



## (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 NO 86);

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 $\beta$ -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:

$T_sT_s^{m}C_sT_sA_sT_sC_sT_sA_s^{m}C_sG_sC_sA_sT_sT_sG$  (SEQ ID NO 67,1),

$^{m}C_sT_sT_s^{m}C_sT_sT_sC_sT_sA_sT_sC_sT_sA_s^{m}C_sG_sC_sA_sT$  (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 $\beta$ -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 $\beta$ -D-氧基LNA核苷,且 ${}^m c$ 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 $\beta$ 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 $\beta$ 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,PNAS,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,IOWS 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,IOWS 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'

[0017] GACAGTCAGCATTTGTCTCCTCCTTTAACTGAGTCATCATCTTAGTCCAACTAATGCAGTCG  
ATACAATGCGTAGATAGAAGAAGCCCCACGGGAGCCAGGATGGGACTGGTCGTGTTTGTG  
CTTTTCTCCAAGTCAGCACCCAAAGGTCAATGCACAGAGACCCCGGGTGGGTGAGCGCTG  
GCTTCTCAAACGGCCGAAGTTGCCTCTTTTAGGAATCTCTTTGGAATTGGGAGCACGATGA  
CTCTGAGTTTGAGCTATTAAAGTACTTCTTAC 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  
CTCTGAGTTTGAGCTATTAAAGTACTTCTTACACATTGC 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  
CTCTGAGTTTGAGCTATTAAAGT 3'。

[0028] SEQ ID NO 115的反向互补序列是SEQ ID NO 121:

ACTTTAATAGCTCAAACCTCAGAGTCATCGTGCTCCCAATTCCAAAGAGATTCTAAAAGAGG  
CAACTTCGGCCGTTTGAGAAGCCAGCGCTCACCCACCCGGGGTCTCTGTGCATTGACCTT  
[0029] TGGGTGCTGACTTGAGAGAAAAGCACAAACACGACCAGTCCCATCCTGGCTCCCGTGGGGC  
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  
CTGGTCTGTTTGTGCTTTTCTCCAAGTCAGCACCCAAAGGTCAATGCACAGAGACCCCGG  
[0032] GTGGGTGAGCGCTGGCTTCTCAAACGGCCGAAGTTGCCTCTTTTAGGAATCTCTTTGGAAT  
TGGGAGCACGATGACTCTGAGTTTGAGCTATTAAAGTACTTCTTACACATTGC 3'。

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

GCAATGTGTAAGAAGTACTTTAATAGCTCAAACCTCAGAGTCATCGTGCTCCCAATTCCAAAG  
AGATTCTAAAAGAGGCAACTTCGGCCGTTTGAGAAGCCAGCGCTCACCCACCCGGGGTCT  
[0034] TCTGTGCATTGACCTTTGGGTGCTGACTTGAGAGAAAAGCACAAACACGACCAGTCCCATCC  
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  
CTGGTCTGTTTGTGCTTTTCTCCAAGTCAGCACCCAAAGGTCAATGCACAGAGACCCCGG  
[0037] GTGGGTGAGCGCTGGCTTCTCAAACGGCCGAAGTTGCCTCTTTTAGGAATCTCTTTGGAAT  
TGGGAGCACGATGACTCTGAGTTTGAGCTATTAAAGTTACTTCTTAC 3'。

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

GTAAGAAGTAACCTTTAATAGCTCAAACCTCAGAGTCATCGTGCTCCCAATTCCAAAGAGATTCT  
CTAAAAGAGGCAACTTCGGCCGTTTGAGAAGCCAGCGCTCACCCACCCGGGGTCTCTGTG  
[0039] CATTGACCTTTGGGTGCTGACTTGAGAGAAAAGCACAAACACGACCAGTCCCATCCTGGCTC  
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 $\beta$ -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 $\beta$ -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 $\beta$ -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 $\beta$ -D-氧基LNA核苷,且 $^m$ c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]  $^m$ C<sub>s</sub>T<sub>s</sub>T<sub>s</sub> $^m$ C<sub>s</sub>t<sub>s</sub>t<sub>s</sub>C<sub>s</sub>t<sub>s</sub>a<sub>s</sub>t<sub>s</sub>C<sub>s</sub>t<sub>s</sub>a<sub>s</sub> $^m$ C<sub>s</sub>g<sub>s</sub>C<sub>s</sub>A<sub>s</sub>T (SEQ ID NO 73,1)

[0060] 其中大写字母代表 $\beta$ -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 $\beta$ -D-氧基LNA核苷,且 $^m$ c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<sub>s</sub>A<sub>s</sub> $^m$ C<sub>s</sub>T<sub>s</sub>t<sub>s</sub>t<sub>s</sub>a<sub>s</sub>t<sub>s</sub>a<sub>s</sub>g<sub>s</sub>C<sub>s</sub>T<sub>s</sub> $^m$ C<sub>s</sub>A<sub>s</sub>A (SEQ ID NO 86,1)

[0063] 其中大写字母代表 $\beta$ -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 $\beta$ -D-氧基LNA核苷,且 $^m$ c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 $\mu$ g-200 $\mu$ 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 $\mu$ 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 $\mu$ 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 $\mu$ 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 $\mu$ 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<sup>+</sup>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<sup>+</sup>,M<sup>++</sup>或M<sup>+++</sup>)。出于说明目的,与二价阳离子(如Ca<sup>2+</sup>)相比,需要二倍量的带单个+电荷的阳离子(单价的),如Na<sup>+</sup>或K<sup>+</sup>。

[0087] 图10.化合物86,1的药用盐的实例:有关阳离子M<sup>+</sup>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<sup>+</sup>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更多个磷酸基团 (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(P0)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 $\Delta G^\circ$ 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 $\Delta G^\circ$ 反映了寡核苷酸与靶核酸之间的强杂交。 $\Delta G^\circ$ 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, $\Delta G^\circ$ 小于零。 $\Delta G^\circ$ 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“ $\Delta G^\circ$ ”测量。 $\Delta G$ 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 $\Delta G$ 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 $\Delta G^\circ$ 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 $\Delta G^\circ$ 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 $\Delta G^\circ$ 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](http://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。

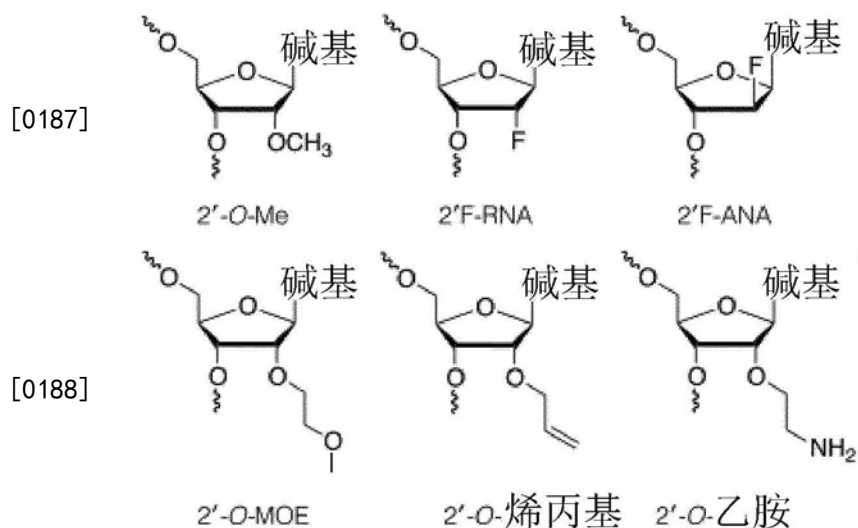
[0182] 已经制备了许多具有核糖部分的经修饰的核苷,主要是为了改善寡核苷酸的某些性质,诸如亲和力和/或核酸酶抗性。

[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

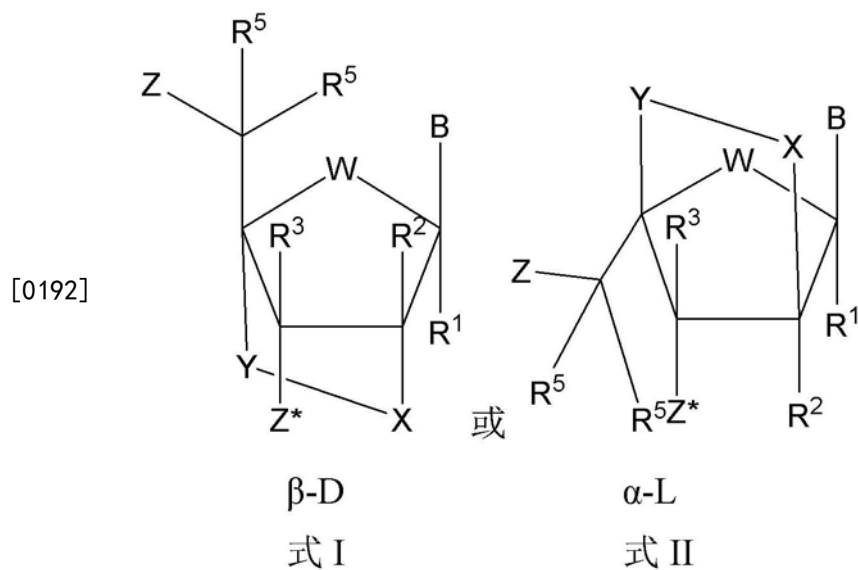
[0186] 经2'糖修饰的核苷是在2'位置具有除H或-OH以外的取代基(经2'取代的核苷)或包含2'连接的双基,和包括2'取代的核苷和LNA(2'-4'双基桥联)核苷的核苷。例如,经2'修饰的糖可以为寡核苷酸提供增强的结合亲和力和/或增加的核酸酶抗性。经2'取代修饰的核苷的实例是2'-O-烷基-RNA,2'-O-甲基-RNA,2'-烷氧基-RNA,2'-O-甲氧基乙基-RNA(MOE),2'-氨基-DNA,2'-氟-RNA和2'-F-ANA核苷。有关其他实例,请参见例如Freier&Altmann;Nucl.Acid Res.,1997,25,4429-4443和Uhlmann;Curr.Opinion 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-0-, -S-, -N(R<sup>a</sup>)-, -C(R<sup>a</sup>R<sup>b</sup>)-, 诸如, 在一些实施方案中为-0-;

[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<sup>a</sup>R<sup>b</sup>)-, -C(R<sup>a</sup>)=C(R<sup>b</sup>)-, -C(R<sup>a</sup>)=N-, -O-, -Si(R<sup>a</sup>)<sub>2</sub>-, -S-, -SO<sub>2</sub>-, -N(R<sup>a</sup>)-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<sup>a</sup>R<sup>b</sup>-, -CH<sub>2</sub>-, CR<sup>a</sup>R<sup>b</sup>-, -C(=CH<sub>2</sub>)-和-C(=CR<sup>a</sup>R<sup>b</sup>)-。

[0199] 在一些实施方案中,X为-0-。

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

O-, -Si(R<sup>a</sup>)<sub>2</sub>-, -S-, -SO<sub>2</sub>-, -N(R<sup>a</sup>)-和>C=Z。

[0201] 在一些实施例中, Y选自由以下各项组成的组: -CH<sub>2</sub>-, -C(R<sup>a</sup>R<sup>b</sup>)-, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-, -C(R<sup>a</sup>R<sup>b</sup>)-C(R<sup>a</sup>R<sup>b</sup>)-, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-, -C(R<sup>a</sup>R<sup>b</sup>)C(R<sup>a</sup>R<sup>b</sup>)C(R<sup>a</sup>R<sup>b</sup>)-, -C(R<sup>a</sup>)=C(R<sup>b</sup>)-和-C(R<sup>a</sup>)=N-。

[0202] 在一些实施方案中, Y选自以下各项组成的组: -CH<sub>2</sub>-, -CHR<sup>a</sup>-, -CHCH<sub>3</sub>-, CR<sup>a</sup>R<sup>b</sup>-,

[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<sup>a</sup>R<sup>b</sup>)-, -C(R<sup>a</sup>)=C(R<sup>b</sup>)-, -C(R<sup>a</sup>)=N-, -O-, -Si(R<sup>a</sup>)<sub>2</sub>-, -S-, -SO<sub>2</sub>-, -N(R<sup>a</sup>)-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-CH<sub>2</sub>-, -X-CR<sup>a</sup>R<sup>b</sup>-, -X-CHR<sup>a</sup>-, -X-C(HCH<sub>3</sub>)-, -O-Y-, -O-CH<sub>2</sub>-, -S-CH<sub>2</sub>-, -NH-CH<sub>2</sub>-, -O-CHCH<sub>3</sub>-, -CH<sub>2</sub>-O-CH<sub>2</sub>-, -O-CH(CH<sub>3</sub>CH<sub>3</sub>)-, -O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-, -OCH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-, -O-CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>-, -O-NCH<sub>2</sub>-, -C(=CH<sub>2</sub>)-CH<sub>2</sub>-, -NR<sup>a</sup>-CH<sub>2</sub>-, N-O-CH<sub>2</sub>-, -S-CR<sup>a</sup>R<sup>b</sup>-和-S-CHR<sup>a</sup>-。

[0205] 在一些实施例中, -X-Y-表示-O-CH<sub>2</sub>-或-O-CH(CH<sub>3</sub>)-。

[0206] 其中Z选自-O-, -S-和-N(R<sup>a</sup>)-,

[0207] 且R<sup>a</sup>和, 当存在时R<sup>b</sup>, 各自独立地选自氢, 任选取代的C<sub>1-6</sub>-烷基, 任选取代的C<sub>2-6</sub>-链烯基, 任选取代的C<sub>2-6</sub>-炔基, 羟基, 任选取代的C<sub>1-6</sub>-烷氧基, C<sub>2-6</sub>-烷氧基烷基, C<sub>2-6</sub>-链烯氧基, 羧基, C<sub>1-6</sub>-烷氧羰基, C<sub>1-6</sub>-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(C<sub>1-6</sub>-烷基)氨基, 氨基甲酰基, 单和二(C<sub>1-6</sub>-烷基)-氨基-羰基, 氨基-C<sub>1-6</sub>-烷基-氨基羰基, 单和二(C<sub>1-6</sub>-烷基)氨基-C<sub>1-6</sub>-烷基-氨基羰基, C<sub>1-6</sub>-烷基-羰基氨基, 氨基甲酸酯, C<sub>1-6</sub>-烷酰氧基, 磺酰基(sulphono), C<sub>1-6</sub>-烷基磺酰氧基, 硝基, 叠氮基, 硫烷基(sulphanyl), C<sub>1-6</sub>-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<sup>a</sup>和R<sup>b</sup>一起可以表示任选地经取代的亚甲基(=CH<sub>2</sub>), 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R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>5</sup>和R<sup>5\*</sup>独立地选自: 氢, 任选取代的C<sub>1-6</sub>烷基, 任选取代的C<sub>2-6</sub>-链烯基, 任选取代的C<sub>2-6</sub>-炔基, 羟基, C<sub>1-6</sub>-烷氧基, C<sub>2-6</sub>-烷氧基烷基, C<sub>2-6</sub>-链烯氧基, 羧基, C<sub>1-6</sub>-烷氧基羰基, C<sub>1-6</sub>-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(C<sub>1-6</sub>-烷基)氨基, 氨基甲酰基, 单-和二(C<sub>1-6</sub>-烷基)-氨基-羰基, 氨基-C<sub>1-6</sub>-烷基-氨基羰基, 单-和二(C<sub>1-6</sub>-烷基)氨基-C<sub>1-6</sub>-烷基-氨基羰基, C<sub>1-6</sub>-烷基-羰基氨基, 脲基, C<sub>1-6</sub>-烷酰氧基, 磺酰基(sulphono), C<sub>1-6</sub>-烷基磺酰氧基, 硝基, 叠氮基, 硫烷基(sulphanyl), C<sub>1-6</sub>-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, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>5</sup>和R<sup>5\*</sup>独立地选自C<sub>1-6</sub>烷基, 诸如甲基, 和氢。

[0210] 在一些实施方案中, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>5</sup>和R<sup>5\*</sup>都是氢。

[0211] 在一些实施例中, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>都是氢, 并且R<sup>5</sup>和R<sup>5\*</sup>也是氢, 而R<sup>5</sup>和R<sup>5\*</sup>的另一个不是氢, 诸如C<sub>1-6</sub>烷基诸如甲基。

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

[0213] 在一些实施方案中, R<sup>a</sup>和R<sup>b</sup>之一或两者为氢。

[0214] 在一些实施方案中, R<sup>a</sup>和R<sup>b</sup>之一是氢, 另一个不是氢。

[0215] 在一些实施方案中, R<sup>a</sup>和R<sup>b</sup>之一是甲基, 另一个是氢。

[0216] 在一些实施方案中, R<sup>a</sup>和R<sup>b</sup>均是甲基。



[0217] 在一些实施方案中,双基-X-Y-是-O-CH<sub>2</sub>-,W是O,并且R<sup>1</sup>,R<sup>2</sup>,R<sup>3</sup>,R<sup>5</sup>和R<sup>5\*</sup>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-CH<sub>2</sub>-,W是O,并且R<sup>1</sup>,R<sup>2</sup>,R<sup>3</sup>,R<sup>5</sup>和R<sup>5\*</sup>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-CH<sub>2</sub>-,W是O,并且R<sup>1</sup>,R<sup>2</sup>,R<sup>3</sup>,R<sup>5</sup>和R<sup>5\*</sup>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-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>--或-O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-,W是O,并且R<sub>1</sub>,R<sub>2</sub>,R<sub>3</sub>,R<sup>5</sup>和R<sup>5\*</sup>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-CH<sub>2</sub>-,W是O,并且所有R<sup>1</sup>,R<sup>2</sup>,R<sup>3</sup>以及R<sup>5</sup>和R<sup>5\*</sup>中的一个都是氢,而R<sup>5</sup>和R<sup>5\*</sup>中的另一个不是氢,诸如C<sub>1-6</sub>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<sup>a</sup>R<sup>b</sup>-,其中R<sup>a</sup>和R<sup>b</sup>之一或两者都不是氢,诸如甲基,W是O,并且所有R<sup>1</sup>,R<sup>2</sup>,R<sup>3</sup>以及R<sup>5</sup>和R<sup>5\*</sup>中的一个都是氢,而R<sup>5</sup>和R<sup>5\*</sup>中的另一个不是氢,诸如C<sub>1-6</sub>烷基,诸如甲基。这样的双修饰的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(CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>)-(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(CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>)-(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<sup>a</sup>-,W是O,并且R<sup>1</sup>,R<sup>2</sup>,R<sup>3</sup>,R<sup>5</sup>和R<sup>5\*</sup>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(CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>)-,W是O,并且R<sup>1</sup>,R<sup>2</sup>,R<sup>3</sup>,R<sup>5</sup>和R<sup>5\*</sup>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(CH<sub>3</sub>)-。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-CH<sub>2</sub>-O-CH<sub>2</sub>-(Seth at al.,2010,J.Org.Chem)。在一些实施方案中,双基-X-Y-是-O-CH(CH<sub>3</sub>)-,W是O,并且R<sup>1</sup>,R<sup>2</sup>,R<sup>3</sup>,R<sup>5</sup>和R<sup>5\*</sup>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<sup>a</sup>R<sup>b</sup>-,其中在R<sup>a</sup>或R<sup>b</sup>中都不是氢,W是O,并且所有R<sup>1</sup>,R<sup>2</sup>,R<sup>3</sup>,R<sup>5</sup>和R<sup>5\*</sup>都是氢。在一些实施方案中,R<sup>a</sup>和R<sup>b</sup>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<sup>a</sup>-,W是O,并且R<sup>1</sup>,R<sup>2</sup>,R<sup>3</sup>,R<sup>5</sup>和R<sup>5\*</sup>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<sup>a</sup>是甲基。

[0228] 在一些实施方案中,双基-X-Y-是-C(=CH<sub>2</sub>)-C(R<sup>a</sup>R<sup>b</sup>)-,诸如-C(=CH<sub>2</sub>)-CH<sub>2</sub>-或-C

(=CH<sub>2</sub>)-CH(CH<sub>3</sub>)-W为O,且所有的R<sup>1</sup>,R<sup>2</sup>,R<sup>3</sup>,R<sup>5</sup>和R<sup>5\*</sup>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<sup>a</sup>)-,W是O,并且R<sup>1</sup>,R<sup>2</sup>,R<sup>3</sup>,R<sup>5</sup>和R<sup>5\*</sup>全部都是氢。在一些实施方案中,R<sup>a</sup>是C<sub>1-6</sub>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<sup>a</sup>-CH<sub>3</sub>-(Seth et al.,2010,J.Org.Chem)。在一些实施方案中,双基-X-Y-是N(R<sup>a</sup>)-,W是O,并且R<sup>1</sup>,R<sup>2</sup>,R<sup>3</sup>,R<sup>5</sup>和R<sup>5\*</sup>全部都是氢。在一些实施方案中,R<sup>a</sup>是C<sub>1-6</sub>烷基诸如甲基。

[0230] 在一些实施方案中,R<sup>5</sup>和R<sup>5\*</sup>中的一个或两个是氢,并且当被取代时,R<sup>5</sup>和R<sup>5\*</sup>中的另一个是C<sub>1-6</sub>烷基诸如甲基。在这样的实施例,中,R<sup>1</sup>,R<sup>2</sup>,R<sup>3</sup>都可以是氢,并且双基-X-Y-可以选自-O-CH<sub>2</sub>-或-OC(HCR<sup>a</sup>)-,诸如-OC(HCH<sub>3</sub>)-。

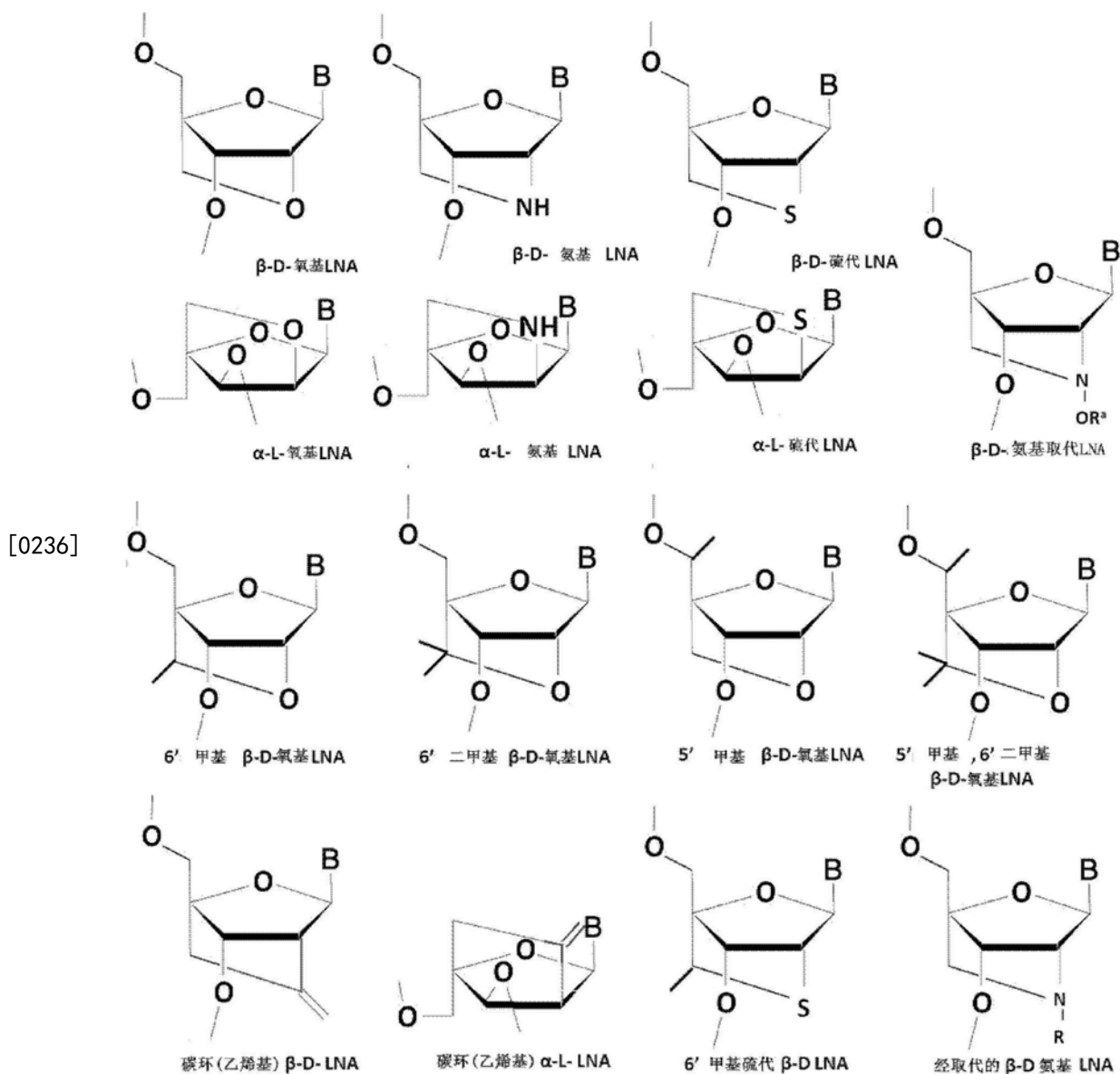
[0231] 在一些实施方案中,双基是-CR<sup>a</sup>R<sup>b</sup>-O-CR<sup>a</sup>R<sup>b</sup>-,诸如CH<sub>2</sub>-O-CH<sub>2</sub>-,W是O,并且R<sup>1</sup>,R<sup>2</sup>,R<sup>3</sup>,R<sup>5</sup>和R<sup>5\*</sup>都是氢。在一些实施方案中,R<sup>a</sup>是C<sub>1-6</sub>烷基诸如甲基。这样的LNA核苷也被称为构象限制性核苷酸(CRN),并且在W02013036868(其通过引用并入本文)中公开。

[0232] 在一些实施方案中,双基是-O-CR<sup>a</sup>R<sup>b</sup>-O-CR<sup>a</sup>R<sup>b</sup>-,诸如CH<sub>2</sub>-O-CH<sub>2</sub>-,W是O,并且R<sup>1</sup>,R<sup>2</sup>,R<sup>3</sup>,R<sup>5</sup>和R<sup>5\*</sup>都是氢。在一些实施方案中,R<sup>a</sup>是C<sub>1-6</sub>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 $\beta$ -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' 侧接包含一个或更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 $\beta$ -D-氧基LNA核苷和/或6' 甲基 $\beta$ -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 $\beta$ -D-氧基LNA核苷和/或6' 甲基 $\beta$ -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,其通过一个或更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C<sub>2</sub>-C<sub>36</sub>氨基烷基,包括诸如C<sub>6</sub>至C<sub>12</sub>氨基烷基。在一些实施方案中,接头(区域Y)是C<sub>6</sub>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的增加来补偿,所述经修饰的核苷诸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(例如选自由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由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由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	atttgtctcctccttact
6	tcagttaaaggaggagacaa	TCAgtaaaggaggagacAA	125	ttgtctcctccttactga
7	ctcagttaaaggaggagaca	CTCagttaaaggaggagacA	126	tgtctcctccttactgag
8	ctcagttaaaggaggagac	CTCagttaaaggaggagac	127	gtctcctccttactgag
9	actcagttaaaggaggagac	ACTCagttaaaggaggagac	128	gtctcctccttactgagt
10	actcagttaaaggaggagaga	ACTCagttaaaggaggagaga	129	tctcctccttactgagt
11	actcagttaaaggaggag	ACTcagttaaaggagAGG	130	ctcctccttactgagt
12	gatgactcagttaaaggagg	GATgactcagttaaaggAGG	131	cctccttactgagtcac



[0300]

13	atgatgactcagttaaagga	ATGAtgactcagttaaagGA	132	tcctttaactgagtcacat
14	tgatgactcagttaaagg	TGAtgactcagttaAAGG	133	cctttaactgagtcacatca
15	gatgatgactcagttaaagg	GAtgatgactcagttaAAGG	134	cctttaactgagtcacatc
16	gatgatgactcagttaaag	GATGatgactcagttaAAG	135	ctttaactgagtcacatc
17	tatcgactgcattagttgg	TATcgactgcattagttGG	136	ccaactaatgcagtcgata
18	gtatcgactgcattagttgg	GtatcgactgcattagttGG	137	ccaactaatgcagtcgatac
19	tcgactgcattagttg	TCGactgcattagTTG	138	caactaatgcagtcga
19	tcgactgcattagttg	TCGactgcattagTG	138	caactaatgcagtcga
19	tcgactgcattagttg	TCGActgcattaGTTG	138	caactaatgcagtcga
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	ttgtatcgactgcattagtt	TTGtatcgactgcattagTT	146	aactaatgcagtcgatacaa
28	tatcgactgcattagt	TATcgactgcattaGT	147	actaatgcagtcgata
28	tatcgactgcattagt	TATCgactgcattAGT	147	actaatgcagtcgata
29	gtatcgactgcattagt	GTATcgactgcattaGT	148	actaatgcagtcgatac
30	tgtatcgactgcattagt	TGTatcgactgcattaGT	149	actaatgcagtcgataca
31	gtatcgactgcattag	GTAtcgactgcattAG	150	ctaagtcagtcgatac
31	gtatcgactgcattag	GTAtcgactgcattAG	150	ctaagtcagtcgatac
31	gtatcgactgcattag	GTATcgactgcattAG	150	ctaagtcagtcgatac
32	tgtatcgactgcattag	TGTatcgactgcattAG	151	ctaagtcagtcgataca
33	ttgtatcgactgcattag	TTGtatcgactgcattAG	152	ctaagtcagtcgatacaa
34	attgtatcgactgcattag	ATTgtatcgactgcattAG	153	ctaagtcagtcgatacaat
35	tgtatcgactgcatta	TGTatcgactgcatta	154	taatgcagtcgataca
35	tgtatcgactgcatta	TGTATcgactgcatta	154	taatgcagtcgataca
36	attgtatcgactgcatta	ATTGtatcgactgcatta	155	taatgcagtcgatacaat
37	ttgtatcgactgcatt	TTGtatcgactgcatt	156	aatgcagtcgatacaa
37	ttgtatcgactgcatt	TTGtatcgactgcATT	156	aatgcagtcgatacaa
38	attgtatcgactgcatt	ATTgtatcgactgcATT	157	atgcagtcgatacaat
38	attgtatcgactgcatt	ATTgtatcgactgcAT	157	atgcagtcgatacaat
38	attgtatcgactgcatt	ATTGtatcgactgcAT	157	atgcagtcgatacaat
39	acgcattgtatcgact	ACGcattgtatcgACT	158	agtcgatacaatgcgt
39	acgcattgtatcgact	ACGcattgtatcgACT	158	agtcgatacaatgcgt
40	tacgcattgtatcgac	TACgcattgtatcgAC	159	gtcgatacaatgcgta
40	tacgcattgtatcgac	TACGcattgtatcgAC	159	gtcgatacaatgcgta
41	ctacgcattgtatcgac	CTacgcattgtatcgAC	160	gtcgatacaatgcgtag
42	tctacgcattgtatcgac	TCTAcgcattgtatcgAC	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	CTAtctacgcattGTA	179	tacaatgcgtagatag
60	ctatctacgcattgtat	CTATctacgcattGTAT	179	tacaatgcgtagatag
61	tctatctacgcattgtat	TCTatctacgcattGTA	180	tacaatgcgtagataga
62	ttctatctacgcattgtat	TTCTatctacgcattGTA	181	tacaatgcgtagatagaa
63	ttctatctacgcattgt	TTCTatctacgcattTGT	182	acaatgcgtagatagaa
64	tcttctatctacgcattgt	TCTtctatctacgcattGT	183	acaatgcgtagatagaaga
65	ttcttctatctacgcattgt	TtcttctatctacgcattGT	184	acaatgcgtagatagaagaa
66	ttcttctatctacgcattgt	TTCTtctatctacgcattTG	185	caatgcgtagatagaagaa
67	ttctatctacgcattgt	TTCTatctacgcattTG	186	caatgcgtagatagaa
68	cttctatctacgcatt	CTTCTatctacgcATT	187	aatgcgtagatagaag
69	tcttctatctacgcatt	TCTtctatctacgcATT	188	aatgcgtagatagaaga
70	ttcttctatctacgcatt	TTCTtctatctacgcATT	189	aatgcgtagatagaagaa
71	tcttctatctacgcatt	TCTTtctatctacgcATT	190	atgcgtagatagaaga
72	ttcttctatctacgcatt	TTCTtctatctacgcATT	191	atgcgtagatagaagaa
73	cttcttctatctacgcatt	CTTCTtctatctacgcATT	192	atgcgtagatagaagaag
74	ttcttctatctacgcatt	TTCTtctatctacgcATT	193	tgcgtagatagaagaa
75	cttcttctatctacgcatt	CTTCTtctatctacgcATT	194	tgcgtagatagaagaag
76	gcttcttctatctacgcatt	GcttcttctatctacgcATT	195	tgcgtagatagaagaagc
77	cttcttctatctacgcatt	CTtcttctatctacgcATT	196	gcttagatagaagaag
78	gcttcttctatctacgcatt	GCTtcttctatctacgcATT	197	cgtagatagaagaagc
79	cgtggggccttcttcta	CGTggggccttcttCTA	198	tagaagaagccccacg

[0302]

80	tgacttgagaaaagcaca	TGacttgagaaaagcacAA	199	ttgtgcttttccaagtca
81	ctgacttgagaaaagcac	CtgacttgagaaaagcacAC	200	gtgcttttccaagtcag
82	agagtcacgtgctcc	AGAgtcacgtgctcTCC	201	ggagcagcatgactct
83	aagtactttaatagctcaa	AAGTactttaatagctCAAA	202	ttgagctattaaagtactt
84	aagtactttaatagctcaa	AAGTactttaatagctCAA	203	ttgagctattaaagtactt
85	gaagtactttaatagctcaa	GAAGtactttaatagctCAA	204	ttgagctattaaagtacttc
86	tactttaatagctcaa	TACTttaatagctCAA	205	ttgagctattaaagta
87	aagtactttaatagctca	AAGTactttaatagctCA	206	tgagctattaaagtactt
88	gaagtactttaatagctca	GAAGtactttaatagctCA	207	tgagctattaaagtacttc
89	agaagtactttaatagctc	AGAAgtactttaatagctc	208	gagctattaaagtactct
90	aagaagtactttaatagctc	AAGAgtactttaatagctc	209	gagctattaaagtactctt
91	gaagtactttaatagct	GAAGtactttaatAGCT	210	agctattaaagtacttc
92	taagaagtactttaatagct	TAAGaagtactttaatAGCT	211	agctattaaagtactctta
93	agaagtactttaatagc	AGAAgtactttaatAGC	212	gctattaaagtactctt
94	taagaagtactttaatagc	TAAGaagtactttaatAGC	213	gctattaaagtactctta
95	gtaagaagtactttaatagc	GTAagaagtactttaatAGC	214	gctattaaagtactcttac
96	taagaagtactttaatag	TAAGaagtactttaatAG	215	ctattaaagtactctta
97	gtaagaagtactttaatag	GTAAGaagtactttaatAG	216	ctattaaagtactcttac
98	tgaagaagtactttaatag	TGTAagaagtactttaatAG	217	ctattaaagtactcttaca
99	aatgtgtaagaagtactt	AATGtgtaagaagtactTT	218	aaagtactcttacacatt
100	caatgtgtaagaagtactt	CAATgtgtaagaagtactTT	219	aaagtactcttacacattg
101	atgtgtaagaagtactt	ATGTgtaagaagtactTT	220	aagtactcttacacat
102	aatgtgtaagaagtactt	AATGtgtaagaagtactTT	221	aagtactcttacacatt
103	caatgtgtaagaagtactt	CAATgtgtaagaagtactTT	222	aagtactcttacacattg
104	gcaatgtgtaagaagtactt	GCAatgtgtaagaagtactTT	223	aagtactcttacacattgc
105	atgtgtaagaagtact	ATGtgtaagaagtactT	224	agtactcttacacat
105	atgtgtaagaagtact	ATGTgtaagaagtactT	224	agtactcttacacat
106	gcaatgtgtaagaagtact	GCAATgtgtaagaagtactT	225	agtactcttacacattgc
107	aatgtgtaagaagtac	AATGtgtaagaagtacT	226	gtactcttacacatt
107	aatgtgtaagaagtac	AATGtgtaagaagtacT	226	gtactcttacacatt
108	caatgtgtaagaagtac	CAATgtgtaagaagtacT	227	gtactcttacacattg
109	gcaatgtgtaagaagtac	GCAatgtgtaagaagtacT	228	gtactcttacacattgc
110	caatgtgtaagaagta	CAATgtgtaagaagtaT	229	tactcttacacattg
110	caatgtgtaagaagta	CAATgtgtaagaagtaT	229	tactcttacacattg
110	caatgtgtaagaagta	CAATgtgtaagaagtaT	229	tactcttacacattg
111	gcaatgtgtaagaagta	GCAatgtgtaagaagtaT	230	tactcttacacattgc

[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 <sup>m</sup> cgactgcattagttGG
18,1	Gtat <sup>m</sup> cgactgcattagttGG
19,1	TCGactgcattagTTG
19,2	TCGactgcattagtTG
19,3	TCGActgcattaGTTG
20,1	TAT <sup>m</sup> cgactgcattaGTTG
21,1	GTAT <sup>m</sup> cgactgcattagtTG
22,1	TGtat <sup>m</sup> cgactgcattagtTG
23,1	ATCgactgcattaGTT
23,2	ATCGactgcattAGTT
23,3	ATCGactgcattaGTT
24,1	TATCgactgcattaGTT
25,1	GTAT <sup>m</sup> cgactgcattagTT
26,1	TGTat <sup>m</sup> cgactgcattagTT
27,1	TTGtat <sup>m</sup> cgactgcattagTT
28,1	TAT <sup>m</sup> cgactgcattaGT
28,2	TATCgactgcatTAGT
29,1	GTAT <sup>m</sup> cgactgcattaGT
30,1	TGTat <sup>m</sup> cgactgcattaGT
31,1	GTAT <sup>m</sup> cgactgcatTAG
31,2	GTAT <sup>m</sup> cgactgcattAG
31,3	GTAT <sup>m</sup> cgactgcaTTAG
32,1	TGtat <sup>m</sup> cgactgcaTTAG

[0306]

33,1	TTGtat <sup>m</sup> cgactgcatTAG
34,1	ATtgat <sup>m</sup> cgactgcaTTAG
35,1	TGTat <sup>m</sup> cgactgcaTTA
35,2	TGTAt <sup>m</sup> cgactgcATTA
36,1	ATTGtat <sup>m</sup> cgactgcaTTA
37,1	TTGtat <sup>m</sup> cgactgcaTT
37,2	TTGtat <sup>m</sup> cgactgCATT
38,1	ATTgtat <sup>m</sup> cgactgCAT
38,2	ATTgtat <sup>m</sup> cgactgcAT
38,3	ATTGtat <sup>m</sup> cgactGCAT
39,1	ACGcattgtat <sup>m</sup> cgACT
39,2	ACGCattgtat <sup>m</sup> cGACT
40,1	TACgcattgtat <sup>m</sup> cGAC
40,2	TACGcattgtatCGAC
41,1	CTa <sup>m</sup> cgcattgtatCGAC
42,1	TCTA <sup>m</sup> cgcattgtat <sup>m</sup> cgAC
43,1	ATCta <sup>m</sup> cgcattgtat <sup>m</sup> cgAC
44,1	TAtcta <sup>m</sup> cgcattgtatcGAC
45,1	CTA <sup>m</sup> cgcattgtatCGA
45,2	CTACgcattgtaTCGA
46,1	TAtcta <sup>m</sup> cgcattgtatCGA
47,1	TCTa <sup>m</sup> cgcattgtaTCG
47,2	TCTa <sup>m</sup> cgcattgtatCG
47,3	TCTA <sup>m</sup> cgcattgtATCG
48,1	ATCTa <sup>m</sup> cgcattgtaTCG
49,1	TATCta <sup>m</sup> cgcattgtatCG
50,1	TCtatcta <sup>m</sup> cgcattgtatCG
51,1	ATCta <sup>m</sup> cgcattgtATC
51,2	ATCTa <sup>m</sup> cgcattgTATC
52,1	TATcta <sup>m</sup> cgcattgTATC
53,1	CTatcta <sup>m</sup> cgcattgTATC
54,1	TCTatcta <sup>m</sup> cgcattgtaTC
55,1	TTctatcta <sup>m</sup> cgcattgtaTC
56,1	TATcta <sup>m</sup> cgcattgTAT
56,2	TATCta <sup>m</sup> cgcattGTAT
57,1	CTAtcta <sup>m</sup> cgcattGTAT
58,1	TCtatcta <sup>m</sup> cgcattGTAT
59,1	TTctatcta <sup>m</sup> cgcattgTAT
60,1	CTAtcta <sup>m</sup> cgcattGTA
60,2	CTATcta <sup>m</sup> cgcatTGTA
61,1	TCTatcta <sup>m</sup> cgcattGTA
62,1	TTctatcta <sup>m</sup> cgcattGTA
63,1	TTctatcta <sup>m</sup> cgcatTGT

[0307]

64,1	TCTtctatcta <sup>m</sup> cgcatGT
65,1	Ttcttctatcta <sup>m</sup> cgcatGT
66,1	TTCTtctatcta <sup>m</sup> cgcatTG
67,1	TTCTatcta <sup>m</sup> cgcaTTG
68,1	CTTCTatcta <sup>m</sup> cgCATT
69,1	TCTtctatcta <sup>m</sup> cgCATT
70,1	TTCTtctatcta <sup>m</sup> cgCAT
71,1	TCTTtctatcta <sup>m</sup> cgCAT
72,1	TTCTtctatcta <sup>m</sup> cgCAT
73,1	CTTCTtctatcta <sup>m</sup> cgCAT
74,1	TTCTtctatctacGCA
75,1	CTTCTtctatcta <sup>m</sup> cgCA
76,1	Gcttcttctatcta <sup>m</sup> cgCA
77,1	CTtcttctatctACGC
78,1	GCTtcttctatctACG
79,1	CGTggggcttcttCTA
80,1	TGacttggagaaaagcacAA
81,1	CtgacttggagaaaagcAC
82,1	AGAgtcac <sup>m</sup> 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<sup>m</sup>所示），小写字母表示DNA核苷，小写字母c之前的上标<sup>m</sup>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 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 $\beta$ -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 $\beta$ -D或 $\alpha$ -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 $\beta$ -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 $\mu$ 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 $\mu$ 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 $\mu$ g至约200 $\mu$ g,诸如每眼约50 $\mu$ g至约150 $\mu$ g,诸如每眼约100 $\mu$ 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 $\mu$ 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]  $\beta$ -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,用于附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 $\mu$ 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,P0)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	actcagttaaaggaggag	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 <sup>m</sup> cgactgcattagttGG
18	gtatcgactgcattagttgg	18,1	Gtat <sup>m</sup> cgactgcattagttGG
19	tcgactgcattagttg	19,1	TCGactgcattagTTG
19	tcgactgcattagttg	19,2	TCGactgcattagtTG
19	tcgactgcattagttg	19,3	TCGActgcattaGTTG
20	tatcgactgcattagttg	20,1	TAT <sup>m</sup> cgactgcattaGTTG
21	gtatcgactgcattagttg	21,1	GTAT <sup>m</sup> cgactgcattagtTG
22	tgtatcgactgcattagttg	22,1	TGtat <sup>m</sup> 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 <sup>m</sup> cgactgcattagTT
26	tgatcgactgcattagtt	26,1	TGTat <sup>m</sup> cgactgcattagTT
27	ttgatcgactgcattagtt	27,1	TTGtat <sup>m</sup> cgactgcattagTT
28	tatcgactgcattagt	28,1	TAT <sup>m</sup> cgactgcattaGT
28	tatcgactgcattagt	28,2	TATCgactgcatTAGT
29	gtatcgactgcattagt	29,1	GTAT <sup>m</sup> cgactgcattaGT
30	tgatcgactgcattagt	30,1	TGTat <sup>m</sup> cgactgcattaGT
31	gtatcgactgcattag	31,1	GTAT <sup>m</sup> cgactgcatTAG
31	gtatcgactgcattag	31,2	GTAT <sup>m</sup> cgactgcattAG
31	gtatcgactgcattag	31,3	GTAT <sup>m</sup> cgactgcaTTAG
32	tgatcgactgcattag	32,1	TGTat <sup>m</sup> cgactgcaTTAG
33	ttgatcgactgcattag	33,1	TTGtat <sup>m</sup> cgactgcatTAG
34	attgatcgactgcattag	34,1	ATtgat <sup>m</sup> cgactgcaTTAG
35	tgatcgactgcatta	35,1	TGTat <sup>m</sup> cgactgcaTTA
35	tgatcgactgcatta	35,2	TGTAT <sup>m</sup> cgactgcATTA
36	attgatcgactgcatta	36,1	ATTGtat <sup>m</sup> cgactgcaTTA
37	ttgatcgactgcatt	37,1	TTGtat <sup>m</sup> cgactgcaTT
37	ttgatcgactgcatt	37,2	TTGtat <sup>m</sup> cgactgCATT
38	attgatcgactgcat	38,1	ATTgat <sup>m</sup> cgactgCAT
38	attgatcgactgcat	38,2	ATTgat <sup>m</sup> cgactgcAT
38	attgatcgactgcat	38,3	ATTGtat <sup>m</sup> cgactGCAT
39	acgcattgtatcgact	39,1	ACGcattgtat <sup>m</sup> cgACT
39	acgcattgtatcgact	39,2	ACGCattgtat <sup>m</sup> cGACT
40	tacgcattgtatcgac	40,1	TACgcattgtat <sup>m</sup> cGAC
40	tacgcattgtatcgac	40,2	TACGcattgtatCGAC
41	ctacgcattgtatcgac	41,1	CTa <sup>m</sup> cgcattgtatCGAC
42	tctacgcattgtatcgac	42,1	TCTA <sup>m</sup> cgcattgtat <sup>m</sup> cgAC
43	atctacgcattgtatcgac	43,1	ATCta <sup>m</sup> cgcattgtat <sup>m</sup> cgAC
44	tatctacgcattgtatcgac	44,1	TAtcta <sup>m</sup> cgcattgtatcGAC
45	ctacgcattgtatcga	45,1	CTA <sup>m</sup> cgcattgtatCGA
45	ctacgcattgtatcga	45,2	CTACgcattgtaTCGA
46	tatctacgcattgtatcga	46,1	TAtcta <sup>m</sup> cgcattgtatCGA
47	tctacgcattgtatcg	47,1	TCTa <sup>m</sup> cgcattgtaTCG
47	tctacgcattgtatcg	47,2	TCTa <sup>m</sup> cgcattgtatCG
47	tctacgcattgtatcg	47,3	TCTA <sup>m</sup> cgcattgtATCG
48	atctacgcattgtatcg	48,1	ATCTa <sup>m</sup> cgcattgtaTCG
49	tatctacgcattgtatcg	49,1	TATCta <sup>m</sup> cgcattgtatCG
50	tctatctacgcattgtatcg	50,1	TCTatcta <sup>m</sup> cgcattgtatCG
51	atctacgcattgtatc	51,1	ATCta <sup>m</sup> cgcattgtATC
51	atctacgcattgtatc	51,2	ATCTa <sup>m</sup> cgcattgTATC
52	tatctacgcattgtatc	52,1	TATcta <sup>m</sup> cgcattgTATC
53	ctatctacgcattgtatc	53,1	CTatcta <sup>m</sup> cgcattgTATC

[0400]

54	tctatctacgcattgtatc	54,1	TCTatcta <sup>m</sup> cg cattgtaTC
55	ttctatctacgcattgtatc	55,1	TTCTatcta <sup>m</sup> cg cattgtaTC
56	tatctacgcattgtat	56,1	TATcta <sup>m</sup> cg cattgTAT
56	tatctacgcattgtat	56,2	TATCta <sup>m</sup> cg cattGTAT
57	ctatctacgcattgtat	57,1	CTAtcta <sup>m</sup> cg cattGTAT
58	tctatctacgcattgtat	58,1	TCtatcta <sup>m</sup> cg cattGTAT
59	ttctatctacgcattgtat	59,1	TTCTatcta <sup>m</sup> cg cattgTAT
60	ctatctacgcattgta	60,1	CTAtcta <sup>m</sup> cg cattGTA
60	ctatctacgcattgta	60,2	CTATcta <sup>m</sup> cg cattGTGA
61	tctatctacgcattgta	61,1	TCTatcta <sup>m</sup> cg cattGTA
62	ttctatctacgcattgta	62,1	TTCTatcta <sup>m</sup> cg cattGTA
63	ttctatctacgcattgt	63,1	TTCTatcta <sup>m</sup> cg cattTGT
64	tcttctatctacgcattgt	64,1	TCTtctatcta <sup>m</sup> cg cattGT
65	ttcttctatctacgcattgt	65,1	Ttcttctatcta <sup>m</sup> cg cattGT
66	ttcttctatctacgcattg	66,1	TTCTtctatcta <sup>m</sup> cg cattTG
67	ttctatctacgcattg	67,1	TTCTatcta <sup>m</sup> cg cattTG
68	cttctatctacgcatt	68,1	CTTCTatcta <sup>m</sup> cg catt
69	tcttctatctacgcatt	69,1	TCTtctatcta <sup>m</sup> cg catt
70	ttcttctatctacgcatt	70,1	TTCTtctatcta <sup>m</sup> cg catt
71	tcttctatctacgcat	71,1	TCTTtctatcta <sup>m</sup> cg catt
72	ttcttctatctacgcat	72,1	TTCTtctatcta <sup>m</sup> cg catt
73	cttcttctatctacgcat	73,1	CTTCTtctatcta <sup>m</sup> cg catt
74	ttcttctatctacgca	74,1	TTCTtctatctacGCA
75	cttcttctatctacgca	75,1	CTTCTtctatcta <sup>m</sup> cg ca
76	gcttcttctatctacgca	76,1	Gcttcttctatcta <sup>m</sup> cg ca
77	cttcttctatctacgc	77,1	CTtcttctatctACGC
78	gcttcttctatctacg	78,1	GCTtcttctatctACG
79	cgtggggcttctcta	79,1	CGTggggcttctCTA
80	tgacttggagaaaagcacaa	80,1	TGacttggagaaaagcacAA
81	ctgacttggagaaaagcac	81,1	Ctgacttggagaaaagcac
82	agagtcatcgtgctcc	82,1	AGAgctcat <sup>m</sup> cgtgcTCC
83	aagtactttaatagctcaaa	83,1	AAGTactttaatagctCAAA
84	aagtactttaatagctcaa	84,1	AAGTactttaatagctCAA
85	gaagtactttaatagctcaa	85,1	GAAGtactttaatagctCAA
86	tactttaatagctcaa	86,1	TACTttaatagctCAA
87	aagtactttaatagctca	87,1	AAGTactttaatagctCA
88	gaagtactttaatagctca	88,1	GAAGtactttaatagctCA
89	agaagtactttaatagctc	89,1	AGAAgtactttaatagctc
90	aagaagtactttaatagctc	90,1	AAGAgtactttaatagctc
91	gaagtactttaatagct	91,1	GAAGtactttaatAGCT
92	taagaagtactttaatagct	92,1	TAAGAgtactttaatAGCT
93	agaagtactttaatagc	93,1	AGAAgtactttaatAGC
94	taagaagtactttaatagc	94,1	TAAGAgtactttaatAGC
95	gtaagaagtactttaatagc	95,1	GTAagaagtactttaatAGC
96	taagaagtactttaatag	96,1	TAAGAgtactttaATAG
97	gtaagaagtactttaatag	97,1	GTAAGAgtactttaATAG

[0401]

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
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 $\beta$ -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<sup>m</sup>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 $\mu$ 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%CO<sub>2</sub>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 $\mu$ 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 $\mu$ 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 $\mu$ M和25 $\mu$ 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%CO<sub>2</sub>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 $\mu$ 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douplex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。该表中相对的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

[0417]

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
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 $\mu$ 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 $\mu$ 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50μM,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。50μM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

[0424]

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
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 $\mu$ M, 半对数稀释, 8个点。n=2个独立的生物学重复。50 $\mu$ 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 ( $\mu\text{M}$ )	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 $\mu\text{L}$ 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 $\mu\text{M}$ , 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 $\mu\text{L}$ 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 ( $\mu\text{M}$ )	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  $\alpha$ 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 $37^{\circ}\text{C}$ ,5% $\text{CO}_2$ 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 $50\mu\text{l}$ 具有 $\beta$ -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		
		50μM.	10μM.	1μM.
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 $\mu$ 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precellys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Precellys 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Precellys 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 $\mu$ 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 $\mu$ 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 $\mu$ l PBS中的75 $\mu$ g视网膜,100 $\mu$ 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 $\mu$ 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 $\mu$ 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 $\mu$ l消化溶液(终浓度:1.24ng/ $\mu$ l胰蛋白酶,20fmol/ $\mu$ l BSA肽,26fmol/ $\mu$ l同位素标记的HTRA1肽,1fmol/ $\mu$ l iRT肽,Bioognosys),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 $\mu$ 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 $\mu$ L/min加载到Acclaim Pepmap 100捕获柱(100 $\mu$ m x 2em,C18,5 $\mu$ m,100  $\text{\AA}$ ,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 $\mu$ m x 15cm,3 $\mu$ m,100  $\text{\AA}$ ,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,其具有以下参数: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 $\mu$ g蛋白,玻璃体40 $\mu$ g蛋白),并使用来自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
[0477]	PBS	-	82	101	95
	PBS	-	107	99	118
	# 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 ggccgcgcgg ccgcgcgcac tcgcacccgc tgcccccag gagcctcctgc 60  
actctccccg gcgcgcctct ccggccctcg ccctgtccgc cgccaccgcc gccgcccca 120  
gagtcgcat gcagatcccc cgcgcgcctc ttctcccgt gctgctgtg ctgctggcgg 180  
cgcccgctc gggcagctg tcccgggccc gccgctcggc gcctttggcc gccgggtgcc 240  
cagaccgctg cgagccggcg cgtgccccg cgcagccgga gcactgcgag ggccggccggg 300  
cccgggacgc gtgcggctgc tgcgaggtgt gcggcgcgcc cgaggcgcc gcgtgcggcc 360  
tgaggagggg ccctgcccgc gaggggctgc agtgctgtgt gcccttcggg gtgccagcct 420  
cgccacaggt gcggcgccgc gcgcaggccc gcctctgtgt gtgcgccagc agcgagccgg 480  
tgtgcggcag cgacccaac acctacgcca acctgtgcca gctgcgcgcc gccagccgcc 540  
gtccgagag gctgcaccg ccgccgtca tcgtcctgca gcgcggagcc tgcggccaag 600  
ggcaggaaga tcccaacagt ttgcgcata aatataactt tatcgcggac gtggtggaga 660  
agatcgcgcc tgcctgtgtt catatcgaat tgtttcgaa gcttccgttt tctaaacgag 720  
aggtgccggt ggctagtggg tctgggttta ttgtgtcga agatggactg atcgtgacaa 780  
atgccacgt ggtgaccaac aagcaccggg tcaaagtga gctgaagaac ggtgccactt 840  
acgaagccaa aatcaaggat gtggatgaga aagcagacat cgcactcacc aaaattgacc 900  
accagggcaa gctgcctgtc ctgctgcttg gccgctctc agagctgcgg ccgggagagt 960  
tcgtggtcgc catcggaagc ccgttttccc ttcaaaacac agtcaccacc gggatcgtga 1020  
gcaccaccca gcaggcgcc aaagagctgg ggctccgcaa ctcagacatg gactacatcc 1080  
agaccgacgc catcatcaac tatggaact cgggagggcc gttagtaaac ctggacggtg 1140  
aagtgttg aattaacact ttgaaagtga cagctggaat ctcctttgca atcccatctg 1200  
ataagattaa aaagtctc acggagtccc atgaccgaca ggccaaagga aaagccatca 1260  
ccaagaagaa gtatatgtgt atccgaatga tgcactcac gtccagcaaa gccaaagagc 1320  
tgaaggaccg gcaccgggac ttccagacg tgatctcagg agcgtatata attgaagtaa 1380  
ttctgtata ccagcagaa gctggtggtc tcaaggaaaa cgacgtcata atcagcatca 1440  
atggacagtc cgtgtgtc ccgaatgat tcagcgacgt cattaaaagg gaaagcacc 1500  
tgaacatggt ggtccgagg gtaatgaag atatcatgat cacagtgtt cccgaagaaa 1560

	ttgacccata ggcagaggca tgagctggac ttcatgtttc cctcaaagac tctcccgtgg	1620
	atgacggatg aggactctgg gctgctggaa taggacactc aagacttttg actgccattt	1680
	tgtttgttca gtggagactc cctggccaac agaaticctt ttgatagttt gcaggcaaaa	1740
	caaatgtaat gttgcagatc cgcaggcaga agctctgccc ttctgtatcc tatgtatgca	1800
	gtgtgctttt tcttgccagc ttgggccatt cttgcttaga cagtcagcat ttgtctctc	1860
	ctttaactga gtcacatct tagtccaact aatgcagtcg atacaatgcg tagatagaag	1920
	aagccccacg ggagccagga tgggactggc cgtgtttgtg cttttctcca agtcagcacc	1980
	caaaggtcaa tgcacagaga ccccggtggc gtgagcgtg gcttctcaaa cggccgaagt	2040
	tgctctttt aggaatctt ttggaattgg gagcacgatg actctgagtt tgagctatta	2100
	aagtacttct tacacattgc aaaaaaaaa aaaaaaaa	2138
	<210> 2	
	<211> 53384	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 2	
	caatgggctg ggccgcgcgg ccgcgcgcac tcgcacccgc tgccccgag gccctcctgc	60
	actctcccg gcgcgcctct ccggccctcg cctgtccgc cgcaccgcc gccgcgcc	120
	gagtcgcat gcagatccc gcgcgcctc ttctccgct gctgctgtg ctgctggcg	180
	cgcgcctc gggcagctg tccggggcg gccgtcggc gcctttggc gccgggtgc	240
	cagaccgtg cgagccggc cgctgccgc cgcagccgga gcaactcgag ggcggccggg	300
[0002]	cccgggacg gtgcggctg tgcgaggtg gcggcgcc cgaggcgcc gctgcgcc	360
	tgaggaggg cccgtgcgc gaggggtgc agtgctggt gcccttcggg gtgccagct	420
	cggccacggt gcggcggcgc gcgcaggcc gcctctgtg gtgcgccagc agcgagccgg	480
	tgtgcggcag cgacgccaac acctacgcca acctgtgcca gctgcgcgc gccagccgcc	540
	gtccgagag gctgcaccgg ccgcgggta tcgtcttgca gcgcggagcc tgcggccaag	600
	gtactccgcc gcgtcctgg gcagctccc actctctcca tcccagctc gacctgttc	660
	tgccggactg ttgggcaggt tgaggggag cgaagcgtt tggggtggc agggcaactc	720
	tcggggacag gcaggtggc cccggggtg cggatttcc cgggctgcct cggaaccgag	780
	cttcgcgcc agccggggc cggttctgc ccagacgat gccagtacgc ccggcctgca	840
	ctctggggct cgagacgcc ggccaccgc catggagtgc cctgaggga accacacagc	900
	gcggggaccc caggacaaat aagaggaatg ggggcataaa ggaaggagag aagttcagga	960
	ctgggaattg gcgcctgca gagcggttc agaccacaa gaagtcattt cggttgcttt	1020
	ttcttctatt tacgtctcc gtcccctta aaattcactg ctttgatcac gggaccgctc	1080
	agtgaact gtatgtaact cttttgaaa ggaacagtgt ttccggccc gcccggagt	1140
	ttctccaaa agtctaccc gagcaggaa cggtttgca ccgtctcgt ttcggcgcg	1200
	ttgtgcctg tctgtcttc ctggtttga gccagcccta caaaatgaa agtggctcct	1260
	tttgaataag ctgaatcggg ctttgatca cgaaatctgc agaggcggag aaggaccgg	1320
	gttagtgatg aggaagaagt ctacccctc gtctctacag ccgcacacag gacctgtct	1380
	ggcaggggag acggtggtg tgggggaagg agtggaatg agcaatgtct aactctctc	1440

[0003]

```

cgggaccttc cggagagatg ctctcatct tcaggcagag gccatgtgga aaaataatat 1500
cgagttcagc agcggccagc cccgcgttgt aggaaccaga cagcggggct tggcagtgcg 1560
cttgggcgca gccgtgccgc tgctgccgga cccagtgct gcctctcaa cacgggcagt 1620
gccaggagag gggcataggg gagcacagt cagagggact ggtctagagt ttactttata 1680
ggaatatggt tcggtgtgac caactagggc ttagcatagt ttggcttacg tggacgggaa 1740
gatgccagag ccgaactggg tgaattcga gattgcgtat ttcaccaaca caggagcaca 1800
gccccggga aactcagcct agtcaggcag tagagagttg tcccggagag aagtgatect 1860
gcagactcga gaaggggcat gatgatagca cacgtctgtt gagcaccag tctgtgtgcc 1920
gggtgtgtta cctctgtgac ctcatgtgtt caaacgagga ggcagttgct cctctctctc 1980
tcttttttt tcttaagaga cagggtctcc ctctgtcgcc catgctggag ttagtggtg 2040
tgatcatggc tactgcagc ctccgacccc tgggtcaat gattctcctg cticagcctc 2100
ccaagtggct gggactacag gcggatgcca ccacaccag ctctctatc ccgttttaca 2160
gatagcggag ctaaggttga aaaacttgcc caaggtcatt cagctggaat ttaaaccag 2220
acagcctcat tcagaggagt cagcccagca cttaactcca aggtgtgtgg agaggggtca 2280
ggtgtgttaa atttctggt ggctggacg tgcaccccc tcagagctgg gaacagcata 2340
cacaaagcct aagacttgtt tggagtgaa tagatcagt tggctgggga acgttttggg 2400
agggcagcag gagttagcca ggctgtggc ccagagtccc agggctgaag aggttgctg 2460
tgccccgtgc cctgtgcga gatgttctt aactggagca actcaaagc tagttagtg 2520
tagggctgac ctacagctgg agtgcggaat gcatccaggg tggagagttt agactactgc 2580
aataatctgg gtgtgagcg acaacattga aaaagcatgt tttgtccaa aacaagccag 2640
ctgttactgg tctcgtgtt tgtggtctca tcgcacggg tctgagttg ctggcaccat 2700
gcgagccgcc taatttattg ctagttaggc aagtgtctta acaagtittg gatttgctg 2760
agtccctgtg tggagaaaa caggctcccc attggccatc gggctcacag cgggcccccg 2820
gtgtaccagt gaggggacag ccacagaggg ataagcatgg tggctttgaa aggagggaga 2880
gacagagtgg gtacaatgct tttcttacc ctccctcctt ctttgcaaa tatttattga 2940
gctcttagg gtgtctgaca ccgtttgcat gttgtctgt ctggcacatc ggaggtactt 3000
ggtacagagt gattagtga tgaataaat aatgaatga gacaaacggg aggtgcttgc 3060
gatacacagc cattctgttt ttcttagtg gaaggcactg ctttctgcg cccctctct 3120
ggatctcaca ctccacctt gacttttcgg aggtgtttcc gagacaggc gcctgggagc 3180
cagcagactt cattcagtc aagccaggct ccaggactca acagctggtg cccacgggca 3240
ggtcacttga cgtcactgtt aaatgagggt aattggtgc 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 gaaatgtcat cagatcaggg gtcccaggg aggtgactag cactttgggt 3540
cacagtagat ctttgtagat aggaacatgt caccattcaa aggaagcac tttcatctgt 3600
aagctgttta ttgaatagac ctacagaaac atctctgctc accgctctgg aaatgaagc 3660
aaatcatcta tttcagaagt caatgcactg gcagggtttg gatgggaaag tatacaattc 3720

```

[0004]

```

agctagagaa caaagatctg tcattctccag ctgtactggg cagatgatta caaaaaagaa 3780
aggaattgaa atactaatag ggtactaata atgagggcta acatatatgt tgtgcttatt 3840
ctatgccggg tgcatactaa ttcatctgat cctccggaca gtcctatgag tgagtgcgtg 3900
agtcttccct gggttacagc tgggcagcta agtcacagag aagtacctg ctcaggactg 3960
gtgttccac acaactggat ggagagcctc gttcataacc accatgctgt gctgttgaca 4020
gagcaacaga gattttaaac caacccagc taagccccag ctaatagctg aaataaacag 4080
ggctccagat ggctgtggct tagagatgga acaggacaga tcacagcctt cactctgcag 4140
gctcaggagc ctgaagacaa ggttgccctc agttgccgtc agtcagccc tactaaaga 4200
aaagcaaaaa gagccgaggg actgtaggaa ggctgtttcc aagccagaga tccagacaaa 4260
ctgctcttga agagagaaa cccttcaga ttcccccag tcccaaaaga ccagccggga 4320
ttccggacct ctgctaaac atggacaaga agccaggaac gagacctgaa acagacttcc 4380
caaacagcag aagcctcatc catttctctt gctagtacat cctccaggaa agccccacct 4440
actccatgca gcagcccaga caagcttga ggtctgcaag ctgcagggtt gcccagaaac 4500
tccaccctg gaggttttta ggtatgcctg ctctgtgtt caccacagag cctctaaagg 4560
cagaggctgt atgtacatac ctggtgaaga accaagggtt tagatggtt ctttacttct 4620
tggagccctg gaatgttgt aaaaatttact ttttttttg agacagtgc tcgttctgtc 4680
gcctacgctg gagtgcagt gcgcgatctc ggctcactgc aagctccacc tcccgggttc 4740
atgccattct ctgccttag cctccagagt agctgggact acaggcacc gccaccacgc 4800
ccagctaatt ttttgtatt ttttggtaga gacggggtt caccgtgtt gccagatgg 4860
tciccatctc ctgacctgt gatccgccc ctttggcctc ccaaagtgt gggattacag 4920
gagttagcca ctgcaccgt gccaaaatgt actttattta ggtgactct tcgtgggaac 4980
ctcaacaag caatcattgc tagctgagt ctgacctgt actgagctt ggggagacag 5040
ggttgaataa aacaagtca ctgccacag gtaacttata ttcaatacaa tgggggaaaa 5100
tacaatcact gcttccctgg gttgtattt ttccattgtt aaagtggga gttgtctga 5160
gagtcatctt cactattgac aattcaata cacctttgt cagttaaaaa acaagtgtc 5220
caggacctg agcttcatct tagggcagg tgggtgaaa catttgtag tctccagctt 5280
ttagtcacct gaaacttga aacttgagg tcttttgagc agtttatgag tctctgcctg 5340
ctctggtcgg ctgccttctt ttattgctt gttggtttg ctaaagagt aaaatattaa 5400
ggcttcaata aattaggaag ttaacaagc caaaaacca gtgtttgagt tacttcattc 5460
cactgagaga gctgtaaat ggttgcatg gaacttaaaa taactgcatt gagtaagtga 5520
tggtggcggg caccatgagc taactgtgtt cagaagcctg atggcctccg ctttggggct 5580
ggattctccg tttggagctg tgtatcctg gatgagttc atgccttga ttcagaaatc 5640
agactttcca tgagcttata tttcaagtga ataatagct ctggtcaggc ttaatttgaa 5700
gaagaagtaa gcttgagcgt ggttgagggt tcttggaag gccaaactgg gcggaggggc 5760
tgagggaag cggtctggc ctttctggg gtgttacctg accaggtaac agctccctcg 5820
acctctcgga gcctcgagc tgaggggatt gggccagttg atctctgagg ctcttttaa 5880
ctagaatggt ctgggatttt tctaagaaaa caagtctttg aggaggtgt ggtcacctca 5940
ttcctaattt aaagcctggg gaggttctt tatgagctac ttctttttcc 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 atcttttctt tctccacctt 6240
ctctgccgtt aaaaaaaaa gaagaaagag aaaaatccta ttaatagaga aaccgagaag 6300
tgtagccatt ctgaatgtgt ttccaaaagg ctcttgaag tggtcatggaa gttacagtga 6360
ttcagcacta cttgggtgac tgctcctaga accacagggg gacattagcc aggacaacac 6420
gcctcaggac agaagtaagt ggctgcgaag aggcatgtcc atcactgccg gaaagatgca 6480
gagttcagtt ttggagtca gtctgagag ttccatttct aaattcattc agagcattta 6540
tttaacacct actgtgtgct cagaagtgtc tcaggtatgg ggactcagag gtaagggtctg 6600
gtggccctgt atctcaaggt actcgtggta gatagtatga tgctcagctt aagggtctggg 6660
cttctgaagt cggattgcca tttctggat gtgtgggtgt tcttgggtga cttcatctct 6720
aagtctcagt ttccccatca gtaagataag agaagtaata gcagatacat acgtagctct 6780
tagggcattg cagaatggaa ggacctcctt atatgaaacg caaagcactg tgcctgatgc 6840
attgctagaa ctacagcaat attagcgtgt tgtcattgtc atcatcatca tcatcatcat 6900
catcatcatc atcatcatct tcaaggcact gacaaaggag tcagctgtgt gggaggagtgt 6960
ctgggacact cttgtctccc tggggatgag gtgggtgggt gggttaggaa atcttcacag 7020
agaaggaggg tgatgtgaga cttctgtccg ggagctgact cggaatttgc catctaatat 7080
gttggaaaag gtctctctggg cagaggatc caaagtcact ttgcctgtca ccctttgagg 7140
tcccagtgtg tgcctatata atgtgaccag tgtgtggctt ctcttgaatt aagagctgca 7200
tgctctggact gcctgggatt ttacagatgt catctcgtta actctccctg gagcttgtga 7260
caccagagg atggcagttt atagaagccc tggcaccttc ttgaatgatg cttggtttgg 7320
tttctatgca ctgggaattc ctcaacaaga aagatttgtc acatcttaag gaaggaaaaa 7380
aaggcaaatt tgggagtcca tggataccct attattttag attccaggac aaattgtcga 7440
ataagcacgt ttcataaaaa caatctctcg cagcatcccg tgacagcagc tggctcctcg 7500
ccacaggata attatgtctc cttgtgcaca caaaagtctc cgagggcata ttgttgtggc 7560
tggagtttct gataatttcc aaattgaaca acctcagtc taatgagtca gaggttgtg 7620
caatattttc aaacctcagg aacatctttt tcattagtgt tgcaataaag atggtaggcc 7680
taictctgtg atgagctgtt ttttttctc aaagtttgat gagattcgcc gtagaattcc 7740
ttctcacata gtcttgggca agattttacc cgatcttcca acacatgagt catctcatat 7800
cctgtgacta agaagagctg tctcttttgt gccagtttct taagtgcagt caccacttga 7860
tggagacgga tggacacagt tgggattgcc caggcagatg ggcaatcttg ccagctagac 7920
ataggggagg gaagcctcaa tgttcagcgg tcacatctgc ttttctgtgg cacagagtga 7980
gctatacagg aatattgtat tctccaggac agttagggca gtgggaaatg tcatcaaaca 8040
gaacagtgtc caaagagcc actgccactg ggtgctctgt gggagctggg cactgtgctc 8100
attgtgttat gggccttctt ttgttcttac cttgtagcca ccagagagg cagggcatta 8160
tccttgcttc ctactgagg ccacagaaga ggctcctaga ggtagctgt aacttgtcca 8220
aggccagcca gtcaaggag gcagagccag gatttgagcc catgtctgtt tactcccaa 8280

```

[0006]

actattcttc agatttcttt aagtcagtg ttatttagaa atgttttgtt tattcatcaa	8340
atatttggtg ggtgtttcca gctatctttc tgttattaat ttctagttaa attctattgt	8400
gggctgagaa tatattttgt atgatttcta ttctattacg ttgttaggg 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 gggctcctagc cccatttggg cctttgggat gactcccttc	8760
tgctcagtt tctcatcta caacaggggg acaatgatgc tgctaggag acatcagcag	8820
gatactgtga aagtccagtg gcataagggg tatggaggag cttcgtcaac tcctaaagct	8880
tcagtgtcag gaatcctaaa gcattgaaat ccaaagatat aaggaatatg aaggagtttt	8940
gtcaattcct aatgcttcag tgctaggaat cctaaagcat taaagtccaa tgatataagg	9000
aatatgaagg agctttgtca actcctaaag cttcaatgct aggaatccta aagcattgaa	9060
gtccagtgat ataaggaata tgaaggagtt ttatcaactc ccaatgcttc agtgctagga	9120
atcctaaagc actgaagtcc aatgatacaa ggaatatgaa ggagctttgt caactcctaa	9180
agcttcagtg ctttaggagt cctaaagcat tgaagctgta agagattagg acctctagtt	9240
ggcaattcca gactcttcca ggactcctga tagagccaac accaagaata gtgaagccag	9300
aaggatggaa atagtaaaat gcctcctggg tgtcaaagca tgggtctcct ctgggcatgt	9360
tcctttgtcc tactgagaca tgatagctct tggccaaagt gactgaactt gaccctctgt	9420
ttcaggaagg ccaaatgcag ggttcactac catcatgtcc aagggcagat gcgttgggcc	9480
agaacatcag catcccaatc attataccaa gcaaacagcc gtctctgcct gcaccgtgga	9540
gagcacacgc tcctcctggg gtggcctgca tcctgtgttc ttctcaggcc gactttctgt	9600
ttaatgtttg ctggtcagga aatggcctga gctgaggttc ttcatatccc agtctgacct	9660
ttctccacca gcatttgtgg ctctgaaaaa tatagcccag tgtggtttag cccactgga	9720
tgaaacccag taggaaaagt ctgataatag cagaagacgc acaggaggaa gagtgaggat	9780
ttgagagcat ctgggaagga ccatgtgcct ggatatcggt ctgtctgtgg gattctgtga	9840
cacttgtcat ttacagtctg ttcccatgga attctcatca ttggccaaac atatagtctt	9900
ctgtctctct gaaaaatate attctgtccc gacctttcac acccatctct gaccacatca	9960
actccctgtt tgcatgcata ttgtggatga aggacaccac ttacctgta aagacactgg	10020
tggtttccca aagccaccaa ctgacttgta gagaagacag aatcccagag tatgaaacct	10080
gagggtgaag ggtcctggca ggtcctagag ctcaaccctt cacttcacag gtggggaaac	10140
tgaggagacc aatgggaaca tgactctcac aagetgcaca gctcatctgt aggggccagt	10200
gtggagtctg tttgtcctga gaccagggc tgagcctttg agccctccgc atctcagccg	10260
catcctcctg ttggagcagt taggtgtttg ggagaggcca cgggtccatgc tcatggtttt	10320
cctgtaaggc tggagaacaa ggccttggtc ctttagtctc tctaatacaa atgaggttgc	10380
agaaaacctt tcctcctact tcctcctaaa ataatttctt tgggttagaa gatgactaaa	10440
agactattca tccgatgact gatgtctccc ttcaagagtt ataagcacat ataaatgcct	10500
ttgaatggta attataataa ttttgcigaa gggaaaatat cagtataaat atcatggtgg	10560

[0007]

```

acacatggaa tgaggactga gatgctttca tgtcttttca gctgtggta gattttcttt 10620
aagcagaata tacaagtttt tectctccta gcataaggac tctttttttt tgtatctttt 10680
ctctctactt tttagacatg atggaaaatg catttataca tttagatgaca tattgtacta 10740
tctcagttgt ttaaaattat aaatgtaatt taatcatatg aaaaattaag aaaagaagat 10800
tcataattca ccatcatctc ccagaaaata tcatttcttt attactatta ttattattat 10860
tattattatt attattatta ttattatttt gagacagggt cttgtccat caccaggt 10920
ggagtaaggg gcacgatctt gactccctgc aacctccacc tcccaggttc aagcagttct 10980
catgcctcag cctcctcagt agctgggatt acaggcctgc accaccacac ccagctacct 11040
tttatatttt taagtagaga cagtttcgcc atgttgcca gactggtctc gaactcctgg 11100
cccaagtga ttggcctgct tcagcctccc aaagtgtggg gattacaggc atgagctacc 11160
atgcctggcc taattccatc atttctgtcc caagtgtgc caccgtttgg ttaactgttc 11220
ccctgttcac atccatttgg gccaaaggtg caatgttaaa caatcctgag atggacattt 11280
tcatgtttat ggetatttct gtatctaggg tcattctctt aggagaggta ctaaggagta 11340
caaaaactgg gaagaaggat atggaatttt tatggatctg gtataaatg ccaaattatt 11400
ttccagaagg gttgtagcca tatttgttgc catcagctct agaatttcaa cctcgtaagt 11460
cactgaaaga aattctccca aaatcaatcc ttcaggaata atggaagaag atggtgcca 11520
acccagcca ttctgtcac ttttagattc ctttttgggt cttacaggtt acttttatc 11580
tcaggttgat ggctcttaga gttgagcaat gtttgggta gaataacgag cacttttaaa 11640
acttggttct acctggggag ggggtgagtt gtgatcacag acagtctcac ctgggagggg 11700
cttgggtgtt tctcggttgc tecttctaac actcgtgtct caggcgagca gcctgggacc 11760
agttaggtga cctgaaggct ggaggtcaca agctaagagg cgacagagaa ccaggtctc 11820
aggaagccca gccagagct cgtgcactg agcctctcgg atgccagctc tgtccaggat 11880
gcgggaggag gccagactga tttggtctgt tttgaaaagt gatgaaaata tttattcaaa 11940
tgttttgtac tcataggcag aagtataaca ggagctgcat atacaaaatt attttctagt 12000
agtcacatta aaaaagtaaa aagaaagaac acgattattt ttctttttaa aacagcttta 12060
ttgagagata attacatac tataaaattt acccctttaa agtgtacaat ttgtgttct 12120
tatatattca caatcatgca cgtatcacta ccagctccag gacatttca tcaccgtaaa 12180
aagaaacccc gtatccatta gtagccacc catacttctc ctctgccag ccctaggaaa 12240
ccaccgttcc attttctatt tctatgaatt tgcttattct ggacatttca tataaatgga 12300
atcaaagaat acgtaacggg ctctgtctc ttagcataat gttttcaagg ttgtccacat 12360
tgtagcatgg atcattattt cattccattt tatgattaaa aatatgcctt ttaagggata 12420
caggagagacc agacgtctat ttatctccc ctccctgatg gggaatccta atttcagcct 12480
ggaaagtcac tgcgaaagtc taaactgcag aggtgatact gtttccactg gaagaaactg 12540
tagcacctga ctcaggaagc cagcattaaa accaagaata ttctatatgg atggggatta 12600
cgactgaaa ggaaaacatg aggaaatgca cttttcagat ttattagatc atagaacttt 12660
tttgagctg gaaaggtgt cggaaccgt ctagcctacc cctcatctt accactgagg 12720
taactgaggc ccaggaagg gaagtggctt gttttgggtc cgggaccact cttcatttct 12780
tatttgagcc aaagcttctt tctggcgtct gtctctgttt cacaagttcc cctcgcatgg 12840

```

[0008]

```

gggctgggta ctgcttgga gaactggctt cttccttgat acaggggctc gttcaccatc 12900
acctccctcc ctcacgtctc ttctgectct ctgcagcctc aggccctcct cctgcaccag 12960
gggggcagac tcaacccggg tgggcactgc ctcccagtc gtggccagag gctggagggc 13020
tagggagact gaacagcccc ggagctcca gacataacaa cctatgttga ggagtcaggg 13080
caggaagcga acccagctga gaaatctgcg aaggtcagga ccagagccag acgcttatca 13140
agagcaaagt taatggtttt tgtgaaccga gcagtcagct gtttccccga agataataat 13200
agacacatca tgttgggcat tcaggaggca tctgaaaaaa aaaatgtgca gtggaattga 13260
ttggaagctt ttccctaatg cataaaatag gccagaaaag actatcaaat gtaacagcac 13320
cgatcaaacc caatagatca agcaaggact gaaaaacaca attttttttt tctttgccag 13380
tgagtctgaa aagtgtttt caatgacagg cgcctttaa catagacaac ataaacaaca 13440
acatagtgtt tctggaagag gcattttt cagtaaagc caaagatgca gatctaggct 13500
gtgcttgtga ctgacagcac agtgaggggt tcacagccag ctggccaggt gcccccgaa 13560
agcacatttc gaatctactc tatttgagag agactgcctt agccttgttt gggtaagtct 13620
tctccttca cttcacctgc cacagacttt tccaggcacc atctgtgca gtcttgccc 13680
agccccgca acagttactg ctcaaggcac cgggacatg caggacgggg gagcagcctg 13740
aggtctggcg tccggcgagc ttttccact tggagccgtc tgggagactg tcccggaaag 13800
agaggggctg ccaacacttg gaagtgcga tgtgtgctgc aagtcaggc caggctcccg 13860
gtcccccg ctttctcc ttgattcatt aaaaggaaa aaaggagcca cacgaaactc 13920
tctgaattt catttcttt ttctatgca aaagacagag cgtggtcatt catcattcaa 13980
attttagcct ttttaacaa ataataatc ctgcttgtga attcagtga ttttaacaag 14040
agtaggtctg agggccgttg gccgtgtctt tcttagatt tgcagacagc ggccctgatg 14100
gtgcataggg tttcaggttt ctttagacc tcagctggct gcctgggcca ccacttagca 14160
atgccattgt ctttctgtg cattttctt gcagaattcg aggaaatcca gtcgcacagg 14220
ccccctgtg cccatgtccc cggcgccctg gaatgtgcag taccagcagc agcgattaga 14280
atgggggtct ggtttcccg aatgtgcaag gctgtgcttc tgtttctgt gcctccatgc 14340
cccagaccag tgctgggccc ggctctgggc tggagccgtg gctgacaagt ttcttggaa 14400
tttaatggag cgggccagac agcatgcagc cactcaact gaaaacctgg gaaagaaatg 14460
agtgttgtgg ggcagctttg ctgcattcac tgggtcatat atgcttcttt ttcttttct 14520
caggcaacct ctttgcaga caggaggccc cttccccctt cgcttcatgc ctactggcc 14580
attaggaacc ttttaaaact gatttctctc ctgacctca gagagaacat agtccaagtt 14640
ccctggagga ggaggaagcg ctctgtgttt ctctgcagtt cacggctcag ttaaatgcag 14700
cctactgtct gtctttcccc actcctctgc ctgtcccggt tgtgtctctc atgatcatc 14760
tcaaattcag cgagaaacct cacaaggga gcttttctta gggaagagtc atccttgccc 14820
tcccgaatgt ggaccagccc ctctccccag ctgcacagca tcaggttagt taaccacctg 14880
cctcatctg ggtcctgtct ggacaggcct actcacacct gctgcaggca tccaacttgc 14940
cctcaggtgc ctgtggctgc tcagagggg tggagccac attccagtcc tgacaggtaa 15000
agttcagtg cggggacctt gcatttagtg taaagatcaa tattccaggt cctctcttcc 15060
tgccaccag cgactggccg ttgacaggca ctcggtccca gttgtcttgg gcctgcagcc 15120

```



[0009]

cttgcattct ctctgctttg tctctgctat tgcacccctg ccccatcaga aatgcagggtg	15180
ggggggcctt ccgctgggac agtgagagac tgggtagtaa ggggagcgct agagggatgg	15240
ttgcgcttgc atccagccct gactgcattc gctctccccc gcctctctgt gaagggtctg	15300
agctgtgagt ggaaccaagt ggatgagagt ggccctgggc acctgccgat aaatttcccg	15360
gtgtgtcttc tctctctggg agtcccatct ggatttgggt ctggatttat ttattcagca	15420
agtagcctct ttatagttae tttttttttt tttttttttt tgagatggag ttctactttg	15480
tcacccagge tggagtgcac tggcgcaatc ttggctcact gcaagctccg ccttcaggt	15540
tcacgccatt ctctgcctc agcctccga gtagctggga ccacagggtc ctgccacat	15600
gcctggctaa tttttgtat ttttagtaga gactgggttt cactgtgtta gccaggacgg	15660
tctgatctc ctgacctcat gatctgccc ccttggcctc ccaaagcgct gggattacag	15720
gtgtgagcca ccatgccgg cctgtagtta cttttaattt agccatgctc ggggctgaag	15780
gggatgccaa agaaatataa gatgagcccc tcagacggct aaagatgaag atgaggcctc	15840
cagtatgtac ctcccacata caccacagga aattctgggt gtcactggat tctggacctc	15900
ccaaaagctg ctggcacctg gaggatgggg ccccgaggct ggacctcact cctgctgggt	15960
tgtctggactg gaaagtact gatggcagct gaggagtgtg tcccagactt cactgagcca	16020
ttcccaaaga ttattccaag ttctcctgac actgcactgg aggcctgctg tgcctggcctt	16080
ctttatttac agttctgac tgggtgtctag cagccctgcc agagagagcg gcagtgtgtc	16140
tgcaggcgac caggagaaat gtctcaggct ttagagcagg actttgagca catagctgtg	16200
ggggcccagc aggtgtctc ctgcacgggt acttctcctt gtcttticat ggtcgagagg	16260
ttgtgcctg gcccttcaag tgaggatggg acatgctatc cattggcctt aatttccaac	16320
ctctgcata tgcattttat gtctctgcct ttgaaagaac ttttattttc ttgtcattta	16380
tgcccagacc ccacatggca gaaggaaggg aggtctggac aggggaggcg gataagctgc	16440
cgctgacaga cctgccagct ttcttagctc atcccgccct ccacctcgtt gagcagacac	16500
tggcccaatc cagccatatt tttggctgag tttctgtctt cacatctcat ccttaaccct	16560
gaatcctgac catagtgtgt actgggttgt attcttattt gtaatcttta aagtaggaat	16620
acctttgctg gtatttaaag tggaagaaat caggtaaga atcacaagtg atttgcaaac	16680
tggaagagac attagaatgt aaatgtgagg aagcgtcagc atgaggggct tgcctgggct	16740
gcacagcttg ccttggctgg agtatgcact gtcttgcat tgcagagagg atgggtacct	16800
tgcctccctg caggctgggg actgtatcag ccccgagcaga ctgctcctgg gctcctgagt	16860
ttgacagatt tttttttttt ttttttgaga cggactctca ctctgttgcc caggctggag	16920
tgcagtgggt cgatctcgge tcaactgcaag ctccacctcc tgggttcacg ccattctcct	16980
gcctcagcct cccgagtage tgggactaca ggcgcctgcc accacgcctg gctaattttt	17040
tgtattttta gtagagacag ggtttcaccg ttttagccag gatgggtctg atttctgac	17100
ctcatgatct gctgccttg gctcccaaa gtctgggat tacaggcttg agccactgc	17160
ccggctgagt ttgaccagat taaggcagca tctccagtgg cacctgagca gctcctgaga	17220
tgcctttctg tgctaaatct ggatttgggg tattaaatca aatgaatttg aaatgcaggc	17280
acagctggcc ccatgggcat ggacctgtgc agtcacacct tgccccgtg tcagaagggt	17340
gctgtgcctg ttttaatgct ctgctgttgc tctcttgaga ttcttaataa ttttgaaca	17400

[0010]

```

aagggcccca catactcatt ttgtactggg tactgcatat tatgtagcta gtcttgaatc 17460
taggacagtg cattaaaatg ccattgattg gatcaatctg ctcttgcaac tgatttgaat 17520
tttgggaaca tgctgtttcc tgtgaataaa ggaggattca tttcttttcc ctcgaataca 17580
ctgcgttctg ttttccaaat tagctctacg tatcaactca gctgagaaat tggaagcggg 17640
gattgttctg gctggaaggg aaggtttagat tgttaatcct gcacctctgc cctgatctca 17700
ccgagtgtga agcatgttcc cacaatgggt tgggctgcgg ggggctggag gctggctgag 17760
aaggtgggga ccaaggaggg aggctagcct gggagccaga cagatggggt taggctcttg 17820
cttttgccac tcgccagctc tgaggcttag ggcaacatga ttttaattctc tgatccttgt 17880
ttttttcatc tttctgtaga ctggtgatga gatgcacctc gcaggcttgc aggcttgcat 17940
gagtaattaa agttaatatt tgtgcctatt attgggcttg acatatagta gatgctctac 18000
aataaataga tcctattatt cttattgata atattatattt attgctaaca ttgaaggttg 18060
gggtgggattt gactagctgg aggcgaggag aatgagatca tccaggccgg aaggaaaaga 18120
gacatgaatg caggggggatg ggggtggagca ctttggaggt gtggggagag gtctgcaggg 18180
tgggagtgtg gcattaagga gtcgtgggga gagtggagga atcagtgccca catggtgaat 18240
gagaggggat cgtgggcccc aggagatggc gatggctgcg gggatcctgc aggaagtta 18300
tgtgccccaa agtggcatta tcagttaggg ggagacactg aagacagagg tgaggcctgc 18360
ctgaattagc gtagagtggg attcttgga gcttcagaag cttgagaaga gccacttgga 18420
gggtttgaaa tgcacctggg agggacgtgg ggacccagct ctgggctgag agctgggaga 18480
cggaaacgca ggtgaccttg gccttgaaga tggggcatga tathtagtgc tttatgtgca 18540
atctcaccta ggactcccaa gccttttgga gtaggtgata ttagctccgt gttacagaaa 18600
gggagactga ggctgaagca gggacattca tgatctgaag tcacacagct gtacggggca 18660
gaagtgggca tggaggcatt aacttagagc cgaaagggtg gacctttctt agtgtggctg 18720
gccccacggg gaacgtgtgt ggggttgagt acaacttggg gttectacce atcccagatg 18780
ctctgcgttt gtgaacccca gttgccacat cagggcgggc gagggcagga agctctgcag 18840
ggagaaggga caaggacagc agccaagaac aggggcagtg ccccagggtc ctgcaggggc 18900
aatgaagggg gttggcacac ctgggttagt tgctggccag tgtggggaga gagctggcct 18960
gggagtctaa tgggaatgcc agggaaagct gccttggtcc cctaaagtga agcccccatg 19020
ctggccatgg agtgttggtg attgagggtc cctgctagtt gtctggccga ggcagcatgt 19080
cctataggca tagctctggt gtctgtctg cgtaggcgtga gtgccccca tgctgggagc 19140
cagccctgtg ctctggaggg aggtggtggg aggacaaggg acagtgggac ctgccacctg 19200
agcaggaatt ggcaccttct ccacttgga ggtccagggt ttatggaate tgaaacttgt 19260
acaattcagt atacctctt caagaaaaac acccctcaaa attatgaata taacattagg 19320
tatgaaacta ttattgatat agattgaaaa aagaaaatgc ccaaaatgac aaacttcaga 19380
aaatagacaa atactgcaaa catcacaaaa tcagaaaaat aagattaaaa aaagctaact 19440
gctgaacact ccgtcatctt gaaaatgccc ctctctctc ctctattttt tggctgtgaa 19500
ctctttgctc accttttcat gtgacaatgc ttttgaata tttctacag agaaaaataga 19560
ataatttatt attactttta ttgtttttgg attattatta tgatcaatc aatatttttc 19620
tgctaccac acactcactg tcttctgtcc aacctctggc ctgcaccagg ggaaccagca 19680

```

[0011]

```

gtttccctg ccatagggtg tccttgaga ccacacatat agcaggatag atatagcaat 19740
ttaactagac acagaaggga cttaaagcc acaaatatat ctcatthaac ctgaacaaaa 19800
tgattatcca gttttacttt tccttagacc tttccccca aatgctggca gccaccctga 19860
tgggatagat gtgtgacaga gggcaagaga ccgtggcccc aaccagctgc agcttcactc 19920
tttcatttct gtatactctc tacaagctgt gatgatagca ctttctagg gccctcaca 19980
gggcagatgg agggctccac gctgaagctt tgtggatgtt tgctgtctat ccacctctgc 20040
tccttgtgcc tatgcaggga ttcaggccca accactgcag agagcccaag agcatcaggc 20100
agaggttccc aaactgtcat gattggtggc accttagta gttgatacgg tttggttgtg 20160
tcctcaccca aatctcatct tgaattccca catgttggg gagggacccg gttggttgta 20220
attgaatcat gggggcagat ctttcccga ctgttctcat gatagtgaat aagtctccca 20280
agatctgttg gctttataaa ggggagtttc cctgcacaag ctctctctct gactgtgccc 20340
atccatgtaa gacatgacat gctcctcctt gccctccacc atgattgtga ggcttcccca 20400
gccacgtgga actggaagtc caataaaacc tccttctttt gtaaatcacc cagtctcagg 20460
tatgtcttta tcagcagtgt gaaaatggac taatacagta gtgcagtcac tttttcatgg 20520
tccccagtaa ggccaaaaaa taccacaacag ttccatttat caattagtgg aggccaaaca 20580
atttgataag tatttgtgtc cctataacac agtggctcatt aaaaaagac attttaattt 20640
cattattcaa taagcatgat tacttatgaa tgggatatgt gcacctgttg ggtgtcacat 20700
gacctttcaa atcttgagc cagattggac accaccatgc ccatttccag ttcaactctg 20760
atttttgtgt ggtacatgct ttttatcaca gtgactgcca gaaatccaac ttcatatgga 20820
atcatgaaaa gggatgtagt gtgatctgat ttcaaaacta tgatcaatct agagctagtt 20880
tacaagggtg ctaacagtga tcaagtatca ctgtatttcc ctagaaaacc tgaaatatcg 20940
atgaattttc tgtggcactc tggggtccct tggggcacac tatgggaacc atgggattag 21000
gaccataagg atatgatttt ggcttcttcc tgcctcagat ctaatcttta cctggcattt 21060
ttgccttaaa gatgaaagaa gcatacattt tgatgtattt aaagcacata ttcggccagg 21120
tgcggtggct cacacctgta gtcccagcac tttgggtggc tgaggcaggc agatcacaag 21180
gttgaagtt tgagaccagc ctgaccaaca tggtgaaacc ccactcttac taaaaataca 21240
aaaaatagct ggggtgtggtg gcatgtgcct gtaatcccag ctactcagga ggctgaggca 21300
ggagaatcac ttgaaccag gaggcagagg ttgcagtga ccaagattgc accactgcac 21360
tccagcctgg gctacagagc aagactctgt ctcaaaaaaa aaaaaaaa aaaaaagca 21420
catattcatt ttgtcttat tcttttgaga gaaacacaga taaaagccta tcctttaatt 21480
cactactccc atactgtgat tttcattttt actgcaacaa atttgttca gtgtgataat 21540
gaatgtcaaa cacttaatgc cttgtctttt tcagtaacat gacatattgg agaataatga 21600
ctgaagctta tctacactgc ctacgtctgt tttcttccac cttgaaagaa gttgttgaaa 21660
gtaattaaga agtattatgt gtaaaactcc agggatgatg tgcttcaagg aagcaacatt 21720
tatgaagttg tgtgcttgac tagtagttta taaagaggaa agacgaatca tttattgtct 21780
tgggattgaa tcttggcaat ttttaacta taaagttaca ggaaatgttg gctgctctta 21840
atgggccatt tgttgtgta aaaatcagta atgagaaata tttactaggt aagtggaaag 21900
atccatctct ataaattgtt gtaacttacc attttcaaaa tcttagttac tcagtttttc 21960

```

[0012]

tgcttaaaaa tgaaatcatg tagcactgta taagtcattc agttttttat tttggagaat	22020
tactctggat tgcttaggct ctgtgctctc cacatatatt tttgaaatag tttgtgaatt	22080
tttacaacaaa ctctgctca gaattttcac tgagagiatg cttaatctat gggttaattt	22140
gtgagaaatt gatagcttaa caatagttaa tcttctgac tacaagtgtg gtattttctt	22200
ccattttatt aggtcttctt tattttgata gcgttttgta gctttcaatg tacagatctt	22260
gcaaatactt tgtaaaatat ttccctaatt acttgatatt tatttttgat gctgttatag	22320
ttatatatta aaaaatttga ttccaattgt tgctaataca tagaaatgaa attatttatt	22380
gacctcttat cctgtgacat tgataaacgc agtcatatat tcgtagattt ctagaatttt	22440
tctatataga ctatcatata tatcatctgc aaataaacgc ggtttttacat tttcctttcc	22500
aatctctatg ccttttgatt ctttctcatg cctcattgtg tgggtccatta ctgaacggca	22560
gccagttcca gctttctggt caattaagga gcaggtaaaa tggccaggcc ttgacctttc	22620
agggggcttc cctgctcat tgcttctgc tgctcagtt ctggcttaac agaacagtgt	22680
ggggaggagg catggctcctt acctactagg gcgttacttg gccttcttca ggttggttgc	22740
ttctgtaggt ttaagagctc acctgggctg cagttcagge taggttatct gctgacctgg	22800
ccctgtctcc cttctgtagt gtctgtgggg tacccttgta agctaggagg aagagacaca	22860
cgtgaaggcc agaaaaaaca gctgccaca cagcttccct ggatcatacc ttccagtgta	22920
catgacgacg tcgttaggag gcgccgaggt ggctgagtg gtctccagac acctcccttt	22980
acctctctgc tgtgccactg atgtgtgact tgcttacacc tatgcagagc tgccactgag	23040
cagcactgtg gccagtcctt tggattttct tctttctaaa ttgtatgccg tggcttgatc	23100
aagcatttca tatacagtag atcatgaaat cagcatagaa aacacattga ggtaggtggt	23160
gttaccacat tttatggatg agaggtaac acttgaggga gtcaggtaac atgtccaagg	23220
ccacacagct agtgagtacc ctgctgaggg tcacactctg gtccatctga ggccagagcc	23280
tgtgccagcc ttctctcat gctgatagac gaggaacag aaagaaggag cagtggacgc	23340
ccccaccctc tgtccctga accccttgga gagtaggcag tggcagagcc agcctgggcc	23400
catctatggg aattctccat cgggattgac tctcttgga ggaagacagt tgaccacag	23460
ttgagatcac agcagatggg ccagccaggg tgtctgtaga ccatcaggca gtggccactc	23520
catgtagttt aatggacaag cccttttaat ggaacaggaa tctaactctg aaccaagctg	23580
cttttagaca cacttttatt cctcactctg aaatggcggt tggacaagcc aaatatttct	23640
tcttcttcca gttgacattt tgtccatctt tgaactgtta gttgatgctt cttctgttta	23700
gttattcctg ttctattttc ctgttgccac tagtccacc agggatggta agaattggaag	23760
tcaatggttg ctttttcac tgagatgcac cacgaaggct tgtcagtcag ccttgtcata	23820
tggctctgtc tccactgct cttctttctt gtttctcat ctgcagaatt tggagagtcc	23880
tggacctgat ctcaaatttc acatgttatt tatcttctg cagcacgctg gggagaggaa	23940
gagacaggga catagaaggt tggagctgga acagacttca catctattc cagaggcatt	24000
tggctcatct tacagatgag gaaatggagg ctgctcagtg gactgaggct ggaactgggc	24060
cttcagtggt ccaggccaga tctccttga tctccctgt tgccttctg gtgggaagac	24120
ccgtgaacca ctttatgtga ctgtgtgaga agggaaactgc ctctcatttt acccagcaaa	24180
atccaccttc aatccatctt catttttgcc cctgggtgtg gcaaattctc ccataacctaa	24240

[0013]

ttcaggaagc cagaaagagg aagttagtta atgataccta gtgggaaggc gctggtaatg	24300
gtccttcttg tgagagtttc tgaacaccca cgctgtctct gtgttctggc ctggctggag	24360
ttaaactctt tcttggcctt tccccaggaa gctggctcga ggaagcccag atgcgtttgt	24420
ttacagctgt ctggtgacat tcgccaggct ctgttttcag aaggaacatt tccattccct	24480
tatttacacc tccattgga gtgctcgggg ggacacacca attatttgca actacctgga	24540
aacctaggag ggtagcagat ctgtaggagg ccagtgtga agtgagaagc ttagatctg	24600
gtgacactgt gggttggga gggttgccc agatctgtta cttatactct ctattaagaa	24660
acttcagtgt ccatggagaa gttatttaaa gtctgcgagc ctcagtttcc ccatatataa	24720
tatgggaagg atacctgatt ttcctattcc acatgaagg agaaaaaatt aaattaaggc	24780
agccaatgaa agggtttga aagcaaaaat aataatatga tactgttctg aatttgtaa	24840
attattcttc caagtagttg cagatctttt tctgtacct agaaaaaac catgctatgt	24900
aaaaggagat gattccaatc tttaaataaa gcaactcaga ggtaggggc taggacagaa	24960
aacggccctt tttcacaga agcgtctca cttccaagaa agcaagcgtg ggagaggcag	25020
gtgtctctcc cgatgtccct gtccccatg gtgtcaagct gggttactat ggcccttcgt	25080
gaccagtg cagcaggatg tgggaaccag tgggtgtgaa gctgtgacgg gtcacaagag	25140
ggctgggacg tctcacagct tttacttata gcctagagcc tggggaaggg ttgccactct	25200
agtgtgaga gaggcgtgtg tgtgtgtgtg tgtatgcgtc tgtatgtatg tgtgcatttg	25260
catgtatata tgtgtgactg tatgtatgtg cacatctgtg agtatatgaa tgtgtgtgga	25320
agtgtgtata ggtgtttatg tgacagtgtg 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 attcgtatgt agcagctagc agaggagtgc gggccctgg	25680
agcctgcttg tgcaacgctg agctagtcca agggggaaga atggggtgca tggctctcag	25740
ctgcagacca gcctggaacc tctccagcct gcttagcag agacttgta agaggtagca	25800
gcaggtggca agattaggag ccggagtagt aggctaaggc tgcacttcca gggacacact	25860
gcctctgcca ccaccgtgc cagaaaaatg ggagcccagg accctgaatc tctagcagtc	25920
cgtttctgaa tcagttacct tgggtatgtg cctctggtg atggaaaacta actttagacc	25980
ctgctgggtg agagcctcac atcgggacat gtgacagctt tgttgaaagt agctttggaa	26040
acgcccacca cgtggggcca ctcactgtaa tataaacggt catgcatcac tgagcaacag	26100
ggatacgttc tgagaaatgc gtcgttaggc gatttcacat ctgtgggaat gttacagagt	26160
gtgcctacgc aaacctagat ggcagagccc actccacacc taggccagat ggcagagcct	26220
gttgtttcta ggatgcacgc ccgtacagta ggttactgta ctgaatactg taggcagttg	26280
taacaatggt gagtatttgt gtattcaaac atagaaaagg tatagtaaaa acaatggtgt	26340
tatggctccg ggctggctga aacgttatgt ggtgcatgac ttaggtata aagcattaca	26400
gttgtttgat ttttctcttt ttctcaccca cagtcttaag gcacctctta tgccttttgt	26460
ctgggatgtc ccgggcaggg ttggaacgtg tggtaaggc atggcggaaa ctgctttggg	26520

[0014]

gacagacgat ggccctcagct tgccttgggg tgtcagtggg aaagatagga gctgccctt	26580
tgccttcgtg ttcttcgta ataatctcag atgtaccgt ctggtgggc tctcctagaa	26640
aaagccccgg tgcctttgc tcttcggtg ttctcagga gggttgtgc ttctttgtaa	26700
tggtggggac tcagggaagg gacgcaggca gaggtgatg ccacatcaa aagggacct	26760
tgctgggtg tggtggctta cgctgtaat cctagcactt tgggaggccg aggcaggtg	26820
atcacctgag gtcaggagtt cgagaccagc ctggccaacg tggtgaaacc cggtcctag	26880
taaaaataca aaaatacaaa ggtgggtggg gcctgtaatc ccagttactc agtaggctga	26940
ggcagaagaa tcgcttgaa cggagaggtg gaggttga tgagccaaga ttgcgccatt	27000
gcactccagc ctgggtgaca gagtgcgact ccatctaaaa ataaactgaa aaaaaacaaa	27060
aaacaaactt ggcccatcag ctcttggaa aggctggtg gaggttgaag catttgctg	27120
tgcctctgct caacgtttt gtggtgaacc tgagcaaaga ggttatcatt agtggattt	27180
actgccttac ctgggtgggc actcccttgg gaggtgatg gacatttga gctgagccca	27240
ggtgggggaa ttgcgctcac tccgcttca gaattccaaa ggctgggcat gcacttggc	27300
ttctctaac ccatgtctt ctctaggtg ccacagcaga gtgtcattaa gtatctatc	27360
tttgccttg ttctcagggc aggaagatcc caacagttg cgccataaat ataactttat	27420
cgcggacgtg gtggagaaga tcgccccgc cgtggttcat atcgaattgt ttgcgaagta	27480
aagagagcct tccttttcc tataacctcc gaagcttca ccgccactag caaacatga	27540
gagctatttt tgagatacat taaagtgtca aagtgtcact gaatatctc ctacttaaga	27600
taagtgtgc tcccttagaa cattttccct attcgaact ataaatctac attcttgacc	27660
cttctgaatg tttaaagaac ctcggtct gaagagattc tctaagaata ttttgaagt	27720
ggaagtttt gatgcatgca aaaaattggc aggatgttta gtgtttaa gctaagccc	27780
atatataaag gagcgatggc taggtgtgtg tggtgttgc acaaccatt aatcaatgcg	27840
ttgaagcgtt cattttaagg tgctacaggc ttaagtgtgt actccttgg attttaggct	27900
tccgttttct aaacgagagg tgccggtggc tagtgggtct gggtttattg tgtcgaaga	27960
tggaactgac gtgacaaatg ccacgtgtg gaccaacaag caccgggtca aagttagct	28020
gaagaacggt gccacttacg aagccaaaat caaggatgtg gatgagaaag cagacatgc	28080
actcatcaaa attgaccacc aggttaagggt gttctcgcct gcagaggta gttctcagat	28140
gccccggaac acccttggca aaggcaccag agctctctga ttgcagctga ttctcgggg	28200
gcactgaagc cagtctgagc cagtcacagg agggccttga ggagatgctg agtatggcct	28260
gggggtgtgg gagaggaagg ggctcaggaa aacttctgta aggagccaga taaaagttt	28320
taaaataatg ttttaaatgt ttgtcaaaga aagcaataga tttgtaaaga aattagtagg	28380
taagtagtga aaattgattc tccttcccat tcccaatcct gtggcaactc ttgttacaga	28440
ttttatttat cctccacaga tacatcatgc gttcacaatg aacatagaat ttactgggtt	28500
ttagactgag ccatccttaa cttgtcaaca gttactttga aaacaaacca gctctccaa	28560
attggggttt tgcgggggta tgagatgtgt ttcaaaagaa tgtttcgtac tttaaacatc	28620
ttggaaaact tgaattaaaa cagagctaag ggatttctt tttccagacc ttctcagagc	28680
ttttagtatg ctagtgtgca cgtggcttgc ctacaaaagg gtgttgactg aactatttgc	28740
ccaaattata atcatttgag tatacagctt tttgtggggg caggcagaac tgagacatac	28800

	caaaatcagt ttgggaaatg ctgtatttga aaatgccttc tatttaata ttctctttgc	28860
	aatcattttt gcctgttga ttgcttagc aaagtcttca tgtctgggac aataatccatt	28920
	tcctactgac tcatacaaaa cccccactcg acacgtcgat gagagagggt ttgtttgctg	28980
	tgtggcatgt tcagtgaag cgtggtttcc agtttcttca cctccttata attttctaga	29040
	cttcagatgg agggacaat cagaggaggc tggaatcctg cctctgacca aggaaaagac	29100
	cagaggctga gccagggtgg gtctcttgc cagccctctg cttgcctcgc tttacctggg	29160
	tgtgggctga gtaattccag acaagcgtgg aattaatctg gctgtttgtg ctgttcagt	29220
	gcacgtggt tacacctct tctggaaca actctgcgtg tgctgtttgg gtgtaggat	29280
	tccgggtctc ctctccgctc tttttataac atcaagtgc tgcccagctc aggcctcttt	29340
	acggccagtc ttcagaaaac caccagctaa cacatttact accctcctc cccgatgttc	29400
	ctgtagcttc tctatggctg ggtggccagg catggccgaa gaggctctgg gtagatatag	29460
	gcctctgtcc cgggtgtgtg aactggcctt gactgaggct gcagtgtgtg gttatttcta	29520
	ttaggtcact gtggaatttc tagcgacaac taatctttca aagtgtgttt attggtcaca	29580
	ggattattgg gccagcctct gccttcattc tttttacct aatctgcata atagctgtgt	29640
	tatccccatt ttagagaaga agaaacaggg gctcagagaa gtctagtaac ctgtgtgagg	29700
	ccacacagca aacacctcat gacctgccc tcctaaggca gccatggct actgctggag	29760
	ggatagaggc cggccccgtg gttgatggg acagcttgac cttaaacagc ccatgggaag	29820
	gcgggtgcat ctggtttagg aacaggctgc tagaaaggta tccaggatgt ggtagtctca	29880
[0015]	ccggaaggag ccagtcagaa tagcacagcc tgtggccacg cgtgggacct gttcagctc	29940
	atggagcttt gggaggcagc cagcagcagg gcatgggctg tgtgcaggcg aggcgctggc	30000
	ctggacgccg cccccactgc gtaacttctg gtttggaatg cgtgggcaca taccgtgcgg	30060
	ctgcttctgg cgggggata ttcttttcca attttgagcc aaggtggaga ctgtctcctc	30120
	gtgccatccc tggcatgtcc tggcaagacg tgaacgatct caatagacga gctttgcaga	30180
	gtgtgtctga cctgactcct gctgtcttgg gacttttagct cttcagccag cagcatgctg	30240
	tttgacatgt gtttcaagcc cccaagaaa ggggtgcttga aatttaaaat tgaactgatg	30300
	tggcttttca aaatggaatt ggaatgaaa ggatattaaa ttgcagacac ccacacaaaa	30360
	gactggtttc cactgactaa actgcttttt ttgtctgata gtagttgaaa gtagggagag	30420
	taacagcate tcttccagct ttttctcttt tgttcccttg tttgatgat gggttatttc	30480
	gggggaagct ctggctggcc ttgctttgtg tcatcttagg gataacaaag aggatgaaag	30540
	agatcaggaa aaccgagaag gcagaacaga accagcagaa actgtgcttg aggaatgaaa	30600
	atcacctaca cggctccttg tcatatgaga ctgtggccca gcctcctgca aagccattta	30660
	agagtaacce agtgaagctg gtgagactgc ctgccgctc cgtgggcccc gtgactaact	30720
	cgggtgctta tcatctgggc ccagctcctc ccttgccatc ctgatttcac ttggaggggc	30780
	ccccgttgc cttcataaac atgtttattt cattttattt ttatgttttg agacagagtt	30840
	ttactgttgc ccaggctgga gtgcagtggc gccatctccg ctactgcaa cctccacctc	30900
	caggactcaa gtgattctcc tgcctcagcc tctgagtgg ctgggactac aggcgtgcac	30960
	caccatgcct ggctactttt tgtattttta gtagagaccg ggttttgcca tgttgccag	31020
	gctggtctca aactcctgac ctcaggatgat ccacctgcct cagcctccca aagtgtggg	31080

[0016]

```

attacaggtg tgagccattg cgctggctg taaacgtgat attcttgaga ctttcagtga 31140
aataagaatt gccacggaca tctgtgtca ttgtccactt gccactcacc tacccccttt 31200
tcitggcagca acagccggca tticacatgt ccatcatcgg acagcgtagg tgggaccatc 31260
agtcatggtg tectaccctc tgttgccaag gagtggacac aggaccaggt tagggcaage 31320
agaggctccc cttggaatcg caaagtgaag ctggatgcca cccacagaga ctaacatggt 31380
gaagctgctg tagccccctg tgttgagccc ccagcactgc ctgagttctt gcactttgtg 31440
agtcagttt aatatctgct ttctctcca ttcttgagc tcccctcaca tctccagtgg 31500
cttgaagttg ccagagatgt ttctgggctt gtgaccaaat gactcctttt ctgcttctca 31560
ctgctgagca gacacatgtg cgctcacttt gcctgctgag tcttgggacc cggaagagct 31620
tttgggagac aatcacggac cagccccctc ttgcctgccc tgctgtctcc ctccaagcag 31680
gaggtgagaa ggtgtccacc tgcagccccg gccaggcatc cttttctgtg cttctgcccc 31740
aatctgaaat tcccctctcc ttgggaccca cgactggggc cagcctgcct ggggagggaa 31800
tccagctgc agaaagtcgg gacagtgtgc gtgtaaacat gttaatagaa agcagctttg 31860
agggcagact agttcagctt cagttacaaa ctctttccaa atgcgtttaa catgagccac 31920
tggtgtgctg cagcatatgt caagctttca tccaatggtg gcattttgc cctgcggggt 31980
tttttttccc tgagcagttt ggggcagggg tggggacagg gagagagaaa agtaaaaaga 32040
gagcagtttg gtttcttcag gctggagtac aaggcagagg taatgggatg tattgaagaa 32100
ggtaggaggg aaagttactt tagctacagc tatttgtcca gctgtgctga ttaagaaact 32160
tgagaaaaag catctttgga atcatgtcct tccatctta tatacagcct ttgcagattt 32220
cctgctgttc tgagagagat ctgaactcct taccaggacc ttgagggccc cacctgattg 32280
ggcacccctc actctctctg cccctectcc cttcccctc ctcccctct tctccacce 32340
ccacctgctc tgetcagaca ccccttccct ggttgettcc cacaggccag ggctgtcccc 32400
tggggccttg gctgttcccc tcccaggagc gccctctccc agctcctcat gcagccaacc 32460
ttcctgtcct tcaggcctct gattaaattc tgccttagac atctctcccc acccgcgtgt 32520
gtgaggtagc gccccatgcc ccagtcctct caactccact gcctcacttt ggggacacat 32580
caccccaggg acaactgcat tccactcttg gttttccct cctcgtctat ttatcacaat 32640
ttagagtcgc ctactcatt tgtcaaatga agttcatctc tgcagctgga ctgcggggtt 32700
gggggcacat ccggtgtcgt gtctcaggt aggaggtgct tggcaacctt gttcagagta 32760
ggacgttcac agctgtctgc cccggaggaa gcaagggcac ccgccacatg gatggaattg 32820
aggggaaggc acccggggct cctgcatcga gtttcccctc tatattcaat gaggaatga 32880
ccctgcagaa ggettgctgc agatgccctt gcctcccggc ttgcctgct tggagtttga 32940
tggacacgtg gtctgtcag ggctacagca ggtctatggt ctttggtaac ggaaagcgt 33000
ggtgaaacag tgagctttcc cgtgggtgct ttccctgac gccaaacacc aggtaaatat 33060
ttggaaacgg cttgtttgag gttgtgagg tggttttcct cctcccctg taggcctgctg 33120
ccaccccccc aacccacagg ccacctttgg gccagatggc acccacagac ctgtttgaag 33180
tgccacaga gggagccctc tgggcgtggt ggccgctgtg ttgacagagg gtctctttac 33240
tgctgagctg gctgggtcag tgagaaggaa ggccgacacc cctgatcctc atcaagttca 33300
gacgggggtc actgcgggtg aggggcctgg ggccttttac atgtcccggg agctgctgag 33360

```



[0017]

caggccactc ttctccaggc caccagaact tggccctgcg catggtgaat cttccctgag	33420
tcagctgagt gagggggttc aggcagcccc ccgggacatg gcagtggcgg ggagtggact	33480
ggggtgggtc ttgcatgac tcacgccggt tctcctcagg caaccggatg gtcagatgcg	33540
ctgactcagt ggcttgagct cgtccaaaag cgaatcagag aacacagggc ctgggctcac	33600
ccgtgcccc cttctggagt catctgtcac tcatectcat gaaggaagcg cctgggagcc	33660
tggaatgcac atcgcactgc cccagctccc ctctgtttc tgtgttttc catittggat	33720
tctttcccc aacgccttct gtactgggca tttgtggtc tcttctttt ctccgagaac	33780
tctgagggt accattgcat ttgctaata tgccacagac ggtgttgacg ttatgaggct	33840
tctattactg tattgatitt taccattttt agggggacgg gaatcaatat ttcagaggg	33900
aatgtgaagc cagacagtga agtagaagct ggcttttatt ttgtgccagg ctttgtccag	33960
aggcgggtgg ggacgtggct cctaagctct tgattgcagc tcctctggc ttgggaaacg	34020
tttcagttcc ccaaactctc agaactggat cccctgtgtg ttctctggc cggattcaag	34080
aacttagttg attgtcaagg aaattctttg gctataattt tctcttaata tggtaatgcc	34140
tttttctact ctggcactct cttttcaggg aattggatta agactattat ttatgggtct	34200
gacaaagcag ttcccaagtt gttgggactg gatttgttta ggaatgtctc ctgtcctctt	34260
cattgagggg ggaatacaaa ttgcttccat ttgacagttt atcaagtgtg tgacagagta	34320
tcagagtcca gggttggcca actacagcca gtagtccaaa gctggccctc tgttgttgta	34380
aataaagttt tattgggaca tggcatgct cacttattta ggtagagtgt atggctgcat	34440
tcagtctaca ccagcagagt taaatagttg tgatgaagac cacgtggccc gtgaagccaa	34500
aaatatttgc ttcttgccc tttacaggaa aaaaattccc agccccagtg gcaggcaatt	34560
aacaccttgt cctcaggag ctgaaagtgg ctggaggcag gaatgcttat aagaaccaag	34620
cgaggtgaag cactaggtgg ccgcgcgag caggaagaga agctgatttt gtttgcctt	34680
tcgtttgcca gagattgtgg gttctttttt ttttttttt ttttttttt ttttgcaga	34740
gatgaagctt tgatcttgc acaatagcag agggaggcct tatttttgc tatttctctg	34800
tgacattggt agaaaggact ttgtcagaat tccaagctat ttggcaatta tccaattttg	34860
agatcctaag ggtatcttgc aggtctagtt tgttcattct tttagtatt cttgtttaat	34920
tccttgattt tataaatgtg tgttgaacat ctgtcttggc caaatacttc ttaggtgctg	34980
aggatgcagc aatagtgggc aaagccatgg ggcttaagat ctagtgtggg aaatgggtga	35040
tgtaaagtaa atatggcgat aagtacagt cacgaagcaa acaagtgaag gggtagaagg	35100
tatcaggctg caaagacagc agatagtga ggaggggaat cttatctgag ggggtgacat	35160
ctaagctgag atggaaagga cagtgaagc cagccaagga aacaagttgg gtgacaagag	35220
ttgcaggtag agttgcttaa tttccactt ctgtcagcc tgcagatcct ggatcttga	35280
ctaattgcaa actgtcattt cctcgtgagt ttattagaac cctccagaac aagtttctgg	35340
ttagctagtt tctctgtgtg ttgtctcatt tcttgttgg tctggttctt tgggttctt	35400
actcactact tggaaagctc cagtgtctta agtagtcagt ctccaagag tctgaaagca	35460
caaagattca caatgatagc atcacctctc aatcatagca gcattgatgc agttccgtag	35520
ctggtttctt aaagccatcc agatctcttt ctgtggcaag agagaaataa gaccttctgg	35580
tgaattgagg actaattatc ctaataaaca tgcaaatga cagttcctt ggttaaacaa	35640

[0018]

```

agcaccagaa tctgataatg ggaacatgtg actcatggta ttctcttctt tgctttatct 35700
accaggcagc tcacagaaac cactggcctt cctgtgttc ccattttatg tcataaatat 35760
atattttaatt aacttattat aaaaggccct ttgttcattg accataitcaa attattctta 35820
tatagaagag gttatacatg ttttaaacat tttaaaataa atctgaaaag aatgctacat 35880
cctgggcaac ttccctgcat ttggggctca aagaagctct atgtggttat gggtaatgag 35940
gagccagagt gccttcaggg cagttcagca gatgctgaaa ggctgctgtg tgctgttcgc 36000
tggggccacc aaatagagta ggactgagcc cctgtccacc atgacagccg ggagatacaa 36060
gctgttcctt ttgcctccct gagccctgag ctttatagcc tatagacagc tgaaaagcag 36120
gctgcatccg ttaccagtc agttaccag acccaaatgc caggccttg ctaacccag 36180
ttattaccta attttaatat cccaatggat gttttaagac ctggctggtt cattcttca 36240
tttatttact tattcatga ttttgtaaat atttctggag catctgccat ggccacatgc 36300
tgtttagaca gcatcagcca ctctgaagtt ggtggatgaa aggggatgca tcaaaggcgc 36360
tgatgtatgg aggagacgca agttagactt gaccaagaca atattattcc tcctctggat 36420
gccccgaata tatacagtc ttagctgtcg gggcccatg tggcactgtt gacattttgt 36480
ggtttaaaca ctgaagagta agggaatatt ggaaatggca aacatctgat atagtgtaaa 36540
ggagactaaa tattttgatg gtgttcataa acaccgagga ggaaagtctt ttcatttttt 36600
tcatttgtgt gctctctctt tctctgtttt tgcacactgt cctctgttct cttctcctt 36660
ctctttttcc ttttttctcc ctccatctcc ccatttatct gatctctccc acctgaaccc 36720
cttctaccct gctgccctcc tgicattctt accttctcta ctccccccc tagacagtag 36780
taatcacatg tcagttggag aaacatgatg gcaacttggc cacaccgttc ttctcagtct 36840
gtatatgtcg gtgatctcag tgcccatctg gcagatcctt cctgccctgg ctctctctgt 36900
cactgcgacc accttgact ttgtgatcac tgataacctt cacttctct aatctaaatc 36960
ccaagcttct cactcttggc ccaccacctc ccagccttgc cgttctgaa cctgaacgg 37020
aagctgaatg gaacctgaa cggaagggtt ctgaagctgt tcagaacctt gaatggaagc 37080
tgaaatatca atgggccatt gcttttcaca gtctctgtg aaagattact ggccaagcca 37140
gcatctggag aattcctggt ccaccacctc cctgtctgga gaagctgga cagccagctg 37200
catgagcatg tgacccgtgt atcacaggc cctgtgccct gagctcgtg ttttaatttt 37260
atctttgaat ttgtattttt gtgaataaag ccctatgagc taatggagca tgctcagga 37320
acttggggct ttagctcagg ctggattcct cctgtgcctt cccagtcctt tggctccctg 37380
agaactccag ccccatctga cttcccttc cctgtctcta tgcaggggtc attgctaccc 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 gggaagatgc 37680
ttggctcgac ttccccacc ctagccaggg cacaatcaga ggtccagggg ctggtgggca 37740
caatgccaag tcgtgagggc tcagtgctt gcgtcactg tccataaat aaccacagta 37800
ataactagca aatcaaaaaa attgtgatag gtcgagagag acagcatgtg gaagaaagga 37860
aaaagctttc tatttttagta cctttaacag tgctttctgt atgctttatg aacaaggagc 37920

```

[0019]

ctgcattttt attttgcact gggctctgct aatttttag ctggctctgc cccctagtag	37980
ctcaagtcag caaatctttg gtcatctga gtccacagtc cgctgaccgc ccctttttca	38040
cagttcctcc cctgcccagtg tgctcacttc cctccttacc cagcttgccg cactccctca	38100
agcaagtcct tggatgctga catccccctg aaacaacctt tctgcggcct ggtttgattt	38160
tccttaggag acatgcaagt tctatagcac tgtttcttgc tgggtatgga ggatgtgcta	38220
ttttgtccat tgcataattt ttaaagaaaa tgaaaggtaa gcataactgt ttccagaagg	38280
cacattgaat cactcagttg agtcccagcc agttgctgca atgttagcct ttgaagcaaa	38340
cttgaaccaa cacaggacca gcctagaagt cccagcctcc agaatgatg cagtggattc	38400
tgcatattca gcaacaacaa tatttttcta actcaagagc acttagtaat tttcaaagga	38460
gagaaagaag taattgactt ggcttattag gttgaaaaag agttgccaac tttttctttg	38520
gttttgatgt tattggtttt tttttatttt tcttttctcc aagcttcagg gaatgagatt	38580
gaatgagcac tcaagtgcct ctaggcagaa cctgaatgg aaggaagctg aaataccgat	38640
gggtcattgc ttttcacagt cctctatgaa agattactgg ccaagccagc atctggagaa	38700
ttctaggaac gccccctctt cttgcagcag tataagtttg cggggatcat ctgaccccat	38760
tggggagttg tatgaaaaag gggattttatt ggggaccctg ttgcctgttt ggatcttact	38820
tacatttaac tattgtctgc taatggattt tttgaaagc aaccaggttt tccgtaaaga	38880
atagctaatt gtcagagctg agatgacat tggagatcac tgggtcaac tcctaattt	38940
tagagggtct aaaaccgcaa tcagagaag ctaatcaagt ggttcaaggt ttagactga	39000
gttcataatg gaccaagacc cagcccagat gtcctactgt ctgggacagt gttctctcag	39060
catagctgga gcctgagggg gtaatgtgtg tgcgtgtgtg tgcatgtatg catatacaca	39120
taggtgtttt gcctaagttt tcaattctgc cccaccttgg ttgatcttgg agaagagcc	39180
tgaggcgccg tgtcaacctg ggggcctcat tcagcacagg cccaactttt ctgccctggg	39240
ggagttccag cagttatggt tcatctgttg ttcatgtatg gaactcacac cacacatagt	39300
gcccccaaaa ccgaggtctg gtgcacagac ctccccctcc ttcccgtggt gggccccctg	39360
ttgggttctt cctaaacttc ccttttgccc tgctctgtgt tatacctctt ctggtccctt	39420
gtccctgttg agtgatccgg ggcacaaggg cagctgtttc cccgctgacc tctgtgtgcc	39480
ctgagcatct gggaggtggg gaggcagctg gtgagaagaa cacctggagt ggaggttggg	39540
gtcagggagg gtcccagtc cggtaccacc cccacctgt gtgggacctg cagtcacctc	39600
atcagcagaa cggctatgaa gccatcctgc ccatccacag ggtgggtggg cgtgaaggct	39660
gcatacctgg cagagcgagg gaagctctgg gaagatgccg gacacgcgcc gtgggagtga	39720
tttccctgcc ttgccagat tctgtctcca tcacctgaac ctgcctgtca ccaccatgga	39780
actgtgtga ccatgtcttt ctttttaagc agattagcag acatctcctg ctccaccctg	39840
ccaaacaaac aaacaacaa gcaaacaaac aaacaaaaat gtgcatgagg gagtatggac	39900
ttgtagagtc ttttctaaac attgttaggt gcttgatttg ggatcctctc ttaaaatgaa	39960
ccatattccc caggcttttg atgacactca tggttgcccc cctccaact tccttccctg	40020
ctggcagagc cctgggtttg ttttagttcc aacctgacc ccaccgatt cctgactcag	40080
gcaaattcgc aggttccaat gcagtcaggg gagccacgtt cctcctcca acgagtgtg	40140
aggtcgctgc ttgattggat actgccgatg acctacgagg aggagggtgc cagggcgtt	40200

[0020]

```

ttgggacttt gcttttctgg agagatgctt ccacagcatg gtcatggaca cagtcacgtc 40260
ttgatgtgat gtctggaatg gtggtagccg tcttgtggct gtgagaacag gctgaggttg 40320
atiggatgga gggaaggaag gagccttggt ctgatgctg tctgtgagcc tttgagttat 40380
cagcctggta ccacccagcc cttagacaga tatctactct acatactcca tttggagttt 40440
ttttttttt ttttttttt ttttttttt gtcaattgca gttgaaaaca ccctaattga 40500
tacacacaaa ctattttttag tgctggtctg tgtttggccc ttatggaaga ctctgggctg 40560
agctgcccat ggtgaggag gtggactttg tgttttctta ctgctctgtg tcctggtagc 40620
ttgttttgtt ctctgcccat gagacaaaag ccgagagggc aagggcagat tttcttaatc 40680
atatgttccc tgcaccaagc tcataggaga cactcactga atggttgtt agagagtctt 40740
ctttcacgga ggcaatgttt tgtgaaacga tgctgcttgt tgttgtctgt tggttgtaat 40800
atgcatgaac actaagagcc atctttaatc atgctgtggg ccgcctcttc caagggtgta 40860
gcattactcc cactacctgg tcagcatcct gcctatggct aggactttgc aatttacata 40920
gatatggtgg ggagacctgg agcccatggc caggactctg acaccctcac tggatctgtt 40980
tctacatcta cctggatggc cgtctaggac attagaggat ttgtgtcttc ctaaagtccc 41040
tctgttgaga gacttctggc tctgttaaga ggacactatt tagcattgtg agtcctgca 41100
ggctgggggc cagtgggcgt ttttcttcta gatccccct ctcttcttct ggctcccag 41160
gttctctgt cctgagattg tgagaactgg cctgtgctgg gctcactgca gaaagactgt 41220
cgtcccaaaa ggttttgcac caaacttgag ctacaagatc ttttaggggg acctgagatc 41280
tcgcctggg ctctatgaga gcaggcatgg gttgtttttg cccgctcact gcagtcatgc 41340
ccacacttgc attttctttt cccccagca gtgtgaggat ctggcatgag gagtgggact 41400
cgctgcccct ctttcttctc ctcttccctc tggccttttc atccgtcagt gggggacaga 41460
tgtttgccct gtttacttct aggttactg tggggctcca gggagatggt gaagtggcca 41520
aggagaggag ctgccacct caagacggcc tgtggccggt gccgctttaa agggagactc 41580
agaggtgctt tgctgtgggt ggcgcgggaa ccagcctggg gacagcagtg cagaggcctt 41640
ggactcagag tgcgtgggcc ccgcggggct tcacggcgcc tgtggtgtg cacttccagc 41700
catatctgtg ctgcatctct tccacattcc cccatggagc tgatgtctag acagctatgg 41760
aattaaatgc tcaattaccg agtaggaatt tggccagcag aggtatagct gctgagtaga 41820
cagactcgag gtgaggctca cgctgagaa caggcccat ctggctttgg aatgagctga 41880
ggtgcccgat gtcctgcag ccagtggctc ctgtggggag ctggggccgt gaccccaaaa 41940
aggcagcttg acctcatgga ccaccataaa tctggcctgg tcaacatctc tgccagacat 42000
cattcccttg caaagatttc tgctgtgat tggaaattct gatgaacatg tactggcgt 42060
gtgggtctga cagctgggaa gcttgttctc ttgtttagcc aggtgcca tcactgtaa 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
ggtggtagcc attggtgcag ctttgccta aatggctact tacgtagcca catttctcg 42420
tctgtgttca ggtgaggact ggttcctggg cagactgcct gggtttgcat cagggtgtc 42480

```

[0021]

```

catcttgtcg aagcccatgt ggtcacccaa gtgtgactga gccaggcttg cccacggggt 42540
gccttgggcc ccattttcgg cagcaggcag cgtcccttg aggccctggc ctccccggga 42600
gcatggggag tagcgcttat gggcaagcag cctgcagcct ccatccctgc ctgggggctc 42660
ccccgcccc gectcacagc ttctccaaaa gtgtttgtct ccttgccgca tcctctagge 42720
ctgagctcag acggtggaaa agaagagctg gaaggagagt tgcccttcag tctctctgcc 42780
ttctgaggtc tcctgagaca tagagcctgg gectgcctcc cttcttagga ggcgccaagg 42840
ggtggttaaga ataggggatg agtgagatgt gaattaggat cccacagca agccctgcct 42900
cgtaactttc tgatgggttt tcaatgtgtg gtgaagcaga cgcctgctgg gcccccttc 42960
tgagttgagt ttgacctct gctcctgtc tatctccttg ggcagccagg ccaccccgct 43020
ccattaacct gtgccacccc atccctttac ctgtcgcaag cccagccctg aaggcctcaa 43080
aggcctggtc ttccagccag tccagggcct gaagggatgg cagtgtccct ggtggacctc 43140
ccctgggtgtg gectagtga catcccagcc ctgcctcctg cccgcctgc acgcatgag 43200
tgctgaagtc atgcctggca ggggctgctg gccaggcccc agagtaaaca cactgcgctg 43260
agctcgctgg tgtgtgctg gatgtgatg agcttagga gtgtgggaag tgagcatggg 43320
gctgagtaga gatgggcag gctgcacct cccgcagct gccctgcatg ctccagcctc 43380
aggcagccac acagggaaa ggtcacccac tgcagggca gacctttacc atggctgggt 43440
gacacgggct ggctgtgaa aggtgtttgg tggttccgc tgttgattt gcacaggccc 43500
agatgctcac agcaaaacca acacctagat ggtgcttaca ggagccagcg ggtattcaaa 43560
gagctgttca gatcttaagt tgcttcttc tcacagtga ccattgaggt agctgtacgt 43620
tagtccatt ttccagatga gaaaactgag gacctgagt gtcataagct caggccctca 43680
tctaaatcac gcagcctggc cccagggtgtg tgctcttgac catggacagt gctctcctgg 43740
tcctcttgg atctgtgatc tgagggacct tcctcctct cagtctcgta tagtcagttt 43800
taggtcttgg actctgtctt catatccctt tctcccttg tgagctttct caccagcac 43860
cttcttatt tgggtgtgtg tgggggatat ttgtggtgtg gcgtggcact gtgtagtga 43920
tgagagagtc tgtttttccg atcccagtc caggtttcaa accctgctct gtctcagtc 43980
accagaatc ttggaccctc agtttctca tctgttaaat gggcatggtg gtcacccac 44040
ctcatcagct agtgtctgct ccatcccttg tggaggagat gactcaagta acccctgggt 44100
tccacctgcc ccacccact ggtcccttg ctctttctt gttgagatag acgaatgtga 44160
ggctctggag ttgcagttcc cagagggtc ggggtggctg tctgatttct gggcctggtc 44220
catgttgttc agggcagctg ctgtttctaa gtgaataaag gctgaaggaa ctcgagggt 44280
ctgctcggtc ccaggaagg cagagaggga aaggccccg atgcttccc tgatagagct 44340
agggagcccc ttctgtggtt cccccagct ccttggcctg ggtgacctg gagctgctt 44400
ctgttccatt ttgtgtgca gattgtttg agactcctg ctttgcctg ctttgtggg 44460
acgttgaga tcagggttc tggagtggc caattagcct gccagacca ggaagcacag 44520
gtggctgaca gagggccgtt tcaggagagg agagacagcc tacctattcg gtcttgctgt 44580
ccccatgctc catccctgcc cctgaccagt gtggccctgt actcagcata ggctgcacc 44640
tgagtcagta cagttccctg cccgcagagc acccaaata ttccaggcct caggacggat 44700
gtgcacatga tgagtcggg caggtttcac tgctgtagc ttgggacct tcctggggc 44760

```

[0022]

ttggttctct agggccatcc ccagcagtct caccceaaac cctaaattca tgttgtcttc	44820
ctctgtctct tggcctcaag gtttcagagt gagtctgtgc tgatagcttc aagatgtgat	44880
gagaccccgga ctiggcctcc agttacctcc ccacggtttc ctigggtgtg gtgtggcttc	44940
agtgttcaact ggetccccga cggttgcaa tgtgtggatt acgggtggga gggaaatcca	45000
gtctgtcccc cagcaaagg atgttagttg tgagctcagt tccccaccg gcctggtgtt	45060
tccaaatagc cgtcactgt cctgcttgg tttccatga tatctgtgcc tttacctatt	45120
tggttaaatt aaaccaactc agcaacgcca gccattgtgg tttcaggga agctgcctgt	45180
cctgtgctt ggccgtcct cagagctgcg gccgggagag ttcgtgtcg ccacggaag	45240
cccgtttcc cttaaaaca cagtcaccac cgggatcgtg agcaccacc agcgaggcgg	45300
caaagagctg gggctccga actcagacat ggactacatc cagaccgacg ccacatcaa	45360
cgtgagcctc tgcctctg cgggtggga ttggggcaga gttttgccag ggggagagga	45420
gtcagcatag gtcttagccc ctgactttgt ttagtctgc gtgaaggat ggaactagac	45480
caagccatgt ggattctagt gccagcagca tggcagggt cecatggcg ggacggtgac	45540
accggagcag gtggacagcc agcctcctcc caggaggaag aagtgtatt ggggtcttta	45600
gggtgattgc agttgcttc tgggttcag agagaaaatc tccctgttta cggcacctc	45660
aaaactttct gaaaattgtt aaggtcattt tttccggca aaatattagg ttaatgggaa	45720
tgaatctcag agaagaatcg tgccccccac tctaggcacc gtgctcagga aacgaccagg	45780
caggacata gattgaacca tgttatgaca cgattttaa cttttcatt tctgtttaat	45840
tgcagtatgg aaactcggga ggccgtag taaacctggt aaggtctttt aaacctatgt	45900
taggtcattt gtttttatct atgtatacgc tgtttttgt ttgtttgtt gttgtttgtt	45960
tgtttttgag gcagggggtc tttcaaaaca taagggtgcc aaagtgtatt ataaattcct	46020
ttaaaatggc tctgtaaatg tactgcgtgc ttgcaaatga ccctacggat cttttctgga	46080
aagagtaagg caggccggag gtgagggtg gaaatgttat gccagagaac acacttgtgt	46140
ctcagagtta caggtaaaca ccgtgaaatt caggccaat gcaggagtaa ggtgaaggtc	46200
actaaaaatg ctggccagtc accgaaagca ctcctccaa attaaatctc ctgggtgct	46260
gaaggagctg gctgggtc taacacattt ctcttgcca ggaatcctcc ctttaaggct	46320
ggctggaatg aggaggagt acccaccac aaagatatca ctttaagtct ccctaaata	46380
cttgagcaga aaaagtgaag cttagaaca cagaccagca gagctagagg gcagctctgg	46440
ggccatttat agagggcagc tctggggcca tttatagagg gcagctctgg ggccatttat	46500
aggggtgtc tttagcaagg ccagtgta tggcacctc tagatgtgc ctggcatca	46560
ggtactgaca tctcagcact cctgggaagt gtgcacttg cagctttctc tcccagcag	46620
aggggcagct gtgtcccc ctctgtctc tgcctcccc cgagcactt ggggatggag	46680
tggagatggc tttgtgtgta atgaagcatg acagccctaa gctctagggt tgtttcccc	46740
tgaagtgcag agagtcatct taagatcatt agacatggga gaagcaggaa ggtgtggga	46800
gccacctaaa ggagtttag ctttgaaa cgtattcctt gtgaaacagg agcaaatcat	46860
atcgtgcatt ttgaaactat ctgtgcttac cgtgaggta gcaccagtg ccgacctgga	46920
gtatgtgcga ttcttcaca gctgcgctg gctgcgctg cctgggtgtc ctgatgcctc	46980
tcctctgt gccacggga tccctcctt gcctctccc acttcgatct ctgaaatagc	47040

[0023]

```

tcagggactt ctttcaggca tattctctct ggggtgtgtac ctgccggtaa agcttcacga 47100
ttcagtaagc cgtgtccttc ttgcttttca ggacggtgaa gtgattggaa ttaacacttt 47160
gaaagtgaca gctggaatct cctttgcaat cccatctgat 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 ttaccatttt ttgtcctctg atcatggcaa tgtcacttga 47460
gtcagtctaa tatgtaccag gcatgatcct aggtgacttg tgtacattat ttcactttct 47520
ttatgtatgt cacttaattc ttttgccta tcagtttaga attactagtc ccattttgct 47580
gatgagaaaa cggttcaggg agatcattct gcaaactgtt attgccccat ctgctctaag 47640
tcaagcaggg agcttggcag tggacagctc aactggggcc tggggctcaa caggggcctt 47700
tgccgggtgtg acttttatgt tctgttgggg gatgggaagg ctgacagtaa ataataaaac 47760
acataagata ctattagtgc tcccaagaaa acggatcagg gtggccgtca agggagcgac 47820
tggaggggca gctggtggag atggtgtggc caggaaatgc cttccaagct gaggtctgag 47880
tgaggaggaa ccagcgggca gggatgtggg gggaacactc cagaaggaaa gacagaggac 47940
tcagcatagt tgagttagca caagccctct gaagtggcct gagggccgga gcacagtgc 48000
agcatggagt tccccgggtt ggaaagaggc caagccggg cgagcaggct cacagcaggc 48060
cgtgggtagg gacctgggtt gcatcctaac gacatttaag aacagggaag tttatgatct 48120
gattgatgtc actgaaagga cactctgatg gctgcgggga gtctgctgga ggggttgctg 48180
gaagtgggg accggttaag gggctctccc agccatctgg atgagacatg ctggggtctc 48240
agacaagggt ggtggcagtg gaggtgggac agaggggtca cattccagat atatatgggg 48300
ggtagagcaa gcttggggaa gggccagctg tcaggatgag gccatgagga attaagggtc 48360
atgccagggt acctgacct taattgaaac aatgggactt tcccaaggte cccagaggg 48420
gaggggtcca gaccaggatt tgagccgcaa cctcagtgt ccttctgtg gcccttcctg 48480
caacctgggg gattgggccc cggccccctg gtgtccccag caccctcacc aactgggctg 48540
accttctgt gtccctttgt tgtctacca ggaaaagcca tcaccaagaa gaagtatatt 48600
ggtatccgaa tgatgtcact caggtccagg tgggtaaca ggatgcgtgt ctgtgtctta 48660
aattttaata aacctgaact tcagaagggt ctcacgggca cccctgaaag agaaacctta 48720
tgttgcctta agacgtctca gtttctgctt ataataaggt agcatcgga aagaggacag 48780
gtcattagcc ttggccccct ttttgggtt taacctgtgt ttttgcattc tgagctgggt 48840
ttcttactg gcagcaggcc ctccggtgta gaaggttctg cctctctctt tgaaggcagg 48900
cctgaacagt gtgtgcgtgg tggggctgtt gattcactct ggctcacgct ttccttacct 48960
cacattctgt tgaacccac attccaggag ggccccaaag cctccccgca gctctaggca 49020
ctctgcttct gttgctctgc agctcgtggg ccgcggtccc aggaatgcca gggcaggtcc 49080
agcgcaggga agtgaatgac tgatgtgctt gtttccccg agctgggtgga attgcggcct 49140
gtggttgga ggctcatggc atcctggtgt tctaaactgg atgaaaaatt ctggtgtaat 49200
ctcatgagtc ctggtagtag actcacctgg catggctaaa actgtcagag gtaaagtagg 49260
taaagactag aatatagtaa cagatagatt aatgtgttca ttactatgat gaattaatga 49320

```

[0024]

```

ttcactcact gtgaaagtat taatatatit tgatacatgt tatgaatggt ggtccctttc 49380
ttagcactcc agaagatgga gccatttgtc aaggttaaag tgtccctca gttgtttgcc 49440
tttggaaacta cgaggtgtag ggaagatgg taagcccttg gtgcccagct tcctgggttc 49500
ctgtccctgc tctgatatgt cctgccttgt gaccttggga acgatatgac ccctgagtgc 49560
ctcagtttcc tctctttcag gatagggatg acagcgcagg tgcttctgat gtgtggccag 49620
gctcagatca gggagtgggt gcaggggtca ccagccacag tgatgccagc cactatgtat 49680
cacacgtact gggccagggt ccttactggg atgatctcat ctgatectca caactcatgt 49740
tgtagggtac tgtattatc cccattttgc aggtgaggaa atgaaggcac agagaagtta 49800
agcaactgtc cgaggtcaca cagctagcaa atggccgagc tagggctgca aaccaggcca 49860
accactgtac tttactgact ccttagtaat agctactatt aattaagaaa taataacaat 49920
gatgatggct ggggtcgggt gtcacatct gtaatcccag cactttggga ggccaaggcg 49980
ggcagatcac ttgaggccag gatttcgaga 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 aaaaaaata aataataaag cactttcctt gctgttacca agtaaatctt 50280
tgactctggt agacaggcaa ttttaatttt aaaataggat cagaattcct ggaggaattt 50340
taccttagac ctaaggagaa gacgggaact ggtgagagct gaggtttgcg tgaggaaggc 50400
ctggtgtttc ttcacactaa cacgggtgct ttttctctgg agcagcaaag ccaaagagct 50460
gaaggaccgg caccgggact tccagacgt gatctcagga gcgtatataa ttgaagtaat 50520
tctgatacc ccagcagaag cgtgagttgg agtcgttttc tcttttccca atattcttgt 50580
tgttctgtg ggggtagcag gaagaggag cgctgttctt tttctactgg ctcatgat 50640
tatgttgatc cttgacagac gtggtcggac gttgcttgc attcctgtc gccaggcctt 50700
ccgacctggc tcggctcggg actcatccat aggagggtgc cttctgtctt caaaagtcct 50760
tgctccacga ggacctcca gatggacaga gcaatagcag actcgtaatg agtctctgag 50820
atggcccggc tggccagaga gagggtttca ggaacagtgt cccaagccc tcaacttggtg 50880
gtccttttct aggcctcagg acccttctct tcctggagtc ttccagaatg tctctgacaa 50940
ttaggccccat acctgtcaac acctccagaa aaataaccca agtgatatca aagtaacatg 51000
acaagaagta gtcaacat ccatcagggt ttgttacctg tattggcgga atatccagag 51060
aaaagtgcga gaccaggac cagcaaatgt gccttggggg ctggatctgg cccactgcct 51120
gcttttatat ggagctgtgg gctaagaata gtttttgcatt tttattttta ttttactta 51180
ttttttatit tcataggttt ttgggggaac aggtggtatt tggttacatg agtaagtctt 51240
ttggtggtga tttgtagggt tttggtgcac ccatcaccca agcagtgtac actgaaccca 51300
atttgtagtc tttatccct catccctgtc ccagccttcc ccttgagtc cccagagtc 51360
attgtatcat tcttatgcct ttgtgtcctc gtagcttagt tccacttat gagaacattt 51420
aaatggttga aaaaatcctg aaataagaat agtattttgt gacatgttaa atttgtatga 51480
aattcaaatt tcagtgtcca ctgtaatttg gtttatgaca tctatggtgg cttttgtgct 51540
ggaacagcag agttgagtag cttaacaga gaccatatgt actgcaaagc ctaaaatatt 51600

```



[0025]

```

tcctatggag ccctttacag aaaaagtttg cagacccttg tgctagccca tgaaggacca 51660
tgacagcggtt ttgacgtga gctatataag agctacagtt atagtggcaa ccacacaaag 51720
gaagtgcctc ttaacagaaa cattccgccc acccctatag gaactgcatt ctgagttgca 51780
atacccattha taagcaagtt ggccagatag tggccaacta tctggcagat atctggccaa 51840
ctacgtggca gatagtacct ggtacatcct tccccacttt ggggtcaatc ttgacctttg 51900
atctccttgg ggtcataaag ccacacaagt gttagtaggc atttctacag tggacacaat 51960
ggatgattta gcctaaaaat ctcaaaagga gccagcagtc ctggcacatg catgtaatcc 52020
cagctactca ggaggctgaa gcagaaggat cccttgagcc caggagtctg agactagctt 52080
gggcaacaat tgagacccca tctcaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaag agtggggaaa 52140
aaagaacatt attaaaaaaa aaaaccttaa aaagtaatcc aatctaccga tggtttattt 52200
tttattttat tttatttttt ttgagatgga atcccactct gtcaccagg ctggagtga 52260
gtggcacaat ctgggtcac tgcaacctcc acctcctggg ttcaagtga tctcttgct 52320
cagcctctga gtagctggga ttacaggtgc ccaccacaa acctggctct ttttttttt 52380
ttttttgtaa ttttagtaga gacggggctt caccatgttg gccaggttg tcttgaactc 52440
ctgacctcag gtgatccacc tgctcagcc tcccaaagt ctgggattac aggcattgagc 52500
caccgtgcct gaccactga tggtttgaat tattctaagt tcgccaccgt ccaatcctgt 52560
ttgtctggg cttttaggtt ctaagctgtg cctctgtcca tgtaaagtca gaccaggagg 52620
aatggaaca cgaacattg ccattgtgtt tcccttctg ttgcagtgtt ggtctcaagg 52680
aaaacgagct cataatcagc atcaatggac agtccgtgtt ctccgccaat gatgtcagcg 52740
acgtcattaa aagggaagc accctgaaca tgggtgtccg cagggtgaat gaagatatca 52800
tgatcacagt gattcccgaa gaaattgacc cataggcaga ggcatgagct ggacttcag 52860
tttccctcaa agactctccc gtggaigacg gatgaggact ctgggctgct ggaataggac 52920
actcaagact tttgactgcc attttgttg ttacagtggag actccctggc caacagaatc 52980
cttcttgata gtttgaggc aaacaaatg taatgttgca gatccgagg cagaagctct 53040
gcccttctgt atcctatgta tgacgtgtgc ttttcttgc cagcttgggc cattcttgct 53100
tagacagtea gcatttgtct cctcctttaa ctgagtcac atcttagtcc aactaatgca 53160
gtcgatacaa tgcgtagata gaagaagccc cacgggagcc aggatgggac tggctcgtgt 53220
tgtgcttttc tccaagtcag caccacaaagg tcaatgcaca gagaccccg gtgggtgagc 53280
gttggtctct caaacggcg aagttgcctc ttttaggaat ctctttggaa ttgggagcac 53340
gatgactctg agtttgagct attaaagtac ttcttacaca ttgc 53384

```

<210> 3  
 <211> 2123  
 <212> DNA  
 <213> 食蟹猴 (Macaca fascicularis)

```

<400> 3
atgggctggg ccgcgcggcc gcgcgcactc gcacccgtg cccccgagc cctccgcac 60
tttccccggc gccgtctcc gccctcgc ctgtcagcc ccacggccgc cgcccgcc 120
agagtcgcca tgcagatccc gcgcgcgcg ctgtctccac tgctgtact gctgtgtg 180
gcggcgcccc cctcggcgca gctgtcccg gccggccgt cggcgcctt ggccaccggg 240
tgccccgagc gctgcgagcc ggcgcgtgc ccgccgagc cggagcact cgaggcgcc 300

```

	cgggccccggg acgcgtgcgg ctgctgcgag gtgtgcggcg cgccggaggg cgccgcgtgc	360
	ggcctgcagg agggccccgtg cggcgagggg ctgcagtgcg tggtgccctt cggggtgcca	420
	gcctcggcca cggtgccggc acgcgcgcag gctggcctct gtgtgtgcgc cagcaacgaa	480
	ccggtgtgcg gcagcgacgc caacacctac gccaacctgt gccagctgcg cgccgccagc	540
	cggcgctccg agagggtgca ccggccggcg gtcctcgtct tcagcgcgg cgctgtggc	600
	caagggcagg aagatccaa tagtttgcgc cataaatata actttattgc ggacgtggtg	660
	gagaagatcg cccctgccgt ggttcataat gaattgttcc gcaagcttcc gttttctaaa	720
	cgagaggtgc cgggtggctag tgggtctggg tttattgtgt cggaagatgg actgatcgtg	780
	acaaatgccc acgtggtgac caacaagcac cgggtcaaag ttgagctgaa gaatgtgcc	840
	acctatgaag ccaaaatcaa ggatgtggat gagaaagcag acattgcaact gatcaaaatt	900
	gaccaccagg gtaagttgcc tgtcctgctg ctggccgct cctcagagct gcggccggga	960
	gagttcgtgg tcgccatcgg aagcccgttt tcccttcaa acacagtcac caccgggac	1020
	gtgagcacca cccagcgagg cggcaaagag ctggggctcc ggaactcaga catggactac	1080
	atccagaccg acgccatcat caactatgga aactcgggag gcccgtagt aaacctggac	1140
	ggigaagtga ttggaattaa cactttgaaa gtgacagctg gaatctcctt tgcaatccca	1200
	tcigataaga ttaaaaagtt tctcaccgag tcccatgacc gacaggccaa aggaaaagcc	1260
	atcaccaaga agaagtatat tggatccga atgatgtcac tcacgtccag caaagccaaa	1320
	gagctgaagg accggcaccg ggacttccca gacgtgatct caggagcgta tatcattgaa	1380
[0026]	gtaattcctg ataccccagc agaagctggt ggtctcaagg aaaacgacgt cataatcagt	1440
	atcaatggac agtcggtggt ctccccaat gacgtcagcg atgtcattaa aagggaagc	1500
	accctgaaca tgggtggtccg taggggtaac gaagacatca tgatcacagt gattcccga	1560
	gaaattgacc cataggcaga ggcatgagct ggacttcatg tttccctcaa agactctccc	1620
	gtggatgacg gatgaggact ctgggctgct ggaataggac actcaagact ttgaccgcc	1680
	atittgtttg ttcagtggag actccctggc caacagaatc cttcttgata gtttcaggc	1740
	aaaacaaatg taatgtgca gatccgcagg cagaagctct gcccttctgt atcctatgta	1800
	tgcaagtgcg tttttcttgc cagcttggtc cattcttgct tagacagcca gcatttgtct	1860
	cctcctttaa ctgagtcac atcttagacc aactaatgca gtcgatacaa tgcgtagata	1920
	gaagaagccc caccggagcc gggaatggag ggggcgcgtt tgtgcttttc tccaagtcag	1980
	cacccaaagg tcaatgcaca gagaccccg gtgggtgaac actggcttct gaaatggcca	2040
	gagttgactc ttttaggaat ctctttggaa ctgggagcac gatgactctg agtttgagct	2100
	attaaagtac ttcttacaca ttg	2123
	<210> 4	
	<211> 52575	
	<212> DNA	
	<213> 食蟹猴	
	<400> 4	
	atgggctggg ccgcgcggcc gcgcgcactc gcacccgctg cccccaggc cctcccgac	60
	ttccccgcgc gccgctctcc ggccctcgcc ctgtcagccg ccacggccgc cgcccgcc	120
	agagtcgcca tgcagatccc gcgcgccgcg ctgtctccac tgctgtact gctgtgctg	180

[0027]

```

gcggcgcccc cctcggcgca gctgtcccgg gccggccgct cggcgccttt ggccaccggg      240
tgccccgagc gctcgagacc ggcgcgctgc ccgcccagc cggagcactg cgagggcggc      300
cgggccccgg acgctgtcgg ctgctgcgag gtgtgcggcg cgccggaggg cgccgcgtgc      360
ggcctgcagg agggcccgtg cggcgagggg ctgcagtgcg tgggtgccctt cggggtgccca      420
gcctcgccca cgggtcggcg acgcgcgcag gctggcctct gtgtgtgcgc cagcaacgaa      480
ccggtgtgcg gcagcgacgc caacacctac gccaacctgt gccagctgcg cgccgccagc      540
cgccgctccg agaggctgca cggccgccg gtcacgtctt tgcagcgcg cgctgtggc      600
caaggtactc tgccgcgtc ctgggcagca cccattctc tccatcccag ctcggacctg      660
cttctgcggg actggtgggc agaccgagg gcagcgaagc gttgcggggg ggccagggca      720
actctcgggg acaggcaggt gggccccggg gtggcgctt tccgcgggct gcctcgaaa      780
cgagcttcgc gccagcccg ggccggttct gcgccagac gatgccggtg cgccgggcct      840
gcactctggg gctcgagacg cctggcgacc tgcccgggag cgccctgagg gcagccacac      900
agcgcgggga gccgaggaca aataagagga gtgggggcat aaaggaggga gagaagttca      960
ggactaggaa ctggagcctt gcagagcggc ttcaggacca caagaagtca tttctgttgc     1020
ttttctatt tcttctctc gtcccttta aaatgcatta ctttgatcac gggaccgctc     1080
cgtgaaaact gtatgtaact cttttgaaa ggaagagtgt ttgccggccc ccgcccgagt     1140
ttccccaaa agtctacccc gggcagggaa cggtttgga tcgactcgt ttcggcggcg     1200
ttgtgcctg tgttcttct ctcgttttga gccagcccta caaaaatgaa agtggctcct     1260
tttgaataag ctgaatcggg ctttggatca cgaatctgc agaggcgtag aagggaccgg     1320
gttagtaat aggaaggagc ctacccctcc ctctgccgc acacaggacc tgttcggcag     1380
gggagatggt ggtgatgggg gcaggagtgg agtggagcaa tgtctaactc tctcgggga     1440
ccttccggag agatgcttcc catcttcagg cagaggccat gtggaagaat aatatcgagt     1500
tcagcgcgcg ccagtcccg ggtgtagaac cagccagcgg ggcttggcag tgcgcttagg     1560
cgcagccatg cggctgctgc ccgacccag cgctgcctcc tcaactcggg cagtgccagg     1620
agaggggcat aggagagcac agtcagagg gactggtcta gattttactt tataggaata     1680
tggttcagta tgaccaacta ggacttggca tagtttggtt 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 tggcttcacg aggagggagt ttctctctc tctctctc     1980
ttttcttct taagagacag ggtctccctc tgtcgccag gctggagtat agtgggtgta     2040
tcatggctca ctgcagctc ccacccctgg actcaatgat tctctgctt cagcctccca     2100
agtggctggg gctacaggcg gatgccacca caccagctt ctcatctctg ttttacagat     2160
agcggaactt aggttgaaaa acttgcccaa ggtcactcag ctggagtta aaccagata     2220
gcctcattca gaggagtcag gccagactt aactccaagg gtgtgggaga ggggtcaggt     2280
gctgtaaat tccgggtggg ttggacgtgc atccccctca gagccgggaa cagcatacac     2340
aaagcctaag acttgtttgg aggtgaatag atcagtgtgg ctgggggatg tttggggagg     2400
gcagcaggag tgagccagcg tgctggccca gagtcccagg gctgaagagg ctggctgtgc     2460

```

[0028]

```

ccccggccct gtgtgcagat gtctttgaac tggggcaact caaagcctag tgtagttag 2520
ggctgacctt gcagtgggtg gcggaatgca tccagggtgg agagtttaga ctactgcaat 2580
aatctgggtg tgaggcaaca acattgaaaa agcatgtttt tgtccaaaac aagccagctg 2640
ttactggtct cgetgtttgt ggtctcatig cacgggtgcc tgagttgctg gcaccatgcg 2700
agtcgcctaa tttattgcta gtgaggcaag ttgcttaata agctttggag ttggctgagt 2760
ccctgtgtgg aggaaaacag gtcccccatt ggccatcagg ctacagcgcg gccccggtgt 2820
accagtggag ggacagccac agagggataa gcatggtggc ttgaaagga gggagagaca 2880
gagtgggtac aatgctgttt ttatccctcc ctcttcttt tgcaaatatt tgttagctc 2940
cgtagggtgt ctgacaccgt ttgcatgttt gtctggcaca ccagaggcac ttgttacgag 3000
tggtattagt aatgaataaa tgaatgaatg aagacaaatg ggaggtgctt tcgatacaca 3060
gccattctgt ttttccttag tggaaggcac tgctttgctg cgccccctct ctggatctca 3120
ctctccacct ttgactttcc ggaggtgttt ccgaggacag gcgcctggga gccagcagac 3180
ttcattcagt ccaagccagg ctccaggact cagcagctgg tgctacggg caggtcactt 3240
gacgtcactg ttaaatgagg tgaattggct gcctgctctg gctcgaagat tggcgggaga 3300
gctactttag ctgcaatgga catgagcctt ttcatgggtt gccacttgac tagaggcctg 3360
aagttggagc aaggcacaca cagatctgaa gacagagctc tcgaggcagg agcgggtgct 3420
gtgatttcaa atattacaag gaggtttgtt ctggggcaga gcatgcgagg ggaatgagagg 3480
tagaaatgtc atcagatcag ggtctccag gcaggtgacc agtactttgg gtcatggtag 3540
atctttggat agaggaacgt gtcaccatc aaaggaaggt actttcattt gtaagctgtt 3600
taatgaatag acctcagaga acatctctgc tcaccgctct ggaaatgaag gcaaatcatc 3660
tatttcagaa gtcaatgcac tggcagggtt tggatggcaa agtatacaat tcaactagag 3720
aacaagatc tgtcatctcc agctctgctg gtcagatgat tacaaaaag aaagggtatg 3780
aaataactaa aggatacaaa taatgagggc taacatatat gttgtgctta ttctgtgctg 3840
ggtgcatact aactcatttg atcctcctga cagtcctgtg agtgagtgtg gtagtcttcc 3900
ctgggttaca gctgggcaac taagtcacag agcagtacct tgctcaggac tgctggtccc 3960
acacaactgg atccagagtc tcgttcataa ccagcatgcc gtgccgttga cagagcaaca 4020
gagattataa accaccccca gtaagcccc agctaatagc tgaaatcaac agagctccag 4080
atggctgtgg ccttgagatg aaacaggaca gatcacagcc ctactcagc aggctcaggt 4140
tgacagggtt gcctccagt ttccatcagt cagccctcac taaagaaaag caaaaagaac 4200
cgagggactg taggaaagct gtttccacgc cagagatcca gacagcaaac tgctcttgaa 4260
gagagaaaac cttccggat tccccatgt cccaaaagac cagccacgat tccagacctc 4320
tgctaaaaca cggacaagaa gccaggatca aaacctgaaa cagacttccc aaacagcaga 4380
accctcatcc atttctctc ctagtacatc ctccaggaaa ggccaccga ctctgacag 4440
gagccagac aagcttggag gtctgcaagc tgcagggtg cccagaaact ccgctctgg 4500
tggtttttag tattgcctgc tctgtgtctc accccagagc ctctgaaggc agaggctgta 4560
cgtacatacc tggatgaaga ccaagggtt agacggttgc tttacttctt ggaggcctgg 4620
atggtttgta aaattttatt atttattaat ttttttttt tgaaacagag tcttgctctg 4680
tcgcccaggc tggagtgcag tggcgcgac tcggctcact gcaagctctg agacctcgcg 4740

```

	agttcacgcc attctcctgc ctcagcctcc caagtagctg ggactgcagg caccgccac	4800
	catgcccggc 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 agctctggg	5040
	agacagggtt gaataaaaca aagtcactgc ccacaggga cttacattca atacattcag	5100
	tgcaatcact gcttccccag gttgcatttt tcattgtta gagtggcgcg ttgctagag	5160
	agtcatttcc actgttgga attcaaatac acctttgtc acttaaaaa caggtgtgcc	5220
	gggacctgag cttcatctta ggtaggatg ggtggaaca gttgtagtc tccagtttt	5280
	agtcaccga aacttgaaa cttggaattc ttttagcag tttataggc tctgcctgct	5340
	ctggtcagct gccttctttt attgctctgt tggttttgct aaagagttaa aatattaagg	5400
	tttctgaaa ttaggacgtt aacaagctca aaaaccaagt gtctgagtt cttcattcca	5460
	ctgagagagc tgtaaatggg ttgcattgga acttaaaata actgcattga gtaagcgatg	5520
	gtggcgggca ccatgagcta actgtgtgta 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 ctccctcgac	5820
[0029]	ctcttgacg ctcggcagta aggggattgg gccagttgat ctctgaggct ctttttaact	5880
	ggaatggtct gtgattcttg taagaaaaca agtctctgag gaggttggg tgcctcatt	5940
	cctaatttaa aggttgggaa ggcttcctta agagctactt ctttttcccta aattattgac	6000
	ggttaaagcc aaggctggca tcgaatggat gtgatccatc ttgagcctgg ttgctttgtg	6060
	tttcagcttt gtactggctg ctgaaagtc ccaggagacc acaggggtga catgttcac	6120
	cccaagagat gagcttccaa gagcctcata cctcttgctc cttccctgga gcctccaggc	6180
	ctttgggtag tcggaagtga gataccttg tgtcatttca ttttttccat ctccaccttc	6240
	tctgccattg aaaaaaaaa aaaaggaaag aaaaatccta ttaatagaga aaccgagaag	6300
	tgtagccatt ctgaatgtgt ttccaaaagg ctcttggaag tggcatgga gttggagtga	6360
	ttcagcacta cttggtgacg tgtgcctaga accatagggg gacattagcc aggacaacac	6420
	gcctcaggac agaagtaagt ggctgtgaag aggcatgtcc gtactgctg gaaaggcgca	6480
	gagttcagct tttggagtca atgctgagag ttccacttct aaattcatc agagcattta	6540
	tttaacacct actgtgtgct tcgaagtga ccaggtacgg ggactcagag gtaaggacta	6600
	gtggccctg atctcaaggt actggtggtg gatagtgtga tgctcagctt aagggtggg	6660
	cttctgaagt cggattacca ctttctgaat gtgtggcttt tcttgagtga cttcatctct	6720
	aagtctcagt ttccccatca gtaagataat agaagtaata gcagatacat acatagctct	6780
	tagggcattg cagaatggaa ggacctcctt atatgaaacg caaagcactg tgcctgatgc	6840
	attgctagaa ctcaggcaat attagcatgt tgcattatc attatcatca tcatcatctt	6900
	caagacactg acaaaggagt cagctgtatg ggaagagtgc tgagacgctc ttgtctccct	6960
	ggggatgagg tgggtgggtg ggttaggaaa ctttcacaga gaaggagggt gatgtgagac	7020

	ttgtgtctgg gagctgactc ggaatttgcc atctactatg ttggaaaagg ttctctgggc	7080
	agaggtatcc aaagttagcct tgactatcac cctctgaggt cccagttgtt gcctatatca	7140
	tgigaccagt gtgtggcttc tcttgaatta agagctgcat gtctggactg cctgggattt	7200
	tacagatgtc atcttgttaa ctcttcctgg agcttgtgac acccagaaga tggcagttta	7260
	tagaagccct gggaccttct tgaatgatgc ttggtttggt ttccatgctc tgggaattcc	7320
	tcacaaggaa agatttgtca catcttaagg aaggaaaaaa aggcaaattt gggagtccat	7380
	ggatacccta ttatttttaga ttccaggaca aattgtcgaa taagcacatt tcataaaaac	7440
	aatcctccgc agcatcccggt gacagcagct ggtccctcac cacaggataa ttatgtctcc	7500
	ttgtgcacac aaaagtctcc gagggcatat tgttgtggct ggagtttctg ataatttcca	7560
	aattgaacaa cctcagtcct aatgagtcag aagcttgtgc aatattttca aacctcagga	7620
	acatcttttt cattagtgtt gcaataaaga tagtaggcct atctctgtga tgagctgttt	7680
	tttttttttc tcaaagtttg atgagattcg ctgtagaatt ccttctcaca tagtcttggg	7740
	caagatttta cccgatcttc caacacatga gtcatatcat atcctgtgac taagaagagc	7800
	tgctcttttg gtccagttt 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 gggccttgc	8100
	ttgttcttaa cttagtagcca ccagagagg tagggcatta gccttgcttc ctagctgaga	8160
[0030]	ctacagaaga ggctcctaga ggtagctgt aatttgicca aggtcagcca gtgcaaggag	8220
	gcagagccag gatttgagcc catgtctgtc tctctccaa actattcttc agatttcttt	8280
	aagtcaagtg ttatttagaa atgttttgtt tattcgtcaa atatttgggt gatgtttcca	8340
	gctatctttc ggttattaat ttctagttaa attccattgt gggtctagaa catattttgt	8400
	atgatttcta ttctattaca ttgttaggg ggtattttct ggtctagaat gtgatctgtc	8460
	ttggtgagtg ttccctgtgt gcttgagaag aatgtgtgtt ctgtcgttgt tggatggagt	8520
	attctataaa tgtcacttag gtctagtga ttgatatgc cattcaggtc aactgtatcc	8580
	ttcctgattt tctgcctcct gatctatcag ttctgaaag agaagtgtg acgtctcctg	8640
	agctatttct gaaacactgg attgcggtct ccatgatgaa ccactagagt tagaaaacct	8700
	gagtcctagc cccatttggg cctttgggat gactcccttc caccctagtt tcctcaacta	8760
	caacaggagg acgatgatgc ttcccaggag acatcaacag gatactgtga cataagggat	8820
	atgaaggagc tttgtcaact cctaaagtgt caatgctagg aatcctaaag cattgaagtc	8880
	caatgatata aggaatatga aggagctttg tcaactccta aagcttcagt actgggaatc	8940
	ctaaagcact gaagtccaat gatataagga atatgaagga gctttgtcaa tgcctaaaac	9000
	ttcagtctt caggagtctt aaagcattga agctttaaga gattaggacc tctagttgac	9060
	aattccagac tcttccagga ctctgatag agccaacacc aagaatagtg aagccggaag	9120
	gatgcaata gtaatatgtc tcttgggtgt caaagtgtgg gtctcctctg ggcatgttct	9180
	cttgtcctac tgagacatga tagctcttgg ccaaagtgc tgaacttgac cctctgtttc	9240
	aggaaggcca aatgcagggt tcaccactgt catgtccaag ggcagatgct ttggtccaga	9300

[0031]

```

acatcagcat cccagtcatt ataccaagca agctgcaatc tctgcctgca ccgtggagag 9360
cgcacgctcc tcccagggtg gectgcatcc tgtatcctgc atcctgtgtt cttctcaggc 9420
cgactttctg tttaatgttt gctggtcagg aaatggcctg agctgagggt tctcagatcc 9480
cagcctgacc tttctccacc agcatttttg gctctgaaaa atatagccca gtgtggttta 9540
gccccactgg atgaaaccca ataggaaaag tctgataata gcagaggagg cgtaggagga 9600
agggtagga tttgagagca tctgggatgg accatgtgtg tggatattgt tctgtctgtg 9660
ggattgtgtg acacttctca tttacagtct gtcccttgg aagtcccatc attggccaaa 9720
catatagtc tctgtcctc tgaaaagtat cattctgctc ctaccttga caaccatctc 9780
tgaccacatc aactccctgt tttcatgcat cttgtggatg aggacaccac cttacctgta 9840
aggacactgg tggttccca aagccacca ctgacttgta gagaagacag aatcccagag 9900
taigaagcct gagggtgaag ggtcctggca ggtcctagag cccaaccctt cacttcacag 9960
gtggggaaac tgaggggagcc aatgggaaca tgactctcac aagccacaca gctcatctgt 10020
aggggccagt gtggagtctg tttatcttga gaccagggc tgagtcttgg agccctcccc 10080
atctcagcca catcctcctg ttggagcagt taggtgttgg ggagaggcca tgggtccatac 10140
tcatggtatt cctgtaaagc tggagaaaca ggccttgctc ccttagtctc tctaataaaa 10200
atgaggttgc agaaaaccct tctccctact tctccctaaa ataatttctc tgggttagaa 10260
gatgactaaa aagctattca tctgatgact gatgtctccc ttcaagagtt ataagcacat 10320
ataaatgcct ttgaatggta attataataa ttttgcctga gggaaaatat cagtataaat 10380
atcatggtag acicactgat gaatgaggac tgaaatgctt tcatgtcttt tcagctgtgg 10440
ttagattttc tttagcaga gtatacaagt ttttccctc ctagcataaa gacttttttt 10500
ttgtatcttt tctctctact gtttagacat gacagaaaat gcattttatac atttgatgac 10560
atattgtact atctcagttc tttaatatta taaatgtaat ttaattctat gaaaaattaa 10620
gaaaagaaga ttcataattc accattacca tctctccaga aatactatta ttattattat 10680
tattttgaga cagagtcttg ctctgttgcc caggctggag tcaggggcac gatcttggct 10740
cactgaaacc tctacctccc aggttcaagc agttctcatg cctcagcctc ctcagtagct 10800
gggattacag gccacacca ccacaccag ctaccttita tatttttaag tagagacagt 10860
tttgccatgt tggccaggct ggtctcgaac acctggcctc aagtgattgg cctgcttcgg 10920
cttcccaag taiggaatt acaggcatga gctactatgc ctggcctaatt tccatcattt 10980
ctgtcccaag tgttgccacc atttggttaa ctgttccct gtccacatcc atttaggcca 11040
aggttgcgat gttaaacaat cctgagatgg acattttcat gtttatggct atttctgtat 11100
ctagggtcat tctcttagga gaggtactaa gaagtacaga aactggaag aaggatatgg 11160
aatttttatg gttctgtat aaattgcaa attattttcc agaaaggttg tagccatatt 11220
tgttgacatc agctctagaa tttcaacctc gtaagtcact gaaagaaatt atcccaaaag 11280
cagtccttca ggaataatgg aagaagatgg tgccgaacce agccattctg ctcactgtta 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 ctgagggctg gaggtcaca 11580

```

[0032]

actaggaggt aacagagaac ccaggtctca ggaagcccag tccagggtc gctgcagtaa	11640
gcctctcgga tgcagctct gtccaggatg cgggaggagg ccagactgat ttggtctgtt	11700
ttgaaaagt atgaaaatat ttattcaaat gttttgtaca cataggcaga agtataacag	11760
aagctgcata tacaaaaatca ttttctagta gtcacattaa aaaagtaaaa agaaacaaag	11820
aacattatit ttttttttaa aacagcttta tcgagagata atttacatac tataaaatit	11880
accccaagt tacaatttgc tgttcttatg tttcacaaat catgcaccta tcaactacaa	11940
ctccagaaca ctttcatcac ctaaaaaaga aaccccgat ccattagtag ccaccacgta	12000
cttctctct gtccagccct aggcaaccac cggttcattt tctgtttcta tgaactggct	12060
tattctggac atttcatata aatggaatca aacaatacgt aactggcttc tgtgtcttag	12120
cataatgttt tcaaggttgt ccacgttgta gcagggatca ttatttcatt ccattttatg	12180
attaaaaata ggctttttta tggatacagg gagaccagac ttctatttta tctccctcc	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
tagcctaccc cctcgtctta ccactgaggt aactgaggcc caggaagggg aagtggcttg	12540
ttttgggtcc gggaccactt ttcatttctt atttagacca aagcttcctt ctggtgtctg	12600
tctctgttcc acaagttccc gttgcatggg tgctgggtat tgcttgaaag gactggcctc	12660
ttccttgata caggggctcg ttcactgtca cctccctccc tcacgtctct tgtgccctc	12720
tgcagccgca ggccctcctc ctgcaccagg ggggcacact caaccgggt gggcactgcc	12780
tcctagtctg cggccagagg ctgggaggct ggggagactg aacagccccg gcagctccag	12840
acataacaac ctatgttgag ggtcgggtgc aggaagcgaa ccagctgag aaatctcgca	12900
aggtcaggac cggagccaga cgttatcaa gaggaaggtt aatggtgttt ttgtgaactg	12960
agcagtcagc tgtttccctg aagataataa tagacacatc atgttgggca ttcaggaggc	13020
atctaaaaaa aaattgtgca gtggaattga ttggaagctt ttcctaata cataaaatag	13080
gccagaaaag actatcaaat gtaacagcac cgatcaaacc caagcactca ccatagatcc	13140
aagcaaggac tgaaaaacac gaattttttt tttttttt tccgccagt agtctgaaaa	13200
gtgattttca atgccaggcg cttttaaca cagacaacat aaacaacaac atagtgttc	13260
tggagaaggc atcttttccc ggtaaagcca aagatgcaga tctaggctgt gcttgtgact	13320
gacagcacag agaggggttc acagccagct ggccaagtgc cccccgaaag cgcatttcga	13380
atctgtctta ttgagagag actgtcttag cttgttttg gaaagtcttc ctcttcact	13440
tcacctgcca cagacttttc caggcaccat ctgtgtagt cttggcccag tccctgcaac	13500
agttactgct gaaggcaccc gggacatgca agacggggga gcagcctgag gtctggcgtc	13560
cggcaagctt tttccacttg gagccgtctg ggagactgtc ccggaacag aagggtgcc	13620
aacacttgga agtgccaatg tggactgaaa gttgaggaca ggctccgggc tccccacct	13680
cttctctctt gattcattaa aaggaaagaa agaagccaca cgaaactctc ctgaatttca	13740
ttttattcta tacaaaagac agagcgtggt cattcatcat tcaaatttta accttttag	13800
acaaataata attcctgctt gtgaattcag tgtattttta caagaatagg tctgagggcc	13860



[0033]

```

attggccatg ggagacaccg aaggctggct ttccttagat ttgcagacag tggccctgat 13920
ggtgcatagg gtttcaggtt tecttttagac ctcagctggc tgcctgtgcc accacttagc 13980
aatgccattg tctttcctgt gcattttctc tgcagagtgc gaggaaatcc agtcgcgcag 14040
gcccctctgc ccccatgtcc cgggcgccct ggaatgtgca gtaccagcag cagcgattag 14100
aatgggggtc tggtttcccg gaatgtgcaa ggtctcactt ctgtttctgc tgcctccatg 14160
ccccagacca gtgctgggcc gggtctctggg ctgcagccat ggctgacaag tttccttga 14220
atttaatgga gcggggcaga cagcatgcag cactcaaac tgaaaacttg ggaagagat 14280
gtgtgttctg gggcagcttt gctgcattcg ctgggccgta catgcttctt tttcctttcc 14340
ccaggcaacc cctcttcgag acaggaggcc ccatctcctt tcgcttcatt cctcattggc 14400
cattaggaac cttttaaaat tggtttctct cctgaccctc tgagagaaca tagtccaagt 14460
tccttgaggg aagaggaagc gcctgtttc tctgcaattc acggctcatt taaatgcagc 14520
ccacgtgctg tctctcccca ctctctgcc tgcctccctt gtgcttctca tgatcattct 14580
caaathtagt gagaaacctc acaaaggag tttttcttag ggaaaagtca tccttggcct 14640
cctgaacgtg gaccagcccc tctcccagc tgcacagcat caggttagtt aaccacctgc 14700
ctccatctgg gtctgtctg gacaggccta ctcacacctg ctgcaggcgt ccgacttgcc 14760
ctcaggtgcc tgtggctggt tcagaggggt ggagcccaca ttccagtct gacagctaaa 14820
gttcagcgag aggacctgc attcagtgtg aagatcaata ttccaggtcc tctcttctg 14880
ccaccagag actggccgtt tgcaggcact cggctccagt tgcctgggc ctgcagcct 14940
tgcatctct ctgctttgtc tctgctgttg caccctgcc ccatcacaga tgcaggttgg 15000
gggaccttcc gctgggaagt gagaggctgg gaagtaagag gaggactaga gggatggtg 15060
agctgcctc cagccttgac tgcatctgct ctccccacc tctctgtaa ggtgctgagc 15120
tgtgagtgga accaagtgga tgagagtggc cccgggcacc tgccgataag tttcccggtg 15180
tgtcatttt tcttgggagt cccatctgga tttgtttctg gatttattta ttcagcaagt 15240
agcctctttg tagttacttt taatctagcc atgctcgggg ctgaagggga tgccaaagaa 15300
atatacgatg agcccctcag acagcataaa ggtgaagatg aggcctccag catgtacccc 15360
ccaacatata cccaggaata ttctgggtgt gactggattt tggacctacc aaaagctgct 15420
ggtgcctgga gatggggccc ccgaggctgg acctcactcc tgcctgggta ctgggctggg 15480
aaagtactga tggcagctga ggagtgtgtc ccagacttca ctgagccatt cccaaagatt 15540
atttcaagtt ctctgaccc cgcatggag gcctgcggtg ctggccttct ttattttacag 15600
tttctgactg gtgtctagca gccttgccag agagagtggc agtgtgtctg caggcgacca 15660
ggagaaatgt cccaggtttt agggcaggac tgagcatata gcggtggggg cccagcaggc 15720
agtctcctgg acagttactt ctcttctgtec ttacatggte gggaggttgc tgcctggctt 15780
ttcaagcgag gatggaacgt gctatccatg ggccttaatt tccaacttct gcatgatgca 15840
ttttgtctc ttgcctttga aaaaacgttt ttattttctt gtcactgatg cccaaacca 15900
catggcagaa ggaaggagg ctgggacagg ggaggcgatg agctgccgt gacggacctg 15960
cccagtttct tagctcatcc cggcctccat cctggtgagc agacactggc ccaatccagc 16020
catatttttg gctgagtctc tctcttcaca tctcatcctt tccctgggat cctggcaatt 16080
gttggtactg ggttgtattc ttattttaa tctttaaagt aggagtacct ttgctggtat 16140

```

[0034]

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

[0035]

```

ttcaggatac tctcttcaag aaaaaaaaaa aaaaccctta aattatgaat ataacattag 18480
ggatgaaact attatttata tagattgaaa agagaaaatg cccaaaatga caaacttcag 18540
aaaaataacc aatactgcaa acatcacaaa atccagaaaa acaagattaa aaaaagctaa 18600
ctgctgaaca ctctttcatc ttgaaaatgt cctgtctccc tctctatatt tttggctgtg 18660
aactctgctc accttttcac atgacaatgc ttttgaata tttcctaaag agaaaataga 18720
ataatttatt attactttta ttattttttg gattattgtt atgatcaagt caatattttt 18780
ctgtaccca cacactcact gtcttctgta caacctctgg cctgcaccag gggaaccagc 18840
agggtgagca gtagggtgtc cctggagacc acacatatag caggatagac acagcaattt 18900
aactagacac agaagggact tcaaagcaca caaatgtatc tcatttaacc caaacaanaa 18960
gattatccag ttttactttt cccttagcct ctcccccaa atgccggcag ccacctgat 19020
gggatagatg tggacagag ggcaggagac cgtggcctca accagctgca gcttcactct 19080
ttcaattcta catactctct acaagccgtg atgatatcac tttgctaggg cccctcacag 19140
ggcagatgga gggtccatg ctgaagcttt gtggatgttt gctgtctatc cacttctgct 19200
ccttgtcctc atgcagggat tcaggcccaa ccaactgcaga gageccaaga gcatcaggct 19260
ccaaactgt catggttggg ggcaccttta gtagttgata cggtttgggt gtgtcctcac 19320
ccaaatctca tcttgaattc ctacatgttg tgggagggac ctggtgggag gtaattgaat 19380
catgggggca ggtctttcct gcactgttct catgatagtg aataagcttc ccaagatctg 19440
atggctttgt aaaggagagt ttccctgcac aagctctctc tgccttctgc catccatgta 19500
agatgtgact tgcctctctc tgccttctgt catgattgtg aggcctcccc agccacgtgg 19560
aactgtaagt ccaattaaac ctctttcttt tgtaaatgc ccagtctcag gtaigtcttt 19620
atcagcagtg tgaaaatgga cgaatacagt agtcagtcac tttcttcatg gtctctcagta 19680
aggccaaaaa ataccacaac gttccgttga tcaatcagtg aggtccaaac aatttgataa 19740
gtatttgtgt ccctacaaca cagtgttcat taaaaaaga cattttaatt tcattattca 19800
ataagcatga ttacttatga atgggatgtg tgcacctgtt ggggtgtcaca tgacctttca 19860
aatcttgga tcagtttga caccaccatc cccatttcca gttcaacact gatttttgtg 19920
tggtacattc tttttgtcac agtgactgcc agaaatccaa cttcatatgg actcatgaaa 19980
agagatgtag cgtgatctga tttcaaaact atgattgac tagagttagt ttacaagggtg 20040
tctaacagtg atcccgtatc actgtatttc ccagaaaaac ctgaaatate gatgaatttt 20100
ctgtggtatt ctggggctcc ttggggcaga ctatgggaac catggcatta gaaccataag 20160
gacacgattc tggcttcttc ctgcctcaga tccagtcttt acctggcatt tttgccttaa 20220
agatgaaagc agcatacatt ttgatgtatc taaagcacat attcgccag gcatggtggc 20280
tgacctgtg agtcccagca ttttgggtga ggcgggcaga tcacaaggte ggaagttcga 20340
gaccagcctg accaacaatg tgaaccccc tctctactga aaatacagaa aatagctggg 20400
tgtggtggtg ggtgtctgta atcccagctg ctgaggagge tgaggcagga gaatcacttg 20460
aaccagggag gcagaggttg cagttagccg agattgcacc actgcactcc agcctggggg 20520
acacagccag attctgcctc aaaaaaaaaa aagcacatat tccactttgt gcttattctt 20580
ttgagagaaa cacagataaa agtctatcct ttaattcata ctccccatac tgtgattttc 20640
atttttactg caacaaatg tgtaagtgt gataatgaat gtcaaacact taatgccttg 20700

```

[0036]

ctcttttcag taacatgaaa tattggagaa taatgactga agcttacctg cactgcgtat	20760
gtctcttttc ttctccttg aaggaagttg ttgaaagttg ttaagaagta ttatgtgtaa	20820
aactctaggg atgatgtgct ttaaggaagc aacatttatg aagttgtgtg cttgactagt	20880
agtttataaa gaggggaagac gaatcattta ttatattggg attgaatcct ggcaattttt	20940
aaactataaa gttacaggaa atgttgcta ctcttaatgg gccatttatt gtgttaaata	21000
tcagcaatga taaatattta ctaggtaagt ggaaagatcc atctctataa gttgttgtaa	21060
cttaccattt tacgaatcct agttactcag ttttctgtt taaaaatgaa atcatgtagc	21120
actgtataag tcattcagtt ttttctttg gagaattact ctggattgtc taggctctgt	21180
gttctccaca tatattttag aaatagtttg tgaatttcta caaaaaatcc tgctcggaa	21240
tttactggg agtatgctta atctatgggt caatttgta gaaattgata gcttaacaat	21300
agcgaatcct ctgatccaca agtgtggat ttctctccat ttatttaggt cttctttatt	21360
ttgatagcat ttgtagcct tcagtgtaca gatcttgcaa atatcttgtt aaatatttcc	21420
ctaattattc gatattttatt ttgatgctg ttatagtta attttaaaaa ttttgattcc	21480
aattattgct aatacataga aatgcaatta tttattgacc tgttatcctg tgacattgac	21540
aaacacagtc atatatctgt agatttctag aatttttcta catagactat catatatatc	21600
atctgcaaat aaagacagtt ttacatttct cttccaatc tcgatgcctt tcttttctt	21660
ctcatgcctc attgtgtggt ccattactga acggcagcca gttccagctt tctgttcaat	21720
aaaggagcag ttaaaagggc caggccctga cttgctgga ggcttcccat cctcattgcc	21780
ttctgcttcc tcagtcttgg cttaacagaa cagtgtggg aggaggcatg atccttacct	21840
actagggcgt tacaatggcc ttcttcaggt tgggtgattc atcaggttta agcgctcacc	21900
tgggctgcag tcaggetaga ttatctgctg accttgcctt gtctccttcc tgtagtggg	21960
tacccttgta agetagggag aagagataca ggtgaaggcc ggaaaaacca gcctgccaca	22020
cagcttccct ggatcatacc ttgcagtgat tatgacgaca ctgttaggag gagcggaggt	22080
ggctgagtgg gtctccagac acctcccttt acctctctgc tgtgccactg atgtgtgacg	22140
tgtctgcacc tatacagagc tgccactgag cagcaccgtg gccagtcctg tggattttct	22200
tctttctaaa ttgtatgcca tggttgatc aaacatttca tatacagtag atcatgaaat	22260
cagcatagaa aacacattga ggtagatggt gttaccacat tttatggatg aggggctaac	22320
acttgagaa gtgaggtaac acgtccaagg ccacacagct agtgagcacc atgctgaggg	22380
tcacactctg gtccatctga ggccagagac tgtgcacagc cttctcctca tgcctgagtgg	22440
cttgacacc cccacctct ttccctgaa ccccttgag agtgggcagt ggcagaacca	22500
acctgggccc atctatggg attctccatt gggattgacc cgtctggaag gaagacagtt	22560
gaccacagt taagatcaca gcagatgggc cagccagggt ttctgtagaa catcaggcag	22620
tggccactcc atctagtctc atggatgagc ctttttaata gaacaggaat ctaacactga	22680
accaagctgc ttttagacac acttttatct ctcactctga aatggcattt ggacaagcca	22740
aatatttctt cttctttcag ttgacatttt gtccatcttt gaacagttag ctgatgttct	22800
ttctgtttag ttattttctg tctattttcc tgttgccact ggtccacca gggatggtaa	22860
gaatggaagt caatggttgc tttttcatct gggatgcgtc acgaaggctc agtcaggctt	22920
gtcatatggt ctgtgtcccc actgtctcctt ctttctgttt cctcatctac agaatttgga	22980

[0037]

gagtcctgga cctgatctca aatttcacat gtcttttate ttcttcgagc acgctgggga	23040
gagggagaga cagggatcc atcacagaag gtggagctg gagcagactt cacagctcat	23100
tctagaggca ttgtgtccat cttcacagct cattctagag gcatttggtc catcttcaca	23160
gtcatttcta gaggcatttg gtccatcttc acagctcatt ctagaggcat ttgttccatc	23220
ttacagatga ggaaatggag gctgccagg ggactgagge tggaactggg ccttccagt	23280
gccaggccag atcctccttg gtctcccttg ttgttttctt ggtgggcaga cctggagcc	23340
actttctgtg actgtgtgag aaggcgactg ccagcaaaa tccatcttca atccatcttc	23400
atttttgcct ctggcgtggg cagattctcc catacctaata tcgggaagcc agaaagagga	23460
agtcagttaa tgatccttag tgggaagggtg ctagtaatgg tccttctcgt gagtttctga	23520
aacaccacgc cgtctctgtg ttgttgccc ggccggaggtt aaacctcttc ttggcctttc	23580
cccaggaagc tggctctgagg aagcccagat gcgtttgttt acagctgtct ctggtgacgt	23640
tcgccaggct ctgtgttcag aaggaacatt tccattccct tatttacacc tcccactgga	23700
gtgctcagg agacacacca attatttcca actacctaga aacctgggag ggtagcagat	23760
ctgtaggggg ccggtgttga agcgagaagc tgtaaatctg gtgacactgt gggcttggga	23820
gggcttgccc ggatctacct gttacttata ctctctatta agaaatttta gtgtccatgg	23880
agaagtatt taaagtctgc gagcctcagt ttccccatat ataatatggg aaggatacct	23940
gattttcctg ttccacagga aggtagaaaa aattaaatta aggcaactga tgaaagggtt	24000
ttgaaagcaa aaataataat atgatactgt cctgaatttg ttaaattatt cctcctagta	24060
gttgcggatc tttttctgta ccttagaaaa ccatgctatg taaaaagaga tggttccagt	24120
ctttaataaa agcagctcag aggtcagggg ccaggacaga agggggccct ttgttcacag	24180
atgcgctttc acttctgaga aagcaagtgt gggagaggca ggtggtcctc 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 tggaagtgtg tatagggtgt tatgtgacag	24540
tcgtgtatg agtgtgggtg tatgtgtgtg ggtgtgttta tgtgtgtacg tgtgtgggtg	24600
tgtatgcata gtgtgtatgt gtgagtttgt gtgtgtgtgc ctgtgcatct ctgtgtgtat	24660
atgcatgtgt gttaggggca ggcacacagg cctgttggtta atgagacac aaaataccta	24720
caaaatacaa aatatgagac aggaataaca agccacagtt attcattttt caacgaaca	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 cagcaggtgg cagagattag gagctggagt	25020
agtaggctaa ggggtgcactt ccaggacac actgcctctg ccaccacccg tgccacaaaa	25080
atgggagccc agaaccctga atctctagca gcctgtttct gaatcagtta ccttgggtgt	25140
gcgcctctgg tcgacagaaa ctaactttta gccctcctgg gtgagagcct cacatcgga	25200
catgtgacag ctttgttgaa agtagctttg gaaacgcca ccacgtgggg ccaactcactg	25260

[0038]

tagtataaac ggcacatgcac cactgagtga caggatagc ttctgagaaa tgcacgtta	25320
ggcgatttca tcaactgtggg aatgttacag agtgcgccta tcaaacctag atgccatagc	25380
ccactacaca cctaggccag atggtagagc ctgtgtttc taggctgcat gcctgtacag	25440
taggttactg tactgaatac tgtaggcggt tgtaacaatg gtgagtattt gcgtatccaa	25500
acatagaaaa ggtacagtaa aaacaatggc gttatggtec acggttggct gaaatgttat	25560
gtggtgcatg actgtaggtg taaagcatta tggctgttg attttcctct ttttctcacc	25620
cacagtctta aggcacctct tatgcctttt gtctgggatg tcccgggcag ggttgaaca	25680
tgtggttaag gcatggtgga aactgctttg gggacggacg atggcctcag cttgccttgg	25740
ggtgtcagtg ggaagatag gagctgcccc ttgccttca tgtttcttcg taataatctc	25800
agatctaccc atctggtgag cctctcctag agaaaagccc cggtgctcct tcgctcctgc	25860
gggttttctc aggagggttg ctcttttga atggtgggga ctgagggaag ggacgcaggc	25920
agagggtgat accacatcac aaagggaccc ttggctgggt gcggtggctc atgcctataa	25980
tcctagcact ttgagaggct gaggcagggt gatcacctga ggtcaggagt tcgagaccag	26040
cctggccaac atggtgaaac tctgtctcta ctaaaaatac aaaaattagt caggcatggt	26100
ggtgggtgcc tgtaatccca gctactcagt aggtgaggc agaagaatcg cttgaacccg	26160
ggaggtggag gttgcagtga gccaagattg caccattgcg ctccagcctg ggcaacagag	26220
cgtgactcca tctcaaaaag aaaacaaca aacaaaaaca caaacaaca acaacaaaaa	26280
atacttgggc catcagcttc ttggaaggc tgggtgagg tagaagcatt tgctggtgcc	26340
ctgctcgac accagagcag aggtgatttt ttggtgactc tgttgagagc agagaacctg	26400
agcaaagagg ttatcatgag tggattttac tgccttactt ggggtggcat tcccttggga	26460
gttcgatgga catttgcagc tgagcccagg cagggaact gtgctactc cgcttcaga	26520
attccaaagg ctgagcatgc attttggctt cctctaacct atgtcttct ctaggtgacc	26580
acagcagagt atcattaagt atctattctt tgcttttgtt ctgaggcag gaagatccca	26640
atagtttgcg ccataaatat aactttattg cggacgtggt ggagaagatc gcccctgccg	26700
tggttcatat tgaattgttt cgcaagtaaa gagagccttc ctttttccta taaccttga	26760
agctttcacc gccactagca aaacatgaga gctctttttg agacacatta aagtgtcaaa	26820
gtgtcactga atatcttctt actttaagat aagtgtgtct cccttcaaac atttgcctta	26880
ttcgactcta tgaatctaca gtcttaacct ttctaaatgt ttaaagaacc tcgggctctg	26940
aagagattcc ctaagaatat ttgttaagt aaattgtttg atgcatgcaa aaaaattggca	27000
gattgtttag tttttaaatg ttaagcccaa tatataaaga agcgattgct aggtgtgtgt	27060
tgtgtttgca gaaccattc attaatcaat gtgttgaagc gttcatttta aggtgttgca	27120
ggcttaagtg tgtacttctt tggattttag gcttccgttt tctaaacgag aggtgccggt	27180
ggctagtggg tctgggttta ttgtgtcgga agatggactg atcgtgacaa atgccacgt	27240
ggtgaccaac aagcaccggg tcaaagtga gctgaagaat ggtgccacct atgaagccaa	27300
aatcaaggat gtggatgaga aagcagacat tgcactgatc aaaattgacc accaggtgag	27360
tatgttttcg cctgcagagg tgagttctca gatgcccttg aacacccttg gcaaaggcac	27420
cagagctctc tgattgcagg tgattctcag ggggcaactg agccagtcta aaccagtac	27480
aggagggcct tgaggagatg ctgagtatgg cctgggcgtg tgggagaggc aggggctcag	27540

[0039]

gagagcttct gtaaggagcc agataaaagt ttttaaata atgttttaa tgtttatcaa	27600
agaaagcaat agatttgtaa agaaattagt aggtaagttg tgaaaattga gtctccttcc	27660
cattcccgat cctgtggcaa cccttggtac agattttatt tatcctccac agatacgtca	27720
tgcatcaca gtgaacatag aatttactgg ggttttagact gagccatcct taacttgtca	27780
acagttactc tgaacaacaa ccagctctcc caaattgggg ttttgagggt taatgagggt	27840
tgtttcagaa caatatccca tactttatat atcttgaaa ccttgagtta aaacagagct	27900
aatggatttc ttcttcccag accttctcag agcttttagt atgctagtgt gcacgtggct	27960
tgctacaaa aggggtgtga ctgaactatt tgcccaaatt ataatcattt gagtatacag	28020
ctttttttt gaggggggag gggcagaact gagccatacc aagatcaatc tggcaaatgc	28080
tgattttgaa aatgcttctt atttaaatat tctctttgca atcatttttg ctgttgaatt	28140
gcttagcaaa gtcttcatgt ctgggacaat atccatttct tactgactca tcaaaaaccc	28200
ccactcgaca ctttgatgag agaggtttta ttgctgtgt ggcatgttca gtgaaagcgt	28260
ggtttctagt ttcttcacat ccttgtaatt ttctggactt cagacggagg gaacaatcag	28320
aggaggttgg aatcctgcct ctggccaagg aaaagaccag agactgagcc agttggggtc	28380
tctgtccag ccctctgctt gctcccttt acctgggtgt gggtgagta attccagaca	28440
agcgtagaat taatcaggct atttgcctg ttgatggca tgctgggtac atctccttct	28500
ggaaacagct ctgcgtgtgc tgtttgggtg gtaggattct ggtctcctc tgtcttttta	28560
tggcatcaag ttgtgcccc gccaggtct cttacggcc agtcttcaga aaaccaccag	28620
ctaacacatt tacaaccctc ctccccgat gtctctataa cctctctatg gccgggtggc	28680
caggcacggc caaagaggct cagggtagat atagggctg tgtccggtgt gtgtaactgg	28740
ccttgatgta ggctgcagtt gtgtgttatt tctattaggt cactgtggaa tttctagcaa	28800
caactaatct ttcaaagtgt gtttatttgt cacaggatca ttgggccage ctctgccttc	28860
gtttttttt acctaatctg cataatagct gtattatccc catttttagag aagaagaaac	28920
agggactcag agaagtctag taacctgtct gagaccacac agcaaacacg tcatgacct	28980
gccctctaa ggagccagg ctactgtcc caacgtgtcc aagcccatgg ctattgttgg	29040
agggatacag gctggcccca tggaatgatg ggacagcttg acctaaaca gcccatggaa	29100
agggtgggtc atctggttta ggaacaggct gctagaaagg tatccaggat gtgtagtct	29160
caccggaagg agccagtcag aatagcacag cctgtggcca cgcgtggggc ctgttcagcc	29220
tcacagagcc ttggggaggc agccagcagc agggcatgag ctgtgtgcag gcaaggcgt	29280
ggcctggacg ccgccccac tgagtaactt cgtgtttgga atgcgtgggc acataccgtg	29340
cagctgtctc tggccggcgg atattctttt ccaattttga gccaaaggtg agactgtctc	29400
ctcgtgtcat ccctggcatg tcttggaag acacgaacga tctcaataga caagctttgc	29460
agagtgtgtc tgacctgact cctgtgttcc tgggagctga gctcttcagc cagcagcatg	29520
ctgtttgaca tgtgtttcaa gtccccaag aaagggtgct tgaaatttaa aattgaactg	29580
atgtggcttt tctaaatgga attggaatg aaaggatatt aaattgcaga caaccacaca	29640
aaagactggt ttccactgac taactgctt tttttgctg atagtagttg gaagtaggga	29700
gagtaacagc atctcttcca gctcttctc tttgttccc ttgtttgat gatgggttat	29760
ttcgggggag gctctggctg gccttgcctt gtgtcacctt agggataaca aagaggatga	29820

[0040]

aagagatcag gaaaacagag aaggcagaac agaaccagca gaaactgtgc ttgaggaatg	29880
aaaatcacct acatggctcc ttgtcgtatg agactgtggc ccaacctccc ccaaagccac	29940
ttaagagtaa cccagtgaag ctggtgagac tgcctgccgc gtccatgggc ccagtgacta	30000
gcttggtggc ttatcatctg gaccagctc ctccccctggc atcctgattt cacttggagg	30060
gtcttcatt gtcttcata aacgtgttta ctttattttt ttttattttt tgagacagag	30120
ttttactgtt gcctagctg gagtgcagtg gtgcaatctc cgctcactgc aacatccacc	30180
tccaggctc aagtgtttt cctgcctcag cctcctgagt gactgggacc acaggcacgc	30240
accaccatga ctggctgatt ttgtatttt tagtagagac agggttttgc catgttgcc	30300
aggctgtct caaactcctg acctcaggtg atccacctgc ctgagcttcc caaggtgctg	30360
ggattacagg tgtgagccac tgtgcgtggc tataaatgtg atattcttga gactttcagt	30420
gaaataaaaa ttacatgga cacctgtggt cattgtccac ttgccaccca cctacccccc	30480
ttactggcag cagcagccag catttcacat ctccgtcacc ggacagcgta ggtgggcccc	30540
tcagtcatgg tgcctaccc tctggtgcca aggagcggac acatgaccaa gttagggcaa	30600
gcagaggctc cccctggaac tgcaaagtga agccggtatg caccacacaga gactaacatg	30660
gtgaagctgc ttagggccct gctcttgaga cccagcact gtctgagttc ttgcacttcc	30720
tgagtccagt ttcatatctg ctttctctcc cgttcttgga gtcctccca catctccagt	30780
ggcttgaagt tgccagagat gtttctgggc ttgtgaccaa atgactcctt ttctgttct	30840
cactgctgag cagacacatg tgcgctcact ttgcctgctg agtcttggga cccggaagag	30900
ctcttgggag acgctcacgg agcagccccc tcttgccggc cctgctgact ccctccaagc	30960
aggaggggag aagccctggc tgggcatccc ttaatgtgct tctgcccata tctgaaactc	31020
ctctttctcc gggaccacag accgtggcca gcctgcctgg ggagggaate ccagctgcag	31080
aaagtcggga cagtatgctg gtaaacatgt taatagaaaag cagctttgag ggcaaaactag	31140
ttcagcttta gttacaaact ctttccaaat gtgtttgaca tgagccactg ccagtgtgca	31200
gcataatgca agctttcacc caatggtggc attttgtccc aacgggtttt ttttttccct	31260
gagcagtttg gggcaggggt ggggagaggg agagagaaaa gtaaaaagag agcagtttgg	31320
tttcttcagg ctggagtaca aggtagagat aatgggatgt gttgaagaaa gtaggaggga	31380
aagttacttt agttacagct gtttgtccag ctgtgctgat taagaaactt ggagaaaagc	31440
atctctgaa tcatgtcctt cccatcttgt atatagcctt tgcagatctc ctgcggttct	31500
gagagagatc tgaactgctt accagggcct tgaggggccc atctgattgg gcacctccc	31560
tcctctggc cctcctctc ttcctctct cctcctctt ctctgcccc acctgctctg	31620
ctcagacacc cctgctcgg ttaattccca caggccaggg ctgtcccctg gggecttggc	31680
tgttccctc ctaggagcac cctctccag ctctcatagg agccaacctt cccatcctc	31740
aggcctctga ttaaattctg ccttagacat ctctccccac cccactgtgg gagtgacgc	31800
cccatgcccc agtctctca atcccacgc gtcactctgg ggacacatca ccccaggac	31860
aactgcattc cactcttgg ttttccctcc ttgtctattg atcacaattt agagtgcct	31920
cactcatttc tcagtcatgt gtcaaatgaa gtccatttct gccgctagac tgcggggttg	31980
gggacacatc cggctgatcg gtctcaggt aggagggtgt tggcaacttt gtcccagta	32040
ggacgttcac agctgtctgc cctggaggaa gcaagggcac ccaccacgtg gatggaattg	32100



[0041]

```

aggggaaggc acccgcggtc cctgcatcga gcttccgtcc tatattcaat gaggaatga 32160
ccctgcagca ggctggctgc agatgccctt gccatcccgc ttgacctgcc tggagtttga 32220
tggacatgtg gtctgtcag ggctgcagca ggctgtggtt ctttggtaat gcaaagcgct 32280
ggggaacagc tgagctttcc tgtgggtgct tttctctgac gccaacaacc aggtaaatat 32340
ttggaacagg ccttgttgag gcttgtgagg tggttttcct cctcccctg taggcctgcg 32400
ccacctctcc aaccccccg ccaccttcag gccagatggc acccacagac ctgtttgaag 32460
tggctggaca gggagccctc tgggcgtgg ggccgtgtg ttgacagagg gtctcttac 32520
tgctgagctg gctggtgcag cggggaggcc aacaccctg atcctcatca agttcagagg 32580
ggagtaccgc cgggtgagg gcctggggcc tttacatgt cctgggagct gctgggcagg 32640
ccgctcttct ccaggccacc agaacttggc cctgcatgtg gcgaatcttt cctgagtcag 32700
ctgagtgagg ggggttcagg cagcccccg ggacgtggca gtggttggg atgggagtg 32760
gctggtgcgt gccatgactc acgccgttc tctcaggca agctgatggt cagacgtgct 32820
gactcagtgg cctgagctcg tccaaaagt aatcagagaa cgcaggccct gggtcaccc 32880
actgccctct cctggagtca tctgtcactc atcctcatga aggaagcgcc tgggagcctg 32940
gaatgcactt cgcactgccc cagctccctt cttgtttctg tgtttttcca ttttgattc 33000
tttccccca ctcttctgt actgggcatt ttgtgtctc ttcttttct cggagaactc 33060
tgagggtac cattgcattt gctaattgat ccacagacgg tgttgatgtt atgaggcttc 33120
tattactgta ttgattgta ccatttttag ggggacagga atcaatatat catgagggaa 33180
tgigaagcca gacagtaaag tagaagctgg cttttatttt gtgccaggct ttgtccagag 33240
gcgggtgggg acgtggctcc tcagctcttg actgcagctc cttctggcat gggaaacgct 33300
tcagttcccc aaactctcag agctggagac cctgtgtgtt ctctggccc gattcaagaa 33360
cttagttgat tgtcaaggaa attctttggc tatatttttc tcttaatatg gtaatgctt 33420
tttctactct ggcactctct tttcagggaa tcggattaag actattatit atgttctga 33480
aaaagcagtt cccaagttgg tgggactgga ttgttttagg aatgtctcct gtctcttca 33540
ttgagggggg aatacaaat ggttccattt gacagtttat caagtgtgtg acagagtatt 33600
agagtccagg gttggccaac tacagccagt agtccaaagc tggccctcta tctgttgtt 33660
taataaagt tttattggga cctggtcagt ttcatttatt taggtagagt ctatggctgc 33720
tttcattctg caccagcaga gttaaatagt tgggatgaag accacatggc ccatgaagtc 33780
aaaaatatit gtttcttggc cttttatagg aaaaaattgc cagccccagt ggtaggcaat 33840
ttacaccttg tcttagagga gctgaaagtg gctggaggca ggaatgctca taagaacaa 33900
gcgagtgtaa gactaggta gctgcgggga gcggaagaga agctgattag ctgattttgt 33960
ttgcccttct tttccagag attgtgggtt tttttttttt ttgacagaga tgaagctttg 34020
gtcttgccac aatagcagag ggaggcctta ttttgtcca tttctctatg acattggtag 34080
aaaggagttt gtcagaatc caagctatit ggcaattatc caattttgag atcctaattg 34140
atctttcaag gtctagtttg ttcattcttt tagtgattcc ttattaattc cctgatttta 34200
tacatatgtg ttgaacatct gtcttgcca aatacttgtt aagtgtgag gatgcagcca 34260
cagtgggcaa agccatgagg cttaagatct agtgtggaa acgggtgaag taaagtaaat 34320
atggcaataa gtacagtga tgaagcaaac aggtgaaggg gtagaaggcc tcgggctgca 34380

```

	aagatagtag atagtgttaag cagggaatct tatctgaggg gtgacatcta ggctgagatg	34440
	gaaaggacag tgagagccag ccaaggaaac aagctgggtg acaagagtgt caggtggagt	34500
	tgcttaattt cccatttctg ctgagcctgc agaacctaga tcttgacta attgcaaact	34560
	gtcatttctt tgtgagtta ttagaacctt ccagaacaag tttctggtta gctagtttct	34620
	ctgtgtgttg ctcttttctt gttgtttctg gttctttggg gttcttactc 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 gccttcctg tgttccatt ttatgtcata aatatagtt taattaactt	35040
	attataaaag gccctttgtc atggaccata tcaaattatt cttatataga agaggttata	35100
	catgttttaa acatttttaa ataaatctga aaagaatact acatcctggg caacttcccc	35160
	gcatatgggg ctcaaagaag ctctatgtgg ttatgggtaa ggcggagtca gagtgccttc	35220
	agtgtagttc agcagatgct gagaggtctg tgtgtgctgg actctgatcc cactaaatag	35280
	agtagggctg agccctgcc caccatgaca gcctggagat acaagctgtt ccctttgcct	35340
	ccctgagccc tgagctttat agcctataga cagctgaaaa gcaggetgca tcggttacct	35400
	cgtcagttac ccagaccxaa atgccaggcc ttggctaacc ccagttatta cctaatttca	35460
	agatcctaata gtatctttta agacctggct tgttcattct ttcatattt tacttactca	35520
[0042]	ttgattttgt aaatatttat ggagcatctg ccgtgctaca tgctgttgta gcagcatcag	35580
	ccaccctgaa gttggtggat gaaaggggac agatcaaagg ggctgatgta tggaggagac	35640
	acaagttaga cttgaccaag acaatcttat tctctctctg gatgccacga atatatacag	35700
	tcattagctg ttgggcccc atgaagactg ttgacatttt gtggtttaaa cactgaagag	35760
	taagggaatg ttggaaatgg caaacatctg atatagtgtg aagaagacta aatattttgg	35820
	tggtgttcat aaacactgag gaggaaagtc gtttcatttt gttcatttgt gtgtctctc	35880
	tctctctctg ttatgacaca ttatcctctg ttctcttct ctttttctt ttctttttt	35940
	ctcccttcat ctccccactt ctctgatctc tcccacctga accgcttcta ccctgctgcc	36000
	ctcccatcca tctacctcc tctacttccc tccctagaca gtagtaatca catgtcagtt	36060
	ggagaaacat gatggcgact tggtcacacc gttcttctca gtctgtatat gttggtgatc	36120
	tccgtgcccc tctggtagat cctccttccc ctggctcttc tgcaccacac aaccaccctt	36180
	gacttttgta tcgtgataa ccttcacctt ctctaactctg aatcccaagc ttctcagtec	36240
	tgccccacca cctccccccc tcatccactc cgaacctga acggaagctg aatggaaccc	36300
	tgaacggaag ggttctgaag ctgttgagaa cctgaacgg aagctgaaat atcaatgggt	36360
	cattgctttt cacagtcctc tgtgaaagat tactggccaa gccagcatct ggagaattcc	36420
	tggtctaccg cctccctgtc tggagaagct ggaagagcca gctgcatagg gcatgtgacc	36480
	catgtactca caggccctgt gccctgagct cactgtttta attttatctt tgaatttgta	36540
	tttttgtaa taaagtccta tgagctaata gagcatgctc agagaacttg gggatttagt	36600
	tcaggctgga ttctctctac tgcctcccca atccctggtc cctgagacc tccagcccca	36660

	ccctgaccttc ccttccctgt ttctatgcag cgatcattgc taccctccat ccctggaagg	36720
	ggatagggca cagggcagtt ctaggttcca acttgggcac cgcataacat cttagtgggtg	36780
	cagggttcag gctgatgatg ccatgggtgt tctgtgggt actgggcagg gtcaagccgc	36840
	tctcacctgt atccaggtac ctaatgcacc ctgacacaga agtggcagtg tccttgggt	36900
	catcattat ccatgtgttg gaggagtggg cccttaggga agatgcttgg ctcaacttcc	36960
	ccacccctag ccagggcacg atccgaggtc cagggttgg tgggcacgag gccaaagtcgt	37020
	gaggcctcca gtgtctgcac tcaactgtcc gtaaataacc acaacaataa ctagcaaacc	37080
	aaaaccagtg tgataggttg agagagacag aatgtggaag aagggaataa gctttatatt	37140
	ttagtacctt taacagtgtt ttctgtatgc tttatgaaca aggagcctgc atttgcattt	37200
	tgacttgggc tctgctaatt ttgttcttgg tctgtctccc tagtagcccg agtcagcaaa	37260
	tccttgggtc atctgagtc acagtgcatt gaccgcctt tttcacagt tcctccctg	37320
	cccatgtgct cacttccctc cttaccagc ttggctcact ctctcaagca agtctttgga	37380
	tgctgacatc cccctaaac aacccttctg cggcctggtt tgattgtcct taggagcgt	37440
	gcaagtctta tggcactgct tcttcttggg tatagaggat gtgtatttt gtccattgca	37500
	tattttttaa agaaaatgaa aggttagcat aactgtttcc agaaggcaca ttgaatcact	37560
	cagttgagtc ccagccagtt gctgcagcgt tagccttga agcaacttg aaccaacaca	37620
	ggaccagcct ggaagtccca gcctccggaa acgatgcagt ggattctgca gattcagcaa	37680
	caaaaatatt ttgttaactc aggaacactt cgtaattttc aaaggcgaga aagaagtaat	37740
[0043]	tgacttggct tattaggttg aaaaagagtt gccaatttt tcttgggtt tgttgttatt	37800
	gtttttgtt tttttcttt tctccaagct tcagggaatg agattaaatg agcactgaag	37860
	tgctactagg cagaacctga atggaaggaa gctgaaatac tgatgggtca ttgcttttca	37920
	cagtcctcta tgaagatta ctggccaagc cagcatctgg agaattctag gaatccccc	37980
	tcctcttga cgggtataag ttgctgggaa tcatctcacc ccaactggga gttgtatgaa	38040
	aaaagggtt tattaggac cctgttgcct gtttgatct taccaattta actattgtct	38100
	gctaattgat gttttgaaa gcaaccaggt tttctgtaa gaacagctaa ttgtcagagc	38160
	tgagatgacc atgggagatc actgggtcct actcctaatt ttagaggttg taaaaccgca	38220
	accagagaa gctgatcaag tggccaagg tcgtagactg agttcataca ggaccaagac	38280
	ccagccctga tgcctgcta tctgggacag tgttctccc gcacacgtgg agcctgaggg	38340
	ggtaattgtg gtgtgtgtgt gtgtgtgtgt gtgtgtgtat gtacatgtac tcatatacac	38400
	ataggtgttt tgcctaggtt ttcaattctg cccaccttg gttgatcttg gagaatgagc	38460
	ccgaggcgca ggtgcctgt cagcctgggg gcttcaactc gcacaggccc aactttctg	38520
	ctctggggga gttccagcag ttatgttca tctgtgttc agttatggaa cccacaccac	38580
	acgtagcgcc cccaaagccg aggtgcatg cacagacctc cctcccttc tcgtgtggg	38640
	ccctgtctg gattcttccc aaacttctc tttgccctgc tctgtgttat accactctg	38700
	gtccccgtc cctgtggagt gatccagggc acaaggacag ctgtttcact gctggccgt	38760
	gtgtacccc agcatctggg aggtggggag cgggctggg agaagaacac ctggagcgga	38820
	ggttgggac agggagggcc gcagtcccgg taccaccacc acctgctgtg ggacctgcag	38880
	tcctctcatc agcagaacag ctgtgaagcc atcctgccc tcacagggg ggtgggtgt	38940

[0044]

gaaggctgca tacctggcag agctggagaa gctctgggga gatgctggac atgcacgcta	39000
ggagtggttt ccttgccctg cccagactct gctcccatca cctgaacctc cctgtcacca	39060
ccacggaact gctgtgacca ttgctttctt cttaagcaga ttaacagaca tctcctgccc	39120
caccccccca aacaaacaaa tgaacaaaca aaaaacgtgc ttgaaggagt atgaacttat	39180
acagtctttt ctaaacactg ttaagtctg gtattgggat cttcttttaa aatgaacat	39240
attccccagg ctttggatga cactcatggt tgcccacct ccaacttct tccctgctgg	39300
cagaacctg ggtttgttt cgttccacc cgcacccac tgcatctctg actcaggcaa	39360
atctgcaggg tccagtgcag tcagggggcc acgttccctc ctccaacggg tgctgaggtc	39420
gctgcttgat tggatgtgc tgatgacctg cgaggaggag ggcgccaggg cacttttggg	39480
actttgctct tctgaagaga tgcttcaca gcacggctgc 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 gcagttagaa gcacctaac tgatatacac aaactatttt tagtgcggt	39780
ctgtgtttgg cccttatgga agactttggg ctgagctgcc catggtgagg gagacggact	39840
tcgtgtcttc ttaccactct gtgtcctggt ggcttgtatg tgtctctgcc catgaggcaa	39900
aagcctaaag ggcaaggcg gattttctta atcgatgtt cttgcacca agcacatagg	39960
agacactcaa cgaatggtt ttgagagagt tctctttcac ggaggtggtg ttttgtgaaa	40020
cgatgtgcc aggcctgctt gttattgtc tgttggttgt aatctgcatg aatgcaaaga	40080
gccatcttta atcatgtgt ggaccagcct ctccaaggt attagcatga ctccactac	40140
ctgtcagca tectgcctat ggctaggact ttgtaattta catagatacg ctggggagac	40200
aggagagccc tgaccaggac tctgacccc tcaactggagc tgtttctaca tctaccctgg	40260
gtggtctgt aggacattag ggcattcgt tcttctaaa gtccctctgt tgagagactt	40320
ctggctctgt tgagaggaca ctatttagca ttgtgagtc ctgcaggctg ggggccagt	40380
ggcattttcc ttctagatgt cccctctctt cttctggcct cccaggcttc ctgctctga	40440
gactgtgaga actggcctgt gctgggctca ctgcagaaag accgtctgt ccaaaggtct	40500
tgtgccaaac ttgagctaca agctctttag ccgggcctga ggtctccgcc tgggctctgg	40560
gagagcagca gtggctgttt ctgccccctc actgctgtca tgcccacact tcaattgcat	40620
ttcttctgcc cccagccgt gtgagaatct ggtatgagga gtgggactca cgtgccctct	40680
ttcttctct cttccccctg gccctttcat ctgtcagtgg aggacagatg ttgccccgt	40740
ttacttctag gctcactgtg gggtccagg gagatggtga agtgccaag gagaggagct	40800
gccaccttca agacggcctg tggccagtgc tgctttaaag ggagactcag agatgctttg	40860
ctgtgggtgg cgcgggaacc agcatgggga cagcagtga gaggccttgg actcagagt	40920
cgtgggcccc acggggcttc acggcgctg tggtgtgca cttccagcct tatctgtgt	40980
gcatctctc cacattcccc tgtggagctg atgtctagac agctatggaa ttaaatgctc	41040
aattaccgag taggaatttg gccagcagag gtatagctgc ggagcagaca gactcgaggt	41100
gaggctcac gctgagaac ggccccact ggctctgga tgagctgagg ggccccatgc	41160
tctgcagcc agtggctcct gtggggagtt ggggcagtga cccccaaaag gcagtttgac	41220

	ctcatggaga gccataaatc tggcctggtc accatctctg caacacatca ttccattgca	41280
	aagattttctg cctgtgattg gaattctggg tgaacgtgta ctgggcatgt gggctctgaga	41340
	gcctgggaagc ctgttctctt gtttagccag gctgcccag ggctgtgagg agtgccccc	41400
	tccttgagcc tcagtttcca catctttaaa atggggggaa aatacagctc aactcctaag	41460
	gggtccctga aagtactttg tcacctgcca ggcaaaggct cattccttcc acagaaatgc	41520
	aaggtttaca atgtgagacc cctccctact tcgccgcatg tgtccgcttg cttttttctg	41580
	tccttagggtt gccctacatg agctaggaaa tgtctgagtg aataaaaaac taaacgagat	41640
	gatactggt ggtgccatt ggtgcagcct ttgcctaaat ggccactacg tagccacatt	41700
	ttctctctg tgttcaggtg aggactggtt cctggggaga ctccctgggt tcacattatg	41760
	gggtctctat ttgtcgaagc ccatatggtc acccaagtgt gactgaacca tggggtgctc	41820
	tgggccccat ttttggcagc aggcagcatc ccctggaggc ctggccctcc ccaggagcat	41880
	ggagagcagt gcccatggac aagcagctg cagcctccat ctctctctcc ctgcccgggg	41940
	ggctccccc cccagcctc gcagcttctc caaaagtgtt tgtctccttg ccgcatcctc	42000
	tgggcctgag ctcataggt ggaaaagaag agctggaagg agagtgcct ttcggtctgt	42060
	ctgccttctg aggtctcctg agacatacag gctgggcctg cctcccttcc taggaggcgc	42120
	cgatgggtg taaggatagg ggataagtga gatgtgaatg aggatcacca cagcaagccc	42180
	tgactcataa ctttttgatg ggttttcaat gtgtggtgaa gcaggcgcct gctgggcccc	42240
	cttctgagt tgagcttgat ctctgcctc ctgtctgtct ctttaggcag ccaggctacc	42300
[0045]	ctgctccagc aaactgtgcc accccgtccc ttacctgtc ccaagccag cccgaaggc	42360
	ctcaaaggcc tggccttcca gccagtcag ggctgaagg gatggcagtg tccctggtg	42420
	acctccccc gcatggcgta gcgcacatcc cagccctgcc tcctgcccc cctgcacgcc	42480
	atgaatgctg aagtcatgcc tggcagggc tgcctggccc ggcccagagt aaacaggctg	42540
	cgtgagctt gctggtgtgc tgcctgatgc tgatgagctt gaggagtgtg ggaagtcatg	42600
	gtggggccga gtaggatgc tgcaggcctg catctcccc cagctgccct gcacgtcca	42660
	gcctcaggca accccacagg gaaagggtca cccactgtca gggcagacct ttaccatggc	42720
	tgggtgacat gggctggctg tgggaagggt gttggtggtt cccctgttg gatttgaca	42780
	ggcccagatg ctacagcaa aactaacacc tagatgatgc ttataggagc cagcgggtaa	42840
	tcaaagagct gticagatct tcatttgctt cgttctcaca gtggaccatt gaggtagctg	42900
	taigttagtc ccattttcca gatgggaaaa ctgaggacct gagtggctgt aagctcaggc	42960
	ccctatctaa atcacacagc ctggccccag gtctatgctc ttgacctgg acagtgtct	43020
	cctggtcctc ttggtatctg tgatctgagg gaccttctc ctctcagtc ttgtatagtc	43080
	agtttttagt cttagactct ttcttcacat ccttttctc ttctgggagc tctctaccc	43140
	agcaccttcc ttatctagta tgtgttgggg gatatttgtg gcatgatgtg gcgtgtgta	43200
	gtggatgaga gagtctgtt ttccggttcc agccccaggt ttcaatccct gctctgtctc	43260
	aagtcacca gactcttga ggctcagttt cctcatctgt taaatgggca tgggtgtcac	43320
	ctcacctcat cagctggtgt ctgtccatc cctggtggag gagatggctc aagtaacccc	43380
	ttggttccac ctgccccacc ccaactgtcc cctggctctt tctttttga gatagacaaa	43440
	cgtgaggctc tggatttga gtccccaga gggtgggggt ggctgtctgc tttctgggtc	43500

[0046]

tggtcacatgt ttccagggc agctgctcgt tctaagtga caaaggctga aggaactcag	43560
gaggttttgc cggctccgag gatggcagag agggaagggg tgccgatgcc ttccctgata	43620
gagctgggga ggcccttctg tggttccccc cagctccttg gcttgggtga ccctggagct	43680
gacttctgtt ccattttgtt gtgcagagtt gtttggggct cctggctctg cctggccttt	43740
gtgggccact ggagatcagg gcttctggag ttggccaatt agccccccca gccagggag	43800
cacaggtgtc tgatggaggg ctttttcagg agaggagaga tggcccgccct gttgggtctt	43860
gctgtcttgg gtcttgagg cttgtctgtc cccatgctcc atccatgccc ttgaccaatg	43920
tggccctgta ctcagcatag gcatgcacct gactcagtgc aattccctgt ccacagagca	43980
ccccaaatat tcaggcctc aggatgggtg tgcacatgat gagccgggca ggtttcacca	44040
ccgttagctt gggatccttc ccggggcttg gttctcgaag gctgccccag gcagtcacac	44100
cccaaaccct aaattcatgt tgtcttcctc tgtctcttgg cctcaagggt tcagagttag	44160
tcgtgtctga tagcttcaag atgtgatgag accccgactt ggctccaggt tccctcccca	44220
cggtttccctt ggcgtgtgtg cggttccagt ggtcactggc tcccacacag cttgtaatgt	44280
gtggattacg ggtgggaggg aagtccggtc ctgcctgcag caaagggatg ttagtctgta	44340
gctcagttcc ccatcgggce tgggttttcc aaatggcccc gcaactgtccc tgccttggtt	44400
tccatgatata ctgtgccttt acccatttgg ttaaattaaa caaattcagc aatgccagcc	44460
attgtggttt cagggttaagt tgcctgtcct gctgcttggc cgctcctcag agctgcggcc	44520
gggagagttc gtggtcgcca tcggaagccc gttttccctt caaaacacag tcaccaccgg	44580
gatcgtgagc accaccagc gaggcggcaa agagctgggg ctccggaact cagacatgga	44640
ctacatccag accgacgcca tcatcaacgt gagcctctgt ccctctcgcg gtggggcttg	44700
gggcagggtt ttgccagagg agaggagtca gcatcggtct ctgacttctt ttagtcttgg	44760
gtgaaaggat ggaactagac caagccatgt ggatcctagt gccagcagca cgacaggggt	44820
cacacggcgg ggacagtac actggagcag gtggacagcc agcctcctcc caggaggaag	44880
aagttgtgtt ggggtgctta ggggtattgc agttggcttc tgggcttcag agagaaaatc	44940
tccccattta cggcacctct aaaactttct gaaaattgtt aaggtcattt ttttcagca	45000
aaatattagg ttaatgggaa tgaatctcag agaagaatca tgccccacac ttagacacc	45060
atgctcagga gacggccagg caggacata gattggacca cgttatgaca caattttaa	45120
ccittccatt tctgtttaat tgcagtatgg aaactcgga ggcccgtag taaacctggt	45180
aacgtatitt aaacgttatg tcttttgtt ttatttatgt acacactgtt tttgtttgt	45240
tttgttttt gatgtagggg gtcttttcaa acataagctt gccaaagcgt gttatcaagt	45300
ttctttaaaa tgagctctgt gaatgtactg catgcttgca aatgacccta tggatctttt	45360
ctggaaagag taaggcagc tggaggtgag ggttggaat gttatgccag agagcacact	45420
tgtgtctcag agttacaggt aaacacagtg aaattcaggg ccaatgcagg agtaaggta	45480
aggtcaccaa aagtcttgge cggtcactga aagagcctcc tccaaattaa atctcctggg	45540
ctgctgaagg agctggctgg gctcatacac actttctctt ggccaggaat cctcccttaa	45600
ggcctggctg gaatgaggag gagtaccca cccacaaaga tatcatttaa gtctaccctt	45660
aaatacttga gcagaaaaag tgaagcctta gaacatagac catcagcgct agagggcagc	45720
tccggggccg ttcatagagg gcagctccgg ggccatttgt aggggccgtc tttagtaagg	45780

[0047]

```

ccttggcatc aggtactgac atcccagcac tcgtgggaag tgcgcacggg gcgatgtatc 45840
cccgccttggc agctttccct tcccagcaga ggggcagctg tgctcccage tctgcccctcc 45900
gcctcccccg cagcacccctg gggatggagt ggagacggct ttgcgggtaa tgaagcatga 45960
cagccctaag ctctagggtt gttccccctc aagtcagcag agtcattctta agatcattag 46020
aaatgagaga agcaggaagg tgtaggcagc cacctagagg actctgagcc tttgaaacg 46080
tattccttgt gaaacaggag caaataatat cgtgcatttt gaaactatct gtgcttaccg 46140
cgaggtgagc acccagtggc gacctggagt gtgtgcgatt cttccacage tgcgcgtggc 46200
ctacgtgcc tgggtgtcct gatgcctctc tcctgtctcc cccggggatc cctccatgc 46260
agtccccgc ttcaatctct gaaatagctc agtgacttct ttcattgcaca ttctctttgg 46320
gggtgtacct gccggtaaag cttcacgatt cagcaagccg tgtccttctt gcctttcagg 46380
acggtgaagt gattggaatt aacactttga aagtgcagc tggaatctcc tttgcaatcc 46440
catctgataa gattaaaaag ttctccaccg agtcccata ccgacaggcc 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 tcaattgagt cagtctaata tgtaccagac acgatactag 46740
gtgatttctg tccattattt cactttattt atgtatgtta ctttaattctt ttgccctatc 46800
agttaggaat tactagtccc attttgctga tgagaaaaca gggtcaggga gatcattcta 46860
caaacattta ttgcctaagt caagcaggga gcttggcagt agactgccca actggagcct 46920
ggggctccgc tgaggccttt gccggtgtgt gtttatgttc tgttggggga tgggaaggct 46980
gacagtaaat aatcagacac attagatact attagtctc ccaagaaaac agatcagggt 47040
ggctggcaag ggagtgactg gacaggcagt tggtagagat ggtgtggcca ggaaatgcct 47100
cccaactga ggtctgagtg aggaggagcc agcaggtagg gatgtggggg gaacactcca 47160
gaaggaaaga cagaggactc agcatagctg agtgagcaca agggccctgg agtggcctgg 47220
gggccggagc acagtgcagc catggaggtc tctggggtgg aaagctcgcc aaggccaagc 47280
aagcaggctc acagcgggcc atggtgaggg gcctgggttg catcctaacc gcatttaaga 47340
acagggaagt tcatgatctg attgatgtca ctgaaaggac actctgatgg ttggggggag 47400
tctgctggag gagtgtctgg aagtgggga ccggagaagg agctctccca gtcattctga 47460
tgagacacgc tgggggctca gacaagggtg gtggcagtgg aggtgggaca gaggggtcac 47520
attccaggta tacatggggg tagcgcaagc ctggggaagg gccagctgtc aggatgaggc 47580
catgaggaat tgaggatcat gccaggtat ctgaccatta actgaacgat gagactttcc 47640
tgaggtcccc cagaggggag ggtccaaac caggattcga gcccaacct ccgtgtgccc 47700
ttctgtggcc cttcctgcaa cctgggggat tgggccccca gccctgtgtg tccccagcat 47760
accaccaac tgggtgaccc ttctgccgtc ctttgttgt ctcaccagga aaagccatca 47820
ccaagaagaa gtatatgtgt atccgaatga tgtcactcac gtccagggtg gcaaacagga 47880
tgcgtgtgtg tgtcttaaat ttaataaac ctgaacttca gaagggtgctc acgggcaccc 47940
ctgaaagaga aagcttatgc agccttaaga catctcagtt tctgcttata atgaagtagc 48000
atcaggaaag aggacaggtc atcagccgtg gccctttgt ttggttttat cctgtgtttc 48060

```

[0048]

```

tgcatcttga gctgggtttt ttcatggcg gctggccctc cagtgtagaa ggttctgccc 48120
tcctctttga aggcaggcct gagcagtgcg tgtgtgtgg ggctgttgat tcattctggc 48180
tcattgtctt cttaccccat attctgttga aaccacatt ccaggagggc cccaagcccc 48240
teccacagct ctaggcactc tgctttcatt gctctgctct gggcagctc gtgggccgtg 48300
gctgcaggaa tgccaggcca ggccagtcg agggaagtga atgactgatg tgcttgtttt 48360
ccccgagctg gtggaactgc ggcctgtggt tggcagctc acggcatcct ggtgttttaa 48420
cctggatgaa aaattctggt gtaatctcgt gagtcctggt agtatagact caactggcgt 48480
ggctgaaact gtcagaggta 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 tgggttcctg ttccagctct gatacttctt gccttgtgac 48780
cttgggaacg atatgacccc tgagtgcctc agtttccctc tcttcaggat ggggatgaca 48840
gcgcaggctc ttctgtggt agcggtgatc accagccaca gtgatgccag tcactatcta 48900
ggccgggtgc tttactgggg tgacctcctc tgatcctcac aactcatatt gtaggttact 48960
gttattatcc ccgtttcgca ggtgaggaaa tgaagccaca gagaggttaa gcaaccgtct 49020
ggggtcacgc agctagcaaa tagcagagct agggctacaa accaggccaa cactatact 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 gcctgggtga tagagcaaga ctctgtctca aaaaaaaaaa aaaagaaaag 49440
aaaagaaaag aaataataat aatgatgaaa gcactttcct tgctgttacc aagtaaactt 49500
ttgactctgg tagagaggca attttaaaa aggatcagaa ctcttgagg aattttacat 49560
tagaccaggg gagaagaagg gaactgttga gagcttgagt ttgcctggg gaaggactgg 49620
tgtctcttca cactaacacg ggtgcttttt ctctggagca gcaaagccaa agagctgaag 49680
gaccggcacc gggacttccc agacgtgatc tcaggagcgt atatcattga agtaattcct 49740
gatccccagc cagaagcgtg agttagagtc attttccctt attttccctt ttctaatat 49800
tcttgttctt cctgtagggg tagcaggaag agggagcgtt gttccttttc tactggctca 49860
gatgacagtg ttgatccttg acagatgtgg tcggacgttg ctggtcattc ctgctggcca 49920
ggccttctga cctggctcgg cttgggactc atccatagga ggggtgcctc tgtcttcaaa 49980
agtccttctt cactaggac cctccagatg gacagagcaa tagcagactc ataagagtc 50040
tctggctgga cagagagagg gtttcaggaa cagtgtcccc aagccctcac gtggtgttcc 50100
tgttctaggc ttccggaccc ttctcctcct ggagtcttcc agattgtctc tgacagttag 50160
gccataacct gtcaaacctt ccagaaaaat aaccaagtgt atatcaaagt aacatgacaa 50220
gaagtagctc aaccatccat cagggtttgt tacctgtatt ggaatatcca gaaaaaagt 50280
ctagaccagg ggccagcaat tgtgccctgg ggctggatct ggcccactgc ctgcttttat 50340

```



[0049]

```

atggagctgt ggactaagaa taatTTTTgc atTTtatttc tatttttact tattttttaa 50400
atTTTTtatt tTcataggtt ttgggggaac aggtTgtatt TggtTcatg aataagttct 50460
ttggtTgtga tTtTtgagat tTtggTgcac ccatcaccca agcagtatac actgaaccca 50520
attTgtagtc tTttatccct caccctTgtc ccagcctTtc ccattTgagtc cccagagtcc 50580
attgtataat tcttatccct ttgtatccct atagTttagc tcccacttat gagtTgagaac 50640
atttaaatag ttgaaaaaat cctgaaataa gaatagcatt ttgtgactTg ttatattTgt 50700
atgcaattca aattTcagcg tcactgaaa tTtggTttat gacatctTtg TtggtctTtg 50760
TgctTgagca gccgagtTga gtagctTcaa cagagaccat atatacgga aagcctaaaa 50820
tattTctat ggacctctt acagaaaaag tTtcagacc cttatTctgg cccatatgaa 50880
ggacatTgac agcgTttTga cgctgacctataaagact acagTtatag Tggcaaccac 50940
acaaaggaag Tgcctcttaa cagaagcatt ctgcccacc ttTtaggaac Tgcattctga 51000
gtTgcaatac ctttataag caagtTggcc atggTcacgc tacatggcag atagTacctg 51060
gtacatccct cccactTtg ggtcaatct TgacctTga tctcctTggg gtcataaggc 51120
catacaagt Ttagtagga tTcttagagt ggacataatg gatgagtTg cctaaaaatc 51180
tcaaaaggag cccagcatca Tggcacctgc ttgtaatccc agctattcag gagctTgag 51240
cagaaggatc cttTgagccc aggagtTcaa gactagctTg ggcaacaaat gagaccccat 51300
ctcaaagaaa aaaaaaagg Tgggggaaga acattataat aataataata ataataataa 51360
aaacctTgat aagtatccag tctaccaatg gttattttt tattttatta ttattttt 51420
ttgagatgga atctcactct gtTgcccagg ctggagtTga Tggcaaaat cttggctTac 51480
Tgcaacctcc acctcctggg ttcaagtTga tctctTgcct cagcctctga gtagctggga 51540
ttacaggTgc ccaccaccaa acctggctct tTgtttTgt aatttttagta gaaccagggc 51600
ttTgccatgt Tggccaggct ggtctTgaac tctgacctc aggtcatcca cctgcctcag 51660
cctcccaag Tgctaggatt acaggcatga gccactTgc ccggccact gatggtTga 51720
attattctaa gttcaccacc atccaatcct gttTgctctg ggcttttagg ttctaaactg 51780
Tgcctctgct catgtaaagt cagatcagga ggaatggaga catgaaacat TgctattTgt 51840
ttTccctTtg TgtTgcagtg TggtTctcaa gaaaacgac gtcataatca gtatcaatgg 51900
acagtcggtg TctTccgcca atgacgtcag cgatgtcatt aaaaggga gacacctgaa 51960
catggtggtc cgtaggggta acgaagacat catgatcaca gtgattccc aagaaatTga 52020
cccataggca gaggcagTg ctggactTca TgtTtcctc aaagactctc ccgtggatga 52080
cggtatgagga ctctgggctg ctggaatagg acactcaaga cttTtgaccg ccattTgtt 52140
TgtTcagtgg agactccctg gccaacagaa tctTctTga tagTttgcag gcaaaacaaa 52200
Tgtaatgctg cagatccgca ggcagaagct ctgccctct gtatcctatg tatgcagtgt 52260
gctttttctt gccagctTg tcattctTg cttagacagc cagcattTgt ctctcctt 52320
aactgagtca tcatctTga ccaactaatg cagtcgatac aatgcgtaga tagaagaagc 52380
cccacgggag ccgggatggg acggggcgcg tTgtgctt tctccaagtc agcacccaaa 52440
ggtcaatgca cagagacccc ggtTgggtga acactggctt ctgaaatggc cagagtTgac 52500
tcttttagga atctctTtg aactgggagc acgatgactc TgagTttgag ctattaaagt 52560
acttctTaca cattg 52575

```

	<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	

[0051]	<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	
	<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 attagttgg	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 cattagttgg	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

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

[0054]	<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	
	<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

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



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

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

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

	<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	

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

[0062]	<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	
	<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 cgcat	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 acgcat	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 tacgcat	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



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

[0066]	<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	
	<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	

[0067]	<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
	tggtttctca 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
	tggtttctca aacggccgaa gttgcctctt ttaggaatct ctttgaatt gggagcacga	240
	tgactctgag tttgagctat taaagtactt cttacacatt gc	282
	<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
	tggtttctca 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
	ctggtcgtgt ttgtgtttt ctccaagtca gcacccaaag gtcaatgcac agagaccccg	120
	ggtaggtgag cgctggcttc tcaaacggcc gaagttgcct cttttaggaa tctctttgga	180
	atggggagca cgatgactct gagtttgagc tattaaagta cttcttacac attgc	235
	<210> 117 <211> 229 <212> DNA <213> 智人	

[0068]	<400> 117	
	caactaatgc agtcgataca atgcgtagat agaagaagcc ccacgggagc caggatggga	60
	ctggtcgtgt 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 ctccaattc caaagagatt	60
	cctaaaagag gcaacttcgg ccgtttgaga agccagcgct caccaccccg ggtctctgt	120
	gcattgacct ttgggtgctg acttggagaa aagcacaac acgaccagtc ccaccttggc	180
	tcccgtgggg cttcttctat ctacgcattg tatcgactgc attagtggga ctaagatgat	240
	gactcagtta aaggaggaga caaatgctga ctgtc	275
[0068]	<210> 120	
	<211> 282	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 120	
	gcaatgtgta agaagiactt taatagctca aactcagagt catcgtgctc ccaattccaa	60
	agagattcct aaaagaggca acttcggcgg ttigagaagc cagcgtcac ccaccgggg	120
	tctctgtgca ttgacctttg ggtgctgact tggagaaaag cacaacacg accagtccca	180
	tcctggctcc cgtggggctt cttctatcta cgcattgtat cgactgcatt agttggacta	240
	agatgatgac tcagttaaag gaggagacaa atgctgactg tc	282
	<210> 121	
	<211> 266	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 121	
	actttaatag ctcaaactca gagtcacgt gctccaatt ccaaagagat tcctaaaaga	60
	ggcaacttcg gccgtttgag aagccagcgc tcaccacccc ggggtctctg tgcattgacc	120
	tttgggtgct gacttggaga aaagcacaaa cacgaccagt cccatcctgg ctcccgtggg	180
	gcttcttcta tctacgcatt gtatcgactg cattagtgg actaagatga tgactcagtt	240
	aaaggaggag acaaatgctg actgtc	266
[0068]	<210> 122	
	<211> 235	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 122	

	gcaatgtgta agaagtactt taatagctca aactcagagt catcgtgctc ccaattccaa	60
	agagattcct aaaagaggca acttcggcgc ttgagaagc cagcgctcac ccacccgggg	120
	tcctctgtgca ttgacctttg ggtgctgact tggagaaaag cacaacacg accagtccca	180
	tcctggctcc cgtggggcct cttctatcta cgcattgtat cgactgcatt agttg	235
	<210> 123	
	<211> 229	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 123	
	gtaagaagta actttaatag ctcaaactca gagtcacgt gtcaccaatt ccaaagagat	60
	tcctaaaaga ggcaacttcg gccgtttgag aagccagcgc tcaccaccc ggggtctctg	120
	tgcatggacc ttgggtgct gacttggaga aaagcacaaa cacgaccagt cccatcctgg	180
	ctcccgtagg gcttcttcta tctacgcatt gtatcgactg cattagttg	229
	<210> 124	
	<211> 20	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 124	
	atttgtctcc 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 ttaactgag	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	
	tctctctct taactgagt	19

	<210> 130 <211> 18 <212> DNA <213> 智人	
	<400> 130 ctcctccttt 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 gagtcacat	20
	<210> 133 <211> 18 <212> DNA <213> 智人	
	<400> 133 cctttaactg agtcacat	18
[0070]	<210> 134 <211> 20 <212> DNA <213> 智人	
	<400> 134 cctttaactg agtcacatc	20
	<210> 135 <211> 19 <212> DNA <213> 智人	
	<400> 135 ctttaactga gtcacatc	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	

[0071]	<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
[0071]	<210> 141	
	<211> 18	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 141	
	caactaatgc agtcgata	18
	<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
[0071]	<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	



[0073]	<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	
	<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 gataca	16	
	<210> 162		
	<211> 16		
	<212> DNA		
	<213> 智人		
	<400> 162		
	taatgcagtc gataca	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

[0075]	<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	
	<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	
	gatacaatgc gtagatag	18
	<210> 190	
	<211> 19	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 190	
	gatacaatgc gtagataga	19
	<210> 191	
	<211> 20	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 191	
	gatacaatgc 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
[0078]	<210> 201 <211> 17 <212> DNA <213> 智人	
	<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	

[0080]	<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		
	<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	

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

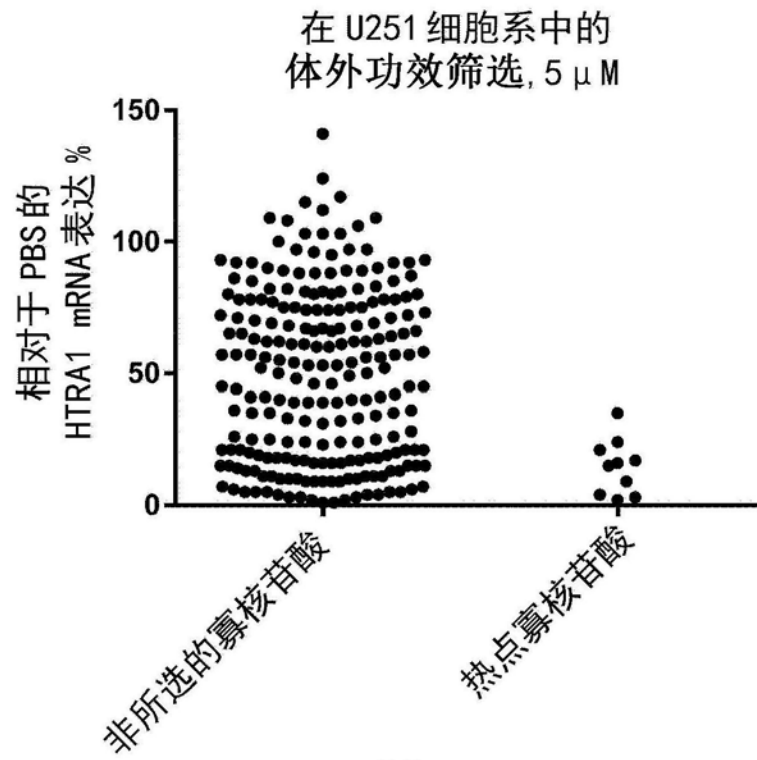


图1

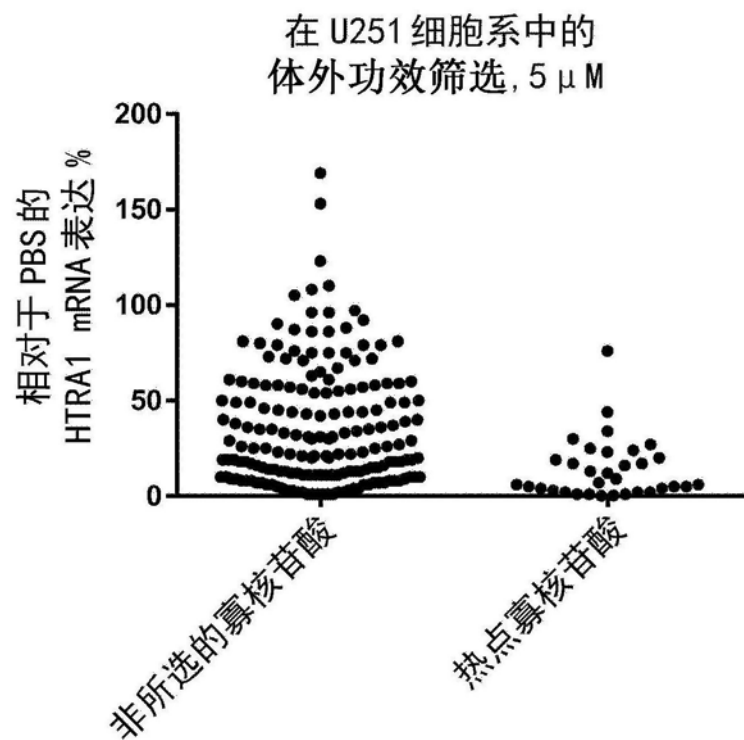


图2

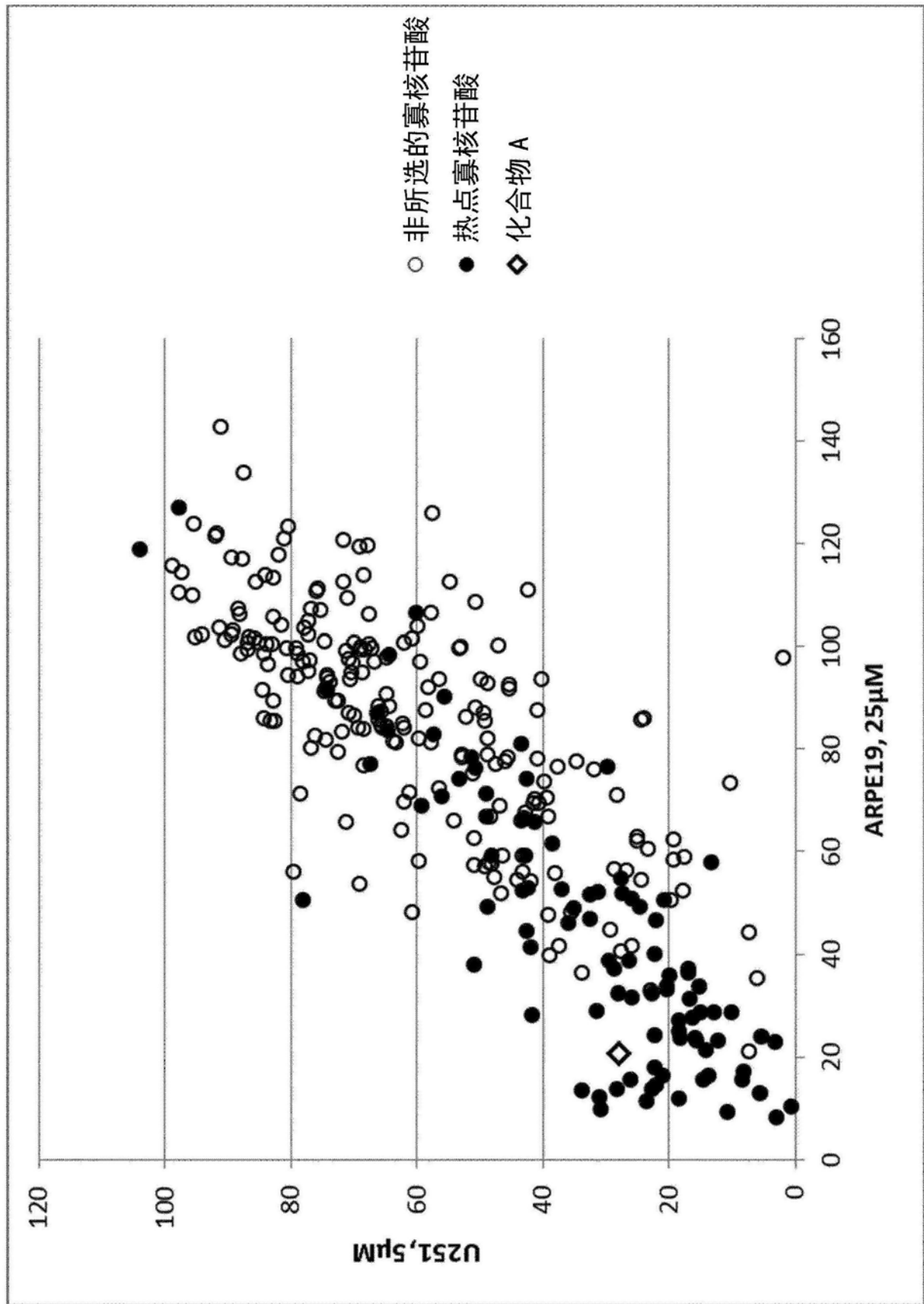


图3

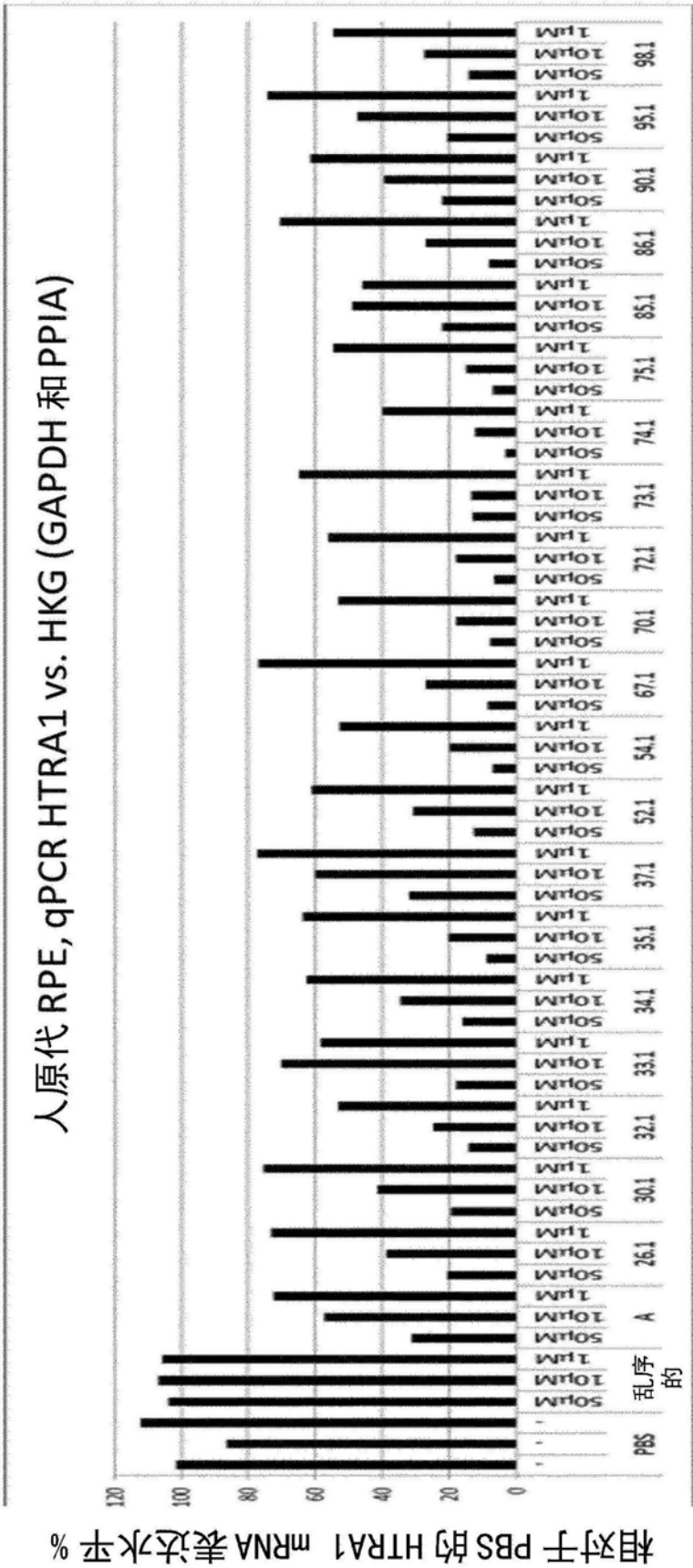


图4

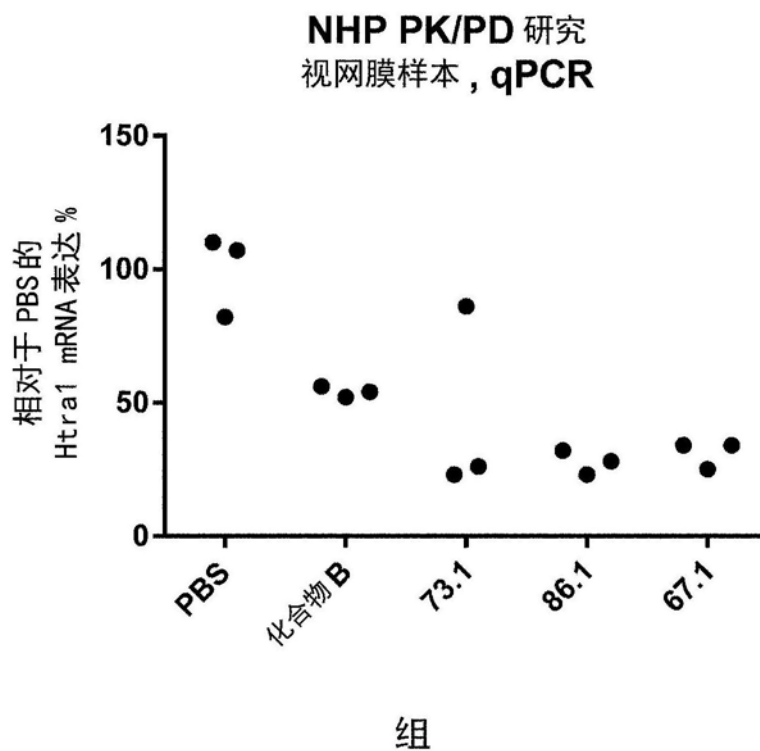


图5A

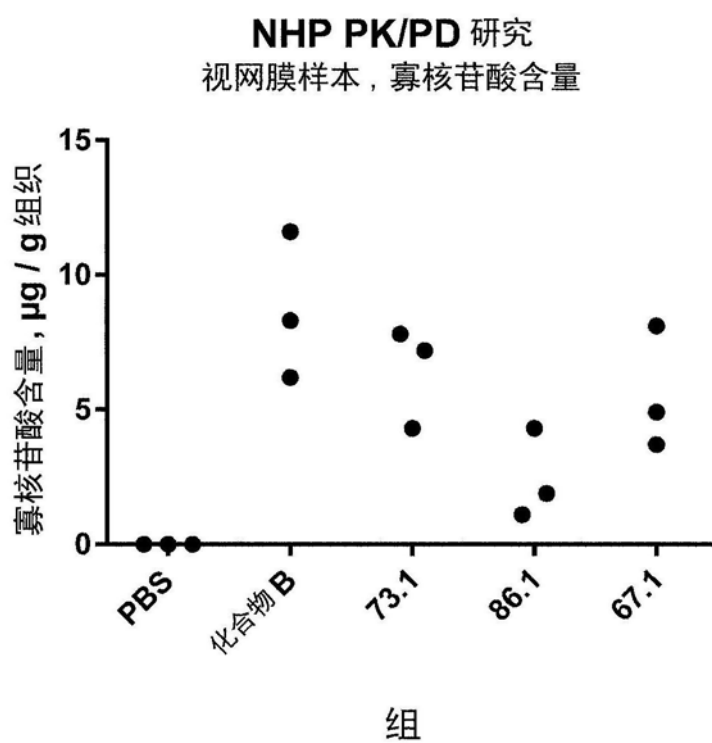


图5B

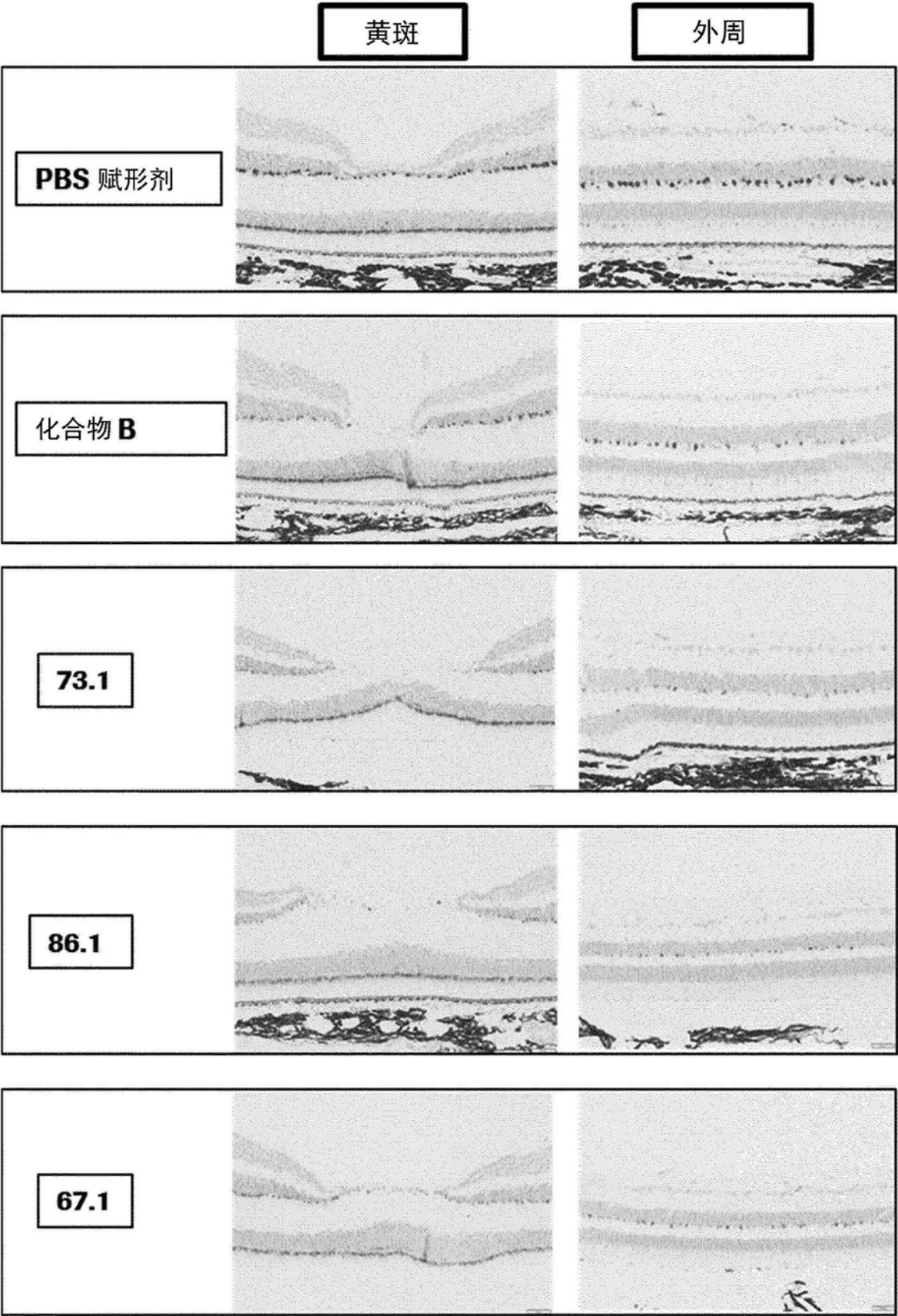


图5C

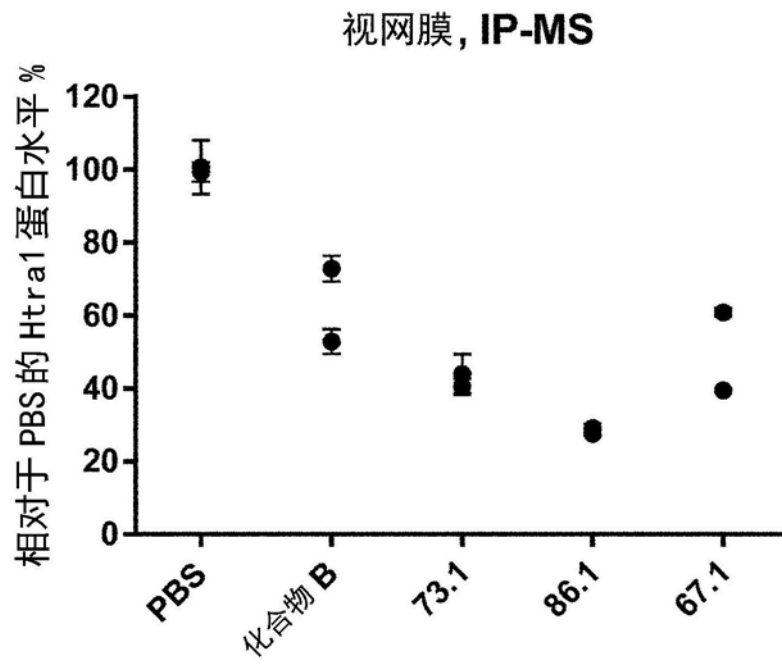


图5D

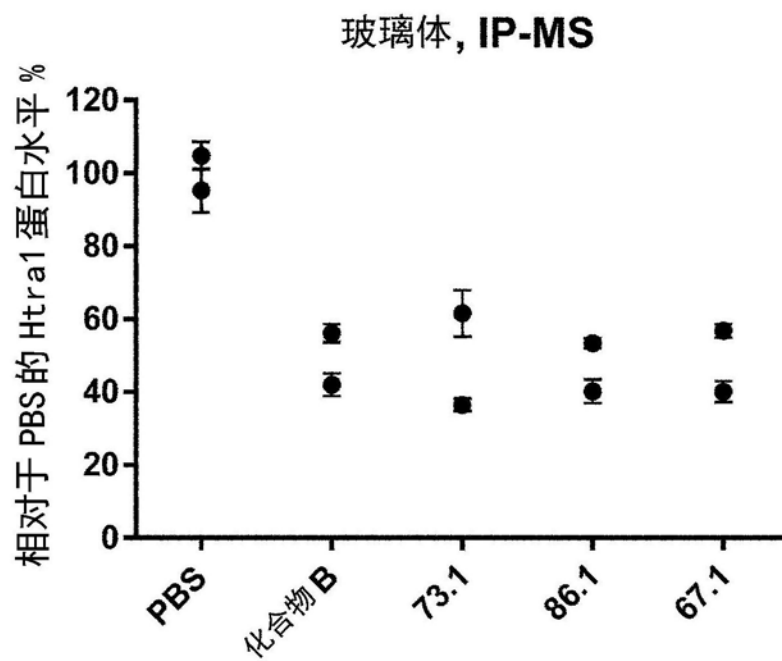


图5E



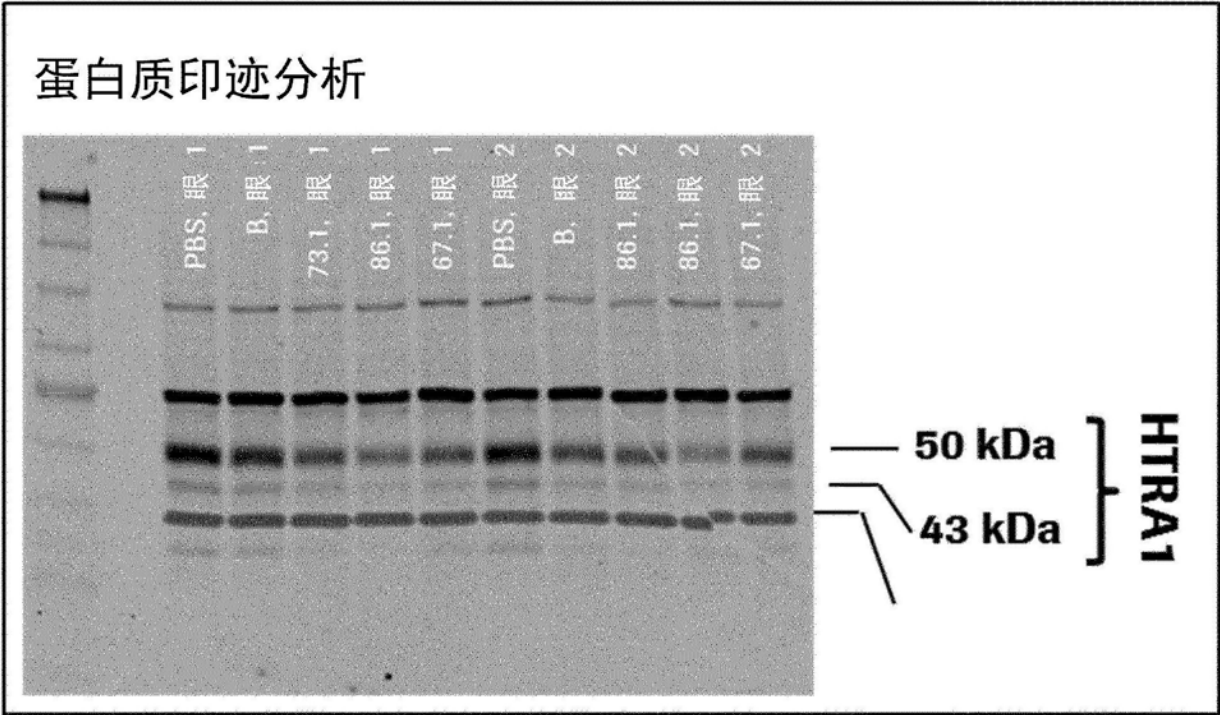


图5F

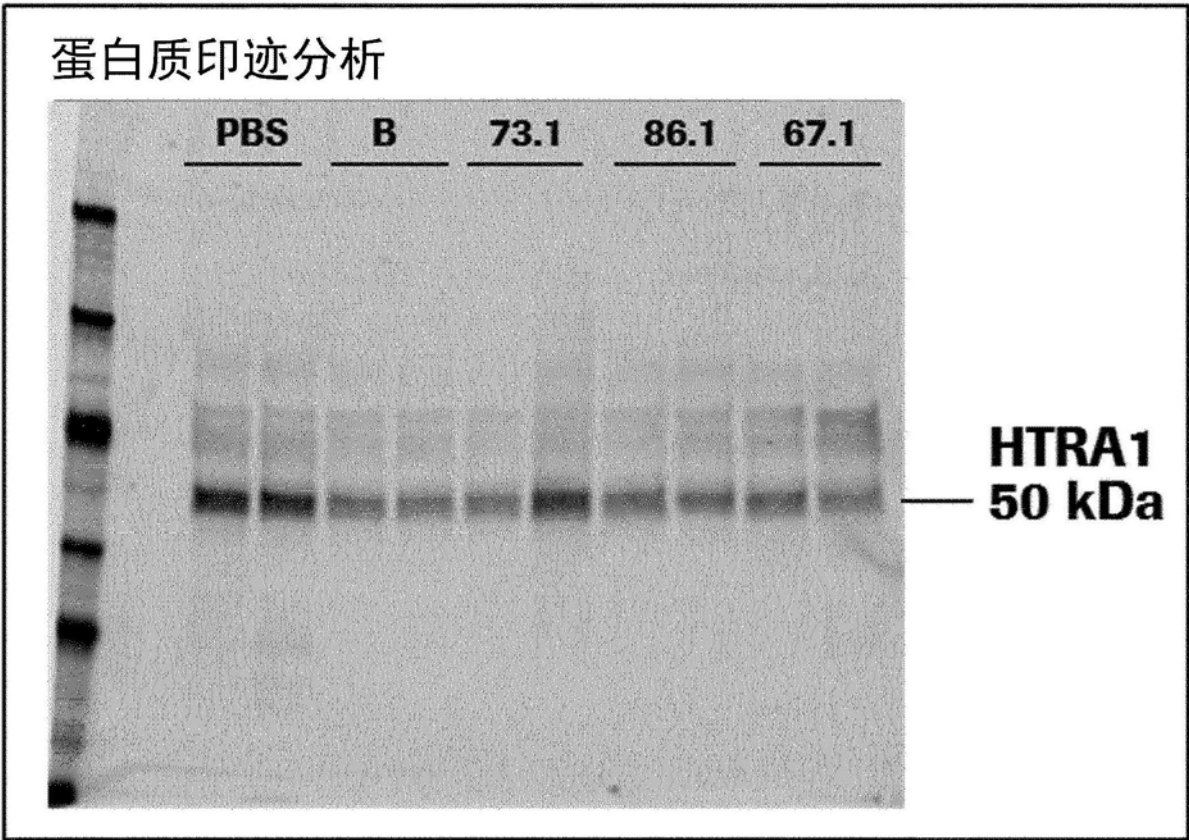


图5G

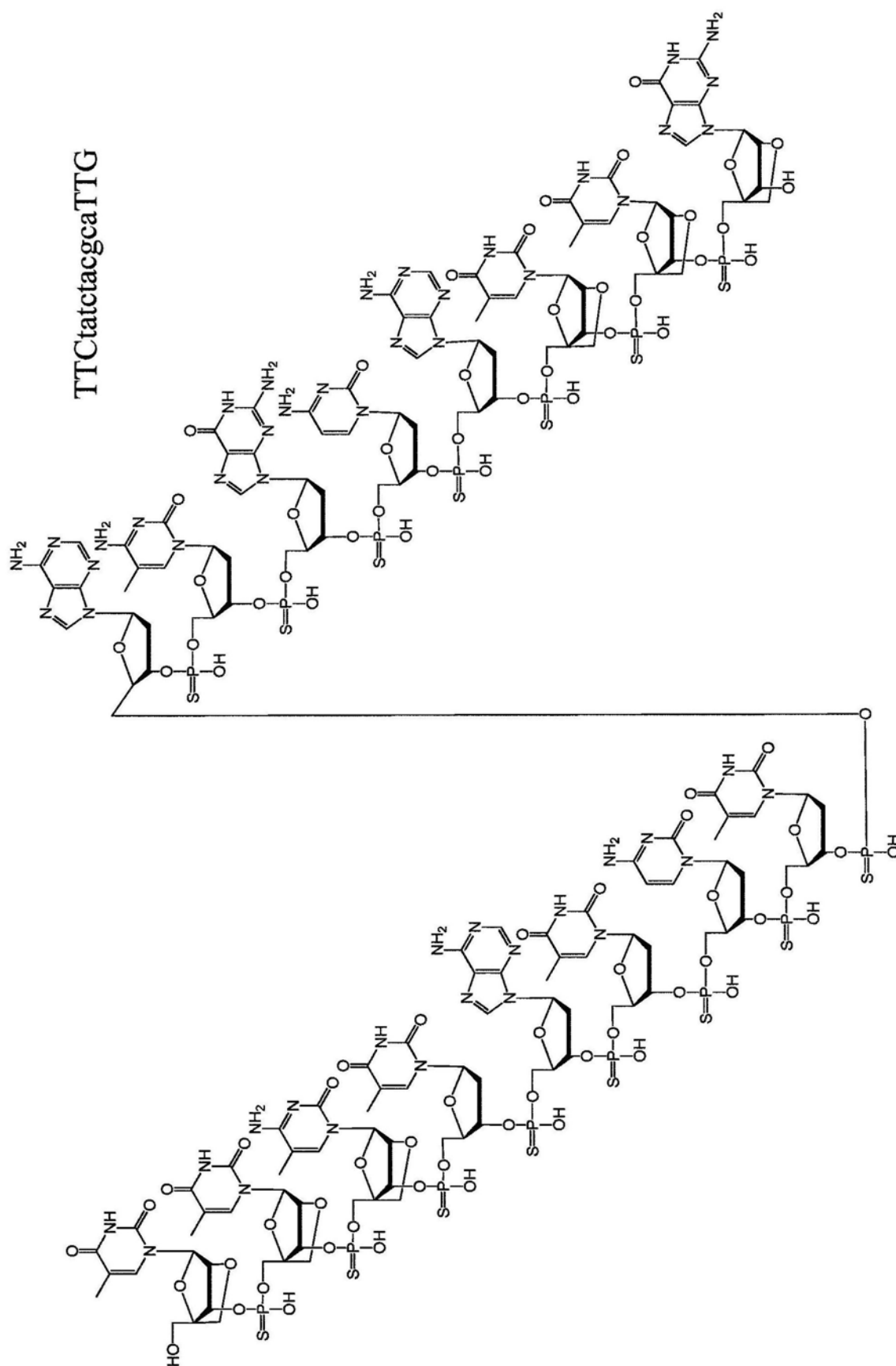


图6

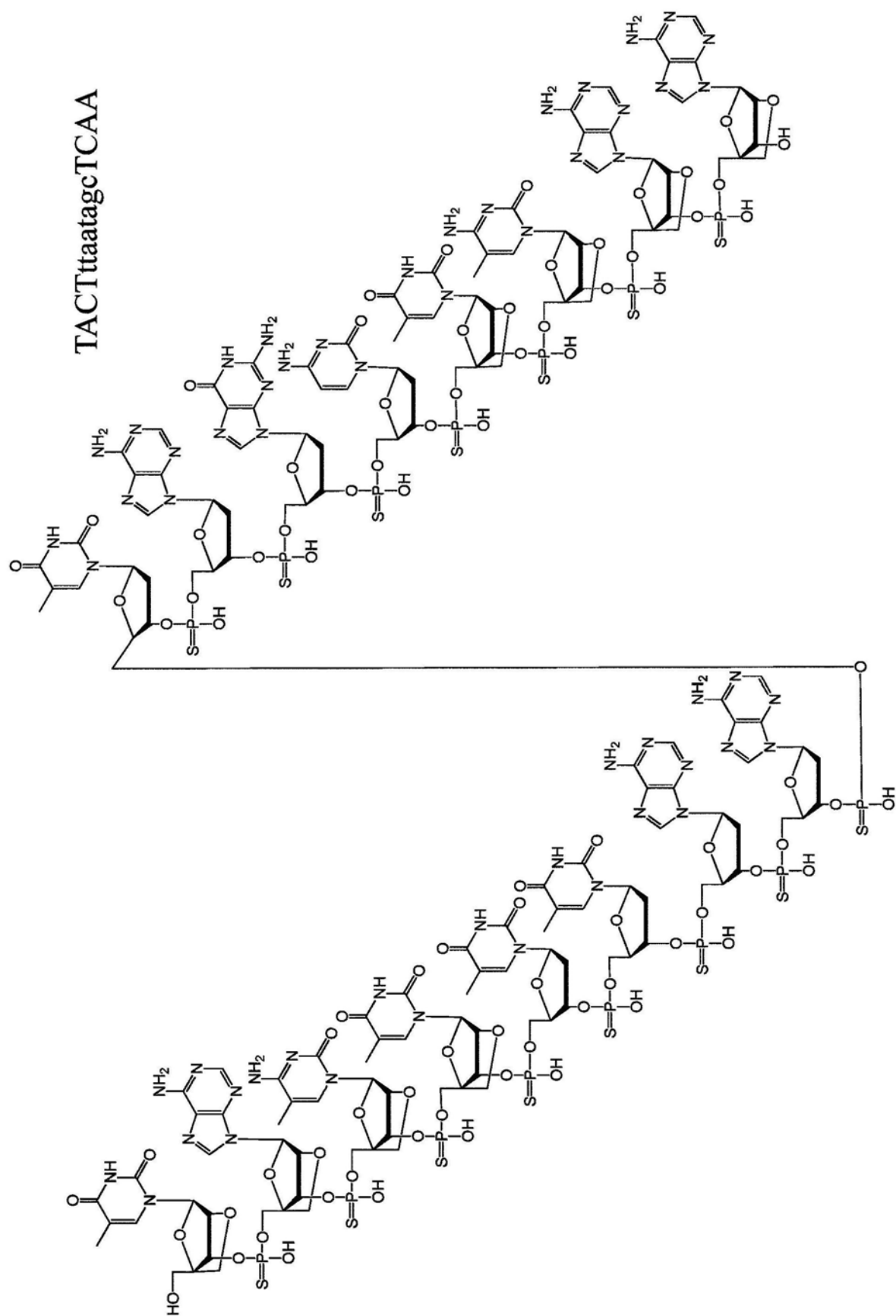


图7

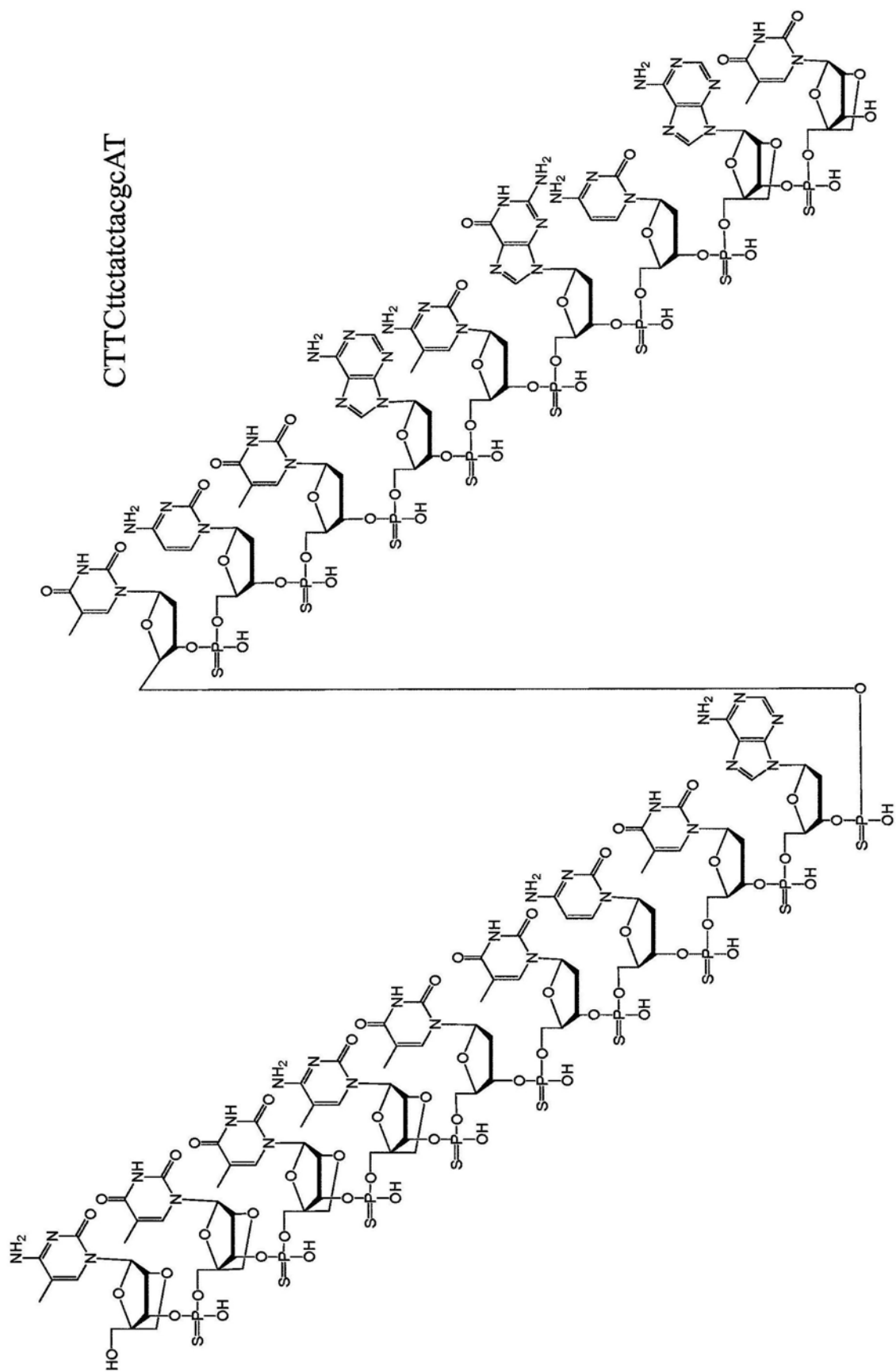


图8

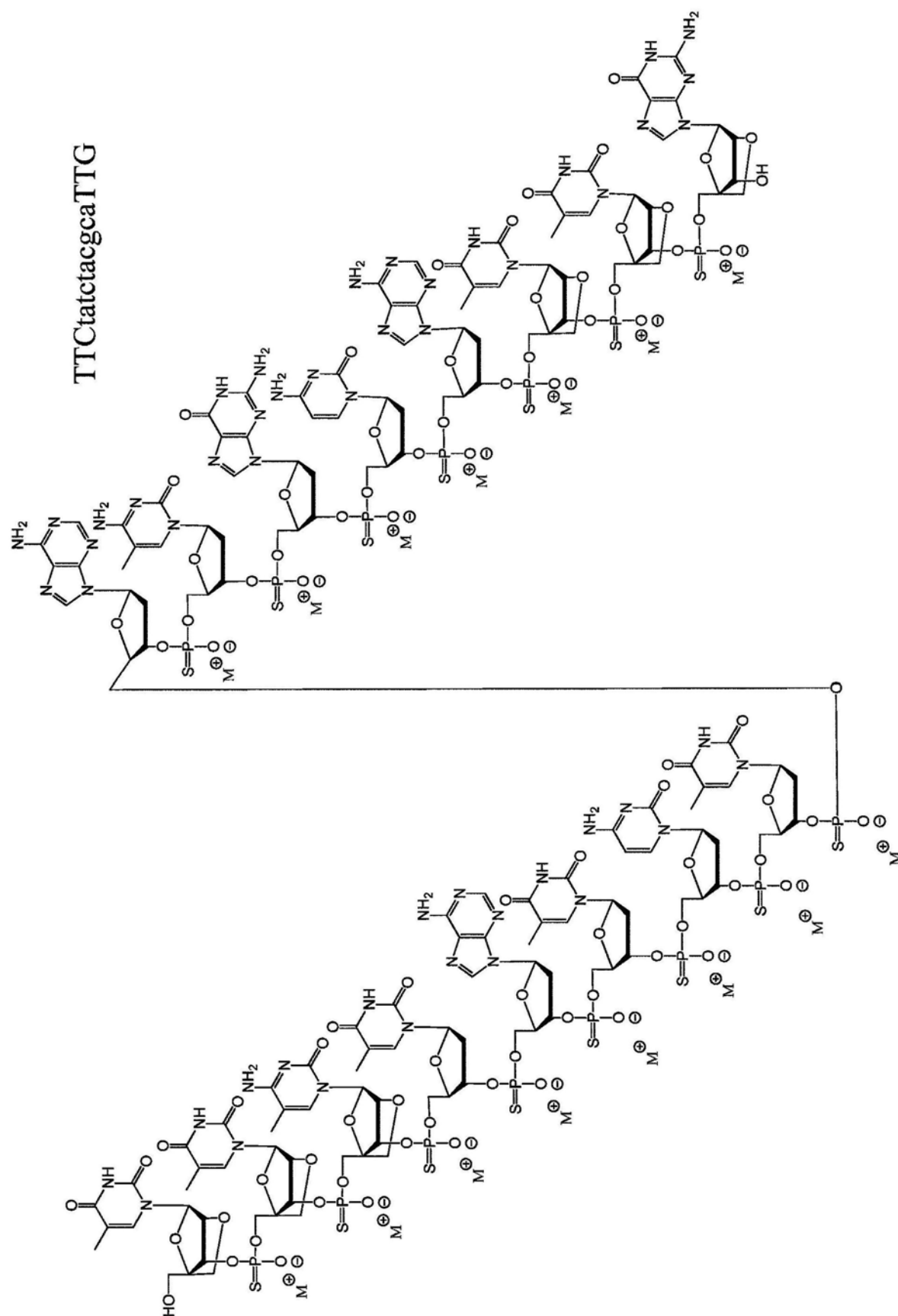


图9

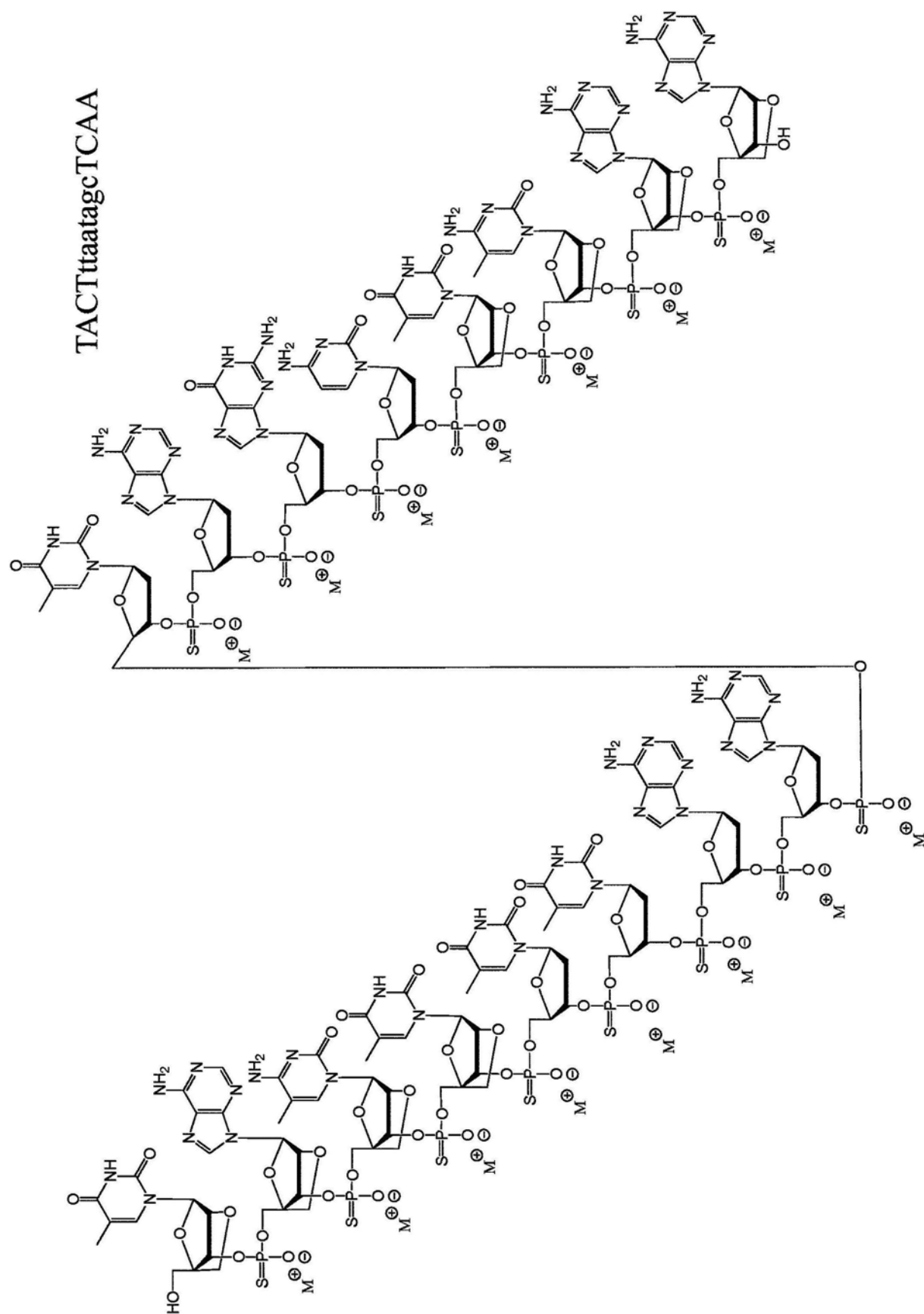


图10

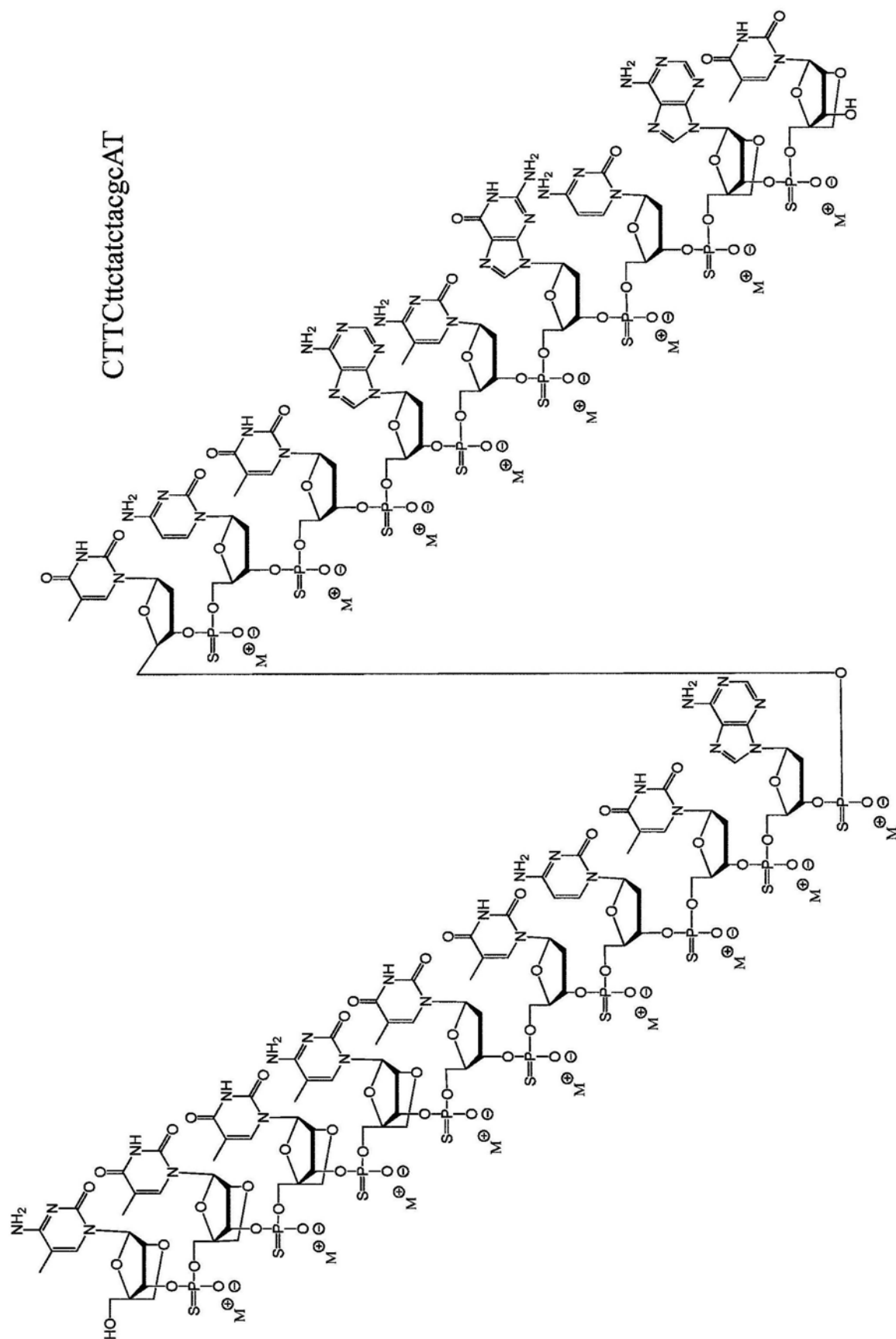


图11

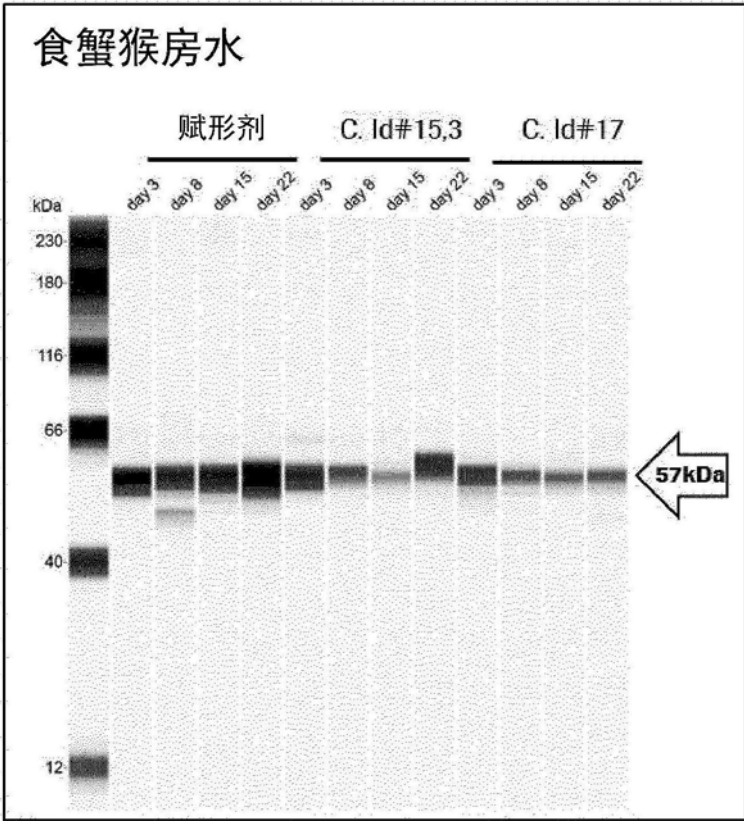


图12A



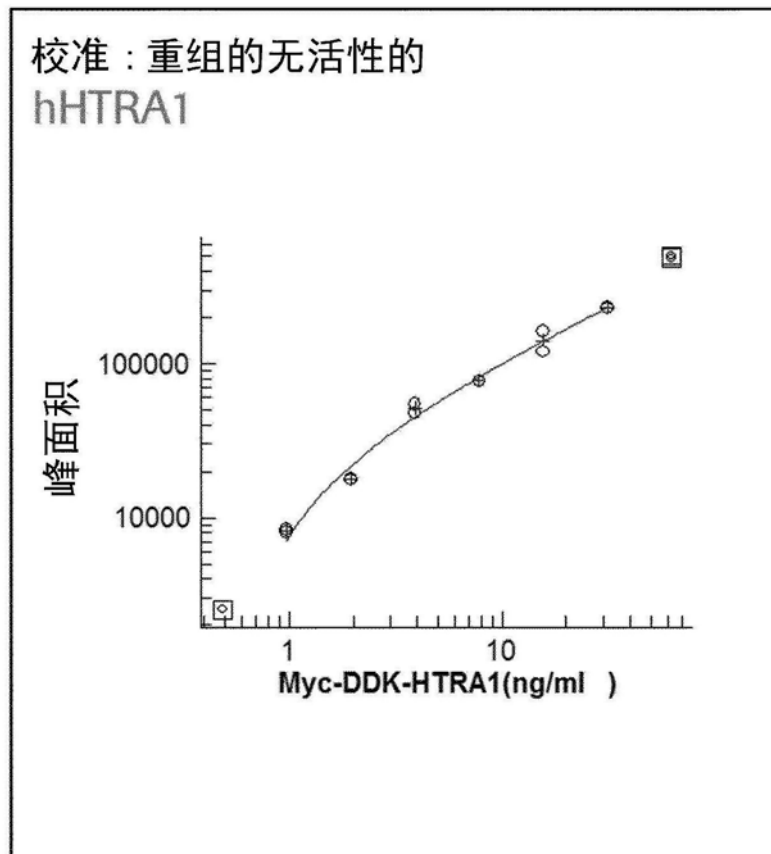


图12B

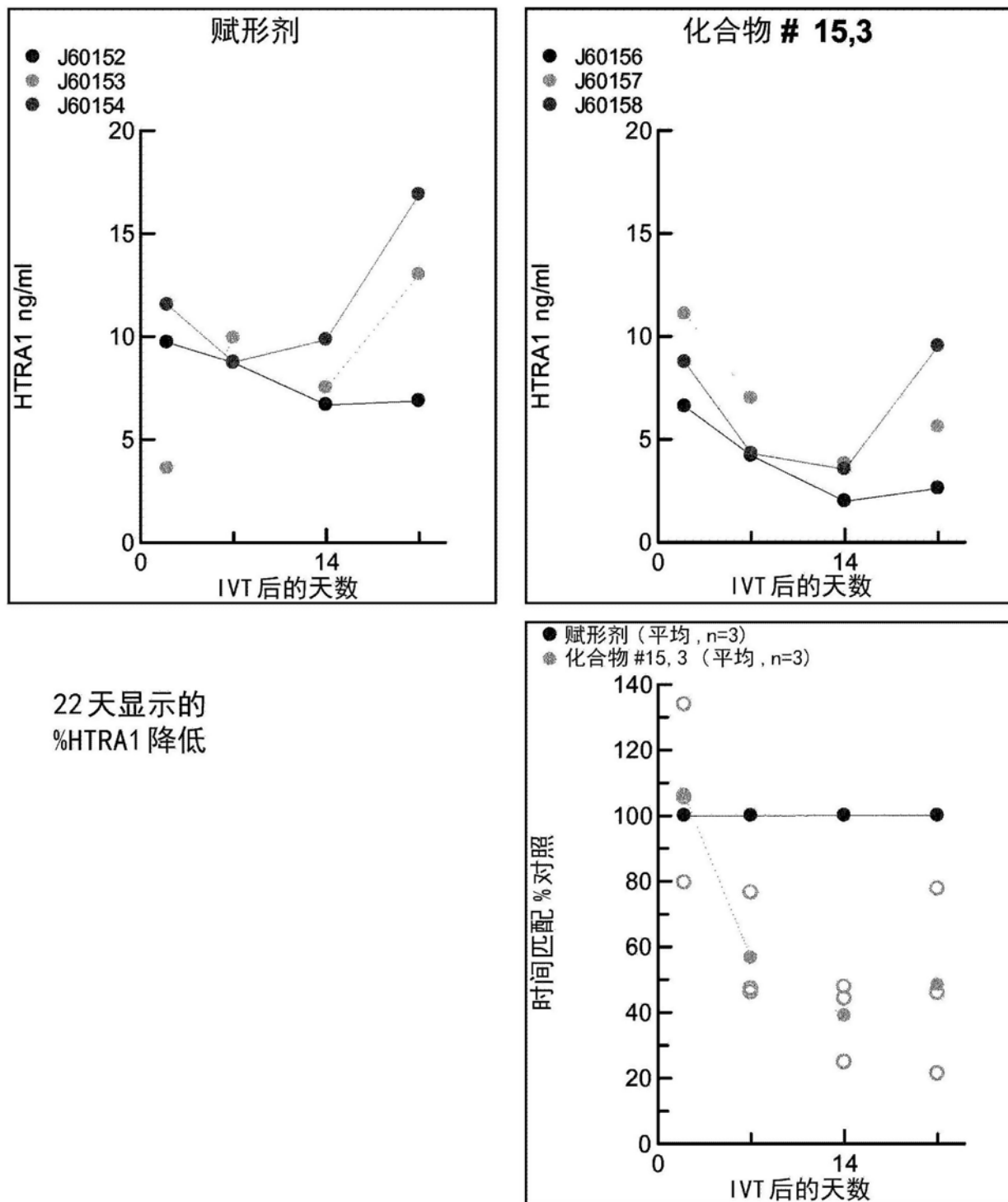
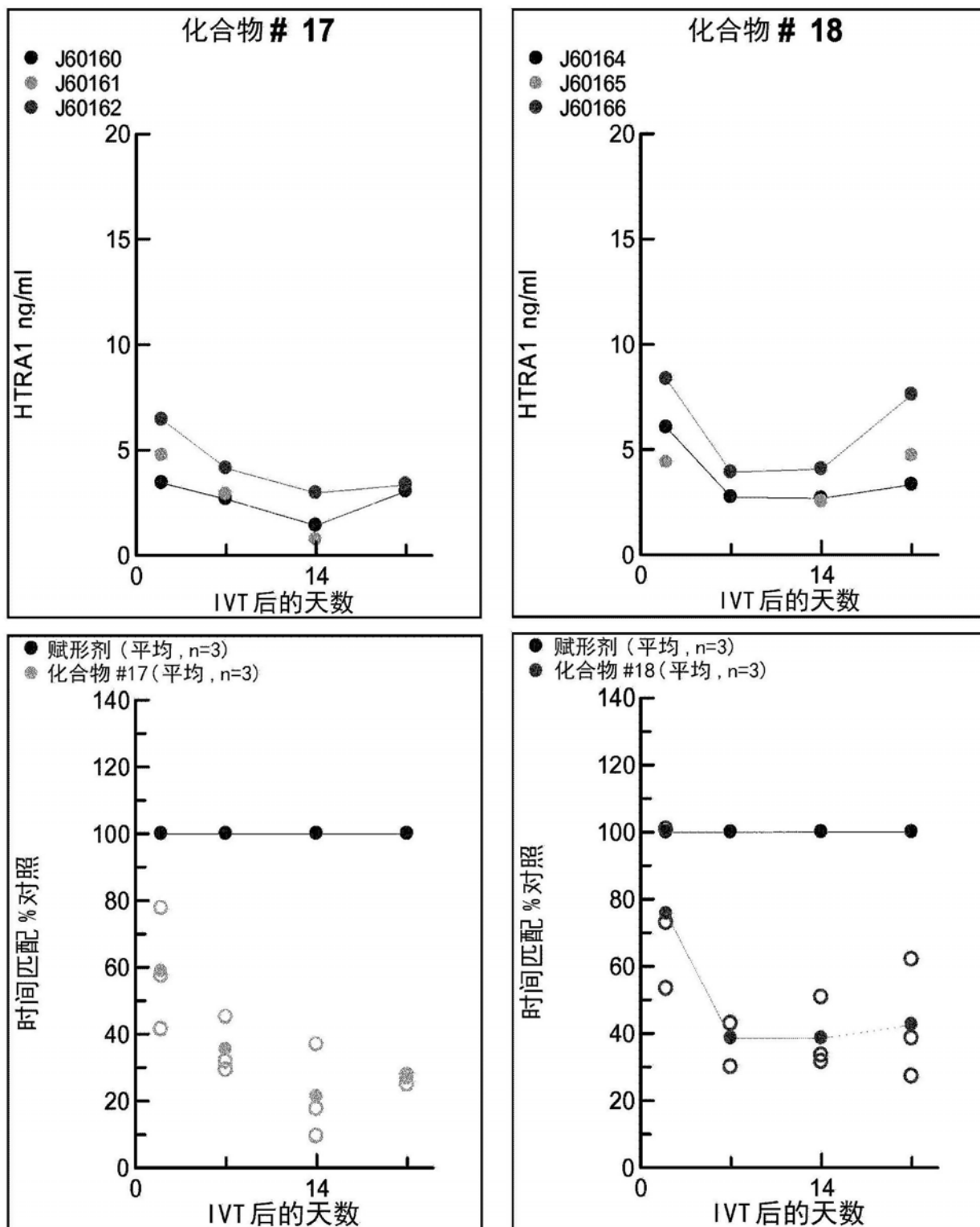
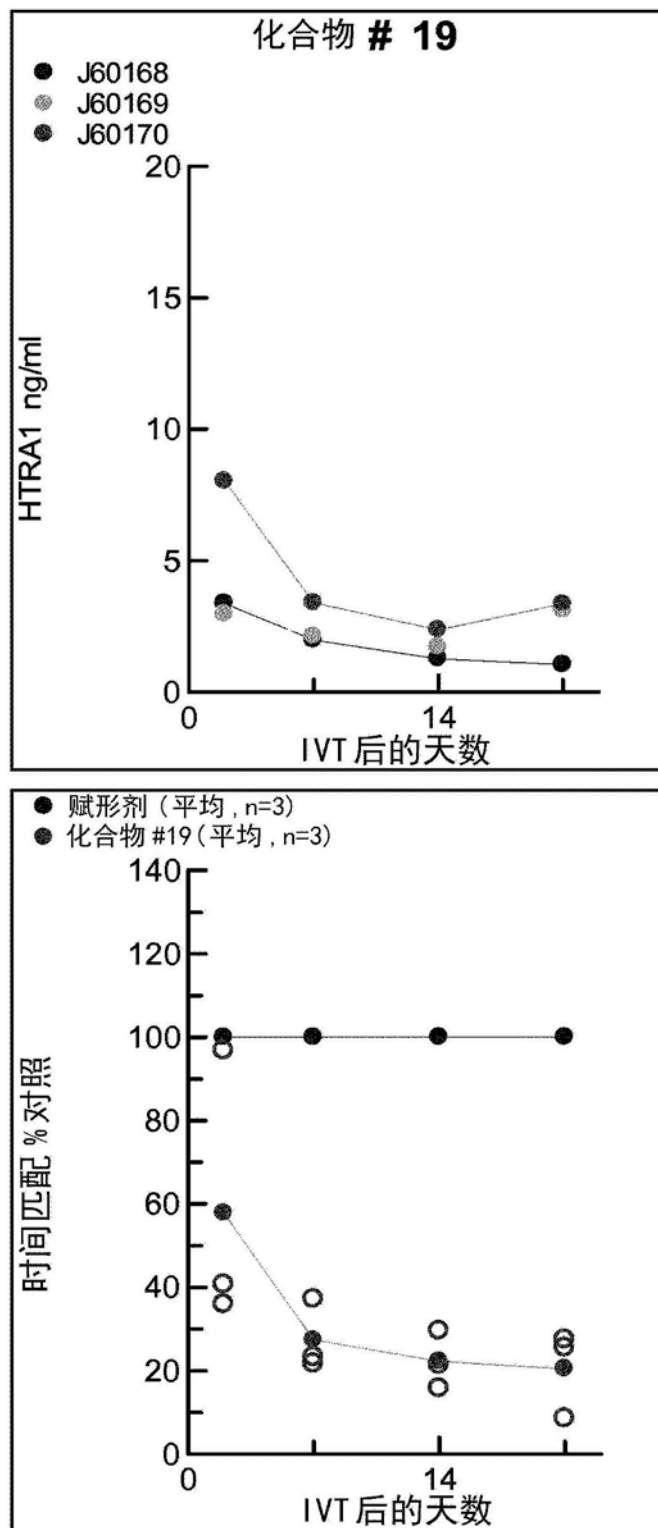


图12C



22天显示的  
%HTRA1 降低

图12C (续)



22天显示的  
%HTRA1降低

图12C (续)

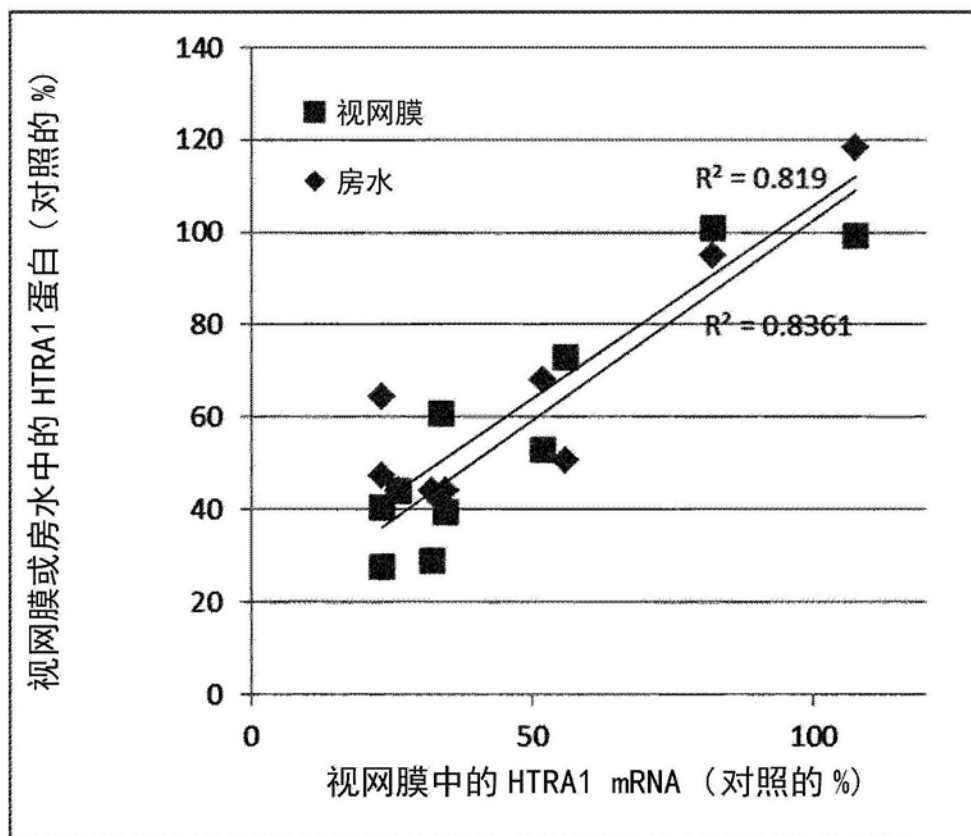


图13

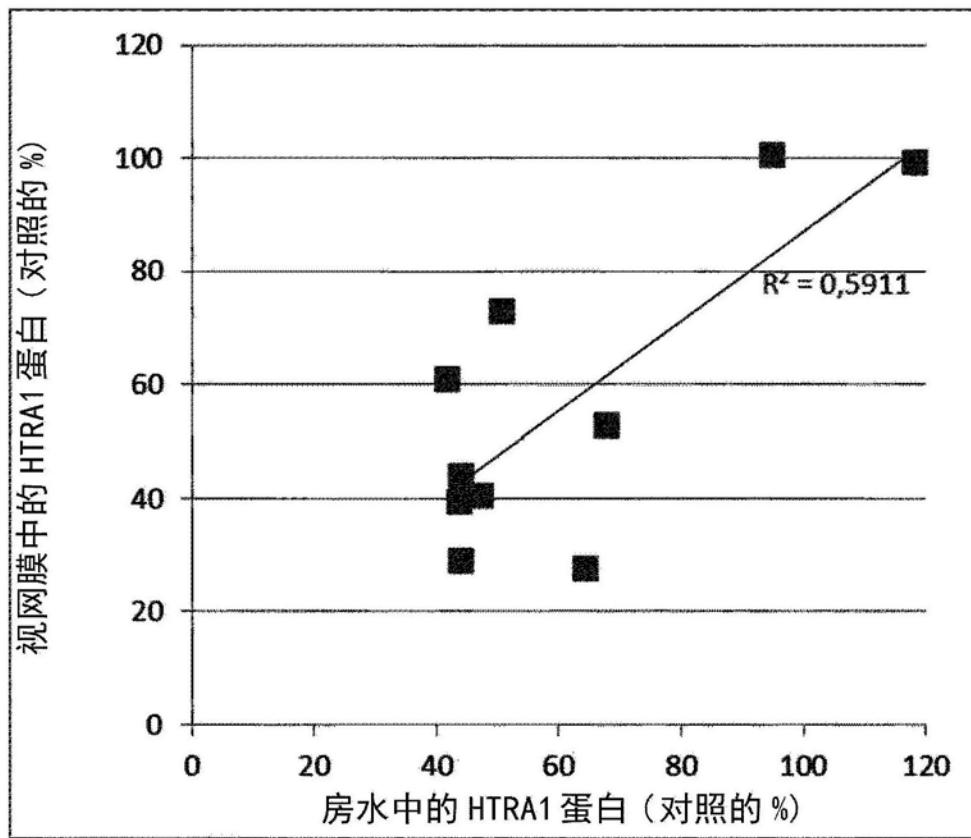


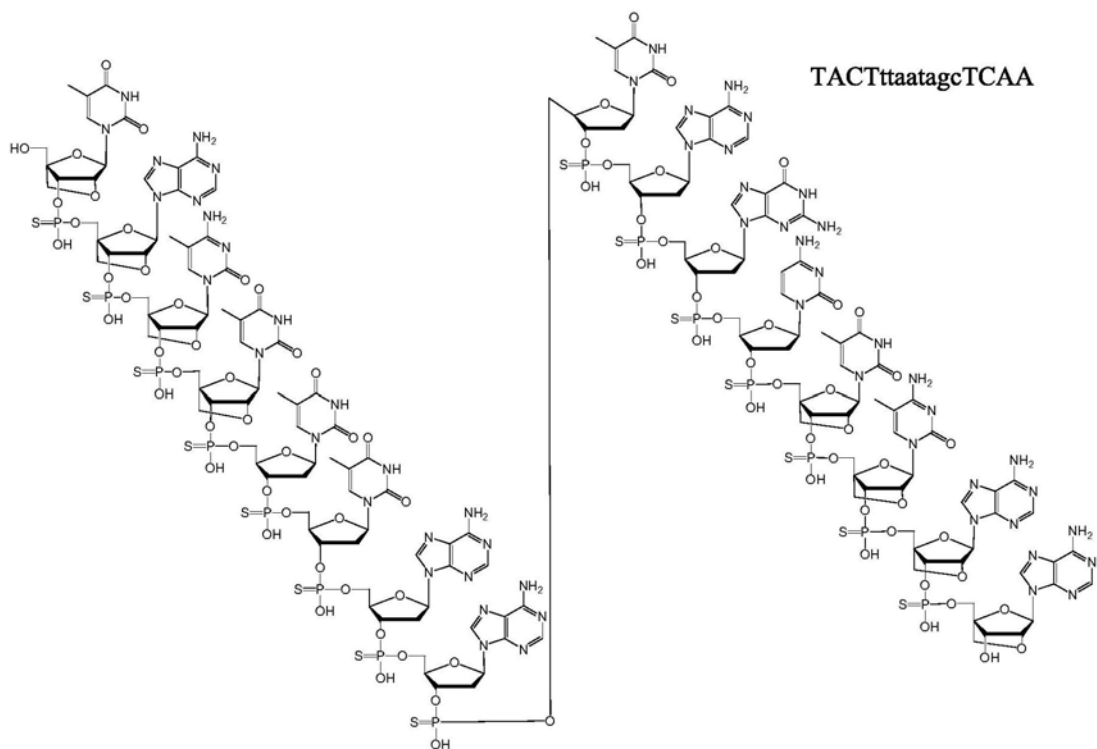
图14

1. 下式的寡核苷酸:

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

其中大写字母代表 $\beta$ -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 $^m C$ 代表5甲基胞嘧啶 $\beta$ -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:

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

其中大写字母代表 $\beta$ -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 $^m C$ 代表5甲基胞嘧啶 $\beta$ -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。