



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 698 34 831 T2** 2007.02.01

(12) **Übersetzung der europäischen Patentschrift**

(97) **EP 1 038 015 B1**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **698 34 831.1**

(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/EP98/08543**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **98 966 865.2**

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 1999/032643**

(86) PCT-Anmeldetag: **17.12.1998**

(87) Veröffentlichungstag
der PCT-Anmeldung: **01.07.1999**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **27.09.2000**

(97) Veröffentlichungstag
der Patenterteilung beim EPA: **07.06.2006**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **01.02.2007**

(51) Int Cl.⁸: **C12N 15/85** (2006.01)

C07K 14/47 (2006.01)

C07K 16/18 (2006.01)

C12Q 1/68 (2006.01)

(30) Unionspriorität:

9726804 18.12.1997 GB

(73) Patentinhaber:

**Vlaams Interuniversitair Instituut voor
Biotechnologie, Zwijnaarde, BE**

(74) Vertreter:

Weickmann & Weickmann, 81679 München

(84) Benannte Vertragsstaaten:

**AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT,
LI, LU, MC, NL, PT, SE**

(72) Erfinder:

**VAN BROECKHOVEN, Christine, B-2650 Edegem,
BE; RAEYMAEKERS, Peter, B-2547 Lint, BE;
DEL-FAVERO, Jurgen, B-3300 Tienen, BE**

(54) Bezeichnung: **GEN, DAS IM ZUSAMMENHANG STEHT MIT GEMÜTSKRANKHEITEN**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung

[0001] Die Erfindung betrifft die Bestimmung von genetischen Faktoren, welche mit der psychiatrischen Gesundheit verbunden sind, unter besonderem Bezug auf ein humanes Gen oder Gene, welches bzw. welche zu der Manifestation einer bipolaren Störung bzw. einer manisch-depressiven Krankheit in betroffenen Individuen beiträgt oder dafür verantwortlich ist. Die Erfindung stellt insbesondere, wenngleich nicht ausschließlich, ein Verfahren zum Identifizieren und Charakterisieren solch eines Gens oder solcher Gene des humanen Chromosoms 18 bereit. Die Erfindung betrifft auch Verfahren zum Bestimmen der genetischen Anfälligkeit eines Individuums für eine bipolare Störung. Mit bipolaren Störungen sind die folgenden Erkrankungen gemeint, wie sie in "Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders", Version 4 (DSM-IV) Taxonomie (DSM-IV-Codes in Klammern) definiert sind: – Gemütskrankheiten (296.XX, 300.4, 311, 301.13, 295.70), Schizophrenie und verwandte Erkrankungen (295.XX, 297.1, 298.8, 297.3, 298.9), Angsterkrankungen (300.XX, 309.81, 308.3), Anpassungsstörungen (309.XX) und Persönlichkeitserkrankungen (Codes 301.XX).

[0002] Die erfindungsgemäßen Verfahren werden insbesondere im Verhältnis mit genetischen Faktoren veranschaulicht, welche mit einer Familie von Gemütskrankungen verbunden sind, welche als Spektrum der bipolaren Erkrankungen (BP) bzw. der manisch-depressiven Erkrankungen bekannt sind.

[0003] Eine bipolare Erkrankung (BP) ist eine schwere psychiatrische Erkrankung, welche gekennzeichnet ist durch Störungen des Gemüts, welche von einem extremen Zustand der Hochstimmung (Manie) bis zu einem schweren Zustand der Dysphorie (Depression) reichen. Es sind zwei Arten einer bipolaren Erkrankung beschrieben worden: BP-Erkrankung Typ I (BPI) ist gekennzeichnet durch hauptsächlich depressive Abschnitte, welche sich mit Phasen der Manie abwechseln, und BP-Erkrankung Typ II (BPII), welche durch hauptsächlich depressive Abschnitte gekennzeichnet ist, welche sich mit Phasen der Hypomanie abwechseln. Verwandte von BP-Probanden weisen ein verstärktes Risiko für BP, für eine monopolare Erkrankung (Patienten, welche nur depressive Abschnitte erleben; UP), für Zylothymie (geringere Depression und Hypomanie-Abschnitte; CY) ebenso wie für schizoaffektive Psychosen des manischen (SAm) und des depressiven (SAd) Typs. Basierend auf diesen Beobachtungen werden, BP, CY, UP und SA als Erkrankungen des BP-Spektrums bezeichnet. Die Beteiligung von genetischen Faktoren bei der Ätiologie von Erkrankungen des BP-Spektrums wurde durch Familien-, Zwillings- und Adoptionsuntersuchungen nahegelegt (Tsuang und Faraone (1990), „The Genetics of Mood Disorders“, Baltimore, The John Hopkins University Press). Jedoch ist das genaue Muster der Weitergabe unbekannt. In einigen Untersuchungen stützt eine komplexe Spaltungsanalyse die Existenz eines einzelnen Hauptlokus für BP (Spence et al., (1995), Am J. Med. Genet (Neuropsych. Genet.) 60 S.370-376). Andere Wissenschaftler schlagen ein Modell mit einem Anfälligkeitsschwellenwert vor, wobei sich die Anfälligkeit, die Erkrankung zu entwickeln, aus der additiven Kombination von mehreren genetischen Effekten und Umwelteffekten ergibt (McGuffin et al., (1994), „Affective Disorders“; Seminars in Psychiatric Genetics Gaskell, London S. 110-127).

[0004] Aufgrund des komplexen Vererbungsmodus werden bei Familien, bei welchen eine BP-Erkrankung gemäß den Mendelschen Gesetzen übertragen zu werden scheint, Strategien mit parametrischer und nicht parametrischer Verbindung angewendet. Frühe Befunde über die Verbindung auf den Chromosomen 11p15 (Egeland et al. (1987), Nature 325 S. 783-787) und Xq27-q28 (Mendlewicz et al. (1987) The Lancet 1 S. 1230-1232; Baron et al. (1987) Nature 326 S. 289-292) sind kontrovers und konnten anfänglich nicht wiederholt werden (Kelsoe et al. (1989) Nature 242 S. 238-243; Baron et al. (1993) Nature Genet 3 S. 49-55). Mit der Entwicklung einer humanen genetischen Karte, welche mit höchst polymorphen Markern gesättigt ist, und der kontinuierlichen Entwicklung von Datenanalysenverfahren wurden zahlreiche neue Verbindungsuntersuchungen gestartet. In mehreren Untersuchungen wurde ein Anhaltspunkt oder die Andeutung eines Anhaltspunktes für eine Verbindung mit bestimmten Regionen auf den Chromosomen 4, 12, 18, 21 und X gefunden (Blackwood et al. (1996) Nature Genetics 12 S. 427-430, Craddock et al. (1994) Brit J. Psychiatry 164 S. 355-358, Berrettini et al. (1994), Proc Natl Acad Sci USA 91 S. 5918-5921, Straub et al. (1994) Nature Genetics 8 S. 291-296 und Pekkarinen et al. (1995) Genome Research 5 S. 105-115). Um die Validität der Ergebnisse der gemeldeten Verbindungen zu untersuchen, müssen diese Befunde in anderen unabhängigen Untersuchungen wiederholt werden.

[0005] Kürzlich ist die Verbindung einer bipolaren Störung mit der perizentrometrischen Region auf dem Chromosom 18 beschrieben worden (Berrettini et al. 1994). Es wurde auch über ein Ringchromosom 18 mit Bruchpunkten und deletierten Regionen bei 18pter-p11 und 18q23-qter bei drei nicht verwandten Patienten mit einer BP-Erkrankung oder verwandten Syndromen berichtet (Craddock et al., 1994). Die Verbindung mit dem Chromosom 18p wurde von Stine et al. (1995) Am. J. Hum. Genet. 57 S. 1348-1394 wiederholt, welche auch einen hinweisenden Anhaltspunkt auf einen Lokus auf 18q21.2-q21.32 in der gleichen Studie berichteten. In-

interessanterweise beobachteten Stine et al. einen "parent-of-origin"-Effekt: Das Anzeichen der Verbindung war in den väterlichen Ahnen bzw. Abkömmlingen am stärksten, wobei der Vater des Probanden oder einer der Blutsverwandten des Vaters des Probanden betroffen ist.

[0006] In einer unabhängigen Wiederholungsstudie untersuchten die Erfinder der vorliegenden Erfindung die Verbindung mit Markern des Chromosoms 18 in 10 belgischen Familien mit einem bipolaren Probanden. Um die ursächlichen Gene zu lokalisieren, wurde in diesen Familien die Verbindungsanalyse oder die Wahrscheinlichkeitsmethode verwendet. Dieses Verfahren untersucht innerhalb einer Familie die Segregation eines definierten Erkrankungsphänotyps mit der Segregation von polymorphen genetischen Markern, welche im humanen Genom verteilt sind. Es wird das Wahrscheinlichkeitsverhältnis der Beobachtung einer Cosegregation der Erkrankung und eines genetischen Markers hinsichtlich Verbindung versus keine Verbindung berechnet, und der log dieses Verhältnisses oder der log der Wahrscheinlichkeit ist die LOD-Score-Statistik z. Ein LOD-Score von 3 (oder Wahrscheinlichkeitsverhältnis von 1000 oder größer) wird als signifikanter statistischer Hinweis für eine Verbindung angenommen. Bei der Studie der Erfinder wurde kein Hinweis auf eine Verbindung mit den perizentrometrischen Regionen gefunden, jedoch wurde in einer der Familien, in MAD31, einer belgischen Familie mit einem BP11-Probanden, die Andeutung einer Verbindung mit den bei 18q21.33-q23 lokalisierten Markern gefunden (De Bruyn et al. (1996) *Biol Psychiatry* 39 S. 679-688). Eine Multipoint-Verbindungsanalyse ergab in dem Zwischenraum zwischen den STR („Short Tandem Repeats“)-Polymorphismen D18S51 und D18S61 den höchsten LOD-Score, wobei ein maximaler Multipoint-LOD-Score +1.34 betrug. Simulationsstudien zeigten, dass dieser LOD-Score innerhalb des Bereichs dessen liegt, was bei der für diese Familie verfügbaren Information für einen bestimmten verbundenen Marker erwartet werden kann. Ebenso wies eine Paaranalyse betroffener Blutsverwandter die Null-Hypothese der Nichtverbindung für mehrere der untersuchten Marker auch zurück. Zwei andere Gruppen fanden auch einen Anhaltspunkt für eine Verbindung einer bipolaren Störung mit 18q (Freimer et al. (1996) *Nature Genetics* 12 S. 436-441, Coon et al. (1996) *Biol Psychiatry* 39 S. 689-696). Obwohl die Kandidatenregionen in den unterschiedlichen Studien nicht vollständig überlappen, deuten sie alle auf das Vorliegen eines Anfälligkeitslokus bei 18q21-q23 hin.

[0007] Die Erfinder haben nun weitere Untersuchungen in der Chromosomenregion 18q in der Familie MAD31 durchgeführt. Durch eine Analyse der Cosegregation der bipolaren Störung bei MAD31 mit 12 polymorphen STR-Markern, welche zuvor zwischen die zuvor erwähnten Markern D18S51 und D18S61 örtlich festgelegt wurden, und einer anschließenden LOD-Score-Analyse wie oben beschrieben, haben die Erfinder die Kandidatenregion von Chromosom 18 weiter verfeinert, in welcher ein Gen, verbunden mit Gemütskrankungen wie etwa Erkrankungen des bipolaren Spektrums lokalisiert sein kann, und haben eine physische Karte konstruiert. Die fragliche Region kann somit verwendet werden, um ein Gen oder Gene, welche die psychiatrische Gesundheit oder das Gemüt beeinflussen, zu lokalisieren, zu isolieren und zu sequenzieren.

[0008] Die Erfinder haben auch eine YAC (künstliches Hefechromosom, „yeast artificial chromosome“)-Contig-Karte der Kandidatenregion konstruiert, um die relative Anordnung der 12 STR-Marker zu bestimmen, kartiert durch eine Cosegregationsanalyse, und sie haben 7 Klone aus der YAC-Bibliothek identifiziert, welche die Kandidatenregion beinhalten.

[0009] Im Verfahren zur Identifizierung und Charakterisierung des relevanten Gens oder der Gene kann eine Anzahl von Verfahren mit den identifizierten YAC-Klonen, und, falls geeignet, mit der DNA eines Individuums durchgeführt werden, welches von einer hierin definierten bipolaren Erkrankung betroffen ist. Beispielsweise haben die Erfinder YAC-Klone verwendet, welche die interessierende Region im Chromosom 18 umfassen, um durch CAG- oder CTG-Fragmentation neue Gene zu identifizieren, welche möglicherweise an der Manifestation von Gemütskrankungen oder verwandten Erkrankungen beteiligt sind.

[0010] Es können mit den YAC-Klonen auch andere Verfahren durchgeführt werden, um die Kandidatengene wie oben beschrieben zu identifizieren.

[0011] Wenn die Kandidatengene einmal identifiziert worden sind, ist es möglich, die Anfälligkeit eines Individuums für eine bipolare Störung durch Nachweisen des Vorliegens eines Polymorphismus zu bewerten, welcher mit einer bipolaren Erkrankung verbunden ist, in solchen Genen.

[0012] Entsprechend betrifft ein erster Aspekt der vorliegenden Erfindung die Verwendung einer 8.9 cM-Region des humanen Chromosoms 18q, welche zwischen den polymorphen Markern D18S68 und D18S979 angeordnet ist, oder eines Fragments davon, zur Identifizierung zumindest von einem humanen Gen, einschließlich mutierter oder polymorpher Varianten davon, welches zur Manifestation einer bipolaren Störung wie oben definiert beiträgt. Wie unten beschrieben wird, haben die Erfinder der vorliegenden Erfindung diese Kandida-

tenregion von Chromosom 18q für solch ein Gen durch eine Analyse der Cosegregation einer bipolaren Störung in der Familie MAD31 mit 12 polymorphen STR-Markern, welche zuvor zwischen D18S51 und D18S61 räumlich angeordnet wurden, und einer nachfolgenden LOD-Score-Analyse identifiziert.

[0013] In einem zweiten Aspekt umfasst die Erfindung einen YAC-Klon, welcher einen Teil des humanen Chromosoms 18q umfasst, welcher zwischen den polymorphen Markern D18S68 und D18S979 angeordnet ist, zum Identifizieren von zumindest einem humanen Gen, einschließlich mutierter oder polymorpher Varianten davon, welches mit Gemütskrankungen oder verwandten Erkrankungen wie oben definiert verbunden ist.

[0014] Bestimmte YACs, welche die Kandidatenregion abdecken, welche erfindungsgemäß verwendet werden können, sind 961_h_9, 942_c_3, 766_f_12, 731_c_7, 907_e_1, 752-g-8 und 717_d_3, wobei bevorzugte YACs 961_h_9, 766_f_12 und 907_e_1 sind, da diese einen minimalen Abdeckungspfad über die Kandidatenregion aufweisen. Zur Verwendung geeignete YAC-Klone sind diejenigen, welche ein artifizielles Chromosom aufweisen, welches die verfeinerte Kandidatenregion zwischen D18S68 und D18S979 umfasst.

[0015] Es gibt eine Vielzahl von Verfahren, welche auf die Kandidatenregionen von Chromosom 18q wie oben definiert angewendet werden können, ob es in einem YAC vorliegt oder nicht, um ein Kandidatengen oder Kandidatengene zu identifizieren, welche mit Gemütskrankungen oder verwandten Erkrankungen verbunden sind. Es ist beispielsweise zuvor demonstriert worden, dass eine offensichtliche Verbindung zwischen dem Vorliegen von Trinukleotid-Repeat-Expansions (TRE) im humanen Genom und dem Phänomen der Voraussetzung von Gemütskrankungen existiert (Lindblad et al. (1995), *Neurobiology of Disease* 2: 55-62 und O'Donovan et al. (1995), *Nature Genetics* 10: 380-381).

[0016] Entsprechend umfasst ein dritter Aspekt der vorliegenden Erfindung ein Verfahren zum Identifizieren zumindest von einem humanen Gen, einschließlich mutierter oder polymorpher Varianten davon, welches mit einer Gemütskrankung oder einer verwandten Erkrankung wie hierin definiert verbunden ist, welches Nachweisen von Nukleotid-Triplet-Repeats in der humanen Region des Chromosoms 18q umfasst, welche zwischen den polymorphen Markern D18S68 und D18S979 angeordnet ist.

[0017] Ein alternatives Verfahren zum Identifizieren des Gens oder der Gene umfasst Fragmentieren eines YAC-Klons, welcher einen Teil des humanen Chromosoms 18q umfasst, welcher zwischen den polymorphen Markern D18S68 und D18S979 angeordnet ist, beispielsweise einen oder mehrere der sieben zuvor genannten YAC-Klone, und Nachweisen von allen Nukleotid-Triplet-Repeats in den Fragmenten. Nukleotidsäuresonden, welche mindestens 5 und bevorzugt mindestens 10 CTG- und/oder CAG-Triplet-Repeats umfassen, sind bei entsprechender Markierung geeignete Mittel zum Nachweis. Trinukleotid-Repeats können auch bestimmt werden unter Verwendung des bekannten RED („repeat expansion detection“-)Systems (Shalling et al. (1993), *Nature Genetics* 4, S. 135–139).

[0018] Wie hierin unten ausführlich beschrieben wird, haben die Erfinder, um Kandidatengene mit den Triplet-Repeats zu identifizieren, eine direkte CAG- oder CTG-Fragmentierung der YACs 961_h_9, 766_f_12 und 907_e_1 durchgeführt, welche einen Teil des humanen Chromosoms 18q umfassen, welcher zwischen den polymorphen Markern D18S60 und D18S61 angeordnet ist, und sie haben eine Anzahl von Sequenzen mit CAG- oder CTG-Repeats identifiziert, deren anormale Expansion in die genetische Anfälligkeit für eine Gemütskrankung oder eine verwandte Erkrankung verwickelt ist. Diese Nukleotidsequenzen sind in den [Fig. 15a](#), [Fig. 16a](#), [Fig. 17a](#) und [Fig. 18a](#) gezeigt.

[0019] Die Kenntnis der oben beschriebenen Sequenzen kann verwendet werden, um Assays zu konzipieren, um die genetische Anfälligkeit eines Individuums für eine bipolare Störung zu bestimmen.

[0020] Entsprechend stellt ein weiterer Aspekt der Erfindung ein Verfahren zur Bestimmung der Anfälligkeit eines Individuums für eine bipolare Störung bereit, welches die Schritte umfasst:

- a) Erhalten einer DNA-Probe von dem Individuum,
- b) Bereitstellen von Primern, welche für die Amplifikation einer Nukleotidsequenz geeignet sind, welche in einer der in den [Fig. 15a](#), [Fig. 16a](#), [Fig. 17a](#) oder [Fig. 18a](#) gezeigten Nukleotidsequenzen enthalten ist, worin die Primer die in der Sequenz gezeigten Trinukleotid-Repeats flankieren,
- c) Einsetzen der Primer bei der DNA-Probe und Durchführen einer Amplifikationsreaktion,
- d) Durchführen der gleichen Amplifikationsreaktion mit einer DNA-Probe eines Kontrollindividuums und
- e) Vergleichen der Ergebnisse der Amplifikationsreaktion des Individuums und der des Kontrollindividuums,

worin das Vorliegen eines amplifizierten Fragments von dem Individuum, welches größer ist als das des Kontroll-

Individuums, ein Anzeichen für das Vorliegen einer Anfälligkeit für eine bipolare Störung des Individuums ist.

[0021] Mit Kontrollindividuum ist ein Individuum gemeint, welches nicht von einer bipolaren Störung betroffen ist und welches keine familiäre Anamnese von Gemütskrankungen oder verwandten Erkrankungen aufweist.

[0022] Bevorzugte Primer zur Verwendung in diesem Verfahren sind diejenigen, welche in der [Fig. 15b](#), [Fig. 16b](#), [Fig. 17b](#) oder [Fig. 18b](#) gezeigt sind, jedoch können andere geeignete Primer verwendet werden.

[0023] Weitere Ausführungsformen der vorliegenden Erfindung betreffen Verfahren zum Identifizieren des relevanten Gens oder der Gene, welche Subklonieren von YAC-DNA wie oben definiert in Vektoren wie etwa BAC- (künstliches Bakterienchromosom, „bacterial artificial chromosome“) oder PAC- (künstliches P1- oder Phagenchromosom) oder Cosmid-Vektoren wie etwa Exon-Trap-Cosmidvektoren umfasst. Der Ausgangspunkt für solche Verfahren ist die Konstruktion einer Contig-Karte der Region des humanen Chromsoms 18q zwischen den polymorphen Markern D18S68 und D18S979. Zu diesem Zweck haben die Erfinder der vorliegenden Erfindung die Endregionen des Fragments der humanen DNA in jedem der sieben zuvor genannten YAC-Klone sequenziert und diese Sequenzen sind hierin offenbart. Nach dem Subklonieren der YAC-DNA in andere Vektoren, wie oben beschrieben, können Sonden konstruiert werden, welche diese Endsequenzen oder Teile davon umfassen, insbesondere die in den [Fig. 1](#) bis [Fig. 11](#) hierin gezeigten Sequenzen, zusammen mit beliebigen bekannten sequenzierten Tag-Stellen (STS) in dieser Region, wie in dem hierin gezeigten YAC-Klon-Contig beschrieben, welche verwendet werden können, um Überlappungen zwischen den Subklonen und einer Contig-Karte nachzuweisen, konstruiert werden. Auch die bekannten Sequenzen in dem aktuellen YAC-Contig können für die Herstellung von Contig-Karten-Subklonen verwendet werden.

[0024] Ein Weg, auf welchem ein Gen oder Gene identifiziert werden kann bzw. können, welches bzw. welche mit einer bipolaren Störung verbunden ist, ist die Verwendung der bekannten Technik des Exon-Trapping.

[0025] Dies ist ein artifizieller RNA-Splicing-Assay, am häufigsten in gegenwärtigen Protokollen eines spezialisierten Exon-Trap-Cosmidvektors verwendet. Der Vektor enthält ein künstliches Minigen, welches aus einem Segment des SV40-Genoms besteht, enthaltend einen Replikationsursprung und eine starke Promotorsequenz, zwei Splicing-kompetente Exons, getrennt durch ein Intron, welches eine multiple Klonierungsstelle enthält, und eine SV40-Polyadenylierungsstelle.

[0026] Die YAC-DNA wird in den Exon-Trap-Vektor subkloniert und die rekombinante DNA wird in einen Stamm von Säugerzellen transfiziert. Die Transkription von dem SV40-Promotor ergibt ein RNA-Transkript, welches normalerweise spliced und die zwei Exons des Minigens umfasst. Wenn die klonierte DNA selbst ein funktionelles Exon umfasst, kann es zu den in dem Vektor-Minigen vorliegenden Exons gesliced werden. Unter Verwendung einer reversen Transkriptase kann eine cDNA-Kopie hergestellt werden und unter Verwendung von spezifischen PCR-Primern können die Splicing-Ereignisse identifiziert werden, welche die Exons der inserierten DNA betreffen. Solch ein Verfahren kann codierende Regionen in der YAC-DNA identifizieren, welche mit den äquivalenten Regionen von DNA von einer Person, welche von einer Gemütskrankung oder einer verwandten Erkrankung betroffen ist, verglichen werden kann, um das relevante Gen zu identifizieren.

[0027] Entsprechend umfasst ein weiterer Aspekt der Erfindung ein Verfahren zum Identifizieren von mindestens einem humanen Gen, einschließlich mutierter Varianten und Polymorphismen davon, welches mit einer bipolaren Störung verbunden ist, worin das Verfahren die Schritte umfasst:

- (a) Transfizieren von Säugerzellen mit einem Exon-Trap-Cosmidvektor, hergestellt und kartiert wie oben beschrieben,
- (b) Kultivieren der Säugerzellen in einem geeigneten Medium,
- (c) Isolieren von RNA-Transkripten, welche von dem SV40-Promotor exprimiert werden,
- (d) Herstellen von cDNA von solchen RNA-Transkripten,
- (e) Identifizieren von Splicing-Ereignissen, welche die Exons der in den Exon-Trap-Vektor subklonierten DNA betreffen, um die Positionen der codierenden Regionen in der subklonierten DNA zu identifizieren,
- (f) Nachweisen von Unterschieden zwischen den codierenden Regionen und äquivalenten Regionen in der DNA eines Individuums, welches unter der bipolaren Störung leidet, und
- (g) Identifizieren des Gens oder von mutierten oder polymorphen Varianten davon, welches mit der bipolaren Störung verbunden ist.

[0028] Als eine Alternative zum Exon-Trapping kann die YAC-DNA in BAC-, PAC-, Cosmid- oder andere Vektoren subkloniert werden und wie oben beschrieben kann eine Contig-Karte konstruiert werden. Es sind verschiedene bekannte Verfahren verfügbar, durch welche die Position von relevanten Genen der subklonierten

DNA wie folgt ermittelt werden kann:

- (a) cDNA-Selektion oder Capture (auch direkte Selektion und cDNA-Selektion genannt): Dieses Verfahren betrifft die Bildung von Heteroduplexen aus genomischer DNA/cDNA durch Hybridisieren einer klonierten cDNA (z.B. ein Insert einer YAC-DNA) mit einem komplexen Gemisch von cDNAs, wie etwa den Inserts von allen cDNA Klonen von einer speziellen cDNA-Bibliothek (z.B. Gehirn). Verwandte Sequenzen hybridisieren und können in nachfolgenden Schritten unter Verwendung von Biotin-Streptavidin-Capture und PCR (oder verwandte Verfahren) angereichert werden;
- (b) Hybridisierung von mRNA/cDNA: Ein genomischer Klon (z.B. ein Insert eines speziellen Cosmids) kann mit einem Northern Blot von mRNA von einem Panel von Kulturzelllinien oder gegen geeignete cDNA-Bibliotheken (z.B. Gehirn) hybridisiert werden. Ein positives Signal kann das Vorliegen eines Gens innerhalb des klonierten Fragments anzeigen;
- (c) CpG-Insel-Identifizierung: CpG- oder HTF-Inseln sind kurze (etwa 1 kb) hypomethylierte GC-reiche (> 60%) Sequenzen, welche oft an den 5'-Enden von Genen zu finden sind. CpG-Inseln weisen oft Restriktionsstellen für mehrere selten schneidende Restriktionsenzyme auf. Ein Cluster von selten schneidenden Restriktionsstellen weist auf eine CpG-Insel und somit auf ein mögliches Gen hin. CpG-Inseln können durch Hybridisierung eines DNA-Klons mit Southern Blots von genomischer DNA, welche mit selten schneidenden Enzymen verdaut wurde, oder durch Insel-Rescue-PCR (Isolierung von CpG-Inseln von YACs durch Amplifizieren von Sequenzen zwischen den Inseln und benachbarten Alu-Repeats) nachgewiesen werden;
- (d) Zoo-Blotting: Hybridisierung eines DNA-Klons (z.B. das Insert eines speziellen Cosmids) mit verringerter Stringenz gegen einen Southern Blot von genomischen DNA-Proben von einer Vielzahl von tierischen Spezies. Der Nachweis von Hybridisierungssignalen kann konservierte Sequenzen anzeigen, welche auf ein mögliches Gen hinweisen.

[0029] Entsprechend umfasst ein weiterer Aspekt der Erfindung ein Verfahren zum Identifizieren von mindestens einem humanen Gen, einschließlich mutierter und polymorpher Varianten davon, welches mit einer bipolaren Erkrankung verbunden ist, welches die Schritte umfasst:

- (a) Subklonieren der YAC-DNA, wie oben beschrieben, in einen Cosmid-, BAC-, PAC- oder anderen Vektor;
- (b) Verwenden der in einer der [Fig. 1-Fig. 11](#) gezeigten Nukleotidsequenzen oder einer beliebigen anderen bekannten, mit einem Tag versehenen Stelle (STS) in dieser Region, wie bei dem hierin beschriebenen YAC-Klon-Contig, oder eines Teils davon, welcher aus nicht weniger als 14 benachbarten Basen besteht, oder dem Komplement davon, um Überlappungen zwischen den Subklonen nachzuweisen und eine Karte davon zu erstellen;
- (c) Identifizieren der Position der Gene innerhalb der subklonierten DNA durch eines oder mehrere von CpG-Inselidentifizierung, Zoo-Blotting, Hybridisierung der subklonierten DNA mit einer cDNA-Bibliothek oder einem Northern Blot von mRNA von einem Panel von Kulturzelllinien;
- (d) Nachweisen von Unterschieden zwischen den Genen und einer äquivalenten Region der DNA eines Individuums, welches unter einer bipolaren Störung leidet, und
- (e) Identifizieren des Gens, welches mit der bipolaren Störung verbunden ist.

[0030] Wenn die klonierte YAC-DNA sequenziert ist, kann eine Computeranalyse verwendet werden, um das Vorhandensein von relevanten Genen zu ermitteln. Es können Verfahren wie etwa eine Homologiesuche und eine Exon-Vorhersage verwendet werden.

[0031] Wenn ein Kandidatengen einmal entsprechend den erfindungsgemäßen Verfahren isoliert worden ist, können zwischen dem Gen von einem normalen Individuum und einem Individuum, welches von einer Erkrankung des bipolaren Spektrums betroffen ist, ausführlichere Vergleiche durchgeführt werden. Beispielsweise gibt es zwei Verfahren, welche als "Mutationstest" beschrieben werden, bei welchen eine Mutation oder ein Polymorphismus in einer DNA-Sequenz identifiziert werden kann. In dem ersten Verfahren kann die DNA-Probe untersucht werden im Hinblick auf das Vorhandensein oder Fehlen einer spezifischen Mutation, dies erfordert jedoch Kenntnis darüber, welcher Art die Mutation sein könnte. In dem zweiten Verfahren wird eine DNA-Probe im Hinblick auf eine beliebige Abweichung von einer Kontroll (normalen)-DNA gescreent. Dieses letztere Verfahren ist bei der Identifizierung von Kandidatengenen, bei welchen eine Mutation nicht im Voraus identifiziert wird, nützlicher.

[0032] Außerdem können weiterhin die folgenden Verfahren angewendet werden, um ein Gen durch die oben beschriebenen Verfahren zu identifizieren, um Unterschiede zwischen Genen von normalen oder gesunden Individuen und denjenigen Individuen, welche von einer bipolaren Störung betroffen sind, zu identifizieren:

- (a) Southern Blotting-Verfahren: Ein Klon wird hybridisiert mit Nylonmembranen, welche genomische DNA von Patienten und gesunden Individuen enthalten, welche mit unterschiedlichen Restriktionsenzymen verdaut wurde. Unter Verwendung eines Protokolls mit radioaktiver Markierung können große Unterschiede

zwischen Patienten und gesunden Individuen sichtbar gemacht werden;

(b) Heteroduplexmobilität in Polyacrylamidgelen: Dieses Verfahren basiert auf der Tatsache, dass die Mobilität von Heteroduplexen in nicht denaturierenden Polyacrylamidgelen geringer ist als die Mobilität von Homoduplexen. Es ist am effektivsten für Fragmente unter 200 Basenpaare;

(c) Einzelstrang-Konformations-Polymorphismus-Analyse (SSCP oder SSCA, „single-stranded conformational polymorphism analysis“): Einzelsträngige DNA faltet sich unter Bildung von komplexen Strukturen, welche durch schwache intramolekulare Bindungen stabilisiert sind, zusammen. Die elektrophoretischen Mobilitäten dieser Strukturen auf nicht denaturierenden Polyacrylamidgelen hängen von ihren Kettenlängen und ihrer Konformation ab;

(d) chemische Spaltung von Fehlpaarungen (CCM, "chemical cleavage of mismatches"): Eine radiomarkierte Sonde wird mit der Test-DNA hybridisiert und Fehlpaarungen werden durch eine Reihe von chemischen Reaktionen nachgewiesen, welche einen Strang der DNA an der Stelle der Fehlpaarung spalten. Dies ist ein sehr sensitives Verfahren und kann auf Proben mit einer Länge bis zu einem Bereich von Kilobasen angewendet werden;

(e) enzymatische Spaltung von Fehlpaarungen: Der Assay ist ähnlich wie die CCM, jedoch wird die Spaltung durch bestimmte Bakteriophagenenzyme durchgeführt;

(f) denaturierende Gradientengelelektrophorese: bei diesem Verfahren werden DNA-Duplexe gezwungen, durch ein elektrophoretisches Gel zu migrieren, in welchem ein Gradient von steigenden Mengen eines denaturierenden Mittels (chemisch oder Temperatur) vorliegt. Die Migration dauert an, bis die DNA-Duplexe eine Position auf dem Gel erreichen, an welcher die Stränge schmelzen und sich trennen, wonach die denaturierte DNA nicht viel weiter migriert. Ein Unterschied von einem einzelnen Basenpaar zwischen einem normalen und einem mutierten DNA-Duplex ist ausreichend, um eine Migration an unterschiedliche Positionen in dem Gel zu bewirken;

(g) direkte DNA-Sequenzierung.

[0033] Es ist verständlich, dass hinsichtlich der hierin beschriebenen Verfahren bei dem Schritt Nachweisen von Unterschieden zwischen den codierenden Regionen von dem YAC und der DNA eines von einer bipolaren Störung betroffenen Individuums das Individuum irgend jemand mit einer Erkrankung sein kann und nicht notwendigerweise ein Mitglied der Familie MAD31 sein muss.

[0034] In dem folgenden Bericht der Versuche erfolgt eine Bezugnahme auf die folgenden Figuren:

[0035] [Fig. 1](#) zeigt eine Sequenz von Nukleotiden, welche die Endsequenz des linken Arms von YAC 766_f_12 ist;

[0036] [Fig. 2](#) zeigt eine Nukleotidsequenz, welche eine Endsequenz des rechten Arms von YAC 766_f_12 ist;

[0037] [Fig. 3](#) zeigt eine Nukleotidsequenz, welche eine Endsequenz des linken Arms von YAC 717_d_3 ist;

[0038] [Fig. 4](#) zeigt eine Nukleotidsequenz, welche eine Endsequenz des rechten Arms von YAC 717_d_3 ist;

[0039] [Fig. 5](#) zeigt eine Nukleotidsequenz, welche eine Endsequenz des rechten Arms von YAC 731_c_7 ist;

[0040] [Fig. 6](#) zeigt eine Nukleotidsequenz, welche eine Endsequenz des linken Arms von YAC 752_g_8 ist;

[0041] [Fig. 7](#) zeigt eine Nukleotidsequenz, welche eine Endsequenz des linken Arms von YAC 942_c_3 ist;

[0042] [Fig. 8](#) zeigt eine Nukleotidsequenz, welche eine Endsequenz des rechten Arms von YAC 942_c_3 ist;

[0043] [Fig. 9](#) zeigt eine Nukleotidsequenz, welche eine Endsequenz des linken Arms von YAC 961_h_9 ist;

[0044] [Fig. 10](#) zeigt eine Nukleotidsequenz, welche eine Endsequenz eines rechten Arms von YAC 961_h_9 ist;

[0045] [Fig. 11](#) zeigt eine Nukleotidsequenz, welche eine Endsequenz des linken Arms von YAC 907_e_1 ist;

[0046] [Fig. 12](#) zeigt einen Stammbaum der Familie MAD31;

[0047] [Fig. 13](#) zeigt die Haplotyp-Analyse der Familie MAD13. Betroffene Individuen sind durch gefüllte Karos dargestellt, offene Karos stellen Individuen dar, welche bei der letzten psychiatrischen Bewertung asymptomatisch waren. Dunkle graue Balken repräsentieren Marker, bei welchen nicht abgeleitet werden kann, ob sie rekombinant sind; und

[0048] [Fig. 14](#) zeigt die YAC-Contig-Karte der Region des humanen Chromosoms 18 zwischen den polymorphen Markern D18560 und D18561. Schwarze Linien repräsentieren positive Treffer. Die YACs sind nicht maßstabsgetreu gezeichnet.

[0049] [Fig. 15](#) zeigt (a) ein CAG-Repeat (fett) und die umgebende Nukleotidsequenz, isoliert vom YAC 961_h_9. Die kursive Sequenz stammt von dem End-Rescue des fragmentierten YACs. (b) PCR-Primer, welche zur Bestimmung des Ausmaßes der Trinukleotid-Repeats in der Sequenz verwendet werden können.

[0050] [Fig. 16](#) zeigt (a) ein CAG-Repeat (fett) und die umgebende Nukleotidsequenz, isoliert vom YAC 766_f_12. Die kursive Sequenz stammt von dem End-Rescue des fragmentierten YACs. (b) PCR-Primer, welche zur Bestimmung des Ausmaßes der Trinukleotid-Repeats in der Sequenz verwendet werden können.

[0051] [Fig. 17](#) zeigt (a) ein CAG-Repeat (fett) und die umgebende Nukleotidsequenz, isoliert von YAC 766_f_12. Die kursive Sequenz stammt von dem End-Rescue des fragmentierten YACs. (b) PCR-Primer, welche zur Bestimmung des Ausmaßes der Trinukleotid-Repeats in der Sequenz verwendet werden können.

[0052] [Fig. 18](#) zeigt (a) ein CAG-Repeat (fett) und die umgebende Nukleotidsequenz, isoliert von YAC 907_e_1. Die kursive Sequenz stammt von dem End-Rescue des fragmentierten YACs. (b) PCR-Primer, welche zur Bestimmung des Ausmaßes der Trinukleotid-Repeats in der Sequenz verwendet werden können.

Versuch 1

(a) Familiendaten

[0053] Klinische Diagnosen in MAD31, einer belgischen Familie mit einem BP11-Probanden, wurden ausführlich von De Bruyn et al., 1996, beschrieben. In dieser Studie wurden nur die 15 Familienmitglieder für eine zusätzliche Genotypisierung ausgewählt, welche bei einer Verbindungsanalyse aussagefähig waren. Die unterschiedlichen klinischen Diagnosen in der Familie waren wie folgt: 1 BP1, 2 BP11, 2UP, 4 depressive Haupterkrankung (MDD, „major depressive disorder“), 1 SAM und 1 SAD.

[0054] Der Stammbaum der Familie MAD31 ist in [Fig. 12](#) gezeigt.

(b) Genotypisierung der Familienmitglieder

[0055] Alle genetischen Marker für kurze Tandemrepeats (STR, "short tandem repeats") sind Di- oder Trinukleotid-Repeat-Polymorphismen. Die Information betreffend die in dieser Untersuchung verwendeten genetischen Marker wurde von mehreren Quellen des Internets erhalten: Genome DataBase (GDB, <http://gdb-www.gdb.org/>), GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>), Cooperative Human Linkage Center (CHLC, <http://www.chlc.org/>), Eccles Institute of Human Genetics (EIHG, <http://www.genetics.utah.edu/>) und Génethon (<http://www.genethon.fr/>). Es wurde eine Standard-PCR in einem Volumen von 25 µl durchgeführt, enthaltend 100 ng genomische DNA, 200 mM von jedem dNTP, 1,25 mM MgCl₂, 30 pmol von jedem Primer und 0,2 Unit Goldstar DNA-Polymerase (Eurogentec). Ein Primer wurde vor der PCR mit [gamma-³²P]ATP und T4-Polynukleotidkinase am Ende markiert. Nach einem anfänglichen Denaturierungsschritt bei 94 °C für 2 min wurden 27 Zyklen bei 94 °C für 1 min durchgeführt, bei der passenden Annealingtemperatur für 1,5 min, und eine Extension bei 72 °C für 2 min. Schließlich wurde ein zusätzlicher Verlängerungsschritt bei 72 °C für 5 min durchgeführt. Die PCR-Produkte wurden durch Elektrophorese auf einem 6%-igen denaturierenden Polyacrylamidgel und durch Exposition gegenüber einem röntgenempfindlichen Film durchgeführt. Erfolgreich analysierte STSs, STRs und ESTs, welche die verfeinerte Kandidatenregion abdecken, werden hierin nachfolgend detailliert beschrieben.

(c) Lod-Score-Analyse

[0056] Zweipunkt-Lod-Scores wurden für drei unterschiedliche Erkrankungsmodelle unter Verwendung von Fastlink 2.2. (Cottingham et al., 1993) berechnet. Bei allen Modellen wurde eine Frequenz des Erkrankungs-gens von 1 % und eine Phänotopierate von 1/1000 verwendet. Modell 1 umfasste alle Patienten und nicht be-

troffene Individuen, wobei die letzteren Individuen in Abhängigkeit von ihrem Alter bei der Untersuchung einer Erkrankungspenetranzklasse zugeordnet wurden. Die 9 altersabhängigen Penetranzklassen, wie von De Bruyn et al. (1996) beschrieben, wurden mit einem Faktor 0,7 multipliziert, entsprechend einer Verringerung der maximalen Penetranz von 99% auf 70% bei Individuen, welche älter sind als 60 Jahre (Ott, 1991). Modell 2 ist ähnlich wie Modell 1, jedoch wurden die Patienten einem diagnostischen Stabilitäts-Score zugeordnet, berechnet aufgrund von klinischen Daten wie etwa der Anzahl der Anfälle, der Anzahl der Symptome während des schlimmsten Anfalls und der Behandlungsgeschichte (Rice et al., 1987, De Bruyn et al., 1996). Modell 3 ist wie Modell 1, umfasst jedoch nur Patienten.

(d) Konstruktion der YAC-Contig-Protokolle

[0057] Das Anziehen der YACs und die Extraktion der YAC-DNA wurde gemäß Standardverfahren durchgeführt (Silverman, 1995). Für die Konstruktion des YAC-Contig, welches die Kandidationregion des Chromosoms 18q umfasst, basieren die Daten der physikalischen Karte auf mit einem Tag markierten Sequenzstellen (STS, „sequence tagged sites“) (Hudson et al., 1995), wozu die Internetseite des Whitehead Institute (WI) (<http://www-genome.wi.mit.edu/>) konsultiert wurde. CEPH Mega-YACs wurden von dem YAC-Screening-Zentrum Leiden (YSCL, Niederlande) und von CEPH (Paris, Frankreich) erhalten. Die YACs wurden bezüglich des Vorhandenseins von STSs und STRs untersucht, welche zuvor zwischen D18S51 und D18S61 lokalisiert wurden, durch Touchdown-PCR-Amplifikation. Die Information über die STSs/STRs wurde von den Internetseiten von WI, GDB, Généthron, CHLC und GenBank erhalten. 30 PCR-Zyklen bestanden aus: Denaturierung bei 94 °C für 1 min, Annealing (2 Zyklen für jede Temperatur), beginnend bei 65 °C und zunehmend auf 51 °C für 1,5 min und Verlängerung bei 72 °C für 2 min. Diesen folgten 10 Zyklen mit Denaturierung bei 94 °C für 1 min, Annealing bei 50 °C für 1,5 min und Verlängerung bei 72 °C für 2 min gefolgt. Ein abschließender Verlängerungsschritt wurde für 10 min bei 72 °C durchgeführt. Die amplifizierten Produkte wurden durch Elektrophorese auf einem 1%-igen TBE-Agarosegel und Ethidiumbromidfärbung sichtbar gemacht.

(e) Ordnen der STR-Marker

[0058] 12 STR-Marker, zuvor zwischen D18S51 und D18S61 lokalisiert, wurden im Hinblick auf eine Cosegregation mit einer bipolaren Störung in der Familie MAD31 untersucht. Die elterlichen Haplotypen wurden rekonstruiert durch die Genotypinformation der Geschwister in der Familie MAD31 und Minimieren der Anzahl der positiven Rekombinanten. Das Ergebnis dieser Analyse ist in [Fig. 13](#) gezeigt. Der Vater war im Hinblick auf 3 Marker nicht informativ, die Mutter war im Hinblick auf 5 Marker nicht informativ. Die Haplotypen in der Familie MAD31 deuteten die folgende Ordnung der analysierten STR-Marker an: cen-[S51-S68-S346]-[S55-S969-S1113-S483-S465]-[S876-S477]-S979-[S466-S817-S61]-tel. Die Ordnung der Marker relativ zueinander zwischen den Klammern konnte von unseren Haplotypdaten nicht abgeleitet werden. Die Markerordnung in der Familie MAD31 wurde verglichen mit der Markerordnung, welche unter Verwendung von unterschiedlichen Kartierungstechniken erhalten wurde und die Ergebnisse sind in Tabelle 1 unten gezeigt.

Tabelle 1: Vergleich der Ordnung der Marker innerhalb der Kandidatenregion 18q für eine bipolare Störung zwischen mehreren Karten.

Marker*	Généthon	Genetische Karte	Strahlungshybridkarte
		Marshfield	(Giacolone et al., 1996)
D18S51		(-)3,4 cM	(-)27,9 cR
D18S68	0 cM	0 cM	0 cR
D18S346		5,3 cM	53,2 cR
D18S55	0,1 cM	0 cM	72,5 cR
D18S969		0,6 cM	
D18S1113	0,7 cM		
D18S483	2,5 cM	3,2 cM	88 cR
D18S465	4,5 cM	5,3 cM	101,3 cR
D18S876			
D18S477	4,4 cM	5,3 cM	166,4 cR
D18S979		8,9 cM	
D18S466	7,6 cM	11,1 cM	212,4 cR
D18S61	8,4 cM	11,8 cM	249,5 cR
D18S817		5,3 cM	260,6 cR

*Ordnung gemäß den Haplotypisierungsergebnissen in der Familie MAD31.

(-) Marker ist proximal von D18S68 lokalisiert.

[0059] D18S68, welcher allen drei Karten gemeinsam war, wurde als der Kartenankerpunkt genommen, und die genetische Distanz der anderen Marker relativ zu D18S68 ist in cM oder cR angegeben. Die Ordnung der Marker stimmt gut mit der Ordnung der Marker auf der kürzlich veröffentlichten Strahlungshybridkarte von Chromosom 18 (Giacolone et al., 1996, Genomics 37:9-18) und mit der WI YAC-Contig-Karte (<http://www-genome.wi.mit.edu/>) überein. Jedoch wurden einige wenige Abweichungen von anderen Karten beobachtet. Die einzige Abweichung von der genetische Karte von Généthon ist die umgekehrte Reihenfolge von D18S465 und D18S477. Zwei Abweichungen wurden im Hinblick auf die Marshfield-Karte beobachtet (<http://www.marshmed.org/genetics/>). Die Erfinder der vorliegenden Erfindung kartierten D18S346 oberhalb von D18S55, basierend auf maternalen Haplotypen, aber auf den Marshfield-Karten ist D18S346 zwischen D18S483 und D18S979 lokalisiert. Die Erfinder platzierten auch D18S817 unterhalb von D18S979, jedoch auf der Marshfield-Karte ist dieser Marker zwischen D18S465 und D18S477 lokalisiert. Jedoch stimmt die Lokalisierung von D18S346 und D18S817 mit der Strahlungshybridkarte des Chromosoms 18 von Giacolone et al. (1996) überein. Eine Abweichung wurde auch beobachtet von der WI-Strahlungshybridkarte (<http://www-genome.wi.mit.edu/>), in welcher D18S68 unterhalb von D18S465 lokalisiert war. Die Erfinder ebenso wie andere Karten platzierten diesen Marker jedoch oberhalb von D18S55.

(f) Lod-Score-Analyse und Verfeinerung der Kandidatenregion

[0060] Eine Lod-Score-Analyse ergab mit allen Markern positive Ergebnisse, was die vorherige Beobachtung bestätigt, dass 18q21.33-q23 in eine BP-Erkrankung verwickelt ist, zumindest in der Familie MAD31 (De Bruyn et al., 1996). Eine Zusammenfassung der Statistik der Lod-Score-Analyse von allen Modellen ist in Tabelle 2 unten angegeben.

Tabelle 2: Zusammenfassende Statistik der Zweipunkt-Lod-Scores in MAD31.

Marker	Modell 1			Modell 2			Modell 3		
	Z bei $\theta=0,0$	Z max	θ max	Z bei $\theta=0,0$	Z max	θ max	Z bei $\theta=0,0$	Z max	θ max
D18S51	-0,19	0,73	0,1	0,94	0,94	0,01	0,08	0,54	0,1
D18S68	-0,19	0,73	0,1	0,94	0,94	0,01	0,07	0,55	0,1
D18S346	-0,19	0,73	0,1	0,94	0,94	0,01	0,07	0,55	0,1
D18969	1,40	1,40	0,0	1,27	1,27	0,0	1,20	1,20	0,0
D18S1113	2,01	2,01	0,0	1,87	1,87	0,0	1,77	1,77	0,0
D18S876	2,01	2,01	0,0	1,87	1,87	0,0	1,77	1,77	0,0
D18S477	2,01	2,01	0,0	1,87	1,87	0,0	1,77	1,77	0,0
D18S979	-0,18	0,77	0,1	1,08	1,08	0,0	0,08	0,54	0,0
D18S817	-0,19	0,73	0,1	1,08	1,08	0,0	0,07	0,55	0,1
D18S61	-0,21	0,73	0,1	1,08	1,08	0,0	0,07	0,54	0,1

D18S55, S18S483, D18S465 und D18S466 waren nicht aussagefähig.

[0061] Der höchste Zweipunkt-Lod-Score (+2.01 bei $\theta = 0.0$) wurde mit den Markern D18S1113, D18S876 und D18S477 gemäß Modell 1 in Abwesenheit von Rekombinanten erhalten (Tabelle 2). Im Modell 1 werden alle Individuen mit einer Erkrankung des BP-Spektrums als betroffen betrachtet und tragen vollständig zu der Verbindungsanalyse bei. Vor der Feinkartierung war die Kandidatenregion von D18S51 und D18S61 flankiert, welche durch eine genetische Distanz von 15.2 cM auf der Marshfield-Karte oder 13.1 cM auf der Génethon-Karte getrennt sind. Die informativen Rekombinanten mit D18S51 und D18S61 wurden in zwei betroffenen Individuen (II.10 und II.11 in [Fig. 13](#)) beobachtet. Da jedoch keine anderen Marker innerhalb der Kandidatenregion untersucht wurden, war nicht bekannt, ob diese Individuen tatsächlich eine Region enthalten, welche aufgrund der Herkunft identisch (IBD, "identical-by-descent") war. Die zusätzlichen Daten der genetischen Kartierung zeigen nun, dass alle betroffenen Individuen Allele bei D18S969, D18S1113, D18S876 und D18S477 teilen ([Fig. 13](#), Haplotyp in der Box). Auch die Allele der Marker D18S483 und D18S465 sind wahrscheinlich IDB, aber diese Marker waren in dem betroffenen Elternteil I.1 nicht aufschlussreich. Obligate Rekombinanten wurden mit den STR-Markern D18S68, D18S346, D18S979 und D18S817 beobachtet (Tabelle 2, [Fig. 13](#)). Da Abweichungen bei den Lokalisierungen von D18S346 und D18S817 zwischen den unterschiedlichen Karten beobachtet wurden, verwendeten die Erfinder der vorliegenden Erfindung D18S68 und D18S979, um die Kandidatenregion für eine BP-Erkrankung neu zu definieren. Die genetische Distanz zwischen diesen zwei Markern beträgt 8.9 cM, bezogen auf die genetische Marshfield-Karte (<http://www.marshmed.org/genetics/>).

(g) Konstruktion des YAC-Contigs

[0062] In Übereinstimmung mit der integrierten WI-Karte sind in der anfänglichen Kandidatenregion 56 CEPH Mega-YACs lokalisiert, welche zwischen D18S51 und D18S61 enthalten sind (Chumakov et al. (1995) Nature 377, Ergänzungsband, De Bruyn et al. (1996)). Von diesen YACs wurden diejenigen ausgewählt, welche in der Region zwischen D18S60 und D18S61 lokalisiert waren. D18S51 ist auf der WI-Karte nicht dargestellt, ist jedoch gemäß der genetischen Marshfield-Karte (<http://www.marshmed.org/genetics/>) nahe D18S60 lokalisiert. Um die Anzahl der potenziellen chimären YACs zu begrenzen, wurden diejenigen YACs eliminiert, welche auch für andere STSs als denjenigen auf Chromosom 18 positiv waren. Als solche wurden 25 YACs ausgewählt (siehe [Fig. 14](#)) und in einem Contig platziert, auf Basis des YAC-Contig-Kartierungsverfahrens, d.h. Sequenzen von mit einem Tag versehenen Sequenzstellen (STSs), einfachen Tandem-Repeats (STRs) und exprimierten sequenzierten Tags (ESTs), welche bekanntermaßen zwischen D18S60 und D18S61 liegen, wurden durch PCR der DNA von den YAC-Klonen amplifiziert. Die verwendeten STS-, STR- und EST-Sequenzen werden hierin nachfolgend beschrieben. Positive YAC-Klone wurden in einer YAC-Contig-Karte zusammengefasst ([Fig. 14](#)).

[0063] In dem YAC-Contig verblieben drei Lücken, wovon eine in der verfeinerten Kandidatenregion zwischen D18S876 und GCT3G01 lokalisiert war. Um die Lücke zwischen D18S876 und GCT3G01 zu schließen, wur-

den 14 YAC-Klone weiter analysiert (Tabelle 3). Es wurden die Endfragmente der YAC-Klone 766_f_12 (SV11R), 752_g_8 (SV31L), 942_c_3 (SV10R) erhalten und sequenziert (siehe unten). Es wurden Primer von diesen drei Sequenzen ausgewählt und die DNA von jedem der 14 YAC-Klone wurde durch PCR amplifiziert. Wie in Tabelle 3 gezeigt, wurden Überlappungen zwischen 7 YAC-Klonen an der Centromerstelle x und zwischen 2 YAC-Klonen an der Telomerstelle (717_d_3 und 907_e_1) Überlappungen.

[0064] Der abschließende YAC-Contig ist in [Fig. 14](#) gezeigt. In der Figur sind nur die YAC-Klone gezeigt, welche eindeutige Treffer mit den STSs, STRs und ESTs des Chromosoms 18 ergaben. In wenigen Fällen wurden auch schwache positive Signale mit einigen der YAC-Klone erhalten, welche wahrscheinlich falsch-positive Ergebnisse darstellen. Jedoch beeinflussten diese Signale den Abgleich der YAC-Klone in dem Contig nicht. Obwohl alle YACs, welche bekanntermaßen in der Region kartiert sind, ebenso wie alle verfügbaren STSs/STRs getestet wurden, war anfänglich die Lücke in dem YAC-Contig nicht geschlossen. Jedoch wurde dies nachfolgend erreicht durch Bestimmen der Endsequenzen der 8 ausgewählten YACs (siehe unten). Die Reihenfolge der Marker, bereitgestellt durch die YAC-Contig-Karte, ist in vollständiger Übereinstimmung mit der Reihenfolge der Marker, welche durch die WI-Karte bereitgestellt wird, welche die Information von der genetischen Karte, der Strahlungshybridkarte und der STS-YAC-Contig-Karte ergänzt (Hudson et al., 1995). Die YAC-Contig-Karte bestätigt auch die Reihenfolge der STR-Marker, welche durch die Haplotypanalyse der Familie MAD31 nahegelegt war. Außerdem stellt die YAC-Contig-Karte zusätzliche Informationen über die relative Reihenfolge der STR-Marker bereit. Beispielsweise liegt D18S55 in YAC 931_g_10, jedoch nicht in 931_f_1 vor ([Fig. 14](#)), wobei D18S55 von der Gruppe [S55-S969-S1113-S483-S465] getrennt ist, welche durch die Haplotypanalyse in der Familie MAD31 erhalten wurde. Die centromere Lokalisierung von D18S55 wird definiert durch den STS/STR-Gehalt der umgebenden YACs ([Fig. 14](#)). Wenn wir die Haplotypdaten und die YAC-Contig-Karte kombinieren, wird die folgende Reihenfolge der STR-Marker erhalten: cen-[S51-S68-S346]-S55-[S969-S1113]-[S483-S465]-S876-S477-S979-S466-[S817-S61]-tel.

[0065] Von den 25 YAC-Klonen, welche den vollständigen Contig umspannen, wurden 7 YAC-Klone ausgewählt, um den minimalen Weg der Anordnung ("tiling path") zu identifizieren (Tabelle 4). Diese 7 YAC-Klone decken die gesamte verfeinerte Region des Chromosoms 18 ab. Außerdem sollten die YAC-Klone bevorzugt nicht chimär sein, d.h. sie sollten nur Fragmente des humanen Chromosoms 18 enthalten. Um eine Untersuchung im Hinblick auf das Vorliegen von Chimären durchzuführen, wurden beide Enden dieser YACs subkloniert und sequenziert (siehe unten). Für jede der Sequenzen wurden Primer erhalten und DNA aus einem monochromosomalen Kartierungspanel wurde durch PCR unter Verwendung dieser Primer amplifiziert. Wie hierin nachfolgen angegeben wird, enthielten einige der YAC-Klone Fragmente von anderen Chromosomen abgesehen vom humanen Chromosom 18.

[0066] Dann wurden drei YAC-Klone ausgewählt, welche den minimalen Weg der Anordnung umfassten (Tabelle 5). Wie durch eine Pulsfeld-Gelelektrophorese ermittelt wurde, waren diese drei YAC-Klone stabil und ihre Größen stimmten gut mit den veröffentlichten Größen überein. Diese YAC-Klone wurden in andere Heffe-Wirtsstämmen für eine Restriktionskartierung übertragen und sind Gegenstand einer weiteren Subklonierung.

[0067] Beschreibung der erfolgreich analysierten STSs, STRs und ESTs, welche die verfeinerte Kandidatenregion abdecken.

Erklärungen:

- STS ("Sequence Tagged Site"): mit einem Sequenz-Tag versehene Stelle
- STR („Simple Tandem Repeat"): einfaches Tandem-Repeat
- EST („Expressed Sequence Tag"): Exprimiertes Sequenz-Tag

[0068] Diese Marker werden von dem Centromer zum Telomer hin angeordnet. Es sind nur die Marker angegeben, welche effektiv untersucht wurden und welche auf den YACs funktionierten.

Liste:

1. D18S60:

Datenbank ID: AFM178XE3 (auch als 178xe3, Z16781, D18S60 bekannt)
 Quelle: J Weissenbach, Genethon: "genetically mapped polymorphic STSs"
 Chromosom: Chr18

Primer:

Links = CCTGGCTCACCTGGCA

Rechts = TTGTAGCATCGTTGTAATGTTCC

Produktlänge = 157

Überblick der vollständigen Sequenz

AGCTATCCTGGCTCACCTGGCAAAAATACAGTGTATACACACACACACAC
ACACACACACACACACAGAGTGTNTTANTNATTCCAGCAAATAATATTA
CATATAAAAGATCTAATTGGTTCATCATGTAAATTTAGTAGGAACATTACA
ACGATGCTACAAGANTTTATCCAAAAGTGAGATTTCTTAGAATATCTGTT
AAAAGTAATTTTATTGAGTTAATAGAAATTCTATTGAAAACATCAAAGTTAT
AAAGCT

Genbank ID: Z16781

Beschreibung: H. sapiens (D18S60) DNA-Segment mit (CA)-Repeat;

Klon

Suche nach GDB-Eintrag

2. WI-9222:

Datenbank ID: UTR-03540 (auch als G06101, D18S1033, 9222, X63657 bekannt)

Quelle: WICGR: Primer von Genbank-Sequenzen

Chromosom: Chr18

Primer:

Links = GATCCCATAAAGCTACGAGGG

Rechts = GAGTCTAAAGACAAGAAAGCATTGC

Produktlänge = 99

Überblick der vollständigen Sequenz

TCTTCTTACCCCTTGGAAGAAGACTGTTTCCAAATAATTTGAACAGCTTG
CTGCTAAATGGGACCCAATTTTTGGCCTATAGACACTTATGTATTGTTTTT
GAATACGTCAGATTGGACCAGTGCTCTTCAGGAATGTGGCTGCAAGCAA
GGGGCTAGAAGTTCACCTCCTGACAGTATTATTAATACTATGCAATATG
GAATAGGAGACCATTGATTTTCTAGGCTTTGTGGTAGAGAGGTGAAGG
TATGAGAATTAATAGCGTGTGAACAAAGTAAAGAACAGGATTCCAGAATG
ATCATTAAATTTGTTTCTATTTATTCTTTTTTGCCCCCTAGAGATTAAGTC
CAGAAATGTACTTTCTGGCACATAAAGAAATCTTGAGGACTTTGTTTAAAC
CTTCCATAAAAAACAATTTTCGGTTTCTCGGGTNNNNNNNNNNNNNNNNNT
NNNT
TCTTCTTTGTGTATTTTATTCAAGATGAGTTGGACCCATTGCCAGTGAGT
CTGAATGTCACTGACAGCCCTGTGTTGTGCTCAGGACTCACTCTGCTGC
TGGTGGAACTCATGGCTTCTCTCTCTCTTTGATCCCATAAAGCTACGAG
GGGGACGGGAGAGGGCAGTGCAATGGGAAGTAAAGAGATATTTCCAG
TAGGAAAAGCAATGCTTTCTTGCTTTAGACTCAAATGCTTAGGGAACGT
TTCATTTCTCATTTCATGGGGAAAGGCAGCCTCCTTAAATGTTTTCTGAAG
AGCGGTAAATCTAGAAGCTTAAGAATTTACAGTTCCTTCAATAACCATGA
TGACCTGAAGTTCACCTATCCCATTTTAGCATCTACTTGTTTTTCCCATCT
CTTCCTTTCCAATTTGCTTATACTGCTGTAATATTTTGTNNNNNNNNNN
NNNNNNNNNNNNNNNGACCAGCTAAAATTTTCGACTTGACTTTTAACTT
AACTCATGAATTAATTAAGCAAATGAAAAATTAAGAGTGTGACTTTTT
CTCGGAGCATATATGTAGCTTTTAGGAAAGGCTGATGATGGTATAAAGTT
TGCTCATTAAGAAAAAAGACAAGGCTGATTTTGAAGAGAGTTGCTTTTG
AAATAAATGATCA

Genbank ID: X63657

Beschreibung: H. sapiens fvt1 mRNA
Suche nach GDB-Eintrag

3. WI-7336:

Datenbank ID: UTR-04664 (auch als PI5, G00-679-135, G06527, 7336, U04313 bekannt)
Quelle: WICGR: Primer von Genbank-Sequenzen
Chromosom: Chr18
Primer:
Links = AGACATTCTCGCTTCCCTGA
Rechts = AATTTTGACCCCTTATGGGC
Produktlänge = 332

Überblick der vollständigen Sequenz

TAAGTGGCATAGCCCATGTTAAGTCCTCCCTGACTTTTCTGTGGATGCCG
ATTTCTGTAAACTCTGCATCCAGAGATTCATTTTCTAGATACAATAAATTG
CTAATGTTGCTGGATCAGGAAGCCGCCAGTACTTGTTCATATGTAGCCTTC

ACACAGATAGACCNNNNNNNNNNNCCAATTCTATCTTTTGTTTCCTTTTTT
CCCATAAGACAATGACATACGCTTTTAATGAAAAGGAATCACGTTAGAGG
AAAAATATTTATTCAATTGTTCAAAATTGTCGGGGTAGTTGGCAGAAAT
ACAGTCTTCCACAAAGAAAATTCCTATAAGGAAGATTTGGAAGCTCTTCT
TCCCAGCACTATGCTTTCCTTCTTTGGGATAGAGAATGTTCCAGACATTC
TGGCTTCCCTGAAAGACTGAAGAAAGTGTAGTGCATGGGACCCACGAAA
CTGCCCTGGCTCCAGTGAAACTTGGGCACATGCTCAGGCTACTATAGGT
CCAGAAGTCCTTATGTTAAGCCCTGGCAGGCAGGTGTTTATTAAATTTCT
GAATTTTGGGGATTTTCAAAAGATAATATTTTACATACACTGTATGTTATA
GAACCTTCATGGATCAGATCTGGGGCAGCAACCTATAAATCAACACCTTAA
TATGCTGCAACAAAATGTAGAATATTCAGACAAAATGGATACATAAAGACT
AAGTAGCCCATAGGGGTCAAATTTGCTGCCAAATGCGTATGCCACCA
ACTTACAAAACACTTCGTTCCGAGAGCTTTTCAGATTGTGGAATGTTGG
ATAAGGAATTATAGACCTCTAGTAGCTGAAATGCAAGACCCCAAGAGGAA
GTTTCAGATCTTAATATAAATTCACCTTTCATTTTGTAGCTGTCCCATCTG
GTCATGTGGTTGGCACTAGACTGGTGGCAGGGGCTTCTAGCTGACTCG
CACAGGGATTCTCACAATAGCCGATATCAGAATTTGTTGAAGGAACTT
GTCTCTTCATCTAATATGATAGCGGGAAAAGGAGAGGAACTACTGCCTT
TAGAAAATATAAGTAAAGTGATTAAAGTGCTCACGTTACCTTGACACATAG
TTTTTCAGTCTATGGGTTTAGTTACTTTAGATGGCAAGCATGTAACCTATA
TTAATAGTAATTTGTAAAGTTGGGTGGATAAGCTATCCCTGTTGCCGGTT
CATGGATTACTTCTCTATAAAAAATATATTTACCAAAAAATTTTGTGACA
TTCTTCTCCCATCTCTTCTTGACATGCATTGTAAATAGGTTCTTCTTGT
TCTGAGATTCAATATTGAATTTCTCCTATGCTATTGACAATAAAATATTATT
GAACTACC

Genbank ID: G06527
Beschreibung: WICGR: Statistische genomweite STSs

4. WI-8145:

Datenbank ID: EST 102441 (auch als D18S1234, G00-677-827, G06845, 8145, T49159 bekannt)
Quelle: WICGR: STSs von dbEST-Sequenzen
Chromosom: Chr18
Primer:
Links = GAAATGCACATAACATATATTTGCC
Rechts = TGCTCACTGCCTATTTAATGTAGC
Produktlänge = 184

Überblick der vollständigen Sequenz

GTTGTTTGGANGCAGGTTTATTTATTATATACTTGCAATTGAATATAAGAT
 ACAGACATATATATGTGTTATGTATTTCTAGAAATGCACATAACATATATTT
GCCTATTGTTAATGTTTTTCCAGANATTTATTACAGAAGGGCATGGAG
 GGATACCTACTTATTCTTCATTATGAGAACAATTAAGGCATTTATTAGAT
 AGGAAATTAACAGANCATCTGCTTCTATAACTTTATTAGCTACATTAAATA
GGCAGTGAGCANTAATTTAAAANCTCACCATTATATAAANTANTAAATACC
 AAAGTAAAAG

Linker und rechter Primer

PCR-Bedingungen

Genbank ID: T49159

Beschreibung: yb09e07.s1; Homo sapiens cDNA-Klon 70692 3' ähnlich wie gb:J02685

UNiGene-Cluster-Beschreibung: Humane mRNA für Arg-Serpin (Plasminogen-Aktivator 2, PAI-2), Suche nach GDB-Eintrag

5. WI-7061:

Datenbank ID: UTR-02902 (auch als PAI2, G00-678-979, G06377, 7061, M18082 bekannt)

Quelle: WICGR: Primer von Datenbank-Sequenzen

Chromosom: Chr18

Primer:

Links = TGCTCTTCTGAACAACTTCTGC

Rechts = ATAGAAGGGCATGGAGGGAT

Produktlänge = 338

Überblick der vollständigen Sequenz

AACTAAGCGTGCTGCTTCTGCAAAAGATTTTTGTAGATGAGCTGTGTGCC
 TCAGAATTGCTATTTCAAATTGCCAAAAATTTAGAGATGTTTTCTACATAT
TTCTGCTCTTCTGAACAACCTTCTGCTACCCACTAAATAAAAACACAGAAAT
 AATTAGACAATTGTCTATTATAACATGACAACCCTATTAATCATTGTTGCT
 TCTAAAATGGGATCATGCCCATTTAGATTTTCCTTACTATCAGTTTATTTT
 TATAACATTAACTTTTACTTTGTTATTTATTATTTTATATAATGGTGAGTTTT
 AAATTATTGCTCACTGCCTATTTAATGTAGCTAATAAAGTTATAGAAGCAG
 ATGATCTGTTAATTTCTATCTAATAAATGCCTTTAATTGTTCTCATAATGA
 AGAATAAGTAGGTATCCCTCCATGCCCTTCTATAATAAATATCTGGAAAAA
 ACATTAAACAATAGGCAAATATATGTTATGTGCATTTCTAGAAATACATAA
 CACATATATATGTCTGTATCTTATATTCAATTGCAAGTATATAATAATAAA
 CCTGCTTCCAAACAACNNNNNNNNNNNNNNNGGAATTC

PCR-Bedingungen

Genbank ID: G06377

Beschreibung: WICGR: Statistische genomweite STSs

6. D18S68:

Datenbank ID: AFM248YB9 (auch als 248yb9, Z17122, D18S68 bekannt)

J Weissenbach, Genethon: "genetically mapped polymorphic STSs"

Chromosom: Chr18

Primer:

Links = ATGGGAGACGTAATACACCC

Rechts = ATGCTGCTGGTCTGAGG

Produktlänge = 285

Überblick der vollständigen Sequenz

AAAGAGTTGGGGTTGTGAATTCACACACCAGTCAACTATTGGCTATGGG
 CTTACCATGGGAGACGTAATACACCCGGNACTTCCAACCTCACATACCAG
 AGACATGGCTCTAGCACCCAATGGAAATATGCTGAATGTTGCAGGTGCA
 AGACAGCAACAAAGCAGACAGAGGCACATAGACAAGGCACCAACAGTGT
 CCACTATACCCTGACAGTGTGGAAAGTTGTAGATAGGATGAAGAGAAAG
 AATACA
 CGGTAGANACTTACTACNCAAAGTGTGANCCCTCAGACCAGCAGCATCTG
 GCNAAATGGTGATCTATCACCTTCCAG

Genbank ID: Z17122

Beschreibung: H. sapiens (D18S68) DNA-Segment mit (CA)-Repeat;
 Klon

7. WI-3170:

Datenbank ID: MR3726 (auch als D18S1037, G04207, HALd22f2, 3170 bekannt)

Quelle: WICGR: Statistische genomweite STSs

Chromosom: Chr18

Primer:

Links = TGTGCTACTGATTAAGGTAAAGGC

Rechts = TGCTTCTTCAATTTGTAGAGTTGG

Produktlänge = 156

Überblick der vollständigen Sequenz

CTGAGACAAGGCAGGCAAACAACCTCTAAAAATCTACAATTGGTGATTGG
TGTGCTACTGATTAAGGTAAAGGCACAGAATTATACATCCAGGTTNCTAT
TACTTATGGCAGACTCAGGACCCAGGTTNAGAGACCACTGGCCTTAAGA
AAAAAATGGGGTTCTGATTTCTGGATAATAATCCAACCTCTACAAATTGA
AGAAGCAACATACCCTCTTTGTTA

Genbank ID: G04207

Beschreibung: WICGR: Statistische genomweite STSs

8. WI-5654:

Datenbank ID: MR10908 (auch als D18S1259, G00-678-695, G05278, 5654 bekannt)

Quelle: WICGR: Statistische genomweite STSs

Chromosom: Chr18

Primer:

Links = CTTAATGAAAACAATGCCAGAGC

Rechts = TGCAAAATGTGGAATAATCTGG

Produktlänge = 149

Überblick der vollständigen Sequenz

CTACAAAATGCATGTGGCTTTGGCTTTGAAATAGTACACCCTATCAAAGA
 CTAAATTTTCTTAATGAAAACAATGCCAGAGCTTTTTTCATGATATTTTGT
 TTTAGAGATGGGGAACAATCTGGACGTTGTTTCCTTATCTGGGTGGTAAT
 CGAGGCTTAGCAATTTCCACAGCGTTACACAAATCCAGATTATTCCACA
TTTTGCAAATA

Genbank ID: G05278

Beschreibung: WICGR: Statistische genomweite STSs

9. WI-5654:

Datenbank ID: AFM122XC1 (auch als 122xc1, Z16621, D18S55, GC378-D18S55 bekannt)
 Quelle: J. Weissenbach, Genethon: genetisch kartierte polymorphe STSs
 Chromosom: Chr18
 Primer:
 Links = GGGAAAGTCAAATGCAAAATC
 Rechts = AGCTTCTGAGTAATCTTATGCTGTG
 Produktlänge = 143

Überblick der vollständigen Sequenz

AGCTGAACATGCCTTTTCATGGAGCAGTTTCNAAATACACTTTTGGTACA
 ATCTGCAGGTGGATATTTGGAGCTCAGGAGTTTGAGACCAGCCTGGGCA
 ACATGGTGAATCCCGTCTCTACTAAAATACAAAAATTAGCCAGGTGTG
 GCGGCATGTGCCTGTAGNCCCAGGATGGATTGAGTGGGTGAGATATGG
 AATAAGTGGTGGGAAGTCAAATGCAAAATCAATTCAGTTTGTCAATATTG
 ATTCTCTATTCTAGCCTGGCGTGGTTTTCTCGTCACACACACACACAC
 AC
AGCT

Genbank ID: Z16621
 Beschreibung: H. sapiens (D18S55) DNA-Fragment mit (CA)-Repeat;
 Klon

10. D18S969:

Datenbank ID: GATA-P18099 (auch als G08003, CHLC.GATA69F01, CHLC.GATA69F01.P18099 bekannt)
 Quelle: CHLC: genetisch kartierte polymorphe Tetranukleotid-Repeats;
 Chromosom: Chr18
 Primer:
 Links = AACAAGTGTGTATGGGGGTG
 Rechts = CATATTCACCCAGTTTGTGTC
 Produktlänge = 365

Überblick der vollständigen Sequenz

CAGGGAAATGCAAATCAAACCCACAATGAGTTATCTCCTCATACCTTTAAT
 GATGGCTAATATTAACAAGAGATAAACAAGTGTGTATGGGGGTGTGGAG
 AAAAGAGAATGTNCGAACACTCTTGGTTGAAATATAAGTTGGTAGANCCA
 TTATGCAAACAGTATGAATCTTTATCAGTATAANATTAGGACCTNGCATA
 TGATCNCAGCAATCNCACNTCTGNGNGATCNCACNCNCTATCTCTCTAT
 ATCTATCTATCTATCTATCTATCTATCTATCTATCTATCTATCTATCT
 ATCTGTCTGTCTATCATCTATCTATCTTCTATCTATCTATCTATCTTTCTAT
 CTATCTATCTGTCTATCTATNCCGGAATATTTTCAGCCATNNAATAAGG
 AAGTCCTGCTATTTGCAACAACTGGGTGAATATGGAGAACGTTATGCTA
 AATGCAATATGCTAAAGACAGACACAGAAAGACAAGTATGACCTCACTTA
 TATGTGGAACTGAAAAAGCCATACTCATTACAGCAAAGAGTAGAATGTT
 GGTTACCAGGGGCAAAGAGGGTAGAAATGAGGGGAGTGAGAAAATGTC
 AATCAAAGTGTAAGAATGTTATAACATAAATAAATTCATAGAG

Genbank ID: G08003
 Beschreibung: Human STS CHLC.GATA69F01.P18099 Klon GATA69F01.

11. D18S1113:

Datenbank ID: AFM200VG9 (auch als D18S1113, 200vg9, w2403 bekannt)
 Quelle: J. Weissenbach, Genethon: genetisch kartierte polymorphe STSs

Chromosom: Chr18

Primer:

Links = GTTGACTCAAGTCCAAACCTG

Rechts = CAAAGACATTGTAGACGTTCTCTG

Produktlänge = 207

Überblick der vollständigen Sequenz

AGCTGCATATAAACTATTCCATTTTACATTTTTGAAGACATTTGTAGCCA
TGATACTTTGCTGTTGTCTGTGGGCCACCTCTTTTTGAAGTGTGTAGTTA
ACTGTGCTCCTGTAATCTGTTGTCTGTTGACTCAAGTCCAAACCTGTTCT
GCGTGGCATGTTTCTNCAACTTGATGTGATGCTATTTATCACTTTCTTTGA
AGTTAAGTCTCTATGTCTTTGTATTCTTTCTGTGTACCCAGGGATATGTTT
GTGCATGCACACGCATAAACACACACACACACACACACACACAGAGA
CAGAGACAGAGAACGTCTACAATGTCTTTGTGAG

12. D18S868:

Datenbank ID: GATA-D18S868 (auch als G09150, CHLC.GATA3E12, CHCL.GATA3E12.496, CHLC.496, D18S868 bekannt)

Quelle: CHLC: genetisch kartierte polymorphe Tetranukleotid-Repeats

Chromosom: Chr18

Primer:

Links = AGCCAATACCTTGTAGTAAATATCC

Rechts = GATTCTCCAGACAAATAATCCC

Produktlänge = 189

Überblick der vollständigen Sequenz

GAGTGAGCCAATACCTTGTAGTAAATATCCATCTATCTTTGATGTATCTAT
GTATCTATCTTTGTATCTATATGTCTATGTATCTATGTATGTATGTATCTAT
CTATCATCTATCTATCTATCATCTATCTATCTATCTATCTATCTATCTATCT
ATCTATCTATATCCNTTTGGGATTATTTGTCTGGAGAATCCTGATTAAAT
AGTCTGCTAACTTTTATCTGTATCTCCTATGTGTATGCTTCTCCTTCTTCC
TGTCTCTCTCTCTTTTGTCTCATTTAANCTCCTTTCCTGGGNATATTG
GNAATTTTGATTGGANTCTGGACANTGTAGGAGTAAAAATTT

Genbank ID: G09150

Beschreibung: Human STS CHLC.GATA3E12. P6553 KLon GATA3E12.

13. WI-9959:

Datenbank ID: MR12816 (auch als D18S1251, G00-678-524, G05488, 9959 bekannt)

Quelle: WICGR: Statistische genomweite STSs

Chromosom: Chr18

Primer:

Links = TGCCAACAGCAGTCAAGC

Rechts = AGCACCTGCAGCAGTAATAGC

Produktlänge = 110

Überblick der vollständigen Sequenz

ctgttttattgaaaaaaaaatctgtctccaagaagaaaagttcattctACCTGTTGCCAACAGC
AGTCAAGCGGACATGTTTAAATTTTTTAAAAAGTATTTTTTTTCCAAC
GGNGTTTAAATAGCCTCATTTTGGCTTTTGCTATTACTGCTGCAGGTGCTT
TNATTTTTTTCCTCTGCATTATAATTAC

Genbank ID: G05488

Beschreibung: WICGR: Statistische genomweite STSs;
Suche nach Datenbank-Eintrag

14. D18S537:

Datenbank ID: CHLC.GATA2E06.13 (auch als CHLC.13, GATA2E06, D18S537, GATA-D18S537 bekannt)
Quelle: CHLC: genetisch kartierte polymorphe Tetranukleotid-Repeats
Chromosom: Chr18
Primer:
Links = TCCATCTATCTTTGATGTATCTATG
Rechts = AGTTAGCAGACTATGTTAATCAGGA
Produktlänge = 191

Überblick der vollständigen Sequenz

AAAGCTGAGTGAGCCAATACCTTG TAGTAAATATCCATCTATCTTTGATGT
ATCTATGTATCTATCTTTGATCTATATGTCTATGTATCTATGTATGT
ATCTATCTATCATCTATCTATCTATCATCTATCTATCTATCTATCTAT
CTATCTATCTATCTATATCCNTTNGGTATTATTTNGTCTGGNGAATCCTGAT
TAACATAGTCTGCTAACTTNTATCTGTATCTNCTATGTGTATGCTTCTNCT
TCTTCCTGTCTCTCTCTGCTTTGTCTCAATTNAAATCTCC

Genbank ID: G07990
Beschreibung: Human STS CHLC.GATA2E06.P6006 KLon GATA2E06.
Suche nach Datenbank-Eintrag

15. D18S483:

Datenbank ID: AFM324WC9 (auch als 324wc9, Z24399, D18S483 bekannt)
Quelle: J. Weissenbach, Genethon: Genetisch kartierte polymorphe STSs
Chromosom: Chr18
Primer:
Links = TTCTGCACAATTTCAATAGATTC
Rechts = GAACTGAGCAAACGAGTATGA
Produktlänge = 214

Überblick der vollständigen Sequenz

AGCTCTGCTGGAAGAGCAGGGCTGTTTTCTGCACAATTTCAATAGATTCC
CCTACCCTGGGTTTTTCAGTAGATAGATAGATAGATAGATAGGTTAGA
TAGATAGATAGATAGATAGATAGATAGATAGATAGATAGATAGATTTT
ATATATAGTATATAAAATCTACACACACACACACACACACACACATA
TTTGCCTTTCTTGACTATCATACTCGTTTGCTCAGTTCTTTTTTTTTTAA
ATTTTTGTTTGTAATCCAAAATGCTT

Genbank ID: Z24399
Beschreibung: H. sapiens (D18S483) DNA-Segment mit (CA)-Repeat;
KLon
Suche nach Datenbank-Eintrag

16. D18S483:

Datenbank ID: AFM250YH1 (auch als 260yh1, Z23850, D18S465 bekannt)
Quelle: J. Weissenbach, Genethon: Genetisch kartierte polymorphe STSs
Chromosom: Chr18
Primer:
Links = ATATTCCCCTATGGAAGTACAG
Rechts = AAAGTTAATTTTCAGGCACTCT
Produktlänge = 232

Überblick der vollständigen Sequenz

AGCTCTGTCCCTCTAGAGAACGCTGACTAATATATTCCCCTATGGAAGTA
CAGATGGTTTTNTAAAATAAATTTATCTGATTGTGATGAGATAATCATCA

TTTTATGTTTCAGTGTTTTCTAAATTTTTATTGTTATTGTTTTATACTCT
 AAATGGTTTTTAAATATGCACATATGTGCATATTTTACACACACACACACA
 CACACACACACTCTCTTTATTTAGAAGCATTATAGATAGAGTGCCTGAAAA
TTAACTTTTAACCNAAGAAAAGACAATAAGGAACAATAGGGAAGTTATCC
 TTTGCTAAGGGTATGGAAAATATTCACATATTATTTATAACANGTTAAACC
 AAGTCATGCTTGANTATAATAGCT

Genbank ID: Z23850

Beschreibung: H. sapiens (D18S465) DNA-Segment mit (CA)-Repeat;

KLon

Suche nach Datenbank-Eintrag

17. D18S968:

Datenbank ID: GATA-P34272 (auch als G10262, CHLC.GATA117C05, CHLC.GATA117C05.P34272 bekannt)

Quelle: CHLC: genetisch kartierte polymorphe Tetranukleotid-Repeats

Chromosom: Chr18

Primer:

Links = GAAATTAACCAGACACTCCTAACC

Rechts = CTTAGAATTGCCTTTGCTGC

Produktlänge = 147

Überblick der vollständigen Sequenz

GAATAAAAATATGAGGTATTAGAAATTTACAGATAGGAAGAAATTAACCAG
ACACTCCTAACCACCGATNAGTTTAAAGAGGAGATAGATAGATAGATGAT
 AGATAGATAGATAGATAGATAGATACCACTGAAAATGCAANCACAAATTA
 GCAGATTATATGTGATGCAGCAAAGGCAATTCTAAGTAGATTCTAACTGC
 TACATTGATAGCAGTACCCACTGACATTACCGGAAAGGATGGTATCCATA
 ACCACCTACCTATATACCTCCGCAGCTGGANATTAGGNTTAAGCTTCTTN
 GGGCNCCTGGCGGCCCCCNNTTGTGGTCCCCGGTNGGNCCCCGNTTNN
 GNNTNGCTNNGNTTNCNTTGGNGNCCCCCNNTNGGTTTNNGGNNNNNT
 NNNNNTNGNNNNNTTNCNNNNNNNNNTNTNNNNCNNNNNNNNNTNNN
 NNNNNNNNNNGGNNNNNGGN

Genbank ID: G10262

Beschreibung: Human STS CHLC.GATA117C05.P34272 Klon GATA117C05.

18. GATA-P6051

Datenbank ID: GATA-P6051 (auch als CHLC.GATA3E08, CHLC.GATA3E08.P6051 bekannt)

Quelle: CHLC: genetisch kartierte polymorphe Tetranukleotid-Repeats

Chromosom: Chr18

Primer:

Links = GCAACAACCCTAATGAGTATACG

Rechts = GAGTCTCACCAGGGCTTACA

Produktlänge = 149

Überblick der vollständigen Sequenz

AAAGCTGTCTCCTTTTGTAAAGTGTGCTCAGAGGAATCTTTTTCAGTAAAT
 AAAGTCTGCACCCAGACATCTCACTTTGTATACCACGGAGAATTTACCAT
 GACTCTTCTCAGTGATAAACGTCAATATAGAATAATCAGGAGAAAAAGAG
 AAATCCAGTAAAGAAATAAGTCTGTAGAAAGCAACAACCCTAATGAGTAT
ACGATATCTATCTATCTATCTATCTATCTATCTATCTATCTATCTATG
 NATCTATCTATCTAACATTATATAAAATATATATTTCTCCTGTATTGGGG
 CCCTGTGTGTAAGCCCTGGTGAGACTCAAAAATTTGANTATTCCTNNTTN
 T

Genbank ID: G09104

Beschreibung: Human STS CHLC.GATA3E08.P6051 Klon GATA3E08.

19. D18S537:

Datenbank ID: GATA-D18S875 (auch als G08001, CHLC.GATA52H04, D18S875 bekannt)

Quelle: CHLC: genetisch kartierte polymorphe Tetranukleotid-Repeats

Chromosom: Chr18

Primer:

Links = TCCTCTCATCTCGGATATGG

Rechts = AAGGCTTTCAGACTTACACTGG

Produktlänge = 394

Überblick der vollständigen Sequenz

TTATTTATTCACCTCATTCAATAAATATTTATGAATTTCTTTAATGGCNANG
 AAAGTATGTTTGGTACTGAATATGGTGAGCAAGATTTTCCTCTCATCTCG
GATATGGAAAGATCTTGAAATCATTATACNTCATACTTACAATANGAAAG
 AAGCTGAGCAATTTGAAAATCAACAATTTCTTTTGTACNTGTCAGAAAAGT
 GAAGATATATTAATCAGGGTTCTTCAGAGAAACATAACCAATAGGNCACA
 GNTCTATATGNCCNCNTTTATCTATCTATCTATCTATCTATCNCCTATCTAT
 CNCANACCNGGNGAANTNATNTTTGNGAGATTNATGCAAGNCTGAGAAA
 NACCNAAGAANCTGCTCCCTGTNAACTNGAGATNCAAGAANCTGAANA
 GTATAGNTCCAGTCCNAAGTCTANAGACCTTAGAATTAGGAAAACCTGATA
 CTATAAATACCAGTGTAAGTCTGAAAGCCTTAAANACCANATAGTGCCAT
 TGAAAGGGGCAGAAGACTGATGTCCCAGTTCAAGCAGGCAAAGTTAGAGA
 AGCCTTATTTTCTGCAACATTGTTCTATTCAGACCCTTNANANGATTGACN
 ATGTCCACCCA

Genbank ID: G08001

Beschreibung: Human STS CHLC.GATA52H04.P16177 Klon GATA52H04.

Suche nach Datenbank-Eintrag

20. WI-2620:

Datenbank ID: MR1436 (auch als G03602, D18S890, HHAa12h3, 2620 bekannt)

Quelle: WICGR: Statistische genomweite STSs

Chromosom: Chr18

Primer:

Links = TCTCCAAGCTATTGATTGGATAA

Rechts = TTAAGAGCCAATTTATATAAAAGCAGC

Produktlänge = 177

Überblick der vollständigen Sequenz

CCCCTTTTGCCAACGCCATGCTTCACGTAGGGAGCCTGACATGCAGAAA
ACTCTCCAAGCTATTGATTGGATAAAGAGCCAGAGCTGACTGAATTCCAT
 TCTTCTTGAGCCTCTCATTCTGTGTTTCTCGAATTTTACCAAAGCATCTT
 GACACACAAATATCTGACTCAAGGAAAAGGAAAAACAACCTGCTTTTTCTC
CAGCTGCTTTTATATAAATTGGCTCTTAACTTTCTAAGTTTATTATGGAT
 A

Genbank ID: G03602

Beschreibung: WICGR: Statistische genomweite STSs;

Suche nach Datenbank-Eintrag

21. WI-4211:

Datenbank ID: MR6638 (auch als G03617, D18S980, 4211 bekannt)

Quelle: WICGR: Statistische genomweite STSs

Chromosom: Chr18

Primer:

Links = ATGCTTCAGGATGACGTAATACA

Rechts = AAATTCTCGCTGATTGGAGG

Produktlänge = 113

Überblick der vollständigen Sequenz

CTAGTACCATAATCCCTTTTGGGAATAAACCATCCACCTTTAGTCAGANC
AGATGCTTCAGGATGACGTAATACATAATAAGCCTACTCAGTTCTACTCT
 GGCTTTGTATGTCTTCAAAGTGATATTTTTTAAGTATTACTTGTCCCTCC
AATCAGCGAGAATTT

Genbank ID: G03617

Beschreibung: WICGR: Statistische genomweite STSs;

Suche nach Datenbank-Eintrag

22. D18S876:

Datenbank ID: GATA-D18S876 (auch als G09963, CHLC.GATA61E10, D18S876 bekannt)

Quelle: CHLC: genetisch kartierte polymorphe Tetranukleotid-Repeats

Chromosom: Chr18

Primer:

Links = TCAAACCTTATAACTGCAGAGAACG

Rechts = ATGGTAAACCCTCCCCATTA

Produktlänge = 171

Überblick der vollständigen Sequenz

AAGACTGCAATTACATTTGCATCAAACCTTATAACTGCAGAGAACGTTGCC
 CACTATTTTATACCACACAACAGTATTCTTAGCCAGATTACATCTATCTAT
 CTATCTATCTATCTATCTATCTATCTATCTATCTATCATCTATCTAGC
 TAGCTATCTATCTATAGAACTAATGGGGAGGGTTTACCATGTTTGGGTGA
 ACCCAAACATTTTATGNNCAAGGGNTTGGAAAATTACCCTTATCTACAAC
 TTTTNAACCTTGTTTTGGTAGGNGTGNTAATTCNTGGGNTTGGAACT
 TTTGNAATTTCTCCTNTTGTNTNATTNNNNATTNNTNNNCATTATTNTGG
 GGTNTTCNGGGTGGAGGGCTNANTTTGGCCNCCCGGGTCCNNGGNGC
 NAGTNGGNNNGGNTNNTNGGGTTTNCCTTGGGAANCNTNCCNCCTNCNG
 GGGNTTCANGGGNTTTTNTTTNTTTG

Genbank ID: G09963

Beschreibung: Human STS CHLC.GATA61E10.P17745 Klon GATA61E10.
Suche nach Datenbank-Eintrag

23. GCT3G01:

Datenbank ID: GCT-P10825 (auch als G09484, CHLC.GCT3G01, CHLC.GCT3G01.P10825 bekannt)
Quelle: CHLC: genetisch kartierte polymorphe Tetranukleotid-Repeats
Chromosom: Chr18
Primer:
Links = CTTTGCAATCTTAGTTAATTGGC
Rechts = GAACTATGATATGGAGTAACAGCG
Produktlänge = 128

Überblick der vollständigen Sequenz

AGATGTTTAACTTTGCAATCTTAGTTAATTGGCAGAAATGAAATTTAGTTT
CCACAACCTTTTATTCGATATTAACACACCACCACCATCAGCAGCAGCAGC
AGCAGCAGCAGCATCGCTGTTACTCCATATCATAGTTCAGAGCATTATAA
GNGGTCAAAATATACAACTAGGCTGACACCNGNATAAGGTTTAATTTAA
ACCNNGGTCTNCCCTCTAAGGNGGNTTTTTTTTTCTTGNCNTGGCTTCT
TTTTCCNTTTGCTTTTGTAATAATCAAGGNATTTTTGGGTTNTTCNTGGN
ANTTNNCANNANTNNTNNTNNNCNCNCCCCCCTTTGNGGCGGGGGTC
CCCNNTTGCCCCGGGGTTGNGTGAGTAGGGGGGTCNCGGGTNNNG
NAAGTTTNGGGGCCCT

Genbank ID: G09484
Beschreibung: Human STS CHLC.GCT3G01.P10825 Klon GCT3G01.

24. WI-528:

Datenbank ID: MR232 (auch als G03589, 582, D18S828 bekannt)
Quelle: WICGR: Statistische genomweite STSs
Chromosom: Chr18
Primer:
Links = TTCTGCCTTTCCTGACTGTC
Rechts = TGTTTCCCATGTCTTGATGA
Produktlänge = 211

Überblick der vollständigen Sequenz

CTACTAAGCAAATTCTGCTCAGCCTTCTGCCTTTCCTGACTGCTTGTG
GCCCTTCCCACTTTAAGGATGCCTGTTAAGTAGCCACCTCTAATTAGGA
ATCTTCCCTTGTTCTTTCTCAGGAGGCTTAGACACTGTCAGTTTCCTGAA
GACAGAAAATAAGCCTGCATTATCCTAGTAGTGATTCAAACTAATTGT
GTCCTGAGTCTTTCAATCATCAAGACATGGGAAACACTCAACAG

Genbank ID: G03589
Beschreibung: WICGR: Statistische genomweite STSs;
Suche nach Datenbank-Eintrag

25. WI-1783:

Datenbank ID: MR432 (auch als G03587, _shu_31.Seq, 1783, D18S824 bekannt)
Quelle: WICGR: Statistische genomweite STSs
Chromosom: Chr18
Primer:
Links = CCAGTAATTAGACATTGACAGGTTC
Rechts = TTTTACTAGACAGGCTTGATAAACAA
Produktlänge = 305

Überblick der vollständigen Sequenz

CCAGTAATTAGACATTGACAGGTTCCATACTAGTAATGTAGGGAATAGGG
CTGCTGCTTTTTGGGTTTCCTTGAGTATACTTTGTGCTGCATAAATATGG
CAATGGATAGTAAATAATTTGTATGCAGACCTTTAGTGTGCGATTAACTGT
GAATAAGGGAACAACAATCAAGGACAAAAATCAAAGACTAATTCTCTAT
ACATTTTGAGCTTTTGTA AAAAAGTAAGATTAGCTGAATATATCTGAAAAA
TTTCTAATCTCCTTTACAATTTTTTAAATTGTTTATCAAGCCTGTCTAGTAA
AAATAATTCAGTTTCGGAATGTGG

Genbank ID: G03587

Beschreibung: WICGR: Statistische genomweite STSs;

Suche nach Datenbank-Eintrag

26. D18S477:

Datenbank ID: AFM301XF5 (auch als 301xf5, Z24212, D18S477 bekannt)

Quelle: J. Weissenbach, Genethon: genetisch kartierte polymorphe STSs

Chromosom: Chr18

Primer:

Links = GGACATCCTTGATTTGCTCATAA

Rechts = GATTGACTGAAAACAGGCACAT

Produktlänge = 243

Überblick der vollständigen Sequenz

GGACATCCTTGATTTGCTCATAATACACTCATTCTTTACCATTTGAGTGT
GCACATATTTCTCTGATTGGAAAGAACTACAGAGGAGGTTTTACNTTTTA
CTTTCCAGTTTGCTATTAAAGAGAGAAAACCTAACAGAGNGAAATCAAGCA
ACTCAAACAACCTTACACACACACACACACACACTCACAAAGATA
TTTTGTTACCATATGTATTGATGTGCCTGTTTTCAGTCAATCCACAGGAA
GGGCTAAGGAGAGTGACATCTGGGCTACATTAAGGACAGTCACATTG
CTCAAAGNACTCAAGTTTAGCCCGAGTACAGTAGCT

Genbank ID: Z24212

Beschreibung: H. sapiens (D18S477) DNA-SEgment mit (CA)-Repeat;

KLon

Suche nach GDB-Eintrag

27. D18S979:

Datenbank ID: GATA-P28080 (auch als G08015, CHLC.GATA92C08, CHLC.GATA92C08.P28080 bekannt)

Quelle: CHLC: genetisch kartierte polymorphe Tetranukleotid-Repeats

Chromosom: Chr18

Primer:

Links = AGCTTGCAGATAGCCTGCTA

Rechts = TACGGTAGGTAGGTAGATAGATTCTG

Produktlänge = 155

Überblick der vollständigen Sequenz

CTCTACAGTCTCTNACCTTTGGACTCCAGGACTTTACCCAGCACCCCTCAA
CATCCCAGTGGGTTCTCAGGACTTTATAGTTGTAAGTCTGAGCCATGCCACT
GGATCCTAGGGTCTCCAGCTTGCAGATAGCCTGCTATGGGACTTAATCT
TTGTAATAAGGTGAGTCAATTCTGCCAATAAACCTACTTTTCATCTCTATCT
ATCTATCTATCTATCTATCTATCTATCTATCTATCTATCTATCTATCTATCT
CTATCTACCTACCTACCGTATTAGTTCTGTCTCTCTGGAGN

Genbank ID: G08015

Beschreibung: Human STS CHLC.GATA92C08.P28080 Klon GATA92C08.

28. WI-9340:

Datenbank ID: UTR-05134 (auch als G06102, D18S1034, 9340, X60221 bekannt)

Quelle: WICGR: Primer von Genbank-Sequenzen

Chromosom: Chr18

Primer:

Links = TGAGAGAACGAAATCTCTATCGG

Rechts = AGGCAGCAAGTTTTTATAAAGGC

Produktlänge = 115

Überblick der vollständigen Sequenz

ATGTATCTATCCCAATTGAGTCAGCTAGAAACAGTTGACTGACTAAATGG
AAACTAGTCTATTTGACAAAGTCTTTCTGTGTTGGTGTCTACTGAAGTTAT
AGTTTACCCTTCCTAAAAATGAAAAGTTTGTTTCATATAGTGAGAGAACGA
AATCTCTATCGGCCAGTCAGATGTTTCTCATCCTTCTTGCTCTGCCTTTG
AGTTGTTCCGTGATCATTCTGAATAAGCATTGCCCTTTATAAAAACTTGCT
GCCTGACTAAAGATTACAGGTTATAGTTTAAATTTGTAATTAATTCTACC
ATCTTGCAATAAAGTGACAATTGAATG

Genbank ID: G06102

Beschreibung: WICGR: statistische genomweite STSs;

Suche nach GDB-Eintrag

29. D18S466:

Datenbank ID: AFM094YE5 (auch als 094ye5, Z23354, D18S466 bekannt)

Quelle: J. Weissenbach, Genethon: genetisch kartierte polymorphe STSs

Chromosom: Chr18

Primer:

Links = ACACTGTAGCAGAGGCTTGACC

Rechts = AGGCCAAGTTATGTGCCACC

Produktlänge = 214

Überblick der vollständigen Sequenz

aaatgacactttaaggaggttaacacttgaacagaagccttgaccaccaccagttctcactagcactgagg
atgctctattggttgggttaccacacacgcatagacatgcacacacacagacacacagacacacac
acacacacacacaccagatatagcattccaaacctcaatatgctatgcaatactgcattaacagggtcatg
cctgtggtggcacataacttggcctagaaaatactggggacgtctgcattccctttattatcgaaatgacttact
tggctctgagtttccctcagaaglaatacttcaatacctcttccatttctgccttgancattgtttgggggtaccaag
tatagct

Genbank ID: Z23354

Beschreibung: H. sapiens (D18S466) DNA-SEgment mit (CA)-Repeat;

KLon

Suche nach GDB-Eintrag

30. D18S1092:

Datenbank ID: AFMA112WE9 (auch als D18S1092, w5374, a112we9 bekannt)

Quelle: J. Weissenbach, Genethon: genetisch kartierte polymorphe STSs

Chromosom: Chr18

Primer:

Links = CTCTCAAAGTAAGAGCGATGTTGTA

Rechts = CCGAAGTAGAAAATCTTGGCA

DNA-Sequenz:

AATTGAGCNCAGGAGTTTAAAGACCAGCCTGGGTAACACAGTGAGACCCC
TGTCTCTACAAAAAATACAAAAATNAGTTGGGCATGGTGGCACGTGCCT
GTAGTCTCAGCTACTTGCAGGGCTGAGGCAGGAGGAGTTCTTGAGCCCA
GAAGGTTAAGGCTGCAGTGAGCCATGTTTCATGCCACTGCACTTCACTCT
GAGTGACAAATTGAGACCTTGTCTCAGAAAGAAAGAAAGAAAGAAAGAA
GAAAGAAAGAAAGAANGAAAGAAAGAAAGTAAGAAAAAGAGAGGGAAAG
AAAGAGAAANAGNAAANAAATAGTAGCAACTGTTATTGTAAGACATCTCC
ACACACCAGAGAAGTTAATTTTAAATTTAACATGTTAAGAACAGAGAGAAG
CCAACATGTCCACCTTAGGCTGACGGTTTGTGTTATTTGTGTTGTTGCTGG
TAGTCGGGTTTGTGTTATTTTAAAGTAGCTTATCCAATACTTCATTAACAAT
TTCAGTAAGTTATTTTCATCTTTCAACATAAATACGNACAAGGATTTCTTCT
GGTCAAGACCAAATAATATTAGTCCATAGTAGGAGCTAATACTATCACA
TTTACTAAGTATTCTATTTGCAATTTGACTGTAGCCCATAGCCTTTTGTGCG
GCTAAAGTGAGCTTAATGCTGATCGACTCTAGAG

Genbank-ID: L18333

2. D18S346:

Andere Namen: UT575

Primerpaare: Primer A: TGGAGGTTGCAATGAGCTG

Primer B: CATGCACACCTAATTGGCG

DNA-Sequenz: ACGAGGACAGGAGTTCAAGACCAGCCTGGCCAACATGGTGAACCCCGTT
TNTACTAAAANTACAAAANTTGGTCGGGAGGCTGGGGCAGGNGACATGC
TTGACCCCAGGAGGTGGAGGTTGCAATGAGCTGAGATTGCACCACTGCA
CTNCAGCNTGG.....AAGAAAGAGAAAGGANAGNNAGGNAGNNANNAAC
TACATNTGAAGTCAACACTAGTATTGGTGGGAGAGGAATTTTATGCTGCA
TTCCCNACAACCACTAGATACGCCAATTAGGTGTGCATGGTCCATGCTA
T

Genbank-ID: L26588

3. D18S817:

Andere Namen: UT6365

Primerpaare: primer A: GCAAAGCAGAAGTGAGCATG

Primer B: TAGGACTACAGGCGTGTGC

DNA-Sequenz:

CATATGGGTCCACAAGCAACCTCAGTCCTTGTCTCTTCAGAAGAAAGAAT
TCTACTGAGGGNCATAAGGCAGAAGGAGAGACCTAGGCAAGTTGCAAAG
CAGAAGTGAGCATGTATTTAAAAAGCTTTAGAACAGTAAGGAAAGGAAGAA
AAGAAAAGAAGGAAAGTTCAACTTGGAAGAGGGCCAAGCCGGCAACTTG
GCAGAAGGATTGCTTGAGCCCAGGAGTTAAGACCAGTCTGGGCAATATA
GTGAGACTCCATCTCTGCATACATACATACATACATACATACATACA
TACATACATATTGCAGGGTATGATGGCACACGCCTGTAGTCCTAGCTACT
CTGGAGGTTGAGATGGGAGGGTCACTGAGCCTGGGAANTTGAGGCTGC
NNTGAGCCATGATC

Genbank-ID: L30552

Charakterisierung der YACs.

[0071] Es wurden (YACs ausgewählt, welche die Kandidatenregion umfassen und die Lücke flankieren. Diese YACy wurden weiter charakterisiert durch Bestimmung der Endsequenzen durch das Protokoll für inverse PCR.

Ausgewählte YACy: 961_h_9, 942_c_3, 766_f_12, 731_c_7, 907_e_1, 752_g_8, 717_d_3, 745_d_2

[0072] Neue STSs, basierend aus Endsequenzen (solange nichts anderes angegeben ist, wurden die STSs auf einem monochromosomalen Kartierungspanel untersucht, um die Chimären der Yacs zu identifizieren; wenn die Stränge einen anderen Treffer als Chromosom 19q – chimäres YAC ergaben, dann ist dies im Text unten angegeben):

1. SV32L

Abgeleitet von der Endsequenz des linken Arms des YACs 745_d_3.

Primer A: GTTATTACAATGTCACCCTCATT

Primer B: ACATCTGTAAGAGCTTCACAAACA

DNA-Sequenz:

ATTCCTTNGTTATTACAATGTCACCCTCATTTAAAAAGTGGAAAGATAAAG
AGGAAGCAATCTATTTTTTCTTTTTTCTGATAGCACTTGTTTGTGAAG
CTCTTACAGATGTTCTTAAGTAAATCAACTCCTCCATTTTTTTGTAGCA
ACTACACATATTTATCAATAATAGTTCACAAATACATTTTCAAATT

Amplifizierte Sequenzlänge: 107 Basenpaare (bp)

[0073] Dieses STS weist keinen klaren Treffer auf dem monochromosomalen Kartierungspanel auf.

2. SV32R

Abgeleitet von der Endsequenz des rechten Arms des YACs 745_d_3.

Primer A: ACGTTTCTCAATTGTTTAGTC

Primer B: TGTCTTGGCATTATTTTAC

DNA-Sequenz:

AGACAATGGGAGAAATTGCACTGCCCTGAGTCAGAAATCAGATCTGTTG
CCATACAGCTGCCGTTATGTGATCATTTGCAAGTCAACGTTTCTCAATTG
TTTAGTCATTTGTAAGACAAAAAGACTGGTTGGATTTCAGAGAATTTGGA
ATCCTCCTTCAGGTTTAAACAAGCAATAAATGATACTCTTCAGTGTAATAAT
AATGCCAAGACATNATTTGACTTTAAATTAAATCCAACAAGATATC

Amplifizierte Sequenzlänge: 127 bp

[0074] Dieses STS weist keinen klaren Treffer auf dem monochromosomalen Kartierungspanel auf.

3. SV11L

Abgeleitet von der Endsequenz des linken Arms des YACs 766_f_12.

Primer A: CTATGCTCTGATCTTTGTTACTTT

Primer B: ATTAACGGGAAAGAATGGTAT

DNA-Sequenz:

GTCTTTATTTTATATAACTATGCTCTGATCTTTGTTACTTTCTCCTTTTAAAC
TCAGTTTAAAGCTTTATTTCTTTATTTTCCAGCTGCTGAAGGTATATAGTTAGG
TTGTTTATTGGATACCATTTCTTTCCCGTTAATGTCAGTGGTTACTGCTATC
AATGTAGCAGTTA

Amplifizierte Sequenzlänge: 118 bp

[0075] Dieses STS weist einen Treffer mit Chromosom 18 auf und muss zwischen CHLC.GATA-p6051 und D18S968 lokalisiert sein.

4. SV11R

Abgeleitet von der Endsequenz des rechten Arms des YACs 766_f_12.

Primer A: AAGGTATATTATTTGTGTCG

Primer B: AAACCTTTCTTAACCTCATA

DNA-Sequenz:

ATAAGGTATATTATTTGTGTCGTGAGTTAAGAAATCATTAACTATTTT
CAGAATGACAAATGTCATTATATGTTGTAAAAAGATAAATACGTGAAAT
ATGAGGTTAAGAAAAGTTTA

Amplifizierte Sequenzlänge: 119 bp

[0076] Dieses STS weist einen Treffer mit Chromosom 18 auf und muss zwischen D18S876 und GCT3G01 lokalisiert sein.

5. SV34L

Abgeleitet von der Endsequenz des linken Arms des YACs 717_d_3.

Primer A: TCTACACATATGGGAAAGCAGGAA

Primer B: GCTGGTGGTTTTGGAGGTAGG

DNA-Sequenz:

ACATAAAATGTCGCTCAAAAACAATTATGTGTGTCTACACATATGGGAAA
GCAGGAAACAAATTTGTTTACAACATACATTACTTTTGTTTTTTAGGCAAG
ATAAAATNTCCTACCTCCAAAACCACCAGCACNGTCCGCAATAACTATAC
ATC

Amplifizierte Sequenzlänge: 98 bp

[0077] Dieses STS weist einen Treffer mit Chromosom 18 auf.

6. SV34R

Abgeleitet von der Endsequenz des rechten Arms des YACs 717_d_3.

Primer A: ATAAGAGACCAGAATGTGATA

Primer B: TCTTTGGAGGAGGGTAGTC

DNA-Sequenz:

AATATCATTCTTCACCCACGTTATACATAAGAGACCAGAATGTGATATTGT
CATCTCACATGGAAAAATCTGCTGTGATCAGTTCCTGAAGCTTGCTGTGA
TCCTCCCTTAGGAAAGTAGAAAAATCTTTTTGAAACACTTTATTCTACAAT
CAATGAAAATTAGGTGAAGCTACAGAAGCCAGAAATTACTCTAAGATTAG
ACAATTATTTAAGANGACCAATTGTCTTTGGTCTTCTTCTGAAGGGTCTG
ACTACCCTCCTCCAAAGAATTCACTGGCCGTCGTTTTACAACGTCNTGA

Amplifizierte Sequenzlänge: 244 bp

[0078] Dieses STS weist einen Treffer mit Chromosom 1 auf, deshalb ist YAC 717_d_3 chimär.

7. SV25L

Abgeleitet von der Endsequenz des linken Arms des YACs 731_c_7.

Primer A: AAATCTCTTAAGCTCATGCTAGTG

Primer B: CCTGCCTACCAGCCTGTC

DNA-Sequenz:

AGTGGAGAGATAGAAAGAGAGGAAGATTTTTTTTTTAAATCTCTTAAGCT
CATGCTAGTGTAGGTGCTGGCAGGTCTGAACACTCTGTAGGACAGGCTG
GTAGGCAGGAA

Amplifizierte Sequenzlänge: 72 bp

[0079] Dieses STS weist keine klaren Treffer auf dem monochromosomalen Kartierungspanel auf

8. SV25R

Abgeleitet von der Endsequenz des rechten Arms des YACs 731_c_7.

Primer A: TGGGGTGGCCTGTGTTGT

Primer B: GAGATTTTCATGCATTCCTGTAAGA

DNA-Sequenz:

GGAGGGTGTNTCACANAAGTCTGGGGTGGCCTGTGTTGTTTCATTGTAA
AAACCCTTTGGANCATCTGGGAATGTGCTGCCCCACATGTCCAGGTAAC
GTTCTCAGGAAGGGGAGGCTGGAAATCTCTGTGTGTTCTTACAGGAATG
CATGAAATCTCCANCCCTCTTGTGGAAATTCCTCACTT

Amplifizierte Sequenzlänge: 136 bp

[0080] Dieses STS weist einen Treffer mit Chromosom 7 auf, deshalb ist YAC 731_c_7 chimär.

9. SV31L

Abgeleitet von der Endsequenz des linken Arms des YACs 752_g_8.

Primer A: GAGGCACAGCTTACCAGTTCA

Primer B: ATTCATTTTCTCATTTTATCC

DNA-Sequenz:

CTTCTCNATGANTGGACAAATGTCATTGGGTCAGCATGAGGCACAGCTT
ACCAGTTCAGATTCAGTAGCTGAGGAACAAATCTTAACTCCAAAAATAA
GTAATTGCGTCACTTTGGAGGAATTATTTGACCTTTTCATAACTTTGACAT
CACAACAATGAGGGTGAAGTTAGTAAATAAATGATTATTATGAGGATAA
AATGAGAAAATGAATTNAGTGCTTAAGACAATGCTTGGTAACTAGTTAAN
CCG

Amplifizierte Sequenzlänge: 178 bp

[0081] Dieses STS weist einen Treffer mit Chromosom 18 auf und muss zwischen D18S876 und GCT3G01 lokalisiert sein.

10. SV31R

Abgeleitet von der Endsequenz des rechten Arms des YACs 752_g_8.

Primer A: CAAGATTATGCCTCAACT

Primer B: TAAGCTCATAATCTCTGGA

DNA-Sequenz:

AAACTTTAACCAATTTAACTCCCTAACAGTTCTATAAAATAAGCAAGATT
ATGCCTCAACTTTATGGATAAAGAAATGGAGGCATTAAGAGATAACTAAC
 TTGCCCAAGGCCACACAAGTGACTGAGTAAGAATTGCAAAGCCAATGAG
 TCTGGCTCCAGAGATTATGAGCTTAATCACCACACTGTGCCACCTCCTGT
 GTTTCCTGG

Amplifizierte Sequenzlänge: 131 bp

[0082] Dieses STS weist keine klaren Treffer auf dem monochromosomalen Kartierungspanel auf und gibt keine Information bezüglich der chimären Eigenschaft des YACs.

11. SV10L

Abgeleitet von der Endsequenz des linken Arms des YACs 942_c_3.

Primer A TCACTTGGTTGGTTAACATTACT

Primer B: TAGAAAAACAGTTGCATTTGATAT

DNA-Sequenz:

GGTNTTTCACCTGGTTGGTTAACATTACTTCTAAGTTTTTTATTGTTTTTA
 TGCTATTGCTAATGGGATTGCTTTCTTAATTTATTTTTTCCAATAGCTTGT
 TGTTAGTTTATATCAAATGCAACTGTTTTCTATGCAAATTATGTTTCCT

Amplifizierte Sequenzlänge: 130 bp

[0083] Dieses STS weist einen Treffer mit Chromosom 18 auf und muss zwischen CHLC.GATA-p6051 und D18S968 lokalisiert sein.

12. SV10R

Abgeleitet von der Endsequenz des rechten Arms des YACs 942_c_3.

Primer A: AACCCAAGGGAGCACAACCTG

Primer B: GGCAATAGGCTTTCCAACAT

DNA-Sequenz:

TTGGTGTTGCCCTAGGTTTGGCAATTATAAATAAAGCTGCTACAAACATT
 CATGTGCAGGTCTCCGTGTGGACATAATTTTCCAGTTCATTTGGGTAAAA
CCCAAGGGAGCACAACCTGTTGGATCCTATNATAAAAATATNTCTCGTTTC
 ATTTAAAAAACCTGGGAACTATCTNCCCACAGTGGCTGTCCCTTTTTGT
 ATCCCCACCAACAATGTTGGAAAGCCTATTGCCANCAT

Amplifizierte Sequenzlänge: 135 bp

[0084] Dieses STS weist einen Treffer mit Chromosom 18 auf und muss zwischen D18S876 und GCT3G01 lokalisiert sein.

13. SV6L

Abgeleitet von der Endsequenz des linken Arms des YACs 961_h_9.

[0085] Es wurde kein Primer hergestellt, da diese Sequenz identisch ist mit einem bekannten STR-Marker D18S42, welcher tatsächlich in dieser Region kartiert ist.

Primer A:

Primer B:

DNA-Sequenz:

CATGNCTCACAGTGTCTGAGGCTGCTCTGGACATGCAATCTTGCATGC
TTTTGTCATGACAGGTCTTAAANAGTTTATCAGCTTNCTCAAATAGCTGAA
TGACANAACACTGGATTTTTGTTCAAATANCCTATCAACTTGGCNTCTGT
GTTGCGGTTGTCACTTGGTAACAAAATAAGTC

Amplifizierte Sequenzlänge: 130 bp

[0086] SV6L erkennt D18S42, weshalb es zwischen WI-7336 und WI-8145 lokalisiert sein muss.

14. SV6R

Abgeleitet von der Endsequenz des linken Arms des YACs 961_h_9.

Primer A: TTGTGGAATGGCTAAGT

Primer B: GAAAGTATCAAGGCAGTG

DNA-Sequenz:

TAATTGACAAATAAAAAATTGTATATTTTNCATATTTAACATGTTATGCTAAC
ATATATATGGATTGTGGAATGGCTAAGTCAGAAATTCCTTTACATTCATAT
TTCCATATTATTTACTTTNNGCTTTAAAAAATATGTAAATGANAATACTTAT
TTTTTTCAGTGTCCTGCTTGTACTTTTACATTTNNGTTACATATTATTT
CCCTTNCATCTAACAAATATATATTGAGTTTCTATAATGTGTCTGACACTG
A

Amplifizierte Sequenzlänge: 122 bp

[0087] SV6R amplifiziert ein Segment auf dem Chromosom 18. Dieses Segment muss zwischen WI-2620 und WI-4211 lokalisiert sein.

15. SV26L

Abgeleitet von der Endsequenz des linken Arms des YACs 907_e_1.

Primer A: TATTTGGTTTGTGCTGAGGT

Primer B: CAAGAAGGATGGATACAAACAAG

DNA-Sequenz:

TGGTCACTGGTGCTTATTTGGTTTGTGCTGAGGTCATATTTCTGTG
GCCTTCATGCTTGATTTGTTGGAGTCTAGCCATGTAAAANTCTGTTGGAG
TCTAGGCATTTAAAAAATAGGTATTTATTGTAATCTTTGCCATTTGCTTGT
TTGTATCCATCCTTCTTGGGAAGGCTTTACAGGCATTCAAAGG

Amplifizierte Sequenzlänge: 154 bp

[0088] Dieses STS weist einen Treffer mit Chromosom 13, deshalb ist YAC 907_e_1 chimär.

16. SV26R

Abgeleitet von der Endsequenz des rechten Arms des YACs 907_e_1.

Primer A: CGCTATGCATGGATTTA

Primer B: GCTGAATTTAGGATGTAA

DNA-Sequenz:

CGCTATGCATGGATTAACTGAGTGAGTGCCTCACTATGTTGCAGTC
TCTTATTCTAGGTTCTTAATATTACATCCTAAATTCAGCT

Amplifizierte Sequenzlänge: 90 bp

[0089] Keine klaren Treffer auf dem monochromosomalen Kartierungspanel: keine Information betreffend die chimären Eigenschaften an dieser Seite des YAC.

[0090] Untersuchung der 3-End-Sequenzen, welche die Lücke in weiteren YACs flankieren: STS-Marker WI-4211, D18S876 und GCT3G01 sind auch in Tabelle 3 unten gezeigt, um YACs auf gegenüberliegenden Seiten der Lücke deutlicher zu identifizieren.

YACs	STSs					
	WI-4211	D18S876	SV31L	SV11R	SV10R	GCT3G01
940_b_1	+	+	+	-	-	-
766_f_12	+	+	+	+	-	-
846_a_5	+	-?	+	+	-	-
752_g_8	+	+	+	+	-	-
745_d_2	+	+	+	+	-	-
961_c_1	+	+	-	-	-	-
942_c_3	+	+	+	+	+	-
717_d_3	-	-	+	+	-?	+
972_e_11	-	-	-	-	-	+
940_h_10	-	-	-	-	+	+
821_e_7	-	-	-	-	+	+
731_c_7	-	-	-	-	-	+
889_c_4	-	-	-	-	+	+
907_e_1	-	-	-	+	+	+

+: positiver Treffer/-: kein Treffer/? : 2 Fälle wurden beobachtet, bei welchen ein positiver Treffer erwartet wurde (aufgrund der angenommenen Reihenfolge der Marker), jedoch nicht beobachtet wurde. Die Gründe hierfür sind nicht klar.

[0091] YAC 745.d.2 wurde von der weiteren Analyse ausgenommen, da kein klarer Treffer mit Chromosom 18 vorlag. Von den verbleibenden 7 eines monochromosomalen Kartierungspanels wurde nachgewiesen, dass 3 chimär waren und dass 4 nicht chimär waren, wie in Tabelle 4 unten gezeigt wird.

Tabelle 4

YAC	chimär	Chromosom
961_h_9 (6)	Nein	
942_c_3 (10)	Nein	
766_f_2 (11)	Nein	
731_c_7 (25)	Ja	Chromosom 7
907_e_1 (26)	Ja	Chromosom 13
752_g_8 (31)	Nein	
717_d_3 (34)	ja	Chromosom 1

[0092] Bei den nicht chimären YACs wurde das STS, basierend auf der Endsequenz, welche die Lücke flankiert (10R, 11R, 31L) bei 14 YACs untersucht, welche die Lücke flankieren. Überlappungen zwischen YACs auf gegenüberliegenden Seiten der Lücke wurden demonstriert: z.B. die "11R"-Endsequenz (766_f_12) weist YAC 766_f_12 und YAC 907_e_1 nach. Es wurden dann YACs ausgewählt, welche den minimalen Anordnungsweg umfassen:

Tabelle 5

YAC	Größr	Chimäre Eigenschaft
961_h_9 (6)	1180 kb	Nicht chimär
766_f_2 (11)	1620 kb	Nicht chimär
907_e_1 (26)	1690 kb	Chimär (Chr. 13)

[0093] Diese drei YACs waren stabil, wie durch PFGE bestimmt wurde, und ihre Größen entsprachen ungefähr den veröffentlichten Größen. Diese YACs wurden für eine Restriktionskartierung in andere Hefe-Wirtstämme übertragen.

Versuch 2

Konstruktion eines Fragmentationsvektors:

[0094] Ein EcoRI/Sall-Fragment von 4,5 kb von pBLC8.1 (Lewis et al., 1992), welches eine Lysin-2- und eine Telomersequenz trägt, wurde gerichtet in GEM3zf(-) kloniert, welcher mit ECORII/Sall verdaut war. Anschließend wurde eine End-Rescue-Stelle in die EcoRI-Stelle ligiert. Hierzu wurden zwei Oligonukleotide (Strang 1: 5'-TTCGGATCCGGTACCATCGAT-3' und Strang 2: 3'-GCCTAGGCCATGGTAGCTATT-5') in eine partiell (dATP) gefüllte EcoRI-Stelle ligiert, um den Vektor pDF1 zu erzeugen. Es wurden Fragmentationsvektoren mit Triplet-Repeat, konstruiert durch Klonieren eines 21 bp- und 30 bp-CAG/CTG-Adapters in die mit Klenow aufgefüllte PstI-Stelle von pDF1. Eine Transformation und Selektion ergab einen (CAG)₇- und einen (CTG)₁₀-Fragmentationsvektor mit der Orientierung der Repeat-Sequenz von 5' nach 3' bezogen auf das Telomer.

Transformation von Hefe:

[0095] Ein linearisierter (verdaut mit Sall) Vektor wurde verwendet, um die YAC-Klone 961_h_9, 766_f_12 oder 907_e_1 unter Verwendung des LiAc-Verfahrens zu transformieren. Nach der Transformation wurden die YAC-Klone auf SDLys⁻-Platten ausplattiert, um bezüglich des Vorliegens des Fragmentationsvektors zu selektieren. Nach 2-3 Tagen wurden Kolonien in Kopien auf SDLys⁻-Trp⁻-Ura⁻- und SDLys⁻-Trp⁻-Ura⁺-Platten ausplattiert. Kolonien, welche auf den SDLys⁻-Trp⁻-Ura⁺-Platten, nicht aber auf den SDLys⁻-Trp⁻-Ura⁻-Platten wuchsen, enthielten die fragmentierten YACs.

Analyse der fragmentierten YACs:

[0096] Aus den Klonen mit dem korrekten Phänotyp isolierte Hefe-DNA wurde analysiert durch Pulsfeld-Elektrophorese (PFGE), gefolgt von Blotting und Hybridisierung mit dem Lys-2-Gen, und die Größen der fragmentierten YACs wurden durch Vergleich mit DNA-Standards von bekannter Länge abgeschätzt.

End-Rescue:

[0097] Fragmentierte YACs, charakterisiert durch eine mit anderen fragmentierten YACs gemeinsame Größe, was das Vorliegen eines Haupt-CAG- oder CTG-Triplet-Repeats andeutet, wurden mit einem der Enzyme aus der End-Rescue-Stelle verdaut, ligiert und für eine Transformation in E.coli verwendet. Nach dem Wachstum der transformierten Bakterien wurde die Plasmid-DNA isoliert und die Enden der fragmentierten YACs, entsprechend einer der Sequenzen, welche die isolierten Trinukleotid-Repeats flankieren, wurden sequenziert.

[0098] Die Sequenzierung ergab, dass fragmentierte YACs mit einer gleichen Länge alle an der gleichen Stelle fragmentiert waren. Es wurde eine BLAST-Suche in der GenBank-Datenbank mit den identifizierten Sequenzen durchgeführt, um eine Homologie mit bekannten Sequenzen zu identifizieren. Die komplette Sequenz, umfassend die CAG- oder CTG-Repeats der fragmentierten YACs, wurde durch Cosmid-Sequenzierung erhalten, wobei sequenzspezifische Primer und Splice-Primer verwendet wurden, wie zuvor beschrieben (Fuentes et al., 1992, Hum. Genet. 101: 346-350), oder durch Verwendung des "Genome-Walker"-Kits (Clontech Laboratories, Palo Alto, USA), von Siebert et al., Nucleic Acid Res (1995) 23(6): 1087-1088 und von Siebert et al. (1995), CLONTECHniques X(II): 1-3 beschrieben.

Ergebnisse:

[0099] Ein YAC 961.h.9-Klon wurde mit dem (CAG)₇- oder (CTG)₁₀-Fragmentationsvektor transformiert. Der CTG-Vektor offenbarte nicht das Vorliegen von irgendeinem CTG-Repeat. Die Analyse von zwölf (CAG)₇-fragmentierten YACs zeigte, dass fünf dieser YACs die gleiche Größe von ungefähr 100 kb aufwiesen. Es wurde ein End-Rescue mit EcoRI durchgeführt und die Sequenzierung von drei dieser Fragmente ergab, dass sie alle die in **Fig. 15** kursiv gezeigte terminale Sequenz teilten. Eine BLAST-Suche in der GenBank-Datenbank mit dieser Sequenz zeigte das Vorhandensein einer Sequenzhomologie mit dem CAP2-Gen (GenBank Accession Nr: L40377). Die in **Fig. 15a** gezeigte Sequenz, welche das CAG-Repeat umfasst, wurde sowohl durch Cosmid-Sequenzierung als auch Genome-Walker-Sequenzierung erhalten. Die Sequenz wurde mittels STS-Gehalt-Kartierung zwischen den Markern D18S68 und WI-3170 kartiert.

[0100] Ein YAC 766-f-12 wurde unter Verwendung des (CAG)- oder (CTG)₁₀-Fragmentationsvektors fragmentiert. Erneut offenbarte der (CTG)₁₀-Vektor nicht das Vorhandensein von irgendeinem CTG-Repeat. Eine Analyse von zwanzig (CAG)₇-fragmentierten YACs zeigte das Vorhandensein von zwei Gruppen von Fragmenten mit der gleichen Größe: fünf mit ungefähr 650 kb und zwei mit ungefähr 50 kb.

[0101] Unter Verwendung von EcoRI wurde mit vier der fragmentierten YACs von 650 kb ein End Rescue durchgeführt. Die Sequenzierung bestätigte, dass sie alle identische 3'-Termini teilten, charakterisiert durch die kursiven Buchstaben in **Fig. 16a** gezeigte Sequenz. Eine BLAST-Suche zeigte eine Homologie dieser Sequenz mit der Alu-Repeat-Sequenzfamilie. Die in **Fig. 16a** gezeigte, das CAG-Repeat umfassende Sequenz wurde durch Cosmid-Sequenzierung erhalten. Die Sequenz wurde mittels STS-Gehalt-Kartierung zwischen den Markern WI-2620 und WI-4211 auf der YAC-Contig-Karte kartiert. Mit den zwei Fragmenten von 50 kb wurde ebenso ein End-Rescue durchgeführt. Die Sequenzierung ergab die in kursiven Buchstaben in **Fig. 17a** gezeigte Sequenz. Eine BLAST-Suche ergab keine Sequenzhomologie mit irgendeiner bekannten Sequenz. Eine Cosmid-Sequenzierung ermöglichte die Identifizierung der vollständigen Sequenz, die die CAG-Repeats umfasst, welche in **Fig. 17a** gezeigt ist. Die Sequenz wurde mittels STS-Gehalt-Kartierung zwischen den Markern D18S968 und D18S875 auf der YAC-Contig-Karte kartiert.

[0102] Ein YAC 907-e-1-Klon wurde mit dem (CAG)₇- oder (CTG)₁₀-Fragmentationsvektor transformiert. Der (CAG)₇-Vektor offenbarte nicht das Vorhandensein von irgendeinem CAG-Repeat. Die Analyse von sechsundzwanzig (CTG)₁₀-fragmentierten YACs ergab, dass 21 von ihnen die gleiche Größe von ungefähr 900 kb aufwiesen. Mit KpnI wurde mit drei fragmentierten YACs dieser Größe ein End-Rescue durchgeführt. Die Sequenzierung ergab die in kursiven Buchstaben in **Fig. 18a** gezeigte Nukleotidsequenz. Eine BLAST-Suche zeigte das Vorhandensein einer Homologie dieser Sequenz mit dem GCT3G01-Marker (GenBank Accession Nr: G09484). Die das CTG-Repeat umfassende Sequenz wurde von der GenBank-Datenbank erhalten. Die Sequenz wurde zwischen den Markern 10R und WI-528 kartiert.

SEQUENZPROTOKOLL

<110> Vlaams Interuniversitair Instituut voor Biotechnologie

<120> Gen, das mit Gemütskrankheiten in Zusammenhang steht

<130> SCB/NLW/P48464/006

<140> EP 989 66 865.2

<141> 17.12.1998

<150> GB 9726804.9

<151> 18.12.1997

<150> PCT/EP9808543

<151> 17.12.1998

<160> 162

<170> PatentIn version 3.1

<210> 1

<211> 167

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 1

gtcttttattt catataacta tgctctgac tttgttactt tctcctttta actcagttta 60

agctttattc ttattttcca gctgctgaag gtatatagtt aggttggtta ttggatacca 120

ttctttcccg ttaatgtcag tggttactgc tatcaatgta gcagtta 167

<210> 2

<211> 122

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 2

ataaggtata ttatttgtgt cgtgagttta gaaatcatta ataactattt tcagaatgac 60

aaatgtcatt atatgttgta aaaaagataa atacgtgaaa ttatgaggtt aagaaaagtt 120

ta 122

<210> 3

<211> 154

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc_feature

<222> (109)..(109)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (134)..(134)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<400> 3

acataaaatg tcgctcaaaa acaattatgt gtgtctacac atatgggaaa gcaggaaaca 60

aatttggttta caacatacat tacttttgtt ttttaggcaa gataaaatnt cctacctcca 120

aaaccaccag cacngtccgc aataactata catc 154

<210> 4

<211> 301

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc_feature

<222> (217)..(217)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (298)..(298)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<400> 4

aatatcattc ttcacccacg ttatacataa gagaccagaa tgtgatattg tcatctcaca 60

tggaaaaatc tgctgtgatc agttcctgaa gcttgctgtg atcctccctt aggaaagtag 120

aaaaatcttt ttgaaacact ttattctaca atcaatgaaa attaggtgaa gctacagaag 180

ccagaaatta ctctaagatt agacaattat ttaagangac caattgtctt tgggtcttctt 240

ctgaagggtc tgactaccct cctccaaaga attcactggc cgtcgtttta caacgtcntg 300

a 301

<210> 5

<211> 191

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc_feature

<222> (11)..(11)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (17)..(17)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (62)..(62)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (162)..(162)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<400> 5

ggagggtgtt ntcacanaag tctgggggtgc gctgtgttgt tcattgtaaa aaccctttgg 60

ancatctggg aatgtgctgc cccacatgtc caggtaacgt tctcaggaag gggaggctgg 120

aaatctctgt gtgttcttac aggaatgcat gaaatctccc anccctctt gttggaaatt 180

tccctcactt t 191

<210> 6

<211> 253

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc_feature

<222> (7)..(7)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (250)..(250)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (12)..(12)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (217)..(217)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<400> 6

cttctcnatg antggacaaa tgtcattggg tcagcatgag gcacagctta ccagttcaga 60

ttccagtagc tgaggaacaa atcttaactc caaaaataag taattgcgtc actttggagg 120

aattatttga ccttttcata actttgacat cacaacaatg aggggtgaagt tagtaaaata 180

aatgattatt atgaggataa aatgagaaaa tgaattnagt gcttaagaca atgcttggtta 240

actagttaan ccg 253

<210> 7

<211> 153

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc_feature

<222> (4)..(4)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<400> 7

ggtnnttcac ttggttggtt aacattactt ctaagttttt tattgttttt tatgctattg 60

ctaattgggat tgctttctta atttattttt tccaatagct tgttgttagt ttatatcaaa 120

tgcaactggt tttctatgca aattatgttt cct 153

<210> 8

<211> 238

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc_feature

<222> (130)..(130)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (141)..(141)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
 <222> (176)..(176)
 <223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
 <222> (235)..(235)
 <223> n = a, c, g, oder t/u

<400> 8
 ttggtggtgc cctaggtttg gcaattataa ataaagctgc tacaaacatt catgtgcagg 60
 tctccgtgtg gacataattt tccagttcat ttgggtaaaa cccaagggag cacaactgtt 120
 ggatcctatn ataaaaatat ntctcgtttc atttaaaaaa cctgggaaac tatctnccca 180
 cagtggctgt ccctttttgt atccccacca acaatgttgg aaagcctatt gccancat 238

<210> 9

<211> 182

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc_feature
 <222> (5)..(5)
 <223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
 <222> (72)..(72)
 <223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
 <222> (86)..(86)
 <223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
 <222> (106)..(106)
 <223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
 <222> (130)..(130)
 <223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

```

<222> (145)..(145)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<400> 9
catgnctcac agtggttctga ggctgctctg gacatgcaat cttgcatgct tttgtcatga      60
caggctcttaa anagttttatc agcttnctca aatagctgaa tgacanaaca ctggattttt      120
gttcaaatan cctatcaact tggcntctgt gttgcgggtg tcacttggtg acaaaataag      180
tc                                                                           182

<210> 10
<211> 259
<212> DNA
<213> Homo sapiens
<220>
<221> misc_feature
<222> (29)..(29)
<223> n = a, c, g, oder t/u
<220>
<221> misc_feature
<222> (122)..(123)
<223> n = a, c, g, oder t/u
<220>
<221> misc_feature
<222> (146)..(146)
<223> n = a, c, g, oder t/u
<220>
<221> misc_feature
<222> (192)..(193)
<223> n = a, c, g, oder t/u
<220>
<221> misc_feature
<222> (213)..(213)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<400> 10
taattgacaa ataaaaattg tatattnctnc atatttaaca tgttatgcta acatatatat      60
ggattgtgga atggctaagt cagaaattct tttacattca tatttccata ttatttactt      120
tnngcttttaa aaaatatgta aatganaata cttattnctt tcagtgtcac tgccttgata      180
ctttcacatt tnngttacat attattnctc ttncatctaa caaatatata ttgagtttct      240
ataatgtgtc tgacactga                                                       259

```

<210> 11

<211> 195

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc_feature

<222> (90)..(90)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<400> 11

tggtcactgg tgccttattt ggtttggttg ctgaggatcat atttcctgtg gccttcatgc 60

ttgatttggt ggagtctagc catgtaaaan tctgttgagg tctaggcatt taaaaaatag 120

gtatttattg taatctttgc catttgcttg tttgtatcca tccttcttgg gaaggcttta 180

caggcattca aaagg 195

<210> 12

<211> 656

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc_feature

<222> (556)..(556)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (590)..(590)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (610)..(610)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<400> 12

gccacaaac aaaatgaaat aagacctggg atgtattttt tggccaaggc aattagaaaa 60

tgattagtat ccttatcagg agcaatttca gagaatgttt gggtaggacgt ctaactacag 120

tgagtgcaaa cgtgaatcaa cggtgaaaaa aggacaatag ccaatgtgta cactttttat 180

aaaaccacc ctccaaggac caggcactgg ccctctctcc ggtgccccaca gacatccaca 240

DE 698 34 831 T2 2007.02.01

caggcccaaa gaatcaggga ttgcacaagc cagagcaatc gaacggttct gagtcattctg	300
ccggaagcct tgccctcaat caaggcggac gtgaagcatc tacaaaggag gaatagtcaa	360
agcagcagcg gcggcggcgg cggcggcagc agcagcagca gcaggagggtg ggggcctctg	420
ccaggtaccg ggcgggggcag gcacggaggt gcccggttc ccgcggaggc cacctcttcc	480
ctggagtgcg tgagagaggg gaagggagga aggccagagc aggaatcaga gcgaggcaaa	540
ggcgggcagg aactangaga atgacsgcgg gaggcggccg ggaaagaaan tctcggggct	600
gtgggggtcn ccctggcacc agccggggtc ccaagcccca ccgcgagacc ccgcga	656

<210> 13

<211> 22

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 13

atcgaacggt tctgagtcatt ct 22

<210> 14

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 14

cgctctgatt cctgctctg 19

<210> 15

<211> 546

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 15

ttcagtagaa ggaagcacag caaatattgcc tttatagaga ttcaattctt ggtgcttggg 60

ccaaagaata agaattacat taagcaggcc gggcacggtg gctcacacct gtaaaaccag 120

aactttggga ggccgaggca ggcagatcat gaggtcagga gatcgagacc atcctggaca 180

acatagttaa accccatctc tactaaaaat acaaaaatta gccgggcatg gtggtgcatg 240

cctgtaatcc cagctactca ggaggcggag gcaggagaat cccttgaacc agggagttgg 300

aggttgagc gagccgagat cagccacag cactctagcc tggcgacaga gtgagactcc 360

atctcaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa ttacattaag cagcagcagc agcagtgasa 420

gaggggaakaa tgaaagaaga aatttctaga ataagattga tctccagcac catgccaatc 480
 atggactgga tacaattcat gcatatcttt tgtgagagag gtgagagatg tgaatccttt 540
 ctcatt 546

<210> 16

<211> 22

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 16
 agaaggaagc acagcaaatt tg 22

<210> 17

<211> 20

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 17
 gcatgggtgct ggagatcaat 20

<210> 18

<211> 573

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc_feature
 <222> (28)..(28)
 <223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
 <222> (74)..(74)
 <223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
 <222> (92)..(92)
 <223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
 <222> (97)..(97)
 <223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (100)..(100)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (123)..(123)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<400> 18

tgggagttaa agcagacatt cggcttttngt gttgccagag ttctaacata agttcttttt 60

catctgggca ggcngatgtt ccttccatct tngaagnacn gtccttttca ttttttttat 120

ttngcttttg gsktttatct tcttagacgt cttcaggagt tkgattgtag kgtaaggcag 180

atttagttga ctgggctttg tttctggaaa attttaaggg ggcaagtcct gggctgcata 240

ttcttactct gggggccttag tactggcccc taaatttggt ctctggctcc tcaagggttag 300

aaatctgctg gctggagggg ctgagatgtt ccttgactgc tggccagaac attccgccgg 360

ggggtggcaa ccgaagtgtt tctttgggca atggcagcag aattcatgat tgttttcatg 420

trccagcagc agtggcagcg caktgagttg catgattgtt ggctggggct gagtgctggc 480

asgcactgga gtgtttggct tccagtagaa attcacagca gtagtagtgg tggcatggga 540

aggagggcag ygggtggcatg gggaggaccc ccc 573

<210> 19

<211> 22

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 19

ggctgagatg ttccttgact gc 22

<210> 20

<211> 22

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 20

ccttcccatg ccaccactac ta 22

<210> 21

<211> 597

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc_feature

<222> (67)..(67)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (95)..(95)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (151)..(151)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<400> 21

tgtaattccc agcaatttgg ggagcccaag gcgggcagat tcatgagttc gggaagattc	60
gagaccnttc ctggctaaac acgggggaaa ccccnttttt actaaaaaat accaaaaaat	120
taacctgggc gtggtggcgg gcccagcta ntccggaggc tgaggcagga gaatggtgtg	180
aaccgaggag gcggagcttg cagtgagccg agatcccgt actgcactcc agcctgggca	240
atagagggag actccgtctc aaaaaaaaaa aaaaataaat aataataaaa aaaataacaa	300
taataatact aataattgct tgatatattta caaaagcaaa aggaaaagaa gactaggcaa	360
gaaaaaaaaa acctccttag atggtagaac tcaggtttaa aattaaaact tattctggtg	420
tcagsctagt tgtatatattt gacctcttta aatgctctga actatgatat ggagtaacag	480
cgatgctgct gctgctgctg ctgctgctga tgggtggtggt gttttaatat cgaataaaaag	540
ttgtggaaac taaatttcat ttctgccaat taactaagat tgcaaagtta aacatct	597

<210> 22

<211> 22

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 22

tttgcaatct tagttaattg gc	22
--------------------------	----

<210> 23

<211> 24

<212> DNA

```

<213> Homo sapiens

<400> 23
gaactatgat atggagtaac agcg                                24

<210> 24

<211> 16

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 24
cctggctcac ctggca                                          16

<210> 25

<211> 23

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 25
ttgtagcatc gttgtaatgt tcc                                23

<210> 26

<211> 261

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc_feature
<222> (76)..(76)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (80)..(80)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (82)..(82)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (167)..(167)
<223> n = a, c, g, oder t/u

```

```

<400> 26
agctatcctg gctcacctgg caaaaataca gtgtatacac acacacacac acacacacac      60
acacacacag agtgtnttan tnattccagc aaataatatt acatataaaa gatctaattg      120
gttcatcatg taaatttagt aggaacatta caacgatgct acaaganttt atccaaaact      180
gagatttcct tagaatatct gttaaaagta attttattca gttaatagaa attctattga      240
aaacatcaaa cttataaagc t                                              261

<210> 27
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 27
gatcccataa agctacgagg g                                              21

<210> 28
<211> 25
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 28
gagtctaaag acaagaaagc attgc                                          25

<210> 29
<211> 1166
<212> DNA
<213> Homo sapiens
<220>
<221> misc_feature
<222> (437)..(499)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>
<221> misc_feature
<222> (942)..(966)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<400> 29
tcttcttacc ccttgaaga agactgtttc caaataattt gaacagcttg ctgctaaatg      60
ggaccaatt tttggcctat agacacttat gtattgtttt cgaatacgtc agattggacc      120

```

agtgctcttc aggaatgtgg ctgcaagcaa ggggctagaa gttcacctcc tgacagtatt	180
attaatacta tgcaaatatg gaataggaga ccatttgatt ttctaggctt tgtggtagag	240
aggtgaaggt atgagaatta atagcgtgtg aacaaagtaa agaacaggat tccagaatga	300
tcattaaatt tgtttctatt tattcttttt tgcccccta gagattaagt ccagaaatgt	360
actttctggc acataaagaa atcttgagga ctttgtttaa accttcata aaaaaacaat	420
tttcggtttc tcgggtnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn	480
nnnnnnnnnn nnnnnnnnnt tctttctttg tgtattttat tcaagatgag ttggacccat	540
tgccagtgag tctgaatgtc actgacagcc ctgtgttgtg ctcaggactc actctgctgc	600
tggtggaaac tcatggcttc tctctctctt tgatcccata aagctacgag ggggacggga	660
gagggcagtg caatgggaag taaagagata ttttccagta ggaaaagcaa tgctttcttg	720
tctttagact caaatgctta gggaacgttt catttctcat tcatggggaa aggcagcctc	780
cttaaagtgt ttctgaagag cggtaaaatc tagaagctta agaatttaca gttccttcaa	840
taaccatgat gacctgaagt tcacctatcc catttttagca tctacttggt tttcccatct	900
cttcctttcc aattttgctt atactgctgt aatatttttg tnnnnnnnnn nnnnnnnnnn	960
nnnnnnngacc agctaaaatt ttcgacttga ctttttaact taactcatga attaattaaa	1020
gcaaatgaaa aaattaaaaa gtgtgacttt ttctcggagc atatatgtag cttttaggaa	1080
aggctgatga tggataaaag ttgctcatt aagaaaaaaa gacaaggctg attttgaaga	1140
gagttgcttt tgaaataaaa tgatca	1166

<210> 30

<211> 20

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 30

agacattctc gcttcctga 20

<210> 31

<211> 20

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 31

aattttgacc ccttatgggc 20

<210> 32

<211> 1366

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc_feature

<222> (165)..(175)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<400> 32

```

taagtggcat agcccatggt aagtcctccc tgacttttct gtggatgccg atttctgtaa      60
actctgcatc cagagattca ttttctagat acaataaatt gctaattgtg ctggatcagg      120
aagccgccag tacttgatcat atgtagcctt cacacagata gaccnnnnnn nnnnnccaat      180
tctatctttt gtttcctttt ttcccataag acaatgacat acgcttttaa tgaaaaggaa      240
tcacgttaga ggaaaaatat ttattcatta tttgtcaaat tgtccggggg agttggcaga      300
aatacagtct tccacaaaga aaattcctat aaggaagatt tggaagctct tcttcccagc      360
actatgcttt ctttctttgg gatagagaat gttccagaca ttctcgcttc cctgaaagac      420
tgaagaaagt gtagtgcatt ggaccacaga aactgccctg gctccagtga aacttgggca      480
catgctcagg ctactatagg tccagaagtc cttatgttaa gccctggcag gcaggtgttt      540
attaaaattc tgaattttgg ggattttcaa aagataatat ttacataca ctgtatgtta      600
tagaacttca tggatcagat ctggggcagc aacctataaa tcaacacctt aatatgctgc      660
aacaaaatgt agaattttca gacaaaatgg atacataaag actaagtagc ccataagggg      720
tcaaaaattg ctgccaaatg cgtatgccac caacttacia aaacacttcg ttcgcagagc      780
ttttcagatt gtggaatggt ggataaggaa ttatagacct ctagtagctg aaatgcaaga      840
ccccaaaggg aagttcagat cttaataata attcactttc atttttgata gctgtcccat      900
ctggtcatgt ggttggcact agactggtgg caggggcttc tagctgactc gcacagggat      960
tctcacaata gccgatatca gaatttgtgt tgaaggaact tgtctcttca tctaatatga     1020
tagcgggaaa aggagaggaa actactgcct ttagaaaata taagtaaagt gattaaagtg     1080
ctcacgttac cttgacacat agtttttcag tctatgggtt tagttacttt agatggcaag     1140
catgtaactt atattaatag taatttgtaa agttgggtgg ataagctatc cctgttgccg     1200
gttcatggat tacttctcta taaaaaatat atatttacca aaaaattttg tgacattcct     1260
tctcccatct cttccttgac atgcattgta aataggttct tcttgttctg agattcaata     1320
ttgaatttct cctatgctat tgacaataaa atattattga actacc                       1366

```

<210> 33

<211> 25

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 33

gaaatgcaca taacatatat ttgcc

25

<210> 34

<211> 24

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 34

tgctcactgc ctatttaatg tagc

24

<210> 35

<211> 316

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc_feature

<222> (11)..(11)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (130)..(130)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (219)..(219)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (267)..(267)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (278)..(278)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
 <222> (295)..(295)
 <223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
 <222> (298)..(298)
 <223> n = a, c, g, oder t/u

<400> 35
 gttgtttgga ngcaggttta tttattatat acttgcaatt gaatataaga tacagacata 60
 tatatgtgtt atgtatttct agaaatgcac ataacatata ttgacctatt gtttaaatgtt 120
 ttttccagan atttattaca gaagggcatg gagggatacc tacttattct tcattatgag 180
 aacaattaaa ggcatttatt agataggaaa ttaacaganc atctgcttct ataactttat 240
 tagctacatt aaataggcag tgagcantaa tttaaaanct caccattata taaantanta 300
 aataccaaaag taaaag 316

<210> 36

<211> 22

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 36
 tgctcttctg aacaacttct gc 22

<210> 37

<211> 20

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 37
 atagaagggc atggagggat 20

<210> 38

<211> 601

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc_feature
 <222> (581)..(594)
 <223> n = a, c, g, oder t/u

```

<400> 38
aactaagcgt gctgcttctg caaaagattt ttgtagatga gctgtgtgcc tcagaattgc      60
tatttcaa at tgccaaaaat ttagagatgt tttctacata tttctgctct tctgaacaac      120
ttctgctacc cactaaataa aaacacagaa ataattagac aattgtctat tataacatga      180
caaccctatt aatcatttgg tcttctaaaa tgggatcatg cccatttaga ttttccttac      240
tatcagttta tttttataac attaaactttt actttgttat ttattatttt atataatggg      300
gagttttaaa ttattgctca ctgcctattt aatgtagcta ataaagttat agaagcagat      360
gatctgttaa tttcctatct aataaatgcc ttttaattggt ctcataatga agaataagta      420
ggatccctc catgcccttc tataataaat atctggaaaa aacattaaac aataggcaaa      480
tatatgttat gtgcatttct agaaatacat aacacatata tatgtctgta tcttatattc      540
aattgcaagt atataataaa taaacctgct tccaaacaac nnnnnnnnnn nnnnggaatt      600
c                                                                                   601

```

<210> 39

<211> 20

<212> DNA

<213> Homo sapiens

```

<400> 39
atgggagacg taatacaccc                                                         20

```

<210> 40

<211> 17

<212> DNA

<213> Homo sapiens

```

<400> 40
atgctgctgg tctgagg                                                             17

```

<210> 41

<211> 371

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc_feature

<222> (78)..(78)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (303)..(303)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (313)..(313)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (324)..(324)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (347)..(347)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<400> 41

aaagagttgg gggtgtgaat tcccacacca gtcaactatt ggctatgggc ttaccatggg 60

agacgtaata cacccggnac ttccaactca cataccagag acatgggtct agcacccaat 120

ggaaatatgc tgaatgttgc aggtgcaaga cagcaacaaa gcagacagag gcacatagac 180

aaggcaccaa cagtgtccac tataccctga cagtgtggaa agttgtagat aggatgaaga 240

gaaagaatac acacacacac acacacacac acacacacac acacacacac acacacggta 300

ganacttact acncaaagtg tgancctcag accagcagca tctggcnaaa tggatgatcta 360

tcaccttcca g 371

<210> 42

<211> 24

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 42

tgtgctactg attaaggtaa aggc 24

<210> 43

<211> 24

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 43

tgcttcttca atttgttagag ttgg

24

<210> 44

<211> 224

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc_feature

<222> (96)..(96)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (129)..(129)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<400> 44

ctgagacaag gcaggcaaac aacctctaaa aatctacaat tgggtgattgg tgtgctactg 60

attaaggtaa aggcacagaa ttatacatcc aggttnctat tacttatggc agactcagga 120

cccagggttna gagaccactg gccttaagaa aaaaaatggg gttcctgatt tctggataat 180

aatccaactc taaaaattga agaagcaaca taccctcttt gtta 224

<210> 45

<211> 23

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 45

cttaatgaaa acaatgccag agc 23

<210> 46

<211> 22

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 46

tgcaaaatgt ggaataatct gg 22

<210> 47

<211> 213

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 47

ctacaaaatg catgtggctt tggctttgaa atagtacacc ctatcaaaga ctaaattttc 60

ttaatgaaaa caatgccaga gcttttttca tgatattttg tttttagaga tggggaacaa 120

tctggacgtt gtttccttat ctgggtggta atcgaggctt agcaatttcc cacagcgta 180

cacaaatcca gattattcca cattttgcaa ata 213

<210> 48

<211> 20

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 48

gggaagtcaa atgcaaaatc 20

<210> 49

<211> 25

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 49

agcttctgag taatcttatg ctgtg 25

<210> 50

<211> 351

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc_feature

<222> (32)..(32)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (167)..(167)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<400> 50

agctgaacat gccttttcat ggagcagttt cnaaatacac ttttggtaga atctgcaggt 60

ggatatttgg agctcaggag tttgagacca gcctgggcaa catggtgaaa tcccgtctct 120

actaaaatac aaaaaattag ccaggtgtgg cggcatgtgc ctgtagnccc aggatggatt 180
gagtgggtga gatatggaat aagtgggtggg aagtcaaagc caaaatcaat tcagtttgtc 240
aatattgatt ctctattcta gcctggcggtg gtttttcctc gtcacacaca cacacacaca 300
cacacacaca cacacacaca cacacacaca gcataagatt actcagaagc t 351

<210> 51

<211> 20

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 51

aacaagtgtg tatgggggtg 20

<210> 52

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 52

catattcacc cagtttggtg c 21

<210> 53

<211> 647

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc_feature

<222> (113)..(113)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (147)..(147)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (185)..(185)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

```

<222> (196)..(196)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (207)..(207)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (216)..(216)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (221)..(221)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (226)..(226)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (228)..(228)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (233)..(233)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (237)..(237)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (239)..(239)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (376)..(376)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (397)..(398)
<223> n = a, c, g, oder t/u

```

```

<400> 53
caggggaaatg caaatcaaaa ccacaatgag ttatctcctc atacctttaa tgatggctaa      60
tattaaacaa gagataacaa gtgtgtatgg ggggtgtggag aaaagagaat gtncgaacac      120
tcttggttga aatataagtt ggtagancca ttatgcaaaa cagtatgaat ctttatcagt      180
ataanattag gacctngcat atgatcncag caatcnccac ntctgngnga tcncacncnc      240
tatctctcta tatctatcta tctatctatc tatctatcta tctatctatc tatctatcta      300
tctatctgtc tgtctatcat ctatctatct tctatctatc tatctatctt tctatctatc      360
tatctgtcta tctatnccgg aatatttttc agccatnnaa ataaggaagt cctgctattt      420
gcaacaaact ggggtgaatat ggagaacgtt atgctaaatg caatatgcta aagacagaca      480
cagaaagaca agtatgacct cacttatatg tggaaactga aaaagccata ctcattacag      540
caaagagtag aatgttggtt accaggggca aagagggtag aaatgagggg agtgagaaaa      600
tgtcaatcaa agtghtaagaa tggtataaca taaataaatt catagag                      647

```

<210> 54

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

```

<400> 54
gttgactcaa gtccaaacct g                                                    21

```

<210> 55

<211> 24

<212> DNA

<213> Homo sapiens

```

<400> 55
caaagacatt gtagacgttc tctg                                                24

```

<210> 56

<211> 336

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc_feature

<222> (167)..(167)

<223> n = a, c, g, oder t/u

```

<400> 56
agctgcatat aaaactattc catttcacat ttttgaagac atttgtagcc atgatacttt 60
gctgttgtct gtgggccacc tctttttgaa gtgtgtagtt aactgtgctc ctgtaatctg 120
ttgtctgttg actcaagtcc aaacctgttc tgcgtggcat gtttctncaa cttgatgtga 180
tgctatttat cactttcttt gaagttaagt ctctatgtct ttgtattctt tctgtgtacc 240
cagggatatg tttgtgcatg cacacgcata aacacacaca cacacacaca cacacacaga 300
gacagagaca gagaacgtct acaatgtctt tgtgag 336

```

<210> 57

<211> 25

<212> DNA

<213> Homo sapiens

```

<400> 57
agccaatacc ttgtagtaaa tatcc 25

```

<210> 58

<211> 22

<212> DNA

<213> Homo sapiens

```

<400> 58
gattctccag acaaataatc cc 22

```

<210> 59

<211> 350

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc_feature

<222> (170)..(170)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (288)..(288)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (302)..(302)
 <223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
 <222> (310)..(310)
 <223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
 <222> (324)..(324)
 <223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
 <222> (333)..(333)
 <223> n = a, c, g, oder t/u

<400> 59
 gagtgagcca ataccttgta gtaaatatcc atctatcttt gatgtatcta tgtatctatc 60
 tttgtatcta tatgtctatg tatctatgta tgtatgtatc tatctatcat ctatctatct 120
 atcatctatc tatctatcta tctatctatc tatctatcta tctatatccn ttggggatta 180
 tttgtctgga gaatcctgat taacatagtc tgctaacttt tatctgtatc tcctatgtgt 240
 atgcttctcc ttcttcctgt ctctctctct tctttgtcct catttaanct cctttcctgg 300
 gnataattggn aatttttgatt ggantctgga cantgtagga gtaaaaattt 350

<210> 60

<211> 18

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 60
 tgccaacagc agtcaagc 18

<210> 61

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 61
 agcacctgca gcagtaatag c 21

<210> 62

<211> 196

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc_feature

<222> (121)..(121)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (170)..(170)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<400> 62

ctgtttttatt tgaaaaaaaa aatctgtctc caagaagaaa agttcattct acctgttgcc 60

aacagcagtc aagcggacat gttttaaatt ttttaaaaaa gtattttttt ttccaactgg 120

ngtttaatat cctcattttg gcttttgcta ttactgctgc aggtgctttt atttttttcc 180

tctgcattat aattac 196

<210> 63

<211> 25

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 63

tccatctatc tttgatgtat ctatg 25

<210> 64

<211> 25

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 64

agtttagcaga ctatgttaat cagga 25

<210> 65

<211> 300

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc_feature

<222> (176)..(176)
 <223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
 <222> (179)..(179)
 <223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
 <222> (189)..(189)
 <223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
 <222> (196)..(196)
 <223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
 <222> (226)..(226)
 <223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
 <222> (238)..(238)
 <223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
 <222> (255)..(255)
 <223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
 <222> (292)..(292)
 <223> n = a, c, g, oder t/u

<400> 65
 aaagctgagt gagccaatac cttgtagtaa atatccatct atctttgatg tatctatgta 60
 tctatctttg tatctatatg tctatgtatc tatgtatgta tgtatctatc tatcatctat 120
 ctatctatca tctatctatc tatctatcta tctatctatc tatctatcta taccnttng 180
 gtattattng tctggngaac cctgattaac atagtctgct aacttntatc tgtatctnct 240
 atgtgtatgc ttctncttct tctgtctct ctctctgctt tgtcttcaat tnaaatctcc 300

<210> 66

<211> 23

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 66
 ttctgcacaa tttcaataga ttc 23

<210> 67

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 67
 gaactgagca aacgagtatg a 21

<210> 68

<211> 281

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 68
 agctctgctg gaagagcagg gctgttttct gcacaatttc aatagattcc cctaccctgg 60
 gtttttccagt agatagatag atagatgata gataggtaga tagatagata gatagataga 120
 tagatagata gatagatgat agatagattt tatatatagt atataaaatc tacacacaca 180
 cacacacaca cacacacaca tatttgcctt tccttgacta tcatactcgt ttgctcagtt 240
 cttttttttt ttaaattttt gtttgtaa at ccaaaatgct t 281

<210> 69

<211> 22

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 69
 atattcccct atggaagtac ag 22

<210> 70

<211> 22

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 70
 aaagttaatt ttcaggcact ct 22

```

<210> 71
<211> 381
<212> DNA
<213> Homo sapiens
<220>
<221> misc_feature
<222> (63)..(63)
<223> n = a, c, g, oder t/u
<220>
<221> misc_feature
<222> (270)..(270)
<223> n = a, c, g, oder t/u
<220>
<221> misc_feature
<222> (349)..(349)
<223> n = a, c, g, oder t/u
<220>
<221> misc_feature
<222> (371)..(371)
<223> n = a, c, g, oder t/u
<400> 71
agctctgtcc ctctagagaa cgctgactaa tatattcccc tatggaagta cagatggttt 60
ttntaaaata aatttatctg attgtgatga gataatcatc atttttatgt tcagtgtttt 120
tctaaatttt ttattgttat tgtttttata ctctaaatgg tttttaaata tgcacatatg 180
tgcataatttt acacacacac acacacacac acacactctc tttatttaga agcattatag 240
atagagtgcc tgaaaattaa cttttaaccn aagaaaagac aataaggaac aataggggaag 300
ttatcctttg ctaagggtat ggaaaatatt cacatattat ttataacang ttaaaccaag 360
tcatgcttga ntataatagc t 381

<210> 72
<211> 24
<212> DNA
<213> Homo sapiens
<400> 72
gaaattaacc agacactcct aacc 24

<210> 73

```

<211> 20

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 73

cttagaattg cctttgctgc

20

<210> 74

<211> 465

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc_feature

<222> (70)..(70)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (142)..(142)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (282)..(282)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (289)..(289)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (301)..(301)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (306)..(306)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (319)..(320)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (335)..(335)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (338)..(338)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (344)..(344)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (347)..(348)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (350)..(351)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (353)..(353)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (357)..(358)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (360)..(360)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (363)..(363)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (365)..(365)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

```

<222> (370)..(370)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (372)..(372)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (378)..(379)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (381)..(381)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (387)..(388)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (391)..(395)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (397)..(401)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (403)..(403)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (405)..(409)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (412)..(412)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (416)..(423)
<223> n = a, c, g, oder t/u

```

<220>

<221> misc_feature

<222> (425)..(425)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (427)..(430)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (432)..(440)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (442)..(454)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (457)..(461)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (465)..(465)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<400> 74

gaataaaaaat atgaggtatt agaaatttac agataggaag aaattaacca gacactccta 60

accaccgatn agtttaaaga ggagatagat agatagatga tagatagata gatagataga 120

tagataccac tgaaaatgca ancacaaatt agcagattat atgtgatgca gcaaaggcaa 180

ttctaagtag attctaactg ctacattgat agcagtaccc actgacatta ccggaaagga 240

tggtatccat aaccacctac ctatatacct ccgcagctgg anattaggnt taagcttctt 300

ngggcncctg gcggccccnn ttgtggtecc cggtnngncc ccgnttnngn ntngctnngn 360

ttncnttggn gncceccnnt nggtttnngg nnnntnnnn ntngnnnnnt tnccnnnnnn 420

nnntntnnnn cnnnnnnnnn tnnnnnnnnn nnnnggnnnn ngggn 465

<210> 75

<211> 23

<212> DNA

<213> Homo sapiens

```

<400> 75
gcaacaaccc taatgagtat acg 23

<210> 76
<211> 20
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 76
gagtctcacc agggcttaca 20

<210> 77
<211> 355
<212> DNA
<213> Homo sapiens
<220>
<221> misc_feature
<222> (254)..(254)
<223> n = a, c, g, oder t/u
<220>
<221> misc_feature
<222> (342)..(342)
<223> n = a, c, g, oder t/u
<220>
<221> misc_feature
<222> (350)..(350)
<223> n = a, c, g, oder t/u
<220>
<221> misc_feature
<222> (354)..(354)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<400> 77
aaagctgtct ctttttgtaa agtgtgctca gaggaatctt tttcagtaaa taaagtctgc 60
accagacat ctactttgt ataccacgga gaatttacca tgactcttct cagtgataaa 120
cgtcaatata gaataatcag gagaaaaaga gaaatccagt aaagaaataa gtctgtagaa 180
agcaacaacc ctaatgagta tacgatatct atctatctat ctatctatct atctatctat 240
ctatctatct atgnatctat ctatctaaca ttatataaaa tatatatattc ctctgtatt 300
ggggccctgt gtgtaagccc tggtagagact caaaaatttg antattcctn tttnt 355

```

```

<210> 78
<211> 20
<212> DNA
<213> Homo sapiens
<400> 78
tcctctcatc tcggatatgg 20

<210> 79
<211> 22
<212> DNA
<213> Homo sapiens
<400> 79
aaggctttca gacttacact gg 22

<210> 80
<211> 614
<212> DNA
<213> Homo sapiens
<220>
<221> misc_feature
<222> (49)..(49)
<223> n = a, c, g, oder t/u
<220>
<221> misc_feature
<222> (51)..(51)
<223> n = a, c, g, oder t/u
<220>
<221> misc_feature
<222> (133)..(133)
<223> n = a, c, g, oder t/u
<220>
<221> misc_feature
<222> (148)..(148)
<223> n = a, c, g, oder t/u
<220>
<221> misc_feature
<222> (192)..(192)
<223> n = a, c, g, oder t/u

```

<220>

<221> misc_feature

<222> (250)..(250)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (256)..(256)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (265)..(265)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (268)..(268)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (270)..(270)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (297)..(297)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (307)..(307)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (310)..(310)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (314)..(314)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (317)..(317)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (321)..(321)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (323)..(323)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (326)..(326)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (331)..(331)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (338)..(338)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (346)..(346)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (355)..(355)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (359)..(359)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (365)..(365)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (377)..(377)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (383)..(383)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (389)..(389)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (396)..(396)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (402)..(402)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (410)..(410)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (419)..(419)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (427)..(427)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (488)..(488)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (493)..(493)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (591)..(591)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (593)..(593)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (595)..(595)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (603)..(603)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<400> 80

ttattttattc actcattcaa taaatattta tgaatttcct ttaatggcna ngaaagtatg 60

tttgggtactg aatatgggtga gcaagatttt cctctcatct cggatatgga aagatcttgg 120

aaatcattat acntcatact tacaatanga aagaagctga gcaatttgaa aatcaacaat 180

ttctttttgta cntgtcagaa aagtgaagat atattaatca gggttcttca gagaaacata 240

accaataggn cacagntcta tatgnccnctn tttatctatc tatctatcta tctatcncta 300

tctatcnctan accngngngaa ntnatntttg ngagattnat gcaagnctga gaaanaccna 360

agaanctgct ccctgtnaaa ctngagatnc aagaanctga anagtatagn tccagtcena 420

agtctanaga ccttagaatt aggaaaactg atactataaa taccagtga agtctgaaag 480

ccttaaanac canatagtgc cattgaaagg gcagaagact gatgtcccag ttcaagcagg 540

caaagttaga gaagccttat tttctgcaac attgttctat tcagaccctt nanangattg 600

acnatgtcca ccca 614

<210> 81

<211> 23

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 81

tctccaagct attgattgga taa 23

<210> 82

<211> 27

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 82

ttaagagcca atttatataa aagcagc 27

<210> 83

<211> 252
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 83
 ccccttttgc caacgccatg cttcacgtag ggagcctgac atgcagaaaa ctctccaagc 60
 tattgattgg ataaagagcc agagctgact gaattccatt cttcttgagc ctctcattct 120
 gtgtttctcg aattttttacc aaagcatctt gacacacaaa tatctgactc aaggaaaagg 180
 aaaaacaact gcttttttctc cagctgcttt tatataaatt ggctcttaaa ctttctaagt 240
 ttattatgga ta 252

<210> 84
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 84
 atgcttcagg atgacgtaat aca 23

<210> 85
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 85
 aaattctcgc tgattggagg 20

<210> 86
 <211> 166
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (49)..(49)
 <223> n = a, c, g, oder t/u
 <400> 86
 ctagtaccat aatccctttt ggaataaacc atcccacctt tagtcaganc agatgcttca 60
 ggatgacgta atacataata agcctactca gttctactct ggctttgtat gtcttcaaag 120

tgatattttt ttaagtatta cttgtccctc caatcagcga gaattt

166

<210> 87

<211> 24

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 87

tcaaacttat aactgcagag aacg

24

<210> 88

<211> 20

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 88

atggtaaacc ctccccatta

20

<210> 89

<211> 476

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc_feature

<222> (221)..(221)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (228)..(228)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (255)..(255)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (258)..(258)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (275)..(275)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (279)..(279)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (287)..(287)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (292)..(292)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (299)..(299)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (308)..(308)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (318)..(318)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (325)..(325)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (327)..(327)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (331)..(334)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (338)..(339)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (341)..(343)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (351)..(351)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (358)..(358)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (362)..(362)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (375)..(375)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (377)..(377)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (385)..(385)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (395)..(396)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (399)..(399)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (402)..(402)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (406)..(406)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (409)..(411)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (414)..(414)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (416)..(417)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (419)..(419)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (426)..(426)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (435)..(435)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (437)..(437)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (439)..(439)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (442)..(442)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (446)..(446)
 <223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
 <222> (448)..(448)
 <223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
 <222> (453)..(453)
 <223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
 <222> (458)..(458)
 <223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
 <222> (462)..(462)
 <223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
 <222> (468)..(468)
 <223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
 <222> (472)..(473)
 <223> n = a, c, g, oder t/u

<400> 89
 aagactgcaa ttacatttgc atcaaactta taactgcaga gaacgttgcc cactatttta 60
 taccacacaa cagtattctt agccagatta catctatcta tctatctatc tatctatcta 120
 tctatctatc tatctatcta tcctctatct agctagctat ctatctatag aactaatggg 180
 gagggtttac catgtttggg tgaacccaaa cattttatgg ncaagggnnt ggaaaattac 240
 ccttatctac aactnttnaa cttgttttgg taggnngtgn aattccntgg gnttggaana 300
 acttttgnaa tttcctcctt gtttntnatt nnnnattntt nnnccattatt ntgggggtntt 360
 cnggggtggag ggctnanntt ggccncccg gtccnngng cnagtnggn nggntntng 420
 ggtttntctg ggaancntnc cncctncng ggnttcang gntttttntt tnnttg 476

<210> 90

<211> 23

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 90

ctttgcaatc ttagttaatt ggc

23

<210> 91

<211> 413

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc_feature

<222> (153)..(153)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (182)..(182)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (184)..(184)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (205)..(205)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (207)..(207)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (213)..(213)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (224)..(224)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (227)..(227)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (241)..(241)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (243)..(243)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (258)..(258)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (282)..(282)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (294)..(294)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (298)..(298)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (302)..(302)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (304)..(304)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (307)..(308)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (310)..(311)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (313)..(313)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (315)..(316)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (318)..(319)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (322)..(324)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (326)..(326)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (328)..(328)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (335)..(335)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (340)..(340)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (354)..(356)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
<222> (371)..(371)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (388)..(388)
 <223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
 <222> (394)..(396)
 <223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
 <222> (398)..(398)
 <223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
 <222> (405)..(405)
 <223> n = a, c, g, oder t/u

<400> 91
 agatgtttaa ctttgcaatc ttagttaatt ggcagaaatg aaatttagtt tccacaactt 60
 ttattcgata ttaaaacacc accaccatca gcagcagcag cagcagcagc agcatcgctg 120
 ttactccata tcatagttca gagcatttaa agnggtcaaa atatacaact aggctgacac 180
 cngnataagg tttaatttta aaccngnggt ctncctctta agngngnttt ttttttcttg 240
 ncntggcttc tttttccntt tgcttttgta aaatatcaag gnatttttgg gttnttcntg 300
 gnanttnncn nantnntnnt tnnncncncc cccnttttgn ggcggggggc cccnnnttgc 360
 cccgggggtg ngtgacagtag ggggggtcncg ggtnnngnaa gtttnggggc cct 413

<210> 92

<211> 20

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 92
 ttctgccttt cctgactgtc 20

<210> 93

<211> 20

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 93
 tgtttcccat gtcttgatga 20

<210> 94

<211> 244

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 94

ctactaagca aattctgctc agccttctgc ctttcctgac tgtcttggtg gcccttccca	60
ctttaaggat gcctgtttaa gtagccacct ctaattagga atcttccctt gttctttctc	120
aggaggctta gacactgtca gtttcctgaa gacagaaaat aagcctgcat tctcctagta	180
gtggattcaa aactaattgt gtccctgagtc tttcaatcat caagacatgg gaaacactca	240
acag	244

<210> 95

<211> 25

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 95

ccagtaatta gacattgaca gggttc	25
------------------------------	----

<210> 96

<211> 26

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 96

ttttactaga caggcttgat aaacaa	26
------------------------------	----

<210> 97

<211> 328

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 97

ccagtaatta gacattgaca gggtccatac tagtaatgta gggaataggg ctgctgcttt	60
ttggggtttcc ttgagtatac tttgtgctgc ataaatatgg caatggatag taaataattt	120
gtatgcagac ctttagtgctc gattaacctg tgaataaggg aacaacaatc aaggacaaaa	180
atcaaaagac taattctcta tacattttga gcttttgtaa aaaagtaaga ttagctgaat	240
atatctgaaa aatttctaat ctcctttaca attttttaaa ttgtttatca agcctgtcta	300

gtaaaaataa ttcagtttcg gaatgtgg 328

<210> 98
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 98
 ggacatcctt gatttgctca taa 23

<210> 99
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 99
 gattgactga aaacaggcac at 22

<210> 100
 <211> 337
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (96)..(96)
 <223> n = a, c, g, oder t/u

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (140)..(140)
 <223> n = a, c, g, oder t/u

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (309)..(309)
 <223> n = a, c, g, oder t/u

<400> 100
 ggacatcctt gatttgctca taatacactc attcctttca ccattgagtg tgcacatatt 60
 tctctgattg gaaagaacta cagaggaggt tttacntttt actttccagt ttgctattaa 120
 agagagaaaa ctaacagagn gaaatcaagc aactcaaaac aaccttacac acacacacac 180
 acacacacac tcacaaaagat attttggttca ccatatgtat tgatgtgcct gttttcagtc 240

aatccacagg aaggggctaag gagagtgaca tctgggctac attaaaagga cagtcacatt 300
gctcaaagna ctcaagttta gcccgagtac agtagct 337

<210> 101
<211> 20
<212> DNA
<213> Homo sapiens
<400> 101
agcttgcaga tagcctgcta 20

<210> 102
<211> 25
<212> DNA
<213> Homo sapiens
<400> 102
tacggtagg aggtagatag attcg 25

<210> 103
<211> 293
<212> DNA
<213> Homo sapiens
<220>
<221> misc_feature
<222> (14)..(14)
<223> n = a, c, g, oder t/u
<220>
<221> misc_feature
<222> (293)..(293)
<223> n = a, c, g, oder t/u
<400> 103
ctctacagtc tctnaccttt ggactccagg actttcacca gcaccctcaa cattcccact 60
gggttctcag gactttatag ttgtactgag ccatgccact ggatcctagg gtctccagct 120
tgcagatagc ctgctatggg acttaatctt tgtaataagg tgagtcaatt ctgccataa 180
acctactttc atctctatct atctatctat ctatctatct atctatctat atctatcatc 240
tatctatcga atctatctac ctacctaccg tattagttct gtctctctgg agn 293

<210> 104

<211> 23
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 104
 tgagagaacg aaatctctat cgg 23

<210> 105
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 105
 aggcagcaag tttttataaa ggc 23

<210> 106
 <211> 331
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 106
 atgtatctat cccaattgag tcagctagaa acagttgact gactaaatgg aaactagtct 60
 atttgacaaa gtctttctgt gttggtgtct actgaagtta tagtttacct ttcctaaaaa 120
 tgaaaagttt gtttcatata gtgagagaac gaaatctcta tcggccagtc agatgtttct 180
 catccttctt gctctgcctt tgagttgttc cgtgatcatt ctgaataagc atttgccttt 240
 ataaaaactt gctgcctgac taaagattaa caggttatag tttaaatttg taattaattc 300
 taccatcttg caataaagtg acaattgaat g 331

<210> 107
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 107
 acactgtagc agaggcttga cc 22

<210> 108
 <211> 20
 <212> DNA

```

<213> Homo sapiens

<400> 108
aggccaagtt atgtgccacc 20

<210> 109

<211> 371

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc_feature
<222> (345)..(345)
<223> n = a, c, g, oder t/u

<400> 109
aaatgacact ttaaggaggt aacactgtag cagaggcttg accaccaccc agttctcact 60
agcactgagg atgctctatt gggtgggtta cccacacacg catagacatg cacacacaca 120
gacacacaga cacacacaca cacacacaca caccagatat agcattccaa accatcaata 180
tgctatgcaa tactgcatta acaggtcatg cctgtggtgg cacataactt ggctagaaa 240
atactgggga cgtctgcatt cccttttatt atcgaattga cttacttggc ttctgagttt 300
tcctcagaag taatacttca atacctcttc ctttctgcc ttgancattg tttggggtac 360
caagtatagc t 371

<210> 110

<211> 25

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 110
ctctcaaagt aagagcgatg ttgta 25

<210> 111

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 111
ccgaagtaga aaatcttggc a 21

<210> 112

```

<211> 358
<212> DNA
<213> Homo sapiens
<220>
<221> misc_feature
<222> (50)..(50)
<223> n = a, c, g, oder t/u
<220>
<221> misc_feature
<222> (56)..(56)
<223> n = a, c, g, oder t/u
<220>
<221> misc_feature
<222> (223)..(223)
<223> n = a, c, g, oder t/u
<220>
<221> misc_feature
<222> (249)..(249)
<223> n = a, c, g, oder t/u
<220>
<221> misc_feature
<222> (273)..(273)
<223> n = a, c, g, oder t/u
<220>
<221> misc_feature
<222> (315)..(315)
<223> n = a, c, g, oder t/u
<220>
<221> misc_feature
<222> (323)..(323)
<223> n = a, c, g, oder t/u
<220>
<221> misc_feature
<222> (328)..(328)
<223> n = a, c, g, oder t/u
<220>
<221> misc_feature
<222> (345)..(345)
<223> n = a, c, g, oder t/u
<400> 112

```

agctctcaaa gtaagagcga tggtgtaact gactgagttg ttttgtgaan ttttgntttt    60
ggagtcagtg gagcatgtta ttagatgtaa atttaaacac acacacacac acacacacac    120
acacacacga gaagtaagtg ccaagatttt ctacttcggc gcctatattt ctatatactg    180
attttctgta tttcccagac ttgaatatag attgtctttc tgntttatca tagacaatct    240
cataataant taggcataat aaggtaatga ggnttttctg ggcttctttt catcatccct    300
gcaatttgag tctcntttat agntgaantc ttctctgtaa taacntcttg ttttagct    358

```

<210> 113

<211> 23

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 113

atttctaaga ggactcccaa act 23

<210> 114

<211> 22

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 114

atatttttgaa actcaggagc at 22

<210> 115

<211> 278

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc_feature

<222> (33)..(33)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (75)..(75)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (100)..(100)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (102)..(102)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (108)..(108)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (163)..(163)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (177)..(177)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (265)..(265)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<400> 115

cgtcttacca aaccaacata ataatagcaat ggnaacccaaa aatttctaag aggactccca 60

aactacattc ttctnctga attaaatata ggcattcaan anaaacanac acacacacac 120

acacacacac acacacacac acacacgcac acccttcaaa tcntagcata aattccnctt 180

atataaacat aaccatgctc ctgagtttca aaatattggg tggttcgaag ttcgaagcaa 240

caaattttcca gttagtgtct attanttggt ggacagct 278

<210> 116

<211> 20

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 116

gagccatggt catgccactg 20

<210> 117

<211> 20

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 117
 caaaccggac taccagcaac

20

<210> 118

<211> 684

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc_feature

<222> (9)..(9)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (75)..(75)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (263)..(263)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (306)..(306)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (309)..(309)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (313)..(313)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (534)..(534)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<400> 118

aattgagcnc aggagttaa gaccagcctg ggtaacacag tgagaccct gtctctacaa 60

aaaaatacaa aaatnagttg ggcattggtg cagtgacctg tagtctcagc tacttgagg 120

gctgaggcag gaggagttct tgagcccaga aggttaaggc tgcagtgagc catgttcag 180

```

ccactgcact tcactctgag tgacaaattg agaccttgtc tcagaaagaa agaaagaaag 240
aaagaaagaa agaaagaaag aangaaagaa agaaagtaag aaaaagagag ggaaagaaag 300
agaaanagna aanaaatagt agcaactgtt attgtaagac atctccacac accagagaag 360
ttaatttttaa ttttaacatg ttaagaacag agagaagcca acatgtccac cttaggctga 420
cggtttgttt atttgtgttg ttgctggtag tcggggttgt tattttttaa gtagcttatt 480
caatacttca ttaacaattt cagtaagtta tttcatcttt caacataaat acgnacaagg 540
atttcttctg gtcaagacca aactaatatt agtccatagt aggagctaata actatcacat 600
ttactaagta ttctatttgc aatttgactg tagcccatag ccttttgctg gctaaagtga 660
gcttaatgct gatcgactct agag 684

```

<210> 119

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 119

tgagaggttgc aatgagctg 19

<210> 120

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 120

catgcacacc taattggcg 19

<210> 121

<211> 158

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc_feature

<222> (51)..(51)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (60)..(60)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (68)..(68)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (91)..(91)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (150)..(150)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (155)..(155)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<400> 121

acgaggacag gaggttcaaga ccagcctggc caacatgggtg aaccccgttt ntactaaan 60

tacaaaantt ggtcgggagg ctggggcagg ngacatgctt gaccccagga ggtggaggtt 120

gcaatgagct gagattgcac cactgcactn cagcntgg 158

<210> 122

<211> 136

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc_feature

<222> (16)..(16)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (19)..(20)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (24)..(24)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature

<222> (27)..(28)
 <223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
 <222> (30)..(31)
 <223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
 <222> (41)..(41)
 <223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
 <222> (92)..(92)
 <223> n = a, c, g, oder t/u

<400> 122
 aagaaagaga aagganagnn aggnagnnnan naaactacat ntgaagtcaa cactagtatt 60
 ggtgggagag gaattttatg ctgcattccc cnacaaccac tagatacgcc aattaggtgt 120
 gcatggtcca tgctat 136

<210> 123

<211> 20

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 123
 gcaaagcaga agtgagcatg 20

<210> 124

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 124
 taggactaca ggcgtgtgc 19

<210> 125

<211> 410

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc_feature
 <222> (62)..(62)
 <223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
 <222> (386)..(386)
 <223> n = a, c, g, oder t/u

<220>

<221> misc_feature
 <222> (397)..(398)
 <223> n = a, c, g, oder t/u

<400> 125
 catatgggtc cacaagcaac ctcatgcctt gtctcttcag aagaaagaat tctactgagg 60
 gncataaggc agaaggagag acctaggcaa gttgcaaagc agaagtgagc atgtattaaa 120
 aagctttaga acagtaagga aaggaagaaa agaaaagaag gaaagttcaa cttggaagag 180
 ggccaagccg gcaacttggc agaaggattg cttgagccca ggagttaaga ccagtctggg 240
 caatatagtg agactccatc tctgcataca tacatacata catacatata tacatacata 300
 catacatatt gcagggtatg atggcacacg cctgtagtcc tagctactct ggaggttgag 360
 atgggagggt cactgagcct gggaanttga ggctgcnntg agccatgatc 410

<210> 126

<211> 23

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 126
 gttattacaa tgtcaccctc att 23

<210> 127

<211> 24

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 127
 acatctgtaa gagcttcaca aaca 24

<210> 128

<211> 199

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc_feature

<222> (8)..(8)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<400> 128
 attccttngt tattacaatg tcaccctcat ttaaaaagtg gaaagataaa gaggaagcaa 60
 tctattttttt tccttttttt ctgatagcac ttgtttgtga agctcttaca gatgttctta 120
 agtaaaatca actcctccat tttttttgta gcaactacac atatttatca ataatagttc 180
 acaaatacat tttcaaatt 199

<210> 129

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 129
 acgtttctca attgtttagt c 21

<210> 130

<211> 20

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 130
 tgtcttgga ttatttttac 20

<210> 131

<211> 247

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc_feature

<222> (214)..(214)

<223> n = a, c, g, oder t/u

<400> 131
 agacaatggg agaaattgca ctgccctgag tcagaaatca gatctgttgc catacagctg 60
 ccgttatgtg atcatttgca agtcaacgtt tctcaattgt ttagtcattt gtaagacaaa 120

aagactgggtt ggatttcaga gaatttggaa tcctccttca ggtttaacaa gcaataaatg 180
 atactcttca gtgtaaaaat aatgccaaga catnatttga ctttaaatta aatccaaaca 240
 agatatc 247

<210> 132

<211> 24

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 132
 ctatgctctg atctttgtta cttt 24

<210> 133

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 133
 attaacggga aagaatggta t 21

<210> 134

<211> 20

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 134
 aaggtatatt atttgtgtcg 20

<210> 135

<211> 20

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 135
 aaacttttct taacctcata 20

<210> 136

<211> 24

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 136
tctacacata tgggaaagca ggaa 24

<210> 137

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 137
gctggtggtt ttggaggtag g 21

<210> 138

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 138
ataagagacc agaattgat a 21

<210> 139

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 139
tcttttgagg agggtagtc 19

<210> 140

<211> 24

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 140
aaatctctta agctcatgct agtg 24

<210> 141

<211> 18

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 141

cctgcctacc agcctgtc 18

<210> 142

<211> 111

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 142
 agtggagaga tagaaagaga ggaagatttt tttttttaa tctcttaagc tcatgctagt 60
 gtaggtgctg gcaggtctga acactctgta ggacaggctg gtaggcagga a 111

<210> 143

<211> 18

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 143
 tgggggtgcgc tgtgttgt 18

<210> 144

<211> 24

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 144
 gagatttcac gcattcctgt aaga 24

<210> 145

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 145
 gaggcacagc ttaccagttc a 21

<210> 146

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 146

attcatttttc tcattttatc c 21

<210> 147

<211> 18

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 147
caagattatg cctcaact 18

<210> 148

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 148
taagctcata atctctgga 19

<210> 149

<211> 209

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 149
aaactttaac caatttaaac tccctaacag ttctataaaa taagcaagat tatgcctcaa 60
ctttatggat aaagaaatgg aggcattaag agataactaa cttgccaag gccacacaag 120
tgactgagta agaattgcaa agccaatgag tctggctcca gagattatga gcttaatcac 180
cacactgtgc cacctcctgt gtttctctgg 209

<210> 150

<211> 23

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 150
tcacttggtt gggttaacatt act 23

<210> 151

<211> 24

<212> DNA

<213> Homo sapiens
 <400> 151
 tagaaaaaca gttgcatttg atat 24

 <210> 152
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 152
 aacccaaggg agcacaactg 20

 <210> 153
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 153
 ggcaataggc tttccaacat 20

 <210> 154
 <211> 17
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 154
 ttgtggaatg gctaagt 17

 <210> 155
 <211> 18
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 155
 gaaagtatca aggcagtg 18

 <210> 156
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 156	
tatttggttt gtttgctgag gt	22
<210> 157	
<211> 23	
<212> DNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 157	
caagaaggat ggatacaaac aag	23
<210> 158	
<211> 17	
<212> DNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 158	
cgctatgcat ggattta	17
<210> 159	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 159	
gctgaattta ggatgtaa	18
<210> 160	
<211> 91	
<212> DNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 160	
cgctatgcat ggatttaaac tgagtgtagt gcactcacta tgttgcagtc tcttattcta	60
ggttcctaatt attacatcc taaattcagc t	91
<210> 161	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> Homo sapiens	

<400> 161
ttcggatccg gtaccatcga t

21

<210> 162

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 162
ttatcgatgg taccggatcc g

21

Patentansprüche

1. Verfahren zum Bestimmen der Anfälligkeit eines Individuums für eine bipolare Störung, worin das Verfahren Analysieren einer von dem Individuum erhaltenen DNA-Probe bezüglich des Vorliegens eines DNA-Polymorphismus, welcher mit einer bipolaren Störung in Zusammenhang steht, in einer Region des humanen Chromosoms 18q, welche zwischen den polymorphen Markern D18S68 und D18S979 angeordnet ist, umfasst.

2. Verfahren nach Anspruch 1, worin der DNA-Polymorphismus eine Trinukleotid-Repeat-Expansion ist.

3. Verfahren nach Anspruch 2, worin die Trinukleotid-Repeat-Expansion in einer Nukleotidsequenz enthalten ist, welche sich von der in einer der [Fig. 15a](#), [Fig. 16a](#), [Fig. 17a](#) oder [Fig. 18a](#) gezeigten Nukleotidsequenzen nur in der Trinukleotid-Repeat-Expansion unterscheidet.

4. Verfahren nach Anspruch 2 oder 3, welches die Schritte umfasst:

- a) Erhalten einer DNA-Probe von dem Individuum;
- b) Bereitstellen von Primern, welche für die Amplifikation einer Nukleotidsequenz geeignet sind, welche in einer der [Fig. 15a](#), [Fig. 16a](#), [Fig. 17a](#) oder [Fig. 18a](#) gezeigten Nukleotidsequenzen enthalten ist, worin die Primer die in der Sequenz gezeigten Trinukleotid-Repeats flankieren;
- c) Einsetzen der Primer bei der DNA-Probe und Durchführen einer Amplifikationsreaktion;
- d) Durchführen der gleichen Amplifikationsreaktion mit einer DNA-Probe eines Kontrollindividuums; und
- e) Vergleichen der Ergebnisse der Amplifikationsreaktion des Individuums und der des Kontrollindividuums; worin das Vorliegen eines amplifizierten Fragments von dem Individuum, welches größer ist als das des Kontrollindividuums, ein Anzeichen für das Vorliegen einer Anfälligkeit für eine bipolare Störung des Individuums ist.

5. Verfahren nach Anspruch 4, worin die zu amplifizierende Nukleotidsequenz in der in [Fig. 15a](#) gezeigten Sequenz enthalten ist, und worin die Primer die in [Fig. 15b](#) gezeigten Sequenzen aufweisen.

6. Verfahren nach Anspruch 4, worin die zu amplifizierende Nukleotidsequenz in der in [Fig. 16a](#) gezeigten Sequenz enthalten ist, und worin die Primer die in [Fig. 16b](#) gezeigten Sequenzen aufweisen.

7. Verfahren nach Anspruch 4, worin die zu amplifizierende Nukleotidsequenz in der in [Fig. 17a](#) gezeigten Sequenz enthalten ist, und worin die Primer die in [Fig. 17b](#) gezeigten Sequenzen aufweisen.

8. Verfahren nach Anspruch 4, worin die zu amplifizierende Nukleotidsequenz in der in [Fig. 18a](#) gezeigten Sequenz enthalten ist, und worin die Primer die in [Fig. 18b](#) gezeigten Sequenzen aufweisen.

9. Verwendung einer Region des humanen Chromosoms 18q, welche zwischen den polymorphen Marken D18S68 und D18S979 angeordnet ist, oder eines Fragments davon zum Identifizieren zumindest eines humanen Gens, einschließlich mutierter oder polymorpher Varianten davon, welches zur Manifestation einer bipolaren Störung beiträgt.

10. Verwendung nach Anspruch 9, worin der Anteil des humanen Chromosoms 18q in einem YAC-Klon vorliegt.

11. Verwendung nach Anspruch 10, worin der YAC-Klon ein Klon des CEPH Mega-YACs ist, welcher aus-

gewählt ist aus 961_h_9, 942_c_3, 766_f_12, 731_c_7, 907_e_1, 752_g_8 oder 717_d_3.

12. Verwendung nach Anspruch 10, worin der YAC-Klon 961_h_9, 766_f_12 oder 907_e_1 ist.

13. Verwendung nach einem der Ansprüche 9 bis 12, worin die bipolare Störung ausgewählt ist aus der Taxonomie des diagnostischen und statistischen Handbuch psychischer Erkrankungen („Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders“), Version 4 (DSM-IV), und Gemütskrankheiten (296.XX, 300.4, 311, 301, 13, 295.70), Schizophrenie und verwandte Erkrankungen (295, 297.1, 298.9, 297.3, 298.9), Angsterkrankungen (300.XX, 309.81, 308.3), Anpassungsstörungen (309, XX) und Persönlichkeitsstörungen (Code 301.XX) umfasst.

14. Verwendung nach einem der Ansprüche 10 bis 12, worin das zumindest eine humane Gen, einschließlich mutierter oder polymorpher Varianten davon, welches zur Manifestation einer bipolaren Störung beiträgt, durch ein Verfahren identifiziert wird, welches die Schritte umfasst:

- (a) Subklonieren eines YAC-Klons, wie in einem der Ansprüche 10 bis 12 beschrieben, in Exon-Trap-Vektoren;
- (b) Transfizieren von Säugerzellen mit einem in Schritt (a) hergestellten Exon-Trap-Vektor;
- (c) Kultivieren der Säugerzellen in einem geeigneten Medium;
- (d) Isolieren von RNA-Transkripten, welche von einem SV40-Promotor exprimiert werden;
- (e) Herstellen von cDNA von solchen RNA-Transkripten;
- (f) Identifizieren von Spleiß-Ereignissen, welche die Exons der in den gemäß Schritt (a) in den Exon-Trap-Vektor subklonierten DNA betreffen, um die Positionen der codierenden Regionen in der subklonierten DNA zu identifizieren;
- (g) Nachweisen von Unterschieden zwischen den codierenden Regionen und äquivalenten Regionen in der DNA eines Individuums, welches unter der bipolaren Störung leidet; und
- (h) Identifizieren des Gens oder von mutierten oder polymorphen Varianten davon, welches bzw. welche zu der Manifestation der bipolaren Störung beiträgt bzw. beitragen.

15. Verwendung nach einem der Ansprüche 10 bis 12, worin das zumindest eine humane Gen, einschließlich mutierter oder polymorpher Varianten davon, welches zu der Manifestation einer bipolaren Störung beiträgt, durch ein Verfahren identifiziert wird, welches die Schritte umfasst:

- (a) Subklonieren eines YAC-Klons, wie in einem der Ansprüche 10 bis 12 beschrieben, in einen Cosmid-, BAC-, PAC- oder einen anderen Vektor;
- (b) Verwenden der in einer der [Fig. 1](#) bis [Fig. 11](#) gezeigten Nukleotidsequenzen oder einer beliebigen anderen bekannten, mit einem Tag versehenen Sequenz aus dem in [Fig. 14](#) gezeigten YAC-Contig, oder eines Teils davon, welcher aus nicht weniger als 14 benachbarten Basen besteht, oder dem Komplement davon, um Überlappungen zwischen den Subklonen nachzuweisen und eine Karte davon zu erstellen;
- (c) Identifizieren der Positionen der Gene in der subklonierten DNA durch eines oder mehrere von CpG-Insel-Identifizierung, Zoo-Blotting, Hybridisierung der subklonierten DNA mit einer cDNA-Bibliothek oder einen Northern-Blot von mRNA aus einem Panel von Kulturzelllinien;
- (d) Nachweisen von Unterschieden zwischen den Genen und äquivalenten Regionen der DNA von einem Individuum, welches unter einer bipolaren Störung leidet; und
- (e) Identifizieren des Gens, welches, wenn es fehlerhaft ist, zu der Manifestation einer bipolaren Störung beiträgt.

Es folgen 7 Blatt Zeichnungen

FIG. 1.

GTCTTTATTTTCATATAACTATGCTCTGATCTTTGTTACTTTCTCCTTTTAAC
TCAGTTTAAGCTTTATTCTTATTTTCCAGCTGCTGAAGGTATATAGTTAGG
TTGTTTATTGGATACCATTCCTTTCCCGTTAATGTCAGTGGTTACTGCTATC
AATGTAGCAGTTA

FIG. 2.

ATAAGGTATATTATTTGTGTCGTGAGTTAAGAAATCATTAAATAACTATTTT
CAGAATGACAAATGTCATTATATGTTGTAAAAAAGATAAATACGTGAAAT
ATGAGGTTAAGAAAAGTTTA

FIG. 3.

ACATAAAATGTCGCTCAAAAACAATTATGTGTGTCTACACATATGGGAAA
GCAGGAAACAAATTTGTTTACAACATACATTACTTTTGTTTTTTAGGCAAG
ATAAAATNTCCTACCTCCAAAACCACCAGCACNGTCCGCAATAACTATAC
ATC

FIG. 4.

AATATCATTCTTCACCCACGTTATACATAAGAGACCAGAATGTGATATTGT
CATCTCACATGGAAAAATCTGCTGTGATCAGTTCCTGAAGCTTGCTGTGA
TCCTCCCTTAGGAAAGTAGAAAAATCTTTTTGAAACACTTTATTCTACAAT
CAATGAAAATTAGGTGAAGCTACAGAAGCCAGAAATTACTCTAAGATTAG
ACAATTATTTAAGANGACCAATTGTCTTTGGTCTTCTTCTGAAGGGTCTG
ACTACCCTCCTCCAAAGAATTCACTGGCCGTCGTTTTACAACGTCNTGA

FIG. 5.

GGAGGGTGTTNTCACANAAGTCTGGGGTGCGCTGTGTTGTTCAATTGTAA
AAACCCTTTGGANCATCTGGGAATGTGCTGCCCCACATGTCCAGGTAAC
GTTCTCAGGAAGGGGAGGCTGGAAATCTCTGTGTGTTCTTACAGGAATG
CATGAAATCTCCCANCCCCTCTTGTTGGAAATTTCCCTCACTTT

FIG. 6.

CTTCTCNATGANTGGACAAATGTCATTGGGTCAGCATGAGGCACAGCTT
ACCAGTTCAGATTCCAGTAGCTGAGGAACAAATCTTAACTCCAAAAATAA
 GTAATTGCGTCACTTTGGAGGAATTATTTGACCTTTTCATAACTTTGACAT
 CACAACAATGAGGGTGAAGTTAGTAAAATAAATGATTATTATGAGGATAA
AATGAGAAAATGAATTNAGTGCTTAAGACAATGCTTGGTAACTAGTTAAN
 CCG

FIG. 7.

GGTNTTTCACCTTGGTTGGTTAACATTACTTCTAAGTTTTTTATTGTTTTTTA
 TGCTATTGCTAATGGGATTGCTTTCTTAATTTATTTTTCCAATAGCTTGT
 TGTTAGTTTATATCAAATGCAACTGTTTTCTATGCAAATTATGTTTCCT

FIG. 8.

TTGGTGGTGCCCTAGGTTTGGCAATTATAAATAAAGCTGCTACAAACATT
 CATGTGCAGGTCTCCGTGTGGACATAATTTTCCAGTTCATTTGGGTAAAA
CCCAAGGGAGCACAACCTGTTGGATCCTATNATAAAAAATATNTCTCGTTTC
 ATTTAAAAAACCTGGGAACTATCTNCCCACAGTGGCTGTCCCTTTTTGT
 ATCCCCACCAACAATGTTGGAAAGCCTATTGCCANCAT

FIG. 9.

CATGNCTCACAGTGTTCTGAGGCTGCTCTGGACATGCAATCTTGCATGC
 TTTTGTGATGACAGGTCTTAAANAGTTTATCAGCTTNCTCAAATAGCTGAA
 TGACANAACACTGGATTTTTGTTCAAATANCCTATCAACTTGGCNTCTGT
 GTTGCGGTTGTCACTTGGTAACAAAATAAGTC

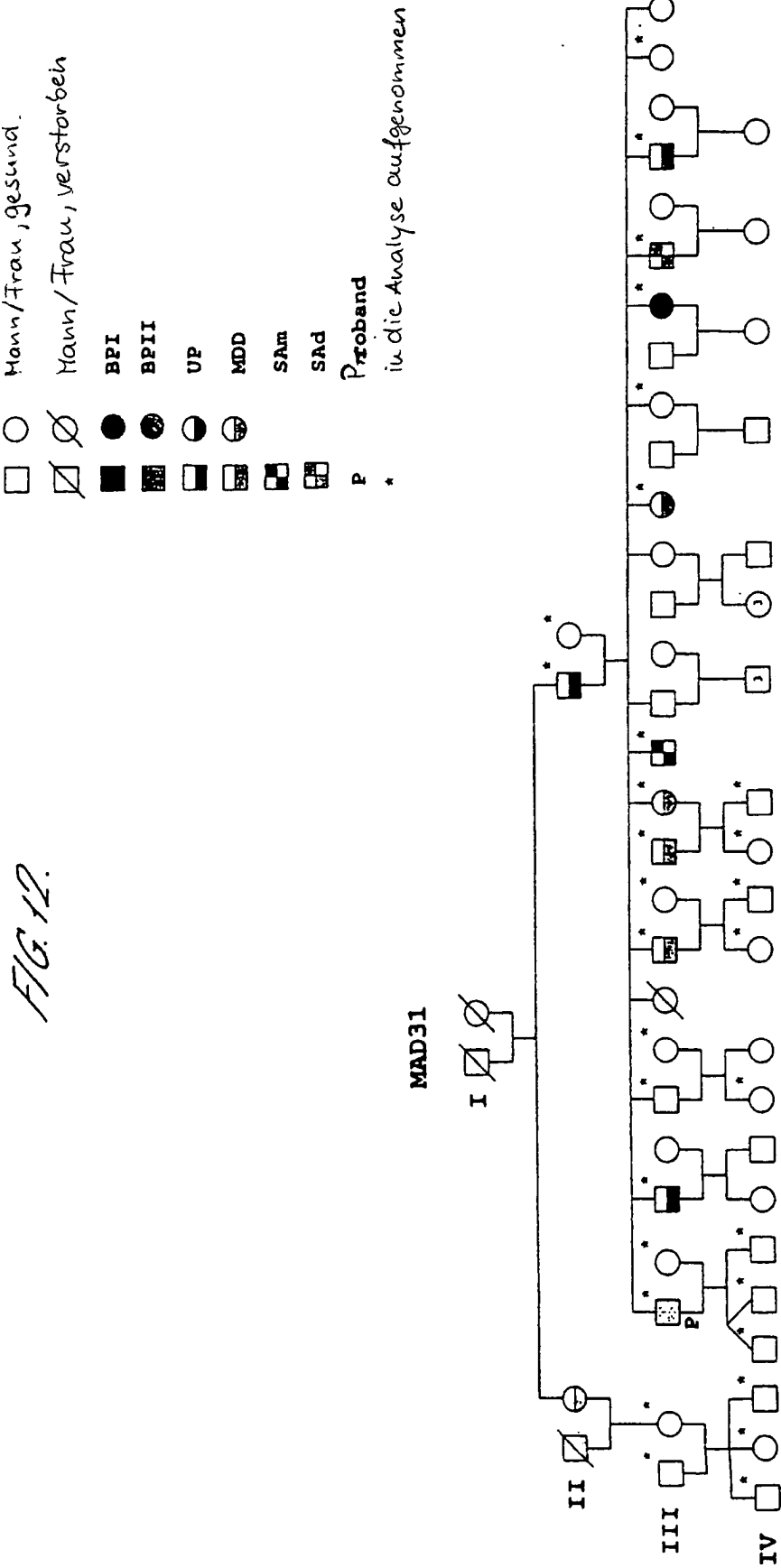
FIG. 10.

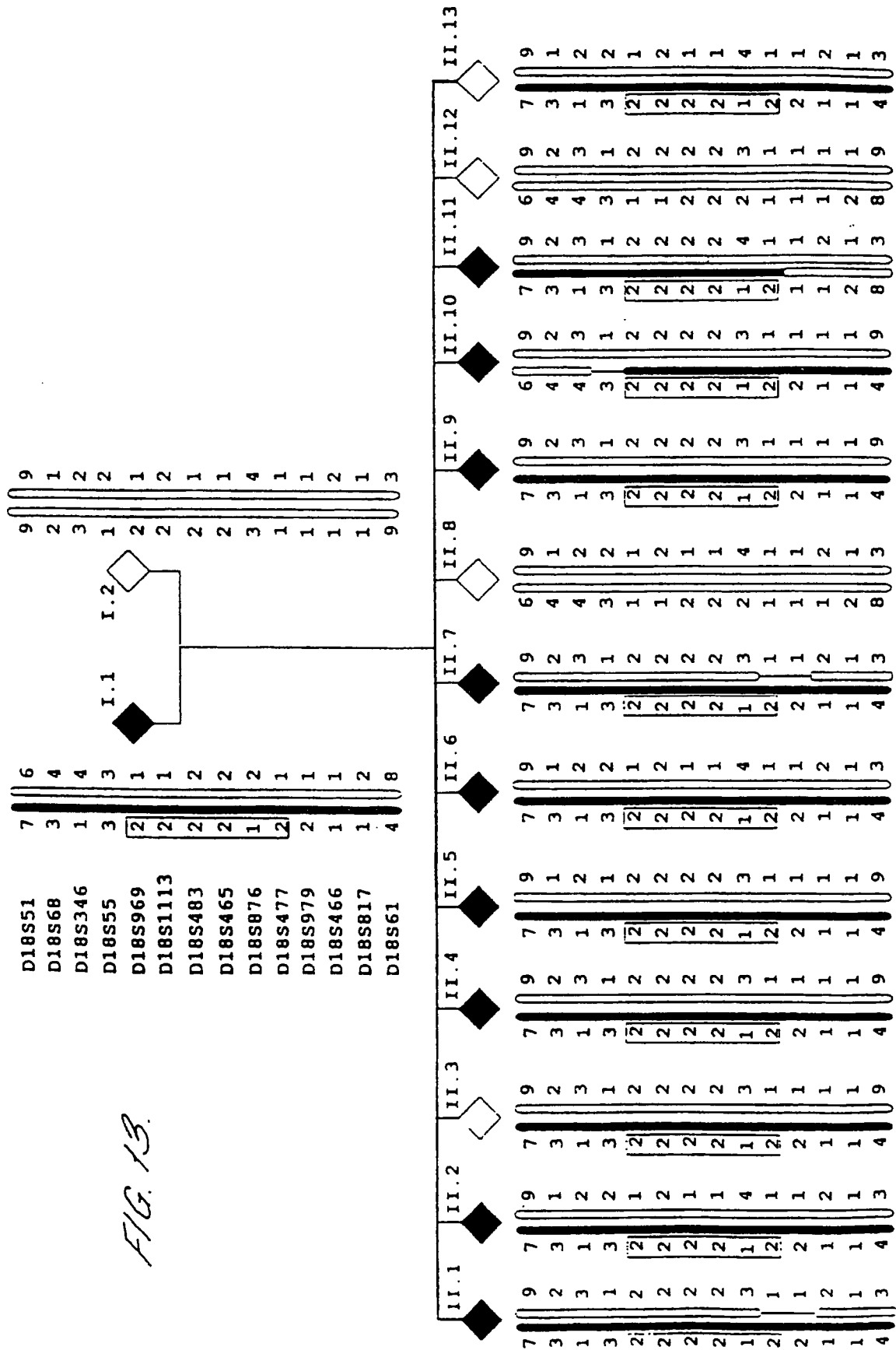
TAATTGACAAATAAAAAATTGTATATTTTNCATATTTAACATGTTATGCTAAC
 ATATATATGGATTGTGGAATGGCTAAGTCAGAAATCTTTTACATTCATAT
 TTCCATATTATTTACTTTNNGCTTTAAAAAATATGTAAATGANAATACTTAT
 TTTTTTCAGTGTCACTGCCTTGATACTTTACATTTNNGTTACATATTATTT
 CCCTTNCATCTAACAAATATATATTGAGTTTCTATAATGTGTCTGACACTG
 A

FIG. 11.

TGGTCACTGGTGCCTTATTTGGTTTGTTTGCTGAGGTCATATTTCTGTG
 GCCTTCATGCTTGATTTGTTGGAGTCTAGCCATGTAAAANTCTGTTGGAG
 TCTAGGCATTTAAAAAATAGGTATTTATTGTAATCTTTGCCATTTGCTTGT
TTGTATCCATCCTTCTTGGGAAGGCTTTACAGGCATTCAAAGG

FIG. 12.





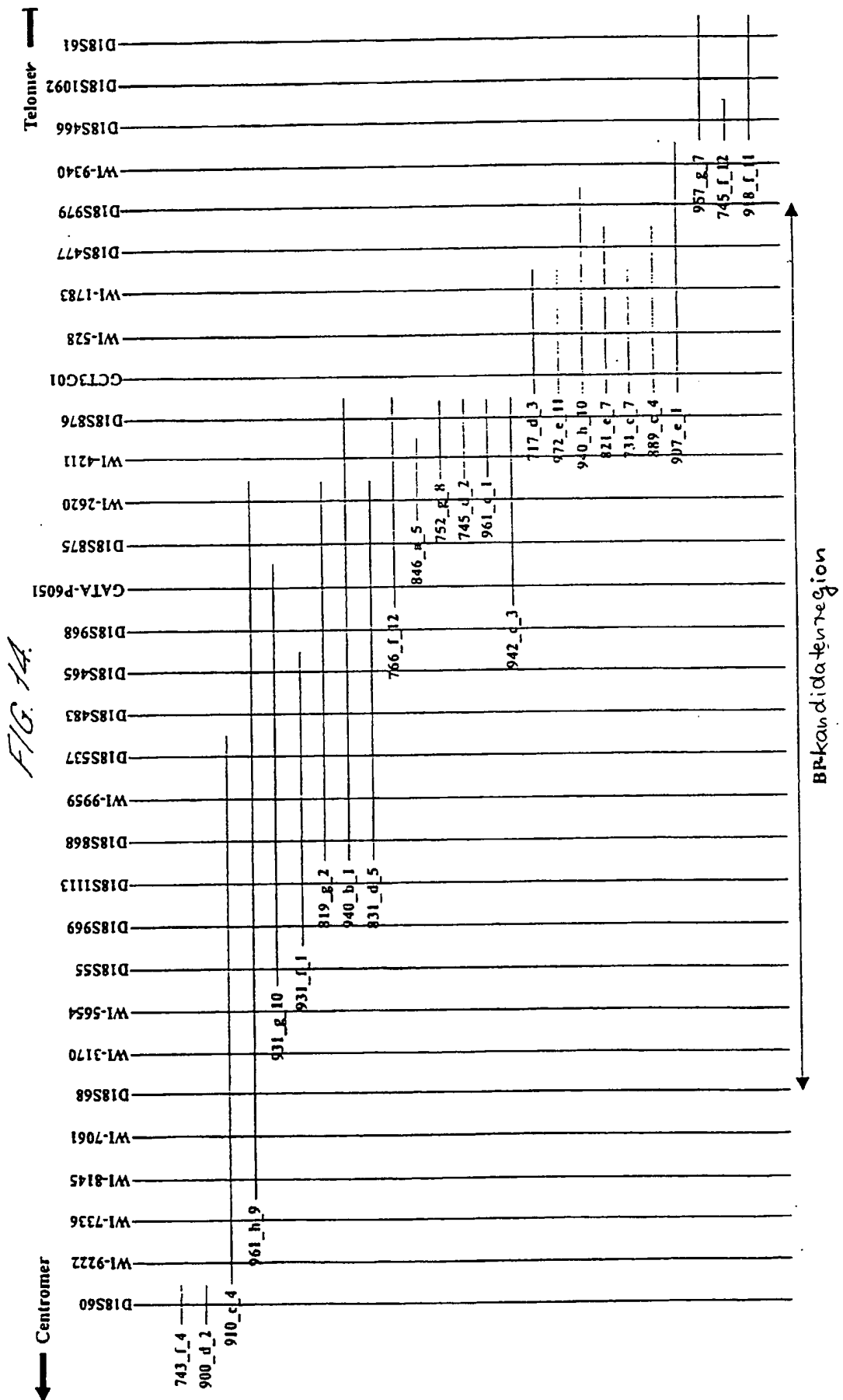


FIG. 15a.

GCCAACAAACAAAATGAAATAAGACCTGGGATGTATTTTTGGCCAAGGCAATTAGAAA
 ATGATTAGTATCCTTATCAGGAGCAATTTAGAGAATGTTTGGGTGGACGTCTAACTACA
 GTGGAGTCAAACGTGAATCAACGGTGAAAAAAGGACAATAGCCAATGTGTACACTTTTT
 ATAAAAACCACCCTCCAAGGACCAGGCACTGGCCCTCTCTCCGGTGCCACAGACATC
 CACACAGGCCCAAAGAATCAGGGATTGCACAAGCCAGAGCAATCGAACGGTTCTGAGT
 CATCTGCCGGAAGCCTTGCCCTCAATCAAGGCGGACGTGAAGCATCTACAAAGGAGGA
 ATAGTCAAAGCAGCAGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGG
 AGGTGGGGGGCCTCTGCCAGGTACCGGGCGGGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGG
 CCCGCGGAGGCCACCTCTTCCCTGGAGTGCCTGAGAGAGGGGAAGGGAGGAAGG
 CCAGAGCAGGAATCAGAGCGAGGCAAAGGCGGGGAGGAAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
 GCGGGAGGCGGCGGCGGAAAGAAAXTCTCGGGGCTGTGGGGGTCTCCCTGGCACC
 AGCCGGGGTCCCAAGCCCCACCGCGAGACCCCGCGA

FIG. 15b.

5'-ATCGAACGGTTCTGAGTCATCT
 5'-CGCTCTGATTCCTGCTCTG

FIG. 16a.

TTCAGTAGAAGGAAGCACAGCAAATTTGCCCTTATAGAGATTCAATTCTTGGTGCTTGG
 GCCAAAGAATAAGAATTACATTAAGCAGGCCCGGGCACGGTGGCTCACACCTGTAAAC
 CAGAACTTTGGGAGGCCGAGGCAGGCAGATCATGAGGTCAGGAGATCGAGACCATCC
 TGGACAACATAGTGAACCCCATCTCTACTAAAAATACAAAAATTAGCCGGGCATGGTG
 GTGCATGCCTGTAATCCCAGCTACTCAGGAGGCGGAGGCAGGAGAATCCCTTGAACCA
 GGGAGTTGGAGGTTGCAGTGAGCCGAGATCACGCCACAGCACTCTAGCCTGGCGACA
 GAGTGAGACTCCATCTCAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAATTACATTAAGCAGCAGC
 AGCAGCAGTGASAGAGGGAATGAAGAAGAAATTTCTAGAATAAGATTGA
 TCTCCAGCACCATGCCAATCATGGACTGGATACAATTCATGCATATCTTTTGTGA
 GAGAGGTGAGAGATGTGAATCCTTTCTCATT

FIG. 16b.

5'-AGAAGGAAGCACAGCAAATTTG
 5'-GCATGGTGCTGGAGATCAAT

FIG. 17a.

TGGGAGTTAAAGCAGACATTTCGGCTTTNGTGTTGCCAGAGTTCTAACATAAGTCTTTTT
CATCTGGGCAGGCNGATGTTCCCTTCCATCTTNGAAGNACNGTCCTTTTCATTTTTTTAT
TTNGCTTTTGGSKTTTATCTTCTTAGACGTCTTCAGGAGTTKGATTGTAGKGTAAGGCAG
ATTTAGTTGACTGGGCTTTGTTTCTGGAAAATTTTAAAGGGGCAAGTCCTGGGCTGCAT
ATTCTTACTCTGGGGGCTTAGTACTGGCCCCCTAAATTTGTTCTCTGGCTCCTCAAGGTT
AGAAATCTGCTGGCTGGAGGGGCTGAGATGTTCTTGACTGCTGGCCAGAACATTCCG
CCGGGGGGTGGCAACCGAAGTGTTCTTTGGGCAATGGCAGCAGAATTCATGATTGTT
TTCATGTRCCAGCAGCAGTGGCAGCGCAKTGAGTTGCATGATTGTTGGCTGGGGC
TGAGTGCTGGCASGCACTGGAGTGTTTGGCTTCCAGTAGAAATTCACAGCAGTAG
TAGTGGTGGCATGGGAAGGAGGGCAGYGGTGGCATGGGGAGGACCCCCC

FIG. 17b.

5'-GGCTGAGATGTTCTTGACTGC
5'- CCTTCCCATGCCACCACTACTA

FIG. 18a.

TGTAATTCAGCAATTTGGGGAGCCCAAGGCGGGCAGATTCATGAGTTCGGGAAGAT
TCGAGACNTTCCTGGCTAAACACGGGGGAAACCCCNTTTTACTAAAAAATACAAAA
AATTAACCTGGGCGTGGTGGCGGGCCCCAGCTANTCCGGAGGCTGAGGCAGGAGAAT
GGTGTGAACCCGGGAGGCGGAGCTTGCAGTGAGCCGAGATCCCGCTACTGCACTCCA
GCCTGGGCAATAGAGGGAGACTCCGTCTCAAAAAAAAAAAAAAAAAAATAATAATAAAAA
AAAATAACAATAATAATACTAATAATTGCTTGATATTTACAAAAGCAAAAGGAAAAAGAAG
ACTAGGCAAGAAAAAAAAAACCTCCTTAGATGGTAGAACTCAGGTTTAAAATTAAACTT
ATTCTGGTGTGAGSCTAGTTGTATATTTGACCTCTTTAAATGCTCTGAACTATGATATGG
AGTAACAGCGATGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGATGGTGGTGGTGTTTTA
ATATCGAATAAAAGTTGTGGAACTAAATTTCAATTTCTGCCAATTAATAAGATT
GCAAAGTTAAACATCT

FIG. 18b.

5'-TTTGCAATCTTAGTTAATTGGC
5'-GAACATATGATATGGAGTAACAGCG