



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 112553229 A

(43) 申请公布日 2021.03.26

---

(21) 申请号 202011500265.X	(51) Int.Cl.
(22) 申请日 2015.11.05	<i>C12N 15/60</i> (2006.01)
(30) 优先权数据	<i>C12N 7/01</i> (2006.01)
62/075,298 2014.11.05 US	<i>C12N 15/861</i> (2006.01)
62/155,692 2015.05.01 US	<i>C12N 15/864</i> (2006.01)
62/199,578 2015.07.31 US	<i>A61K 31/7088</i> (2006.01)
62/243,537 2015.10.19 US	<i>A61K 35/76</i> (2015.01)
(62) 分案原申请数据	<i>A61K 35/761</i> (2015.01)
201580072300.3 2015.11.05	<i>A61K 38/51</i> (2006.01)
(71) 申请人 沃雅戈治疗公司	<i>A61K 48/00</i> (2006.01)
地址 美国马萨诸塞州	<i>A61P 25/00</i> (2006.01)
(72) 发明人 R·科汀 A·P·凯尔斯	<i>A61P 25/16</i> (2006.01)
B·拉维纳	<i>A61P 25/20</i> (2006.01)
(74) 专利代理机构 隆天知识产权代理有限公司	
72003	
代理人 付文川 吴小瑛	权利要求书2页 说明书52页 序列表62页

---

(54) 发明名称

用于治疗帕金森病的AADC多核苷酸

(57) 摘要

本发明涉及用于治疗帕金森病的AADC多核苷酸,具体而言,涉及用于治疗帕金森病的编码AADC的多核苷酸的组合物和其制备、生产的方法以及其治疗用途。

1. 一种多核苷酸,其包含与SEQ ID NO:17至少95%同一的序列。
2. 根据权利要求1所述的多核苷酸,其包含源自AAV2的5' 反向末端重复 (ITR) 和3' ITR。
3. 根据权利要求1所述的多核苷酸,其包含巨细胞病毒 (CMV) 序列区。
4. 根据权利要求1所述的多核苷酸,其包含立即早期1 (IE1) 序列区。
5. 根据权利要求1所述的多核苷酸,其包含人 $\beta$ 珠蛋白 (HB) 序列区。
6. 根据权利要求1所述的多核苷酸,其包含编码芳族L-氨基酸脱羧酶 (AADC) 或其异形体的长度为1440、1443或1449个核苷酸的多核苷酸序列。
7. 根据权利要求6所述的多核苷酸,其中编码AADC或其异形体的多核苷酸序列的长度为1440个核苷酸。
8. 根据权利要求1所述的多核苷酸,其包含多腺苷酸化信号序列区。
9. 根据权利要求1所述的多核苷酸,其包含长度为507个核苷酸的CMV序列区,长度为166个核苷酸的IE1序列区,长度为400个核苷酸的HB序列区,长度为1440个核苷酸的编码AADC或其异形体的多核苷酸序列,和长度为477个核苷酸的多腺苷酸化信号序列区。
10. 根据权利要求1所述的多核苷酸,其包含由SEQ ID NO:17的核苷酸1-141组成的5' ITR。
11. 根据权利要求1所述的多核苷酸,其包含由SEQ ID NO:17的核苷酸3357-3497组成的3' ITR。
12. 根据权利要求9所述的多核苷酸,其中5' ITR由SEQ ID NO:17的核苷酸1-141组成,3' ITR由SEQ ID NO:17的核苷酸3357-3497组成,或5' ITR由SEQ ID NO:17的核苷酸1-141组成且3' ITR由SEQ ID NO:17的核苷酸3357-3497组成。
13. 一种重组腺相关病毒 (rAAV),其包含腺相关病毒 (AAV) 载体基因组和AAV衣壳,其中AAV载体基因组包含权利要求1所述的多核苷酸。
14. 一种重组腺相关病毒 (rAAV),其包含腺相关病毒 (AAV) 载体基因组和AAV衣壳,其中AAV载体基因组包含权利要求12所述的多核苷酸。
15. 根据权利要求13所述的rAAV,其中AAV衣壳是AAV2、AAV1、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV9.47、AAV9 (hu14)、AAV10、AAV11、AAV12、AAVrh8、AAVrh10、AAV-DJ或AAV-DJ8。
16. 根据权利要求14所述的rAAV,其中AAV衣壳是AAV2、AAV1、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV9.47、AAV9 (hu14)、AAV10、AAV11、AAV12、AAVrh8、AAVrh10、AAV-DJ或AAV-DJ8。
17. 根据权利要求15所述的rAAV,其中AAV衣壳是AAV2。
18. 根据权利要求16所述的rAAV,其中AAV衣壳是AAV2。
19. 一种包含权利要求17所述的rAAV和药学上可接受的赋形剂的药物组合物。
20. 一种包含权利要求18所述的rAAV和药学上可接受的赋形剂的药物组合物。
21. 根据权利要求19所述的药物组合物,其中至少70%的rAAV含有AAV载体基因组。
22. 根据权利要求20所述的药物组合物,其中至少70%的rAAV含有AAV载体基因组。
23. 根据权利要求19-22任一项所述的药物组合物在制备用于减少有此需要的受试者中的运动障碍时间段的药物中的用途。
24. 根据权利要求23所述的用途,其中所述运动障碍时间段的减少通过至少30%的体

止时间和运动波动改善来证实。

25. 根据权利要求24所述的用途,其中所述改善持续至少6小时。

26. 根据权利要求19-22任一项所述的药物组合物在制备用于改善有此需要的受试者的醒睡周期的药物中的用途。

27. 根据权利要求26所述的用途,其中在向所述受试者施用所述药物组合物后,所述受试者的快速眼球运动(REM)睡眠的量与施用所述药物组合物之前受试者的REM睡眠的量相比减少。

28. 根据权利要求26所述的用途,其中在向所述受试者施用所述药物组合物后,所述受试者的非-REM(NREM)睡眠的量与施用所述药物组合物之前受试者的REM睡眠的量相比增加。

29. 根据权利要求19-22任一项所述的药物组合物在制备用于治疗有此需要的受试者的睡眠障碍的药物中的用途。

30. 根据权利要求29所述的用途,其中所述睡眠障碍是失眠症。

31. 根据权利要求19-22任一项所述的药物组合物在制备用于增加有此需要的受试者中AADC蛋白的水平药物中的用途。

32. 根据权利要求31所述的用途,其中受试者患有帕金森病。

33. 根据权利要求19-22任一项所述的药物组合物在制备用于治疗帕金森病的药物中的用途。

## 用于治疗帕金森病的AADC多核苷酸

[0001] 本申请是申请号为201580072300.3,申请日为2015年11月5日,发明名称为“用于治疗帕金森病的AADC多核苷酸”的中国专利申请的分案申请。

[0002] 相关申请的交叉引用

[0003] 本申请要求以下申请的权益:2014年11月5日提交的标题为AADC Polynucleotides for the Treatment of Parkinson's Disease的美国临时专利申请号62/075,298,2015年5月1日提交的标题为AADC Polynucleotides for the Treatment of Parkinson's Disease的美国临时专利申请号62/155,692,2015年7月31日提交的标题为AADC Polynucleotides for the Treatment of Parkinson's Disease的美国临时专利申请号62/199,578,和2015年10月19日提交的标题为AADC Polynucleotides for the Treatment of Parkinson's Disease的美国临时专利申请号62/243,537;它们中的每篇的内容均通过引用整体并入本文。

[0004] 对序列表的引用

[0005] 本申请与电子形式的序列表一起提交。标题为1010PCTSEQLST.txt的序列表文件于2015年11月5日创建,并且具有178,144字节的大小。序列表的电子形式中的信息通过引用整体并入本文。

### 技术领域

[0006] 本发明涉及用于治疗帕金森病的组合物,特别是核酸分子,例如,编码AADC的多核苷酸。在某些实施方案中,这样的AADC多核苷酸可以由重组腺伴随病毒(AAV)编码或者在重组腺伴随病毒(AAV)内。

### 背景技术

[0007] 芳族L-氨基酸脱羧酶(AADC)是一种同源二聚体的磷酸吡哆醛依赖性的酶,其负责多巴胺和血清素的合成。编码的蛋白催化L-3,4-二羟基苯丙氨酸(L-DOPA或左旋多巴)脱羧为多巴胺;L-5-羟基色氨酸脱羧为血清素;和L-色氨酸脱羧为色胺。该基因中的缺陷是芳族L-氨基酸脱羧酶缺乏(AADC)的原因,这是一种神经递质代谢的先天性缺陷,其导致复合的血清素和儿茶酚胺缺乏,这会引发严重的运动功能障碍和自主功能障碍。

[0008] 帕金森病(PD)是一种中枢神经系统(CNS)的进行性神经变性疾病,其产生感觉和运动症状。多巴胺替代疗法(即左旋多巴)已经成为PD中的运动病损的标准药物治疗法。但是,多巴胺疗法的益处随着时间变得不太显著,这部分地归因于多巴胺产生细胞的进行性死亡和AADC活性的相应损失。此外,高剂量多巴胺的全身施用伴有副作用,诸如由中脑边缘系统的多巴胺能刺激引起的运动表现波动、运动障碍和幻觉。一种恢复多巴胺能功能和使副作用最小化的策略是使用基因治疗将AADC直接递送至CNS的靶区域。

[0009] 由于腺伴随病毒(AAV)的长期基因表达、在没有辅助病毒时不能自动复制、能够转换分裂细胞和非分裂细胞、和缺少由野生型感染引起的致病性,AAV已经作为有吸引力的基因治疗载体出现(参见例如,Hadaczek等人.Mol. Ther. 18(8),1458-1461,2010年8月)。AAV

是一种属于依赖病毒属 (Dependovirus) 的辅助病毒依赖型DNA细小病毒。

[0010] 本发明提供了这样的改进的核酸构建体,例如,多核苷酸,其用于为了基因治疗目的在帕金森病的治疗中与AAV衍生的载体一起使用,所述AAV衍生的载体包含编码全长AADC蛋白的多巴羧化酶 (“DDC”) 基因序列。

[0011] 本文描述的核酸构建体至少包含5' - ITR和3' - ITR (其中的每一个或两个可以从AAV衍生出,位于DDC基因序列周围) 以及基因表达和克隆选择所需要的额外组分。

## 发明内容

[0012] 本文描述了用于AADC多核苷酸的设计、制备、生产和/或配制的组合物、方法、工艺、试剂盒和装置。

[0013] 在某些实施方案中,这样的AADC多核苷酸可以由质粒或载体或重组腺伴随病毒 (AAV) 编码或者被包含在质粒或载体或重组腺伴随病毒 (AAV) 内。

[0014] 在下面的描述中阐述了本发明不同实施方案的细节。从描述和从权利要求书中会明白本发明的其它特征、目的和优点。

## 具体实施方式

[0015] 本发明的组合物

[0016] 根据本发明,提供了AADC多核苷酸,其单独地或与额外核酸序列组合地起作用以编码AADC蛋白。本文中使用的“AADC多核苷酸”是编码AADC蛋白的任何核酸聚合物,并且当存在于载体、质粒或可翻译的构建体中时,其在细胞、组织、器官或生物中表达这样的AADC蛋白。

[0017] AADC多核苷酸包括在细胞内被加工的前体分子。AADC多核苷酸或其加工形式可以在用于递送给细胞的质粒、载体、基因组或其它核酸表达载体中编码。

[0018] 在某些实施方案中,将AADC多核苷酸设计为AAV病毒基因组的组分并包装在AAV病毒颗粒中,所述AAV病毒颗粒在细胞内加工以产生野生型AADC蛋白。

[0019] 本文中使用的野生型AADC蛋白可以是来自DDC基因的天然存在的异形体或变体中的任一种。已经鉴别出编码不同AADC异形体的多种交替剪接的转录物变体。具体地,DDC基因产生7种转录物变体,它们编码6种不同的异形体。DDC转录物变体1和2都编码AADC异形体1。在某些实施方案中,所述AADC多核苷酸编码DDC转录物变体2,由此编码天然的AADC异形体1 (NCBI参照序列:NP\_000781.1)。该序列在这里给出:MNASEFRRRGKEMVDYVANYMEGIEGRQV YPDVEPGYLRPLIPAAAPQEPDTFEDI INDVEKI IMPGVTHWHSPYFFAYFPTASSYPAMLADMLCGAIGCIGFSW AASPACTELETVMMDWLKGKMLELPAFLNEKAGEGGGVIQGSASEATLVALLAARTKV IHRLQAASPELTQAAIME KLVAYSSDQAHSSVERAGL IGGVKLKAIPSDGNFAMRASALQEALERDKAAGL IPFFMVATLGTTCSSFDNLLEV GPICNKEDIWLHVDAAYAGSAF ICPEFRHLLNGVEFADSFNFNPHKWLLVNFDCSAMWVKKRTDLTGAFRLDPTYL KHSHQDSGLITDYRHWQIPLGRRFRSLKMWFVFRMYGVKGLQAYIRKHVQLSHEFESLVRQDPRFEICVEVILGLV CFRLKGSNKVNEALLQRINSAKKIHLVPCHLRDKFVLRFAICSRTVESAHVQRAWHEHIKELAADVLAERE (SEQ ID NO:1)

[0020] 可以将本发明的AADC多核苷酸工程改造成含有被组装以产生AADC多核苷酸构建体的模块元件和/或序列基序。

[0021] AADC多核苷酸构建体

[0022] 根据本发明,提供了AADC多核苷酸。这样的多核苷酸包含核酸聚合物,其包含编码AADC蛋白的一种或多种异形体或变体的连接的核苷的区域。

[0023] 在某些实施方案中,所述AADC多核苷酸包含经密码子优化的编码AADC蛋白的转录物。

[0024] 在某些实施方案中,所述AADC多核苷酸包含编码AADC蛋白的一种或多种野生型异形体或变体的序列区域。这样的多核苷酸也可以包含编码以下任意一种或多种的序列区域:5' ITR、巨细胞病毒(CMV)增强子、CMV启动子、ie1外显子1、ie1内含子1、hbB珠蛋白内含子2、hbB珠蛋白外显子3、5' UTR、3' UTR、hGH聚腺苷酸信号和/或3' ITR。这样的序列区域在本文中予以教导或可以是本领域已知的那些中的任一种。

[0025] 在某些实施方案中,所述AADC多核苷酸包含SEQ ID NO:2-23中的任一个的序列。

[0026] 在一个实施方案中,所述AADC多核苷酸包含与SEQ ID NO:2-23中的任一个具有同一性百分比的序列。所述AADC多核苷酸可以与SEQ ID NO:2-23中的任一个具有1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、99%或100%同一性。所述AADC多核苷酸可以与SEQ ID NO:2-23中的任一个具有1-10%、10-20%、30-40%、50-60%、50-70%、50-80%、50-90%、50-99%、50-100%、60-70%、60-80%、60-90%、60-99%、60-100%、70-80%、70-90%、70-99%、70-100%、80-85%、80-90%、80-95%、80-99%、80-100%、90-95%、90-99%或90-100%同一性。作为一个非限制性实施例,所述AADC多核苷酸包含与SEQ ID NO:6、7、8、9、17、18、19、20、21、22和23中的任一个具有80%同一性的序列。作为另一个非限制性实施例,所述AADC多核苷酸包含与SEQ ID NO:6、7、8、9、17、18、19、20、21、22和23中的任一个具有85%同一性的序列。作为另一个非限制性实施例,所述AADC多核苷酸包含与SEQ ID NO:6、7、8、9、17、18、19、20、21、22和23中的任一个具有90%同一性的序列。作为另一个非限制性实施例,所述AADC多核苷酸包含与SEQ ID NO:6、7、8、9、17、18、19、20、21、22和23中的任一个具有95%同一性的序列。作为另一个非限制性实施例,所述AADC多核苷酸包含与SEQ ID NO:6、7、8、9、17、18、19、20、21、22和23中的任一个具有99%同一性的序列。

[0027] 在某些实施方案中,所述AADC编码区具有1440个核苷酸的长度。这样的AADC多核苷酸可以在所述多核苷酸的全部或部分上经过密码子优化。

[0028] 在某些实施方案中,所述AADC编码区具有1443个核苷酸的长度。在这样的情况下,额外密码子可以存在于所述多核苷酸的3'末端处。

[0029] 在某些实施方案中,所述AADC编码区具有1449个核苷酸的长度。在这样的情况下,额外密码子可以存在于所述多核苷酸的3'末端处。

[0030] 在某些实施方案中,所述AADC多核苷酸包含SEQ ID NO:6-9、17-23中的任一个,但是缺乏5'和/或3' ITR。这样的多核苷酸可以引入质粒或载体中并用于表达编码的AADC蛋白。

[0031] 在一个实施方案中,可以在昆虫细胞(例如,Sf9细胞)中生产所述AADC多核苷酸。

[0032] 在一个实施方案中,可以使用三重转染生产所述AADC多核苷酸。

[0033] 在一个实施方案中,所述AADC多核苷酸可以包含AADC mRNA的经密码子优化的开

放读码框、至少一个5' ITR和至少一个3' UTR,其中一个或多个5' ITR可以位于启动子区域的5' 末端处,且一个或多个3' ITR可以位于聚腺苷酸信号的3' 末端处。所述AADC mRNA可以包含启动子区域、5' 非翻译区(UTR)、3' UTR和聚腺苷酸信号。所述启动子区域可以包括,但不限于,增强子元件、启动子元件、第一外显子区域、第一内含子区域、第二内含子区域和第二外显子区域。作为一个非限制性实施例,所述增强子元件和所述启动子元件源自CMV。作为另一个非限制性实施例,所述第一外显子区域是ie1外显子1或其片段,所述第一内含子区域是ie1内含子1或其片段,所述第二内含子区域是hbB珠蛋白内含子2或其片段,且所述第二外显子区域是hbB珠蛋白外显子3或其片段。作为另一个非限制性实施例,所述聚腺苷酸信号源自人生长激素。

[0034] 在一个实施方案中,所述AADC多核苷酸在质粒或载体中编码,所述质粒或载体可以源自腺伴随病毒(AAV)。所述AAV可以是重组AAV病毒,且可以包含例如但不限于AAV1、AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV9.47、AAV9(hu14)、AAV10、AAV11、AAV12、AAVrh8、AAVrh10、AAV-DJ和AAV-DJ8的衣壳血清型。作为一个非限制性实施例,所述重组AAV病毒的衣壳是AAV2。作为一个非限制性实施例,所述重组AAV病毒的衣壳是AAVrh10。作为一个非限制性实施例,所述重组AAV病毒的衣壳是AAV9(hu14)。作为一个非限制性实施例,所述重组AAV病毒的衣壳是AAV-DJ。作为一个非限制性实施例,所述重组AAV病毒的衣壳是AAV9.47。作为一个非限制性实施例,所述重组AAV病毒的衣壳是AAV-DJ8。

[0035] 启动子

[0036] 本领域技术人员可以认识到,靶细胞可能需要特异性的启动子,包括、但不限于物种特异性的、可诱导的、组织特异性的或细胞周期特异性的启动子(Parr等人,Nat.Med.3:1145-9(1997);其内容通过引用整体并入本文)。

[0037] 在一个实施方案中,所述启动子是被认为对所述AADC多核苷酸有效的启动子。

[0038] 在一个实施方案中,所述启动子是被认为对靶向的细胞有效的启动子。

[0039] 在一个实施方案中,所述启动子是提供净荷在靶向的组织(例如,但不限于,神经系统组织)中表达一段时间的弱启动子。表达可以持续1小时、2小时、3小时、4小时、5小时、6小时、7小时、8小时、9小时、10小时、11小时、12小时、13小时、14小时、15小时、16小时、17小时、18小时、19小时、20小时、21小时、22小时、23小时、1天、2天、3天、4天、5天、6天、1周、8天、9天、10天、11天、12天、13天、2周、15天、16天、17天、18天、19天、20天、3周、22天、23天、24天、25天、26天、27天、28天、29天、30天、31天、1个月、2个月、3个月、4个月、5个月、6个月、7个月、8个月、9个月、10个月、11个月、1年、13个月、14个月、15个月、16个月、17个月、18个月、19个月、20个月、21个月、22个月、23个月、2年、3年、4年、5年、6年、7年、8年、9年、10年或超过10年的时间段。表达可以持续1-5小时、1-12小时、1-2天、1-5天、1-2周、1-3周、1-4周、1-2个月、1-4个月、1-6个月、2-6个月、3-6个月、3-9个月、4-8个月、6-12个月、1-2年、1-5年、2-5年、3-6年、3-8年、4-8年或5-10年。作为一个非限制性实施例,所述启动子是用于在神经组织中持续表达净荷的弱启动子。作为另一个非限制性实施例,所述启动子是用于在神经系统组织(例如,但不限于,神经元组织和神经胶质组织)中持续表达共济蛋白(frataxin)的弱启动子。

[0040] 在一个实施方案中,FRDA启动子与本文描述的AADC多核苷酸一起使用。

[0041] 在一个实施方案中,存在一个位于所述净荷的第一外显子上游大约~5kb处的区

域。作为一个非限制性实施例,存在一个位于共济蛋白 (frataxin) 基因的第一外显子上游大约4.9kb处的17bp区域,以便允许与FRDA启动子一起表达(参见例如,Puspasari等人 .Long Range Regulation of Human FXN Gene Expression, PLOS ONE, 2011;其内容通过引用整体并入本文)。

[0042] 在一个实施方案中,所述启动子可以是小于1kb的启动子。所述启动子可以具有200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、310、320、330、340、350、360、370、380、390、400、410、420、430、440、450、460、470、480、490、500、510、520、530、540、550、560、570、580、590、600、610、620、630、640、650、660、670、680、690、700、710、720、730、740、750、760、770、780、790、800或超过800的长度。所述启动子可以具有200-300、200-400、200-500、200-600、200-700、200-800、300-400、300-500、300-600、300-700、300-800、400-500、400-600、400-700、400-800、500-600、500-700、500-800、600-700、600-800或700-800之间的长度。

[0043] 在一个实施方案中,所述启动子可以是两个或更多个组分(例如,但不限于,CMV和CBA)的组合。每个组分可以具有200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、310、320、330、340、350、360、370、380、381、382、383、384、385、386、387、388、389、390、400、410、420、430、440、450、460、470、480、490、500、510、520、530、540、550、560、570、580、590、600、610、620、630、640、650、660、670、680、690、700、710、720、730、740、750、760、770、780、790、800或超过800的长度。每个组分可以具有200-300、200-400、200-500、200-600、200-700、200-800、300-400、300-500、300-600、300-700、300-800、400-500、400-600、400-700、400-800、500-600、500-700、500-800、600-700、600-800或700-800之间的长度。作为一个非限制性实施例,所述启动子是382核苷酸的CMV-增强子序列和260核苷酸的CBA-启动子序列的组合。

[0044] 在一个实施方案中,至少一个元件可以与本文描述的AADC多核苷酸一起使用以增强转基因靶标特异性和表达(参见例如,Powell等人 .Viral Expression Cassette Elements to Enhance Transgene Target Specificity and Expression in Gene Therapy, 2015;其内容通过引用整体并入本文)。用于增强转基因靶标特异性和表达的元件的非限制性例子包括启动子、内源性miRNA、转录后调节元件(PRE)、多腺苷酸化(PolyA)信号序列和上游增强子(USE)、CMV增强子和内含子。

[0045] 在一个实施方案中,至少一个元件可以与本文描述的AADC多核苷酸一起使用以增强转基因靶标特异性和表达(参见例如,Powell等人 .Viral Expression Cassette Elements to Enhance Transgene Target Specificity and Expression in Gene Therapy, 2015;其内容通过引用整体并入本文),诸如启动子。在大多数组织中促进其表达的启动子包括、但不限于人延伸因子1 $\alpha$ -亚基(EF1 $\alpha$ )、立即早期巨细胞病毒(CMV)、鸡 $\beta$ -肌动蛋白(CBA)和它的衍生物CAG、 $\beta$ 葡糖醛酸糖苷酶(GUSB)或泛素C(UBC)。组织特异性的表达元件可以用于将表达限制至特定细胞类型,例如,但不限于,可以用于将表达限制至神经元、星形胶质细胞或少突神经胶质细胞的神经系统启动子。用于神经元的组织特异性的表达元件的非限制性例子包括神经元特异性的烯醇化酶(NSE)、血小板衍生的生长因子(PDGF)、血小板衍生的生长因子B-链(PDGF- $\beta$ )、突触蛋白(Syn)、甲基-CpG结合蛋白2(MeCP2)、CaMKII、mGluR2、NFL、NFH、n $\beta$ 2、PPE、Enk和EAAT2启动子。用于星形胶质细胞的组织特异性的表达元件的一个非限制性例子包括神经胶质原纤维酸性蛋白(GFAP)和EAAT2启动子。用于少突神

经胶质细胞的组织特异性的表达元件的一个非限制性例子包括髓磷脂碱蛋白 (MBP) 启动子。

[0046] 在一个实施方案中,普遍存在的启动子可以与本文描述的AADC多核苷酸一起使用。普遍存在的启动子的非限制性例子包括CMV、CBA(包括衍生物CAG、CBh等)、EF-1 $\alpha$ 、PGK、UBC、GUSB(hGBp)和UCOE(HNRPA2B1-CBX3的启动子)。Yu等人(Molecular Pain2011,7:63;其内容通过引用整体并入本文)使用慢病毒载体在大鼠DRG细胞和原代DRG细胞中评价了在CAG、EF1 $\alpha$ 、PGK和UBC启动子下eGFP的表达,并发现UBC表现出比其它3种启动子更弱的表达,并且对于所有启动子而言存在仅10-12%神经胶质表达。Soderblom等人(E.Neuro 2015;其内容通过引用整体并入本文)评价了在注射进运动皮质中以后eGFP在具有CMV和UBC启动子的AAV8和具有CMV启动子的AAV2中的表达。含有UBC或EF1 $\alpha$ 启动子的质粒的鼻内施用表现出大于具有CMV启动子的表达的持久气道表达(参见例如,Gill等人,Gene Therapy 2001,第8卷,1539-1546;其内容通过引用整体并入本文)。Husain等人(Gene Therapy 2009;其内容通过引用整体并入本文)评价了具有hGUSB启动子、HSV-1LAT启动子和NSE启动子的HBH构建体,并发现HBH构建体在小鼠脑中表现出比NSE更弱的表达。Passini和Wolfe(J.Virol.2001,12382-12392,其内容通过引用整体并入本文)评价了在新生小鼠中心室内注射以后HBH载体的长期作用,并发现存在至少1年的持久表达。当使用NF-L和NF-H启动子与CMV-lacZ、CMV-luc、EF、GFAP、hENK、nAChR、PPE、PPE+wpre、NSE(0.3kb)、NSE(1.8kb)和NSE(1.8kb+wpre)进行对比时,Xu等人(Gene Therapy 2001,8,1323-1332;其内容通过引用整体并入本文)发现了在所有脑区域中的低表达。Xu等人发现启动子活性按递减次序为NSE(1.8kb)、EF、NSE(0.3kb)、GFAP、CMV、hENK、PPE、NFL和NFH。NFL是一种650核苷酸的启动子且NFH是一种920核苷酸的启动子,它们二者都不存在于肝中,但是NFH在感觉本体感受神经元、脑和脊髓中是丰富的,且NFH存在于心脏中。Scn8a是一种在DRG、脊髓和脑中到处表达的470核苷酸的启动子,在海马神经元和小脑浦肯野细胞、皮质、丘脑和下丘脑中看到特别高的表达(参见例如,Drews等人.2007和Raymond等人.2004;它们中的每一篇的内容通过引用整体并入本文)。

[0047] 在一个实施方案中,UBC启动子可以与本文描述的AADC多核苷酸一起使用。所述UBC启动子可以具有300-350个核苷酸的大小。作为一个非限制性实施例,所述UBC启动子是332个核苷酸。

[0048] 在一个实施方案中,GUSB启动子可以与本文描述的AADC多核苷酸一起使用。所述GUSB启动子可以具有350-400个核苷酸的大小。作为一个非限制性实施例,所述GUSB启动子是378个核苷酸。作为一个非限制性实施例,所述构建体可以是AAV-启动子-CMV/珠蛋白内含子-hFXN-RBG,其中所述AAV可以是自互补的,且所述AAV可以是DJ血清型。

[0049] 在一个实施方案中,NFL启动子可以与本文描述的AADC多核苷酸一起使用。所述NFL启动子可以具有600-700个核苷酸的大小。作为一个非限制性实施例,所述NFL启动子是650个核苷酸。作为一个非限制性实施例,所述构建体可以是AAV-启动子-CMV/珠蛋白内含子-hFXN-RBG,其中所述AAV可以是自互补的,且所述AAV可以是DJ血清型。

[0050] 在一个实施方案中,NFH启动子可以与本文描述的AADC多核苷酸一起使用。所述NFH启动子可以具有900-950个核苷酸的大小。作为一个非限制性实施例,所述NFH启动子是920个核苷酸。作为一个非限制性实施例,所述构建体可以是AAV-启动子-CMV/珠蛋白内含

子-hFXN-RBG,其中所述AAV可以是自互补的,且所述AAV可以是DJ血清型。

[0051] 在一个实施方案中,scn8a启动子可以与本文描述的AADC多核苷酸一起使用。所述scn8a启动子可以具有450-500个核苷酸的大小。作为一个非限制性实施例,所述scn8a启动子是470个核苷酸。作为一个非限制性实施例,所述构建体可以是AAV-启动子-CMV/珠蛋白内含子-hFXN-RBG,其中所述AAV可以是自互补的,且所述AAV可以是DJ血清型。

[0052] 在一个实施方案中,FXN启动子可以与本文描述的AADC多核苷酸一起使用。

[0053] 在一个实施方案中,PGK启动子可以与本文描述的AADC多核苷酸一起使用。

[0054] 在一个实施方案中,CBA启动子可以与本文描述的AADC多核苷酸一起使用。

[0055] 在一个实施方案中,CMV启动子可以与本文描述的AADC多核苷酸一起使用。

[0056] 在一个实施方案中,肝或骨骼肌启动子可以与本文描述的AADC多核苷酸一起使用。肝启动子的非限制性例子包括hAAT和TBG。骨骼肌启动子的非限制性例子包括结蛋白、MCK和C5-12。

[0057] 在一个实施方案中,增强子元件、启动子和/或5' UTR内含子可以与本文描述的AADC多核苷酸一起使用。所述增强子可以是,但不限于,CMV增强子,所述启动子可以是,但不限于,CMV、CBA、UBC、GUSB、NSE、Sunapsin、MeCP2和GFAP启动子,且所述5' UTR/内含子可以是,但不限于,SV40和CBA-MVM。作为一个非限制性实施例,所述组合使用的增强子、启动子和/或内含子可以是:(1)CMV增强子、CMV启动子、SV40 5' UTR内含子;(2)CMV增强子、CBA启动子、SV 40 5' UTR内含子;(3)CMV增强子、CBA启动子、CBA-MVM 5' UTR内含子;(4)UBC启动子;(5)GUSB启动子;(6)NSE启动子;(7)突触蛋白启动子;(8)MeCP2启动子和(9)GFAP启动子。

[0058] 在一个实施方案中,经工程改造的启动子可以与本文描述的AADC多核苷酸一起使用。

[0059] 内含子

[0060] 在一个实施方案中,至少一个元件可以与本文描述的AADC多核苷酸一起使用以增强转基因靶标特异性和表达(参见例如,Powell等人.Viral Expression Cassette Elements to Enhance Transgene Target Specificity and Expression in Gene Therapy,2015;其内容通过引用整体并入本文),诸如内含子。内含子的非限制性例子包括,MVM(67-97bp)、F. IX截短的内含子1(300bp)、 $\beta$ -珠蛋白SD/免疫球蛋白重链剪接受体(250bp)、腺病毒剪接供体/免疫球蛋白剪接受体(500bp)、SV40晚期剪接供体/剪接受体(19S/16S)(180bp)和杂合腺病毒剪接供体/IgG剪接受体(230bp)。

[0061] 在一个实施方案中,所述内含子可以是100-500个核苷酸的长度。所述内含子可以具有80、90、100、110、120、130、140、150、160、170、171、172、173、174、175、176、177、178、179、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、310、320、330、340、350、360、370、380、390、400、410、420、430、440、450、460、470、480、490或500的长度。所述内含子可以具有80-100、80-120、80-140、80-160、80-180、80-200、80-250、80-300、80-350、80-400、80-450、80-500、200-300、200-400、200-500、300-400、300-500或400-500之间的长度。

[0062] 引入细胞中

[0063] 通过使用多种方案中的任一种,可以将本发明的AADC多核苷酸引入宿主细胞中。可以用包含所述AADC多核苷酸的病毒载体实现感染。合适的病毒载体的例子包括复制缺陷型逆转录病毒载体、腺病毒载体、腺相关的载体和慢病毒载体。

[0064] 根据本发明,用在治疗剂和/或诊断剂中的病毒载体包含已经简化或减少至目标核酸净荷或负荷的转导所必需的最小组分的病毒。

[0065] 以此方式,病毒载体被工程改造为用于特异性递送的媒介物,同时缺乏在野生型病毒中发现的有害复制和/或整合特征。

[0066] 本文中使用的“载体”是运输、转导异源分子(诸如本发明的多核苷酸)或者以其它方式充当异源分子(诸如本发明的多核苷酸)的载体的任何分子或部分。“病毒载体”是包含一个或多个多核苷酸区域的载体,所述多核苷酸区域编码或包含目标净荷分子,例如,转基因,编码多肽或多个多肽的多核苷酸。本发明的病毒载体可以重组地生产,且可以是基于腺伴随病毒(AAV)亲本或参照序列。在本发明中可能有用的血清型包括从AAV1、AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV9.47、AAV9(hu14)、AAV10、AAV11、AAV12、AAVrh8、AAVrh10、AAV-DJ和AAV-DJ8产生的那些中的任一种。

[0067] 在一个实施方案中,在本发明中可能有用的血清型可以是AAV-DJ8。AAV-DJ8的氨基酸序列可以包含两个或更多个突变以便除去肝素结合结构域(HBD)。作为一个非限制性实施例,在美国专利号7,588,772(其内容通过引用整体并入本文)中被描述为SEQ ID NO:1的AAV-DJ序列可以包含两个突变:(1) R587Q,其中在氨基酸587处的精氨酸(R;arg)被改变成谷氨酰胺(Q;gln),和(2) R590T,其中在氨基酸590处的精氨酸(R;arg)被改变成苏氨酸(T;thr)。作为另一个非限制性实施例,可以包含三个突变:(1) K406R,其中在氨基酸406处的赖氨酸(K;lys)被改变成精氨酸(R;arg), (2) R587Q,其中在氨基酸587处的精氨酸(R;arg)被改变成谷氨酰胺(Q;gln),和(3) R590T,其中在氨基酸590处的精氨酸(R;arg)被改变成苏氨酸(T;thr)。

[0068] AAV载体还可以包含自互补的AAV载体(scAAV)。scAAV载体含有两条DNA链,它们对合在一起以形成双链DNA。通过跳过第二条链合成,scAAV允许在细胞中快速表达。

[0069] 药物组合物

[0070] 尽管本文中提供的药物组合物例如包含要递送的净荷(例如,AADC编码序列)的那些多核苷酸(包括编码质粒或表达载体,诸如病毒,例如,AAV)的描述主要涉及适合用于施用给人类的药物组合物,技术人员会理解,这样的组合物通常适合用于施用给任意其它动物,例如,非人动物,例如非人哺乳动物。对适合施用给人类的药物组合物进行修改以便使所述组合物适合施用给各种动物是被充分理解的,并且具有普通技术的兽医药理学家仅用普通(如果有的话)实验可以设计和/或执行这样的修改。预见到对其施用药物组合物的受试者包括、但不限于人类和/或其它灵长类动物;哺乳动物,包括商业上相关的哺乳动物诸如牛、猪、马、绵羊、猫、狗、小鼠和/或大鼠;和/或禽类,包括商业上相关的禽类诸如家禽、鸡、鸭、鹅和/或火鸡。

[0071] 在某些实施方案中,将组合物施用给人类、人患者或受试者。为了本公开内容的目的,短语“活性成分”通常是指携带净荷的病毒载体或用本文所述的病毒载体递送的多核苷酸净荷分子。

[0072] 通过药理学领域中已知的或此后开发的任意方法,可以制备本文描述的药物组合物的制剂。一般而言,这样的制备方法包括以下步骤:使活性成分与赋形剂和/或一种或多种其它助剂结合,和然后,如果必要的话和/或合乎需要的话,将产品分包、成形和/或包装成期望的单个剂量或多次剂量单位。

[0073] 根据本发明的药物组合物中的活性成分、药学上可接受的赋形剂和/或任何额外成分的相对量将变化,这取决于所治疗的受试者的身份、大小和/或病症,并且进一步取决于要施用所述组合物的途径。

[0074] 在一个实施方案中,所述药物组合物包含含有AAV衣壳和AAV载体基因组的重组腺伴随病毒(AAV)载体。所述AAV载体基因组可以包含至少一种本文描述的AADC多核苷酸,例如,但不限于,SEQ ID NO:6、7、8、9、17、18、19、20、21、22和23或与其具有至少95%同一性的变体。所述药物组合物中的重组AAV载体可以具有至少70%的含有AAV载体基因组的载体。

[0075] 制剂

[0076] 可以使用一种或多种赋形剂配制所述AADC多核苷酸或编码它们的病毒载体,以:(1)增加稳定性;(2)增加细胞转染或转导;(3)允许持久或延迟释放;或(4)改变生物分布(例如,将病毒载体靶向至特定组织或细胞类型)。

[0077] 本发明的制剂可以包括,但不限于,盐水、脂质样物、脂质体、脂质纳米颗粒、聚合物、脂复合物、芯-壳纳米颗粒、肽、蛋白、用病毒载体转染的细胞(例如,用于移植进受试者中)、纳米颗粒模仿物和它们的组合。此外,可以使用自装配的核酸纳米颗粒配制本发明的病毒载体。

[0078] 通过药理学领域中已知的或此后开发的任意方法,可以制备本文描述的药物组合物的制剂。一般而言,这样的制备方法包括以下步骤:使活性成分与赋形剂和/或一种或多种其它助剂结合。

[0079] 根据本公开内容的药物组合物可以散装、作为单一单位剂量和/或作为多个单一单位剂量制备、包装和/或销售。本文中使用的“单位剂量”指包含预定量的活性成分的药物组合物的离散量。活性成分的量通常等于将要施用给受试者的活性成分的剂量,和/或这样的剂量的合宜分数,如这样的剂量的二分之一或三分之一。

[0080] 根据本公开内容的药物组合物中的活性成分、药学上可接受的赋形剂和/或任何额外成分的相对量可以变化,这取决于正在治疗的受试者的特性、大小和/或状况,并且还取决于要施用所述组合物的途径。例如,所述组合物可以包含0.1%至99%(w/w)的活性成分。作为例子,所述组合物可以包含0.1%至100%、例如0.5至50%、1-30%、5-80%、至少80%(w/w)的活性成分。

[0081] 在某些实施方案中,本文描述的制剂可以含有至少一种净荷分子,例如,AADC多核苷酸。作为一个非限制性实施例,所述制剂可以含有1、2、3、4或5种AADC多核苷酸净荷分子。

[0082] 在某些实施方案中,药学上可接受的赋形剂可以是至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%纯的。在某些实施方案中,赋形剂被批准用于人类和用于兽医学应用。在某些实施方案中,赋形剂可以被美国食品和药品管理局批准。在某些实施方案中,赋形剂可以属于药用级。在某些实施方案中,赋形剂可以满足美国药典(USP)、欧洲药典(EP)、英国药典和/或国际药典的标准。

[0083] 本文中使用的赋形剂包括、但不限于任意的和所有的溶剂、分散介质、稀释剂或其它液体媒介物、分散或混悬助剂、表面活性剂、等渗剂、增稠剂或乳化剂、防腐剂等,它们适合于所希望的特定剂型。用于配制药剂组合物的各种赋形剂和用于制备组合物的技术是本领域已知的(参见Remington:The Science and Practice of Pharmacy,第21版,A.R.Gennaro,Lippincott,Williams&Wilkins,Baltimore,MD,2006;通过引用整体并入本

文)。在本公开内容的范围内可以预见到常规赋形剂介质的应用,但是除了任何常规赋形剂介质可能与物质或它的衍生物不相容以外,诸如通过产生任何不希望的生物学效应或另外以有害方式与药物组合物的任意其它组分相互作用。

[0084] 示例性的稀释剂包括、但不限于碳酸钙、碳酸钠、磷酸钙、磷酸二钙、硫酸钙、磷酸氢钙、磷酸钠、乳糖、蔗糖、纤维素、微晶纤维素、高岭土、甘露醇、山梨醇、肌醇、氯化钠、干燥的淀粉、玉米淀粉、糖粉等,和/或它们的组合。

[0085] 在一个实施方案中,所述AADC多核苷酸可以在施用之前配制在水凝胶中。水凝胶由于它们的显著含水量而具有一定程度的类似于天然组织的弹性。

[0086] 在另一个实施方案中,可以在施用AADC多核苷酸制剂之前将水凝胶施用给受试者。作为一个非限制性实施例,水凝胶的施用部位可以是在AADC多核苷酸制剂的施用部位的3英寸内(例如,2.9、2.8、2.7、2.6、2.5、2.4、2.3、2.2、2.1、2.0、1.9、1.8、1.7、1.6、1.5、1.4、1.3、1.2、1.1、1.0、0.9、0.8、0.7、0.6、0.5、0.4、0.3、0.2、0.1或小于0.1英寸内)。

[0087] 在一个实施方案中,可以在盐水中施用所述AADC多核苷酸。作为一个非限制性实施例,所述制剂可以是含有0.001%P1糖醛酸(F-68)的磷酸盐缓冲盐水(PBS)。另外,所述制剂可以经过灭菌。

[0088] 无活性成分

[0089] 在某些实施方案中,AADC多核苷酸制剂可以包含至少一种赋形剂,所述赋形剂是无活性成分。本文使用的术语“无活性成分”表示在制剂中包括的一种或多种无活性试剂。在某些实施方案中,在本发明的制剂中可以使用的全部、没有或一些无活性成分可以被美国食品和药品管理局(FDA)批准。

[0090] 携带本文中公开的AADC多核苷酸的病毒载体的制剂可以包括阳离子或阴离子。在一个实施方案中,所述制剂包括金属阳离子,例如,但不限于, $Zn^{2+}$ 、 $Ca^{2+}$ 、 $Cu^{2+}$ 、 $Mg^{+}$ 和它们的组合。作为一个非限制性实施例,制剂可以包括与金属阳离子形成复合物的聚合物和AADC多核苷酸(参见例如,美国专利号6,265,389和6,555,525,它们中的每一篇通过引用整体并入本文)。

[0091] 施用

[0092] 通过产生治疗上有效的结果的任意途径,可以施用包含本发明的AADC多核苷酸的病毒载体。这些包括、但不限于硬膜外(epidural)(进入硬脑膜物质)、口服(通过口腔)、透皮、硬膜外(peridural)、大脑内(进入大脑)、脑室内(进入脑室)、皮下(在皮肤下)、鼻施用(通过鼻)、静脉内(进入静脉)、静脉内推注、静脉内滴注、动脉内(进入动脉)、鞘内(进入椎管)、宫颈内、脊尾内(在马尾内)、脑池内(在小脑延髓池内)、椎间盘内(在椎间盘内)、硬膜内(在硬膜内或下)、脑膜内(在脑膜内)、胸膜内(在胸膜内)、椎管内(在脊柱内)、鞘内(在脑脊髓轴的任何水平在脑脊液内)、胸腔内(在胸腔内)、纹状体内(在纹状体、尾状核和/或豆状核壳内)、骶管阻滞、神经传导阻滞或脊柱。在具体实施方案中,可以以允许它们穿过血脑屏障、血管屏障或其它上皮屏障的方式施用组合物。在一个实施方案中,用于施用途径的制剂可以包括至少一种无活性成分。

[0093] 在一个实施方案中,可以将包含本发明的AADC多核苷酸的病毒载体施用至右豆状核壳和/或左豆状核壳。所述施用可以是在豆状核壳中的一个或多个部位,例如,但不限于,2个部位、3个部位、4个部位或超过4个部位。作为一个非限制性实施例,将包含本发明的

AADC多核苷酸的病毒载体递送至左豆状核壳中的2个部位和右豆状核壳中的2个部位。

[0094] 在一个实施方案中,包含本发明的AADC多核苷酸的病毒载体的制剂向受试者的施用会提供受试者的豆状核壳(例如,左和/或右豆状核壳)的覆盖度。在一个方面,包含AADC多核苷酸的病毒载体的施用可以给受试者的左和/或右豆状核壳提供至少8%、9%、10%、13%、14%、15%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或超过95%。作为一个非限制性实施例,所述覆盖度是至少20%。作为一个非限制性实施例,所述覆盖度是至少40%。在另一个方面,包含AADC多核苷酸的病毒载体的施用可以提供受试者的左和/或右豆状核壳的表面积的至少8%、9%、10%、13%、14%、15%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或超过95%覆盖度。作为一个非限制性实施例,总覆盖度是至少20%。作为一个非限制性实施例,总覆盖度是至少40%。在另一个方面,包含AADC多核苷酸的病毒载体的施用可以给受试者的左和/或右豆状核壳或给受试者的左和/或右豆状核壳的总表面积提供10-40%、20-40%、20-30%、20-35%、20-50%、30-40%、35-40%、30-60%、40-70%、50-80%或60-90%覆盖度。

[0095] 在一个实施方案中,包含本发明的AADC多核苷酸的病毒载体的制剂向受试者的施用会提供受试者的后豆状核壳(例如,左和/或右后豆状核壳)的覆盖度。在一个方面,包含AADC多核苷酸的病毒载体的施用可以给受试者的左和/或右后豆状核壳提供至少10%、15%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或超过95%。作为一个非限制性实施例,所述覆盖度是至少20%。作为一个非限制性实施例,所述覆盖度是至少40%。在另一个方面,包含AADC多核苷酸的病毒载体的施用可以提供受试者的左和/或右后豆状核壳的表面积的至少10%、15%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或超过95%覆盖度。作为一个非限制性实施例,总覆盖度是至少20%。作为一个非限制性实施例,总覆盖度是至少40%。在另一个方面,包含AADC多核苷酸的病毒载体的施用可以给受试者的左和/或右后豆状核壳或给受试者的左和/或右豆状核壳的总表面积提供10-40%、20-50%、30-60%、40-70%、50-80%或60-90%覆盖度。

[0096] 在一个实施方案中,可以给受试者施用包含本发明的AADC多核苷酸的病毒载体,其经由两侧输注安全地递送至黑质致密部(SNpc)和腹侧被盖区(VTA),或可替换地,进入纹状体内(进入尾状核和豆状核壳)或进入底丘脑核(STN)。

[0097] 在一个实施方案中,通过使用导管向每个豆状核壳中的急性两侧布置,可以施用本文描述的AADC多核苷酸。所述布置可以使用本领域中已知的或本文描述的磁共振图像

(MRI) 引导的立体定位神经外科手术技术。另外,可以在所述制剂中使用造影剂,例如,但不限于基于钆的造影剂(例如,PROHANCE®),以监测和证实所述制剂的分布。

[0098] 在一个实施方案中,可以在两侧立体定位CED辅助的向豆状核壳(例如,后联接豆状核壳)中的阶梯输注中给受试者施用包含本发明的AADC多核苷酸的病毒载体。

[0099] 在一个实施方案中,根据本发明的病毒载体药物组合物向中枢神经系统(例如,实质)的细胞的递送包含由 $[VG/\text{小时} = \text{mL}/\text{小时} * VG/\text{mL}]$ 限定的递送速度,其中VG是病毒基因组,VG/mL是组合物浓度,且mL/小时是延长的输注的速度。

[0100] 在一个实施方案中,根据本发明的病毒载体药物组合物向中枢神经系统(例如,实质)的细胞的递送包含多达1mL的输注。在一个实施方案中,根据本发明的病毒载体药物组合物向中枢神经系统(例如,实质)的细胞的递送可以包含0.001、0.002、0.003、0.004、0.005、0.010、0.015、0.020、0.025、0.030、0.040、0.050、0.060、0.070、0.080、0.090、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8或0.9mL的输注。

[0101] 在一个实施方案中,根据本发明的病毒载体药物组合物向中枢神经系统(例如,实质)的细胞的递送包含约1mL至约120mL之间的输注。在一个实施方案中,根据本发明的病毒载体药物组合物向中枢神经系统(例如,实质)的细胞的递送可以包含0.1、1、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119或120mL的输注。在一个实施方案中,AAV颗粒向中枢神经系统(例如,实质)的细胞的递送包含至少3mL的输注。在一个实施方案中,AAV颗粒向中枢神经系统(例如,实质)的细胞的递送由3mL的输注组成。在一个实施方案中,AAV颗粒向中枢神经系统(例如,实质)的细胞的递送包含至少10mL的输注。在一个实施方案中,AAV颗粒向中枢神经系统(例如,实质)的细胞的递送由10mL的输注组成。

[0102] 在一个实施方案中,递送给受试者的中枢神经系统(例如,实质)的细胞的病毒载体药物组合物的体积是50ul、100ul、200ul、300ul、400ul、500ul、600ul、700ul、800ul、900ul、1000ul、1100ul、1200ul、1300ul、1400ul、1500ul、1600ul、1700ul、1800ul、1900ul、2000ul或超过2000ul。

[0103] 在一个实施方案中,递送至受试者脑的两个半球中的区域的病毒载体药物组合物的体积是50ul、100ul、200ul、300ul、400ul、500ul、600ul、700ul、800ul、900ul、1000ul、1100ul、1200ul、1300ul、1400ul、1500ul、1600ul、1700ul、1800ul、1900ul、2000ul或超过2000ul。作为一个非限制性实施例,递送至两个半球中的区域的体积是200ul。作为另一个非限制性实施例,递送至两个半球中的区域的体积是900ul。作为另一个非限制性实施例,递送至两个半球中的区域的体积是1800ul。

[0104] 在一个实施方案中,递送至受试者脑的两个半球中的豆状核壳的病毒载体药物组合物的体积是50ul、100ul、200ul、300ul、400ul、450ul、500ul、600ul、700ul、800ul、900ul、1000ul、1100ul、1200ul、1300ul、1400ul、1500ul、1600ul、1700ul、1800ul、1900ul、2000ul或超过2000ul。作为一个非限制性实施例,递送至两个半球中的豆状核壳的体积是100ul。

作为另一个非限制性实施例,递送至两个半球中的豆状核壳的体积是200u1。作为一个非限制性实施例,递送至两个半球中的豆状核壳的体积是300u1。作为另一个非限制性实施例,递送至两个半球中的豆状核壳的体积是450u1。作为另一个非限制性实施例,递送至两个半球中的豆状核壳的体积是900u1。作为另一个非限制性实施例,递送至两个半球中的豆状核壳的体积是1800u1。

[0105] 在一个实施方案中,递送至受试者的总体积可以在一个或多个施用部位(例如,1、2、3、4、5或超过5个部位)之间分拆。作为一个非限制性实施例,所述总体积在向左和右豆状核壳的施用之间分拆。作为另一个非限制性实施例,所述总体积在向左和右豆状核壳中的每一个的2个施用部位之间分拆。

[0106] 在一个实施方案中,使用有孔的针施用病毒载体药物组合物。有孔的针的非限制性例子描述在美国专利号8,333,734,7,135,010,7,575,572,7,699,852,4,411,657,6,890,319,6,613,026,6,726,659,6,565,572,6,520,949,6,382,212,5,848,996,5,759,179,5,674,267,5,588,960,5,484,401,5,199,441,5,012,818,4,474,569,3,766,907,3,552,394中,它们中的每一篇的内容通过引用整体并入本文。

[0107] 在一个实施方案中,组合物包含本文描述的AADC多核苷酸,且所述AADC多核苷酸是在AAV病毒颗粒中包装的AAV病毒基因组的组分。在所述组合物中包含AADC多核苷酸的AAV病毒颗粒(在本文中也称作AADC颗粒)与不含AADC多核苷酸的AAV病毒颗粒(在本文中也称作空衣壳)的百分比(%)比率可以是0:100、1:99、0:90、15:85、25:75、30:70、50:50、70:30、85:15、90:10、99:1或100:0。作为一个非限制性实施例,AADC颗粒与空衣壳的百分比比率是50:50。作为另一个非限制性实施例,AADC颗粒与空衣壳的百分比比率是70:30。作为另一个非限制性实施例,AADC颗粒与空衣壳的百分比比率是85:15。作为另一个非限制性实施例,AADC颗粒与空衣壳的百分比比率是100:0。

[0108] 在一个实施方案中,本文描述的组合物包含至少1%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或大于99%的AADC颗粒。作为一个非限制性实施例,所述组合物包含至少50%的AADC颗粒。作为另一个非限制性实施例,所述组合物包含至少52%的AADC颗粒。作为另一个非限制性实施例,所述组合物包含至少58%的AADC颗粒。作为另一个非限制性实施例,所述组合物包含至少70%的AADC颗粒。作为另一个非限制性实施例,所述组合物包含至少83%的AADC颗粒。作为另一个非限制性实施例,所述组合物包含至少85%的AADC颗粒。作为另一个非限制性实施例,所述组合物包含至少99%的AADC颗粒。作为另一个非限制性实施例,所述组合物包含100%的AADC颗粒。

[0109] 在一个实施方案中,本文描述的组合物包含1-10%、10-20%、30-40%、50-60%、50-70%、50-80%、50-90%、50-99%、50-100%、60-70%、60-80%、60-90%、60-99%、60-100%、70-80%、70-90%、70-99%、70-100%、80-85%、80-90%、80-95%、80-99%、80-100%、90-95%、90-99%或90-100%的AADC颗粒。作为一个非限制性实施例,本文描述的组合物包含50-100%的AADC颗粒。作为另一个非限制性实施例,本文描述的组合物包含50-60%的AADC颗粒。作为另一个非限制性实施例,本文描述的组合物包含80-99%的AADC颗粒。作为另一个非限制性实施例,本文描述的组合物包含80-90%的AADC颗粒。作为一个非

限制性实施例,本文描述的组合物包含80-95%的AADC颗粒。作为一个非限制性实施例,本文描述的组合物包含80-85%的AADC颗粒。

[0110] 在一个实施方案中,本文描述的组合物包含小于1%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的空颗粒。作为一个非限制性实施例,所述组合物包含小于50%的空颗粒。作为一个非限制性实施例,所述组合物包含小于45%的空颗粒。作为一个非限制性实施例,所述组合物包含小于40%的空颗粒。作为一个非限制性实施例,所述组合物包含小于35%的空颗粒。作为一个非限制性实施例,所述组合物包含小于30%的空颗粒。作为一个非限制性实施例,所述组合物包含小于25%的空颗粒。作为一个非限制性实施例,所述组合物包含小于20%的空颗粒。作为一个非限制性实施例,所述组合物包含小于15%的空颗粒。作为一个非限制性实施例,所述组合物包含小于10%的空颗粒。作为一个非限制性实施例,所述组合物包含小于5%的空颗粒。作为一个非限制性实施例,所述组合物包含小于1%的空颗粒。

[0111] 本文描述的组合物包含1-10%、10-20%、30-40%、50-60%、50-70%、50-80%、50-90%、50-99%、50-100%、60-70%、60-80%、60-90%、60-99%、60-100%、70-80%、70-90%、70-99%、70-100%、80-85%、80-90%、80-95%、80-99%、80-100%、90-95%、90-99%或90-100%的空颗粒。作为一个非限制性实施例,本文描述的组合物包含30-40%的空颗粒。作为另一个非限制性实施例,本文描述的组合物包含30-50%的空颗粒。作为另一个非限制性实施例,本文描述的组合物包含30-60%的空颗粒。作为另一个非限制性实施例,本文描述的组合物包含30-70%的空颗粒。作为一个非限制性实施例,本文描述的组合物包含30-80%的空颗粒。作为一个非限制性实施例,本文描述的组合物包含30-90%的空颗粒。

[0112] 在一个实施方案中,可以将本文描述的AADC多核苷酸施用给也正在接受左旋多巴疗法的受试者。作为一个非限制性实施例,所述受试者可能具有对左旋多巴疗法的阳性应答,且PD的至少一种症状减轻。作为另一个非限制性实施例,所述受试者可能具有对左旋多巴疗法的应答,其中受试者经历的PD的症状是稳定的。作为另一个非限制性实施例,所述受试者可能具有对左旋多巴疗法的阴性应答,其中受试者经历的PD的症状正在增加中。

[0113] 在一个实施方案中,在AADC多核苷酸之前施用给受试者的左旋多巴的剂量是1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25或超过25mg/kg。作为一个非限制性实施例,所述剂量是3mg/kg。作为另一个非限制性实施例,所述剂量是10mg/kg。作为另一个非限制性实施例,所述剂量是20mg/kg。在施用AADC多核苷酸之前可以评估受试者对左旋多巴的应答(例如,行为应答)。另外,在施用AADC多核苷酸以后(例如,在施用AADC多核苷酸以后1周、2周、3周、1个月、2个月、3个月、4个月、5个月、6个月、7个月、8个月、9个月、10个月、11个月、1年或超过1年)可以再次给受试者施用左旋多巴。可以将行为应答重新评估并与最初应答进行对比以确定AADC多核苷酸的作用。所述受试者可以具有1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、99%或100%的行为改善。

[0114] 在一个实施方案中,在施用AADC多核苷酸以后可以施用左旋多巴多次。可以按重复计划(例如,每5天、每周、每10天、每15天、每30天、每月、每2个月、每3个月、每4个月、每5

个月、每6个月、每7个月、每8个月、每9个月、每10个月、每11个月或每年)或随着症状出现施用左旋多巴。作为一个非限制性实施例,在施用AADC多核苷酸后3年,受试者可能具有1-10%、5-15%、10-20%、15-30%、20-40%、25-50%、30-50%、40-50%、40-60%、50-70%、50-80%、60-70%、60-75%、60-80%、60-90%、70-80%、70-90%、75-90%、80-90%、90-100%的在豆状核壳的输入区域内的纹状体神经元是AADC-免疫反应性的。作为一个非限制性实施例,在施用AADC多核苷酸后6年,受试者可能具有1-10%、5-15%、10-20%、15-30%、20-40%、25-50%、30-50%、40-50%、40-60%、50-70%、50-80%、60-70%、60-75%、60-80%、60-90%、70-80%、70-90%、75-90%、80-90%、90-100%的在豆状核壳的输入区域内的纹状体神经元是AADC-免疫反应性的。作为一个非限制性实施例,在施用AADC多核苷酸后9年,受试者可能具有1-10%、5-15%、10-20%、15-30%、20-40%、25-50%、30-50%、40-50%、40-60%、50-70%、50-80%、60-70%、60-75%、60-80%、60-90%、70-80%、70-90%、75-90%、80-90%、90-100%的在豆状核壳的输入区域内的纹状体神经元是AADC-免疫反应性的。

[0115] 在一个实施方案中,可以施用本文描述的AADC多核苷酸的受试者具有经记录的对左旋多巴疗法的应答,但是具有医学上难控制的波动,并且被视作良好的外科手术候选人。治疗受试者的PD的医师或施用AADC多核苷酸的医师可以做出受试者是否是良好的外科手术候选人的决定,所述医师考虑AADC多核苷酸的递送所需的外科手术干预对于患者而言的总风险/益处比。

[0116] 在一个实施方案中,受试者的区域的实质中的分布体积与受试者的区域的输注体积的比率可以是0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2.0、2.1、2.2、2.3、2.4、2.5、2.6、2.7、2.8、2.9、3.0、3.1、3.2、3.3、3.4、3.5、3.6、3.7、3.8、3.9、4.0、4.1、4.2、4.3、4.4、4.5、4.6、4.7、4.8、4.9、5.0、5.1、5.2、5.3、5.4、5.5、5.6、5.7、5.8、5.9、6.0或超过6.0。作为一个非限制性实施例,所述实质中的分布体积与输注体积的比率在尾状核中是1.6。作为一个非限制性实施例,所述实质中的分布体积与输注体积的比率在豆状核壳中是3.1。作为一个非限制性实施例,所述豆状核壳中的AADC多核苷酸的分布可以是输注体积的2-3倍。

[0117] 给药

[0118] 本发明提供了包括给有此需要的受试者施用根据本发明的病毒载体和它们的AADC多核苷酸净荷或复合物的方法。通过使用有效地预防、治疗、诊断疾病、障碍和/或病症(例如,与工作记忆缺失有关的疾病、障碍和/或病症)或将其成像的任何量和任何施用途径,可以给受试者施用病毒载体药物组合物、其成像组合物、诊断组合物或预防组合物。所要求的确切量将在受试者之间变化,取决于受试者的物种、年龄和总体状况、疾病的严重程度、具体组合物、它的施用模式、它的活性模式等。通常以易于施用和剂量均匀的单位剂型配制根据本发明的组合物。然而,应当理解,本发明的组合物的每日总用量可以由主治医师在合理的医学判断范围内决定。用于任何特定患者的具体的治疗上有效的、预防上有效的或适当的成像剂量水平将取决于多种因素,包括正在治疗的障碍和障碍的严重程度;使用的具体化合物的活性;所用的具体组合物;患者的年龄、体重、一般健康、性别和饮食;采用的具体多核苷酸净荷的施用时间、施用途径和排泄速率;治疗的持续时间;与所用的具体化合物组合或同时使用的药物;和医学领域中众所周知的类似因素。

[0119] 在某些实施方案中,可以在足以每天递送约0.0001mg/kg至约100mg/kg、约0.001mg/kg至约0.05mg/kg、约0.005mg/kg至约0.05mg/kg、约0.001mg/kg至约0.005mg/kg、约0.05mg/kg至约0.5mg/kg、约0.01mg/kg至约50mg/kg、约0.1mg/kg至约40mg/kg、约0.5mg/kg至约30mg/kg、约0.01mg/kg至约10mg/kg、约0.1mg/kg至约10mg/kg或约1mg/kg至约25mg/kg受试者体重(每天1次或多次)的AADC多核苷酸剂量水平施用根据本发明的病毒载体药物组合物,以得到期望的治疗、诊断、预防或成像效应。期望的AADC多核苷酸剂量可以在一天中递送3次,在一天中递送2次,在一天中或在24小时时间段内递送1次。所述剂量可以递送1次、2次、3次或超过3次。在某些实施方案中,使用多次施用(例如,2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14次或更多次施用),可以递送期望的AADC多核苷酸剂量。当采用多次施用,可以使用分次定量施用方案,诸如本文描述的那些。本文中使用的“分次剂量”是将单一单位剂量或总剂量分成2个或更多个剂量,例如,单一单位剂量的两次或更多次施用。本文中使用的“单一单位剂量”是在一个剂量/在一个时间/单个途径/单个接触点(即,单个施用事件)中施用的任何多核苷酸治疗剂的剂量。本文中使用的“总每日剂量”是在24小时时间段中给出或开处方的量。它可以作为单一单位剂量施用。在一个实施方案中,将包含本发明的AADC多核苷酸的病毒载体在分次剂量中施用给受试者。可以在仅缓冲液中或在本文描述的制剂中配制它们。

[0120] 在一个实施方案中,根据本发明的病毒载体药物组合物向中枢神经系统(例如,实质)的细胞的递送可以包含约 $1 \times 10^6$ VG/mL至约 $1 \times 10^{16}$ VG/mL的总浓度。在某些实施方案中,递送可以包含约 $1 \times 10^6$ 、 $2 \times 10^6$ 、 $3 \times 10^6$ 、 $4 \times 10^6$ 、 $5 \times 10^6$ 、 $6 \times 10^6$ 、 $7 \times 10^6$ 、 $8 \times 10^6$ 、 $9 \times 10^6$ 、 $1 \times 10^7$ 、 $2 \times 10^7$ 、 $3 \times 10^7$ 、 $4 \times 10^7$ 、 $5 \times 10^7$ 、 $6 \times 10^7$ 、 $7 \times 10^7$ 、 $8 \times 10^7$ 、 $9 \times 10^7$ 、 $1 \times 10^8$ 、 $2 \times 10^8$ 、 $3 \times 10^8$ 、 $4 \times 10^8$ 、 $5 \times 10^8$ 、 $6 \times 10^8$ 、 $7 \times 10^8$ 、 $8 \times 10^8$ 、 $9 \times 10^8$ 、 $1 \times 10^9$ 、 $2 \times 10^9$ 、 $3 \times 10^9$ 、 $4 \times 10^9$ 、 $5 \times 10^9$ 、 $6 \times 10^9$ 、 $7 \times 10^9$ 、 $8 \times 10^9$ 、 $9 \times 10^9$ 、 $1 \times 10^{10}$ 、 $2 \times 10^{10}$ 、 $3 \times 10^{10}$ 、 $4 \times 10^{10}$ 、 $5 \times 10^{10}$ 、 $6 \times 10^{10}$ 、 $7 \times 10^{10}$ 、 $8 \times 10^{10}$ 、 $9 \times 10^{10}$ 、 $1 \times 10^{11}$ 、 $1.8 \times 10^{11}$ 、 $2 \times 10^{11}$ 、 $3 \times 10^{11}$ 、 $4 \times 10^{11}$ 、 $5 \times 10^{11}$ 、 $5.5 \times 10^{11}$ 、 $6 \times 10^{11}$ 、 $7 \times 10^{11}$ 、 $8 \times 10^{11}$ 、 $9 \times 10^{11}$ 、 $0.8 \times 10^{12}$ 、 $0.83 \times 10^{12}$ 、 $1 \times 10^{12}$ 、 $1.1 \times 10^{12}$ 、 $1.2 \times 10^{12}$ 、 $1.3 \times 10^{12}$ 、 $1.4 \times 10^{12}$ 、 $1.5 \times 10^{12}$ 、 $1.6 \times 10^{12}$ 、 $1.7 \times 10^{12}$ 、 $1.8 \times 10^{12}$ 、 $1.9 \times 10^{12}$ 、 $2 \times 10^{12}$ 、 $2.1 \times 10^{12}$ 、 $2.2 \times 10^{12}$ 、 $2.3 \times 10^{12}$ 、 $2.4 \times 10^{12}$ 、 $2.5 \times 10^{12}$ 、 $2.6 \times 10^{12}$ 、 $2.7 \times 10^{12}$ 、 $2.8 \times 10^{12}$ 、 $2.9 \times 10^{12}$ 、 $3 \times 10^{12}$ 、 $3.1 \times 10^{12}$ 、 $3.2 \times 10^{12}$ 、 $3.3 \times 10^{12}$ 、 $3.4 \times 10^{12}$ 、 $3.5 \times 10^{12}$ 、 $3.6 \times 10^{12}$ 、 $3.7 \times 10^{12}$ 、 $3.8 \times 10^{12}$ 、 $3.9 \times 10^{12}$ 、 $4 \times 10^{12}$ 、 $4.1 \times 10^{12}$ 、 $4.2 \times 10^{12}$ 、 $4.3 \times 10^{12}$ 、 $4.4 \times 10^{12}$ 、 $4.5 \times 10^{12}$ 、 $4.6 \times 10^{12}$ 、 $4.7 \times 10^{12}$ 、 $4.8 \times 10^{12}$ 、 $4.9 \times 10^{12}$ 、 $5 \times 10^{12}$ 、 $6 \times 10^{12}$ 、 $7 \times 10^{12}$ 、 $8 \times 10^{12}$ 、 $9 \times 10^{12}$ 、 $1 \times 10^{13}$ 、 $2 \times 10^{13}$ 、 $3 \times 10^{13}$ 、 $4 \times 10^{13}$ 、 $5 \times 10^{13}$ 、 $6 \times 10^{13}$ 、 $7 \times 10^{13}$ 、 $8 \times 10^{13}$ 、 $9 \times 10^{13}$ 、 $1 \times 10^{14}$ 、 $2 \times 10^{14}$ 、 $3 \times 10^{14}$ 、 $4 \times 10^{14}$ 、 $5 \times 10^{14}$ 、 $6 \times 10^{14}$ 、 $7 \times 10^{14}$ 、 $8 \times 10^{14}$ 、 $9 \times 10^{14}$ 、 $1 \times 10^{15}$ 、 $2 \times 10^{15}$ 、 $3 \times 10^{15}$ 、 $4 \times 10^{15}$ 、 $5 \times 10^{15}$ 、 $6 \times 10^{15}$ 、 $7 \times 10^{15}$ 、 $8 \times 10^{15}$ 、 $9 \times 10^{15}$ 或 $1 \times 10^{16}$ VG/mL的组合物浓度。在一个实施方案中,所述组合物中的病毒载体的浓度是 $1 \times 10^{13}$ VG/mL。在一个实施方案中,所述组合物中的病毒载体的浓度是 $3 \times 10^{12}$ VG/mL。在一个实施方案中,所述组合物中的病毒载体的浓度是 $1.1 \times 10^{12}$ VG/mL。在一个实施方案中,所述组合物中的病毒载体的浓度是 $3.7 \times 10^{12}$ VG/mL。在一个实施方案中,所述组合物中的病毒载体的浓度是 $8 \times 10^{11}$ VG/mL。在一个实施方案中,所述组合物中的病毒载体的浓度是 $2.6 \times 10^{12}$ VG/mL。在一个实施方案中,所述组合物中的病毒载体的浓度是 $4.9 \times 10^{12}$ VG/mL。在一个实施方案中,所述组合物中的病毒载体的浓度是 $0.8 \times 10^{12}$ VG/mL。在一个实施方案中,所述组合物中的病毒载体的浓度是 $0.83 \times 10^{12}$ VG/mL。在一个实施方案中,所述组合物中的病毒载体的浓度是在瓶中可以含有的最大最终剂量。

[0121] 在一个实施方案中,根据本发明的病毒载体药物组合物向中枢神经系统(例如,实质)的细胞的递送可以包含每位受试者在约 $1 \times 10^6$ VG至约 $1 \times 10^{16}$ VG之间的总浓度。在某些实施方案中,递送可以包含约 $1 \times 10^6$ 、 $2 \times 10^6$ 、 $3 \times 10^6$ 、 $4 \times 10^6$ 、 $5 \times 10^6$ 、 $6 \times 10^6$ 、 $7 \times 10^6$ 、 $8 \times 10^6$ 、 $9 \times 10^6$ 、 $1 \times 10^7$ 、 $2 \times 10^7$ 、 $3 \times 10^7$ 、 $4 \times 10^7$ 、 $5 \times 10^7$ 、 $6 \times 10^7$ 、 $7 \times 10^7$ 、 $8 \times 10^7$ 、 $9 \times 10^7$ 、 $1 \times 10^8$ 、 $2 \times 10^8$ 、 $3 \times 10^8$ 、 $4 \times 10^8$ 、 $5 \times 10^8$ 、 $6 \times 10^8$ 、 $7 \times 10^8$ 、 $8 \times 10^8$ 、 $9 \times 10^8$ 、 $1 \times 10^9$ 、 $2 \times 10^9$ 、 $3 \times 10^9$ 、 $4 \times 10^9$ 、 $5 \times 10^9$ 、 $6 \times 10^9$ 、 $7 \times 10^9$ 、 $8 \times 10^9$ 、 $9 \times 10^9$ 、 $1 \times 10^{10}$ 、 $1.5 \times 10^{10}$ 、 $2 \times 10^{10}$ 、 $3 \times 10^{10}$ 、 $4 \times 10^{10}$ 、 $5 \times 10^{10}$ 、 $6 \times 10^{10}$ 、 $7 \times 10^{10}$ 、 $8 \times 10^{10}$ 、 $9 \times 10^{10}$ 、 $1 \times 10^{11}$ 、 $1.3 \times 10^{11}$ 、 $2 \times 10^{11}$ 、 $2.1 \times 10^{11}$ 、 $2.2 \times 10^{11}$ 、 $2.3 \times 10^{11}$ 、 $2.4 \times 10^{11}$ 、 $2.5 \times 10^{11}$ 、 $2.6 \times 10^{11}$ 、 $2.7 \times 10^{11}$ 、 $2.8 \times 10^{11}$ 、 $2.9 \times 10^{11}$ 、 $3 \times 10^{11}$ 、 $4 \times 10^{11}$ 、 $5 \times 10^{11}$ 、 $5.4 \times 10^{11}$ 、 $6 \times 10^{11}$ 、 $7 \times 10^{11}$ 、 $7.1 \times 10^{11}$ 、 $7.2 \times 10^{11}$ 、 $7.3 \times 10^{11}$ 、 $7.4 \times 10^{11}$ 、 $7.5 \times 10^{11}$ 、 $7.6 \times 10^{11}$ 、 $7.7 \times 10^{11}$ 、 $7.8 \times 10^{11}$ 、 $7.9 \times 10^{11}$ 、 $8 \times 10^{11}$ 、 $9 \times 10^{11}$ 、 $9.4 \times 10^{11}$ 、 $1 \times 10^{12}$ 、 $1.1 \times 10^{12}$ 、 $1.2 \times 10^{12}$ 、 $1.3 \times 10^{12}$ 、 $1.4 \times 10^{12}$ 、 $1.5 \times 10^{12}$ 、 $1.6 \times 10^{12}$ 、 $1.7 \times 10^{12}$ 、 $1.8 \times 10^{12}$ 、 $1.9 \times 10^{12}$ 、 $2 \times 10^{12}$ 、 $2.3 \times 10^{12}$ 、 $2.4 \times 10^{12}$ 、 $3 \times 10^{12}$ 、 $4 \times 10^{12}$ 、 $4.1 \times 10^{12}$ 、 $4.2 \times 10^{12}$ 、 $4.3 \times 10^{12}$ 、 $4.4 \times 10^{12}$ 、 $4.5 \times 10^{12}$ 、 $4.6 \times 10^{12}$ 、 $4.7 \times 10^{12}$ 、 $4.8 \times 10^{12}$ 、 $4.9 \times 10^{12}$ 、 $5 \times 10^{12}$ 、 $6 \times 10^{12}$ 、 $7 \times 10^{12}$ 、 $8 \times 10^{12}$ 、 $8.1 \times 10^{12}$ 、 $8.2 \times 10^{12}$ 、 $8.3 \times 10^{12}$ 、 $8.4 \times 10^{12}$ 、 $8.5 \times 10^{12}$ 、 $8.6 \times 10^{12}$ 、 $8.7 \times 10^{12}$ 、 $8.8 \times 10^{12}$ 、 $8.9 \times 10^{12}$ 、 $9 \times 10^{12}$ 、 $1 \times 10^{13}$ 、 $2 \times 10^{13}$ 、 $3 \times 10^{13}$ 、 $4 \times 10^{13}$ 、 $5 \times 10^{13}$ 、 $6 \times 10^{13}$ 、 $7 \times 10^{13}$ 、 $8 \times 10^{13}$ 、 $9 \times 10^{13}$ 、 $1 \times 10^{14}$ 、 $2 \times 10^{14}$ 、 $3 \times 10^{14}$ 、 $4 \times 10^{14}$ 、 $5 \times 10^{14}$ 、 $6 \times 10^{14}$ 、 $7 \times 10^{14}$ 、 $8 \times 10^{14}$ 、 $9 \times 10^{14}$ 、 $1 \times 10^{15}$ 、 $2 \times 10^{15}$ 、 $3 \times 10^{15}$ 、 $4 \times 10^{15}$ 、 $5 \times 10^{15}$ 、 $6 \times 10^{15}$ 、 $7 \times 10^{15}$ 、 $8 \times 10^{15}$ 、 $9 \times 10^{15}$ 或 $1 \times 10^{16}$ VG/受试者的组合物浓度。在一个实施方案中,所述组合物中的病毒载体的浓度是 $1 \times 10^{13}$ VG/受试者。在一个实施方案中,所述组合物中的病毒载体的浓度是 $3 \times 10^{12}$ VG/受试者。作为一个非限制性实施例,施用给受试者的组合物具有约 $3 \times 10^{11}$ VG/受试者的浓度。作为一个非限制性实施例,施用给受试者的组合物具有约 $9 \times 10^{11}$ VG/受试者的浓度。在一个实施方案中,所述组合物中的病毒载体的浓度是 $2.3 \times 10^{11}$ VG/受试者。在一个实施方案中,所述组合物中的病毒载体的浓度是 $7.2 \times 10^{11}$ VG/受试者。在一个实施方案中,所述组合物中的病毒载体的浓度是 $7.5 \times 10^{11}$ VG/受试者。在一个实施方案中,所述组合物中的病毒载体的浓度是 $1.4 \times 10^{12}$ VG/受试者。在一个实施方案中,所述组合物中的病毒载体的浓度是 $4.8 \times 10^{12}$ VG/受试者。在一个实施方案中,所述组合物中的病毒载体的浓度是 $8.8 \times 10^{12}$ VG/受试者。在一个实施方案中,所述组合物中的病毒载体的浓度是 $2.3 \times 10^{12}$ VG/受试者。

[0122] 在一个实施方案中,使用本文描述的各种方法,例如,但不限于,PET成像、L-DOPA攻击试验(例如,参见Forsayeth等人.2006,Mol.Ther.14(4):571-577)、UPDRS评分和患者日记,可以评价剂量、施用途径和/或施用体积的有效性。作为一个非限制性实施例,在施用AADC多核苷酸组合物以后,受试者可能具有减轻的运动障碍或减轻的运动障碍时间段。作为另一个非限制性实施例,受试者可能具有帕金森病相关症状的减轻,包括受限的活动和运动障碍。作为另一个非限制性实施例,受试者可能表现出休止时间和运动波动的改善。所述改善可以是至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或大于90%。所述改善可以持续一定分钟数(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55或超过55)、一定小时数(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23或超过24)、数天(例如,1、2、3、4、5、6或超过7)、数周(1、2、3、4、5、6、7或超过7)、一定月数(1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11或超过11)或数年(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9或超过9)。

[0123] 在一个实施方案中,通过使用血管周围隙(PVS)(其也被称作魏-罗二氏隙)的成

像,可以评价用于施用本文描述的病毒载体的受试者和/或剂量的有效性、施用途径和/或施用体积的选择。PVS包围微动脉和微静脉(随着它们在脑实质中穿孔)并且被脑脊液(CSF)/间隙液填充。PVS在中脑、BG和半卵圆中央中是常见的。尽管不希望受理论约束,PVS可能在代谢物的正常清除中起作用并且已经与更坏的认知和几种疾病状态(包括帕金森病)关联。PVS经常在大小上是正常的,但是它们可以在许多疾病状态中在大小上增加。Potter等人(Cerebrovasc Dis.2015年1月;39(4):224-231;其内容通过引用整体并入本文)开发了一种分级方法,其中他们研究了全范围的PVS和规定的基底神经节、半卵圆中央和中脑PVS。他们使用Mac和Lulich等人(J Neurol Neurosurg Psychiatry.2004年11月;75(11):1519-23;其内容通过引用整体并入本文)所使用的PVS的频率和范围,并且Potter等人给出了对基底神经节和半卵圆中央PVS的5个分级:0(无)、1(1-10)、2(11-20)、3(21-40)和4(>40),和对中脑PVS的2个分级:0(不可见)或1(可见)。关于Potter等人的评级系统的使用者指南可以参见:

[0124] [www.sbirc.ed.ac.uk/documents/epvs-rating-scale-user-guide.pdf](http://www.sbirc.ed.ac.uk/documents/epvs-rating-scale-user-guide.pdf)。

[0125] 在一个实施方案中,通过使用神经成像生物标志物(例如,但不限于 $[^{18}\text{F}]$ FDOPA)的正电子发射断层摄影术(PET)测量,可以评价用于施用本文描述的病毒载体的受试者和/或剂量的有效性、施用途径和/或施用体积的选择。诸如 $[^{18}\text{F}]$ FDOPA的神经成像生物标志物可以用于鉴别受影响的个体,和/或可以用于在临床表现发作之前检测黑质纹状体缺陷。此外,基于PET的标准可以用于基于它们的黑质纹状体神经元完整性(例如,异常的、正常的或不确定的黑质纹状体神经元完整性)将受试者分类(Rachette等人.Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.2006年4月5日;141B(3):245-249;其内容通过引用整体并入本文)。

[0126] 在一个实施方案中,可以施用一剂本文描述的AADC多核苷酸的受试者可能具有晚期PD且仍然对左旋多巴疗法做出应答,但是所述受试者也经历医学上难控制的运动并发症(例如,尽管经过药物治疗的调节和优化,在左旋多巴和其它多巴胺能疗法过程中发生的严重运动波动和/或运动障碍)。所述受试者可以是足够健康的以接受神经外科手术,所述神经外科手术可以通过本领域已知的方法确定。作为一个非限制性实施例,所述受试者可以满足深脑刺激(DBS)的选择标准。所述受试者可能具有特发性PD,年龄小于69岁,具有对左旋多巴的显著应答,具有药物难治的症状(例如,运动波动和/或运动障碍),和/或几乎不具有或根本不具有认知功能障碍。

[0127] 在一个实施方案中,可以施用一剂本文描述的AADC多核苷酸的受试者还可能遭受痴呆或认知损害。

[0128] 在一个实施方案中,可以施用一剂本文描述的AADC多核苷酸的受试者可能以前已经用相同或类似的治疗剂进行治疗。在另一个实施方案中,受试者可能已经用治疗剂治疗,所述治疗剂已经被证实会减轻帕金森病的症状。

[0129] 在一个实施方案中,可以施用一剂本文描述的AADC多核苷酸的受试者可能已经不能从标准医学疗法获得适当益处。作为一个非限制性实施例,所述受试者不能对治疗做出应答。作为另一个非限制性实施例,尽管经过治疗,受试者可能具有残留的残疾。

[0130] 在一个实施方案中,可以施用一剂本文描述的AADC多核苷酸的受试者可能经历试验,以评价神经递质分析物的水平从而确定剂量的有效性。作为一个非限制性实施例,可以

分析CSF神经递质、血浆AADC活性和/或尿VLA。

[0131] 在一个实施方案中,可以录像或记录可以施用一剂本文描述的AADC多核苷酸的受试者,以便在治疗过程中监测受试者的进展。

[0132] 联合

[0133] 包含AADC多核苷酸的病毒载体可以与一种或多种其它治疗剂、预防剂、诊断剂或成像剂联合使用。“与……联合”不意图暗示所述药剂必须同时施用和/或为了一起递送而配制,尽管这些递送方法是在本公开内容的范围内。组合物可以与一种或多种其它的期望治疗剂或医学操作并行地、在其之前或之后施用。一般而言,每种试剂将以对该试剂确定的剂量和/或时间计划来施用。在某些实施方案中,本公开内容包括与药剂联合的药物组合物、预防组合物、诊断组合物或成像组合物的递送,所述药剂可以改善它们的生物利用率、降低和/或修改它们的代谢、抑制它们的排泄、和/或修改它们在体内的分布。

[0134] 递送

[0135] 在一个实施方案中,通过使用在欧洲专利申请号EP1857552(其内容通过引用整体并入本文)中描述的递送AAV病毒粒子的方法,可以施用或递送包含AADC多核苷酸的病毒载体。

[0136] 在一个实施方案中,通过使用在欧洲专利申请号EP2678433(其内容通过引用整体并入本文)中描述的使用AAV载体递送蛋白的方法,可以施用或递送包含AADC多核苷酸的病毒载体。

[0137] 在一个实施方案中,通过使用在美国专利号US 5858351(其内容通过引用整体并入本文)中描述的使用AAV载体递送DNA分子的方法,可以施用或递送包含AADC多核苷酸的病毒载体。

[0138] 在一个实施方案中,通过使用在美国专利号US 6211163(其内容通过引用整体并入本文)中描述的向血流递送DNA的方法,可以施用或递送包含AADC多核苷酸的病毒载体。

[0139] 在一个实施方案中,通过使用在美国专利号US 6325998(其内容通过引用整体并入本文)中描述的递送AAV病毒粒子的方法,可以施用或递送包含AADC多核苷酸的病毒载体。

[0140] 在一个实施方案中,通过使用在美国专利号US 7588757(其内容通过引用整体并入本文)中描述的向中枢神经系统递送净荷的方法,可以施用或递送包含AADC多核苷酸的病毒载体。

[0141] 在一个实施方案中,通过使用在美国专利号US 8283151(其内容通过引用整体并入本文)中描述的递送净荷的方法,可以施用或递送包含AADC多核苷酸的病毒载体。

[0142] 在一个实施方案中,通过使用在国际专利公开号W02001089583(其内容通过引用整体并入本文)中描述的使用谷氨酸脱羧酶(GAD)递送载体递送净荷的方法,可以施用或递送包含AADC多核苷酸的病毒载体。

[0143] 在一个实施方案中,通过使用在国际专利公开号W02012057363(其内容通过引用整体并入本文)中描述的向神经细胞递送净荷的方法,可以施用或递送包含AADC多核苷酸的病毒载体。

[0144] 通过生物利用度、治疗窗和/或分布体积中的一种或多种,可以表征本文描述的病毒载体的药物组合物。

#### [0145] 生物利用度

[0146] 当用如本文中所述的递送/配制试剂或媒介物 (vehicles) 配制成组合物时, 包含本发明的AADC多核苷酸的病毒载体可以表现出与缺乏如本文中所述的递送剂的组合物相比增加的生物利用度。本文使用的术语“生物利用度”表示给受试者施用的给定量的特定试剂的全身可用性。通过在将化合物施用给哺乳动物以后测量所述化合物的未变化形式的曲线下面积 (AUC) 或最大血清或血浆浓度 ( $C_{\max}$ ), 可以评估生物利用度。AUC是描绘沿着纵坐标 (Y-轴) 的化合物的血清或血浆浓度相对于沿着横坐标 (X-轴) 的时间的曲线下面积的确定。通常, 使用本领域普通技术人员已知的方法可以计算特定化合物的AUC, 并如在 G.S.Banker, Modern Pharmaceuticals, Drugs and the Pharmaceutical Sciences, v.72, Marcel Dekker, New York, Inc., 1996 (其内容通过引用整体并入本文) 中所述。

[0147]  $C_{\max}$  值是给受试者施用化合物以后在受试者的血清或血浆中达到的化合物的最大浓度。使用本领域普通技术人员已知的方法可以测量特定化合物的  $C_{\max}$  值。本文中使用的短语“增加生物利用度”或“改善药代动力学”表示可以在受试者中增加本发明的病毒载体的全身可用性 (如通过AUC、 $C_{\max}$  或  $C_{\min}$  所测量的) 的动作。在某些实施方案中, 这样的动作可以包含与一种或多种如本文中所述的递送剂共同施用。在某些实施方案中, 所述病毒载体的生物利用度可以增加至少约2%、至少约5%、至少约10%、至少约15%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约35%、至少约40%、至少约45%、至少约50%、至少约55%、至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%或约100%。

#### [0148] 治疗窗

[0149] 与没有一种或多种如本文中所述的递送剂存在下施用的病毒载体的治疗窗相比, 当与一种或多种如本文中所述的递送剂一起配制时, 包含本发明的AADC多核苷酸的病毒载体可以表现出化合物和/或组合物施用的治疗窗的增加。本文使用的术语“治疗窗”表示血浆浓度的范围, 或在作用部位处的治疗活性物质水平范围, 其具有引起治疗效果的高概率。在某些实施方案中, 当在制剂中施用, 病毒载体的治疗窗可以增加至少约2%、至少约5%、至少约10%、至少约15%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约35%、至少约40%、至少约45%、至少约50%、至少约55%、至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%或约100%。

#### [0150] 分布体积

[0151] 与缺少一种或多种如本文中所述的递送剂的制剂相比, 当与一种或多种如本文中所述的递送剂一起配制时, 包含本发明的AADC多核苷酸的病毒载体可以表现出改善的分布体积 ( $V_{\text{dist}}$ ), 例如, 减小的或靶向的。 $V_{\text{dist}}$  将体内药剂的量与血液或血浆中的相同药剂的浓度相关联。本文使用的术语“分布体积”表示以与血液或血浆中相同的浓度在身体中含有药剂的总量所需的流体体积:  $V_{\text{dist}}$  等于体内药剂的量/血液或血浆中的药剂的浓度。例如, 对于10mg剂量的给定药剂和10mg/L的血浆浓度, 分布体积将是1升。分布体积反映了药剂存在于血管外组织中的程度。大分布体积反映了药剂结合组织组分相对于血浆蛋白的趋势。在临床场合中,  $V_{\text{dist}}$  可以用于确定达到稳态浓度的负荷剂量。在某些实施方案中, 当与一种或多种如本文中所述的递送剂共同施用, 本发明的病毒载体组合物的分布体积可以减少至少约2%、至少约5%、至少约10%、至少约15%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少

约35%、至少约40%、至少约45%、至少约50%、至少约55%、至少约60%、至少约65%、至少约70%。

#### [0152] 试剂盒和装置

[0153] 本发明提供了多种用于方便地和/或有效地实现本发明的方法的试剂盒。通常，试剂盒将包含足够量和/或数目的组分以允许用户执行受试者的多次治疗和/或执行多个实验。

[0154] 本发明的AADC载体、AADC构建体、AADC多核苷酸或AADC多肽中的任一种可以包含在试剂盒中。在某些实施方案中，试剂盒还可以包括用于创制和/或合成本发明的化合物和/或组合物的试剂和/或说明书。在某些实施方案中，试剂盒还可以包括一种或多种缓冲液。在某些实施方案中，本发明的试剂盒可以包括用于制备蛋白或核酸阵列或文库的组分，且因而，可以包括例如固体支持物。

[0155] 在某些实施方案中，可以在水性介质中或以冻干形式包装试剂盒组分。试剂盒的容器装置通常包括至少一个瓶、试管、烧瓶、瓶子、注射器或其它容器装置，其中可以放置组分，且优选地，适当地等分。在存在超过一种试剂盒组分（可以一起包装标记试剂和标签）的情况下，试剂盒通常还可以含有第二容器、第三容器或其它额外容器，其中可以单独地放置额外组分。在某些实施方案中，试剂盒还可以包含用于容纳无菌的、药学上可接受的缓冲液和/或其它稀释剂的第二容器装置。在某些实施方案中，可以在一个或多个瓶中包含组分的不同组合。本发明的试剂盒通常还可以包括用于容纳本发明的化合物和/或组合物的装置，例如，严格限制商业销售的蛋白、核酸和任意其它试剂容器。这样的容器可以包括注射或吹模塑的塑料容器，在其中保留期望的管形瓶。

[0156] 在某些实施方案中，在一种和/或多种液体溶液中提供试剂盒组分。在某些实施方案中，液体溶液是水溶液，其中无菌水溶液是特别优选的。在某些实施方案中，可以将试剂盒组分提供为干燥的粉末。当将试剂和/或组分提供为干粉时，通过加入合适体积的溶剂可以重构这样的粉末。在某些实施方案中，预见到，还可以在另一个容器装置中提供溶剂。在某些实施方案中，将标记染料提供为干燥的粉末。在某些实施方案中，预见到，在本发明的试剂盒中提供10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、120、130、140、150、160、170、180、190、200、300、400、500、600、700、800、900、1000微克或至少或至多那些量的干燥的染料。在这样的实施方案中，然后将染料再悬浮于任意合适的溶剂（诸如DMSO）中。

[0157] 在某些实施方案中，试剂盒可以包括关于采用试剂盒组分以及在试剂盒中没有包括的任意其它试剂的应用的说明书。说明书可以包括可能实现的变化。

#### [0158] 装置

[0159] 在某些实施方案中，本发明的AADC化合物和/或AADC组合物可以与装置组合，涂布在装置上，或嵌入装置中。装置可以包括但不限于支架、泵和/或其它可植入的治疗装置。另外，当受试者正在使用压缩装置（例如，但不限于，减小受试者中的深静脉血栓形成（DVT）的机会的压缩装置）时，可以将AADC化合物和/或AADC组合物递送给受试者。

[0160] 本发明提供了装置，其可以包含编码一种或多种AADC多核苷酸净荷分子的病毒载体。这些装置含有在稳定的制剂中的病毒载体，所述病毒载体可以立即递送给有此需要的受试者，诸如人患者。

[0161] 根据本文中教导的单个、多个或分次定量施用方案，可以采用用于施用的装置来

递送包含本发明的AADC多核苷酸的病毒载体。

[0162] 预见到将本领域已知用于向细胞、器官和组织多次施用的方法和装置与本文中作为本发明的实施方案公开的方法和组合物联合使用。这些包括例如具有多个针头的那些方法和装置,采用例如管腔或导管的杂合装置,以及利用热、电流或辐射驱动机制的装置。

[0163] 在某些实施方案中,通过使用装置,例如但不限于支架、试管、导管、管道、吸管、针和/或管,可以递送本发明的AADC化合物和/或AADC组合物。使用这些装置的方法是本文描述的和本领域已知的。

[0164] 在一个实施方案中,通过使用集成图像引导的疗法和集成成像(例如,但不限于,激光、MRgFUS、内窥镜和机器人外科手术装置)的递送系统,可以将本发明的AADC多核苷酸施用给受试者。

[0165] 在一个实施方案中,通过使用MRI Interventions, Inc.的CLEARPOINT®神经干预系统,可以将本发明的AADC多核苷酸施用给受试者。CLEARPOINT®神经干预系统可以单独使用或与本文描述的其它施用方法和装置中的任一种联合使用。CLEARPOINT®神经干预系统在神经学操作的计划和运行过程中在器械或装置的放置和操作中帮助提供立体定位指导。

[0166] 在一个实施方案中,通过使用Renishaw PLC的NEUROMATE®立体定位机器人系统,可以将本发明的AADC多核苷酸施用给受试者。NEUROMATE®系统可以单独使用或与本文描述的其它施用方法和装置中的任一种联合使用。作为一个非限制性实施例,NEUROMATE®系统可以与头固定器、CT图像定位器、框架连接、遥控和软件一起使用。

[0167] 在一个实施方案中,通过使用Elekta AB的Elekta MICRODRIVE™装置,可以将本发明的AADC多核苷酸施用给受试者。MICRODRIVE™装置可以单独使用或与本文描述的其它施用方法和装置中的任一种联合使用。作为一个非限制性实施例,MICRODRIVE™装置可以用于定位电极(例如,用于微电极记录(MER),大刺激和深脑刺激(DBS)电极植入)、植入导管、管或DBS电极(使用十字准线和A-P托架来验证位置)、活组织检查、注射和抽吸、脑损伤、内窥镜指导和GAMMAKNIFE®放射外科手术。

[0168] 在一个实施方案中,通过使用MONTERIS®Medical, Inc的AXIIS®立体定位微框,可以将本发明的AADC多核苷酸施用给受试者。AXIIS®立体定位微框可以单独使用或与本文描述的其它施用方法和装置中的任一种联合使用。AXIIS®立体定位微框是一种轨道对齐装置,其可以用于激光凝固、活组织检查、导管放置、电极植入、内窥镜检查术和凝块抽真空。所述微框允许360度界面并提供经简单调节对多个颅内靶标的接近。此外,所述微框与MRI相容。

[0169] 在一个实施方案中,通过使用Integra LifeSciences Corporation的INTEGRA™CRW®系统,可以将本发明的AADC多核苷酸施用给受试者。INTEGRA™CRW®系统可以单独使用或与本文描述的其它施用方法和装置中的任一种联合使用。CRW®系统可以用于多种应用,例如,但不限于,立体定位外科手术、显微外科手术、导管插入术和活组织检查。CRW®系统被设计成给使用所述系统的那些(例如,拇指锁螺钉、游标尺,双螺栓固定和固体框)提供准确度。

[0170] 在一个实施方案中,通过使用Stereotaxis, Inc.的EPOCH®解决方案系统,可以将本发明的AADC多核苷酸施用给受试者,所述EPOCH®解决方案系统可以包括NIOBE®ES

磁导航系统、VDRIVE® 机器人导航系统和/或 ODYSSEY® 信息解决方案(都来自 Stereotaxis, Inc.)。EPOCH® 解决方案系统可以单独使用或与本文描述的其它施用方法和装置中的任一种联合使用。作为一个非限制性实施例,所述 NIOBE® ES 磁导航系统可以用于准确地接触受试者。作为另一个非限制性实施例, NIOBE® ES 磁系统可以与 VDRIVE® 机器人导航系统一起使用以提供精确的移动和稳定性。

[0171] 在一个实施方案中,通过使用 NeuroStation 工作站可以将本发明的 AADC 多核苷酸施用给受试者,所述 NeuroStation 工作站使用无框立体定位方法为应用提供图像引导,例如,但不限于,外科手术规划、活组织检查、颅骨切开术、内窥镜检查术、外科手术中的超声和辐射疗法。

[0172] 在一个实施方案中,通过使用机器人立体定位系统,例如,但不限于在美国专利号 5,078,140 (其内容通过引用整体并入本文)中描述的装置,可以将本发明的 AADC 多核苷酸施用给受试者。所述装置的机器人臂可以用于精确地定向外科手术工具或用于进行操作的其它工具。

[0173] 在一个实施方案中,通过使用自动递送系统,例如,但不限于在美国专利号 5,865,744 (其内容通过引用整体并入本文)中描述的装置,可以将本发明的 AADC 多核苷酸施用给受试者。基于由递送系统收集的图像,计算机将针头的施用调整至对于特定受试者而言适当的深度。

[0174] 在一个实施方案中,可以将本发明的 AADC 多核苷酸施用给受试者,所述受试者在施用过程中正在同时使用压缩装置和/或在施用压缩装置之前和/或之后使用一段时间,例如,但不限于,在受试者中减小深静脉血栓形成(DVT)的机会的压缩装置。在给受试者施用 AADC 多核苷酸之前,可以使用所述压缩装置至少 5 分钟、15 分钟、30 分钟、45 分钟、1 小时、2 小时、3 小时、4 小时、5 小时、6 小时、7 小时、8 小时或超过 8 小时。在施用 AADC 多核苷酸以后,可以使用所述压缩装置至少 5 分钟、15 分钟、30 分钟、45 分钟、1 小时、2 小时、3 小时、4 小时、5 小时、6 小时、7 小时、8 小时、9 小时、10 小时、11 小时、12 小时、13 小时、14 小时、15 小时、16 小时、17 小时、18 小时、19 小时、20 小时、21 小时、22 小时、23 小时、1 天、2 天、3 天、4 天、5 天、6 天、1 周、2 周、3 周或 1 个月。作为一个非限制性实施例,与 AADC 多核苷酸的递送操作同时使用所述压缩装置。作为另一个非限制性实施例,在施用 AADC 多核苷酸之前使用所述压缩装置。作为另一个非限制性实施例,在施用 AADC 多核苷酸之后使用所述压缩装置。作为另一个非限制性实施例,在施用 AADC 多核苷酸之前、过程中和之后使用所述压缩装置。

[0175] 压缩装置的非限制性例子包括 ActiveCare+S.F.T. 间歇式压缩装置、ActiveCare+S.F.T 气动压缩装置、DVTlite 的 Venowave、KCI 系统压缩泵、Aircast VenaFlow 系统、SCD Express Compression System 或 Bio Compression Systems, Inc. 气动压缩治疗设备(例如,所述泵可以选自 Model SC-2004、Model SC-2004-FC、Model SC-3004、Model SC-3004-FC、Model SC-2008、Model SC-2008-DL、Model SC-3008-T、BioCryo 系统、Model IC-BAP-DL 或 multi-flo DVT combo IC\_1545-DL,且与所述泵一起使用的外套可以是 4 腔室、8 腔室、BioCryo、Multi-Flo 或 BioArterial 外套)。

[0176] CNS 疾病

[0177] 本发明的多核苷酸可以用于治疗、预防或改善以异常的或不希望的靶标表达为特征的任何疾病或障碍。在一个实施方案中,本发明涉及用于治疗帕金森病的组合物,特别是

核酸分子,例如,编码AADC的多核苷酸。

[0178] 在某些实施方案中,本发明的多核苷酸可以用于治疗、预防或改善以异常的或不希望的靶标表达为特征的任何疾病或障碍,其中用替代净荷来交换净荷(即AADC)。

[0179] 本公开内容提供了一种用于治疗哺乳动物受试者(包括人受试者)中的疾病、障碍和/或病症的方法,所述方法包括给所述受试者施用例如本文描述的AAV、AAV多核苷酸或AAV基因组(即,病毒基因组或“VG”)的任意病毒颗粒,或给所述受试者施用包含所述AAV多核苷酸或AAV基因组的颗粒,或给所述受试者施用所述组合物中的任一种,包括药物组合物。

[0180] 在一个实施方案中,所述疾病、障碍和/或病症是神经学疾病、障碍和/或病症。CNS疾病可以是影响脑的任意组分(包括大脑两半球、间脑、脑干和小脑)或脊髓的疾病。

[0181] 在某些实施方案中,本发明的病毒颗粒(通过递送功能净荷,其为可以调节CNS中的基因产物的水平或功能的治疗产品)可以用于治疗神经变性疾病和/或以神经变性为特征的疾病或障碍、神经肌肉疾病、溶酶体疾病、创伤、骨髓损伤、疼痛(包括神经性疼痛)、神经系统的癌症、脱髓鞘疾病、神经系统的自身免疫疾病、神经中毒综合征、睡眠障碍、遗传性脑障碍和发育性CNS障碍。功能净荷可以减轻或减少在有此需要的受试者中由基因产物的异常水平和/或功能(例如,蛋白的缺乏或缺陷)引起的症状,或其以其它方式给有此需要的受试者中的CNS障碍提供益处。

[0182] 作为非限制性例子,由本发明的病毒颗粒递送的治疗产品可以包括、但不限于生长和营养因子、细胞因子、激素、神经递质、酶、抗细胞凋亡因子、血管生成因子和已知在病理学障碍中突变的任何蛋白,诸如“运动神经元存活”蛋白(SMN);反义RNA或RNAi,其靶向编码在本文讨论的任何CNS疾病中具有治疗益处的蛋白的信使RNA;或微RNA,其在CNS中的基因沉默和基因表达的转录后调节中起作用(例如,脑特异性的Mir-128a,参见Adlakh和Saini, *Molecular cancer*, 2014, 13:33)。例如,本发明的病毒颗粒可以包装靶向超氧化物歧化酶的RNAi,用于治疗ALS。

[0183] 所述生长和营养因子可以包括、但不限于脑衍生的生长因子(BDNF)、表皮生长因子(EGF)、碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)、睫状神经营养因子(CNTF)、促皮质素-释放因子(CRF)、神经胶质细胞系衍生的生长因子(GDNF)、胰岛素-样生长因子-1(IGF-1)、神经生长因子(NGF)、神经营养因子-3(NT-3)、神经营养因子-4(NT-4)和血管内皮生长因子(VEGF)。细胞因子可以包括白介素-10(IL-10)、白介素-6、白介素-8、趋化因子CXCL12(SDF-1)、TGF- $\beta$ 和生长和分化因子(GDF-1/10)。

[0184] 在某些实施方案中,所述神经学障碍可以是神经变性障碍,包括、但不限于,阿尔茨海默氏病(AD);肌萎缩性侧索硬化(ALS);克雅病(CJD);亨廷顿氏病(HD);弗里德赖希氏共济失调(FA);帕金森病(PD);多系统萎缩(MSA);脊髓性肌萎缩(SMA),多发性硬化(MS);原发性进行性失语症;进行性核上性麻痹(PSP);痴呆;脑癌,退化性神经疾病,脑炎,癫痫,造成神经变性的遗传性脑障碍,色素性视网膜炎(RP),头和脑畸形,脑积水,中风,朊病毒疾病,婴儿神经元蜡样质脂褐质沉积症(INCL)(由溶酶体酶棕榈酰基蛋白硫酯酶-1(PPT1)的缺乏造成的儿童的神经变性疾病),和其它。

[0185] 在某些实施方案中,本发明的病毒颗粒可以用于治疗与CNS的生长和发育的病损有关的疾病,即,神经发育障碍。在某些方面,这样的神经发育障碍可以由基因突变造成,包

括、但不限于,脆性X综合征(由FMR1基因中的突变造成)、唐氏综合征(由染色体21的三体性造成)、雷特综合征、威廉斯综合征、天使人综合征、史密斯-马戈尼斯综合征、ATR-X综合征、巴氏综合征、诸如西登哈姆舞蹈病的在婴儿期中的免疫功能障碍和/或感染性疾病、精神分裂症、先天性弓形虫病、先天性风疹综合征、诸如糖尿病和苯丙酮尿症的代谢障碍;营养缺陷和/或脑创伤、孤独症和孤独症谱群。

[0186] 在某些实施方案中,本发明的病毒颗粒可以用于治疗CNS中的肿瘤,包括、但不限于,听神经瘤、星形细胞瘤(等级I、II、III和IV)、脊索瘤、CNS淋巴瘤、颅咽管瘤、神经胶质瘤(例如,脑干神经胶质瘤、室管膜瘤、视神经神经胶质瘤、室管膜下瘤)、髓母细胞瘤、脑膜瘤、转移性脑肿瘤、少突神经胶质瘤、垂体瘤、原始神经外胚瘤(PNET)和许旺细胞瘤。

[0187] 在某些实施方案中,所述神经学障碍可以是在CNS中具有神经学起源的具有运动和/或感觉症状的功能性神经学障碍。作为非限制性例子,功能性神经学障碍可以是慢性疼痛、癫痫发作、言语问题、不随意运动和睡眠紊乱。

[0188] 在某些实施方案中,所述神经学障碍可以是白质障碍(一组影响CNS中的神经纤维的疾病),包括、但不限于,佩-梅二氏病、伴有基底神经节和小脑萎缩的髓鞘形成减少、Aicardi-Goutières综合征、伴有皮质下囊肿的巨脑性脑白质病、先天性肌营养不良、肌强直性营养不良、威尔逊氏病、眼脑肾综合征、舍格伦-拉松综合征、PIBD或Tay综合征、柯克凯内病、脑腱黄瘤病、脑肝肾综合征、新生儿肾上腺脑白质营养不良、婴儿雷夫叙姆病、泽尔韦格氏综合征(Zellweger syndrome)、假脑肝肾综合征、假新生儿肾上腺脑白质营养不良、双功能蛋白缺乏、X-连接的肾上腺脑白质营养不良和肾上腺髓质神经病和雷夫叙姆病。

[0189] 在某些实施方案中,所述神经学障碍可以是由CNS中的细胞不能分解代谢终产物造成的溶酶体贮积障碍(LSD),包括、但不限于尼曼-皮克病(由酸性神经鞘磷脂酶(ASM)的遗传缺乏引起的LSD);异染性脑白质营养不良(MLD)(以硫苷脂在神经胶质细胞和神经元中的积累为特征的LSD,所述积累是芳基硫酸酯酶A(ARSA)的遗传缺乏的结果);球样细胞脑白质营养不良(GLD)(由半乳糖基神经酰胺酶中的突变造成的LSD);法布里病(由 $\alpha$ -半乳糖苷酶A(GLA)基因中的突变造成的LSD);戈谢病(由 $\beta$ -葡糖脑苷脂酶(GBA)基因中的突变造成);GM1/GM2神经节苷脂贮积病;粘多糖累积病障碍;庞皮病;和神经元蜡样脂褐质沉积症。

[0190] 在一个实施方案中,所述神经学疾病、障碍和/或病症是帕金森病。在一个实施方案中,用于治疗帕金森病的多核苷酸包含SEQ ID NO:2-23中的任一个,例如,但不限于SEQ ID NO:6-9和17-23,其中所述净荷被AADC或本领域已知的用于治疗帕金森病的任意其它净荷替代。作为一个非限制性实施例,所述病症是早期阶段帕金森病。作为另一个非限制性实施例,所述病症是晚期阶段帕金森病。

[0191] 在一个实施方案中,所述受试者是在统一的帕金森病评级量表中具有约30的最小运动评分至约100的最大评分、约10至约100的最大评分、约20至约100的最大评分的人患者。

[0192] 在一个实施方案中,所述受试者在用本文描述的组合物治疗之前的过去5年内已经被诊断出帕金森病。作为一个非限制性实施例,所述受试者可能在用本文描述的组合物治疗之前1周、2周、3周、4周、5周、6周、7周、8周、1个月、2个月、3个月、4个月、5个月、6个月、7个月、8个月、9个月、10个月、11个月、12个月、13个月、14个月、15个月、16个月、17个月、18个月、1年、2年、3年、4年或小于5年内已经被诊断出帕金森病。

[0193] 在一个实施方案中,所述受试者在用本文描述的组合物治疗之前5-10年之间已经被诊断出帕金森病。作为一个非限制性实施例,所述受试者可能在用本文描述的组合物治疗之前5、5.5、6、6.5、7、7.5、8、8.5、9、9.5或10年已经被诊断出帕金森病。

[0194] 在一个实施方案中,所述受试者在用本文描述的组合物治疗之前超过10年已经被诊断出帕金森病。作为一个非限制性实施例,所述受试者可能在用本文描述的组合物治疗之前10.5、11、11.5、12、12.5、13、13.5、14、14.5、15、15.5、16、16.5、17、17.5、18、18.5、19、19.5、20、20.5、21、21.5、22、22.5、23、23.5、24或超过24年已经被诊断出帕金森病。

[0195] 在一个实施方案中,在施用本文描述的组合物之前已经看到受试者的运动症状(诸如震颤和移动)的变化。震颤的非限制性例子包括单侧或两侧轻度震颤、两侧或中间中度震颤或顽固性震颤。移动的非限制性例子包括轻度运动徐缓、中度运动徐缓、严重运动徐缓和早晨运动不能。

[0196] 在一个实施方案中,受试者可能具有平衡的变化,例如,但不限于,受损的平衡、受损的翻正反射、显著的平衡障碍或坠落。

[0197] 在一个实施方案中,受试者可能具有降低的生命质量。作为一个非限制性实施例,所述受试者可能具有对他们的生命质量的中度影响,诸如经历对日常生活活动的某些限制。作为另一个非限制性实施例,所述受试者可能具有已经被疾病降低的生命质量。

[0198] 在一个实施方案中,在施用本文描述的组合物之前已经看到受试者的非运动症状的变化。作为一个非限制性实施例,在施用本文描述的组合物之前,所述受试者可能具有轻度至中度认知损害。作为另一个非限制性实施例,所述受试者可能具有诸如痴呆的显著的认知损害,其还可以包括诸如幻觉的行为紊乱。

[0199] 在一个实施方案中,在施用本文描述的组合物之前,受试者可能对一种或多种多巴胺能药物具有令人满意的具有有限波动的应答。

[0200] 在一个实施方案中,在施用本文描述的组合物之前,受试者可能对一种或多种多巴胺能药物具有造成轻度至中度失能的运动波动。

[0201] 在一个实施方案中,在施用本文描述的组合物之前,受试者可能具有医学上难控制的运动波动,其由“逐渐减弱”和/或造成显著失能的左旋多巴诱导的运动障碍组成。

[0202] 在一个实施方案中,受试者可能具有与帕金森病有关的轻度症状,例如,但不限于,没有认知损害(在过去5年内诊断出)、对一种或多种多巴胺能药物的令人满意的具有有限波动的应答、单侧或两侧轻度震颤、对生命质量几乎没有至根本没有影响和/或没有平衡病损。

[0203] 在一个实施方案中,受试者可能具有与帕金森病有关的中度症状,例如,但不限于,轻度至中度认知损害、受损的平衡和翻正反射的第一征象、在一种或多种多巴胺能药物上造成轻度-中度失能的运动波动(在过去5-10年内诊断出)、两侧或中间中度震颤、中度运动徐缓和/或经历对日常生活活动的某些限制的受试者。

[0204] 在一个实施方案中,受试者可能具有与帕金森病有关的晚期症状,例如,但不限于,被诊断出帕金森氏病超过10年、中等难治的运动波动逐渐减弱和/或造成显著失能的左旋多巴诱导的运动障碍、顽固性震颤、显著的平衡障碍和/或坠落、显著的认知损害(诸如有或没有行为紊乱的痴呆)、严重运动徐缓、被疾病显著降低的生命质量和/或早晨运动不能。

[0205] 在一个实施方案中,受试者已经拜访运动障碍专科医生(MDS),但是尚未经历深脑

刺激。

[0206] 在一个实施方案中,受试者正在与本文描述的组合物联合使用DUOPA™。作为一个非限制性实施例,所述受试者可能已经使用单独的DUOPA™取得成功。作为一个非限制性实施例,所述受试者使用单独的DUOPA™可能没有取得任何成功或取得有限的成功。

[0207] 在另一个实施方案中,所述神经学疾病、障碍和/或病症是弗里德赖希氏共济失调。在一个实施方案中,用于治疗弗里德赖希氏共济失调的多核苷酸包含SEQ ID NO:2-23中的任一个,例如,但不限于SEQ ID NO:6-9和17-23,其中用共济蛋白或本领域已知的用于治疗弗里德赖希氏共济失调的任意其它净荷替代所述净荷。

[0208] 在另一个实施方案中,所述神经学疾病、障碍和/或病症是肌萎缩性侧索硬化(ALS)。在一个实施方案中,用于治疗ALS的多核苷酸包含SEQ ID NO:2-23中的任一个,例如,但不限于SEQ ID NO:6-9和17-23,其中用针对SOD1的shRNA、miRNA、siRNA、RNAi或本领域已知的用于治疗ALS的任意其它净荷替代所述净荷。

[0209] 在另一个实施方案中,所述神经学疾病、障碍和/或病症是亨廷顿病。在一个实施方案中,用于治疗亨廷顿病的多核苷酸包含SEQ ID NO:2-23中的任一个,例如,但不限于SEQ ID NO:6-9和17-23,其中用针对Htt的shRNA、miRNA、siRNA、RNAi或本领域已知的用于治疗亨廷顿病的任意其它净荷替代所述净荷。

[0210] 在另一个实施方案中,所述神经学疾病、障碍或病症是脊髓性肌萎缩(SMA)。在一个实施方案中,用于治疗SMA的多核苷酸包含SEQ ID NO:2-23中的任一个,例如,但不限于SEQ ID NO:6-9和17-23,其中用SMN或本领域已知的用于治疗SMA的任意其它净荷替代所述净荷。

[0211] 昼夜节律和醒睡周期

[0212] 昼夜节律是倾向于遵守24小时周期的身体、精神和行为变化。昼夜节律可以影响醒睡周期、激素释放、体温和其它身体功能。昼夜节律的变化可以造成病症和/或障碍,例如,但不限于睡眠障碍(例如,失眠症)、抑郁症、双相型障碍、季节性情感障碍、肥胖和糖尿病。

[0213] 在一个实施方案中,本文描述的AADC多核苷酸可以用于治疗失眠症。

[0214] 所述醒睡周期包含睡眠时段和觉醒时段。通常,在24小时时段中,总睡眠小时小于总觉醒小时。作为一个非限制性实施例,所述醒睡周期包含7-9小时的睡眠和15-17小时的觉醒。作为一个非限制性实施例,所述醒睡周期包含8小时的睡眠和16小时的觉醒。作为一个非限制性实施例,所述醒睡周期包含8-10小时的睡眠和14-16小时的觉醒。

[0215] 在一个实施方案中,通过给受试者施用本文描述的AADC多核苷酸,改善所述受试者的醒睡周期。

[0216] 在一个实施方案中,通过给受试者施用本文描述的AADC多核苷酸,调节所述受试者的醒睡周期。作为一个非限制性实施例,所述调节可以是在夜晚发生更多睡眠时段和发生更少睡眠时段的校正。

[0217] 在一个实施方案中,施用了本文描述的AADC多核苷酸的受试者的醒睡周期与施用所述AADC多核苷酸之前所述受试者的醒睡周期相比改善。作为一个非限制性实施例,所述受试者具有增加的睡眠时段和减少的觉醒时段。作为另一个非限制性实施例,所述受试者具有减少的睡眠时段和增加的觉醒时段。

[0218] 在一个实施方案中,施用了本文描述的AADC多核苷酸的受试者的醒睡周期与施用所述AADC多核苷酸之前所述受试者的醒睡周期相比得到调节。作为一个非限制性实施例,睡眠时段和觉醒时段的长度可以是大约相同(例如,±1小时)至少2天。作为另一个非限制性实施例,一个24小时时段的睡眠时段和觉醒时段的长度可以是在前一个24小时时段的10分钟、15分钟、20分钟、25分钟、30分钟、35分钟、40分钟、45分钟、50分钟、55分钟、1小时、1.5小时或2小时内。

[0219] 在一个实施方案中,给受试者施用本文描述的AADC多核苷酸以后,改变所述受试者在24小时时段中经历的快速眼球运动(REM)睡眠的量。通常认为REM睡眠是以强烈脑活动为标志的活跃睡眠时段,其中脑波是快速的和去同步化的。平均而言,成年人将他们的总每日睡眠时段的约20-25%用在REM睡眠中。作为一个非限制性实施例,REM睡眠的量减少了1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%或超过65%。作为一个非限制性实施例,REM睡眠的量减少了1-10%、5-10%、5-15%、10-15%、15-20%、15-25%、20-25%、20-30%、25-30%、25-35%、30-35%、30-40%、35-40%、40-50%或40-60%。作为一个非限制性实施例,REM睡眠的量增加了1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%或超过65%。作为一个非限制性实施例,REM睡眠的量增加了1-5%、1-10%、5-10%、5-15%、10-15%、15-20%、15-25%、20-25%、20-30%、25-30%、25-35%、30-35%、30-40%、35-40%、40-50%或40-60%。

[0220] 在一个实施方案中,给受试者施用本文描述的AADC多核苷酸以后,改变所述受试者在24小时时段中经历的非-REM(NREM)睡眠的量。NREM睡眠通常特征在于生理活动的减少,因为通过EEG测量的脑波变得较慢且具有较大的振幅。NREM具有四个阶段:阶段1是嗜睡时间或从觉醒至睡着的过渡,其中脑波和肌肉活动开始减慢;阶段2是浅睡眠的时段,在这期间眼球运动停止且脑波变得较慢,具有快速波的偶然爆发(有时被称作睡眠梭状波);阶段3和阶段4(被统称为慢波睡眠)的特征在于缓慢脑波( $\delta$ 波)的存在,夹杂其中不存在眼球运动的较小快速波。平均而言,成年人将他们的总每日睡眠时段的约75-80%用在NREM睡眠中,他们的总每日睡眠时间中的约一半处于NREM阶段2睡眠中。

[0221] 在一个实施方案中,给受试者施用本文描述的AADC多核苷酸以后,改变所述受试者经历的NREM睡眠的量。作为一个非限制性实施例,NREM睡眠的量减少了1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%或超过65%。作为一个非限制性实施例,NREM睡眠的量减少了1-10%、5-10%、5-15%、10-15%、15-20%、15-25%、20-25%、20-30%、25-30%、25-35%、30-35%、30-40%、35-40%、40-50%或40-60%。作为一个非限制性实施例,NREM睡眠的量增加了1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%或超过65%。作为一个非限制性实施例,NREM睡眠的量增加了1-5%、1-10%、5-10%、5-15%、10-15%、15-20%、15-25%、20-25%、20-30%、25-30%、25-35%、30-35%、30-40%、35-40%、40-50%或40-60%。

[0222] 在一个实施方案中,给受试者施用本文描述的AADC多核苷酸以后,改变所述受试者经历的NREM阶段1睡眠的量。作为一个非限制性实施例,NREM阶段1睡眠的量减少了1%、

2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%或超过65%。作为一个非限制性实施例,NREM阶段1睡眠的量减少了1-10%、5-10%、5-15%、10-15%、15-20%、15-25%、20-25%、20-30%、25-30%、25-35%、30-35%、30-40%、35-40%、40-50%或40-60%。作为一个非限制性实施例,NREM阶段1睡眠的量增加了1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%或超过65%。作为一个非限制性实施例,NREM阶段1睡眠的量增加了1-5%、1-10%、5-10%、5-15%、10-15%、15-20%、15-25%、20-25%、20-30%、25-30%、25-35%、30-35%、30-40%、35-40%、40-50%或40-60%。

[0223] 在一个实施方案中,给受试者施用本文描述的AADC多核苷酸以后,改变所述受试者经历的NREM阶段2睡眠的量。作为一个非限制性实施例,NREM阶段2睡眠的量减少了1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%或超过65%。作为一个非限制性实施例,NREM阶段2睡眠的量减少了1-10%、5-10%、5-15%、10-15%、15-20%、15-25%、20-25%、20-30%、25-30%、25-35%、30-35%、30-40%、35-40%、40-50%或40-60%。作为一个非限制性实施例,NREM阶段2睡眠的量增加了1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%或超过65%。作为一个非限制性实施例,NREM阶段2睡眠的量增加了1-5%、1-10%、5-10%、5-15%、10-15%、15-20%、15-25%、20-25%、20-30%、25-30%、25-35%、30-35%、30-40%、35-40%、40-50%或40-60%。

[0224] 在一个实施方案中,给受试者施用本文描述的AADC多核苷酸以后,改变所述受试者经历的NREM阶段3和4睡眠的量。作为一个非限制性实施例,NREM阶段3和4睡眠的量减少了1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%或超过65%。作为一个非限制性实施例,NREM阶段3和4睡眠的量减少了1-10%、5-10%、5-15%、10-15%、15-20%、15-25%、20-25%、20-30%、25-30%、25-35%、30-35%、30-40%、35-40%、40-50%或40-60%。作为一个非限制性实施例,NREM阶段3和4睡眠的量增加了1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%或超过65%。作为一个非限制性实施例,NREM阶段3和4睡眠的量增加了1-5%、1-10%、5-10%、5-15%、10-15%、15-20%、15-25%、20-25%、20-30%、25-30%、25-35%、30-35%、30-40%、35-40%、40-50%或40-60%。

[0225] 在一个实施方案中,给受试者施用本文描述的AADC多核苷酸以后,NREM和REM周期的时段在所述受试者中是更一致的。通常,NREM和REM周期每90-110分钟交替,每晚4-6次。

[0226] 定义

[0227] 在本说明书中的不同地方,本公开内容的化合物的取代物(substituents)以群组或以范围公开。本公开内容特别意在包括这样的群组和范围的成员的每个和每种单独子组合。

[0228] 约:本文使用的术语“约”是指所述值的 $\pm 10\%$ 。

[0229] 活性:本文使用的术语“活性”表示其中事情正在发生或进行的情况。本文描述的

组合物可具有活性,且该活性可能涉及一个或多个生物事件。

[0230] 腺伴随病毒:本文中使用的术语“腺伴随病毒”或“AAV”表示依赖病毒属的成员,包括从其衍生出的任何颗粒、序列、基因、蛋白或组分。本文中使用的术语“AAV颗粒”包含衣壳和多核苷酸。AAV颗粒可以源自本文描述的或本领域已知的任何血清型,包括血清型的组合(即,“假分型的”AAV),或源自各种基因组(例如,单链的或自互补的)。另外,AAV颗粒可以是复制缺陷的和/或靶向的。

[0231] 联合施用:本文使用的术语“联合施用”或“联合的施用”是指,将两种或更多种药剂(例如,AAV)同时或在一段时间内施用给受试者,使得每种药剂对所述患者的作用可能存在重叠和/或所述受试者在某个时间点同时暴露于二者。在某些实施方案中,它们在彼此的约60、30、15、10、5或1分钟内施用,或在一种或多种其它药剂的至少一个剂量的约24小时、12小时、6小时、3小时内施用。在某些实施方案中,施用发生在重叠的剂量方案中。本文使用的术语“剂量方案”表示在时间上隔开的多个剂量。这样的剂量可以在规则的间隔发生,或可以在施用中包括一个或多个间隙。在某些实施方案中,药剂的施用足够紧密地安排,从而实现联合(例如,协同)效应。

[0232] 改善:本文使用的术语“改善”表示减轻病症或疾病的至少一种指标的严重程度。例如,在神经变性障碍的上下文中,改善包括神经元损失的减少。

[0233] 动物:本文使用的术语“动物”表示动物界的任何成员。在某些实施方案中,“动物”表示处于任何发育阶段的人。在某些实施方案中,“动物”表示处于任何发育阶段的非人动物。在某些实施方案中,所述非人动物是哺乳动物(例如,啮齿动物、小鼠、大鼠、兔、猴、狗、猫、羊、牛、灵长类动物或猪)。在某些实施方案中,动物包括、但不限于哺乳动物、禽类、爬行动物、两栖动物、鱼类和蠕虫类。在某些实施方案中,所述动物是转基因的动物、遗传工程改造的动物或克隆。

[0234] 反义链:本文使用的术语siRNA分子的“反义链”或“第一链”或“指导链”表示这样的链:其与为了沉默而靶向的基因的mRNA的约10-50个核苷酸(例如,约15-30、16-25、18-23或19-22个核苷酸)的段基本上互补。所述反义链或第一链具有与期望的靶mRNA序列足够互补的序列,以指导靶标特异性的沉默,例如,足以触发RNAi机制或过程对期望的靶mRNA的破坏的互补性。

[0235] 大约:如本文使用的,应用于一个或多个目标值的术语“大约”或“约”表示与所述参考值类似的值。在某些实施方案中,术语“大约”或“约”表示在所述参考值的任一个方向(大于或更小)落在25%、20%、19%、18%、17%、16%、15%、14%、13%、12%、11%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%或更小的范围内的值的范围,除非另有说明或另外从上下文中显而易见(这样的数字会超过可能值的100%的情况除外)。

[0236] 与……结合:本文使用的术语“与……结合”、“缀合”、“连接”、“附着”和“系连”,当关于两个或更多个部分使用时,是指所述部分在物理上彼此结合或连接(直接地或通过一个或多个充当连接剂的额外部分)以形成这样的结构:所述结构是足够稳定的,使得所述部分在使用所述结构的条件(例如,生理条件)下保持物理结合。“结合”不需要严格地通过直接共价化学键合。它还可以暗示基于离子键合或氢键合或杂交的连接,所述连接是足够稳定的,使得“结合的”实体保持物理上是结合的。

[0237] 双功能的:本文使用的术语“双功能的”表示能够执行或维持至少两种功能的任何

物质、分子或部分。所述功能可以影响相同的结果或不同的结果。产生功能的结构可以是相同或不同的。

[0238] 生物学上有活性的：本文中使用的短语“生物学上有活性的”表示在生物系统和/或生物体中具有活性的任何物质(例如, AAV)的特征。例如, 当被施用给生物体时, 对该生物体具有生物学效应的物质被认为是生物学上有活性的。在特定实施方案中, 如果甚至多核苷酸的一部分是生物学上有活性的或模仿被认为生物学上相关的活性, 则本发明的多核苷酸可以被视为生物学上有活性的。

[0239] 生物系统：本文使用的术语“生物系统”表示一组器官、组织、细胞、细胞内组分、蛋白、核酸、分子(包括、但不限于生物分子), 它们一起发挥作用以在细胞膜、细胞隔室、细胞、组织、器官、器官系统、多细胞生物体或任何生物实体内执行某种生物任务。在某些实施方案中, 生物系统是包含细胞内和/或细胞外细胞信号传递生物分子的细胞信号传递途径。在某些实施方案中, 生物系统包含在细胞外/细胞基质和/或细胞生境内的生长因子信号传递事件。

[0240] 生物分子：本文使用的术语“生物分子”是基于氨基酸的、基于核酸的、基于碳水化合物的或基于脂质的等任何天然分子。

[0241] 互补的和基本上互补的：本文使用的术语“互补的”表示多核苷酸彼此形成碱基对的能力。碱基对通常由反向平行的多核苷酸链中的核苷酸单元之间的氢键形成。互补的多核苷酸链可以以沃森-克里克方式(例如, A至T、A至U、C至G)或以允许形成双链体的任意其它方式形成碱基对。本领域技术人员会明白, 当使用RNA而不是DNA时, 尿嘧啶(而不是胸腺嘧啶)是被认为与腺苷互补的碱基。但是, 当在本发明的上下文中提及U时, 暗示置换T的能力, 除非另有说明。完美互补性或100%互补性表示这样的情形：其中一个多核苷酸链的每个核苷酸单元都可以与第二个多核苷酸链的核苷酸单元形成氢键。小于完美互补性表示这样的情形：其中两个链的一些(但是并非全部)核苷酸单元可以彼此形成氢键。例如, 对于两个20-聚体, 如果在每个链上的仅两个碱基对可以彼此形成氢键, 那么所述多核苷酸链表现出10%互补性。在相同的例子中, 如果在每个链上的18个碱基对可以彼此形成氢键, 那么所述多核苷酸链表现出90%互补性。本文使用的术语“基本上互补的”是指, siRNA具有足以结合期望的靶mRNA和触发靶mRNA的RNA沉默的序列(例如, 在反义链中)。

[0242] 化合物：本文使用的术语“化合物”表示一种独特的化学实体。在某些实施方案中, 特定化合物可以以一种或多种异构或同位素形式(包括、但不限于立体异构体、几何异构体和同位素)存在。在某些实施方案中, 以仅一种单一这样的形式提供或利用化合物。在某些实施方案中, 作为两种或更多种这样的形式的混合物(包括、但不限于立体异构体的外消旋混合物)提供或利用化合物。本领域技术人员明白, 有些化合物以不同的这样的形式存在, 表现出不同的性能和/或活性(包括、但不限于生物活性)。在这样的情况下, 选择或避免化合物的特定形式用于根据本发明的用途是在本领域技术人员的普通技能内。例如, 可以以光学活性的或外消旋的形式分离含有不对称取代的碳原子的化合物。如何从光学活性的起始原料制备光学活性形式的方法是本领域已知的, 诸如通过拆分外消旋混合物或通过立体选择性的合成。烯烃、C=N双键等的许多几何异构体也可以存在于本文所述的化合物中, 并且在本公开内容中预见到所有这样的稳定异构体。描述了本公开内容的化合物的顺式和反式几何异构体, 并且它们可以作为异构体的混合物或作为分离的异构形式分离。

[0243] 本公开内容的化合物还包括互变异构形式。互变异构形式源自单键与邻近双键的对换和质子的伴随迁移。互变异构形式包括质子转移互变异构体,所述质子转移互变异构体是具有相同经验公式和总电荷的异构质子化状态。

[0244] 本公开内容的化合物还包括在中间体化合物或最终化合物中出现的原子的全部同位素。“同位素”表示这样的原子:其具有相同原子数,但是具有由原子核内的不同中子数引起的不同质量数。例如,氢的同位素包括氘和氚。

[0245] 本公开内容的化合物和盐可以通过常规方法与溶剂或水分子组合制备以形成溶剂合物和水合物。

[0246] 保守的:本文使用的术语“保守的”表示多核苷酸序列或多肽序列各自的核苷酸或氨基酸残基,所述残基是在对比的两个或更多个序列的相同位置中无改变地存在的那些。相对保守的核苷酸或氨基酸是在更相关的序列中与所述序列中在其它地方出现的核苷酸或氨基酸相比保守的那些。

[0247] 在某些实施方案中,如果两个或更多个序列是100%彼此相同的,则称它们是“完全保守的”。在某些实施方案中,如果两个或更多个序列彼此至少70%相同、至少80%相同、至少90%相同或至少95%相同,则称它们是“高度保守的”。在某些实施方案中,如果两个或更多个序列彼此约70%相同、约80%相同、约90%相同、约95%、约98%、或约99%相同,则称它们是“高度保守的”。在某些实施方案中,如果两个或更多个序列彼此至少30%相同、至少40%相同、至少50%相同、至少60%相同、至少70%相同、至少80%相同、至少90%相同或至少95%相同,则称它们是“保守的”。在某些实施方案中,如果两个或更多个序列彼此约30%相同、约40%相同、约50%相同、约60%相同、约70%相同、约80%相同、约90%相同、约95%相同、约98%相同或约99%相同,则称它们是“保守的”。序列的保守可以适用于寡核苷酸、多核苷酸或多肽的整个长度,或可以适用于其部分、区域或组件。

[0248] 在一个实施方案中,保守的序列不是连续的。本领域技术人员能够理解,当在序列之间存在连续比对中的间隙时如何完成比对,以及在不耐受存在的插入或缺失的情况下如何比对对应的残基。

[0249] 在一个实施方案中,保守的序列不是连续的。本领域技术人员能够理解当在序列之间存在连续比对中的间隙时如何完成比对以及在不耐受存在的插入或缺失的情况下如何比对对应的残基。

[0250] 递送:本文中使用的“递送”表示向靶标递送化合物,诸如细小病毒,例如AAV和/或AAV化合物、物质、实体、部分、负荷或净荷的动作或方式。这样的靶标可以是细胞、组织、器官、生物体或系统(无论是生物学的还是生产)。

[0251] 递送剂:本文中使用的“递送剂”表示至少部分地促进多核苷酸和/或一种或多种物质(包括、但不限于本发明的化合物和/或组合物,例如,病毒颗粒或表达载体)向靶向细胞的体内和/或体外递送的任何试剂或物质。

[0252] 失稳的:本文使用的术语“可失稳的”、“失稳”或“失稳区域”是指与相同区域或分子的起始、参考、野生型或天然形式相比更不稳定的区域或分子。

[0253] 可检测标记物:本文中使用的“可检测标记物”表示与另一个实体连接、掺入或结合的一个或多个标志物、信号或部分,其通过本领域已知的方法容易地检测到,所述方法包括放射摄影术、荧光、化学发光、酶活性、吸光度、免疫学检测等。可检测标记物可以包括放

放射性同位素、荧光团、生色团、酶、染料、金属离子、诸如生物素、抗生物素蛋白、抗生物素蛋白链菌素和半抗原的配体、量子点等。可检测标记物可以位于它们所连接、掺入或结合的实体中的任何位置。例如，当与肽或蛋白连接、掺入或结合时，它们可以是在氨基酸、肽或蛋白质内部，或位于N-末端或C-末端处。

[0254] 定量施用方案：本文中使用的“定量施用方案”是施用计划或医师确定的治疗、预防或姑息疗法的方案。

[0255] 有效量：本文使用的术语药剂的“有效量”是这样的量：所述量足以实现有益的或期望的结果，例如，在单次或多次剂量施用给受试者细胞后，在治愈、减轻、解除或改善障碍的一种或多种症状中的临床结果，且这样，“有效量”取决于它所应用的上下文。例如，在施用治疗帕金森病的药剂的上下文中，药剂的有效量是例如这样的量：与在不施用所述药剂的情况下得到的应答相比，所述量足以实现如本文中定义的帕金森病的治疗。

[0256] 包封：本文使用的术语“包封”是指围绕、包围或包裹。

[0257] 经工程改造的：如本文中使用的，当实施方案被设计成具有与起始、野生型或天然分子不同的结构性或化学性特征或性质时，实施方案是“经工程改造的”。因而，经工程改造的试剂或实体是其设计和/或生产包括人手动动作的那些。

[0258] 表位：本文中使用的“表位”表示能够与生物分子相互作用的分子上的表面或区域。例如，蛋白可以含有与抗体（例如，生物分子）相互作用的一个或多个氨基酸（例如，表位）。在某些实施方案中，当提及蛋白或蛋白模块时，表位可以包含氨基酸的线性段或由折叠的氨基酸链形成的三维结构。

[0259] 表达：本文中使用的核酸序列的“表达”表示以下事件中的一个或多个：(1) 从DNA序列产生RNA模板（例如，通过转录）；(2) 加工RNA转录物（例如，通过剪接、编辑、5'帽形成和/或3'端加工）；(3) RNA翻译成多肽或蛋白；(4) 多肽或蛋白的折叠；和(5) 多肽或蛋白的翻译后修饰。

[0260] 特征：本文中使用的“特征”表示特性、性质或独特元件。

[0261] 制剂：本文中使用的“制剂”包括至少一种本公开内容的多核苷酸和/或化合物和/或组合物（例如，载体、AAV颗粒等）和递送剂。

[0262] 片段：本文中使用的“片段”表示整体的连续部分。例如，蛋白的片段可以包含通过消化从培养的细胞分离的全长蛋白而得到的多肽。在某些实施方案中，蛋白的片段包括至少3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、150、200、250个或更多个氨基酸。在某些实施方案中，抗体的片段包括进行酶消化或如此合成的抗体的部分。

[0263] 功能性的：本文中使用的“功能性的”生物分子是具有特定结构和处于特定形式的生物分子和/或实体，在所述特定结构和特定形式中，所述生物分子表现出用于表征它的性质和/或活性。

[0264] 基因表达：术语“基因表达”表示这样的过程：核酸序列通过该过程发生成功转录和（在大多数情况下）翻译以产生蛋白或肽。为了清楚起见，当提及“基因表达”的测量时，这应当被理解是指，可以测量转录的核酸产物（例如，RNA或mRNA）或翻译的氨基酸产物（例如，多肽或肽）。测量RNA、mRNA、多肽和肽的量或水平的方法是本领域众所周知的。

[0265] 同源性：本文使用的术语“同源性”表示聚合物分子之间例如核酸分子（例如DNA分

子和/或RNA分子)之间和/或多肽分子之间的总体相关性。在某些实施方案中,如果聚合物分子的序列是至少25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或99%相同或相似的,则认为它们是彼此“同源的”。术语“同源的”必然地表示至少两个序列(多核苷酸或多肽序列)之间的对比。根据本发明,如果两个多核苷酸序列编码的多肽就至少一个至少约20个氨基酸的片段而言至少约50%、60%、70%、80%、90%、95%或甚至99%相同,则认为所述两个多核苷酸序列是同源的。在某些实施方案中,通过编码至少4-5个独特地指定的氨基酸的片段的能力来表征同源多核苷酸序列。对于长度小于60个核苷酸的多核苷酸序列,通常通过编码至少4-5个独特地指定的氨基酸的片段的能力来确定同源性。根据本发明,如果两种蛋白就至少一个至少约20个氨基酸的片段而言至少约50%、60%、70%、80%或90%相同,则认为这两个蛋白序列是同源的。在许多实施方案中,同源的蛋白可能在至少一个至少3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、25、30、35、40、45、50个或更多个氨基酸的短片段上表现出大的总同源性程度和高同源性程度。在许多实施方案中,同源的蛋白共享一个或多个特征性的序列元件。本文使用的术语“特征性的序列元件”表示存在于相关蛋白中的基序。在某些实施方案中,这样的基序的存在与特定活性(诸如生物活性)相关。

[0266] 同一性:本文使用的术语“同一性”表示聚合物分子之间,例如寡核苷酸和/或多核苷酸分子(例如DNA分子和/或RNA分子)之间和/或多肽分子之间,的总体相关性。例如,可以如下执行两个多核苷酸序列的同一性百分比的计算:为最佳比对目的将两个序列比对(例如,可以为最佳比对而在第一和第二核酸序列中的一个或二个中引入缺口,并且可以为对比目的而抛弃不相同的序列)。在某些实施方案中,为对比目的所比对的序列的长度是参照序列长度的至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%、至少95%或100%。然后对比在相应核苷酸位置处的核苷酸。当在第一序列中的位置被第二序列中在对应位置处的相同核苷酸占据时,则所述分子在该位置处是相同的。两个序列之间的同一性百分比是所述序列共有的相同位置的数目的函数,并考虑为两个序列的最佳比对需要引入的缺口的数目和每个缺口的长度。可以使用数学算法实现两个序列之间的序列对比和同一性百分比测定。例如,两个核苷酸序列之间的同一性百分比可以使用多种方法,如在以下文献中描述的那些方法,来确定:Computational Molecular Biology,Lesk,A.M.,编,Oxford University Press,New York,1988;Biocomputing:Informatics and Genome Projects,Smith,D.W.,编,Academic Press,New York,1993;Sequence Analysis in Molecular Biology,von Heinje,G.,Academic Press,1987;Computer Analysis of Sequence Data,Part I,Griffin,A.M.,和Griffin,H.G.,编,Humana Press,New Jersey,1994;和Sequence Analysis Primer,Gribskov,M.和Devereux,J.,编,M Stockton Press,New York,1991;它们中的每一篇通过引用整体并入本文。例如,使用已经并入ALIGN程序(2.0版)中的Meyers和Miller(CABIOS,1989,4:11-17)的算法,使用PAM120加权残基表、12的缺口长度罚分和4的缺口罚分,可以确定两个核苷酸序列之间的同一性百分比。可替换地,使用GCG软件包中的GAP程序,使用NWSgapdna.CMP矩阵,可以确定两个核苷酸序列之间的同一性百分比。通常用来确定序列之间的同一性百分比的方法包括、但不限于在Carillo,H.,和Lipman,D.,SIAM J Applied Math.,48:1073(1988)中公开的那些;所述文献通过引用整体并入本文。另外,用于确定同一性的技术被编纂在公众可得到的计算机程

序中。用于确定两个序列之间的同源性的示例性计算机软件包括、但不限于GCG程序包(Devereux, J., 等人, *Nucleic Acids Research*, 12(1), 387 (1984))、BLASTP、BLASTN和FASTA(Altschul, S.F. 等人, *J. Molec. Biol.*, 215, 403 (1990))。

[0267] 抑制基因的表达:本文中使用的短语“抑制基因的表达”是指造成基因的表达产物的量的减少。所述表达产物可以是基因转录的RNA(例如mRNA)或从基因转录的RNA所翻译成的多肽。通常,mRNA水平的降低会导致从其翻译的多肽的水平降低。使用用于测量mRNA或蛋白的标准技术,可以确定表达的水平。

[0268] 体外:本文使用的术语“体外”表示在人工环境中,例如在试管或反应容器中、在细胞培养物中、在培养皿等中发生的事件,而不是在生物(例如,动物、植物或微生物)内发生的事件。

[0269] 体内:本文使用的术语“体内”表示在生物(例如,动物、植物或微生物或其细胞或组织)内发生的事件。

[0270] 分离的:本文使用的术语“分离的”与“分开的”同义,但是在通过人手进行分离的情况下与它伴随着干扰。在一个实施方案中,一种分离的物质或实体是已经与至少一些以前伴随它的组分(无论在自然界中还是在实验场合中)分离的物质或实体。参考已经与它们结合的物质,分离的物质可以具有不同的纯度水平。分离的物质和/或实体可以与至少约10%、约20%、约30%、约40%、约50%、约60%、约70%、约80%、约90%或更多的最初与它们结合的其它组分分离。在某些实施方案中,所分离的药剂具有超过约80%、约85%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%、约99%或超过约99%的纯度。如本文中使用的,如果某物质基本上不含有其它组分,则它是“纯的”。

[0271] 基本上分离的:“基本上分离的”是指,所述化合物与在其中形成或检测它的环境基本上分离。部分分离可以包括例如富含本公开内容的化合物的组合物。基本上分离可以包括含有以重量计至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约80%、至少约90%、至少约95%、至少约97%或至少约99%的本公开内容的化合物或其盐的组合物。用于分离化合物及其盐的方法是本领域中常规的。在某些实施方案中,物质或实体的分离包括化学结合和/或键的破坏。在某些实施方案中,分离仅包括与所述分离的物质或实体以前所组合的组分分离,且不包括这样的破坏。

[0272] 修饰的:本文使用的术语“修饰的”表示本发明的分子或实体相对于亲本或参照分子或实体而言改变的状态或结构。可以以许多方式修饰分子,所述方式包括在化学上、在结构上和/或在功能上。在某些实施方案中,通过引入非天然的氨基酸或非天然的核苷酸来修饰本公开内容的化合物和/或组合物。

[0273] 突变:本文使用的术语“突变”表示变化和/或改变。在某些实施方案中,突变可以是对蛋白(包括肽和多肽)和/或核酸(包括多核酸)的变化和/或改变。在某些实施方案中,突变包含对蛋白和/或核酸序列的变化和/或改变。这样的变化和/或改变可以包含一个或多个氨基酸(在蛋白和/或肽的情况下)和/或核苷酸(在核酸和/或多核酸的情况下)的添加、置换和/或缺失。在其中突变包含氨基酸和/或核苷酸的添加和/或置换的实施方案中,这样的添加和/或置换可以包含1个或多个氨基酸和/或核苷酸残基,且可以包括经修饰的氨基酸和/或核苷酸。

[0274] 天然存在的:本文中使用的“天然存在的”是指在没有人工辅助或人手参与的情况

下在自然界中存在。

[0275] 非人脊椎动物:本文中使用的“非人脊椎动物”包括除智人(Homo sapiens)之外的所有脊椎动物,包括野生的和驯化的物种。非人脊椎动物的例子包括、但不限于哺乳动物,诸如羊驼、白臀野牛、野牛、骆驼、猫、牛、鹿、狗、驴、大额牛、山羊、豚鼠、马、骆马、骡、猪、兔、驯鹿、绵羊、水牛和牦牛。

[0276] 核酸:本文使用的术语“核酸”、“多核苷酸”和“寡核苷酸”表示由多脱氧核糖核苷酸(含有2-脱氧-D-核糖)或多核糖核苷酸(含有D-核糖)组成的任意核酸聚合物,或任意其它类型的多核苷酸(其为嘌呤或嘧啶碱基或经修饰的嘌呤或嘧啶碱基的N糖苷)。在术语“核酸”、“多核苷酸”和“寡核苷酸”之间无意区分长度,且这些术语将互换使用。这些术语仅表示分子的一级结构。因而,这些术语包括双链和单链DNA、以及双链和单链RNA。

[0277] 脱靶:本文中使用的“脱靶”表示对任意一种或多种靶标、基因和/或细胞转录物的任何非意图的效果。

[0278] 开放读码框:本文中使用的“开放读码框”或“ORF”表示在给定的读码框中不含有终止密码子的序列。

[0279] 有效地连接:本文中使用的短语“有效地连接”表示两个或更多个分子、构建体、转录物、实体、部分等之间的功能性连接。

[0280] 颗粒:本文中使用的“颗粒”是由至少两种组分(即蛋白衣壳和包封在所述衣壳内的多核苷酸序列)组成的病毒。

[0281] 患者:本文中使用的“患者”表示可能寻求或需要治疗、要求治疗、正在接受治疗、将会接受治疗的受试者,或因为特定疾病或病症(例如帕金森病)而在经过训练的专业人员照料下的受试者。

[0282] 净荷:本文中使用的“净荷”表示由病毒基因组编码或在病毒基因组内的一个或多个多核苷酸或多核苷酸区域,或这样的多核苷酸或多核苷酸区域(例如,转基因,编码一种多肽或多种多肽的多核苷酸,或调控性的核酸或调节性的核酸)的表达产物。

[0283] 净荷构建体:本文中使用的“净荷构建体”是在一侧或两侧侧接反向末端重复(ITR)序列的、编码或包含净荷的一个或多个多核苷酸区域。净荷构建体是在病毒生产细胞中复制以生产病毒基因组的模板。

[0284] 净荷构建体载体:本文中使用的“净荷构建体载体”是编码或包含净荷构建体以及在细菌细胞中的复制和表达的调节区的载体。

[0285] 净荷构建体表达载体:本文中使用的“净荷构建体表达载体”是这样的载体:其编码或包含净荷构建体,且其还包含一个或多个多核苷酸区域,所述多核苷酸区域编码或包含在病毒复制细胞中的病毒表达的组分。

[0286] 肽:本文中使用的“肽”具有小于或等于50个氨基酸的长度,例如,约5、10、15、20、25、30、35、40、45或50个氨基酸长度。

[0287] 药学上可接受的:短语“药学上可接受的”在本文中用于表示这样的化合物、物质、组合物和/或剂型:在合理的医学判断范围内,其适用于接触人类和动物的组织,而没有过度的毒性、刺激、变应性应答或其它问题或并发症,与合理的收益/风险比相称。

[0288] 药学上可接受的赋形剂:本文中使用的短语“药学上可接受的赋形剂”表示存在于药物组合物中的除了化合物和/或活性剂(例如,如本文中所述)以外的任何成分,且其具有

在受试者(诸如患者)中基本上无毒的和非炎症性的性质。在某些实施方案中,药学上可接受的赋形剂是能够悬浮和/或溶解活性剂的媒介物。赋形剂可以包括,例如:抗粘剂、抗氧化剂、粘合剂、包衣剂、压缩助剂、崩解剂、染料(色料)、软化剂、乳化剂、填充剂(稀释剂)、成膜剂或包衣剂、矫味剂、香料、助流剂(流动增进剂)、润滑剂、防腐剂、印刷用油墨、吸附剂、助悬剂或分散剂、甜味剂和化合水。示例性的赋形剂包括,但不限于丁羟甲苯(BHT)、碳酸钙、磷酸钙(磷酸氢钙)、硬脂酸钙、交联羧甲基纤维素、交联聚乙烯吡咯烷酮、柠檬酸、交聚维酮、半胱氨酸、乙基纤维素、明胶、羟丙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、乳糖、硬脂酸镁、麦芽糖醇、甘露醇、甲硫氨酸、甲基纤维素、对羟基苯甲酸甲酯、微晶纤维素、聚乙二醇、聚乙烯吡咯烷酮、聚维酮、预胶化淀粉、对羟基苯甲酸丙酯、棕榈酸视黄酯、紫胶、二氧化硅、羧甲基纤维素钠、柠檬酸钠、淀粉羟乙酸钠、山梨醇、淀粉(玉米)、硬脂酸、蔗糖、滑石粉、二氧化钛、维生素A、维生素E、维生素C和木糖醇。

[0289] 药学上可接受的盐:本文化合物的药学上可接受的盐。本文中使用的“药学上可接受的盐”表示公开的化合物的衍生物或形式,其中通过将现有的酸或碱部分转化成其盐形式(例如,通过使游离碱基团与合适的有机酸反应而产生)来修饰母体化合物。药学上可接受的盐的例子包括,但不限于碱性残基如胺的无机酸盐或有机酸盐;酸性残基如羧酸的碱盐或有机盐;等。代表性的酸加成盐包括乙酸盐、乙酸、己二酸盐、海藻酸盐、抗坏血酸盐、天冬氨酸盐、苯磺酸盐、苯磺酸、苯甲酸盐、硫酸氢盐、硼酸盐、丁酸盐、樟脑酸盐、樟脑磺酸盐、柠檬酸盐、环戊烷丙酸盐、二葡萄糖酸盐、十二烷基硫酸盐、乙磺酸盐、富马酸盐、葡庚糖酸盐、甘油磷酸盐、半硫酸盐、庚糖酸盐、己酸盐、氢溴酸盐、盐酸盐、氢碘酸盐、2-羟基-乙磺酸盐、乳糖酸盐、乳酸盐、月桂酸盐、月桂基硫酸盐、苹果酸盐、马来酸盐、丙二酸盐、甲磺酸盐、2-萘磺酸盐、烟酸盐、硝酸盐、油酸盐、草酸盐、棕榈酸盐、扑酸盐、果胶酸盐、过硫酸盐、3-苯基丙酸盐、磷酸盐、苦味酸盐、新戊酸盐、丙酸盐、硬脂酸盐、琥珀酸盐、硫酸盐、酒石酸盐、硫氰酸盐、甲苯磺酸盐、十一烷酸盐、戊酸盐等。代表性的碱金属或碱土金属盐包括钠、锂、钾、钙、镁等,以及无毒的铵、季铵和胺阳离子,包括,但不限于铵、四甲基铵、四乙基铵、甲胺、二甲胺、三甲胺、三乙胺、乙胺等。本公开内容的药学上可接受的盐包括形成的母体化合物的常规无毒盐,例如,从无毒的无机或有机酸形成。在某些实施方案中,本公开内容的药学上可接受的盐可以通过常规化学方法从含有碱性或酸性部分的母体化合物制备的合成盐。通常,通过使这些化合物的游离酸或碱形式与化学计量的量的适当的碱或酸在水或有机溶剂或这两者的混合物中反应,可以制备这样的盐;通常,非水性介质如醚、乙酸乙酯、乙醇、异丙醇或乙腈是优选的。合适的盐的列表可在以下文献中找到:Remington's Pharmaceutical Sciences,第17版,Mack Publishing Company,Easton,Pa.,1985,第1418页,Pharmaceutical Salts:Properties,Selection,and Use,P.H.Stahl和C.G.Wermuth(编),Wiley-VCH,2008,以及Berge等人,Journal of Pharmaceutical Science,66,1-19(1977),它们中的每一篇通过引用整体并入本文。

[0290] 药学上可接受的溶剂合物:本文中使用的术语“药学上可接受的溶剂合物”表示本发明的化合物的晶型,其中合适的溶剂的分子掺入晶格中。合适的溶剂在施用的剂量是生理学上可耐受的。例如,通过从包括有机溶剂、水或其混合物的溶液结晶、重结晶或沉淀,可以制备溶剂合物。合适的溶剂的例子是乙醇、水(例如,一水合物、二水合物和三水合物)、N-甲基吡咯烷酮(NMP)、二甲亚砜(DMSO)、N,N'-二甲基甲酰胺(DMF)、N,N'-二甲基乙酰胺

(DMAC)、1,3-二甲基-2-咪唑啉酮(DMEU)、1,3-二甲基-3,4,5,6-四氢-2-(1H)-嘧啶酮(DMPU)、乙腈(ACN)、丙二醇、乙酸乙酯、苯甲醇、2-吡咯烷酮、苯甲酸苄酯等。当水是溶剂时,溶剂合物被称作“水合物”。在某些实施方案中,掺入溶剂合物中的溶剂的类型或水平是给其施用所述溶剂合物的生物在生理学上可耐受的(例如,在药物组合物的单位剂型中)。

[0291] 药代动力学:本文中使用的“药代动力学”表示分子或化合物的任意一种或多种特性,当它涉及施用给活生物体的物质的结局的确定。药代动力学被分成几个领域,包括吸收的程度和速率、分布、代谢和排泄。这通常被称作ADME,其中:(A)吸收是物质进入血液循环的过程;(D)分布是物质在身体的流体和组织中到处分散或散布;(M)代谢(或生物转化)是母体化合物不可逆地转化成子代谢物;和(E)排泄(或消除)表示物质从身体消除。在罕见的情况下,一些药物不可逆地积累在身体组织中。

[0292] 物理化学的:本文中使用的“物理化学的”是指或涉及物理的和/或化学的特性。

[0293] 预防:本文使用的术语“预防”表示部分地或完全地延迟感染、疾病、障碍和/或病症的发作;部分地或完全地延迟特定感染、疾病、障碍和/或病症的一种或多种症状、特征或临床表现的发作;部分地或完全地延迟特定感染、疾病、障碍和/或病症的一种或多种症状、特征或表现的发作;部分地或完全地延迟自感染、特定疾病、障碍和/或病症的进展;和/或降低发生与感染、疾病、障碍和/或病症(例如帕金森病)相关的病状的风险。

[0294] 前药:本公开内容还包括本文所述化合物的前药。本文中使用的“前药”表示处于一定形式的任何物质、分子或实体,所述形式据预测该物质、分子或实体在化学或物理改变后作为治疗剂起作用。前药可以以某种方式共价地结合或掩蔽,并且其在施用给哺乳动物受试者之前、之时或之后释放或被转化成活性药物部分。在T.Higuchi和V.Stella,“Prodrugs as Novel Delivery Systems,”A.C.S.Symposium Series的第14卷以及Bioreversible Carriers in Drug Design,Edward B.Roche编,American Pharmaceutical Association and Pergamon Press,1987中讨论了前药的制备和用途,它们二者特此通过引用整体并入。

[0295] 增殖:本文使用的术语“增殖”是指生长、扩充、复制或增加或造成生长、扩充、复制或增加。“增殖的”是指具有增殖的能力。“抗增殖的”是指具有抵抗或抵消增殖特性的特性。

[0296] 预防性的:本文中使用的“预防性的”表示用于阻止疾病扩散的治疗剂或动作过程。

[0297] 预防:本文中使用的“预防”表示为维持健康和阻止疾病扩散而采取的措施。

[0298] 目标蛋白:本文使用的术语“目标蛋白”或“期望的蛋白”包括本文中提供的那些及其片段、突变体、变体和改变。

[0299] 纯化:本文中使用的“纯化”、“纯化的”是指使得基本上纯的或不含不希望的组分、污染物质、混合物或杂质。“经纯化的”表示是纯的状态。“纯化”表示制纯的过程。

[0300] 区域:本文使用的术语“区域”表示区带或一般范围。在某些实施方案中,当表示蛋白或蛋白模块时,区域可以包含沿着所述蛋白或蛋白模块的氨基酸的线性序列,或可以包含三维范围、表位和/或表位簇。在某些实施方案中,区域包含末端区域。本文使用的术语“末端区域”表示位于给定试剂的末端或终端处的区域。当表示蛋白时,末端区域可以包含N-末端和/或C-末端。N-末端表示包含具有游离氨基的氨基酸的蛋白的末端。C-末端表示包含具有游离羧基的氨基酸的蛋白的末端。因此,N-末端和/或C-末端区域包含N-末端和/或

C-末端以及周围氨基酸。在某些实施方案中,N-末端和/或C-末端区域包含约3个氨基酸至约30个氨基酸、约5个氨基酸至约40个氨基酸、约10个氨基酸至约50个氨基酸、约20个氨基酸至约100个氨基酸和/或至少100个氨基酸。在某些实施方案中,N-末端区域可以包含任意长度的氨基酸,其包括N-末端、但是不包括C-末端。在某些实施方案中,C-末端区域可以包含任意长度的氨基酸,其包括C-末端、但是不包括N-末端。

[0301] 在某些实施方案中,当表示多核苷酸时,区域可以包含沿着所述多核苷酸的核酸的线性序列,或可以包含三维范围、二级结构或三级结构。在某些实施方案中,区域包含末端区域。本文使用的术语“末端区域”表示位于给定试剂的末端或终端处的区域。当表示多核苷酸时,末端区域可以包含5'和3'末端。5'末端表示包含具有游离磷酸酯基团的核酸的多核苷酸的末端。3'末端表示包含具有游离羟基的核酸的多核苷酸的末端。因此,5'和3'区域可以包含5'和3'末端以及周围核酸。在某些实施方案中,5'和3'末端区域包含约9个核酸至约90个核酸、约15个核酸至约120个核酸、约30个核酸至约150个核酸、约60个核酸至约300个核酸和/或至少300个核酸。在某些实施方案中,5'区域可以包含任意长度的核酸,其包括5'末端、但是不包括3'末端。在某些实施方案中,3'区域可以包含任意长度的核酸,其包括3'末端、但是不包括5'末端。

[0302] RNA或RNA分子:本文使用的术语“RNA”或“RNA分子”或“核糖核酸分子”表示核糖核苷酸的聚合物;术语“DNA”或“DNA分子”或“脱氧核糖核酸分子”表示脱氧核糖核苷酸的聚合物。可以天然地合成(例如,分别通过DNA复制和DNA的转录)或化学地合成DNA和RNA。DNA和RNA可以是单链的(即,分别是ssRNA或ssDNA)或多链的(例如,双链的,即,分别是dsRNA和dsDNA)。本文中使用的术语“mRNA”或“信使RNA”表示编码一个或多个多肽链的氨基酸序列的单链RNA。

[0303] RNA干扰:本文使用的术语“RNA干扰”或“RNAi”表示由RNA分子介导的序列特异性的调节机制,其导致对应的蛋白编码基因的表达的抑制或干扰或“沉默”。

[0304] 样品:本文使用的术语“样品”表示从来源获取的和/或为了分析或加工提供的等分试样、子集或部分。在某些实施方案中,样品来自于生物学来源,诸如组织、细胞或组成部分(例如体液,包括、但不限于血液、粘液、淋巴液、滑液、脑脊液、唾液、羊水、羊膜脐带血、尿、阴道液和精液)。在某些实施方案中,样品可以是或包含从完整生物体或它的组织、细胞或组成部分的子集制备的匀浆物、裂解物或提取物,或其级分或部分,包括、但不限于,例如,血浆,血清,脊髓液,淋巴液,皮肤、呼吸道、肠道和泌尿生殖道的外表部分,泪液,唾液,奶,血细胞,肿瘤或器官。在某些实施方案中,样品是或包含培养基,诸如营养物液体培养基或凝胶,其可以含有细胞组分,诸如蛋白或核酸分子。在某些实施方案中,“初次”样品是所述来源的等分试样。在某些实施方案中,对初次样品进行一个或多个处理(例如,分离、纯化等)步骤以制备用于分析或其它用途的样品。

[0305] 自互补的病毒颗粒:本文中使用的“自互补的病毒颗粒”是包含至少两种组分(即蛋白衣壳和编码被包封在所述衣壳内的自互补基因组的多核苷酸序列)的颗粒。

[0306] 有义链:本文使用的术语siRNA分子的“有义链”或“第二条链”或“过客链”表示与反义链或第一链互补的链。siRNA分子的反义链和有义链发生杂交以形成双链体结构。本文中使用的“siRNA双链体”包括与为了沉默而靶向的基因的mRNA的约10-50个核苷酸的段具有足够互补性的siRNA链和与所述siRNA链具有足够互补性以形成双链体的siRNA链。

[0307] 信号序列:本文中使用的短语“信号序列”表示可以指导运输或定位的序列。

[0308] 单一单位剂量:本文中使用的“单一单位剂量”是在一个剂量/在一个时间/单个途径/单个接触点(即,单个施用事件)所施用的任何治疗剂的剂量。在某些实施方案中,将单一单位剂量提供为离散剂型(例如,片剂、胶囊剂、贴剂、加载的注射器、瓶等)。

[0309] 相似性:本文使用的术语“相似性”表示聚合物分子之间,例如多核苷酸分子(例如DNA分子和/或RNA分子)之间和/或多肽分子之间,的总体相关性。以与同一性百分比的计算相同的方式,可以计算聚合物分子彼此之间的相似性百分比,例外是,如本领域中所理解的,相似性百分比的计算考虑保守置换。

[0310] 小/短干扰RNA:本文使用的术语“小/短干扰RNA”或“siRNA”表示能够指导或介导RNAi的包含约5-60个核苷酸(或核苷酸类似物)的RNA分子(或RNA类似物)。优选地,siRNA分子包含约15-30个核苷酸或核苷酸类似物,更优选地约16-25个核苷酸(或核苷酸类似物),甚至更优选地约18-23个核苷酸(或核苷酸类似物),和甚至更优选地约19-22个核苷酸(或核苷酸类似物)(例如,19、20、21或22个核苷酸或核苷酸类似物)。术语“短”siRNA表示包含5-23个核苷酸、优选21个核苷酸(或核苷酸类似物)(例如,19、20、21或22个核苷酸)的siRNA。术语“长”siRNA表示包含24-60个核苷酸、优选约24-25个核苷酸(例如,23、24、25或26个核苷酸)的siRNA。在某些情况下,短siRNA可以包括少于19个核苷酸,例如,16、17或18个核苷酸,或少至5个核苷酸,前提条件是,较短的siRNA保留介导RNAi的能力。同样地,在某些情况下,长siRNA可以包括超过26个核苷酸,例如,27、28、29、30、35、40、45、50、55或甚至60个核苷酸,前提条件是,较长的siRNA保留介导RNAi或翻译抑制的能力,无需进一步加工(例如,酶促加工)成短siRNA。siRNA可以是单链RNA分子(ss-siRNA)或包含有义链和反义链的双链RNA分子(ds-siRNA),所述有义链和反义链杂交以形成被称作siRNA双链体的双链体结构。

[0311] 分次剂量:本文中使用的“分次剂量”是将单一单位剂量或总每日剂量分成两个或更多个剂量。

[0312] 稳定的:本文中使用的“稳定的”表示足够稳健以耐受从反应混合物至有用纯度的分离并且优选地能够配制成有效治疗剂的化合物或实体。

[0313] 稳定化的:本文使用的术语“稳定”、“稳定化”、“稳定化的区域”是指使得或变得稳定。在某些实施方案中,相对于绝对值来测量稳定性。在某些实施方案中,相对于参照化合物或实体来测量稳定性。

[0314] 受试者:本文使用的术语“受试者”或“患者”表示可以给其施用根据本发明的组合物的任何生物,例如,为了实验、诊断、预防和/或治疗目的。典型受试者包括动物(例如,哺乳动物诸如小鼠、大鼠、兔、非人灵长类动物和人类)和/或植物。在某些实施方案中,所述受试者可以是婴儿、新生儿或在12岁以下的儿童。在某些实施方案中,所述受试者可以是在子宫内。

[0315] 基本上:本文使用的术语“基本上”表示表现出目标特征或性质的总的或接近总的程度或度的定性条件。生物领域的普通技术人员会理解,生物学现象和化学现象很少(就算有的话)达到完成和/或推进到完全或者实现或避免绝对结果。术语“基本上”因此在本文中用于捕获在许多生物学现象和化学现象中固有的完整性的潜在缺乏。

[0316] 基本上等于:如本文中使用的,当涉及剂量之间的时间差异时,该术语是指加/减

2%。

[0317] 基本上同时:如本文中使用的,当涉及多个剂量时,该术语通常是指在约2秒内。

[0318] 遭受:正在“遭受”疾病、障碍和/或病症的个体已经被诊断出或表现出疾病、障碍和/或病症(例如帕金森病)的一种或多种症状。

[0319] 易患:“易患”疾病、障碍和/或病症的个体尚未诊断出和/或可能没有表现出所述疾病、障碍和/或病症的症状,但是包含发生疾病或其症状的倾向性。在某些实施方案中,易患疾病、障碍和/或病症(例如,癌症)的个体可以由以下一项或多项来表征:(1)与所述疾病、障碍和/或病症的发展相关的基因突变;(2)与所述疾病、障碍和/或病症的发展相关的遗传多态性;(3)增加的和/或减少的与所述疾病、障碍和/或病症相关的蛋白和/或核酸的表达和/或活性;(4)与所述疾病、障碍和/或病症的发展相关的习惯和/或生活方式;(5)所述疾病、障碍和/或病症的家族史;和(6)暴露于与所述疾病、障碍和/或病症的发展相关的微生物和/或被其感染。在某些实施方案中,易患疾病、障碍和/或病症的个体将发生所述疾病、障碍和/或病症。在某些实施方案中,易患疾病、障碍和/或病症的个体将不发生所述疾病、障碍和/或病症。

[0320] 持续释放:本文使用的术语“持续释放”表示在特定时间段内符合释放速率的药物组合物或化合物释放概况。

[0321] 合成的:术语“合成的”是指通过人手生产、制备和/或制造。本发明的多核苷酸或多肽或其它分子的合成可以是化学或酶促的。

[0322] 靶向:本文中使用的“靶向”是指设计和选择核酸序列的过程,所述核酸序列将与靶核酸杂交并诱导期望的效应。

[0323] 靶向的细胞:本文中使用的“靶向的细胞”表示任意一种或多种目标细胞。所述细胞可以在体外、在体内、在原位存在或在生物的组织或器官中存在。所述生物可以是动物,优选地是哺乳动物,更优选地是人,并且最优选地是患者。

[0324] 治疗剂:术语“治疗剂”表示当施用给受试者时具有治疗、诊断和/或预防效果和/或引起期望的生物学和/或药理学作用的任何药剂。

[0325] 治疗有效量:本文使用的术语“治疗有效量”是指要递送的药剂(例如,核酸、药物、治疗剂、诊断剂、预防剂等)的量,当施用给遭受或易患感染、疾病、障碍和/或病症的受试者时,所述量足以治疗、诊断、预防所述感染、疾病、障碍和/或病症(例如帕金森病),改善其症状,和/或延迟其发作。在某些实施方案中,以单次剂量提供治疗有效量。在某些实施方案中,以包含多个剂量的剂量方案施用治疗有效量。本领域技术人员会明白,在某些实施方案中,如果单位剂型包含当作为这样的剂量方案的组成部分施用时有有效的量,可以认为单位剂型包含治疗有效量的特定试剂或实体。

[0326] 治疗上有效的结果:本文使用的术语“治疗上有效的结果”是指这样的结果:其在遭受或易患感染、疾病、障碍和/或病症的受试者中足以治疗、诊断、预防所述感染、疾病、障碍和/或病症,改善其症状,和/或延迟其发作。

[0327] 总每日剂量:本文中使用的“总每日剂量”是在24小时时间段中给出或开处方的量。它可以作为单一单位剂量施用。

[0328] 转染:本文使用的术语“转染”表示将外源核酸引入细胞中的方法。转染的方法包括、但不限于化学方法、物理处理和阳离子脂质或混合物。

[0329] 治疗:本文使用的术语“治疗”表示部分地或完全地减轻、改善、改进、解除特定感染、疾病、障碍和/或病症的一种或多种症状或特征,延迟所述症状或特征的发作,抑制所述症状或特征的进展,降低所述症状或特征的严重程度,和/或降低所述症状或特征的发生率。例如,“治疗”癌症可以表示抑制肿瘤的存活、生长和/或扩散。可以将治疗施用给没有表现出疾病、障碍和/或病症的征象的受试者,和/或施用给仅表现出疾病、障碍和/或病症的早期征象的受试者,目的在于降低发生与所述疾病、障碍和/或病症(例如帕金森病)相关的病状的风险。

[0330] 未修饰的:本文中使用的“未修饰的”表示在以任何方式改变之前的任何物质、化合物或分子。未修饰可以、但不总是表示生物分子或实体的野生型或天然形式。分子或实体可以经历一系列修饰,因而每种经修饰的物质、化合物、分子或实体可以充当后续修饰的“未修饰的”起始分子。

[0331] 载体:本文中使用的“载体”是运输、转导异源分子或者以其它方式充当异源分子的载体的任何分子或部分。可以重组地生产本公开内容的载体,且其可以基于和/或可以包含腺伴随病毒(AAV)亲本或参照序列。这样的亲本或参照AAV序列可以充当用于工程改造载体的原始、第二、第三或后续序列。在非限制性实施例中,这样的亲本或参照AAV序列可以包含以下序列中的任意一个或多个:编码一个多肽或多个多肽的多核苷酸序列,所述序列可以是野生型或从野生型修饰而成,且所述序列可以编码蛋白的全长或部分序列、蛋白结构域、或蛋白的一个或多个亚基;包含调控或调节核酸的多核苷酸,所述序列可以是野生型或从野生型修饰而成;和转基因,其可以是或不是从野生型序列修饰而成。这些AAV序列可以充当一个或多个密码子(在核酸水平)或氨基酸(在多肽水平)的“供体”序列或一个或多个密码子(在核酸水平)或氨基酸(在多肽水平)的“受体”序列。

[0332] 病毒构建体载体:本文中使用的“病毒构建体载体”是包含一个或多个多核苷酸区域的载体,所述多核苷酸区域编码或包含Rep和/或Cap蛋白。

[0333] 病毒构建体表达载体:本文中使用的“病毒构建体表达载体”是这样的载体:其包含一个或多个编码或包含Rep和/或Cap的多核苷酸区域,其进一步包含一个或多个编码或包含在病毒复制细胞中的病毒表达所需的组分的多核苷酸区域。

[0334] 病毒基因组:本文中使用的“病毒基因组”是编码至少一个反向末端重复(ITR)、至少一个调节序列和至少一个净荷的多核苷酸。所述病毒基因组通过净荷构建体从净荷构建体表达载体的复制而衍生出。病毒基因组编码净荷构建体的至少一个拷贝。

[0335] 等同方案和范围

[0336] 本领域技术人员会认识到或使用不超过例行实验能够确定根据本文描述的发明的具体实施方案的许多等同方案。本发明的范围无意于限于上面的描述,而是如所附权利要求所述。

[0337] 在权利要求中,诸如“一个”、“一种”和“所述”的冠词可以是指一个/种或超过一个/种,除非指示相反情形或以其它方式从上下文显而易见。如果群体成员中的一个、超过一个或所有成员存在于指定的产品或过程中、在指定的产品或过程中使用、或以其它方式与指定的产品或过程相关,则认为满足在一组的一个或多个成员之间包括“或”的权利要求或描述,除非指示相反情形或以其它方式从上下文显而易见。本发明包括这样的实施方案,其中所述组的刚好一个成员存在于给定产品或方法中、用于给定产品或方法中或者以其它

方式与给定产品或方法相关。本发明包括这样的实施方案,其中所述组成员中的超过一个或全部都存在于给定产品或方法中、用于给定产品或方法中或者以其它方式与给定产品或方法相关。

[0338] 还应当指出,术语“包含”意图是开放式的,并且允许但不要求包括额外的要素或步骤。当在本文中使用时,因此还包括和公开术语“由……组成”。

[0339] 除非另有定义,否则本文使用的所有技术和科学术语具有本发明所属领域的普通技术人员所通常理解的相同含义。本文描述了用于本公开内容中的方法和材料;还可以使用本领域已知的其它合适的方法和材料。

[0340] 在给出范围的情况下,包括端点。此外,应当理解,除非另外指示或以其它方式从上下文和本领域普通技术人员的理解显而易见,以范围表述的数值在本发明的不同实施方案中可呈现处于所述范围内的任何具体数值或子范围,其精确至该范围的下限单位的十分之一,除非上下文另外清楚地指明。

[0341] 另外,应当理解,可以从任意一项或多项权利要求中明确地排除落在现有技术内的本发明的任何特定实施方案。因为这样的实施方案被视为本领域普通技术人员已知的,所以可以排除它们,即使所述排除并未在本文中明确地阐明。可以因为任何原因从任意一项或多项权利要求排除本发明的组合物的任何特定实施方案(例如,任何核酸或由其编码的蛋白;任何生产方法;任何使用方法等),无论是否与现有技术存在相关。

[0342] 所有引用的来源,例如,在本文中引用的参考文献、出版物、数据库、数据库条目和论文,均通过引用并入本申请中,即便没有在引文中明确地说明。在引用的来源的描述与本申请发生冲突的情况下,在本申请中的描述应当占主导地位。

[0343] 章节和表的标题无意成为限制性的。

[0344] 实施例

[0345] 实施例1.AADC多核苷酸的设计

[0346] 将AADC多核苷酸设计成最少包含编码AADC蛋白的核酸序列。

[0347] 设计后,将所述序列工程改造或合成或插入质粒或载体中并施用给细胞或生物。合适的质粒或载体是转导或转染靶细胞的任一种。

[0348] 可以使用腺相关的病毒载体(AAV)、病毒颗粒或整个病毒。

[0349] 施用导致AADC多核苷酸的加工,以产生改变疾病(在该情况下,帕金森病)的病原学的AADC蛋白。

[0350] 在一个非限制性实施例中,在表1中给出了含有本发明的AADC多核苷酸的质粒。表中的这些AADC多核苷酸被含在Fastback质粒中且具有CMV启动子和编码AADC。在某些实施方案中,AADC蛋白mRNA的开放读码框是经密码子优化的(例如,codop)。

[0351] 表1. 含有AADC多核苷酸的质粒/载体.

[0352]

构建体	SEQ ID NO
pFB CMV hAADC-1	2
pFB CMV hAADC-2	3
pFB CMV hAADC-3	4
pFB CMV hAADC-4	5

[0353] 实施例2.AADC多核苷酸: ITR至ITR

[0354] 适合用在AAV病毒载体中的AADC多核苷酸包括在表2中的那些。

[0355] 在表2中给出了来自表1的ITR至ITR序列。

[0356] 表2. ITR至ITR AADC多核苷酸

构建体	SEQ ID NO
pFB CMV hAADC-1 (ITR至ITR)	6
pFB CMV hAADC-2 (ITR至ITR)	7
pFB CMV hAADC-3 (ITR至ITR)	8
pFB CMV hAADC-4 (ITR至ITR)	9

[0358] 实施例3. 相对于ITR至ITR亲本序列

[0359] 根据表3和表4设计了AADC多核苷酸。给出的开始和停止位置是相对于在表2中描述的ITR至ITR AADC多核苷酸。

[0360] 表3. AADC多核苷酸的组分模块或序列区域

	pFB CMV hAADC-1 (ITR 至 ITR)		pFB CMV hAADC-2 (ITR 至 ITR)		pFB CMV hAADC-3 (ITR 至 ITR)		pFB CMV hAADC-4 (ITR 至 ITR)	
	开始	停止	开始	停止	开始	停止	开始	停止
5' ITR	1	130	1	130	1	130	1	130
CMV 增强子	263	566	263	566	263	566	296	599
CMV 启动子	567	769	567	769	567	769	600	802
ie1 外显子 1	784	917	784	917	784	917	817	950
ie1 内含子 1	918	949	918	949	918	949	951	982
hbB 珠蛋白内含 子 2	950	1296	950	1296	950	1296	983	1329
hB 珠蛋白外显 子 3	1297	1349	1297	1349	1297	1349	1330	1382
5' UTR	--	--	--	--	--	--	1398	1468
hAADC	1374	2822	--	--	1374	2822	1473	2921
hAADC codop	--	--	1374	2816	--	--	--	--
3' UTR	--	--	--	--	2823	3221	2922	3361
hGH 聚腺苷酸信 号	2841	3317	2835	3311	3240	3716	3380	3856
3' ITR	3417	3535	3416	3534	3822	3940	3961	4079

[0362] 表4. AADC多核苷酸的组分模块或序列区域

[0363]		hAADC_1k		hAADC_2k		hAADC_3k		hAADC_4	
		开始	停止	开始	停止	开始	停止	开始	停止
	5' ITR	1	141	1	141	1	141	1	141
[0364]	CMV 增强子	245	548	245	548	245	548	245	548
	CMV 启动子	549	751	549	751	549	751	549	751
	ie1 外显子 1	766	899	766	899	766	899	766	899
	ie1 内含子 1	900	931	900	931	900	931	900	931
	hbB 珠蛋白内含子 2	932	1278	932	1278	932	1278	932	1278
	hB 珠蛋白外显子 3	1279	1331	1279	1331	1279	1331	1279	1331
	5' UTR	--	--	--	--	--	--	1347	3310
	hAADC	1356	2804	1356	2804	--	--	1422	2864
	hAADC codop	--	--	--	--	1356	2798	--	--
	3' UTR	--	--	--	--	--	--	2865	3310
	hGH 聚腺苷酸信号	2823	3299	2823	3299	2817	3293	3329	3805
	3' ITR	3357	3497	3357	3497	3351	3491	3863	4003

[0365] 表5.AADC多核苷酸的组分模块或序列区域

	hAADC_5k		hAADC_6k		hAADC_9k	
	开始	停止	开始	停止	开始	停止
5' ITR	1	145	1	141	1	130
CMV 增强子	249	552	245	548	234	537
CMV 启动子	553	755	549	751	538	740
ie1 外显子 1	770	903	766	899	755	888
ie1 内含子 1	904	935	900	931	889	920
hbB 珠蛋白内含子 2	936	1282	932	1278	921	1267
hB 珠蛋白外显子 3	1283	1335	1279	1331	1268	1320
5' UTR	--	--	--	--	--	--
hAADC			1356	2798	1345	2793
hAADC codop	1360	2802	--	--	--	--
3' UTR	--	--	2799	3203	--	--
hGH 聚腺苷酸信号	2821	3297	3222	3698	2812	3288
3' ITR	3355	3499	3756	3896	3346	3475

[0368] 实施例4. AADC多核苷酸的设计

[0369] 将AADC多核苷酸设计成最少包含编码AADC蛋白的核酸序列。

[0370] 设计后,将所述序列工程改造或合成或插入质粒或载体中并施用给细胞或生物。合适的质粒或载体是转导或转染靶细胞的任一种。

[0371] 可以使用腺相关的病毒载体(AAV)、病毒颗粒或整个病毒。

[0372] 施用导致AADC多核苷酸的加工以产生改变疾病(在该情况下,帕金森病)的病原学的AADC蛋白。

[0373] 在一个非限制性实施例中,在表6中给出了含有本发明的AADC多核苷酸的质粒。表中的这些AADC多核苷酸被含在Fastback质粒中且具有CMV启动子和编码AADC。在某些实施方案中,AADC蛋白mRNA的开放读码框是经密码子优化的(例如,codop)。

[0374] 表6. 含有AADC多核苷酸的质粒/载体。

构建体	SEQ ID NO
phAADC_1k	10
phAADC_2k	11
phAADC_3k	12
phAADC_4	13
phAADC_5k	14
phAADC_6k	15

phAADC_9k	16
-----------	----

[0376] 在表7中给出了来自表6的ITR至ITR序列。

[0377] 表7. ITR至ITR AADC多核苷酸

构建体	SEQ ID NO
phAADC_1k (ITR 至 ITR)	17
phAADC_2k (ITR 至 ITR)	18

phAADC_3k (ITR 至 ITR)	19
phAADC_4 (ITR 至 ITR)	20
phAADC_5k (ITR 至 ITR)	21
phAADC_6k (ITR 至 ITR)	22
phAADC_9k (ITR 至 ITR)	23

[0380] 实施例5. 将AADC多核苷酸组合物施用给患者进行基因治疗

[0381] 将含有AADC多核苷酸的重组AAV载体组合物输注进黑质, 和具体地, 具有帕金森病且根据本领域已知的方法鉴别为适合治疗的患者的黑质致密部 (SNpc) 和腹侧被盖区 (VTA)。

[0382] 预见到用在本文所述的方法中的一种施用方法是通过钆特醇 (磁共振 (MR) 造影剂) 的共输注和T1或T2磁共振成像 (MRI) (其可以预测随后的AADC基因表达区域) 实现的含有AADC多核苷酸的AAV载体组合物的实时对流增强递送 (RCD)。如在Richardson, 等人, 2011中所述, 通过盐水输注可以安全地确定插管放置的准确度和最初输液分布, 无需显著改变随后的示踪剂分布 (Richardson, 等人, 2011, Neurosurgery, 69 (1) :154-163)。T2RCD提供了未受伤害的脑中的实质内对流增强递送的检测, 且可以预测病毒载体输注以后随后的转基因分布。受试者经历盐水输注/T2获取, 随后立即经历在豆状核壳和脑干中的钆特醇输注/T1获取。分析分布体积和空间模式。在丘脑中在交替T2/T1获取下共输注钆特醇和AAV编码的AADC, 并将高强度区域与随后转基因表达的区域进行对比。预期分布体积与输注体积之比在盐水和钆特醇RCD之间是类似的。空间重叠应当在T2图像和T1图像之间较好地关联。第二次输液将遵循与第一次类似的时空类型, 在发生靶标外分布之前填充靶标区域。AADC表达区域应当与在RCD过程中观察到的T1和T2高强度区域相关联 (Richardson, 等人, 2011, Neurosurgery, 69 (1) :154-163)。

[0383] 已经知道大分子直接向脑实质中的对流增强递送 (CED) 二十多年。CED是表示使用压力梯度来产生脑实质内的总流动 (即在间隙液内的大分子对流, 其由穿过直接放在靶向结构中的插管输注溶液来驱动) 的术语。该方法允许治疗剂通过绕过血脑屏障和超过简单扩散而均匀地分布在大体积的脑组织中 (Richardson, 等人, 2011, Stereotact. Funct. Neurosurg. 89:141-151)。

[0384] Salegio, 等人最近证实了不同大小的纳米颗粒在啮齿类动物的CNS和NHP内的分

布,所述纳米颗粒包括胶束(~15nm大小)、AAV(~20-25nm)和脂质体(~65nm)(Salegio等人,2014,Frontiers in Neuroanatomy,第8卷,文章9:第1-8页)。简单的注射不可以衔接血管周围系统,需要专门的输注插管,其使得能够在插管的尖部处施加恒定压力,从而超过间质流体静力压并且输液可以流出进入组织中。简单的针头会产生显著的回流;因而,已经开发出抗回流的插管来抵抗该趋势。用于MRI引导的对流增强输注的平台的出现进一步细化了血管周围流的机理的理解,并且证实,脂质体的血管周围分布就时间而言是线性的,曲线的斜率在有髓区域中增加,且输注的停止会阻止分布体积的进一步扩大(Richardson,等人,2011,Stereotact.Funct.Neurosurg.89:141-151;Salegio等人,2014,Frontiers in Neuroanatomy,第8卷,文章9:第1-8页)。

[0385] 已知实质内rAAV注射会导致稳健的但是相对局部的转导。当尝试用于由神经病理学(其定位于特定解剖学区域或解剖学回路,诸如在帕金森病的情况下)引起的神经学障碍的基因治疗时,这样的局部递送方法是有利的。但是,在需要更普遍的CNS转导的治疗中,实质内注射是不实用的。可归因于先天性代谢缺陷和/或单基因缺陷的神经学障碍或者影响脊髓的运动神经元的神经学障碍的治疗可以分别要求脑或脊髓的大部分的转导。为载体开发低侵袭性的跨-BBB递送方法是一个非常重要的努力。已经报道了使用已知与不同主动转运机制(可能是受体介导的)相互作用以跨BBB运输蛋白的分子的众多尝试具有不同的结果。鉴于可得到的大量AAV血清型,一种或多种血清型可能结合能够跨BBB运输AAV衣壳的细胞输入受体(Manfredsson,等人,2009,“AAV9:a potential blood-brain barrier buster.”Molecular Therapy 17(3):403-405)。

[0386] 载体和立体定位输注

[0387] 立体定位方案可以用于通过外科手术递送AADC多核苷酸。尽管具有AADC缺乏的个体缺少肾上腺素和去甲肾上腺素,这些患者会在外科手术过程中维持稳定的血压和心率。在手术后计算机断层摄影术(CT)或MRI扫描中不存在显著的脑内出血。针道(如在MRI扫描上显示的)会表明向黑质致密部(SNpc)和腹侧被盖区(VTA)中的准确注射。患者将在外科手术以后约1周出院(Hwu,W.L.,等人,2012.Gene therapy for aromatic L-amino acid decarboxylase deficiency.Sci.Transl.Med.第4卷,134ra61)。

[0388] 治疗的受试者接受AAV-载体组合物载体,所述载体经由两侧输注安全地递送至黑质致密部(SNpc)和腹侧被盖区(VTA),或可替换地,进入纹状体内(进入尾状核和豆状核壳),或进入底丘脑核(STN),例如任选地使用FDA批准的为临床应用专门设计的SMARTFLOW®神经室插管(SurgiVision,Inc.),用或不用CLEARPOINT®系统辅助来帮助主治神经外科医生靶向和观察治疗剂在脑中的递送(参见,例如,San Sebastian,等人,2014,Mol.Ther.Methods Clin.Dev.3:14049;参见,例如,Feng和Maguire-Zeiss,2010,CNS Drugs 24(3):177-192)。

[0389] 例如,在外科手术过程中,在黑质致密部(SNpc)和腹侧被盖区(VTA)中确定两个靶标点,它们在背外侧方向上彼此充分分离并在磁共振图像上鉴别出来。在颅骨的每侧钻一个钻孔,穿过所述钻孔经由双道插入途径将载体注射进两个靶标点。制备含有AAV-载体的溶液至 $1.5 \times 10^{12}$ 载体基因组/ml的浓度,并以 $1 \mu\text{l}/\text{min}$ 注射 $50 \mu\text{l}/\text{点}$ 的溶液;每个患者接受AAV-载体构建体的 $3 \times 10^{11}$ 个载体基因组。

[0390] 通过在不同血清稀释度测量HEK293细胞中的 $\beta$ -半乳糖苷酶活性来确定针对AAV2

的中和抗体滴度,所述HEK293细胞用 $5 \times 10^3$ 个载体基因组/细胞的表达 $\beta$ -半乳糖苷酶的AAV2载体转导。

[0391] PET

[0392] 在外科手术以前6天和在基因转移以后1个月和6个月,在具有FMT的PET成像上评估黑质中的AADC表达水平。所有患者在PET之前18小时停用多巴胺能药物,并在FMT注射之前1小时口服2.5mg/kg的卡比多巴。随后,将在盐水中的0.12mCi/kg的FMT输入肘前静脉中,并得到90-分钟动态获取序列。将PET和磁共振成像数据用融合处理程序(Syntegra; Philips, Amsterdam, 荷兰)共登记以产生融合图像。在示踪剂注射以后80-90分钟之间计算在黑质纹状体途径中抽取的目标体积内的放射活性。使用黑质与纹状体的放射活性比率评估从基线至24周的黑质纹状体途径FMT摄取的变化。

[0393] 统计分析

[0394] 使用Studentt-检验(成对分析)对比在基线时和基因转移以后6个月的值。认为 $< 0.05$ 的双侧P值指示显著差异。将具有P值的Bonferroni校正的双因素方差分析用于对左旋多巴的短持续时间应答(参见,例如,Muramatsu,等人,2010,“A phase I study of aromatic L-amino acid decarboxylase gene therapy for Parkinson's disease.” Mol. Ther. 18:1731-1735)。

[0395] 可以监测AAV-载体组合物的两侧施用(使用实时图像引导的向帕金森病受试者的脑中的输注)的安全性和耐受性直到外科手术9个月或以后。在不诱导任何不良作用的情况下会实现靶向的区域(黑质致密部(SNpc)和腹侧被盖区(VTA))的广覆盖度和在纹状体中的普遍AADC蛋白分布。

[0396] 生长和运动技能的变化:患者在基因转移以后在治疗后1年内会增加重量并表现出他们的运动评分的提高。在基因转移以后3-6个月测量重量。所有患者最初具有在Alberta婴儿运动量表(Alberta Infant Motor Scale,AIMS)上的0原始评分和Peabody发育运动量表(Peabody Developmental Motor Scale第2版,PDMS-II)的非常低的原始评分。基因转移以后,所有患者表现出他们在这2个量表上的原始评分的连续增加,这指示,他们的运动功能已经改善。婴幼儿综合发育清单(Comprehensive Developmental Inventory for Infants and Toddlers,CDIIT)涵盖了认知和运动发育。所有患者在基因转移之前表现出低的原始CDIIT评分,随后评分的增加证实了运动和认知功能的改善。

[0397] 基因转移以后的主观改善

[0398] 为了记录更难以量化的症状,要求患者的配偶、监护人或护理人在研究结束时填写问卷调查。眼动危象的症状将减轻,且例如眼睛偏差和睡眠破坏是基因治疗以后可能仍然保留的眼动危象的一些轻度症状。受试者可能经历增加的情绪稳定性和/或出汗和过热(在热气候中体温不稳定性的一种常见表现)的一些改善。不存在可检测的心率变异性异常,如在基因转移之前或之后通过24小时Holter监测所评估的。在基因治疗之前,卧床不起且不能表现出自发移动的患者在基因转移以后1-2周可能表现出较不严重的上睑下垂(上眼睑的下垂)。根据以前的研究,运动障碍可能发生在基因转移以后1个月,但是在观察到运动障碍的减轻以后,运动发育将开始(Hwu,W.L.,等人,2012.Gene therapy for aromatic L-amino acid decarboxylase deficiency.Sci.Transl.Med.第4卷,134ra61)。受试者可能表现出例如在3个月以后增加的头部控制,在6-9个月以后有支撑地就坐,在13个月以后

从俯卧位坐起来,和在基因转移以后16个月抓住玩具和有支撑地站立。抗-AAV2抗体在基因治疗之前在患者中应当是阴性的,且滴度可能在基因转移以后轻微增加。

[0399] PET扫描和CSF分析

[0400] 为治疗的患者完成了PET扫描和CSF分析。基因转移以后6个月,PET扫描将揭示在组合的(右和左)治疗部位中6-[18F]氟多巴(FDOPA)的摄取从基线增加。CSF分析将揭示高草香酸(HVA,多巴胺的一种代谢物)和5-羟基吲哚乙酸(HIAA,血清素的一种代谢物)的水平增加。但是,L-DOPA和3-O-甲基多巴的水平可能保持升高(Hwu,W.L.,等人,2012.Gene therapy for aromatic L-amino acid decarboxylase deficiency.Sci.Transl.Med.第4卷,134ra61)。

[0401] 实施例6.施用AADC多核苷酸

[0402] 使用在实施例5中描述的施用方法,将含有AADC多核苷酸的重组AAV载体组合物输入具有帕金森病的患者的豆状核壳中。在表8中描绘了剂量、患者的数目和体积。

[0403] 表8. 研究设计

[0404]

研究编号	患者的数目	剂量	体积
1	6	$3 \times 10^{11}$ vg	100ul/豆状核壳
2	6	$9 \times 10^{11}$ vg	300ul/豆状核壳
3	10	$2.3 \times 10^{11}$ vg	100ul/豆状核壳
4	10	$7.5 \times 10^{11}$ vg	100ul/豆状核壳
5	5	$7.5 \times 10^{11}$ vg	450ul/豆状核壳
6	直到20	$1.4 \times 10^{12}$ vg	直到900ul/豆状核壳
7	直到20	$4.8 \times 10^{12}$ vg	直到900ul/豆状核壳
8	直到20	$8.8 \times 10^{12}$ vg	直到900ul/豆状核壳

[0405] 在研究过程中,评价了含有AADC多核苷酸的重组腺伴随病毒(AAV)载体组合物在诊断出帕金森病的人患者中的输注的安全性和耐受性。在手术前和手术后6个月中每个月使用多种量度评价患者,所述量度包括总Systemia量表(Global Systemia Scale,GDS)(参见Comella,等人,2003,Movement Disorders,18(3):303-312)、L-DOPA攻毒试验、UPDRS评分、运动状态日记和实验室试验。通过使用将一天分成半小时区段的日记,患者的护理人员将记录他们在接收之前4天和在接收至研究场所以后6个月时的另外4天的运动。训练患者的护理人员以将受试者的状况评定为睡觉、不动、没有费力运动障碍的活动、或具有费力运动障碍的活动。计算在这些类别中的每一种中花费的总小时数,并在组之间对比基线和6个月评分之间的差异。在基线和基因转移以后6个月评价对左旋多巴的短持续时间应答;受试者在20小时以后与25mg苳丝肼一起口服100mg左旋多巴,没有多巴胺能药物。在基线和左旋多巴摄入以后30分钟、1、2、3和4小时,评估基于GDS的运动症状和血浆左旋多巴浓度(参见,例如,Muramatsu,等人,2010,“A phase I study of aromatic L-amino acid decarboxylase gene therapy for Parkinson’s disease.”Mol.Ther.18:1731-1735)。

[0406] 实施例7.AADC多核苷酸的体内施用

[0407] 通过两侧纹状体内(intrastriation)(10ul/侧)以 $2 \times 10^{12}$ vg/ml的剂量水平将两种含有AADC多核苷酸的重组AAV载体组合物(质粒SEQ ID NO:10和12;ITR至ITR SEQ ID NO:17和19)(一种对照和一种标准品)施用给大鼠(n=5)。在4和8周以后通过ELISA确定AADC在

大鼠纹状体中的表达。由于输注部位之间的可变递送,在动物之间和半球之间看到变化。两种构建体都表达AADC,但是phAADC\_3k构建体(质粒SEQ ID NO:12;ITR至ITR SEQ ID NO:19)表现出与标准构建体相比多达200%的表达增加。

[0408] 实施例8.AADC多核苷酸的剂量应答研究

[0409] 将5种不同剂量水平(范围从 $1 \times 10^{11}$ vg/ml至 $1 \times 10^{13}$ vg/ml)的含有AADC多核苷酸的重组AAV载体(质粒SEQ ID NO:10;ITR至ITR SEQ ID NO:17)的组合物和对照施用给6-OHDA损害的大鼠。在组合物的递送之前和之后(第3周和第4周)定量对低剂量左旋多巴施用的行为应答。给药后5周,进行尸检并在离体纹状体组织测定中测量AADC酶活性,并通过免疫组织化学(IHC)染色确定AADC在脑中的分布。

[0410] 实施例9.空颗粒对纹状体内转导的影响

[0411] 以0%完整、50%完整、85%完整或99%完整,给成年大鼠(n=6)施用不同比率的完整:空载体颗粒。在纹状体内施用恒定剂量和体积(5ul和 $1 \times 10^{10}$ vg)的含有AADC多核苷酸的重组AAV载体(质粒SEQ ID NO:10;ITR至ITR SEQ ID NO:17)。施用后4周评价大鼠。低载体剂量导致有限的AADC载体表达。颗粒的分布体积显示在表9(ELISA)中,且AADC表达的纹状体水平显示在表10(组织学)中。

[0412] 表9.分布体积

完整 AAV2-AADC 颗粒与空衣壳的%比率	近似分布体积(mm <sup>3</sup> )
50:50	2
70:30	2.4
85:15	2.5
100:0	3

[0414] 表10.纹状体水平

AAV2-AADC颗粒的%完整	AADC pg/ug蛋白
0	0.4
52	1.1
58	1.7
83	2
>99	2.1

[0416] 分布对于所有组而言都是可比较的。相对低的载体剂量导致有限的AADC表达。还存在用>30%的空颗粒降低AADC表达水平的趋势。

[0417] 尽管已经就几个描述的实施方案而言相当详尽地且相当特定地描述了本发明,但是无意将本发明限于任何这样的细节或实施方案或任何具体实施方案,而是应当参考所附权利要求来解释本发明,从而考虑到现有技术提供这类权利要求的最广泛的可能解释,并因此有效地包括本发明的预期范围。

[0418] 在本文中提及的所有出版物、专利申请、专利和其它参考文献通过引用整体并入。

如果出现矛盾,以本说明书及其中的定义为准。另外,段落标题、材料、方法和实施例仅仅是示例性的,且无意成为限制性的。

## 序列表

<110> 沃雅戈治疗公司 (VOYAGER THERAPEUTICS, INC.)

<120> 用于治疗帕金森病的AADC多核苷酸

<130> 2013692US01

<140> PCT/US2015/059201

<141> 2015-11-05

<150> 62/243,537

<151> 2015-10-19

<150> 62/199,578

<151> 2015-07-31

<150> 62/155,692

<151> 2015-05-01

<150> 62/075,298

<151> 2014-11-05

<160> 23

<170> PatentIn 3.5版

<210> 1

<211> 480

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 1

```

Met Asn Ala Ser Glu Phe Arg Arg Arg Gly Lys Glu Met Val Asp Tyr
1           5           10           15
Val Ala Asn Tyr Met Glu Gly Ile Glu Gly Arg Gln Val Tyr Pro Asp
           20           25           30
Val Glu Pro Gly Tyr Leu Arg Pro Leu Ile Pro Ala Ala Ala Pro Gln
           35           40           45
Glu Pro Asp Thr Phe Glu Asp Ile Ile Asn Asp Val Glu Lys Ile Ile
           50           55           60
Met Pro Gly Val Thr His Trp His Ser Pro Tyr Phe Phe Ala Tyr Phe
65           70           75           80
Pro Thr Ala Ser Ser Tyr Pro Ala Met Leu Ala Asp Met Leu Cys Gly
           85           90           95
Ala Ile Gly Cys Ile Gly Phe Ser Trp Ala Ala Ser Pro Ala Cys Thr
           100          105          110
Glu Leu Glu Thr Val Met Met Asp Trp Leu Gly Lys Met Leu Glu Leu
           115          120          125
Pro Lys Ala Phe Leu Asn Glu Lys Ala Gly Glu Gly Gly Gly Val Ile

```





ttctaatact ttccctaatac tctttctttc aggcaataa tgatacaatg tatcatgcct 1740  
ctttgcacca ttctaaagaa taacagtgat aatttctggg ttaaggcaat agcaatattt 1800  
ctgcatataa atatttctgc atataaattg taactgatgt aagaggtttc atattgctaa 1860  
tagcagctac aatccagcta ccattctgct tttattttat ggttgggata aggctggatt 1920  
attctgagtc caagctaggc ccttttgcta atcatgttca tacctcttat cttcctccca 1980  
cagctcctgg gcaacgtgct ggtctgtgtg ctggcccatc actttggcaa agaattggga 2040  
ttcgaacatc ggccgccacc atgaacgcaa gtgaattccg aaggagaggg aaggagatgg 2100  
tggattacgt ggccaactac atggaaggca ttgagggacg ccaggtctac cctgacgtgg 2160  
agccccgggta cctgcggccg ctgatccctg ccgctgcccc tcaggagcca gacacgtttg 2220  
aggacatcat caacgacgtt gagaagataa tcatgcctgg ggtgacgcac tggcacagcc 2280  
cctacttctt cgcctaactc cccaactgcca gctcgtaccg ggccatgctt gcggacatgc 2340  
tgtgcggggc cattggetgc atcggettct cctgggcggc aagcccagca tgcacagagc 2400  
tggagactgt gatgatggac tggetcggga agatgctgga actaccaaag gcatttttga 2460  
atgagaaaagc tggagaaggg ggaggagtga tccaggaag tgccagtga gccaccctgg 2520  
tggccctgct ggccgctcgg accaaagtga tccatcgct gcaggcagcg tccccagagc 2580  
tcacacaggc cgctatcatg gagaagctgg tggcttactc atccgatcag gcacactcct 2640  
cagtggaaaag agctgggtta attggtggag tgaattaaa agccatcccc tcagatggca 2700  
acttcgcat gcgtgcgtct gccctgcagg aagccctgga gagagacaaa gcggctggcc 2760  
tgattccttt ctttatggtt gccaccctgg ggaccacaac atgctgctcc tttgacaatc 2820  
tcttagaagt cggctctatc tgcaacaagg aagacatag gctgcacgtt gatgcagcct 2880  
acgcaggcag tgcatcctc tgccctgagt tccggcact tctgaatgga gtggagtttg 2940  
cagattcatt caactttaat cccacaaat ggctattggt gaattttgac tgttctgcca 3000  
tgtgggtgaa aaagagaaca gacttaacgg gagcctttag actggacccc acttacctga 3060  
agcacagcca tcaggattca gggcttatca ctgactaccg gcattggcag ataccactgg 3120  
gcagaagatt tcgctctttg aaaatgtggt ttgtatttag gatgtatgga gtcaaaggac 3180  
tgcaggctta tatccgcaag catgtccagc tgtcccatga gtttgagtca ctggtgcgcc 3240  
aggatccccg ctttgaaatc tgtgtggaag tcattctggg gcttgtctgc tttcggctaa 3300  
agggttccaa caaagtgaat gaagctctc tgcaaagaat aaacagtgcc aaaaaatcc 3360  
acttggttcc atgtcacctc agggacaagt ttgtctgcg ctttgccatc tgttctcgca 3420  
cggtggaatc tgcccatgtg cagcgggctt gggaacacat caaagagctg gcggccgacg 3480  
tgctgcgagc agagaggag taggagttag ctgctcgaga gatctacggg tggcatccct 3540  
gtgaccctc cccagtgcct ctctggccc tggaagtgc cactccagtg cccaccagcc 3600  
ttgtcctaat aaaattaagt tgcatcattt tgtctgacta ggtgtcctc tataatatta 3660  
tggggtggag gggggtggta tggagcaagg ggcaagtgg gaagacaacc tgtagggcct 3720  
gcggggtcta ttgggaacca agctggagtg cagtggcaca atcttggctc actgcaatct 3780  
ccgctcctg ggttcaagcg attctctgc ctcagctcc cgagttgtt ggattccagg 3840  
catgcatgac caggctcagc taatttttgt ttttttgta gagacggggt ttcaccatat 3900  
tggccaggct ggtctccaac tcctaactc aggtgatcta cccacctgg cctcccaat 3960  
tgctgggatt acaggcgtga accactgctc ccttcctgt cttctgatt ttgtaggtaa 4020

ccccggacca cgtgcgacc gagcggccgc tctagagcat ggctacgtag ataagtagca 4080  
tggcgggta atcattaact acaaggaacc cctagtgatg gagttggcca ctccctctct 4140  
gcgcgctcgc tcgctcactg aggccgggcg accaaaggtc gcccgacgcc cgggcggcct 4200  
cagtgagcga gcgagcgcgc agctgcctgc aggtctgaga caataaccct gataaatgct 4260  
tcaataatgt agccaaccac tagaactata gctagagtcc tgggcaaca aacgatgctc 4320  
gccttccaga aaaccgagga tgcgaaccac ttcatccggg gtcagcacca cggcaagcg 4380  
ccgcgacggc cgaggtcttc cgatctcctg aagccagggc agatccgtgc acagcacctt 4440  
gccgtagaag aacagcaagg ccgccaatgc ctgacgatgc gtggagaccg aaaccttgcg 4500  
ctcgttcgcc agccaggaca gaaatgctc gacttcgctg ctgcccagg ttgccgggtg 4560  
acgcacaccg tggaaacgga tgaaggcacg aaccagttg acataagcct gttcggttcg 4620  
taaactgtaa tgcaagtagc gtatgcgctc acgcaactgg tccagaacct tgaccgaacg 4680  
cagcgggtgt aacggcgagc tggcggtttt catggcttgt tatgactgtt tttttgtaca 4740  
gtctatgcct cgggcatcca agcagcaagc gcgttacgcc gtgggtcgat gtttgatgtt 4800  
atggagcagc aacgatgtta cgcagcagca acgatgttac gcagcagggc agtcgcccta 4860  
aaacaaagt aggtggctca agtatgggca tcattcgac atgtaggctc ggccctgacc 4920  
aagtcaaate catgcgggct gctcttgatc ttttcgctc tgagttcgga gacgtagcca 4980  
cctactcca acatcagccg gactccgatt acctcgggaa cttgctccgt agtaagacat 5040  
tcatcgcgct tgctgccttc gaccaagaag cggttgttgg cgtctcgcg gcttacgttc 5100  
tgcccaagt tgagcagccg cgtagtgaga tctatatcta tgatctcgca gtctccggcg 5160  
agcaccggag gcagggcatt gccaccgcg tcataatct cctcaagcat gaggccaacg 5220  
cgcttggtgc ttatgtgatc tacgtgcaag cagattacgg tgacgatccc gcagtggctc 5280  
tctatacaaa gttgggcata cgggaagaag tgatgcactt tgatatcgac ccaagtaccg 5340  
ccacctaaac attcgttcaa gccgagatcg gcttcccggc cgcggagttg ttcggtaaat 5400  
tgtcacaacg ccgcgaatat agtctttacc atgcccttgg ccacgccct cttaataacg 5460  
acgggcaatt tgcacttcag aaaatgaaga gtttgctta gccataaaa aagtccagta 5520  
tgctttttca cagcataact ggactgattt cagtttaca ctattctgtc tagtttaaga 5580  
ctttattgtc atagtttaga tctattttgt tcagtttaag actttattgt ccgccacac 5640  
ccgcttacgc agggcatcca tttattactc aaccgtaacc gattttgcca gtttacgcgg 5700  
ctggctctatg cgggtgtaaa taccgcacag atgcgtaagg agaaaatacc gcatcaggcg 5760  
ctcttccgct tctcgcctca ctgactcgct gcgctcggc gttcggctgc ggcgagcgg 5820  
atcagctcac tcaaaggcgg taatacggtt atccacagaa tcaggggata acgcaggaaa 5880  
gaacatgtga gcaaaaaggc agcaaaaaggc caggaaccgt aaaaaggccg cgttgctggc 5940  
gtttttccat aggtccgcc cccctgacga gcatcaaaa aatcgacgct caagtcagag 6000  
gtggcgaaac ccgacaggac tataaagata ccaggcgttt ccccctgaa gctccctcgt 6060  
gcgctctcct gtccgaccc tgccgcttac cggataactg tccgccttc tcccttcggg 6120  
aagcgtggcg ctttctcata gctcacgctg taggtatctc agttcgggtg aggtcgttcg 6180  
ctccaagctg ggctgtgtgc acgaacccc cgttcagccc gaccgctgcg cttatccgg 6240  
taactatcgt cttgagtcca acccgtaag acacgactta tcgccactgg cagcagccac 6300  
tggtaacagg attagcagag cgaggtatgt aggcggtgct acagagttct tgaagtgggtg 6360

gcctaactac ggctacacta gaagaacagt atttggatc tgcgctctgc tgaagccagt 6420  
 taccttcgga aaaagagttg gtagctcttg atccggcaaa caaaccaccg ctggtagcgg 6480  
 tggttttttt gtttgcaagc agcagattac gcgcagaaaa aaaggatctc aagaagatcc 6540  
 tttgatcttt tctacgggggt ctgacgctca gtggaacgaa aactcacgtt aagggatttt 6600  
 ggtcatgaga ttatcaaaaa ggatcttcac ctagatcctt ttaaattaaa aatgaagttt 6660  
 taaatcaatc taaagtatat atgagtaaac ttggtctgac agttaccaat gcttaatcag 6720  
 tgaggcacct atctcagcga tctgtctatt tcgttcatcc atagttgcct gactccccgt 6780  
 cgtgtagata actacgatac gggagggcct accatctggc cccagtgtcg caatgatacc 6840  
 gcgagaccca cgctcaccgg ctccagattt atcagcaata aaccagccag ccggaagggc 6900  
 cgagcgcaga agtggctctg caactttatc cgctccatc cagtctatta attgttgccg 6960  
 ggaagctaga gtaagtagtt cgccagttaa tagtttgcgc aacgttggtg ccattgctac 7020  
 aggcatcgtg gtgtcacgct cgctgtttgg tatggcttca ttcagctccg gttcccaacg 7080  
 atcaaggcga gttacatgat ccccatggtt gtgcaaaaa gcggttagct ccttcggctc 7140  
 tccgatcgtt gtcagaagta agttggccgc agtgttatca ctcatggtta tggcagcact 7200  
 gcataattct cttactgtca tgccatccgt aagatgcttt tctgtgactg gtgagtactc 7260  
 aaccaagtca ttctgagaat agtgtatgcg gcgaccgagt tgctcttgcc cggcgtcaat 7320  
 acgggataat accgcgccac atagcagaac tttaaaagtg ctcatcattg gaaaacgttc 7380  
 ttcggggcga aaactctcaa ggatcttacc gctgttgaga tccagttcga tgtaaccac 7440  
 tcgtgcacc aactgatctt cagcatcttt tactttcacc agcgtttctg ggtgagcaaa 7500  
 aacaggaagg caaaatgccg caaaaaagg aataaggcg acacggaat gttgaatact 7560  
 catactcttc ctttttcaat attattgaag catttatcag ggttattgtc tcatgagcgg 7620  
 atacatattt gaatgtattt agaaaaataa acaaataggg gttccgcgca catttccccg 7680  
 aaaagtgcca cctaaattgt aagcgtaat attttgtaa aattcgcgtt aaatttttgt 7740  
 taaatcagct cattttttaa ccaataggcc gaaatcggca aatccctta taaatcaaaa 7800  
 gaatagaccg agatagggtt gagtgttggt ccagtttggg acaagagtcc actattaaag 7860  
 aacgtggact ccaacgtcaa agggcagaaa accgtctatc agggcgatgg cccactacgt 7920  
 gaaccatcac ctaatcaag ttttttgggg tcgaggtgcc gtaaagcact aaatcggaac 7980  
 cctaaaggga gccccgatt tagagcttga cggggaaagc cggcgaacgt ggcgagaaag 8040  
 gaagggaaga aagcgaag agcgggcgct agggcgctgg caagtgtagc ggtcacgctg 8100  
 cgcgtaacca ccacaccgc cgcgcttaat gcgccgtac agggcgcgtc 8150  
 <210> 3  
 <211> 8149  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)  
 <220>  
 <223> 人工序列的描述: 合成的多核苷酸  
 <400> 3  
 cattcgcct tcaggctgca aataagcgtt gatattcagt caattacaaa cattaataac 60  
 gaagagatga cagaaaaatt ttattctgt gacagagaaa aagtagccga agatgacggt 120

ttgtcacatg gagttggcag gatgtttgat taaaacata acaggaagaa aaatgccccg 180  
 ctgtgggscgg acaaaatagt tgggaactgg gaggggtgga aatggagttt ttaaggatta 240  
 tttagggag agtgacaaaa tagatgggaa ctgggtgtag cgtcgtaac taatacga 300  
 attaaaaatg acaaaatagt ttggaactag atttactta tctggttcgg atctcctagg 360  
 cgatatcagt gatcagatcc agacatgata agatacattg atgagtttg acaaacaca 420  
 actagaatgc agtgaaaaa atgctttatt tgtgaaattt gtgatgctat tgctttattt 480  
 gtaaccatta taagctgcaa taaacaagt aacaacaaca attgcattca tttatgttt 540  
 caggttcagg gggagggtg ggaggttttt taaagcaagt aaaacctcta caaatgtgt 600  
 atggctgatt atgatcctct agtacttctc gacaagctta cattattgaa gcatttatca 660  
 gggttattgt ctacagacctg caggcagctg cgcgctcgtc cgctcactga ggccgccccg 720  
 gcaaaagccc ggctcgggc gacctttggt cgccggcct cagtgagcga gcgagcgcgc 780  
 agagagggag tggccaactc catcactagg gtttcttgt agttaatgat taaccgcca 840  
 tgctacttat ctacgtagcc atgctctaga gcggccgac gcgtggagct agttattaat 900  
 agtaatcaat tacggggtca ttagttcata gccatataat ggagttccgc gttacataac 960  
 ttacggtaaa tgccccgct ggctgaccgc ccaacgacc ccgccattg acgtcaataa 1020  
 tgacgtatgt tcccatagta acgtcaatag ggactttcca ttgacgtcaa tgggtggagt 1080  
 atttacggta aactgccac ttggcagtac atcaagtga tcatatgcca agtaccccc 1140  
 ctattgacgt caatgacggt aaatggccc cctggcatta tgcccagtac atgaccttat 1200  
 gggactttcc tacttggcag tacatctacg tattagtcat cgctattacc atgggtgatgc 1260  
 ggttttggca gtacatcaat gggcgtggat agcggtttga ctcacgggga tttccaagtc 1320  
 tccacccat tgacgtcaat gggagtttgt tttgaccaa aatcaacggg actttccaaa 1380  
 atgtcgtaac aactccgcc cattgacgca aatgggcgtt aggcgtgtac ggtgggaggt 1440  
 ctatataagc agagctcgtt tagtgaaccg tcagatgcc tggagacgcc atccacgctg 1500  
 ttttgacctc catagaagac accgggaccg atccagcctc cgcggattcg aatcccgcc 1560  
 gggaacggtg cattggaacg cggattcccc gtgccaagag tgacgtaagt accgcctata 1620  
 gagtctatag gccacaaaa aatgctttct tcttttaata tactttttg tttatcttat 1680  
 ttctaatact ttccctaact tctttcttc agggcaataa tgatacaatg tatcatgcct 1740  
 ctttgacca ttctaaagaa taacagtgat aatttctggg ttaaggcaat agcaatattt 1800  
 ctgcatataa atatttctgc atataaattg taactgatgt aagaggtttc atattgctaa 1860  
 tagcagctac aatccagcta ccattctgct tttattttat ggttgggata aggctggatt 1920  
 attctgagtc caagctagge cttttgcta atcatgttca tacctcttat cttctccca 1980  
 cagctcctgg gcaacgtgct ggtctgtgtg ctggccatc actttggcaa agaattggga 2040  
 ttcgaacatc ggccgccacc atgaacgcca gcgagttcag gaggaggggc aaggagatgg 2100  
 tggactacgt ggccaactac atggagggca tcgagggcag gcaggtgtac cccgacgtgg 2160  
 agccccgcta cctgagggcc ctgatcccc cgccgcccc ccaggagccc gacaccttcg 2220  
 aggacatcat caacgacgtg gagaagatca tcatgcccgg cgtgaccac tggcacagcc 2280  
 cctacttctt cgctacttc cccaccgcca gcagctacc cgccatgctg gccgacatgc 2340  
 tgtgcggcgc catcggtgc atcggttca gctgggccc cagccccgc tgcaccgagc 2400  
 tggagaccgt gatgatggac tggctgggca agatgctgga gctgccaag gccttctga 2460

acgagaaggc cggcgagggc ggcggcgtga tccagggcag cgccagcgag gccaccctgg 2520  
 tggccctgct ggccgccagg accaaggtga tccacaggct gcaggccgcc agccccgagc 2580  
 tgaccaggc cgccatcatg gagaagctgg tggcctacag cagcgaccag gccacagca 2640  
 gcgtggagag ggccggcctg atcggcggcg tgaagctgaa ggccatcccc agcgacggca 2700  
 acttcgccat gagggccagc gccctgcagg aggccctgga gagggacaag gccgccggcc 2760  
 tgatcccctt cttcatggtg gccaccctgg gcaccaccac ctgctgcagc ttcgacaacc 2820  
 tgctggaggt gggccccatc tgcaacaagg aggacatctg gctgcacgtg gacgccgcct 2880  
 acgccggcag cgcttcatc tgccccgagt tcaggcacct gctgaacggc gtggagttcg 2940  
 ccgacagctt caacttcaac cccacaagt ggctgctggt gaacttcgac tgcagcgcca 3000  
 tgtgggtgaa gaagaggacc gacctgaccg gcgccttcag gctggacccc acctacctga 3060  
 agcacagcca ccaggacagc ggctgatca ccgactacag gactggcag atccccctgg 3120  
 gcaggaggtt caggagcctg aagatgtggt tcgtgttcag gatgtacggc gtgaagggcc 3180  
 tgcaggccta catcaggaag cacgtgcagc tgagccacga gttcgagagc ctggtgaggc 3240  
 aggaccccag gttcgagatc tgcgtggagg tgatcctggg cctggtgtgc ttcaggctga 3300  
 agggcagcaa caaggtgaac gaggccctgc tgcagaggat caacagcgcc aagaagatcc 3360  
 acctggtgcc ctgccacctg agggacaagt tcgtgctgag gttcgccatc tgcagcagga 3420  
 ccgtggagag cgcccacgtg cagagggcct gggagcacat caaggagctg gccgccgacg 3480  
 tgctgagggc cgagagggag tgagctgctc gagagatcta cgggtggcat ccctgtgacc 3540  
 cctccccagt gcctctcctg gccctggaag ttgccactcc agtggccacc agccttgtcc 3600  
 taataaaatt aagttgcatc attttgtctg actaggtgtc cttctataat attatggggt 3660  
 ggaggggggt ggtatggagc aaggggcaag ttgggaagac aacctgtagg gcctgcgggg 3720  
 tctattggga accaagctgg agtgcagtgg cacaatcttg gctcactgca atctccgct 3780  
 cctgggttca agcgattctc ctgcctcagc ctcccagtt gttgggattc caggcatgca 3840  
 tgaccaggct cagctaattt ttgtttttt gtagagacg gggtttcacc atattggcca 3900  
 ggctggtctc caactcctaa tctcaggtga tctaccacc ttggcctccc aaattgctgg 3960  
 gattacaggc gtgaaccact gctcccttc ctgtccttct gattttgtag gtaacgtaac 4020  
 cccggaccac gtgcggaccg agcggccgct ctagagcatg gctacgtaga taagtagcat 4080  
 ggcgggttaa tcattaacta caaggaacc ctagtgatgg agttggccac tccctctctg 4140  
 cgcgctcgct cgctcactga ggccgggca ccaaagctcg cccgacgccc ggcggcctc 4200  
 agtgagcgag cgagcgcgca gctgctgca ggtctgagac aataaccctg ataatgctt 4260  
 caataatgta gccaacact agaactatag ctagagtctt gggcgaaca acgatgctcg 4320  
 ccttcagaa aaccgaggat gcgaaccact tcatecgggg tcagcaccac cggcaagcgc 4380  
 cgcgacggcc gaggtcttc gatctctga agccagggca gatccgtgca cagcaccttg 4440  
 ccgtagaaga acagcaaggc cgccaatgcc tgacgatgcg tggagaccga aaccttgccg 4500  
 tcgttcgcca gccaggacag aatgcctcg acttcgctgc tgcccaaggt tgccgggtga 4560  
 cgcacaccgt ggaaacggat gaaggcacga acccagttga cataagcctg ttcggttcgt 4620  
 aaactgtaat gcaagtagcg tatgcgctca cgcaactggt ccagaacctt gaccgaacgc 4680  
 agcggtggtg acggcgcagt ggcggttttc atggcttgtt atgactgttt ttttgtacag 4740  
 tctatgcctc gggcatccaa gcagcaagcg cgttacgccg tgggtcgatg tttgatgtta 4800

tggagcagca acgatgttac gcagcagcaa cgatgttacg cagcaggca gtcgccctaa 4860  
aacaaagtta ggtggctcaa gtatgggcat cattcgcaca tgtaggctcg gccctgacca 4920  
agtcaaatcc atgcgggctg ctcttgatct tttcggctgt gagttcggag acgtagccac 4980  
ctactcccaa catcagccgg actccgatta cctcgggaac ttgctccgta gtaagacatt 5040  
catcgcgctt gctgccttcg accaagaagc ggttgttggc gctctcgcgg cttacgttct 5100  
gcccaagttt gagcagccgc gtagtgagat ctatatctat gatctcgcag tctccggcga 5160  
gcaccggagg cagggcattg ccaccgcgct catcaatctc ctcaagcatg aggccaacgc 5220  
gcttggtgct tatgtgatct acgtgcaagc agattacggt gacgatcccg cagtggctct 5280  
ctatacaaaag ttgggcatac gggaagaagt gatgcacttt gatatcgacc caagtaccgc 5340  
cacctaacaa ttcgittcaag ccgagatcgg ctccccggcc gcggagtgtg tcggtaaatt 5400  
gtcacaacgc cgcaatata gtctttacca tgcccttggc cacgcccctc tttatacga 5460  
cgggcaattt gcacttcaga aatgaagag tttgctttag ccataacaaa agtccagtat 5520  
gctttttcac agcataactg gactgatttc agtttacaac tattctgtct agtttaagac 5580  
tttattgtca tagtttagat ctattttgtt cagtttaaga ctttattgtc cgccccacacc 5640  
cgcttacgca gggcatccat ttattactca accgtaaccg attttgccag gttacgcggc 5700  
tggctatgc ggtgtgaaat accgcacaga tgcgtaagga gaaaataccg catcaggcgc 5760  
tcttccgctt cctcgtcac tgactcgtg cgctcggctg ttcggctgcg gcgagcggta 5820  
tcagctcact caaaggcggc aatacggta tccacagaat caggggataa cgcaggaaag 5880  
aacatgtgag caaaaggcca gcaaaaggcc aggaaccgta aaaaggccgc gttgctggcg 5940  
ttttccata ggctccgcc ccctgacgag catcacaana atcgacgctc aagtcagagg 6000  
tggcgaacc cgacaggact ataaagatac caggcgttc ccctggaag ctccctcgtg 6060  
cgctctcctg ttccgaccct gccgcttacc ggatacctgt ccgctttct cccttcggga 6120  
agcgtggcgc tttctcatag ctacgctgt aggtatctca gttcggtgta ggtcgttcgc 6180  
tccaagctgg gctgtgtgca cgaaccccc gttcagcccg accgctgcgc cttatccggt 6240  
aactatcgtc ttgagtcaa cccgtaaga cagacttat cgccactggc agcagccact 6300  
ggtaacagga ttagcagagc gaggtatgta ggcggtgcta cagagtctt gaagtggtag 6360  
cctaactacg gctacactag aagaacagta tttggtatct gcgctctgct gaagccagtt 6420  
accttcggaa aaagagttg tagctcttga tccggcaaac aaaccaccgc tggtagcgg 6480  
ggttttttg tttgcaagca gcagattac gcgagaaaa aaggatctca agaagatcct 6540  
ttgatcttt ctacggggtc tgacgctcag tggaacgaaa actcacgta agggattttg 6600  
gtcatgagat tatcaaaaag gatcttacc tagatcttt taaattaaa atgaagtttt 6660  
aaatcaatct aaagtatata tgagtaaact tggctgaca gttaccaatg cttaatcagt 6720  
gaggcaccta tctcagcgat ctgtctatct cgttcatcca tagttgctg actccccgctc 6780  
gtgtagataa ctacgatacg ggagggetta ccatctggcc ccagtgtgctc aatgataccg 6840  
cgagaccac gctcaccggc tccagattta tcagcaataa accagccagc cggaagggcc 6900  
gagcgcagaa gtggtcctgc aactttatcc gcttccatcc agtctattaa ttgttgccgg 6960  
gaagctagag taagtagtcc gccagttaat agtttgccga acgttgctgc cattgctaca 7020  
ggcatcgtgg tgcacgctc gtcgtttggt atggttcat tcagctccgg ttcccaacga 7080  
tcaaggcgag ttacatgat ccccatgttg tgcaaaaag cggttagctc cttcggctct 7140

ccgatcgttg tcagaagtaa gttggccgca gtgttatcac tcatggttat ggcagcactg 7200  
 cataattctc ttactgtcat gccatccgta agatgctttt ctgtgactgg tgagtactca 7260  
 accaagtcat tctgagaata gtgtatgcgg cgaccgagtt gctcttgccc ggcgtcaata 7320  
 cgggataata ccgcgccaca tagcagaact ttaaaagtgc tcatcattgg aaaacgttct 7380  
 tcggggcgaa aactctcaag gatcttaccg ctgttgagat ccagttcgat gtaaccact 7440  
 cgtgcaccca actgatcttc agcatctttt actttcacca gcgtttctgg gtgagcaaaa 7500  
 acaggaaggc aaaaatgccg aaaaaaggga ataaggcgca cacggaaatg ttgaatactc 7560  
 atactcttcc tttttcaata ttattgaagc atttatcagg gttattgtct catgagcgga 7620  
 tacatatttg aatgtattta gaaaaataaa caaatagggg ttccgcgcac atttccccga 7680  
 aaagtgccac ctaaattgta agcgttaata tttgttaaa attcgcgtta aatTTTTgtt 7740  
 aaatcagctc atTTTTtaac caatagggcg aaatcggcaa aatcccttat aaatcaaaag 7800  
 aatagaccga gataggggtg agtgttggtc cagtttgaa caagagtcca ctattaaaga 7860  
 acgtggactc caacgtcaaa gggcgaaaaa ccgtctatca gggcgatggc cactacgtg 7920  
 aaccatcacc ctaatcaagt tttttggggt cgaggtgccg taaagcacta aatcggaacc 7980  
 ctaaaggag cccccgattt agagcttgac ggggaaagcc ggcgaacgtg gcgagaaagg 8040  
 aaggaagaa agcgaagga gcggcgcta gggcgctggc aagtgtagcg gtcacgctgc 8100  
 gcgtaaccac cacaccgcc gcgcttaatg cgccgctaca gggcgctc 8149

<210> 4

<211> 8555

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成的多核苷酸

<400> 4

cattcgccat tcaggctgca aataagcgtt gatattcagt caattacaaa cattaataac 60  
 gaagagatga cagaaaaatt tcattctgt gacagagaaa aagtagccga agatgacggt 120  
 ttgtcacatg gagttggcag gatgtttgat taaaaacata acaggaagaa aaatgccccg 180  
 ctgtgggchg acaaaaatag tgggaactgg gaggggtgga aatggagttt ttaaggatta 240  
 tttaggaag agtgacaaaa tagatgggaa ctgggtgtag cgtcgtaagc taatacgaaa 300  
 attaaaaatg acaaaaatag ttggaactag atttactta tctggttcgg atctcctagg 360  
 cgatatcagt gatcagatcc agacatgata agatacattg atgagtttg acaaacaca 420  
 actagaatgc agtgaaaaaa atgctttatt tgtgaaattt gtgatgctat tgctttattt 480  
 gtaaccatta taagctgcaa taaacaagtt aacaacaaca attgcattca ttttatgttt 540  
 caggttcagg gggaggtgtg ggaggttttt taaagcaagt aaaacctcta caaatgtggt 600  
 atggctgatt atgatcctct agtaattctc gacaagctta cattattgaa gcatttatca 660  
 gggttattgt ctcagacctg caggcagctg cgcgctcgtc cgctcactga ggccgccccg 720  
 gcaaagcccc ggcgtcgggc gacctttggt cgccccgctt cagtgagcga gcgagcgcgc 780  
 agagagggag tggccaactc catcactagg gtttccttgt agttaatgat taaccgccca 840  
 tgctacttat ctacgtagcc atgctctaga gcggccgcac gcgtggagct agttattaat 900

agtaatcaat tacggggtca ttagttcata gcccatatat ggagttccgc gttacataac 960  
ttacggtaaa tggcccgctt ggctgaccgc ccaacgacce ccgcccattg acgtcaataa 1020  
tgacgtatgt tcccatagta acgtcaatag ggactttcca ttgacgtcaa tgggtggagt 1080  
atttacggta aactgcccac ttggcagtac atcaagtgt tcatatgcca agtacgcccc 1140  
ctattgacgt caatgacggt aatggcccc cctggcatta tgcccagtac atgaccttat 1200  
gggactttcc tacttggcag tacatctacg tattagtcac cgctattacc atggatgatgc 1260  
ggttttggca gtacatcaat gggcgtggat agcggtttga ctacgggga tttccaagtc 1320  
tccaccccat tgacgtcaat gggagtttgt ttgaccaa aatcaacggg actttccaaa 1380  
atgtcgtaac aactccgccc cattgacgca aatgggcggt aggcgtgtac ggtgggaggt 1440  
ctatataagc agagctcgtt tagtgaaccg tcagatgcc tggagacgcc atccacgctg 1500  
ttttgacctc catagaagac accgggaccg atccagcctc cgcggattcg aatcccgccc 1560  
gggaacggtg cattggaacg cggattcccc gtgccaagag tgacgtaagt accgcctata 1620  
gagtctatag gcccaaaaa aatgctttct tcttttaata tacttttttg tttatcttat 1680  
ttctaatact ttccctaact tctttcttc agggcaataa tgatacaatg tatcatgcct 1740  
ctttgcacca ttctaaagaa taacagtgat aatttctggg ttaaggcaat agcaatattt 1800  
ctgcatataa atatttctgc atataaattg taactgatgt aagaggtttc atattgctaa 1860  
tagcagctac aatccagcta ccattctgct tttattttat ggttgggata aggctggatt 1920  
attctgagtc caagctaggc ccttttgcta atcatgttca tacctcttat cttcctccca 1980  
cagctcctgg gcaacgtgct ggtctgtgtg ctggcccatc actttggcaa agaattggga 2040  
ttcgaacatc ggccgccacc atgaacgcaa gtgaattccg aaggagaggg aaggagatgg 2100  
tggattacgt ggccaactac atggaaggca ttgagggacg ccaggtctac cctgacgtgg 2160  
agccccggta cctgcggccg ctgatccctg ccgctgcccc tcaggagcca gacacgtttg 2220  
aggacatcat caacgacgtt gagaagataa tcatgcctgg ggtgacgcac tggcacagcc 2280  
cctacttctt cgcctacttc cccactgcca gctcgtacce ggccatgctt gcggacatgc 2340  
tgtgcggggc cattggctgc atcggcttct cctgggcggc aagcccagca tgcacagagc 2400  
tggagactgt gatgatggac tggctcggga agatgctgga actaccaaag gcatttttga 2460  
atgagaaaagc tggagaaggg ggaggagtga tccaggaag tgccagtga gccaccctgg 2520  
tggccctgct ggccgctcgg accaaagtga tccatcgct gcaggcagcg tccccagagc 2580  
tcacacaggc cgctatcatg gagaagctgg tggettactc atccgatcag gcacactcct 2640  
cagtggaaaag agctgggtta attggtggag tgaattaaa agccatcccc tcagatggca 2700  
acttcgcat gcgtgcgtct gccctgcagg aagccctgga gagagacaaa gcggctggcc 2760  
tgattccttt ctttatggtt gccaccctgg ggaccacaac atgctgctcc tttgacaatc 2820  
tcttagaagt cggctctatc tgcaacaagg aagacatag gctgcacgtt gatgcagcct 2880  
acgcaggcag tgcatcctc tgccctgagt tccggcactc tctgaatgga gtggagtttg 2940  
cagattcatt caactttaat ccccacaaat ggctattggt gaattttgac tgttctgcca 3000  
tgtgggtgaa aaagagaaca gacttaacgg gaccctttag actggacccc acttacctga 3060  
agcacagcca tcaggattca gggcttatca ctgactaccg gcattggcag ataccactgg 3120  
gcagaagatt tcgctctttg aaaatgtggt ttgtatttag gatgtatgga gtcaaaggac 3180  
tgcaggctta tatccgcaag catgtccagc tgtcccatga gtttgagtca ctggtgcgcc 3240

aggatccccg ctttgaatc tgtgtggaag tcattctggg gcttgtctgc tttcggctaa 3300  
agggttccaa caaagtgaat gaagctcttc tgcaaagaat aaacagtgcc aaaaaaatcc 3360  
acttggttcc atgtcacctc agggacaagt ttgtcctgcg ctttgccatc tgttctcgca 3420  
cgggtggaatc tgcccatgtg cagcgggcct gggaacacat caaagagctg gcggccgacg 3480  
tgctgcgagc agagagggag taggagtga gccagctgca ggaatcaaaa attgaagaga 3540  
gatatatctg aaaactggaa taagaagcaa ataaatatca tcctgccttc atggaactca 3600  
gctgtctgtg gcttcccatg tctttctcca aagttatcca gagggttgtg attttgtctg 3660  
cttagtatct catcaacaaa gaaatattat ttgctaatta aaaagttaat cttcatggcc 3720  
atagcttttta ttcattagct gtgatttttg ttgattaaaa cattatagat tttcatgttc 3780  
ttgcagtcat cagaagtggg aggaaagcct cactgatata ttttccaggg caatcaatgt 3840  
tcacgcaact tgaaattata tctgtggtct tcaaattgtc ttttgtcatg tggctaaatg 3900  
cctaataagc tgctcgagag atctacgggt ggcatcctg tgaccctcc ccagtgcctc 3960  
tcctggccct ggaagttgcc actccagtgc ccaccagcct tgtcctaata aaattaagtt 4020  
gcatcatttt gtctgactag gtgtccttct ataatattat ggggtggagg ggggtggtat 4080  
ggagcaaggg gcaagttggg aagacaacct gtagggcctg cggggtctat tgggaacca 4140  
gctggagtg agtggcacaa tcttggctca ctgcaatctc cgctcctgg gttcaagcga 4200  
ttctcctgcc tcagcctccc gagttgttg gattccaggc atgcatgacc aggctcagct 4260  
aatTTTTgtt tttttggtag agacggggtt tcacatatt gccaggctg gtctccaact 4320  
cctaatactca ggtgatctac ccacctggc ctccaaatt gctgggatta caggcgtgaa 4380  
ccactgctcc ctccctgtc cttctgattt tntagtaac cgtaacccc gaccacgtgc 4440  
ggaccgagcg gccgctctag agcatggcta chtagataag tagcatggcg ggttaatcat 4500  
taactacaag gaacccttag tgatggagt ggccactccc tctctgcgcg ctcgctcgct 4560  
cactgaggcc gggcgaccaa aggtcgccc acgcccgggc ggctcagtg agcgagcgag 4620  
cgcgagctg cctgcaggtc tgagacaata acctgataa atgcttcaat aatgtagcca 4680  
accactagaa ctatagctag agtctgggc gaacaaacga tgctgcctt ccagaaaacc 4740  
gaggatgcga accacttcat ccggggtcag caccaccggc aagcgccgcg acggccgagg 4800  
tcttccgac tcctgaagcc agggcagatc cgtgcacagc acctgcccgt agaagaacag 4860  
caaggccgcc aatgcctgac gatgcgtgga gaccgaaacc ttgcgctcgt tcgccagcca 4920  
ggacagaaat gcctcgactt cgctgctgcc caaggttgc gggtgacgca caccgtggaa 4980  
acggatgaag gcacgaacc agttgacata agcctgttc gttcgtaaac tgtaatgcaa 5040  
gtagcgtatg cgctcacgca actggtccag aacctgacc gaacgcagcg gtggtaacgg 5100  
cgcagtggcg gttttcatgg cttgttatga ctgtttttt gtacagtcta tgctcgggc 5160  
atccaagcag caagcgcgtt acgccgtggg tcgatgtttg atgttatgga gcagcaacga 5220  
tgttacgcag cagcaacgat gttacgcagc agggcagtc ccctaaaaca aagttaggtg 5280  
gctcaagtat gggcatcatt cgcacatgta ggctcgccc tgaccaagtc aaatccatgc 5340  
gggctgctct tgatcttttc ggtcgtgagt tcggagacgt agccacctac tccaacatc 5400  
agccggactc cgattacctc gggaacttgc tccgtagtaa gacattcatc gcgcttgctg 5460  
ccttcgacca agaagcggtt gttggcgtc tcgcggtta cgttctgccc aagtttgagc 5520  
agccgcgtag tgagatctat atctatgatc tcgcagtctc cggcgagcac cggaggcagg 5580

gcattgccac cgcgctcatc aatctcctca agcatgagge caacgcgctt ggtgcttatg 5640  
tgatctacgt gcaagcagat tacggtgacg atccccaggt ggctctctat acaaagttgg 5700  
gcatacggga agaagtgatg cactttgata tcgaccecaag taccgccacc taacaattcg 5760  
ttcaagccga gatcggcttc ccggccgcgg agttgttcgg taaattgtca caacgccgcg 5820  
aatatagtct ttacatgcc cttggccacg cccctcttta atacgacggg caatttgac 5880  
ttcagaaaaat gaagagtttg ctttagccat acaaaaagtc cagtatgctt tttcacagca 5940  
taactggact gatttcagtt tacaactatt ctgtctagtt taagacttta ttgtcatagt 6000  
ttagatctat tttgttcagt ttaagacttt attgtccgcc cacacccgct tacgcagggc 6060  
atccatttat tactcaaccg taaccgattt tgccaggtta cgcggctggg ctatgcggtg 6120  
tgaaataccg cacagatgcg taaggagaaa ataccgcac aggcgctctt ccgcttcctc 6180  
gctcactgac tcgctgcgct cggtcgttcg gctgcggcga gcggtatcag ctactcaaa 6240  
ggcgtaata cggttatcca cagaatcagg ggataacgca ggaaagaaca tgtgagcaa 6300  
aggccagcaa aaggccagga accgtaaaaa ggccgcgctt ctggcgcttt tccataggct 6360  
ccgccccct gacgagcatc acaaaaatcg acgctcaagt cagaggtggc gaaacccgac 6420  
aggactataa agataaccag cgtttcccc tggaagctcc ctgctgcgct ctctgttcc 6480  
gaccctgccg ctaccggat acctgtccgc ctttctcct tcgggaagcg tggcgctttc 6540  
tcatagctca cgctgtaggt atctcagttc ggtgtaggtc gttcgtcca agctgggctg 6600  
tgtgcacgaa cccccgttc agcccgaccg ctgcgcctta tccgtaact atcgtcttga 6660  
gtccaaccg gtaagacacg acttatgcc actggcagca gccactggta acaggattag 6720  
cagagcgagg tatgtaggcg gtgctacaga gttcttgaag tgggtgccta actacggcta 6780  
cactagaaga acagtatttg gtatctgcgc tctgctgaag ccagttacct tcgaaaaag 6840  
agttggtagc tcttgatccg gcaaaaaac caccgctggt agcgggtggt tttttgttg 6900  
caagcagcag attacgcgca gaaaaaagg atctcaagaa gatccttga tcttttctac 6960  
ggggtctgac gctcagtgga acgaaaactc acgttaaggg attttggta tgagattatc 7020  
aaaaaggatc ttcacctaga tccttttaa ttaaaaatga agttttaaat caatctaaag 7080  
tatatatgag taaacttggc ctgacagtta ccaatgctta atcagtgagg cacctatctc 7140  
agcgatctgt ctatttcggt catccatagt tgctgactc cccgtcgtgt agataactac 7200  
gatacgggag ggcttaccat ctggccccag tgctgcaatg ataccgcgag acccacgctc 7260  
accggctcca gatttatcag caataaacca gccagccgga agggccgagc gcagaagtgg 7320  
tcctgcaact ttatccgct ccatccagtc tattaattgt tgccgggaag ctagagtaag 7380  
tagttcgcca gttaatagtt tgcgcaacgt tgttgccatt gctacaggca tcgtgggtgc 7440  
acgctcgtcg tttggtagt cttcattcag ctccggttc caacgatcaa ggcgagttac 7500  
atgatcccc atgttgtgca aaaaagcggg tagctcttc ggtcctccga tcgttgtcag 7560  
aagtaagttg gccgcagtg tatcaactcat ggttatggca gactgcata attctcttac 7620  
tgtcatgcca tccgtaagat gcttttctgt gactggtgag tactcaacca agtcattctg 7680  
agaatagtg atgcggcgac cgagttgctc ttgcccggcg tcaatacggg ataataccgc 7740  
gccacatagc agaactttaa aagtgetcat cattggaaaa cgttcttcgg ggcgaaaact 7800  
ctcaaggatc ttaccgctgt tgagatccag ttcgatgtaa cccactcgtg cacccaactg 7860  
atcttcagca tcttttactt tcaccagcgt ttctgggtga gcaaaaacag gaaggcaaaa 7920

tgccgcaaaa aaggaataa gggcgacacg gaaatgttga atactcatac tcttcctttt 7980  
 tcaatattat tgaagcattt atcagggtta ttgtctcatg agcggataca tatttgaatg 8040  
 tatttagaaa aataaaciaa taggggttcc gcgcacattt ccccgaaaag tgccaccta 8100  
 attgtaagcg ttaatatattt gttaaaattc gcgttaaatt tttgttaaatt cagctcattt 8160  
 tttaaccaat aggccgaaat cggcaaaatc cttataaat caaaagaata gaccgagata 8220  
 gggttgagtg ttgttccagt ttggaacaag agtccactat taaagaacgt ggactccaac 8280  
 gtcaaagggc gaaaaaccgt ctatcagggc gatggcccac tacgtgaacc atcaccta 8340  
 tcaagttttt tggggtcgag gtgccgtaa gactaaatc ggaacccta agggagcccc 8400  
 cgatttagag cttgacgggg aaagccggcg aacgtggcga gaaaggaagg gaagaaagcg 8460  
 aaaggagcgg gcgctagggc gctggcaagt gtagcggtea cgctgcgcgt aaccaccaca 8520  
 cccgccgcgc ttaatgcgcc gctacagggc gcgtc 8555

<210> 5

<211> 8694

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成的多核苷酸

<400> 5

cattcgccat tcaggctgca aataagcgtt gatattcagt caattacaaa cattaataac 60  
 gaagagatga cagaaaaatt ttcattctgt gacagagaaa aagtagccga agatgacggt 120  
 ttgtcacatg gagttggcag gatgtttgat taaaacata acaggaagaa aatgccccg 180  
 ctgtgggcgg acaaaatagt tgggaactgg gaggggtgga aatggagttt ttaaggatta 240  
 tttagggag agtgacaaaa tagatgggaa ctgggtgtag cgctgtaagc taatacga 300  
 attaaaaatg acaaaatagt ttggaactag atttactta tctggttcgg atctcctagg 360  
 cgatatcagt gatcagatcc agacatgata agatacattg atgagtttg acaaccaca 420  
 actagaatgc agtgaaaaaa atgctttatt tgtgaaattt gtgatgctat tgctttattt 480  
 gtaaccatta taagctgcaa taaacaagtt aacaacaaca attgcattca ttttatgttt 540  
 caggttcagg gggaggtgtg ggaggttttt taaagcaagt aaaacctcta caaatgtggt 600  
 atggctgatt atgatcctct agtacttctc gacaagetta cattattgaa gcatttatca 660  
 gggttattgt ctacagacctg caggcagctg cgcgctcgt cgctcactga ggccgccccg 720  
 gcaaagcccc ggcgtcgggc gacctttggt cgcccggcct cagtgagcga gcgagcgcgc 780  
 agagaggag tgccaactc catcactagg gtttcttgt agttaatgat taaccgcca 840  
 tgctacttat ctacgtagcc atgctctaga gcggccgcaa cgcgtaaact tcgctgacga 900  
 tctgcggccg cacgcgtgga gctagttatt aatagtaac aattacggg tcatagttc 960  
 atagcccata tatggagttc cgcgttacet aacttacggt aatggcccc cctggctgac 1020  
 cgcccaacga cccccgcca ttgacgtcaa taatgacgta tgttcccata gtaacgtcaa 1080  
 tagggacttt ccatgacgt caatgggtgg agtatttac gtaaactgcc cacttggcag 1140  
 tacatcaagt gtatcatatg ccaagtacgc ccctattga cgtcaatgac ggtaaagtc 1200  
 ccgctggca ttatgcccag tacatgacct tatgggactt tcctacttgg cagtacatct 1260

acgtattagt catcgctatt accatggtga tgcggttttg gcagtacatc aatgggcgtg 1320  
 gatagcgggt tgactcacgg ggatttccaa gtctccacce cattgacgtc aatgggagtt 1380  
 tgttttgac caaaatcaac gggactttcc aaaatgtcgt aacaactccg cccattgac 1440  
 gcaaatgggc ggtaggcgtg tacggtggga ggtctatata agcagagctc gtttagtgaa 1500  
 ccgtcagatc gcctggagac gccatccacg ctgttttgac ctccatagaa gacaccggga 1560  
 ccgatccagc ctccgcggat tcgaatcccc gccgggaac gtgcattgga acgcggattc 1620  
 cccgtgccaa gagtgacgta agtaccgct atagagtcta taggcccaca aaaaatgctt 1680  
 tcttctttta atatactttt ttgtttatct tatttetaat actttcccta atctctttct 1740  
 ttcagggcaa taatgataca atgtatcatg cctctttgca ccattctaaa gaataacagt 1800  
 gataatttct gggtaaggc aatagcaata tttctgcata taaatatttc tgcatataaa 1860  
 ttgtaactga tgtaagaggt ttcatattgc taatagcagc tacaatccag ctaccattct 1920  
 gcttttattt tatggttggg ataaggettg attattctga gtccaagcta ggcccttttg 1980  
 ctaatcatgt tcatacctct tatcttctc ccacagctcc tgggcaacgt gctggtctgt 2040  
 gtgctggccc atcactttgg caaagaattg ggattcgaac atcgaattcg ggcacgaggg 2100  
 aggacagaga gcaagtcact cccggetgce ttttccact ctgacagagc ccagacacca 2160  
 tgaacgcaag tgaattccga aggagaggga aggagatggt ggattacgtg gccactaca 2220  
 tggaaggcat tgagggacgc caggtctacc ctgacgtgga gcccggttac ctgcggccgc 2280  
 tgatccctgc cgctgcccct caggagccag acacgtttga ggacatcatc aacgacgttg 2340  
 agaagataat catgcctggg gtgacgcaact ggcacagccc ctacttcttc gcctacttcc 2400  
 ccaactgccag ctctgacctg gccatgcttg cggacatgct gtgcggggcc attggctgca 2460  
 tcggcttctc ctgggcggca agcccagcat gcacagagct ggagactgtg atgatggact 2520  
 ggctcgggaa gatgctggaa ctaccaaagg catttttgaa tgagaaagct ggagaagggg 2580  
 gaggagtgat ccaggaagt gccagtgaag ccacctggt ggccctgctg gccgctcgga 2640  
 ccaaagtgat ccatcggtg caggcagcgt cccagagct cacacaggcc gctatcatgg 2700  
 agaagctggt ggcttactca tccgatcagg cacactctc agtggaaaga gctgggtaa 2760  
 ttggtggagt gaaattaaaa gccatcccct cagatggcaa cttcgccatg cgtgctctg 2820  
 ccctgcagga agccctggag agagacaaag cggtggcct gattcctttc tttatggtt 2880  
 ccacctggg gaccacaaca tgctgtctc ttgacaatct cttagaagtc gtcctatct 2940  
 gcaacaagga agacatatg ctgcacgtt atgcagccta cgcaggcagt gcattcatct 3000  
 gccctgagtt ccggcacct ctgaatggag tggagtttg agattcattc aactttaatc 3060  
 cccacaaatg gctattggtg aattttgact gttctgcat gtgggtgaaa aagagaacag 3120  
 acttaacggg agcctttaga ctggaccca cttacctgaa gcacagccat caggattcag 3180  
 ggcttatcac tgactaccgg cattggcaga taccactggg cagaagattt cgctctttga 3240  
 aaatgtggtt tgtatttagg atgtatggag tcaaaggact gcaggcttat atccgcaagc 3300  
 atgtccagct gtcccatgag tttgagtcac tgggtgcgca ggatccccgc tttgaaatct 3360  
 gtgtggaagt cattctgggg cttgtctgct ttcggctaaa gggttccaac aaagtgaatg 3420  
 aagctcttct gcaaagaata aacagtgcc aaaaaatcca cttggttcca tgtcacctca 3480  
 gggacaagtt tgcctgcgc tttgccatct gttctgcac ggtggaatct gccatgtgc 3540  
 agcgggcctg ggaacacatc aaagagctgg cggccgacgt gctgcgagca gagaggaggt 3600

aggagtgaag ccagctgcag gaatcaaaaa ttgaagagag atatatctga aaactggaat 3660  
 aagaagcaaa taaatatcat cctgccttca tggaactcag ctgtctgtgg cttcccatgt 3720  
 ctttctccaa agttatccag agggttgtga ttttgtctgc ttagtatctc atcaacaaag 3780  
 aaatattatt tgctaattaa aaagttaatc ttcatggcca tagcttttat tcattagctg 3840  
 tgatttttgt tgattaaaac attatagatt ttcatgttct tgcagtcac agaatggta 3900  
 ggaaagcctc actgatatat tttccagggc aatcaatgtt cacgcaactt gaaattatat 3960  
 ctgtggctct caaattgtct tttgtcatgt ggctaaatgc ctaataaaca attcaagtga 4020  
 aataactaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaagc tgctcgagag atctacgggt ggcacccctg 4080  
 tgaccctcc ccagtgctc tcttgccctt ggaagttgcc actccagtgc ccaccagcct 4140  
 tgtcctaata aaattaagtt gcatcatttt gtctgactag gtgtccttct ataattatt 4200  
 ggggtggagg ggggtggtat ggagcaagg gcaagttggg aagacaacct gtagggcctg 4260  
 cgggtctat tgggaaccaa gctggagtgc agtggcaca tcttggtcctc ctgcaatctc 4320  
 cgctcctgg gttcaagcga ttctctgcc tcagctccc gagttgttg gattccaggc 4380  
 atgcatgacc aggtcagct aatttttgtt tttttgtag agacggggtt tcaccatatt 4440  
 ggccaggctg gtctccaact cctaactca ggtgatctac ccacctggc ctcccaaatt 4500  
 gctgggatta caggcgtgaa ccaactgctc cttccctgtc cttctgattt tntagtaac 4560  
 gtaaccccg accacgtgcg gaccgagcgg ccgctctaga gcatggctac gtagataagt 4620  
 agcatggcgg gttaatcatt aactacaagg aaccctagt gatggagttg gccactcct 4680  
 ctctgcgcgc tcgctcgtc actgaggccg ggcgacaaa ggtcgcccga cgcccggcg 4740  
 gcctcagtga gcgagcgagc gcgagctgc ctgcaggtct gagacaataa ccctgataaa 4800  
 tgcttcaata atgtagccaa ccactagaac tatagctaga gtcttgggcg acaaacgat 4860  
 gctcgcttc cagaaaaccg aggatgcgaa ccaattcctc cggggtcagc accaccggca 4920  
 agcggcgcga cggccgaggt cttccgatct cctgaagcca gggcagatcc gtgcacagca 4980  
 ccttgccgta gaagaacagc aaggccgcca atgcctgacg atgcgtggag accgaaacct 5040  
 tgcgctcgtt cgccagccag gacagaaatg cctcgacttc gctgctgccc aaggttgcg 5100  
 ggtgacgcac accgtggaac cggatgaagg cacgaacca gttgacataa gcctgttcgg 5160  
 ttcgtaaact gtaatgcaag tagcgtatgc gtcacgcaa ctggtccaga acctgaccg 5220  
 aacgcagcgg tggtaacggc gcagtggcgg tttcatggc ttggtatgac tgttttttg 5280  
 tacagtctat gcctcgggca tccaagcagc aagcgcgta cgccgtgggt cgatgtttga 5340  
 tgttatggag cagcaacgat gttacgcagc agcaacgat ttacgcagca gggcagtcgc 5400  
 cctaaaacaa agttaggtgg ctcaagtatg ggcatcattc gcacatgtag gctcggcct 5460  
 gaccaagtca aatccatgcg ggtgctctt gatcttttcg gtcgtgagtt cggagacgta 5520  
 gccacctact cccaacatca gccggactcc gattacctg ggaacttgct ccgtagtaag 5580  
 acattcatcg cgcttctgc cttcgaccaa gaagcggttg ttggcgtct cgcggcttac 5640  
 gttctgccc agtttgagca gccgcgtagt gagatctata tctatgatct cgcagctctc 5700  
 ggcgagcacc ggaggcaggc cattgccacc gcgctcatca atctctcaa gcatgaggcc 5760  
 aacgcgcttg gtgcttatgt gatctacgtg caagcagatt acggtgacga tcccgcagtg 5820  
 gctctctata caaagttggg catacgggaa gaagtgatgc actttgatat cgaccaagt 5880  
 accgccacct aacaattcgt tcaagccgag atcggtctcc cggccgcgga gttgttcggt 5940

aaattgtcac aacgccgca ataatgtctt taccatgccc ttggccacgc ccctctttaa 6000  
tacgacgggc aatttgcact tcagaaaatg aagagtttgc tttagccata acaaaagtcc 6060  
agtatgcttt ttcacagcat aactggactg atttcagttt acaactattc tgtctagttt 6120  
aagactttat tgtcatagtt tagatctatt ttgttcagtt taagacttta ttgtccgccc 6180  
acacccgctt acgcagggca tccatttatt actcaaccgt aaccgatttt gccaggttac 6240  
gcggttggtc tatgcggtgt gaaataccgc acagatgcgt aaggagaaaa taccgcatca 6300  
ggcgctcttc cgcttcctcg ctcaactgact cgctgcgctc ggtcgttcgg ctgcggcgag 6360  
cggtatcagc tcaactcaaag gcggttaatac gtttatccac agaatcaggg gataacgcag 6420  
gaaagaacat gtgagcaaaa ggccagcaaa aggccaggaa ccgtaaaaag gccgcgttgc 6480  
tggcgttttt ccataggtc cgccccctg acgagcatca caaaaatcga cgctcaagtc 6540  
agaggtagcg aaacccgaca ggactataaa gataaccaggc gtttccccct ggaagctccc 6600  
tcgtgcgctc tcctgttccg accctgccgc ttaccggata cctgtccgcc tttctccctt 6660  
cgggaagcgt ggcgctttct catagctcac gctgtaggta tctcagttcg gtgtaggtcg 6720  
ttcgtccaa gctgggctgt gtgcacgaac cccccgtca gcccgaccgc tgcgccttat 6780  
ccgtaacta tcgtcttgag tccaacccgg taagacacga cttatcgcca ctggcagcag 6840  
ccactggtaa caggattagc agagcgaggt atgtaggcgg tgctacagag ttcttgaagt 6900  
ggtggcctaa ctacggctac actagaagaa cagtatttgg tatctgcgct ctgctgaagc 6960  
cagttacctt cggaaaaaga gttggtagct cttgatccgg caaacaacc accgctggta 7020  
gcggtggttt ttttgtttgc aagcagcaga ttacgcgcag aaaaaagga tctcaagaag 7080  
atcctttgat cttttctacg ggtctgacg ctcaagtggaa cgaaaactca cgttaaggga 7140  
ttttggtcat gagattatca aaaaggatct tcacctagat ctttttaaat taaaaatgaa 7200  
gttttaaatc aatctaaagt ataatatgagt aaacttggtc tgacagttac caatgcttaa 7260  
tcagtgaggc acctatctca gcgatctgtc tatttcgttc atccatagtt gcctgactcc 7320  
ccgtcgtgta gataactacg atacgggagg gcttaccatc tggccccagt gctgcaatga 7380  
taccgcgaga cccacgctca ccggctccag atttatcagc aataaccag ccagccggaa 7440  
gggccgagcg cagaagtggc cctgcaactt tatccgcctc catccagtct attaattggt 7500  
gccgggaagc tagagtaagt agttcgccag ttaatagttt gcgcaacggt gttgccattg 7560  
ctacaggcat cgtggtgtca cgctcgtcgt ttggtatggc ttcatcagc tccggttccc 7620  
aacgatcaag gcgagttaca tgatcccca tgttgtgcaa aaaagcgggt agctccttcg 7680  
gtcctccgat cgttgtcaga agtaagtgtg ccgcagtgtt atcaactcatg gttatggcag 7740  
cactgcataa ttctcttact gtcattgcat ccgtaagatg cttttctgtg actggtgagt 7800  
actcaaccaa gtcattctga gaatagtgtg tgcggcgacc gagttgctct tgccccgctg 7860  
caatacggga taataaccgc ccacatagca gaactttaa agtgctcacc attggaaaac 7920  
gttcttcggg gcgaaaaact tcaaggatct taccgctgtt gagatccagt tcgatgtaac 7980  
ccactcgtgc acccaactga tcttcagcat cttttacttt caccagcgtt tctgggtgag 8040  
caaaaacagg aaggcaaaaat gccgcaaaaa agggataaag ggcgacacgg aatgttgaa 8100  
tactcactact ctctctttt caatattatt gaagcattta tcagggttat tgtctcatga 8160  
gcggatacat atttgaatgt atttagaaaa ataaacaaat aggggttccg cgcacatttc 8220  
cccgaagaat gccacctaaa ttgtaagcgt taatattttg ttaaaattcg cgtaaattt 8280

ttgttaaadc agctcatttt ttaaccaata ggccgaaatc ggcaaaatcc cttataaatc 8340  
 aaaagaatag accgagatag ggttgagtgt tgttccagtt tggaacaaga gtccactatt 8400  
 aaagaacgtg gactccaacg tcaaagggcg aaaaaccgtc tatcagggcg atggcccact 8460  
 acgtgaacca tcaccctaata caagtttttt ggggtcgagg tgccgtaaag cactaaatcg 8520  
 gaaccctaaa gggagcccc gatttagagc ttgacgggga aagccggcga acgtggcgag 8580  
 aaaggaaggg aagaaagcga aaggagcggg cgctagggcg ctggcaagt tagcgggtcac 8640  
 gctgcgcgta accaccacac ccgccgcgct taatgcgccg ctacagggcg cgctc 8694

<210> 6

<211> 3535

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成的多核苷酸

<400> 6

ctgcgcgctc gctcgtcac tgaggccgcc cgggcaaagc ccgggcgtcg ggcgaccttt 60  
 ggtcgccccg cctcagttag cgagcgagcg cgcagagagg gaggggccaa ctccatcact 120  
 aggggttcct ttagttaaata gattaaccgc ccatgctact tatctacgta gccatgctct 180  
 agagcggccg cacgcgtgga gctagttatt aatagtaatc aattacgggg tcattagttc 240  
 atagcccata tatggagtgc cgcgttacat aacttacggt aatggcccc cctggctgac 300  
 cgcccacga cccccgcca ttgacgtcaa taatgacgta tgttcccata gtaacgtcaa 360  
 tagggacttt ccattgacgt caatgggtgg agtatttacg gtaaactgcc cacttggcag 420  
 tacatcaagt gtatcatatg ccaagtacgc ccctattga cgtcaatgac ggtaaattggc 480  
 ccgctggca ttatgccagc tacatgacct tatgggactt tcctacttgg cagtacatct 540  
 acgtattagt catcgctatt accatggtga tgcggttttg gcagtacatc aatgggcgtg 600  
 gatagcgggt tgactcacgg ggatttcaa gtctccacc cattgacgtc aatgggagtt 660  
 tgttttgac caaatcaac gggactttcc aaaatgtcgt aacaactccg cccattgac 720  
 gcaaatgggc gtaggcgtg tacggtggga ggtctatata agcagagctc gtttagtgaa 780  
 ccgtcagatc gcctggagac gccatccacg ctgttttgac ctccatagaa gacaccggga 840  
 ccgatccagc ctccgcgat tcgaatccc gcccggaac gtgcattgga acgcgattc 900  
 cccgtgcaa gaggtagcga agtaccgctc atagagtcta taggcccaca aaaaatgctt 960  
 tcttctttta atatactttt ttgtttatct ttttctaat actttcccta atctctttct 1020  
 ttcagggcaa taatgataca atgtatcatg cctctttgca ccattctaaa gaataacagt 1080  
 gataatttct gggtaaggc aatagcaata tttctgcata taaatatttc tgcatataaa 1140  
 ttgtaactga tgtaagaggt ttcatattgc taatagcagc tacaatccag ctaccattct 1200  
 gcttttattt tatggttggg ataaggctgg attattctga gtccaagcta ggcccttttg 1260  
 ctaatcatgt tcataacctc tatcttctc ccacagctcc tgggcaactg gctggtctgt 1320  
 gtgctggccc atcactttgg caaagaattg ggattcgaac atcggccgcc accatgaacg 1380  
 caagtgaatt ccgaaggaga gggaaggaga tggtggatta cgtggccaac tacatggaag 1440  
 gcattgaggg acgccaggtc taccctgacg tggagcccgg gtacctgcgg ccgctgatcc 1500

ctgccgctgc ccctcaggag ccagacacgt ttgaggacat catcaacgac gttgagaaga 1560  
 taatcatgcc tggggtgacg cactggcaca gccctactt cttcgcctac ttccccactg 1620  
 ccagctcgta cccggccatg cttgcggaca tgctgtgcgg ggccattggc tgcacggct 1680  
 tctcctgggc ggcaagccca gcatgcacag agctggagac tgtgatgatg gactggctcg 1740  
 ggaagatgct ggaactacca aaggcatttt tgaatgagaa agctggagaa gggggaggag 1800  
 tgatccaggg aagtgccagt gaagccacc tggtggccct gctggccgct cggaccaaag 1860  
 tgatccatcg gctgcaggca gcgtccccag agctcacaca ggccgctatc atggagaagc 1920  
 tgggtggctta ctcatccgat caggcacact cctcagtgga aagagctggg ttaattgggtg 1980  
 gagtgaaatt aaaagccatc ccctcagatg gcaacttcgc catgcgtgcg tctgccctgc 2040  
 aggaagccct ggagagagac aaagcggctg gcttgattcc tttctttatg gttgccacc 2100  
 tggggaccac aacatgctgc tcctttgaca atctcttaga agtcggctct atctgcaaca 2160  
 aggaagacat atggctgcac gttgatgcag cctacgcagg cagtgcattc atctgccctg 2220  
 agttccggca ccttctgaat ggagtggagt ttgcagattc attcaacttt aatccccaca 2280  
 aatggctatt ggtgaatfff gactgttctg ccatgtgggt gaaaaagaga acagacttaa 2340  
 cgggagcctt tagactggac cccacttacc tgaagcacag ccatcaggat tcagggctta 2400  
 tcaactgacta ccggcattgg cagataccac tgggcagaag atttcgctct ttgaaaatgt 2460  
 ggtttgtatt taggatgtat ggagtcaaag gactgcaggc ttatatccgc aagcatgtcc 2520  
 agctgtccca tgagtttgag tcaactgggc gccaggatcc ccgctttgaa atctgtgtgg 2580  
 aagtcattct ggggcttgc tgctttcggc taaagggttc caacaaagtg aatgaagctc 2640  
 ttctgcaaag aataaacagt gccaaaaaaa tccacttggg tccatgtcac ctcagggaca 2700  
 agtttgtcct gcgctttgcc atctgttctc gcacgggtga atctgccc atctgcccgtg 2760  
 cctgggaaca catcaaagag ctggcggccg acgtgctgcg agcagagagg gtagtaggag 2820  
 gagctgctcg agagatctac ggggtggcatc cctgtgacct ctccccagtg cctctcctgg 2880  
 ccctggaagt tgccactcca gtgcccacca gccttgtcct aataaaatta agttgcatca 2940  
 ttttgtctga ctaggtgtcc ttctataata ttatgggggtg gaggggggtg gtatggagca 3000  
 aggggcaagt tgggaagaca acctgtaggg cctgcgggggt ctattgggaa ccaagctgga 3060  
 gtgcagtgcc acaatcttgg ctcaactgaa tctccgctc ctgggttcaa gcgattctcc 3120  
 tgccctcagc tcccagattg ttgggattcc aggcatgcat gaccaggctc agctaatttt 3180  
 tgtttttttg gtagagacgg ggtttacca tattggccag gctggtctcc aactcctaat 3240  
 ctcaggatgat ctaccacact tgacctcca aattgctggg attacaggcg tgaaccactg 3300  
 ctcccttccc tgccttctg atttttagg taaccccgga ccacgtgcgg accgagcggc 3360  
 cgctctagag catggctacg tagataagta gcatggcggg ttaatcatta actacaagga 3420  
 acccctagtg atggagttgg ccaactcctc tctgcgcgct cgctcgctca ctgaggccgg 3480  
 gcgaccaaag gtcgcccagc gcccgggcgg cctcagttag cgagcgagcg cgcag 3535  
 <210> 7  
 <211> 3534  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)  
 <220>

<223> 人工序列的描述: 合成的多核苷酸

<400> 7

```

ctgcgcgctc gctcgtcac tgaggccgcc cgggcaaagc cggggcgtcg ggcgaccttt 60
ggtcgccccg cctcagtgag cgagcgagcg cgagagagg gaggggccaa ctccatcact 120
aggggttcct ttagttaaatt gattaaccgc ccatgctact tatctacgta gccatgctct 180
agagcggccg cacgcgtgga gctagttatt aatagtaatc aattacgggg tcattagttc 240
atagcccata tatggagttc cgcgttacat aacttacggt aatggcccc cctggctgac 300
cgccccaacg cccccgcca ttgacgtcaa taatgacgta tgttcccata gtaacgtcaa 360
tagggacttt ccattgacgt caatgggttg agtatttacg gtaaactgcc cacttggcag 420
tacatcaagt gtatcatatg ccaagtacgc cccctattga cgtcaatgac ggtaaattggc 480
ccgctggca ttatgccag tacatgacct tatgggactt tctacttgg cagtacatct 540
acgtattagt catcgtatt accatggtga tgcggttttg gcagtacatc aatgggcgtg 600
gatagcggtt tgactcacgg ggatttccaa gtctccacc cattgacgtc aatgggagtt 660
tgttttgca caaaatcaac gggactttcc aaaatgtcgt aacaactccg cccattgac 720
gcaaatgggc gtaggcgtg tacggtggga ggtctatata agcagagctc gtttagtgaa 780
ccgtcagatc gcctggagac gccatccacg ctgttttgac ctccatagaa gacaccggga 840
ccgatccagc ctccgcggat tcgaatccc gcccggaac gtgcattgga acgcggattc 900
cccgtgcaa gagtgacgta agtaccgct atagagteta taggcccaca aaaaatgctt 960
tcttctttta atatactttt ttgtttatct tatttetaat actttcccta atctctttct 1020
ttcagggcaa taatgataca atgtatcatg cctctttgca ccattctaaa gaataacagt 1080
gataatttct ggggtaaggc aatagcaata tttctgcata taaatatttc tgcatataaa 1140
ttgtaactga tgtaagaggt ttcatattgc taatagcagc tacaatccag ctaccattct 1200
gcttttattt tatggttggg ataaggctgg attattctga gtccaagcta ggcccttttg 1260
ctaatcatgt tcatacctt tatcttctc ccacagctcc tgggcaactg gctggtctgt 1320
gtgctggccc atcactttg caaagaattg ggattcgaac atcgccgcc accatgaacg 1380
ccagcgagtt caggaggagg ggcaaggaga tgggtgacta cgtggccaac tacatggagg 1440
gcatcgaggg caggcaggtg taccccagc tggagcccgg ctacctgagg cccctgatcc 1500
ccgccccgc cccccaggag cccgacacct tcgaggacat catcaacgac gtggagaaga 1560
tcatcatgcc cggcgtgacc cactggcaca gccctactt cttgcctac ttccccaccg 1620
ccagcagcta ccccgccatg ctggccgaca tgctgtgcgg cgccatcggc tgcatcggtc 1680
tcagctgggc cgccagcccc gctgcaccg agctggagac cgtgatgatg gactggctgg 1740
gcaagatgct ggagctgcc aaggccttc tgaacgagaa ggccggcgag ggcggcgcg 1800
tgatccaggg cagcggcagc gaggccacc tgggtggcct gctggccgcc aggaccaagg 1860
tgatccacag gctgcaggc gccagcccc agctgacca ggccgccatc atggagaagc 1920
tgggtggccta cagcagcagc caggcccaca gcagcgtgga gagggccggc ctgatcggcg 1980
gcgtgaagct gaaggccatc cccagcagc gcaacttcgc catgagggcc agcgcctgc 2040
aggaggccct ggagagggac aaggccgcc gctgatccc cttcttcatg gtggccacc 2100
tgggcaccac cacctgctgc agcttcgaca acctgctgga ggtgggcccc atctgcaaca 2160
aggaggacat ctggctgcac gtggacgcc cctacgccg cagcgccttc atctgccccg 2220

```

agttcaggca cctgctgaac ggcgtggagt tcgccgacag cttcaacttc aacccccaca 2280  
 agtggctgct ggtgaacttc gactgcagcg ccatgtgggt gaagaagagg accgacctga 2340  
 ccggcgcctt caggctggac cccacctacc tgaagcacag ccaccaggac agcggcctga 2400  
 tcaccgacta caggcactgg cagatcccc tgggcaggag gttcaggagc ctgaagatgt 2460  
 ggttcgtggt caggatgtac ggcgtgaagg gcctgcaggc ctacatcagg aagcacgtgc 2520  
 agctgagcca cgagttcgag agcctgggtg ggcaggacc caggttcgag atctgcgtgg 2580  
 aggtgatcct gggcctgggt tgcttcaggc tgaagggcag caacaagggtg aacgaggccc 2640  
 tgctgcagag gatcaacagc gccaaagaaga tccacctggt gccctgccac ctgagggaca 2700  
 agttcgtgct gaggttcgcc atctgcagca ggacctgga gagcgcccac gtgcagaggg 2760  
 cctgggagca catcaaggag ctggccgccg acgtgctgag ggccgagagg gaggtagctg 2820  
 ctcgagagat ctacgggtgg catcctgtg accctcccc agtgctctc ctggccctgg 2880  
 aagttgccac tccagtgcc accagccttg tectaataaa attaagttgc atcattttgt 2940  
 ctgactaggt gtcttctat aatattatgg ggtggagggg ggtggtatgg agcaaggggc 3000  
 aagttgggaa gacaacctgt agggcctgcg ggtctattg ggaaccaagc tggagtgcag 3060  
 tggcacaatc ttggctcact gcaatctccg cctcctgggt tcaagcgatt ctctgcctc 3120  
 agcctcccga gttgttggga ttccaggcat gcatgaccag gctcagctaa tttttgtttt 3180  
 tttggtagag acggggtttc accatattgg ccaggctggt ctccaactcc taatctcagg 3240  
 tgatctacc accttggcct cccaaattgc tgggattaca ggcgtgaacc actgctcct 3300  
 tcctgtcct tctgattttg tagtaacgt aacccggac cacgtgcgga ccgagcggcc 3360  
 gctctagagc atggctacgt agataagtag catggcgggt taatcattaa ctacaaggaa 3420  
 ccctagtga tggagtggc cactccctct ctgcgcgctc gctcgtcac tgaggccggg 3480  
 cgaccaaagg tcgcccgacg cccgggcggc ctcagtgagc gagcgagcgc gcag 3534

<210> 8

<211> 3940

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成的多核苷酸

<400> 8

ctgcgcgctc gctcgtcac tgaggccgcc cgggcaaagc ccgggcgtcg ggcgaccttt 60  
 ggtcgccccg cctcagtgag cgagcgagcg cgcagagagg gaggggccaa ctccatcact 120  
 aggggttcct ttagttaat gattaaccg ccatgctact tatctacgta gccatgctct 180  
 agagcggccg cacgcgtgga gctagttatt aatagtaatc aattacgggg tcattagttc 240  
 atagcccata tatggagttc cgcgttacat aacttacggt aatggcccc cctggctgac 300  
 cgcccaacga cccccgcca ttgacgtcaa taatgacgta tgttcccata gtaacgtcaa 360  
 tagggacttt ccattgacgt caatgggtgg agtatttacg gtaaactgcc cacttggcag 420  
 tacatcaagt gtatcatatg ccaagtacgc cccctattga cgtcaatgac ggtaaattggc 480  
 ccgctggca ttatgccag tacatgacct tatgggactt tcctacttgg cagtacatct 540  
 acgtattagt catcgtatt accatggtga tgcggttttg gcagtacatc aatgggcgtg 600

gatagcggtt tgactcacgg ggatttccaa gtctccacce cattgacgtc aatgggagtt 660  
tgttttgcac caaaatcaac gggactttcc aaaatgtcgt aacaactccg cccattgac 720  
gcaaatgggc ggtaggcgtg tacgggtggga ggtctatata agcagagctc gtttagtgaa 780  
ccgtcagatc gcctggagac gccatccacg ctgttttgac ctccatagaa gacaccggga 840  
ccgatccagc ctccgcggat tcgaatcccc gccgggaacg gtgcattgga acgcggattc 900  
cccgtgccaa gagtgcagta agtaccgcct atagagtcta taggcccaca aaaaatgctt 960  
tcttctttta atatactttt ttgtttatct tttttctaact actttcccta atctctttct 1020  
ttcagggcaa taatgataca atgtatcatg cctctttgca ccattctaaa gaataacagt 1080  
gataatttct gggtaaggc aatagcaata tttctgcata taaatatttc tgcatataaa 1140  
ttgtaactga tgtaagaggt ttcatattgc taatagcagc tacaatccag ctaccattct 1200  
gcttttattt tatggttggg ataaggetgg attattctga gtccaagcta ggcccttttg 1260  
ctaatcatgt tcatacctct tatcttctc ccacagctcc tgggcaacgt gctggtctgt 1320  
gtgctggccc atcactttgg caaagaattg ggattcgaac atcgccgcc accatgaacg 1380  
caagtgaatt ccgaaggaga gggaaggaga tggtaggata cgtggccaac tacatggaag 1440  
gcattgaggg acgccagtc taccctgacg tggagcccg gtacctgcgg ccgctgatcc 1500  
ctgccgctgc ccctcaggag ccagacacgt ttgaggacat catcaacgac gttgagaaga 1560  
taatcatgcc tggggtgac cactggcaca gccctactt ctctgcctac ttccccactg 1620  
ccagctcgta cccggccatg cttgcggaca tgctgtgcgg ggccattggc tgcacggct 1680  
tctctgggc ggcaagccca gcatgcacag agctggagac tgtgatgatg gactggctcg 1740  
ggaagatgct ggaactacca aaggcatttt tgaatgagaa agctggagaa gggggaggag 1800  
tgatccaggg aagtgccagt gaagccacc tggtggcct gctggccgct cggaccaaag 1860  
tgatccatcg gctgcaggca gcgtccccag agctcacaca ggccgctatc atggagaagc 1920  
tggtggctta ctcatccgat caggcacact cctcagtgga aagagctggg ttaattggtg 1980  
gagtgaaatt aaaagccatc ccctcagatg gcaacttgc catgcgtgcg tctgccctgc 2040  
aggaagccct ggagagagac aaagcggctg gcctgatcc tttctttatg gttgccacc 2100  
tggggaccac aacatgctgc tcctttgaca atctcttaga agtcggtcct atctgcaaca 2160  
aggaagacat atggctgcac gttgatgcag cctacgcagg cagtgcattc atctgccctg 2220  
agttccggca ccttctgaat ggagtggagt ttgcagattc attcaacttt aatccccaca 2280  
aatggctatt ggtgaatttt gactgttctg ccatgtgggt gaaaaagaga acagacttaa 2340  
cgggagcctt tagactggac cccacttacc tgaagcacag ccatcaggat tcagggctta 2400  
tcaactgacta ccggcattgg cagataccac tgggcagaag atttcgctct ttgaaaatgt 2460  
ggtttgtatt taggatgtat ggagtcaaag gactgcagge ttatatccgc aagcatgtcc 2520  
agctgtccca tgagtttgag tcaactggtgc gccaggatcc ccgctttgaa atctgtgtgg 2580  
aagtcattct ggggcttgtc tgetttcggc taaagggttc caacaaagt aatgaagctc 2640  
ttctgcaaag aataaacagt gccaaaaaaa tccacttggg tccatgtcac ctccaggaca 2700  
agtttgtcct gcgctttgcc atctgttctc gcacggtgga atctgccc atgtcagcggg 2760  
cctgggaaca catcaaagag ctggcggccg acgtgctgc agcagagagg gtagtaggt 2820  
gaagccagct gcaggaatca aaaattgaag agagatatat ctgaaaactg gaataagaag 2880  
caaataaata tcacctgcc ttcatggaac tcagctgtct gtggcttccc atgtctttct 2940

ccaaagttat ccagagggtt gtgattttgt ctgcttagta tctcatcaac aaagaaatat 3000  
 tatttgctaa ttaaaaagtt aatcttcatg gccatagctt ttattcatta gctgtgattt 3060  
 ttgttgatta aaacattata gattttcatg ttcttgcaat catcagaagt ggtaggaaag 3120  
 cctcactgat atattttcca gggcaatcaa tgttcacgca acttgaaatt atatctgtgg 3180  
 tcttcaaatt gtcttttgtc atgtggctaa atgcctaata agctgctcga gagatctacg 3240  
 ggtggcatcc ctgtgacccc tccccagtgc ctctcctggc cctggaagtt gccactccag 3300  
 tgcccaccag ccttgtccta ataaaattaa gttgcatcat tttgtctgac taggtgtcct 3360  
 tctataatat tatgggggtgg aggggggtgg tatggagcaa ggggcaagtt gggaagacaa 3420  
 cctgtagggc ctgcggggtc tattgggaac caagctggag tgcagtggca caatcttggc 3480  
 tcaactgcaat ctccgcctcc tgggttcaag cgattctcct gcctcagcct cccgagttgt 3540  
 tgggattcca ggcatgcatg accaggetca gctaattttt gtttttttgg tagagacggg 3600  
 gtttcacat attggccagg ctggtctcca actcctaate tcaggtgatc taccacctt 3660  
 ggccctccaa attgctggga ttacaggegt gaaccactgc tcccttcctt gtctttctga 3720  
 ttttgtaggt aaccgtaacc ccggaccacg tgcggaccga gcggccgctc tagagcatgg 3780  
 ctacgtagat aagtagcatg gcgggttaat cattaactac aaggaacccc tagtgatgga 3840  
 gttggccact ccctctctgc gcgctcctc gctcactgag gccgggcgac caaaggtcgc 3900  
 ccgacgcccg ggcgccctca gtgagcgagc gagcgcgcag 3940

<210> 9

<211> 4079

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成的多核苷酸

<400> 9

ctgcgcgctc gctcgtcac tgaggccgcc cgggcaaagc ccgggcgctc ggcgaccttt 60  
 ggtcgcccgg cctcagtgag cgagcgagcg cgcagagagg gaggggccaa ctccatcact 120  
 aggggttctt ttagttaaatt gattaaccg ccatgctact tatctacgta gccatgctct 180  
 agagcggccg caacgcgtaa acttcgtcga cgatctgcgg ccgcacgcgt ggagctagtt 240  
 attaatagta atcaattacg gggtcattag ttcatagccc atatatggag ttccgcgtta 300  
 cataacttac ggtaaatggc ccgctggct gaccgcccga cgacccccgc ccattgacgt 360  
 caataatgac gtatgttccc atagtaacgt caataggac tttcattga cgtcaatggg 420  
 tggagtattt acggtaaact gcccacttgg cagtacatca agtgtatcat atgccaagta 480  
 cgccccctat tgacgtcaat gacggtaaatt ggcccgcctg gcattatgcc cagtacatga 540  
 ccttatggga ctttctact tggcagtaca tctacgtatt agtcategct attaccatgg 600  
 tgatgcggtt ttggcagtac atcaatgggc gtggatagcg gtttgactca cggggatttc 660  
 caagtctcca cccattgac gtcaatggga gtttgtttt caccaaaatc aacgggactt 720  
 tccaaaatgt cgtaacaact ccgccccatt gacgcaaatg ggcggtaggc gtgtacggtg 780  
 ggaggctctat ataagcagag ctctgttagt gaaccgtcag atcgctgga gacgccatcc 840  
 acgctgtttt gacctcata gaagacaccg ggaccgatcc agcctccgcg gattcgaatc 900

ccggccggga acggtgcatt ggaacgcgga ttccccgtgc caagagtgac gtaagtaccg 960  
 cctatagagt ctatagggcc acaaaaaatg ctttcttctt ttaatatact tttttgttta 1020  
 tcttatttct aatactttcc ctaatctctt tctttcaggg caataatgat acaatgtatc 1080  
 atgcctcttt gcaccattct aaagaataac agtgataatt tctgggtaa ggcaatagca 1140  
 atattttctgc atataaatat ttctgcataa aaattgtaac tgatgtaaga ggtttcatat 1200  
 tgctaatagc agctacaatc cagctacatc tctgctttta ttttatggtt gggataaggc 1260  
 tggattattc tgagtccaag ctaggccctt ttgctaatac tgttcatacc tcttatcttc 1320  
 ctcccacagc tcttgggcaa cgtgctggtc tgtgtgctgg cccatcactt tggcaaagaa 1380  
 ttgggattcg aacatcgaat tcgggcacga gggaggacag agagcaagtc actcccggct 1440  
 gcctttttca cctctgacag agcccagaca ccatgaacgc aagtgaattc cgaaggagag 1500  
 ggaaggagat ggtggattac gtggccaact acatggaagg cattgaggga cgccaggctt 1560  
 accctgacgt ggagcccggg tacctgcggc cgctgatccc tgccgctgcc cctcaggagc 1620  
 cagacacgtt tgaggacatc atcaacgacg ttgagaagat aatcatgcct ggggtgacgc 1680  
 actggcacag cccctacttc ttgcctact tccccactgc cagctcgtac ccggccatgc 1740  
 ttgcggacat gctgtgcggg gccattggct gcateggctt ctctggggcg gcaagcccag 1800  
 catgcacaga gctggagact gtgatgatgg actggctcgg gaagatgctg gaactaccaa 1860  
 aggcatTTTT gaatgagaaa gctggagaag ggggaggagt gatccaggga agtgccagtg 1920  
 aagccaccct ggtggccctg ctggccgctc ggaccaaagt gatccatcgg ctgcaggcag 1980  
 cgtcccaga gctcacacag gccgctatca tggagaagct ggtggcttac tcatccgatc 2040  
 aggcacactc ctcagtggaa agagctgggt taattggtgg agtgaaatta aaagccatcc 2100  
 cctcagatgg caacttcgcc atgcgtgcgt ctgccctgca ggaagccctg gagagagaca 2160  
 aagcggctgg cctgattcct ttctttatgg ttgccaccct ggggaccaca acatgctgct 2220  
 cctttgacaa tctcttagaa gtcggtccta tctgcaacaa ggaagacata tggctgcacg 2280  
 ttgatgcagc ctacgcaggc agtgattca tctgccctga gttccggcac cttctgaatg 2340  
 gagtggagtt tgcagattca ttcaacttta atccccacaa atggctattg gtgaattttg 2400  
 actgttctgc catgtgggtg aaaaagagaa cagacttaac gggagccttt agactggacc 2460  
 ccacttacct gaagcacagc catcaggatt cagggttat cactgactac cggcattggc 2520  
 agataccact gggcagaaga tttcgtctt tgaaaatgtg gtttgtattt aggatgtatg 2580  
 gagtcaaagg actgcaggct tataatccgca agcatgtcca gctgtcccat gagtttgagt 2640  
 cactggtgcg ccaggatccc cgctttgaaa tctgtgtgga agtcattctg gggcttgtct 2700  
 gctttcggct aaagggttcc aacaaagtga atgaagctct tctgcaaaga ataaacagtg 2760  
 ccaaaaaaat ccaacttggt ccatgtcacc tcagggacaa gtttgtcctg cgctttgcca 2820  
 tctgttctcg cacggtggaa tctgcccattg tgcagcgggc ctgggaacac atcaaagagc 2880  
 tggcggccga cgtgctgcga gcagagaggg agtaggagtg aagccagctg caggaatcaa 2940  
 aaattgaaga gagatatac tgaaaactgg aataagaagc aaataaatac catcctgcct 3000  
 tcatggaact cagctgtctg tggettccca tgtctttctc caaagttatc cagagggttg 3060  
 tgattttctc tgcttagtat ctcatcaaca aagaaatatt atttgctaataaaaaagtta 3120  
 atcttcatgg ccatagcttt tattcattag ctgtgatttt tgttgattaa aacattatag 3180  
 attttcatgt tcttgcagtc atcagaagtg gtaggaaagc ctactgata tattttccag 3240

ggcaatcaat gttcacgcaa cttgaaatta tatctgtggt cttcaaattg tcttttgtca 3300  
 tgtggctaaa tgcctaataa acaattcaag tgaataacta aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3360  
 agctgctcga gagatctacg ggtggcatcc ctgtgacccc tccccagtgc ctctcctggc 3420  
 cctggaagtt gccactccag tgcccaccag cttgtccta ataaaattaa gttgcatcat 3480  
 tttgtctgac taggtgtcct tctataatat tatgggggtg aggggggtgg tatggagcaa 3540  
 ggggcaagtt gggaagacaa cctgtagggc ctgcggggtc tattgggaac caagctggag 3600  
 tgcagtggca caatcttggc tcaactgcaat ctccgcctcc tgggttcaag cgattctcct 3660  
 gcctcagcct cccgagttgt tgggattcca ggcattgatg accaggctca gctaattttt 3720  
 gtttttttgg tagagacggg gtttcacat attggccagg ctggtctcca actcctaact 3780  
 tcaggtgatc taccacactt ggctcccaa attgctggga ttacaggcgt gaaccactgc 3840  
 tcccttcctt gtcttctga tttttaggt aacgtaacc cggaccagt gcggaccgag 3900  
 cggccgctct agagcatggc tacgtagata agtagcatgg cgggttaact attaactaca 3960  
 aggaaccctt agtgatggag ttggcactc cctctctgag cgctcctcg ctcactgagg 4020  
 ccgggcgacc aaaggtcgcc cgacgcccg gcggcctcag tgagcgagc agcgcgag 4079

<210> 10

<211> 9266

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成的多核苷酸

<400> 10

gagaggcggg ttgcgtattg ggcgctcttc cgttctctcg ctcactgact cgctgcgctc 60  
 ggtcgttcgg ctgcggcgag cggatcagc tcaactaaag gcggtataac ggttatccac 120  
 agaatcaggg gataacgcag gaaagaacat gtgagcaaaa ggccagcaaa aggccaggaa 180  
 ccgtaaaaag gccgcgttgc tggcgttttg agatcctttt tttctgcgag taatctgctg 240  
 cttgcaaaaca aaaaaaccac cgctaccagc ggtggtttgt ttgccgatc aagagctacc 300  
 aactcttttt ccgaaggtaa ctggcttcag cagagcgag ataccaata ctgttcttct 360  
 agttagaccg tagttagcc accactcaa gaactctgta gcaccgcta catacctcgc 420  
 tctgctaata ctgttaccag tgctgctgc cagtggcgat aagtcgtgtc ttaccgggtt 480  
 ggactcaaga cgatagttac cggataaggc gcagcggtcg ggctgaacgg ggggttcgtg 540  
 cacacagccc agcttggagc gaacgacct caccgaactg agatacctac agcgtgagct 600  
 atgagaaaag gccacgctt ccgaaggag aaaggcggac aggtatccgg taagcggcag 660  
 ggtcggaaca ggagagcgca cgaggagct tccaggggga aacgcctggt atctttatag 720  
 tctgtcggg tttcgccacc tetgacttga gcgtcgattt ttgtgatgct cgtcaggggg 780  
 gcggagccta tggaaagaag atcctttgat cttttctacg gggctctgac ctcagtggaa 840  
 cgaaaactca cgtaaggga ttttggatc gagattatca aaaaggatct tcacctagat 900  
 ctttttaaat taaaaatgaa gttttaaatc aagcccaatc tgaataatgt tacaaccaat 960  
 taaccaattc tgaaacgcg cgatgcagct ctggcccgtg tctcaaatc tctgatgtta 1020  
 cattgcacaa gataaaaata tatcatcatg aacaataaaa ctgtctgctt acataaacag 1080

taatacaagg ggtgttatga gccatattca acgggaaacg tcgaggccgc gattaaattc 1140  
 caacatggat gctgatttat atgggtataa atgggctcgc gataatgtcg ggcaatcagg 1200  
 tgcgacaatc tatcgcttgt atgggaagcc cgatgcgcca gagttgtttc tgaacatgg 1260  
 caaaggtagc gttgccaatg atgttacaga tgagatggtc agactaaact ggctgacgga 1320  
 atttatgcct cttccgacca tcaagcattt tatccgtact cctgatgatg catggttact 1380  
 caccactgcg atccccgaa aaacagcatt ccaggatta gaagaatata ctgattcagg 1440  
 tgaanaatatt gttgatgcgc tggcagtggt cctgcgccgg ttgcattcga ttctgtttg 1500  
 taattgtcct ttaacagcg atcgcgtatt tcgtctcgtc caggcgcaat cacgaatgaa 1560  
 taacggtttg gttgatgcga gtgattttga tgacgagcgt aatggctggc ctgttgaaca 1620  
 agtctggaaa gaaatgcata aacttttgcc attctcaccg gattcagtcg tctactcatgg 1680  
 tgattttctca cttgataacc ttatttttga cgaggggaaa ttaatagggtt gtattgatgt 1740  
 tggacgagtc ggaatcgag accgatacca ggatcttgcc atcctatgga actgcctcgg 1800  
 tgagttttct ccttcattac agaaacggct ttttcaaaaa tatggtattg ataactctga 1860  
 tatgaataaa ttgcagtttc atttgatgct cgatgagttt ttctaatacag aattggttaa 1920  
 ttggttgtaa cattattcag attgggcttg atttaaaact tcatttttaa tttaaaagga 1980  
 tctaggtgaa gatccttttt gataatctca tgacccaaat cccttaacgt gagttttcgt 2040  
 tccactgagc gtcagacccc gtagaaaaga tcaaaggatc ttcaacacc cttgtattac 2100  
 tgtttatgta agcagacagt tttattgttc atgatgatat atttttatct tgtgcaatgt 2160  
 aacatcagag attttgagac acgggccaga gctgcacgc gcgtttcggg gatgacgggtg 2220  
 aaaacctctg acacatgcag ctcccgtatc tggaggctat aatgattac gatacttcga 2280  
 aaacatcctt atcctggaaa actccccgtt catttcccac tctctgcca ttcgacactc 2340  
 gtgcgtccat tcaagtctgt gctaatttct acgcatttcc ctctgccatt gactttgctt 2400  
 gcgtgggata ataactatta agccaacttg attcaactca ggcattcaaa aggcattttg 2460  
 attagtcgaa aagtggcacg gctgacgagt ggagctgcca tttcacgttt atttcgaact 2520  
 tttgattaca tggatatatt agtaatacac atatttttta gccagcaggt taatacttca 2580  
 aagttgtttc gattttcaac gaataaaagg aatttggcat ggtgtttttt ctggtccttg 2640  
 gtattgacaa atcagggata tacaatatgt attaacaaaa ttggattgct acatatattt 2700  
 aatgattttc attattagaa tgggtggaat aaagttttta attacattat taatttcatt 2760  
 agggttggct gattgattac tatttctca ttgaattgca ttcgatatta gcagtattta 2820  
 tctggcccat tttggaagtt acttaaattt cgaaccttaa gtcattatta gagctaata 2880  
 acaacagagt tgtcaacttg gtttgatcag cattgaaatt aaactgattt cttgttcgtt 2940  
 cttatttcgt ttggttttgt atctcgtatt ttatatgcag gagggcatat attggcaca 3000  
 gacaaataat cacagcacc atttcaact ttgtctgtt tctcagttta gtgtaaata 3060  
 aatgttgcaa aaaattgaa ataagcatta tcatagtgtc aaattcgaga ggatgagttt 3120  
 gctgtgggtc ttcgaggttc tttccctgtg tttgccacgg ttcgttgac gttgccactg 3180  
 attggacaca tgtccgcagt gaaaaatcta cggtcaggtta ccaccaact aaaccggaag 3240  
 gcggcacgtg tgtgggcgtt gagcgggtgt ggcgtggcag ccatataatg agacatttat 3300  
 ttaaaaagaa cattcgaaca tttttgatgg gccatatctt ggcttgtcaa gctccagggc 3360  
 agacattttc ctcgactcca ccgccttttt catttgaatg gaggaggtgt agggcacaaa 3420

aaacgtttcc tgccttttta agcagcacia aggatatgag ccattaaatt agttaatttc 3480  
 gagtgcattt cattttaaat aagtgttga aaggaataa aaaagcgact gatagaaaag 3540  
 ttgcagacac caagagaatg ttaaataatt taataatagc tacatttttc tatctctgtg 3600  
 acaaggcctg tgtactttaa tgttatatta cttctttgtg tttgatttct gttaaaagtt 3660  
 tatgattttg gcatgtacia atcttacia cttttttgt catcatgaca aaatcaaaaat 3720  
 cgtgcaatat ttccattctc atcttttagc cgattcacia cattcgtaga aattaatatg 3780  
 aaatcaatca tgtataattt tcatgcacgt tatgccgatt tggatcgtc gatttgccgg 3840  
 ctcatcgtcg ccatttgtt aatggaaaag ttatgctttt cgcaggaaaa aagagttgaa 3900  
 aattccaatt tttgtcatgc tcatcaaaaat gttatacatt cggtaatttg agctggccaa 3960  
 acgttaacc cttatcgccc cgcgcaagca ttcattaact gccccagag cgtaattaat 4020  
 ctctttctcg cagaatttcc ttcacagcca cgtcttgggt aaaagtcacc cctcaaagtg 4080  
 gcagttgcat gttgtaaatt agattttcgt ccgtcatgac aacctcgtg cgagggttg 4140  
 tgcagcattt gaatgcaaaa ctgcttttgg tcattaacct gtctgaggca ctttgctgca 4200  
 aaacttctat tagaattcgg tttggactcg aattcggatt tcttccccca aaatgcgatg 4260  
 gctacagcaa aatgctttca gcttccgaag ttttgcaacc ccaaagtcca gagtttccac 4320  
 gctgtcacga ttccaaagcg gcgccatttt tggctcacgc aaaacttatt aatgaacttt 4380  
 aagcagacta cgaggaaaag gctataatgg ccacacaaaa gggttaagca agtgtaaggg 4440  
 gctggtgga gggaaaaatc atcaatcata tttctgcat agctgaatca tttgcgccga 4500  
 tcagttgggg ttacttaatg ggtttatttc aagaagaaaa ctgtgggaaa ctaactgact 4560  
 ctaaacttaa tcagattaaa tgtaacctgg agatgatttt caaaatatta aaagagtttt 4620  
 atggaggtaa ttttaaagaa aactgaaaaa ctttgaagaa gtctataata gatccagtct 4680  
 taatcgtagc actgattatt tgtttttaa ttggaaaaa ttaaatgata catcatgctt 4740  
 aaatgcgatg tccaacaaat cccaagacgg taatttccgt gcgttccaaa ctcatctgaa 4800  
 gaatcttaca aatacatttc gtgtatcccc aggcctcagc tgcaataaa tcttttgat 4860  
 ctttgcaaat gcgaaatgct tatttttatg cgttttcaat gccaatcga tggcaaaacc 4920  
 aacaaaatca catggaata atggaaaagc aatttcatt tctacaaggg aggcagtgag 4980  
 acacaagagc agcgtataca attccccagc agcatttga ccattaaat tatacccaca 5040  
 ggacgagcag gcataaaaag cagaggatgc gaggtttca gggactgtc tatactcca 5100  
 acttgaatat atgaaatcgt ttgaaatag ccaagcagc aaattggcat ttgaaaatt 5160  
 gcacaacgac agaagaagat gtttgaagag agaaattgaa ataataaacc aagatatatg 5220  
 taaacggttg gtcacatttg ggttctgaga cggtcacagc ttgtctgtaa gcggatgccg 5280  
 ggacgagaca agcccgctcag ggcgcgtcag cgggtgttgg cgggtgtcgg ggctggctta 5340  
 actatgcggc atcagagcag attgtactga gagtgcacca tatgcggtgt gaaataccgc 5400  
 acagatcgt aaggagaaaa taccgcatca ggcgccattc gccattcagg ctgcgcaact 5460  
 gttgggaagg gcgatcgggt cgggcctctt cgctattacg ccagctggcg aaaggggat 5520  
 gtgctgcaag gcgattaagt tgggtaacgc cagggttttc ccagtcacga ctttgtaaaa 5580  
 cgacggccag tgaattcgag ctcggtacca tttaaatcgt cttggccact cctctctgc 5640  
 gcgctcgtc gctcactgag gccgccggg caaagcccg gcgtcggcg acctttggtc 5700  
 gcccgccctc agtgagcag cgagcgcgca gagaggaggt ggccaactcc atcactaggg 5760

gttccttcgc gagcttaatt aactgcggcc gctcggctccg cacgtggtta cctacaaaat 5820  
cagaaggaca ggggaaggag cagtggttca cgcctgtaat cccagcaatt tgggaggcca 5880  
aggtagggtag atcacctgag attaggagtt ggagaccagc ctggccaata tggtgaaacc 5940  
ccgtctctac caaaaaaaca aaaattagct gagcctggtc atgcatgcct ggaatcccaa 6000  
caactcggga ggctgaggca ggagaatcgc ttgaaccag gaggcggaga ttgcagtgag 6060  
ccaagattgt gccactgcac tccagcttgg ttcccaatag accccgcagg ccctacaggt 6120  
tgtcttccca acttgcccct tgetccatac cacccccctc caccccataa tattatagaa 6180  
ggacacctag tcagacaaaa tgatgcaact taatthtatt aggacaaggc tggtagggcac 6240  
tggagtggca acttccaggg ccaggagagg cactggggag gggtcacagg gatgccacc 6300  
gtagatctct cgagcagctc actcctactc cctctctgct cgcagcacgt cggccgccag 6360  
ctctttgatg tgttcccagg cccgctgcac atgggcagat tccaccgtgc gagaacagat 6420  
ggcaaagcgc aggacaaaact tgtccctgag gtgacatgga accaagtgga tttttttggc 6480  
actgtttatt ctttgcagaa gagcttcatt cactttgttg gaacccttta gccgaaagca 6540  
gacaagcccc agaatgactt ccacacagat ttcaaagcgg ggatcctggc gcaccagtga 6600  
ctcaaaactca tgggacagct ggacatgctt gcggatataa gcctgcagtc ctttgactcc 6660  
atacatccta aatacaaaacc acatthtcaa agagcgaat cttctgcca gtggtatctg 6720  
ccaatgccgg tagtcagtga taagccctga atcctgatgg ctgtgcttca ggtaagtggg 6780  
gtccagtcta aaggctcccg ttaagtctgt tctctthtcc acccatgagc cagaacagtc 6840  
aaaattcacc aatagccatt tgtggggatt aaagtthaat gaatctgcaa actccactcc 6900  
attcagaagg tgccggaact cagggcagat gaatgcaact cctgcgtagg ctgcatcaac 6960  
gtgcagccat atgtcttctt tgttgagat aggaccgact tctaagagat tgtcaaagga 7020  
gcagcatggt gtggtcccca gggtaggcaac cataaagaaa ggaatcaggc cagccgcttt 7080  
gtctctctcc agggcttctt gcagggcaga cgcagcatg gcgaagttgc catctgaggg 7140  
gatggcttht aatttcactc caccaatthaa cccagctctt tccactgagg agtgtgcctg 7200  
atcggatgag taagccacca gcttctccat gatagcggcc tgtgtgagct ctggggacgc 7260  
tgcttgcagc cgatggatca ctttggctcc agcggccagc agggccacca gggtaggctt 7320  
actggcactt ccctggatca ctctcccc ttctccagct ttctcattca aaaatgcctt 7380  
tggtagttcc agcatcttcc cgagccagtc catcatcaca gtctccagct ctgtgcatgc 7440  
tgggcttggc gccagggaga agccgatgca gccaatggcc ccgcacagca tgtccgcaag 7500  
catggccggg tacgagctgg cagtggggaa gtaggcgaag aagtaggggc tgtgccagtg 7560  
cgtcacccca ggcatgatta tcttctcaac gtcgttgat atgtctcaa acgtgtctgg 7620  
ctcctgaggg gcagcggcag ggatcagcgg ccgcaggtac ccgggctcca cgtcagggta 7680  
gacctggcgt ccctcaatgc ctccatgta gttggccacg taatccacca tctcttccc 7740  
tctcttccg aattcacttg cgttcatggt ggcggccgat gttcgaatcc caattctttg 7800  
ccaagtgat gggccagcac acagaccagc acgttgccea ggagctgtgg gaggaagata 7860  
agaggatgag acatgattag caaaagggcc tagcttgagc tcagaataat ccagccttat 7920  
cccaaccata aaataaaaagc agaatggtag ctggattgta gctgctatta gcaatatgaa 7980  
acctcttaca tcagttacaa thtatatgca gaaatthtth tatgcagaaa tattgctatt 8040  
gccttaacc agaaattatc actgttattc thtagaatgg tgcaaagagg catgatacat 8100

tgtatcatta ttgccctgaa agaaagagat tagggaaagt attagaaata agataaacia 8160  
 aaaagtatat taaaagaaga aagcattttt tgtgggccta tagactctat aggcggtact 8220  
 tacgtcactc ttggcacggg gaatccgctg tccaatgcac cgttcccggc cgggattcga 8280  
 atccgcggag gctggatcgg tcccgggtgc ttctatggag gtcaaaacag cgtggatggc 8340  
 gtctccaggc gatctgacgg ttactaaac gagctctgct tatatagacc tcccaccgta 8400  
 cacgcctacc gcccatttgc gtcaatgggg cggagttgtt acgacatttt ggaaagtccc 8460  
 gttgattttg gtgcaaaaaca aactcccatt gacgtcaatg ggggtggagac ttggaaatcc 8520  
 ccgtgagtca aaccgctatc cacgcccatt gatgtactgc caaaaccgca tcaccatggt 8580  
 aatagcgatg actaatacgt agatgtactg ccaagtagga aagtcccata aggtcatgta 8640  
 ctgggcataa tgccaggcgg gccatttacc gtcattgacg tcaatagggg gcgtacttgg 8700  
 catatgatac acttgatgta ctgccaagtg ggcagtttac cgtaaatact ccaccattg 8760  
 acgtcaatgg aaagtccta ttgacgttac tatgggaaca tacgtcatta ttgacgtcaa 8820  
 tgggcggggg tcgttgggcg gtcagccagg cgggccattt accgtaagtt atgtaacgcg 8880  
 gaactccata tatgggctat gaactaatga ccccgtaatt gattactatt aataactagc 8940  
 tccacgcgtg cggccgcaga tcgtcgacga agtttaaact caggaacccc tagtgatgga 9000  
 gttggccact ccctctctgc gcgctcgtc gctcactgag gccgcccggg caaagcccgg 9060  
 gcgtcgggcg acctttggtc gcccgccctc agtgagcgag cgagcgcgca gagagggagt 9120  
 ggccaacgtc atttaaagtc atgcaagctt ggcgtaatca tggatcatagc tgtttcctgt 9180  
 gtgaaaattg cgttgcgctc actgcccgtt ttccagtcgg gaaacctgtc gtgccagctg 9240  
 cattaatgaa tcggccaacg cgcggg 9266

<210> 11

<211> 9236

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成的多核苷酸

<400> 11

cccgcgcgtt ggccgattca ttaatgcagc tggcacgaca gttttcccga ctggaaagcg 60  
 ggcagtgagc gcaacgcaat tttcacacag gaaacagcta tgaccatgat tacgccaagc 120  
 ttgcatgcat ttaaattgacg cagctgcgcg ctcgctcgtc cactgaggcc gcccgggcaa 180  
 agccccggcg tcgggcgacc tttggtcgcc cggcctcagt gagcgagcga gcgcgagag 240  
 agggagtggc caactccatc actaggggtt gagtttaaac ttcgtcgacg atctgcggcc 300  
 gcacgcgtgg agctagtatt taatagtaat caattacggg gtcattagtt catagcccat 360  
 atatggagtt ccgctgtaca taacttacgg taaatggccc gcctggctga ccgccaacg 420  
 acccccgccc attgacgtca ataattgacg atgttcccat agtaacgtca atagggactt 480  
 tcattgacg tcaatgggtg gactatttac ggtaaactgc ccacttggca gtacatcaag 540  
 tgtatcatat gcccaagtac cccctattg acgtcaatga cggtaaatgg cccgcctggc 600  
 attatgcca gtacatgacc ttatgggact ttctacttg gcagtacatc tacgtattag 660  
 tcatcgctat taccatggtg atgcggtttt ggcagtacat caatggcgtg ggatagcgg 720

ttgactcacg gggatttcca agtctccacc ccattgacgt caatgggagt ttgttttgca 780  
 ccaaaatcaa cgggactttc caaaatgtcg taacaactcc gccccattga cgcaaagg 840  
 cggtaggcgt gtacgggtgg aggtctatat aagcagagct cgtttagtga accgtcagat 900  
 cgcttgagga cgccatccac gctgttttga cctccataga agacaccggg accgatccag 960  
 cctccgcgga ttcgaatccc ggccgggaac ggtgcattgg aacgcggatt ccccggtcca 1020  
 agagtgcgt aagtaccgcc tatagagtct ataggccac aaaaaatgct ttcttctttt 1080  
 aatatacttt ttgtttatc ttatttctaa tactttccct aatctctttc tttcagggca 1140  
 ataatgatac aatgtatcat gcctctttgc accattctaa agaataacag tgataatttc 1200  
 tgggttaagg caatagcaat atttctgcat ataaatattt ctgcatataa attgtaactg 1260  
 atgtaagagg tttcatattg ctaatagcag ctacaatcca gctaccattc tgcttttatt 1320  
 ttatggttg gataaggetg gattattctg agtccaagct aggccctttt gctaatactg 1380  
 ttcatacctc ttatcttctt cccacagctc ctgggcaacg tgctggtctg tgtgctggcc 1440  
 catcactttg gcaaagaatt gggattcgaa catcgccgc caccatgaac gcaagtgaat 1500  
 tccgaaggag agggaaggag atggtggatt acgtggccaa ctacatggaa ggcattgagg 1560  
 gacgccaggt ctaccctgac gtggagcccc ggtacctgcg gccgctgatc cctgccgctg 1620  
 cccctcagga gccagacacg tttgaggaca tcatcaacga cgttgagaag ataatactgc 1680  
 ctgggggtgac gcaactggcag agcccctact tcttcgcta cttccccact gccagctcgt 1740  
 acccgccat gcttgccgac atgctgtgcg gggccattgg ctgcatcggc ttctcctggg 1800  
 cggcaagccc agcatgcaca gagctggaga ctgtgatgat ggactggctc gggaagatgc 1860  
 tggaaactacc aaaggcattt ttgaatgaga aagctggaga agggggagga gtgatccagg 1920  
 gaagtgccag tgaagccacc ctggtggccc tgctggccgc tcggacaaa gtgatccatc 1980  
 ggctgcaggc agcgtcccca gagctcacac aggccgctat catggagaag ctggtggctt 2040  
 actcatccga tcaggcacac tcctcagtgg aaagagctgg gttaattggt ggagtgaat 2100  
 taaaagccat cccctcagat ggcaacttcg ccatgcgtgc gtctgccctg caggaagccc 2160  
 tggagagaga caaagcggct ggccctgattc ctttctttat ggttgccacc ctggggacca 2220  
 caacatgctg ctctttgac aatctcttag aagtcggtcc tatctgcaac aaggaagaca 2280  
 tatggctgca cgttgatgca gcctacgcag gcagtgcatt catctgccct gagttccggc 2340  
 accttctgaa tggagtggag tttgcagatt cattcaactt taatccccac aaatggctat 2400  
 tggatgaatt tgactgttct gccatgtggg tgaaaaagag aacagactta acgggagcct 2460  
 ttagactgga ccccaactac ctgaagcaca gccatcagga ttcagggctt atcactgact 2520  
 accggcattg gcagatacca ctgggcagaa gatttcgctc tttgaaaatg tggtttgat 2580  
 ttaggatgta tggagtcaaa ggactgcagg cttatatecg caagcatgtc cagctgtccc 2640  
 atgagtttga gtcactggtg cgccaggatc cccgctttga aatctgtgtg gaagtcattc 2700  
 tggggcttgt ctgctttcgg ctaaagggtt ccaacaaagt gaatgaagct cttctgcaaa 2760  
 gaataaacag tgccaaaaaa atccaacttg ttccatgtca cctcaggac aagtttgtcc 2820  
 tgcgctttgc catctgttct cgcacggttg aatctgccc tgtgcagcgg gcctgggaac 2880  
 acatcaaaga gctggcggcc gacgtgctgc gagcagagag ggagttaggag tgagctgctc 2940  
 gagagatcta cgggtggcat cctgtgacc cctccccagt gcctctctg gcctggaag 3000  
 ttgccactcc agtgcccacc agccttgtcc taataaaatt aagttgcatc attttgtctg 3060

actaggtgtc cttctataat attatgggggt ggaggggggt ggtatggagc aaggggcaag 3120  
 ttgggaagac aacctgtagg gcctgcgggg tctattggga accaagctgg agtgcagtgg 3180  
 cacaatcttg gctcactgca atctccgcct cctgggttca agcgattctc ctgcctcagc 3240  
 ctccccgagtt gttgggattc caggcatgca tgaccaggct cagctaattt ttgttttttt 3300  
 ggtagagacg gggtttcacc atattggcca ggctgggtct caactcctaa tctcaggtga 3360  
 tctacccacc ttggcctccc aaattgctgg gattacaggc gtgaaccact gctcccttc 3420  
 ctgtccttct gattttgtag gtaaccacgt gcggaccgag cggccgcagt taattaagct 3480  
 cgcgaaaacc ctagtgatgg agttggccac tcctctctg cgcgctcgct cgctcactga 3540  
 ggccggggcga ccaaaggtcg cccgacgcc gggtttgcc cgggcggcct cagtgagcga 3600  
 gcgagcgcgc agctggacga tttaaatggt accgagctcg aattcactgg ccgtcgtttt 3660  
 acaacgtcgt gactgggaaa accctggcgt tacccaactt aatgccttg cagcacatcc 3720  
 ccctttcgcc agctggcgta atagcgaaga ggcccgcacc gatgcctt cccaacagtt 3780  
 gcgcagcctg aatggcgaat ggcgcctgat gcggtattt ctcttacgc atctgtgcgg 3840  
 tatttcacac cgcatatggt gcactctcag tacaatctgc tctgatgccg catagttaag 3900  
 ccagccccga caccgcca caccgctga cgcgcctga cgggcttgtc tgctcccggc 3960  
 atccgcttac agacaagctg tgaccgtctc agaaccaaa tgtgaccaac cgtttacata 4020  
 tatcttggtt tattatttca atttctctt tcaaactct tcttctgtcg ttgtgcaatt 4080  
 ttccaaatgc caatttggtc gcttggtat ttccaaacga tttcatatat tcaagttgga 4140  
 gatatagaca gtccccgaa cacctcgcct cctctgctt ttatgcctgc tcgtcctgtg 4200  
 ggtataatth taatgggtcaa atcgctgctg gggaattgta tacgctgctc ttgtgtctca 4260  
 ctgcctccct ttagaaaatg gaaattgctt ttccattatt tccatgtgat tttgttggtt 4320  
 ttgccatcga attggcattg aaaacgcata aaaataagca tttgcattt gcaaagatcc 4380  
 aaaagattta tttgcacgct gagcctgggg atacacgaaa tgtatttgta agattcttca 4440  
 gatgagtttg gaacgcacgg aaattaccgt cttgggattt gttggacatc gcatttaagc 4500  
 atgatgtatc atttaatttt ttccaattta aaaacaata atcagtgcta cgattaagac 4560  
 tggatctatt atagacttct tcaaagtttt tcagttttct ttaaattac ctccataaaa 4620  
 ctcttttaat attttgaaaa tcactctccag gttacattta atctgattaa gtttagagtc 4680  
 agttagtttc ccacagtttt cttcttgaaa taaaccatt aagtaacccc aactgatcgg 4740  
 cgcaaatgat tcagctatgc agaaaatat attgatgatt tttccctccc accagcctt 4800  
 aacacttgct taaccctttt gtgtggccat tatagcctt tcctcgtagt ctgcttaag 4860  
 ttcatthaata agttttgcgt gagccaaaaa tggcgcctgt ttggaatcgt gacagcgtgg 4920  
 aaactctgga ctttgggggt gcaaaacttc ggaagctgaa agcattttgc ttagccatc 4980  
 gcattttggg ggaagaaatc cgaattcgag tccaaaccga attctaatag aagttttgca 5040  
 gcaaagtgcc tcagacaggt taatgacca aagcagtttt gcattcaaat gctgcagcaa 5100  
 ccctcgcacg agggttgtca tgacggacga aaatctaatt tacaacatgc aactgccact 5160  
 ttgaggggtg acttttacc aagacgtggc tgtgaaggaa attctgcgag aaagagatta 5220  
 attacgtctt gggggcagtt aatgaatgct tgcgcggggc gataaggggt taacgtttgg 5280  
 ccagctcaaa ttaccgaatg tataacattt tgatgagcat gacaaaaatt ggaattttca 5340  
 actctttttt cctgcgaaaa gcataacttt tccattaaca caatggcgac gatgagccgg 5400

caaatcgacg ataccaaadc ggcataacgt gcatgaaaat tatacatgat tgatttcata 5460  
ttaatttcta cgaatgttat gaatcggcta aaagatgaga atggaaatat tgcacgattt 5520  
tgattttgtc atgatgacaa aaaagggttg taagatttgt acatgccaaa atcataaact 5580  
tttaacagaa atcaaacaca aagaagtaat ataacattaa agtacacagg cttgtcaca 5640  
gagatagaaa aatgtagcta ttattaaaat atttaacatt ctcttgggtg ctgcaacttt 5700  
tctatcagtc gcttttttat tccctttcca acacttattt aaaatgaaat gcaactgaaa 5760  
ttaactaatt taatggctca tatcctttgt gctgcttaaa aaggcaggaa acgttttttg 5820  
tgccctacac ctctccatt caaatgaaaa aggcgggtga gtcgaggaaa atgtctgcc 5880  
tgagcctga caagccaaga tatggcccat caaaaatgtt cgaatgttct ttttaataa 5940  
atgtctcatt atatggctgc cacgcccaca ccgctcaacg cccacacacg tgccgccttc 6000  
cggtttagtt ggggtgtacc tgaccgtaga ttttctactg cggacatgtg tccaatcagt 6060  
ggcaacgtgc aacgaaccgt ggcaaacaca gggaaagaac ctggaagacc cacagcaaac 6120  
tcatcctctc gaatttgaca ctatgataat gcttatattc aattttttgc aacattctat 6180  
ttacactaaa ctgagaaaca ggacaaaagt gagaatgggt gctgtgatta tttgtcttgt 6240  
gccaatataat gccctcctgc atataaaata cgagatacaa aaccaaacga aataagaacg 6300  
aacaagaaat cagttaatt tcaatgctga tcaaccaag ttgacaactc tgttgatat 6360  
tagctctaataat aatgacttaa ggttcgaaat ttaagtaact tccaaaatgg gccagataaa 6420  
tactgctaata atcgaatgca attcaatgag gaaatagtaa tcaatcagcc aaccctaatg 6480  
aaattaataa tgtaatttaa aactttattc caccattct aataatgaaa atcattaat 6540  
atatgtagca atccaatttt gtaatacat attgtatatt cctgatttgt caataccaaa 6600  
gaccagaaaa aacaccatgc caaatcctt ttattcgttg aaaatcgaaa caactttgaa 6660  
gtattaacct gctggctaaa aaatatgtgt attactaaat ataccatgta atcaaaagt 6720  
cgaaataaac gtgaaatggc agctccactc gtcagccgtg ccacttttcg actaatcaaa 6780  
atgccttttg aatgcctgag ttgaatcaag ttggcttaat agttattatc ccacgcaagc 6840  
aaagtcaatg gcagagggaa atgcgtagaa attagcacag acttgaatgg acgcacgagt 6900  
gtcgaatggc aggagagtgg gaaatgaacg gggagttttc caggataagg atgttttcga 6960  
agtatcgtaa tcatttatag cctccagata cgggagctgc atgtgtcaga ggttttcacc 7020  
gtcatcaccg aaacgcgca tgcagctctg gccctgtct caaaatctct gatgttcat 7080  
tgcacaagat aaaaatata catcatgaac aataaaactg tctgcttaca taaacagtaa 7140  
tacaaggggt gttgaagatc cttgatctt ttctacgggg tctgacgctc agtggaacga 7200  
aaactcacgt taagggattt tggctatgag attatcaaaa aggatcttca cctagatcct 7260  
tttaaatata aatgaagt tttaaatcaag ccaatctga ataattgtac aaccaattaa 7320  
ccaattctga ttagaaaaac tcatcgagca tcaaatgaaa ctgcaattta tcatatcag 7380  
gattatcaat accatatttt tgaaaaagcc gtttctgtaa tgaaggagaa aactcaccga 7440  
ggcagttcca taggatggca agatcctggt atcggctctg gattccgact cgtccaacat 7500  
caatacaacc tattaatttc cctcgtcaa aaataaggtt atcaagtgag aatcaccat 7560  
gagtgacgac tgaatccggt gagaatggca aaagtttatg ctttctttc cagacttgtt 7620  
caacaggcca gccattacgc tcgtcatcaa aatcactcgc atcaacaaa ccgttattca 7680  
ttcgtgattg cgcctgagcg agacgaaata cgcgatcgt gttaaaagga caattacaaa 7740

caggaatcga atgcaaccgg cgcaggaaca ctgccagegc atcaacaata ttttcacctg 7800  
 aatcaggata ttcttctaata acctggaatg ctgtttttcc ggggatcgca gtggtgagta 7860  
 accatgcatc atcaggagta cggataaaaat gcttgatggt cggaagaggc ataaattccg 7920  
 tcagccagtt tagtctgacc atctcatctg taacatcatt ggcaacgcta cctttgccat 7980  
 gtttcagaaa caactctggc gcatcgggct tcccatacaa gcgatagatt gtcgcacctg 8040  
 attgcccgcac attatcgcga gccatttat accatataa atcagcatcc atgttggaaat 8100  
 ttaatcgcgg cctcgcagtt tcccgtttaa tatggctcat aacaccctt gtattactgt 8160  
 ttatgtaagc agacagtttt attgttcatg atgatatatt tttatcttgt gcaatgtaac 8220  
 atcagagatt ttgagacacg ggccagagct gcatcgcgcg ttttcagaat tggtaattg 8280  
 gttgtaacat tattcagatt gggcttgatt taaaacttca tttttaattt aaaaggatct 8340  
 aggtgaagat cctttttgat aatctcatga ccaaaatccc ttaacgtgag ttttcgttcc 8400  
 actgagcgtc agaccccgtg gaaaagatca aaggatcttc tttccatagg ctccgcccc 8460  
 ctgacgagca tcacaaaaat cgacgctcaa gtcagaggtg gcgaaaccg acaggactat 8520  
 aaagatacca ggcgtttccc cctggaagct cctctgtgcg ctctctgtt ccgaccctgc 8580  
 cgcttaccgg atacctgtcc gcctttctcc cttegggaag cgtggcgctt tctcatagct 8640  
 cacgctgtag gtatctcagt tcggtgtagg tcgttcgctc caagctgggc tgtgtgcacg 8700  
 aacccccgt tcagcccgcac cgctgcgcct tatccgtaa ctatcgtctt gagtccaacc 8760  
 cggtaaagaca cgacttatcg ccaactggcag cagccactgg taacaggatt agcagagcga 8820  
 ggtatgtagg cgggtgctaca gagttcttga agtggtggcc taactacggc tactagaa 8880  
 gaacagtatt tggatctgc gctctgctga agccagttac cttcgaaaa agagttggta 8940  
 gctcttgatc cggcaaacia accaccgctg gtagcggtag tttttttgtt tgcaagcagc 9000  
 agattacgcg cagaaaaaaaa ggatctcaa acgccagcaa cgcggccttt ttacggttcc 9060  
 tggccttttg ctggcctttt gctcacatgt tcttctctgc gttatcccct gattctgtgg 9120  
 ataaccgtat taccgccttt gagtgagctg ataccgctcg ccgagccga acgaccgagc 9180  
 gcagcagtc agtgagcag gaagcgggaag agcgcceaat acgcaaaccg cctctc 9236  
 <210> 12  
 <211> 6260  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)  
 <220>  
 <223> 人工序列的描述: 合成的多核苷酸  
 <400> 12  
 cccgcgcgtt ggccgattca ttaatgcagc tggcagcaca ggtttcccga ctggaaagcg 60  
 ggcagtgagc gcaacgcaat tttcacacag gaaacagcta tgaccatgat tacgccaagc 120  
 ttgcatgcat ttaaatgacg ttggcactc cctctctgcg cgctcgtctg ctactgagg 180  
 ccgggcgacc aaaggtcgcc cgacgcccgg gctttgccc ggcggcctca gtgagcagc 240  
 gagcgcgcag agagggagtg gccaaactca tcaactaggg ttctgagtt taaacttcgt 300  
 cgacgatctg cggccgcacg cgtggagcta gttattaata gtaatcaatt acggggtcat 360  
 tagttcatag cccatatatg gagttccgcg ttacataact tacggtaaat ggcccgcctg 420

gctgaccgcc caacgacccc cgcccattga cgtcaataat gacgtatgtt cccatagtaa 480  
cgtcaatagg gactttccat tgacgtcaat ggggtggagta tttacggtaa actgcccact 540  
tggcagtaca tcaagtgtat catatgccaa gtacgcccc tattgacgtc aatgacggta 600  
aatggcccg ctaggcattat gccagtaga tgacctatg ggactttcct acttggcagt 660  
acatctacgt attagtcatc gctattacca tggatgatgc gttttggcag tacatcaatg 720  
ggcgtggata gcggtttgac tcacggggat ttccaagtct ccacccatt gacgtcaatg 780  
ggagtttggt ttgcacccaaa atcaacggga ctttccaaaa tgtcgtaca actccgcccc 840  
attgacgcaa atgggacgta ggcgtgtacg gtgggaggtc tatataagca gagctcgttt 900  
agtgaaccgt cagatcgctt ggagacgcca tccacgtgt tttgacctc atagaagaca 960  
ccgggaccga tccagcctcc gcggattcga atcccggccg ggaacgggtc attggaacgc 1020  
ggattccccg tgccaagagt gacgtaagta ccgctatag agtctatagg cccacaaaa 1080  
atgctttctt cttttaatat acttttttgt ttatcttatt tctaatactt tcctaatct 1140  
ctttctttca gggcaataat gatacaatgt atcatgctc tttgcacct tctaaagaat 1200  
aacagtgata atttctgggt taaggcaata gcaatattc tgcatataaa ttttctgca 1260  
tataaattgt aactgatgta agagtttca tattgctaat agcagctaca atccagctac 1320  
cattctgctt ttattttatg gttgggataa ggctggatta ttctgagtcc aagctaggcc 1380  
cttttgctaa tcatgttcat acctcttacc ttctctccac agctcctggg caacgtgctg 1440  
gtctgtgtgc tggcccatca ctttgcaaaa gaattgggat tcgaacatcg gccgccacca 1500  
tgaacgccag cgagttcagg aggaggggca aggagatggt ggactacgtg gccactaca 1560  
tggagggcat cgagggcagg caggtgtacc ccgacgtgga gcccgctac ctgaggcccc 1620  
tgatccccgc cgccgcccc caggagccc acacctcga ggacatcatc aacgacgtgg 1680  
agaagatcat catgcccggc gtgacctact ggacagccc ctacttctt gcctacttcc 1740  
ccaccgccag cagctacccc gccatgctgg ccgacatgct gtgcggcgcc atcggctgca 1800  
tcggcttcag ctgggccgcc agccccgct gcaccgagct ggagaccgtg atgatggact 1860  
ggctgggcaa gatgctggag ctgcccagg ctttctgaa cgagaaggcc ggcgagggcg 1920  
gcggcgtgat ccagggcagc gccagcagg ccaccctggt ggccctgctg gccgccagga 1980  
ccaaggtgat ccacaggctg caggccgcca gccccgact gaccaggcc gccatcatgg 2040  
agaagctggt ggcttacagc agcaccagg cccacagcag cgtggagagg gccggcctga 2100  
tcggcggcgt gaagctgaag gccatcccc gcgacggcaa cttcgccatg agggccagcg 2160  
ccctgcagga ggccctggag agggacaagg ccgcccgct gatcccctt ttcatggtgg 2220  
ccaccctggg caccaccacc tgctgcagct tcgacaacct gctggaggtg ggccccatct 2280  
gcaacaagga ggacatctgg ctgcacgtgg acgccccta cgccggcagc gccttcatct 2340  
gccccgagtt caggcacctg ctgaacggcg tggagtctgc cgacagctt aacttcaacc 2400  
cccacaagtg gctgctgggt aacttcgact gcagcgcct gtgggtgaag aagaggaccg 2460  
acctgaccgg cgccttcagg ctggaccca cctacctgaa gcacagccac caggacagcg 2520  
gcctgatcac cgactacagg cactggcaga tccccctggg caggaggtt aggagcctga 2580  
agatgtggtt cgtgttcagg atgtacggcg tgaaggcct gcaggcctac atcaggaagc 2640  
acgtgcagct gagccacgag ttcgagagcc tggtaggca ggacccaggt ttcgagatct 2700  
gcgtggaggt gatcctgggc ctggtgtgct tcaggctgaa gggcagcaac aaggtgaacg 2760

aggccctgct gcagaggatc aacagcgcca agaagatcca cctggtgccc tgccacctga 2820  
 gggacaagtt cgtgctgagg ttcgccatct gcagcaggac cgtggagagc gccacagtgc 2880  
 agagggcctg ggagcacatc aaggagctgg ccgccgacgt gctgagggcc gagagggagt 2940  
 gagctgctcg agagatctac ggggtggcatc cctgtgacce ctccccagtg cctctcctgg 3000  
 ccctggaagt tgccactcca gtgccacca gccttgtcct aataaaatta agttgcatca 3060  
 ttttgtctga ctaggtgtcc ttctataata ttatgggggtg gaggggggtg gtatggagca 3120  
 aggggcaagt tgggaagaca acctgtaggg cctgcggggt ctattgggaa ccaagctgga 3180  
 gtgcagtggc acaatccttg ctcaactgcaa tctccgcctc ctgggttcaa gcgattctcc 3240  
 tgccctcagc tcccagattg ttgggattcc aggcatgcat gaccaggctc agctaatttt 3300  
 tgtttttttg gtagagacgg ggtttacca tattggccag gctggtctcc aactcctaat 3360  
 ctcaggtgat ctaccacct tggcctcca aattgctggg attacaggcg tgaacctg 3420  
 ctcccttccc tgtccttctg atttttagg taaccagtgc cggaccgagc ggccgcagtt 3480  
 aattaagctc gcgaaggaa cctagtgat ggagttggcc actcctctc tgcgcgctcg 3540  
 ctcgctcact gaggccgggc gaccaaaggt cgcgccagc ccgggctttg cccgggcggc 3600  
 ctcagtgagc gagcgagcgc gcagagagg agtggccaag acgatttaa tggtaccgag 3660  
 ctcgaattca ctggccgtcg ttttacaac tcgtgactgg gaaaacctg gcgttaccca 3720  
 acttaatcgc cttgcagcac atccccctt cgcagctgg cgtaatagcg aagaggcccg 3780  
 caccgatcgc cttcccaac agttgcgag cctgaatggc gaatggcgc tgatgcggtg 3840  
 ttttctcctt acgcatctgt gcggtatttc acaccgata tgggtgactc tcagtacaat 3900  
 ctgctctgat gccgcatagt taagccagc cgcacaccg ccaacaccg ctgacgcgcc 3960  
 ctgacgggct tgtctgctcc cggcatccgc ttacagaaa gctgtgaccg tctccgggag 4020  
 ctgcatgtgt cagaggtttt caccgtcat accgaaacgc gcgatgcagc tctggcccgt 4080  
 gtctcaaaat ctctgatgtt acattgcaca agataaaat atatcatcat gaacaataaa 4140  
 actgtctgct tacataaaca gtaatacaag ggggtgtgaa gatccttga tcttttctac 4200  
 ggggtctgac gctcagtgga acgaaaactc acgttaaggg attttggcca tgagattatc 4260  
 aaaaaggatc ttcacctaga tctttttaa ttaaaaatga agttttaa at caagcccaat 4320  
 ctgaataatg ttacaacca ttaaccaatt ctgattagaa aaactcatcg agcatcaaat 4380  
 gaaactgcaa tttattcata tcaggattat caataccata tttttgaaa agccgtttct 4440  
 gtaatgaagg agaaaactca ccgaggcagt tccataggat ggcaagatcc tggatcgggt 4500  
 ctgcgattcc gactcgtcca acatcaatac aacctattaa tttcccctcg tcaaaaataa 4560  
 ggttatcaag tgagaaatca ccatgagtga cgactgaatc cggtgagaat ggcaaaagtt 4620  
 tatgcatttc tttccagact tgttcaacag gccagcatt acgctcgtca tcaaaatcac 4680  
 tcgcatcaac caaacgta ttcatcgtg attgcgctg agcgagacga aatacgcgat 4740  
 cgctgttaaa aggacaatta caaacaggaa tcgaatgcaa ccggcgcagg aacctgcca 4800  
 gcgcatcaac aatattttca cctgaatcag gatattctc taatacctgg aatgctgttt 4860  
 ttccggggat cgcagtgggt agtaaccatg catcatcagg agtacggata aatgcttga 4920  
 tggtcggaag aggcataaat tccgtcagc agtttagtct gaccatctca tctgtaacat 4980  
 cattggcaac gctaccttg ccatgtttca gaacaactc tggcgcagc ggcttcccat 5040  
 acaagcgata gattgtcgca cctgattgcc cgacattatc gcgagcccat ttataccat 5100

ataaatcagc atccatgttg gaatttaatc gcggcctcga cgtttcccgt tgaatatggc 5160  
 tcataacacc ccttgattta ctgtttatgt aagcagacag ttttattggt catgatgata 5220  
 tattttttatc ttgtgcaatg taacatcaga gattttgaga cacgggccag agctgcatcg 5280  
 cgcgttttca gaattgggta attgggtgta acattattca gattgggctt gatttaaaac 5340  
 ttcatTTTTTA atttaaaagg atctaggtga agatcctttt tgataatctc atgacaaaaa 5400  
 tcccttaacg tgagttttcg ttccactgag cgtcagacc cgtagaaaag atcaaaggat 5460  
 cttctttcca taggctccgc cccctgacg agcatcacia aatcgacgc tcaagtcaga 5520  
 ggtggcgaaa cccgacagga ctataaagat accaggcgtt tccccctgga agctccctcg 5580  
 tgcgctctcc tgttccgacc ctgccgctta ccgatacct gtccgccttt ctcccttcgg 5640  
 gaagcgtggc gctttctcat agctcacgct gtaggtatct cagttcgggt taggtcgttc 5700  
 gctccaagct gggtgtgtg cacgaacccc ccgttcagcc cgaccgctgc gccttatccg 5760  
 gtaactatcg tcttgagtcc aaccggtaa gacacgactt atgccactg gcagcagcca 5820  
 ctggtaacag gattagcaga gcgaggtatg taggcggtgc tacagagttc ttgaagtggg 5880  
 ggcctaacta cggctacact agaagaacag tatttggtat ctgcgctctg ctgaagccag 5940  
 ttaccttcgg aaaaagagtt ggtagctctt gatccggcaa acaaaccacc gctggtagcg 6000  
 gtggtttttt tgtttgcaag cagcagatta cgcgcagaaa aaaaggatct caaacgcca 6060  
 gcaacgcggc ctttttacgg ttcttgccct tttgctggcc ttttgctcac atgttctttc 6120  
 ctgcgttata ccctgattct gtggataacc gtattaccgc ctttgagtga gctgataccg 6180  
 ctgcgccgag ccgaacgacc gagcgcagcg agtcagttag cgaggaagcg gaagagcgcc 6240  
 caatacgcaa accgcctctc 6260

<210> 13

<211> 6442

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成的多核苷酸

<400> 13

cccgcgcggt ggccgattca ttaatgcagc tggcagcaca gttttcccga ctgaaagcg 60  
 ggcagtgagc gcaacgcaat tttcacacag gaaacagcta tgaccatgat tacgccaagc 120  
 ttgcatgcat ttaaattgacg cagctgcgcg ctgcctcgt cactgaggcc gcccgggcaa 180  
 agccccggcg tcgggcgacc tttggtcgcc cggcctcagt gagcagcga gcgcgcagag 240  
 agggagtggc caactccatc actaggggtt gagtttaaac ttcgtcgacg atctgcggcc 300  
 gcacgcgtgg agctagtatt taatagtaat caattacggg gtcattagtt catagcccat 360  
 atatggagtt ccgcgttaca taacttacgg taaatggccc gcctggctga ccgccaacg 420  
 acccccgccc attgacgtca ataattgacgt atgttcccat agtaacgtca atagggactt 480  
 tcattgacg tcaatgggtg gagtatttac ggtaaactgc ccacttgga gtacatcaag 540  
 tgtatcatat gccaaagtac cccctattg acgtcaatga cggtaaatgg cccgcctggc 600  
 attatgcca gtacatgacc ttatgggact ttctacttg gcagtacatc tacgtattag 660  
 tcatcgctat taccatgggt atgcggtttt ggcagtacat caatgggcgt ggatagcggg 720

ttgactcacg gggatttcca agtctccacc ccattgacgt caatgggagt ttgttttgca 780  
 ccaaaatcaa cgggactttc caaaatgtcg taacaactcc gccccattga cgcaaagg 840  
 cggtaggcgt gtacgggtgg aggtctatat aagcagagct cgtttagtga accgtcagat 900  
 cgcttgaga cgccatccac gctgttttga cctccataga agacaccggg accgatccag 960  
 cctccgcgga ttcgaatccc ggccgggaac ggtgcattgg aacgcggatt ccccggtcca 1020  
 agagtgcgt aagtaccgcc tatagagtct ataggccac aaaaaatgct ttcttctttt 1080  
 aatatacttt ttgtttatc ttatttctaa tactttccct aatctctttc tttcagggca 1140  
 ataatgatac aatgtatcat gcctctttgc accattctaa agaataacag tgataatttc 1200  
 tgggttaagg caatagcaat atttctgcat ataatatatt ctgcatataa attgtaactg 1260  
 atgtaagagg tttcatattg ctaatagcag ctacaatcca gctaccattc tgcttttatt 1320  
 ttatggttg gataaggetg gattattctg agtccaagct aggccctttt gctaatactg 1380  
 ttcatacctc ttatcttctc cccacagctc ctgggcaacg tgctggtctg tgtgctggcc 1440  
 catcactttg gcaaagaatt gggattcgaa catcgaattc gggcacgagg gaggacagag 1500  
 agcaagtca tcccggctgc ctttttcacc tctgacagag cccagacacc atgaacgcaa 1560  
 gtgaattccg aaggagaggg aaggagatgg tggattacgt ggccaactac atggaaggca 1620  
 ttgagggacg ccaggtctac cctgacgtgg agcccgggta cctgcggccg ctgatccctg 1680  
 ccgctgcccc tcaggagcca gacacgtttg aggacatcat caacgacgtt gagaagataa 1740  
 tcatgcctgg ggtgacgcac tggcacagcc cctacttctt cgctacttc cccactgcca 1800  
 gctcgtacc ggccatgctt gcggacatgc tgtgcggggc cattggctgc atcggcttct 1860  
 cctgggcggc aagcccagca tgcacagagc tggagactgt gatgatggac tggctcggga 1920  
 agatgctgga actaccaaag gcatttttga atgagaaagc tggagaaggg ggaggagtga 1980  
 tccaggaag tgccagtga gccaccctgg tggccctgct ggccgctcgg accaaagtga 2040  
 tccatcggct gcaggcagcg tccccagagc tcacacaggc cgctatcatg gagaagctgg 2100  
 tggcttactc atccgatcag gcacactcct cagtggaaag agctgggtta attggtggag 2160  
 tgaattaaa agccatcccc tcagatggca acttcgcat gcgtgcgtct gccctgcagg 2220  
 aagccctgga gagagacaaa gcggctggcc tgattccttt ctttatggtt gccaccctgg 2280  
 ggaccacaac atgctgctc tttgacaatc tcttagaagt cggctctatc tgcaacaagg 2340  
 aagacatatg gctgcacgtt gatgcagcct acgcaggcag tgcattcatc tgccctgagt 2400  
 tccggcacct tctgaatgga gtggagttg cagattcatt caactttaat cccacaaat 2460  
 ggctattggt gaattttgac tgttctgcca tgtgggtgaa aaagagaaca gacttaacgg 2520  
 gagcctttag actggacccc acttacctga agcacagcca tcaggattca gggcttatca 2580  
 ctgactaccg gcattggcag ataccactgg gcagaagatt tcgctctttg aaaatgtggt 2640  
 ttgtatttag gatgtatgga gtcaaaggac tgcaggctta tatccgcaag catgtccagc 2700  
 tgtccatga gtttgagtca ctggtgcgcc aggatccccg ctttgaaatc tgtgtggaag 2760  
 tcattctggg gcttgtctgc tttcggttaa aggttccaa caaagtgaat gaagctcttc 2820  
 tgcaaagaat aaacagtgc aaaaaaatcc acttggttc atgtcacctc agggacaagt 2880  
 ttgtcctgcg ctttgccatc tgttctgca cggtggaatc tgccatgtg cagcgggctt 2940  
 gggaacacat caaagagctg gcggccgacg tgctgcgagc agagaggag taggagtga 3000  
 gccagctgca ggaatcaaaa attgaagaga gatatatctg aaaactgga taagaagcaa 3060

ataaatatca tccctgcctc atggaactca gctgtctgtg gcttcccatg tctttctcca 3120  
aagttatcca gagggttgtg attttgtctg cttagtagct catcaacaaa gaaatattat 3180  
ttgctaatta aaaagttaat cttcatggcc atagctttta ttcattagct gtgatttttg 3240  
ttgattaanaa cattatagat tttcatgttc ttgcagtcac cagaagtggc aggaaagcct 3300  
cactgatata ttttccaggc caatcaatgt tcacgcaact tgaaattata tctgtggtct 3360  
tcaaattgtc ttttgtcatg tggctaaatg cctaataaac aattcaagtg aaatactaaa 3420  
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa ctgctcgaga gatctacggg tggcatccct gtgaccctc 3480  
cccagtgcct ctctggccc tggaaagtgc cactccagtg cccaccagcc ttgtcctaat 3540  
aaaattaagt tgcacatatt tgtctgacta ggtgtccttc tataatatta tggggtggag 3600  
gggggtggta tggagcaagg ggcaagttgg gaagacaacc tntagggcct gcggggtcta 3660  
ttgggaacca agctggagtg cagtggcaca atcttggctc actgcaatct ccgctcctg 3720  
ggttcaagcg attctcctgc ctccagctcc cgagttgttg ggattccagg catgcatgac 3780  
caggtcagc taatttttgt ttttttggta gagacgggtt ttcaccatat tggccaggct 3840  
ggtctccaac tctaatctc aggtgatcta cccacctgg cctcccaat tgcctgggatt 3900  
acaggcgtga accactgctc ccttccctgt ccttctgatt ttgtaggtaa ccacgtgcgg 3960  
accgagcggc cgcagttaat taagctcgcg aaaccctag tgatggagt ggccactccc 4020  
tctctgcgcg ctgctcgtc cactgaggcc gggcgacaa aggtcggccg acgcccgggc 4080  
tttggccggg cggcctcagt gagcgagcga gcgcgagct ggacgattta aatggtaccg 4140  
agctcgaatt cactggcctg cgttttacia cgtcgtgact gggaaaacc tggcgttacc 4200  
caacttaatc gccttgagc acatccccct ttcgccagct ggcgtaatag cgaagaggcc 4260  
cgcaccgatc gcccttccca acagttgcgc agcctgaatg gcgaatggcg cctgatgcgg 4320  
tattttctcc ttacgcatct gtgcggtatt tcacaccgca tatggtgcac tctcagtaca 4380  
atctgctctg atgccgcata gtaagccag ccccgacacc cgccaacacc cgctgacgcg 4440  
ccctgacggg cttgtctgct cccggcatcc gcttacagac aagctgtgac cgtctccggg 4500  
agctgcatgt gtcagagggt ttaccgtca tcaccgaaac gcgcatgca gctctggccc 4560  
gtgtctcaaa atctctgatg ttacattgca caagataaaa atatatcatc atgaacaata 4620  
aaactgtctg cttacataaa cagtaataca aggggtgta tgagccatat tcaacgggaa 4680  
acgtcgaggc cgcgattaaa ttccaacatg gatgctgatt tatatgggta taaatgggct 4740  
cgcgataatg tcgggcaatc aggtgcgaca atctatcgt tgtatgggaa gcccgatgcg 4800  
ccagagttgt ttctgaaaca tggcaaaggt agcgttgcca atgatgttac agatgagatg 4860  
gtcagactaa actggctgac ggaatttatg cctcttccga ccatcaagca ttttatccgt 4920  
actcctgatg atgcatggtt actcaccact gcgatecccc gaaaaacagc attccaggta 4980  
ttagaagaat atcctgattc aggtgaaaat attgttgatg cgctggcagt gttcctgcgc 5040  
cggttgcatc cgattcctgt ttgtaattgt ctttttaaca gcgatecgtt atttctctc 5100  
gctcaggcgc aatcacgaat gaataacggt ttggttgatg cgagtgattt tgatgacgag 5160  
cgtaatggct ggctgttga acaagtctgg aaagaaatgc ataaactttt gccattctca 5220  
ccgattcag tcgtcactca tggatgattc tcaattgata accttatttt tgacgagggg 5280  
aaattaatag gttgtattga tgttgacga gtcggaatcg cagaccgata ccaggatctt 5340  
gccatcctat ggaactgcct cgggtgagttt tctccttcat tacagaaacg gctttttcaa 5400

aaatatggta ttgataatcc tgatatgaat aaattgcagt ttcatttgat gctcgatgag 5460  
 tttttctaata cagaattgggt taattgggtg taacattatt cagattgggc ttgatttaaa 5520  
 acttcatttt taatttaaaa ggatctaggt gaagatcctt tttgataatc tcatgaccaa 5580  
 aatccccttaa cgtgagtttt cgttccactg agcgtcagac cccgtagaaa agatcaaagg 5640  
 atcttcttga gatccttttt ttctgcgcgt aatctgctgc ttgcaaacia aaaaaccacc 5700  
 gctaccagcg gtggtttgtt tgccggatca agagctacca actctttttc cgaaggtaac 5760  
 tggcttcagc agagcgcaga taccaaatac tgttcttcta gtgtagccgt agttaggcca 5820  
 ccacttcaag aactctgtag caccgcctac atacctcgtc ctgctaatac tgttaccagt 5880  
 ggctgctgcc agtggcgata agtcgtgtct taccgggttg gactcaagac gatagttacc 5940  
 ggataaggcg cagcggtcgg gctgaacggg gggttcgtgc acacagccca gcttggagcg 6000  
 aacgacctac accgaactga gatacctaca gcgtgagcta tgagaaagcg ccacgcttc 6060  
 cgaagggaga aaggcggaca ggtatccggt aagcggcagg gtcggaacag gagagcgcac 6120  
 gagggagctt ccagggggaa acgctggta tctttatagt cctgtcgggt ttcgccacct 6180  
 ctgacttgag cgtcgatttt tgtgatgctc gtcagggggg cggagcctat ggaaaaacgc 6240  
 cagcaacgcg gcctttttac ggttcctggc cttttgctgg cttttgctc acatgttctt 6300  
 tcttgcgtta tcccctgatt ctgtggataa ccgtattacc gcctttgagt gagctgatac 6360  
 cgctcggcgc agccgaacga ccgagcgcag cgagtcagtg agcgaggaag cggaagagcg 6420  
 cccaatacgc aaaccgcctc tc 6442

<210> 14

<211> 9260

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成的多核苷酸

<400> 14

cccgcgcggt ggccgattca ttaatgcagc tggcacgaca gttttcccga ctgaaagcg 60  
 ggacgtgagc gcaacgcaat tttcacacag gaaacagcta tgaccatgat tacgccaagc 120  
 ttgcatgcat ttaaattgac ttggccactc cctctctgcg cgctcgctcg ctactgagg 180  
 ccggcgacc aaaggtcgcc cgacgcccgg gctttgccc ggccgacctca gtgagcgagc 240  
 gagcgcgag agagggagt gccaactcca tcaactaggg ttctgagtt taaacttcgt 300  
 cgacgatctg cgcccgacg cgtggagcta gttattaata gtaatcaatt acggggatcat 360  
 tagttcatag cccatatatg gagttccgcg ttacataact tacggtaaatt ggcccgcctg 420  
 gctgaccgcc caacgacccc cgcccattga cgtcaataat gacgtatggt cccatagtaa 480  
 cgtcaatagg gactttccat tgacgtcaat ggggtggagta tttacggtaa actgcccact 540  
 tggcagtaca tcaagtgtat catatgccc gtacgcccc tattgacgtc aatgacggta 600  
 aatggcccgc ctggcattat gcccagtaca tgacctatg ggactttcct acttggcagt 660  
 acatctacgt attagtcatc gctattacca tggatgatgc gttttggcag tacatcaatg 720  
 ggcgtggata gcggtttgac tcacgggat ttccaagtct ccacccatt gacgtcaatg 780  
 ggagtttgtt ttgcacaaa atcaacggga ctttcaaaa tgtcgtaca actccgccc 840

attgacgcaa atgggcggtg ggcgtgtacg gtgggaggtc tatataagca gagctcgttt 900  
agtgaaccgt cagatcgcct ggagacgcca tccacgctgt tttgacctcc atagaagaca 960  
ccgggaccga tccagcctcc gcggattcga atcccggccg ggaacggtgc attggaacgc 1020  
ggattccccg tgccaagagt gacgtaagta ccgctatag agtctatagg cccacaaaaa 1080  
atgcttttctt cttttaatat acttttttgt ttatcttatt tctaatactt tccctaactt 1140  
ctttctttca gggcaataat gatacaatgt atcatgcctc tttgcacat tctaaagaat 1200  
aacagtgata atttctgggt taaggcaata gcaatatttc tgcatataaa tattttctgca 1260  
tataaattgt aactgatgta agaggtttca tattgctaata agcagctaca atccagctac 1320  
cattctgctt ttattttatg gttgggataa ggctggatta ttctgagtcc aagctaggcc 1380  
cttttgctaa tcatgttcat acctcttacc ttctctccac agctcctggg caacgtgctg 1440  
gtctgtgtgc tgccccatca ctttggcaaa gaattgggat tcgaacatcg gccgccacca 1500  
tgaacgccag cgagttcagg aggaggggca aggagatggt ggactacgtg gccaaactaca 1560  
tggagggcat cgagggcagg caggtgtacc ccgacgtgga gcccggctac ctgaggcccc 1620  
tgatccccgc cgccgcccc caggagcccc acaccttcca ggacatcacc aacgacgtgg 1680  
agaagatcat catgccccgc gtgacctact ggcacagccc ctactttctt gcctacttcc 1740  
ccaccgccag cagctacccc gccatgctgg ccgacatgct gtgcggcgcc atcggctgca 1800  
tcggcttcag ctgggcccgc agccccgcct gcaccgagct ggagaccgtg atgatggact 1860  
ggctgggcaa gatgctggag ctgcccgaag ctttctgaa cgagaaggcc ggcgagggcg 1920  
gcggcgtgat ccagggcagc gccagcgagg ccaccctggt ggccctgctg gccgccagga 1980  
ccaaggtgat ccacaggctg caggccgcca gcccagctg gaccagggcc gccatcatgg 2040  
agaagctggt ggctacagc agcgaccagg cccacagcag cgtggagagg gccggcctga 2100  
tcggcggcgt gaagctgaag gccatcccc ggcagggcaa cttcgccatg agggccagcg 2160  
ccctgcagga ggccctggag agggacaagg ccgcccgcct gatcccctt ttcatggtgg 2220  
ccaccctggg caccaccacc tgctgcagct tcgacaacct gctggaggtg ggccccatct 2280  
gcaacaagga ggacatctgg ctgcacgtgg acgcccctca cgccggcagc gccttcatct 2340  
gccccgagtt caggcacctg ctgaacggcg tggagtctgc cgacagctt aacttcaacc 2400  
cccacaagtg gctgctggtg aacttcgact gcagcgccat gtgggtgaag aagaggaccg 2460  
acctgaccgg cgcttcagg ctggaccca cctacctgaa gcacagccac caggacagcg 2520  
gcctgatcac cgactacagg cactggcaga tccccctggg caggaggtt aggagcctga 2580  
agatgtggtt cgtgttcagg atgtacggcg tgaaggcct gcaggcctac atcaggaagc 2640  
acgtgcagct gagccacgag ttcgagagc ttgtgaggca ggacccagg ttcgagatct 2700  
gcgtggaggt gatcctgggc ctggtgtgct tcaggctgaa gggcagcaac aaggtgaacg 2760  
aggccctgct gcagaggatc aacagcgcca agaagatcca cctggtgccc tgccacctga 2820  
gggacaagtt cgtgctgagg ttcgccatct gcagcaggac cgtggagagc gccacgtgc 2880  
agagggcctg ggagcacatc aaggagctgg ccgcccagct gctgagggcc gagagggagt 2940  
gagctgctcg agagatctac ggggtgcatc cctgtgacc ctccccagt cctctctctg 3000  
ccctggaagt tgccactcca gtgcccacca gccttgtct aataaaatta agttgcatca 3060  
ttttgtctga ctaggtgtcc ttctataata ttatggggtg gaggggggtg gtatggagca 3120  
aggggcaagt tgggaagaca acctgtaggg cctgcggggt ctattgggaa ccaagctgga 3180

gtgcagtggc acaatcttgg ctactgcaa tctccgctc ctgggttcaa gcgattctcc 3240  
tgcctcagcc tcccagattg ttgggattcc aggcattgat gaccaggctc agctaatttt 3300  
tgtttttttg gtagagacgg ggtttacca tattggccag gctggtctcc aactcctaata 3360  
ctcaggatgat ctaccacact tggcctcca aattgctggg attacaggcg tgaaccactg 3420  
ctcccttccc tgccttctg atttttagg taaccactg cggaccgagc ggccgcagtt 3480  
aattaagctc gcgaaggaac ccctagtgat ggagttggcc actccctctc tgcgcgctcg 3540  
ctcgcctcact gaggccgggc gaccaaaggc cgcccagc cgggctttg cccggcggc 3600  
ctcagtgagc gagcgagcgc gcagagagg agtggccaag acgatttaa tggtaccgag 3660  
ctcgaattca ctggccgtcg ttttacaacg tcgtgactgg gaaaaccctg gcgttaccca 3720  
acttaatcgc cttgcagcac atccccctt cgccagctgg cgtaatagcg aagaggccc 3780  
caccgatcgc ccttcccaac agttgcgcag cctgaatggc gaatggcgcc tgatgcggta 3840  
ttttctcctt acgcattctg gcggtatttc acaccgata tggtgcactc tcagtacaat 3900  
ctgctctgat gccgatagt taagccagc ccgacaccg ccaacaccg ctgacgcgc 3960  
ctgacgggct tgtctgctc cgccatccg ttacagaaa gctgtgaccg tctcagaacc 4020  
caaatgtgac caaccgtta catatatctt gttttattat ttcaatttct cttttcaaac 4080  
atcttcttct gtcgttgtgc aattttcaa atgccaattt ggtcgttgg ctatttcaa 4140  
acgatttcat atattcaagt tggagatata gacagtccc tgaacacctc gcatcctctg 4200  
ctttttatgc ctgctcgtc tgtgggtata attttaattg tcaaatcgtc gctggggaat 4260  
tgtatacgct gctcttgtg ctactgcct ccctttaga aatggaaatt gcttttccat 4320  
tatttccatg tgattttgtt ggttttgcca tcgaattggc attgaaaacg cataaaaata 4380  
agcatttctc atttgcaaag atccaaaaga tttatttga cgctgagcct ggggatacac 4440  
gaaatgtatt tgtaagattc ttcagatgag tttggaacgc acggaatta ccgtcttggg 4500  
atgtgttggg catcgcattt aagcatgat tatcatttaa ttttttcaa tttaaaaca 4560  
aataatcagt gctacgatta agactggatc tattatagac ttcttcaaag tttttcagtt 4620  
ttctttaaaa ttacctcat aaaactctt taatattttg aaaatcatct ccaggttaca 4680  
tttaactctg ttaagtttag agtcagttag tttccacag ttttcttctt gaaataaacc 4740  
cattaagtaa cccaactga tcggcgaaa tgattcagct atgcagaaa tatgattgat 4800  
gatttttccc tcccaccagc ccttaacact tgcttaacc tttgtgtgg ccattatagc 4860  
cctttcctcg tagtctgctt aaagtctatt aataagtttt gcgtgagcca aaaatggcgc 4920  
cgctttggaa tcgtgacagc gtggaaactc tggactttgg ggttgcaaaa cttcggaagc 4980  
tgaaagcatt ttgctgtagc catcgcattt tgggggaaga aatccgaatt cgagtccaaa 5040  
ccgaattcta atagaagttt tgcagcaaag tgcctcagac aggttaatga ccaaaagcag 5100  
ttttgcattc aaatgctgca gcaacctcg cacgagggtt gtcattgacgg acgaaaatct 5160  
aatttacaac atgcaactgc cactttgagg ggtgactttt acccaagacg tggctgtgaa 5220  
ggaaattctg cgagaaagag attaattacg ctctgggggc agttaatgaa tgcttgcgcg 5280  
gggcgataag gggttaacgt ttggccagct caaattaccg aatgtataac attttgatga 5340  
gcatgacaaa aattggaatt ttcaactctt ttttctgcg aaaagcataa cttttccatt 5400  
aacacaatgg cgacgatgag ccggcaaatc gacgataca aatcggcata acgtgcatga 5460  
aaattataca tgattgattt catattaatt tctacgaatg ttatgaatcg gctaaaagat 5520

gagaatggaa atattgcacg attttgattt tgtcatgatg acaaaaaagg gttgtaagat 5580  
ttgtacatgc caaaatcata aacttttaac agaaatcaaa cacaaagaag taatataaca 5640  
ttaaagtaca caggccttgt cacagagata gaaaaatgta gctattatta aaatatttaa 5700  
cattctcttg gtgtctgcaa cttttctatc agtcgctttt ttattccctt tccaacactt 5760  
atftaaaatg aaatgcactc gaaattaact aatttaatgg ctcatatcct ttgtgctgct 5820  
taaaaaggca ggaaacgttt tttgtgcctt acacctcctc cattcaaatg aaaaaggcgg 5880  
tggagtcgag gaaaaatgtct gccctggagc ttgacaagcc aagatatggc ccatcaaaaa 5940  
tgttcgaatg ttctttttaa ataaatgtct cattatatgg ctgccacgcc cacaccgctc 6000  
aacgcccaca cacgtgccgc cttccggttt agttgggtgg tacctgaccg tagatttttc 6060  
actgcbgaca tgtgtccaat cagtggcaac gtgcaacgaa ccgtggcaaa cacagggaaa 6120  
gaacctcgaa gaccacacgc aaactcatcc tctcgaattt gacactatga taatgcttat 6180  
attcaatttt ttgcaacatt ctatttacac taaactgaga aacaggacaa agttgagaat 6240  
gggtgctgtg attatttgtc ttgtgccaat atatgcctc ctgcatataa aatacagat 6300  
acaaaaccaa acgaaataag aacgaacaag aatcagttt aatttcaatg ctgatcaaac 6360  
caagttgaca actctgttgt atattagctc taataatgac ttaaggttcg aaatttaagt 6420  
aacttccaaa atgggccaga taaatactgc taatatcgaa tgcaattcaa tgaggaaata 6480  
gtaatcaatc agccaaccct aatgaaatta ataatgtaat ttaaaacttt attccacca 6540  
ttctaataat gaaaatcatt aaatatatgt agcaatcaa ttttgtaat acatattgta 6600  
tatccctgat ttgtcaatac caaagaccag aaaaaacacc atgccaatt ctttttattc 6660  
gttgaaaatc gaaacaactt tgaagtatta acctgctggc taaaaaatat gtgtattact 6720  
aaatatacca tgtaatcaaa agttcgaaat aaacgtgaaa tggcagctcc actcgtcagc 6780  
cgtgccactt ttcgactaat caaaatgcct tttgaatgcc tgagttgaat caagttggct 6840  
taatagttat tatcccacgc aagcaaagtc aatggcagag ggaaatgcgt agaaattagc 6900  
acagacttga atggacgcac gagtgtcgaa tggcaggaga gtgggaaatg aacggggagt 6960  
ttccaggat aaggatgttt tcgaagtatc gtaatcattt atagcctcca gatacgggag 7020  
ctgcatgtgt cagaggtttt caccgtcatc accgaaacgc gcgatgcagc tctggcccgt 7080  
gtctcaaaat ctctgatgtt acattgcaca agataaaaat atatcatcat gaacaataaa 7140  
actgtctgct tacataaaca gtaatacaag ggggtttgaa gatcctttga tcttttctac 7200  
ggggtctgac gctcagtgga acgaaaactc acgttaaggg attttggca tgagattatc 7260  
aaaaaggatc ttcacctaga tctttttaa ttaaaaatga agttttaaat caagcccaat 7320  
ctgaataatg ttacaaccaa ttaaccaatt ctgattagaa aaactcatcg agcatcaaat 7380  
gaaactgcaa ttatttcata tcaggattat caataccata tttttgaaa agccgtttct 7440  
gtaatgaagg agaaaactca ccgaggcagt tccataggat ggcaagatcc tggatcgggt 7500  
ctgcgattcc gactcgtcca acatcaatac aacctattaa tttcccctcg tcaaaaataa 7560  
ggttatcaag tgagaaatca ccatgagtga cgactgaatc cggtgagaat ggcaaaagtt 7620  
tatgcatttc tttccagact tgttcaacag gccagccatt acgctcgtca tcaaaatcac 7680  
tcgcatcaac caaacgta ttcatcgtg attgcgctg agcgagacga aatacgcgat 7740  
cgctgttaaa aggacaatta caaacaggaa tcgaatgcaa ccggcgcagg aacactgcca 7800  
gcgcatcaac aatattttca cctgaatcag gatattcttc taatacctgg aatgctgttt 7860

ttccggggat cgcagtgggt agtaaccatg catcatcagg agtacggata aaatgcttga 7920  
 tggtcggaag aggcataaat tccgtcagcc agtttagtct gaccatctca tctgtaacat 7980  
 cattggcaac gctacctttg ccatgtttca gaaacaactc tggecgcacg ggcttcccat 8040  
 acaagcgata gattgtcgca cctgattgcc cgacattatc gcgagcccat ttatacccat 8100  
 ataaatcagc atccatgttg gaatttaatc gcggcctcga cgtttcccgt tgaatatggc 8160  
 tcataacacc ccttgtatta ctgtttatgt aagcagacag ttttattggt catgatgata 8220  
 tattttttatc ttgtgcaatg taacatcaga gattttgaga cacgggccag agctgcatcg 8280  
 cgcgttttca gaattgggta attgggtgta acattattca gattgggctt gatttaaaac 8340  
 ttcatTTTTTA atttaaaagg atctaggtga agatcctttt tgataatctc atgacaaaa 8400  
 tcccttaacg tgagttttcg ttccactgag cgtcagacc cgtagaaaag atcaaaggat 8460  
 cttctttcca taggetccgc cccctgacg agcatcaaa aatcgacgc tcaagtcaga 8520  
 ggtggcgaaa cccgacagga ctataaagat accaggcgtt tccccctgga agctccctcg 8580  
 tgcgctctcc tgttccgacc ctgcccetta ccgataacct gtccgccttt ctcccttcgg 8640  
 gaagcgtggc gctttctcat agctcacgct gtaggtatct cagttcggtg taggtcgttc 8700  
 gctccaagct gggctgtgtg cacgaacccc ccgttcagcc cgaccgctgc gccttatccg 8760  
 gtaactatcg tcttgagtcc aaccggtaa gacacgactt atgccactg gcagcagcca 8820  
 ctggtaacag gattagcaga gcgaggtatg taggcggtgc tacagagttc ttgaagtggg 8880  
 ggcctaacta cggctacact agaagaacag tatttggtat ctgcgctctg ctgaagccag 8940  
 ttaccttcgg aaaaagagtt ggtagctctt gatccggcaa acaaaccacc gctggtagcg 9000  
 gtggtttttt tgtttgcaag cagcagatta cgcgcagaaa aaaaggatct caaaacgcca 9060  
 gcaacgcggc ctttttacgg ttcttgccct tttgctggcc ttttgctcac atgttctttc 9120  
 ctgcgttatc ccctgattct gtggataacc gtattaccgc ctttgagtga gctgataccg 9180  
 ctcgccgacg ccgaacgacc gagcgcagcg agtcagttag cgaggaagcg gaagagcgcc 9240  
 caatacgtca accgcctctc 9260

<210> 15

<211> 9665

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的多核苷酸

<400> 15

cccgcgcgtt ggccgattca ttaatgcagc tggcagcaca ggtttcccga ctggaaagcg 60  
 ggcagtgagc gcaacgcaat tttcacacag gaaacagcta tgaccatgat tacgccaagc 120  
 ttgcatgcat ttaaattgacg ttggcactc cctctctgcg cgctcctcgc ctactgagg 180  
 ccgggacgacc aaaggtcgcc cgacgcccgg gctttgcccg ggcggcctca gtgagcgagc 240  
 gagcgcgcag agagggagtg gccaaactcca tcaactaggg ttcttgagtt taaacttcgt 300  
 cgacgatctg cggccgcacg cgtggagcta gttattaata gtaatcaatt acggggtcat 360  
 tagttcatag cccatatatg gagttccgcg ttacataact tacggtaaat ggcccgcctg 420  
 gctgaccgcc caacgacccc cgcccattga cgtcaataat gacgtatggt cccatagtaa 480

cgtcaatagg gactttccat tgacgtcaat ggggtggagta tttacggtaa actgcccact 540  
tggcagtaca tcaagtgtat catatgccaa gtacgcccc tattgacgtc aatgacggta 600  
aatggccccg ctggcattat gcccagtaca tgaccttatg ggactttcct acttggcagt 660  
acatctacgt attagtcatc gctattacca tggatgatgc gttttggcag tacatcaatg 720  
ggcgtggata gcggtttgac tcacgggat ttccaagtct ccacccatt gacgtcaatg 780  
ggagtttggt ttgcacaaa atcaacggga ctttcaaaa tgtcgtaaca actccgcccc 840  
attgacgcaa atgggcggta ggcgtgtacg gtgggaggtc tatataagca gagctcgttt 900  
agtgaaccgt cagatcgctt ggagacgcca tccacgtgt tttgacctc atagaagaca 960  
ccgggaccga tccagcctc gcggattcga atcccgccg ggaacggtgc attggaacgc 1020  
ggattccccg tgccaagagt gacgtaagta ccgctatag agtctatagg cccacaaaa 1080  
atgctttctt cttttaatat actttttgt ttatcttatt tctaatactt tcctaactt 1140  
ctttctttca gggcaataat gatacaatgt atcatgctc tttgacat tctaaagaat 1200  
aacagtgata atttctgggt taaggcaata gcaatattc tgcataaaa tatttctgca 1260  
tataaattgt aactgatgta agagtttca tattgctaat agcagctaca atccagctac 1320  
cattctgctt ttattttatg gttgggataa ggctggatta ttctgagtc aagctagcc 1380  
cttttgctaa tcatgttcat acctcttacc ttctccac agctcctggg caacgtgctg 1440  
gtctgtgtgc tggcccatca ctttggcaaa gaattggat tcgaacatc gccgccacca 1500  
tgaacgcaag tgaattccga aggagaggga aggagatggt ggattacgtg gccactaca 1560  
tggaaaggcat tgagggacgc caggtctacc ctgacgtgga gcccgggtac ctgcggccgc 1620  
tgatccctgc cgctgcccct caggagccag acacgttga ggacatcatc aacgacgttg 1680  
agaagataat catgcctggg gtgacgact ggcacagccc ctacttctt gcctacttcc 1740  
ccactgccag ctctgacctg gccatgctt cggacatgct gtgcggggcc attggctgca 1800  
tcggcttctc ctgggcggca agcccagcat gcacagagct ggagactgtg atgatggact 1860  
ggctcgggaa gatgctggaa ctaccaaagg catttttgaa tgagaaagct ggagaagggg 1920  
gaggagtgat ccaggaagt gccagtgaag ccacctggt ggcctgctg gccgctcgga 1980  
ccaaagtgat ccatcggctg caggcagcgt cccagagct cacacaggcc gctatcatgg 2040  
agaagctggt ggcttactca tccgatcagg cacactctc agtggaaaga gctgggttaa 2100  
ttggtggagt gaaattaaaa gccatcccct cagatggcaa cttcgccatg cgtgctctg 2160  
ccctgcagga agccctggag agagacaaag cgctggcct gattcctttc tttatggtt 2220  
ccacctggg gaccacaaca tgctgtctt ttgacaatct cttagaagtc ggtcctatct 2280  
gcaacaagga agacatatgg ctgcacgtt atgcagccta cgcaggcagt gcattcatct 2340  
gccctgagtt ccggcacct ctgaatggag tggagtttgc agattcattc aactttaatc 2400  
cccacaaatg gctattggtg aattttgact gttctgcat gtgggtgaaa aagagaacag 2460  
acttaacggg agcctttaga ctggaccca cttacctgaa gcacagccat caggattcag 2520  
ggcttatcac tgactaccgg cattggcaga taccctggg cagaagattt cgctctttga 2580  
aaatgtggtt tgtatttagg atgtatggag tcaaaggact gcaggcttat atccgcaagc 2640  
atgtccagct gtccatgag tttgagtcac tggatgcgca ggatccccgc tttgaaatct 2700  
gtgtggaagt cattctgggg cttgtctgct ttcggctaaa gggttccaac aaagtgaatg 2760  
aagctcttct gcaaagaata aacagtgcc aaaaaatcca cttggttcca tgtcacctca 2820

gggacaagtt tgcctgcgc ttgccatct gttctcgac ggtggaatct gcccatgtgc 2880  
agcgggcctg ggaacacatc aaagagctgg cggccgacgt gctgcgagca gagagggagt 2940  
aggagtgaag ccagctgcag gaatcaaaaa ttgaagagag atatatctga aaactggaat 3000  
aagaagcaaa taaatatcat cctgccttca tggaactcag ctgtctgtgg cttcccatgt 3060  
ctttctccaa agttatccag agggttgtga tttgtctgc ttagtatctc atcaacaaag 3120  
aaatattatt tgctaattaa aaagttaatc ttcatggcca tagcttttat tcattagctg 3180  
tgatttttgt tgattaaaac attatagatt ttcatgttct tgcagtcac agaatggta 3240  
ggaaagcctc actgatata tttccagggc aatcaatgtt cacgcaactt gaaattatat 3300  
ctgtggctct caaattgtct tttgtcatgt ggctaaatgc ctaataagct gctcgagaga 3360  
tctacgggtg gcatccctgt gaccctccc cagtgcctct cctggccctg gaagttgcca 3420  
ctccagtgcc caccagcctt gtctaataa aattaagttg catcattttg tctgactagg 3480  
tgtccttcta taatattatg ggggtggagg ggggtggatg gagcaagggg caagttggga 3540  
agacaacctg tagggcctgc ggggtctatt gggaaccaag ctggagtgca gtggcacaat 3600  
cttggctcac tgcaatctcc gcctcctggg ttcaagcag tctcctgct cagcctccc 3660  
agttgttggg attccagga tgcagacca ggctcagcta atttttgtt ttttggtaga 3720  
gacggggttt caccatattg gccaggctgg tctccaactc ctaatctcag gtgatctacc 3780  
caccttggcc tcccaaattg ctgggattac aggcgtgaac cactgctccc ttcctgtcc 3840  
ttctgatttt gtaggtaacc acgtgcggac cgagcggccg cagttaatta agctcgcgaa 3900  
ggaaccctca gtgatggagt tggccactcc ctctctgcgc gctcgtcgc tcaactgaggc 3960  
cgggcgacca aaggtcgccc gacgcccggg ctttgcccgg gcggcctcag tgagcgagcg 4020  
agcgcgcaga gagggagtgg ccaagacgat ttaaattgta cggagctcga attcaactggc 4080  
cgtcgtttta caacgtcgt actgggaaaa ccttggcgtt acccaactta atgccttgc 4140  
agcacatccc ctttgcgca gctggcgtaa tagcgaagag gcccgcaccg atgccttcc 4200  
ccaacagttg cgcagcctga atggcgaatg gcgctgatg cggatatttc tcttacgca 4260  
tctgtgcggg atttcacacc gcatatgggt cactctcagt acaatctgct ctgatccgc 4320  
atagttaagc cagccccgac acccgccaac acccgctgac gcgcccctgac gggcttgtct 4380  
gctcccggca tccgcttaca gacaagctgt gaccgtctca gaacccaaat gtgaccaacc 4440  
gtttacatat atcttggttt attatttcaa tttctcttt caaacatctt cttctgtcgt 4500  
tgtgcaattt tccaaatgcc aatttggctg cttggctatt tccaaacgat ttcatatatt 4560  
caagttggag atatatagacag tcccctgaac acctcgcac ctctgctttt tatgcctgct 4620  
cgtcctgtgg gtataatttt aatgggtcaaa tcgctgctgg ggaattgtat acgctgctct 4680  
tgtgtctcac tgctccctt gtagaaatgg aaattgcttt tccattattt ccatgtgatt 4740  
ttgttggttt tgccatcgaa ttggcattga aaacgcataa aaataagcat ttcgatttg 4800  
caaagatcca aaagatttat ttgcacgtg agcctgggga tacacgaaat gtatttgtaa 4860  
gattcttcag atgagtttgg aacgcacgga aattaccgtc ttgggatttg ttggacatcg 4920  
catttaagca tgatgtatca ttttaatttt tccaatttaa aaacaataa tcaagtctac 4980  
gattaagact ggatctatta tagacttctt caaagtttt cagttttctt taaaattacc 5040  
tccataaaac tcttttaata ttttgaaaat catctccagg ttacatttaa tctgattaag 5100  
tttagagtca gttagtttcc cacagttttc ttcttgaat aaaccatta agtaacccca 5160

actgatcggc gcaaatgatt cagctatgca gaaaatatga ttgatgattt ttccctccca 5220  
ccagccctta acacttgctt aacccttttg tgtggccatt atagcccttt cctcgtagtc 5280  
tgcttaaagt tcattaataa gttttgcgtg agccaaaaat ggcgccgctt tggaatcgtg 5340  
acagcgtgga aactctggac tttggggttg caaaacttcg gaagctgaaa gcattttgct 5400  
gtagccatcg cattttgggg gaagaaatcc gaattcgagt ccaaaccgaa ttctaataga 5460  
agttttgcag caaagtgcct cagacagggt aatgaccaa agcagttttg cattcaaag 5520  
ctgcagcaac cctcgcacga gggttgtcat gacggacgaa aatctaattt acaacatgca 5580  
actgccactt tgaggggtga cttttacca agacgtggct gtgaaggaaa ttctgcgaga 5640  
aagagattaa ttacgctctg ggggcagtta atgaatgctt gcgcggggcg ataaggggtt 5700  
aacgtttggc cagctcaaat taccgaatgt ataacattt gatgagcatg acaaaaattg 5760  
gaattttcaa ctctttttc ctgcgaaaag cataacttt ccattaacac aatggcgacg 5820  
atgagccggc aaatcgacga taccaaatcg gcataacgtg catgaaaatt atacatgatt 5880  
gatttcatat taatttctac gaatgttatg aatcggttaa aagatgagaa tggaaatatt 5940  
gcacgatttt gattttgtca tgatgacaaa aaagggttgt aagatttgta catgcaaaa 6000  
tcataaactt ttaacagaaa tcaaacacaa agaagtaata taacattaa gtacacaggc 6060  
cttgtcacag agatagaaaa atgtagctat tattaaaata tttaacattc tcttggtgtc 6120  
tgcaactttt ctatcagtcg cttttttatt ccctttccaa cacttattta aatgaaatg 6180  
cactcgaat taactaattt aatggctcat atcctttgtg ctgcttaaaa aggcaggaaa 6240  
cgttttttgt gccctacacc tcctccattc aatgaaaaa ggcggtggag tcgaggaaaa 6300  
tgtctgccct ggagcttgac aagccaagat atggccatc aaaaatgttc gaatgttctt 6360  
tttaaataaa tgtctcatta tatggctgcc acgcccacac cgtcaacgc ccacacacgt 6420  
gccgccttcc ggtttagtgt ggtggtacct gaccgtagat ttttactgc ggacatgtgt 6480  
ccaatcagtg gcaacgtgca acgaaccgtg gcaaacacag ggaaagaacc tcgaagacc 6540  
acagcaaaact catcctctcg aatttgacac tatgataatg cttatattca atttttgca 6600  
acattctatt tacactaaac tgagaaacag gacaaagttg agaatgggtg ctgtgattat 6660  
ttgtcttggt ccaatatatg ccctcctgca tataaaatac gagatacaaa accaaacgaa 6720  
ataagaacga acaagaaatc agtttaattt caatgctgat caaaccaagt tgacaactct 6780  
gttgatattt agctctaata atgacttaag gttcgaaatt taagtaactt ccaaaatggg 6840  
ccagataaat actgctaata tcgaatgcaa ttcaatgagg aatagtaat caatcagcca 6900  
accctaataa aattaataat gtaattttaa actttattcc accattcta ataataaaaa 6960  
tcattaaata tatgtagcaa tccaattttg ttaatacata ttgtatatcc ctgatttgct 7020  
aataccaaaag accagaaaaa acaccatgcc aattccttt tattegttga aatcgaaac 7080  
aactttgaag tattaacctg ctggctaaaa aatatgtgta ttactaaata taccatgtaa 7140  
tcaaaagttc gaaataaacg tgaaatggca gctccactcg tcagccgtgc cacttttcga 7200  
ctaatcaaaa tgcttttga atgcctgagt tgaatcaagt tggcttaata gttattatcc 7260  
cacgcaagca aagtcaatgg cagagggaaa tgcgtagaaa ttagcacaga cttgaatgga 7320  
cgcacgagtg tcgaatggca ggagagtggg aatgaacgg ggagtttcc aggataagga 7380  
tgttttcgaa gtatcgtaat catttatagc ctccagatac gggagctgca tgtgtcagag 7440  
gttttcaccg tcatcaccga aacgcgcgat gcagctctgg cccgtgtctc aaaatctctg 7500

atgttacatt gcacaagata aaaatatac atcatgaaca ataaaactgt ctgcttacat 7560  
aaacagtaat acaaggggtg ttgaagatcc tttgatcttt tctacggggt ctgacgctca 7620  
gtggaacgaa aactcacgtt aagggatfff ggtcatgaga ttatcaaaaa gatctttcac 7680  
ctagatcctt ttaaattaaa aatgaagttt taaatcaagc ccaatctgaa taatgttaca 7740  
accaattaac caattctgat tagaaaaact catcgagcat caaatgaaac tgcaatttat 7800  
tcatatcagg attatcaata ccatatffff gaaaaagccg tttctgtaat gaaggagaaa 7860  
actcaccgag gcagttccat aggatggcaa gatcctggta tcggtctgcg attccgactc 7920  
gtccaacatc aatacaacct attaatffcc cctcgtcaaa aataaggtta tcaagtgaga 7980  
aatcaccatg agtgacgact gaatccggtg agaatggcaa aagtttatgc atttctttcc 8040  
agacttgffc aacaggccag ccattacgct cgtcatcaaa atcactcgca tcaaccaaac 8100  
cgttattcat tcgtgattgc gctgagcga gacgaaatac gcgatcgcg ttaaaaggac 8160  
aattacaaac aggaatcgaa tgcaaccggc gcaggaacac tgccagcgc tcaacaatat 8220  
tttcacctga atcaggatat tcttctaata cctggaatgc tgtttttccg gggatcgcag 8280  
tggtgagtaa ccatgcatca tcaggagtac ggataaaatg cttgatggtc ggaagaggca 8340  
taaattccgt cagccagttt agtctgacca tctcatctgt aacatcattg gcaacgctac 8400  
ctttgccatg tttcagaaac aactctggcg catcgggctt cccatacaag cgatagattg 8460  
tcgcacctga ttgcccgaca ttatcgcgag cccatttata cccatataaa tcagcatcca 8520  
tgttggaatt taatcgcggc ctcgacgttt cccgttgaat atggctcata acacccttg 8580  
tattactgft tatgtaagca gacagtttta ttgttcatga tgatatattt ttatcttgtg 8640  
caatgtaaca tcagagattt tgagacacgg gccagagctg catcgcgcgt tttcagaatt 8700  
ggttaattgg ttgtaacatt attcagattg ggcttgattt aaaacttcat ttttaattta 8760  
aaaggatcta ggtgaagatc ctttttgata atctcatgac caaatccct taacgtgagt 8820  
tttcgftcca ctgagcgtca gaccccgtag aaaagatcaa aggatcttct ttccataggc 8880  
tccgcccccc tgacgagcat cacaaaaatc gacgctcaag tcagaggtgg cgaaaccgca 8940  
caggactata aagataccag gcgftttccc ctggaagctc cctcgtgcgc tctcctgttc 9000  
cgaccctgcc gcttaccgga tacctgtccg ctttctccc ttcgggaagc gtggcgcttt 9060  
ctcatagctc acgctgtagg tatctcagtt cgggtgtaggt cgftcgcctc aagctgggct 9120  
gtgtgcacga accccccgtt cagcccgacc gctgcgcctt atccggtaac tatcgtcttg 9180  
agtccaacc ccgtaagacac gacttatcgc cactggcagc agccactggt aacaggatta 9240  
gcagagcgag gtatgtaggc ggtgctacag agttcttgaa gtggtggcct aactacggct 9300  
acactagaag aacagtattt ggtatctgcg ctctgctgaa gccagttacc ttcggaaaaa 9360  
gagttgtag ctcttgatcc ggcaaaaaa ccaccgctgg tagcggtaggt tttttgttt 9420  
gcaagcagca gattacgcgc agaaaaaaag gatctcaaaa cgccagcaac gcggcctttt 9480  
tacgfttcc ttgcttttgc tggcftttt ctcacatgft ctttctgcg ttatcccctg 9540  
attctgtgga taaccgtatt accgctttg agtgagctga taccgctcgc cgcagccgaa 9600  
cgaccgagcg cagcgagtca gtgagcgagg aagcgggaaga gcgcccata cgcaaaccgc 9660  
ctctc 9665  
<210> 16  
<211> 6236

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成的多核苷酸

<400> 16

```

cccgcgcgtt ggccgattca ttaatgcagc tggcaccgaca ggtttcccga ctggaaagcg 60
ggcagtgagc gcaacgcaat tttcacacag gaaacagcta tgaccatgat tacgccaagc 120
ttgcatgcat ttaaattgacg cagctgcgcg ctcgctcgct cactgaggcc gcccgggcaa 180
agccccgggcg tcgggcgacc tttggtcgcc cggcctcagt gagcgcgagc ggcgcgagag 240
agggagtggc caactccatc actaggggtt gagtttaaac ttcgctgcagc atctgcggcc 300
gcacgcgtgg agctagtatt taatagtaat caattacggg gtcattagtt catagcccat 360
atatggagtt ccgcgttaca taacttacgg taaatggccc gctggctga ccgcccacg 420
acccccgcc attgacgtca ataatgacgt atgttcccat agtaacgtca atagggactt 480
tcattgacg tcaatgggtg gagtatttac ggtaaactgc ccacttggca gtacatcaag 540
tgtatcatat gccaaagtacg cccctattg acgtcaatga cggtaaattg cccgcctggc 600
attatgccc a gtacatgacc ttatgggact ttctacttg gcagtacatc tacgtattag 660
tcacgcgat taccatgggt atgcggtttt ggcagtacat caatgggctg ggatagcggg 720
ttgactcacg gggatttcca agtctccacc ccattgacgt caatgggagt ttgttttgca 780
ccaaaatcaa cgggactttc caaaatgtcg taacaactcc gcccattga cgcaaatggg 840
cggtaggcgt gtacgggtgg aggtctatat aagcagagct cgtttagtga accgtcagat 900
cgcttgaga cgccatccac gctgttttga cctcataga agacaccggg accgatccag 960
cctccgcgga ttcgaatccc ggccgggaac ggtgcattgg aacgcggatt ccccgtgcca 1020
agagtgcagt aagtaccgcc tatagagtct ataggccac aaaaaatgct ttcttctttt 1080
aatatacttt tttgtttatc ttatttctaa tactttcctt aatctctttc tttcagggca 1140
ataatgatac aatgtatcat gcctctttgc accattctaa agaataacag tgataatttc 1200
tgggttaagg caatagcaat atttctgcat ataaatattt ctgcatataa attgtaactg 1260
atgtaagagg tttcatattg ctaatagcag ctacaatcca gctaccattc tgcttttatt 1320
ttatggttgg gataaggctg gattattctg agtccaagct aggccctttt gctaactcatg 1380
ttcatacctc ttatcttct cccacagctc ctgggcaacg tgctggtctg tgtgctggcc 1440
catcactttg gcaaagaatt gggattcgaa catcgccgc caccatgaac gcaagtgaat 1500
tccgaaggag agggaaggag atggtggatt acgtggccaa ctacatggaa ggcattgagg 1560
gacgccaggt ctacctgac gtggagcccc ggtacctgag gccgctgatc cctgccgctg 1620
cccctcagga gccagacacg tttgaggaca tcatcaacga cgttgagaag ataactatgc 1680
ctggggtgac gcaactggcag agcccactt tcttgccta ctccccact gccagctcgt 1740
acccggccat gcttgcggac atgctgtgag gggccattgg ctgcatcggc ttctctggg 1800
cggcaagccc agcatgcaca gagctggaga ctgtgatgat ggactggctc gggaagatgc 1860
tggaaactacc aaaggcattt ttgaatgaga aagctggaga agggggagga gtgatccagg 1920
gaagtgccag tgaagccacc ctggtggccc tgctggccgc tcggacaaa gtgatccatc 1980
ggctgcaggc agcgtcccca gagctcacac aggccgctat catggagaag ctggtggctt 2040

```

actcatccga tcaggcacac tcctcagtgg aaagagctgg gttaattggt ggagtgaaat 2100  
taaaagccat cccctcagat ggcaacttcg ccatgcgtgc gtctgccctg caggaagccc 2160  
tggagagaga caaagcggct gcctgattc ctttctttat gtttgccacc ctggggacca 2220  
caacatgctg ctcctttgac aatctcttag aagtcggtcc tatctgcaac aaggaagaca 2280  
tatggctgca cgttgatgca gcctacgcag gcagtgcatt catctgccct gagttccggc 2340  
accttctgaa tggagtggag tttgcagatt cattcaactt taatccccac aaatggctat 2400  
tggatgaattt tgactgttct gccatgtggg tgaaaaagag aacagactta acgggagcct 2460  
ttagactgga cccacttac ctgaagcaca gccatcagga ttcagggctt atcactgact 2520  
accggcattg gcagatacca ctgggcagaa gatttcgctc tttgaaaatg tggtttgtat 2580  
ttaggatgta tggagtcaaa ggactgcagg cttatatccg caagcatgtc cagctgtccc 2640  
atgagtttga gtcaactggt cgccaggatc cccgctttga aatctgtgtg gaagtcattc 2700  
tggggcttgt ctgctttcgg ctaaagggtt ccaacaaagt gaatgaagct cttctgcaaa 2760  
gaataaacag tgccaaaaaa atccacttgg ttccatgtca cctcaggac aagtttgtcc 2820  
tgcgctttgc catctgttct cgcacggtgg aatctgccc tgtgcagcgg gcctgggaac 2880  
acatcaaaga gctggcggcc gacgtgctgc gagcagagag ggagtaggag tgagctgctc 2940  
gagagatcta cgggtggcat ccctgtgacc cctccccagt gcctctcctg gccctggaag 3000  
ttgccactcc agtgcccacc agccttgtcc taataaaatt aagttgcatc attttgtctg 3060  
actaggtgtc cttctataat attatgggggt ggaggggggt ggtatggagc aaggggcaag 3120  
ttgggaagac aacctgtagg gcctgcgggg tctattggga accaagctgg agtgcagtgg 3180  
cacaatcttg gctcaactgca atctccgct cctgggttca agcgattctc ctgcctcagc 3240  
ctcccagatt gttgggattc caggcatgca tgaccaggt cagctaattt ttgttttttt 3300  
ggtagagacg gggtttcacc atattggcca ggctggtctc caactcctaa tctcaggtga 3360  
tctaccacc ttggcctccc aaattgctgg gattacaggc gtgaaccact gctcccttc 3420  
ctgtccttct gattttgtag gtaaccacgt gcggaccgag cggccgcagt taattaagct 3480  
cgcgaaacc ctagtgatgg agttggccac tcctctctg cgcgctcgtc cgctcactga 3540  
ggccgggcga ccaaaggtcg cccgacgcc gggctttgcc cgggcggcct cagtgagcga 3600  
gcgagcgcgc agctggacga tttaaatggt accgagctcg aattcactgg ccgtcgtttt 3660  
acaacgtcgt gactgggaaa accctggcgt tacccaactt aatgccttg cagcacatcc 3720  
ccctttcgcc agctggcgta atagcgaaga ggcccgcacc gatcgccctt cccaacagtt 3780  
gcgcagcctg aatggcgaat ggcgctgat gcggtatctt ctcttacgc atctgtgcgg 3840  
tatttcacac cgcatatggt gcaactctag tacaatctgc tctgatgccg catagttaag 3900  
ccagccccga caccgcca caccgctga cgcgcctga cgggcttgtc tgctcccggc 3960  
atccgcttac agacaagctg tgaccgtctc cgggagctgc atgtgtcaga ggttttcacc 4020  
gtcatcaccg aaacgcgcga tgcagctctg gccctgtct caaatctct gatgttacat 4080  
tgcacaagat aaaaatata catcatgaac aataaaactg tctgcttaca taaacagtaa 4140  
tacaaggggt gttgaagatc ctttgatctt ttctacgggg tctgacgctc agtggaacga 4200  
aaactcacgt taagggattt tggatcatgag attatcaaaa aggatcttca cctagatcct 4260  
tttaaattaa aaatgaagtt ttaaatacaag cccaatctga ataagtac aaccaattaa 4320  
ccaattctga ttagaaaaac tcatcgagca tcaaatgaaa ctgcaattta ttcatatcag 4380

gattatcaat accatatttt tgaaaaagcc gtttctgtaa tgaaggagaa aactcaccga 4440  
 ggcagttcca taggatggca agatcctggg atcgggtctgc gattccgact cgtccaacat 4500  
 caatacaacc tattaatttc ccctcgtcaa aaataagggt atcaagtgag aaatcaccat 4560  
 gagtgacgac tgaatccggt gagaatggca aaagtttatg cttttctttc cagacttggt 4620  
 caacaggcca gccattacgc tcgtcatcaa aatcactcgc atcaacaaaa ccgttattca 4680  
 ttcgtgattg cgctgagcg agacgaaata cgcgatcgcg gttaaaagga caattacaaa 4740  
 caggaatcga atgcaaccgg cgcaggaaca ctgccagcgc atcaacaata ttttcacctg 4800  
 aatcaggata ttcttctaata acctggaatg ctgtttttcc ggggatcgcg gtggtgagta 4860  
 accatgcatc atcaggagta cggataaaat gcttgatggt cggaagaggc ataaattccg 4920  
 tcagccagtt tagtctgacc atctcatctg taacatcatt ggcaacgcta cttttgcat 4980  
 gtttcagaaa caactctggc gcatcgggct tcccatacaa gcgatagatt gtcgcacctg 5040  
 attgcccgcg attatcgcga gccatttat accatataa atcagcatcc atgttggaat 5100  
 ttaatcgcgg cctcgcggtt tcccgttgaa tatggctcat aacaccctt gtattactgt 5160  
 ttatgtaagc agacagtttt attgttcatg atgatatatt tttatcttgt gcaatgtaac 5220  
 atcagagatt ttgagacacg ggccagagct gcatcgcgcg ttttcagaat tggttaattg 5280  
 gttgtaacat tattcagatt gggcttgatt taaaacttca tttttaattt aaaaggatct 5340  
 aggtgaagat cttttttgat aatctcatga ccaaaatccc ttaacgtgag ttttcgttcc 5400  
 actgagcgtc agaccccgtg gaaaagatca aaggatcttc tttccatagg ctccgcccc 5460  
 ctgacgagca tcacaaaaat cgacgctcaa gtcagaggtg gcgaaaccg acaggactat 5520  
 aaagatacca ggcgtttccc cctggaagct ccctcgtcgc ctctctgtt ccgaccctgc 5580  
 cgcttaccgg atacctgtcc gcctttctcc ctccgggaag cgtggcgctt tctcatagct 5640  
 cacgctgtag gtatctcagt tcggtgtagg tcgttcgctc caagctgggc tgtgtgcacg 5700  
 aacccccgt tcagcccgcg cgctcgcct tatccgtaa ctatcgtctt gactccaacc 5760  
 cggtaagaca cgacttatcg ccaactggcag cagccactgg taacaggatt agcagagcga 5820  
 ggtatgtagg cgggtgctaca gagttcttga agtggtggcc taactacggc tacactagaa 5880  
 gaacagtatt tggatctcgc gctctgctga agccagttac cttcgaaaa agagttggta 5940  
 gctcttgatc cggcaaaaa accaccgctg gtagcgggtg tttttttgtt tgcaagcagc 6000  
 agattacgcg cagaaaaaaa ggatctcaaa acgccagcaa cgcggccttt ttacggttcc 6060  
 tggccttttg ctggcctttt gctcacatgt tcttctcgc gttatcccct gattctgtgg 6120  
 ataaccgtat taccgccttt gagtgagctg ataccgctc cgcagccga acgaccgagc 6180  
 gcagcgagtc agtgagcgag gaagcgggaag agcgcceaat acgcaaaccg cctctc 6236  
 <210> 17  
 <211> 3497  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)  
 <220>  
 <223> 人工序列的描述: 合成的多核苷酸  
 <400> 17  
 cctgcaggca gctgcgcgct cgctcgtca ctgaggccgc ccgggcaaag cccgggcgct 60

gggcgacctt tggtcgcccc gcctcagtga gcgagcgagc gcgagagag ggagtggcca 120  
actccatcac taggggttcc tgagtttaa cttcgtcgac gatctgcggc cgcacgcgtg 180  
gagctagtta ttaatagtaa tcaattacgg ggtcattagt tcatagccca tatatggagt 240  
tccgcgttac ataacttacg gtaaatggcc cgcctggctg accgccaac gacccccgcc 300  
cattgacgtc aataatgacg tatgttccca tagtaacgtc aataggact ttccattgac 360  
gtcaatgggt ggagtattta cggtaaactg cccacttggc agtacatcaa gtgtatcata 420  
tgccaagtac gccccctatt gacgtcaatg acggtaaatg gcccgcctgg cattatgccc 480  
agtacatgac cttatgggac tttcctactt ggcagtacat ctacgtatta gtcacgcta 540  
ttaccatggt gatgcggttt tggcagtaca tcaatggcg tggatagcgg tttgactcac 600  
ggggatttcc aagtctccac cccattgacg tcaatgggag tttgttttgc accaaaatca 660  
acgggacttt ccaaaaatgta gtaacaactc cgccccattg acgcaaatgg gcggtaggcg 720  
tgtacggtgg gaggtctata taagcagagc tcgttttagtg aaccgtcaga tcgcctggag 780  
acgccatcca cgctgttttg acctccatag aagacaccgg gaccgatcca gcctccgagg 840  
attcgaatcc cggccgggaa cgggtcattg gaacgcggat tccccgtgcc aagagtgacg 900  
taagtaccgc ctatagagtc tataggccca caaaaaatgc tttcttcttt taatatactt 960  
ttttgtttat cttatttcta ataacttccc taatctcttt ctttcagggc aataatgata 1020  
caatgtatca tgctctttg caccattcta aagaataaca gtgataattt ctgggttaag 1080  
gcaatagcaa tatttctgca tataaatatt tctgcatata aattgtaact gatgtaagag 1140  
gtttcatatt gctaatagca gctacaatcc agctaccatt ctgcttttat tttatggttg 1200  
ggataaggct ggattattct gagtccaagc taggcccttt tgctaatacat gttcatacct 1260  
cttatcttcc tcccacagct cctgggcaac gtgctgtct gtgtgctggc ccatcacttt 1320  
ggcaaagaat tgggattcga acatcggccg ccaccatgaa cgcaagtgaa ttccgaagga 1380  
gaggaagga gatggtggat tacgtggcca actacatgga aggcattgag ggacgccagg 1440  
tctaccctga cgtggagccc gggtagctgc ggccgctgat cctgcccgt gcccctcagg 1500  
agccagacac gtttgaggac atcatcaacg acgttgagaa gataatcatg cctggggtga 1560  
cgcaactggca cagcccctac ttcttcgct acttccccac tgccagctcg taccggcca 1620  
tgcttgcgga catgctgtgc ggggccattg gctgcatcgg cttctcctgg gcggaagcc 1680  
cagcatgcac agagctggag actgtgatga tggactggct cgggaagatg ctggaactac 1740  
caaaggcatt tttgaatgag aaagctggag aagggggagg agtgatccag ggaagtgcca 1800  
gtgaagccac cctggtggcc ctgctggccg ctcggaccaa agtgatccat cggctgcagg 1860  
cagcgtcccc agagctcaca caggccgcta tcatggagaa gctggtggct tactcatccg 1920  
atcaggcaca ctctcagtg gaaagagctg ggttaattgg tggagtgaaa taaaagcca 1980  
tcccctcaga tggcaactc gccatgcgtg cgtctgcct gcaggaagcc ctggagagag 2040  
acaaagcggc tggcctgatt cttttcttta tggttgccac cctggggacc acaacatgct 2100  
gctcctttga caatctctta gaagtcggtc ctatctgcaa caaggaagac atatggctgc 2160  
acgttgatgc agcctacgca ggcagtgcac tcactgccc tgagttccgg caccttctga 2220  
atggagtgga gtttgcagat tcattcaact ttaatccca caaatggcta ttggtgaatt 2280  
ttgactgttc tgccatgtgg gtgaaaaaga gaacagactt aacgggagcc tttagactgg 2340  
accccactta cctgaagcac agccatcagg attcaggct tactactgac taccggcatt 2400

ggcagatacc actgggcaga agatttcgct ctttgaaaat gtggtttgta tttaggatgt 2460  
 atggagtcaa aggactgcag gcttataatcc gcaagcatgt ccagctgtcc catgagtttg 2520  
 agtcaactggg gcgccaggat ccccgccttg aaatctgtgt ggaagtcatt ctggggcctg 2580  
 tctgctttcg gctaaagggt tccaacaaag tgaatgaagc tcttctgcaa agaataaaca 2640  
 gtgccaaaaa aatccacttg gttccatgtc acctcagga caagtttgct ctgctgcttg 2700  
 ccatctgttc tcgcacgggt gaatctgccc atgtgcagcg gccctgggaa cacatcaaag 2760  
 agctggcggc cgacgtgctg cgagcagaga gggagtagga gtgagctgct cgagagatct 2820  
 acgggtggca tccctgtgac cctcctccag tgctctctct gccctggaa gttgccactc 2880  
 cagtgccccac cagccttgct ctaataaaat taagttgcat cttttgtct gactaggtgt 2940  
 ccttctataa tattatgggg tggagggggg tggtagggag caaggggcaa gttgggaaga 3000  
 caacctgtag gccctgcggg gtctattggg aaccaagctg gtagtcagtg gcacaatctt 3060  
 ggctcaactgc aatctccgcc tctgggttc aagcattct cctgctcag cctcccagat 3120  
 tgttgggatt ccaggcatgc atgaccagc tcagctaatt tttgtttttt tggtagagac 3180  
 ggggtttcac catattggcc aggetggtct ccaactccta atctcagtg atctaccac 3240  
 cttggcctcc caaattgctg ggattacagg cgtgaaccac tgctccttc cctgtccttc 3300  
 tgattttgta ggtaaccacg tgcggaccga gcggccgag ttaattaagc tcgcaagga 3360  
 acccctagtg atggagttg ccaactcctc tctgcgcgct cgctcgtca ctgaggccgg 3420  
 gcgaccaaag gtcgcccagc gcccggtt tgcccggcg gcctcagtga gcgagcgagc 3480  
 gcgcagctgc ctgcagg 3497

<210> 18

<211> 3497

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成的多核苷酸

<400> 18

cctgcaggca gctgcgcgct cgctcgtca ctgaggccg cgggcaaag cccgggcgtc 60  
 gggcgacctt tggctgccc gccctcagtga gcgagcgagc gcgagagag ggagtggcca 120  
 actccatcac taggggttcc tgagtttaa cttcgtcgac gatctgcggc cgcacgcgtg 180  
 gagctagtta ttaatagtaa tcaattacgg ggtcattagt tcatagcca tatatggagt 240  
 tccgcgttac ataacttacg gtaaattggc cgctggctg accgccaac gacccccgcc 300  
 cattgacgtc aataatgacg tatgttccca tagtaacgtc aataggact ttccattgac 360  
 gtcaatgggt ggagtattta cggtaaactg cccacttggc agtacatcaa gtgtatcata 420  
 tgccaagtac gccccctatt gacgtcaatg acggtaaatg gccgcctgg cattatgccc 480  
 agtacatgac cttatgggac tttcctactt ggcagtacat ctacgtatta gtcacgcta 540  
 ttaccatggg gatgcggttt tggcagtaca tcaatggcg tggatagcgg tttgactcac 600  
 ggggatttcc aagtctccac cccattgacg tcaatgggag tttgttttgc accaaaatca 660  
 acgggacttt ccaaaatgct gtaacaactc cgccccattg acgcaaatgg gcggtaggcg 720  
 tgtacgggtg gaggtctata taagcagagc tcgtttagtg aaccgtcaga tcgctggag 780

acgccatcca cgctgttttg acctccatag aagacaccgg gaccgatcca gcctccgcgg 840  
attcgaatcc cggccgggaa cgggtgcattg gaacgcggat tccccgtgcc aagagtgacg 900  
taagtaccgc ctatagagtc tataggccca caaaaaatgc tttcttcttt taatatactt 960  
ttttgtttat cttatttcta atactttccc taatctcttt ctttcagggc aataatgata 1020  
caatgtatca tgcctctttg caccattcta aagaataaca gtgataatth ctgggttaag 1080  
gcaatagcaa tatttctgca tataaatatt tctgcatata aattgtaact gatgtaagag 1140  
gtttcatatt gctaatagca gctacaatcc agctaccatt ctgcttttat tttatggttg 1200  
ggataaggct ggattattct gagtccaagc taggcccttt tgctaatacat gttcatacct 1260  
cttatcttcc tcccacagct cctgggcaac gtgctgtct gtgtgctggc ccatcacttt 1320  
ggcaaagaat tgggattcga acatcggccg ccaccatgaa cgcaagtga tccgaagga 1380  
gaggaagga gatggtggat tacgtggcca actacatgga aggcattgag ggacgccagg 1440  
tctaccctga cgtggagccc gggtacctgc ggccgctgat cctgcccgt gccctcagg 1500  
agccagacac gtttgaggac atcatcaacg acgttgagaa gataatcatg cctgggggtga 1560  
cgcaactggca cagcccctac ttcttcgect acttccccac tgccagctcg taccggcca 1620  
tgcttgccga catgctgtgc ggggccattg gctgcatcgg cttctctctgg gcggaagcc 1680  
cagcatgcac agagctggag actgtgatga tggactggct cggaagatg ctggaactac 1740  
caaaggcatt tttgaatgag aaagctggag aagggggagg agtgatccag ggaagtcca 1800  
gtgaagccac cctggtggcc ctgctggccg ctcggaccaa agtgatccat cggctgcagg 1860  
cagcgtccc agagctcaca caggccgcta tcatggagaa gctggtggct tactcatccg 1920  
atcaggcaca ctctcagtg gaaagagctg gtttaattgg tggagtgaat taaaagcca 1980  
tcccctcaga tggcaactc gccatgcgtg cgtctgcct gcaggaagcc ctggagagag 2040  
acaaagcggc tggcctgatt cttttctta tggttgccac cctggggacc acaacatgct 2100  
gctcctttga caatctctta gaagtcggtc ctatctgcaa caaggaagac atatggctgc 2160  
acgttgatgc agcctacgca ggcaatgcat tcatctgccc tgagttccgg caccttctga 2220  
atggagtgga gtttgcagat tcattcaact ttaatccca caaatggcta ttggtgaatt 2280  
ttgactgttc tgccatgtgg gtgaaaaaga gaacagactt aacgggagcc tttagactgg 2340  
accccactta cctgaagcac agccatcagg attcagggt tatcactgac taccggcatt 2400  
ggcagatacc actgggcaga agatttcgct cttgaaaat gtggtttgta tttagatgt 2460  
atggagtcaa aggactgcag gcttataatc gcaagcatgt ccagctgtcc catgagtttg 2520  
agtcaactgg gcgccaggat ccccgtttg aaatctgtgt ggaagtcat ctggggcttg 2580  
tctgctttcg gctaaagggt tccaacaaag tgaatgaagc tcttctgcaa agaataaaca 2640  
gtgcaaaaaa aatccacttg gttccatgtc acctcagga caagtttgc ctgcgctttg 2700  
ccatctgttc tcgcacggtg gaatctgccc atgtgcagcg ggccctggga cacatcaaag 2760  
agctggcggc cgacgtgctg cgagcagaga gggagtagga gtgagctgct cgagagatct 2820  
acgggtggca tccctgtgac cctccccag tgcctctct ggccctggaa gttgccactc 2880  
cagtgccac cagcctgtc ctaataaaat taagttgcat cttttgtct gactaggtgt 2940  
ccttctataa tattatgggg tggagggggg tggatggag caaggggcaa gttgggaaga 3000  
caacctgtag ggctgcggg gtctattggg aaccaagctg gactgcagtg gcacaatctt 3060  
ggctcactgc aatctccgcc tctgggttc aagcattct cctgcctcag cctcccagat 3120

tgttgggatt ccaggcatgc atgaccaggc tcagctaatt tttgtttttt tggtagagac 3180  
 ggggtttcac catattggcc aggctggtct ccaactccta atctcaggtg atctaccac 3240  
 cttggcctcc caaattgctg ggattacagg cgtgaaccac tgctcccttc cctgtccttc 3300  
 tgattttgta ggtaaccacg tgcggaccga gcggccgcag ttaattaagc tcgcaagga 3360  
 acccctagtg atggagttgg ccaactcctc tctgcgcgct cgctcgctca ctgaggccgg 3420  
 gcgaccaaag gtcgcccgac gcccgggctt tgcccgggcg gcctcagtga gcgagcgagc 3480  
 gcgcagctgc ctgcagg 3497

<210> 19

<211> 3491

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成的多核苷酸

<400> 19

cctgcaggca gctgcgcgct cgctcgctca ctgaggccgc ccgggcaaag cccgggcgct 60  
 gggcgacctt tggtcgcccg gcctcagtga gcgagcgagc gcgcagagag ggagtggcca 120  
 actccatcac taggggttcc tgagtttaa cttcgtcgac gatctgcggc cgcacgcgtg 180  
 gagctagtta ttaatagtaa tcaattacgg ggtcattagt tcatagccca tatatggagt 240  
 tccgcgttac ataacttacg gtaaattggc cgcttggtg accgccaac gacccccgcc 300  
 cattgacgtc aataatgacg tatgttccca tagtaacgct aatagggact ttccattgac 360  
 gtcaatgggt ggagtattta cggtaaactg cccacttggc agtacatcaa gtgtatcata 420  
 tgccaagtac gccccctatt gacgtcaatg acggtaaatg gcccgcctgg cattatgccc 480  
 agtacatgac cttatgggac tttcctactt ggcagtacat ctacgtatta gtcacgcta 540  
 ttaccatggt gatgcggttt tggcagtaca tcaatgggcg tggatagcgg tttgactcac 600  
 ggggatttcc aagtctccac cccattgacg tcaatgggag tttgttttgc accaaaatca 660  
 acgggacttt ccaaaatgct gtaacaactc cgccccattg acgcaaatgg gcggtaggcg 720  
 tgtacggtgg gaggtctata taagcagagc tcgtttagt aaccgtcaga tcgcctggag 780  
 acgcatcca cgctgttttg acctccatag aagacaccgg gaccgatcca gcctccgagg 840  
 attcgaatcc cggccgggaa cgggtcattg gaacgcggat tccccgtgcc aagagtgacg 900  
 taagtaccgc ctatagagtc tataggccca caaaaaatgc tttcttcttt taatatactt 960  
 ttttgtttat cttatttcta atactttccc taatctcttt ctttcagggc aataatgata 1020  
 caatgtatca tgctctttg caccattcta aagaataaca gtgataattt ctgggttaag 1080  
 gcaatagcaa tttttctgca tataaatatt tctgcatata aattgtaact gatgtaagag 1140  
 gtttcatatt gctaatagca gctacaatcc agctaccatt ctgcttttat tttatggttg 1200  
 ggataaggct ggattattct gagtccaagc taggcccctt tgctaateat gttcatacct 1260  
 cttatcttcc tcccacagct cctgggcaac gtgctggtct gtgtgctggc ccaactcttt 1320  
 ggcaaagaat tgggattcga acatcgcccg ccacatgaa cgcagcgagc ttcaggagga 1380  
 ggggcaagga gatggtggac tacgtggcca actacatgga gggcatcgag ggcaggcagg 1440  
 tgtaccccga cgtggagccc ggctacctga ggcccctgat ccccgccgcc gccccccagg 1500

agccccgacac cttcgaggac atcatcaacg acgtggagaa gatcatcatg cccggcgtga 1560  
 cccactggca cagcccctac ttcttcgcct acttccccac cgccagcagc taccgcca 1620  
 tgctggccga catgctgtgc ggcgccatcg gctgcatcgg cttcagctgg gccgccagcc 1680  
 ccgctgcac cgagctggag accgtgatga tggactggct gggcaagatg ctggagctgc 1740  
 ccaaggcctt cctgaacgag aaggccggcg agggcggcgg cgtgatccag ggcagcgcca 1800  
 gcgaggccac cctggtggcc ctgctggccg ccaggaccaa ggtgatccac aggctgcagg 1860  
 ccgccagccc cgagctgacc caggccgcca tcatggagaa gctggtggcc tacagcagcg 1920  
 accaggccca cagcagcgtg gagagggccg gcctgatcgg cggcgtgaag ctgaaggcca 1980  
 tccccagcga cggcaacttc gccatgaggg ccagcgcctt gcaggaggcc ctggagaggg 2040  
 acaaggccgc cggcctgate cccttctca tgggtggccac cctgggcacc accacctgct 2100  
 gcagcttcga caacctgctg gaggtgggccc catctgcaa caaggaggac atctggctgc 2160  
 acgtggacgc cgcctacgcc ggcagcgcct tcatctgccc cgagttcagg cacctgctga 2220  
 acggcgtgga gttcgccgac agcttcaact tcaaccccc caagtggctg ctggtgaact 2280  
 tcgactgcag cgccatgtgg gtgaagaaga ggaccgacct gaccggcgc ttcaggctgg 2340  
 accccaccta cctgaagcac agccaccagg acagcggcct gatcaccgac tacaggcact 2400  
 ggcagatccc cctgggcagg aggttcagga gcctgaagat gtggttcgtg ttcaggatgt 2460  
 acggcgtgaa gggcctgcag gcctacatca ggaagcacgt gcagctgagc cacgagttcg 2520  
 agagcctggt gaggcaggac cccaggttcg agatctgcgt ggaggtgatc ctgggcctgg 2580  
 tgtgcttcag gctgaagggc agcaacaagg tgaacaggc cctgctgcag aggatcaaca 2640  
 gcgccaagaa gatccacctg gtgccctgcc acctgaggga caagttcgtg ctgaggttcg 2700  
 ccatctgcag caggaccgtg gagagcgcct acgtgcagag ggccctgggag cacatcaagg 2760  
 agctggccgc cgacgtgctg agggccgaga gggagtgagc tgctcgagag atctacgggt 2820  
 ggcacccctg tgaccctcc ccagtcctc tcttgccct ggaagttgcc actccagtgc 2880  
 ccaccagcct tgccttaata aaattaagtt gcatcatttt gtctgactag gtgtccttct 2940  
 ataataattat ggggtggagg ggggtggtat ggagcaagg gcaagttggg aagacaacct 3000  
 gtagggcctg cggggtctat tgggaaccaa gctggagtgc agtggcacia tcttgctca 3060  
 ctgcaatctc cgctcctgg gttcaagcga ttctctgcc tcagcctccc gagttggtg 3120  
 gattccaggc atgcatgacc aggtcagct aattttgtt ttttggtag agacggggtt 3180  
 tcaccatatt ggccaggctg gtctccaact ctaatctca ggtgatctac ccacctggc 3240  
 ctcccaaatt gctgggatta caggcgtgaa ccaactctc cttccctgtc cttctgatt 3300  
 tgtaggtaac cacgtgcgga ccgagcggcc gcagttaatt aagctcgca aggaaccct 3360  
 agtgatggag ttggccaact cctctctgcg cgtctctgc ctcactgagg ccgggcgacc 3420  
 aaaggtcgcc cgacgcccgg gctttgccc ggcggcctca gtgagcgagc gagcgcgag 3480  
 ctgcctgcag g 3491

<210> 20

<211> 4003

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成的多核苷酸

<400> 20

```

cctgcaggca gctgcgcgct cgctcgctca ctgaggccgc ccgggcaaag cccgggcgctc 60
gggcgacctt tggtcgcccc gcctcagtga gcgagcgagc gcgcagagag ggagtggcca 120
actccatcac taggggttcc tgagtttaa cttcgtcgac gatctgcggc cgcacgcgtg 180
gagctagtta ttaatagtaa tcaattacgg ggtcattagt tcatagccca tatatggagt 240
tccgcgttac ataacttacg gtaaattggc cgctggctg accgccaac gacccccgc 300
cattgacgtc aataatgacg tatgttccca tagtaacgtc aatagggact ttccattgac 360
gtcaatgggt ggagtattta cggtaaactg cccacttggc agtacatcaa gtgtatcata 420
tgccaagtac gccccctatt gacgtcaatg acggtaaatg gcccgcctgg cattatgccc 480
agtacatgac cttatgggac tttctactt ggcagtacat ctacgtatta gtcacgcta 540
ttaccatggt gatgcggttt tggcagtaca tcaatgggag tggatagcgg ttgactcac 600
ggggatttcc aagtctccac cccattgacg tcaatgggag tttgttttgc accaaaatca 660
acgggacttt ccaaaaatgta gtaacaactc cgccccattg acgcaaatgg gcggtaggcg 720
tgtacggtgg gaggtctata taagcagagc tcgttttagtg aaccgtcaga tcgcctggag 780
acgccaatcca cgctgttttg acctccatag aagacaccgg gaccgatcca gcctccgcgg 840
attcgaatcc cggccgggaa cgggtgcattg gaacgcggat tccccgtgcc aagagtgacg 900
taagtaccgc ctatagagtc tataggccca caaaaaatgc tttcttcttt taatatactt 960
ttttgtttat cttatttcta aactttccc taatctcttt ctttcagggc aataatgata 1020
caatgtatca tgcccttttg caccattcta aagaataaca gtgataattt ctgggttaag 1080
gcaatagcaa tatttctgca tataaatatt tctgcatata aattgtaact gatgtaagag 1140
gtttcatatt gctaatagca gctacaatcc agctaccatt ctgcttttat tttatggttg 1200
ggataaggct ggattattct gagtccaagc taggcccttt tgctaatacat gttcatacct 1260
cttatcttcc tcccacagct cctgggcaac gtgctggtct gtgtgctggc ccatcacttt 1320
ggcaaagaat tgggattcga acatcgaatt cgggcacgag ggaggacaga gagcaagtca 1380
ctcccggctg cttttttcac ctctgacaga gccagacac catgaacgca agtgaattcc 1440
gaaggagagg gaaggagatg gtggattacg tggccaacta catggaaggc attgagggac 1500
gccaggctca ccctgacgtg gagcccgggt acctgcggcc gctgatccct gccgctgccc 1560
ctcaggagcc agacacgttt gaggacatca tcaacgacgt tgagaagata atcatgcctg 1620
gggtgacgca ctggcacagc cctacttct tcgctactt cccactgcc agctcgtacc 1680
cggccatgct tgcggacatg ctgtgcgggg ccattggctg catcggcttc tcttgggagg 1740
caagcccagc atgcacagag ctggagactg tgatgatgga ctggctcggg aagatgctgg 1800
aactaccaaa ggcatTTTTG aatgagaaag ctggagaagg gggaggagtg atccagggaa 1860
gtgccagtga agccaccctg gtggccctgc tggccctcg gaccaaagtg atccatcggc 1920
tgcaggcagc gtccccagag ctcacacagg ccgctatcat ggagaagctg gtggcttact 1980
catccgatca ggcacactcc tcagtggaaa gagctgggtt aattggtgga gtgaaattaa 2040
aagccatccc ctcagatggc aacttcgcca tgcgtgcgct tgcctgcag gaagccctgg 2100
agagagacaa agcggctggc ctgattcctt tctttatggt tgccaccctg gggaccacaa 2160
catgctgctc ctttgacaat ctcttagaag tcggtcctat ctgcaacaag gaagacatat 2220

```

ggctgcacgt tgatgcagcc tacgcaggca gtgcattcat ctgccctgag ttccggcacc 2280  
 ttctgaatgg agtggagttt gcagattcat tcaacttta tccccacaaa tggctattgg 2340  
 tgaattttga ctgttctgcc atgtgggtga aaaagagaac agacttaacg ggagccttta 2400  
 gactggaccc cacttacctg aagcacagcc atcaggattc agggcttata actgactacc 2460  
 ggcatthgca gataccactg ggcagaagat ttcgctcttt gaaaatgtgg tttgtattta 2520  
 ggatgtatgg agtcaaagga ctgcaggctt atatccgcaa gcatgtccag ctgtcccatg 2580  
 agtttgagtc actgggtgag caggatcccc gctttgaaat ctgtgtggaa gtcattctgg 2640  
 ggcttgtctg ctttcggcta aagggttcca acaaagtga tgaagctctt ctgcaaagaa 2700  
 taaacagtgc caaaaaaat cacttggttc catgtcacct cagggacaag tttgtcctgc 2760  
 gctttgccat ctgttctcgc acggtggaat ctgcccattg gcagcgggccc tgggaacaca 2820  
 tcaaagagct ggcggccgac gtgctgcgag cagagagga gtaggagtga agccagctgc 2880  
 agaatcaaaa aattgaagag agatatactt gaaaactgga ataagaagca aataaatatc 2940  
 atcctgcctt catggaactc agctgtctgt ggcttcccat gtctttctcc aaagttatcc 3000  
 agagggttgt gattttgtct gcttagtata tcatcaaaa agaaatatta tttgctaatt 3060  
 aaaaagttaa tcttcatggc catagctttt attcattagc tgtgattttt gttgattaaa 3120  
 acattataga ttttcatggt cttgcagtca tcagaagtgg taggaaagcc tcaactgatat 3180  
 attttccagg gcaatcaatg ttcacgcaac ttgaaattat atctgtggtc ttcaaattgt 3240  
 cttttgtcat gtggctaaat gcctaataaa caattcaagt gaaatactaa aaaaaaaaaa 3300  
 aaaaaaaaaa gctgctcgag agatctacgg gtggcatccc tgtgaccctt cccagtgcc 3360  
 tctcctggcc ctggaagtgt ccaactcagt gccaccagc cttgtcctaa taaaattaag 3420  
 ttgcatcatt ttgtctgact aggtgtcctt ctataatatt atggggtgga ggggggtggt 3480  
 atggagcaag gggcaagtgt ggaagacaac ctgtagggcc tgcggggtct attggaacc 3540  
 aagctggagt gcagtggcac aatcttggtt cactgcaatc tccgctcctt gggttcaagc 3600  
 gattctcctg cctcagcctc ccgagttggt gggattccag gcatgcatga ccaggctcag 3660  
 ctaatttttg tttttttggt agagacgggg tttcaccata ttggccaggc tggctctcaa 3720  
 ctccataatc caggtgatct accaccttg gcctcccaa ttgctgggat tacaggcgtg 3780  
 aaccactgct cccttccctg tccttctgat tttgtaggta accacgtgag gaccgagcgg 3840  
 ccgcagttaa ttaagctcgc gaaggaacc ctagtatgg agttggccac tccctctctg 3900  
 cgcgctcgtc cgctcactga ggccgggcca ccaaaggtcg cccgacgccc gggctttgcc 3960  
 cgggcccgtt cagtgagcga gcgagcgcgc agctgcctgc agg 4003  
 <210> 21  
 <211> 3499  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)  
 <220>  
 <223> 人工序列的描述: 合成的多核苷酸  
 <400> 21  
 ttggcactc cctctctgag cgctcgtcgc ctactgagg ccgggcgacc aaaggtcgcc 60  
 cgacgcccgg gctttgccc ggccgctca gtgagcagc gagcgcgag agagggagt 120

gccaactcca tcactagggg ttctgagtt taaacttctg cgacgatctg cggccgcacg 180  
cgtggagcta gttattaata gtaatcaatt acggggctcat tagttcatag cccatatatg 240  
gagttccgcg ttacataact tacggtaaatt ggcccgcctg gctgaccgcc caacgacccc 300  
cgccccattga cgtcaataat gacgtatgtt cccatagtaa cgtcaatagg gactttccat 360  
tgacgtcaat ggggtggagta tttacggtaa actgcccact tggcagtaca tcaagtgtat 420  
catatgccaa gtacgcccc tattgacgtc aatgacggta aatggcccgc ctggcattat 480  
gcccagtaca tgaccttatg ggactttcct acttggcagt acatctacgt attagtcac 540  
gctattacca tggatgatgcg gttttggcag tacatcaatg ggcgtggata gcggtttgac 600  
tcacggggat ttccaagtct ccacccatt gacgtcaatg ggagtttggt ttgcacaaa 660  
atcaacggga ctttcaaaa tgtcgtaca actccgccc attgacgcaa atgggcggta 720  
ggcgtgtacg gtgggaggtc tatataagca gagctcgttt agtgaaccgt cagatcgct 780  
ggagacgcca tccacgtgt tttgacctc atagaagaca ccgggaccga tccagcctcc 840  
gcggattcga atcccggcgg ggaacgggtc attggaacgc ggattccccg tgccaagagt 900  
gacgtaagta ccgcctatag agtctatagg cccacaaaa atgctttctt cttttaatat 960  
actttttgt ttatcttatt tctaatactt tcctaactc ctttcttca gggcaataat 1020  
gatacaatgt atcatgcctc tttgacccat tctaaagaat aacagtgata atttctgggt 1080  
taaggcaata gcaatatttc tgcatataaa tatttctgca tataaattgt aactgatgta 1140  
agaggtttca tattgctaata agcagctaca atccagctac cattctgctt ttattttatg 1200  
gttgggataa ggctggatta ttctgagtcc aagctaggcc cttttgctaa tcatgttcat 1260  
acctcttacc ttctcccac agctcctggg caacgtgctg gtctgtgtgc tggcccatca 1320  
ctttggcaaa gaattgggat tcgaacatcg gccgccacca tgaacgccag cgagttcagg 1380  
aggaggggca aggagatggt ggactacgtg gccactaca tggagggcat cgagggcagg 1440  
caggtgtacc ccgacgtgga gcccggtac ctgaggcccc tgatccccgc cgccgcccc 1500  
caggagcccc acacctcga ggacatcatc aacgacgtgg agaagatcat catgcccggc 1560  
gtgaccact ggacagccc ctacttctc gcctacttc ccaccgccag cagctacccc 1620  
gccatgctgg ccgacatgct gtgcggcgcc atcggctgca tcggcttcag ctgggccgcc 1680  
agccccgct gcaccgagct ggagaccgtg atgatggact ggctgggcaa gatgctggag 1740  
ctgcccgaagg cttcctgaa cgagaaggcc ggcgaggcg gcggcgtgat ccagggcagc 1800  
gccagcgagg ccacctggt ggccctgctg gccgccagga ccaagtgat ccacaggctg 1860  
cagccgcca gccccgagct gaccagggc gccatcatgg agaagctggt ggcctacagc 1920  
agcgaccagg cccacagcag cgtggagagg gccggcctga tcggcggcgt gaagctgaag 1980  
gccatccca gcgacggcaa cttcgccatg agggccagcg cctgcagga ggccctggag 2040  
agggacaagg ccgcccgcct gatcccctt ttcatggtgg ccacctggg caccaccacc 2100  
tgctgcagct tcgacaacct gctggaggtg ggccccatct gcaacaagga ggacatctgg 2160  
ctgcacgtgg acgccccta cgccggcagc gccttcatct gccccagtt caggcacctg 2220  
ctgaacggcg tggagtctgc cgacagctt aactcaacc cccacaagtg gctgctggtg 2280  
aacttcgact gcagcgcct gtgggtgaag aagaggaccg acctgaccgg cgccttcagg 2340  
ctggaccca cctacctgaa gcacagccac caggacagcg gcctgatcac cgactacagg 2400  
cactggcaga tccccctggg caggaggtt aggagcctga agatgtggtt cgtgttcagg 2460

atgtacggcg tgaagggcct gcaggcctac atcaggaagc acgtgcagct gagccacgag 2520  
 ttcgagagcc tggtagaggca ggaccccagg ttcgagatct gcgtggaggt gatcctgggc 2580  
 ctggtgtgct tcaggctgaa gggcagcaac aaggtgaacg aggccctgct gcagaggatc 2640  
 aacagcgcca agaagatcca cctggtgccc tgccacctga gggacaagtt cgtgctgagg 2700  
 ttcgccatct gcagcaggac cgtggagagc gccacgtgc agagggcctg ggagcacatc 2760  
 aaggagctgg ccgccgacgt gctgagggcc gagagggagt gagctgctcg agagatctac 2820  
 ggggtggcatc cctgtgacct ctccccagtg cctctcctgg ccctggaagt tgccactcca 2880  
 gtgcccacca gccttgcct aataaaatta agttgcatca ttttgtctga ctaggtgtcc 2940  
 ttctataata ttatgggggtg gaggggggtg gtatggagca aggggcaagt tgggaagaca 3000  
 acctgtaggg cctgcggggt ctattgggaa ccaagctgga gtgcagtggc acaatcttgg 3060  
 ctcactgcaa tctccgctc ctgggttcaa gcgattctc tgccctcagc tcccagattg 3120  
 ttgggattcc aggcattgat gaccaggctc agctaatttt tgtttttttg gtagagacgg 3180  
 ggtttcacca tattggccag gctggtctc aactcctaat ctcaggtgat ctaccacct 3240  
 tggcctccca aattgctggg attacaggcg tgaaccactg ctcccttccc tgtccttctg 3300  
 atttttagg taaccacgtg cggaccgagc ggccgcagtt aattaagctc gcgaaggaac 3360  
 ccctagtgat ggagttggc actccctctc tgcgcctcg ctcgctcact gaggccgggc 3420  
 gaccaaaggc cgcccagcgc ccgggctttg cccgggcggc ctcagtgagc gagcgagcgc 3480  
 gcagagaggg agtggccaa 3499

<210> 22

<211> 3896

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成的多核苷酸

<400> 22

cctgcaggca gctgcgcgct cgctcgctca ctgaggccgc ccgggcaaag cccgggcgct 60  
 gggcgacctt tggctgcccg gcctcagtga gcgagcagc gcgagagag ggagtggcca 120  
 actccatcac taggggttcc tgagtttaa cttcgtcgac gatctgcggc cgcacgcgtg 180  
 gagctagtta ttaatagtaa tcaattacgg ggtcattagt tcatagcca tatatggagt 240  
 tccgcgttac ataacttacg gtaaatggcc cgctggctg accgccaac gacccccgc 300  
 cattgacgtc aataatgacg tatgttccca tagtaacgtc aatagggact ttccattgac 360  
 gtcaatgggt ggagtattta cggtaaactg cccacttggc agtacatcaa gtgtatcata 420  
 tgccaagtac gccccctatt gacgtcaatg acggtaaact gcccgcctgg cattatgccc 480  
 agtacatgac ctatgggac tttcctaact ggcagtacat ctacgtatta gtcacgcta 540  
 ttaccatggt gatgcggttt tggcagtaca tcaatgggcg tggatagcgg tttgactcac 600  
 ggggatattc aagtctccac ccctattgac tcaatgggag tttgttttgc accaaaatca 660  
 acgggacttt ccaaaatgct gtaacaactc cgccccattg acgcaaatgg gcggtaggcg 720  
 tgtacggtgg gaggtctata taagcagagc tcgttttagtg aaccgtcaga tcgctggag 780  
 acgcatcca cgctgttttg acctccatag aagacaccgg gaccgatcca gcctccgcgg 840

attcgaatcc cggccgggaa cggcgcattg gaacgcggat tccccgtgcc aagagtgcag 900  
 taagtaccgc ctatagagtc tataggccca caaaaaatgc tttcttcttt taatatactt 960  
 ttttgtttat cttatttcta atactttccc taatctcttt ctttcagggc aataatgata 1020  
 caatgtatca tgcctccttg caccattcta aagaataaca gtgataatth ctgggttaag 1080  
 gcaatagcaa tatttctgca tataaatatt tctgcatata aattgtaact gatgtaagag 1140  
 gtttcatatt gctaatagca gctacaatcc agctaccatt ctgcttttat tttatggttg 1200  
 ggataaggct ggattattct gagtccaagc taggcccttt tgctaatacat gttcatacct 1260  
 cttatcttcc tcccacagct cctgggcaac gtgctggtct gtgtgctggc ccatcacttt 1320  
 ggcaaagaat tgggattcga acatcgccg ccaccatgaa cgcaagtgaa ttccgaagga 1380  
 gaggaagga gatggtggat tacgtggcca actacatgga aggcattgag ggacgccagg 1440  
 tctaccctga cgtggagccc gggtacctgc ggccgctgat cctgcccgt gccccctcagg 1500  
 agccagacac gtttgaggac atcatcaacg acgttgagaa gataatcatg cctgggggtga 1560  
 cgcactggca cagcccctac ttcttcgect acttccccac tgccagctcg taccggcca 1620  
 tgcttgcgga catgctgtgc ggggccattg gctgcatcgg cttctctctgg gcggcaagcc 1680  
 cagcatgcac agagctggag actgtgatga tggactggct cggaagatg ctggaactac 1740  
 caaaggcatt tttgaatgag aaagctggag aagggggagg agtgatccag ggaagtgcca 1800  
 gtgaagccac cctgggtggc ctgctggccg ctcgaccaa agtgatccat cggctgcagg 1860  
 cagcgtcccc agagctcaca caggccgcta tcatggagaa gctggtggct tactcatccg 1920  
 atcaggcaca ctctcagtg gaaagagctg ggttaattgg tggagtgaaa ttaaagcca 1980  
 tcccctcaga tggcaacttc gccatgcgtg cgtctgcct gcaggaagcc ctggagagag 2040  
 acaaagcggc tggcctgatt ctttcttta tggttgccac cctggggacc acaacatgct 2100  
 gctcctttga caatctctta gaagtcggtc ctatctgcaa caaggaagac atatggctgc 2160  
 acgttgatgc agcctacgca ggcaatgcat tcatctgccc tgagttccgg caccttctga 2220  
 atggagtgga gtttgcagat tcattcaact ttaatccca caaatggcta ttggtgaatt 2280  
 ttgactgttc tgccatgtgg gtgaaaaaga gaacagactt aacgggagcc ttagactgg 2340  
 acccactta cctgaagcac agccatcagg attcagggt taccactgac taccggcatt 2400  
 ggagataacc actgggcaga agatttcgct cttgaaaat gtggtttgta ttaggatgt 2460  
 atggagtcaa aggactgcag gcttataatcc gcaagcatgt ccagctgtcc catgagtttg 2520  
 agtcaactgt gcgccaggat ccccgtttg aatctgtgt ggaagtcatt ctggggcttg 2580  
 tctgctttcg gctaaaagggt tccaacaaag tgaatgaagc tcttctgcaa agaataaaca 2640  
 gtgcaaaaaa aatccacttg gttccatgtc acctcagga caagtttgc ctgcgctttg 2700  
 ccatctgttc tcgcacggtg gaatctgccc atgtgcagcg ggccctgggaa cacatcaaag 2760  
 agctggcggc cgacgtgctg cgagcagaga gggagtagga gtgaagccag ctgcaggaat 2820  
 caaaaaattga agagagatat atctgaaaac tggaataaga agcaataaa tatcatctg 2880  
 ccttcatgga actcagctgt ctgtggettc ccatgtcttt ctccaaagt atccagagg 2940  
 ttgtgattht gtctgcttag tatctcatca acaaagaaat attatthtct aatthaaag 3000  
 ttaatcttca tggccatagc ttttattcat tagctgtgat tttgttgat thaaacatta 3060  
 tagatthtca tgttcttga gtcacagaa gtggttagaa agcctcactg atathattht 3120  
 cagggcaatc aatgttcacg caactgaaa ttatctctgt ggtctthcaa ttgtcttht 3180

tcatgtggct aaatgcctaa taagctgctc gagagatcta cgggtggcat ccctgtgacc 3240  
 cctccccagt gcctctcctg gccctggaag ttgccactcc agtgcccacc agccttgtcc 3300  
 taataaaatt aagttgcatc attttgtctg actaggtgtc cttctataat attatgggggt 3360  
 ggaggggggt ggtatggagc aaggggcaag ttgggaagac aacctgtagg gcctgcgggg 3420  
 tctattggga accaagctgg agtgcagtgg cacaatcttg gtcactgca atctccgcct 3480  
 cctgggttca agcgattctc ctgcctcagc ctcccagatt gttgggattc caggcatgca 3540  
 tgaccaggct cagctaattt ttgtttttt ggtagagacg gggtttcacc atattggcca 3600  
 ggctgggtctc caactcctaa tctcaggtga tctaccacc ttggcctccc aaattgctgg 3660  
 gattacaggc gtgaaccact gctcccttc ctgtccttct gatthttgtag gtaaccacgt 3720  
 gcggaccgag cggccgcagt taattaagct cgcaaggaa cccctagtga tggagttggc 3780  
 cactccctct ctgcgcgctc gctcgtcac tgaggccggg cgaccaaagg tcgcccagc 3840  
 cccgggcttt gcccgggcgg cctcagtgag cgagcgagcg cgcagctgcc tgcagg 3896

<210> 23

<211> 3475

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成的多核苷酸

<400> 23

cagctgcgcg ctgcctcgt cactgaggcc gcccgggcaa agcccgggcg tcgggcgacc 60  
 tttggtcgcc cggcctcagt gagcgagcga gcgcgcagag agggagtggc caactccatc 120  
 actaggggtt gagtttaaac ttcgtcgacg atctgcggcc gcacgcgtgg agctagttat 180  
 taatagtaat caattacggg gtcattagtt catagcccat atatggagtt ccgcgttaca 240  
 taacttacgg taaatggccc gcctggctga ccgccaacg acccccgcc attgacgtca 300  
 ataatgacgt atgttcccat agtaacgtca atagggactt tccattgacg tcaatgggtg 360  
 gagtatttac ggtaaactgc ccaactggca gtacatcaag tgtatcatat gccaaagtacg 420  
 ccccctattg acgtcaatga cggtaaattg cccgcctggc attatgccca gtacatgacc 480  
 ttatgggact ttcctacttg gcagtacatc tacgtattag tcatcgctat taccatgggtg 540  
 atgcggtttt ggcagtacat caatgggctt ggatagcggg ttgactcacg gggatttcca 600  
 agtctccacc ccattgacgt caatgggagt ttgttttga ccaaaatcaa cgggactttc 660  
 caaaatgtcg taacaactcc gccccattga cgcaaatggg cggtaggcgt gtacgggtggg 720  
 aggtctatat aagcagagct cgttttagtga accgtcagat cgctgggaga cgccatccac 780  
 gctgttttga cctccataga agacaccggg accgatccag cctccgcgga ttcgaatccc 840  
 ggccgggaac ggtgcattgg aacgcggatt ccccggtcca agagtgacgt aagtaccgcc 900  
 tatagagtct ataggccac aaaaaatgct ttcttctttt aatatacttt tttgtttatc 960  
 ttattttctaa tactttccct aatctctttc tttcagggca ataataatgac aatgtatcat 1020  
 gcctctttgc accattctaa agaataacag tgataatttc tgggttaagg caatagcaat 1080  
 atttctgcat ataaatattt ctgcatataa attgtaactg atgtaagagg tttcatattg 1140  
 ctaatagcag ctacaatcca gctaccattc tgcttttatt ttatgggttg gataaggctg 1200

gattattctg agtccaagct aggccctttt gctaatacatg ttcatactc ttatcttct 1260  
cccacagctc ctgggcaacg tgctggtctg tgtgctggcc catcactttg gcaaagaatt 1320  
gggattcgaa catcggccgc caccatgaac gcaagtgaat tccgaaggag agggaaggag 1380  
atgggtggatt acgtggccaa ctacatggaa ggcatgagg gacgccaggt ctaccctgac 1440  
gtggagcccc ggtacctgcg gccgctgac cctgccgctg cccctcagga gccagacacg 1500  
tttgaggaca tcatcaacga cgttgagaag ataatacatg ctggggtgac gactggcac 1560  
agccccact tcttcgccta cttccccact gccagctcgt acccggccat gcttgccgac 1620  
atgctgtgcg gggccattgg ctgcatcggc ttctctggg cggcaagccc agcatgcaca 1680  
gagctggaga ctgtgatgat ggactggctc gggaagatgc tggaaactacc aaaggcattt 1740  
ttgaatgaga aagctggaga agggggagga gtgatccagg gaagtgccag tgaagccacc 1800  
ctgggtggccc tgctggccgc tcggaccaa gtgatccatc ggctgcaggc agcgtcccca 1860  
gagctcacac aggccgctat catggagaag ctgggtgctt actcatccga tcaggcacac 1920  
tcctcagtg aaagagctgg gttaattggt ggagtgaat taaaagccat cccctcagat 1980  
ggcaacttcg ccatgcgtgc gtctgcctg caggaagccc tggagagaga caaagcggct 2040  
ggcctgattc ctttctttat ggttgccacc ctggggacca caaatgctg ctcttttgac 2100  
aatctcttag aagtcggtcc tatctgcaac aaggaagaca tatggctgca cgttgatgca 2160  
gcctacgcag gcagtgatt catctgccct gattccggc accttctgaa tggagtggag 2220  
tttgagatt cattcaactt taatccccac aaatggctat tggatgaattt tgactgttct 2280  
gccatgtggg tgaaaaagag aacagactta acgggagcct ttagactgga cccacttac 2340  
ctgaagcaca gccatcagga ttcagggtt atcactgact accggcattg gcagatacca 2400  
ctgggcagaa gatttcgctc tttgaaaatg tggtttgtat ttaggatgta tggagtcaaa 2460  
ggactgcagg ctatatccg caagcatgct cagctgtccc atgagtttga gtcactggtg 2520  
cgccaggatc cccgcttga aatctgtgtg gaagtcattc tggggcttgt ctgctttcgg 2580  
ctaaagggtt ccaacaaagt gaatgaagct cttctgcaa gaataaacag tgccaaaaaa 2640  
atccacttgg ttccatgtca cctcaggac aagtttgtc tgcgcttgc catctgttct 2700  
cgcacggtgg aatctgcca tgtgcagcgg gcctgggaac acatcaaaga gctggcggcc 2760  
gacgtgctgc gagcagagag ggagtaggag tgagctgctc gagagatcta cgggtggcat 2820  
ccctgtgacc cctccccagt gcctctctg gcctggaag ttgccactcc agtcccacc 2880  
agccttgtcc taataaaatt aagttgcac atttgtctg actaggtgtc cttctataat 2940  
attatggggt ggaggggggt ggtatggagc aaggggcaag ttgggaagac aacctgtagg 3000  
gcctgcgggg tctattggga accaagctgg agtgcagtg cacaatctt gctcactgca 3060  
atctccgct cctgggttca agcattctc ctgctcagc ctcccagtt gttgggattc 3120  
caggcatgca tgaccaggt cagctaattt ttgtttttt ggtagagacg gggtttcacc 3180  
atattggcca ggctggtctc caactcetaa tctcagtgta tctaccacc ttggcctccc 3240  
aaattgctgg gattacagc gtgaaccact gctccctcc ctgtcttct gatattgtag 3300  
gtaaccacgt gcggaccgag cggcccgagt taattaagct cgcgaaacc ctagtgatgg 3360  
agttggccac tccctctctg cgcgctcgt cgctcactga ggccgggca ccaaggtcg 3420  
cccagcggc gggcttggc cgggcggcct cagtgagcga gcgagcgcg agctg 3475