



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0154664
(43) 공개일자 2024년10월25일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12N 15/113 (2010.01) A61K 48/00 (2006.01)
A61P 43/00 (2006.01) C12N 15/86 (2006.01)

(52) CPC특허분류
C12N 15/1137 (2013.01)
A61K 48/005 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2024-7033383

(22) 출원일자(국제) 2023년03월07일
심사청구일자 없음

(85) 번역문제출일자 2024년10월07일

(86) 국제출원번호 PCT/US2023/014679

(87) 국제공개번호 WO 2023/172534
국제공개일자 2023년09월14일

(30) 우선권주장
63/317,154 2022년03월07일 미국(US)

(71) 출원인
유니버시티 오브 코네티컷
미국, 코네티컷 06032, 파밍턴 엠씨 400, 파밍턴
에비뉴 400
오비드 테라퓨틱스 인크.
미국, 뉴욕 10001, 뉴욕, 14 플로어, 9 에비뉴
441

(72) 발명자
캠벌린, 스토미
미국, 코네티컷 06478, 옥스포드, 페리 레인 18
저먼, 노엘
미국, 코네티컷 06795, 워터타운, 베이뷰 서클
232
페리노, 피터
미국, 코네티컷 06033, 글래스톤베리, 플래너건
드라이브 2114

(74) 대리인
특허법인(유한) 대아

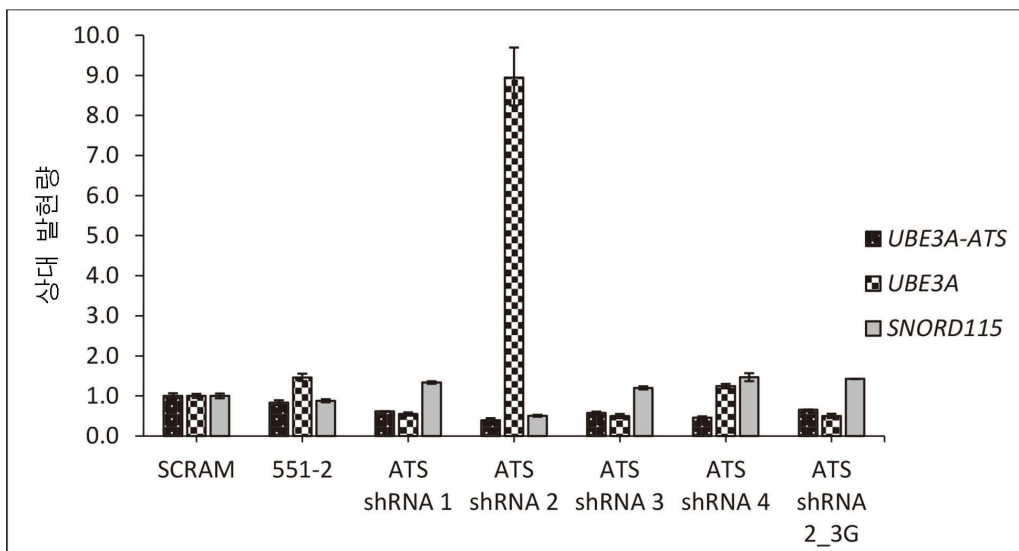
전체 청구항 수 : 총 54 항

(54) 발명의 명칭 안젤만 증후군에서 부계 UBE3A 유전자 발현을 회복하기 위한 UBE3A-ATS를 표적으로 하는 shRNA

(57) 요약

본 명세서에는 바이러스 벡터를 이용한 짧은 헤어핀 RNA(shRNA)의 전달을 통해 안젤만 증후군에서 부계로부터 유전된 UBE3A 대립유전자의 발현을 활성화하는 조성물 및 방법이 제공된다. 또한, 바이러스 벡터를 이용한 짧은 헤어핀 RNA(shRNA)의 전달을 통해 안젤만 증후군에서 UBE3A-ATS의 발현을 감소시키거나 제거하는 조성물 및 방법이 제공된다.

대표도 - 도4



(52) CPC특허분류

A61P 43/00 (2018.01)

C12N 15/86 (2013.01)

C12N 2310/14 (2013.01)

C12N 2310/531 (2013.01)

C12N 2740/16043 (2013.01)

C12N 2750/14143 (2013.01)

C12N 2830/008 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

하기를 포함하는 폴리뉴클레오타이드 서열:

5'-GATATCACCTTACAGAAATTACTCGAGTAATTTCTGTAAGGTGATATC-3' (SEQ ID NO: 2).

청구항 2

제1항의 폴리뉴클레오타이드 서열을 포함하는 발현 벡터.

청구항 3

제2항에 있어서,

프로모터를 추가로 포함하는, 발현 벡터.

청구항 4

제3항에 있어서,

상기 프로모터는 뉴런 특이적 프로모터인, 발현 벡터.

청구항 5

제4항에 있어서,

상기 뉴런 특이적 프로모터는, 뉴런-특이적 에놀라아제(NSE), 시냅신 I(Syn), 또는 Ca²⁺/CaM-활성화 단백질 키나제 II 알파(CaMK II alpha)인, 발현 벡터.

청구항 6

제3항에 있어서,

상기 프로모터는 U6 프로모터 또는 H1 프로모터인, 발현 벡터.

청구항 7

제2항에 있어서,

상기 발현 벡터는 아데노-연관 바이러스(AAV) 벡터 또는 렌티바이러스 벡터인, 발현 벡터.

청구항 8

제7항에 있어서,

상기 발현 벡터는 AAV1, AAV2, AAV3, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9 또는 AAV10인, 발현 벡터.

청구항 9

제1항에 따른 폴리뉴클레오타이드 서열 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약학적 조성물.

청구항 10

제9항에 있어서,

상기 폴리뉴클레오타이드 서열은 발현 벡터 내에 포함되는, 약학적 조성물.

청구항 11

제10항에 있어서,

상기 발현 벡터는 AAV 벡터 또는 렌티바이러스 벡터인, 약학적 조성물.

청구항 12

SEQ ID NO: 3-489 중 어느 하나에 의해 인코딩된 RNA와 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 100% 상보적인 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 shRNA를 인코딩하는 폴리뉴클레오타이드.

청구항 13

제12항에 있어서,

상기 폴리뉴클레오타이드는 SEQ ID NO: 2인, 폴리뉴클레오타이드.

청구항 14

제12항에 있어서,

상기 shRNA는 부계 UBE3A의 발현을 활성화하거나 증가시키는, 폴리뉴클레오타이드.

청구항 15

제12항에 있어서,

상기 shRNA는 부계 UBE3A-ATS의 발현을 감소시키는, 폴리뉴클레오타이드.

청구항 16

제12항의 폴리뉴클레오타이드 및 프로모터를 포함하는 발현 벡터.

청구항 17

제14항에 있어서,

상기 프로모터는 뉴런 특이적 프로모터인, 발현 벡터.

청구항 18

제17항에 있어서,

상기 뉴런 특이적 프로모터는, 뉴런-특이적 에놀라아제(NSE), 시냅신 I(Syn), 또는 Ca²⁺/CaM-활성화 단백질 키나제 II 알파(CaMK II alpha)인, 발현 벡터.

청구항 19

제16항에 있어서,

상기 프로모터는 U6 프로모터 또는 H1 프로모터인, 발현 벡터.

청구항 20

제16항에 있어서,

상기 발현 벡터는 아데노-연관 바이러스(AAV) 벡터 또는 렌티바이러스 벡터인, 발현 벡터.

청구항 21

제20항에 있어서,

상기 발현 벡터는 AAV1, AAV2, AAV3, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9 또는 AAV10인, 발현 벡터.

청구항 22

제16항에 있어서,

상기 폴리뉴클레오타이드는 DNA 폴리뉴클레오타이드인, 발현 벡터.

청구항 23

제12항에 따른 폴리뉴클레오타이드 서열 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약학적 조성물.

청구항 24

제23항에 있어서,

상기 폴리뉴클레오타이드 서열은 발현 벡터 내에 포함되는, 약학적 조성물.

청구항 25

제24항에 있어서,

상기 발현 벡터는 AAV 벡터 또는 렌티바이러스 벡터인, 약학적 조성물.

청구항 26

제1항에 따른 폴리뉴클레오타이드를 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 안젤만 증후군의 치료 방법.

청구항 27

제26항에 있어서,

상기 폴리뉴클레오타이드는 부계 *UBE3A-ATS*의 발현을 감소시키는 shRNA를 인코딩하는, 안젤만 증후군의 치료 방법.

청구항 28

제26항에 있어서,

상기 폴리뉴클레오타이드는, 부계 *UBE3A* 유전자의 발현을 활성화하거나 증가시키는 shRNA를 인코딩하는, 안젤만 증후군의 치료 방법.

청구항 29

제12항에 따른 폴리뉴클레오타이드를 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 안젤만 증후군의 치료 방법.

청구항 30

제29항에 있어서,

상기 폴리뉴클레오타이드는 부계 *UBE3A-ATS*의 발현을 감소시키는 shRNA를 인코딩하는, 안젤만 증후군의 치료 방법.

청구항 31

제29항에 있어서,

상기 폴리뉴클레오타이드는, 부계 *UBE3A* 유전자의 발현을 활성화하거나 증가시키는 shRNA를 인코딩하는, 안젤만 증후군의 치료 방법.

청구항 32

shRNA를 인코딩하는 SEQ ID NO: 2를 포함하는 폴리뉴클레오타이드로서, 상기 shRNA는 부계 *UBE3A*의 사일런싱을 억제할 수 있는, 폴리뉴클레오타이드.

청구항 33

SEQ ID NO: 1에 의해 인코딩된 RNA 안티센스 전사체에 의한 부계 *UBE3A* 유전자의 사일런싱을 억제하는

방법으로, 상기 방법은, SEQ ID NO: 1에 의해 인코딩된 RNA 안티센스 전사체를 절단하는 데 효과적인 shRNA를 인코딩하는 제1항의 폴리뉴클레오타이드의 양을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 34

제33항에 있어서,
상기 폴리뉴클레오타이드는 발현 벡터 내에 포함되는, 방법.

청구항 35

제34항에 있어서,
상기 발현 벡터는 AAV 벡터 또는 렌티바이러스 벡터인, 방법.

청구항 36

제33항에 있어서,
상기 폴리뉴클레오타이드는 환자의 뇌에 투여되는, 방법.

청구항 37

제33항에 있어서,
상기 폴리뉴클레오타이드는 환자의 뉴런에 투여되는, 방법.

청구항 38

제33항에 있어서,
상기 shRNA는, SEQ ID NO: 1의 서열을 포함하는 폴리뉴클레오타이드의 전사를 감소시키거나 중단시키는, 방법.

청구항 39

제33항에 있어서,
상기 shRNA는, SEQ ID NO: 1에 의해 인코딩된 RNA 안티센스 전사체의 수준을 감소시키는, 방법.

청구항 40

SEQ ID NO: 1에 의해 인코딩된 RNA 안티센스 전사체에 의한 부계 UBE3A 유전자의 사일런싱을 억제하는 방법으로, 상기 방법은, SEQ ID NO: 1에 의해 인코딩된 RNA 안티센스 전사체를 절단하는 데 효과적인 shRNA를 인코딩하는 제12항의 폴리뉴클레오타이드의 양을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 41

제40항에 있어서,
상기 폴리뉴클레오타이드는 발현 벡터 내에 포함되는, 방법.

청구항 42

제41항에 있어서,
상기 발현 벡터는 AAV 벡터 또는 렌티바이러스 벡터인, 방법.

청구항 43

제40항에 있어서,
상기 폴리뉴클레오타이드는 환자의 뇌에 투여되는, 방법.

청구항 44

제40항에 있어서,
상기 폴리뉴클레오타이드는 환자의 뉴런에 투여되는, 방법.

청구항 45

제40항에 있어서,
상기 shRNA는, SEQ ID NO: 1의 서열을 포함하는 폴리뉴클레오타이드의 전사를 감소시키거나 중단시키는, 방법.

청구항 46

제40항에 있어서,
상기 shRNA는, SEQ ID NO: 1에 의해 인코딩된 RNA 안티센스 전사체의 수준을 감소시키는, 방법.

청구항 47

제1항에 있어서,
안젤만 증후군 치료, 부계 UBE3A 활성화, 또는 SEQ ID NO: 1에 의해 인코딩된 RNA 안티센스 전사체에 의한 부계 UBE3A 유전자의 사일런싱을 억제하는 데 사용되는, 폴리뉴클레오타이드 서열.

청구항 48

제12항에 있어서,
안젤만 증후군 치료, 부계 UBE3A 활성화, 또는 SEQ ID NO: 1에 의해 인코딩된 RNA 안티센스 전사체에 의한 부계 UBE3A 유전자의 사일런싱을 억제하는 데 사용되는, 폴리뉴클레오타이드.

청구항 49

안젤만 증후군 치료를 위한 치료제의 제조, 부계 UBE3A 활성화, 또는 SEQ ID NO: 1에 의해 인코딩된 RNA 안티센스 전사체에 의한 부계 UBE3A 유전자의 사일런싱을 억제하는 데 사용되는, 제1항에 따른 폴리뉴클레오타이드의 용도.

청구항 50

안젤만 증후군 치료를 위한 치료제의 제조, 부계 UBE3A 활성화, 또는 SEQ ID NO: 1에 의해 인코딩된 RNA 안티센스 전사체에 의한 부계 UBE3A 유전자의 사일런싱을 억제하는 데 사용되는, 제12항에 따른 폴리뉴클레오타이드의 용도.

청구항 51

SEQ ID NO: 2의 일부에 의해 인코딩된 shRNA로서, 상기 SEQ ID NO: 2의 일부는, 볼드체로 표시된 뉴클레오타이드에 의해 정의된 제1 세그먼트로, 상기 제1 세그먼트의 양쪽 말단에서 1개, 2개, 3개 또는 4개의 뉴클레오타이드가 제거되어 짧아진 제1 세그먼트, 및 이탤릭체로 표시된 뉴클레오타이드에 의해 정의된 제2 세그먼트로, 상기 이탤릭체로 표시된 뉴클레오타이드의 양쪽 말단에서 1개, 2개 또는 3개의 뉴클레오타이드가 제거되어 짧아진 제2 세그먼트를 정의하는, shRNA.

청구항 52

제51항에 있어서,
상기 shRNA는, SEQ ID NO: 494, SEQ ID NO: 495, SEQ ID NO: 496, SEQ ID NO: 497, SEQ ID NO: 498, SEQ ID NO: 499, SEQ ID NO: 500 또는 SEQ ID NO: 501에 의해 인코딩되는, shRNA.

청구항 53

하기를 포함하는 폴리뉴클레오타이드 서열로서:
5'-GATATCACCTTACAGAAATTAnnnnnnnnTAATTTCTGTAAGGTGATATC-3' (SEQ ID NO: 506), 여기서 nnnnnnnn은 CTCGAG(SEQ ID NO: 490), TCAAGAG(SEQ ID NO: 491), TTCG(SEQ ID NO: 492), 또는 GAAGCTTG(SEQ ID NO: 493)일

수 있는, 폴리뉴클레오타이드 서열.

청구항 54

제1 부분, 제2 부분, 및 제3 부분을 포함하는 폴리뉴클레오타이드 서열로서, 상기 제1 부분은 SEQ ID NO: 3-489 중 어느 하나를 포함하고, 상기 제2 부분은 SEQ ID NO: 490, 491, 492 또는 493 중 어느 하나를 포함하며, 및 상기 제3 부분은 SEQ ID NO: 3-489의 서열에 상보적인 각각의 뉴클레오타이드 서열을 포함하는, 폴리뉴클레오타이드 서열.

발명의 설명

기술 분야

[0001] **관련 출원의 상호 참조**

[0002] 본 신청은 2022년 3월 7일에 출원된 미국 가출원 번호 63/317,154의 이익과 우선권을 주장하며, 해당 출원은 본 명세서 전체에 참조로 포함된다.

[0003] **정부 지원의 선언서**

[0004] 본 발명은 미국 국립보건원(National Institutes of Health)이 수여한 계약 번호 1R01HD094953에 따라 정부 지원을 받아 이루어졌다. 본 발명에 대해 정부는 일정한 권리를 보유한다.

[0005] **기술 분야**

[0006] 본 개시는 짧은 헤어핀 RNA(short hairpin RNA, shRNA)를 사용하여 안젤만 증후군을 가진 대상자의 부계로부터 유전된 UBE3A 대립유전자의 발현을 활성화하기 위한 조성물 및 방법에 관한 것이다.

[0007] **서열 목록에 대한 참조**

[0008] 본 명세서에서 기술된 서열에 해당하는 서열 목록이 제출될 예정이다.

배경 기술

[0009] 안젤만 증후군(Angelman syndrome, AS)은 약 15,000명 중 1명에게 영향을 미치는 신경발달 장애이다. AS 환자들은 발달 지연, 심각한 인지 장애, 운동 실조성 보행, 빈번한 발작, 짧은 집중 시간, 언어 능력의 결여, 및 특징적인 행복한 성향을 보인다. 유도 만능 줄기세포(iPSC)에서 유래한 AS 환자의 뉴런은 탈분극된 안정막 전위, 지연된 활동 전위 발달, 및 자발적인 시냅스 활동 감소를 나타낸다(Fink, J.J., T.M. Robinson, N.D. Germain, C.L. Sirois, K.A. Bolduc, A.J. Ward, F.Rigo, S.J. Chamberlain and E.S. Levine (2017). "Disrupted neuronal maturation in Angelman syndrome-derived induced pluripotent stem cells." Nat Commun 8: 15038). AS는 비교적 많은 환자군에 영향을 미치는데; 3,000명 이상의 환자를 포함하는 연락처 등록부가 마련되었고, 매년 약 250명의 새로운 AS 진단이 이루어지고 있다. AS 환자들은 평생 동안 지속적인 관리를 필요로 한다.

[0010] 안젤만 증후군(AS)은 E3 유비퀴틴 리가제를 인코딩하는 유전자인 UBE3A의 모계 복제 기능 상실로 인해 발생한다. 이러한 기능 상실 돌연변이는 모계 대립유전자의 다양한 유형의 유전자 돌연변이에 의해 발생할 수 있다. UBE3A는 뉴런에서 모계 대립유전자에서만 발현된다. AS 환자들은 모두 정상적인 부계 UBE3A 대립유전자를 가지고 있지만, 이 대립유전자는 UBE3A 안티센스 전사체(UBE3A-ATS)라고 불리는 긴 비인코딩 RNA에 의해 뉴런에서 시스(cis) 방식으로 후성유전학적으로 억제된다(Rougeulle et al., 1997, Nat Genet 17, 14-15; Chamberlain and Brannan, 2001, Genomics 73, 316-322). 부계 대립유전자의 재활성화는 AS 마우스 모델에서 UBE3A 단백질 발현을 회복시키고 행동 결핍을 완화하는 것으로 나타났다. 인간에게서 UBE3A 발현이 회복되면, 특히 영아기에 회복될 경우 질병이 개선될 것으로 기대된다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0011] 본 명세서에서 제공하고자 하는 것은, 부계 UBE3A의 사일런싱(silencing)을 억제하고 부계 UBE3A를 본래의 조절 요소들로부터 발현되도록 함으로써 모계 UBE3A의 결핍을 대체하거나 보충하는 새로운 안젤만 증후군

치료법이다. 뉴런에서 UBE3A 발현의 증가는 *UBE3A-ATS*의 전사를 종료시킴으로써 이루어진다. 본래의 조절 요소들이 발현을 조절하기 때문에 UBE3A의 과발현이 방지된다. 이 접근법은 단일 치료로 AS 증상을 개선할 수 있으며, 여러 차례의 치료를 요하지 않는다.

과제의 해결 수단

- [0012] 본 명세서에는 다음을 포함하는 폴리뉴클레오타이드 서열이 제공된다:
- [0013] 5'-GATATCACCTTACAGAAATTACTCGAGTAATTTCTGTAAGGTGATATC-3' (SEQ ID No: 2). SEQ ID NO: 2를 포함하는 발현 벡터가 제공된다. 일 구현예에서 상기 발현 벡터는 아데노 관련 바이러스(AAV) 벡터 또는 렌티바이러스 벡터이다. 이를 포함하는 약학 조성물도 제공된다.
- [0014] 본 명세서에는 shRNA를 인코딩하는 폴리뉴클레오타이드가 제공되며, 상기 shRNA는 SEQ ID NO: 3-489 중 어느 하나에 의해 인코딩된 RNA와 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 100% 상보적인 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 일 구현예에서 상기 폴리뉴클레오타이드는 SEQ ID NO: 2이다. 일 구현예에서, 상기 shRNA는 부계 UBE3A의 발현을 활성화하거나 증가시킨다. 일 구현예에서, 상기 shRNA는 부계 *UBE3A-ATS*의 발현을 감소시킨다. 상기 shRNA를 포함하는 발현 벡터가 제공된다. 일 구현예에서 상기 발현 벡터는 아데노 관련 바이러스(AAV) 벡터 또는 렌티바이러스 벡터이다. 이를 포함하는 약학 조성물도 제공된다.
- [0015] 본 명세서에는 안절만 증후군을 치료하는 방법이 제공되며, 상기 방법은 SEQ ID NO: 2의 폴리뉴클레오타이드를 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 단계를 포함한다. 일 구현예에서 상기 SEQ ID NO: 2의 폴리뉴클레오타이드는 부계 *UBE3A-ATS*의 발현을 감소시키는 shRNA를 인코딩한다. 일 구현예에서 SEQ ID NO: 2의 폴리뉴클레오타이드는 부계 UBE3A 유전자의 발현을 활성화하거나 증가시키는 shRNA를 인코딩한다.
- [0016] 본 명세서에는 안절만 증후군을 치료하는 방법이 제공되며, 상기 방법은 SEQ ID NO: 3-489 중 어느 하나에 의해 인코딩된 RNA와 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 100% 상보적인 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 shRNA를 인코딩하는 폴리뉴클레오타이드를 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 단계를 포함한다. 일 구현예에서, 상기 폴리뉴클레오타이드는 SEQ ID NO: 2이다. 일 구현예에서, 상기 shRNA는 부계 UBE3A의 발현을 활성화하거나 증가시킨다. 일 구현예에서, 상기 shRNA는 부계 *UBE3A-ATS*의 발현을 감소시킨다.
- [0017] 일 구현예에서, SEQ ID NO: 2는 부계 UBE3A의 사일런싱을 억제할 수 있는 shRNA를 인코딩한다. 일 구현예에서, 상기 SEQ ID NO: 2는 발현 벡터 내에 포함된다. 일 구현예에서, 상기 발현 벡터는 아데노 관련 바이러스(AAV) 벡터 또는 렌티바이러스 벡터이다. 일 구현예에서는, SEQ ID NO: 1에 의해 인코딩된 RNA 안티센스 전사체에 의한 부계 UBE3A 유전자의 사일런싱을 억제하는 방법이 제공되며, 상기 방법은 SEQ ID NO: 1에 의해 인코딩된 RNA 안티센스 전사체를 절단하는 데 효과적인 양의 SEQ ID NO: 2를 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 단계를 포함한다.
- [0018] 일 구현예에서는 SEQ ID NO: 1에 의해 인코딩된 RNA 안티센스 전사체에 의한 부계 UBE3A 유전자의 사일런싱을 억제하는 방법이 제공되며, 상기 방법은 SEQ ID NO: 1에 의해 인코딩된 RNA 안티센스 전사체를 절단하는 데 효과적인, SEQ ID NO: 3-489 중 하나에 의해 인코딩된 RNA와 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 100% 상보적인 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 shRNA의 양을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 단계를 포함한다.
- [0019] 일 구현예에서, 본 명세서에서 제공된 shRNA는 SEQ ID NO: 2의 일부에 의해 인코딩되며, 예를 들어, 볼드체로 표시된 뉴클레오타이드를 포함하고 이들 볼드체로 표시된 뉴클레오타이드 양쪽 말단에서 1개, 2개, 3개 또는 4개의 뉴클레오타이드가 제거되어 짧아진 형태일 수 있다. 마찬가지로, 일 구현예에서 제공된 shRNA는 SEQ ID NO: 2의 일부를 포함할 수 있으며, 예를 들어, 이탤릭체로 표시된 뉴클레오타이드를 포함하고 이들 이탤릭체로 표시된 뉴클레오타이드 양쪽 말단에서 1개, 2개 또는 3개의 뉴클레오타이드가 제거되어 짧아진 형태일 수 있다.
- [0020] 일 구현예에서 다음과 같은 폴리뉴클레오타이드 서열이 제공된다:
- [0021] 5'-GATATCACCTTACAGAAATTAnnnnnnnnTAATTTCTGTAAGGTGATATC-3' (SEQ ID NO: 506), 여기서 nnnnnnnn은 CTCGAG (SEQ ID NO: 490), TCAAGAG (SEQ ID NO: 491), TTCG (SEQ ID NO: 492) 또는 GAAGCTTG (SEQ ID NO: 493)이 될 수 있다.
- [0022] 일 구현예에서 폴리뉴클레오타이드 서열은 제1 부분, 제2 부분 및 제3 부분을 포함하며, 제1 부분은 SEQ ID NO: 3-489 중 하나를 포함하고, 제2 부분은 SEQ ID NO: 490, 491, 492 또는 493 중 하나를 포함하며, 제3 부분은 SEQ ID NO: 3-489의 서열과 상보적인 각각의 뉴클레오타이드 서열을 포함한다.

도면의 간단한 설명

[0023] 도 1은 안젤만 증후군에서의 염색체 돌연변이를 보여준다.

도 2는 부계 UBE3A 유전자의 다이어그램을 보여준다.

도 3a와 도 3b는 shRNA 표적의 유전체 위치(실선 박스)를 보여준다. 15q11-q13 영역에 있는 각인된 *SNHG14/UBE3A* 유전자 좌위(점선 박스)를 포함하는 UCSC 유전체 브라우저 뷰를 보여준다. *UBE3A-ATS* 영역(*ATS-shRNA2*)과 *SNORD115* snoRNA 클러스터 내에 shRNA 표적 위치가 있다.

도 4는 *SNHG14*를 표적으로 하는 shRNA(551-2, *ATS shRNA1-4*, *ATS shRNA2_3G*) 또는 비표적 대조군 shRNA(*SCRAM*)로 처리한 후 안젤만 증후군 iPSC 유래 뉴런에 대한 qRT-PCR 분석을 보여주는 막대 그래프이다. 두 가지 shRNA, 551-2와 *ATS shRNA2*가 *UBE3A-ATS*를 감소시키고 부계 *UBE3A*를 활성화시켰다.

도 5는 *SNHG14*를 표적으로 하는 shRNA(*ATS shRNA 2*), 비표적 대조군 shRNA(*SCRAM*), 또는 처리하지 않은 샘플(UTC)로 처리한 후 안젤만 증후군 iPSC 유래 뉴런에 대한 qRT-PCR 분석을 보여주는 막대 그래프이다. *ATS shRNA2*가 *UBE3A-ATS*를 감소시키고 부계 *UBE3A*를 활성화시켰다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0024] *UBE3A*는 E3 유비퀴틴 리가제를 인코딩하는 유전자이다. *UBE3A*의 유전체 좌표는 마이너스 사슬의 hg19 chr15:25,582,381-25,684,175이다. *UBE3A*에는 세 가지 정상적인 아이소폼이 있다: 아이소폼 1(접근번호 X98032); 아이소폼 2(접근번호 X98031); 및 아이소폼 3(접근번호 X98033). 뉴런(신경 세포, neuron)에서, *UBE3A*는 모계 대립유전자에서만 발현된다. 부계 *UBE3A* 대립유전자는 SEQ ID NO: 1로 인코딩된 긴 비인코딩 RNA인 *UBE3A* 안티센스 전사체(*UBE3A-ATS*)에 의해 후성유전학적으로 사일런싱된다. *UBE3A-ATS*의 유전체 좌표는 플러스 사슬의 hg19 chr15:25,223,730-25,664,609이다. 특정 관심 대상의 유전체 좌표는 다음과 같다: 플러스 사슬의 hg19 chr15:25,522,751-25,591,391.

[0025] *UBE3A-ATS/Ube3a-ATS*(인간/쥐)는 *UBE3A* 유전자 좌위에서 *SNHG14(SNORNA HOST GENE 14)*라는 더 큰 전사체의 일부로 전사되는 안티센스 DNA 사슬이다. 인간 *UBE3A-ATS*는 중앙 신경계(CNS)에서 부계 대립유전자로부터만 *SNHG14*의 일부로 발현된다. 상기 전사체는 약 600 kb 길이로, *SNRPN*에서 시작해 대부분의 *UBE3A*를 통해 연장한다. *SNHG14*(Small Nucleolar RNA Host Gene 14)는 비인코딩 RNA를 인코딩하며 lncRNA 클래스에 속한다. *SNHG14*는 프래더-윌리(Prader-Willi) 주요 영역에 위치하며, *SNRPN*(small nuclear ribonucleoprotein polypeptide N) 유전자의 여러 프로모터 중 하나에서 시작되는 긴, 분할된 모계 각인 RNA를 생성한다. 상기 전사체는 C/D 박스 스몰 뉴클레올러 RNA의 두 클러스터, *SNORD116*과 *SNORD115*의 숙주 RNA 역할을 한다. 참조: Runte et al., 2001, Hum Mol Genet 10, 2687-2700. 이 RNA는 유비퀴틴 단백질 리가제 E3A(*UBE3A*) 유전자로 확장되며, 뇌에서 *UBE3A*의 각인 발현을 조절하는 것으로 여겨진다. *SNRPN*의 프로모터는 프래더-윌리 증후군 각인 센터(*PWS-IC*)이며, *PWS-IC*에서 약 35 kb 상류에는 안젤만 증후군 각인 센터(*AS-IC*)가 있다. 이들 두 영역은 *SNHG14* 전사체 전체의 발현을 조절하는 것으로 생각된다.

[0026] *SNURF/SNRPN*은 *SNURF*와 *SNRPN*이라는 두 개의 단백질-코딩 전사체를 인코딩하는 이중유전자이다. *SNURF*와 *SNRPN* 단백질은 모두 세포 핵에 편재화되어 있다. *SNRPN*은 스몰 핵 리보핵단백질이며, *SNURF*의 기능은 알려지지 않았다. *SNRPN/SNURF*에서 시작하는 전사체는 *SNHG14* 전사체도 인코딩한다. *SNHG14*의 인트론 내에는 여러 C/D 박스 snoRNA 서열이 포함되어 있다. C/D 박스 스몰 뉴클레올러 RNA(*SNORD*)는 비인코딩 RNA의 잘 정의된 계열로, 안티센스 기반 메커니즘을 통해 조절 기능을 수행한다. 대부분의 C/D 박스 snoRNA는 비-mRNA 메틸화에서 기능한다.

[0027] 많은 비표적(orphan) snoRNA는 인간 15q11q13 및 14q32에서 두 개의 큰 각인 염색체 도메인으로부터 생성된다(참조: 도 3). 위에서 언급한 바와 같이, 상기 각인된 인간 15q11q13 영역, - 즉 프래더-윌리 증후군(*PWS*)/안젤만 증후군(*AS*) 유전자 좌위 또는 *SNURF-SNRPN* 도메인으로 알려진 - 은 여러 부계 발현 단백질 코딩 유전자뿐만 아니라, 여러 부계 발현되는, 2개의 주요 반복 DNA 배열로 구성된 신경 특이적인 snoRNA 유전자를 포함한다: 상기 2개의 주요 반복 DNA 배열은, 각각 29개와 47개의 관련 유전자 복제본으로 구성된 *SNORD116*과 *SNORD115* 클러스터이다.

[0028] *SNORD115*는 여러 유사한 snoRNA와 함께 15번 염색체상에 클러스터로 발견되는 스몰 뉴클레올러 RNA(snoRNA)를 인코딩한다. 상기 유전자들은 대부분 *SNHG14* 전사체의 인트론 내에 위치하며, 이는 부계에서 각인이 일어나며, *PWS/AS* 영역으로부터 유래한다.

- [0029] 본 명세서에 설명된 조성물 및 방법은 *UBE3A-ATS*를 표적으로 하여 부계 *UBE3A* 대립유전자의 사일런싱을 해제하는 데 초점을 맞추고 있다. 본 명세서에 기술된 짧은 헤어핀 RNA(shRNA)를 통한 *UBE3A-ATS*의 효과적인 억제는 *UBE3A-ATS* 발현 수준의 감소와 함께 부계 *UBE3A* 대립유전자의 발현 수준 증가를 초래한다.
- [0030] 일 구현예에서, 본 명세서의 조성물 및 방법은 AS의 치료 또는 예방과 관련된다. 이러한 치료 또는 예방이 필요한 환자는 AS를 앓고 있거나 AS 발병 위험이 있는 환자이다. 본 명세서에서 "치료를 요하는 환자(patient in need)"라는 용어는 이러한 치료 또는 예방 방법이 필요한 모든 포유동물, 인간을 포함한 개체를 의미한다. 대상은 남성 또는 여성일 수 있다. 특정 측면에서, 본 명세서에 제공된 방법과 조성물에 따라 치료된 AS를 가진 환자는 불안, 학습, 균형, 운동 기능 및/또는 발작에서 개선을 보일 수 있으며, 이 방법은 뉴런의 안정막 전위를 약 -70 mV로 되돌리고, 활동 전위 발달 지연을 완화하며, 자발적인 시냅스 활동을 증가시키고, 뉴런 표현형의 추가적인 변화, 가령 역치전류(rheobase), 활동 전위 특성(예: 형태), 막 전류, 시냅스 전위, 및/또는 이온 채널 전도와 관련 있는 변화를 완화할 수 있다.
- [0031] 일 구현예에서, 폴리뉴클레오타이드는 *UBE3A-ATS* 서열(SEQ ID NO: 1)의 발현을 감소시키는 짧은 헤어핀 RNA(shRNA)를 인코딩하는 제1 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 예를 들어, 본 명세서에서 기술된 일부 shRNA는 SEQ ID NO: 1 또는 그 안에 포함된 서열로부터 인코딩된 RNA 서열과 상보적일 수 있다. 일 구현예에서, 본 명세서에 기술된 shRNA는 제1 뉴클레오타이드 서열에 의해 인코딩된 RNA 폴리뉴클레오타이드이다. 상기 제1 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 폴리뉴클레오타이드는 적절한 벡터(예: 플라스미드)로 클로닝하여 배양하고 이후 바이러스 입자를 생성할 수 있는 DNA 폴리뉴클레오타이드일 수 있다. 결과적으로, 바이러스 입자는 DNA 폴리뉴클레오타이드와 뉴클레오타이드 코딩 서열을 감염에 적합한 형태로 포함할 수 있다. 따라서 제1 뉴클레오타이드 서열은 바이러스 입자 생산을 위한 플라스미드에 클로닝된 DNA 서열이거나 바이러스 입자에 캡슐화된 서열일 수 있다. 레트로바이러스는 RNA 폴리뉴클레오타이드 형태로 뉴클레오타이드 코딩 서열을 운반하므로, 레트로바이러스 입자(예: 렌티바이러스)는 제1 뉴클레오타이드 서열을 해당 RNA 서열로 포함하는 RNA 폴리뉴클레오타이드를 포함한다.
- [0032] 본 명세서에 개시된 새로운 shRNA는 *UBE3A-ATS*를 절단하여 *UBE3A-ATS*의 발현을 감소시키고, 결과적으로 뉴런에서 부계 *UBE3A*의 내재된 복제를 활성화한다. 이는 안젤만 증후군에서 결핍된 세포 유형에서 *UBE3A* 유전자 산물을 제공한다. 잠재적인 shRNA 표적을 제공할 수 있는 유전체 *LNCAT* 서열에서 약 ~60 kb의 잠재적인 탐색 공간이 있다. 그러나, 모든 예측된 서열이 실제로 *UBE3A-ATS*를 감소시키고 *UBE3A*를 회복시키는 것은 아니다. 이에 따라 본 명세서의 특정 예에서 보여지듯이, 어느 서열이 작동할지 또는 작동하지 않을지를 예측하는 것은 어렵다(참조: 도 4).
- [0033] 제1 뉴클레오타이드 서열은 shRNA를 인코딩한다. 예를 들어, 상기 제1 뉴클레오타이드 서열은 하기 SEQ ID NO: 2일 수 있다:
- [0034] (5'-GATATCACCTTACAGAAATTACTCGAGTAATTTCTGTAAGGTGATATC-3'). 상기 제1 뉴클레오타이드 서열은 또한, SEQ ID NO: 2의 볼드체 뉴클레오타이드를 SEQ ID NO: 4-489 중 하나로 대체하고, SEQ ID NO: 2의 이탤릭체 뉴클레오타이드를 SEQ ID NO: 4-489의 뉴클레오타이드와 상보적인 뉴클레오타이드로 대체한 변형된 SEQ ID NO: 2일 수도 있다. 본 명세서에서 "표적(target)"은 뉴클레오타이드 서열과 수소 결합을 통해 혼성화될 수 있는 작동 가능한 RNA 폴리뉴클레오타이드를 의미하며, 이는 *UBE3A-ATS*의 더 큰 유전체 서열 내에서 뉴클레오타이드 서열로부터 전사된 뉴클레오타이드 서열과 같은 뉴클레오타이드 서열이다. 작동 가능한 RNA 폴리뉴클레오타이드와 *UBE3A-ATS*의 더 큰 유전체 서열을 갖는 뉴클레오타이드 서열로부터 전사된 뉴클레오타이드 서열 간의 혼성화는, 작동 가능한 RNA 폴리뉴클레오타이드가 없는 경우에서의 *UBE3A-ATS*의 발현 수준에 비해 작동 가능한 RNA 폴리뉴클레오타이드가 있는 경우에서의 *UBE3A-ATS* 발현 수준의 감소를 초래할 수 있다. 일 구현예에서, 상기 작동 가능한 RNA 폴리뉴클레오타이드는 *UBE3A-ATS*의 더 큰 유전체 서열 내에 인코딩된 RNA 서열과 상보적인 shRNA의 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 예를 들어, 상기 shRNA는 SEQ ID NO: 3과 SEQ ID NO: 4-489에 의해 인코딩된 RNA 서열과 상보적인 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 따라서 상기 작동 가능한 RNA 폴리뉴클레오타이드는 표적 생물체로 shRNA가 동화된 후 기능적 상태로 처리된 shRNA의 작동 가능한 부분을 의미한다.
- [0035] "발현 감소(reduce expression)"는 *UBE3A-ATS*의 발현 또는 활성을 줄이거나 차단하는 것을 의미하며, 반드시 발현이나 활성을 완전히 제거하는 것을 의미하지는 않는다. 표적 발현을 줄이는 메커니즘에는 작동 가능한 RNA 폴리뉴클레오타이드가 더 큰 유전체인 *UBE3A-ATS* 서열(SEQ ID NO: 1) 내의 서열 또는 서열들로부터 전사된 표적 서열 또는 서열들과 혼성화하는 것이 포함되며, 혼성화의 결과 또는 효과는 표적의 분해 또는 표적 점유로 인한 세포 기계의 정지(예: 전사 또는 스플라이싱 정지)일 수 있다.

- [0036] 특정 이론에 국한되지 않고, 본 명세서의 shRNA는 다음의 방식으로 부계 *UBE3A*의 사일런싱을 억제할 수 있다: (1) SEQ ID NO: 1에 의해 인코딩된 RNA 전사체를 절단; (2) SEQ ID NO: 1에 의해 인코딩된 RNA 전사체의 정상 상태 수준(즉, 항상성에서의 기본 수준)의 감소; 및 (3) SEQ ID NO: 1의 전사를 종료. 예를 들어, SEQ ID NO: 1에 의해 인코딩된 RNA 전사체의 절단 및 정상 상태 수준 감소는 RNA 유도 사일런싱 복합체(RISC)를 포함하는 메커니즘을 통해 발생할 수 있다. shRNA는 RISC를 활용할 수 있다. shRNA의 유전체 물질을 포함하는 벡터가 숙주 유전체에 통합되면, shRNA 유전체 물질은 숙주 내에서 pri-microRNA로 전사된다. 상기 pri-microRNA는 Drosha와 같은 리보뉴클레아제에 의해 pre-shRNA로 처리된 후 핵에서 방출된다. 상기 pre-shRNA는 Dicer와 같은 엔도리보뉴클레아제에 의해 처리되어 작은 간섭 RNA(siRNA)를 형성한다. 상기 siRNA는 RISC 내에 적재되며, 이때 센스 가닥은 분해되고 안티센스 가닥은 가이드 역할을 하여 RISC를 mRNA의 상보적인 서열로 안내한다. RISC는 서열이 완벽히 상보적일 경우 mRNA를 절단하고, 서열이 불완전하게 상보적일 경우 mRNA의 번역을 억제한다. 따라서 제1 뉴클레오타이드 서열에 의해 인코딩된 shRNA는 *UBE3A-ATS* RNA의 정상 상태 수준을 감소시켜 부계 *UBE3A*의 발현을 증가시킨다.
- [0037] 본 명세서에서 사용된 "핵산(nucleic acid)"이라는 용어는 단량체 뉴클레오타이드로 구성된 분자를 의미한다. 핵산의 예로는 리보핵산(RNA), 디옥시리보핵산(DNA), 단일 가닥 핵산, 이중 가닥 핵산, 작은 간섭 리보핵산(siRNA), 및 짧은 헤어핀 RNA(shRNA)가 있다. "뉴클레오타이드(nucleotide)"는 뉴클레오사이드의 당 부분에 공유 결합으로 결합된 인산기를 가진 뉴클레오사이드를 의미한다. "올리고뉴클레오타이드(oligonucleotide)" 또는 "폴리뉴클레오타이드(polynucleotide)"는 각각 수정된 것이든 수정되지 않은 것이든 상관없이 서로 독립적으로 결합된 뉴클레오타이드의 중합체를 의미한다.
- [0038] 본 명세서에서 "짧은 헤어핀 RNA(shRNA)"는 줄기-고리(stem-loop) 구조를 형성하는 전형적인 shRNA를 포함하며, 이는 전구체 마이크로 RNA(pre-miRNA)를 형성한다. "shRNA"는 또한 마이크로 RNA가 포함된 shRNA(miRNA 기반 shRNA)를 포함하는데, 여기서 miRNA 이중가닥의 가이드 가닥과 패신저 가닥은 기존(또는 자연발생적인) miRNA 또는 수정되거나 합성된(설계된) miRNA에 통합된다. 전사되었을 때, 전형적인 shRNA(즉, miR-451 shRNA 모방체가 아님)는 원시 miRNA(pri-miRNA) 또는 자연 pri-miRNA와 매우 유사한 구조를 형성한다. 상기 pri-miRNA는 이후 Drosha와 그 보조인자에 의해 처리되어 pre-shRNA가 된다. 따라서, "shRNA"라는 용어는 pri-miRNA(shRNA-mir) 분자와 pre-shRNA 분자를 포함한다.
- [0039] "줄기-고리 구조(stem-loop structure)"는, 이중 가닥 또는 중합체(줄기 부분)를 형성할 것으로 알려지거나 예상되는 뉴클레오타이드 영역으로, 한쪽에 주로 단일 가닥 뉴클레오타이드 영역(고리 부분)이 연결된 뉴클레오타이드 영역을 포함하는 2차 구조를 갖는 핵산을 의미한다. 본 기술 분야에서, 상기 고리 부분은 최소 4개, 6개(예: SEQ ID NO: 2의 밑줄 친 서열), 8개 이상의 뉴클레오타이드로 이루어져 있음이 알려져 있다. "헤어핀(hairpin)"과 "폴드백(fold-back)" 구조라는 용어는 또한 줄기-고리 구조를 가리키기 위해 본 명세서에 사용된다. 이러한 구조들은 본 기술 분야에 잘 알려져 있으며, 알려진 의미로 지속적으로 사용된다. 예를 들어, CTCGAG(SEQ ID NO: 490), TCAAGAG(SEQ ID NO: 491), TTCG(SEQ ID NO: 492), 및 GAAGCTTG(SEQ ID NO: 493)는 적합한 줄기-고리 구조이다. 본 기술 분야에 공지된 바와 같이, 상기 2차 구조는 정확한 염기쌍을 요구하지 않는다. 따라서, 상기 줄기는 하나 이상의 염기 불일치 또는 팽창부(bulge)를 포함할 수 있다. 대안적으로, 염기쌍이 정확하여 즉, 어떠한 불일치가 없을 수도 있다. 일 구현예에서 다음과 같은 폴리뉴클레오타이드 서열이 제공된다:
- [0040] 5'-GATATCACCTTACAGAAATTA~~nnnnnnnn~~TAATTTCTGTAAGGTGATATC-3' (SEQ ID NO: 506), 여기서 nnnnnnnn은 CTCGAG(SEQ ID NO: 490), TCAAGAG(SEQ ID NO: 491), TTCG(SEQ ID NO: 492) 또는 GAAGCTTG(SEQ ID NO: 493)이 될 수 있다. 일 구현예에서, 폴리뉴클레오타이드 서열은 제1 부분, 제2 부분 및 제3 부분을 포함하는 서열이 제공되는데, 상기 제1 부분은 SEQ ID NO: 3-489 중 하나, 상기 제2 부분은 SEQ ID NO: 490, 491, 492 또는 493 중 하나, 및 상기 제3 부분은 SEQ ID NO: 3-489의 서열에 상보적인 뉴클레오타이드 서열을 각각 포함한다.
- [0041] 일 구현예에서 shRNA는 이에 제한되지는 않지만, 변형된 shRNA, 특히 생체 내(*in vivo*)에서 안정성이 향상된 shRNA를 포함할 수 있다. 변형된 shRNA는 뉴클레오타이드 유사체를 함유한 분자, 이는 핵산 염기, 당 또는 골격에 삽입, 결실, 및/또는 대체를 갖는 분자를 포함하고; 가교 결합되거나 화학적으로 개변된 분자를 포함한다. 상기 변형된 뉴클레오타이드(들)은 shRNA 분자의 일부 또는 전체에 걸쳐 있을 수 있다. 예를 들어, 상기 shRNA 분자는 개변되거나, 5' 말단, 3' 말단, 또는 둘 다에서 개변된 핵산 영역을 가지거나, 및/또는 가이드 가닥, 패신저 가닥, 또는 둘 다 내에서 개변되거나, 및/또는 5' 말단, 3' 말단 또는 둘 다에서 오버행된 뉴클레오타이드에서 개변된 뉴클레오타이드를 포함할 수 있다(참조: Crooke, U.S. Pat. Nos. 6,107,094 및 5,898,031; Elmen et al., U.S. Publication Nos. 2008/0249039 및 2007/0191294; Manoharan et al., U.S. Publication No.

2008/0213891; MacLachlan et al., U.S. Publication No. 2007/0135372; 및 Rana, U.S. Publication No. 2005/0020521; 이 모든 자료는 본 명세서에 참조로 포함된다.)

- [0042] 본 명세서에서 shRNA는 *UBE3A-ATS* 전체 유전체 서열(SEQ ID NO: 1) 내로부터 전사된 RNA 뉴클레오타이드 서열에 상보적인 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, *UBE3A-ATS*에 의한 부계 *UBE3A*의 사일런싱을 억제한다. 일 구현예에서, shRNA는 SEQ ID NO: 4-489에 의해 인코딩된 RNA 서열에 상보적인 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 일 구현예에서, shRNA는 SEQ ID NO: 3(5'-GATATCACCTTACAGAAATTA-3', *UBE3A-ATS* 인공/합성 표적)으로 인코딩된 RNA 서열에 상보적인 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 일 구현예에서 상기 shRNA는 SEQ ID NO: 2의 뉴클레오타이드 서열로 인코딩된다. 일 구현예에서, *UBE3A-ATS* 유전자로부터 전사된 RNA 뉴클레오타이드 서열과 상보적인 shRNA에 포함된 뉴클레오타이드 서열은 17-21개의 뉴클레오타이드 길이를 가진다. 상기 상보적인 뉴클레오타이드는 연속적일 수 있으며, 비-상보적인 뉴클레오타이드와 혼합될 수 있다. 일 구현예에서, 상기 상보적인 뉴클레오타이드 서열은 SEQ ID NO: 2의 볼드체 서열로 표시된 21개의 뉴클레오타이드 길이를 가진다. 상기 shRNA는 SEQ ID NO: 3 또는 4-489의 뉴클레오타이드와 상보적인 17, 18, 19, 20, 또는 21개의 뉴클레오타이드 서열을 포함할 수 있다. 상기 17, 18, 19, 20, 또는 21개의 상보적인 뉴클레오타이드 서열은 연속적일 수 있으며, 비-상보적인 뉴클레오타이드와 혼합될 수 있다. 고리를 포함한 shRNA의 전체 길이는 40-50개의 뉴클레오타이드 길이일 수 있으며, 예를 들어 44-48개의 뉴클레오타이드, 예를 들어 48개의 뉴클레오타이드 길이일 수 있다.
- [0043] 서열이 표적 핵산과 구체적으로 혼성화되는지 여부를 결정하는 방법은 해당 분야에서 잘 알려져 있다. 일 구현예에서 본 명세서에서 제공된 shRNA 폴리뉴클레오타이드는 *UBE3A-ATS*(SEQ ID NO: 1)로부터 전사된 RNA 서열과 구체적으로 혼성화되는 핵산 서열을 포함한다.
- [0044] 상기 shRNA는 RNA 표적 서열과 상보적인 17-21개가 결합된 뉴클레오타이드 영역을 함유하는 RNA 폴리뉴클레오타이드를 포함하며, 상기 RNA 폴리뉴클레오타이드 영역은 전체 길이에 걸쳐 *UBE3A-ATS* RNA 핵산 서열과 동일한 길이 영역에 대해 적어도 85% 상보적이다. 일 구현예에서 상기 RNA 폴리뉴클레오타이드 영역은 전체 길이에 걸쳐 *UBE3A-ATS* RNA 핵산 서열의 동일한 길이 영역에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 100% 상보적일 수 있다.
- [0045] 상기 shRNA는 SEQ ID NO: 3 또는 SEQ ID NO: 4-489 중 어느 하나에 의해 인코딩된 RNA 서열과 최소 85% 상보적이며, 동일한 길이의 뉴클레오타이드 서열을 포함할 수 있다. 상기 shRNA는 SEQ ID NO: 3 또는 SEQ ID NO: 4-489 중 어느 하나에 의해 인코딩된 RNA 서열과 최소 90% 상보적이며, 동일한 길이의 뉴클레오타이드 서열을 포함할 수 있다. 상기 shRNA는 SEQ ID NO: 3 또는 SEQ ID NO: 4-489 중 어느 하나에 의해 인코딩된 RNA 서열과 최소 95% 상보적이며, 동일한 길이의 뉴클레오타이드 서열을 포함할 수 있다. 상기 shRNA 또는 마이크로 RNA는 SEQ ID NO: 3 또는 SEQ ID NO: 4-489 중 어느 하나에 의해 인코딩된 RNA 서열과 100% 상보적이며 동일한 길이의 뉴클레오타이드 서열을 포함할 수 있다.
- [0046] 일 구현예에서, 상기 shRNA는 단일 가닥 RNA 폴리뉴클레오타이드이다. 일 구현예에서, 상기 RNA 폴리뉴클레오타이드는 변형된 RNA 폴리뉴클레오타이드이다. 퍼센트 상보성은 아데닌과 티민, 아데닌과 우라실(RNA), 및 구아닌과 사이토신 간의 염기쌍 형성을 나타내는 전통적인 의미로 본 명세서에서 사용된다.
- [0047] shRNA와 *UBE3A-ATS* 뉴클레오타이드 서열 간에 비-상보적 염기들이 존재하더라도, shRNA가 *UBE3A-ATS* 뉴클레오타이드 서열에 특이적으로 혼성화될 수 있으면 허용될 수 있다. 또한, shRNA는 *UBE3A-ATS* 뉴클레오타이드 서열의 하나 이상의 구간에서 혼성화될 수 있으며, 이때 개입되거나 인접한 구간은 혼성화 과정에 참여하지 않을 수 있다(예: 고리 구조, 불일치 또는 헤어핀 구조).
- [0048] 일 구현예에서, 본 명세서에 제공된 shRNA 또는 특정 부분은 *UBE3A-ATS* RNA 뉴클레오타이드 서열, *UBE3A-ATS* 영역, *UBE3A-ATS* 구간 또는 그 특정 부분과 적어도 70%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 상보적이다. shRNA와 *UBE3A-ATS* 뉴클레오타이드 서열 간의 퍼센트 상보성은 일반적인 방법을 통해 결정될 수 있다.
- [0049] 예를 들어, 20개의 뉴클레오타이드 중 18개가 *UBE3A-ATS* 영역과 상보적이고, 따라서 특이적으로 혼성화될 경우, 이는 90% 상보성을 나타낸다. 이 예에서 남은 비-상보적 뉴클레오타이드는 상보적 뉴클레오타이드와 클러스터되어 있을 수도 있고, 또는 흩어져(interspersed) 있을 수도 있으며, 서로 또는 상보적인 뉴클레오타이드와 인접할 필요는 없다. 따라서 표적 뉴클레오타이드 서열과 완전한 상보성을 가지는 두 개의 구역 사이에 4개의 비-상보적 뉴클레오타이드를 가진 18개의 뉴클레오타이드 길이의 shRNA는 표적 뉴클레오타이드 서열에 대해 전체적으로 77.8%의 상보성을 가지며, 이는 본 명세서에서 공개된 주제에 속한다. shRNA와 *UBE3A-ATS* 뉴클레오타이드 서열 영역의 퍼센트 상보성은 본 기술 분야에서 공지인 BLAST 프로그램(기본 로컬 얼라인먼트 검색 도구) 및

PowerBLAST 프로그램을 사용하여 일반적으로 결정할 수 있다(참조: Altschul et al., J. Mol. Biol., 1990, 215, 403-410; Zhang and Madden, Genome Res., 1997, 7, 649-656). 퍼센트 상동성, 서열 일치 또는 상보성은 예를 들어, Gap 프로그램(Wisconsin Sequence Analysis Package, Version 8 for Unix, Genetics Computer Group, University Research Park, Madison Wis.)으로, Smith와 Waterman의 알고리즘(Adv. Appl. Math., 1981, 2, 482-489)을 사용하는 기본 설정을 사용하여 결정할 수 있다.

[0050] 일 구현예에서, 본 명세서에 제공된 shRNA 또는 특정 부분은 *UBE3A-ATS* 뉴클레오타이드 서열 또는 SEQ ID NO: 1의 전사 산물의 특정 부분과 완전히 상보적(즉, 100% 상보적)이다. 예를 들어, shRNA는 *UBE3A-ATS* 뉴클레오타이드 서열, 영역, 구간, 또는 이들 서열과 완전히 상보적일 수 있다. 본 명세서에서 "완전히 상보적(fully complementary)"이라는 의미는 shRNA의 각 뉴클레오타이드가 *UBE3A-ATS* 뉴클레오타이드 서열로부터 전사된 해당 RNA 뉴클레오타이드와 정확한 염기쌍을 형성할 수 있음을 의미한다.

[0051] 일 구현예에서, 본 명세서에 제공된 shRNA는 SEQ ID NO: 2의 일부를 포함할 수 있으며, 예를 들어 볼드체의 뉴클레오타이드를 포함하며, 이는 볼드체의 뉴클레오타이드의 양쪽 말단에서 1개, 2개, 3개 또는 4개의 뉴클레오타이드를 제거하여 짧아진 형태일 수 있다. 마찬가지로, 일 구현예에서 본 명세서에 제공된 상기 shRNA는 SEQ ID NO: 2의 일부를 포함할 수 있으며, 예를 들어, 이탤릭체의 뉴클레오타이드를 포함하고 그 양쪽 말단에서 1개, 2개 또는 3개의 뉴클레오타이드를 제거하여 짧아진 형태일 수 있다. 예를 들어 하기와 같다:

[0052] 5'-**ATATCACCTTACAGAAATTA**CTCGAGTAATTTCTGTAAGGTGATA-3' (SEQ ID NO: 494)

[0053] 5'-**TATCACCTTACAGAAATTA**CTCGAGTAATTTCTGTAAGGTGATA-3' (SEQ ID NO: 495)

[0054] 5'-**ATCACCTTACAGAAATTA**CTCGAGTAATTTCTGTAAGGTGAT-3' (SEQ ID NO: 496)

[0055] 5'-**TCACCTTACAGAAATTA**CTCGAGTAATTTCTGTAAGGTGA-3' (SEQ ID NO: 497)

[0056] 5'-**GATATCACCTTACAGAAATTC**TCGAGAATTTCTGTAAGGTGATATC-3' (SEQ ID NO: 498)

[0057] 5'-**GATATCACCTTACAGAAATC**TCGAGATTTCTGTAAGGTGATATC-3' (SEQ ID NO: 499)

[0058] 5'-**GATATCACCTTACAGAACT**CGAGTTCTGTAAGGTGATATC-3' (SEQ ID NO: 500)

[0059] 5'-**GATATCACCTTACAGAACT**CGAGTCTGTAAGGTGATATC-3' (SEQ ID NO: 501).

[0060] 마찬가지로, 일 구현예에서, SEQ ID NO: 4-489 중 어느 하나에 표시된 서열 및/또는 그 상보적인 서열은 양쪽 말단에서 1개, 2개, 3개 또는 4개의 뉴클레오타이드를 제거하여 짧아진 형태로 shRNA에 통합될 수 있다.

[0061] shRNA의 효과적인 농도 또는 용량은 *UBE3A-ATS*에 의한 부계 *UBE3A*의 사일런싱을 최소 20%, 최소 30%, 최소 40%, 최소 50%, 최소 60%, 최소 70%, 최소 80%, 최소 90% 또는 최대 100% 억제할 수 있다.

[0062] shRNA의 효과적인 농도 또는 용량은 *UBE3A-ATS*의 전사를 최소 20%, 최소 30%, 최소 40%, 최소 50%, 최소 60%, 최소 70%, 최소 80%, 최소 90% 또는 최대 100% 종료시킬 수 있다.

[0063] shRNA의 효과적인 농도 또는 용량은 *UBE3A-ATS*의 정상 상태 수준을 최소 20%, 최소 30%, 최소 40%, 최소 50%, 최소 60%, 최소 70%, 최소 80%, 최소 90% 또는 최대 100% 감소시킬 수 있다.

[0064] shRNA의 효과적인 농도 또는 용량은 *UBE3A-ATS*를 절단하여 이를 최소 20%, 최소 30%, 최소 40%, 최소 50%, 최소 60%, 최소 70%, 최소 80%, 최소 90% 또는 최대 100% 감소시킨다.

[0065] shRNA의 효과적인 농도 또는 용량은 *UBE3A-ATS* 발현을 최소 20%, 최소 30%, 최소 40%, 최소 50%, 최소 60%, 최소 70%, 최소 80%, 최소 90% 또는 최대 100% 감소시키고, 부계 *UBE3A*의 발현을 최소 20%, 최소 30%, 최소 40%, 최소 50%, 최소 60%, 최소 70%, 최소 80%, 최소 90% 또는 최대 100% 유도할 수 있다.

[0066] 본 명세서에서 사용되는 "UBE3A-ATS" 및 "Ube3A-ATS"는 대소문자 구분 없이 특정 종이나 상동체를 지칭하지 않고 상호 교환하여 사용할 수 있다. "UBE3A" 및 "Ube3A"도 마찬가지로 대소문자 구분 없이 특정 종이나 상동체를 지칭하지 않고 상호 교환하여 사용할 수 있다. 또한, "UBE3A", "*UBE3A*", "Ube3A", 및 "*Ube3A*"는 특별히 반대로 명시되지 않는 한 이탤릭체 표기 여부에 관계없이 핵산 또는 단백질을 지칭하는 데 상호 교환하여 사용할 수 있다.

[0067] **바이러스 벡터**

[0068] "벡터(vector)"는 플라스미드, 파지 또는 코스미드와 같은 복제 가능한 구조로, DNA 또는 RNA 세그먼트를 삽입

하여 삽입된 세그먼트의 복제를 유도할 수 있는 구조이다. 일반적으로 벡터는 적절한 조절 요소와 연관될 때 복제가 가능하다. 적합한 벡터 백본에는 예를 들어, 플라스미드, 바이러스 유전체가 포함된 플라스미드, 바이러스 또는 인공 염색체와 같은 본 기술 분야에서 일반적으로 사용되는 것들을 포함한다. "벡터"라는 용어는 클로닝 벡터와 발현 벡터, 및 바이러스 벡터와 통합 벡터를 포함한다.

- [0069] 해당 분야의 기술자에게 명백하듯이, "바이러스 벡터(viral vector)"라는 용어는 일반적으로 핵산 서열의 전달 및/또는 세포 내 계놈에 핵산 서열을 통합시키는 데 사용되는 바이러스 핵산 요소를 포함하는 핵산 분자(예: 전달 플라스미드)를 지칭하는데 널리 사용된다.
- [0070] 바이러스 벡터는 주로 바이러스에서 유래한 구조적 및/또는 기능적 유전 요소를 포함한다. 상기 바이러스 벡터는 바람직하게 무독성이고, 비면역원성이며, 생산이 용이하고, 표적 세포로 DNA 또는 RNA를 보호하고 전달하는데 효율적이어야 한다. 본 명세서에 기술된 조성물 및 방법에 따르면, 바이러스 벡터는 본원에 기술된 하나 이상의 shRNA를 인코딩하는 DNA를 포함할 수 있다. 일 구현예에서, 상기 바이러스 벡터는 렌티바이러스 벡터(lentiviral vector) 또는 아데노-연관 바이러스 벡터(AAV: adeno-associated viral vector)일 수 있다.
- [0071] 본 명세서에서 "렌티바이러스(lentivirus)"라는 용어는 복잡한 레트로바이러스의 그룹(또는 속)을 지칭한다. 대표적인 렌티바이러스로는 이에 제한되지는 않지만, 다음을 포함한다: HIV(인간 면역결핍 바이러스; HIV 유형 1, 및 HIV 유형 2 포함); 비스나-매디 바이러스(VMV); 염소 관절염-뇌염 바이러스(CAEV); 말 전염성 빈혈 바이러스(EIAV); 고양이 면역결핍 바이러스(FIV); 소 면역결핍 바이러스(BIV); 및 원숭이 면역결핍 바이러스(SIV). 본 명세서에서 "렌티바이러스"라는 용어는 렌티바이러스 입자를 포함한다. 렌티바이러스는 분열 세포와 비분열 세포 모두에 전달될 수 있다.
- [0072] "렌티바이러스 벡터(lentiviral virus)"라는 용어는 렌티바이러스에서 주로 유래한, 긴 말단 반복 서열(LTR)을 포함하는, 구조적 및 기능적 유전 요소 또는 그 일부분을 포함하는 바이러스 벡터(예: 바이러스 플라스미드)를 지칭한다. 렌티바이러스 벡터는 레트로바이러스 서열(예: 역전사, 복제, 통합 및/또는 핵산 서열의 패키징을 위한 렌티바이러스 서열(예: 코딩 서열))을 포함하는 하이브리드 벡터(예: 전달 플라스미드 형태)이다. "레트로바이러스 벡터(retroviral vector)"는 주로 레트로바이러스에서 유래한 구조적 및 기능적 유전 요소 또는 그 일부분을 포함하는 바이러스 벡터(예: 전달 플라스미드)를 지칭한다.
- [0073] 아데노바이러스 벡터는 살아 있는 대상자에게 직접 투여되도록 설계된다. 레트로바이러스 벡터와는 달리, 대부분의 아데노바이러스 벡터 유전체는 숙주 세포의 염색체에 통합되지 않는다. 대신, 아데노바이러스 벡터를 사용하여 세포에 도입된 유전자는 핵에 외염색체 요소(에피솜)로 유지되어 장기간 지속된다. 아데노바이러스 벡터는 기도 상피 세포, 내피 세포, 간세포 및 다양한 종양을 포함한 생체 내 여러 다른 조직에서 분열 세포와 비분열 세포 모두에 전달될 수 있다(참조: Trapnell, *Advanced Drug Delivery, Reviews*, 12 (1993) 185-199).
- [0074] "아데노 관련 바이러스(AAV)"라는 용어는, 인간 및 일부 영장류 중에 감염되며, 질병을 일으키지는 않고 매우 약한 면역 반응만을 유발하는 작은 단일 가닥 DNA(ssDNA) 바이러스를 지칭한다. 본 명세서에서 사용되듯이, "AAV"라는 용어는 AAV 입자를 포함한다. AAV는 분열 세포와 비분열 세포 모두에 감염될 수 있으며, 그 계놈을 숙주 세포의 계놈에 통합할 수 있다. 이러한 특성은 AAV가 유전자 치료를 위한 바이러스 벡터를 만드는 데 매력적인 후보가 되게 하지만, 벡터의 클로닝 용량은 상대적으로 제한적이다. 일 구현예에서, 사용된 벡터는 아데노 관련 바이러스에서 유래한 벡터(AAV 벡터)이다. 30개 이상의 자연 발생 AAV 혈청형이 사용 가능하다. 다양한 자연적인 AAV 캡시드 변종이 있어 표적 세포의 특정 유형에 특이적으로 맞게 조정된 특성을 갖는 AAV의 동정 및 사용을 가능하게 한다. AAV 바이러스는 일반적인 분자 생물학 기법을 통해 조작될 수 있어, 특정 세포에 shRNA DNA 서열을 전달하기 위한 입자들을 최적화하고, 면역원성을 최소화하며, 안정성 및 입자의 수명을 조정하고, 효율적인 분해 및 핵으로의 정확한 전달 등을 가능하게 할 수 있다.
- [0075] "발현 벡터(expression vector)"는 조절 영역을 포함하는 벡터이다. 다양한 벡터와 발현 시스템은 Novagen(Madison, Wis.), Clontech(Palo Alto, Calif.), Stratagene(La Jolla, Calif.) 및 Invitrogen/Life Technologies(Carlsbad, Calif.)와 같은 기업에서 상업적으로 제공된다. 발현 벡터는 특정 바이러스로부터 유래한 바이러스 발현 벡터일 수 있다.
- [0076] 본 명세서에 제공된 벡터는 복제 시작점, 스캐폴드 부착 영역(SAR) 및/또는 마커를 포함할 수 있다. 마커 유전자는 숙주 세포에 선택 가능한 표현형을 부여할 수 있다. 예를 들어, 마커는 항생제(예: 카나마이신, G418, 블레오마이신 또는 하이그로마이신)에 대한 저항성과 같은 살균제 저항성을 부여할 수 있다. 발현 벡터는 발현된 폴리펩타이드를 조작하거나 검출(예: 정제 또는 위치 지정)하는 것을 용이하게 하기 위해 고안된 태그 서열을

포함할 수 있다. 태그 서열에는 녹색 형광 단백질(GFP), 글루타티온 S-트랜스퍼라제(GST), 폴리히스티딘, c-myc, 적혈구 응집소(hemagglutinin) 또는 Ftag™ 태그(Kodak, New Haven, Conn.) 서열을 들 수 있으며, 이는 일반적으로 인코딩된 폴리펩타이드와 융합되어 발현된다. 이러한 태그는 폴리펩타이드 내 어느 부분이나 삽입될 수 있으며, 카복시 말단 또는 아미노 말단에도 삽입될 수 있다.

[0077] 추가적인 발현 벡터는 예를 들어, 염색체 DNA, 비염색체 DNA, 합성 DNA 서열의 세그먼트를 포함할 수 있다. 적합한 벡터는 pLK0.1 puro, SV40 및 RP4와 같은 플라스미드의 유도체; 파지 DNA, 예를 들면, 파지 1의 여러 유도체(예: NM989), 및 M13과 필라멘터스 단일 가닥 파지 DNA와 같은 다른 파지 DNA, 곤충 또는 포유류 세포에서 사용할 수 있는 벡터와 같은 진핵 세포에서 사용가능한 벡터, 플라스미드와 파지 DNA를 조합한 것에서 유래된 벡터(예: 파지 DNA 또는 다른 발현 조절 서열을 사용하도록 수정된 플라스미드) 등을 포함한다.

[0078] 상기 벡터는 또한 조절 영역을 포함할 수 있다. "조절 영역(regulatory region)"이라는 용어는 전사 또는 번역의 개시와 속도, 및 전사 또는 번역 산물의 안정성 및/또는 이동성에 영향을 미치는 뉴클레오타이드 서열을 의미한다. 조절 영역은 이에 제한되지는 않지만, 프로모터 서열, 인핸서 서열, 반응 요소, 단백질 인식 부위, 유도성 요소, 단백질 결합 서열, 5' 및 3' 비번역 영역(UTR), 전사 개시 부위, 종결 서열, 폴리아데닐화 서열, 핵 이동 신호, 및 인트론을 포함한다.

[0079] 본 명세서에서 사용된 "작동적으로 연결된(operably linked)"이라는 용어는 조절 영역과 전사될 서열을 핵산 내에서 특정한 방식으로 배치하여 그러한 서열의 전사 또는 번역에 영향을 미치도록 배치된 것을 의미한다. 예를 들어, 코딩 서열을 프로모터의 조절 하에 두기 위해서는, 폴리펩타이드의 번역 읽기 틀의 번역 개시 부위가 일반적으로 프로모터의 약 1 내지 50개의 뉴클레오타이드 사이의 하류에 위치한다. 그러나 프로모터는 번역 개시 부위로부터 최대 약 5,000 뉴클레오타이드 상류에 위치하거나, 전사 개시 부위로부터 약 2,000 뉴클레오타이드 상류에 위치할 수도 있다. 프로모터는 일반적으로 적어도 코어(기저) 프로모터를 포함한다. 프로모터는 적어도 하나의 제어 요소, 예를 들어 인핸서 서열, 상류 요소 또는 상류 활성화 영역(UAR)을 포함할 수 있다. 포함될 프로모터의 선택은 이에 제한되지는 않지만, 효율성, 선택성, 유도성, 원하는 발현 수준, 및 세포 또는 조직의 선호적인 발현 등을 포함한 여러 요인에 따라 달라질 수 있다. 코딩 서열의 발현 조절은 프로모터 및 기타 조절 영역을 적절하게 선택하고 코딩 서열에 대해 위치를 조정함으로써 이루어질 수 있다.

[0080] 벡터는 또한 유전자 전달 및/또는 유전자 발현을 추가로 조절하거나 표적 세포에 유익한 특성을 제공하는 다른 구성 요소나 기능성을 포함할 수 있다. 아래에서 더 자세히 설명되고 예시되는 바와 같이, 이러한 다른 구성 요소는 예를 들어 세포 결합 또는 표적화에 영향을 미치는 구성 요소(세포 유형 또는 조직 특이적 결합을 매개하는 구성 요소 포함); 벡터의 뉴클레오타이드가 세포에 흡수되는 데 영향을 미치는 구성 요소; 세포 내로의 흡수 후 폴리뉴클레오타이드의 국소화에 영향을 미치는 구성 요소(예: 핵 이동을 매개하는 인자); 및 폴리뉴클레오타이드의 발현에 영향을 미치는 구성 요소를 포함한다. 이러한 구성 요소는 또한 검출 가능하고/하거나 선택 가능한 마커(벡터에 의해 전달된 뉴클레오타이드를 흡수하고 발현하고 있는 세포를 검출하거나 선택하는 데 사용할 수 있는 마커)를 포함할 수 있다. 이러한 구성 요소는 벡터의 자연적인 특징으로 제공되거나(예: 결합 및 흡수를 매개하는 구성 요소 또는 기능성을 갖는 특정 바이러스 벡터의 용도), 벡터가 그러한 기능성을 제공하도록 개변될 수 있다. 다른 벡터는 Chen et al; *BioTechniques*, 34: 167-171 (2003)에서 설명된 것들이 포함된다. 이러한 다양한 벡터는 해당 기술 분야에 잘 알려져 있으며 일반적으로 사용 가능하다.

[0081] "재조합 바이러스 벡터(recombinant viral vector)"는 하나 이상의 이중 유전자 산물 또는 서열을 포함하는 바이러스 벡터를 의미한다. 많은 바이러스 벡터가 패키징과 관련된 크기 제약을 나타내므로, 이중 유전자 산물 또는 서열은 일반적으로 바이러스 게놈의 하나 이상의 부분을 대체하여 도입된다. 이러한 바이러스는 복제 결합이 생길 수 있으며, 바이러스 복제 및 캡시드 형성 동안 결실된 기능이 다른 유전체(in trans)에서 제공되어야 할 수 있다(예: 헬퍼 바이러스 또는 복제 및/또는 캡시드 형성에 필요한 유전자 산물을 포함하는 패키징 세포주를 사용함으로써).

[0082] 일 구현예에서, 본 명세서에 사용된 바이러스 벡터는 예를 들어, 세포당 최소 10^5 바이러스 게놈 농도로 사용될 수 있다.

[0083] 적합한 프로모터의 선택은 쉽게 이루어질 수 있다. 적합한 프로모터의 예로는 RNA 중합효소 II 또는 III 프로모터를 포함한다. 예를 들어, 후보 shRNA 서열은, RNA 중합효소 III 프로모터 U6 또는 H1, 또는 뉴런-특이적 예놀라아제(NSE)를 포함하는 뉴런 특이적 RNA 중합효소 II 프로모터, 시냅신 I(Syn), 또는 Ca²⁺/CaM-활성화 단백질 키나제 II 알파(CaMKII alpha)의 조절 하에 발현될 수 있다.

[0084] 유전자 발현에 사용할 수 있는 다른 적합한 프로모터로는 이에 제한되지는 않지만, 763 염기쌍의 거대세포바이러스(CMV) 프로모터, Rous 육종 바이러스(RSV) (Davis, et al., *Hum Gene Ther* 4:151 (1993)), SV40 초기 프로모터 영역, 헤르페스 티미딘 키나제 프로모터, 메탈로티오네인(MMT) 유전자의 조절 서열, PGK(포스포글리세롤 키나제) 프로모터, 알칼리성 포스파타제 프로모터 등이 포함되며; 조직 특이성을 나타내고 형질전환 동물에서 사용된 동물 전사 조절 영역으로는 뇌의 올리고덴드로사이트 세포에서 활성화되는 미엘린 기본 단백질 유전자 조절 영역, 및 시상하부에서 활성화되는 생식선자극호르몬 방출 유전자 조절 영역 등이 있다. 특정 단백질은 고유의 프로모터를 사용하여 발현될 수 있다. 발현을 촉진할 수 있는 다른 요소들, 예를 들어 인헨서나 tat 유전자 및 tar 요소를 포함하는 시스템과 같이 높은 수준의 발현을 유도하는 시스템을 포함할 수 있다. 조립체 또는 카세트는 벡터에 삽입될 수 있으며, 예를 들어 pLK0.1, pUC19, pUC118, pBR322 또는 기타 알려진 플라스미드 벡터 등의 플라스미드 벡터에 삽입될 수 있다. 참고: Sambrook, et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory press, (1989). 상기 플라스미드 벡터는 또한 β -락타마제 유전자를 선택 마커로 포함할 수 있으며, 이는 치료 중인 유기체의 대사에 악영향을 미치지 않는 한 앰피실린 저항성을 제공한다. 상기 카세트는 또한 WO 95/22618에 개시된 시스템과 같은 합성 전달 시스템에서 핵산 결합 모이머티에 결합될 수 있다.

[0085] shRNA에 대한 코딩 서열은 이에 제한되지는 않지만, PCR, 폴리뉴클레오타이드 합성, 제한 엔도뉴클레아제 절단, 연결, 형질전환, 플라스미드 정제 및 DNA 서열 분석 등과 같이 해당 분야에 잘 알려진 유전자 공학 기술을 사용하여 바이러스 벡터에 클로닝될 수 있으며, 이에 대해서는 하기 문헌들에 기술된 바와 같다: Sambrook et al. (*Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, N.Y. (1989)), Coffin et al. (*Retroviruses*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, N.Y. (1997)), 및 "RNA Viruses: A Practical Approach" (Alan J. Cann, Ed., Oxford University Press, (2000)). 일 구현예에서, shRNA DNA 서열은 5' 및 3' 말단에 플라스미드 및/또는 벡터 서열과 상보적인 플랭킹 서열을 포함할 수 있으며, 이 플라스미드 및/또는 벡터는 제한 엔도뉴클레아제에 의해 절단된다. 해당 분야에 잘 알려진 바와 같이, 상기 플랭킹 서열은 플라스미드 및/또는 벡터의 제한 절단 동안 사용되는 제한 엔도뉴클레아제에 따라 달라진다. 따라서, 해당 분야의 숙련자는 shRNA DNA 서열의 5' 및 3' 말단의 플랭킹 서열을 적절히 선택할 수 있다. 일 구현예에서, 표적 부위는 현재 해당 분야에 알려진 핵산 융합 및 교환 기술, 가령 Gateway, PCR 융합, Cre-lox P, 및 Creator를 포함하는 기술을 통해 벡터에 클로닝될 수 있다.

[0086] 일 구현예에서, 발현 벡터는 프로모터와 본 명세서에 기술된 shRNA를 인코딩하는 제1 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 폴리뉴클레오타이드를 포함한다. 일 구현예에서, 상기 프로모터와 상기 제1 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 폴리뉴클레오타이드는 작동적으로 연결된다. 일 구현예에서, 상기 프로모터는 U6 프로모터이다. 일 구현예에서, 발현 벡터에 포함된 제1 뉴클레오타이드 서열은 SEQ ID NO: 2일 수 있다. 일 구현예에서, 발현 벡터에 포함된 제1 뉴클레오타이드 서열은 또한, SEQ ID NO: 2의 볼드체 뉴클레오타이드가 SEQ ID NO: 4-489 중 임의의 어느 하나의 뉴클레오타이드로 교체되고, SEQ ID NO: 2의 이탤릭체 뉴클레오타이드가 SEQ ID NO: 4-489의 서열과 상보적인 뉴클레오타이드로 교체된, 수정된 SEQ ID NO: 2일 수도 있다. 일 구현예에서, 발현 벡터에 포함된 제1 뉴클레오타이드 서열은 SEQ ID NO: 490-497일 수 있다. 일 구현예에서, 발현 벡터에 포함된 제1 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 폴리뉴클레오타이드는 DNA 폴리뉴클레오타이드일 수 있다. 일 구현예에서, 발현 벡터의 제1 뉴클레오타이드 서열은 DNA 뉴클레오타이드 서열이다. 발현 벡터의 제1 뉴클레오타이드 서열에 의해 인코딩된 shRNA는 본 명세서에 개시된 변형 중 어느 하나로 기술될 수 있다.

[0087] 아래에서 논의되는 바와 같이, 재조합 바이러스 벡터는 재조합 바이러스 입자의 패키징을 위해 필요한 요소들과 함께 패키징 세포 또는 세포주에 형질도입된다. 형질도입된 세포 상등액에서 수집된 재조합 바이러스 입자는 shRNA 발현을 위해 표적 세포 또는 유기체를 감염시키는 데 사용된다. 형질전환된 세포 또는 유기체는 일시적 발현을 위해 사용되거나 안정적인 발현을 위해 선택된다.

[0088] **바이러스/바이러스 입자**

[0089] 바이러스 입자는 *UBE3A-ATS* RNA를 표적으로 하는 shRNA의 코딩 뉴클레오타이드 서열을 전달하는 데 사용된다. 바이러스와 바이러스 입자라는 용어는 본 명세서에서 상호 교환적으로 사용된다. 바이러스 입자는 일반적으로 다양한 바이러스 성분과 때로는 숙주 세포 성분을 포함하며, 또한 핵산을 포함할 수 있다. 핵산 서열은 이를 필요로 하는 환자의 표적 세포 내로 shRNA 핵산 서열을 전달할 수 있는 바이러스 입자에 패키징될 수 있다.

[0090] 상기 바이러스 입자는 (a) 바이러스 발현 벡터를 적합한 세포주에 도입하고; (b) 바이러스 입자가 생성되도록 적절한 조건하에서 세포주를 배양하며; (c) 생성된 바이러스 입자를 회수하고; 및 (d) 선택적으로, 회수된 감염

성 바이러스 입자를 정제함으로써 생산될 수 있다.

- [0091] 본 명세서에서 하나 이상의 shRNA를 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 발현 벡터는 해당 분야의 숙련자에게 이용가능하며 잘 알려진 기술을 사용하여 적절한 세포주에 도입되어 증식 또는 발현에 사용될 수 있다. 이들 기술에는, 미량의 DNA를 세포의 핵에 미세 주입하는 방법(Capechi et al., 1980, Cell 22, 479-488), CaPO₄-매개 형질도입(Chen and Okayama, 1987, Mol. Cell Biol. 7, 2745-2752), DEAE-텍스트란-매개 형질도입, 전기천공(Chu et al., 1987, Nucleic Acid Res. 15, 1311-1326), 리포펙션/리포솜 융합(Feigner et al., 1987, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84, 7413-7417), 입자 폭격(Yang et al., 1990, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87, 9568-9572), 유전자 총, 형질전환, 감염(예: 감염성 바이러스 입자를 사용) 및 Sambrook et al. (Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 2001)에 설명된 기타 기술이 포함되며 이에 국한되지 않는다.
- [0092] 일 구현예에서, 발현 벡터가 결합이 있는 경우, 감염성 입자는 상보적인 세포주 또는 비기능성 바이러스 유전자를 다른 유전체에서 제공하는 헬퍼 바이러스를 사용하여 생성될 수 있다. 예를 들어, 적합한 세포주는, E1 기능을 보완하는 데 일반적으로 사용되는 293 세포(Graham et al., 1997, J. Gen. Virol. 36, 59-72)와 PER-C6 세포(Fallaux et al., 1998, Human Gene Ther. 9, 1909-1917)를 포함하는 보완 아데노바이러스 벡터를 위한 세포주이다. 기타 세포주들은 이종으로 결합이 있는 아데노바이러스 벡터를 보완하도록 조작되었다(Yeh et al., 1996, J. Virol. 70, 559-565; Krougliak and Graham, 1995, Human Gene Ther. 6, 1575-1586; Wang et al., 1995, Gene Ther. 2, 775-783; Lusky et al., 1998, J. Virol. 72, 2022-2033; W094/28152 및 W097/04119). 감염성 바이러스 입자는 배양 상등액으로부터 회수할 수 있으며, 또한, 세포가 용해된 후 세포로부터도 회수될 수 있고 선택적으로 표준 기술(예를 들어, WO 96/27677, WO 98/00524, WO 98/22588, WO 98/26048, WO 00/40702, EP 1016700 및 WO 00/50573에 기술된 바와 같은 염화세슘 구배에서의 크로마토그래피, 초원심분리)을 통해 추가로 정제될 수 있다.
- [0093] 일 구현예에서, 본 명세서에 제공된 숙주 세포는 본 명세서에 기술된 핵산 분자, 벡터 또는 감염성 바이러스 입자를 포함한다. "숙주 세포(host cell)"라는 용어는 조직, 기관 또는 분리된 세포 내 특정 조직 구성에 관한 제한 없이 폭넓게 이해되어야 한다. 이러한 세포는 단일 세포 유형일 수 있으며 또는 다양한 세포 유형의 집합일 수 있고, 배양 세포주, 초기 세포 및 증식 세포를 포함한다.
- [0094] 따라서 숙주 세포는 원핵 세포, 효모와 같은 하위 진핵 세포, 및 곤충 세포, 식물 세포와 같은 다른 진핵 세포, 및 척추동물 세포와 같은 고등 진핵 세포를 포함하며, 특히 포유류(예: 인간 또는 비인간) 세포가 선호된다. 적합한 포유류 세포에는 조혈 세포(전능 세포, 줄기 세포, 백혈구, 림프구, 단핵구, 대식세포, APC, 수지상 세포, 비인간 세포 등), 폐 세포, 기관지 세포, 간 세포, 상피 세포, 내피 세포, 근육 세포(예: 골격근, 심장근 또는 평활근) 또는 섬유아세포가 포함되나 이에 제한되지 않는다. 예를 들어, 숙주 세포에는 *Escherichia coli*, *Bacillus*, *Listeria*, *Saccharomyces*, BHK(어린 햄스터 신장) 세포, MDCK 세포(마딘-다비 개 신장 세포주), CRFK 세포(크란델 고양이 신장 세포주), CV-1 세포(아프리카 원숭이 신장 세포주), COS(예: COS-7) 세포, 중국 햄스터 난소(CHO) 세포, 마우스 NIH/3T3 세포, 헬라(HeLa) 세포 및 베로(Vero) 세포가 포함될 수 있다. 숙주 세포에는 또한 본원에서 사용가능한 복제 결합이 있는 벡터(예: 결합이 있는 아데노바이러스 벡터)의 적어도 하나의 결합 기능을 보완할 수 있는 보완 세포도 포함하며, 상술한 것과 같은 세포들이 이에 해당된다.
- [0095] 일 구현예에서, 상기 숙주 세포는 캡슐화될 수 있다. 세포 캡슐화 기술은 이미 설명되어 있다(Tresco et al., 1992, ASAJO J. 38, 17-23; Aebischer et al., 1996, Human Gene Ther. 7, 851-860 참조). 예를 들어, 형질도입되거나 감염된 진핵 숙주 세포는 미세다공성 막을 형성하는 화합물로 캡슐화될 수 있으며, 이러한 캡슐화된 세포는 생체 내로 또한 이식될 수 있다. 관심 있는 세포를 포함하는 캡슐은 적절한 분자량 컷오프를 가진 중공 미세다공성 막(예: Akzo Nobel Faser AG, Wuppertal, Germany; Deglon et al. 1996, Human Gene Ther. 7, 2135-2146)을 사용하여 제조될 수 있으며, 이 막은 단백질과 영양분이 캡슐 내부와 외부 사이에서 자유롭게 통과할 수 있게 하면서도 이식된 세포와 숙주 세포의 접촉을 방지한다.
- [0096] 본 명세서에서 사용하기에 적합한 바이러스 입자에는 AAV 입자 및 렌티바이러스 입자가 포함된다. AAV 입자는 본원에 기술된 shRNA의 코딩 서열을 유전체 DNA 형태로 운반한다. 한편, 렌티바이러스 입자는 레트로바이러스 계열에 속하며 RNA 형태로 본원의 shRNA 코딩 서열을 운반한다.
- [0097] 제조함으로써 설계된 바이러스 입자, 가령, AAV 입자, 인공 AAV 입자, 자가 상보적 AAV 입자 및 *UBE3A-ATS* RNA를 표적으로 하는 shRNA를 인코딩하는 DNA(또는 렌티바이러스 입자의 경우 RNA)를 포함하는 렌티바이러스 입자는 *UBE3A-ATS*에 의한 UBE3A의 사일런싱을 억제하기 위해 표적 세포에 전달될 수 있다. AAV는 독성이 상대적으로 낮

고, 유전자 전달 효율이 높으며, 특정 목적에 맞게 쉽게 최적화될 수 있기 때문에 DNA 전달에 자주 사용된다. 일 구현예에서, 선택된 AAV 혈청형은 신경세포 친화성을 가지고 있다. 일 구현예에서 상기 AAV 혈청형은 AAV9 또는 AAV10이다.

[0098] 적절한 재조합 AAV는 본원에 정의된 바와 같이 AAV 혈청형 캡시드 단백질 또는 그 단편을 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열; 기능성 rep 유전자; 최소 AAV 역위 말단 반복(ITR)과 코딩 뉴클레오타이드 서열로 구성된 미니 유전자(minigene), 및 상기 미니 유전자를 AAV 캡시드 단백질에 패키징하기에 충분한 도움 기능을 포함하는 숙주 세포를 배양하여 생성될 수 있다. AAV 캡시드에 AAV 미니 유전자를 패키징하기 위해 숙주 세포에서 배양되어야 하는 구성 요소들은 다른 유전체에서 숙주 세포로 제공될 수 있다. 대안적으로, 필요한 구성 요소(예: 미니 유전자, rep 서열, cap 서열 및/또는 도움 기능) 중 하나 이상은 해당 분야의 숙련자에게 알려진 방법을 사용하여 숙주 세포가 이러한 구성 요소 중 하나 이상을 포함하도록 조작된 경우, 안정적인 숙주 세포에 의해 제공될 수 있다.

[0099] 별도로 명시되지 않는 한, 본 명세서에 기술된 AAV 역위 말단 반복(ITR) 및 선택된 기타 AAV 구성 요소는 이에 제한되지는 않지만, AAV1, AAV2, AAV3, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, AAVRec3 또는 다른 알려진 및 알려지지 않은 AAV 혈청형을 포함한 AAV 혈청형 중에서 용이하게 선택될 수 있다. 이러한 ITR 또는 기타 AAV 구성 요소는 해당 분야의 숙련자가 사용할 수 있는 기술을 통해 AAV 혈청형에서 쉽게 분리될 수 있다. 이러한 AAV는 학술적, 상업적 또는 공공 소스(예: American Type Culture Collection, Manassas, Va.)로부터 분리되거나 취득될 수 있다. 대안적으로, AAV 서열은 합성 또는 다른 적절한 방법을 통해 문헌 또는 데이터베이스(예: GenBank, PubMed 등)에서 입수 가능한 공개된 서열을 참조하여 얻을 수 있다.

[0100] 본 명세서에서 재조합 AAV(rAAV)를 생산하는 데 필요한 미니 유전자, rep 서열, cap 서열 및 도움 기능은 이러한 서열을 운반하는 유전적 요소의 형태로 패키징 숙주 세포에 전달될 수 있다. 선택된 유전적 요소는 임의의 적절한 방법으로 전달될 수 있다. 본 명세서의 구현예를 구성하는 데 사용되는 방법은 핵산 조작 분야의 숙련자에게 잘 알려져 있으며, 유전자 공학, 재조합 공학 및 합성 기술이 포함된다(하기 예 참조: Sambrook et al, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, N.Y.). 마찬가지로, rAAV 비리온을 생성하는 방법은 잘 알려져 있으며, 적절한 방법의 선택은 제한 사항이 아니다(하기 예 참조: K. Fisher et al, 1993 J. Viral., 70:520-532 및 U.S. Pat. No. 5,478,745 등). 본 명세서에 인용된 모든 문헌은 참조로 본원에 포함된다.

[0101] 이들 및 다른 일반적인 벡터 및 조절 요소들의 선택은 통상적이며, 많은 그러한 서열들이 사용 가능하다(Sambrook et al 및 그에 인용된 참조들, 예: 3.18-3.26 및 16.17-16.27 페이지 및 Ausubel et al., Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, New York, 1989 참조). 물론, 모든 벡터 및 발현 제어 서열이 본 명세서의 모든 전이유전자를 동일하게 발현하는 기능을 나타내지는 않을 것이다. 그러나 해당 분야의 숙련자는 이들 및 다른 발현 제어 서열 중에서 선택할 수 있다.

[0102] **약학적 조성물 및 치료적 처치**

[0103] 원하는 shRNA 코딩 서열을 포함하는 바이러스는 투여에 적합한 임의의 방법에 의해 이를 필요로 하는 환자 또는 인간에게 투여될 수 있도록 제형화될 수 있다. 이러한 제형화에는 약리학적으로 및/또는 생리학적으로 허용 가능한 담체 또는 운반체를 사용하는 것이 포함되며, 특히 뇌에 투여하기 적합한 것, 예를 들어 두개골 하부 또는 척추 주사를 통해 투여할 수 있는 것이 사용된다. 또한, 본 명세서에서 하나 이상의 shRNA가 병합 요법으로 투여될 수 있다. 병합 요법에서 서로 다른 shRNA는 동시에, 따로, 순차적으로 또는 임의의 순서로 투여될 수 있다.

[0104] 본 명세서의 약학적 조성물은 인간 또는 동물 유기체에 주사로 전달하기에 적합한 담체 및/또는 희석제를 포함한다. 이러한 담체 및/또는 희석제는 사용되는 용량과 농도에서 일반적으로 무독성이어야 한다. 이들은 단일 용량 또는 다중 용량 형태의 비경구 투여 또는 연속적 또는 주기적인 주입에 의한 직접 주입을 위한 조성물의 제형화에 통상적으로 사용되는 물질 중에서 선택될 수 있다. 일 구현예에서, 이러한 담체는 등장성, 저장성 또는 약한 고장성일 수 있으며, 당, 폴리알코올 및 등장 식염수 용액과 같이 비교적 낮은 이온 강도를 가진다. 대표적인 예로는 멸균수, 생리 식염수(예: 염화나트륨), 박테리아 정균수, 링거 용액, 포도당 또는 자당(saccharose) 용액, Hank's 용액 및 기타 수성 생리학적으로 균형 잡힌 염 용액이 있다(예: 최신판 Remington: The Science and Practice of Pharmacy, A. Gennaro, Lippincott, Williams & Wilkins 참조). 상기 조성물의 pH는 적절히 조정되고 완충되어 인간 또는 동물에 사용하기에 적합하며, 예를 들어 생리학적 또는 약간의 염기성 pH(약 pH 8에서 약 pH 9 사이, 특히 pH 8.5가 선호됨)를 갖는다. 적합한 완충제로는 인산염 완충액(PBS), 중

탄산염 완충액 및/또는 Tris 완충액이 포함된다. 일 구현예에서, 조성물은 1M 자당, 150 mM NaCl, 1 mM MgCl₂, 54 mg/l Tween 80, 10 mM Tris pH 8.5로 조성된다. 다른 구현예에서, 조성물은 10 mg/ml 만니톨, 1 mg/ml HSA, 20 mM Tris, pH 7.2 및 150 mM NaCl로 조성된다. 이러한 조성물은 -70 °C에서 최소 6개월 동안 안정하다.

[0105] 본 명세서의 약학적 조성물은 다양한 형태로 존재할 수 있으며, 예를 들어 고체(예: 분말, 동결 건조 형태) 또는 액체(예: 수성) 형태일 수 있다. 고체 조성물의 경우, 제조 방법에는 예를 들어 진공 건조 및 동결 건조가 포함되며, 이는 이전에 멸균 여과된 용액으로부터 활성 물질과 추가적인 원하는 성분이 포함된 분말을 생성한다. 이러한 용액은 필요시 멸균된 앰플에 저장되어 주사를 위해 멸균수를 첨가하여 재구성될 수 있다.

[0106] 분무 또는 에어로졸 제형도 적합하다. 비강 내 투여 방법은 해당 분야에서 잘 알려져 있으며, 예를 들어 압력 용기 또는 적절한 추진제(예: 이산화탄소와 같은 가스)를 포함하는 디스펜서, 또는 네블라이저를 통해 치료받을 개인의 비인두에 방울, 분무 또는 건조 분말 형태의 조성물을 투여하는 방식이 있다(예: WO 95/11664 참조). 경구 투여용 위장 내 저항성 캡슐 및 과립과 같은 장용 제형이나 직장 또는 질에 투여되는 좌약도 적합할 수 있다. 비경구 투여의 경우, 조성물은 점막의 구멍 크기를 증가시키는 흡수 촉진제를 포함할 수도 있다. 이러한 흡수 촉진제로는 나트륨 디옥시콜레이트, 나트륨 글리코콜레이트, 디메틸-베타-사이클로덱스트린, 라우로일-1-리소포스파티딜콜린 및 점막의 인지질 영역과 구조적으로 유사한 기타 물질을 포함한다.

[0107] 상기 조성물은 또한 예를 들어, pH, 삼투압, 점도, 투명도, 색, 멸균성, 안정성, 제형의 용해 속도를 조절하거나 유지하고, 인간 또는 동물 유기체 내에서 방출 또는 흡수를 조절하거나 유지하는 바람직한 약학적 또는 약력학적 특성을 제공하는 기타 약학적으로 허용 가능한 부형제를 포함할 수 있다. 예를 들어, 폴리에틸렌글리콜과 같은 폴리머는 용해성, 안정성, 반감기 및 기타 약학적으로 유리한 특성을 얻기 위해 사용될 수 있다(Davis et al., 1978, Enzyme Eng. 4, 169-173; Burnham et al., 1994, Am. J. Hosp. Pharm. 51, 210-218 참조). 안정화 성분의 대표적인 예로는 폴리솔베이트 80, L-아르기닌, 폴리비닐피롤리돈, 트레할로스 및 이들의 조합을 포함한다. 플라스미드 기반 조성물에 특히 적합한 기타 안정화 성분으로는 히알루로니다제(이는 WO 98/53853에 개시된 바와 같이 숙주 세포의 세포외 기질을 불안정하게 만드는 것으로 알려져 있음), 클로로퀸, 프로텍 화합물(예: 프로필렌글리콜, 폴리에틸렌글리콜, 글리세롤, 에탄올, 1-메틸 L-2-피롤리돈 또는 그의 유도체), 비프로텍 화합물(예: 디메틸설폭사이드(DMSO), 디에틸설폭사이드, 디-n-프로필설폭사이드, 디메틸설폰, 설포레인, 디메틸포름아미드, 디메틸아세트아미드, 테트라메틸우레아, 아세트니트릴(EP 890 362 참조), 뉴클레아제 억제제(예: 액틴 G(WO 99/56784 참조) 및 양이온 염(예: 마그네슘(Mg²⁺)(EP 998 945 참조) 및 리튬(Li⁺)(WO 01/47563 참조))과 그 유도체를 포함한다. 조성물 내 양이온 염의 양은 약 0.1 mM 내지 약 100 mM 범위가 바람직하며, 약 0.1 mM 내지 약 10 mM 범위가 보다 바람직하다. 점도 증가제에는 나트륨 카르복시메틸셀룰로스, 솔비톨 및 텍스트란이 포함된다. 상기 조성물은 또한 특정 기관의 혈액 장벽 또는 막을 통한 침투 또는 수송을 촉진하는 것으로 해당 분야에서 알려진 물질(예: 트랜스페린 수용체에 대한 항체; Friden et al., 1993, Science 259, 373-377 참조)을 포함할 수 있다. 폴리-라이신과 락토스의 젤 복합체(Midoux et al., 1993, Nucleic Acid Res. 21, 871-878) 또는 폴록사머 407(Pastore, 1994, Circulation 90, 1-517)은 동맥 세포에 투여를 용이하게 하는 데 사용될 수 있다.

[0108] 바이러스 입자 및 약학적 조성물은 환자에게 치료적으로 유효한 양으로 투여될 수 있다. 본 명세서에서 "치료적으로 유효한 양(therapeutically effective amount)"이라는 용어는 원하는 생물학적 효과를 실현하기에 충분한 양을 의미한다. 예를 들어, 안젤만 증후군 치료를 위한 치료적으로 유효한 양은 본 명세서에서 기술된 안젤만 증후군의 하나 이상의 증상(예: 발달 지연, 심각한 인지 장애, 운동 실조, 빈번한 발작, 짧은 주의 지속 시간, 언어 결여 및 특징적인 행복한 성향)을 완화하기에 충분한 양이다. 또한, AS iPSC 유래 뉴런은 탈분극된 안정막 전위, 지연된 활동 전위 발생 및 자발적인 시냅스 활동 감소를 나타낸다. 따라서 AS 치료를 위한 치료적으로 유효한 양은 뉴런의 안정막 전위를 약 -70 mV로 되돌리거나, 활동 전위 발생 지연을 완화하거나, 자발적인 시냅스 활동을 증가시키거나, 레오베이스(rheobase), 활동 전위 특성(예: 형태), 막 전류, 시냅스 전위, 이온 채널 전도 등과 관련된 뉴런 표현형의 추가적인 변화를 완화할 수 있다.

[0109] 적절한 용량은 특정 활성 성분의 약력학적 특성, 숙주 유기체의 연령, 건강 상태 및 체중; 치료 대상 상태, 증상의 성질과 범위, 동시 치료의 종류, 치료 빈도, 예방 또는 치료의 필요성 및/또는 원하는 효과와 같은 알려진 요인에 따라 달라질 수 있다. 상기 용량은 또한 선택된 특정 투여 경로에 따라 계산된다. 치료에 적합한 용량을 결정하는 데 필요한 계산의 추가적인 정밀화는 관련 상황에 따라 전문가가 수행할 수 있다. 일반적인 지침으로서, 바이러스 입자를 기반으로 한 조성물은 세포당 최소 10⁵ 바이러스 게놈 형태로 제형화될 수 있다. 역가는 통상적인 기술로 결정될 수 있다. 벡터 플라스미드를 기반으로 한 조성물은 1μg 내지 100mg, 예를 들어 10μg 내지

10mg, 또는 100 μ g 내지 1mg 범위의 용량으로 제형화될 수 있다. 투여는 단일 용량 또는 일정한 시간 간격 후 한번 또는 여러 번 반복된 용량으로 이루어질 수 있다.

[0110] 본 명세서의 약학적 조성물은 유리 또는 플라스틱으로 만든 앰플, 일회용 주사기 또는 다회 용량 바이알에 담길 수 있다. 모든 경우에, 상기 조성물은 무균이어야 하며, 쉽게 주사될 수 있을 정도로 유동성이 있어야 한다. 제조 및 보관 조건에서 안정해야 하며, 박테리아 및 곰팡이와 같은 미생물의 오염 작용에 대해 보호되어야 한다. 무균 주사 가능한 용액은 요구되는 양의 활성 성분(예: 감염성 입자)을 상기 나열된 성분 중 하나 또는 그 이상의 성분과 조합한 후 필터 멸균을 통해 준비할 수 있다.

[0111] 본 명세서의 상기 바이러스 입자 및 상기 약학적 조성물은 정맥 주사, 동맥 내 주사, 피하 주사, 복강 내 주사 또는 근육 내 주사나 주입, 척수 내 또는 두개 내, 예를 들어 뇌 내 또는 뇌실 내 투여와 같은 비경구 경로로 투여될 수 있다. 일 구현예에서, 바이러스 입자 또는 약학적 조성물은 뇌 조직 내 또는 대뇌 뇌실 내로 투여된다. 일 구현예에서, 본 명세서의 바이러스 입자 또는 약학적 조성물은 척수 내로 투여된다.

[0112] 일 구현예에서, 상기 바이러스 입자 및 상기 약학적 조성물은 이를 필요로 하는 환자 또는 인간의 뇌 또는 척수에 두개골 하부 주사로 투여된다. 일 구현예에서, 뇌 내 두개골 하부 투여를 통해 본 명세서에서 기술된 인코딩 뉴클레오타이드 서열이 신경교세포 및 뉴런을 포함한 뇌 세포에 직접 전달된다. 본 명세서에서 "뉴런(neuron)"이라는 용어는 뇌의 기능과 관련된 모든 세포를 지칭한다. 상기 용어는 단극(unipolar), 양극(bipolar), 다극(multipolar), 및 가성 단극(pseudo-unipolar) 뉴런을 포함한 모든 유형의 뉴런을 지칭할 수 있다.

[0113] **실시예**

[0114] shRNA 벡터 생성 및 렌티바이러스 준비

[0115] shRNA를 인코딩하는 올리고뉴클레오타이드를 U6 프로모터에 의해 작은 RNA 발현을 유도하는 pLK0.1-puro 벡터 내에 클로닝하였다(Addgene plasmid #8453). 구체적으로, shRNA를 생성하기 위한 폴리뉴클레오타이드는 표적이 되는 특정 21-뉴클레오타이드 서열과 그 역상보 서열을 포함하며, 이들 사이에 CTCGAG 루프 서열이 있고, 플라스미드 벡터에 클로닝하기 위해 5' 플랭크 서열로 CCGG, 3' 플랭크 서열로 TTTTGG가 추가되었다. 다음의 shRNA를 인코딩하는 올리고뉴클레오타이드와 스크램블된 shRNA 대조군이 사용되었다:

[0116] 551 shRNA 2 ("551-2") (SEQ ID NO: 502):

[0117] (5'- **TGCTCTCTTCTACTTTATTCTCGAGAATAAAGTAGAAAGAAGAGCA** -3');

[0118] ATS-shRNA1 (SEQ ID NO: 503):

[0119] (5'- **CTCAATCCAATAACCTAATTTCTCGAGAAATTAGGTTATGGATTGAG** -3');

[0120] ATS-shRNA2 (SEQ ID NO: 2):

[0121] (5'- **GATATCACCTTACAGAAATTCTCGAGTAATTTCTGTAAGGTGATATC** -3');

[0122] ATS-shRNA3 (SEQ ID NO: 504):

[0123] (5'- **TTAGTCACATCCCACAAATTTCTCGAGAAATTTGTGGGATGTGACTAA** -3');

[0124] ATS-shRNA4 (SEQ ID NO: 505):

[0125] (5'- **TCCTAGGTCATAATGATAATTTCTCGAGAAATATCATTATGACCTAGGA** -3').

[0126] 클로닝은 Sanger 염기서열 분석으로 검증되었다. 렌티바이러스 입자는 HEK293T 세포에서 제2 세대 렌티바이러스 패키징 플라스미드(psPAX2, Addgene plasmid #12260; pMD2.G, Addgene plasmid #12259)를 사용해 클로닝된 shRNA로부터 생성되었으며, Lenti-X Concentrator Kit(Takara)를 사용해 농축되었다. 렌티바이러스 역가는 5'LTR을 검출하는 qPCR 키트(Applied Biological Materials)를 사용해 추정되었다.

[0127] 줄기세포 배양 및 신경 세포 분화

[0128] 안젤만 증후군(AS) 유도 만능줄기세포(iPSCs) 및 인간 배아줄기세포(hESCs)는 Matrigel로 코팅된 기질(Corning)에서 mTeSR-plus 배지(Stem Cell Technologies)를 사용해 피더-프리 상태로 유지되었다. iPSCs/hESCs는 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂의 가습된 인큐베이터에서 배양되었다. 세포는 매일 배양 배지를 교체하였으며, 4-5일마다 0.5mM EDTA를 사용해 계대 배양되었다. 글루타메이트성 뉴런은 독시사이클린-유도성 인간 neurogenin2(NGN2) 전이유전자의 발현을 통해 iPSCs/hESCs에서 생성되었다(Fernandopulle et al., 2018, Curr Protoc Cell Biol. 79(1):

e51 참조). 간단히 설명하자면, 독시사이클린-유도성 NGN2 구조체는 AAVS1 표적 TALEN 쌍을 사용해 AS iPSCs/hESCs의 안전지대(safe-harbor) AAVS1 유전자 좌위에 안정적으로 통합되었으며, 그 후 클론 세포주가 유도되었다. 그 후, 이들 iPSCs/hESCs를 DMEM/F12, N2 보충제, 비필수 아미노산(NEAA), L-글루타민(모두 Gibco 제품) 및 2µg/mL 독시사이클린을 포함한 중성 유도 배지(Neural Induction Media)에서 3일간 배양하여 신경 유도가 이루어졌다. 그 후, 뉴런을 DMEM/F12, 뉴로베이질 배지(Neurobasal Medium), B27 보충제, 페니실린/스트렙토마이신(모두 Gibco 제품), BDNF(10ng/mL), GDNF(10ng/mL), NT-3(10ng/mL), 및 라미닌(1µg/mL)을 포함하는 피질 뉴런 배지(Cortical Neuron Medium)에서 뉴런의 최종 성숙을 위해 플레이팅되었다. 인간 iPSC/ESC 유래 NGN2-유도성 뉴런(유도 후 7~10일)은 MOI 10에서 렌티바이러스 입자에 의해 형질도입되었다.

[0129] 정량적 RT-PCR (qRT-PCR) 분석

[0130] 뉴런은 바이러스 형질도입 후 7일째에 RNA 분리 및 qRT-PCR 분석을 위해 수집되었다. 총 RNA는 제조사의 프로토콜에 따라 RNA-STAT60(AMS Biotechnology)을 사용하여 iPSC 유래 뉴런에서 분리되었다. cDNA는 High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit(Life Technologies)를 사용해 생성되었다. 유전자 발현 분석은 적어도 세 번 이상 반복 수행되었다. 모든 qPCR 분석은 TaqMan Gene Expression Assays(Life Technologies)를 사용하였다. 각 유전자의 Ct 값은 GAPDH라는 하우스키핑 유전자에 맞춰 정규화되었다. 상대적인 발현은 보정 샘플에 대한 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 값으로 정량화되었다.

[0131] 데이터 요약 및 결과

[0132] AS iPSC 유래 뉴런은 SNHG14 긴 비번역 RNA를 표적으로 하는 선택된 shRNA 서열을 발현시키기 위해 렌티바이러스 입자로 형질도입되었다. qRT-PCR을 사용하여 SNHG14-shRNA 처리 뉴런에서 UBE3A-ATS, SNORD115 호스트 유전자, 및 UBE3A의 발현을 비표적 제어 shRNA(SCRAM)로 처리된 뉴런과 비교하여 측정하였다. 도 4 및 5는 SNHG14-표적 shRNA(551-2, ATS shRNA1-4, ATS shRNA2_3G) 또는 비표적 제어 shRNA(SCRAM)로 처리한 후 AS iPSC 유래 뉴런에 대한 qRT-PCR 분석 결과를 나타낸다. UBE3A-ATS, UBE3A, 및 SNORD115의 발현은 하우스키핑 유전자 GAPDH에 맞춰 정규화되었으며, 발현 값은 SCRAM-shRNA 처리 뉴런에 대한 상대값으로 나타낸다. 오류 막대는 평균의 표준 오차를 나타내며, 생물학적 복제 횟수는 n=3이다. 도 4 및 5에서 보여지듯이, 선택된 SNHG14 shRNA는 SCRAM 대조군에 비해 UBE3A-ATS의 RNA 수준을 효과적으로 감소(55%-60% 감소)시켰으며, SNORD115의 RNA 수준을 효과적으로 감소(45%-50% 감소)시켰다. 이러한 SNHG14 전사체 수준의 감소는 UBE3A RNA의 강력한 증가(SCRAM 대조군에 비해 5-9배 증가)와 연관이 있었다. ATS shRNA-1, ATS shRNA-3 및 ATS shRNA-4는 UBE3A-ATS 및 SNORD115의 RNA 수준을 감소시키고 UBE3A 발현을 증가시킬 것으로 예측되었으나, 그러한 효과를 나타내지는 않았다.

[0133] 앞서의 상세한 설명과 함께 제공된 예들은 단지 예시적인 것이며, 본 명세서에 기술된 주제의 범위에 대한 제한으로 간주되어서는 안된다는 것을 이해할 수 있을 것이며, 주제의 범위는 오로지 첨부된 청구항 및 그 등가물에 의해 정의된다. 개시된 구현예에 대한 다양한 변경 및 수정은 해당 기술 분야의 숙련자에게 명백할 것이다. 이러한 변경 및 수정은 화학적 구조, 치환체, 유도체, 중간체, 합성체, 조성물, 제형 또는 사용 방법과 관련된 것들을 포함하되 이에 제한되지 않고, 그 본질과 범위를 일탈함 없이 이루어질 수 있다.

[0134] 서열

[0135] SEQ ID NO:1

[0136] 인간 UBE3A-ATS 게놈 서열

[0137] TGAGATGACCTAAACAACCTGGGAGAATCATTTGATATATTTCCCTTTTTTTCACGTTCATGTTGGGTGAAAATAATCTTGTAGTGAAATTCACATGTTCTAAATATTGTTTTTACATCTTTATCTGGCACATTCATAACATAGATGTTTCTATACATATTAGTACTGTAATCATACCATATATTATTCTGTTACCCCACTTACTCCTAAACTTTTAGTAAATTAAGAGTTTTTATAAAGTCCCCAATAGATTTTTTTTTTTTGGAGACATAGTCTCACTCTGTTGCCAGGCTGGAGTGCAGTGGCGTGATTTGGCTCACTGCAACCTCCCCATCCTGGGTCAAGCAATTCTCTGCCTCAGCCTGCCAAGTAGCTGGGATTACAGGTGCCTGCCACCACGCCGACTAATTTTTGTATTTTCAGTAGTGACAGGGTTTACCATCTTGGCCAGGCTGGTCTTGAACCTCTGACCTCGTATCCACCCGCTTGGCCTCTCAGAGTGCTAGGATTACAGGCTTGAGCCACTGCACCCGGCCAGATTTAATCTAATTTTATTAGAACAATTCAGTCATATGTTTTTTCATGCTATGTATATGAGAGTTCATTATTAGATACTAAACAATGTCTACTGTACATTTACTGTTCTCACTGATGATGCATTAGATAACCATGCACAAAATAAGCCTGGCTGTGGAAACGCTTATTGTTGGGAGGGTCTGTTTGGATCGATGATGAGAATAATTGCTGAGGATGCTGAGGACTCATTCCAGATGTCATCTGAGGTCAGATGTGCGGCCCTCAATAGGACAAAATAAGACTCTCAGAGCCTGGCTCTATTTGGGGATCCCTCAGTGACAACATAGTACCCCTGTGAGCGTGCCTTTCTATCTCTTCGAAGAGGGCAGTGGCATCCTGTCTTATGAGTCAGTGTGCATTTAGTGTGCTAGTGACCCAAGACTTGCTTAAATGTAGATAGATACTTACATATAGGAAATATTTCTTAAGTAACAATGAAAACCTTTAGAAGATTGAATTAAGGGTCAAGCAACTGTGATATGCTGAAAATCTCATTAGTGTGTGCTGAAAGAAGGAAA

AAAAAATAAATATAGAATCTAAAACCTTATGGGATACTGACAAAAACAGGATATAGGAATAATTTATAGCACTGAAATGCCTATATTAGAAAAGAAAAAG
 GTTTTAAATCAGTAAATTTGTATTTTACCTTAAGAACTTAGAAAAAACAATAACCCAGACTTAAGTAAAAATAAAGGCACTAATAAGATAAGAGCAGA
 AATCAATGAAATATAAAAACAACAAAACAGAGAAAAATTTAGAAAAATTTAAAAATAGCCTAGTGAGAAGATATTGATAAACTTGTAAACCAGACCAATTTAA
 GAAAAAAGTCAAAACACAAATACCAATATTTGAAAATGTAGGAGGGCAATCATTACAGATTCTATGAATACTAAAAATGATAATAAGGAAAAATTTTAA
 AAGGGCATGTACGCCAGGCATGGTGGCTTACCCCTGTAATCCAGCACTTTGGCAGGCCGAGGTGGGAGGATTGCTAGAGCTCAGGCATTGAGACCAGCC
 TGGGCAACATGTTGAAACCTTGTCTACACAAAAAGTACAAAAATTAGCTGGGTGGTGGTGGTGCACACTTGTAGTCCCAGTCACTTGGGAGGCTGAGGCGAGA
 GGATCACTTGAGCCAGGAGGTTGAGGCTGCAGTGAGCCATGTTGTACCCTGCCCTCCAGCCTGGGTGACAAAGTAAAGACCCTATGTAAAAAATAAAAA
 TGTATGCCAACATTTTCAATAACTTAAATGAAATGAAAAATTCCTTGAAAGACACGAACTACAAAACTCAGTGAACAAGTAAATAACCTGAATAGCCCT
 GTATCAAGTAAATGAAATTTGTAGTTAAAAGCCTTCCAACAGAGAAAACTTCAGGTACCTATAGCTTCATATGAAATGAAAAAATAACCAATCCTCTAC
 AAGATTCAGAACATTTAAAAGAAGGAATATTTCCCACTTATCCATTTGGACAGCAATACCCAGGTAAGAAAAAGAGACACAGAAATTTAAAAAGAAGA
 ATATACATTATTCCTTAGGAACATAAATGCAAGAAATCTAATCAAAATTTTGGCAAATGAAATGTAGAAATACTTTATGACCAAGTGAGAGTTACCCAAAG
 AATTTAAGTTGGTTTTATGTAAAGATCAACCAATATAGGAAAACTACTTCTGAAAGTCAGAGTAAGAACTCCAAAAATCTACTCCTCCATAAAACCA
 ATAACAGCCTTGATAGAAATAGTTGAAATTAATTTTCCAAAACCTTGGAAATTAACCAAAGGCTTACAAAATCCAGAGAACATTAATCAAGAAAAATGGC
 TGAATCAGTAAGAACAGCCAGCTTTGTGGCATTAAATATGACCCCTTCCCATGCTTTTCTCCCTAGTGTGAGATAGTCTTAAAAATTAGCAGGATAGCAA
 CCACTGGAGAAGAAAGTTTGGAAATTTCCAAAAAGTTCATCCCATAGAATTACACTATTTGACCTCTAAAGCCAATCTATAGGATTTATATTCATT
 TGGACTGACTCAGAGCTCACTCAGTAAGGAAATCTCAATTTCAAGGTATTGGTCAAAAAAATCCATGGCAATTTGTTGACTATCACAACCTGCCTGAAGTCTT
 GGTAAAGTTGGGATAAACAAGAAGCTGATCAAAAACCTGAAACTAAAACTCTGGGAATGAGATATCTACAGGATGCTTCAAAAAGCTTTGATACATTCCTG
 TTTATCTAGAAAGCTACATGCAGGCTGGGTGCAGTGGCTCACCTGTAATCCAGCACTTTGGGAGGCCGAGGCGTGGGATCATGAGGTCAGGAGTTTGA
 GGCCAGCCTGACCAACATGGTCTCTACTAAAAACACAAAAATTAGCCAGGCGTGGTGGCGTGCATCTGTAATCTAGCTACTCAGGAGGCTGAGACAGGAGA
 ATCGCTTGAACCCGGGAGGCGGAGGTTGCAGTGAGCCAAGATTGTGCCACTGCACTCCAGCCTGGGCGACAGAGCAAGGCTCTGTCTCAAAAAAAAAAAAA
 AAAAAAGCCACATGCATGTAATGTTTACCTCTGGCTTTCCTTTTATGCTCTGGGCAAGCTAAGGAAGAGTTGTGAACTACCTAAGTGTGAATGGGAACCAT
 AACACACACACACACACACACACACACAGCACCTTAGTAAAGGGTGAGAGGCATGTTAGTTAGAAGCATTAAAGGAAATCTCTTTCTAGTCATTAT
 CTGTGCACTAACCTAACTGAGCAGAGACTTCAGTATCCACATACTACAGGGCATATAAACTTTACAGAATTAGTCCAGGAAAAATCATATCAAAAAAAAAAAAA
 AAAGCAGTAACAAAAATAAACTCTGGAAAGGGGAGAATATGATTTAAAGAGTTGCCACATTATACATAATATGTCTAGTGTCAACAAAAAATTACGAGAC
 ATGCAAAAGAAATAGAAAAATATGGCACAAGAGGATAAGATGAAGTCACTGAAACTATCCTCGAGGAAGACCAGATGTTGGTCTACTAGACACAGACATTG
 AACCAGCTATTAATAACGTACACAGAACTAAGAAAAACATGTCAAAAAGGTTAAAGAAAGGTATAAAAAATAGTGTCTTACCAAATATAGACTACCAATAA
 AGAGATAGAAATTATAAGAAAAGACAACATGAAAAAATAAAGCAAAAAAATTAGACAATTGAAACAAGAGGGCCTTATTCGAGATTTGAGCAGGCAGA
 AGAAAGAATCAGTGAACCTGAAGATATGTCAACTGAGATTATCCAGTCTGAGCAACAAGGTGGGAAAAAATGAAGAAAACCTGAGCAACAAAGAACTGTAGA
 ACAGCATCTCTACCAATGGATACATAAACTGGAGCCCTAGAAGGATGAAAAAAGGAGAAGGAAAGAAAACCTCCCAAATTTAAGAAAAACATTAATTT
 ATATACCCGAGATGACCAATAAAATCCAATTAAGATAATCTCAAGAGACCAACACCTATACACATCATAGTCAGCGTGTCAAAAGACAAACATAAGGAGAG
 AATTCTGAAGATAGTAAGAAAAAATTATTATAACATACACACCATCCTCAATAAGTCTGACAATTGACTTCTCACTGTAAACCATGCAGGCTAAAAAGG
 CAATGTACATAACCAAAGTGATGAAATAAAACCTTCAACCAATCATTTAGATCCAACAAAACCTATTGTTCAAAAAGAAGAAATGAAGACATTCTCAACA
 AAATCTCAGAGAAATGTTCTCTATAAGACTTGTCTAATAGAAATGCTAAAGGAACTCCTTCGGTCTGAAATAGAAAGGCCTGGAGAGTAAATCAATCCA
 CGAGAAGAAATAAAGAGAACCAGTATAAGTAACTACATGTGTAAGTTTAAAAACAAGTATAAATTTATTTGTTGTAAACATTGTCTTTTCTATTTGATT
 TAAAAATAATCTCAATTATAAACTTGTGTGATGTTATATAAAGATGTAATTTTGGTTATAGCACCAAAATGGCAGAATAGGAATTTTCTGTAGGTG
 TTTCCACATAAGATCAATTTTGAACAACATCCATGGGCAAGAGTACCTTGTGGGAGTTGAGGTTGACAGTAAAACCTCAGCACACCAGAGGAGTAAAG
 AAATCTAAGAATAGATTCATTGAAAGGGTATAAACAGTTTCACTTTACCTGCATCACCAACCCCAAAAGTGGCACAGCTCAGTAACAAGAGCCCATTTAT
 TCTTCCACAGAGGAAAAGGAGATATAAAGTAAAGTGTCCAGTTTCTCAAGACATACAGCCCTGCCAAGAGATCCACTTTATTTTCTATCACCAGAC
 ATATTGAGGTGATCAGCAAGGTGGAGTGGTTGGGAGAGGGTAAAGCAGGAAAGAGAGATGGGACTCAAAACAGCAGCCATACTTGGAACTGCCATAGATC
 CTACCAGTTACTTCACTGACTCCATCAGGAACCCACCTATAAGCCACAGGGGATGCATCCCTCCCATCTTGCCAACAAAACCCGAATGCTCCAAATGCCTC
 ACCACTCTTTGGCTGGCTCCCAAGTGGCTCCTGTGAAAAGCGAGTGAATCTCTGCAGATGGCTTGAAGCAGATGTTGACAGCTGGCTCCACTCTGTA
 GAACTGGAAAAAGCTCACATACATGAGAAATTCAGGACACTACCTTAAAAAATAAATGAGACTTCAGCACCTGGCCTGGCTTTATGCAACCTAGAGAAGG
 TGATATGATTTGGCTCTGTGTCACGTAATCTCATGTCAAATGTAATCCCAAGTGTGGACAAGGACTTGGTGGGAGGTGATTGAATCATGCGGGT
 GGACTTCCCTCTGTGTTCTTGTGATAGAGTTGTTATGAGATCCAGTTATTTGAAAGTATGTAGCATGTCCCTTCACTCTCTTGCCTCTGCTCCACC
 TTGGTAAGACTTGTCTGCTACCCCTTTGCTTCTGCCATGATTGTAAGTTTCTGAGGCCTCCAGCTATGCTTCTGTATGGCTGCAGAACTGAACTGTG
 AGCCAATTAACCTCTTTTCTCATAAATATCCAGTCTTAGTGTCTTTATAGCAGTGTGAGAATGGACTAATGCAGAAGGCATACAACCTTTAGAATT
 TGCCCTTGGAGGAACAAGATGTTGTAAGCAGGTTTCATCCATAGAAAAATGCTGAGAGAACCTCAAAATCCCTAACCTGACTAAGTATGAAAGTGTCT
 CTCCTAAGGCCAGTCAAGTAAAGACCAGAGGGGGTACTGTTTCTTAAATGCAAGGAGCAGCACAATAATCAAGAAACATGAAAAATCAAGAAAAACATG
 ACACCACAGAAACACAATCATTTTCCAATAACCAACTCCCAAAAAATGGAGATTTACAAATTTGGTTTATAATGAATTCAGAACAAATATGTTAAGGAAG
 CTCAGCAAACTAAAAGGAACCAATAGACTACTCTGTGAAGTCAAGGCAAACTCATGAACAAAACCTAGAAATCAAAAAAGAGAAAAATATCTTAAAA
 GAAAACCCAGAAGTTATGGAGCTAAAGAAATACAATGCATGAAATGAAGGAGCGTATCAACAGCAAAAGTTGATCAAGCATAAGAAAAAATACTGTGAAAC

TGAAGACTGGCTATTTGAAATTATTCATCAGAGGATTAAGAAAAAAGAATGAAAAGAAATAAGAAAGCCTACAGGATGTATAAACACCATCAAGAGAAC
TAATATAAGGATTATGGAGTCATAAAGGAGAAGAGAGAAAAGGTTAGAAAACCTTATTTAAGAAATAATGGCTGAAAACCTCTCCAAATCTAGGAAAAGATAT
GAGCATCCAGGTATATGAAGCTCAAAGATCCCCGTACAGGATACATTCCAAAAAGACTTCACCAAAACACATGATAATCAAATGTCAAAAAGCAAAATCAAG
ACGATGAATAAACCCCAATCACTAAGAGGGAGACAGGATTCTTATGTTGCATTATTATTTACATATAATTTTCAGTAAATGTTATTGGAAAAATTTATAATG
TTTTAAAAAAGAAATTTGAAAGCACCAGAAAGAAAAGAGACTCATCACATACAGGAAACCCCTTTTAAGGCATTCAAGAGATTTCTCAGTAGAAACCTTACAA
AATAGGAGAGAGTGGGATGAACTATAACAAGTCTGCAAGGAAAAAATGCCAACCAACGCTTTACCTGGCAAATCTGTTCCTCAGAAATGAAGGAGAGAGAA
GAACTTTCTAGACAAAACAAAAGCTGAGGCAGTTCATCACCCTAGACCTGCCTTACAAGACATACTAAGGGGAGTTCCTCAAGCTGAAATGATATGGCAAT
AGTTAGTAATATGAAATGATAAACCTCACTGGTAAAGGAAAAGTACATAGTCAAATTTAGAACACTTTGATACTATAATGATGGTGTATAAATAATTTTACTG
TGCTATGAAGGTTAAAAGACAAAAGTATTAAGAAAAACCCATAGCTGCAATAGCTTGTCAATGCATACTACAGTATAAAAAGATGTAATTAGAACATTAAA
AACATAGCATGCAAGGGTAGGGAAGTAAAAGTGTAGTTTTTCATATGTAATCAAATTTAATTTGTTATCAGCTTAAAAATAAATGTTATACCTATGTTTTATG
TAAGTGCATGGTAACTATAAAGGAAAAACCTCTAGTAGATACAAAAAGAAAAGAGAAAGGAATCAAAAACATAACACTACAGAAAATATCAAATTACAA
AGGAAGACAGCAAGGGAGGAACAAAGTAAAAGAGCAAGAAAAATTTAACATAATGAAAACAGTAAAGTCTTACGTGTCAATAATTACTTTAAATGTAAT
GGATTAATTTATCCAAACAAAAAACAGACTGGACAATGGATTTTAGAACAACAACAACAACAACACCGCACACACACACACACACAAACCACCC
AGCCCCAACTATGTGCTGCCTACAAGAGATTACTTCCACTTTAAGGACACATACAGGCTGAAATTTAAAAGAACAGAAAAAGATATTGCATGCAGATAGAAA
CCAGAAGAGAGGAGGCATCTATACTTACAGCATACAGAAAAGATTTAAGTTAAAACTATATCAAAAAGGCTAAGAAGGTCAAATGGTGAAGCAGTTAA
TTGTTCAAGAAGACATAAAAAATGTAATATTTATACACCAATATGAAGCACCTAAATATATAAGGCAAAATTAATACATATAAAGGAGAAATATACA
GCAATACAGTAATAGTAGTGAATTCAGTGCCTCCCTTTCAAAAATGGATAATCCAGACATAAAAATCAATAAGGAAACATTTAACTTAACTTCACCTTAGA
CCAAATGGATCTAACAGACATTATACTGAACATTTTCATCCAACAGTGGTAGAATTCACATCTTCTCAAGCACACATGGAACATTCCTCAGGATAGATTATA
TGTTAGCTCACAAAAATAATATCAAAAATTTAATAAAGCTGAAATATCAATTTTGTGACCACAATAGTATAACACTAGAAATCAATAACAAGATGGA AAC
TGGAAATTTACAAATATATAGCATTAAACATATTCCTGAACAACCAATGGGTCAAAGAAAAAATCAAATAATTTTGTGACAGCAAAGTAGAAACACAACAT
ACCAAAACATACAGGACACAGCAAAAGCAGTTCTATGAGGTAAGCTTATATTGATAAACACATTTAAAAAAGATTTTAAATAAACACATTACACCTCAAG
GAACTACAAGGAAGAAAAAACAAGCCCCATGTTATCAAAGGGAAGGAACTAACAAGATCAGACAGAAATAAATGAAACATAGACTAGAAAAACAATAG
AGACTATAATAAAACTTAGAGTTAGTTTTTAAAAAATAAAATCAACAACCTTTAGCTAGACTAAAAAAGAGAAGACTCAAATAAAATAAAAAATGAAA
GAGGAGACATTACAAGTATACCACAGACATACAAATTAAGAGAAAACATATGCCAACATATTAGTTAACTTGAATGGGTAATCCCTAGAAACATACAA
CCTACAAAAACTGAATCATGAAGAAATGGAAGATCTGAACAGATCAATAATGAATAAGGAAATGAAATCAATATTCAAAAATCTCACAAAAAGAAAAGCTCA
GGATCAGATGGCTTCACTGGTGAAGACTGCCAACCTTTAAAAAATTAATACCCTCTTTATTAAGCTCTTCAAAAAAATGAAAGAGGAGAAAAACCTTT
CAAATTCATTATAAGAGGCCAGTTTTACCTTGATATCAAAAGATTTAAAAAGAACACTTTGAGAAAAGGAAAATTACAGGCCAAAACCTTGATAAATATAGAT
GCAAAAATGCTCAGCAAAATACTAGCAAACCTAATTCAGCAACACATTATAATGGCATAATCATGACCAAGTGAGATTCATGCCTCGGATGCAGGATAGTT
CAATATAATCAAATCAACAAATGTTACTACTTTAACAGAATGAAGGATAAAAATCATATGATCATCTCGATGGTTGAACTAGTTTACAGTCCCACCAACA
GTGTA AAAATGTTCTATTTCTCCACATCTCTGCAGCAGCTGTTGTTCTTAACTTTTACAGATCACCATTCTAACTGGTGTGAGATGGTATCTTATTGT
GGTTTTGATTGCATTTCTCTGATGGCCAGTGTGGTGGCATTTTTCAAGTGTCTGTTGGCTGCATAAATGTCTTCTTTTGAGACGTGTCTGTTTCATATCC
TTCACCTACTTTTGTAGGGGTTGTTGTTTTTCTTGTAAATTTGTTGAGTCTTTGTAGATTCTGGATATTAGCCCTTTGTGCAGATGAGTAGATTGCA
AAAAATTTCTCCATTTCTGTAGGTTGCTGTTCACTCTGATGGTAGTTCTTTTGTCTGTGAGAAGCTCTTTAGTTTAAATAGACCCCATTTGTCAATTTG
TCTTTTGTGCCATTGCTTTTGGTGTTTTAGACATGAAGACAGTGTGGTGTATCCTCAAGGATCTAGAACTAGAAATACCATTGACCCAGCCATCCTGTTA
CTGGGTATATACCAGAGGATTATAAATCACGCTGTATAAGCCATAAAAAATGATGAGTTCATGCTTTGTAGGGACATGGATGAAGCTGGA AACCATCA
TTCTCAGCAAACTATCACAAGGACAAAAAACCAACACCCGATGTTCTCACTCATAGGTGGGAATTGAACAATGAGAACACATGGACCCAGGAAGGGAACA
TCACACACTGGGGATGGTTGTGGGGTGGGGGAGGGGAGGGATAGCATTAGGAGATATACCTAATGCTAAATGACGAGTTAATGGGTGCAGCACACCAAC
ACGGCACATGTGCACATATGTAACAACTGCACGTTGTGCACATGTACCCTAAAACTTAAAGTATAATTA AAAAAAATAATGCTGCTATAAAGACACGTGC
ACACGTATGTTCAATGCGGCACTATTCACAATAGCAAAAGACTTGAACCAACCCAAATGTCCATCAATGATAGACTGGATTAAGAAAATGTGGCACATATAC
ACCATGGAATACTATGCAGCCATAAAAAAGATGAGTTCATGTCTTTGTAGGGACATGGATGAAGCTGGA AACCATCAATTCTCAGCAAACTATCACAAGGAC
AAAAAACCAAACTGCATGTTCTCACTCATAGGTGGGAATTGAACAATGAGAACACTTGGACACAGGAAGGGAACATCACACACTGGGGCTGTCTGTTGG
GTCAGGGTAGGGGAGGGATAGCATTAGGAGATATACCTAATGTAATGACGAGTTAATGGGTGCAGCACACCAACACAGCACATGTTGCACATGTACCTT
AGAACTTAAAGTATAATAAAAAATAAATCATATCATCTCAGTAGATTTAGAAAAGCATTTAACAATATTCAACATCCTTTTCAGAACTAAAACTCTCAA
TAAATCAGGTATAGAAAAGATGTGCCTCAACACTATAAAAGCCACATATGACAACTGGAGGTAATATACTCAATGGTGA AAAAGTAAAAAGCTTTGACTCT
AAGATCAGAACCAAAACAAGGATGTCCATTCTCACCCTTATATTTAACATAGTAGTTGAAATTTCTAGCTAGAGCAATTAGGCAAGAAAAAAGGCACCCAAAG
TTGGAAGAATGAAGTAAATTTGCTCTGTAGATGACATGATCTTATATATAGAAAACACTAAAGACTCCACCAAAATGCTGTTTTAATTAGAGCTTAAAA
AATAATTCATAAAGTTGCAGGATACAAAATCAGTATACAAAATCAGTTGCATTTCTAAACACCAAAAAACAAGTTATCCAAAAAATAAGAAAACAATCCT
ATTTGTGATATCATCAAAAAATAAATACTAAAGAATAACAAAGAACTGAAAAATAATGGAATAAATGGAAGATAGCCCATGTTTCATGGATTAGATGAA
TTAATACTGTTAAAAATGTTACTACCCAAAGCAACCTACAGATTAAGTGAATTCCTACTAAAAATCCAATGACATTTTCACAGAAAATAGAAAACACAC
TCCTAAAGTTGATGAAACCGCAAAAGACTCAAATAGATGAAGCAATTTGAGCAAGAACAGTAAAGCTGGAGACATCACACTACCTAACTTCAAATTTT
ATTAATCAAAACAGCATGACATAAAAAACAGACAGAAAAGACCAATGGAACAGAAATAGAGAGCCAGAAAATAA ACTCACGTTTATAGAGTCAACTAATATCA

GGAATACTATGCAGCCATAAAAAAGATGAGTTCATGTCTTTTGTAGGGACATGGATGAAATTGGAATCATCATTCTCAGTAACTATCGCAAGGACAAAA
ACCAAACTGCATGTTCTCACTCATAGATGGGAATTGAACAATGAGAACACATGGACACAGGAAGGGGAACATCACACTCTGGGGACTGTGTGGGGTCGG
GGGAGGGGGAGGGATAGCATTAGGAGATATACCTAATGGTAAATGACGAGTTAATGGGTGTAGCACACCAGCATGGCACATGTATACATATGTAACAAACC
TGCACATTGTGCACATGTACCCTAAAACCTAAAGTATAATAATAAAAAAGGCTACCTAAAAAAGAACACTTCTCCTCCCAACACCATATC
ACCACATCAACCAGGACTCCAGTGAATAGCAGTGAATTCTAACTGAAAGAGGTGAAAGACACTGATTGTATTTAAGAAAGATCTTCTAAGGAAATCCAAAA
ATAGTAGGGGAGATCAAAACAAAGATACTAGAGGAAATGAATATGTGACACCTATAGCTACAAAAAAATTAACATAACATAGCCCTAACCATATAAACAT
AAAACCTCACACAAAGACCTATTATCTGAGATTCTGTTCGTGATACATTGCGTTTTATTTCATAAAAAAATTAGAGGGTATGTTAAAAAGCAGGAAAAGT
TAGTCTAAAGAGACAAATGAGCCTCAGAAGTAGGCTCAGATATGGCAGAGATTGGCAATTATACCTAGAGTTAATATAAATGATTAATATAAAGTGT
TCTAACAGAAAAAGGCAACATGCAAGAACGGATGGGTAATGTGATCAGCAAGAAGGAACTCTAAGAAAGAGTCAAAAGGAAATGCTAGGAATAAAAACT
ACAAGAAATAAAGAAATGCCTGTGATGGGTTCCCTCAGTAGACTGGACAAGGTCAAAGAATCAGTGGATTGAAAATATGTCAACAAAAACTGCCCACTGAAA
TACAAAAGAAAAATAGAATTTTAAAAACGTAACACAATCTCCAAAACAGTGGGACAATTACAAAAGATGTAATGTGCCTAATGCAAAATGACAGTAGGAGTAT
AAAGGGAGAAAGGAATAGAAAATCTGAAGTAATAATGGCAGAGAGTTTTCCAAAATTAATGCTAAACCACAGATACAGCAAGCCAGAGAACAACAAGGAGG
AAATTTAGTAAAGCGTCTGCAACCAAGTATGTCATATTCAGACTGACAAAACAAAGGTGAAGAGAAAATATTGAAAGAAGACAAAGAGGAAAATAAATATC
AAGAAAAACATACGAAATACATCATACATACATAAGAAAATACATCAGACCATACAAGCAAGAAGAGAATGGAGTGAAATGTTTAAAAATGTGAAAAA
CTATCAATTTGCAATTTCTGTATCCAGTGAGATTATCTTTCAAAGTGAAGAGGGAAATGGCAGAGAAGTCATCTCAAGACCTATGGTTCCCTTCACAGAA
ACACTGAAAAATATGAACAAAAGTGGTCAGAATTAACCTTTCTAAGAATTTCTATAAAATGGTAAATGTTTACACCAGTAAAGCAAATGCTGAATGAGAAGG
CAACTAAAAAGGTGAAGAAAACCTCGTATTATTTTATGTGCTCTGGCCACGTCCTTCCTACCTTAGTCTTGAAGATGGCAGCCACATTCTACTGT
GGGCTCTGGTTTCTGTTTCTGGTTCAGAGGGAGAATAACAGACCTACTTTTAGTCATTATTATTCCTTCTTCTGATTCCCTGGGTTATTTTGTCT
CTTCTTTCTACTTTATTGAAATGAGAACTAAGATTATGATTGAGACATTTTTCTAATGTAAGCATTTAGTGCTATAAATTTCCATCTCAACACTGCTTAG
TCACATCCACAAAATTTTATATGTTGTAATTTCACTTTTCAATTTAGTCTATTTTTAAATTTTTCTTTTATACTTCTCTGACTCACAGATTACTTAGAA
TTGTGTTGTTCAGTTTCAAGGATATTTGATGATTTTCTGTTTCTGTTGTCTAATAGTTCTGTTCCATTTTGTACAGATAGCTCACGCTGATGATTCA
ATTTTTTAAAAAATGTGCTTTGTTTATGGCCAGATATGGTCTGTGCTGTGAATATTCATGTTATTATAAAGTATGCCTGTTATATTATATATATA
TAATATATAAATTATAAAGCATGCCGTTTTGTATGTTAGCAGAGTATTCTAGAAATGTCATGAGATCTTGTGGTTGATGGTGTCTTTCAGTTCTATA
TCTTTGCTAATTTTTTTTTTTTTTGGCTTAGTAGCTATATGAGATTCTGAGAGAGGAAATGAAGTCTCCAACCATAATGTGGATTGTCTATTTCTCTAT
CAGTTCTATCAGTTGTGCATCACATATTTGAGGCTCTGTGTTGGTGCATACACAAGTGAATCATTGTGCCTCTTGGTGGCTTATTTTATGATTATAT
AGTGCCTATCTTTGGTATTTTTATTTGCTCTTAAATCTACTTTGTGTTATATTATATACCATTTCTTTTTTAAAAAATGTTTGCCTGATACATCTT
TTCCATTTCTTAAATCTCAGCCTATCTGTGCCATTGAATTTGAAGTGAAGTTTTCATATAGAGAACATATTATTGAATCATTTTTAAAAATCCTTTTGGC
AATCTTTTTTATACTGAGGTAATAATGACATAAAAATTTATCATTTTAAAGTGTACAATACAGTGGCATTGGTAATACACATGTTATGCAACGTTAACTCTA
CCTGGCTCTAAATGTTTTATCATATCCCAAAAGGAAACTTCATACTCATTAAAGCAGTTAATCCCATTCTCTCGGCCACTGGCATCCGCAACCTAC
TTTTCTGTCTCTATGAATTTACCTATTATGGATATTTGTATAAATGAATTATAACAATAAGTGACCTTTATGTTGGCTTCGCTTCGCTTCGCATACTATTT
TTCGATATCAACCATGTTGTAGTATGTATCAGTTTTATTGAATAACTCAATTTCTTTTGTGTTATAGCTAAAAGTTGATTCTAGGTCATAATGATAATT
CTATGTTTAGTTTATTGAATAGCTGCCAAAGTTTTCCACAGTGGCTCTGTCTATTTAAATCCCCTAGCAATGGATGAGAGTCCAATATCTCCACATCC
TTACCAATATTGTTATTTTATAATTTATAAATTTTCTAGTGAATACGCAATGGTATCTCATTTGTTTGGTTTGGCTTTCCCTAATGACTAAT
GATGTTGAGCATCTTACAATGACTTGTAACTATTGTGTTCTTTAGAGAAATGTCTATCAAGTGCCTTGTCCATTTTAAAAATCGAGTTGCTTGTGTA
CTTATGAGTCTTTAATACAGTAAACGCTTATCAGATATGATTTATAAGTATTTAACCATTCTGAAGGTCACCTTTTCACTTTTGGTGTAGACCATTATG
CACAAAGGTTTTAATTTTGATAAATCCAATTTATCCGCTTTTGTGTTGTTTTTGTGTTGCTGCTTTTGCAAAACCTAGTGCATGAGGTTTTCTCATTAT
CTTTGGAGAATTTTATAGTTGGGTCTATACATGTAGATTATTGATCTAATTTCCATTAATTTGTGTTATGCTACGAGGTAGGGTCCAAATTCATTTTT
GCATTGAATGAAAAATCATATTTTCAAGTTTCAAATTTCAACTGCATATTCAGTTGTTGCAGCACAAATTTGTTGAAGAGATCATCTTTACCACAGGGAATG
ATCTGGGACCTTGTCAAAAATCAATGATCATAGATGTATGGGATTATTTCAAGACTTTAGATCTTGTCCATGAATATGCCATTTTTTATGCCAGCACTGC
AGTATTTTCACTACTGTAGCTTTATCATAAATTTGAAATCAGGAAGTATGTATCCCAAGTGTGATTTTCAATTTGCTAGAGTGTTTGACTATTTGGGGT
CTTTGCAATTCATATGAATTTGAGAATGGCTTTTCAATTTAAAAAATGGTAGTTGAGATTTTCAAGGAATTATATTGAATCTACAGATCACTTTGGGTA
GTATTGCCATCTTAAACAATATTGTATTTCCAATCCATAAAACAGGATGTATTGCCATTCATATCTTTTTTCTTTTCTTTCCGCAACATTTAGTATATGACAC
TTGTAACCTTGGTTAAATTTATACCTAAGCATTTTATCTTTCTGATGCTGTTTAAATGGAATTTTTTATTAATTTCTCTTTTAGATGGCTTGTGTCAG
GTGTATAGAAATAGAAGTATTGTTGCTTTTATTGAATATCTGAAACTTTGCTGCATTTATTAACCTTAGTAGGTTTTTTTTTTCTTTAAAGTTGTCTA
TATATCTGTCTGTGAATAGATAAATTTACTTCTGTATCTCCAATATGGATGCCTTCTTTCTTTTTCTTACCTAATGTGCTAGCTAGAATTTTTCAGTAT
AATGTATGATAGAAGTTGTTCAACTATCCTTGTCTTCTTCTGATCTTAGGGTATAGCTTTCAGTCTTCCACATTAAGCACAATGTTAGCTGTGGGGT
TTTCTTAGATGCCATTTAATATAATTAAGGAAGTGCCTGCTATTTCTAATGGTTGAGTATTTTTATTATAAATGGTGTAGATTTTATGACTTTATGTAC
TGCATAAATTGAGATTATCATGTGGTCTTTTCAATTCGATTAAATGTGGTATATTTTATGATTTTCATATGTTGATCCACCTTTATATTCTGGGGCAATCCCA
CTGTGTACACGGGTTTTTAGGGTCTCTAATTTCTTCACTTTTTCTTTCTCTCCCTGAGACTGAATAACGTTAACTGACCTATCTCAAGTTTACTA
TTTTTTCTCTGCTGTTCAAATCTGCTTGAACCTATAGAGTGAATTTTCTATTTACTTATTGAACCTTTTCAGCTCCAAAATTTCTCTTTGGCTACTTTGTA
TAATATCTATCTCTCATAGATATTCTCATTTGAAAGACATTTTCTCTGGTTTTCTTTACTTATTGTATTTTTTAAAGTCTTAAAGCATATTTGAGA

CAGTTGATTTAAGTATTTGTGACTAAGTCCATTGCCTAAGCTTTTGCATAGAGATTTATATTAATTTCTTTTTTTCTGTGAACAGGTCTTTTTTTTTTT
TTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTAGAAAACGGACATTTTGAGTAGTATAAACGTGGCTATTTTAGAAAATAATTTCTCCCTCCTTAGGTTTTGTTTCCACTT
GTTGCATGTTGCTGTTGTTGCTCATTAGTGACTTTTCTAAAGTATTTTGAAAAGTCTGTGTTCTTGATCATGTGGGTCCATTGAATCTGTATTCTGTAA
TTTCATAGTCAGCTAGTGTCTGAAAAGTTCCCTTAAGTGCATAGAGCCAATAAAAAGAAAAGAAAAGAACACAGAAAAGAAAAGGAAAAAGGAGGGA
AAGAGATTTAAAAAATAATGTCGGTTGGGCATGGTGGCTCATGCCGTGAATCCCAGCACTTTGGGAGGCCGAGGCAGGCAAATCACTTAAGGTTGACCAT
CCTGGCCAACACGGAGAAAACCTTGTCTCTACTGAAAATATAAAATTAGCCGGGCATGGTGGCACATGCCGTGAATCCCAGCTACTCGGGAGGCTGAGAGGTA
GGAGAATCACTTGAACCTCGGAGGTTGAGGTTGCAGTGAACAGTACACCACTGCATCCAGCCTGGGCAACAAGAATGAACTCCATCTCAAAAAAAA
ATAATAATAATAATGCCCTTGCCGATTGCTCTGTGTTGGGCCCTCATTCAATGCCTAGTCAGGCCATTACAACCTCTCTTAACTTCACTACCTGCTT
GTGACTGACTGAAGGCCACCTATAGGTGAAAGCTTAACATCATCTCAGATCTTTTTGGACCATGAATCCTACCCTGGGTATGCACATGATCTTCTTAATTT
CCCAGTAGATGCAAGAGTTTTAGTGTTTTAAAAGTCCTTATCCCTCATCTATCTTCTTTCTGACCTTTTTCACTGCTGCTTATTGTTTCACTGAACTGACA
TCCTTTGCCCAAGCGGCTGTGGCAAAAACCTTTACCTTTAAATGCTTTCACCACAAGCCACTTGGGAAGCTGCCCGAGCCTGGGACTGCTCTGACCCCTGA
TGAAACAAAGACAAGACCTTGTACAGCCAGGAGCCATAAGACAAGTCCATAACCCAAACCACAGTTCTTTCAGAATAAGGCTATATTGGATTCTCTGGCCC
TAGTAACCAGCATGAGTCTGGGCTTGCATCTTCATGGCCACTTGTCTAGTTTGTAGGGCTGCCATAACAAAATATGAGAGACTGAGTGGCTTAAACAAG
AGAAATTTATTTTTTACAATCTGAAGACCAGAAGTCCATTACTCTGAAATCTCTCTCTTGGCTTGCAGATACTGCCTTCTGCGGTGCTCACACAGC
CTTTTCTGTGTACACATCCCTGGTGTTTTTAAGCCTGTCCAAATTTTCTGTCTTCTGAGGACCAATCAGATTGGATTAGCGACCACCCATATGATC
ATTTTACCTTAAGTACCTCTTCAAAGGTATCAGAGTAGTATATTTGCTACAGTTGATGAACCTGCATACAACATCACTTGAAGTCTGCAGTTTACATTA
GAGTTCATCGTTAGTGTATATATTCTAGGTTTGTGTTTTGTTTGGAGACAGAACAGAGTCTTGTGTGTTACCCAGGCTGGAGCGCAGTGTACAATCTCAT
TGCTACCTCTGCTTCCAGATTAAGCAATTTCTACACCTCAGCCTCCTAAGTAGCTGGAACACAGGCGCACACCACCATGCCAGCTAATTTTCGTATTT
TTAGTGGAGATGGGTTTTACCATGTTGGCCAGGAGGCTTGAACCTTGGCTCAAGTATCTGCCCGCTCAGCCTCCCCAGTGTGGGATAACAGGC
ATGAGTCACCATGCCTGGCCTTATTCTATGGGTTTTGAAATGTATAATGACATGTATCCATCGTTGTAGTATTAGATAGAATAGCTTCATTACCCTAAAAGT
CTTCTTTGCACTGGGTTGAGTTTTAAAAGCTCTTTGATTATTTTATGACAGTTCCCTTATTAGATATATCTTTTGAAGTATTTTTATCAGTCTGTGGTTATC
TTGCTTTTTACAGAGCAGTAATTTTTAATTTAATAAAAATCCAATTTGCAATTACTTATCTCATATGACTCTGGTGTACATCTAAAATGTTACCACCATA
CTCAAGGTCACCTAGGTTTTCTCTAGGAATTTATGGTTTTGCATTTTACATTTGGTGTATGACCCATTTGAAGTTAATTTTTGTGAGGTTGAAGGCTGT
GCCTAGATTCATTTTTTTTTTTTTTGGCATGTTACTTCAATTCAGTATTCATAAGAAACATGTTCTGTAATCTTCTTTCTTATAGTATCTTAGTCTGCTTATGTT
TTGGCAATGCTGGCCTCAGTAAATAAATCAAAGTGTCCCTCCTCTCAATTTTGGAAAAGTTTGAAGAAAGTATTGTTAACTGTTTTCTAAATTT
TTGGTGAATTTACCAGTGAACCAACTGGTCTAGGCTTTTCTCCAGTAGGTGGTTTTGATTATGCTTCAATCTCTTACAAGTTACACATCTATACAGAC
TTTTATAATTCAGTCTGGTAGGTTGTGCGTATTAGGAATCTGACCACTTCATCTAAGTATCCAATTAGTTGGCATGCAATTTATCGTAGTCTCTGAAT
AATCATTTTTATTTCCACAAAATGGTAATATCCCAGTTCCATTTTTATTTCATTGAATCTTCTTTTTCTTAGCTAATCTAGCTAAATGTTTGCCAATT
TTGTTGATCTTTTGAAGAACCAACTTTGATTTAATAATTTTCTACTCTTTTTCTGTCTTTTATATTATTTTCCACACTAATCTTACTATTTTCT
TCCTTCTGTGGCCTTAAATTTTTTTTTTAAATTTTAAAGGTGAAAATTTAGGTTGAGAAAATTTTTAAATGAAAGCATTTAGAGCTATAAAATTTCTCT
TGGTGTCTCTTCACTACCTGCCATAAAATTTGATATGTTGAGTTTTGTTGTCTGGAGTATTTCTAATTTGTCTCTAATTTCTTCTGACCTATTG
GTTATTTAAATGATTTAATTTTTGCATATGTGGATTTCCAGTTTCCCTCTGTTATTGATTCTAGTTTTATTCCATTGTGATCACAGAAGATATTTG
TATAATCGCAGTCTATTAACATTTAATTAAGTCTTGTGGCCTAACAGAGGATCTATGTTGGAGAATGTTCCAAGTGCAATTGAGAATACTATTCTGGTGCTAT
TAGGTGAAGTATTCTCTATATGCTGTTAAGTCCAATTCATCTATAGTGTGACGTTTCCGTTCCTTACTGATTTTCTGACTTA
TTATTCTATCCATTAATAAAGTGGAGTGGTAAAGTCTCTATTATTGTAGAATCTCTGTTTTCAAGTCTATCAATATCTGTTTCATATATTTTGGAGCTC
TGTTTGTGCATATGTTTACAATGTTATATCTTCTTGGCAAATGACCACTTTCATCAACATAAAAATATAATTTCTTATTGTTCTTCAACAGTTTATTTT
TCTTTTACATAAAGCCTATTTTATCTGATCTTAGATCCCTCACACTCCACCCAGCACGCTTTTGGTTACATTTACATAATATATCTTTTCCATCCTTTC
ATTTTCAACCTGTTTGTGCTTTAGATCTAAAGTGAATGCTTACAGACAGCATAAGCTATGTCATTAATAAATCCATTCTGCTTATCTGCTTTTGGAC
TGGGGAGTTAATCCATTGCAATTAAGTAATCACTGATCATAAATACTTTCAGTATTTTGTGTTTTATGTATGCTTATAAATCTTTTGTCTTCTATT
TCCTCAATATTGCCCTTTGTGTTAGCTTATCTTTTTGTGTACACTTTGATCCCTTCTCATTCTTTTTATATTTTCTTTGTGGTTACCAGGAGGACAA
TGTATCAACTTTTAAAGTATTACAATTTTATTTTTTAAATCTCTCCATTCCGGGATTTTAGGAAGGTTAAATAATAATGAAAATGAGATACCTAGAACA
ATATAAGCATTCAGGAATTTAATACTCAATTCATCCCTCCTCCACCTCCACTCTTCTCTGTGAGATTATAGAAAAGATGACAAAAGGATGTTTTCTG
AGCCCTTAATGTTGAGAATGATCTTTGAGAAAAGAAAAAATGAAAGCACTAGGAATGTACAACAGCCTGGAAGTATAATTAAGTGTAATTAATAG
ATAAAGTTATAAGCAGAGGAAAGTATAGTAGAATCAGTATTTAAAAGAGAATCAATGTGAAAATATATAAATTTATGTAATAAATAAATCAACGACAAA
TCTGATATCCTTAGGATTTTTCTTTCTTTCATGTGATTTCTAATGTCTACATATGACACTAAACCATTGATCTGAGCTGTAAGAGAAAAGTGGAAATGTTCT
GTTATCTTTTGAAGATTTCTAGAACATTTTGCCTCAGACTTAAATGCCAAGTATTTCTCACTTATTGTTTACTGCTTTTGGATTACATATGATTGAT
TCTTTCTTATCTTATCCTTACAATGTAATTCAACTGATGCCAATTAAGTTCAATTCGCTACAAAACTCTACTCCTATGAGCTCCGCCCATCTAAT
TTACATATTGATGTCGCAATTCATCTTTGTACATAGTTTACATATTAACATGGATTTATACATTTTTATGTATTTGGTTTTTAAATCCTGTAGAAAATA
AAAAGTCAACACCAATATTAATAAATACTGGTTTTTATATTTGTCATGTGCTTACCTTTATCAGTGTCTTTACATCTTTATACGGGTTTGGATTACT
GTCTTGTGCTCTTGTGTTCAACCTAAAGAACTCCCTTTAGCATTTTTATAGGGCAGGTTAGTGGTAATGAACTCTCTGAGTTTTTATTTAGGGATGTCTT
AATTTCTAGCTCTGTTGAAGTAAATTTTTCTGGATATACAATTTCTGTGATTGATTTTTGTTCATTTCCCTCAGCTCTTTAAATACATTATCCCA

CTTCTCTGCCTTCCAAGGTTTCTATTAACAAAATTCAGCTTATAATCTTATTAAGATCTCATGTACATGAGTGGCTTCTCTTGTGTTTTCAAGATT
 CTGTGACTTTGGTTTCTGATAGTTAAATAATGTGTCTTATTGTGGGTCTCTTTGGATTATCCTAGAGTTTCTTGGTCTTCTACGTTGGTATATCCAT
 GTATTCAAGACATTTGAGTAGTTTTCAGCCATTATTTCTTCAAACAATCTCTCCTCTTTGGGACTTCCATTTTACCTATATGGTCTTTTGTGTTGTG
 GCACCAGTCCCCTAGACTTTGTTCACTTTTTCCAGTCTTTTATTTCTGCTTCTCAGACTCAACAGCTTCAAGTGTCTGTATTCAAGTCTGTGACTCTTT
 CTTCTCCAGCTCAAATCTGCTGTTGGATCCCCCTGTAAAATTTTTAATTCATTTTAGTGTTTTTCAAGTTAAGTATTTTTATTAGGTTCTTTTTATA
 ATTTCTTTTTGTGATATTCTCATTATTATTACATAAATTGTCTGATTTCATTAGTTTTTTCTTTGTTTTCTTTAGCTTTTGAAAATATTTAAGACA
 TTTTAAAAGTCTTTATCCAAGTTCAATTTCTATGGTCTGTAGAGATAATTTCTGCCAGTTTATGTTCTCTTTTCCATGGGCCATGTTTTCTGTTCTTT
 GTATACTTTCTAATTTTTGGTTGAAAAGTGGAGCATTGAAAATAGAGCCAACTTTCCAGTTTCTGCAGAGAGTCTTTATGCCACAGTATTCTGTTCACTGAT
 TAACTGGGTATATCTAAGCTTAGGGAGCAGCTGAGTCAAAAGTTAAGGTCTTCTCAGGTCTTTCTGAGTATACATGTTTCTATGCCTGTGTGAAATGTT
 CTCAATTTCCCTATATAAACAGTACTTCTCTTTTTTTTTTTTTTTTGGAGTGGAGTCTCGCTCTGTCAACCAGGCTGGAGTGCAGTCACTCAGCTCACT
 GCATCTCCACCTCCCAGGTTCAAACAATTTCTCTATACAGGTGTGTGCCACCACGCTGGCCAATTTTTGTATTTTTAGTAGAGACAGGGTTTCGCCGTGT
 TGGCCAGGCTGGTCTCAATCTCTGACCTCAGGAGGATTACAGGCTTGAGCCACAGTGTCCAGCCTAAACAGCTACTTTTGAATGCTTTAATTTCTGAATA
 GTCTCAACCAGTTTTTCTTGGTCTTAGGTGGTCCATTGTATGTCTCCACCATAGTTGCTTGGCCAGGCATCTGTGGGTCTGTGGTACCCTGCAGC
 TTTCACCACCTGTAGCTGCCACCTTTCCCTATCTGAGATCCAGGTTAGGTGAGAGAGATCATTCCTTACGCAGTCCCATGACAGGTTGGAACATTTCAAAT
 AAGGTCTGTTCTGCTCCTCTGGTTGAAGGGAGAAAATTGGGAACCGGTTCCACCTTCTACAAACCAAGATCTCATGTTGCCACGGGAGTGGCAGGGCAAG
 TGCAAGTGAAAATGCCATAACAATTTCTACCATTTTGAACGCGGGTTTTTCTCAATGGTCAATTTGCTTGGTTGCTGTAGGCCTTTCACTGTTTTCCAGAGC
 TCCATAAGATTACTTTAGCCAGTTTTTTGTCTTTCTCTGATGCTTCCCTGGCAGAGTAAGGGTTGGAACCTCCACCATTTTGTGATTACATAACTCTGTAG
 TCAGTTTTAAATATATTGATACTGAGTTGTTTTATGGCCAGAATATGGTCTGGTAAATGTTTACATATACTCAGAAAGAATGTGTATTCTGATGTTG
 TTACATGGGCTGTTCTATAAATGTTACTTAAAGTGGTTAATAATGTGCTCAAGTCTTCTATATTCTGTGATTTTTCTTTTATTTATTTATTTTTTTT
 TTATTATACTTTTAAAGTTCTAGGTACATGTGCACAACATGCAGGTTGTTATATATGTATACATGTGCCATGTTGGTGTGCTGCATCCATTAACTCATCAT
 TTACATTAGGTATATCTCCTAATGCTGTCCCTCCCTGCTCCCCACCCATGACAGGCCCCAGTGTGTGATGTTCCCTTTCTGTGTCCAAGCGTTCTCA
 TTGTTCAATTTCCACCTATGAGTGAGAACTTGGGTTGTTGTTTTTTGTCCTGTGATAGTTTGTCTGAGAATGATGGTTCCAGCTTCATCCATGTCCCTA
 CAAAGGACGTGAACCTCATCTTTTTTATGACTGCATAGTATCCATGGTGTATATGTGTACATTTTCTTAATCCAGTCTATCATTGATGGACATTTGGGTT
 GGTTCCAAGTCTTTGCTATTGTGAACAGTGTGCAATGAACATACGTGTGCATGTGTCTTTATAGCAGCATGATTATAATCTTTGAGTATATACTCAGTA
 ATGGGATGGGTGGTCAAATGGTATTCTAGTTCTAGATCTTGAGGAATCACACACTGTCTCCACAATGGTTGAACAGTATTACAGTCCCACCAACAGTG
 TAAAAGTGTCTCTATTTCTTACATCCTCTCCAGCACCTGTGTTTCTGACTTTTTAATGATCGCCATTCTAACTGGTGTGAGATGGGATCTCATTTGGGT
 TTTGATCTGCATTTTCTGATGGCCAGTGTATGATGAGCATTTTTTCATGTGTCTTTGGTGCATAAAATGCTTCTTTTGAAGTGTCTGTTCATATCCTTT
 GCCACTTTTTGATGGGGTGTTTTTGTCTTGTATATTTGTTGAGTCTTTGTAGATTCTGGATATTAGCCCTTTGTGATGAGGAGATTGCAAAAATTT
 TCTCCACTTCTGTAGGTTGGCTTTCCTCTGATGGTAGTTCTTTTGTGTGCAGAAGCTTTTAGTTAATGAGACCCATTTGTCAATTTTGGCTTTTG
 TTGCCATTGCTTTTGGTGTTTTAGACATGAAGTCCCGCCATGCCTATGCTCTGAATGGTATTGCCTAGGTTTTCTTCTAGGTTTTTTATGGTTTTAGGT
 CTAACATTTAAGTCTTAAATCCATCTGAATTAATTTTTGTATAAGGTGTAAGGAAGGGATCCAGTTTTCAGCTTTTACATATGGCTAGCCAGTTTTCCAG
 CACATTTATTAATAGGAATCCTTTCCCCATTTCTGTTTTGTCTAGGTTGTCAAAGATCAGATGGTTGTAGATGTGGTATTATTTCTGAGGGCTCT
 GTTCTGTTCCATTTGTTTATATCTGTTTTGGTACCAGTACCATGCTGTTTTGGTTACTGTAGCCTCGTAGTATAGTTTGAAGTCAGGTAGTATGATGCCTC
 AGATTTGTCTTTTGGCTTAGGATTGTCTTGCAATACAGGCTCTTTTTGGTTCCATATGAATTTTAAAGTAGTTTTTCCAATTTCTGTGAAGGAAGTCAT
 TGGAACCTAATGGGATGGCATTGAATCTATAAATTACCTTGGGCAGTATGGCCATTTTTCAGATACTGATTCTTCTATCCATGAGCACGGAATGTTCTT
 CCATTTGTTTGTCTCTTCTATTTCTGTTGAGCAGTGGTTGTATTCTGCTTGAAGAGGTCCTTACAGTCCCTTGTAAAGTTGGATTCTAGGTTATTTGT
 TCTCTTGTACGCAACTGTGAATGGGAGTTCATCTCATGATTGGCTCTCTGTTAGTCTGTTACTGGTGTATAAGAATGCTGTGATTTTTGCACATTGATTTT
 GTATCCTGAGACTTTGCTGAAGTTGCTTATCAGCTTAAAGGAGATTTTGGGCTGAGACGATGGGTTTTCTAAATATAACAATCATGTATCTGCAACAGGGA
 CAATTTGACTTCCCTTTTCCCTAATGAATACCCTTATTTCTTCTCTGCTGATTTGCCCTGGCCAGAACTTCCAACACTATGTTGAATAGGAGCGGTGA
 GAGAGGCATTCTGTCTTGTGCCAGTTTTCAAAGGAATGCTTCCAGTTTTTGGCCATTAGTATGACATTGGCTGTGGGTTTGTATAAATAGTCTTAT
 TATTTGAGATATGTTCCATCAATACCTAATTTATGAGAGTTTTTAGCATGAAGGGCTGCTGAATTTTGTGCAAGGCCTTTTCTGCATCTATTGAGATAAA
 CATATGGTTTTTGTCTTTGGTCTGTTTATATGATGGATTATGTTTATTGATTGTGTATGTTGAACCAGCCTTGAACCCAGGGATGAAGCCACTTGATC
 ATGGTGGATAAGCTTTTTGATGTGCTGCTGGATTGAGTTTCCAGTATTTTACTGAGGATTTTGCATCAATGTTTATCAGGAAAATTGGTCTAAAATTTCTC
 TTTTTTGTGTGCTCTGCCAGGCTTTGGTATCAGGATGATGTGGCTCATAAAATGAGTTAGGGAGGATTCTCTCTTTTTCTATTTACTGTACATTTA
 TTCCACCAGTGACTAAAACAGGTGTATCAATAAAATCTGTTCCCTCAGGTTTTGCTTCCAGTATTTTGGGGTCTGTTATCAGGTGCATAAACAAGATTGTT
 ATGCTCTATTTCTAAATTAATCTCTTATAATTATGAAGTTAATTTTTTTTTTCTTGGAGATGCAGTTTTGCTCTGTGCCCCAGGCTGGAGTGCAGTGGCACA
 ATCTCGGCTCAGTGAACCTCTGCCTCTGGGTTCAAGCATTTCTTTGCTCAGCCTCCCGAGTAGCTGGGGTTACAGGTACCTGCCACCACGCCCCGGCTAA
 TTTTTTGTATTTTGTAGAGATGGGGTTTACCATCTTGGCCAAGCTGGTCTTGAACCTCTGAACCTCTGATCCACCACCTTGGCTCCCAAGGTGTG
 GGATTACAGGTGTGAGCCACTGCGCTGGACCTGGCCCCAAGTAAACTTCTTACCCTTGCTAATGATCTTTGCTCTGAAGCATGCTTTGCTGGTATTAATA
 TAGTCAATCTTCTTCTTTGATTATGTTTGCAGGATATATCTGTTCCATTTCTTTACTTTTAACTATTGCTTTATATTTAAAGTGCATTTCTTGTAA
 GTATAATGGTTTTCTTAAAATCCAATATCTGCCTTTAAAATGTCATTTTTATATGATTGCATAAATATGATTATTATTACAGCTAAATGAAAATCTGTCA

TCTTGCTATTTGGTTTCTATTTATCCATTTTTTCCCTCTTTTTTGGCTTTCCTTGAGATTGAACATTGTATTAGTTTTCTAGGGTTGCTGTAAGAAAGT
 GACATAAAGTGGATGGCTTAAAAACAACAGAAATTTATTGTTTCAGTTTGGAGGCTAGTCATCTGAAACCAAGGTGTCATCAGGGCCGATTCTCTCTGAAAC
 CTGTAGGGAAGAATTCTTTCCTGCCTGTTCTAGCTTCTAGCATTTCAGCAATTCTTGGCATTCTTTGCTTGTAGATGTATCCCTCCAATCTCTGCCTCT
 ATCATAACATAGCCATCTTCCCTTTATCTGTCTATTCTTCTCATCTTATAAGAACATTAATTACTGAATTGGGGCCAGCATAGATTAGGCCTAATCTCA
 TCTTGAATAGGTTACATCTGCCAAAGATTCTTCTCCAAATAAGATCACTTTTACAGCTTTTACAGGTTACTGAGAGTTAGAACCTCAATATATCCTTTGGTG
 GGGACCGACCTCTTACCCATAAAAAGTATTTTATATGATTCCATTTTATCTCCTTTTTAGGTTATTAACACTACAATTTTTTTTTCTTTTTTTTGGAGTGGAGT
 TTTGCTCTTGTAGCCAGGCTGGAGCGGATTTGGCTCACTGAAACCTCTGCCTCCCGGTTCAAGTGATTGTCTGCCTCAGCCTCTGAGTAGCTGGGA
 TTACAGGCATGTGCCACCGTGCCTGGCCAATTTTTGTATTTTTAGTAGAAAACAGGGTTTACCATGTTGGCTAGGGTGGGCTCAAAATCTCGACCTTAGGT
 GATCCACCCACCTCGGCCTCCCAAAGTGTGGGATTACAGGCGAGAGCCACCACGCTGGCTTTATAATTTTTTTTAAATTCAGTGGATGTTTTAGGGTTA
 TAGTATACATCTTTATCAGACTAGCTCCAAGTGATATATCCCTTTATGTATAGTACATGACCCTTACAGTAGTGCAATTTCCATTTTTCTCTCTGGCATT
 TAGGCTATTGCACACACATACACTCAATTCATCCCTTTGTGTAGATCCGATTTCAGCTGCTATCTTTGCTTCTGTCTGAAATATATGTATGATTTCTTT
 TATGACTATTTTGGAAAATTTGGTTATGTGCATTTGTCTATTTTTCTTATGTACTTTTAGCTCATCAATCTTAAGTCTGTGAGTTTATAGTTTTTAAAAACA
 AATTTGAAATATTGGCTATTATTTCTCAAAATTTTTTTCTGCCGCCCCGTCTTCCCTTTCCCTTAGGGATCTCTGATTCCACCTATATTAATCTGTAT
 TGAAGTGTTCACGCTCTTTTTGAAAACTCTGAAAAATCTTTTATCATTTGGATAATCTGTATTTGTACATCTTCAAGTACATTAATATTTCTTTTGCA
 ATGTTAATCTGCTGTTAATCCCATGTAGTGGATTCTCATCTCAGGATTGCTGTTTTAATCTCTAGAAATCCATTGAAGTCTTACTTGATGAAAAAGGC
 AGATAAAAAACAAATGTTGGCAAAGATATGGAGAAAACAGAAATCTGCACACACTGATGATGGGAATGTAATAATGGTCAAGGCAATTTGGAAAGCAGTCTGGCA
 GTTCTCAAAAGGCTAAACGTAGTTCATATGACAGCAATCATCTAGGTATATACTCCAGAGAAAATAAAAACATATCCACACCAGAATCTGAACATT
 AATTTTCATAGCAACATTATCTAGGGGTTAAAAATTTTTACATTATTTTTATTTAAAAATAGAGACAGGGTCTACTACGTTGCATAGGCTGGTCTGGAA
 CTCTGGAATTAAGCATCTCTCTGCCTTTGTCTGTTTTCTCCACTGGAAAAGAATAAAAATTTGTACTTGGACTAACAACCTCCCGATTCCCTCTTTA
 CCAACATGCCCCACAGCCTTAGTAACCTACTCTACTTTTATGAATCAACTTTTTAAGATTCCACATATAAGTGAGATCATACAATATTTGTCTTTCT
 GTGCCGCTTATTTCTTAGCATAATGTCTCCAGATTACATACATGTTGTCTTAAATGACAGGATTTACCTTCTTTAAAGGCTGACTAGTACTTCATTG
 TGTATATGTATCACATTTCTTTATCCACTTATCTGTTGATGGGCACTAAAATGTTTCAATGTCTTGGCTACTGTAAGTAATGCTTCAATAAACATGGGAA
 TGAAGATATCCCTCAACATATTGATTTCTGTTCTTTTGGATAAATACTCAGAAGTGAGATTACTGGATCATATGGTGGTCTATTTTTTTCAGAAAACCTCCA
 TACTGTTTTTCATAGCGGCTGTACTAATTTACATCCCACTAACAATGCATGAGTTCATTTCTGGACATCTCCCCAACACTTGTATCTTTTATCTTTTT
 TCATAAAAAGCCATTATATAATAGGTGTGAAGTGACATCTCACTGTGGTTTTGATTTGCATTACTCTAATAATAGTGTGAGCATTTTTTTTTTTTCATGTAC
 CGAATGTCTTTTGGAAAAGGCTCTTTCATTCCTTTGCCATTTTTAAAAATCAGGTGGTTTTCTTGCTCTGAGTTGTTGAGTTCCTTATGATTTTTAGATAT
 TTACCATTTCAGATATATCAATTTATATTTTTTCTATTTCTTTGAGTTCCTTCTCACTGTGTTGTTCCATTGTGCTGTCAGGCTTTTTATTTGATGCCA
 CCCCATTGTCTATTTTTGCCATGCTTTTGCAGTATATCCAAAAAATCATCCCAAGACCAATGCTGTGGAGATTTCCCCCTATGTTTTCTTTCAGTAGGT
 GTACAGTTTTAGGCTTATATGTTAAGTTTTAAATCTATTTTTTATATGGTGTAAATAAGGGTCTAATTTAATCTTTTGCATGTGGATATCCAGTTTTCC
 CAACACCATTATTTGAAGACCCTGTCTTTTATACTTTTTCAGTATGCAGATCTTTTACCTCCTTAAATTTACACCTCAGTATTTAATATTTGTTGCTATTAT
 GAGATTTTCATAATTTCTTTTCAGATAGCTCATTAAATAGTAGATGAAAACACTACTGATTTCTGTAAGATGATTTGTATTACGGAACCTTACTGAGTTG
 TGTATCAGTTCTACCAGGTTTTAGTTTTGTTCTGGTGGAGACATTACAGTTTTTGTATATGGTTATGTCATCAGTAATTACAGATGATTTAACCTATTCCT
 TTCCTATTAGGATGCCTTTTTTTCTTTCTTGTCCAAGTCTGCTGGTTAGGACTTCTAGTACTATGTCAAAAAGTGATGAGGGTCGTACATGGCCTCCAT
 ACCTAATCTGTTGAGAGTTTTTACCATGAAACCAGGTTGAATTTTGTCAAAATGCTTTTTCTGCATCCATTGAGATGATCATATGATTTGATTTACACCCTCC
 ATTTTTGTTATGTGGTATATCACACTTTTTGATGTGCATATGTTGAACCACCCTTGCATCCTAAGGATAAATCCCACTTTCATCATGGTGAATCATTCTTTGTA
 TTCGTGAATCCAGTTTGTAAATATATTTGTTGAGGATTTTTGCATCCATGTTTCATCAGGGATATTACTTTGTAAGTTTCTGTCTTAAAGTGTCTTTCTCTGG
 CTTAATAACAGTGTAACTACCCTTGTAAAATGAATTTAGAAGTATTCCTCTGCTTCATTTGTTTTGGAAAAGTTGAGAATTTTTATTAGTCTTTAAA
 TGTCTGGTAAAAATCAGTAGTGAAGCTGCCTAATCTGGCTTTCCCTTTGGTGGGATACTTTTTATTACTGGCTCAATCTCTTTCTTGTATTGGCTTATT
 CAGATTTGTTTCTCATGATTTACTCTTTGTAGGTTGTATATGTCTAGGAATTTATTCATTTCTTTAGGTCATCCAATTTGATGGTGCATAACTTCATAGTA
 GTTCTTATAATCCTTTGTATTTTGGTGATATCAGTAGTAAATGTCTCTCTTTCATTTCTGATCTTATTTGAGTACTCTTTTTTTCTCTAGTCTAGGTAA
 GAATTTGTTGATTTTATCTTTCAAAAAAACCCTTCTAGCAACTCTTAGTTTTGTTCATTTTTTTCCAGTCTTTATTTCAACTGTGATCTTTGT
 TACTTACTCTTTATGCTAACTTTCCGGCTTAGTCTGTTCTTTTCTAGTTCCTTTAGGTGAAAAGTGAGATTGTGATCCTTCTTCTTTATTTGGCGTAGGTT
 TGTATCGCTATAAATTTCCATTAGGACTGATTTTGTGCATCACATAAGTTTTGTTTCCATTTTCATTTGTCTCAAGGTAATTTTTTATTTACTTTTTGACT
 TCTTCTGTGAACTATTAGTTGTTGGGAGCATATTGTTTAAATTTCCACATATGTGCTGATTTTCCACCAGAATGATTTCTGTTCTTGTATTCTAGTTTCCAC
 GCCATTGTAATCAGAAAAGGATTTGATATGATTTCTGTCCACTTAACTTAAAGATTAGTTTTTGGGACTAACATATATCCTGGAGAATGTTCCATGGGCAT
 TTGAGAACAAAATGATTTTGTGCTTCTGGATGGAATGTTTCATATATGCCTGTTAAGTCCGTTTGGTCTAAAGTGAATTTGAAATCCATTGTTTCTTTAT
 TGATTTTCTGTCTAGGTGATCAATCTGCCATGGTGAAGTAGAGTATTGAGGTCCCGTATTATAGTATTGCAGCCTATCTCCCTTTCACATCATTTAAA
 AATTGCTTTATGATTTAGGTGGTCAATGTTGGTGCATATACTTTTACAATGTTATGTCTTCTGGTGAATTAATCCCTTTATCATTATATAACAACACT
 TCTTTCTTTTATAGTATTGACTTAAAGTCTATTTTGTCTGATAGAAGTATAGCTACCCCTGCTCTCAATTTCCATTTATATAGAATATCTTTTTCCATCCC
 TTCCTTTACAGTCTATGTGATGTTTATGATAGAAAAGTGAATCTCTTGGCGGCGCAGTGGCTCACCTGTAATCCAGCACCTTTGGGAGGCCAAGGCGGG
 GGATCACAGAGGTTGGGAGTTAGAGACCAGCTGACCAACATGGAGAAAACCTGTCTCTATTTAAAAATACAAAATTAGCCAGGCGTGGTTGTGGCCCTGT

TAATCCCAGCTACTCGAGAGGCTGAGGCAGGAGAATTGCTTAAACCCGGGAGGTGGAGGTTGCGGTGAGCTGAGATCATGCCATTGCACTCCAGCCTTGACA
ATAGCAAACTCCGTCTCAAAAAAGAAAAAGAAAAAGAAAAAGTGAAGTCTCTTATAGGCAGTATGTGGTTGTGACTTAAAAAATCCATT
CTGTCATTCTATGCTTTTTGTGGAGAATCTAATCCGTTTACATTCAGGTAAGTACTATTGGTAAGAACTGCTAGTGTCAATTTGTAATTTGTTTTCTGATT
GTTTTGTAGGTCCCTTGTCTTTTTTCCCTATTGCTACCTTCCCTTGTGGTTGGTGGTTTTCTGTGGTGGTGTGCTTTGAATCCCTTTCTTTTATAGTATA
TGCGATTACCATTGATTTGCTGTAAGGCTAACTTAAACATTTTATCCTTAGGCTACTTTAAGCGATAAAAACTTGCCTTTAGTTGCATACAAAACTCTA
CGCTTTCACAACCCCGCCTTTCGTGATTTGATGTCAGGTTTACACTTTTTTAAATTTGTATCTCTTATTGTAGCTACAGTTACAATTACTTCTTGTA
GCTACAACCTATTGTAGCTACAGTTGTTTTAATAGTTTCATCTTTAAACCTCTAATAGGAATAACATTGCTTTACCTGCCACCTTTACAATACTAGAGA
ATTCTGACTATGAATTACTTATACCATTAGTTTTTACTTTTTATGTTTCTCATTAAGTACAGTCTTTTATTTAAGCCTAAAGAACTCCCTTTTAGTAATT
CCAGTAGAGCAGGCTAGTAGTACAACTCCCTTAGGCATTGTTTATCTGAAAAGTGTATTCTCCCTTTGCCAAGTAAAGTATTCTTAATTAACAGC
TTTGTTCCTTCAGCACTTTGAATATAACCATCCACTCTACTGGCCTGTAAGGCTTTTGTGATAAAAGCCACTGAATCTGTATTGGGGTACCTTGAATG
TGATGTTCTTATCTTTGCTGCTTTCAGTATCTTTGTCTTTGATTTTTGTAACTTGGTTGTGATGTGCTTGGTGAAGTCTTTAGTTGAATCTGATCGG
TGACCTCAGCTTCTGTCTGAAATTTGTCATCTTTCTCAGATTTGGGAATTTTTCAGCTATTACTTCTTAAATATGCTTTCTAGGCCTTTTTCTTTCT
TTTCTCCTTAAAGACCTCTATTATGCAAAAAGTTAGCTAGCTTGATGTGCTCGTAATCTTATAGGCATTCTTTTTTGTTTTTGTTTCTCATTGGATAATT
TCAAATGCTTACCTTTGAGCTCATTGATTCTTCTGCTTGATCAAGTCTGCTGTGAAGCGTTTACTTAGATTTCAGTTCAAGTACTGTATTCTTTATCT
TTAGAATTTCTATGTTTTGTTTATATTGTTAACTTCTCATTCTGTTTCAGATGTGTTTTCCAAATTCATTTTTCTATCCATTTTTCTTGTACTTTG
TTGAACCTAAGAGGATTAGTCTAAATATTGTCATTTACAGGCTCCACTTCTTCTGAGTCTGTTACTGGAGCTTTCATATCCAATGTACACAGAACT
TTGCTAATCCACAGTAAATGTTAGAAATGGGTTTTTATTGATAAAAATCAGTGGCTTGTAAATAGTATGTTAGAAGCTGGCTGCATTGGTGAAGTTGAGG
GTATTGATATACGTATCCCGGCTAAATACTTCTAAAGAACCTTCCAGCTTTGCAAGAATAGAGTATAGGAATCTGAGGAGGCTTTAACATGGCCCTCA
GAAAGGACACACAGGCTTGACCTTAAACATATAAAACATATACAGAAACGAGGTCAGAACATGTTTTGACTGATGCCAGTAGTAAACAGCAGAGCCTATT
GCTGGTCACTGTTACCAATACCTTGTGTAATAAACCTTTCAATTTAAATTGAGAGGTTGTAAGCCCGAAAAAGCAAAGGGCTTACAGTACCTTTCCTGAA
CACTCCTGTGTGCTTTCTAAGAAATGCTTTTAAATAATGCCTGTGGCACAATTTGATTTGACTGGCTCTCTTTATAAGCTGCTATCAAGTTGTGGG
GAATAGCTAACTCTTACCACCTTCCCTGACAAATAGGAACCCGTAGTTACCTACCAAAAGTATGTAAAAGCTATATCCGACCCAAAGGCCAGTTAGGTCAA
AACACCTTGAAGGAGCTCAGTTAAGGAAATCAGTGGTGTACAGTGGCCACTAGCGTGTAAAAGTTTCATAGTTGACTATCGGATGTGCTTAGTTTC
ACAGCTGAGTCTTACCTGTGATACTTTTAGAGCAAAAGTCAAATCAAAGATGATTTAAAAAACATTTCAAAGATTCATAAAGAATAAATGCCTCCTCAGG
AAGTCTTCTGGAGTCTGCCACTTCCCTTAGTGGCTCTTTACTGTGCCATCTCATAGCTGTCTCCTTCCACTTGGTGTATTGCAGAGTAAAGCTCACT
GTTTACAGGGTGGTAGAAAGTGTGGTCTTTCCAGACTCCTTTTTCCCTTCTCTTCTCATTTTTTCAGAAGATGTGTTGATAATAAACGAAACAAAATG
ACTAACACATTGAGCTGAGCTACATAAGCAGATGTCAGTTTACGTTGAGAGTTTAAAGATCTATGCATTATCTGGGACTCCTCCCCAGACCTGAAGGA
TCAGGTGCTGCCTTCTATGCCACCTGTGCAGACAGCAAAAGAGGAAAACCATACCCACGTTCAAGTATGAACAAAGGGGACATTGAACTCTGTGTGGACCC
TCATTGGAAGGTGTTCTTCTCTGCTGCATCCACAAAGAGCACTCCTTAGCCTTGCCTTTTGTGAGTCTCTTCCAATAAGGCTTGCAGAGACAACC
CAGTGCAGTTCAGAGAGACTGAAAGTCTGGTGTCCAGGCTGAGTCTAGCTCTGTGTAACCTTTGGGATGTCCCAAGTAACTTTTACAACCTT
GATAGGTGTTAACTTGAATTTGGATACAGGTGACTCTTAGCCATCCCTCTCTGTGCTTCAAGATATGCATCACTTGGCCATATGACCTCTGGACACCT
TTCCTACTTTCCACAATTCAGAGCAGCAGAGCAGACTGGAGCTCCTGCTGCCTCTGAGCTTCAGTGAATATCACTCGTTGGAGGGAAGCTTCAAGCATT
TGTTATCTTTCAAGAGCAAAACAGTGTCTGTGACAGAAATATGTAGCAGATGCTAGTGAACAGCAGTGAATAGGGTTGAATGCTGGATTTAAATATGGAG
CTTAGGCTGTGAAGGAGCCTGAAGAACCTAGAGCCCATGAAGCTGCCTCTGTGAGATCTGACACCATTTCCCACTGATGACCCATGGGTCTAATGGGTA
GCACTGATCCACATACAGTATGTGAGTGAATACAGTGAAGCAAAGAGAATAAATGATGGCTAACATGATGTTCCAACTTTAAACAGGAGAAAAACAC
ACAATTCATTATGTATAAGAACCACACAGAGATCAGGAGAATAACCTCATTTGAGAATGAATGACCTGTGTGGGAATTTAGGGTAGAGTTGAGATTGAA
AAAATGGCCGAAGTCAGGTGGCAAGGGCTTAACTTGTATACAAGATGTGTAGTCAAGGAAGACCATGCCTTACTTATGCATCAATTCCTTGGGCC
TACAAAGAGCTGCCTAGCCTGGGACTGTTGTAGAGAAAAGCTACAGTGTCCAATGACACAGGACTCCTCCATGTATGTATGAGTGGCAGCTGGCTCTGT
AATAAATCTTATTTTTATTTATTAACCTTTCTTGGCATTGGCTTGATGCATCAGTTGGAAGTCAAGAGCCAAACGAAGTGAACACTGAGCCAAAGGAAGTT
CTCAGCCTTTAGGGAGGCAGAATCACTTTAAACACAATAAACAATGAACTCACATTATACAGGAGAGAGTCAAGATCCCACTGGCTGGTGTATCGGG
CCATATTTGCCCGAAGTGCCTATTCTTATAGGAACCCACTCCAGGGTTGATGGGTACATCCTTAGGAGGCTTTATGCCTATGTTCTCTGACCCTGGC
TCCTCCAGGCTGGCCTTTTTTAGTCTCTGTAGAGGTTCTGTAGCTGGTTGGATATAGGCTTTCACAGAAGGGTCAAGTGCCTTGGGTCTGTTACAGGA
CTGTTAATCTTGCTTTGTTAAGAGTAATGTTATTTCCCATTTCCAAATTTCCAGGGAGATGGAATGTCAAAGATAGTATGACTGTAGCACCTAAATCCTG
GGTCCAGAAGCAGAGAAGAAATACACTGAAGCTGTAGAAAGGCTATTAGTCCATGTGACAGATTAACCTGGATGCGAGGACCATTTCTGGGATGGTGTAT
ACAGAAGTGGAGAACTGGATAGGGAGTCAAGAAACAAAGAGCTGAAGATGATGCCTTTGAAGTTTCCAACGTGGATAACTAGGTCAACAGAATATTACTCAAG
AAAGTATTAACATAGGATTGAGATGCAGTCAAGTGAATGAAATTTCAAAGTATATACCTCATGGATCTCAGGGGGTGTGAGCTGATCACTGGG
CTAACACTCCTATGACCTGGGAAAAATCAAATGACCTGGTACTGTAGCCATGGTAGGGGTGTCATACCTTAAATCCAACCTGGGACAGTGTGTTGATATT
CATCTGGAACCTGGTGCAGACCCACATTTTGTGGGTTTACCACAACCAAGGCTTTTTGATTCTTTCTCTTTTAAACATCAGTACATCACTGCAAGGTTA
ATCCTCATATAATAGGAGATGAACTAATGCTTATAAAAAAGATTTTTACAACACTAAAATGTTCAAGCATATGGGCATATTTATAGTTGCAGGCAGT
GTTTCAGATGCAGACTGTTCTGGCTGCAGTGGTTGTTACAGGCAGCATCTGTTCTGATTTAAATTTTGTGATTTATCCCGAATTTTTAAAGCATAGTA
CTGGGCTCTGCTGACTGTACAACAACTGGCATTTTGACCTATAGGCACTGGGCTAGGAGATACAGTTCTGAGGGAAGTAAAGATAGTTAAACACTGCA

CAACTGACCCTTTATTAGTTGCAATAAAGCAATCCAACCACCAACCCACTGTGATGGCTTTCCTACTATTTAAGGTTGGTGGTGCAAGAGACACCCTCC
TGTACAGTGTGCAGTGAATCAACATCATTTCCACAAAACCTCCTTCCTGCACAAAGGAATATCATACTTTGTTACGAAGTAAAAATTTCTGTATCAGTCA
CAGGAGTTCACCAGTTAAGATACTGTTAGTTGAAGACTTCTGGGGTGACTTAATGAAATAGCTCAGCCATCTGGTTTAAAACTGGATTCTTCTATCCCTCC
ACACAGCTGTCCATGCACCTGCATCATCTCAAGGCTGGTCTCCCTGGTGGTAGAAAGGCTGACAGTAAAACTGGAGCCACATGATTCTTGTCTTAGGCAGT
GTTTCTTCATACTCTCACATGAGAGCAGGCATGTTCTTTCCCTAGGCTCACAGTAAACACTCTGTCAAATCTCACAGGCCAAAAGTCTTTTGGTTATCCCC
ATTCCAAGCCAATCTGTGGCATGGAAGATAGCATTACCTGACTGCCTTAGACTAATATACTACTCCACTTCTGGGGCTGGGAATAATTTTGGAGTCAACC
ATCCAAACTGCATGACAGCCATTCCATGGAAGAGGTATGGCCTAAATCTTTGGGGCAACCTGAATTCATGAAAACCTCTTAGATTATGTAACATTTTTTA
GAATTCACTCTGTATCATTTAATTTTACTAATAAAAAATACCACCTTTACCCTAAATGTCAGCCAAGCGTAAGGCTCCGTTGGGACAGAAGGAACATACAAA
GCTTTGTGTTTTTATACATTAGCAGCATTGACAAAAGAAATACTGTAAGGAAGGAGAATAACCAGGCAGAGTCTAGATGCATGGAAAAGAAGTCTTTGAG
AAGGCTTCGACAGGCTGAAGGAAAGGGCAGGACTACTTCAGGAATACAACGTTAAGTAAAAGAGGTTGGGGTCTGTGATCTTGAGGAGAGATGAGGATGGA
CTGAAAATAGGAGTGAGATATAGTAGGAGAGGAAAGGATATGGATGATGATATATACTGTATGGGTAACCATCAGTCGACCCTAAGAAGATAATAGTTGTTA
AATGGTTAGCTATTTAATGAAAGAACTGAAACAAGTAATAATCTTGAGTTGCAAAGTGGCTGGAGTCACACAACAGACTAAATTTCTGGTAGAACAAATCC
AGCAGCTTATGTGAAGGTTACCATGTCTGAAGCTGGATAGAAAAGGCTAACTTCCAACCAAAGTCACAGTCTTGAGCTCGGTACACAGAGACAGACTGCT
AACAGCTGATGTCTCAGCGAGAGTGTCTCATTTATATCCTCGTCTCTCTGCCTCCTTTTTTGTTTTAAACTTTTGGGAAGTCTCATCATTCAATA
CAGTTCTAATATATCACAATAACAGAGGCGGCCAATTTCTACAAATGACTAATTCTATCCCTGAAAAGTTCATACAATAAACTATACAAAGCATCATTT
TCAACCATCTATAGAAAATTTCCCTATTAATTTTAACTCTAAATCCTCTATCTGTTAATAACCTTACTAAAACTTCCCCATCACTGCCTGCCAGGG
AGATCAAAAAGAAACCAATTTAAGAAACCTCCAACACCTGTACCTGACTGAAAAGCAAACATACAGACCTTTCAGTCTGCCCTACTATTTCAGCTCCTATC
ACAGAGACATGGTGGATGTCCCTTGGGAAGCGGATAGCTCTTAGTGGAAGCTAGGCTGCAATAAGCAGGCCAGGAAACATGTCTCCAGGCCCATACT
CTTGGCAGAAGCACTTGGCCACCAGACAGCATGTCTGTCAACCTACAGAGTCTTAAAAACAACACTGGGACCCAGAATAGTACCCTGTGGTCATAGTGC
CCACAGTTCATAAGCACCTCACAGTCTTTGACAGAACACTGACTGCCAGGTCACCTGGTGGCAGAGAAATGGAAGATTCCAGGCCCACTAGCATCT
CAGGGAAGAACACAAGCAGAGCAACTTTACAGAGCTGGTCGGCCAGCGTTGGCACCCAGGGAAGCAAGTCTATTCCATATTTGGAGAGAACATAAACTCA
AGGAAACAGAGAAGTCTACTCAATACCGTCTCAACTGAAAACAAGAGAACCTGCAAAAAAGAAACCCAGTTTTCTGGAGTCCATGGAGAAAATATGAAGCC
AATGCTCGGTAACAGAGCAGAAAGCCTTTTATAAATAATGCCAGTCAAAGCTCAAAGGTCAGAGCTGATGCATGCCGATTGTTCTGACAATTTCTTAGG
TTTCTAGGCAACAAGGAGCTGGTCAACAGCTCACCTCCAAGGACATACTTTATAATACCACCTGGTAGACGAGAGCGAGGCAGTGAAGGCAATAGTC
AAGAACAGGAGAGGGAGGTAAAGAACAAGATGCTCTCAGACAGTCTGGACAAAAGACAGTCCCTACCAGCTCTCAGGAGTTGCCCTCTAAGAAGGTGGAG
GCCAGGCAGCTCCAGGGTGACCCTAAAGACAGACTCCAAGGAAAAGGGTGTGAGGGCAATGGTGAATATAAGGAGTCCCTTTTCAGTAGGCAGAGCAAG
TCAGTTCAGGTCTTATTTTAGAGTCTCTGAACAGTGAAGAGAAGCTTTCTGTGGACAGCATCCACCACCATGGGAGGGGAAAGGTGCCATGAGAGACTTC
TCCAGTGGGCATACAAGCATTGTGCAGTGATCCCCAAGATCCAGCCACTGGCAGGAAATCGAAAGGCAAGCTTCTTAAATACATAGTATATGGAGACAGAA
GTGTGGAGCACTCCAAAATGAAAGGCCAAGACCCAGGAACAACCTCCACAACCTGGAGTATATACAAATGAACCCAGCCCTGCTGACTCAGATCCACCA
TCCTAAAGCAGGGGTTTCTCATGAATGAAAGGGC

TAAGTATTTGGTGGAGAGAATGAGAAGTCTCCACTGCCACACATTTTTTCTCAGAGATTTCTTTTCCAAGAGCCCTTGAATAAAGGAAGGGAGGAGC
ACTGAATGCCCCAGAAAATCAGAAATGCATGGTGCAGGGAAGACGACAGGAAATAGTTCTCAAAGAGATCAGAAAATAAATGGAAGCAATTTCAATACCACAAA
GAACAGACATTTTTTCTAAGGCACCCCTCCCTTTCCACCAATGTCAATTCAGCAACTACTGAATACTTACCAATGAAAACGTTACCCCTGACCTCAAGG
CTGCTCCTGAGCTCTGGTAGAAAATGCTTTCCTTGCTATAAAAACATGGCAAGCAAGGCAGGATTTAACAGTAAGGGCACAGTAGCACTGCAAGCCTTCAAAA
TGAAAACCTGGAGACAAGCAGTGAAGACAGGAAAGCAAAAGCAGGCAGTGAAGCTAGGACCAGGCATCTGAACTTTCCACACAGGTTGGATCTCCATGC
CAGACAACAGTTTTCAAGGAAAATATCTAAGAGGAACATGACTTTGGGAACTTTTTGGCAGTACTGCTTACTGTATACTAGAGAGTAAAAGAATTTGGGG
AACATTCACCAATTTGCTTCTCAGGGGCTTGGGTAGGGAACGTGAACAGGAACCTGGCTCTAATTTCTGAACTTTTTTATCAGTAAAAACAATCCAACAAA
CGAAAGCTAGTCAGTGAGAGAACTGGGAGGGTCTGCCCTCCTCCCTGAGTCAAGCCTTCTGGGGGACCTCCTGACATTTAATTAAGCAAAGACAACGCC
ACTGAAGGAAGCTGACCTGAAAGTGACACGCTACTGTGAAATGAGCATGAAGTGGGAGCTTGTACATATATGAAATGGCCAGCGATCCTGAGCAAAGCGCT
TCAGAGCTTGAGACCTAAGTCTTCTCATCTATATACTGAGGGCTGGACAAGATGATCTGTCAAGCCATTTTTATCCCTAATCCACCAAAAATCCAATGCTTTA
GTTTATTGTCAAAAAGCAGGTATCGAATGGCTATCCTGCAGTGCCTCAATCAACATTCAGACTTTTTCCCTGAGGCAATATAAGATAACAGTTAACATGT
TTTTATCAATTAGTGGTGCATGAGATAAATATATATGGGAAGTGGTAGTTTTCACTTAAATGCATATAATAATGGTACAGCTCTCTTTGAATAGTATTTGT
TTATTTCTTAAATATTTAAGTTCCTAAAGACGGTAAGAATAACCAAGGAAGTGAATCAATGTCAAAAACACATGGCTAAATAACTGCAGGTTTGCAGTG
CCATGTGTGAGATCAGATGACAGAAGGGAGAATACTTTAGGCAGAGGCTTCTCATGTCCCCTGGAGTGGCCATGTGCTGTCTACATGACTACTTCCACT
TCGGTTATGTAGAAGCTATTTAAAGCACACAGATGTTGTGATGAGAAAAAGCCACCCCTAATTAATAATGGAATATAAGCATGATTGAGGGTGGGG
GTGGAGTGGGAGTAGAGTGGGTAGAAAGGAGTGAATGGAACAAAAGGAGCCTCATAAAATCAAGTCACTTCTTAGGATAACGTGATTGATTACTCA
CCACCTTCTTAGGAACATAAAGCAAACAAGTGGGTTTTCTTTTACTGCTTTTCTGAAATGAGCTCACTCAAGAAAGCAGCAGGGGGTGTGCTGTCCCT
GCACAGTGGCAGGAGATGAGGAGCAGGTGAATGCCACAACAGCTCCATCCAAGATCATTTTTACATGCAGGAACCATCTTATACTACCCTTACTGG
TAATTTCTGTAGAAATCTGGAAGTCTGGTTGACACCCTCCTGTACAGTGTGCAGTGAATCAACATCATTTCCCTGGACTTTGCAATCACGGTGGCATTCA
ACATTCATCAACAAGTATGTATGTACAGGACAGTGGAGTAAAGAAAACAGATAGTTCTTACTCTCACAGGCTTAAAATTTGAGGAGGAACTAGGCAGTC
ATGAAGTAAACATAAAAAACAGATTGTAATAGGCCTAGAGAATAATGAAGACTTTGGGGAACACAATTTAAATTTGAAAAATATCTCAGTTCGGTTAACA

CATGTTGAAGGGAATAGCATTGTTTTGCTGGATTGGGGCTGGATGCAAGCATGTTGGGTATGCATTGTAGGGTAATGCATTCCTTCCATTTGGGCCCCA
 AGTGTATATTTACCACCCAGTTGTGATGAGCTGGGATCCTCTGCTCAATCTCAGCTTGAAGCACTTGGAGGTTATCTGCCTGCTGTGGGTGATTATTTTGG
 AGCAAGTACTTTCATTTGCCTCAAGAAACAGATTTGATACCACTACTGTGCCCTTTTGGAAACAGAGAAGTAGGCAAGACCCCACTGTGAGGCAGAGTGATGG
 GATCTTTAGGGACATAATGTATGATGTAAGTATGATGATTTTGGAGTTTATACATTTCCAAAGTTTCAAAATATTTTCACTTGGTTGATTTATCTTTATGG
 TGATGACACTACGTAGATATATGCCCTTCTTAAAAGTTACAGTAAGAGGCTGGGAGCGGTGGCTCAGCCTATAATCCAGCACTTTGGAAGGCCGAGGTGG
 GCAGATCATGAGGTCAGGAGATTGAGACCATTCTGGCTAACACGGTGAAACTCCGTCTCTACTAAAAATACAAAAAATTAGCCGGGCGTGGTGGCGGGCGC
 CTGTAGTCCCAGCTACTCAGGAAGCTGAGGCAGGAGAATGGCGTGAACCCGGGAGCGGAGCTTGCAGTGAGCTGAGATTCCGCCACTGCCTCCAGCCAGG
 GCAATGAGCGGAGACTCCGTCTCAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAGTTACAGTGAGAGTTGACATTGAGAAAAGGGAGGCCAGCCAGGGTTATGCAA
 AGACACAGTAGGGAGGAGATGGGAAGTTTCTGAGACACCCAGTAACTGCATGGGTCCACAAAGCACATGTACAGTCTGCTCTATGCACTGCAGGTACAGC
 CACGAATAAGACAAAGTCTCTGCCCTCATGGAGCTTGGTGTCTGTCTACTGGAGCAGACAAAAACAACTGCTTTTTCTCATTTGCCTCTACTGTGGGTTC
 CGTGATAACTCTCAAATGCTAGCATTCCATGCATCCATCCTTGTCTTCTCTCTCTGCTTTTCCAGGAGAAATTTTCTAGCCACAGGTTTCAGCTA
 TGGTCTATGTCTGGAGTCATACATTTTATCTTCTGTGTACGTTTTTCTCTAGACCCATATTTTAATTGCCTTAGGACAGCTCTCCCTGGATATCCCTCA
 GACACAATAAAACATCATTCATTTGACTATTAATAATTTTCCCTTCAAAATCCACTCCTCTTCTATAGACCTAACAGCAACTGTCCGTCAGCTCT
 CAAAACCTGAAATGTGGGAGTTGCTTTGACTCTTATCTTCCCATGCATGAGCACTGAATCAATCAGAGTCCCTAGCATGTCTTGGACTGTGGCTCCCTT
 CTATCTCAGATTATCTGCCTTTTGAATATGGCAATAACTTAACTGCAAAGACCACATGTGCACTTGTGCTCTTTCAGTTTGAATAAATAAAAAATGA
 AAAGTGATTATGCTTTGCTTAAAGTCTGCAAAAATAAAGTCCAAAGTCTTGGTATGGTCTATAAGGCCCTCATTATCTGACCTGCCTGCCCTCCCAATCT
 CATCTAATCCCTTACAGCTGACACTCAGACATACTAGACTTTCCACCTAACTCACTCACATACACCTATCCTGTATGTCAAGATTGGGCTTGCCTTCAT
 CACCTACCTATCTGCAGTATTTTGGATCTGAATCTCTGCCACATGTACTTTACATACTCTTTTACCCTTAGTGGTTGTACTTATGCCTGGTCTAA
 CTAGATTGTCTCCCTGTAACAGACTTCTTGATTCAACAAAGCAGCTCTGAATCAGCCTGAAACCTATGGCACACTGCAAAATGGCAAACTTCAATAGGTAT
 TTGCCAGTAAATGTTAATGAAAGGAAAAAATTCAAACTCAGTTGGAATAGGATTAGAGACAAGTTAAAAAAGTTTCCCATAGAAATCTTCTCATCG
 TAAATATCATCATCTAAATGTCCCGAGTCTTCCATGGGTCTAATTTACCAAAATCATGAAGACTCTCTTCTCAGTGTATGTGTAGTGGGAGAGGCAGA
 GACAGAACGGTTTTTTTTTTTTTTGCAAGTCTGCTCTCTGGATTCTTTTTCTGGGGATGAAATCTCAGGCTATGTAGCTTTTCTGGTCCCTTTTTGGTAA
 TCAACAAATCATCAGTTTCTCTAGGTATTAAGGCTTACTTTTGAACACCAAGAGGCCAACTCTCTCTAATTGAAAAATAAATCTGCCTCTTACT
 GAGGTCTTTGGGTGGGAAGCTTAAAGACAGCAGTGTGGGGCAATGGTTTTTCTTTTCTCCCTCCACCTTCTTTCCATTCAAGAGCTGTGTGCTCCCTT
 TCTGGAGGGGAGGGAATTAGAAAAAAGATCCTGCCTTACCAGTCACTGTTAATTATTACTTTGAGCCAGGGTGGGGAATGACTTTCTTTCTGGAATACA
 CCTGCTGGAACCACAGCTGAGATTCTAAGCTGGCAGCTTCCAACCTCTCTCCCTCAACAGCTTCAACATTATATGGCACTCAGCTGCAGGGTGCCTG
 GCTCCAGGCCGCGCAGTCCATTTGTGCAGGGTAGTTTTCAAGATGGCTCATAGCCATCTCTTTCAGTGACCAGCGTGGCTATGGGAAACATACATCTTGAC
 TCCATTATTGGTAGGAGTACTCTTTAGTTAACTGCCACAGGCCAGTTACAGACAGCTTACCTGAGAGCCTTTTCAGAGTCAAGTACCATCCCTGTGTCCC
 CCAGCATCTGAAGATCACAGGTGAAGGTCTCCAAGTAGTTCACTTAAAAATACCTCAGTAGGTTAAGAACAGGGAAAGCTCCCAATTCATTCTGTCAAGGA
 GTATGACTCTCATCCCCAACTGGACAGATATATAATATGAAAACACTACAGCAATATTCCTTATGAATATAGATGCAAACTTCTAAACAAAATACTAGCA
 AACCAATCCAGCAGCATAGAACAAGGTTTATGTAGCATGGACAACAGATTATCCAGGAATGCAAAGTTAATTCATATACAAAAAGTCCATTAATACAA
 CATATTAATAAAGGACAAAAACATGAAAATCTTGATACAGAAGAAGCATTAACAAAACCCACAGCCCTCCTTTTTTTTTTTTGGATTAAAAAACTC
 AGTAACTAGGTTTAAATAAAGAATTTCTCAACTGAAGCAAAACCCACAGCTAGCTAACATCATACTCAATGGTGAAAGACTGAATGCTTTCCCTTAAAA
 TCAGGAACAAGAAAAGATGTCTGCTTGTCACTTCTATCCAATATTGTACTGGAGGTGTAGCCAGCACACTAAGGCAAGAAAATGAAATAATAGGAATC
 TAGACTGGAAGGAAGAAGTAAAGTATTTCTGTTACAGATGCATGATCTCATATGCAAAAAATACTAAGTGACAAAAAAGAATTTAGAAAAGCTACAA
 TATACAAAATCAATATACAAAAATTAATTTTATTTCTAACACCAGTATGAATACAAAAATAAATAATAGAAAATAATCATATAATTAAGTGGCATCAGTA
 AAATACTTAGAAAAAATTAAGACGTCAAGACTTGCACACTGAAATCTCTAAAACATCACTGAAATAAAGACCTAAGCAAATGCAAGACATCCACAGTC
 ATGGAACAGAAAACCTAACACATTAATAATAGCAGTTATTTCTCAAATTTATCTACCAATCAACTAAATCCCTATCAAGATCCAGCTGTTTTGCAGGAAT
 TGACACAATGATCATATAAAAAATTCATATGCAATGCAAGGGACCCAAAACAGACAAAATGATTTTGGGGAAAAAAAAAAAAAAAAATGGAGGACTTGCACATC
 CAAAATCAAACTTACTACCAAGCTACAGCCATCAAGACAGTGGGTGTGGTATAACGACAGACATATAGGGCAATGGAGTAAGACTGAGAATCCAGAAAG
 TCTTATATTTATGGTCAACTGTTCTTTGACAAGGGTACCAGGACCTTATGGGAAATAATAGTCTTTTCAACAAGTGGTGGTGGGAGATGGATATACA
 GATACCAATGCCTTATGCAAAAAATGGATGAAATAGGAAACTTCACTACATTTCTACTGCATGCTCGGTCAATTTCAATCATTTAGGTGGCAACTGACAA
 GATAACAGAAAGATGGAGGTAATAACATGTGAAAGGCAAAATGGTTTGTTTTTTTTTTAAAAATGACAGTCTCTATCATGAATTTACTTACACTCCAGGCA
 AAGGTTATTAGAAGAAAAAAGATGTAAGAAAATTCCTTAACTGAAATGTGGAAGAGTATCAAGAGGAGACCCTAAGACACTCTGTAAGAATCCAGTGAC
 TCCTCACTGTCAACTAAGAAATGTACCCCATATGCTGTGCTACCACGGAAGCATTGGAGGCACCTTTGGGGGTGATGAAGTCTTTCATGGATGAGGACTT
 TAAATATCTGGTCAATGAAGAGTATTTGAGAAATATGACAAGTGAAGATGCTGGTAGGAATGCAGCGAGGAAAGTGTGTAACACAAGGCCAAATGGAAAGG
 TCAGTGAGGGGCAATCTGTGGAGGCACTGAATGCAGAGGATATTAATAATAGCAAGATAGTGTCTAGCACAATGAAAAGGATTGGAAGAGGAGATGAGA
 GTCAGGGAGTGAATTAGGCAGCTGCTAAGAATGTCCGGGTGAGTCAGAGGATCAGGACCTGTAAGGGCAGTATAAAGAAAGGAAGGATGATGGGAGAGGTT
 TAGGGGAAAGAAGTGACAACCTGTGACAATGAGGAATGAGAGATTTTGTATGATTGGGGTGAAGGTTACATTTCTTAAAAAGAAAACAAAGATGGTCCGTC
 GATAGAGATGCAAGATGAAGAATTTTGTTTTTTAGGACTACTGACTATGAGGTAACAAAGAAATCCAGAGACAGAGGTTCTGAGCAAAAGATATGGGATTGGG
 GAAGAATCTTTGGGAGTACTGAGGTTGACTAGAGGGAAGTGGCAAGAAGCAGTAAGGACTTTAAGCAGAATGGAGGAGTATCCATCTAAAATCTGGGTA

AACTGGGATGAAAAACAAGTAGCCAGAGAAGCAACAGCCCAAGCTAGGGTGTGTCAAGGTTATAGATGTTACTGATTTTGGCAATGAGGAGATTATAAGG
ATCCTTGAAGACTGTACTTTCGGTGAAGACTACCATGCATTAGTAGCCTTTCACAGTGATATCTACCCACACCTGCATCAAAATCTGCGAGTGCCTATTAAT
AAATGCCAACCCACTAACGGGGAGGGGAGAAAAAGACTTGGGACTCTGTACTTGTAAAACCTCTACCCTCCCAGGCAATTCTTACACACTAACACTGTTG
AGGTAAGGAGACAAGTGAGGGAGCAAAATGGAAGGTGTGTTTTGGATTATACAGTGGCTCATGGAAGGGTGGGAGGGGTACAGATGGCCCTTAGACTG
GCGAAAAAGTCAGAGAAAAAAATACAGTAAGCAGGTAAAGGGATCAAGACTACACAGGGACTAGTCTTGGGACGACATTTCTTCTCTGCAGATTGTATG
GAATTCTTGAAAAAATCTCGAAGGGCCGTAATCTCAGAATGGTCATGTTTTAATGGGAATAGGGAGTGATGTCGCCATTACAACCATCTGTCT
AACAGAATGTCTGTACCGAGGAGGGATGAGTAACATCGGCAAGTCTGTTCGAAGCCTTTTTCAAGTTCTTTTTGATATGTATCTATCTATCATCTC
CCTATAAAGCAAGCATCCCCAAAAGTAGTTGTCTCAGGAAACCAGGGTTAGGATGACCAGCTCATTGTGAGGCTGCCAAGGTCCAGAAAAAGTTGGCTG
CAGGCTGTTTTATGTTTTATGTATGTTGAAATGTTCTATAATAATAAAAGGTTAAAAAGTTTACATTTATTTGAAAACCAGTTACTTTAGTTTATGGT
TCCTTTTTTCCCTCCAGAGCTTCTGGAGATTGAGGTCTAATTCAAAGAAAACCAAAATATATAATAGAGTACCTGGGCAAAAAAGTACTTTTATAACAT
AACATTTGGGGTAGAGGAAGTATCCACTGTAGTCAAAATGTCTATGTTTTGCTTCCCTATTGTTTCAGGGACATTCATTAAATAGTAATGAAAAGGCAGC
AAAAGTAAGAGGAGTGACAACATGCCGGCATAATTAAGCAAGCTAGAGCAGCTATTCTGTGCAACCGACGATTTTTTCTCTAAAAATTTAAGGGTAGGT
TCATTCTGACTCTGTAAAAAGTCTACTGTGTAACAACCTCTATATCTGATAACCTATTTCAAATACCCTTTAAAACTTGCATATGGATACGTTATTAC
AATTGTAGAACTTTAATAAATACCATAATAATAAACTTGAGAAGTGAAGAGCACACATTTCTTACGAATTTATATATAAAACGCCCTCAGAGTATTAA
TTTTCTCTCACTTTAATTACACATTAAGAAGCACAGTGGATGAGAAGCCTTAAAGTACTACAGTTGCACGAAGTCCCTTTCATCAAGGTAGCGTATGTA
CCCTAACAGTGTCTAAAGGCTGGCCAGAAAAACCCATGTTACCTTATCACAAATGGAAGCATTGTCTTTTTTCCACTAAATTAATTTATGGTGAA
AAGTGCCACAGTTTTATTAGCATTATGGTACATAACAACAGTCTGTCTCAATATGAAAAAATTAATTAATAAATCTGAAAAGACATCCTTTTTCTC
CCCCAATGATTTGAAAGCTGCATTTTTCTGCAATTTCAAACAACAACATCATCAGGTTGATCTACAGTAATCAGTTAAAAACAATCAGTCAATCAATCAA
TCAATCACCAGGCACAAGCTCAGCACATTAGCTATAGCTGTAGCAAAAGGATATATCAATGTCTCACCTTAGTTAAAAATACATAATCCTTTTTATTTTAT
AATGCAATAAAAGAAATTAACAACATCACATACACAGAAGACTAGGAAAGGGAAACTACTTACTCTGGAAATCAGTAATGTAAACCTACTTGTACTTTTC
CATAGTACATGAAAGTACGTTTAAACATGTTTTGAATTAATTAATTAATTAATCTGTGGGGCTATACAATGTAATCTTAGGAGTAATAGTTTCATTCAT
TTCCAGGTCAGCTTACTGTATGATTAAGTAACACAAGGCACAGTAGCCATCTTTTCATTATGTTGCAACACTGATACCGTGCCTCGATAAAATGGCTGATT
CAACAAGATGATGGCAACACGAAGGGAGACTTTGGATTGTCTATTTAAATCTAGGTAATAAGTAAGTAATTAATAAAAACTCTATCTTAAAGTCACTTTC
ACATGCTTTTTGTTTATAATAACAACAACAACAACTTCTAACTTTGTGCAATAGGCTTGACTACCATTTTCATTTGGCCAAATGCACCTTTCCCAGTAAAC
TAAAAACAACAACGAGAACAACAAGAACAATAAATCCTGTCTTTCATATACTAAGAAAGAGGATTGGCTACTGAAACAGTTCATTGCAAGACACATGAAGA
CGACATACTGTGGCATGAGTTGTTTTGTTTTAATTTGTTGTGCTGTTACTAAAGTTCTGAGGGTGCAGTTAAAAACATTCAAATTTCTCCCTTCCCTCCA
TCTTTCTTATGATTGATTCTCAAGATTTTGCACAGAAAACCTTTGGGGCTAGAACAGCAGTAATTCATCACACTGTTTTCAAGACTTCAAGTTTCAA
AAGCAATCATTAAAAAATACAGTTCCTGATTTGAGTTAGATACAGGGACAAAAAAGTAGCACATACTGAAAGTTACGTGGTCTACAAATGGTGGCAAT
ATTTTCTTGGGAGAGTAGTTCTGTTGGTATATATTTTTAAATACTCAAAAGGCTCAACCTCAAGCAGTAATAAACACAAGCAAAAGTGATTTAACCCCTTA
AAATAAATATTCAGAAAAACCTCTGTACATACAAGTGAAGAATATGTAACACTTTCACGCAAAAAATAATTAATAATAATAAAAGGATTTGTTTATA
TATGTAGCTGAAATCTGCTGTTCCAGCCACATGTCCCCAATAAAGAAGGGAGGCACAGACATAGGTGACTACTGTGGTTGACTATCTTACAGCCTTTTTGT
ACTGGGACTATACCACAAAAATTTATCCCTCGTTATATTTTTAAATTTTTAAATTTTTCTTTTTTTTTCTTCTTTTTTTTTGTTTTATTTGTT
TTGTTTTGTTTTACAGCATGCCAAATCCTTTGGCATACTGATGGCCTTCAACAATCTCTTTAAGTTTTCTTTGCTTGTAGTATCCGGAAGTAAAAGCA
CATTAAAGCAAGTATGAGATGTAGGTAACCTAAATAGAGAAAAGGGGAAAAAAGCAGAAAACTGTAAGTCATGGGAAATACACTTAGAATTAATGTCTCT
ATTTTTAGATTGTATATAGTTGAGACGGTCTGCAATGCAAACTATACATTAATGCAAACTATAAACTTTTTGTTGTGTAACCTACCAAGTTGCCCTTATCCTA
TAAATTACTCAAAGCTAGTGACGATGATAAGATACTGTATCCATTGAGTTTTTACTACATAACAGATACCATTTTAGTACTGAATTTCTTACAGTTCATTTA
ACTAAATCTTCCACAACAAAACCACAGAGAGGACATCAGTAAATGCACCTTAGAGGTTAGGTCAGTGAAGTCAAGTAACTTCTCTAAGGTGGAGAAAA
TACTCAAACCTGTTTTACAAGACTGCAAGTGTGTCTTAAATGCTTATTAGAAACACTGCTGGCAATATGACTAAGAAAAATGATTGATAACAGGATTC
TAGCACAATCAAATGATAATCTTCCGAGCCTCAATGTAACCATTCTAAATAGATGATCATGTTATATGGCTTCAATTAACAAGCTGGGAATCAAAAAAGTA
AATGAATCACACTAATTTGATTCCAAACCAATGTGAGCCCCATAATAATTTTTAACTAGGGCAATTTCTTAAAAGTTTCTCACACAATGCAGCAAAAGTAT
TTTTCTCAATTTGCTAATATGATTTGGGATTTGTATATAAAATCACGAATGTCTCAGAACTATAAAGACAGTTCATATGTATGTGACGAGGAATGCAAGG
TTTTCGGTAGGTATACAGTCACAAGTTAATAATTACCTACCTTTCTGTGCTGGGCCATTTTTGGCTATAATCATCTTTAATTTTTCTAGTCTCCACAGG
TGCTCTGTCTGTGCCGTTGTAACCTGCAAGAAGAGTCTTTCTGTTCATCTGTAATGAATGAACGATTTCCAGAACTCCCTAATGAGAAAAAATACAAT
ACTGGTTTCAAGTTTGGCATTCTATTGACTGGTACTAACATAAGCTTATGATTTGCATTAACCTATATTAAGAGACAACCTGGAAGTTAATATCAGGATA
GTACTACTCTGTTGATTTAAAAATTTCCAAGCAAATTTATCCTGAACAGCTCTGAATACGTAAAAATTTAGATTAGATTACAATATAGTAAAAATATTAGTA
CTACAATAGTAAAAATGAGAAAAACCAAGTGTGTAGTAACAGGAAGTACTATTTAACTATGGTATAATCACATTATGCAGTCAGTAATGAGCAAAAGA
CAAAATCCTATGAATGAAAAAGACTGAAATGAATATTTGGAAAAATTAACCTCAGGTGCCCTTTGGGTATATATTTTATTTATCCTTTCTCTTTATTTCTCC
TGGTCTACTCATCTTAACTCAACTTTGGGAGAAAAAGTGATACAGATTAAGGACAAAAGAAAAAGACCCCTGCCCCAACCACTGGCCCCAAATGC
AAACAACACATACTAATAGCAGTAATACAAAAGTTCAATTTTTATGAACTAGAATACTTTAAACAAGTAATATGTGCTGTGTATGGAGGAGGAGAATT
ATTCTGACATTTCTGCCACTGCAGTTATTTAAGAGAATGATTTATCCTGTGGCATTCTAAAAATCTATGTAATAAAAGCTATGTTTTAATGACACTTATG
TTAGTTGAGTTCTAAAAACGAAATACAAGCTCATAAAGTGAATCTTGAAGTTTATTTGAATAATCAGGCATCTATAAAACATATATACACTAGTTCATA

- [0138] **SEQ ID NO: 2**
- [0139] shRNA 인공/합성 서열.
- [0140] 5'-GATATCACCTTACAGAAATTACTCGAGTAATTTCTGTAAGGTGATATC -3'
- [0141] **SEQ ID NO: 3**
- [0142] UBE3A-ATS 인공/합성 표적 서열.
- [0143] 5'-GATATCACCTTACAGAAATTA -3'
- [0144] **SEQ ID NOs: 4-489**
- [0145] UBE3A-ATS 인공/합성 서열.
- [0146] 4. CTGAAGTGCACATGGAATATT
- [0147] 5. TCTTCAGGATGACACATATTA
- [0148] 6. CACAATGATATGGAGATTTAA
- [0149] 7. CTCAATCCAATAACCTAATTT
- [0150] 8. GTAAACAGAAGGAAGAAATAA
- [0151] 9. AGGTCCGTATTACCCTTATAT
- [0152] 10. CATCTAGCCTTTCTGATTTAT
- [0153] 11. ATCTAGCCTTTCTGATTTATA
- [0154] 12. TCTAGCCTTTCTGATTTATAT
- [0155] 13. CTAGCCTTTCTGATTTATATA
- [0156] 14. AGTCACAACCTCAGATTTATTT
- [0157] 15. GGCCTCACAACCTCAGATTTAA
- [0158] 16. GAACAGAGCCCTCAGAAATAA
- [0159] 17. GGAAAGGATTCCTATTTAAT
- [0160] 18. GAAAGGATTCCTATTTAATA
- [0161] 19. GACAAACGGGATCTCATTAAA
- [0162] 20. CATCTGACAAAGGGCTAATAT
- [0163] 21. ACAATGAACTCAGACAAATTT
- [0164] 22. CAATGAACTCAGACAAATTTA
- [0165] 23. GTTAGAATGGCGATCATTAAA
- [0166] 24. CAGCCATCCCATTGCTATATA
- [0167] 25. AGCCATCCCATTGCTATATAT
- [0168] 26. GCCATCCCATTGCTATATATA
- [0169] 27. CCATCCCATTGCTATATATAT
- [0170] 28. CATCCCATTGCTATATATATA
- [0171] 29. ATATACCCAAAGGACTATAAAA
- [0172] 30. TATACCCAAAGGACTATAAAT
- [0173] 31. ATATGCACAGGTATGTTTATT

[0174] 32. GAAAGACACTGATTGTATTTA
 [0175] 33. ACATAGCCCTAACCATATAAA
 [0176] 34. CCTCACACAAAGACCTATTAT
 [0177] 35. TGGCAGAGATTTGGCAATTAT
 [0178] 36. GGCAGAGATTTGGCAATTATA
 [0179] 37. AGAACAAACAAGGAGGAAATTT
 [0180] 38. GAACAACAAGGAGGAAATTTA
 [0181] 39. GAATGGAGTGAATGTTTAAA
 [0182] 40. TCTGATTTCCCTGGGTTTATT
 [0183] 41. CTGATTTCCCTGGGTTTATTT
 [0184] 42. TGCTCTTCTTCTACTTTATT
 [0185] 43. GTAAGCATTTAGTGCTATAAA
 [0186] 44. TTAGTCACATCCACAAAATTT
 [0187] 45. ATGGTCTGTGCTGTGAATATT
 [0188] 46. TTGAAGTCTCCAACCATAATT
 [0189] 47. CAGTTTGTGCATCACATATTT
 [0190] 48. TGCCCTCTTGGTGGCTTATTT
 [0191] 49. TCCTAGGTCATAATGATAATT
 [0192] 50. CTCCACATCCTTACCAATATT
 [0193] 51. CGCTTATCAGATATGATTTAT
 [0194] 52. GGTCTATACATGTAGATTATT
 [0195] 53. TCATAGATGTATGGGATTATT
 [0196] 54. CATAGATGTATGGGATTATTT
 [0197] 55. CTTGAACTCCTTGGTTAAAT
 [0198] 56. TTGAACTCCTTGGTTAAATT
 [0199] 57. TGAACTCCTTGGTTAAATTT
 [0200] 58. GTAACCTCCTTGGTTAAATTTA
 [0201] 59. TCCTTTCTGATGCTGTTTAAA
 [0202] 60. CCTTTCTGATGCTGTTTAAAT
 [0203] 61. CTGAAACTTTGCTGCATTTAT
 [0204] 62. TGAAACTTTGCTGCATTTATT
 [0205] 63. GAAACTTTGCTGCATTTATTA
 [0206] 64. TTGCTCTGTGAATAGATAAATT
 [0207] 65. TGCTCTGTGAATAGATAATTT
 [0208] 66. ATATGTTGATCCACCTTTATA
 [0209] 67. TATGTTGATCCACCTTTATAT

[0210] 68. ATGTTGATCCACCTTTATATT
 [0211] 69. TCTTTGGCTACTTTGTATAAT
 [0212] 70. CTTTGGCTACTTTGTATAATA
 [0213] 71. TAAGTGCATAGAGCCAATAAA
 [0214] 72. ATGCACATGATCTTCTTAATT
 [0215] 73. TGCACATGATCTTCTTAATTT
 [0216] 74. TGGCTTAAACAAGAGAAATTT
 [0217] 75. GGCTTAAACAAGAGAAATTTA
 [0218] 76. AGGTATCAGAGTAGTATATTT
 [0219] 77. TTAAAGAGTTGCCACATTATA
 [0220] 78. GTTGCCACATTATACATAATA
 [0221] 79. AGACATTGAACCAGCTATTAA
 [0222] 80. GACATTGAACCAGCTATTAAA
 [0223] 81. AGGGTTAAAGAAAGGTATAAA
 [0224] 82. ATACCCGAGATGACCAATAAA
 [0225] 83. CAAATCCACGAGAAGAAATAA
 [0226] 84. ACTTGIGTTGATGGTATTATA
 [0227] 85. CTTGTGTTGATGGTATTATAT
 [0228] 86. ATTCATTGGAAGGGTATAAA
 [0229] 87. CAGTAACAAGAGCCCATTATT
 [0230] 88. AGTAACAAGAGCCCATTATTT
 [0231] 89. GCCCAAGAGATCCACTTTATT
 [0232] 90. CCCAAGAGATCCACTTTATTT
 [0233] 91. TTTCATCTCACCCAGAATATT
 [0234] 92. TGTTATGAGATCCAGTTATTT
 [0235] 93. ACTGAACTGTGAGCCAATTAA
 [0236] 94. CTGAACTGTGAGCCAATTTAA
 [0237] 95. AGTCTTAGGTAGTCTTTATA
 [0238] 96. CAAAGGCAGCAGACAATAAT
 [0239] 97. AGACTGGCTATTTGAAATTAT
 [0240] 98. GACTGGCTATTTGAAATTATT
 [0241] 99. CACCATCAAGAGAACTAATAT
 [0242] 100. ACCATCAAGAGAACTAATATA
 [0243] 101. CCATCAAGAGAACTAATATAA
 [0244] 102. GGAAAGTACATAGTCAAATTT
 [0245] 103. CAATGCATACTACGTATAAAA

[0246] 104. AGTCCTTACGTGTCAATAATT
 [0247] 105. GTCCTTACGTGTCAATAATTA
 [0248] 106. GACACATACAGGCTGAAATTA
 [0249] 107. ACACATACAGGCTGAAATTAA
 [0250] 108. CACATACAGGCTGAAATTTAA
 [0251] 109. CAATATTGAAGCACCTAAATA
 [0252] 110. ATGGATCTAACAGACATTATA
 [0253] 111. CATTCTCCAGGATAGATTATA
 [0254] 112. ATTCTCCAGGATAGATTATAT
 [0255] 113. CAAGATGGAACTGGAAATTT
 [0256] 114. TTCTATGAGGTAAGCTTATAT
 [0257] 115. TCTATGAGGTAAGCTTATATT
 [0258] 116. ACAAAGATCAGACAGAAATAA
 [0259] 117. CAAAGATCAGACAGAAATAAA
 [0260] 118. ATACCACAGACATACAAATTA
 [0261] 119. TGAAGACTGCCAACCATTTAA
 [0262] 120. GAAGACTGCCAACCATTTAAA
 [0263] 121. CTAATTCAGCAACACATTATA
 [0264] 122. GATGCAGGATAGTTCAATATA
 [0265] 123. ATGCAGGATAGTTCAATATAA
 [0266] 124. TGCAGGATAGTTCAATATAAT
 [0267] 125. GTGTCTGTTGGCTGCATAAAT
 [0268] 126. CTTTGTAGATTCTGGATATTA
 [0269] 127. GCAGAAGCTCTTTAGTTTAAT
 [0270] 128. CAGAAGCTCTTTAGTTTAATT
 [0271] 129. CATCCTGTTACTGGGTATATA
 [0272] 130. GTATATACCCAGAGGATTATA
 [0273] 131. TATATACCCAGAGGATTATAA
 [0274] 132. ATATACCCAGAGGATTATAAA
 [0275] 133. TATACCCAGAGGATTATAAAT
 [0276] 134. CCCTAGAACTTAAAGTATAAT
 [0277] 135. TGACAAACCTGGAGGTAATAT
 [0278] 136. GACAAACCTGGAGGTAATATA
 [0279] 137. GTCCATTCTCACCCTTATAT
 [0280] 138. TCCATTCTCACCCTTATATT
 [0281] 139. CCATTCTCACCCTTATATTT

[0282] 140. CATTCTCACCCTTATATTTA
 [0283] 141. GTAGATGACATGATCTTATAT
 [0284] 142. GAATAGAGAGCCCAGAAATAA
 [0285] 143. ATGCTTGACATCACTAATAAT
 [0286] 144. TACTGTGGTGTGAATTTA
 [0287] 145. AACTGTGGTGTGAATTTAA
 [0288] 146. CACTGTGGTGTGAATTTAAA
 [0289] 147. GGTATTTGCACACTCATATTT
 [0290] 148. GTATTTGCACACTCATATTTA
 [0291] 149. ATAAAGAGAACGTGGTATATA
 [0292] 150. AGACACAGTGAATCTATTTA
 [0293] 151. GGTACAACTTTCAGTTATAA
 [0294] 152. GAAGGCACTGATATGTTAATT
 [0295] 153. AGGCACTGATATGTTAATTAT
 [0296] 154. ATCCATTCAAGCTAGATTATT
 [0297] 155. TCCATTCAAGCTAGATTATTT
 [0298] 156. GGCATGGTGGCCCTCAATTAT
 [0299] 157. GCATGGTGGCCCTCAATTATA
 [0300] 158. CATGGTGGCCCTCAATTATAT
 [0301] 159. ATGGTGGCCCTCAATTATATA
 [0302] 160. TGGTGGCCCTCAATTATATAT
 [0303] 161. GGTGGCCCTCAATTATATATA
 [0304] 162. GTGGCCCTCAATTATATATAT
 [0305] 163. TGGCCCTCAATTATATATATA
 [0306] 164. GGCCCTCAATTATATATATAA
 [0307] 165. ATGAACAACAATGGGATTTAA
 [0308] 166. TGAACAACAATGGGATTTAAA
 [0309] 167. GAACAACAATGGGATTTAAAT
 [0310] 168. AGCAATAGTGGAGAAATATAA
 [0311] 169. GACCTAAACCCTATCTTATAA
 [0312] 170. ACCTAAACCCTATCTTATAAT
 [0313] 171. CCTAAACCCTATCTTATAATT
 [0314] 172. CTAGAGCAGCAATACTAATAT
 [0315] 173. GTGTAGCTATGACTGATATTT
 [0316] 174. TGTAGCTATGACTGATATTTA
 [0317] 175. GTAGCTATGACTGATATTTAT

[0318] 176. TAGTCTTTGCTTGCCTATTTA
 [0319] 177. AGTCTTTGCTTGCCTATTTAT
 [0320] 178. GTCTTTGCTTGCCTATTTATT
 [0321] 179. CTGTGTTTAGTTGTCTTATTT
 [0322] 180. CTACCCTGGATAGGGAATATA
 [0323] 181. TTCTATTGCAACAGGATAAAAT
 [0324] 182. TCTATTGCAACAGGATAAATA
 [0325] 183. CTATTGCAACAGGATAAAATA
 [0326] 184. ACTGGTGAACCTCAATTAT
 [0327] 185. TCAAGGAGGAAACAGATTATA
 [0328] 186. CAAGGAGGAAACAGATTATAA
 [0329] 187. AGGAGGAAACAGATTATAAAT
 [0330] 188. TGCCTGTATGATAAGAAATTA
 [0331] 189. GCCTGTATGATAAGAAATTAT
 [0332] 190. GAACCAATCTGTGCTTTATT
 [0333] 191. GCATTCTCTGATCTGATTAT
 [0334] 192. CATTCTCTGATCTGATTATT
 [0335] 193. AGAGGCTTAAAGGAGATTATT
 [0336] 194. TTGTTCAAGGATTCCTTATTA
 [0337] 195. TGTTC AAGGATTCCTTATTAT
 [0338] 196. GTTCAAGGATTCCTTATTATT
 [0339] 197. TGTGGAGAATCATTGATATAT
 [0340] 198. GTGGAGAATCATTGATATATT
 [0341] 199. GTATATGAGAGTTCCATTATT
 [0342] 200. TGGCTGTGGAACGCTTATTT
 [0343] 201. TGGATCGATGATGAGAATAAT
 [0344] 202. GGATCGATGATGAGAATAATT
 [0345] 203. GCCCTCCAATAGGACAAATAA
 [0346] 204. TGACCCAAGACTTGCTTTAAT
 [0347] 205. GACCCAAGACTTGCTTTAATT
 [0348] 206. TGTGCTGAAAGAAGGAAATAT
 [0349] 207. ATATGGCATGCCTCTATTAATA
 [0350] 208. TATGGCATGCCTCTATTAATA
 [0351] 209. ATGGCATGCCTCTATTAATA
 [0352] 210. TGGCATGCCTCTATTAATA
 [0353] 211. GGCATGCCTCTATTAATAAT

[0354] 212. GACAGTGGAAACCAAGTTTATT
 [0355] 213. GAGACTCCATGGTTCATAATA
 [0356] 214. AGACTCCATGGTTCATAATAT
 [0357] 215. TTGTGGTCATACTACATTATA
 [0358] 216. TGTGGTCATACTACATTATAT
 [0359] 217. GTGGTCATACTACATTATATT
 [0360] 218. TTGCAACAAGGTAAGTTATAT
 [0361] 219. TGCAACAAGGTAAGTTATATA
 [0362] 220. TTGATTGATGCCCTCATAATA
 [0363] 221. TGAAGTTGGGTAAAGTATAAA
 [0364] 222. GTCAATACACAAGTATAAAT
 [0365] 223. CAAAGAGTTTCAGCCATAAAT
 [0366] 224. CATGCTTCCAGAGGAAATAT
 [0367] 225. TCCAGAGGAAATATGTTTAAAT
 [0368] 226. TTAAATCATCTGCCCTATATT
 [0369] 227. TTAATCATCTGCCCTATATTA
 [0370] 228. TGCAAGATACCATACATTTAT
 [0371] 229. GCAAGATACCATACATTTATA
 [0372] 230. GGTCCATGTGATTTCTTTAAT
 [0373] 231. TGCCATAACTATAGCATTTAT
 [0374] 232. GGATACCATCCACACTATAAA
 [0375] 233. TGTGTTTCCTTCCAGATAATT
 [0376] 234. GTGTTTCCTTCCAGATAATTT
 [0377] 235. GTGTGCTGAAAGGGCTATAAA
 [0378] 236. TTGAACCAACCACCTATAAA
 [0379] 237. TAAACGTTGTATGGCTTATTT
 [0380] 238. ATCCCTGTGTACACAATATTT
 [0381] 239. ATGTGTGGTAAATCCATTATT
 [0382] 240. TGTGTGGTAAATCCATTATTT
 [0383] 241. ATGAGCATTGGCAGTAATAT
 [0384] 242. TGAGCATTGGCAGTAATATT
 [0385] 243. GAGCATTGGCAGTAATATTA
 [0386] 244. AGCATTGGCAGTAATATTAT
 [0387] 245. GCATTGGCAGTAATATTATT
 [0388] 246. GAGACTCTGCTGAAGTTTATA
 [0389] 247. AGACTCTGCTGAAGTTTATAA

[0390] 248. CAGTTATAGAAGTGCTAATTT
 [0391] 249. TATGATGACCTCCTGAATTAT
 [0392] 250. GGGTCTGGTGTTCATTTATT
 [0393] 251. GGTCTGGTGTTCATTTATTT
 [0394] 252. GGGTCTCATTATAGTTAATAT
 [0395] 253. TAACAGCATGTCAGGTAATAA
 [0396] 254. GCAGAGCCCTATTCCCTTAAA
 [0397] 255. CTCCTAAATGTTTGAAAATT
 [0398] 256. TTAGCATTTCTGACCTATTTA
 [0399] 257. TAGCATTTCTGACCTATTTAT
 [0400] 258. AGCATTTCTGACCTATTTATT
 [0401] 259. ACAGGATATAGGGAATAATTT
 [0402] 260. CAGGATATAGGGAATAATTTA
 [0403] 261. TAGCACTGAAATGCCTATATT
 [0404] 262. AGCACTGAAATGCCTATATTA
 [0405] 263. GAGCAGAAATCAATGAAATAT
 [0406] 264. ACTTGTAACCAGACCAATTTA
 [0407] 265. CTTGTAACCAGACCAATTTAA
 [0408] 266. ACTCAGTGAACAAGTAAATAA
 [0409] 267. TAGCCCTGTATCAAGTAAATT
 [0410] 268. ACAAGATTCCAGAACATTTAA
 [0411] 269. CAAGATTCCAGAACATTTAAA
 [0412] 270. GAGAGTTACCCAAAGAATTTA
 [0413] 271. AGAGTTACCCAAAGAATTTAA
 [0414] 272. AGAAGAAAGGTTTGAAAATT
 [0415] 273. AGCCCAATCTATAGGATTTAT
 [0416] 274. GCCCAATCTATAGGATTTATA
 [0417] 275. CCCAATCTATAGGATTTATAT
 [0418] 276. AGTTCATCGTTAGTGTATAT
 [0419] 277. GTTCATCGTTAGTGTATATA
 [0420] 278. ACCACCATGCCAGCTAATTT
 [0421] 279. ATGACCCATTTGAAGTTAATT
 [0422] 280. TGACCCATTTGAAGTTAATTT
 [0423] 281. ATGCTGGCCTCACTGAATAAAA
 [0424] 282. TGCTGGCCTCACTGAATAAAAT
 [0425] 283. GCTGGCCTCACTGAATAAAATT

[0426] 284. TGTCCCTCCTCTCAATTAT
 [0427] 285. GTCCCTCCTCTCAATTATT
 [0428] 286. TTCCTCCTCTCAATTATTT
 [0429] 287. TTGGTAGGTTGTGCGTATTTA
 [0430] 288. ATTAGTTGGCATGCAATTATT
 [0431] 289. ATTCGTAGTTCTCTGAATAAT
 [0432] 290. TTCCTTCTGTGGCCTTTAAT
 [0433] 291. TCCTTCTGTTGGCCTTTAATT
 [0434] 292. CCTTCTGTTGGCCTTTAATTT
 [0435] 293. GAAAGCATTTAGAGCTATAAA
 [0436] 294. CTTTCACTACCTGCCATAAAT
 [0437] 295. TTCACTACCTGCCATAAATT
 [0438] 296. TTCCTACCTGCCATAAATTT
 [0439] 297. TCCTTGACCTATTGGTTATTT
 [0440] 298. CCTTGACCTATTGGTTATTTA
 [0441] 299. CTGACCTATTGGTTATTTAA
 [0442] 300. TTGTGATCACAGAAGATATTT
 [0443] 301. TGTATAATCGCAGTCTATTAA
 [0444] 302. TCGCAGTCTATTAACATTTAT
 [0445] 303. CGCAGTCTATTAACATTTATT
 [0446] 304. GAGTGGTAAAGTCTCTATTAT
 [0447] 305. AGTGGTAAAGTCTCTATTATT
 [0448] 306. AGCATAAGCTATGTCATTAAT
 [0449] 307. CTCTTCATTTCCCTCAATATT
 [0450] 308. TGAGATACCTAGAACAATATA
 [0451] 309. GAGATACCTAGAACAATATAA
 [0452] 310. CTCTTCTCTGTGAGATTATA
 [0453] 311. ACAACAGCCTGGAAGTATAAT
 [0454] 312. CAACAGCCTGGAAGTATAAATT
 [0455] 313. ACAGCCTGGAAGTATAAATTAA
 [0456] 314. ATTCAAAGTATGCCAATTTA
 [0457] 315. TTCAAAGTATGCCAATTTAA
 [0458] 316. AGTCAACACCAATATTTAAA
 [0459] 317. AGCTCCTGTTTGAAGTAAATT
 [0460] 318. GCTCCTGTTTGAAGTAAATTT
 [0461] 319. GCCTTCCAAGGTTTCTATTAA

[0462] 320. TGTGGGTCTCTTTGGATTAT
 [0463] 321. TATGGTCTGTAGAGATATTT
 [0464] 322. TGTCTCAATTTCCCTATATA
 [0465] 323. GTTCTCAATTTCCCTATATAA
 [0466] 324. AGGTTGGAACATTTCAAATAA
 [0467] 325. TTACATGGGCTGTTCTATAAA
 [0468] 326. TACATGGGCTGTTCTATAAAT
 [0469] 327. TGTTACTTAAGGTGGTTAATA
 [0470] 328. GTTACTTAAGGTGGTTAATAA
 [0471] 329. GTTGCTCAAGTCTTCTATATT
 [0472] 330. CAACATGCAGGTTTGTATAT
 [0473] 331. ACATGCAGGTTTGTATATAT
 [0474] 332. ACGTGTGCATGTGCTTTATA
 [0475] 333. CTTTATAGCAGCATGATTTAT
 [0476] 334. TGTGTCTTTGGCTGCATAAAT
 [0477] 335. CTTTGTAGATTCTGGATATTA
 [0478] 336. GCAGAAGCTCTTTAGTTAAT
 [0479] 337. TTTCCAGCACCATTTATTAA
 [0480] 338. TTCCAGCACCATTTATTA
 [0481] 339. TCCCAGCACCATTTATTA
 [0482] 340. CCCAGCACCATTTATTA
 [0483] 341. GTTGTAGATGTGTTGTTATTAT
 [0484] 342. TTGTAGATGTGTTGTTATTATT
 [0485] 343. TGTAGATGTGTTGTTATTATTT
 [0486] 344. GTTCTGTTCATTGGTTTATA
 [0487] 345. TTCTGTTCATTGGTTTATAT
 [0488] 346. GGATGGCATTGAATCTATAAA
 [0489] 347. GATGGCATTGAATCTATAAAT
 [0490] 348. CCTAATTGAATACCCTTTATT
 [0491] 349. GGCTGTGGGTTTGTACATAAAT
 [0492] 350. GCTGTGGGTTTGTACATAAATA
 [0493] 351. TGTCCCATCAATACCTAATTT
 [0494] 352. GTCCCATCAATACCTAATTTA
 [0495] 353. TCCCATCAATACCTAATTTAT
 [0496] 354. CCCATCAATACCTAATTTATT
 [0497] 355. TTGTCTTTGGTCTGTTTATA

[0498] 356. TGTCTTTGGTCTGTTTATAT
 [0499] 357. AGCATGCTTTGCTGGTATTAA
 [0500] 358. GCATGCTTTGCTGGTATTAAT
 [0501] 359. CATGCTTTGCTGGTATTAATA
 [0502] 360. ATGCTTTGCTGGTATTAATAT
 [0503] 361. TGCTTTGCTGGTATTAATATA
 [0504] 362. GAGAGTTAGAACCTCAATATA
 [0505] 363. AGAGTTAGAACCTCAATATAT
 [0506] 364. CCACCACGCCTGGCTTTATAA
 [0507] 365. CACCACGCCTGGCTTTATAAT
 [0508] 366. ACCACGCCTGGCTTTATAAATT
 [0509] 367. CCACGCCTGGCTTTATAATTT
 [0510] 368. GTCTAGCTCCAAGTGATATAT
 [0511] 369. TTTGCTTCTGTCTGAAATATA
 [0512] 370. TTGCTTCTGTCTGAAATATAT
 [0513] 371. TCTTAAGTCTGTGAGTTTATA
 [0514] 372. TCTCTGATTTCCACCTATATT
 [0515] 373. CTCTGATTTCCACCTATATTA
 [0516] 374. GTATATACTCCAGAGAAATAA
 [0517] 375. CACCAGAACTGAAACATTAAT
 [0518] 376. ACCAGAACTGAAACATTAATT
 [0519] 377. CCAGAACTGAAACATTAATTT
 [0520] 378. GTCTGGAACCTCGGAATTAA
 [0521] 379. CTTTCTGTGCCTGGCTTATTT
 [0522] 380. CAGGATTTACCTTCCTTTAAA
 [0523] 381. TCTGTTGATGGGCACTTAAAT
 [0524] 382. CTGTTGATGGGCACTTAAATT
 [0525] 383. TCATAGCGGCTGTACTAATTT
 [0526] 384. CATAGCGGCTGTACTAATTTA
 [0527] 385. TTTACCATTTCAGATATAT
 [0528] 386. GTGTAATAAAGGGTCTAATTT
 [0529] 387. TGGTTATGTCATCAGTAATTA
 [0530] 388. CCTTGCATCCTAAGGATAAAT
 [0531] 389. GTGAATCCAGTTTGCTAATAT
 [0532] 390. TGAATCCAGTTTGCTAATATA
 [0533] 391. GAATCCAGTTTGCTAATATAT

[0534] 392. CCATGTTTCATCAGGGATATTA
 [0535] 393. GTGTCTTTCTCTGGCTTTAAT
 [0536] 394. TGTCTTTCTCTGGCTTTAATA
 [0537] 395. GTCTTTCTCTGGCTTTAATAA
 [0538] 396. TTGTGATCCTTCTCTTTATT
 [0539] 397. GTAGGTTTGTATCGCTATAAAA
 [0540] 398. TAGGTTTGTATCGCTATAAAT
 [0541] 399. AGGTTTGTATCGCTATAAATT
 [0542] 400. GGTTTGTATCGCTATAAATTT
 [0543] 401. TCATTTGTCTCAAGGTAATTT
 [0544] 402. TTTGGGAGCATATTGTTTAAT
 [0545] 403. TTGGGAGCATATTGTTTAATT
 [0546] 404. TGGGAGCATATTGTTTAATTT
 [0547] 405. TGGATGGAATGTTTCATATAT
 [0548] 406. AGTATTGAGGTCCCGTATTAT
 [0549] 407. GTATTGAGGTCCCGTATTATA
 [0550] 408. CTCCTCTTCACATCATTTAA
 [0551] 409. TCCCTCTTCACATCATTTAAA
 [0552] 410. TATGTCTTCTTGGTGAATTAA
 [0553] 411. ATGTCTTCTTGGTGAATTAAT
 [0554] 412. CTGCTCTCAATTTCCATTTAT
 [0555] 413. TGCTCTCAATTTCCATTTATA
 [0556] 414. GCTCTCAATTTCCATTTATAT
 [0557] 415. TCCTTCAGCACTTTGAATATA
 [0558] 416. TCAGCTATTACTTCTTAAAT
 [0559] 417. CAGCTATTACTTCTTAAATA
 [0560] 418. TCCTTAAGGACCTCCTATTAT
 [0561] 419. GCTTGACCTCTAAACATATAA
 [0562] 420. CTTGACCTCTAAACATATAAA
 [0563] 421. ACCAATACCTTGTGTAATAAA
 [0564] 422. TTGACACTGGCTCTCTTTATA
 [0565] 423. TGACACTGGCTCTCTTTATAA
 [0566] 424. CAGAAGATGTGTTGATAATA
 [0567] 425. GTTTGACGTGAAGAGTTTAAA
 [0568] 426. CTCTGAGCTTCAGTGAATTAT
 [0569] 427. AGGGTTGAATGCTGGATTTAA

[0570] 428. GGGTTGAATGCTGGATTTAAA
 [0571] 429. GGTGAATGCTGGATTTAAAT
 [0572] 430. GTTGAATGCTGGATTTAAATA
 [0573] 431. AGTGAAAGCAAAGAGAATAAA
 [0574] 432. CATGATGTTCCAAACTTTAAA
 [0575] 433. AGGTGGCCAAGGGCCTTAATA
 [0576] 434. GCCCAGCTGGCTCTGTAATAA
 [0577] 435. CCCAGCTGGCTCTGTAATAAA
 [0578] 436. CCAGCTGGCTCTGTAATAAAT
 [0579] 437. TGGTGCATCGGGCCATATTT
 [0580] 438. TAACTAGGTCAACAGAATATT
 [0581] 439. GCAAAGTTAATCCTCATATAA
 [0582] 440. GCAGCATCTGTTCTGATTAAA
 [0583] 441. CAGCATCTGTTCTGATTAAAT
 [0584] 442. AGCATCTGTTCTGATTAAATA
 [0585] 443. GCATCTGTTCTGATTAAATAT
 [0586] 444. CTGCACAACGACCCTTTATT
 [0587] 445. TGCACAACGACCCTTTATTA
 [0588] 446. TGATGGCTTTCCTACTATTTA
 [0589] 447. GATGGCTTTCCTACTATTTAA
 [0590] 448. AGCTCAGCCATCTGGTTTAAA
 [0591] 449. CTGACTGCCTTAGACTAATAT
 [0592] 450. TGA CTGCCTTAGACTAATATA
 [0593] 451. CAGCATTTGACAAAGAAATAA
 [0594] 452. AGGATATGGATGATGTATATA
 [0595] 453. GTCGACCCTAAGAAGATAATA
 [0596] 454. AGAAACCTGAACAAGTAATAA
 [0597] 455. GAAACCTGAACAAGTAATAAT
 [0598] 456. AGTCACACAACAGACTAAATT
 [0599] 457. GTCACACAACAGACTAAATTT
 [0600] 458. AGCGAGAGTGTCTCATTAT
 [0601] 459. GCGAGAGTGTCTCATTATATA
 [0602] 460. CGAGAGTGTCTCATTATAT
 [0603] 461. ATCCTCTATCTCTGTTAATAA
 [0604] 462. AGCAAGTGCTATTCCATATTT
 [0605] 463. CTGGAGTCCATGGAGAAATAT

[0606] 464. CCTCCAAGGACATACTTTATA
 [0607] 465. CTCCAAGGACATACTTTATAA
 [0608] 466. TCCAAGGACATACTTTATAAT
 [0609] 467. CCAAGGACATACTTTATAATA
 [0610] 468. GTGAGGGCAATGGTGAATATA
 [0611] 469. TGAGGGCAATGGTGAATATAA
 [0612] 470. CGAAAGGCAAGCTTCTTAAAT
 [0613] 471. GAAAGGCAAGCTTCTTAAATA
 [0614] 472. GGCAAGCAAGGCAGGATTTAA
 [0615] 473. ACAGGAACCTGGCTCTAATTT
 [0616] 474. GGGACCTCCTGACATTTAATT
 [0617] 475. GGACCTCCTGACATTTAATTA
 [0618] 476. GACCTCCTGACATTTAATTAA
 [0619] 477. GTGGGAGCTTGTTACATATAT
 [0620] 478. CTAAGTCTTCTCATCTATATA
 [0621] 479. TTAGGTGGTCATGAGATAAAT
 [0622] 480. TAGGTGGTCATGAGATAAATA
 [0623] 481. AGGTGGTCATGAGATAAATAT
 [0624] 482. GGTGGTCATGAGATAAATATA
 [0625] 483. GTGGTCATGAGATAAATATAT
 [0626] 484. CACAAAGCACATGGCTAAATA
 [0627] 485. ACAAAGCACATGGCTAAATAA
 [0628] 486. CGGTTATGTAGAAGCTATTTA
 [0629] 487. GGTATGTAGAAGCTATTTAA
 [0630] 488. AGCCACCCTTAATTGAATAAT
 [0631] 489. ACTACCCTTTACTGGTAATTT
 [0632] **SEQ ID NO: 490**
 [0633] 출기 고리 인공/합성 서열.
 [0634] CTCGAG
 [0635] **SEQ ID NO: 491**
 [0636] 출기 고리 인공/합성 서열.
 [0637] TCAAGAG
 [0638] **SEQ ID NO: 492**
 [0639] 출기 고리 인공/합성 서열.
 [0640] TTCG
 [0641] **SEQ ID NO: 493**

- [0642] 줄기 코리 인공/합성 서열.
- [0643] GAAGCTTG
- [0644] SEQ ID NO: 494
- [0645] shRNA 인공/합성 서열.
- [0646] 5'-ATATCACCTTACAGAAATTACTCGAGTAATTTCTGTAAGGTGATAT -3'
- [0647] SEQ ID NO: 495
- [0648] shRNA 인공/합성 서열.
- [0649] 5'-TATCACCTTACAGAAATTACTCGAGTAATTTCTGTAAGGTGATA -3'
- [0650] SEQ ID NO: 496
- [0651] shRNA 인공/합성 서열.
- [0652] 5'-ATCACCTTACAGAAATTACTCGAGTAATTTCTGTAAGGTGAT -3'
- [0653] SEQ ID NO: 497
- [0654] shRNA 인공/합성 서열.
- [0655] 5'-TCACCTTACAGAAATTACTCGAGTAATTTCTGTAAGGTGA -3'
- [0656] SEQ ID NO: 498
- [0657] shRNA 인공/합성 서열.
- [0658] 5'-GATATCACCTTACAGAAATTCTCGAGAAATTTCTGTAAGGTGATATC -3'
- [0659] SEQ ID NO: 499
- [0660] shRNA 인공/합성 서열.
- [0661] 5'-GATATCACCTTACAGAAATCTCGAGATTCTGTAAGGTGATATC -3'
- [0662] SEQ ID NO: 500
- [0663] shRNA 인공/합성 서열.
- [0664] 5'-GATATCACCTTACAGAACTCGAGTTCTGTAAGGTGATATC -3'
- [0665] SEQ ID NO: 501
- [0666] shRNA 인공/합성 서열.
- [0667] 5'-GATATCACCTTACAGACTCGAGTCTGTAAGGTGATATC -3'
- [0668] SEQ ID NO: 502
- [0669] shRNA 인공/합성 서열.
- [0670] 5'-TGCTCTTCTTTCTACTTTATTCTCGAGAAATAAGTAGAAAGAAGAGCA -3'
- [0671] SEQ ID NO: 503
- [0672] shRNA 인공/합성 서열.
- [0673] 5'-CTCAATCCAATAACCTAATTTCTCGAGAAATTAGGTTATTGGATTGAG -3'
- [0674] SEQ ID NO: 504
- [0675] shRNA 인공/합성 서열.
- [0676] 5'-TTAGTCACATCCCACAAATTTCTCGAGAAATTTGTGGGATGTGACTAA -3'
- [0677] SEQ ID NO: 505

[0678] shRNA 인공/합성 서열.
 [0679] 5'- TCCTAGGTCATAATGATAATTCTCGAGAATTATCATTATGACCTAGGA -3'

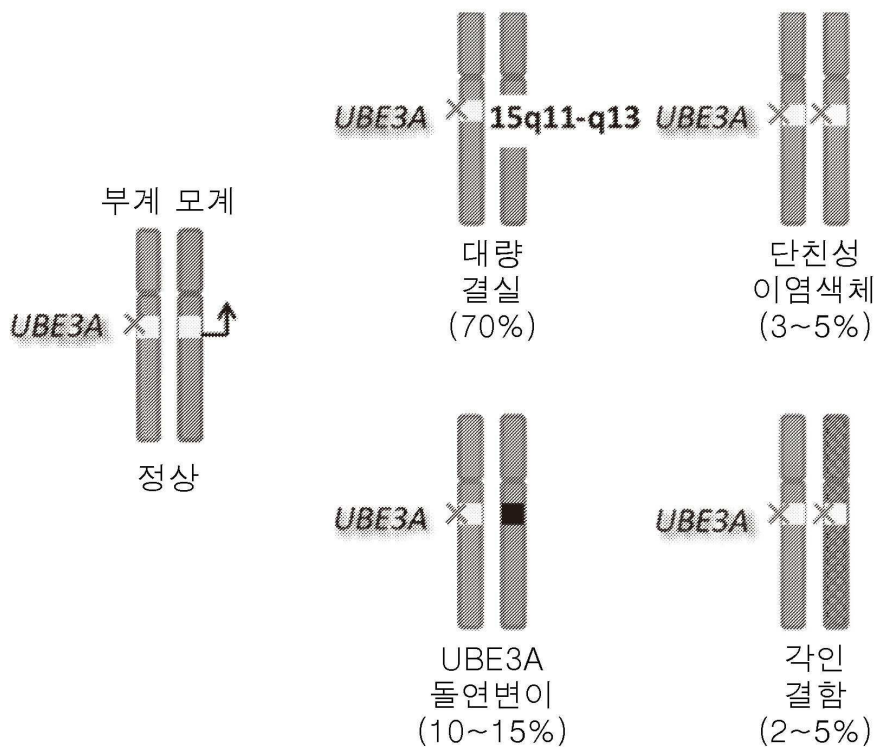
[0680] SEQ ID NO: 506

[0681] shRNA 인공/합성 서열.

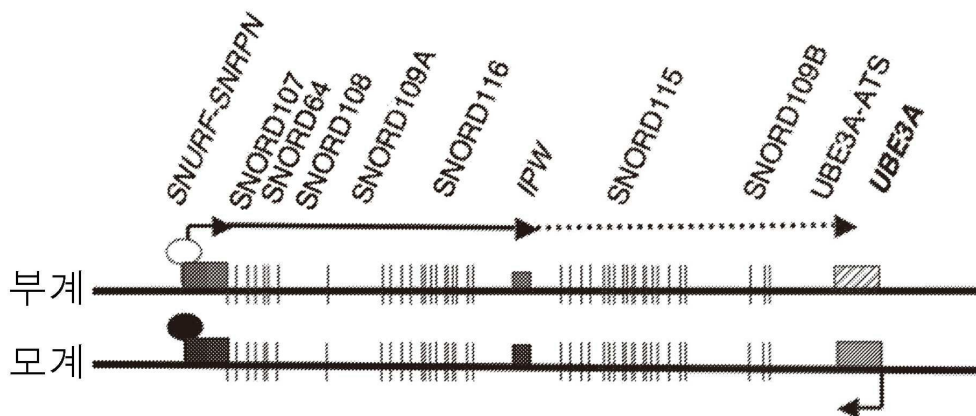
[0682] 5'-GATATCACCTTACAGAAATTA~~nnnnnnnn~~TAATTTCTGTAAGGTGATATC -3', 여기서, ~~nnnnnnnn~~은 CTCGAG (SEQ ID NO: 490), TCAAGAG (SEQ ID NO: 491), TTCG (SEQ ID NO: 492) 또는 GAAGCTTG (SEQ ID NO: 493)일 수 있다.

도면

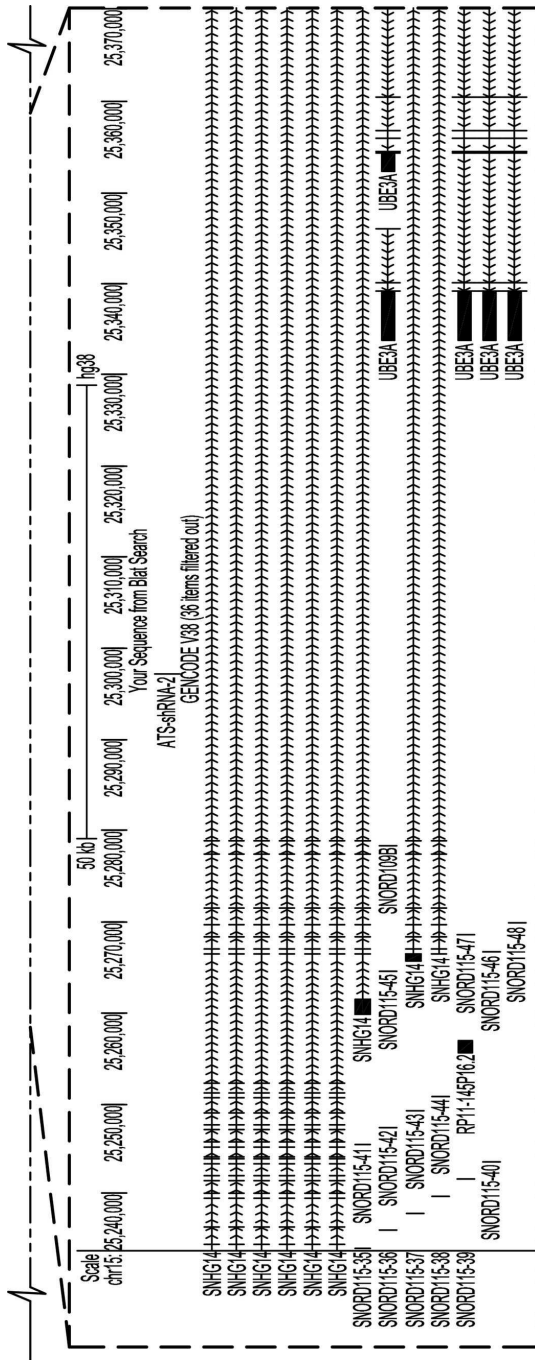
도면1



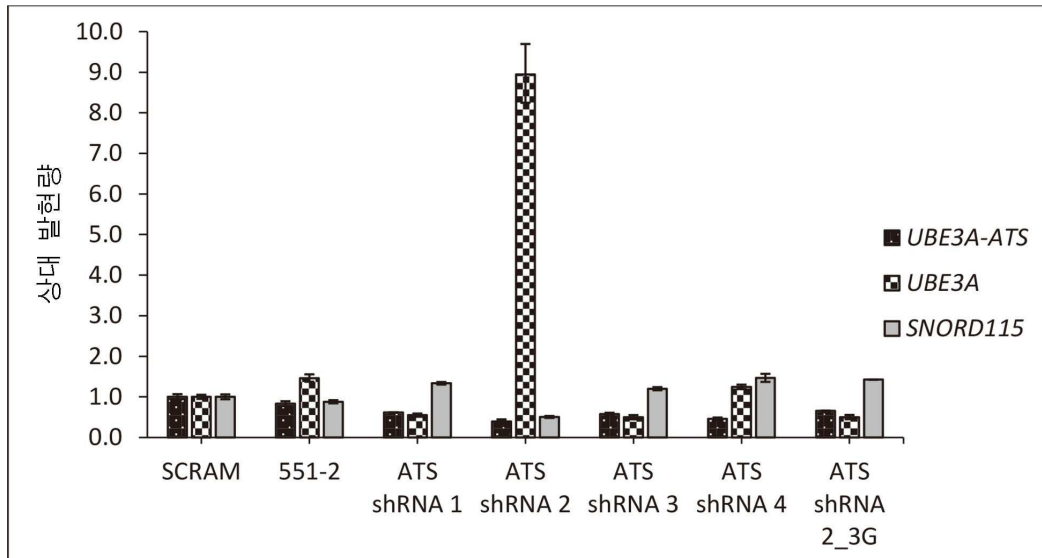
도면2



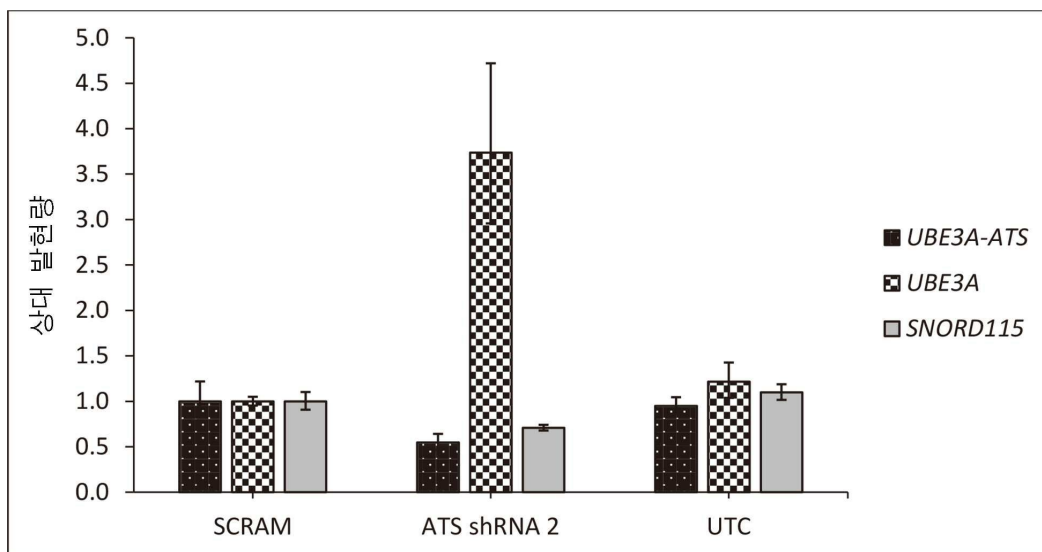
도면3b



도면4



도면5



서 열 목 록 (첨부)



아이콘을 클릭하시면 서열목록 파일이 열립니다.

본 공보 PDF는 첨부파일을 가지고 있습니다. Acrobat Reader PDF뷰어를 제공하지 않는 브라우저(크롬, 파이어폭스, 사파리 등)의 경우 첨부파일 열기가 제한되어 있으므로 Acrobat Reader PDF뷰어 설치 후 공보 PDF를 다운로드 받아 해당 뷰어에서 조회해주시기 바랍니다.