J60158 (C.Id#15,3), J60162 (C.Id#17) 的数据。

[0090] 图12B. 通过与纯化的重组 (S328A突变体) HTRA1蛋白 (Origene, #TP700208) 进行比较来量化信号强度。此处显示校准曲线。

[0091] 图12C. 上图: 来自个体动物的计算出的HTRA1房水浓度针对注射后的时间作图。下图: 确定了每个时间点上赋形剂组的平均HTRA1浓度, 并计算了治疗动物的相应相对浓度。空心圆: 个体值, 实心圆: 组平均值。显示了第22天的%HTRA1降低。

[0092] 图13. 在用各种靶向HTRA1转录本的LNA分子处理过的食蟹猴的房水 (蓝色菱形) 或视网膜 (红色方块) 中, HTRA1 mRNA针对HTRA1蛋白水平作图。值表示为相对于PBS对照标准化的百分比。

[0093] 图14. 在用各种靶向HTRA1转录本的LNA分子处理的食蟹猴房水中的HTRA1蛋白与 (A) 视网膜中HTRA1蛋白和 (B) 视网膜中HTRA1 mRNA的相关性。值表示为相对于PBS对照标准化的百分比。

[0094] 定义

[0095] 寡核苷酸

[0096] 如本文所用, 术语“寡核苷酸”被定义为技术人员通常理解为包含两个或更多个共价连接的核苷的分子。这样的共价结合的核苷也可以称为核酸分子或寡聚体。寡核苷酸通常在实验室中通过固相化学合成然后纯化来制备。当提及寡核苷酸的序列时, 参考共价连接的核苷酸或核苷的核碱基部分或其修饰的序列或顺序。本发明的寡核苷酸是人造的, 并且是化学合成的, 并且通常是纯化或分离的。本发明的寡核苷酸可包含一种或多种经修饰的核苷或核苷酸。

[0097] 反义寡核苷酸

[0098] 本文所用的术语“反义寡核苷酸”定义为能够通过靶核酸杂交, 特别是与靶核酸上的连续序列杂交来调节靶基因表达的寡核苷酸。反义寡核苷酸基本上不是双链的, 并且因此不是siRNA。优选地, 本发明的反义寡核苷酸是单链的。

[0099] 连续核苷酸区域

[0100] 术语“连续核苷酸区域”是指寡核苷酸与靶核酸互补的区域。该术语在本文中可以与术语“连续核苷酸序列”或“连续核碱基序列”和术语“寡核苷酸基序序列”互换使用。在一些实施方案中, 寡核苷酸的所有核苷酸都存在于连续核苷酸区域中。在一些实施方案中, 寡核苷酸包含连续的核苷酸区域, 并且可以任选地包含其他核苷酸, 例如可以用于将官能团连接至连续的核苷酸序列的核苷酸接头区域。核苷酸接头区可以与靶核酸互补或不互补。在一些实施方案中, 存在于连续核苷酸区域的核苷酸之间的核苷间连接全部是硫代磷酸酯核苷间连接。在一些实施方案中, 连续核苷酸区域包含一种或更多种糖修饰的核苷。

[0101] 核苷酸

[0102] 核苷酸是寡核苷酸和多核苷酸的结构单元, 并且出于本发明的目的, 核苷酸包括天然存在和非天然存在的核苷酸。在自然界中, 核苷酸, 诸如DNA和RNA核苷酸包含核糖部分, 核碱基部分和一个或多个磷酸基团 (在核苷中不存在)。核苷和核苷酸也可以可互换地称为“单元”或“单体”。

[0103] 经修饰的核苷

[0104] 本文所用的术语“经修饰的核苷”或“核苷修饰”是指与同等的DNA或RNA核苷相比,

通过引入糖部分或(核)碱基部分的一种或多种修饰而被修饰的核苷。在一个优选的实施方案中,经修饰的核苷包含经修饰的糖部分。术语经修饰的核苷在本文中还可与术语“核苷类似物”或经修饰的“单元”或经修饰的“单体”互换使用。

[0105] 经修饰的核苷间连接

[0106] 术语“经修饰的核苷间连接”被定义为如技术人员通常所理解的,除磷酸二酯(PO)连接以外的连接,其将两个核苷共价偶联在一起。具有经修饰的核苷间连接的核苷酸也称为“经修饰的核苷酸”。在一些实施方案中,与磷酸二酯连接相比,经修饰的核苷间连接增加了寡核苷酸的核酸酶抗性。对于天然存在的寡核苷酸,核苷间连接包括在相邻核苷之间产生磷酸二酯连接的磷酸基团。经修饰的核苷间连接特别可用于稳定体内使用的寡核苷酸,并可用于防止本发明寡核苷酸中DNA或RNA核苷区域(诸如在gapmer寡核苷酸的间隙区域内,以及在经修饰的核苷区域内)的核酸酶切割。

[0107] 在一个实施方案中,寡核苷酸包含从天然磷酸二酯修饰为例如对核酸酶攻击更具抗性的连接的一个或更多个核苷间连接。核酸酶抗性可以通过在血清中温育寡核苷酸或通过使用核酸酶抗性测定法(例如蛇毒磷酸二酯酶(SVPD))来确定,两者都是本领域熟知的。能够增强寡核苷酸的核酸酶抗性的核苷间连接称为核酸酶抗性核苷间连接。在一些实施方案中,寡核苷酸的所有核苷间连接或其连续核苷酸序列都被修饰。应当认识到,在一些实施方案中,将本发明的寡核苷酸与非核苷酸官能团(诸如缀合物)连接的核苷可以是磷酸二酯。在一些实施方案中,寡核苷酸的所有核苷间连接或其连续核苷酸序列都是核酸酶抗性核苷间连接。

[0108] 在一些实施方案中,经修饰的核苷间连接可以是硫代磷酸酯核苷间连接。在一些实施方案中,经修饰的核苷间连接与本发明的寡核苷酸的RNA酶H募集相容,例如硫代磷酸酯。

[0109] 在一些实施方案中,核苷间连接包括硫(S),诸如硫代磷酸酯核苷间连接。

[0110] 硫代磷酸酯核苷间连接由于核酸酶抗性,有益的药代动力学和易于制造而特别有用。在一些实施方案中,所述寡核苷酸的所有核苷间连接或其连续核苷酸序列是硫代磷酸酯。

[0111] 核碱基

[0112] 术语核碱基包括存在于核苷和核苷酸中的嘌呤(例如腺嘌呤和鸟嘌呤)和嘧啶(诸如尿嘧啶,胸腺嘧啶和胞嘧啶)部分,其在核酸杂交中形成氢键。在本发明的上下文中,术语核碱基也涵盖经修饰的核碱基,所述经修饰的可能不同于天然存在的核碱基,但是在核酸杂交期间起作用。在本文中,“核碱基”是指天然存在的核碱基,诸如腺嘌呤,鸟嘌呤,胞嘧啶,胸腺嘧啶,尿嘧啶,黄嘌呤和次黄嘌呤,以及非天然存在的变体。这样的变体例如描述于Hirao等(2012)Accounts of Chemical Research第45卷第2055页和Bergstrom(2009)Current Protocols in Nucleic Acid Chemistry Suppl.37 1.4.1。

[0113] 在一些实施方案中,核碱基部分通过将嘌呤或嘧啶改变为经修饰的嘌呤或嘧啶而修饰,经修饰的嘌呤或嘧啶诸如取代的嘌呤或取代的嘧啶,诸如选自异胞嘧啶,假异胞嘧啶(pseudoisocytosine),5-甲基胞嘧啶,5-硫代-胞嘧啶的核碱基,5-丙炔基-胞嘧啶,5-丙炔基-尿嘧啶,5-溴尿嘧啶5-噻唑并尿嘧啶,2-硫代-尿嘧啶,2' 硫代-胸腺嘧啶,肌苷,二氨基嘌呤,6-氨基嘌呤,2-氨基嘌呤,2,6-二氨基嘌呤和2-氯-6-氨基嘌呤的核碱基。

[0114] 核碱基部分可以由每个相应核碱基的字母代码表示,例如,A,T,G,C或U,其中每个字母可任选地包括具有等同功能的经修饰的核碱基。例如,在示例性的寡核苷酸中,核碱基部分选自A,T,G,C和5-甲基胞嘧啶。任选地,对于LNA gapmer,可以使用5-甲基胞嘧啶LNA核苷。在一些实施方案中,在5' cg3' 基序中的胞嘧啶核苷碱基是5-甲基胞嘧啶。

[0115] 经修饰的寡核苷酸

[0116] 术语经修饰的寡核苷酸描述了包含一个或更多个糖修饰的核苷和/或经修饰的核苷间连接的寡核苷酸。术语“嵌合的”寡核苷酸是在文献中已用于描述具有经修饰的核苷的寡核苷酸的术语。

[0117] 互补性

[0118] 术语互补性描述了核苷/核苷酸的沃森-克里克碱基配对的能力。沃森-克里克碱基对是鸟嘌呤(G)-胞嘧啶(C)和腺嘌呤(A)-胸腺嘧啶(T)/尿嘧啶(U)。应当理解,寡核苷酸可包含具有经修饰的核碱基的核苷,例如通常使用5-甲基胞嘧啶代替胞嘧啶,因此,术语互补性涵盖未修饰和修饰的核碱基之间的沃森-克里克碱基配对碱基配对(参见例如Hirao等人(2012)Accounts of Chemical Research第45卷,第2055页和Bergstrom(2009)Current Protocols in Nucleic Acid Chemistry Suppl.37 1.4.1)。

[0119] 如本文所用,术语“%互补”是指核酸分子(例如寡核苷酸)中连续核苷酸区域或序列的核苷酸数百分比,其在给定位置与单独的核酸分子(例如靶核酸)的给定位置处的连续核苷酸序列互补(即形成沃森-克里克碱基对)。百分比通过计算在两个序列之间形成对的比对碱基的数量,除以寡核苷酸中核苷酸的总数,然后乘以100计算出。在这种比较中,不对齐(不形成碱基对)的核碱基/核苷酸被称为错配。

[0120] 应当理解,当提及两个序列之间的互补性时,在两个序列中较短的长度(诸如在连续核苷酸区域或序列的长度)上,测量互补性的确定。

[0121] 术语“完全互补”是指100%互补性。在没有%的术语值或不匹配指示的情况下,互补意指完全互补。

[0122] 同一性

[0123] 如本文所用,术语“同一性”是指核酸分子(例如寡核苷酸)中连续核苷酸序列的核苷酸数百分比,其在给定位置与单独的核酸分子(例如靶核酸)的给定位置处的连续核苷酸序列相同(即在与互补核苷形成沃森-克里克碱基对的能力方面)。百分比通过计算在两个序列(包括缺口)之间是相同的比对碱基的数量,除以寡核苷酸中核苷酸的总数,然后乘以100计算出。同一性百分比=(匹配x 100)/对齐区域(带有缺口)的长度。

[0124] 当确定寡核苷酸的连续核苷酸区域的同一性时,在连续核苷酸区域的整个长度上计算同一性。因此,在寡核苷酸的整个连续核苷酸序列是连续核苷酸区域的实施方案中,因此在寡核苷酸的核苷酸序列的整个长度上计算同一性。在这方面,连续核苷酸区域可以与参考核酸序列的区域相同,或者在一些实施方案中可以与整个参考核酸相同。除非另有说明,否则与参考序列具有100%同一性的序列被称为相同。

[0125] 例如,参考序列可以选自由SEQ ID NO 5-111中的任何一个组成的组。

[0126] 但是,如果寡核苷酸包含在连续核苷酸区域(例如区域D' 或D'')侧翼的另外的核苷酸,则在确定同一性时可以忽略这些另外的侧翼核苷酸。在一些实施方案中,可以在整个寡核苷酸序列上计算同一性。

[0127] 在一些实施方案中,本发明的反义寡核苷酸包含至少10个连续核苷酸与选自由SEQ ID NO 5-111组成的组的序列相同的连续核苷酸区域。

[0128] 在一些实施方案中,本发明的反义寡核苷酸包含至少12个连续核苷酸与选自由SEQ ID NO 5-111组成的组的序列相同的连续核苷酸区域。

[0129] 在一些实施方案中,本发明的反义寡核苷酸包含至少13个连续核苷酸与选自由SEQ ID NO 5-111组成的组的序列相同的连续核苷酸区域。

[0130] 在一些实施方案中,本发明的反义寡核苷酸包含至少14个连续核苷酸与选自由SEQ ID NO 5-111组成的组的序列相同的连续核苷酸区域。

[0131] 在一些实施方案中,本发明的反义寡核苷酸包含至少15个连续核苷酸与选自由SEQ ID NO 5-111组成的组的序列相同的连续核苷酸区域。

[0132] 在一些实施方案中,本发明的反义寡核苷酸包含至少16个连续核苷酸与选自由SEQ ID NO 5-111组成的组的序列相同的连续核苷酸区域。

[0133] 在一些实施方案中,连续核苷酸区域包含SEQ ID NO 113-118或SEQ ID NO 5-111组成的组的序列的至少10个连续核苷酸或由其组成,所述至少10个连续核苷酸诸如11,12,13,14,15,16,17,18,19,20,21,22个连续核苷酸,诸如从12-22,诸如从14-18个连续核苷酸。在一些实施方案中,寡核苷酸的整个的连续序列包含SEQ ID NO至少10个连续核苷酸或由其组成,所述至少10个连续核苷酸诸如11,12,13,14,15,16,17,18,19,20,21,22个连续核苷酸,诸如从12-22,诸如从14-18个连续核苷酸。

[0134] 在一些实施方案中,寡核苷酸的连续序列包含SEQ ID NO 119至少10个连续核苷酸或由其组成,所述至少10个连续核苷酸诸如11,12,13,14,15,16,17,18,19,20,21,22个连续核苷酸,诸如从12-22,诸如从14-18个连续核苷酸。

[0135] 在一些实施方案中,寡核苷酸的连续序列包含SEQ ID NO 120至少10个连续核苷酸或由其组成,所述至少10个连续核苷酸诸如11,12,13,14,15,16,17,18,19,20,21,22个连续核苷酸,诸如从12-22,诸如从14-18个连续核苷酸。

[0136] 在一些实施方案中,寡核苷酸的连续序列包含SEQ ID NO 121至少10个连续核苷酸或由其组成,所述至少10个连续核苷酸诸如11,12,13,14,15,16,17,18,19,20,21,22个连续核苷酸,诸如从12-22,诸如从14-18个连续核苷酸。

[0137] 在一些实施方案中,寡核苷酸的连续序列包含SEQ ID NO 122至少10个连续核苷酸或由其组成,所述至少10个连续核苷酸诸如11,12,13,14,15,16,17,18,19,20,21,22个连续核苷酸,诸如从12-22,诸如从14-18个连续核苷酸。

[0138] 在一些实施方案中,寡核苷酸的连续序列包含SEQ ID NO 123至少10个连续核苷酸或由其组成,所述至少10个连续核苷酸诸如11,12,13,14,15,16,17,18,19,20,21,22个连续核苷酸,诸如从12-22,诸如从14-18个连续核苷酸。

[0139] 本发明提供一种反义寡核苷酸,其包含存在于SEQ ID NO 118:5' cttcttctatctacgcattg 3' 的至少10个或至少12个,或至少13个,或至少14个或至少15个或至少16个或至少17或至少18个连续核苷酸的连续核苷酸区域。

[0140] 在一些实施方案中,连续核苷酸区域包含与SEQ ID NO 67相同的10,11,12,13,14,15或16个连续核苷酸。

[0141] 在一些实施方案中,连续核苷酸区域包含与SEQ ID NO 73相同的10,11,12,13,

14,15,16,17或18个连续核苷酸。

[0142] 在一些实施方案中,连续核苷酸区域包含与SEQ ID NO 86相同的10,11,12,13,14,15或16个连续核苷酸。

[0143] 本发明提供长度为11-30个核苷酸,诸如长度为12至20个核苷酸的反义寡核苷酸,其中所述寡核苷酸包含与选自SEQ ID NO 5-111组成的组的序列相同的连续核苷酸序列。

[0144] 本发明提供包含连续核苷酸序列或由其组成的反义寡核苷酸,其中所述连续核苷酸序列与选自SEQ ID NO 5-111组成的组的参考序列跨越该参考序列的至少10个连续核苷酸相同。

[0145] 本发明提供包含连续核苷酸序列或由其组成的反义寡核苷酸,其中所述连续核苷酸序列与选自SEQ ID NO 5-111组成的组的参考序列跨越该参考序列的至少12个连续核苷酸相同。

[0146] 本发明提供包含连续核苷酸序列或由其组成的反义寡核苷酸,其中所述连续核苷酸序列与选自SEQ ID NO 5-111组成的组的参考序列跨越该参考序列的至少14个连续核苷酸相同。

[0147] 本发明提供包含连续核苷酸序列或由其组成的反义寡核苷酸,其中所述连续核苷酸序列与选自SEQ ID NO 5-111组成的组的参考序列跨越该参考序列的长度相同。

[0148] 杂交

[0149] 如本文所用,术语“进行杂交”或“杂交”应理解为两条核酸链(例如寡核苷酸和靶核酸)在相对链上的碱基对之间形成氢键,从而形成双链体。两条核酸链之间结合的亲和力是杂交的强度。通常用解链温度(T_m)来描述,解链温度定义为一半寡核苷酸与靶核酸双链体化的温度。在生理条件下, T_m 与亲和力并不严格成比例(Mergny和Lacroix,2003, *Oligonucleotides* 13:515-537)。标准状态吉布斯自由能 ΔG° 是结合亲和力的更精确表示,并且通过 $\Delta G = -RT \ln(K_d)$ 与反应的解离常数 (K_d) 相关,其中R是气体常数,且T是绝对温度。因此,寡核苷酸与靶核酸之间的反应的非常低的 ΔG° 反映了寡核苷酸与靶核酸之间的强杂交。 ΔG° 是与如下水溶液浓度为1M,pH为7,温度为37°C的反应相关的能量。寡核苷酸与靶核酸的杂交是自发反应,对于自发反应, ΔG° 小于零。 ΔG° 可以通过实验来测量,例如,通过使用例如,Hansen等,1965,Chem.Co mM.36-38和Holdgate等,2005,Drug Discov Today中所述的等温滴定量热法(ITC)。技术人员将知道商用设备可用于“ ΔG° ”测量。 ΔG 也可以通过使用SantaLucia,1998,Proc Natl Acad Sci USA.95:1460-1465中描述的最近邻模型,使用Sugimoto et al.,1995,Biochemistry 34:11211-11216和McTigue et al.,2004, Biochemistry 43:5388-5405中描述的适当衍生的热力学参数进行数值估计。为了具有通过杂交调节其预期核酸靶标的可能性,对于长度为10-30个核苷酸的寡核苷酸,本发明的寡核苷酸以估计的低于-10kcal的 ΔG 值与靶核酸杂交。在一些实施方案中,杂交的程度或强度通过标准状态吉布斯自由能 ΔG° 测量。对于长度为8-30个核苷酸的寡核苷酸,寡核苷酸可以以估计的低于-10kcal的范围(诸如低于-15kcal,诸如低于-20kcal和诸如低于-25kcal)的 ΔG° 值与靶核酸杂交。在一些实施方案中,寡核苷酸以约-10至-60kcal,诸如-12至-40,诸如从-15至-30kcal或-16至-27kcal诸如-18至-25kcal的估计 ΔG° 值与靶核酸杂交。

[0150] 靶序列

[0151] 寡核苷酸包含与靶核酸分子的子序列互补或杂交的连续核苷酸区域。如本文所用,术语“靶序列”是指靶核酸中存在的核苷酸序列,其包含与本发明的寡核苷酸的连续核苷酸区域或序列互补的核碱基序列。在一些实施方案中,靶序列由靶核酸上与本发明的寡核苷酸的连续核苷酸区域或序列互补的区域组成。在一些实施方案中,靶序列比单个寡核苷酸的互补序列长,并且可以例如代表可以被本发明的若干种寡核苷酸靶向的靶核酸的优选区域。

[0152] 本发明的寡核苷酸包含与靶核酸如靶序列互补的连续核苷酸区域。

[0153] 寡核苷酸包含至少10个核苷酸的连续核苷酸区域,其中所述连续核苷酸区域与靶核酸分子中存在的靶序列互补或杂交。连续核苷酸区域(以及因此靶序列)包含至少10个连续核苷酸,诸如11,12,13,14,15,16,17,18,19,20,21,22个,连续核苷酸,诸如从12-22,诸如从14-18个连续核苷酸。

[0154] 在一些实施方案中,靶序列存在于选自由SEQ ID NO 113,114,115,116,117和118组成的组的序列内。

[0155] 靶细胞

[0156] 如本文所用,术语靶细胞是指表达靶核酸的细胞。在一些实施方案中,靶细胞可以在体内或体外。在一些实施方案中,靶细胞是哺乳动物细胞,例如灵长类细胞,诸如猴子细胞或人细胞。在一些实施方案中,靶细胞可以是视网膜细胞,诸如视网膜色素上皮(PRE)细胞。在一些实施方案中,该细胞选自由RPE细胞,双极细胞,无长突细胞,内皮细胞,神经节细胞和小胶质细胞组成的组。对于体外评估,靶细胞可以是原代细胞或已建立的细胞系,诸如U251,ARPE19...。

[0157] 靶核酸

[0158] 根据本发明,靶核酸是编码哺乳动物HTRA1的核酸,并且可以例如是基因, RNA, mRNA, 和前mRNA,成熟的mRNA或cDNA序列。该靶标因此可以被称为HTRA1靶核酸。

[0159] 合适地,靶核酸编码HTRA1蛋白,特别是哺乳动物HTRA1,诸如人HTRA1(参见例如表1&2,其提供人和大鼠HTRA1的mRNA和前mRNA序列)。

[0160] 在一些实施方案中,靶核酸选自由SEQ ID NO:1,2,3和4组成的组,或其天然存在的变体(诸如,编码哺乳动物HTRA1蛋白的序列)。

[0161] 靶细胞是表达HTRA1靶核酸的细胞。在优选的实施方案中,靶核酸是HTRA1 mRNA,诸如HTRA1前mRNA或HTRA1成熟mRNA。对于反义寡核苷酸靶向,通常不考虑HTRA1 mRNA的poly A尾巴。

[0162] 如果在研究或诊断中采用本发明的寡核苷酸,则靶核酸可以是cDNA或来源于DNA或RNA的合成核酸。

[0163] 靶序列可以是靶核酸的子序列。在一些实施方案中,寡核苷酸或连续核苷酸区域与HTRA1子序列(诸如选自由SEQ ID NO 113,114,115,116,117或231的序列组成的组的序列)完全互补或仅包含一个或两个错配。

[0164] 靶序列可以是靶核酸的子序列。在一些实施方案中,寡核苷酸或连续核苷酸区域与HTRA1子序列(诸如选自由SEQ ID NO 124-230组成的组的序列)完全互补或仅包含一个或两个错配。在一些实施方案中,寡核苷酸或连续核苷酸区域与HTRA1子序列SEQ ID NO

231完全互补或仅包含一个或两个错配。

[0165] 在寡核苷酸或其连续核苷酸区域的长度上测量与靶标或其子序列的互补性。

[0166] 对于体内或体外应用,本发明的寡核苷酸通常能够在抑制HTRA1靶核酸在表达HTRA1靶核酸的细胞中的表达。本发明的寡核苷酸的核碱基的连续序列通常与HTRA1靶核酸互补,如在寡核苷酸的整个长度上测量的,任选地除了一个或两个错配以外,并且任选地排除可以将寡核苷酸连接至任选的官能团(诸如缀合物)的基于核苷酸的接头区域,或其他非互补末端核苷酸(诸如区域D)。在一些实施方案中,靶核酸可以是RNA或DNA,诸如信使RNA,诸如成熟的mRNA或前mRNA。在一些实施方案中,靶核酸是编码哺乳动物HTRA1蛋白(诸如人HTRA1)的RNA或DNA,例如人HTRA1 mRNA序列,诸如SEQ ID NO 1(NM_002775.4,GI:190014575)所公开的。表1&2提供有关示例性靶核酸的更多信息。

[0167] 表1.人类和Cyno HTRA1的基因组和装配信息。

物种	Chr.	链	基因座标		装配	NCBI 参考序列* mRNA 的登录号
			起始 束	结		
人	10	fwd	122461525	122514908	GRCh38.p2 版本 107	NM_002775.4
食蟹猴	9	fwd	121764994	121817518	Macaca_fascicularis_5.0	NC_022280.1**

[0169] Fwd=正向链。基因组坐标提供前mRNA序列(基因组序列)。NCBI参考提供mRNA序列(cDNA序列)。

[0170] *国家生物技术信息中心(The National Center for Biotechnology Information)参考序列数据库是一套综合的,完整的,无冗余的,注释充分的参考序列,包括基因组,转录本和蛋白质。它位于www.ncbi.nlm.nih.gov/refseq。

[0171] **在NCBI参考序列中,存在从位置126到位置227共100个核苷酸的一段,其身份未知。在SEQ ID NO 3&4中,此段已被该区域的人和猕猴(Macaca mulatta)HTRA1前mRNA序列中出现的核苷酸所替代。

[0172] 表2.人和食蟹猴HTRA1的序列详细信息。

物种	RNA类型	长度(nt)	SEQ ID NO
人	mRNA	2138	1
人	前体mRNA	53384	2
食蟹猴	mRNA	2123	3
食蟹猴	前体mRNA	52575	4

[0174] 天然存在的变体

[0175] 术语“天然存在的变体”是指HTRA1基因或转录物的变体,其源自与靶核酸相同的遗传基因座,但是例如由于以下而不同:遗传密码的简并性(其导致编码相同氨基酸的密码子的多样性),或由于前mRNA的可变剪接,或多态性的存在,诸如单核苷酸多态性,和等位基因变体。基于与寡核苷酸的足够互补序列的存在,本发明的寡核苷酸因此可以靶向靶核酸及其天然存在的变体。在一些实施方案中,天然存在的变体与哺乳动物HTRA1靶核酸(诸如选自自由SEQ ID NO 1,2,3或4组成的组的靶核酸)具有至少95%,诸如至少98%或至少99%的同源性。

[0176] 表达的调节

[0177] 如本文所用,术语“表达的调节”应理解当与施用寡核苷酸之前的HTRA1的量相比时寡核苷酸改变HTRA1的量的能力的总称。备选地,可以通过参考不施用本发明的寡核苷酸的对照实验来确定表达的调节。一种调节类型是寡核苷酸例如通过降解mRNA或阻断转录抑制,下调,降低,阻抑,去除,停止,阻断,预防,减轻,减少,避免或终止HTRA1表达的能力。本发明的反义寡核苷酸能够抑制,下调,降低,阻抑,去除,停止,阻断,预防,减轻,减少,避免或终止HTRA1的表达。

[0178] 高亲和力经修饰的核苷

[0179] 高亲和力经修饰的核苷是一种经修饰的核苷酸,当被掺入寡核苷酸时,其可增强寡核苷酸对其互补靶标的亲和力,诸如通过解链温度(T_m)进行测量。本发明的高亲和力经修饰的核苷优选导致解链温度升高到每个修饰的核苷+0.5至+12°C之间,更优选+1.5至+10°C之间,最优选在+3至+8°C。许多高亲和力经修饰的核苷在本领域中是已知的,并且包括例如许多2'取代的核苷以及锁定核酸(locked nucleic acid, LNA)(参见例如Freier&Altmann;Nucl. Acid Res., 1997, 25, 4429-4443 and Uhlmann;Curr. Opinion in Drug Development, 2000, 3 (2), 293-213)。

[0180] 糖修饰

[0181] 本发明的寡聚体可以包含一种或更多个具有经修饰的糖部分的核苷,即与DNA和RNA中发现的核糖糖部分相比时糖部分的修饰。

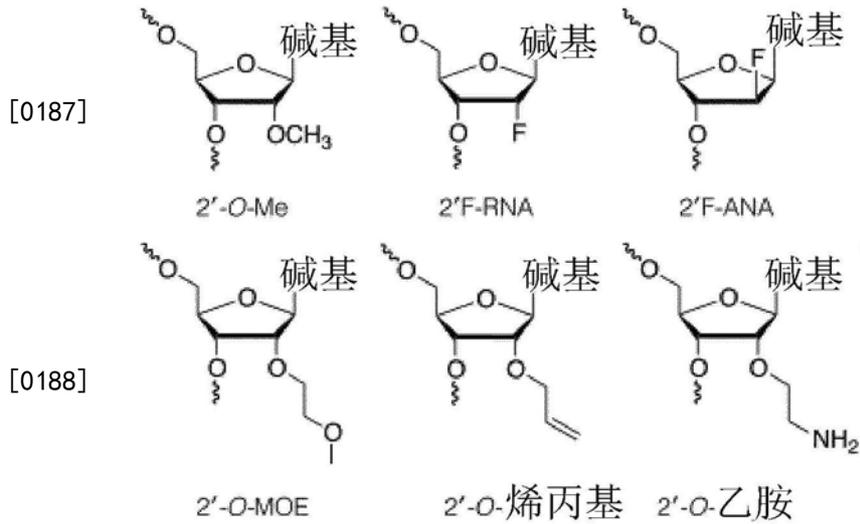
[0182] 已经制备了许多具有核糖部分的经修饰的核苷,主要是为了改善寡核苷酸的某些性质,诸如亲和力和/或核酸酶抗性。

[0183] 此类修饰包括其中核糖环结构被修饰(诸如通过用己糖环(HNA)或双环替代)的那些,其通常在核糖环(LNA)的C2和C4碳之间具有双基桥(biradicle bridge),或通常缺乏C2和C3碳之间的键的未连接的核糖环(例如UNA)。其他糖修饰的核苷包括,例如,双环己糖核酸(WO2011/017521)或三环核酸(WO2013/154798)。修饰的核苷还包括以下核苷,其中例如在肽核酸(PNA)或吗啉代核酸的情况下糖部分被非糖部分替代。

[0184] 糖修饰还包括通过将核糖环上的取代基改变为氢以外的基团或天然存在于DNA和RNA核苷中的2'-OH基团而进行的修饰。取代基可以,例如在2', 3', 4' 或5'位置引入。具有经修饰的糖部分的核苷还包括经2'修饰的核苷,诸如经2'取代的核苷。实际上,已经将很多注意力集中在开发经2'取代的核苷上,并且已发现许多经2'取代的核苷在掺入寡核苷酸时具有有益的性质,例如增强的核苷抗性和增强的亲和力。

[0185] 经2'修饰的核苷

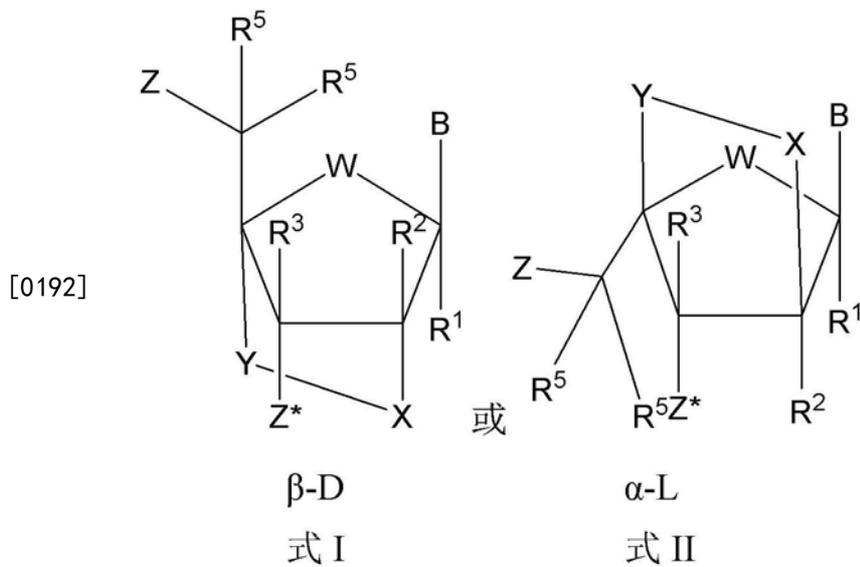
[0186] 经2'糖修饰的核苷是在2'位置具有除H或-OH以外的取代基(经2'取代的核苷)或包含2'连接的双基,和包括2'取代的核苷和LNA(2'-4'双基桥联)核苷的核苷。例如,经2'修饰的糖可以为寡核苷酸提供增强的结合亲和力和/或增加的核酸酶抗性。经2'取代修饰的核苷的实例是2'-O-烷基-RNA, 2'-O-甲基-RNA, 2'-烷氧基-RNA, 2'-O-甲氧基乙基-RNA(MOE), 2'-氨基-DNA, 2'-氟-RNA和2'-F-ANA核苷。有关其他实例,请参见例如Freier&Altmann;Nucl. Acid Res., 1997, 25, 4429-4443和Uhlmann;Curr. Opinion in Drug Development, 2000, 3 (2), 293-213, 以及Deleavey和Damha, Chemistry and Biology 2012, 19, 937。下面是一些经2'取代修饰的核苷的图示。



[0189] 锁定核酸核苷 (LNA)

[0190] LNA核苷是经修饰的核苷,其包含核苷酸的核糖糖环的C2' 和C4' 之间的连接基团(称为双基或桥)。这些核苷在文献中也称为桥接核酸或双环核酸(BNA)。

[0191] 在一些实施方案中,本发明的寡聚体的经修饰的核苷或LNA核苷具有式I或II的一般结构:



[0193] 其中W选自-O-, -S-, -N(R^a)-, -C(R^aR^b)-, 诸如, 在一些实施方案中为-O-;

[0194] B表示核碱基部分;

[0195] Z表示与相邻核苷的核苷间连接,或5' -末端基团;

[0196] Z*表示与相邻核苷的核苷间连接,或3' -末端基团;

[0197] X表示选自由以下各项组成的列表的组:-C(R^aR^b)-, -C(R^a)=C(R^b)-, -C(R^a)=N-, -O-, -Si(R^a)₂-, -S-, -SO₂-, -N(R^a)-和>C=Z。

[0198] 在一些实施方案中,X选自由以下各项组成的组:-O-, -S-, NH-, NR^aR^b-, -CH₂-, CR^aR^b-, -C(=CH₂)-和-C(=CR^aR^b)-。

[0199] 在一些实施方案中,X为-O-。

[0200] Y表示选自由以下各项组成的组的组:-C(R^aR^b)-, -C(R^a)=C(R^b)-, -C(R^a)=N-, -

O-, -Si(R^a)₂-, -S-, -SO₂-, -N(R^a)-和>C=Z。

[0201] 在一些实施例中, Y选自由以下各项组成的组: -CH₂-, -C(R^aR^b)-, -CH₂CH₂-, -C(R^aR^b)-C(R^aR^b)-, -CH₂CH₂CH₂-, -C(R^aR^b)C(R^aR^b)C(R^aR^b)-, -C(R^a)=C(R^b)-和-C(R^a)=N-。

[0202] 在一些实施方案中, Y选自以下各项组成的组: -CH₂-, -CHR^a-, -CHCH₃-, CR^aR^b-,

[0203] 或-X-Y-一起表示二价连接基团(也称为基)一起表示由1, 2或3个选自由以下各项组成的组的基团/原子组成的二价连接基团: -C(R^aR^b)-, -C(R^a)=C(R^b)-, -C(R^a)=N-, -O-, -Si(R^a)₂-, -S-, -SO₂-, -N(R^a)-和>C=Z。

[0204] 在一些实施方案中, -X-Y-表示选自有以下各项组成的组的双基: -X-CH₂-, -X-CR^aR^b-, -X-CHR^a-X-C(HCH₃)-, -O-Y-, -O-CH₂-, -S-CH₂-, -NH-CH₂-, -O-CHCH₃-, -CH₂-O-CH₂-, -O-CH(CH₃CH₃)-, -O-CH₂-CH₂-, -OCH₂-CH₂-CH₂-, -O-CH₂OCH₂-, -O-NCH₂-, -C(=CH₂)-CH₂-, -NR^a-CH₂-, N-O-CH₂-, -S-CR^aR^b-和-S-CHR^a-。

[0205] 在一些实施例中, -X-Y-表示-O-CH₂-或-O-CH(CH₃)-。

[0206] 其中Z选自-O-, -S-和-N(R^a)-,

[0207] 且R^a和, 当存在时R^b, 各自独立地选自氢, 任选取代的C₁₋₆-烷基, 任选取代的C₂₋₆-链烯基, 任选取代的C₂₋₆-炔基, 羟基, 任选取代的C₁₋₆-烷氧基, C₂₋₆-烷氧基烷基, C₂₋₆-链烯氧基, 羧基, C₁₋₆-烷氧羰基, C₁₋₆-烷基羰基, 甲酰基, 芳基, 芳氧基-羰基, 芳氧基, 芳基羰基, 杂芳基, 杂芳基氧基-羰基, 杂芳基氧基, 杂芳基羰基, 氨基, 单和二(C₁₋₆-烷基)氨基, 氨基甲酰基, 单和二(C₁₋₆-烷基)-氨基-羰基, 氨基-C₁₋₆-烷基-氨基羰基, 单和二(C₁₋₆-烷基)氨基-C₁₋₆-烷基-氨基羰基, C₁₋₆-烷基-羰基氨基, 氨基甲酸酯, C₁₋₆-烷酰氧基, 磺酰基(sulphono), C₁₋₆-烷基磺酰氧基, 硝基, 叠氮基, 硫烷基(sulphanyl), C₁₋₆-烷硫基, 卤素, 其中芳基和杂芳基可以任选被取代, 并且两个孪位取代基R^a和R^b一起可以表示任选地经取代的亚甲基(=CH₂), 其中对于所有手性中心, 可以在R或S取向上找到不对称基团。

[0208] 其中R¹, R², R³, R⁵和R^{5*}独立地选自: 氢, 任选取代的C₁₋₆烷基, 任选取代的C₂₋₆-链烯基, 任选取代的C₂₋₆-炔基, 羟基, C₁₋₆-烷氧基, C₂₋₆-烷氧基烷基, C₂₋₆-链烯氧基, 羧基, C₁₋₆-烷氧基羰基, C₁₋₆-烷基羰基, 甲酰基, 芳基, 芳氧基-羰基, 芳氧基, 芳基羰基, 杂芳基, 杂芳基氧基-羰基, 杂芳基氧基, 杂芳基羰基, 氨基, 单-和二(C₁₋₆-烷基)氨基, 氨基甲酰基, 单-和二(C₁₋₆-烷基)-氨基-羰基, 氨基-C₁₋₆-烷基-氨基羰基, 单-和二(C₁₋₆-烷基)氨基-C₁₋₆-烷基-氨基羰基, C₁₋₆-烷基-羰基氨基, 脲基, C₁₋₆-烷酰氧基, 磺酰基(sulphono), C₁₋₆-烷基磺酰氧基, 硝基, 叠氮基, 硫烷基(sulphanyl), C₁₋₆-烷硫基, 卤素, 其中芳基和杂芳基可任选被取代, 并且其中两个孪位取代基一起可表示氧代, 硫代(thioxo), 亚氨基, 或任选取代的亚甲基。

[0209] 在一些实施例中, R¹, R², R³, R⁵和R^{5*}独立地选自C₁₋₆烷基, 诸如甲基, 和氢。

[0210] 在一些实施方案中, R¹, R², R³, R⁵和R^{5*}都是氢。

[0211] 在一些实施例中, R¹, R², R³都是氢, 并且R⁵和R^{5*}也是氢, 而R⁵和R^{5*}的另一个不是氢, 诸如C₁₋₆烷基诸如甲基。

[0212] 在一些实施方案中, R^a是氢或甲基。在一些实施方案中, 当存在时, R^b是氢或甲基。

[0213] 在一些实施方案中, R^a和R^b之一或两者为氢。

[0214] 在一些实施方案中, R^a和R^b之一是氢, 另一个不是氢。

[0215] 在一些实施方案中, R^a和R^b之一是甲基, 另一个是氢。

[0216] 在一些实施方案中, R^a和R^b均是甲基。

[0217] 在一些实施方案中,双基-X-Y-是-O-CH₂-,W是O,并且R¹,R²,R³,R⁵和R^{5*}全部都是氢。这样的LNA核苷在W099/014226,W000/66604,W098/039352和W02004/046160(其全部通过引用并入本文)中公开,并且包括通常称为β-D-氧基LNA和α-L-氧基LNA核苷的那些。

[0218] 在一些实施方案中,双基-X-Y-是-S-CH₂-,W是O,并且R¹,R²,R³,R⁵和R^{5*}全部都是氢。这样的硫代LNA核苷在W099/014226和W02004/046160(其通过引用并入本文)中公开。

[0219] 在一些实施方案中,双基-X-Y-是-NH-CH₂-,W是O,并且R¹,R²,R³,R⁵和R^{5*}全部都是氢。这样的氨基LNA核苷在W099/014226和W02004/046160(其通过引用并入本文)中公开。

[0220] 在一些实施方案中,双基-O-CH₂-CH₂--或-O-CH₂-CH₂-CH₂-,W是O,并且R₁,R₂,R₃,R⁵和R^{5*}全部都是氢。这样的LNA核苷在W000/047599和Morita等,Bioorganic & Med.Chem.Lett.12 73-76(其通过引用并入本文)中公开,并且包括通常称为2'-O-4' C-亚乙基桥连的核酸(ENA)。

[0221] 在一些实施方案中,双基-X-Y-是-O-CH₂-,W是O,并且所有R¹,R²,R³以及R⁵和R^{5*}中的一个都是氢,而R⁵和R^{5*}中的另一个不是氢,诸如C₁₋₆烷基,如甲基。这样的经5'取代的LNA核苷在W02007/134181(其通过引用并入本文)中公开。

[0222] 在一些实施方案中,双基-X-Y-是-O-CR^aR^b-,其中R^a和R^b之一或两者都不是氢,诸如甲基,W是O,并且所有R¹,R²,R³以及R⁵和R^{5*}中的一个都是氢,而R⁵和R^{5*}中的另一个不是氢,诸如C₁₋₆烷基,诸如甲基。此样的双修饰的LNA核苷在W02010/077578(其通过引用并入本文)中公开。

[0223] 在一些实施方案中,双基-X-Y-表示二价接头基团-O-CH(CH₂OCH₃)-(2' O-甲氧基乙基双环核酸-Seth at al.,2010,J.Org.Chem.Vol 75(5) pp.1569-81)。在一些实施方案中,双基-X-Y-表示二价接头基团-O-CH(CH₂OCH₃)-(2' O-乙烷基乙基双环核酸-Seth at al.,2010,J.Org.Chem.Vol 75(5) pp.1569-81)。在一些实施方案中,双基-X-Y-是-O-CHR^a-,W是O,并且R¹,R²,R³,R⁵和R^{5*}全部都是氢。这样的经6'取代的LNA核苷在W010036698和W007090071(其通过引用并入本文)中公开。

[0224] 在一些实施方案中,双基-X-Y-是O-CH(CH₂OCH₃)-,W是O,并且R¹,R²,R³,R⁵和R^{5*}全部都是氢。这样的LNA核苷在本领域中也称为环状MOE(cMOE),并且在W007090071中公开。

[0225] 在一些实施方案中,双基-X-Y-表示二价连接基团-O-CH(CH₃)-。-处于R-或S-构型。在一些实施方案中,双基-X-Y-一起表示二价接头基团-O-CH₂-O-CH₂-(Seth at al.,2010,J.Org.Chem)。在一些实施方案中,双基-X-Y-是-O-CH(CH₃)-,W是O,并且R¹,R²,R³,R⁵和R^{5*}全部都是氢。此类经6'甲基LNA核苷在本领域中也称为cET核苷,并且可以是(S)cET或(R)cET立体异构体,如W007090071(β-D)和W02010/036698(α-L)(两者均通过引用并入本文)中公开的。

[0226] 在一些实施方案中,双基-X-Y-是-O-CR^aR^b-,其中在R^a或R^b中都不是氢,W是O,并且所有R¹,R²,R³,R⁵和R^{5*}都是氢。在一些实施方案中,R^a和R^b都是甲基。这样的经6'取代的LNA核苷在W02009006478(其通过引用并入本文)中公开。

[0227] 在一些实施方案中,双基-X-Y-是-S-CHR^a-,W是O,并且R¹,R²,R³,R⁵和R^{5*}全部都是氢。这样的经6'取代的硫代LNA核苷在W011156202(其通过引用并入本文)中公开。在一些经6'取代的硫代LNA实施方案中,R^a是甲基。

[0228] 在一些实施方案中,双基-X-Y-是-C(=CH₂)-C(R^aR^b)-,诸如-C(=CH₂)-CH₂-或-C

(=CH₂)-CH(CH₃)-W为O,且所有的R¹,R²,R³,R⁵和R^{5*}均为氢。这样的乙烯基carbo LNA核苷在W008154401和W009067647(其均通过引用并入本文)中公开。

[0229] 在一些实施方案中,双基-X-Y-是N(-OR^a)-,W是O,并且R¹,R²,R³,R⁵和R^{5*}全部都是氢。在一些实施方案中,R^a是C₁₋₆烷基诸如甲基。这样的LNA核苷也被称为N取代的LNA,并且在W02008/150729(其通过引用并入本文)中公开。在一些实施方案中,双基-X-Y-一起表示二价接头基团-O-NR^a-CH₃-(Seth at al.,2010,J.Org.Chem)。在一些实施方案中,双基-X-Y-是N(R^a)-,W是O,并且R¹,R²,R³,R⁵和R^{5*}全部都是氢。在一些实施方案中,R^a是C₁₋₆烷基诸如甲基。

[0230] 在一些实施方案中,R⁵和R^{5*}中的一个或两个是氢,并且当被取代时,R⁵和R^{5*}中的另一个是C₁₋₆烷基诸如甲基。在这样的实施例中,R¹,R²,R³都可以是氢,并且双基-X-Y-可以选自-O-CH₂-或-OC(HCR^a)-,诸如-OC(HCH₃)-。

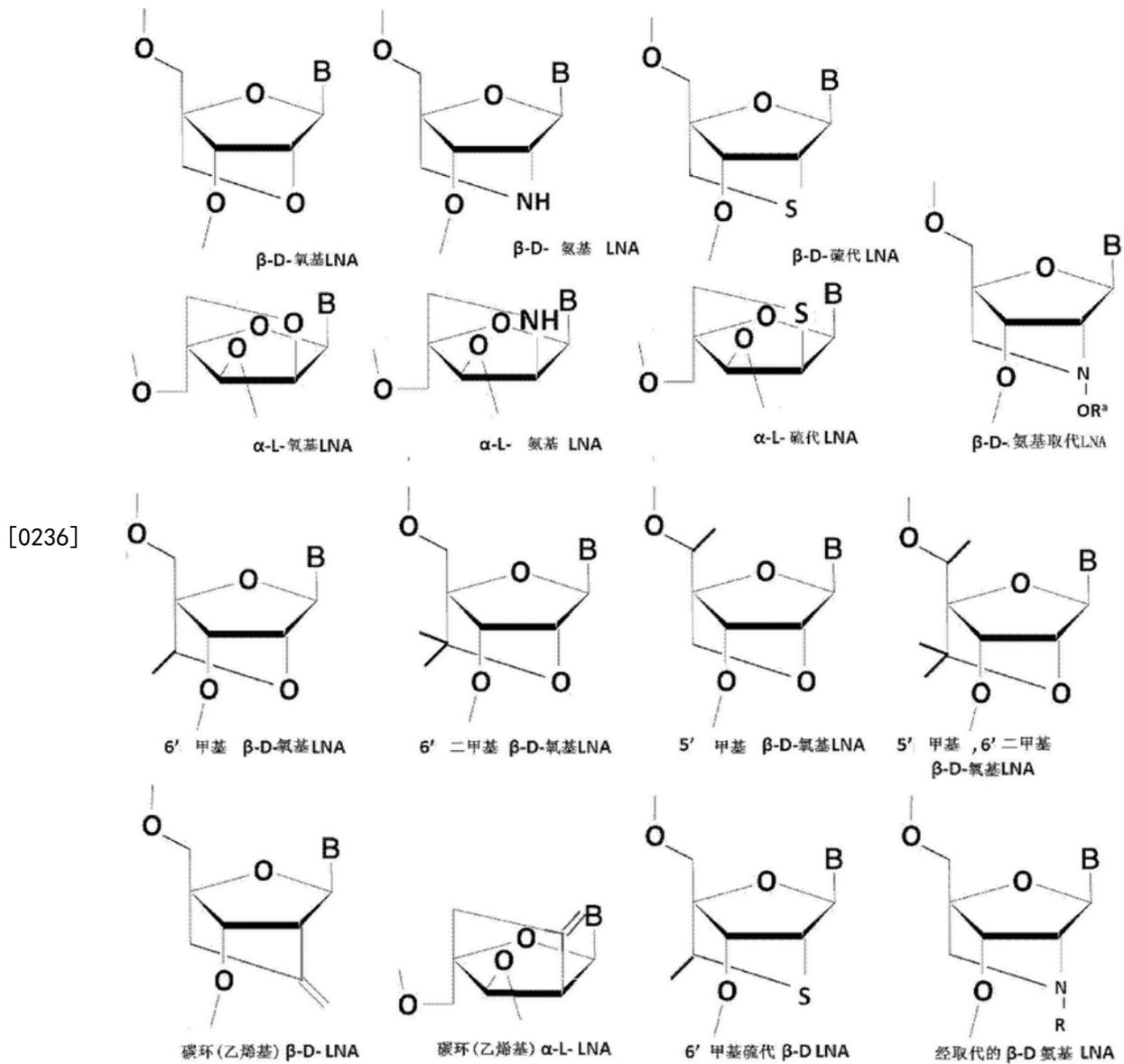
[0231] 在一些实施方案中,双基是-CR^aR^b-O-CR^aR^b-,诸如CH₂-O-CH₂-,W是O,并且R¹,R²,R³,R⁵和R^{5*}都是氢。在一些实施方案中,R^a是C₁₋₆烷基诸如甲基。这样的LNA核苷也被称为构象限制性核苷酸(CRN),并且在W02013036868(其通过引用并入本文)中公开。

[0232] 在一些实施方案中,双基是-O-CR^aR^b-O-CR^aR^b-,诸如CH₂-O-CH₂-,W是O,并且R¹,R²,R³,R⁵和R^{5*}都是氢。在一些实施方案中,R^a是C₁₋₆烷基诸如甲基。这样的LNA核苷也称为COC核苷酸,并且在Mitsuoka等,Nucleic Acids Research 2009 37(4),1225-1238(其通过引用并入本文)中公开。

[0233] 除非另有说明,否则将认识到,LNA核苷可以是β-D或α-L立体异构体。

[0234] LNA核苷的实例在方案1中给出。

[0235] 方案1



[0237] 如实施例中所示,在本发明的一些实施方案中,寡核苷酸中的LNA核苷是β-D-氧基-LNA核苷。

[0238] 核酸酶介导的降解

[0239] 核酸酶介导的降解是指当与这样的序列形成双链体时能够介导互补核苷酸序列降解的寡核苷酸。

[0240] 在一些实施方案中,寡核苷酸可以通过核酸酶介导的靶核酸降解起作用,其中本发明的寡核苷酸能够募集核酸酶,特别是核酸内切酶,优选核酸内切核酸酶(RNase),诸如RNA酶H。通过核酸酶介导的机制起作用的寡核苷酸设计的实例是以下寡核苷酸,其通常包含至少5或6个DNA核苷的区域,并且在一侧或两侧侧接亲和力增强的核苷,例如gapmer,头体(headmer)和尾体(tailmer)。

[0241] RNA酶H的活性和募集

[0242] 反义寡核苷酸的RNA酶H活性是指其与互补RNA分子双链体时募集RNA酶H的能力。WO01/23613提供用于测定RNA酶H活性的体外方法,其可以用于测定募集RNA酶H的能力。通常如果是以下情况则认为寡核苷酸能够募集RNA酶H:当与互补靶核酸序列一起提供时所述

寡核苷酸具有使用寡核苷酸(其与被测试的经修饰的寡核苷酸具有相同碱基序列但仅含有DNA单体,寡核苷酸中所有单体之间具有硫代磷酸酯连接)以及使用W001/23613(通过引用并入本文)的实施例91-95提供的方法测定的初始速率的至少5%,诸如至少10%,或者20%以上的以pmol/1/min测量的初始速率。

[0243] Gapmer

[0244] 如本文所用,术语gapmer是指反义寡核苷酸,所述反义寡核苷酸包含募集寡核苷酸的RNA酶H的区域(缺口),所述区域5'和3'侧接包含一个或多个经亲和力增强修饰的核苷(侧翼或翼)。本文描述了各种缺口设计。头体和尾体是能够募集RNA酶H的寡核苷酸,其中一个侧翼缺失,即寡核苷酸的仅一个末端包含经亲和力增强修饰的核苷。对于头体,3'侧翼是缺失的(即5'侧翼包含增强亲和力的经修饰的核苷),对于尾体,5'侧翼是缺失的(即3'侧翼包含经亲和力增强修饰的核苷)。

[0245] LNA gapmer

[0246] 术语LNA gapmer是gapmer寡核苷酸,其中至少一个经亲和力增强修饰的核苷是LNA核苷。在一些实施方案中,LNA gapmer中的LNA核苷是 β -D-氧基LNA核苷和/或6'甲基 β -D-氧基LNA核苷(诸如(S) cET核苷)。

[0247] 混合翼gapmer

[0248] 术语混合翼gapmer是指LNA gapmer,其中侧翼区域包含至少一个LNA核苷和至少一个非LNA修饰的核苷,诸如至少一个DNA核苷或至少一个经2'取代修饰的核苷,诸如,例如,2'-O-烷基-RNA,2'-O-甲基-RNA,2'-烷氧基-RNA,2'-O-甲氧基乙基-RNA(MOE),2'-氨基-DNA,2'-氟-RNA和2'-F-ANA核苷。在一些实施方案中,混合翼gapmer具有一个包含LNA核苷(例如5'或3')的侧翼,和另一个包含经2'取代修饰的核苷的侧翼(分别为3'或5')。在一些实施方案中,混合翼gapmer中的LNA核苷是 β -D-氧基LNA核苷和/或6'甲基 β -D-氧基LNA核苷(诸如(S) cET核苷)。

[0249] 缀合物

[0250] 如本文所用,术语缀合物是指与非核苷酸部分(缀合物部分或区域C或第三区域)共价连接的寡核苷酸。

[0251] 如本文所用,术语缀合物是指与非核苷酸部分(缀合物部分或区域C或第三区域)共价连接的寡核苷酸。

[0252] 在一些实施方案中,非核苷酸部分选自由以下各项组成的组:蛋白质,诸如酶,抗体或抗体片段或肽;亲脂部分,诸如脂质,磷脂,甾醇;聚合物,诸如聚乙二醇或聚丙二醇;受体配体;小分子;报告分子;和非核苷的碳水化合物。

[0253] 接头

[0254] 连接或接头是两个原子之间的连接,其通过一个或多个共价键一个化学基团或目标片段连接到另一个化学基团或目标片段。缀合部分可直接或通过连接部分(例如接头或系链)连接至寡核苷酸。接头用于共价连接第三区域(例如缀合物部分)至寡核苷酸(例如,区域A或C的末端)。

[0255] 在本发明的一些实施方案中,本发明的缀合物或寡核苷酸缀合物可任选地包含位于寡核苷酸和缀合物部分之间的接头区。在一些实施方案中,缀合物和寡核苷酸之间的接头是可生物切割的。

[0256] 包含生理上不稳定的键或由其组成的可生物切割的接头,该接头在哺乳动物体内通常遇到的条件或与之相似的条件可被切割。生理上不稳定的连接子经历化学转化的条件(诸如裂解)包括化学条件,诸如pH,温度,氧化或还原条件或试剂,以及在哺乳动物细胞中发现的盐浓度或在哺乳动物细胞中遇到的那些相似的盐浓度。哺乳动物细胞内状况还包括通常存在于哺乳动物细胞中的酶活性的存在,所述酶活性诸如来自蛋白水解酶或水解酶或核酸酶的酶活性。在一个实施方案中,生物可切割的接头对S1核酸酶切割敏感。在一个优选的实施方案中,核酸酶敏感性接头包含1至10个核苷,诸如1,2,3,4,5,6,7,8,9或10个核苷,更优选2至6个核苷,最优选2和4个之间的连接的核苷,其包含至少两个连续的磷酸二酯连接,例如至少3或4或5个连续的磷酸二酯连接。优选地,核苷是DNA或RNA。含有生物可切割的接头的磷酸二酯在W02014/076195(通过引用结合于此)中有更详细的描述,并且可以在本文中称为区域D。

[0257] 缀合物也可以通过非生物可切割的接头与寡核苷酸连接,或者在一些实施方案中,缀合物可以包含与生物可切割的接头共价附接的不可切割的接头。接头不一定是生物可切割的,但主要用于将缀合物部分共价连接至寡核苷酸或生物可切割的接头。可包含链结构或重复单元(例如乙二醇,氨基酸单元或氨基烷基)的寡聚体。在一些实施方案中,接头(区域Y)是氨基烷基,诸如C₂-C₃₆氨基烷基,包括诸如C₆至C₁₂氨基烷基。在一些实施方案中,接头(区域Y)是C₆氨基烷基。缀合物接头基团可以通过使用经氨基修饰的寡核苷酸和缀合物基团上的活化酯基团常规附接到寡核苷酸上。

[0258] 治疗

[0259] 本文所用的术语‘治疗’是指治疗现有疾病(例如本文所述的疾病或病症)或预防(prevention)疾病,即预防(prophylaxis)。因此将认识到,在一些实施例中,本文所指的治疗可以是预防性的。

发明内容

[0260]

[0261] 本发明的寡核苷酸

[0262] 本发明涉及能够抑制HTRA1表达的寡核苷酸。调节可以通过与编码HTRA1或参与HTRA1调节的靶核酸杂交实现。靶核酸可以是哺乳动物HTRA1序列,诸如选自SEQ ID 1, 2, 3或4组成的组的序列。

[0263] 本发明的寡核苷酸是靶向HTRA1(例如哺乳动物HTRA1)的反义寡核苷酸。

[0264] 在一些实施方案中,本发明的反义寡核苷酸能够通过抑制或下调靶标来调节靶标的表达。优选地,与靶标的正常表达水平相比,这种调节产生至少20%的表达的抑制,诸如与所述靶标的正常表达水平相比至少30%,40%,50%,60%,70%,80%或90%的抑制。在一些实施方案中,使用ARPE-19细胞,本发明的化合物可能能够在体外使HTRA1 mRNA的表达水平抑制至少60%或70%。在一些实施方案中,使用ARPE-19细胞,本发明的化合物可能能够在体外使HTRA1 mRNA的表达水平抑制至少60%或70%。在一些实施方案中,使用ARPE-19细胞,本发明的化合物可能能够在体外使HTRA1蛋白质的表达水平抑制至少50%。合适地,实施例提供可用于测量HTRA1 RNA或蛋白质抑制的测定。通过寡核苷酸的连续核苷酸序列与靶核酸之间的杂交触发靶标调节。在一些实施方案中,本发明的寡核苷酸包含寡核苷酸和靶核酸之间的错配。尽管错配,与靶核酸的杂交仍可足以显示HTRA1表达的所期望的调

节。由错配导致的降低的结合亲和力可以有利地通过寡核苷酸中核苷酸数量的增加和/或能够增加与靶标结合亲和力的经修饰核苷酸的数量增加来补偿,所述经修饰的核苷酸如存在于寡核苷酸序列中的2' 修饰的核苷酸,包括LNA。

[0265] 本发明的一个方面涉及一种反义寡核苷酸,其包含长度为10至30个核苷酸的与HTRA1靶序列具有至少90%的互补性(诸如与HTRA1靶序列(例如选自SEQ ID NO 1,2,3&4组成的组的核酸)完全互补)的连续核苷酸区域。

[0266] 在一些实施方案中,寡核苷酸包含与靶核酸的区域至少90%互补,诸如至少91%,诸如至少92%,诸如至少93%,诸如至少94%,诸如至少95%,诸如至少96%,诸如至少97%,诸如至少98%,或100%互补的连续序列。

[0267] 在一些实施方案中,本发明的寡核苷酸或其连续核苷酸序列与靶核酸的区域完全互补(100%互补),或者在一些实施方案中,可在包含一个或两个在寡核苷酸和靶核酸之间的错配。

[0268] 在一些实施方案中,寡核苷酸或其至少12个核苷酸的连续核苷酸序列与选自SEQ ID NO 119,120,121,122或123组成的组的序列区域至少90%互补,诸如完全(或100%)互补。

[0269] 在一些实施方案中,寡核苷酸或其至少12个核苷酸的连续核苷酸序列与选自SEQ ID NO 124-230组成的组的序列区域至少90%互补,诸如完全(或100%)互补。

[0270] 在一些实施方案中,寡核苷酸或其至少12个核苷酸的连续核苷酸序列与SEQ ID NO 186的区域至少90%互补,诸如完全(或100%)互补。

[0271] 在一些实施方案中,寡核苷酸或其至少12个核苷酸的连续核苷酸序列与SEQ ID NO 192的区域至少90%互补,诸如完全(或100%)互补。

[0272] 在一些实施方案中,寡核苷酸或其至少12个核苷酸的连续核苷酸序列与SEQ ID NO 205的区域至少90%互补,诸如完全(或100%)互补。

[0273] 在一些实施方案中,寡核苷酸或其至少13个核苷酸的连续核苷酸序列与SEQ ID NO 186的区域至少90%互补,诸如完全(或100%)互补。

[0274] 在一些实施方案中,寡核苷酸或其至少13个核苷酸的连续核苷酸序列与SEQ ID NO 192的区域至少90%互补,诸如完全(或100%)互补。

[0275] 在一些实施方案中,寡核苷酸或其至少13个核苷酸的连续核苷酸序列与SEQ ID NO 205的区域至少90%互补,诸如完全(或100%)互补。

[0276] 在一些实施方案中,寡核苷酸或其至少14个核苷酸的连续核苷酸序列与选自SEQ ID NO 113,114,115,116,117和231的序列完全(或100%)互补。

[0277] 在一些实施方案中,寡核苷酸或其至少14个核苷酸的连续核苷酸序列与SEQ ID NO 186的区域至少90%互补,诸如完全(或100%)互补。

[0278] 在一些实施方案中,寡核苷酸或其至少14个核苷酸的连续核苷酸序列与SEQ ID NO 192的区域至少90%互补,诸如完全(或100%)互补。

[0279] 在一些实施方案中,寡核苷酸或其至少14个核苷酸的连续核苷酸序列与SEQ ID NO 205的区域至少90%互补,诸如完全(或100%)互补。

[0280] 在一些实施方案中,寡核苷酸或其至少15个核苷酸的连续核苷酸序列与SEQ ID NO 186的区域至少90%互补,诸如完全(或100%)互补。

[0281] 在一些实施方案中,寡核苷酸或其至少15个核苷酸的连续核苷酸序列与SEQ ID NO 192的区域至少90%互补,诸如完全(或100%)互补。

[0282] 在一些实施方案中,寡核苷酸或其至少15个核苷酸的连续核苷酸序列与SEQ ID NO 205的区域至少90%互补,诸如完全(或100%)互补。

[0283] 在一些实施方案中,寡核苷酸或其至少16个核苷酸的连续核苷酸序列与选自SEQ ID NO SEQ ID NO 113,114,115,116,117和231的序列完全(或100%)互补。

[0284] 在一些实施方案中,寡核苷酸或其至少16个核苷酸的连续核苷酸序列与SEQ ID NO 186的区域至少90%互补,诸如完全(或100%)互补。

[0285] 在一些实施方案中,寡核苷酸或其至少16个诸如16,17或18个核苷酸的连续核苷酸序列与SEQ ID NO 192的区域至少90%互补,诸如完全(或100%)互补。

[0286] 在一些实施方案中,寡核苷酸或其至少16个核苷酸的连续核苷酸序列与SEQ ID NO 205的区域至少90%互补,诸如完全(或100%)互补。

[0287] 在一些实施方案中,寡核苷酸或其连续核苷酸区域与选自由选自由以下各项组成的组的序列组成的组的序列完全(或100%)互补:SEQ ID NO SEQ ID NO 113,114,115,116,117和231。

[0288] 在一些实施方案中,寡核苷酸或其连续核苷酸区域与选自由选自由SEQ ID NO 124-230组成的组的序列组成的组的序列完全(或100%)互补。

[0289] 在一些实施方案中,寡核苷酸或其连续核苷酸区域与SEQ ID NO 186完全(或100%)互补。

[0290] 在一些实施方案中,寡核苷酸或其连续核苷酸区域与SEQ ID NO 192完全(或100%)互补。

[0291] 在一些实施方案中,寡核苷酸或其连续核苷酸区域与SEQ ID NO 205完全(或100%)互补。

[0292] 应当理解,可以修饰寡核苷酸基序序列以例如增加核酸酶抗性和/或对靶核酸的结合亲和力。在定义和“寡核苷酸设计”部分中描述了修饰。

[0293] 在一些实施方案中,本发明的寡核苷酸或其连续核苷酸区域与靶核酸的区域完全互补(100%互补),或者在一些实施方案中,可包含一个或两个在寡核苷酸和靶核酸之间的错配。在一些实施方案中,寡核苷酸或其至少12个核苷酸的连续核苷酸序列,与靶核酸序列至少90%互补,诸如完全(或100%)互补。

[0294] 在一些实施方案中,寡核苷酸或其至少12个核苷酸的连续核苷酸序列与选自SEQ ID NO 5至111的序列具有100%同一性。

[0295] 在一些实施方案中,寡核苷酸或其至少14个核苷酸的连续核苷酸序列与选自SEQ ID NO 5至111的序列具有100%同一性。

[0296] 在一些实施方案中,寡核苷酸或其至少16个核苷酸的连续核苷酸序列与选自SEQ ID NO 5至111的序列具有100%同一性。

[0297] 在一些实施方案中,寡核苷酸或其连续核苷酸区域包含选自SEQ ID NO 5-111的序列或由其组成。

[0298] 在一些实施方案中,本发明的寡核苷酸选自下组(注意,靶标子序列是寡核苷酸基序的反向互补序列):

[0299]

SEQ ID NO	基序	化合物设计	靶标子序列 SEQ ID	靶标子序列
5	agttaaaggaggagacaaat	AGTTaaaggaggagacAAAT	124	attgtctcctccttaact
6	tcagttaaaggaggagacaa	TCAgtaaaggaggagacAA	125	ttgtctcctccttaactga
7	ctcagttaaaggaggagacaa	CTCagttaaaggaggagacAA	126	tgtctcctccttaactgag
8	ctcagttaaaggaggagac	CTCagttaaaggaggagac	127	gtctcctccttaactgag
9	actcagttaaaggaggagac	ACTCagttaaaggaggagac	128	gtctcctccttaactgagt
10	actcagttaaaggaggagaa	ACTCagttaaaggaggagaa	129	tctcctccttaactgagt
11	actcagttaaaggaggag	ACTcagttaaaggagGAG	130	ctcctccttaactgagt
12	gatgactcagttaaaggagg	GAtgactcagttaaaggAGG	131	cctccttaactgagtcac

[0300]

13	atgatgactcagttaaagga	ATGAtgactcagttaaagGA	132	tccttaactgagtcacat
14	tgatgactcagttaaagg	TGAtgactcagttaAAGG	133	ccttaactgagtcacac
15	gatgatgactcagttaaagg	GATgatgactcagttaAAGG	134	ccttaactgagtcacatc
16	gatgatgactcagttaaag	GATGatgactcagttaAAG	135	cttaactgagtcacatc
17	tatcgactgcattagttgg	TATcgactgcattagttGG	136	ccaactaatgcagtcgata
18	gtatcgactgcattagttgg	GtatcgactgcattagttGG	137	ccaactaatgcagtcgatac
19	tcgactgcattagttg	TCGactgcattagTTG	138	caactaatgcagtcgac
19	tcgactgcattagttg	TCGactgcattagTG	138	caactaatgcagtcgac
19	tcgactgcattagttg	TCGActgcattaGTTG	138	caactaatgcagtcgac
20	tatcgactgcattagttg	TAtcgactgcattaGTTG	139	caactaatgcagtcgata
21	gtatcgactgcattagttg	GTAtcgactgcattagTG	140	caactaatgcagtcgatac
22	tgtatcgactgcattagttg	TGtatcgactgcattagTG	141	caactaatgcagtcgataca
23	atcgactgcattagtt	ATCgactgcattaGTT	142	aactaatgcagtcgat
23	atcgactgcattagtt	ATCGactgcattAGTT	142	aactaatgcagtcgat
23	atcgactgcattagtt	ATCGactgcattaGTT	142	aactaatgcagtcgat
24	tatcgactgcattagtt	TATCgactgcattaGTT	143	aactaatgcagtcgata
25	gtatcgactgcattagtt	GTATcgactgcattagTT	144	aactaatgcagtcgatac
26	tgtatcgactgcattagtt	TGTatcgactgcattagTT	145	aactaatgcagtcgataca
27	ttgatcgactgcattagtt	TTGtatcgactgcattagTT	146	aactaatgcagtcgatacaa
28	tatcgactgcattagtt	TATcgactgcattaGT	147	actaatgcagtcgata
28	tatcgactgcattagtt	TATCgactgcattAGT	147	actaatgcagtcgata
29	gtatcgactgcattagtt	GTATcgactgcattaGT	148	actaatgcagtcgatac
30	tgtatcgactgcattagtt	TGTatcgactgcattaGT	149	actaatgcagtcgataca
31	gtatcgactgcattag	GTATcgactgcattAG	150	ctaactgcagtcgatac
31	gtatcgactgcattag	GTATcgactgcattAG	150	ctaactgcagtcgatac
31	gtatcgactgcattag	GTATcgactgcattAG	150	ctaactgcagtcgatac
32	tgtatcgactgcattag	TGTatcgactgcattAG	151	ctaactgcagtcgataca
33	ttgatcgactgcattag	TTGtatcgactgcattAG	152	ctaactgcagtcgatacaa
34	attgatcgactgcattag	ATTgatcgactgcattAG	153	ctaactgcagtcgatacaat
35	tgtatcgactgcattag	TGTatcgactgcattAG	154	taactgcagtcgataca
35	tgtatcgactgcattag	TGTATcgactgcattAG	154	taactgcagtcgataca
36	attgatcgactgcattag	ATTGtatcgactgcattAG	155	taactgcagtcgatacaat
37	ttgatcgactgcattag	TTGtatcgactgcattAG	156	aatgcagtcgatacaa
37	ttgatcgactgcattag	TTGtatcgactgcattAG	156	aatgcagtcgatacaa
38	attgatcgactgcattag	ATTgatcgactgcattAG	157	atgcagtcgatacaat
38	attgatcgactgcattag	ATTgatcgactgcattAG	157	atgcagtcgatacaat
38	attgatcgactgcattag	ATTGtatcgactgcattAG	157	atgcagtcgatacaat
39	acgcattgatcgact	ACGcattgatcgACT	158	agtcgatacaatgcgt
39	acgcattgatcgact	ACGcattgatcgACT	158	agtcgatacaatgcgt
40	tacgcattgatcgact	TACgcattgatcgACT	159	gtcgatacaatgcgta
40	tacgcattgatcgact	TACGcattgatcgACT	159	gtcgatacaatgcgta
41	ctacgcattgatcgact	CTacgcattgatcgACT	160	gtcgatacaatgcgtag
42	tctacgcattgatcgact	TCTAcgcattgatcgACT	161	gtcgatacaatgcgtaga

[0301]

43	atctacgcattgtatcgac	ATCtacgcattgtatcgAC	162	gtcgatacaatgcgtagat
44	tatctacgcattgtatcgac	TAtctacgcattgtatcGAC	163	gtcgatacaatgcgtagata
45	ctacgcattgtatcga	CTAcgcattgtatCGA	164	tcgatacaatgcgtag
45	ctacgcattgtatcga	CTACgcattgtatCGA	164	tcgatacaatgcgtag
46	tatctacgcattgtatcga	TAtctacgcattgtatCGA	165	tcgatacaatgcgtagata
47	tctacgcattgtatcg	TCTacgcattgtatTCG	166	cgatacaatgcgtaga
47	tctacgcattgtatcg	TCTacgcattgtatCG	166	cgatacaatgcgtaga
47	tctacgcattgtatcg	TCTAcgcattgtATCG	166	cgatacaatgcgtaga
48	atctacgcattgtatcg	ATCTacgcattgtatTCG	167	cgatacaatgcgtagat
49	tatctacgcattgtatcg	TATCtacgcattgtatCG	168	cgatacaatgcgtagata
50	tctatctacgcattgtatcg	TctatctacgcattgtatCG	169	cgatacaatgcgtagataga
51	atctacgcattgtatc	ATCtacgcattgtATC	170	gatacaatgcgtagat
51	atctacgcattgtatc	ATCTacgcattgtATC	170	gatacaatgcgtagat
52	tatctacgcattgtatc	TATctacgcattgtATC	171	gatacaatgcgtagata
53	ctatctacgcattgtatc	CTatctacgcattgtATC	172	gatacaatgcgtagatag
54	tctatctacgcattgtatc	TctatctacgcattgtatTC	173	gatacaatgcgtagataga
55	ttctatctacgcattgtatc	TTctatctacgcattgtatTC	174	gatacaatgcgtagatagaa
56	tatctacgcattgtat	TATctacgcattgtAT	175	atacaatgcgtagata
56	tatctacgcattgtat	TATCtacgcattgtAT	175	atacaatgcgtagata
57	ctatctacgcattgtat	CTAtctacgcattgtAT	176	atacaatgcgtagatag
58	tctatctacgcattgtat	TctatctacgcattgtAT	177	atacaatgcgtagataga
59	ttctatctacgcattgtat	TTctatctacgcattgtAT	178	atacaatgcgtagatagaa
60	ctatctacgcattgtat	CTAtctacgcattgtAT	179	tacaatgcgtagatag
60	ctatctacgcattgtat	CTATctacgcattgtAT	179	tacaatgcgtagatag
61	tctatctacgcattgtat	TctatctacgcattgtAT	180	tacaatgcgtagataga
62	ttctatctacgcattgtat	TTctatctacgcattgtAT	181	tacaatgcgtagatagaa
63	ttctatctacgcattgt	TTctatctacgcattgt	182	acaatgcgtagatagaa
64	tcttctatctacgcattgt	Tcttctatctacgcattgt	183	acaatgcgtagatagaa
65	ttcttctatctacgcattgt	Ttcttctatctacgcattgt	184	acaatgcgtagatagaa
66	ttcttctatctacgcattg	TTcttctatctacgcattg	185	caatgcgtagatagaa
67	ttctatctacgcattg	TTctatctacgcattg	186	caatgcgtagatagaa
68	cttctatctacgcatt	CTTctatctacgcatt	187	aatgcgtagatagaa
69	tcttctatctacgcatt	TCTtctatctacgcatt	188	aatgcgtagatagaa
70	ttcttctatctacgcatt	TTCTtctatctacgcatt	189	aatgcgtagatagaa
71	tcttctatctacgcatt	TCTTtctatctacgcatt	190	atgcgtagatagaa
72	ttcttctatctacgcatt	TTCTtctatctacgcatt	191	atgcgtagatagaa
73	cttcttctatctacgcatt	CTTCTtctatctacgcatt	192	atgcgtagatagaa
74	ttcttctatctacgcatt	TTCTtctatctacgcatt	193	tgtagatagaa
75	cttcttctatctacgcatt	CTTCTtctatctacgcatt	194	tgtagatagaa
76	gcttcttctatctacgcatt	Gcttcttctatctacgcatt	195	tgtagatagaa
77	cttcttctatctacgcatt	CTtcttctatctacgcatt	196	gcgtagatagaa
78	gcttcttctatctacgcatt	GCTtcttctatctacgcatt	197	cgtagatagaa
79	cgtaggcttcttctat	CGTgggcttcttctat	198	tagaagaagccccacg

80	tgacttgagaaaagcaca	TGacttgagaaaagcacAA	199	ttgtcttttccaagtca
81	ctgacttgagaaaagcac	CtgacttgagaaaagcacAC	200	gtgcttttccaagtca
82	agagtcacgtgctcc	AGAgtcacgtgctcc	201	ggagcagatgactct
83	aagtactttaatagctcaa	AAGTactttaatagctCAA	202	ttgagctattaagactt
84	aagtactttaatagctcaa	AAGTactttaatagctCAA	203	ttgagctattaagactt
85	gaagtactttaatagctcaa	GAAgactttaatagctCAA	204	ttgagctattaagacttc
86	tactttaatagctcaa	TACTttaatagctCAA	205	ttgagctattaagacttc
87	aagtactttaatagctca	AAGTactttaatagctCA	206	tgagctattaagactt
88	gaagtactttaatagctca	GAAgactttaatagctCA	207	tgagctattaagacttc
89	agaagtactttaatagctc	AGAAgactttaatagctc	208	gagctattaagacttct
90	aagaagtactttaatagctc	AAGAagactttaatagctc	209	gagctattaagacttctt
91	gaagtactttaatagct	GAAgactttaatagct	210	agctattaagacttc
92	taagaagtactttaatagct	TAAgaagtactttaatagct	211	agctattaagacttctta
93	agaagtactttaatagct	AGAAgactttaatagct	212	gctattaagacttctt
94	taagaagtactttaatagct	TAAgaagtactttaatagct	213	gctattaagacttctta
95	gtaagaagtactttaatagct	GTAagaagtactttaatagct	214	gctattaagacttcttac
96	taagaagtactttaatag	TAAgaagtactttaatag	215	ctattaagacttctta
[0302] 97	gtaagaagtactttaatag	GTAagaagtactttaatag	216	ctattaagacttcttac
98	tgtaagaagtactttaatag	TGTAagaagtactttaatag	217	ctattaagacttcttaca
99	aatgtgtaagaagtactt	AATGtgtaagaagtactt	218	aaagtacttcttacacatt
100	caatgtgtaagaagtactt	CAATgtgtaagaagtactt	219	aaagtacttcttacacattg
101	atgtgtaagaagtactt	ATGTgtaagaagtactt	220	aagtacttcttacacatt
102	aatgtgtaagaagtactt	AATGtgtaagaagtactt	221	aagtacttcttacacatt
103	caatgtgtaagaagtactt	CAATgtgtaagaagtactt	222	aagtacttcttacacattg
104	gcaatgtgtaagaagtactt	GCAatgtgtaagaagtactt	223	aagtacttcttacacattgc
105	atgtgtaagaagtactt	ATGTgtaagaagtactt	224	agtacttcttacacatt
105	atgtgtaagaagtactt	ATGTgtaagaagtactt	224	agtacttcttacacatt
106	gcaatgtgtaagaagtactt	GCAatgtgtaagaagtactt	225	agtacttcttacacattgc
107	aatgtgtaagaagtag	AATGtgtaagaagtag	226	gtacttcttacacatt
107	aatgtgtaagaagtag	AATgtgtaagaagtag	226	gtacttcttacacatt
108	caatgtgtaagaagtag	CAATgtgtaagaagtag	227	gtacttcttacacattg
109	gcaatgtgtaagaagtag	GCAatgtgtaagaagtag	228	gtacttcttacacattgc
110	caatgtgtaagaagtag	CAATgtgtaagaagtag	229	tacttcttacacattg
110	caatgtgtaagaagtag	CAATgtgtaagaagtag	229	tacttcttacacattg
110	caatgtgtaagaagtag	CAATgtgtaagaagtag	229	tacttcttacacattg
111	gcaatgtgtaagaagtag	GCAatgtgtaagaagtag	230	tacttcttacacattgc

[0303] 或其缀合物；其中对于标题为化合物设计的列，大写字母为LNA核苷，小写字母为DNA核苷，胞嘧啶核苷任选为5甲基胞嘧啶，核苷间连接为至少80%，诸如至少90%或100%修饰的核苷间连接，如硫代磷酸酯核苷间连接。在一些实施方案中，上表的化合物设计列中的化合物的所有核苷间连接是硫代磷酸酯核苷间连接。基序和靶标子序列是核碱基序列。

[0304] 本发明提供以下寡核苷酸：

[0305]

CMP ID NO	化合物
5,1	AGTTaaaggaggagacAAAT
6,1	TCAgttaaaggaggagaCAA
7,1	CTCagttaaaggaggagaCA
8,1	CTCagttaaaggaggaGAC
9,1	ACTCagttaaaggaggagAC
10,1	ACTCagttaaaggaggaGA
11,1	ACtcagttaaaggaGGAG
12,1	GATgactcagttaaaggAGG
13,1	ATGAtgactcagttaaagGA
14,1	TGAtgactcagttaAAGG
15,1	GATgatgactcagttaAAGG
16,1	GATGatgactcagttaAAG
17,1	TAT ^m cgactgcattagttGG
18,1	Gtat ^m cgactgcattagttGG
19,1	TCGactgcattagTTG
19,2	TCGactgcattagtTG
19,3	TCGActgcattaGTTG
20,1	TAT ^m cgactgcattaGTTG
21,1	GTAT ^m cgactgcattagtTG
22,1	TGtat ^m cgactgcattagtTG
23,1	ATCgactgcattaGTT
23,2	ATCGactgcattAGTT
23,3	ATCGactgcattaGTT
24,1	TATCgactgcattaGTT
25,1	GTAT ^m cgactgcattagTT
26,1	TGTat ^m cgactgcattagTT
27,1	TTGtat ^m cgactgcattagTT
28,1	TAT ^m cgactgcattaGT
28,2	TATCgactgcatTAGT
29,1	GTAT ^m cgactgcattaGT
30,1	TGTat ^m cgactgcattaGT
31,1	GTAT ^m cgactgcatTAG
31,2	GTAT ^m cgactgcattAG
31,3	GTAT ^m cgactgcaTTAG
32,1	TGtat ^m cgactgcaTTAG

[0306]

33,1	TTGtat ^m cgactgcatTAG
34,1	ATtgat ^m cgactgcaTTAG
35,1	TGTat ^m cgactgcaTTA
35,2	TGTAt ^m cgactgcATTA
36,1	ATTGtat ^m cgactgcaTTA
37,1	TTGtat ^m cgactgcaTT
37,2	TTGtat ^m cgactgCATT
38,1	ATTgat ^m cgactgCAT
38,2	ATTgat ^m cgactgcAT
38,3	ATTGtat ^m cgactGCAT
39,1	ACGcattgat ^m cgACT
39,2	ACGCattgat ^m cGACT
40,1	TACgcattgat ^m cGAC
40,2	TACGcattgatCGAC
41,1	CTa ^m cgcattgatCGAC
42,1	TCTA ^m cgcattgat ^m cgAC
43,1	ATCta ^m cgcattgat ^m cgAC
44,1	TAtcta ^m cgcattgatcGAC
45,1	CTA ^m cgcattgatCGA
45,2	CTACgcattgtaTCGA
46,1	TAtcta ^m cgcattgatCGA
47,1	TCTa ^m cgcattgtaTCG
47,2	TCTa ^m cgcattgatCG
47,3	TCTA ^m cgcattgtATCG
48,1	ATCTa ^m cgcattgtaTCG
49,1	TATCta ^m cgcattgatCG
50,1	TCtatcta ^m cgcattgatCG
51,1	ATCta ^m cgcattgtATC
51,2	ATCTa ^m cgcattgTATC
52,1	TATcta ^m cgcattgTATC
53,1	CTatcta ^m cgcattgTATC
54,1	TCTatcta ^m cgcattgtaTC
55,1	TTctatcta ^m cgcattgtaTC
56,1	TATcta ^m cgcattgTAT
56,2	TATCta ^m cgcattGTAT
57,1	CTAtcta ^m cgcattGTAT
58,1	TCtatcta ^m cgcattGTAT
59,1	TTctatcta ^m cgcattgTAT
60,1	CTAtcta ^m cgcattGTA
60,2	CTATcta ^m cgcatTGTA
61,1	TCTatcta ^m cgcattGTA
62,1	TTctatcta ^m cgcattGTA
63,1	TTctatcta ^m cgcatTGT

[0307]

64,1	TcTtctatcta ^m cgcatGT
65,1	Ttcttctatcta ^m cgcatGT
66,1	TTcTtctatcta ^m cgcatTG
67,1	TTcTatcta ^m cgcaTTG
68,1	CTTcTatcta ^m cgCATT
69,1	TCTtctatcta ^m cgCATT
70,1	TTCTtctatcta ^m cgCATT
71,1	TCTTtctatcta ^m cgCAT
72,1	TTCTtctatcta ^m cgCAT
73,1	CTTcTtctatcta ^m cgCAT
74,1	TTcTtctatctacGCA
75,1	CTTcTtctatcta ^m cgCA
76,1	Gcttcttctatcta ^m cgCA
77,1	CTtcttctatctACGC
78,1	GCTtcttctatctACG
79,1	CGTggggcttcttCTA
80,1	TGacttggagaaaagcacAA
81,1	CtgacttggagaaaagcAC
82,1	AGAgcat ^m cgtgcTCC
83,1	AAGTactttaatagctCAAA
84,1	AAGTactttaatagcTCAA
85,1	GAAGtactttaatagctCAA
86,1	TACTttaatagcTCAA
87,1	AAGTactttaatagcTCA
88,1	GAAGtactttaatagcTCA
89,1	AGAAgtactttaatagCTC
90,1	AAGAgtactttaatagCTC
91,1	GAAGtactttaatAGCT
92,1	TAAgaagtactttaatAGCT
93,1	AGAAgtactttaatAGC
94,1	TAAgaagtactttaatAGC
95,1	GTAagaagtactttaatAGC
96,1	TAAgaagtactttaATAG
97,1	GTAagaagtactttaATAG
98,1	TGTAagaagtactttaATAG
99,1	AATGtgtaagaagtaCTTT
100,1	CAATgtgtaagaagtaCTTT
101,1	ATGTgtaagaagtACTT
102,1	AATGtgtaagaagtACTT
103,1	CAATgtgtaagaagtACTT
104,1	GCaatgtgtaagaagtACTT
105,1	ATGtgtaagaagtACT
105,2	ATGTgtaagaagTACT

[0308]	106,1	GCAAtgtgtaagaagtACT
	107,1	AATGtgtaagaaGTAC
	107,2	AATgtgtaagaaGTAC
	108,1	CAATgtgtaagaaGTAC
	109,1	GCAatgtgtaagaaGTAC
	110,1	CAAtgtgtaagaaGTA
	110,2	CAAtgtgtaagaAGTA
	110,3	CAATgtgtaagaAGTA
	111,1	GCAatgtgtaagaAGTA

[0309] 或其缀合物；其中在上表的化合物中，大写字母表示β-D-氧基LNA核苷，所有LNA胞嘧啶均为5-甲基胞嘧啶（如上标^m所示），小写字母表示DNA核苷，小写字母c之前的上标^m代表5甲基胞嘧啶DNA核苷。所有核苷间连接(linkages)都是硫代磷酸酯核苷间连接。

[0310] 寡核苷酸设计

[0311] 寡核苷酸设计是指寡核苷酸序列中核苷糖修饰的模式。本发明的寡核苷酸包含糖修饰的核苷，并且还可以包含DNA或RNA核苷。在一些实施方案中，寡核苷酸包含糖修饰的核苷和DNA核苷。将经修饰的核苷掺入本发明的寡核苷酸中可以增强寡核苷酸对靶核酸的亲合力。在那种情况下，经修饰的核苷可以称为经亲和力增强修饰的核苷酸。

[0312] 在一个实施方案中，寡核苷酸包含至少1个修饰的核苷，诸如至少2个，至少3个，至少4个，至少5个，至少6个，至少7个，至少8个，至少9个，至少10个，至少11，至少12，至少13，至少14，至少15或至少16个经修饰的核苷。在一个实施方案中，寡核苷酸包含1至10个经修饰的核苷，诸如2至9个经修饰的核苷，诸如3至8个经修饰的核苷，诸如4至7个经修饰的核苷，诸如6或7个经修饰的核苷。在一个实施方案中，本发明的寡核苷酸可包含修饰，其独立地选自这三种类型的修饰经修饰的糖，经修饰的核碱基和经修饰的核苷间连接)或其组合。优选地，寡核苷酸包含一种或多种糖修饰的核苷，诸如2'糖修饰的核苷。优选地，本发明的寡核苷酸包含一个或多个经2'糖修饰的核苷，其独立地选自2'-O-烷基-RNA，2'-O-甲基-RNA，2'-烷氧基-RNA，2'-O-甲氧基乙基-RNA，2'-氨基-DNA，2'-氟-DNA，阿拉伯糖核酸(arabino nucleic acid, ANA)，2'-氟-ANA和LNA核苷。甚至更优选地，所述一种或更多个修饰的核苷是LNA。

[0313] 在一些实施方案中，至少1个经修饰的核苷是锁核酸(LNA)，诸如至少2个，诸如至少3个，至少4个，至少5个，至少6个，至少7个或至少8个经修饰的核苷是LNA。在又一个实施方案中，所有经修饰的核苷均为LNA。

[0314] 在另一个实施方案中，寡核苷酸包含至少一个经修饰的核苷间连接。在一个优选的实施方案中，在连续核苷酸序列内的核苷间连接是硫代磷酸酯或硼酸磷酸核苷间连接。在一些实施方案中，寡核苷酸的连续序列中的所有核苷酸间连接是硫代磷酸酯连接。

[0315] 在一些实施方案中，本发明的寡核苷酸包含至少一个经修饰的核苷，所述经修饰的核苷是2'-MOE-RNA，诸如2,3,4,5,6,7,8,9或10个2'-MOE-RNA核苷单元。在一些实施方案中，所述修饰的核苷中的至少一个是2'-氟DNA，诸如2,3,4,5,6,7,8,9或10个2'-氟DNA核苷单元。

[0316] 在一些实施方案中，本发明的寡核苷酸包含至少一个LNA单元，诸如1,2,3,4,5,6,7或8个LNA单元，诸如2至6个LNA单元，诸如3至7个LNA单元，4至8个LNA单元或3,4,5,6或7个

LNA单元。在一些实施方案中,所有经修饰的核苷都是LNA核苷。在一些实施方案中,所有LNA胞嘧啶单元是5-甲基胞嘧啶。在一些实施方案中,寡核苷酸或其连续核苷酸区域具有在核苷酸序列的5'端具有至少1个LNA单元,和在核苷酸序列的3'端具有至少2个LNA单元。在一些实施方案中,本发明的寡核苷酸中存在的所有胞嘧啶核苷碱基是5-甲基胞嘧啶。

[0317] 在一些实施方案中,本发明的寡核苷酸包含至少一个LNA单元和至少一个经2'取代修饰的核苷。

[0318] 在本发明的一些实施方案中,寡核苷酸包含2'糖修饰的核苷和DNA单元。

[0319] 在本发明的一个实施方案中,本发明的寡核苷酸能够募集RNA酶H。

[0320] 在一些实施方案中,本发明的寡核苷酸或其连续核苷酸区域是gapmer寡核苷酸。

[0321] Gapmer设计

[0322] 在一些实施方案中,本发明的寡核苷酸或其连续核苷酸区域具有gapmer设计或结构,在本文中也称为“Gapmer”。在gapmer结构中,寡核苷酸以'5→3"方向包含至少三个不同的结构区域,5'-侧翼,缺口和3'-侧翼,F-G-F'在该设计中,侧翼区域F和F' (也称为翼区)包含至少一个与区域G相邻的糖修饰的核苷,并且在一些实施方案中可以包含2-7个糖修饰的核苷的连续区段,或者是糖修饰的和DNA核苷的连续区段(含糖修饰的和DNA核苷的混合翼)。因此,与缺口区域相邻的5'侧翼区域和3'侧翼区域的核苷是糖修饰的核苷,诸如经2'修饰的核苷。当寡核苷酸与HTRA1靶核酸双链体连接时,缺口区域G包含能够募集RNA酶H的连续核苷酸片段。在一些实施方案中,区域G包含5-16个DNA核苷的连续区段。gapmer区F-G-F'与HTRA1靶核酸互补,因此可以是寡核苷酸的连续核苷酸区。

[0323] 位于区域G的5'和3'末端的区域F和F'可以包含一种或更多种经亲和力增强修饰的核苷。在一些实施方案中,3'侧翼包含至少一个LNA核苷,优选至少2个LNA核苷。在一些实施方案中,5'侧翼包含至少一个LNA核苷。在一些实施方案中,5'和3'侧翼区均包含LNA核苷。在一些实施方案中,侧翼区域中的所有核苷都是LNA核苷。在其他实施方案中,侧翼区可包含LNA核苷和其他核苷(混合侧翼),诸如DNA核苷和/或非LNA修饰的核苷,诸如经2'取代的核苷。在这种情况下,缺口定义为至少5个RNA酶H募集核苷(如5-16个DNA核苷)在5'和3'端侧接有亲和力增强修饰核苷(如LNA)的连续序列作为β-D-氧基-LNA。

[0324] 区域F

[0325] 附接于区域G的5'末端的区域F(5'侧翼或5'翼)包含或含有至少一个糖修饰的核苷,例如至少2个,至少3个,至少4个,至少5个,至少6个,至少7个经修饰的核苷或由其组成。在一些实施方案中,区域F包含1至7个经修饰的核苷或由其组成,诸如2至6个经修饰的核苷,诸如2至5个经修饰的核苷,诸如2至4个经修饰的核苷,诸如1至3个经修饰的核苷。核苷,诸如1,2,3或4个经修饰的核苷。

[0326] 在一个实施方案中,区域F中的一个或更多个或所有的经修饰的核苷是经2'修饰的核苷。

[0327] 在另一个实施方案中,区域F中的经2'修饰的核苷中的一个或多个选自2'-O-烷基-RNA单元,2'-O-甲基-RNA,2'-氨基-DNA单元,2'-氟-DNA单元,2'-烷氧基-RNA,MOE单元,LNA单元,阿拉伯糖核酸(ANA)单元和2'-氟-ANA单元。

[0328] 在本发明的一个实施方案中,区域F中的所有修饰的核苷均为LNA核苷。在另一个实施方案中,区域F中的LNA核苷独立地选自由β-D或α-L构型的氧基-LNA,硫代-LNA,氨基-

LNA, cET和/或ENA或其组合组成的组。在一个优选的实施方案中,区域F在连续序列的5'末端具有至少1个 β -D-氧基LNA单元。

[0329] 区域G

[0330] 区域G(缺口区域)可以包含,含有或由能够募集RNA酶H的5-16个连续DNA核苷组成。在另一个实施方案中,区域G包含或含有5至12个,或6至10个或7至9个诸如8个能够募集RNaseH的连续核苷酸单元或由其组成。

[0331] 在另一个实施方案中,区域G中的至少一个核苷单元是DNA核苷单元,例如4至20个或6至18个DNA单元,例如5至16个。在一些实施方案中,区域G的所有核苷是DNA单元。

[0332] 在进一步的实施方案中,区域G可以由DNA和能够介导RNA酶H切割的其他核苷的混合物组成。在一些实施方案中,区域G的至少50%的核苷是DNA,诸如至少60%,至少70%或至少80%或至少90%的DNA。

[0333] 区域F'

[0334] 附接于区域G的3'末端的区域F(3'侧翼或3'翼)包含或含有至少一个糖修饰的核苷,例如至少2个,至少3个,至少4个,至少5个,至少6个,至少7个经修饰的核苷或由其组成。在一些实施方案中,区域F'包含1至7个经修饰的核苷例如2至6个经修饰的核苷,例如2至5个经修饰的核苷,例如2至4个经修饰的核苷,例如1至3个经修饰的核苷,例如1,2,3或4个经修饰的核苷,或由其组成。

[0335] 在一个实施方案中,区域F'中的一个或多个或所有修饰的核苷是经2'修饰的核苷。

[0336] 在另一个实施方案中,区域F'中的经2'修饰的核苷中的一个或多个选自2'-O-烷基-RNA单元,2'-O-甲基-RNA,2'-氨基-DNA单元,2'-氟-DNA单元,2'-烷氧基-RNA,MOE单元,LNA单元,阿拉伯糖核酸(ANA)单元和2'-氟-ANA单元。

[0337] 在本发明的一个实施方案中,区域F'中的所有修饰的核苷均为LNA核苷。在另一个实施方案中,区域F'中的LNA核苷独立地选自自由 β -D或 α -L构型的氧基-LNA,硫代-LNA,氨基-LNA, cET和/或ENA或其组合组成的组。在一个优选的实施方案中,区域F'在连续序列的5'末端具有至少1个 β -D-氧基LNA单元。

[0338] 区域D, D' 和D''

[0339] 本发明的寡核苷酸包含与靶核酸互补的连续核苷酸区域。在一些实施方案中,寡核苷酸可进一步包含位于连续核苷酸区域5'和/或3'的另外的核苷酸,其在本文中称为区域D。区域D'和D''可以分别连接到区域F'的5'端或区域F'的3'端。在一些实施方式中,D区域(区域D'或D'')可以形成与靶核酸互补的连续核苷酸序列的一部分,或者在其他实施方式中,D区域(一个或多个)可以与靶核酸不互补。

[0340] 在一些实施方案中,本发明的寡核苷酸包含连续核苷酸区域和任选地1-5个另外的5'核苷酸(区域D')或由其组成。

[0341] 在一些实施方案中,本发明的寡核苷酸包含连续核苷酸区域和任选地1-5个另外的3'核苷酸(区域D'')或由其组成。

[0342] 区域D'或D''可以独立地包含1,2,3,4或5个另外的核苷酸,所述另外的核苷酸可以与靶核酸互补或不互补。在这方面,本发明的寡核苷酸可,在一些实施方案中包含能够调节靶标的连续核苷酸序列,所述靶标在5'和/或3'端侧接有另外的核苷酸。这种另外的核苷酸

可用作核酸酶敏感的生物可切割的接头,因此可以用于将诸如缀合物部分的官能团附接到本发明的寡核苷酸上。在一些实施方案中,所述另外的5'和/或3'末端核苷酸与磷酸二酯连接连接,并且可以是DNA或RNA。在另一个实施方案中,所述另外的5'和/或3'末端核苷酸是经修饰的核苷酸,其可以例如被包括以增强核酸酶的稳定性或为了易于合成。在一些实施方案中,除了连续核苷酸区域外,本发明的寡核苷酸还包含区域D'和/或D''。

[0343] 在一些实施方案中,本发明的gapmer寡核苷酸可以由下式表示:

[0344] $F-G-F'$;特别是 $F_{1-7}-G_{4-12}-F'_{1-7}$

[0345] $D'-F-G-F'$,特别是 $D'_{1-3}-F_{1-7}-G_{4-12}-F'_{1-7}$

[0346] $F-G-F'-D''$,特别是 $F_{1-7}-G_{4-12}-F'_{1-7}-D''_{1-3}$

[0347] $D'-F-G-F'-D''$,特别是 $D'_{1-3}-F_{1-7}-G_{4-12}-F'_{1-7}-D''_{1-3}$ 。

[0348] 制备方法

[0349] 在另一方面,本发明提供了制备本发明寡核苷酸的方法,所述方法包括使核苷酸单元反应,从而形成寡核苷酸中包含的共价连接的连续核苷酸单元。优选地,该方法使用亚磷酰胺化学方法(参见诸如Caruthers等,1987,Methods in Enzymology,第154卷,第287-313页)。在另一个实施方案中,所述方法还包括使连续核苷酸序列与缀合部分(配体)反应。在另一方面,提供了制备本发明组合物的方法,所述方法包括将本发明的寡核苷酸或缀合的寡核苷酸与药学上可接受的稀释剂,溶剂,载体,盐和/或佐剂混合。

[0350] 药用盐

[0351] 为了用作治疗剂,可以提供本发明的寡核苷酸作为合适的药用盐,诸如钠盐或钾盐。在一些实施方案中,本发明的寡核苷酸是钠盐。

[0352] 药物成分

[0353] 在另一方面,本发明提供药物组合物,所述药物组合物包含任何上述寡核苷酸和/或寡核苷酸缀合物以及药学上可接受的稀释剂,载体,盐和/或佐剂。药学上可接受的稀释剂包括磷酸缓冲盐水(PBS),药学上可接受的盐包括但不限于钠盐和钾盐。在一些实施方案中,药学上可接受的稀释剂是无菌磷酸缓冲盐水。在一些实施方案中,寡核苷酸以50-300 μ M溶液的浓度在药学上可接受的稀释剂中使用。在一些实施方案中,本发明的寡核苷酸以10-1000 μ g的剂量施用。

[0354] WO 2007/031091提供药学上可接受的稀释剂,载体和佐剂的合适的和优选的实例(在此通过引用并入)。WO2007/031091中也提供合适的剂量,制剂,施用途径,组合物,剂型,与其他治疗剂的组合,前药制剂。

[0355] 可以将本发明的寡核苷酸或寡核苷酸缀合物与药学上可接受的活性或惰性物质混合用于制备药物组合物或制剂。用于配置药物组合物的组合物和方法取决于许多标准,包括但不限于给药途径,疾病程度或施用剂量。

[0356] 在一些实施方案中,本发明的寡核苷酸或寡核苷酸缀合物是前药。特别是对于寡核苷酸缀合物,特别是对于寡核苷酸缀合物,一旦将前药递送至作用位点例如靶细胞,缀合物部分就被从寡核苷酸切割。

[0357] 应用

[0358] 本发明的寡核苷酸可用作研究试剂,例如用于诊断,治疗和预防。

[0359] 在研究中,这种寡核苷酸可用于特异性调节细胞(例如体外细胞培养物)和实验动

物中HTRA1蛋白的合成,从而有助于靶标的功能分析或评估其作为治疗干预靶标的有用性。通常,通过降解或抑制产生蛋白质的mRNA,从而防止蛋白质形成来实现靶标调节,或通过降解或抑制产生蛋白质的基因或mRNA的调节物来实现靶标调控。

[0360] 在诊断中,寡核苷酸可用于通过Northern印迹,原位杂交或类似技术检测和定量细胞和组织中的HTRA1表达。

[0361] 对于治疗剂,怀疑患有疾病或病症的动物或人,可以通过调节HTRA1的表达来治疗。

[0362] 本发明提供用于治疗或预防疾病的方法,该方法包括向患有或易患该疾病的受试者施用治疗或预防有效量的本发明的寡核苷酸,寡核苷酸缀合物或药物组合物。

[0363] 本发明还涉及如本文定义的寡核苷酸,组合物或缀合物,其用作药物。

[0364] 根据本发明的寡核苷酸,寡核苷酸缀合物或药物组合物通常以有效量施用。

[0365] 本发明还提供如所述的本发明的寡核苷酸或寡核苷酸缀合物在制备用于治疗本文提及所述病症的药物中的用途,或用于本文所提及的病症的治疗方法的用途。

[0366] 如本文所提及的,该疾病或病症与HTRA1的表达有关。在一些实施方案中,疾病或病症可以与在HTRA1基因或其蛋白质产物与HTRA1相关或相互作用的基因中的突变相关。因此,在一些实施方案中,靶核酸是HTRA1序列的突变形式,而在其他实施方案中,靶核酸是HTRA1序列的调节物。

[0367] 本发明的方法优选用于治疗或预防由HTRA1的异常水平和/或活性引起的疾病。

[0368] 本发明进一步涉及如本文所定义的寡核苷酸,寡核苷酸缀合物或药物组合物在制备用于治疗HTRA1的异常水平和/或活性的药物中的用途。

[0369] 在一个实施方案中,本发明涉及寡核苷酸,寡核苷酸缀合物或药物组合物,其用于治疗选自以下各项的疾病或病症:眼疾病,诸如黄斑变性,包括年龄相关的黄斑变性(AMD),诸如干性AMD或湿性AMD,和糖尿病性视网膜病。在一些实施方案中,本发明的寡核苷酸缀合物或药物组合物可以用于治疗地图状萎缩或中期dAMD。HTRA1也已经被显示在阿尔茨海默病和帕金森病中,因此在一些实施方案中,本发明的寡核苷酸缀合物或药物组合物可以用于治疗阿尔茨海默病或帕金森病。HTRA1也已经被显示在在迪谢内肌营养不良,关节炎,诸如骨关节炎,家族性缺血性脑小血管疾病中,因此,在一些实施方案中,本发明的寡核苷酸缀合物或药物组合物可用于治疗迪谢内肌营养不良,关节炎,诸如骨关节炎,或家族性缺血性脑小血管疾病。

[0370] 施用

[0371] 本发明的寡核苷酸或药物组合物可以局部施用(诸如至皮肤,吸入,经眼或经耳)或肠内(诸如口服或通过胃肠道)或肠胃外(诸如静脉内,皮下,肌肉内,脑内,脑室内或鞘内)。

[0372] 在一些实施方案中,本发明的寡核苷酸,缀合物或药物组合物通过肠胃外途径施用,包括静脉内,动脉内,皮下,腹膜内或肌内注射或输注,鞘内或颅内,例如脑内或室内(intraventricular)施用。在一些实施方案中,活性寡核苷酸或寡核苷酸缀合物静脉内施用。在另一个实施方案中,皮下施用活性寡核苷酸或寡核苷酸缀合物。

[0373] 用于治疗眼部疾病,诸如黄斑变性,AMD(湿性或干性),可以使用眼内注射。

[0374] 在一些实施方案中,本发明的化合物或其药学上可接受的盐通过眼内注射施用,

剂量为每眼约10 μ g至约200 μ g,诸如每眼约50 μ g至约150 μ g,诸如每眼约100 μ g。在一些实施方案中,剂量间隔,即连续给药之间的时间段是至少每月,诸如至少每两个月或至少每三个月一次。

[0375] 组合疗法

[0376] 在一些实施方案中,本发明的寡核苷酸,寡核苷酸缀合物或药物组合物用于与另一种治疗剂的组合治疗。治疗剂可以例如是上述疾病或病症的护理标准品

实施例

[0377] 材料与方法

[0378] 寡核苷酸合成

[0379] 寡核苷酸合成是本领域公知的。以下是可以应用的方案。本发明的寡核苷酸可以通过在所用的装置,支持物和浓度方面略有变化的方法来制备。

[0380] 寡核苷酸使用亚磷酰胺方法以1 μ mol规模在Oligomaker 48上在尿苷通用支持物上合成。合成结束时,使用氨水在60 $^{\circ}$ C下将寡核苷酸从固相支持物中切割5-16小时。通过反相HPLC(RP-HPLC)或通过固相提取纯化寡核苷酸,并通过UPLC进行表征,并通过ESI-MS进一步确认分子量。

[0381] 寡核苷酸的延伸:

[0382] β -氰基乙基亚磷酰胺(DNA-A(Bz),DNA-G(ibu),DNA-C(Bz),DNA-T,LNA-5-甲基-C(Bz),LNA-A(Bz),LNA-G(dmf),LNA-T)的偶联通过使用0.1M的5'-O-DMT保护的亚磷酰胺在乙腈中的溶液和DCI(4,5-二氰基咪唑)在乙腈(0.25M)中的溶液作为激活剂进行。对于最后的循环,可以使用具有期望修饰(例如,用于衔接缀合物基团或像这样的缀合物基团的C6接头)的亚磷酰胺。用于硫代磷酸酯连接的引入的硫醇化通过使用氢化黄原素(xanthane hydride)(在乙腈/吡啶9:1中,0.01M)进行。磷酸二酯连接可以在THF/吡啶/水7:2:1中使用0.02M碘引入。其余的试剂是通常用于寡核苷酸合成的试剂。

[0383] 对于固相合成后的缀合,可以在固相合成的最后一个循环中使用市售的C6氨基接头磷酰胺,并且在从固体载体上去保护和切割后,分离出氨基连接的脱保护的寡核苷酸。通过使用标准合成方法激活官能团来引入缀合物。

[0384] 通过RP-HPLC纯化:

[0385] 通过制备型RP-HPLC在Phenomenex Jupiter C18 10 μ 150x10mm层析柱上纯化粗化合物。使用0.1M醋酸铵pH 8和乙腈作为缓冲液,流速为5mL/min。将收集的级分冻干,得到纯化的化合物,通常为白色固体。

[0386] 缩写:

[0387] DCI:4,5-二氰基咪唑

[0388] DCM:二氯甲烷

[0389] DMF:二甲基甲酰胺

[0390] DMT:4,4'-二甲氧基三苯甲基

[0391] THF:四氢呋喃

[0392] Bz:苯甲酰

[0393] Ibu:异丁酰

[0394] RP-HPLC:反相高效液相层析

[0395] T_m 测定:

[0396] 将寡核苷酸和RNA靶标(磷酸酯连接的,PO)双链体在500ml无RNase的水中稀释至3mM,并与500ml 2x T_m -缓冲液(200mM NaCl,0.2mM EDTA,20mM磷酸钠,pH 7.0)混合。将溶液加热到95℃3分钟,然后在室温下退火30分钟。双链体熔解温度(T_m)在配备有Peltier温度编程器PTP6的Lambda 40UV/VIS分光光度计上使用PE Templab软件(Perkin Elmer)测量。温度从20℃上升到95℃,然后下降到25℃,记录在260nm处的吸收。熔解和退火的一阶导数和局部最大值用于评估双链体 T_m 。

[0397] 所用的寡核苷酸:

[0398]

SEQ ID NO	基序	CMP ID NO	化合物
5	agttaaaggaggagacaaat	5,1	AGTTaaaggaggagacAAAT
6	tcagttaaaggaggagacaa	6,1	TCAgttaaaggaggagaCAA
7	ctcagttaaaggaggagaca	7,1	CTCagttaaaggaggagaCA
8	ctcagttaaaggaggagac	8,1	CTCagttaaaggaggaGAC
9	actcagttaaaggaggagac	9,1	ACTCagttaaaggaggagAC
10	actcagttaaaggaggaga	10,1	ACTCagttaaaggaggaGA
11	actcagttaaaggaggagg	11,1	ACTcagttaaaggaGGAG
12	gatgactcagttaaaggagg	12,1	GATgactcagttaaaggAGG
13	atgatgactcagttaaagga	13,1	ATGATgactcagttaaagGA
14	tgatgactcagttaaagg	14,1	TGATgactcagttaAAGG
15	gatgatgactcagttaaagg	15,1	GATgatgactcagttaAAGG
16	gatgatgactcagttaaag	16,1	GATGatgactcagttaAAG
17	tatcgactgcattagttgg	17,1	TAT ^m cgactgcattagttGG
18	gtatcgactgcattagttgg	18,1	Gtat ^m cgactgcattagttGG
19	tcgactgcattagttg	19,1	TCGactgcattagTTG
19	tcgactgcattagttg	19,2	TCGactgcattagtTG
19	tcgactgcattagttg	19,3	TCGActgcattaGTTG
20	tatcgactgcattagttg	20,1	TAT ^m cgactgcattaGTTG
21	gtatcgactgcattagttg	21,1	GAT ^m cgactgcattagtTG
22	tgtatcgactgcattagttg	22,1	TGtat ^m cgactgcattagtTG

[0399]

23	atcgactgcattagtt	23,1	ATCgactgcattaGTT
23	atcgactgcattagtt	23,2	ATCGactgcattAGTT
23	atcgactgcattagtt	23,3	ATCGactgcattaGTT
24	tatcgactgcattagtt	24,1	TATCgactgcattaGTT
25	gtatcgactgcattagtt	25,1	GTAT ^m cgactgcattagTT
26	tgatcgactgcattagtt	26,1	TGTat ^m cgactgcattagTT
27	ttgatcgactgcattagtt	27,1	TTGtat ^m cgactgcattagTT
28	tatcgactgcattagt	28,1	TAT ^m cgactgcattaGT
28	tatcgactgcattagt	28,2	TATCgactgcatTAGT
29	gtatcgactgcattagt	29,1	GTAT ^m cgactgcattaGT
30	tgatcgactgcattagt	30,1	TGTat ^m cgactgcattaGT
31	gtatcgactgcattag	31,1	GTAT ^m cgactgcatTAG
31	gtatcgactgcattag	31,2	GTAT ^m cgactgcattAG
31	gtatcgactgcattag	31,3	GTAT ^m cgactgcaTTAG
32	tgatcgactgcattag	32,1	TGTat ^m cgactgcaTTAG
33	ttgatcgactgcattag	33,1	TTGtat ^m cgactgcatTAG
34	attgatcgactgcattag	34,1	ATTgat ^m cgactgcaTTAG
35	tgatcgactgcatta	35,1	TGTat ^m cgactgcaTTA
35	tgatcgactgcatta	35,2	TGTAT ^m cgactgcATTA
36	attgatcgactgcatta	36,1	ATTGtat ^m cgactgcaTTA
37	ttgatcgactgcatt	37,1	TTGtat ^m cgactgcaTT
37	ttgatcgactgcatt	37,2	TTGtat ^m cgactgCATT
38	attgatcgactgcat	38,1	ATTgat ^m cgactgCAT
38	attgatcgactgcat	38,2	ATTgat ^m cgactgCAT
38	attgatcgactgcat	38,3	ATTGtat ^m cgactGCAT
39	acgcattgtatcgact	39,1	ACGcattgtat ^m cgACT
39	acgcattgtatcgact	39,2	ACGCattgtat ^m cgACT
40	tacgcattgtatcgac	40,1	TACgcattgtat ^m cGAC
40	tacgcattgtatcgac	40,2	TACGcattgtatCGAC
41	ctacgcattgtatcgac	41,1	CTa ^m cgattgtatCGAC
42	tctacgcattgtatcgac	42,1	TCTA ^m cgattgtat ^m cgAC
43	atctacgcattgtatcgac	43,1	ATCta ^m cgattgtat ^m cgAC
44	tatctacgcattgtatcgac	44,1	TATcta ^m cgattgtatcGAC
45	ctacgcattgtatcga	45,1	CTA ^m cgattgtatCGA
45	ctacgcattgtatcga	45,2	CTACgattgtaTCGA
46	tatctacgcattgtatcga	46,1	TATcta ^m cgattgtatCGA
47	tctacgcattgtatcg	47,1	TCTa ^m cgattgtaTCG
47	tctacgcattgtatcg	47,2	TCTa ^m cgattgtatCG
47	tctacgcattgtatcg	47,3	TCTA ^m cgattgtATCG
48	atctacgcattgtatcg	48,1	ATCTa ^m cgattgtaTCG
49	tatctacgcattgtatcg	49,1	TATCta ^m cgattgtatCG
50	tctatctacgcattgtatcg	50,1	TCTatcta ^m cgattgtatCG
51	atctacgcattgtatc	51,1	ATCta ^m cgattgtATC
51	atctacgcattgtatc	51,2	ATCTa ^m cgattgTATC
52	tatctacgcattgtatc	52,1	TATcta ^m cgattgTATC
53	ctatctacgcattgtatc	53,1	CTatcta ^m cgattgTATC

[0400]

54	tctatctacgcattgtatc	54,1	TCTatcta ^m cgattgtaTC
55	ttctatctacgcattgtatc	55,1	TTctatcta ^m cgattgtaTC
56	tatctacgcattgtat	56,1	TATcta ^m cgattgTAT
56	tatctacgcattgtat	56,2	TATCta ^m cgattGTAT
57	ctatctacgcattgtat	57,1	CTAtcta ^m cgattGTAT
58	tctatctacgcattgtat	58,1	TCtatcta ^m cgattGTAT
59	ttctatctacgcattgtat	59,1	TTctatcta ^m cgattgTAT
60	ctatctacgcattgta	60,1	CTAtcta ^m cgattGTA
60	ctatctacgcattgta	60,2	CTATcta ^m cgattGTGA
61	tctatctacgcattgta	61,1	TCTatcta ^m cgattGTA
62	ttctatctacgcattgta	62,1	TTctatcta ^m cgattGTA
63	ttctatctacgcattgt	63,1	TTctatcta ^m cgattGT
64	tcttctatctacgcattgt	64,1	Tcttctatcta ^m cgattGT
65	ttcttctatctacgcattgt	65,1	Ttcttctatcta ^m cgattGT
66	ttcttctatctacgcattg	66,1	TTcttctatcta ^m cgattGT
67	ttctatctacgcattg	67,1	TTctatcta ^m cgattGT
68	cttctatctacgcatt	68,1	CTTctatcta ^m cgatt
69	tcttctatctacgcatt	69,1	TCTtctatcta ^m cgatt
70	ttcttctatctacgcatt	70,1	TTCTtctatcta ^m cgatt
71	tcttctatctacgcatt	71,1	TCTTtctatcta ^m cgatt
72	ttcttctatctacgcatt	72,1	TTCTtctatcta ^m cgatt
73	cttcttctatctacgcatt	73,1	CTTcttctatcta ^m cgatt
74	ttcttctatctacgcatt	74,1	TTcttctatctacgcatt
75	cttcttctatctacgcatt	75,1	CTTcttctatcta ^m cgatt
76	gcttcttctatctacgcatt	76,1	Gcttcttctatcta ^m cgatt
77	cttcttctatctacgcatt	77,1	CTtcttctatctacgcatt
78	gcttcttctatctacgcatt	78,1	GCTtcttctatctacgcatt
79	cgtggggcttcttcta	79,1	CGTggggcttcttcta
80	tgacttgagaaaagcaca	80,1	TGacttgagaaaagcacAA
81	ctgacttgagaaaagcac	81,1	Ctgacttgagaaaagcac
82	agagtcatcgtgctcc	82,1	AGAgctcat ^m cgtgctcc
83	aagtactttaatagctcaa	83,1	AAGTactttaatagctCAA
84	aagtactttaatagctcaa	84,1	AAGTactttaatagctCAA
85	gaagtactttaatagctcaa	85,1	GAAGtactttaatagctCAA
86	tactttaatagctcaa	86,1	TACTttaatagctCAA
87	aagtactttaatagctcaa	87,1	AAGTactttaatagctCAA
88	gaagtactttaatagctcaa	88,1	GAAGtactttaatagctCAA
89	agaagtactttaatagctc	89,1	AGAAgtactttaatagctc
90	aagaagtactttaatagctc	90,1	AAGAgtactttaatagctc
91	gaagtactttaatagctc	91,1	GAAGtactttaatagctc
92	taagaagtactttaatagctc	92,1	TAAgaagtactttaatagctc
93	agaagtactttaatagctc	93,1	AGAAgtactttaatagctc
94	taagaagtactttaatagctc	94,1	TAAgaagtactttaatagctc
95	gtaagaagtactttaatagctc	95,1	GTAagaagtactttaatagctc
96	taagaagtactttaatagctc	96,1	TAAgaagtactttaatagctc
97	gtaagaagtactttaatagctc	97,1	GTAagaagtactttaatagctc

	98	tgtaagaagtactttaatag	98,1	TGTAagaagtactttaATAG
	99	aatgtgtaagaagtacttt	99,1	AATGtgtaagaagtaCTTT
	100	caatgtgtaagaagtacttt	100,1	CAATgtgtaagaagtaCTTT
	101	atgtgtaagaagtactt	101,1	ATGTgtaagaagtACTT
	102	aatgtgtaagaagtactt	102,1	AATGtgtaagaagtACTT
	103	caatgtgtaagaagtactt	103,1	CAATgtgtaagaagtACTT
	104	gcaatgtgtaagaagtactt	104,1	GCAatgtgtaagaagtACTT
	105	atgtgtaagaagtact	105,1	ATGTgtaagaagtACT
	105	atgtgtaagaagtact	105,2	ATGTgtaagaagTACT
	106	gcaatgtgtaagaagtact	106,1	GCAAtgtgtaagaagtACT
[0401]	107	aatgtgtaagaagtac	107,1	AATGtgtaagaaGTAC
	107	aatgtgtaagaagtac	107,2	AATgtgtaagaaGTAC
	108	caatgtgtaagaagtac	108,1	CAATgtgtaagaaGTAC
	109	gcaatgtgtaagaagtac	109,1	GCAatgtgtaagaaGTAC
	110	caatgtgtaagaagta	110,1	CAATgtgtaagaaGTA
	110	caatgtgtaagaagta	110,2	CAATgtgtaagaAGTA
	110	caatgtgtaagaagta	110,3	CAATgtgtaagaAGTA
	111	gcaatgtgtaagaagta	111,1	GCAatgtgtaagaAGTA
	112	gcaatgtgtaagaagt	112,1	GCAatgtgtaagaAGT
			A	见下文
			B	见下文

[0402] 对于化合物:大写字母代表LNA核苷(使用了 β -D-氧基LNA核苷),所有LNA胞嘧啶均是5-甲基胞嘧啶,小写字母代表DNA核苷,DNA胞嘧啶前面带有上标^m代表5-甲基C-DNA核苷。所有核苷间连接(linkages)都是硫代磷酸酯核苷间连接。在EP16177508.5和EP17170129.5中,化合物A公开为化合物143,1且化合物B公开为145,1,且用作阳性对照化合物。

[0403] 实施例1.以单一浓度测试LNA寡核苷酸在U251细胞系中的体外功效。

[0404] 确定针对HTRA1的有希望的“热点”区域。处理6天后,在5 μ M的U251细胞系中筛选了n=231个HTRA1 LNA寡核苷酸的文库。从该文库中,我们鉴定了一系列靶向人HTRA1前体mRNA的活性寡核苷酸(在位置53113-53384之间),如图1所示(SEQ ID NO 116或117)。

[0405] 人胶质母细胞瘤U251细胞系购自ECACC,并按照供应商的建议在37 $^{\circ}$ C,5%CO₂的潮湿培养箱中维持。为了测定,将15000个U251细胞/孔接种在96多孔板中在饥饿培养基(供应商推荐的培养基,除了1%FBS而不是10%)中。将细胞温育24小时,然后添加溶解在PBS中的寡核苷酸。寡核苷酸浓度:5 μ M。添加寡核苷酸后3-4天,除去培养基并添加新培养基(无寡核苷酸)。加入寡核苷酸后6天,收获细胞。使用PureLink Pro 96 RNA纯化试剂盒(Ambion,根据制造商的说明)提取RNA。然后使用M-MLT逆转录酶,随机十聚体RETROscript,RNase抑制剂(Ambion,按照制造商的说明),100mM dNTP组(PCR级别,Invitrogen)和无DNase/RNase的水(Gibco)合成cDNA。对于基因表达分析,使用TagMan Fast Advanced Master Mix (2X)(Ambion)以doublex设置进行qPCR。以下TaqMan引物测定用于qPCR:来自Life Technologies的HTRA1,Hs01016151_m1(FAM-MGB)和管家基因TBP,Hs4326322E(VIC-MGB)。n=2个独立的生物学重复。该表中残留的HTRA1 mRNA表达水平显示为对照(PBS处理的细胞)的%。

[0406]

SEQ ID NO	CMP ID NO	mRNA 水平
19	19.1	16
31	31.1	2
38	38.1	9
47	47.1	3
78	78.1	4
79	79.1	21
82	82.1	35
107	107.1	17
110	110.1	24
112	112.1	15

[0407] 实施例2:以单一浓度测试LNA寡核苷酸在U251细胞系中的体外功效。

[0408] 在新的n=210HTRA1 LNA寡核苷酸文库中对实施例1中描述的“热点”区域53113-53384进行了进一步验证,该文库已在U251细胞系中以5 μ M的浓度进行了筛选。n=33个LNA寡核苷酸靶向人类HTRA1前-mRNA (在位置53113-53384之间),与其余寡核苷酸相比,这些寡核苷酸相对活跃,如图2所示。

[0409] 如实施例1所述进行测定。n=2个独立的生物学重复。剩余的HTRA1 mRNA表达水平在表中显示为对照(PBS处理的细胞)的%。

[0410]

SEQ ID NO	CMP ID NO	mRNA 水平
19	19.2	3
19	19.3	16
23	23.1	1
23	23.2	44
28	28.1	2
28	28.2	19
31	31.2	0.4
31	31.3	9
35	35.1	24
35	35.2	5
37	37.1	0.3
37	37.2	7
38	38.2	1
38	38.3	17
39	39.1	5
39	39.2	17
40	40.1	6
40	40.2	34
45	45.1	4

[0411]	45	45.2	23
	47	47.2	1
	47	47.3	4
	51	51.1	6
	51	51.2	13
	56	56.1	2
	56	56.2	12
	60	60.1	2
	60	60.2	5
	105	105.1	30
	105	105.2	76
	107	107.2	25
	110	110.2	27
	110	110.3	20

[0412] 实施例3.以单一浓度测试LNA寡核苷酸在U251和ARPE19细胞系中的体外功效。

[0413] 在新的n=305 HTRA1 LNA寡核苷酸文库中对实施例1和2中描述的“热点”区域53113-53384进行了进一步验证,该文库已在U251和ARPE19细胞系中分别以5 μ M和25 μ M的浓度进行了筛选。n=95个LNA寡核苷酸靶向人类HTRA1前-mRNA(在位置53113-53384之间),与其余寡核苷酸相比,这些寡核苷酸相对活跃,如图3所示。

[0414] 人视网膜色素上皮ARPE19细胞系购自ATCC,并在37 $^{\circ}$ C,5%CO₂的潮湿培养箱中,在DMEM-F12(Sigma,D8437),10%FBS,1%pen/strep中维持。U251细胞系在实施例1中描述。为了测定,将2000U251或ARPE19细胞/孔接种在96多孔板中,在供应商推荐的培养基中。将细胞温育2小时,然后添加溶解在PBS中的寡核苷酸。寡核苷酸的浓度在U251和ARPE19细胞中分别为5和25 μ M。加入寡核苷酸后4天,收获细胞。如实施例1所述进行RNA提取,使用qScript XLT one-step RT-qPCR ToughMix Low ROX,95134-100(Quanta Biosciences)进行cDNA合成和qPCR。接着,将TaqMan引物分析用于U251和ARPE19细胞,以duplex设置:HTRA1, Hs01016151_m1(FAM-MGB)和管家基因GAPDH,Hs4310884E(VIC-MGB)。所有引物组均购自Life Technologies。n=1个生物学重复。该表中相对HTRA1 mRNA表达水平显示为对照(PBS处理的细胞)的%。

[0415]

SEQ ID NO	CMP ID NO	ARPE19 mRNA 水平	U251 mRNA 水平
5	5,1	90	56
6	6,1	107	60
7	7,1	92	74
8	8,1	83	57
9	9,1	98	64
10	10,1	77	67
11	11,1	71	56
12	12,1	81	43
13	13,1	84	65
14	14,1	36	20
15	15,1	37	29
16	16,1	55	28
17	17,1	53	43
18	18,1	69	59
20	20,1	41	42
21	21,1	24	22
22	22,1	38	51
23	23,3	53	37
24	24,1	52	27
25	25,1	27	18
26	26,1	16	26
27	27,1	28	42
29	29,1	24	16
30	30,1	18	22
31	31,2	23	3
32	32,1	14	23
33	33,1	11	23

[0416]

34	34,1	14	34
35	35,1	8	3
36	36,1	12	18
37	37,1	24	5
41	41,1	51	26
42	42,1	39	26
43	43,1	53	42
44	44,1	67	49
46	46,1	59	43
47	47,2	16	8
48	48,1	23	15
49	49,1	39	29
50	50,1	45	42
51	51,1	14	28
52	52,1	15	22
53	53,1	32	23
54	54,1	12	31
55	55,1	46	36
56	56,1	9	11
57	57,1	62	38
58	58,1	77	30
59	59,1	29	31
60	60,1	47	22
61	61,1	25	18
62	62,1	32	26
63	63,1	32	17
64	64,1	67	43
65	65,1	51	78
66	66,1	24	18
67	67,1	11	0,7
68	68,1	37	17
69	69,1	36	17
70	70,1	23	12
71	71,1	34	15
72	72,1	16	15
73	73,1	16	14
74	74,1	17	8
75	75,1	29	13
76	76,1	74	43
77	77,1	58	13
80	80,1	127	98
81	81,1	119	104
83	83,1	49	49

	84	84,1	52	31
	85	85,1	29	10
	86	86,1	13	5
	87	87,1	32	28
	88	88,1	29	15
	89	89,1	28	16
	90	90,1	21	14
	91	91,1	74	53
	92	92,1	76	51
	93	93,1	40	22
	94	94,1	33	20
	95	95,1	10	31
[0417]	96	96,1	49	35
	97	97,1	34	20
	98	98,1	16	21
	99	99,1	66	43
	100	100,1	51	21
	101	101,1	87	66
	102	102,1	52	32
	103	103,1	49	24
	104	104,1	79	51
	106	106,1	71	49
	108	108,1	47	32
	109	109,1	59	48
	111	111,1	66	41
	A	A	21	28

[0418] 实施例4. 在剂量响应曲线中测试所选化合物在U251和ARPE19细胞系中的体外效能和功效。

[0419] U251和ARPE19细胞系分别在实施例1和3中描述了。如实施例1所述进行U251测定。ARPE19测定方法如下：将5000个ARPE19细胞/孔接种到96多孔板中在供应商推荐的培养基中(除了5%FBS而不是10%)。将细胞温育2小时,然后添加溶解在PBS中的寡核苷酸。寡核苷酸浓度：从50 μ M,半对数稀释,8点。加入寡核苷酸后4天,收获细胞。如实施例1中所述进行RNA提取,cDNA合成和qPCR。 $n=2$ 个独立的生物学重复。50 μ M的EC50值和残留的HTRA1 mRNA水平,在表中以对照(PBS)的%显示。

[0420]

SEQ ID NO	CMP ID NO	ARPE19		U251	
		EC50 (μM)	最大 KD 时的 mRNA 水平	EC50 (μM)	最大 KD 时的 mRNA 水平
19	19.2	2.3	54	0.6	3
31	31.2	2.3	12	0.40	0.2
37	37.1	4.0	11	0.46	0.2
38	38.2	7.4	19	0.70	0.2
47	47.2	4.6	8	0.62	0.2
23	23.1	6.8	25	0.80	1
35	35.1	3.5	4	0.38	0.1

[0421] 实施例5,在剂量响应曲线中测试所选化合物在U251和ARPE19细胞系中的体外效力和功效。

[0422] 如实施例3中所述进行测定。寡核苷酸浓度:从50 μM ,半对数稀释,8个点。对于U251和ARPE19,分别n=2和n=1个独立的生物学重复。50 μM 的EC50值和残留的HTRA1 mRNA水平,在表中以对照(PBS)的%显示。

[0423]

SEQ ID NO	CMP ID NO	ARPE19		U251	
		EC50 (μM)	最大 KD 时的 mRNA 水平	EC50 (μM)	最大 KD 时的 mRNA 水平
31	31.2	3.2	15	0.90	0.38
37	37.1	11	22	1.3	0.75
47	47.2	2.8	13	0.89	0.83
35	35.1	2.6	8.3	0.79	0.40

	85	85.1	8.2	24	0.48	3.6
	90	90.1	3.3	16	0.50	2.2
	95	95.1	0.55	28	1.0	4.1
	98	98.1	1.7	24	0.86	4.5
	30	30.1	1.2	20	1.00	2.2
	32	32.1	1.7	22	1.6	1.4
	26	26.1	1.1	14	1.4	0.45
	33	33.1	0.75	28	0.66	0.63
	34	34.1	0.44	21	0.80	0.35
	36	36.1	5.2	28	1.1	0.80
[0424]	52	52.1	2.1	28	1.1	1.1
	54	54.1	0.79	25	0.62	1.4
	72	72.1	2.9	33	0.71	1.7
	70	70.1	1.9	36	0.52	1.5
	74	74.1	0.78	24	0.35	1.1
	73	73.1	0.78	11	0.59	0.33
	75	75.1	1.7	22	0.60	0.80
	86	86.1	1.7	6.5	0.47	0.65
	67	67.1	0.59	4.3	0.38	0.23
	A	A	6.5	24	1.2	3.6
	B	B	8.1	30	0.79	4.2

[0425] 实施例6. 在剂量响应曲线中测试所选化合物在U251细胞系中的体外效能和功效。

[0426] 如实施例3中所述进行测定。寡核苷酸浓度:从50 μ M,半对数稀释,8个点。 $n=2$ 个独立的生物学重复。50 μ M的EC50值和残留的HTRA1 mRNA水平,在表中以对照(PBS)的%显示。

[0427]	SEQ ID NO	CMP ID NO	U251
--------	-----------	-----------	------

[0428]

		EC50 (μM)	最大 KD 时的 mRNA 水 平
38	38.1	3.3	3
78	78.1	0.58	2
31	31.2	1.2	0.4
37	37.1	1.6	0.6
47	47.2	0.91	0.6
35	35.1	0.52	0.3
39	39.1	0.82	3
40	40.1	1.3	4
45	45.1	0.89	3
51	51.1	2.7	2
56	56.1	2.7	1
60	60.1	2.1	1
37	37.2	8.0	24
31	31.3	2.8	10
35	35.2	1.3	4
47	47.3	0.86	4
60	60.2	1.3	3
26	26.1	0.52	1
73	73.1	0.24	0.7
86	86.1	0.27	0.9
67	67.1	0.46	0.2
A	A	1.1	3.1
B	B	1.2	3.3

[0429] 实施例7. 在剂量响应曲线中测试所选化合物在U251细胞系中的体外效能和功效。

[0430] 实施例3描述了ARPE19细胞系。为了进行测定, 将ARPE19细胞 (每孔24000个细胞) 以100 μL 的密度接种在96多孔板的饥饿培养基 (供应商推荐的培养基中, 除了1%FBS而不是10%的培养基) 中。将细胞温育2小时, 然后添加溶解在PBS中的寡核苷酸。寡核苷酸浓度: 从50 μM , 半对数稀释, 8个点。加入寡核苷酸化合物后的第4天和第7天, 将75 μL 不含寡核苷酸的

新鲜饥饿培养基添加到细胞中(不除去旧培养基)。如实施例3中所述进行RNA提取,cDNA合成和qPCR。 $n=2$ 个独立的生物学重复。 $50\mu\text{M}$ 的EC50值和残留的HTRA1 mRNA水平,在表中以对照(PBS)的%显示。

SEQ ID NO	CMP ID NO	ARPE19	
		EC50 (μM)	最大 KD 时的 mRNA 水平
30	30,1	0,31	1
33	33,1	0,60	0,5
35	35,1	0,58	1
35	35,2	2,7	4
[0431] 36	36,1	0,97	2
37	37,1	1,0	4
40	40,1	3,8	21
45	45,1	1,6	3
56	56,1	5,8	2
67	67,1	0,84	1
73	73,1	0,36	2
86	86,1	0,59	4
90	90,1	0,75	5
95	95,1	0,74	3
A	A	1,3	1,9
B	B	0,84	1,5

[0432] 实施例8.

[0433] 测试在人原代RPE细胞中的体外功效。

[0434] 人原代视网膜色素上皮 (hpRPE) 细胞购自Sciencell (Cat#6540)。为了进行测定,将5000hpRPE细胞/孔接种在培养基 (EpiCM, Sciencell Cat#4101) 中的Laminin (Laminin 521, BioLamina Cat#LN521-03) 包被的96多孔板中。将它们在此培养基中扩增一周,并在以下培养基中分化2周: 补充有N1补充剂 (MEM Cat#N-6530) 的MEM α 培养基 (Sigma Cat#M-4526), 谷氨酰胺-青霉素-链霉素 (Sigma Cat#G-1146), 非必需氨基酸 (NEAA, Sigma Cat#M-7145), 牛磺酸 (Sigma Cat#T-0625), 氢化可的松 (Sigma Cat#H-03966), 三碘甲状腺素 (Sigma Cat#T-5516) 和牛血清白蛋白 (BSA, Sigma Cat#A-9647)。将细胞在37°C, 5%CO₂的潮湿培养箱培养。

[0435] 在实验当天,在添加寡核苷酸之前,将细胞与新鲜的分化培养基一起温育1小时。将它们溶于PBS中,并在第0天和第4天应用于细胞。在第7天,更换培养基,在第10天,用50 μl 具有 β -巯基乙醇的RLT缓冲液 (Qiagen Cat#79216) 收获细胞。根据Qiagen RNeasy mini试剂盒 (产品目录号74104;批号151048073) 的用户手册进行RNA提取,包括DNase I处理 (产品目录号79254;批号151042674)。RNA质量控制使用Agilent Bioanalyzer Nano Kit

(Agilent; Cat#5067-1511; Lot 1446) 进行。根据制造商的说明 (Thermo Fisher Scientific, Cat#4368814; Lot 00314158), 使用大容量cDNA逆转录试剂盒 (基于随机六聚体寡核苷酸) 将总RNA逆转录为cDNA (cDNA合成)。cDNA样品的测量在7900HT实时PCR仪 (Thermo Fisher Scientific) 上以384孔板形式一式三份地进行。以下TaqMan引物测定用于qPCR: 来自Life Technologies的HTRA1, Hs01016151_m1和Hs00170197_m1, 管家基因, GAPDH, Hs99999905_m1和PPIA, Hs99999904_m1。n=3个生物学重复。剩余的HTRA1 mRNA表达水平以对照 (PBS) 的%显示于图4和下表。

[0436]

SEQ ID NO	CMP ID NO	mRNA 水平		
		50 μ M.	10 μ M.	1 μ M.
37	37.1	32	60	77
35	35.1	9	20	64

[0437]	85	85.1	22	49	46
	90	90.1	22	39	61
	95	95.1	20	47	74
	98	98.1	14	27	55
	30	30.1	19	41	75
	32	32.1	14	25	53
	26	26.1	21	39	73
	33	33.1	18	70	58
	34	34.1	16	35	63
	52	52.1	13	31	61
	54	54.1	7	20	53
	72	72.1	7	18	56
	70	70.1	8	18	53
	74	74.1	3	12	40
	73	73.1	13	13	65
	75	75.1	7	15	55
	86	86.1	8	27	70
	67	67.1	8	27	77
	A	A	31	57	72

[0438] 实施例9. 食蟹猴体内药代动力学和药效学研究, 治疗21天, 玻璃体内 (IVT) 注射, 单剂量。

[0439] 针对人HTRA1前mRNA (位置53113-53384之间) 中“热点”的3个HTRA1 LNA寡核苷酸, 在视网膜的mRNA以及视网膜和玻璃体内的蛋白水平上均观察到了敲低 (见图5)

[0440] 动物

[0441] 所有实验均在食蟹猴 (*Macaca fascicularis*) 上进行。

[0442] 每组研究中包括四只动物, 总共20只。

[0443] 化合物和给药程序

[0444] 在测试化合物注射之前和之后两天施用丁丙诺啡镇痛。用氯胺酮和甲苯噻嗪肌肉注射麻醉动物。在研究第1天在局部施用丁卡因 (tetracaine) 麻醉剂后, 在麻醉动物的双眼玻璃体内施用 (每次施用50 μ L) 测试物品和阴性对照 (PBS)。

[0445] 安乐死

[0446] 在生命阶段结束时 (第22天), 通过腹膜内过量注射戊巴比妥将所有猴子安乐死。

[0447] 通过qPCR测量寡核苷酸含量并定量Htra1 RNA表达

[0448] 在安乐死后立即将眼组织迅速且小心地在冰上切片,并在-80℃下保存直至装运。视网膜样品在700μL MagNa Pure 96 LC RNA分离组织缓冲液中裂解,并通过使用precllys进化匀浆器每2ml管加入1个不锈钢珠进行匀浆2x 1,5min,然后在室温下温育30分钟。将样品以13000rpm离心5min。留出一半用于生物分析,另一半直接进行RNA提取。

[0449] 对于进行生物分析,将样品稀释10至50倍,用杂交ELISA方法测量寡核苷酸含量。将生物素化的LNA捕获探针和地高辛缀合的LNA检测探针(在5xSSCT中均为35nM,各自与待检测的LNA寡核苷酸的一端互补)与稀释的匀浆或相关标准品混合,在室温下温育30分钟然后添加到链霉亲和素包被的ELISA板中(Nunc目录号436014)。

[0450] 将板在室温温育1小时,在2×SSCT(300mM氯化钠,30mM柠檬酸钠和0.05%v/v Tween-20,pH 7.0)中洗涤。使用缀合有碱性磷酸酶(Roche Applied Science cat.No.11093274910)和碱性磷酸酶底物系统(Blue Phos substrate,KPL product code 50-88-00)的抗-DIG的抗体检测捕获的LNA双链体。寡聚复合物的量在Biotek读数器上测量为在615nm处的吸光度。

[0451] 细胞RNA大容量试剂盒(05467535001,Roche)用于MagNA Pure 96系统,程序如下:组织FF标准LV3.1根据制造商的说明,包括DNase处理。用Eon读数(Biotek)测量RNA质量控制和浓度。将RNA浓度在样品间标准化,随后使用qScript XLT one-step RT-qPCR ToughMix Low ROX,95134-100(Quanta Biosciences)在一步反应中进行cDNA合成和qPCR。以下TaqMan引物测定法用于单链体反应中:来自Life Technologies的Htra1, Mf01016150_,Mf01016152_m1和Rh02799527_m1和管家基因,ARFGAP2,Mf01058488_g1和Rh01058485_m1,和ARL1,Mf02795431_m1.qPCR分析在ViiA7机器(Life Technologies)上进行。眼睛/组:n=3只眼睛。将每只眼睛视为个体样品。该表中相对的Htra1 mRNA表达水平显示为对照(PBS)的%。

[0452] 组织学

[0453] 取出眼球并在10%中性福尔马林缓冲液中固定24小时,修剪并包埋在石蜡中。

[0454] 对于ISH分析,使用全自动的Ventana Discovery ULTRA染色模块(程序:mRNA Discovery Ultra Red 4.0-v0.00.0152),使用RNAscope 2.5VS Probe-mMu-HTRA1,REF 486979,Advanced Cell Diagnostics,Inc.处理福尔马林固定的,石蜡包埋的猕猴视网膜组织切片,厚度为4μm。使用的色原是Fastred,苏木精II复染剂。

[0455] 使用基于板的免疫沉淀质谱(IP-MS)方法对HTRA1蛋白进行定量

[0456] 样品制备,视网膜

[0457] 将视网膜在4倍体积(w/v)的具有蛋白酶抑制剂(完全无EDTA,Roche)的RIPA缓冲液(50mM Tris-HCl,pH 7.4,150mM NaCl,0.25%脱氧胆酸,1%NP-40,1mM EDTA,Millipore)使用Precllys 24匀浆(5500,15s,2个循环)。将匀浆物离心(13,000rpm,3min)并测定上清液的蛋白质含量(Pierce BCA蛋白质测定)。

[0458] 样品制备,玻璃体

[0459] 将玻璃体(300μl)用5x具有蛋白酶抑制剂(完全无EDTA,Roche)的RIPA缓冲液(50mM Tris-HCl,pH 7.4,150mM NaCl,0.25%脱氧胆酸,1%NP-40,1mM EDTA)稀释,并使用Precllys 25匀浆(5500,15s,2个循环)。将匀浆物离心(13,000rpm,3min)并测定上清液的

蛋白质含量(Pierce BCA蛋白质测定)。

[0460] 基于板的HTRA1免疫沉淀和胰蛋白酶消化

[0461] 用抗HTRA1小鼠单克隆抗体(R&D MAB2916,在50 μ l PBS中500ng/孔)包被96孔板(Nunc MaxiSorp),并在4 $^{\circ}$ C下温育过夜。将该板用PBS(200 μ l)洗涤两次,并用PBS中的3%(w/v)BSA于20 $^{\circ}$ 封闭30分钟,然后两次PBS洗涤。将样品(在50 μ l PBS中的75 μ g视网膜,100 μ g玻璃体)随机化并加入板中,然后在4 $^{\circ}$ C在摇床(150rpm)上孵育过夜。然后将板用PBS洗涤两次,并用水洗涤一次。然后将50mM TEAB(30 μ l)中的10mM DTT加入每个孔中,然后在20 $^{\circ}$ C下孵育1h以还原半胱氨酸巯基。然后将50mM TEAB(5 μ l)中的150mM碘乙酰胺添加到每个孔中,然后在黑暗中于20 $^{\circ}$ C温育30分钟,以阻断半胱氨酸巯基。向每个孔中加入10 μ l消化溶液(终浓度:1.24ng/ μ l胰蛋白酶,20fmol/ μ l BSA肽,26fmol/ μ l同位素标记的HTRA1肽,1fmol/ μ l iRT肽,BiognoSys),然后在20 $^{\circ}$ C温育过夜。

[0462] 通过靶向质谱法的HTRA1肽定量(选择性反应监测,SRM)

[0463] 在与TSQ Quantiva三重四极杆质谱仪(Thermo Scientific)偶联的Ultimate RSLCnano LC上进行质谱分析。样品(20 μ l)直接从用于IP的96孔板注射,并在上样缓冲液(0.5%v/v甲酸,2%v/v ACN)中以5 μ l/min加载到Acclaim Pepmap 100捕获柱(100 μ m x 2em,C18,5 μ m,100 \AA ,Thermo Scientific)上,持续6min。然后将肽在具有加热至40 $^{\circ}$ C的集成电喷雾发射器的PepMap Easy-SPRAY分析柱(75 μ m x 15cm,3 μ m,100 \AA ,Thermo Scientific)上使用以下梯度以250nL/min的流速分离:6min,98%缓冲液A(2%ACN,0.1%甲酸),2%缓冲液B(ACN+0.1%甲酸);36min,30%缓冲液B;41min,60%缓冲液B;43min,80%缓冲液B;49min,80%缓冲液B;50min,2%缓冲液B。TSQ Quantiva在SRM模式下运行,具有以下参数:循环时间,1.5s;喷雾电压,1800V;碰撞气压,2mTorr;Q1和Q3分辨率,0.7FWHM;离子传输管温度300 $^{\circ}$ C。获得HTRA1肽"LHRPPVIVLQR"和同位素标记的(L-[U-13C,U-15N]R)合成形式(其用作内标)的SRM转换。

[0464] 使用Skyline 3.6版进行数据分析。

[0465] 蛋白质印迹

[0466] 0.5个Precellyses管(CK14_0.5ml,Bertin Technologies)中经切片的视网膜样品在带有蛋白酶抑制剂(完全无EDTA的蛋白酶-抑制剂mini,11 836 170 001,Roche)的RIPA裂解缓冲液(20-188,Milipore)中裂解并匀浆。

[0467] 将玻璃体样品加入0.5Precellyses管(CK14_0.5ml,Bertin Technologies)中,并在带有蛋白酶抑制剂(完全无EDTA的蛋白酶-抑制剂mini,11 836 170 001,Roche)的1/4x RIPA裂解缓冲液(20-188,Milipore)中裂解并匀浆。

[0468] 在还原条件下,以4-15%梯度凝胶(#567-8084 Bio-Rad)分析样品(视网膜20 μ g蛋白,玻璃体40 μ g蛋白),并使用使用来自Bio-Rad的Trans-Blot Turbo设备转移至硝酸纤维素(#170-4159 Bio-Rad)上。

[0469] 一抗:兔抗人HTRA1(SF1)是Sascha Fauser(科隆大学)的友好馈赠,小鼠抗人Gapdh(#98795 Sigma-Aldrich)。二抗:山羊抗兔800CW和山羊抗小鼠680RD来自Li-Cor。

[0470] 在来自Li-Cor的Odyssey CLX上对印迹进行成像和分析。

[0471] 实施例10-食蟹猴体内评估:房水中的HTRA1蛋白测定以及与视网膜中的HTRA1

mRNA和蛋白抑制的比较。

[0472] 实验方法:请参见上面的实施例。采集房水样品并按照实施例9的玻璃体样品制备样品。食蟹猴水样房水样品(AH)通过大小测定法在Analytical Methodology:Capillary Electrophoresis System(Peggy Sue™,Proteinsimple)上进行了分析。

[0473] 将样品在冰上解冻,不稀释使用。对于定量,重组HTRA1-S328A突变体(Origene# TP700208)。如提供者所述进行制备。

[0474] 第一兔抗人HTRA抗体SF1由Sascha Fauser博士教授提供,并以1:300的比例稀释使用。所有其他试剂均来自Proteinsimple。

[0475] 样品在技术上一式三份处理,使用12-230kDa分离模块,一式两份校准曲线。使用Xlfit(IDBS软件)计算并分析峰下面积。

[0476] 结果

图号	化合物 ID	mRNA_视网膜	蛋白_视网膜	蛋白_AH
PBS	-	82	101	95
PBS	-	107	99	118
[0477] # 15,3	B	56	73	51
# 15,3	B	52	53	68
# 17	# 73,1	23	41	47
# 17	# 73,1	26	44	44
[0478] # 18	# 86,1	32	29	44
# 18	# 86,1	23	28	64
# 19	# 67,1	34	39	44
# 19	# 67,1	34	61	42

[0479] 注-图12-14中所示的化合物ID利用不同编号系统作为其余实施例。上表提供与先前的实施例和本文其他地方使用的编号相比的对于图12-14使用的编号的索引。

[0480] 图12A显示了施用化合物B和#73,1的猴子的房水中HTRA1蛋白水平的可视化,样品在注射后第3,8,15和22天采集。图12B提供用于计算HTRA1蛋白水平的校准曲线。图12C提供来自个体动物的房水的计算出的HTRA1水平针对注射后的时间作图。

[0481] 图13示出了房水中的HTRA1蛋白水平与视网膜中的HTRA1 mRNA水平之间的直接相关性。因此,房水HTRA1蛋白水平可用作HTRA1视网膜mRNA水平或HTRA1视网膜mRNA抑制的生物标记。

[0482] 图14说明了视网膜中HTRA1蛋白水平与房水中HTRA1蛋白水平之间也存在相关性,

尽管在本实验中,该相关性不如视网膜中HTRA1 mRNA抑制与房水中的HTRA1蛋白水平之间的相关性强,其指示房水HTRA1蛋白水平特别适合作为HTRA1 mRNA拮抗剂的生物标记。

序列表

- <110> 罗氏创新中心哥本哈根A/S
豪夫迈·罗氏有限公司
- <120> 用于调节HTRA1表达的反义寡核苷酸
- <130> P34287-W0
- <150> EP17209407.0
- <151> 2017-12-21
- <150> EP17173964.2
- <151> 2017-06-01
- <160> 231
- <170> PatentIn version 3.5
- <210> 1
- <211> 2138
- <212> DNA
- <213> 智人 (homo sapiens)

[0001]

```

<400> 1
caatgggctg ggccgcgagg ccgcgcgca cgcacccgc tgcccccgag gcctcctcgc      60
actctccccg gcgccctct ccggccctcg ccctgtccgc cgcaccgcc gccgcgccca      120
gagtgcacat gcagatccc cgcgccctc ttctcccct gctgctgctg ctgctggcgg      180
cgccccctc ggccgagctg tcccgggccc gccgctcggc gcctttggcc gccgggtgcc      240
cagaccgctg cgagccggcg cgtgcccgc cgcagccgga gcactgcgag ggcggccggg      300
cccgggacgc gtgcggctg tcgaggtgt gcggcgcgcc cgaggcgccc gcgtgcggcc      360
tgaggagggg ccctgcccgc gaggggctgc agtgctggtt gcccttcggg gtgccagcct      420
cggccacggt gcggcgccgc gcgcaggccc gcctctgtgt gtgcgccagc agcgagccgg      480
tgtgcggcag cgaccgcaac acctagcca acctgtgcca gctgcgcgcc gccagccgcc      540
gtccgagag gctgcaccgg ccgccgtca tcgtcctgca gcgcggagcc tgcggccaag      600
ggcaggaaga tcccaacagt ttgcgcata aatataactt tatcgcggac tgggtggaga      660
agatcgcgcc tgcctgtggt catatcgaat tgtttcga gcttccggtt tctaacgag      720
aggtgcccgt ggctagtggg tctgggttta ttgtgctgga agatggactg atcgtgacaa      780
atgccacgt ggtgaccaac aagcaccggg tcaaagtga gctgaagaac ggtgccactt      840
acgaagccaa aatcaagat gtgatgaga aagcagacat cgcactcacc aaaattgacc      900
accagggcaa gctgcctgtc ctgctgctt gccgctcctc agagctgcgg ccgggagagt      960
tcgtggtcgc catcggaaag ccgttttccc ttcaaacac agtcaccacc gggatcgtga      1020
gcaccacca gcgaggcggc aaagagctgg ggctccgcaa ctgagacatg gactacatcc      1080
agaccgacgc catcatcaac tatgaaact cgggaggccc gttagtaaac ctggacggtg      1140
aagtgattgg aattaacact ttgaaagtga cagctggaat ctctttgca atcccatctg      1200
ataagattaa aaagtctc acggagtccc atgaccgaca ggccaaagga aaagccatca      1260
ccaagaagaa gtatatggt atccgaatga tgcactcac gtccagcaaa gccaaagagc      1320
tgaaggaccg gcaccgggac ttcccagac tgatctcagg agcgtatata attgaagtaa      1380
ttctgatac ccagcagaa gctgggtgct tcaaggaaaa cgacgcata atcagcatca      1440
atggacagtc cgtggtctcc gccaatgat tcagcagcgt cattaagagg gaaagcacc      1500
tgaacatggt ggtccgagg gtaaatgag atatcatgat cacagtgatt cccgaagaaa      1560
    
```

```

ttgaccata ggcagaggca tgagctggac ttcatgtttc cctcaaagac tctcccgtgg 1620
atgacggatg aggactctgg gctgctggaa taggacactc aagacttttg actgccattt 1680
tgtttgttca gtggagactc cctggccaac agaaticctc ttgatagttt gcaggcaaaa 1740
caaatgtaat gttgcagatc cgcaggcaga agctctgccc ttctgtatcc tatgtatgca 1800
gtgtgctttt tcttgccagc ttgggccatt ettgcttaga cagtccagcat ttgtctctc 1860
ctttaactga gtcacatctt tagtccaact aatgcagtcg atacaatgcg tagatagaag 1920
aagccccacg ggagccagga tgggactggg cgtgtttgtg cttttctcca agtcagcacc 1980
caaaggtcaa tgcacagaga ccccggtggg gtgagcgctg gcttctcaa cggccgaagt 2040
tgcctctttt aggaatctct ttggaattgg gagcacgatg actctgagtt tgagctatta 2100
aagtacttct tacacattgc aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2138

```

```

<210> 2
<211> 53384
<212> DNA
<213> 智人

```

[0002]

```

<400> 2
caatgggctg ggccgcgagg ccgcgcgcac tcgacccgcg tccccccgag gccctcctgc 60
actctccccg gcgcccctct ccggccctcg cctgttccgc gccaccgcc gccgccgcca 120
gagtcgccat gcagatcccc cgcgccgctc ttctcccgtc gctgctgctg ctgctggcgg 180
cgccccctc ggccgagctg tccccggcgc gccgctcgcc gcctttggcc gccgggtgcc 240
cagaccgctg cgagccggcg cgctgccccg cgcagccgga gcaactcgag ggcggccggg 300
cccgggacgc gtgcggctgc tgcgaggtgt gcggcgcgcc cgagggcgcc gcgtgcggcc 360
tgcaggaggg cccgtgcggc gaggggctgc agtgcgtggt gcccttcggg gtgccagcct 420
cggccacggg gcggcggcgc gcgcaggccg gcctctgtgt gtgcgccagc agcgagccgg 480
tgtgcggcag cgacgccaac acctacgcca acctgtgcca gctgcgcgcc gccagccgcc 540
gctccgagag gctgcaccgg ccgcccgtca tcgtcctgca gcgcggagcc tgcggccaag 600
gtactccgcc gcgctcctgg gcagctcccc actctctcca tcccagctcg gacctgcttc 660
tgcgggactg gtgggcaggg tgaggggagc cgaagcgttg tggggtggcc agggcaactc 720
tcggggacag gcaggtgggc cccggggtgg cggatttccg cgggctgcct cggaaaccgag 780
cttcgcgccc agccccgggc cggttctgcg cccagacgat gccagtacgc ccggcctgca 840
ctctggggct cgagacgccg ggcgaccggc catggagtgc cctgagggca accacacagc 900
gcggggaccc caggacaaat aagaggaatg ggggcataaa ggaaggagag aagttcagga 960
ctgggaattg gcgcctcgca gagcgcttc aggaccacaa gaagtcattt cggttgcttt 1020
ttctctatt tacgtctccc gtccccttta aaattcactg ctttgatcac gggaccgctc 1080
agtgaaaact gtatgtaact cttttgaaa ggaacagtgt ttgccggccc gccccggagt 1140
ttctcaaaa agtctacccc gagcaggaa cggtttgca ccgctctcgt ttcggcggcg 1200
ttgtgcctg tcttgctttc ctctgtttga gccagcccta caaaaatgaa agtggctcct 1260
tttgaataag ctgaatcggg ctttgatca cgaaatctgc agaggcggag aagggaccgg 1320
gttagtgatg aggaagaagt ctaccctct gttcctacag ccgcacacag gacctgttct 1380
ggcaggggag acggtgtgta tgggggaagg agtggaatgg agcaatgtct aactctctcg 1440

```

	cgggaccttc cggagagatg ctctcatct tcaggcagag gccatgtgga aaaataatat	1500
	cgagttcagc agcggccagc cccgcgttgt aggaaccaga cagcggggct tggcagtgcg	1560
	cttgggcgca gccgtgccg tgctgccga ccccagtgt gcctcctcaa cacgggcagt	1620
	gccaggagag gggcataggg gagcacagtg cagagggact ggtctagagt ttactttata	1680
	ggaatatggt tcggtgtgac caactagggc ttagcatagt ttggcttacg tggacgggaa	1740
	gatgccagag ccgaactggg tgaattcga gattgcgtat ttcaccaaca caggagcaca	1800
	gccctcggga aactcagcct agtcaggcag tagagagttg tcccggagag aagtgatcct	1860
	gcagactcga gaagggcat gatgatagca cacgtctgtt gagcaccag tctgtgtgcc	1920
	gggtgtgta cctctgtgac ctcatittgt caaacagga ggcagttgct cctctctctc	1980
	tcttttttt tcttaagaga cagggtctcc ctctgtcgc catgctggag ttagtggtg	2040
	tgatcatggc tactgcagc ctccgacccc tgggtcaat gattctcctg cttcagcctc	2100
	ccaagtggct gggactacag gggatgcca ccacaccag ctctcattc ccgttttaca	2160
	gatagcggag ctaaggtga aaaacttgc caagtcatt cagctggaat ttaaaccag	2220
	acagcctcat tcagaggagt cagcccagca cttaactcca aggtgtggg agaggggtca	2280
	ggtgtgtaa atttctggt ggctggacg tgcaccccc tcagagctgg gaacagcata	2340
	cacaaagcct aagacttgtt tggagtgaa tagatcagtg tggctggga acgttttggg	2400
	agggcagcag gagttagcca ggctggggc ccagagtccc agggctgaag aggctggctg	2460
	tgccccgtgc cctgtgcga gatgttctt aactggagca actcaaagcc tagttagtg	2520
	tagggctgac cttagcagtg agtgcggaat gcacccaggg tggagagttt agactactgc	2580
[0003]	aataatctgg gtgtgagcg acaacattga aaaagcatgt tttgtccaa aacaagccag	2640
	ctgttactgg tctcgtgtt tgtggtctca tgcacgggg tctgagttg ctggcaccat	2700
	gcgagccgcc taatttattg ctagtgagc aagtgetta acaagtttg gaggttgctg	2760
	agtccctgtg tggagaaaa caggtecccc attggccatc gggctcacag cgggcccccg	2820
	gtgtaccagt gaggggacag ccacagaggg ataagcatgg tggctttgaa aggagggaga	2880
	gacagagtgg gtacaatgct tttcttacc ctccctcctt ctttgcaaa tatttattga	2940
	gctctgtagg gtgtctgaca ccgtttgcat gttgtctgt ctggcacatc ggaggtactt	3000
	ggtacgagtg gattagtga tgaataatg aatgaatga gacaaacggg aggtgcttgc	3060
	gatacacagc cattctgttt ttccttagtg gaaggcactg ctttgetgcg cccctctct	3120
	ggatctcaca ctccaccctt gacttttcgg aggtgtttcc gaggacagc gcctgggagc	3180
	cagcagactt cattcagtec aagccaggct ccaggactca acagctggtg cccacgggca	3240
	ggtcacttga cgtcactgtt aaatgaggtg aattggetgc ctgctctggc tggagattg	3300
	gcgggagagt cactttagct gccatggaca tgagcctttt ctaggggtgc cacttgacta	3360
	gaggcctgga gttggagcaa gtcatacacg gatctggaga cagagctctc gaggcaggag	3420
	cgggtgctgc gatttcaaat attataaggt ggctttgtct ggggcagagc atgccagggg	3480
	atgagaggta gaaatgcat cagatcaggg gtcccaggg aggtgactag cactttgggt	3540
	cacagtagat ctttggatag aggaacatgt caccattcaa aggaaagcac tttcatctgt	3600
	aaactgttta ttgaatagac ctcagagaac atctctgctc accgctctgg aaatgaagc	3660
	aaatcatcta tttcagaagt caatgcactg gcagggtttg gatgggaaag tatacaattc	3720

[0004]

agctagagaa caaagatctg tcattctccag ctgtactggt cagatgatta caaaaaagaa	3780
aggaattgaa atactaataag ggtactaata atgagggcta acatatatgt tgtgcttatt	3840
ctatgccggg tgcatactaa ttcatattgat cctccggaca gtcctatgag tgagtgcgtg	3900
agtcctccct gggttacagc tgggcagcta agtcacagag aagtacctg ctcaggactg	3960
gtgttccac acaactggat ggagagcctc gttcataacc accatgctgt gctgttgaca	4020
gagcaacaga gattttaaac caaccccagc taagcccag ctaatagctg aaataaacag	4080
ggctccagat ggctgtggct tagagatgga acaggacaga tcacagcctt cactctgcag	4140
gctcaggagc ctgaagacaa ggttgectcc agttgccgtc agtgcagccc tactaaaga	4200
aaagcaaaaa gagccgaggg actgtaggaa ggctgtttcc aagccagaga tccagacaaa	4260
ctgctcttga agagagaaa cccttcaga ttccccatg tcccaaaaga ccagccggga	4320
ttccggacct ctgctaaac atggacaaga agccaggaac gagacctgaa acagacttcc	4380
caaacagcag aagcctcatc catttctctt gctagtacat cctccaggaa agcccacct	4440
actccatgca gcagcccaga caagcttggg ggtctgcaag ctgcaggggt gccagaaac	4500
tccaccctg gaggttttta ggatgcctg ctctgtgtc caccagagag cctctaaagg	4560
cagaggctgt atgtacatac ctggtgaaga accaagggt tagatggtg ctttacttct	4620
tggagccctg gaatgtttg aaaatttact ttttttttg agacagtgc tcgttctgtc	4680
gcctacgctg gagtgcagtg gcgcatctc ggctcactgc aagctcacc tcccgggtc	4740
atgccattct cctgccttag cctccagagt agctgggact acaggcacc gccaccagc	4800
ccagctaatt ttttgtatt ttttgtaga gacgggttt caccgtgta gccaggatgg	4860
tciccatctc ctgacctgt gatccgccg ctttggcctc ccaaagtct gggattacag	4920
gagttagcca ctgcaccgt gccaaaatg actttattta ggtgactctt tcgtgggaac	4980
ctcaacaag caatcattgc tagctgagt ctgacctgt actgagctt ggggagacag	5040
ggttgaataa acaaaagtc ctgcccacag gtaacttata ttcaatacaa tgggggaaaa	5100
tacaatcact gcttccctgg ggttgtatt ttccattgt aaagtggca gtttctcga	5160
gagtcatttt cactattgac aattcaata cacctttgt cagttaaaa acaagtgtc	5220
caggacctg agcttcatct tagggcagg tgggtgaaa catttgtgag tctccagctt	5280
ttagtcacct gaaacttga aacttgagg tcttttgagc agtttatgag tctctgctg	5340
ctctggctgg ctgccttctt ttattgctc gttggtttg ctaaagagt aaaatattaa	5400
ggcttcataa aattaggaag ttaacaagct caaaaacaa gtgtttgagt tacttcattc	5460
cactgagaga gctgtaaat ggttgcatt gaacttaaaa taactgcatt gagtaagtga	5520
tgggtggcgg caccatgagc taactgtgt cagaagcctg atggcctccg ctttgggct	5580
ggattctccg tttggagctg tgtatcctg gatgatttc atgcttggg ttcagaaatc	5640
agactttcca tgagcttata tttcaagtga ataatagct ctggtcaggc ttaatttgaa	5700
gaagaagtaa gcttggcagt ggtgagggt tcttggag gccaactgg gcggaggggc	5760
tgaggcaag cggctctggc cttcctggg gtgttacctg accaggtaac agctccctcg	5820
acctctcgga gcctcggcag tgaggggatt gggccagttg atctctgag ctcctttaa	5880
ctagaatggt ctggatttt tctaagaaaa caagtcttg aggagttgt ggtcacctca	5940
ttctaattt aaagcctggg gaggttctt tatgagctac ttcttttcc taaattattg	6000

[0005]

atggttaaag ccaaggctgg catcgaatag atgtgatcca tcttgagcct ggttgctttg 6060
 tgtttcagct ttgtactggc tgctgaagtc cccgggagac cacaggggtg acatgttcat 6120
 ctccaagaga tgagcttcca cgagactcat accccttgct ccttccctgg ggctccaagg 6180
 cctttgggtc atctgaagtg agataccctt gtgtcatttc atcttttct tctccacctt 6240
 ctctgccgtt aaaaaaaaa gaagaaagag aaaaatccta ttaatagaga aaccgagaag 6300
 tgtagccatt ctgaatgtgt ttccaaaagg ctctggaag tggcatggaa gttacagtga 6360
 ttcagcacta cttgggtgac tgtgcctaga accacagggg gacattagcc aggacaacac 6420
 gcctcaggac agaagtaagt ggctgcgaag aggcatgtcc atcactgccg gaaagatgca 6480
 gaggttcagtt ttggagtca gtctgagag ttccatttct aaattcattc agagcattta 6540
 tttaacacct actgtgtgct cagaagtga tcaggtatgg ggactcagag gtaagggtg 6600
 gtggcccctg atctcaaggt actcgtgga gatagtatga tgctcagctt aagggtggg 6660
 ctctgaagt cggattgcca tttctggat gtgtggtgtt tcttgggtga cttcatctct 6720
 aagtctcagt ttccccatca gtaagataag agaagtaata gcagatacat acgtagctct 6780
 tagggcattg cagaatggaa ggacctcctt atatgaaacg caaagcactg tgcctgatgc 6840
 attgctagaa ctcaggcaat attagcgtgt tgtcattgtc atcatcatca tcatcatcat 6900
 catcatcate atcatcatct tcaaggcact gacaaaggag tcagctgtgt gggaggagtg 6960
 ctgggacact ctgtctccc tgggatgag gtgggtgggt gggttaggaa atcttcacag 7020
 agaaggaggg tgatgtgaga ctctgtccg ggagctgact cggaaattgc catctaatat 7080
 gttggaaaag gtictctggg cagaggtatc caaagtcact ttgcctgtca ccctttgagg 7140
 tcccagtgtg tgcctatate atgtgaccag tgtgtggctt ctctgaatt aagagctgca 7200
 tgcttgact gcctgggatt ttacagatgt catctegtta actctcctg gagcttgtga 7260
 caccaggag atggcagttt atagaagccc tggcaccttc ttgaatgatg cttggtttgg 7320
 tttctatgca ctgggaattc ctcacaagga aagatttgc acatcttaag gaaggaaaa 7380
 aaggcaaatt tgggagtcca tggataccct attattttag attccaggac aaattgtcga 7440
 ataagcagct ttcataaaaa caatcctccg cagcatcccg tgacagcagc tggctcctcg 7500
 ccacaggata attatgtctc ctgtgcaca caaagtctc cgagggcata ttgttgtggc 7560
 tggagtttct gataatttcc aaattgaaca acctcagtc taatgagtca gaggcttgtg 7620
 caatatttcc aaacctcagg aacatctttt tcattagtgt tgcaataaag atggtaggcc 7680
 taictctgtg atgagctgtt ttttttctc aaagttgat gagattcgc gtagaattcc 7740
 ttctcacata gtcttgggca agattttacc cgatcttcca acacatgagt catctcatat 7800
 cctgtgacta agaagagctg tctctttggt gccagtttcc taagtgcagt caccacttga 7860
 tggagacgga tggacacagt tgggattgcc caggcagatg ggcaatcttg ccagctagac 7920
 ataggggagg gaagcctcaa tgttcagcgg tcacatctgc tttctgtgg cacagagtga 7980
 gctatacagg aatattgtat tctccaggac agttagggca gtgggaaatg tcatcaaaaa 8040
 gaacagtgac ccaaagagcc actgccactg ggtgctctgt gggagctggg cactgtgctc 8100
 attgtgttat gggccttctt ttgtcttac ctttagcca cccagagagg cagggcatta 8160
 tccttgcttc ctactgagg ccacagaaga ggctcctaga ggtagctgt aacttgtcca 8220
 aggccagcca gtcaaggag gcagagccag gatttagacc catgtctgtt tcaactccaa 8280

	actattcttc agatttcttt aagcaagtg ttatttagaa atgttttgtt tattcatcaa	8340
	atatttggtg ggtgtttcca gctatctttc tgttattaat ttctagttta attctattgt	8400
	ggcctgagaa tatattttgt atgatttcta ttctattacg tttgttaggg tgtattttct	8460
	ggtctagaat gtggtctgtc ttggtgagtg ttccctgtgt gcttgagagg aatgtgtgtt	8520
	ctgtcattgt tgaatggagt gttctataaa tgtcacttag gtctagtga ttgatagtgc	8580
	ggttcaggtc aactgtatcc ttctgattt tctgcctact gatctatcaa ttctgaaag	8640
	agaagtgttg acgtctcctg agtctattct gaaacactga attgcggtct ccatgatgaa	8700
	ccactagagt tagaaaacct gggctctagc cccatttggg cctttgggat gactcccttc	8760
	tgctcagtt tectcatcta caacaggggg acaatgatgc tgcctaggag acatcagcag	8820
	gatactgtga aagtccagtg gcataagggg tatggaggag cttcgtcaac tcctaaagct	8880
	tcagtctag gaatcctaaa gcattgaaat ccaaagatat aaggaatatg aaggagtttt	8940
	gtcaattctt aatgcttcag tgctaggaat cctaaagcat taaagtccaa tgatataagg	9000
	aatatgaagg agctttgtca actcctaaa cttcaatgct aggaatccta aagcattgaa	9060
	gtccagtgat ataaggaata tgaaggagtt ttatcaacte ccaatgcttc agtgctagga	9120
	atcctaaagc actgaagtcc aatgatacaa ggaatatgaa ggagctttgt caactcctaa	9180
	agcttcagtg ctttaggagt cctaaagcat tgaagctgta agagattagg acctctagtt	9240
	ggcaattcca gactcttcca ggactctgta tagagccaac accaagaata gtgaagccag	9300
	aaggatggaa atagtaaaat gcctcctggg tgtcaaagca tgggtctcct ctgggcatgt	9360
	tcctttgtcc tactgagaca tgatagctct tggccaaagt gactgaactt gaccctctgt	9420
[0006]	ttcaggaagg ccaaatgcag ggttcactac catcatgtcc aagggcagat gcgttggfcc	9480
	agaacatcag catcccaate attataccaa gcaaacagcc gtctctgctt gcaccgtgga	9540
	gagcacacgc tectctggg gtggcctgca tectgtgttc ttctcaggcc gactttctgt	9600
	ttaatgtttg ctggtcagga aatggcctga gctgaggttc ttcagatccc agtctgacct	9660
	ttctccacca gcatttgtgg ctctgaaaaa tatagcccag tgtggtttag cccactgga	9720
	tgaaccaccg taggaaaagt ctgataatag cagaagacgc acaggaggaa gagtgaggat	9780
	ttgagagcat ctgggaagga ccatgtgctt ggatatcgtt ctgtctgtgg gattctgtga	9840
	cacttgtcat ttacagtctg ttcccatgga attctcatca ttggccaaac atatagtctt	9900
	ctgtctctct gaaaaatate attctgtctc gacctttcac acccatctct gaccacatca	9960
	actccctgtt tgcatgcatc ttgtggatga aggacaccac tttacctgta aagacactgg	10020
	tgcttctcca aagccaccaa ctgacttgta gagaagacag aatcccagag tatgaaacct	10080
	gagggtgaag ggtcctggca ggtcctagag ctcaaccctt cacttcacag gtggggaaac	10140
	tgagggagcc aatgggaaca tgactctcac aagctgcaca gctcatctgt aggggccagt	10200
	gtggagtctg tttgtctgta gaccagggc tgagcctttg agccctccgc atctcagccg	10260
	catctctctg ttggagcagt taggtgtttg ggagaggcca cggctccatgc tcatggtttt	10320
	cctgtaaggc tggagaaca ggccttgttc cttagtctc tctaatcaaa atgaggttgc	10380
	agaaaacct tctcctact tctcctaaa ataatttctt tgggttagaa gatgactaaa	10440
	agactattca tccgatgact gatgtctccc ttcaagagtt ataagcacat ataaatgctt	10500
	ttgaatggta attataataa ttttgcctgaa gggaaaatat cagtataaat atcatggtgg	10560

acacatggaa	tgaggactga	gatgctttca	tgtcttttca	gctgtgggta	gattttcttt	10620	
aagcagaata	tacaagtttt	tectctccta	gcataaggac	tctttttttt	tgtatctttt	10680	
ctctctactt	tttagacatg	atggaaaatg	catttataca	tttgatgaca	tattgtacta	10740	
tctcagttgt	ttaaaattat	aaatgtaatt	taatcatatg	aaaaattaag	aaaagaagat	10800	
tcataattca	ccatcatctc	cccagaaata	tcattttctt	attactatta	ttattattat	10860	
tattattatt	attattatta	ttattatttt	gagacagggt	cttgctccat	caccagget	10920	
ggagtaaggg	gcacgatctt	gactccctgc	aacctccacc	tcccaggttc	aagcagttct	10980	
catgcctcag	cctcctcagt	agctgggatt	acaggcctgc	accaccacac	ccagctacct	11040	
tttatatttt	taagtagaga	cagtttcgcc	atgttgcca	gactggctc	gaactcctgg	11100	
ccicaagtga	ttggcctgct	tcagcctccc	aaagtgtggg	gattacaggc	atgagctacc	11160	
atgcctggcc	taattccatc	atctctgtcc	caagtgttgc	caccgtttgg	ttaactgttc	11220	
ccctgttcac	atccatttgg	gccaagggtg	caatgttaaa	caatcctgag	atggacattt	11280	
tcatgtttat	ggetatttct	gtatctaggg	tcattctctt	aggagaggta	ctaaggagta	11340	
caaaaactgg	gaagaaggat	atggaatttt	tatggatctg	gtataaattg	ccaaattatt	11400	
ttccagaagg	gttgtagcca	tatttgttgc	catcagctct	agaatttcaa	cctcgtaaat	11460	
cactgaaaga	aattctccca	aatcaatcc	ttcaggaata	atggaagaag	atggtgccaa	11520	
acccagcca	ttctgctcac	tgtagattc	cttttttgg	cttacaggtt	acttttatc	11580	
tcaggttgat	ggctcttaga	gtagagcaat	gtttgggta	gaataacag	cacttttaaa	11640	
acttggttct	acctggggag	ggggtgagtt	gtgatcacag	acagtctcac	ctgggagggg	11700	
[0007]	cttgggtgtt	tgtcggcttg	tccttctaac	actcgtgtct	caggcgagca	gcctgggacc	11760
agtgaggatga	cctgaaggct	ggaggtcaca	agctaagagg	cgacagagaa	cccaggtctc	11820	
aggaagccca	gcccagagct	cgetgcactg	agcctctcgg	atgccagctc	tgtccaggat	11880	
gctggaggag	gccagactga	tttgtctgt	tttgaagaat	gatgaaaata	tttattcaaa	11940	
tgttttgtac	tcataggcag	aagtataaca	ggagctgcat	atacaaaatt	atcttctagt	12000	
agtcacatta	aaaaagtaaa	aagaaagaac	acgattattt	ttctttttaa	aacagcttta	12060	
ttgagagata	attacatac	tataaaattt	acccttttaa	agtgtaaat	ttgtgttct	12120	
tatatattca	caatcatgca	cgtatcacta	ccagctccag	gacactttca	tcaccgtaaa	12180	
aagaaacccc	gtatccatta	gtagccaccc	catacttctc	ctctgeccag	ccctaggaaa	12240	
ccaccggttc	atcttctatt	tctatgaatt	tgcttattct	ggacatttca	tataaatgga	12300	
atcaagaat	acgtaacggg	cttctgtctc	ttagcataat	gttttcaagg	ttgtccacat	12360	
tgtagcatgg	atcattattt	cattccattt	tatgattaaa	aatatgcctt	ttaagggata	12420	
caggagagacc	agacgtctat	tttatctccc	ctccctgatg	gggaaatccta	atctcagcct	12480	
ggaaagtca	tgcgaaagtc	taaaactgcag	aggtgatact	gtttccactg	gaagaaactg	12540	
tagcacctga	ctcaggaagc	cagcattaaa	accaagaata	ttctatatgg	atggggatta	12600	
cgactgaaa	ggaaaacatg	aggaaatgca	cttttcagat	ttattagatc	atagaacttt	12660	
tttgagctg	gaaaggatgt	cggaaacgt	ctagcctacc	ccctcatctt	accactgagg	12720	
taactgagge	ccaggaaggg	gaagtggctt	gttttgggtc	cgggaccact	cttcatttct	12780	
tatttgagcc	aaagcttctt	tctgctgtct	gtctctgttt	cacaagttcc	cctcgcagtg	12840	

gggctgggta ctgcttgaa gaactggctt cttccttgat acaggggctc gttcaccatc	12900
acctccctcc ctcacgtctc ttctgeectt ctgcagcctc aggcctctct cctgcaccag	12960
gggggcagac tcaaccggg tgggactgc ctcccagtc gtggccagag gctggagggc	13020
tagggagact gaacagcccc ggcagctcca gacataacaa cctatgttga ggagtcaggg	13080
caggaagcga acccagctga gaaatctgc aaggtcagga ccagagccag acgcttatca	13140
agagcaaagt taatggtttt tgtgaaccga gcagtcagct gtttccccga agataataat	13200
agacacatca tgttgggcat tcaggaggca tctgaaaaa aaaatgtgca gtggaattga	13260
ttggaagctt ttcctaatag cataaaatag gccagaaaag actatcaaat gtaacagcac	13320
cgatcaaacc caatagatca agcaaggact gaaaaacaca atttttttt tctttgccag	13380
tgagtctgaa aagtgtttt caatgacagg cgcctttaa catagacaac ataaacaaca	13440
acatagtgtt tctggaagag gcattctttt ccagtaaagc caaagatgca gatctaggct	13500
gtgcttgtga ctgacagcac agtgagggtt tcacagccag ctggccaggt gccccccgaa	13560
agcacatttc gaatctactc tatttgagag agactgcctt agccttgttt gggtaaagtct	13620
tcctcttca cttcacctgc cacagacttt tccaggcacc atctgctgca gtcttgcccc	13680
agccccgca acagttactg ctcaaggcac ccgggacatg caggacgggg gacagcctg	13740
aggtctggcg tccggcgagc ttttcccact tggagccgtc tgggagactg tcccgaaag	13800
agaggggctg ccaacacttg gaagtgccaa tgtgtgctgc aagtcgagge cagctcccc	13860
gctccccgc ctctctcc ttgattcatt aaaaggaaag aaagaggcca cacgaaactc	13920
tctgaattt cttttcttg ttctatgca aaagacagag cgtggctcatt catcattcaa	13980
attttagcct ttttaacaa ataataatc ctgcttgtga attcagtgta ttttaacaag	14040
agtaggtctg agggccgttg gccgtgtctt tccttagatt tgcagacagc ggccctgatg	14100
gtgcataggg tttcaggttt cctttagacc tcagctggct gcctgggcca ccacttagca	14160
atgccattgt ccttctctgt cattttcttt gcagaattcg aggaaatcca gtcgcacagg	14220
ccccctctg cccatgtccc cggcgcctg gaatgtgac taccagcagc agcgattaga	14280
atgggggtct ggtttcccgg aatgtgcaag gcttggtctc tgtttctgct gcctccatgc	14340
cccagaccag tgctgggccc ggctctgggc tggagccgtg gctgacaagt ttcttggaa	14400
tttaatggag cgggcccagc agcatgcagc cactcaact gaaaacctg gaaagaaatg	14460
agtgttggg ggcagctttg ctgcattcac tgggtcatat atgcttcttt ttcttttct	14520
caggcaacct ctctgcaga caggaggccc cctccccctt cgcttcatgc ctactggcc	14580
attaggaacc ttttaaaact gatttctctc ctgacctca gagagaacat agtccaagtt	14640
ccctggagga ggaggaagcg ctctgtgttt ctctgcagtt cacggctcag ttaaatgcag	14700
cctactgtct gtctttcccc actcctctgc ctgctcccgt tgtgcttctc atgatcttc	14760
tcaaattcag cgagaaacct cacaaagga gcttttctta gggaagagtc atccttggcc	14820
tcccgaatgt ggaccagccc ctctcccag ctgcacagca tcaggttagt taaccacctg	14880
cctccatctg ggtcctgtct ggacaggcct actcacacct gctgcaggca tccaacttgc	14940
cctcaggtgc ctgtggctcg tcagagggg tggagcccac attccagtc tgacaggtaa	15000
agttcagtg cggggacctt gcatttagtg taaagatcaa tattccaggt cctctcttcc	15060
tgccaccag cgactggccc ttgacaggca ctcggtccca gttgtcttgg gcctgcagcc	15120

[0008]

	cttgcattct ctctgctttg tctctgctat tgcaccctg ccccatcaga aatgcaggtg	15180
	ggggggcctt ccgctgggac agtgagagac tgggtagtaa ggggagcgct agagggatgg	15240
	ttcgcttgc atccagccct gactgcattc gctctccccc gcctctctgt gaagggtctg	15300
	agetgtgagt ggaaccaagt ggatgagagt ggcttgggc acctgccgat aaatttcccg	15360
	gtgtgtcttc tctctctggg agtcccatct ggatttgggt ctggatttat ttattcagca	15420
	agtagcctct ttatagttae tttttttttt tttttttttt tgagatggag tttcactttg	15480
	tcaccagge tggagtgcac tggcgcaate ttggctcact gcaagctccg ccttccaggt	15540
	tcacgccatt ctctgcctc agcctcccga gtagctggga ccacaggtgc ctgccacat	15600
	gcctggctaa tttttgtat ttttagtaga gactgggttt cactgtgtta gccaggacgg	15660
	tctgatctc ctgacctcat gatctgccc ccttggcctc ccaaagcgct gggattacag	15720
	gtgtgagcca ccatgcccg cctgtagtta cttttaattt agccatgctc ggggctgaag	15780
	gggatgccaa agaaatataa gatgagcccc tcagacggct aaagatgaag atgaggcctc	15840
	cagtatgtac ctcccacata caccacagga aattctgggt gtcactggat tctggacctc	15900
	ccaaaagctg ctggcacctg gaggatgggg ccccaggct ggacctcact cctgctgggt	15960
	tgctggactg gaaagtaact gatggcagct gaggagtgtg tcccagactt cactgagcca	16020
	ttccaaaga ttattccaag ttctcctgac actgcactgg aggcctgctg tgctggcctt	16080
	ctttatttac agtttctgac tgggtcttag cagccctgcc agagagagcg gcagtgtgtc	16140
	tgcaggcgac caggagaaat gtctcaggct ttagagcagg actttgagca catagctgtg	16200
	ggggcccagc aggtgtctc ctgcacggtt acttctcctt gtcttticat ggtcgagagg	16260
[0009]	ttgctgctg gccttcaag tgaggatggg acatgctatc cattggcctt aatttccaac	16320
	ctctgcatga tgcatttat gctcctgcct ttgaaagaac ttttatttct ttgtcattta	16380
	tgcccagacc ccacatggca gaaggaaggg aggetgggac aggggagggc gataagetgc	16440
	cgctgacaga cctgcccagt ttcttagctc atcccggcct ccacctctgt gacgagacac	16500
	tggcccaate cagccatatt tttggctgag tttctgtctt cacatctcat ccttaaccct	16560
	gaatcctgce catagtgtgt actgggttgt attcttattt gtaatcttta aagtaggaat	16620
	acctttgctg gtatttaaag tggaagaaat caggtgaaga atcacaagtg atttcaaac	16680
	tggaagagac attagaatgt aaatgtgagg aagcgtcagc atgaggggct tgcctgggct	16740
	gcacagcttg ccttggctgg agtatgcaact gttctggcat tgcagagagg atgggtacct	16800
	tgctccctg caggatgggg actgtatcag cccccgaga ctgctcctgg gctcctgagt	16860
	ttgacagatt tttttttttt ttttttgaga cggactctca ctctgttccc caggctggag	16920
	tgcagtgggt cgatctcgge tcaactgcaag ctccacctcc tgggttcacg ccattctcct	16980
	gcctcagcct cccgagtage tgggactaca ggcgctgcc accacgctg gctaattttt	17040
	tgtattttta gtagagacag gtttccaccg ttttagccag gatggtctcg atttctgac	17100
	ctcatgatct gctgccttg gctcccaca gtgctgggat tacaggcttg agccactgc	17160
	ccggctgagt ttgaccagat taaggcagca tctccagtgg cacctgagca gctcctgaga	17220
	tgcttttctg tgctaaatct ggatttgggg tattaaatca aatgaatttg aatgcaggc	17280
	acagctggcc ccatgggcat ggacctgtgc agtcacacct tgccccgtg tcagaagggt	17340
	gctgtgctg ttttaatgct ctgctgttgc tctcttgaga ttcttaataa tttttgaaca	17400

aaggcccca cactactcatt ttgtactggg tactgcatat tatgtagcta gtcttgaatc	17460
taggacagtg cattaaaatg ccattgattg gatcaatctg ctcttgcaac tgatttgaat	17520
tttgggaaca tgctgtttcc tigtgaataaa ggaggattca tttcttttcc ctgcaatata	17580
ctgcgttctg ttttccaaat tagctctacg tatcaactca gctgagaaat tggaaagcggg	17640
gattgttctg gctggaaggg aaggtttagat tgttaatcct gcatcctggc cctgatctca	17700
ccgagtgtga agcatgttcc cacaatgggt tgggctgcgg ggggctggag gctggctgag	17760
aagggtggga ccaaggaggg aggctagcct gggagccaga cagatggggt taggctcttg	17820
cttttgccac tcgccagctc ttaggcttag ggcaacatga ttttaattctc tgatccttgt	17880
tttttctcat tttctgtaga ctggtgatga gatgcacct gcaggcttgc aggcttgcag	17940
gagtaattaa aggtaaatatt tgtgcctatt attgggcttg acatatagta gatgctctac	18000
aataaataga tcctattatt cttattgata atattatttt attgctaaca ttgaaggttg	18060
gggtgggatt gactagctgg aggcgaggag aatgagatca tccaggccgg aaggaaaaga	18120
gacatgaatg cagggggatg ggggtggagca ctttggaggt gtggggagag gtctgcaggg	18180
tgggagtgtg gcattaagga gtcgtgggga gagtggagga atcagtgcc catggtgaat	18240
gagaggggat cgtgggcccg aggagatggc gatggctgcg gggatcctgc aggaagtta	18300
tgtgccccaa agtggcatta tcagttaggg ggagacactg aagacagagg tgaggcctgc	18360
ctgaattagc gtagagtggg attcttggaa gcttcagaag cttgagaaga gccacttga	18420
gggtttgaaa tgcacctggg agggacgtgg ggaccagct ctgggctgag agctgggaga	18480
cgaaacgca ggtgacctg gccttgaaga tggggcatga tatttagtgc tttatgtgca	18540
atctcaccta ggactcccaa gccttttga gtaggtgata ttagctccgt gttacagaaa	18600
gggagactga ggctgaagca gggacattca tgatctgaag tcacacagct gtacggggca	18660
gaagtgggca tggaggcatt aacttagagc cgaaagggtg gacctttctt agtgtgctg	18720
gccccaggg gaacgtgtgt gggttggagt acaacttggg gttectacce atcccagatg	18780
ctctgcgttt gtgaacccca gttgccacat cagggcgggc gagggcagga agctctgcag	18840
ggagaagga caagggacag agccaagaac aggggcagtg ccccagggtc ctgcaggggc	18900
aatgaagggg gttggcacac ctgggttagt tgctggccag tgtggggaga gagctggcct	18960
gggagtctaa tgggaatgcc agggaaagct gccttggctc cctaaagtga agccccatg	19020
ctggccatgg agtgttgggt attgagggtc cctgctagtt gtctggccga ggcagcatgt	19080
ccatagga tagctctggt gtctctgctg cgtggcgtga gtgcccctca tgctgggagc	19140
cagccctgtg ctctggaggg aggtggtggg aggacaaggg acagtgggac ctgccacctg	19200
agcaggaatt ggcaccttct cccactggca ggtccagggt ttatggaate tgaaacttgt	19260
acaattcagt atacctctt caagaaaaac acccctcaa attatgaata taacattag	19320
tatgaaacta ttattgatat agattgaaaa aagaaaatgc ccaaaatgac aaactcaga	19380
aaatagacaa atactgcaa catcacaaaa tcagaaaaat aagattaaaa aaagctaact	19440
gctgaacact ccgtcatctt gaaaatgccc ctctctctc ctctatttt tggctgtgaa	19500
ctctttgctc accttttcat gtgacaatgc ttttgaata tttctacag agaaaaataga	19560
ataatttatt attactttta ttgtttttg attattatta tgatcaatc aatattttc	19620
tgetaccac aactcactg tcttctgtcc aacctctggt ctgcaccagg ggaaccagca	19680

[0010]

gtttcccctg ccataggggtg tccttgaga ccacacatat agcaggatag atatagcaat	19740
ttaactagac acagaaggga cticaaagcc acaaatatat ctcatTTAAC ctgaacaaaa	19800
tgattatcca gttttacttt tccttagcc tcttccccca aatgctggca gccaccctga	19860
tgggatagat gtgtgacaga gggcaagaga ccgtggcccc aaccagctgc agcttcactc	19920
tttcatttct gtatactctc tacaagctgt gatgatagca ctttcttagg gcccctcaca	19980
gggcagatgg agggctccac gctgaagctt tgtggatgtt tgctgtctat ccacctctgc	20040
tccttgtgcc tatgcaggga ttcaggccca accactgcag agagcccaag agcatcaggc	20100
agaggttccc aaactgtcat gattggtggc accttagta gttgatacgg tttggttgtg	20160
tcctcaccia aatctcatct tgaattccca catgttggg gagggaccgg gttggtggta	20220
attgaatcat gggggcagat ctttccccca ctgttctcat gatagtgaat aagtctccca	20280
agatctgttg gctttataaa ggggagtttc cctgcacaag ctctctctct gactgctgcc	20340
atccatgtaa gacatgacat gctcctcctt gcctcccacc atgattgtga ggcttccca	20400
gccacgtgga actggaagtc caataaaacc tccttctttt gtaaatcacc cagtctcagg	20460
tatgtcttta tcagcagtgt gaaaatggac taatacagta gtgcagtcat tttttcatgg	20520
tccccagtaa ggccaaaaaa tacccaacag ttccatttat caattagtgg aggccaaaca	20580
atttgataag tatttgtgtc cctataacac agtggctcatt aaaaaagac attttaattt	20640
cattattcaa taagcatgat tacttatgaa tgggatatgt gcacctgttg ggtgtcacat	20700
gaccttcaa atcttggagt cagattggac accaccatgc ccatttccag ttcaactctg	20760
atTTTTgtgt ggiacatgct tttatcaca gtgactgcca gaaatccaac ttcatatgga	20820
atcatgaaaa gggatgtagt gtgatctgat ttcaaaacta tgatcaatct agagctagtt	20880
tacaagggtg ctaacagtga tcaagtatca ctgtatttcc ctagaaaacc tgaaatatcg	20940
atgaattttc tgtggcactc tggggctcct tggggcacac tatgggaacc atgggattag	21000
gaccataagg atatgatttt ggcttcttcc tgcctcagat ctaatcttta cctggcattt	21060
ttgccttaa gatgaaagaa gcatacattt tgatgtattt aaagcacata ttcggccagg	21120
tgcggtggct cacacctgta gtcccagcac tttgggtggc tgaggcaggc agatcacaag	21180
gttggaaagt tgagaccagc ctgaccaaca tggtgaaacc ccactcttac taaaaataca	21240
aaaaatagct ggggtgtggtg gcatgtgcct gtaatcccag ctactcagga ggctgaggca	21300
ggagaatcac ttgaaccag gaggcagagg ttgcagtga ccaagattgc accactgcac	21360
tccagcctgg gctacagagc aagactctgt ctcaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaagca	21420
catattcatt ttgtcttat tcttttgaga gaaacacaga taaaagccta tcctttaatt	21480
catactcccc atactgtgat tttcattttt actgcaacaa attttgttca gtgtgataat	21540
gaatgtcaaa cacttaatgc cttgctcttt tcagtaacat gacatattgg agaataatga	21600
ctgaagctta tctacactgc ctacgtctgt tttcttccac cttgaaagaa gttgttgaaa	21660
gtaattaaga agtattatgt gtaaaactcc agggatgatg tgcttcaagg aagcaacatt	21720
tatgaagtgt tgtgcttgac tagtagttaa taaagaggaa agacgaatca tttattgtct	21780
tgggattgaa tcttggcaat ttttaaacta taaagttaca ggaaatgttg gctgctctta	21840
atggccatt tgttgtgta aaaatcagta atgagaaata tttactaggt aagtggaaag	21900
atccatctct ataaattgtt gtaacttacc attttcaaaa tcttagttac tcagtttttc	21960

[0011]

tgcttaaaaa tgaatcatg tagcactgta taagtcattc agttttttat tttggagaat	22020
tactctggat tgictaggct ctgtgctctc cacatatatt tttgaaatag tttgtgaatt	22080
tctacaaaa ctctctgctca gaattttcac tgagagtatg cttaatctat gggttaattt	22140
gtgagaaatt gatagcttaa caatagtgaa tcttctgac tacaagtgtg gtatttctct	22200
ccatttattt aggtcttctt tattttgata gcgttttgta gctttcaatg tacagatctt	22260
gcaaataatct tgltaaatat tccctaatt acttgatatt tatttttgat gctgttatag	22320
ttatatatta aaaattttga ttccaattgt tgctaataca tagaaatgaa attatttatt	22380
gacctcttat cctgtgacat tgataaacgc agtcataat tctgtagattt ctagaatttt	22440
tctatataga ctatcatata tatcatctgc aaataaagac ggttttacat tttcctttcc	22500
aatctctatg ccttttgttt ctttctcatg cctcattgtg tggccatta ctgaacggca	22560
gccagttcca gctttctggt caattaagga gcaggtaaaa tggccaggcc ttgaccttc	22620
agggggcttc cctctctcat tgccttctgc tgcctcagtt ctggcctaac agaacagtgt	22680
ggggaggagg catggctcctt acctactagg gcgttacttg gccttcttca ggttggttgc	22740
ttctgcaggt ttaagagctc acctgggctg cagttcagge taggttatct gctgacctgg	22800
ccctgtctcc cttctgtagt gtctgtgggg tacccttgta agctaggag aagagacaca	22860
cgtaagggcc agaaaaaaca gcctgccaca cagcttcctt ggatcatacc ttcgcagtga	22920
catgacgacg tctttaggag gcgccgaggt ggctgagtggt gtctccagac acctccctt	22980
acctctctgc tgtgccactg atgtgtgact tgcttacacc tatgcagagc tgccactgag	23040
cagcactgtg gccagtcctt tggattttct tctttctaaa ttgtatgccg tggcttgatc	23100
aagcatttca tatacagtag atcatgaaat cagcatagaa aacacattga ggtaggtggt	23160
gttaccacat tttatggatg agaggetaac acttggagga gtcaggtaac atgtccaagg	23220
ccacacagct agtgagtacc ctgctgaggg tcacactctg gtccatctga ggccagagcc	23280
tgtgccagcc ttctctcat gctgatagac gaggaaacag aaagaaggag cagtggacgc	23340
ccccaccctc tgtccctga accccttga gagtaggcag tggcagagcc agcctgggcc	23400
catctatggg aattctccat cgggattgac tctcttgaa ggaagacagt tgaccacag	23460
ttgagatcac agcagatggg ccagccaggg tgtctgtaga ccatcaggca gtggccactc	23520
catgtagttt aatggacaag cccttttaat ggaacaggaa tctaactctg aaccaagctg	23580
cttttagaca cacttttatt cctcactctg aaatggcgtt tggacaagcc aaatatttct	23640
tcttcttca gttgacattt tgcctatctt tgaactgtta gttgatgctt cttctgttta	23700
gttattctct tctatttttc ctgttgccac tagtccacce agggatggta agaattggaag	23760
tcaatggttg ctttttcate tgagatgcac cacgaaggct tgtcagtcag ccttgtcata	23820
tggctctgtc tcccaactgt ccttctttct gtttctctat ctgcagaatt tggagagtcc	23880
tggacctgat ctcaaatttc acatgttatt tatcttctctg cagcacgctg gggagaggaa	23940
gagacagga catagaaggt tggagctgga acagacttca catctcattc cagaggcatt	24000
tggctcatct tacagatgag gaaatggagg ctgctcagtg gactgaggct ggaactgggc	24060
cttcagtggt ccaggccaga tctccttga tctccttgt tgccttctctg gtgggaagac	24120
cctggaacca ctttatgtga ctgtgtgaga agggaactgc ctctcatttt acccagcaaa	24180
atccaccctc aatccatctt catttttgc cctgggtgtg gcaaattctc ccatacctaa	24240

[0012]

ttcaggaagc cagaaagagg aagtgagtta atgatacctta gtgggaaggc gctggtaatg	24300
gtccttcttg tgagagtttc tgaaacacca cgctgtctct gtgttctggc ctggctggag	24360
ttaaacctct tcttggcctt tccccaggaa gctggctctga ggaagcccag atgcgtttgt	24420
ttacagctgt ctggtgacat tcgccaggct ctgttttcag aaggaacatt tccattccct	24480
tatttacacc tcccattgga gtgctcgggg ggacacacca attatttgca actacctgga	24540
aacctaggag ggtagcagat ctgtaggagg ccagtgtga agtgagaagc tgtagatctg	24600
gtgacactgt gggcttggga gggcttgccc agatctgtta cttatactct ctattaagaa	24660
acttcagtgt ccatggagaa gttatttaaa gtctcgagc ctcagtctcc ccatatataa	24720
tatgggaagg atacctgatt ttctattcc acatgaagg agaaaaaatt aaattaaggc	24780
agccaatgaa agggttttga aagcaaaaat aataatatga tactgttctg aatttgtaa	24840
attattcttc caagtagttg cagatctttt tctgtacctt agaaaaaac catgctatgt	24900
aaaaggagat gattccaatc tttaaataaa gcaactcaga ggtaggggc taggacagaa	24960
aacggccctt tgttcacaga agcgcctcga cttccaagaa agcaagcgtg ggagaggcag	25020
gtgtctctcc cgatgtccct gtgccccatg gtgtcaagct gggttactat ggcccttctg	25080
gaccagtgcc agcagggatg tgggaaccag tgggtgtgaa gctgtgacgg gtcacaagag	25140
ggctgggacg tctcacagct tttacttata gcctagagcc tggggaaggg ttgccactct	25200
agtgatgaga gaggcgtgtg tgtgtgtgtg tgtatgcgtc tgtatgtatg tgtgcatttg	25260
catgtatata tgtgtgactg tatgtatgtg cacatctgtg agtatatgaa tgtgtgtgga	25320
agtgtgtata ggtgtttatg tgacagtttg tgtgtaaatg tgggtgtatg tgtgggtgtg	25380
tttatgcatg tacatctgtg ggtgtgtatg catagtgtgt atgtgtgagt ttgtgtgtgt	25440
gtgtgcattt gcatctctgt gtatatatgc atgtgtgtta ggggcaggca cacaggcctg	25500
ttggtaaatg agacacaaaa tacctacaaa atacaaaatg tgagacagga aatacaagcc	25560
ccagttactc atttttcagt gcaacagaca taagattacc atgtgaaatt gctatgaaag	25620
tttccgaaag cttcctgtca attcgtatg agcagctagc agaggagtgc gggccctgg	25680
agcctgcttg tgcaacgctg agctagtcca agggggaaga atggggtgca tggctctcag	25740
ctgcagacca gcctggaacc tctccagcct gccttagcag agacttgta agaggtagca	25800
gcaggtggca agattaggag ccggagtgtg aggctaaggc tgcacttcca gggacacact	25860
gcctctgcca ccaccctgct cagcaaaatg ggagcccagg accctgaatc tctagcagtc	25920
cgtttctgaa tcagttacct tgggtatgtg cctctggttg atggaaacta actttagacc	25980
ctgctgggtg agagcctcac atcgggacat gtgacagcct tgttgaaagt agctttggaa	26040
acgcccacca cgtggggcca ctactgtaa tataaacggt catgcatcac tgagcaacag	26100
ggatacgttc tgagaaatgc gtcgttaggc gatttcatca ctgtgggaat gttacagagt	26160
gtgctacgc aaacctagat ggcagagccc actccacacc taggccagat ggcagagcct	26220
gttgtttcta ggatgcacgc ccgtacagta ggttactgta ctgaatactg taggcagttg	26280
taacaatggt gagtatttgt gtattcaaac atagaaaagg tatagtaaaa acaatggtgt	26340
tatggtccgc ggcgtggctga aacgttatgt ggtgcatgac tgtaggtata aagcattaca	26400
gttgtttgat ttttctcttt ttctcaccca cagtcttaag gcaccttcta tgccttttgt	26460
ctgggatgct ccgggcaggg ttggaacgtg tggtaaggc atggcggaaa ctgctttggg	26520

[0013]

	gacagacgat ggcctcagct tgccttgggg tgtcagtggg aaagatagga gctgccctt	26580
	tgccttcgtg ttcttcgta ataatcicag atgtaccctg ctggtgggcc tctcctagaa	26640
	aaagccccgg tgctctttgc tcttgcggtg ttctcagga gggttgttg ttctttgtaa	26700
	tggtggggac tcaggaag gacgcaggca gaggtgatg ccacatcaaa aagggacct	26760
	tggtgggtg tggtggctta cgcctgtaat cctagcactt tgggaggccg aggcaggtgg	26820
	atcacctgag gtcaggagtt cgagaccagc ctggccaacg tggtgaaacc cggtccttag	26880
	taaaaataca aaaatacaaa ggtggtgggt gcctgtaatc ccagttactc agtaggctga	26940
	ggcagaagaa tcgcttgaac cggagaggtg gaggttgtga tgagccaaga ttgcgccatt	27000
	gcactccagc ctgggtgaca gactgcgact ccatctaaaa ataaactgaa aaaaaacaaa	27060
	aaacaaactt gggccatcag ctctctggaa aggctggtgt gaggttgaag catttgcctg	27120
	tgcctctgct caacgttttt gtggtgaacc tgagcaaaga ggttatcatt agtggatttt	27180
	actgccttac ctgggtgggc actcccttgg gaggtgatg gacatttga gctgagccca	27240
	ggtgggggaa ttgcgctcac tccgcttca gaattccaaa ggctgggcat gcatcttggc	27300
	ttctctaac ccatgtcttt ctctaggtgg ccacagcaga gtgtcattaa gtatctatc	27360
	tttgcctttg ttctcagggc aggaagatcc caacagttg cgccataaat ataactttat	27420
	cgcggacgtg gtggagaaga tcgcccctgc cgtggttcat atcgaattgt ttcgcaagta	27480
	aagagagcct tcctttttcc tataacctcc gaagcttca ccgccactag caaacatga	27540
	gagctatttt tgagatacat taaagtgtca aagtgtcact gaatatcttc ctacttaaga	27600
[0014]	taagtgtgct tccttagaa cattttccct attcactat ataaatctac attcttgacc	27660
	cttctgaatg tttaaagaac ctggtgctct gaagagattc tctaagaata ttttgaagt	27720
	ggaagttttt gatgcatgca aaaaattggc aggatgttta gtgtttaaata gctaagcccc	27780
	atatataaag gagcgtatggc taggtgtgtg tggtgttgc acaaccatt aatcaatgag	27840
	ttgaagcgtt cattttaagg tgctacagge ttaagtgtgt actccttggc attttaggct	27900
	tccgttttct aaacgagagg tgccggtggc tagtgggtct gggtttattg tgtcgaaga	27960
	tgactgatc gtgacaaatg cccacgtggt gaccaacaag caccgggtca aagttgagct	28020
	gaagaacggt gccacttacg aagccaaaat caaggatgtg gatgagaaag cagacatcgc	28080
	actcatcaaa attgaccacc aggtaagggt gttctcgctt gcagaggatg gttctcagat	28140
	gccccggaac acccttggca aaggcaccag agctctctga ttgcagctga ttctcggggg	28200
	gcactgaagc cagtctgagc cagtccacag agggccttga ggagatgctg agtatggcct	28260
	gggggtgtgg gagaggaagg ggctcaggaa aacttctgta aggagccaga taaaagtttt	28320
	taaaataatg ttttaaatgt ttgtcaaaga aagcaataga tttgtaaaga aattagtagg	28380
	taagtagtga aaattgattc tcttcccat tcccaatcct gtggcaactc ttgttacaga	28440
	ttttatttat cctccacaga tacatcatgc gttcacaatg aacatagaat ttactgggtt	28500
	ttagactgag ccatccttaa cttgtcaaca gttactttga aaacaaacca gctctcccaa	28560
	attggggttt tgcgggggta tgagatgtgt ttcaaaagaa gtgttcgtac tttaaacatc	28620
	ttgaaaact tgaattaaaa cagagctaat ggatttcttc ttccagacc ttctcagagc	28680
	tttagtatg ctagtgtgca cgtggcttgc ctacaaaagg gtgttgactg aactatttgc	28740
	ccaaattata atcatttgag tatacagctt tttgtggggg caggcagaac tgagacatac	28800

caaatcagt ttggaaatg ctgtattga aaatgcttc tatttaata ttctcttgc	28860
aatcattttt gcictgtga ttgcttagc aaagtctca tgtctgggac aatatcatt	28920
tcttactgac tcataaaaa cccccactg acacgtcgat gagagagggt ttgtttgctg	28980
tgtggcatgt tcagtgaag cgtggttcc agtttctca catecttata attttctaga	29040
cttcagatgg agggaacaat cagaggagc tggaaactg cctctgacca aggaaaagac	29100
cagaggetga gccaggtggg gtctcttgc cagccctctg cttgcctcgc tttacctggg	29160
tgtgggctga gtaattccag acaagcgtg aattaactg gctgtttgtg ctgttcagt	29220
gcacgtggt tacacctct tctgaaaca actctgcgtg tgctgtttgg gtgtaggat	29280
tccgggtctc ctctccgc tttttataac atcaagtgc tgcccagctc aggcctctt	29340
acggccagtc tcagaaaa caccagctaa cacatttact accctcctc cccgatgtc	29400
ctgtagcttc tciatggctg ggiggccagg catggccgaa gaggctctgg gtagatatag	29460
gcictgtgcc cgggtgtgt aactggcctt gactgaggct gcagtgtgt gttatttcta	29520
ttaggtcact gtggaattc tagcgacaac taatcttca aagtgtgtt attggtcaca	29580
ggattattgg gccagcctc gccttcattc tttttacct aatctgcata atagctgtgt	29640
tatccccatt ttagagaaga agaaacagg gctcagagaa gtctagtaac ctgtgtgagg	29700
ccacacagca aacacctcat gaccctgcc tccaaagca gcccatggct actgctggag	29760
ggatagaggc cggccccgtg gttgatggg acagcttgac cttaaacagc ccatgggaag	29820
gcgggtcat ctggttagg aacaggctgc tagaaagta tccaggatgt ggtagtctca	29880
ccgaaggag ccagtcagaa tagcacagc tgtggccacg cgtgggacct gttcagctc	29940
[0015] atggagcttt gggaggcagc cagcagcagg gcatgggctg tgtcaggcg aggcgctggc	30000
ctggacgcc cccccactg gtaactctg gtttgaatg cgtgggcaca taccgtcgg	30060
ctgcttctg cgggggata ttctttcca atttgagcc aaggtggaga ctgtctctc	30120
gtccatccc tggcatgtc tggcaagac tgaacgatc caatagacga gctttcaga	30180
gtgtgtctga cctgactct gctgtctgg gacttagct cttcagccag cagcatctg	30240
ttgacatgt gttcaagcc ccccaagaa ggtgcttga aatttaaat tgaactgat	30300
tggctttca aatggaatt ggaatgaaa ggatattaaa ttgcagacac ccacacaaa	30360
gactggttc cactgactaa actgctttt ttgctgata gtagttgaaa gtagggagag	30420
taacagcate tctccagct tttctctt ttttccctg tttgatgat gggttattc	30480
gggggaagct ctggctggc ttgctttgt tcacttagg gataacaaag aggatgaaag	30540
agatcaggaa aaccgagaag gcagaacaga accagcagaa actgtgctt agaatgaaa	30600
atcacctaca cggctcctg tcataatgaga ctgtggcca gcctcctgca aagcattta	30660
agagtaacce agtgaagctg gtgagactg ctgccgcgc cgtgggcca gtgactaact	30720
cgggtgctta tcactgggc ccagctcctc cctggcctc ctgatttca tggaggggc	30780
ccccgttgc cttcataaac atgtttatt cattttatt ttatgtttg agacagagtt	30840
ttactgtgc ccaggtgga gtgcagtgg gccatctcc ctcactgcaa cctccacctc	30900
caggactcaa gtgattctc tgcctcagc tctgagtgg ctgggactac aggcgtgcac	30960
caccatgctt ggetactttt tgiattttta gtagagacc ggttttgcca tgttggccag	31020
gtggtctca aactcctgac ctcaggtgat ccacctgct cagcctcca aagtgtggg	31080

[0016]

```

attacaggtg tgagccattg cgcgtaggctg taaacgtgat attcttgaga ctttcagtga 31140
aataagaatt gccacggaca tctgtgtca ttgtccactt gccactcacc tacccccttt 31200
tctggcagca acagccggca ttccacatgt ccatcatcgg acagcgtagg tgggaccatc 31260
agtcattggtg tectaccctc tgtggccaag gactggacac aggaccagct tagggcaage 31320
agaggtccc cttggaatcg caaagtgaag ctggatgcca cccacagaga ctaacatggt 31380
gaagctgctg tagccccctg tgttgagccc ccagcactgc ctgagttctt gcactttgtg 31440
agtccagttt aatatctgct tttcctccca ttcttgagc tcccctcaca tctccagtgg 31500
cttgaagtgg ccagagatgt ttctgggctt gtgaccaaat gactcctttt ctgcttctca 31560
ctgctgagca gacacatgtg cgctcacttt gcctgctgag tcttgggacc cggaagagct 31620
tttgggagac aatcacggac cagccccctc ttgcctgccc tgctgtctcc ctccaagcag 31680
gaggtgagaa ggtgtccacc tgcagccccg gccagcactc cttttctgtg cttctgcccc 31740
aatctgaaat tcccctctcc ttgggaccca cgactggggc cagcctgcct ggggagggaa 31800
tcccagctgc agaaagtcgg gacagtgtgc gtgtaaacad gttaatagaa agcagctttg 31860
agggcagact agttcagctt cagttacaaa ctctttccaa atgcgtttaa catgagccac 31920
tggtgtgctg cagcatatgt caagcttca tccaatggtg gcattttgtc cctgcggggt 31980
tttttttccc tgagcagttt ggggcagggg tggggacagg gagagagaaa agtaaaaaga 32040
gagcagtttg gtttcttcag gctggagtac aaggcagagg taatgggatg tattgaagaa 32100
ggtaggaggg aaagttactt tagctacagc tatttgtcca gctgtgctga ttaagaaact 32160
tggagaaaag catcttttga atcatgtcct tccatctta tatacagcct ttgcagattt 32220
cctgctgttc tgagagagat ctgaactcct taccaggacc ttgagggccc cacctgattg 32280
ggcaccctc actctctctg ccctctctc cttcccctc ctcccctct tctccacc 32340
ccactgctc tgetcagaca ccccttctt ggttgettcc cacaggccag ggetgtcccc 32400
tggggccttg gctgttcccc tcccaggagc gccctctctc agctctctat gcagccaacc 32460
ttctgtctc tcaggcctct gattaaatc tgccttagac atctctcccc acccctgtg 32520
gtgaggtagc gcccatgcc ccagtcctc caactcact gcctcacttt ggggacacat 32580
caccccaggg acaactgcat tccactctg gttttccct cctcgtctat ttatcacaat 32640
ttagagtgc cactactatt tgcacaatga agttcatctc tgcagctgga ctgcggggtt 32700
gggggacacat ccgctgtcgc gtctcaggt aggaggtgct tggcaacctt gttcagagta 32760
ggacgttcc agctgtctgc cccgaggaa gcaaggccac ccgccacatg gatggaattg 32820
aggggaaggc acccgggct cctgcatcga gcttcccctc tatattcaat gaggaaatga 32880
ccctgcagaa ggetggetgc agatgccct gcctcccgc tttgcctgct tggagtttga 32940
tggacacgtg gtctgtcag ggtacagca ggtctatggt ctttggtaac ggaaagcgt 33000
ggtgaaacag tgagcttcc cgtgggtgct tttccctgac gccacaacc aggtaaatat 33060
ttgaaacgg cttgtttgag gcttgtgagg tggtttctc cctcccctg tagcctgag 33120
ccaccccc aacccacgg ccaccttgg gccagatggc acccacagac ctgtttgaag 33180
tggccacaga gggagcctc tgggcgctgg ggccgctgtg tttgagagg gtctcttac 33240
tgctgagctg gctggtgcag tgagaaggaa ggccgacacc cctgatctc atcaagtca 33300
gacgggggtc actcggggtg aggggcctgg ggccttttac atgtcccggg agctgctgag 33360

```

[0017]

caggccactc ttctccaggc caccagaact tggccctgcg catggtgaat cttccctgag	33420
tcagctgagt gagggggttc aggcagcccc ccgggacatg gcagtggcgg ggagtggact	33480
ggggtggtgc ttgccatgac tcacgccggt tctcctcagg caaccggatg gtcagatgcg	33540
ctgactcagt ggctgagct cgtccaaaag cgaatcagag aacacagggc ctgggctcac	33600
ccgctgccct cttctggagt catctgtcac tcatcctcat gaaggaagcg cctgggagcc	33660
tggaatgcac atcgcactgc cccagctccc ctctgtttc tgtgttttc cattttggat	33720
tctttcccc aacgccttct gtactgggca ttttgtggtc tcttctttt ctccgagaac	33780
tctgagggct accattgcat ttgctaata tgccacagac ggtgttgacg ttatgaggct	33840
tctattactg tattgatttt taccattttt agggggacgg gaatcaatat ttcatgaggg	33900
aatgtgaagc cagacagtga agtagaagct ggcttttatt ttgtgccagg ctttgtccag	33960
aggcgggtgg ggacgtggct cctaagctct tgattgcagc tccttctggc ttgggaaacg	34020
ttcagttcc caaaactctc agaactggat cccctgtgtg ttctctggcc cggattcaag	34080
aacttagttg attgtcaagg aaattctttg gctatatatt tctcttaata tggtaatgcc	34140
tttttctact ctggcactct cttttcaggg aattggatta agactattat ttatgggtct	34200
gacaaagcag ttcccaagtt gttgggactg gattgttta ggaatgtctc ctgtcctctt	34260
cattgagggg ggaatacaaa ttgcttccat ttgacagttt atcaagtgtg tgacagagta	34320
tcagagtcca gggttggcca actacagcca gtagtccaaa gctggccctc tgttgttgta	34380
aataaagttt tattgggaca tggctatgct cacttattta ggtagagtgt atggctgcat	34440
tcagtctaca ccagcagagt taatagttg tgatgaagac cacgtggccc gtgaagccaa	34500
aaatatttgc ttctggccc ttacagga aaaaattccc agccccagtg gcaggcaatt	34560
aacacctgt cctcaggag ctgaaagtgg ctggaggcag gaatcttat aagaaccaag	34620
cgaggtgaag cactaggtgg ccgcgccgag caggaagaga agctgatttt gtttgcctt	34680
tcgtttgcca gagattgtgg gttctttttt tttttttttt tttttttttt tttttgcaga	34740
gatgaagctt tgatcttctc acaatagcag agggaggcct tatttttctc tatttctctg	34800
tgacattggt agaaaggact ttgtcagaat tccaagctat ttggcaatta tccaattttg	34860
agatcctaag gcatcttctg aggtctagtt tgttcattct tttagtatt ccttgttaat	34920
tccttgattt tataaatgtg tgttgaacat ctgtcttggc caaatacttc ttaggtgctg	34980
aggatgcagc aatagtgggc aaagccatgg ggcttaagat ctagtgtggg aaatgggtga	35040
tgtaaagtaa atatggcgat aagtacagt cacgaagcaa acaagtgaag gggtagaag	35100
tatcaggctg caaagacagc agatagtgtg ggcagggaat cttatctgag ggggtgacat	35160
ctaagctgag atggaaagga cagtgagagc cagccaagga aacaagtggg gtgacaagag	35220
ttgcaggtgg agttgcttaa tttcccactt ctgctcagcc tgcagatcct ggatcttggg	35280
ctaattgcaa actgtcattt cctcgtgagt ttattagaac cctccagaac aagtttctgg	35340
ttagctagtt tctctgtgtg ttgtctcatt tcttgttggg tctggttctt tggggttctt	35400
actcatactc tggaaagctc cagtgtctta agtagtcagt ctccaagag tctgaaagca	35460
caaagattca caatgatagc atcacctctc aatcatagca gcattgatgc agttccgtag	35520
ctggtttctt aaagccatcc agatctcttt ctgtggcaag agagaaataa gaccttctgg	35580
tgaattgagg actaattatc ctaataaaca tgcaattaa cagttccttt ggttaaacaa	35640

[0018]

agcaccagaa tctgataatg ggaacatgtg actcatggta tttccttctt tgctttatct 35700
 accaggcagc tcacagaaac cactggcctt cctgtgttc ccattttatg tcataaatat 35760
 atatttaatt aacttattat aaaaggccct ttgttcattg accataitcaa attattctta 35820
 tatagaagag gttatacatg ttttaaacat tttaaaataa atctgaaaag aatgctacat 35880
 cctgggcaac ttccctgcat ttgggctca aagaagctct atgtggttat gggtaatgag 35940
 gagccagagt gccttcaggg cagttcagca gatgctgaaa ggctgctgtg tgctgttcgc 36000
 tgggccacc aaatagagta ggactgagcc cctgtccacc atgacagccg ggagatacaa 36060
 gctgttcctt ttgcctcctt gagccctgag ctttatagcc tatagacagc tgaaaagcag 36120
 gctgcatccg ttaccagtc agttaccag acccaaatgc caggccttgg ctaacccag 36180
 ttattaccta attttaatat cccaatggat gttttaagac ctggctggtt cattcttca 36240
 tttatttact tattcattga ttttgaat atttctggag catctgcat gccacatgc 36300
 tgtttagca gcatcagcca ctctgaagtt ggtggatgaa aggggatgca tcaaaggcgc 36360
 tgatgtatgg aggagacgca agttagactt gaccaagaca atattattcc tcctctggat 36420
 gccccgaata tatacagtc ttagctgtcg ggccccatg tggcactgtt gacattttgt 36480
 ggtttaaaca ctgaagagta agggaatatt ggaatggca aacatctgat atagtgtaaa 36540
 ggagactaaa tattttgatg gtgttcataa acaccgagga gaaagtctt ttcatttttt 36600
 tcattttgtg gctctctctt tctctgtttt tgcacactgt cctctgttct cctctcctt 36660
 ctctttttcc tttttctcc ctctctctcc ccatttatct gatctctccc acctgaacce 36720
 ctctaccctt gctgccctcc tctcattctt acctctctta ctccccccc tagacagtag 36780
 taatcacatg tcagttggag aaacatgatg gcaacttggc cacaccgttc ttctcagtct 36840
 gtatatgtcg gtgatctcag tgccatctg gcagatcctt cctgccctgg ctctctctct 36900
 cactgcgacc accttgact ttgtgatcac tgataacctt caccttctct aatctaaatc 36960
 ccaagcttct cactcttggc ccaccacctc ccagccttgt ccgttctgaa ccctgaacgg 37020
 aagctgaatg gaacctgaa cggaagggtt ctgaagctgt tcagaacctt gaatggaagc 37080
 tgaatatca atggccatt gctttcaca gtctctgtg aaagattact ggccaagcca 37140
 gcatctggag aattcctggt ccaccacctc cctgtctgga gaagctgga cagccagctg 37200
 catgagcatg tgacctgtt acicacagc cctgtgcctt gagctcctg ttttaatttt 37260
 atctttgaat ttgtattttt gtgaataaag ccctatgagc taatggagca tgctcagga 37320
 acttggggct ttagctcagg ctggattcct cctgctgcct cccagctccc tggctcccctg 37380
 agaactccag cccatctga ccttccctt cctgtctctt tgcaggggtc attgctacce 37440
 tctatccctg gaaaggatgt aggcacaggg cagttctagg ttccagcttg ggcaccgctt 37500
 aacatcttgg tgggtcaggg atcaggctga tgataccgtg gttgttctgt gggctactgg 37560
 gcagggtcaa gccactccca cctgatcca ggtacctaat gcacccgaca cagaagcggc 37620
 agtgtccttg gggctatcca ttatccatgt gttggaggag tgggacccta ggaagatgc 37680
 ttggctcgac ttccccacc ctagccaggg cacaatcaga ggtccagggg ctggtgggca 37740
 caatgccaa tcgtgagcc tccagtgtct gcctcactg tccataaat aaccacagta 37800
 ataactagca aatcaaaaac attgtgatag gtcgagagag acagcatgtg gaagaaagga 37860
 aaaagcttc tattttagta cctttaacag tgetttctgt atgctttatg aacaaggagc 37920

ctgcattttt attttgcact gggctctgct aatttttag ctggctctgc ccctagtag	37980
ctcaagtcag caaatctttg gttcatctga gtccacagtc cgctgaccgc ccctttttca	38040
cagttctcc cctgcccagtg tgctcacttc cctccttacc cagcttggcg cactccctca	38100
agcaagtcct tggatgctga catccccctg aaacaacctt tctgcccctt ggtttgattt	38160
tccttaggag acatgcaagt tctatagcac tgtttcttgc tgggtatgga ggatgtgcta	38220
ttttgtccat tgcataattt ttaaagaaaa tgaaggtta gcataactgt ttccagaagg	38280
cacattgaat cactcagttg agtcccagcc agttgctgca atgttagcct ttgaagcaaa	38340
cttgaaccaa cacaggacca gcctagaagt cccagcctcc agaatgatg cagtggattc	38400
tgacattca gcaacaacaa ttttttga actcaagagc acttagtaat tttcaaagga	38460
gagaaagaag taattgactt ggcttattag gttgaaaaag agttgccaac tttttcttg	38520
gttttgatgt tattggtttt tttttatttt tcttttctcc aagcttcagg gaatgagatt	38580
gaatgagcac tcaagtgcta ctaggcagaa ccctgaatgg aaggaagctg aaataccgat	38640
gggtcattgc ttttcacagt cctctatgaa agattactgg ccaagccagc atctggagaa	38700
ttctaggaac gccccctct cttgcagcag tataagtttg cggggatcat ctgaccccat	38760
tggggagtgt tatgaaaaag gggatttatt ggggaccctg ttgcctgttt ggatcttact	38820
tacatttaac tattgtctgc taatggattt tttgaaagc aaccagttt tccgtaaaga	38880
atagctaatt gtcagagctg agatgaccat tggagatcac tgggctcaac tcctaattt	38940
tagaggtgct aaaaccgcaa tcagagaag ctaatcaagt ggttcaaggt ttagactga	39000
gttcatatag gaccaagacc cagcccagat gtcctactgt ctgggacagt gttctctcag	39060
catacgtgga gcctgagggg gtaatgtgtg tgcgtgtgtg tgcatgtatg catatacaca	39120
taggtgtttt gcctaagttt tcaactctgc cccacctgg ttgatcttgg agaatacagcc	39180
tgaggcgcgc tgtcaacctg ggggcctcat tcagcacagc cccaactttt ctgccctggg	39240
ggagtccagc cagttatggt tcatctgtgg ttcagttatg gaactcacac cacacatagt	39300
gcccccaaaa ccgaggetgc gtgcacagac ctccccccc ttcccgtggt gggccccctgc	39360
ttgggttctt cctaaacttc ccttttgcct tgctctgtgt tatacctctt ctggtcccct	39420
gtccctgtgg agtgatccgg ggcacaaggc cagctgtttc cccctgacc tctgtgtgcc	39480
ctgagcatct gggaggtggg gacagcctg gtgagaagaa cacctggagt ggaggttggg	39540
gtcagggagg gtcccagtc cggtaccacc cccacctgct gtgggacctg cagtcccctc	39600
atcagcagaa cggtatgaa gccatctgc ccatccacag ggtgggtggg cgtgaaggct	39660
gcatacctgg cagagcggga gaagctctgg gaagatgccg gacacgcgc gtgggagtga	39720
tttcccctgc ttgccagat tctgtctcca tcacctgaac ctgectgtca ccaccatgga	39780
actgtgtga ccattgcttt ccttttaagc agattagcag acatctctctg ctccaccctg	39840
ccaacaacaa aaacaacaa gcaacaacaa aaacaaaaat gtgcatgagg gagtatggac	39900
tttagtagtc ttttctaac attgttaggt gcttgtattg ggatcctctc ttaaatgaa	39960
ccatattccc caggctttgg atgacactca tggttgcccc cctccaact tcctccctg	40020
ctggcagagc cctgggtttg ttttagttcc aacctgacc ccaccgatt cctgactcag	40080
gcaaattcgc aggttccaat gcagtcaggg gagccacggt cctcctcca acgagtctg	40140
aggtcgtctg ttgattggat actgccgatg acctacgagg agggggtgc cagggcctt	40200

[0019]

ttggacttt gcttttctgg agagatgctt ccacagcatg gtcattggaca cagtcacgtc	40260
ttgatgtgat gtctggaatg gtggtgccg tcttgtggct gtgagaacag gctgaggttg	40320
atiggatgga gggaaggaag gagccttggtt ctgatgctg tctgtgagcc tttgagttat	40380
cagcctggta ccaccagcc ctggacaga tatctactct acatactcca tttggagttt	40440
ttttttttt ttttttttt ttttttttt gtcacttga gttgaaaaca ccctaattga	40500
tacacacaaa ctatttttag tgctggtctg tgtttggccc ttatggaaga ctctgggctg	40560
agctgcccat ggtgaggag gtggacttg tgttttctta ctgctctgtg tcctgggtggc	40620
ttgtttgtg ctctgcccat gagacaaaag ccgagagggc aagggcagat tttcttaatc	40680
atatgttccc tgcaccaagc tcataggaga cactcactga atggtttgtg agagagtctt	40740
ctttcacgga ggcaatgttt tigtgaaacga tgctgcttgt tgttgtctgt tggttgtaat	40800
atgcatgaac actaagagcc atctttaatc atgctgtggg ccgctcttc caaggtgtta	40860
gcattactcc cactacctgg tcagcatcct gcctatggct aggactttgc aatttacata	40920
gatatggtgg ggagacctgg agcccatggc caggactctg acaccctcac tggatctgtt	40980
tctacatcta cctggatggc cgtctaggac attagaggat ttgtgtcttc ctaaagtccc	41040
tctgttgaga gacttctgce tctgttaaga ggacactatt tagcattgtg agtcctgca	41100
ggctgggggc cagtgggcgt ttttcttcta gatccccct ctcttctctt ggcctcccag	41160
gcttctgct cctgagattg tgagaactgg cctgtgctgg gctcactgca gaaagactgt	41220
cgccccaaa ggttttgca caaacttgag ctacaagatc ttttaggggg acctgagatc	41280
tccgcctggg ctctatgaga gcaggcatgg gttgtttttg ccccgctact gcagtcatgc	41340
[0020] ccacacttgc attttctttt cccccagca gtgtgaggat ctggcatgag gagtgggact	41400
cgcgtgccct ctttcttctc ctcttccctc tggccttttc atccgtcagt gggggacaga	41460
tgtttgccct gtttacttct agccttactg tggggctcca gggagatggt gaagtggcca	41520
aggagaggag ctgccacctt caagacggcc tgtggccggt gccgctttaa agggagactc	41580
agaggtgctt tgctgtgggt ggcgcgggaa ccagcctggg gacagcagtg cagaggcctt	41640
ggactcagag tgcgtgggcc ccgcggggct tcacggcgcc tgtggtctgt cacttccagc	41700
catatctgtg ctgcatctct tccacattcc cccatggagc tgatgtctag acagctatgg	41760
aattaaatgc tcaattaccg agtaggaatt tggccagcag aggtatagct gctgagtaga	41820
cagactcgag gtgaggctca cggctgagaa caggccccat ctggctttgg aatgagctga	41880
ggtgcccgat gctcctgcag ccagtggctc ctgtggggag ctggggccgt gacccccaaa	41940
aggcagcttg acctcatgga ccaccataaa tctggcctgg tcaacatctc tgccagacat	42000
cattcccttg caaagatttc tgctgtgat tggaaattctg gatgaacatg tactgggcgt	42060
gtgggtctga cagctgggaa gcttgttctc ttgtttagcc aggctgcccc tcatctgtaa	42120
gcctcagtat ccacatcttt aaaatggggg gaaaatatag ctcaactcct aatggtgcca	42180
tgagaatact ttgtcacctg ccaggcaaaa gcttattcct ttcacagaaa tccagggttt	42240
acaatgtgag acccctcccc actccgccgc atgtgtctgc ttgctttttt ctgtcttagg	42300
gttgcccttc atgagctagg aaatgtctga gtggatgaaa acctaaacga gatgatcact	42360
ggtggtgccc attggtgcag cctttgccta aatggctact tacgtagcca catttctcg	42420
tctgtgttca ggtgaggact ggttccctgg cagactgcct gggtttgcat cacgggtgtc	42480

	catcttgcg aagcccatgt ggtcacccaa gtgtgactga gccaggcttg cccacggggt	42540
	gccttgggcc ccattttcgg cagcaggcag cgtcccctgg aggccctggc ctccccggga	42600
	gcatggggag tagcgcctat gggcaagcag cctgcagcct ccatccctgc ctgggggctc	42660
	ccccgcccc gectcacagc ttctccaaaa gtgtttgtct ccttgccgca tcctctagge	42720
	ctgagctcag acggtggaaa agaagagctg gaaggagagt tgcctttcag tctctctgcc	42780
	ttctgaggtc tectgagaca tagagcctgg gectgcctcc ctttctagga ggcgccaagg	42840
	ggtggtaaga ataggggatg agtgagatgt gaattagatg cccacagca agccctgcct	42900
	cgtaacttcc tgatgggttt tcaatgtgtg gtgaagcaga cgcctgctgg gccccctcc	42960
	tgagttgagt ttgacctct gectcctgct tatctccttg ggcagccagg ccaccccgt	43020
	ccattaacct gtgccacccc atccctttac ctgtcgcaag cccagccctg aaggcctcaa	43080
	aggcctggtc ttccagccag tccagggcct gaagggatgg cagtgtccct ggtggacctc	43140
	ccctgggtg gcctagtgca catcccagcc ctgcctcctg ccccgccctg acgccatgag	43200
	tgetgaagtc atgcctggca ggggctgctg gccaggcccc agagtaaaca cactgcgctg	43260
	agctcgtggt tgtgctgctg gatgctgatg agcttgagga gtgtgggaag tgagcatggg	43320
	gctgagtaga gatgggcag gectgcacct ccccgagct gccctgcatg ctccagcctc	43380
	aggcagccac acagggaaa ggtcacccac tgcagggca gacctttacc atggctgggt	43440
	gacacgggct ggctgtgaa aggtgtttgg tggttcccgc tgttgattt gcacaggccc	43500
	agatgctcac agcaaaacca acacctagat ggtgcttaca ggagccagcg ggtattcaaa	43560
[0021]	gagctgttca gatcttaagt tgcttcttc tcacagtga ccattgaggt agctgtacgt	43620
	tagtcccatt ttccagatga gaaaactgag gacctgagtg gtcataagct caggccctca	43680
	tctaaatcac gcagcctggc cccaggtgtg tgctcttgac catggacagt gctctcctgg	43740
	tcctcttgg atctgtgac tgagggacct tcctcctcct cagtctcgt tagtcagttt	43800
	taggtcttgg actctgtctt catatecctt tctccccttg tgagctttct caccagcac	43860
	cttcttatt tgggtgtgtg tgggggatat ttgtggtgtg gcgtggcact gtgtagtgga	43920
	tgagagagtc tgtttttccg atcccagtc caggtttcaa accctgctct gtctcagtc	43980
	accagaate ttggaccctc agtttctca tctgttaaat gggcatggtg gtcacccac	44040
	ctcatcagct agtgtctgct ccatccctgg tggaggagat gactcaagta acccctgggt	44100
	tccacctgcc ccaccccact ggtcccctgg ctctttctt gttgagatag acgaatgtga	44160
	ggctctggag ttgcagttcc cagcagggct ggggtggctg tctgatttct ggcctggtc	44220
	catgttgttc agggcagctg ctctttctaa gtgaataaag gctgaaggaa ctcgggaggt	44280
	ctgctcggct ccgaggaagg cagagagga aaggccccg atgecttccc tgatagagct	44340
	agggaggccc ttctgtggtt cccccagct ccttggcctg ggtgacctg gagctggctt	44400
	ctgttccatt ttgtgtgca gattgtttg agactcctgg ctttgcctgg cctttgtggg	44460
	acgctggaga tcagggttcc tggagttgac caattagcct gccagacca ggaagcacag	44520
	gtggctgaca gagggccgtt tcaggagagg agagacagcc tacctattcg gtcttgctgt	44580
	ccccatgctc catccctgcc cctgaccagt gtggccctgt actcagcata ggcgtgcacc	44640
	tgagtcagta cagtccctg cccgagagc accccaaata ttccagcct caggacggat	44700
	gtgcacatga tgagtcgggg caggtttcac tgcctgtagc ttgggatcct tcctggggc	44760

ttggttctct agggccatcc ccagcagtct caccccaaac cctaaattca tgttgtcttc	44820
ctctgtctct tggcctcaag gtttcagagt gagtctgtgc tgatagcttc aagatgtgat	44880
gagacccega cttggcctcc agttacctcc ccacggtttc cttgggtgtg gtgtggcttc	44940
agtgttcaact ggetccccga cggettgcga tgtgtggatt acgggtggga gggaaatcca	45000
gtctgtcccc cagcaaaagg atgttagttg tgagctcagt tccccaccgg gcctgggtgtt	45060
tccaaatagc cegtcaactgt cctgtcttgg ttttccatga tatctgtgcc tttacctatt	45120
tggttaaatt aaaccaacte agcaacgcca gccattgtgg tttcaggga agctgcctgt	45180
cctgtctctt gcccgtcct cagagctgag gccgggagag ttcgtggtcg ccatcggaag	45240
cccgttttcc cttcaaaaca cagtcaccac cgggatcgtg agcaccacc agcgaggcgg	45300
caaagagctg gggctccgca actcagacat ggactacatc cagaccgacg ccatcatcaa	45360
cgtagcctc tgcctctctg cgggtgggga ttggggcaga gttttgccag ggggagagga	45420
gtcagcatag gtcttagccc ctgactttgt ttagtctgct gtgaagggat ggaactagac	45480
caagccatgt ggattctagt gccagcagca tggcaggggt cacatggcgg ggacggtgac	45540
accggagcag gtggacagcc agcctctcc caggaggaag aagtgttatt ggggtcttta	45600
gggtgattgc agttggcttc tgggcttcag agagaaaatc tcctgttta cggcactct	45660
aaaactttct gaaaattgtt aaggtcattt tttccggca aaatattag ttaatgggaa	45720
tgaatctcag agaagaatcg tgccccccac tctagccacc gtgctcagga aacgaccagg	45780
caggacata gattgaacca tgttatgaca cgatttgtaa cttttcatt tctgtttaat	45840
tgcagtatgg aaactcggga ggcccgttag taaacctggt aaggtctttt aaacctatgt	45900
taggtcattt gtttttatct atgtatacgc tgtttttgt ttgtttgttt gttgtttgtt	45960
tgtttttgag gcagggggtc tttcaaaaca taaggttgc aaagtgtatt ataaattcct	46020
ttaaaatgac tctgtaaatg tactgcgtgc ttgcaaatga ccctacggat cttttctgga	46080
aagagtaagg caggccggag gtgagggttg gaaatgttat gccagagaac acacttgtgt	46140
ctcagagtta caggtaaaca ccgtgaaatt caggccaat gcaggagtaa ggtgaaggtc	46200
actaaaaatg ctggccagtc accgaaagca cctcctcaa attaaatctc ctggctgct	46260
gaaggagctg gctgggctca tacacatttt ctcttgcca ggaatcctcc ctttaaggct	46320
ggctggaatg aggaggagt acccaccac aaagatatca ctttaagtct ccctaaata	46380
cttgagcaga aaaagtgaag cttagaaca cagaccagca gagctagagg gcagctctgg	46440
ggcatttat agagggcagc tctggggcca tttatagagg gcagctctgg ggccatttat	46500
aggggctgct ttagcaagg ccagtgta tggcacctcc tagatgtgct cttggcatca	46560
ggtactgaca tctcagcaact cctgggaagt gtgcacttg cagcttctc ttcccagcag	46620
aggggcagct gtgctcccag ctctgtcctc tgcctcccc cgcagcactt ggggatggag	46680
tggagatgac tttgctggtg atgaagcatg acagccctaa gctctagggt tgtttcccc	46740
tgaagtccag agagtcatct taagatcatt agacatggga gaagcaggaa ggtgtgggca	46800
gccacctaaa ggagtttgag ctttgaaa cgtattcctt gtgaaacagg agcaaatcat	46860
atcgtgcatt ttgaaatct ctgtgcttac cgtgaggtga gcaccagtg ccgacctgga	46920
gtatgtgcga ttcttcaca gctgcgctg gctcgcgctg cctgggtgct ctgatcctc	46980
tcctctgct gccacgggga tccctcctt gcattctccc acttcgatct ctgaaatagc	47040

[0022]

tcagggactt	ctttcaggca	tattctctct	gggtgtgtac	ctgccggtaa	agcttcacga	47100
ttcagtaagc	cgltgccttc	ttgcttttca	ggacggtgaa	gtgattggaa	ttaacacttt	47160
gaaagtgaca	gctggaatct	ccittgcaat	cccactgat	aagattaaaa	agttcctcac	47220
ggagtcccat	gaccgacagg	ccaaaggtag	gcaaggccca	cacagccctg	gggactccgg	47280
agatggggcc	tgaagctcag	ctgccctttg	ggacttgggg	aagggaagaa	cggcagcccc	47340
taggactagc	caagccgtct	ctgatccaga	agtgaacggg	aatgcacatt	actaaatccc	47400
tcgcagaagg	tcacagacat	ttcaccattt	ttgtcctctg	atcatggcaa	tgctacttga	47460
gtcagtctaa	tatgtaccag	gcatgatcct	aggtgacttg	tgtacattat	ttcactttct	47520
ttatgtatgt	cacttaattc	ttttgccta	tcagtttaga	attactagtc	ccatttttct	47580
gatgagaaaa	cggttcaggg	agatcattct	gcaaactgtt	attgccccat	ctgctctaag	47640
tcaagcaggg	agcttggcag	tggacagctc	aactggggcc	tggggctcaa	caggggcctt	47700
tgccgggtgtg	acttttatgt	tctgttgggg	gatgggaagg	ctgacagtaa	ataatcaaac	47760
acataagata	ctattagtgc	tccaagaaa	acggatcagg	gtggccgtca	agggagcgac	47820
tggaggggca	gctggtggag	atggtgtggc	caggaaatgc	cttccaagct	gaggtctgag	47880
tgaggaggaa	ccagcgggca	gggatgtggg	gggaactctc	cagaaggaag	gacagaggac	47940
tcagcatagt	tgagtgagca	caagccctct	gaagtggcct	gagggccgga	gcacagtgac	48000
agcatggagt	tccccggggt	gaaagaggc	caagccggg	cgagcaggct	cacagcaggc	48060
cgtagtgagg	gacctggggt	gcatcctaac	gacatttaag	aacaggggaag	tttatgatct	48120
[0023] gattgatgtc	actgaaagga	cactctgatg	gctgcgggga	gtctgctgga	ggggttgctg	48180
gaagtggggg	accggttaag	gggctctccc	agccatctgg	atgagacatg	ctggggtctc	48240
agacaagggg	ggtggcagtg	gaggtgggac	agaggggtca	cattccagat	atatatgggg	48300
ggtagagcaa	gcttggggaa	gggccagctg	tcaggatgag	gccatgagga	attaagggtc	48360
atgccaggt	acctgacct	taattgaaac	aatgggactt	tccaaggtc	ccccagagg	48420
gaggggtcca	gaccagatt	tgagccgcaa	cctcagtgt	cccttctgtg	gcccttctg	48480
caacctgggg	gattgggccc	ccggcccctg	gtgtcccag	cacccccacc	aactgggctg	48540
accttctgct	gtccctttgt	tgtctcacca	ggaaaagcca	tcaccaagaa	gaagtatatt	48600
ggatccgaa	tgatgtcact	cacgtccagg	tgggtaaca	ggatgcgtgt	ctgtgtctta	48660
aattttaata	aacctgaact	tcagaagggtg	ctcacgggca	cccctgaaag	agaaacctta	48720
tgctgcctta	agacgtctca	gtttctgctt	ataatgaagt	agcatcggga	aagaggacag	48780
gtcattagcc	tggcccctt	tgtttggtt	taacctgtgt	ttttgcatc	tgagctggtt	48840
ttcttactg	gcagcaggcc	ctccggtgta	gaaggttctg	ccctcctctt	tgaaggcagg	48900
cctgaacagt	gtgtgcgtgg	tgggctggtt	gattcactct	ggctcacgct	ttccttacct	48960
cacattctgt	tgaaacccac	attccaggag	ggccccaaagc	ccctcccga	gctctaggca	49020
ctctgcttct	gttgcctctg	agctcgtggg	ccgcgctcc	aggaatgcca	gggcaggtcc	49080
agcgcaggga	agtgaatgac	tgatgtgctt	gtttccccg	agctgggtgga	attgcgccct	49140
gtggttgcca	ggctcatggc	atcctggtgt	tctaaactgg	atgaaaatt	ctggtgtaat	49200
ctcatgagtc	ctggtagtag	actcacctgg	catggctaaa	actgtcagag	gtaaagtagg	49260
taaagactag	aatatagtaa	agatagatt	aatgtgttca	ttactatgat	gaattaatga	49320

ttcactcact gtgaaagtat taatatattt tgatacatgt tatgaatggt ggtccctttc	49380
ttagcactcc agaagatgga gccatttgtc aaggttaaag tgtccctca gttgtttgcc	49440
tttggaaacta cgaggtgtag gaaagatgg taagcccttg gtgcccagct tcctgggttc	49500
ctgtccctgc tctgatatgt cctgccttgt gaccttggga acgatatgac ccctgagtgc	49560
ctcagtttcc tectcttcag gatagggatg acagcgcagg tgcttctgat gtgtggccag	49620
gctcagatca gggagtgggtg gcaggggtca ccagccacag tgatgccagc cactatgtat	49680
cacacgtact gggccagggt ccttactggg atgatctcat ctgatectca caactcatgt	49740
tgtagggtac tgttattatc cccattttgc aggtgaggaa atgaaggcac agagaagtta	49800
agcaactgtc cgaggtcaca cagctagcaa atggccgagc tagggctgca aaccaggcca	49860
accactgtac tttactgact ccttagtaat agctactatt aattaagaaa taataacaat	49920
gatgatggct ggggtcgggtg gctcacatct gtaatcccag cactttggga ggccaaggcg	49980
ggcagatcac ttgaggccag gagttcgaga ccagcctggc caattttgta aaccctgttt	50040
ctactaaaaa tataaaaaat tagccgggct tgggtggcagg cacctgtaat cccagctact	50100
cgggtggctg aggcaggaga attgcttga cccgggatat gtaggttga gtgaactgag	50160
atcgtaccac tgcactccag cctgggcgac agagcaagac tctgtctcaa aaaaaaaaaa	50220
ataaataaaa aaaaataata aataataaag cactttcctt gctgttacca agtaaatctt	50280
tgactctggt agacaggcaa ttttaatttt aaaataggat cagaattcct ggaggaattt	50340
taccttagac ctaaggagaa gacgggaact ggtgagagct gagttttgcg tgaggaaggc	50400
ctggtgtttc ttcacactaa cacgggtgct ttttctctgg agcagcaaag ccaaagagct	50460
gaaggaccgg caccgggact tcccagacgt gatctcagga gcgtatataa ttgaagtaat	50520
tectgatacc ccagcagaag cgtgagttgg agtcgttttc tcttttccca atattcttgt	50580
tgttctctgt ggggtagcag gaagagggag cgcgtttcct tttctactgg ctcagatgat	50640
tatgttgate cttgacagac gtggtcggac gttgcttgc atctctgctg gccagcctt	50700
ccgacctggc tggctcggg actcatccat aggaggggtc cttctgtctt caaaagtctt	50760
tgctccacga ggacctcca gatggacaga gcaatagcag actcgtaatg agtctctgag	50820
atggcccggc tggccagaga gaggtttca ggaacagtgt cccaagccc tcaacttggtg	50880
gtccttttct aggcctcagg acccttctct tcttgagtc ttccagaatg tctctgacaa	50940
ttaggccccat acctgtcaac acctccagaa aaataaccca agtgatatca aagtaacatg	51000
acaagaagta gctcaacat ccatcagggt ttgttacctg tattggcgga atatccagag	51060
aaaagtgcga gaccaggagc cagcaaatgt gccttggggg ctggatctgg cccactgcct	51120
gcttttatat ggagctgtgg gctaagaata gtttttgcac tttattttta tttttactta	51180
ttttttattt tcataggttt ttgggggaac aggtggtatt tggttacatg agtaagtctt	51240
ttggtggtga tttgtgaggt tttggtgcac ccatcaccca agcagtgtac actgaaccca	51300
atltgtagtc ttttatccct catccctgtc ccagccttcc ccttgagtc cccagagtcc	51360
attgtatcat tcttatgcct ttgtgtcctc gtagcttagt tcccacttat gagaacattt	51420
aaatggttga aaaaatcctg aaataagaat agtattttgt gacatgttaa atltgtatga	51480
aattcaaatt tcagtgctca ctgtaatttg gtttatgaca tctatggtgg cttttgtgct	51540
ggaacagcag agttgagtag cttaacaga gaccatattg actgcaaagc ctaaaatatt	51600

[0024]

tcctatggag ccctttacag aaaaagtttg cagacccttg tgctagccca tgaaggacca	51660
tgacagcggtt ttgacgctga gctatataag agctacagtt atagtggcaa ccacacaaag	51720
gaagtgcctc ttaacagaaa cattccgccc acccctatag gaactgcatt ctgagttgca	51780
ataccatta taagcaagtt ggccagatag tggccaacta tetggcagat atctggccaa	51840
ctacgtgga gatagtacct ggtacatcct tccccacttt ggggtcaatc ttgaccttg	51900
atctccttgg ggtcataaag ccacacaagt gttagtaggc atttctacag tggacacaat	51960
ggatgattta gcctaaaaat ctcaaaagga gccagcacc ctggcacatg catgtaatcc	52020
cagctactca ggaggctgaa gcagaaggat cccttgagcc caggagtctg agactagctt	52080
gggcaacaat tgagacccca tctcaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaag agtggggaaa	52140
aaagaacatt attaaaaaa aaaaccttaa aaagtaatcc aatctaccga tggtttattt	52200
tttattttat tttattttt ttgagatgga atcccactct gtcaccagg ctggagtgca	52260
gtggcacaat cttggtctac tgcaacctcc acctcctggg ttcaagttaa tctcttgct	52320
cagcctctga gtagctggga ttacaggtgc ccaccacaa acctggtctt ttttttttt	52380
ttttttgtaa ttttagtaga gacggggctt caccatgttg gccaggctgg tcttgaactc	52440
ctgacctcag gtgatccacc tgctcagcc tcccaaagt ctgggattac aggcatgagc	52500
caccgtgctt gaccactga tggtttgaat tattctaagt tggccaccgt ccaatcctgt	52560
ttgctctggg cttttaggtt ctaagctgtg cctctgtcca tgtaaagtca gaccaggagg	52620
aatggaaca cgaacattg ccattgtgtt tccctttgtg ttgcagtgtt ggtctcaagg	52680
aaaacgactg cataatcagc atcaatggac agtccgtgtt ctccccaat gatgtcagcg	52740
[0025] acgtcattaa aagggaagc accctgaaca tgggtgtccg caggggtaat gaagatatca	52800
tgatcacagt gattcccgaa gaaattgacc cataggcaga ggcatgagct ggacttcatg	52860
tttccctcaa agactctccc gttgatgacg gatgaggact ctgggctgct ggaataggac	52920
actcaagact tttgactgcc attttgttt ttcagtggag actccctggc caacagaatc	52980
cttcttgata gtttgacggc aaaacaaatg taatgttgca gatccgagg cagaagctct	53040
gcccttctgt atcctatgta tgacgtgtgc ttttcttgc cagcttgggc cattcttct	53100
tagacagtca gcatttgtct cctcctttaa ctgagtcac atcttagtcc aactaatgca	53160
gtcgatacaa tgcgtagata gaagaagccc cacgggagcc aggatgggac tggctgtgtt	53220
tgtcttttc tccaagtcag caccacaaag tcaatgcaca gagaccccgg gtgggtgagc	53280
gctgcttct caaacggccg aagttgcctc ttttaggaat ctctttgaa ttgggagcac	53340
gatgactctg agtttgagct attaaagtac ttcttacaca ttgc	53384
<210> 3	
<211> 2123	
<212> DNA	
<213> 食蟹猴 (Macaca fascicularis)	
<400> 3	
atgggctggg ccgcgcgcc gcgcgactc gcaccgctg cccccgagge cctcccgcac	60
tttccccggc gccgctctcc ggccctgcc ctgtcagccg ccaaggccgc cgcccccgc	120
agagtccca tgcagatccc gcgcgccgc ctgtctccac tgctgtact gctgtgtctg	180
gcggcgcccc cctcgccgca gctgtcccgg gccggccgct cggcgcttt ggccaccggg	240
tgccccgagc gctgcgagcc ggcgctctc ccgccgagc cggagcactg cgaggcgcc	300

cgggcccggg acgcgtgcgg ctgctgcgag gtgtgcggcg cgccggaggg cgccgcgtgc	360
ggcctgcagg agggcccgtg cggcgagggg ctgcagtgcg tggtgccctt eggggtgcca	420
gcctcgcca cggtgccggc acgcgcgag gctggcctct gtgtgtgcgc cagcaacgaa	480
cegggtgtgc gcagcgagc caacacctac gccaacctgt gccagctgcg cgccgccagc	540
cgccgctccg agaggctgca ccggcccg gtcctcgtct tgcagcggc gcctgtggc	600
caagggcagg aagatccaa tagtttgcgc cataaatata actttattgc ggacgtggtg	660
gagaagatgc cccctgcccgt gttcatatt gaattgttc gcaagcttcc gttttctaaa	720
cgagaggtgc cgggtggctag tgggtctggg tttattgtgt cggaagatgg actgatcgtg	780
acaaatgcc acgtggtgac caacaagcac cgggtcaaag ttgagctgaa gaatgtgcc	840
acctatgaag ccaaaatcaa ggatgtgat gagaaagcag acattgcaact gatcaaaatt	900
gaccaccagg gtaagttgcc tgcctcgtc cttggccgct cctcagagct gcggccggga	960
gagttcgtg tcgccatcgg aagcccgttt tccttcaaa acacagtcac caccgggatc	1020
gtgagcacca ccagcgagg cggcaaagag ctggggctcc ggaactcaga catggactac	1080
atccagaccg acgccatcat caactatgga aactcgggag gcccttagt aaacctggac	1140
ggtgaagtga ttggaattaa cactttgaaa gtgacagctg gaatctcctt tgcaatccca	1200
tctgataaga ttaaaaagtt tctcaccgag tcccatgacc gacaggccaa aggaaaagcc	1260
atcaccaaga agaagtatat tggatccga atgatgtcac tcacgtccag caaagccaaa	1320
gagctgaagg accggcaccg ggacttccca gacgtgatct caggagcgtat taccattgaa	1380
[0026] gtaattcctg ataccccagc agaagctggt ggtctcaagg aaaacgacgt cataatcagt	1440
atcaatggac agtcggtggt ctccccaat gacgtcagcg atgtcattaa aagggaaagc	1500
accctgaaca tgggtgctcc taggggtaac gaagacatca tgatcacagt gattcccga	1560
gaaattgacc catagcgaga ggcatgagct ggacttcatg tttccctcaa agactctccc	1620
gtgatgacg gatgaggact ctgggctgct ggaataggac actcaagact tttgaccgcc	1680
atthtgtttg ttcagtggag actccctggc caacagaatc cttcttgata gtttcaggc	1740
aaaacaaatg taatgctgca gatccgcagg cagaagctct gcccttctgt atcctatgta	1800
tgcaagtgc tttttcttgc cagcttggtc cattcttgct tagacagcca gcatttgtct	1860
cctcctttaa ctgagtcac atcttagacc aactaatgca gtcgatacaa tgcgtagata	1920
gaagaagccc cacgggagcc gggatgggac ggggcgcgtt tgtgcttttc tccaagtcag	1980
cacccaaagg tcaatgcaca gagaccccgg gtgggtgaac actggcttct gaaatggcca	2040
gagttgactc ttttagaat ctctttgaa ctgggagcac gatgactctg agtttgagct	2100
attaaagtac ttcttacaca ttg	2123
<210> 4	
<211> 52575	
<212> DNA	
<213> 食蟹猴	
<400> 4	
atgggctggg ccgcgcggcc gcgcgcactc gcacccgctg cccccgagc cctcccgcac	60
tttccccggc gccgctctcc ggcctcggc ctgtcagccg ccacggccgc cgcccgcc	120
agagtcgcca tgcagatccc gcgcgccgct ctgtctccac tgctgctact gctgctgctg	180

gcggcgcccc cctcggcgca gctgtcccgg gccggccgct cggcgccctt ggccaccggg	240
tgccccgagc gctgcgagcc ggcgcgctgc ccgccgcagc cggagcactg cgagggcggc	300
cgggccccgg acgctgtcgg ctgctgcgag gtgtgcggcg cgccggaggg cgcccgctgc	360
ggcctgcagg agggcccgtg cggcgagggg ctgcagtgcg tgggtccctt cggggtgcca	420
gcctcgcca cgggtcggcg acgcgcgacg gctggcctct gtgtgtgcgc cagcaacgaa	480
ccggtgtgcg gcagcgacgc caacacctac gccaacctgt gccagctgcg cgccgccagc	540
cgccgctccg agaggtgca ccggccgccg gtcacgtct tgcagcgcg cgctgtggc	600
caaggtactc tgccgcgctc ctgggcagca cccattctc tccatcccag ctcgacctg	660
cttctcggg actggtggcg agaccgagg gcagcgaagc gttcggggg ggccagggca	720
actctcggg acaggcaggt gggccccgg gtggcgctt tcccgggct gcctcgaaa	780
cgagcttcg gccagcccg ggccggttct gcgccagac gatgccggg cgccgggct	840
gcactctggg gctcagagac cctggcgacc tgcccgggag cgccctgagg gcagccacac	900
agcgcgggga gccgaggaca aataagagga gtgggggcat aaagggagga gagaagttca	960
ggactagaa ctggagcctt gcagagcggc ttcaggacca caagaagta tttctgttgc	1020
ttttctatt tcttctctc gtcccctta aaatgcatta cttgatcac gggaccgctc	1080
cgtgaaaact gtatgtaact cttttgaaa ggaagagtgt ttgccggccc ccgcccggag	1140
ttccccaaa agtctacccc gggcagggaa cggtttgca tcgactcgt ttcggcgcg	1200
ttctgcctg tgttcttct ctcgttttga gccagcccta caaaaatgaa agtggctct	1260
ttgaataag ctgaatcggg ctttggatca cgaatctgc agaggcgtag aagggaccgg	1320
gttagtaat aggaaggagc ctacccctcc ctctgccgc acacaggacc ttttcggcag	1380
gggagatggt ggtgatgggg gcagagatgg agtggagcaa tgtctaactc tctcgggga	1440
ccttccggag agatgctcc catcttcagg cagaggccat gtggaagaat aatatcgagt	1500
tcagcgcgcg ccagtcccgc ggtgtagaac cagccagcgg ggcttggcag tgccttagg	1560
cgcagccatg cggctgctgc ccgaccccag cgctgcctcc tcaactcggg cagtgccagg	1620
agaggggcat aggagagcac agtgcagagg gactggtcta gattttactt tataggaata	1680
tggttcagta tgaccaacta ggacttggca tagtttggct tacatggacc ggaaggtgcc	1740
agagccgaat tgggtgaaat tcgagattgt gtatttactt aacgcaggag cacagccctc	1800
gggaaactca gcctagttag gcagtagaga gttgtcccgg agacaagtga tcccgcagac	1860
tagagaatgg gcatgatgat agcacacgcc tattgagcac tcagtctgtg tgccgggtgt	1920
gttacctctg tgacctcatt tggctctacg aggagggagt ttctctctc tctctctc	1980
ttttcttct taagagacag ggtctccctc tgtcggccag gctggagtat agtgggtgta	2040
tcattgctca ctgcagcctc ccacccctgg actcaatgat tctctgctt cagcctccca	2100
agtggctggg gctacaggcg gatgccacca caccagctt ctattcctg ttttacagat	2160
agcggaaact aggttgaana acttgcccaa ggtcactcag ctggagtta aaccagata	2220
gcctcattca gaggagtcag gccagcactt aactccaagg gtgtgggaga ggggtcaggt	2280
gctgtaaat tccgggtggg ttggacgtgc atccccctca gagccgggaa cagcatacac	2340
aaagcctaag acttgtttgg aggtgaatag atcagtgtgg ctgggggatg tttggggagg	2400
gcagcaggag tgagccagcg tgctggccca gactcccagg gctgaagagg ctggctgtgc	2460

[0027]

cccgggcct	gtgtgcagat	gttcttgaac	tggggcaact	caaagcctag	tgtagtgtag	2520	
ggctgaccta	gcagtgggtg	gcggaatgca	tccagggtgg	agagtttaga	ctactgcaat	2580	
aatctgggtg	tgaggcaaca	acattgaaaa	agcatgtttt	tgtccaaaac	aagccagctg	2640	
ttactggctc	cgetgtttgt	ggtctcattg	cacggggctc	tgagttgctg	gcaccatgcg	2700	
agtcgcctaa	tttattgcta	gtgaggcaag	ttgcttaata	agctttggag	ttggctgagt	2760	
ccctgtgtgg	aggaaaacag	gtccccatt	ggccatcagg	ctcacggcgg	gccccggtgt	2820	
accagtgagg	ggacagccac	agagggataa	gcatgggtgc	tttгааagga	gggagagaca	2880	
gagtggttac	aatgctgttt	ttatccctcc	ctccttcttt	tgcaaatatt	tgttagctc	2940	
cgtagggtgt	ctgacacgt	ttgcatgttt	gtctggcaca	ccagaggcac	ttgttacgag	3000	
tggattagt	aatgaataaa	tgaatgaatg	aagacaaatg	ggaggtgctt	tcgatacaca	3060	
gccattctgt	tttcccttag	tggaaggcac	tgctttgctg	cgccccctct	ctggatctca	3120	
ctctccacc	ttgactttcc	ggaggtgttt	ccgaggacag	gcgcctggga	gccagcagac	3180	
ttcattcagt	ccaagccagg	ctccaggact	cagcagctgg	tgcttacggg	caggtcaact	3240	
gacgtcactg	ttaaatgagg	tgaattggct	gcctgctctg	gctcgaagat	tggcgggaga	3300	
gctactttag	ctgcaatgga	catgagcctt	ttcatgggtt	gccacttgac	tagaggcctg	3360	
aagtgggagc	aaggcacaca	cagatctgaa	gacagagctc	tcgaggcagg	agcgggtgct	3420	
gtgatttcaa	atattacaag	gaggctttgt	ctggggcaga	gcatgcgagg	ggatgagagg	3480	
tagaaatgtc	atcagatcag	gggtctccag	gcaggtgacc	agtactttgg	gtcatggtag	3540	
atctttggat	agaggaacct	gtcaccattc	aaaggaaggt	actttcattt	gtaagctgtt	3600	
[0028]	taatgaatag	acctcagaga	acatctctgc	tcaccgctct	ggaaatgaag	gcaaatcatc	3660
tatttcagaa	gtcaatgcac	tggcagggtt	tggatggcaa	agtatacaat	tcaactagag	3720	
aaacaaagatc	tgtcatctcc	agctctgctg	gtcagatgat	tacaaaaaag	aaagggtatg	3780	
aaataactaat	aggatacaaa	taatgagggc	taacatatat	gttgtgctta	ttctgtgctg	3840	
ggtgcatact	aactcatttg	atcctctga	cagtcctgtg	agtgagtgtc	gtagtcttcc	3900	
ctgggttaca	gtggggcaac	taagtcacag	agcagtacct	tgctcaggac	tgctggtccc	3960	
acacaactgg	atccagagtc	tcgttcataa	ccagcatgcc	gtgccgttga	cagagcaaca	4020	
gagattataa	accaccccca	gctaagcccc	agctaatagc	tgaatcaac	agagctccag	4080	
atggctgtgg	ccttgagatg	aaacaggaca	gatcacagcc	ctactcagc	aggctcaggt	4140	
tgacagggtt	gctccagtt	gccatcagtg	cagccctcac	taaagaaaag	caaaaagaac	4200	
cgagggactg	taggaaagct	gtttccacgc	cagagatcca	gacagcaaac	tgctctttaa	4260	
gagagaaagc	ccttccggat	tccccatgt	cccaaaagac	cagccacgat	tccagacctc	4320	
tgctaaaaca	cggacaagaa	gccaggatca	aaacctgaaa	cagacttccc	aaacagcaga	4380	
accctcatcc	atttctctc	ctagtacatc	ctccaggaaa	ggccaccga	ctctgacag	4440	
gagcccagac	aagcttggag	gtctgcaagc	tgacgggtg	cccagaaact	ccgctctggt	4500	
tggtttttag	tattgcctgc	tcctggtctc	accccagagc	ctctgaaggc	agaggctgta	4560	
cgtacatacc	tggatgaaga	ccaagggtct	agacgggtgc	tttacttctt	ggaggcctgg	4620	
atggtttgta	aaatttat	atttattaat	ttttttttt	tgaacagag	tcctgctctg	4680	
tcgcccagcg	tggagtgcag	tggcgcgac	tcggctcact	gcaagctctg	agacctcgcg	4740	

[0029]

agttcacgcc attctcctgc ctcagcctcc caagtagctg ggactgcagg caccgccac	4800
catgcccgcg taattttttt ttgtattttt tagtagatac gaggtttcac cgtgttagcc	4860
aggatggtct tgatctcctg acctcgtgat ccgcctgcct tggcctccca aagtgtggg	4920
attacagggtg tgagccactg cgcgggccca aaatgtactt tatttaggtg attctttcat	4980
gggagcctca aacaagcaat cattgttagc tgagtgtga ccctgtgctg agctctgggg	5040
agacagggtt gaataaaca aagtcactgc ccacaggga cttacattca atacattcag	5100
tgcaatcact gcttccccag gttgcatttt tccattgta gaggggcgg tttgctagag	5160
agtcatttcc actgttgga attcaaatac acctttgtc acttaaaaa caggtgtgcc	5220
gggacctgag cttcatctta ggtaggatg ggtggaaca gttgtgagtc tccagttttt	5280
agtcaccgca aacttgaaa cttggaattc tttgagcag tttatgaggc tctgcctgct	5340
ctggtcagct gccttctttt attgctctgt tggttttgct aaagagttaa aatattaagg	5400
tttcgtgaaa ttaggacgtt aacaagctca aaaaccaagt gtctgagta cttcattcca	5460
ctgagagagc tgtaaatggg ttgcattgga acttaaaata actgcattga gtaagcgatg	5520
gtggcgggca ccatgagcta actgtggtca gaagcctgac agcctctgct ttgggctgg	5580
attctccgtt tggagctgtg tgatcctgga cgagtttcat gccttgatt tagaaatcag	5640
actttccatg agcttatatt tcaagtgaat aaatagctct ggtcaggett agtttgaaga	5700
agaagtgagc ttggcagtgg gtgagggttc ctcggaaggc cagctggggt ggaggggctg	5760
aggacaagcg gctctggccc ttcccgggtt gttacctgat caggtaacgg ctcctcgac	5820
ctcttgagc ctcggcagta agggatttgg gccagttgat ctctgaggct ctttttaact	5880
ggaatggtct gtgattcttg taagaaaaca agtctctgag gaggttggg tgcctcatt	5940
cctaatttaa aggttgggaa ggcttcctta agagctactt ctttttccca aattattgac	6000
ggttaaagcc aaggctggca tcgaatggat gtgatecacc ttgagcctgg ttgctttgtg	6060
tttcagcttt gtaactggct ctgaaagtcc ccaggagacc acaggggtga catgttcacc	6120
cccaagagat gagcttccaa gagcctcata cctcttgctc cttccctgga gcctccaggc	6180
ctttgggtag tcggaagtga gataccttg tgcatttca tcttttccat ctccaccttc	6240
tctgccattg aaaaaaaaa aaaaggaaag aaaaatccta ttaatagaga aaccgagaag	6300
tgtagccatt ctgaatgtgt ttccaaaagg ctcttgaag tggcatgga gttggagtga	6360
ttcagcacta cttggtgacg tgtgcctaga accatagggg gacattagcc aggacaacac	6420
gcctcaggac agaagtaagt ggctgtgaag aggcatgtcc gtcaactgctg gaaaggcgca	6480
gagttcagct tttggagtca atgctgagag ttccacttct aaattcattc agagcattta	6540
tttaacacct actgtgtgct tcgaagtga ccaggtacgg ggactcagag gtaaggacta	6600
gtggcccctg atctcaaggt actggtgta gatagtgtga tgctcagctt aagggtggg	6660
cttctgaagt cggattacca ctttctgaat gtgtggcttt tcttgagtga cttcatctct	6720
aagtctcagt ttccccatca gtaagataat agaagtaata gcagatacat acatagctct	6780
tagggcattg cagaatgga ggacctcctt atatgaaacg caaagcactg tgcctgatgc	6840
attgctagaa ctcaggcaat attagcatgt tgcattatc attatcatca tcatcatctt	6900
caagacactg acaaaggagt cagctgtatg ggaagagtgc tgagacgctc ttgtctcctt	6960
ggggatgagg tgggtgggtg gtttaggaaa ctttcacaga gaaggagggt gatgtgagac	7020

ttgtgtctgg gagctgactc ggaatttgcc atctactatg ttgaaaagg ttctctgggc	7080
agaggtatcc aaagttgcct tgactatcac cctctgaggt cccagttggt gcctatatca	7140
tgigaccagt gtgtggcttc tcttgaatta agagctgcat gtctggactg cctgggattt	7200
tacagatgc atettgtaa ctcttctgg agcttgtgac acccagaaga tggcagttta	7260
tagaagccct gggaccttct tgaatgatgc ttggtttggt ttccatgctc tgggaattcc	7320
tcacaaggaa agatttgta catcttaag aaggaaaaa aggcaaattt gggagtccat	7380
ggatacccta ttattttaga ttccaggaca aattgtcgaa taagcacatt tcataaaaac	7440
aatcctccgc agcatcccg tgcagcagct ggtccctcac cacaggataa ttatgtctcc	7500
ttgtgcacac aaaagtctcc gagggcatat tgttgtggct ggagtttctg ataatttcca	7560
aattgaacaa cctcagctct aatgagtcag aagcttgtgc aatattttca aacctcagga	7620
acatcttttt cattagtgt gcaataaaga tagtaggcct atctctgtga tgagctgttt	7680
tttttttttc tcaaagtttg atgagattcg ctgtagaatt ctttctcaca tagtcttggg	7740
caagatttta cccgatcttc caacacatga gtcatatcat atcctgtgac taagaagagc	7800
tgctcttttg gtgccagttt tgtaagcaca gtcaccactt ggtggagacg gatggacaca	7860
gttgggattg cccaggcaga tgggcagtct tgccaagcag acatagggga gggaaggctc	7920
aatgttcagc ggtcacatct gcttttctgt ggcagagtga gctatacagg aatattgtat	7980
tctccaggac agttagggca gtgggaaatg tcaccaaaaca gaacagtgac ccaaagagct	8040
gctgccactg ggtgctctgt gggagctggg cactgtgctc tttgtgttat gggccttct	8100
ttgttcttaa ctigttagcca ccagagaggt tagggcatta gccttgcttc ctagctgaga	8160
ctacagaaga ggctcctaga ggttagctgt aatttgicca aggtcagcca gtgcaaggag	8220
gcagagccag gatttagacc catgtctgtc tctactccaa actattcttc agatttcttt	8280
aagtcaagtg ttatttagaa atgttttgtt tattctgcaa atatttggtg gatgtttcca	8340
gctatcttcc ggttattaat ttctagttaa attccattgt gggtgagaa catattttgt	8400
atgatttcta ttctattaca tttgttaggg ggtattttct ggtctagaat gtgatctgtc	8460
ttggtgagtg ttccctgtgt gctttagaag aatgtgtgtt ctgtcgttgt tggatggagt	8520
attctataaa tgtcacttag gtctagtgga ttgatagtgc cattcaggtc aactgtatcc	8580
ttctgattt tctgcctcct gatctatcag ttctgaaag agaagtgctg acgtctcctg	8640
agctatttct gaaacactgg attgcggtct ccatgatgaa cactagagt tagaaaacct	8700
gagtcctagc cccatttggg cctttgggat gactcccttc cacctcagtt tctcaacta	8760
caacaggagg acgatgatgc ttcccaggag acatcaacag gatactgtga cataagggat	8820
atgaaggagc tttgtcaact cctaaagttt caatgctagg aatcctaaag cattgaagtc	8880
caatgatata aggaatatga aggagctttg tcaactccta aagcttcagt actgggaatc	8940
ctaaagcact gaagtccaat gatataagga atatgaagga gctttgtcaa tgcctaaaac	9000
ttcagtgtt caggagtctt aaagcattga agctttaaga gattaggacc tctagttgac	9060
aattccagac tcttccagga ctctgatag agccaacacc aagaatagtg aagccggaag	9120
gatgcaata gtaatatgtc tcttgggtgt caaagtgtgg gtctcctctg ggcatgttct	9180
cttgtcctac tgagacatga tagctcttgg ccaaagtgac tgaacttgac cctctgtttc	9240
aggaaggcca aatgcagggt tcaccactgt catgtccaag ggcagatgct ttggtccaga	9300

[0030]

	acatcagcat cccagtcatt ataccaagca agctgcaatc tctgcctgca ccgtggagag	9360
	cgcacgctcc tcccagggtg gectgcatcc tgtatectgc atcctgtggtt cttctcagge	9420
	cgactttctg tttaatgttt gctggtcagg aaatggcctg agctgagggtt tctcagatcc	9480
	cagcctgacc tttctccacc agcatttttg gctctgaaaa atatagccca gtgtggttta	9540
	gccccactgg atgaaaccca ataggaaaag tctgataata gcagaggagg cgtaggagga	9600
	agggtgagga tttgagagca tctgggatgg accatgtgtg tggatattgt tctgtctgtg	9660
	ggattgtgtg acactttctca tttacagtct gttcccttgg aagtcccatc attggccaaa	9720
	catatagtcc tctgtcctc tgaaaagtat cattctgctc ctaccttga caaccatctc	9780
	tgaccacatc aactccctgt tttcatgcat cttgtggatg aggacaccac cttacctgta	9840
	aggacactgg tggcttccca aagccacca ctgacttcta gagaagacag aatcccagag	9900
	taigaagcct gagggtgaag ggtcctgga ggtcctagag cccaaccctt cacttcacag	9960
	gtggggaaac tgaggagacc aatgggaaca tgactctcac aagccacaca gctcatctgt	10020
	aggggccagt gtggagctg tttatcttga gaccagggc tgagtcttg agccctcccc	10080
	atctcagcca catcctctctg ttggagcagt tagtggttg ggagaggcca tggccatac	10140
	tcatggtatt cctgtaaage tggagaaaca ggccttgctc ccttagtctc tctaatcaaa	10200
	atgaggttgc agaaaacct tctccctact tctccctaaa ataatttctc tgggttagaa	10260
	gatgactaaa aagctattca tctgatgact gatgtctccc ttcaagagtt ataagcat	10320
	ataaatgctt ttgaatgga attataataa ttttctgaa gggaaaatat cagtataaat	10380
[0031]	atcatggtgg actcactgat gaatgaggac tgaatgctt tcatgtcttt tcagctgtgg	10440
	ttagattttc tttgagcaga gtatacaagt ttttctctc ctacataaa gactttttt	10500
	ttgtatcttt tctctctact gtttagacat gacagaaaat gcatttatac atttgatgac	10560
	atattgtact atctcagttc tttaatatta taaatgtaat ttaattctat gaaaaattaa	10620
	gaaaagaaga ttcatatttc accattacca tctctccaga aatactatta ttattattat	10680
	tattttgaga cagagtcttg ctctgttgc caggctggag tcaggggcac gatcttggct	10740
	cactgaaacc tctacctccc aggttcaage agttctcatg cctcagcctc ctcagtagct	10800
	gggattacag gccacacca ccacaccag ctaccttta tatttttaag tagagacagt	10860
	tttgccatgt tggccaggct ggtctcgaac acctggcctc aagtgattgg cctgcttcgg	10920
	cttcccaag tatgggaatt acaggcatga gctactatgc ctggcctaatt tccatcattt	10980
	ctgtcccaag tgttgccacc atttggttaa ctgttccct gtccacatcc atttaggcca	11040
	aggttgcgat gttaaacaat cctgagatgg acattttcat gtttatggct atttctgtat	11100
	ctagggtcat tctcttagga gagtactaa gaagtacaga aactggaaaag aaggatatgg	11160
	aatttttatg gttctggtat aaatgccaa attattttcc agaaaggttg tagccatatt	11220
	tgttgacatc agctctagaa tttcaacctc gtaagtcact gaaagaaatt atcccaaaag	11280
	cagtccttca ggaataatgg aagaagatgg tgccgaacc agccattctg ctactgtta	11340
	gattactttt ttggtcttac aggttacttt cattctcagg ttgattgctc ttaacagttg	11400
	agcaatgttt ggggtagaat aatgagcact tttccaattt ggttctacct ggttgagttg	11460
	tgatcacagg cagtctcacc tgggaggggc ttgggtggtt gtcagcttgt cttccaaca	11520
	ctcgcgtctc aggcgagcag cctgggacca gtgaggcgac ctgaggctg gaggtcacia	11580

actaggaggt aacagagaac ccaggtctca ggaagcccag tccagggtc gctgcagtaa	11640
gcctctcgga tgcagctct gtccaggatg cgggaggagg ccagactgat ttgtctgtt	11700
ttgaaaagt atgaaaatat ttattcaaat gttttgtaca cataggcaga agtataacag	11760
aagctgcata tacaaaaatca ttttctagta gtcacattaa aaaagtaaaa agaacaagaag	11820
aacattatit ttctttttaa aacagcttta tcgagagata atttacatac tataaaatit	11880
acccaagtg tacaatttgc tgttcttatg taitcacaat catgcaccta tcaactacca	11940
ctccagaaca ctttcatcac ctaaaaaaga aaccccgat ccattagtag ccaccacgta	12000
cttctcctct gtccagccct aggcaaccac cggttcattt tctgtttcta tgaactggct	12060
tattctggac atttcatata aatggaatca aacaatacgt aactggcttc tgtgtcttag	12120
cataatgttt tcaaggttgt ccacgttcta gcaggatca ttatttcatt ccattttatg	12180
atiaaaaata ggicttttta tggatacagg gagaccagac ttctatttta tctcccctcc	12240
ctgatgggga atcctaattt cagcccggaa ggtcactgtg aaagtctaaa cgcacaggtg	12300
atactgactg gttccattgg aagaaactgt agcacctgac tcaggaagcc agcattaaaa	12360
ccaagaatat tctatacgga tggggattac gcaactgaaag gaaaacatga ggaaatgcac	12420
ttttcagatt tattagatca cagaacttct ttggagctgg aaaggatttc ggaaaccgtc	12480
tagcctacce cctcgtctta ccaactgaggt aactgaggcc caggaagggg aagtggcttg	12540
ttttgggtcc gggaccactt ttcatittct atttgagcca aagcttcctt ctggtgtctg	12600
tctctgttcc acaagttccc gttgcatggg tgctgggtat tgcttgaag gactggcctc	12660
ttccttgata caggggctcg ttcaactgca cctcccctcc tcacgtctct tgtgccctc	12720
tgagcccgca ggcctcctc ctgcaccagg ggggcacact caaccgggt gggcactgcc	12780
tctagctctg cggccagagg ctgggaggct ggggagactg aacagccccg gcagctccag	12840
acataacaac ctatgttgag gagtccgtgc aggaagcgaa cccagctgag aaatctgca	12900
aggtcaggac cggagccaga cgttatca gaggaaggtt aatggtgttt ttgtgaactg	12960
agcagtcagc tgtttccctg aagataataa tagacacatc atgttggca ttcaggaggc	13020
atctaaaaaa aaattgtgca gtggaattga ttggaagctt ttcctaata cataaaatag	13080
gccagaaaag actatcaaat gtaacagcac cgatcaaacc caagcactca ccatagatcc	13140
aagcaaggac tgaaaaacac gaatTTTTT tTTTTTTTT tccgccagtg agtctgaaaa	13200
gtgattttca atgccaggcg cttttaaca cagacaacat aaacaacaac atagtgttc	13260
tggagaagcg atctttccc ggtaaagcca aagatgcaga tctaggctgt gcttgtgact	13320
gacagcacag agaggggttc acagccagct ggccaagtgc cccccgaaag cgcatttcga	13380
atctgctcta tttgagagag actgtcttag ccttgtttgg gaaagtctc ctcttcaact	13440
tcacctgcca cagacttttc caggccacct ctgtcttagt cttgcccag tcctgcaac	13500
agttactgct gaaggcacc gggacatgca agacggggga gcagcctgag gtctggcgtc	13560
cggcaagctt ttcccacttg gagccgtctg ggagactgtc ccggaacag aagggtgcc	13620
aacacttgga agtgccaatg tggactgaaa gttgaggaca ggctccgggc tccccacct	13680
cttctcctt gattcattaa aaggaaagaa agaagccaca cgaaactctc ctgaatttca	13740
tttatttcta tacaaaagac agagcgtggt cattcatcat tcaaatTTT accttttag	13800
acaaataata attcctgctt gtgaattcag tgtattTTT caagaatagg tctgagggcc	13860

[0032]

attggccatg ggagacaccg aaggctggct ttccttagat ttgcagacag tggccctgat	13920
gggtcatagg gtttcagggt tecttttagac ctcagctggc tgcctgtgcc accacttagc	13980
aatgccattg tctttctgt gcattttctc tgcagagttc gaggaaatcc agtcgcgcag	14040
gcccctctgc ccccatgtcc cgggcgcctt ggaatgtgca gtaccagcag cagcgattag	14100
aatggggggtc tggtttcccg gaatgtgcaa ggtctcactt ctgtttctgc tgcctccatg	14160
ccccagacca gtgctgggccc gggctctggg ctgcagccat ggctgacaag tttccttga	14220
atitaaatgga gcggggcaga cagcatgcag ccaactcaaac tgaaaacttg gaaagagat	14280
gtgtgttctg gggcagcttt gctgcattcg ctgggccgta catgcttctt tttcctttcc	14340
ccaggcaacc cctcttcagc acaggaggcc ccatctcctt tcgcttcatg cctcattggc	14400
cattaggaac cttttaaat tggtttctct cctgaccctc tgagagaaca tagtccaagt	14460
tccttgagg aagaggaagc gcctgtttc tctgcaattc acggctcatt taaatgcagc	14520
ccacgtgctg tctctcccga ctctctgccc tgcctcccctt gtgcttctca tgatcattct	14580
caaattagt gagaaacctc acaaaggag tttttcttag ggaaaagtca tccttggcct	14640
cctgaacgtg gaccagcccc tctcccagc tgcacagcat caggttagtt aaccacctgc	14700
ctccatctgg gtctgtctg gacaggccta ctcacacctg ctgcaggcgt ccgacttgcc	14760
ctcaggtgcc tgtggtggt tcagaggggt ggagcccaca ttccagtct gacagctaaa	14820
gttcagcgag aggacctgc attcagtga aagatcaata ttccaggtcc tctcttctg	14880
ccaccagag actggccgtt tgcaggcact cggctccagt tgcctgggc ctgcagcct	14940
tgcattctct ctgctttgtc tctgctgttg caccctgcc ccatcacaga tgcaggttgg	15000
gggaccttcc gctgggaagt gagaggctgg gaagtaagag gagcactaga gggatggtg	15060
agctgcacat cagccttgac tgcattcgtc ctccccacc tctctgtaaa ggtgctgagc	15120
tgtgagtgga accaagtgga tgagagtggc cccgggcacc tgccgataag tttcccgtg	15180
tgtcattttc tctgggagt cccatctgga tttggttctg gatttattta ttcagcaagt	15240
agcctcttg tagttacttt taatctagcc atgctcgggg ctgaagggga tgccaaagaa	15300
atatacgatg agcccctcag acagcataaa ggtgaagatg aggcctccag catgtacccc	15360
ccaacatata ccccagaaa tctgggtgt gactggattt tggacctacc aaaagctgct	15420
gggtccctgga ggatggggccc cggaggctgg acctcactcc tgcctgggta ctgggctggg	15480
aaagtactga tggcagctga ggagtgtgtc ccagacttca ctgagccatt cccaaagatt	15540
atttcaagtt ctctgacct cgactggag gcctgcggtg ctggccttct ttatttacag	15600
tttctgactg gtgtctagca gccttgccag agagagtggc agtgtgtctg caggcgacca	15660
ggagaaatgt cccaggttt agggcaggac tgagcatata gcggtggggg cccagcaggc	15720
agtctcctgg acagttactt ctcttgtcc ttacatggtc gggaggttgc tgcctggctt	15780
ttcaagcgag gatggaacct gctatccatg ggccttaatt tccaacttct gcattgatgca	15840
ttttgtgctc ttgctttga aaaaacttt ttattttctt gtcactgatg cccaaacca	15900
catggcagaa ggaagggagg ctgggacagg ggaggcgatg agctgccgct gacggacctg	15960
cccagtttct tagctcatcc cggcctccat cctggtgagc agacactggc ccaatccagc	16020
catatttttg gctgagtttc tgtcttcaca tctcatcctt tccctgggat cctggcaatt	16080
gttggtactg gttgtattc ttattttaa tctttaaagt aggagtacct ttgctggtat	16140

[0033]

ttaaagtgga gaaatcagg tgaagagtca caagtgattt gcaagctggg agagacatta	16200
gaatgtaaat gtgaggaagc gtcagcatga ggggcttgcc tgggctgcac agcttgcctt	16260
gcctggagca tgcactgttc tggcattgca gggaggatgg ctaccttgcc tccctgcagg	16320
tgggggactg tgcagcccc tgcggactgc tctgggctc ctgggtttga ccagattaag	16380
gcagcatctc cagtagcacc ggagcagctc ctgagacgct tttctgtgct aaatctggat	16440
tttgggtatt aaatcaaatg aatttgaat gcagtcacac attgcctgtg gttcagaagg	16500
gtgccgcacc tgttttaatg ctctgctatt gctcccttgg gagtcttaat aatttttgaa	16560
caaaggcccc cacatactca tttcgcactg ggcactgcat attatgtagc tagtcttgaa	16620
tctaggacag tgcattaaaa tgccattgat tggatcaatc tgctcttaca actgatttga	16680
atlttgggaa catgctgttc cctgtgaata aaggaggatt catttctttt ccctcgaata	16740
cactgcgttc tgttttccaa attagctcta cttatcaact ctgctgagaa attggaaggc	16800
gggattgttc tgcttgaag ggaaggttag attgttaatc ctgctgctg gccctgatct	16860
cacaaagtgt gaagcatgtt cccacaatga tgtgggctgc agggggctgg aggctggctg	16920
agaaggtggg gaccaaggag ggaggccagc ctgggagcca gacagatggg gtcaggctct	16980
cgtttttgcc actcgcagc tctgaggctt tgggcaacat gatttaattc tctgatcctt	17040
gtttttttca tctttctgta gactggtgat aagatgcacc ctgcaggctt gcagaaaaa	17100
ttagagataa catttgtgcc tattattggg cttgacatat agtagatgct atacaataaa	17160
taggtcctgt tattcttatt gataatatta ttttattgtc aacattgaag gttgggtggg	17220
atltgactag ctgcggggga ggagaatgag atcatccagg ccggaaggaa aagaggcatg	17280
aatgcagggg gatgggggta aacactttgg aggtgtgggg agaggtctgc aggggtggag	17340
tgtgcattaa ggagtcttgg ggagagtgga ggcatcagtg ccacatggca aatgagaggg	17400
aatcgtgggc ccgaggagat ggagatggct gtggggatcc ggcaggaagt ttatgtgccc	17460
caaagtggca ttgtcagtta gggggagaca ctgaagacag aggtgaggcc tgcctgaatt	17520
agcgcagagt ggcattcttg gaaacttcag aagcttgaga agagccactt ggaggtgttg	17580
aaatgtacct gggagggatg tggggacctg gctctgtctt gagagctggg agacggtaac	17640
ccaggtggcc ttggccttga agatggggca tgatatttag tgctttatgt gcagtctcac	17700
ctaggactcc caagccctgt ggagtaggtg atattagctc cgtgttacag aaaggagac	17760
tgaggctcaa gcagggacag gcacggctct aagtcacaca gctgtaaggg gcagaagtgg	17820
gcatggaggc attaaacttag agccgaaagg tgtgacctc cttagggtgg ctggccccac	17880
ggggaatgtg tgtgggttgg agtacaattt ggtgttccca cccateccag atgctctgcg	17940
tttatgaacc caagtttcca catcagggca ggcagggca ggaagctcta cagggagaag	18000
ggacaagga cagagccaag aatgggggca gggccccagg gtcccgtgca gggacaatga	18060
agggagtgg cacacgtggg ttagctgctg gacagtgtgg ggagagagct ggcctgggag	18120
tctaatggga atgccaggga aagctgcctt ggtcccctaa agtgaagccc ccatgctggc	18180
cacggagtgt tgggtactga ggtccctgc tagctgtctg gccaaaggcag tgtgtcctat	18240
agggttagct ctggtgtcct gctggcatgg cgtgagtgcc cctcatgctg agagccagcc	18300
ctgtgctctg gagggagggt gtgggaggag gagggacagt aggaaattgc cacctgagca	18360
ggaattggca ctttctccca ctggcaggtc caggttttat ggaatctgaa acttgtacaa	18420

[0034]

ttcaggatac	tccttcaag	aaaaaaaa	aaaaccctta	aattatgaat	ataacattag	18480	
ggatgaaact	attatttata	tagattgaaa	agagaaaatg	cccaaaatga	caaacttcag	18540	
aaaatatacc	aatactgcaa	acatcacaaa	atccagaaaa	acaagattaa	aaaaagctaa	18600	
ctgctgaaca	ctccttcac	ttgaaaatgt	ccctgtctcc	tcctctatit	tttggtgtg	18660	
aactctgctc	accttttcac	atgacaatgc	ttttgtaata	tttctaaag	agaaaataga	18720	
ataatttatt	attactttta	ttattttttg	gattattgtt	atgatcaagt	caatattttt	18780	
ctgtaccaca	caactcact	gtcttctgta	caacctctgg	cctgcaccag	gggaaccagc	18840	
agggtgagca	gtaggtgtc	cctggagacc	acacatatag	caggatagac	acagcaattt	18900	
aactagacac	agaagggact	tcaaagcaca	caaatgtatc	tcatttaacc	caaacaaaat	18960	
gattatccag	tttactttt	cccttagcct	cttcccccaa	atgccggcag	ccacctgat	19020	
gggatagatg	tgtgacagag	ggcaggagac	cgtggcctca	accagctgca	gcttcaactc	19080	
ttcaattcta	catactctct	acaagecctg	atgatagcac	tttgctaggg	cccctcacag	19140	
ggcagatgga	ggctccatg	ctgaagcttt	gtggatgttt	gctgtctatc	cacttctgct	19200	
ccttgtgctc	atgcagggat	tcaggcccaa	ccactgcaga	gagcccaaga	gcatcaggct	19260	
cccaaactgt	catggttgg	ggcaccitaa	gtagttgata	cggtttgggt	gtgtcctcac	19320	
ccaaatctca	tcttgaatc	ctacatgtt	tgggagggac	ctggtgggag	gtaattgaat	19380	
catgggggca	ggtcttctc	gcaactgtct	catgatagtg	aataagtctc	ccaagatctg	19440	
atggctttgt	aaaggagagt	ttcctgcac	aagctctctc	tgcttctgc	catccatgta	19500	
agatgtgact	tgctctctc	tgcttctgt	catgattgtg	aggcttcccc	agccacgtgg	19560	
[0035]	aactgtaagt	ccaattaaac	ctctttcttt	tgtaaatgac	ccagtctcag	gtatgtcttt	19620
atcagcagtg	tgaaatgga	cgaatacagt	agtcagctca	tttcttcatg	gtcctcagta	19680	
aggccaaaaa	ataccecaac	gttccgttga	tcaatcagtg	aggctcaaac	aatttgataa	19740	
gtatttgtgt	ccctacaaca	cagtggctcat	taaaaaaga	cattttaatt	tcattattca	19800	
ataagcatga	ttacttatga	atgggatgtg	tgcacctgtt	gggtgtcaca	tgacctttca	19860	
aatcttggaa	tcagtttgg	caccaccatc	cccatttcca	gttcaacct	gatttttgtg	19920	
tggtacattc	ttttgtcac	agtgactgcc	agaaatccaa	cttcatatgg	actcatgaaa	19980	
agagatgtag	cgtgatctga	ttcaaaact	atgattgac	tagagttagt	ttacaaggtg	20040	
tctaacagtg	atcccgtatc	actgtatttc	cccagaaaa	ctgaaatate	gatgaatttt	20100	
ctgtggtatt	ctggggtccc	ttggggcaga	ctatgggaac	catggcatta	gaaccataag	20160	
gacacgattc	tgcttcttc	ctgcctcaga	tccagtcttt	acctggcatt	tttgccttaa	20220	
agatgaaagc	agcatacatt	ttgatgtatc	taaagcacat	attcgccag	gcatggtggc	20280	
tgacctctgt	agtcccagca	ttttgggtga	ggcgggcaga	tcacaaggte	ggaagttcga	20340	
gaccagcctg	accaacatgg	tgaaccccc	tctctactga	aaatacagaa	aatagctggg	20400	
tgtggtggtg	ggtgtctgta	atcccagctg	ctgaggagge	tgaggcagga	gaatcacttg	20460	
aaccagggag	gcagaggttg	cagtgagccg	agattgcacc	actgcactcc	agcctggggg	20520	
acacagccag	attctgcctc	aaaaaaaa	aagcacatat	tccactttgt	gcttattctt	20580	
ttgagagaaa	cacagataaa	agtctatctc	ttaattcata	ctccccatac	tgtgattttc	20640	
atttttactg	caacaaattg	tgtaagtgt	gataatgaat	gtcaaacact	taatgccttg	20700	

ctcttttcag taacatgaaa tattggagaa taatgactga agcttacctg cactgcgtat	20760
gtctcttttc ttctccttg aaggaagttg ttgaaagttg ttaagaagta ttatgtgtaa	20820
aactctaggg atgatgtgct ttaaggaagc aacatttatg aagttgtgtg cttgactagt	20880
agtttataaa gagggaaagac gaatcattta ttatattggg attgaatcct ggcaattttt	20940
aaactataaa gttacagгаа atgttgгcta ctcttaatgg gccatttatt gtgttaaata	21000
tcagcaatga taaatattta ctaggtaagt gгааagatcc atctctataa gttgttgtaa	21060
cttaccattt tacgaatcct agttactcag tttttctggt taaaaatgaa atcatgtagc	21120
actgtataag tcattcagtt tttcttttg gagaattact ctggattgtc taggctctgt	21180
gttctccaca tatattttag aaatagtttg tgaatttcta caaaaaatcc tgctcggaat	21240
ttcactggg агtatгctta atctatgggt caatttgta gaaattgata gcttaacaat	21300
agcgaatcct ctgatccaca агtgгgtat ttctctecat ttatttaggt cttctttatt	21360
ttgatagcat tttgtagcct tcagtgtaca gatcttgcaa atatcttggt aaatatttcc	21420
ctaattatc gatatttatt tttgatgctg ttatagtat attttaaaaa tttgattec	21480
aattattgct aatacataga aatgcaatta tttattgacc tgttatcctg tgacattgac	21540
aaacacagtc atatatcgt агatttctag aatttttcta catagactat catatatatc	21600
atctgcaaat aaagacagtt ttacattttc cttccaatc tcgatgcctt ttctttcttt	21660
ctcatgcctc attgtgtggt ccattactga acggcagcca gttccagctt tctgttcaat	21720
aaaggagcag ttaaaagggc caggccttga cttgctgga ggcttcccat cctcattgcc	21780
ttctgcttcc tcagttctgg cttaacagaa cagtgtgggg aggaggcatg atccttacct	21840
[0036] actagggcgt tacaatggcc ttcttcaggt tggttgattc atcaggttta agcgctcacc	21900
tgggctgcag tcaggetaga ttatctgctg acctgcctt gtctcctttc tgtagtgggg	21960
tacccttgta agetagggag aagagataca ggtgaaggcc ggaaaaacca gcctgccaca	22020
cagcttccct ggatcatacc ttgcagtgа tatgacgaca ctgttaggag gageggaggt	22080
ggctgagtgg gtctccagac acctcccttt acctctctgc tgtgccactg atgtgtgacg	22140
tgcttgacc tatacagagc tgccactgag cagcaccgtg gccagtcctg tggattttct	22200
tcittctaaa ttgtatgcca tgгcttgatc aaacatttca tatacagtag atcatgaaat	22260
cagcatagaa aacacattga ggtagatggt gttaccacat tttatggatg aggggctaac	22320
acttgagaa gtgaggtaac acgtccaagg ccacacagct агtgagcacc atgctgaggg	22380
tcacactctg gtcatctga ggccagagac tgtgcacagc cttctectca tgctgagtgg	22440
ctggacacc cccacctct ttccctgaa ccccttgгag агtgгgсagt ggcagaacca	22500
acctgggccc atctatgggg attctccatt gggattgacc cgtctggaag gaagacagtt	22560
gaccacagt taagatcaca gcagatgggc cagccagggt ttctgtagaa catcaggcag	22620
tggccactcc atctagtttc atggatgagc ctttttaata gaacaggaat ctaacactga	22680
accaagctgc ttttagacac acttttattc ctactctga aatggcattt ggacaagcca	22740
aatatttctt cttctttcag ttgacatttt gtccatcttt gaacagttag ctgatgtttc	22800
ttctgtttag ttattttctgt tctattttcc tgttgccact ggtccacca gggatggtaa	22860
gaatggaagt caatggttgc tttttcatct gggatgcgtc acgaaggctc агtcaggctt	22920
gtcatatggt ctgtgtctcc actgctcctt cttttctggtt cctcatctac agaatttggа	22980

	gagtcctgga cctgatctca aatttcacat gtctttatc ttctgcagc acgctgggga	23040
	gagggagaga cagggattcc atcacagaag gttggagctg gacgagactt cacagctcat	23100
	tctagaggca tttgttccat cttcacagct cattctagag gcatttggtc catcttcaca	23160
	gctcattcta gaggcatttg gtccatcttc acagctcatt ctagaggcat ttgttccatc	23220
	ttacagatga ggaatggag gctgccagg ggactgagc tggaaactggg ccttccagt	23280
	gccaggccag atcctccttg gtctcccttg ttgctttctt ggtgggcaga ccttggagcc	23340
	actttctgtg actgtgtgag aaggecactg cccagcaaaa tccatcttca atccatcttc	23400
	atTTTTGcct ctggcgtggg cagattctcc catacctaata tcgggaagcc agaaagagga	23460
	agtcagtaa tgatccttag tgggaagggt ctagtaatgg tccttctcgt gagtttctga	23520
	aacaccacgc cgtctctgtg ttgctggccc ggccggagtt aaacctcttc ttggcctttc	23580
	cccaggaagc tggctctgagg aagcccagat gegtttgttt acagctgtct ctggtgacgt	23640
	tcgccaggct ctgtgtttag aaggaacatt tccattccct tatttacacc tcccactgga	23700
	gtgctcgagg agacacacca attatttcca actacctaga aacctgggag ggtagcagat	23760
	ctgtaggggg ccggtgttga agcgagaagc tgtaaactctg gtgacctgt gggcttggga	23820
	gggcttggcc ggatctacct gttacttata ctctctatta agaaatttta gtgtccatgg	23880
	agaagtatt taaagtctgc gagcctcagt ttccccatat ataatatggg aaggatacct	23940
	gattttctg ttccacagga aggtagaaaa aattaaatta aggcaactga tgaagggtt	24000
	ttgaaagcaa aaataataat atgatactgt cctgaatttg ttaaattatt cctcctagta	24060
[0037]	gttgcggatc tttttctgta ccttagaaaa ccatgctatg taaaagaga tggttccagt	24120
	ctttaaataa agcagctcag aggtcagggg ccaggacaga agggggccct ttgttcacag	24180
	atgcctttc acttctgaga aagcaagtgt gggagaggca ggtggtctc cagatgtccc	24240
	tgtgccccat ggtgtcaagt tgggttacta tggccccctg tgaccacagc tggtagggat	24300
	gtgggagcca gtgggtatgg aactgtgatg ggtcacaaga gggctgggac gtctcacagc	24360
	ttctacttac agcctagagc ctggggaagg gctgccacct tagtggttaag agaggcatgt	24420
	atgtgagtgt gtgtgtgtgt gtgtgtgcat ttgtatgtat atatgtgtga ctctgtgtgt	24480
	atgtgacat ctgtgagtat atgaattgtg tggaaagtgtg tatagggtgt tatgtgacag	24540
	tcgtgtatg agtgtgggtg tatgtgtgtg ggtgtgttta tgtgtgtacg tgtgtgggtg	24600
	tgtatgcata gtgtgtatgt gtgagtttgt gtgtgtgtgc ctgtgcatct ctgtgtgtat	24660
	atgcatgtgt gttaggggca ggcacacagg cctgttggtta aatgagacac aaaataccta	24720
	caaaatacaa aatatgagac aggaaataca agccacagtt attcattttt caacgcaaca	24780
	gacataagat taccatgtga aattgctctg aaagtttcca aaagcttctt gtcaattcgt	24840
	agagagcagc taacaaagga gtgcgggtcc ctggagcctg cttgtgcagc attgagctat	24900
	tccaaggggg aagaatgggg tgcatggctc ttagctgcag accagcctag aagccctcca	24960
	gcctgcttga gcagacttgt taagaggtag cagcagggtg cagagattag gagctggagt	25020
	agtaggctaa ggggtgcactt ccagggacac actgcctctg ccaccaccgc tgccacaaaa	25080
	atgggagccc agaaccctga atctctagca gcctgtttct gaatcagtta ccttgggtgt	25140
	gcgcctctgg tcgacagaaa ctaactttta gcctcctgg gtgagagcct cacatcggga	25200
	catgtgacag ctttgtttaa agtagctttg gaaacgccc ccacgtgggg ccaactcactg	25260

tagtataaac ggcacatgcac cactgagtaga cagggatagc ttctgagaaa tgcacatgta	25320
ggcgatttca tcaactgtggg aatgtttacag agtgcgccta tcaaacctag atgcatagc	25380
ccactacaca cctaggccag atggtagagc ctgttgtttc taggctgcat gcctgtacag	25440
taggttactg tactgaatac tgtaggcggg tgaacaatg gtgagtattt gcgtatccaa	25500
acatagaaaa ggtacagtaa aaacaatggc gttatgggcc acggttggct gaaatgttat	25560
gtggtgcatg actgtaggta taaagcatta tggctgittg attttcctct ttttctcacc	25620
cacagcttta aggcacctct tatgccittt gtctgggatg tcccgggcag ggttgaaca	25680
tgtggttaag gcatggtgga aactgctttg gggacggacg atggcctcag cttgccttgg	25740
ggtgtcagtg gaaagatag gagctgcccc tttgccitca tgtttcttcg taataatctc	25800
agatctaccc atctggtgag cctctcctag agaaaaagccc cggtgctcct tcgctcctgc	25860
gggttttctc agggagggtg ctcttttcta atgggtggga ctgaggaag ggacgcaggc	25920
agaggggtgac accacatcac aaagggaccc ttggctgggt gcggtggctc atgcctataa	25980
tcctagcact ttgagaggct gaggcagggt gatcacctga ggtcaggagt tcgagaccag	26040
cctggccaac atggtgaaac tctgtctcta ctaaaaatac aaaaattagc caggcatggt	26100
ggtgggtgcc tgtaatccca gctactcagt aggctgaggc agaagaatcg cttgaacccg	26160
ggaggtggag gttgcagtga gccaaagattg caccattgag ctccagcctg ggcaacagag	26220
cgtgactcca tctcaaaaag aaaacaaca aacaaaaaca caaacaaca acaacaacaaa	26280
atacttgggc catcagcttc ttggaaaggc tgggtgtagg tagaagcatt tgctggtgcc	26340
tctgctcgac accagagcag aggtgatttt ttggtgactc tgttgagagc agagaacctg	26400
agcaaagagg ttatcatgag tggattttac tgccttactt ggggtggcat tcccttggga	26460
gttcgatgga catttgcagc tgagcccagg caggggaact gtgctcactc cgccttcaga	26520
attccaaagg ctgagcatgc attttggctt cctetaaccc atgtctttct ctaggtgacc	26580
acagcagagt atcattaagt atctattctt tgcctttgtt ctcagggcag gaagatccca	26640
atagtttgcg ccataaatat aactttattg cggacgtggt ggagaagatc gccctgccg	26700
tggttcata tgaattgttt cgcaagtaaa gagagccttc ctttttccta taaccttga	26760
agctttcacc gccactagca aaacatgaga gctctttttg agacacatta aagtgtcaaa	26820
gtgtcactga atatcttctt actttaagat aagtgtgtct cccttcaaac atttgcctca	26880
ttcactccta tgaatctaca gtcttaaccc ttctaaatgt ttaaagaacc tcgggctctg	26940
aagagattcc ctaagaatat ttgtaagtg aaattgtttg atgcatgcaa aaaattggca	27000
gattgtttag tttttaaatg ttaageccaa tatataaaga agcgattgct aggtgtgtgt	27060
tgtgtttgca gaaccattc attaatcaat gtgttgaagc gttcatttta aggtgttga	27120
ggcttaagtg tgtacttctt tggattttag gcttccgttt tctaaacgag aggtgccggt	27180
ggctagtggg tctgggttta ttgtgtcgga agatggactg atcgtgacaa atgcccacgt	27240
ggtgaccaac aagcaccggg tcaaagttga gctgaagaat ggtgccacct atgaagccaa	27300
aatcaaggat gtggatgaga aagcagacat tgcactgatc aaaattgacc accaggtgag	27360
tatgttttcg cctgcagagg tgagtctca gatgccctgg aacacccttg gcaaaggcac	27420
cagagctctc tgattgcagg tgattctcag ggggcaactg agccagtcta aaccagtcc	27480
aggagggcct tgaggagatg ctgagtatgg cctgggcgtg tgggagaggc aggggctcag	27540

[0038]

gagagcttct gtaaggagcc agataaaagt ttttaaata atgttttaa tgtttatcaa	27600
agaaagcaat agatttata agaaattagt aggtaagt tgaaaattga gtctccttcc	27660
cattcccgat cctgtgcaa ccctgttac agattttatt taccctccac agatacgtca	27720
tgcattcaca gtgaacatag aatttactgg ggttttagact gagccatcct taacttgta	27780
acagttactc tgaacaacaa ccagctctcc caaattgggg ttttgcaggg taatgaggtg	27840
tgtttcagaa caatattcca tactttatat atcttgaaa ccttgagta aaacagagct	27900
aatgatttcc ttcttcccag accttctcag agcttttagt atgctagtgt gcacgtggct	27960
tgctacaaa aggggtgtga ctgaactatt tgcccaaatt ataactatt gagtatacag	28020
ctttttttg gaggggggag gggcagaact gagccatacc aagatcaatc tggcaaatgc	28080
tgtattttaa aatgctttct atttaaatat tctctttgca atcatttttg ctgttgaatt	28140
gcttagcaaa gtcttcatgt ctgggacaat atccatttct tactgactca tcaaaaacc	28200
ccactcgaca ctttgatgag agaggtttta ttgctgtgt ggcatgttca gtgaaagcgt	28260
ggtttctagt ttcttccatc ccttgtaatt ttctggactt cagacggagg gaacaatcag	28320
aggaggttgg aatcctgcct ctggccaagg aaaagaccag agactgagcc agttggggtc	28380
tctgtccag ccctctgctt gcctcccttt acctgggtgt ggctgagta attccagaca	28440
agcgtagaat taactcagct atttgcctg ttgatggca tgctgggtac atctccttct	28500
gaaacagct ctgcgtgtgc tgtttgggtg gtaggattct ggtctcctc tgtcttttta	28560
tggcatcaag ttgtgcccc gccagcctc ctttacggcc agtcttcaga aaaccaccag	28620
ctaacacatt tacaaccctc ctccccgat gttcctataa cctctctatg gccgggtggc	28680
[0039] caggcacggc caaagaggct cagggtagat atagggtctg tgtccggtgt gtgtaactgg	28740
ccttgatgta ggctgcagtt gtgtgttatt tctattaggt cactgtggaa tttctagcaa	28800
caactaatct ttcaaagtgt gttatttggc cacaggatca ttgggccagc ctctgccttc	28860
gttctttttc acctaatctg cataatagct gtattatccc catttttagag aagaagaaac	28920
agggactcag agaagtctag taacctgtct gagaccacac agcaaacacg tcatgacct	28980
gccctcctaa ggcagccagg ctactgtctc caactgtctc aagccatgg ctattgttgg	29040
agggatacag gctggcccca tggatgatg ggacagcttg acctaaaca gccatggaa	29100
aggtgggtgc atctggttta ggaacaggct gctagaaagg tatccaggat gtgtagtct	29160
caccggaagg agccagtcag aatagcacag cctgtggcca cgcgtggggc ctgttcagcc	29220
tcacagagcc ttggggagcc agccagcagc agggcatgag ctgtgtgcag gcaaggcgt	29280
ggcctggagc cgccccccac tgagtaactt cgtgtttgga atgcgtgggc acataaccgtg	29340
cagctgcttc tggccggcgg atattctttt ccaattttga gccaaaggtg agactgtctc	29400
ctcgtgtcat ccctggcatg tcttgcaag acacgaacga tctcaataga caagctttgc	29460
agagtgtgtc tgacctgact cctgctgtcc tgggagctga gctcttcagc cagcagcatg	29520
ctgtttgaca tgtgtttcaa gtcccccaag aaagggtgct tgaattttaa aattgaactg	29580
atgtggcttt tctaaatgga attggaatg aaaggatatt aaattgcaga caaccacaca	29640
aaagactggt ttcaactgac taaactgctt ttttttctg atagtagttg gaagtaggga	29700
gagtaacagc atctcttcca gctctttctc tttgttccc ttgttttgat gatgggttat	29760
ttcgggggag gctctggctg gccttgcctt gtgtcacctt agggataaca aagaggatga	29820

aagagatcag gaaaacagag aaggcagaac agaaccagca gaaactgtgc ttgaggaatg	29880
aaaatcacct acatggctcc ttgtcgtatg agactgtggc ccaacctccc ccaaagccac	29940
ttaagagtaa cccagtgaag ctggtgagac tgcctgccgc gtccatgggc ccagtgacta	30000
gcttggtggc ttatcatctg gaccagctc ctcccctggc atcctgattt cacttggagg	30060
gtcctccatt gtccttcata aacgtgttta ctttattttt ttttattttt tgagacagag	30120
ttttactgtt gcctaggctg gagtgcagtg gtgcaatctc cgctcactgc aacatccacc	30180
tccaggctc aagtgtttt cctgcctcag cctcctgagt gactgggacc acaggcacgc	30240
accaccatga ctggctgatt tttgtatttt tagtagagac agggttttgc catgttggcc	30300
aggctgtct caaactcctg acctcaggtg atccacctgc ctcagcttcc caaggtgctg	30360
ggattacagg tgtgagccac tgtgcgtggc tataaatgtg atattcttga gactttcagt	30420
gaaataaaaa ttaccatgga cacctgtggt cattgtccac ttgccaccca cctacccccc	30480
ttactggcag cagcagccag catttcacat ctccgtcacc ggacagcgtg ggtgggcccc	30540
tcagtcatgg tgcctaccc tctggtgcca aggagcggac acatgaccaa gttagggcaa	30600
gcagaggctc cccctggaac tgcaaagtga agccggatgt caccacacaga gactaacatg	30660
gtgaagetgc ttaggeccct gctcttgaga ccccagcact gtctgagttc ttgcactttc	30720
tgagtccagt ttcatatctg cttttctcct cgttcttggg gctcccctca catctccagt	30780
ggcttgaagt tgccagagat gtttctgggc ttgtgaccaa atgactcctt tctgcttct	30840
cactgctgag cagacacatg tgcgctcact ttgcctgctg agtcttggga cccggaagag	30900
ctcttgggag acgctcacgg agcagccccc tcttgccggc cctgctgact ccctccaagc	30960
aggaggggag aagccctggc tgggcatccc ttaatgtgct tctgcccaaa tctgaaactc	31020
ctctttcctc gggaccacag accgtggcca gcctgcctgg ggaggggaate ccagctgcag	31080
aaagtcggga cagtatgcgt gtaaacaatg taatagaaaag cagctttgag ggcaaaactag	31140
ttcagcttta gttacaacct ctttccaaat gtgtttgaca tgagccactg ccagtgtgca	31200
gcatatgtca agctttcacc caatgggtggc attttgtccc aacgggtttt ttttttctc	31260
gagcagtttg gggcaggggt ggggagaggg agagagaaaa gtaaaaagag agcagtttgg	31320
tttcttcagg ctggagtaca aggtagagat aatgggatgt gttgaagaaa gtaggagga	31380
aagttacttt agttacagct gtttgtccag ctgtgctgat taagaaactt ggagaaaagc	31440
atctctggaa tcagtccctt cccatcttgt atatagcctt tgcagatctc ctgctgttct	31500
gagagagatc tgaactgctt accagggcct tgagggcccc atctgattgg gcaccctccc	31560
tcctctggc cctcctcctc ttcccctcct cccctcctt ccttgecccc acctgctctg	31620
ctcagacacc cctgctcgg ttaacttcca caggccaggg ctgtcccctg gggecttggc	31680
tgttcccctc ctaggagcac cctctccag ctctcatgag agccaacctt cccatecttc	31740
aggcctctga ttaaattctg ccttagacat ctctcccac cccactgtgg gagtgacgc	31800
cccatgcccc agtctctcct atcccacgc gtcactctgg ggacacatca ccccagggac	31860
aactgcattc cactcttggg tttcctcctc ttgtctattg atcacaattt agagtgcct	31920
cactcatttc tcagtcattt gtcaaatgaa gtccatttct gccgctagac tgcggggttg	31980
gggacacatc cgctgatgc gtctcaggt aggaggctg ttggcaactt gtcccagta	32040
ggacgttcac agctgtctgc cctggaggaa gcaagggcac ccaccacgtg gatggaattg	32100

[0040]

aggggaaggc acccgcgct cctgcatcga gcttccgtcc tatattcaat gaggaaatga	32160
ccctgcagca ggctggctgc agatgccct gccatcccgc tttgcctgcc tggagtttga	32220
tggacatgtg gtctgtcag ggctgcagca ggctgtggt ctttgtaat gcaaagcgt	32280
gggaaacag tgagcttcc tgtgggtgct tttctctgac gccaaacc aggtaaatat	32340
ttgaaacgg ccttgttgg gcttgtgagg tggtttctt ccctcccctg taggcctgcg	32400
ccacctcc aacccccgg ccacctcag gccagatggc acccacagac ctgtttgaag	32460
tggctggaca gggagccctc tgggcgctgg ggccgctgtg tttgcagagg gtcctcttac	32520
tgctgagctg gctggtcag cggggaggcc aacaccctg atcctcatca agttcagagg	32580
ggagtcaccg cgggtgagg gcctggggcc tttacatgt cctgggagct gctgggcagg	32640
ccgctcttct ccaggccacc agaacttggc cctgcatgtg gcgaatctt cctgagtcag	32700
ctgagtgagg ggggttcagg cagcccccg ggacgtggca gtggttggg atgggagtgg	32760
gctggtcgt gccatgactc acgcccgttc tctcaggca agctgatggt cagacgtgct	32820
gactcagtg cctgagctcg tccaaaagt aatcagagaa cgcagggcct gggtcacc	32880
actgccctct cctggagtc tctgtcactc atcctcatga aggaagcgc tgggagcctg	32940
gaatgcactt cgcactgccc cagctcccct cttgttctg tgttttcca ttttgattc	33000
ttccccca ctcttctgt actgggcatt ttgtgtctc ttcttttct ccgagaactc	33060
tgagggtac cattgcattt gctaattgat ccacagacgg tttgatgtt atgaggcttc	33120
tattactgta ttgattgta ccatttttag ggggacagga atcaatatt catgagggaa	33180
tgtaagcca gacagtaaag tagaagctgg cttttattt gtgccaggct ttgtccagag	33240
gcgggtggg acgtggctcc tcagctctt actgcagctc cttctggcat gggaaacgt	33300
tcagttcccc aaactctcag agctggagac cctgtgtgtt ctctggccc gattcaagaa	33360
cttagttgat tgtcaaggaa attctttgac tatattttc tcttaatatg gtaatgctt	33420
tttctactc ggcactctc tttcagggaa tggattaag actattatt atggttctga	33480
aaaagcagtt cccaagttg tgggactgga tttgttttag aatgtctct gtcctctca	33540
ttgaggggg aatacaaat gttccattt gacagttat caagtgtgtg acagagtatt	33600
agagtccagg gttggccaac tacagccagt agtccaaagc tggccctcta tctgttgtg	33660
taataaagt tttattgga cctggtcatg ttcattatt taggtagagt ctatggctgc	33720
ttcattctg caccagcaga gttaaatagt tgggatgaag accacatggc ccatgaagtc	33780
aaaaatatt gttcctgac cttttatag aaaaaattgc cagccccagt ggtaggcaat	33840
ttacacctg tcttagagga gctgaaagt gctggaggca ggaatgctca taagaacaa	33900
gcgagtgaa gcaactagga gctgcgggga gcggaagaga agctgattag ctgattttg	33960
ttgcccttc tttccagag attgtgggtt ttttttttt tttgcagaga tgaagcttg	34020
gtcttgccac aatagcagag ggaggcctta ttttgtcca tttctctatg acattggtag	34080
aaaggagttt gtcagaatc caagctattt ggcaattatc caattttgag atcctaattg	34140
atctttcaag gtctagttt ttattcttt tagtgattcc ttattaatc cctgatttta	34200
tacatatgtg ttgaacatct gtcttgcca aatacttgtt aagtgtgag gatgcagcca	34260
cagtgggcaa agccatgagg cttaagatct agtgtgggaa acgggtgaag taaagtaaat	34320
atggcaataa gtacagtga tgaagcaaac aggtgaaggg gtagaaggcc tcgggctgca	34380

[0041]

aagatagtag atagtgaag cagggaaatct tatctgaggg gtgacatcta ggctgagatg	34440
gaaaggacag tgagagccag ccaaggaac aagctgggtg acaagagttg caggtggagt	34500
tgcttaattt cccatttctg ctcagcctgc agaacctaga tcttgacta attgcaaact	34560
gtcatttctt tgtgagtta ttagaacctt ccagaacaag tttctggta gctagtttct	34620
ctgtgtgtg ctcatttctt gttggttctg gttctttggg gttectactc atactccgga	34680
aagctccaat gtcttaagta gtcagtctcc caagagtctg aaagcacaaa gattcacaat	34740
gatacagatca cctctcagtc atagcagcat cgatgcagtt ccgtagctgg tttcctaaag	34800
ccatccagac ctctttctgt ggcaagagag aaataagacc ttctggtgaa ctgaggacta	34860
attatcctaa taaacatgtg aattaacagt tcctttggtt aaacaaagca ccagaatctg	34920
ataatgggaa catgtgactc acggtatttc cctctttgct ttatctacca ggcagctcac	34980
gaaaccactg gccttccctg tgttccatt ttatgtcata aatatagtt taattaactt	35040
attataaaag gcctttgtc atggaccata tcaaattatt cttatataga agaggttata	35100
catgttttaa acatttttaa ataaatctga aaagaatact acatcctggg caacttcccc	35160
gcatatgggg ctcaagaag ctctatgttg ttatgggtaa ggcggagtca gagtgccttc	35220
agtgtagttc agcagatgct gagaggetgc tgtgtgctgg actctgatcc cactaaatag	35280
agtagggctg agcccctgcc caccatgaca gcctggagat acaagctggt ccctttgctt	35340
ccctgagccc tgagctttat agcctataga cagctgaaaa gcaggetgca tcggttacc	35400
cgtcagttac ccagacccaa atgccagccc ttggctaacc ccagttatta cctaatttca	35460
agatccta atgtatcttita agacctggct tgttcattct ttcatttatt tacttactca	35520
ttgattttgt aaatatttat ggagcatctg ccgtgctaca tgctgttga gcagcatcag	35580
ccaccctgaa gttgggtgat gaaaggggac agatcaaagg ggctgatgta tggaggagac	35640
acaagttaga cttgaccaag acaatcttat tctcctctg gatgccacga atatatacag	35700
tcattagctg ttgggcccc atgaagactg ttgacatttt gtggttttaa cactgaagag	35760
taagggaatg ttggaatgg caaacatctg atatagtga aagaagacta aatattttgg	35820
tggtgttcat aaacactgag gaggaaagtc gtttcatttt gttcatttgt gtgctctctc	35880
tctctctctg ttatggcaca ttatcctctg ttctcctctt ccttttcttt ttctttttt	35940
ctcccttcat ctccccactt ctctgatctc tcccacctga accgctteta ccctgctgcc	36000
ctcccatcca tctacctcc tctacttccc tccctagaca gtagtaatca catgtcagtt	36060
ggagaaacat gatggcgact tggtcacacc gttcttctca gtctgtatat gttgggtgatc	36120
tccgtgccc tctggtagat cctccttccc ctggctcttc tgctcaccac aaccacctt	36180
gactttgtga tgctgataa ccttccactt ctctaactctg aateccaage ttctcagtcc	36240
tgccccacca cctccccctc tcatccactc cgaacctga acggaagctg aatggaaccc	36300
tgaacggaag gtttctgaag ctgttgagaa cctgaacgg aagctgaaat atcaatgggt	36360
cattgctttt cacagctctc tgtgaaagat tactggccaa gccagcatct ggagaattcc	36420
tggtctaccg cctccctgtc tggagaagct ggaagagcca gctgcatagg gcatgtgacc	36480
catgtactca caggccctgt gccctgagct cactgtttta attttatctt tgaatttga	36540
tttttgtaa taaagtccta tgagctaag gagcatgctc agagaacttg gggatttagt	36600
tcaggetgga ttctctctac tgcttcccac atccctggtc cctgagacc tccagcccca	36660

[0042]

cctgaccttc ccttccctgt ttctatgcag cgatcattgc taccctccat ccctggaagg	36720
ggtataggca cagggcagtt ctaggttcca acttgggcac cgcataacat cttagtggtg	36780
cagggttcag gctgatgatg ccatgggtgt tctgtgggt actgggcagg gtcaagccgc	36840
tctcacctg atccaggtac ctaatgcacc ctgacacaga agtggcagtg tccttgggt	36900
catcattat ccatgtgttg gaggagtggg cccttaggga agatgcttgg ctcaacttcc	36960
ccaccctag ccagggcacg atccgaggtc caggggttgg tgggcacgag gccaaagtct	37020
gaggcctcca gtgtctgcac tcaactgtcc gtaaataacc acaacaataa ctagcaaacc	37080
aaaaccagtg tgataggttg agagagacag aatgtggaag aagggaataa gctttatatt	37140
ttagtacctt taacagtgtt ttctgtatgc tttatgaaca aggagcctgc atttgcattt	37200
tgacttgggc tctgctaatt ttgttctgg tctgtctccc tagtagcccg agtcagcaaa	37260
tccttgggtc atctgagtc acagtgcatt gaccgcctt tttcacagt tcctccctg	37320
ccatgtgct cacttccctc cttaccacag ttggctcact ctctcaagca agtctttgga	37380
tgetgacatc ccccctaac aacccttctg cggcctggtt tgattgtcct taggagcgt	37440
gcaagtctta tggcactgct tcttctggg tatagaggat gtgctatttt gtccattgca	37500
tattttttaa agaaaatgaa aggttagcat aactgttcc agaaggcaca ttgaatcact	37560
cagttgagtc ccagccagtt gctgcagcgt tagccttga agcaacttg aaccaacaca	37620
ggaccagcct ggaagtccca gcctccggaa acgatgcagt ggattctgca gattcagcaa	37680
caaaaatatt ttgttaactc aggaacactt cgtaattttc aaaggcgaga aagaagtaat	37740
tgacttggct tattaggttg aaaaagagtt gccaatttt tctttggtt ttgtgttatt	37800
gtttttgtt tttttcttt tctccaagct tcagggaatg agattaaatg agcactgaag	37860
tgctactagg cagaacctga atggaaggaa gctgaaatac tgatgggtca ttgcttttca	37920
cagtcctcta tgaagatta ctggccaagc cagcatctgg agaattctag gaatcccccc	37980
tcctcttga gcggtataag ttgcgggaa tcatctcacc ccaactggga gttgtatgaa	38040
aaaagggatt tattaggac cctgttgcct gtttggatct taccaattta actattgtct	38100
gctaattgat gttttgaaa gcaaccaggt tttctgtaa gaacagctaa ttgtcagagc	38160
tgagatgacc atgggagatc actgggctca actcctaatt ttagaggtgg taaaaccgca	38220
accagagaa gctgatcaag tggccaag tcgtagactg agttcataca ggaccaagac	38280
ccagccctga tgcctgcta tctgggacag tgttctccc gcacacgtgg agcctgaggg	38340
ggtaatgtgt gtgtgtgtgt gtgtgtgtgt gtgtgtgtat gtacatgtac tcatatacac	38400
ataggtgttt tgcttaggtt ttcaattctg cccaccttg gttgatcttg gagaatgagc	38460
ccgaggcgca ggtgcctgt cagcctggg gcttcaactca gcacaggccc aactttctg	38520
ctctggggga gttccagcag ttatggttca tctgtggttc agttatggaa cccacaccac	38580
acgtagcgc cccaaagccg aggctgcatg cacagacctc cctcccttc tcgtggtggg	38640
cccctgttg gattcttccc aaacttctcc tttgccctgc tctgtgttat acccactctg	38700
gtccccgtc cctgtggagt gatccagggc acaaggacag ctgtttcact gctggccgct	38760
gtgtacccc agcatctggg aggtggggag cgggctggg agaagaacac ctggagcggg	38820
ggttgggac agggagggcc gcagtcccgg taccaccacc acctgctgtg ggacctgcag	38880
tctcctcatc agcagaacag ctgtgaagcc atcctgccc tccacagggt ggtgggtgt	38940

[0043]

gaaggctgca tacctggcag agctggagaa gctctgggga gatgctggac atgcacgcta	39000
ggagtggttt cectgccttg ccagactct gctcccatca cctgaacctc cctgtcacca	39060
ccacggaact gctgtgacca ttgctttctt ctttaagcaga ttaacagaca tctcctgccc	39120
caccccccca acaaaacaaa tgaacaaaca aaaaacgtgc ttgaaggagt atgaacttat	39180
acagtctttt ctaaactctg ttaagtctg gttatgggat cttcttttaa aatgaacctat	39240
attccccagg ctttggatga cactcatggt tgccccacct ccaacttctt tccctgctgg	39300
cagaacctg ggtttgtttt cgttccacct cggacccac tgcatctctg actcaggcaa	39360
atctgcaggg tccagtgcag tcagggggcc acgttccctc ctccaacggg tgctgaggtc	39420
gctgcttgat tggatgctgc tgatgacctg cgaggaggag ggcgccaggg cacttttggg	39480
actttgctct tctgaagaga tgcttcaca gcacggtcgc agtcacgtct tgatgtgatg	39540
tctggaatgg tggtagccgt cttgtggctg tgagaacagg ctgaggttga ttggatggaa	39600
ggaaggaagg atccttgttc ttgacactgt ctgtgacctc tcaggttate gccctggcac	39660
caccagccc ttggagtaga cacctgtcta ctctacatac tccatttga gttgggtttt	39720
ttgtcactt gcagttgaaa gcacctaac tgatatacac aaactatttt tagtgcggtt	39780
ctgtgtttgg cccttatgga agactttggg ctgagctgcc catggtgagg gagacggact	39840
tcgtgtcttc ttaccactct gtgtcctggt ggcttgtatg tgtctctgcc catgaggcaa	39900
aagcctaaag ggcaagggcg gattttctta atcggatgtt cttgcacca agcacatagg	39960
agacactcaa cgaatggttg ttgagagagt tctctttcac ggaggtggtg ttttgtgaaa	40020
cgatgctgcc aggcctgctt gttatttgtc tgttggttgt aatctgcatg aatgcaaaga	40080
gccatcttta atcatgtctg ggaccagcct ctccaaggt attagcatga ctcccactac	40140
ctgctcagca tectgectat ggctaggact ttgtaattta catagatacg ctggggagac	40200
agggagccca tgaccaggac tctgacacct tcaactggagc tgtttctaca tctaccctgg	40260
gtggctgtct aggacattag gegattcgtg tcttctctaa gtccctctgt tgagagactt	40320
ctggctctgt tgagaggaca ctatttagca ttgtgagtc ctgcaggctg ggggccagtg	40380
ggcattttcc ttctagatgt cccctctctt cttctggcct cccaggcttc ctgctcctga	40440
gactgtgaga actggcctgt gctgggctca ctgcagaaag accgtcgtct ccaaaggtct	40500
tgtgccaaac ttgagctaca agctctttag ccgggcctga ggtctccgcc tgggctctgg	40560
gagagcagca gtggctgttt ctgccccctc actgctgtca tgcccacact tcaactgcat	40620
ttcttctgcc cccagccgt gtgagaatct ggtatgagga gtgggactca cgtgccctct	40680
ttcttctct cttccccctg gccctttcat ctgtcagtgg aggacagatg tttgccctgt	40740
ttacttctag gctcactgtg gggctccagg gagatggtga agtgccaag gagaggagct	40800
gccacctca agacggcctg tggccagtgc tgctttaaag ggagactcag agatgctttg	40860
ctgtgggtgg cgcgggaacc agcatgggga cagcagtgca gaggccttg actcagagtg	40920
ctgtggcccc acggggcttc acgggcctg ttgctgtgca cttccagcct tatctgtgct	40980
gcatctctc cacattcccc tgtggagctg atgtctagac agctatggaa ttaaatgctc	41040
aattaccgag taggaatttg gccagcagag gtatagctgc ggagcagaca gactcaggtt	41100
gaggctcacg gctgagaacg ggccccact ggctctggaa tgagctgagg ggccccatgc	41160
tctgacgcc agtggctcct gtggggagtt ggggcagtga cccccaaaag gcagtttgac	41220

[0044]

ctcatggaga gccataaatc tggcctggtc accatctctg caacacatca ttccattgca	41280
aagatttctg cctgtgattg gaattctggg tgaacgtgta ctgggcatgt gggctctgaga	41340
gctgggaagc ctgttctctt gtttagccag gctgcccag ggctgtgagg agtgcccca	41400
tccttgagcc tcagtttcca catctttaa atgggggaa aatacagctc aactcctaag	41460
gggtccgtga aagtactttg tcacctgcca ggcaaaggct cattccttcc acagaaatgc	41520
aaggtttaca atgtgagacc cctccctact tcgccgcatg tgtecgcttg ctttttctg	41580
tccttagggtt gccctacatg agctaggaaa tgtctgagtg aataaaaacg taaacgagat	41640
gatcactggt ggtgccattt ggtgcagcct ttgcctaaat ggccactacg tagccacatt	41700
ttctcgtctg tgttcaggtg aggactggtt cctggggaga ctccttgggt tcacattatg	41760
gggtgtctatc ttgtcgaagc ccatatggtc acccaagtgt gactgaacca tggggtgctc	41820
tgggccccat ttttggcagc aggcagcctc ccctggaggc ctggccctcc ccaggagcat	41880
ggagagcagt gcccatggac aagcagctctg cagcctccat ctctctctcc ctgcccgggg	41940
ggetcccccc cccagcctc gcagcttctc caaaagtgtt tgtctccttg ccgcatcctc	42000
tgggctgag ctcagatggt ggaaaagaag agctggaagg agagtggctt ttcggctctgt	42060
ctgcttctg aggtctcctg agacatacag gctgggcctg cctcccttcc taggaggcgc	42120
cgatgggtg taagataggg ggataagtga gatgtgaatg aggatcacca cagcaagccc	42180
tgactcataa ctttttgatg ggttttcaat gtgtggtgaa gcaggcgctt gctgggcccc	42240
cttctgagtg tgagcttgat ctctgcctc ctgtctgtct ccttaggcag ccaggctacc	42300
ctgctccagc aacctgtgcc accccgtccc ttacctgtc ccaagcccag ccccgaaggc	42360
[0045] ctcaaaggcc tggccttcca gccagctcag ggctgaagg gatggcagtg tccctggtgg	42420
acctccccca gcatggcgta gcgcacatcc cagccctgcc tctgccccg cctgcacgcc	42480
atgaatgctg aagtcatgcc tggcaggggc tgcctggccc ggcccagagt aaacagctg	42540
cgctgagctt gctggtgtgc tgcctgagtc tgatgagctt gaggagtgtg ggaagtcatg	42600
gtggggccga gtagggatgc tgcaggcctg catctcccc cagctgccct gcacgtcca	42660
gcctcagga accccacagg gaaagggtca cccactgtca gggcagacct ttaccatggc	42720
tgggtgacat gggctggctg tgggaagggt gttggtggtt ccccctgttg gatttgaca	42780
ggcccagatg ctacagcaa aactaacacc tagatgatgc ttataggagc cagcgggtaa	42840
tcaaagagct gttcagatct tcatttgctt cgttctcaca gtggaccatt gaggtagctg	42900
taigttagtc ccattttcca gatgggaaaa ctgaggacct gagtggctgt aagctcaggc	42960
ccctatctaa atcacacagc ctggccccag gctctatgctc ttgacctagg acagtgtctt	43020
cctgtctctc ttggtatctg tgatctgagg gaccttctc ctctcagtc ttgtatagtc	43080
agtttttagt cttagactct tcttccatc ccttttctc tttcgggagc tctctcacc	43140
agcaccttcc ttatctagta tgtgttgggg gatatttgtg gcatgatgtg gcgctgtgta	43200
gtggatgaga gactctgttt ttccggttcc agccccaggt ttcaatcctc gctctgtctc	43260
aagtcacca gactcttggg ggctcagttt cctcatctgt taaatgggca tgggtgtcac	43320
ctcacctcat cagctgtgtg ctgctccatc cctgggtggg gagatggctc aagtaacccc	43380
ttggttccac ctgccccacc cactgtgtc cctggctctt tctttttga gatagacaaa	43440
cgtaggctc tggatttga gttcccacga gggctggggt ggctgtctgc tttctgggtc	43500

tggTccatgt tticcagggc agctgctcgt tctaagtga caaaggctga aggaactcag	43560
gaggtttgct cggctccgag gatggcagag agggaagggg tgccgatgcc ttcctgata	43620
gagctgggga ggccttctg tggttccccc cagctccttg gcttgggtga ccctggagct	43680
gacttctgtt ccattttgtt gtgcagagtt gtttggggct cctggctctg cctggccttt	43740
gtgggccact ggagatcagg gcttctggag ttggccaatt agcccccca gccaggagg	43800
cacaggtgtc tgatggaggg ccttttcagg agaggagaga tggccccct gttgggtctt	43860
gctgtcttgg gtcttgagg cttgtctgc cccatgctcc atccatgcc ttgaccaatg	43920
tggccctgta ctacagatag gcatgcacct gagtcagtgc aattccctgt ccacagagca	43980
ccccaaatat tccaggcctc aggatgggtg tgcacatgat gagccgggca ggtttcacca	44040
cctgtagctt gggatccttc ccggggcttg gttctgaag gctgccccag gcagtacac	44100
cccaaacctt aaattcatgt tgccttctc tgcctcttgg cctcaaggtt tcagagtgag	44160
tcgtgtctga tagcttcaag atgtgatgag accccgactt ggctccagtt tccctccca	44220
cggtttctt ggcgtgtgtg cggttccagt ggtcactggc tcccacacag cttgtaatgt	44280
gtggattacg ggtgggaggg aagtccggtc ctgctgcag caaagggatg ttagtctgta	44340
gctcagttcc ccatcgggce tgggtgttcc aaatggcccc gcaactgtccc tgcctggttt	44400
tccatgatat ctgtgccttt acccatttgg ttaaattaaa caaattcagc aatgccagcc	44460
attgtggttt cagggttaagt tgcctgtcct gctgcttggc cgctcctcag agctgccc	44520
gggagagttc gtggtcgcca tcggaagccc gttttccctt caaacacag tcaccaccgg	44580
gatcgtgagc accaccagc gaggcggcaa agagctgggg ctccggaact cagacatgga	44640
[0046] ctacatccag accgacgcca tcatcaactg gacctctgt ccctctgcgg gtggggcttg	44700
ggcagggtt ttgccagagg agaggagtca gcatcgtct ctgacttctt ttagtcttgg	44760
gtgaaaggat ggaactagac caagccatgt ggatcctagt gccagcagca cgacagggt	44820
cacacggcgg ggacagtgac actggagcag gtggacagcc agcctctctc caggaggaag	44880
aagttgtgtt ggggtgctta ggggtgattgc agttggcttc tgggcttcag agagaaaatc	44940
tccccattta cggcacctctt aaaactttct gaaaattgtt aaggtcattt tttccagca	45000
aaatattagg ttaatgggaa tgaatctcag agaagaatca tgccccacac ttagacacc	45060
atgctcagga gacggccagg caggacata gattggacca cgttatgaca caattttaa	45120
cctttccatt tcgttttaat tgcagtatgg aaactcggga ggccccctag taaacctggt	45180
aacgtatttt aaacgttatg tcgtttgttt ttatttatgt acacactgtt tttgtttgt	45240
ttgtttttt gatgtagggg gtcttttcaa acataagctt gccaaagcgt gttatcaagt	45300
ttctttaaa tgagctctgt gaatgtactg catgcttga aatgacccta tggatctttt	45360
ctggaagag taaggcaggc tggaggtgag ggttggaaat gttatgccag agagcacact	45420
tgtgtctcag agttacaggt aaacacagtg aaattcaggg ccaatgcagg agtaagggtga	45480
aggtcaccaa aagtctgctg cggtcactga aagagctcc tccaaattaa atctcctggg	45540
ctgctgaagg agctggctgg gctcatacac actttctctt ggccaggaat cctcccttaa	45600
ggcctggctg gaatgaggag gagttacca cccacaaga tatcatttaa gtctaccctt	45660
aaatacttga gcagaaaaag tgaagcctta gaacatagac catcagcgt agagggcagc	45720
tccggggccc ttcatagagg gcagctccgg ggccatttgt aggggccgtc ttagtaagg	45780

	ccttggcadc aggtactgac atcccagcac tcgtgggaag tgcgcacggg gcgatgtatc	45840
	cccgtttggc agctttccct tcccagcaga ggggcagctg tgctcccage tctgcccctc	45900
	gcctcccccg cagcacctcg gggatggagt ggagacggct ttgcgggtaa tgaagcatga	45960
	cagccctaag ctctagggtt gttcccctc aagtcagcag agtcacttta agatcattag	46020
	aaatgagaga agcaggaagg tgtaggcage cacctagagg actctgagcc tttggaaacg	46080
	tattccttgt gaaacaggag caaataatat cgtgcatttt gaaactatct gtgettaccg	46140
	cgaggtgagc acccagtggc gacctggagt gtgtgcgatt cttccacage tgcgcgtggc	46200
	ctacgtgcc tgggtgtcct gatgcctctc tcctgtctcc cccggggatc ccctccatgc	46260
	agctccccgc ttcaatctct gaaatagctc agtgacttct ttcatgcaca ttctctttgg	46320
	gggtgtacct gccgtaagc cttcacgatt cagcaagccg tgccttctt gcctttcagg	46380
	acggtgaagt gattggaatt aacactttga aagtgcagc tggaatctcc tttgcaatcc	46440
	catctgataa gattaaaaag ttctcaccg agtcccata cgcacaggcc aaaggtaggc	46500
	aaggcccaca tagccccggg gactccggag attcggcctg aagctcaact gccctttggg	46560
	aattggggaa gggaaaagtg gcagccccta agactagcca agccgtcttc gatccagaag	46620
	tgaacaggaa tgcacattac taaatccctg gtagaaggtc acagacattg cgccattttt	46680
	gtctccgat catgacaatg tcaactgagt cagtctaata tgtaccagac acgatcctag	46740
	gtgatttctg tccattatct cactttatct atgtatgta ctttaattct ttgcctatc	46800
	agttaggaat tactagtccc attttgctga tgagaaaaca gggtcaggga gatcattcta	46860
[0047]	caaacattta ttgcctaagt caagcaggga gcttggcagt agactgcca actggagcct	46920
	ggggctccgc tgaggccttt gccggtgtgt gtttatgttc tggttgggga tgggaaggct	46980
	gacagtaaat aatcagacac attagatact attagtctc ccaagaaaac agatcagggt	47040
	ggetggcaag ggagtgactg gacaggcagt tggtagagat ggtgtggcca ggaaatgect	47100
	cccaactga ggtctgagtg aggaggagcc agcaggtagg gatgtggggg gaacactcca	47160
	gaaggaaaga cagaggactc agcatagctg agtgagcaca aggccctgg agtggcctgg	47220
	gggccggagc acagtgacag catggaggtc tctgggtgg aaagctcgc aagccaagc	47280
	aagcaggctc acagcgggcc atggtgaggg gcctgggtg catcctaacc gcatttaaga	47340
	acagggaagt tcatgatctg attgatgta ctgaaaggac actctgatgg ttggggggag	47400
	tctgctggag gagtgtctgg aagtgggga ccggagaagg agctctcca gtcatctgga	47460
	tgagacacgc tggggctca gacaagggtg gtggcagtgg aggtgggaca gagggtcac	47520
	attccaggta tacatggggg tagcgcaagc ctggggaagg gccagctgtc aggatgagge	47580
	catgaggaat tgaggatcat gccaggtat ctgaccatta actgaacgat gagactttcc	47640
	tgaggtcccc cagaggggag ggtccaaac caggattcga gcccaacct ccgtgtgccc	47700
	ttctgtggcc cttcctgcaa cctgggggat tggccccca gccctggtg tccccagcat	47760
	accaccaac tgggctgacc ttctgccgct ctttgttgt ctcaccagga aaagccatca	47820
	ccaagaagaa gtatatgggt atccgaatga tgtcactcac gtccaggtgg gcaaacagga	47880
	tgcgtgtgtg tctcttaaat ttaataaac ctgaactca gaaggtgctc acgggcaccc	47940
	ctgaaagaga aagcttatgc agccttaaga catctcagtt tctgcttata atgaagtagc	48000
	atcaggaagag aggacaggtc atcagccgtg gccctttgt ttggtttat cctgtgttcc	48060

tgcatctga gctggtttcc ttcatggcg gctggccctc cagtgtagaa ggttctgccc	48120
tcctcttga aggcaggcct gacagtgcg tgtgtgtgg ggctgttgat tcattctggc	48180
tcattgtctt cttacccecat attctgttga aaccacatt ccaggagggc cccaagcccc	48240
teccacagct ctaggcactc tgctttcatt gctctgetct gggcagctc gtgggcccgtg	48300
gctgcaggaa tgccaggcca ggcccagtc agggaagtga atgactgatg tgcttgtttt	48360
ccccgagctg gtggaactgc ggcctgtggt tggcaggctc acggcatcct ggtgttttaa	48420
cctggatgaa aaattctggt gtaatctcgt gagtctggt agtatagact caactggcgt	48480
ggctgaaact gtcagagga aagtaggaaa agactagaat atactaacag gtagattaat	48540
gtgttcatta ctatgatgaa ttaatgattc actcactgtg aaagtattaa tatattttga	48600
tacacattat gaatgatggt ccctttcttc gcactccaga agatggagcc acttgtcaag	48660
gttaaagtgt ctctcagtt gtttgccttt ggaactagaa ggtggaggga aagatgggag	48720
gcccttggcg ccagctccc tgggttctct ttcagctct gatacttctt gccttgtgac	48780
cttgggaacg atatgacccc tgagtgcctc agtttccctc tcttcaggat ggggatgaca	48840
gcgcaggctc ttctggtggt agcggctgac accagccaca gtgatgccag tcactatcta	48900
ggccgggtgc tttactgggg tgacctcctc tgatctcac aactcatatt gtaggtact	48960
gttattatcc cegtctgca ggtgaggaaa tgaagcaca gagaggttaa gcaaccgtct	49020
ggggtcacgc agctagcaaa tagcagagct agggctacaa accaggccaa ccaataact	49080
ttacggactc cttagtaata gctactgtta attaagaaat aataacaatg atgatggctg	49140
cgcatgtctg gctcacacct gtaatccag cactttggga ggctgaggcg ggcagatcag	49200
ttgaggccag gagtggaga tcagcctggc caatttgtga aaccctgtct ctactaaaaa	49260
taigaaaaat ttagctgggc ttggtggcag gcacctgtaa tctcagctac tcgggtggct	49320
gaggcaggag aattgcttga acccaggaaa tagaggttgc agtgaactga gatcgtgcca	49380
ttgcactcca gctgggtga tagagcaaga ctctgtctca aaaaaaaaaa aaaagaaaag	49440
aaaagaaaag aaataataat aatgatgaaa gcactttcct tgctgttacc aagtaaatct	49500
ttgactctg tagagagga attttaaat aggatcagaa ctctggagg aattttacat	49560
tagaccagg gagaagaagg gaactgtga gagcttgagt tttgcctggg gaaggactgg	49620
tgtctctca cactaacacg ggtgcttttt ctctggagca gcaaagccaa agagctgaag	49680
gaccggcacc gggacttccc agacgtgac tcaggagcgt atatcattga agtaattcct	49740
gataccagg cagaagcgtg agttagatc attttccctt attttccctt ttctaatat	49800
tcttgttct cctgtagggg tagcaggaag agggagcgt gttccttttc tactggtca	49860
gatgacagtg ttgatccttg acagatgtgg tcggacgtt ctggtcattc ctgctggcca	49920
ggccttctga cctggtcgg cttgggactc atccatagga ggggtgcctc tgtcttcaaa	49980
agtccttct ccaactaggac cctccagatg gacagagcaa tagcagactc ataagatgc	50040
tctggtgce cagagagagg gtttcaggaa cagtgtcccc aagccctcac gtggtgttcc	50100
tgttctaggc ttcgggacct ttctctctt ggagtcttcc agattgtctc tgacagttag	50160
gccataacct gtaaacacct ccagaaaaat aaccaagtg atatcaaagt aacatgacaa	50220
gaagtagctc aaccatccat cagggtttgt tacctgtatt ggaatatcca gaaaaaagtg	50280
ctagaccagg ggccagcaat tgtgccctgg ggctggatct ggcccactgc ctgcttttat	50340

[0048]

atggagctgt ggactaagaa taatTTTTgc atTTtatttc tatttttact tattttttaa	50400
atTTTTtatt tTcataggtt ttgggggaac aggtTgtatt tggTtacatg aataagTtct	50460
ttgTtggtga tTtTtgagat tTtggTgcac ccatcaccca agcagtatac actgaaccca	50520
atTtTtagtc tTttatccct caccctTgtc ccagccTtTc ccattTgagtc cccagagTcc	50580
atTgtataat tcttatgcct tTgtatcctc atagTttTage tcccactTat gagtGagaac	50640
atTtaaatag ttgaaaaaat cctGaaataa gaatagcatt tTgtgactTg ttatattTgt	50700
atGcaattca aattTcagcg tccactGaaa tTtggTttat gacatctTtg gtgGctTttg	50760
tGctggagca gccgagTtga gtagctTcaa cagagaccat atatacggca aagcctaaaa	50820
tattTcctat ggacctTttt acagaaaaag tTtgcagacc cttatGctgg cccatagaa	50880
ggaccatGac agcgTttTga cgctGaccta tataagagct acagTtatag tggcaaccac	50940
acaaaggaag tGcctctTaa cagaagcatt ctGcccacc tTttaggaac tGcattctga	51000
gtTgcaatac cttTtataag caagTtggcc atggTcacgc tacatggcag atagTacctg	51060
gtacatcctt ccccactTtg ggtTcaatct tGacctTtga tctcctTggg gtcataaggc	51120
catacaagTg ttagtagGca tTtctagagt ggacataatg gatgagTtag cctaaaaatc	51180
tcaaaaggag cccagcatca tggcacctGc tTgtaatccc agctattcag gagGctggag	51240
cagaaggate cttTtagccc aggagTtcaa gactagctTg ggcaacaaat gagaccccat	51300
ctcaagaaa aaaaaaagg tgggggaaga acattataat aataataata ataataataa	51360
aaacctTgat aagtatccag tctaccaatg gTttattTtt tattttatta ttattattt	51420
ttgagatGga atctcactct gtTgcccagg ctggagTgca tTggcaaaat cttggctTac	51480
tGcaacctcc acctcctggg ttcaagtGaa tctctTgctc cagcctctga gtagctggga	51540
ttacagTgTc ccaccaccaa acctgGctct tTtGttTtTg aattTtagta gaaccagggc	51600
ttTgccatgt tggccaggct ggtctTgaac tctGacctc aggtcatcca cctGcctcag	51660
cctccccaaG tGctaggatt acaggcatga gccactGtGc ccggcccact gatgGttTga	51720
attattctaa gTtaccacc atccaatcct gTttGctctg gGctTtttagg ttctaaactg	51780
tGcctctGtc catGtaaagt cagatcagga ggaatggaga catGaaacat tGctattTgt	51840
ttccctTtg tGttGcagTg gtGgtctcaa ggaaaacGac gTcataatca gtatcaatgg	51900
acagTcggtg gTctccGcca atGacgtcag cgatGtcatt aaaaggGaaa gCaccctGaa	51960
catggtGgtc cgtagggGta acgaagacat catgatcaca gTgattcccG aGaaatTga	52020
cccatagGca gagGcatgag ctggactTca tGttTccctc aaagactctc ccgtggatga	52080
cggatgagga ctctgggctg ctggaatagg aactcaaga cttTtgaccg ccattTtGtt	52140
tGttcagTgg agactccctg gccaacagaa tctTctTtga tagTttGcag gcaaaacaaa	52200
tGtaatGctg cagatccGca ggcagaagct ctGccctTct gTatctatg tatGcagTgt	52260
gctTttctt gccagctTgg tccattctTg cttagacagc cagcattTgt ctctcctTt	52320
aactgagTca tcatctTtag ccaactaatg cagTcgatac aatGcgtaga tagaagaagc	52380
cccacgggag ccgggatggg acggggcGcg tTtGtGctTt tctccaagtc agcaccacaaa	52440
ggtcaatGca cagagacccc ggtGgggtga aactgGctt ctGaaatggc cagagTtgac	52500
tctTttagga atctctTtTg aactgggagc acgatGactc tGagTttGag ctattaaagt	52560
actTctTaca cattg	52575

[0049]

	<210> 5	
	<211> 20	
	<212> DNA	
	<213> 人工的	
	<220>	
	<223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 5	
	agttaaagga ggagacaaat	20
	<210> 6	
	<211> 20	
	<212> DNA	
	<213> 人工的	
	<220>	
	<223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 6	
	tcagttaaag gaggagacaa	20
	<210> 7	
	<211> 20	
	<212> DNA	
	<213> 人工的	
	<220>	
	<223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 7	
	ctcagttaaa ggaggagaca	20
[0050]	<210> 8	
	<211> 19	
	<212> DNA	
	<213> 人工的	
	<220>	
	<223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 8	
	ctcagttaaa ggaggagac	19
	<210> 9	
	<211> 20	
	<212> DNA	
	<213> 人工的	
	<220>	
	<223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 9	
	actcagttaa aggaggagac	20
	<210> 10	
	<211> 19	
	<212> DNA	
	<213> 人工的	
	<220>	
	<223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 10	
	actcagttaa aggaggaga	19
	<210> 11	
	<211> 18	
	<212> DNA	

	<213> 人工的	
	<220>	
	<223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 11	
	actcagttaa aggaggag	18
	<210> 12	
	<211> 20	
	<212> DNA	
	<213> 人工的	
	<220>	
	<223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 12	
	gatgactcag ttaaaggagg	20
	<210> 13	
	<211> 20	
	<212> DNA	
	<213> 人工的	
	<220>	
	<223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 13	
	atgatgactc agttaaagga	20
	<210> 14	
	<211> 18	
	<212> DNA	
	<213> 人工的	
[0051]	<220>	
	<223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 14	
	tgatgactca gttaaagg	18
	<210> 15	
	<211> 20	
	<212> DNA	
	<213> 人工的	
	<220>	
	<223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 15	
	gatgatgact cagttaaagg	20
	<210> 16	
	<211> 19	
	<212> DNA	
	<213> 人工的	
	<220>	
	<223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 16	
	gatgatgact cagttaaag	19
	<210> 17	
	<211> 19	
	<212> DNA	
	<213> 人工的	
	<220>	
	<223> 寡核苷酸核碱基序列基序	

	<400> 17 tatcgactgc attagttg	19
	<210> 18 <211> 20 <212> DNA <213> 人工的	
	<220> <223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 18 gtatcgactg cattagttg	20
	<210> 19 <211> 16 <212> DNA <213> 人工的	
	<220> <223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 19 tcgactgcat tagttg	16
	<210> 20 <211> 16 <212> DNA <213> 人工的	
	<220> <223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
[0052]	<400> 20 tcgactgcat tagttg	16
	<210> 21 <211> 16 <212> DNA <213> 人工的	
	<220> <223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 21 tcgactgcat tagttg	16
	<210> 22 <211> 18 <212> DNA <213> 人工的	
	<220> <223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 22 tatcgactgc attagttg	18
	<210> 23 <211> 19 <212> DNA <213> 人工的	
	<220> <223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 23 gtatcgactg cattagttg	19

	<210> 24	
	<211> 20	
	<212> DNA	
	<213> 人工的	
	<220>	
	<223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 24	
	tgtatcgact gcattagttg	20
	<210> 25	
	<211> 16	
	<212> DNA	
	<213> 人工的	
	<220>	
	<223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 25	
	atcgactgca ttagtt	16
	<210> 26	
	<211> 16	
	<212> DNA	
	<213> 人工的	
	<220>	
	<223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 26	
	atcgactgca ttagtt	16
[0053]	<210> 27	
	<211> 16	
	<212> DNA	
	<213> 人工的	
	<220>	
	<223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 27	
	atcgactgca ttagtt	16
	<210> 28	
	<211> 17	
	<212> DNA	
	<213> 人工的	
	<220>	
	<223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 28	
	tatcgactgc attagtt	17
	<210> 29	
	<211> 18	
	<212> DNA	
	<213> 人工的	
	<220>	
	<223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 29	
	gtatcgactg cattagtt	18
	<210> 30	
	<211> 19	
	<212> DNA	

	<213> 人工的	
	<220>	
	<223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 30	
	tgtatcgact gcattagtt	19
	<210> 31	
	<211> 20	
	<212> DNA	
	<213> 人工的	
	<220>	
	<223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 31	
	ttgtatcgac tgcattagtt	20
	<210> 32	
	<211> 16	
	<212> DNA	
	<213> 人工的	
	<220>	
	<223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 32	
	tatcgactgc attagt	16
	<210> 33	
	<211> 16	
	<212> DNA	
	<213> 人工的	
[0054]	<220>	
	<223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 33	
	tatcgactgc attagt	16
	<210> 34	
	<211> 17	
	<212> DNA	
	<213> 人工的	
	<220>	
	<223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 34	
	gtatcgactg cattagt	17
	<210> 35	
	<211> 18	
	<212> DNA	
	<213> 人工的	
	<220>	
	<223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 35	
	tgtatcgact gcattagt	18
	<210> 36	
	<211> 16	
	<212> DNA	
	<213> 人工的	
	<220>	
	<223> 寡核苷酸核碱基序列基序	

	<400> 36 gtatcgactg cattag	16
	<210> 37 <211> 16 <212> DNA <213> 人工的	
	<220> <223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 37 gtatcgactg cattag	16
	<210> 38 <211> 16 <212> DNA <213> 人工的	
	<220> <223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 38 gtatcgactg cattag	16
	<210> 39 <211> 17 <212> DNA <213> 人工的	
	<220> <223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
[0055]	<400> 39 tgtatcgact gcattag	17
	<210> 40 <211> 18 <212> DNA <213> 人工的	
	<220> <223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 40 ttgtatcgac tgcattag	18
	<210> 41 <211> 19 <212> DNA <213> 人工的	
	<220> <223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 41 attgtatcga ctgcattag	19
	<210> 42 <211> 16 <212> DNA <213> 人工的	
	<220> <223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 42 tgtatcgact gcatta	16

	<210> 43	
	<211> 16	
	<212> DNA	
	<213> 人工的	
	<220>	
	<223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 43	
	tgtatcgact gcatta	16
	<210> 44	
	<211> 18	
	<212> DNA	
	<213> 人工的	
	<220>	
	<223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 44	
	attgtatcga ctgcatta	18
	<210> 45	
	<211> 16	
	<212> DNA	
	<213> 人工的	
	<220>	
	<223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 45	
	ttgtatcgac tgcatt	16
[0056]	<210> 46	
	<211> 16	
	<212> DNA	
	<213> 人工的	
	<220>	
	<223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 46	
	ttgtatcgac tgcatt	16
	<210> 47	
	<211> 16	
	<212> DNA	
	<213> 人工的	
	<220>	
	<223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 47	
	attgtatcga ctgcat	16
	<210> 48	
	<211> 16	
	<212> DNA	
	<213> 人工的	
	<220>	
	<223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 48	
	attgtatcga ctgcat	16
	<210> 49	
	<211> 16	
	<212> DNA	

	<213> 人工的	
	<220>	
	<223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 49	
	attgtatcga ctgcat	16
	<210> 50	
	<211> 16	
	<212> DNA	
	<213> 人工的	
	<220>	
	<223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 50	
	acgcattgta tcgact	16
	<210> 51	
	<211> 16	
	<212> DNA	
	<213> 人工的	
	<220>	
	<223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 51	
	acgcattgta tcgact	16
	<210> 52	
	<211> 16	
	<212> DNA	
	<213> 人工的	
[0057]	<220>	
	<223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 52	
	tacgcattgt atcgac	16
	<210> 53	
	<211> 16	
	<212> DNA	
	<213> 人工的	
	<220>	
	<223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 53	
	tacgcattgt atcgac	16
	<210> 54	
	<211> 17	
	<212> DNA	
	<213> 人工的	
	<220>	
	<223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 54	
	ctacgcattg tatcgac	17
	<210> 55	
	<211> 18	
	<212> DNA	
	<213> 人工的	
	<220>	
	<223> 寡核苷酸核碱基序列基序	

	<400> 55 tctacgcatt gtatcgac	18
	<210> 56 <211> 19 <212> DNA <213> 人工的	
	<220> <223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 56 atctacgcat tgtatcgac	19
	<210> 57 <211> 20 <212> DNA <213> 人工的	
	<220> <223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 57 tatctacgca ttgtatcgac	20
	<210> 58 <211> 16 <212> DNA <213> 人工的	
	<220> <223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
[0058]	<400> 58 ctacgcattg tatcga	16
	<210> 59 <211> 16 <212> DNA <213> 人工的	
	<220> <223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 59 ctacgcattg tatcga	16
	<210> 60 <211> 19 <212> DNA <213> 人工的	
	<220> <223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 60 tatctacgca ttgtatcga	19
	<210> 61 <211> 16 <212> DNA <213> 人工的	
	<220> <223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 61 tctacgcatt gtatcg	16

	<210> 62	
	<211> 16	
	<212> DNA	
	<213> 人工的	
	<220>	
	<223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 62	
	tctacgcatt gtatcg	16
	<210> 63	
	<211> 16	
	<212> DNA	
	<213> 人工的	
	<220>	
	<223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 63	
	tctacgcatt gtatcg	16
	<210> 64	
	<211> 17	
	<212> DNA	
	<213> 人工的	
	<220>	
	<223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 64	
	atctacgcat tgtatcg	17
[0059]	<210> 65	
	<211> 18	
	<212> DNA	
	<213> 人工的	
	<220>	
	<223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 65	
	tatctacgca ttgtatcg	18
	<210> 66	
	<211> 20	
	<212> DNA	
	<213> 人工的	
	<220>	
	<223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 66	
	tctatctacg cattgtatcg	20
	<210> 67	
	<211> 16	
	<212> DNA	
	<213> 人工的	
	<220>	
	<223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 67	
	atctacgcat tgtatc	16
	<210> 68	
	<211> 16	
	<212> DNA	

	<213> 人工的	
	<220>	
	<223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 68	
	atctacgcat tgtatc	16
	<210> 69	
	<211> 17	
	<212> DNA	
	<213> 人工的	
	<220>	
	<223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 69	
	tatctacgca ttgtatc	17
	<210> 70	
	<211> 18	
	<212> DNA	
	<213> 人工的	
	<220>	
	<223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 70	
	ctatctacgc attgtatc	18
	<210> 71	
	<211> 19	
	<212> DNA	
	<213> 人工的	
[0060]	<220>	
	<223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 71	
	tctatctacg cattgtatc	19
	<210> 72	
	<211> 20	
	<212> DNA	
	<213> 人工的	
	<220>	
	<223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 72	
	ttctatctac gcattgtatc	20
	<210> 73	
	<211> 16	
	<212> DNA	
	<213> 人工的	
	<220>	
	<223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 73	
	tatctacgca ttgtat	16
	<210> 74	
	<211> 16	
	<212> DNA	
	<213> 人工的	
	<220>	
	<223> 寡核苷酸核碱基序列基序	

	<400> 74 tatctacgca ttgtat	16
	<210> 75 <211> 17 <212> DNA <213> 人工的	
	<220> <223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 75 ctatctacgc attgtat	17
	<210> 76 <211> 18 <212> DNA <213> 人工的	
	<220> <223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 76 tctatctacg cattgtat	18
	<210> 77 <211> 19 <212> DNA <213> 人工的	
	<220> <223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
[0061]	<400> 77 ttctatctac gcattgtat	19
	<210> 78 <211> 16 <212> DNA <213> 人工的	
	<220> <223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 78 ctatctacgc attgta	16
	<210> 79 <211> 16 <212> DNA <213> 人工的	
	<220> <223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 79 ctatctacgc attgta	16
	<210> 80 <211> 17 <212> DNA <213> 人工的	
	<220> <223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 80 tctatctacg cattgta	17

	<210> 81	
	<211> 18	
	<212> DNA	
	<213> 人工的	
	<220>	
	<223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 81	
	ttctatctac gcattgta	18
	<210> 82	
	<211> 17	
	<212> DNA	
	<213> 人工的	
	<220>	
	<223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 82	
	ttctatctac gcattgt	17
	<210> 83	
	<211> 19	
	<212> DNA	
	<213> 人工的	
	<220>	
	<223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 83	
	tcttctatct acgcattgt	19
[0062]	<210> 84	
	<211> 20	
	<212> DNA	
	<213> 人工的	
	<220>	
	<223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 84	
	ttcttctatc tacgcattgt	20
	<210> 85	
	<211> 19	
	<212> DNA	
	<213> 人工的	
	<220>	
	<223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 85	
	ttcttctatc tacgcattg	19
	<210> 86	
	<211> 16	
	<212> DNA	
	<213> 人工的	
	<220>	
	<223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 86	
	ttctatctac gcattg	16
	<210> 87	
	<211> 16	
	<212> DNA	

	<213> 人工的	
	<220>	
	<223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 87	
	cttctatcta cgcatt	16
	<210> 88	
	<211> 17	
	<212> DNA	
	<213> 人工的	
	<220>	
	<223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 88	
	tcttctatct acgcatt	17
	<210> 89	
	<211> 18	
	<212> DNA	
	<213> 人工的	
	<220>	
	<223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 89	
	ttcttctatc tacgcatt	18
	<210> 90	
	<211> 16	
	<212> DNA	
	<213> 人工的	
[0063]	<220>	
	<223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 90	
	tcttctatct acgcat	16
	<210> 91	
	<211> 17	
	<212> DNA	
	<213> 人工的	
	<220>	
	<223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 91	
	ttcttctatc tacgcat	17
	<210> 92	
	<211> 18	
	<212> DNA	
	<213> 人工的	
	<220>	
	<223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 92	
	cttcttctat ctacgcat	18
	<210> 93	
	<211> 16	
	<212> DNA	
	<213> 人工的	
	<220>	
	<223> 寡核苷酸核碱基序列基序	

	<400> 93 ttcttctatc tacgca	16
	<210> 94 <211> 17 <212> DNA <213> 人工的	
	<220> <223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 94 cttcttctat ctacgca	17
	<210> 95 <211> 18 <212> DNA <213> 人工的	
	<220> <223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 95 gcttcttcta tctacgca	18
	<210> 96 <211> 16 <212> DNA <213> 人工的	
	<220> <223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
[0064]	<400> 96 cttcttctat ctacgc	16
	<210> 97 <211> 16 <212> DNA <213> 人工的	
	<220> <223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 97 gcttcttcta tctacg	16
	<210> 98 <211> 16 <212> DNA <213> 人工的	
	<220> <223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 98 cgtggggcctt cttcta	16
	<210> 99 <211> 20 <212> DNA <213> 人工的	
	<220> <223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 99 tgacttgag aaaagcaca	20

	<210> 100	
	<211> 19	
	<212> DNA	
	<213> 人工的	
	<220>	
	<223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 100	
	ctgacttgga gaaaagcac	19
	<210> 101	
	<211> 16	
	<212> DNA	
	<213> 人工的	
	<220>	
	<223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 101	
	agagtcacg tgctcc	16
	<210> 102	
	<211> 20	
	<212> DNA	
	<213> 人工的	
	<220>	
	<223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 102	
	aagtacttta atagctcaaa	20
[0065]	<210> 103	
	<211> 19	
	<212> DNA	
	<213> 人工的	
	<220>	
	<223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 103	
	aagtacttta atagctcaa	19
	<210> 104	
	<211> 20	
	<212> DNA	
	<213> 人工的	
	<220>	
	<223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 104	
	gaagtacttt aatagctcaa	20
	<210> 105	
	<211> 16	
	<212> DNA	
	<213> 人工的	
	<220>	
	<223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 105	
	tactttaata gctcaa	16
	<210> 106	
	<211> 18	
	<212> DNA	

	<213> 人工的	
	<220>	
	<223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 106	
	aagtacttta atagctca	18
	<210> 107	
	<211> 19	
	<212> DNA	
	<213> 人工的	
	<220>	
	<223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 107	
	gaagtacttt aatagctca	19
	<210> 108	
	<211> 19	
	<212> DNA	
	<213> 人工的	
	<220>	
	<223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 108	
	agaagtactt taatagctc	19
	<210> 109	
	<211> 20	
	<212> DNA	
	<213> 人工的	
[0066]	<220>	
	<223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 109	
	aagaagtact ttaatagctc	20
	<210> 110	
	<211> 17	
	<212> DNA	
	<213> 人工的	
	<220>	
	<223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 110	
	gaagtacttt aatagct	17
	<210> 111	
	<211> 20	
	<212> DNA	
	<213> 人工的	
	<220>	
	<223> 寡核苷酸核碱基序列基序	
	<400> 111	
	taagaagtac tttaatagct	20
	<210> 112	
	<211> 16	
	<212> DNA	
	<213> 人工的	
	<220>	
	<223> 寡核苷酸核碱基序列基序	

<400> 112 gcaatgtgta agaagt	16
<210> 113 <211> 275 <212> DNA <213> 智人	
<400> 113 gacagtcagc atttgtctcc tcctttaact gagtcatcat cttagtccaa ctaatgcagt	60
cgatacaatg cgtagataga agaagcccca cgggagccag gatgggactg gtcgtgtttg	120
tgcttttctc caagtcagca cccaaaggtc aatgcacaga gaccccggtt gggtagcgc	180
tggtcttctca aacggccgaa gttgcctctt ttaggaatct ctttgaatt gggagcacga	240
tgactctgag tttgagctat taaagtactt cttac	275
<210> 114 <211> 282 <212> DNA <213> 智人	
<400> 114 gacagtcagc atttgtctcc tcctttaact gagtcatcat cttagtccaa ctaatgcagt	60
cgatacaatg cgtagataga agaagcccca cgggagccag gatgggactg gtcgtgtttg	120
tgcttttctc caagtcagca cccaaaggtc aatgcacaga gaccccggtt gggtagcgc	180
tggtcttctca aacggccgaa gttgcctctt ttaggaatct ctttgaatt gggagcacga	240
tgactctgag tttgagctat taaagtactt cttacatt gc	282
[0067]	
<210> 115 <211> 266 <212> DNA <213> 智人	
<400> 115 gacagtcagc atttgtctcc tcctttaact gagtcatcat cttagtccaa ctaatgcagt	60
cgatacaatg cgtagataga agaagcccca cgggagccag gatgggactg gtcgtgtttg	120
tgcttttctc caagtcagca cccaaaggtc aatgcacaga gaccccggtt gggtagcgc	180
tggtcttctca aacggccgaa gttgcctctt ttaggaatct ctttgaatt gggagcacga	240
tgactctgag tttgagctat taaagt	266
<210> 116 <211> 235 <212> DNA <213> 智人	
<400> 116 caactaatgc agtcgataca atgcgtagat agaagaagcc ccacgggagc caggatggga	60
ctggctgtgt ttgtgctttt ctccaagtca gcacccaaag gtcaatgcac agagaccccg	120
ggtaggtgag cgctggcttc tcaaacggcc gaagttgcct cttttaggaa tctctttgga	180
attgggagca cgatgactct gagtttgagc tattaaagta cttcttacac attgc	235
<210> 117 <211> 229 <212> DNA <213> 智人	

	<400> 117	
	caactaatgc agtcgataca atgcgtagat agaagaagcc ccacgggagc caggatggga	60
	ctggctcgtgt ttgtgctttt ctccaagtca gcacccaaag gtcaatgcac agagaccccg	120
	ggtgggtgag cgctggcttc tcaaacggcc gaagttgcct cttttaggaa tctctttgga	180
	attgggagca cgatgactct gagtttgagc tattaagtt acttcttac	229
	<210> 118	
	<211> 20	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 118	
	cttcttctat ctacgcattg	20
	<210> 119	
	<211> 275	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 119	
	gtaagaagta ctttaatagc tcaaactcag agtcacgtg ctcccaattc caaagagatt	60
	cctaaaaagag gcaacttcgg ccgtttgaga agccagcgt caccacccg gggctctgt	120
	gcattgacct ttgggtgctg acttgagaa aagcacaac acgaccagtc ccatcctggc	180
	tcccgtgggg cttcttctat ctacgcattg tatcgactgc attagtggga ctaagatgat	240
	gactcagtta aaggaggaga caaatgctga ctgctc	275
[0068]	<210> 120	
	<211> 282	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 120	
	gcaatgtgta agaagiactt taatagctca aactcagagt catcgtgctc ccaattccaa	60
	agagattcct aaaagaggca acttcggccg ttgagaagc cagcgtcac ccaccgggg	120
	tctctgtgca ttgaccttg ggtgctgact tggagaaaag cacaacacg accagtccca	180
	tectggctcc cgtggggctt cttctatcta cgcattgat cgactgcatt agttggacta	240
	agatgatgac tcagttaaag gaggagacaa atgctgactg tc	282
	<210> 121	
	<211> 266	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 121	
	actttaatag ctcaaactca ggtcactgt gctccaatt ccaagagat tcctaaaaga	60
	ggcaacttcg gccgtttgag aagccagcgc tcaccaccc ggggtctctg tgcattgacc	120
	tttgggtgct gacttgaga aaagcacaac cacgaccagt cccatcctgg ctcccgtggg	180
	gcttcttcta tctacgcatt gtatcgactg cattagtgg actaagatga tgactcagtt	240
	aaaggaggag acaaatgctg actgctc	266
	<210> 122	
	<211> 235	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 122	

	gcaatgtgta agaagtactt taatagctca aactcagagt catcgtgctc ccaattccaa	60
	agagattcct aaaagaggca acttcggccg ttgagaagc cagcgtcac ccaccgggg	120
	tcctctgtgca ttgacctttg ggtgctgact tggagaaaag cacaaacacg accagtccca	180
	tcctggctcc cgtggggcct ctctatctta cgcattgtat cgactgcatt agttg	235
	<210> 123	
	<211> 229	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 123	
	gtaagaagta actttaatag ctcaaactca gagtcatcgt gctccaatt ccaaagagat	60
	tcctaaaaga ggcaacttcg gccgtttgag aagccagcgc tcaccaccc ggggtctctg	120
	tgcattgacc ttgggtgct gacttggaga aaagcaciaa cacgaccagt cccatcctgg	180
	ctcccgtggg gcttcttcta tctacgcatt giatcgactg cattagtgtg	229
	<210> 124	
	<211> 20	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 124	
	attgtctcc tcctttaact	20
	<210> 125	
	<211> 20	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
[0069]	<400> 125	
	ttgtctctc ctttaactga	20
	<210> 126	
	<211> 20	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 126	
	tgtctctcc ttttaactgag	20
	<210> 127	
	<211> 19	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 127	
	gtctctcct ttaactgag	19
	<210> 128	
	<211> 20	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 128	
	gtctctcct ttaactgagt	20
	<210> 129	
	<211> 19	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 129	
	tctctcctt taactgagt	19

	<210> 130	
	<211> 18	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 130	
	ctctctcttt aactgagt	18
	<210> 131	
	<211> 20	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 131	
	cctcctttaa ctgagtcac	20
	<210> 132	
	<211> 20	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 132	
	tcctttaact gagtcatcat	20
	<210> 133	
	<211> 18	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 133	
	cctttaactg agtcatca	18
[0070]	<210> 134	
	<211> 20	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 134	
	cctttaactg agtcatcatc	20
	<210> 135	
	<211> 19	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 135	
	ctttaactga gtcatcatc	19
	<210> 136	
	<211> 19	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 136	
	ccaactaatg cagtcgata	19
	<210> 137	
	<211> 20	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 137	
	ccaactaatg cagtcgatac	20
	<210> 138	
	<211> 16	

	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 138	
	caactaatgc agtcga	16
	<210> 139	
	<211> 16	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 139	
	caactaatgc agtcga	16
	<210> 140	
	<211> 16	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 140	
	caactaatgc agtcga	16
	<210> 141	
	<211> 18	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 141	
	caactaatgc agtcgata	18
[0071]	<210> 142	
	<211> 19	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 142	
	caactaatgc agtcgatac	19
	<210> 143	
	<211> 20	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 143	
	caactaatgc agtcgataca	20
	<210> 144	
	<211> 16	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 144	
	aactaatgca gtcgat	16
	<210> 145	
	<211> 16	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 145	
	aactaatgca gtcgat	16
	<210> 146	
	<211> 16	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 146	

aactaatgca gtcgat	16
<210> 147	
<211> 17	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 147	
aactaatgca gtcgata	17
<210> 148	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 148	
aactaatgca gtcgatac	18
<210> 149	
<211> 19	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 149	
aactaatgca gtcgataca	19
<210> 150	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 150	
aactaatgca gtcgatacaa	20
[0072]	
<210> 151	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 151	
actaatgcag tcgata	16
<210> 152	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 152	
actaatgcag tcgata	16
<210> 153	
<211> 17	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 153	
actaatgcag tcgatac	17
<210> 154	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 154	
actaatgcag tcgataca	18
<210> 155	

	<211> 16	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 155	
	ctaatgcagt cgatac	16
	<210> 156	
	<211> 16	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 156	
	ctaatgcagt cgatac	16
	<210> 157	
	<211> 16	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 157	
	ctaatgcagt cgatac	16
	<210> 158	
	<211> 17	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 158	
	ctaatgcagt cgataca	17
[0073]	<210> 159	
	<211> 18	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 159	
	ctaatgcagt cgatacaa	18
	<210> 160	
	<211> 19	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 160	
	ctaatgcagt cgatacaat	19
	<210> 161	
	<211> 16	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 161	
	taatgcagtc gatata	16
	<210> 162	
	<211> 16	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 162	
	taatgcagtc gatata	16
	<210> 163	
	<211> 18	
	<212> DNA	
	<213> 智人	

	<400> 163 taatgcagtc gatacaat	18
	<210> 164 <211> 16 <212> DNA <213> 智人	
	<400> 164 aatgcagtcg atacaa	16
	<210> 165 <211> 16 <212> DNA <213> 智人	
	<400> 165 aatgcagtcg atacaa	16
	<210> 166 <211> 16 <212> DNA <213> 智人	
	<400> 166 atgcagtcga tacaat	16
	<210> 167 <211> 16 <212> DNA <213> 智人	
[0074]	<400> 167 atgcagtcga tacaat	16
	<210> 168 <211> 16 <212> DNA <213> 智人	
	<400> 168 atgcagtcga tacaat	16
	<210> 169 <211> 16 <212> DNA <213> 智人	
	<400> 169 agtcgataca atgcgt	16
	<210> 170 <211> 16 <212> DNA <213> 智人	
	<400> 170 agtcgataca atgcgt	16
	<210> 171 <211> 16 <212> DNA <213> 智人	
	<400> 171 gtcgatacaa tgcgta	16

	<210> 172		
	<211> 16		
	<212> DNA		
	<213> 智人		
	<400> 172		
	gtcgatacaa tgcgta	16	
	<210> 173		
	<211> 17		
	<212> DNA		
	<213> 智人		
	<400> 173		
	gtcgatacaa tgcgtag	17	
	<210> 174		
	<211> 18		
	<212> DNA		
	<213> 智人		
	<400> 174		
	gtcgatacaa tgcgtaga	18	
	<210> 175		
	<211> 19		
	<212> DNA		
	<213> 智人		
	<400> 175		
	gtcgatacaa tgcgtagat	19	
[0075]	<210> 176		
	<211> 20		
	<212> DNA		
	<213> 智人		
	<400> 176		
	gtcgatacaa tgcgtagata	20	
	<210> 177		
	<211> 16		
	<212> DNA		
	<213> 智人		
	<400> 177		
	tcgatacaat gcgtag	16	
	<210> 178		
	<211> 16		
	<212> DNA		
	<213> 智人		
	<400> 178		
	tcgatacaat gcgtag	16	
	<210> 179		
	<211> 19		
	<212> DNA		
	<213> 智人		
	<400> 179		
	tcgatacaat gcgtagata	19	
	<210> 180		
	<211> 16		
	<212> DNA		
	<213> 智人		

	<400> 180 cgatacaatg cgtaga	16
	<210> 181 <211> 16 <212> DNA <213> 智人	
	<400> 181 cgatacaatg cgtaga	16
	<210> 182 <211> 16 <212> DNA <213> 智人	
	<400> 182 cgatacaatg cgtaga	16
	<210> 183 <211> 17 <212> DNA <213> 智人	
	<400> 183 cgatacaatg cgtagat	17
	<210> 184 <211> 18 <212> DNA <213> 智人	
[0076]	<400> 184 cgatacaatg cgtagata	18
	<210> 185 <211> 20 <212> DNA <213> 智人	
	<400> 185 cgatacaatg cgtagataga	20
	<210> 186 <211> 16 <212> DNA <213> 智人	
	<400> 186 gatacaatgc gtagat	16
	<210> 187 <211> 16 <212> DNA <213> 智人	
	<400> 187 gatacaatgc gtagat	16
	<210> 188 <211> 17 <212> DNA <213> 智人	
	<400> 188 gatacaatgc gtagata	17

	<210> 189	
	<211> 18	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 189	
	gatacaaatgc gtagatag	18
	<210> 190	
	<211> 19	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 190	
	gatacaaatgc gtagataga	19
	<210> 191	
	<211> 20	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 191	
	gatacaaatgc gtagatagaa	20
	<210> 192	
	<211> 16	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 192	
	atacaatgcg tagata	16
[0077]	<210> 193	
	<211> 16	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 193	
	atacaatgcg tagata	16
	<210> 194	
	<211> 17	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 194	
	atacaatgcg tagatag	17
	<210> 195	
	<211> 18	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 195	
	atacaatgcg tagataga	18
	<210> 196	
	<211> 19	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 196	
	atacaatgcg tagatagaa	19
	<210> 197	
	<211> 16	
	<212> DNA	

	<213> 智人	
	<400> 197 tacaatgcgt agatag	16
	<210> 198 <211> 16 <212> DNA <213> 智人	
	<400> 198 tacaatgcgt agatag	16
	<210> 199 <211> 17 <212> DNA <213> 智人	
	<400> 199 tacaatgcgt agataga	17
	<210> 200 <211> 18 <212> DNA <213> 智人	
	<400> 200 tacaatgcgt agatagaa	18
	<210> 201 <211> 17 <212> DNA <213> 智人	
[0078]	<400> 201 acaatgcgta gatagaa	17
	<210> 202 <211> 19 <212> DNA <213> 智人	
	<400> 202 acaatgcgta gatagaaga	19
	<210> 203 <211> 20 <212> DNA <213> 智人	
	<400> 203 acaatgcgta gatagaagaa	20
	<210> 204 <211> 19 <212> DNA <213> 智人	
	<400> 204 caatgcgtag atagaagaa	19
	<210> 205 <211> 16 <212> DNA <213> 智人	
	<400> 205 caatgcgtag atagaa	16

	<210> 206	
	<211> 16	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 206	
	aatgcgtaga tagaag	16
	<210> 207	
	<211> 17	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 207	
	aatgcgtaga tagaaga	17
	<210> 208	
	<211> 18	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 208	
	aatgcgtaga tagaagaa	18
	<210> 209	
	<211> 16	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 209	
	atgcgtagat agaaga	16
[0079]	<210> 210	
	<211> 17	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 210	
	atgcgtagat agaagaa	17
	<210> 211	
	<211> 18	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 211	
	atgcgtagat agaagaag	18
	<210> 212	
	<211> 16	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 212	
	tgcgtagata gaagaa	16
	<210> 213	
	<211> 17	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 213	
	tgcgtagata gaagaag	17
	<210> 214	
	<211> 18	

	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 214	
	tgcgtagata gaagaagc	18
	<210> 215	
	<211> 16	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 215	
	gcgtagatag aagaag	16
	<210> 216	
	<211> 16	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 216	
	cgtagataga agaagc	16
	<210> 217	
	<211> 16	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 217	
	tagaagaagc cccacg	16
	<210> 218	
	<211> 20	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
[0080]	<400> 218	
	ttgtgctttt ctccaagtca	20
	<210> 219	
	<211> 19	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 219	
	gtgcttttct ccaagtcag	19
	<210> 220	
	<211> 16	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 220	
	ggagcacgat gactct	16
	<210> 221	
	<211> 20	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 221	
	tttgagctat taaagtactt	20
	<210> 222	
	<211> 19	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 222	

	ttgagctatt aaagtactt	19
	<210> 223	
	<211> 20	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 223	
	ttgagctatt aaagtacttc	20
	<210> 224	
	<211> 16	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 224	
	ttgagctatt aaagta	16
	<210> 225	
	<211> 18	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 225	
	tgagctatta aagtactt	18
	<210> 226	
	<211> 19	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 226	
	tgagctatta aagtacttc	19
[0081]	<210> 227	
	<211> 19	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 227	
	gagctattaa agtacttct	19
	<210> 228	
	<211> 20	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 228	
	gagctattaa agtacttctt	20
	<210> 229	
	<211> 17	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 229	
	agctattaaa gtacttc	17
	<210> 230	
	<211> 20	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 230	
	agctattaaa gtacttctta	20
	<210> 231	

	<211> 20	
	<212> DNA	
[0082]	<213> 智人	
	<400> 231	
	caatgcgtag atagaagaag	20

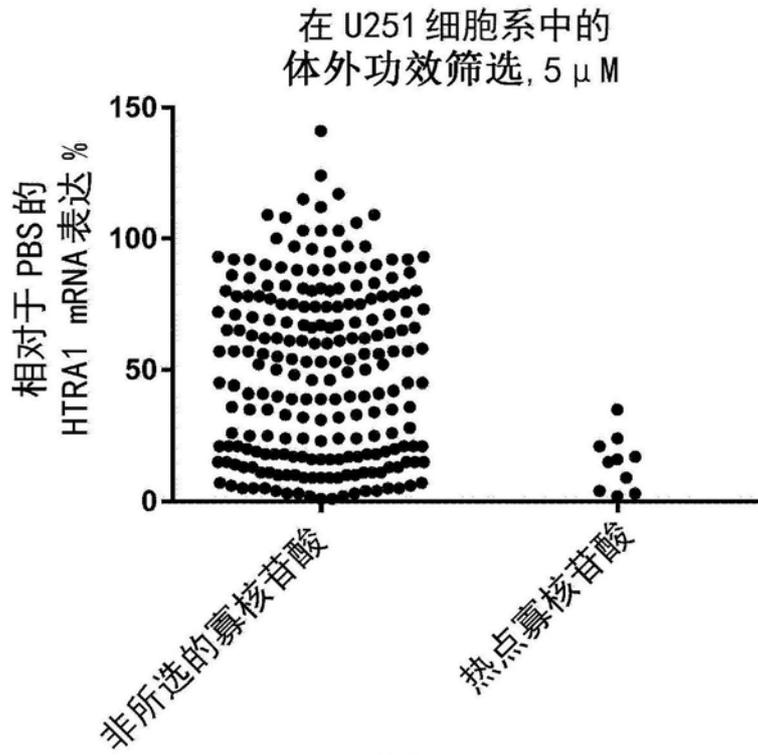


图1

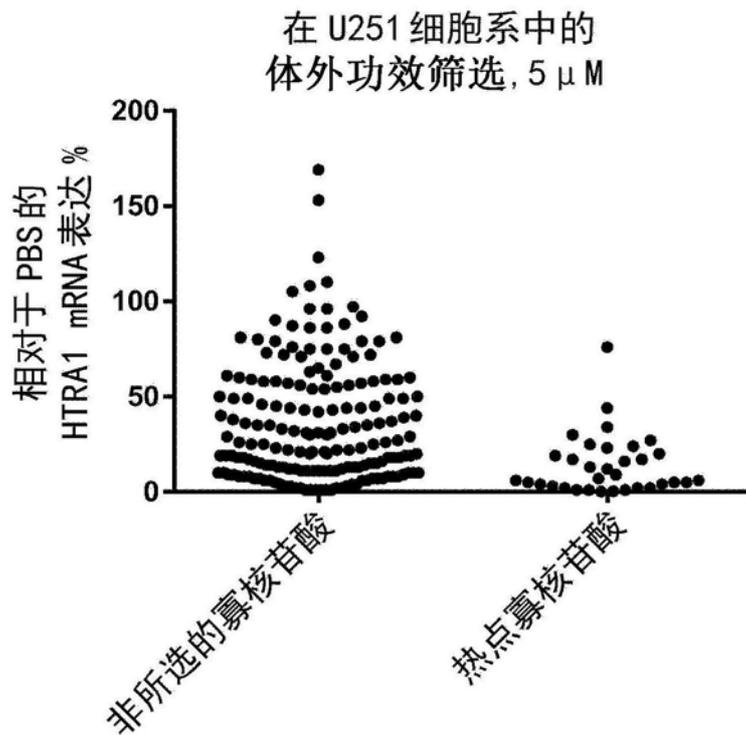


图2

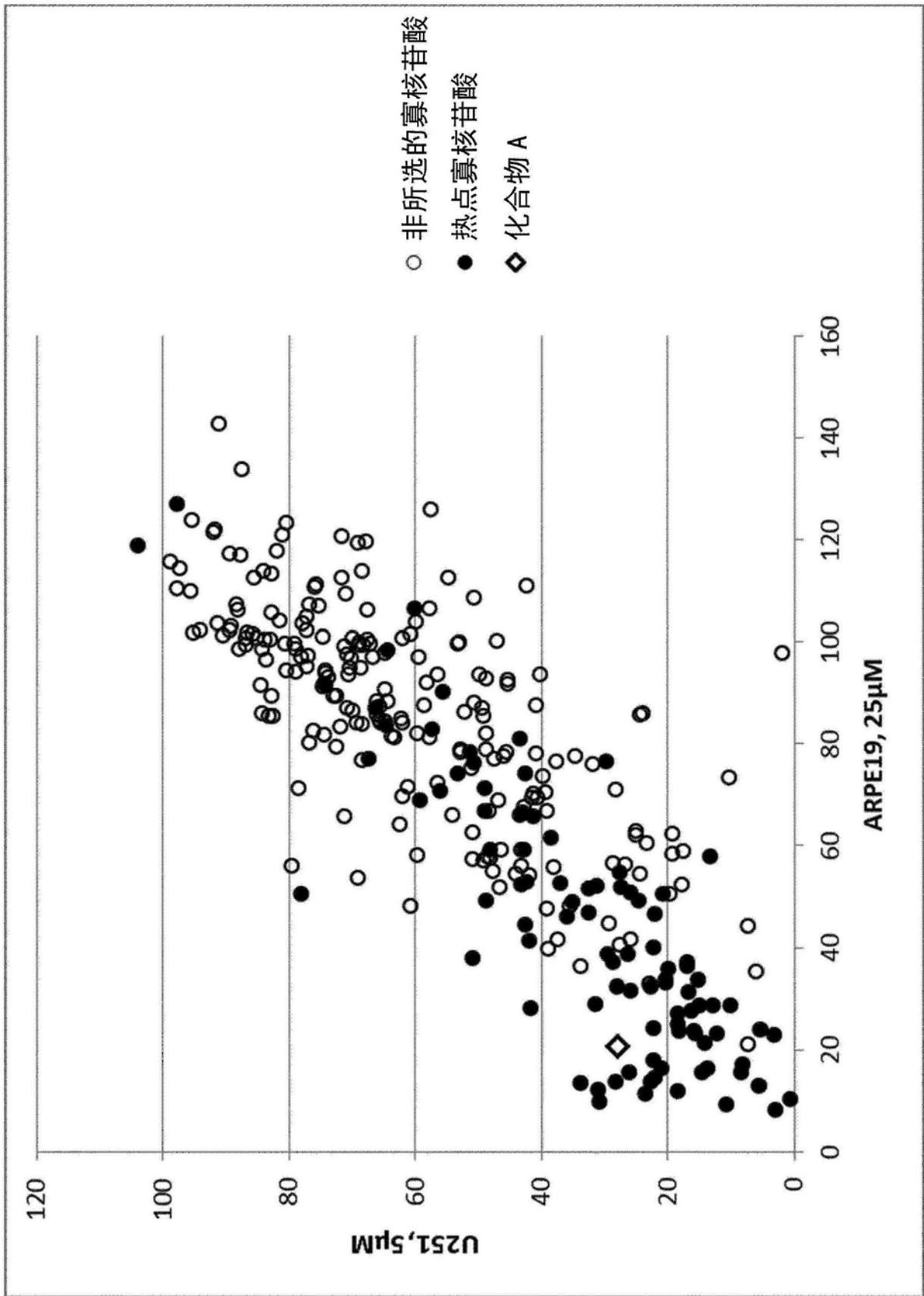


图3

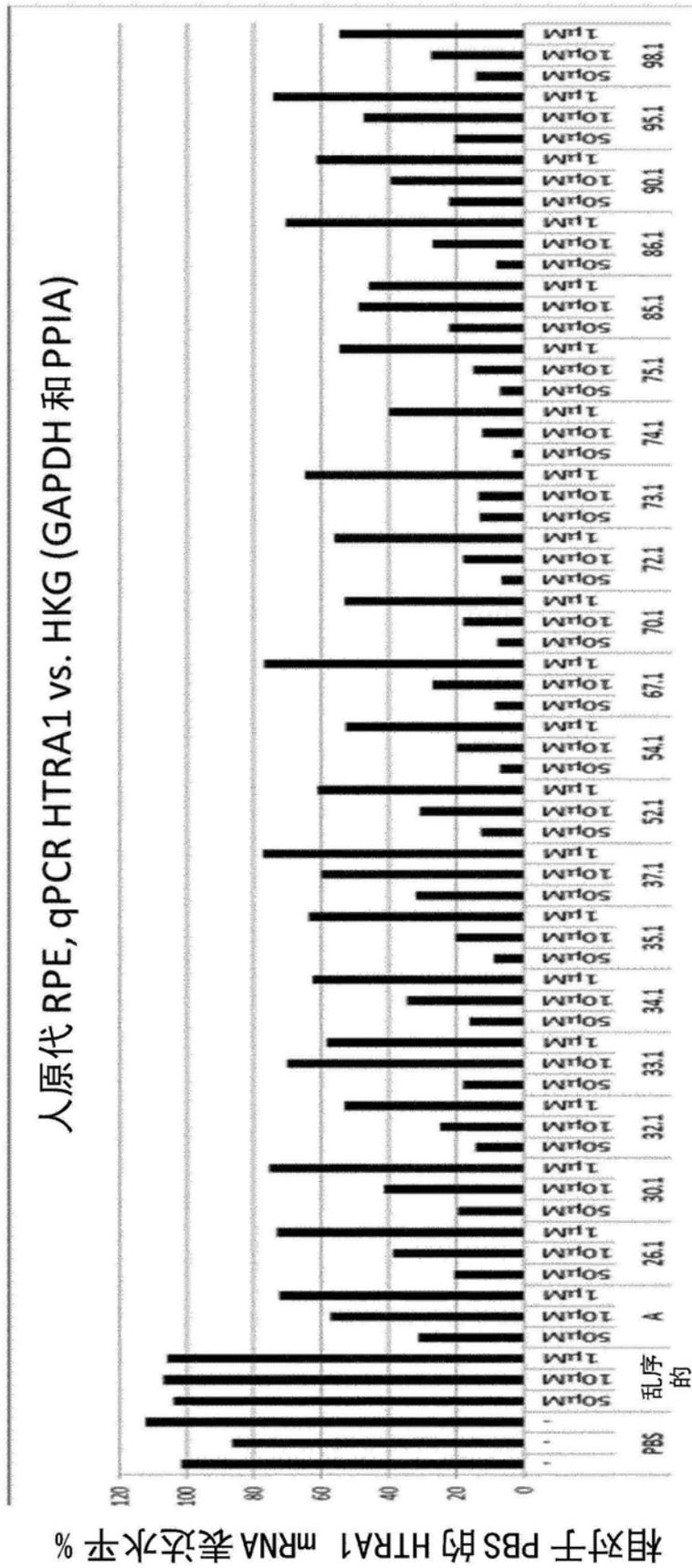


图4

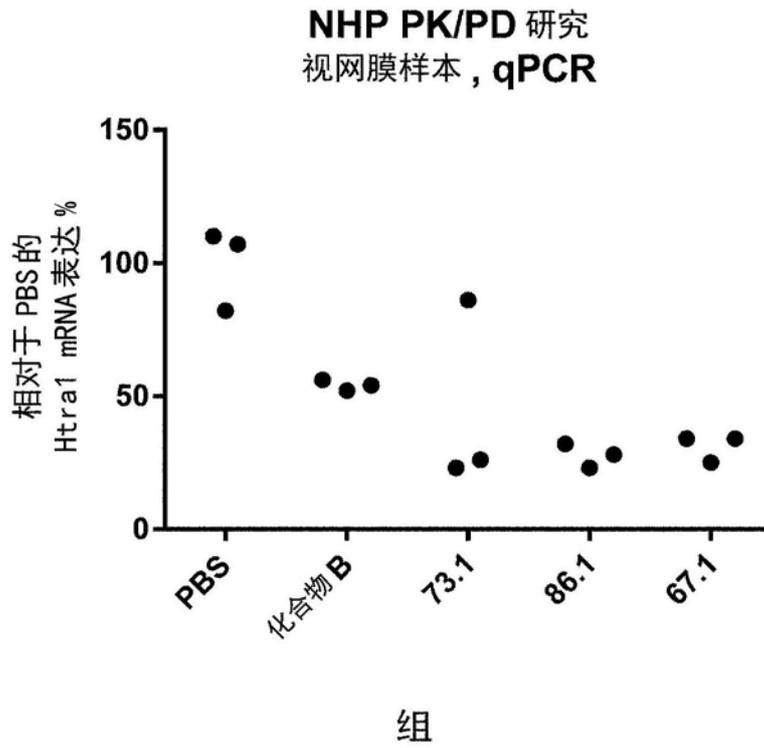


图5A

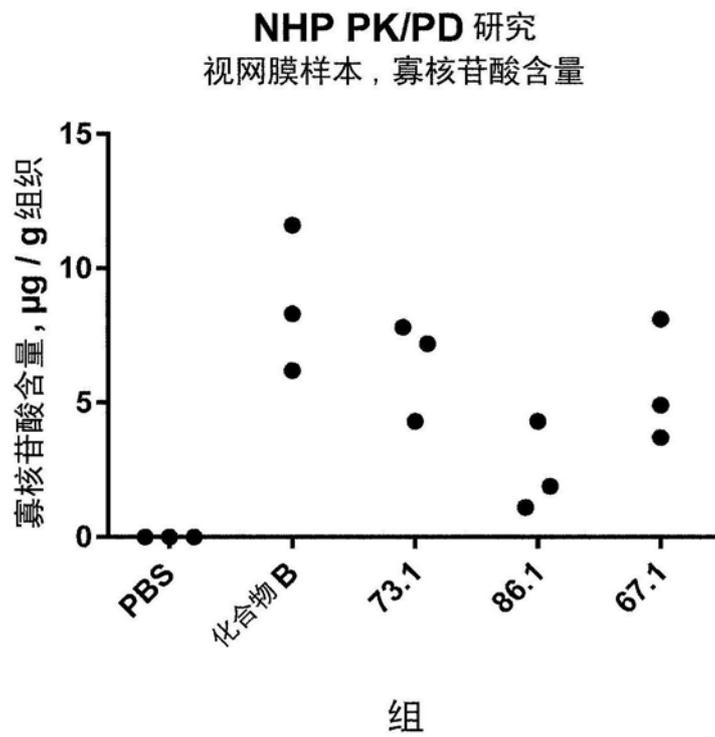


图5B

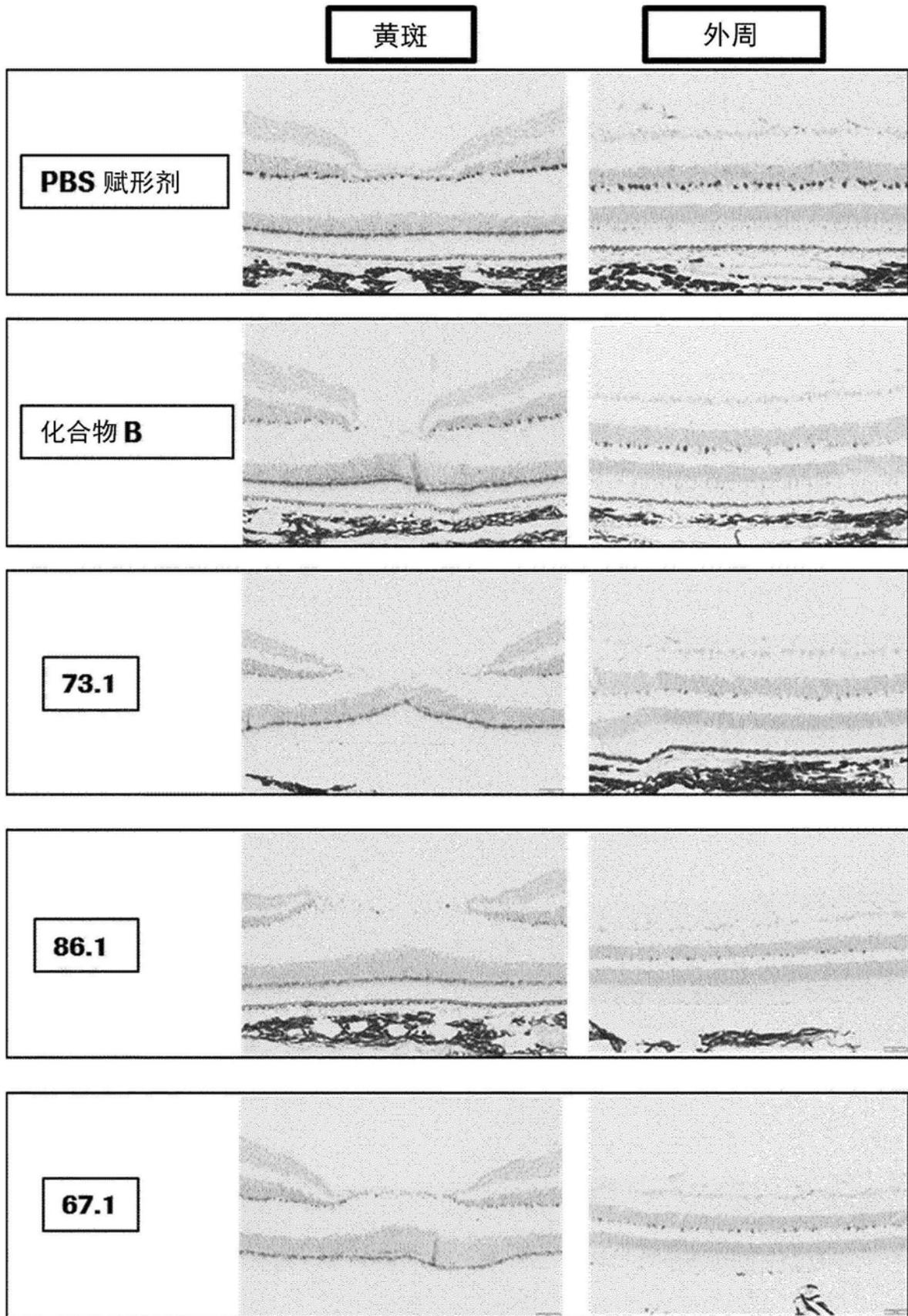


图5C

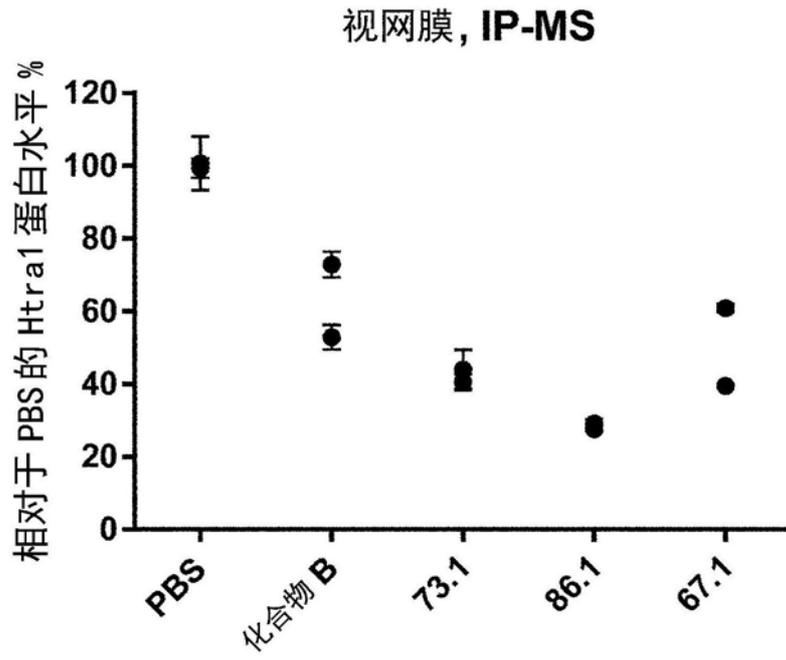


图5D

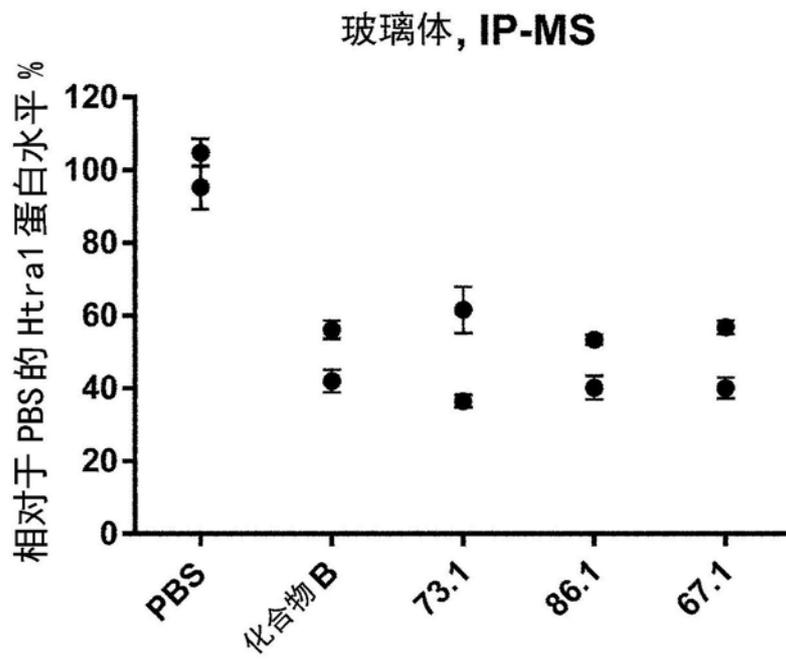


图5E

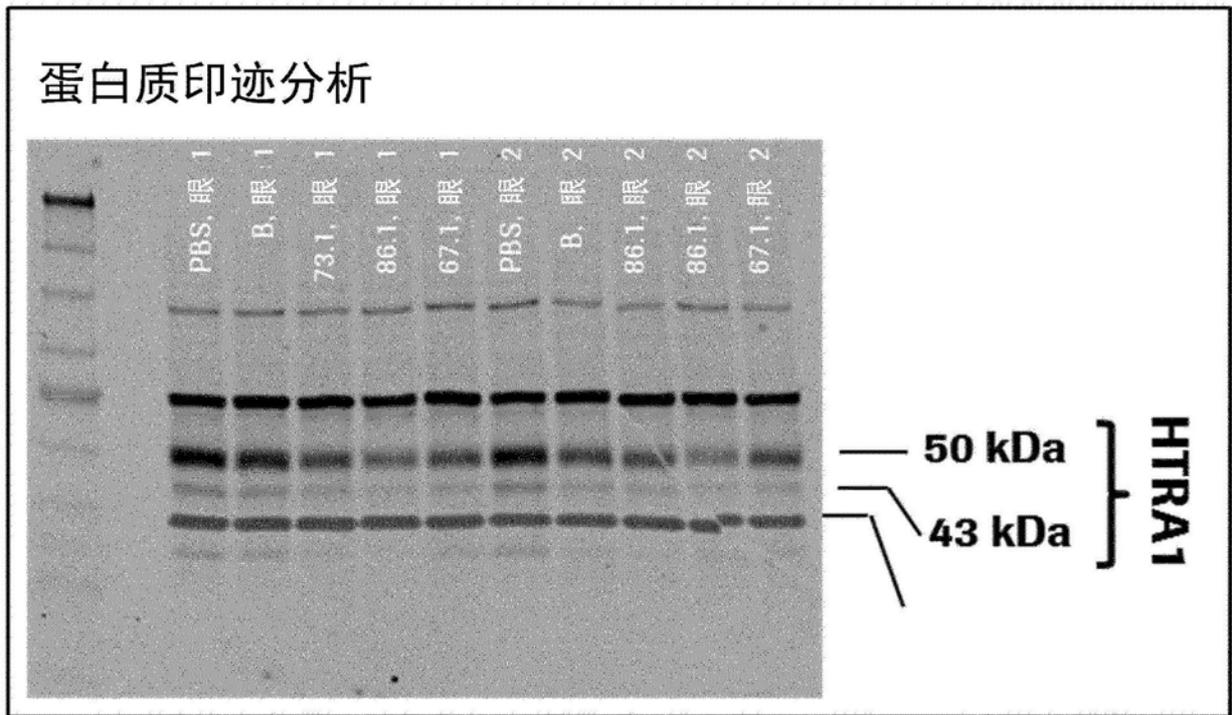


图5F

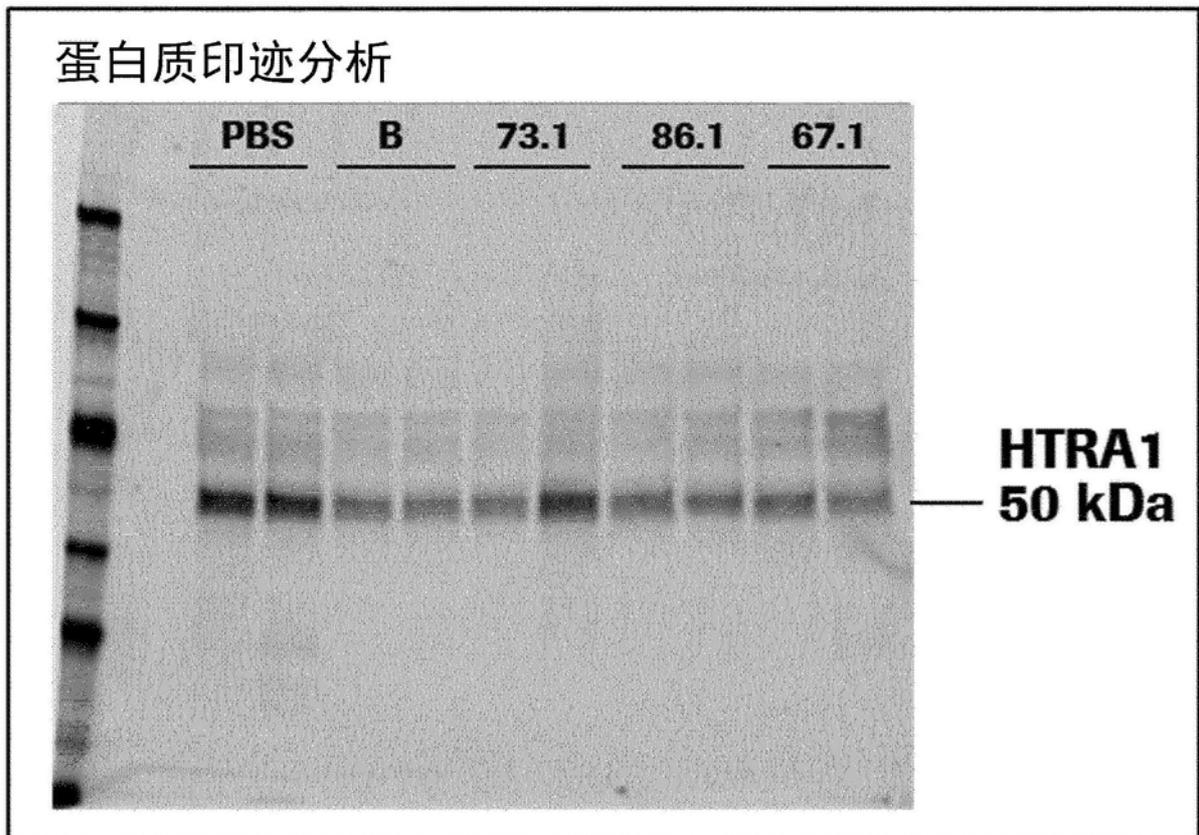


图5G

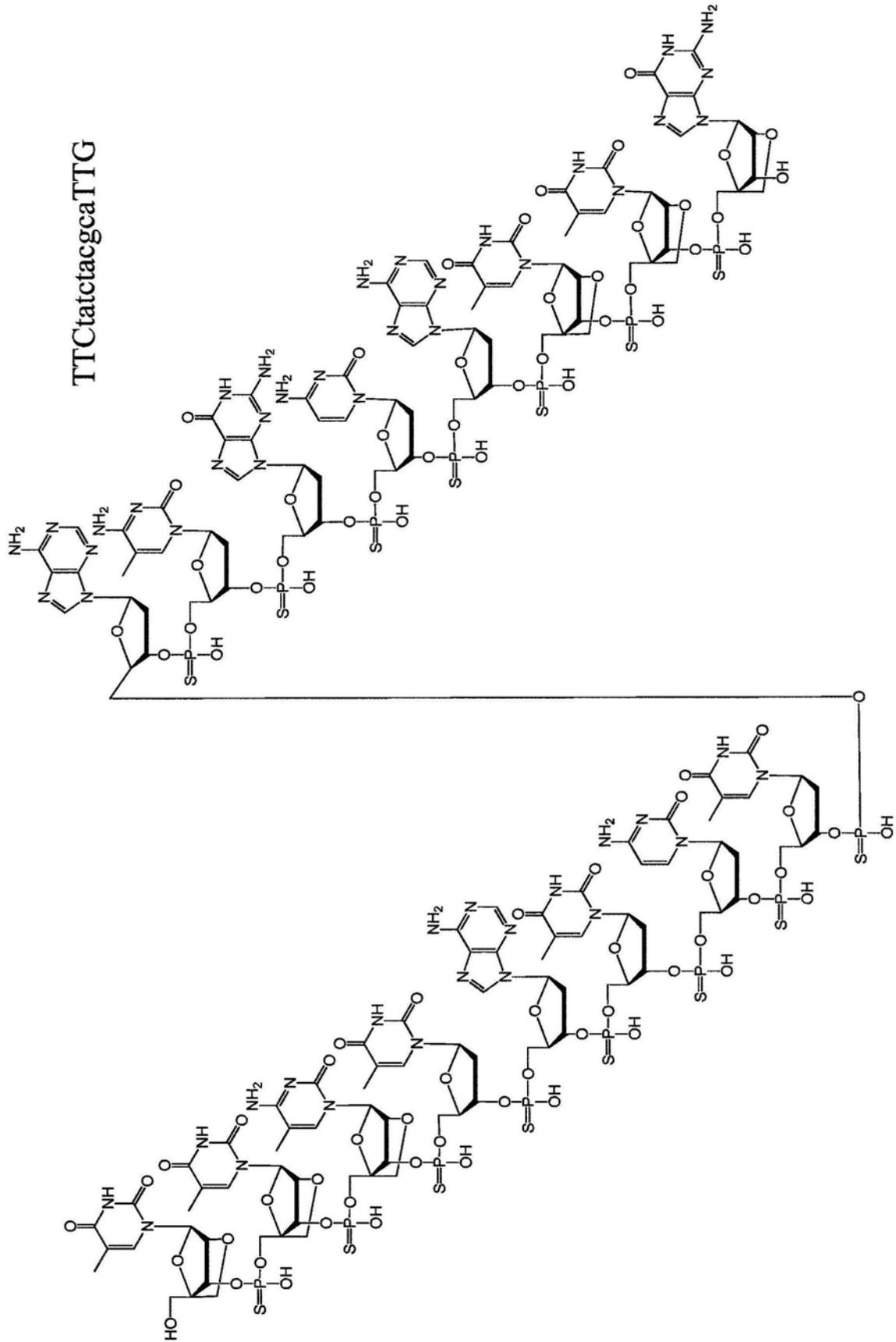


图6

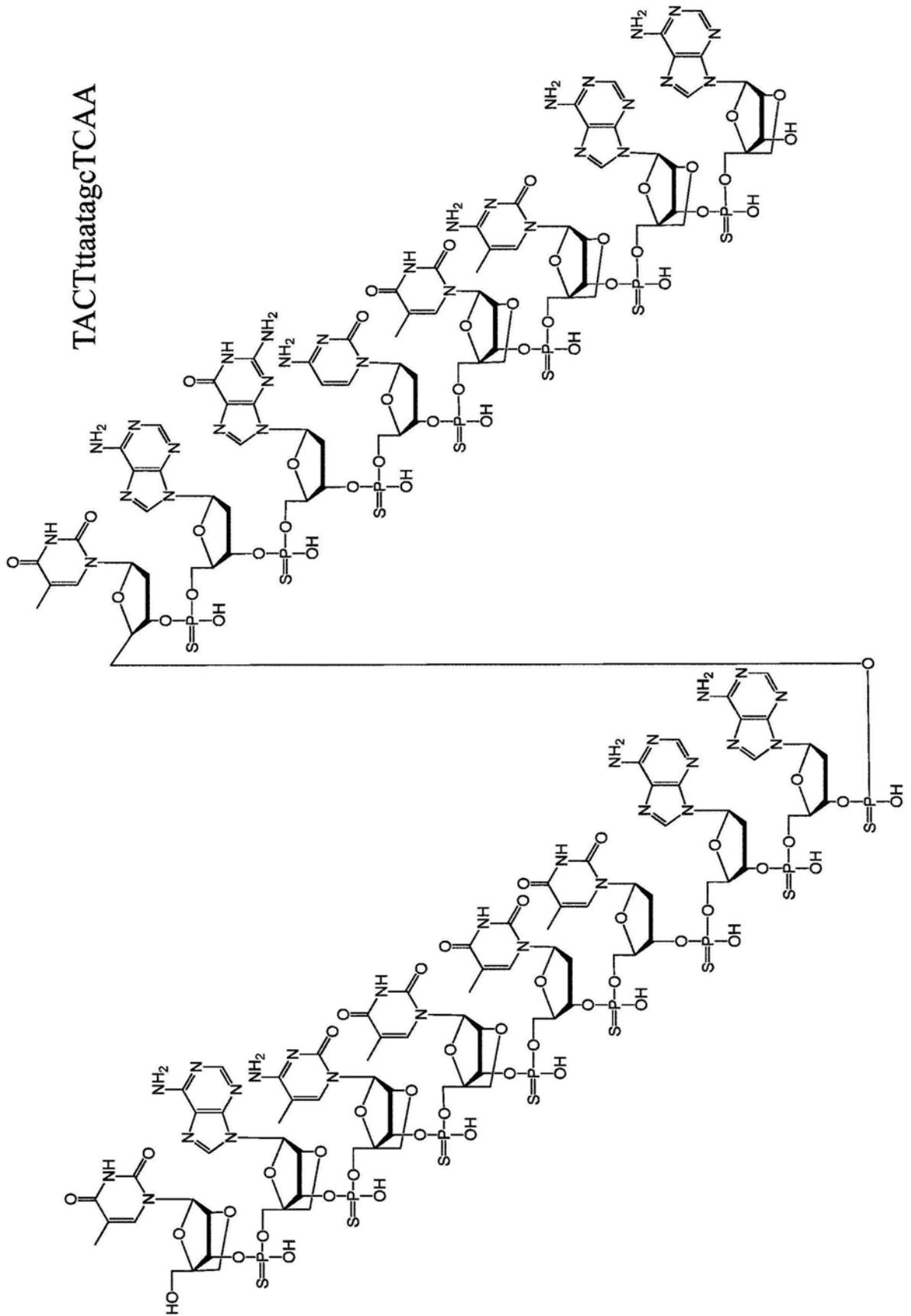


图7

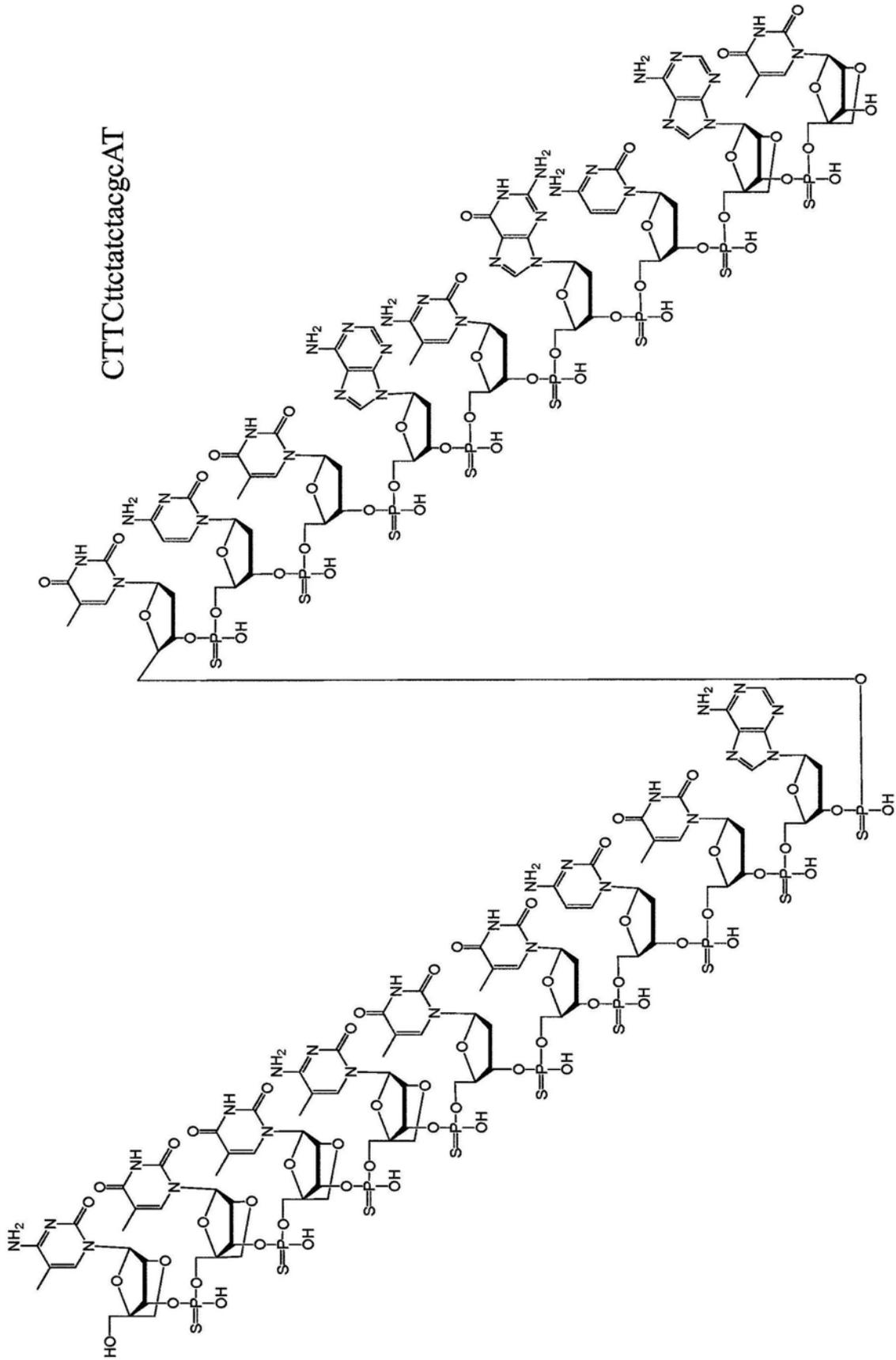


图8

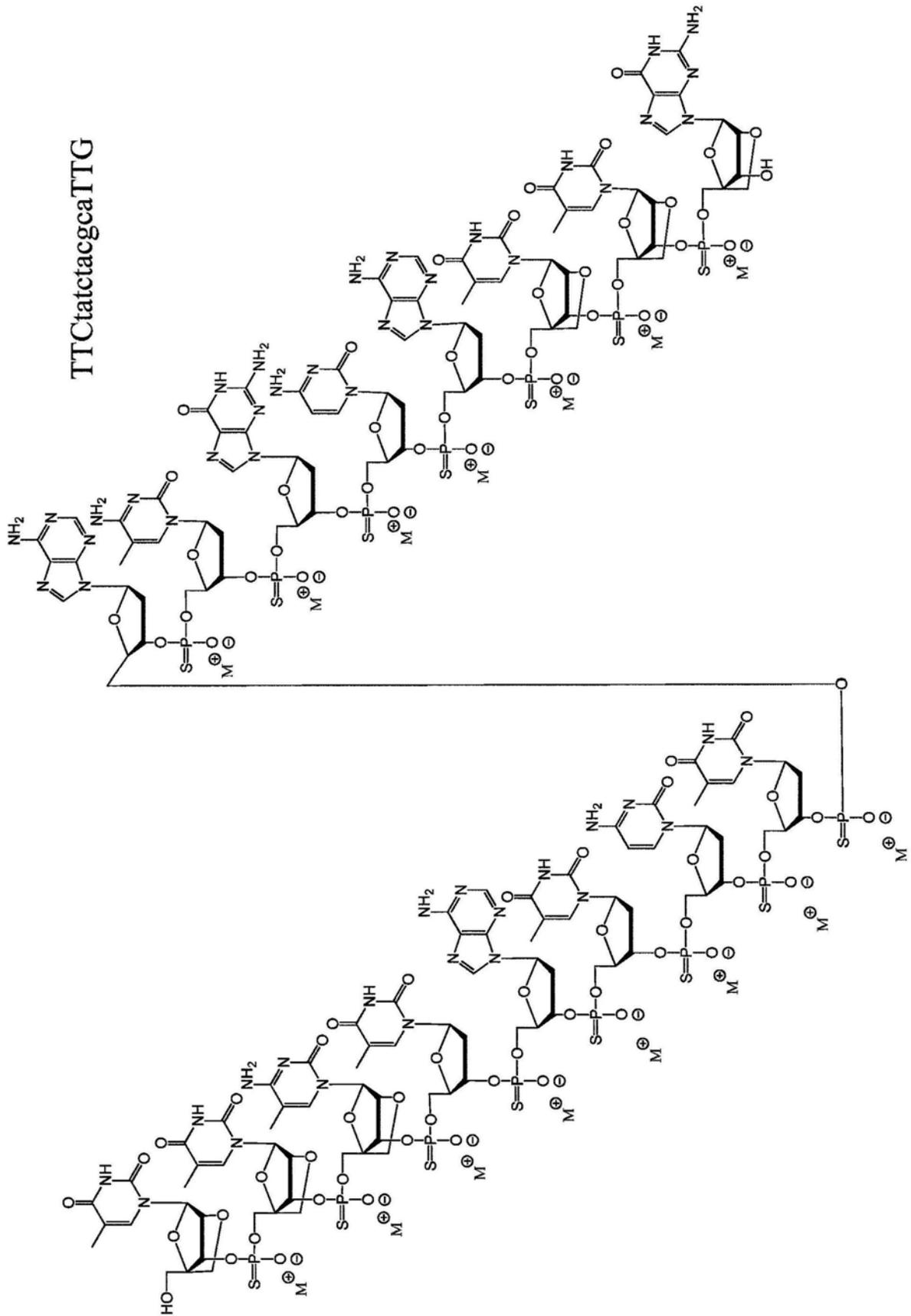


图9

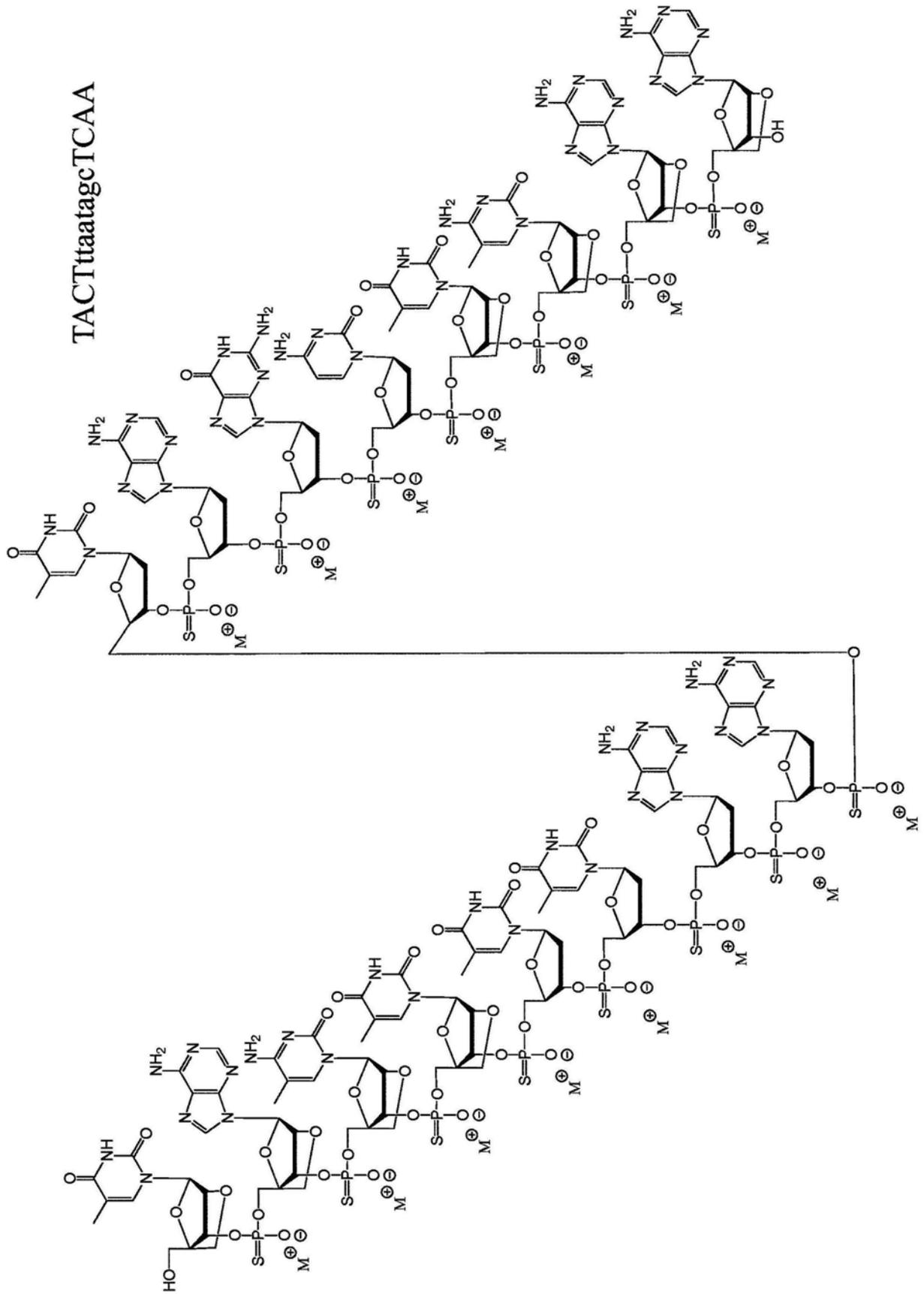


图10

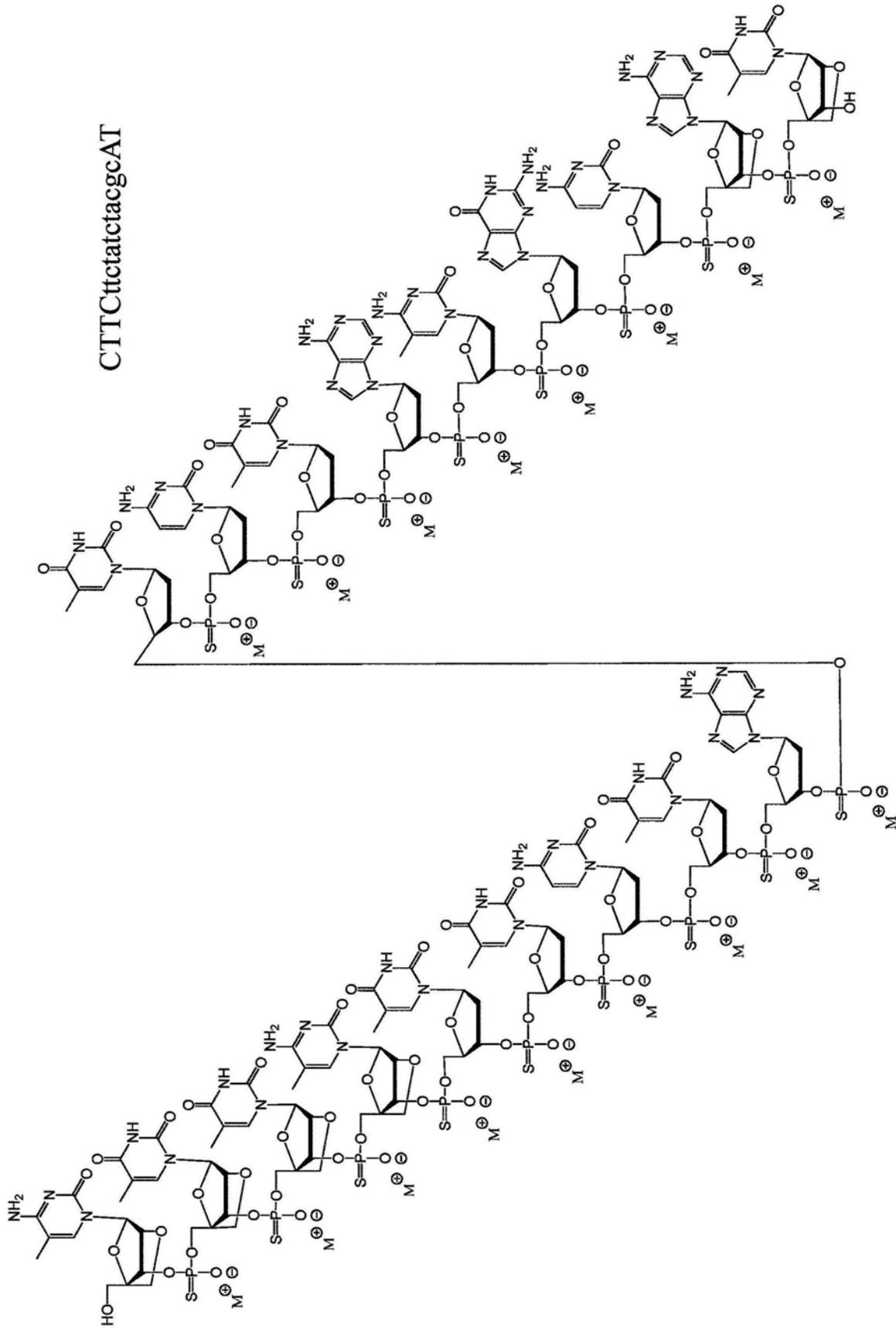


图11

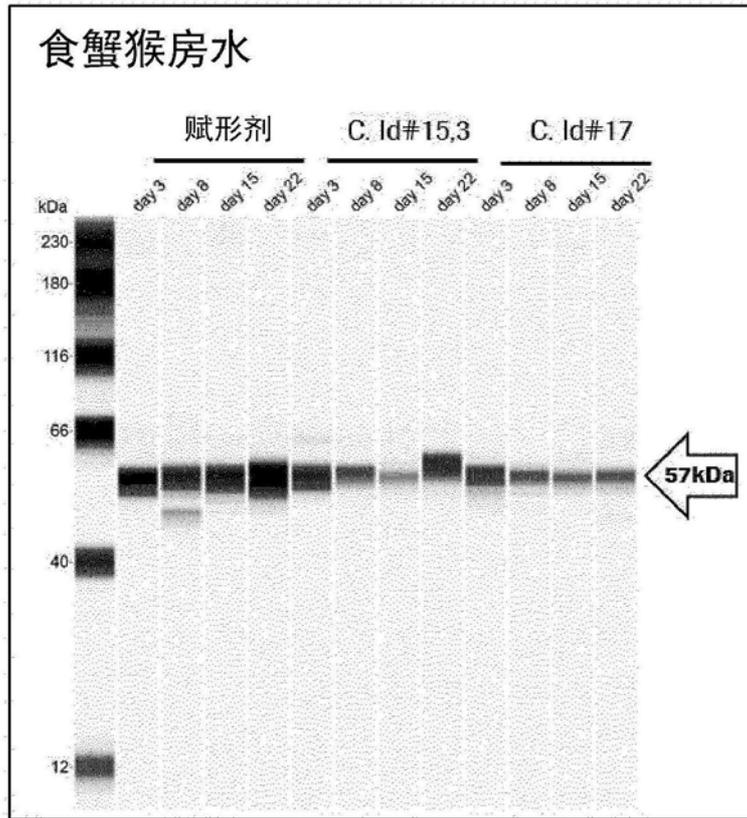


图12A

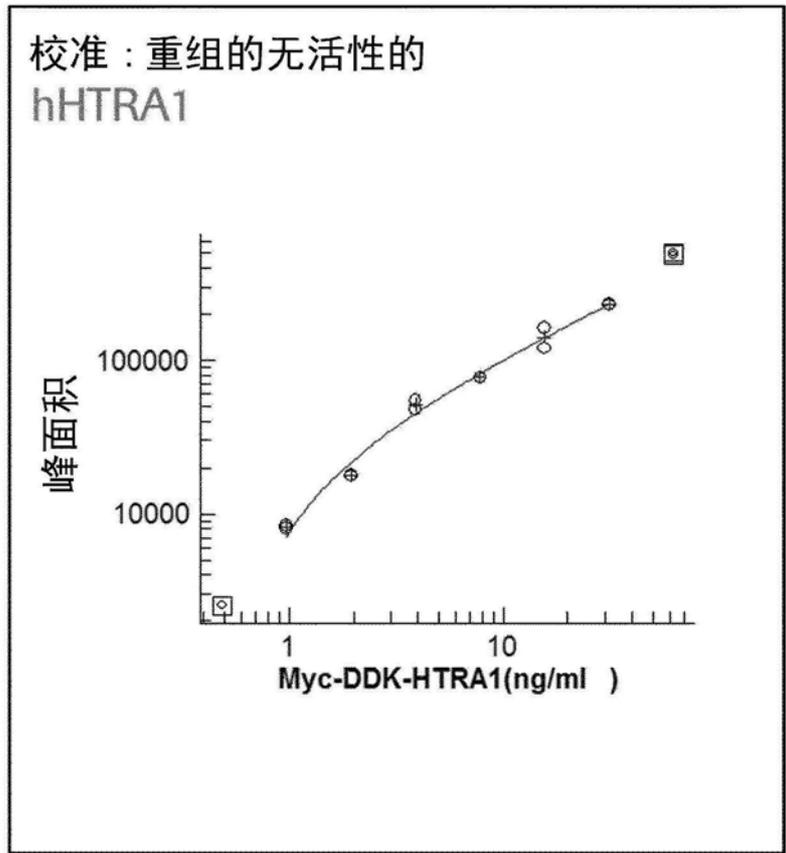
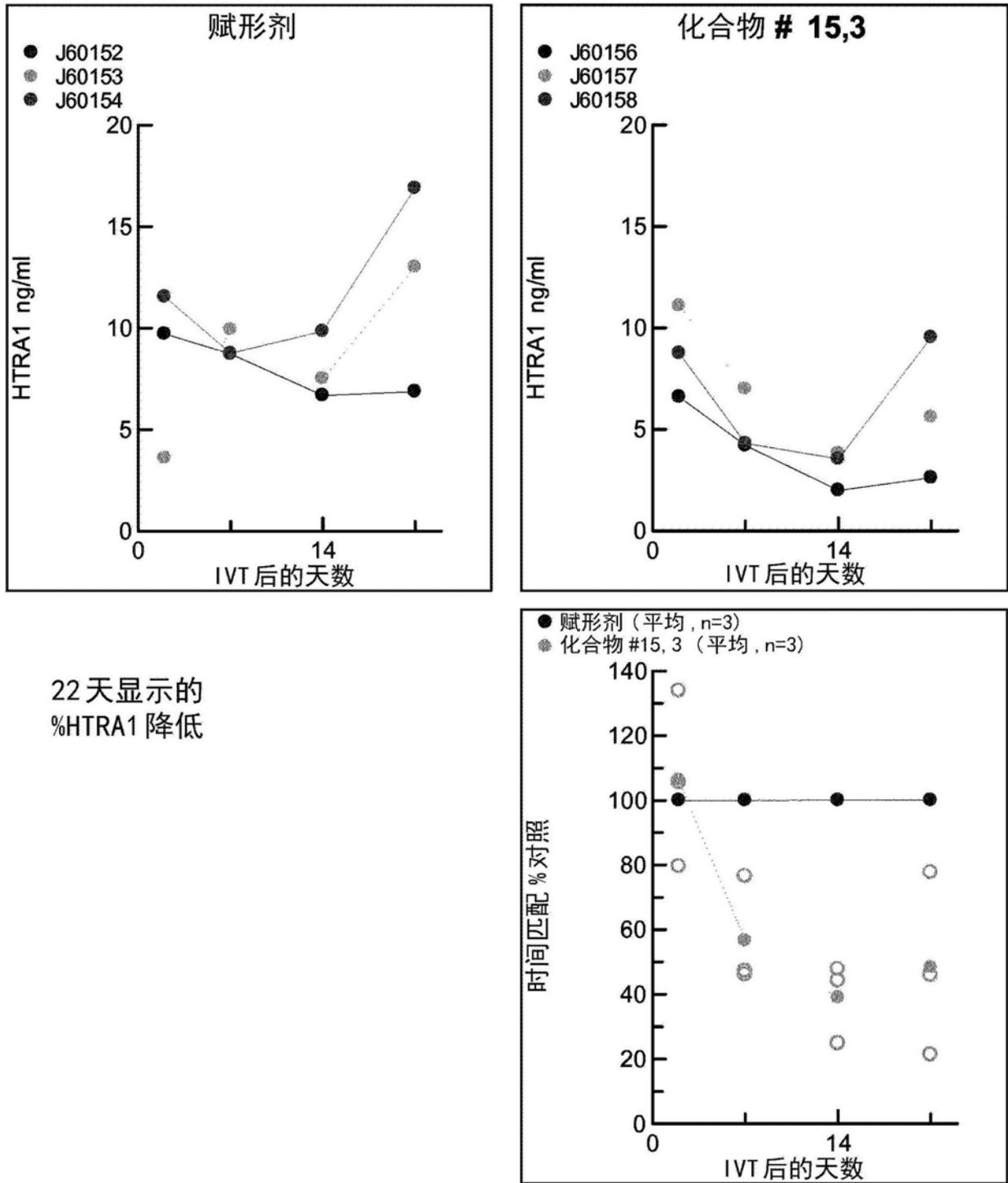
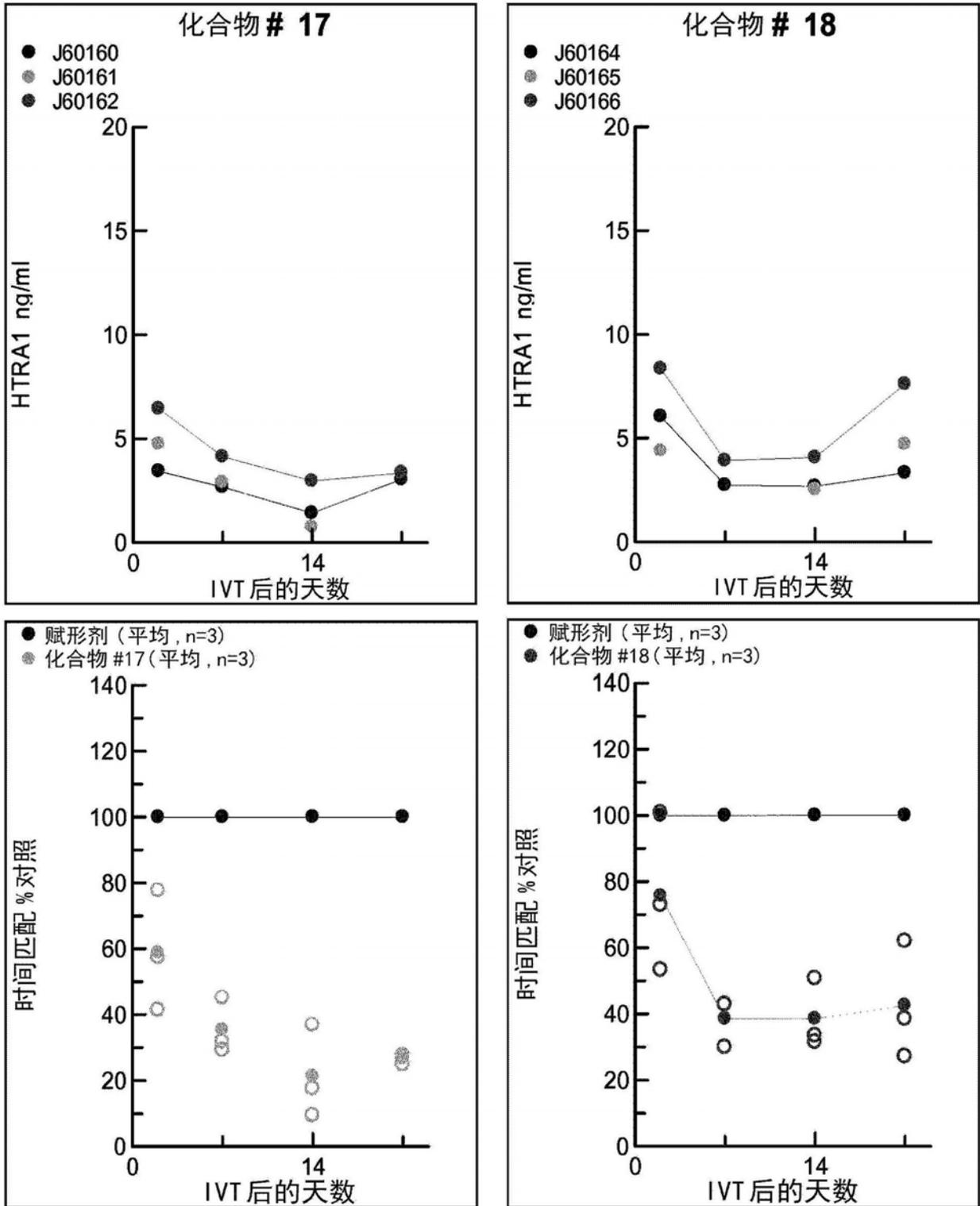


图12B



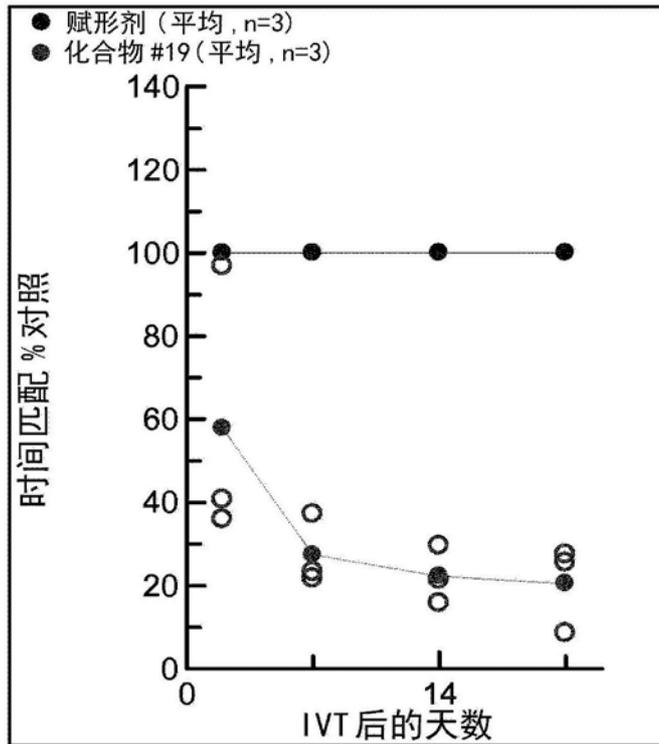
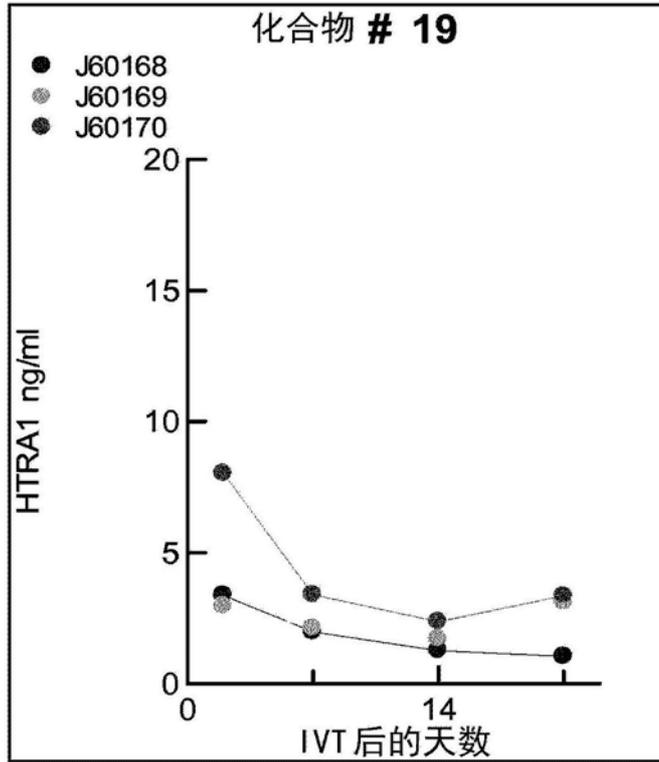
22天显示的
%HTRA1 降低

图12C



22天显示的
%HTRA1 降低

图12C (续)



22天显示的
%HTRA1 降低

图12C (续)

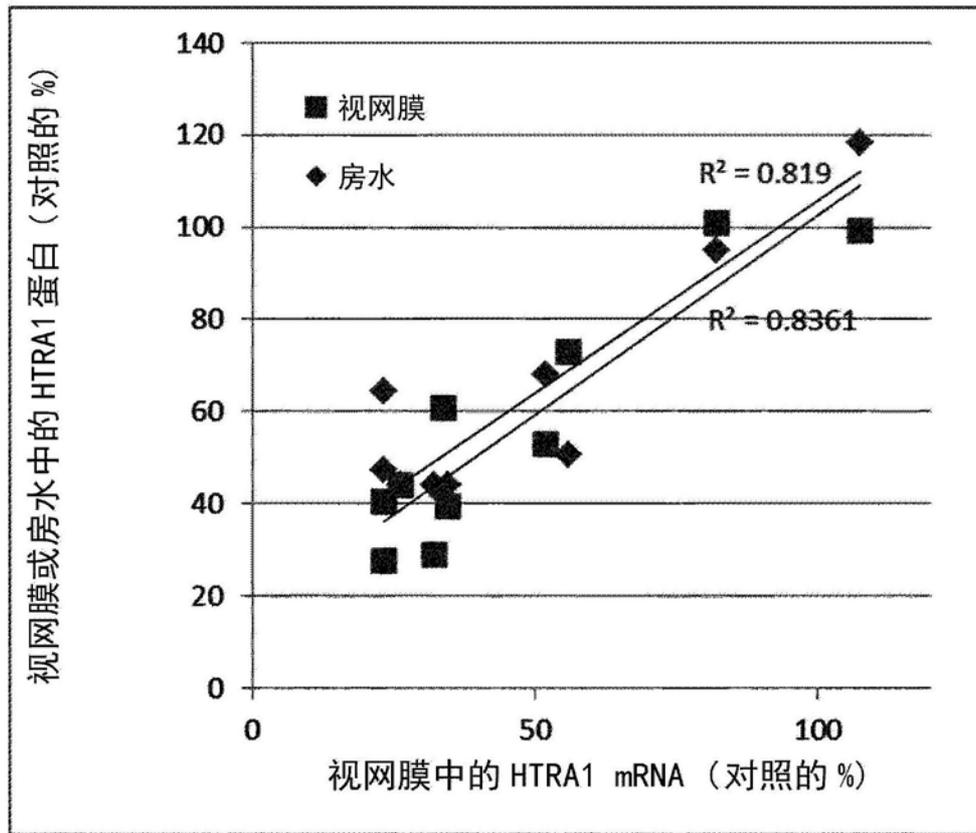


图13

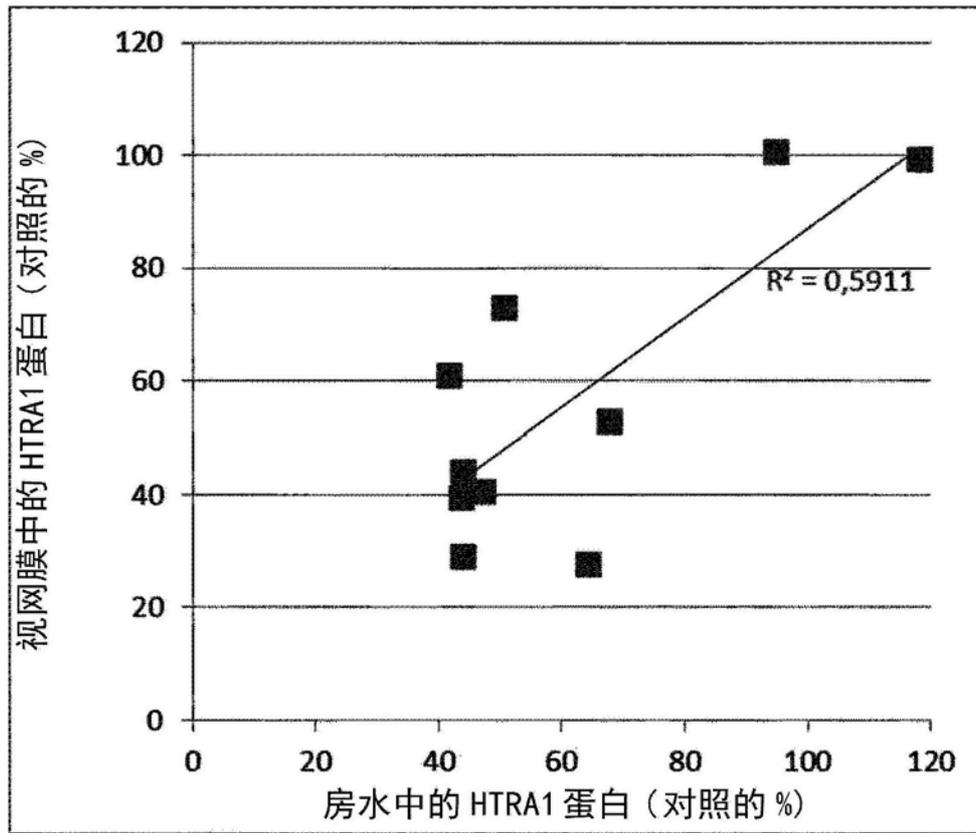


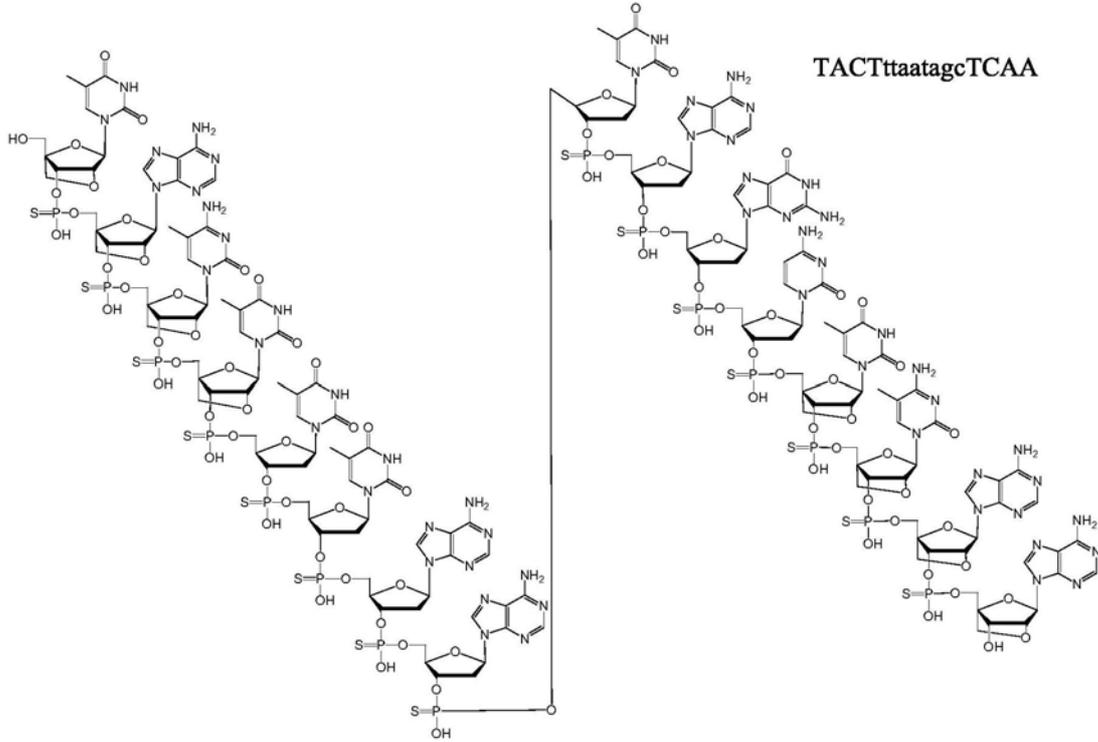
图14

1. 下式的寡核苷酸:



其中大写字母代表β-D-氧基LNA核苷,小写字母是DNA核苷,下标_s代表硫代磷酸酯核苷间连接,且^mC代表5甲基胞嘧啶β-D-氧基LNA核苷。

2. 权利要求1所述的寡核苷酸,其中所述寡核苷酸为下式的寡核苷酸:



3. 权利要求1或2所述的寡核苷酸的药学上可接受的盐。

4. 权利要求3所述的药学上可接受的盐,其中所述盐是钾盐。

5. 权利要求4所述的药学上可接受的盐,其中所述盐是钠盐。

6. 药物组合物,其包含下式的寡核苷酸:



其中大写字母代表β-D-氧基LNA核苷,小写字母是DNA核苷,下标_s代表硫代磷酸酯核苷间连接,且^mC代表5甲基胞嘧啶β-D-氧基LNA核苷;和药学上可接受的稀释剂,载体,盐和/或佐剂。

7. 权利要求6所述的药物组合物,其中所述药物组合物包含药学上可接受的稀释剂。

8. 权利要求7所述的药物组合物,其中所述药学上可接受的稀释剂是磷酸缓冲盐水。

9. 权利要求6-8中任一项所述的药物组合物,其中所述寡核苷酸是药学上可接受的盐的形式。

10. 权利要求9所述的药物组合物,其中所述药学上可接受的盐是钠盐。

11. 缀合物,其包含权利要求1或2所述的寡核苷酸,或权利要求3-5中任一项所述的药学上可接受的盐,和至少一个共价附接至所述寡核苷酸的缀合物部分。

12. 权利要求1或2所述的寡核苷酸,或权利要求3-5中任一项所述的药学上可接受的盐,或权利要求6-10中任一项所述的药物组合物,或权利要求11所述的缀合物用于药物中的用途。

13. 权利要求1或2所述的寡核苷酸,或权利要求3-5中任一项所述的药学上可接受的盐,或权利要求6-10中任一项所述的药物组合物,或权利要求11所述的缀合物用于治疗或预防黄斑变性的用途。

14. 权利要求13所述的用途,其中所述用途是用于治疗湿性AMD,干性AMD,地图状萎缩,中期dAMD或糖尿病性视网膜病。

15. 权利要求14所述的用途,其中所述用途是用于治疗地图状萎缩或中期dAMD。