РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

(19) **RU** (11) **2 703 411**(13) **C2**

(51) МПК
A61K 31/7088 (2006.01)
A61K 31/7125 (2006.01)
C12N 15/113 (2010.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК
C07H 21/00 (2019.05); C12N 15/1137 (2019.05); C12N 2310/315 (2019.05); C12N 2310/3341 (2019.05); C12N 2310/341 (2019.05); C12N 2310/351 (2019.05)

(21)(22) Заявка: **2016146818, 01.05.2015**

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
01.05.2015

Дата регистрации:
16.10.2019

Приоритет(ы):
(30) Конвенционный приоритет:
01.05.2014 US 61/987,478;
01.10.2014 US 62/058,629;
05.12.2014 US 62/088,459

(43) Дата публикации заявки: **04.06.2018** Бюл. № **16**

(45) Опубликовано: **16.10.2019** Бюл. № **29**

(85) Дата начала рассмотрения заявки PCT на национальной фазе: **01.12.2016**

(86) Заявка PCT:
US 2015/028765 (01.05.2015)

(87) Публикация заявки PCT:
WO 2015/168532 (05.11.2015)

Адрес для переписки:
119019, Москва, Гоголевский б-р, 11, этаж 3, "Гоулинг ВЛГ (Интернэшнл) Инк.", Карпенко Оксана Юрьевна

(72) Автор(ы):
ПРАКАШ Тража П. (US),
СЭТ Пунит П. (US),
СВЭЙЗ Эрик Э. (US),
ФРЭЙЕР Сьюзан М. (US),
БУЙ Хуйнх-Хоа (US)

(73) Патентообладатель(и):
ИОНИС ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ, ИНК. (US)

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: **WO 2013003808 A1, 03.01.2013. US 20100093085 A1, 15.04.2010. US 20020082227 A1, 27.06.2002. RU 2145964 C1, 27.02.2000.**

(54) КОМПОЗИЦИИ И СПОСОБЫ МОДУЛИРОВАНИЯ ЭКСПРЕССИИ ПКП

(57) Реферат:

Изобретение относится к области биотехнологии. Описана группа изобретений, включающая соединение для снижения количества РНК прекалликреина (ПКП), содержащее модифицированный олигонуклеотид, содержащий по меньшей мере одну модифицированную межнуклеозидную связь, модифицированный сахар или модифицированное основание, и группу конъюгата, соль вышеуказанного соединения, фармацевтическую композицию для лечения, предупреждения или облегчения протекания заболевания, расстройства или состояния, связанного с ПКП, пролекарство для снижения количества РНК прекалликреина (ПКП), применение соединения, соли, фармацевтической композиции или пролекарства для предупреждения, лечения или облегчения заболевания, расстройства или состояния,

RU 2703411 C2

RU 2703411 C2

связанного с ПКП. В одном из вариантов реализации соединение содержит модифицированный олигонуклеотид согласно следующей формуле: Tes Ges mCes Aes Aes Gds Tds mCds Tds mCds Tds Tds Gds Gds mCds Aes Aes Aes mCes Ae (SEQ ID NO: 570). Изобретение расширяет арсенал средств для снижения количества РНК прекалликреина. 9 н. и 32 з.п. ф-лы, 194 табл., 137 пр.

RU 2703411 C2

RU 2703411 C2

RUSSIAN FEDERATION

FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(19) **RU** (11) **2 703 411** (13) **C2**

(51) Int. Cl.
A61K 31/7088 (2006.01)
A61K 31/7125 (2006.01)
C12N 15/113 (2010.01)

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(52) CPC
C07H 21/00 (2019.05); C12N 15/1137 (2019.05); C12N 2310/315 (2019.05); C12N 2310/3341 (2019.05); C12N 2310/341 (2019.05); C12N 2310/351 (2019.05)

(21)(22) Application: **2016146818, 01.05.2015**

(24) Effective date for property rights:
01.05.2015

Registration date:
16.10.2019

Priority:
(30) Convention priority:
01.05.2014 US 61/987,478;
01.10.2014 US 62/058,629;
05.12.2014 US 62/088,459

(43) Application published: **04.06.2018** Bull. № **16**

(45) Date of publication: **16.10.2019** Bull. № **29**

(85) Commencement of national phase: **01.12.2016**

(86) PCT application:
US 2015/028765 (01.05.2015)

(87) PCT publication:
WO 2015/168532 (05.11.2015)

Mail address:
119019, Moskva, Gogolevskij b-r, 11, etazh 3, "Gouling VLG (Interneshnl) Ink.", Karpenko Oksana Yurevna

(72) Inventor(s):
PRAKASH Thazha P. (US),
SETH Punit P. (US),
SWAYZE Eric E. (US),
FREIER Susan M. (US),
BUI Huynh-Hoa (US)

(73) Proprietor(s):
IONIS PHARMACEUTICALS, INC. (US)

RU 2703411 C2

(54) COMPOSITIONS AND METHODS FOR MODULATING PKK EXPRESSION

(57) Abstract:

FIELD: biotechnology.

SUBSTANCE: invention relates to the field of biotechnology. Described is a group of inventions comprising a compound for reducing the amount of RNA prekallikrein (PKK) containing a modified oligonucleotide comprising at least one modified internucleoside bond, modified sugar or a modified base, and a conjugate group, a salt of said compound, a pharmaceutical composition for treating, preventing or relieving a disease, disorder or condition associated with PKK, pro-drug for reducing the amount of RNA of prekallikrein (PKK), use of a compound, salt, pharmaceutical composition or pro-drug for preventing, treating or relieving a disease, disorder or condition associated with PKK. In one embodiment, the compound contains a modified oligonucleotide according to the following formula: Tes Ges mCes Aes Aes Gds Tds mCds Tds mCds Tds Tds Gds Gds mCds Aes Aes Aes mCes Ae (SEQ ID NO: 570).

EFFECT: invention extends the range of agents for

reducing the amount of prekallikrein RNA.

41 cl, 194 tbl, 137 ex

RU 2703411 C2

RU 2703411 C2

Перечень последовательностей

Настоящее изобретение зарегистрировано вместе с перечнем последовательностей в электронном формате. Перечень последовательностей представлен в виде файла под названием BIOL0252WOSEQ_ST25.txt, созданного 27 апреля 2015 года, размером около 636 Кб. Информация о перечне последовательностей в электронном формате в полном объеме включена в настоящий документ посредством ссылки.

Область техники

Предложены соединения, композиции и способы снижения экспрессии мРНК и белка прекалликреина (ПКП) плазмы человека у животного. Такие композиции и способы пригодны для лечения, предупреждения или облегчения воспалительных и тромбоэмболических состояний.

Уровень техники

Прекалликреин плазмы (ПКП) является прекурсором калликреина плазмы (РК), который кодируется геном KLKB1. ПКП представляет собой гликопротеин, участвующий в поверхностно-зависимой активации коагуляции крови, фибринолизе, генерации кинина и воспалении. Фактор XIIa превращает ПКП в РК путем расщепления внутренней пептидной связи Arg-Ile. РК высвобождает кинины из кининогенов, а также генерирует плазмин из плазминогена. РК является членом кинин-калликреинового пути, который состоит из нескольких белков, играющих роль в воспалении, контроле кровяного давления, коагуляции и боли.

Сущность изобретения

В данном описании предложены соединения, композиции и способы модулирования экспрессии мРНК и белка ПКП. В некоторых вариантах реализации изобретения соединения, пригодные для модуляции экспрессии мРНК и белка ПКП, представляют собой антисмысловые соединения. В некоторых вариантах реализации изобретения антисмысловые соединения представляют собой антисмысловые олигонуклеотиды.

В некоторых вариантах реализации изобретения модуляция может происходить в клетке или ткани. В некоторых вариантах реализации изобретения клетки или ткани находятся в организме животного. В некоторых вариантах реализации животное представляет собой человека. В некоторых вариантах реализации изобретения уровни мРНК ПКП снижаются. В некоторых вариантах реализации изобретения уровни белка ПКП снижаются. Подобные сокращения могут возникать в зависимости от времени или в зависимости от дозы.

Также предложены соединения, композиции и способы, пригодные для предупреждения, лечения и облегчения протекания заболеваний, расстройств и состояний, связанных с ПКП. В некоторых вариантах реализации изобретения такие связанные с ПКП заболевания, расстройства и состояния представляют собой воспалительные заболевания. В некоторых вариантах реализации изобретения воспалительное заболевание может быть острым или хроническим воспалительным заболеванием. В некоторых вариантах реализации изобретения такие воспалительные заболевания могут включать наследственный ангионевротический отек (НАЕ), отек, ангионевротический отек, припухлость, ангионевротический отек век, отек глаза, отек желтого пятна и отек мозга. В некоторых вариантах реализации изобретения такие связанные с ПКП заболевания, расстройства, и состояния представляют собой тромбоэмболические заболевания. В некоторых вариантах реализации изобретения такие тромбоэмболические заболевания могут включать тромбоз, эмболию, тромбоэмболию, тромбоз глубоких вен, легочную эмболию, инфаркт миокарда, инсульт и инфаркт.

Такие заболевания, расстройства и патологические состояния могут в совокупности иметь один или несколько факторов риска, причин или последствий.

Некоторые факторы риска и причины развития воспалительного заболевания включают генетическую предрасположенность к воспалительному заболеванию и факторы внешней среды. В некоторых вариантах реализации изобретения у субъекта присутствует мутантный ген ингибитора комплемент 1 эстеразы (C1-INH) или мутантный ген Фактора 12. В некоторых вариантах реализации изобретения субъект принимал или принимает ингибиторы ангиотензин-превращающего фермента (ингибиторы ACE) или блокаторы рецептора ангиотензина II (ARB). В некоторых вариантах реализации изобретения у субъекта возникала аллергическая реакция, ведущая к ангионевротическому отеку. В некоторых вариантах реализации изобретения у субъекта присутствует HAE типа I. В некоторых вариантах реализации изобретения у субъекта присутствует HAE типа II. В некоторых вариантах реализации изобретения у субъекта присутствует HAE типа III.

Некоторые варианты исхода, связанные с развитием воспалительного заболевания, включают отек/припухлость различных частей тела, включая конечности (т.е., кисти, стопы, руки, ноги), кишечник (брюшная полость), лицо, половые органы, гортань (т.е., голосовой аппарат); сосудистую проницаемость; транссудацию; генерализованное воспаление; боль в животе; вздутие; рвоту; диарею; кожный зуд; респираторные (астматические) реакции; ринит; анафилаксию; бронхоконстрикцию; гипотензию; кому; и смерть.

Некоторые факторы риска и причины развития тромбоэмболического заболевания включают генетическую предрасположенность к тромбоэмболическому заболеванию, ограниченную подвижность, хирургическое вмешательство (особенно, ортопедическое хирургическое вмешательство), злокачественное новообразование, беременность, пожилой возраст, применение пероральных контрацептивов, мерцание предсердий, тромбоэмболическое состояние в анамнезе, хроническое воспалительное заболевание и унаследованные или приобретенные протромботические расстройства свертываемости. Некоторые варианты исхода, связанные с развитием тромбоэмболического состояния, включают уменьшение тока крови через пораженный сосуд, гибель ткани и смерть.

В некоторых вариантах реализации изобретения способы лечения включают введение антисмыслового соединения против ПКП индивидууму, который нуждается в этом. В некоторых вариантах реализации изобретения способы лечения включают введение антисмысловых олигонуклеотидов против ПКП индивидууму, нуждающемуся в этом.

Подробное описание

Следует понимать, что изложенное выше общее описание и следующее подробное описание являются лишь примерными и пояснительными, и не являются ограничивающими заявленное изобретение. В настоящем документе использование единственного числа включает множественное число, если специально не указано иное. При использовании в настоящем документе, термин «или» означает «и/или», если не указано иное. Кроме того, использование термина «включая», а также других форм, таких как «включает» и «включенный», не является ограничивающим. Также, такие термины как «элемент» или «компонент» охватывают как элементы и компоненты, содержащие одну единицу, так и элементы и компоненты, которые содержат более одной субъединицы, если специально не указано иное.

При отсутствии конкретных определений, номенклатура, используемая в связи с ними, а также в связи с приемами и методиками аналитической химии, синтетической органической химии, а также медицинской и фармацевтической химии, описанная в

настоящем документе, является общеизвестной и общепринятой в данной области техники. Для химического синтеза и химического анализа могут быть использованы стандартные методики. Некоторые такие методики и приемы представлены, например, в публикациях "Carbohydrate Modifications in Antisense Research" под редакцией Sangvi и Cook, American Chemical Society, федеральный округ Вашингтон, 1994; "Remington's Pharmaceutical Sciences," Mack Publishing Co., Истон, штат Пенсильвания, 21^{e} издание, 2005; и "Antisense Drug Technology, Principles, Strategies, and Applications" под редакцией Stanley T. Crooke, CRC Press, Бока-Ратон, штат Флорида; а также в книге Sambrook et al., "Molecular Cloning, A laboratory Manual," 2^{e} издание, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989, которые включены в настоящий документ посредством ссылки для всех целей. Если это допустимо, все патенты, заявки, опубликованные заявки и другие публикации, а также другие данные, упоминаемые в тексте настоящего описания, включены в настоящий документ посредством ссылки в полном объеме.

Названия разделов, используемые в настоящем документе, предназначены лишь для организационных целей, и их не следует толковать как ограничение описанного объекта изобретения. Все документы или части документов, цитируемые в настоящей заявке, включая, но не ограничиваясь ими, патенты, патентные заявки, статьи, книги и трактаты, в явной форме включены в настоящий документ посредством ссылки в отношении частей документов, обсуждаемых в данном описании, а также в полном объеме.

Определения

При отсутствии конкретных определений, номенклатура, используемая в связи с ними, а также в связи с приемами и методиками аналитической химии, синтетической органической химии, а также медицинской и фармацевтической химии, описанная в настоящем документе, является общеизвестной и общепринятой в данной области техники. Для химического синтеза и химического анализа могут быть использованы стандартные методики. В допустимых случаях, все патенты, заявки, опубликованные заявки и другие публикации, инвентаризационные номера GENBANK и связанная информация о последовательностях, доступная через базы данных, такие как Национальный Центр Биотехнологической Информации (NCBI) и другие данные, на которые присутствует ссылка в данном описании, включены посредством ссылки в части документа, обсуждаемой в данном описании, а также в полном объеме.

Если не указано иное, следующие термины имеют следующие значения:

«2'-О-метоксиэтил» (также 2'-MOE и 2'-OCH_2CH_2-OCH_3 и MOE) обозначает модификацию О-метоксиэтил в положении 2' фуранозного кольца. 2'-О-метоксиэтил-модифицированный сахар представляет собой модифицированный сахар.

«2'-О-метоксиэтил-модифицированный нуклеозид» (также «2'-MOE нуклеозид») обозначает нуклеозид, содержащий модифицированный 2'-MOE сахарный фрагмент.

«2'-замещенный нуклеозид» означает нуклеозид, содержащий отличный от Н или ОН заместитель в 2'-положении фуранозного кольца. В некоторых вариантах реализации 2'-замещенные нуклеозиды включают нуклеозиды с бициклическими сахарными модификациями.

«2'-Дезоксинуклеозид» обозначает нуклеозид, содержащий водород в положении 2' сахарной части нуклеозида.

«3' Сайт-мишень» обозначает нуклеотид нуклеиновой кислоты-мишени, комплементарный 3'-крайнему нуклеотиду конкретного антисмыслового соединения.

«5' Сайт-мишень» обозначает нуклеотид нуклеиновой кислоты-мишени, комплементарный 5'-крайнему нуклеотиду конкретного антисмыслового соединения.

«5-метилцитозин» означает цитозин модифицированный метальной группой в 5 положении. 5-метилцитозин представляет собой модифицированное азотистое основание.

«Около» означает в пределах ±7% от значения. Например, если указано «соединения вызывают ингибирование ПКП по меньшей мере около 70%», это означает, что уровни ПКП ингибируются в пределах диапазона от 63% до 77%.

«Вводятся совместно» относится к совместному введению двух фармацевтических агентов любым способом, при котором фармакологические эффекты обоих проявляются у пациента одновременно. Совместное применение не требует, чтобы оба фармацевтических агента вводились в одной фармацевтической композиции, в одной лекарственной форме или одним способом введения. Эффекты обоих фармацевтических агентов не обязательно должны проявляться одновременно. Эффекты должны только перекрываться в промежутке времени и не обязательно должны иметь одинаковую продолжительность.

«Введение» означает обеспечение фармацевтическим агентом животного и включает, но не ограничивается этим, введение медицинским работником и самостоятельное введение.

«Алкил» в данном контексте означает насыщенный прямой или разветвленный углеводородный радикал, содержащий до двадцати четырех атомов углерода. Примеры алкильных групп включают, без ограничения, метил, этил, пропил, бутил, изопропил, н-гексил, октил, децил, додецил и т.п. Алкильные группы обычно содержат от 1 до около 24 атомов углерода, более часто от 1 до около 12 атомов углерода (C_1-C_{12} алкил), более предпочтительно от 1 до около 6 атомов углерода.

В данном контексте «алкенил» означает прямой или разветвленный углеводородный радикал, содержащий до двадцати четырех атомов углерода и имеющий по меньшей мере одну двойную углерод-углеродную связь. Примеры алкенильных групп включают, без ограничения, этенил, пропенил, бутенил, 1-метил-2-бутен-1-ил, диены, такие как 1,3-бутадиен и т.п. Алкенильные группы обычно содержат от 2 до около 24 атомов углерода, более часто от 2 до около 12 атомов углерода, более предпочтительно от 2 до около 6 атомов углерода. Алкенильные группы, используемые в настоящем документе, могут необязательно содержать одну или более дополнительных групп заместителей.

В данном контексте «алкинил» означает прямой или разветвленный углеводородный радикал, содержащий до двадцати четырех атомов углерода и имеющий по меньшей мере одну тройную углерод-углеродную связь. Примеры алкинильных групп включают, без ограничения, этинил, 1-пропинил, 1-бутинил и т.п. Алкинильные группы обычно содержат от 2 до около 24 атомов углерода, более часто от 2 до около 12 атомов углерода, более предпочтительно от 2 до около 6 атомов углерода. Алкинильные группы, используемые в настоящем документе, могут необязательно содержать одну или более дополнительных групп заместителей.

В данном контексте «ацил» означает радикал, образованный за счет удаления гидроксильной группы от органической кислоты, и имеет общую формулу -C(O)-X, где X обычно является алифатическим, алициклическим или ароматическим. Примеры включают алифатические карбонилы, ароматические карбонилы, алифатические сульфонилы, ароматические сульфинилы, алифатические сульфинилы, ароматические фосфаты, алифатические фосфаты и т.п. Ацильные группы, используемые в настоящем документе, могут необязательно содержать дополнительные группы заместителей.

В данном контексте «алициклическая» означает циклическую кольцевую систему, в которой кольцо является алифатическим. Кольцевая система может содержать одно

или более колец, при этом по меньшей мере одно кольцо является алифатическим. Предпочтительные алициклические системы включают кольца, имеющие от около 5 до около 9 атомов углерода в кольце. Алициклические группы, используемые в настоящем документе, могут необязательно содержать дополнительные группы заместителей.

В данном контексте «алифатический» означает прямой или разветвленный углеводородный радикал, содержащий до двадцати четырех атомов углерода, в котором насыщенность между любыми двумя атомами углерода представляет собой одинарную, двойную или тройную связь. Алифатическая группа предпочтительно содержит от 1 до около 24 атомов углерода, более часто от 1 до около 12 атомов углерода, при этом более предпочтительно от 1 до около 6 атомов углерода. Прямая или разветвленная цепь алифатической группы может быть прервана одним или более гетероатомами, которые включают азот, кислород, серу и фосфор. Такие алифатические группы, прерванные гетероатомами, включают, без ограничения, полиалкокси, такие как полиалкиленгликоли, полиамины и полиимины. Алифатические группы, используемые в настоящем документе, могут необязательно содержать дополнительные группы заместителей.

В данном контексте «алкокси» означает радикал, образованный между алкильной группой и атомом кислорода, при этом атом кислорода используется для присоединения алкокси-группы к исходной молекуле. Примеры алкокси-групп включают, без ограничения, метокси, этокси, пропокси, изопропокси, н-бутокси, втор-бутокси, трет-бутокси, н-пентокси, неопентокси, н-гексокси и т.п. Алкокси-группы, используемые в настоящем документе, могут необязательно содержать дополнительные группы заместителей.

В данном контексте «аминоалкил» означает аминозамещенный C_1-C_{12} алкильный радикал. Алкильная часть указанного радикала образует ковалентную связь с исходной молекулой. Аминогруппа может быть расположена в любом положении, и аминоалкильная группа может быть замещена дополнительной группой заместителя в алкильной и/или амино-части.

В данном контексте «аралкил» и «арилалкил» означает ароматическую группу, которая ковалентно связана с C_1-C_{12} алкильным радикалом. Часть алкильного радикала образовавшейся аралкильной (или арилалкильной) группы образует ковалентную связь с исходной молекулой. Примеры включают, без ограничения, бензил, фенетил и т.п. Аралкильные группы, используемые в настоящем документе, могут необязательно содержать дополнительные группы заместителей, присоединенные к алкильной, арильной или к обеим группам, которые образуют указанную радикальную группу.

В данном контексте «арил» и «ароматический» означают радикалы моно- или полициклической карбоциклической кольцевой системы, имеющие одно или более ароматических колец. Примеры арильных групп включают, без ограничения, фенил, нафтил, тетрагидронафтил, инданил, инденил и т.п. Предпочтительные арильные кольцевые системы имеют от около 5 до около 20 атомов углерода в одном или более кольцах. Арильные группы, используемые в настоящем документе, могут необязательно содержать дополнительные группы заместителей.

«Улучшение» относится к уменьшению, замедлению, остановке или инвертированному течению по меньшей мере одного показателя тяжести состояния или заболевания. Степень тяжести показателей может быть определена субъективными или объективными показателями, которые известны специалистам в данной области техники.

«Животное» относится к человеку или животному, не являющемуся человеком, включающему, но не ограничивающемуся ими, мышей, крыс, кроликов, собак, кошек, свиней и приматов, включая, но не ограничиваясь ими, обезьян и шимпанзе.

«Антисмысловая активность» означает любую обнаруживаемую или поддающуюся измерению активность, обусловленную гибридизацией антисмыслового соединения с его нуклеиновой кислотой-мишенью. В неких вариантах реализации антисмысловая активность представляет собой уменьшение количества или экспрессии нуклеиновой кислоты-мишени или белка, кодируемого такой нуклеиновой кислотой-мишенью. «Антисмысловое соединение» обозначает олигомерное соединение, которое способно к гибридизации с нуклеиновой кислотой-мишенью посредством водородной связи. Примеры антисмысловых соединений включают одноцепочечные и двухцепочечные соединения, такие как антисмысловые олигонуклеотиды, миРНК, мшРНК, оцРНК и соединения на их основе.

«Антисмысловое соединение» означает олигомерное соединение, способное к гибридизации, к целевой нуклеиновой кислоте за счет водородных связей. Примеры антисмысловых соединений включают одноцепочечные и двухцепочечные соединения, такие как антисмысловые олигонуклеотиды, миРНК, мшРНК, оцРНК и соединения на их основе.

«Антисмысловое ингибирование» означает снижение уровней целевой нуклеиновой кислоты в присутствии антисмыслового соединения комплементарного целевой нуклеиновой кислоте по сравнению с уровнями целевой нуклеиновой кислоты или в отсутствие антисмыслового соединения. «Антисмысловые механизмы» представляют собой все механизмы, принимающие участие в гибридизации соединения с нуклеиновой кислотой-мишенью, причем результат или эффект гибридизации представляет собой разложение мишени или оккупацию мишени с сопутствующей остановкой клеточного аппарата, включая, например, транскрипцию или сплайсинг.

«Антисмысловые механизмы» представляют собой все те механизмы гибридизации соединения с целевой нуклеиновой кислотой, отличающиеся тем, что результат или эффект гибридизации или целевой деградации, или целевой занятости с сопутствующей остановкой клеточных механизмов, при участии, например, транскрипции или сплайсинга.

«Антисмысловой олигонуклеотид» означает одноцепочечный олигонуклеотид, содержащий последовательности, обеспечивающие гибридизацию соответствующему сегменту целевой нуклеиновой кислоты. «Комплементарность основания» относится к способности спаривания конкретной пары азотистых оснований антисмыслового олигонуклеотида с соответствующими азотистыми основаниями в нуклеиновой кислоте-мишени (т.е. гибридизации), опосредованной уотсон-криковским, хугстиновским или обратным хугстиновским водородным связыванием между соответствующими азотистыми основаниями.

«Комплементарность основания» относится к способности спаривания конкретной пары азотистых оснований антисмыслового олигонуклеотида с соответствующими азотистыми основаниями в нуклеиновой кислоте-мишени (т.е. гибридизации), опосредованной уотсон-криковским, хугстиновским или обратным хугстиновским водородным связыванием между соответствующими азотистыми основаниями.

«Бициклический сахар» означает фуранозное кольцо, модифицированное образованием мостика между двумя атомами. Бициклический сахар представляет собой модифицированный сахар.

«Бициклический нуклеозид» (также БНК) означает нуклеозид, содержащий фрагмент

сахара, содержащий мостик, соединяющий два атома углерода сахарного кольца, в результате чего образуется бициклическая кольцевая система. В некоторых вариантах реализации, мостик соединяет 4'-углерод и 2'-углерод сахарного кольца.

«Кэп-структура» или «кэп-терминальный фрагмент» означает химические модификации, которые были сделаны на любом конце антисмыслового соединения.

«Углевод» означает природный углевод, модифицированный углевод или производное углевода.

«Углеводный кластер» означает соединение, имеющее один или более углеводных остатков, присоединенных к скелету или линкерной группе, (см., например, Maier et al., "Synthesis of Antisense Oligonucleotides Conjugated to a Multivalent Carbohydrate Cluster for Cellular Targeting," Bioconjugate Chemistry, 2003, (14): 18-29, полное содержание которой включено в настоящий документ посредством ссылки, или Rensen et al., "Design and Synthesis of Novel N-Acetylgalactosamine-Terminated Glycolipids for Targeting of Lipoproteins to the Hepatic Asiaglycoprotein Receptor," J. Med. Chem. 2004, (47): 5798-5808, где представлены примеры углеводных сопряженных кластеров).

«Производное углевода» означает любое соединение, которое может быть синтезировано с использованием углевода в качестве исходного материала или промежуточного соединения.

«cEt» или «стерически затрудненный этил» означает бициклический нуклеозид, содержащий сахарный фрагмент, содержащий мостик, соединяющий 4'-углерод и 2'-углерод, причем мостик имеет формулу: 4'-$CH(CH_3)$-O-2'.

«cEt модифицированный нуклеозид» (также «ограниченный этилнуклеозид») обозначает нуклеозид, содержащий бициклический сахарный фрагмент, который содержит мостик 4'-$CH(CH_3)$-O-2'.

«Химически различимый участок» относится к участку антисмыслового соединения, который в некотором роде химически отличается от другого участка того же антисмыслового соединения. Например, участок, содержащий 2'-O-метоксиэтиловые нуклеозиды, является химически отличным от участка, содержащего нуклеозиды без 2'-O-метоксиэтиловых модификаций.

«Химическая модификация» означает химическое отличие в соединении, по сравнению с природным аналогом. Химические модификации олигонуклеотидов включают нуклеозидные модификации (включая модификации сахарного фрагмента и модификации азотистого основания) и модификации межнуклеозидных связей. В отношении олигонуклеотида химическая модификация включает не только отличия в последовательности азотистых оснований.

«Химерное антисмысловое соединение» означает антисмысловое соединение, которое имеет по меньшей мере два химически различных участка, каждая позиция имеет множество субъединиц.

«Расщепляемая связь» означает любую химическую связь, которая может быть расщеплена. В некоторых вариантах реализации расщепляемая связь выбрана из: амида, полиамида, сложного эфира, эфира, одного или обоих сложных эфиров фосфодиэфира, фосфатного сложного эфира, карбамата, дисульфида или пептида.

«Расщепляемый фрагмент» означает связь или группу, которая может быть расщеплена при физиологических условиях. В некоторых вариантах реализации расщепляемый фрагмент расщепляется внутри клетки или во внутриклеточных отделах, таких как лизосома. В некоторых вариантах реализации расщепляемый фрагмент расщепляется эндогенными ферментами, такими как нуклеазы. В некоторых вариантах реализации расщепляемый фрагмент содержит группу атомов, имеющую один, два,

три, четыре или более четырех расщепляемых связей.

«Совместное введение» означает введение двух или более фармацевтических средств индивидууму. Два или более фармацевтических агента могут быть в одной фармацевтической композиции или могут быть в отдельных фармацевтических композициях. Каждый из двух или более фармацевтических агентов может вводиться через те же или различные пути введения. Совместное введение включает параллельное или последовательное введение.

«Комплементарность» означает способность спаривания азотистых оснований первой и второй нуклеиновых кислот.

«Включать», «включает» и «включающий» следует понимать как включение указанной стадии или элемента, или группы элементов или стадий, но не исключение любого другого элемента или стадии, или группы стадий или элементов.

«Конъюгат» или «группа конъюгата» означает атом или группу атомов, связанную с олигонуклеотидом или олигомерным соединением. Как правило, группы конъюгата модифицируют одно или более свойств соединения, к которому они присоединены, включая, но не ограничиваясь ими, свойства фармакодинамики, фармакокинетики, связывания, поглощения, клеточного распределения, клеточного захвата, заряда и/или выведения. «Линкер конъюгата» или «линкер» к контексте группы конъюгата означает часть группы конъюгата, содержащую любой атом или группу атомов и ковалентно связывающую (1) олигонуклеотид с другой частью группы конъюгата или (2) две или более частей группы конъюгата.

Группы конъюгата представлены в настоящем документе как радикалы, обеспечивающие связь для образования ковалентного присоединения к олигомерному соединению, такому как антисмысловой олигонуклеотид. В некоторых вариантах реализации точка присоединения в олигомерном соединении представляет собой 3'-атом кислорода 3'-гидроксильной группы 3'-концевого нуклеозида олигомерного соединения. В некоторых вариантах реализации точка присоединения у олигомерного соединения представляет собой 5'-атом кислорода 5'-гидроксильной группы 5'-концевого нуклеозида олигомерного соединения. В некоторых вариантах реализации связь для образования присоединения к олигомерному соединению представляет собой расщепляемую связь. В некоторых таких вариантах реализации такая расщепляемая связь составляет весь или часть расщепляемого фрагмента.

В некоторых вариантах реализации группы конъюгата содержат расщепляемый фрагмент (например, расщепляемую связь или расщепляемый нуклеозид) и часть углеводного кластера, такую как часть кластера GalNAc. Такая часть углеводного кластера содержит: направляющий фрагмент и необязательно линкер конъюгата. В некоторых вариантах реализации часть углеводного кластера определяют по количеству и сущности лиганда. Например, в некоторых вариантах реализации часть углеводного кластера содержит 3 группы GalNAc и обозначена «$GalNAc_3$». В некоторых вариантах реализации часть углеводного кластера содержит 4 группы GalNAc и обозначена «$GalNAc_4$». Конкретные части углеводных кластеров (имеющие конкретную связку, группы ветвления и линкера конъюгата) описаны в настоящем документе и обозначены римской цифрой с последующим нижним индексом «a». Соответственно, «$GalNac3\text{-}1_a$» относится к конкретной части углеводного кластера группы конъюгата, имеющей 3 группы GalNAc и конкретно определенную связку, группы ветвления и линкера. Такой фрагмент углеводного кластера присоединен к олигомерному соединению через расщепляемый фрагмент, такой как расщепляемая связь или расщепляемый нуклеозид.

«Сопряженное соединение» означает любые атомы, группы атомов или группу связанных атомов, подходящую для применения в качестве группы конъюгата. В некоторых вариантах реализации сопряженные соединения могут обладать или влиять на одно или более свойств, включая, но не ограничиваясь ими, свойства фармакодинамики, фармакокинетики, связывания, абсорбции, клеточного распределения, клеточного захвата, заряда и/или выведения.

«Непрерывные азотистые основания» означают азотистые основания, непосредственно примыкающие друг к другу.

«Конструирование» или «разработка» обозначает процесс создания олигомерного соединения, которое специфично гибридизуется с выбранной молекулой нуклеиновой кислоты.

«Разбавитель» означает ингредиент в композиции, в котором отсутствует фармакологическая активность, но который является фармацевтически необходимым или желательным. Например, в препаратах, которые вводят парентерально, разбавитель может быть жидкостью, например, солевым раствором.

«Доза» означает количество указанного фармацевтического агента, предоставляемое при одном введении или в определенный период времени. В некоторых вариантах реализации доза может вводиться в одной, двух или более пилюлях, таблетках или инъекциях. Например, в определенных вариантах реализации, где необходимо подкожное введение, нужная доза требует объема, который не помещается в одной инъекции, поэтому для достижения желаемой дозы могут быть использованы две или более инъекций. В определенных вариантах реализации фармацевтический агент вводят путем инфузии в течение длительного периода времени или непрерывно. Дозы могут быть указаны как количество фармацевтического агента в час, день, неделю, или месяц.

«По ходу транскрипции» обозначает относительное направление в направлении 3' конца или С-конца нуклеиновой кислоты.

«Эффективное количество» в контексте модулирования активности или лечения или предупреждения состояния, означает введение данного количества фармацевтического агента субъекту, нуждающемуся в такой модуляции, лечении или профилактике, или в однократной дозе или как часть серии, которое является эффективным для модуляции данного эффекта, или для лечения или профилактики или улучшения данного состояния. Эффективное количество может варьировать среди индивидуумов в зависимости от здоровья и физического состояния индивидуума, подлежащего лечению, таксономической группы индивидуумов, подлежащих лечению, рецептуры композиции, оценки индивидуального состояния здоровья и других релевантных факторов.

«Эффективность» означает способность производить желаемый эффект.

«Экспрессия» включает в себя все функции, благодаря которым информация, закодированная в гене, преобразуется в структуры, присутствующие и функционирующие в клетке. Такие структуры включают, но не ограничиваются ими, продукты транскрипции и трансляции.

«Полностью комплементарный» или «100% комплементарный» означает, что каждое азотистое основание первой нуклеиновой кислоты имеет комплементарное азотистое основание во второй нуклеиновой кислоте. В некоторых вариантах реализации первая нуклеиновая кислота представляет собой антисмысловое соединение, а нуклеиновая кислота-мишень представляет собой вторую нуклеиновую кислоту.

«Гэпмер» означает химерное антисмысловое соединение, в котором внутренний участок, имеющий множество нуклеозидов, которые поддерживают расщепление РНКазой Н, располагается между внешними участками, имеющими один или несколько

нуклеозидов, причем нуклеозиды, составляющие внутренние участки, химически отличаются от нуклеозида или нуклеозидов, составляющих внешние участки. Внутренняя область может быть описана как «гэп», а внешние области могут быть описаны как «крылья».

«Гало» и «галоген» означают атом, выбранный из фтора, хлора, брома и йода.

«Гетероарил» и «гетероароматический» означают радикал, содержащий моно- или полициклическое ароматическое кольцо, кольцевую систему или конденсированную кольцевую систему, в которой по меньшей мере одно из колец является ароматическим и содержит один или более гетероатомов. Гетероарил включает также конденсированные кольцевые системы, включая системы, в которых одно или более из конденсированных колец не содержат гетероатомов. Гетероарильные группы, как правило, содержат один кольцевой атом, выбранный из серы, азота или кислорода. Примеры гетероарильных групп включают, без ограничения, пиридинил, пиразинил, пиримидинил, пирролил, пиразолил, имидазолил, тиазолил, оксазолил, изоксазолил, тиадиазолил, оксадиазолил, тиофенил, фуранил, хинолинил, изохинолинил, бензимидазолил, бензоксазолил, хиноксалинил и т.п. Гетероарильные радикалы могут быть присоединены к исходной молекуле напрямую или через линкерный фрагмент, такой как алифатическая группа или гетероатом. Гетероарильные группы, используемые в настоящем документе, могут необязательно содержать дополнительные группы заместителей.

«Гибридизация» означает соединение комплементарных молекул нуклеиновых кислот. В некоторых вариантах реализации комплементарные молекулы нуклеиновых кислот включают, но не ограничиваются ими, антисмысловое соединение и нуклеиновую кислоту-мишень. В некоторых вариантах реализации комплементарные молекулы нуклеиновых кислот включают, но не ограничиваются ими, антисмысловой олигонуклеотид и нуклеиновую кислоту-мишень.

«Идентификация животного с воспалительным заболеванием» обозначает идентификацию животного, которому поставлен диагноз воспалительного заболевания, или которое предрасположено к развитию воспалительного заболевания. Индивидуумы, предрасположенные к развитию воспалительного заболевания, включают тех, у которых присутствуют один или несколько факторов риска для развития воспалительного заболевания, включая факторы окружающей среды, личный или семейный анамнез, или генетическую предрасположенность к одному или нескольким воспалительным заболеваниям. Такая идентификация может быть выполнена любым способом, включая оценку истории болезни человека и стандартными клиническими испытаниями или оценками, такими как генетическое тестирование.

«Идентификация животного со связанным с ПКП заболеванием» обозначает идентификацию животного, которому поставлен диагноз связанного с ПКП заболевания, или которое предрасположено к развитию связанного с ПКП заболевания. Индивидуумы, предрасположенные к развитию связанного с ПКП заболевания, включают тех, у кого присутствуют один или несколько факторов риска развития связанного с ПКП заболевания, включая личный или семейный анамнез или генетическую предрасположенность к одному или нескольким связанным с ПКП заболеваниям. Такая идентификация может быть выполнена любым способом, включая оценку истории болезни человека и стандартными клиническими испытаниями или оценками, такими как генетическое тестирование.

«Идентификация животного с тромбоэмболическим заболеванием» обозначает идентификацию животного, которому поставлен диагноз тромбоэмболического заболевания, или которое предрасположено к развитию тромбоэмболического

заболевания. Индивидуумы, склоненные к развитию тромбоэмболического заболевания, включают тех, у кого присутствуют один или несколько факторов риска развития тромбоэмболического заболевания, включая личный или семейный анамнез или генетическую предрасположенность к одному или нескольким тромбоэмболическим заболеваниям, ограничение подвижности, хирургическое вмешательство (особенно ортопедическое хирургическое вмешательство), злокачественное новообразование, беременность, пожилой возраст, применение пероральных контрацептивов, мерцание предсердий, тромбоэмболическое состояние в анамнезе, хроническое воспалительное заболевание и унаследованные или приобретенные протромботические расстройства свертываемости. Такая идентификация может быть выполнена любым способом, включая оценку истории болезни человека и стандартными клиническими испытаниями или оценками, такими как генетическое тестирование.

«Непосредственно примыкающий» означает, что нет никаких промежуточных элементов между непосредственно примыкающими элементами. «Индивидуум» означает человека или животное, не являющееся человеком, выбранное для лечения или терапии.

«Индивидуум» означает человека или животное, не являющееся человеком, выбранное для лечения или терапии.

«Ингибирование ПКП» обозначает снижение уровня или экспрессии мРНК и/или белка ПКП. В некоторых вариантах реализации изобретения уровни мРНК и/или белка ПКП ингибируются в присутствии антисмыслового соединения, нацеленного на ПКП, включая антисмысловой олигонуклеотид, нацеленный на ПКП, по сравнению с экспрессией мРНК ПКП и/или уровнями белка в отсутствие антисмыслового соединения против ПКП, такого как антисмысловой олигонуклеотид.

«Ингибирование экспрессии или активности» означает снижение или блокаду экспрессии или активности и не обязательно говорит о полном прекращении экспрессии или активности.

«Межнуклеозидная связь» относится к химической связи между нуклеозидами.

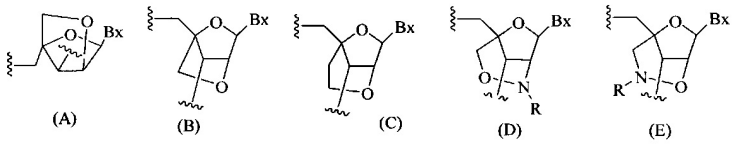
«Межнуклеозидная нейтральная линкерная группа» означает нейтральную линкерную группу, которая напрямую связывает два нуклеозида.

«Межнуклеозидная фосфорная линкерная группа» означает фосфорную линкерную группу, которая напрямую связывает два нуклеозида.

«Линкерный мотив» означает характерный участок линкерных модификаций в олигонуклеотиде или его области. Нуклеозиды такого олигонуклеотида могут быть модифицированными или немодифицированными. Если не указано иное, мотивы, описывающие в настоящем документе только линкеры, представляют собой линкерные мотивы. Следовательно, в таких случаях нуклеозиды не ограничены.

«Связанные нуклеозиды» означают соседние нуклеозиды, связанные между собой межнуклеозидной связью.

«Заблокированная нуклеиновая кислота» или «ЗНК» или «ЗНК нуклеозид» означает, что мономеры нуклеиновой кислоты имеют мостик, соединяющий два атома углерода между 4' и 2' положениями нуклеозидной сахарной единицы, тем самым образуя бициклический сахар. Примеры такого бициклического сахара включают, но не ограничиваются ими, A) α-L-метиленокси (4'-CH_2-O-2') ЗНК, (B) β-D-метиленокси (4'-CH_2-O-2') ЗНК, (C) этиленокси (4'-$(CH_2)_2$-O-2') ЗНК, (D) аминоокси (4'-CH_2-O-N(R)-2') ЗНК и (E) оксиамино (4'-CH_2-N(R)-O-2') LNA, как показано ниже.



В данном контексте соединения ЗНК включают, но не ограничиваются ими, соединения, имеющие по меньшей мере один мостик между 4' и 2' положениями сахара, причем каждый из мостиков независимо содержит 1 или от 2 до 4 связанных групп, независимо выбранных из $-[C(R_1)(R_2)]_n-$, $-C(R_1)=C(R_2)-$, $-C(R_1)=N-$, $-C(=NR_1)-$, $-C(=O)-$, $-C(=S)-$, $-O-$, $-Si(R_1)_2-$, $-S(=O)_x-$ и $-N(R_1)-$; где: x равен 0, 1 или 2; n равен 1, 2, 3 или 4; каждый R_1 и R_2 независимо представляет собой H, защитную группу, гидроксил, C_1-C_{12} алкил, замещенный C_1-C_{12} алкил, C_2-C_{12} алкенил, замещенный C_2-C_{12} алкенил, C_2-C_{12} алкинил, замещенный C_2-C_{12} алкинил, C_5-C_{20} арил, замещенный C_5-C_{20} арил, гетероциклический радикал, замещенный гетероциклический радикал, гетероарил, замещенный гетероарил, C_5-C_7 алициклический радикал, замещенный C_5-C_7 алициклический радикал, галоген, OJ_1, NJ_1J_2, SJ_1, N_3, $COOJ_1$, ацил (C(=O)-H), замещенный ацил, CN, сульфонил ($S(=O)_2-J_1$) или сульфоксил ($S(=O)-J_1$); и каждый J_1 и J_2 независимо представляет собой H, C_1-C_{12} алкил, замещенный C_1-C_{12} алкил, C_2-C_{12} алкенил, замещенный C_2-C_{12} алкенил, C_2-C_{12} алкинил, замещенный C_2-C_{12} алкинил, C_5-C_{20} арил, замещенный C_5-C_{20} арил, ацил (C(=O)-H), замещенный ацил, гетероциклический радикал, замещенный гетероциклический радикал, C_1-C_{12} аминоалкил, замещенный C_1-C_{12} аминоалкил или защитную группу.

Примеры 4'-2' мостиковых групп, входящих в определение ЗНК, включают, но не ограничиваются ими, одну из формул: $-[C(R_1)(R_2)]_n-$, $-[C(R_1)(R_2)]_n-O-$, $-C(R_1R_2)-N(R_1)-O-$ или $-C(R_1R_2)-O-N(R_1)-$. Кроме того, другие мостиковые группы, входящие в определение ЗНК, представляют собой мостики 4'-CH_2-2', 4'-$(CH_2)_2$-2', 4'-$(CH_2)_3$-2', 4'-CH_2-O-2', 4'-$(CH_2)_2$-O-2', 4'-CH_2-O-$N(R_1)$-2' и 4'-CH_2-$N(R_1)$-O-2'-, где каждый R_1 и R_2 независимо представляет собой H, защитную группу или C_1-C_{12} алкил.

Также в определение ЗНК согласно настоящему изобретению включены ЗНК, в которых 2'-гидроксильная группа рибозильного сахарного кольца соединена с 4' атомом углерода сахарного кольца, с образованием таким образом мостика метиленокси (4'-CH_2-O-2'), формируя бициклический сахарный фрагмент. Мостик также может быть метиленовой группой (-CH_2-), соединяющей атом кислорода 2' и атом углерода 4', для которой используется термин метиленокси (4'-CH_2-O-2') ЗНК. Кроме того, в случае бициклического сахарного фрагмента, содержащего этиленовую мостиковую группу в данном положении, применяется термин этиленокси (4'-CH_2CH_2-O-2') ЗНК. α -L-метиленокси (4'-CH_2-O-2'), изомер метиленокси (4'-CH_2-O-2') ЗНК, также попадает под определение ЗНК в данном контексте.

«Несоответствие» или «некомплементарное азотистое основание» относится к случаю, когда азотистое основание первой нуклеиновой кислоты не способно связываться с соответствующим азотистым основанием второй или нуклеиновой кислоты-мишени.

«Модифицированная межнуклеозидная связь» обозначает замену или любое изменение природной межнуклеозидной связи (т.е. фосфодиэфирной межнуклеозидной связи).

«Модифицированное азотистое основание» обозначает любое азотистое основание, отличное от аденина, цитозина, гуанина, тимидина (также известного как 5-метилурацил) или урацила. «Немодифицированное азотистое основание» означает пуриновые основания: аденин (A) и гуанин (G), и пиримидиновые основания: тимин (T), цитозин (C) и урацил (U).

«Модифицированный нуклеозид» обозначает нуклеозид, содержащий независимо модифицированный сахарный фрагмент и/или модифицированное азотистое основание.

«Модифицированный нуклеотид» означает нуклеотид, содержащий независимо модифицированный сахарный фрагмент, модифицированную межнуклеозидную связь и/или модифицированное азотистое основание.

«Модифицированный олигонуклеотид» обозначает олигонуклеотид, содержащий по меньшей мере одну модифицированную межнуклеозидную связь, модифицированный сахар и/или модифицированное азотистое основание.

«Модифицированный сахар» означает замещение и/или изменение любого из природных сахарных фрагментов.

«Моно- или полициклическая кольцевая система» включает все кольцевые системы, выбранные из одиночных или полициклических радикальных кольцевых систем, в которых указанные кольца конденсированы или связаны, и включает одиночные или смешанные кольцевые системы, индивидуально выбранные из алифатических, алициклических, арильных, гетероарильных, аралкильных, арилалкильных, гетероциклических, гетероарильных, гетероароматических и гетероарилалкильных. Такие моно- и полициклические структуры могут содержать кольца, каждое из которых имеет одинаковую степень насыщенности, или каждое независимо имеет переменные степени насыщенности, включая полностью насыщенные, частично насыщенные или полностью ненасыщенные. Каждое кольцо может содержать кольцевые атомы, выбранные из C, N, O и S, с образованием гетероциклических колец, а также колец, содержащих только кольцевые атомы C, которые могут быть представлены в смешанном мотиве, как, например, в бензимидазоле, в котором одно кольцо имеет только кольцевые атомы углерода, а конденсированное кольцо имеет два атома азота. Моно- или полициклическая кольцевая система может быть дополнительно замещена группами заместителей, как, например, фталимид, который имеет две группы =O, присоединенные к одному из колец. Моно- или полициклические кольцевые системы могут быть присоединены к исходным молекулам при помощи различных способов, таких как непосредственно через кольцевой атом, путем конденсации через несколько кольцевых атомов, через группу заместителя или через бифункциональный линкерный фрагмент.

«Мономер» означает одно звено олигомера. Мономеры включают, но не ограничиваются ими, нуклеозиды и нуклеотиды, природные или модифицированные.

«Мотив» означает конфигурацию из немодифицированных и модифицированных нуклеозидов в антисмысловом соединении.

«Природный сахарный фрагмент» означает фрагмент сахара, находящийся в ДНК (2'-H) или РНК (2'-OH).

«Природная межнуклеозидная связь» означает 3' к 5' фосфодиэфирную связь.

«Нейтральная линкерная группа» означает линкерную группу, которая не имеет заряда. Нейтральные линкерные группы включают, без ограничения, фосфотриэфиры, метилфосфонаты, MMI (-CH_2-N(CH_3)-O-), амид-3 (-CH_2-C(=O)-N(H)-), амид-4 (-CH_2-N(H)-C(=O)-), формацеталь (-O-CH_2-O-) и тиоформацеталь (-S-CH_2-O-). Дополнительные нейтральные группы включают неионные линкеры, содержащие силоксан (диалкилсилоксан), карбоксилатный эфир, карбоксамид, сульфид, сульфонатный эфир

и амиды (см., например: Carbohydrate Modifications in Antisense Research; Y.S. Sanghvi and P.D. Cook, ред. ACS Symposium Series 580; главы 3 и 4, (сс. 40-65)). Дополнительные нейтральные линкерные группы включают неионные линкеры, содержащие смешанные составные части N, O, S и CH_2.

«Некомплементарное азотистое основание» относится к паре азотистых оснований нуклеиновых кислот, которые не образуют водородных связей друг с другом или иным образом не поддерживают гибридизацию.

«Немежнуклеозидная нейтральная линкерная группа» означает нейтральную линкерную группу, которая не связывает напрямую два нуклеозида. В некоторых вариантах реализации немежнуклеозидная нейтральная линкерная группа связывает нуклеозид с группой, отличной от нуклеозида. В некоторых вариантах реализации немежнуклеозидная нейтральная линкерная группа связывает две группы, ни одна из которых не является нуклеозидом.

«Немежнуклеозидная фосфорная линкерная группа» означает фосфорную линкерную группу, которая не связывает напрямую два нуклеозида. В некоторых вариантах реализации немежнуклеозидная фосфорная линкерная группа связывает нуклеозид с группой, отличной от нуклеозида. В некоторых вариантах реализации немежнуклеозидная фосфорная линкерная группа связывает две группы, ни одна из которых не является нуклеозидом.

«Нуклеиновая кислота» означает молекулы, состоящие из мономерных нуклеотидов. Нуклеиновая кислота включает, но не ограничивается ими, рибонуклеиновые кислоты (РНК), дезоксирибонуклеиновые кислоты (ДНК), одноцепочечные нуклеиновые кислоты, двуцепочечные нуклеиновые кислоты, малые интерферирующие рибонуклеиновые кислоты (миРНК) и микроРНК.

«Азотистое основание» означает гетероциклический фрагмент, способный спариваться с основанием другой нуклеиновой кислоты.

«Комплементарность азотистого основания» относится к азотистому основанию, способному к спариванию с другим основанием. Например, в ДНК аденин (A) комплементарен тимину (T). Например, в РНК аденин (A) комплементарен урацилу (U). В некоторых вариантах реализации комплементарное азотистое основание относится к азотистому основанию антисмыслового соединения, способному спариваться с азотистым основанием своей нуклеиновой кислоты-мишени. Например, если азотистое основание в определенном положении антисмыслового соединения способно к водородному связыванию с азотистым основанием в определенном положении нуклеиновой кислоты-мишени, то это положение водородного связывания между олигонуклеотидом и нуклеиновой кислотой-мишенью считается комплементарным по этой паре азотистых оснований.

«Мотив модификации азотистого основания» означает характерный участок модификаций азотистых оснований вдоль олигонуклеотида. Если не указано иное, то мотив модификации азотистого основания не зависит от последовательности азотистого основания.

«Последовательность азотистых оснований» означает порядок последовательных азотистых оснований, независимый от любого сахара, связи и/или модификации азотистого основания.

«Нуклеозид» означает азотистое основание, связанное с сахаром.

«Миметик нуклеозида» включает структуры, используемые для замены сахара или сахара и основания и необязательно связи в одном или нескольких положениях олигомерного соединения, например, такие как миметики нуклеозидов, содержащие

морфолино, циклогексенил, циклогексил, тетрагидропиранил, бицикло или трицикло миметики сахара, например, нефуранозные сахарные фрагменты. Миметик нуклеотида включает структуры, используемые для замены нуклеозида и связи в одном или более положениях олигомерного соединения, такие как, например, пептидные нуклеиновые кислоты или морфолино (морфолино, связанные -N(H)-C(=O)-O- или другой не фосфодиэфирной связью). Заменитель сахара пересекается с более широким термином нуклеозид-миметик, но предназначен для обозначения замены только сахарной единицы (фуранозного кольца). Тетрагидропираниловые кольца, представленные в настоящем документе, иллюстрируют пример заменителя сахара, в котором сахарная фуранозная группа заменена тетрагидропираниловой кольцевой системой. «Миметик» относится к группам, которые заменяют сахар, азотистое основание и/или межнуклеозидную связь. Как правило, миметик используют вместо сахара или комбинации сахара с межнуклеозидной связью, а азотистое основание сохраняется для гибридизации с выбранной мишенью.

«Нуклеозидный мотив» означает характерный участок нуклеозидных модификаций в олигонуклеотиде или его области. Связи такого олигонуклеотида могут быть модифицированными или немодифицированными. Если не указано иное, мотивы, описывающие в настоящем документе только нуклеозиды, представляют собой нуклеозидные мотивы. Следовательно, в таких случаях связи не ограничены.

«Нуклеотид» означает нуклеозид, имеющий фосфатную группу, ковалентно связанную с сахарной частью нуклеозида.

«Нецелевой эффект» означает нежелательный или вредный биологический эффект, связанный с модуляцией экспрессии РНК или белка гена, отличного от нуклеиновой кислоты-мишени.

«Олигомерное соединение» или «олигомер» означает полимер из связанных мономерных субъединиц, которые способны к гибридизации с по меньшей мере областью молекулы нуклеиновой кислоты.

«Олигонуклеотид» означает полимер связанных нуклеозидов, каждый из которых может быть модифицированным или немодифицированным, независимо друг от друга.

«Парентеральное введение» означает введение путем инъекций (например, болюсная инъекция) или инфузии. Парентеральное введение включает подкожное введение, внутривенное введение, внутримышечное введение, внутриартериальное введение, внутрибрюшинное введение или внутричерепное введение, например, интратекальное или интрацеребровентрикулярное введение.

«Пептид» означает молекулу, образованную путем связывания по меньшей мере двух аминокислот посредством амидных связей. Без ограничений, в данном контексте пептид относится к полипептидам и белкам.

«Фармацевтический агент» означает вещество, которое обеспечивает терапевтический эффект при введении индивидууму. Например, в некоторых вариантах реализации изобретения, антисмысловой олигонуклеотид, нацеленный на ПКП, представляет собой фармацевтический агент.

«Фармацевтическая композиция» означает смесь веществ, пригодных для введения субъекту. Например, фармацевтическая композиция может содержать антисмысловой олигонуклеотид и стерильный водный раствор.

«Фармацевтически приемлемое производное» включает фармацевтически приемлемые соли, конъюгаты, пролекарства или изомеры соединений, описанных в настоящем документе.

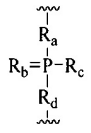
«Фармацевтически приемлемые соли» обозначает физиологически и фармацевтически

приемлемые соли антисмысловых соединений, т.е. соли, которые сохраняют желательную биологическую активность исходного олигонуклеотида и не вызывают нежелательных токсикологических эффектов.

«Тиофосфатная связь» означает связь между нуклеозидами, где фосфодиэфирные связи модифицированы путем замены одного из немостиковых атомов кислорода на атом серы. Тиофосфатная связь представляет собой модифицированную межнуклеозидную связь.

«Фосфорная линкерная группа» означает линкерную группу, содержащую атом фосфора.

Фосфорные линкерные группы включают, без ограничения, группы, имеющие формулу:



где:

R_a и R_d, каждый независимо, представляют собой O, S, CH_2, NH или NJ_1, где J_1 представляет собой C_1-C_6 алкил или замещенный C_1-C_6 алкил;

R_b представляет собой O или S;

R_c представляет собой OH, SH, C_1-C_6 алкил, замещенный C_1-C_6 алкил, C_1-C_6 алкокси, замещенный C_1-C_6 алкокси, амино или замещенный амино; и

J_1 представляет собой R_b представляет собой O или S.

Фосфорные линкерные группы включают, без ограничения, фосфодиэфир, тиофосфат, дитиофосфат, фосфонат, фосфорамидат, фосфортиоамидат, тионоалкил-фосфонат, фосфотриэфиры, тионоалкил-фосфотриэфиры и боранофосфат.

«ПКП» обозначает прекалликреин плазмы млекопитающих, в том числе прекалликреин плазмы человека. Прекалликреин плазмы (ПКП) является прекурсором калликреина плазмы (РК), который кодируется геном KLKB1.

«Связанное с ПКП заболевание» обозначает любое заболевание, связанное с любой нуклеиновой кислотой ПКП или продуктом ее экспрессии. Такие заболевания могут включать воспалительное заболевание или тромбоэмболическое заболевание. Такие заболевания могут включать наследственный ангионевротический отек (НАЕ).

«мРНК ПКП» обозначает любой матричный РНК продукт экспрессии последовательности ДНК, кодирующей ПКП.

«Нуклеиновая кислота ПКП» обозначает любую нуклеиновую кислоту, кодирующую ПКП. Например, в некоторых вариантах реализации изобретения, нуклеиновая кислота ПКП включает последовательность ДНК, кодирующую ПКП, последовательность РНК, транскрибированную из ДНК, кодирующей ПКП (в том числе, геномной ДНК, содержащей интроны и экзоны), и последовательность мРНК, кодирующую ПКП. «мРНК ПКП» обозначает мРНК, кодирующую белок ПКП.

«Белок ПКП» обозначает полипептидный продукт экспрессии нуклеиновой кислоты ПКП.

«Часть» обозначает определенное количество смежных (т.е., связанных) азотистых оснований нуклеиновой кислоты. В некоторых вариантах реализации часть представляет собой определенное число смежных азотистых оснований нуклеиновой кислоты-мишени. В некоторых вариантах реализации фрагмент представляет собой определенное число смежных азотистых оснований антисмыслового соединения.

«Предупреждать» или «предупреждение» относится к задержке или предотвращению появления или развития заболевания, расстройства или патологического состояния в течение периода времени от нескольких минут до дней, недель или месяцев, или на неопределенный срок.

«Пролекарство» означает терапевтический агент, который получают в неактивной форме, которая преобразуется в активную форму (например, лекарство) в организме или его клетках под действием эндогенных ферментов или других химических веществ и/или условий.

«Профилактически эффективное количество» означает такое количество фармацевтического агента, которое обеспечивает профилактический или превентивный эффект для животного.

«Защитная группа» означает любое соединение или защитную группу, известную специалистам в данной области техники. Неограничивающие примеры защитных групп представлены в книге "Protective Groups in Organic Chemistry", T.W. Greene, P.G.M. Wuts, ISBN 0-471-62301-6, John Wiley & Sons, Ink, Нью-Йорк, полное содержание которой включено в настоящий документ посредством ссылки.

«Область» определяют как фрагмент нуклеиновой кислоты-мишени, имеющий по меньшей мере одну идентифицируемую структуру, функцию или характеристику.

«Рибонуклеотид» означает нуклеотид, имеющий гидрокси-группу в 2' положении сахарного фрагмента нуклеотида. Рибонуклеотиды могут быть модифицированы с помощью любого из множества заместителей.

«Антисмысловое соединение на основе RISC» означает антисмысловое соединение, в котором по меньшей мере часть антисмысловой активности антисмыслового соединения обусловлена РНК-индуцируемым комплексом сайленсинга (RISC).

«Антисмысловое соединение на основе РНКазы Н» означает антисмысловое соединение, в котором по меньшей мере часть антисмысловой активности антисмыслового соединения обусловлена гибридизацией антисмыслового соединения с нуклеиновой кислотой-мишенью и последующим расщеплением нуклеиновой кислоты-мишени под действием РНКазы Н.

«Соли» означает физиологически и фармацевтически приемлемые соли антисмысловых соединений, т.е. соли, которые сохраняют требуемую биологическую активность исходного олигонуклеотида и не вызывают нежелательных токсикологических эффектов.

«Сегменты» определяют как меньшие или субфрагменты областей в составе нуклеиновой кислоты-мишени.

«Отдельные области» означает части олигонуклеотида, в которых химические модификации или мотив химических модификаций любой из соседних частей содержит по меньшей мере одно отличие для обеспечения возможности отличать области друг от друга.

«Мотив последовательности» означает характерный участок азотистых оснований, расположенных вдоль олигонуклеотида или его части. Если не указано иное, то мотив последовательности не зависит от химических модификаций и, следовательно, может иметь любую комбинацию химических модификаций, включая отсутствие химических модификаций.

«Побочные эффекты» означают отличающиеся от желаемых физиологические ответы, приписываемые лечению. В некоторых вариантах реализации побочные эффекты включают, без ограничения, реакции в месте инъекции, аномалии функциональных проб печени, отклонения в функциях почек, гепатотоксичность, нефротоксичность,

аномалии центральной нервной системы и миопатии.

«Одноцепочечный олигонуклеотид» означает олигонуклеотид, который не гибридизирован с комплементарной цепью.

«Сайты» в данном контексте определяют как уникальные положения азотистых оснований в нуклеиновой кислоте-мишени.

«Способный к специфичной гибридизации» или «специфично гибридизуется» обозначает антисмысловое соединение, обладающее достаточной степенью комплементарности между антисмысловым олигонуклеотидом и нуклеиновой кислотой-мишенью, чтобы вызывать желательный эффект, при минимальном влиянии или при отсутствии влияния на нецелевые нуклеиновые кислоты в условиях, в которых специфическое связывание является желательным, т.е., в физиологических условиях в случае анализов in vivo и терапевтического лечения.

«Строгие условия гибридизации» или «жесткие условия» означают условия, при которых олигомерное соединение гибридизуется со своей целевой последовательностью, но с минимальным количеством других последовательностей.

«Субъект» означает человека или животного, не являющегося человеком, выбранного для лечения или терапии.

«Заместитель» и «группа заместителя» означает атом или группу, которая вытесняет атом или группу указанного исходного соединения. Например, заместитель модифицированного нуклеозида представляет собой любой атом или группу, которая отлична от атома или группы, находящейся в природном нуклеозиде (например, модифицированный 2'-заместитель представляет собой любой атом или группу в 2'-положении нуклеозида, отличную от H или OH). Группы заместителей могут быть защищенными или не защищенными. В некоторых вариантах реализации соединения настоящего описания имеют заместители в одном или более чем в одном положении исходного соединения. Заместители также могут быть дополнительно замещены другими группами заместителей и могут быть присоединены напрямую или через линкерную группу, такую как алкильная или углеводородная группа, к исходному соединению.

Точно так же, в данном контексте «заместитель» в отношении химической функциональной группы означает атом или группу атомов, которая отлична от атома или группы атомов, обычно содержащихся в указанной функциональной группе. В некоторых вариантах реализации заместитель вытесняет атом водорода функциональной группы (например, в некоторых вариантах реализации заместитель замещенной метальной группы представляет собой атом или группу, отличную от водорода, которая вытесняет один или более атомов водорода незамещенной метильной группы). Если не указано иное, то группы, которые могут быть использованы в качестве заместителей, включают, без ограничения, галоген, гидроксил, алкил, алкенил, алкинил, ацил (-C(O)R_{aa}), карбоксил (-C(O)O-R_{aa}), алифатические группы, алициклические группы, алкокси, замещенный окси (-O-R_{aa}), арил, аралкил, гетероциклический радикал, гетероарил, гетероарилалкил, амино (-N(R_{bb})(R_{cc})), имино (=NR_{bb}), амидо (-C(O)N(R_{bb})(R_{cc}) или -N(R_{bb})C(O)R_{aa}), азидо (-N_3), нитро (-NO_2), циано (-CN), карбамидо (-OC(O)N(R_{bb})(R_{cc}) или -N(R_{bb})C(O)OR_{aa}), уреидо (-N(R_{bb})C(O)N(R_{bb})(R_{cc})), тиоуреидо (-N(R_{bb})C(S)N(R_{bb})(R_{cc})), гуанидил (-N(R_{bb})C(=NR_{bb})N(R_{bb})(R_{cc})), амидинил (-C(=NR_{bb})N(R_{bb})(R_{cc}) или -N(R_{bb})C(=NR_{bb})(R_{aa})), тиол (-SR_{bb}), сульфинил (-S(O)R_{bb}), сульфонил (-$S(O)_2R_{bb}$) и сульфонамидил (-$S(O)_2$N(R_{bb})(R_{cc}) или -N(R_{bb})$S(O)_2R_{bb}$). Где каждый R_{aa}, R_{bb} и R_{cc} независимо представляет собой H, необязательно связанную химическую

функциональную группу или дополнительную группу заместителя, при этом предпочтительный перечень включает, без ограничения, алкил, алкенил, алкинил, алифатические, алококси, ацил, арил, аралкил, гетероарил, алициклические, гетероциклические и гетероарилалкил. Выбранные заместители в соединениях, описанных в настоящем документе, находятся в рекурсивной степени.

«Замещенный сахарный фрагмент» означает фуранозил, который не является природным сахарным фрагментом. Замещенные сахарные фрагменты включают, но не ограничиваются ими, фуранозилы, содержащие заместители в 2'-положении, 3'-положении, 5'-положении и/или 4'-положении. Некоторые замещенные сахарные фрагменты представляют собой бициклические сахарные фрагменты.

«Сахарный фрагмент» означает природный сахарный фрагмент или модифицированный сахарный фрагмент нуклеозида.

«Сахарный мотив» означает характерный участок сахарных модификаций в олигонуклеотиде или его области.

«Заменитель сахара» означает структуру, которая не содержит фуранозила и способна заменять природный сахарный фрагмент нуклеозида, так что образующиеся нуклеозидные субъединицы могут связываться вместе и/или связываться с другими нуклеозидами с образованием олигомерного соединения, которое может гибридизоваться с комплементарным олигомерным соединением. Такие структуры включают кольца, содержащие другое количество атомов, чем фуранозил (например, 4, 6 или 7-членные кольца); замену кислорода фуранозила некислородным атомом (например, углеродом, серой или азотом); или одновременное изменение количества атомов и замену кислорода. Такие структуры также могут содержать замещения, соответствующие замещениям, описанным для замещенных сахарных фрагментов (например, 6-членные карбоциклические бициклические заменители сахара, необязательно содержащие дополнительные заместители). Заменители сахара включают также более сложные сахарные замены (например, некольцевые системы пептидной нуклеиновой кислоты). Заменители сахара включают, без ограничения, морфолино, циклогексенилы и циклогекситы.

«Мишень» обозначает белок, модуляция которого является желательной.

«Ген-мишень» означает ген, кодирующий белок-мишень.

«Таргетинг» или «целевой» означает процесс конструирования и выбора антисмыслового соединения, которое будет специфически гибридизоваться с целевой нуклеиновой кислотой и вызывать желаемый эффект.

«Целевая нуклеиновая кислота», «целевая РНК», и «целевой РНК транскрипт» и «нуклеиновые кислоты-мишени» означает нуклеиновую кислоту, способную стать мишенью для антисмысловых соединений.

«Область-мишень» означает фрагмент нуклеиновой кислоты-мишени, на который нацелено одно или более антисмысловых соединений.

«Сегмент-мишень» означает последовательность нуклеотидов нуклеиновой кислоты-мишени, на которую нацелено антисмысловое соединение. «5' Сайт-мишень» относится к 5'-крайнему нуклеотиду целевого сегмента. «3' Сайт-мишень» относится к 3'-крайнему нуклеотиду целевого сегмента.

«Концевая группа» означает один или более атомов, присоединенных к любому или к обоим 3'- или 5'-концам олигонуклеотида. В некоторых вариантах реализации концевая группа представляет собой группу конъюгата. В некоторых вариантах реализации концевая группа содержит один или более нуклеозидов концевой группы.

«Концевая межнуклеозидная связь» означает связь между последними двумя

нуклеозидами олигонуклеотида или его определенной области.

«Терапевтически эффективное количество» означает количество фармацевтического агента, которое обеспечивает терапевтический эффект для индивидуума.

«Лечить» или «лечение», или «терапия» обозначает введение композиции с целью достижения улучшения при заболевании или патологическом состоянии.

«Тип модификации» в отношении нуклеозида или нуклеозида определенного «типа» означает химическую модификацию нуклеозида и включает модифицированные и немодифицированные нуклеозиды. Соответственно, если не указано иное, «нуклеозид, имеющий модификацию первого типа» может быть немодифицированным нуклеозидом.

«Немодифицированные азотистые основания» означает пуриновые основания: аденин (A) и гуанин (G), и пиримидиновые основания: тимин (T), цитозин (C), и урацил (U).

«Немодифицированный нуклеотид» означает нуклеотид, состоящий из природных азотистых оснований, сахарных фрагментов и межнуклеозидных связей. В некоторых вариантах реализации изобретения немодифицированный нуклеотид представляет собой РНК нуклеотид (например, β-D-рибонуклеозид) или ДНК нуклеотид (например, β-D-дезоксирибонуклеозид).

«Против хода транскрипции» обозначает относительное направление в сторону 5' конца или N-конца нуклеиновой кислоты.

«Сегмент крыла» означает множество нуклеозидов, модифицированных для придания олигонуклеотиду свойств, таких как усиленная ингибирующая активность, повышенная аффинность связывания с нуклеиновой кислотой-мишенью или устойчивость к разложению нуклеазами in vivo.

Некоторые варианты реализации изобретения

В некоторых вариантах реализации изобретения предложены соединения, композиции и способы ингибирования экспрессии мРНК и белка плазменного прекалликреина (ПКП). В некоторых вариантах реализации изобретения предложены соединения, композиции и способы для снижения уровней мРНК и белка ПКП.

В некоторых вариантах реализации изобретения предложены антисмысловые соединения, нацеленные на нуклеиновую кислоту плазменного прекалликреина (ПКП). В некоторых вариантах реализации нуклеиновая кислота ПКП представляет собой последовательность с номером доступа GENBANK NM_000892.3 (включенную в настоящий документ как SEQ ID NO: 1), с номером доступа GENBANK DC412984.1 (включенную в настоящий документ как SEQ ID NO: 2), с номером доступа GENBANK CN265612.1 (включенную в настоящий документ как SEQ ID NO: 3), с номером доступа GENBANK AK297672.1 (включенную в настоящий документ как SEQ ID NO: 4), с номером доступа GENBANK DC413312.1 (включенную в настоящий документ как SEQ ID NO: 5), с номером доступа GENBANK AV688858.2 (включенную в настоящий документ как SEQ ID NO: 6), с номером доступа GENBANK CD652077.1 (включенную в настоящий документ как SEQ ID NO: 7), с номером доступа GENBANK BC143911.1 (включенную в настоящий документ как SEQ ID NO: 8), с номером доступа GENBANK CB162532.1 (включенную в настоящий документ как SEQ ID NO: 9), с номером доступа GENBANK NT_016354.19, усеченную по азотистым основаниям с 111693001 по 111730000 (включенную в настоящий документ как SEQ ID NO: 10), с номером доступа GENBANK NM_008455.2 (включенную в настоящий документ как SEQ ID NO: 11), с номером доступа GENBANK BB598673.1 (включенную в настоящий документ как SEQ ID NO: 12), с номером доступа GENBANK NT_039460.7, усеченную по азотистым основаниям с 6114001 по 6144000 (включенную в настоящий документ как SEQ ID NO: 13), с номером доступа GENBANK NM_012725.2 (включенную в настоящий документ как SEQ ID NO:

14), с номером доступа GENBANK NW_047473.1, усеченную по азотистым основаниям с 10952001 по 10982000 (включенную в настоящий документ как SEQ ID NO: 15), с номером доступа GENBANK XM_002804276.1 (включенную в настоящий документ как SEQ ID NO: 17), с номером доступа GENBANK NW_001118167.1, усеченную по азотистым основаниям с 2358000 по 2391000 (включенную в настоящий документ как SEQ ID NO: 18).

В некоторых вариантах реализации предложены соединения, содержащие модифицированный олигонуклеотид и группу конъюгата, где модифицированный олигонуклеотид состоит из 12-30 связанных нуклеозидов и имеет последовательность азотистых оснований, содержащую по меньшей мере 8, по меньшей мере 9, по меньшей мере 10, по меньшей мере 11, по меньшей мере 12, по меньшей мере 13, по меньшей мере 14, по меньшей мере 15, по меньшей мере 16, по меньшей мере 17, по меньшей мере 18, по меньшей мере 19 или по меньшей мере 20 последовательных азотистых оснований любой из последовательностей азотистых оснований SEQ ID NO: 30-2226.

В некоторых вариантах реализации предложены соединения, содержащие модифицированный олигонуклеотид и группу конъюгата, где модифицированный олигонуклеотид состоит из 12-30 связанных нуклеозидов и имеет последовательность азотистых оснований, содержащую по меньшей мере 8, по меньшей мере 9, по меньшей мере 10, по меньшей мере 11, по меньшей мере 12, по меньшей мере 13, по меньшей мере 14, по меньшей мере 15, по меньшей мере 16, по меньшей мере 17, по меньшей мере 18, по меньшей мере 19 или по меньшей мере 20 последовательных азотистых оснований последовательности азотистых оснований SEQ ID NO: 570.

В некоторых вариантах реализации предложены соединения, содержащие модифицированный олигонуклеотид и группу конъюгата, где модифицированный олигонуклеотид состоит из 12-30 связанных нуклеозидов и имеет последовательность азотистых оснований, содержащую по меньшей мере 8, по меньшей мере 9, по меньшей мере 10, по меньшей мере 11, по меньшей мере 12, по меньшей мере 13, по меньшей мере 14, по меньшей мере 15, по меньшей мере 16, по меньшей мере 17, по меньшей мере 18, по меньшей мере 19 или по меньшей мере 20 последовательных азотистых оснований последовательности азотистых оснований SEQ ID NO: 705.

В некоторых вариантах реализации предложены соединения, содержащие модифицированный олигонуклеотид и группу конъюгата, где модифицированный олигонуклеотид состоит из 12-30 связанных нуклеозидов и имеет последовательность азотистых оснований, содержащую по меньшей мере 8, по меньшей мере 9, по меньшей мере 10, по меньшей мере 11, по меньшей мере 12, по меньшей мере 13, по меньшей мере 14, по меньшей мере 15 или по меньшей мере 16 последовательных азотистых оснований последовательности азотистых оснований SEQ ID NO: 1666.

В некоторых вариантах реализации предложены соединения, содержащие модифицированный олигонуклеотид и группу конъюгата, где модифицированный олигонуклеотид состоит из 20 связанных нуклеозидов и имеет последовательность азотистых оснований SEQ ID NO: 570.

В некоторых вариантах реализации предложены соединения, содержащие модифицированный олигонуклеотид и группу конъюгата, где модифицированный олигонуклеотид состоит из 20 связанных нуклеозидов и имеет последовательность азотистых оснований SEQ ID NO: 705.

В некоторых вариантах реализации предложены соединения, содержащие модифицированный олигонуклеотид и группу конъюгата, где модифицированный олигонуклеотид состоит из 16 связанных нуклеозидов и имеет последовательность

азотистых оснований SEQ ID NO: 1666.

В некоторых вариантах реализации предложены соединения, содержащие модифицированный олигонуклеотид и группу конъюгата, где модифицированный олигонуклеотид состоит из 12-30 связанных нуклеозидов и имеет последовательность азотистых оснований, содержащую по меньшей мере 8, по меньшей мере 9, по меньшей мере 10, по меньшей мере 11, по меньшей мере 12, по меньшей мере 13, по меньшей мере 14, по меньшей мере 15 или по меньшей мере 16 последовательных азотистых оснований любой из последовательностей азотистых оснований SEQ ID NO: 62, 72, 103, 213, 312, 334-339, 344, 345, 346, 348, 349, 351, 369, 373, 381, 382, 383, 385, 387-391, 399, 411, 412, 414, 416, 444, 446-449, 452, 453, 454, 459, 460, 462-472, 473, 476, 477, 479, 480, 481, 484, 489-495, 497, 500, 504, 506, 522, 526, 535, 558, 559, 560, 564, 566, 568-571, 573, 576, 577, 578, 587, 595, 597-604, 607, 608, 610, 613, 615, 618, 619, 622, 623, 624, 633, 635, 636, 638, 639, 640, 642, 643, 645, 652, 655-658, 660, 661, 670, 674-679, 684, 685, 698, 704, 705, 707, 708, 713, 716, 717, 728, 734, 736, 767, 768, 776, 797, 798, 800, 802, 810, 815, 876, 880, 882, 883, 886, 891, 901-905, 908-911, 922, 923, 924, 931, 942, 950-957, 972, 974, 978, 979, 980, 987-991, 1005, 1017-1021, 1025, 1026, 1029, 1030, 1032, 1034, 1035, 1037, 1040, 1041, 1045, 1046, 1051, 1054, 1059, 1060, 1061, 1064, 1065, 1066, 1075, 1076, 1087, 1089, 1111, 1114, 1116, 1117, 1125, 1133, 1153, 1169, 1177, 1181, 1182, 1187, 1196, 1200, 1214, 1222, 1267, 1276, 1277, 1285, 1286, 1289, 1290, 1291, 1303, 1367, 1389, 1393, 1398-1401, 1406, 1407, 1408, 1411, 1419-1422, 1426, 1430, 1431, 1432, 1434-1437, 1439, 1440, 1443, 1444, 1451, 1452, 1471, 1516, 1527, 1535, 1537, 1538, 1539, 1540, 1541, 1563, 1564, 1567, 1568, 1616, 1617, 1623, 1629, 1664, 1665, 1666, 1679, 1687, 1734, 1804, 1876, 1886, 1915, 2008, 2018, 2100, 2101, 2115 и 2116. В некоторых вариантах реализации изобретения модифицированный олигонуклеотид обеспечивает ингибирование мРНК ПКП по меньшей мере на 80%.

В некоторых вариантах реализации предложены соединения, содержащие модифицированный олигонуклеотид и группу конъюгата, где модифицированный олигонуклеотид состоит из 12-30 связанных нуклеозидов и имеет последовательность азотистых оснований, содержащую по меньшей мере 8, по меньшей мере 9, по меньшей мере 10, по меньшей мере 11, по меньшей мере 12, по меньшей мере 13, по меньшей мере 14, по меньшей мере 15 или по меньшей мере 16 последовательных азотистых оснований любой из последовательностей азотистых оснований SEQ ID NO: 62, 72, 103, 213, 334-339, 344, 346, 348, 349, 351, 381, 382, 383, 385, 389, 390, 391, 446, 448, 452, 453, 454, 466-473, 476, 481, 484, 491, 492, 494, 495, 497, 504, 526, 558, 559, 566, 568-571, 576, 578, 587, 595, 597, 598, 600-604, 607, 610, 613, 618, 619, 624, 635, 638, 639, 645, 652, 656, 657, 658, 660, 674, 675, 676, 684, 698, 704, 705, 707, 713, 716, 768, 876, 880, 901-905, 908-911, 922, 923, 924, 931, 942, 951, 954-957, 972, 974, 978, 979, 987, 988, 990, 1005, 1019, 1020, 1021, 1025, 1032, 1037, 1040, 1041, 1045, 1054, 1059, 1060, 1061, 1064, 1065, 1066, 1075, 1111, 1116, 1117, 1125, 1133, 1153, 1169, 1177, 1200, 1222, 1267, 1285, 1290, 1291, 1303, 1367, 1398, 1399, 1401, 1406, 1408, 1411, 1419, 1420, 1421, 1426, 1430, 1431, 1432, 1434-1437, 1440, 1443, 1444, 1451, 1537-1540, 1563, 1616, 1679, 1687, 1804, 2008, 2101, 2115 и 2116. В некоторых вариантах реализации изобретения модифицированный олигонуклеотид обеспечивает ингибирование мРНК ПКП по меньшей мере на 85%.

В некоторых вариантах реализации предложены соединения, содержащие модифицированный олигонуклеотид и группу конъюгата, где модифицированный олигонуклеотид состоит из 12-30 связанных нуклеозидов и имеет последовательность азотистых оснований, содержащую по меньшей мере 8, по меньшей мере 9, по меньшей мере 10, по меньшей мере 11, по меньшей мере 12, по меньшей мере 13, по меньшей мере 14, по меньшей мере 15 или по меньшей мере 16 последовательных азотистых

оснований любой из последовательностей азотистых оснований SEQ ID NO: 334, 346, 351, 382, 390, 391, 446, 448, 452, 453, 468, 469, 470, 471, 472, 476, 481, 491, 495, 504, 558, 566, 568, 570, 571, 578, 587, 597, 598, 600, 604, 613, 635, 638, 645, 656, 658, 660, 674, 675, 684, 704, 705, 880, 901-905, 909, 922, 931, 951, 954, 956, 990, 1005, 1020, 1032, 1037, 1040, 1041, 1045, 1054, 1075, 1111, 1125, 1133, 1153, 1200, 1267, 1291, 1303, 1398, 1399, 1401, 1406, 1420, 1426, 1430, 1431, 1434, 1435, 1436, 1440, 1443, 1451, 1537-1540, 2115 и 2116. В некоторых вариантах реализации изобретения модифицированный олигонуклеотид обеспечивает ингибирование мРНК ПКП по меньшей мере на 90%.

В некоторых вариантах реализации предложены соединения, содержащие модифицированный олигонуклеотид и группу конъюгата, где модифицированный олигонуклеотид состоит из 12-30 связанных нуклеозидов и имеет последовательность азотистых оснований, содержащую по меньшей мере 8, по меньшей мере 9, по меньшей мере 10, по меньшей мере 11, по меньшей мере 12, по меньшей мере 13, по меньшей мере 14, по меньшей мере 15 или по меньшей мере 16 последовательных азотистых оснований любой из последовательностей азотистых оснований SEQ ID NO: 334, 391, 448, 468, 469, 568, 570, 598, 635, 658, 674, 684, 705, 901, 903, 904, 922, 990, 1267, 1291, 1420, 1430, 1431, 1434, 1435, 1436, 1537, 1538 и 1540. В некоторых вариантах реализации изобретения модифицированный олигонуклеотид обеспечивает ингибирование мРНК ПКП по меньшей мере на 95%.

В некоторых вариантах реализации предложены соединения, содержащие модифицированный олигонуклеотид и группу конъюгата, где модифицированный олигонуклеотид состоит из 12-30 связанных нуклеозидов и имеет последовательность азотистых оснований, содержащую по меньшей мере 8, по меньшей мере 9, по меньшей мере 10, по меньшей мере 11, по меньшей мере 12, по меньшей мере 13, по меньшей мере 14, по меньшей мере 15 или по меньшей мере 16 последовательных азотистых оснований любой из последовательностей азотистых оснований SEQ ID NO: 334, 338, 346, 349, 382, 383, 390, 448, 452, 453, 454, 495, 526, 559, 570, 587, 598, 635, 660, 705, 901, 903, 904, 908, 923, 931, 955, 974, 988, 990, 1020, 1039, 1040, 1111, 1117, 1267, 1291, 1349, 1352, 1367, 1389, 1393, 1399, 1401, 1408, 1411, 1426, 1499, 1516, 1535, 1544, 1548, 1563, 1564, 1568, 1569, 1598, 1616, 1617, 1623, 1624, 1643, 1661, 1665, 1666, 1673, 1679, 1695, 1720, 1804, 1817, 1876, 1881, 1886, 1940, 1947, 2008, 2018, 2019, 2031, 2044, 2100, 2101, 2115 и 2116. В некоторых вариантах реализации изобретения модифицированный олигонуклеотид обеспечивает IC_{50} (мкМ) 0,4 или менее.

В некоторых вариантах реализации предложены соединения, содержащие модифицированный олигонуклеотид и группу конъюгата, где модифицированный олигонуклеотид состоит из 12-30 связанных нуклеозидов и имеет последовательность азотистых оснований, содержащую по меньшей мере 8, по меньшей мере 9, по меньшей мере 10, по меньшей мере 11, по меньшей мере 12, по меньшей мере 13, по меньшей мере 14, по меньшей мере 15 или по меньшей мере 16 последовательных азотистых оснований любой из последовательностей азотистых оснований SEQ ID NO: 334, 346, 349, 382, 453, 454, 495, 526, 570, 587, 598, 635, 660, 901, 903, 904, 931, 955, 990, 1020, 1111, 1267, 1349, 1352, 1367, 1389, 1399, 1408, 1411, 1426, 1516, 1535, 1544, 1548, 1563, 1564, 1568, 1569, 1598, 1616, 1617, 1623, 1643, 1661, 1665, 1666, 1673, 1695, 1804, 1876, 1881, 2019, 2044, 2100, 2101, 2115 и 2116. В некоторых вариантах реализации изобретения модифицированный олигонуклеотид обеспечивает IC_{50} (мкМ) 0,3 или менее.

В некоторых вариантах реализации предложены соединения, содержащие модифицированный олигонуклеотид и группу конъюгата, где модифицированный олигонуклеотид состоит из 12-30 связанных нуклеозидов и имеет последовательность

азотистых оснований, содержащую по меньшей мере 8, по меньшей мере 9, по меньшей мере 10, по меньшей мере 11, по меньшей мере 12, по меньшей мере 13, по меньшей мере 14, по меньшей мере 15 или по меньшей мере 16 последовательных азотистых оснований любой из последовательностей азотистых оснований SEQ ID NO: 334, 346, 382, 453, 495, 526, 570, 587, 598, 635, 901, 904, 931, 955, 1020, 1111, 1349, 1352, 1389, 1426, 1516, 1535, 1544, 1548, 1564, 1569, 1598, 1616, 1617, 1665, 1666, 1804, 1876, 1881, 2019, 2044, 2101 и 2116. В некоторых вариантах реализации изобретения модифицированный олигонуклеотид обеспечивает IC_{50} (мкМ) 0,2 или менее.

В некоторых вариантах реализации предложены соединения, содержащие модифицированный олигонуклеотид и группу конъюгата, где модифицированный олигонуклеотид состоит из 12-30 связанных нуклеозидов и имеет последовательность азотистых оснований, содержащую по меньшей мере 8, по меньшей мере 9, по меньшей мере 10, по меньшей мере 11, по меньшей мере 12, по меньшей мере 13, по меньшей мере 14, по меньшей мере 15 или по меньшей мере 16 последовательных азотистых оснований любой из последовательностей азотистых оснований SEQ ID NO: 334, 495, 587, 598, 635, 1349, 1352, 1389, 1516, 1544, 1548, 1569, 1598, 1617, 1665, 1666, 1804, 1881 и 2019. В некоторых вариантах реализации изобретения модифицированный олигонуклеотид обеспечивает IC_{50} (мкМ) менее чем 0,2.

В некоторых вариантах реализации предложены соединения, содержащие модифицированный олигонуклеотид и группу конъюгата, где модифицированный олигонуклеотид состоит из 12-30 связанных нуклеозидов и содержит последовательность азотистых оснований, содержащую по меньшей мере 8, по меньшей мере 9, по меньшей мере 10, по меньшей мере 11, по меньшей мере 12, по меньшей мере 13, по меньшей мере 14, по меньшей мере 15, по меньшей мере 16, по меньшей мере 17, по меньшей мере 18, по меньшей мере 19 или по меньшей мере 20 последовательных азотистых оснований, комплементарную равной по длине части азотистых оснований 27427-27466 SEQ ID NO: 10.

В некоторых вариантах реализации предложены соединения, содержащие модифицированный олигонуклеотид и группу конъюгата, где модифицированный олигонуклеотид состоит из 12-30 связанных нуклеозидов и содержит последовательность азотистых оснований, содержащую по меньшей мере 8, по меньшей мере 9, по меньшей мере 10, по меньшей мере 11, по меньшей мере 12, по меньшей мере 13, по меньшей мере 14, по меньшей мере 15, по меньшей мере 16, по меньшей мере 17, по меньшей мере 18, по меньшей мере 19 или по меньшей мере 20 последовательных азотистых оснований, комплементарную равной по длине части азотистых оснований 33183-33242 SEQ ID NO: 10.

В некоторых вариантах реализации предложены соединения, содержащие модифицированный олигонуклеотид и группу конъюгата, где модифицированный олигонуклеотид состоит из 12-30 связанных нуклеозидов и содержит последовательность азотистых оснований, содержащую по меньшей мере 8, по меньшей мере 9, по меньшей мере 10, по меньшей мере 11, по меньшей мере 12, по меньшей мере 13, по меньшей мере 14, по меньшей мере 15, по меньшей мере 16, по меньшей мере 17, по меньшей мере 18, по меньшей мере 19 или по меньшей мере 20 последовательных азотистых оснований, комплементарную равной по длине части азотистых оснований 30570-30610 SEQ ID NO: 10.

В некоторых вариантах реализации предложены соединения, содержащие модифицированный олигонуклеотид и группу конъюгата, где модифицированный олигонуклеотид состоит из 12-30 связанных нуклеозидов и содержит последовательность

азотистых оснований, содержащую по меньшей мере 8, по меньшей мере 9, по меньшей мере 10, по меньшей мере 11, по меньшей мере 12, по меньшей мере 13, по меньшей мере 14, по меньшей мере 15, по меньшей мере 16, по меньшей мере 17, по меньшей мере 18, по меньшей мере 19 или по меньшей мере 20 последовательных азотистых оснований, комплементарную равной по длине части азотистых оснований 27427-27520 SEQ ID NO: 10.

В некоторых вариантах реализации предложены соединения, содержащие модифицированный олигонуклеотид и группу конъюгата, где модифицированный олигонуклеотид состоит из 12-30 связанных нуклеозидов и содержит последовательность азотистых оснований, содержащую по меньшей мере 8, по меньшей мере 9, по меньшей мере 10, по меньшей мере 11, по меньшей мере 12, по меньшей мере 13, по меньшей мере 14, по меньшей мере 15, по меньшей мере 16, по меньшей мере 17, по меньшей мере 18, по меньшей мере 19 или по меньшей мере 20 последовательных азотистых оснований, комплементарную равной по длине части азотистых оснований 33085-33247 SEQ ID NO: 10.

В некоторых вариантах реализации предложены соединения, содержащие модифицированный олигонуклеотид и группу конъюгата, где модифицированный олигонуклеотид состоит из 12-30 связанных нуклеозидов и содержит последовательность азотистых оснований, содержащую по меньшей мере 8, по меньшей мере 9, по меньшей мере 10, по меньшей мере 11, по меньшей мере 12, по меньшей мере 13, по меньшей мере 14, по меньшей мере 15, по меньшей мере 16, по меньшей мере 17, по меньшей мере 18, по меньшей мере 19 или по меньшей мере 20 последовательных азотистых оснований, комплементарную равной по длине части азотистых оснований 30475-30639 SEQ ID NO: 10.

В некоторых вариантах реализации предложены соединения, содержащие модифицированный олигонуклеотид и группу конъюгата, где модифицированный олигонуклеотид состоит из 12-30 связанных нуклеозидов и содержит последовательность азотистых оснований, содержащую по меньшей мере 8, по меньшей мере 9, по меньшей мере 10, по меньшей мере 11, по меньшей мере 12, по меньшей мере 13, по меньшей мере 14, по меньшей мере 15, по меньшей мере 16, по меньшей мере 17, по меньшей мере 18, по меньшей мере 19 или по меньшей мере 20 последовательных азотистых оснований, комплементарную равной по длине части азотистых оснований 27362-27524 SEQ ID NO: 10.

В некоторых вариантах реализации предложены соединения, содержащие модифицированный олигонуклеотид и группу конъюгата, где модифицированный олигонуклеотид состоит из 12-30 связанных нуклеозидов и содержит последовательность азотистых оснований, содержащую по меньшей мере 8, по меньшей мере 9, по меньшей мере 10, по меньшей мере 11, по меньшей мере 12, по меньшей мере 13, по меньшей мере 14, по меньшей мере 15, по меньшей мере 16, по меньшей мере 17, по меньшей мере 18, по меньшей мере 19 или по меньшей мере 20 последовательных азотистых оснований, комплементарную равной по длине части азотистых оснований 33101-33240 SEQ ID NO: 10.

В некоторых вариантах реализации предложены соединения, содержащие модифицированный олигонуклеотид и группу конъюгата, где модифицированный олигонуклеотид состоит из 12-30 связанных нуклеозидов и содержит последовательность азотистых оснований, содержащую по меньшей мере 8, по меньшей мере 9, по меньшей мере 10, по меньшей мере 11, по меньшей мере 12, по меньшей мере 13, по меньшей мере 14, по меньшей мере 15, по меньшей мере 16, по меньшей мере 17, по меньшей

мере 18, по меньшей мере 19 или по меньшей мере 20 последовательных азотистых оснований, комплементарную равной по длине части азотистых оснований 30463-30638 SEQ ID NO: 10.

В некоторых вариантах реализации предложены соединения, содержащие модифицированный олигонуклеотид и группу конъюгата, где модифицированный олигонуклеотид состоит из 12-30 связанных нуклеозидов и содержит последовательность азотистых оснований, содержащую по меньшей мере 8, по меньшей мере 9, по меньшей мере 10, по меньшей мере 11, по меньшей мере 12, по меньшей мере 13, по меньшей мере 14, по меньшей мере 15, по меньшей мере 16, по меньшей мере 17, по меньшей мере 18, по меньшей мере 19 или по меньшей мере 20 последовательных азотистых оснований, комплементарную равной по длине части экзона 9, экзона 12 или экзона 14 нуклеиновой кислоты ПКП.

В некоторых вариантах реализации последовательность азотистых оснований модифицированного олигонуклеотида по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 81%, по меньшей мере на 82%, по меньшей мере на 83%, по меньшей мере на 84%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 86%, по меньшей мере на 87%, по меньшей мере на 88%, по меньшей мере на 89%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или на 100% комплементарна SEQ ID NO: 10.

В некоторых вариантах реализации изобретения соединение состоит из одноцепочечного модифицированного олигонуклеотида.

В некоторых вариантах реализации по меньшей мере одна межнуклеозидная связь модифицированного олигонуклеотида представляет собой модифицированную межнуклеозидную связь.

В некоторых вариантах реализации изобретения по меньшей мере одна модифицированная межнуклеозидная связь в модифицированном олигонуклеотиде представляет собой тиофосфатную межнуклеозидную связь.

В некоторых вариантах реализации модифицированный олигонуклеотид содержит по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6 или 7 фосфодиэфирных межнуклеозидных связей.

В некоторых вариантах реализации каждая межнуклеозидная связь модифицированного олигонуклеотида выбрана из фосфодиэфирной межнуклеозидной связи и тиофосфатной межнуклеозидной связи.

В некоторых вариантах реализации каждая межнуклеозидная связь в модифицированном олигонуклеотиде представляет собой тиофосфатную связь.

В некоторых вариантах реализации изобретения по меньшей мере один нуклеозид в модифицированном олигонуклеотиде содержит модифицированное азотистое основание.

В некоторых вариантах реализации модифицированное азотистое основание представляет собой 5-метилцитозин.

В некоторых вариантах реализации изобретения модифицированный олигонуклеотид содержит по меньшей мере один модифицированный сахар.

В некоторых вариантах реализации модифицированный сахар представляет собой 2' модифицированный сахар, БНК или ТГП.

В некоторых вариантах реализации модифицированный сахар имеет любую модификацию из 2'-О-метоксиэтила, 2'-О-метила, стерически затрудненного этила, ЗНК или 3'-фтор-ГНК.

В некоторых вариантах реализации изобретения соединение содержит по меньшей

мере один 2'-О-метоксиэтильный нуклеозид, 2'-О-метильный нуклеозид, стерически затрудненный этильный нуклеозид, ЗНК нуклеозид или 3'-фтор-ГНК нуклеозид.

В некоторых вариантах реализации модифицированный олигонуклеотид содержит:

сегмент гэп, состоящий из 10 связанных дезоксинуклеозидов;

сегмент 5'-крыла, состоящий из 5 связанных нуклеозидов; и

сегмент 3'-крыла, состоящий из 5 связанных нуклеозидов;

причем сегмент гэп расположен между сегментом 5'-крыла и сегментом 3'-крыла и, при этом каждый нуклеозид каждого сегмента крыла содержит модифицированный сахар.

В некоторых вариантах реализации модифицированный олигонуклеотид состоит из 20 связанных нуклеозидов.

В некоторых вариантах реализации модифицированный олигонуклеотид состоит из 19 связанных нуклеозидов.

В некоторых вариантах реализации модифицированный олигонуклеотид состоит из 18 связанных нуклеозидов.

В некоторых вариантах реализации предложены соединения, состоящие из группы конъюгата и модифицированного олигонуклеотида согласно следующей формуле: Tes Ges mCes Aes Aes Gds Tds mCds Tds mCds Tds Tds Gds Gds mCds Aes Aes Aes mCes Ae; где

A = аденин,

mC = 5'-метилцитозин

G = гуанин,

T = тимин,

e = 2'-О-метоксиэтил-модифицированный нуклеозид,

d = 2'-дезоксинуклеозид, и

s = тиофосфатная межнуклеозидная связь.

В некоторых вариантах реализации предложены соединения, состоящие из группы конъюгата и модифицированного олигонуклеотида согласно следующей формуле: mCes mCes mCes mCes mCes Tds Tds mCds Tds Tds Tds Ads Tds Ads Gds mCes mCes Aes Ges mCe;

где

A = аденин,

mC = 5'-метилцитозин;

G = гуанин,

T = тимин,

e = 2'-О-метоксиэтил-модифицированный нуклеозид,

d = 2'-дезоксинуклеозид, и

s = тиофосфатная межнуклеозидная связь.

В некоторых вариантах реализации предложены соединения, состоящие из группы конъюгата и модифицированного олигонуклеотида согласно следующей формуле: mCes Ges Aks Tds Ads Tds mCds Ads Tds Gds Ads Tds Tds mCks mCks mCe; где

A = аденин,

mC = 5'-метилцитозин;

G = гуанин,

T = тимин,

e = 2'-О-метоксиэтил-модифицированный нуклеозид,

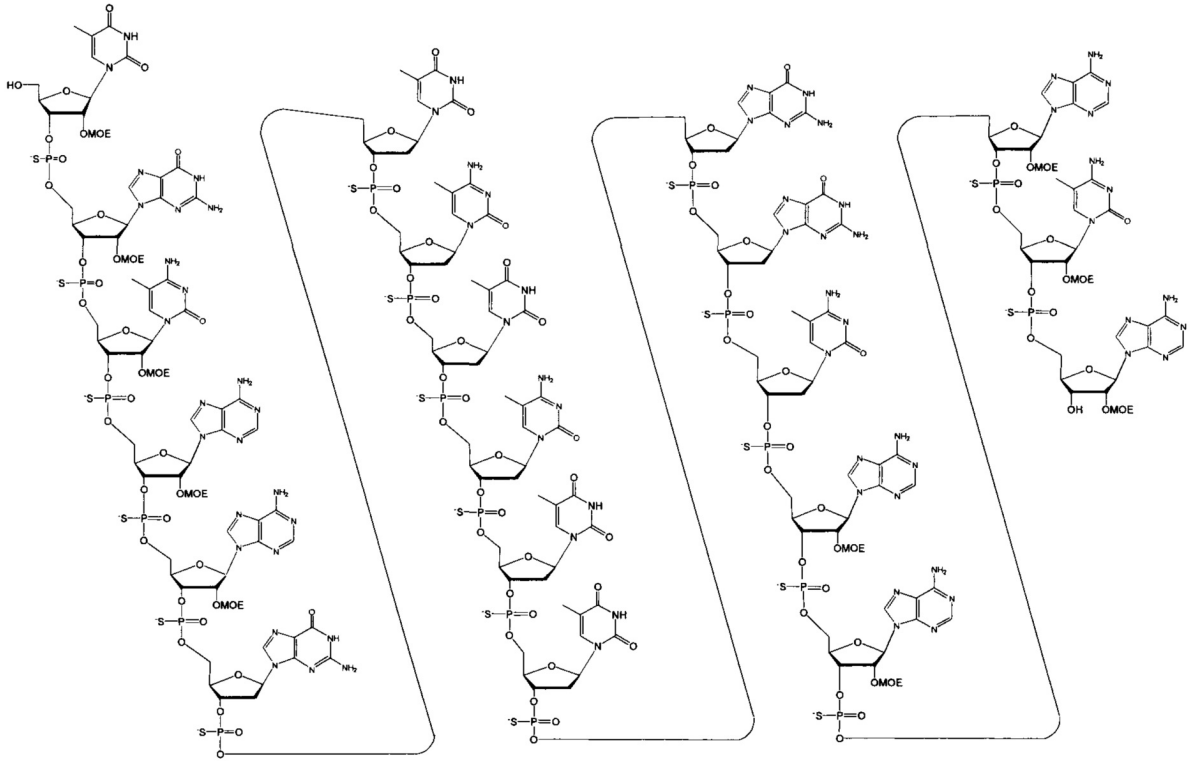
k = модифицированный cEt нуклеозид,

d = 2'-дезоксинуклеозид, и

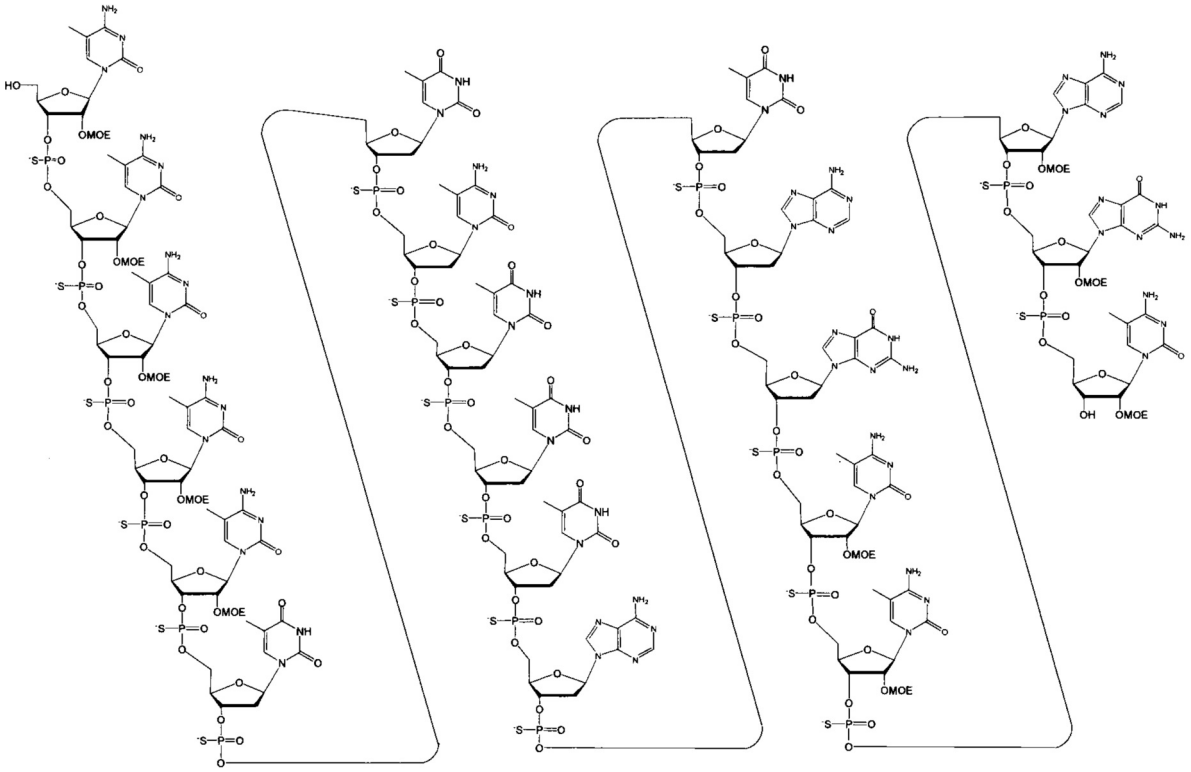
s = тиофосфатная межнуклеозидная связь.

В некоторых вариантах реализации группа конъюгата связана с модифицированным олигонуклеотидом на 5'-конце модифицированного олигонуклеотида. В некоторых вариантах реализации группа конъюгата связана с модифицированным олигонуклеотидом на 3'-конце модифицированного олигонуклеотида. В некоторых вариантах реализации группа конъюгата содержит по меньшей мере один N-ацетилгалактозамин (GalNAc), по меньшей мере два N-ацетилгалактозамина (GalNAc) или по меньшей мере три N-ацетилгалактозамина (GalNAc).

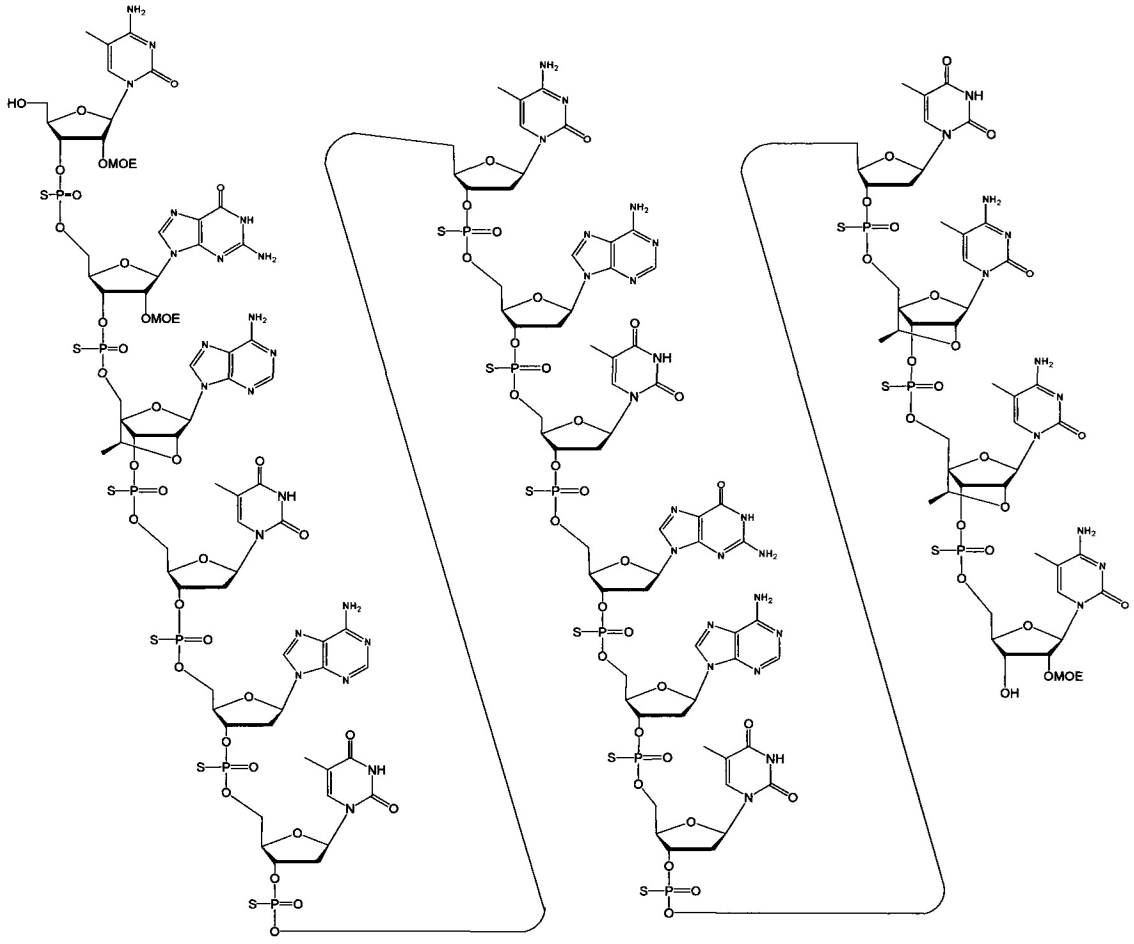
В некоторых вариантах реализации предложены соединения согласно следующей формуле:



В некоторых вариантах реализации предложены соединения согласно следующей формуле:



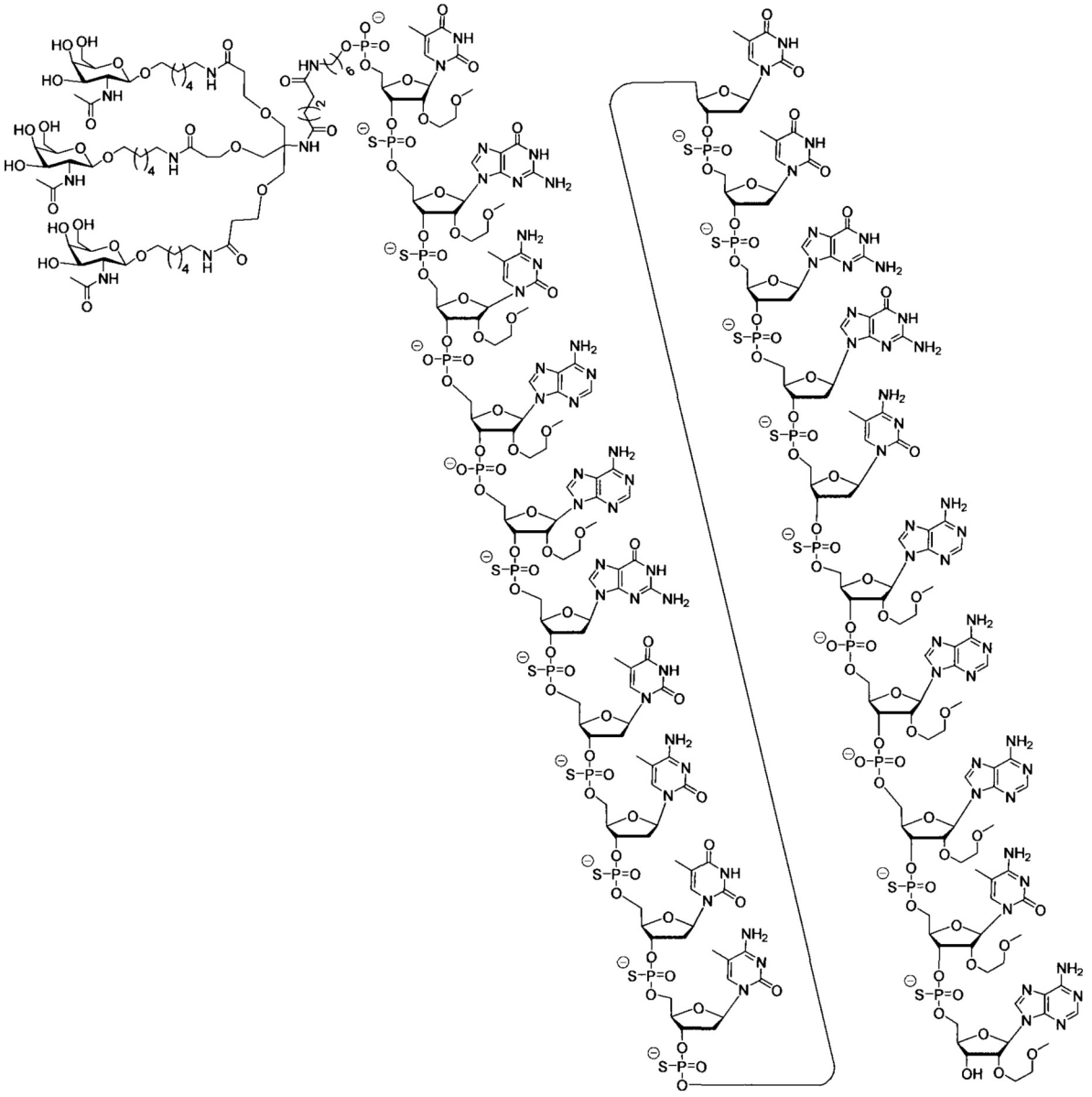
В некоторых вариантах реализации предложены соединения согласно следующей формуле:



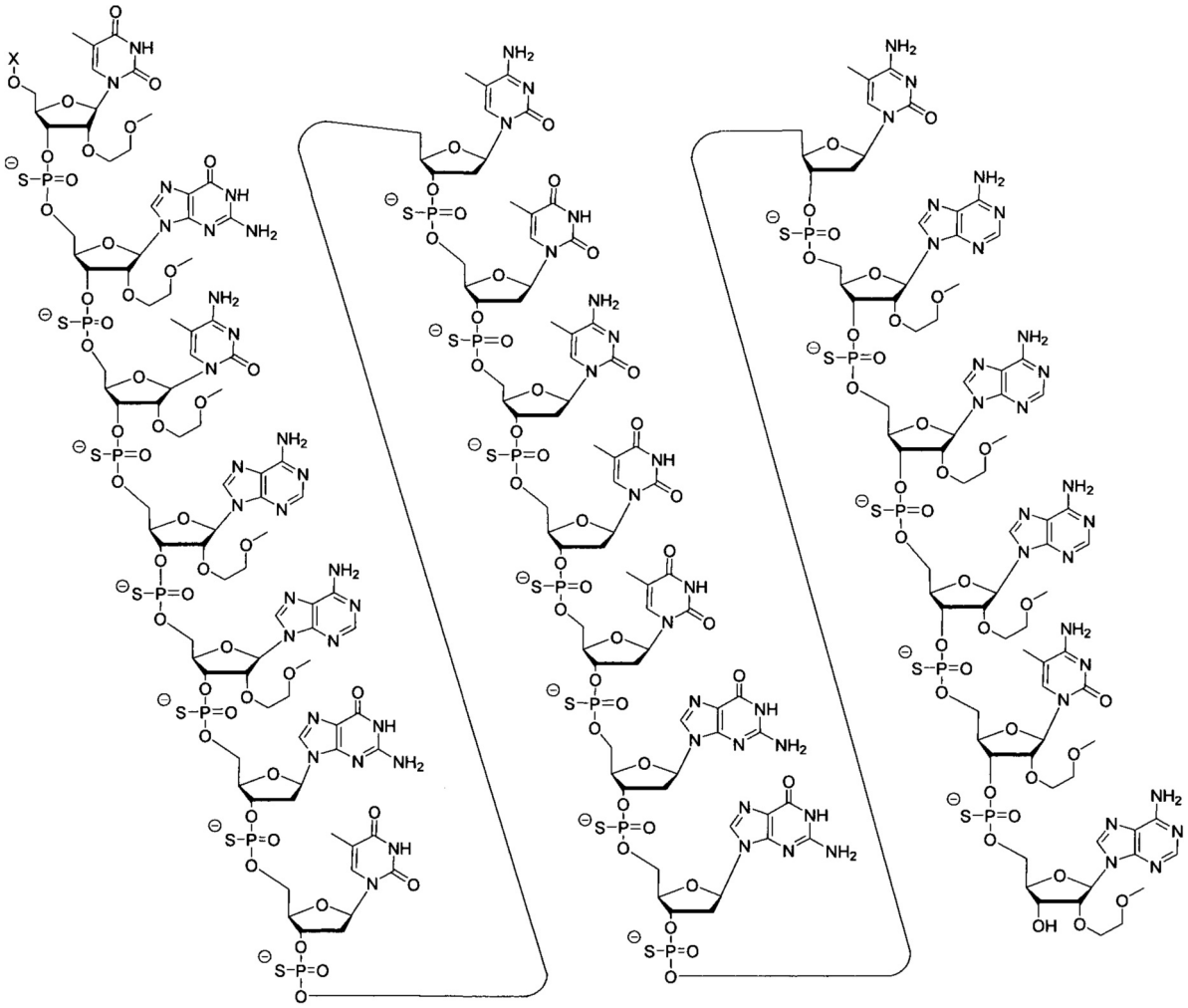
В некоторых вариантах реализации соединение может содержать или состоять из

любого модифицированного олигонуклеотида, описанного в настоящем документе, и группы конъюгата. В некоторых вариантах реализации соединение может содержать или состоять из модифицированного олигонуклеотида, состоящего из 12-30 связанных нуклеозидов и имеющего последовательность азотистых оснований, содержащую по меньшей мере 8, по меньшей мере 9, по меньшей мере 10, по меньшей мере 11, по меньшей мере 12, по меньшей мере 13, по меньшей мере 14, по меньшей мере 15, по меньшей мере 16, по меньшей мере 17, по меньшей мере 18, по меньшей мере 19 или по меньшей мере 20 последовательных азотистых оснований любой из последовательностей азотистых оснований SEQ ID NO: 30-2226, и группы конъюгата.

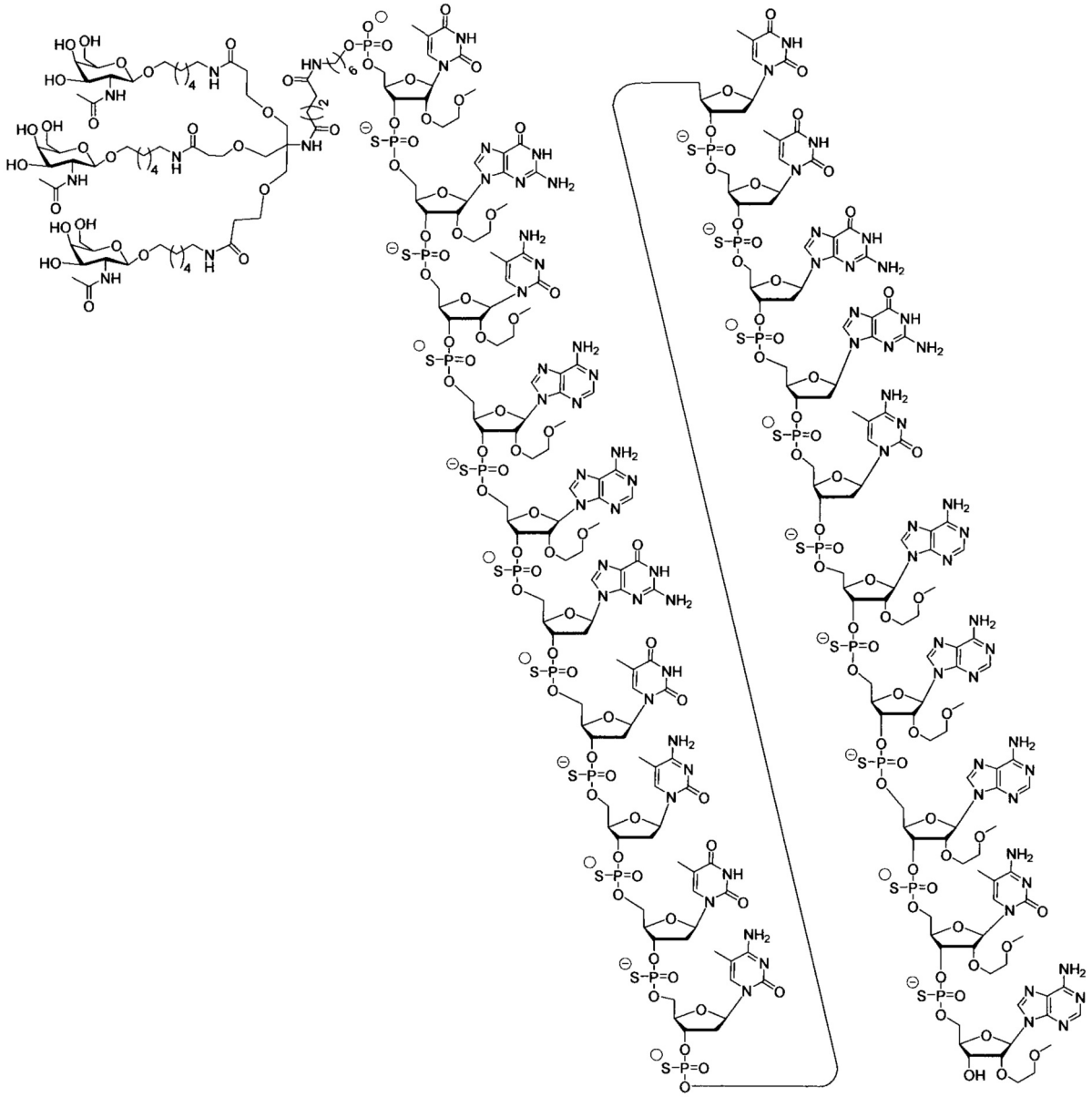
В некоторых вариантах реализации соединение, имеющее следующую химическую структуру, содержит или состоит из ISIS 721744 с 5'-X, где X представляет собой группу конъюгата, содержащую GalNAc, как описано в настоящем документе:



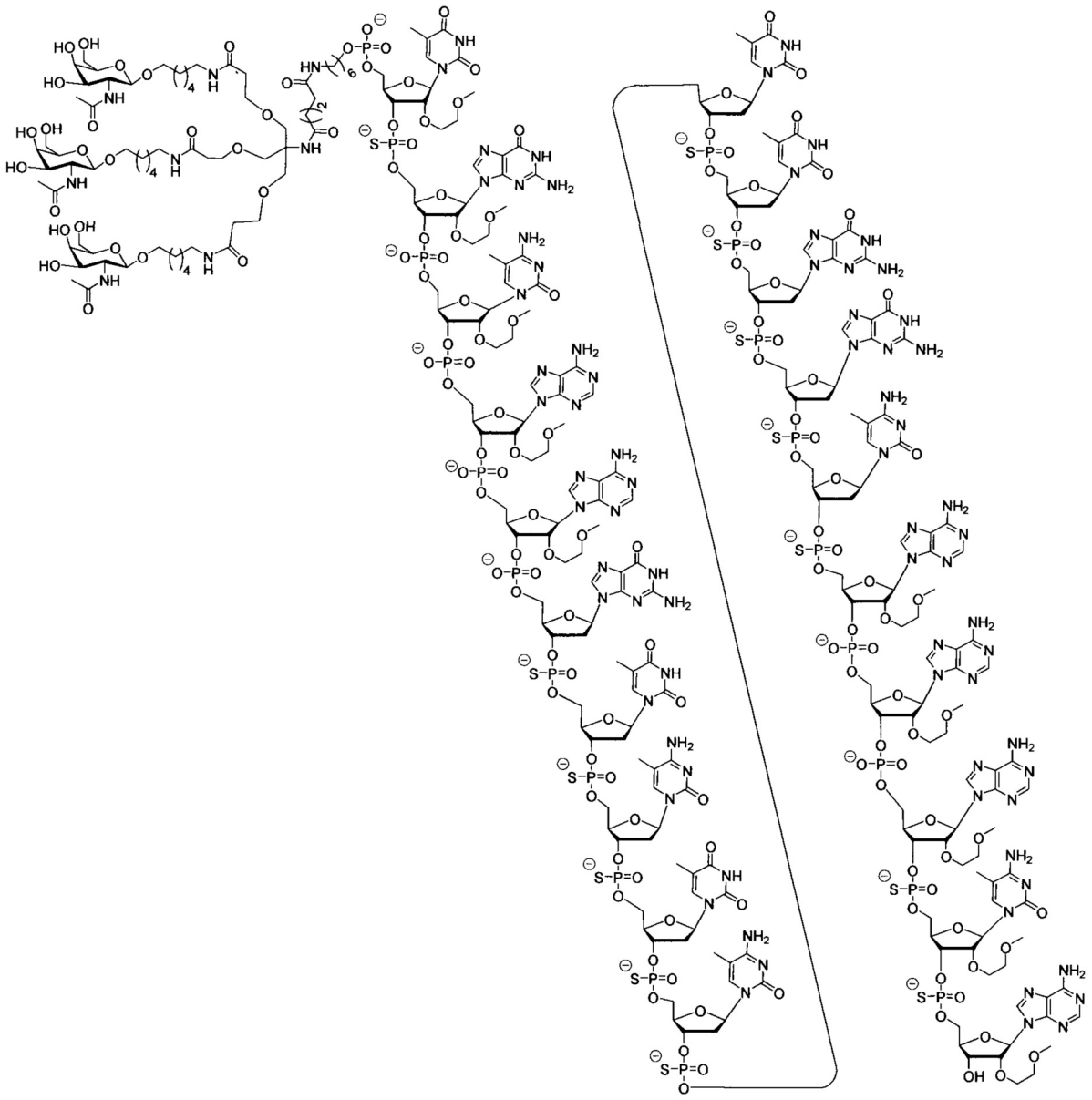
В некоторых вариантах реализации соединение, имеющее следующую химическую структуру, содержит или состоит из ISIS 546254 с 5'-X, где X представляет собой группу конъюгата, содержащую GalNAc, как описано в настоящем документе:



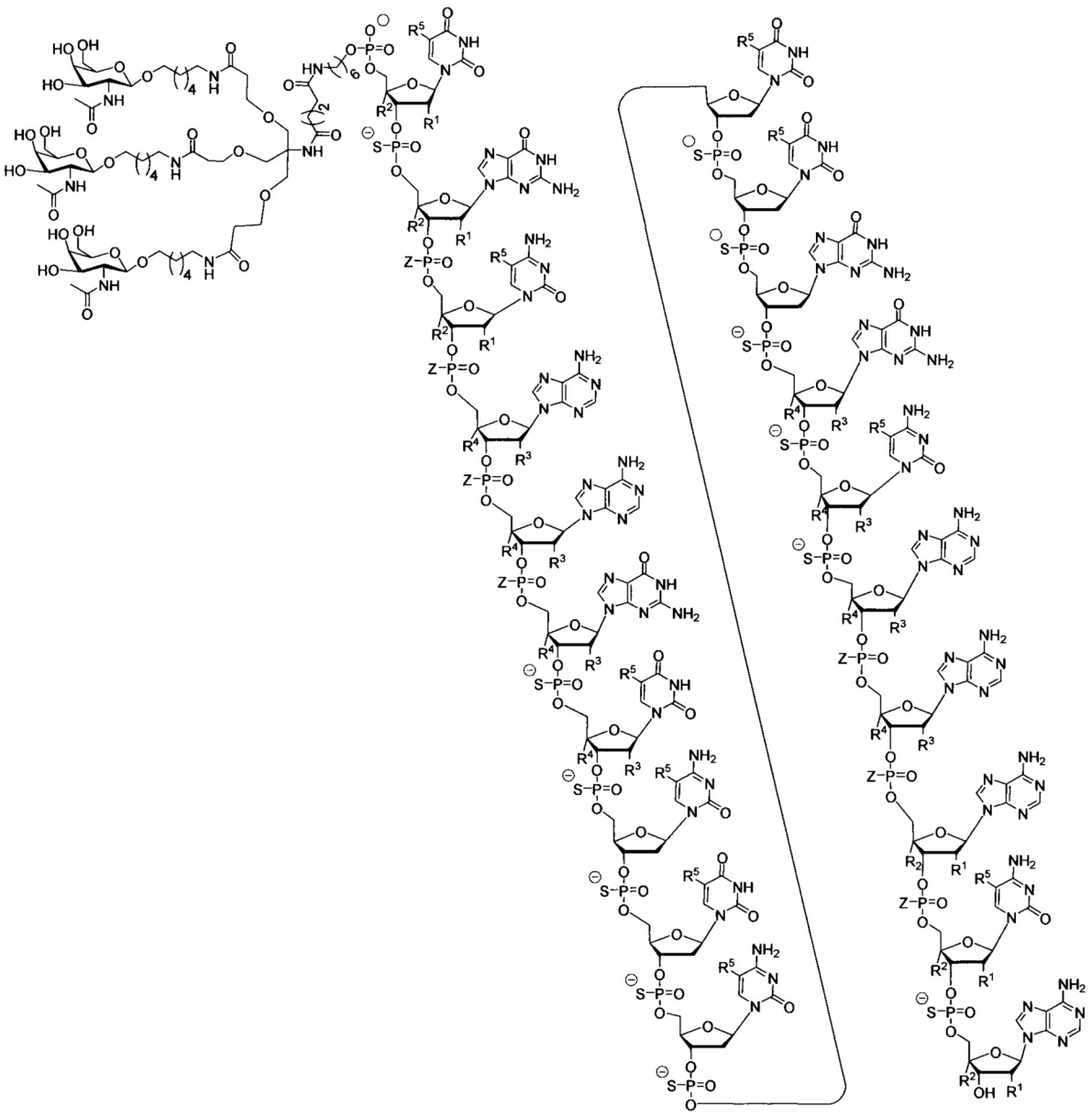
В некоторых вариантах реализации предложено соединение, содержащее или состоящее из следующей формулы:



В некоторых вариантах реализации предложено соединение, содержащее или состоящее из следующей формулы:



В некоторых вариантах реализации предложено соединение, содержащее или состоящее из следующей формулы:



где либо R^1 представляет собой $-OCH_2CH_2OCH_3$ (MOE), и R^2 представляет собой H; либо R^1 и R^2 вместе образуют мостик, где R^1 представляет собой -O-, и R^2 представляет собой $-CH_2-$, $-CH(CH_3)-$ или $-CH_2CH_2-$, и R^1 и R^2 напрямую связаны так, что образующийся мостик выбран из: $-O-CH_2-$, $-O-CH(CH_3)-$ и $-O-CH_2CH_2-$;

и для каждой пары R^3 и R^4 у одного кольца, независимо для каждого кольца: либо R^3 выбран из H и $-OCH_2CH_2OCH_3$, и R^4 представляет собой H; либо R^3 и R^4 вместе образуют мостик, где R^3 представляет собой -O-, и R^4 представляет собой $-CH_2-$, $-CH(CH_3)-$ или $-CH_2CH_2-$, и R^3 и R^4 напрямую связаны так, что образующийся мостик выбран из: $-O-CH_2-$, $-O-CH(CH_3)-$ и $-O-CH_2CH_2-$;

и R^5 выбран из H и $-CH_3$;

и Z выбран из S^- и O^-.

В некоторых вариантах реализации изобретения предложены композиции, содержащие

соединение по любому из предшествующих пунктов или его соль и по меньшей мере один из фармацевтически приемлемого носителя или разбавителя.

В некоторых вариантах реализации изобретения предложены способы, включающие введение животному соединения или композиции по любому из предшествующих пунктов.

В некоторых вариантах реализации животное представляет собой человека.

В некоторых вариантах реализации изобретения введение соединения обеспечивает предупреждение, лечение или облегчение заболевания, расстройства или патологического состояния, связанного с ПКП.

В некоторых вариантах реализации изобретения связанное с ПКП заболевание, расстройство или патологическое состояние представляет собой наследственный ангионевротический отек (ПАЕ), отек, ангионевротический отек, припухлость, ангионевротический отек век, отек глаза, отек желтого пятна, отек мозга, тромбоз, эмболию, тромбоэмболию, тромбоз глубоких вен, легочную эмболию, инфаркт миокарда, инсульт или инфаркт.

В некоторых вариантах реализации изобретения предложено применение соединения или композиции по любому из предшествующих пунктов для производства лекарственного средства для лечения воспалительного заболевания или тромбоэмболического заболевания.

Антисмысловые соединения

Олигомерные соединения включают, но не ограничиваются ими, олигонуклеотиды, олигонуклеозиды, аналоги олигонуклеотидов, миметики олигонуклеотидов, антисмысловые соединения, антисмысловые олигонуклеотиды и миРНК. Олигомерное соединение может быть «антисмысловым» к нуклеиновой кислоте-мишени, что означает, что оно способно подвергаться гибридизации с нуклеиновой кислотой-мишенью посредством водородного связывания.

В некоторых вариантах реализации антисмысловое соединение содержит последовательность азотистых оснований, которая при написании в 5'-3' направлении содержит обратный комплемент целевого сегмента нуклеиновой кислоты-мишени, на которую она направлена. В некоторых таких вариантах реализации антисмысловой олигонуклеотид имеет последовательность азотистых оснований, которая при написании в 5'-3' направлении содержит обратный комплемент целевого сегмента нуклеиновой кислоты-мишени, на которую она направлена.

В некоторых вариантах реализации изобретения длина антисмыслового соединения, нацеленного на нуклеиновую кислоту ПКП, составляет 12-30 субъединиц. В некоторых вариантах реализации изобретения длина антисмыслового соединения, нацеленного на нуклеиновую кислоту ПКП, составляет 12-25 субъединиц. В некоторых вариантах реализации изобретения длина антисмыслового соединения, нацеленного на нуклеиновую кислоту ПКП, составляет 12-22 субъединицы. В некоторых вариантах реализации изобретения длина антисмыслового соединения, нацеленного на нуклеиновую кислоту ПКП, составляет 14-20 субъединиц. В некоторых вариантах реализации изобретения длина антисмыслового соединения, нацеленного на нуклеиновую кислоту ПКП, составляет 15-25 субъединиц. В некоторых вариантах реализации изобретения длина антисмыслового соединения, нацеленного на нуклеиновую кислоту ПКП, составляет 18-22 субъединицы. В некоторых вариантах реализации изобретения длина антисмыслового соединения, нацеленного на нуклеиновую кислоту ПКП, составляет 19-21 субъединицу. В некоторых вариантах реализации антисмысловое соединение имеет от 8 до 80, от 12 до 50, от 13 до 30, от 13 до 50, от 14 до 30, от 14 до 50, от 15 до

30, от 15 до 50, от 16 до 30, от 16 до 50, от 17 до 30, от 17 до 50, от 18 до 30, от 18 до 50, от 19 до 30, от 19 до 50 или от 20 до 30 связанных субъединиц в длину.

В некоторых вариантах реализации изобретения длина антисмыслового соединения, нацеленного на нуклеиновую кислоту ПКП, составляет 12 субъединиц. В некоторых вариантах реализации изобретения длина антисмыслового соединения, нацеленного на нуклеиновую кислоту ПКП, составляет 13 субъединиц. В некоторых вариантах реализации изобретения длина антисмыслового соединения, нацеленного на нуклеиновую кислоту ПКП, составляет 14 субъединиц. В некоторых вариантах реализации изобретения длина антисмыслового соединения, нацеленного на нуклеиновую кислоту ПКП, составляет 15 субъединиц. В некоторых вариантах реализации изобретения длина антисмыслового соединения, нацеленного на нуклеиновую кислоту ПКП, составляет 16 субъединиц. В некоторых вариантах реализации изобретения длина антисмыслового соединения, нацеленного на нуклеиновую кислоту ПКП, составляет 17 субъединиц. В некоторых вариантах реализации изобретения длина антисмыслового соединения, нацеленного на нуклеиновую кислоту ПКП, составляет 18 субъединиц. В некоторых вариантах реализации изобретения длина антисмыслового соединения, нацеленного на нуклеиновую кислоту ПКП, составляет 19 субъединиц. В некоторых вариантах реализации изобретения длина антисмыслового соединения, нацеленного на нуклеиновую кислоту ПКП, составляет 20 субъединиц. В некоторых вариантах реализации изобретения длина антисмыслового соединения, нацеленного на нуклеиновую кислоту ПКП, составляет 21 субъединицу. В некоторых вариантах реализации изобретения длина антисмыслового соединения, нацеленного на нуклеиновую кислоту ПКП, составляет 22 субъединицы. В некоторых вариантах реализации изобретения длина антисмыслового соединения, нацеленного на нуклеиновую кислоту ПКП, составляет 23 субъединицы. В некоторых вариантах реализации изобретения длина антисмыслового соединения, нацеленного на нуклеиновую кислоту ПКП, составляет 24 субъединицы. В некоторых вариантах реализации изобретения длина антисмыслового соединения, нацеленного на нуклеиновую кислоту ПКП, составляет 25 субъединиц. В некоторых вариантах реализации изобретения длина антисмыслового соединения, нацеленного на нуклеиновую кислоту ПКП, составляет 26 субъединиц. В некоторых вариантах реализации изобретения длина антисмыслового соединения, нацеленного на нуклеиновую кислоту ПКП, составляет 27 субъединиц. В некоторых вариантах реализации изобретения длина антисмыслового соединения, нацеленного на нуклеиновую кислоту ПКП, составляет 28 субъединиц. В некоторых вариантах реализации изобретения длина антисмыслового соединения, нацеленного на нуклеиновую кислоту ПКП, составляет 29 субъединиц. В некоторых вариантах реализации изобретения длина антисмыслового соединения, нацеленного на нуклеиновую кислоту ПКП, составляет 30 субъединиц. В некоторых вариантах реализации изобретения длина антисмыслового соединения, нацеленного на нуклеиновую кислоту ПКП, составляет 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58,59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79 или 80 связанных субъединиц или находится в диапазоне, определенном любыми двумя из упомянутых выше значений. В некоторых вариантах реализации антисмысловое соединение представляет собой антисмысловой олигонуклеотид, и связанными субъединицами являются нуклеозиды.

В некоторых вариантах реализации изобретения антисмысловые олигонуклеотиды, нацеленные на нуклеиновую кислоту ПКП, могут быть укороченными или усеченными. Например, одна субъединица может быть удалена с 5' конца (5' усечение), или же с 3' конца (3' усечение). В укороченном или усеченном антисмысловом соединении,

нацеленном на нуклеиновую кислоту ПКП, две субъединицы могут быть удалены на 5' конце или, в качестве альтернативы, две субъединицы могут быть удалены на 3' конце антисмыслового соединения. В альтернативном варианте удаленные нуклеозиды могут быть рассеяны по всему антисмысловому соединению, например, в антисмысловом соединении с одним нуклеозидом, удаленным с 5' конца, и одним нуклеозидом, удаленным с 3' конца.

Если в удлиненном антисмысловом соединении присутствует одна дополнительная субъединица, то дополнительная субъединица может быть расположена на 5' или 3' конце антисмыслового соединения. При наличии двух или более дополнительных субъединиц, добавленные субъединицы могут быть расположены рядом друг с другом, например, в антисмысловом соединении, имеющем две субъединицы, добавленные на 5' конце (5' присоединение) или, в альтернативном варианте, на 3' конце (3' присоединение). В альтернативном варианте присоединенные субъединицы могут быть рассеяны по всему антисмысловому соединению, например, в антисмысловом соединении, имеющем одну субъединицу, присоединенную к 5' концу, и одну субъединицу, присоединенную к 3' концу.

Длина антисмыслового соединения, такого как антисмысловой олигонуклеотид, может быть увеличена или уменьшена, и/или могут быть введены некомплементарные основания без аннулирования активности. Например, в Woolf et al. (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:7305-7309, 1992) описан ряд антисмысловых олигонуклеотидов длиной 13-25 азотистых оснований, которые были испытаны на их способность индуцировать расщепление целевой РНК в модели инъекции в ооцит. Антисмысловые олигонуклеотиды длиной 25 азотистых оснований с 8 или 11 некомплементарными основаниями вблизи концов антисмысловых олигонуклеотидов были способны управлять прямым расщеплением целевой мРНК, хотя и в меньшей степени, чем антисмысловые олигонуклеотиды, которые не содержали никаких несоответствий. Аналогичным образом целевое специфическое расщепление было достигнуто с применением антисмысловых нуклеотидов из 13 азотистых оснований, включая такие, что имели 1 или 3 несоответствия.

Gautschi et al (J. Natl. Natl. Cancer Inst. 93:463-471, March 2001) продемонстрировали способность олигонуклеотида, обладающего 100% комплементарностью мРНК bcl-2 и содержащего 3 рассогласованных основания по отношению к мРНК bcl-xL, уменьшать экспрессию как bcl-2, так и bcl-xL in vitro и in vivo. Кроме того, данный олигонуклеотид продемонстрировал высокую противоопухолевую активность in vivo.

Maher и Dolnick (Nuc. Acid. Res. 16:3341-3358, 1988) провели испытания серии тандемов антисмысловых олигонуклеотидов из 14 азотистых оснований и антисмысловых олигонуклеотидов из 28 и 42 азотистых оснований, состоящих из последовательности двух или трех тандемов антисмысловых олигонуклеотидов, соответственно, на их способность к блокированию трансляции ДГФР человека в анализе на ретикулоцитах кролика. Каждый из трех антисмысловых олигонуклеотидов из 14 азотистых оснований в одиночку был способен ингибировать трансляцию, хотя и на более низком уровне, чем антисмысловые олигонуклеотиды из 28 или 42 азотистых оснований.

Мотивы антисмысловых соединений

В некоторых вариантах реализации изобретения антисмысловые соединения, нацеленные на нуклеиновую кислоту ПКП, содержат химически модифицированные субъединицы, организованные в паттерны или мотивы, для придания антисмысловым соединениям таких свойств, как например усиленная ингибирующая активность, повышенная аффинность связывания с нуклеиновой кислотой-мишенью или

сопротивление разложению нуклеазами in vivo.

Химерные антисмысловые соединения обычно содержат по меньшей мере одну область, модифицированную таким образом, чтобы придать повышенную устойчивость к разложению под действием нуклеаз, усиление клеточного поглощения, повышенную аффинность связывания с целевой нуклеиновой кислотой, и/или повышенную ингибирующую активность. Второй химерный участок антисмыслового соединения может дополнительно служить в качестве субстрата для клеточной эндонуклеазы РНКазы Н, которая отщепляет нить РНК в РНК:ДНК-дуплексе.

Антисмысловые соединения, имеющие гэпмерный мотив, представляют собой химерные антисмысловые соединения. В гэпмере внутренняя область, имеющая множество нуклеотидов, которые поддерживают расщепление РНКазой Н, расположена между внешними областями, имеющими множество нуклеотидов, химически отличающихся от нуклеозидов внутренней области. В случае антисмыслового олигонуклеотида, имеющего гэпмерный мотив, сегмент гэп, как правило, служит в качестве субстрата для расщепления эндонуклеазой, в то время как сегменты крыльев содержат модифицированные нуклеозиды. В некоторых вариантах реализации указанные области гэпмера различаются по типам сахарных фрагментов в составе каждой отдельной области. Типы сахарных фрагментов, которые используют для дифференциации областей гэпмера, в некоторых вариантах реализации включают β-D-рибонуклеозиды, β-D-дезоксирибонуклеозиды, 2'-модифицированные нуклеозиды (такие 2'-модифицированные нуклеозиды могут включать, среди прочего, 2'-MOE и 2'-O-CH_3) и модифицированные бициклическими сахарами нуклеозиды (такие модифицированные бициклическими сахарами нуклеозиды могут включать те, которые имеют мостик 4'-(CH_2)n-O-2', где n=1 или n=2, и 4'-CH_2-O-CH_2-2'). В некоторых вариантах реализации крылья могут содержат несколько модифицированных сахарных фрагментов, включая, например, 2'-MOE. В некоторых вариантах реализации крылья могут содержать несколько модифицированных и немодифицированных сахарных фрагментов. В некоторых вариантах реализации крылья могут содержать различные комбинации 2'-MOE нуклеозидов и 2'-дезоксинуклеозидов.

Каждая отдельная область может содержать одинаковые сахарные фрагменты, различные или чередующиеся сахарные фрагменты. Мотив крыло-гэп-крыло часто описывают как «X-Y-Z», где «X» обозначает длину 5' крыла, «Y» обозначает длину гэпа, а «Z» обозначает длину 3' крыла. «X» и «Z» могут содержать одинаковые, различные или чередующиеся сахарные фрагменты. В некоторых вариантах реализации «X» и «Y» могут содержать один или более 2'-дезоксинуклеозида. «Y» может содержать 2'-дезоксинуклеозиды. В данном контексте гэпмер, описанный как «X-Y-Z», имеет такую конфигурацию, что гэп расположен непосредственно возле каждого из 5' крыла и 3' крыла. Таким образом, между 5' крылом и гэп или гэп и 3' крылом нет промежуточных нуклеотидов. Любое из антисмысловых соединений, описанных в настоящем документе, может иметь гэпмерный мотив. В некоторых вариантах реализации «X» и «Z» являются одинаковыми; в других вариантах реализации они различны.

В некоторых вариантах реализации гэпмер, описанный в настоящем документе, содержит, например 20 оснований, имея 5-10-5 мотив.

Нуклеиновые кислоты-мишени, области-мишени и нуклеотидные последовательности

Нуклеотидные последовательности, которые кодируют прекалликреин (ПКП) плазмы человека, включают, без ограничения, следующие: с номером доступа GENBANK NM_000892.3 (включенную в настоящий документ как SEQ ID NO: 1), с номером доступа GENBANK DC412984.1 (включенную в настоящий документ как SEQ ID NO: 2), с

номером доступа GENBANK CN265612.1 (включенную в настоящий документ как SEQ ID NO: 3), с номером доступа GENBANK AK297672.1 (включенную в настоящий документ как SEQ ID NO: 4), с номером доступа GENBANK DC413312.1 (включенную в настоящий документ как SEQ ID NO: 5), с номером доступа GENBANK AV688858.2 (включенную в настоящий документ как SEQ ID NO: 6), с номером доступа GENBANK CD652077.1 (включенную в настоящий документ как SEQ ID NO: 7), с номером доступа GENBANK BC143911.1 (включенную в настоящий документ как SEQ ID NO: 8), с номером доступа GENBANK CB162532.1 (включенную в настоящий документ как SEQ ID NO: 9), с номером доступа GENBANK NT_016354.19, усеченную по азотистым основаниям с 111693001 по 111730000 (включенную в настоящий документ как SEQ ID NO: 10), с номером доступа GENBANK NM_008455.2 (включенную в настоящий документ как SEQ ID NO: 11), с номером доступа GENBANK BB598673.1 (включенную в настоящий документ как SEQ ID NO: 12), с номером доступа GENBANK NT_039460.7, усеченную по азотистым основаниям с 6114001 по 6144000 (включенную в настоящий документ как SEQ ID NO: 13), с номером доступа GENBANK NM_012725.2 (включенную в настоящий документ как SEQ ID NO: 14), с номером доступа GENBANK NW_047473.1, усеченную по азотистым основаниям с 10952001 по 10982000 (включенную в настоящий документ как SEQ ID NO: 15), с номером доступа GENBANK XM_002804276.1 (включенную в настоящий документ как SEQ ID NO: 17), с номером доступа GENBANK NW_001118167.1, усеченную по азотистым основаниям с 2358000 по 2391000 (включенную в настоящий документ как SEQ ID NO: 18).

Понятно, что последовательность, изложенная в каждом SEQ ID NO в примерах, содержащихся в настоящем документе, является независимой от любой модификации сахарного фрагмента, межнуклеозидной связи или азотистого основания. Следовательно, антисмысловое соединение, определяемое по SEQ ID NO, может независимо содержать одну или более модификации сахарного фрагмента, межнуклеозидной связи или азотистого основания. Антисмысловые соединения, описанные по номеру Isis (Isis №) указывают сочетание последовательности азотистых оснований и мотива.

В некоторых вариантах реализации целевая область представляет собой структурно определенную область нуклеиновой кислоты-мишени. Например, целевая область может охватывать 3' UTR, 5' UTR, экзон, интрон, экзон /интронное сочленение, кодирующую область, область инициации трансляции, область терминации трансляции или другими определенные области нуклеиновой кислоты. Структурно определенные области для ПКП могут быть получены по номеру доступа из баз данных последовательностей, таких как NCBI, и такая информация включена в данное описание посредством ссылки. В некоторых вариантах реализации целевая область может охватывать последовательность от 5' сайта-мишени одного целевого сегмента в пределах области-мишени до 3' сайта-мишени другого целевого сегмента в пределах той же области-мишени.

Таргетирование включает в себя определение по меньшей мере одного целевого сегмента, с которым гибридизируется антисмысловое соединение, например, для достижения желаемого эффекта. В некоторых вариантах реализации желаемый эффект представляет собой снижение уровней мРНК нуклеиновой кислоты-мишени. В некоторых вариантах реализации желаемый эффект представляет собой снижение уровней белка, кодируемого нуклеиновой кислотой-мишенью, или фенотипическое изменение, связанное с нуклеиновой кислотой-мишенью.

Область-мишень может содержать один или более целевых сегментов. Несколько целевых сегментов в области-мишени могут быть перекрывающимися. Альтернативно,

они могут быть не перекрывающимися. В некоторых вариантах реализации целевые сегменты в пределах области-мишени разделены не более чем около 300 нуклеотидами. В некоторых вариантах реализации целевые сегменты в пределах области-мишени разделены числом нуклеотидов, равным, равным около, не более чем, не более чем около 250, 200, 150, 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20 или 10 нуклеотидами в нуклеиновой кислоте-мишени, или находится в пределах, определяемых любыми двумя из предшествующих значений. В некоторых вариантах реализации целевые сегменты в пределах области-мишени разделены не более чем, или не более чем около 5 нуклеотидами в нуклеиновой кислоте-мишени. В некоторых вариантах реализации целевые сегменты непрерывны. Предусмотрены области-мишени, определенные диапазоном, имеющим стартовую нуклеиновую кислоту, которая представляет собой любую из 5' сайта-мишени или 3' сайта-мишени, перечисленных в настоящем документе.

Подходящие целевые сегменты могут быть расположены в 5' UTR, кодирующем участке, в 3' UTR, интроне, экзоне или в экзон/интронном сочленении. Целевые сегменты, содержащие стартовый кодон или стоп-кодон, также представляют собой подходящие целевые сегменты. Подходящий целевой сегмент может специфически исключать некоторые структурно определенные области, такие как стартовый кодон или стоп-кодон.

Определение подходящих целевых сегментов может включать в себя сравнение последовательности нуклеиновой кислоты-мишени с другими последовательностями по всему геному. Например, для идентификации областей подобия среди различных нуклеиновых кислот может быть использован алгоритм BLAST. Это сравнение может предотвратить выбор последовательностей антисмыслового соединения, которые гибридизуются неспецифическим образом с последовательностями, отличными от выбранной нуклеиновой кислоты-мишени (например, нецелевые или побочные последовательности).

Могут быть вариации в активности (например, определенной по процентному снижению уровней нуклеиновой кислоты-мишени) антисмысловых соединений внутри активной целевой области. В некоторых вариантах реализации изобретения снижение уровней мРНК ПКП является индикатором ингибирования экспрессии ПКП. Снижение уровней белка ПКП также указывает на подавление экспрессии мРНК-мишени. Дополнительно, фенотипические изменения указывают на подавление экспрессии ПКП. Например, уменьшение выраженности или предупреждение воспаления может быть индикатором подавления экспрессии ПКП. В другом примере, уменьшение выраженности или предупреждение отека/припухлости может быть индикатором подавления экспрессии ПКП. В другом примере, уменьшение или предупреждение сосудистой проницаемости может быть индикатором подавления экспрессии ПКП. В другом примере, уменьшение или предупреждение транссудации может быть индикатором подавления экспрессии ПКП. В некоторых вариантах реализации изобретения сосудистую проницаемость измеряют путем количественного определения красителя, такого как Evans Blue.

Гибридизация

В некоторых вариантах реализации гибридизация происходит между антисмысловым соединением, раскрытым в данном описании, и нуклеиновой кислотой-мишенью. Наиболее распространенный механизм гибридизации включает водородное связывание (например, уотсон-криковское, хугстиновское или обратное хугстиновское водородное связывание) между комплементарными азотистыми основаниями молекул нуклеиновых кислот.

Гибридизация может происходить в различных условиях. Жесткие условия являются последовательность-зависимыми и определяются природой и составом гибридизуемых молекул нуклеиновых кислот.

Способ определения того, является ли последовательность специфически гибридизуемой с целевой нуклеиновой кислотой, хорошо известны в данной области техники. В некоторых вариантах реализации изобретения антисмысловые соединения, предложенные в данном описании, способны специфично гибридизоваться с нуклеиновой кислотой-мишенью.

Комплементарностъ

Антисмысловое соединение и нуклеиновая кислота-мишень комплементарны друг другу, если достаточное количество азотистых оснований антисмыслового соединения может образовывать водородную связь с соответствующими азотистыми основаниями нуклеиновой кислоты-мишени, таким образом, что будет достигаться желательный эффект (например, антисмысловое ингибирование нуклеиновой кислоты-мишени, такой как нуклеиновая кислота ПКП).

Некомплементарные азотистые основания между антисмысловым соединением и нуклеиновой кислотой ПКП могут быть допустимыми при условии, что антисмысловое соединение сохраняет способность специфично гибридизоваться с нуклеиновой кислотой-мишенью. Кроме того, антисмысловое соединение может гибридизоваться с одним или несколькими сегментами нуклеиновой кислоты ПКП таким образом, что промежуточные или смежные сегменты не участвуют в гибридизации (например, петлевая структура, рассогласование или структура шпильки).

В некоторых вариантах реализации изобретения антисмысловые соединения, предложенные в данном описании, или определенная их часть, являются или по меньшей мере на 70%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% комплементарны нуклеиновой кислоте ПКП, области-мишени, сегменту-мишени или определенной их части. Процент комплементарности антисмыслового соединения с целевой нуклеиновой кислотой может быть определен с использованием стандартных методов.

Например, антисмысловое соединение, в котором 18 из 20 азотистых оснований антисмыслового соединения являются комплементарными к области-мишени, и поэтому будут специфически гибридизоваться, имеет 90 процентов комплементарности. В данном примере оставшиеся некомплементарные азотистые основания могут быть расположены кластерно или вперемешку с комплементарных азотистыми основаниями и не обязаны быть смежными друг с другом или комплементарными азотистыми основаниям. Таким образом, антисмысловое соединение, длина которого составляет 18 азотистых оснований, содержащее четыре некомплементарных азотистых основания, фланкированных двумя участками полной комплементарности с нуклеиновой кислотой-мишенью, обладает общей комплементарностью с нуклеиновой кислотой-мишенью 77,8%, и таким образом, входит в пределы объема настоящего изобретения. Процент комплементарности антисмыслового соединения с областью нуклеиновой кислоты-мишени может быть определен с помощью программ BLAST (основное средство поиска локального выравнивания) и программ PowerBLAST, известных в данной области техники (Altschul et al., J. Mol. Biol., 1990, 215, 403 410; Zhang и Madden, Genome Res., 1997, 7, 649 656). Процент гомологии, идентичность или комплементарность последовательностей, могут быть определены, например, программой Gap (висконсинский пакет анализа последовательностей, версия 8 для Unix, Genetics Computer Group, Висконсинский Университет, Мэдисон, штат Висконсин), с использованием

настроек по умолчанию, которые используют алгоритм Смита и Ватермана (Adv. Appl. Math., 1981,2, 482 489).

В некоторых вариантах реализации антисмысловые соединения, предложенные в настоящем документе, или их определенные части полностью комплементарны (т.е. на 100% комплементарны) нуклеиновой кислоте-мишени или ее определенной части. Например, антисмысловое соединение может быть полностью комплементарным нуклеиновой кислоте прекалликреина плазмы или ее области-мишени или сегменту-мишени или последовательности-мишени. В данном контексте «полностью комплементарный» означает, что каждое азотистое основание антисмыслового соединения способно точно спариваться с соответствующими азотистыми основаниями нуклеиновой кислоты-мишени. Например, антисмысловое соединение из 20 азотистых оснований полностью комплементарно целевой последовательности, которая имеет 400 азотистых оснований в длину, при условии, что существует соответствующая часть целевой нуклеиновой кислоты из 20 азотистых оснований, которая полностью комплементарна указанному антисмысловому соединению. Полностью комплементарный может также использоваться в отношении определенного фрагмента первой и/или второй нуклеиновой кислоты. Например, фрагмент из 20 азотистых оснований антисмыслового соединения, состоящего из 30 азотистых оснований, может быть «полностью комплементарным» последовательности-мишени, которая имеет 400 азотистых оснований в длину. Фрагмент из 20 азотистых оснований олигонуклеотида, состоящего из 30 азотистых оснований, полностью комплементарен целевой последовательности, если целевая последовательность имеет соответствующий фрагмент из 20 азотистых оснований, при этом каждое его азотистое основание комплементарно фрагменту из 20 азотистых оснований антисмыслового соединения. В то же время, все антисмысловое соединение из 30 азотистых оснований может быть или не быть полностью комплементарным целевой последовательности в зависимости оттого, будут ли остальные 10 азотистых оснований антисмыслового соединения также комплементарны целевой последовательности.

Некомплементарное азотистое основание может располагаться на 5' конце или 3' конце антисмыслового соединения. В альтернативном варианте некомплементарное азотистое основание или азотистые основания могут быть внутри антисмыслового соединения. Если присутствуют два или более некомплементарных азотистых оснований, они могут быть смежными (т.е. связанными) или не смежными. В одном варианте реализации некомплементарное азотистое основание располагается в сегменте крыла гэпмера антисмыслового олигонуклеотида.

В некоторых вариантах реализации изобретения антисмысловые соединения, длина которых равна или составляет до 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 азотистых оснований, содержат не более 4, не более 3, не более 2 или не более 1 некомплементарного азотистого основания относительно нуклеиновой кислоты-мишени или указанной ее части.

В некоторых вариантах реализации изобретения антисмысловые соединения, длина которых равна или составляет до 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 или 30 азотистых оснований, содержат не более 6, не более 5, не более 4, не более 3, не более 2 или не более 1 некомплементарного азотистого основания относительно нуклеиновой кислоты-мишени или определенной ее части.

Предложенные антисмысловые соединения включают также соединения, которые комплементарны части нуклеиновой кислоты-мишени. В данном контексте «часть» относится к определенному количеству смежных (т.е. связанных) азотистых оснований

в пределах области или сегмента нуклеиновой кислоты-мишени. «Часть» также может относиться к определенному количеству смежных азотистых оснований антисмыслового соединения. В некоторых вариантах реализации антисмысловые соединения комплементарны части целевого сегмента из по меньшей мере 8 азотистых оснований. В некоторых вариантах реализации антисмысловые соединения комплементарны части целевого сегмента из по меньшей мере 9 азотистых оснований. В некоторых вариантах реализации антисмысловые соединения комплементарны части целевого сегмента из по меньшей мере 10 азотистых оснований. В некоторых вариантах реализации антисмысловые соединения комплементарны части целевого сегмента из по меньшей мере 11 азотистых оснований. В некоторых вариантах реализации антисмысловые соединения комплементарны части целевого сегмента из по меньшей мере 12 азотистых оснований. В некоторых вариантах реализации антисмысловые соединения комплементарны части целевого сегмента из по меньшей мере 13 азотистых оснований. В некоторых вариантах реализации антисмысловые соединения комплементарны части целевого сегмента из по меньшей мере 14 азотистых оснований. В некоторых вариантах реализации антисмысловые соединения комплементарны части целевого сегмента из по меньшей мере 15 азотистых оснований. Также предусмотрены антисмысловые соединения, которые являются комплементарными части из по меньшей мере 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или более азотистых оснований целевого сегмента, или диапазон, определяемый любыми двумя из указанных значений.

Идентичность

Антисмысловые соединения, представленные в настоящем документе, также могут иметь определенный процент идентичности конкретной нуклеотидной последовательности, SEQ ID NO, или соединению, представленному конкретным номером Isis, или его части. В данном контексте антисмысловое соединение идентично последовательности, описанной в настоящем документе, если оно имеет такую же способность к спариванию азотистых оснований. Например, РНК, которая содержит урацил вместо тимидина в описанной последовательности ДНК, считают идентичной последовательности ДНК, поскольку и урацил, и тимидин спариваются с аденином. Предусмотрены также укороченные и удлиненные варианты антисмысловых соединений, описанных в настоящем документе, а также соединений, обладающих неидентичными основаниями по отношению к антисмысловым соединениям, предложенным в настоящем документе. Неидентичные основания могут быть смежными друг с другом или рассеянными по всему антисмысловому соединению. Процент идентичности антисмыслового соединения рассчитывают по количеству оснований, которые имеют идентичное спаривание оснований, относительно последовательности, с которой идет сравнение.

В некоторых вариантах реализации антисмысловые соединения или их части по меньшей мере на 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичны одному или более антисмысловым соединениям из SEQ ID NO, или их части, как описано в настоящем документе.

В некоторых вариантах реализации фрагмент антисмыслового соединения сравнивают с равной по длине части нуклеиновой кислоты-мишени. В некоторых вариантах реализации сравнивают часть из 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 или 25 азотистых оснований с равной по длине частью нуклеиновой кислоты-мишени.

В некоторых вариантах реализации часть антисмыслового олигонуклеотида сравнивают с равной по длине частью нуклеиновой кислоты-мишени. В некоторых вариантах реализации сравнивают часть из 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20,

21, 22, 23, 24 или 25 азотистых оснований с равной по длине частью нуклеиновой кислоты-мишени.

Модификации

Нуклеозид представляет собой комбинацию азотистое основание-сахар. Азотистое основание (также известное как основание) - часть нуклеозида, обычно представляющая собой фрагмент гетероциклического основания. Нуклеотиды представляют собой нуклеозиды, которые дополнительно содержат фосфатную группу, ковалентно связанную с сахарной частью нуклеозида. Для тех нуклеозидов, которые содержат пентофуранозильный сахар, фосфатная группа может быть связана с 2', 3' или 5' гидроксильным фрагментом сахара. Олигонуклеотиды образуются посредством ковалентного связывания соседних нуклеозидов друг с другом с образованием линейного полимерного олигонуклеотида. В олигонуклеотидной структуре фосфатные группы обычно называют как образующие межнуклеозидные связи олигонуклеотида.

Модификации антисмысловых соединений охватывают замещения или изменения межнуклеозидных связей, сахарных фрагментов или азотистых оснований. Модифицированные антисмысловые соединения зачастую предпочтительны по сравнению с нативными формами за счет желаемых свойств, таких как, например, улучшенное клеточное поглощение, повышенная аффинность связывания с нуклеиновой кислотой-мишенью, повышенная стабильность в присутствии нуклеаз или повышенная ингибирующая активность.

Химически модифицированные нуклеозиды также могут быть использованы для повышения аффинности связывания укороченного или усеченного антисмыслового олигонуклеотида с его нуклеиновой кислотой-мишенью. Следовательно, сопоставимые результаты часто могут быть получены с помощью более коротких антисмысловых соединений, которые имеют такие химически модифицированные нуклеозиды.

Модифицированные межнуклеозидные связи

Природная межнуклеозидная связь РНК и ДНК представляет собой 3'-5' фосфодиэфирную связь. Антисмысловые соединения, имеющие одну или более модифицированных, т.е. неприродных межнуклеозидных связей, часто предпочтительны по сравнению с антисмысловыми соединениями, имеющими природные межнуклеозидные связи, благодаря желаемым свойствам, таким как, например, улучшенное клеточное поглощение, усиленная аффинность связывания с нуклеиновыми кислотами-мишенями и повышенная стабильность в присутствии нуклеаз.

Олигонуклеотиды, имеющие модифицированные межнуклеозидные связи, включают межнуклеозидные связи, которые сохраняют атом фосфора, а также межнуклеозидные связи, которые не имеют атома фосфора. Иллюстративные фосфорсодержащие межнуклеозидные связи включают, но не ограничиваются ими, фосфодиэфиры, фосфотриэфиры, метилфосфонаты, фосфорамидаты и тиофосфаты. Способы получения фосфорсодержащих и не содержащих фосфор связей хорошо известны.

В некоторых вариантах реализации изобретения антисмысловые соединения, нацеленные на нуклеиновую кислоту прекалликреина плазмы, содержат одну или более модифицированных межнуклеозидных связей. В некоторых вариантах реализации модифицированные межнуклеозидные связи представляют собой тиофосфатные связи. В некоторых вариантах реализации каждая межнуклеозидная связь антисмыслового соединения представляет собой тиофосфатную межнуклеозидную связь.

В некоторых вариантах реализации олигонуклеотиды содержат модифицированные межнуклеозидные связи, расположенные вдоль олигонуклеотида или его области определенным образом или в виде мотива модифицированной межнуклеозидной связи.

В некоторых вариантах реализации межнуклеозидные связи расположены в разорванном мотиве. В таких вариантах реализации межнуклеозидные связи в каждой из двух областей крыльев отличны от межнуклеозидных связей в области гэп. В некоторых вариантах реализации межнуклеозидные связи в крыльях являются фосфодиэфирными, а межнуклеозидные связи в гэп являются тиофосфатными. Нуклеозидный мотив выбран независимо, так что олигонуклеотид, имеющий разорванный мотив межнуклеозидных связей, может иметь или не иметь разорванный нуклеозидный мотив, и если он имеет разорванный нуклеозидный мотив, то длина крыльев и гэп может быть или не быть одинаковой.

В некоторых вариантах реализации олигонуклеотиды содержат область, имеющую мотив чередующихся межнуклеозидных связей. В некоторых вариантах реализации олигонуклеотиды согласно настоящему изобретению содержат область одинаково модифицированных межнуклеозидных связей. В некоторых таких вариантах реализации олигонуклеотид содержит область, которая равномерно связана тиофосфатными межнуклеозидными связями. В некоторых вариантах реализации олигонуклеотид равномерно связан тиофосфатными межнулеозидными связями. В некоторых вариантах реализации каждая межнуклеозидная связь олигонуклеотида выбрана из фосфодиэфира и тиофосфата. В некоторых вариантах реализации каждая межнуклеозидная связь олигонуклеотида выбрана из фосфодиэфира и тиофосфата, и по меньшей мере одна межнуклеозидная связь представляет собой тиофосфат.

В некоторых вариантах реализации олигонуклеотид содержит по меньшей мере 6 тиофосфатных межнуклеозидных связей. В некоторых вариантах реализации олигонуклеотид содержит по меньшей мере 8 тиофосфатных межнуклеозидных связей. В некоторых вариантах реализации олигонуклеотид содержит по меньшей мере 10 тиофосфатных межнуклеозидных связей. В некоторых вариантах реализации олигонуклеотид содержит по меньшей мере один блок по меньшей мере из 6 последовательных тиофосфатных межнуклеозидных связей. В некоторых вариантах реализации олигонуклеотид содержит по меньшей мере один блок по меньшей мере из 8 последовательных тиофосфатных межнуклеозидных связей. В некоторых вариантах реализации олигонуклеотид содержит по меньшей мере один блок по меньшей мере из 10 последовательных тиофосфатных межнуклеозидных связей. В некоторых вариантах реализации олигонуклеотид содержит по меньшей мере один блок по меньшей мере из 12 последовательных тиофосфатных межнуклеозидных связей. В некоторых таких вариантах реализации по меньшей мере один такой блок расположен на 3' конце олигонуклеотида. В некоторых таких вариантах реализации по меньшей мере один такой блок расположен в пределах 3 нуклеозидов от 3' конца олигонуклеотида.

В некоторых вариантах реализации олигонуклеотиды содержат одну или более метилфосфонатных связей. В некоторых вариантах реализации олигонуклеотиды, имеющие гэпмерный нуклеозидный мотив, содержат линкерный мотив, содержащий все тиофосфатные связи, за исключением одной или двух метилфосфонатных связей. В некоторых вариантах реализации одна метилфосфонатная связь находится в центральном гэпе олигонуклеотида, имеющего гэпмерный нуклеозидный мотив.

В некоторых вариантах реализации желательно распределять количество тиофосфатных межнуклеозидных связей и фосфодиэфирных межнуклеозидных связей для сохранения устойчивости к нуклеазе. В некоторых вариантах реализации желательно распределять количество и положение тиофосфатных межнуклеозидных связей, а также количество и положение фосфодиэфирных межнуклеозидных связей для сохранения устойчивости к нуклеазе. В некоторых вариантах реализации количество тиофосфатных

межнуклеозидных связей может быть уменьшено, а количество фосфодиэфирных межнуклеозидных связей может быть увеличено. В некоторых вариантах реализации количество тиофосфатных межнуклеозидных связей может быть уменьшено, а количество фосфодиэфирных межнуклеозидных связей может быть увеличено при сохранении устойчивости к нуклеазе. В некоторых вариантах реализации желательно уменьшить количество тиофосфатных межнуклеозидных связей при сохранении устойчивости к нуклеазе. В некоторых вариантах реализации желательно увеличить количество фосфодиэфирных межнуклеозидных связей при сохранении устойчивости к нуклеазе.

Модифицированные сахарные фрагменты

Антисмысловые соединения могут необязательно содержать один или более нуклеозидов, в которых модифицирована сахарная группа. Такие нуклеозиды с модифицированным сахаром могут придавать антисмысловым соединениями повышенную устойчивость к нуклеазам, повышенную аффинность связывания или некоторые другие полезные биологические свойства. В некоторых вариантах реализации нуклеозиды содержат химически модифицированные фрагменты рибофуранозного кольца. Примеры химически модифицированных рибофуранозных колец включают, без ограничения, введение групп заместителей (включая 5' и 2' группы заместителей, соединение мостиком негеминальных кольцевых атомов с образованием бициклических нуклеиновых кислот (БНК), замену атома кислорода в рибозильном кольце на S, N(R) или $C(R_1)(R_2)$ (R, R_1 и R_2, каждый независимо, представляют собой H, C_1-C_{12} алкил или защитную группу) и их комбинации. Примеры химически модифицированных Сахаров включают 2'-F-5'-метил-замещенный нуклеозид (см. международную заявку PCT WO 2008/101157, опубликованную 8/21/08, где представлены другие описанные 5',2'-бис-замещенные нуклеозиды) или замену атома кислорода рибозильного кольца на S с дополнительным замещением в 2'-положении (см. опубликованную заявку на патент США US 2005-0130923, опубликованную 16 июня 2005 года), или в альтернативном варианте с 5'-замещением БНК (см. международную заявку PCT WO 2007/134181, опубликованную 11/22/07, где ЗНК замещена, например, 5'-метильной или 5'-винильной группой).

Примеры нуклеозидов, имеющих модифицированные сахарные фрагменты, включают, без ограничения, нуклеозиды, содержащие 5'-винильные, 5'-метильные (R или S), 4'-S, 2'-F, 2'-OCH_3, 2'-OCH_2CH_3, 2'-OCH_2CH_2F и 2'-$O(CH_2)_2OCH_3$ группы заместителей.

Заместитель в 2' положении также может быть выбран из аллила, амино, азидо, тио, O-аллила, O-C_1-C_{10} алкила, OCF_3, OCH_2F, $O(CH_2)_2SCH_3$, $O(CH_2)_2$-O-$N(R_m)(R_n)$, O-CH_2-C(=O)- $N(R_m)(R_n)$ и O-CH_2-C(=O)-$N(R_1)$-$(CH_2)_2$-$N(R_m)(R_n)$, где каждый R_1, R_m и R_n независимо представляет собой H или замещенный или незамещенный C_1-C_{10} алкил.

В данном контексте «бициклические нуклеозиды» относятся к модифицированным нуклеозидам, содержащим бициклический сахарный фрагмент. Примеры бициклических нуклеозидов включают, без ограничения, нуклеозиды, содержащие мостик между 4' и 2' атомами рибозильного кольца. В некоторых вариантах реализации антисмысловые соединения, предложенные в настоящем документе, содержат один или более бициклических нуклеозидов, содержащих мостик 4'-2'. Примеры таких бициклических нуклеозидов с 4'-2' мостиками, включают, но не ограничиваются одной из формул: 4'-(CH_2)-O-2' (ЗНК); 4'-(CH_2)-S-2'; 4'-$(CH_2)_2$-O-2' (ЭНК); 4'-$CH(CH_3)$-O-2' (также упоминаемый как стерически затрудненный этил или cEt) и 4'-$CH(CH_2OCH_3)$-O-2' (и

их аналоги, см. патент США 7399845, выданный 15 июля 2008 года); 4'-$C(CH_3)(CH_3)$-O-2' (и их аналоги, см. опубликованную международную заявку WO/2009/006478, опубликованную 8 января 2009 года); 4'-CH_2-$N(OCH_3)$-2' (и их аналоги, см опубликованную международную заявку WO/2008/150729, опубликованную 11 декабря 2008 года); 4'-CH_2-O-$N(CH_3)$-2' (см. опубликованную заявку на патент США US 2004-0171570, опубликованную 2 сентября 2004 года); 4'-CH_2-N(R)-O-2', где R представляет собой H, C_1-C_{12} алкил или защитную группу (см. патент США 7427672, выданный 23 сентября 2008 года); 4'-CH_2-$C(H)(CH_3)$-2' (см. Zhou et al, J. Org. Chem., 2009, 74, 118-134); и 4'-CH_2-$C(=CH_2)$-2' (и их аналоги, см. опубликованную международную заявку WO 2008/154401, опубликованную 8 декабря 2008 года).

Дальнейшие сообщения, связанные с бициклическими нуклеозидами могут также быть найдены в опубликованной литературе (см., например: Singh et al, Chem. Commun., 1998, 4, 455-456; Koshkin et al, Tetrahedron, 1998, 54, 3607-3630; Wahlestedt et al, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 2000, 97, 5633-5638; Kumar et al, Bioorg. Med. Chem. Lett., 1998, 8, 2219-2222; Singh et al, J. Org. Chem., 1998, 63, 10035-10039; Srivastava et al, J. Am. Chem. Soc., 2007, 129(26) 8362-8379; Elayadi et al, Curr. Opinion Invest. Drugs, 2001, 2, 558-561; Braasch et al, Chem. Biol, 2001, 8, 1-7; и Orum et al, Curr. Opinion Mol. Ther., 2001, 3, 239-243; патенты США №6268490; 6525191; 6670461; 6770748; 6794499; 7034133; 7053207; 7399845; 7547684; и 7696345; публикации патентов США № US 2008-0039618; US 2009-0012281; патенты США с серийным №61/026995 и 61/097787; опубликованные международные заявки PCT WO 1999/014226; WO 2004/106356; WO 2005/021570; WO 2007/134181; WO 2008/150729; WO 2008/154401; WO 2009/006478; WO 2010/036698; WO 2011/017521; WO 2009/067647; WO 2009/100320. Каждый из указанных бициклических нуклеозидов может быть получен с одной или более стереохимическими конфигурациями сахара, включая, например, α-L- рибофуранозу и β-D-рибофуранозу (см. международную заявку PCT PCT/DK98/00393, опубликованную 25 марта 1999 года как WO 99/14226).

В некоторых вариантах реализации бициклические сахарные фрагменты нуклеозидов БНК включают, но не ограничиваются ими, соединения, имеющие по меньшей мере один мостик между 4' и 2' положением пентофуранозильного сахарного фрагмента, где такие мостики независимо содержат 1 или от 2 до 4 связанных групп, независимо выбранных из - $[C(R_a)(R_b)]_n$-, -$C(R_a)$=$C(R_b)$-, -$C(R_a)$=N-, -C(=O)-, -$C(=NR_a)$-, -C(=S)-, -O-, -$Si(R_a)_2$-, -$S(=O)_x$- и - $N(R_a)$-;

где:

x равен 0, 1 или 2; n равен 1, 2, 3 или 4;

каждый R_a и R_b независимо представляет собой H, защитную группу, гидроксил, C_1-C_{12} алкил, замещенный C_1-C_{12} алкил, C_2-C_{12} алкенил, замещенный C_2-C_{12} алкенил, C_2-C_{12} алкинил, замещенный C_2-C_{12} алкинил, C_5-C_{20} арил, замещенный C_5-C_{20} арил, гетероциклический радикал, замещенный гетероциклический радикал, гетероарил, замещенный гетероарил, C_5-C_7 алициклический радикал, замещенный C_5-C_7 алициклический радикал, галоген, OJ_1, NJ_1J_2, SJ_1, N_3, $COOJ_1$, ацил (C(=O)-H), замещенный ацил, CN, сульфонил ($S(=O)_2$-J_1) или сульфоксил (S(=O)-J_1); и

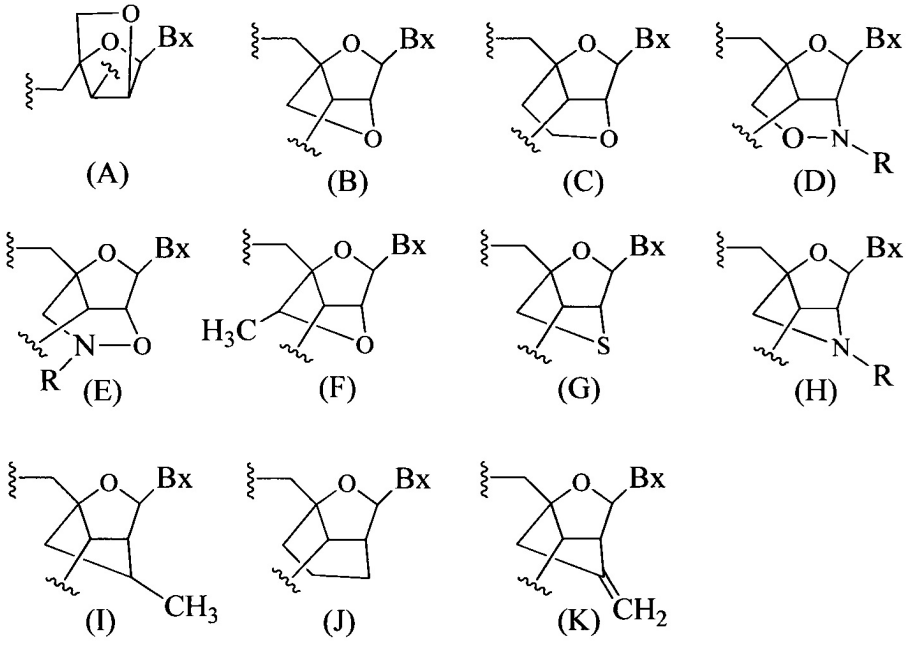
каждый J_1 и J_2 независимо представляет собой H, C_1-C_{12} алкил, замещенный C_1-C_{12} алкил, C_2-C_{12} алкенил, замещенный C_2-C_{12} алкенил, C_2-C_{12} алкинил, замещенный C_2-C_{12} алкинил, C_5-C_{20} арил, замещенный C_5-C_{20} арил, ацил (C(=O)-H), замещенный ацил,

гетероциклический радикал, замещенный гетероциклический радикал, C_1-C_{12} аминоалкил, замещенный C_1-C_{12} аминоалкил или защитную группу.

В некоторых вариантах реализации мостик бициклического сахарного фрагмента представляет собой -$[C(R_a)(R_b)]_n$-, -$[C(R_a)(R_b)]_n$-O-, -$C(R_aR_b)$-N(R)-O- или -$C(R_aR_b)$-O-N(R)-. В некоторых вариантах реализации мостик представляет собой 4'-CH_2-2', 4'-$(CH_2)_2$-2', 4'-$(CH_2)_3$-2', 4'-CH_2-O-2', 4'-$(CH_2)_2$-O-2', 4'-CH_2-O-N(R)-2' и 4'-CH_2-N(R)-O-2'-, где каждый R независимо представляет собой H, защитную группу или C_1-C_{12} алкил.

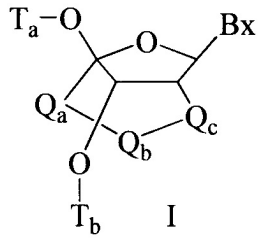
В некоторых вариантах реализации бициклические нуклеозиды дополнительно определяют по изомерной конфигурации. Например, нуклеозид, содержащий 4'-2' метиленокси-мостик, может быть в α-L конфигурации или в β-D конфигурации. Ранее α-L-метиленокси (4'-CH_2-O-2') БНК были внедрены в антисмысловые олигонуклеотиды, которые демонстрировали антисмысловую активность (Frieden et ah, Nucleic Acids Research, 2003, 21, 6365-6372).

В некоторых вариантах реализации бициклические нуклеозиды включают, но не ограничиваются ими, (A) α-L-метиленокси (4'-CH_2-O-2') БНК, (B) β-D-метиленокси (4'-CH_2-O-2') БНК, (C) этиленокси (4'-$(CH_2)_2$-O-2') БНК, (D) аминоокси (4'-CH_2-O-N(R)-2') БНК, (E) оксиамино (4'-CH_2-N(R)-O-2') БНК и (F) метил(метиленокси) (4'-$CH(CH_3)$-O-2') БНК, (G) метилентио (4'-CH_2-S-2') БНК, (H) метиленамино (4'-CH_2-N(R)-2') БНК, (I) метилкарбоциклическую (4'-CH_2-$CH(CH_3)$-2') БНК, (J) пропиленкарбоциклическую (4'-$(CH_2)_3$-2') БНК и (K) винил-БНК, как показано ниже:



где Bx представляет собой фрагмент основания, а R независимо представляет собой H, защитную группу, C_1-C_{12} алкил или C_1-C_{12} алкокси.

В некоторых вариантах реализации представлены бициклические нуклеозиды, имеющие Формулу I:



I

где:

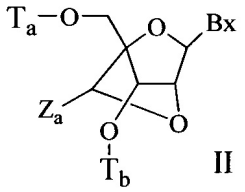
Bx представляет собой фрагмент гетероциклического основания;

$-Q_a-Q_b-Q_c-$ представляет собой $-CH_2-N(R_c)-CH_2-$, $-C(=O)-N(R_c)-CH_2-$, $-CH_2-O-N(R_c)-CH_2-N(R_c)-O-$ или $-N(R_c)-O-CH_2$;

R_c представляет собой C_1-C_{12} алкил или аминозащитную группу; и

T_a и T_b, каждый независимо, представляют собой H, гидроксил-защитную группу, группу конъюгата, реакционноспособную фосфорную группу, фосфорный фрагмент или ковалентное присоединение к среде подложки.

В некоторых вариантах реализации представлены бициклические нуклеозиды, имеющие формулу II:



II

где:

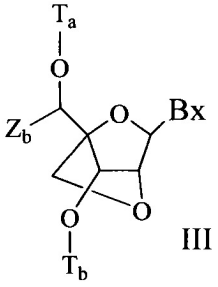
Bx представляет собой фрагмент гетероциклического основания;

T_a и T_b, каждый независимо, представляют собой H, гидрокси-защитную группу, группу конъюгата, реакционноспособную фосфорную группу, фосфорный фрагмент или ковалентное присоединение к среде подложки;

Z_a представляет собой C_1-C_6 алкил, C_2-C_6 алкенил, C_2-C_6 алкинил, замещенный C_1-C_6 алкил, замещенный C_2-C_6 алкенил, замещенный C_2-C_6 алкинил, ацил, замещенный ацил, замещенный амид, тиол или замещенный тио.

В одном из вариантов реализации каждая из замещенных групп независимо является моно или полизамещенной группами заместителей, выбранными из галогена, оксо, гидроксила, OJ_c, NJ_cJ_d, SJ_c, N_3, $OC(=X)J_c$ и $NJ_eC(=X)NJ_cJ_d$, где каждый J_c, J_d и J_e независимо представляет собой H, C_1-C_6 алкил ил изамещенный C_1-C_6 алкил, и X представляет собой O или NJ_c.

В некоторых вариантах реализации представлены бициклические нуклеозиды, имеющие формулу III:



III

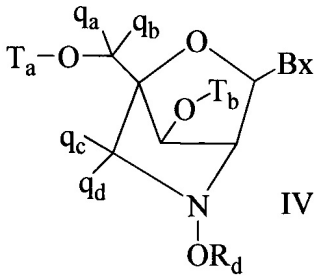
где:

Bx представляет собой фрагмент гетероциклического основания;

T_a и T_b, каждый независимо, представляют собой H, гидрокси-защитную группу, группу конъюгата, реакционноспособную фосфорную группу, фосфорный фрагмент или ковалентное присоединение к среде подложки;

Z_b представляет собой C_1-C_6 алкил, C_2-C_6 алкенил, C_2-C_6 алкинил, замещенный C_1-C_6 алкил, замещенный C_2-C_6 алкенил, замещенный C_2-C_6 алкинил или замещенный ацил (C(=O)-).

В некоторых вариантах реализации представлены бициклические нуклеозиды, имеющие формулу IV:



IV

где:

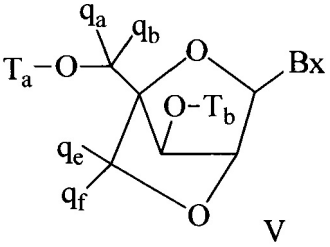
Bx представляет собой фрагмент гетероциклического основания;

T_a и T_b, каждый независимо, представляют собой H, гидрокси-защитную группу, группу конъюгата, реакционноспособную фосфорную группу, фосфорный фрагмент или ковалентное присоединение к среде подложки;

R_d представляет собой C_1-C_6 алкил, замещенный C_1-C_6 алкил, C_2-C_6 алкенил, замещенный C_2-C_6 алкенил, C_2-C_6 алкинил или замещенный C_2-C_6 алкинил;

каждый q_a, q_b, q_c и q_d независимо представляет собой H, галоген, C_1-C_6 алкил, замещенный C_1-C_6 алкил, C_2-C_6 алкенил, замещенный C_2-C_6 алкенил, C_2-C_6 алкинил или замещенный C_2-C_6 алкинил, C_1-C_6 алкоксил, замещенный C_1-C_6 алкоксил, ацил, замещенный ацил, C_1-C_6 аминоалкил или замещенный C_1-C_6 аминоалкил;

В некоторых вариантах реализации представлены бициклические нуклеозиды, имеющие формулу V:



V

где:

Bx представляет собой фрагмент гетероциклического основания;

T_a и T_b, каждый независимо, представляют собой H, гидрокси-защитную группу, группу конъюгата, реакционноспособную фосфорную группу, фосфорный фрагмент или ковалентное присоединение к среде подложки;

q_a, q_b, q_e и q_f, каждый независимо, представляют собой водород, галоген, C_1-C_{12} алкил, замещенный C_1-C_{12} алкил, C_2-C_{12} алкенил, замещенный C_2-C_{12} алкенил, C_2-C_{12} алкинил, замещенный C_2-C_{12} алкинил, C_1-C_{12} алкокси, замещенный C_1-C_{12} алкокси, OJ_j, SJ_j, SOJ_j, SO_2J_j, NJ_jJ_k, N_3, CN, $C(=O)OJ_j$, $C(=O)NJ_jJ_k$, $C(=O)J_j$, $O\text{-}C(=O)NJ_jJ_k$, $N(H)C(=$

$NH)NJ_jJ_k$, $N(H)C(=O)NJ_jJ_k$ или $N(H)C(=S)NJ_jJ_k$;

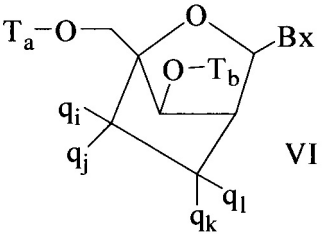
или q_e и q_f вместе представляют собой $=C(q_g)(q_h)$;

q_g и q_h, каждый независимо, представляют собой H, галоген, C_1-C_{12} алкил или замещенный C_1-C_{12} алкил.

Описаны синтез и получение метиленокси (4'-CH_2-O-2') мономеров БНК: аденина, цитозина, гуанина, 5-метилцитозина, тимина и урацила, а также их олигомеризация и свойства распознавания нуклеиновых кислот (Koshkin et al., Tetrahedron, 1998, 54, 3607-3630). БНК и их получение также описаны в WO 98/39352 и WO 99/14226.

Были также получены аналоги метиленокси (4'-CH_2-O-2') БНК и 2'-тио-БНК (Kumar et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 1998, 8, 2219-2222). Описано также получение аналогов запертых нуклеозидов, содержащих олигодезоксирибонуклеотидные дуплексы в качестве субстратов полимераз нуклеиновых кислот (Wengel et al., WO 99/14226). Кроме того, в данной области техники описан синтез 2'-амино-БНК, нового конформационно ограниченного высокоаффинного аналога олигонуклеотида (Singh et al., J. Org. Chem., 1998, 63, 10035-10039). Кроме того, ранее были получены 2'-амино- и 2'-метиленамино БНК, и была описана термостабильность их дуплексов с комплементарными нитями РНК и ДНК.

В некоторых вариантах реализации представлены бициклические нуклеозиды, имеющие формулу VI:



VI

где:

Bx представляет собой фрагмент гетероциклического основания;

T_a и T_b, каждый независимо, представляют собой H, гидрокси-защитную группу, группу конъюгата, реакционноспособную фосфорную группу, фосфорный фрагмент или ковалентное присоединение к среде подложки;

каждый q_i, q_j, q_k и q_l независимо представляет собой H, галоген, C_1-C_{12} алкил, замещенный C_1-C_{12} алкил, C_2-C_{12} алкенил, замещенный C_2-C_{12} алкенил, C_2-C_{12} алкинил, замещенный C_2-C_{12} алкинил, C_1-C_{12} алкоксил, замещенный C_1-C_{12} алкоксил, OJ_j, SJ_j, SOJ_j, SO_2J_j, NJ_jJ_k, N_3, CN, $C(=O)OJ_j$, $C(=O)NJ_jJ_k$, $C(=O)J_j$, $O\text{-}C(=O)NJ_jJ_k$, $N(H)C(=NH)NJ_jJ_k$, $N(H)C(=O)NJ_jJ_k$ или $N(H)C(=S)NJ_jJ_k$; и

q_i и q_j или q_l и q_k вместе представляют собой $=C(q_g)(q_h)$, где q_g и q_h, каждый независимо, представляют собой H, галоген, C_1-C_{12} алкил или замещенный C_1-C_{12} алкил.

Описан один карбоциклический бициклический нуклеозид, имеющий мостик 4'-$(CH_2)_3$-2', и мостик из аналога алкенила 4'-CH=CH-CH_2-2' (Freier et al, Nucleic Acids Research, 1997, 25(22), 4429-4443 и Albaek et al., J. Org. Chem., 2006, 71, 7731-7740). Описан также синтез и получение карбоциклических бициклических нуклеозидов вместе с их олигомеризацией и биохимическими исследованиями (Srivastava et al., J. Am. Chem. Soc, 2007,129(26), 8362-8379).

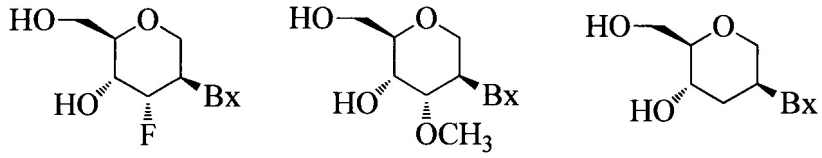
В данном контексте «4'-2' бициклический нуклеозид» или «4' к 2' бициклический

нуклеозид» относится к бициклическому нуклеозиду, содержащему фуранозное кольцо, содержащее мостик, соединяющий два атома углерода фуранозного кольца, соединяющий 2' атом углерода и 4' атом углерода сахарного кольца.

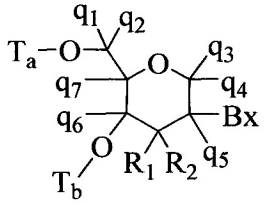
В данном контексте «моноциклические нуклеозиды» относятся к нуклеозидам, содержащим модифицированные сахарные фрагменты, которые не являются бициклическими сахарными фрагментами. В некоторых вариантах реализации сахарный фрагмент или аналог сахарного фрагмента нуклеозида может быть модифицирован или замещен в любом положении.

В данном контексте «2'-модифицированный сахар» означает фуранозильный сахар, модифицированный в 2' положении. В некоторых вариантах реализации такие модификации включают заместители, выбранные из: галогенидов, включая, но не ограничиваясь ими, замещенный и незамещенный алкокси, замещенный и незамещенный тиоалкил, замещенный и незамещенный аминоалкил, замещенный и незамещенный алкил, замещенный и незамещенный аллил и замещенный и незамещенный алкинил. В некоторых вариантах реализации 2' модификации выбраны из заместителей, включающих, но не ограничиваясь ими: $O[(CH_2)_nO]_mCH_3$, $O(CH_2)_nNH_2$, $O(CH_2)_nCH_3$, $O(CH_2)_nF$, $O(CH_2)_nONH_2$, $OCH_2C(=O)N(H)CH_3$ и $O(CH_2)_nON[(CH_2)_nCH_3]_2$, где n и m равны от 1 до около 10. Другие 2' группы заместителей также могут быть выбраны из: C_1-C_{12} алкила, замещенного алкила, алкенила, алкинила, алкарила, аралкила, O-алкарила или O-аралкила, SH, SCH_3, OCN, Cl, Br, CN, F, CF_3, OCF_3, $SOCH_3$, SO_2CH_3, ONO_2, NO_2, N_3, NH_2, гетероциклоалкила, гетероциклоалкарила, аминоалкиламино, полиалкиламино, замещенного силила, РНК расщепляющей группы, репортерной группы, интеркалятора, группы для улучшения фармакокинетических свойств или группы для улучшения фармакодинамических свойств антисмыслового соединения, и других заместителей с подобными свойствами. В некоторых вариантах реализации модифицированные нуклеозиды содержат 2'-MOE боковую цепь (Baker et ah, J. Biol. Chem., 1997, 272, 11944-12000). Такие 2'-MOE замещения описаны как улучшающие аффинность связывания по сравнению с немодифицированными нуклеозидами и с другими модифицированными нуклеозидами, такими как 2'-O-метил, O-пропил и O-аминопропил. Было показано, что олигонуклеотиды, имеющие 2'-MOE заместитель, являются антисмысловыми ингибиторами экспрессии генов с перспективными возможностями для применения in vivo (Martin, Helv. Chim. Acta, 1995, 78, 486-504; Altmann et ah, Chimia, 1996, 50, 168-176; Altmann et al., Biochem. Soc. Trans., 1996, 24, 630-637; и Altmann et al., Nucleosides Nucleotides, 1997,16, 917-926).

В данном контексте «модифицированный тетрагидропирановый нуклеозид» или «модифицированный ТГП нуклеозид» означает нуклеозид, имеющий шестичленный тетрагидропирановый «сахар», заменивший пентофуранозильный остаток в обычных нуклеозидах (заменитель сахара). ТГП-модифицированные нуклеозиды включают, но не ограничиваются ими, те, которые в данной области техники называют гекситоловой нуклеиновой кислотой (ГНК), анитоловой нуклеиновой кислотой (АНК), манитоловой нуклеиновой кислотой (МНК) (см. Leumann, Bioorg. Med. Chem., 2002, 10, 841-1954) или фтор-ГНК (F-ГНК), имеющие тетрагидропирановую кольцевую систему, представленную ниже:



В некоторых вариантах реализации выбраны заменители сахара, имеющие формулу VII:



VII

где независимо для каждого из указанного по меньшей мере одного тетрагидропиранового нуклеозидного аналога формулы VII:

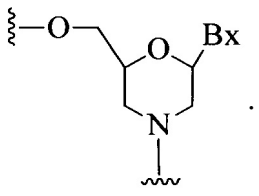
Bx представляет собой фрагмент гетероциклического основания;

T_a и T_b, каждый независимо, представляют собой межнуклеозидную линкерную группу, которая связывает тетрагидропирановый нуклеозидный аналог с антисмысловым соединением, или один из T_a и T_b представляет собой межнуклеозидную линкерную группу, которая связывает тетрагидропирановый нуклеозидный аналог с антисмысловым соединением, а другой из T_a и T_b представляет собой H, гидроксил-защитную группу, связанную группу конъюгата или 5' или 3'-концевую группу;

q_1, q_2, q_3, q_4, q_5, q_6 и q_7, каждый независимо, представляют собой H, C_1-C_6 алкил, замещенный C_1-C_6 алкил, C_2-C_6 алкенил, замещенный C_2-C_6 алкенил, C_2-C_6 алкинил или замещенный C_2-C_6 алкинил; и каждый из R_1 и R_2 выбран из водорода, гидроксила, галогена, замещенного или незамещенного алкокси, NJ_1J_2, SJ_1, N_3, $OC(=X)J_1$, $OC(=X)NJ_1J_2$, $NJ_3C(=X)NJ_1J_2$ и CN, где X представляет собой O, S или NJ_1, и каждый J_1, J_2 и J_3 независимо представляет собой H или C_1-C_6 алкил.

В некоторых вариантах реализации предложены модифицированные ТГП нуклеозиды формулы VII, где q_1, q_2, q_3, q_4, q_5, q_6 и q_7 представляют собой H. В некоторых вариантах реализации по меньшей мере один из q_1, q_2, q_3, q_4, q_5, q_6 и q_7 отличен от H. В некоторых вариантах реализации по меньшей мере один из q_1, q_2, q_3, q_4, q_5, q_6 и q_7 представляет собой метил. В некоторых вариантах реализации предложены ТГП нуклеозиды формулы VII, где один из R_1 и R_2 представляет собой фтор. В некоторых вариантах реализации R_1 представляет собой фтор, а R_2 представляет собой H; R_1 представляет собой метокси, а R_2 представляет собой H, и R_1 представляет собой метоксиэтокси, а R_2 представляет собой H.

В некоторых вариантах реализации заменители сахара содержат кольца, имеющие более 5 атомов и более одного гетероатома. Например, описаны нуклеозиды, содержащие морфолиносахарные фрагменты, и их применение в олигомерных соединениях (см., например: Braasch et al, Biochemistry, 2002, 41, 4503-4510; и патенты США 5698685; 5166315; 5185444; и 5034506). В данном контексте термин «морфолино» означает заменитель сахара, имеющий следующую формулу:



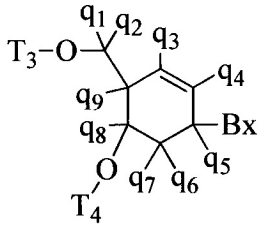
.

В некоторых вариантах реализации морфолино могут быть модифицированными,

например, добавлением или изменением различных групп заместителей относительно представленной выше структуры морфолино. Такие заменители сахара в данном контексте называют «модифицированными морфолино».

Предложены также комбинации модификаций, без ограничения, такие как 2'-F-5'-метил-замещенные нуклеозиды (см. международную заявку PCT WO 2008/101157, опубликованную 8/21/08, где описаны другие 5', 2'-бис-замещенные нуклеозиды) и замену рибозильного кольцевого атома кислорода на S с дополнительным замещением в 2'- положении (см. опубликованную заявку на патент США US 2005-0130923, опубликованную 16 июня 2005 года) или в альтернативном варианте с 5'-замещением бициклической нуклеиновой кислоты (см. международную заявку PCT WO 2007/134181, опубликованную 11/22/07, где 4'-CH_2-O-2' бициклический нуклеозид дополнительно замещен в 5' положении 5'-метильной или 5'-винильной группой). Описан также синтез и получение карбоциклических бициклических нуклеозидов вместе с их олигомеризацией и биохимическими исследованиями (см., например, Srivastava et al, J. Am. Chem. Soc. 2007, 129(26), 8362-8379).

В некоторых вариантах реализации антисмысловые соединения содержат один или более модифицированных циклогексенильных нуклеозидов, которые представляют собой нуклеозиды, имеющие шестичленный циклогексенил вместо пентофуранозильного остатка в природных нуклеозидах. Модифицированные циклогексенильные нуклеозиды включают, но не ограничиваются ими, нуклеозиды, описанные в данной области техники (см., например, параллельную опубликованную заявку PCT WO 2010/036696, опубликованную 10 апреля, 2010, Robeyns et al, J. Am. Chem. Soc, 2008, 130(6), 1979-1984; Horváth et al, Tetrahedron Letters, 2007, 48, 3621-3623; Nauwelaerts et al, J. Am. Chem. Soc, 2007, 129(30), 9340-9348; Gu et al,, Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids, 2005, 24(5-7), 993-998; Nauwelaerts et al, Nucleic Acids Research, 2005, 33(8), 2452-2463; Robeyns et al., Acta Crystallographica, Section F: Structural Biology and Crystallization Communications, 2005, F61 (6), 585-586; Gu et al, Tetrahedron, 2004, 60(9), 2111-2123; Gu et al, Oligonucleotides, 2003, 13(6), 479-489; Wang et al, J. Org. Chem., 2003, 68, 4499-4505; Verbeure et al., Nucleic Acids Research, 2001, 29(24), 4941-4947; Wang et al, J. Org. Chem., 2001, 66, 8478-82; Wang et al, Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids, 2001, 20(4-7), 785-788; Wang et al, J. Am. Chem., 2000, 122, 8595-8602; опубликованную заявку PCT WO 06/047842; и опубликованную заявку PCT WO 01/049687; полное содержание каждой из которых включено в настоящий документ посредством ссылки). Некоторые модифицированные циклогексенильные нуклеозиды имеют формулу X.



X

где независимо для каждого указанного по меньшей мере одного циклогексенильного нуклеозидного аналога формулы X:

Bx представляет собой фрагмент гетероциклического основания;

T_3 и T_4, каждый независимо, представляют собой межнуклеозидную линкерную группу, которая связывает циклогексенильный нуклеозидный аналог с антисмысловым соединением, или один из T_3 и T_4 представляет собой межнуклеозидную линкерную

группу, которая связывает тетрагидропирановый нуклеозидный аналог с антисмысловым соединением, а другой из T_3 и T_4 представляет собой H, гидроксил-защитную группу, связанную группу конъюгата или 5'-или 3'-концевую группу; и

q_1, q_2, q_3, q_4, q_5, q_6, q_7, q_8 и q_9, каждый независимо, представляют собой H, C_1-C_6 алкил, замещенный C_1-C_6 алкил, C_2-C_6 алкенил, замещенный C_2-C_6 алкенил, C_2-C_6 алкинил, замещенный C_2-C_6 алкинил или другие группы-заместители сахара.

В данном контексте «2'-модифицированный» или «2'-замещенный» относится к нуклеозиду, содержащему сахар, содержащий заместитель в 2' положении, отличный от H или OH. 2'-модифицированные нуклеозиды включают, но не ограничиваются ими, бициклические нуклеозиды, в которых мостик, соединяющий два атом углерода сахарного кольца, соединяет 2' атом углерода и другой атом углерода сахарного кольца; и нуклеозиды с немостиковыми 2' заместителями, такими как аллил, амино, азидо, тио, O-аллил, O-C_1-C_{10} алкил, -OCF_3, O-$(CH_2)_2$-O-CH_3, 2'-O$(CH_2)_2SCH_3$, O-$(CH_2)_2$-O-N$(R_m)(R_n)$, or O-CH_2-C(=O)- N$(R_m)(R_n)$, где каждый R_m и R_n независимо представляет собой H или замещенный или незамещенный C_1-C_{10} алкил. 2'-модифицированные нуклеозиды могут также содержать другие модификации, например, в других положениях сахара и/или азотистого основания.

В данном контексте «2'-F» относится к нуклеозиду, содержащему сахар, содержащий группу фтора в 2' положении сахарного кольца.

В данном контексте «2'-OMe» или «2'-OCH_3», или «2'-O-метил» относится к нуклеозиду, содержащему сахар, содержащий группу -OCH_3 в 2' положении сахарного кольца.

В данном контексте «MOE» или «2'-MOE», или «2'-$OCH_2CH_2OCH_3$», или «2'-O-метоксиэтил» относится к нуклеозиду, содержащему сахар, содержащий группу -$OCH_2CH_2OCH_3$ в 2' положении сахарного кольца.

В данном контексте «олигонуклеотид» относится к соединению, содержащему множество связанных нуклеозидов. В некоторых вариантах реализации один или более из множества нуклеозидов являются модифицированными. В некоторых вариантах реализации олигонуклеотид содержит один или более рибонуклеозидов (РНК) и/или дезоксирибонуклеозидов (ДНК).

В данной области техники известны также многие другие бициклические и трициклические кольцевые системы заменителей сахара, которые могут быть использованы для модификации нуклеозидов для внедрения в антисмысловые соединения (см., например, обзорную статью: Leumann, Bioorg. Med. Chem., 2002,10, 841-1954). Такие кольцевые системы могут подвергаться различным дополнительным замещениям для повышения активности.

Способы получения модифицированных сахаров хорошо известны специалистам в данной области техники. Некоторые иллюстративные патенты США, которые описывают получение таких модифицированных сахаров, включают, без ограничения, патенты США: 4981957;5118800; 5319080; 5359044; 5393878; 5446137; 5466786; 5514785; 5519134; 5567811; 5576427; 5591722; 5597909; 5610300; 5627053; 5639873; 5646265; 5670633; 5700920; 5792847 и 6600032, а также международную заявку PCT/US 2005/019219, поданную 2 июня 2005 года и опубликованную как WO 2005/121371 12 декабря 2005 года, полное содержание каждого из которых включено в настоящий документ посредством ссылки.

В нуклеотидах, имеющих модифицированные сахарные фрагменты, фрагменты

азотистых оснований (природные, модифицированные или их комбинации) сохраняются для гибридизации с соответствующей нуклеиновой кислотой-мишенью.

В некоторых вариантах реализации антисмысловые соединения содержат один или более нуклеозидов, имеющих модифицированные сахарные фрагменты. В некоторых вариантах реализации модифицированный сахарный фрагмент представляет собой 2'-MOE. В некоторых вариантах реализации 2'-MOE модифицированные нуклеозиды расположены в гэпмерном мотиве. В некоторых вариантах реализации модифицированный сахарный фрагмент представляет собой бициклический нуклеозид, имеющий мостиковую группу (4'-$CH(CH_3)$-O-2'). В некоторых вариантах реализации (4'-$CH(CH_3)$-O-2') модифицированные нуклеозиды расположены в крыльях гэпмерного мотива.

Сопряженные антисмысловые соединения

В некоторых вариантах реализации настоящего описания предложены сопряженные антисмысловые соединения. В некоторых вариантах реализации настоящего описания предложены сопряженные антисмысловые соединения, содержащие антисмысловой олигонуклеотид, комплементарный транскрипту нуклеиновой кислоты. В некоторых вариантах реализации настоящего описания предложены способы, включающие приведение в контакт клетки с сопряженным антисмысловым соединением, содержащим антисмысловой олигонуклеотид, комплементарный транс крипту нуклеиновой кислоты. В некоторых вариантах реализации настоящего описания предложены способы, включающие приведение в контакт клетки с сопряженным антисмысловым соединением, содержащим антисмысловой олигонуклеотид, и уменьшение количества или активности транскрипта нуклеиновой кислоты в клетке.

Ранее был описан асиалогликопротеиновый рецептор (ASGP-R). См. например, Park et al., PNAS, том. 102, №47, сс. 17125-17129 (2005). Такие рецепторы экспрессируются на клетках печени, в частности, гепатоцитах. Кроме того, было показано, что соединения, содержащие кластеры трех N-ацетилгалактозаминовых (GalNAc) лигандов, способны связываться с ASGP-R, приводя к захвату указанного соединения в клетку. См. например, Khorev et al., Bioorganic and Medicinal Chemistry, 16, 9, сс. 5216-5231 (май, 2008). Соответственно, конъюгаты, содержащие такие кластеры GalNAc, использовали для облегчения захвата некоторых соединений в клетки печени, в частности, гепатоциты. Например, было показано, что некоторые GalNAc-содержащие конъюгаты увеличивают активность дуплексных миРНК соединений в клетках печени in vivo. В таких случаях GalNAc-содержащий конъюгат, как правило, прикрепляется к смысловой спирали дуплекса миРНК. Поскольку смысловая спираль отбрасывается перед окончательной гибридизацией антисмысловой спирали с нуклеиновой кислотой-мишенью, то маловероятно, что такой конъюгат будет влиять на активность. Как правило, конъюгат присоединяется к 3'-концу смысловой спирали миРНК. См. например, патент США 8106022. Некоторые группы конъюгата, описанные в настоящем документе, более активны и/или синтезируются легче, чем группы конъюгата, описанные ранее.

В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения конъюгаты присоединяются к односпиральным антисмысловым соединениям, включая, но не ограничиваясь ими, антисмысловые соединения на основе РНКазы Н и антисмысловые соединения, которые изменяют сплайсинг целевой нуклеиновой кислоты пре-мРНК. В таких вариантах реализации конъюгат должен оставаться присоединенным к антисмысловому соединению достаточно долго для обеспечения преимущества (улучшенного захвата в клетки), но затем он должен либо расщепляться, либо иным образом не препятствовать последующим стадиям, необходимым для активности,

таким как гибридизация с целевой нуклеиновой кислотой и взаимодействие с РНКазой Н или ферментами, связанными со сплайсингом или модулированием сплайсирования. Такой баланс свойств более важен при осаждении односпиральных антисмысловых соединений, чем соединений миРНК, где конъюгат может быть просто присоединен к смысловой спирали. В настоящем документе описаны односпиральные антисмысловые соединения, обладающие улучшенной активностью в клетках печени in vivo, по сравнению с таким же антисмысловым соединением, не имеющим конъюгата. Учитывая необходимый баланс свойств для этих соединений, такая улучшенная активность является неожиданной.

В некоторых вариантах реализации группы конъюгата согласно настоящему документу содержат расщепляемый фрагмент. Как было отмечено, не ограничиваясь каким-либо механизмом, логично, что конъюгат должен сохраняться у соединения достаточно долго для обеспечения усиления захвата, но после этого желательно, чтобы некоторая его часть или, в идеале, весь конъюгат расщеплялся, выделяя исходное соединение (например, антисмысловое соединение) в его наиболее активной форме. В некоторых вариантах реализации расщепляемый фрагмент представляет собой расщепляемый нуклеозид. Такие варианты реализации обладают преимуществом эндогенных нуклеаз в клетке за счет присоединения остальной части конъюгата (кластера) к антисмысловому олигонуклеотиду через нуклеозид при помощи одной или более расщепляемых связей, таких как фосфодиэфирная связь. В некоторых вариантах реализации кластер связан с расщепляемым нуклеозидом через фосфодиэфирную связь. В некоторых вариантах реализации расщепляемый нуклеозид присоединен к антисмысловому олигонуклеотиду (антисмысловому соединению) фосфодиэфирной связью. В некоторых вариантах реализации группа конъюгата может содержать два или три расщепляемых нуклеозида. В таких вариантах реализации указанные расщепляемые нуклеозиды связаны друг с другом, с антисмысловым соединением и/или с кластером посредством расщепляемых связей (таких как фосфодиэфирная связь). Некоторые конъюгаты по настоящему документу не содержат расщепляемый нуклеозид, а вместо этого содержат расщепляемую связь. Показано, что достаточное расщепление конъюгата из олигонуклеотида обеспечивается по меньшей мере за счет одной связи, которая легко поддается расщеплению в клетке (расщепляемая связь).

В некоторых вариантах реализации сопряженные антисмысловые соединения представляют собой пролекарства. Такие пролекарства вводят животному, и они в конечном итоге метаболизируются до более активной формы. Например, сопряженные антисмысловые соединения расщепляются с удалением всего или части конъюгата, приводя к активной (или более активной) форме антисмыслового соединения, не содержащего всего или части конъюгата.

В некоторых вариантах реализации конъюгаты присоединены на 5'-конце олигонуклеотида. Некоторые такие 5'-конъюгаты расщепляются более эффективно, чем аналоги, имеющие такую же группу конъюгата, присоединенную на 3'-конце. В некоторых вариантах реализации улучшенная активность может коррелировать с улучшенным расщеплением. В некоторых вариантах реализации олигонуклеотиды, содержащие конъюгат на 5'-конце, обладают более высокой эффективностью, чем олигонуклеотиды, содержащие конъюгат на 3'-конце (см., например, Примеры 56, 81, 83 и 84). Кроме того, 5'- присоединение обеспечивает более простой синтез олигонуклеотида. Как правило, олигонуклеотиды синтезируют на твердой подложке в направлении от 3' к 5'. Для получения 3'-сопряженного олигонуклеотида, как правило

присоединяют предварительно сопряженный 3'-нуклеозид к твердой подложке, а затем обычным путем создают олигонуклеотид. Однако присоединение такого сопряженного нуклеозида к твердой подложке усложняет синтез. Кроме того, используя такой подход, конъюгат затем присутствует в ходе всего синтеза олигонуклеотида и может разрушаться во время последующих стадий или может ограничивать типы реакций и реагентов, которые можно использовать. Используя структуры и методики, описанные в настоящем документе для 5'-сопряженных олигонуклеотидов, можно синтезировать олигонуклеотид при помощи стандартных автоматизированных методик и внедрять в конъюгат последний (5'-крайний) нуклеозид или после отделения олигонуклеотида от твердой подложки.

С учетом известного уровня техники и настоящего описания, специалисты в данной области техники могут легко получить любые из конъюгатов и сопряженных олигонуклеотидов, описанных в настоящем документе. Кроме того, синтез некоторых таких конъюгатов и сопряженных олигонуклеотидов, описанных в настоящем документе, проще и/или требует меньше стадий и, следовательно, менее дорогой, чем синтез ранее описанных конъюгатов, что дает преимущество при производстве. Например, синтез некоторых групп конъюгата состоит из меньшего количества синтетических стадий, что приводит к увеличению выхода, по сравнению с ранее описанными группами конъюгата. Группы конъюгатов, такие как GalNAc3-10 в Примере 46 и GalNAc3-7 в Примере 48 гораздо проще, чем ранее описанные конъюгаты, такие как описаны в публикациях U.S. 8106022 или U.S. 7262177, для которых необходима сборка большего количества химических промежуточных соединений. Соответственно, эти и другие конъюгаты, описанные в настоящем документе, обладают преимуществом по сравнению с ранее описанными соединениями для применения с любым олигонуклеотидом, включая односпиральные олигонуклеотиды и любую спираль двухспиральных олигонуклеотидов (например, миРНК).

Точно так же, в настоящем документе описаны группы конъюгатов, имеющие только один или два лиганда GalNAc. Как показано, такие сопряженные группы усиливают активность антисмысловых соединений. Такие соединения гораздо проще получить, чем конъюгаты, содержащие три лиганда GalNAc. Группы конъюгатов, содержащие один или два лиганда GalNAc, могут быть присоединены к любым антисмысловым соединениям, включая односпиральные олигонуклеотиды и любую спираль двухспиральных олигонуклеотидов (например, миРНК).

В некоторых вариантах реализации конъюгаты, описанные в настоящем документе, существенно не изменяют некоторые показатели переносимости. Например, в настоящем документе показано, что сопряженные антисмысловые соединения являются не более иммуногенными, чем несопряженные исходные соединения. Поскольку активность улучшается, то варианты реализации, в которых переносимость остается такой же (или в действительности если даже переносимость ухудшается лишь незначительно, по сравнению с приростом активности), обладают улучшенными характеристиками для терапии.

В некоторых вариантах реализации сопряжение позволяет изменять антисмысловые соединения так, чтобы они обладали менее выраженными последствиями в отсутствие сопряжения. Например, в некоторых вариантах реализации замена одной или более тиофосфатных связей полностью тиофосфатного антисмыслового соединения на фосфодиэфирные связи приводит к улучшению некоторых показателей переносимости. Например, в некоторых случаях такие антисмысловые соединения, имеющие один или более фосфодиэфиров, являются менее иммуногенными, чем такие же соединения, в

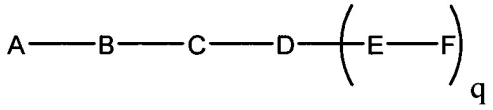
которых каждая связь представляет собой тиофосфат. Однако в некоторых случаях, как показано в Примере 26, такое же замещение одной или более тиофосфатных связей на фосфодиэфирные связи приводит также к снижению клеточного захвата и/или к снижению активности. В некоторых вариантах реализации сопряженные антисмысловые соединения, описанные в настоящем документе, допускают такое изменение связей с небольшим снижением или без снижения захвата и активности, по сравнению с сопряженным полностью тиофосфатным аналогом. В действительности, в некоторых вариантах реализации, например, в Примерах 44, 57, 59 и 86, олигонуклеотиды, содержащие конъюгат и по меньшей мере одну фосфодиэфирную межнуклеозидную связь, фактически демонстрируют повышенную активность in vivo даже по сравнению с полностью тиофосфатным аналогом, также содержащим такой же конъюгат. Более того, поскольку сопряжение приводит к значительному увеличению захвата/активности, то небольшое снижение такого существенного прироста может быть приемлемым для достижения улучшенной переносимости. Соответственно, в некоторых вариантах реализации сопряженные антисмысловые соединения содержат по меньшей мере одну фосфодиэфирную связь.

В некоторых вариантах реализации сопряжение антисмысловых соединений по настоящему документу приводит к улучшенной доставке, захвату и активности в гепатоцитах. Следовательно, в ткань печени доставляется большее количество соединения.

Однако в некоторых вариантах реализации такая улучшенная доставка сама по себе не объясняет общего увеличения активности. В некоторых таких вариантах реализации в гепатоциты поступает большее количество соединения. В некоторых вариантах реализации даже такой улучшенный захват гепатоцитов сам по себе не объясняет общего увеличения активности. В таких вариантах реализации увеличивается продуктивный захват сопряженного соединения. Например, как показано в Примере 102, некоторые варианты реализации GalNAc-содержащих конъюгатов увеличивают обогащение антисмысловых олигонуклеотидов в гепатоцитах, по сравнению с не паренхимальными клетками. Такое обогащение преимущественно для олигонуклеотидов, которые направлены на гены, экспрессируемые в гепатоцитах.

В некоторых вариантах реализации сопряженные антисмысловые соединения по настоящему документу приводят к уменьшению воздействия на почки. Например, как показано в Примере 20, концентрации антисмысловых олигонуклеотидов, содержащих некоторые варианты реализации GalNAc-содержащих конъюгатов, в почках ниже, чем концентрации антисмысловых олигонуклеотидов, не имеющих GalNAc-содержащего конъюгата. Это имеет несколько преимущественных терапевтических применений. Для терапевтических показаний, в которых не требуется проявление активности в почках, воздействие на почки подвергает их риску токсичности без соответствующей пользы. Более того, высокая концентрация в почках обычно приводит к выводу соединения с мочой, обеспечивая более быстрое выведение. Соответственно, для внепочечных мишеней накопление в почках является нежелательным.

В некоторых вариантах реализации настоящего описания предложены сопряженные антисмысловые соединения, представленные формулой:

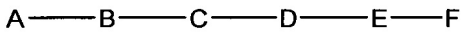


где

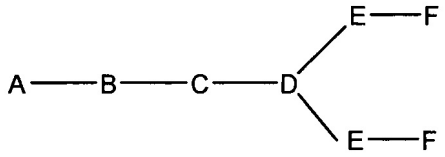
A представляет собой антисмысловой олигонуклеотид;

B представляет собой расщепляемый фрагмент
C представляет собой линкер конъюгата
D представляет собой группу ветвления
каждый E представляет собой связку;
каждый F представляет собой лиганд; и
q представляет собой целое число от 1 до 5.

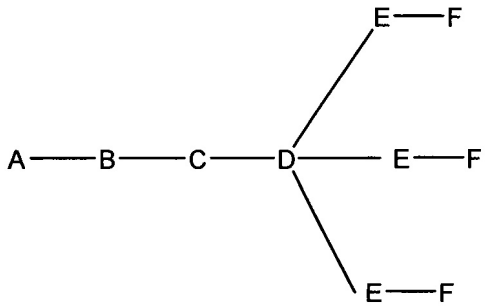
На представленной выше схеме и в аналогичных схемах в настоящем документе группа ветвления «D» разветвляется такое количество раз, которое необходимо для соответствия количеству групп (E-F), указанному количеством «q». Следовательно, если q=1, то формула представляет собой:



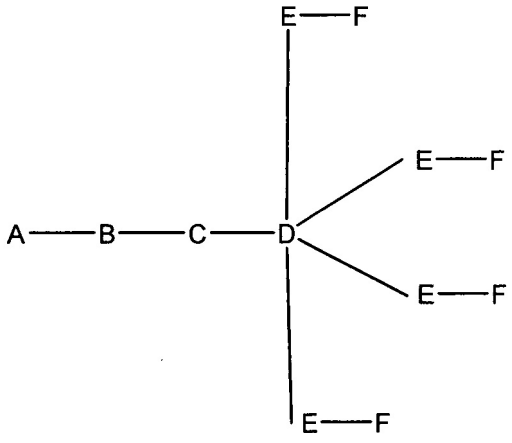
если q=2, то формула представляет собой:



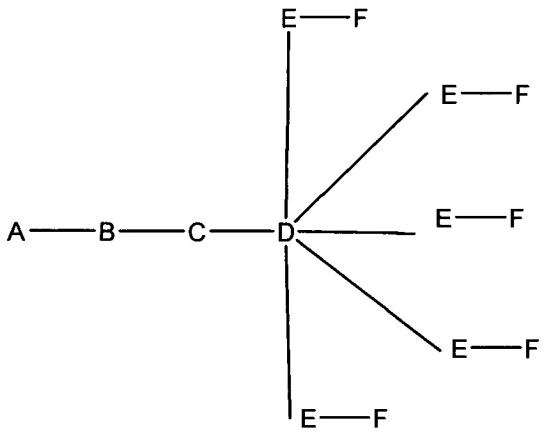
если q=3, то формула представляет собой:



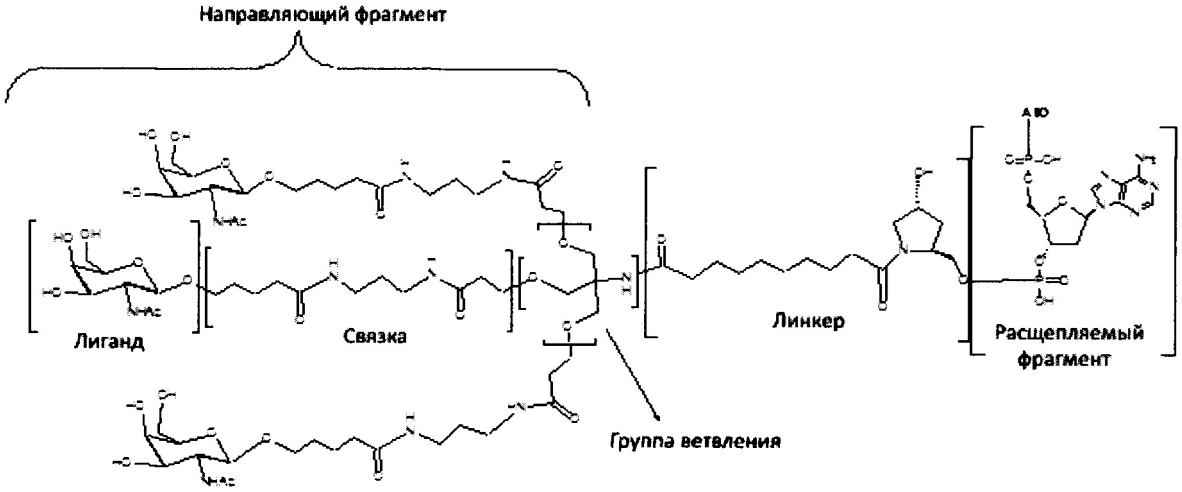
если q=4, то формула представляет собой:



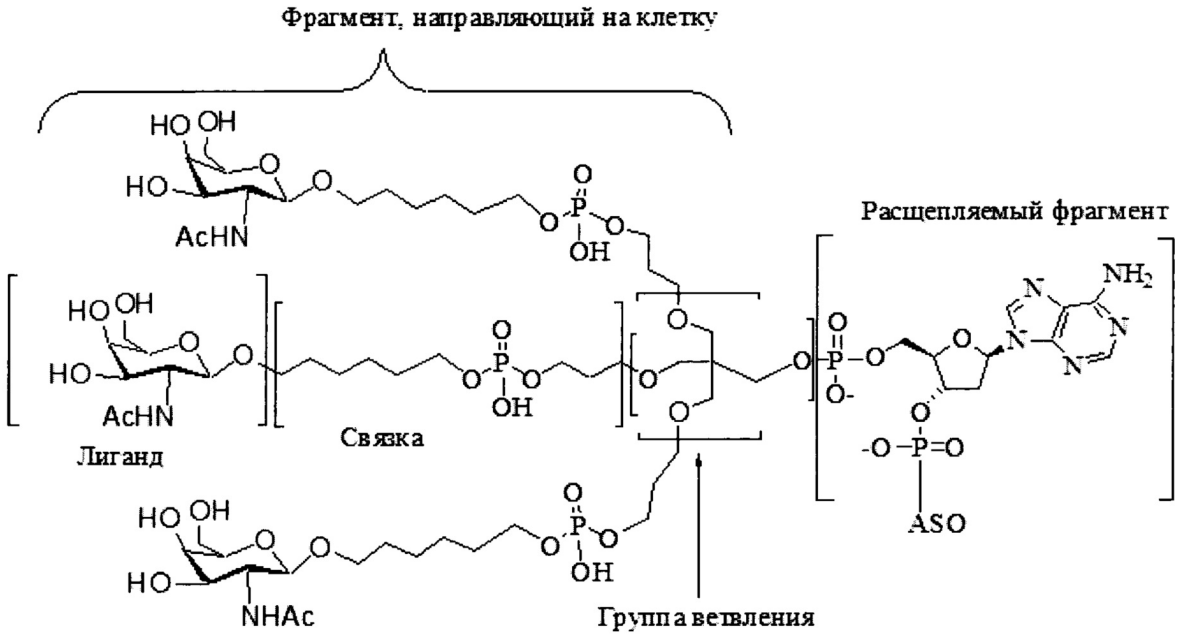
если q=5, то формула представляет собой:



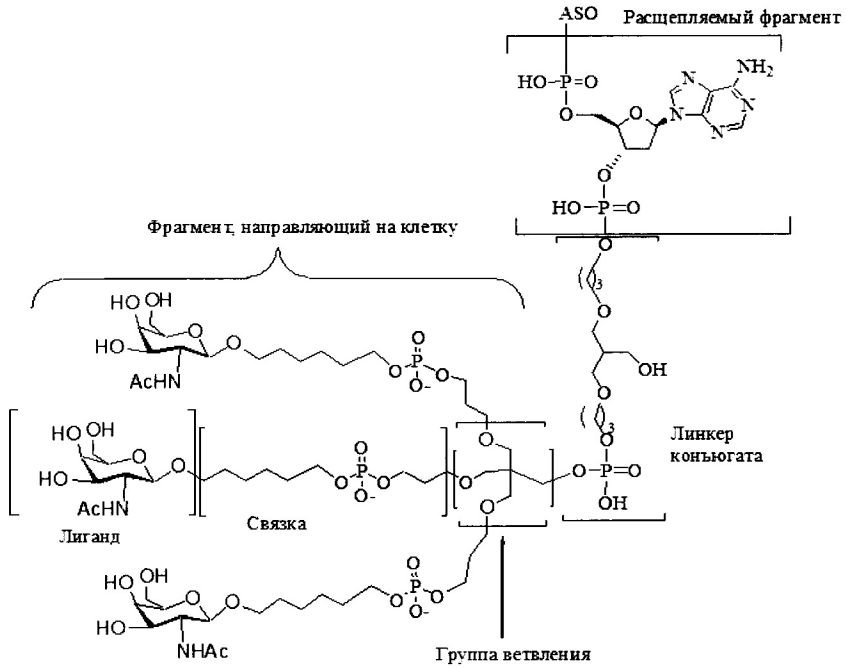
В некоторых вариантах реализации предложены сопряженные антисмысловые соединения, имеющие структуру:



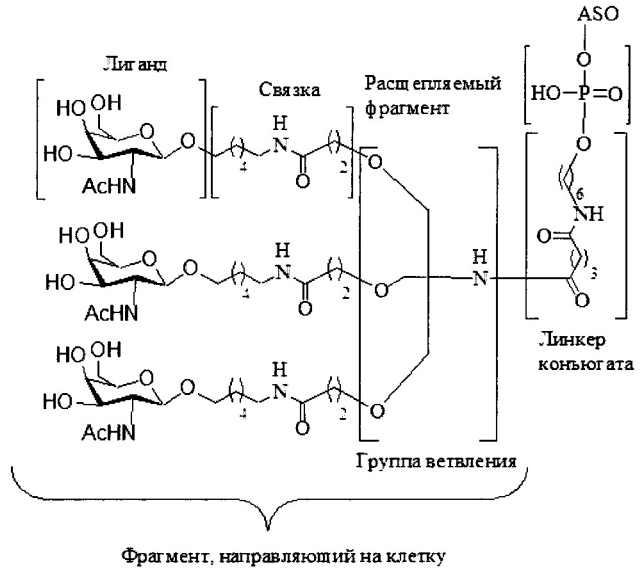
В некоторых вариантах реализации предложены сопряженные антисмысловые соединения, имеющие структуру:



В некоторых вариантах реализации предложены сопряженные антисмысловые соединения, имеющие структуру:



В некоторых вариантах реализации предложены сопряженные антисмысловые соединения, имеющие структуру:



В вариантах реализации, имеющих более одной конкретной переменной (например, более одного «m» или «n»), если не указано иное, каждая такая конкретная переменная выбрана независимо. Следовательно, для структуры, имеющей более одного n, каждый n выбран независимо, так что они могут быть или не быть одинаковыми между собой.

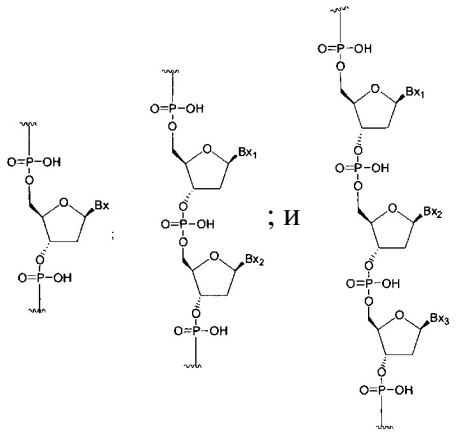
i. Некоторые расщепляемые фрагменты

В некоторых вариантах реализации расщепляемый фрагмент представляет собой расщепляемую связь. В некоторых вариантах реализации расщепляемый фрагмент содержит расщепляемую связь. В некоторых вариантах реализации группа конъюгата содержит расщепляемый фрагмент. В некоторых таких вариантах реализации расщепляемый фрагмент присоединен к антисмысловому олигонуклеотиду. В некоторых таких вариантах реализации расщепляемый фрагмент присоединен непосредственно к фрагменту, направляющему на клетку. В некоторых таких вариантах реализации

расщепляемый фрагмент присоединен к линкеру конъюгата. В некоторых вариантах реализации расщепляемый фрагмент содержит фосфат или фосфодиэфир. В некоторых вариантах реализации расщепляемый фрагмент представляет собой расщепляемый нуклеозид или нуклеозидный аналог. В некоторых вариантах реализации нуклеозид или нуклеозидный аналог содержит необязательно защищенное гетероциклическое основание, выбранное из пурина, замещенного пурина, пиримидина или замещенного пиримидина. В некоторых вариантах реализации расщепляемый фрагмент представляет собой нуклеозид, содержащий необязательно защищенное гетероциклическое основание, выбранное из урацила, тимина, цитозина, 4-N-бензоилцитозина, 5-метилцитозина, 4-N-бензоил-5-метилцитозина, аденина, 6-N-бензоиладенина, гуанина и 2-N-изобутирилгуанина. В некоторых вариантах реализации расщепляемый фрагмент представляет собой 2'-дезоксинуклеозид, который присоединен к 3'-положению антисмыслового олигонуклеотида фосфодиэфирной связью и присоединен к линкеру фосфодиэфирной или тиофосфатной связью. В некоторых вариантах реализации расщепляемый фрагмент представляет собой 2'-дезоксиаденозин, который присоединен к 3'-положению антисмыслового олигонуклеотида фосфодиэфирной связью и присоединен к линкеру фосфодиэфирной или тиофосфатной связью. В некоторых вариантах реализации расщепляемый фрагмент представляет собой 2'-дезоксиаденозин, который присоединен к 3'-положению антисмыслового олигонуклеотида фосфодиэфирной связью и присоединен к линкеру фосфодиэфирной связью.

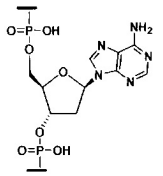
В некоторых вариантах реализации расщепляемый фрагмент присоединен к 3'-положению антисмыслового олигонуклеотида. В некоторых вариантах реализации расщепляемый фрагмент присоединен к 5'-положению антисмыслового олигонуклеотида. В некоторых вариантах реализации расщепляемый фрагмент присоединен к 2'-положению антисмыслового олигонуклеотида. В некоторых вариантах реализации расщепляемый фрагмент присоединен к антисмысловому олигонуклеотиду фосфодиэфирной связью. В некоторых вариантах реализации расщепляемый фрагмент присоединен к указанному линкеру либо фосфодиэфирной, либо тиофосфатной связью. В некоторых вариантах реализации расщепляемый фрагмент присоединен к указанному линкеру фосфодиэфирной связью. В некоторых вариантах реализации группа конъюгата не содержит расщепляемый фрагмент.

В некоторых вариантах реализации расщепляемый фрагмент расщепляется после введения указанного комплекса в организм животного только после его поглощения целевой клеткой. Внутри клетки расщепляемый фрагмент расщепляется, высвобождая таким образом активный антисмысловой олигонуклеотид. Не ограничиваясь теорией, предполагают, что расщепляемый фрагмент расщепляется под действием одной или более нуклеаз внутри клетки. В некоторых вариантах реализации одна или более нуклеаз расщепляют фосфодиэфирную связь между расщепляемым фрагментом и линкером. В некоторых вариантах реализации расщепляемый фрагмент имеет структуру, выбранную из следующих:



; и

где каждый из Bx, Bx_1, Bx_2 и Bx_3 независимо представляет собой фрагмент гетероциклического основания. В некоторых вариантах реализации расщепляемый фрагмент имеет структуру, выбранную из следующих:



ii. Некоторые линкеры

В некоторых вариантах реализации группы конъюгата содержат линкер. В некоторых таких вариантах реализации линкер ковалентно связан с расщепляемым фрагментом. В некоторых таких вариантах реализации линкер ковалентно связан с антисмысловым олигонуклеотидом. В некоторых вариантах реализации линкер ковалентно связан с фрагментом, направляющим на клетку. В некоторых вариантах реализации линкер дополнительно содержит ковалентное присоединение к твердой подложке. В некоторых вариантах реализации линкер дополнительно содержит ковалентное присоединение к белковому связывающему фрагменту. В некоторых вариантах реализации линкер дополнительно содержит ковалентное присоединение к твердой подложке и дополнительно содержит ковалентное присоединение к белковому связывающему фрагменту. В некоторых вариантах реализации линкер содержит несколько положений для присоединения связанных лигандов. В некоторых вариантах реализации линкер содержит несколько положений для присоединения связанных лигандов и не присоединен к группе ветвления. В некоторых вариантах реализации линкер дополнительно содержит одну или более расщепляемых связей. В некоторых вариантах реализации группа конъюгата не содержит линкер.

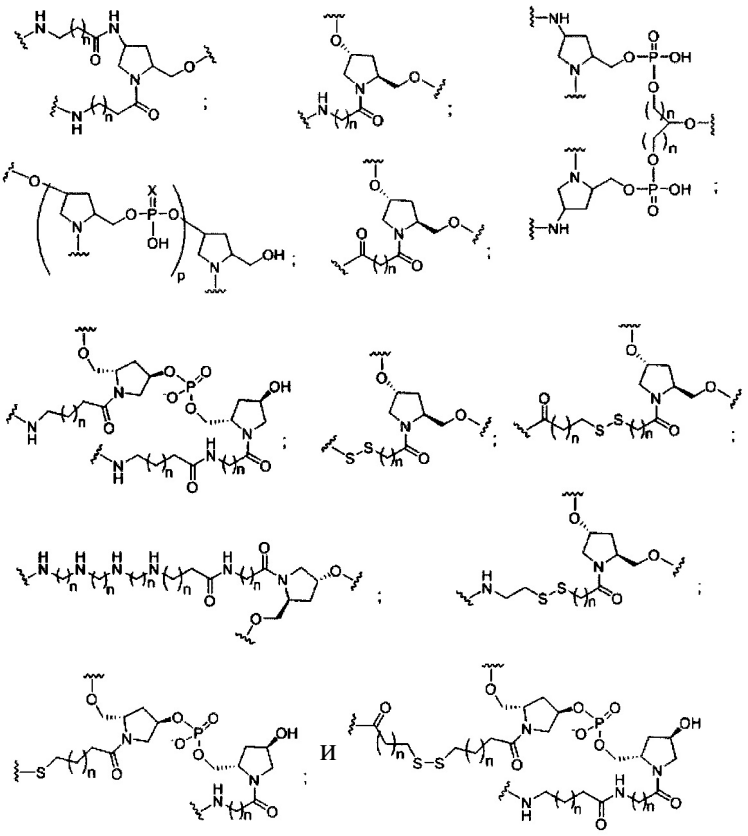
В некоторых вариантах реализации линкер содержит по меньшей мере одну линейную группу, содержащую группы, выбранные из алкильных, амидных, дисульфидных, полиэтиленгликолевых, тиоэфирных (-S-) и гидроксиламино (-O-N(H)-) групп. В некоторых вариантах реализации линейная группа содержит группы, выбранные из алкильных, амидных и простых эфирных групп. В некоторых вариантах реализации линейная группа содержит группы, выбранные из алкильных и простых эфирных групп. В некоторых вариантах реализации линейная группа содержит по меньшей мере одну фосфорную линкерную группу. В некоторых вариантах реализации линейная группа содержит по меньшей мере одну фосфодиэфирную группу. В некоторых вариантах реализации линейная группа содержит по меньшей мере одну нейтральную линкерную группу. В некоторых вариантах реализации линейная группа ковалентно присоединена

к фрагменту, направляющему на клетку, и к расщепляемому фрагменту. В некоторых вариантах реализации линейная группа ковалентно присоединена к фрагменту, направляющему на клетку, и к антисмысловому олигонуклеотиду. В некоторых вариантах реализации линейная группа ковалентно присоединена к фрагменту, направляющему на клетку, к расщепляемому фрагменту и к твердой подложке. В некоторых вариантах реализации линейная группа ковалентно присоединена к фрагменту, направляющему на клетку, к расщепляемому фрагменту, к твердой подложке и к белковому связывающему фрагменту. В некоторых вариантах реализации линейная группа содержит одну или более расщепляемых связей.

В некоторых вариантах реализации линкер содержит линейную группу, ковалентно присоединенную к группе скелета. В некоторых вариантах реализации скелет содержит разветвленную алифатическую группу, которая содержит группы, выбранные из алкильных, амидных, дисульфидных, полиэтиленгликолевых, простых эфирных, тиоэфирных и гидроксиламино-групп. В некоторых вариантах реализации скелет содержит разветвленную алифатическую группу, которая содержит группы, выбранные из алкильных, амидных и простых эфирных групп. В некоторых вариантах реализации скелет содержит по меньшей мере одну моно- или полициклическую кольцевую систему. В некоторых вариантах реализации скелет содержит по меньшей мере две моно- или полициклические кольцевые системы. В некоторых вариантах реализации линейная группа ковалентно присоединена к группе скелета, а группа скелета ковалентно присоединена к расщепляемому фрагменту и линкеру. В некоторых вариантах реализации линейная группа ковалентно присоединена к группе скелета, а группа скелета ковалентно присоединена к расщепляемому фрагменту, линкеру и твердой подложке. В некоторых вариантах реализации линейная группа ковалентно присоединена к группе скелета, а группа скелета ковалентно присоединена к расщепляемому фрагменту, линкеру и белковому связывающему фрагменту. В некоторых вариантах реализации линейная группа ковалентно присоединена к группе скелета, а группа скелета ковалентно присоединена к расщепляемому фрагменту, линкеру, белковому связывающему фрагменту и твердой подложке. В некоторых вариантах реализации группа скелета содержит одну или более расщепляемых связей.

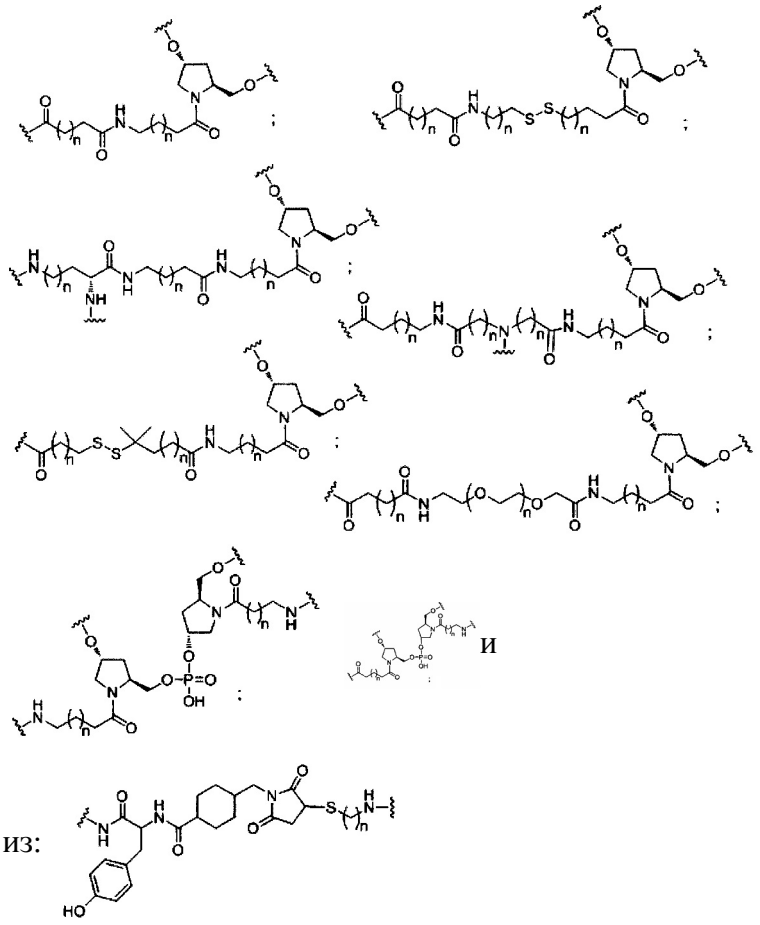
В некоторых вариантах реализации линкер содержит белок-связывающий фрагмент. В некоторых вариантах реализации белок-связывающий фрагмент представляет собой липид, такой как, например, включая, но не ограничиваясь ими, холестерин, холевая кислота, адамантан-уксусная кислота, 1-пирен-масляная кислота, дигидротестостерон, 1,3-бис-О(гексадецил)глицерин, геранилоксигексиловая группа, гексадецилглицерин, борнеол, ментол, 1,3-пропандиол, гептадециловая группа, пальмитиновая кислота, миристиновая кислота, О3-(олеоил)литохолевая кислота, О3-(олеоил)холеновая кислота, диметокситритил или феноксазин, витамин (например, фолат, витамин А, витамин Е, биотин, пиридоксаль), пептид, углевод (например, моносахарид, дисахарид, трисахарид, тетрасахарид, олигосахарид, полисахарид), эндосомолитический компонент, стероид (например, уваол, гецигенин, диосгенин), терпен (например, тритерпен, например, сарсасапогенин, фриделин, литохолевая кислота, дериватизованная эпифриделанолом) или катионный липид. В некоторых вариантах реализации белок-связывающий фрагмент представляет собой насыщенную или ненасыщенную жирную кислоту с длиной цепи от С16 до С22, холестерин, холевую кислоту, витамин Е, адамантан или 1-пентафторпропил.

В некоторых вариантах реализации линкер имеет структуру, выбранную из:



где каждый n независимо равен от 1 до 20; и p равен от 1 до 6.

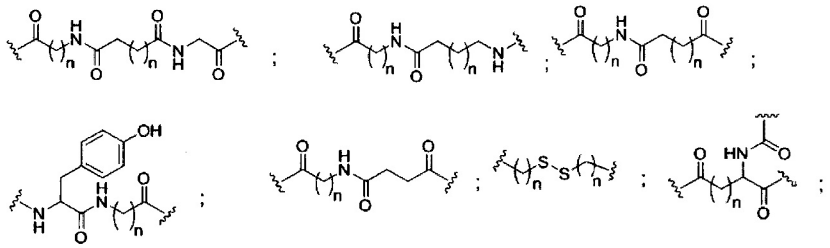
В некоторых вариантах реализации линкер имеет структуру, выбранную



из:

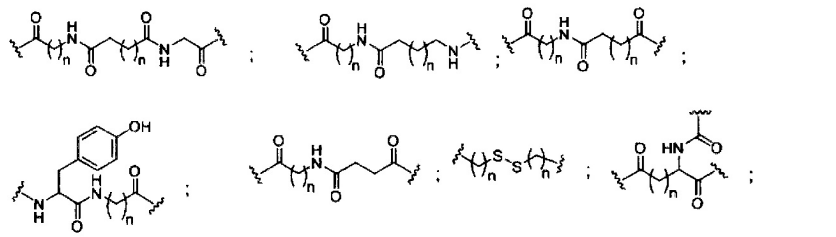
где каждый n независимо равен от 1 до 20.

В некоторых вариантах реализации линкер имеет структуру, выбранную из:



где n равен от 1 до 20.

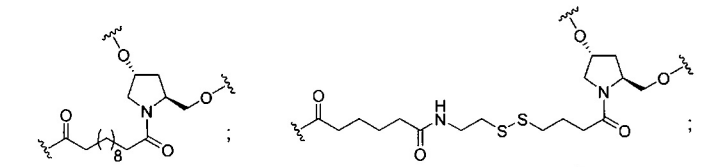
В некоторых вариантах реализации линкер имеет структуру, выбранную из:

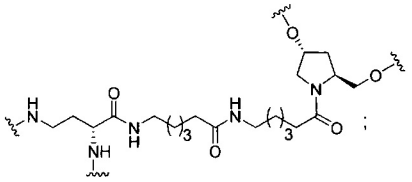
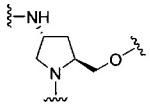
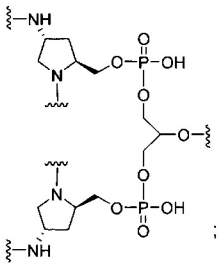
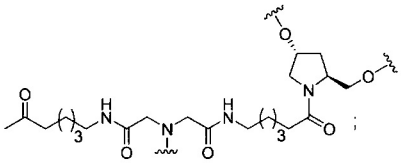
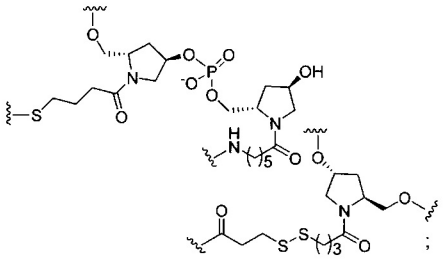
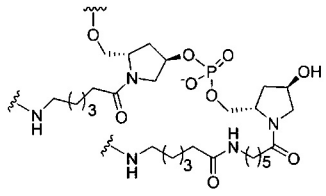
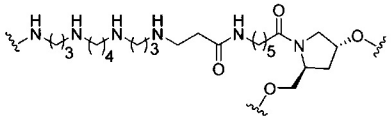
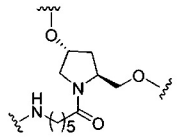
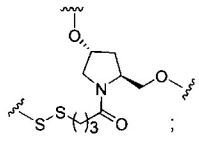
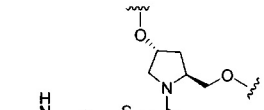
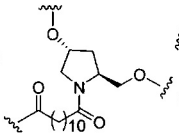
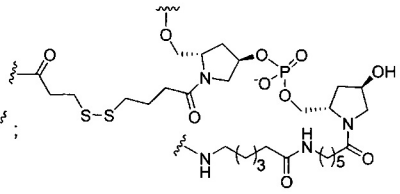
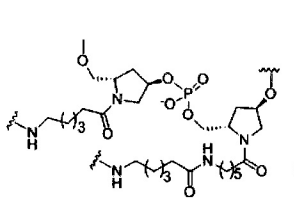
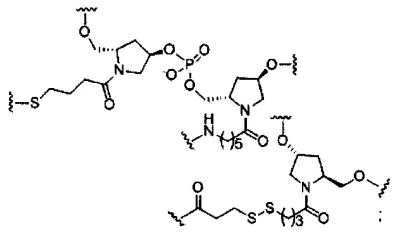
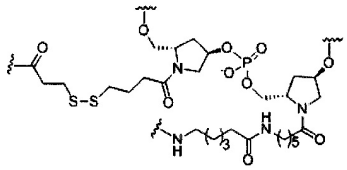


где каждый L независимо представляет собой фосфорную линкерную группу или нейтральную линкерную группу; и

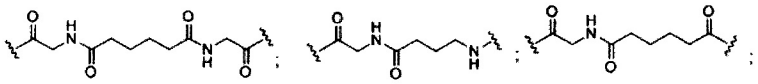
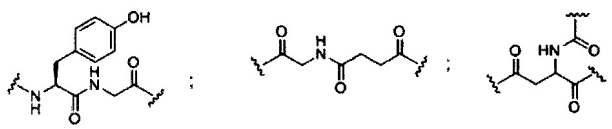
каждый n независимо равен от 1 до 20.

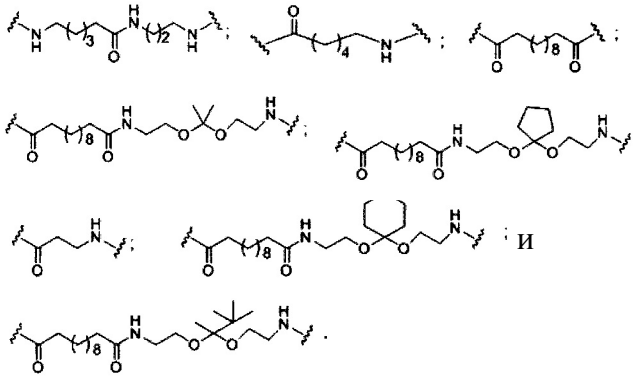
В некоторых вариантах реализации линкер имеет структуру, выбранную из:



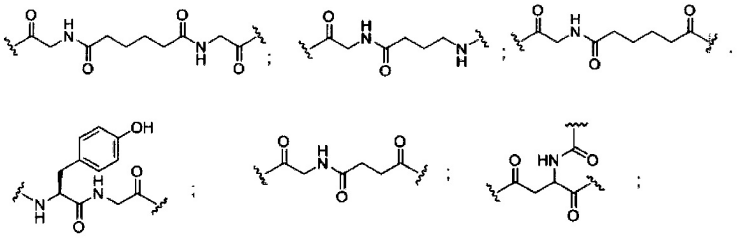














и

.

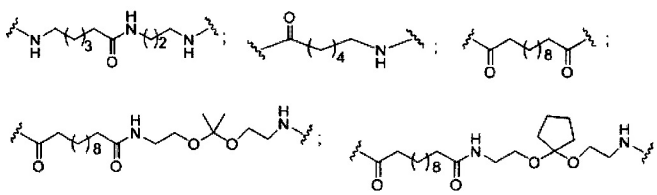
В некоторых вариантах реализации линкер имеет структуру, выбранную из:

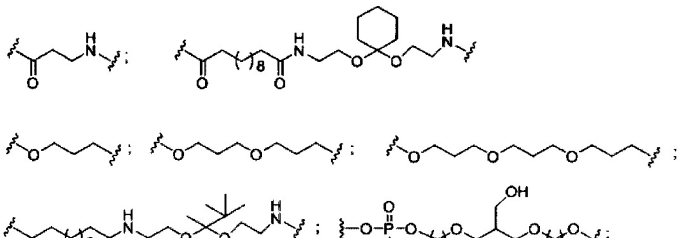



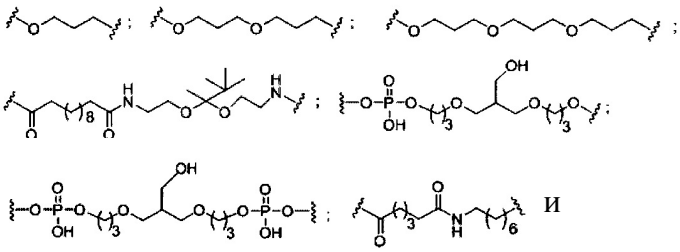


В некоторых вариантах реализации линкер имеет структуру, выбранную из:

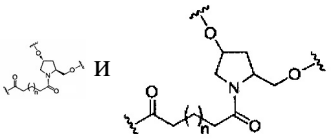






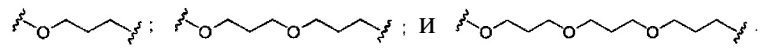


В некоторых вариантах реализации линкер имеет структуру, выбранную из:

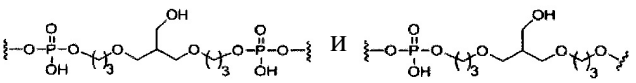


где n равен от 1 до 20.

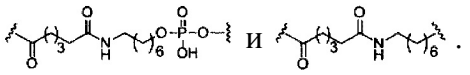
В некоторых вариантах реализации линкер имеет структуру, выбранную из:



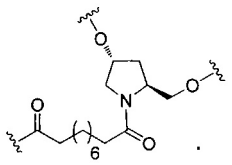
В некоторых вариантах реализации линкер имеет структуру, выбранную из:



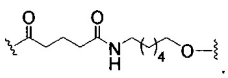
В некоторых вариантах реализации линкер имеет структуру, выбранную из:

 и .

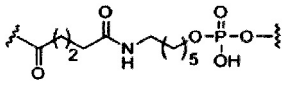
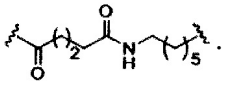
В некоторых вариантах реализации линкер конъюгата имеет структуру:

 .

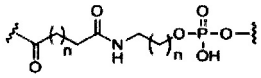
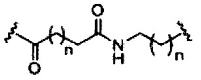
В некоторых вариантах реализации линкер конъюгата имеет структуру:

 .

В некоторых вариантах реализации линкер имеет структуру, выбранную из:

 и  .

В некоторых вариантах реализации линкер имеет структуру, выбранную из:

 и  ;

где каждый n независимо равен 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 или 7.

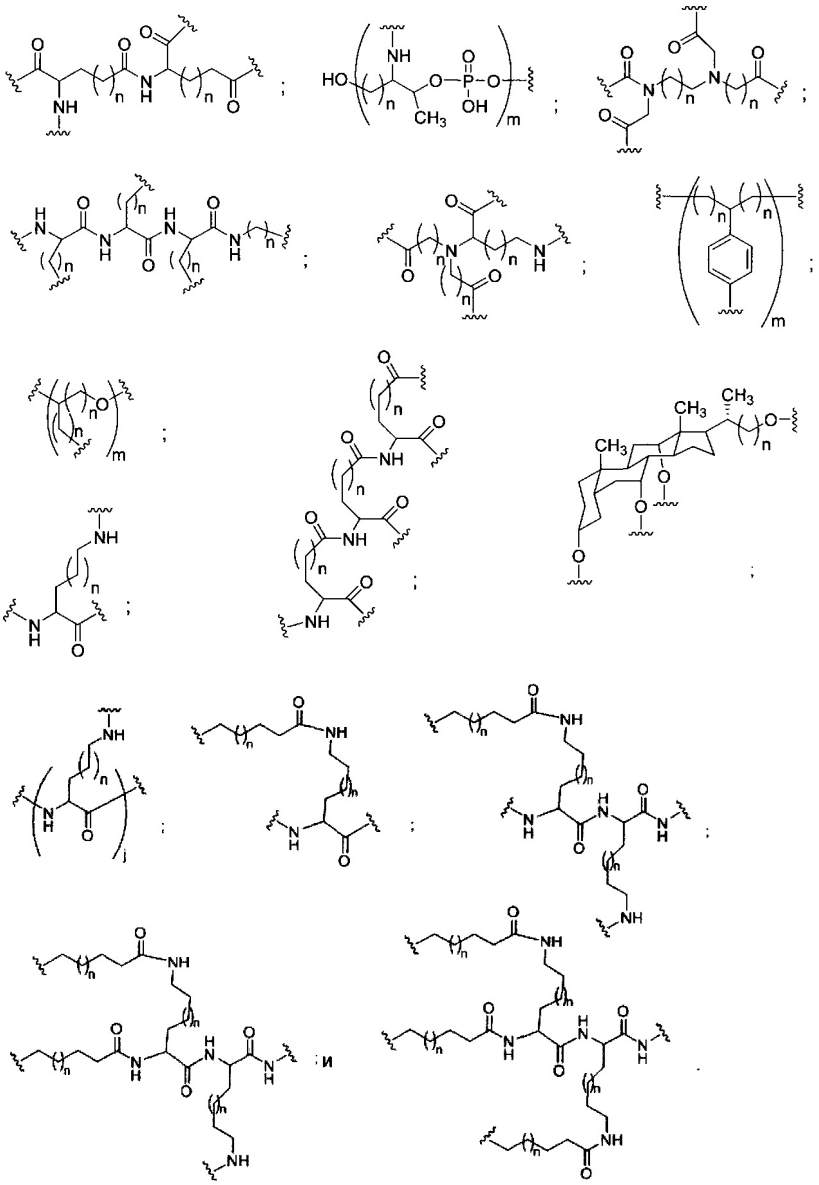
iii. Некоторые фрагменты, направляющие на клетку

В некоторых вариантах реализации группы конъюгата содержат фрагменты, направляющие на клетку. Некоторые такие фрагменты, направляющие на клетку, увеличивают клеточный захват антисмысловых соединений. В некоторых вариантах реализации фрагменты, направляющие на клетку, содержат группу ветвления, одну или более связок и один или более лигандов. В некоторых вариантах реализации фрагменты, направляющие на клетку, содержат группу ветвления, одну или более связок, один или более лигандов и одну или более расщепляемых связей.

1. Некоторые группы ветвления

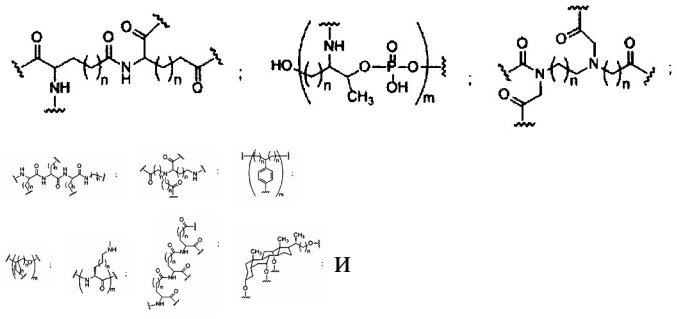
В некоторых вариантах реализации группы конъюгата содержат направляющий фрагмент, содержащий группу ветвления и по меньшей мере два связанных лиганда. В некоторых вариантах реализации группа ветвления присоединяет линкер конъюгата. В некоторых вариантах реализации группа ветвления присоединяет расщепляемый фрагмент. В некоторых вариантах реализации группа ветвления присоединяет антисмысловой олигонуклеотид. В некоторых вариантах реализации группа ветвления ковалентно присоединена к линкеру и каждому из связанных лигандов. В некоторых вариантах реализации группа ветвления содержит разветвленную алифатическую группу, которая содержит группы, выбранные из алкильных, амидных, дисульфидных, полиэтиленгликолевых, простых эфирных, тиоэфирных и гидроксиламино-групп. В некоторых вариантах реализации группа ветвления содержит группы, выбранные из алкильных, амидных и простых эфирных групп. В некоторых вариантах реализации группа ветвления содержит группы, выбранные из алкильных и простых эфирных групп. В некоторых вариантах реализации группа ветвления содержит моно- или полициклическую кольцевую систему. В некоторых вариантах реализации группа ветвления содержит одну или более расщепляемых связей. В некоторых вариантах реализации группа конъюгата не содержит группу ветвления.

В некоторых вариантах реализации группа ветвления имеет структуру, выбранную из:



где каждый n независимо равен от 1 до 20;
j равен от 1 до 3; и
m равен от 2 до 6.

В некоторых вариантах реализации группа ветвления имеет структуру, выбранную

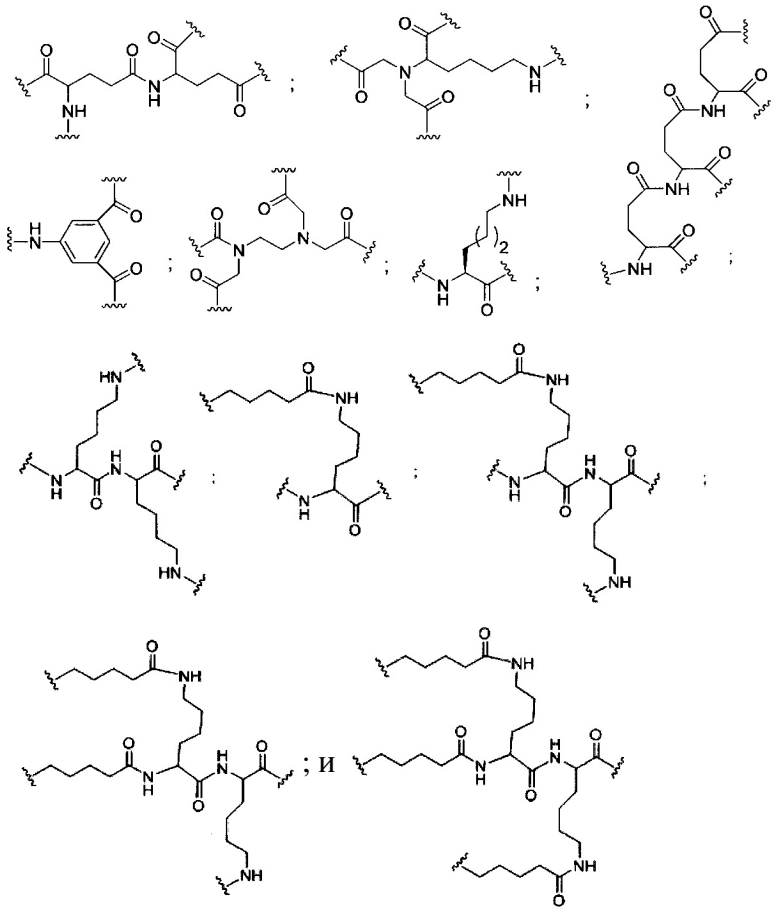


из:

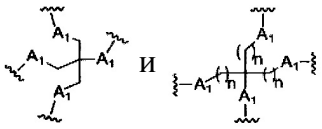
где каждый n независимо равен от 1 до 20; и
m равен от 2 до 6.

В некоторых вариантах реализации группа ветвления имеет структуру, выбранную

из:



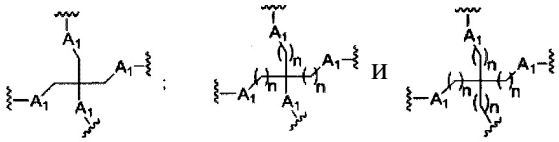
В некоторых вариантах реализации группа ветвления имеет структуру, выбранную из:



где каждый A_1 независимо представляет собой O, S, C=O или NH; и

каждый n независимо равен от 1 до 20.

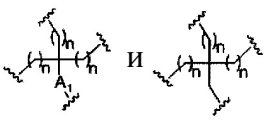
В некоторых вариантах реализации группа ветвления имеет структуру, выбранную из:



где каждый A_1 независимо представляет собой O, S, C=O или NH; и

каждый n независимо равен от 1 до 20.

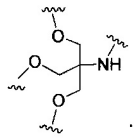
В некоторых вариантах реализации группа ветвления имеет структуру, выбранную из:



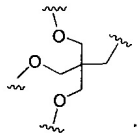
где A_1 представляет собой O, S, C=O или NH; и

каждый n независимо равен от 1 до 20.

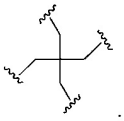
В некоторых вариантах реализации группа ветвления имеет структуру, выбранную из:



В некоторых вариантах реализации группа ветвления имеет структуру, выбранную из:



В некоторых вариантах реализации группа ветвления имеет структуру, выбранную из:



2. Некоторые связки

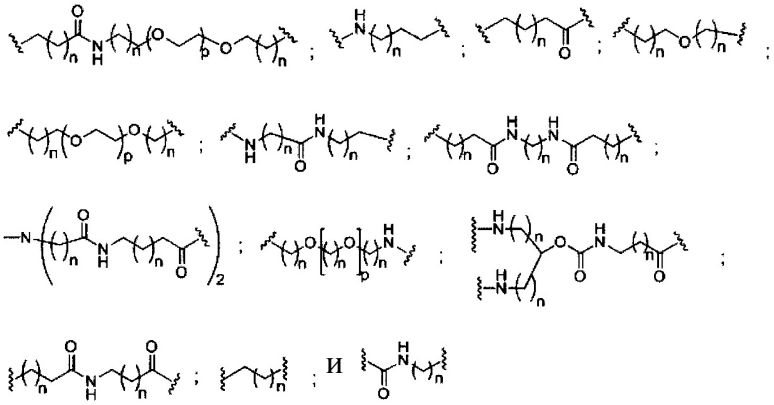
В некоторых вариантах реализации группы конъюгата содержат одну или более связок, ковалентно присоединенных к группе ветвления. В некоторых вариантах реализации группы конъюгата содержат одну или более связок, ковалентно присоединенных к линкерной группе. В некоторых вариантах реализации каждая связка представляет собой линейную алифатическую группу, содержащую одну или более групп, выбранных из алкильных, простых эфирных, тиоэфирных, дисульфидных, амидных и полиэтиленгликолевых групп в любой комбинации. В некоторых вариантах реализации каждая связка представляет собой линейную алифатическую группу, содержащую одну или более групп, выбранных из алкильных, замещенных алкильных, простых эфирных, тиоэфирных, дисульфидных, амидных, фосфодиэфирных и полиэтиленгликолевых групп в любой комбинации. В некоторых вариантах реализации каждая связка представляет собой линейную алифатическую группу, содержащую одну или более групп, выбранных из алкильных, простых эфирных и амидных групп в любой комбинации. В некоторых вариантах реализации каждая связка представляет собой линейную алифатическую группу, содержащую одну или более групп, выбранных из алкильных, замещенных алкильных, фосфодиэфирных, простых эфирных и амидных групп в любой комбинации. В некоторых вариантах реализации каждая связка представляет собой линейную алифатическую группу, содержащую одну или более групп, выбранных из алкила и фосфодиэфира в любой комбинации. В некоторых вариантах реализации каждая связка содержит по меньшей мере одну фосфорную линкерную группу или нейтральную линкерную группу.

В некоторых вариантах реализации связка содержит одну или более расщепляемых связей. В некоторых вариантах реализации связка присоединена к группе ветвления либо через амидную, либо через простую эфирную группу. В некоторых вариантах реализации связка присоединена к группе ветвления через фосфордиэфирную группу. В некоторых вариантах реализации связка присоединена к группе ветвления через фосфорную линкерную группу или через нейтральную линкерную группу. В некоторых вариантах реализации связка присоединена к группе ветвления через простую эфирную группу. В некоторых вариантах реализации связка присоединена к лиганду либо через

амидную, либо через простую эфирную группу. В некоторых вариантах реализации связка присоединена к лиганду через простую эфирную группу. В некоторых вариантах реализации связка присоединена к лиганду либо через амидную, либо через простую эфирную группу. В некоторых вариантах реализации связка присоединена к лиганду через простую эфирную группу.

В некоторых вариантах реализации каждая связка имеет длину от около 8 до около 20 атомов в цепи между лигандом и группой ветвления. В некоторых вариантах реализации каждая связка имеет длину от около 10 до около 18 атомов в цепи между лигандом и группой ветвления. В некоторых вариантах реализации каждая связка имеет длину около 13 атомов в цепи.

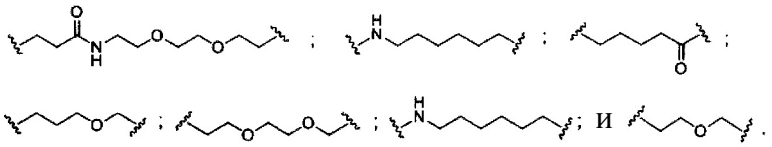
В некоторых вариантах реализации связка имеет структуру, выбранную из:



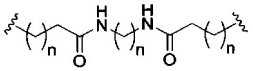
где каждый n независимо равен от 1 до 20; и

каждый p равен от 1 до около 6.

В некоторых вариантах реализации связка имеет структуру, выбранную из:

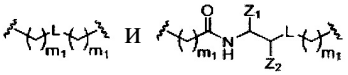


В некоторых вариантах реализации связка имеет структуру, выбранную из:



где каждый n независимо равен от 1 до 20.

В некоторых вариантах реализации связка имеет структуру, выбранную из:



где L представляет собой либо фосфорную линкерную группу, либо нейтральную линкерную группу;

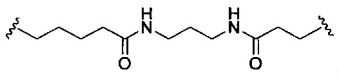
Z_1 представляет собой C(=O)O-R_2;

Z_2 представляет собой H, C_1-C_6 алкил или замещенный C_1-C_6 алкил;

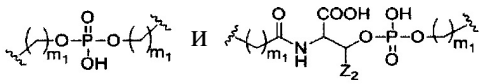
R_2 представляет собой H, C_1-C_6 алкил или замещенный C_1-C_6 алкил; и

каждый m_1 независимо равен от 0 до 20, при этом по меньшей мере один m_1 больше 0 для каждой связки.

В некоторых вариантах реализации связка имеет структуру, выбранную из:



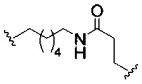
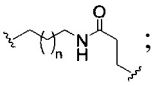
В некоторых вариантах реализации связка имеет структуру, выбранную из:

 и

где Z_2 представляет собой H или CH_3; и

каждый m_1 независимо равен от 0 до 20, при этом по меньшей мере один m_1 больше 0 для каждой связки.

В некоторых вариантах реализации связка имеет структуру, выбранную из:

 или  ;

где каждый n независимо равен 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 или 7.

В некоторых вариантах реализации связка содержит фосфорную линкерную группу. В некоторых вариантах реализации связка не содержит ни одной амидной связи. В некоторых вариантах реализации связка содержит фосфорную линкерную группу и не содержит ни одной амидной связи.

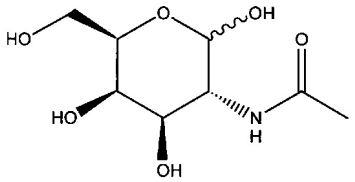
3. Некоторые лиганды

В некоторых вариантах реализации настоящего описания представлены лиганды, при этом каждый лиганд ковалентно присоединен к связке. В некоторых вариантах реализации каждый лиганд выбран так, чтобы он обладал аффинностью по меньшей мере к одному типу рецептора на клетке-мишени. В некоторых вариантах реализации лиганды выбраны так, чтобы они обладали аффинностью по меньшей мере к одному типу рецептора на поверхности клетки печени млекопитающего. В некоторых вариантах реализации лиганды выбраны так, чтобы они обладали аффинностью к печеночному асиалогликопротеиновому рецептору (ASGP-R). В некоторых вариантах реализации каждый лиганд представляет собой углевод. В некоторых вариантах реализации каждый лиганд независимо выбран из галактозы, N-ацетилгалактозамина, маннозы, глюкозы, глюкозамина и фукозы. В некоторых вариантах реализации каждый лиганд представляет собой N-ацетилгалактозамин (GalNAc). В некоторых вариантах реализации направляющий фрагмент содержит 2-6 лигандов. В некоторых вариантах реализации направляющий фрагмент содержит 3 лиганда. В некоторых вариантах реализации направляющий фрагмент содержит 3 N-ацетилгалактозаминовых лиганда.

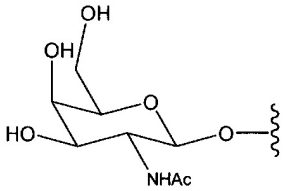
В некоторых вариантах реализации лиганд представляет собой углевод, углеводное производное, модифицированный углевод, поливалентный углеводный кластер, полисахарид, модифицированный полисахарид или полисахаридное производное. В некоторых вариантах реализации лиганд представляет собой аминосахар или тиосахар. Например, аминосахара могут быть выбраны из любого количества соединений, известных в данной области техники, например, глюкозамина, сиаловой кислоты, α-D-галактозамина, N-ацетилгалактозамина, 2-ацетамидо-2-дезокси-D-галактопиранозы (GalNAc), 2-амино-3-O-[(R)-1-карбоксиэтил]-2-дезокси-β-D-глюкопиранозы (β-мурамовой кислоты), 2-дезокси-2-метиламино-L-глюкопиранозы, 4,6-дидезокси-4-формамидо-2,3-ди-O-метил-D-маннопиранозы, 2-дезокси-2-сульфоамино-D-глюкопиранозы и N-сульфо-D-глюкозамина, и N-гликолоил-α-нейраминовой кислоты. Например, тиосахара могут быть выбраны из группы, состоящей из 5-тио-β-D-глюкопиранозы, метил-2,3,4-три-O-ацетил-1-тио-6-O-тритил-α-D-глюкопиранозида, 4-тио-β-D-галактопиранозы и этил-3,4,6,7-тетра-O-ацетил-2-дезокси-1,5-дитио-α-D-gluco-гептопиранозида.

В некоторых вариантах реализации «GalNac» или «Gal-NAc» относится к 2-(ацетиламино)-2-дезокси-D-галактопиранозе, обычно упоминаемой в литературе как

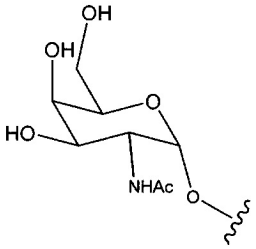
N-ацетилгалактозамин. В некоторых вариантах реализации «N-ацетилгалактозамин» относится к 2-(ацетиламино)-2-дезокси-D-галактопиранозе. В некоторых вариантах реализации «GalNac» или «Gal-NAc» относится к 2-(ацетиламино)-2-дезокси-D-галактопиранозе. В некоторых вариантах реализации «GalNac» или «Gal-NAc» относится к 2-(ацетиламино)-2-дезокси-D-галактопиранозе, которая включает и β-форму: 2-(ацетиламино)-2-дезокси-β-D-галактопиранозу, и α-форму: 2-(ацетиламино)-2-дезокси-D-галактопиранозу. В некоторых вариантах реализации обе формы, β-форма: 2-(ацетиламино)-2-дезокси-β-D-галактопиранозу, и α-форму: 2-(ацетиламино)-2-дезокси-D-галактопираноза, могут быть использованы взаимозаменяемо. Соответственно, в структурах, в которых изображена одна форма, подразумевается, что эти структуры включают также и другую форму. Например, если показана структура для α-формы: 2-(ацетиламино)-2-дезокси-D-галактопиранозы, то подразумевается, что эта структура включает также и другую форму. В некоторых предпочтительных вариантах реализации β-форма 2-(ацетиламино)-2-дезокси-D-галактопиранозы является предпочтительным вариантом реализации.



2-(Ацетиламино)-2-дезокси-D-галактопираноза

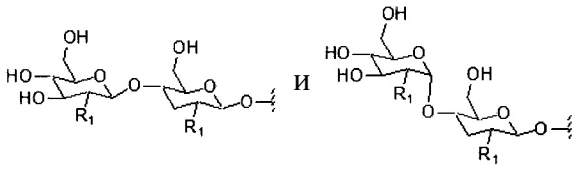


2-(Ацетиламино)-2-дезокси-β-D-галактопираноза



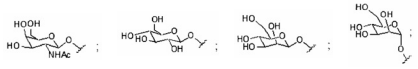
2-(Ацетиламино)-2-дезокси-α-D-галактопираноза

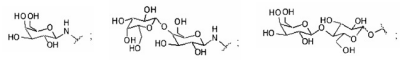
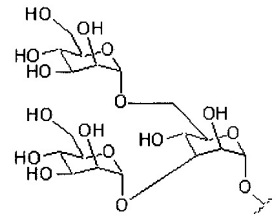
В некоторых вариантах реализации один или более лигандов имеют структуру, выбранную из:



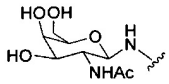
где каждый R_1 выбран из OH и NHCOOH.

В некоторых вариантах реализации один или более лигандов имеют структуру, выбранную из:

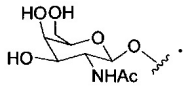


В некоторых вариантах реализации один или более лигандов имеют структуру, выбранную из:

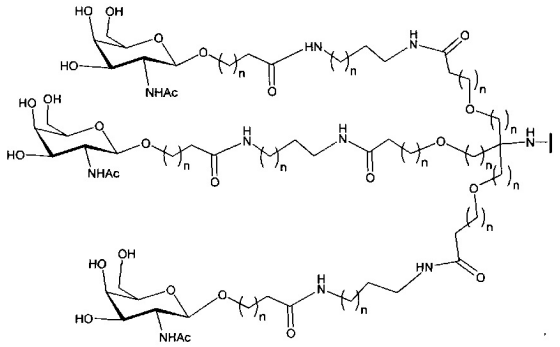


В некоторых вариантах реализации один или более лигандов имеют структуру, выбранную из:



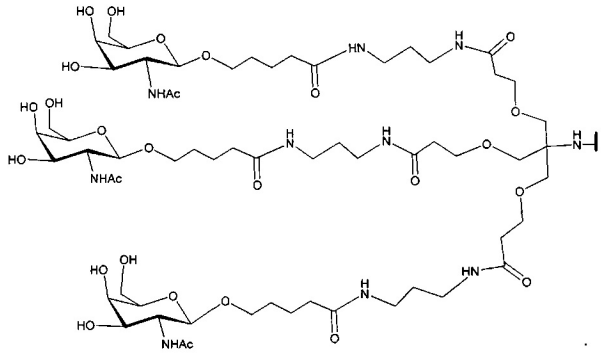
i. Некоторые конъюгаты

В некоторых вариантах реализации группы конъюгата содержат структурные особенности, представленные выше. В некоторых таких вариантах реализации группы конъюгата имеют следующую структуру:

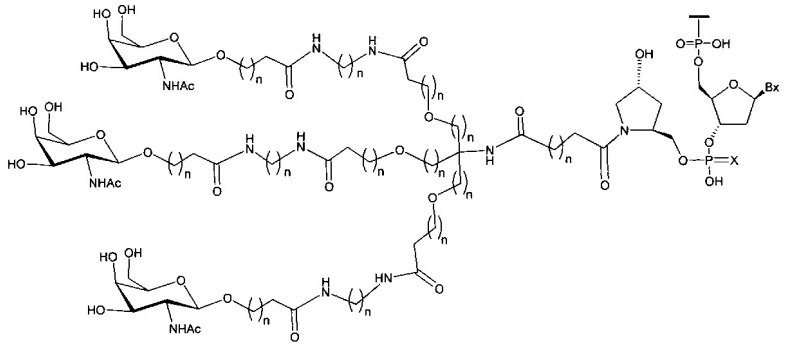


где каждый n независимо равен от 1 до 20.

В некоторых таких вариантах реализации группы конъюгата имеют следующую структуру:



В некоторых таких вариантах реализации группы конъюгата имеют следующую структуру:



где каждый n независимо равен от 1 до 20;

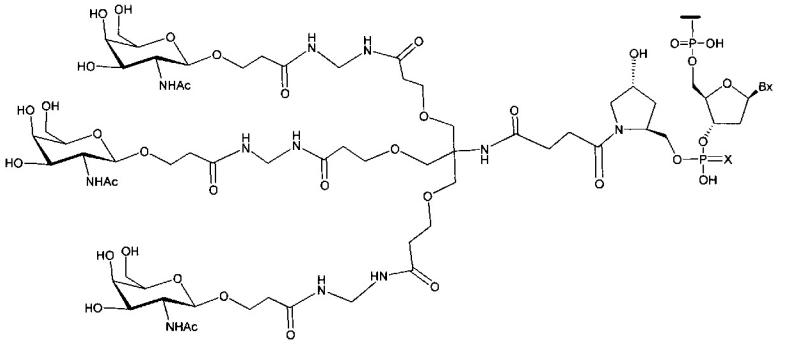
Z представляет собой H или связанную твердую подложку;

Q представляет собой антисмысловое соединение;

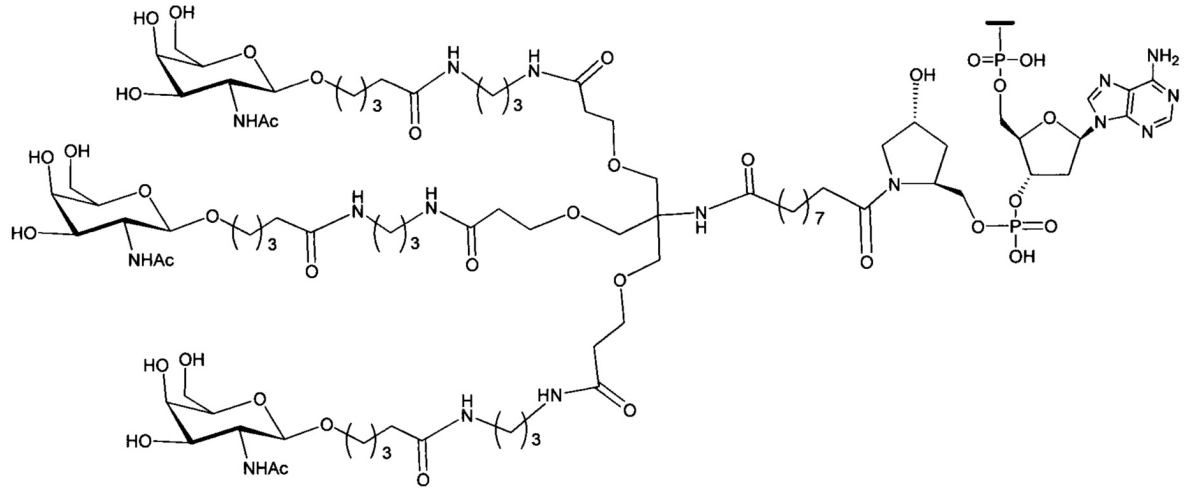
X представляет собой O или S; и

Bx представляет собой фрагмент гетероциклического основания.

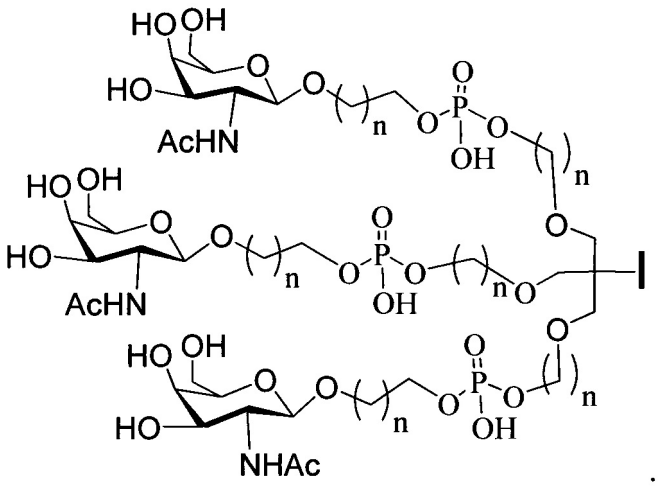
В некоторых таких вариантах реализации группы конъюгата имеют следующую структуру:



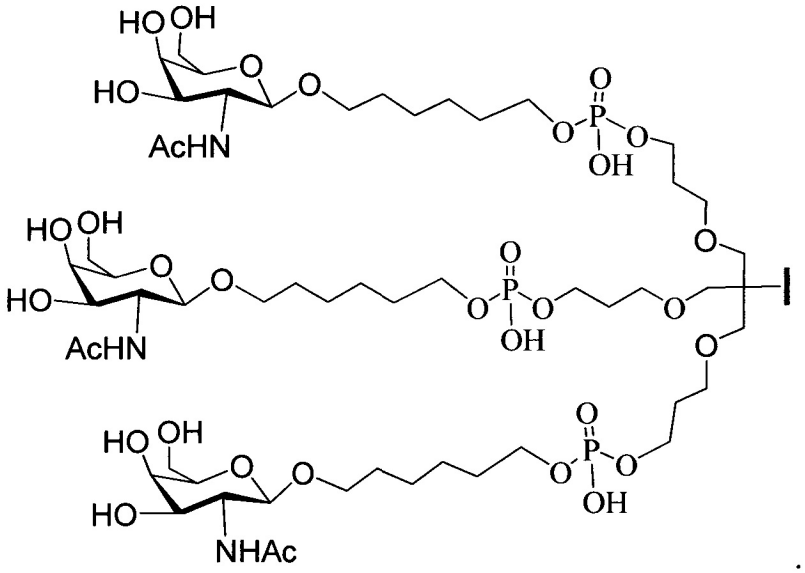
В некоторых таких вариантах реализации группы конъюгата имеют следующую структуру:



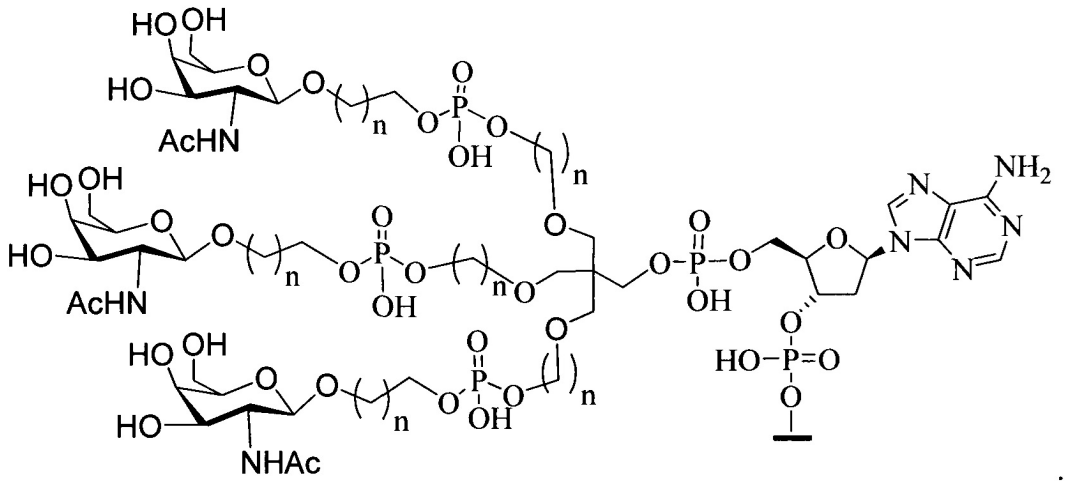
В некоторых таких вариантах реализации группы конъюгата имеют следующую структуру:



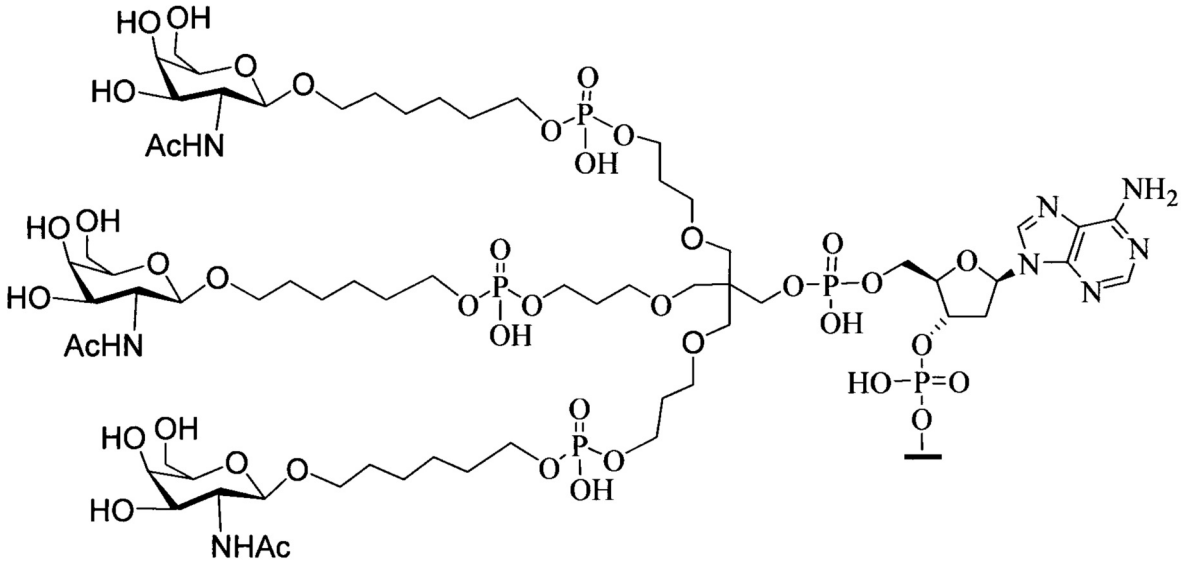
В некоторых таких вариантах реализации группы конъюгата имеют следующую структуру:



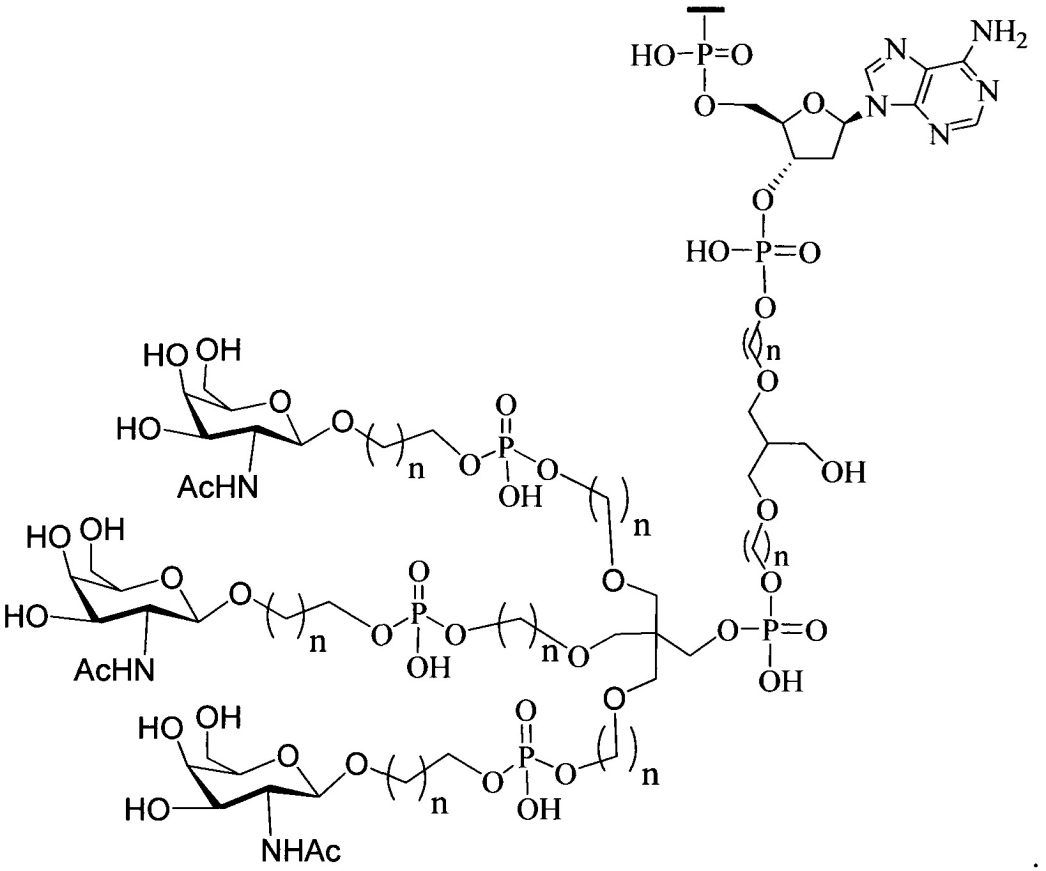
В некоторых таких вариантах реализации группы конъюгата имеют следующую структуру:



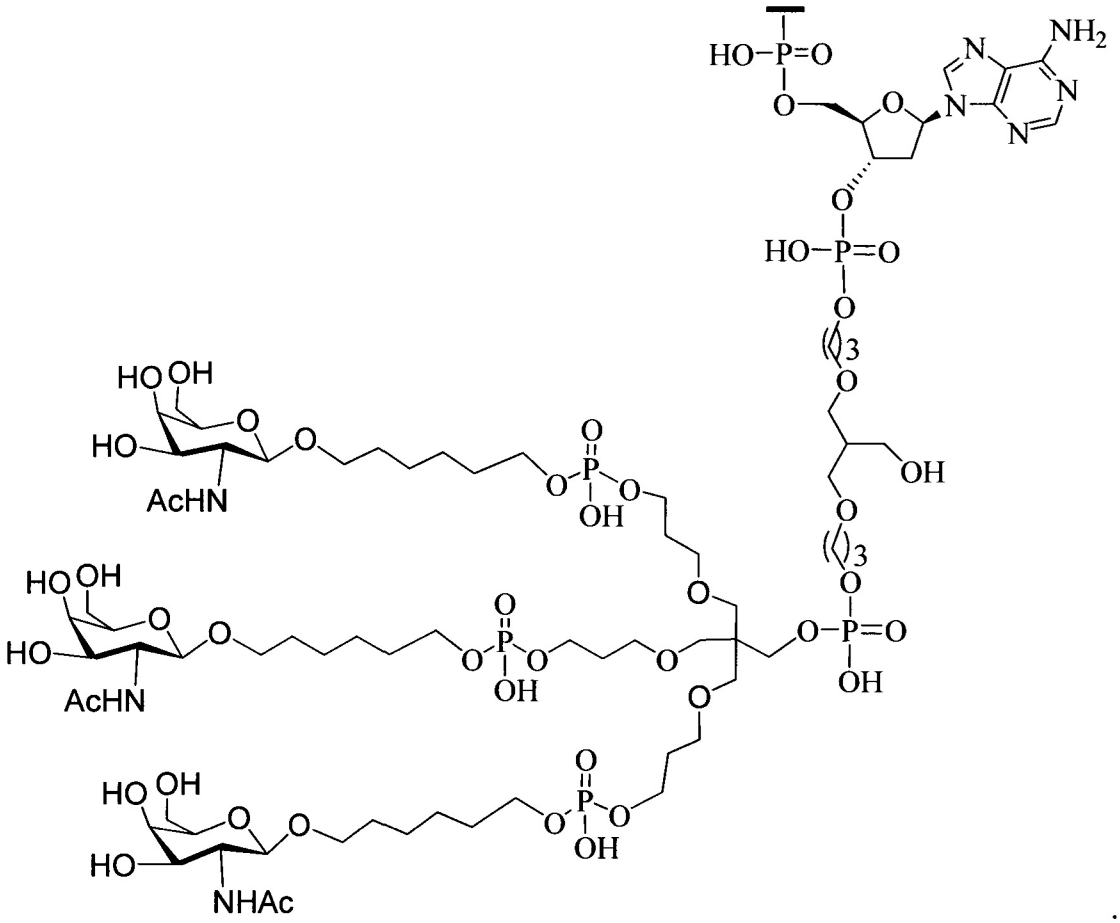
В некоторых таких вариантах реализации группы конъюгата имеют следующую структуру:



В некоторых таких вариантах реализации группы конъюгата имеют следующую структуру:

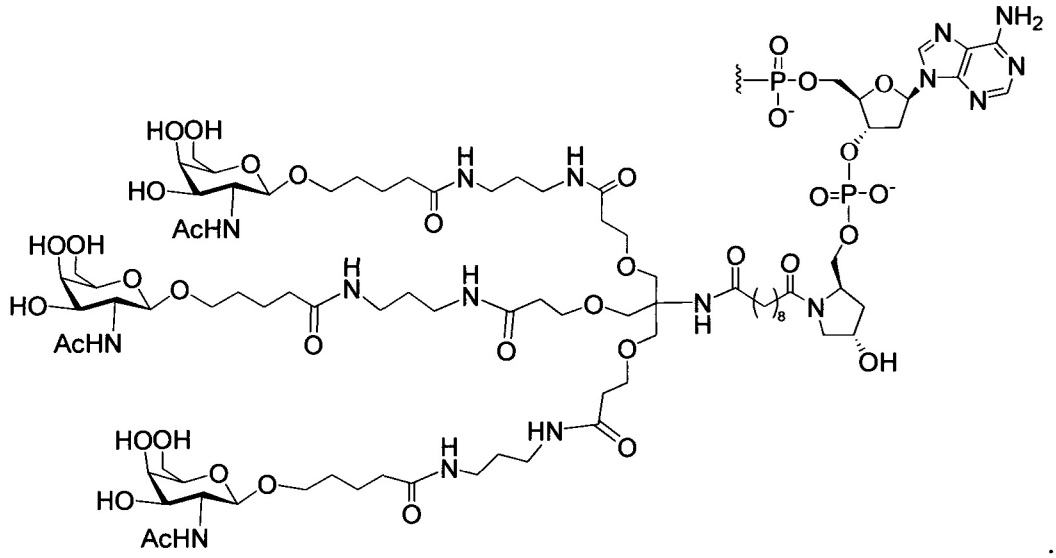


В некоторых таких вариантах реализации группы конъюгата имеют следующую структуру:

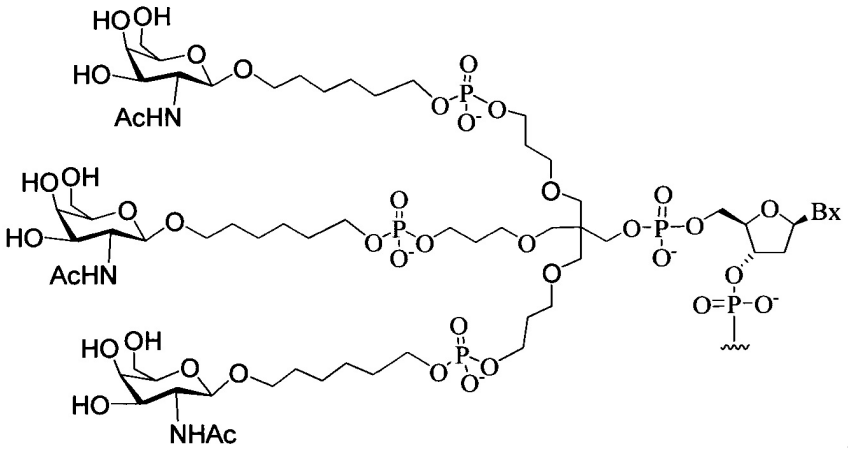


В некоторых вариантах реализации конъюгаты не содержат пирролидин.

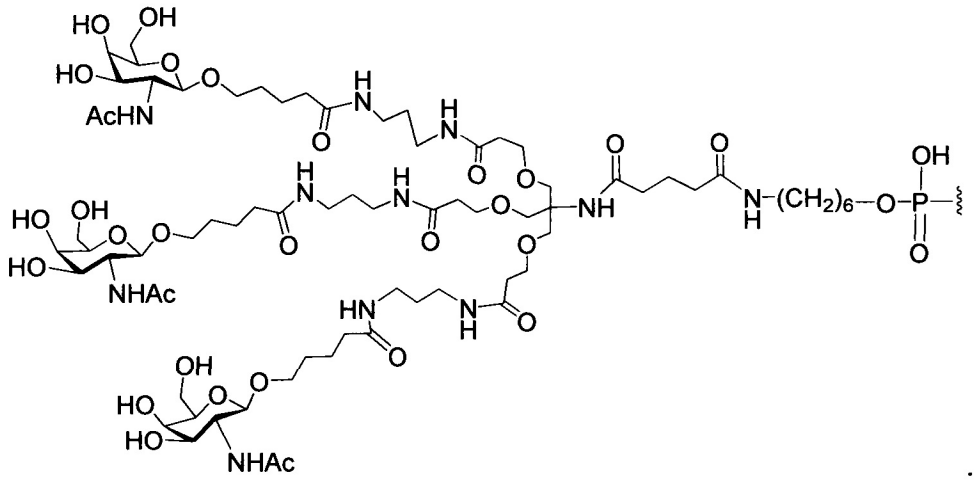
В некоторых таких вариантах реализации группы конъюгата имеют следующую структуру:



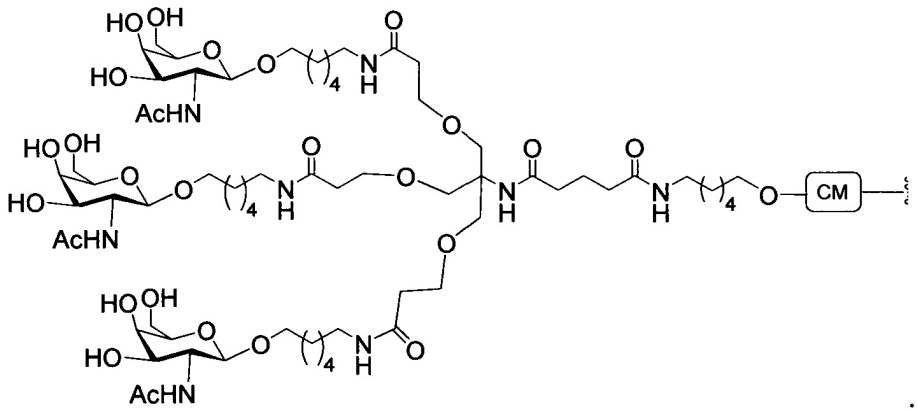
В некоторых таких вариантах реализации группы конъюгата имеют следующую структуру:



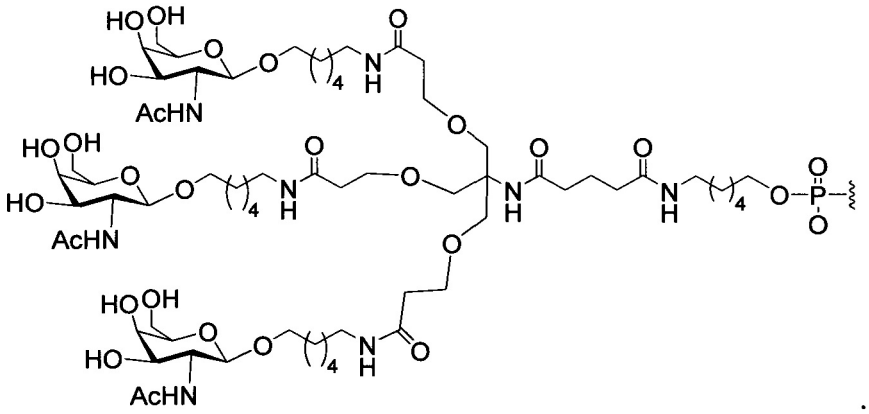
В некоторых таких вариантах реализации группы конъюгата имеют следующую структуру:



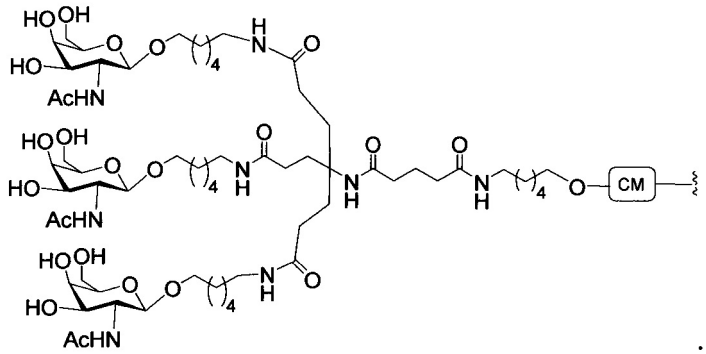
В некоторых таких вариантах реализации группы конъюгата имеют следующую структуру:



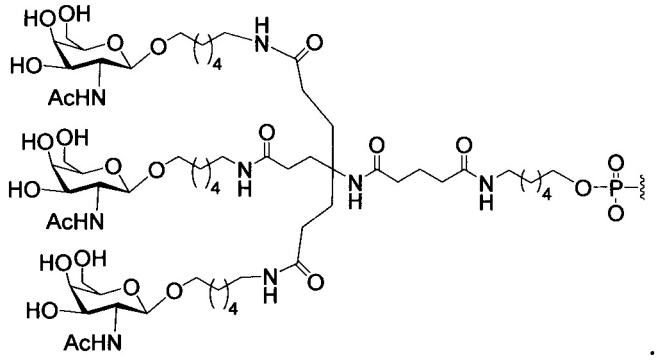
В некоторых таких вариантах реализации группы конъюгата имеют следующую структуру:



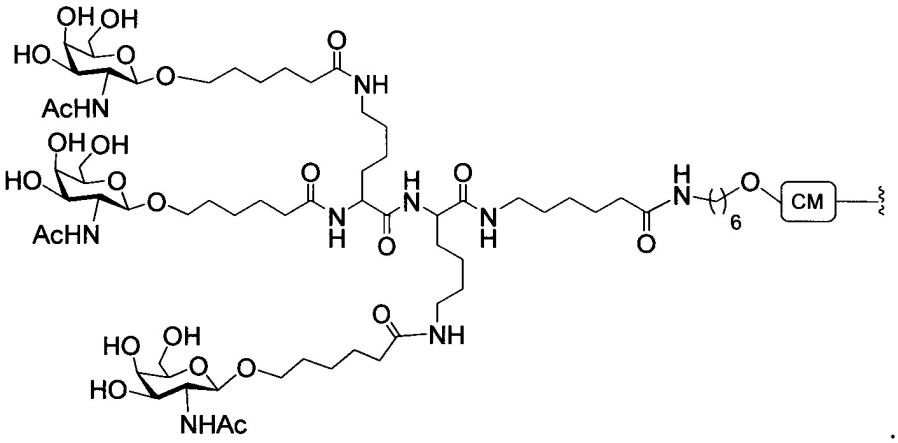
В некоторых таких вариантах реализации группы конъюгата имеют следующую структуру:



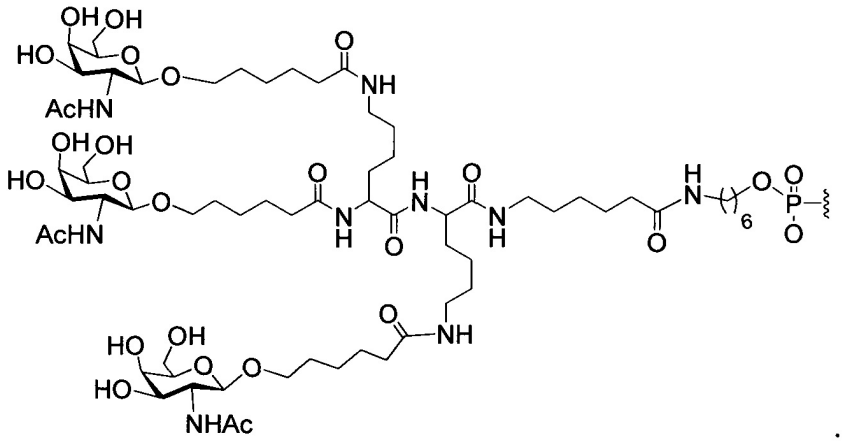
В некоторых таких вариантах реализации группы конъюгата имеют следующую структуру:



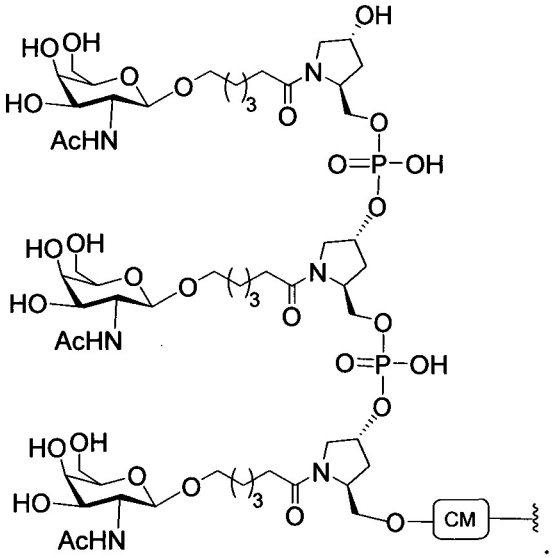
В некоторых таких вариантах реализации группы конъюгата имеют следующую структуру:



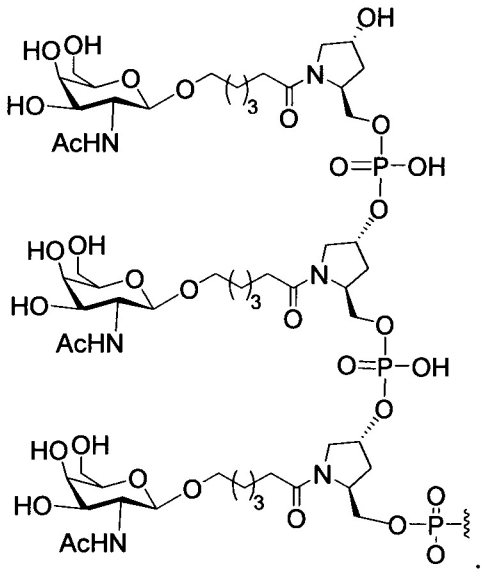
В некоторых таких вариантах реализации группы конъюгата имеют следующую структуру:



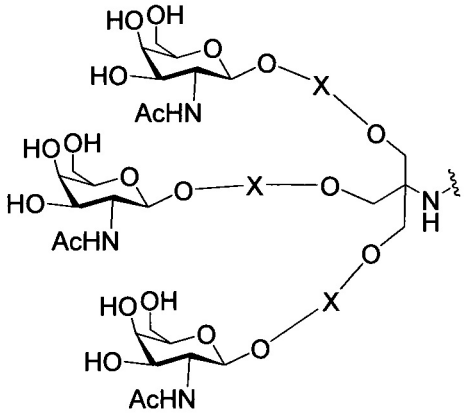
В некоторых таких вариантах реализации группы конъюгата имеют следующую структуру:



В некоторых таких вариантах реализации группы конъюгата имеют следующую структуру:

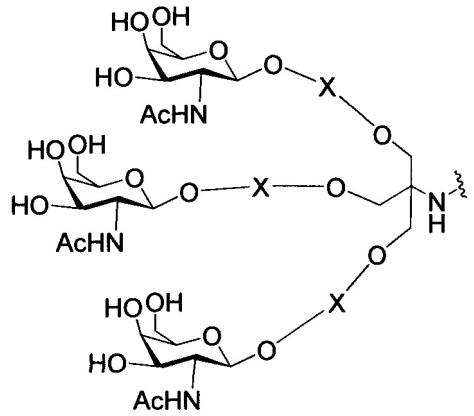


В некоторых вариантах реализации фрагмент группы конъюгата, нацеливающий на клетку, имеет следующую структуру:



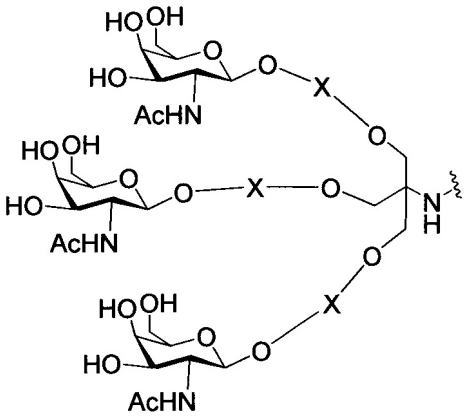
где X представляет собой замещенную или незамещенную связку из шести-одиннадцати последовательно связанных атомов.

В некоторых вариантах реализации фрагмент группы конъюгата, нацеливающий на клетку, имеет следующую структуру:



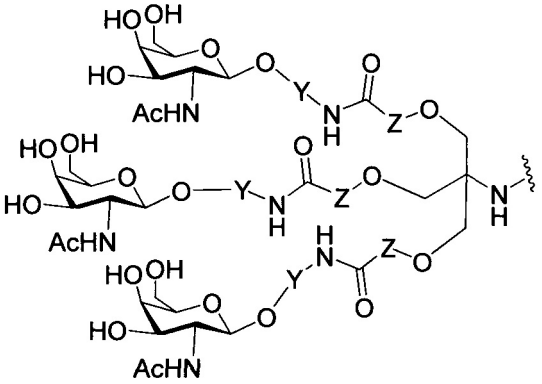
где X представляет собой замещенную или незамещенную связку из десяти последовательно связанных атомов.

В некоторых вариантах реализации фрагмент группы конъюгата, нацеливающий на клетку, имеет следующую структуру:



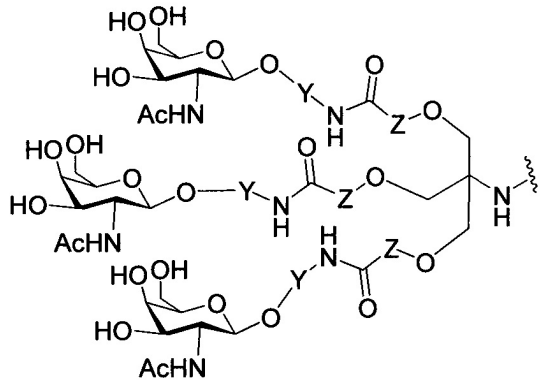
где X представляет собой замещенную или незамещенную связку из четырех-одиннадцати последовательно связанных атомов, и при этом указанная связка содержит только одну амидную связь.

В некоторых вариантах реализации фрагмент группы конъюгата, нацеливающий на клетку, имеет следующую структуру:



где Y и Z независимо выбраны из C_1-C_{12} замещенной или незамещенной алкильной, алкенильной или алкинильной группы или группы, содержащей эфир, кетон, амид, сложный эфир, карбамат, амин, пиперидин, фосфат, фосфодиэфир, тиофосфат, триазол, пирролидин, дисульфид или тиоэфир.

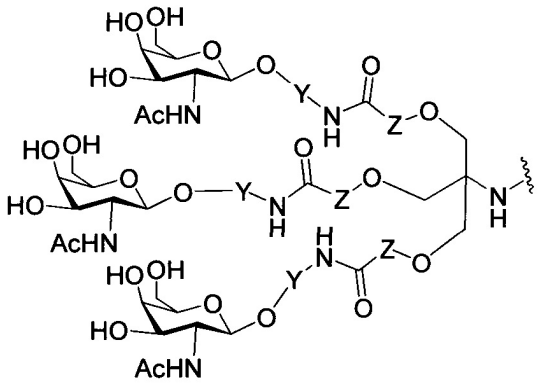
В некоторых таких вариантах реализации фрагмент группы конъюгата, нацеливающий на клетку, имеет следующую структуру:



где Y и Z независимо выбраны из C_1-C_{12} замещенной или незамещенной алкильной группы или группы, содержащей только один эфир или только два эфира, амид, амин, пиперидин, фосфат, фосфодиэфир или тиофосфат.

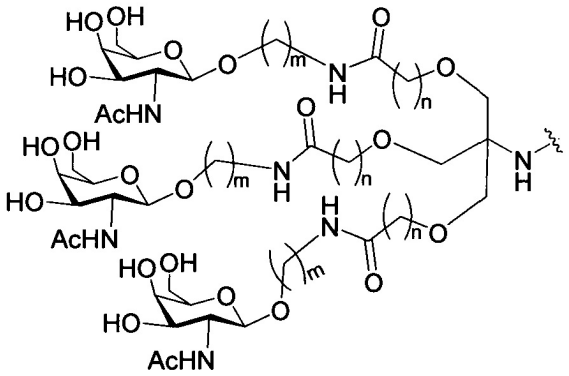
В некоторых таких вариантах реализации фрагмент группы конъюгата,

нацеливающий на клетку, имеет следующую структуру:



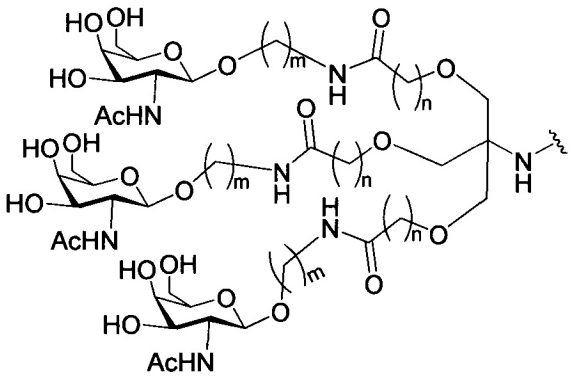
где Y и Z независимо выбраны из C_1-C_{12} замещенной или незамещенной алкильной группы.

В некоторых таких вариантах реализации фрагмент группы конъюгата, нацеливающий на клетку, имеет следующую структуру:



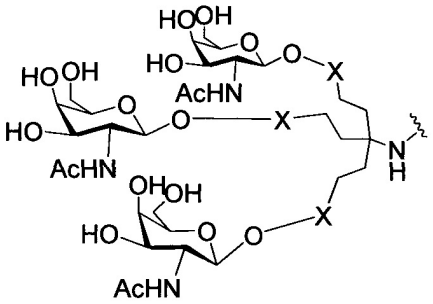
где тип независимо выбраны из 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 и 12.

В некоторых таких вариантах реализации фрагмент группы конъюгата, нацеливающий на клетку, имеет следующую структуру:



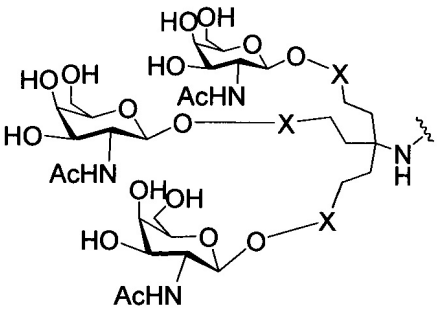
где m равен 4, 5, 6, 7 или 8, и n равен 1, 2, 3 или 4.

В некоторых вариантах реализации фрагмент группы конъюгата, нацеливающий на клетку, имеет следующую структуру:



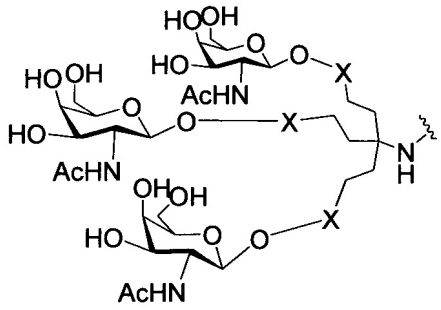
где X представляет собой замещенную или незамещенную связку из четырехтринадцати последовательно связанных атомов, и при этом X не содержит эфирную группу.

В некоторых вариантах реализации фрагмент группы конъюгата, нацеливающий на клетку, имеет следующую структуру:



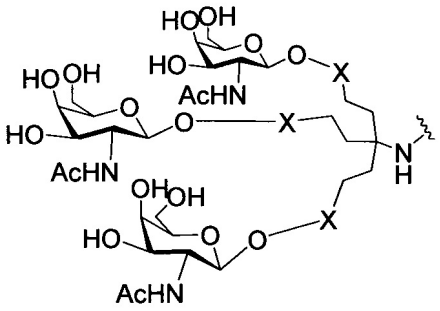
где X представляет собой замещенную или незамещенную связку из восьми последовательно связанных атомов, и при этом X не содержит эфирную группу.

В некоторых вариантах реализации фрагмент группы конъюгата, нацеливающий на клетку, имеет следующую структуру:



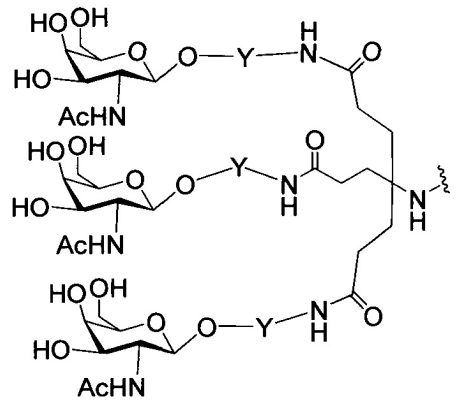
где X представляет собой замещенную или незамещенную связку из четырехтринадцати последовательно связанных атомов, и при этом указанная связка содержит только одну амидную связь, а X не содержит эфирную группу.

В некоторых вариантах реализации фрагмент группы конъюгата, нацеливающий на клетку, имеет следующую структуру:



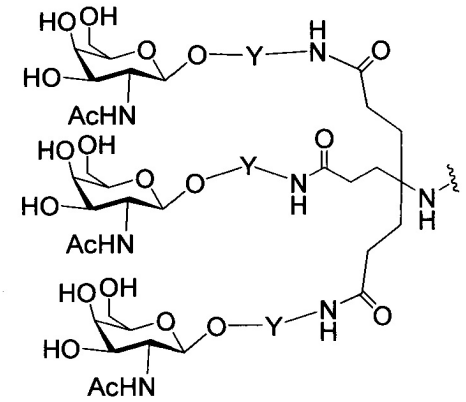
где X представляет собой замещенную или незамещенную связку из четырех-тринадцати последовательно связанных атомов, и при этом указанная связка состоит из амидной связи и замещенной или незамещенной C_2-C_{11} алкильной группы.

В некоторых вариантах реализации фрагмент группы конъюгата, нацеливающий на клетку, имеет следующую структуру:



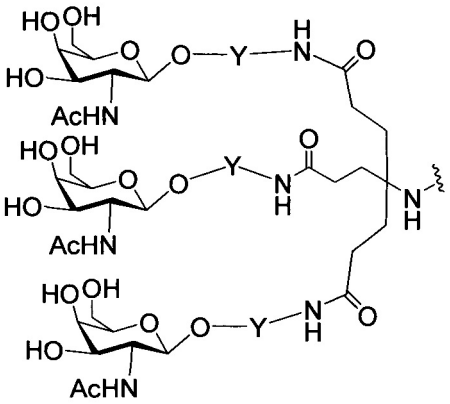
где Y выбран из C_1-C_{12} замещенной или незамещенной алкильной, алкенильной или алкинильной группы или группы, содержащей эфир, кетон, амид, сложный эфир, карбамат, амин, пиперидин, фосфат, фосфодиэфир, тиофосфат, триазол, пирролидин, дисульфид или тиоэфир.

В некоторых таких вариантах реализации фрагмент группы конъюгата, нацеливающий на клетку, имеет следующую структуру:



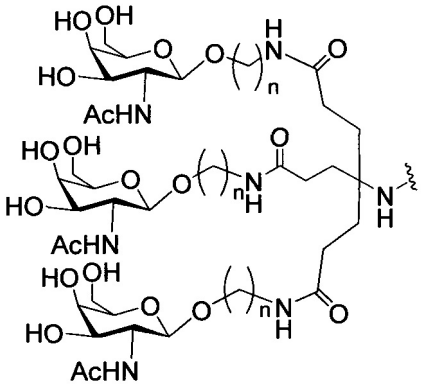
где Y выбран из C_1-C_{12} замещенной или незамещенной алкильной группы или группы, содержащей эфир, амин, пиперидин, фосфат, фосфодиэфир или тиофосфат.

В некоторых таких вариантах реализации фрагмент группы конъюгата, нацеливающий на клетку, имеет следующую структуру:



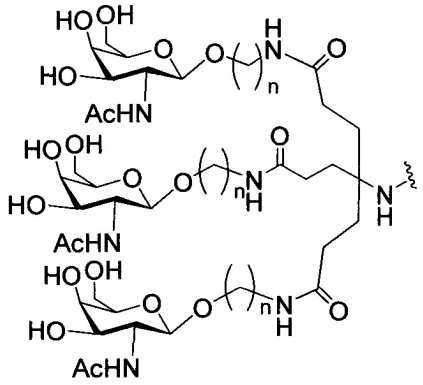
где Y выбран из C_1-C_{12} замещенной или незамещенной алкильной группы.

В некоторых таких вариантах реализации фрагмент группы конъюгата, нацеливающий на клетку, имеет следующую структуру:



где n равен 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12.

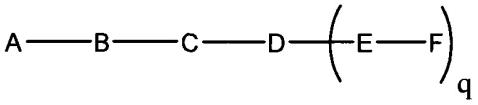
В некоторых таких вариантах реализации фрагмент группы конъюгата, нацеливающий на клетку, имеет следующую структуру:



где n равен 4, 5, 6, 7 или 8.

Некоторые сопряженные антисмысловые соединения

В некоторых вариантах реализации конъюгаты связаны с нуклеозидом антисмыслового олигонуклеотида в 2', 3' или 5' положении нуклеозида. В некоторых вариантах реализации сопряженное антисмысловое соединение имеет следующую структуру:



где

A представляет собой антисмысловой олигонуклеотид;

B представляет собой расщепляемый фрагмент

C представляет собой линкер конъюгата

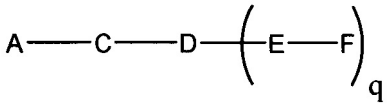
D представляет собой группу ветвления

каждый E представляет собой связку;

каждый F представляет собой лиганд; и

q представляет собой целое число от 1 до 5.

В некоторых вариантах реализации сопряженное антисмысловое соединение имеет следующую структуру:



где

A представляет собой антисмысловой олигонуклеотид;

C представляет собой линкер конъюгата

D представляет собой группу ветвления

каждый E представляет собой связку;

каждый F представляет собой лиганд; и

q представляет собой целое число от 1 до 5.

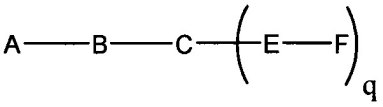
В некоторых таких вариантах реализации линкер конъюгата содержит по меньшей мере одну расщепляемую связь.

В некоторых таких вариантах реализации группа ветвления содержит по меньшей мере одну расщепляемую связь.

В некоторых вариантах реализации каждая связка содержит по меньшей мере одну расщепляемую связь.

В некоторых вариантах реализации конъюгаты связаны с нуклеозидом антисмыслового олигонуклеотида в 2', 3' или 5' положении нуклеозида.

В некоторых вариантах реализации сопряженное антисмысловое соединение имеет следующую структуру:



где

A представляет собой антисмысловой олигонуклеотид;

B представляет собой расщепляемый фрагмент

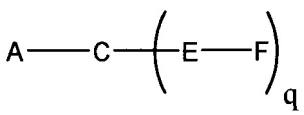
C представляет собой линкер конъюгата

каждый E представляет собой связку;

каждый F представляет собой лиганд; и

q представляет собой целое число от 1 до 5.

В некоторых вариантах реализации конъюгаты связаны с нуклеозидом антисмыслового олигонуклеотида в 2', 3' или 5' положении нуклеозида. В некоторых вариантах реализации сопряженное антисмысловое соединение имеет следующую структуру:



где

A представляет собой антисмысловой олигонуклеотид;

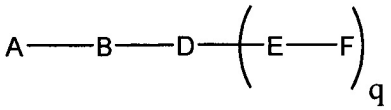
C представляет собой линкер конъюгата

каждый E представляет собой связку;

каждый F представляет собой лиганд; и

q представляет собой целое число от 1 до 5.

В некоторых вариантах реализации сопряженное антисмысловое соединение имеет следующую структуру:



где

A представляет собой антисмысловой олигонуклеотид;

B представляет собой расщепляемый фрагмент

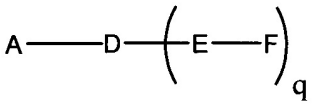
D представляет собой группу ветвления

каждый E представляет собой связку;

каждый F представляет собой лиганд; и

q представляет собой целое число от 1 до 5.

В некоторых вариантах реализации сопряженное антисмысловое соединение имеет следующую структуру:



где

A представляет собой антисмысловой олигонуклеотид;

D представляет собой группу ветвления

каждый E представляет собой связку;

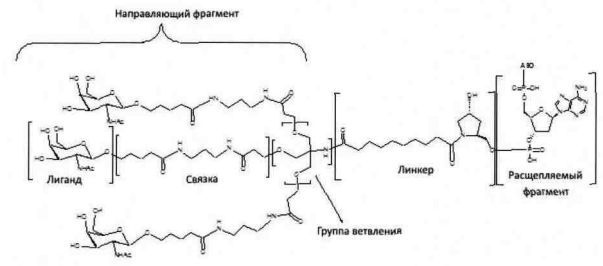
каждый F представляет собой лиганд; и

q представляет собой целое число от 1 до 5.

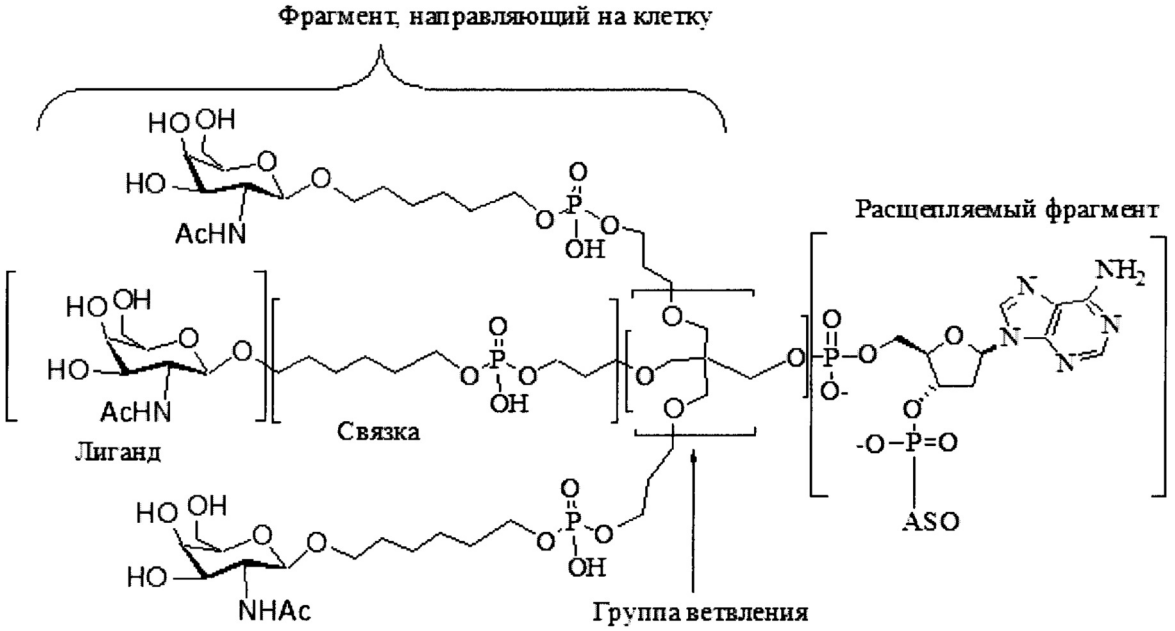
В некоторых таких вариантах реализации линкер конъюгата содержит по меньшей мере одну расщепляемую связь.

В некоторых вариантах реализации каждая связка содержит по меньшей мере одну расщепляемую связь.

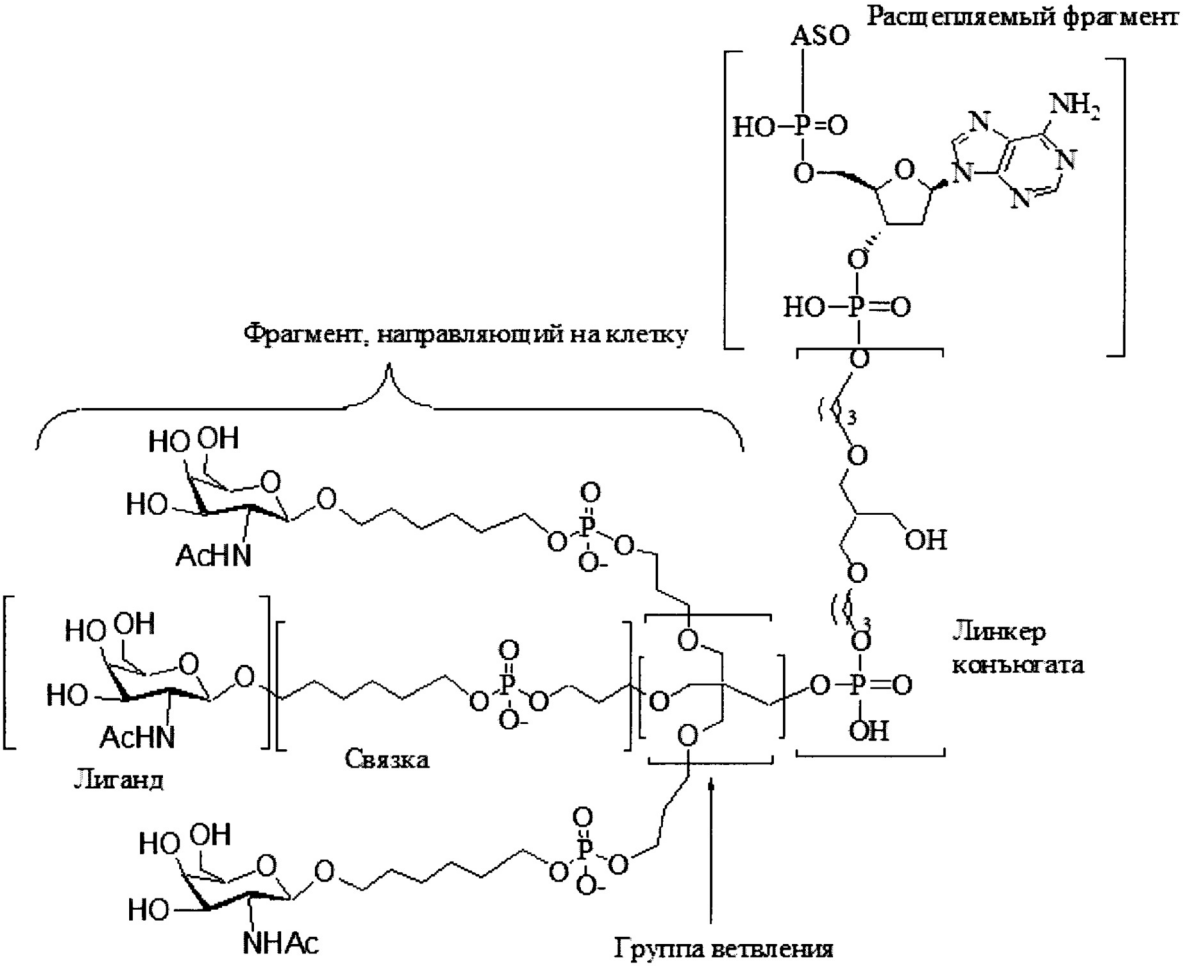
В некоторых вариантах реализации сопряженное антисмысловое соединение имеет структуру, выбранную из следующих:



В некоторых вариантах реализации сопряженное антисмысловое соединение имеет структуру, выбранную из следующих:



В некоторых вариантах реализации сопряженное антисмысловое соединение имеет структуру, выбранную из следующих:



Иллюстративные патенты Соединенных штатов Америки, публикации патентных заявок Соединенных штатов Америки и публикации международных патентных заявок, в которых описано получение некоторых из указанных выше конъюгатов, сопряженных

антисмысловых соединений, связок, линкеров, групп ветвления, лигандов, расщепляемых фрагментов, а также других модификаций, включают, без ограничения, US 5994517, US 6300319, US 6660720, US 6906182, US 7262177, US 7491805, US 8106022, US 7723509, US 2006/0148740, US 2011/0123520, WO 2013/033230 и WO 2012/037254, каждая из которых включена в настоящий документ посредством ссылки в полном объеме.

Иллюстративные публикации, в которых описано получение некоторых из указанных выше конъюгатов, сопряженных антисмысловых соединений, связок, линкеров, групп ветвления, лигандов, расщепляемых фрагментов, а также других модификаций, включают, без ограничения, BIESSEN et al., "The Cholesterol Derivative of a Triantennary Galactoside with High Affinity for the Hepatic Asialoglycoprotein Receptor: a Potent Cholesterol Lowering Agent" J. Med. Chem. (1995) 38:1846-1852, BIESSEN et al., "Synthesis of Cluster Galactosides with High Affinity for the Hepatic Asialoglycoprotein Receptor" J. Med. Chem. (1995) 38:1538-1546, LEE et al., "New and more efficient multivalent glyco-ligands for asialoglycoprotein receptor of mammalian hepatocytes" Bioorganic & Medicinal Chemistry (2011) 19:2494-2500, RENSEN et al., "Determination of the Upper Size Limit for Uptake and Processing of Ligands by the Asialoglycoprotein Receptor on Hepatocytes in vitro and in vivo" J. Biol. Chem. (2001) 276(40):37577-37584, RENSEN et al., "Design and Synthesis of Novel N-Acetylgalactosamine-Terminated Glycolipids for Targeting of Lipoproteins to the Hepatic Asialoglycoprotein Receptor" J. Med. Chem. (2004) 47:5798-5808, SLIEDREGT et al., "Design and Synthesis of Novel Amphiphilic Dendritic Galactosides for Selective Targeting of Liposomes to the Hepatic Asialoglycoprotein Receptor" J. Med. Chem. (1999) 42:609-618, и Valentijn et al., "Solid-phase synthesis of lysine-based cluster galactosides with high affinity for the Asialoglycoprotein Receptor" Tetrahedron, 1997, 53(2), 759-770, каждый из которых включен в настоящий документ посредством ссылки в полном объеме.

В некоторых вариантах реализации сопряженные антисмысловые соединения содержат олигонуклеотид на основе РНКазы Н (такой как гэпмер) или сплайс-модулирующий олигонуклеотид (такой как полностью модифицированный олигонуклеотид) и любую группу конъюгата, содержащую по меньшей мере одну, две или три группы GalNAc. В некоторых вариантах реализации сопряженное антисмысловое соединение содержит любую группу конъюгата, описанную в любой из следующих ссылок: Lee, Carbohydr Res, 1978, 67, 509-514; Connolly et al., J Biol Chem, 1982, 257, 939-945; Pavia et al., Int J Pep Protein Res, 1983, 22, 539-548; Lee et al., Biochem, 1984, 23, 4255-4261; Lee et al., Glycoconjugate J, 1987, 4, 317-328; Toyokuni et al., Tetrahedron Lett, 1990, 31, 2673-2676; Biessen et al., J Med Chem, 1995, 38, 1538-1546; Valentijn et al., Tetrahedron, 1997, 53, 759-770; Kim et al., Tetrahedron Lett, 1997, 38, 3487-3490; Lee et al., Bioconjug Chem, 1997, 8, 762-765; Kato et al., Glycobiol, 2001, 11, 821-829; Rensen et al., J Biol Chem, 2001, 276, 37577-37584; Lee et al., Methods Enzymol, 2003, 362, 38-43; Westerlind et al., Glycoconj J, 2004, 21, 227-241; Lee et al., Bioorg Med Chem Lett, 2006, 16(19), 5132-5135; Maierhofer et al., Bioorg Med Chem, 2007, 15, 7661-7676; Khorev et al., Bioorg Med Chem, 2008, 16, 5216-5231; Lee et al., Bioorg Med Chem, 2011, 19, 2494-2500; Kornilova et al., Analyt Biochem, 2012, 425, 43-46; Pujol et al., Angew Chemie Int Ed Engl, 2012, 51, 7445-7448; Biessen et al., J Med Chem, 1995, 38, 1846-1852; Sliedregt et al., J Med Chem, 1999, 42, 609-618; Rensen et al., J Med Chem, 2004, 47, 5798-5808; Rensen et al., Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2006, 26, 169-175; van Rossenberg et al., Gene Ther, 2004, 11, 457-464; Sato et al., J Am Chem Soc, 2004, 126, 14013-14022; Lee et al., J Org Chem, 2012, 77, 7564-7571; Biessen et al., FASEB J, 2000, 14, 1784-1792; Rajur et al., Bioconjug Chem, 1997, 8, 935-940; Duff et al., Methods Enzymol, 2000, 313, 297-321; Maier et al., Bioconjug Chem, 2003, 14, 18-29; Jayaprakash et al., Org Lett, 2010, 12, 5410-5413; Manoharan, Antisense Nucleic Acid Drug Dev, 2002, 12, 103-128; Merwin

et al., Bioconjug Chem, 1994, 5, 612-620; Tomiya et al., Bioorg Med Chem, 2013, 21, 5275-5281; в международных заявках WO 1998/013381; WO 2011/038356; WO 1997/046098; WO 2008/098788; WO 2004/101619; WO 2012/037254; WO 2011/120053; WO 2011/100131; WO 2011/163121; WO 2012/177947; WO 2013/033230; WO 2013/075035; WO 2012/083185; WO 2012/083046; WO 2009/082607; WO 2009/134487; WO 2010/144740; WO 2010/148013; WO 1997/020563; WO 2010/088537; WO 2002/043771; WO 2010/129709; WO 2012/068187; WO 2009/126933; WO 2004/024757; WO 2010/054406; WO 2012/089352; WO 2012/089602; WO 2013/166121; WO 2013/165816; в патентах 4751219; 8552163; 6908903; 7262177; 5994517; 6300319; 8106022; 7491805; 7491805; 7582744; 8137695; 6383812; 6525031; 6660720; 7723509; 8541548; 8344125; 8313772; 8349308; 8450467; 8501930; 8158601; 7262177; 6906182; 6620916; 8435491; 8404862; 7851615; в опубликованных заявках на патент США US 2011/0097264; US 2011/0097265; US 2013/0004427; US 2005/0164235; US 2006/0148740; US 2008/0281044; US 2010/0240730; US 2003/0119724; US 2006/0183886; US 2008/0206869; US 2011/0269814; US 2009/0286973; US 2011/0207799; US 2012/0136042; US 2012/0165393; US 2008/0281041; US 2009/0203135; US 2012/003 5115; US 2012/0095075; US 2012/0101148; US 2012/0128760; US 2012/0157509; US 2012/0230938; US 2013/0109817; US 2013/0121954; US 2013/0178512; US 2013/0236968; US 2011/0123520; US 2003/0077829; US 2008/0108801; и US 2009/0203132; полное содержание которых включено в настоящий документ посредством ссылки.

Клеточная культура и лечение антисмысловыми соединениями

Влияние антисмысловых соединений на уровень, активность или экспрессию нуклеиновых кислот ПКП может быть испытано in vitro на различных типах клеток. Различные типы клеток, используемые для таких анализов, имеются в продаже у коммерческих поставщиков (например, Американская коллекция типов культур (ATCC), Манассас, штат Вирджиния; Zen-Bio, Inc., Research Triangle Park, штат Северная Каролина; Clonetics Corporation, Уолкерсвиль, штат Мэриленд) и культивируются согласно инструкциям производителей с применением коммерчески доступных реагентов (например. Life Technologies, Карлсбад, штат Калифорния). Иллюстративные типы клеток включают, но не ограничиваются ими, клетки HepaRG™T и первичные гепатоциты мыши.

Тестирование антисмысловых олигонуклеотидов in vitro

Описываемые в настоящем документе способы лечения клеток с помощью антисмысловых олигонуклеотидов могут быть изменены соответствующим образом для лечения другими антисмысловыми соединениями.

Клетки могут быть обработаны антисмысловыми олигонуклеотидами при 60-80% уровне конфлюентности в культуре.

Реагент, используемый для введения антисмысловых олигонуклеотидов в культивируемые клетки, включает катионный липидный трансфекционный реагент LIPOFECTIN (Life Technologies, Карлсбад, штат Калифорния). Антисмысловые олигонуклеотиды могут быть смешаны с LIPOFECTIN в OPTI-MEM 1 (Life Technologies, Карлсбад, штат Калифорния) для достижения желаемой конечной концентрации антисмысловых олигонуклеотидов и концентрации LIPOFECTIN в пределах от 2 до 12 мкг/мл при 100 нМ антисмыслового олигонуклеотида.

Другой реагент, используемый для введения антисмысловых олигонуклеотидов в культивируемые клетки, включает LIPOFECTAMINE (Life Technologies, Карлсбад, штат Калифорния). Антисмысловой олигонуклеотид смешивают с LIPOFECTAMINE в среде OPTI-MEM 1 со сниженным содержанием сыворотки (Life Technologies, Карлсбад, штат Калифорния) для достижения желаемой концентрации антисмысловых олигонуклеотидов и концентрации LIPOFECTAMINE в пределах от 2 до 12 мкг/мл при 100 нМ

антисмыслового олигонуклеотида.

Другая технология, используемая для введения антисмысловых олигонуклеотидов в культивируемые клетки, включает электропорацию.

Еще одна технология, используемая для введения антисмысловых олигонуклеотидов в культивируемые клетки, включает свободный захват олигонуклеотидов клетками.

Клетки обрабатывают антисмысловыми олигонуклеотидами с помощью стандартных способов. Клетки могут быть собраны через 16-24 часов после обработки антисмысловым олигонуклеотидом, после чего уровни РНК или белков нуклеиновых кислот-мишеней измеряют методами, известными в данной области техники и описанными в настоящем документе. Как правило, если обработку проводят в нескольких повторениях, данные представляют как среднее значение для многократных обработок.

Концентрация используемого антисмыслового олигонуклеотида варьируется в зависимости от линии клеток. Способы определения оптимальной концентрации антисмыслового олигонуклеотидна для конкретной линии клеток хорошо известны в данной области техники. Антисмысловые олигонуклеотиды обычно используют в концентрациях от 1 нМ до 300 нМ, при трансфекции с использованием LIPOFECTAMINE. Антисмысловые олигонуклеотиды используют в более высоких концентрациях в диапазоне от 625 до 20000 нМ при трансфекции с использованием электропорации.

Выделение РНК

Анализ РНК может быть проведен на общей клеточной РНК или поли(А)+ мРНК. Способы выделения РНК хорошо известны в данной области техники. РНК получают с использованием способов, хорошо известных в данной области техники, например, с использованием реагента TRIZOL (Life Technologies, Карлсбад, штат Калифорния) по рекомендуемым протоколам производителя.

Анализ ингибирования целевых уровней или экспрессии

Ингибирование уровней или экспрессии нуклеиновой кислоты ПКП может быть проанализировано различными способами, известными в данной области техники. Например, уровни целевой нуклеиновой кислоты могут быть количественно измерены, например, нозерн-блоттингом, конкурентной полимеразной цепной реакцией (ПЦР) или количественной ПЦР в реальном времени. Анализ РНК может быть проведен на общей клеточной РНК или поли(А)+ мРНК. Способы выделения РНК хорошо известны в данной области техники. Нозерн-блоттинг также является общепринятым в данной области техники. Количественная ПЦР в реальном времени может быть удобно выполнена с помощью имеющихся в продаже систем обнаружения последовательностей ABI PRISM 7600, 7700, или 7900 производства компании PE-Applied Biosystems, Фостер-Сити, штат Калифорния, и используемых в соответствии с инструкциями производителя.

Количественная ПЦР в реальном времени анализ уровней целевой РНК

Количественное определение уровней целевой РНК может быть проведено путем количественной ПЦР в реальном времени с использованием систем обнаружения последовательностей ABI PRISM 7600, 7700 или 7900 (PE-Applied Biosystems, Фостер-Сити, штат Калифорния) в соответствии с инструкциями производителя. Способы количественной ПЦР в реальном времени хорошо известны в данной области техники.

Перед проведением ПЦР в реальном времени изолированную РНК подвергают реакции обратной транскрипции (ОТ), которая производит комплементарную ДНК (кДНК), которую затем используют в качестве субстрата для амплификации в ПЦР в реальном времени. Реакции ОТ и ПЦР в реальном времени проводят последовательно в одном и том же образце. Реагенты для ОТ и ПЦР в реальном времени могут быть

приобретены у компании Life Technologies (Карлсбад, штат Калифорния). Реакции ОТ и ПЦР в реальном времени проводят способами, хорошо известными специалистам в данной области техники.

Количества гена-мишени (или РНК), полученные путем ПЦР в реальном времени, нормализуют с использованием либо уровня экспрессии гена, экспрессия которого постоянна, такого как циклофилин А, или на основе количественной оценки суммарной РНК с использованием реагента RIBOGREEN (Life Technologies, Inc. Карлсбад, штат Калифорния). Экспрессию циклофилина А количественно определяют с помощью ПЦР в реальном времени, которую проводят одновременно с мишенью, мультиплексно или отдельно. Общую РНК количественно определяют с помощью реагента для количественного определения РНК RIBOGREEN (Invetrogen, Inc. Юджин, штат Орегон). Способы количественного определения РНК с использованием RIBOGREEN изложены в in Jones, L.J., et al, (Analytical Biochemistry, 1998, 265, 368-374). Для измерения флуоресценции RIBOGREEN используют прибор CYTOFLUOR 4000 (PE Applied Biosystems).

Зонды и праймеры конструируют для гибридизации с нуклеиновой кислотой ПКП. Способы конструирования зондов и праймеров для ПЦР в реальном времени хорошо известны в данной области техники, и могут включать использование программного обеспечения, такого как PRIMER EXPRESS (Applied Biosystems, Фостер-Сити, штат Калифорния).

Анализ уровней белка

Антисмысловое ингибирование нуклеиновых кислот ПКП может быть оценено путем измерения уровней белка ПКП. Уровни белка ПКП могут быть оценены или количественно измерены различными способами, хорошо известными в данной области техники, такими как иммунопреципитация, вестерн-блоттинг (иммуноблоттинг), иммуноферментный анализ (ELISA), количественный анализ белка, анализ активности белка (например, анализ активности каспазы), иммуногистохимия, иммуноцитохимия или сортировка флуоресцентно-активированных клеток (FACS). Антитела, направленные на мишень, могут быть идентифицированы и получены из различных источников, таких как каталог антител MSRS (Aerie Corporation, Бирмингем, штат Мичиган), или могут быть получены с помощью обычных способов генерации моноклональных или поликлональных антител, хорошо известных в данной области техники.

Тестирование антисмысловых соединений in vivo

Антисмысловые соединения, например, антисмысловые олигонуклеотиды, испытывали на животных с целью оценки их способности ингибировать экспрессию ПКП и производить фенотипические изменения.

В некоторых вариантах реализации такие фенотипические изменения включают изменения, связанные с воспалительным заболеванием, например, уменьшение воспаления, отека/припухлости, сосудистой проницаемости и транссудации. В некоторых вариантах реализации воспаление оценивают путем измерения увеличения или уменьшения опухоли, температуры, боли, цвета ткани и абдоминальной функции у животного.

В некоторых вариантах реализации такие фенотипические изменения включают изменения, связанные с тромбоэмболическим заболеванием, такие как увеличенное активированное частичное тромбопластиновое время (aPTT), увеличенное время aPTT в сочетании с нормальным протромбиновым временем (PT), сниженное количество тромбоцитарного фактора 4 (PF-4) и сниженное образование тромбов или увеличенное время образования тромбов.

Тестирование быть проведено на здоровых животных или в экспериментальных моделях заболеваний. Для введения животным антисмысловые олигонуклеотиды составляли с фармацевтически приемлемым разбавителем, таким как фосфатно-солевой буфер. Введение включает парентеральные пути введения, такие как внутрибрюшинное, внутривенное и подкожное. Расчет дозы и частоты введения антисмыслового олигонуклеотида известен специалистам в данной области техники и зависит от таких факторов, как способ введения и масса тела животного. После периода лечения с помощью антисмысловых олигонуклеотидов, РНК выделяют из печеночной ткани и измеряют изменения экспрессии нуклеиновой кислоты ПКП.

Некоторые показания

В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения предложены способы лечения индивидуума, включающие введение одной или более фармацевтических композиций, описанных в настоящем документе.

В некоторых вариантах реализации индивидуум страдает воспалительным заболеванием. В некоторых вариантах реализации индивидуум имеет риск развития воспалительного состояния, включая, но не ограничиваясь ими, наследственный ангионевротический отек (HAE), отек, ангионевротический отек, припухлость, ангионевротический отек век, отек глаза, отек желтого пятна и отек мозга. Сюда относятся индивидуумы с приобретенным нарушением, заболеванием или расстройством, которое приводит к риску воспаления, например, генетическая предрасположенность к воспалительному состоянию, факторы окружающей среды и воздействие некоторых лекарственных средств, включая, например, ингибиторы ACE и ARB. В некоторых вариантах реализации у субъекта идентифицирована необходимость в противовоспалительной терапии. Примеры таких индивидуумов включают, но не ограничиваются ими, индивидуумов, имеющих мутацию в генетическом коде для ингибитора эстеразы комплемента 1 (т.е. C1-INH) или фактора 12. В некоторых вариантах реализации патологический код может приводить к дефициту C1-INH (т.е. HAE типа I), неспособности существующего C1-INH к надлежащему функционированию (HAE типа II) или гиперфункциональному фактору 12 (т.е. HAE типа III).

В некоторых вариантах реализации индивидуум страдает тромбоэмболическим заболеванием. В некоторых вариантах реализации индивидуум имеет риск расстройства свертываемости крови, включая, но не ограничиваясь ими, инфаркт, тромбоз, эмболию, тромбоэмболию, такую как тромбоз глубокой вены, легочную эмболию, инфаркт миокарда и инсульт. Сюда относятся индивидуумы с приобретенным нарушением, заболеванием или расстройством, которое приводит к риску тромбоза, например, хирургическое вмешательство, рак, ограничение подвижности, сепсис, атеросклероз, мерцание предсердий, а также с генетической предрасположенностью, например, антифосфолипидным синдромом и аутосомальным доминирующим состоянием, Фактором V Ляйдена. В некоторых вариантах реализации у субъекта идентифицирована необходимость в антикоагуляционной терапии. Примеры таких индивидуумов включают, но не ограничиваются ими, тех, кто подвергается обширному ортопедическому хирургическому вмешательству (например, замена тазобедренного/коленного сустава или хирургическое лечение перелома бедра), и пациентов, нуждающихся в хроническом лечении, например, страдающих от мерцания предсердий, для предупреждения инсульта.

В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения предложены способы профилактического снижения экспрессии ПКП у индивидуума. Некоторые варианты реализации включают лечение индивидуума, нуждающегося в этом, путем введения индивидууму терапевтически эффективного количества антисмыслового соединения к

нуклеиновой кислоте ПКП.

В одном варианте реализации введение терапевтически эффективного количества антисмыслового соединения к нуклеиновой кислоте ПКП сопровождается мониторингом уровней ПКП в сыворотке индивидуума для определения индивидуальной реакции на введение антисмыслового соединения. Реакцию индивидуума на введение антисмыслового соединения врач использует для определения объема и продолжительности терапевтического вмешательства.

В некоторых вариантах реализации введение антисмыслового соединения, направленного на нуклеиновую кислоту ПКП, приводит к снижению экспрессии ПКП на по меньшей мере 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 или 99%, или на значение в диапазоне между любыми двумя из указанных значений. В некоторых вариантах реализации фармацевтические композиции, содержащие антисмысловое соединение, направленное на ПКП, используют для получения лекарственного средства для лечения пациента, страдающего или предрасположенного к воспалительному заболеванию или тромбоэмболическому заболеванию.

Некоторые композиции

1. ISIS 546254

В некоторых вариантах реализации ISIS 546254 охарактеризован как 5-10-5 MOE гэпмер, имеющий последовательность (от 5' к 3') TGCAAGTCTCTTGGCAAACA (включенную в настоящий документ как SEQ ID NO: 570), где каждая межнуклеозидная связь представляет собой тиофосфатную связь, каждый цитозин представляет собой 5'-метилцитозин, каждый из нуклеозидов 1-5 и 16-20 представляет собой 2'-О-метоксиэтил-модифицированный нуклеозид, и каждый из нуклеозидов 6-15 представляет собой 2'-дезоксинуклеозид.

В некоторых вариантах реализации ISIS 546254 описан следующей химической записью: Tes Ges mCes Aes Aes Gds Tds mCds Tds mCds Tds Tds Gds Gds mCds Aes Aes Aes mCes Ae; где

A = аденин,

mC = 5'-метилцитозин

G = гуанин,

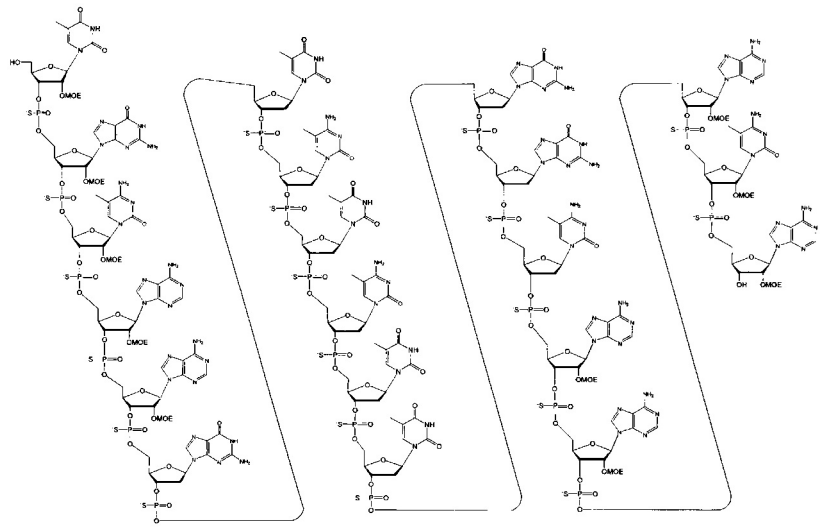
T = тимин,

e = 2'-О-метоксиэтил-модифицированный нуклеозид,

d = 2'-дезоксинуклеозид, и

s = тиофосфатная межнуклеозидная связь.

В некоторых вариантах реализации ISIS 546254 описан следующей химической структурой:



Структура 1. ISIS 546254

В некоторых вариантах реализации, как показано в Примере 2 (далее), ISIS 546254 обеспечивает достижение 95% ингибирования мРНК человеческого ПКП в культивированных клетках HepaRG™ (плотность 20000 клеток на лунку) при трансфекции с использованием электропорации с 5000 нМ антисмыслового олигонуклеотида после 24-часового периода обработки, измеренное с помощью количественной ПЦР в реальном времени с использованием набора человеческих праймерных зондов RTS3454 и скорректированное в соответствии с общим содержанием РНК, измеренным с помощью RIBOGREEN®.

В некоторых вариантах реализации, как показано в Примере 5 (см. таблицы 34 и 41, далее), ISIS 546254 обеспечивает достижение IC_{50} 0,2 мкМ и 0,3 мкМ на 4-точечной кривой зависимости ответа от дозы (0,19 мкМ, 0,56 мкМ, 1,67 мкМ и 5,0 мкМ) в культивированных клетках HepaRG™ (плотность 20000 клеток на лунку) при трансфекции с использованием электропорации после 16-часового периода обработки, измеренное с помощью количественной ПЦР в реальном времени с использованием набора человеческих праймерных зондов RTS3454 и скорректированное в соответствии с общим содержанием РНК, измеренным с помощью RIBOGREEN®.

В некоторых вариантах реализации изобретения, как описано в Примере 7 (ниже), ISIS 546254 обеспечивает ингибирование мРНК ПКП человека на 31%, 55%, 84% и 83% и ингибирование белка ПКП человека на 0%, 36%, 51% и 76% у трансгенных мышей, несущих последовательность гена ПКП человека, после подкожной инъекции ISIS 546254 два раза в неделю в течение 3 недель в дозе 2,5 мг/кг/неделю, 5,0 мг/кг/неделю, 10 мг/кг/неделю или 20 мг/кг/неделю.

В некоторых вариантах реализации, как показано в Примере 8 (ниже), ISIS 546254 является эффективным для ингибирования мРНК ПКП и экспрессии белка, и является переносимым у приматов.

2. ISIS 546343

В некоторых вариантах реализации ISIS 546343 охарактеризован как 5-10-5 MOE гэпмер, имеющий последовательность (от 5' к 3') CCCCCTTCTTTATAGCCAGC (включенную в настоящий документ как SEQ ID NO: 705), где каждая межнуклеозидная связь представляет собой тиофосфатную связь, каждый цитозин представляет собой 5'-метилцитозин, каждый из нуклеозидов 1-5 и 16-20 представляет собой 2'-О-метоксиэтил-модифицированный нуклеозид, и каждый из нуклеозидов 6-15 представляет собой 2'-дезоксинуклеозид.

В некоторых вариантах реализации ISIS 546343 описан следующей химической записью: mCes mCes mCes mCes mCes Tds Tds mCds Tds Tds Tds Ads Tds Ads Gds mCes mCes Aes Ges mCe; где

A = аденин,

mC = 5'-метилцитозин;

G = гуанин,

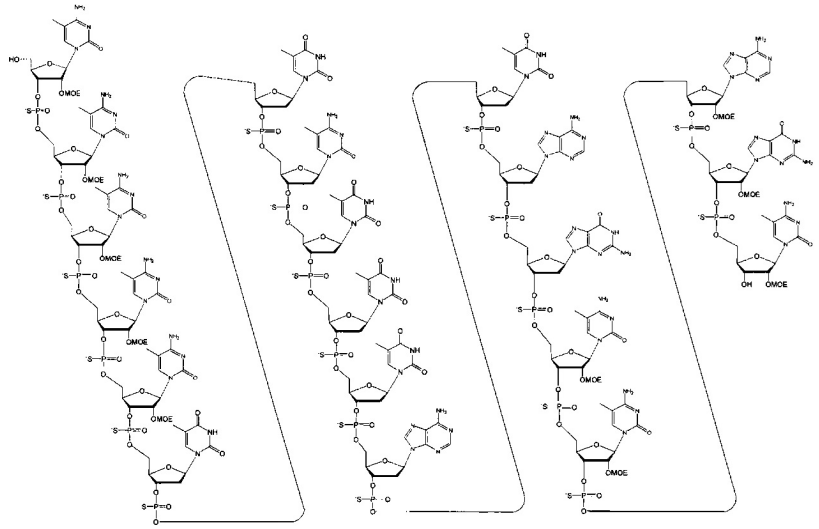
T = тимин,

e = 2'-O-метоксиэтил-модифицированный нуклеозид,

d = 2'-дезоксинуклеозид, и

s = тиофосфатная межнуклеозидная связь.

В некоторых вариантах реализации ISIS 546343 описан следующей химической структурой:



Структура 2. ISIS 546343

В некоторых вариантах реализации, как показано в Примере 2 (см таблицы 9 и 10, далее), ISIS 546343 обеспечивает достижение 97% и 91% ингибирования мРНК человеческого ПКП в культивированных клетках HepaRG™ (плотность 20000 клеток на лунку) при трансфекции с использованием электропорации с 5000 нМ антисмыслового олигонуклеотида после 24-часового периода обработки, измеренное с помощью количественной ПЦР в реальном времени с использованием набора человеческих праймерных зондов RTS3454 и скорректированное в соответствии с общим содержанием РНК, измеренным с помощью RIBOGREEN®.

В некоторых вариантах реализации, как дважды показано в Примере 5 (см. таблицы 34 и 41, далее), ISIS 546343 обеспечивает достижение IC_{50} 0,4 мкМ на 4-точечной кривой зависимости ответа от дозы (0,19 мкМ, 0,56 мкМ, 1,67 мкМ и 5,0 мкМ) в культивированных клетках HepaRG™ (плотность 20000 клеток на лунку) при трансфекции с использованием электропорации после 16-часового периода обработки, измеренное с помощью количественной ПЦР в реальном времени с использованием набора человеческих праймерных зондов RTS3454 и скорректированное в соответствии с общим содержанием РНК, измеренным с помощью RIBOGREEN®.

В некоторых вариантах реализации изобретения, как описано в Примере 7 (ниже), ISIS 546343 обеспечивает ингибирование мРНК ПКП человека на 46%, 66% и 86% и ингибирование белка ПКП человека на 0%, 38% и 79% у трансгенных мышей, несущих последовательность гена ПКП человека, после подкожной инъекции ISIS 546343 два

раза в неделю в течение 3 недель в дозе 2,5 мг/кг/неделю, 5,0 мг/кг/неделю, 10 мг/кг/неделю или 20 мг/кг/неделю.

В некоторых вариантах реализации, как показано в Примере 8 (ниже), ISIS 546343 является эффективным для ингибирования мРНК ПКП и экспрессии белка, и является переносимым у приматов.

3. ISIS 548048

В некоторых вариантах реализации ISIS 548048 охарактеризован как модифицированный антисмысловой олигонуклеотид, имеющий последовательность азотистых оснований (от 5' к 3') CGATATCATGATTCCC (включенную в настоящий документ как SEQ ID NO: 1666), состоящий из комбинации шестнадцати 2'-дезоксинуклеозидов, 2'-O-метоксиэтил-модифицированных нуклеозидов и модифицированных cEt нуклеозидов, причем каждый из нуклеозидов 1, 2 и 16 представляет собой 2'-O-метоксиэтил-модифицированный нуклеозид, и при этом каждый из нуклеозидов 3, 14 и 15 представляет собой модифицированный cEt нуклеозид, причем каждый из нуклеозидов 4-13 представляет собой 2'-дезоксинуклеозид, и каждая межнуклеозидная связь представляет собой тиофосфатную межнуклеозидную связь, и каждый цитозин представляет собой 5'-метилцитозин.

В некоторых вариантах реализации ISIS 548048 описан следующей химической записью: mCes Ges Aks Tds Ads Tds mCds Ads Tds Gds Ads Tds Tds mCks mCks mCe; где

A = аденин,

mC = 5'-метилцитозин;

G = гуанин,

T = тимин,

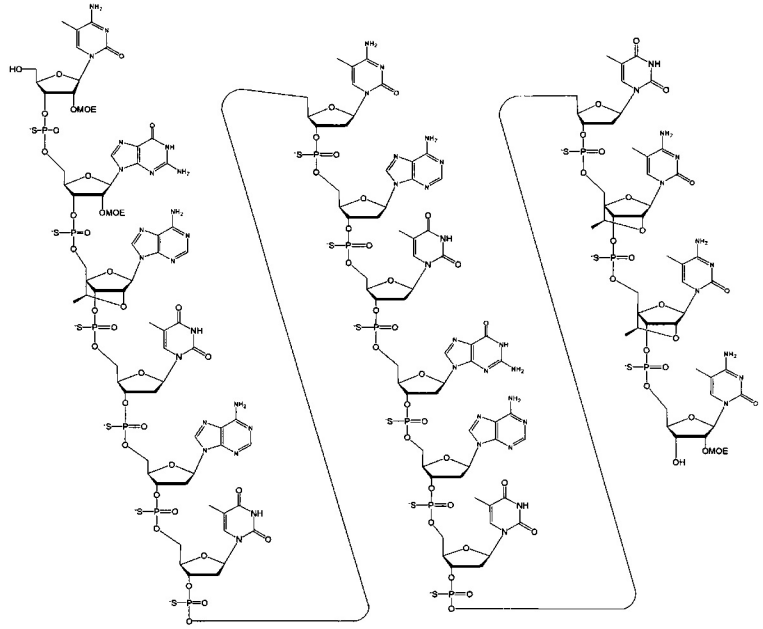
e = 2'-O-метоксиэтил-модифицированный нуклеозид,

k = модифицированный cEt нуклеозид,

d = 2'-дезоксинуклеозид, и

s = тиофосфатная межнуклеозидная связь.

В некоторых вариантах реализации ISIS 548048 описан следующей химической структурой:



Структура 3. ISIS 548048

В некоторых вариантах реализации, как показано в Примере 3 (далее), ISIS 548048 обеспечивает достижение 84% ингибирования мРНК в культивированных клетках

HepaRG™ (плотность 20000 клеток на лунку) при трансфекции с использованием электропорации с 1000 нМ антисмыслового олигонуклеотида после 24-часового периода обработки, измеренное с помощью количественной ПЦР в реальном времени с использованием набора человеческих праймерных зондов RTS3454 и скорректированное в соответствии с общим содержанием РНК, измеренным с помощью RIBOGREEN®.

В некоторых вариантах реализации, как показано в Примере 6 (далее), ISIS 548048 обеспечивает достижение IC_{50} 0,1 мкМ на 4-точечной кривой зависимости ответа от дозы (0,11 мкМ, 0,33 мкМ, 1,00 мкМ и 3,00 мкМ) в культивированных клетках HepaRG™ (плотность 20000 клеток на лунку) при трансфекции с использованием электропорации после 16-часового периода обработки, измеренное с помощью количественной ПЦР в реальном времени с использованием набора человеческих праймерных зондов RTS3454 и скорректированное в соответствии с общим содержанием РНК, измеренным с помощью RIBOGREEN®.

В некоторых вариантах реализации изобретения, как описано в Примере 7 (ниже), ISIS 548048 обеспечивает ингибирование мРНК ПКП человека на 7%, 77%, 72% и 80% и ингибирование белка ПКП человека на 23%, 70%, 89% и 98% у трансгенных мышей, несущих последовательность гена ПКП человека, после подкожной инъекции ISIS 548048 два раза в неделю в течение 3 недель в дозе 2,5 мг/кг/неделю, 5,0 мг/кг/неделю, 10 мг/кг/неделю или 20 мг/кг/неделю.

В некоторых вариантах реализации, как показано в Примере 8 (ниже), ISIS 548048 является эффективным для ингибирования мРНК ПКП и экспрессии белка, и является переносимым у приматов.

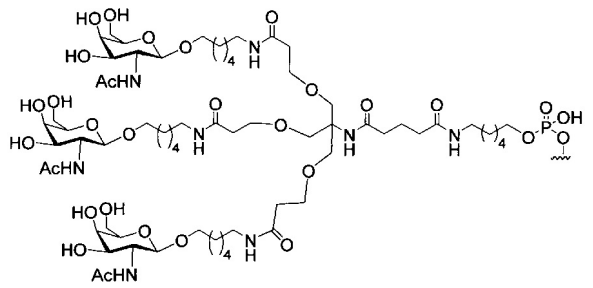
4. ISIS 721744

В некоторых вариантах реализации ISIS 721744 охарактеризован как 5-10-5 MOE гэпмер, имеющий последовательность (от 5' к 3') TGCAAGTCTCTTGGCAAACA (включенную в настоящий документ как SEQ ID NO: 570), где межнуклеозидные связи между нуклеозидами 3 и 4, 4 и 5, 16 и 17, и 17 и 18 представляют собой фосфодиэфирные связи, и межнуклеозидные связи между нуклеозидами 1 и 2, 2 и 3, 5 и 6, 6 и 7, 7 и 8, 8 и 9, 9 и 10, 10 и 11, 11 и 12, 12 и 13, 13 и 14, 14 и 15, 15 и 16, 18 и 19, и 19 и 20 представляют собой тиофосфатные связи, каждый цитозин представляет собой 5'-метилцитозин, каждый из нуклеозидов 1-5 и 16-20 представляет собой 2'-О-метоксиэтил-модифицированный нуклеозид, и каждый из нуклеозидов 6-15 представляет собой 2'-дезоксинуклеозид.

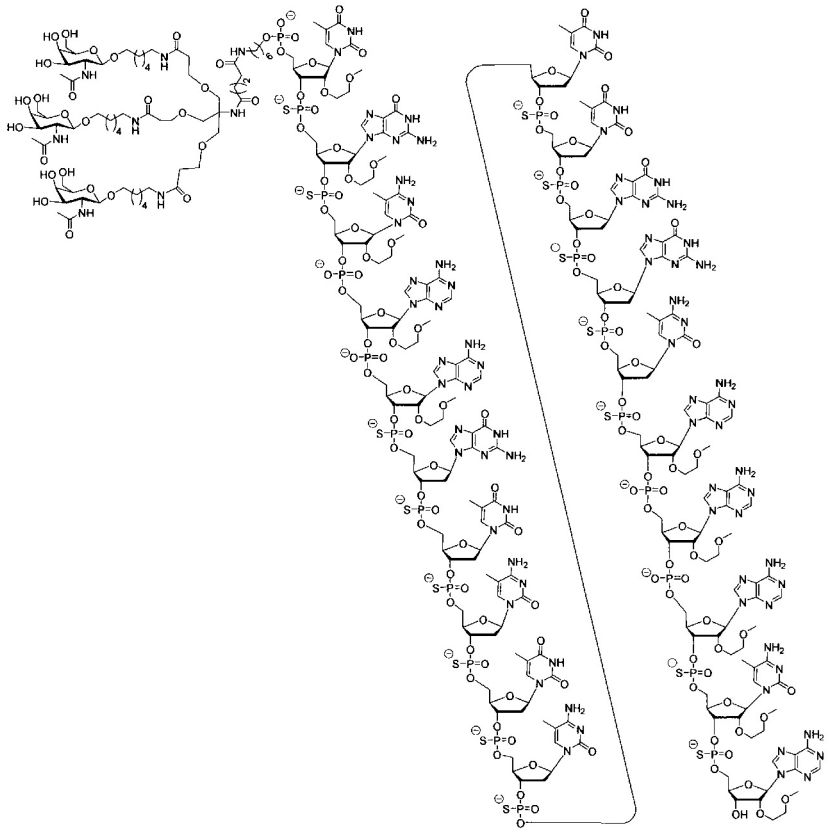
В некоторых вариантах реализации ISIS 721744 описан следующей химической записью: GalNAc3-$7_{a\text{-}o'}$ Tes Ges mCeo Aeo Aes Gds Tds mCds Tds mCds Tds Tds Gds Gds mCds Aeo Aeo Aes mCes Ae; где

A = аденин,
mC = 5'-метилцитозин
G = гуанин,
T = тимин,
e = 2'-О-метоксиэтил-модифицированный нуклеозид,
d = 2'-дезоксинуклеозид,
o = фосфодиэфирная межнуклеозидная связь,
s = тиофосфатная межнуклеозидная связь, и

GalNAc3-7$_{a-o'}$ =



В некоторых вариантах реализации ISIS 721744 описан следующей химической структурой:



Некоторые горячие точки мутагенеза

1. Азотистые основания 27427-27466 SEQ ID NO: 10

В некоторых вариантах реализации изобретения антисмысловые олигонуклеотиды сконструированы таким образом, что они нацелены на азотистые основания 27427-27466 SEQ ID NO: 10 (номер доступа GENBANK NT_016354.19, усеченная по азотистым основаниям с 111693001 по 111730000). В некоторых вариантах реализации изобретения азотистые основания 27427-27466 SEQ ID NO: 10 представляют собой горячую точку мутагенеза. В некоторых вариантах реализации изобретения азотистые основания 27427-27466 SEQ ID NO: 10 представляют собой мишень для антисмысловых олигонуклеотидов. В некоторых вариантах реализации изобретения длина антисмысловых олигонуклеотидов составляет 15, 16, 17, 18, 19 или 20 азотистых оснований. В некоторых вариантах реализации антисмысловые олигонуклеотиды представляют собой гэпмеры. В некоторых вариантах реализации изобретения гэпмеры представляют собой 5-10-5 MOE гэпмеры, 4-9-4 MOE гэпмеры, 4-10-4 MOE гэпмеры, 4-10-3 MOE гэпмеры, 3-10-4 MOE гэпмеры или 3-10-3 MOE гэпмеры. В некоторых вариантах реализации изобретения гэпмеры представляют собой 5-10-5 MOE и cEt

гэпмеры, 4-9-4 MOE и cEt гэпмеры, 4-10-4 MOE и cEt гэпмеры, 4-10-3 MOE и cEt гэпмеры, 3-10-4 MOE и cEt гэпмеры или 3-10-3 MOE и cEt гэпмеры. В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеозиды антисмысловых олигонуклеотидов связаны тиофосфатными межнуклеозидными связями.

В некоторых вариантах реализации изобретения азотистые основания 27427-27466 SEQ ID NO: 10 представляют собой мишень для следующих номеров ISIS: 530993, 530994, 530995,546251, 546252, 546253, 546254, 546255, 546256, 547410, 547411, 547978, 547979, 547980 и 547981.

В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеиновые основания 27427-27466 SEQ ID NO: 10 представляют собой мишень для следующих SEQ ID NO: 94, 95, 96, 566, 567, 568, 569, 570, 571, 572, 573, 1597, 1598, 1599 и 1600.

В некоторых вариантах реализации изобретения антисмысловые олигонуклеотиды, нацеленные на азотистые основания 27427-27466 SEQ ID NO: 10, обеспечивают по меньшей мере 30%, по меньшей мере 31%, по меньшей мере 32%, по меньшей мере 33%, по меньшей мере 34%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 36%, по меньшей мере 37%, по меньшей мере 38%, по меньшей мере 39%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 41%, по меньшей мере 42%, по меньшей мере 43%, по меньшей мере 44%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 46%, по меньшей мере 47%, по меньшей мере 48%, по меньшей мере 49%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 51%, по меньшей мере 52%, по меньшей мере 53%, по меньшей мере 54%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 56%, по меньшей мере 57%, по меньшей мере 58%, по меньшей мере 59%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 61%, по меньшей мере 62%, по меньшей мере 63%, по меньшей мере 64%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 66%, по меньшей мере 67%, по меньшей мере 68%, по меньшей мере 69%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 71%, по меньшей мере 72%, по меньшей мере 73%, по меньшей мере 74%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 76%, по меньшей мере 77%, по меньшей мере 78%, по меньшей мере 79%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 81%, по меньшей мере 82%, по меньшей мере 83%, по меньшей мере 84%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% снижение уровней ПКП и/или белка in vitro и/или in vivo.

2. Азотистые основания 33183-33242 SEQ ID NO: 10

В некоторых вариантах реализации изобретения антисмысловые олигонуклеотиды сконструированы таким образом, что они нацелены на азотистые основания 33183-33242 SEQ ID NO: 10 (номер доступа GENBANK NT_016354.19, усеченная по азотистым основаниям с 111693001 по 111730000). В некоторых вариантах реализации изобретения азотистые основания 33183-33242 SEQ ID NO: 10 представляют собой горячую точку мутагенеза. В некоторых вариантах реализации изобретения азотистые основания 33183-33242 SEQ ID NO: 10 представляют собой мишень для антисмысловых олигонуклеотидов. В некоторых вариантах реализации изобретения длина антисмысловых олигонуклеотидов составляет 15, 16, 17, 18, 19 или 20 азотистых оснований. В некоторых вариантах реализации антисмысловые олигонуклеотиды представляют собой гэпмеры. В некоторых вариантах реализации изобретения гэпмеры представляют собой 5-10-5 MOE гэпмеры, 4-9-4 MOE гэпмеры, 4-10-4 MOE гэпмеры, 4-10-3 MOE гэпмеры, 3-10-4 MOE гэпмеры или 3-10-3 MOE гэпмеры. В некоторых вариантах реализации изобретения гэпмеры представляют собой 5-10-5 MOE и cEt

гэпмеры, 4-9-4 MOE и cEt гэпмеры, 4-10-4 MOE и cEt гэпмеры, 4-10-3 MOE и cEt гэпмеры, 3-10-4 MOE и cEt гэпмеры или 3-10-3 MOE и cEt гэпмеры. В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеозиды антисмысловых олигонуклеотидов связаны тиофосфатными межнуклеозидными связями.

В некоторых вариантах реализации изобретения азотистые основания 33183-33242 SEQ ID NO: 10 представляют собой мишень для следующих номеров ISIS: 531052, 531053, 531054, 531055, 531056, 531057, 531158, 546343, 546345, 547480, 547481, 547482 и 547483.

В некоторых вариантах реализации изобретения азотистые основания 33183-33242 SEQ ID NO: 10 представляют собой мишень для следующих SEQ ID NO: 155, 156, 157, 158, 159, 160, 261, 702, 703, 704, 705 706 и 707.

В некоторых вариантах реализации изобретения антисмысловые олигонуклеотиды, нацеленные на азотистые основания 33183-33242 SEQ ID NO: 10, обеспечивают по меньшей мере 30%, по меньшей мере 31%, по меньшей мере 32%, по меньшей мере 33%, по меньшей мере 34%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 36%, по меньшей мере 37%, по меньшей мере 38%, по меньшей мере 39%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 41%, по меньшей мере 42%, по меньшей мере 43%, по меньшей мере 44%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 46%, по меньшей мере 47%, по меньшей мере 48%, по меньшей мере 49%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 51%, по меньшей мере 52%, по меньшей мере 53%, по меньшей мере 54%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 56%, по меньшей мере 57%, по меньшей мере 58%, по меньшей мере 59%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 61%, по меньшей мере 62%, по меньшей мере 63%, по меньшей мере 64%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 66%, по меньшей мере 67%, по меньшей мере 68%, по меньшей мере 69%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 71%, по меньшей мере 72%, по меньшей мере 73%, по меньшей мере 74%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 76%, по меньшей мере 77%, по меньшей мере 78%, по меньшей мере 79%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 81%, по меньшей мере 82%, по меньшей мере 83%, по меньшей мере 84%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% снижение уровней мРНК и/или белка ПКП in vitro и/или in vivo.

3. Азотистые основания 30570-30610 SEQ ID NO: 10

В некоторых вариантах реализации изобретения сконструированы антисмысловые олигонуклеотиды, нацеленные на азотистые основания 30570-30610 SEQ ID NO: 10 (номер доступа GENBANK NT_016354.19, усеченная по азотистым основаниям с 111693001 по 111730000). В некоторых вариантах реализации изобретения азотистые основания 30570-30610 SEQ ID NO: 10 представляют собой горячую точку мутагенеза. В некоторых вариантах реализации изобретения азотистые основания 30570-30610 SEQ ID NO: 10 представляют собой мишень для антисмысловых олигонуклеотидов. В некоторых вариантах реализации изобретения длина антисмысловых олигонуклеотидов составляет 15, 16, 17, 18, 19 или 20 азотистых оснований. В некоторых вариантах реализации антисмысловые олигонуклеотиды представляют собой гэпмеры. В некоторых вариантах реализации изобретения гэпмеры представляют собой 5-10-5 MOE гэпмеры, 4-9-4 MOE гэпмеры, 4-10-4 MOE гэпмеры, 4-10-3 MOE гэпмеры, 3-10-4 MOE гэпмеры или 3-10-3 MOE гэпмеры. В некоторых вариантах реализации изобретения гэпмеры представляют собой 5-10-5 MOE и cEt гэпмеры, 4-9-4 MOE и cEt гэпмеры, 4-10-4 MOE и cEt гэпмеры, 4-10-3 MOE и cEt гэпмеры, 3-10-4 MOE и cEt гэпмеры или 3-10-3 MOE

и cEt гэпмеры. В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеозиды антисмысловых олигонуклеотидов связаны тиофосфатными межнуклеозидными связями.

В некоторых вариантах реализации изобретения азотистые основания 30570-30610 SEQ ID NO: 10 представляют собой мишень для следующих номеров ISIS: 531026, 546309, 546310, 546311, 546313, 547453, 547454, 547455, 547456, 547457, 547458, 548046, 548047, 548048, 548049 и 548050.

В некоторых вариантах реализации изобретения азотистые основания 30570-30610 SEQ ID NO: 10 представляют собой мишень для следующих SEQ ID NO: 129, 652, 653, 654, 655, 656, 657, 658, 659, 660, 661, 1664, 1665, 1666, 1667 и 1668.

В некоторых вариантах реализации изобретения антисмысловые олигонуклеотиды, нацеленные на азотистые основания 30570-30610 SEQ ID NO: 10, обеспечивают по меньшей мере 30%, по меньшей мере 31%, по меньшей мере 32%, по меньшей мере 33%, по меньшей мере 34%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 36%, по меньшей мере 37%, по меньшей мере 38%, по меньшей мере 39%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 41%, по меньшей мере 42%, по меньшей мере 43%, по меньшей мере 44%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 46%, по меньшей мере 47%, по меньшей мере 48%, по меньшей мере 49%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 51%, по меньшей мере 52%, по меньшей мере 53%, по меньшей мере 54%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 56%, по меньшей мере 57%, по меньшей мере 58%, по меньшей мере 59%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 61%, по меньшей мере 62%, по меньшей мере 63%, по меньшей мере 64%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 66%, по меньшей мере 67%, по меньшей мере 68%, по меньшей мере 69%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 71%, по меньшей мере 72%, по меньшей мере 73%, по меньшей мере 74%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 76%, по меньшей мере 77%, по меньшей мере 78%, по меньшей мере 79%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 81%, по меньшей мере 82%, по меньшей мере 83%, по меньшей мере 84%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% снижение уровней мРНК и/или белка ПКП in vitro и/или in vivo.

4. Азотистые основания 27427-27520 SEQ ID NO: 10

В некоторых вариантах реализации изобретения сконструированы антисмысловые олигонуклеотиды, нацеленные на азотистые основания 27427-27520 SEQ ID NO: 10 (номер доступа GENBANK NT_016354.19, усеченная по азотистым основаниям с 111693001 по 111730000). В некоторых вариантах реализации изобретения азотистые основания 27427-27520 SEQ ID NO: 10 представляют собой горячую точку мутагенеза. В некоторых вариантах реализации изобретения азотистые основания 27427-27520 SEQ ID NO: 10 представляют собой мишень для антисмысловых олигонуклеотидов. В некоторых вариантах реализации изобретения длина антисмысловых олигонуклеотидов составляет 15, 16, 17, 18, 19 или 20 азотистых оснований. В некоторых вариантах реализации антисмысловые олигонуклеотиды представляют собой гэпмеры. В некоторых вариантах реализации изобретения гэпмеры представляют собой 5-10-5 MOE гэпмеры, 4-9-4 MOE гэпмеры, 4-10-4 MOE гэпмеры, 4-10-3 MOE гэпмеры, 3-10-4 MOE гэпмеры или 3-10-3 MOE гэпмеры. В некоторых вариантах реализации изобретения гэпмеры представляют собой 5-10-5 MOE и cEt гэпмеры, 4-9-4 MOE и cEt гэпмеры, 4-10-4 MOE и cEt гэпмеры, 4-10-3 MOE и cEt гэпмеры, 3-10-4 MOE и cEt гэпмеры или 3-10-3 MOE и cEt гэпмеры. В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеозиды

антисмысловых олигонуклеотидов связаны тиофосфатными межнуклеозидными связями.

В некоторых вариантах реализации изобретения азотистые основания 27427-27520 SEQ ID NO: 10 представляют собой мишень для следующих номеров ISIS: 530993-530999, 546251-546256, 546258-546260, 546263, 546265-546268, 547410-547417 и 547978-547992.

В некоторых вариантах реализации изобретения азотистые основания 27427-27520 SEQ ID NO: 10 представляют собой мишень для следующих SEQ ID NO: 94-100, 566-587 и 1597-1611.

В некоторых вариантах реализации изобретения антисмысловые олигонуклеотиды, нацеленные на азотистые основания 27427-27520 SEQ ID NO: 10, обеспечивают по меньшей мере 30%, по меньшей мере 31%, по меньшей мере 32%, по меньшей мере 33%, по меньшей мере 34%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 36%, по меньшей мере 37%, по меньшей мере 38%, по меньшей мере 39%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 41%, по меньшей мере 42%, по меньшей мере 43%, по меньшей мере 44%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 46%, по меньшей мере 47%, по меньшей мере 48%, по меньшей мере 49%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 51%, по меньшей мере 52%, по меньшей мере 53%, по меньшей мере 54%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 56%, по меньшей мере 57%, по меньшей мере 58%, по меньшей мере 59%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 61%, по меньшей мере 62%, по меньшей мере 63%, по меньшей мере 64%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 66%, по меньшей мере 67%, по меньшей мере 68%, по меньшей мере 69%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 71%, по меньшей мере 72%, по меньшей мере 73%, по меньшей мере 74%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 76%, по меньшей мере 77%, по меньшей мере 78%, по меньшей мере 79%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 81%, по меньшей мере 82%, по меньшей мере 83%, по меньшей мере 84%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% снижение уровней ПКП и/или белка in vitro и/или in vivo.

5. Азотистые основания 33085-33247 SEQ ID NO: 10

В некоторых вариантах реализации изобретения сконструированы антисмысловые олигонуклеотиды, нацеленные на азотистые основания 33085-33247 SEQ ID NO: 10 (номер доступа GENBANK NT_016354.19, усеченная по азотистым основаниям с 111693001 по 111730000). В некоторых вариантах реализации азотистые основания 33085-33247 SEQ ID NO: 10 представляют собой горячую точку мутагенеза. В некоторых вариантах реализации изобретения азотистые основания 33085-33247 SEQ ID NO: 10 представляют собой мишень для антисмысловых олигонуклеотидов. В некоторых вариантах реализации изобретения длина антисмысловых олигонуклеотидов составляет 15, 16, 17, 18, 19 или 20 азотистых оснований. В некоторых вариантах реализации антисмысловые олигонуклеотиды представляют собой гэпмеры. В некоторых вариантах реализации изобретения гэпмеры представляют собой 5-10-5 MOE гэпмеры, 4-9-4 MOE гэпмеры, 4-10-4 MOE гэпмеры, 4-10-3 MOE гэпмеры, 3-10-4 MOE гэпмеры или 3-10-3 MOE гэпмеры. В некоторых вариантах реализации изобретения гэпмеры представляют собой 5-10-5 MOE и cEt гэпмеры, 4-9-4 MOE и cEt гэпмеры, 4-10-4 MOE и cEt гэпмеры, 4-10-3 MOE и cEt гэпмеры, 3-10-4 MOE и cEt гэпмеры или 3-10-3 MOE и cEt гэпмеры. В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеозиды антисмысловых олигонуклеотидов связаны тиофосфатными межнуклеозидными связями.

В некоторых вариантах реализации изобретения азотистые основания 33085-33247

SEQ ID NO: 10 представляют собой мишень для следующих номеров ISIS: 531041-531158, 546336, 546339, 546340, 546343, 546345, 547474-547483, 547778, 548077-548082 и 548677-548678.

В некоторых вариантах реализации изобретения азотистые основания 33085-33247 SEQ ID NO: 10 представляют собой мишень для следующих SEQ ID NO: 144-160, 261, 693-707, 1256, 1320-1325, 2214 и 2215.

В некоторых вариантах реализации изобретения антисмысловые олигонуклеотиды, нацеленные на азотистые основания 33085-33247 SEQ ID NO: 10, обеспечивают по меньшей мере 30%, по меньшей мере 31%, по меньшей мере 32%, по меньшей мере 33%, по меньшей мере 34%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 36%, по меньшей мере 37%, по меньшей мере 38%, по меньшей мере 39%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 41%, по меньшей мере 42%, по меньшей мере 43%, по меньшей мере 44%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 46%, по меньшей мере 47%, по меньшей мере 48%, по меньшей мере 49%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 51%, по меньшей мере 52%, по меньшей мере 53%, по меньшей мере 54%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 56%, по меньшей мере 57%, по меньшей мере 58%, по меньшей мере 59%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 61%, по меньшей мере 62%, по меньшей мере 63%, по меньшей мере 64%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 66%, по меньшей мере 67%, по меньшей мере 68%, по меньшей мере 69%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 71%, по меньшей мере 72%, по меньшей мере 73%, по меньшей мере 74%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 76%, по меньшей мере 77%, по меньшей мере 78%, по меньшей мере 79%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 81%, по меньшей мере 82%, по меньшей мере 83%, по меньшей мере 84%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% снижение уровней ПКП и/или белка in vitro и/или in vivo.

6. Азотистые основания 30475-30639 SEQ ID NO: 10

В некоторых вариантах реализации изобретения сконструированы антисмысловые олигонуклеотиды, нацеленные на азотистые основания 30475-30639 SEQ ID NO: 10 (номер доступа GENBANK NT_016354.19, усеченная по азотистым основаниям с 111693001 по 111730000). В некоторых вариантах реализации изобретения азотистые основания 30475-30639 SEQ ID NO: 10 представляют собой горячую точку мутагенеза. В некоторых вариантах реализации изобретения азотистые основания 30475-30639 SEQ ID NO: 10 представляют собой мишень для антисмысловых олигонуклеотидов. В некоторых вариантах реализации изобретения длина антисмысловых олигонуклеотидов составляет 15, 16, 17, 18, 19 или 20 азотистых оснований. В некоторых вариантах реализации антисмысловые олигонуклеотиды представляют собой гэпмеры. В некоторых вариантах реализации изобретения гэпмеры представляют собой 5-10-5 MPE гэпмеры, 4-9-4 MPE гэпмеры, 4-10-4 MPE гэпмеры, 4-10-3 MPE гэпмеры, 3-10-4 MPE гэпмеры или 3-10-3 MPE гэпмеры. В некоторых вариантах реализации изобретения гэпмеры представляют собой 5-10-5 MPE и cEt гэпмеры, 4-9-4 MPE и cEt гэпмеры, 4-10-4 MPE и cEt гэпмеры, 4-10-3 MPE и cEt гэпмеры, 3-10-4 MPE и cEt гэпмеры или 3-10-3 MPE и cEt гэпмеры. В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеозиды антисмысловых олигонуклеотидов связаны тиофосфатными межнуклеозидными связями.

В некоторых вариантах реализации изобретения азотистые основания 30475-30639 SEQ ID NO: 10 представляют собой мишень для следующих номеров ISIS: 531021-531029,

531146, 546297, 546299-546304, 546306-546311, 546313, 546316-546319, 547444-547462, 548031, 548032 и 548034-548056.

В некоторых вариантах реализации изобретения азотистые основания 30475-30639 SEQ ID NO: 10 представляют собой мишень для следующих SEQ ID NO: 124-132, 249, 633-669 и 1650-1674.

В некоторых вариантах реализации изобретения антисмысловые олигонуклеотиды, нацеленные на азотистые основания 30475-30639 SEQ ID NO: 10, обеспечивают по меньшей мере 30%, по меньшей мере 31%, по меньшей мере 32%, по меньшей мере 33%, по меньшей мере 34%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 36%, по меньшей мере 37%, по меньшей мере 38%, по меньшей мере 39%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 41%, по меньшей мере 42%, по меньшей мере 43%, по меньшей мере 44%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 46%, по меньшей мере 47%, по меньшей мере 48%, по меньшей мере 49%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 51%, по меньшей мере 52%, по меньшей мере 53%, по меньшей мере 54%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 56%, по меньшей мере 57%, по меньшей мере 58%, по меньшей мере 59%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 61%, по меньшей мере 62%, по меньшей мере 63%, по меньшей мере 64%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 66%, по меньшей мере 67%, по меньшей мере 68%, по меньшей мере 69%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 71%, по меньшей мере 72%, по меньшей мере 73%, по меньшей мере 74%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 76%, по меньшей мере 77%, по меньшей мере 78%, по меньшей мере 79%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 81%, по меньшей мере 82%, по меньшей мере 83%, по меньшей мере 84%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% снижение уровней ПКП и/или белка in vitro и/или in vivo.

1. Азотистые основания 27362-27524 SEQ ID NO: 10

В некоторых вариантах реализации изобретения сконструированы антисмысловые олигонуклеотиды, нацеленные на азотистые основания 27362-27524 SEQ ID NO: 10 (номер доступа GENBANK NT_016354.19, усеченная по азотистым основаниям с 111693001 по 111730000). В некоторых вариантах реализации изобретения азотистые основания 27362-27524 соответствуют экзону 9 ПКП (номер доступа GENBANK NT_016354.19, усеченная по азотистым основаниям с 111693001 по 111730000). В некоторых вариантах реализации изобретения азотистые основания 27362-27524 SEQ ID NO: 10 представляют собой горячую точку мутагенеза. В некоторых вариантах реализации изобретения азотистые основания 27362-27524 SEQ ID NO: 10 представляют собой мишень для антисмысловых олигонуклеотидов. В некоторых вариантах реализации изобретения длина антисмысловых олигонуклеотидов составляет 15, 16, 17, 18, 19 или 20 азотистых оснований. В некоторых вариантах реализации антисмысловые олигонуклеотиды представляют собой гэпмеры. В некоторых вариантах реализации изобретения гэпмеры представляют собой 5-10-5 MOE гэпмеры, 4-9-4 MOE гэпмеры, 4-10-4 MOE гэпмеры, 4-10-3 MOE гэпмеры, 3-10-4 MOE гэпмеры или 3-10-3 MOE гэпмеры. В некоторых вариантах реализации изобретения гэпмеры представляют собой 5-10-5 MOE и cEt гэпмеры, 4-9-4 MOE и cEt гэпмеры, 4-10-4 MOE и cEt гэпмеры, 4-10-3 MOE и cEt гэпмеры, 3-10-4 MOE и cEt гэпмеры или 3-10-3 MOE и cEt гэпмеры. В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеозиды антисмысловых олигонуклеотидов связаны тиофосфатными межнуклеозидными связями.

В некоторых вариантах реализации изобретения азотистые основания 27361-27524 SEQ ID NO: 10 представляют собой мишень для следующих номеров ISIS: 530985-530999, 546244, 546247-546256, 546258-546260, 546263, 546265-546268, 547403-547417, 547723, 547968-547970 и 547972-547992.

В некоторых вариантах реализации изобретения азотистые основания 27361-27524 SEQ ID NO: 10 представляют собой мишень для следующих SEQ ID NO: 86-100, 554-587, 1217 и 1588-1611.

В некоторых вариантах реализации изобретения антисмысловые олигонуклеотиды, нацеленные на азотистые основания 27362-27524 SEQ ID NO: 10, обеспечивают по меньшей мере 30%, по меньшей мере 31%, по меньшей мере 32%, по меньшей мере 33%, по меньшей мере 34%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 36%, по меньшей мере 37%, по меньшей мере 38%, по меньшей мере 39%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 41%, по меньшей мере 42%, по меньшей мере 43%, по меньшей мере 44%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 46%, по меньшей мере 47%, по меньшей мере 48%, по меньшей мере 49%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 51%, по меньшей мере 52%, по меньшей мере 53%, по меньшей мере 54%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 56%, по меньшей мере 57%, по меньшей мере 58%, по меньшей мере 59%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 61%, по меньшей мере 62%, по меньшей мере 63%, по меньшей мере 64%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 66%, по меньшей мере 67%, по меньшей мере 68%, по меньшей мере 69%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 71%, по меньшей мере 72%, по меньшей мере 73%, по меньшей мере 74%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 76%, по меньшей мере 77%, по меньшей мере 78%, по меньшей мере 79%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 81%, по меньшей мере 82%, по меньшей мере 83%, по меньшей мере 84%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% снижение уровней ПКП и/или белка in vitro и/или in vivo.

8. Азотистые основания 33101-33240 SEQ ID NO: 10

В некоторых вариантах реализации изобретения сконструированы антисмысловые олигонуклеотиды, нацеленные на азотистые основания 33101-33240 SEQ ID NO: 10 (номер доступа GENBANK NT_016354.19, усеченная по азотистым основаниям с 111693001 по 111730000). В некоторых вариантах реализации изобретения азотистые основания 33101-33240 соответствуют экзону 14 ПКП (номер доступа GENBANK NT_016354.19, усеченная по азотистым основаниям с 111693001 по 111730000). В некоторых вариантах реализации изобретения азотистые основания 33101-33240 SEQ ID NO: 10 представляют собой горячую точку мутагенеза. В некоторых вариантах реализации изобретения азотистые основания 33101-33240 SEQ ID NO: 10 представляют собой мишень для антисмысловых олигонуклеотидов. В некоторых вариантах реализации изобретения длина антисмысловых олигонуклеотидов составляет 15, 16, 17, 18, 19 или 20 азотистых оснований. В некоторых вариантах реализации антисмысловые олигонуклеотиды представляют собой гэпмеры. В некоторых вариантах реализации изобретения гэпмеры представляют собой 5-10-5 MOE гэпмеры, 4-9-4 MOE гэпмеры, 4-10-4 MOE гэпмеры, 4-10-3 MOE гэпмеры, 3-10-4 MOE гэпмеры или 3-10-3 MOE гэпмеры. В некоторых вариантах реализации изобретения гэпмеры представляют собой 5-10-5 MOE и cEt гэпмеры, 4-9-4 MOE и cEt гэпмеры, 4-10-4 MOE и cEt гэпмеры, 4-10-3 MOE и cEt гэпмеры, 3-10-4 MOE и cEt гэпмеры или 3-10-3 MOE и cEt гэпмеры.

В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеозиды антисмысловых олигонуклеотидов связаны тиофосфатными межнуклеозидными связями.

В некоторых вариантах реализации изобретения азотистые основания 33101-33240 SEQ ID NO: 10 представляют собой мишень для следующих номеров ISIS: 531041-531158, 546336, 546339, 546340, 546343, 546345, 547474-547483, 548077-548082 и 548678-548678.

В некоторых вариантах реализации изобретения азотистые основания 33101-33240 SEQ ID NO: 10 представляют собой мишень для следующих SEQ ID NO: 144-160, 261, 693-707, 1320-1325 и 2215.

В некоторых вариантах реализации изобретения антисмысловые олигонуклеотиды, нацеленные на азотистые основания 33101-33240 SEQ ID NO: 10, обеспечивают по меньшей мере 30%, по меньшей мере 31%, по меньшей мере 32%, по меньшей мере 33%, по меньшей мере 34%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 36%, по меньшей мере 37%, по меньшей мере 38%, по меньшей мере 39%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 41%, по меньшей мере 42%, по меньшей мере 43%, по меньшей мере 44%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 46%, по меньшей мере 47%, по меньшей мере 48%, по меньшей мере 49%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 51%, по меньшей мере 52%, по меньшей мере 53%, по меньшей мере 54%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 56%, по меньшей мере 57%, по меньшей мере 58%, по меньшей мере 59%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 61%, по меньшей мере 62%, по меньшей мере 63%, по меньшей мере 64%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 66%, по меньшей мере 67%, по меньшей мере 68%, по меньшей мере 69%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 71%, по меньшей мере 72%, по меньшей мере 73%, по меньшей мере 74%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 76%, по меньшей мере 77%, по меньшей мере 78%, по меньшей мере 79%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 81%, по меньшей мере 82%, по меньшей мере 83%, по меньшей мере 84%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% снижение уровней ПКП и/или белка in vitro и/или in vivo.

9. Азотистые основания 30463-30638 SEQ ID NO: 10

В некоторых вариантах реализации изобретения сконструированы антисмысловые олигонуклеотиды, нацеленные на азотистые основания 30463-30638 SEQ ID NO: 10 (номер доступа GENBANK NT_016354.19, усеченная по азотистым основаниям с 111693001 по 111730000). В некоторых вариантах реализации изобретения азотистые основания 30463-30638 соответствуют экзону 12 ПКП (номер доступа GENBANK NT_016354.19, усеченная по азотистым основаниям с 111693001 по 111730000). В некоторых вариантах реализации изобретения азотистые основания 30463-30638 SEQ ID NO: 10 представляют собой горячую точку мутагенеза. В некоторых вариантах реализации изобретения азотистые основания 30463-30638 SEQ ID NO: 10 представляют собой мишень для антисмысловых олигонуклеотидов. В некоторых вариантах реализации изобретения длина антисмысловых олигонуклеотидов составляет 15, 16, 17, 18, 19 или 20 азотистых оснований. В некоторых вариантах реализации антисмысловые олигонуклеотиды представляют собой гэпмеры. В некоторых вариантах реализации изобретения гэпмеры представляют собой 5-10-5 MOE гэпмеры, 4-9-4 MOE гэпмеры, 4-10-4 MOE гэпмеры, 4-10-3 MOE гэпмеры, 3-10-4 MOE гэпмеры или 3-10-3 MOE гэпмеры. В некоторых вариантах реализации изобретения гэпмеры представляют собой 5-10-5 MOE и cEt гэпмеры, 4-9-4 MOE и cEt гэпмеры, 4-10-4 MOE и cEt гэпмеры,

4-10-3 MOE и cEt гэпмеры, 3-10-4 MOE и cEt гэпмеры или 3-10-3 MOE и cEt гэпмеры. В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеозиды антисмысловых олигонуклеотидов связаны тиофосфатными межнуклеозидными связями.

В некоторых вариантах реализации изобретения азотистые основания 30463-30638 SEQ ID NO: 10 представляют собой мишень для следующих номеров ISIS: 531021-531029, 531146, 546297, 546299-546304, 546306-546311, 546313, 546316-546319, 547444-547462, 548031, 548032 и 548034-548056.

В некоторых вариантах реализации изобретения азотистые основания 30463-30638 SEQ ID NO: 10 представляют собой мишень для следующих SEQ ID NO: 124-132, 249, 633-669 и 1650-1674.

В некоторых вариантах реализации изобретения антисмысловые олигонуклеотиды, нацеленные на азотистые основания 30463-30638 SEQ ID NO: 10, обеспечивают по меньшей мере 30%, по меньшей мере 31%, по меньшей мере 32%, по меньшей мере 33%, по меньшей мере 34%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 36%, по меньшей мере 37%, по меньшей мере 38%, по меньшей мере 39%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 41%, по меньшей мере 42%, по меньшей мере 43%, по меньшей мере 44%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 46%, по меньшей мере 47%, по меньшей мере 48%, по меньшей мере 49%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 51%, по меньшей мере 52%, по меньшей мере 53%, по меньшей мере 54%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 56%, по меньшей мере 57%, по меньшей мере 58%, по меньшей мере 59%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 61%, по меньшей мере 62%, по меньшей мере 63%, по меньшей мере 64%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 66%, по меньшей мере 67%, по меньшей мере 68%, по меньшей мере 69%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 71%, по меньшей мере 72%, по меньшей мере 73%, по меньшей мере 74%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 76%, по меньшей мере 77%, по меньшей мере 78%, по меньшей мере 79%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 81%, по меньшей мере 82%, по меньшей мере 83%, по меньшей мере 84%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% снижение уровней ПКП и/или белка in vitro и/или in vivo.

ПРИМЕРЫ

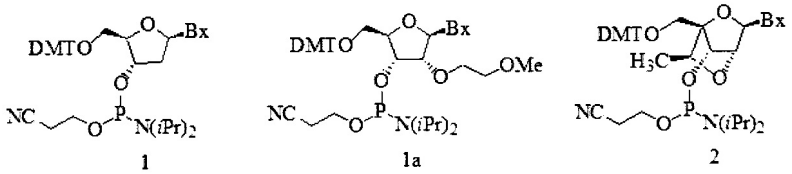
Неограничивающее описание и включение посредством ссылки

Несмотря на то, что некоторые соединения, композиции и способы, описанные в настоящем документе, были подробно описаны в соответствии с некоторыми вариантами реализации изобретения, следующие примеры служат лишь для иллюстрации соединений, описанных в настоящем документе, и их не следует считать их ограничением. Каждая из ссылок, упоминаемых в настоящей заявке, включена в настоящий документ посредством ссылки в полном объеме.

Следующие примеры иллюстрируют некоторые варианты реализации настоящего описания и не являются ограничивающими. Более того, если представлены конкретные варианты реализации, авторы изобретения подразумевают общее применение указанных конкретных вариантов реализации. Например, описание олигонуклеотида, содержащего конкретный мотив, дает обоснованное основание для дополнительных олигонуклеотидов, содержащих такой же или похожий мотив. И, например, если конкретная высокоаффинная модификация возникает в определенном положении, то в этом же положении считаются подходящими другие высокоаффинные модификации,

если не указано иное.

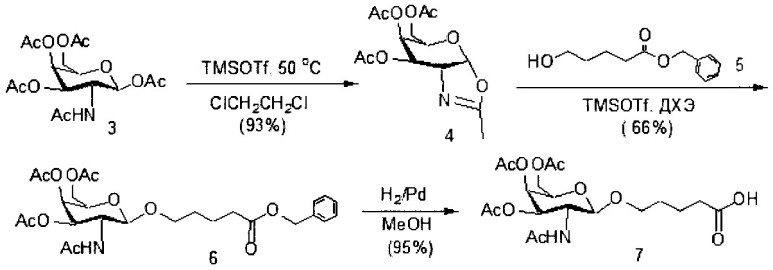
Пример 1: Общий способ получения фосфорамидитов, Соединений 1, 1a и 2



Bx представляет собой гетероциклическое основание

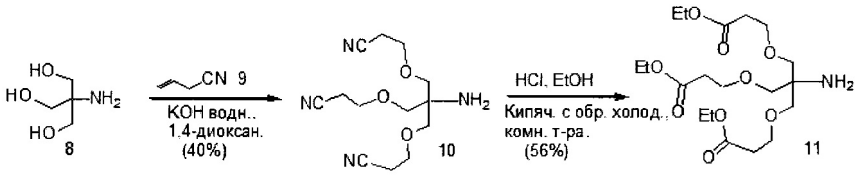
Соединения 1, 1a и 2 были получены по способам, общеизвестным в данной области техники, как описано в настоящем документе (см. Seth et al., Bioorg. Med. Chem., 2011, 21(4), 1122-1125, J. Org. Chem., 2010, 75(5), 1569-1581, Nucleic Acids Symposium Series, 2008, 52(1), 553-554); и см. также опубликованные Международные заявки PCT (WO 2011/115818, WO 2010/077578, WO 2010/036698, WO 2009/143369, WO 2009/006478 и WO 2007/090071) и патент США 7569686).

Пример 2: Получение Соединения 7



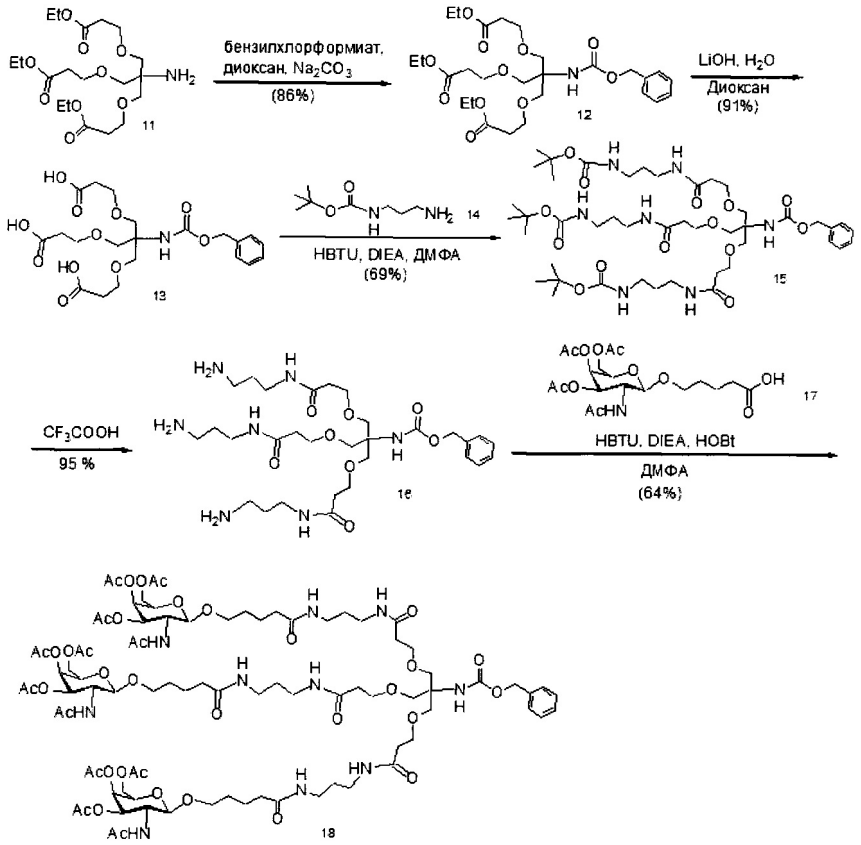
Соединение 3 (2-ацетамидо-1,3,4,6-тетра-O-ацетил-2-дезокси-β-D-галактопираноза или галактозамина пентаацетат) имеется в продаже. Соединение 5 получили по опубликованным методикам (Weber et al., J. Med. Chem., 1991, 34, 2692).

Пример 3: Получение Соединения 11



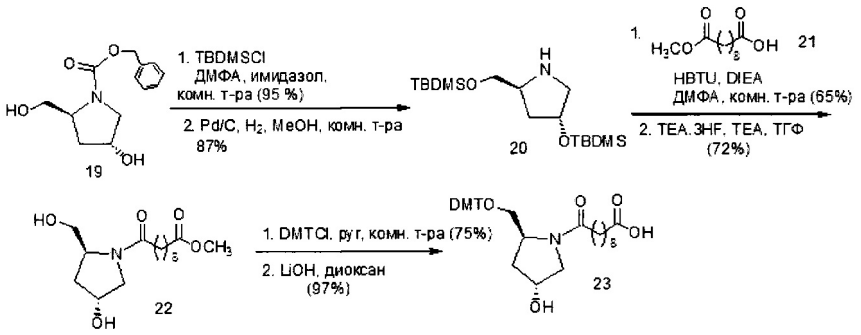
Соединения 8 и 9 имеются в продаже.

Пример 4: Получение Соединения 18



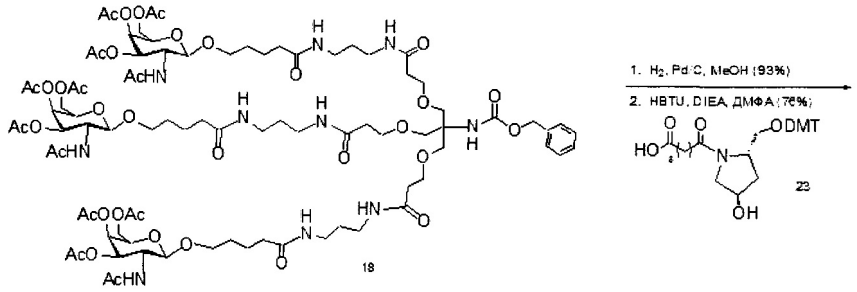
Соединение 11 получили по способам, описанным в Примере 3. Соединение 14 имеется в продаже. Соединение 17 получили по такому же способу, как описан в публикации Rensen et al., J. Med. Chem., 2004, 47, 5798-5808.

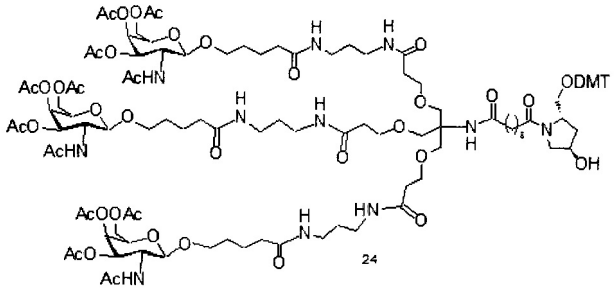
Пример 5: Получение Соединения 23



Соединения 19 и 21 имеются в продаже.

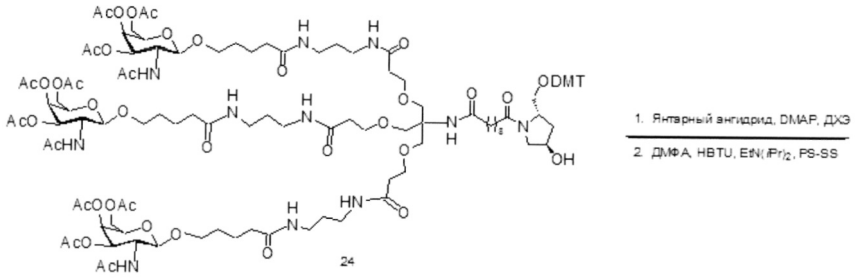
Пример 6: Получение Соединения 24

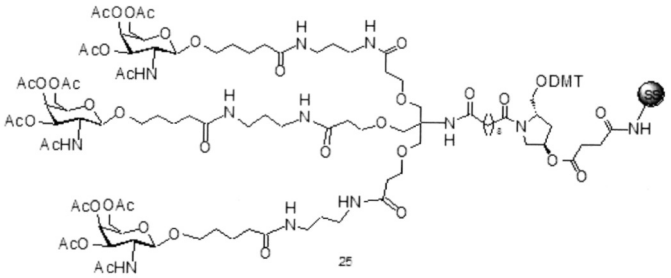




Соединения 18 и 23 получили так, как описано в способах в Примерах 4 и 5.

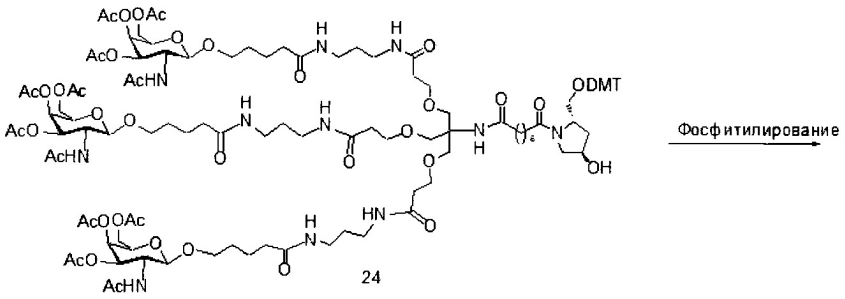
Пример 7: Получение Соединения 25



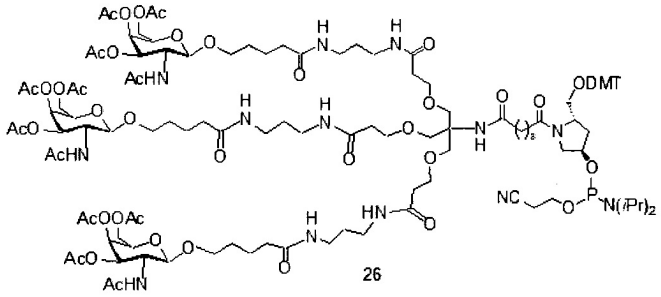


Соединение 24 получили по способам, представленным в Примере 6.

Пример 8: Получения Соединения 26

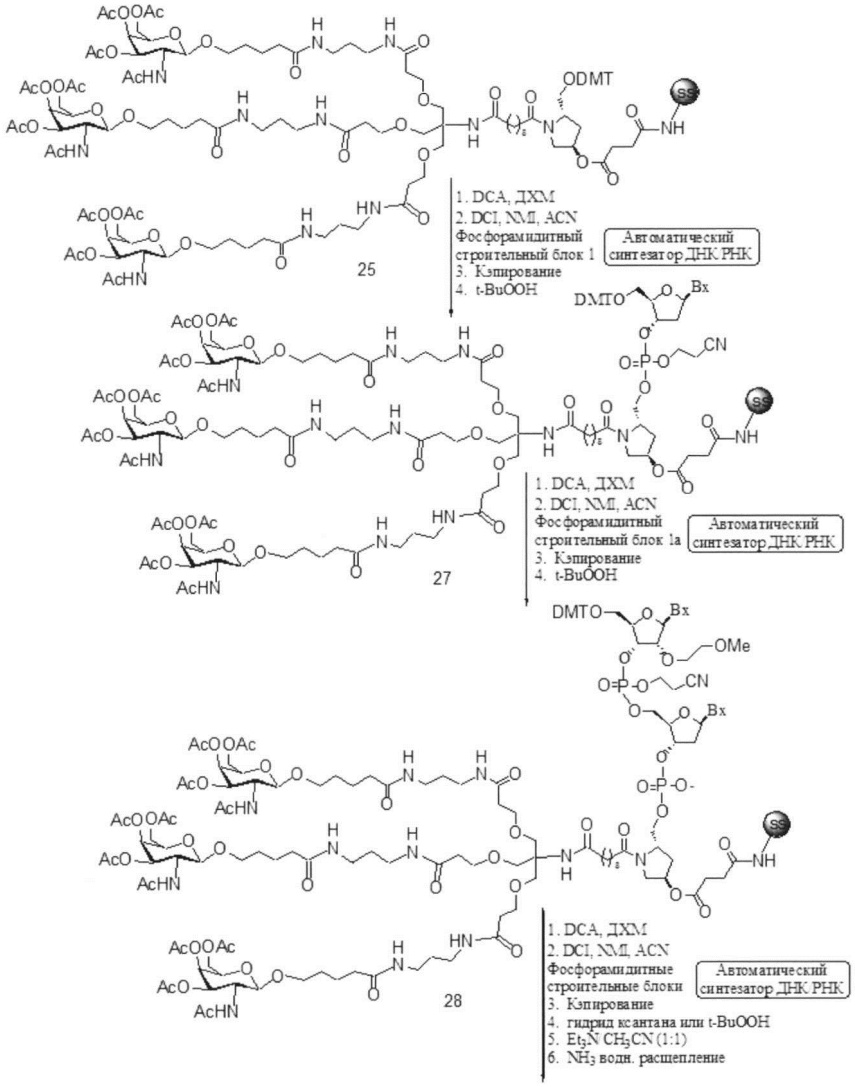


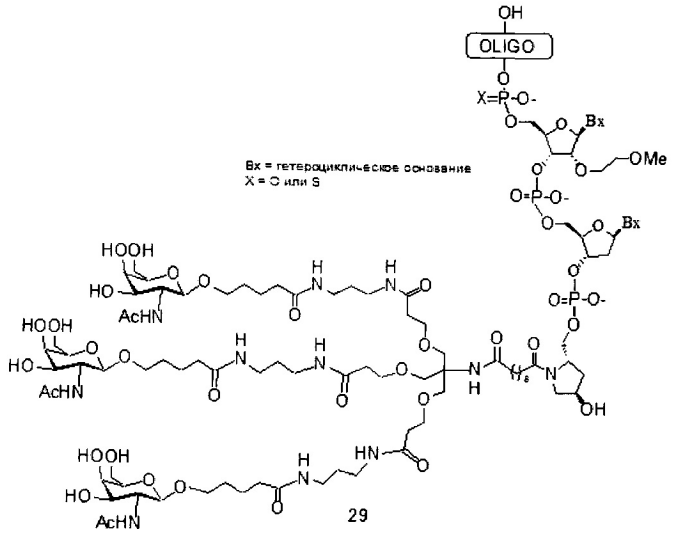
Соединение24получили



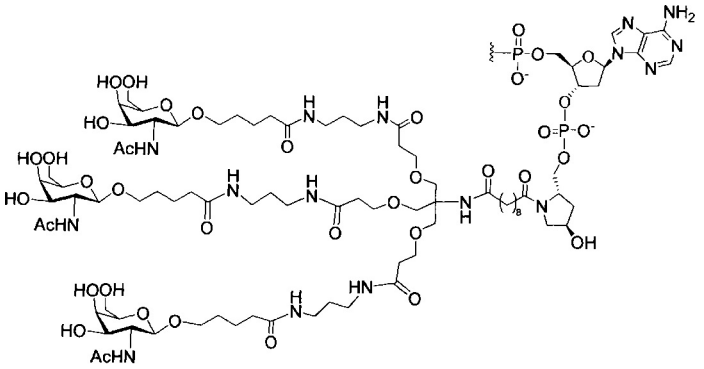
по способам, представленным в Примере 6.

Пример 9: Общее получение сопряженных ASO, содержащих $GalNAc_3$-1 на 3'-конце, Соединения 29

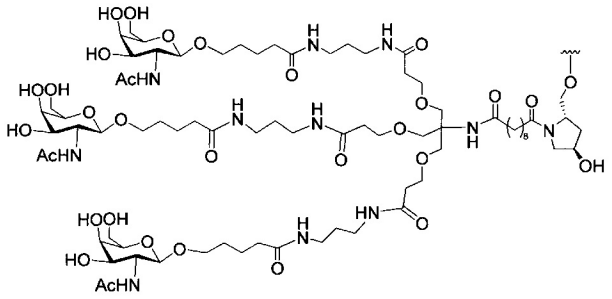




Где защищенный $GalNAc_3$-1 имеет структуру:



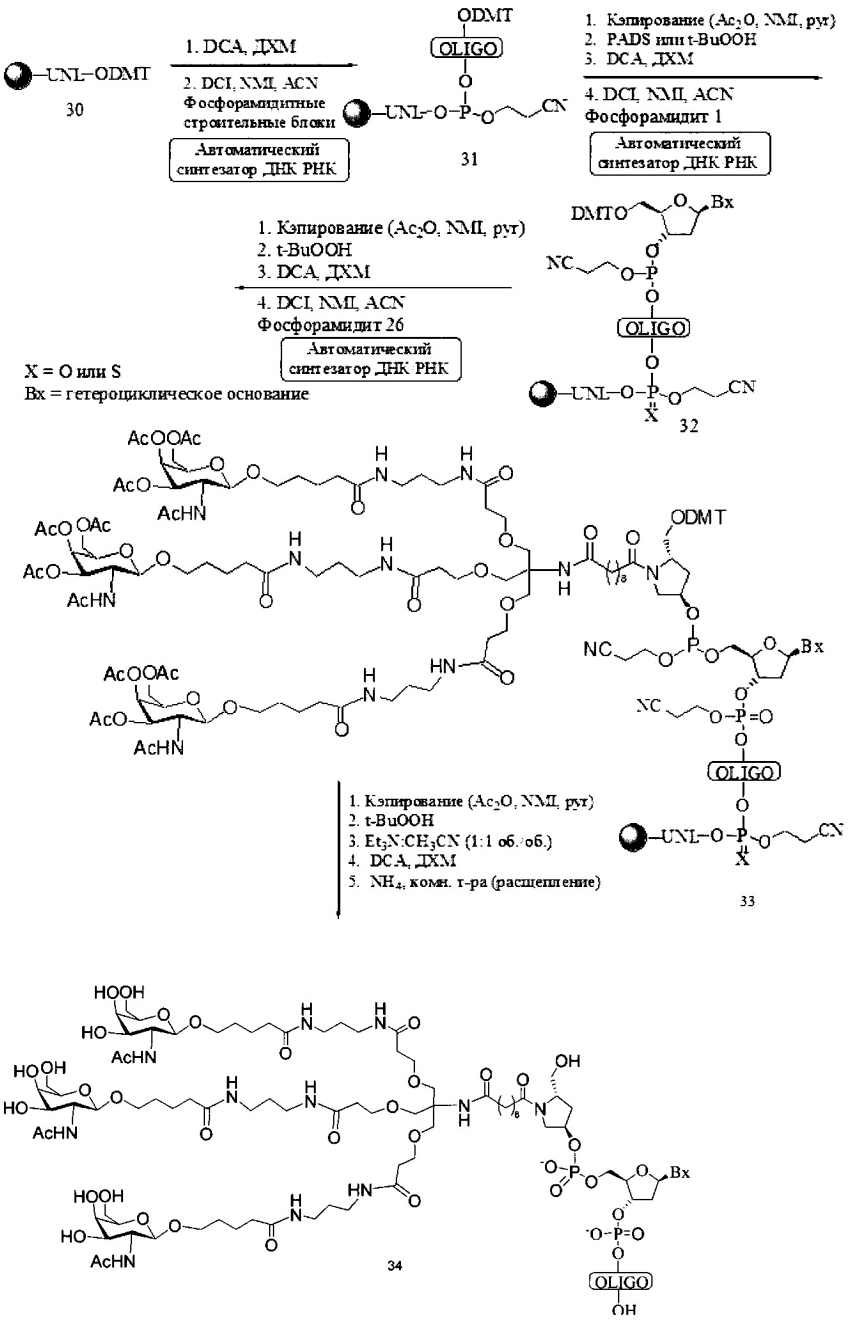
Кластерная часть $GalNAc_3$ группы конъюгата $GalNAc_3$-1 ($GalNAc_3$-1_a) может быть комбинирована с любым расщепляемым фрагментом с получением различных групп конъюгата. Где $GalNAc_3$-1_a имеет формулу:



Защищенный $GalNAc_3$-1, связанный с твердой подложкой, Соединение 25, получили по способам, представленным в Примере 7. Олигомерное соединение 29, содержащее $GalNAc_3$-1 на 3'-конце, получили по стандартным способам в автоматическом синтезаторе ДНК/РНК (см. Dupouy et al., Angew. Chem. Int. ред., 2006, 45, 3623-3627). Фосфорамидитные строительные блоки, Соединения 1 и 1a, получили так, как описано в способах в Примере 1. Изображенные фосфорамидиты являются иллюстративными и не предназначены для ограничения, поскольку могут быть использованы другие фосфорамидитные строительные блоки для получения олигомерных соединений, имеющих заданную последовательность и состав. Порядок и количество фосфорамидитов, добавляемых к твердой подложке, может быть подобрано для получения разорванных олигомерных соединений, описанных в настоящем документе.

Такие разорванные олигомерные соединения могут иметь заданный состав и последовательность оснований, продиктованную любой данной мишенью.

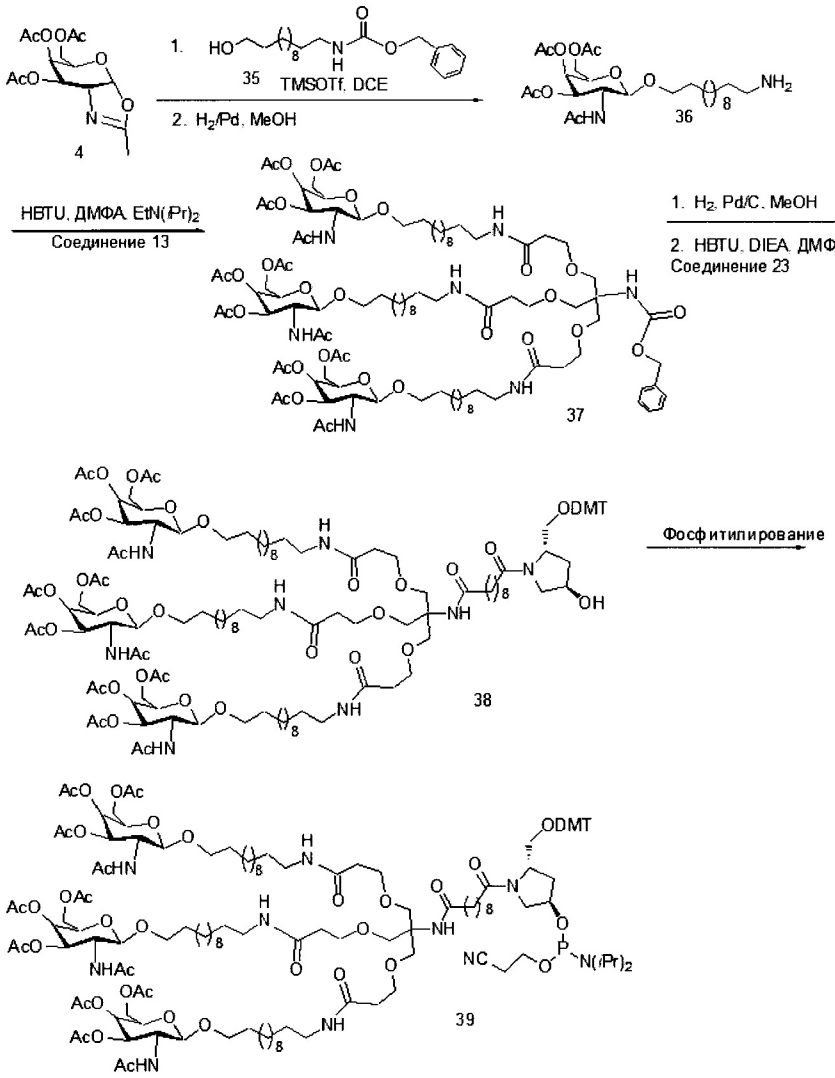
Пример 10: Общее получение сопряженных ASO, содержащих $GalNAc_3$-1 на 5'-конце, Соединения 34



Unylinker™ 30 имеется в продаже. Олигомерное соединение 34, содержащее кластер $GalNAc_3$-1 на 5'-конце, получили по стандартным способам в автоматическом синтезаторе ДНК/РНК (см. Dupouy et al., Angew. Chem. Int. ред., 2006, 45, 3623-3627). Фосфорамидитные строительные блоки, Соединения 1 и 1a, получили так, как описано в способах в Примере 1. Изображенные фосфорамидиты являются иллюстративными и не предназначены для ограничения, поскольку могут быть использованы другие фосфорамидитные строительные блоки для получения олигомерных соединений, имеющих заданную последовательность и состав. Порядок и количество фосфорамидитов, добавляемых к твердой подложке, может быть подобрано для получения разорванных олигомерных соединений, описанных в настоящем документе.

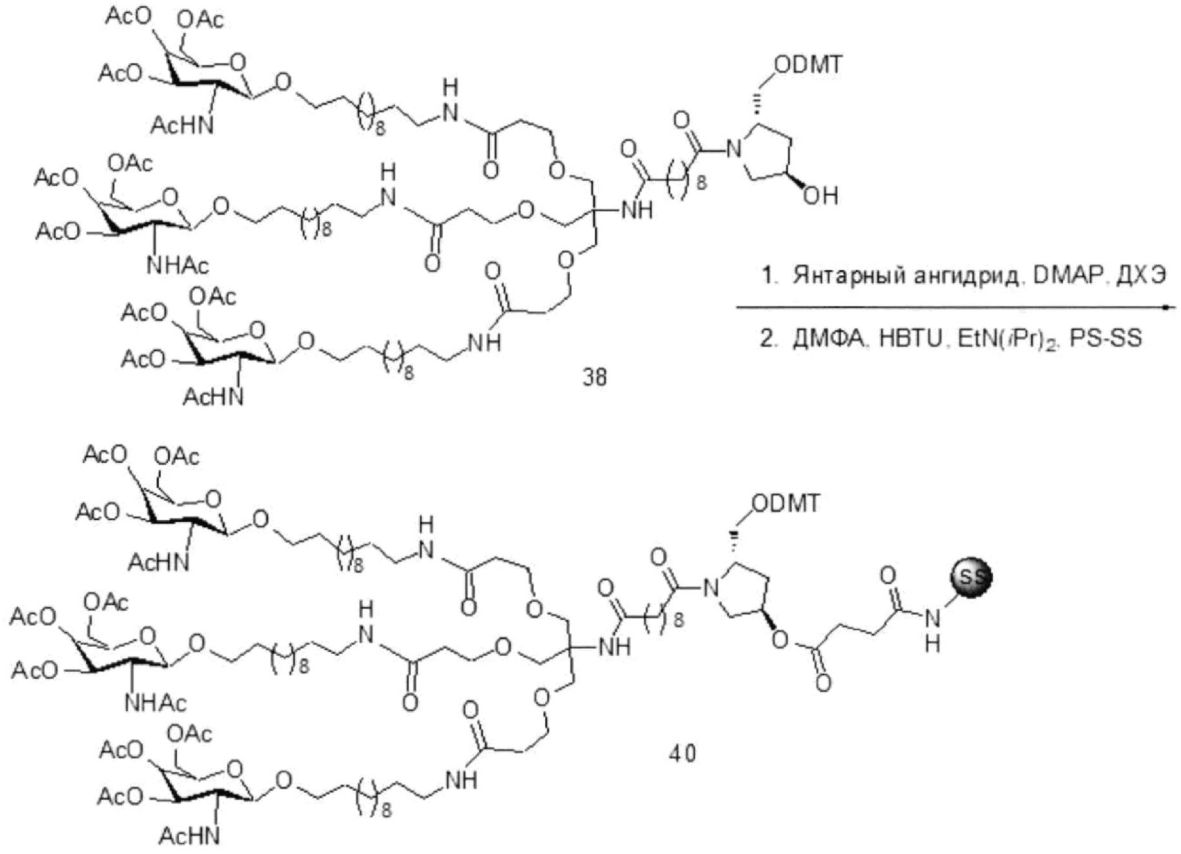
Такие разорванные олигомерные соединения могут иметь заданный состав и последовательность оснований, продиктованную любой данной мишенью.

Пример 11: Получение Соединения 39



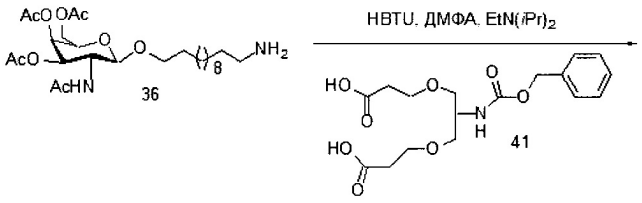
Соединения 4, 13 и 23 получили так, как описано в способах в Примерах 2, 4 и 5. Соединение 35 получили по такому же способу, как описан в публикации Rouchaud et al., Eur, J. Org. Chem., 2011, 12, 2346-2353.

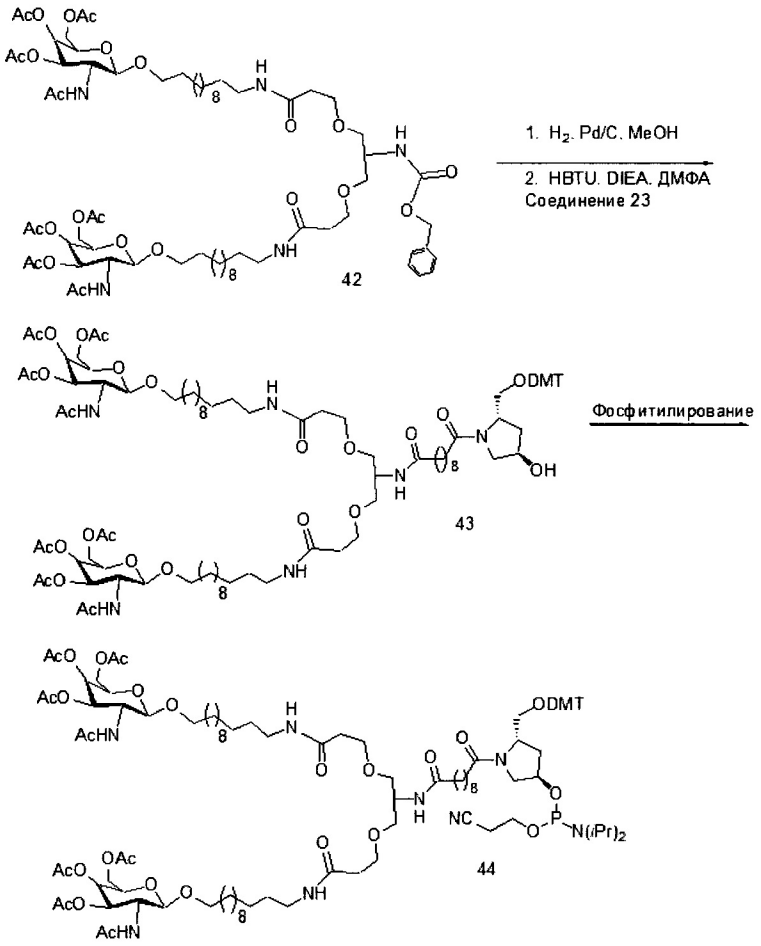
Пример 12: Получение Соединения 40



Соединение 38 получили по способам, представленным в Примере 11.

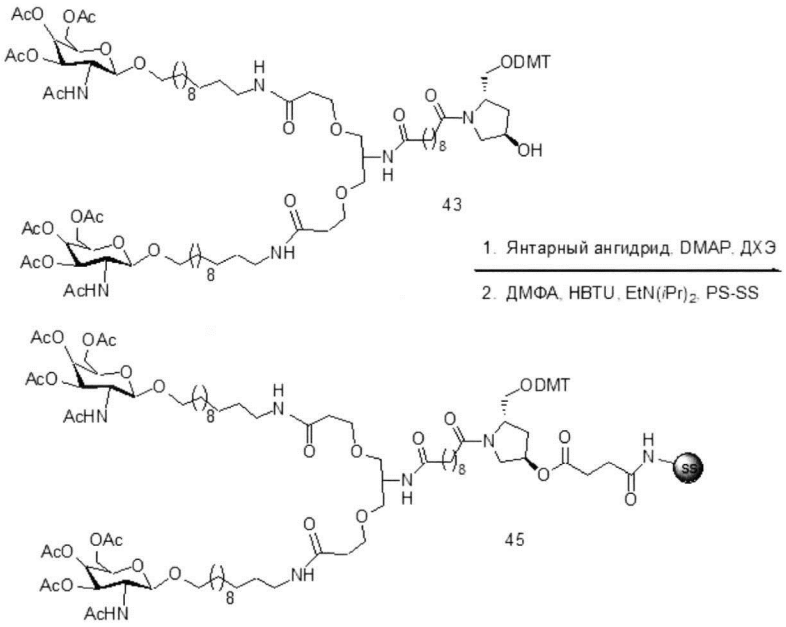
Пример 13: Получение Соединения 44





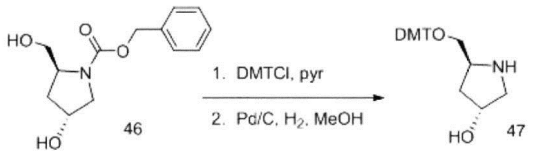
Соединения 23 и 36 получили так, как описано в способах в Примерах 5 и 11. Соединение 41 получили по такому же способу, как описан в публикации WO 2009082607.

Пример 14: Получение Соединения 45



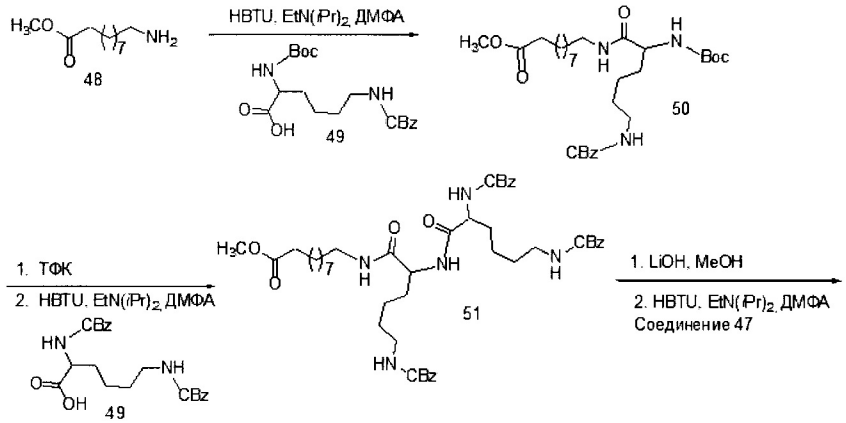
Соединение 43 получили по способам, представленным в Примере 13.

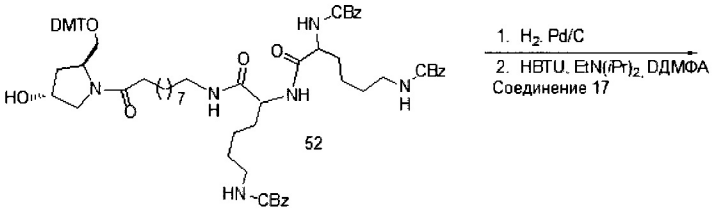
Пример 15: Получение Соединения 47

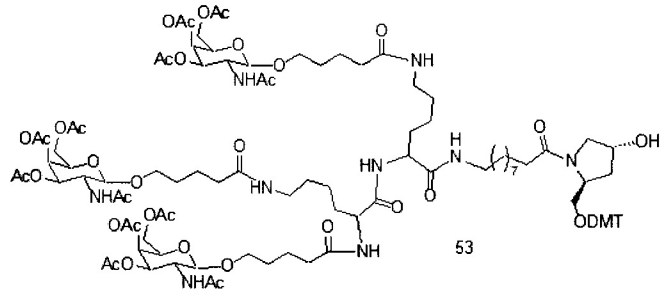


Соединение 46 имеется в продаже.

Пример 16: Получение Соединения 53

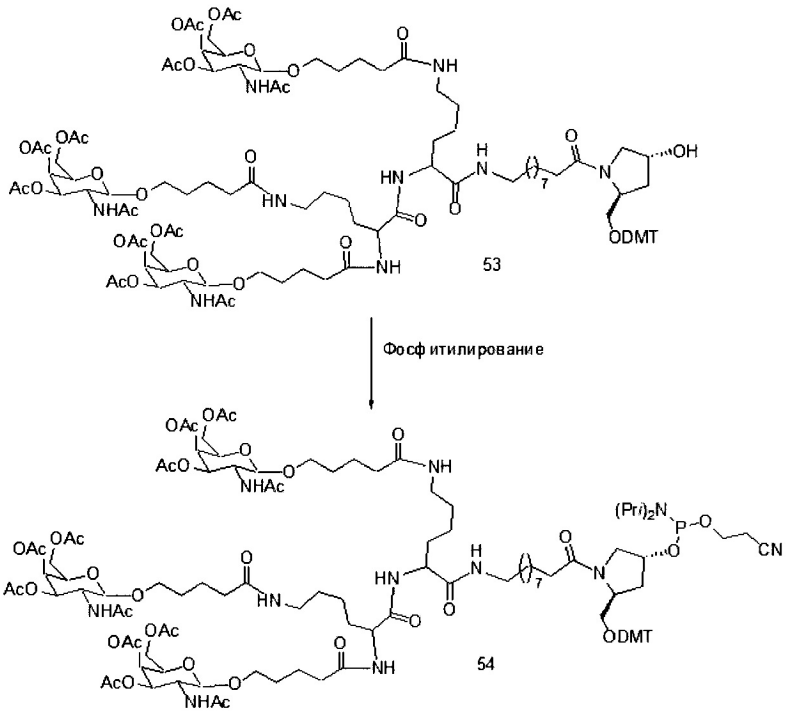






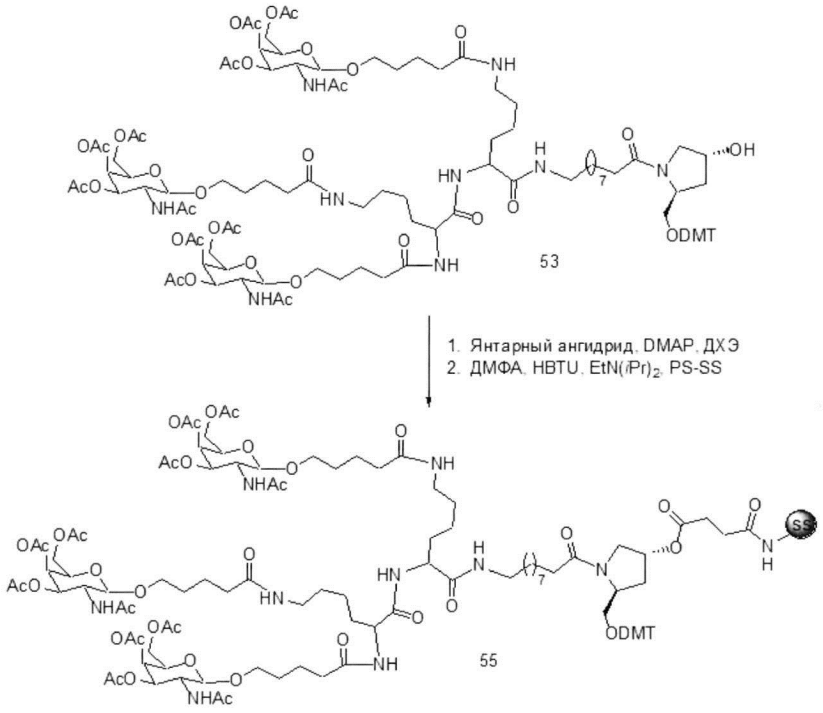
Соединения 48 и 49 имеются в продаже. Соединения 17 и 47 получили так, как описано в способах в Примерах 4 и 15.

Пример 17: Получение Соединения 54



Соединение 53 получили по способам, представленным в Примере 16.

Пример 18: Получение Соединения 55



Соединение 53 получили по способам, представленным в Примере 16.

Пример 19: Общий способ получения сопряженных ASO, содержащих $GalNAc_3$-1 в 3'-положении, при помощи твердофазных методик (получение ISIS 647535, 647536 и 651900)

Если не указано иное, все реагенты и растворы, использованные для синтеза олигомерных соединений, приобретены у коммерческих поставщиков. Стандартные фосфорамидитные строительные блоки и твердую подложку использовали для внедрения нуклеозидных остатков, которые включают, например, остатки T, A, G и ^{m}C. 0,1 M

раствор фосфорамидита в безводном ацетонитриле использовали для β-D-2'-дезоксирибонуклеозида и 2'-MOE.

Синтез антисмысловых олигонуклеотидов (ASO) выполнили на синтезаторе ABI 394 (в масштабе 1-2 мкмоль) или на синтезаторе ÄKTA Oligopilot производства GE Healthcare Bioscience (в масштабе 40-200 мкмоль) по способу фосфорамидитного связывания на твердой подложке VIMAD, наполненной $GalNAc_3$-1 (110 мкмоль/г, Guzaev et al., 2003), упакованной в колонку. Для стадии связывания фосфорамидиты вводили в 4-кратном избытке по сравнению с загрузкой на твердой подложке, а конденсацию фосфорамидита выполняли в течение 10 минут. Все остальные стадии выполняли по стандартным протоколам, предоставленным производителем. Для удаления диметокситритильной (DMT) группы с 5'-гидроксильной группы нуклеотида использовали 6% раствор дихлоруксусной кислоты в толуоле. На стадии связывания в качестве активатора использовали 4,5-дицианоимидазол (0,7 M) в безводном CH_3CN. Тиофосфатные связи внедряли сульфированием при помощи 0,1 M раствора гидрида ксантана в 1:1 смеси пиридина/CH_3CN в течение 3 минут времени контакта. В качестве окислительного агента для получения фосфодиэфирных межнуклеозидных связей использовали 20% раствор трет-бутилгидропероксида в CH_3CN, содержащий 6% воды, в течение 12 минут времени контакта.

После сборки требуемой последовательности цианоэтил-фосфатные защитные группы снимали при помощи 1:1 (об./об.) смеси триэтиламина и ацетонитрила в течение 45 минут времени контакта. Связанные с твердой подложкой ASO суспендировали в водном растворе аммиака (28-30 масс. %) и нагревали при 55°C в течение 6 часов.

Затем отфильтровывали не связанные ASO и выпаривали аммиак кипячением. Остаток очищали жидкостной хроматографией высокого давления на сильной анионообменной колонке (GE Healthcare Bioscience, Source 30Q, 30 мкм, 2,54×8 см, A = 100 мМ ацетата аммония в 30% водном CH_3CN, B = 1,5 M NaBr в A, 0-40% B за 60 мин., скорость потока 14 мл.мин-1, λ = 260 нм). Остаток обессоливали при помощи ВЭЖХ на обращенно-фазовой колонке с получением заданных ASO с выделенным выходом 15-30% относительно первоначальной загрузки на твердую подложку. ASO характеризовали при помощи ион-парной ВЭЖХ, совмещенной с МС-анализом на системе Agilent 1100 MSD.

Антисмысловые олигонуклеотиды, не содержащие конъюгат, синтезировали по стандартным способам синтеза олигонуклеотидов, общеизвестным в данной области техники.

Применяя эти способы, получили три отдельных антисмысловых соединения, направленных на ApoC III. Как показано ниже в Таблице 17, каждое из трех антисмысловых соединений, направленных на ApoC III, имеет одну и ту же последовательность азотистых оснований. ISIS 304801 представляет собой 5-10-5 MOE гэпмер, содержащий только тиофосфатные связи; ISIS 647535 является таким же, как ISIS 304801, за исключением того, что он содержит $GalNAc_3$-1, сопряженный на его 3'-конце; и ISIS 647536 является таким же, как ISIS 647535, за исключением того, что некоторые межнуклеозидные связи этого соединения представляют собой фосфодиэфирные связи. Как дополнительно показано в Таблице 17, были синтезированы два отдельных антисмысловых соединения, направленных на SRB-1. ISIS 440762 представляет собой 2-10-2 cEt гэпмер, содержащий только тиофосфатные межнуклеозидные связи; ISIS 651900 является таким же, как ISIS 440762, за исключением того, что он содержит $GalNAc_3$-1 на его 3'-конце.

Таблица 17

Модифицированные ASO, направленные на ApoC III и SRB-1

ASO	Последовательность (от 5' к 3')	Мишень	Расчетная масса	Наблюдаемая масса	SEQ ID NO
ISIS 304801	$A_{es}G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}G_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{es}T_{es}T_{es}A_{es}T_{e}$	ApoC III	7165,4	7164,4	2248
ISIS 647535	$A_{es}G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}G_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{es}T_{es}T_{es}A_{es}T_{eo}$**$A_{do}$'-GalNAc$_3-1_a$**	ApoC III	9239,5	9237,8	2249
ISIS 647536	$A_{es}G_{eo}{}^{m}C_{eo}T_{eo}T_{eo}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}G_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{eo}T_{eo}T_{es}A_{es}T_{eo}$**$A_{do}$'- GalNAc$_3-1_a$**	ApoC III	9142,9	9140,8	2249
ISIS 440762	$T_{ks}{}^{m}C_{ks}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{ks}{}^{m}C_{k}$	SRB-1	4647,0	4646,4	2250
ISIS 651900	$T_{ks}{}^{m}C_{ks}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{ks}{}^{m}C_{ko}$**$A_{do}$'-GalNAc$_3-1_a$**	SRB-1	6721,1	6719,4	2251

Нижние индексы: «e» означает 2'-MOE модифицированный нуклеозид; «d» означает β-D-2'-дезоксирибонуклеозид; «k» означает 6'-(S)-CH_3 бициклический нуклеозид (например, cEt); «s» означает тиофосфатные межнуклеозидные связи (PS); «o» означает фосфодиэфирные межнуклеозидные связи (PO); и «o'» означает -O-P(=O)(OH)-. Верхний индекс «m» означает 5-метилцитозины. «GalNAc$_3$-1» означает группу конъюгата, имеющую структуру, показанную ранее в Примере 9. Следует отметить, что GalNAc$_3$-1 содержит расщепляемый аденозин, которые связывает ASO с остальной частью конъюгата, обозначенной «GalNAc$_3$-1$_a$.» Номенклатура, используемая в представленной выше таблице, показывает полную последовательность азотистых оснований, включая аденозин, который является частью конъюгата. Следовательно, в представленной выше таблице последовательности также могут быть перечислены с окончанием «GalNAc$_3$-1», без «A_{do}». Такое условное применение нижнего индекса «a» для обозначения части группы конъюгата, не содержащей расщепляемого нуклеозида или расщепляемого фрагмента, используется во всех представленных Примерах. Эта часть группы конъюгата, не содержащая расщепляемого фрагмента, упоминается в настоящем документе как «кластер» или «кластер конъюгата» или «кластер GalNAc$_3$». В некоторых случаях группа конъюгата для удобства описана путем отдельного представления ее кластера и ее расщепляемого фрагмента.

Пример 20: Дозозависимое антисмысловое ингибирование человеческого ApoC III у huApoC III трансгенных мышей

ISIS 304801 и ISIS 647535, каждый из которых направлен на человеческий ApoC III и описан выше, отдельно испытывали и оценивали в дозозависимом исследовании на их способность ингибировать человеческий ApoC III у трансгенных мышей с человеческим ApoC III.

Лечение

Трансгенных мышей с человеческим ApoCIII выдерживали при 12-часовом цикле освещения/темноты и обеспечивали ad libitum доступ к пище Teklad lab. До начала эксперимента животных акклиматизировали по меньшей мере в течение 7 дней в исследовательской лаборатории. Получили ASO в PBS и стерилизовали фильтрованием через фильтр 0,2 микрона. ASO растворили в 0,9% PBS для инъекций.

Трансгенным мышам с человеческим ApoC III один раз в неделю в течение двух недель внутрибрюшинно вводили инъекции ISIS 304801 или 647535 при 0,08, 0,25, 0,75, 2,25 или 6,75 мкмоль/кг или PBS в качестве контроля. Каждая экспериментальная группа

состояла из 4 животных. Через сорок восемь часов после введения последней дозы каждую мышь обескровили и усыпили, и собрали ткани.

Анализ мРНКАроС III

Уровни мРНК АроС-III в печени мышей определили при помощи ПЦР в реальном времени и реагента для количественного определения РНК RIBOGREEN® (Molecular Probes, Inc. Юджин, штат Орегон) по стандартным протоколам. Уровни мРНК АроС III определяли относительно общей РНК (при помощи Ribogreen), затем нормализовали к контрольному образцу, обработанному PBS. Результаты, показанные ниже, представлены как средний процент уровней мРНК АроС III для каждой экспериментальной группы, нормализованных к контрольному образцу, обработанному PBS, и обозначены как « % PBS». Полумаксимальная эффективная доза (ED_{50}) каждого ASO представлена также ниже в Таблице 18.

Показано, что оба антисмысловых соединения снижают РНК АроС III, по сравнению с контрольным образцом, обработанным PBS. Кроме того, антисмысловое соединение, сопряженное с $GalNAc_3$-1 (ISIS 647535), было значительно более эффективным, чем антисмысловое соединение, не содержащее конъюгат $GalNAc_3$-1 (ISIS 304801).

Таблица 18

Влияние ASO лечения на уровни мРНК АроС III у трансгенных мышей с человеческим АроС III

ASO	Доза (мкмоль/кг)	% PBS	ED_{50} (мкмоль/кг)	3'-конъюгат	Межнуклеозидная связь/длина	SEQ ID NO
PBS	0	100	--	-	--	
ISIS 304801	0,08	95	0,77	Отсутствие	PS/20	2248
	0,75	42				
	2,25	32				
	6,75	19				
ISIS 647535	0,08	50	0,074	**$GalNAc_3$-1**	PS/20	2249
	0,75	15				
	2,25	17				
	6,75	8				

Анализ белка АроС III (турбидиметрический анализ)

Анализ белка АроС III в плазме выполнили по способам, описанным в работе Graham et al, Circulation Research, до печати опубликованной онлайн 29 марта 2013 года.

Приблизительно 100 мкл плазмы, выделенной из мышей, анализировали без разбавления, используя клинический анализатор Olympus и имеющийся в продаже турбидиметрический аналитический набор АроС III (Kamiya, кат. №KAI-006, Kamiya Biomedical, Сиэтл, штат Вашингтон). Протокол анализа выполняли по описанию поставщика.

Как показано ниже в Таблице 19, оба антисмысловых соединения снижают белок АроС III, по сравнению с PBS контрольным образцом. Кроме того, антисмысловое соединение, сопряженное с $GalNAc_3$-1 (ISIS 647535), было значительно более эффективным, чем антисмысловое соединение, не содержащее конъюгат $GalNAc_3$-1 (ISIS 304801).

Таблица 19

Влияние ASO лечения на уровни белка АроС III в плазме у трансгенных мышей с человеческим АроС III

ASO	Доза (мкмоль/кг)	% PBS	ED_{50} (мкмоль/кг)	3'-конъюгат	Межнуклеозидная связь/длина	SEQ ID NO
PBS	0	100	--	--	--	
ISIS 304801	0,08	86	0,73	Отсутствие	PS/20	2248
	0,75	51				
	2,25	23				
	6,75	13				
ISIS 647535	0,08	72	0,19	**$GalNAc_3$-1**	PS/20	2249
	0,75	14				
	2,25	12				
	6,75	11				

Триглицериды и холестерин плазмы выделили по способу Bligh и Dyer (Bligh, E.G. и Dyer, W.J. Can. J. Biochem. Physiol. 37: 911-917, 1959)(Bligh, E and Dyer, W, Can J Biochem Physiol, 37, 911-917, 1959)(Bligh, E and Dyer, W, Can J Biochem Physiol, 37, 911-917, 1959) и измерили при помощи клинического анализатора Beckmann Coulter и имеющихся в продаже реагентов.

Уровни триглицеридов измерили относительно мышей, инъецированных PBS, и выразили как « % PBS». Результаты представлены в Таблице 20. Показано, что оба антисмысловых соединения снижают уровни триглицеридов. Кроме того, антисмысловое соединение, сопряженное с $GlNAc_3$-1 (ISIS 647535), было значительно более эффективным, чем антисмысловое соединение, не содержащее конъюгат $GalNAc_3$-1 (ISIS 304801).

Таблица 20

Влияние ASO лечения на уровни триглицеридов у трансгенных мышей

ASO	Доза (мкмоль/кг)	% PBS	ED_{50} (мкмоль/кг)	3'-конъюгат	Межнуклеозидная связь/длина	SEQ ID NO
PBS	0	100	--	--	--	
ISIS 304801	0,08	87	0,63	Отсутствие	PS/20	2248
	0,75	46				
	2,25	21				
	6,75	12				
ISIS 647535	0,08	65	0,13	**$GalNAc_3$-1**	PS/20	2249
	0,75	9				
	2,25	8				
	6,75	9				

Образцы плазмы анализировали при помощи ВЭЖХ для определения количества общего холестерина и различных фракций холестерина (HDL и LDL). Результаты представлены в таблицах 21 и 22. Показано, что оба антисмысловых соединения снижают общие уровни холестерина; оба снижают LDL; и оба повышают HDL. Кроме того, антисмысловое соединение, сопряженное с $GalNAc_3$-1 (ISIS 647535), было значительно более эффективным, чем антисмысловое соединение, не содержащее конъюгат $GalNAc_3$-1 (ISIS 304801). Увеличение уровней HDL и снижение уровней LDL представляет собой преимущественный сердечно-сосудистый эффект антисмыслового ингибирования АроС III.

Таблица 21

Влияние ASO лечения на уровни общего холестерина у трансгенных мышей

ASO	Доза (мкмоль/кг)	Общий холестерин (мг/дл)	3'-конъюгат	Межнуклеозидная связь/длина	SEQ ID NO
PBS	0	257	--	--	
ISIS 304801	0,08	226	Отсутствие	PS/20	2248
	0,75	164			
	2,25	110			
	6,75	82			
ISIS	0,08	230	**GalNAc$_3$-1**	PS/20	2249
647535	0,75	82			
	2,25	86			
	6,75	99			

Таблица 22

Влияние ASO лечения на уровни HDL и LDL холестерина у трансгенных мышей

ASO	Доза (мкмоль/кг)	HDL (мг/дл)	LDL (мг/дл)	3'-конъюгат	Межнуклеозидная связь/длина	SEQ ID NO
PBS	0	17	28	--	--	
ISIS 304801	0,08	17	23	Отсутствие	PS/20	2248
	0,75	27	12			
	2,25	50	4			
	6,75	45	2			
ISIS 647535	0,08	21	21	**GalNAc$_3$-1**	PS/20	2249
	0,75	44	2			
	2,25	50	2			
	6,75	58	2			

Фармакокинетический анализ (ФК)

Исследовали также ФК ASO. Образцы печени и почек измельчали и экстрагировали по стандартным протоколам. Образцы анализировали на MSD1, используя ИП-ВЭЖХ-МС. Определили содержание (мкг/г) в ткани ISIS 304801 и 647535 полной длины, и результаты представлены в Таблице 23. Показано, что концентрации в печени антисмысловых соединений полной длины были одинаковыми для двух антисмысловых соединений. Следовательно, даже несмотря на то, что GalNAc$_3$-1-сопряженное антисмысловое соединение является более активным в печени (как показано по данным РНК и белка, представленным выше), его содержание в печени не намного выше. Действительно, рассчитанное значение EC_{50} (представленное в Таблице 23) подтверждает, что наблюдаемое увеличение эффективности сопряженного соединения не может быть приписано исключительно повышенному накоплению. Такой результат позволяет предположить, что конъюгат улучшает эффективность по другому механизму, чем простое накопление в печени, возможно за счет увеличения продуктивного захвата антисмыслового соединения в клетки.

Эти результаты показывают также, что концентрация GalNAc$_3$-1-сопряженного антисмыслового соединения почках ниже, чем концентрация антисмыслового соединения, не содержащего конъюгата GalNAc. Это имеет несколько преимущественных терапевтических применений. Для терапевтических показаний, в которых не требуется проявление активности в почках, воздействие на почки подвергает их риску токсичности без соответствующей пользы. Более того, высокая концентрация в почках обычно приводит к выводу соединения с мочой, обеспечивая более быстрое выведение. Соответственно, для внепочечных мишеней накопление в почках является нежелательным. Эти данные позволяют предположить, что сопряжение с GalNAc$_3$-1

снижает накопление в почках.

Таблица 23

ФК анализ ASO лечения у трансгенных мышей

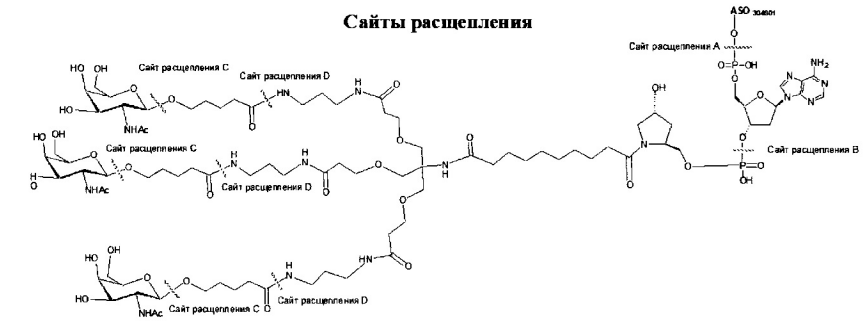
ASO	Доза (мкмоль/кг)	Печень (мкг/г)	Почки (мкг/г)	EC_{50} в печени (мкг/г)	3'-конъюгат	Межнуклеозидная связь/длина	SEQ ID NO
ISIS 304801	0,1	5,2	2,1	53	Отсутствие	PS/20	2248
	0,8	62,8	119,6				
	2,3	142,3	191,5				
	6,8	202,3	337,7				
ISIS 647535	0,1	3,8	0,7	3,8	**GalNAc$_3$-1**	PS/20	2249
	0,8	72,7	34,3				
	2,3	106,8	111,4				
	6,8	237,2	179,3				

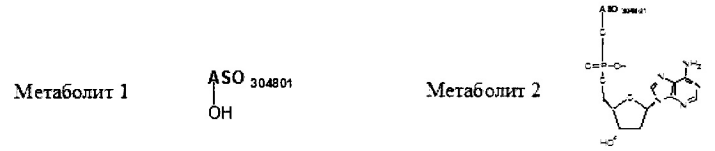
Идентифицировали также метаболиты ISIS 647535 и подтвердили их массы при помощи масс-спектрометрического анализа высокого разрешения. Сайты расщепления и структуры наблюдаемых метаболитов представлены ниже. Относительный % от общей длины ASO рассчитали по стандартным технологиям, а результаты представлены в Таблице 23а. Основной метаболит ISIS 647535 представляет собой ASO полной длины без всего конъюгата (то есть ISIS 304801), который образуется в результате расщепления по сайту расщепления A, представленному ниже. Кроме того, наблюдали также дополнительные метаболиты, образующиеся из других сайтов расщепления. Эти результаты позволяют предположить, что может быть пригодным также внедрение других расщепляемых связей, таких как сложные эфиры, пептиды, дисульфиды, фосфорамидаты или ацил-гидразоны, между сахаром GalNAc$_3$-1 и ASO, которые могут расщепляться под действием ферментов внутри клетки или которые могут расщепляться в восстановительной среде цитозоля, или которые лабильны в кислотном pH внутри эндосом и лизосом.

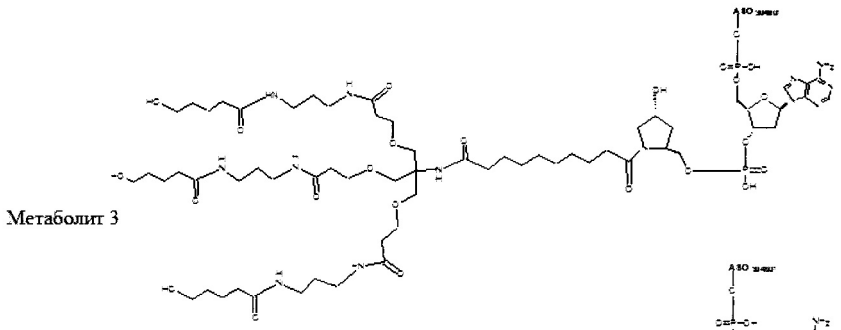
Таблица 23а

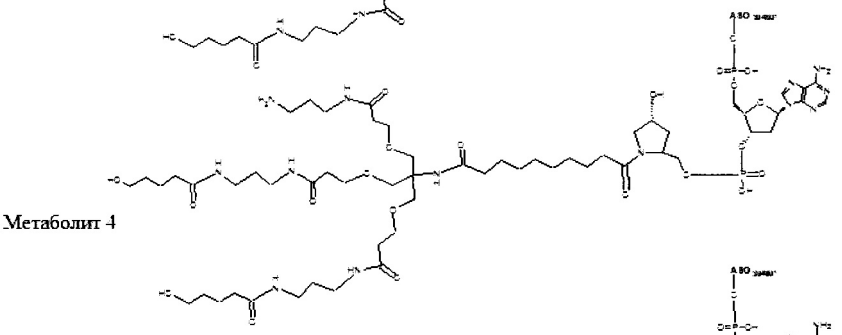
Наблюдаемые метаболиты полной длины ISIS 647535

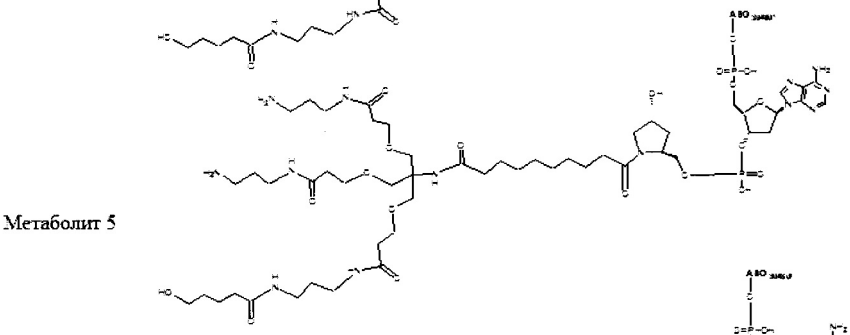
Метаболит	ASO	Сайт расщепления	Относительный %
1	ISIS 304801	A	36,1
2	ISIS 304801 + dA	B	10,5
3	ISIS 647535 минус [3 GalNAc]	C	16,1
4	ISIS 647535 минус [3 GalNAc + 1 связка 5-гидроксипентановой кислоты]	D	17,6
5	ISIS 647535 минус [2 GalNAc + 2 связки 5-гидроксипентановой кислоты]	D	9,9
6	ISIS 647535 минус [3 GalNAc + 3 связки 5-гидроксипентановой кислоты]	D	9,8

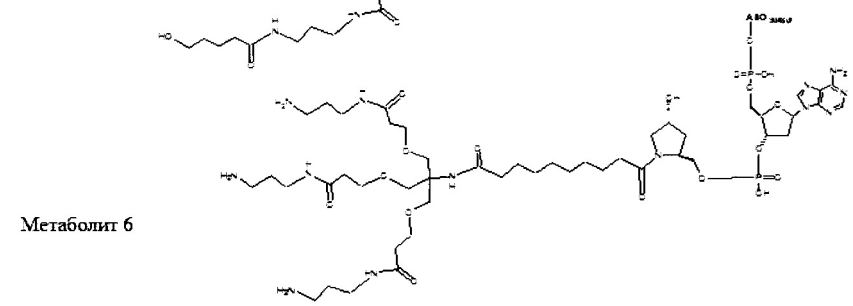












Пример 21: Антисмысловое ингибирование человеческого ApoC III у трансгенных мышей с ApoC III в исследовании одного введения

ISIS 304801, 647535 и 647536, каждый из которых направлен на человеческий ApoC III и описан в Таблице 17, дополнительно оценивали в исследовании однократного введения на их способность ингибировать человеческий ApoC III у трансгенных мышей с человеческим ApoC III.

Лечение

Трансгенных мышей с человеческим ApoCIII выдерживали при 12-часовом цикле освещения/темноты и обеспечивали ad libitum доступ к пище Teklad lab. До начала эксперимента животных акклиматизировали по меньшей мере в течение 7 дней в исследовательской лаборатории. Получили ASO в PBS и стерилизовали фильтрованием через фильтр 0,2 микрона. ASO растворили в 0,9% PBS для инъекций.

Трансгенным мышам с человеческим ApoC III внутрибрюшинно ввели однократную инъекцию дозы, представленной ниже, соединения ISIS 304801, 647535 или 647536 (описанных выше), или PBS в качестве контрольного образца. Экспериментальная группа состояла из 3 животных, а контрольная группа состояла из 4 животных. Перед лечением, а также после последней дозы у каждой мыши брали кровь и анализировали образцы плазмы. Мышей усыпили через 72 часа после последнего введения.

Образцы собрали и анализировали для определения уровней мРНК ApoC III и белка в печени; триглицеридов в плазме; и холестерина, включая фракции HDL и LDL, которые анализировали так, как описано выше (Пример 20). Данные этих анализов представлены ниже в Таблицах 24-28. Уровни трансаминазы в печени, аланин-аминотрансферазы (ALT) и аспартат-аминотрансферазы (AST) в сыворотке измеряли относительно мышей, инъецированных солевым раствором, используя стандартные протоколы. Уровни ALT и AST показали, что антисмысловые соединения хорошо переносятся при всех введенных дозах.

Эти результаты демонстрируют усиление эффективности антисмысловых соединений, содержащих конъюгат $GalNAc_3$-1 на 3'-конце (ISIS 647535 и 647536), по сравнению с антисмысловым соединением, не содержащим конъюгат $GalNAc_3$-1 (ISIS 304801). Кроме того, ISIS 647536, который содержит конъюгат $GalNAc_3$-1 и несколько фосфодиэфирных связей, был таким же эффективным, как ISIS 647535, который содержит тот же конъюгат, и все межнуклеозидные связи в этом ASO являются тиофосфатными.

Таблица 24

Влияние ASO лечения на уровни мРНК ApoC III у трансгенных мышей с человеческим ApoC III

ASO	Доза (мг/кг)	% PBS	ED_{50} (мг/кг)	3'-конъюгат	Межнуклеозидная связь/длина	SEQ ID NO
PBS	0	99	--	-	--	
ISIS 304801	1	104	13,2	Отсутствие	PS/20	2248
	3	92				
	10	71				
	30	40				
ISIS 647535	0,3	98	1,9	**$GalNAc_3$-1**	PS/20	2249
	1	70				
	3	33				
	10	20				
ISIS 647536	0,3	103	1,7	**$GalNAc_3$-1**	PS/PO/20	2249
	1	60				
	3	31				
	10	21				

Таблица 25

Влияние ASO лечения на уровни белка АроС III в плазме у трансгенных мышей с человеческим АроС III

ASO	Доза (мг/кг)	% PBS	ED_{50} (мг/кг)	3'-конъюгат	Межнуклеозидная связь/длина	SEQ ID NO
PBS	0	99	--	--	--	
ISIS 304801	1	104	23,2	Отсутствие	PS/20	2248
	3	92				
	10	71				
	30	40				
ISIS 647535	0,3	98	2,1	**GalNAc$_3$-1**	PS/20	2249
	1	70				
	3	33				
	10	20				
ISIS 647536	0,3	103	1,8	**GalNAc$_3$-1**	PS/PO/20	2249
	1	60				
	3	31				
	10	21				

Таблица 26

Влияние ASO лечения на уровни триглицеридов у трансгенных мышей

ASO	Доза (мг/кг)	% PBS	ED_{50} (мг/кг)	3'-конъюгат	Межнуклеозидная связь/длина	SEQ ID NO
PBS	0	98	--	--	--	
ISIS 304801	1	80	29,1	Отсутствие	PS/20	2248
	3	92				
	10	70				
	30	47				
ISIS 647535	0,3	100	2,2	**GalNAc$_3$-1**	PS/20	2249
	1	70				
	3	34				
	10	23				
ISIS 647536	0,3	95	1,9	**GalNAc$_3$-1**	PS/PO/20	2249
	1	66				
	3	31				
	10	23				

Таблица 27

Влияние ASO лечения на уровни общего холестерина у трансгенных мышей

ASO	Доза (мг/кг)	% PBS	3'-конъюгат	Межнуклеозидная связь/длина	SEQ ID NO
PBS	0	96	--	--	
ISIS 304801	1	104	Отсутствие	PS/20	2248
	3	96			
	10	86			
	30	72			
ISIS 647535	0,3	93	**GalNAc$_3$-1**	PS/20	2249
	1	85			
	3	61			
	10	53			
ISIS 647536	0,3	115	**GalNAc$_3$-1**	PS/PO/20	2249
	1	79			
	3	51			
	10	54			

Таблица 28

Влияние ASO лечения на уровни HDL и LDL холестерина у трансгенных мышей

ASO	Доза (мг/кг)	HDL % PBS	LDL % PBS	3'-конъюгат	Межнуклеозидная связь/длина	SEQ ID NO
PBS	0	131	90	--	--	
ISIS 304801	1	130	72	Отсутствие	PS/20	2248
	3	186	79			
	10	226	63			
	30	240	46			
ISIS 647535	0,3	98	86	**GalNAc$_3$-1**	PS/20	2249
	1	214	67			
	3	212	39			
	10	218	35			
ISIS 647536	0,3	143	89	**GalNAc$_3$-1**	PS/PO/20	2249
	1	187	56			
	3	213	33			
	10	221	34			

Эти результаты подтверждают, что конъюгат GalNAc$_3$-1 улучшает эффективность антисмыслового соединения. Эти результаты показывают также равную эффективность GalNAc$_3$-1-сопряженных антисмысловых соединений, в которых антисмысловые олигонуклеотиды имеют смешанные связи (ISIS 647536, который имеет шесть фосфодиэфирных связей), и полностью тиофосфатной версии того же антисмыслового соединения (ISIS 647535).

Тиофосфатные связи обеспечивают несколько свойств антисмысловых соединений. Например, они устойчивы к нуклеазному расщеплению и связываются с белками, что приводит к накоплению соединения в печени, а не в почках/моче. Эти свойства являются желательными, особенно при лечении показаний в печени. Однако тиофосфатные связи связаны также с воспалительной реакцией. Соответственно, уменьшение количества тиофосфатных связей в соединении предположительно снижает риск воспаления, но снижает также концентрацию соединения в печени, повышает концентрацию в почках и моче, снижает стабильность в присутствии нуклеаз и уменьшает общую эффективность. Представленные результаты демонстрируют, что GalNAc$_3$-1-сопряженное антисмысловое соединение, в котором некоторые тиофосфатные связи заменены фосфодиэфирными связями, настолько же эффективно против мишени в печени, как и аналог, содержащий только тиофосфатные связи. Такие соединения предположительно являются менее провоспалительными (см. Пример 24, в котором описан эксперимент, демонстрирующий, что уменьшение тиофосфатов (PS) приводит к снижению воспалительного действия).

Пример 22: Влияние модифицированного GalNAc$_3$-1-сопряженного ASO, направленного на SRB-1, in vivo

ISIS 440762 и 651900, каждый из которых направлен на SRB-1 и описан в Таблице 17, оценили в дозозависимом исследовании на их способность ингибировать SRB-1 у Balb/c мышей.

Лечение

Шестинедельным самцам мышей Balb/c (Jackson Laboratory, Бар-Харбор, штат Мэн) ввели однократную подкожную инъекцию дозы, представленной ниже, соединения ISIS 440762, 651900 или PBS в качестве контрольного образца. Каждая экспериментальная группа состояла из 4 животных. Мышей усыпили через 48 часов после последнего введения для определения уровней мРНК SRB-1 в печени при помощи ПЦР в реальном времени и реагента для количественного определения РНК RIBOGREEN® (Molecular Probes, Inc. Юджин, штат Орегон) по стандартным протоколам. Уровни мРНК SRB-1

определяли относительно общей РНК (при помощи Ribogreen), затем нормализовали к контрольному образцу, обработанному PBS. Результаты, показанные ниже, представлены как средний процент уровней мРНК SRB-1 для каждой экспериментальной группы, нормализованных к контрольному образцу, обработанному PBS, и обозначены как « % PBS».

Как показано в Таблице 29, оба антисмысловых соединения снижают уровни мРНК SRB-1. Кроме того, антисмысловое соединение, содержащее конъюгат $GalNAc_3$-1 (ISIS 651900), было значительно более эффективным, чем антисмысловое соединение, не содержащее конъюгат $GalNAc_3$-1 (ISIS 440762). Эти результаты демонстрируют, что преимущество эффективности конъюгатов $GalNAc_3$-1 наблюдается при использовании антисмысловых олигонуклеотидов, комплементарных различным мишеням и имеющих различные химически модифицированные нуклеозиды, в этом случае модифицированные нуклеозиды содержат стерически затрудненные этил-сахарные фрагменты (бициклический сахарный фрагмент).

Таблица 29

Влияние ASO лечения на уровни мРНК SRB-1 у мышей Balb/c

ASO	Доза (мг/кг)	Печень % PBS	ED_{50} (мг/кг)	3'-конъюгат		Межнуклеозидная связь/длина	SEQ ID NO
PBS	0	100		-		--	
ISIS 440762	0,7	85	2,2	Отсутствие		PS/14	2250
	2	55					
	7	12					
	20	3					
ISIS 651900	0,07	98	0,3	**$GalNAc_3$-1**		PS/14	2251
	0,2	63					
	0,7	20					
	2	6					
	7	5					

Пример 23: Протокол анализа человеческих мононуклеарных клеток периферической крови (hPBMC)

Анализ hPBMC выполнили при помощи пробирочного способа BD Vautainer CPT. Получили образец цельной крови, полученной от доноров-добровольцев, давших информированное согласие в Медицинской клинике США (Faraday & El Camino Real, Карлсбад), и собрали его в 4-15 пробирки BD Vacutainer CPT по 8 мл (VWR, кат. № BD362753). Приблизительный исходный общий объем цельной крови в пробирке CPT для каждого донора записали в формуляре анализа PBMC.

Непосредственно перед центрифугированием образец крови повторно перемешали, осторожно переворачивая пробирки 8-10 раз. Пробирки CPT центрифугировали при комнатной температуре (18-25°C) в горизонтальном (с избыточной поворачиваемостью) роторе в течение 30 минут с фактором разделения (RCF) 1500-1800 с затормаживанием (2700 об./мин. Beckman Allegra 6R). Клетки сняли с лейкоцитарной поверхности раздела (между слоями фиколла и полимерного геля); перенесли в стерильную 50 мл коническую пробирку и сгруппировали по 5 CPT пробирок/50 мл коническая пробирка/донор.

Затем клетки дважды промыли PBS (без Ca^{++}, Mg^{++}; GIBCO). Пробирки пополнили до 50 мл и перемешали, переворачивая несколько раз. Затем образец центрифугировали при 330×g в течение 15 минут при комнатной температуре (1215 об./мин. в Beckman Allegra 6R) и аспирировали максимальное количество надосадочной жидкости, не нарушая осадок. Клеточный осадок сняли, осторожно поворачивая пробирку, и повторно суспендировали клетки в RPMI+10% FBS+пенициллин/стрептомицин (~1 мл/10 мл исходного объема цельной крови). Пипеткой взяли 60 мкл образца и поместили

во флакон с пробой (Beckman Coulter), содержащий 600 мкл реагента VersaLyse (Beckman Coulter, кат. № A09777), и осторожно перемешивали на вортексе в течение 10-15 секунд. Образец оставили инкубироваться в течение 10 минут при комнатной температуре, и снова перемешали перед подсчетом. Суспензию клеток считывали на анализаторе жизнеспособности клеток Vicell XR (Beckman Coulter), используя клетки типа PBMC (сохранили фактор разбавления 1:11 с другими параметрами). Записали количество живых клеток/мл и жизнеспособность. Клеточную суспензию разбавили до 1×10^7 живых PBMC/мл в RPMI+10% FBS+пенициллин/стрептомицин.

Клетки поместили на планшет при 5×10^5 в 50 мкл/лунку 96-луночного тканевого культурального планшета (Falcon Microtest). 50 мкл/лунку 2× концентрации олигомеров/контроля, разбавленных в RPMI+10% FBS+пенициллин/стрептомицин, добавили в соответствии с экспериментальной матрицей (в целом 100 мкл/лунку). Планшеты установили на шейкер и оставили перемешиваться в течение около 1 мин. После инкубации в течение 24 часов при 37°C; 5% CO_2, планшеты центрифугировали при 400×g в течение 10 минут, затем удалили надосадочную жидкость для анализа цитокинов MSD (то есть человеческих IL-6, IL-10, IL-8 и MCP-1).

Пример 24: Оценка провоспалительных эффектов в анализе hPBMC для $GalNAc_3$-1-сопряженных ASO

Антисмысловые олигонуклеотиды (ASO), перечисленные в Таблице 30, оценили на провоспалительное действие в анализе hPBMC, используя протокол, описанный в Примере 23. ISIS 353512 представляет собой внутренний стандарт, который, как известно, обладает высоким ответом на высвобождение IL-6 в этом анализе. hPBMC выделили из свежих образцов, полученных от доноров-добровольцев, и обработали ASO в концентрациях 0, 0,0128, 0,064, 0,32, 1,6, 8, 40 и 200 мкМ. Через 24 часа обработки измерили уровни цитокинов.

Уровни IL-6 использовали в качестве первичного значения. EC_{50} и E_{max} рассчитывали по стандарным способам. Результаты выразили как среднее отношение E_{max}/EC_{50} для двух доноров и обозначили как «E_{max}/EC_{50}». Более низкое соотношение означает относительное снижение провоспалительного ответа, а более высокое соотношение означает относительное увеличение провоспалительного ответа.

В отношении исследуемых соединений, наименее провоспалительным соединением было ASO, соединенное при помощи PS/PO (ISIS 616468). $CalNAc_3$-1-сопряженное ASO, ISIS 647535, было немного менее провоспалительным, чем его несопряженный аналог, ISIS 304801. Эти результаты показывают, что внедрение нескольких PO связей снижает провоспалительную реакцию, а добавление конъюгата $GalNAc_3$-1 не делает соединение более провоспалительным, и может снижать провоспалительную реакцию. Соответственно, можно ожидать, что антисмысловое соединение, содержащее смешанные PS/PO связи и конъюгат $GalNAc_3$-1, может вызывать более слабые провоспалительные реакции, по сравнению с антисмысловым соединением, связанным только посредством PS, с конъюгатом $GalNAc_3$-1 или без него. Эти результаты показывают, что $GalNAc_3$-1-сопряженные антисмысловые соединения, в частности, соединения, имеющие меньшее содержание PS, являются менее провоспалительными.

В целом, эти результаты позволяют предположить, что $CalNAc_3$-1-сопряженное соединение, в частности, соединение со сниженным содержанием PS, может быть введено в более высокой дозе, чем аналогичное полностью PS антисмысловое соединение без

конъюгата $GalNAc_3$-1. Поскольку не ожидается, что период полувыведения для этих соединений будет существенно различаться, то такое введение в более высокой дозе обусловит менее частое введение доз. В действительности, такое введение может быть еще более редким, поскольку $CalNAc_3$-1-сопряженные соединения являются более эффективными (см. Примеры 20-22), а повторное введение дозы необходимо только при снижении концентрации соединения ниже заданного уровня, при этом такой заданный уровень обусловлен эффективностью.

Таблица 30

Модифицированные ASO

ASO	Последовательность (от 5' к 3')	Мишень	SEQ ID NO
ISIS 104838	$G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}G_{es}A_{es}T_{ds}T_{ds}A_{ds}G_{ds}A_{ds}G_{ds}$ $A_{ds}G_{ds}A_{ds}G_{ds}G_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{e}$	TNFα	2252
ISIS 353512	$T_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}G_{ds}$ $G_{ds}A_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{es}G_{es}G_{e}$	CRP	2253
ISIS 304801	$A_{es}G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{ds}T_{ds}$ $^{m}C_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}G_{ds}{}^{m}C_{ds}$ $T_{es}T_{es}T_{es}A_{es}T_{e}$	ApoC III	2248
ISIS 647535	$A_{es}G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{ds}T_{ds}$ $^{m}C_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}G_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{es}T_{es}T_{es}A_{es}T_{eo}$**$A_{do'}$-GalNAc$_3-1_a$**	ApoC III	2249
ISIS 616468	$A_{es}G_{eo}{}^{m}C_{eo}T_{eo}T_{eo}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{ds}T_{ds}$ $^{m}C_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}G_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{eo}T_{eo}T_{es}A_{es}T_{e}$	ApoC III	2248

Нижние индексы: «e» означает 2'-MOE модифицированный нуклеозид; «d» означает β-D-2'-дезоксирибонуклеозид; «k» означает 6'-(S)-CH_3 бициклический нуклеозид (например, cEt); «s» означает тиофосфатные межнуклеозидные связи (PS); «o» означает фосфодиэфирные межнуклеозидные связи (PO); и «o'» означает -O-P(=O)(OH)-. Верхний индекс «m» означает 5-метилцитозины. «$A_{do'}$-$GalNAc_3$-1a» означает конъюгат, имеющий структуру $GalNAc_3$-1, показанную в Примере 9, присоединенную к 3'-концу антисмыслового олигонуклеотида, как показано.

Таблица 31

Провоспалительное действие ASO, направленных на ApoC III, в анализе hPBMC

ASO	EC_{50} (мкМ)	E_{max} (мкМ)	E_{max}/EC_{50}	3'-конъюгат	Межнуклеозидная связь/длина	SEQ ID NO
ISIS 353512 (повышенная реакция)	0,01	265,9	26590	Отсутствие	PS/20	2253
ISIS 304801	0,07	106,55	1522	Отсутствие	PS/20	2248
ISIS 647535	0,12	138	1150	**GalNAc$_3$-1**	PS/20	2249
ISIS 616468	0,32	71,52	224	Отсутствие	PS/PO/20	2248

Пример 25: Влияние модифицированного $GalNAc_3$-1-сопряженного ASO, направленного на человеческий ApoC III, in vitro

ISIS 304801 и 647535, описанные выше, испытали in vitro. Первичные гепатоцитарные клетки трансгенных мышей при плотности 25000 клеток на лунку обработали концентрациями 0,03, 0,08, 0,24, 0,74, 2,22, 6,67 и 20 мкМ модифицированных олигонуклеотидов. После обработки в течение приблизительно 16 часов, из клеток выделили РНК и измерили уровни мРНК при помощи количественной ПЦР в реальном времени, а уровни мРНК hApoC III скорректировали в соответствии с общим содержанием РНК, измеренным при помощи RIBOGREEN.

IC_{50} рассчитали по стандартным способам, а результаты представлены в Таблице 32. Показано, что наблюдали сравнимую эффективность в клетках, обработанных ISIS

647535, по сравнению с контрольным образцом, ISIS 304801.

Таблица 32

Модифицированные ASO, направленные на человеческие ApoC III, в первичных гепатоцитах

ASO	IC_{50} (мкМ)	3'-конъюгат	Межнуклеозидная связь/длина	SEQ ID NO
ISIS 304801	0,44	Отсутствие	PS/20	2248
ISIS 647535	0,31	**$GalNAc_3$-1**	PS/20	2249

В этом эксперименте in vitro не наблюдали такого большого преимущества эффективности сопряжения с $GalNAc_3$-1, как наблюдали in vivo. Последующие эксперименты свободного захвата в первичных гепатоцитах in vitro не показали повышенной эффективности олигонуклеотидов, содержащих различные конъюгаты GalNAc, по сравнению с олигонуклеотидами, не содержащими конъюгаты GalNAc (см. Примеры 60, 82 и 92).

Пример 26: Влияние линкеров PO/PS на активность ASO в отношении ApoC III

Трансгенным мышам с человеческим ApoC III внутрибрюшинной инъекцией вводили 25 мг/кг ISIS 304801 или ISIS 616468 (оба описаны выше) или PBS в качестве контрольного образца, один раз в неделю в течение двух недель. Экспериментальная группа состояла из 3 животных, а контрольная группа состояла из 4 животных. Перед лечением, а также после последней дозы у каждой мыши брали кровь и анализировали образцы плазмы. Мышей усыпили через 72 часа после последнего введения.

Образцы собрали и анализировали для определения уровней белка ApoC III в печени, как описано выше (Пример 20). Данные этих анализов представлены ниже в Таблице 33.

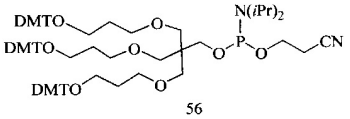
Эти результаты демонстрируют снижение эффективности антисмысловых соединений с PO/PS (ISIS 616468) в крыльях, по сравнению с соединениями, содержащими только PS (ISIS 304801).

Таблица 33

Влияние ASO лечения на уровни белка ApoC III у трансгенных мышей с человеческим ApoC III

ASO	Доза (мг/кг)	% PBS	3'-конъюгат	Межнуклеозидная связь/длина	SEQ ID NO
PBS	0	99	-	--	
ISIS 304801	25 мг/кг/неделю в течение 2 недель	24	Отсутствие	Полностью PS	2248
ISIS 616468	25 мг/кг/неделю в течение 2 недель	40	Отсутствие	14 PS/6 PO	2248

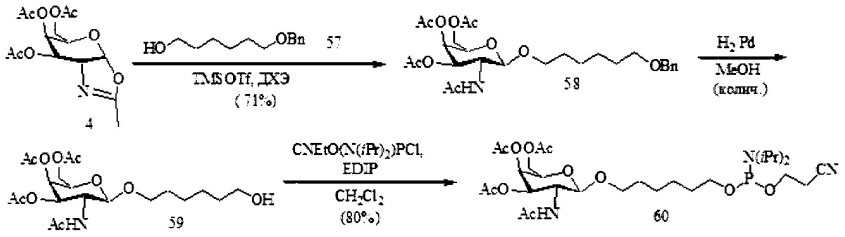
Пример 27: Соединение 56



56

Соединение 56 имеется в продаже у компании Glen Research или может быть получено по опубликованным методикам, описанным авторами Shchepinov et al., Nucleic Acids Research, 1997, 25(22), 4447-4454.

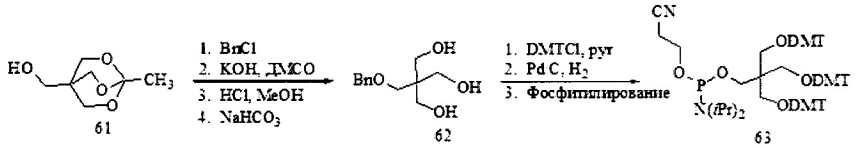
Пример 28: Получение Соединения 60



Соединение 4 получили по способам, представленным в Примере 2. Соединение 57 имеется в продаже. Соединение 60 подтвердили структурным анализом.

Соединение 57 является иллюстративным, и его не следует считать ограничивающим, поскольку могут быть использованы другие монозащищенные замещенные или незамещенные алкилдиолы, включая, но не ограничиваясь ими, те, которые представлены в данном описании, для получения фосфорамидитов, имеющих заданный состав.

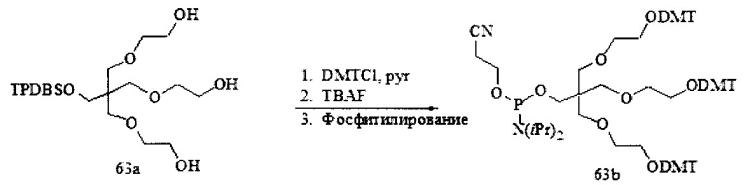
Пример 29: Получение Соединения 63



Соединения 61 и 62 получили по такому же способу, как описан в публикации Tober et al., Eur. J. Org. Chem., 2013, 3, 566-577; и Jiang et al., Tetrahedron, 2007, 63(19), 3982-3988.

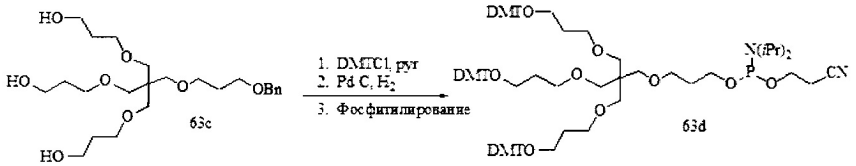
Альтернативно, Соединение 63 получили по таким же способам, как описаны в научной и патентной литературе авторами Kim et al., Synlett, 2003, 12, 1838-1840; и Kim et al., опубликованная международная заявка PCT WO 2004063208.

Пример 30: Получение Соединения 63b



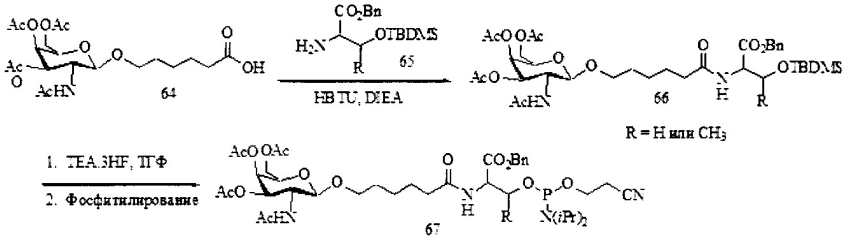
Соединение 63a получили по таким же способам, как описаны авторами Hanessian et al., Canadian Journal of Chemistry, 1996, 74(9), 1731-1737.

Пример 32: Получение Соединения 63d



Соединение 63c получили по таким же способам, как описаны авторами Chenet al., Chinese Chemical Letters, 1998, 9(5), 451-453.

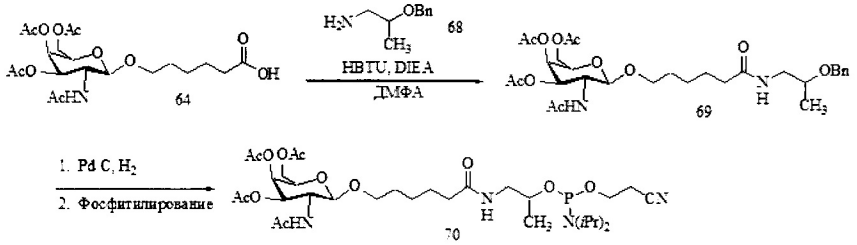
Пример 32: Получение Соединения 67



Соединение 64 получили по способам, представленным в Примере 2. Соединение 65 получили по таким же способам, как описаны авторами Or et al., в опубликованной

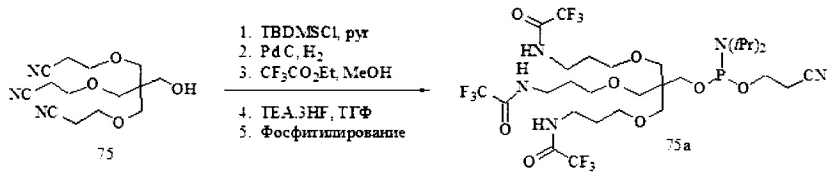
международной заявке PCT WO 2009003009. Защитные группы, использованные для Соединения 65, являются иллюстративным, и их не следует считать ограничением, поскольку могут быть использованы другие защитные группы, включая, но не ограничиваясь ими, те, которые представлены в данном описании.

Пример 33: Получение Соединения 70



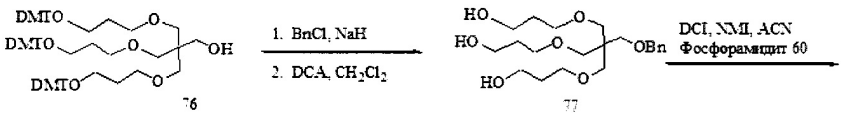
Соединение 64 получили по способам, представленным в Примере 2. Соединение 68 имеется в продаже. Защитная группа, использованная для Соединения 68, является иллюстративной, и ее не следует считать ограничением, поскольку могут быть использованы другие защитные группы, включая, но не ограничиваясь ими, те, которые представлены в данном описании.

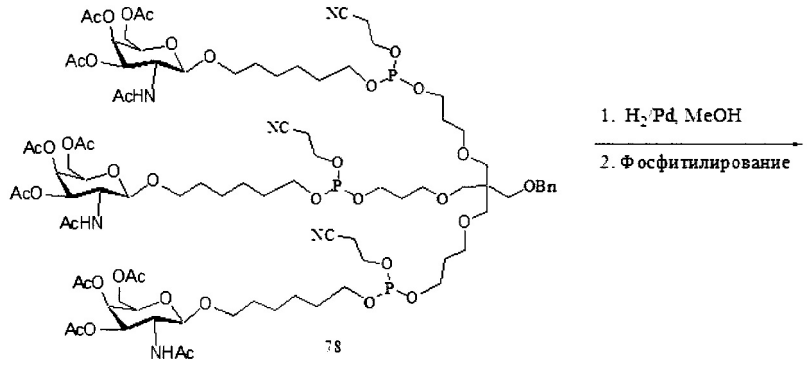
Пример 34: Получение Соединения 75a



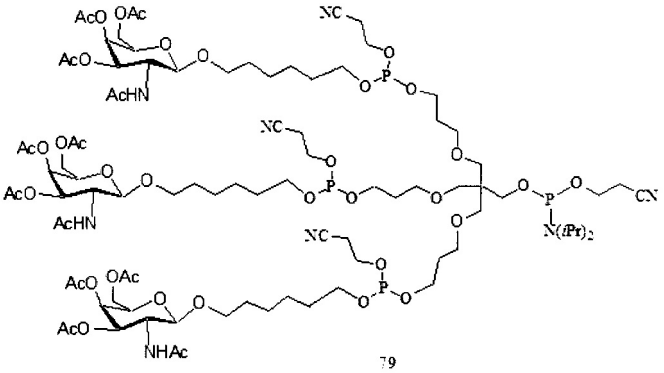
Соединение 75 получили по опубликованным способам, описанным авторами Shchepinov et al., Nucleic Acids Research, 1997, 25(22), 4447-4454.

Пример 35: Получение Соединения 79





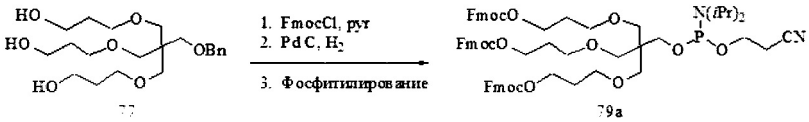
78



79

Соединение 76 получили по опубликованным способам, описанным авторами Shchepinov et al., Nucleic Acids Research, 1997, 25(22), 4447-4454.

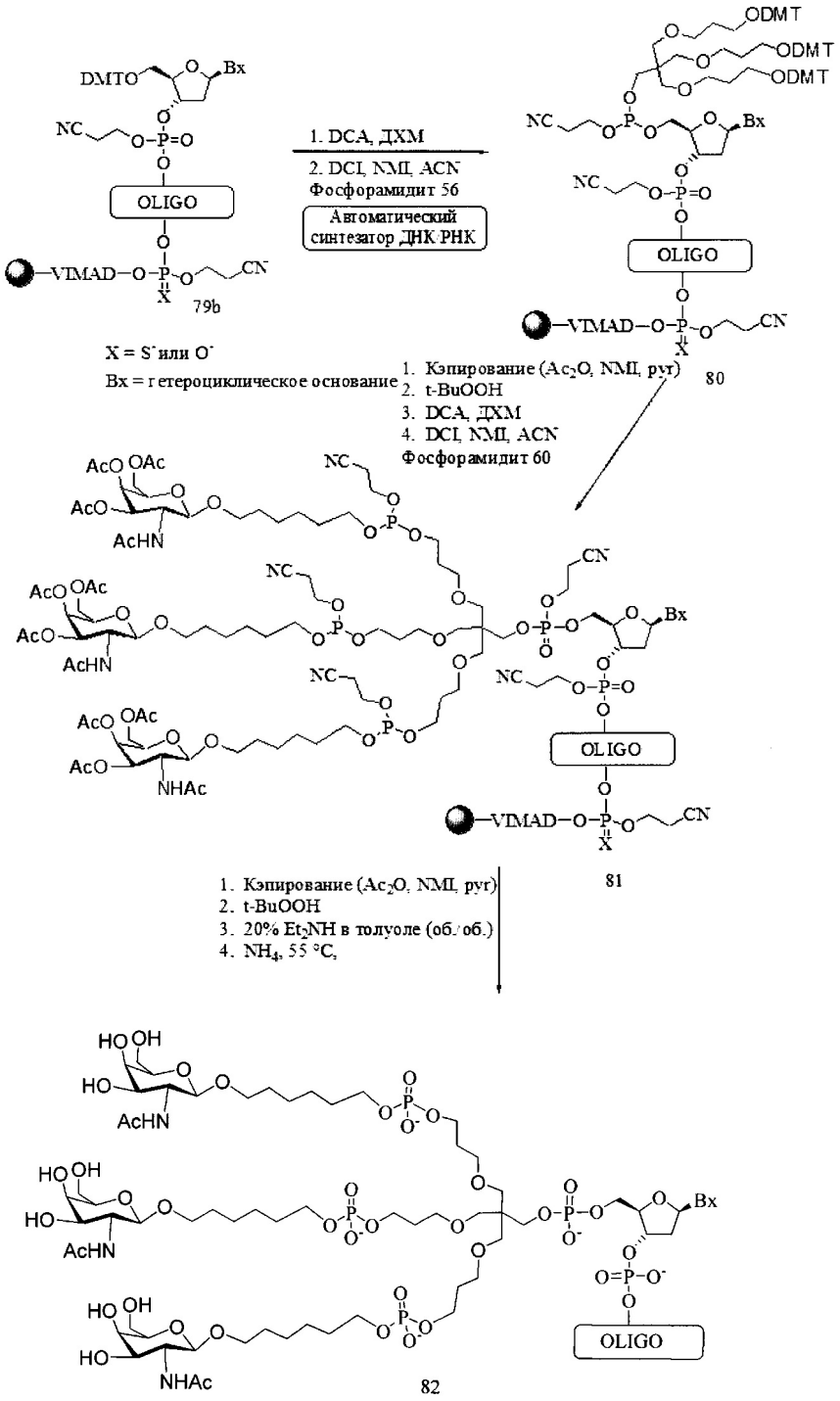
Пример 36: Получение Соединения 79a



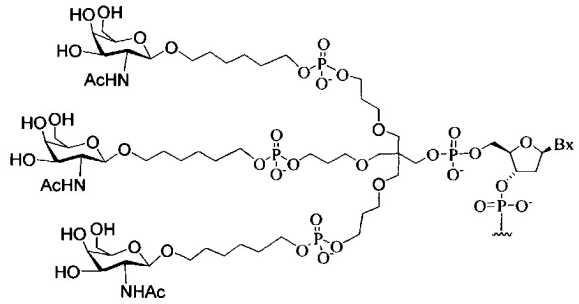
77 79a

Соединение 77 получили по способам, представленным в Примере 35.

Пример 37: Общий способ получения сопряженного олигомерного соединения 82, содержащего фосфодиэфир-связанный конъюгат $GalNAc_3$-2 на 5'-конце, нетвердой подложке (Способ I),

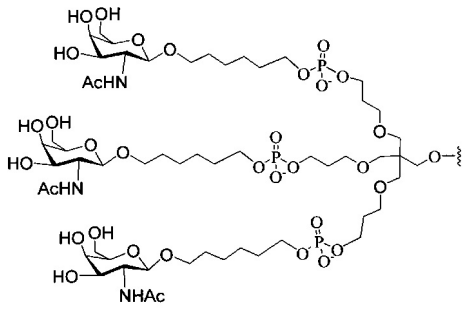


где $GalNAc_3$-2 имеет структуру:



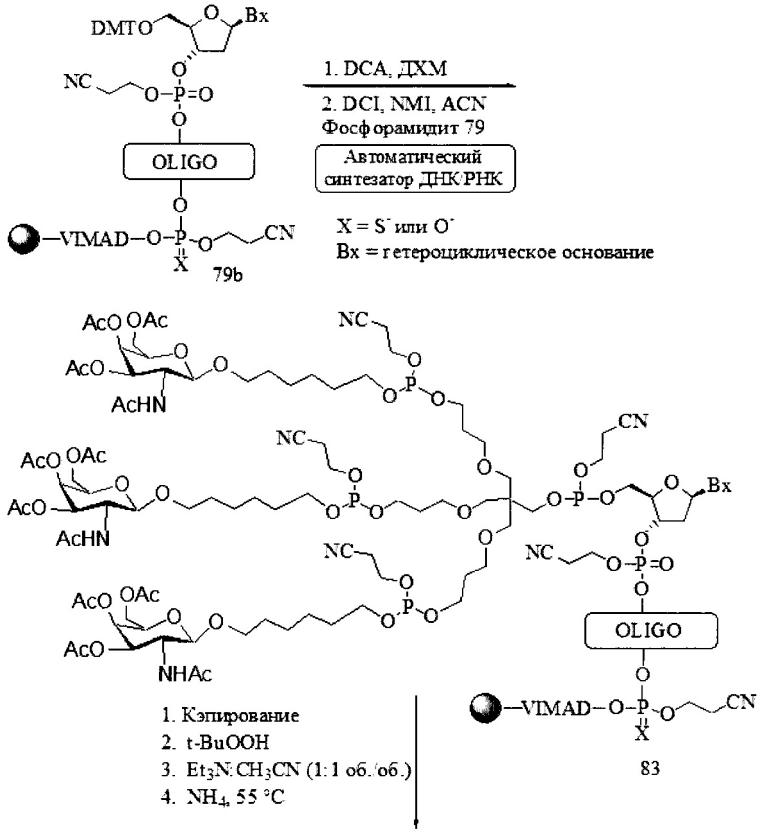
Кластерная часть $GalNAc_3$ группы конъюгата $GalNAc_3$-2 ($GalNAc_3$-2_a) может быть комбинирована с любым расщепляемым фрагментом с получением различных групп

конъюгата. Где $GalNAc_3$-2_a имеет формулу:



VIMAD-связанное олигомерное соединение 79b получили по стандартным способам в автоматическом синтезаторе ДНК/РНК (см. Dupouy et al., Angew. Chem. Int. ред., 2006, 45, 3623-3627). Фосфорамидитные Соединения 56 и 60 получили так, как описано в способах в Примерах 27 и 28, соответственно. Изображенные фосфорамидиты являются иллюстративными, и их не следует считать ограничением, поскольку могут быть использованы другие фосфорамидитные строительные блоки, включая, но не ограничиваясь ими, те, которые представлены в данном описании, для получения олигомерного соединения, содержащего фосфодиэфир-связанную группу конъюгата на 5'-конце. Порядок и количество фосфорамидитов, добавляемых к твердой подложке, может быть подобрано для получения олигомерных соединений, описанных в настоящем документе, которые имеют любую заданную последовательность и состав.

Пример 38: Альтернативный способ получения олигомерного соединения 82, содержащего фосфодиэфир-связанный конъюгат $GalNAc_3$-2 на 5'-конце (Способ II)

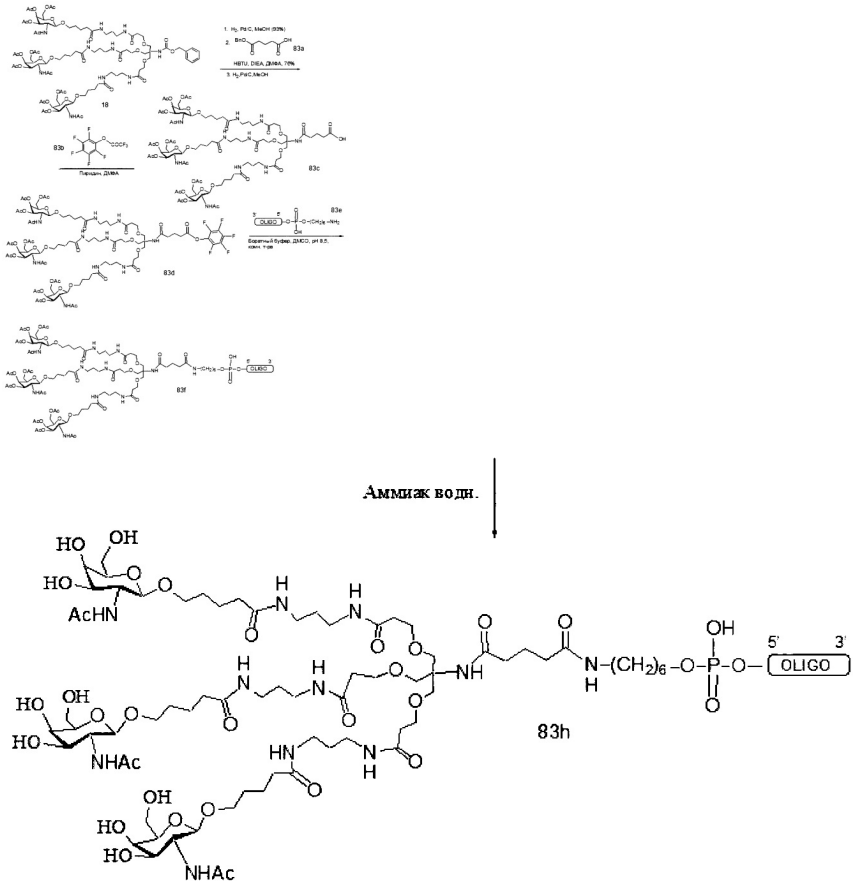


Олигомерное соединение 82

VIMAD-связанное олигомерное соединение 79b получили по стандартным способам в автоматическом синтезаторе ДНК/РНК (см. Dupouy et al., Angew. Chem. Int. ред., 2006, 45, 3623-3627). $GalNAc_3$-2 кластерный фосфорамидит, Соединение 79, получили по

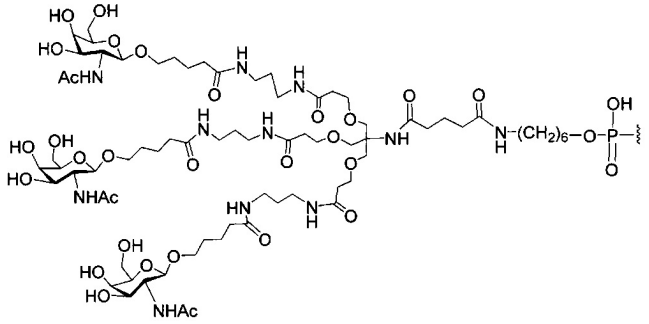
способам, представленным в Примере 35. Альтернативный способ обеспечивает возможность одностадийной установки фосфодиэфир-связанного $GalNAc_3$-2 конъюгата на олигомерное соединение на последней стадии синтеза. Изображенные фосфорамидиты являются иллюстративными, и их не следует считать ограничением, поскольку могут быть использованы другие фосфорамидитные строительные блоки, включая, но не ограничиваясь ими, те, которые представлены в данном описании, для получения олигомерных соединений, содержащих фосфодиэфирный конъюгат на 5'-конце. Порядок и количество фосфорамидитов, добавляемых к твердой подложке, может быть подобрано для получения олигомерных соединений, описанных в настоящем документе, которые имеют любую заданную последовательность и состав.

Пример 39: Общий способ получения олигомерного соединения 83h, содержащего конъюгат $GalNAc_3$-3 на 5'-конце ($GalNAc_3$-1, модифицированный для 5'-концевого присоединения), на твердой подложке

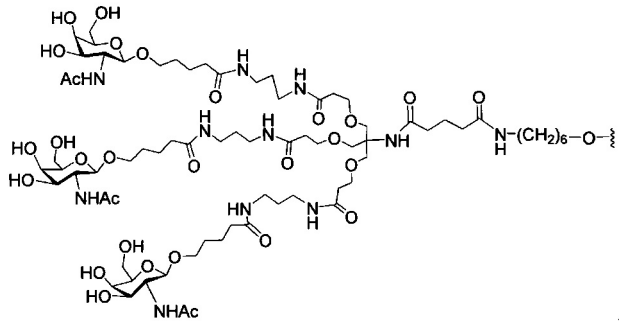


Соединение 18 получили по способам, представленным в Примере 4. Соединения 83a и 83b имеются в продаже. Олигомерное Соединение 83e, содержащее связанный через фосфодиэфир гексиламин, получили по стандартным способам синтеза олигонуклеотидов. В результате обработки защищенного олигомерного соединения водным раствором аммиака получили 5'-$GalNAc_3$-3 сопряженное олигомерное соединение (83h).

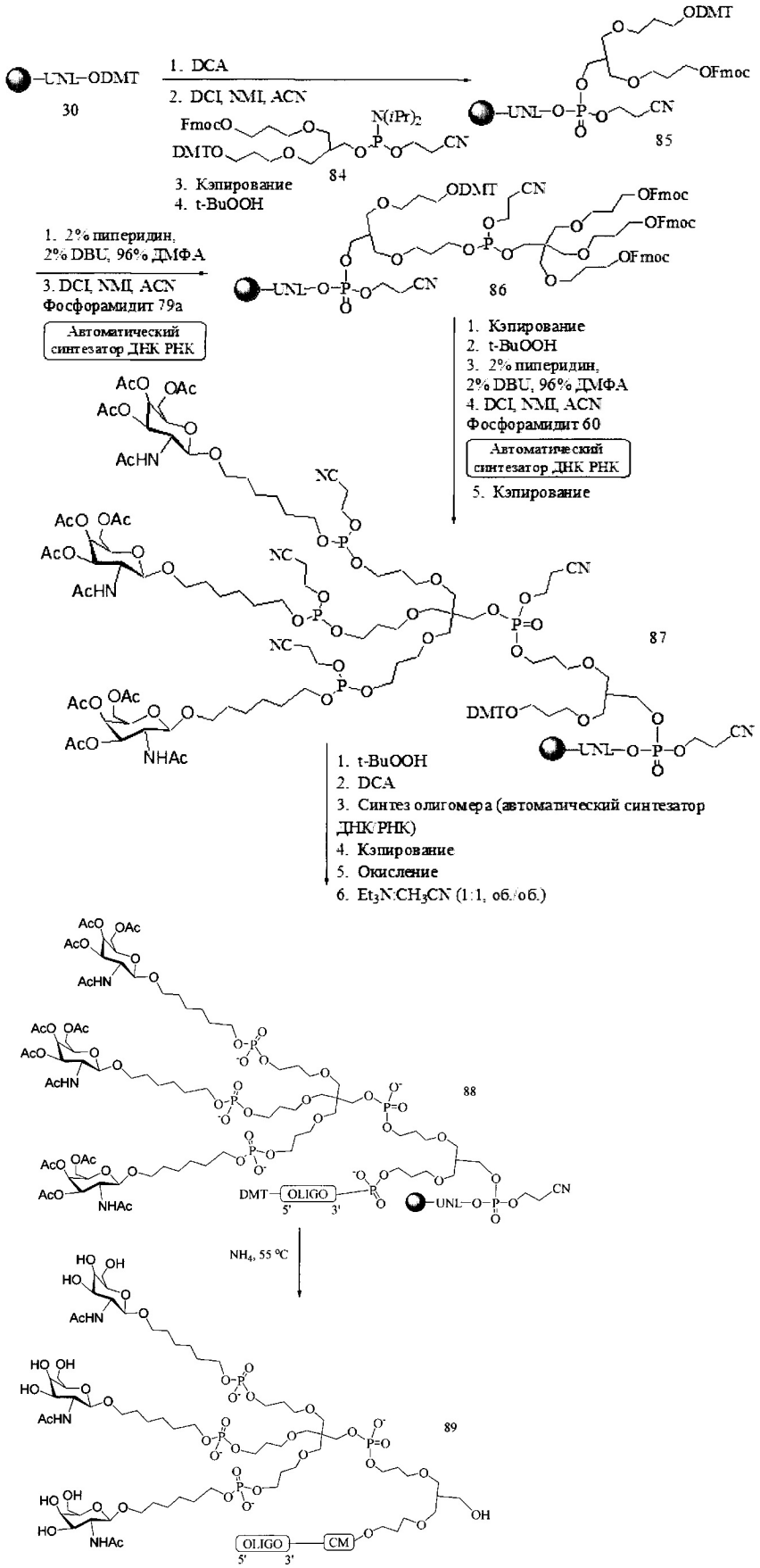
Где $GalNAc_3$-3 имеет структуру:



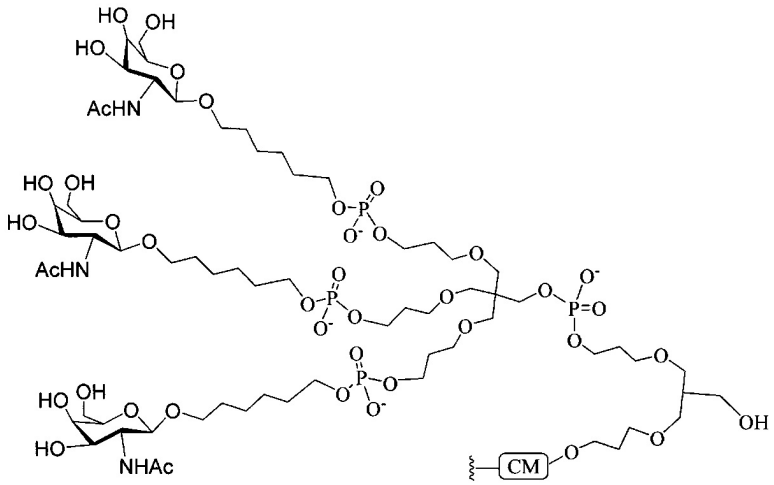
Кластерная часть $GalNAc_3$ группы конъюгата $GalNAc_3$-3 ($GalNAc_3$-3_a) может быть комбинирована с любым расщепляемым фрагментом с получением различных групп конъюгата. Где $GalNAc_3$-3_a имеет формулу:



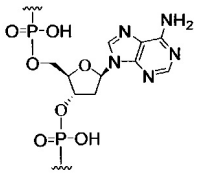
Пример 40: Общий способ получения олигомерного соединения 89, содержащего связанный фосфодиэфирным линкером $GalNAc_3$-4 конъюгат на 3'-конце, на твердой подложке



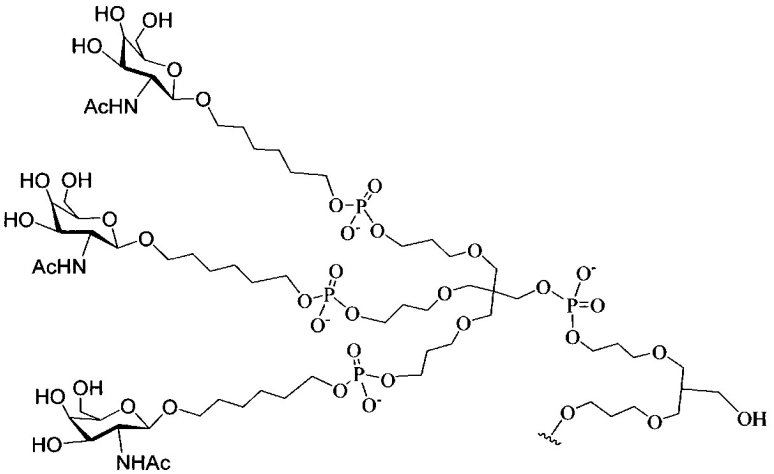
Где CalNAc$_3$-4 имеет структуру:



Где CM представляет собой расщепляемый фрагмент. В некоторых вариантах реализации расщепляемый фрагмент представляет собой:



Кластерная часть $GalNAc_3$ группы конъюгата $GalNAc_3$-4 ($GalNAc_3$-4_a) может быть комбинирована с любым расщепляемым фрагментом с получением различных групп конъюгата. Где $GalNAc_3$-4_a имеет формулу:



Защищенное Соединение 30 на функционализированной твердой подложке Unylinker имеется в продаже. Соединение 84 получили по таким же способам, как описаны в литературе (см. Shchepinov et al., Nucleic Acids Research, 1997, 25(22), 4447-4454; Shchepinov et al., Nucleic Acids Research, 1999, 27, 3035-3041; и Hornet et al., Nucleic Acids Research, 1997, 25, 4842-4849).

Фосфорамидитные строительные блоки, Соединения 60 и 79a, получили так, как описано в способах в примерах 28 и 36. Изображенные фосфорамидиты являются иллюстративными и не предназначены для ограничения, поскольку могут быть использованы другие фосфорамидитные строительные блоки для получения олигомерного соединения, имеющего фосфодиэфир-связанный конъюгат на 3'-конце, которое имеет заданную последовательность и состав. Порядок и количество фосфорамидитов, добавляемых к твердой подложке, может быть подобрано для получения олигомерных соединений, описанных в настоящем документе, которые

имеют любую заданную последовательность и состав.

Пример 41: Общий способ получения ASO, содержащих фосфодиэфир-связанный конъюгат $GalNAc_3$-2 (см. Пример 37, Bx представляет собой аденин) в 5'-положении, по твердофазному способу (получение ISIS 661134)

Если не указано иное, все реагенты и растворы, использованные для синтеза олигомерных соединений, приобретены у коммерческих поставщиков. Стандартные фосфорамидитные строительные блоки и твердую подложку использовали для внедрения нуклеозидных остатков, которые включают, например, остатки T, A, G и ^{m}C. Фосфорамидитные соединения 56 и 60 использовали для синтеза фосфодиэфир-связанного конъюгата $GalNAc_3$-2 на 5'-конце. 0,1 M раствор фосфорамидита в безводном ацетонитриле использовали для β-D-2'-дезоксирибонуклеозида и 2'-MOE.

Синтез антисмысловых олигонуклеотидов (ASO) выполнили на синтезаторе ABI 394 (в масштабе 1-2 мкмоль) или на синтезаторе AKTA Oligopilot производства GE Healthcare Bioscience (в масштабе 40-200 мкмоль) по способу фосфорамидитного связывания на твердой подложке VIMAD (110 мкмоль/г, Guzaev et al., 2003), упакованной в колонку. Для стадии связывания фосфорамидиты вводили в 4-кратном избытке по сравнению с исходной загрузкой на твердой подложке, а конденсацию фосфорамидита выполняли в течение 10 минут. Все остальные стадии выполняли по стандартным протоколам, предоставленным производителем. Для удаления диметокситритильных (DMT) групп с 5'-гидроксильных групп нуклеотида использовали 6% раствор дихлоруксусной кислоты в толуоле. На стадии связывания в качестве активатора использовали 4,5-дицианоимидазол (0,7 M) в безводном CH_3CN. Тиофосфатные связи внедряли сульфированием при помощи 0,1 M раствора гидрида ксантана в 1:1 смеси пиридина/CH_3CN в течение 3 минут времени контакта. В качестве окислительного агента для получения фосфодиэфирных межнуклеозидных связей использовали 20% раствор трет-бутилгидропероксида в CH_3CN, содержащий 6% воды, в течение 12 минут времени контакта.

После сборки требуемой последовательности цианоэтил-фосфатные защитные группы снимали при помощи 20% диэтиламина в толуоле (об./об.) в течение 45 минут времени контакта. Связанные с твердой подложкой ASO суспендировали в водном растворе аммиака (28-30 масс. %) и нагревали при 55°C в течение 6 часов.

Затем отфильтровывали не связанные ASO и выпаривали аммиак кипячением. Остаток очищали жидкостной хроматографией высокого давления на сильной анионообменной колонке (GE Healthcare Bioscience, Source 30Q, 30 мкм, 2,54×8 см, A=100 мМ ацетата аммония в 30% водном CH_3CN, B=1,5 M NaBr в A, 0-40% B за 60 мин., скорость потока 14 мл. мин-1, λ=260 нм). Остаток обессоливали при помощи ВЭЖХ на обращенно-фазовой колонке с получением заданных ASO с выделенным выходом 15-30% относительно первоначальной загрузки на твердую подложку. ASO характеризовали при помощи ион-парной ВЭЖХ, совмещенной с МС-анализом на системе Agilent 1100 MSD.

Таблица 34

ASO, содержащие фосфодиэфир-связанный конъюгат $GalNAc_3$-2 в 5'-положении, направленные на SRB-1

ISIS №	Последовательность (от 5' к 3')	Расчетная масса	Наблюдаемая масса	SEQ ID NO
661134	**$GalNAc_3$-2_a-$_{o'}A_{do}T_{ks}{}^{m}C_{ks}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{ks}{}^{m}C_k$**	6482,2	6481,6	2254

Нижние индексы: «e» означает 2'-MOE модифицированный нуклеозид; «d» означает β-D-2'-дезоксирибонуклеозид; «k» означает 6'-(S)-CH_3 бициклический нуклеозид (например, cEt); «s» означает тиофосфатные межнуклеозидные связи (PS); «o» означает фосфодиэфирные межнуклеозидные связи (PO); и «o'» означает -O-P(=O)(OH)-. Верхний индекс «m» означает 5-метилцитозины. Структура $GalNAc_3$-2_a показана в Примере 37.

Пример 42: Общий способ получения ASO, содержащих конъюгат $GalNAc_3$-3 в 5'-положении, via твердофазным методикам (получение ISIS 661166)

Синтез ISIS 661166 выполнили по таким же способам, как представлены в Примерах 39 и 41.

ISIS 661166 представляет собой 5-10-5 MOE гэпмер, в котором 5'-положение содержит конъюгат $GalNAc_3$-3. Это ASO характеризовали при помощи ион-парной ВЭЖХ, совмещенной с МС-анализом на системе Agilent 1100 MSD.

Таблица 34а
ASO, содержащее конъюгат $GalNAc_3$-3 в 5'-положении через гексиламино-фосфодиэфирную связь, направленное на Malat-1

ISIS №	Последовательность (от 5' к 3')	Конъюгат	Расчетная масса	Наблюдаемая масса	SEQ ID NO
661166	5'-**$GalNAc_3$-3_{a-o}**,$^{m}C_{es}G_{es}G_{es}T_{es}G_{es}$ $^{m}C_{ds}A_{ds}A_{ds}G_{ds}G_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{ds}A_{ds}G_{ds}$ $G_{es}A_{es}A_{es}T_{es}T_{e}$	**5'-$GalNAc_3$-3**	8992,16	8990,51	2255

Нижние индексы: «e» означает 2'-MOE модифицированный нуклеозид; «d» означает β-D-2'-дезоксирибонуклеозид; «s» означает тиофосфатные межнуклеозидные связи (PS); «o» означает фосфодиэфирные межнуклеозидные связи (PO); и «o'» означает OP(=O)(OH)-. Верхний индекс «m» означает 5-метилцитозины. Структура «5'-$GalNAc_3$-3a» представлена в Примере 39.

Пример 43: Дозозависимое исследование фосфодиэфир-связанного $GalNAc_3$-2 (см. Примеры 37 и 41, Bx представляет собой аденин) на 5'-конце, направленного на SRB-1, in vivo

ISIS 661134 (см. Пример 41), содержащий фосфодиэфир-связанный конъюгат $GalNAc_3$-2 на 5'-конце, испытывали в дозозависимом исследовании на антисмысловое ингибирование SRB-1 у мышей. Несопряженные ISIS 440762 и 651900 (конъюгат ($GalNAc_3$-1 на 3'-конце, см. Пример 9) включены в исследование для сравнения и описаны ранее в Таблице 17.

Лечение

Шестинедельным самцам мышей Balb/c (Jackson Laboratory, Бар-Харбор, штат Мэн) ввели однократную подкожную инъекцию дозы, представленной ниже, соединения ISIS 440762, 651900, 661134 или PBS в качестве контрольного образца. Каждая экспериментальная группа состояла из 4 животных. Мышей усыпили через 72 часа после последнего введения для определения уровней мРНК SRB-1 в печени при помощи ПЦР в реальном времени и реагента для количественного определения РНК RIBOGREEN® (Molecular Probes, Inc. Юджин, штат Орегон) по стандартным протоколам. Уровни мРНК SRB-1 определяли относительно общей РНК (при помощи Ribogreen), затем нормализовали к контрольному образцу, обработанному PBS. Результаты, показанные ниже, представлены как средний процент уровней мРНК SRB-1 для каждой экспериментальной группы, нормализованных к контрольному образцу, обработанному PBS, и обозначены как «% PBS».

ED_{50} измеряли по таким же способам, как описаны ранее, и указанные значения представлены ниже.

Как показано в Таблице 35, лечение антисмысловыми олигонуклеотидами снижает

уровни мРНК SRB-1 дозозависимым образом. Действительно, антисмысловые олигонуклеотиды, содержащие фосфодиэфир-связанный конъюгат $GalNAc_3$-2 на 5'-конце (ISIS 661134) или конъюгат $GalNAc_3$-1, связанный на 3'-конце (ISIS 651900), демонстрируют значительное улучшение эффективности, по сравнению с несопряженным антисмысловым олигонуклеотидом (ISIS 440762). Кроме того, ISIS 661134, который содержит фосфодиэфир-связанный конъюгат $GalNAc_3$-2 на 5'-конце, был настолько же эффективным, как ISIS 651900, который содержит конъюгат $GalNAc_3$-1 на 3'-конце.

Таблица 35

ASO, содержащие $GalNAc_3$-1 или $GalNAc_3$-2, направленные на SRB-1

ISIS №	Доза (мг/кг)	Уровни мРНК SRB-1 (% PBS)	ED_{50} (мг/кг)	Конъюгат	SEQ ID NO
PBS	0	100	--	--	
440762	0,2	116	2,58	Без конъюгата	2250
	0,7	91			
	2	69			
	7	22			
	20	5			
651900	0,07	95	0,26	**3' $GalNAc_3$-1**	2251
	0,2	77			
	0,7	28			
	2	11			
	7	8			
661134	0,07	107	0,25	**5' $GalNAc_3$-2**	2254
	0,2	86			
	0,7	28			
	2	10			
	7	6			

Структуры 3' $GalNAc_3$-1 и 5' $GalNAc_3$-2 описаны ранее в Примерах 9 и 37.

Фармакокинетический анализ (ФК)

ФК для ASO из группы высокой дозы (7 мг/кг) исследовали и оценили таким же образом, как описано в Примере 20. Образцы печени измельчили и экстрагировали по стандартным протоколам. Идентифицировали метаболиты полной длины 661134 (5' $GalNAc_3$-2) и ISIS 651900 (3' $GalNAc_3$-1) и подтвердили их массы при помощи масс-спектрометрического анализа высокого разрешения. Результаты показали, что основной метаболит, обнаруженный для ASO, содержащего фосфодиэфир-связанный конъюгат $GalNAc_3$-2 на 5'-конце (ISIS 661134), представлял собой ISIS 440762 (данные не показаны). Не наблюдали никаких дополнительных метаболитов в обнаруживаемом количестве. В отличие от него, для ASO, содержащего конъюгат $GalNAc_3$-1 на 3'-конце (ISIS 651900), наблюдали дополнительные метаболиты, аналогичные тем, которые описаны ранее в Таблице 23a. Эти результаты позволяют предположить, что наличие фосфодиэфир-связанного конъюгата $GalNAc_3$-1 или $GalNAc_3$-2 может улучшать ФК профиль ASO без ухудшения их эффективности.

Пример 44: Влияние PO/PS линкеров на антисмысловое ингибирование ASO, содержащих конъюгат $GalNAc_3$-1 (см. Пример 9) у 3'-конца, направленных на SRB-1

ISIS 655861 и 655862, содержащие конъюгат $GalNAc_3$-1 на 3'-конце, каждый из которых направлен на SRB-1, испытали в исследовании однократного введения на их способность ингибировать SRB-1 у мышей. Исходное несопряженное соединение, ISIS 353382, включили в исследование для сравнения.

Эти ASO представляют собой 5-10-5 MOE гэпмеры, в которых гэп-область содержит десять 2'-дезоксирибонуклеозидов, и каждая область крыльев содержит пять 2'-MOE модифицированных нуклеозидов. Эти ASO получили по таким же способам, как

показаны ранее в Примере 19, и они описаны ниже в Таблице 36.

Таблица 36

Модифицированные ASO, содержащие конъюгат GalNAc$_3$-1 на 3'-конце, направленные на SRB-1

ISIS №	Последовательность (от 5' к 3')	Химизм	SEQ ID NO
353382 (исходная)	$G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{e}$	Полностью PS, без конъюгата	2256
655861	$G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{eo}\mathbf{A_{do'}\text{-}GalNAc_3\text{-}1_a}$	Полностью PS с конъюгатом **GalNAc$_3$-1**	2257
655862	$G_{es}{}^{m}C_{eo}T_{eo}T_{eo}{}^{m}C_{eo}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{eo}{}^{m}C_{eo}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{eo}\mathbf{A_{do'}\text{-}GalNAc_3\text{-}1_a}$	Смесь PS/PO с конъюгатом **GalNAc$_3$-1**	2257

Нижние индексы: «e» означает 2'-MOE модифицированный нуклеозид; «d» означает β-D-2'-дезоксир ибо нуклеозид; «s» означает тиофосфатные межнуклеозидные связи (PS); «o» означает фосфодиэфирные межнуклеозидные связи (PO); и «o'» означает OP (=O)(OH)-. Верхний индекс «m» означает 5-метилцитозины. Структура «GalNAc$_3$-1» показана в Примере 9.

Лечение

Шестинедельным самцам мышей Balb/c (Jackson Laboratory, Бар-Харбор, штат Мэн) ввели однократную подкожную инъекцию дозы, представленной ниже, соединения ISIS 353382, 655861, 655862 или PBS в качестве контрольного образца. Каждая экспериментальная группа состояла из 4 животных. Перед лечением, а также после последней дозы у каждой мыши брали кровь и анализировали образцы плазмы. Мышей усыпили через 72 часа после последнего введения для определения уровней мРНК SRB-1 в печени при помощи ПЦР в реальном времени и реагента для количественного определения РНК RIBOGREEN® (Molecular Probes, Inc. Юджин, штат Орегон) по стандартным протоколам. Уровни мРНК SRB-1 определяли относительно общей РНК (при помощи Ribogreen), затем нормализовали к контрольному образцу, обработанному PBS. Результаты, показанные ниже, представлены как средний процент уровней мРНК SRB-1 для каждой экспериментальной группы, нормализованных к контрольному образцу, обработанному PBS, и обозначены как «% PBS». ED_{50} измеряли по таким же способам, как описаны ранее, и указанные значения представлены ниже.

Как показано в Таблице 37, лечение антисмысловыми олигонуклеотидами снижает уровни мРНК SRB-1 дозозависимым образом, по сравнению с контрольным образцом, обработанным PBS. Действительно, антисмысловые олигонуклеотиды, содержащие конъюгат GalNAc$_3$-1 на 3'-конце (ISIS 655861 и 655862), демонстрируют значительное усиление эффективности, по сравнению с несопряженным антисмысловым олигонуклеотидом (ISIS 353382). Кроме того, ISIS 655862 со смешанными PS/PO связями демонстрирует усиление эффективности, по сравнению с соединением, содержащим только PS (ISIS 655861).

Таблица 37

Влияние PO/PS связей на антисмысловое ингибирование ASO, содержащих конъюгат GalNAc$_3$-1 на 3' конце, направленных SRB-1

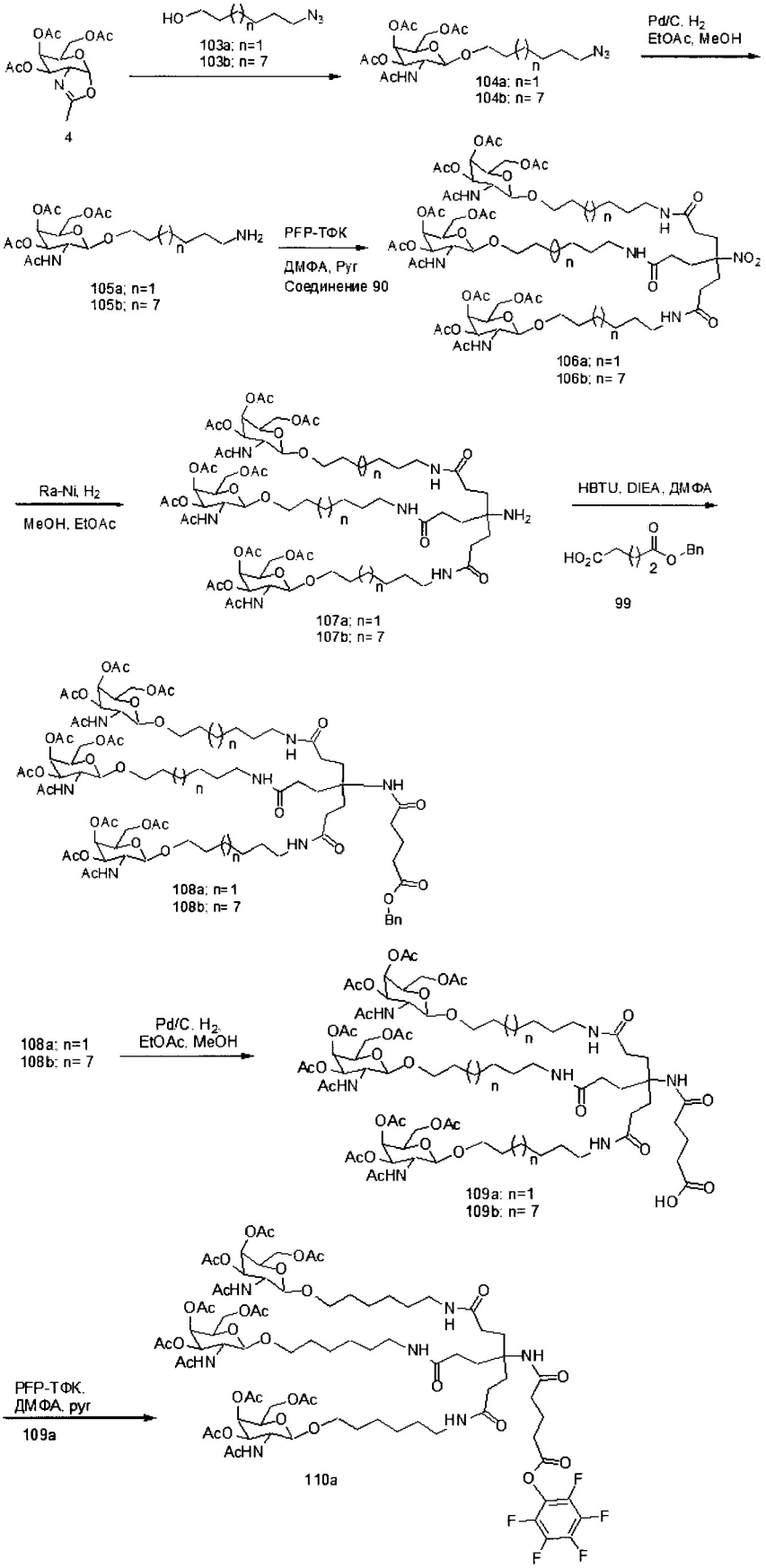
ISIS №	Доза (мг/кг)	Уровни мРНК SRB-1 (% PBS)	ED_{50} (мг/кг)	Химизм	SEQ ID NO
PBS	0	100	--	--	
353382 (исходная)	3	76,65	10,4	Полностью PS, без конъюгата	2256
	10	52,40			
	30	24,95			
655861	0,5	81,22	2,2	Полностью PS с конъюгатом $GalNAc_3$-1	2257
	1,5	63,51			
	5	24,61			
	15	14,80			
655862	0,5	69,57	1,3	Смесь PS/PO с конъюгатом $GalNAc_3$-1	2257
	1,5	45,78			
	5	19,70			
	15	12,90			

Уровни трансаминазы в печени, аланин-аминотрансферазы (ALT) и аспартат-аминотрансферазы (AST) в сыворотке измеряли относительно мышей, инъецированных солевым раствором, используя стандартные протоколы. Оценили также массу органов. Результаты показывают, что не наблюдали какого-либо увеличения уровней трансаминазы (Таблица 38) или массы органов (данные не показаны) у мышей, обработанных ASO, по сравнению с PBS контролем. Кроме того, ASO со смешанными PS/PO связями (ISIS 655862) демонстрирует схожие уровни трансаминазы, по сравнению с соединением, содержащим только PS (ISIS 655861).

Таблица 38
Влияние PO/PS связей на уровни трансаминазы ASO, содержащих конъюгат $GalNAc_3$-1 на 3' конце, направленных SRB-1

ISIS №	Доза (мг/кг)	ALT (ед./л)	AST (ед./л)	Химизм	SEQ ID NO
PBS	0	28,5	65	--	
353382 (исходная)	3	50,25	89	Полностью PS, без конъюгата	2256
	10	27,5	79,3		
	30	27,3	97		
655861	0,5	28	55,7	Полностью PS с конъюгатом **$GalNAc_3$-1**	2257
	1,5	30	78		
	5	29	63,5		
	15	28,8	67,8		
655862	0,5	50	75,5	Смесь PS/PO с конъюгатом **$GalNAc_3$-1**	2257
	1,5	21,7	58,5		
	5	29,3	69		
	15	22	61		

Пример 45: Получение PFP эфира, Соединения 110a



Соединение 4 (9,5 г, 28,8 ммоль) обработали по отдельности соединением 103a или 103b (38 ммоль) и TMSOTf (0,5 экв.), и молекулярными ситами в дихлорметане (200 мл), и перемешивали в течение 16 часов при комнатной температуре. Затем органический

слой отфильтровали через целит, затем промыли бикарбонатом натрия, водой и насыщенным солевым раствором. Затем отделили органический слой и высушили над сульфатом натрия, отфильтровали и упарили при пониженном давлении. Полученное маслянистое вещество очистили хроматографией на силикагеле (2%-->10% метанол/дихлорметан) с получением соединений 104a и 104b с выходом >80%. Данные ЖХМС и протонного ЯМР согласовались с указанной структурой.

Соединения 104a и 104b обработали в тех же условиях, что и соединения 100a-d (Пример 47), с получением соединений 105a и 105b с выходом >90%. Данные ЖХМС и протонного ЯМР согласовались с указанной структурой.

Соединения 105a и 105b по отдельности обработали соединением 90 при тех же условиях, что и соединения 901a-d, с получением соединений 106a (80%) и 106b (20%). Данные ЖХМС и протонного ЯМР согласовались с указанной структурой.

Соединения 106a и 106b обработали в тех же условиях, что и соединения 96a-d (Пример 47), с получением соединения 107a (60%) и 107b (20%). Данные ЖХМС и протонного ЯМР согласовались с указанной структурой.

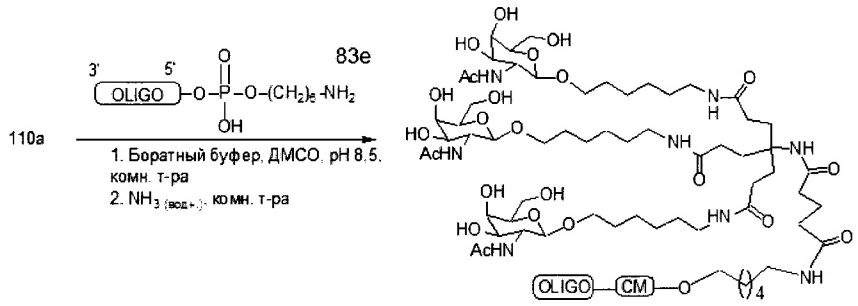
Соединения 107a и 107b обработали в тех же условиях, что и соединения 97a-d (Пример 47), с получением соединений 108a и 108b с выходом 40-60%. Данные ЖХМС и протонного ЯМР согласовались с указанной структурой.

Соединения 108a (60%) и 108b (40%) обработали в тех же условиях, что и соединения 100a-d (Пример 47), с получением соединений 109a и 109b с выходом >80%. Данные ЖХМС и протонного ЯМР согласовались с указанной структурой.

Соединение 109a обработали в тех же условиях, что и соединения 101a-d (Пример 47), с получением соединения 110a с выходом 30-60%. Данные ЖХМС и протонного ЯМР согласовались с указанной структурой. Альтернативно, Соединение 110b может быть получено таким же образом, исходя из Соединения 109b.

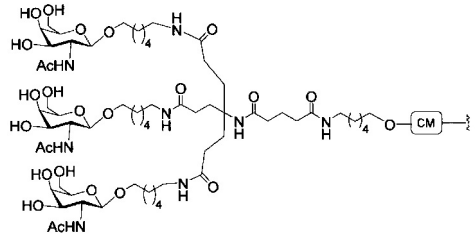
Пример 46: Общий способ сопряжения с PFP эфирами (олигонуклеотид 111); получение ISIS 666881 ($GalNAc_3$-10)

Синтезировали и очистили 5'-гексиламино-модифицированный олигонуклеотид по стандартным способам твердофазного получения олигонуклеотидов. 5'-Гексиламино-модифицированный олигонуклеотид растворили в 0,1 М растворе тетрабората натрия, pH 8,5 (200 мкл) и добавили 3 эквивалента выбранного PFP-эстерифицированного кластера $GalNAc_3$, растворенного в ДМСО (50 мкл). Если при добавлении раствора ASO эфир PFP выпадал в осадок, то добавляли ДМСО до перехода всего эфира PFP в раствор. Реакция была завершена примерно через 16 часов перемешивания при комнатной температуре. Полученный раствор разбавили водой до 12 мл, а затем центрифугировали при 3000 об./мин. в центробежном фильтре с отсечением по массе 3000 Да. Этот прием повторили два раза для удаления низкомолекулярных примесей. Затем раствор лиофилизировали досуха и повторно растворили в концентрированном водном растворе аммиака, и перемешивали при комнатной температуре в течение 2,5 часов, затем концентрировали in vacuo для удаления большей части аммиака. Сопряженный олигонуклеотид очистили и обессолили при помощи ОФ-ВЭЖХ, и лиофилизировали с получением $GalNAc_3$ сопряженного олигонуклеотида.



111

Олигонуклеотид 111 сопряжен с $GalNAc_3$-10. Кластерная часть $GalNAc_3$ группы конъюгата $GalNAc_3$-10 ($GalNAc_3$-10_a) может быть комбинирована с любым расщепляемым фрагментом с получением различных групп конъюгата. В некоторых вариантах реализации расщепляемый фрагмент представляет собой -P(=O)(OH)-A_d-P(=O)(OH)-, как показано ниже в олигонуклеотиде (ISIS 666881), синтезированном с $GalNAc_3$-10. Структура $GalNAc_3$-10 ($GalNAc_3$-10_a-CM-) представлена ниже:



По указанному общему способу получили ISIS 666881. Синтезировали и очистили 5'-гексиламино-модифицированный олигонуклеотид, ISIS 660254, по стандартным способам твердофазного получения олигонуклеотидов. ISIS 660254 (40 мг, 5,2 мкмоль) растворили в 0,1 М растворе тетрабората натрия, pH 8,5 (200 мкл) и добавили 3 эквивалента PFP эфира (Соединения 110a), растворенного в ДМСО (50 мкл). Эфир PFP выпал в осадок при добавлении раствора ASO, поэтому потребовалось добавление дополнительного количества ДМСО (600 мкл) для полного растворения PFP эфира. Реакция была завершена через 16 часов перемешивания при комнатной температуре. Раствор разбавили водой до общего объема 12 мл, а затем центрифугировали при 3000 об./мин. в центробежном фильтре с отсечением по массе 3000 Да. Этот прием повторили два раза для удаления низкомолекулярных примесей. Раствор лиофилизировали досуха и повторно растворили в концентрированном водном растворе аммиака, перемешивая при комнатной температуре в течение 2,5 часов, затем концентрировали in vacuo для удаления большей части аммиака. Сопряженный олигонуклеотид очистили и обессолили при помощи ОФ-ВЭЖХ, и лиофилизировали с получением ISIS 666881 с выходом 90% по массе (42 мг, 4,7 мкмоль).

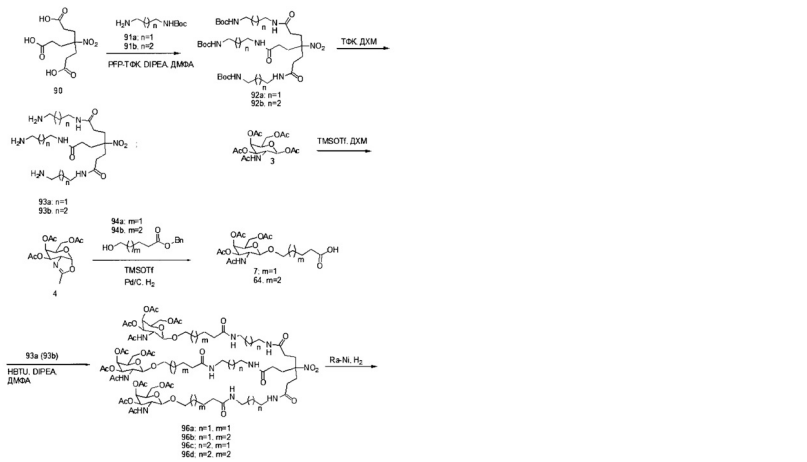
$GalNAc_3$-10-сопряженный олигонуклеотид

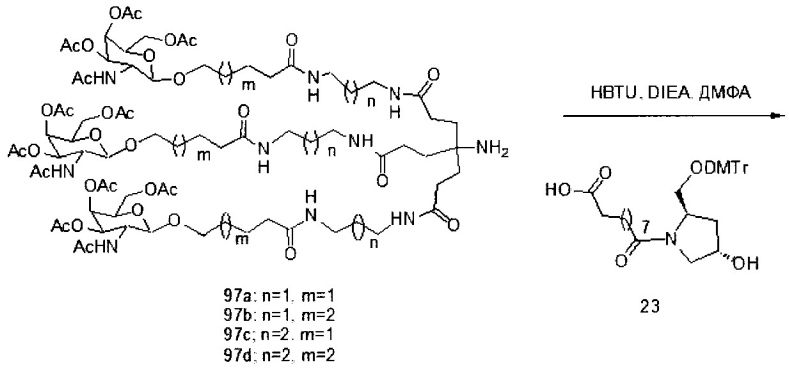
ASO	Последовательность (от 5' к 3')	5'-группа	SEQ ID NO:
ISIS 660254	$NH_2(CH_2)_6$- $_oA_{do}G_{es}{}^mC_{es}T_{es}T_{es}{}^mC_{es}A_{ds}G_{ds}T_{ds}$ $^mC_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^mC_{ds}T_{ds}T_{es}{}^mC_{es}{}^mC_{es}T_{es}T_e$	Гексиламин	2258
ISIS 666881	**$GalNAc_3$-10_a-** $_{o'}$**A_{do}**$G_{es}{}^mC_{es}T_{es}T_{es}{}^mC_{es}A_{ds}G_{ds}T_{ds}$ $^mC_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^mC_{ds}T_{ds}T_{es}{}^mC_{es}{}^mC_{es}T_{es}T_e$	**$GalNAc_3$-10**	2258

Заглавные буквы указывают азотистое основание для каждого нуклеозида, а ^mC означает 5-метилцитозин. Нижние индексы: «e» означает 2'-MOE модифицированный

нуклеозид; «d» означает β-D-2'-дезоксирибонуклеозид; «s» означает тиофосфатную межнуклеозидную связь (PS); «o» означает фосфодиэфирную межнуклеозидную связь (PO); и «o'» означает OP(=O)(OH)-. Группы конъюгата выделены жирным.

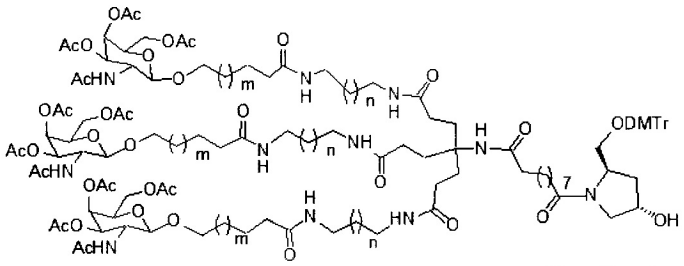
Пример 47: Получение олигонуклеотида 102, содержащего $GalNAc_3$-8



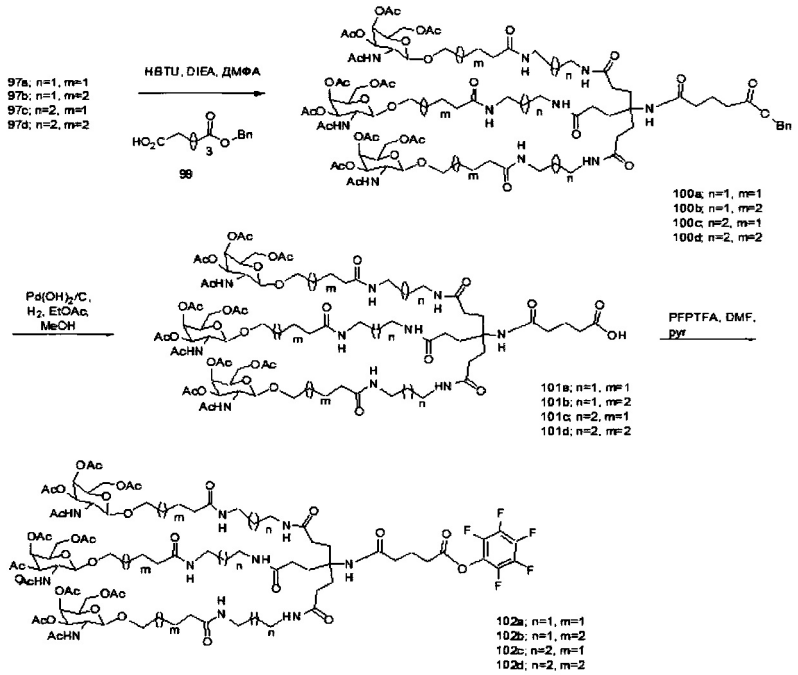


97a: n=1, m=1
97b: n=1, m=2
97c: n=2, m=1
97d: n=2, m=2

23



98a: n=1, m=1
98b: n=1, m=2
98c: n=2, m=1
98d: n=2, m=2



Трехкислотное соединение 90 (4 г, 14,43 ммоль) растворили в ДМФА (120 мл) и N,N-диизопропилэтиламине (12,35 мл, 72 ммоль). По каплям добавили пентафторфенила трифторацетат (8,9 мл, 52 ммоль) в атмосфере аргона и оставили реакционную смесь перемешиваться при комнатной температуре в течение 30 минут. Добавили Boc-диамин 91a или 91b (68,87 ммоль) вместе с N,N-диизопропилэтиламином (12,35 мл, 72 ммоль) и оставили реакционную смесь перемешиваться при комнатной температуре в течение 16 часов. Затем упарили ДМФА на >75% при пониженном давлении, а затем растворили смесь в дихлорметане. Органический слой промыли бикарбонатом натрия, водой и насыщенным солевым раствором. Затем отделили органический слой и высушили над сульфатом натрия, отфильтровали и упарили при пониженном давлении до маслянистого остатка. Полученное маслянистое вещество очистили хроматографией на силикагеле (2%-->10% метанол/дихлорметан) с получением соединений 92a и 92b с приблизительным выходом 80%. Данные ЖХМС и протонного ЯМР согласовались с указанной структурой.

Соединение 92a или 92b (6,7 ммоль) обрабатывали 20 мл дихлорметана и 20 мл трифторуксусной кислоты при комнатной температуре в течение 16 часов. Полученный раствор выпарили, а затем растворили в метаноле и обрабатывали смолой DOWEX-OH в течение 30 минут. Полученный раствор отфильтровали и упарили до маслянистого вещества при пониженном давлении с получением 85-90% выхода соединений 93a и 93b.

Соединения 7 или 64 (9,6 ммоль) обрабатывали HBTU (3,7 г, 9,6 ммоль) и N,N-диизопропилэтиламином (5 мл) в ДМФА (20 мл) в течение 15 минут. К смеси добавили либо соединение 93a, либо 93b (3 ммоль) и оставили перемешиваться при комнатной температуре на 16 часов. Затем упарили ДМФА на >75% при пониженном давлении, а затем растворили смесь в дихлорметане. Органический слой промыли бикарбонатом натрия, водой и насыщенным солевым раствором. Затем отделили органический слой и высушили над сульфатом натрия, отфильтровали и упарили при пониженном давлении до маслянистого остатка. Полученное маслянистое вещество очистили хроматографией на силикагеле (5%-->20% метанол/дихлорметан) с получением соединений 96a-d с выходом 20-40%. Данные ЖХМС и протонного ЯМР согласовались с указанной структурой.

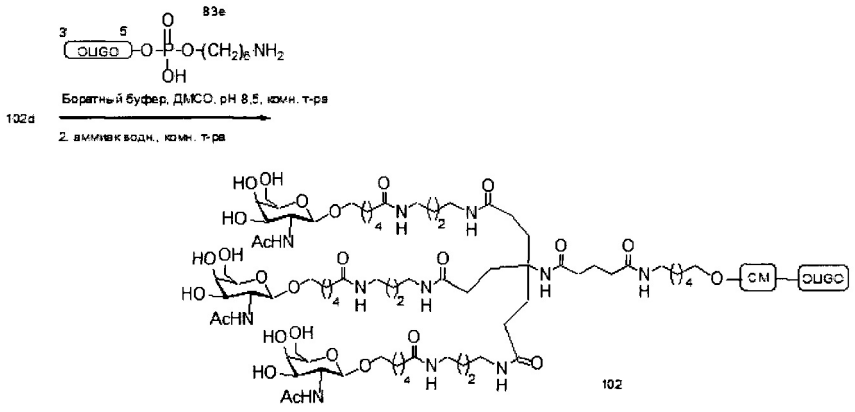
Соединения 96a-d (0,75 ммоль) по отдельности гидрировали на никеле Ренея в течение 3 часов в этаноле (75 мл). Затем катализатор удалили фильтрованием через целит, а этанол удалили при пониженном давлении с получением соединений 97a-d с выходом 80-90%. Данные ЖХМС и протонного ЯМР согласовались с указанной структурой.

Соединение 23 (0,32 г, 0,53 ммоль) обрабатывали HBTU (0,2 г, 0,53 ммоль) и N,N-диизопропилэтиламином (0,19 мл, 1,14 ммоль) в ДМФА (30 мл) в течение 15 минут. К смеси по отдельности добавили соединения 97a-d (0,38 ммоль) и оставили перемешиваться при комнатной температуре на 16 часов. Затем упарили ДМФА на >75% при пониженном давлении, а затем растворили смесь в дихлорметане. Органический слой промыли бикарбонатом натрия, водой и насыщенным солевым раствором. Затем отделили органический слой и высушили над сульфатом натрия, отфильтровали и упарили при пониженном давлении до маслянистого остатка. Полученное маслянистое вещество очистили хроматографией на силикагеле (2%-->20% метанол/дихлорметан) с получением соединений 98a-d с выходом 30-40%. Данные ЖХМС и протонного ЯМР согласовались с указанной структурой.

Соединение 99 (0,17 г, 0,76 ммоль) обрабатывали HBTU (0,29 г, 0,76 ммоль) и N,N-диизопропилэтиламином (0,35 мл, 2,0 ммоль) в ДМФА (50 мл) в течение 15 минут. К смеси по отдельности добавили соединения 97a-d (0,38 ммоль) и оставили перемешиваться при комнатной температуре на 16 часов. Затем упарили ДМФА на >75% при пониженном давлении, а затем растворили смесь в дихлорметане. Органический слой промыли бикарбонатом натрия, водой и насыщенным солевым раствором. Затем отделили органический слой и высушили над сульфатом натрия, отфильтровали и упарили при пониженном давлении до маслянистого остатка. Полученное маслянистое вещество очистили хроматографией на силикагеле (5%-->20% метанол/дихлорметан) с получением соединений 100a-d с выходом 40-60%. Данные ЖХМС и протонного ЯМР согласовались с указанной структурой.

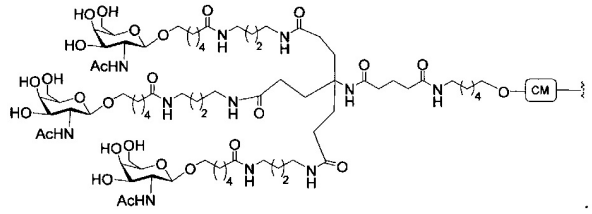
Соединения 100a-d (0,16 ммоль) по отдельности гидрировали на 10% $Pd(OH)_2/C$ в течение 3 часов в метаноле/этилацетате (1:1, 50 мл). Затем катализатор удалили фильтрованием через целит, а органические растворители удалили при пониженном давлении с получением соединений 101a-d с выходом 80-90%. Данные ЖХМС и протонного ЯМР согласовались с указанной структурой.

Соединения 101a-d (0,15 ммоль) по отдельности растворили в ДМФА (15 мл) и пиридине (0,016 мл, 0,2 ммоль). По каплям добавили пентафторфенила трифторацетат (0,034 мл, 0,2 ммоль) в атмосфере аргона и оставили реакционную смесь перемешиваться при комнатной температуре в течение 30 минут. Затем упарили ДМФА на >75% при пониженном давлении, а затем растворили смесь в дихлорметане. Органический слой промыли бикарбонатом натрия, водой и насыщенным солевым раствором. Затем отделили органический слой и высушили над сульфатом натрия, отфильтровали и упарили при пониженном давлении до маслянистого остатка. Полученное маслянистое вещество очистили хроматографией на силикагеле (2%-->5% метанол/дихлорметан) с получением соединений 102a-d с приблизительным выходом 80%. Данные ЖХМС и протонного ЯМР согласовались с указанной структурой.

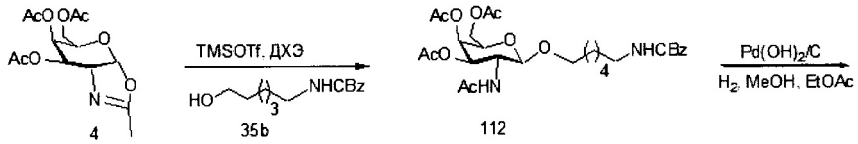


Олигомерное соединение 160, содержащее группу конъюгата $GalNAc_3$-8, получили по стандартным способам синтеза олигонуклеотидов. Кластерная часть $GalNAc_3$ группы конъюгата $GalNAc_3$-8 ($GalNAc_3$-8_a) может быть комбинирована с любым расщепляемым фрагментом с получением различных групп конъюгата. В предпочтительном варианте реализации расщепляемый фрагмент представляет собой -P(=O)(OH)-A_d-P(=O)(OH)-.

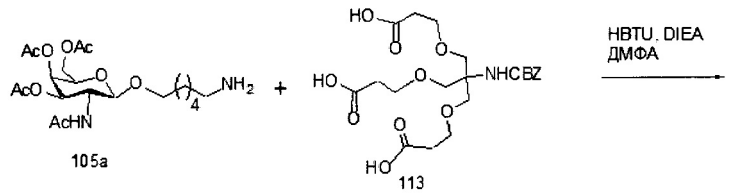
Структура $GalNAc_3$-8 ($GalNAc_3$-8_a-CM-) представлена ниже:



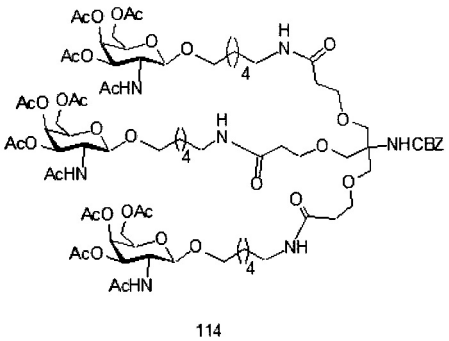
Пример 48: Получение олигонуклеотида 119, содержащего $GalNAc_3$-7



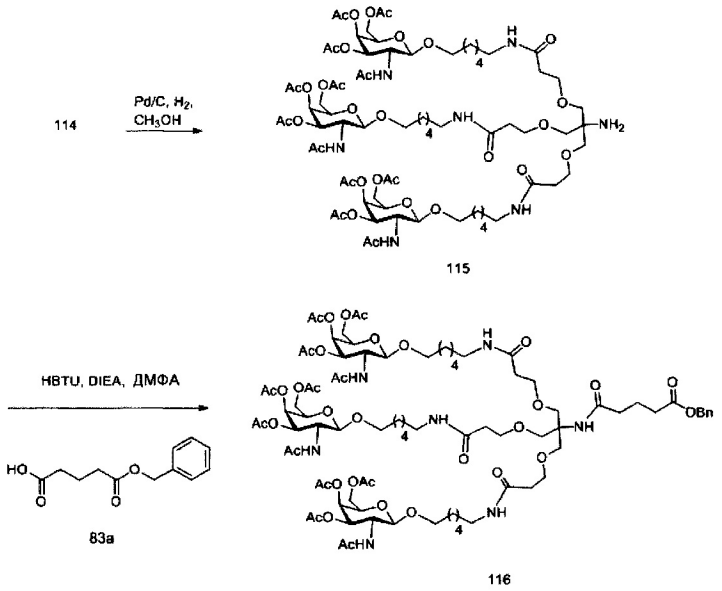
4 35b 112



105a 113



114



Соединение 112 синтезировали по способу, описанному в литературе (J. Med. Chem. 2004, 47, 5798-5808).

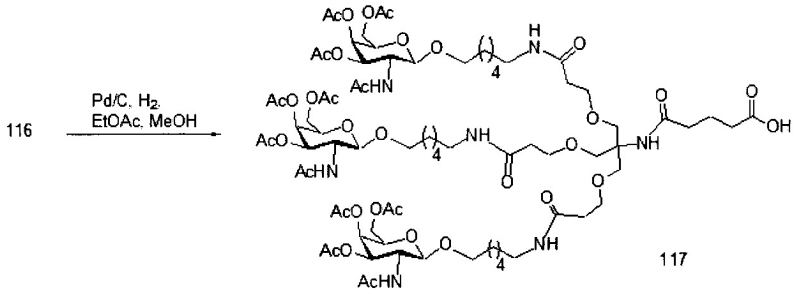
Соединение 112 (5 г, 8,6 ммоль) растворили в 1:1 смеси метанола/этилацетата (22 мл/22 мл). Добавили гидроксид палладия на углероде (0,5 г). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в атмосфере водорода в течение 12 часов. Реакционную смесь отфильтровали через слой целита и промыли этот слой 1:1 смесью метанола/этилацетата. Фильтрат и промывочные растворы объединили и концентрировали досуха с получением Соединения 105a (количественно). Структуру подтвердили по ЖХМС.

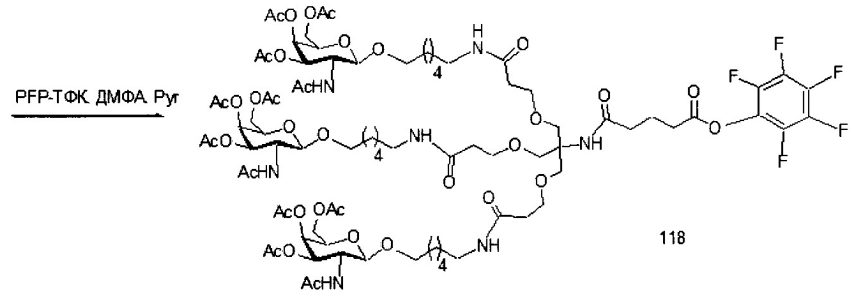
Соединение 113 (1,25 г, 2,7 ммоль), HBTU (3,2 г, 8,4 ммоль) и DIEA (2,8 мл, 16,2 ммоль) растворили в безводном ДМФА (17 мл) и перемешивали реакционную смесь при комнатной температуре в течение 5 минут. К этой смеси добавили раствор Соединения 105a (3,77 г, 8,4 ммоль) в безводном ДМФА (20 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 6 часов. Растворитель удалили при пониженном давлении с получением маслянистого вещества. Остаток растворили в CH_2Cl_2 (100 мл) и промыли насыщенным водным раствором $NaHCO_3$ (100 мл) и насыщенным солевым раствором (100 мл). Органическую фазу отделили, высушили (Na_2SO_4), отфильтровали и выпарили. Остаток очистили силикагелевой колоночной хроматографией и элюировали от 10 до 20% MeOH в дихлорметане с получением Соединения 114 (1,45 г, 30%). Структуру подтвердили анализом ЖХМС и ^{1}H ЯМР.

Соединение 114 (1,43 г, 0,8 ммоль) растворили в 1:1 смеси метанола/этилацетата (4 мл/4 мл). Добавили палладий на углероде (влажный, 0,14 г). Реакционную смесь продували водородом и перемешивали при комнатной температуре в атмосфере водорода в течение 12 часов. Реакционную смесь фильтровали через слой целита. Слой целита промыли метано лом/этилацетатом (1:1). Фильтрат и промывочные растворы объединили и выпарили при пониженном давлении с получением Соединения 115 (количественно). Структуру подтвердили анализом ЖХМС и ^{1}H ЯМР.

Соединение 83a (0,17 г, 0,75 ммоль), HBTU (0,31 г, 0,83 ммоль) и DIEA (0,26 мл, 1,5 ммоль) растворили в безводном ДМФА (5 мл) и перемешивали реакционную смесь при комнатной температуре в течение 5 минут. К этой смеси добавили раствор Соединения 115 (1,22 г, 0,75 ммоль) в безводном ДМФА и перемешивали реакционную смесь при комнатной температуре в течение 6 часов. Растворитель удалили при пониженном

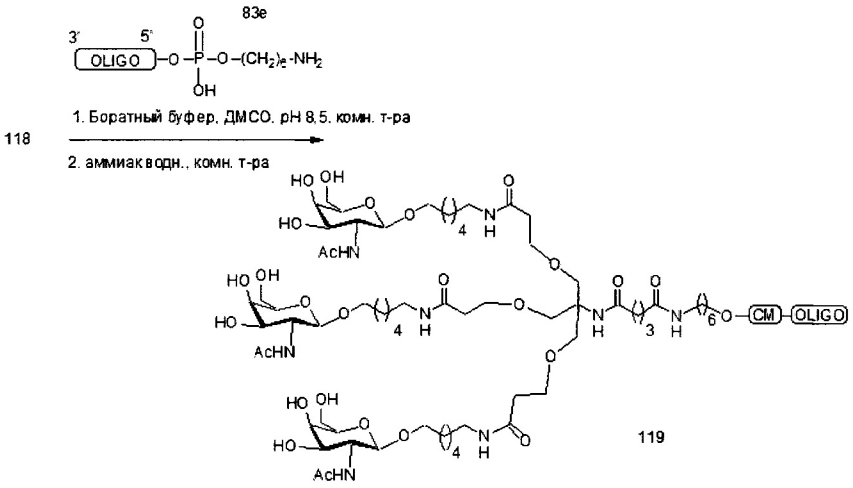
давлении, а остаток растворили в CH_2Cl_2. Органический слой промыли насыщенным водным раствором $NaHCO_3$ и насыщенным солевым раствором, и высушили над безводным Na_2SO_4, и отфильтровали. Органический слой концентрировали досуха, а полученный остаток очистили силикагелевой колоночной хроматографией и элюировали от 3 до 15% MeOH в дихлорметане с получением Соединения 116 (0,84 г, 61%). Структуру подтвердили анализом ЖХМС и ^{1}H ЯМР.





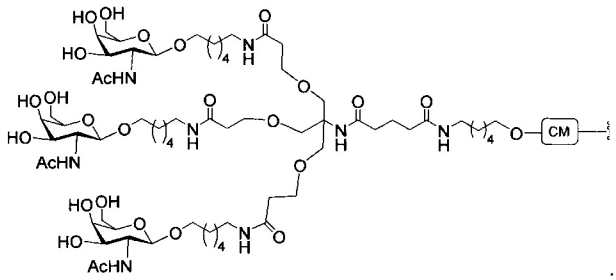
Соединение 116 (0,74 г, 0,4 ммоль) растворили в 1:1 смеси метанола/этилацетата (5 мл/5 мл). Добавили палладий на углероде (влажный, 0,074 г). Реакционную смесь продували водородом и перемешивали при комнатной температуре в атмосфере водорода в течение 12 часов. Реакционную смесь фильтровали через слой целита. Слой целита промыли метанолом/этилацетатом (1:1). Фильтрат и промывочные растворы объединили и выпарили при пониженном давлении с получением соединения 117 (0,73 г, 98%). Структуру подтвердили анализом ЖХМС и ^{1}H ЯМР.

Соединение 117 (0,63 г, 0,36 ммоль) растворили в безводном ДМФА (3 мл). К этому раствору добавили N,N-диизопропилэтиламин (70 мкл, 0,4 ммоль) и пентафторфенила трифторацетат (72 мкл, 0,42 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 12 часов и вылили в насыщенный водный раствор $NaHCO_3$. Смесь экстрагировали дихлорметаном, промыли насыщенным солевым раствором и высушили над безводным Na_2SO_4. Дихлорметановый раствор концентрировали досуха и очистили силикагелевой колоночной хроматографией, и элюировали от 5 до 10% MeOH в дихлорметане с получением соединения 118 (0,51 г, 79%). Структуру подтвердили анализом ЖХМС и ^{1}H и ^{1}H и ^{19}F ЯМР.

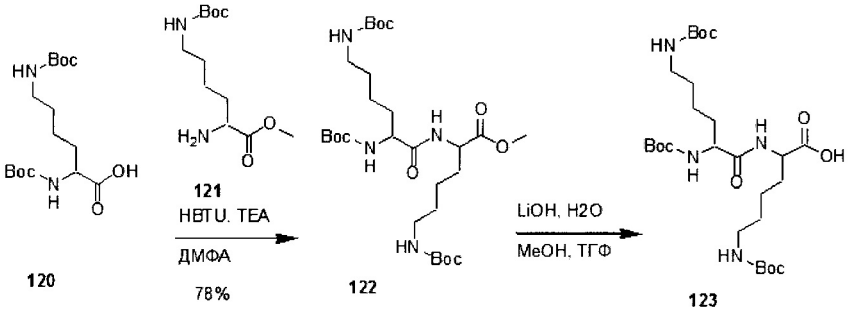


Олигомерное соединение 119, содержащее группу конъюгата $GalNAc_3$-7, получили по общим способам, представленным в Примере 46. Кластерная часть $GalNAc_3$ группы конъюгата $GalNAc_3$-7 ($GalNAc_3$-7_a) может быть комбинирована с любым расщепляемым фрагментом с получением различных групп конъюгата. В некоторых вариантах реализации расщепляемый фрагмент представляет собой -P(=O)(OH)-A_d-P(=O)(OH)-.

Структура $GalNAc_3$-7 ($GalNAc_3$-7_a-CM-) представлена ниже:



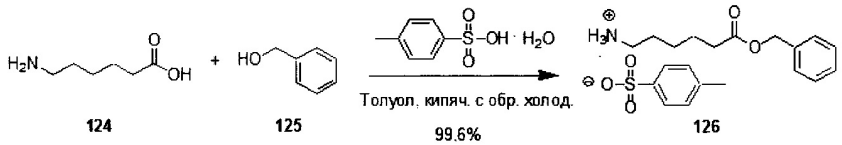
Пример 49: Получение олигонуклеотида 132, содержащего $GalNAc_3$-5



Соединение 120 (14,01 г, 40 ммоль) и HBTU (14,06 г, 37 ммоль) растворили в безводном ДМФА (80 мл). Добавили триэтиламин (11,2 мл, 80,35 ммоль) и перемешивали в течение 5 минут. Реакционную смесь охладили на ледяной бане и добавили раствор соединения 121 (10 г, ммоль) в безводном ДМФА (20 мл). Добавили дополнительное количество триэтиламина (4,5 мл, 32,28 ммоль) и перемешивали реакционную смесь в течение 18 часов в атмосфере аргона. Реакцию контролировали по ТСХ (этилацетат : гексан; 1:1; Rf=0,47). Растворитель удалили при пониженном давлении. Остаток растворили в EtOAc (300 мл) и промыли 1 М раствором $NaHSO_4$ (3×150 мл), насыщенным водным раствором $NaHCO_3$ (3×150 мл) и насыщенным солевым раствором (2×100 мл). Органический слой высушили над Na_2SO_4 и концентрировали. Высушивающий агент удалили фильтрованием, а органический слой концентрировали на ротационном испарителе.

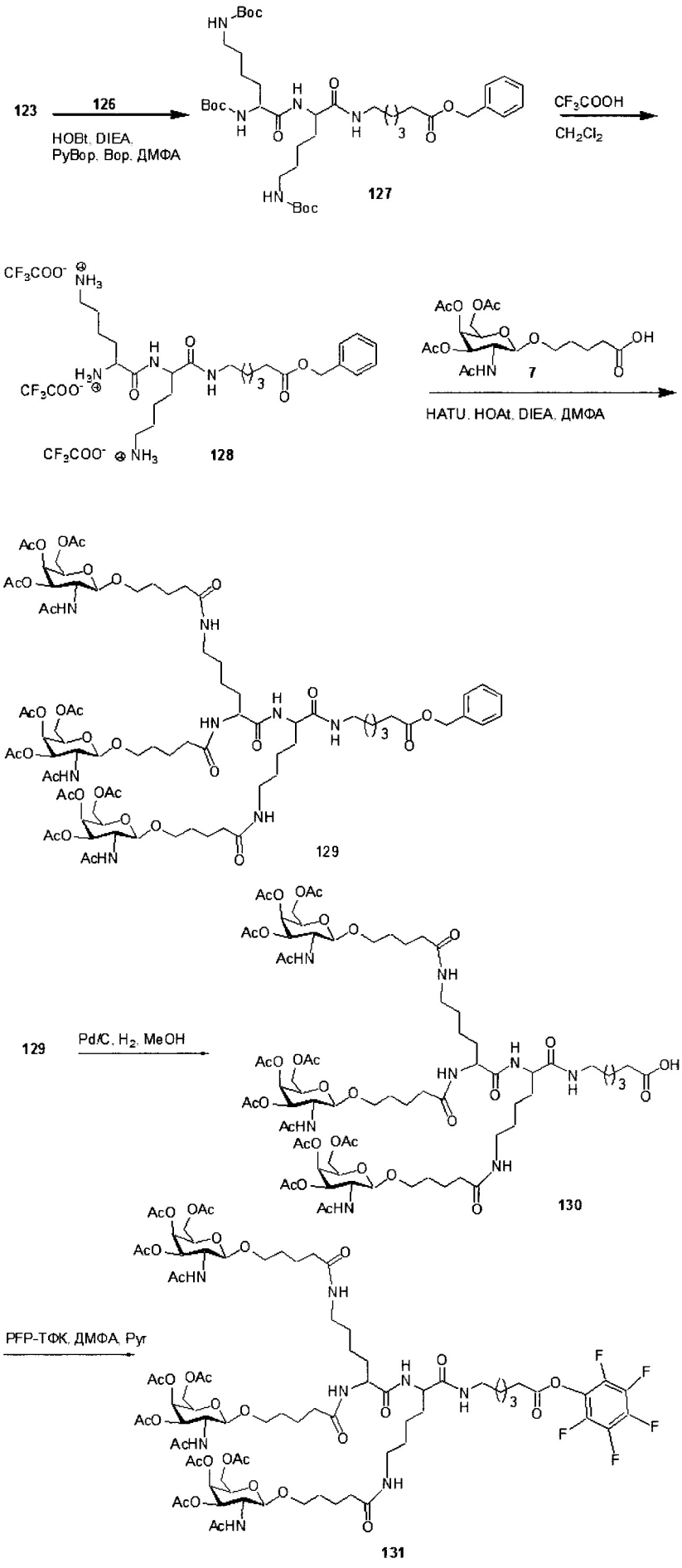
Неочищенную смесь очистили силикагелевой колоночной хроматографией и элюировали при помощи 35-50% EtOAc в гексане с получением соединения 122 (15,50 г, 78,13%). Структуру подтвердили анализом ЖХМС и ^{1}H ЯМР. Масса m/z 589,3 $[M+H]^+$.

К охлажденному раствору соединения 122 (7,75 г, 13,16 ммоль), растворенного в метаноле (15 мл) добавили раствор LiOH (92,15 ммоль) в воде (20 мл) и ТГФ (10 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 45 минут и контролировали по ТСХ (EtOAc : гексан; 1:1). Реакционную смесь концентрировали до половины объема при пониженном давлении. Оставшийся раствор охладили на ледяной бане и нейтрализовали добавлением концентрированной HCl. Реакционную смесь разбавили, экстрагировали EtOAc (120 мл) и промыли насыщенным солевым раствором (100 мл). При стоянии в течение ночи образовалась и осветлилась эмульсия. Органический слой отделили, высушили (Na_2SO_4), отфильтровали и выпарили с получением Соединения 123 (8,42 г). Избыточную массу вероятно обусловливает остаточная соль. Данные ЖХМС согласовались со структурой. Продукт использовали без какой-либо дополнительной очистки. Мол. масса, расчетная: 574,36% мол. масса, найденная: 575,3 $[M+H]^+$.



124 125 126

Соединение 126 синтезировали по способу, описанному в литературе (J. Am. Chem. Soc. 2011, 133, 958-963).


123
126
HOBt, DIEA,
PyBop, Bop, ДМФА
127
CF3COOH
CH2Cl2
128
7
HATU, HOAt, DIEA, ДМФА
129
Pd/C, H2, MeOH
130
PFP-ТФК, ДМФА, Pyr
131

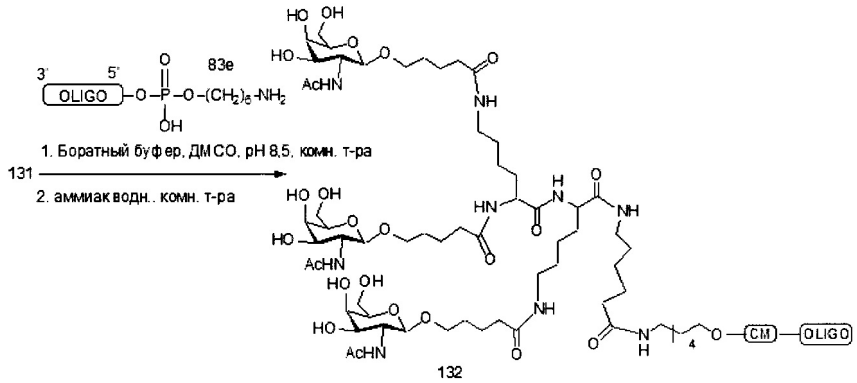
Соединение 123 (7,419 г, 12,91 ммоль), HOBt (3,49 г, 25,82 ммоль) и соединение 126 (6,33 г, 16,14 ммоль) растворили в ДМФА (40 мл), а полученную реакционную смесь охладили на ледяной бане. К смеси добавили N,N-диизопропилэтиламин (4,42 мл, 25,82 ммоль), PyBop (8,7 г, 16,7 ммоль), затем Bop-связывающий агент (1,17 г, 2,66 ммоль) в атмосфере аргона. Ледяную баню убрали и оставили раствор нагреваться до комнатной температуры. По данным ТСХ (ДХМ : MeOH : AA; 89:10:1), реакция была завершена через 1 час. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении. Остаток растворили в EtOAc (300 мл) и промыли 1 М раствором $NaHSO_4$ (3×150 мл), насыщенным водным раствором $NaHCO_3$ (3×150 мл) и насыщенным солевым раствором (2×100 мл). Отделенную органическую фазу высушили (Na_2SO_4), отфильтровали и концентрировали. Остаток очистили колоночной хроматографией на силикагеле с градиентом от 50% гексанов в EtOAc до 100% EtOAc с получением Соединения 127 (9,4 г) в виде белого пенистого вещества. Данные ЖХМС и ^{1}H ЯМР согласовались со структурой. Масса m/z 778,4 $[M+H]^+$.

Трифторуксусную кислоту (12 мл) добавили к раствору соединения 127 (1,57 г, 2,02 ммоль) в дихлорметане (12 мл) и перемешивали при комнатной температуре в течение 1 часа. Реакционную смесь выпарили совместно с толуолом (30 мл) при пониженном давлении досуха. Полученный остаток дважды совместно выпаривали с ацетонитрилом (30 мл) и толуолом (40 мл) с получением Соединения 128 (1,67 г) в виде трифторацетатной соли и использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. Данные ЖХМС и ^{1}H ЯМР согласовались со структурой. Масса m/z 478,2 $[M+H]^+$.

Соединение 7 (0,43 г, 0,963 ммоль), HATU (0,35 г, 0,91 ммоль) и HOAt (0,035 г, 0,26 ммоль) смешали вместе и высушивали в течение 4 часов над P_2O_5 при пониженном давлении в круглодонной колбе, а затем растворили в безводном ДМФА (1 мл) и перемешивали в течение 5 минут. К этой смеси добавили раствор соединения 128 (0,20 г, 0,26 ммоль) в безводном ДМФА (0,2 мл) и добавили N/N-диизопропилэтиламин (0,2 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в атмосфере аргона. По данным ЖХМС и ТСХ (7% MeOH/ДХМ), реакция была завершена через 20 минут. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении. Остаток растворили в ДХМ (30 мл) и промыли 1 М раствором $NaHSO_4$ (3×20 мл), насыщенным водным раствором $NaHCO_3$ (3×20 мл) и насыщенным солевым раствором (3×20 мл). Органическую фазу отделили, высушили над Na_2SO_4, отфильтровали и концентрировали. Остаток очистили колоночной хроматографией на силикагеле, используя 5-15% MeOH в дихлорметане, с получением Соединения 129 (96,6 мг). Данные ЖХМС и ^{1}H ЯМР согласовались со структурой. Масса m/z 883,4 $[M+2H]^+$.

Соединение 129 (0,09 г, 0,051 ммоль) растворили в метаноле (5 мл) в сцинтилляционной пробирке объемом 20 мл. К смеси добавили небольшое количество 10% Pd/C (0,015 мг) и продули реакционный сосуд газообразным H_2. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в атмосфере H_2 в течение 18 часов. Реакционную смесь отфильтровали через слой целита и промыли слой целита метанолом. Фильтрат и промывочные растворы слили вместе и концентрировали при пониженном давлении с получением Соединения 130 (0,08 г). Данные ЖХМС и ^{1}H ЯМР согласовались с указанной структурой. Продукт использовали без дополнительной очистки. Масса m/z 838,3 $[M+2H]^+$.

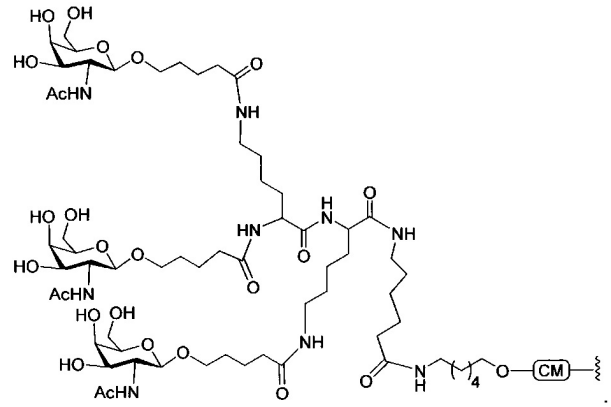
В коническую круглодонную колбу объемом 10 мл добавили соединение 130 (75,8 мг, 0,046 ммоль), 0,37 М пиридин/ДМФА (200 мкл) и мешалку. К этому раствору по каплям добавили 0,7 М пентафторфенилтрифторацетат/ДМФА (100 мкл) при перемешивании. По данным ЖХМС реакция была завершена через 1 час. Растворитель удалили при пониженном давлении и растворили остаток в $CHCl_3$ (~10 мл). Органический слой разделили между $NaHSO_4$ (1 М, 10 мл), насыщенным водным раствором $NaHCO_3$ (10 ил) и насыщенным солевым раствором (10 мл), с каждым раствором по три раза. Органическую фазу отделили и высушили над Na_2SO_4, отфильтровали и концентрировали с получением Соединения 131 (77,7 мг). Данные ЖХМС согласовались со структурой. Использовали без дополнительной очистки. Масса m/z 921,3 $[M+2H]^+$.



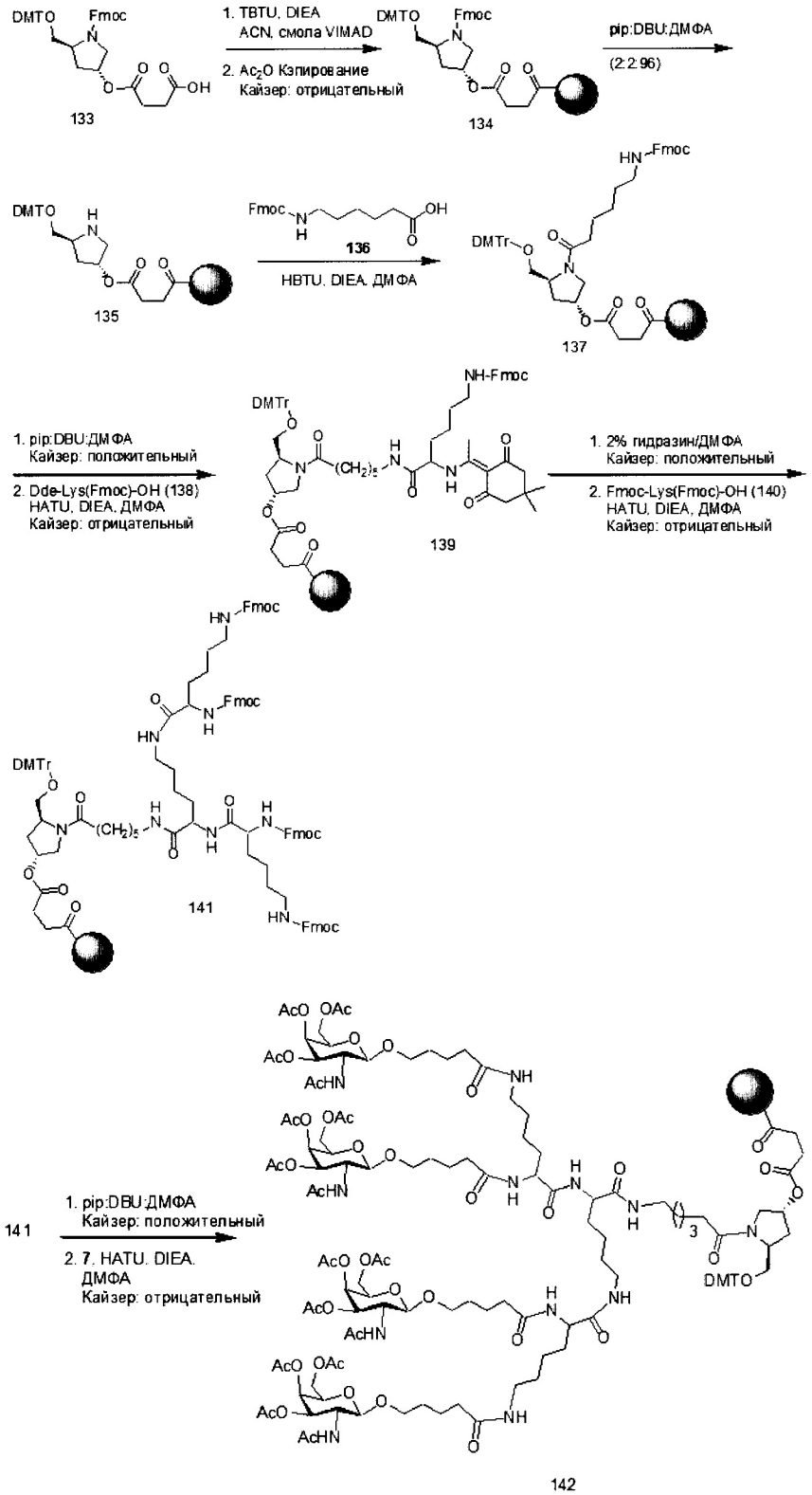
132

Олигомерное Соединение 132, содержащее группу конъюгата $GalNAc_3$-5,получили по общим способам, представленным в Примере 46. Кластерная часть $GalNAc_3$ группы конъюгата $GalNAc_3$-5 ($GalNAc_3$-5_a) может быть комбинирована с любым расщепляемым фрагментом с получением различных групп конъюгата. В некоторых вариантах реализации расщепляемый фрагмент представляет собой -P(=O)(OH)-A_d-P(=O)(OH)-.

Структура $GalNAc_3$-5 ($GalNAc_3$-5_a-CM-) представлена ниже:



Пример 50: Получение олигонуклеотида 144, содержащего $GalNAc_4$-11

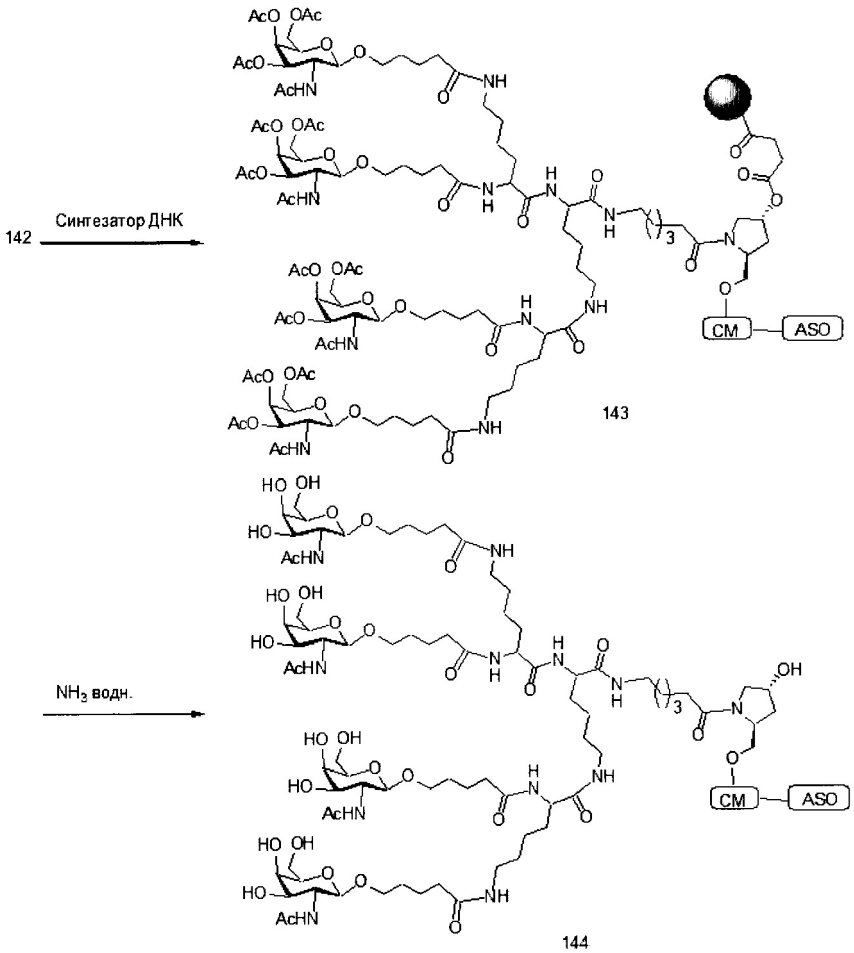


Синтез Соединения 134. В колбу Меррифилда добавили аминометиловую смолу VIMAD (2,5 г, 450 мкмоль/г), которую промыли ацетонитрилом, диметилформамидом, дихлорметаном и ацетонитрилом. Смолу оставили набухать в ацетонитриле (4 мл). Соединение 133 предварительно активировали в 100 мл круглодонной колбе путем добавления 20 (1,0 ммоль, 0,747 г), TBTU (1,0 ммоль, 0,321 г), ацетонитрила (5 мл) и DIEA (3,0 ммоль, 0,5 мл). Этот раствор оставили перемешиваться на 5 минут, а затем добавили в колбу Меррифилда при встряхивании. Суспензию оставили встряхиваться на 3 часа. Реакционную смесь слили, а смолу промыли ацетонитрилом, ДМФА и ДХМ.

Заполнение новой смолы количественно определили по измерению абсорбции DMT катиона при 500 нм (коэффициент экстинкции = 76000) в ДХМ, которое составило 238 мкмоль/г. Смолу кэпировали трехкратным суспендированием в растворе уксусного ангидрида в течение десяти минут.

Соединение 141, связанное с твердой подложкой, синтезировали многократным повторением способов твердофазного синтеза пептидов при помощи Fmoc. Взяли небольшое количество твердой подложки и суспендировали в водном растворе аммиака (28-30 масс. %) в течение 6 часов. Расщепленное соединение анализировали по ЖХ-МС и наблюдали, что масса согласуется со структурой. Масса m/z 1063,8 $[M+2H]^+$.

Соединение 142, связанное с твердой подложкой, синтезировали по способам твердофазного синтеза пептидов.



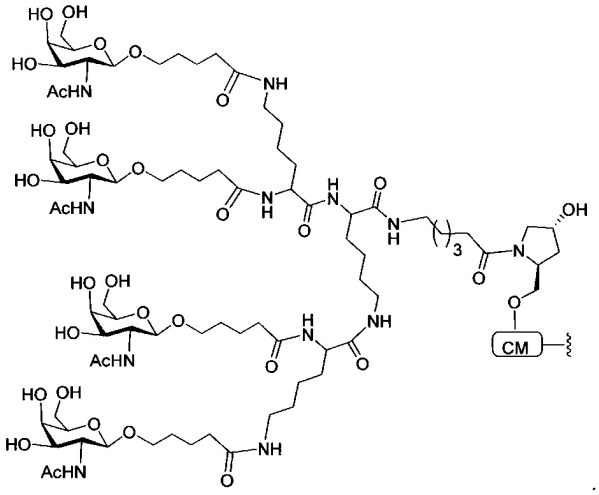
Соединение 143, связанное с твердой подложкой, синтезировали при помощи стандартного твердофазного синтеза на ДНК синтезаторе.

Соединение 143, связанное с твердой подложкой, суспендировали в водном аммиаке (28-30 масс. %) и нагревали при 55°C в течение 16 часов. Раствор охладили, а твердую подложку отфильтровали. Фильтрат концентрировали, а остаток растворили в воде и очистили при помощи ВЭЖХ на сильной анионообменной колонке. Фракции, содержащие соединение 144 полной длины, слили вместе и обессолили. Полученное $GalNAc_4$-11-сопряженное олигомерное соединение анализировали при помощи ЖХ-МС и наблюдали, что масса согласуется со структурой.

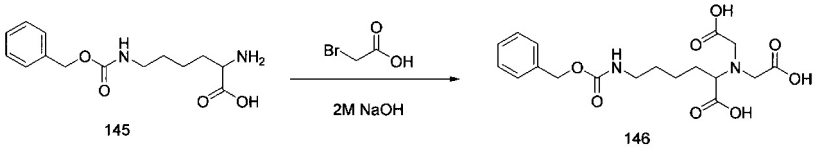
Кластерная часть $GalNAc_4$ группы конъюгата $GalNAc_4$-11 ($GalNAc_4$-11_a) может быть комбинирована с любым расщепляемым фрагментом с получением различных групп конъюгата. В некоторых вариантах реализации расщепляемый фрагмент представляет

собой -P(=O)(OH)-A_d-P(=O)(OH)-.

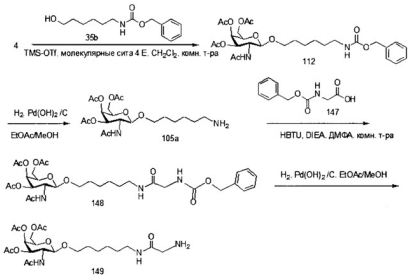
Структура $GalNAc_4$-11 ($GalNAc_4$-11_a-CM) представлена ниже:



Пример 51: Получение олигонуклеотида 155, содержащего $GalNAc_3$-6



Соединение 146 синтезировали так, как описано в литературе (Analytical Biochemistry 1995, 229, 54-60).



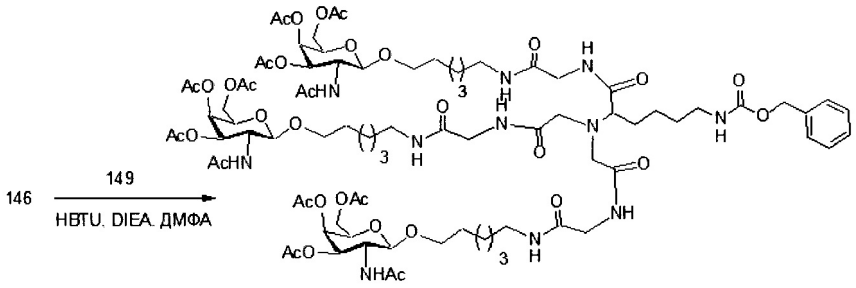
Соединение 4 (15 г, 45,55 ммоль) и соединение 35b (14,3 грамм, 57 ммоль) растворили в CH_2Cl_2 (200 мл). Добавили активированные молекулярные сита (4 Å, 2 г, порошкообразные) и оставили реакционную смесь перемешиваться в течение 30 минут в атмосфере азота. Добавили TMS-OTf (4,1 мл, 22,77 ммоль) и оставили реакционную смесь перемешиваться при комнатной температуре в течение ночи. После завершения реакции смесь погасили, вылив в насыщенный водный раствор $NaHCO_3$ (500 мл) с дробленым льдом (~150 г). Органический слой отделили, промыли насыщенным солевым раствором, высушили над $MgSO_4$, отфильтровали и концентрировали до оранжевого маслянистого вещества при пониженном давлении. Неочищенный материал очистили силикагелевой колоночной хроматографией и элюировали 2-10% MeOH в CH_2Cl_2 с получением Соединения 112 (16,53 г, 63%). ЖХМС и ^{1}H ЯМР согласовались с ожидаемым соединением.

Соединение 112 (4,27 г, 7,35 ммоль) растворили в 1:1 MeOH/EtOAc (40 мл). Реакционную смесь очистили пропусканием потока аргона через раствор в течение 15 минут. Добавили катализатор Перлмана (гидроксид палладия на углероде, 400 мг) и пропускали через раствор газообразный водород в течение 30 минут. После завершения

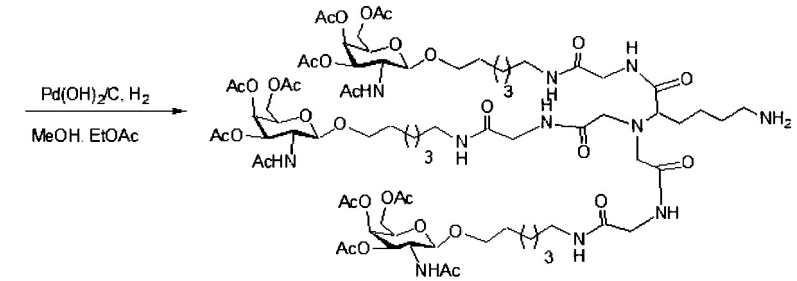
(ТСХ, 10% MeOH в CH_2Cl_2, и ЖХМС), катализатор удалили фильтрованием через слой целита. Фильтрат концентрировали на ротационном испарителе и быстро высушили под высоким вакуумом с получением Соединения 105a (3,28 г). Данные ЖХМС и 1H ЯМР согласовались с заданным продуктом.

Соединение 147 (2,31 г, 11 ммоль) растворили в безводном ДМФА (100 мл). Добавили N,N-диизопропилэтиламин (DIEA, 3,9 мл, 22 ммоль), затем HBTU (4 г, 10,5 ммоль). Реакционную смесь оставили перемешиваться в течение ~15 минут в атмосфере азота. К этой смеси добавили раствор соединения 105a (3,3 г, 7,4 ммоль) в сухом ДМФА и перемешивали в течение 2 часов в атмосфере азота. Реакционную смесь разбавили EtOAc и промыли насыщенным водным раствором $NaHCO_3$ и насыщенным солевым раствором. Органическую фазу отделили, высушили ($MgSO_4$), отфильтровали и концентрировали до оранжевого сиропообразного вещества. Неочищенный материал очистили колоночной хроматографией и элюировали 2-5% MeOH в CH_2Cl_2 с получением Соединения 148 (3,44 г, 73%). ЖХМС и ^{1}H ЯМР согласовались с ожидаемым продуктом.

Соединение 148 (3,3 г, 5,2 ммоль) растворили в 1:1 MeOH/EtOAc (75 мл). Реакционную смесь очистили пропусканием потока аргона через раствор в течение 15 минут. Добавили катализатор Перлмана (гидроксид палладия на углероде) (350 мг). Через раствор продували газообразный водород в течение 30 минут. После завершения (ТСХ, 10% MeOH в ДХМ, и ЖХМС), катализатор удалили фильтрованием через слой целита. Фильтрат концентрировали на ротационном испарителе и быстро высушили под высоким вакуумом с получением Соединения 149 (2,6 г). Данные ЖХМС согласовались с заданным продуктом. Остаток растворили в сухом ДМФА (10 мл) и сразу использовали на следующей стадии.



150

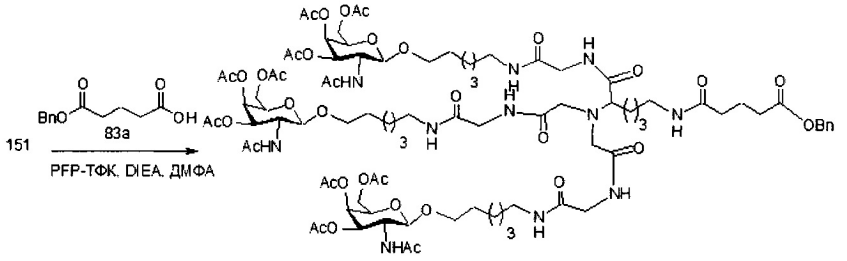


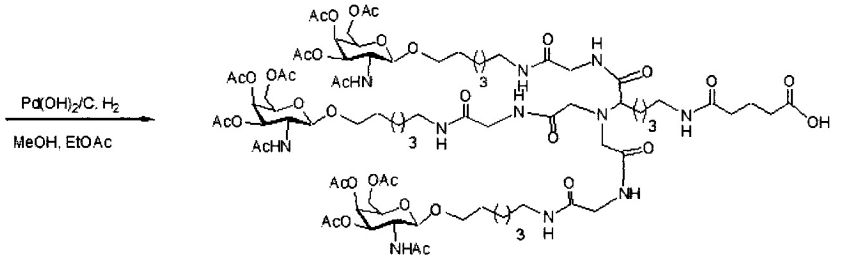
151

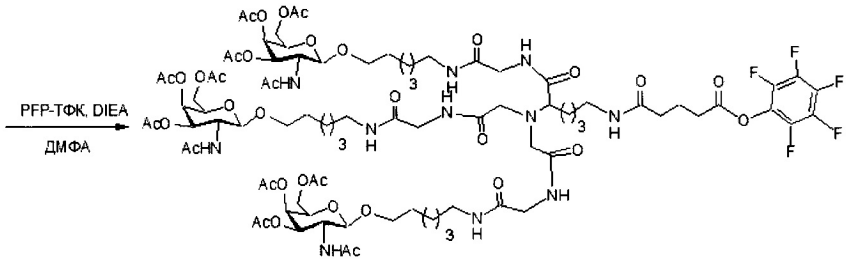
Соединение 146 (0,68 г, 1,73 ммоль) растворили в сухом ДМФА (20 мл). К нему добавили DIEA (450 мкл, 2,6 ммоль, 1,5 экв.) и HBTU (1,96 г, 0,52 ммоль). Реакционную смесь оставили перемешиваться в течение 15 минут при комнатной температуре в атмосфере азота. Добавили раствор соединения 149 (2,6 г) в безводном ДМФА (10 мл). pH реакционной смеси довели до pH=9-10 добавлением DIEA (при необходимости). Реакционную смесь оставили перемешиваться в течение 2 часов при комнатной температуре в атмосфере азота. После завершения реакции смесь разбавили EtOAc (100

мл) и промыли насыщенным водным раствором $NaHCO_3$, затем насыщенным солевым раствором. Органическую фазу отделили, высушили над $MgSO_4$, отфильтровали и концентрировали. Остаток очистили силикагелевой колоночной хроматографией и элюировали 2-10% MeOH в CH_2Cl_2 получением Соединения 150 (0,62 г, 20%). ЖХМС и ^1H ЯМР согласовались с заданным продуктом.

Соединение 150 (0,62 г) растворили в 1:1 MeOH/EtOAc (5 л). Реакционную смесь очистили пропусканием потока аргона через раствор в течение 15 минут. Добавили катализатор Перлмана (гидроксид палладия на углероде) (60 мг). Через раствор продували газообразный водород в течение 30 минут. После завершения (ТСХ, 10% MeOH в ДХМ, и ЖХМС), катализатор удалили фильтрованием (тефлоновый фильтр с переходной канюлей шприца, 0,45 мкм). Фильтрат концентрировали на ротационном испарителе и быстро высушили под высоким вакуумом с получением Соединения 151 (0,57 г). Данные ЖХМС согласовались с заданным продуктом. Продукт растворили в 4 мл сухого ДМФА и сразу использовали на следующей стадии.





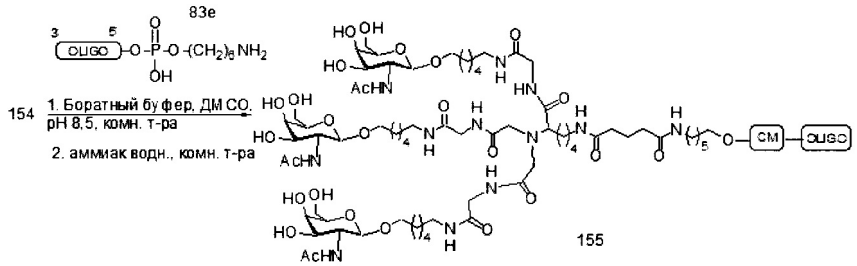


Соединение 83a (0,11 г, 0,33 ммоль) растворили в безводном ДМФА (5 мл) и добавили N,N-диизопропилэтиламин (75 мкл, 1 ммоль) и PFP-ТФК (90 мкл, 0,76 ммоль). При соприкосновении реакционная смесь стала пурпурной и постепенно изменила цвет на оранжевый в течение следующих 30 минут. Ход реакции контролировали по ТСХ и ЖХМС. После завершения (образования эфира PFP) добавили раствор соединения 151 (0,57 г, 0,33 ммоль) в ДМФА. pH реакционной смеси довели до pH=9-10 добавлением N,N-диизопропилэтиламина (при необходимости). Реакционную смесь перемешивали в атмосфере азота в течение ~30 минут. После завершения реакции большую часть растворителя удалили при пониженном давлении. Остаток разбавили CH_2Cl_2 и промыли

насыщенным водным раствором $NaHCO_3$, затем насыщенным солевым раствором. Органическую фазу отделили, высушили над $MgSO_4$, отфильтровали и концентрировали до оранжевого сиропообразного вещества. Остаток очистили колоночной хроматографией на силикагеле (2-10% MeOH в CH_2Cl_2) с получением Соединения 152 (0,35 г, 55%). ЖХМС и ^{1}H ЯМР согласовались с заданным продуктом.

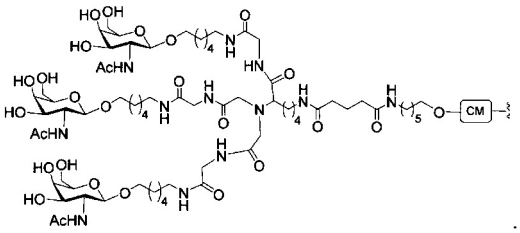
Соединение 152 (0,35 г, 0,182 ммоль) растворили в 1:1 MeOH/EtOAc (10 мл). Реакционную смесь очистили пропусканием потока аргона через раствор в течение 15 минут. Добавили катализатор Перлмана (гидроксид палладия на углероде) (35 мг). Через раствор продували газообразный водород в течение 30 минут. После завершения (ТСХ, 10% MeOH в ДХМ, и ЖХМС), катализатор удалили фильтрованием (тефлоновый фильтр с переходной канюлей шприца, 0,45 мкм). Фильтрат концентрировали на ротационном испарителе и быстро высушили под высоким вакуумом с получением Соединения 153 (0,33 г, количественно). Данные ЖХМС согласовались с заданным продуктом.

Соединение 153 (0,33 г, 0,18 ммоль) растворили в безводном ДМФА (5 мл) при перемешивании в атмосфере азота. К нему добавили N,N-диизопропилэтиламин (65 мкл, 0,37 ммоль) и PFP-ТФК (35 мкл, 0,28 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в атмосфере азота в течение ~30 минут. При соприкосновении реакционная смесь стала пурпурной и постепенно изменила цвет на оранжевый. pH реакционной смеси поддерживали при pH=9-10 добавлением дополнительного количества N,N-диизопропилэтиламина. Ход реакции контролировали по ТСХ и ЖХМС. После завершения реакции большую часть растворителя удалили при пониженном давлении. Остаток разбавили CH_2Cl_2 (50 мл) и промыли насыщенным водным раствором $NaHCO_3$, затем насыщенным солевым раствором. Органический слой высушили над $MgSO_4$, отфильтровали и концентрировали до оранжевого сиропообразного вещества. Остаток очистили колоночной хроматографией и элюировали 2-10% MeOH в CH_2Cl_2 с получением Соединения 154 (0,29 г, 79%). ЖХМС и ^{1}H ЯМР согласовались с заданным продуктом.

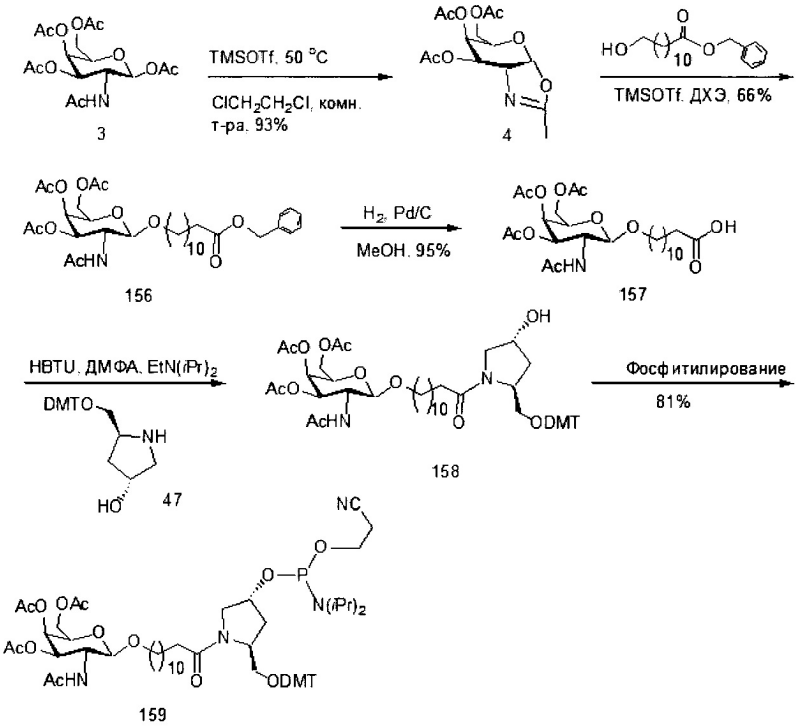


Олигомерное Соединение 155, содержащее группу конъюгата $GalNAc_3$-6, получили по общим способам, представленным в Примере 46. Кластерная часть $GalNAc_3$ группы конъюгата $GalNAc_3$-6 ($GalNAc_3$-6_a) может быть комбинирована с любым расщепляемым фрагментом с получением различных групп конъюгата. В некоторых вариантах реализации расщепляемый фрагмент представляет собой -P(=O)(OH)-A_d-P(=O)(OH)-.

Структура $GalNAc_3$-6 ($GalNAc_3$-6_a-CM-) представлена ниже:



Пример 52: Получение олигонуклеотида 160, содержащего $GalNAc_3$-9



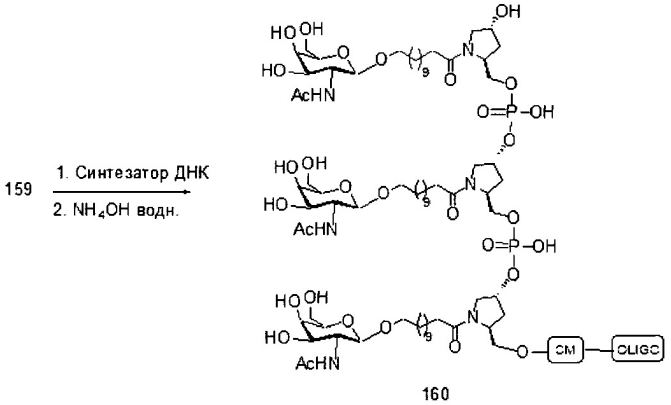
Соединение 112 синтезировали по способу, описанному в литературе (J. Med. Chem. 2004, 47, 5798-5808).

Соединение 156 (18,60 г, 29,28 ммоль) растворили в метаноле (200 мл). Добавили палладий на углероде (6,15 г, загрузка 10 масс. % (в пересчете на сухое вещество), матрица из порошкообразного углерода, влажный). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в атмосфере водорода в течение 18 часов. Реакционную смесь отфильтровали через слой целита и тщательно промыли слой целита метанолом. Объединенный фильтрат промыли и концентрировали досуха. Остаток очистили силикагелевой колоночной хроматографией и элюировали 5-10% метанола в дихлорметане с получением Соединения 157 (14,26 г, 89%). Масса m/z 544,1 $[M-H]^-$.

Соединение 157 (5 г, 9,17 ммоль) растворили в безводном ДМФА (30 мл). Добавили HBTU (3,65 г, 9,61 ммоль) и N,N-диизопропилэтиламин (13,73 мл, 78,81 ммоль) и перемешивали реакционную смесь при комнатной температуре в течение 5 минут. К нему добавили раствор соединения 47 (2,96 г, 7,04 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 8 часов. Реакционную смесь вылили в насыщенный водный раствор $NaHCO_3$. Смесь экстрагировали этилацетатом, а органический слой промыли насыщенным солевым раствором и высушили (Na_2SO_4), отфильтровали и выпарили. Полученный остаток очистили силикагелевой колоночной хроматографией и элюировали 50% этилацетатом в гексане с получением Соединения 158 (8,25 г, 73,3%). Структуру подтвердили анализом МС и ^1H ЯМР.

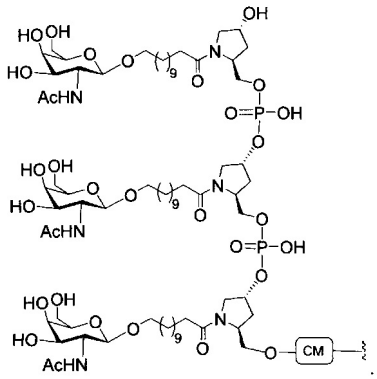
Соединение 158 (7,2 г, 7,61 ммоль) высушили над P_2O_5 при пониженном давлении.

Высушенное соединение растворили в безводном ДМФА (50 мл). К нему добавили 1H-тетразол (0,43 г, 6,09 ммоль) и N-метилимидазол (0,3 мл, 3,81 ммоль), и цианоэтил-N,N,N',N'-тетраизопропил-фосфородиамидит (3,65 мл, 11,50 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в атмосфере аргона в течение 4 часов. Реакционную смесь разбавили этилацетатом (200 мл). Реакционную смесь промыли насыщенным раствором $NaHCO_3$ и насыщенным солевым раствором. Органическую фазу отделили, высушили (Na_2SO_4), отфильтровали и выпарили. Остаток очистили силикагелевой колоночной хроматографией и элюировали 50-90% этилацетатом в гексане с получением Соединения 159 (7,82 г, 80,5%). Структуру подтвердили анализом ЖХМС и ^{31}P ЯМР.

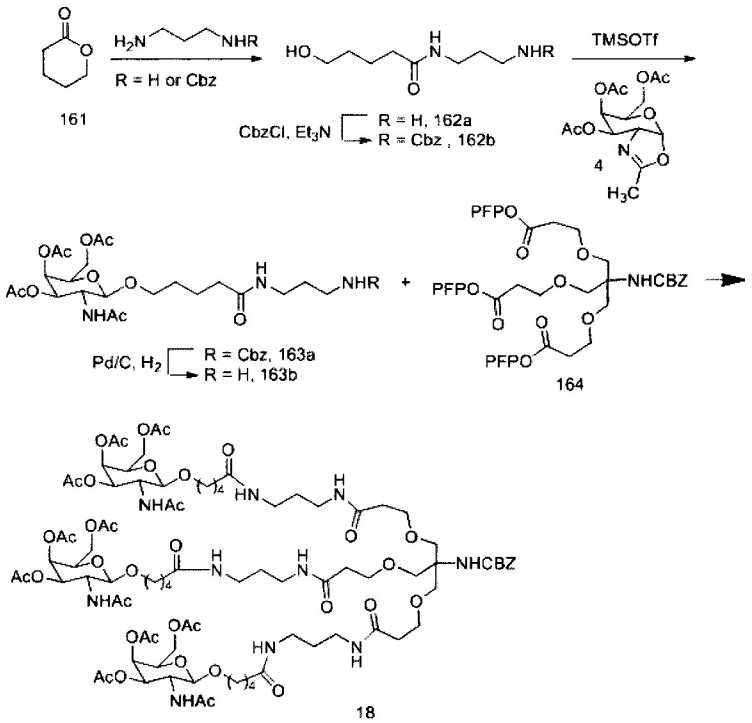


160

Олигомерное соединение 160, содержащее группу конъюгата $GalNAc_3$-9, получили по стандартным способам синтеза олигонуклеотидов. Три единицы соединения 159 связали с твердой подложкой, затем с фосфорамидитами нуклеотидов. В результате обработки защищенного олигомерного соединения водным раствором аммиака получили соединение 160. Кластерная часть $GalNAc_3$ группы конъюгата $GalNAc_3$-9 ($GalNAc_3$-9_a) может быть комбинирована с любым расщепляемым фрагментом с получением различных групп конъюгата. В некоторых вариантах реализации расщепляемый фрагмент представляет собой -P(=O)(OH)-A_d-P(=O)(OH)-. Структура $GalNAc_3$-9 ($GalNAc_3$-9_a-CM) представлена ниже:

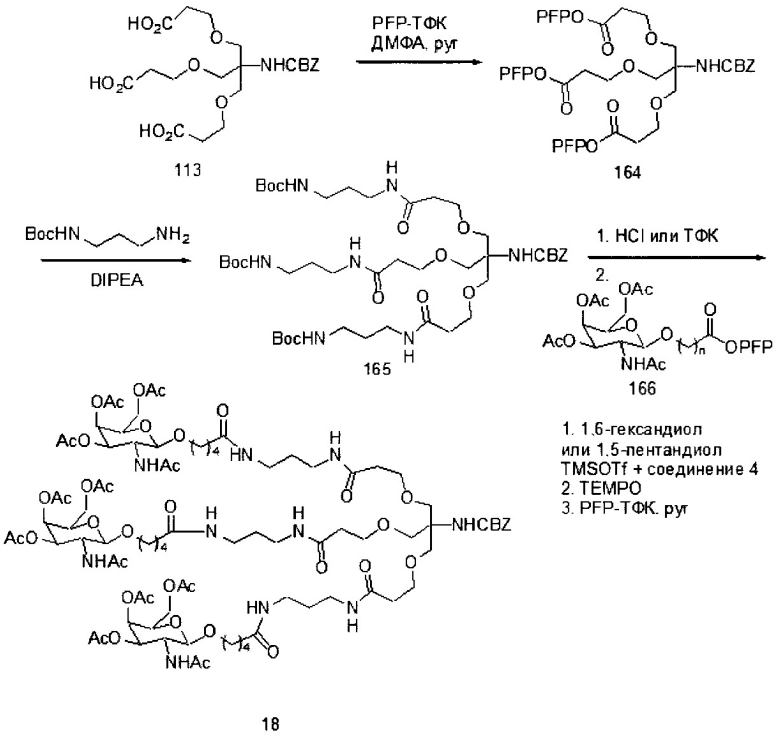


Пример 53: Альтернативный способ получения Соединения 18 ($GalNAc_3$-1a и $GalNAc_3$-3a)



Выполнили реакцию лактона 161 с диаминопропаном (3-5 экв.) или моно-Boc-защищинным диаминопропаном (1 экв.) с получением спирта 162a или 162b. При использовании для описанной выше реакции незащищенного пропандиамина, избыток диамина удалили выпариванием под высоким вакуумом, а свободную аминогруппу в 162a защитили при помощи CbzCl с получением 162b в виде белого твердого вещества после очистки колоночной хроматографией. Спирт 162b затем взаимодействовал с соединением 4 в присутствии TMSOTf с получением 163a, которое преобразовали в 163b путем снятия Cbz группы при помощи каталитического гидрирования. Пентафторфениловый (PFP) эфир 164 получили взаимодействием трехкислотного соединения 113 (см. Пример 48) с PFP-ТФК (3,5 экв.) и пиридином (3,5 экв.) в ДМФА (от 0,1 до 0,5 М). Триэфир 164 непосредственно взаимодействовал с амином 163b (3-4 экв.) и DIPEA (3-4 экв.) с получением Соединения 18. Представленный выше способ значительно облегчает очистку промежуточных соединений и минимизирует образование побочных продуктов, которые образуются при использовании способа, описанного в Примере 4.

Пример 54: Альтернативный способ получения Соединения 18 ($GalNAc_3$-1a и $GalNAc_3$-3a)



113 164 165 166 18

Три-PFP эфир 164 получили из кислоты 113 по способу, представленному выше в Примере 53, выполнили реакцию этого эфира с моно-Boc-защищенным диамином с получением 165 практически с количественным выходом. Вое группы сняли хлористоводородной кислотой или трифторуксусной кислотой с получением триамина, который взаимодействовал с активированной кислотой PFP 166 в присутствии подходящего основания, такого как DIPEA, с получением Соединения 18.

PFP-защищенную кислоту Gal-NAc 166 получили из соответствующей кислоты обработкой PFP-ТФК (1-1,2 экв.) и пиридином (1-1,2 экв.) в ДМФА. Кислоту-предшественник, в свою очередь, получили из соответствующего спирта окислением с использованием TEMPO (0,2 экв.) и BAIB в ацетонитриле и воде. Спирт-предшественник получили из сахарного промежуточного соединения 4 взаимодействием с 1,6-гександиолом (или 1,5-гександиолом или другим диолом для других значений n) (2-4 экв.) и TMSOTf, используя условия, описанные ранее в Примере 47.

Пример 55: Дозозависимое исследование олигонуклеотидов, содержащих либо 3', либо 5'-группу конъюгата (сравнение $GalNAc_3$-1, 3, 8 и 9), направленных на SRB-1, in vivo

Олигонуклеотиды, перечисленные ниже, испытали в дозозависимом исследовании антисмыслового ингибирования SRB-1 у мышей. Несопряженный ISIS 353382 включили в качестве стандарта. Каждая из различных групп конъюгата $GalNAc_3$ была присоединена либо к 3', либо к 5'-концу соответствующего олигонуклеотида при помощи фосфодиэфир-связанного 2'-дезоксиаденозинового нуклеозида (расщепляемый фрагмент).

Таблица 39

Модифицированные ASO, направленные на SRB-1

ASO	Последовательность (от 5' к 3')	Мотив	Конъюгат	SEQ ID NO
ISIS 353382 (исходная)	$G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{e}$	5/10/5	Отсутствие	2256
ISIS 655861	$G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{eo}\mathbf{A_{do'}\text{-}GalNAc_3\text{-}1_a}$	5/10/5	**$GalNAc_3$-1**	2257
ISIS 664078	$G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{eo}\mathbf{A_{do'}\text{-}GalNAc_3\text{-}9_a}$	5/10/5	**$GalNAc_3$-9**	2257
ISIS 661161	$\mathbf{GalNAc_3\text{-}3_{a\text{-}o'}A_{do}}$ $G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{e}$	5/10/5	**$GalNAc_3$-3**	2258
ISIS	$\mathbf{GalNAc_3\text{-}8_{a\text{-}o'}A_{do}}$	5/10/5	**$GalNAc_3$-8**	2258
665001	$G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{e}$			

Заглавные буквы указывают азотистое основание для каждого нуклеозида, а ^{m}C означает 5-метилцитозин. Нижние индексы: «e» означает 2'-MOE модифицированный нуклеозид; «d» означает β-D-2'-дезоксирибонуклеозид; «s» означает тиофосфатную межнуклеозидную связь (PS); «o» означает фосфодиэфирную межнуклеозидную связь (PO); и «o'» означает OP(=O)(OH)-. Группы конъюгата выделены жирным.

Структура $GalNAc_3$-1_a показана ранее в Примере 9. Структура $GalNAc_3$-9 показана ранее в Примере 52. Структура $GalNAc_3$-3 показана ранее в Примере 39. Структура $GalNAc_3$-8 показана ранее в Примере 47.

Лечение

Шестинедельным самцам мышей Balb/c (Jackson Laboratory, Бар-Харбор, штат Мэн) ввели однократную подкожную инъекцию дозы, представленной ниже, соединения ISIS 353382, 655861, 664078, 661161, 665001 или солевого раствора. Каждая экспериментальная группа состояла из 4 животных. Мышей усыпили через 72 часа после последнего введения для определения уровней мРНК SRB-1 в печени при помощи ПЦР в реальном времени и реагента для количественного определения РНК RIBOGREEN® (Molecular Probes, Inc. Юджин, штат Орегон) по стандартным протоколам. Результаты, показанные ниже, представлены как средний процент уровней мРНК SRB-1 для каждой экспериментальной группы, нормализованных к контрольному образцу, обработанному солевым раствором.

Как показано в Таблице 40, лечение антисмысловыми олигонуклеотидами снижает уровни мРНК SRB-1 дозозависимым образом. Действительно, антисмысловые олигонуклеотиды, содержащие фосфодиэфир-связанные конъюгаты $GalNAc_3$-1 и $GalNAc_3$-9 на 3'-конце (ISIS 655861 и ISIS 664078), а также конъюгаты $GalNAc_3$-3 и $GalNAc_3$-8, связанные на 5'-конце (ISIS 661161 и ISIS 665001) демонстрируют существенное улучшение эффективности, по сравнению с несопряженным антисмысловым олигонуклеотидом (ISIS 353382). Кроме того, ISIS 664078, содержащий конъюгат $GalNAc_3$-9 на 3'-конце, был по существу настолько же эффективным, как ISIS 655861, который содержит конъюгат $GalNAc_3$-1 на 3'-конце. 5'-сопряженные антисмысловые олигонуклеотиды, ISIS 661161 и ISIS 665001, содержащие $GalNAc_3$-3 или $GalNAc_3$-9, соответственно, обладают повышенной эффективностью, по сравнению с 3'-сопряженными антисмысловыми соединениями (ISIS 655861 и ISIS 664078).

Таблица 40

ASO, содержащие GalNAc$_3$-1, 3, 8 или 9, направленные на SRB-1

ISIS №	Доза (мг/кг)	мРНК SRB-1 (% от солевого раствора)	Конъюгат
Солевой раствор	н.д.	100	
353382	3	88	Отсутствие
	10	68	
	30	36	
655861	0,5	98	**GalNac$_3$ -1** (3')
	1,5	76	
	5	31	
	15	20	
664078	0,5	88	**GalNac$_3$-9** (3')
	1,5	85	
	5	46	
	15	20	
661161	0,5	92	**GalNac$_3$-3** (5')
	1,5	59	
	5	19	
	15	11	
665001	0,5	100	**GalNac$_3$-8** (5')
	1,5	73	
	5	29	
	15	13	

Уровни трансаминазы в печени, аланин-аминотрансферазы (ALT) и аспартат-аминотрансферазы (AST) в сыворотке измеряли относительно мышей, инъецированных солевым раствором, используя стандартные протоколы. Оценили также общий билирубин и азот мочевины крови (АМК). Проверили изменение массы тела, которое существенно не отличалось от группы с солевым раствором. Значения ALT, AST, общего билирубина и АМК представлены ниже в таблице.

Таблица 41

ISIS №	Доза мг/кг	ALT	AST	Общий билирубин	АМК	Конъюгат
Солевой раствор		24	59	0,1	37,52	
353382	3	21	66	0,2	34,65	Отсутствие
	10	22	54	0,2	34,2	
	30	22	49	0,2	33,72	
655861	0,5	25	62	0,2	30,65	**GalNac$_3$-1** (3')
	1,5	23	48	0,2	30,97	
	5	28	49	0,1	32,92	
	15	40	97	0,1	31,62	
664078	0,5	40	74	0,1	35,3	**GalNac$_3$-9** (3')
	1,5	47	104	0,1	32,75	
	5	20	43	0,1	30,62	
	15	38	92	0,1	26,2	
661161	0,5	101	162	0,1	34,17	**GalNac$_3$-3** (5')
	1,5 г	42	100	0,1	33,37	
	5 г	23	99	0,1	34,97	
	15	53	83	0,1	34,8	
665001	0,5	28	54	0,1	31,32	**GalNac$_3$-8** (5')
	1,5	42	75	0,1	32,32	
	5	24	42	0,1	31,85	
	15	32	67	0,1	31.	

Пример 56: Дозозависимое исследование олигонуклеотидов, содержащих либо 3', либо 5'-группу конъюгата (сравнение GalNAc3-1, 2, 3, 5, 6, 7 и 20), направленных на SRB-1, in vivo

Олигонуклеотиды, перечисленные ниже, испытали в дозозависимом исследовании антисмыслового ингибирования SRB-1 у мышей. Несопряженный ISIS 353382 включили в качестве стандарта. Каждая из различных групп конъюгата GalNAc$_3$ была

присоединена к 5'-концу соответствующего олигонуклеотида фосфодиэфир-связанным 2'-дезоксиаденозиновым нуклеозидом (расщепляемый фрагмент), за исключением ISIS 655861, в котором группа конъюгата $GalNAc_3$ присоединена к 3'-концу.

Таблица 42

Модифицированные ASO, направленные на SRB-1

ASO	Последовательность (от 5' к 3')	Мотив	**Конъюгат**	SEQ ID NO
ISIS 353382 (исходная)	$G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{e}$	5/10/5	Без конъюгата	2256
ISIS 655861	$G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{eo}$**$A_{do'}$-GalNAc3-1a**	5/10/5	**GalNAc3-1**	2257
ISIS 664507	**GalNAc3-2a-**$_{o'}$**A_{do}**$G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{e}$	5/10/5	**GalNAc3-2**	2258
ISIS 661161	**GalNAc3-3a-**$_{o'}$**A_{do}**$G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{e}$	5/10/5	**GalNAc3-3**	2258
ISIS 666224	**GalNAc3-5a-**$_{o'}$**A_{do}**$G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{e}$	5/10/5	**GalNAc3-5**	2258
ISIS 666961	**GalNAc3-6a-**$_{o'}$**A_{do}**$G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{e}$	5/10/5	**GalNAc3-6**	2258
ISIS 666981	**GalNAc3-7a-**$_{o'}$**A_{do}**$G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{e}$	5/10/5	**GalNAc3-7**	2258
ISIS 666881	**GalNAc3-10a-**$_{o'}$**A_{do}**$G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{e}$	5/10/5	**GalNAc3-10**	2258

Заглавные буквы указывают азотистое основание для каждого нуклеозида, а ^{m}C означает 5-метилцитозин. Нижние индексы: «e» означает 2'-MOE модифицированный нуклеозид; «d» означает β-D-2'-дезоксирибонуклеозид; «s» означает тиофосфатную межнуклеозидную связь (PS); «o» означает фосфодиэфирную межнуклеозидную связь (PO); и «o'» означает OP(=O)(OH)-. Группы конъюгата выделены жирным.

Структура $GalNAc_3$-1_a показана ранее в Примере 9. Структура $GalNAc_3$-2_a показана ранее в Примере 37. Структура $GalNAc_3$-3_a показана ранее в Примере 39. Структура $GalNAc_3$-5_a показана ранее в Примере 49. Структура $GalNAc_3$-6_a показана ранее в Примере 51. Структура $GalNAc_3$-7_a показана в Примере 48. Структура $GalNAc_3$-10_a показана в Примере 46.

Лечение

Шестинедельным самцам мышей Balb/c (Jackson Laboratory, Бар-Харбор, штат Мэн) ввели однократную подкожную инъекцию дозы, представленной ниже, соединения ISIS 353382, 655861, 664507, 661161, 666224, 666961, 666981, 666881 или солевого раствора. Каждая экспериментальная группа состояла из 4 животных. Мышей усыпили через 72 часа после последнего введения для определения уровней мРНК SRB-1 в печени при помощи ПЦР в реальном времени и реагента для количественного определения РНК RIBOGREEN® (Molecular Probes, Inc. Юджин, штат Орегон) по стандартным протоколам. Результаты, показанные ниже, представлены как средний процент уровней мРНК SRB-1 для каждой экспериментальной группы, нормализованных к контрольному образцу, обработанному солевым раствором.

Как показано в Таблице 43, лечение антисмысловыми олигонуклеотидами снижает уровни мРНК SRB-1 дозозависимым образом. Действительно, сопряженные антисмысловые олигонуклеотиды демонстрируют значительное усиление эффективности,

по сравнению с несопряженным антисмысловым олигонуклеотидом (ISIS 353382). 5'-сопряженные антисмысловые олигонуклеотиды демонстрируют небольшое усиление эффективности, по сравнению с 3'-сопряженным антисмысловым олигонуклеотидом.

Таблица 43

ISIS №	Доза (мг/кг)	мРНК SRB-1 (% от солевого раствора)	Конъюгат
Солевой раствор	н.д.	100,0	
353382	3	96,0	Отсутствие
	10	73,1	
	30	36,1	
655861	0,5	99,4	**GalNac$_3$-1** (3')
	1,5	81,2	
	5	33,9	
	15	15,2	
664507	0,5	102,0	**GalNac$_3$-2** (5')
	1,5	73,2	
	5	31,3	
	15	10,8	
661161	0,5	90,7	**GalNac$_3$-3** (5')
	1,5	67,6	
	5	24,3	
	15	11,5	
666224	0,5	96,1	**GalNAc$_3$-5** (5')
	1,5	61,6	
	5	25,6	
	15	11,7	
666961	0,5	85,5	**GalNAc$_3$-6** (5')
	1,5	56,3	
	5	34,2	
	15	13,1	
666981	0,5	84,7	**GalNAc$_3$-7** (5')
	1,5	59,9	
	5	24,9	
	15	8,5	
666881	0,5	100,0	**GalNAc$_3$-10** (5')
	1,5	65,8	
	5	26,0	
	15	13,0	

Уровни трансаминазы в печени, аланин-аминотрансферазы (ALT) и аспартат-аминотрансферазы (AST) в сыворотке измеряли относительно мышей, инъецированных солевым раствором, используя стандартные протоколы. Оценили также общий билирубин и азот мочевины крови (АМК). Проверили изменение массы тела, которое существенно не отличалось от группы с солевым раствором. Значения ALT, AST, общего билирубина и АМК представлены ниже в Таблице 44.

Таблица 44

ISIS №	Доза мг/кг	ALT	AST	Общий билирубин	АМК	Конъюгат
Солевой раствор		26	57	0,2	27	
353382	3	25	92	0,2	27	Отсутствие
	10	23	40	0,2	25	
	30	29	54	0,1	28	
655861	0,5	25	71	0,2	34	**GalNac$_3$-1** (3')
	1,5	28	60	0,2	26	
	5	26	63	0,2	28	
	15	25	61	0,2	28	
664507	0,5	25	62	0,2	25	**GalNac$_3$-2** (5')
	1,5	24	49	0,2	26	
	5	21	50	0,2	26	
	15	59	84	0,1	22	
661161	0,5	20	42	0,2	29	**GalNac$_3$-3** (5')
	1,5 г	37	74	0,2	25	
	5 г	28	61	0,2	29	
	15	21	41	0,2	25	
666224	0,5	34	48	0,2	21	**GalNAc$_3$-5** (5')
	1,5	23	46	0,2	26	
	5	24	47	0,2	23	
	15	32	49	0,1	26	
666961	0,5	17	63	0,2	26	**GalNAc$_3$-6** (5')
	1,5	23	68	0,2	26	
	5	25	66	0,2	26	
	15	29	107	0,2	28	
666981	0,5	24	48	0,2	26	**GalNAc$_3$-7** (5')
	1,5	30	55	0,2	24	
	5	46	74	0,1	24	
	15	29	58	0,1	26	
666881	0,5	20	65	0,2	27	**GalNAc$_3$-10** (5')
	1,5	23	59	0,2	24	
	5	45	70	0,2	26	
	15	21	57	0,2	24	

Пример 57: Исследование продолжительности действия олигонуклеотидов, содержащих 3'-группу конъюгата, направленных на ApoC III, in vivo

Мышам однократно ввели инъекцию дозы, указанной ниже, и в течение 42 дней наблюдали уровни ApoC-III и триглицеридов в плазме (TG в плазме). Исследование выполнили, используя в каждой группе 3 трансгенных мышей, которые экспрессируют человеческий APOC-III.

Таблица 45

Модифицированные ASO, направленные на ApoC III

ASO	Последовательность (от 5' к 3')	Связи	SEQ ID NO
ISIS 304801	$A_{es}G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{ds}T_{ds}$ $^{m}C_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}G_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{es}T_{es}T_{es}A_{es}T_{e}$	PS	2248
ISIS 647535	$A_{es}G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}{}^{m}C_{ds}$ $A_{ds}G_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{es}T_{es}T_{es}A_{es}T_{eo}$**A$_{do'}$-GalNAc$_3-1_a$**	PS	2249
ISIS 647536	$A_{es}G_{eo}{}^{m}C_{eo}T_{eo}T_{eo}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}{}^{m}C_{ds}$ $A_{ds}G_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{eo}T_{eo}T_{es}A_{es}T_{eo}$**A$_{do'}$-GalNAc$_3-1_a$**	PO/PS	2249

Заглавные буквы указывают азотистое основание для каждого нуклеозида, а ^{m}C означает 5-метилцитозин. Нижние индексы: «e» означает 2'-MOE модифицированный нуклеозид; «d» означает β-D-2'-дезоксирибонуклеозид; «s» означает тиофосфатную межнуклеозидную связь (PS); «o» означает фосфодиэфирную межнуклеозидную связь (PO); и «o'» означает OP(=O)(OH)-. Группы конъюгата выделены жирным.

Структура GalNAc$_3$-1$_a$ показана ранее в Примере 9.

Таблица 46

мРНК АроС III (% от солевого раствора на 1 день) и уровни TG в плазме (% от солевого раствора на 1 день)

ASO	Доза	Мишень	3 день	7 день	14 день	35 день	42 день
Солевой раствор	0 мг/кг	АроС-III	98	100	100	95	116
ISIS 304801	30 мг/кг	АроС-III	28	30	41	65	74
ISIS 647535	10 мг/кг	АроС-III	16	19	25	74	94
ISIS 647536	10 мг/кг	АроС-III	18	16	17	35	51
Солевой раствор	0 мг/кг	TG в плазме	121	130	123	105	109
ISIS 304801	30 мг/кг	TG в плазме	34	37	50	69	69
ISIS 647535	10 мг/кг	TG в плазме	18	14	24	18	71
ISIS 647536	10 мг/кг	TG в плазме	21	19	15	32	35

Как можно видеть в представленной выше таблице, продолжительность действия увеличивается при добавлении 3'-группы конъюгата, по сравнению с несопряженным олигонуклеотидом. Дополнительное увеличение продолжительности действия наблюдали для смешанного сопряженного PO/PS олигонуклеотида 647536, по сравнению с сопряженным олигонуклеотидом 647535, содержащим только PS.

Пример 58: Дозозависимое исследование олигонуклеотидов, содержащих либо 3', либо 5'-группу конъюгата (сравнение $GalNAc_3$-1 и $GalNAc_4$-11), направленных на SRB-1, in vivo

Олигонуклеотиды, перечисленные ниже, испытали в дозозависимом исследовании антисмыслового ингибирования SRB-1 у мышей. Несопряженный ISIS 440762 включили в качестве несопряженного стандарта. Каждая из групп конъюгата была присоединена к 3'-концу соответствующего олигонуклеотида при помощи расщепляемого фрагмента фосфодиэфир-связанного 2'-дезоксиаденозинового нуклеозида.

Структура $GalNAc_3$-1_a показана ранее в Примере 9. Структура $GalNAc_3$-11_a показана ранее в Примере 50.

Лечение

Шестинедельным самцам мышей Balb/c (Jackson Laboratory, Бар-Харбор, штат Мэн) ввели однократную подкожную инъекцию дозы, представленной ниже, соединения ISIS 440762, 651900, 663748 или солевого раствора. Каждая экспериментальная группа состояла из 4 животных. Мышей усыпили через 72 часа после последнего введения для определения уровней мРНК SRB-1 в печени при помощи ПЦР в реальном времени и реагента для количественного определения РНК RIBOGREEN® (Molecular Probes, Inc. Юджин, штат Орегон) по стандартным протоколам. Результаты, показанные ниже, представлены как средний процент уровней мРНК SRB-1 для каждой экспериментальной группы, нормализованных к контрольному образцу, обработанному солевым раствором.

Как показано в Таблице 47, лечение антисмысловыми олигонуклеотидами снижает уровни мРНК SRB-1 дозозависимым образом. Антисмысловые олигонуклеотиды, содержащие фосфодиэфир-связанные конъюгаты $GalNAc_3$-1 и $GalNAc_4$-11 на 3'-конце (ISIS 651900 и ISIS 663748), демонстрируют значительное усиление эффективности, по сравнению с несопряженным антисмысловым олигонуклеотидом (ISIS 440762). Эти два сопряженных олигонуклеотида, $GalNAc_3$-1 и $GalNAc_4$-11, были одинаково эффективными.

Таблица 47

Модифицированные ASO, направленные на SRB-1

ASO	Последовательность (от 5' к 3')	Доза, мг/кг	% от контроля с солевым раствором	SEQ ID NO
Солевой раствор			100	
ISIS 440762	$T_{ks}{}^{m}C_{ks}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{ks}{}^{m}C_{k}$	0,6	73,45	2250
		2	59,66	
		6	23,50	
ISIS 651900	$T_{ks}{}^{m}C_{ks}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{ks}{}^{m}C_{ko}A_{do'}$-**GalNAc3-1a**	0,2	62,75	2251
		0,6	29,14	
		2	8,61	
		6	5,62	
ISIS 663748	$T_{ks}{}^{m}C_{ks}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{ks}{}^{m}C_{ko}A_{do'}$-**GalNAc4-11a**	0,2	63,99	2251
		0,6	33,53	
		2	7,58	
		6	5,52	

Заглавные буквы указывают азотистое основание для каждого нуклеозида, а ^{m}C означает 5-метилцитозин. Нижние индексы: «e» означает 2'-MOE модифицированный нуклеозид; «k» означает 6'-(S)-CH_3 бициклиеский нуклеозид; «d» означает β-D-2'-дезоксирибонуклеозид; «s» означает тиофосфатную межнуклеозидную связь (PS); «o» означает фосфодиэфирную межнуклеозидную связь (PO); и «o'» означает -O-P(=O)(OH)-. Группы конъюгата выделены жирным.

Уровни трансаминазы в печени, аланин-аминотрансферазы (ALT) и аспартат-аминотрансферазы (AST) в сыворотке измеряли относительно мышей, инъецированных солевым раствором, используя стандартные протоколы. Оценили также общий билирубин и азот мочевины крови (АМК). Проверили изменение массы тела, которое существенно не отличалось от группы с солевым раствором. Значения ALT, AST, общего билирубина и АМК представлены ниже в Таблице 48.

Таблица 48

ISIS №	Доза мг/кг	ALT	AST	Общий билирубин	АМК	Конъюгат
Солевой раствор		30	76	0,2	40	
440762	0,60	32	70	0,1	35	Отсутствие
	2	26	57	0,1	35	
	6	31	48	0,1	39	
651900	0,2	32	115	0,2	39	**GalNac3-1** (3')
	0,6	33	61	0,1	35	
	2	30	50	0,1	37	
	6	34	52	0,1	36	
663748	0,2	28	56	0,2	36	**GalNAc4-11** (3')
	0,6	34	60	0,1	35	
	2	44	62	0,1	36	
	6	38	71	0,1	33	

Пример 59: Действие $CalNAc_3$-1-сопряженных ASO, направленных на FXI, in vivo

Олигонуклеотиды, перечисленные ниже, испытали в исследовании действия многократных нарастающих доз на антисмысловое ингибирование FXI у мышей. ISIS 404071 включили в качестве несопряженного стандарта. Каждая из групп конъюгата была присоединена к 3'-концу соответствующего олигонуклеотида при помощи расщепляемого фрагмента фосфодиэфир-связанного 2'-дезоксиаденозинового нуклеозида.

Таблица 49

Модифицированные ASO, направленные на FXI

ASO	Последовательность (от 5' к 3')	Связи	SEQ ID NO
ISIS 404071	$T_{es}G_{es}G_{es}T_{es}A_{es}A_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}$ $T_{ds}T_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{es}G_{es}A_{es}G_{es}G_{e}$	PS	2259
ISIS 656172	$T_{es}G_{es}G_{es}T_{es}A_{es}A_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}$ $T_{ds}T_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{es}G_{es}A_{es}G_{es}G_{eo}\mathbf{A_{do'}}$-	PS	2260

	GalNAc$_3$-1$_a$		
ISIS 656173	$T_{es}G_{eo}G_{eo}T_{eo}A_{eo}A_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}$ $T_{ds}T_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{eo}G_{eo}A_{es}G_{es}G_{eo}\mathbf{A_{do'}}$- **GalNAc$_3-1_a$**	PO/PS	2260

Заглавные буквы указывают азотистое основание для каждого нуклеозида, а ^{m}C означает 5-метилцитозин. Нижние индексы: «e» означает 2'-MOE модифицированный нуклеозид; «d» означает β-D-2'-дезоксирибонуклеозид; «s» означает тиофосфатную межнуклеозидную связь (PS); «o» означает фосфодиэфирную межнуклеозидную связь (PO); и «o'» означает OP(=O)(OH)-. Группы конъюгата выделены жирным.

Структура GalNAc$_3$-1$_a$ показана ранее в Примере 9.

Лечение

Шестинедельным самцам мышей Balb/c (Jackson Laboratory, Бар-Харбор, штат Мэн) дважды в неделю в течение 3 недель вводили подкожную инъекцию дозы, представленной ниже, соединения ISIS 404071, 656172, 656173 или PBS в качестве контрольного образца. Каждая экспериментальная группа состояла из 4 животных. Мышей усыпили через 72 часа после последнего введения для определения уровней мРНК FXI в печени при помощи ПЦР в реальном времени и реагента для количественного определения РНК RIBOGREEN® (Molecular Probes, Inc. Юджин, штат Орегон) по стандартным протоколам. Измерили также уровни белка FXI в плазме при помощи твердофазного иммуноферментного анализа. Уровни мРНК FXI определяли относительно общей РНК (при помощи RIBOGREEN®), затем нормализовали к контрольному образцу, обработанному PBS. Результаты, показанные ниже, представлены как средний процент уровней мРНК FXI для каждой экспериментальной группы. Результаты нормализовали к контрольному образцу, обработанному PBS, и обозначали как «% PBS». ED_{50}s измеряли по таким же способом, как описаны ранее, и указанные значения представлены ниже.

Таблица 50

мРНК фактора XI (% от солевого раствора)

ASO	Доза, мг/кг	% от контрольного образца	Конъюгат	Связи
Солевой раствор		100	Отсутствие	
ISIS	3	92	Отсутствие	PS
404071	10	40		
	30	15		
ISIS 656172	0,7	74	**GalNAc$_3$-1**	PS
	2	33		
	6	9		
ISIS 656173	0,7	49	**GalNAc$_3$-1**	PO/PS
	2	22		
	6	1		

Как показано в Таблице 50, лечение антисмысловыми олигонуклеотидами снижает уровни мРНК FXI дозозависимым образом. Олигонуклеотиды, содержащие группу конъюгата 3'-GalNAc$_3$-1, демонстрируют значительное усиление эффективности, по

сравнению с несопряженным антисмысловым олигонуклеотидом (ISIS 404071). Между эти двумя сопряженными олигонуклеотидами дополнительное усиление эффективности было обеспечено за счет замены некоторых PS связей на PO (ISIS 656173)

Как показано в Таблице 50а, лечение антисмысловыми олигонуклеотидами снижает уровни белка FXI дозозависимым образом. Олигонуклеотиды, содержащие группу конъюгата 3'-GalNAc$_3$-1, демонстрируют значительное усиление эффективности, по сравнению с несопряженным антисмысловым олигонуклеотидом (ISIS 404071). Между эти двумя сопряженными олигонуклеотидами дополнительное усиление эффективности было обеспечено за счет замены некоторых PS связей на PO (ISIS 656173)

Таблица 50а

Белок фактора XI (% от солевого раствора)

ASO	Доза, мг/кг	Белок (% от контрольного образца)	Конъюгат	Связи
Солевой раствор		100	Отсутствие	
ISIS 404071	3	127	Отсутствие	PS
	10	32		
	30	3		
ISIS 656172	0,7	70	**GalNAc$_3$-1**	PS
	2	23		
	6	1		
ISIS 656173	0,7	45	**GalNAc$_3$-1**	PO/PS
	2	6		
	6	0		

Уровни трансаминазы в печени, аланин-аминотрансферазы (ALT) и аспартат-аминотрансферазы (AST) в сыворотке измеряли относительно мышей, инъецированных солевым раствором, используя стандартные протоколы. Оценили также общий билирубин, общий альбумин, CRE и азот мочевины крови (АМК). Проверили изменение массы тела, которое существенно не отличалось от группы с солевым раствором. Значения ALT, AST, общего билирубина и АМК представлены ниже в таблице.

Таблица 51

ISIS №	**Доза мг/кг**	**ALT**	**AST**	**Общий альбумин**	**Общий билирубин**	**CRE**	**АМК**	**Конъюгат**
Солевой раствор		71,8	84,0	3,1	0,2	0,2	22,9	
404071	3	152,8	176,0	3,1	0,3	0,2	23,0	Отсутствие
	10	73,3	121,5	3,0	0,2	0,2	21,4	
	30	82,5	92,3	3,0	0,2	0,2	23,0	
656172	0,7	62,5	111,5	3,1	0,2	0,2	23,8	**GalNac$_3$-1** (3')
	2	33,0	51,8	2,9	0,2	0,2	22,0	
	6	65,0	71,5	3,2	0,2	0,2	23,9	
656173	0,7	54,8	90,5	3,0	0,2	0,2	24,9	**GalNac$_3$-1** (3')
	2	85,8	71,5	3,2	0,2	0,2	21,0	
	6	114,0	101,8	3,3	0,2	0,2	22,7	

Пример 60: Действие сопряженных ASO, направленных на SRB-1, in vitro

Олигонуклеотиды, перечисленные ниже, испытали в исследовании действия многократных нарастающих доз на антисмысловое ингибирование SRB-1 в первичных гепатоцитах мышей. ISIS 353382 включили в качестве несопряженного стандарта. Каждая из групп конъюгата была присоединена к 3' или 5'-концу соответствующего олигонуклеотида при помощи расщепляемого фрагмента фосфодиэфир-связанного 2'-дезоксиаденозинового нуклеозида.

Таблица 52

Модифицированные ASO, направленные на SRB-1

ASO	Последовательность (от 5' к 3')	Мотив	Конъюгат	SEQ ID NO
ISIS 353382	$G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}$ $^{m}C_{ds}T_{ds}T_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{e}$	5/10/5	Отсутствие	2256
ISIS 655861	$G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}$ $^{m}C_{ds}T_{ds}T_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{eo}\mathbf{A_{do'}\text{-}GalNAc_3\text{-}1_a}$	5/10/5	**GalNAc$_3$-1**	2257
ISIS 655862	$G_{cs}{}^{m}C_{eo}T_{eo}T_{eo}{}^{m}C_{eo}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}$ $^{m}C_{ds}T_{ds}T_{eo}{}^{m}C_{eo}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{eo}\mathbf{A_{do'}\text{-}GalNAc_3\text{-}1_a}$	5/10/5	**GalNAc$_3$-1**	2257
ISIS 661161	$\mathbf{GalNAc_3\text{-}3_{a\text{-}o'}A_{do}}G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}A_{ds}G_{ds}$ $T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{e}$	5/10/5	**GalNAc$_3$-3**	2258
ISIS 665001	$\mathbf{GalNAc_3\text{-}8_{a\text{-}o'}A_{do}}G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}A_{ds}G_{ds}$ $T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{e}$	5/10/5	**GalNAc$_3$-8**	2258
ISIS 664078	$G_{cs}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}$ $^{m}C_{ds}T_{ds}T_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{eo}\mathbf{A_{do'}\text{-}GalNAc_3\text{-}9_a}$	5/10/5	**GalNAc$_3$-9**	2257
ISIS 666961	$\mathbf{GalNAc_3\text{-}6_{a\text{-}o'}A_{do}}G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}A_{ds}G_{ds}$ $T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{e}$	5/10/5	**GalNAc$_3$-6**	2258
ISIS 664507	$\mathbf{GalNAc_3\text{-}2_{a\text{-}o'}A_{do}}G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}A_{ds}G_{ds}T_{ds}$ $^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{e}$	5/10/5	**GalNAc$_3$-2**	2258
ISIS 666881	$\mathbf{GalNAc_3\text{-}10_{a\text{-}o'}A_{do}}G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}A_{ds}G_{ds}T_{ds}$ $^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{e}$	5/10/5	**GalNAc$_3$-10**	2258
ISIS 666224	$\mathbf{GalNAc_3\text{-}5_{a\text{-}o'}A_{do}}G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}A_{ds}G_{ds}T_{ds}$ $^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{e}$	5/10/5	**GalNAc$_3$-5**	2258
ISIS 666981	$\mathbf{GalNAc_3\text{-}7_{a\text{-}o'}A_{do}}G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}A_{ds}G_{ds}T_{ds}$ $^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{e}$	5/10/5	**GalNAc$_3$-7**	2258

Заглавные буквы указывают азотистое основание для каждого нуклеозида, а ^{m}C означает 5-метилцитозин. Нижние индексы: «e» означает 2'-MOE модифицированный нуклеозид; «d» означает β-D-2'-дезоксирибонуклеозид; «s» означает тиофосфатную межнуклеозидную связь (PS); «o» означает фосфодиэфирную межнуклеозидную связь (PO); и «o'» означает OP(=O)(OH)-. Группы конъюгата выделены жирным.

Структура GalNAc$_3$-1$_a$ показана ранее в Примере 9. Структура GalNAc$_3$-3$_a$ показана ранее в Примере 39. Структура GalNAc$_3$-8a показана ранее в Примере 47. Структура GalNAc$_3$-9a показана ранее в Примере 52. Структура GalNAc$_3$-6a показана ранее в Примере 51. Структура GalNAc$_3$-2a показана ранее в Примере 37. Структура GalNAc$_3$-10a показана ранее в Примере 46. Структура GalNAc$_3$-5a показана ранее в Примере 49. Структура GalNAc$_3$-7a показана ранее в Примере 48.

Лечение

Олигонуклеотиды, перечисленные выше, испытывали in vitro в первичных гепатоцитарных клетках мышей, помещенных на планшеты при плотности 25000 клеток на лунку и обработанных 0,03, 0,08, 0,24, 0,74, 2,22, 6,67 или 20 нМ модифицированного олигонуклеотида. После обработки в течение приблизительно 16 часов, из клеток выделили РНК и измерили уровни мРНК при помощи количественной ПЦР в реальном времени, а уровни мРНК SRB-1 III скорректировали в соответствии с общим содержанием РНК, измеренным при помощи RIBOGREEN®.

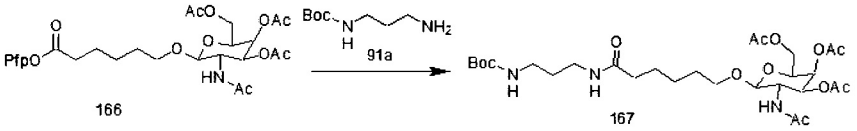
IC_{50} рассчитали по стандартным способам, а результаты представлены в Таблице 53. Результаты показывают, что при условиях свободного поглощения, в которых не использованы никакие реагенты или электроимпульсные приемы для искусственного ускорения входа олигонуклеотидов в клетки, олигонуклеотиды, содержащие конъюгат GalNAc, были существенно более эффективными в гепатоцитах, чем исходный олигонуклеотид (ISIS 353382), который не содержит конъюгат GalNAc.

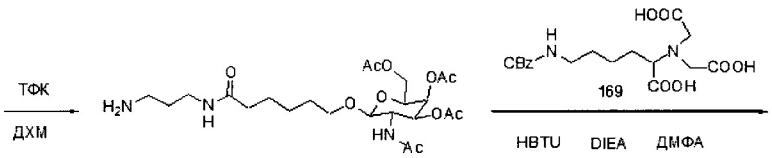
Таблица 53

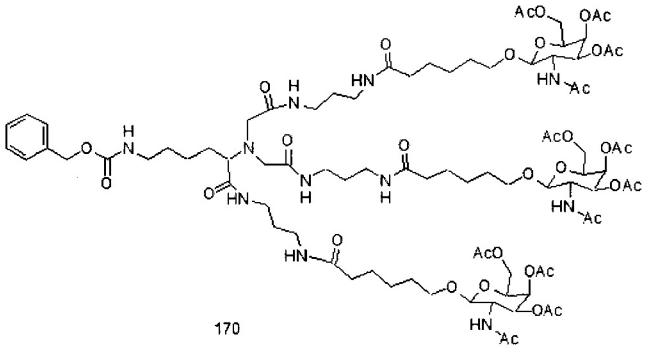
ASO	IC_{50} (нМ)	Межнуклеозидные связи	Конъюгат	SEQ ID NO
ISIS 353382	190[a]	PS	Отсутствие	2256
ISIS 655861	11[a]	PS	**$GalNAc_3$-1**	2257
ISIS 655862	3	PO/PS	**$GalNAc_3$-1**	2257
ISIS 661161	15[a]	PS	**$GalNAc_3$-3**	2258
ISIS 665001	20	PS	**$GalNAc_3$-8**	2258
ISIS 664078	55	PS	**$GalNAc_3$-9**	2257
ISIS 666961	22[a]	PS	**$GalNAc_3$-6**	2258
ISIS 664507	30	PS	**$GalNAc_3$-2**	2258
ISIS 666881	30	PS	**$GalNAc_3$-10**	2258
ISIS 666224	30[a]	PS	**$GalNAc_3$-5**	2258
ISIS 666981	40	PS	**$GalNAc_3$-7**	2258

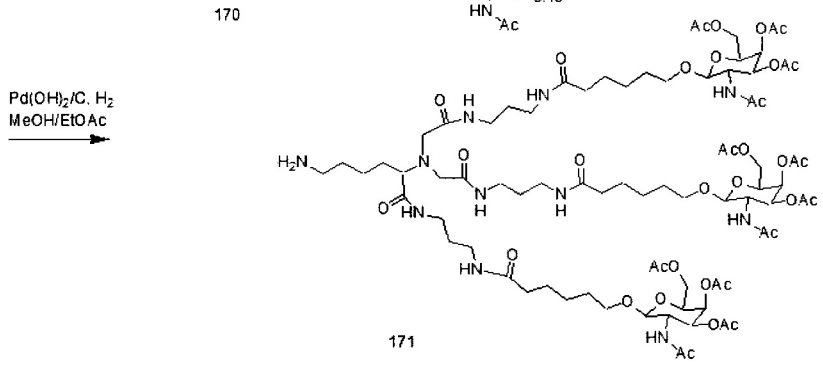
[a]Среднее для нескольких повторов.

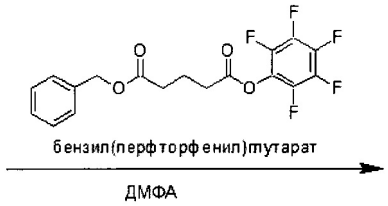
Пример 61: Получение олигомерного соединения 175, содержащего $GalNAc_3$-12

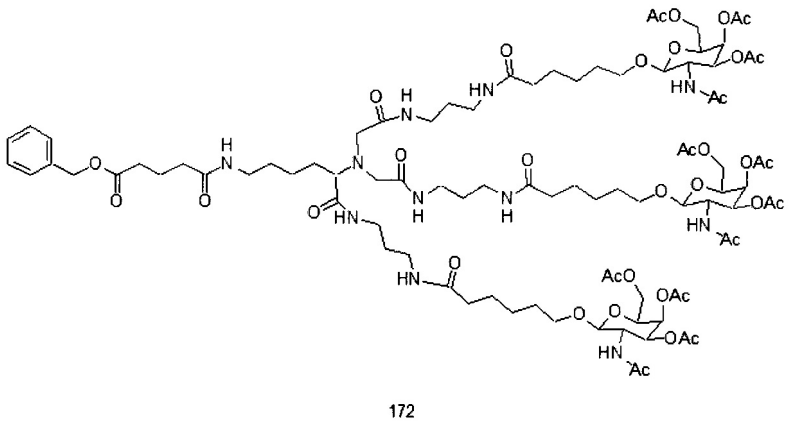

PfpO
AcO
OAc
OAc
HN
Ac
Boc
N
H
NH2
91a
166
167

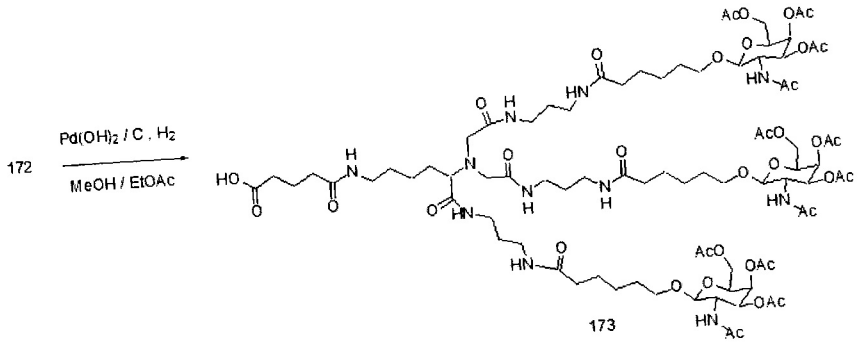

ТФК
ДХМ
H2N
168
HOOC
CBz
COOH
169
HBTU
DIEA
ДМФА

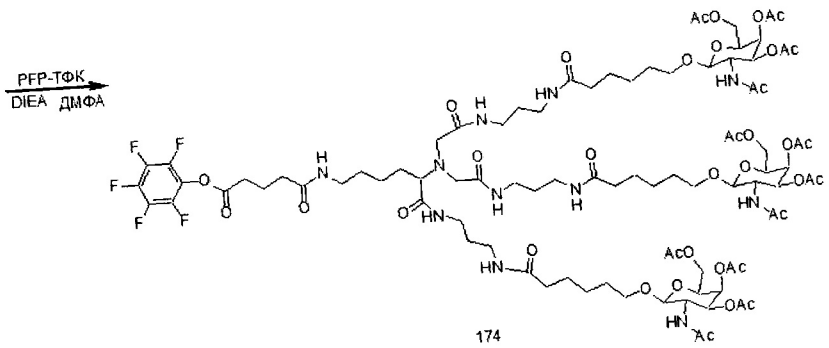

170

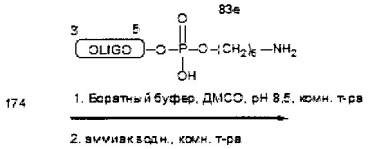

Pd(OH)2/C, H2
MeOH/EtOAc
171

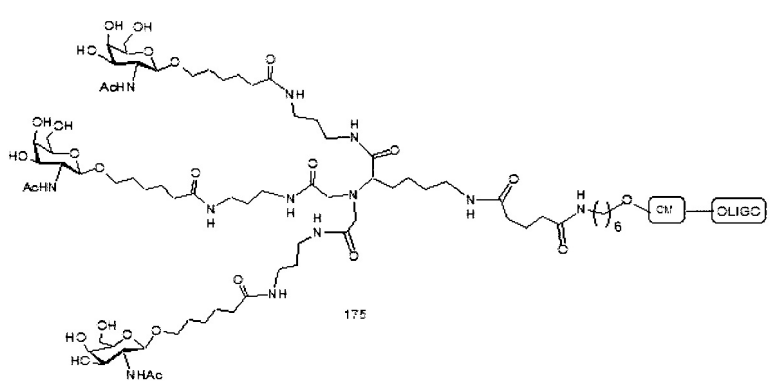

бензил(перфторфенил)глутарат
ДМФА


172

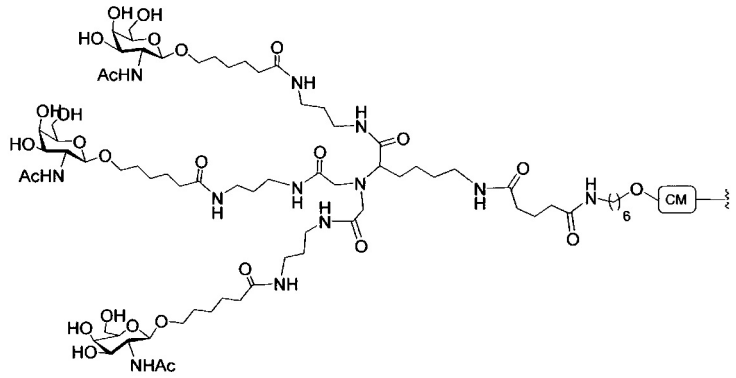




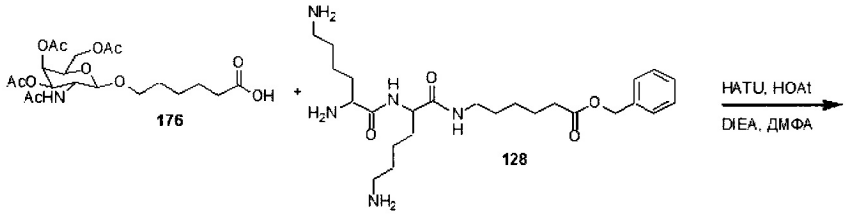


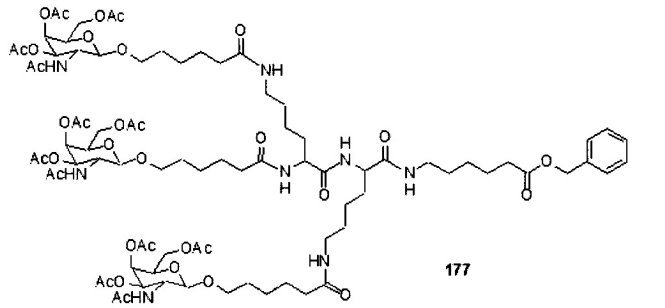


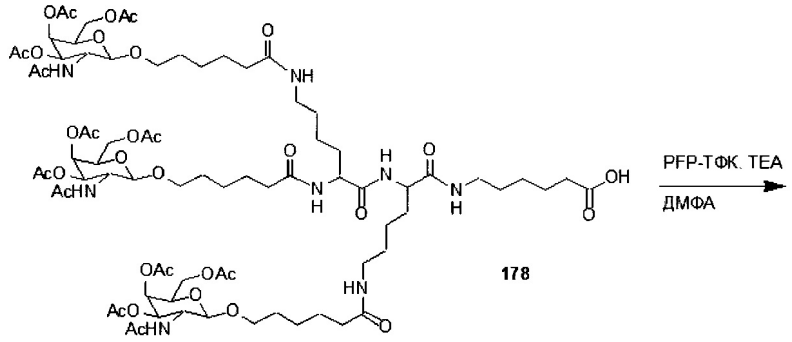
Соединение 169 имеется в продаже. Соединение 172 получили добавлением бензил (перфторфенил)глутарата к соединению 171. Бензил(перфторфенил)глутарат получили добавлением PFP-ТФК и DIEA к 5-(бензилокси)-5-оксопентановой кислоте в ДМФА. Олигомерное Соединение 175, содержащее группу конъюгата GalNAc3-12, получили из соединения 174 по общим способам, представленным в Примере 46. Кластерная часть $GalNAc_3$ группы конъюгата $GalNAc_3$-12 ($GalNAc_3$-12_a) может быть комбинирована с любым расщепляемым фрагментом с получением различных групп конъюгата. В некоторых вариантах реализации расщепляемый фрагмент представляет собой -P(=O)(OH)-A_d-P(=O)(OH)-. Структура $GalNAc_3$-12 ($GalNAc_3$-12_a-CM-) представлена ниже:

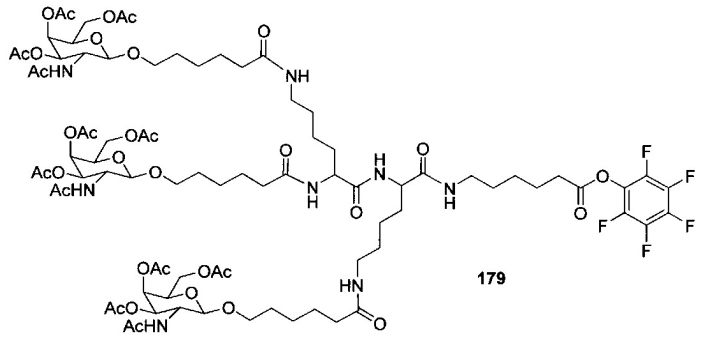


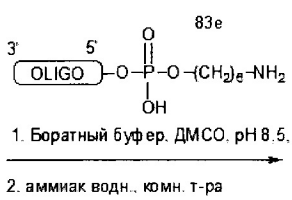
Пример 62: Получение олигомерного соединения 180, содержащего $GalNAc_3$-13

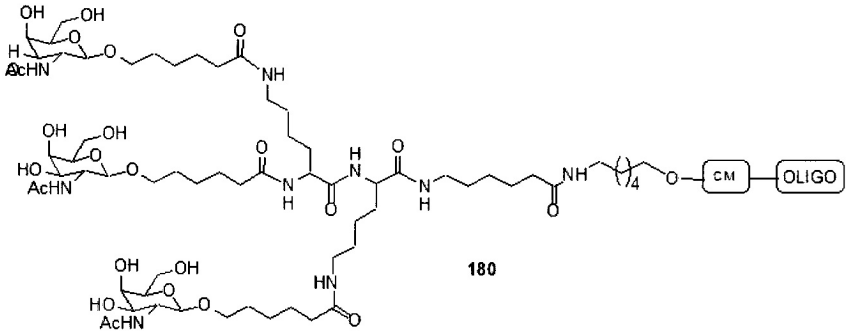




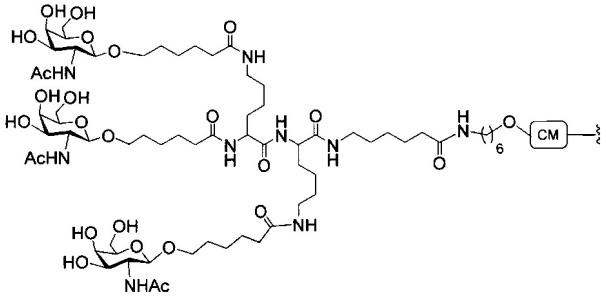




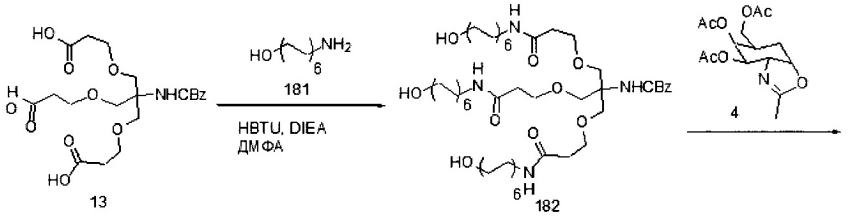


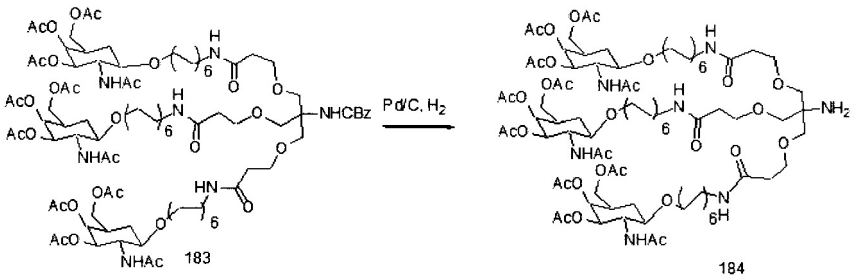


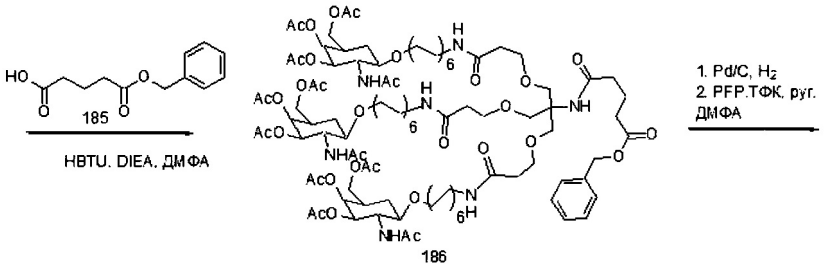
Соединение 176 получили по общему способу, представленному в Примере 2. Олигомерное Соединение 180, содержащее группу конъюгата GalNac3-13, получили из соединения 177 по общим способам, представленным в Примере 49. Кластерная часть $GalNAc_3$ группы конъюгата $GalNAc_3$-13 ($GalNAc_3$-13_a) может быть комбинирована с любым расщепляемым фрагментом с получением различных групп конъюгата. В некоторых вариантах реализации расщепляемый фрагмент представляет собой -P(=O)(OH)-A_d-P(=O)(OH)-. Структура $GalNAc_3$-13 ($GalNAc_3$-13_a-CM-) представлена ниже:

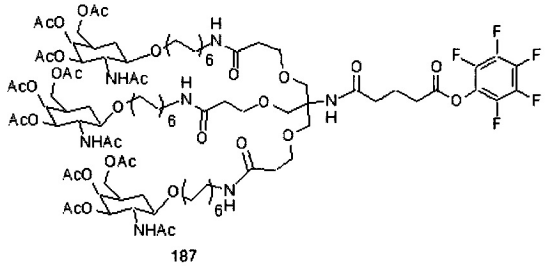


Пример 63: Получение олигомерного соединения 188, содержащего $GalNAc_3$-14

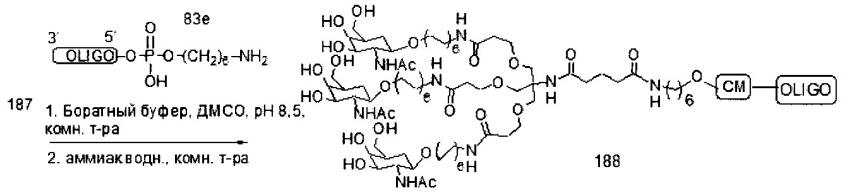




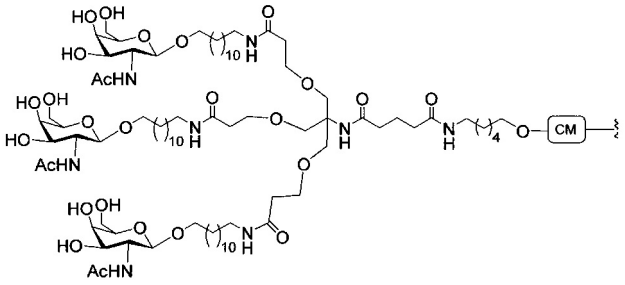




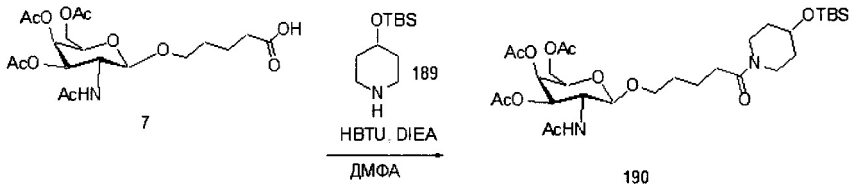
187

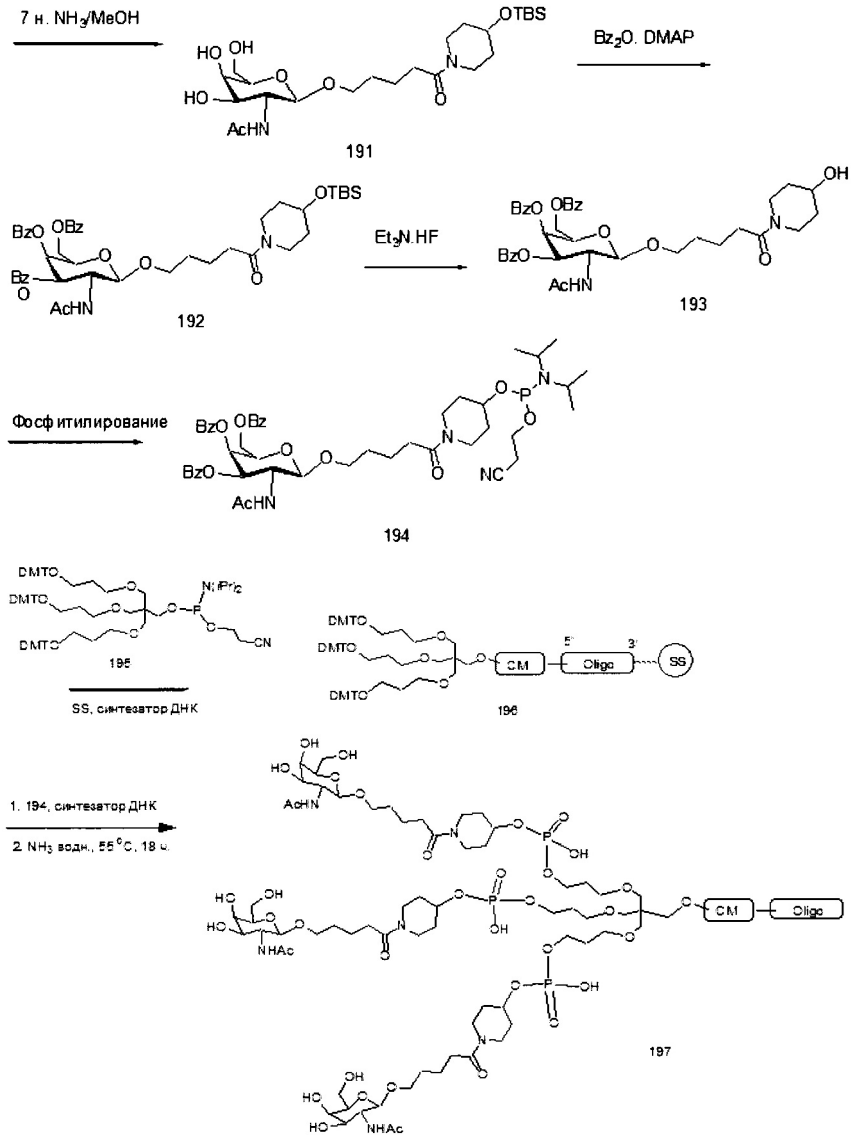


Соединения 181 и 185 имеются в продаже. Олигомерное Соединение 188, содержащее группу конъюгата $GalNAc_3$-14, получили из соединения 187 по общим способам, представленным в Примере 46. Кластерная часть $GalNAc_3$ группы конъюгата $GalNAc_3$-14 ($GalNAc_3$-14a) может быть комбинирована с любым расщепляемым фрагментом с получением различных групп конъюгата. В некоторых вариантах реализации расщепляемый фрагмент представляет собой -P(=O)(OH)-A_d-P(=O)(OH)-. Структура $GalNAc_3$-14 ($GalNAc_3$-14_a-CM-) представлена ниже:

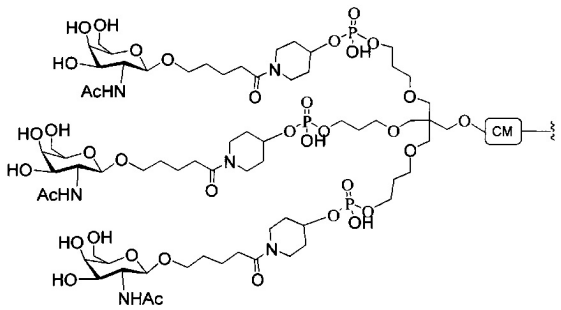


Пример 64: Получение олигомерного соединения 188, содержащего $GalNAc_3$-15





Соединение 189 имеется в продаже. Соединение 195 получили по общему способу, представленному в Примере 31. Олигомерное соединение 197, содержащее группу конъюгата GalNAc3-15, получили из соединений 194 и 195 по стандартным способам синтеза олигонуклеотидов. Кластерная часть $GalNAc_3$ группы конъюгата $GalNAc_3$-15 ($GalNAc_3$-15_a) может быть комбинирована с любым расщепляемым фрагментом с получением различных групп конъюгата. В некоторых вариантах реализации расщепляемый фрагмент представляет собой -P(=O)(OH)-A_d-P(=O)(OH)-. Структура $GalNAc_3$-15 ($GalNAc_3$-15_a-CM-) представлена ниже:



Пример 65: Дозозависимое исследование олигонуклеотидов, содержащих 5'-группу конъюгата (сравнение $GalNAc_3$-3, 12, 13, 14 и 15), направленных на SRB-1, in vivo

Олигонуклеотиды, перечисленные ниже, испытали в дозозависимом исследовании антисмыслового ингибирования SRB-1 у мышей. Несопряженный ISIS 353382 включили в качестве стандарта. Каждая из групп конъюгата $GalNAc_3$ была присоединена к 5'-концу соответствующего олигонуклеотида при помощи расщепляемого фрагмента фосфодиэфир-связанного 2'-дезоксиаденозинового нуклеозида.

Таблица 54

Модифицированные ASO, направленные на SRB-1

ISIS №	Последовательность (от 5' к 3')	Конъюгат	SEQ ID NO
353382	$G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{e}$	Отсутствие	2256
661161	**GalNAc$_3$-3$_a$-o'A$_{do}$**$G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{e}$	GalNAc$_3$-3	2258
671144	**GalNAc$_3$-12$_a$-o'A$_{do}$**$G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{e}$	GalNAc$_3$-12	2258
670061	**GalNAc$_3$-13$_a$-o'A$_{do}$**$G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{e}$	GalNAc$_3$-13	2258
671261	**GalNAc$_3$-14$_a$-o'A$_{do}$**$G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{e}$	GalNAc$_3$-14	2258
671262	**GalNAc$_3$-15$_a$-o'A$_{do}$**$G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{e}$	GalNAc$_3$-15	2258

Заглавные буквы указывают азотистое основание для каждого нуклеозида, а ^{m}C означает 5-метилцитозин. Нижние индексы: «e» означает 2'-MOE модифицированный нуклеозид; «d» означает β-D-2'-дезоксирибонуклеозид; «s» означает тиофосфатную межнуклеозидную связь (PS); «o» означает фосфодиэфирную межнуклеозидную связь (PO); и «o'» означает OP(=O)(OH)-. Группы конъюгата выделены жирным.

Структура $GalNAc_3$-3_a показана ранее в Примере 39. Структура $GalNAc_3$-12a показана ранее в Примере 61. Структура $GalNAc_3$-13a показана ранее в Примере 62. Структура $GalNAc_3$-14a показана ранее в Примере 63. Структура $GalNAc_3$-15a показана ранее в Примере 64.

Лечение

Шести-восьминедельным мышам C57bl6 (Jackson Laboratory, Бар-Харбор, штат Мэн) один или два раза ввели подкожную инъекцию дозы, представленной ниже, соединения ISIS 353382, 661161, 671144, 670061, 671261, 671262 или солевого раствора. Мыши, которым вводили дозу два раза, вторую дозу вводили через три дня после первой дозы. Каждая экспериментальная группа состояла из 4 животных. Мышей усыпили через 72 часа после последнего введения для определения уровней мРНК SRB-1 в печени при помощи ПЦР в реальном времени и реагента для количественного определения РНК RIBOGREEN® (Molecular Probes, Inc. Юджин, штат Орегон) по стандартным протоколам. Результаты, показанные ниже, представлены как средний процент уровней мРНК SRB-1 для каждой экспериментальной группы, нормализованных к контрольному образцу, обработанному солевым раствором.

Как показано в Таблице 55, лечение антисмысловыми олигонуклеотидами снижает уровни мРНК SRB-1 дозозависимым образом. Не наблюдали значительной разницы нокдауна мишени между животными, получавшими одну дозу, и животными, получавшими две дозы (см. ISIS 353382 в дозах 30 и 2×15 мг/кг; и ISIS 661161 в дозах 5

и 2×2,5 мг/кг). Антисмысловые олигонуклеотиды, содержащие фосфодиэфир-связанные конъюгаты $GalNAc_3$-3, 12, 13, 14 и 15, демонстрируют существенное усиление эффективности, по сравнению с несопряженным антисмысловым олигонуклеотидом (ISIS 335382).

Таблица 55

мРНК SRB-1 (% от солевого раствора)

ISIS №	Доза (мг/кг)	мРНК SRB-1 (% от солевого раствора)	ED_{50} (мг/кг)	Конъюгат
Солевой раствор	н.д.	100,0	н.д.	н.д.
353382	3	85,0	22,4	Отсутствие
	10	69,2		
	30	34,2		
	2 x 15	36,0		
661161	0,5	87,4	2,2	$GalNAc_3$-3
	1,5	59,0		
	5	25,6		
	2 x 2,5	27,5		
	15	17,4		
671144	0,5	101,2	3,4	$GalNAc_3$-12
	1,5	76,1		
	5	32,0		
	15	17,6		
670061	0,5	94,8	2,1	$GalNAc_3$-13
	1,5	57,8		
	5	20,7		
	15	13,3		
671261	0,5	110,7	4,1	$GalNAc_3$-14
	1,5	81,9		
	5	39,8		
	15	14,1		
671262	0,5	109,4	9,8	$GalNAc_3$-15
	1,5	99,5		
	5	69,2		
	15	36,1		

Уровни трансаминазы в печени, аланин-аминотрансферазы (ALT) и аспартат-аминотрансферазы (AST) в сыворотке измеряли относительно мышей, инъецированных солевым раствором, используя стандартные протоколы. Оценили также общий билирубин и азот мочевины крови (АМК). Проверили изменение массы тела, которое существенно не отличалось от группы с солевым раствором (данные не показаны). Значения ALT, AST, общего билирубина и АМК представлены ниже в Таблице 56.

Таблица 56

ISIS №	Доза (мг/кг)	ALT (ед./л)	AST (ед./л)	Общий билирубин (мг/дл)	АМК (мг/дл)	Конъюгат

Солевой раствор	н.д.	28	60	0,1	39	н.д.
353382	3	30	77	0,2	36	Отсутствие
	10	25	78	0,2	36	
	30	28	62	0,2	35	
	2 x 15	22	59	0,2	33	
661161	0,5	39	72	0,2	34	GalNAc$_3$-3
	1,5	26	50	0,2	33	
	5	41	80	0,2	32	
	2 x 2,5	24	72	0,2	28	
	15	32	69	0,2	36	
671144	0,5	25	39	0,2	34	GalNAc$_3$-12
	1,5	26	55	0,2	28	
	5	48	82	0,2	34	
	15	23	46	0,2	32	
670061	0,5	27	53	0,2	33	GalNAc$_3$-13
	1,5	24	45	0,2	35	
	5	23	58	0,1	34	
	15	24	72	0,1	31	
671261	0,5	69	99	0,1	33	GalNAc$_3$-14
	1,5	34	62	0,1	33	
	5	43	73	0,1	32	
	15	32	53	0,2	30	
671262	0,5	24	51	0,2	29	GalNAc$_3$-15
	1,5	32	62	0,1	31	
	5	30	76	0,2	32	
	15	31	64	0,1	32	

Пример 66: Влияние различных расщепляемых фрагментов на антисмысловое ингибирование in vivo под действием олигонуклеотидов, направленных на SRB-1, содержащих кластер 5'-GalNAc$_3$

Олигонуклеотиды, перечисленные ниже, испытали в дозозависимом исследовании антисмыслового ингибирования SRB-1 у мышей. Каждая из групп конъюгата GalNAc$_3$ была присоединена к 5'-концу соответствующего олигонуклеотида при помощи фосфодиэфир-связанного нуклеозида (расщепляемый фрагмент (CM)).

Таблица 57

Модифицированные ASO, направленные на SRB-1

ISIS №	Последовательность (от 5' к 3')	Кластер GalNAc$_3$	CM	SEQ ID NO
661161	**GalNAc$_3$-3$_a$-o'A$_{do}$**G$_{es}$^{m}C$_{es}$T$_{es}$T$_{es}$^{m}C$_{es}$A$_{ds}$G$_{ds}$T$_{ds}$^{m}C$_{ds}$A$_{ds}$ T$_{ds}$G$_{ds}$A$_{ds}$^{m}C$_{ds}$T$_{ds}$T$_{es}$^{m}C$_{es}$^{m}C$_{es}$T$_{es}$T$_e$	GalNAc$_3$-3a	A$_d$	2258
670699	**GalNAc$_3$-3$_a$-o'T$_{do}$**G$_{es}$^{m}C$_{eo}$T$_{eo}$T$_{eo}$^{m}C$_{eo}$A$_{ds}$G$_{ds}$T$_{ds}$^{m}C$_{ds}$A$_{ds}$T$_{ds}$ G$_{ds}$A$_{ds}$^{m}C$_{ds}$T$_{ds}$T$_{eo}$^{m}C$_{eo}$^{m}C$_{es}$T$_{es}$T$_e$	GalNAc$_3$-3a	T$_d$	2261
670700	**GalNAc$_3$-3$_a$-o'A$_{eo}$**G$_{es}$^{m}C$_{eo}$T$_{eo}$T$_{eo}$^{m}C$_{eo}$A$_{ds}$G$_{ds}$T$_{ds}$^{m}C$_{ds}$A$_{ds}$T$_{ds}$ G$_{ds}$A$_{ds}$^{m}C$_{ds}$T$_{ds}$T$_{eo}$^{m}C$_{eo}$^{m}C$_{es}$T$_{es}$T$_e$	GalNAc$_3$-3a	A$_e$	2258
670701	**GalNAc$_3$-3$_a$-o'T$_{eo}$**G$_{es}$^{m}C$_{eo}$T$_{eo}$T$_{eo}$^{m}C$_{eo}$A$_{ds}$G$_{ds}$T$_{ds}$^{m}C$_{ds}$A$_{ds}$T$_{ds}$ G$_{ds}$A$_{ds}$^{m}C$_{ds}$T$_{ds}$T$_{eo}$^{m}C$_{eo}$^{m}C$_{es}$T$_{es}$T$_e$	GalNAc$_3$-3a	T$_e$	2261
671165	**GalNAc$_3$-13$_a$-o'A$_{do}$**G$_{es}$^{m}C$_{eo}$T$_{eo}$T$_{eo}$^{m}C$_{eo}$A$_{ds}$G$_{ds}$T$_{ds}$^{m}C$_{ds}$A$_{ds}$T$_{ds}$ G$_{ds}$A$_{ds}$^{m}C$_{ds}$T$_{ds}$T$_{eo}$^{m}C$_{eo}$^{m}C$_{es}$T$_{es}$T$_e$	GalNAc$_3$-13a	A$_d$	2258

Заглавные буквы указывают азотистое основание для каждого нуклеозида, а ^{m}C означает 5-метилцитозин. Нижние индексы: «e» означает 2'-MOE модифицированный нуклеозид; «d» означает β-D-2'-дезоксирибонуклеозид; «s» означает тиофосфатную межнуклеозидную связь (PS); «o» означает фосфодиэфирную межнуклеозидную связь (PO); и «o'» означает OP(=O)(OH)-. Группы конъюгата выделены жирным.

Структура GalNAc$_3$-3$_a$ показана ранее в Примере 39. Структура GalNAc$_3$-13a показана ранее в Примере 62.

Лечение

Шести-восьминедельным мышам C57bl6 (Jackson Laboratory, Ббар-Харбор, штат Мэн) ввели однократную подкожную инъекцию дозы, представленной ниже, соединения ISIS 661161, 670699, 670700, 670701, 671165 или солевого раствора. Каждая экспериментальная группа состояла из 4 животных. Мышей усыпили через 72 часа после последнего введения для определения уровней мРНК SRB-1 в печени при помощи ПЦР в реальном времени и реагента для количественного определения РНК RIBOGREEN® (Molecular Probes, Inc. Юджин, штат Орегон) по стандартным протоколам. Результаты, показанные ниже, представлены как средний процент уровней мРНК SRB-1 для каждой экспериментальной группы, нормализованных к контрольному образцу, обработанному солевым раствором.

Как показано в Таблице 58, лечение антисмысловыми олигонуклеотидами снижает уровни мРНК SRB-1 дозозависимым образом. Все антисмысловые олигонуклеотиды, содержащие различные расщепляемые фрагменты, демонстрируют одинаковую эффективность.

Таблица 58

мРНК SRB-1 (% от солевого раствора)

ISIS №	Доза (мг/кг)	мРНК SRB-1 (% от солевого раствора)	Кластер $GalNAc_3$	СМ
Солевой раствор	н.д.	100,0	н.д.	н.д.
661161	0,5	87,8	$GalNAc_3$-3a	A_d
	1,5	61,3		
	5	33,8		
	15	14,0		
670699	0,5	89,4	$GalNAc_3$-3a	T_d
	1,5	59,4		
	5	31,3		
	15	17,1		
670700	0,5	79,0	$GalNAc_3$-3a	A_e
	1,5	63,3		
	5	32,8		
	15	17,9		
670701	0,5	79,1	$GalNAc_3$-3a	T_e
	1,5	59,2		
	5	35,8		
	15	17,7		
671165	0,5	76,4	$GalNAc_3$-13a	A_d
	1,5	43,2		
	5	22,6		
	15	10,0		

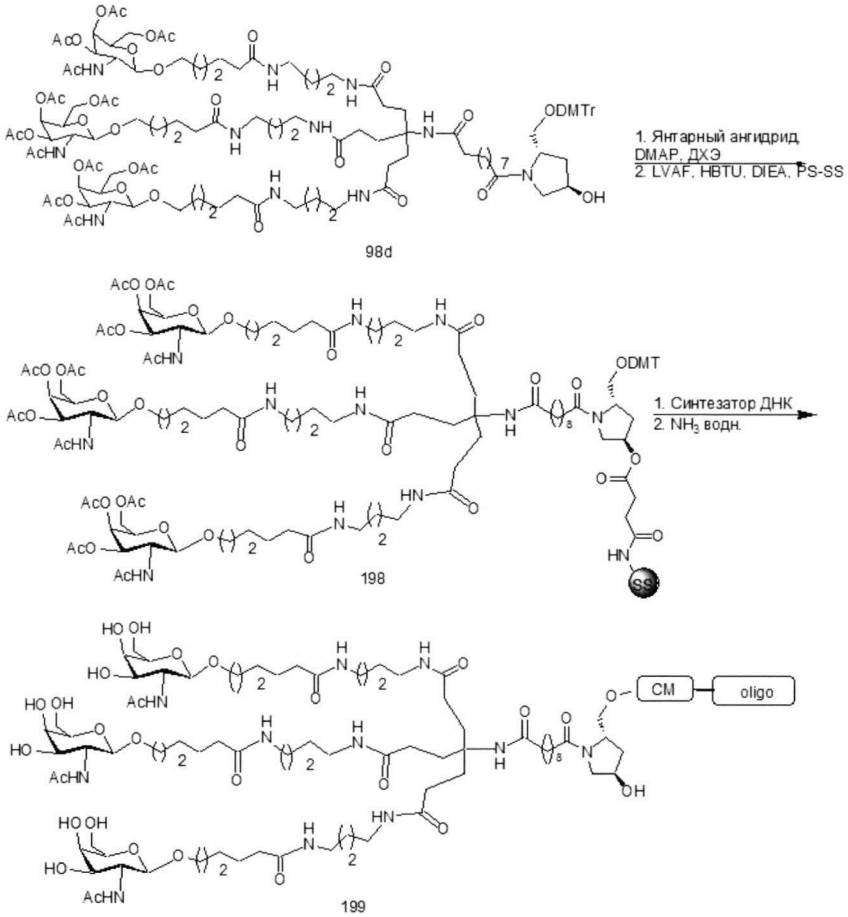
Уровни трансаминазы в печени, аланин-аминотрансферазы (ALT) и аспартат-аминотрансферазы (AST) в сыворотке измеряли относительно мышей, инъецированных солевым раствором, используя стандартные протоколы. Оценили также общий билирубин и азот мочевины крови (АМК). Проверили изменение массы тела, которое существенно не отличалось от группы с солевым раствором (данные не показаны). Значения ALT, AST, общего билирубина и АМК представлены ниже в Таблице 56.

Таблица 59

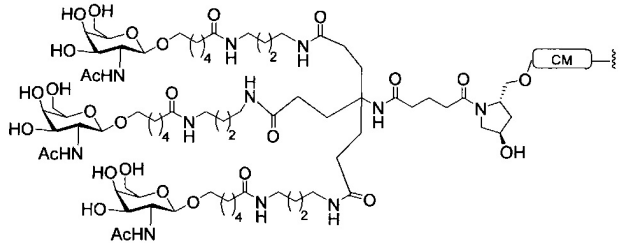
ISIS №	Доза (мг/кг)	ALT (ед./л)	AST (ед./л)	Общий билирубин	АМК (мг/дл)	Кластер $GalNAc_3$	СМ

				(мг/дл)			
Солевой раствор	н.д.	24	64	0,2	31	н.д.	н.д.
661161	0,5	25	64	0,2	31	$GalNAc_3$-3a	A_d
	1,5	24	50	0,2	32		
	5	26	55	0,2	28		
	15	27	52	0,2	31		
670699	0,5	42	83	0,2	31	$GalNAc_3$-3a	T_d
	1,5	33	58	0,2	32		
	5	26	70	0,2	29		
	15	25	67	0,2	29		
670700	0,5	40	74	0,2	27	$GalNAc_3$-3a	A_e
	1,5	23	62	0,2	27		
	5	24	49	0,2	29		
	15	25	87	0,1	25		
670701	0,5	30	77	0,2	27	$GalNAc_3$-3a	T_e
	1,5	22	55	0,2	30		
	5	81	101	0,2	25		
	15	31	82	0,2	24		
671165	0,5	44	84	0,2	26	$GalNAc_3$-13a	A_d
	1,5	47	71	0,1	24		
	5	33	91	0,2	26		
	15	33	56	0,2	29		

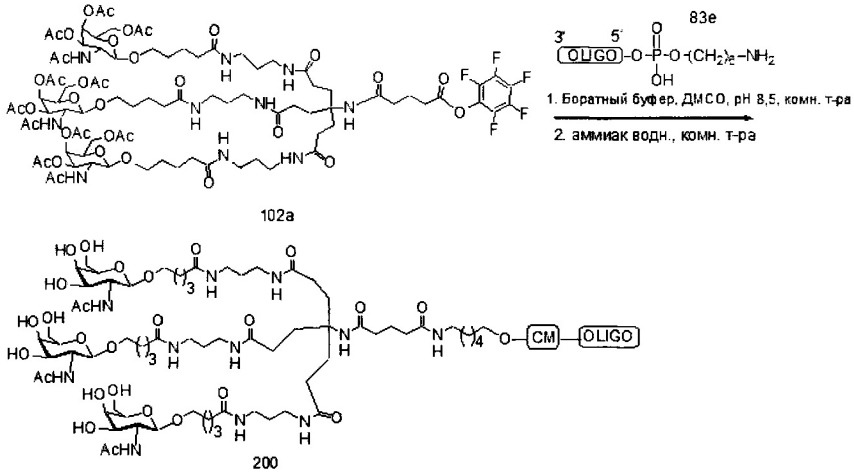
Пример 67: Получение олигомерного соединения 199, содержащего $GalNAc_3$-16



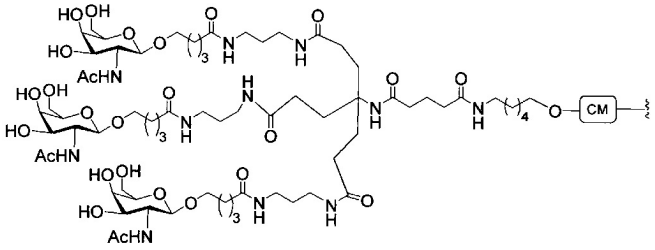
Олигомерное Соединение 199, содержащее группу конъюгата $GalNAc_3$-16, получили по общим способам, представленным в Примерах 7 и 9. Кластерная часть $GalNAc_3$ группы конъюгата $GalNAc_3$-16 ($GalNAc_3$-16_a) может быть комбинирована с любым расщепляемым фрагментом с получением различных групп конъюгата. В некоторых вариантах реализации расщепляемый фрагмент представляет собой -P(=O)(OH)-A_d-P(=O)(OH)-. Структура $GalNAc_3$-16 ($GalNAc_3$-16_a-CM-) представлена ниже:



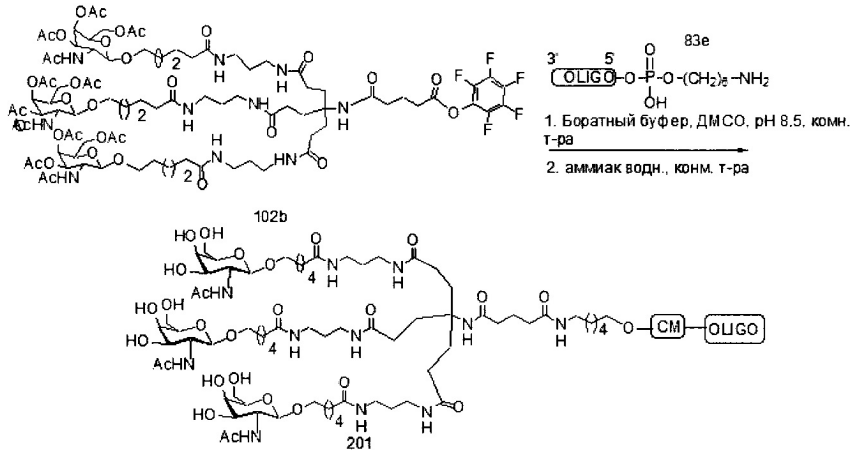
Пример 68: Получение олигомерного соединения 200, содержащего $GalNAc_3$-17



Олигомерное Соединение 200, содержащее группу конъюгата $GalNAc_3$-17, получили по общим способам, представленным в Примере 46. Кластерная часть $GalNAc_3$ группы конъюгата $GalNAc_3$-17 ($GalNAc_3$-17_a) может быть комбинирована с любым расщепляемым фрагментом с получением различных групп конъюгата. В некоторых вариантах реализации расщепляемый фрагмент представляет собой -P(=O)(OH)-A_d-P(=O)(OH)-. Структура $GalNAc_3$-17 ($GalNAc_3$-17_a-CM-) представлена ниже:

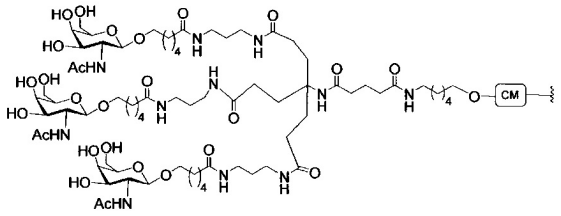


Пример 69: Получение олигомерного соединения 201, содержащего $GalNAc_3$-18

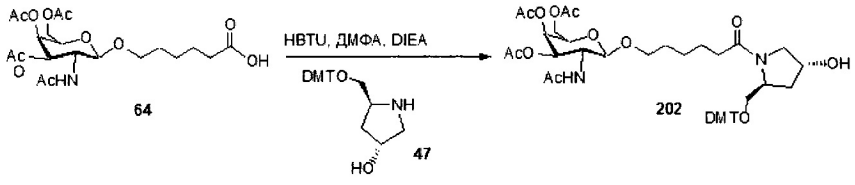


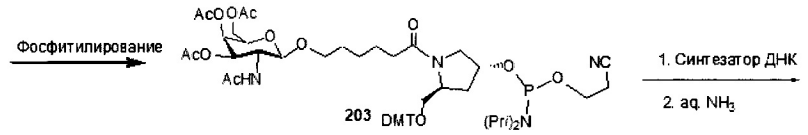
Олигомерное Соединение 201, содержащее группу конъюгата $GalNAc_3$-18, получили

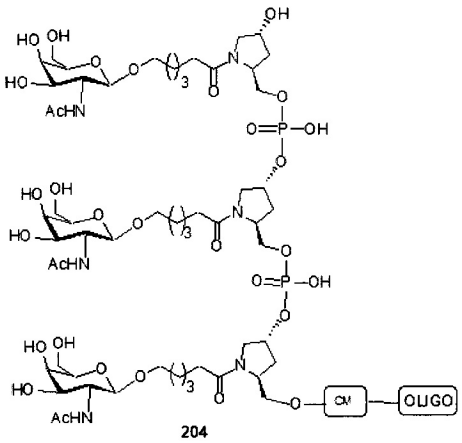
по общим способам, представленным в Примере 46. Кластерная часть $GalNAc_3$ группы конъюгата $GalNAc_3$-18 ($GalNAc_3$-18_a) может быть комбинирована с любым расщепляемым фрагментом с получением различных групп конъюгата. В некоторых вариантах реализации расщепляемый фрагмент представляет собой -P(=O)(OH)-A_d-P(=O)(OH)-. Структура $GalNAc_3$-18 ($GalNAc_3$-18_a-CM-) представлена ниже:



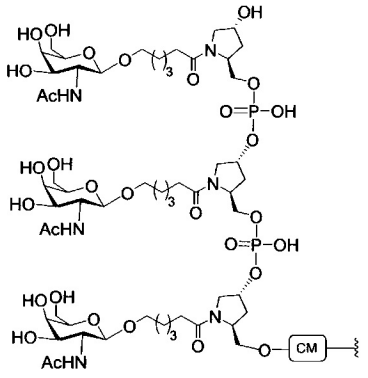
Пример 70: Получение олигомерного соединения 204, содержащего $GalNAc_3$-19



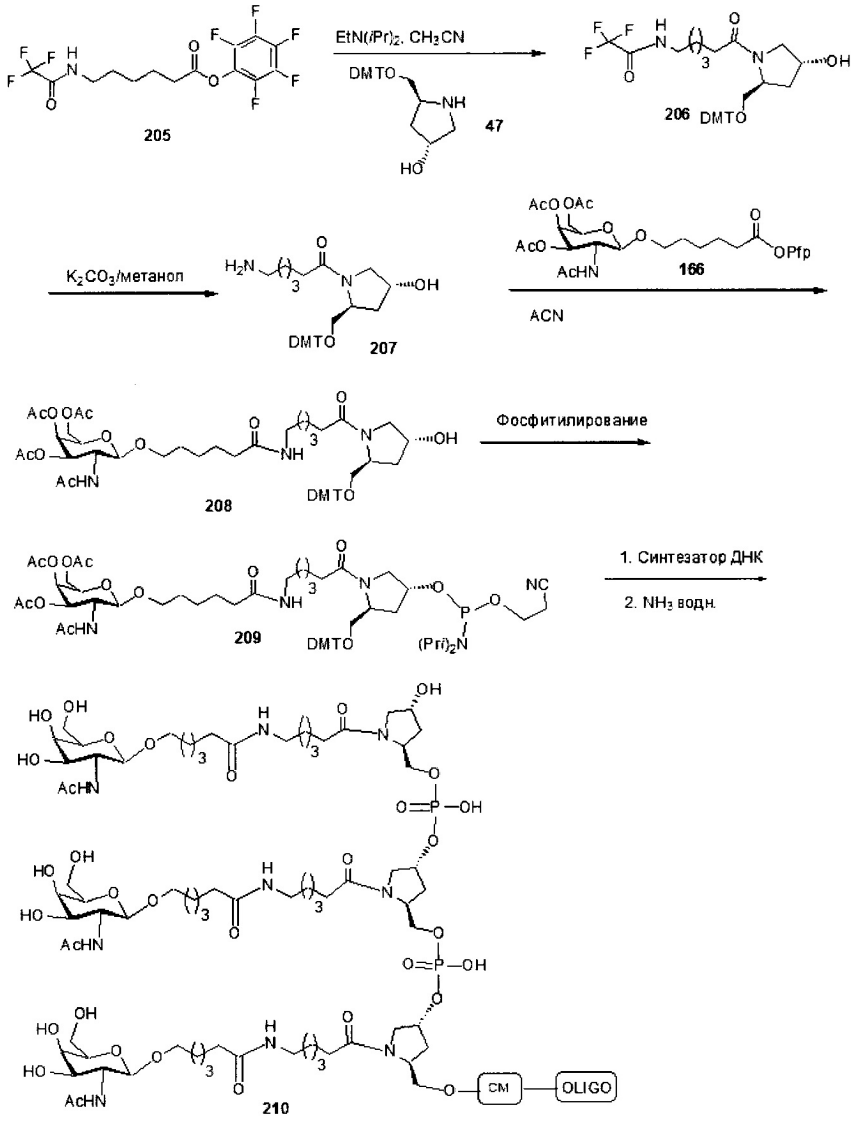




Олигомерное Соединение 204, содержащее группу конъюгата $GalNAc_3$-19, получили из соединения 64 по общим способам, представленным в Примере 52. Кластерная часть $GalNAc_3$ группы конъюгата $GalNAc_3$-19 ($GalNAc_3$-19_a) может быть комбинирована с любым расщепляемым фрагментом с получением различных групп конъюгата. В некоторых вариантах реализации расщепляемый фрагмент представляет собой -P(=O)(OH)-A_d-P(=O)(OH)-. Структура $GalNAc_3$-19 ($GalNAc_3$-19_a-CM-) представлена ниже:

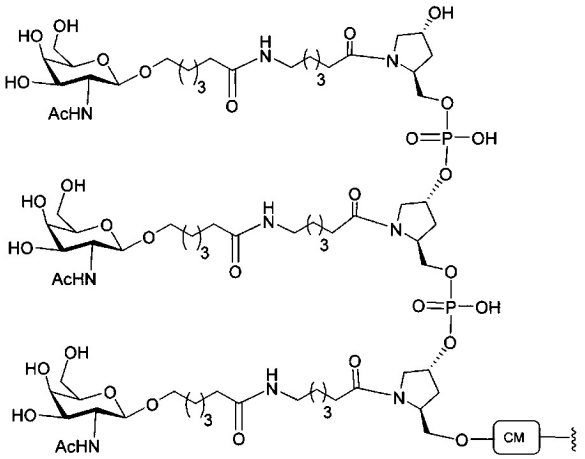


Пример 71: Получение олигомерного соединения 210, содержащего $GalNAc_3$-20

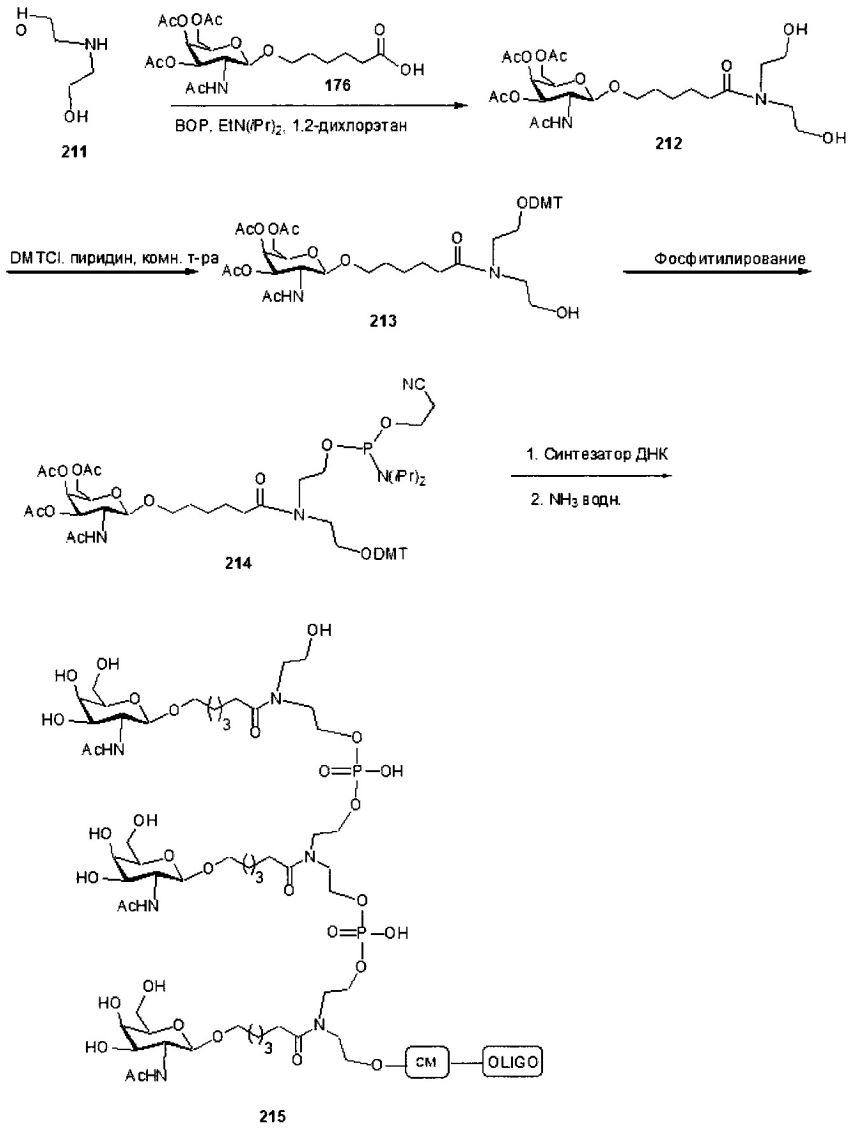


Соединение 205 получили добавлением PFP-ТФК и DIEA к 6-(2,2,2-трифторацетамидо) гексановой кислоте в ацетонитриле, которую получили добавлением трифторуксусного ангидрида к 6-аминогексановой кислоте. Реакционную смесь нагрели до 80°C, затем охладили до комнатной температуры. Олигомерное Соединение 210, содержащее группу конъюгата $GalNAc_3$-20, получили из соединения 208 по общим способам, представленным в Примере 52. Кластерная часть $GalNAc_3$ группы конъюгата $GalNAc_3$-20 ($GalNAc_3$-20_a) может быть комбинирована с любым расщепляемым фрагментом с получением различных групп конъюгата. В некоторых вариантах реализации

расщепляемый фрагмент представляет собой -P(=O)(OH)-A_d-P(=O)(OH)-. Структура $GalNAc_3$-20 ($GalNAc_3$-20_a-CM-) представлена ниже:

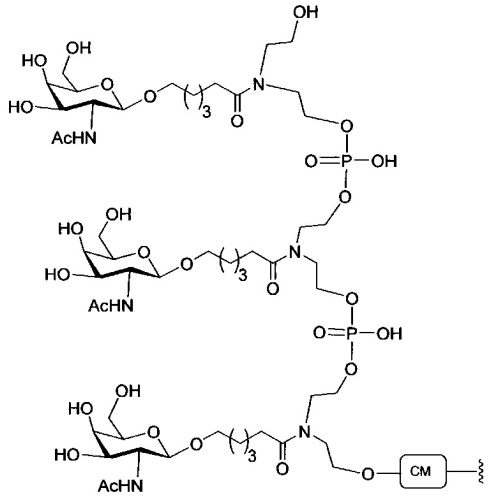


Пример 72: Получение олигомерного соединения 215, содержащего $GalNAc_3$-21

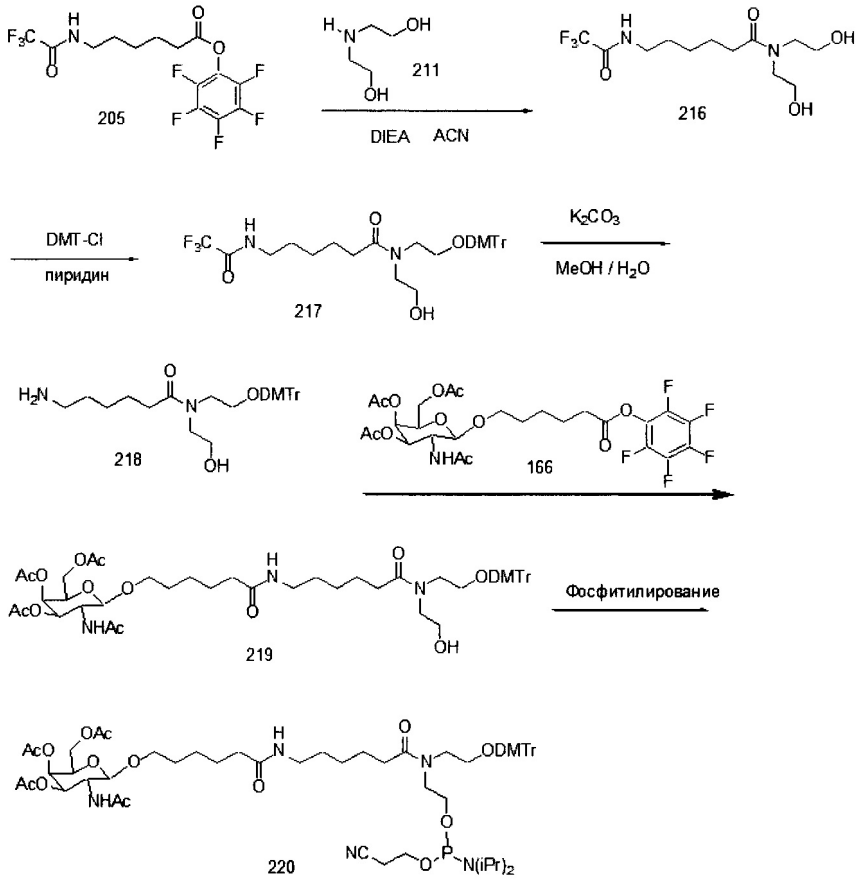


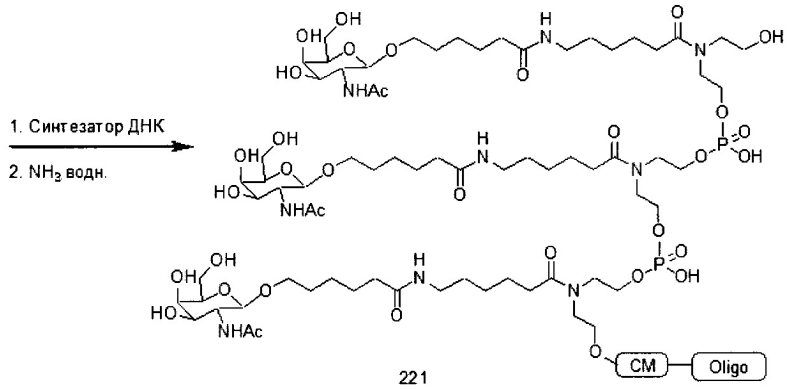
Соединение 211 имеется в продаже. Олигомерное Соединение 215, содержащее группу конъюгата $GalNAc_3$-21, получили из соединения 213 по общим способам, представленным в Примере 52. Кластерная часть $GalNAc_3$ группы конъюгата $GalNAc_3$-21

($GalNAc_3$-21_a) может быть комбинирована с любым расщепляемым фрагментом с получением различных групп конъюгата. В некоторых вариантах реализации расщепляемый фрагмент представляет собой -P(=O)(OH)-A_d-P(=O)(OH)-. Структура $GalNAc_3$-21 ($GalNAc_3$-21_a-CM-) представлена ниже:



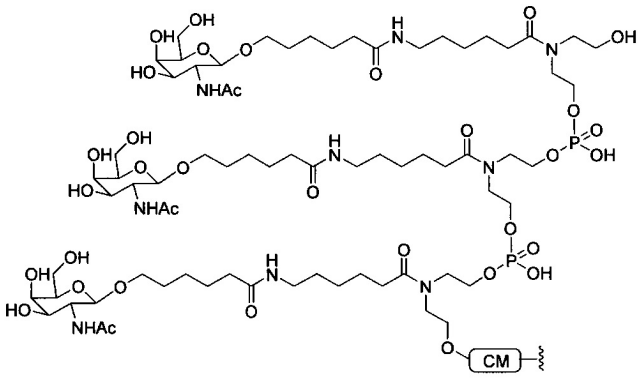
Пример 73: Получение олигомерного соединения 221, содержащего $GalNAc_3$-22





221

Соединение 220 получили из соединения 219, используя тетразолид диизопропиламмония. Олигомерное Соединение 221, содержащее группу конъюгата $GalNAc_3$-21, получили из соединения 220 по общим способам, представленным в Примере 52. Кластерная часть $GalNAc_3$ группы конъюгата $GalNAc_3$-22 ($GalNAc_3$-22_a) может быть комбинирована с любым расщепляемым фрагментом с получением различных групп конъюгата. В некоторых вариантах реализации расщепляемый фрагмент представляет собой -P(=O)(OH)-A_d-P(=O)(OH)-. Структура $GalNAc_3$-22 ($GalNAc_3$-22_a-CM-) представлена ниже:



Пример 74: Влияние различных расщепляемых фрагментов на антисмысловое ингибирование in vivo под действием олигонуклеотидов, направленных на SRB-1, содержащих кластер 5'-$GalNAc_3$

Олигонуклеотиды, перечисленные ниже, испытали в дозозависимом исследовании антисмыслового ингибирования SRB-1 у мышей. Каждая из групп конъюгата $GalNAc_3$ была присоединена к 5'-концу соответствующего олигонуклеотида.

Таблица 60

Модифицированные ASO, направленные на SRB-1

ISIS №	Последовательность (от 5' к 3')	Кластер $GalNAc_3$	СМ	SEQ ID NO
353382	$G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}$ $T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{e}$	н.д.	н.д.	2256
661161	**$GalNAc_3$-3_a-** $_{o'}\mathbf{A_{do}}G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}$ $G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{e}$	$GalNAc_3$-3a	A_d	2258
666904	**$GalNAc_3$-3_a-$_{o'}$**$G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}$ $G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{e}$	$GalNAc_3$-3a	PO	2256
675441	**$GalNAc_3$-17_a-** $_{o'}\mathbf{A_{do}}G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}$ $G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{e}$	$GalNAc_3$-17a	A_d	2258
675442	**$GalNAc_3$-18_a-** $_{o'}\mathbf{A_{do}}G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}$ $G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{e}$	$GalNAc_3$-18a	A_d	2258

Во всех таблицах заглавные буквы указывают азотистое основание для каждого нуклеозида, а ^{m}C означает 5-метилцитозин. Нижние индексы: «e» означает 2'-MOE модифицированный нуклеозид; «d» означает β-D-2'-дезоксирибонуклеозид; «s» означает тиофосфатную межнуклеозидную связь (PS); «o» означает фосфодиэфирную межнуклеозидную связь (PO); и «o'» означает OP(=O)(OH)-. Группы конъюгата выделены жирным.

Структура $GalNAc_3$-3_a показана ранее в Примере 39. Структура $GalNAc_3$-17a показана ранее в Примере 68, а структура $GalNAc_3$-18a показана в Примере 69.

Лечение

Шести-восьминедельным мышам C57BL/6 (Jackson Laboratory, Бар-Харбор, штат Мэн) ввели однократную подкожную инъекцию дозы, представленной ниже, олигонуклеотида, перечисленного в Таблице 60, или солевого раствора. Каждая экспериментальная группа состояла из 4 животных. Мышей усыпили через 72 часа после последнего введения для определения уровней мРНК SRB-1 при помощи ПЦР в реальном времени и реагента для количественного определения РНК RIBOGREEN® (Molecular Probes, Inc. Юджин, штат Орегон) по стандартным протоколам. Результаты, показанные ниже, представлены как средний процент уровней мРНК SRB-1 для каждой экспериментальной группы, нормализованных к контрольному образцу, обработанному солевым раствором.

Как показано в Таблице 61, лечение антисмысловыми олигонуклеотидами снижает уровни мРНК SRB-1 дозозависимым образом. Антисмысловые олигонуклеотиды, содержащие конъюгат GalNAc, демонстрируют равные эффективности и являются значительно более эффективными, чем исходный олигонуклеотид, не имеющий конъюгата GalNAc.

Таблица 61

мРНК SRB-1 (% от солевого раствора)

ISIS №	Доза (мг/кг)	мРНК SRB-1 (% от солевого раствора)	Кластер $GalNAc_3$	СМ
Солевой раствор	н.д.	100,0	н.д.	н.д.
353382	3	79,38	н.д.	н.д.
	10	68,67		
	30	40,70		
661161	0,5	79,18	$GalNAc_3$-3a	A_d
	1,5	75,96		
	5	30,53		
	15	12,52		
666904	0,5	91,30	$GalNAc_3$-3a	PO
	1,5	57,88		
	5	21,22		
	15	16,49		
675441	0,5	76,71	$GalNAc_3$-17a	A_d
	1,5	63,63		
	5	29,57		
	15	13,49		
675442	0,5	95,03	$GalNAc_3$-18a	A_d
	1,5	60,06		
	5	31,04		
	15	19,40		

Уровни трансаминазы в печени, аланин-аминотрансферазы (ALT) и аспартат-аминотрансферазы (AST) в сыворотке измеряли относительно мышей, инъецированных солевым раствором, используя стандартные протоколы. Оценили также общий билирубин и азот мочевины крови (АМК). Проверили изменение массы тела, которое существенно не отличалось от группы с солевым раствором (данные не показаны). Значения ALT, AST, общего билирубина и АМК представлены ниже в Таблице 62.

Таблица 62

ISIS №	Доза (мг/кг)	ALT (ед./л)	AST (ед./л)	Общий билирубин (мг/дл)	АМК (мг/дл)	Кластер $GalNAc_3$	СМ
Солевой раствор	н.д.	26	59	0,16	42	н.д.	н.д.
353382	3	23	58	0,18	39	н.д.	н.д.
	10	28	58	0,16	43		
	30	20	48	0,12	34		
661161	0,5	30	47	0,13	35	$GalNAc_3$-3a	A_d
	1,5	23	53	0,14	37		
	5	26	48	0,15	39		
	15	32	57	0,15	42		
666904	0,5	24	73	0,13	36	$GalNAc_3$-3a	PO
	1,5	21	48	0,12	32		
	5	19	49	0,14	33		
	15	20	52	0,15	26		
675441	0,5	42	148	0,21	36	$GalNAc_3$-17a	A_d
	1,5	60	95	0,16	34		
	5	27	75	0,14	37		
	15	24	61	0,14	36		
675442	0,5	26	65	0,15	37	$GalNAc_3$-18a	A_d
	1,5	25	64	0,15	43		
	5	27	69	0,15	37		
	15	30	84	0,14	37		

Пример 75: Фармакокинетический анализ олигонуклеотидов, содержащих 5'-группу конъюгата

ФК ASO, представленных выше в Таблицах 54, 57 и 60, оценили с использованием образцов печени, которые получили после выполнения способов лечения, описанных в Примерах 65, 66 и 74. Образцы печени измельчили и экстрагировали по стандартным протоколам, и анализировали при помощи ИП-ВЭЖХ-МС вместе с внутренним стандартом. Суммарный уровень (мкг/г) всех метаболитов в ткани измерили интегрированиемсоответствующих УФ пиков, а уровни в ткани ASO полной длины, не содержащих конъюгата («исходное», в данном случае Isis №353382), измерили с использованием подходящих ионэкстракционных хроматограмм (EIC).

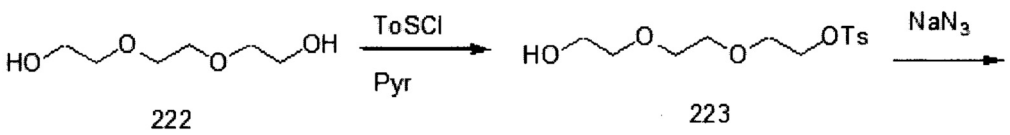
Таблица 63

ФК анализ в печени

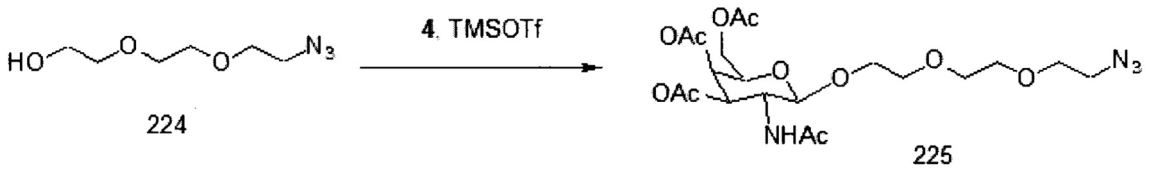
ISIS №	Доза (мг/кг)	Общий уровень в печени по УФ (мкг/г)	Уровень исходного ASO в печени по EIC (мкг/г)	Кластер $GalNAc_3$	CM
353382	3	8,9	8,6	н.д.	н.д.
	10	22,4	21,0		
	30	54,2	44,2		
661161	5	32,4	20,7	$GalNAc_3$-3a	A_d
	15	63,2	44,1		
671144	5	20,5	19,2	$GalNAc_3$-12a	A_d
	15	48,6	41,5		
670061	5	31,6	28,0	$GalNAc_3$-13a	A_d
	15	67,6	55,5		
671261	5	19,8	16,8	$GalNAc_3$-14a	A_d
	15	64,7	49,1		
671262	5	18,5	7,4	$GalNAc_3$-15a	A_d
	15	52,3	24,2		
670699	5	16,4	10,4	$GalNAc_3$-3a	T_d
	15	31,5	22,5		
670700	5	19,3	10,9	$GalNAc_3$-3a	A_e
	15	38,1	20,0		
670701	5	21,8	8,8	$GalNAc_3$-3a	T_e
	15	35,2	16,1		
671165	5	27,1	26,5	$GalNAc_3$-13a	A_d
	15	48,3	44,3		
666904	5	30,8	24,0	$GalNAc_3$-3a	PO
	15	52,6	37,6		
675441	5	25,4	19,0	$GalNAc_3$-17a	A_d
	15	54,2	42,1		
675442	5	22,2	20,7	$GalNAc_3$-18a	A_d
	15	39,6	29,0		

Результаты, представленные выше в Таблице 63, демонстрируют, что наблюдали более высокие уровни в печени олигонуклеотидов, содержащих группу конъюгата $GalNAc_3$, чем исходного олигонуклеотида, не содержащего группу конъюгата $GalNAc_3$ (ISIS 353382) через 72 часа после введения олигонуклеотида, особенно с учетом введения различных доз для олигонуклеотидов с группой конъюгата $GalNAc_3$ и без нее. Кроме того, через 72 часа 40-98% каждого олигонуклеотида, содержащего группу конъюгата $GalNAc_3$, было метаболизировано до исходного соединения, что указывает на то, что группы конъюгата $GalNAc_3$ расщепляются в указанных олигонуклеотидах.

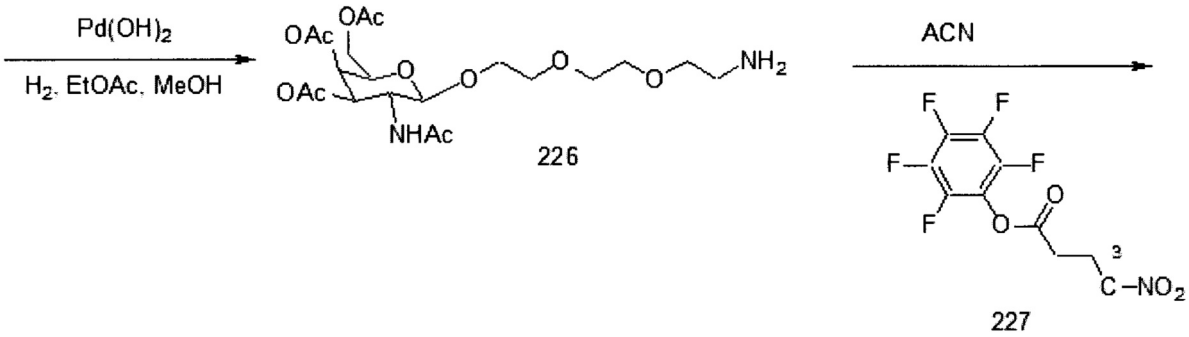
Пример 76: Получение олигомерного соединения 230, содержащего $GalNAc_3$-23



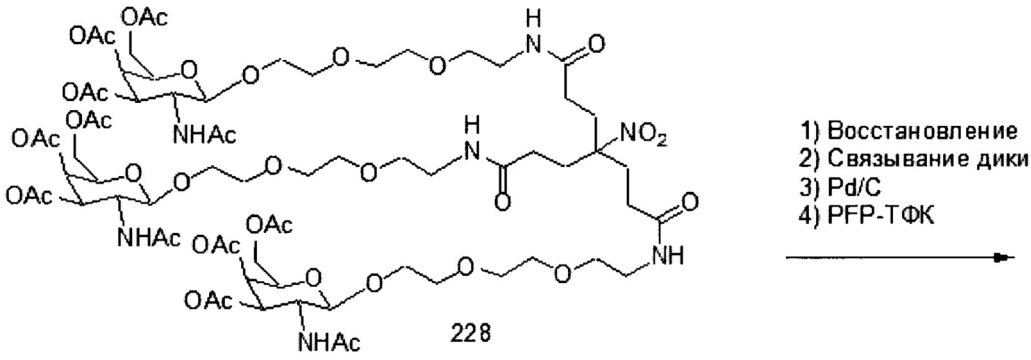
222 223



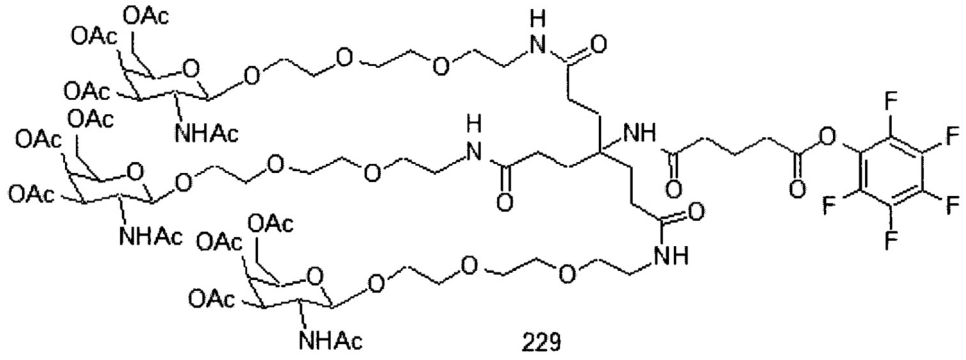
224 225



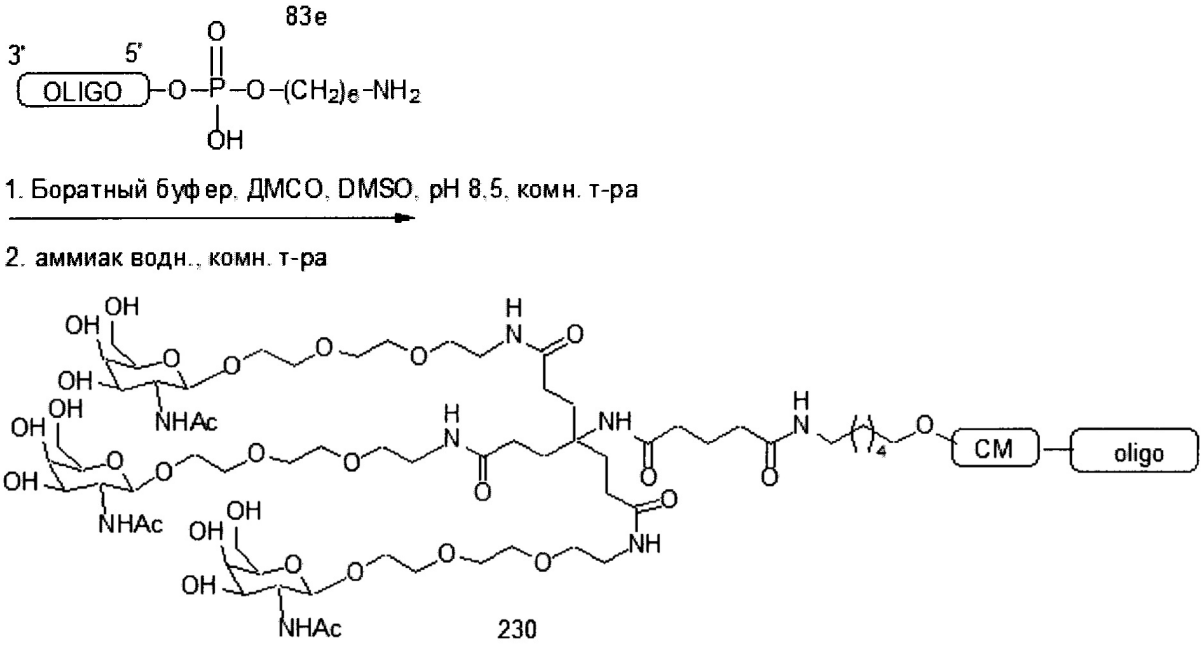
226 227



228



229

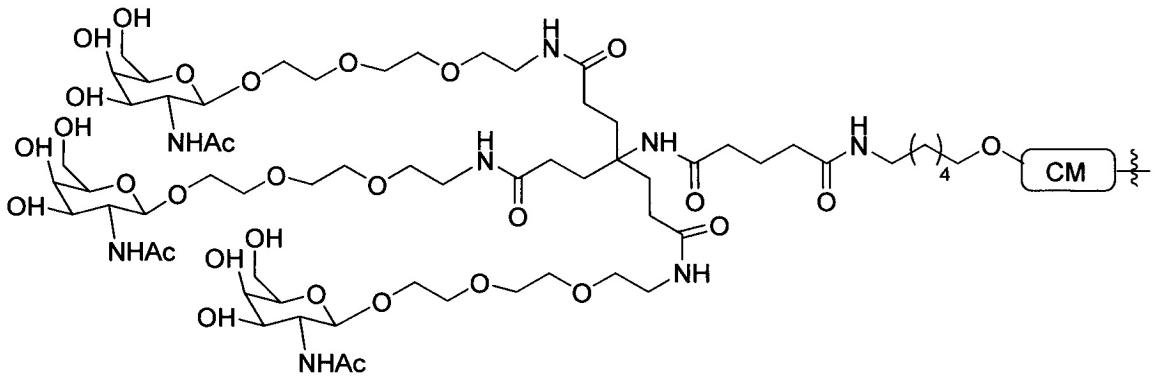


Соединение 222 имеется в продаже. 44,48 мл (0,33 моль) соединения 222 обрабатывали тозилхлоридом (25,39 г, 0,13 моль) в пиридине (500 мл) в течение 16 часов. Затем реакционную смесь выпарили до маслянистого вещества, растворили в EtOAc и промыли водой, насыщенным раствором $NaHCO_3$, насыщенным солевым раствором и высушили над Na_2SO_4. Этилацетат концентрировали досуха и очистили колоночной хроматографией, элюировали EtOAc в гексанах (1:1), затем 10% метанола в CH_2Cl_2 с получением соединения 223 в виде бесцветного маслянистого вещества. Данные ЖХМС и ЯМР согласовались с указанной структурой. 10 г (32,86 ммоль) 1-тозилтриэтиленгликоля (соединение 223) обрабатывали азидом натрия (10,68 г, 164,28 ммоль) в ДМСО (100 мл) при комнатной температуре в течение 17 часов. Затем реакционную смесь вылили в воду и экстрагировали EtOAc. Органический слой три раза промыли водой и высушили над Na_2SO_4. Органический слой концентрировали досуха с получением 5,3 г соединения 224 (92%). Данные ЖХМС и ЯМР согласовались с указанной структурой. 1-Азидотриэтиленгликоль (соединение 224, 5,53 г, 23,69 ммоль) и соединение 4 (6 г, 18,22 ммоль) обработали 4А молекулярными ситами (5 г) и TMSOTf (1,65 мл, 9,11 ммоль) в дихлорметане (100 мл) под инертной атмосферой. Через 14 часов реакционную смесь отфильтровали для удаления сит, а органический слой промыли насыщенным раствором $NaHCO_3$, водой, насыщенным солевым раствором и высушили над Na_2SO_4. Органический слой концентрировали досуха и очистили колоночной хроматографией, элюировали градиентом от 2 до 4% метанола в дихлорметане с получением соединения 225. Данные ЖХМС и ЯМР согласовались с указанной структурой. Соединение 225 (11,9 г, 23,59 ммоль) гидрировали в EtOAc/метаноле (4:1, 250 мл) на катализаторе Перлмана. Через 8 часов катализатор удалили фильтрованием, а растворители удалили досуха с получением соединения 226. Данные ЖХМС и ЯМР согласовались с указанной структурой.

Для получения соединения 227 раствор нитрометантриспропионовой кислоты (4,17 г, 15,04 ммоль) и основание Хюнига (10,3 мл, 60,17 ммоль) в ДМФА (100 мл) по каплям обработали пентафтортрифторацетатом (9,05 мл, 52,65 ммоль). Через 30 минут реакционную смесь вылили в ледяную воду и экстрагировали EtOAc. Органический слой промыли водой, насыщенным солевым раствором и высушили над Na_2SO_4.

Органический слой концентрировали досуха, а затем перекристаллизовали из гептана с получением соединения 227 в виде белого твердого вещества. Данные ЖХМС и ЯМР согласовались с указанной структурой. Соединение 227 (1,5 г, 1,93 ммоль) и соединение 226 (3,7 г, 7,74 ммоль) перемешивали при комнатной температуре в ацетонитриле (15 мл) в течение 2 часов. Затем реакционную смесь выпарили досуха и очистили колоночной хроматографией, элюируя градиентом от 2 до 10% метанола в дихлорметане, с получением соединения 228. Данные ЖХМС и ЯМР согласовались с указанной структурой. Соединение 228 (1,7 г, 1,02 ммоль) обработали никелем Ренея (около 2 г, влажный) в этаноле (100 мл) в атмосфере водорода. Через 12 часов катализатор удалили фильтрованием, а органический слой выпарили до твердого вещества, которое использовали непосредственно на следующей стадии. Данные ЖХМС и ЯМР согласовались с указанной структурой. Это твердое вещество (0,87 г, 0,53 ммоль) обработали бензилглутаровой кислотой (0,18 г, 0,8 ммоль), HBTU (0,3 г, 0,8 ммоль) и DIEA (273,7 мкл, 1,6 ммоль) в ДМФА (5 мл). Через 16 часов ДМФА удалили при пониженном давлении при 65°C до маслянистого вещества, и это маслянистое вещество растворили в дихлорметане. Органический слой промыли насыщенным раствором $NaHCO_3$, насыщенным солевым раствором и высушили над Na_2SO_4. После выпаривания органического слоя соединение очистили колоночной хроматографией и элюировали градиентом от 2 до 20% метанола в дихлорметане с получением связанного продукта. Данные ЖХМС и ЯМР согласовались с указанной структурой. С бензилового эфира сняли защиту на катализаторе Перлмана в атмосфере водорода в течение 1 часа. Затем катализатор удалили фильтрованием, а растворители удалили досуха с получением кислоты. Данные ЖХМС и ЯМР согласовались с указанной структурой. Эту кислоту (486 мг, 0,27 ммоль) растворили в сухом ДМФА (3 мл). Добавили пиридин (53,61 мкл, 0,66 ммоль) и продули реакционную смесь аргоном. К реакционной смеси медленно добавили пентафтортрифторацетат (46,39 мкл, 0,4 ммоль). Цвет реакционной смеси изменился с бледно-желтого на винный, и появился легкий дымок, который улетучился с потоком аргона. Реакционную смесь оставили перемешиваться при комнатной температуре на один час (завершение реакции подтвердили по ЖХМС). Растворитель удалили при пониженном давлении (ротационный испаритель) при 70°C. Остаток разбавили ДХМ и промыли 1 н. $NaHSO_4$, насыщенным солевым раствором, насыщенным раствором бикарбоната натрия и снова насыщенным солевым раствором. Органический слой высушили над Na_2SO_4, отфильтровали и концентрировали досуха с получением 225 мг соединения 229 в виде хрупкой желтой пены. Данные ЖХМС и ЯМР согласовались с указанной структурой.

Олигомерное Соединение 230, содержащее группу конъюгата $GalNAc_3$-23, получили из соединения 229 по общим способам, представленным в Примере 46. Кластерная часть $GalNAc_3$ группы конъюгата $GalNAc_3$-23 ($GalNAc_3$-23_a) может быть комбинирована с любым расщепляемым фрагментом с получением различных групп конъюгата. Структура $GalNAc_3$-23 ($GalNAc_3$-23_a-CM) представлена ниже:



Пример 77: Антисмысловое ингибирование in vivo под действием олигонуклеотидов, направленных на SRB-1, содержащих конъюгат GalNAc3

Олигонуклеотиды, перечисленные ниже, испытали в дозозависимом исследовании антисмыслового ингибирования SRB-1 у мышей.

Таблица 64

Модифицированные ASO, направленные на SRB-1

ISIS	Последовательность (от 5' к 3')	Кластер	CM	SEQ
№		$GalNAc_3$		ID NO
661161	**$GalNAc_3$-3_a-** $_{o'}\mathbf{A_{do}}G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}$ $G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{e}$	$GalNAc_3$-3a	A_d	2258
666904	**$GalNAc_3$-3_a-$_{o'}$**$G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}$ $G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{e}$	$GalNAc_3$-3a	PO	2256
673502	**$GalNAc_3$-10_a-** $_{o'}\mathbf{A_{do}}G_{es}{}^{m}C_{eo}T_{eo}T_{eo}{}^{m}C_{eo}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}$ $G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{eo}{}^{m}C_{eo}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{e}$	$GalNAc_3$-10a	A_d	2258
677844	**$GalNAc_3$-9_a-** $_{o'}\mathbf{A_{do}}G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}$ $G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{e}$	$GalNAc_3$-9a	A_d	2258
677843	**$GalNAc_3$-23_a-** $_{o'}\mathbf{A_{do}}G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}$ $G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{e}$	$GalNAc_3$-23a	A_d	2258
655861	$G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{e}$ $_{s}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{eo}\mathbf{A_{do'}}$**-$GalNAc_3$-$1_a$**	$GalNAc_3$-1a	A_d	2257
677841	$G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{e}$ $_{s}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{eo}\mathbf{A_{do'}}$**-$GalNAc_3$-$19_a$**	$GalNAc_3$-19a	A_d	2257
677842	$G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}$ $G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{eo}\mathbf{A_{do'}}$**-$GalNAc_3$-$20_a$**	$GalNAc_3$-20a	A_d	2257

Структура $GalNAc_3$-1_a показана ранее в Примере 9, $GalNAc_3$-3_a показана в Примере 39, $GalNAc_3$-9a показана в Примере 52, $GalNAc_3$-10a показана в Примере 46, $GalNAc_3$-19_a показана в Примере 70, $GalNAc_3$-20_a показана в Примере 71, и $GalNAc_3$-23_a показана в Примере 76.

Лечение

Шести-восьминедельным мышам C57BL/6 (Jackson Laboratory, Бар-Харбор, штат Мэн) ввели однократную подкожную инъекцию дозы, представленной ниже, олигонуклеотида, перечисленного в Таблице 64, или солевого раствора. Каждая экспериментальная группа состояла из 4 животных. Мышей усыпили через 72 часа после последнего введения для определения уровней мРНК SRB-1 при помощи ПЦР в реальном времени и реагента для количественного определения РНК RIBOGREEN® (Molecular Probes, Inc. Юджин, штат Орегон) по стандартным протоколам. Результаты, показанные ниже, представлены как средний процент уровней мРНК SRB-1 для каждой экспериментальной группы, нормализованных к контрольному образцу, обработанному солевым раствором.

Как показано в Таблице 65, лечение антисмысловыми олигонуклеотидами снижает уровни мРНК SRB-1 дозозависимым образом.

Таблица 65

мРНК SRB-1 (% от солевого раствора)

ISIS №	Доза (мг/кг)	мРНК SRB-1 (% от солевого раствора)	Кластер $GalNAc_3$	СМ
Солевой раствор	н.д.	100,0	н.д.	н.д.
661161	0,5	89,18	$GalNAc_3$-3a	A_d
	1,5	77,02		
	5	29,10		
	15	12,64		
666904	0,5	93,11	$GalNAc_3$-3a	PO
	1,5	55,85		
	5	21,29		
	15	13,43		
673502	0,5	77,75	$GalNAc_3$-10a	A_d
	1,5	41,05		
	5	19,27		
	15	14,41		
677844	0,5	87,65	$GalNAc_3$-9a	A_d
	1,5	93,04		
	5	40,77		
	15	16,95		
677843	0,5	102,28	$GalNAc_3$-23a	A_d
	1,5	70,51		
	5	30,68		
	15	13,26		
655861	0,5	79,72	$GalNAc_3$-1a	A_d
	1,5	55,48		
	5	26,99		
	15	17,58		
677841	0,5	67,43	$GalNAc_3$-19a	A_d
	1,5	45,13		
	5	27,02		
	15	12,41		
677842	0,5	64,13	$GalNAc_3$-20a	A_d
	1,5	53,56		
	5	20,47		
	15	10,23		

Измерили также уровни трансаминазы в печени, аланин-аминотрансферазы (ALT) и аспартат-аминотрансферазы (AST) в сыворотке, используя стандартные протоколы. Оценили также общий билирубин и азот мочевины крови (АМК). Проверили изменение массы тела, которое существенно не отличалось от группы с солевым раствором (данные не показаны). Значения ALT, AST, общего билирубина и АМК представлены ниже в Таблице 66.

Таблица 66

ISIS №	Доза (мг/кг)	ALT (ед./л)	AST (ед./л)	Общий билирубин (мг/дл)	АМК (мг/дл)	Кластер $GalNAc_3$	СМ
Солевой раствор	н.д.	21	45	0,13	34	н.д.	н.д.
661161	0,5	28	51	0,14	39	$GalNAc_3$-3a	A_d
	1,5	23	42	0,13	39		
	5	22	59	0,13	37		
	15	21	56	0,15	35		
666904	0,5	24	56	0,14	37	$GalNAc_3$-3a	PO
	1,5	26	68	0,15	35		
	5	23	77	0,14	34		
	15	24	60	0,13	35		
673502	0,5	24	59	0,16	34	$GalNAc_3$-10a	A_d
	1,5	20	46	0,17	32		
	5	24	45	0,12	31		
	15	24	47	0,13	34		
677844	0,5	25	61	0,14	37	$GalNAc_3$-9a	A_d
	1,5	23	64	0,17	33		
	5	25	58	0,13	35		
	15	22	65	0,14	34		
677843	0,5	53	53	0,13	35	$GalNAc_3$-23a	A_d
	1,5	25	54	0,13	34		
	5	21	60	0,15	34		
	15	22	43	0,12	38		
655861	0,5	21	48	0,15	33	$GalNAc_3$-1a	A_d
	1,5	28	54	0,12	35		
	5	22	60	0,13	36		
	15	21	55	0,17	30		
677841	0,5	32	54	0,13	34	$GalNAc_3$-19a	A_d
	1,5	24	56	0,14	34		
	5	23	92	0,18	31		
	15	24	58	0,15	31		
677842	0,5	23	61	0,15	35	$GalNAc_3$-20a	A_d
	1,5	24	57	0,14	34		
	5	41	62	0,15	35		
	15	24	37	0,14	32		

Пример 78: Антисмысловое ингибирование in vivo под действием олигонуклеотидов, направленных на ангиотензиноген, содержащих конъюгат $GalNAc_3$

Олигонуклеотиды, перечисленные ниже, испытали в дозозависимом исследовании антисмыслового ингибирования ангиотензиногена (AGT) у нормотензивных мышей Спрага-Доули.

Таблица 67

Модифицированные ASO, направленные на AGT

ISIS №	Последовательность (от 5' к 3')	Кластер $GalNAc_3$	СМ	SEQ ID NO
552668	$^{m}C_{es}A_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}G_{es}A_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{ds}{}^{m}C_{ds}{}^{m}C_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{es}G_{es}G_{es}A_{es}T_{e}$	н.д.	н.д.	2262
669509	$^{m}C_{es}A_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}G_{es}A_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{ds}{}^{m}C_{ds}{}^{m}C_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{es}G_{es}G_{es}A_{es}T_{eo}\mathbf{A_{do'}\text{-}GalNAc_3\text{-}1_a}$	$GalNAc_3$-1_a	A_d	2263

Структура $GalNAc_3$-1_a показана ранее в Примере 9.

Лечение

Шестинедельным самцам крыс Спрага-Доули один раз в неделю вводили подкожную инъекцию дозы, представленной ниже, в целом три дозы олигонуклеотида, перечисленного в Таблице 67, или PBS. Каждая экспериментальная группа состояла из 4 животных. Крыс усыпили через 72 часа после последней дозы. Уровни мРНК AGT в печени измерили при помощи ПЦР в реальном времени и реагента для количественного определения РНК RIBOGREEN® (Molecular Probes, Inc., Юджин, штат Орегон) по стандартным протоколам. Уровни белка AGT в плазме измерили при помощи твердофазного иммуноферментного анализа для определения общего ангиотензиногена (кат. № JP27412, IBL International, Торонто, штат Онтарио) с разбавлением плазмы 1: 20000. Результаты, показанные ниже, представлены как средний процент от уровней мРНК AGT в печени или от уровней белка AGT в плазме для каждой экспериментальной группы, нормализованных к контрольному образцу с PBS.

Как показано в Таблице 68, лечение антисмысловыми олигонуклеотидами снижает уровни мРНК AGT в печени и уровни белка в плазме дозозависимым образом, и олигонуклеотид, содержащий конъюгат GalNAc, был значительно более эффективным, чем исходный олигонуклеотид, не содержащий конъюгата GalNAc.

Таблица 68

Уровни мРНК AGT в печени и белка в плазме

ISIS №	Доза (мг/кг)	мРНК AGT в печени (% PBS)	Белок AGT в плазме (% PBS)	Кластер $GalNAc_3$	СМ
PBS	н.д.	100	100	н.д.	н.д.
552668	3	95	122	н.д.	н.д.
	10	85	97		
	30	46	79		
	90	8	11		
669509	0,3	95	70	$GalNAc_3$-1a	A_d
	1	95	129		
	3	62	97		
	10	9	23		

Измерили также уровни трансаминазы в печени, аланин-аминотрансферазы (ALT) и аспартат-аминотрансферазы (AST) в плазме, а также массу тела в момент усыпления, используя стандартные протоколы. Результаты представлены ниже в Таблице 69.

Таблица 69

Уровни трансаминазы в печени и массы тела крыс

ISIS №	Доза (мг/кг)	ALT (ед./л)	AST (ед./л)	Масса тела (% от исходного значения)	Кластер $GalNAc_3$	СМ
PBS	н.д.	51	81	186	н.д.	н.д.
552668	3	54	93	183	н.д.	н.д.
	10	51	93	194		
	30	59	99	182		
	90	56	78	170		
669509	0,3	53	90	190	$GalNAc_3$-1a	A_d
	1	51	93	192		
	3	48	85	189		
	10	56	95	189		

Пример 79: Продолжительность действия in vivo олигонуклеотидов, направленных на APOC-III, содержащих конъюгат $GalNAc_3$

Олигонуклеотиды, перечисленные ниже в Таблице 70, испытали в исследовании однократной дозы на продолжительность действия у мышей.

Таблица 70

Модифицированные ASO, направленные на APOC-III

ISIS №	Последовательность (от 5' к 3')	Кластер $GalNAc_3$	СМ	SEQ ID NO
304801	$A_{es}G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}G_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{es}T_{es}T_{es}A_{es}T_{e}$	н.д.	н.д.	2248
647535	$A_{es}G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}G_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{es}T_{es}T_{es}A_{es}T_{eo}$**$A_{do'}$-GalNAc3-1a**	$GalNAc_3$-1a	A_d	2249
663083	**$GalNAc_3$-3_a-** $_{o'}A_{do}A_{es}G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}G_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{es}T_{es}T_{es}A_{es}T_{e}$	$GalNAc_3$-3a	A_d	2264
674449	**$GalNAc_3$-7_a-** $_{o'}A_{do}A_{es}G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}G_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{es}T_{es}T_{es}A_{es}T_{e}$	$GalNAc_3$-7a	A_d	2264
674450	**$GalNAc_3$-10_a-** $_{o'}A_{do}A_{es}G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}G_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{es}T_{es}T_{es}A_{es}T_{e}$	$GalNAc_3$-10a	A_d	2264
674451	**$GalNAc_3$-13_a-** $_{o'}A_{do}A_{es}G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}G_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{es}T_{es}T_{es}A_{es}T_{e}$	$GalNAc_3$-13a	A_d	2264

Структура $GalNAc_3$-1_a показана ранее в Примере 9, $GalNAc_3$-3_a показана в Примере 39, $GalNAc_3$-7_a показана в Примере 48, $GalNAc_3$-10_a показана в Примере 46, и $GalNAc_3$-13_a показана в Примере 62.

Лечение

Шести-восьминедельным трансгенным мышам, экспрессирующим человеческий APOC-III, ввели однократную подкожную инъекцию олигонуклеотида, перечисленного в Таблице 70, или PBS. Каждая экспериментальная группа состояла из 3 животных. Образцы крови брали до введения дозы для определения исходного значения, а также через 72 часа, 1 неделю, 2 недели, 3 недели, 4 недели, 5 недель и 6 недель после введения дозы. Уровни триглицеридов и белка APOC-III в плазме измеряли так, как описано в

Примере 20. Результаты, показанные ниже, представлены как средний процент от уровней триглицеридов и APOC-III в плазме для каждой экспериментальной группы, нормализованных и исходным значениям, и они демонстрируют, что олигонуклеотиды, содержащие группу конъюгата GalNAc, обладают более продолжительным действием, чем исходный олигонуклеотид, не содержащий группу конъюгата (ISIS 304801) даже несмотря на то, что доза исходного соединения была в три раза выше, чем доза олигонуклеотидов, содержащих группу конъюгата GalNAc.

Таблица 71
Уровни триглицеридов и белка APOC-III в плазме трансгенных мышей

ISIS №	Доза (мг/кг)	Временные точки (дни после введения дозы)	Триглицериды (% от исходного значения)	Белок APOC-III (% от исходного значения)	Кластер $GalNAc_3$	СМ
PBS	н.д.	3	97	102	н.д.	н.д.
		7	101	98		
		14	108	98		
		21	107	107		
		28	94	91		
		35	88	90		
		42	91	105		
304801	30	3	40	34	н.д.	н.д.
		7	41	37		
		14	50	57		
		21	50	50		
		28	57	73		
		35	68	70		
		42	75	93		
647535	10	3	36	37	$GalNAc_3$-1a	A_d
		7	39	47		
		14	40	45		
		21	41	41		
		28	42	62		
		35	69	69		
		42	85	102		
663083	10	3	24	18	$GalNAc_3$-3a	A_d
		7	28	23		
		14	25	27		
		21	28	28		
		28	37	44		
		35	55	57		
		42	60	78		
674449	10	3	29	26	$GalNAc_3$-7a	A_d
		7	32	31		
		14	38	41		
		21	44	44		
		28	53	63		
		35	69	77		

		42	78	99		
674450	10	3	33	30	$GalNAc_3$-10a	A_d
		7	35	34		
		14	31	34		
		21	44	44		
		28	56	61		
		35	68	70		
		42	83	95		
674451	10	3	35	33	$GalNAc_3$-13a	A_d
		7	24	32		
		14	40	34		
		21	48	48		
		28	54	67		
		35	65	75		
		42	74	97		

Пример 80: Антисмысловое ингибирование in vivo под действием олигонуклеотидов, направленных на альфа-1 антитрипсин (A1AT), содержащих конъюгат $GalNAc_3$

Олигонуклеотиды, перечисленные ниже в Таблице 72, испытали в исследовании дозозависимого ингибирования A1AT у мышей.

Таблица 72

Модифицированные ASO, направленные на A1AT

ISIS №	Последовательность (от 5' к 3')	Кластер $GalNAc_3$	СМ	SEQ ID NO
476366	$A_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}A_{ds}A_{ds}T_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}G_{ds}A_{ds}A_{ds}G_{ds}G_{ds}A_{es}A_{es}G_{es}G_{es}A_e$	н.д.	н.д.	2265
656326	$A_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}A_{es}A_{ds}T_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}G_{ds}A_{ds}A_{ds}G_{ds}G_{ds}A_{es}A_{es}G_{es}G_{es}A_{es}A_{do}$-**GalNAc$_3-1_a$**	$GalNAc_3$-1a	A_d	2266
678381	**GalNAc$_3$-3$_a$-**$_o$'$A_{do}A_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}A_{ds}A_{ds}T_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}G_{ds}A_{ds}A_{ds}G_{ds}G_{ds}A_{es}A_{es}G_{es}G_{es}A_e$	$GalNAc_3$-3a	A_d	2267
678382	**GalNAc$_3$-7$_a$-**$_o$'$A_{do}A_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}A_{ds}A_{ds}T_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}G_{ds}A_{ds}A_{ds}G_{ds}G_{ds}A_{es}A_{es}G_{es}G_{es}A_e$	$GalNAc_3$-7a	A_d	2267
678383	**GalNAc$_3$-10$_a$-**$_o$'$A_{do}A_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}A_{ds}A_{ds}T_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}G_{ds}A_{ds}A_{ds}G_{ds}G_{ds}A_{es}A_{es}G_{es}G_{es}A_e$	$GalNAc_3$-10a	A_d	2267
678384	**GalNAc$_3$-13$_a$-**$_o$'$A_{do}A_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}A_{ds}A_{ds}T_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}G_{ds}A_{ds}A_{ds}G_{ds}G_{ds}A_{es}A_{es}G_{es}G_{es}A_e$	$GalNAc_3$-13a	A_d	2267

Структура $GalNAc_3$-1_a показана ранее в Примере 9, $GalNAc_3$-3_a показана в Примере 39, $GalNAc_3$-7_a показана в Примере 48, $GalNAc_3$-10_a показана в Примере 46, и $GalNAc_3$-13_a показана в Примере 62.

Лечение

Шестинедельным самцам мышей C57BL/6 (Jackson Laboratory, Бар-Харбор, штат Мэн) один раз в неделю вводили подкожную инъекцию дозы, представленной ниже, в целом три дозы олигонуклеотида, перечисленного в Таблице 72, или PBS. Каждая экспериментальная группа состояла из 4 животных. Мышей усыпили через 72 часа после последнего введения. Уровни мРНК A1AT в печени определили при помощи ПЦР в реальном времени и реагента для количественного определения РНК RIBOGREEN® (Molecular Probes, Inc., Юджин, штат Орегон) по стандартным протоколам. Уровни белка A1AT в плазме определили при помощи твердофазного иммуноферментного анализа для определения мышиного альфа 1-антитрипсина (кат. №41-A1AMS-E01, Alpco, Салем, штат Нью-Гэмпшир). Результаты, показанные ниже, представлены как средний процент уровней мРНК A1AT в печени и белка в плазме для каждой экспериментальной группы, нормализованных к контрольному образцу cPBS.

Как показано в Таблице 73, лечение антисмысловыми олигонуклеотидами снижает уровни мРНК A1AT в печени и уровни белка A1AT в плазме дозозависимым образом. Олигонуклеотиды, содержащие конъюгат GalNAc, были значительно более эффективными, чем исходное соединение (ISIS 476366).

Таблица 73

Уровни мРНК A1AT в печени и белка в плазме

ISIS №	Доза (мг/кг)	мРНК A1AT в печени (% PBS)	Белок A1AT в плазме (% PBS)	Кластер $GalNAc_3$	СМ
PBS	н.д.	100	100	н.д.	н.д.
476366	5	86	78	н.д.	н.д.
	15	73	61		
	45	30	38		
656326	0,6	99	90	$GalNAc_3$-1a	A_d
	2	61	70		
	6	15	30		
	18	6	10		
678381	0,6	105	90	$GalNAc_3$-3a	A_d
	2	53	60		
	6	16	20		
	18	7	13		
678382	0,6	90	79	$GalNAc_3$-7a	A_d
	2	49	57		
	6	21	27		
	18	8	11		
678383	0,6	94	84	$GalNAc_3$-10a	A_d
	2	44	53		
	6	13	24		
	18	6	10		
678384	0,6	106	91	$GalNAc_3$-13a	A_d
	2	65	59		
	6	26	31		
	18	11	15		

Во время усыпления измерили уровни трансаминазы в печени и АМК в плазме по стандартным протоколам. Измерили также массы тела и массы органов. Результаты представлены ниже в Таблице 74. Масса тела представлена как % относительно исходного значения. Массы органов представлены как % от массы тела относительно контрольной группы с PBS.

Таблица 74

ISIS №	Доза (мг/кг)	ALT (ед./л)	AST (ед./л)	АМК (мг/дл)	Масса тела (% от исходного значения)	Масса печени (% отн. массы тела)	Масса почек (% отн. массы тела)	Масса селезенки (% отн. массы тела)
PBS	н.д.	25	51	37	119	100	100	100
476366	5	34	68	35	116	91	98	106
	15	37	74	30	122	92	101	128
	45	30	47	31	118	99	108	123
656326	0,6	29	57	40	123	100	103	119
	2	36	75	39	114	98	111	106
	6	32	67	39	125	99	97	122
	18	46	77	36	116	102	109	101
678381	0,6	26	57	32	117	93	109	110
	2	26	52	33	121	96	106	125
	6	40	78	32	124	92	106	126
	18	31	54	28	118	94	103	120
678382	0,6	26	42	35	114	100	103	103
	2	25	50	31	117	91	104	117
	6	30	79	29	117	89	102	107
	18	65	112	31	120	89	104	113
678383	0,6	30	67	38	121	91	100	123
	2	33	53	33	118	98	102	121
	6	32	63	32	117	97	105	105
	18	36	68	31	118	99	103	108
678384	0,6	36	63	31	118	98	103	98
	2	32	61	32	119	93	102	114
	6	34	69	34	122	100	100	96
	18	28	54	30	117	98	101	104

Пример 81: Продолжительность действия in vivo олигонуклеотидов, направленных на A1AT, содержащих кластер $GalNAc_3$

Олигонуклеотиды, перечисленные в Таблице 72, испытали в исследовании однократной дозы на продолжительность действия у мышей.

Лечение

Шестинедельным самцам мышей C57BL/6 ввели однократную подкожную инъекцию олигонуклеотида, перечисленного в Таблице 72, или PBS. Каждая экспериментальная группа состояла из 4 животных. Образцы крови брали за день до введения дозы для определения исходного значения, а также на 5, 12, 19 и 25 день после введения дозы. Уровни белка A1AT в плазме измерили при помощи твердофазного иммуноферментного анализа (см. Пример 80). Результаты, показанные ниже, представлены как средний процент уровней белка A1AT в плазме для каждой экспериментальной группы, нормализованных к исходным уровням. Результаты демонстрируют, что олигонуклеотиды, содержащие конъюгат GalNAc, были более эффективными и имели более продолжительное действие, чем исходное соединение без конъюгата GalNAc (ISIS 476366). Кроме того, олигонуклеотиды, содержащие 5'-GalNAc конъюгат (ISIS 678381, 678382, 678383 и 678384), были, в целом, еще более эффективными с еще более продолжительным действием, чем олигонуклеотид, содержащий 3'-GalNAc конъюгат (ISIS 656326).

Таблица 75

Уровни белка A1AT в плазме мышей

ISIS №	Доза (мг/кг)	Временные точки (дни после введения дозы)	A1AT (% от исходного значения)	Кластер $GalNAc_3$	СМ
PBS	н.д.	5	93	н.д.	н.д.
		12	93		
		19	90		
		25	97		
476366	100	5	38	н.д.	н.д.
		12	46		
		19	62		
		25	77		
656326	18	5	33	$GalNAc_3$-1a	A_d
		12	36		
		19	51		
		25	72		
678381	18	5	21	$GalNAc_3$-3a	A_d
		12	21		
		19	35		
		25	48		
678382	18	5	21	$GalNAc_3$-7a	A_d
		12	21		
		19	39		
		25	60		
678383	18	5	24	$GalNAc_3$-10a	A_d
		12	21		
		19	45		
		25	73		
678384	18	5	29	$GalNAc_3$-13a	A_d
		12	34		
		19	57		
		25	76		

Пример 82: Антисмысловое ингибирование in vitro под действием олигонуклеотидов, направленных на SRB-1, содержащих конъюгат $GalNAc_3$

Первичные гепатоциты печени мышей высеивали в 96-луночные планшеты при 15000 клеток на лунку за 2 часа до обработки. Олигонуклеотиды, перечисленные в Таблице 76, добавили в концентрации 2, 10, 50 или 250 нМ в среде Уильяма Е, и инкубировали клетки в течение ночи при 37°C в 5% CO_2. Клетки лизировали через 16 часов после добавления олигонуклеотида, а общую РНК очистили при помощи RNease 3000 BioRobot (Qiagen). Уровни мРНК SRB-1 определили при помощи ПЦР в реальном времени и реагента для количественного определения РНК RIBOGREEN® (Molecular Probes, Inc., Юджин, штат Орегон) по стандартным протоколам. Значения IC_{50} определили при помощи программы Prism 4 (GraphPad). Результаты демонстрируют, что олигонуклеотиды, содержащие множество различных групп конъюгата GalNAc и

множество различных расщепляемых фрагментов, являются значительно более эффективными в in vitro эксперименте свободного поглощения, чем исходные олигонуклеотиды, не содержащие группу конъюгата GalNAc (ISIS 353382 и 666841).

Таблица 76

Ингибирование экспрессии SRB-1*in vitro*

ISIS №	Последовательность (от 5' к 3')	Связи	Кластер GalNAc	СМ	IC_{50} (нМ)	SEQ ID NO
353382	$G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{e}$	PS	н.д.	н.д.	250	2256
655861	$G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{eo}\mathbf{A_{do}}$-**GalNAc$_3-1_a$**	PS	GalNAc$_3$-1$_a$	A_d	40	2257
661161	**GalNAc$_3$-3$_a$**-$_{o'}\mathbf{A_{do}}G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{e}$	PS	GalNAc$_3$-3$_a$	A_d	40	2258
661162	**GalNAc$_3$-3$_a$**-$_{o'}\mathbf{A_{do}}G_{es}{}^{m}C_{eo}T_{eo}T_{eo}{}^{m}C_{eo}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{eo}{}^{m}C_{eo}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{e}$	PO/PS	GalNAc$_3$-3$_a$	A_d	8	2258
664078	$G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{eo}\mathbf{A_{do}}$-**GalNAc$_3-9_a$**	PS	GalNAc$_3$-9$_a$	A_d	20	2257
665001	**GalNAc$_3$-8$_a$**-$_{o'}\mathbf{A_{do}}G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{e}$	PS	GalNAc$_3$-8$_a$	A_d	70	2258
666224	**GalNAc$_3$-5$_a$**-$_{o'}\mathbf{A_{do}}G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{e}$	PS	GalNAc$_3$-5$_a$	A_d	80	2258
666841	$G_{es}{}^{m}C_{eo}T_{eo}T_{eo}{}^{m}C_{es}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{eo}{}^{m}C_{eo}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{e}$	PO/PS	н.д.	н.д.	>250	2256
666881	**GalNAc$_3$-10$_a$**-$_{o'}\mathbf{A_{do}}G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{e}$	PS	GalNAc$_3$-10$_a$	A_d	30	2258
666904	**GalNAc$_3$-3$_a$**-$_{o'}G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{e}$	PS	GalNAc$_3$-3$_a$	PO	9	2256
666924	**GalNAc$_3$-3$_a$**-$_{o'}\mathbf{T_{do}}G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{e}$	PS	GalNAc$_3$-3$_a$	T_d	15	2261
666961	**GalNAc$_3$-6$_a$**-$_{o'}\mathbf{A_{do}}G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{e}$	PS	GalNAc$_3$-6$_a$	A_d	150	2258
666981	**GalNAc$_3$-7$_a$**-$_{o'}\mathbf{A_{do}}G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{e}$	PS	GalNAc$_3$-7$_a$	A_d	20	2258
670061	**GalNAc$_3$-13$_a$**-$_{o'}\mathbf{A_{do}}G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}A_{ds}G_{ds}T_{ds}$	PS	GalNAc$_3$-13$_a$	A_d	30	2258

	$^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{e}$					
67069 9	**GalNAc$_3$-3$_a$-** $_{o'}\mathbf{T_{do}}G_{es}{}^{m}C_{eo}T_{eo}T_{eo}{}^{m}C_{eo}A_{ds}G_{ds}T_{ds}$ $^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{eo}{}^{m}C_{eo}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{e}$	PO/PS	GalNAc$_3$-3$_a$	T_d	15	2261
67070 0	**GalNAc$_3$-3$_a$-** $_{o'}\mathbf{A_{eo}}G_{es}{}^{m}C_{eo}T_{eo}T_{eo}{}^{m}C_{eo}A_{ds}G_{ds}T_{ds}$ $^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{eo}{}^{m}C_{eo}{}^{m}C_{es}T_{es}T$	PO/PS	GalNAc$_3$-3$_a$	A_e	30	2258
67070 1	**GalNAc$_3$-3$_a$-** $_{o'}\mathbf{T_{eo}}G_{es}{}^{m}C_{eo}T_{eo}T_{eo}{}^{m}C_{eo}A_{ds}G_{ds}T_{ds}$ $^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{eo}{}^{m}C_{eo}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{e}$	PO/PS	GalNAc$_3$-3$_a$	T_e	25	2261
67114 4	**GalNAc$_3$-12$_a$-** $_{o'}\mathbf{A_{do}}G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}A_{ds}G_{ds}T_{ds}$ $^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{e}$	PS	GalNAc$_3$-12$_a$	A_d	40	2258
67116 5	**GalNAc$_3$-13$_a$-** $_{o'}\mathbf{A_{do}}G_{es}{}^{m}C_{eo}T_{eo}T_{eo}{}^{m}C_{eo}A_{ds}G_{ds}T_{ds}$ $^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{eo}{}^{m}C_{eo}{}^{m}C_{es}T_{es}T$	PO/PS	GalNAc$_3$-13$_a$	A_d	8	2258
67126 1	**GalNAc$_3$-14$_a$-** $_{o'}\mathbf{A_{do}}G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}A_{ds}G_{ds}T_{ds}$ $^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{e}$	PS	GalNAc$_3$-14$_a$	A_d	>250	2258
67126 2	**GalNAc$_3$-15$_a$-** $_{o'}\mathbf{A_{do}}G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}A_{ds}G_{ds}T_{ds}$ $^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{e}$	PS	GalNAc$_3$-15$_a$	A_d	>250	2258
67350 1	**GalNAc$_3$-7$_a$-** $_{o'}\mathbf{A_{do}}G_{es}{}^{m}C_{eo}T_{eo}T_{eo}{}^{m}C_{eo}A_{ds}G_{ds}T_{ds}$ $^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{eo}{}^{m}C_{eo}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{e}$	PO/PS	GalNAc$_3$-7$_a$	A_d	30	2258
67350 2	**GalNAc$_3$-10$_a$-** $_{o'}\mathbf{A_{do}}G_{es}{}^{m}C_{eo}T_{eo}T_{eo}{}^{m}C_{eo}A_{ds}G_{ds}T_{ds}$ $^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{eo}{}^{m}C_{eo}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{e}$	PO/PS	GalNAc$_3$-10$_a$	A_d	8	2258
67544 1	**GalNAc$_3$-17$_a$-** $_{o'}\mathbf{A_{do}}G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}A_{ds}G_{ds}T_{ds}$ $^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{e}$	PS	GalNAc$_3$-17$_a$	A_d	30	2258
67544 2	**GalNAc$_3$-18$_a$-** $_{o'}\mathbf{A_{do}}G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}A_{ds}G_{ds}T_{ds}$ $^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{e}$	PS	GalNAc$_3$-18$_a$	A_d	20	2258
67784 1	$G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}$ $A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{eo}\mathbf{A_{do'}}$- **GalNAc$_3-19_a$**	PS	GalNAc$_3$-19$_a$	A_d	40	2257
67784 2	$G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}$ $A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{eo}\mathbf{A_{do'}}$- **GalNAc$_3-20_a$**	PS	GalNAc$_3$-20$_a$	A_d	30	2257
67784	**GalNAc$_3$-23$_a$-**	PS	GalNAc	A_d	40	2258

3	$_{o'}\mathbf{A_{do}}G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}A_{ds}G_{ds}T_{ds}$ $^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{e}$		GalNAc$_3$-23$_a$			

Структура GalNAc$_3$-1$_a$ показана ранее в Примере 9, GalNAc$_3$-3$_a$ показана в Примере 39, GalNAc$_3$-5$_a$ показана в Примере 49, GalNAc$_3$-6$_a$ показана в Примере 51, GalNAc$_3$-7$_a$ показана в Примере 48, GalNAc$_3$-8$_a$ показана в Примере 47, GalNAc$_3$-9$_a$ показана в

Примере 52, $GalNAc_3$-10_a показана в Примере 46, $GalNAc_3$-12_a показана в Примере 61, $GalNAc_3$-13_a показана в Примере 62, $GalNAc_3$-14_a показана в Примере 63, $GalNAc_3$-15_a показана в Примере 64, $GalNAc_3$-17_a показана в Примере 68, $GalNAc_3$-18_a показана в Примере 69, $GalNAc_3$-19_a показана в Примере 70, $GalNAc_3$-20_a показана в Примере 71, и $GalNAc_3$-23_a показана в Примере 76.

Пример 83: Антисмысловое ингибирование in vivo под действием олигонуклеотидов, направленных на фактор XI, содержащих кластер $GalNAc_3$

Олигонуклеотиды, перечисленные ниже в Таблице 77, испытали в исследовании дозозависимого ингибирования фактора XI у мышей.

Таблица 77

Модифицированные олигонуклеотиды, направленные на фактор XI

ISIS №	Последовательность (от 5' к 3')	Кластер GalNAc	CM	SEQ ID NO
404071	$T_{es}G_{es}G_{es}T_{es}A_{es}A_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{es}G_{es}A_{es}G_{es}G_{e}$	н.д.	н.д.	2259
656173	$T_{es}G_{eo}G_{eo}T_{eo}A_{eo}A_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{eo}G_{eo}A_{es}G_{es}G_{eo}\mathbf{A_{do}}$-**$GalNAc_3$-$1_a$**	$GalNAc_3$-1_a	A_d	2260
663086	**$GalNAc_3$-3_a-** $o'\mathbf{A_{do}}T_{es}G_{eo}G_{eo}T_{eo}A_{eo}A_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{eo}G_{eo}A_{es}G_{es}G_{e}$	$GalNAc_3$-3_a	A_d	2268
678347	**$GalNAc_3$-7_a-** $o'\mathbf{A_{do}}T_{es}G_{eo}G_{eo}T_{eo}A_{eo}A_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{eo}G_{eo}A_{es}G_{es}G_{e}$	$GalNAc_3$-7_a	A_d	2268
678348	**$GalNAc_3$-10_a-** $o'\mathbf{A_{do}}T_{es}G_{eo}G_{eo}T_{eo}A_{eo}A_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{eo}G_{eo}A_{es}G_{es}G_{e}$	$GalNAc_3$-10_a	A_d	2268
678349	**$GalNAc_3$-13_a-** $o'\mathbf{A_{do}}T_{es}G_{eo}G_{eo}T_{eo}A_{eo}A_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{eo}G_{eo}A_{es}G_{es}G_{e}$	$GalNAc_3$-13_a	A_d	2268

Структура $GalNAc_3$-1_a показана ранее в Примере 9, $GalNAc_3$-3_a показана в Примере 39, $GalNAc_3$-7_a показана в Примере 48, $GalNAc_3$-10_a показана в Примере 46, и $GalNAc_3$-13_a показана в Примере 62.

Лечение

Шести-восьминедельным мышам один раз в неделю вводили подкожную инъекцию дозы, представленной ниже, в целом три дозы олигонуклеотида, перечисленного ниже, или PBS. Каждая экспериментальная группа состояла из 4 животных. Мышей усыпили через 72 часа после последней дозы. Уровни мРНК фактора XI в печени измерили при помощи ПЦР в реальном времени и нормализовали к циклофилину по стандартным протоколам. Измерили также трансаминазы в печени, АМК и билирубин. Результаты, показанные ниже, представлены как средний процент для каждой экспериментальной группы, нормализованный к контролю с PBS.

Как показано в Таблице 78, лечение антисмысловыми олигонуклеотидами снижает уровни мРНК фактора XI в печени дозозависимым образом. Результаты демонстрируют, что олигонуклеотиды, содержащие конъюгат GalNAc, были более эффективными, чем исходное соединение без конъюгата GalNAc (ISIS 404071). Кроме того, олигонуклеотиды, содержащие 5'-GalNAc конъюгат (ISIS 663086, 678347, 678348 и 678349), были еще более эффективными, чем олигонуклеотид, содержащий 3'-GalNAc конъюгат (ISIS 656173).

Таблица 78

Уровни мРНК фактора XI в печени, трансаминазы в печени, АМК и билирубина

ISIS №	Доза (мг/кг)	мРНК фактора XI (% от PBS)	ALT (ед./л)	AST (ед./л)	АМК (мг/дл)	Билиру бин (мг/дл)	Кластер $GalNAc_3$	SEQ ID NO
PBS	н.д.	100	63	70	21	0,18	н.д.	н.д.
404071	3	65	41	58	21	0,15	н.д.	2259
	10	33	49	53	23	0,15		
	30	17	43	57	22	0,14		
656173	0,7	43	90	89	21	0,16	$GalNAc_3$-1a	2260
	2	9	36	58	26	0,17		
	6	3	50	63	25	0,15		
663086	0,7	33	91	169	25	0,16	$GalNAc_3$-3a	2268
	2	7	38	55	21	0,16		
	6	1	34	40	23	0,14		
678347	0,7	35	28	49	20	0,14	$GalNAc_3$-7a	2268
	2	10	180	149	21	0,18		
	6	1	44	76	19	0,15		
678348	0,7	39	43	54	21	0,16	$GalNAc_3$-10a	2268
	2	5	38	55	22	0,17		
	6	2	25	38	20	0,14		
678349	0,7	34	39	46	20	0,16	$GalNAc_3$-13a	2268
	2	8	43	63	21	0,14		
	6	2	28	41	20	0,14		

Пример 84: Продолжительность действия in vivo олигонуклеотидов, направленных на фактор XI, содержащих конъюгат $GalNAc_3$

Олигонуклеотиды, перечисленные в Таблице 77, испытали в исследовании однократной дозы на продолжительность действия у мышей.

Лечение

Шести-восьминедельным мышам ввели однократную подкожную инъекцию олигонуклеотида, перечисленного в Таблице 77, или PBS. Каждая экспериментальная группа состояла из 4 животных. Образцы крови брали из хвостовой вены за день до введения дозы для определения исходного значения, а также на 3, 10 и 17 день после введения дозы. Уровни белка фактора XI в плазме определяли твердофазным иммуноферментным анализом, используя иммобилизованные и биотинилированные детекторные антитела для фактора XI производства R&D Systems, Миннеаполис, штат Миннесота (кат. №AF2460 и №BAF2460, соответственно), а также реагент OptEIA, набор B (кат. №550534, BD Biosciences, Сан-Хосе, штат Калифорния). Результаты, показанные ниже, представлены как средний процент уровней белка фактора XI в плазме для каждой экспериментальной группы, нормализованных к исходным уровням. Результаты демонстрируют, что олигонуклеотиды, содержащие конъюгат GalNAc, были более эффективными и имели более продолжительное действие, чем исходное соединение без конъюгата GalNAc (ISIS 404071). Кроме того, олигонуклеотиды, содержащие 5'-GalNAc конъюгат (ISIS 663086, 678347, 678348 и 678349), были еще более эффективными с еще более продолжительным действием, чем олигонуклеотид, содержащий 3'-GalNAc конъюгат (ISIS 656173).

Таблица 79

Уровни белка фактора XI в плазме мышей

ISIS №	Доза (мг/кг)	Временные точки (дни после введения дозы)	Фактор XI (% от исходного значения)	Кластер $GalNAc_3$	СМ	SEQ ID NO
PBS	н.д.	3	123	н.д.	н.д.	н.д.
		10	56			
		17	100			
404071	30	3	11	н.д.	н.д.	2259
		10	47			
		17	52			
656173	6	3	1	$GalNAc_3$-1a	A_d	2260
		10	3			
		17	21			
663086	6	3	1	$GalNAc_3$-3a	A_d	2268
		10	2			
		17	9			
678347	6	3	1	$GalNAc_3$-7a	A_d	2268
		10	1			
		17	8			
678348	6	3	1	$GalNAc_3$-10a	A_d	2268
		10	1			
		17	6			
678349	6	3	1	$GalNAc_3$-13a	A_d	2268
		10	1			
		17	5			

Пример 85: Антисмысловое ингибирование in vivo под действием олигонуклеотидов, направленных на SRB-1, содержащих конъюгат $GalNAc_3$

Олигонуклеотиды, перечисленные в Таблице 76, испытали в дозозависимом исследовании антисмыслового ингибирования SRB-1 у мышей.

Лечение

Шести-восьминедельным мышам C57BL/6 один раз в неделю вводили подкожную инъекцию дозы, представленной ниже, в целом три дозы олигонуклеотида, перечисленного в Таблице 76, или солевого раствора. Каждая экспериментальная группа состояла из 4 животных. Мышей усыпили через 48 часов после последнего введения для определения уровней мРНК SRB-1 при помощи ПЦР в реальном времени и реагента для количественного определения РНК RIBOGREEN® (Molecular Probes, Inc. Юджин, штат Орегон) по стандартным протоколам. Результаты, показанные ниже, представлены как средний процент уровней мРНК SRB-1 в печени для каждой экспериментальной группы, нормализованных к контрольному образцу, обработанному солевым раствором.

Как показано в Таблицах 80 и 81, лечение антисмысловыми олигонуклеотидами снижает уровни мРНК SRB-1 дозозависимым образом.

Таблица 80

мРНК SRB-1 в печени

ISIS №	Доза (мг/кг)	мРНК SRB-1 (% от солевого раствора)	Кластер $GalNAc_3$	СМ
Солевой раствор	н.д.	100	н.д.	н.д.
655861	0,1	94	$GalNAc_3$-1a	A_d
	0,3	119		
	1	68		
	3	32		
661161	0,1	120	$GalNAc_3$-3a	A_d
	0,3	107		
	1	68		
	3	26		
666881	0,1	107	$GalNAc_3$-10a	A_d
	0,3	107		
	1	69		
	3	27		
666981	0,1	120	$GalNAc_3$-7a	A_d
	0,3	103		
	1	54		
	3	21		
670061	0,1	118	$GalNAc_3$-13a	A_d
	0,3	89		
	1	52		
	3	18		
677842	0,1	119	$GalNAc_3$-20a	A_d
	0,3	96		
	1	65		
	3	23		

Таблица 81

мРНК SRB-1 в печени

ISIS №	Доза (мг/кг)	мРНК SRB-1 (% от солевого раствора)	Кластер $GalNAc_3$	СМ
661161	0,1	107	$GalNAc_3$-3a	A_d
	0,3	95		
	1	53		
	3	18		
677841	0,1	110	$GalNAc_3$-19a	A_d
	0,3	88		
	1	52		
	3	25		

Измерили также уровни трансаминазы в печени, общего билирубина, АМК и массы тела по стандартным протоколам. Средние значения для каждой экспериментальной группы представлены ниже в Таблице 82.

Таблица 82

ISIS №	Доза (мг/кг)	ALT (ед./л)	AST (ед./л)	Билирубин (мг/дл)	АМК (мг/дл)	Масса тела (% от исходного значения)	Кластер $GalNAc_3$	СМ
Солевой раствор	н.д.	19	39	0,17	26	118	н.д.	н.д.
655861	0,1	25	47	0,17	27	114	$GalNAc_3$-1a	A_d
	0,3	29	56	0,15	27	118		
	1	20	32	0,14	24	112		
	3	27	54	0,14	24	115		
661161	0,1	35	83	0,13	24	113	$GalNAc_3$-3a	A_d
	0,3	42	61	0,15	23	117		
	1	34	60	0,18	22	116		
	3	29	52	0,13	25	117		
666881	0,1	30	51	0,15	23	118	$GalNAc_3$-10a	A_d
	0,3	49	82	0,16	25	119		
	1	23	45	0,14	24	117		
	3	20	38	0,15	21	112		
666981	0,1	21	41	0,14	22	113	$GalNAc_3$-7a	A_d
	0,3	29	49	0,16	24	112		
	1	19	34	0,15	22	111		
	3	77	78	0,18	25	115		
670061	0,1	20	63	0,18	24	111	$GalNAc_3$-13a	A_d
	0,3	20	57	0,15	21	115		
	1	20	35	0,14	20	115		
	3	27	42	0,12	20	116		
677842	0,1	20	38	0,17	24	114	$GalNAc_3$-20a	A_d
	0,3	31	46	0,17	21	117		
	1	22	34	0,15	21	119		
	3	41	57	0,14	23	118		

Пример 86: Антисмысловое ингибирование in vivo под действием олигонуклеотидов, направленных на TTR, содержащих кластер $GalNAc_3$

Олигонуклеотиды, перечисленные ниже в Таблице 83, испытали в дозозависимом исследовании антисмыслового ингибирования человеческого транстиретина (TTR) у трансгенных мышей, экспрессирующих человеческий TTR ген.

Лечение

Восьминедельным TTR трансгенным мышам один раз в неделю в течение трех недель, в целом три дозы, вводили подкожную инъекцию олигонуклеотида и дозы, перечисленных в представленных ниже таблицах, или PBS. Каждая экспериментальная группа состояла из 4 животных. Мышей усыпили через 72 часа после последнего введения. В течение эксперимента в различных временных точках брали образцы крови из хвостовой вены и измеряли уровни белка TTR в плазме, ALT и AST, которые представлены в Таблицах 85-87. После усыпления животных измерили уровни ALT, AST и человеческого TTR в плазме, а также массы тела, массы органов и уровни мРНК человеческого TTR в печени. Уровни белка TTR измерили при помощи клинического анализатора (AU480, Beckman Coulter, штат Калифорния). Реагент для количественного определения РНК RIBOGREEN® (Molecular Probes, Inc., использовали по стандартным

протоколам для определения уровней мРНК человеческого TTR в печени. Результаты, показанные в Таблицах 84-87, представляют собой средние значения для каждой экспериментальной группы. Уровни мРНК представляют собой средние значения относительно среднего значения для PBS группы. Уровни белка в плазме представляют собой средние значения относительно среднего значения для PBS группы в исходном состоянии. Массы тела представляют собой среднее процентное изменение массы от исходного значения до умерщвления для каждой отдельной экспериментальной группы. Представленные массы органов нормализованы к массе тела животного, а затем представлена средняя нормализованная масса органов для каждой экспериментальной группы относительно средней нормализованной массы органов для PBS группы.

В Таблицах 84-87 «BL» означает исходное значения измерений, выполненных непосредственно перед введением первой дозы. Как показано в Таблицах 84 и 85, лечение антисмысловыми олигонуклеотидами снижает уровни экспрессии TTR дозозависимым образом. Олигонуклеотиды, содержащие конъюгат GalNAc, были более эффективными, чем исходное соединение без конъюгата GalNAc (ISIS 420915). Кроме того, олигонуклеотиды, содержащие конъюгат GalNAc и смешанные PS/PO межнуклеозидные связи, были еще более эффективными, чем олигонуклеотид, содержащий конъюгат GalNAc и только PS связи.

Таблица 83

Олигонуклеотиды, направленные на человеческий TTR

Isis №	Последовательность от 5' к 3'	Связи	Кластер	CM	SEQ ID NO
420915	$T_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}G_{es}G_{ds}T_{ds}T_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}A_{ds}A_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{e}$	PS	н.д.	н.д.	2269
660261	$T_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}G_{es}G_{ds}T_{ds}T_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}A_{ds}A_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{eo}\mathbf{A_{do'}}$-**GalNAc$_3-1_a$**	PS	GalNAc$_3$-1a	A_d	2270
682883	**GalNAc$_3$-3$_a$**-$_{o'}T_{es}{}^{m}C_{eo}T_{eo}T_{eo}G_{eo}G_{ds}T_{ds}T_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}A_{ds}A_{eo}T_{eo}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{e}$	PS/PO	GalNAc$_3$-3a	PO	2269
682884	**GalNAc$_3$-7$_a$**-$_{o'}T_{es}{}^{m}C_{eo}T_{eo}T_{eo}G_{eo}G_{ds}T_{ds}T_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}A_{ds}A_{eo}T_{eo}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{e}$	PS/PO	GalNAc$_3$-7a	PO	2269
682885	**GalNAc$_3$-10$_a$**-$_{o'}T_{es}{}^{m}C_{eo}T_{eo}T_{eo}G_{eo}G_{ds}T_{ds}T_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}A_{ds}A_{eo}T_{eo}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{e}$	PS/PO	GalNAc$_3$-10a	PO	2269
682886	**GalNAc$_3$-13$_a$**-$_{o'}T_{es}{}^{m}C_{eo}T_{eo}T_{eo}G_{eo}G_{ds}T_{ds}T_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}A_{ds}A_{eo}T_{eo}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{e}$	PS/PO	GalNAc$_3$-13a	PO	2269
684057	$T_{es}{}^{m}C_{eo}T_{eo}T_{eo}G_{eo}G_{ds}T_{ds}T_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}A_{ds}A_{eo}T_{eo}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{eo}\mathbf{A_{do'}}$-**GalNAc$_3-19_a$**	PS/PO	GalNAc$_3$-19a	A_d	2270

Легенда для Таблицы 85 представлена в Примере 74. Структура GalNAc$_3$-1 показана в Примере 9. Структура GalNAc$_3$-3$_a$ показана в Примере 39. Структура GalNAc$_3$-7$_a$ показана в Примере 48. Структура GalNAc$_3$-10$_a$ показана в Примере 46. Структура GalNAc$_3$-13$_a$ показана в Примере 62. Структура GalNAc$_3$-19$_a$ показана в Примере 70.

Таблица 84

Антисмысловое ингибирование человеческого TTR *in vivo*

Isis №	Доза (мг/кг)	мРНК TTR (% PBS)	Белок TTR в плазме (% PBS)	Кластер GalNAc	СМ	SEQ ID NO
PBS	н.д.	100	100	н.д.	н.д.	
420915	6	99	95	н.д.	н.д.	2269
	20	48	65			
	60	18	28			
660261	0,6	113	87	$GalNAc_3$-1a	A_d	2270
	2	40	56			
	6	20	27			
	20	9	11			

Таблица 85

Антисмысловое ингибирование человеческого TTR *in vivo*

Isis №	Доза (мг/кг)	мРНК TTR (% PBS)	Белок TTR в плазме (% PBS при BL)				Кластер GalNAc	СМ	SEQ ID NO
			BL	3 день	10 день	17 день (после усыпления)			
PBS	н.д.	100	100	96	90	114	н.д.	н.д.	
420915	6	74	106	86	76	83	н.д.	н.д.	2269
	20	43	102	66	61	58			
	60	24	92	43	29	32			
682883	0,6	60	88	73	63	68	$GalNAc_3$-3a	PO	2269
	2	18	75	38	23	23			
	6	10	80	35	11	9			
682884	0,6	56	88	78	63	67	$GalNAc_3$-7a	PO	2269
	2	19	76	44	25	23			
	6	15	82	35	21	24			
682885	0,6	60	92	77	68	76	$GalNAc_3$-10a	PO	2269
	2	22	93	58	32	32			
	6	17	85	37	25	20			
682886	0,6	57	91	70	64	69	$GalNAc_3$-13a	PO	2269
	2	21	89	50	31	30			
	6	18	102	41	24	27			
684057	0,6	53	80	69	56	62	$GalNAc_3$-19a	A_d	2270
	2	21	92	55	34	30			
	6	11	82	50	18	13			

Таблица 86

Уровни трансаминазы, изменение массы тела и относительные массы органов

Isis №	Доза (мг/кг)	ALT (ед./л)				AST (ед./л)				Масса тела (% BL)	Печень (% PBS)	Селезенка (% PBS)	Почки (% PBS)	SEQ ID NO
		BL	3 день	10 день	17 день	BL	3 день	10 день	17 день					
PBS	н.д.	33	34	33	24	58	62	67	52	105	100	100	100	н.д.
420915	6	34	33	27	21	64	59	73	47	115	99	89	91	2269
	20	34	30	28	19	64	54	56	42	111	97	83	89	
	60	34	35	31	24	61	58	71	58	113	102	98	95	
660261	0,6	33	38	28	26	70	71	63	59	111	96	99	92	2270
	2	29	32	31	34	61	60	68	61	118	100	92	90	
	6	29	29	28	34	58	59	70	90	114	99	97	95	
	20	33	32	28	33	64	54	68	95	114	101	106	92	

Таблица 87

Уровни трансаминазы, изменение массы тела и относительные массы органов

Isis №	Доза (мг/кг)	ALT (ед./л)				AST (ед./л)				Масса тела (% BL)	Печень (% PBS)	Селезенка (% PBS)	Почки (% PBS)	SEQ ID NO
		BL	3 день	10 день	17 день	BL	3 день	10 день	17 день					
PBS	н.д.	32	34	37	41	62	78	76	77	104	100	100	100	н.д.
420915	6	32	30	34	34	61	71	72	66	102	103	102	105	2269
	20	41	34	37	33	80	76	63	54	106	107	135	101	
	60	36	30	32	34	58	81	57	60	106	105	104	99	
682883	0,6	32	35	38	40	53	81	74	76	104	101	112	95	2269
	2	38	39	42	43	71	84	70	77	107	98	116	99	
	6	35	35	41	38	62	79	103	65	105	103	143	97	
682884	0,6	33	32	35	34	70	74	75	67	101	100	130	99	2269
	2	31	32	38	38	63	77	66	55	104	103	122	100	
	6	38	32	36	34	65	85	80	62	99	105	129	95	
682885	0,6	39	26	37	35	63	63	77	59	100	109	109	112	2269
	2	30	26	38	40	54	56	71	72	102	98	111	102	
	6	27	27	34	35	46	52	56	64	102	98	113	96	
682886	0,6	30	40	34	36	58	87	54	61	104	99	120	101	2269
	2	27	26	34	36	51	55	55	69	103	91	105	92	
	6	40	28	34	37	107	54	61	69	109	100	102	99	
684057	0,6	35	26	33	39	56	51	51	69	104	99	110	102	2270
	2	33	32	31	40	54	57	56	87	103	100	112	97	
	6	39	33	35	40	67	52	55	92	98	104	121	108	

Пример 87: Продолжительность действия in vivo однократных доз олигонуклеотидов, направленных на TTR, содержащих кластер $GalNAc_3$

ISIS №420915 и 660261 (см. Таблицу 83), испытали в исследовании однократной дозы на продолжительность действия у мышей. ISIS №420915, 682883 и 682885 (см. Таблицу 83) также испытали в исследовании однократной дозы на продолжительность действия у мышей.

Лечение

Восьминедельным самцам трансгенных мышей, которые экспрессируют человеческий TTR, ввели однократную подкожную инъекцию 100 мг/кг ISIS №420915 или 13,5 мг/кг ISIS №660261. Каждая экспериментальная группа состояла из 4 животных. Образцы крови из хвостовой вены брали до введения дозы для определения исходных показателей и на 3, 7, 10, 17, 24 и 39 день после введения дозы. Уровни белка TTR в плазме измеряли так, как описано в Примере 86. Результаты, показанные ниже, представлены как средний

процент уровней белка TTR в плазме для каждой экспериментальной группы, нормализованных к исходным уровням.

Таблица 88

Уровни белка TTR в плазме

ISIS №	Доза (мг/кг)	Временные точки (дни после введения дозы)	TTR (% от исходного значения)	Кластер $GalNAc_3$	CM	SEQ ID NO
420915	100	3	30	н.д.	н.д.	2269
		7	23			
		10	35			
		17	53			
		24	75			
		39	100			
660261	13,5	3	27	$GalNAc_3$-1a	A_d	2270
		7	21			
		10	22			
		17	36			
		24	48			
		39	69			

Лечение

Самкам трансгенных мышей, которые экспрессируют человеческий TTR, ввели однократную подкожную инъекцию 100 мг/кг ISIS №420915, 10,0 мг/кг ISIS №682883 или 10,0 мг/кг 682885. Каждая экспериментальная группа состояла из 4 животных. Образцы крови из хвостовой вены брали до введения дозы для определения исходных показателей и на 3, 7, 10, 17, 24 и 39 день после введения дозы. Уровни белка TTR в плазме измеряли так, как описано в Примере 86. Результаты, показанные ниже, представлены как средний процент уровней белка TTR в плазме для каждой экспериментальной группы, нормализованных к исходным уровням.

Таблица 89

Уровни белка TTR в плазме

ISIS №	Доза (мг/кг)	Временные точки (дни после введения дозы)	TTR (% от исходного значения)	Кластер $GalNAc_3$	CM	SEQ ID NO
420915	100	3	48	н.д.	н.д.	2269
		7	48			
		10	48			
		17	66			
		31	80			
682883	10,0	3	45	$GalNAc_3$-3a	PO	2269
		7	37			
		10	38			
		17	42			
		31	65			
682885	10,0	3	40	$GalNAc_3$-10a	PO	2269
		7	33			
		10	34			
		17	40			
		31	64			

Результаты в Таблицах 88 и 89 демонстрируют, что олигонуклеотиды, содержащие конъюгат GalNAc, являются более эффективными и имеют более продолжительное действие, чем исходный олигонуклеотид без конъюгата (ISIS 420915).

Пример 88: Сплайсинг-модулирование in vivo под действием олигонуклеотидов, направленных на SMN, содержащих конъюгат $GalNAc_3$

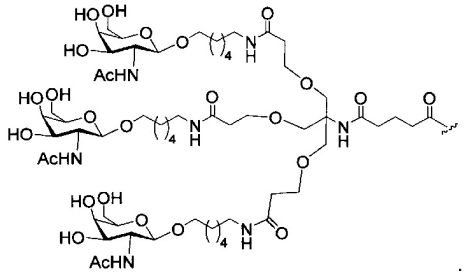
Олигонуклеотиды, перечисленные в Таблице 90, испытали на сплайсинг-модулирование человеческих генов выживаемости мотонейронов (SMN) у мышей.

Таблица 90

Модифицированные ASO, направленные на SMN

ISIS №	Последовательность (от 5' к 3')	Кластер $GalNAc_3$	CM	SEQ ID NO
387954	$A_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}A_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}A_{es}T_{es}A_{es}A_{es}T_{es}G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}G_{es}G_{e}$	н.д.	н.д.	2271
699819	**$GalNAc_3$-7_a-** **o'**$A_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}A_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}A_{es}T_{es}A_{es}A_{es}T_{es}G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}G_{es}G_{e}$	$GalNAc_3$-7a	PO	2271
699821	**$GalNAc_3$-7_a-** **o'**$A_{es}T_{eo}T_{eo}{}^{m}C_{eo}A_{eo}{}^{m}C_{eo}T_{eo}T_{eo}T_{eo}{}^{m}C_{eo}A_{eo}T_{eo}A_{eo}A_{eo}T_{eo}G_{eo}{}^{m}C_{eo}T_{es}G_{es}G_{e}$	$GalNAc_3$-7a	PO	2271
700000	$A_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}A_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}A_{es}T_{es}A_{es}A_{es}T_{es}G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}G_{es}$ **$G_{eo}A_{do'}$-$GalNAc_3$-1_a**	$GalNAc_3$-1a	A_d	2272
703421	X-ATT^{m}CA^{m}CTTT^{m}CATAATG^{m}CTGG	н.д.	н.д.	2271
703422	**$GalNAc_3$-7_b**-X-ATT^{m}CA^{m}CTTT^{m}CATAATG^{m}CTGG	$GalNAc_3$-7b	н.д.	2271

Структура $GalNAc_3$-7_a показана ранее в Примере 48. «X» означает 5'-первичный амин, полученный компанией Gene Tools (Филомат, штат Орегон), a$GalNAc_3$-7_b означает структуру $GalNAc_3$-7_a, не содержащую часть -NH-C_6-O линкера, как показано ниже:



ISIS №703421 и 703422 представляют собой морфолино-олигонуклеотиды, при этом каждый нуклеотид из двух олигонуклеотидов представляет собой морфолино-нуклеотид.

Лечение

Шестинедельным трансгенным мышам, экспрессирующим человеческий SMN, ввели однократную подкожную инъекцию олигонуклеотида, перечисленного в Таблице 91, или солевого раствора. Каждая экспериментальная группа состояла из 2 самцов и 2 самок. Мышей усыпили через 3 дня после введения дозы для определения уровней мРНК человеческого SMN в печени с экзоном 7 и без него, используя ПЦР в реальном времени по стандартным протоколам. Общую РНК измерили при помощи реагента Ribogreen. Уровни мРНК SMN нормализовали к общей мРНК, а затем нормализовали к средним значениям в группе, обработанной солевым раствором. Полученные средние отношения мРНК SMN, содержащей экзон 7, к мРНК SMN, не содержащей экзон 7, представлены в Таблице 91. Результаты демонстрируют, что полностью модифицированные олигонуклеотиды, которые модулируют сплайсинг и содержат конъюгат GalNAc, являются значительно более эффективными для изменения сплайсинга в печени, чем исходные олигонуклеотиды, не содержащие конъюгат GalNAc. Кроме того, эта тенденция сохраняется для химизма многократных модификаций, включая 2'-MOE и морфолино-модифицированные олигонуклеотиды.

Таблица 91

Действие олигонуклеотидов, направленных на человеческий SMN, *in vivo*

ISIS №	Доза (мг/кг)	+экзон 7 / -экзон 7	Кластер $GalNAc_3$	CM	SEQ ID NO
Солевой раствор	н.д.	1,00	н.д.	н.д.	н.д.
387954	32	1,65	н.д.	н.д.	2271
387954	288	5,00	н.д.	н.д.	2271
699819	32	7,84	$GalNAc_3$-7a	PO	2271
699821	32	7,22	$GalNAc_3$-7a	PO	2271
700000	32	6,91	$GalNAc_3$-1a	A_d	2272
703421	32	1,27	н.д.	н.д.	2271
703422	32	4,12	$GalNAc_3$-7b	н.д.	2271

Пример 89: Антисмысловое ингибирование in vivo под действием олигонуклеотидов, направленных на аполипопротеин А (Apo(a)), содержащих конъюгат $GalNAc_3$

Олигонуклеотиды, перечисленные ниже в Таблице 92, испытали в исследовании дозозависимого ингибирования Apo(a) у трансгенных мышей.

Таблица 92

Модифицированные ASO, направленные на Apo(a)

ISIS №	Последовательность (от 5' к 3')	Кластер $GalNAc_3$	CM	SEQ ID NO
494372	$T_{es}G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{ds}G_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{ds}G_{ds}T_{ds}G_{ds}{}^{m}C_{ds}$ $T_{ds}T_{es}G_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{e}$	н.д.	н.д.	2281
681257	**$GalNAc_3$-7_a-o'**$T_{es}G_{eo}{}^{m}C_{eo}T_{eo}{}^{m}C_{eo}{}^{m}C_{ds}G_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{ds}G_{ds}$ $T_{ds}G_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{eo}G_{eo}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{e}$	$GalNAc_3$-7a	PO	2281

Структура $GalNAc_3$-7_a показана в Примере 48.

Лечение

Восьминедельным самкам мышей C57BL/6 (Jackson Laboratory, Бар-Харбор, штат Мэн) один раз в неделю вводили подкожную инъекцию дозы, представленной ниже, в целом шесть доз олигонуклеотида, перечисленного в Таблице 92, или PBS. Каждая экспериментальная группа состояла из 3-4 животных. Образцы крови из хвостовой вены брали за день до введения первой дозы и еженедельно после введения каждой дозы для определения уровней белка Apo(a) в плазме. Мышей усыпили через два дня после последнего введения. Уровни мРНК Apo(a) в печени определили при помощи ПЦР в реальном времени и реагента для количественного определения РНК RIBOGREEN® (Molecular Probes, Inc., Юджин, штат Орегон) по стандартным протоколам. Уровни белка Apo(a) в плазме определили при помощи твердофазного иммуноферментного анализа, и определили уровни трансаминазы в печени. Результаты анализа мРНК и белка в плазме в Таблице 93 представлены как среднее процентное значение для экспериментальной группы относительно группы, обработанной PBS. Уровни белка в плазме дополнительно нормализовали к исходному значению (BL) для группы с PBS. Средние абсолютные уровни трансаминазы и массы тела (% относительно среднего исходного значения) представлены в Таблице 94.

Как показано в Таблице 93, лечение олигонуклеотидами снижает уровни мРНК Apo (a) в печени и уровни белка в плазме дозозависимым образом. Кроме того, олигонуклеотид, содержащий конъюгат GalNAc, был значительно более эффективным с более продолжительным действием, чем исходный олигонуклеотид, не содержащий конъюгат GalNAc. Как показано в Таблице 94, представленные олигонуклеотиды не влияют на уровни трансаминазы и массы тела, что указывает на хорошую переносимость олигонуклеотидов.

Таблица 93

Уровни мРНК Апо(а) в печени и белка в плазме

ISIS №	Доза (мг/кг)	мРНК Апо(а) (% PBS)	Белок Апо(а) в плазме (% PBS)						
			BL	Неделя 1	Неделя 2	Неделя 3	Неделя 4	Неделя 5	Неделя 6
PBS	н.д.	100	100	120	119	113	88	121	97
494372	3	80	84	89	91	98	87	87	79
	10	30	87	72	76	71	57	59	46
	30	5	92	54	28	10	7	9	7
681257	0,3	75	79	76	89	98	71	94	78
	1	19	79	88	66	60	54	32	24
	3	2	82	52	17	7	4	6	5
	10	2	79	17	6	3	2	4	5

Таблица 94

ISIS №	Доза (мг/кг)	ALT (ед./л)	AST (ед./л)	Масса тела (% от исходного значения)
PBS	н.д.	37	54	103
494372	3	28	68	106
	10	22	55	102
	30	19	48	103
681257	0,3	30	80	104
	1	26	47	105
	3	29	62	102
	10	21	52	107

Пример 90: Антисмысловое ингибирование in vivo под действием олигонуклеотидов, направленных на TTR, содержащих кластер $GalNAc_3$

Олигонуклеотиды, перечисленные ниже в Таблице 95, испытали в дозозависимом исследовании антисмыслового ингибирования человеческого транстиретина (TTR) у трансгенных мышей, экспрессирующих человеческий TTR ген.

Лечение

TTR трансгенным мышам один раз в неделю в течение трех недель, в целом три дозы, вводили подкожную инъекцию олигонуклеотида и дозы, перечисленных в Таблице 96, или PBS. Каждая экспериментальная группа состояла из 4 животных. Перед введением первой дозы взяли образец крови из хвостовой вены для определения уровней белка TTR в плазме в исходном состоянии (BL). Мышей усыпили через 72 часа после последнего введения. Уровни белка TTR измерили при помощи клинического анализатора (AU480, Beckman Coulter, штат Калифорния). Реагент для количественного определения РНК RIBOGREEN® (Molecular Probes, Inc., использовали по стандартным протоколам для определения уровней мРНК человеческого TTR в печени. Результаты, показанные в Таблице 96, представляют собой средние значения для каждой экспериментальной группы. Уровни мРНК представляют собой средние значения относительно среднего значения для PBS группы. Уровни белка в плазме представляют собой средние значения относительно среднего значения для PBS группы в исходном состоянии. «BL» означает исходное значения измерений, выполненных непосредственно перед введением первой дозы. Как показано в Таблице 96, лечение антисмысловыми олигонуклеотидами снижает уровни экспрессии TTR дозозависимым образом. Олигонуклеотид, содержащий конъюгат GalNAc, был более эффективным, чем исходное соединение без конъюгата GalNAc (ISIS 420915), а олигонуклеотиды, содержащие фосфодиэфирный или дезоксиаденозиновый расщепляемый фрагмент, демонстрировали значительное усиление эффективности, по сравнению с исходным соединением, не содержащим конъюгат (см. ISIS №682883 и 666943 по сравнению с 420915, а также см. Примеры 86 и 87).

Таблица 95

Олигонуклеотиды, направленные на человеческий TTR

Isis №	Последовательность от 5' к 3'	Связи	Кластер GalNAc	СМ	SEQ ID NO
420915	$T_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}G_{es}G_{ds}T_{ds}T_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}$ $A_{ds}A_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{e}$	PS	н.д.	н.д.	2269
682883	**GalNAc$_3$-3$_a$-** $_o$'$T_{es}{}^{m}C_{eo}T_{eo}T_{eo}G_{eo}G_{ds}T_{ds}T_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}$ $T_{ds}G_{ds}A_{ds}A_{ds}A_{eo}T_{eo}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{e}$	PS/PO	GalNAc$_3$-3a	PO	2269
666943	**GalNAc$_3$-3$_a$-** $_o$'$A_{do}T_{es}{}^{m}C_{eo}T_{eo}T_{eo}G_{eo}G_{ds}T_{ds}T_{ds}A_{ds}$ $^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}A_{ds}A_{eo}T_{eo}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{e}$	PS/PO	GalNAc$_3$-3a	A_d	2273
682887	**GalNAc$_3$-7$_a$-** $_o$'$A_{do}T_{es}{}^{m}C_{eo}T_{eo}T_{eo}G_{eo}G_{ds}T_{ds}T_{ds}A_{ds}$ $^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}A_{ds}A_{eo}T_{eo}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{e}$	PS/PO	GalNAc$_3$-7a	A_d	2273
682888	**GalNAc$_3$-10$_a$-** $_o$'$A_{do}T_{es}{}^{m}C_{eo}T_{eo}T_{eo}G_{eo}G_{ds}T_{ds}T_{ds}A_{ds}$ $^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}A_{ds}A_{eo}T_{eo}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{e}$	PS/PO	GalNAc$_3$-10a	A_d	2273
682889	**GalNAc$_3$-13$_a$-** $_o$'$A_{do}T_{es}{}^{m}C_{eo}T_{eo}T_{eo}G_{eo}G_{ds}T_{ds}T_{ds}A_{ds}$ $^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}A_{ds}A_{eo}T_{eo}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{e}$	PS/PO	GalNAc$_3$-13a	A_d	2273

Легенда для Таблицы 95 представлена в Примере 74. Структура GalNAc$_3$-3$_a$ показана в Примере 39. Структура GalNAc$_3$-7$_a$ показана в Примере 48. Структура GalNAc$_3$-10$_a$ показана в Примере 46. Структура GalNAc$_3$-13$_a$ показана в Примере 62.

Таблица 96

Антисмысловое ингибирование человеческого TTR *in vivo*

Isis №	Доза (мг/кг)	мРНК TTR (% PBS)	Белок TTR (% BL)	Кластер GalNAc	СМ
PBS	н.д.	100	124	н.д.	н.д.
420915	6	69	114	н.д.	н.д.
	20	71	86		
	60	21	36		
682883	0,6	61	73	GalNAc$_3$-3a	PO
	2	23	36		
	6	18	23		
666943	0,6	74	93	GalNAc$_3$-3a	A_d
	2	33	57		
	6	17	22		
682887	0,6	60	97	GalNAc$_3$-7a	A_d
	2	36	49		
	6	12	19		
682888	0,6	65	92	GalNAc$_3$-10a	A_d
	2	32	46		
	6	17	22		
682889	0,6	72	74	GalNAc$_3$-13a	A_d
	2	38	45		
	6	16	18		

Пример 91: Антисмысловое ингибирование in vivo под действием олигонуклеотидов, направленных на фактор VII, содержащих конъюгат GalNAc$_3$, у приматов, не являющихся человеком

Олигонуклеотиды, перечисленные ниже в Таблице 97, испытали в нетерминальном исследовании повышения дозы на антисмысловое ингибирование фактора VII у обезьян.

Лечение

Обезьянам, ранее не подверженным экспериментам, на 0, 15 и 29 день вводили подкожные инъекции повышающихся доз олигонуклеотидов, перечисленных в Таблице 97, или PBS. Каждая экспериментальная группа состояла из 4 самцов и 1 самки. Перед введением первой дозы и в различные временные точки после нее брали образцы крови для определения уровней белка фактора VII в плазме. Уровни белка фактора VII определяли с помощью твердофазного иммуноферментного анализа. Результаты,

показанные в Таблице 98, представляют собой средние значения для каждой экспериментальной группы относительно среднего значения для группы PBS в исходном состоянии (BL), измерения выполнены непосредственно перед введением первой дозы. Как показано в Таблице 98, лечение антисмысловыми олигонуклеотидами снижает уровни экспрессии фактора VII дозозависимым образом, и олигонуклеотид, содержащий конъюгат GalNAc, был значительно более эффективным у обезьян, чем олигонуклеотид, не содержащий конъюгата GalNAc.

Таблица 97

Олигонуклеотиды, направленные на фактор VII

Isis №	Последовательность от 5' к 3'	Связи	Кластер GalNAc	CM	SEQ ID NO
407935	$A_{es}T_{es}G_{es}{}^{m}C_{es}A_{es}T_{ds}G_{ds}G_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}G_{es}A_{e}$	PS	н.д.	н.д.	2274
686892	**GalNAc3-10a-o'**$A_{es}T_{es}G_{es}{}^{m}C_{es}A_{es}T_{ds}G_{ds}G_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}G_{es}A_{e}$	PS	GalNAc3-10a	PO	2274

Легенда для Таблицы 97 представлена в Примере 74. Структура $GalNAc_3$-10_a показана в Примере 46.

Таблица 98

Уровни белка фактора VII в плазме

ISIS №	День	Доза (мг/кг)	Фактор VII (% BL)
407935	0	н.д.	100
	15	10	87
	22	н.д.	92
	29	30	77
	36	н.д.	46
	43	н.д.	43
686892	0	3	100
	15	10	56
	22	н.д.	29
	29	30	19
	36	н.д.	15
	43	н.д.	11

Пример 92: Антисмысловое ингибирование в первичных гепатоцитах под действием олигонуклеотидов, направленных на Apo-CIII, содержащих конъюгат $GalNAc_3$

Первичные мышиные гепатоциты высеивали в 96-луночные планшеты при 15000 клеток на лунку и добавляли олигонуклеотиды, перечисленные в Таблице 99, направленные на мышиный ApoC-III в концентрации 0,46, 1,37, 4,12 или 12,35, 37,04, 111,11 или 333,33 нМ, или 1,00 мкМ. После инкубации с олигонуклеотидами в течение 24 часов клетки лизировали и очистили общую РНК при помощи RNeasy (Qiagen). Уровни мРНК ApoC-III определили при помощи ПЦР в реальном времени и реагента для количественного определения РНК RIBOGREEN® (Molecular Probes, Inc.) по стандартным протоколам. Значения IC_{50} определили при помощи программы Prism 4 (GraphPad). Результаты демонстрируют, что независимо от того, является ли расщепляемый фрагмент фосфодиэфиром или фосфодиэфир-связанным дезоксиаденозином, олигонуклеотиды, содержащие конъюгат GalNAc, были значительно более эффективными, чем исходный олигонуклеотид, не содержащий конъюгата.

Таблица 99

Ингибирование экспрессии мышиного APOC-III в первичных гепатоцитах мышей

ISIS №	Последовательность (от 5' к 3')	СМ	IC_{50} (нМ)	SEQ ID NO
440670	$^{m}C_{es}A_{es}G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{ds}T_{ds}A_{ds}T_{ds}T_{ds}A_{ds}G_{ds}G_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{es}A_{es}G_{es}{}^{m}C_{es}A_{e}$	н.д.	13,20	2275
661180	$^{m}C_{es}A_{es}G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{ds}T_{ds}A_{ds}T_{ds}T_{ds}A_{ds}G_{ds}G_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{es}A_{es}G_{es}{}^{m}C_{es}A_{eo}$ **$A_{do'}$-GalNAc$_3$-1$_a$**	A_d	1,40	2276
680771	**GalNAc$_3$-3$_a$-$_{o'}$**$^{m}C_{es}A_{es}G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{ds}T_{ds}A_{ds}T_{ds}T_{ds}A_{ds}G_{ds}G_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{es}A_{es}G_{es}{}^{m}C_{es}A_{e}$	PO	0,70	2275
680772	**GalNAc$_3$-7$_a$-$_{o'}$**$^{m}C_{es}A_{es}G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{ds}T_{ds}A_{ds}T_{ds}T_{ds}A_{ds}G_{ds}G_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{es}A_{es}G_{es}{}^{m}C_{es}A_{e}$	PO	1,70	2275
680773	**GalNAc$_3$-10$_a$-$_{o'}$**$^{m}C_{es}A_{es}G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{ds}T_{ds}A_{ds}T_{ds}T_{ds}A_{ds}G_{ds}G_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{es}A_{es}G_{es}{}^{m}C_{es}A_{e}$	PO	2,00	2275
680774	**GalNAc$_3$-13$_a$-$_{o'}$**$^{m}C_{es}A_{es}G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{ds}T_{ds}A_{ds}T_{ds}T_{ds}A_{ds}G_{ds}G_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{es}A_{es}G_{es}{}^{m}C_{es}A_{e}$	PO	1,50	2275
681272	**GalNAc$_3$-3$_a$-$_{o'}$**$^{m}C_{es}A_{co}G_{eo}{}^{m}C_{co}T_{eo}T_{ds}T_{ds}A_{ds}T_{ds}T_{ds}A_{ds}G_{ds}G_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{eo}A_{eo}G_{es}{}^{m}C_{es}A_{e}$	PO	< 0,46	2275
681273	**GalNAc$_3$-3$_a$-$_{o'}$$A_{do}$**$^{m}C_{es}A_{es}G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{ds}T_{ds}A_{ds}T_{ds}T_{ds}A_{ds}G_{ds}G_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{es}A_{es}G_{es}{}^{m}C_{es}A_{e}$	A_d	1,10	2277
683733	$^{m}C_{es}A_{es}G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{ds}T_{ds}A_{ds}T_{ds}T_{ds}A_{ds}G_{ds}G_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{es}A_{es}G_{es}{}^{m}C_{es}A_{eo}$**$A_{do'}$-GalNAc$_3-19_a$**	A_d	2,50	2276

Структура GalNAc$_3$-1$_a$ показана ранее в Примере 9, GalNAc$_3$-3$_a$ показана в Примере 39, GalNAc$_3$-7$_a$ показана в Примере 48, GalNAc$_3$-10$_a$ показана в Примере 46, GalNAc$_3$-13$_a$ показана в Примере 62, и GalNAc$_3$-19$_a$ показана в Примере 70.

Пример 93: Антисмысловое ингибирование in vivo под действием олигонуклеотидов, направленных на SRB-1, содержащих смешанные крылья и 5'-GalNAc$_3$ конъюгат

Олигонуклеотиды, перечисленные в Таблице 100, испытали в дозозависимом исследовании антисмыслового ингибирования SRB-1 у мышей.

Таблица 100

Модифицированные ASO, направленные на SRB-1

ISIS №	Последовательность (от 5' к 3')	Кластер GalNAc$_3$	СМ	SEQ ID NO
449093	$T_{ks}T_{ks}{}^{m}C_{ks}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{ks}{}^{m}C_{ks}{}^{m}C_{k}$	н.д.	н.д.	2278
699806	**GalNAc$_3$-3$_{a-o'}$**$T_{ks}T_{ks}{}^{m}C_{ks}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{ks}{}^{m}C_{ks}{}^{m}C_{k}$	GalNAc$_3$-3a	PO	2278
699807	**GalNAc$_3$-7$_{a-o'}$**$T_{ks}T_{ks}{}^{m}C_{ks}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{ks}{}^{m}C_{ks}{}^{m}C_{k}$	GalNAc$_3$-7a	PO	2278
699809	**GalNAc$_3$-7$_{a-o'}$**$T_{ks}T_{ks}{}^{m}C_{ks}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{e}$	GalNAc$_3$-7a	PO	2278
699811	**GalNAc$_3$-7$_{a-o'}$**$T_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{ks}{}^{m}C_{ks}{}^{m}C_{k}$	GalNAc$_3$-7a	PO	2278
699813	**GalNAc$_3$-7$_{a-o'}$**$T_{ks}T_{ds}{}^{m}C_{ks}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{ks}{}^{m}C_{ds}{}^{m}C_{k}$	GalNAc$_3$-7a	PO	2278
699815	**GalNAc$_3$-7$_{a-o'}$**$T_{es}T_{ks}{}^{m}C_{ks}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{ks}{}^{m}C_{ks}{}^{m}C_{e}$	GalNAc$_3$-7a	PO	2278

Структура GalNAc$_3$-3$_a$ показана ранее в Примере 39, а структура GalNAc$_3$-7$_a$ показана ранее в Примере 48. Нижние индексы: «e» означает 2'-MOE модифицированный нуклеозид; «d» означает β-D-2'-дезоксирибонуклеозид; «k» означает 6'-(S)-CH_3 бициклический нуклеозид (cEt); «s» означает тиофосфатные межнуклеозидные связи (PS); «o» означает фосфодиэфирные межнуклеозидные связи (PO). Верхний индекс «т» означает 5-метилцитозины.

Лечение

Шести-восьминедельным мышам C57BL/6 (Jackson Laboratory, Бар-Харбор, штат Мэн) ввели однократную подкожную инъекцию дозы, представленной ниже, олигонуклеотида, перечисленного в Таблице 100, или солевого раствора. Каждая

экспериментальная группа состояла из 4 животных. Мышей усыпили через 72 часа после последнего введения. Уровни мРНК SRB-1 в печени измерили при помощи ПЦР в реальном времени. Уровни мРНК SRB-1 нормализовали к уровням мРНК циклофилина по стандартным протоколам. Результаты, показанные ниже, представлены как средний процент уровней мРНК SRB-1 для каждой экспериментальной группы, по сравнению с контрольной группой, обработанной солевым раствором. Как показано в Таблице 101, лечение антисмысловыми олигонуклеотидами снижает уровни мРНК SRB-1 дозозависимым образом, а гэпмерные олигонуклеотиды, содержащие конъюгат GalNAc и имеющие крылья, которые представляют собой либо полностью cEt, либо смешанные сахарные модификации, были существенно более эффективными, чем исходный олигонуклеотид, не содержащий конъюгата и содержащий полностью cEt модифицированные крылья.

Измерили также массы тела, уровни трансаминазы в печени, общий билирубин и АМК, а средние значения для каждой экспериментальной группы представлены в Таблице 101. Масса тела показана как средний процент массы тела относительно исходной массы тела (% BL), измеренный непосредственно перед введением дозы олигонуклеотида.

Таблица 101

Уровни мРНК SRB-1, ALT, AST, АМК и общего билирубина, а также массы тела

ISIS №	Доза (мг/кг)	мРНК SRB-1 (% PBS)	ALT (ед./л)	AST (ед./л)	Билирубин	АМК	Масса тела (% BL)
PBS	н.д.	100	31	84	0,15	28	102
449093	1	111	18	48	0,17	31	104
	3	94	20	43	0,15	26	103
	10	36	19	50	0,12	29	104
699806	0,1	114	23	58	0,13	26	107
	0,3	59	21	45	0,12	27	108
	1	25	30	61	0,12	30	104
699807	0,1	121	19	41	0,14	25	100
	0,3	73	23	56	0,13	26	105
	1	24	22	69	0,14	25	102
699809	0,1	125	23	57	0,14	26	104
	0,3	70	20	49	0,10	25	105
	1	33	34	62	0,17	25	107
699811	0,1	123	48	77	0,14	24	106
	0,3	94	20	45	0,13	25	101
	1	66	57	104	0,14	24	107
699813	0,1	95	20	58	0,13	28	104
	0,3	98	22	61	0,17	28	105
	1	49	19	47	0,11	27	106
699815	0,1	93	30	79	0,17	25	105
	0,3	64	30	61	0,12	26	105
	1	24	18	41	0,14	25	106

Пример 94: Антисмысловое ингибирование in vivo под действием олигонуклеотидов, направленных на SRB-1, содержащих 2'-сахарные модификации и 5'-$GalNAc_3$ конъюгат

Олигонуклеотиды, перечисленные в Таблице 102, испытали в дозозависимом исследовании антисмыслового ингибирования SRB-1 у мышей.

Таблица 102

Модифицированные ASO, направленные на SRB-1

ISIS №	Последовательность (от 5' к 3')	Кластер $GalNAc_3$	СМ	SEQ ID NO
353382	$G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{e}$	н.д.	н.д.	2256
700989	$G_{ms}C_{ms}U_{ms}U_{ms}C_{ms}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}U_{ms}C_{ms}C_{ms}U_{ms}U_{m}$	н.д.	н.д.	2279
666904	**$GalNAc_3$-3_a-$_o$'**$G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{e}$	$GalNAc_3$-3a	PO	2256
700991	**$GalNAc_3$-7_a-$_o$'**$G_{ms}C_{ms}U_{ms}U_{ms}C_{ms}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}U_{ms}C_{ms}C_{ms}U_{ms}U_{m}$	$GalNAc_3$-7a	PO	2279

Верхний индекс «m» означает 2'-O-метил-модифицированный нуклеозид. Полная легенда к таблице представлена в Примере 74. Структура $GalNAc_3$-3_a показана ранее в Примере 39, а структура $GalNAc_3$-7_a показана в Примере 48.

Лечение

Исследование проводили по протоколу, описанному в Примере 93. Результаты представлены ниже в Таблице 103 и демонстрируют, что и 2'-MOE, и 2'-OMe-модифицированные олигонуклеотиды, содержащие конъюгат GalNAc, были значительно более эффективными, чем соответствующие исходные олигонуклеотиды, не содержащие конъюгата. Результаты измерений массы тела, трансаминазы в печени, общего билирубина и АМК демонстрируют, что эти соединения хорошо переносятся.

Таблица 103

мРНК SRB-1

ISIS №	Доза (мг/кг)	мРНК SRB-1 (% PBS)
PBS	н.д.	100
353382	5	116
	15	58
	45	27
700989	5	120
	15	92
	45	46
666904	1	98
	3	45
	10	17
700991	1	118
	3	63
	10	14

Пример 95: Антисмысловое ингибирование in vivo под действием олигонуклеотидов, направленных на SRB-1, содержащих бициклические нуклеозиды и 5'-$GalNAc_3$ конъюгат

Олигонуклеотиды, перечисленные в Таблице 104, испытали в дозозависимом исследовании антисмыслового ингибирования SRB-1 у мышей.

Таблица 104

Модифицированные ASO, направленные на SRB-1

ISIS №	Последовательность (от 5' к 3')	Кластер $GalNAc_3$	СМ	SEQ ID No
440762	$T_{ks}{}^{m}C_{ks}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{ks}{}^{m}C_{k}$	н.д.	н.д.	2250
666905	**$GalNAc_3$-3_a-$_o$'**$T_{ks}{}^{m}C_{ks}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{ks}{}^{m}C_{k}$	$GalNAc_3$-3_a	PO	2250
699782	**$GalNAc_3$-7_a-$_o$'**$T_{ks}{}^{m}C_{ks}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{ks}{}^{m}C_{k}$	$GalNAc_3$-7_a	PO	2250
699783	**$GalNAc_3$-3_a-$_o$'**$T_{ls}{}^{m}C_{ls}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{ls}{}^{m}C_{l}$	$GalNAc_3$-3_a	PO	2250
653621	$T_{ls}{}^{m}C_{ls}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{ls}{}^{m}C_{lo}\mathbf{A_{do}}$**'-$GalNAc_3$-$1_a$**	$GalNAc_3$-1_a	A_d	2251
439879	$T_{gs}{}^{m}C_{gs}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{d}$ $G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{gs}{}^{m}C_{g}$	н.д.	н.д.	2250
699789	**$GalNAc_3$-3_a-$_o$'**$T_{gs}{}^{m}C_{gs}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{d}$ $G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{gs}{}^{m}C_{g}$	$GalNAc_3$-3_a	PO	2250

Нижний индекс «g» означает фтор-ГНК нуклеозид, нижний индекс «1» означает закрытый нуклеозид, содержащий мостик 2'-O-CH_2-4'. Другие сокращения представлены в легенде таблицы Примера 74. Структура $GalNAc_3$-1_a показана ранее в Примере 9, структура $GalNAc_3$-3_a показана ранее в Примере 39, и структура $GalNAc_3$-7_a показана ранее в Примере 48.

Лечение

Исследование проводили по протоколу, описанному в Примере 93. Результаты представлены ниже в Таблице 105 и демонстрируют, что олигонуклеотиды, содержащие конъюгат GalNAc и различные бициклические нуклеозидные модификации, были

значительно более эффективными, чем исходный олигонуклеотид, не содержащий конъюгата и содержащий бициклические нуклеозидные модификации. Кроме того, олигонуклеотид, содержащий конъюгат GalNAc и фтор-ГНК модификации, был существенно более эффективным, чем исходное соединение, не содержащее конъюгата и содержащее фтор-ГНК модификации. Результаты измерений массы тела, трансаминазы в печени, общего билирубина и АМК демонстрируют, что эти соединения хорошо переносятся.

Таблица 105

Уровни мРНК SRB-1, ALT, AST, АМК и общего билирубина, а также массы тела

ISIS №	Доза (мг/кг)	мРНК SRB-1 (% PBS)
PBS	н.д.	100
440762	1	104
	3	65
	10	35
666905	0,1	105
	0,3	56
	1	18
699782	0,1	93
	0,3	63
	1	15
699783	0,1	105
	0,3	53
	1	12
653621	0,1	109
	0,3	82
	1	27
439879	1	96
	3	77
	10	37
699789	0,1	82
	0,3	69
	1	26

Пример 96: Связывание белка плазмы антисмысловыми олигонуклеотидами, содержащими группу конъюгата $GalNAc_3$

Олигонуклеотиды, перечисленные в Таблице 70, направленные на ApoC-III, и олигонуклеотиды в Таблице 106, направленные на Apo(a), испытали в анализе ультрафильтрации для оценки связывания белка в плазме.

Таблица 106

Модифицированные олигонуклеотиды, направленные на Apo(a)

ISIS №	Последовательность (от 5' к 3')	Кластер $GalNAc_3$	СМ	SEQ ID No
494372	$T_{es}G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{ds}G_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{ds}G_{ds}T_{ds}G_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{es}G_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{e}$	н.д.	н.д.	2281
693401	$T_{es}G_{eo}{}^{m}C_{eo}T_{eo}{}^{m}C_{eo}{}^{m}C_{ds}G_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{ds}G_{ds}T_{ds}G_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{eo}G_{eo}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{e}$	н.д.	н.д.	2281
681251	**$GalNAc_3$-7_a-**$_o$'$T_{es}G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{ds}G_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{ds}G_{ds}T_{ds}G_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{es}G_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{e}$	$GalNAc_3$-7_a	PO	2281
681257	**$GalNAc_3$-7_a-**$_o$'$T_{es}G_{eo}{}^{m}C_{eo}T_{eo}{}^{m}C_{eo}{}^{m}C_{ds}G_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{ds}G_{ds}T_{ds}G_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{eo}G_{eo}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{e}$	$GalNAc_3$-7_a	PO	2281

Легенда таблицы представлена в Примере 74. Структура $GalNAc_3$-7_a показана ранее в Примере 48.

Элементы для ультрафильтрации Ultrafree-MC (номинальное ограничение молекулярной массы 30000, слабосвязывающая регенерированная целлюлозная мембрана, Millipore, Бедфорд, штат Массачусетс) предварительно кондиционировали с 300 мкл 0,5% Tween 80 и центрифугировали при 2000 g в течение 10 минут, затем с 300 мкл 300 мкг/мл раствора контрольного олигонуклеотида в H_2O и центрифугировали при 2000 g в течение 16 минут. Для оценки неспецифического связывания с фильтрами каждого исследуемого олигонуклеотида из Таблиц 70 и 106, используемых в испытаниях,

300 мкл 250 нг/мл раствора олигонуклеотида в H_2O при pH 7,4 поместили в предварительно кондиционированные фильтры и центрифугировали при 2000 g в течение 16 минут. Нефильтрованные и фильтрованные образцы анализировали твердофазным иммуноферментным анализом для определения концентраций олигонуклеотидов. Для получения средней концентрации для каждого образца использовали три экземпляра. Среднюю концентрацию фильтрованного образца относительно нефильтрованного образца использовали для определения процента олигонуклеотида, прошедшего через фильтр без плазмы (% выделения).

Замороженные образцы цельной плазмы, собранные в K3-ЭДТК и полученные от здоровых, не принимающих лекарства людей-добровольцев, яванских макак и мышей CD-I, приобрели у компании Bioreclamation LLC (Вестбери, штат Нью-Йорк). Исследуемые олигонуклеотиды добавляли к 1,2 мл аликвотам плазмы в двух концентрациях (5 и 150 мкг/мл). Аликвоту (300 мкл) каждого маркированного образца плазмы поместили на предварительно кондиционированный фильтровальный элемент и инкубировали при 37°C в течение 30 минут, затем сразу выполнили центрифугирование при 2000 g в течение 16 минут. Аликвоты фильтрованных и нефильтрованных маркированных образцов плазмы анализировали твердофазным иммуноферментным анализом для определения концентрации олигонуклеотида в каждом образце. Использовали три экземпляра каждой концентрации для определения среднего процента связанного и несвязанного олигонуклеотида в каждом образце. Среднюю концентрацию фильтрованного образца относительно концентрации нефильтрованного образца использовали для определения процента олигонуклеотида в плазме, не связанного с белками плазмы (% несвязанного). Окончательные значения несвязанного олигонуклеотида корректировали на неспецифическое связывание путем деления % несвязанного на % выделения для каждого олигонуклеотида. Окончательные значения % связанного олигонуклеотида определили вычитанием окончательных значений % несвязанного из 100. Результаты показаны в Таблице 107 для двух концентраций испытанного олигонуклеотида (5 и 150 мкг/мл) в плазме каждого вида. Результаты демонстрируют, что группы конъюгата GalNAc не оказывают существенного влияния на связывание белка плазмы. Кроме того, олигонуклеотиды, содержащие только PS межнуклеозидные связи и смешанные PO/PS связи, - оба варианта связывают белки плазмы, при этом олигонуклеотиды, содержащие только PS связи, связывают белки плазмы в несколько большей степени, чем олигонуклеотиды, содержащие смешанные PO/PS связи.

Таблица 107

Процент модифицированного олигонуклеотида, связанного с белками плазмы

ISIS №	Плазма человека		Плазма обезьян		Плазма мышей	
	5 мкг/мл	150 мкг/мл	5 мкг/мл	150 мкг/мл	5 мкг/мл	150 мкг/мл
304801	99,2	98,0	99,8	99,5	98,1	97,2
663083	97,8	90,9	99,3	99,3	96,5	93,0
674450	96,2	97,0	98,6	94,4	94,6	89,3
494372	94,1	89,3	98,9	97,5	97,2	93,6
693401	93,6	89,9	96,7	92,0	94,6	90,2
681251	95,4	93,9	99,1	98,2	97,8	96,1
681257	93,4	90,5	97,6	93,7	95,6	92,7

Пример 97: Модифицированные олигонуклеотиды, направленные на TTR, содержащие группу конъюгата $GalNAc_3$

Олигонуклеотиды, представленные в Таблице 108, содержащие конъюгат GalNAc, предназначены для воздействия на TTR.

Таблица 108

Модифицированные олигонуклеотиды, направленные на TTR

ISIS №	Последовательность (от 5' к 3')	Кластер $GalNAc_3$	CM	SEQ ID No
666941	**$GalNAc_3$-$3_{a\text{-}o}$'A_{do}** T_{es} $^mC_{es}$ T_{es} T_{es} G_{es} G_{ds} T_{ds} T_{ds} A_{ds} $^mC_{ds}$ A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds} A_{ds} A_{es} T_{es} $^mC_{es}$ $^mC_{es}$ ^mC_e	$GalNAc_3$-3	A_d	2273
666942	T_{es} $^mC_{eo}$ T_{eo} T_{eo} G_{eo} G_{ds} T_{ds} T_{ds} A_{ds} $^mC_{ds}$ A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds} A_{ds} A_{eo} T_{eo} $^mC_{es}$ $^mC_{es}$ $^mC_{eo}$ **A_{do}'-$GalNAc_3$-3_a**	$GalNAc_3$-1	A_d	2270
682876	**$GalNAc_3$-$3_{a\text{-}o}$'**T_{es} $^mC_{es}$ T_{es} T_{es} G_{es} G_{ds} T_{ds} T_{ds} A_{ds} $^mC_{ds}$ A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds} A_{ds} A_{es} T_{es} $^mC_{es}$ $^mC_{es}$ ^mC_e	$GalNAc_3$-3	PO	2269
682877	**$GalNAc_3$-$7_{a\text{-}o}$'**T_{es} $^mC_{es}$ T_{es} T_{es} G_{es} G_{ds} T_{ds} T_{ds} A_{ds} $^mC_{ds}$ A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds} A_{ds} A_{es} T_{es} $^mC_{es}$ $^mC_{es}$ ^mC_e	$GalNAc_3$-7	PO	2269
682878	**$GalNAc_3$-$10_{a\text{-}o}$'**T_{es} $^mC_{es}$ T_{es} T_{es} G_{es} G_{ds} T_{ds} T_{ds} A_{ds} $^mC_{ds}$ A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds} A_{ds} A_{es} T_{es} $^mC_{es}$ $^mC_{es}$ ^mC_e	$GalNAc_3$-10	PO	2269
682879	**$GalNAc_3$-$13_{a\text{-}o}$'**T_{es} $^mC_{es}$ T_{es} T_{es} G_{es} G_{ds} T_{ds} T_{ds} A_{ds} $^mC_{ds}$ A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds} A_{ds} A_{es} T_{es} $^mC_{es}$ $^mC_{es}$ ^mC_e	$GalNAc_3$-13	PO	2269
682880	**$GalNAc_3$-$7_{a\text{-}o}$'A_{do}** T_{es} $^mC_{es}$ T_{es} T_{es} G_{es} G_{ds} T_{ds} T_{ds} A_{ds} $^mC_{ds}$ A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds} A_{ds} A_{es} T_{es} $^mC_{es}$ $^mC_{es}$ ^mC_e	$GalNAc_3$-7	A_d	2273
682881	**$GalNAc_3$-$10_{a\text{-}o}$'A_{do}** T_{es} $^mC_{es}$ T_{es} T_{es} G_{es} G_{ds} T_{ds} T_{ds} A_{ds} $^mC_{ds}$ A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds} A_{ds} A_{es} T_{es} $^mC_{es}$ $^mC_{es}$ ^mC_e	$GalNAc_3$-10	A_d	2273
682882	**$GalNAc_3$-$13_{a\text{-}o}$'A_{do}** T_{es} $^mC_{es}$ T_{es} T_{es} G_{es} G_{ds} T_{ds} T_{ds} A_{ds} $^mC_{ds}$ A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds} A_{ds} A_{es} T_{es} $^mC_{es}$ $^mC_{es}$ ^mC_e	$GalNAc_3$-13	A_d	2273
684056	T_{es} $^mC_{es}$ T_{es} T_{es} G_{es} G_{ds} T_{ds} T_{ds} A_{ds} $^mC_{ds}$ A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds} A_{ds} A_{es} T_{es} $^mC_{es}$ $^mC_{es}$ $^mC_{eo}$ **A_{do}'-$GalNAc_3$-19_a**	$GalNAc_3$-19	A_d	2270

Легенда для Таблицы 108 представлена в Примере 74. Структура $GalNAc_3$-1 показана в Примере 9. Структура $GalNAc_3$-3_a показана в Примере 39. Структура $GalNAc_3$-7_a показана в Примере 48. Структура $GalNAc_3$-10_a показана в Примере 46. Структура $GalNAc_3$-13_a показана в Примере 62. Структура $GalNAc_3$-19_a показана в Примере 70.

Пример 98: Оценка провоспалительного действия олигонуклеотидов, содержащих конъюгат GalNAc, в анализе hPMBC

Олигонуклеотиды, перечисленные в Таблице 109, исследовали на провоспалительное действие в анализе hPMBC, описанном в Примерах 23 и 24. (См. Таблицы 30, 83, 95 и 108, где представлено описание олигонуклеотидов). ISIS 353512 обладает высоким ответом, и его использовали в качестве положительного контроля, а другие олигонуклеотиды описаны в Таблицах 83, 95 и 108. Результаты, представленные в Таблице 109, получены с использованием крови, полученной от одного донора-добровольца. Результаты демонстрируют, что олигонуклеотиды, содержащие смешанные PO/PS межнуклеозидные связи, вызывают значительно более слабые провоспалительные реакции, по сравнению с теми же олигонуклеотидами, содержащими только PS связи. Кроме того, в этом анализе группа конъюгата GalNAc не оказывает существенного влияния.

Таблица 109

ISIS №	E_{max}/EC_{50}	Кластер $GalNAc_3$	Связи	CM
353512	3630	н.д.	PS	н.д.
420915	802	н.д.	PS	н.д.
682881	1311	$GalNAc_3$-10	PS	A_d
682888	0,26	$GalNAc_3$-10	PO/PS	A_d
684057	1,03	$GalNAc_3$-19	PO/PS	A_d

Пример 99: Связывающие аффинности олигонуклеотидов, содержащих конъюгат GalNAc, в отношении асиалогликопротеинового рецептора

Связывающие аффинности олигонуклеотидов, перечисленных в Таблице 110 (см. Таблицу 76, в которой представлено описание олигонуклеотидов), в отношении асиалогликопротеинового рецептора испытали в анализе конкурентного связывания рецепторов. Конкурирующий лиганд, α1-кислый гликопротеин (AGP), инкубировали в 50 мМ ацетатно-натриевом буфере (pH 5) с 1 ед. нейраминидазы-агарозы в течение

16 часов при 37°C, а > 90% дезалилирование подтвердили анализом с сиаловой кислотой или эксклюзионной хроматографией (SEC). Для йодирования АГФ использовали монохлорид йода по способу, описанному авторами Atsma et al. (см. J Lipid Res. январь 1991 г.; 32(1): 173-81.) В этом способе дезалилированный α1-кислый гликопротеин (de-AGP) добавляли к 10 мМ хлориду йода, $Na^{125}I$ и 1 М глицина в 0,25 М NaOH. После инкубации в течение 10 минут при комнатной температуре, ^{125}I-меченный de-AGP отделили от свободного ^{125}I двукратным концентрированием смеси с использованием спин-колонки с номинальным отсечением по молекулярной массе 3 кДа. Белок испытали на эффективность мечения и чистоту на системе ВЭЖХ, оснащенной колонкой Agilent SEC-3 (7,8×300 мм) и счетчиком β-RAM. Конкуретные исследования с использованием ^{125}I-меченного de-AGP и ASO, содержащих различные GalNAc-кластеры, выполнили следующим образом. Человеческие клетки HepG2 (10^6 клеток/мл) поместили на 6-луночные планшеты в 2 мл соответствующей питательной среды. Использовали среду MEM с добавлением 10% фетальной бычьей сыворотки (FBS), 2 мМ L-глутамина и 10 мМ HEPES. Клетки выращивали в течение 16-20 часов при 37°C с 5% и 10% CO_2, соответственно. Перед экспериментом клетки промыли средой без FBS. Клетки выращивали в течение 30 минут при 37°C с 1 мл конкурентной смеси, содержащей соответствующую питательную среду с 2% FBS, 10^{-8} М ^{125}I-меченным de-AGP и ASO, содержащим GalNAc-кластер в концентрациях в диапазоне от 10^{-11} до 10^{-5} М. Неспецифическое связывание определили в присутствии 10^{-2} М GalNAc сахара. Клетки дважды промыли средой без FBS для удаления несвязанного ^{125}I-меченного de-AGP и конкурирующего GalNAc ASO. Клетки лизировали с использованием буфера RLT производства компании Qiagen, содержащего 1% β-меркаптоэтанола. Лизаты перенесли в круглодонные аналитические пробирки после быстрого 10-минутного цикла замораживания/оттаивания, и анализировали на γ-счетчике. Неспецифическое связывание вычли, а затем разделили импульсы белка ^{125}I на значение импульсов при самой низкой концентрации GalNAc-ASO. Кривые ингибирования построили по уравнению моносайтового конкурентного связывания, используя алгоритм нелинейной регрессии для расчета связывающей аффинности (K_D).

Результаты в Таблице 110 были получены в экспериментах, выполненных в пять разных дней. Результаты для олигонуклеотидов, отмеченных верхним индексом «а», представляют собой средние значения экспериментов, выполненных в два разных дня. Результаты демонстрируют, что олигонуклеотиды, содержащие группу конъюгата GalNAc на 5'-конце, связывают асиалогликопротеиновый рецептор человеческих клеток HepG2 с аффинностью, которая в 1,5-16 раз больше, чем для олигонуклеотидов, содержащих группу конъюгата GalNAc на 3'-конце.

Таблица 110

Результаты анализа связывания асиалогликопротеинового рецептора

ISIS №	Конъюгат GalNAc	Конец олигонуклеотида, к которому присоединен конъюгат GalNAc	K_D (нМ)
661161[a]	$GalNAc_3$-3	5’	3,7
666881[a]	$GalNAc_3$-10	5’	7,6
666981	$GalNAc_3$-7	5’	6,0
670061	$GalNAc_3$-13	5’	7,4
655861[a]	$GalNAc_3$-1	3’	11,6
677841[a]	$GalNAc_3$-19	3’	60,8

Пример 100: Антисмысловое ингибирование in vivo под действием олигонуклеотидов, содержащих группу конъюгата GalNAc, направленных на Apo(a), in vivo

Олигонуклеотиды, перечисленные ниже в Таблице 111a, испытали в исследовании однократной дозы на продолжительность действия у мышей.

Таблица 111a

Модифицированные ASO, направленные на APO(a)

ISIS №	Последовательность (от 5' к 3')	Кластер $GalNAc_3$	CM	SEQ ID NO
681251	**$GalNAc_{3-7a-o}$**-$T_{es}G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{ds}G_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{ds}G_{ds}T_{ds}G_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{es}G_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{e}$	$GalNAc_3$-7a	PO	2281
681257	**$GalNAc_{3-7a-o}$**-$T_{es}G_{eo}{}^{m}C_{eo}T_{eo}{}^{m}C_{eo}{}^{m}C_{ds}G_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{ds}G_{ds}T_{ds}G_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{eo}G_{eo}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{e}$	$GalNAc_3$-7a	PO	2281

Структура $GalNAc_3$-7_a показана в Примере 48.

Лечение

Каждой самке трансгенных мышей, экспрессирующих человеческий Apo(a), один раз в неделю, в целом 6 доз, вводили подкожную инъекцию олигонуклеотида и дозы, перечисленной в Таблице 111b, или PBS. Каждая экспериментальная группа состояла из 3 животных. Образцы крови брали за день до введения дозы для определения исходных уровней белка Apo(a) в плазме, а также через 72 часа, 1 неделю и 2 недели после введения первой дозы. Дополнительные пробы крови брали через 3 недели, 4 недели, 5 недель и 6 недель после введения первой дозы. Уровни белка Apo(a) в плазме измеряли при помощи твердофазного иммуноферментного анализа. Результаты в Таблице 111b представлены как средний процент от уровней белка Apo(a) в плазме для каждой экспериментальной группы, нормализованных к исходным уровням (% BL). Результаты показывают, что олигонуклеотиды, содержащие группу конъюгата GalNAc, демонстрируют эффективное снижение экспрессии Apo(a). Этот мощный эффект наблюдали для олигонуклеотида, содержащего только PS межнуклеозидные связи, и для олигонуклеотида, содержащего смешанные PO и PS связи.

Таблица 111b

Уровни белка Apo(a) в плазме

ISIS №	Доза (мг/кг)	Apo(a) через 72 часа (% BL)	Apo(a) через 1 неделю (% BL)	Apo(a) через 3 недели (% BL)
PBS	н.д.	116	104	107
681251	0,3	97	108	93
	1,0	85	77	57
	3,0	54	49	11
	10,0	23	15	4
681257	0,3	114	138	104
	1,0	91	98	54
	3,0	69	40	6
	10,0	30	21	4

Пример 101: Антисмысловое ингибирование олигонуклеотидами, содержащими кластер GalNAc, связанный через стабильный фрагмент

Олигонуклеотиды, перечисленные в Таблице 112, испытали на ингибирование экспрессии мышиного APOC-III in vivo. Мышам C57B 1/6 ввели однократную подкожную инъекцию олигонуклеотида, перечисленного в Таблице 112, или PBS. Каждая экспериментальная группа состояла из 4 животных. Каждой мыши, проходившей лечение с ISIS 440670, вводили дозу 2, 6, 20 или 60 мг/кг. Каждой мыши, проходившей лечение с ISIS 680772 или 696847, вводили 0,6, 2, 6 или 20 мг/кг. Группа конъюгата GalNAc в ISIS 696847 связана через стабильный фрагмент, тиофосфатную связь, вместо легко расщепляемой фосфодиэфир-содержащей связи. Животных усыпили через 72 часа после введения дозы. Уровни мРНК APOC-III в печени измерили при помощи ПЦР в реальном времени. Уровни мРНК APOC-III нормализовали к уровням мРНК циклофилина по стандартным протоколам. Результаты представлены в Таблице 112

как средний процент уровней мРНК APOC-III для каждой экспериментальной группы, по сравнению с контрольной группой, обработанной солевым раствором. Результаты демонстрируют, что олигонуклеотиды, содержащие группу конъюгата GalNAc, были существенно более эффективными, чем олигонуклеотид, не содержащий группу конъюгата. Кроме того, олигонуклеотид, содержащий группу конъюгата GalNAc, связанную с олигонуклеотидом через расщепляемый фрагмент (ISIS 680772), был еще более эффективным, чем олигонуклеотид, содержащий группу конъюгата GalNAc, связанную с олигонуклеотидом через стабильный фрагмент (ISIS 696847).

Таблица 112

Модифицированные олигонуклеотиды, направленные на мышиный APOC-III

ISIS №	Последовательность (от 5' к 3')	СМ	Доза (мг/кг)	мРНК APOC-III (% PBS)	SEQ ID NO
440670	$^{m}C_{es}A_{es}G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{ds}T_{ds}A_{ds}T_{ds}T_{ds}A_{ds}G_{ds}G_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{es}A_{es}G_{es}{}^{m}C_{es}A_{e}$	н.д.	2	92	2275
			6	86	
			20	59	
			60	37	
680772	**GalNAc$_3$-7$_{a-o}$**,$^{m}C_{es}A_{es}G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{ds}T_{ds}A_{ds}T_{ds}T_{ds}A_{ds}G_{ds}G_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{es}A_{es}G_{es}{}^{m}C_{es}A_{e}$	PO	0,6	79	2275
			2	58	
			6	31	
			20	13	
696847	**GalNAc$_3$-7$_{a-s}$**,$^{m}C_{es}A_{es}G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{ds}T_{ds}A_{ds}T_{ds}T_{ds}A_{ds}G_{ds}G_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{es}A_{es}G_{es}{}^{m}C_{es}A_{e}$	н.д. (PS)	0,6	83	2275
			2	73	
			6	40	
			20	28	

Структура GalNAc$_3$-7$_a$ показана в Примере 48.

Пример 102: Распределение в печени антисмысловых олигонуклеотидов, содержащих конъюгат GalNAc

Оценили распределение в печени ISIS 353382 (см. Таблицу 36), который не содержит конъюгата GalNAc, и ISIS 655861 (см. Таблицу 36), который содержит конъюгат GalNAc. Самцам мышей balb/c ввели однократную подкожную инъекцию ISIS 353382 или 655861 в дозе, перечисленной в Таблице 113. Каждая экспериментальная группа состояла из 3 животных, за исключением группы с дозой 18 мг/кг для ISIS 655861, которая состояла из 2 животных. Животных усыпили через 48 часов после введения дозы для определения распределения олигонуклеотидов в печени. Для измерения количества молекул антисмыслового олигонуклеотида на клетку, метку трис-бипиридина рутения (II) (MSD TAG, Meso Scale Discovery) конъюгировали с олигонуклеотидным образцом, используемым для обнаружения антисмысловых олигонуклеотидов. Результаты, представленные в Таблице 113, представляют собой средние концентрации олигонуклеотида для каждой экспериментальной группы в единицах измерения миллионов молекул олигонуклеотида на клетку. Результаты демонстрируют, что при равных дозах олигонуклеотид, содержащий конъюгат GalNAc, содержался в более высоких концентрациях в целом в печени и в гепатоцитах, чем олигонуклеотид, не содержащий конъюгата GalNAc. Кроме того, олигонуклеотид, содержащий конъюгат GalNAc, содержался в более низких концентрациях в непаренхиматозных клетках печени, чем олигонуклеотид, не содержащий конъюгата GalNAc. И тогда как концентрации ISIS 655861 в гепатоцитах и непаренхиматозных клетках печени были одинаковыми в расчете на одну клетку, содержание гепатоцитов в печени составляет приблизительно 80% по объему. Следовательно, основная часть олигонуклеотида ISIS 655861, содержащегося в печени, находилась в гепатоцитах, тогда как основная часть олигонуклеотида ISIS 353382, содержащегося в печени, находилась в непаренхиматозных клетках печени.

Таблица 113

ISIS №	Доза (мг/кг)	Концентрация в печени в целом (молекул*10^60 на клетку)	Концентрация в гепатоцитах (молекул*10^60 на клетку)	Концентрация в непаренхиматозных клетках печени (молекул*10^60 на клетку)
353382	3	9,7	1,2	37,2
	10	17,3	4,5	34,0
	20	23,6	6,6	65,6
	30	29,1	11,7	80,0
	60	73,4	14,8	98,0
	90	89,6	18,5	119,9
655861	0,5	2,6	2,9	3,2
	1	6,2	7,0	8,8
	3	19,1	25,1	28,5
	6	44,1	48,7	55,0
	18	76,6	82,3	77,1

Пример 103: Продолжительность действия in vivo олигонуклеотидов, направленных на APOC-III, содержащих конъюгат $GalNAc_3$

Олигонуклеотиды, перечисленные ниже в Таблице 114, испытали в исследовании однократной дозы на продолжительность действия у мышей.

Таблица 114

Модифицированные ASO, направленные на APOC-III

ISIS №	Последовательность (от 5' к 3')	Кластер $GalNAc_3$	CM	SEQ ID NO
304801	$A_{es}G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}G_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{es}T_{es}T_{es}A_{es}T_{e}$	н.д.	н.д.	2248
663084	**$GalNAc_3$-3_a-$_o$'$A_{do}A_{es}G_{eo}{}^{m}C_{eo}T_{eo}T_{eo}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}G_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{eo}T_{eo}T_{es}A_{es}T_{e}$**	$GalNAc_3$-3a	A_d	2264
679241	$A_{es}G_{eo}{}^{m}C_{eo}T_{eo}T_{eo}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}G_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{eo}T_{eo}T_{es}A_{es}T_{eo}$**$A_{do}$'-$GalNAc_3$-$19_a$**	$GalNAc_3$-19a	A_d	2249

Структура $GalNAc_3$-3_a показана в Примере 39, а $GalNAc_3$-19_a показана в Примере 70.

Лечение

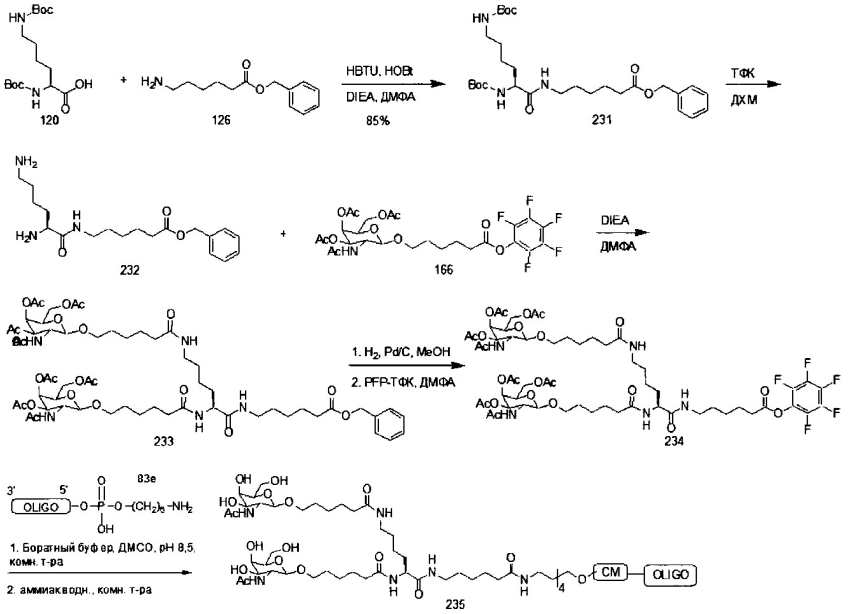
Самкам трансгенных мышей, экспрессирующим человеческий APOC-III, ввели однократную подкожную инъекцию олигонуклеотида, перечисленного в Таблице 114, или PBS. Каждая экспериментальная группа состояла из 3 животных. Образцы крови из брали до введения дозы для определения исходных показателей и на 3, 7, 14, 21, 28, 35 и 42 день после введения дозы. Уровни триглицеридов и белка APOC-III в плазме измеряли так, как описано в Примере 20. Результаты в Таблице 115 представлены как средний процент уровней триглицеридов и APOC-III в плазме для каждой экспериментальной группы, нормализованных к исходным уровням. Сравнение результатов в Таблице 71 примера 79 с результатами, представленными ниже в таблице 115, демонстрирует, что олигонуклеотиды, содержащие смесь фосфодиэфирных и тиофосфатных межнуклеозидных связей, обладают увеличенной продолжительностью действия, чем эквивалентные олигонуклеотиды, содержащие только тиофосфатные межнуклеозидные связи.

Таблица 115

Уровни триглицеридов и белка APOC-III в плазме трансгенных мышей

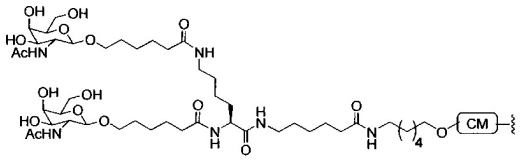
ISIS №	Доза (мг/кг)	Временные точки (дни после введения дозы)	Триглицериды (% от исходного значения)	Белок APOC-III (% от исходного значения)	Кластер $GalNAc_3$	CM
PBS	н.д.	3	96	101	н.д.	н.д.
		7	88	98		
		14	91	103		
		21	69	92		
		28	83	81		
		35	65	86		
		42	72	88		
304801	30	3	42	46	н.д.	н.д.
		7	42	51		
		14	59	69		
		21	67	81		
		28	79	76		
		35	72	95		
		42	82	92		
663084	10	3	35	28	$GalNAc_3$-3a	A_d
		7	23	24		
		14	23	26		
		21	23	29		
		28	30	22		
		35	32	36		
		42	37	47		
679241	10	3	38	30	$GalNAc_3$-19a	A_d
		7	31	28		
		14	30	22		
		21	36	34		
		28	48	34		
		35	50	45		
		42	72	64		

Пример 104: Синтез олигонуклеотидов, содержащих конъюгат 5'-$GalNAc_2$

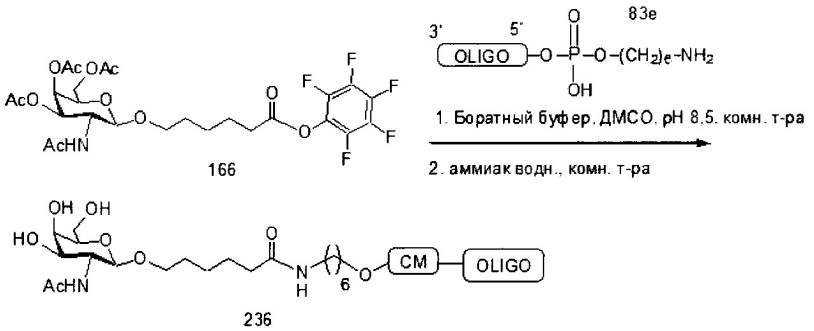


Соединение 120 имеется в продаже, а синтез соединения 126 описан в Примере 49. Соединение 120 (1 г, 2,89 ммоль), HBTU (0,39 г, 2,89 ммоль) и HOBt (1,64 г, 4,33 ммоль) растворили в ДМФА (10 мл) и добавили N,N-диизопропилэтиламин (1,75 мл, 10,1 ммоль). Примерно через 5 минут в реакционную смесь добавили бензиловый эфир аминогексановой кислоты (1,36 г, 3,46 ммоль). Через 3 часа реакционную смесь вылили в 100 мл 1 М раствора NaHSO4 и экстрагировали 2×50 мл этилацетата. Органические слои объединили и промыли 3×40 мл насыщенного раствора $NaHCO_3$ и 2 х насыщенным

солевым раствором, высушили при помощи Na_2SO_4, отфильтровали и концентрировали. Продукт очистили силикагелевой колоночной хроматографией (ДХМ : ЕА : гексаны, 1:1:1) с получением соединения 231. Данные ЖХМС и ЯМР согласовались с указанной структурой. Соединение 231 (1,34 г, 2,438 ммоль) растворили в дихлорметане (10 мл) и добавили трифторуксусную кислоту (10 мл). После перемешивания при комнатной температуре в течение 2 часов, реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении и выпарили вместе с толуолом (3×10 мл). Остаток высушили при пониженном давлении с получением соединения 232 в виде трифторацетатной соли. Синтез соединения 166 описан в Примере 54. Соединение 166 (3,39 г, 5,40 ммоль) растворили в ДМФА (3 мл). Раствор соединения 232 (1,3 г, 2,25 ммоль) растворили в ДМФА (3 мл) и добавили N,N-диизопропилэтиламин (1,55 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 минут, затем вылили в воду (80 мл), а водный слой экстрагировали EtOAc (2×100 мл). Органическую фазу отделили и промыли насыщенным водным раствором $NaHCO_3$ (3×80 мл), 1 М $NaHSO_4$ (3×80 мл) и насыщенным солевым раствором (2×80 мл), затем высушили (Na_2SO_4), отфильтровали и концентрировали. Остаток очистили силикагелевой колоночной хроматографией с получением соединения 233. Данные ЖХМС и ЯМР согласовались с указанной структурой. Соединение 233 (0,59 г, 0,48 ммоль) растворили в метаноле (2,2 мл) и этилацетате (2,2 мл). Добавили палладий на углероде (10 масс. % Pd/C, влажный, 0,07 г) и перемешивали реакционную смесь в атмосфере водорода в течение 3 часов. Реакционную смесь отфильтровали через слой целита и концентрировали с получением карбоновой кислоты. Карбоновую кислоту (1,32 г, 1,15 ммоль, не содержащая кластера кислота) растворили в ДМФА (3,2 мл). К ней добавили N,N-диизопропилэтиламин (0,3 мл, 1,73 ммоль) и PFP-ТФК (0,30 мл, 1,73 ммоль). Через 30 минут перемешивания при комнатной температуре реакционную смесь вылили в воду (40 мл) и экстрагировали EtOAc (2×50 мл). Выполнили стандартную процедуру выделения продукта, как описано выше, с получением соединения 234. Данные ЖХМС и ЯМР согласовались с указанной структурой. Олигонуклеотид 236 получили по общему способу, описанному в Примере 46. Кластерная часть $GalNAc_2$ ($GalNAc_2$-24_a) группы конъюгата $GalNAc_2$-24 может быть комбинирована с любым расщепляемым фрагментом, содержащимся в олигонуклеотиде, с получением различных групп конъюгата. Структура $GalNAc_2$-24 ($GalNAc_2$-24_a-CM) представлена ниже:

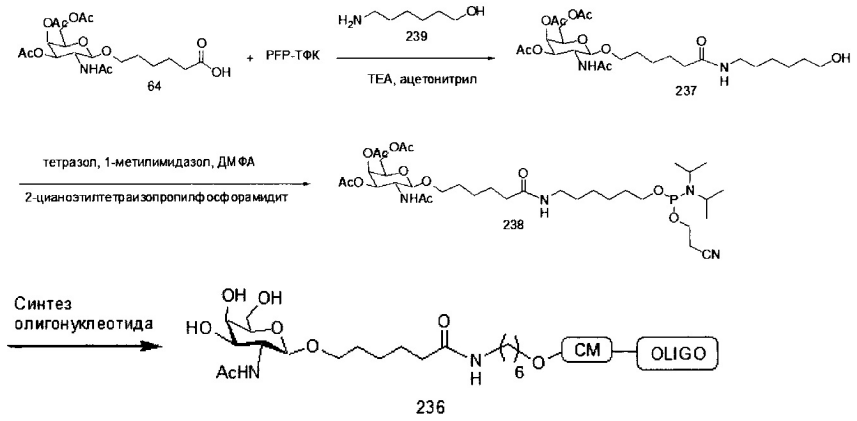


Пример 105: Синтез олигонуклеотидов, содержащих конъюгат $GalNAc_1$-25

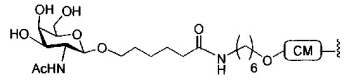


Синтез соединения 166 описан в Примере 54. Олигонуклеотид 236 получили по общему способу, описанному в Примере 46.

Альтернативно, олигонуклеотид 236 синтезировали по схеме, изображенной ниже, а соединение 238 использовали для получения олигонуклеотида 236 по способам, описанным в Примере 10.



Кластерная часть $GalNAc_1$ ($GalNAc_1$-25_a) группы конъюгата $GalNAc_1$-25 может быть комбинирована с любым расщепляемым фрагментом, содержащимся в олигонуклеотиде, с получением различных групп конъюгата. Структура $GalNAc_1$-25 ($GalNAc_1$-25_a-CM) представлена ниже:



Пример 106: Антисмысловое ингибирование in vivo под действием олигонуклеотидов, направленных на SRB-1, содержащих 5'-$GalNAc_2$ или 5'-$GalNAc_3$ конъюгат

Олигонуклеотиды, перечисленные в Таблицах 116 и 117, испытали в дозозависимых исследованиях антисмыслового ингибирования SRB-1 у мышей.

Лечение

Шестинедельным самцам мышей C57BL/6 (Jackson Laboratory, Бар-Харбор, штат Мэн) ввели однократную подкожную инъекцию 2, 7 или 20 мг/кг ISIS №440762; или 0,2, 0,6, 2, 6 или 20 мг/кг ISIS №686221, 686222 или 708561; или солевого раствора. Каждая экспериментальная группа состояла из 4 животных. Мышей усыпили через 72 часа после последнего введения. Уровни мРНК SRB-1 в печени измерили при помощи ПЦР в реальном времени. Уровни мРНК SRB-1 нормализовали к уровням мРНК циклофилина по стандартным протоколам. Антисмысловые олигонуклеотиды снижают уровни мРНК SRB-1 дозозависимым образом, и результаты ED_{50} представлены в таблицах 116 и 117.

Хотя в предшествующих исследованиях показано, что трехвалентные GalNAc-сопряженные олигонуклеотиды существенно более эффективны, чем двухвалентные GalNAc-сопряженные олигонуклеотиды, которые в свою очередь существенно более эффективны, чем одновалентные GalNAc-сопряженные олигонуклеотиды {см., например, Khorev et al., Bioorg. & Med. Chem., Vol. 16, 5216-5231 (2008)), обработка антисмысловыми олигонуклеотидами, содержащими одновалентные, двухвалентные и трехвалентные кластеры GalNAc, приводит к снижению уровней мРНК SRB-1 с одинаковой эффективностью, как показано в Таблицах 116 и 117.

Таблица 116

Модифицированные олигонуклеотиды, направленные на SRB-1

ISIS №	Последовательность (от 5' к 3')	Кластер GalNAc	ED_{50} (мг/кг)	SEQ ID No
440762	$T_{ks}{}^{m}C_{ks}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{ks}{}^{m}C_{k}$	н.д.	4,7	2250
686221	**$GalNAc_2$-24_a-o'$A_{do}T_{ks}{}^{m}C_{ks}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{ks}{}^{m}C_{k}$**	$GalNAc_2$-24_a	0,39	2254
686222	**$GalNAc_3$-13_a-o'$A_{do}T_{ks}{}^{m}C_{ks}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{ks}{}^{m}C_{k}$**	$GalNAc_3$-13_a	0,41	2254

Легенда к таблице представлена в Примере 93. Структура $GalNAc_3$-13a показана ранее в Примере 62, а структура $GalNAc_2$-24a показана в Примере 104.

Таблица 117

Модифицированные олигонуклеотиды, направленные на SRB-1

ISIS №	Последовательность (от 5' к 3')	Кластер GalNAc	ED_{50} (мг/кг)	SEQ ID No
440762	$T_{ks}{}^{m}C_{ks}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{ks}{}^{m}C_{k}$	н.д.	5	2250
708561	**$GalNAc_1$-25_a-o'$T_{ks}{}^{m}C_{ks}A_{ds}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{ks}{}^{m}C_{k}$**	$GalNAc_1$-25_a	0,4	2250

Легенда к таблице представлена в Примере 93. Структура $GalNAc_1$-25a показана в Примере 105.

Оценили также концентрации олигонуклеотидов, представленных в Таблицах 116 и 117, в печени, используя способы, описанные в Примере 75. Результаты, показанные ниже в Таблицах 117a и 117b, представляют собой средние значения общего содержания антисмысловых олигонуклеотидов в тканях для каждой экспериментальной группы, измеренные по УФ, в единицах измерения мкг олигонуклеотида на грамм ткани печени. Результаты демонстрируют, что олигонуклеотиды, содержащие группу конъюагата GalNAc, накапливаются в печени в существенно более высоких количествах, чем при той же дозе олигонуклеотида, не содержащего группу конъюгата GalNAc. Кроме того, антисмысловые олигонуклеотиды, содержащие один, два или три лиганда GalNAc в своих соответствующих группах конъюгата, накапливаются в печени в равных количествах. Этот результат является неожиданным с учетом данных, представленных выше в литературном источнике Khorev et al., и он согласуется с данными активности, представленными выше в Таблицах 116 и 117.

Таблица 117a

Концентрации в печени олигонуклеотидов, содержащих группу конъюгата $GalNAc_2$ или $GalNAc_3$

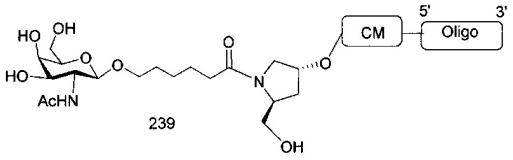
ISIS №	Доза (мг/кг)	[Антисмысловой олигонуклеотид] (мкг/г)	Кластер GalNAc	CM
440762	2	2,1	н.д.	н.д.
	7	13,1		
	20	31,1		
686221	0,2	0,9	$GalNAc_2$-24_a	A_d
	0,6	2,7		
	2	12,0		
	6	26,5		
686222	0,2	0,5	$GalNAc_3$-13_a	A_d
	0,6	1,6		
	2	11,6		
	6	19,8		

Таблица 117b

Концентрации в печени олигонуклеотидов, содержащих группу конъюгата $GalNAc_1$

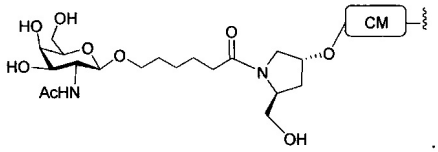
ISIS №	Доза (мг/кг)	[Антисмысловой олигонуклеотид] (мкг/г)	Кластер GalNAc	CM
440762	2	2,3	н.д.	н.д.
	7	8,9		
	20	23,7		
708561	0,2	0,4	$GalNAc_1$-25_a	PO
	0,6	1,1		
	2	5,9		
	6	23,7		
	20	53,9		

Пример 107: Синтез олигонуклеотидов, содержащих конъюгат $GalNAc_1$-26 или $GalNAc_1$-27

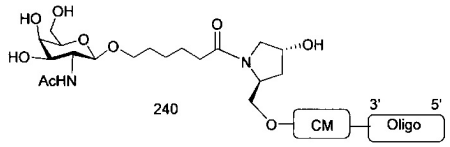


239

Олигонуклеотид 239 синтезировали связыванием соединения 47 (см. Пример 15) с кислотой 64 (см. Пример 32), используя HBTU и DIEA в ДМФА. Полученное амид-содержащее соединение фосфитилировали, затем присоединили к 5'-концу олигонуклеотида по способам, описанным в Примере 10. Кластерная часть $GalNAc_1$ ($GalNAc_1$-26_a) группы конъюгата $GalNAc_1$-26 может быть комбинирована с любым расщепляемым фрагментом, содержащимся в олигонуклеотиде, с получением различных групп конъюгата. Структура $GalNAc_1$-26 ($GalNAc_1$-26_a-CM) представлена ниже:

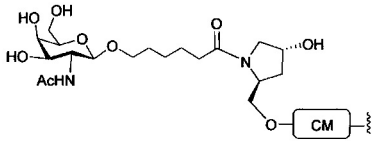


Для присоединения группы конъюгата $GalNAc_1$ к 3'-концу олигонуклеотида амид, образованный по реакции соединений 47 и 64, присоединили к твердой подложке по способам, описанным в Примере 7. Затем выполнили синтез олигонуклеотида по способам, описанным в Примере 9, с получением олигонуклеотида 240.



240

Кластерная часть $GalNAc_1$ ($GalNAc_1$-27_a) группы конъюгата $GalNAc_1$-27 может быть комбинирована с любым расщепляемым фрагментом, содержащимся в олигонуклеотиде, с получением различных групп конъюгата. Структура $GalNAc_1$-27 ($GalNAc_1$-27_a-CM) представлена ниже:



Пример 108: Антисмысловое ингибирование in vivo под действием олигонуклеотидов, содержащих группу конъюгата GalNAc, направленных на Apo(a), in vivo

Олигонуклеотиды, перечисленные ниже в Таблице 118, испытали в исследовании

однократной дозы на мышах.

Таблица 118

Модифицированные ASO, направленные на APO(a)

ISIS №	Последовательность (от 5' к 3')	Кластер $GalNAc_3$	CM	SEQ ID NO
494372	$T_{es}G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{ds}G_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{ds}G_{ds}T_{ds}G_{ds}{}^{m}C_{ds}$ $T_{ds}T_{es}G_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{e}$	н.д.	н.д.	2281
681251	**$GalNAc_3$-7_{a-o}**,$T_{es}G_{es}{}^{m}C_{es}T_{es}{}^{m}C_{es}{}^{m}C_{ds}G_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{ds}G_{ds}$ $T_{ds}G_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{es}G_{es}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{e}$	$GalNAc_3$-7a	PO	2281
681255	**$GalNAc_3$-3_{a-o}**,$T_{es}G_{eo}{}^{m}C_{eo}T_{eo}{}^{m}C_{eo}{}^{m}C_{ds}G_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{ds}G_{ds}$ $T_{ds}G_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{eo}G_{eo}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{e}$	$GalNAc_3$-3a	PO	2281
681256	**$GalNAc_3$-10_{a-o}**,$T_{es}G_{eo}{}^{m}C_{eo}T_{eo}{}^{m}C_{eo}{}^{m}C_{ds}G_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{ds}G_{ds}$ $T_{ds}G_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{eo}G_{eo}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{e}$	$GalNAc_3$-10a	PO	2281
681257	**$GalNAc_3$-7_{a-o}**,$T_{es}G_{eo}{}^{m}C_{eo}T_{eo}{}^{m}C_{eo}{}^{m}C_{ds}G_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{ds}G_{ds}$ $T_{ds}G_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{eo}G_{eo}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{e}$	$GalNAc_3$-7a	PO	2281
681258	**$GalNAc_3$-13_{a-o}**,$T_{es}G_{eo}{}^{m}C_{eo}T_{eo}{}^{m}C_{eo}{}^{m}C_{ds}G_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{ds}G_{ds}$ $T_{ds}G_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{eo}G_{eo}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{e}$	$GalNAc_3$-13a	PO	2281
681260	$T_{es}G_{eo}{}^{m}C_{eo}T_{eo}{}^{m}C_{eo}{}^{m}C_{ds}G_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{ds}G_{ds}$ $T_{ds}G_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{eo}G_{eo}T_{es}T_{es}{}^{m}C_{eo}A_{do'}$-**$GalNAc_3$-19**	$GalNAc_3$-19a	A_d	2280

Структура $GalNAc_3$-7_a показана в Примере 48.

Лечение

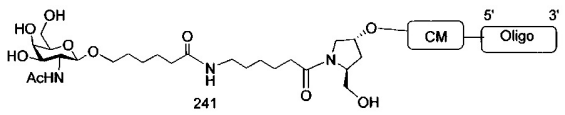
Самцам трансгенных мышей, экспрессирующим человеческий Apo(a), ввели однократную подкожную инъекцию олигонуклеотида и дозы, перечисленных в Таблице 119, или PBS. Каждая экспериментальная группа состояла из 4 животных. Образцы крови брали за день до введения дозы для определения исходных уровней белка Apo (a) в плазме, а также через 1 неделю после введения первой дозы. Образцы крови брали дополнительно еженедельно в течение около 8 недель. Уровни белка Apo(a) в плазме измеряли при помощи твердофазного иммуноферментного анализа. Результаты в Таблице 119 представлены как средний процент от уровней белка Apo(a) в плазме для каждой экспериментальной группы, нормализованных к исходным уровням (% BL). Результаты показывают, что антисмысловые олигонуклеотиды снижают экспрессию белка Apo(a). Кроме того, олигонуклеотиды, содержащие группу конъюгата GalNAc, демонстрируют еще более эффективное снижение экспрессии Apo(a), чем олигонуклеотид не содержащий группу конъюгата.

Таблица 119

Уровни белка Apo(a) в плазме

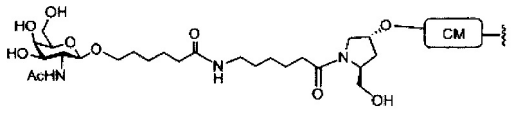
ISIS №	Доза (мг/кг)	Apo(a) через 1 неделю (% BL)
PBS	н.д.	143
494372	50	58
681251	10	15
681255	10	14
681256	10	17
681257	10	24
681258	10	22
681260	10	26

Пример 109: Синтез олигонуклеотидов, содержащих конъюгат $GalNAc_1$-28 или $GalNAc_1$-29

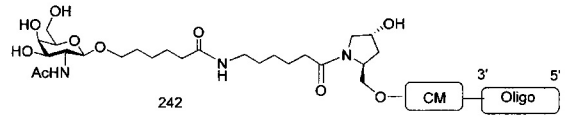


Олигонуклеотид 241 синтезировали по таким же способам, как описаны в Примере 71, с получением фосфорамидитного промежуточного соединения, после чего выполнили приемы, описанные в Примере 10, для синтеза олигонуклеотида. Кластерная часть $GalNAc_1$ ($GalNAc_1$-28_a) группы конъюгата $GalNAc_1$-28 может быть комбинирована с

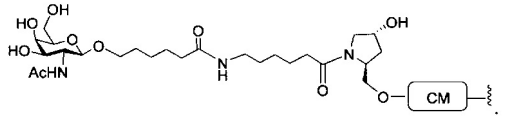
любым расщепляемым фрагментом, содержащимся в олигонуклеотиде, с получением различных групп конъюгата. Структура $GalNAc_1$-28 ($GalNAc_1$-28_a-CM) представлена ниже:



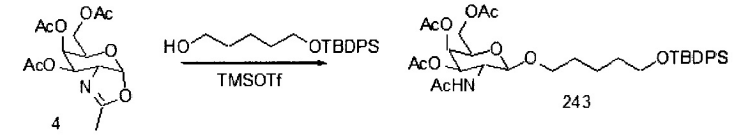
Для присоединения группы конъюгата $GalNAc_1$ к 3'-концу олигонуклеотида использовали такие же способы, как описаны в Примере 71, с получение гидроксильного промежуточного соединения, которое затем присоединили к твердой подложке по способам, описанным в Примере 7. Затем выполнили синтез олигонуклеотида по способам, описанным в Примере 9, с получением олигонуклеотида 242.

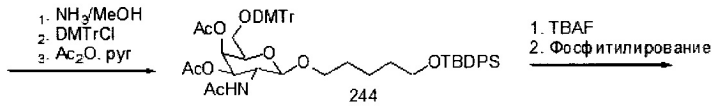


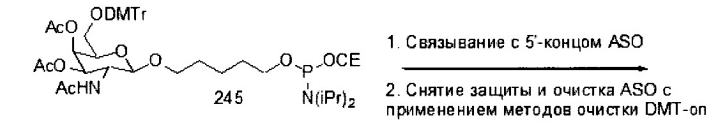
Кластерная часть $GalNAc_1$ ($GalNAc_1$-29_a) группы конъюгата $GalNAc_1$-29 может быть комбинирована с любым расщепляемым фрагментом, содержащимся в олигонуклеотиде, с получением различных групп конъюгата. Структура $GalNAc_1$-29 ($GalNAc_1$-29_a-CM) представлена ниже:

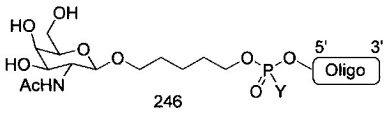


Пример 110: Синтез олигонуклеотидов, содержащих конъюгат $GalNAc_1$-30



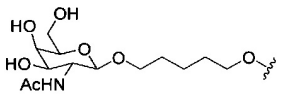




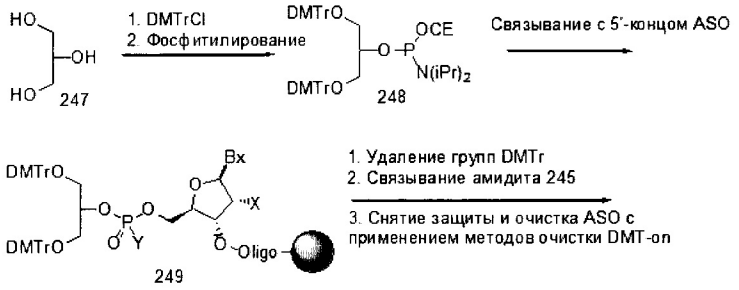


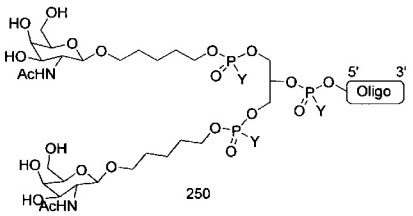
Олигонуклеотид 246, содержащий группу конъюгата $GalNAc_1$-30, где Y выбран из O, S, замещенного или незамещенного C_1-C_{10} алкила, амино, замещенного амино, азидо, алкенила или алкинила, синтезировали так, как показано выше. Кластерная часть $GalNAc_1$ ($GalNAc_1$-30_a) группы конъюгата $GalNAc_1$-30 может быть комбинирована с любым расщепляемым фрагментом, содержащимся в олигонуклеотиде, с получением различных групп конъюгата. В некоторых вариантах реализации Y представляет собой часть расщепляемого фрагмента. В некоторых вариантах реализации Y представляет собой часть стабильного фрагмента, а расщепляемый фрагмент находится в

олигонуклеотиде. Структура $GalNAc_1$-30a представлена ниже:

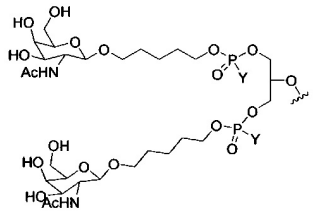


Пример 111: Синтез олигонуклеотидов, содержащих конъюгат $GalNAc_2$-31 или $GalNAc_2$-32

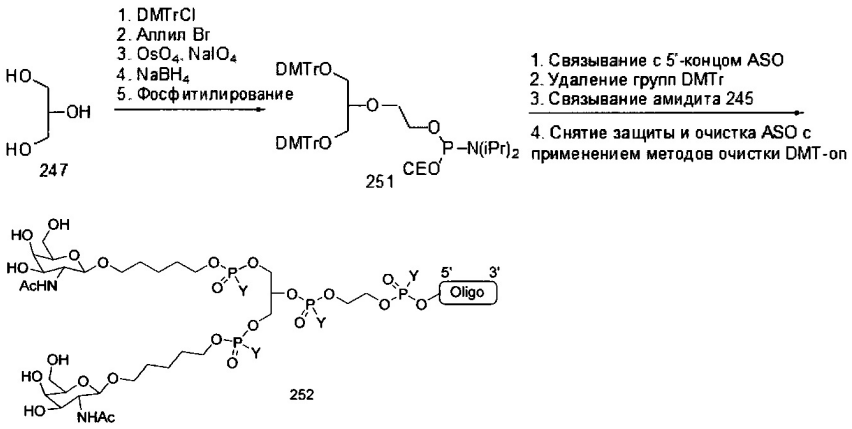




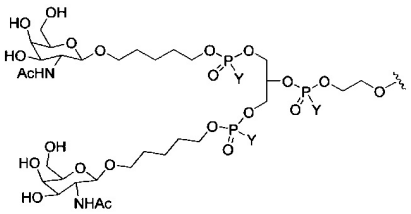
Олигонуклеотид 250, содержащий группу конъюгата $GalNAc_2$-31, где Y выбран из O, S, замещенного или незамещенного C_1-C_{10} алкила, амино, замещенного амино, азидо, алкенила или алкинила, синтезировали так, как показано выше. Кластерная часть $lNAc_2$ ($GalNAc_2$-31_a) группы конъюгата $GalNAc_2$-31 может быть комбинирована с любым расщепляемым фрагментом, содержащимся в олигонуклеотиде, с получением различных групп конъюгата. В некоторых вариантах реализации Y-содержащая группа, которая находится непосредственно возле 5'-конца олигонуклеотида, представляет собой часть расщепляемого фрагмента. В некоторых вариантах реализации Y-содержащая группа, которая находится непосредственно возле 5'-конца олигонуклеотида, представляет собой часть стабильного фрагмента, а расщепляемый фрагмент находится в олигонуклеотиде. Структура $GalNAc_2$-31_a представлена ниже:



Синтез олигонуклеотида, содержащего конъюгат $GalNAc_2$-32, представлен ниже.



Олигонуклеотид 252, содержащий группу конъюгата $GalNAc_2$-32, где Y выбран из O, S, замещенного или незамещенного C_1-C_{10} алкила, амино, замещенного амино, азидо, алкенила или алкинила, синтезировали так, как показано выше. Кластерная часть $lNAc_2$ ($GalNAc_2$-32_a) группы конъюгата $GalNAc_2$-32 может быть комбинирована с любым расщепляемым фрагментом, содержащимся в олигонуклеотиде, с получением различных групп конъюгата. В некоторых вариантах реализации Y-содержащая группа, которая находится непосредственно возле 5'-конца олигонуклеотида, представляет собой часть расщепляемого фрагмента. В некоторых вариантах реализации Y-содержащая группа, которая находится непосредственно возле 5'-конца олигонуклеотида, представляет собой часть стабильного фрагмента, а расщепляемый фрагмент находится в олигонуклеотиде. Структура $GalNAc_2$-32_a представлена ниже:



Пример 112: Модифицированные олигонуклеотиды, содержащие конъюгат $GalNAc_1$

Олигонуклеотиды в Таблице 120, направленные на SRB-1, были синтезированы с группой конъюгата $GalNAc_1$ для дополнительной проверки эффективности олигонуклеотидов, содержащих группы конъюгата, которые содержат один лиганд GalNAc.

Таблица 120

ISIS №	Последовательность (от 5' к 3')	Кластер GalNAc	CM	SEQ ID NO.
711461	**GalNAc$_1$-25$_{a\text{-}o}$'A$_{do}$** G_{es} $^mC_{es}$ T_{es} T_{es} $^mC_{es}$ A_{ds} G_{ds} T_{ds} $^mC_{ds}$ A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds} $^mC_{ds}$ T_{ds} T_{es} $^mC_{es}$ $^mC_{es}$ T_{es} T_e	GalNAc$_1$-25$_a$	A_d	2258
711462	**GalNAc$_1$-25$_{a\text{-}o}$'**G_{es} $^mC_{es}$ T_{es} T_{es} $^mC_{es}$ A_{ds} G_{ds} T_{ds} $^mC_{ds}$ A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds} $^mC_{ds}$ T_{ds} T_{es} $^mC_{es}$ $^mC_{es}$ T_{es} T_e	GalNAc$_1$-25$_a$	PO	2256
711463	**GalNAc$_1$-25$_{a\text{-}o}$'**G_{es} $^mC_{eo}$ T_{eo} T_{eo} $^mC_{eo}$ A_{ds} G_{ds} T_{ds} $^mC_{ds}$ A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds} $^mC_{ds}$ T_{ds} T_{eo} $^mC_{eo}$ $^mC_{es}$ T_{es} T_e	GalNAc$_1$-25$_a$	PO	2256
711465	**GalNAc$_1$-26$_{a\text{-}o}$'A$_{do}$** G_{es} $^mC_{es}$ T_{es} T_{es} $^mC_{es}$ A_{ds} G_{ds} T_{ds} $^mC_{ds}$ A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds} $^mC_{ds}$ T_{ds} T_{es} $^mC_{es}$ $^mC_{es}$ T_{es} T_e	GalNAc$_1$-26$_a$	A_d	2258
711466	**GalNAc$_1$-26$_{a\text{-}o}$'**G_{es} $^mC_{es}$ T_{es} T_{es} $^mC_{es}$ A_{ds} G_{ds} T_{ds} $^mC_{ds}$ A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds} $^mC_{ds}$ T_{ds} T_{es} $^mC_{es}$ $^mC_{es}$ T_{es} T_e	GalNAc$_1$-26$_a$	PO	2256
711467	**GalNAc$_1$-26$_{a\text{-}o}$'**G_{es} $^mC_{eo}$ T_{eo} T_{eo} $^mC_{eo}$ A_{ds} G_{ds} T_{ds} $^mC_{ds}$ A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds} $^mC_{ds}$ T_{ds} T_{eo} $^mC_{eo}$ $^mC_{es}$ T_{es} T_e	GalNAc$_1$-26$_a$	PO	2256
711468	**GalNAc$_1$-28$_{a\text{-}o}$'A$_{do}$** G_{es} $^mC_{es}$ T_{es} T_{es} $^mC_{es}$ A_{ds} G_{ds} T_{ds} $^mC_{ds}$ A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds} $^mC_{ds}$ T_{ds} T_{es} $^mC_{es}$ $^mC_{es}$ T_{es} T_e	GalNAc$_1$-28$_a$	A_d	2258
711469	**GalNAc$_1$-28$_{a\text{-}o}$'**G_{es} $^mC_{es}$ T_{es} T_{es} $^mC_{es}$ A_{ds} G_{ds} T_{ds} $^mC_{ds}$ A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds} $^mC_{ds}$ T_{ds} T_{es} $^mC_{es}$ $^mC_{es}$ T_{es} T_e	GalNAc$_1$-28$_a$	PO	2256
711470	**GalNAc$_1$-28$_{a\text{-}o}$'**G_{es} $^mC_{eo}$ T_{eo} T_{eo} $^mC_{eo}$ A_{ds} G_{ds} T_{ds} $^mC_{ds}$ A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds} $^mC_{ds}$ T_{ds} T_{eo} $^mC_{eo}$ $^mC_{es}$ T_{es} T_e	GalNAc$_1$-28$_a$	PO	2256
713844	G_{es} $^mC_{es}$ T_{es} T_{es} $^mC_{es}$ A_{ds} G_{ds} T_{ds} $^mC_{ds}$ A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds} $^mC_{ds}$ T_{ds} T_{es} $^mC_{es}$ $^mC_{es}$ T_{es} T_{eo}'-**GalNAc$_1$-27$_a$**	GalNAc$_1$-27$_a$	PO	2256
713845	G_{es} $^mC_{eo}$ T_{eo} T_{eo} $^mC_{eo}$ A_{ds} G_{ds} T_{ds} $^mC_{ds}$ A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds} $^mC_{ds}$ T_{ds} T_{eo} $^mC_{eo}$ $^mC_{es}$ T_{es} T_{eo}'-**GalNAc$_1$-27$_a$**	GalNAc$_1$-27$_a$	PO	2256
713846	G_{es} $^mC_{eo}$ T_{eo} T_{eo} $^mC_{eo}$ A_{ds} G_{ds} T_{ds} $^mC_{ds}$ A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds} $^mC_{ds}$ T_{ds} T_{eo} $^mC_{eo}$ $^mC_{es}$ T_{es} T_{eo} **A$_{do}$'-GalNAc$_1$-27$_a$**	GalNAc$_1$-27$_a$	A_d	2257
713847	G_{es} $^mC_{es}$ T_{es} T_{es} $^mC_{es}$ A_{ds} G_{ds} T_{ds} $^mC_{ds}$ A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds} $^mC_{ds}$ T_{ds} T_{es} $^mC_{es}$ $^mC_{es}$ T_{es} T_{eo}'-**GalNAc$_1$-29$_a$**	GalNAc$_1$-29$_a$	PO	2256
713848	G_{es} $^mC_{eo}$ T_{eo} T_{eo} $^mC_{eo}$ A_{ds} G_{ds} T_{ds} $^mC_{ds}$ A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds} $^mC_{ds}$ T_{ds} T_{eo} $^mC_{eo}$ $^mC_{es}$ T_{es} T_{eo}'-**GalNAc$_1$-29$_a$**	GalNAc$_1$-29$_a$	PO	2256
713849	G_{es} $^mC_{es}$ T_{es} T_{es} $^mC_{es}$ A_{ds} G_{ds} T_{ds} $^mC_{ds}$ A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds} $^mC_{ds}$ T_{ds} T_{es} $^mC_{es}$ $^mC_{es}$ T_{es} T_{eo} **A$_{do}$'-GalNAc$_1$-29$_a$**	GalNAc$_1$-29$_a$	A_d	2257
713850	G_{es} $^mC_{eo}$ T_{eo} T_{eo} $^mC_{eo}$ A_{ds} G_{ds} T_{ds} $^mC_{ds}$ A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds} $^mC_{ds}$ T_{ds} T_{eo} $^mC_{eo}$ $^mC_{es}$ T_{es} T_{eo} **A$_{do}$'-GalNAc$_1$-29$_a$**	GalNAc$_1$-29$_a$	A_d	2257

Пример 113: Антисмысловое ингибирование in vivo под действием олигонуклеотидов, направленных на калликреин B плазмы (фактор Флетчера) 1, содержащих кластер GalNAc

Олигонуклеотиды, представленные в Таблице 121, были сконструированы для направленного воздействия на человеческий калликреин плазмы B (фактор Флетчера) 1 или прекалликреин (ПКП).

Таблица 121

Последовательность (от 5' к 3')	SEQ ID NO
GalNAc3-3- $T_{es}G_{es}{}^{m}C_{es}A_{es}A_{es}A_{es}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{ds}G_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{es}A_{es}A_{es}{}^{m}C_{es}A_{e}$	570
GalNAc3-3- $T_{es}G_{eo}{}^{m}C_{eo}A_{eo}A_{eo}A_{eo}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{ds}G_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{eo}A_{eo}A_{es}{}^{m}C_{es}A_{c}$	570
GalNAc3-7- $T_{es}G_{es}{}^{m}C_{es}A_{es}A_{es}A_{es}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{ds}G_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{es}A_{es}A_{es}{}^{m}C_{es}A_{e}$	570
GalNAc3-7- $T_{es}G_{eo}{}^{m}C_{eo}A_{eo}A_{eo}A_{eo}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{ds}G_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{eo}A_{eo}A_{es}{}^{m}C_{es}A_{e}$	570
GalNAc3-10- $T_{es}G_{es}{}^{m}C_{es}A_{es}A_{es}A_{es}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{ds}G_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{es}A_{es}A_{es}{}^{m}C_{es}A_{e}$	570
GalNAc3-10- $T_{es}G_{eo}{}^{m}C_{eo}A_{eo}A_{eo}A_{eo}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{ds}G_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{eo}A_{eo}A_{es}{}^{m}C_{es}A_{e}$	570
GalNAc3-13- $T_{es}G_{es}{}^{m}C_{es}A_{es}A_{es}A_{es}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{ds}G_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{es}A_{es}A_{es}{}^{m}C_{es}A_{e}$	570
GalNAc3-13- $T_{es}G_{eo}{}^{m}C_{eo}A_{eo}A_{eo}A_{eo}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{ds}G_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{eo}A_{eo}A_{es}{}^{m}C_{es}A_{e}$	570
$T_{es}G_{es}{}^{m}C_{es}A_{es}A_{es}A_{es}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{ds}G_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{es}A_{es}A_{es}{}^{m}C_{es}A_{e}$- **GalNAc3-19**	570
$T_{es}G_{eo}{}^{m}C_{eo}A_{eo}A_{eo}A_{eo}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{ds}G_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{eo}A_{eo}A_{es}{}^{m}C_{es}A_{e}$- **GalNAc3-19**	570
GalNAc3-7a-o, $T_{es}G_{es}{}^{m}C_{eo}A_{eo}A_{es}$ G_{ds} $T_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{ds}G_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{eo}A_{eo}A_{es}{}^{m}C_{es}A_{e}$	570

Пример 114: Антисмысловое ингибирование ПКП человека в клетках HepaRG™ антисмысловыми олигонуклеотидами с 2'-MOE модификациями сахара

Были сконструированы антисмысловые олигонуклеотиды, нацеленные на нуклеиновую кислоту ПКП, и было протестировано их влияние на мРНК ПКП in vitro. Для скрининга применяли клетки HepaRG™, которые представляют собой терминально дифференцированные печеночные клетки, полученные из линии печеночных клеток-предшественников человека, и которые сохраняют многие характеристики первичных гепатоцитов человека (Lubberstedt M. et al., J. Pharmacol. Toxicol. Methods 2011 63: 59-68).

Химерные антисмысловые олигонуклеотиды в представленных ниже таблицах были сконструированы как 5-10-5 MOE гэпмеры. Гэпмеры имеют 20 нуклеозидов в длину, причем центральный сегмент гэп состоит из десяти 2'-дезоксинуклеозидов и окружен сегментами крыльев с 5' конца и с 3' конца, содержащими по пять нуклеозидов каждый. Каждый нуклеозид в 5' сегменте крыла и каждый нуклеозид в 3' сегменте крыла содержит 2'-O-метоксиэтильную модификацию. Межнуклеозидные связи в каждом гэпмере представляют собой тиофосфатные связи. Все остатки цитозина в каждом гэпмере представляют собой 5-метилцитозины. «Сайт инициации» обозначает самый крайний 5' нуклеозид, на который направлен гэпмер в последовательности гена человека. «Сайт терминации» обозначает самый крайний 3' нуклеозид, на который направлен гэпмер в последовательности гена человека. Каждый гэпмер, перечисленный в представленных ниже таблицах, нацелен на мРНК ПКП человека, обозначенную в данном описании как SEQ ID NO: 1 (с номером доступа GENBANK NM_000892.3) или геномную последовательность ПКП человека, обозначенную в данном описании как SEQ ID NO: 10 (номер доступа GENBANK NT_016354.19, усеченную по нуклеотидам с 111693001 по 111730000). «н/д» означает, что антисмысловой олигонуклеотид не нацелен на данную конкретную последовательность гена.

Культивированные клетки HepaRG™ с плотностью 20000 клеток на лунку трансфицировали с использованием электропорации с 3000 нМ антисмыслового олигонуклеотида. После периода обработки длительностью около 24 часов, РНК выделяли из клеток и уровни мРНК ПКП измеряли методом количественной ПЦР в реальном времени. Набор человеческих праймерных зондов RTS3454 (прямая последовательность CCAAAAAAGGTGCACCAGTAACA, обозначенная в данном

описании как SEQ ID NO: 20; обратная последовательность CCTCCGGGACTGTACTTTAATAGG, обозначенная в данном описании как SEQ ID NO: 21; последовательность зонда CACGCAAACATTTCACAAGGCAGAGTACC, обозначенная в данном описании как SEQ ID NO: 22) использовали для измерения уровней мРНК. Уровни мРНК ПКП были скорректированы в соответствии с общим содержанием РНК, измеренным с помощью RIBOGREEN®. Антисмысловые олигонуклеотиды испытывали в сериях экспериментов с одинаковыми условиями выращивания. Результаты каждого эксперимента представлены в отдельных таблицах, показанных ниже. Результаты представлены как процент ингибирования ПКП относительно необработанных контрольных клеток.

Таблица 122

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт инициации	SEQ ID NO: 1 сайт терминации	Последовательность	% ингибирования	SEQ ID NO: 10 сайт инициации	SEQ ID NO: 10 сайт терминации	SEQ ID NO
530929	1	20	AACGGTCTTCAAGCTGTTCT	59	3393	3412	30
530930	6	25	AAATGAACGGTCTTCAAGCT	17	3398	3417	31
530931	11	30	CTTAAAAATGAACGGTCTTC	29	3403	3422	32
530932	16	35	TGTCACTTAAAAATGAACGG	52	3408	3427	33
530933	31	50	TGGAGGTGAGTCTCTTGTCA	76	3423	3442	34
530934	36	55	CTTCTTGGAGGTGAGTCTCT	54	3428	3447	35
530935	68	87	GCTTGAATAAAATCATTCTG	0	н.д.	н.д.	36

530936	73	92	TGCTTGCTTGAATAAA ATCA	27	4072	4091	37
530937	78	97	TAAGTTGCTTGCTTGA ATAA	0	4077	4096	38
530938	88	107	GGAAATGAAATAAGTT GCTT	11	4087	4106	39
530939	93	112	AACAAGGAAATGAAA TAAGT	0	4092	4111	40
530940	98	117	TAGCAAACAAGGAAA TGAAA	7	4097	4116	41
530941	103	122	AACTGTAGCAAACAAG GAAA	22	4102	4121	42
530942	108	127	CAGGAAACTGTAGCAA ACAA	22	4107	4126	43
530943	113	132	ATCCACAGGAAACTGT AGCA	56	н.д.	н.д.	44
530944	118	137	CAGACATCCACAGGAA ACTG	0	н.д.	н.д.	45
530945	157	176	ATCCCCACCTCTGAAG AAGG	0	8029	8048	46
530946	160	179	TACATCCCCACCTCTG AAGA	0	8032	8051	47
530947	165	184	GAAGCTACATCCCCAC CTCT	27	8037	8056	48
530948	170	189	ACATGGAAGCTACATC CCCA	35	8042	8061	49
530949	175	194	GGTGTACATGGAAGCT ACAT	31	8047	8066	50
530950	221	240	ACCTTGGGTGGAATGT GCAC	47	8093	8112	51
530951	226	245	CAAACACCTTGGGTGG AATG	49	8098	8117	52
530952	234	253	CTGAATAGCAAACACC TTGG	38	8106	8125	53
530953	239	258	GAAAACTGAATAGCA AACAC	7	8111	8130	54
530954	244	263	TGGAAGAAAACTGAAT AGCA	47	8116	8135	55
530955	278	297	CAAACCTTTTCTCCAT GTCA	55	н.д.	н.д.	56
530956	300	319	ACACTATCTTTCAAGA AGCA	57	9834	9853	57
530957	386	405	GGCAAGCACTTATTTG ATGA	56	н.д.	н.д.	58
530958	432	451	TTAAAATTGACTCCTC TCAT	60	12688	12707	59
530959	456	475	TCAACACTGCTAACCT	60	12712	12731	60

			TAGA				
530960	461	480	ATTCTTCAACACTGCT AACC	58	12717	12736	61
530961	466	485	TTGGCATTCTTCAACA CTGC	88	12722	12741	62
530962	472	491	CCTTTTTTGGCATTCTT CAA	64	12728	12747	63
530963	479	498	TGGTGCACCTTTTTTG GCAT	78	12735	12754	64
530964	628	647	CTTCAGTGAGAATCCA GATT	44	14199	14218	65
530965	637	656	GGCACAGGGCTTCAGT GAGA	73	14208	14227	66
530966	649	668	AATTTCTGAAAGGGCA CAGG	58	14220	14239	67
530967	654	673	CAACCAATTTCTGAAA GGGC	69	н.д.	н.д.	68
530968	680	699	CAAGATGCTGGAAGAT GTTC	18	26128	26147	69
530969	846	865	GTGCCACTTTCAGATG TTTT	0	27110	27129	70
530970	851	870	TTGGTGTGCCACTTTC AGAT	74	27115	27134	71
530971	856	875	GGAACTTGGTGTGCCA CTTT	85	27120	27139	72
530972	861	880	GTAGAGGAACTTGGTG TGCC	42	27125	27144	73
530973	866	885	GAGGAGTAGAGGAAC TTGGT	52	27130	27149	74
530974	871	890	TTCTTGAGGAGTAGAG GAAC	18	27135	27154	75
530975	876	895	GTGTTTTCTTGAGGAG TAGA	41	27140	27159	76
530976	881	900	ATATGGTGTTTTCTTG AGGA	26	27145	27164	77
530977	886	905	TCCAGATATGGTGTTT TCTT	55	27150	27169	78
530978	891	910	CTATATCCAGATATGG TGTT	0	27155	27174	79
530979	901	920	GGTTAAAAGGCTATAT CCAG	35	27165	27184	80
530980	906	925	TTGCAGGTTAAAAGGC TATA	29	27170	27189	81
530981	911	930	TTCTTTTGCAGGTTAA AAGG	0	27175	27194	82
530982	916	935	TAAAGTTCTTTTGCAG GTTA	0	27180	27199	83

530983	931	950	ATGGCAGGGTTCAGGTAAAG	9	н.д.	н.д.	84
530984	936	955	TTAGAATGGCAGGGTTCAGG	25	н.д.	н.д.	85
530985	941	960	AAATTTTAGAATGGCAGGGT	32	27363	27382	86
530986	946	965	CGGGTAAATTTTAGAATGGC	62	27368	27387	87
530987	951	970	ACTCCCGGGTAAATTTTAGA	0	27373	27392	88
530988	961	980	TCCAAAGTCAACTCCCGGGT	76	27383	27402	89
530989	966	985	TCTCCTCCAAAGTCAACTCC	28	27388	27407	90
530990	971	990	ATTCTTCTCCTCCAAAGTCA	32	27393	27412	91
530991	976	995	ATTCAATTCTTCTCCTCCAA	43	27398	27417	92
530992	981	1000	GTCACATTCAATTCTTCTCC	70	27403	27422	93
530993	1005	1024	CAAACATTCACTCCTTTAAC	30	27427	27446	94
530994	1010	1029	CTTGGCAAACATTCACTCCT	50	27432	27451	95
530995	1015	1034	AGTCTCTTGGCAAACATTCA	49	27437	27456	96
530996	1038	1057	TGACAGCGAATCATCTTTGT	51	27460	27479	97
530997	1043	1062	AAAACTGACAGCGAATCATC	39	27465	27484	98
530998	1048	1067	AGTGAAAAACTGACAGCGAA	0	27470	27489	99
530999	1071	1090	CAGTCTTCTGGGAGTAAAGA	31	27493	27512	100
531000	1098	1117	AAGAAACACTTACACTTCTC	1	н.д.	н.д.	101
531001	1108	1127	AGATAATCTTAAGAAACACT	44	27629	27648	102
531002	1155	1174	GAGCTCCCTTGTGTCCCATA	85	27676	27695	103
531003	1160	1179	AACCAGAGCTCCCTTGTGTC	49	27681	27700	104
531004	1165	1184	AGAGTAACCAGAGCTCCCTT	76	27686	27705	105
531005	1170	1189	CTCAAAGAGTAACCAGAGCT	76	27691	27710	106
531006	1216	1235	GCTTGTTTTTGTTGTGC	49	27892	27911	107

			AGA				

Таблица 123

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт инициации	SEQ ID NO: 1 сайт терминации	Последовательность	% ингибирования	SEQ ID NO: 10 сайт инициации	SEQ ID NO: 10 сайт терминации	SEQ ID NO
482586	1608	1627	ACCCAACAGTTGGTATAAAT	0	31914	31933	108
486847	1563	1582	AGGCATATTGGTTTTTGGAA	78	31869	31888	109
531007	46	65	AACACAATTGCTTCTTGGAG	51	3438	3457	110
531008	675	694	TGCTGGAAGATGTTCATGTG	51	26123	26142	111
531009	1239	1258	TTTGTTCCTCCAACAATGCG	65	27915	27934	112
531010	1244	1263	AAGAGTTTGTTCCTCCAACA	52	27920	27939	113
531011	1249	1268	CCAAGAAGAGTTTGTTCCTC	0	27925	27944	114
531012	1254	1273	TCTCCCCAAGAAGAGTTTGT	48	27930	27949	115
531013	1264	1283	CCAGGGCCACTCTCCCCAAG	56	27940	27959	116
531014	1287	1306	AGCTTCACCTGCAGGCTCAC	0	27963	27982	117
531015	1324	1343	TATGAGTGACCCTCCACACA	52	28000	28019	118
531016	1329	1348	TGTCCTATGAGTGACCCTCC	39	28005	28024	119
531017	1334	1353	ACTGGTGTCCTATGAGTGAC	31	28010	28029	120
531018	1339	1358	GACCCACTGGTGTCCTATGA	54	28015	28034	121
531019	1344	1363	GTGAGGACCCACTGGTGTCC	28	28020	28039	122
531020	1369	1388	AAGCCCATCAAAGCAGTGGG	0	н.д.	н.д.	123
531021	1420	1439	GTCTGACAGATTTAAAATGC	50	30498	30517	124
531022	1425	1444	GTAATGTCTGACAGATTTAA	74	30503	30522	125
531023	1430	1449	CTTTTGTAATGTCTGACAGA	71	30508	30527	126

531024	1452	1471	TTTATTTGTGAGAAAGGTGT	69	30530	30549	127
531025	1457	1476	TCTCTTTTATTTGTGAGAAA	34	30535	30554	128
531026	1501	1520	ATCATGATTCCCTTCTGAGA	73	30579	30598	129
531027	1530	1549	AAAGGAGCCTGGAGTTTTAT	0	30608	30627	130
531028	1535	1554	AATTCAAAGGAGCCTGGAGT	56	30613	30632	131
531029	1540	1559	AGTGTAATTCAAAGGAGCCT	59	30618	30637	132
531030	1545	1564	AATTCAGTGTAATTCAAAGG	24	н.д.	н.д.	133
531031	1550	1569	TTTGGAATTCAGTGTAATTC	59	н.д.	н.д.	134
531032	1555	1574	TGGTTTTTGGAATTCAGTGT	67	н.д.	н.д.	135
531033	1557	1576	ATTGGTTTTTGGAATTCAGT	53	н.д.	н.д.	136
531034	1560	1579	CATATTGGTTTTTGGAATTC	36	31866	31885	137
531035	1565	1584	GTAGGCATATTGGTTTTTGG	46	31871	31890	138
531036	1581	1600	GTGTCACCTTTGGAAGGTAG	71	31887	31906	139
531037	1604	1623	AACAGTTGGTATAAATTGTG	35	31910	31929	140
531038	1605	1624	CAACAGTTGGTATAAATTGT	22	31911	31930	141
531039	1609	1628	TACCCAACAGTTGGTATAAA	36	31915	31934	142
531040	1632	1651	TCCTTCGAGAAGCCCCATCC	27	31938	31957	143
531041	1677	1696	AAAGGAATATTTACCTTTTG	68	33121	33140	144
531042	1682	1701	TTACCAAAGGAATATTTACC	11	33126	33145	145
531043	1687	1706	ATTTGTTACCAAAGGAATAT	27	33131	33150	146
531044	1697	1716	GGCATTCTTCATTTGTTACC	68	33141	33160	147
531045	1702	1721	TTTCTGGCATTCTTCATTTG	37	33146	33165	148
531046	1709	1728	GATATCTTTTCTGGCATTCT	54	33153	33172	149
5310	1714	1733	ATCTTGATATCTTTTC	68	33158	33177	15

47			TGGC				0
531048	1719	1738	TTATAATCTTGATATCTTTT	42	33163	33182	151
531049	1724	1743	TTATTTTATAATCTTGATAT	2	33168	33187	152
531050	1729	1748	TTGGGTTATTTTATAATCTT	18	33173	33192	153
531051	1734	1753	ATCCGTTGGGTTATTTTATA	51	33178	33197	154
531052	1739	1758	AGACCATCCGTTGGGTTATT	60	33183	33202	155
531053	1744	1763	AGCACAGACCATCCGTTGGG	49	33188	33207	156
531054	1754	1773	CTTTATAGCCAGCACAGACC	48	33198	33217	157
531055	1759	1778	CCCTTCTTTATAGCCAGCAC	68	33203	33222	158
531056	1764	1783	TTTCCCCCTTCTTTATAGCC	45	33208	33227	159
531057	1769	1788	CATCTTTTCCCCCTTCTTTA	48	33213	33232	160
531058	1779	1798	CCCTTACAAGCATCTTTTCC	60	н.д.	н.д.	161
531059	1820	1839	ACATTCCATTGTGTTTGCAA	55	33919	33938	162
531060	1841	1860	TGGTGATGCCCACCAAACGC	35	33940	33959	163
531061	1872	1891	TGCTCCCTGCGGGCACAGCC	52	33971	33990	164
531062	1877	1896	CAGGTTGCTCCCTGCGGGCA	39	33976	33995	165
531063	1882	1901	GACACCAGGTTGCTCCCTGC	51	33981	34000	166
531064	1887	1906	GTGTAGACACCAGGTTGCTC	56	33986	34005	167
531065	1892	1911	CTTTGGTGTAGACACCAGGT	57	33991	34010	168
531066	1897	1916	AGCGACTTTGGTGTAGACAC	67	33996	34015	169
531067	1902	1921	TACTCAGCGACTTTGGTGTA	31	34001	34020	170
531068	1907	1926	CCATGTACTCAGCGACTTTG	59	34006	34025	171
531069	1912	1931	CCAGTCCATGTACTCAGCGA	56	34011	34030	172
531070	1930	1949	CTGTGTTTTCTCTAAAATCC	68	34029	34048	173
531071	1935	1954	CTGCTCTGTGTTTTCTCTAA	73	34034	34053	174
531072	2026	2045	GCTCAGAATTTGACTTGAAC	64	34125	34144	175
531073	2031	2050	CCCAGGCTCAGAATTTGACT	51	34130	34149	176
531074	2049	2068	CTTTGCAGATGAGGACCCCC	67	34148	34167	177
531075	2054	2073	CCATGCTTTGCAGATGAGGA	64	34153	34172	178
531076	2059	2078	ACTCTCCATGCTTTGCAGAT	68	34158	34177	179
531077	2064	2083	ATGCCACTCTCCATGCTTTG	51	34163	34182	180
531078	2111	2130	AGCAGCTCTGAGTGCACTGT	77	34210	34229	181
531079	2116	2135	TCCTCAGCAGCTCTGAGTGC	58	34215	34234	182
531080	2121	2140	CATTGTCCTCAGCAGCTCTG	55	34220	34239	183
531081	н.д.	н.д.	TGGTTTTTGGAATTCTGAAA	14	31861	31880	184
531082	н.д.	н.д.	ATATTGGTTTTTGGAATTCT	31	31865	31884	185

Таблица 124

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт инициации	SEQ ID NO: 1 сайт терминации	Последовательность	% ингибирования	SEQ ID NO: 10 сайт инициации	SEQ ID NO: 10 сайт терминации	SEQ ID NO
531083	н.д.	н.д.	TGTACTAGTTTCCTATAACT	60	14738	14757	186
					14809	14828	
					14880	14899	
					14939	14958	
					15071	15090	
					15214	15233	
					15286	15305	
					15345	15364	
					15477	15496	
					15549	15568	
					15607	15626	
					15679	15698	
					15809	15828	
					15881	15900	
					15939	15958	
531084	н.д.	н.д.	ATAGGGACACAACCAAGGAA	25	16296	16315	187
531085	н.д.	н.д.	AGGCACAGAGCCAGCACCCA	9	16495	16514	188
531086	н.д.	н.д.	CCTGCCTCCTGGCAGCCTTC	48	16696	16715	189
531087	н.д.	н.д.	CCAGGTGTGGACAGCAGCTG	52	16821	16840	190
531088	н.д.	н.д.	GGTTTTGTTTGTAAAATTAG	27	17159	17178	191
531089	н.д.	н.д.	AAAACACCATTAAATCCATT	45	17306	17325	192
531090	н.д.	н.д.	ACAGAAACCATGATGTTGCT	59	17644	17663	193
531091	н.д.	н.д.	TCAGCCCAATGTCCTAACCT	35	17793	17812	194
531092	н.д.	н.д.	CCTTCACTGACTCTCTTTTC	24	17922	17941	195
531093	н.д.	н.д.	TTCTCCTGGCTCAGAAGCTC	60	18053	18072	196
					23315	23334	
531094	н.д.	н.д.	GAATGTCAGGCCTCTGGGCC	48	18181	18200	197
531095	н.д.	н.д.	CTAACAACCCCACAATATCA	20	18390	18409	198
531096	н.д.	н.д.	CCCAATTCTTAGTCCTTTAA	45	18523	18542	199
531097	н.д.	н.д.	ACCAAGCTCAGCCTCCAACT	41	18648	18667	200
531098	н.д.	н.д.	TTATTAGTCAAATCACCCAA	19	18773	18792	201
531099	н.д.	н.д.	TGGATGGGTAGAGGCCTTTC	64	18898	18917	202
531100	н.д.	н.д.	CCCCCTCCCTTCCCTACACA	0	19023	19042	203
531101	н.д.	н.д.	ATGTAAGTTACAAGCCACTA	37	19153	19172	204
531102	н.д.	н.д.	TGCCTCTTTAATAAAAACTC	42	19484	19503	205
531103	н.д.	н.д.	ACTCATTGCCTTAACTCAGG	40	19636	19655	206
531104	н.д.	н.д.	ACTTGACCTTACTGTTTTAG	20	19886	19905	207
531105	н.д.	н.д.	CTCCTCCCCAGGCTGCTCCT	16	22092	22111	208
531106	н.д.	н.д.	AAGATCTAGATAATTCTTGT	31	22332	22351	209

531107	н.д.	н.д.	TCAACTCACACCTGACCTAA	30	22457	22476	210
531108	н.д.	н.д.	TGAACCCAAAACTCTGGCAC	50	22771	22790	211
531109	н.д.	н.д.	AGCCCAAGGAACATCTCACC	52	22959	22978	212
531110	н.д.	н.д.	GCCTGTTTGGTGGTCTCTTC	86	23110	23129	213
531111	н.д.	н.д.	CTTCTCCTGGCTCAGAAGCT	68	18054 23316	18073 23335	214
531112	н.д.	н.д.	ATGTATGATTCTAAGAACTT	14	23479	23498	215
531113	н.д.	н.д.	AACAGACACATTATTTATAT	0	23604	23623	216
531114	н.д.	н.д.	AGAGTCAAGTCCACAGACAT	40	24246	24265	217
531115	н.д.	н.д.	TCCTAAATAGGAACAAAGTA	0	24372	24391	218
531116	н.д.	н.д.	TTGTTAAGGTTGTAGAGAGA	23	24688	24707	219
531117	н.д.	н.д.	ACCCAATTATTTTTAATGGC	62	24876	24895	220
531118	н.д.	н.д.	GCCTAAATGTAAGAGCTAAA	26	25157	25176	221
531119	н.д.	н.д.	TAAACTCTTACATTTATAGA	0	25293	25312	222
531120	н.д.	н.д.	AAATAAAAGCACTCAGACTG	0	25418	25437	223
531121	н.д.	н.д.	TTGGTCTACAGATTCAATGC	72	25550	25569	224
531122	н.д.	н.д.	TAACAAAAATGCCTTGTGCC	33	25710	25729	225
531123	н.д.	н.д.	TCCCAGCTCCAGTCACCACC	74	25866	25885	226
531124	н.д.	н.д.	GTACTAAACATCCTAAGTGA	2	25992	26011	227
531125	н.д.	н.д.	ACTCGCCTTTGTGACTCGAT	23	26264	26283	228
531126	н.д.	н.д.	TTTTGAATCTTCATTCAAAG	0	26551	26570	229
531127	н.д.	н.д.	CAGAGCCTTGATCAGAATAA	12	26676	26695	230
531128	н.д.	н.д.	AAGTTCCACCTTCTAACTGG	18	26831	26850	231
531129	н.д.	н.д.	AGCAGCTCACACCCAAAAAG	0	27005	27024	232
5311	н.д.	н.д.	TTCTGTGTCAATTATA	0	27344	27363	23

30			AACA				3
5311 31	н.д.	н.д.	TAGAAAGAGTAAGCC TTCAC	0	27587	27606	23 4
5311 32	н.д.	н.д.	AGTGAGGTTACTCAC CAGAG	0	27732	27751	23 5
5311 33	н.д.	н.д.	TTTTGTTGTGCAGACT GAAA	19	27886	27905	23 6
5311 34	н.д.	н.д.	TTACCCATCAAAGCA GTGGG	6	28045	28064	23 7
5311 35	н.д.	н.д.	AATGTTGTGAATACC ATCCC	16	28174	28193	23 8
5311 36	н.д.	н.д.	TAACATTTCTATGGG CCTGA	6	28670	28689	23 9
5311 37	н.д.	н.д.	TGTCTACTATTTGACC AATA	19	28795	28814	24 0
5311 38	н.д.	н.д.	TTTAAATGTGTCACTT AATC	0	28987	29006	24 1
5311 39	н.д.	н.д.	TCACTAAAACAAAAA TACTT	0	29156	29175	24 2
5311 40	н.д.	н.д.	TCTTCCAGGCCAACC ACCTT	22	29321	29340	24 3
5311 41	н.д.	н.д.	TGCAAGGCATGTGTG CACAA	47	29532	29551	24 4
5311 42	н.д.	н.д.	TGTTTAAAATATCTCT ATAC	8	30008	30027	24 5
5311 43	н.д.	н.д.	CATGGAAAAATTAAG CTCAT	0	30133	30152	24 6
5311 44	н.д.	н.д.	TGAAGATTCTATTTA ACAAA	0	30266	30285	24 7
5311 45	н.д.	н.д.	GCCTAGGAGAGAAAA ATAAA	0	30445	30464	24 8
5311 46	н.д.	н.д.	CCAGTGTAATTCAAA GGAGC	40	30620	30639	24 9
5311 47	н.д.	н.д.	CCATTATTTCCATCAC CTGC	18	30871	30890	25 0
5311 48	н.д.	н.д.	TACCCAAATTATACC TGGAA	8	31015	31034	25 1
5311 49	н.д.	н.д.	AGAGGTAAAGCAACT TGCCC	45	31429	31448	25 2
5311 50	н.д.	н.д.	TCCTTAATAGTCATA GCAGG	48	31558	31577	25 3
5311 51	н.д.	н.д.	TCACCACCATTTTTCA CATG	44	31683	31702	25 4
5311 52	н.д.	н.д.	GTTATGGATATAGAC TTTAA	0	31808	31827	25 5
5311 53	н.д.	н.д.	CTAGAAGCAATATTT AAAGC	0	31974	31993	25 6
5311 54	н.д.	н.д.	ATGAAGTAAGATGCT TAAAA	16	32162	32181	25 7
5311 55	н.д.	н.д.	CTTCTTGTCTCAGATT ACCA	79	32464	32483	25 8
5311 56	н.д.	н.д.	TCTGAAAAGCCCTCC GAGCT	0	32589	32608	25 9
5311 57	н.д.	н.д.	AAGTGAATCAGAGCA GTGTA	46	32961	32980	26 0
5311 58	н.д.	н.д.	ACCTTACAAGCATCT TTTCC	41	33223	33242	26 1
5311 59	н.д.	н.д.	ATTTGTTAAAAGTTG CTTAT	0	33368	33387	26 2
5311 60	н.д.	н.д.	TGATATCATCATCCC AATGA	13	33510	33529	26 3

Таблица 125

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт инициации	SEQ ID NO: 1 сайт терминации	Последовательность	% ингибирования	SEQ ID NO: 10 сайт инициации	SEQ ID NO: 10 сайт терминации	SEQ ID NO
531083	н.д.	н.д.	TGTACTAGTTTCCTATAACT	68	14738	14757	264
					14809	14828	
					14880	14899	
					14939	14958	
					15071	15090	
					15214	15233	
					15286	15305	
					15345	15364	
					15477	15496	
					15549	15568	
					15607	15626	
					15679	15698	
					15809	15828	
					15881	15900	
					15939	15958	
531161	н.д.	н.д.	CAGACACCTTCTTCACAAGG	40	898	917	264
531162	н.д.	н.д.	AATTTCCCAGATGTATTAGT	43	1054	1073	265
531163	н.д.	н.д.	TCAGCAGAAATCATGTAGGC	60	1181	1200	266
531164	н.д.	н.д.	TTAAATATAAAGAGATCCTC	38	1609	1628	267
531165	н.д.	н.д.	GTAATAAAAGGAATGATAAA	0	1825	1844	268

5311 66	н.д.	н.д.	AGACAGTAAACAAAA TCAGG	12	2046	2065	269
5311 67	н.д.	н.д.	CAAGAAACCACCAAA GGAAG	37	2176	2195	270
5311 68	н.д.	н.д.	ACCCCAACAGACAGC CCACC	55	2314	2333	271
5311 69	н.д.	н.д.	TGGGCTCACCCCAGT GGACC	54	2580	2599	272
5311 70	н.д.	н.д.	GCCTGGCCCCCAAGA CTCTA	54	2743	2762	273
5311 71	н.д.	н.д.	AGGCCTGCCACAGGC CAGAC	40	2873	2892	274
5311 72	н.д.	н.д.	TTCAAGCCTGGGCAG CACAG	71	3004	3023	275
5311 73	н.д.	н.д.	AAAATAACTTCACTA GAGCT	22	3131	3150	276
5311 74	н.д.	н.д.	TGTTAAGTATATTAA CTATT	10	3256	3275	277
5311 75	н.д.	н.д.	TACTCAGGAAATTAG AATAT	25	3550	3569	278
5311 76	н.д.	н.д.	TTATGAAACCTCTTG ATTTG	0	3753	3772	279
5311 77	н.д.	н.д.	TTCTTGTAAATGTCTG AATT	61	3971	3990	280
5311 78	н.д.	н.д.	ACCACAGGAAACTGT AGCAA	72	4111	4130	281
5311 79	н.д.	н.д.	GATTGGACCCAGACA CTATA	57	4506	4525	282
5311 80	н.д.	н.д.	CCTCTTAAGTCACCA TAGAC	45	4785	4804	283
5311 81	н.д.	н.д.	GGTTGAGGGACAGAC ACAGG	36	4940	4959	284
5311 82	н.д.	н.д.	ATAATCATGATTTATT TTGC	34	5099	5118	285
5311 83	н.д.	н.д.	CATAAGAATGTGCAC ACAAA	39	5382	5401	286
5311 84	н.д.	н.д.	ACTCTTATTAGCTGGT AGAA	74	5538	5557	287
5311 85	н.д.	н.д.	GGACCAAAACTGAGA GGCAG	63	5663	5682	288
5311 86	н.д.	н.д.	CCATTACTCTCAAGC TCCAC	75	5890	5909	289
5311 87	н.д.	н.д.	ATCTATTGGTTCAGG AGCCA	72	6015	6034	290
5311 88	н.д.	н.д.	GTTAAAACAACTAGA AGCCA	67	6146	6165	291
5311	н.д.	н.д.	AGGTGTTCTTGCTTAT	63	6484	6503	29

89			CCTC				2
531190	н.д.	н.д.	GCAGTCACTCCTCTTCCAGC	59	6659	6678	293
531191	н.д.	н.д.	AAGTGTATTGCCTAGATTTC	37	6784	6803	294
531192	н.д.	н.д.	GAGTGCCATCTTCTCTGCAC	61	6968	6987	295
531193	н.д.	н.д.	TTATTCCCAGCTCTAAAATA	23	7274	7293	296
531194	н.д.	н.д.	CTCACAATTCTGTAAGGGAA	64	7596	7615	297
531195	н.д.	н.д.	ATAAAATATATTAAGGCAAC	61	7846	7865	298
531196	н.д.	н.д.	TTGAGTCAGACATCCTGTGA	38	7996	8015	299
531197	н.д.	н.д.	TACCTTTTCTCCATGTCATT	42	8148	8167	300
531198	н.д.	н.д.	GGGATTTTGCTGAAGCTGGT	73	8273	8292	301
531199	н.д.	н.д.	CTTTGAATAGAAAATGACTA	1	8415	8434	302
531200	н.д.	н.д.	CAAAATCACAAGTTCTAGAT	51	8617	8636	303
531201	н.д.	н.д.	TTTCCAATACTTTTACAAAT	52	8760	8779	304
531202	н.д.	н.д.	ATTAATAAGCATCTCTCTGA	31	9109	9128	305
531203	н.д.	н.д.	TGACTATCCAATTTCTAGTT	67	9253	9272	306
531204	н.д.	н.д.	CTTGTAGTCTGCACTTAATG	60	9418	9437	307
531205	н.д.	н.д.	ACATTTTTTAAGTACAGGAA	0	9602	9621	308
531206	н.д.	н.д.	GAAATGTCTAGCATTTTCTA	28	9755	9774	309
531207	н.д.	н.д.	CCACTTATTTGATGACCACA	64	9915	9934	310
531208	н.д.	н.д.	TCCAGAATACTGCCCCATCT	23	10050	10069	311
531209	н.д.	н.д.	TGGATTCATTTTCTGCAAAT	81	10175	10194	312
531210	н.д.	н.д.	AGACATTGTCAAATGTCCCC	60	10322	10341	313
531211	н.д.	н.д.	TTGATGTCAGCACTGTTGAC	77	10480	10499	314
531212	н.д.	н.д.	ACATCAGTAGCTTCAGATGT	56	10618	10637	315

531213	н.д.	н.д.	CAAAATTAATTGTGCATAAT	13	10820	10839	316
531214	н.д.	н.д.	TTTTTCTTTAAATTTTGCTA	37	11120	11139	317
531215	н.д.	н.д.	TAGAGATTTTATGTACTTGG	63	11245	11264	318
531216	н.д.	н.д.	AAACACAGGAATTTGCAGAC	33	11408	11427	319
531217	н.д.	н.д.	GTGGAATAAACCATAATCTA	47	11579	11598	320
531218	н.д.	н.д.	GATAATTCTTTTCACAGACA	72	12028	12047	321
531219	н.д.	н.д.	CTTCTCTATCTCCCAGTGTT	61	12227	12246	322
531220	н.д.	н.д.	CAATACAGGTAAATTTCACG	56	12374	12393	323
531221	н.д.	н.д.	AAGGGATTTAAAATTTTTAT	0	12507	12526	324
531222	н.д.	н.д.	GGCAAGCTGTACAAGAAAAA	19	12642	12661	325
531223	н.д.	н.д.	TGTACTCACCGGTACTCTGC	58	12805	12824	326
531224	н.д.	н.д.	AAGAGAATGCTCAGAAATGG	25	13435	13454	327
531225	н.д.	н.д.	ACACTTGTACCCCATACATC	45	13560	13579	328
531226	н.д.	н.д.	GACAGTAGAGACTGGGAAGG	12	13708	13727	329
531227	н.д.	н.д.	TACCAATTTCTGAAAGGGCA	72	14224	14243	330
531228	н.д.	н.д.	CAGAGTAAACTCCCCATCTC	33	14387	14406	331
531229	н.д.	н.д.	CTTCAAAGCCAGCAGTGTAA	69	14514	14533	332
531230	н.д.	н.д.	CTTACTGGGCTAAAATCAAG	46	14639	14658	333
531231	н.д.	н.д.	TATCACTGTACTAGTTTCCT	94	14744	14763	334
					14815	14834	
					14886	14905	
					14945	14964	
					15005	15024	
					15077	15096	
					15220	15239	
					15292	15311	
					15351	15370	
					15411	15430	

					15483	15502	
					15555	15574	
					15613	15632	
					15685	15704	
					15815	15834	
					15887	15906	
					15945	15964	
531232	н.д.	н.д.	CTGTACTAGTTTCCTATAAC	85	14739	14758	335
					14810	14829	
					14881	14900	
					14940	14959	
					15000	15019	
					15072	15091	
					15215	15234	
					15287	15306	
					15346	15365	
					15406	15425	
					15478	15497	
					15550	15569	
					15608	15627	
					15680	15699	
					15810	15829	
					15882	15901	
					15940	15959	
531233	н.д.	н.д.	ACTGTACTAGTTTCCTATAA	86	14740	14759	336
					14811	14830	
					14882	14901	
					14941	14960	
					15001	15020	
					15073	15092	
					15216	15235	
					15288	15307	
					15347	15366	
					15407	15426	
					15479	15498	
					15551	15570	
					15609	15628	
					15681	15700	
					15811	15830	
					15883	15902	
					15941	15960	
531234	н.д.	н.д.	CACTGTACTAGTTTCCTATA	86	14741	14760	337
					14812	14831	

					14883	14902	
					14942	14961	
					15002	15021	
					15074	15093	
					15217	15236	
					15289	15308	
					15348	15367	
					15408	15427	
					15480	15499	
					15552	15571	
					15610	15629	
					15682	15701	
					15812	15831	
					15884	15903	
					15942	15961	
531235	н.д.	н.д.	TCACTGTACTAGTTTCCTAT	86	14742	14761	338
					14813	14832	
					14884	14903	
					14943	14962	
					15003	15022	
					15075	15094	
					15218	15237	
					15290	15309	
					15349	15368	
					15409	15428	
					15481	15500	
					15553	15572	
					15611	15630	
					15683	15702	
					15813	15832	
					15885	15904	
					15943	15962	
531236	н.д.	н.д.	ATCACTGTACTAGTTTCCTA	87	14743	14762	339
					14814	14833	
					14885	14904	
					14944	14963	
					15004	15023	
					15076	15095	
					15219	15238	
					15291	15310	
					15350	15369	
					15410	15429	
					15482	15501	

					15554	15573	
					15612	15631	
					15684	15703	
					15814	15833	
					15886	15905	
					15944	15963	
531237	н.д.	н.д.	GTGGAATGTCATGGCAATTT	56	16399	16418	340

Пример 115: Антисмысловое ингибирование ПКП человека в клетках HepaRG™ антисмысловыми олигонуклеотидами с 2'-MOE модификациями сахара

Были сконструированы дополнительные антисмысловые олигонуклеотиды, нацеленные на нуклеиновую кислоту ПКП, и протестировано их влияние на мРНК ПКП in vitro.

Химерные антисмысловые олигонуклеотиды в представленных ниже таблицах были сконструированы как 5-10-5 MOE гэпмеры, 4-9-4 MOE гэпмеры, 4-10-4 MOE гэпмеры, 4-10-3 MOE гэпмеры, 3-10-4 MOE гэпмеры или 3-10-3 MOE гэпмеры. Гэпмеры 5-10-5 MOE имеют 20 нуклеозидов в длину, причем центральный сегмент гэп состоит из десяти 2'-дезоксинуклеозидов и окружен сегментами крыльев с 5' конца и с 3' конца, содержащими по пять нуклеозидов каждый. Длина 4-9-4 MOE гэпмеров составляет 17

нуклеозидов, причем центральный сегмент гэп состоит из девяти 2'-дезоксинуклеозидов и окружен сегментами крыльев с 5' конца и 3' конца, содержащими по четыре нуклеозида каждый. Длина 4-10-4 MOE гэпмеров составляет 18 нуклеозидов, причем центральный сегмент гэп состоит из десяти 2'-дезоксинуклеозидов и окружен сегментами крыльев с 5' конца и 3' конца, содержащими по четыре нуклеозида каждый. Длина 4-10-3 MOE гэпмеров составляет 17 нуклеозидов, причем центральный сегмент гэп состоит из десяти 2'-дезоксинуклеозидов и окружен сегментами крыльев с 5' конца и 3' конца, содержащими четыре и три нуклеозида, соответственно. Гэпмеры 3-10-4 MOE имеют 17 нуклеозидов в длину, причем центральный гэп состоит из десяти 2'-дезоксинуклеозидов и окружен сегментами крыльев с 5' конца и с 3' конца, содержащими три и четыре нуклеозида соответственно. Гэпмеры 3-10-3 MOE имеют 16 нуклеозидов в длину, причем центральный гэп состоит из десяти 2'-дезоксинуклеозидов и окружен сегментами крыльев с 5' конца и с 3' конца, содержащими по три нуклеозида каждый. Каждый нуклеозид в 5' сегменте крыла и каждый нуклеозид в 3' сегменте крыла содержит 2'-O-метоксиэтильную модификацию. Межнуклеозидные связи в каждом гэпмере представляют собой тиофосфатные связи. Все остатки цитозина в каждом гэпмере представляют собой 5-метилцитозины. «Сайт инициации» обозначает самый крайний 5' нуклеозид, на который направлен гэпмер в последовательности гена человека. «Сайт терминации» обозначает самый крайний 3' нуклеозид, на который направлен гэпмер в последовательности гена человека. Каждый гэпмер, перечисленный в представленных ниже таблицах, нацелен на SEQ ID NO: 1 или SEQ ID NO: 10. «н/д» означает, что антисмысловой олигонуклеотид не нацелен на данную конкретную последовательность гена.

Культивированные клетки HepaRG™ с плотностью 20000 клеток на лунку трансфицировали с использованием электропорации с 5000 нМ антисмыслового олигонуклеотида. После периода обработки длительностью около 24 часов, РНК выделяли из клеток и уровни мРНК ПКП измеряли методом количественной ПЦР в реальном времени. Набор человеческих праймерных зондов RTS3454 использовали для измерения уровней мРНК. Уровни мРНК ПКП были скорректированы в соответствии с общим содержанием РНК, измеренным с помощью RIBOGREEN®. Антисмысловые олигонуклеотиды испытывали в сериях экспериментов с одинаковыми условиями выращивания. Результаты каждого эксперимента представлены в отдельных таблицах, показанных ниже. Результаты представлены как процент ингибирования ПКП относительно необработанных контрольных клеток.

Таблица 126

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт инициации	SEQ ID NO: 1 сайт терминации	Последовательность	Мотив	% ингибирования	SEQ ID NO: 10 сайт инициации	SEQ ID NO: 10 сайт терминации	SEQ ID NO
531231	н.д.	н.д.	TATCACTGTACTAGTTTCCT	5-10-5	98	14744	14763	334
						14815	14834	
						14886	14905	
						14945	14964	
						15005	15024	
						15077	15096	
						15220	15239	
						15292	15311	
						15351	15370	
						15411	15430	
						15483	15502	

						15555 15613 15685 15815 15887 15945	15574 15632 15704 15834 15906 15964	
546131	4	23	ATGAACGGTCTTCAAGCTGT	5-10-5	75	3396	3415	341
547269	5	24	AATGAACGGTCTTCAAGCTG	5-10-5	56	3397	3416	342
547270	7	26	AAAATGAACGGTCTTCAAGC	5-10-5	68	3399	3418	343
547271	10	29	TTAAAAATGAACGGTCTTCA	5-10-5	60	3402	3421	344
547272	13	32	CACTTAAAAATGAACGGTCT	5-10-5	82	3405	3424	345
547273	25	44	TGAGTCTCTTGTCACTTAAA	5-10-5	93	3417	3436	346
547274	29	48	GAGGTGAGTCTCTTGTCACT	5-10-5	70	3421	3440	347
546136	30	49	GGAGGTGAGTCTCTTGTCAC	5-10-5	86	3422	3441	348
547275	32	51	TTGGAGGTGAGTCTCTTGTC	5-10-5	87	3424	3443	349
546137	40	59	ATTGCTTCTTGGAGGTGAGT	5-10-5	76	3432	3451	350
547276	42	61	CAATTGCTTCTTGGAGGTGA	5-10-5	93	3434	3453	351
547277	44	63	CACAATTGCTTCTTGGAGGT	5-10-5	75	3436	3455	352
547278	45	64	ACACAATTGCTTCTTGGAGG	5-10-5	70	3437	3456	353
546138	47	66	AAACACAATTGCTTCTTGGA	5-10-5	69	3439	3458	354
547279	48	67	AAAACACAATTGCTTCTTGG	5-10-5	69	3440	3459	355
547280	49	68	GAAAACACAATTGCTTCTTG	5-10-5	47	3441	3460	356
547281	70	89	TTGCTTGAATAAAATCATTC	5-10-5	41	4069	4088	357
546140	72	91	GCTTGCTTGAATAAAATCAT	5-10-5	60	4071	4090	358
547282	74	93	TTGCTTGCTTGAATAAAATC	5-10-5	53	4073	4092	359
547283	76	95	AGTTGCTTGCTTGAATAAAA	5-10-5	67	4075	4094	360

546141	82	101	GAAATAAGTTGCTTGCTTGA	5-10-5	56	4081	4100	361
547284	86	105	AAATGAAATAAGTTGCTTGC	5-10-5	26	4085	4104	362
547285	102	121	ACTGTAGCAAACAAGGAAAT	5-10-5	51	4101	4120	363
546143	106	125	GGAAACTGTAGCAAACAAGG	5-10-5	46	4105	4124	364
546144	110	129	CACAGGAAACTGTAGCAAAC	5-10-5	75	4109	4128	365
547286	117	136	AGACATCCACAGGAAACTGT	5-10-5	68	н.д.	н.д.	366
547287	120	139	GTCAGACATCCACAGGAAAC	5-10-5	69	н.д.	н.д.	367
546146	123	142	TGAGTCAGACATCCACAGGA	5-10-5	72	н.д.	н.д.	368
547288	131	150	CATAGAGTTGAGTCAGACAT	5-10-5	80	8003	8022	369
546147	132	151	TCATAGAGTTGAGTCAGACA	5-10-5	76	8004	8023	370
547289	133	152	TTCATAGAGTTGAGTCAGAC	5-10-5	74	8005	8024	371
546148	137	156	CGTTTTCATAGAGTTGAGTC	5-10-5	68	8009	8028	372
546149	155	174	CCCCACCTCTGAAGAAGGCG	5-10-5	83	8027	8046	373
546150	158	177	CATCCCCACCTCTGAAGAAG	5-10-5	58	8030	8049	374
547290	163	182	AGCTACATCCCCACCTCTGA	5-10-5	76	8035	8054	375
546151	166	185	GGAAGCTACATCCCCACCTC	5-10-5	76	8038	8057	376
547291	168	187	ATGGAAGCTACATCCCCACC	5-10-5	74	8040	8059	377
547292	171	190	TACATGGAAGCTACATCCCC	5-10-5	60	8043	8062	378
546152	172	191	GTACATGGAAGCTACATCCC	5-10-5	73	8044	8063	379
546153	176	195	GGGTGTACATGGAAGCTACA	5-10-5	76	8048	8067	380
546154	195	214	TGGCAGTATTGGGCATTTGG	5-10-5	85	8067	8086	381
547293	199	218	CATCTGGCAGTATTGGGCAT	5-10-5	92	8071	8090	382
547294	201	220	CTCATCTGGCAGTATTGGGC	5-10-5	85	8073	8092	383
5461	202	221	CCTCATCTGGCAGT	5-	47	8074	8093	38

55			ATTGGG	10-5				4
547295	203	222	ACCTCATCTGGCAGTATTGG	5-10-5	88	8075	8094	385
547296	206	225	TGCACCTCATCTGGCAGTAT	5-10-5	72	8078	8097	386
546156	211	230	GAATGTGCACCTCATCTGGC	5-10-5	81	8083	8102	387
547297	213	232	TGGAATGTGCACCTCATCTG	5-10-5	84	8085	8104	388
546157	216	235	GGGTGGAATGTGCACCTCAT	5-10-5	85	8088	8107	389
547298	218	237	TTGGGTGGAATGTGCACCTC	5-10-5	90	8090	8109	390
546158	219	238	CTTGGGTGGAATGTGCACCT	5-10-5	95	8091	8110	391
546159	229	248	TAGCAAACACCTTGGGTGGA	5-10-5	76	8101	8120	392
546160	235	254	ACTGAATAGCAAACACCTTG	5-10-5	78	8107	8126	393
547299	237	256	AAACTGAATAGCAAACACCT	5-10-5	76	8109	8128	394
546163	250	269	ACTTGCTGGAAGAAAACTGA	5-10-5	42	8122	8141	395
547300	252	271	GAACTTGCTGGAAGAAAACT	5-10-5	37	8124	8143	396
546164	257	276	TGATTGAACTTGCTGGAAGA	5-10-5	33	8129	8148	397
546165	260	279	CATTGATTGAACTTGCTGGA	5-10-5	71	8132	8151	398
547301	261	280	TCATTGATTGAACTTGCTGG	5-10-5	80	8133	8152	399
546166	263	282	TGTCATTGATTGAACTTGCT	5-10-5	70	8135	8154	400
547302	266	285	CCATGTCATTGATTGAACTT	5-10-5	58	8138	8157	401
546167	268	287	CTCCATGTCATTGATTGAAC	5-10-5	73	8140	8159	402
547303	270	289	TTCTCCATGTCATTGATTGA	5-10-5	72	8142	8161	403
547304	273	292	CTTTTCTCCATGTCATTGAT	5-10-5	71	8145	8164	404
547305	280	299	ACCAAACCTTTTCTCCATGT	5-10-5	47	н.д.	н.д.	405
546170	283	302	GCAACCAAACCTTTTCTCCA	5-10-5	54	н.д.	н.д.	406
547306	284	303	AGCAACCAAACCTTTTCTCC	5-10-5	62	н.д.	н.д.	407
547307	286	305	GAAGCAACCAAACCTTTTCT	5-10-5	58	н.д.	н.д.	408
547308	290	309	TCAAGAAGCAACCAAACCTT	5-10-5	66	н.д.	н.д.	409
547309	293	312	CTTTCAAGAAGCAACCAAAC	5-10-5	71	9827	9846	410
547310	295	314	ATCTTTCAAGAAGCAACCAA	5-10-5	81	9829	9848	411
546171	297	316	CTATCTTTCAAGAAGCAACC	5-10-5	81	9831	9850	412
547311	299	318	CACTATCTTTCAAGAAGCAA	5-10-5	71	9833	9852	413
546172	301	320	AACACTATCTTTCAAGAAGC	5-10-5	81	9835	9854	414
547312	325	344	ATGTACTTTTGGCAGGGTTC	5-10-5	46	9859	9878	415
546173	327	346	CGATGTACTTTTGGCAGGGT	5-10-5	84	9861	9880	416
547313	330	349	GTTCGATGTACTTTTGGCAG	5-10-5	73	9864	9883	417

Таблица 127

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт инициации	SEQ ID NO: 1 сайт терминации	Последовательность	Мотив	% ингибирования	SEQ ID NO: 10 сайт инициации	SEQ ID NO: 10 сайт терминации	SEQ ID NO
531231	н.д.	н.д.	TATCACTGTACTAGTTTCCT	5-10-5	86	14744	14763	334
						14815	14834	
						14886	14905	
						14945	14964	
						15005	15024	
						15077	15096	
						15220	15239	
						15292	15311	
						15351	15370	
						15411	15430	
						15483	15502	
						15555	15574	
						15613	15632	
						15685	15704	
						15815	15834	
						15887	15906	
						15945	15964	
5461	333	352	CCTGTTCGATGTAC	5-10-5	74	9867	9886	418
74			TTTTGG	10-5				
547314	336	355	GCACCTGTTCGATGTACTTT	5-10-5	73	9870	9889	419
546175	338	357	CTGCACCTGTTCGATGTACT	5-10-5	78	9872	9891	420
547315	340	359	AACTGCACCTGTTCGATGTA	5-10-5	50	9874	9893	421
547316	342	361	GAAACTGCACCTGTTCGATG	5-10-5	75	9876	9895	422
547317	344	363	CAGAAACTGCACCTGTTCGA	5-10-5	75	9878	9897	423
547318	345	364	CCAGAAACTGCACCTGTTCG	5-10-5	74	9879	9898	424
546177	348	367	TGTCCAGAAACTGCACCTGT	5-10-5	75	9882	9901	425
547319	351	370	GAATGTCCAGAAACTGCACC	5-10-5	62	9885	9904	426
547320	353	372	AGGAATGTCCAGAAACTGCA	5-10-5	73	9887	9906	427
547321	356	375	TCAAGGAATGTCCAGAAACT	5-10-5	53	9890	9909	428
547322	358	377	CTTCAAGGAATGTCCAGAAA	5-10-5	65	9892	9911	429
547323	361	380	TTGCTTCAAGGAATGTCCAG	5-10-5	56	9895	9914	430
547324	363	382	CATTGCTTCAAGGAATGTCC	5-10-5	76	9897	9916	431
547325	368	387	GACCACATTGCTTCAAGGAA	5-10-5	67	9902	9921	432
546181	369	388	TGACCACATTGCTTCAAGGA	5-10-5	75	9903	9922	433
547326	370	389	ATGACCACATTGCTTCAAGG	5-10-5	48	9904	9923	434
547327	373	392	TTGATGACCACATTGCTTCA	5-10-5	45	9907	9926	435
547328	375	394	ATTTGATGACCACATTGCTT	5-10-5	40	9909	9928	436
547329	377	396	TTATTTGATGACCACATTGC	5-10-5	24	9911	9930	437
547330	378	397	CTTATTTGATGACCACATTG	5-10-5	60	9912	9931	438
546183	380	399	CACTTATTTGATGACCACAT	5-10-5	69	9914	9933	439
547331	382	401	AGCACTTATTTGATGACCAC	5-10-5	47	н.д.	н.д.	440
546184	384	403	CAAGCACTTATTTGATGACC	5-10-5	65	н.д.	н.д.	441

547332	390	409	CGATGGCAAGCACTTATTTG	5-10-5	44	н.д.	н.д.	442
547333	395	414	TGTCTCGATGGCAAGCACTT	5-10-5	76	н.д.	н.д.	443
546186	396	415	ATGTCTCGATGGCAAGCACT	5-10-5	84	н.д.	н.д.	444
547334	397	416	AATGTCTCGATGGCAAGCAC	5-10-5	74	н.д.	н.д.	445
547335	402	421	TTATAAATGTCTCGATGGCA	5-10-5	93	12658	12677	446
547336	403	422	TTTATAAATGTCTCGATGGC	5-10-5	81	12659	12678	447
546188	407	426	CTCCTTTATAAATGTCTCGA	5-10-5	95	12663	12682	448
547337	409	428	AACTCCTTTATAAATGTCTC	5-10-5	84	12665	12684	449
547338	411	430	TCAACTCCTTTATAAATGTC	5-10-5	71	12667	12686	450
547339	413	432	TATCAACTCCTTTATAAATG	5-10-5	42	12669	12688	451
546190	419	438	CTCTCATATCAACTCCTTTA	5-10-5	92	12675	12694	452
547340	422	441	CTCCTCTCATATCAACTCCT	5-10-5	93	12678	12697	453
547341	424	443	GACTCCTCTCATATCAACTC	5-10-5	87	12680	12699	454
546192	428	447	AATTGACTCCTCTCATATCA	5-10-5	51	12684	12703	455
547342	433	452	ATTAAAATTGACTCCTCTCA	5-10-5	66	12689	12708	456
546193	434	453	CATTAAAATTGACTCCTCTC	5-10-5	57	12690	12709	457
547343	436	455	CACATTAAAATTGACTCCTC	5-10-5	78	12692	12711	458
547344	438	457	GACACATTAAAATTGACTCC	5-10-5	80	12694	12713	459
547345	439	458	AGACACATTAAAATTGACTC	5-10-5	80	12695	12714	460
547346	444	463	ACCTTAGACACATTAAAATT	5-10-5	57	12700	12719	461
546195	448	467	GCTAACCTTAGACACATTAA	5-10-5	83	12704	12723	462
547347	451	470	ACTGCTAACCTTAGACACAT	5-10-5	82	12707	12726	463
546196	452	471	CACTGCTAACCTTAGACACA	5-10-5	83	12708	12727	464
5473	453	472	ACACTGCTAACCTT	5-	83	12709	12728	46

48			AGACAC	10-5				5
547349	458	477	CTTCAACACTGCTAACCTTA	5-10-5	88	12714	12733	466
546198	459	478	TCTTCAACACTGCTAACCTT	5-10-5	85	12715	12734	467
547350	464	483	GGCATTCTTCAACACTGCTA	5-10-5	96	12720	12739	468
546199	465	484	TGGCATTCTTCAACACTGCT	5-10-5	97	12721	12740	469
547351	467	486	TTTGGCATTCTTCAACACTG	5-10-5	92	12723	12742	470
546200	500	519	AAAACTGGCAGCGAATGTTA	5-10-5	91	12756	12775	471
547352	541	560	CCGGTACTCTGCCTTGTGAA	5-10-5	94	12797	12816	472
547354	547	566	ATTGTTCCGGTACTCTGCCT	5-10-5	89	н.д.	н.д.	473
546203	548	567	AATTGTTCCGGTACTCTGCC	5-10-5	76	н.д.	н.д.	474
547355	549	568	CAATTGTTCCGGTACTCTGC	5-10-5	77	н.д.	н.д.	475
546204	555	574	AATAGGCAATTGTTCCGGTA	5-10-5	91	н.д.	н.д.	476
547356	556	575	TAATAGGCAATTGTTCCGGT	5-10-5	83	н.д.	н.д.	477
547357	559	578	CTTTAATAGGCAATTGTTCC	5-10-5	78	14130	14149	478
546205	562	581	GTACTTTAATAGGCAATTGT	5-10-5	83	14133	14152	479
547359	569	588	CGGGACTGTACTTTAATAGG	5-10-5	81	14140	14159	480
546208	605	624	CGTTACTCAGCACCTTTATA	5-10-5	92	14176	14195	481
546209	629	648	GCTTCAGTGAGAATCCAGAT	5-10-5	73	14200	14219	482
546210	651	670	CCAATTTCTGAAAGGGCACA	5-10-5	79	14222	14241	483
547360	653	672	AACCAATTTCTGAAAGGGCA	5-10-5	88	н.д.	н.д.	484
547361	655	674	GCAACCAATTTCTGAAAGGG	5-10-5	46	н.д.	н.д.	485
546211	656	675	GGCAACCAATTTCTGAAAGG	5-10-5	42	н.д.	н.д.	486
546212	678	697	AGATGCTGGAAGATGTTCAT	5-10-5	48	26126	26145	487
547362	701	720	CAACATCCACATCTGAGAAC	5-10-5	47	26149	26168	488
547363	703	722	GGCAACATCCACATCTGAGA	5-10-5	84	26151	26170	489
546213	707	726	CCCTGGCAACATCCACATCT	5-10-5	82	26155	26174	490

Таблица 128

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт инициации	SEQ ID NO: 1 сайт терминации	Последовательность	Мотив	% ингибирования	SEQ ID NO: 10 сайт инициации	SEQ ID NO: 10 сайт терминации	SEQ ID NO
531231	н.д.	н.д.	TATCACTGTACTAGTTTCCT	5-10-5	88	14744	14763	334
						14815	14834	
						14886	14905	
						14945	14964	
						15005	15024	
						15077	15096	
						15220	15239	
						15292	15311	
						15351	15370	
						15411	15430	
						15483	15502	
						15555	15574	
						15613	15632	
						15685	15704	
						15815	15834	
						15887	15906	
						15945	15964	
547364	710	729	GAACCCTGGCAACATCCACA	5-10-5	92	26158	26177	491
546214	712	731	GAGAACCCTGGCAACATCCA	5-10-5	88	26160	26179	492
547365	713	732	TGAGAACCCTGGCAACATCC	5-10-5	81	26161	26180	493
547366	717	736	GGAGTGAGAACCCTGGCAAC	5-10-5	86	26165	26184	494
546216	719	738	CTGGAGTGAGAACCCTGGCA	5-10-5	93	26167	26186	495
547367	721	740	ATCTGGAGTGAGAACCCTGG	5-10-5	76	26169	26188	496
547368	723	742	GCATCTGGAGTGAGAACCCT	5-10-5	89	26171	26190	497
547369	725	744	AAGCATCTGGAGTGAGAACC	5-10-5	76	26173	26192	498
5473	728	747	CAAAAGCATCTGG	5-	73	26176	26195	49

70			AGTGAGA	10-5				9
546217	730	749	CACAAAAGCATCTGGAGTGA	5-10-5	83	26178	26197	500
546218	740	759	TGGTCCGACACACAAAAGCA	5-10-5	71	26188	26207	501
547371	741	760	ATGGTCCGACACACAAAAGC	5-10-5	66	26189	26208	502
547372	742	761	GATGGTCCGACACACAAAAG	5-10-5	32	26190	26209	503
547373	745	764	GCAGATGGTCCGACACACAA	5-10-5	90	26193	26212	504
546220	750	769	TAGGTGCAGATGGTCCGACA	5-10-5	71	26198	26217	505
547374	752	771	GATAGGTGCAGATGGTCCGA	5-10-5	81	26200	26219	506
547375	754	773	GTGATAGGTGCAGATGGTCC	5-10-5	72	26202	26221	507
546222	756	775	GGGTGATAGGTGCAGATGGT	5-10-5	12	26204	26223	508
547376	778	797	GAATGTAAAGAAGAGGCAGT	5-10-5	43	26226	26245	509
546224	780	799	TAGAATGTAAAGAAGAGGCA	5-10-5	65	26228	26247	510
547377	788	807	CATTTGTATAGAATGTAAAG	5-10-5	6	26236	26255	511
547378	790	809	TACATTTGTATAGAATGTAA	5-10-5	0	26238	26257	512
546226	793	812	CCATACATTTGTATAGAATG	5-10-5	37	26241	26260	513
547379	802	821	CTCGATTTTCCATACATTTG	5-10-5	37	26250	26269	514
547380	805	824	TGACTCGATTTTCCATACAT	5-10-5	42	26253	26272	515
546228	806	825	GTGACTCGATTTTCCATACA	5-10-5	60	26254	26273	516
547381	807	826	TGTGACTCGATTTTCCATAC	5-10-5	49	26255	26274	517
547382	810	829	CTTTGTGACTCGATTTTCCA	5-10-5	62	26258	26277	518
547383	812	831	TTCTTTGTGACTCGATTTTC	5-10-5	37	н.д.	н.д.	519
546229	816	835	ACATTTCTTTGTGACTCGAT	5-10-5	19	н.д.	н.д.	520
547384	818	837	AAACATTTCTTTGTGACTCG	5-10-5	50	н.д.	н.д.	521
547385	847	866	TGTGCCACTTTCAGATGTTT	5-10-5	80	27111	27130	522

546230	848	867	GTGTGCCACTTTCAGATGTT	5-10-5	70	27112	27131	523
546231	852	871	CTTGGTGTGCCACTTTCAGA	5-10-5	79	27116	27135	524
547386	853	872	ACTTGGTGTGCCACTTTCAG	5-10-5	78	27117	27136	525
546232	857	876	AGGAACTTGGTGTGCCACTT	5-10-5	86	27121	27140	526
547387	878	897	TGGTGTTTTCTTGAGGAGTA	5-10-5	73	27142	27161	527
546233	879	898	ATGGTGTTTTCTTGAGGAGT	5-10-5	69	27143	27162	528
547388	880	899	TATGGTGTTTTCTTGAGGAG	5-10-5	55	27144	27163	529
547389	884	903	CAGATATGGTGTTTTCTTGA	5-10-5	61	27148	27167	530
546234	885	904	CCAGATATGGTGTTTTCTTG	5-10-5	69	27149	27168	531
547390	887	906	ATCCAGATATGGTGTTTTCT	5-10-5	63	27151	27170	532
547391	889	908	ATATCCAGATATGGTGTTTT	5-10-5	32	27153	27172	533
546235	893	912	GGCTATATCCAGATATGGTG	5-10-5	77	27157	27176	534
547392	895	914	AAGGCTATATCCAGATATGG	5-10-5	81	27159	27178	535
546236	900	919	GTTAAAAGGCTATATCCAGA	5-10-5	50	27164	27183	536
546237	903	922	CAGGTTAAAAGGCTATATCC	5-10-5	64	27167	27186	537
547393	905	924	TGCAGGTTAAAAGGCTATAT	5-10-5	73	27169	27188	538
547394	907	926	TTTGCAGGTTAAAAGGCTAT	5-10-5	29	27171	27190	539
546238	909	928	CTTTTGCAGGTTAAAAGGCT	5-10-5	63	27173	27192	540
546239	912	931	GTTCTTTTGCAGGTTAAAAG	5-10-5	47	27176	27195	541
547395	914	933	AAGTTCTTTTGCAGGTTAAA	5-10-5	15	27178	27197	542
546240	917	936	GTAAAGTTCTTTTGCAGGTT	5-10-5	23	27181	27200	543
546241	920	939	CAGGTAAAGTTCTTTTGCAG	5-10-5	69	27184	27203	544
547396	921	940	TCAGGTAAAGTTCTTTTGCA	5-10-5	49	н.д.	н.д.	545
5473	923	942	GTTCAGGTAAAGTT	5-	27	н.д.	н.д.	54

97			CTTTTG	10-5				6
546242	925	944	GGGTTCAGGTAAAGTTCTTT	5-10-5	8	н.д.	н.д.	547
547398	927	946	CAGGGTTCAGGTAAAGTTCT	5-10-5	16	н.д.	н.д.	548
547399	928	947	GCAGGGTTCAGGTAAAGTTC	5-10-5	10	н.д.	н.д.	549
547400	930	949	TGGCAGGGTTCAGGTAAAGT	5-10-5	0	н.д.	н.д.	550
547401	933	952	GAATGGCAGGGTTCAGGTAA	5-10-5	22	н.д.	н.д.	551
546243	934	953	AGAATGGCAGGGTTCAGGTA	5-10-5	16	н.д.	н.д.	552
547402	937	956	TTTAGAATGGCAGGGTTCAG	5-10-5	59	н.д.	н.д.	553
547403	939	958	ATTTTAGAATGGCAGGGTTC	5-10-5	10	27361	27380	554
546244	942	961	TAAATTTTAGAATGGCAGGG	5-10-5	27	27364	27383	555
547404	956	975	AGTCAACTCCCGGGTAAATT	5-10-5	64	27378	27397	556
547405	959	978	CAAAGTCAACTCCCGGGTAA	5-10-5	47	27381	27400	557
546247	960	979	CCAAAGTCAACTCCCGGGTA	5-10-5	90	27382	27401	558
546248	963	982	CCTCCAAAGTCAACTCCCGG	5-10-5	86	27385	27404	559
547406	965	984	CTCCTCCAAAGTCAACTCCC	5-10-5	81	27387	27406	560
546249	968	987	CTTCTCCTCCAAAGTCAACT	5-10-5	68	27390	27409	561
547407	975	994	TTCAATTCTTCTCCTCCAAA	5-10-5	59	27397	27416	562
546250	977	996	CATTCAATTCTTCTCCTCCA	5-10-5	65	27399	27418	563
547408	980	999	TCACATTCAATTCTTCTCCT	5-10-5	84	27402	27421	564
547409	982	1001	AGTCACATTCAATTCTTCTC	5-10-5	67	27404	27423	565
546251	1007	1026	GGCAAACATTCACTCCTTTA	5-10-5	92	27429	27448	566

Таблица 129

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт	SEQ ID NO: 1 сайт	Последовательность	Мотив	% ингибирования	SEQ ID NO: 10 сайт	SEQ ID NO: 10 сайт	SEQ ID

	иниция ции	термина ции				иниция ции	термина ции	NO
531231	н.д.	н.д.	TATCACTGTACTAGTTTCCT	5-10-5	95	14744	14763	344
						14815	14834	
						14886	14905	
						14945	14964	
						15005	15024	
						15077	15096	
						15220	15239	
						15292	15311	
						15351	15370	
						15411	15430	
						15483	15502	
						15555	15574	
						15613	15632	
						15685	15704	
						15815	15834	
						15887	15906	
						15945	15964	
546252	1011	1030	TCTTGGCAAACATTCACTCC	5-10-5	73	27433	27452	567
546253	1014	1033	GTCTCTTGGCAAACATTCAC	5-10-5	98	27436	27455	568
547410	1017	1036	CAAGTCTCTTGGCAAACATT	5-10-5	88	27439	27458	569
546254	1019	1038	TGCAAGTCTCTTGGCAAACA	5-10-5	95	27441	27460	570
546255	1024	1043	CTTTGTGCAAGTCTCTTGGC	5-10-5	92	27446	27465	571
547411	1027	1046	CATCTTTGTGCAAGTCTCTT	5-10-5	79	27449	27468	572
546256	1028	1047	TCATCTTTGTGCAAGTCTCT	5-10-5	83	27450	27469	573
547412	1029	1048	ATCATCTTTGTGCAAGTCTC	5-10-5	73	27451	27470	574
546258	1036	1055	ACAGCGAATCATCTTTGTGC	5-10-5	74	27458	27477	575
546259	1040	1059	ACTGACAGCGAATCATCTTT	5-10-5	86	27462	27481	576
546260	1045	1064	GAAAAACTGACAGCGAATCA	5-10-5	84	27467	27486	577
547413	1047	1066	GTGAAAAACTGACAGCGAAT	5-10-5	94	27469	27488	578
5462	1061	1080	GGAGTAAAGAATA	5-	0	27483	27502	57

63			AGTGAAA	10-5				9
547414	1063	1082	TGGGAGTAAAGAATAAGTGA	5-10-5	76	27485	27504	580
547415	1065	1084	TCTGGGAGTAAAGAATAAGT	5-10-5	71	27487	27506	581
546265	1069	1088	GTCTTCTGGGAGTAAAGAAT	5-10-5	65	27491	27510	582
546266	1072	1091	ACAGTCTTCTGGGAGTAAAG	5-10-5	63	27494	27513	583
547416	1075	1094	CTTACAGTCTTCTGGGAGTA	5-10-5	79	27497	27516	584
546267	1076	1095	CCTTACAGTCTTCTGGGAGT	5-10-5	72	27498	27517	585
547417	1077	1096	TCCTTACAGTCTTCTGGGAG	5-10-5	68	27499	27518	586
546268	1079	1098	CTTCCTTACAGTCTTCTGGG	5-10-5	93	27501	27520	587
547418	1092	1111	CACTTACACTTCTCTTCCTT	5-10-5	0	н.д.	н.д.	588
546270	1093	1112	ACACTTACACTTCTCTTCCT	5-10-5	32	н.д.	н.д.	589
546271	1097	1116	AGAAACACTTACACTTCTCT	5-10-5	60	н.д.	н.д.	590
547419	1101	1120	CTTAAGAAACACTTACACTT	5-10-5	51	н.д.	н.д.	591
547420	1112	1131	CCATAGATAATCTTAAGAAA	5-10-5	8	27633	27652	592
547421	1115	1134	CATCCATAGATAATCTTAAG	5-10-5	69	27636	27655	593
547422	1117	1136	ACCATCCATAGATAATCTTA	5-10-5	70	27638	27657	594
546275	1119	1138	GAACCATCCATAGATAATCT	5-10-5	87	27640	27659	595
546276	1123	1142	TGGAGAACCATCCATAGATA	5-10-5	74	27644	27663	596
546277	1146	1165	TGTGTCCCATACGCAATCCT	5-10-5	90	27667	27686	597
547423	1150	1169	CCCTTGTGTCCCATACGCAA	5-10-5	95	27671	27690	598
546279	1153	1172	GCTCCCTTGTGTCCCATACG	5-10-5	82	27674	27693	599
547424	1156	1175	AGAGCTCCCTTGTGTCCCAT	5-10-5	90	27677	27696	600
546280	1158	1177	CCAGAGCTCCCTTGTGTCCC	5-10-5	86	27679	27698	601
547425	1161	1180	TAACCAGAGCTCCCTTGTGT	5-10-5	85	27682	27701	602

546281	1162	1181	GTAACCAGAGCTCCCTTGTG	5-10-5	85	27683	27702	603
547426	1164	1183	GAGTAACCAGAGCTCCCTTG	5-10-5	92	27685	27704	604
547427	1166	1185	AAGAGTAACCAGAGCTCCCT	5-10-5	79	27687	27706	605
547428	1169	1188	TCAAAGAGTAACCAGAGCTC	5-10-5	78	27690	27709	606
546283	1171	1190	TCTCAAAGAGTAACCAGAGC	5-10-5	88	27692	27711	607
547429	1173	1192	AATCTCAAAGAGTAACCAGA	5-10-5	81	27694	27713	608
547430	1174	1193	CAATCTCAAAGAGTAACCAG	5-10-5	70	27695	27714	609
546284	1176	1195	CACAATCTCAAAGAGTAACC	5-10-5	89	27697	27716	610
546285	1180	1199	GTTACACAATCTCAAAGAGT	5-10-5	76	27701	27720	611
547431	1184	1203	CAGTGTTACACAATCTCAAA	5-10-5	67	27705	27724	612
547432	1186	1205	CCCAGTGTTACACAATCTCA	5-10-5	90	27707	27726	613
547433	1189	1208	GTCCCCAGTGTTACACAATC	5-10-5	63	27710	27729	614
546287	1192	1211	GTTGTCCCCAGTGTTACACA	5-10-5	82	27713	27732	615
546288	1240	1259	GTTTGTTCCTCCAACAATGC	5-10-5	78	27916	27935	616
547434	1243	1262	AGAGTTTGTTCCTCCAACAA	5-10-5	54	27919	27938	617
547435	1248	1267	CAAGAAGAGTTTGTTCCTCC	5-10-5	85	27924	27943	618
546290	1251	1270	CCCCAAGAAGAGTTTGTTCC	5-10-5	86	27927	27946	619
547436	1253	1272	CTCCCCAAGAAGAGTTTGTT	5-10-5	0	27929	27948	620
547437	1255	1274	CTCTCCCCAAGAAGAGTTTG	5-10-5	50	27931	27950	621
547438	1261	1280	GGGCCACTCTCCCCAAGAAG	5-10-5	82	27937	27956	622
546291	1263	1282	CAGGGCCACTCTCCCCAAGA	5-10-5	81	27939	27958	623
547439	1298	1317	TCTGAGCTGTCAGCTTCACC	5-10-5	85	27974	27993	624
546293	1301	1320	GCCTCTGAGCTGTCAGCTTC	5-10-5	64	27977	27996	625
5474	1327	1346	TCCTATGAGTGACC	5-	67	28003	28022	62

40			CTCCAC	10-5				6
546294	1328	1347	GTCCTATGAGTGACCCTCCA	5-10-5	72	28004	28023	627
547441	1331	1350	GGTGTCCTATGAGTGACCCT	5-10-5	62	28007	28026	628
547442	1332	1351	TGGTGTCCTATGAGTGACCC	5-10-5	42	28008	28027	629
547443	1336	1355	CCACTGGTGTCCTATGAGTG	5-10-5	70	28012	28031	630
546295	1337	1356	CCCACTGGTGTCCTATGAGT	5-10-5	67	28013	28032	631
546296	1370	1389	GAAGCCCATCAAAGCAGTGG	5-10-5	27	н.д.	н.д.	632
546297	1397	1416	TATAGATGCGCCAAACATCC	5-10-5	82	30475	30494	633
547444	1398	1417	CTATAGATGCGCCAAACATC	5-10-5	71	30476	30495	634
547445	1402	1421	GCCACTATAGATGCGCCAAA	5-10-5	97	30480	30499	635
546299	1404	1423	ATGCCACTATAGATGCGCCA	5-10-5	84	30482	30501	636
546300	1424	1443	TAATGTCTGACAGATTTAAA	5-10-5	58	30502	30521	637
546301	1427	1446	TTGTAATGTCTGACAGATTT	5-10-5	93	30505	30524	638
546302	1444	1463	TGAGAAAGGTGTATCTTTTG	5-10-5	87	30522	30541	639
547446	1447	1466	TTGTGAGAAAGGTGTATCTT	5-10-5	84	30525	30544	640
546303	1448	1467	TTTGTGAGAAAGGTGTATCT	5-10-5	77	30526	30545	641
547447	1449	1468	ATTTGTGAGAAAGGTGTATC	5-10-5	80	30527	30546	642

Таблица 130

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт инициации	SEQ ID NO: 1 сайт терминации	Последовательность	Мотив	% ингибирования	SEQ ID NO: 10 сайт инициации	SEQ ID NO: 10 сайт терминации	SEQ ID NO
531231	н.д.	н.д.	TATCACTGTACTAGTTTCCT	5-10-5	96	14744	14763	334
						14815	14834	
						14886	14905	
						14945	14964	
						15005	15024	
						15077	15096	

						15220	15239	
						15292	15311	
						15351	15370	
						15411	15430	
						15483	15502	
						15555	15574	
						15613	15632	
						15685	15704	
						15815	15834	
						15887	15906	
						15945	15964	
547448	1451	1470	TTATTTGTGAGAAAGGTGTA	5-10-5	75	30529	30548	643
547449	1453	1472	TTTTATTTGTGAGAAAGGTG	5-10-5	71	30531	30550	644
546304	1454	1473	CTTTTATTTGTGAGAAAGGT	5-10-5	94	30532	30551	645
547450	1456	1475	CTCTTTTATTTGTGAGAAAG	5-10-5	71	30534	30553	646
547451	1471	1490	TTGGTGAATAATAATCTCTT	5-10-5	75	30549	30568	647
546306	1472	1491	TTTGGTGAATAATAATCTCT	5-10-5	65	30550	30569	648
547452	1474	1493	GTTTTGGTGAATAATAATCT	5-10-5	47	30552	30571	649
546307	1478	1497	TATAGTTTTGGTGAATAATA	5-10-5	12	30556	30575	650
546308	1482	1501	ACTTTATAGTTTTGGTGAAT	5-10-5	57	30560	30579	651
546309	1492	1511	CCCTTCTGAGACTTTATAGT	5-10-5	88	30570	30589	652
546310	1496	1515	GATTCCCTTCTGAGACTTTA	5-10-5	78	30574	30593	653
546311	1499	1518	CATGATTCCCTTCTGAGACT	5-10-5	79	30577	30596	654
547453	1500	1519	TCATGATTCCCTTCTGAGAC	5-10-5	81	30578	30597	655
547454	1502	1521	TATCATGATTCCCTTCTGAG	5-10-5	92	30580	30599	656
547455	1503	1522	ATATCATGATTCCCTTCTGA	5-10-5	88	30581	30600	657
547456	1506	1525	GCGATATCATGATTCCCTTC	5-10-5	89	30584	30603	658
546313	1507	1526	GGCGATATCATGATTCCCTT	5-10-5	60	30585	30604	659
5474	1509	1528	AAGGCGATATCAT	5-	89	30587	30606	66

57			GATTCCC	10-5				0
547458	1513	1532	TATCAAGGCGATATCATGAT	5-10-5	84	30591	30610	661
547459	1519	1538	GAGTTTTATCAAGGCGATAT	5-10-5	28	30597	30616	662
547460	1522	1541	CTGGAGTTTTATCAAGGCGA	5-10-5	72	30600	30619	663
546316	1524	1543	GCCTGGAGTTTTATCAAGGC	5-10-5	51	30602	30621	664
546317	1528	1547	AGGAGCCTGGAGTTTTATCA	5-10-5	12	30606	30625	665
546318	1534	1553	ATTCAAAGGAGCCTGGAGTT	5-10-5	47	30612	30631	666
547461	1537	1556	GTAATTCAAAGGAGCCTGGA	5-10-5	49	30615	30634	667
547462	1539	1558	GTGTAATTCAAAGGAGCCTG	5-10-5	59	30617	30636	668
546319	1541	1560	CAGTGTAATTCAAAGGAGCC	5-10-5	50	30619	30638	669
547463	1564	1583	TAGGCATATTGGTTTTTGGA	5-10-5	74	31870	31889	670
546320	1566	1585	GGTAGGCATATTGGTTTTTG	5-10-5	72	31872	31891	671
546321	1569	1588	GAAGGTAGGCATATTGGTTT	5-10-5	53	31875	31894	672
546322	1584	1603	CTTGTGTCACCTTTGGAAGG	5-10-5	74	31890	31909	673
547464	1585	1604	GCTTGTGTCACCTTTGGAAG	5-10-5	95	31891	31910	674
546323	1587	1606	GTGCTTGTGTCACCTTTGGA	5-10-5	94	31893	31912	675
547465	1592	1611	AAATTGTGCTTGTGTCACCT	5-10-5	88	31898	31917	676
547466	1596	1615	GTATAAATTGTGCTTGTGTC	5-10-5	82	31902	31921	677
546324	1597	1616	GGTATAAATTGTGCTTGTGT	5-10-5	73	31903	31922	678
547467	1598	1617	TGGTATAAATTGTGCTTGTG	5-10-5	80	31904	31923	679
547468	1600	1619	GTTGGTATAAATTGTGCTTG	5-10-5	61	31906	31925	680
546325	1602	1621	CAGTTGGTATAAATTGTGCT	5-10-5	74	31908	31927	681
546326	1607	1626	CCCAACAGTTGGTATAAATT	5-10-5	62	31913	31932	682
547469	1610	1629	TTACCCAACAGTTGGTATAA	5-10-5	67	31916	31935	683

546327	1612	1631	GGTTACCCAACAGTTGGTAT	5-10-5	95	31918	31937	684
546328	1624	1643	GAAGCCCCATCCGGTTACCC	5-10-5	84	31930	31949	685
547470	1628	1647	TCGAGAAGCCCCATCCGGTT	5-10-5	70	31934	31953	686
546329	1631	1650	CCTTCGAGAAGCCCCATCCG	5-10-5	18	31937	31956	687
546330	1636	1655	TTTCTCCTTCGAGAAGCCCC	5-10-5	55	31942	31961	688
547471	1638	1657	CCTTTCTCCTTCGAGAAGCC	5-10-5	58	31944	31963	689
547472	1641	1660	TCACCTTTCTCCTTCGAGAA	5-10-5	44	н.д.	н.д.	690
546331	1642	1661	TTCACCTTTCTCCTTCGAGA	5-10-5	59	н.д.	н.д.	691
547473	1649	1668	TTTGGATTTCACCTTTCTCC	5-10-5	5	н.д.	н.д.	692
547474	1659	1678	TGTAGAATATTTTGGATTTC	5-10-5	51	33103	33122	693
547475	1686	1705	TTTGTTACCAAAGGAATATT	5-10-5	44	33130	33149	694
547476	1688	1707	CATTTGTTACCAAAGGAATA	5-10-5	75	33132	33151	695
546336	1689	1708	TCATTTGTTACCAAAGGAAT	5-10-5	66	33133	33152	696
547477	1692	1711	TCTTCATTTGTTACCAAAGG	5-10-5	74	33136	33155	697
547478	1695	1714	CATTCTTCATTTGTTACCAA	5-10-5	85	33139	33158	698
546339	1712	1731	CTTGATATCTTTTCTGGCAT	5-10-5	65	33156	33175	699
546340	1716	1735	TAATCTTGATATCTTTTCTG	5-10-5	30	33160	33179	700
547479	1718	1737	TATAATCTTGATATCTTTTC	5-10-5	48	33162	33181	701
547480	1756	1775	TTCTTTATAGCCAGCACAGA	5-10-5	60	33200	33219	702
547481	1758	1777	CCTTCTTTATAGCCAGCACA	5-10-5	71	33202	33221	703
547482	1760	1779	CCCCTTCTTTATAGCCAGCA	5-10-5	90	33204	33223	704
546343	1761	1780	CCCCCTTCTTTATAGCCAGC	5-10-5	97	33205	33224	705
547483	1762	1781	TCCCCCTTCTTTATAGCCAG	5-10-5	71	33206	33225	706
5463	1773	1792	CAAGCATCTTTTCC	5-	86	33217	33236	70

45			CCCTTC	10-5				7
546346	1796	1815	AGGGACCACCTGAATCTCCC	5-10-5	83	33895	33914	708
547484	1799	1818	CTAAGGGACCACCTGAATCT	5-10-5	69	33898	33917	709
546347	1800	1819	ACTAAGGGACCACCTGAATC	5-10-5	28	33899	33918	710
547485	1803	1822	CAAACTAAGGGACCACCTGA	5-10-5	49	33902	33921	711
546348	1804	1823	GCAAACTAAGGGACCACCTG	5-10-5	79	33903	33922	712
547486	1805	1824	TGCAAACTAAGGGACCACCT	5-10-5	89	33904	33923	713
546349	1810	1829	GTGTTTGCAAACTAAGGGAC	5-10-5	48	33909	33928	714
547487	1811	1830	TGTGTTTGCAAACTAAGGGA	5-10-5	72	33910	33929	715
546350	1868	1887	CCCTGCGGGCACAGCCTTCA	5-10-5	88	33967	33986	716
546351	1873	1892	TTGCTCCCTGCGGGCACAGC	5-10-5	82	33972	33991	717
546352	1880	1899	CACCAGGTTGCTCCCTGCGG	5-10-5	75	33979	33998	718
547488	1881	1900	ACACCAGGTTGCTCCCTGCG	5-10-5	71	33980	33999	719

Таблица 131

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт инициации	SEQ ID NO: 1 сайт терминации	Последовательность	Мотив	% ингибирования	SEQ ID NO: 10 сайт инициации	SEQ ID NO: 10 сайт терминации	SEQ ID NO
531231	н.д.	н.д.	TATCACTGTACTAGTTTCCT	5-10-5	72	14744	14763	334
						14815	14834	
						14886	14905	
						14945	14964	
						15005	15024	
						15077	15096	
						15220	15239	
						15292	15311	
						15351	15370	
						15411	15430	
						15483	15502	
						15555	15574	
						15613	15632	
						15685	15704	
						15815	15834	
						15887	15906	
						15945	15964	
547448	1451	1470	TTATTTGTGAGAAAGGTGTA	5-10-5	83	30529	30548	643
547449	1453	1472	TTTTATTTGTGAGAAGGTG	5-10-5	73	30531	30550	644
546304	1454	1473	CTTTTATTTGTGAGAAAGGT	5-10-5	86	30532	30551	645
547450	1456	1475	CTCTTTTATTTGTGAGAAAG	5-10-5	67	30534	30553	646
547451	1471	1490	TTGGTGAATAATAATCTCTT	5-10-5	64	30549	30568	647
546306	1472	1491	TTTGGTGAATAATAATCTCT	5-10-5	71	30550	30569	648
547452	1474	1493	GTTTTGGTGAATAATAATCT	5-10-5	62	30552	30571	649
546307	1478	1497	TATAGTTTTGGTGAATAATA	5-10-5	0	30556	30575	650
546308	1482	1501	ACTTTATAGTTTTGGTGAAT	5-10-5	43	30560	30579	651
546309	1492	1511	CCCTTCTGAGACTTTATAGT	5-10-5	81	30570	30589	652
546310	1496	1515	GATTCCCTTCTGAGACTTTA	5-10-5	67	30574	30593	653
546311	1499	1518	CATGATTCCCTTCTGAGACT	5-10-5	76	30577	30596	654
547453	1500	1519	TCATGATTCCCTTCTGAGAC	5-10-5	81	30578	30597	655
547454	1502	1521	TATCATGATTCCCTTCTGAG	5-10-5	78	30580	30599	656
547455	1503	1522	ATATCATGATTCCCTTCTGA	5-10-5	66	30581	30600	657
547456	1506	1525	GCGATATCATGATTCCCTTC	5-10-5	96	30584	30603	658
546313	1507	1526	GGCGATATCATGATTCCCTT	5-10-5	75	30585	30604	659
547457	1509	1528	AAGGCGATATCATGATTCCC	5-10-5	92	30587	30606	660
547458	1513	1532	TATCAAGGCGATATCATGAT	5-10-5	64	30591	30610	661
547459	1519	1538	GAGTTTTATCAAGGCGATAT	5-10-5	51	30597	30616	662
547460	1522	1541	CTGGAGTTTTATCAAGGCGA	5-10-5	75	30600	30619	663

546316	1524	1543	GCCTGGAGTTTTATCAAGGC	5-10-5	60	30602	30621	664
546317	1528	1547	AGGAGCCTGGAGTTTTATCA	5-10-5	31	30606	30625	665
546318	1534	1553	ATTCAAAGGAGCCTGGAGTT	5-10-5	46	30612	30631	666
547461	1537	1556	GTAATTCAAAGGAGCCTGGA	5-10-5	55	30615	30634	667
547462	1539	1558	GTGTAATTCAAAGGAGCCTG	5-10-5	54	30617	30636	668
546319	1541	1560	CAGTGTAATTCAAAGGAGCC	5-10-5	61	30619	30638	669
547463	1564	1583	TAGGCATATTGGTTTTTGGA	5-10-5	84	31870	31889	670
546320	1566	1585	GGTAGGCATATTGGTTTTTG	5-10-5	69	31872	31891	671
546321	1569	1588	GAAGGTAGGCATATTGGTTT	5-10-5	56	31875	31894	672
546322	1584	1603	CTTGTGTCACCTTTGGAAGG	5-10-5	68	31890	31909	673
547464	1585	1604	GCTTGTGTCACCTTTGGAAG	5-10-5	84	31891	31910	674
546323	1587	1606	GTGCTTGTGTCACCTTTGGA	5-10-5	80	31893	31912	675
547465	1592	1611	AAATTGTGCTTGTGTCACCT	5-10-5	85	31898	31917	676
547466	1596	1615	GTATAAATTGTGCTTGTGTC	5-10-5	43	31902	31921	677
546324	1597	1616	GGTATAAATTGTGCTTGTGT	5-10-5	82	31903	31922	678
547467	1598	1617	TGGTATAAATTGTGCTTGTG	5-10-5	65	31904	31923	679
547468	1600	1619	GTTGGTATAAATTGTGCTTG	5-10-5	46	31906	31925	680
546325	1602	1621	CAGTTGGTATAAATTGTGCT	5-10-5	79	31908	31927	681
546326	1607	1626	CCCAACAGTTGGTATAAATT	5-10-5	64	31913	31932	682
547469	1610	1629	TTACCCAACAGTTGGTATAA	5-10-5	50	31916	31935	683
546327	1612	1631	GGTTACCCAACAGTTGGTAT	5-10-5	84	31918	31937	684
546328	1624	1643	GAAGCCCCATCCGGTTACCC	5-10-5	81	31930	31949	685
547470	1628	1647	TCGAGAAGCCCCATCCGGTT	5-10-5	68	31934	31953	686
5463	1631	1650	CCTTCGAGAAGCCC	5-	8	31937	31956	68

29			CATCCG	10-5				7
546330	1636	1655	TTTCTCCTTCGAGAAGCCCC	5-10-5	67	31942	31961	688
547471	1638	1657	CCTTTCTCCTTCGAGAAGCC	5-10-5	43	31944	31963	689
547472	1641	1660	TCACCTTTCTCCTTCGAGAA	5-10-5	42	н.д.	н.д.	690
546331	1642	1661	TTCACCTTTCTCCTTCGAGA	5-10-5	44	н.д.	н.д.	691
547473	1649	1668	TTTGGATTTCACCTTTCTCC	5-10-5	26	н.д.	н.д.	692
547474	1659	1678	TGTAGAATATTTTGGATTTC	5-10-5	34	33103	33122	693
547475	1686	1705	TTTGTTACCAAAGGAATATT	5-10-5	42	33130	33149	694
547476	1688	1707	CATTTGTTACCAAAGGAATA	5-10-5	71	33132	33151	695
546336	1689	1708	TCATTTGTTACCAAAGGAAT	5-10-5	73	33133	33152	696
547477	1692	1711	TCTTCATTTGTTACCAAAGG	5-10-5	68	33136	33155	697
547478	1695	1714	CATTCTTCATTTGTTACCAA	5-10-5	55	33139	33158	698
546339	1712	1731	CTTGATATCTTTTCTGGCAT	5-10-5	64	33156	33175	699
546340	1716	1735	TAATCTTGATATCTTTTCTG	5-10-5	56	33160	33179	700
547479	1718	1737	TATAATCTTGATATCTTTTC	5-10-5	9	33162	33181	701
547480	1756	1775	TTCTTTATAGCCAGCACAGA	5-10-5	49	33200	33219	702
547481	1758	1777	CCTTCTTTATAGCCAGCACA	5-10-5	77	33202	33221	703
547482	1760	1779	CCCCTTCTTTATAGCCAGCA	5-10-5	65	33204	33223	704
546343	1761	1780	CCCCCTTCTTTATAGCCAGC	5-10-5	91	33205	33224	705
547483	1762	1781	TCCCCCTTCTTTATAGCCAG	5-10-5	77	33206	33225	706
546345	1773	1792	CAAGCATCTTTTCCCCCTTC	5-10-5	80	33217	33236	707
546346	1796	1815	AGGGACCACCTGAATCTCCC	5-10-5	70	33895	33914	708
547484	1799	1818	CTAAGGGACCACCTGAATCT	5-10-5	64	33898	33917	709
546347	1800	1819	ACTAAGGGACCACCTGAATC	5-10-5	22	33899	33918	710

547485	1803	1822	CAAACTAAGGGACCACCTGA	5-10-5	66	33902	33921	711
546348	1804	1823	GCAAACTAAGGGACCACCTG	5-10-5	76	33903	33922	712
547486	1805	1824	TGCAAACTAAGGGACCACCT	5-10-5	78	33904	33923	713
546349	1810	1829	GTGTTTGCAAACTAAGGGAC	5-10-5	35	33909	33928	714
547487	1811	1830	TGTGTTTGCAAACTAAGGGA	5-10-5	61	33910	33929	715
546350	1868	1887	CCCTGCGGGCACAGCCTTCA	5-10-5	74	33967	33986	716
546351	1873	1892	TTGCTCCCTGCGGGCACAGC	5-10-5	60	33972	33991	717
546352	1880	1899	CACCAGGTTGCTCCCTGCGG	5-10-5	74	33979	33998	718
547488	1881	1900	ACACCAGGTTGCTCCCTGCG	5-10-5	72	33980	33999	719

Таблица 132

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт инициации	SEQ ID NO: 1 сайт терминации	Последовательность	Мотив	% ингибирования	SEQ ID NO: 10 сайт инициации	SEQ ID NO: 10 сайт терминации	SEQ ID NO
531231	н.д.	н.д.	TATCACTGTACTAGTTTCCT	5-10-5	90	14744	14763	334
						14815	14834	
						14886	14905	
						14945	14964	
						15005	15024	
						15077	15096	
						15220	15239	
						15292	15311	
						15351	15370	
						15411	15430	
						15483	15502	
						15555	15574	
						15613	15632	
						15685	15704	
						15815	15834	
						15887	15906	
						15945	15964	
547489	1883	1902	AGACACCAGGTTGCTCCCTG	5-10-5	34	33982	34001	720
5474	1885	1904	GTAGACACCAGGTT	5-	55	33984	34003	72
90			GCTCCC	10-5				1
546353	1900	1919	CTCAGCGACTTTGGTGTAGA	5-10-5	55	33999	34018	722
546354	1903	1922	GTACTCAGCGACTTTGGTGT	5-10-5	47	34002	34021	723
547491	1906	1925	CATGTACTCAGCGACTTTGG	5-10-5	47	34005	34024	724
547492	1911	1930	CAGTCCATGTACTCAGCGAC	5-10-5	62	34010	34029	725
546356	1913	1932	TCCAGTCCATGTACTCAGCG	5-10-5	60	34012	34031	726
546357	1947	1966	GCTTTTCCATCACTGCTCTG	5-10-5	79	34046	34065	727
546358	1951	1970	CTGAGCTTTTCCATCACTGC	5-10-5	83	34050	34069	728
547493	1952	1971	TCTGAGCTTTTCCATCACTG	5-10-5	72	34051	34070	729
546359	1955	1974	GCATCTGAGCTTTTCCATCA	5-10-5	79	34054	34073	730
546360	1958	1977	ACTGCATCTGAGCTTTTCCA	5-10-5	13	34057	34076	731
547494	1963	1982	TGGTGACTGCATCTGAGCTT	5-10-5	70	34062	34081	732
547495	1965	1984	GCTGGTGACTGCATCTGAGC	5-10-5	61	34064	34083	733
547496	1967	1986	ATGCTGGTGACTGCATCTGA	5-10-5	80	34066	34085	734
546362	1969	1988	TCATGCTGGTGACTGCATCT	5-10-5	71	34068	34087	735
546363	1973	1992	CTTCTCATGCTGGTGACTGC	5-10-5	81	34072	34091	736
547497	1977	1996	ACTGCTTCTCATGCTGGTGA	5-10-5	68	34076	34095	737
546364	1979	1998	GGACTGCTTCTCATGCTGGT	5-10-5	61	34078	34097	738
547498	1981	2000	CTGGACTGCTTCTCATGCTG	5-10-5	44	34080	34099	739
547499	1983	2002	CTCTGGACTGCTTCTCATGC	5-10-5	65	34082	34101	740
546365	1986	2005	AGACTCTGGACTGCTTCTCA	5-10-5	64	34085	34104	741
547500	1989	2008	CCTAGACTCTGGACTGCTTC	5-10-5	65	34088	34107	742
546366	1991	2010	TGCCTAGACTCTGGACTGCT	5-10-5	79	34090	34109	743
547501	1993	2012	ATTGCCTAGACTCTGGACTG	5-10-5	55	34092	34111	744

546367	1997	2016	AAAAATTGCCTAGACTCTGG	5-10-5	61	34096	34115	745
546368	2003	2022	GGTTGTAAAAATTGCCTAGA	5-10-5	44	34102	34121	746
547502	2006	2025	TCAGGTTGTAAAAATTGCCT	5-10-5	64	34105	34124	747
546369	2007	2026	CTCAGGTTGTAAAAATTGCC	5-10-5	51	34106	34125	748
547503	2008	2027	ACTCAGGTTGTAAAAATTGC	5-10-5	66	34107	34126	749
547504	2010	2029	GAACTCAGGTTGTAAAAATT	5-10-5	37	34109	34128	750
546370	2014	2033	ACTTGAACTCAGGTTGTAAA	5-10-5	34	34113	34132	751
547505	2015	2034	GACTTGAACTCAGGTTGTAA	5-10-5	69	34114	34133	752
546372	2021	2040	GAATTTGACTTGAACTCAGG	5-10-5	49	34120	34139	753
546373	2025	2044	CTCAGAATTTGACTTGAACT	5-10-5	59	34124	34143	754
547506	2028	2047	AGGCTCAGAATTTGACTTGA	5-10-5	78	34127	34146	755
547507	2029	2048	CAGGCTCAGAATTTGACTTG	5-10-5	56	34128	34147	756
546374	2030	2049	CCAGGCTCAGAATTTGACTT	5-10-5	50	34129	34148	757
547508	2032	2051	CCCCAGGCTCAGAATTTGAC	5-10-5	69	34131	34150	758
547509	2034	2053	CCCCCCAGGCTCAGAATTTG	5-10-5	58	34133	34152	759
546375	2036	2055	GACCCCCCAGGCTCAGAATT	5-10-5	48	34135	34154	760
547510	2041	2060	ATGAGGACCCCCCAGGCTCA	5-10-5	40	34140	34159	761
547511	2042	2061	GATGAGGACCCCCCAGGCTC	5-10-5	53	34141	34160	762
547512	2045	2064	GCAGATGAGGACCCCCAGG	5-10-5	74	34144	34163	763
547513	2046	2065	TGCAGATGAGGACCCCCAG	5-10-5	72	34145	34164	764
546378	2048	2067	TTTGCAGATGAGGACCCCCC	5-10-5	79	34147	34166	765
546379	2056	2075	CTCCATGCTTTGCAGATGAG	5-10-5	69	34155	34174	766
546380	2062	2081	GCCACTCTCCATGCTTTGCA	5-10-5	81	34161	34180	767
5475	2066	2085	AGATGCCACTCTCC	5-	85	34165	34184	76

14			ATGCTT	10-5				8
546381	2068	2087	GAAGATGCCACTCTCCATGC	5-10-5	73	34167	34186	769
547515	2069	2088	AGAAGATGCCACTCTCCATG	5-10-5	58	34168	34187	770
546382	2072	2091	CAAAGAAGATGCCACTCTCC	5-10-5	58	34171	34190	771
547516	2076	2095	GATGCAAAGAAGATGCCACT	5-10-5	48	34175	34194	772
546383	2077	2096	GGATGCAAAGAAGATGCCAC	5-10-5	57	34176	34195	773
547517	2079	2098	TAGGATGCAAAGAAGATGCC	5-10-5	57	34178	34197	774
547518	2083	2102	TCCTTAGGATGCAAAGAAGA	5-10-5	51	34182	34201	775
546384	2085	2104	CGTCCTTAGGATGCAAAGAA	5-10-5	81	34184	34203	776
546385	2120	2139	ATTGTCCTCAGCAGCTCTGA	5-10-5	67	34219	34238	777
547519	2126	2145	CCAGACATTGTCCTCAGCAG	5-10-5	76	34225	34244	778
546386	2128	2147	AGCCAGACATTGTCCTCAGC	5-10-5	78	34227	34246	779
547520	2130	2149	TCAGCCAGACATTGTCCTCA	5-10-5	76	34229	34248	780
547521	2132	2151	CTTCAGCCAGACATTGTCCT	5-10-5	58	34231	34250	781
546387	2138	2157	AGCGGGCTTCAGCCAGACAT	5-10-5	77	34237	34256	782
547522	2141	2160	GAAAGCGGGCTTCAGCCAGA	5-10-5	73	34240	34259	783
546388	2143	2162	CTGAAAGCGGGCTTCAGCCA	5-10-5	71	34242	34261	784
546389	2147	2166	CGTGCTGAAAGCGGGCTTCA	5-10-5	71	34246	34265	785
546390	2165	2184	GTCAGCCCCTGGTTACGGCG	5-10-5	70	34264	34283	786
547523	2167	2186	TTGTCAGCCCCTGGTTACGG	5-10-5	69	34266	34285	787
547524	2169	2188	CATTGTCAGCCCCTGGTTAC	5-10-5	58	34268	34287	788
546391	2170	2189	GCATTGTCAGCCCCTGGTTA	5-10-5	54	34269	34288	789
547525	2174	2193	CCTCGCATTGTCAGCCCCTG	5-10-5	78	34273	34292	790
546392	2176	2195	GACCTCGCATTGTCAGCCCC	5-10-5	72	34275	34294	791
547526	2178	2197	GCGACCTCGCATTGTCAGCC	5-10-5	59	34277	34296	792
547527	2185	2204	CTCAGTTGCGACCTCGCATT	5-10-5	58	34284	34303	793
546393	2186	2205	TCTCAGTTGCGACCTCGCAT	5-10-5	77	34285	34304	794
546394	2196	2215	GTCATGGAGATCTCAGTTGC	5-10-5	71	34295	34314	795
547528	2200	2219	CACAGTCATGGAGATCTCAG	5-10-5	78	34299	34318	796

Таблица 133

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт инициации	SEQ ID NO: 1 сайт терминации	Последовательность	Мотив	% ингибирования	SEQ ID NO: 10 сайт инициации	SEQ ID NO: 10 сайт терминации	SEQ ID NO
531231	н.д.	н.д.	TATCACTGTACTAGTTTCCT	5-10-5	90	14744	14763	334
						14815	14834	
						14886	14905	
						14945	14964	
						15005	15024	
						15077	15096	
						15220	15239	
						15292	15311	
						15351	15370	
						15411	15430	
						15483	15502	
						15555	15574	
						15613	15632	
						15685	15704	
						15815	15834	
						15887	15906	
						15945	15964	
546403	н.д.	н.д.	CCATGAACATCCTATCCGTG	5-10-5	83	3282	3301	797
546406	н.д.	н.д.	TGTCCTGTCAACATATTCCA	5-10-5	80	3299	3318	798
546409	н.д.	н.д.	GGGTTTCTGCCAACAGTTTC	5-10-5	77	3326	3345	799
546410	н.д.	н.д.	GACTTTGGGTTTCTGCCAAC	5-10-5	83	3332	3351	800
546411	н.д.	н.д.	ATATTGACTTTGGGTTTCTG	5-10-5	56	3337	3356	801
5464	н.д.	н.д.	GGCTTCAATATTGA	5-	84	3344	3363	80

12			CTTTGG	10-5				2
546416	н.д.	н.д.	CTGCAGGCAATATTTTGCTT	5-10-5	62	3364	3383	803
546418	н.д.	н.д.	ATGTGGCACTGCAGGCAATA	5-10-5	72	3372	3391	804
546419	н.д.	н.д.	TTCTAATGTGGCACTGCAGG	5-10-5	65	3377	3396	805
546421	н.д.	н.д.	TCAAGCTGTTCTAATGTGGC	5-10-5	71	3385	3404	806
546422	н.д.	н.д.	ACGGTCTTCAAGCTGTTCTA	5-10-5	72	3392	3411	807
546425	н.д.	н.д.	GGTCAATCTGACTAGTGAAT	5-10-5	69	2284	2303	808
546426	н.д.	н.д.	TCTCTGGTCAATCTGACTAG	5-10-5	49	2289	2308	809
546429	н.д.	н.д.	GCCCACCAACAATCTCTGGT	5-10-5	84	2301	2320	810
546432	н.д.	н.д.	GACCCCAACAGACAGCCCAC	5-10-5	62	2315	2334	811
546444	н.д.	н.д.	CCAGAATCATGCCTTGTGGG	5-10-5	61	4765	4784	812
546447	н.д.	н.д.	GTCACCATAGACCCAGAATC	5-10-5	68	4777	4796	813
546450	н.д.	н.д.	GTGGCCCTCTTAAGTCACCA	5-10-5	73	4790	4809	814
546453	н.д.	н.д.	CTCATTGTTGTGTGGCCCTC	5-10-5	82	4801	4820	815
546459	н.д.	н.д.	GTAGCCATACATCTGAGGAA	5-10-5	46	4830	4849	816
546461	н.д.	н.д.	ATGTTTATTGTAGCCATACA	5-10-5	53	4839	4858	817
546492	н.д.	н.д.	CTCGCCTTTGTGACTCGATT	5-10-5	61	26263	26282	818
546493	н.д.	н.д.	CATACTCGCCTTTGTGACTC	5-10-5	35	26267	26286	819
546494	н.д.	н.д.	GCATACTCGCCTTTGTGACT	5-10-5	67	26268	26287	820
546495	н.д.	н.д.	TGCATACTCGCCTTTGTGAC	5-10-5	65	26269	26288	821
546395	2209	2228	TTCACAACACACAGTCATGG	5-10-5	72	34308	34327	822
546397	2233	2252	TTTTTTGATCTTTCACCATT	5-10-5	55	н.д.	н.д.	823
546496	н.д.	н.д.	ATGCATACTCGCCTTTGTGA	5-10-5	54	26270 26301	26289 26320	824
5464	н.д.	н.д.	CATGCATACTCGCC	5-	56	26271	26290	82

97			TTTGTG	10-5		26302	26321	5
546498	н.д.	н.д.	CCATGCATACTCGCCTTTGT	5-10-5	65	26272 26303	26291 26322	826
547529	2203	2222	ACACACAGTCATGGAGATCT	5-10-5	49	34302	34321	827
547530	2206	2225	ACAACACACAGTCATGGAGA	5-10-5	63	34305	34324	828
547531	2213	2232	TTATTTCACAACACACAGTC	5-10-5	69	34312	34331	829
546499	н.д.	н.д.	TCCATGCATACTCGCCTTTG	5-10-5	20	26273	26292	830
546500	н.д.	н.д.	TTCCATGCATACTCGCCTTT	5-10-5	46	26274	26293	831
546501	н.д.	н.д.	TTTCCATGCATACTCGCCTT	5-10-5	53	26275	26294	832
546502	н.д.	н.д.	GATTTTCCATGCATACTCGC	5-10-5	37	26278	26297	833
546503	н.д.	н.д.	GTGATGCGATTTTCCATGCA	5-10-5	53	26285	26304	834
546508	н.д.	н.д.	GCAGCAAGTGCTCCCCATGC	5-10-5	43	26317	26336	835
546511	н.д.	н.д.	GTGATGAAAGTACAGCAGCA	5-10-5	50	26331	26350	836
546683	н.д.	н.д.	TCCTATCCGTGTTCAGCTGT	5-10-5	69	3273	3292	837
546684	н.д.	н.д.	TACTCTCTACATACTCAGGA	5-10-5	71	3561	3580	838
546687	н.д.	н.д.	TGAGACCTCCAGACTACTGT	5-10-5	76	3847	3866	839
546690	н.д.	н.д.	CTCTGCTGGTTTTAGACCAC	5-10-5	44	4027	4046	840
546695	н.д.	н.д.	GGGACAATCTCCACCCCCGA	5-10-5	36	4225	4244	841
546698	н.д.	н.д.	TGCAGAGTGTCATCTGCGAA	5-10-5	59	4387	4406	842
546700	н.д.	н.д.	TGGTTCCCTAGCGGTCCAGA	5-10-5	78	4561	4580	843
546705	н.д.	н.д.	CCCCTGTAGTTGGCTGTGGT	5-10-5	66	5046	5065	844
546707	н.д.	н.д.	GCAAGTCAAAGAGTGTCCAC	5-10-5	73	5283	5302	845
546710	н.д.	н.д.	GAAGCCTGTTAGAGTTGGCC	5-10-5	73	5576	5595	846
546719	н.д.	н.д.	CCCCCATGTCCATGGACTTT	5-10-5	55	6329	6348	847
547532	н.д.	н.д.	CTGCCAACAGTTTCAACTTT	5-10-5	65	3320	3339	848

547533	н.д.	н.д.	TTTTGCTTGGCTTCAATATT	5-10-5	23	3352	3371	849
547534	н.д.	н.д.	ATCTGACTAGTGAATGGCTT	5-10-5	72	2279	2298	850
547535	н.д.	н.д.	AGACAGCCCACCAACAATCT	5-10-5	28	2306	2325	851
547536	н.д.	н.д.	TGCATAGACCCCAACAGACA	5-10-5	48	2321	2340	852
547537	н.д.	н.д.	CCTGTGCATAGACCCCAACA	5-10-5	65	2325	2344	853
547538	н.д.	н.д.	CCAGCAGAAATCCTGTGCAT	5-10-5	77	2336	2355	854
547539	н.д.	н.д.	AGAACTCCAGCAGAAATCCT	5-10-5	43	2342	2361	855
547540	н.д.	н.д.	TTGTGTGGCCCTCTTAAGTC	5-10-5	44	4794	4813	856
547541	н.д.	н.д.	TATAGATGTTTATTGTAGCC	5-10-5	36	4844	4863	857
547542	н.д.	н.д.	ATACTCGCCTTTGTGACTCG	5-10-5	35	26266	26285	858
547543	н.д.	н.д.	TTTTCCATGCATACTCGCCT	5-10-5	54	26276	26295	859
547544	н.д.	н.д.	TCGCCTTTGTGATGCGATTT	5-10-5	15	26293	26312	860
547545	н.д.	н.д.	ATACTCGCCTTTGTGATGCG	5-10-5	43	26297	26316	861
547546	н.д.	н.д.	CATACTCGCCTTTGTGATGC	5-10-5	11	26298	26317	862
547547	н.д.	н.д.	GCATACTCGCCTTTGTGATG	5-10-5	42	26299	26318	863
547548	н.д.	н.д.	TGCATACTCGCCTTTGTGAT	5-10-5	61	26300	26319	864
547549	н.д.	н.д.	CCCATGCATACTCGCCTTTG	5-10-5	36	26304	26323	865
547550	н.д.	н.д.	CCCCATGCATACTCGCCTTT	5-10-5	53	26305	26324	866
547551	н.д.	н.д.	TCCCCATGCATACTCGCCTT	5-10-5	38	26306	26325	867
547552	н.д.	н.д.	CTCCCCATGCATACTCGCCT	5-10-5	53	26307	26326	868
547553	н.д.	н.д.	TGCTCCCCATGCATACTCGC	5-10-5	64	26309	26328	869
547554	н.д.	н.д.	GCTCTGATTGGGTCACCACA	5-10-5	50	5743	5762	870
547555	н.д.	н.д.	TGTCTCCTTCCACTTGCTCC	5-10-5	58	5923	5942	871
5475	н.д.	н.д.	GCCATTTTATCCCT	5-	55	6130	6149	87

56			GAGATT	10-5				2
547557	н.д.	н.д.	CTGTGCTGTATTTTGGAGCC	5-10-5	59	6413	6432	873

Таблица 134

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт инициации	SEQ ID NO: 1 сайт терминации	Последовательность	Мотив	% ингибирования	SEQ ID NO: 10 сайт инициации	SEQ ID NO: 10 сайт терминации	SEQ ID NO
531231	н.д.	н.д.	TATCACTGTACTAGTTTCCT	5-10-5	85	14744	14763	334
						14815	14834	
						14886	14905	
						14945	14964	
						15005	15024	
						15077	15096	
						15220	15239	
						15292	15311	
						15351	15370	
						15411	15430	
						15483	15502	
						15555	15574	
						15613	15632	
						15685	15704	
						15815	15834	
						15887	15906	
						15945	15964	
546732	н.д.	н.д.	GGATTTGGCCCTGAGCCCCA	5-10-5	14	6933	6952	874
546735	н.д.	н.д.	CAACCTGTCCATTCCCTGGG	5-10-5	46	7082	7101	875
546739	н.д.	н.д.	ATTCGGTGTCTTTACTGGCT	5-10-5	89	7228	7247	876
546746	н.д.	н.д.	TCCTGTTGCCTGACATGCTA	5-10-5	65	7694	7713	877
546747	н.д.	н.д.	CTCCCACTGACTGACTACTC	5-10-5	64	7904	7923	878
546749	н.д.	н.д.	GCTGGTCCTTGAACCCCGTG	5-10-5	53	8259	8278	879
546753	н.д.	н.д.	CTGGCTCACTATAGGCCCCA	5-10-5	91	8655	8674	880
546756	н.д.	н.д.	ATAAGCATCTCTCTGACCTA	5-10-5	47	9105	9124	881
546763	н.д.	н.д.	GCTTCCCCAATACTTGCTGG	5-10-5	84	9695	9714	882

546765	н.д.	н.д.	GTGTCCAGAATACTGCCCCA	5-10-5	82	10053	10072	883
546770	н.д.	н.д.	GTGGACGACTGCCCTGTGCC	5-10-5	74	10435	10454	884
546773	н.д.	н.д.	TCTCTAGCATCCTAGTCCTC	5-10-5	67	10586	10605	885
546780	н.д.	н.д.	ATACTGGCTAAGTCAGGCCC	5-10-5	83	10982	11001	886
546784	н.д.	н.д.	GGCAGGGAGGTGGATTATTC	5-10-5	58	11440	11459	887
546789	н.д.	н.д.	GCTTCTCTATCTCCCAGTGT	5-10-5	79	12228	12247	888
546791	н.д.	н.д.	GATGCATGCAGCAATACAGG	5-10-5	52	12385	12404	889
546795	н.д.	н.д.	GTCTCGATGGCAAGCTGTAC	5-10-5	72	12650	12669	890
546796	н.д.	н.д.	GTACTCACCGGTACTCTGCC	5-10-5	82	12804	12823	891
546799	н.д.	н.д.	ATGAAGGGCGAGGCGCAGTG	5-10-5	5	13258	13277	892
546803	н.д.	н.д.	CCCCATACATCTATGCAAAT	5-10-5	40	13551	13570	893
546804	н.д.	н.д.	ACATGACTCCAGTGATGGAT	5-10-5	57	13632	13651	894
546808	н.д.	н.д.	AAAATGACACCAAAATTCGC	5-10-5	0	13841	13860	895
546811	н.д.	н.д.	TGGACATCCTTCCCCTCGCA	5-10-5	49	13967	13986	896
546817	н.д.	н.д.	GCTCTGAGCCTTCCGCCTCT	5-10-5	77	14472	14491	897
546822	н.д.	н.д.	ACTAGTTTCCTATAACTGCT	5-10-5	32	14735	14754	898
546823	н.д.	н.д.	TACTAGTTTCCTATAACTGC	5-10-5	44	14736	14755	899
546824	н.д.	н.д.	GTACTAGTTTCCTATAACTG	5-10-5	79	14737	14756	900
546825	н.д.	н.д.	GTATCACTGTACTAGTTTCC	5-10-5	96	14745	14764	901
						14816	14835	
						14887	14906	
						14946	14965	
						15006	15025	
						15078	15097	
						15221	15240	
						15293	15312	
						15352	15371	
						15412	15431	

						15484	15503	
						15556	15575	
						15614	15633	
						15686	15705	
						15816	15835	
						15888	15907	
						15946	15965	
5468 26	н.д.	н.д.	AGTATCACTGTACT AGTTTC	5-10-5	90	14746	14765	902
						14817	14836	
						14888	14907	
						14947	14966	
						15007	15026	
						15079	15098	
						15222	15241	
						15294	15313	
						15353	15372	
						15413	15432	
						15485	15504	
						15557	15576	
						15615	15634	
						15687	15706	
						15817	15836	
						15889	15908	
						15947	15966	
5468 27	н.д.	н.д.	CAGTATCACTGTAC TAGTTT	5-10-5	98	14747	14766	903
						14818	14837	
						14889	14908	
						14948	14967	
						15008	15027	
						15080	15099	
						15152	15171	
						15223	15242	
						15295	15314	
						15354	15373	
						15414	15433	
						15486	15505	
						15558	15577	
						15616	15635	
						15688	15707	
						15818	15837	
						15890	15909	
						15948	15967	
5468	н.д.	н.д.	ACAGTATCACTGTA	5-	95	14748	14767	90

28			CTAGTT	10-5		14819	14838	4
						14890	14909	
						14949	14968	
						15009	15028	
						15081	15100	
						15153	15172	
						15224	15243	
						15296	15315	
						15355	15374	
						15415	15434	
						15487	15506	
						15559	15578	
						15617	15636	
						15689	15708	
						15819	15838	
						15891	15910	
						15949	15968	
5468 29	н.д.	н.д.	AACAGTATCACTGT ACTAGT	5-10-5	94	14749	14768	90 5
						14820	14839	
						14891	14910	
						14950	14969	
						15010	15029	
						15082	15101	
						15154	15173	
						15225	15244	
						15297	15316	
						15356	15375	
						15416	15435	
						15488	15507	
						15560	15579	
						15618	15637	
						15690	15709	
						15820	15839	
						15892	15911	
						15950	15969	
5468 30	н.д.	н.д.	TAACAGTATCACTG TACTAG	5-10-5	78	14750	14769	90 6
						14821	14840	
						14892	14911	
						14951	14970	
						15011	15030	
						15083	15102	
						15155	15174	
						15226	15245	

						15298	15317	
						15357	15376	
						15417	15436	
						15489	15508	
						15561	15580	
						15619	15638	
						15691	15710	
						15821	15840	
						15893	15912	
						15951	15970	
546831	н.д.	н.д.	TCTAACAGTATCACTGTACT	5-10-5	79	14752	14771	907
						14823	14842	
						14894	14913	
						15013	15032	
						15085	15104	
						15228	15247	
						15300	15319	
						15419	15438	
						15491	15510	
						15621	15640	
						15823	15842	
						15953	15972	
546832	н.д.	н.д.	CTCTAACAGTATCACTGTAC	5-10-5	88	14753	14772	908
						14824	14843	
						14895	14914	
						15014	15033	
						15086	15105	
						15229	15248	
						15301	15320	
						15420	15439	
						15492	15511	
						15622	15641	
						15824	15843	
						15954	15973	
546833	н.д.	н.д.	ACTCTAACAGTATCACTGTA	5-10-5	90	14754	14773	909
						14825	14844	
						14896	14915	
						15015	15034	
						15087	15106	
						15230	15249	
						15302	15321	
						15421	15440	
						15493	15512	

						15623	15642	
						15825	15844	
						15955	15974	
546834	н.д.	н.д.	AACTCTAACAGTATCACTGT	5-10-5	86	14755	14774	910
						14826	14845	
						14897	14916	
						15016	15035	
						15088	15107	
						15231	15250	
						15303	15322	
						15422	15441	
						15494	15513	
						15624	15643	
						15826	15845	
						15956	15975	
546835	н.д.	н.д.	TAACTCTAACAGTATCACTG	5-10-5	86	14756	14775	911
						14827	14846	
						14898	14917	
						15017	15036	
						15089	15108	
						15232	15251	
						15304	15323	
						15423	15442	
						15495	15514	
						15625	15644	
						15827	15846	
						15957	15976	
546836	н.д.	н.д.	ATAACTCTAACAGTATCACT	5-10-5	30	14757	14776	912
						14828	14847	
						14899	14918	
						15018	15037	
						15090	15109	
						15233	15252	
						15305	15324	
						15424	15443	
						15496	15515	
						15626	15645	
						15828	15847	
						15958	15977	
546837	н.д.	н.д.	TATAACTCTAACAGTATCAC	5-10-5	0	14758	14777	913
						14829	14848	
						14900	14919	
						15019	15038	

						15091	15110	
						15234	15253	
						15306	15325	
						15425	15444	
						15497	15516	
						15627	15646	
						15829	15848	
						15959	15978	
546838	н.д.	н.д.	CTATAACTCTAACAGTATCA	5-10-5	43	14759	14778	914
						14830	14849	
						14901	14920	
						15020	15039	
						15092	15111	
						15235	15254	
						15307	15326	
						15426	15445	
						15498	15517	
						15628	15647	
						15830	15849	
						15960	15979	
546839	н.д.	н.д.	CCTATAACTCTAACAGTATC	5-10-5	47	14760	14779	915
						14831	14850	
						14902	14921	
						15021	15040	
						15093	15112	
						15236	15255	
						15308	15327	
						15427	15446	
						15499	15518	
						15629	15648	
						15831	15850	
						15961	15980	
546840	н.д.	н.д.	CTGTCCTATAACTCTAACAG	5-10-5	53	14764	14783	916
						14835	14854	
546841	н.д.	н.д.	CACTGTCCTATAACTCTAAC	5-10-5	38	14766	14785	917
						14837	14856	
546842	н.д.	н.д.	TCACTGTCCTATAACTCTAA	5-10-5	54	14767	14786	918
						14838	14857	
546843	н.д.	н.д.	TATCACTGTCCTATAACTCT	5-10-5	52	14769	14788	919
						14840	14859	
546844	н.д.	н.д.	GTCCTATATCACTGTCCTAT	5-10-5	75	14775	14794	920
						14846	14865	
						15180	15199	

						15716	15735	
546845	н.д.	н.д.	TGTCCTATATCACTGTCCTA	5-10-5	75	14776	14795	921
						14847	14866	
						15181	15200	
						15717	15736	
546846	н.д.	н.д.	CTGTCCTATATCACTGTCCT	5-10-5	95	14777	14796	922
						14848	14867	
						15182	15201	
						15718	15737	
546847	н.д.	н.д.	ACTGTCCTATATCACTGTCC	5-10-5	88	14778	14797	923
						14849	14868	
						15183	15202	
						15719	15738	
546848	н.д.	н.д.	TCACTGTCCTATATCACTGT	5-10-5	86	14780	14799	924
						14851	14870	
						14976	14995	
						15185	15204	
						15257	15276	
						15382	15401	
						15520	15539	
						15650	15669	
						15721	15740	
						15852	15871	
						15982	16001	
547558	н.д.	н.д.	CCCCCAGTTCCCATGCAAGG	5-10-5	52	6640	6659	925
547559	н.д.	н.д.	GAGCACAGATCTCTTCAAGT	5-10-5	69	6822	6841	926
547560	н.д.	н.д.	GACGGTCACCCAGCCCTGAC	5-10-5	42	7459	7478	927
547561	н.д.	н.д.	AAGGGAAATTAGAGGCAGGC	5-10-5	57	7583	7602	928
547562	н.д.	н.д.	CTTTCTTGAGACAATCCCTT	5-10-5	59	8463	8482	929
547563	н.д.	н.д.	GTGGGATCAGAGAATGACTA	5-10-5	48	9267	9286	930
547564	н.д.	н.д.	CCCTCTGTCTTAGATGTCCA	5-10-5	94	9390	9409	931
547565	н.д.	н.д.	CTTATCAGTCCCAGTCATGT	5-10-5	63	10698	10717	932
547566	н.д.	н.д.	AAGAGTTGGGATGCGACTCT	5-10-5	76	11335	11354	933
547567	н.д.	н.д.	TCCACTCCTAAGAAGTATGG	5-10-5	60	11546	11565	934

547568	н.д.	н.д.	GCACCCTTTTCATTGAGATT	5-10-5	70	12070	12089	935
547569	н.д.	н.д.	ACTACCATTTGGGTTGGTAG	5-10-5	9	12571	12590	936
547570	н.д.	н.д.	AAGCCCTGTTTGGTTTTTAG	5-10-5	18	12900	12919	937
547571	н.д.	н.д.	AAATGACACCAAAATTGAGT	5-10-5	14	13744	13763	938
547572	н.д.	н.д.	AAATGACACCAAAATTCGCT	5-10-5	40	13840	13859	939
547573	н.д.	н.д.	TAAGCAAGGCCTATGTGTGG	5-10-5	2	13880	13899	940
547574	н.д.	н.д.	ACACGCACAGGTCCCAGGGC	5-10-5	51	14314	14333	941
547575	н.д.	н.д.	GGGAAACTCTTTCCTCGCCC	5-10-5	89	14583	14602	942
547576	н.д.	н.д.	CTAGTTTCCTATAACTGCTG	5-10-5	29	14734	14753	943
547577	н.д.	н.д.	CTAACAGTATCACTGTACTA	5-10-5	79	14751	14770	944
						14822	14841	
						14893	14912	
						15012	15031	
						15084	15103	
						15227	15246	
						15299	15318	
						15418	15437	
						15490	15509	
						15620	15639	
						15822	15841	
						15952	15971	
547578	н.д.	н.д.	GTCCTATAACTCTAACAGTA	5-10-5	30	14762	14781	945
						14833	14852	
547579	н.д.	н.д.	TGTCCTATAACTCTAACAGT	5-10-5	0	14763	14782	946
						14834	14853	
547580	н.д.	н.д.	ATCACTGTCCTATAACTCTA	5-10-5	61	14768	14787	947
						14839	14858	
547581	н.д.	н.д.	ATATCACTGTCCTATAACTC	5-10-5	60	14770	14789	948
						14841	14860	
547582	н.д.	н.д.	TATATCACTGTCCTATAACT	5-10-5	22	14771	14790	949
						14842	14861	
						15176	15195	
						15712	15731	
						16160	16179	
5475	н.д.	н.д.	CACTGTCCTATATC	5-	80	14779	14798	95
83			ACTGTC	10-5		14850	14869	0
						15184	15203	
						15720	15739	

Таблица 135

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт инициации	SEQ ID NO: 1 сайт терминации	Последовательность	Мотив	% ингибирования	SEQ ID NO: 10 сайт инициации	SEQ ID NO: 10 сайт терминации	SEQ ID NO
531231	н.д.	н.д.	TATCACTGTACTAGTTTCCT	5-10-5	85	14744	14763	334
						14815	14834	
						14886	14905	
						14945	14964	
						15005	15024	
						15077	15096	
						15220	15239	
						15292	15311	
						15351	15370	
						15411	15430	
						15483	15502	
						15555	15574	
						15613	15632	
						15685	15704	
						15815	15834	
						15887	15906	
						15945	15964	
546849	н.д.	н.д.	ATCACTGTCCTATATCACTG	5-10-5	93	14781	14800	951
						14852	14871	
						14977	14996	
						15186	15205	
						15258	15277	
						15383	15402	
						15521	15540	
						15651	15670	
						15722	15741	
						15853	15872	
						15983	16002	
546850	н.д.	н.д.	TATCACTGTCCTATATCACT	5-10-5	80	14782	14801	952
						14853	14872	
						14978	14997	
						15116	15135	
						15187	15206	

						15259	15278	
						15384	15403	
						15522	15541	
						15652	15671	
						15723	15742	
						15854	15873	
						15984	16003	
5468 51	н.д.	н.д.	AGTATCACTGTCCT ATATCA	5-10-5	81	14784	14803	953
						14980	14999	
						15118	15137	
						15386	15405	
						15524	15543	
						15986	16005	
5468 52	н.д.	н.д.	CAGTATCACTGTC CTATATC	5-10-5	94	14785	14804	954
						14981	15000	
						15119	15138	
						15387	15406	
						15525	15544	
						15987	16006	
5468 53	н.д.	н.д.	ACAGTATCACTGT CCTATAT	5-10-5	86	14786	14805	955
						14982	15001	
						15120	15139	
						15388	15407	
						15526	15545	
						15988	16007	
5468 54	н.д.	н.д.	TAACAGTATCACT GTCCTAT	5-10-5	90	14788	14807	956
						14984	15003	
						15050	15069	
						15122	15141	
						15390	15409	
						15456	15475	
						15528	15547	
						15990	16009	
5468 55	н.д.	н.д.	ATAACAGTATCAC TGTCCTA	5-10-5	87	14789	14808	957
						14985	15004	
						15051	15070	
						15123	15142	
						15391	15410	
						15457	15476	
						15529	15548	
						15991	16010	
5468 56	н.д.	н.д.	AACTATAACAGTA TCACTGT	5-10-5	54	14793	14812	958
						15055	15074	

						15127	15146	
						15160	15179	
						15461	15480	
						15533	15552	
						15566	15585	
						15696	15715	
						15898	15917	
						15995	16014	
546857	н.д.	н.д.	TATAACTATAACAGTATCAC	5-10-5	7	14796	14815	959
						15058	15077	
						15130	15149	
						15163	15182	
						15464	15483	
						15536	15555	
						15569	15588	
						15699	15718	
						15770	15789	
						15998	16017	
546858	н.д.	н.д.	CTATAACTATAACAGTATCA	5-10-5	21	14797	14816	960
						15059	15078	
						15131	15150	
						15164	15183	
						15465	15484	
						15537	15556	
						15570	15589	
						15700	15719	
						15771	15790	
						15999	16018	
546859	н.д.	н.д.	TTTCCTATAACTATAACAGT	5-10-5	7	14801	14820	961
						15063	15082	
						15469	15488	
						15541	15560	
546860	н.д.	н.д.	CTAGTTTCCTATAACTATAA	5-10-5	36	14805	14824	962
						14876	14895	
						14935	14954	
						15067	15086	
						15210	15229	
						15282	15301	
						15341	15360	
						15473	15492	
						15545	15564	
						15603	15622	
						15675	15694	

						15746	15765	
						15805	15824	
						15877	15896	
						15935	15954	
546861	н.д.	н.д.	TAACAATATCACTGTCCTAT	5-10-5	68	14859	14878	963
						15193	15212	
						15265	15284	
						15586	15605	
						15658	15677	
						15729	15748	
						15860	15879	
						16086	16105	
						16183	16202	
						16234	16253	
546862	н.д.	н.д.	AACTATAACAATATCACTGT	5-10-5	0	14864	14883	964
						14923	14942	
						15198	15217	
						15270	15289	
						15329	15348	
						15591	15610	
						15663	15682	
						15734	15753	
						15793	15812	
						15865	15884	
						15923	15942	
						16066	16085	
						16091	16110	
						16144	16163	
						16239	16258	
546863	н.д.	н.д.	TAACTATAACAATATCACTG	5-10-5	21	14865	14884	965
						14924	14943	
						15199	15218	
						15271	15290	
						15330	15349	
						15592	15611	
						15664	15683	
						15735	15754	
						15794	15813	
						15866	15885	
						15924	15943	
						16067	16086	
						16092	16111	
						16145	16164	

						16240	16259	
5468 64	н.д.	н.д.	ATAACTATAACAA TATCACT	5-10-5	0	14866	14885	966
						14925	14944	
						15200	15219	
						15272	15291	
						15331	15350	
						15593	15612	
						15665	15684	
						15736	15755	
						15795	15814	
						15867	15886	
						15925	15944	
						16068	16087	
						16093	16112	
						16146	16165	
						16241	16260	
5468 65	н.д.	н.д.	TATAACTATAACA ATATCAC	5-10-5	0	14867	14886	967
						14926	14945	
						15201	15220	
						15273	15292	
						15332	15351	
						15594	15613	
						15666	15685	
						15737	15756	
						15796	15815	
						15868	15887	
						15926	15945	
						16069	16088	
						16094	16113	
						16147	16166	
						16242	16261	
5468 66	н.д.	н.д.	GTTTCCTATAACTA TAACAA	5-10-5	35	14873	14892	968
						14932	14951	
						15207	15226	
						15279	15298	
						15338	15357	
						15600	15619	
						15672	15691	
						15743	15762	
						15802	15821	
						15874	15893	
						15932	15951	
5468	н.д.	н.д.	ACCTATAACTCTA	5-	40	14903	14922	969

67			ACAGTAT	10-5		15022	15041	
						15094	15113	
						15237	15256	
						15309	15328	
						15428	15447	
						15500	15519	
						15630	15649	
						15832	15851	
						15962	15981	
546868	н.д.	н.д.	TACCTATAACTCTAACAGTA	5-10-5	51	14904	14923	970
						15023	15042	
						15095	15114	
						15238	15257	
						15310	15329	
						15429	15448	
						15501	15520	
						15631	15650	
						15833	15852	
						15963	15982	
546869	н.д.	н.д.	TGTACCTATAACTCTAACAG	5-10-5	53	14906	14925	971
						15025	15044	
						15240	15259	
						15312	15331	
						15431	15450	
						15503	15522	
						15633	15652	
						15835	15854	
						15965	15984	
546870	н.д.	н.д.	CTGTACCTATAACTCTAACA	5-10-5	87	14907	14926	972
						15026	15045	
						15241	15260	
						15313	15332	
						15432	15451	
						15504	15523	
						15634	15653	
						15836	15855	
						15966	15985	
546871	н.д.	н.д.	ACTGTACCTATAACTCTAAC	5-10-5	73	14908	14927	973
						15027	15046	
						15242	15261	
						15314	15333	
						15433	15452	
						15505	15524	

						15635	15654	
						15837	15856	
						15967	15986	
546872	н.д.	н.д.	CACTGTACCTATAACTCTAA	5-10-5	87	14909	14928	974
						15028	15047	
						15243	15262	
						15315	15334	
						15434	15453	
						15506	15525	
						15636	15655	
						15838	15857	
						15968	15987	
546873	н.д.	н.д.	CAATATCACTGTACCTATAA	5-10-5	34	14915	14934	975
						15321	15340	
						15785	15804	
546874	н.д.	н.д.	ATAACAATATCACTGTACCT	5-10-5	68	14919	14938	976
						15325	15344	
						15789	15808	
						16062	16081	
						16140	16159	
546875	н.д.	н.д.	ACTATAACAATATCACTGTA	5-10-5	33	14922	14941	977
						15328	15347	
						15792	15811	
						16065	16084	
						16143	16162	
546876	н.д.	н.д.	GTCCTATATCACTGTACCTG	5-10-5	87	14971	14990	978
546877	н.д.	н.д.	CACTGTCCTATATCACTGTA	5-10-5	88	14975	14994	979
						15256	15275	
						15381	15400	
						15519	15538	
						15649	15668	
						15851	15870	
						15981	16000	
546878	н.д.	н.д.	CCTATAACAGTATCACTGTC	5-10-5	81	14988	15007	980
						15394	15413	
546879	н.д.	н.д.	TTTCCTATAACAGTATCACT	5-10-5	42	14991	15010	981
						15397	15416	
546880	н.д.	н.д.	GTTTCCTATAACAGTATCAC	5-10-5	41	14992	15011	982
						15398	15417	
546881	н.д.	н.д.	AGTTTCCTATAACAGTATCA	5-10-5	49	14993	15012	983
						15399	15418	
5468	н.д.	н.д.	TAGTTTCCTATAAC	5-	24	14994	15013	984

82			AGTATC	10-5		15400	15419	
546883	н.д.	н.д.	CTAGTTTCCTATAACAGTAT	5-10-5	19	14995	15014	985
						15401	15420	
546884	н.д.	н.д.	ACTAGTTTCCTATAACAGTA	5-10-5	6	14996	15015	986
						15402	15421	
547584	н.д.	н.д.	GTATCACTGTCCTATATCAC	5-10-5	85	14783	14802	987
						14979	14998	
						15117	15136	
						15385	15404	
						15523	15542	
						15985	16004	
547585	н.д.	н.д.	AACAGTATCACTGTCCTATA	5-10-5	85	14787	14806	988
						14983	15002	
						15121	15140	
						15389	15408	
						15527	15546	
						15989	16008	
547586	н.д.	н.д.	TATAACAGTATCACTGTCCT	5-10-5	82	14790	14809	989
						14986	15005	
						15052	15071	
						15124	15143	
						15392	15411	
						15458	15477	
						15530	15549	
						15992	16011	
547587	н.д.	н.д.	CTATAACAGTATCACTGTCC	5-10-5	96	14791	14810	990
						14987	15006	
						15053	15072	
						15125	15144	
						15393	15412	
						15459	15478	
						15531	15550	
						15993	16012	
547588	н.д.	н.д.	ACTATAACAGTATCACTGTC	5-10-5	83	14792	14811	991
						15054	15073	
						15126	15145	
						15460	15479	
						15532	15551	
						15994	16013	
547589	н.д.	н.д.	TAACTATAACAGTATCACTG	5-10-5	36	14794	14813	992
						15056	15075	
						15128	15147	
						15161	15180	

						15462	15481	
						15534	15553	
						15567	15586	
						15697	15716	
						15996	16015	
5475 90	н.д.	н.д.	ATAACTATAACAG TATCACT	5-10-5	0	14795	14814	993
						15057	15076	
						15129	15148	
						15162	15181	
						15463	15482	
						15535	15554	
						15568	15587	
						15698	15717	
						15997	16016	
5475 91	н.д.	н.д.	CCTATAACTATAA CAGTATC	5-10-5	23	14798	14817	994
						15060	15079	
						15165	15184	
						15466	15485	
						15538	15557	
						15571	15590	
						15701	15720	
						15772	15791	
						16000	16019	
5475 92	н.д.	н.д.	TCCTATAACTATA ACAGTAT	5-10-5	27	14799	14818	995
						15061	15080	
						15166	15185	
						15467	15486	
						15539	15558	
						15572	15591	
						15702	15721	
						16001	16020	
5475 93	н.д.	н.д.	TTCCTATAACTATA ACAGTA	5-10-5	29	14800	14819	996
						15062	15081	
						15468	15487	
						15540	15559	
5475 94	н.д.	н.д.	GTTTCCTATAACTA TAACAG	5-10-5	19	14802	14821	997
						15064	15083	
						15470	15489	
						15542	15561	
5475 95	н.д.	н.д.	ACTAGTTTCCTATA ACTATA	5-10-5	21	14806	14825	998
						14877	14896	
						14936	14955	
						15068	15087	

						15211	15230	
						15283	15302	
						15342	15361	
						15474	15493	
						15546	15565	
						15604	15623	
						15676	15695	
						15747	15766	
						15806	15825	
						15878	15897	
						15936	15955	
5475 96	н.д.	н.д.	TACTAGTTTCCTAT AACTAT	5-10-5	14	14807	14826	999
						14878	14897	
						14937	14956	
						15069	15088	
						15212	15231	
						15284	15303	
						15343	15362	
						15475	15494	
						15547	15566	
						15605	15624	
						15677	15696	
						15748	15767	
						15807	15826	
						15879	15898	
						15937	15956	
5475 97	н.д.	н.д.	CAATATCACTGTC CTATATC	5-10-5	29	14856	14875	1000
						15190	15209	
						15262	15281	
						15655	15674	
						15726	15745	
						15857	15876	
5475 98	н.д.	н.д.	ACTATAACAATAT CACTGTC	5-10-5	59	14863	14882	1001
						15197	15216	
						15269	15288	
						15590	15609	
						15662	15681	
						15733	15752	
						15864	15883	
						15922	15941	
						16090	16109	
						16238	16257	
5475	н.д.	н.д.	TTCCTATAACTATA	5-	4	14871	14890	100

99			ACAATA	10-5		14930	14949	2
						15205	15224	
						15277	15296	
						15336	15355	
						15598	15617	
						15670	15689	
						15741	15760	
						15800	15819	
						15872	15891	
						15930	15949	
547600	н.д.	н.д.	TTTCCTATAACTATAACAAT	5-10-5	26	14872	14891	1003
						14931	14950	
						15206	15225	
						15278	15297	
						15337	15356	
						15599	15618	
						15671	15690	
						15742	15761	
						15801	15820	
						15873	15892	
						15931	15950	
547601	н.д.	н.д.	GTACCTATAACTCTAACAGT	5-10-5	75	14905	14924	1004
						15024	15043	
						15239	15258	
						15311	15330	
						15430	15449	
						15502	15521	
						15632	15651	
						15834	15853	
						15964	15983	
547602	н.д.	н.д.	TCACTGTACCTATAACTCTA	5-10-5	93	14910	14929	1005
						15029	15048	
						15244	15263	
						15316	15335	
						15435	15454	
						15507	15526	
						15637	15656	
						15839	15858	
						15969	15988	
547603	н.д.	н.д.	TATCACTGTACCTATAACTC	5-10-5	41	14912	14931	1006
						15246	15265	
						15318	15337	
						15509	15528	

						15639	15658	
						15841	15860	
						15971	15990	
547604	н.д.	н.д.	ATATCACTGTACCTATAACT	5-10-5	0	14913	14932	1007
						15247	15266	
						15319	15338	
						15510	15529	
						15640	15659	
						15783	15802	
						15842	15861	
						15972	15991	
547605	н.д.	н.д.	ACAATATCACTGTACCTATA	5-10-5	43	14916	14935	1008
						15322	15341	
						15786	15805	
						16137	16156	
547606	н.д.	н.д.	AACAATATCACTGTACCTAT	5-10-5	43	14917	14936	1009
						15323	15342	
						15787	15806	
						16138	16157	
547607	н.д.	н.д.	TAACAATATCACTGTACCTA	5-10-5	49	14918	14937	1010
						15324	15343	
						15788	15807	
						16139	16158	
547608	н.д.	н.д.	TATAACAATATCACTGTACC	5-10-5	35	14920	14939	1011
						15326	15345	
						15790	15809	
						16063	16082	
						16141	16160	
547609	н.д.	н.д.	CTATAACAATATCACTGTAC	5-10-5	23	14921	14940	1012
						15327	15346	
						15791	15810	
						16064	16083	
						16142	16161	
547610	н.д.	н.д.	TGTAACAGTATCACTGTACT	5-10-5	45	14953	14972	1013
547611	н.д.	н.д.	CTGTAACAGTATCACTGTAC	5-10-5	71	14954	14973	1014
547612	н.д.	н.д.	CCTGTAACAGTATCACTGTA	5-10-5	68	14955	14974	1015
547613	н.д.	н.д.	CTATATCACTGTACCTGTAA	5-10-5	39	14968	14987	1016
547614	н.д.	н.д.	CCTATATCACTGTACCTGTA	5-10-5	81	14969	14988	1017

547615	н.д.	н.д.	TCCTATATCACTGTACCTGT	5-10-5	84	14970	14989	1018
547616	н.д.	н.д.	TGTCCTATATCACTGTACCT	5-10-5	86	14972	14991	1019
						15253	15272	
						15378	15397	
						15516	15535	
						15646	15665	
						15848	15867	
						15978	15997	
547617	н.д.	н.д.	CTGTCCTATATCACTGTACC	5-10-5	91	14973	14992	1020
						15254	15273	
						15379	15398	
						15517	15536	
						15647	15666	
						15849	15868	
						15979	15998	
547618	н.д.	н.д.	ACTGTCCTATATCACTGTAC	5-10-5	87	14974	14993	1021
						15255	15274	
						15380	15399	
						15518	15537	
						15648	15667	
						15850	15869	
						15980	15999	
547619	н.д.	н.д.	TCCTATAACAGTATCACTGT	5-10-5	70	14989	15008	1022
						15395	15414	
547620	н.д.	н.д.	TTCCTATAACAGTATCACTG	5-10-5	65	14990	15009	1023
						15396	15415	
547621	н.д.	н.д.	TACTAGTTTCCTATAACAGT	5-10-5	12	14997	15016	1024
						15403	15422	
547622	н.д.	н.д.	GTCACTGTACCTATAACTCT	5-10-5	88	15030	15049	1025
						15436	15455	
547623	н.д.	н.д.	TGTCACTGTACCTATAACTC	5-10-5	81	15031	15050	1026
						15437	15456	
547624	н.д.	н.д.	ATGTCACTGTACCTATAACT	5-10-5	64	15032	15051	1027
						15438	15457	

Таблица 136

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт инициации	SEQ ID NO: 1 сайт терминации	Последовательность	% ингибирования	Мотив	SEQ ID NO: 10 сайт инициации	SEQ ID NO: 10 сайт терминации	SEQ ID NO
5312	н.д.	н.д.	TATCACTGTACTA	93	5-	14744	14763	33

31			GTTTCCT		10-5	14815	14834	4
						14886	14905	
						14945	14964	
						15005	15024	
						15077	15096	
						15220	15239	
						15292	15311	
						15351	15370	
						15411	15430	
						15483	15502	
						15555	15574	
						15613	15632	
						15685	15704	
						15815	15834	
						15887	15906	
						15945	15964	
546885	н.д.	н.д.	TATGTCACTGTACCTATAAC	46	5-10-5	15033	15052	1028
						15439	15458	
546886	н.д.	н.д.	CTATGTCACTGTACCTATAA	80	5-10-5	15034	15053	1029
						15440	15459	
546887	н.д.	н.д.	CCTATGTCACTGTACCTATA	82	5-10-5	15035	15054	1030
						15441	15460	
546888	н.д.	н.д.	TCCTATGTCACTGTACCTAT	78	5-10-5	15036	15055	1031
						15442	15461	
546889	н.д.	н.д.	GTCCTATGTCACTGTACCTA	93	5-10-5	15037	15056	1032
						15443	15462	
546890	н.д.	н.д.	TGTCCTATGTCACTGTACCT	78	5-10-5	15038	15057	1033
						15444	15463	
546891	н.д.	н.д.	CTGTCCTATGTCACTGTACC	81	5-10-5	15039	15058	1034
						15445	15464	
546892	н.д.	н.д.	ACTGTCCTATGTCACTGTAC	82	5-10-5	15040	15059	1035
						15446	15465	
546893	н.д.	н.д.	CACTGTCCTATGTCACTGTA	70	5-10-5	15041	15060	1036
						15447	15466	
546894	н.д.	н.д.	TCACTGTCCTATGTCACTGT	91	5-10-5	15042	15061	1037
						15448	15467	
546895	н.д.	н.д.	TATCACTGTCCTATGTCACT	77	5-10-5	15044	15063	1038
						15450	15469	
546896	н.д.	н.д.	GTATCACTGTCCTATGTCAC	75	5-10-5	15045	15064	1039
						15451	15470	
5468	н.д.	н.д.	AGTATCACTGTCCT	90	5-	15046	15065	10

97			ATGTCA		10-5	15452	15471	40
546898	н.д.	н.д.	AACAGTATCACTGTCCTATG	91	5-10-5	15049	15068	1041
						15455	15474	
546899	н.д.	н.д.	CTACCTATAACTCTAACAGT	27	5-10-5	15096	15115	1042
546901	н.д.	н.д.	ACTGTCCTATAACTATAACA	56	5-10-5	15170	15189	1043
						15576	15595	
						15706	15725	
						16005	16024	
						16076	16095	
						16101	16120	
						16154	16173	
546902	н.д.	н.д.	CACTGTCCTATAACTATAAC	71	5-10-5	15171	15190	1044
						15577	15596	
						15707	15726	
						16006	16025	
						16077	16096	
						16102	16121	
						16155	16174	
546903	н.д.	н.д.	CCTATATCACTGTACCTATA	91	5-10-5	15250	15269	1045
						15375	15394	
						15513	15532	
						15643	15662	
						15845	15864	
						15975	15994	
546904	н.д.	н.д.	TCCTATATCACTGTACCTAT	80	5-10-5	15251	15270	1046
						15376	15395	
						15514	15533	
						15644	15663	
						15846	15865	
						15976	15995	
546905	н.д.	н.д.	TACCTATAACAGTATCACTG	65	5-10-5	15363	15382	1047
546907	н.д.	н.д.	ATAACTATAACAGTATCACC	37	5-10-5	15769	15788	1048
546908	н.д.	н.д.	TCACTGTACCTATAACTATA	77	5-10-5	15780	15799	1049
						16252	16271	
546909	н.д.	н.д.	AACAATATCACTGTACCTTT	44	5-10-5	16060	16079	1050
546910	н.д.	н.д.	TAACAATATCACTGTACCTT	82	5-10-5	16061	16080	1051
5469	н.д.	н.д.	GTCCTATAACTAT	52	5-	16073	16092	10

11			AACAATA		10-5	16098	16117	52
						16151	16170	
547625	н.д.	н.д.	CAGTATCACTGTCCTATGTC	79	5-10-5	15047	15066	1053
						15453	15472	
547626	н.д.	н.д.	ACAGTATCACTGTCCTATGT	91	5-10-5	15048	15067	1054
						15454	15473	
547627	н.д.	н.д.	TCTACCTATAACTCTAACAG	71	5-10-5	15097	15116	1055
547628	н.д.	н.д.	CTCTACCTATAACTCTAACA	34	5-10-5	15098	15117	1056
547629	н.д.	н.д.	ACTCTACCTATAACTCTAAC	0	5-10-5	15099	15118	1057
547630	н.д.	н.д.	ACTGTCCTATATCACTCTAC	76	5-10-5	15112	15131	1058
547631	н.д.	н.д.	CACTGTCCTATATCACTCTA	85	5-10-5	15113	15132	1059
547632	н.д.	н.д.	TCACTGTCCTATATCACTCT	87	5-10-5	15114	15133	1060
547633	н.д.	н.д.	ATCACTGTCCTATATCACTC	87	5-10-5	15115	15134	1061
547634	н.д.	н.д.	ATCACTGTACTAGTTTTCTA	72	5-10-5	15148	15167	1062
547635	н.д.	н.д.	TATCACTGTACTAGTTTTCT	53	5-10-5	15149	15168	1063
547636	н.д.	н.д.	GTATCACTGTACTAGTTTTC	86	5-10-5	15150	15169	1064
547637	н.д.	н.д.	AGTATCACTGTACTAGTTTT	88	5-10-5	15151	15170	1065
547638	н.д.	н.д.	ATAACAGTATCACTGTACTA	87	5-10-5	15156	15175	1066
						15358	15377	
						15562	15581	
						15692	15711	
						15894	15913	
547639	н.д.	н.д.	GTCCTATAACTATAACAGTA	72	5-10-5	15167	15186	1067
						15573	15592	
						15703	15722	
						16002	16021	
547640	н.д.	н.д.	TGTCCTATAACTATAACAGT	13	5-10-5	15168	15187	1068
						15574	15593	
						15704	15723	
						16003	16022	
547641	н.д.	н.д.	CTGTCCTATAACTATAACAG	43	5-10-5	15169	15188	1069
						15575	15594	

						15705	15724	
						16004	16023	
5476 42	н.д.	н.д.	TCACTGTCCTATAA CTATAA	72	5-10-5	15172	15191	10 70
						15578	15597	
						15708	15727	
						16007	16026	
						16078	16097	
						16103	16122	
						16156	16175	
5476 43	н.д.	н.д.	ATCACTGTCCTATA ACTATA	72	5-10-5	15173	15192	10 71
						15579	15598	
						15709	15728	
						16008	16027	
						16079	16098	
						16104	16123	
						16157	16176	
						16176	16195	
5476 44	н.д.	н.д.	TATCACTGTCCTAT AACTAT	51	5-10-5	15174	15193	10 72
						15580	15599	
						15710	15729	
						16009	16028	
						16080	16099	
						16158	16177	
						16177	16196	
						16228	16247	
5476 45	н.д.	н.д.	ATATCACTGTCCTA TAACTA	60	5-10-5	15175	15194	10 73
						15581	15600	
						15711	15730	
						16010	16029	
						16081	16100	
						16159	16178	
						16178	16197	
						16229	16248	
5476 46	н.д.	н.д.	CTATATCACTGTAC CTATAA	23	5-10-5	15249	15268	10 74
						15374	15393	
						15512	15531	
						15642	15661	
						15844	15863	
						15974	15993	
5476 47	н.д.	н.д.	GTCCTATATCACTG TACCTA	92	5-10-5	15252	15271	10 75
						15377	15396	

						15515	15534	
						15645	15664	
						15847	15866	
						15977	15996	
547648	н.д.	н.д.	CCTATAACAGTATCACTGTA	83	5-10-5	15361	15380	1076
547649	н.д.	н.д.	ACCTATAACAGTATCACTGT	73	5-10-5	15362	15381	1077
547650	н.д.	н.д.	GTACCTATAACAGTATCACT	32	5-10-5	15364	15383	1078
547651	н.д.	н.д.	TGTACCTATAACAGTATCAC	48	5-10-5	15365	15384	1079
547652	н.д.	н.д.	TCACTGTACCTATAACAGTA	59	5-10-5	15369	15388	1080
547653	н.д.	н.д.	ATCACTGTACCTATAACAGT	57	5-10-5	15370	15389	1081
547654	н.д.	н.д.	TATCACTGTACCTATAACAG	53	5-10-5	15371	15390	1082
547655	н.д.	н.д.	AATATCACTGTCCTATAACT	37	5-10-5	15582	15601	1083
						16011	16030	
						16082	16101	
						16179	16198	
						16230	16249	
547656	н.д.	н.д.	CAATATCACTGTCCTATAAC	42	5-10-5	15583	15602	1084
						16083	16102	
						16180	16199	
						16231	16250	
547657	н.д.	н.д.	ACAATATCACTGTCCTATAA	43	5-10-5	15584	15603	1085
						16084	16103	
						16181	16200	
						16232	16251	
547658	н.д.	н.д.	CGTACTAGTTTCCTATAACT	68	5-10-5	15750	15769	1086
547659	н.д.	н.д.	ACTATAACAGTATCACCGTA	80	5-10-5	15766	15785	1087
547660	н.д.	н.д.	AACTATAACAGTATCACCGT	68	5-10-5	15767	15786	1088
547661	н.д.	н.д.	TAACTATAACAGTATCACCG	80	5-10-5	15768	15787	1089
547662	н.д.	н.д.	ACCTATAACTATAACAGTAT	0	5-10-5	15773	15792	1090
547663	н.д.	н.д.	TACCTATAACTATAACAGTA	10	5-10-5	15774	15793	1091
5476	н.д.	н.д.	GTACCTATAACTA	2	5-	15775	15794	10

64			TAACAGT		10-5			92
547665	н.д.	н.д.	TGTACCTATAACTATAACAG	10	5-10-5	15776	15795	1093
547666	н.д.	н.д.	ATCACTGTACCTATAACTAT	71	5-10-5	15781	15800	1094
						16253	16272	
547667	н.д.	н.д.	TATCACTGTACCTATAACTA	55	5-10-5	15782	15801	1095
547668	н.д.	н.д.	CAACTATAACAGTATCACTG	44	5-10-5	15899	15918	1096
547669	н.д.	н.д.	ACAACTATAACAGTATCACT	0	5-10-5	15900	15919	1097
547670	н.д.	н.д.	TACAACTATAACAGTATCAC	0	5-10-5	15901	15920	1098
547671	н.д.	н.д.	CTACAACTATAACAGTATCA	0	5-10-5	15902	15921	1099
547672	н.д.	н.д.	CAATATCACTGTCCTACAAC	36	5-10-5	15915	15934	1100
547673	н.д.	н.д.	GAATATCACTGTCCTATAAC	21	5-10-5	16012	16031	1101
547674	н.д.	н.д.	ACAATATCACTGTACCTTTA	53	5-10-5	16059	16078	1102
547675	н.д.	н.д.	TGTCCTATAACTATAACAAT	10	5-10-5	16074	16093	1103
						16099	16118	
						16152	16171	
547676	н.д.	н.д.	CTGTCCTATAACTATAACAA	41	5-10-5	16075	16094	1104
						16100	16119	
						16153	16172	

Таблица 137

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт инициации	SEQ ID NO: 1 сайт терминации	Последовательность	Мотив	% ингибирования	SEQ ID NO: 10 сайт инициации	SEQ ID NO: 10 сайт терминации	SEQ ID NO
531231	н.д.	н.д.	TATCACTGTACTAGTTTCCT	5-10-5	93	14744	14763	334
						14815	14834	
						14886	14905	
						14945	14964	
						15005	15024	
						15077	15096	
						15220	15239	
						15292	15311	
						15351	15370	
						15411	15430	

						15483	15502	
						15555	15574	
						15613	15632	
						15685	15704	
						15815	15834	
						15887	15906	
						15945	15964	
546529	н.д.	н.д.	GCACCTGGCAGAACAGTACC	5-10-5	65	26419	26438	1105
546578	н.д.	н.д.	GACAGTGGGCCAGAGCCTTG	5-10-5	73	26686	26705	1106
546912	н.д.	н.д.	ACATCACTGTCCTATAACTA	5-10-5	26	16106	16125	1107
546913	н.д.	н.д.	GTACCTATATCACTGTAACT	5-10-5	38	16126	16145	1108
546914	н.д.	н.д.	ATATCACTGTACCTATATCA	5-10-5	52	16134	16153	1109
546915	н.д.	н.д.	TCACTGTCCTATAACTATAT	5-10-5	39	16175	16194	1110
546916	н.д.	н.д.	CGTCACTGTACCTATAACTG	5-10-5	92	16203	16222	1111
546917	н.д.	н.д.	ATCACTGTCCTATAACTATT	5-10-5	63	16227	16246	1112
546918	н.д.	н.д.	AACATCACTGTACCTATAAC	5-10-5	14	16256	16275	1113
546926	н.д.	н.д.	GCCATCCAGGGTGCTCTCCC	5-10-5	81	16839	16858	1114
546931	н.д.	н.д.	GCCCCCGGAGCACCTTCACT	5-10-5	58	17205	17224	1115
546935	н.д.	н.д.	CGTGGTTAGCCTGACATCTC	5-10-5	86	17412	17431	1116
546939	н.д.	н.д.	GCCATCTGGTTAGCCTCCGA	5-10-5	89	17664	17683	1117
546942	н.д.	н.д.	TACACTGAACCCCCTTAGGC	5-10-5	56	18570	18589	1118
546943	н.д.	н.д.	CAGTTTGGCCTTTCCATCTC	5-10-5	54	18819	18838	1119
546944	н.д.	н.д.	GCCACTAACCCACCTCTTAA	5-10-5	42	19140	19159	1120
546946	н.д.	н.д.	ACTCCCATCTACTCCCCCAT	5-10-5	41	19291	19310	1121
546954	н.д.	н.д.	CTGCTGATTGTGTCTGGCTC	5-10-5	71	20235	20254	1122
546955	н.д.	н.д.	ACAAGGCTTCGAGGACAGCC	5-10-5	49	20339	20358	1123
5469	н.д.	н.д.	GCGATTCCTTGCCT	5-	53	21550	21569	11

64			CTGCTG	10-5				24
546967	н.д.	н.д.	CACCGCGCGAATGCCTGCCT	5-10-5	93	22657	22676	11 25
546969	н.д.	н.д.	ATCCAACCTCTCTCCCTATC	5-10-5	53	22901	22920	11 26
546970	н.д.	н.д.	GCCCAAGCCTACATGCATAC	5-10-5	61	23426	23445	11 27
546975	н.д.	н.д.	GGCCTGGATACAGCCTTTCT	5-10-5	70	23825	23844	11 28
546977	н.д.	н.д.	GTCCCGAAGAGTCAAGTCCA	5-10-5	76	24253	24272	11 29
546979	н.д.	н.д.	ACTGTTGTCCATAGCAGCAT	5-10-5	71	24504	24523	11 30
546980	н.д.	н.д.	AGCCCTCAATTGTTGCTGGT	5-10-5	79	24664	24683	11 31
546983	н.д.	н.д.	GATGACCTGCAGATGCACAG	5-10-5	74	24978	24997	11 32
546986	н.д.	н.д.	CAGGATAGAACTGATGGTCC	5-10-5	91	25318	25337	11 33
546990	н.д.	н.д.	AGAACAGGAGACAATCCACT	5-10-5	49	25680	25699	11 34
546994	н.д.	н.д.	GTTCATGTGGCAACCTGTGA	5-10-5	58	26112	26131	11 35
547677	н.д.	н.д.	CATCACTGTCCTATAACTAT	5-10-5	62	16105	16124	11 36
547678	н.д.	н.д.	TACCTATATCACTGTAACTA	5-10-5	21	16125	16144	11 37
547679	н.д.	н.д.	TGTACCTATATCACTGTAAC	5-10-5	28	16127	16146	11 38
547680	н.д.	н.д.	TATCACTGTACCTATATCAC	5-10-5	41	16133	16152	11 39
547681	н.д.	н.д.	AATATCACTGTACCTATATC	5-10-5	6	16135	16154	11 40
547682	н.д.	н.д.	CAATATCACTGTACCTATAT	5-10-5	20	16136	16155	11 41
547683	н.д.	н.д.	ACTATATCACTGTCCTATAA	5-10-5	33	16162	16181	11 42
547684	н.д.	н.д.	TAACTATATCACTGTCCTAT	5-10-5	43	16164	16183	11 43
547685	н.д.	н.д.	ATAACTATATCACTGTCCTA	5-10-5	35	16165	16184	11 44
547686	н.д.	н.д.	CTGTCCTATAACTATATCAC	5-10-5	36	16172	16191	11 45
547687	н.д.	н.д.	ACTGTCCTATAACTATATCA	5-10-5	41	16173	16192	11 46
547688	н.д.	н.д.	CACTGTCCTATAACTATATC	5-10-5	47	16174	16193	11 47

547689	н.д.	н.д.	GTAACAATATCACTGTCCTA	5-10-5	73	16184	16203	1148
547690	н.д.	н.д.	CTGTAACAATATCACTGTCC	5-10-5	76	16186	16205	1149
547691	н.д.	н.д.	ACTGTAACAATATCACTGTC	5-10-5	36	16187	16206	1150
547692	н.д.	н.д.	CACTGTACCTATAACTGTAA	5-10-5	47	16200	16219	1151
547693	н.д.	н.д.	TCACTGTACCTATAACTGTA	5-10-5	61	16201	16220	1152
547694	н.д.	н.д.	GTCACTGTACCTATAACTGT	5-10-5	92	16202	16221	1153
547695	н.д.	н.д.	ACTGTCCTATAACTATTACA	5-10-5	31	16224	16243	1154
547696	н.д.	н.д.	CACTGTCCTATAACTATTAC	5-10-5	26	16225	16244	1155
547697	н.д.	н.д.	TCACTGTCCTATAACTATTA	5-10-5	63	16226	16245	1156
547698	н.д.	н.д.	ACCTATAACTATAACAATAT	5-10-5	0	16245	16264	1157
547699	н.д.	н.д.	TACCTATAACTATAACAATA	5-10-5	10	16246	16265	1158
547700	н.д.	н.д.	GTACCTATAACTATAACAAT	5-10-5	0	16247	16266	1159
547701	н.д.	н.д.	CATCACTGTACCTATAACTA	5-10-5	49	16254	16273	1160
547702	н.д.	н.д.	ACATCACTGTACCTATAACT	5-10-5	44	16255	16274	1161
547703	н.д.	н.д.	CAACATCACTGTACCTATAA	5-10-5	25	16257	16276	1162
547704	н.д.	н.д.	ACATCTTGTCATTAACATCC	5-10-5	61	16435	16454	1163
547705	н.д.	н.д.	GCACCCAATACAGGGCCAGG	5-10-5	69	16512	16531	1164
547706	н.д.	н.д.	TGCCTCCTGGCAGCCTTCAA	5-10-5	73	16694	16713	1165
547707	н.д.	н.д.	TGAAAAGCCACGCCCTTAGC	5-10-5	32	16975	16994	1166
547708	н.д.	н.д.	GCCAGGAGACAGCCCTACTC	5-10-5	67	17055	17074	1167
547709	н.д.	н.д.	AGCCCAATGTCCTAACCTGT	5-10-5	76	17791	17810	1168
547710	н.д.	н.д.	TGCGGTTATATGGGCTGAAG	5-10-5	85	19540	19559	1169
547711	н.д.	н.д.	CCTTTAGCCACTCCTCTTGC	5-10-5	45	20061	20080	1170
5477	н.д.	н.д.	CCCCATGGTACCAA	5-	79	20528	20547	11

12			AGCCAT	10-5				71
547713	н.д.	н.д.	CTCAATGCCACCCTTTCCCC	5-10-5	37	20880	20899	1172
547714	н.д.	н.д.	CTGTCTAACTGGCCTGGCTG	5-10-5	19	21326	21345	1173
547715	н.д.	н.д.	GGTCAGAAGGCCTCTTATTC	5-10-5	21	21750	21769	1174
547716	н.д.	н.д.	CCATCTGTCCCCTCAATCCC	5-10-5	9	22197	22216	1175
547717	н.д.	н.д.	ACTCTGGCACTGGTCATGGA	5-10-5	54	22761	22780	1176
547718	н.д.	н.д.	ATAAAGTGCGATTAAGCCCC	5-10-5	86	23515	23534	1177
547719	н.д.	н.д.	TACCAAGCTTGTAGAAGGGA	5-10-5	69	23633	23652	1178
547720	н.д.	н.д.	GAAAGACGGCCAATGGGAAA	5-10-5	8	24177	24196	1179
547721	н.д.	н.д.	CTCTATCAAAATCCTGCTGC	5-10-5	68	25527	25546	1180
547722	н.д.	н.д.	CTCCAGTCACCACCATTGCC	5-10-5	80	25860	25879	1181

Таблица 138

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт инициации	SEQ ID NO: 1 сайт терминации	Последовательность	Мотив	% ингибирования	SEQ ID NO: 10 сайт инициации	SEQ ID NO: 10 сайт терминации	SEQ ID NO
531231	н.д.	н.д.	TATCACTGTACTAGTTTCCT	5-10-5	91	14744	14763	334
						14815	14834	
						14886	14905	
						14945	14964	
						15005	15024	
						15077	15096	
						15220	15239	
						15292	15311	
						15351	15370	
						15411	15430	
						15483	15502	
						15555	15574	
						15613	15632	
						15685	15704	
						15815	15834	
						15887	15906	
						15945	15964	

546599	н.д.	н.д.	AAGAGTAAGCCTTCACAGGG	5-10-5	82	27583	27602	1182
546606	н.д.	н.д.	CTCACCAGAGTTGTCCCCAG	5-10-5	0	27722	27741	1183
546999	н.д.	н.д.	GCAGCTCACACCCAAAAAGC	5-10-5	29	27004	27023	1184
547000	н.д.	н.д.	TCTGTTACCTTGAGGATTGT	5-10-5	63	27276	27295	1185
547006	н.д.	н.д.	CGCCATCTGCCCTGTACAGA	5-10-5	39	28248	28267	1186
547008	н.д.	н.д.	TTGGTGGTGGGATTGGTGGT	5-10-5	81	28333	28352	1187
						28388	28407	
						28443	28462	
						28608	28627	
						28620	28639	
547009	н.д.	н.д.	AATTGGTGGTGGGATTGGTG	5-10-5	73	28335	28354	1188
547010	н.д.	н.д.	GAATTGGTGGTGGGATTGGT	5-10-5	39	28336	28355	1189
547011	н.д.	н.д.	GGCAGGATTGGTGGTGGAAT	5-10-5	22	28352	28371	1190
547013	н.д.	н.д.	TGAGATTGGTGGTGGGTGGC	5-10-5	0	28369	28388	1191
547015	н.д.	н.д.	GGTGGTGGGATTGGTGCTGA	5-10-5	55	28429	28448	1192
547016	н.д.	н.д.	GTAGGTGGTGGGATTGGTGG	5-10-5	62	28456	28475	1193
						28535	28554	
547017	н.д.	н.д.	GGTAGGTGGTGGGATTGGTG	5-10-5	61	28457	28476	1194
						28536	28555	
547018	н.д.	н.д.	GGTGGCGGGATTGGTGGTGG	5-10-5	58	28477	28496	1195
						28556	28575	
547019	н.д.	н.д.	GATCGGTGGTGGGATTGGTC	5-10-5	83	28500	28519	1196
						28579	28598	
547020	н.д.	н.д.	GGATCGGTGGTGGGATTGGT	5-10-5	47	28501	28520	1197
						28580	28599	
547021	н.д.	н.д.	TTGGTGGCGGGATCGGTGGT	5-10-5	57	28510	28529	1198
						28589	28608	
547022	н.д.	н.д.	ATTGGTGGCGGGATCGGTGG	5-10-5	69	28511	28530	1199
547023	н.д.	н.д.	GATTGGTGGCGGGATCGGTG	5-10-5	91	28512	28531	1200
547024	н.д.	н.д.	GGATTGGTGGCGGGATCGGT	5-10-5	56	28513	28532	1201
547025	н.д.	н.д.	TGGTGGTGGGATTGGTGGTT	5-10-5	72	28607	28626	1202

547029	н.д.	н.д.	TCTTCTAGGGCCACACCTCT	5-10-5	50	28891	28910	1203
547035	н.д.	н.д.	TGGTCCCAAATTGGAGTGCA	5-10-5	40	29383	29402	1204
547039	н.д.	н.д.	TCTCTATACAGCTGGGCACA	5-10-5	0	29997	30016	1205
547049	н.д.	н.д.	CACTTCCCAGCAACCCTCAC	5-10-5	20	30765	30784	1206
547055	н.д.	н.д.	GCTCCTGGCAGCAATGACCC	5-10-5	70	31104	31123	1207
547059	н.д.	н.д.	GGGTATCTTCACTGTTCCAG	5-10-5	12	31540	31559	1208
547063	н.д.	н.д.	CGTCATGCTTACCTTTCTCC	5-10-5	23	31955	31974	1209
547069	н.д.	н.д.	GCCCTCCGAGCTTTGGCAAC	5-10-5	35	32581	32600	1210
547071	н.д.	н.д.	GCAGCCCCCCAGAAATCCCA	5-10-5	27	32708	32727	1211
547076	н.д.	н.д.	TCTCAAGCAGCCTATTGTGT	5-10-5	14	33263	33282	1212
547080	н.д.	н.д.	GTGCAAGACCTTGCTTGCCA	5-10-5	54	33657	33676	1213
547081	н.д.	н.д.	CTGTAGTCCACTACACAGCA	5-10-5	83	33801	33820	1214
547082	н.д.	н.д.	TCTCCCTGAGTCACAGTGGA	5-10-5	64	33881	33900	1215
547085	н.д.	н.д.	CCAGGTGCAGCACGGAGAGG	5-10-5	44	34479	34498	1216
547723	н.д.	н.д.	TAGAATGGCAGGGTTCTGTG	5-10-5	53	27357	27376	1217
547724	н.д.	н.д.	GATGCATCCAACACTTACCC	5-10-5	16	28059	28078	1218
547725	н.д.	н.д.	ATTGGTGGTGGGATTGGTGG	5-10-5	26	28334	28353	1219
						28389	28408	
						28444	28463	
						28523	28542	
						28609	28628	
						28621	28640	
547726	н.д.	н.д.	GCAGGATTGGTGGTGGAATT	5-10-5	0	28351	28370	1220
547727	н.д.	н.д.	TGGCAGGATTGGTGGTGGAA	5-10-5	0	28353	28372	1221
547728	н.д.	н.д.	GAGATTGGTGGTGGGTGGCA	5-10-5	88	28368	28387	1222
547729	н.д.	н.д.	GTGAGATTGGTGGTGGGTGG	5-10-5	45	28370	28389	1223

54773 0	н.д.	н.д.	GATTGGTGGTGGGATTGGTG	5-10-5	60	28390	28409	1224
						28433	28452	
						28445	28464	
						28524	28543	
						28610	28629	
						28622	28641	
54773 1	н.д.	н.д.	GGATTGGTGGTGGGATTGGT	5-10-5	49	28391	28410	1225
						28434	28453	
						28446	28465	
						28525	28544	
						28611	28630	
						28623	28642	
54773 2	н.д.	н.д.	AGGATTGGTGGTGGGATTGG	5-10-5	0	28392	28411	1226
54773 3	н.д.	н.д.	TAGGATTGGTGGTGGGATTG	5-10-5	0	28393	28412	1227
54773 4	н.д.	н.д.	GTAGGATTGGTGGTGGGATT	5-10-5	14	28394	28413	1228
54773 5	н.д.	н.д.	GGTAGGATTGGTGGTGGGAT	5-10-5	39	28395	28414	1229
54773 6	н.д.	н.д.	TGGTAGGATTGGTGGTGGGA	5-10-5	54	28396	28415	1230
54773 7	н.д.	н.д.	TGGTGGTGGGATTGGTGCTG	5-10-5	59	28430	28449	1231
54773 8	н.д.	н.д.	TTGGTGGTGGGATTGGTGCT	5-10-5	41	28431	28450	1232
54773 9	н.д.	н.д.	ATTGGTGGTGGGATTGGTGC	5-10-5	12	28432	28451	1233
54774 0	н.д.	н.д.	AGGTGGTGGGATTGGTGGTG	5-10-5	30	28454	28473	1234
						28533	28552	
54774 1	н.д.	н.д.	TAGGTGGTGGGATTGGTGGT	5-10-5	47	28455	28474	1235
						28534	28553	
54774 2	н.д.	н.д.	ATCGGTGGTGGGATTGGTCG	5-10-5	57	28499	28518	1236
						28578	28597	
54774 3	н.д.	н.д.	GGTGGTGGGATTGGTGGCGG	5-10-5	61	28520	28539	1237
54774 4	н.д.	н.д.	TGGTGGTGGGATTGGTGGCG	5-10-5	65	28521	28540	1238
54774 5	н.д.	н.д.	TTGGTGGTGGGATTGGTGGC	5-10-5	55	28522	28541	1239
54774 6	н.д.	н.д.	GTTGGTGGCGGGATCGGTGG	5-10-5	0	28590	28609	1240
54774 8	н.д.	н.д.	GGTTGGTGGCGGGATCGGTG	5-10-5	78	28591	28610	1241
5477	н.д.	н.д.	TGGTTGGTGGCGGG	5-	41	28592	28611	12

50			ATCGGT	10-5				42
547752	н.д.	н.д.	GTGGTTGGTGGCGGGATCGG	5-10-5	41	28593	28612	1243
547754	н.д.	н.д.	GGGATTGGTGGTTGGTGGCG	5-10-5	47	28600	28619	1244
547756	н.д.	н.д.	GGGTCTTGCTCCACCCACAT	5-10-5	49	29244	29263	1245
547758	н.д.	н.д.	CCAAGTAGTGCAAGGCATGT	5-10-5	24	29540	29559	1246
547760	н.д.	н.д.	ATCATGCTTACTGCAAGTGA	5-10-5	19	30219	30238	1247
547762	н.д.	н.д.	TGAAACTGGGCAGTCCTTCC	5-10-5	0	30417	30436	1248
547764	н.д.	н.д.	CCACCTTCTTACATATGCTA	5-10-5	24	30644	30663	1249
547766	н.д.	н.д.	GCCTCTCAGACGGCACAGAC	5-10-5	0	30902	30921	1250
547768	н.д.	н.д.	TTGCCCTCACACATTCGAAT	5-10-5	0	30977	30996	1251
547770	н.д.	н.д.	TGCTTTCTGCCCAACCTCTA	5-10-5	48	31727	31746	1252
547772	н.д.	н.д.	CTGTGCTCCCGGCCATTAGC	5-10-5	0	32312	32331	1253
547774	н.д.	н.д.	GAGACAGTTTGGCAAGCTAC	5-10-5	46	32389	32408	1254
547776	н.д.	н.д.	GGAGAGAGACGGCACCCTGT	5-10-5	48	32828	32847	1255
547778	н.д.	н.д.	TCACCTGTGAGTAACCAATA	5-10-5	53	33085	33104	1256
547780	н.д.	н.д.	CCCCTCTTAAATAGCACATG	5-10-5	67	33441	33460	1257
547782	н.д.	н.д.	CCAAGTATCTCATGTGCCTG	5-10-5	67	33580	33599	1258

Таблица 139

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт инициации	SEQ ID NO: 1 сайт терминации	Последовательность	Мотив	% ингибирования	SEQ ID NO: 10 сайт инициации	SEQ ID NO: 10 сайт терминации	SEQ ID NO
531231	н.д.	н.д.	TATCACTGTACTAGTTTCCT	5-10-5	90	14744	14763	334
						14815	14834	
						14886	14905	
						14945	14964	
						15005	15024	
						15077	15096	

						15220	15239	
						15292	15311	
						15351	15370	
						15411	15430	
						15483	15502	
						15555	15574	
						15613	15632	
						15685	15704	
						15815	15834	
						15887	15906	
						15945	15964	
548706	н.д.	н.д.	CTAGTTTCCTATAACT	3-10-3	0	14738	14753	1259
						14809	14824	
						14880	14895	
						14939	14954	
						15071	15086	
						15214	15229	
						15286	15301	
						15345	15360	
						15477	15492	
						15549	15564	
						15607	15622	
						15679	15694	
						15750	15765	
						15809	15824	
						15881	15896	
						15939	15954	
548707	н.д.	н.д.	ACTAGTTTCCTATAAC	3-10-3	10	14739	14754	1260
						14810	14825	
						14881	14896	
						14940	14955	
						15000	15015	
						15072	15087	
						15215	15230	
						15287	15302	
						15346	15361	
						15406	15421	
						15478	15493	
						15550	15565	
						15608	15623	
						15680	15695	

						15751	15766	
						15810	15825	
						15882	15897	
						15940	15955	
548708	н.д.	н.д.	TACTAGTTTCCTATAA	3-10-3	0	14740	14755	1261
						14811	14826	
						14882	14897	
						14941	14956	
						15001	15016	
						15073	15088	
						15216	15231	
						15288	15303	
						15347	15362	
						15407	15422	
						15479	15494	
						15551	15566	
						15609	15624	
						15681	15696	
						15752	15767	
						15811	15826	
						15883	15898	
						15941	15956	
548709	н.д.	н.д.	GTACTAGTTTCCTATA	3-10-3	0	14741	14756	1262
						14812	14827	
						14883	14898	
						14942	14957	
						15002	15017	
						15074	15089	
						15217	15232	
						15289	15304	
						15348	15363	
						15408	15423	
						15480	15495	
						15552	15567	
						15610	15625	
						15682	15697	
						15753	15768	
						15812	15827	
						15884	15899	
						15942	15957	

5487 10	н.д.	н.д.	TGTACTAGTTTCC TAT	3-10-3	0	14742	14757	1263
						14813	14828	
						14884	14899	
						14943	14958	
						15003	15018	
						15075	15090	
						15218	15233	
						15290	15305	
						15349	15364	
						15409	15424	
						15481	15496	
						15553	15568	
						15611	15626	
						15683	15698	
						15813	15828	
						15885	15900	
						15943	15958	
5487 11	н.д.	н.д.	CTGTACTAGTTTC CTA	3-10-3	21	14743	14758	1264
						14814	14829	
						14885	14900	
						14944	14959	
						15004	15019	
						15076	15091	
						15219	15234	
						15291	15306	
						15350	15365	
						15410	15425	
						15482	15497	
						15554	15569	
						15612	15627	
						15684	15699	
						15814	15829	
						15886	15901	
						15944	15959	
5487 12	н.д.	н.д.	ACTGTACTAGTTT CCT	3-10-3	9	14744	14759	1265
						14815	14830	
						14886	14901	
						14945	14960	
						15005	15020	
						15077	15092	

						15220	15235	
						15292	15307	
						15351	15366	
						15411	15426	
						15483	15498	
						15555	15570	
						15613	15628	
						15685	15700	
						15815	15830	
						15887	15902	
						15945	15960	
	548713	н.д.	н.д.	CACTGTACTAGTTTCC	3-10-3	33	14745	14760	1266
							14816	14831	
							14887	14902	
							14946	14961	
							15006	15021	
							15078	15093	
							15221	15236	
							15293	15308	
							15352	15367	
							15412	15427	
							15484	15499	
							15556	15571	
							15614	15629	
							15686	15701	
							15816	15831	
							15888	15903	
							15946	15961	
	548714	н.д.	н.д.	TCACTGTACTAGTTTC	3-10-3	15	14746	14761	1267
							14817	14832	
							14888	14903	
							14947	14962	
							15007	15022	
							15079	15094	
							15222	15237	
							15294	15309	
							15353	15368	
							15413	15428	
							15485	15500	
							15557	15572	

						15615	15630	
						15687	15702	
						15817	15832	
						15889	15904	
						15947	15962	
54871 5	н.д.	н.д.	ATCACTGTACTAGTTT	3-10-3	0	14747	14762	1268
						14818	14833	
						14889	14904	
						14948	14963	
						15008	15023	
						15080	15095	
						15152	15167	
						15223	15238	
						15295	15310	
						15354	15369	
						15414	15429	
						15486	15501	
						15558	15573	
						15616	15631	
						15688	15703	
						15818	15833	
						15890	15905	
						15948	15963	
54871 6	н.д.	н.д.	TATCACTGTACTAGTT	3-10-3	10	14748	14763	1269
						14819	14834	
						14890	14905	
						14949	14964	
						15009	15024	
						15081	15096	
						15153	15168	
						15224	15239	
						15296	15311	
						15355	15370	
						15415	15430	
						15487	15502	
						15559	15574	
						15617	15632	
						15689	15704	
						15819	15834	
						15891	15906	

						15949	15964	
5487 17	н.д.	н.д.	ACTAGTTTCCTAT AACT	3-10-4	0	14738	14754	1270
						14809	14825	
						14880	14896	
						14939	14955	
						15071	15087	
						15214	15230	
						15286	15302	
						15345	15361	
						15477	15493	
						15549	15565	
						15607	15623	
						15679	15695	
						15750	15766	
						15809	15825	
						15881	15897	
						15939	15955	
5487 18	н.д.	н.д.	TACTAGTTTCCTA TAAC	3-10-4	0	14739	14755	1271
						14810	14826	
						14881	14897	
						14940	14956	
						15000	15016	
						15072	15088	
						15215	15231	
						15287	15303	
						15346	15362	
						15406	15422	
						15478	15494	
						15550	15566	
						15608	15624	
						15680	15696	
						15751	15767	
						15810	15826	
						15882	15898	
						15940	15956	
5487 19	н.д.	н.д.	GTACTAGTTTCCT ATAA	3-10-4	0	14740	14756	1272
						14811	14827	
						14882	14898	
						14941	14957	
						15001	15017	

						15073	15089	
						15216	15232	
						15288	15304	
						15347	15363	
						15407	15423	
						15479	15495	
						15551	15567	
						15609	15625	
						15681	15697	
						15752	15768	
						15811	15827	
						15883	15899	
						15941	15957	
5487 20	н.д.	н.д.	TGTACTAGTTTCC TATA	3-10-4	0	14741	14757	1273
						14812	14828	
						14883	14899	
						14942	14958	
						15002	15018	
						15074	15090	
						15217	15233	
						15289	15305	
						15348	15364	
						15408	15424	
						15480	15496	
						15552	15568	
						15610	15626	
						15682	15698	
						15812	15828	
						15884	15900	
						15942	15958	
5487 21	н.д.	н.д.	CTGTACTAGTTTC CTAT	3-10-4	27	14742	14758	1274
						14813	14829	
						14884	14900	
						14943	14959	
						15003	15019	
						15075	15091	
						15218	15234	
						15290	15306	
						15349	15365	
						15409	15425	

						15481	15497	
						15553	15569	
						15611	15627	
						15683	15699	
						15813	15829	
						15885	15901	
						15943	15959	
5487 22	н.д.	н.д.	ACTGTACTAGTTT CCTA	3-10-4	26	14743	14759	1275
						14814	14830	
						14885	14901	
						14944	14960	
						15004	15020	
						15076	15092	
						15219	15235	
						15291	15307	
						15350	15366	
						15410	15426	
						15482	15498	
						15554	15570	
						15612	15628	
						15684	15700	
						15814	15830	
						15886	15902	
						15944	15960	
5487 23	н.д.	н.д.	CACTGTACTAGTT TCCT	3-10-4	62	14744	14760	1276
						14815	14831	
						14886	14902	
						14945	14961	
						15005	15021	
						15077	15093	
						15220	15236	
						15292	15308	
						15351	15367	
						15411	15427	
						15483	15499	
						15555	15571	
						15613	15629	
						15685	15701	
						15815	15831	
						15887	15903	

						15945	15961	
54872 4	н.д.	н.д.	TCACTGTACTAGTTTCC	3-10-4	61	14745	14761	1277
						14816	14832	
						14887	14903	
						14946	14962	
						15006	15022	
						15078	15094	
						15221	15237	
						15293	15309	
						15352	15368	
						15412	15428	
						15484	15500	
						15556	15572	
						15614	15630	
						15686	15702	
						15816	15832	
						15888	15904	
						15946	15962	
54872 5	н.д.	н.д.	ATCACTGTACTAGTTTC	3-10-4	32	14746	14762	1278
						14817	14833	
						14888	14904	
						14947	14963	
						15007	15023	
						15079	15095	
						15222	15238	
						15294	15310	
						15353	15369	
						15413	15429	
						15485	15501	
						15557	15573	
						15615	15631	
						15687	15703	
						15817	15833	
						15889	15905	
						15947	15963	
54872 6	н.д.	н.д.	TATCACTGTACTAGTTT	3-10-4	21	14747	14763	1279
						14818	14834	
						14889	14905	
						14948	14964	
						15008	15024	

						15080	15096	
						15152	15168	
						15223	15239	
						15295	15311	
						15354	15370	
						15414	15430	
						15486	15502	
						15558	15574	
						15616	15632	
						15688	15704	
						15818	15834	
						15890	15906	
						15948	15964	
	548727	н.д.	н.д.	ACTAGTTTCCTATAACT	4-10-3	0	14738	14754	1270
							14809	14825	
							14880	14896	
							14939	14955	
							15071	15087	
							15214	15230	
							15286	15302	
							15345	15361	
							15477	15493	
							15549	15565	
							15607	15623	
							15679	15695	
							15750	15766	
							15809	15825	
							15881	15897	
							15939	15955	
	548728	н.д.	н.д.	TACTAGTTTCCTATAAC	4-10-3	0	14739	14755	1271
							14810	14826	
							14881	14897	
							14940	14956	
							15000	15016	
							15072	15088	
							15215	15231	
							15287	15303	
							15346	15362	
							15406	15422	
							15478	15494	

						15550	15566	
						15608	15624	
						15680	15696	
						15751	15767	
						15810	15826	
						15882	15898	
						15940	15956	
5487 29	н.д.	н.д.	GTACTAGTTTCCT ATAA	4-10-3	13	14740	14756	1272
						14811	14827	
						14882	14898	
						14941	14957	
						15001	15017	
						15073	15089	
						15216	15232	
						15288	15304	
						15347	15363	
						15407	15423	
						15479	15495	
						15551	15567	
						15609	15625	
						15681	15697	
						15752	15768	
						15811	15827	
						15883	15899	
						15941	15957	
5487 30	н.д.	н.д.	TGTACTAGTTTCC TATA	4-10-3	0	14741	14757	1273
						14812	14828	
						14883	14899	
						14942	14958	
						15002	15018	
						15074	15090	
						15217	15233	
						15289	15305	
						15348	15364	
						15408	15424	
						15480	15496	
						15552	15568	
						15610	15626	
						15682	15698	
						15812	15828	

						15884	15900	
						15942	15958	
548731	н.д.	н.д.	CTGTACTAGTTTCCTAT	4-10-3	49	14742	14758	1274
						14813	14829	
						14884	14900	
						14943	14959	
						15003	15019	
						15075	15091	
						15218	15234	
						15290	15306	
						15349	15365	
						15409	15425	
						15481	15497	
						15553	15569	
						15611	15627	
						15683	15699	
						15813	15829	
						15885	15901	
						15943	15959	
548732	н.д.	н.д.	ACTGTACTAGTTTCCTA	4-10-3	36	14743	14759	1275
						14814	14830	
						14885	14901	
						14944	14960	
						15004	15020	
						15076	15092	
						15219	15235	
						15291	15307	
						15350	15366	
						15410	15426	
						15482	15498	
						15554	15570	
						15612	15628	
						15684	15700	
						15814	15830	
						15886	15902	
						15944	15960	
548733	н.д.	н.д.	CACTGTACTAGTTTCCT	4-10-3	84	14744	14760	1276
						14815	14831	
						14886	14902	
						14945	14961	

						15005	15021	
						15077	15093	
						15220	15236	
						15292	15308	
						15351	15367	
						15411	15427	
						15483	15499	
						15555	15571	
						15613	15629	
						15685	15701	
						15815	15831	
						15887	15903	
						15945	15961	
	548734	н.д.	н.д.	TCACTGTACTAGTTTCC	4-10-3	51	14745	14761	1277
							14816	14832	
							14887	14903	
							14946	14962	
							15006	15022	
							15078	15094	
							15221	15237	
							15293	15309	
							15352	15368	
							15412	15428	
							15484	15500	
							15556	15572	
							15614	15630	
							15686	15702	
							15816	15832	
							15888	15904	
							15946	15962	
	548735	н.д.	н.д.	ATCACTGTACTAGTTTC	4-10-3	48	14746	14762	1278
							14817	14833	
							14888	14904	
							14947	14963	
							15007	15023	
							15079	15095	
							15222	15238	
							15294	15310	
							15353	15369	
							15413	15429	

						15485	15501	
						15557	15573	
						15615	15631	
						15687	15703	
						15817	15833	
						15889	15905	
						15947	15963	
54873 6	н.д.	н.д.	TATCACTGTACTAGTTT	4-10-3	21	14747	14763	1279
						14818	14834	
						14889	14905	
						14948	14964	
						15008	15024	
						15080	15096	
						15152	15168	
						15223	15239	
						15295	15311	
						15354	15370	
						15414	15430	
						15486	15502	
						15558	15574	
						15616	15632	
						15688	15704	
						15818	15834	
						15890	15906	
						15948	15964	
54873 7	н.д.	н.д.	ACTAGTTTCCTATAACT	4-9-4	11	14738	14754	1270
						14809	14825	
						14880	14896	
						14939	14955	
						15071	15087	
						15214	15230	
						15286	15302	
						15345	15361	
						15477	15493	
						15549	15565	
						15607	15623	
						15679	15695	
						15750	15766	
						15809	15825	
						15881	15897	

						15939	15955	
548738	н.д.	н.д.	TACTAGTTTCCTATAAC	4-9-4	0	14739	14755	1271
						14810	14826	
						14881	14897	
						14940	14956	
						15000	15016	
						15072	15088	
						15215	15231	
						15287	15303	
						15346	15362	
						15406	15422	
						15478	15494	
						15550	15566	
						15608	15624	
						15680	15696	
						15751	15767	
						15810	15826	
						15882	15898	
						15940	15956	
548739	н.д.	н.д.	GTACTAGTTTCCTATAA	4-9-4	0	14740	14756	1272
						14811	14827	
						14882	14898	
						14941	14957	
						15001	15017	
						15073	15089	
						15216	15232	
						15288	15304	
						15347	15363	
						15407	15423	
						15479	15495	
						15551	15567	
						15609	15625	
						15681	15697	
						15752	15768	
						15811	15827	
						15883	15899	
						15941	15957	
548740	н.д.	н.д.	TGTACTAGTTTCCTATA	4-9-4	0	14741	14757	1273
						14812	14828	
						14883	14899	

						14942	14958	
						15002	15018	
						15074	15090	
						15217	15233	
						15289	15305	
						15348	15364	
						15408	15424	
						15480	15496	
						15552	15568	
						15610	15626	
						15682	15698	
						15812	15828	
						15884	15900	
						15942	15958	
5487 41	н.д.	н.д.	CTGTACTAGTTTC CTAT	4-9-4	69	14742	14758	1274
						14813	14829	
						14884	14900	
						14943	14959	
						15003	15019	
						15075	15091	
						15218	15234	
						15290	15306	
						15349	15365	
						15409	15425	
						15481	15497	
						15553	15569	
						15611	15627	
						15683	15699	
						15813	15829	
						15885	15901	
						15943	15959	
5487 42	н.д.	н.д.	ACTGTACTAGTTT CCTA	4-9-4	50	14743	14759	1275
						14814	14830	
						14885	14901	
						14944	14960	
						15004	15020	
						15076	15092	
						15219	15235	
						15291	15307	
						15350	15366	

						15410	15426	
						15482	15498	
						15554	15570	
						15612	15628	
						15684	15700	
						15814	15830	
						15886	15902	
						15944	15960	
548743	н.д.	н.д.	CACTGTACTAGTTTCCT	4-9-4	80	14744	14760	1276
						14815	14831	
						14886	14902	
						14945	14961	
						15005	15021	
						15077	15093	
						15220	15236	
						15292	15308	
						15351	15367	
						15411	15427	
						15483	15499	
						15555	15571	
						15613	15629	
						15685	15701	
						15815	15831	
						15887	15903	
						15945	15961	
548744	н.д.	н.д.	TCACTGTACTAGTTTCC	4-9-4	83	14745	14761	1277
						14816	14832	
						14887	14903	
						14946	14962	
						15006	15022	
						15078	15094	
						15221	15237	
						15293	15309	
						15352	15368	
						15412	15428	
						15484	15500	
						15556	15572	
						15614	15630	
						15686	15702	
						15816	15832	

						15888	15904	
						15946	15962	
548745	н.д.	н.д.	ATCACTGTACTAGTTTC	4-9-4	71	14746	14762	1278
						14817	14833	
						14888	14904	
						14947	14963	
						15007	15023	
						15079	15095	
						15222	15238	
						15294	15310	
						15353	15369	
						15413	15429	
						15485	15501	
						15557	15573	
						15615	15631	
						15687	15703	
						15817	15833	
						15889	15905	
						15947	15963	
548746	н.д.	н.д.	TATCACTGTACTAGTTT	4-9-4	40	14747	14763	1279
						14818	14834	
						14889	14905	
						14948	14964	
						15008	15024	
						15080	15096	
						15152	15168	
						15223	15239	
						15295	15311	
						15354	15370	
						15414	15430	
						15486	15502	
						15558	15574	
						15616	15632	
						15688	15704	
						15818	15834	
						15890	15906	
						15948	15964	
548747	н.д.	н.д.	TACTAGTTTCCTATAACT	4-10-4	2	14738	14755	1280
						14809	14826	
						14880	14897	

						14939	14956	
						15071	15088	
						15214	15231	
						15286	15303	
						15345	15362	
						15477	15494	
						15549	15566	
						15607	15624	
						15679	15696	
						15750	15767	
						15809	15826	
						15881	15898	
						15939	15956	
548748	н.д.	н.д.	GTACTAGTTTCCTATAAC	4-10-4	0	14739	14756	1281
						14810	14827	
						14881	14898	
						14940	14957	
						15000	15017	
						15072	15089	
						15215	15232	
						15287	15304	
						15346	15363	
						15406	15423	
						15478	15495	
						15550	15567	
						15608	15625	
						15680	15697	
						15751	15768	
						15810	15827	
						15882	15899	
						15940	15957	
548749	н.д.	н.д.	TGTACTAGTTTCCTATAA	4-10-4	0	14740	14757	1282
						14811	14828	
						14882	14899	
						14941	14958	
						15001	15018	
						15073	15090	
						15216	15233	
						15288	15305	
						15347	15364	

						15407	15424	
						15479	15496	
						15551	15568	
						15609	15626	
						15681	15698	
						15811	15828	
						15883	15900	
						15941	15958	
5487 50	н.д.	н.д.	CTGTACTAGTTTC CTATA	4-10-4	62	14741	14758	1283
						14812	14829	
						14883	14900	
						14942	14959	
						15002	15019	
						15074	15091	
						15217	15234	
						15289	15306	
						15348	15365	
						15408	15425	
						15480	15497	
						15552	15569	
						15610	15627	
						15682	15699	
						15812	15829	
						15884	15901	
						15942	15959	
5487 51	н.д.	н.д.	ACTGTACTAGTTT CCTAT	4-10-4	53	14742	14759	1284
						14813	14830	
						14884	14901	
						14943	14960	
						15003	15020	
						15075	15092	
						15218	15235	
						15290	15307	
						15349	15366	
						15409	15426	
						15481	15498	
						15553	15570	
						15611	15628	
						15683	15700	
						15813	15830	

						15885	15902	
						15943	15960	
548752	н.д.	н.д.	CACTGTACTAGTTTCCTA	4-10-4	89	14743	14760	1285
						14814	14831	
						14885	14902	
						14944	14961	
						15004	15021	
						15076	15093	
						15219	15236	
						15291	15308	
						15350	15367	
						15410	15427	
						15482	15499	
						15554	15571	
						15612	15629	
						15684	15701	
						15814	15831	
						15886	15903	
						15944	15961	
548753	н.д.	н.д.	TCACTGTACTAGTTTCCT	4-10-4	82	14744	14761	1286
						14815	14832	
						14886	14903	
						14945	14962	
						15005	15022	
						15077	15094	
						15220	15237	
						15292	15309	
						15351	15368	
						15411	15428	
						15483	15500	
						15555	15572	
						15613	15630	
						15685	15702	
						15815	15832	
						15887	15904	
						15945	15962	
548754	н.д.	н.д.	ATCACTGTACTAGTTTCC	4-10-4	77	14745	14762	1287
						14816	14833	
						14887	14904	
						14946	14963	

						15006	15023	
						15078	15095	
						15221	15238	
						15293	15310	
						15352	15369	
						15412	15429	
						15484	15501	
						15556	15573	
						15614	15631	
						15686	15703	
						15816	15833	
						15888	15905	
						15946	15963	
	548755	н.д.	н.д.	TATCACTGTACTAGTTTC	4-10-4	20	14746	14763	1288
							14817	14834	
							14888	14905	
							14947	14964	
							15007	15024	
							15079	15096	
							15222	15239	
							15294	15311	
							15353	15370	
							15413	15430	
							15485	15502	
							15557	15574	
							15615	15632	
							15687	15704	
							15817	15834	
							15889	15906	
							15947	15964	
	548756	н.д.	н.д.	GTATCACTGTACTAGTT	4-9-4	81	14748	14764	1289
							14819	14835	
							14890	14906	
							14949	14965	
							15009	15025	
							15081	15097	
							15153	15169	
							15224	15240	
							15296	15312	
							15355	15371	

						15415	15431	
						15487	15503	
						15559	15575	
						15617	15633	
						15689	15705	
						15819	15835	
						15891	15907	
						15949	15965	
548757	н.д.	н.д.	AGTATCACTGTACTAGT	4-9-4	87	14749	14765	1290
						14820	14836	
						14891	14907	
						14950	14966	
						15010	15026	
						15082	15098	
						15154	15170	
						15225	15241	
						15297	15313	
						15356	15372	
						15416	15432	
						15488	15504	
						15560	15576	
						15618	15634	
						15690	15706	
						15820	15836	
						15892	15908	
						15950	15966	
548758	н.д.	н.д.	CAGTATCACTGTACTAG	4-9-4	97	14750	14766	1291
						14821	14837	
						14892	14908	
						14951	14967	
						15011	15027	
						15083	15099	
						15155	15171	
						15226	15242	
						15298	15314	
						15357	15373	
						15417	15433	
						15489	15505	
						15561	15577	
						15619	15635	

						15691	15707	
						15821	15837	
						15893	15909	
						15951	15967	
548759	н.д.	н.д.	AACAGTATCACTGTACT	4-9-4	68	14752	14768	1292
						14823	14839	
						14894	14910	
						14953	14969	
						15013	15029	
						15085	15101	
						15157	15173	
						15228	15244	
						15300	15316	
						15359	15375	
						15419	15435	
						15491	15507	
						15563	15579	
						15621	15637	
						15693	15709	
						15823	15839	
						15895	15911	
						15953	15969	
548760	н.д.	н.д.	TAACAGTATCACTGTAC	4-9-4	53	14753	14769	1293
						14824	14840	
						14895	14911	
						14954	14970	
						15014	15030	
						15086	15102	
						15158	15174	
						15229	15245	
						15301	15317	
						15360	15376	
						15420	15436	
						15492	15508	
						15564	15580	
						15622	15638	
						15694	15710	
						15824	15840	
						15896	15912	
						15954	15970	

548761	н.д.	н.д.	CTAACAGTATCACTGTA	4-9-4	49	14754	14770	1294
						14825	14841	
						14896	14912	
						15015	15031	
						15087	15103	
						15230	15246	
						15302	15318	
						15421	15437	
						15493	15509	
						15623	15639	
						15825	15841	
						15955	15971	
548762	н.д.	н.д.	TCTAACAGTATCACTGT	4-9-4	16	14755	14771	1295
						14826	14842	
						14897	14913	
						15016	15032	
						15088	15104	
						15231	15247	
						15303	15319	
						15422	15438	
						15494	15510	
						15624	15640	
						15826	15842	
						15956	15972	
548763	н.д.	н.д.	CTCTAACAGTATCACTG	4-9-4	44	14756	14772	1296
						14827	14843	
						14898	14914	
						15017	15033	
						15089	15105	
						15232	15248	
						15304	15320	
						15423	15439	
						15495	15511	
						15625	15641	
						15827	15843	
						15957	15973	
548764	н.д.	н.д.	TATCACTGTCCTATAAC	4-9-4	31	14772	14788	1297
						14843	14859	
						15177	15193	
						15583	15599	

						15713	15729	
						16012	16028	
						16083	16099	
						16161	16177	
						16180	16196	
						16231	16247	
548765	н.д.	н.д.	ATATCACTGTCCTATAA	4-9-4	0	14773	14789	1298
						14844	14860	
						15178	15194	
						15584	15600	
						15714	15730	
						16013	16029	
						16084	16100	
						16162	16178	
						16181	16197	
						16232	16248	
548766	н.д.	н.д.	TATATCACTGTCCTATA	4-9-4	36	14774	14790	1299
						14845	14861	
						15179	15195	
						15715	15731	
						16163	16179	
548767	н.д.	н.д.	TATCACTGTCCTATATC	4-9-4	59	14785	14801	1300
						14856	14872	
						14981	14997	
						15119	15135	
						15190	15206	
						15262	15278	
						15387	15403	
						15525	15541	
						15655	15671	
						15726	15742	
						15857	15873	
						15987	16003	
548768	н.д.	н.д.	GTATCACTGTCCTATAT	4-9-4	56	14786	14802	1301
						14982	14998	
						15120	15136	
						15388	15404	
						15526	15542	
						15988	16004	
5487	н.д.	н.д.	AGTATCACTGTCC	4-9-4	64	14787	14803	130

69			TATA			14983	14999	2
						15121	15137	
						15389	15405	
						15527	15543	
						15989	16005	
548770	н.д.	н.д.	TAACAGTATCACTGTCC	4-9-4	92	14791	14807	1303
						14987	15003	
						15053	15069	
						15125	15141	
						15393	15409	
						15459	15475	
						15531	15547	
						15993	16009	
548771	н.д.	н.д.	ATAACAGTATCACTGTC	4-9-4	62	14792	14808	1304
						14988	15004	
						15054	15070	
						15126	15142	
						15394	15410	
						15460	15476	
						15532	15548	
						15994	16010	
548772	н.д.	н.д.	TATAACAGTATCACTGT	4-9-4	0	14793	14809	1305
						14989	15005	
						15055	15071	
						15127	15143	
						15160	15176	
						15362	15378	
						15395	15411	
						15461	15477	
						15533	15549	
						15566	15582	
						15696	15712	
						15898	15914	
						15995	16011	
548773	н.д.	н.д.	CTATAACAGTATCACTG	4-9-4	0	14794	14810	1306
						14990	15006	
						15056	15072	
						15128	15144	
						15161	15177	
						15363	15379	

						15396	15412	
						15462	15478	
						15534	15550	
						15567	15583	
						15697	15713	
						15899	15915	
						15996	16012	
548774	н.д.	н.д.	CCTATAACTATAACAGT	4-9-4	0	14801	14817	1307
						15063	15079	
						15168	15184	
						15469	15485	
						15541	15557	
						15574	15590	
						15704	15720	
						15775	15791	
						16003	16019	
548775	н.д.	н.д.	TCCTATAACTATAACAG	4-9-4	0	14802	14818	1308
						15064	15080	
						15169	15185	
						15470	15486	
						15542	15558	
						15575	15591	
						15705	15721	
						16004	16020	
548776	н.д.	н.д.	CCTATAACTATAACAAT	4-9-4	0	14872	14888	1309
						14931	14947	
						15206	15222	
						15278	15294	
						15337	15353	
						15599	15615	
						15671	15687	
						15742	15758	
						15801	15817	
						15873	15889	
						15931	15947	
						16074	16090	
						16099	16115	
						16152	16168	
						16247	16263	
548777	н.д.	н.д.	GTAACAGTATCACTGTA	4-9-4	41	14955	14971	1310
548778	н.д.	н.д.	ATAACAGTATCACTGTA	4-9-4	20	15159	15175	1311
						15361	15377	
						15565	15581	
						15695	15711	
						15897	15913	
548779	н.д.	н.д.	GTCCTATAACTATAACA	4-9-4	0	15170	15186	1312
						15576	15592	
						15706	15722	
						16005	16021	
						16076	16092	
						16101	16117	
						16154	16170	
548780	н.д.	н.д.	TGTCCTATAACTATAAC	4-9-4	22	15171	15187	1313
						15577	15593	
						15707	15723	
						16006	16022	
						16077	16093	
						16102	16118	
						16155	16171	
548781	н.д.	н.д.	ACCTATAACTATAACAG	4-9-4	0	15776	15792	1314
548782	н.д.	н.д.	TACCTATAACTATAACA	4-9-4	0	15777	15793	1315
						16249	16265	
548783	н.д.	н.д.	ACCTATAACTATAACAA	4-9-4	0	16248	16264	1316

Пример 116: Антисмысловое ингибирование ПКП человека в клетках HepaRG™ антисмысловыми олигонуклеотидами с MOE, дезокси и cEt модификациями сахара

Были сконструированы дополнительные антисмысловые олигонуклеотиды, нацеленные на нуклеиновую кислоту ПКП, и протестировано их влияние на мРНК ПКП in vitro.

Химерные антисмысловые олигонуклеотиды в представленных ниже таблицах были сконструированы как дезокси, MOE и cEt гэпмеры. Длина гэпмеров составляет 16 нуклеозидов, причем нуклеозид содержит модификацию сахара MOE, модификацию сахара cEt или дезокси модификацию. В колонке «Химизм» описаны модификации сахара для каждого олигонуклеотида. «k» указывает на модификацию сахара cEt; число показывает количество дезоксинуклеозидов; в противном случае, «d» показывает дезоксинуклеозид; и «e» указывает на модификацию 2'-O-метоксиэтил. Межнуклеозидные связи в каждом гэпмере представляют собой тиофосфатные связи. Все остатки цитозина в каждом олигонуклеотиде представляют собой 5-метилцитозины. «Сайт инициации» обозначает самый крайний 5' нуклеозид, на который направлен гэпмер в последовательности гена человека. «Сайт терминации» обозначает самый крайний 3' нуклеозид, на который направлен гэпмер в последовательности гена человека. Каждый гэпмер, перечисленный в представленных ниже таблицах, нацелен на мРНК ПКП человека, обозначенную в данном описании как SEQ ID NO: 1, или на геномную последовательность ПКП человека, обозначенную в данном описании как SEQ ID NO: 10. «н/д» означает, что антисмысловой олигонуклеотид не нацелен на данную конкретную последовательность гена.

Культивированные клетки HepaRG™ с плотностью 20000 клеток на лунку трансфицировали с использованием электропорации с 1000 нМ антисмыслового олигонуклеотида. После периода обработки длительностью около 24 часов, РНК выделяли из клеток и уровни мРНК ПКП измеряли методом количественной ПЦР в реальном времени. Набор человеческих праймерных зондов RTS3454 использовали для измерения уровней мРНК. В данный анализ также включили ISIS 531231. Уровни мРНК ПКП были скорректированы в соответствии с общим содержанием РНК, измеренным с помощью RIBOGREEN®. Антисмысловые олигонуклеотиды испытывали в сериях экспериментов с одинаковыми условиями выращивания. Результаты каждого эксперимента представлены в отдельных таблицах, показанных ниже. Результаты представлены как процент ингибирования ПКП относительно необработанных контрольных клеток.

Таблица 140

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт инициации	SEQ ID NO: 1 сайт терминации	Последовательность	Химизм	% ингибирования	SEQ ID NO: 10 сайт инициации	SEQ ID NO: 10 сайт терминации	SEQ ID NO
547747	н.д.	н.д.	TCACTGTACTAGTTTC	eekd$_{10}$kke	95	14746	14761	1267
						14817	14832	
						14888	14903	
						14947	14962	
						15007	15022	
						15079	15094	
						15222	15237	
						15294	15309	

						15353	15368	
						15413	15428	
						15485	15500	
						15557	15572	
						15615	15630	
						15687	15702	
						15817	15832	
						15889	15904	
						15947	15962	
548074	1642	1657	CCTTTCTCCTTCGAGA	eekd$_{10}$kke	0	31948	31963	1317
548075	1643	1658	ACCTTTCTCCTTCGAG	eekd$_{10}$kke	0	31949	31964	1318
548076	1644	1659	CACCTTTCTCCTTCGA	eekd$_{10}$kke	26	н.д.	н.д.	1319
548077	1691	1706	ATTTGTTACCAAAGGA	eekd$_{10}$kke	51	33135	33150	1320
548078	1696	1711	TCTTCATTTGTTACCA	eekd$_{10}$kke	36	33140	33155	1321
548079	1762	1777	CCTTCTTTATAGCCAG	eekd$_{10}$kke	39	33206	33221	1322
548080	1763	1778	CCCTTCTTTATAGCCA	eekd$_{10}$kke	0	33207	33222	1323
548081	1764	1779	CCCCTTCTTTATAGCC	eekd$_{10}$kke	64	33208	33223	1324
548082	1776	1791	AAGCATCTTTTCCCCC	eekd$_{10}$kke	42	33220	33235	1325
548083	1800	1815	AGGGACCACCTGAATC	eekd$_{10}$kke	0	33899	33914	1326
548084	1801	1816	AAGGGACCACCTGAAT	eekd$_{10}$kke	0	33900	33915	1327
548085	1802	1817	TAAGGGACCACCTGAA	eekd$_{10}$kke	8	33901	33916	1328
548086	1803	1818	CTAAGGGACCACCTGA	eekd$_{10}$kke	36	33902	33917	1329
548087	1804	1819	ACTAAGGGACCACCTG	eekd$_{10}$kke	24	33903	33918	1330
548088	1805	1820	AACTAAGGGACCACCT	eekd$_{10}$kke	27	33904	33919	1331
548089	1806	1821	AAACTAAGGGACCACC	eekd$_{10}$kke	34	33905	33920	1332
548090	1807	1822	CAAACTAAGGGACCAC	eekd$_{10}$kke	46	33906	33921	1333
548091	1809	1824	TGCAAACTAAGGGACC	eekd$_{10}$kke	62	33908	33923	1334
5480	1810	1825	TTGCAAACTAA	eekd$_{10}$	30	33909	33924	13

92			GGGAC	kke				35
548093	1811	1826	TTTGCAAACTAAGGGA	eekd$_{10}$kke	0	33910	33925	1336
548094	1812	1827	GTTTGCAAACTAAGGG	eekd$_{10}$kke	74	33911	33926	1337
548095	1813	1828	TGTTTGCAAACTAAGG	eekd$_{10}$kke	35	33912	33927	1338
548096	1814	1829	GTGTTTGCAAACTAAG	eekd$_{10}$kke	23	33913	33928	1339
548097	1876	1891	TGCTCCCTGCGGGCAC	eekd$_{10}$kke	2	33975	33990	1340
548098	1887	1902	AGACACCAGGTTGCTC	eekd$_{10}$kke	0	33986	34001	1341
548099	1904	1919	CTCAGCGACTTTGGTG	eekd$_{10}$kke	55	34003	34018	1342
548100	1905	1920	ACTCAGCGACTTTGGT	eekd$_{10}$kke	25	34004	34019	1343
548101	1906	1921	TACTCAGCGACTTTGG	eekd$_{10}$kke	47	34005	34020	1344
548102	1907	1922	GTACTCAGCGACTTTG	eekd$_{10}$kke	58	34006	34021	1345
548103	1908	1923	TGTACTCAGCGACTTT	eekd$_{10}$kke	66	34007	34022	1346
548104	1909	1924	ATGTACTCAGCGACTT	eekd$_{10}$kke	59	34008	34023	1347
548105	1910	1925	CATGTACTCAGCGACT	eekd$_{10}$kke	49	34009	34024	1348
548106	1911	1926	CCATGTACTCAGCGAC	eekd$_{10}$kke	79	34010	34025	1349
548107	1912	1927	TCCATGTACTCAGCGA	eekd$_{10}$kke	76	34011	34026	1350
548108	1953	1968	GAGCTTTTCCATCACT	eekd$_{10}$kke	61	34052	34067	1351
548109	1959	1974	GCATCTGAGCTTTCC	eekd$_{10}$kke	77	34058	34073	1352
548110	1960	1975	TGCATCTGAGCTTTTC	eekd$_{10}$kke	62	34059	34074	1353
548111	1963	1978	GACTGCATCTGAGCTT	eekd$_{10}$kke	53	34062	34077	1354
548112	1965	1980	GTGACTGCATCTGAGC	eekd$_{10}$kke	23	34064	34079	1355
548113	1966	1981	GGTGACTGCATCTGAG	eekd$_{10}$kke	56	34065	34080	1356
548114	1967	1982	TGGTGACTGCATCTGA	eekd$_{10}$kke	70	34066	34081	1357
548115	1972	1987	CATGCTGGTGACTGCA	eekd$_{10}$kke	76	34071	34086	1358

548116	1973	1988	TCATGCTGGTGACTGC	eekd$_{10}$kke	3	34072	34087	1359
548117	1974	1989	CTCATGCTGGTGACTG	eekd$_{10}$kke	73	34073	34088	1360
548118	1975	1990	TCTCATGCTGGTGACT	eekd$_{10}$kke	47	34074	34089	1361
548119	1984	1999	TGGACTGCTTCTCATG	eekd$_{10}$kke	25	34083	34098	1362
548121	1986	2001	TCTGGACTGCTTCTCA	eekd$_{10}$kke	64	34085	34100	1363
548122	1987	2002	CTCTGGACTGCTTCTC	eekd$_{10}$kke	55	34086	34101	1364
548123	1990	2005	AGACTCTGGACTGCTT	eekd$_{10}$kke	49	34089	34104	1365
548124	1991	2006	TAGACTCTGGACTGCT	eekd$_{10}$kke	51	34090	34105	1366
548125	1992	2007	CTAGACTCTGGACTGC	eekd$_{10}$kke	89	34091	34106	1367
548126	1995	2010	TGCCTAGACTCTGGAC	eekd$_{10}$kke	19	34094	34109	1368
548127	1996	2011	TTGCCTAGACTCTGGA	eekd$_{10}$kke	60	34095	34110	1369
548128	1997	2012	ATTGCCTAGACTCTGG	eekd$_{10}$kke	55	34096	34111	1370
548129	2022	2037	TTTGACTTGAACTCAG	eekd$_{10}$kke	35	34121	34136	1371
548130	2023	2038	ATTTGACTTGAACTCA	eekd$_{10}$kke	27	34122	34137	1372
548131	2024	2039	AATTTGACTTGAACTC	eekd$_{10}$kke	45	34123	34138	1373
548132	2025	2040	GAATTTGACTTGAACT	eekd$_{10}$kke	0	34124	34139	1374
548133	2026	2041	AGAATTTGACTTGAAC	eekd$_{10}$kke	23	34125	34140	1375
548134	2027	2042	CAGAATTTGACTTGAA	eekd$_{10}$kke	17	34126	34141	1376
548135	2028	2043	TCAGAATTTGACTTGA	eekd$_{10}$kke	46	34127	34142	1377
548136	2031	2046	GGCTCAGAATTTGACT	eekd$_{10}$kke	39	34130	34145	1378
548137	2032	2047	AGGCTCAGAATTTGAC	eekd$_{10}$kke	62	34131	34146	1379
548138	2036	2051	CCCCAGGCTCAGAATT	eekd$_{10}$kke	52	34135	34150	1380
548139	2047	2062	AGATGAGGACCCCCCA	eekd$_{10}$kke	56	34146	34161	1381
548140	2048	2063	CAGATGAGGACCCCCC	eekd$_{10}$kke	74	34147	34162	1382
548141	2049	2064	GCAGATGAGGACCCCC	eekd$_{10}$kke	66	34148	34163	1383
548142	2063	2078	ACTCTCCATGCTTTGC	eekd$_{10}$kke	44	34162	34177	1384
548143	2064	2079	CACTCTCCATGCTTTG	eekd$_{10}$kke	39	34163	34178	1385
548144	2068	2083	ATGCCACTCTCCATGC	eekd$_{10}$kke	52	34167	34182	1386
548145	2079	2094	ATGCAAAGAAGATGCC	eekd$_{10}$kke	63	34178	34193	1387
548146	2088	2103	GTCCTTAGGATGCAAA	eekd$_{10}$kke	68	34187	34202	1388
548147	2089	2104	CGTCCTTAGGATGCAA	eekd$_{10}$kke	81	34188	34203	1389
548148	2114	2129	GCAGCTCTGAGTGCAC	eekd$_{10}$kke	66	34213	34228	1390
548149	2127	2142	GACATTGTCCTCAGCA	eekd$_{10}$kke	39	34226	34241	1391
548150	2129	2144	CAGACATTGTCCTCAG	eekd$_{10}$kke	60	34228	34243	1392

Таблица 141

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт инициации	SEQ ID NO: 1 сайт терминации	Последовательность	Химизм	% ингибирования	SEQ ID NO: 10 сайт инициации	SEQ ID NO: 10 сайт терминации	SEQ ID NO
547747	н.д.	н.д.	TCACTGTACTAGTTTC	eekd$_{10}$kke	84	14746	14761	1267
						14817	14832	
						14888	14903	
						14947	14962	
						15007	15022	
						15079	15094	
						15222	15237	
						15294	15309	
						15353	15368	
						15413	15428	
						15485	15500	
						15557	15572	
						15615	15630	
						15687	15702	
						15817	15832	
						15889	15904	
						15947	15962	

547843	384	399	CACTTATTTGATGACC	eekd$_{10}$kke	83	9918	9933	1393
547844	385	400	GCACTTATTTGATGAC	eekd$_{10}$kke	13	н.д.	н.д.	1394
547845	394	409	CGATGGCAAGCACTTA	eekd$_{10}$kke	0	н.д.	н.д.	1395
547846	395	410	TCGATGGCAAGCACTT	eekd$_{10}$kke	0	н.д.	н.д.	1396
547847	396	411	CTCGATGGCAAGCACT	eekd$_{10}$kke	46	н.д.	н.д.	1397
547848	400	415	ATGTCTCGATGGCAAG	eekd$_{10}$kke	93	12656	12671	1398
547849	401	416	AATGTCTCGATGGCAA	eekd$_{10}$kke	79	12657	12672	1399
547850	402	417	AAATGTCTCGATGGCA	eekd$_{10}$kke	51	12658	12673	1400
547851	403	418	TAAATGTCTCGATGGC	eekd$_{10}$kke	93	12659	12674	1401
547852	404	419	ATAAATGTCTCGATGG	eekd$_{10}$kke	67	12660	12675	1402
547853	405	420	TATAAATGTCTCGATG	eekd$_{10}$kke	0	12661	12676	1403
547854	416	431	ATCAACTCCTTTATAA	eekd$_{10}$kke	10	12672	12687	1404
547855	417	432	TATCAACTCCTTTATA	eekd$_{10}$kke	59	12673	12688	1405
547856	419	434	CATATCAACTCCTTTA	eekd$_{10}$kke	93	12675	12690	1406
547858	423	438	CTCTCATATCAACTCC	eekd$_{10}$kke	82	12679	12694	1407
547859	424	439	CCTCTCATATCAACTC	eekd$_{10}$kke	77	12680	12695	1408
547860	425	440	TCCTCTCATATCAACT	eekd$_{10}$kke	71	12681	12696	1409
547861	427	442	ACTCCTCTCATATCAA	eekd$_{10}$kke	0	12683	12698	1410
547862	428	443	GACTCCTCTCATATCA	eekd$_{10}$kke	22	12684	12699	1411
547863	429	444	TGACTCCTCTCATATC	eekd$_{10}$kke	73	12685	12700	1412
547864	430	445	TTGACTCCTCTCATAT	eekd$_{10}$kke	53	12686	12701	1413
547865	434	449	AAAATTGACTCCTCTC	eekd$_{10}$kke	3	12690	12705	1414
547866	436	451	TTAAAATTGACTCCTC	eekd$_{10}$kke	46	12692	12707	1415
5478	447	462	CCTTAGACACA	eekd$_{10}$	34	12703	12718	14

67			TTAAA	kke				16
547868	448	463	ACCTTAGACACATTAA	eekd10kke	47	12704	12719	1417
547869	449	464	AACCTTAGACACATTA	eekd10kke	45	12705	12720	1418
547870	451	466	CTAACCTTAGACACAT	eekd10kke	89	12707	12722	1419
547871	452	467	GCTAACCTTAGACACA	eekd10kke	96	12708	12723	1420
547872	453	468	TGCTAACCTTAGACAC	eekd10kke	85	12709	12724	1421
547873	454	469	CTGCTAACCTTAGACA	eekd10kke	77	12710	12725	1422
547874	455	470	ACTGCTAACCTTAGAC	eekd10kke	70	12711	12726	1423
547875	456	471	CACTGCTAACCTTAGA	eekd10kke	73	12712	12727	1424
547876	457	472	ACACTGCTAACCTTAG	eekd10kke	78	12713	12728	1425
547877	458	473	AACACTGCTAACCTTA	eekd10kke	81	12714	12729	1426
547879	460	475	TCAACACTGCTAACCT	eekd10kke	69	12716	12731	1427
547880	461	476	TTCAACACTGCTAACC	eekd10kke	69	12717	12732	1428
547881	465	480	ATTCTTCAACACTGCT	eekd10kke	0	12721	12736	1429
547882	500	515	CTGGCAGCGAATGTTA	eekd10kke	91	12756	12771	1430
547883	501	516	ACTGGCAGCGAATGTT	eekd10kke	99	12757	12772	1431
547884	518	533	CGTGGCATATGAAAAA	eekd10kke	87	12774	12789	1432
547885	539	554	CTCTGCCTTGTGAAAT	eekd10kke	45	12795	12810	1433
547886	544	559	CGGTACTCTGCCTTGT	eekd10kke	97	12800	12815	1434
547889	547	562	TTCCGGTACTCTGCCT	eekd10kke	91	н.д.	н.д.	1435
547890	550	565	TTGTTCCGGTACTCTG	eekd10kke	97	н.д.	н.д.	1436
547891	551	566	ATTGTTCCGGTACTCT	eekd10kke	84	н.д.	н.д.	1437
547892	553	568	CAATTGTTCCGGTACT	eekd10kke	29	н.д.	н.д.	1438
547893	554	569	GCAATTGTTCCGGTAC	eekd10kke	81	н.д.	н.д.	1439

547894	555	570	GGCAATTGTTCCGGTA	eekd$_{10}$kke	92	н.д.	н.д.	1440
547898	563	578	CTTTAATAGGCAATTG	eekd$_{10}$kke	0	14134	14149	1441
547899	566	581	GTACTTTAATAGGCAA	eekd$_{10}$kke	49	14137	14152	1442
547900	567	582	TGTACTTTAATAGGCA	eekd$_{10}$kke	93	14138	14153	1443
547901	568	583	CTGTACTTTAATAGGC	eekd$_{10}$kke	77	14139	14154	1444
547902	569	584	ACTGTACTTTAATAGG	eekd$_{10}$kke	20	14140	14155	1445
547903	604	619	CTCAGCACCTTTATAG	eekd$_{10}$kke	62	14175	14190	1446
547904	605	620	ACTCAGCACCTTTATA	eekd$_{10}$kke	56	14176	14191	1447
547905	606	621	TACTCAGCACCTTTAT	eekd$_{10}$kke	20	14177	14192	1448
547906	607	622	TTACTCAGCACCTTTA	eekd$_{10}$kke	59	14178	14193	1449
547907	652	667	ATTTCTGAAAGGGCAC	eekd$_{10}$kke	27	14223	14238	1450
547908	654	669	CAATTTCTGAAAGGGC	eekd$_{10}$kke	94	14225	14240	1451
547909	655	670	CCAATTTCTGAAAGGG	eekd$_{10}$kke	82	14226	14241	1452
547910	656	671	ACCAATTTCTGAAAGG	eekd$_{10}$kke	26	14227	14242	1453
547911	661	676	TGGCAACCAATTTCTG	eekd$_{10}$kke	0	н.д.	н.д.	1454
547912	701	716	ATCCACATCTGAGAAC	eekd$_{10}$kke	23	26149	26164	1455
547913	706	721	GCAACATCCACATCTG	eekd$_{10}$kke	71	26154	26169	1456
547914	707	722	GGCAACATCCACATCT	eekd$_{10}$kke	74	26155	26170	1457
547915	708	723	TGGCAACATCCACATC	eekd$_{10}$kke	0	26156	26171	1458
547916	710	725	CCTGGCAACATCCACA	eekd$_{10}$kke	70	26158	26173	1459
547917	712	727	ACCCTGGCAACATCCA	eekd$_{10}$kke	33	26160	26175	1460
547918	713	728	AACCCTGGCAACATCC	eekd$_{10}$kke	1	26161	26176	1461
547919	714	729	GAACCCTGGCAACATC	eekd$_{10}$kke	41	26162	26177	1462

Таблица 142

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт инициации	SEQ ID NO: 1 сайт терминации	Последовательность	Химизм	% ингибирования	SEQ ID NO: 10 сайт инициации	SEQ ID NO: 10 сайт терминации	SEQ ID NO
531231	н.д.	н.д.	TATCACTGTACTAGTTTCCT	eeeeed$_{10}$eeeee	62	14744	14763	334
						14815	14834	
						14886	14905	
						14945	14964	
						15005	15024	
						15077	15096	
						15220	15239	
						15292	15311	
						15351	15370	
						15411	15430	
						15483	15502	
						15555	15574	
						15613	15632	
						15685	15704	
						15815	15834	
						15887	15906	
						15945	15964	
547747	н.д.	н.д.	TCACTGTACTAGTTTC	eekd$_{10}$kke	88	14746	14761	1267
						14817	14832	
						14888	14903	
						14947	14962	
						15007	15022	
						15079	15094	
						15222	15237	
						15294	15309	
						15353	15368	
						15413	15428	
						15485	15500	
						15557	15572	
						15615	15630	
						15687	15702	
						15817	15832	
						15889	15904	
						15947	15962	
547751	7	22	TGAACGGTCTTCAAGC	eekd$_{10}$kke	0	3399	3414	1463

547753	8	23	ATGAACGGTCTTCAAG	eekd$_{10}$kke	3	3400	3415	1464
547755	13	28	TAAAAATGAACGGTCT	eekd$_{10}$kke	0	3405	3420	1465
547757	28	43	GAGTCTCTTGTCACTT	eekd$_{10}$kke	69	3420	3435	1466
547759	29	44	TGAGTCTCTTGTCACT	eekd$_{10}$kke	73	3421	3436	1467
547763	31	46	GGTGAGTCTCTTGTCA	eekd$_{10}$kke	66	3423	3438	1468
547765	32	47	AGGTGAGTCTCTTGTC	eekd$_{10}$kke	20	3424	3439	1469
547767	35	50	TGGAGGTGAGTCTCTT	eekd$_{10}$kke	74	3427	3442	1470
547769	36	51	TTGGAGGTGAGTCTCT	eekd$_{10}$kke	81	3428	3443	1471
547771	37	52	CTTGGAGGTGAGTCTC	eekd$_{10}$kke	60	3429	3444	1472
547773	38	53	TCTTGGAGGTGAGTCT	eekd$_{10}$kke	47	3430	3445	1473
547777	43	58	TTGCTTCTTGGAGGTG	eekd$_{10}$kke	69	3435	3450	1474
547779	44	59	ATTGCTTCTTGGAGGT	eekd$_{10}$kke	41	3436	3451	1475
547781	46	61	CAATTGCTTCTTGGAG	eekd$_{10}$kke	49	3438	3453	1476
547783	48	63	CACAATTGCTTCTTGG	eekd$_{10}$kke	48	3440	3455	1477
547784	72	87	GCTTGAATAAAATCAT	eekd$_{10}$kke	46	4071	4086	1478
547785	79	94	GTTGCTTGCTTGAATA	eekd$_{10}$kke	48	4078	4093	1479
547786	80	95	AGTTGCTTGCTTGAAT	eekd$_{10}$kke	44	4079	4094	1480
547787	81	96	AAGTTGCTTGCTTGAA	eekd$_{10}$kke	22	4080	4095	1481
547788	82	97	TAAGTTGCTTGCTTGA	eekd$_{10}$kke	49	4081	4096	1482
547789	86	101	GAAATAAGTTGCTTGC	eekd$_{10}$kke	20	4085	4100	1483
547790	87	102	TGAAATAAGTTGCTTG	eekd$_{10}$kke	23	4086	4101	1484
547791	106	121	ACTGTAGCAAACAAGG	eekd$_{10}$kke	49	4105	4120	1485
547792	116	131	TCCACAGGAAACTGTA	eekd$_{10}$kke	31	н.д.	н.д.	1486
547	117	132	ATCCACAGGAAA	eekd$_{10}$kk	16	н.д.	н.д.	14

793			CTGT	e				87
547794	136	151	TCATAGAGTTGAGTCA	eekd10kke	49	8008	8023	1488
547795	155	170	ACCTCTGAAGAAGGCG	eekd10kke	66	8027	8042	1489
547796	161	176	ATCCCCACCTCTGAAG	eekd10kke	35	8033	8048	1490
547797	167	182	AGCTACATCCCCACCT	eekd10kke	33	8039	8054	1491
547799	169	184	GAAGCTACATCCCCAC	eekd10kke	41	8041	8056	1492
547800	174	189	ACATGGAAGCTACATC	eekd10kke	20	8046	8061	1493
547801	175	190	TACATGGAAGCTACAT	eekd10kke	11	8047	8062	1494
547802	176	191	GTACATGGAAGCTACA	eekd10kke	41	8048	8063	1495
547803	177	192	TGTACATGGAAGCTAC	eekd10kke	0	8049	8064	1496
547804	178	193	GTGTACATGGAAGCTA	eekd10kke	22	8050	8065	1497
547805	180	195	GGGTGTACATGGAAGC	eekd10kke	54	8052	8067	1498
547807	197	212	GCAGTATTGGGCATTT	eekd10kke	75	8069	8084	1499
547808	203	218	CATCTGGCAGTATTGG	eekd10kke	56	8075	8090	1500
547809	204	219	TCATCTGGCAGTATTG	eekd10kke	33	8076	8091	1501
547810	206	221	CCTCATCTGGCAGTAT	eekd10kke	60	8078	8093	1502
547811	207	222	ACCTCATCTGGCAGTA	eekd10kke	49	8079	8094	1503
547812	211	226	GTGCACCTCATCTGGC	eekd10kke	51	8083	8098	1504
547813	219	234	GGTGGAATGTGCACCT	eekd10kke	34	8091	8106	1505
547814	220	235	GGGTGGAATGTGCACC	eekd10kke	60	8092	8107	1506
547815	255	270	AACTTGCTGGAAGAAA	eekd10kke	3	8127	8142	1507
547816	256	271	GAACTTGCTGGAAGAA	eekd10kke	45	8128	8143	1508
547817	257	272	TGAACTTGCTGGAAGA	eekd10kke	18	8129	8144	1509
547818	260	275	GATTGAACTTGCTGGA	eekd10kke	4	8132	8147	1510

547819	264	279	CATTGATTGAACTTGC	eekd$_{10}$kke	11	8136	8151	1511
547820	265	280	TCATTGATTGAACTTG	eekd$_{10}$kke	0	8137	8152	1512
547821	282	297	CAAACCTTTTCTCCAT	eekd$_{10}$kke	44	н.д.	н.д.	1513
547822	287	302	GCAACCAAACCTTTTC	eekd$_{10}$kke	71	н.д.	н.д.	1514
547823	288	303	AGCAACCAAACCTTTT	eekd$_{10}$kke	51	н.д.	н.д.	1515
547824	331	346	CGATGTACTTTTGGCA	eekd$_{10}$kke	82	9865	9880	1516
547825	332	347	TCGATGTACTTTTGGC	eekd$_{10}$kke	59	9866	9881	1517
547826	333	348	TTCGATGTACTTTTGG	eekd$_{10}$kke	31	9867	9882	1518
547827	334	349	GTTCGATGTACTTTTG	eekd$_{10}$kke	47	9868	9883	1519
547828	337	352	CCTGTTCGATGTACTT	eekd$_{10}$kke	63	9871	9886	1520
547829	338	353	ACCTGTTCGATGTACT	eekd$_{10}$kke	59	9872	9887	1521
547830	340	355	GCACCTGTTCGATGTA	eekd$_{10}$kke	74	9874	9889	1522
547831	342	357	CTGCACCTGTTCGATG	eekd$_{10}$kke	49	9876	9891	1523
547832	343	358	ACTGCACCTGTTCGAT	eekd$_{10}$kke	59	9877	9892	1524
547833	344	359	AACTGCACCTGTTCGA	eekd$_{10}$kke	40	9878	9893	1525
547834	345	360	AAACTGCACCTGTTCG	eekd$_{10}$kke	63	9879	9894	1526
547835	349	364	CCAGAAACTGCACCTG	eekd$_{10}$kke	81	9883	9898	1527
547836	350	365	TCCAGAAACTGCACCT	eekd$_{10}$kke	50	9884	9899	1528
547837	352	367	TGTCCAGAAACTGCAC	eekd$_{10}$kke	51	9886	9901	1529
547838	362	377	CTTCAAGGAATGTCCA	eekd$_{10}$kke	45	9896	9911	1530
547839	363	378	GCTTCAAGGAATGTCC	eekd$_{10}$kke	35	9897	9912	1531
547840	365	380	TTGCTTCAAGGAATGT	eekd$_{10}$kke	36	9899	9914	1532
547841	369	384	CACATTGCTTCAAGGA	eekd$_{10}$kke	42	9903	9918	1533
547	375	390	GATGACCACATT	eekd$_{10}$kk	10	9909	9924	15

842			GCTT	e				34

Таблица 143

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт инициации	SEQ ID NO: 1 сайт терминации	Последовательность	Химизм	% ингибирования	SEQ ID NO: 10 сайт инициации	SEQ ID NO: 10 сайт терминации	SEQ ID NO
531231	н.д.	н.д.	TATCACTGTACTAGTTTCCT	$e_{10}d_{10}e$	75	14744	14763	334
						14815	14834	
						14886	14905	
						14945	14964	
						15005	15024	
						15077	15096	
						15220	15239	
						15292	15311	
						15351	15370	
						15411	15430	
						15483	15502	
						15555	15574	
						15613	15632	
						15685	15704	
						15815	15834	
						15887	15906	
						15945	15964	
547747	н.д.	н.д.	TCACTGTACTAGTTTC	$eekd_{10}kke$	91	14746	14761	1267
						14817	14832	
						14888	14903	
						14947	14962	
						15007	15022	
						15079	15094	
						15222	15237	
						15294	15309	
						15353	15368	
						15413	15428	
						15485	15500	
						15557	15572	
						15615	15630	
						15687	15702	
						15817	15832	
						15889	15904	
						15947	15962	
547	384	399	CACTTATTTGATG	$eekd_{10}kk$	83	9918	9933	13

843			ACC	e				93
547844	385	400	GCACTTATTTGATGAC	eekd10kke	76	н.д.	н.д.	1394
547845	394	409	CGATGGCAAGCACTTA	eekd10kke	64	н.д.	н.д.	1395
547846	395	410	TCGATGGCAAGCACTT	eekd10kke	42	н.д.	н.д.	1396
547847	396	411	CTCGATGGCAAGCACT	eekd10kke	72	н.д.	н.д.	1397
547848	400	415	ATGTCTCGATGGCAAG	eekd10kke	79	12656	12671	1398
547849	401	416	AATGTCTCGATGGCAA	eekd10kke	90	12657	12672	1399
547850	402	417	AAATGTCTCGATGGCA	eekd10kke	80	12658	12673	1400
547851	403	418	TAAATGTCTCGATGGC	eekd10kke	84	12659	12674	1401
547852	404	419	ATAAATGTCTCGATGG	eekd10kke	66	12660	12675	1402
547853	405	420	TATAAATGTCTCGATG	eekd10kke	30	12661	12676	1403
547854	416	431	ATCAACTCCTTTATAA	eekd10kke	9	12672	12687	1404
547855	417	432	TATCAACTCCTTTATA	eekd10kke	38	12673	12688	1405
547856	419	434	CATATCAACTCCTTTA	eekd10kke	51	12675	12690	1406
547857	421	436	CTCATATCAACTCCTT	eekd10kke	84	12677	12692	1535
547858	423	438	CTCTCATATCAACTCC	eekd10kke	76	12679	12694	1407
547859	424	439	CCTCTCATATCAACTC	eekd10kke	88	12680	12695	1408
547860	425	440	TCCTCTCATATCAACT	eekd10kke	70	12681	12696	1409
547861	427	442	ACTCCTCTCATATCAA	eekd10kke	57	12683	12698	1410
547862	428	443	GACTCCTCTCATATCA	eekd10kke	88	12684	12699	1411
547863	429	444	TGACTCCTCTCATATC	eekd10kke	77	12685	12700	1412
547864	430	445	TTGACTCCTCTCATAT	eekd10kke	73	12686	12701	1413
547865	434	449	AAAATTGACTCCTCTC	eekd10kke	61	12690	12705	1414
547866	436	451	TTAAAATTGACTCCTC	eekd10kke	40	12692	12707	1415

547867	447	462	CCTTAGACACATTAAA	eekd10kke	53	12703	12718	1416
547868	448	463	ACCTTAGACACATTAA	eekd10kke	71	12704	12719	1417
547869	449	464	AACCTTAGACACATTA	eekd10kke	77	12705	12720	1418
547870	451	466	CTAACCTTAGACACAT	eekd10kke	83	12707	12722	1419
547871	452	467	GCTAACCTTAGACACA	eekd10kke	77	12708	12723	1420
547872	453	468	TGCTAACCTTAGACAC	eekd10kke	73	12709	12724	1421
547873	454	469	CTGCTAACCTTAGACA	eekd10kke	82	12710	12725	1422
547874	455	470	ACTGCTAACCTTAGAC	eekd10kke	60	12711	12726	1423
547875	456	471	CACTGCTAACCTTAGA	eekd10kke	57	12712	12727	1424
547876	457	472	ACACTGCTAACCTTAG	eekd10kke	59	12713	12728	1425
547877	458	473	AACACTGCTAACCTTA	eekd10kke	93	12714	12729	1426
547878	459	474	CAACACTGCTAACCTT	eekd10kke	62	12715	12730	1536
547879	460	475	TCAACACTGCTAACCT	eekd10kke	65	12716	12731	1427
547880	461	476	TTCAACACTGCTAACC	eekd10kke	59	12717	12732	1428
547881	465	480	ATTCTTCAACACTGCT	eekd10kke	50	12721	12736	1429
547882	500	515	CTGGCAGCGAATGTTA	eekd10kke	96	12756	12771	1430
547883	501	516	ACTGGCAGCGAATGTT	eekd10kke	0	12757	12772	1431
547884	518	533	CGTGGCATATGAAAAA	eekd10kke	49	12774	12789	1432
547885	539	554	CTCTGCCTTGTGAAAT	eekd10kke	57	12795	12810	1433
547886	544	559	CGGTACTCTGCCTTGT	eekd10kke	89	12800	12815	1434
547887	545	560	CCGGTACTCTGCCTTG	eekd10kke	99	12801	12816	1537
547888	546	561	TCCGGTACTCTGCCTT	eekd10kke	99	н.д.	н.д.	1538
547889	547	562	TTCCGGTACTCTGCCT	eekd10kke	97	н.д.	н.д.	1435
547	550	565	TTGTTCCGGTACT	eekd10kk	90	н.д.	н.д.	14

890			CTG	e				36
547 891	551	566	ATTGTTCCGGTAC TCT	eekd$_{10}$kk e	88	н.д.	н.д.	14 37
547 892	553	568	CAATTGTTCCGGT ACT	eekd$_{10}$kk e	28	н.д.	н.д.	14 38
547 893	554	569	GCAATTGTTCCG GTAC	eekd$_{10}$kk e	80	н.д.	н.д.	14 39
547 894	555	570	GGCAATTGTTCC GGTA	eekd$_{10}$kk e	91	н.д.	н.д.	14 40
547 895	556	571	AGGCAATTGTTC CGGT	eekd$_{10}$kk e	94	н.д.	н.д.	15 39
547 896	557	572	TAGGCAATTGTTC CGG	eekd$_{10}$kk e	95	н.д.	н.д.	15 40
547 897	558	573	ATAGGCAATTGT TCCG	eekd$_{10}$kk e	82	н.д.	н.д.	15 41
547 898	563	578	CTTTAATAGGCA ATTG	eekd$_{10}$kk e	28	14134	14149	14 41
547 899	566	581	GTACTTTAATAG GCAA	eekd$_{10}$kk e	68	14137	14152	14 42
547 900	567	582	TGTACTTTAATAG GCA	eekd$_{10}$kk e	68	14138	14153	14 43
547 901	568	583	CTGTACTTTAATA GGC	eekd$_{10}$kk e	85	14139	14154	14 44
547 902	569	584	ACTGTACTTTAAT AGG	eekd$_{10}$kk e	33	14140	14155	14 45
547 903	604	619	CTCAGCACCTTTA TAG	eekd$_{10}$kk e	6	14175	14190	14 46
547 904	605	620	ACTCAGCACCTTT ATA	eekd$_{10}$kk e	41	14176	14191	14 47
547 905	606	621	TACTCAGCACCTT TAT	eekd$_{10}$kk e	59	14177	14192	14 48
547 906	607	622	TTACTCAGCACCT TTA	eekd$_{10}$kk e	70	14178	14193	14 49
547 907	652	667	ATTTCTGAAAGG GCAC	eekd$_{10}$kk e	27	14223	14238	14 50
547 908	654	669	CAATTTCTGAAA GGGC	eekd$_{10}$kk e	71	14225	14240	14 51
547 909	655	670	CCAATTTCTGAA AGGG	eekd$_{10}$kk e	51	14226	14241	14 52
547 910	656	671	ACCAATTTCTGA AAGG	eekd$_{10}$kk e	34	14227	14242	14 53
547 911	661	676	TGGCAACCAATT TCTG	eekd$_{10}$kk e	15	н.д.	н.д.	14 54
547 912	701	716	ATCCACATCTGA GAAC	eekd$_{10}$kk e	53	26149	26164	14 55
547 913	706	721	GCAACATCCACA TCTG	eekd$_{10}$kk e	61	26154	26169	14 56
547 914	707	722	GGCAACATCCAC ATCT	eekd$_{10}$kk e	63	26155	26170	14 57
547 915	708	723	TGGCAACATCCA CATC	eekd$_{10}$kk e	62	26156	26171	14 58
547 916	710	725	CCTGGCAACATC CACA	eekd$_{10}$kk e	56	26158	26173	14 59
547 917	712	727	ACCCTGGCAACA TCCA	eekd$_{10}$kk e	54	26160	26175	14 60
547 918	713	728	AACCCTGGCAAC ATCC	eekd$_{10}$kk e	65	26161	26176	14 61
547 919	714	729	GAACCCTGGCAA CATC	eekd$_{10}$kk e	73	26162	26177	14 62

Таблица 144

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт инициации	SEQ ID NO: 1 сайт терминации	Последовательность	Химизм	% ингибирования	SEQ ID NO: 10 сайт инициации	SEQ ID NO: 10 сайт терминации	SEQ ID NO
531231	н.д.	н.д.	TATCACTGTACTAGTTTCCT	eeeeed$_{10}$eeeee	16	14744	14763	334
						14815	14834	
						14886	14905	
						14945	14964	
						15005	15024	
						15077	15096	
						15220	15239	
						15292	15311	
						15351	15370	
						15411	15430	
						15483	15502	
						15555	15574	
						15613	15632	
						15685	15704	
						15815	15834	
						15887	15906	
						15945	15964	
547747	н.д.	н.д.	TCACTGTACTAGTTTC	eekd$_{10}$kke	83	14746	14761	1267
						14817	14832	
						14888	14903	
						14947	14962	
						15007	15022	
						15079	15094	
						15222	15237	
						15294	15309	

						15353 15413 15485 15557 15615 15687 15817 15889 15947	15368 15428 15500 15572 15630 15702 15832 15904 15962	
547 920	716	731	GAGAACCCTGGC AACA	eekd$_{10}$kk e	52	26164	26179	15 42
547 921	717	732	TGAGAACCCTGG CAAC	eekd$_{10}$kk e	43	26165	26180	15 43
547 922	722	737	TGGAGTGAGAAC CCTG	eekd$_{10}$kk e	79	26170	26185	15 44
547 923	725	740	ATCTGGAGTGAG AACC	eekd$_{10}$kk e	68	26173	26188	15 45
547 924	742	757	GTCCGACACACA AAAG	eekd$_{10}$kk e	53	26190	26205	15 46
547 925	743	758	GGTCCGACACAC AAAA	eekd$_{10}$kk e	16	26191	26206	15 47
547 927	745	760	ATGGTCCGACAC ACAA	eekd$_{10}$kk e	79	26193	26208	15 48
547 928	746	761	GATGGTCCGACA CACA	eekd$_{10}$kk e	70	26194	26209	15 49
547 929	747	762	AGATGGTCCGAC ACAC	eekd$_{10}$kk e	65	26195	26210	15 50
547 930	757	772	TGATAGGTGCAG ATGG	eekd$_{10}$kk e	48	26205	26220	15 51
547 931	758	773	GTGATAGGTGCA GATG	eekd$_{10}$kk e	58	26206	26221	15 52
547 932	804	819	CGATTTTCCATAC ATT	eekd$_{10}$kk e	33	26252	26267	15 53
547 933	805	820	TCGATTTTCCATA CAT	eekd$_{10}$kk e	44	26253	26268	15 54
547 934	806	821	CTCGATTTTCCAT ACA	eekd$_{10}$kk e	38	26254	26269	15 55
547 935	807	822	ACTCGATTTTCCA TAC	eekd$_{10}$kk e	27	26255	26270	15 56
547 936	808	823	GACTCGATTTTCC ATA	eekd$_{10}$kk e	44	26256	26271	15 57
547 937	811	826	TGTGACTCGATTT TCC	eekd$_{10}$kk e	56	26259	26274	15 58
547 938	812	827	TTGTGACTCGATT TTC	eekd$_{10}$kk e	56	26260	26275	15 59
547	813	828	TTTGTGACTCGAT	eekd$_{10}$kk	70	26261	26276	15

939			TTT	e				60
547 940	817	832	TTTCTTTGTGACT CGA	eekd$_{10}$kk e	71	н.д.	н.д.	15 61
547 941	852	867	GTGTGCCACTTTC AGA	eekd$_{10}$kk e	66	27116	27131	15 62
547 942	853	868	GGTGTGCCACTTT CAG	eekd$_{10}$kk e	85	27117	27132	15 63
547 943	854	869	TGGTGTGCCACTT TCA	eekd$_{10}$kk e	83	27118	27133	15 64
547 944	857	872	ACTTGGTGTGCC ACTT	eekd$_{10}$kk e	54	27121	27136	15 65
547 945	858	873	AACTTGGTGTGC CACT	eekd$_{10}$kk e	62	27122	27137	15 66
547 946	859	874	GAACTTGGTGTG CCAC	eekd$_{10}$kk e	81	27123	27138	15 67
547 947	860	875	GGAACTTGGTGT GCCA	eekd$_{10}$kk e	80	27124	27139	15 68
547 948	861	876	AGGAACTTGGTG TGCC	eekd$_{10}$kk e	77	27125	27140	15 69
547 949	880	895	GTGTTTTCTTGAG GAG	eekd$_{10}$kk e	6	27144	27159	15 70
547 950	881	896	GGTGTTTTCTTGA GGA	eekd$_{10}$kk e	49	27145	27160	15 71
547 951	887	902	AGATATGGTGTTT TCT	eekd$_{10}$kk e	25	27151	27166	15 72
547 952	888	903	CAGATATGGTGT TTTC	eekd$_{10}$kk e	46	27152	27167	15 73
547 953	895	910	CTATATCCAGAT ATGG	eekd$_{10}$kk e	16	27159	27174	15 74
547 954	902	917	TAAAAGGCTATA TCCA	eekd$_{10}$kk e	36	27166	27181	15 75
547 956	904	919	GTTAAAAGGCTA TATC	eekd$_{10}$kk e	13	27168	27183	15 76
547 957	905	920	GGTTAAAAGGCT ATAT	eekd$_{10}$kk e	6	27169	27184	15 77
547 958	907	922	CAGGTTAAAAGG CTAT	eekd$_{10}$kk e	57	27171	27186	15 78
547 959	908	923	GCAGGTTAAAAG GCTA	eekd$_{10}$kk e	60	27172	27187	15 79
547 960	909	924	TGCAGGTTAAAA GGCT	eekd$_{10}$kk e	40	27173	27188	15 80
547 961	910	925	TTGCAGGTTAAA AGGC	eekd$_{10}$kk e	5	27174	27189	15 81
547 962	911	926	TTTGCAGGTTAA AAGG	eekd$_{10}$kk e	16	27175	27190	15 82
547 963	927	942	GTTCAGGTAAAG TTCT	eekd$_{10}$kk e	22	н.д.	н.д.	15 83

547 964	928	943	GGTTCAGGTAAA GTTC	eekd$_{10}$kke	0	н.д.	н.д.	1584
547 965	929	944	GGGTTCAGGTAA AGTT	eekd$_{10}$kke	29	н.д.	н.д.	1585
547 966	930	945	AGGGTTCAGGTA AAGT	eekd$_{10}$kke	13	н.д.	н.д.	1586
547 967	933	948	GGCAGGGTTCAG GTAA	eekd$_{10}$kkc	25	н.д.	н.д.	1587
547 968	940	955	TTAGAATGGCAG GGTT	eekd$_{10}$kke	37	27362	27377	1588
547 969	953	968	TCCCGGGTAAAT TTTA	eekd$_{10}$kke	0	27375	27390	1589
547 970	954	969	CTCCCGGGTAAA TTTT	eekd$_{10}$kke	42	27376	27391	1590
547 972	958	973	TCAACTCCCGGG TAAA	eekd$_{10}$kke	49	27380	27395	1591
547 973	961	976	AAGTCAACTCCC GGGT	eekd$_{10}$kke	62	27383	27398	1592
547 974	962	977	AAAGTCAACTCC CGGG	eekd$_{10}$kke	52	27384	27399	1593
547 975	963	978	CAAAGTCAACTC CCGG	eekd$_{10}$kke	44	27385	27400	1594
547 976	964	979	CCAAAGTCAACT CCCG	eekd$_{10}$kke	49	27386	27401	1595
547 977	967	982	CCTCCAAAGTCA ACTC	eekd$_{10}$kke	57	27389	27404	1596
547 978	1014	1029	CTTGGCAAACAT TCAC	eekd$_{10}$kke	71	27436	27451	1597
547 979	1018	1033	GTCTCTTGGCAA ACAT	eekd$_{10}$kke	77	27440	27455	1598
547 980	1020	1035	AAGTCTCTTGGC AAAC	eekd$_{10}$kke	54	27442	27457	1599
547 981	1029	1044	TCTTTGTGCAAGT CTC	eekd$_{10}$kke	76	27451	27466	1600
547 982	1034	1049	AATCATCTTTGTG CAA	eekd$_{10}$kke	54	27456	27471	1601
547 983	1035	1050	GAATCATCTTTGT GCA	eekd$_{10}$kke	56	27457	27472	1602
547 984	1036	1051	CGAATCATCTTTG TGC	eekd$_{10}$kke	55	27458	27473	1603
547 985	1037	1052	GCGAATCATCTTT GTG	eekd$_{10}$kke	63	27459	27474	1604
547 986	1039	1054	CAGCGAATCATC TTTG	eekd$_{10}$kke	63	27461	27476	1605
547 987	1040	1055	ACAGCGAATCAT CTTT	eekd$_{10}$kke	64	27462	27477	1606
547 988	1042	1057	TGACAGCGAATC ATCT	eekd$_{10}$kke	56	27464	27479	1607
547 989	1043	1058	CTGACAGCGAAT CATC	eekd$_{10}$kke	66	27465	27480	1608
547 990	1044	1059	ACTGACAGCGAA TCAT	eekd$_{10}$kke	58	27466	27481	1609
547 991	1077	1092	TACAGTCTTCTGG GAG	eekd$_{10}$kke	0	27499	27514	1610
547 992	1080	1095	CCTTACAGTCTTC TGG	eekd$_{10}$kke	17	27502	27517	1611
547 993	1113	1128	TAGATAATCTTA AGAA	eekd$_{10}$kke	26	27634	27649	1612
547 994	1120	1135	CCATCCATAGAT AATC	eekd$_{10}$kke	53	27641	27656	1613
547 995	1149	1164	GTGTCCCATACG CAAT	eekd$_{10}$kke	64	27670	27685	1614
547 996	1150	1165	TGTGTCCCATACG CAA	eekd$_{10}$kke	65	27671	27686	1615

Таблица 145

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт инициации	SEQ ID NO: 1 сайт терминации	Последовательность	Химизм	% ингибирования	SEQ ID NO: 10 сайт инициации	SEQ ID NO: 10 сайт терминации	SEQ ID NO
531231	н.д.	н.д.	TATCACTGTACTAGTTTCCT	eeeeed$_{10}$eeeee	0	14744	14763	3344
						14815	14834	
						14886	14905	
						14945	14964	
						15005	15024	
						15077	15096	
						15220	15239	
						15292	15311	
						15351	15370	
						15411	15430	
						15483	15502	
						15555	15574	
						15613	15632	
						15685	15704	
						15815	15834	
						15887	15906	
						15945	15964	
547747	н.д.	н.д.	TCACTGTACTAGTTTC	eekd$_{10}$kke	80	14746	14761	1267
						14817	14832	
						14888	14903	
						14947	14962	
						15007	15022	
						15079	15094	
						15222	15237	
						15294	15309	
						15353	15368	
						15413	15428	
						15485	15500	
						15557	15572	
						15615	15630	
						15687	15702	
						15817	15832	
						15889	15904	
						15947	15962	
547997	1151	1166	TTGTGTCCCATACGCA	eekd$_{10}$kke	89	27672	27687	1616
547998	1152	1167	CTTGTGTCCCATACGC	eekd$_{10}$kke	82	27673	27688	1617
547999	1153	1168	CCTTGTGTCCCATACG	eekd$_{10}$kke	50	27674	27689	1618
548000	1154	1169	CCCTTGTGTCCCATAC	eekd$_{10}$kke	54	27675	27690	1619
548001	1163	1178	ACCAGAGCTCCCTTGT	eekd$_{10}$kke	64	27684	27699	1620
548002	1164	1179	AACCAGAGCTCCCTTG	eekd$_{10}$kke	56	27685	27700	1621
548003	1165	1180	TAACCAGAGCTCCCTT	eekd$_{10}$kke	66	27686	27701	1622
548004	1167	1182	AGTAACCAGAGCTCCC	eekd$_{10}$kke	80	27688	27703	1623
548005	1169	1184	AGAGTAACCAGAGCTC	eekd$_{10}$kke	77	27690	27705	1624
548006	1172	1187	CAAAGAGTAACCAGAG	eekd$_{10}$kke	54	27693	27708	1625
548007	1174	1189	CTCAAAGAGTAACCAG	eekd$_{10}$kke	70	27695	27710	1626
548008	1175	1190	TCTCAAAGAGTAACCA	eekd$_{10}$kke	71	27696	27711	1627
548009	1184	1199	GTTACACAATCTCAAA	eekd$_{10}$kke	47	27705	27720	1628
548010	1187	1202	AGTGTTACACAATCTC	eekd$_{10}$kke	80	27708	27723	1629
548011	1189	1204	CCAGTGTTACACAATC	eekd$_{10}$kke	14	27710	27725	1630
548012	1192	1207	TCCCCAGTGTTACACA	eekd$_{10}$kke	3	27713	27728	1631

548013	1193	1208	GTCCCCAGTGTTACAC	eekd$_{10}$kke	37	27714	27729	1632
548014	1194	1209	TGTCCCCAGTGTTACA	eekd$_{10}$kke	31	27715	27730	1633
548015	1195	1210	TTGTCCCCAGTGTTAC	eekd$_{10}$kke	50	27716	27731	1634
548016	1248	1263	AAGAGTTTGTTCCTCC	eekd$_{10}$kke	55	27924	27939	1635
548017	1252	1267	CAAGAAGAGTTTGTTC	eekd$_{10}$kke	3	27928	27943	1636
548018	1253	1268	CCAAGAAGAGTTTGTT	eekd$_{10}$kke	22	27929	27944	1637
548019	1255	1270	CCCCAAGAAGAGTTTG	eekd$_{10}$kke	24	27931	27946	1638
548020	1256	1271	TCCCCAAGAAGAGTTT	eekd$_{10}$kke	76	27932	27947	1639
548021	1261	1276	CACTCTCCCCAAGAAG	eekd$_{10}$kke	0	27937	27952	1640
548022	1262	1277	CCACTCTCCCCAAGAA	eekd$_{10}$kke	69	27938	27953	1641
548023	1290	1305	GCTTCACCTGCAGGCT	eekd$_{10}$kke	58	27966	27981	1642
548024	1297	1312	GCTGTCAGCTTCACCT	eekd$_{10}$kke	79	27973	27988	1643
548025	1300	1315	TGAGCTGTCAGCTTCA	eekd$_{10}$kke	66	27976	27991	1644
548026	1332	1347	GTCCTATGAGTGACCC	eekd$_{10}$kke	52	28008	28023	1645
548027	1334	1349	GTGTCCTATGAGTGAC	eekd$_{10}$kke	18	28010	28025	1646
548028	1335	1350	GGTGTCCTATGAGTGA	eekd$_{10}$kke	38	28011	28026	1647
548029	1336	1351	TGGTGTCCTATGAGTG	eekd$_{10}$kke	12	28012	28027	1648
548030	1337	1352	CTGGTGTCCTATGAGT	eekd$_{10}$kke	52	28013	28028	1649
548031	1397	1412	GATGCGCCAAACATCC	eekd$_{10}$kke	73	30475	30490	1650
548032	1398	1413	AGATGCGCCAAACATC	eekd$_{10}$kke	51	30476	30491	1651
548034	1400	1415	ATAGATGCGCCAAACA	eekd$_{10}$kke	31	30478	30493	1652
548035	1404	1419	CACTATAGATGCGCCA	eekd$_{10}$kke	44	30482	30497	1653
548036	1405	1420	CCACTATAGATGCGCC	eekd$_{10}$kke	74	30483	30498	1654
548	1427	1442	AATGTCTGACAG	eekd$_{10}$kk	70	30505	30520	16

037			ATTT	e				55
548 038	1428	1443	TAATGTCTGACA GATT	eekd10kke	67	30506	30521	1656
548 039	1445	1460	GAAAGGTGTATC TTTT	eekd10kke	29	30523	30538	1657
548 040	1449	1464	GTGAGAAAGGTG TATC	eekd10kke	62	30527	30542	1658
548 041	1450	1465	TGTGAGAAAGGT GTAT	eekd10kke	64	30528	30543	1659
548 042	1452	1467	TTTGTGAGAAAG GTGT	eekd10kke	63	30530	30545	1660
548 043	1453	1468	ATTTGTGAGAAA GGTG	eekd10kke	76	30531	30546	1661
548 044	1474	1489	TGGTGAATAATA ATCT	eekd10kke	12	30552	30567	1662
548 045	1483	1498	TTATAGTTTTGGT GAA	eekd10kke	0	30561	30576	1663
548 046	1506	1521	TATCATGATTCCC TTC	eekd10kke	84	30584	30599	1664
548 047	1508	1523	GATATCATGATTC CCT	eekd10kke	83	30586	30601	1665
548 048	1509	1524	CGATATCATGATT CCC	eekd10kke	84	30587	30602	1666
548 049	1510	1525	GCGATATCATGA TTCC	eekd10kke	62	30588	30603	1667
548 050	1512	1527	AGGCGATATCAT GATT	eekd10kke	37	30590	30605	1668
548 051	1513	1528	AAGGCGATATCA TGAT	eekd10kke	61	30591	30606	1669
548 052	1535	1550	CAAAGGAGCCTG GAGT	eekd10kke	43	30613	30628	1670
548 053	1538	1553	ATTCAAAGGAGC CTGG	eekd10kke	36	30616	30631	1671
548 054	1539	1554	AATTCAAAGGAG CCTG	eekd10kke	45	30617	30632	1672
548 055	1541	1556	GTAATTCAAAGG AGCC	eekd10kke	78	30619	30634	1673
548 056	1543	1558	GTGTAATTCAAA GGAG	eekd10kke	40	30621	30636	1674
548 057	1564	1579	CATATTGGTTTTT GGA	eekd10kke	49	31870	31885	1675
548 058	1565	1580	GCATATTGGTTTT TGG	eekd10kke	71	31871	31886	1676
548 059	1568	1583	TAGGCATATTGG TTTT	eekd10kke	50	31874	31889	1677
548 060	1588	1603	CTTGTGTCACCTT TGG	eekd10kke	76	31894	31909	1678
548 061	1589	1604	GCTTGTGTCACCT TTG	eekd10kke	86	31895	31910	1679
548 062	1598	1613	ATAAATTGTGCTT GTG	eekd10kke	19	31904	31919	1680
548 063	1600	1615	GTATAAATTGTG CTTG	eekd10kke	35	31906	31921	1681
548 064	1602	1617	TGGTATAAATTGT GCT	eekd10kke	54	31908	31923	1682
548 065	1603	1618	TTGGTATAAATTG TGC	eekd10kke	22	31909	31924	1683
548 067	1606	1621	CAGTTGGTATAA ATTG	eekd10kke	18	31912	31927	1684
548 068	1609	1624	CAACAGTTGGTA TAAA	eekd10kke	0	31915	31930	1685
548 069	1610	1625	CCAACAGTTGGT ATAA	eekd10kke	57	31916	31931	1686
548 070	1611	1626	CCCAACAGTTGG TATA	eekd10kke	85	31917	31932	1687
548 071	1629	1644	AGAAGCCCCATC CGGT	eekd10kke	55	31935	31950	1688
548 072	1640	1655	TTTCTCCTTCGAG AAG	eekd10kke	33	31946	31961	1689
548 073	1641	1656	CTTTCTCCTTCGA GAA	eekd10kke	24	31947	31962	1690

Таблица 146

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт инициации	SEQ ID NO: 1 сайт терминации	Последовательность	Химизм	% ингибирования	SEQ ID NO: 10 сайт инициации	SEQ ID NO: 10 сайт терминации	SEQ ID NO
531231	н.д.	н.д.	TATCACTGTACTAGTTTCCT	eeeeed$_{10}$eeeee	19	14744	14763	334
						14815	14834	
						14886	14905	
						14945	14964	
						15005	15024	
						15077	15096	
						15220	15239	
						15292	15311	
						15351	15370	
						15411	15430	
						15483	15502	
						15555	15574	
						15613	15632	
						15685	15704	
						15815	15834	
						15887	15906	
						15945	15964	
547747	н.д.	н.д.	TCACTGTACTAGTTTC	eekd$_{10}$kke	66	14746	14761	1267
						14817	14832	
						14888	14903	
						14947	14962	
						15007	15022	
						15079	15094	
						15222	15237	
						15294	15309	
						15353	15368	
						15413	15428	
						15485	15500	
						15557	15572	
						15615	15630	
						15687	15702	
						15817	15832	
						15889	15904	
						15947	15962	
548151	2139	2154	GGGCTTCAGCCAGACA	eekd$_{10}$kke	35	34238	34253	1691
548152	2140	2155	CGGGCTTCAGCCAGAC	eekd$_{10}$kke	32	34239	34254	1692
548153	2149	2164	TGCTGAAAGCGGGCTT	eekd$_{10}$kke	44	34248	34263	1693
548154	2150	2165	GTGCTGAAAGCGGGCT	eekd$_{10}$kke	7	34249	34264	1694
548155	2151	2166	CGTGCTGAAAGCGGGC	eekd$_{10}$kke	76	34250	34265	1695
548156	2168	2183	TCAGCCCCTGGTTACG	eekd$_{10}$kke	0	34267	34282	1696
548157	2172	2187	ATTGTCAGCCCCTGGT	eekd$_{10}$kke	7	34271	34286	1697
548158	2174	2189	GCATTGTCAGCCCCTG	eekd$_{10}$kke	18	34273	34288	1698
548159	2175	2190	CGCATTGTCAGCCCCT	eekd$_{10}$kke	59	34274	34289	1699
548160	2176	2191	TCGCATTGTCAGCCCC	eekd$_{10}$kke	60	34275	34290	1700
548161	2177	2192	CTCGCATTGTCAGCCC	eekd$_{10}$kke	59	34276	34291	1701
548162	2178	2193	CCTCGCATTGTCAGCC	eekd$_{10}$kke	25	34277	34292	1702
548	2179	2194	ACCTCGCATTGTC	eekd$_{10}$kk	46	34278	34293	17

163			AGC	e				03
548 164	2180	2195	GACCTCGCATTGT CAG	eekd$_{10}$kke	40	34279	34294	17 04
548 165	2181	2196	CGACCTCGCATT GTCA	eekd$_{10}$kke	53	34280	34295	17 05
548 166	2182	2197	GCGACCTCGCAT TGTC	eekd$_{10}$kke	0	34281	34296	17 06
548 167	2183	2198	TGCGACCTCGCA TTGT	eekd$_{10}$kke	36	34282	34297	17 07
548 168	2184	2199	TTGCGACCTCGC ATTG	eekd$_{10}$kke	61	34283	34298	17 08
548 169	2185	2200	GTTGCGACCTCG CATT	eekd$_{10}$kke	7	34284	34299	17 09
548 170	2186	2201	AGTTGCGACCTC GCAT	eekd$_{10}$kke	68	34285	34300	17 10
548 171	2187	2202	CAGTTGCGACCT CGCA	eekd$_{10}$kke	47	34286	34301	17 11
548 172	2188	2203	TCAGTTGCGACCT CGC	eekd$_{10}$kke	0	34287	34302	17 12
548 173	2189	2204	CTCAGTTGCGAC CTCG	eekd$_{10}$kke	51	34288	34303	17 13
548 174	2190	2205	TCTCAGTTGCGAC CTC	eekd$_{10}$kke	68	34289	34304	17 14
548 175	2191	2206	ATCTCAGTTGCG ACCT	eekd$_{10}$kke	0	34290	34305	17 15
548 176	2192	2207	GATCTCAGTTGC GACC	eekd$_{10}$kke	38	34291	34306	17 16
548 177	2193	2208	AGATCTCAGTTG CGAC	eekd$_{10}$kke	45	34292	34307	17 17
548 178	2194	2209	GAGATCTCAGTT GCGA	eekd$_{10}$kke	54	34293	34308	17 18
548 179	2195	2210	GGAGATCTCAGT TGCG	eekd$_{10}$kke	52	34294	34309	17 19
548 180	2199	2214	TCATGGAGATCT CAGT	eekd$_{10}$kke	79	34298	34313	17 20
548 181	2200	2215	GTCATGGAGATC TCAG	eekd$_{10}$kke	55	34299	34314	17 21
548 182	2201	2216	AGTCATGGAGAT CTCA	eekd$_{10}$kke	55	34300	34315	17 22
548 183	2202	2217	CAGTCATGGAGA TCTC	eekd$_{10}$kke	43	34301	34316	17 23
548 184	2203	2218	ACAGTCATGGAG ATCT	eekd$_{10}$kke	73	34302	34317	17 24
548 185	2208	2223	AACACACAGTCA TGGA	eekd$_{10}$kke	23	34307	34322	17 25
548 186	2209	2224	CAACACACAGTC ATGG	eekd$_{10}$kke	0	34308	34323	17 26

548187	н.д.	н.д.	CATCCTATCCGTGTTC	eekd$_{10}$kke	33	3279	3294	1727
548189	н.д.	н.д.	CATGAACATCCTATCC	eekd$_{10}$kke	24	3285	3300	1728
548190	н.д.	н.д.	TATTCCATGAACATCC	eekd$_{10}$kke	43	3290	3305	1729
548191	н.д.	н.д.	GTCAACATATTCCATG	eekd$_{10}$kke	0	3297	3312	1730
548192	н.д.	н.д.	CCTGTCAACATATTCC	eekd$_{10}$kke	65	3300	3315	1731
548193	н.д.	н.д.	TGTCCTGTCAACATAT	eekd$_{10}$kke	58	3303	3318	1732
548194	н.д.	н.д.	GCCAACAGTTCAACT	eekd$_{10}$kke	61	3322	3337	1733
548195	н.д.	н.д.	TTCTGCCAACAGTTTC	eekd$_{10}$kke	84	3326	3341	1734
548196	н.д.	н.д.	CAATATTGACTTTGGG	eekd$_{10}$kke	6	3343	3358	1735
548197	н.д.	н.д.	TGCTTGGCTTCAATAT	eekd$_{10}$kke	68	3353	3368	1736
548198	н.д.	н.д.	ACTGCAGGCAATATTT	eekd$_{10}$kke	49	3369	3384	1737
548199	н.д.	н.д.	GCACTGCAGGCAATAT	eekd$_{10}$kke	24	3371	3386	1738
548200	н.д.	н.д.	CTAATGTGGCACTGCA	eekd$_{10}$kke	19	3379	3394	1739
548201	н.д.	н.д.	TGTTCTAATGTGGCAC	eekd$_{10}$kke	67	3383	3398	1740
548202	н.д.	н.д.	GCTGTTCTAATGTGGC	eekd$_{10}$kke	9	3385	3400	1741
548203	н.д.	н.д.	TGACTAGTGAATGGCT	eekd$_{10}$kke	73	2280	2295	1742
548204	н.д.	н.д.	TCTGACTAGTGAATGG	eekd$_{10}$kke	25	2282	2297	1743
548205	н.д.	н.д.	TCAATCTGACTAGTGA	eekd$_{10}$kke	14	2286	2301	1744
548206	н.д.	н.д.	GGTCAATCTGACTAGT	eekd$_{10}$kke	45	2288	2303	1745
548207	н.д.	н.д.	CTGGTCAATCTGACTA	eekd$_{10}$kke	60	2290	2305	1746
548208	н.д.	н.д.	CTCTGGTCAATCTGAC	eekd$_{10}$kke	19	2292	2307	1747
548209	н.д.	н.д.	CAATCTCTGGTCAATC	eekd$_{10}$kke	57	2296	2311	1748
548210	н.д.	н.д.	CAACAATCTCTGGTCA	eekd$_{10}$kke	55	2299	2314	1749
548	н.д.	н.д.	ACCAACAATCTC	eekd$_{10}$kk	51	2301	2316	17

211			TGGT	e				50
548212	н.д.	н.д.	AGCCCACCAACAATCT	eekd$_{10}$kke	44	2306	2321	1751
548213	н.д.	н.д.	GACAGCCCACCAACAA	eekd$_{10}$kke	70	2309	2324	1752
548214	н.д.	н.д.	CAGACAGCCCACCAAC	eekd$_{10}$kke	55	2311	2326	1753
548215	н.д.	н.д.	GCATAGACCCCAACAG	eekd$_{10}$kke	61	2324	2339	1754
548216	н.д.	н.д.	GTGCATAGACCCCAAC	eekd$_{10}$kke	45	2326	2341	1755
548217	н.д.	н.д.	CTGTGCATAGACCCCA	eekd$_{10}$kke	69	2328	2343	1756
548218	н.д.	н.д.	TCCTGTGCATAGACCC	eekd$_{10}$kke	59	2330	2345	1757
548219	н.д.	н.д.	GAAATCCTGTGCATAG	eekd$_{10}$kke	8	2334	2349	1758
548220	н.д.	н.д.	GCAGAAATCCTGTGCA	eekd$_{10}$kke	69	2337	2352	1759
548221	н.д.	н.д.	ACTCCAGCAGAAATCC	eekd$_{10}$kke	49	2343	2358	1760
548222	н.д.	н.д.	AATCATGCCTTGTGGG	eekd$_{10}$kke	32	4765	4780	1761
548223	н.д.	н.д.	TAGACCCAGAATCATG	eekd$_{10}$kke	50	4774	4789	1762
548224	н.д.	н.д.	CCATAGACCCAGAATC	eekd$_{10}$kke	20	4777	4792	1763
548225	н.д.	н.д.	AGTCACCATAGACCCA	eekd$_{10}$kke	48	4782	4797	1764
548226	н.д.	н.д.	TAAGTCACCATAGACC	eekd$_{10}$kke	39	4784	4799	1765
548227	н.д.	н.д.	GTGGCCCTCTTAAGTC	eekd$_{10}$kke	0	4794	4809	1766

Таблица 147

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт инициации	SEQ ID NO: 1 сайт терминации	Последовательность	Химизм	% ингибирования	SEQ ID NO: 10 сайт инициации	SEQ ID NO: 10 сайт терминации	SEQ ID NO
531231	н.д.	н.д.	TATCACTGTACTAGTTTCCT	eeeeed$_{10}$eeeee	42	14744	14763	334
						14815	14834	
						14886	14905	
						14945	14964	
						15005	15024	

						15077	15096	
						15220	15239	
						15292	15311	
						15351	15370	
						15411	15430	
						15483	15502	
						15555	15574	
						15613	15632	
						15685	15704	
						15815	15834	
						15887	15906	
						15945	15964	
547747	н.д.	н.д.	TCACTGTACTAGTTTC	eekd$_{10}$kke	80	14746	14761	1267
						14817	14832	
						14888	14903	
						14947	14962	
						15007	15022	
						15079	15094	
						15222	15237	
						15294	15309	
						15353	15368	
						15413	15428	
						15485	15500	
						15557	15572	
						15615	15630	
						15687	15702	
						15817	15832	
						15889	15904	
						15947	15962	
548228	н.д.	н.д.	GTTGTGTGGCCCTCTT	eekd$_{10}$kke	37	4799	4814	1767
548229	н.д.	н.д.	CATTGTTGTGTGGCCC	eekd$_{10}$kke	31	4803	4818	1768
548230	н.д.	н.д.	TACTCATTGTTGTGTG	eekd$_{10}$kke	10	4807	4822	1769
548231	н.д.	н.д.	AATACTCATTGTTGTG	eekd$_{10}$kke	11	4809	4824	1770
548232	н.д.	н.д.	GCCATACATCTGAGGA	eekd$_{10}$kke	3	4831	4846	1771
548233	н.д.	н.д.	ATTGTAGCCATACATC	eekd$_{10}$kke	38	4837	4852	1772
548234	н.д.	н.д.	TTATTGTAGCCATACA	eekd$_{10}$kke	17	4839	4854	1773
548	н.д.	н.д.	TCTAGATGACCT	eekd$_{10}$kk	0	18147	18162	17

235			GAAG	e				74
548 236	н.д.	н.д.	TACATCTAGATG ACCT	eekd$_{10}$kk e	37	18151	18166	17 75
548 237	н.д.	н.д.	GTATACATCTAG ATGA	eekd$_{10}$kk e	22	18154	18169	17 76
548 238	н.д.	н.д.	ACTCGCCTTTGTG ACT	eekd$_{10}$kk e	31	26268	26283	17 77
548 239	н.д.	н.д.	TACTCGCCTTTGT GAC	eekd$_{10}$kk e	18	26269	26284	17 78
548 240	н.д.	н.д.	ATACTCGCCTTTG TGA	eekd$_{10}$kk e	3	26270	26285	17 79
						26301	26316	
548 241	н.д.	н.д.	CATACTCGCCTTT GTG	eekd$_{10}$kk e	1	26271	26286	17 80
						26302	26317	
548 242	н.д.	н.д.	GCATACTCGCCTT TGT	eekd$_{10}$kk e	25	26272	26287	17 81
						26303	26318	
548 243	н.д.	н.д.	ATGCATACTCGC CTTT	eekd$_{10}$kk e	0	26274	26289	17 82
						26305	26320	
548 244	н.д.	н.д.	CATGCATACTCG CCTT	eekd$_{10}$kk e	51	26275	26290	17 83
						26306	26321	
548 245	н.д.	н.д.	CCATGCATACTC GCCT	eekd$_{10}$kk e	31	26276	26291	17 84
						26307	26322	
548 246	н.д.	н.д.	TTCCATGCATACT CGC	eekd$_{10}$kk e	46	26278	26293	17 85
548 247	н.д.	н.д.	CGATTTTCCATGC ATA	eekd$_{10}$kk e	56	26283	26298	17 86
548 248	н.д.	н.д.	TGCGATTTTCCAT GCA	eekd$_{10}$kk e	13	26285	26300	17 87
548 249	н.д.	н.д.	TGTGATGCGATTT TCC	eekd$_{10}$kk e	22	26290	26305	17 88
548 250	н.д.	н.д.	CTTTGTGATGCGA TTT	eekd$_{10}$kk e	0	26293	26308	17 89
548 251	н.д.	н.д.	GCCTTTGTGATGC GAT	eekd$_{10}$kk e	13	26295	26310	17 90
548 252	н.д.	н.д.	ACTCGCCTTTGTG ATG	eekd$_{10}$kk e	33	26299	26314	17 91
548 253	н.д.	н.д.	TACTCGCCTTTGT GAT	eekd$_{10}$kk e	8	26300	26315	17 92
548 254	н.д.	н.д.	CCCATGCATACTC GCC	eekd$_{10}$kk e	39	26308	26323	17 93
548 255	н.д.	н.д.	CCCCATGCATACT CGC	eekd$_{10}$kk e	38	26309	26324	17 94
548 256	н.д.	н.д.	GCTCCCCATGCAT ACT	eekd$_{10}$kk e	25	26312	26327	17 95
548	н.д.	н.д.	AGTGCTCCCCAT	eekd$_{10}$kk	2	26315	26330	17

257			GCAT	e				96
548258	н.д.	н.д.	CAAGTGCTCCCCATGC	eekd$_{10}$kke	0	26317	26332	1797
548259	н.д.	н.д.	GTGATGAAAGTACAGC	eekd$_{10}$kke	45	26335	26350	1798
548260	н.д.	н.д.	AGGAGTTTGTCAGAAC	eekd$_{10}$kke	28	3210	3225	1799
548261	н.д.	н.д.	TTCAGGGAGTGATGTC	eekd$_{10}$kke	36	3241	3256	1800
548262	н.д.	н.д.	CCTATCCGTGTTCAGC	eekd$_{10}$kke	73	3276	3291	1801
548263	н.д.	н.д.	CTCTACATACTCAGGA	eekd$_{10}$kke	62	3561	3576	1802
548264	н.д.	н.д.	CAGTCCAAAAATCCCT	eekd$_{10}$kke	60	3701	3716	1803
548265	н.д.	н.д.	CCTCTTGATTTGGGCA	eekd$_{10}$kke	85	3749	3764	1804
548266	н.д.	н.д.	TTGGCCAACTCTGTGG	eekd$_{10}$kke	44	3816	3831	1805
548267	н.д.	н.д.	GACCTCCAGACTACTG	eekd$_{10}$kke	34	3848	3863	1806
548268	н.д.	н.д.	TGTGTCTAGGGAGTTG	eekd$_{10}$kke	52	3898	3913	1807
548269	н.д.	н.д.	AGCACACAATTACTGG	eekd$_{10}$kke	62	3946	3961	1808
548270	н.д.	н.д.	CTGCTGGTTTTAGACC	eekd$_{10}$kke	28	4029	4044	1809
548271	н.д.	н.д.	TTCACTTACCACAGGA	eekd$_{10}$kke	56	4122	4137	1810
548272	н.д.	н.д.	GGTGCCACTTGCTTGG	eekd$_{10}$kke	54	4178	4193	1811
548273	н.д.	н.д.	AATCTCCACCCCCGAA	eekd$_{10}$kke	5	4224	4239	1812
548274	н.д.	н.д.	TACCTGACAAGTGGTC	eekd$_{10}$kke	0	4287	4302	1813
548275	н.д.	н.д.	GTCCCAAGACATTCCT	eekd$_{10}$kke	40	4350	4365	1814
548276	н.д.	н.д.	CAGAGTGTCATCTGCG	eekd$_{10}$kke	49	4389	4404	1815
548277	н.д.	н.д.	GGATTGGACCCAGACA	eekd$_{10}$kke	57	4511	4526	1816
548278	н.д.	н.д.	GGTTCCCTAGCGGTCC	eekd$_{10}$kke	74	4564	4579	1817
548279	н.д.	н.д.	CACCTAGAACTATCCA	eekd$_{10}$kke	39	4632	4647	1818
548280	н.д.	н.д.	CTCCCTCTGTAATGAT	eekd$_{10}$kke	43	4736	4751	1819

548281	н.д.	н.д.	GGTTGAGGGACAGACA	eekd$_{10}$kke	0	4944	4959	1820
548282	н.д.	н.д.	GTGGGTTTGCACATGG	eekd$_{10}$kke	73	4992	5007	1821
548283	н.д.	н.д.	GGCTTATGCTCCTTCT	eekd$_{10}$kke	56	5017	5032	1822
548284	н.д.	н.д.	CCCCCTGTAGTTGGCT	eekd$_{10}$kke	35	5051	5066	1823
548285	н.д.	н.д.	GCTTACTTACATCCCT	eekd$_{10}$kke	52	5132	5147	1824
548286	н.д.	н.д.	GGGACTACATGCAATA	eekd$_{10}$kke	47	5166	5181	1825
548287	н.д.	н.д.	GTCAAAGAGTGTCCAC	eekd$_{10}$kke	38	5283	5298	1826
548288	н.д.	н.д.	GAATAGCAAGCTCCAA	eekd$_{10}$kke	64	5348	5363	1827
548289	н.д.	н.д.	CATGATACCACACCAC	eekd$_{10}$kke	28	5484	5499	1828
548290	н.д.	н.д.	GAGCACTCTTATTAGC	eekd$_{10}$kke	31	5546	5561	1829
548291	н.д.	н.д.	CCTGTTAGAGTTGGCC	eekd$_{10}$kke	35	5576	5591	1830
548292	н.д.	н.д.	AGGACACTGTTTCCAG	eekd$_{10}$kke	38	5627	5642	1831
548293	н.д.	н.д.	GTCACCAGAACCACAT	eekd$_{10}$kke	44	5683	5698	1832
548294	н.д.	н.д.	GTGTGCACTTTCTGGT	eekd$_{10}$kke	33	5716	5731	1833
548295	н.д.	н.д.	CTCTGATTGGGTCACC	eekd$_{10}$kke	26	5746	5761	1834
548296	н.д.	н.д.	ACCAACAACTCAGGCC	eekd$_{10}$kke	34	5858	5873	1835
548297	н.д.	н.д.	ACTCTCAAGCTCCACG	eekd$_{10}$kke	32	5889	5904	1836
548298	н.д.	н.д.	GGACAATATGTCTCCT	eekd$_{10}$kke	0	5935	5950	1837
548299	н.д.	н.д.	CATTGTGCTCAACTGA	eekd$_{10}$kke	35	5961	5976	1838
548300	н.д.	н.д.	GCCCATGGTGAATCTG	eekd$_{10}$kke	53	5995	6010	1839
548301	н.д.	н.д.	CCTAGTACAAAGTGGC	eekd$_{10}$kke	65	6050	6065	1840
548302	н.д.	н.д.	GCCATTTTATCCCTGA	eekd$_{10}$kke	71	6134	6149	1841
548303	н.д.	н.д.	GGGCCCCCATGTCCAT	eekd$_{10}$kke	0	6336	6351	1842

Таблица 148

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт инициации	SEQ ID NO: 1 сайт терминации	Последовательность	Химизм	% ингибирования	SEQ ID NO: 10 сайт инициации	SEQ ID NO: 10 сайт терминации	SEQ ID NO
531231	н.д.	н.д.	TATCACTGTACTAGTTTCCT	eeeeed$_{10}$eeeee	72	14744	14763	334
						14815	14834	
						14886	14905	
						14945	14964	
						15005	15024	
						15077	15096	
						15220	15239	
						15292	15311	
						15351	15370	
						15411	15430	
						15483	15502	
						15555	15574	
						15613	15632	
						15685	15704	
						15815	15834	
						15887	15906	
						15945	15964	
547747	н.д.	н.д.	TCACTGTACTAGTTTC	eekd$_{10}$kke	67	14746	14761	1267
						14817	14832	
						14888	14903	
						14947	14962	
						15007	15022	
						15079	15094	
						15222	15237	
						15294	15309	
						15353	15368	
						15413	15428	
						15485	15500	
						15557	15572	
						15615	15630	
						15687	15702	
						15817	15832	
						15889	15904	
						15947	15962	
548305	н.д.	н.д.	GTTCTTGCTTATCCTC	eekd$_{10}$kke	55	6484	6499	1843

548306	н.д.	н.д.	ATGTGACAGTCAGGGA	eekd$_{10}$kke	8	6559	6574	1844
548307	н.д.	н.д.	TTCTGCAACTGAGCCT	eekd$_{10}$kke	6	6587	6602	1845
548308	н.д.	н.д.	AATGGCAGGTCCTGGC	eekd$_{10}$kke	9	6616	6631	1846
548309	н.д.	н.д.	AGACAGTTGGTGGTTT	eekd$_{10}$kke	41	6700	6715	1847
548310	н.д.	н.д.	GAGGAGTTGGTTTAGT	eekd$_{10}$kke	0	6750	6765	1848
548311	н.д.	н.д.	TGACCACCTCTCGGGT	eekd$_{10}$kke	10	6860	6875	1849
548312	н.д.	н.д.	ATTTGGCCCTGAGCCC	eekd$_{10}$kke	0	6935	6950	1850
548313	н.д.	н.д.	GCCTTTGAGGGAGTGG	eekd$_{10}$kke	35	7024	7039	1851
548314	н.д.	н.д.	ACAACCTGTCCATTCC	eekd$_{10}$kke	43	7087	7102	1852
548315	н.д.	н.д.	GTTGTCAACTGGGACC	eekd$_{10}$kke	14	7125	7140	1853
548316	н.д.	н.д.	CTGTTCAGGTAGCACA	eekd$_{10}$kke	64	7150	7165	1854
548317	н.д.	н.д.	CCGGGAAAGACTGTCT	eekd$_{10}$kke	42	7190	7205	1855
548318	н.д.	н.д.	ACTGCACCCCACATAT	eekd$_{10}$kke	18	7257	7272	1856
548319	н.д.	н.д.	CCTCATCTCAGTATGA	eekd$_{10}$kke	26	7398	7413	1857
548320	н.д.	н.д.	GCACACAGACTTGCCC	eekd$_{10}$kke	0	7508	7523	1858
548321	н.д.	н.д.	CTGCATCTGGACTATG	eekd$_{10}$kke	38	7559	7574	1859
548322	н.д.	н.д.	AGGGAAATTAGAGGCA	eekd$_{10}$kke	38	7586	7601	1860
548323	н.д.	н.д.	CTGTTGCCTGACATGC	eekd$_{10}$kke	43	7696	7711	1861
548324	н.д.	н.д.	ACATAAATTCCCCACA	eekd$_{10}$kke	29	7741	7756	1862
548325	н.д.	н.д.	CCCACTGACTGACTAC	eekd$_{10}$kke	27	7906	7921	1863
548326	н.д.	н.д.	TCCTGTGACAGAACCA	eekd$_{10}$kke	27	7988	8003	1864
548327	н.д.	н.д.	CTACACCTTTCTGCAC	eekd$_{10}$kke	6	8221	8236	1865
548328	н.д.	н.д.	GGTCCTTGAACCCCGT	eekd$_{10}$kke	68	8260	8275	1866
548	н.д.	н.д.	AGCAGATCTGGG	eekd$_{10}$kk	59	8328	8343	18

329			TTGT	e				67
548330	н.д.	н.д.	GACTAGCTTCTACTAC	eekd10kke	34	8404	8419	1868
548331	н.д.	н.д.	ACAATCCCTTAGCCCA	eekd10kke	73	8457	8472	1869
548332	н.д.	н.д.	GATGAAATGTGCACCT	eekd10kke	46	8491	8506	1870
548333	н.д.	н.д.	GACTGTGCTATCCGCT	eekd10kke	58	8550	8565	1871
548334	н.д.	н.д.	GCTCACTATAGGCCCC	eekd10kke	69	8656	8671	1872
548335	н.д.	н.д.	TAGCATCATGCCACAG	eekd10kke	51	8684	8699	1873
548336	н.д.	н.д.	GCACATTAGGAGGTAG	eekd10kke	1	9039	9054	1874
548337	н.д.	н.д.	TACCGCTGGGTGCGGT	eekd10kke	10	9075	9090	1875
548338	н.д.	н.д.	ATGAAACTGTGGCTCG	eekd10kke	80	9131	9146	1876
548339	н.д.	н.д.	ACATGTGGGATCAGAG	eekd10kke	37	9275	9290	1877
548340	н.д.	н.д.	GATGATCCTCACATAC	eekd10kke	35	9316	9331	1878
548341	н.д.	н.д.	TAGAACCTTCCTCCAC	eekd10kke	30	9341	9356	1879
548342	н.д.	н.д.	GGAAGACTTCCCTCTG	eekd10kke	0	9403	9418	1880
548343	н.д.	н.д.	TAGTGATAAGAGCTGG	eekd10kke	78	9472	9487	1881
548344	н.д.	н.д.	GGCAACTATGTTCTCA	eekd10kke	76	9536	9551	1882
548345	н.д.	н.д.	CTAACTCCATCACTGC	eekd10kke	55	9637	9652	1883
548346	н.д.	н.д.	TCCCCAATACTTGCTG	eekd10kke	35	9696	9711	1884
548347	н.д.	н.д.	GCTGTTCTAAGCGAGA	eekd10kke	31	9976	9991	1885
548348	н.д.	н.д.	TGAGTGATGCCTTCCA	eekd10kke	82	10024	10039	1886
548349	н.д.	н.д.	TCCAGAATACTGCCCC	eekd10kke	61	10054	10069	1887
548350	н.д.	н.д.	GCGCTAACCTCATAAA	eekd10kke	29	10148	10163	1888
548351	н.д.	н.д.	CTGGAAACGAGACACA	eekd10kke	33	10201	10216	1889
548352	н.д.	н.д.	GAGAGAGATGTTCCCT	eekd10kke	47	10240	10255	1890

548 353	н.д.	н.д.	CTGCTGGTTGAG AATC	eekd$_{10}$kk e	48	10287	10302	18 91
548 354	н.д.	н.д.	ATGTCCCCAGTG GAAG	eekd$_{10}$kk e	41	10314	10329	18 92
548 355	н.д.	н.д.	GCATCCTCCCTAG TTG	eekd$_{10}$kk e	47	10362	10377	18 93
548 356	н.д.	н.д.	TGTTGGTCAGCAT TCA	eekd$_{10}$kk e	63	10411	10426	18 94
548 357	н.д.	н.д.	GACGACTGCCCT GTGC	eekd$_{10}$kk e	69	10436	10451	18 95
548 358	н.д.	н.д.	ATTTGGGCCTAGT GGT	eekd$_{10}$kk e	0	10515	10530	18 96
548 359	н.д.	н.д.	CCTAGTCCTCAA GTTT	eekd$_{10}$kk e	0	10580	10595	18 97
548 360	н.д.	н.д.	CAAGACATCAGT AGCT	eekd$_{10}$kk e	45	10626	10641	18 98
548 361	н.д.	н.д.	CTTATCAGTCCCA GTC	eekd$_{10}$kk e	52	10702	10717	18 99
548 362	н.д.	н.д.	GACAACCCATCA GTTG	eekd$_{10}$kk e	33	10742	10757	19 00
548 363	н.д.	н.д.	CAGCAGGCTCAA AGTG	eekd$_{10}$kk e	37	10915	10930	19 01
548 364	н.д.	н.д.	TGGCTAAGTCAG GCCC	eekd$_{10}$kk e	30	10982	10997	19 02
548 365	н.д.	н.д.	TGTACTCCACCTC ACG	eekd$_{10}$kk e	55	11017	11032	19 03
548 366	н.д.	н.д.	AGCAAGCTAAGT GAGT	eekd$_{10}$kk e	5	11199	11214	19 04
548 367	н.д.	н.д.	GTTCTTGAGTGTA GAG	eekd$_{10}$kk e	52	11260	11275	19 05
548 368	н.д.	н.д.	GTGTTCATACGG AAGC	eekd$_{10}$kk e	59	11299	11314	19 06
548 369	н.д.	н.д.	GTTGGGATGCGA CTCT	eekd$_{10}$kk e	50	11335	11350	19 07
548 370	н.д.	н.д.	ACGAAGTCTCTTT CCT	eekd$_{10}$kk e	53	11385	11400	19 08
548 371	н.д.	н.д.	CGATGAGTTGGG CAGG	eekd$_{10}$kk e	57	11454	11469	19 09
548 372	н.д.	н.д.	GATACCTTTCCAC TCC	eekd$_{10}$kk e	61	11558	11573	19 10
548 373	н.д.	н.д.	TCCCCAAGATTAT GTG	eekd$_{10}$kk e	16	11596	11611	19 11
548 374	н.д.	н.д.	GCACCCTTTTCAT TGA	eekd$_{10}$kk e	41	12074	12089	19 12
548 375	н.д.	н.д.	TCGACTTCTCCTG TCT	eekd$_{10}$kk e	27	12199	12214	19 13
548 376	н.д.	н.д.	GCCTTTGACCTTT CGC	eekd$_{10}$kk e	65	12261	12276	19 14
548 377	н.д.	н.д.	GTGTGCTGAGGT TTGC	eekd$_{10}$kk e	80	12297	12312	19 15
548 378	н.д.	н.д.	GCAAGATGCATG CAGC	eekd$_{10}$kk e	49	12393	12408	19 16
548 379	н.д.	н.д.	ATCGAACTCTGCT TGA	eekd$_{10}$kk e	44	12477	12492	19 17
548 380	н.д.	н.д.	GCCCAGTTTTGGC AAC	eekd$_{10}$kk e	7	12540	12555	19 18
548 381	н.д.	н.д.	CCCACTACCATTT GGG	eekd$_{10}$kk e	0	12578	12593	19 19

Таблица 149

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт инициации	SEQ ID NO: 1 сайт терминации	Последовательность	Химизм	% ингибирования	SEQ ID NO: 10 сайт инициации	SEQ ID NO: 10 сайт терминации	SEQ ID NO
531231	н.д.	н.д.	TATCACTGTACTAGTTTCCT	eeeeed$_{10}$eeeee	46	14744	14763	334
						14815	14834	
						14886	14905	
						14945	14964	
						15005	15024	
						15077	15096	
						15220	15239	
						15292	15311	
						15351	15370	
						15411	15430	
						15483	15502	
						15555	15574	
						15613	15632	
						15685	15704	
						15815	15834	
						15887	15906	
						15945	15964	
547747	н.д.	н.д.	TCACTGTACTAGTTTC	eekd$_{10}$kke	64	14746	14761	1267
						14817	14832	
						14888	14903	
						14947	14962	
						15007	15022	
						15079	15094	
						15222	15237	
						15294	15309	

						15353	15368	
						15413	15428	
						15485	15500	
						15557	15572	
						15615	15630	
						15687	15702	
						15817	15832	
						15889	15904	
						15947	15962	
548459	н.д.	н.д.	CAACTATAACAGTATC	eekd10kke	26	15903	15918	1920
548460	н.д.	н.д.	CTATACCACGGTAACT	eekd10kke	0	16036	16051	1921
548461	н.д.	н.д.	CCTATATCACTGTAAC	eekd10kke	0	16127	16142	1922
548462	н.д.	н.д.	ACCTATATCACTGTAA	eekd10kke	0	16128	16143	1923
548463	н.д.	н.д.	TCACTGTACCTATATC	eekd10kke	0	16135	16150	1924
548464	н.д.	н.д.	GTCCTATAACTATATC	eekd10kke	0	16174	16189	1925
548465	н.д.	н.д.	CTGTACCTATAACTGT	eekd10kke	0	16202	16217	1926
548466	н.д.	н.д.	CGTCACTGTACCTATA	eekd10kke	71	16207	16222	1927
548467	н.д.	н.д.	CATCACTGTACCTATA	eekd10kke	20	16258	16273	1928
548468	н.д.	н.д.	CAACATCACTGTACCT	eekd10kke	6	16261	16276	1929
548469	н.д.	н.д.	TTCCCTACCCCTGGTA	eekd10kke	0	16331	16346	1930
548470	н.д.	н.д.	GGTGGAATGTCATGGC	eekd10kke	56	16404	16419	1931
548471	н.д.	н.д.	GCGGAAAACTGGCCGT	eekd10kke	17	16474	16489	1932
548472	н.д.	н.д.	CCCAATACAGGGCCAG	eekd10kke	0	16513	16528	1933
548473	н.д.	н.д.	CCAACCTTCCCAATCT	eekd10kke	0	16554	16569	1934
548474	н.д.	н.д.	GAAGGTGTGCTGTCGC	eekd10kke	33	16602	16617	1935
548475	н.д.	н.д.	ATCGAGTCCTGCCTCC	eekd10kke	17	16707	16722	1936
548476	н.д.	н.д.	GCAAATCCTTCCAGCA	eekd10kke	27	16755	16770	1937
548	н.д.	н.д.	GCACGAGCTTGC	eekd10kk	26	16787	16802	19

477			CTGT	e				38
548 478	н.д.	н.д.	GAGCCATCCAGG GTGC	eekd$_{10}$kk e	53	16845	16860	19 39
548 479	н.д.	н.д.	AGGCCATTTGAT CCGA	eekd$_{10}$kk e	68	16913	16928	19 40
548 480	н.д.	н.д.	GCCACGCCCTTA GCAG	eekd$_{10}$kk e	20	16973	16988	19 41
548 481	н.д.	н.д.	GTTCCCTGAGGA ACGG	eekd$_{10}$kk e	2	17010	17025	19 42
548 482	н.д.	н.д.	GGCAGTTAGGCC AGGA	eekd$_{10}$kk e	53	17068	17083	19 43
548 483	н.д.	н.д.	CTACAGATCATC CCTA	eekd$_{10}$kk e	5	17102	17117	19 44
548 484	н.д.	н.д.	CCCCGGAGCACC TTCA	eekd$_{10}$kk e	41	17207	17222	19 45
548 485	н.д.	н.д.	GTGACCCAAGGG TCGA	eekd$_{10}$kk e	17	17252	17267	19 46
548 486	н.д.	н.д.	CGTGGTTAGCCT GACA	eekd$_{10}$kk e	68	17416	17431	19 47
548 487	н.д.	н.д.	TCCATGTCAGAG TTGC	eekd$_{10}$kk e	71	17461	17476	19 48
548 488	н.д.	н.д.	CCTCCTTTTGGCT TGA	eekd$_{10}$kk e	63	17530	17545	19 49
548 489	н.д.	н.д.	TTCCCCAGAGGT GATA	eekd$_{10}$kk e	16	17582	17597	19 50
548 490	н.д.	н.д.	TCTGGTTAGCCTC CGA	eekd$_{10}$kk e	58	17664	17679	19 51
548 491	н.д.	н.д.	TGGCCAAGCAAC CAGT	eekd$_{10}$kk e	57	17715	17730	19 52
548 492	н.д.	н.д.	GCCCAATGTCCT AACC	eekd$_{10}$kk e	51	17794	17809	19 53
548 493	н.д.	н.д.	CCACCGCTGCCC GCCA	eekd$_{10}$kk e	37	18013	18028	19 54
548 494	н.д.	н.д.	TGTGACCCCCCA CCGC	eekd$_{10}$kk e	39	18022	18037	19 55
548 495	н.д.	н.д.	TTGTGACCCCCCA CCG	eekd$_{10}$kk e	55	18023	18038	19 56
548 496	н.д.	н.д.	ACTGAACCCCCTT AGG	eekd$_{10}$kk e	0	18571	18586	19 57
548 497	н.д.	н.д.	CCTTCATACCCCT CAC	eekd$_{10}$kk e	26	18725	18740	19 58
548 498	н.д.	н.д.	CCGATAACAGAC CGGC	eekd$_{10}$kk e	71	18795	18810	19 59
548 499	н.д.	н.д.	ATACCCGGAGTC AGGA	eekd$_{10}$kk e	56	18955	18970	19 60
548 500	н.д.	н.д.	ATTGCTCAGGCC CCCT	eekd$_{10}$kk e	29	19037	19052	19 61

548 501	н.д.	н.д.	CAAGCCACTAAC CCAC	eekd$_{10}$kk e	33	19147	19162	1962
548 502	н.д.	н.д.	AATTCTTGGACC AAGG	eekd$_{10}$kk e	25	19234	19249	1963
548 503	н.д.	н.д.	CCATCTACTCCCC CAT	eekd$_{10}$kk e	9	19291	19306	1964
548 504	н.д.	н.д.	GCAGCGAGCATT CCAA	eekd$_{10}$kk e	28	19352	19367	1965
548 505	н.д.	н.д.	GGACAATGCCTA TGCT	eekd$_{10}$kk e	21	19386	19401	1966
548 506	н.д.	н.д.	GAAGCCATTCAC TGCA	eekd$_{10}$kk e	32	19436	19451	1967
548 507	н.д.	н.д.	AAACTCCTCTCA AGGC	eekd$_{10}$kk e	53	19474	19489	1968
548 508	н.д.	н.д.	GCACCACCATGC GGTT	eekd$_{10}$kk e	43	19553	19568	1969
548 509	н.д.	н.д.	TGCAGGGCTGCG CAGT	eekd$_{10}$kk e	41	19960	19975	1970
548 510	н.д.	н.д.	TTAGCCACTCCTC TTG	eekd$_{10}$kk e	30	20062	20077	1971
548 511	н.д.	н.д.	AGCTAGCTGACC CCAA	eekd$_{10}$kk e	16	20092	20107	1972
548 512	н.д.	н.д.	TCCGCCTTTGGAT ACT	eekd$_{10}$kk e	49	20155	20170	1973
548 513	н.д.	н.д.	CCTGCTGATTGTG TCT	eekd$_{10}$kk e	16	20240	20255	1974
548 514	н.д.	н.д.	TCGAGGACAGCC CCCA	eekd$_{10}$kk e	40	20335	20350	1975
548 515	н.д.	н.д.	ACCCGTCAGCCT CAGC	eekd$_{10}$kk e	59	20381	20396	1976
548 516	н.д.	н.д.	CTTGCCTATTCAC CCC	eekd$_{10}$kk e	49	20544	20559	1977
548 517	н.д.	н.д.	CGGACAAGCCTT ACAG	eekd$_{10}$kk e	43	20596	20611	1978
548 518	н.д.	н.д.	CACACTTACCCC GCTC	eekd$_{10}$kk e	12	20741	20756	1979
548 519	н.д.	н.д.	CCTCCCCTTGTGT GTC	eekd$_{10}$kk e	31	20843	20858	1980
548 520	н.д.	н.д.	CCGCTTCCCTGAC TGT	eekd$_{10}$kk e	43	20919	20934	1981
548 521	н.д.	н.д.	CAGCTCCCTTACT AGG	eekd$_{10}$kk e	61	20958	20973	1982
548 522	н.д.	н.д.	AGGTATTGACCG CCAG	eekd$_{10}$kk e	55	21062	21077	1983
548 523	н.д.	н.д.	GGTAAATCCATC CCCT	eekd$_{10}$kk e	44	21157	21172	1984
548 524	н.д.	н.д.	GCCCGATCACCTT AGA	eekd$_{10}$kk e	45	21220	21235	1985
548 525	н.д.	н.д.	GTCTAACTGGCCT GGC	eekd$_{10}$kk e	2	21328	21343	1986
548 526	н.д.	н.д.	CTAAGCTGTGTCT CAT	eekd$_{10}$kk e	26	21373	21388	1987
548 527	н.д.	н.д.	TGTTTCAAGTGCC AGA	eekd$_{10}$kk e	50	21434	21449	1988
548 528	н.д.	н.д.	TGCAGTGGTCAA GCAT	eekd$_{10}$kk e	32	21478	21493	1989
548 529	н.д.	н.д.	GCGATTCCTTGCC TCT	eekd$_{10}$kk e	56	21554	21569	1990
548 530	н.д.	н.д.	ATAATAGAGGCA GCCA	eekd$_{10}$kk e	50	21592	21607	1991
548 531	н.д.	н.д.	GTCAGAAGGCCT CTTA	eekd$_{10}$kk e	21	21753	21768	1992
548 532	н.д.	н.д.	TATTTATCCGACC TCT	eekd$_{10}$kk e	34	21881	21896	1993
548 533	н.д.	н.д.	GAGGTGGTTGGA GCTA	eekd$_{10}$kk e	9	21926	21941	1994
548 534	н.д.	н.д.	CAGATCCCAATT CTTC	eekd$_{10}$kk e	22	22063	22078	1995
548 535	н.д.	н.д.	GAGTCTTTCCAAT CCT	eekd$_{10}$kk e	13	22142	22157	1996

Таблица 150

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт инициации	SEQ ID NO: 1 сайт терминации	Последовательность	Химизм	% ингибирования	SEQ ID NO: 10 сайт инициации	SEQ ID NO: 10 сайт терминации	SEQ ID NO
531231	н.д.	н.д.	TATCACTGTACTAGTTTCCT	eeeeed$_{10}$eeeee	46	14744	14763	334
						14815	14834	
						14886	14905	
						14945	14964	
						15005	15024	
						15077	15096	
						15220	15239	
						15292	15311	
						15351	15370	
						15411	15430	
						15483	15502	
						15555	15574	
						15613	15632	
						15685	15704	
						15815	15834	
						15887	15906	
						15945	15964	
547747	н.д.	н.д.	TCACTGTACTAGTTTC	eekd$_{10}$kke	64	14746	14761	1267
						14817	14832	
						14888	14903	
						14947	14962	
						15007	15022	
						15079	15094	
						15222	15237	
						15294	15309	
						15353	15368	
						15413	15428	
						15485	15500	
						15557	15572	
						15615	15630	
						15687	15702	
						15817	15832	
						15889	15904	
						15947	15962	
548536	н.д.	н.д.	TCTCAATCCCAACCCC	eekd$_{10}$kke	0	22168	22183	1997
548537	н.д.	н.д.	CCTCAATCCCAACCCA	eekd$_{10}$kke	0	22191	22206	1998
548538	н.д.	н.д.	TAGTGGCAAGAACCAC	eekd$_{10}$kke	0	22627	22642	1999
548539	н.д.	н.д.	CGCGCGAATGCCTGCC	eekd$_{10}$kke	41	22658	22673	2000
548540	н.д.	н.д.	GACACCTGCTTGATTA	eekd$_{10}$kke	7	22704	22719	2001
548541	н.д.	н.д.	GGCACTGGTCATGGAC	eekd$_{10}$kke	39	22760	22775	2002
548542	н.д.	н.д.	GCGCCATCCTTCAATC	eekd$_{10}$kke	7	22857	22872	2003
548543	н.д.	н.д.	GATCCACCCATGACCT	eekd$_{10}$kke	32	22997	23012	2004
548544	н.д.	н.д.	GCTGTGACTCAGATCA	eekd$_{10}$kke	62	23070	23085	2005
548545	н.д.	н.д.	CTCTTCGCATGGACAC	eekd$_{10}$kke	46	23100	23115	2006
548546	н.д.	н.д.	GCCCAAGCCTACATGC	eekd$_{10}$kke	35	23430	23445	2007
548547	н.д.	н.д.	GTGCGATTAAGCCCCA	eekd$_{10}$kke	86	23514	23529	2008
548	н.д.	н.д.	GCTTGTAGAAGG	eekd$_{10}$kk	54	23631	23646	20

548			GATT	e				09
548 549	н.д.	н.д.	TGTGCAATCAGG TGGA	eekd$_{10}$kk e	56	23765	23780	20 10
548 550	н.д.	н.д.	CCGGCCTGGATA CAGC	eekd$_{10}$kk e	0	23831	23846	20 11
548 551	н.д.	н.д.	CGGCCAATGGGA AAGG	eekd$_{10}$kk e	25	24175	24190	20 12
548 552	н.д.	н.д.	TGGAGGAGTAGG GAAT	eekd$_{10}$kk e	10	24200	24215	20 13
548 553	н.д.	н.д.	CCCGAAGAGTCA AGTC	eekd$_{10}$kk e	46	24255	24270	20 14
548 554	н.д.	н.д.	GTGCTGCATTGC ATGA	eekd$_{10}$kk e	42	24290	24305	20 15
548 555	н.д.	н.д.	ACACGCCAGGTG AAAA	eekd$_{10}$kk e	2	24322	24337	20 16
548 556	н.д.	н.д.	ATGCATGCCTAC CCAA	eekd$_{10}$kk e	43	24526	24541	20 17
548 557	н.д.	н.д.	GTTACTCTGTGAT CCA	eekd$_{10}$kk e	81	24581	24596	20 18
548 558	н.д.	н.д.	AACATTGTGTAG CTGC	eekd$_{10}$kk e	75	24640	24655	20 19
548 559	н.д.	н.д.	GAGACTGAAGCC CTCA	eekd$_{10}$kk e	44	24676	24691	20 20
548 560	н.д.	н.д.	CACTGCCTAGAA AGGC	eekd$_{10}$kk e	16	24734	24749	20 21
548 561	н.д.	н.д.	TGTAGTATCCAG AGTA	eekd$_{10}$kk e	46	24930	24945	20 22
548 562	н.д.	н.д.	AGATGACCTGCA GATG	eekd$_{10}$kk e	50	24983	24998	20 23
548 563	н.д.	н.д.	AAACCATGAATT AGGT	eekd$_{10}$kk e	20	25100	25115	20 24
548 564	н.д.	н.д.	TTGCTACTTTACA CCA	eekd$_{10}$kk e	69	25208	25223	20 25
548 565	н.д.	н.д.	GGCATTAGGATA GGCA	eekd$_{10}$kk e	63	25350	25365	20 26
548 566	н.д.	н.д.	CACTCAGACTGT CTGA	eekd$_{10}$kk e	0	25413	25428	20 27
548 567	н.д.	н.д.	AGATCCGGAATA ACCA	eekd$_{10}$kk e	67	25459	25474	20 28
548 568	н.д.	н.д.	ATTGACAACCAT CCTA	eekd$_{10}$kk e	27	25496	25511	20 29
548 569	н.д.	н.д.	ACTCATTGGTCTA CAG	eekd$_{10}$kk e	41	25559	25574	20 30
548 570	н.д.	н.д.	ATGCCTTGTGCCT ATT	eekd$_{10}$kk e	74	25706	25721	20 31
548 571	н.д.	н.д.	ACTCTGAGGCCTT AGG	eekd$_{10}$kk e	59	25794	25809	20 32

5485572	н.д.	н.д.	GCATTACTCAGCATGT	eekd$_{10}$kke	63	25836	25851	2033
5485573	н.д.	н.д.	CCAGTCACCACCATTG	eekd$_{10}$kke	65	25862	25877	2034
5485574	н.д.	н.д.	GGTCTAACTCTAAGGG	eekd$_{10}$kke	0	25920	25935	2035
5485575	н.д.	н.д.	TGTCCTTTAAAGTATC	eekd$_{10}$kke	18	25971	25986	2036
5485576	н.д.	н.д.	TCATGTGGCAACCTGT	eekd$_{10}$kke	41	26114	26129	2037
5485577	н.д.	н.д.	AATCTGCACCTGGCAG	eekd$_{10}$kke	42	26428	26443	2038
5485578	н.д.	н.д.	CATGGCTATTGCTTCC	eekd$_{10}$kke	73	26513	26528	2039
5485579	н.д.	н.д.	GGGCTATATTGCCAGC	eekd$_{10}$kke	46	26614	26629	2040
5485580	н.д.	н.д.	CCAGAGCCTTGATCAG	eekd$_{10}$kke	36	26681	26696	2041
5485581	н.д.	н.д.	GGTGGGTTATCTGAGA	eekd$_{10}$kke	13	26710	26725	2042
5485582	н.д.	н.д.	TAGCTCCATGCTGTGT	eekd$_{10}$kke	59	26735	26750	2043
5485583	н.д.	н.д.	GGGAATTTATGCTGCC	eekd$_{10}$kke	79	26782	26797	2044
5485584	н.д.	н.д.	TGATGAAGTTCCACCT	eekd$_{10}$kke	47	26840	26855	2045
5485585	н.д.	н.д.	TAGGCACAGACAACCT	eekd$_{10}$kke	33	26869	26884	2046
5485586	н.д.	н.д.	TCCAACTACAGGACTC	eekd$_{10}$kke	39	26943	26958	2047
5485587	н.д.	н.д.	TTCTGGGAAACTCTCT	eekd$_{10}$kke	45	26969	26984	2048
5485588	н.д.	н.д.	AGCTCACACCCAAAAA	eekd$_{10}$kke	10	27006	27021	2049
5485589	н.д.	н.д.	TCTGTTACCTTGAGGA	eekd$_{10}$kke	40	27280	27295	2050
5485590	н.д.	н.д.	TGGTCATGTCAACTGT	eekd$_{10}$kke	35	27550	27565	2051
5485591	н.д.	н.д.	GTAAGCCTTCACAGGG	eekd$_{10}$kke	3	27583	27598	2052
5485592	н.д.	н.д.	CTCACCAGAGTTGTCC	eekd$_{10}$kke	7	27726	27741	2053
5485593	н.д.	н.д.	CATCCCTGACAGGTCC	eekd$_{10}$kke	61	27759	27774	2054
5485594	н.д.	н.д.	CCCTTCTAACCAAGGA	eekd$_{10}$kke	30	27825	27840	2055
548	н.д.	н.д.	GGATGAGATGCA	eekd$_{10}$kk	8	28069	28084	20

595			TCCA	e				56
548596	н.д.	н.д.	ATGGCGGTGAAGCAGC	eekd$_{10}$kke	20	28127	28142	2057
548597	н.д.	н.д.	TGAATACCATCCCCGC	eekd$_{10}$kke	50	28171	28186	2058
548598	н.д.	н.д.	GCGCCATCTGCCCTGT	eekd$_{10}$kke	50	28253	28268	2059
548599	н.д.	н.д.	TGGGTTGGAGGAGTGG	eekd$_{10}$kke	19	28311	28326	2060
548600	н.д.	н.д.	TGGTGGTGGGATTGGT	eekd$_{10}$kke	53	28336	28351	2061
						28391	28406	
						28434	28449	
						28446	28461	
						28525	28540	
						28611	28626	
						28623	28638	
548601	н.д.	н.д.	TTGGTGGTGGGATTGG	eekd$_{10}$kke	18	28337	28352	2062
						28392	28407	
						28435	28450	
						28447	28462	
						28526	28541	
						28612	28627	
						28624	28639	
548602	н.д.	н.д.	GGTGGTGGAATTGGTG	eekd$_{10}$kke	20	28347	28362	2063
548603	н.д.	н.д.	GAGATTGGTGGTGGGT	eekd$_{10}$kke	35	28372	28387	2064
548604	н.д.	н.д.	GTGGTGGGATTGGTGC	eekd$_{10}$kke	22	28432	28447	2065
548605	н.д.	н.д.	TGGCGGGATTGGTGGT	eekd$_{10}$kke	12	28479	28494	2066
						28558	28573	
548606	н.д.	н.д.	CGGTGGTGGGATTGGT	eekd$_{10}$kke	41	28501	28516	2067
						28580	28595	
548607	н.д.	н.д.	TCGGTGGTGGGATTGG	eekd$_{10}$kke	34	28502	28517	2068
						28581	28596	
548608	н.д.	н.д.	ATCGGTGGTGGGATTG	eekd$_{10}$kke	25	28503	28518	2069
						28582	28597	
548609	н.д.	н.д.	GATCGGTGGTGGGATT	eekd$_{10}$kke	30	28504	28519	2070
						28583	28598	
548610	н.д.	н.д.	GGATCGGTGGTGGGAT	eekd$_{10}$kke	2	28505	28520	2071
						28584	28599	
548611	н.д.	н.д.	GCGGGATCGGTGGTGG	eekd$_{10}$kke	7	28508	28523	2072
						28587	28602	
548	н.д.	н.д.	GGCGGGATCGGT	eekd$_{10}$kk	20	28509	28524	20
612			GGTG	e		28588	28603	73

Таблица 151

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт инициации	SEQ ID NO: 1 сайт терминации	Последовательность	Химизм	% ингибирования	SEQ ID NO: 10 сайт инициации	SEQ ID NO: 10 сайт терминации	SEQ ID NO
531231	н.д.	н.д.	TATCACTGTACTAGTTTCCT	$e_4d_{10}e_5$	46	14744	14763	334
						14815	14834	
						14886	14905	
						14945	14964	
						15005	15024	
						15077	15096	
						15220	15239	
						15292	15311	
						15351	15370	
						15411	15430	
						15483	15502	
						15555	15574	
						15613	15632	
						15685	15704	
						15815	15834	
						15887	15906	
						15945	15964	
547747	н.д.	н.д.	TCACTGTACTAGTTTC	$eekd_{10}kke$	64	14746	14761	1267
						14817	14832	
						14888	14903	
						14947	14962	
						15007	15022	
						15079	15094	
						15222	15237	
						15294	15309	
						15353	15368	
						15413	15428	
						15485	15500	
						15557	15572	
						15615	15630	
						15687	15702	
						15817	15832	
						15889	15904	
						15947	15962	

548382	н.д.	н.д.	GAGCAAATACAGTCCA	eekd$_{10}$kke	19	12620	12635	2074
548383	н.д.	н.д.	GTCTCGATGGCAAGCT	eekd$_{10}$kke	49	12654	12669	2075
548384	н.д.	н.д.	CTCACCGGTACTCTGC	eekd$_{10}$kke	49	12805	12820	2076
548385	н.д.	н.д.	TCCTGGAGGCACCAAT	eekd$_{10}$kke	0	12847	12862	2077
548386	н.д.	н.д.	AGCCCTGTTTGGTTTT	eekd$_{10}$kke	0	12903	12918	2078
548387	н.д.	н.д.	TGAAGGGCGAGGCGCA	eekd$_{10}$kke	22	13261	13276	2079
548388	н.д.	н.д.	AAGAGGATGTCAGGCT	eekd$_{10}$kke	4	13357	13372	2080
548389	н.д.	н.д.	TTGAGGAAAGACCTGC	eekd$_{10}$kke	11	13399	13414	2081
548390	н.д.	н.д.	GCTGAGTGTGACTTAA	eekd$_{10}$kke	43	13455	13470	2082
548391	н.д.	н.д.	GTACATGACTCCAGTG	eekd$_{10}$kke	34	13638	13653	2083
548392	н.д.	н.д.	GTAGAGCATGGAGCGA	eekd$_{10}$kke	31	13730	13745	2084
548393	н.д.	н.д.	CGCTTCAGGAAAGCGA	eekd$_{10}$kke	26	13828	13843	2085
548394	н.д.	н.д.	GGCAGGAGACTCCGTG	eekd$_{10}$kke	25	13919	13934	2086
548395	н.д.	н.д.	ATCCTTCCCCTCGCAA	eekd$_{10}$kke	0	13966	13981	2087
548396	н.д.	н.д.	TAATGAGTGGGTTAGG	eekd$_{10}$kke	0	14007	14022	2088
548397	н.д.	н.д.	GGAGCAGTGCAGGTAA	eekd$_{10}$kke	1	14065	14080	2089
548398	н.д.	н.д.	ATAGGCAATTGTTCCT	eekd$_{10}$kke	55	14129	14144	2090
548399	н.д.	н.д.	AGTCCTACAATTACCA	eekd$_{10}$kke	11	14239	14254	2091
548400	н.д.	н.д.	GGGCTCCTATTCCACC	eekd$_{10}$kke	13	14277	14292	2092
548401	н.д.	н.д.	GCCAGCTATGGGAACA	eekd$_{10}$kke	71	14333	14348	2093
548402	н.д.	н.д.	CCCCATCTCGAAGCCC	eekd$_{10}$kke	45	14380	14395	2094
548403	н.д.	н.д.	GAGTACATTGGGCCCA	eekd$_{10}$kke	25	14418	14433	2095
548404	н.д.	н.д.	GAGCCTTCCGCCTCTC	eekd$_{10}$kke	37	14471	14486	2096
548	н.д.	н.д.	CGGACCTTCATCT	eekd$_{10}$kk	35	14529	14544	20

405			TCA	e				97
548406	н.д.	н.д.	TCTAGAGGCCGCCTGC	eekd$_{10}$kke	0	14558	14573	2098
548407	н.д.	н.д.	CCTATAACTGCTGCTC	eekd$_{10}$kke	24	14731	14746	2099
548408	н.д.	н.д.	TATCACTGTACTAGTT	eekd$_{10}$kke	47	14748	14763	1269
						14819	14834	
						14890	14905	
						14949	14964	
						15009	15024	
						15081	15096	
						15153	15168	
						15224	15239	
						15296	15311	
						15355	15370	
						15415	15430	
						15487	15502	
						15559	15574	
						15617	15632	
						15689	15704	
						15819	15834	
						15891	15906	
						15949	15964	
548409	н.д.	н.д.	GTATCACTGTACTAGT	eekd$_{10}$kke	81	14749	14764	2100
						14820	14835	
						14891	14906	
						14950	14965	
						15010	15025	
						15082	15097	
						15154	15169	
						15225	15240	
						15297	15312	
						15356	15371	
						15416	15431	
						15488	15503	
						15560	15575	
						15618	15633	
						15690	15705	
						15820	15835	
						15892	15907	
						15950	15965	
548410	н.д.	н.д.	AGTATCACTGTACTAG	eekd$_{10}$kke	85	14750	14765	2101
						14821	14836	

						14892	14907	
						14951	14966	
						15011	15026	
						15083	15098	
						15155	15170	
						15226	15241	
						15298	15313	
						15357	15372	
						15417	15432	
						15489	15504	
						15561	15576	
						15619	15634	
						15691	15706	
						15821	15836	
						15893	15908	
						15951	15966	
548411	н.д.	н.д.	CAGTATCACTGTACTA	eekd$_{10}$kke	72	14751	14766	2102
						14822	14837	
						14893	14908	
						14952	14967	
						15012	15027	
						15084	15099	
						15156	15171	
						15227	15242	
						15299	15314	
						15358	15373	
						15418	15433	
						15490	15505	
						15562	15577	
						15620	15635	
						15692	15707	
						15822	15837	
						15894	15909	
						15952	15967	
548412	н.д.	н.д.	TAACAGTATCACTGTA	eekd$_{10}$kke	17	14754	14769	2103
						14825	14840	
						14896	14911	
						14955	14970	
						15015	15030	
						15087	15102	
						15159	15174	
						15230	15245	
						15302	15317	

						15361	15376	
						15421	15436	
						15493	15508	
						15565	15580	
						15623	15638	
						15695	15710	
						15825	15840	
						15897	15912	
						15955	15970	
548413	н.д.	н.д.	CTAACAGTATCACTGT	eekd$_{10}$kke	55	14755	14770	2104
						14826	14841	
						14897	14912	
						15016	15031	
						15088	15103	
						15231	15246	
						15303	15318	
						15422	15437	
						15494	15509	
						15624	15639	
						15826	15841	
						15956	15971	
548414	н.д.	н.д.	TCTAACAGTATCACTG	eekd$_{10}$kke	20	14756	14771	2105
						14827	14842	
						14898	14913	
						15017	15032	
						15089	15104	
						15232	15247	
						15304	15319	
						15423	15438	
						15495	15510	
						15625	15640	
						15827	15842	
						15957	15972	
548415	н.д.	н.д.	ATAACTCTAACAGTAT	eekd$_{10}$kke	0	14761	14776	2106
						14832	14847	
						14903	14918	
						15022	15037	
						15094	15109	
						15237	15252	
						15309	15324	
						15428	15443	
						15500	15515	
						15630	15645	

						15832	15847	
						15962	15977	
548416	н.д.	н.д.	CTATAACTCTAACAGT	eekd$_{10}$kke	9	14763	14778	2107
						14834	14849	
						14905	14920	
						15024	15039	
						15096	15111	
						15239	15254	
						15311	15326	
						15430	15445	
						15502	15517	
						15632	15647	
						15834	15849	
						15964	15979	
548417	н.д.	н.д.	ACTGTCCTATAACTCT	eekd$_{10}$kke	24	14769	14784	2108
						14840	14855	
548418	н.д.	н.д.	TATATCACTGTCCTAT	eekd$_{10}$kke	39	14775	14790	2109
						14846	14861	
						15180	15195	
						15716	15731	
						16164	16179	
548419	н.д.	н.д.	CCTATATCACTGTCCT	eekd$_{10}$kke	52	14777	14792	2110
						14848	14863	
						15182	15197	
						15718	15733	
548420	н.д.	н.д.	TCCTATATCACTGTCC	eekd$_{10}$kke	58	14778	14793	2111
						14849	14864	
						15183	15198	
						15719	15734	
548421	н.д.	н.д.	CACTGTCCTATATCAC	eekd$_{10}$kke	56	14783	14798	2112
						14854	14869	
						14979	14994	
						15117	15132	
						15188	15203	
						15260	15275	
						15385	15400	
						15523	15538	
						15653	15668	
						15724	15739	
						15855	15870	
						15985	16000	
548422	н.д.	н.д.	GTATCACTGTCCTATA	eekd$_{10}$kke	69	14787	14802	2113
						14983	14998	

						15121	15136	
						15389	15404	
						15527	15542	
						15989	16004	
548423	н.д.	н.д.	AGTATCACTGTCCTAT	eekd$_{10}$kke	72	14788	14803	2114
						14984	14999	
						15050	15065	
						15122	15137	
						15390	15405	
						15456	15471	
						15528	15543	
						15990	16005	
548424	н.д.	н.д.	CAGTATCACTGTCCTA	eekd$_{10}$kke	90	14789	14804	2115
						14985	15000	
						15051	15066	
						15123	15138	
						15391	15406	
						15457	15472	
						15529	15544	
						15991	16006	
548425	н.д.	н.д.	AACAGTATCACTGTCC	eekd$_{10}$kke	90	14791	14806	2116
						14987	15002	
						15053	15068	
						15125	15140	
						15393	15408	
						15459	15474	
						15531	15546	
						15993	16008	
548426	н.д.	н.д.	TATAACAGTATCACTG	eekd$_{10}$kke	14	14794	14809	2117
						14990	15005	
						15056	15071	
						15128	15143	
						15161	15176	
						15363	15378	
						15396	15411	
						15462	15477	
						15534	15549	
						15567	15582	
						15697	15712	
						15899	15914	
						15996	16011	
548427	н.д.	н.д.	CTATAACAGTATCACT	eekd$_{10}$kke	24	14795	14810	2118
						14991	15006	

						15057	15072	
						15129	15144	
						15162	15177	
						15364	15379	
						15397	15412	
						15463	15478	
						15535	15550	
						15568	15583	
						15698	15713	
						15900	15915	
						15997	16012	
548428	н.д.	н.д.	TAACTATAACAGTATC	eekd$_{10}$kke	0	14798	14813	2119
						15060	15075	
						15132	15147	
						15165	15180	
						15466	15481	
						15538	15553	
						15571	15586	
						15701	15716	
						15772	15787	
						16000	16015	
548429	н.д.	н.д.	TATAACTATAACAGTA	eekd$_{10}$kke	0	14800	14815	2120
						15062	15077	
						15134	15149	
						15167	15182	
						15468	15483	
						15540	15555	
						15573	15588	
						15703	15718	
						15774	15789	
						16002	16017	
548430	н.д.	н.д.	CCTATAACTATAACAG	eekd$_{10}$kke	21	14802	14817	2121
						15064	15079	
						15169	15184	
						15470	15485	
						15542	15557	
						15575	15590	
						15705	15720	
						15776	15791	
						16004	16019	
548431	н.д.	н.д.	TACCTATAACTCTAAC	eekd$_{10}$kke	9	14908	14923	2122
						15027	15042	
						15099	15114	

						15242	15257	
						15314	15329	
						15433	15448	
						15505	15520	
						15635	15650	
						15837	15852	
						15967	15982	
548432	н.д.	н.д.	ACTGTACCTATAACTC	eekd$_{10}$kke	43	14912	14927	2123
						15031	15046	
						15246	15261	
						15318	15333	
						15437	15452	
						15509	15524	
						15639	15654	
						15841	15856	
						15971	15986	
548433	н.д.	н.д.	TATCACTGTACCTATA	eekd$_{10}$kke	33	14916	14931	2124
						15250	15265	
						15322	15337	
						15375	15390	
						15513	15528	
						15643	15658	
						15786	15801	
						15845	15860	
						15975	15990	
						16137	16152	
548434	н.д.	н.д.	ACAATATCACTGTACC	eekd$_{10}$kke	63	14920	14935	2125
						15326	15341	
						15790	15805	
						16063	16078	
						16141	16156	
548435	н.д.	н.д.	AACAATATCACTGTAC	eekd$_{10}$kke	19	14921	14936	2126
						15327	15342	
						15791	15806	
						16064	16079	
						16142	16157	
548436	н.д.	н.д.	ATATCACTGTACCTGT	eekd$_{10}$kke	8	14970	14985	2127
548437	н.д.	н.д.	TATATCACTGTACCTG	eekd$_{10}$kke	74	14971	14986	2128
548438	н.д.	н.д.	CTATATCACTGTACCT	eekd$_{10}$kke	38	14972	14987	2129
						15253	15268	
						15378	15393	

						15516	15531	
						15646	15661	
						15848	15863	
						15978	15993	
548439	н.д.	н.д.	CCTATATCACTGTACC	eekd$_{10}$kke	46	14973	14988	2130
						15254	15269	
						15379	15394	
						15517	15532	
						15647	15662	
						15849	15864	
						15979	15994	
548440	н.д.	н.д.	CCTATAACAGTATCAC	eekd$_{10}$kke	32	14992	15007	2131
						15365	15380	
						15398	15413	
548441	н.д.	н.д.	TCCTATAACAGTATCA	eekd$_{10}$kke	42	14993	15008	2132
						15399	15414	
548442	н.д.	н.д.	TTCCTATAACAGTATC	eekd$_{10}$kke	17	14994	15009	2133
						15400	15415	
548443	н.д.	н.д.	GTTTCCTATAACAGTA	eekd$_{10}$kke	12	14996	15011	2134
						15402	15417	
548444	н.д.	н.д.	CTATGTCACTGTACCT	eekd$_{10}$kke	43	15038	15053	2135
						15444	15459	
548445	н.д.	н.д.	CCTATGTCACTGTACC	eekd$_{10}$kke	62	15039	15054	2136
						15445	15460	
548446	н.д.	н.д.	TCCTATGTCACTGTAC	eekd$_{10}$kke	16	15040	15055	2137
						15446	15461	
548447	н.д.	н.д.	CACTGTCCTATGTCAC	eekd$_{10}$kke	59	15045	15060	2138
						15451	15466	
548448	н.д.	н.д.	TCACTGTCCTATGTCA	eekd$_{10}$kke	61	15046	15061	2139
						15452	15467	
548449	н.д.	н.д.	ATCACTGTCCTATGTC	eekd$_{10}$kke	62	15047	15062	2140
						15453	15468	
548450	н.д.	н.д.	CTACCTATAACTCTAA	eekd$_{10}$kke	0	15100	15115	2141
548451	н.д.	н.д.	GTCCTATAACTATAAC	eekd$_{10}$kke	0	15171	15186	2142
						15577	15592	
						15707	15722	
						16006	16021	
						16077	16092	
						16102	16117	
						16155	16170	
548452	н.д.	н.д.	TATATCACTGTACCTA	eekd$_{10}$kke	65	15252	15267	2143
						15377	15392	

						15515	15530	
						15645	15660	
						15847	15862	
						15977	15992	
548453	н.д.	н.д.	TACCTATAACAGTATC	eekd$_{10}$kke	12	15367	15382	2144
548454	н.д.	н.д.	ACTGTACCTATAACAG	eekd$_{10}$kke	17	15371	15386	2145
548455	н.д.	н.д.	CACCGTACTAGTTTCC	eekd$_{10}$kke	64	15757	15772	2146
548456	н.д.	н.д.	TATAACAGTATCACCG	eekd$_{10}$kke	52	15768	15783	2147
548457	н.д.	н.д.	CTATAACAGTATCACC	eekd$_{10}$kke	13	15769	15784	2148
548458	н.д.	н.д.	ACCTATAACTATAACA	eekd$_{10}$kke	0	15777	15792	2149
						16249	16264	

Таблица 152

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт инициации	SEQ ID NO: 1 сайт терминации	Последовательность	Химизм	% ингибирования	SEQ ID NO: 10 сайт инициации	SEQ ID NO: 10 сайт терминации	SEQ ID NO
531231	н.д.	н.д.	TATCACTGTACTAGTTTCCT	eeeeed$_{10}$eeeee	48	14744	14763	334
						14815	14834	
						14886	14905	
						14945	14964	
						15005	15024	
						15077	15096	
						15220	15239	
						15292	15311	
						15351	15370	
						15411	15430	
						15483	15502	
						15555	15574	
						15613	15632	
						15685	15704	
						15815	15834	
						15887	15906	
						15945	15964	
547747	н.д.	н.д.	TCACTGTACTAGTTTC	eekd$_{10}$kke	88	14746	14761	1267
						14817	14832	
						14888	14903	

						14947	14962	
						15007	15022	
						15079	15094	
						15222	15237	
						15294	15309	
						15353	15368	
						15413	15428	
						15485	15500	
						15557	15572	
						15615	15630	
						15687	15702	
						15817	15832	
						15889	15904	
						15947	15962	
548613	н.д.	н.д.	TGGCGGGATCGGTGGT	eekd$_{10}$kke	39	28510	28525	2150
						28589	28604	
548614	н.д.	н.д.	TGGTGGCGGGATCGGT	eekd$_{10}$kke	0	28513	28528	2151
						28592	28607	
548615	н.д.	н.д.	TTGGTGGCGGGATCGG	eekd$_{10}$kke	10	28514	28529	2152
						28593	28608	
548616	н.д.	н.д.	ATTGGTGGCGGGATCG	eekd$_{10}$kke	35	28515	28530	2153
548617	н.д.	н.д.	GATTGGTGGCGGGATC	eekd$_{10}$kke	44	28516	28531	2154
548618	н.д.	н.д.	GTTGGTGGCGGGATCG	eekd$_{10}$kke	18	28594	28609	2155
548619	н.д.	н.д.	GGTTGGTGGCGGGATC	eekd$_{10}$kke	19	28595	28610	2156
548620	н.д.	н.д.	TGGTTGGTGGCGGGAT	eekd$_{10}$kke	24	28596	28611	2157
548621	н.д.	н.д.	GAACACATCAGGGATT	eekd$_{10}$kke	33	28638	28653	2158
548622	н.д.	н.д.	TTTCTATGGGCCTGAC	eekd$_{10}$kke	0	28669	28684	2159
548623	н.д.	н.д.	GCTGTCACTTAAGCCA	eekd$_{10}$kke	16	28862	28877	2160
548624	н.д.	н.д.	TCTAGGGCCACACCTC	eekd$_{10}$kke	24	28892	28907	2161
548625	н.д.	н.д.	GTTCTACACACAGTAC	eekd$_{10}$kke	0	29014	29029	2162
548626	н.д.	н.д.	GCAGTATGTTCAATCC	eekd$_{10}$kke	36	29202	29217	2163
548627	н.д.	н.д.	CCCACATGTACCACCG	eekd$_{10}$kke	22	29235	29250	2164
548	н.д.	н.д.	GTATGGCAGAGC	eekd$_{10}$kk	9	29285	29300	21

628			CCCT	e				65
548629	н.д.	н.д.	CCCATCTTGGGACTTT	eekd$_{10}$kke	44	29341	29356	2166
548630	н.д.	н.д.	TGGTCCCAAATTGGAG	eekd$_{10}$kke	33	29387	29402	2167
548631	н.д.	н.д.	CTCACAATACTGAGCC	eekd$_{10}$kke	55	29421	29436	2168
548632	н.д.	н.д.	GGAGATATCAGGTGCA	eekd$_{10}$kke	45	29499	29514	2169
548633	н.д.	н.д.	CAAGGCATGTGTGCAC	eekd$_{10}$kke	41	29534	29549	2170
548634	н.д.	н.д.	GCCTTATTCTGTGCAA	eekd$_{10}$kke	0	29583	29598	2171
548635	н.д.	н.д.	AGGTGTGGCGCGCGCC	eekd$_{10}$kke	18	29853	29868	2172
548636	н.д.	н.д.	CTCTATACAGCTGGGC	eekd$_{10}$kke	5	30000	30015	2173
548637	н.д.	н.д.	GCTGATCTTCTAATGC	eekd$_{10}$kke	38	30063	30078	2174
548638	н.д.	н.д.	CCTCATTGCTCCACTA	eekd$_{10}$kke	26	30103	30118	2175
548639	н.д.	н.д.	TGGGAAGAAACTAGCA	eekd$_{10}$kke	10	30159	30174	2176
548640	н.д.	н.д.	GAATGTTGCTGTCCCA	eekd$_{10}$kke	32	30194	30209	2177
548641	н.д.	н.д.	GCATCATGCTTACTGC	eekd$_{10}$kke	23	30225	30240	2178
548642	н.д.	н.д.	GCGGCAGTAGTGAATC	eekd$_{10}$kke	23	30288	30303	2179
548643	н.д.	н.д.	CCTACCTAATTCCTCC	eekd$_{10}$kke	0	30329	30344	2180
548644	н.д.	н.д.	AACTGGGCAGTCCTTC	eekd$_{10}$kke	14	30418	30433	2181
548645	н.д.	н.д.	CCAGCGCAATTCTGCT	eekd$_{10}$kke	8	30666	30681	2182
548646	н.д.	н.д.	CGTTTCCCTCAACTCC	eekd$_{10}$kke	24	30750	30765	2183
548647	н.д.	н.д.	CACGGCAAGTCGCGGG	eekd$_{10}$kke	39	30790	30805	2184
548648	н.д.	н.д.	CAGTTGTATCCCTCCC	eekd$_{10}$kke	32	30852	30867	2185
548649	н.д.	н.д.	GCCTCTCAGACGGCAC	eekd$_{10}$kke	0	30906	30921	2186
548650	н.д.	н.д.	CTGATCCCACTTGCCC	eekd$_{10}$kke	21	30991	31006	2187
548651	н.д.	н.д.	AGTCTCTTTCCTACCC	eekd$_{10}$kke	61	31030	31045	2188

548652	н.д.	н.д.	CCACGATGCTCTGGCC	eekd10kke	65	31068	31083	2189
548653	н.д.	н.д.	TCGGCTCCTGGCAGCA	eekd10kke	46	31111	31126	2190
548654	н.д.	н.д.	ACCATTCCTGACCATG	eekd10kke	34	31151	31166	2191
548655	н.д.	н.д.	CCCGAGGTCACATAAT	eekd10kke	56	31416	31431	2192
548656	н.д.	н.д.	TTACAACAGACCCAGG	eekd10kke	35	31497	31512	2193
548657	н.д.	н.д.	AGCAGGGTATCTTCAC	eekd10kke	26	31548	31563	2194
548658	н.д.	н.д.	GAAGTTCCTGTGTCTT	eekd10kke	11	31593	31608	2195
548659	н.д.	н.д.	CCAACCTCTAAGGCTA	eekd10kkc	17	31721	31736	2196
548660	н.д.	н.д.	ATGCTTACCTTTCTCC	eekd10kke	0	31955	31970	2197
548661	н.д.	н.д.	ACGACCCACTCCATGT	eekd10kke	18	32016	32031	2198
548662	н.д.	н.д.	TGCTTAAAAGTCTCCC	eekd10kke	5	32155	32170	2199
548663	н.д.	н.д.	GCCCTAGAAGGGCCCA	eekd10kke	20	32219	32234	2200
548664	н.д.	н.д.	GCGGGTGGTCTTGCAC	eekd10kke	38	32245	32260	2201
548665	н.д.	н.д.	GCTCCCGGCCATTAGC	eekd10kke	8	32312	32327	2202
548666	н.д.	н.д.	TCTCCATAGTGAGACG	eekd10kke	1	32342	32357	2203
548667	н.д.	н.д.	TGGCAAGCTACCTTCT	eekd10kke	51	32384	32399	2204
548668	н.д.	н.д.	GGGAGCTTTCATGGCT	eekd10kke	68	32506	32521	2205
548669	н.д.	н.д.	AATGCAGGCCAGCATC	eekd10kke	42	32541	32556	2206
548670	н.д.	н.д.	GAAAAGCCCTCCGAGC	eekd10kke	15	32590	32605	2207
548671	н.д.	н.д.	CAACAATCCAAAGCCT	eekd10kke	3	32674	32689	2208
548672	н.д.	н.д.	CCCCCCAGAAATCCCA	eekd10kke	40	32708	32723	2209
548673	н.д.	н.д.	GACCTTGCTTCCATGT	eekd10kke	40	32753	32768	2210
548674	н.д.	н.д.	GAGAGACGGCACCCTG	eekd10kke	4	32829	32844	2211
548	н.д.	н.д.	GGGAAGGTAGTG	eekd10kk	8	32898	32913	22

675			TTAC	e				12
548676	н.д.	н.д.	GTGAATCAGAGCAGTG	eekd10kke	63	32963	32978	2213
548677	н.д.	н.д.	TCACCTGTGAGTAACC	eekd10kke	40	33089	33104	2214
548678	н.д.	н.д.	GAGTTACCTTACAAGC	eekd10kke	22	33232	33247	2215
548679	н.д.	н.д.	TCTCAAGCAGCCTATT	eekd10kke	0	33267	33282	2216
548680	н.д.	н.д.	GCCCCTCTTAAATAGC	eekd10kke	9	33446	33461	2217
548681	н.д.	н.д.	GATATCATCATCCCAA	eekd10kke	22	33513	33528	2218
548682	н.д.	н.д.	GTATCCCCTTTTCTAT	eekd10kke	0	33556	33571	2219
548683	н.д.	н.д.	AGTATCTCATGTGCCT	eekd10kke	46	33581	33596	2220
548684	н.д.	н.д.	CAAGACCTTGCTTGCC	eekd10kke	24	33658	33673	2221
548685	н.д.	н.д.	TAGTCCACTACACAGC	eekd10kke	24	33802	33817	2222
548686	н.д.	н.д.	ACGACAATGGGATTCA	eekd10kke	0	33844	33859	2223
548687	н.д.	н.д.	GAATCTCCCTGAGTCA	eekd10kke	20	33888	33903	2224
548688	н.д.	н.д.	TAGAGGGATCCCAGGA	eekd10kke	0	34416	34431	2225
548689	н.д.	н.д.	CCAGGTGCAGCACGGA	eekd10kke	12	34483	34498	2226

Пример 117: Дозозависимое антисмысловое ингибирование ПКП человека в клетках HepaRG™

Гэпмеры из описанных выше исследований, демонстрирующие значительное ингибирование мРНК ПКП in vitro, были отобраны и протестированы в различных дозах на клетках HepaRG™. Клетки были высеяны с плотностью 20000 клеток на лунку и трансфицированы с использованием электропорации с концентрациями антисмыслового олигонуклеотида, равными 0,12 мкМ, 0,37 мкМ, 1,11 мкМ, 3,33 мкМ и 10,00 мкМ. После периода обработки около 16 часов, РНК выделяли из клеток и измеряли уровни мРНК ПКП методом количественной ПЦР в реальном времени. Набор человеческих праймерных зондов RTS3454 использовали для измерения уровней мРНК. Уровни мРНК ПКП были скорректированы в соответствии с общим содержанием РНК, измеренным с помощью RIBOGREEN®. Антисмысловые олигонуклеотиды испытывали в сериях экспериментов с одинаковыми условиями выращивания. Результаты каждого эксперимента представлены в отдельных таблицах, показанных ниже. Результаты представлены как процент ингибирования ПКП относительно необработанных контрольных клеток.

Для каждого олигонуклеотида дополнительно приведена полумаксимальная ингибирующая концентрация (IC_{50}). Уровни мРНК ПКП были существенно снижены дозозависимым образом в обработанных антисмысловым олигонуклеотидом клетках.

Таблица 153

ISIS №	0,12 мкМ	0,37 мкМ	1,11 мкМ	3,33 мкМ	10,00 мкМ	IC_{50} (мкМ)
486847	0	34	48	71	87	1,1
530933	15	13	42	67	66	1,7
530959	12	27	53	80	94	0,9
530965	8	5	63	83	91	0,8
530967	30	36	48	82	91	0,7
530970	1	0	66	76	84	1,0
530971	12	40	52	66	70	1,3
530988	0	25	54	86	78	0,9
530992	0	50	63	83	80	0,7
531002	6	28	58	82	86	0,9
531004	0	14	25	71	84	2,1
531005	14	28	61	73	77	0,9
531022	0	0	32	62	77	2,2
531078	10	27	54	69	92	1,1
531231	23	30	76	89	94	0,6

Таблица 154

ISIS №	0,12 мкМ	0,37 мкМ	1,11 мкМ	3,33 мкМ	10,00 мкМ	IC_{50} (мкМ)
531026	23	26	49	75	85	1,0
531055	3	28	64	76	81	0,9
531069	19	39	48	76	83	0,9
531071	23	37	56	83	83	0,7
531110	14	29	49	76	85	1,1
531121	0	13	47	69	79	1,5
531123	14	43	51	71	64	0,9
531172	0	16	37	60	60	2,1
531198	0	35	62	76	60	0,8
531231	18	0	36	76	84	2,0
531232	15	26	40	62	76	1,7
531233	17	27	50	77	84	1,0
531234	24	21	47	72	82	1,4
531235	27	55	62	84	95	0,4
531236	4	28	59	85	93	0,8

Пример 118: Дозозависимое антисмысловое ингибирование ПКП человека в клетках HepaRG™

Гэпмеры из описанных выше исследований, демонстрирующие значительное ингибирование мРНК ПКП in vitro, были отобраны и протестированы в различных дозах на клетках HepaRG™. Клетки были высеяны с плотностью 20000 клеток на лунку и трансфицированы с использованием электропорации с концентрациями антисмыслового олигонуклеотида, равными 0,19 мкМ, 0,56 мкМ, 1,67 мкМ и 5,00 мкМ. После периода обработки около 16 часов, РНК выделяли из клеток и измеряли уровни мРНК ПКП методом количественной ПЦР в реальном времени. Набор человеческих праймерных зондов RTS3454 использовали для измерения уровней мРНК. Уровни мРНК ПКП были скорректированы в соответствии с общим содержанием РНК, измеренным с помощью RIBOGREEN®. Антисмысловые олигонуклеотиды испытывали в сериях экспериментов с одинаковыми условиями выращивания. Результаты каждого эксперимента представлены в отдельных таблицах, показанных ниже. Результаты представлены как процент ингибирования ПКП относительно необработанных контрольных клеток, «н/д» означает, что измерения для конкретного антисмыслового олигонуклеотида и данной конкретной дозы не проводили.

Для каждого олигонуклеотида дополнительно приведена полумаксимальная ингибирующая концентрация (IC_{50}). Уровни мРНК ПКП были существенно снижены дозозависимым образом в обработанных антисмысловым олигонуклеотидом клетках.

Таблица 155

ISIS №	0,19 мкМ	0,56 мкМ	1,67 мкМ	5,00 мкМ	IC_{50} (мкМ)
531231	32	30	73	89	0,5
546158	5	45	79	83	0,7
546188	36	55	81	83	0,4
546253	1	13	46	81	1,7
546254	51	66	80	91	0,2
546343	28	64	87	87	0,4
546825	46	73	86	88	0,2
546827	32	70	84	90	0,3
546828	39	58	87	93	0,3
546829	3	30	73	88	1,0
546846	36	45	71	82	0,5
547413	0	0	41	83	2,2
547423	37	50	92	90	0,4
547445	41	75	82	88	0,2
547456	12	67	66	80	1,0
547464	21	52	67	97	0,6
547564	51	48	82	90	0,2
547587	20	62	84	86	0,5
548758	41	47	82	94	0,4

Таблица 156

ISIS №	0,19 мкМ	0,56 мкМ	1,67 мкМ	5,00 мкМ	IC_{50} (мкМ)
531231	25	34	84	92	0,7
546190	33	65	86	н.д.	0,4
546208	16	45	79	91	0,7
546216	62	69	88	88	0,1
546255	32	35	78	87	0,5
546268	56	50	82	93	0,1
546301	25	50	53	87	0,8
546849	23	35	83	91	0,7
546852	19	40	78	85	0,8
546889	23	54	78	91	0,6
546916	43	71	79	89	0,2
546967	20	39	76	71	0,7
547273	44	69	87	87	0,2
547276	35	44	71	77	0,6
547335	8	52	85	92	0,7
547340	46	79	88	н.д.	0,2
547602	18	53	92	87	0,5
547647	1	70	72	н.д.	0,8
547694	0	29	67	90	1,2

Таблица 157

ISIS №	0,19 мкМ	0,56 мкМ	1,67 мкМ	5,00 мкМ	IC_{50} (мкМ)
531231	58	64	77	98	0,1
546247	0	29	71	88	1,1
546251	31	60	99	89	0,5
546753	28	47	83	96	0,5
546826	17	40	87	97	0,7
546833	8	33	74	94	0,9
546854	23	39	83	94	0,6
546894	15	47	50	93	0,9
546897	40	56	71	95	0,4
546903	15	37	74	98	0,8
546986	31	49	77	89	0,5
547293	53	57	80	86	0,2
547298	32	61	74	90	0,4
547364	38	47	54	89	0,6
547373	20	7	49	86	1,1
547426	19	50	84	93	0,6
547454	19	40	58	92	0,9
547617	52	66	77	93	0,2
548770	26	54	77	91	0,5

Таблица 158

ISIS №	0,19 мкМ	0,56 мкМ	1,67 мкМ	5,00 мкМ	IC_{50} (мкМ)
531231	34	47	72	н.д.	0,5
546214	0	0	68	85	1,3
546304	0	6	51	71	2,1
546739	35	55	57	79	0,6
546832	19	38	70	95	0,8
546847	39	57	75	89	0,4
546855	18	7	30	82	2,2
546877	0	19	75	80	1,3
546939	1	66	86	90	0,6
547349	0	8	66	76	1,6
547360	8	27	76	76	0,8
547368	0	0	31	80	2,5
547483	0	9	49	71	2,1
547575	0	34	82	93	1,1
547618	0	0	73	98	1,3
547622	0	47	79	90	0,9
547637	10	21	36	82	1,8
547731	0	0	17	56	5,0
548752	0	0	51	90	1,9

Таблица 159

ISIS №	0,19 мкМ	0,56 мкМ	1,67 мкМ	5,00 мкМ	IC_{50} (мкМ)
531231	21	45	67	96	0,7
546195	34	51	79	92	0,5
546198	7	3	45	92	1,3
546287	0	15	39	89	1,7
546358	0	19	71	80	1,3
546403	0	20	37	41	>5,0
546410	13	43	52	75	1,2
546412	0	1	61	62	2,3
546429	6	10	44	69	2,3
546834	1	0	30	83	2,3
547006	0	0	54	77	1,5
547294	28	59	87	86	0,4
547337	23	41	55	79	1,0
547514	18	8	51	80	1,9
547584	26	34	76	86	0,7
547585	42	57	70	95	0,4
547615	20	26	41	84	1,4
547636	0	24	79	94	1,1
548744	14	35	63	83	1,0

Таблица 160

ISIS №	0,19 мкМ	0,56 мкМ	1,67 мкМ	5,00 мкМ	IC_{50} (мкМ)
531231	21	39	90	97	0,6
546232	49	50	94	97	0,2
546248	25	66	87	93	0,4
546835	9	35	68	93	0,9
546848	0	18	91	97	1,0
546853	47	64	84	н.д.	0,2
546870	35	42	80	95	0,5
546872	32	33	82	94	0,4
546876	0	50	85	95	0,8
547275	34	66	82	95	0,3
547341	36	58	91	95	0,3
547366	0	45	68	91	1,2
547453	25	40	54	92	0,8
547457	41	65	80	85	0,3
547616	26	50	72	89	0,6
547632	44	47	81	97	0,6
547633	12	46	78	н.д.	0,7
547718	36	12	69	74	1,6
548757	18	49	82	93	0,6

Таблица 161

ISIS №	0,19 мкМ	0,56 мкМ	1,67 мкМ	5,00 мкМ	IC_{50} (мкМ)
531231	6	38	74	95	0,8
546291	22	32	34	72	2,0
546310	0	36	56	80	1,3
546896	0	45	82	97	0,8
546980	0	18	29	80	2,2
547009	0	9	21	63	3,6
547019	0	6	54	86	1,6
547277	2	32	34	62	2,8
547288	0	0	0	38	>5,0
547374	0	15	24	44	>5,0
547493	0	26	64	77	1,3
547520	0	25	66	64	1,1
547712	0	5	21	62	3,8
547722	0	15	32	73	2,4
547728	0	2	16	61	4,4
547780	0	10	36	55	3,9
548743	25	57	73	88	0,5
548753	0	23	49	84	1,5
548756	0	4	16	86	>5,0

Таблица 162

ISIS №	0,19 мкМ	0,56 мкМ	1,67 мкМ	5,00 мкМ	IC_{50} (мкМ)
531231	25	55	89	97	0,5
546188	27	69	88	97	0,4
546216	23	78	95	98	<0,2
546254	40	63	84	95	0,3
546268	0	71	92	92	0,5
546343	37	32	83	95	0,4
546825	38	82	н.д.	99	0,2
546827	23	74	98	96	0,4
546828	0	64	89	97	0,2
546846	26	49	85	н.д.	0,5
546967	22	45	74	92	0,7
547273	0	60	82	83	0,6
547340	34	84	96	н.д.	0,3
547423	78	92	н.д.	н.д.	<0,2
547445	80	87	98	91	<0,2
547564	46	66	90	97	0,2
547587	38	64	91	97	0,3
547602	1	9	52	93	1,4
548758	0	72	79	н.д.	0,6

Таблица 163

ISIS №	0,19 мкМ	0,56 мкМ	1,67 мкМ	5,00 мкМ	IC_{50} (мкМ)
531231	7	39	56	97	1,0
546190	21	34	76	98	0,7
546208	5	33	70	97	0,9
546251	19	45	91	97	0,6
546255	5	39	82	96	0,8
546739	4	62	84	86	0,6
546753	17	31	70	91	0,9
546849	13	45	84	98	0,7
546889	25	9	73	92	1,4
546897	16	17	69	97	0,8
546916	0	27	73	97	1,0
546986	7	28	69	86	1,1
547276	6	3	53	68	2,2
547293	0	45	65	70	1,3
547298	0	12	67	87	1,7
547335	0	13	73	95	1,3
547426	18	35	80	95	0,7
547617	17	37	79	98	0,7
548770	9	0	61	92	1,7

Таблица 164

ISIS №	0,19 мкМ	0,56 мкМ	1,67 мкМ	5,00 мкМ	IC_{50} (мкМ)
531231	6	56	68	97	0,8
546195	0	27	91	94	0,9
546232	0	74	95	96	0,2
546248	0	59	73	89	0,8
546832	36	49	85	97	0,4
546847	14	44	83	95	0,7
546853	4	49	74	92	0,8
546870	36	34	61	91	1,0
546872	42	13	59	99	1,4
546896	35	60	83	н.д.	0,4
546939	16	71	96	95	0,4
547275	56	16	80	86	1,2
547294	4	70	84	91	0,6
547341	45	44	81	95	0,6
547457	33	42	70	83	0,6
547584	0	21	64	92	1,3
547585	0	46	89	93	0,8
547632	0	0	63	91	1,6
548743	22	47	74	96	0,6

Пример 119: Дозозависимое антисмысловое ингибирование ПКП человека в клетках HepaRG™

Гэпмеры из описанных выше исследований, демонстрирующие значительное ингибирование мРНК ПКП in vitro, были отобраны и протестированы в различных дозах на клетках HepaRG™. Клетки были высеяны с плотностью 20000 клеток на лунку и трансфицированы с использованием электропорации с концентрациями антисмыслового олигонуклеотида, равными 0,11 мкМ, 0,33 мкМ, 1,00 мкМ и 3,00 мкМ. После периода обработки около 16 часов, РНК выделяли из клеток и измеряли уровни мРНК ПКП методом количественной ПЦР в реальном времени. Набор человеческих праймерных зондов RTS3454 использовали для измерения уровней мРНК. Уровни мРНК ПКП были скорректированы в соответствии с общим содержанием РНК, измеренным с помощью RIBOGREEN®. Антисмысловые олигонуклеотиды испытывали в сериях экспериментов с одинаковыми условиями выращивания. Результаты каждого эксперимента представлены в отдельных таблицах, показанных ниже. Результаты представлены как процент ингибирования ПКП относительно необработанных контрольных клеток, «н/д» означает, что измерения для конкретного антисмыслового олигонуклеотида и данной конкретной дозы не проводили.

Для каждого олигонуклеотида дополнительно приведена полумаксимальная ингибирующая концентрация (IC_{50}). Уровни мРНК ПКП были существенно снижены дозозависимым образом в обработанных антисмысловым олигонуклеотидом клетках.

Таблица 165

ISIS №	0,11 мкМ	0,33 мкм	1,00 мкМ	3,00 мкМ	IC_{50} (мкМ)
547747	24	29	81	89	0,4
547769	12	17	80	96	0,6
547824	45	73	78	н.д.	0,1
547835	44	27	53	79	0,9
547843	0	52	80	91	0,4
547857	36	66	77	93	0,2
547870	0	44	80	97	0,6
547943	33	70	87	90	0,2
547946	0	47	74	н.д.	0,5
547947	24	58	81	93	0,3
547998	55	73	91	91	0,1
548004	24	47	80	92	0,3
548010	0	11	49	64	1,4
548047	50	62	76	95	0,1
548147	59	94	80	н.д.	0,0
548338	41	58	79	95	0,2
548348	19	46	67	91	0,4
548409	21	60	90	93	0,3
548557	5	47	82	95	0,4

Таблица 166

ISIS №	0,11 мкМ	0,33 мкм	1,00 мкМ	3,00 мкМ	IC_{50} (мкМ)
547747	8	61	90	92	0,3
547807	26	71	61	94	0,4
547922	67	75	81	92	0,0
547927	56	64	92	88	0,1
547948	60	80	88	97	0,0
547979	56	58	94	97	0,1
548005	53	49	71	95	0,4

548024	28	57	84	82	0,3
548043	14	60	90	92	0,3
548055	43	57	50	88	0,3
548106	53	54	82	94	0,1
548109	50	92	79	85	0,1
548155	49	50	70	81	0,3
548180	11	59	71	88	0,4
548278	3	59	78	93	0,4
548343	61	67	88	92	0,0
548558	53	61	78	95	0,1
548570	20	40	70	94	0,4
548583	43	46	93	88	0,2

Таблица 167

ISIS №	0,11 мкМ	0,33 мкм	1,00 мкМ	3,00 мкМ	IC_{50} (мкМ)
547747	3	44	72	90	0,5
547849	36	52	67	н.д.	0,3
547851	16	46	83	н.д.	0,4
547859	29	56	83	78	0,3
547862	26	71	69	н.д.	0,3
547877	29	66	83	н.д.	0,2
547942	25	51	91	н.д.	0,3
547997	39	68	н.д.	82	0,2
548046	7	35	64	77	0,7
548048	49	66	86	92	0,1
548061	26	61	59	н.д.	0,4
548070	26	35	48	63	1,1
548125	33	50	81	73	0,3
548195	5	23	61	76	0,8
548265	47	69	78	67	0,1
548410	31	58	85	82	0,2
548424	17	67	86	72	0,3
548425	41	57	68	80	0,2
548547	30	41	76	90	0,4

Таблица 168

ISIS №	0,11 мкМ	0,33 мкм	1,00 мкМ	3,00 мкМ	IC_{50} (мкМ)
547747	16	59	85	96	0,3
547808	19	22	48	71	1,1
547861	7	40	75	84	0,5
548069	6	0	27	66	1,9
548128	14	29	49	66	1,1
548170	0	8	26	65	2,0
548174	20	18	29	62	2,0
548197	33	37	51	75	0,8
548201	0	7	70	85	0,8
548217	22	24	54	71	0,9
548220	0	0	0	6	>3
548247	16	50	62	82	0,5
548422	0	32	71	93	0,7
548479	2	52	82	97	0,4
548486	20	48	77	92	0,4
548521	21	0	3	1	>3
548655	0	0	8	33	>3
548667	0	37	73	86	0,7
548668	10	30	61	84	0,7

Пример 120: Эффективность антисмысловых олигонуклеотидов, нацеленных на ПКП человека, у трансгенных мышей

Трансгенных мышей, несущих фрагмент последовательности гена KLKB1 человека размером 37390 пар оснований (хромосома 4: положение 187148672-187179625, номер доступа: NC_000004.11), лечили антисмысловыми олигонуклеотидами ISIS, отобранными в описанных выше исследованиях, и оценивали их эффективность в данной модели.

Лечение

Группам трансгенных мышей 2 раза в неделю на протяжении 3 недель вводили подкожной инъекцией 2,5 мг/кг/неделю, 5,0 мг/кг/неделю, 10 мг/кг/неделю или 20 мг/кг/неделю ISIS 546232, ISIS 546251, ISIS 546254, ISIS 546343, ISIS 546828, ISIS 547455, ISIS 547457, ISIS 547927 и ISIS 548048. Одной группе трансгенных мышей 2 раза в неделю на протяжении 3 недель вводили подкожные инъекции PBS. Мышей усыпляли через 48 часов после введения последней дозы, и собирали органы и плазму для дальнейшего анализа.

Анализ РНК

Для оценки влияния олигонуклеотидов ISIS на снижение уровня мишени, РНК извлекали из ткани печени для анализа ПКП человека с помощью ПЦР в реальном времени. Результаты представлены как процент ингибирования мРНК ПКП относительно контроля с PBS. Как показано в таблице 169, лечение антисмысловыми олигонуклеотидами ISIS приводило к существенному снижению мРНК ПКП по сравнению с контролем с PBS.

Таблица 169

Процент ингибирования мРНК ПКП в печени трансгенных мышей относительно контроля с PBS

ISIS №	Доза	% ингибирования
547927	20	71
	10	93
	5	52
	2,5	35
547455	20	62
	10	45
	5	69
	2,5	0
546232	20	84
	10	30
	5	53
	2,5	57
546254	20	83
	10	84
	5	55
	2,5	31
546343	20	86
	10	66
	5	н.д.
	2,5	46
548048	20	80
	10	72
	5	77
	2,5	7
546828	20	83
	10	32
	5	62
	2,5	77
546251	20	79
	10	66
	5	51
	2,5	13
547457	20	62
	10	45
	5	69
	2,5	0

Анализ белка

Уровни белка ПКП в плазме были оценены во всех группах. Результаты представлены как процент ингибирования белка ПКП относительно контроля с PBS. Как показано в таблице 170, лечение антисмысловыми олигонуклеотидами ISIS приводило к существенному снижению уровней белка ПКП по сравнению с контролем с PBS

Таблица 170

Процент снижения уровней белка ПКП у трансгенных мышей относительно контроля с PBS

ISIS №	Доза	% ингибирования
547927	20	80
	10	н.д.
	5	21
	2,5	25
547455	20	78
	10	32
	5	0
	2,5	0
546232	20	79
	10	33
	5	6
	2,5	0
546254	20	76
	10	51
	5	36
	2,5	0
546343	20	79
	10	38
	5	н.д.
	2,5	0
548048	20	98
	10	89
	5	70
	2,5	23
546828	20	93
	10	36
	5	25
	2,5	0
546251	20	69
	10	52
	5	30
	2,5	22
547457	20	60
	10	31
	5	4
	2,5	0

Пример 121: Влияние антисмысловых олигонуклеотидов ISIS, нацеленных на ПКП человека, у яванских макак

Яванских макак лечили антисмысловыми олигонуклеотидами ISIS, отобранными в исследованиях, описанных выше. Была оценена эффективность и переносимость антисмысловых олигонуклеотидов. Испытанные человеческие антисмысловые олигонуклеотиды являются перекрестно реактивными с геномной последовательностью резуса (номер доступа GENBANK NW_001118167.1, усеченная по по нуклеотидам с 2358000 по 2391000 и обозначенная в настоящем документе как SEQ ID NO: 18). Сайт инициации мишени каждого олигонуклеотида к SEQ ID NO: 18 представлен в таблице 171. «Рассогласование» указывает на количество нуклеотидов в олигонуклеотиде,

рассогласованных с последовательностью макаки резус. Чем выше комплементарность между человеческим олигонуклеотидом и последовательностью макаки резус, тем вероятнее, что человеческий олигонуклеотид может перекрестно реагировать с последовательностью макак резус, «н/д» указывает на то, что олигонуклеотид содержит более чем 3 рассогласованных основания с последовательностью гена макаки резус

Таблица 171

Антисмысловые олигонуклеотиды, комплементарные SEQ ID NO: 18

ISIS №	Целевой сайт инициации	Рассогласования	Последовательность	Химизм	SEQ ID NO.
547927	22059	1	ATGGTCCGACACACAA	Дезокси, MOE и cEt	1548
546232	н.д.	н.д.	AGGAACTTGGTGTGCCACTT	5-10-5 MOE	526
547455	27391	0	ATATCATGATTCCCTTCTGA	5-10-5 MOE	657
546254	23858	1	TGCAAGTCTCTTGGCAAACA	5-10-5 MOE	570
546343	30532	0	CCCCCTTCTTTATAGCCAGC	5-10-5 MOE	705
548048	27397	0	CGATATCATGATTCCC	Дезокси, MOE и cEt	1666
546828	13632	1	ACAGTATCACTGTACTAGTT	5-10-5 MOE	904
546251	23846	0	GGCAAACATTCACTCCTTTA	5-10-5 MOE	566
547457	27397	0	AAGGCGATATCATGATTCCC	5-10-5 MOE	660

Лечение

Перед началом исследования обезьян выдерживали на карантине 30 дней, в течение которых ежедневно следили за общим состоянием здоровья животных. Возраст обезьян составлял 2-4 года, а масса от 2 до 4 кг. Десяти группам по четыре случайным образом распределенных самца яванских макак вводили подкожные инъекции олигонуклеотида ISIS или PBS. Раствор PBS или олигонуклеотиды ISIS в дозе 40 мг/кг вводили сначала в режиме нагрузки, состоящем из четырех доз в течение первой недели исследования (дни 1, 3, 5, и 7), и затем в поддерживающем режиме, состоящем из еженедельного введения, начиная с 14-го дня (недели 2-13). Подкожные инъекции вводили с поворотом по часовой стрелке, в 4 участках спины; один участок на одну дозу. Участки инъекции намечали с помощью татуировки при успокоении кетамином, и расстояние между участками составляло не менее 3 см.

В течение периода испытаний обезьян не менее одного раза в сутки наблюдали на наличие признаков заболевания или недомогания. О животных, испытывающих более чем мимолетную или слабую боль или недомогание вследствие лечения, травмы или болезни, немедленно сообщали ответственному ветеринару и руководителю исследования. Животных с ослабленным здоровьем или в состоянии возможной агонии идентифицировали для дальнейшего наблюдения и возможного усыпления. Например, двух обезьян, которых лечили с помощью ISIS 547445, усыпили вследствие вялого поведения, лежачего положения, отсутствия реакции на раздражители и ослабления дыхания. Описанные в примерах протоколы одобрены Комитетом по содержанию и использованию лабораторных животных (IACUC).

Снижение мишени

Анализ РНК

На 87 или 88 день, через 48 часов после введения последней дозы из печеночной ткани выделили РНК для анализа ПКП с помощью ПЦР в реальном времени, используя

набор праймерных зондов RTS3455 (прямая последовательность CCTGTGTGGAGGGTCACTCA, обозначенная в настоящем документе как SEQ ID NO: 23; обратная последовательность CCACTATAGATGCGCCAAACATC, обозначенная в данном описании как SEQ ID NO: 24; последовательность зонда CCCACTGCTTTGATGGGCTTCCC, обозначенная в данном описании как SEQ ID NO: 25). Результаты нормализовали к конститутивному гену, циклофилину. Результаты представлены как процент ингибирования мРНК ПКП относительно контроля с PBS. Как показано в таблице 172, лечение антисмысловыми олигонуклеотидами ISIS приводило к существенному снижению мРНК ПКП по сравнению с контролем с PBS.

Таблица 172

Процентное ингибирование мРНК ПКП в печени яванских макак относительно контрольного образца с PBS

ISIS №	% ингибирования
546232	88
546251	90
546254	88
546343	74
546828	45
547455	90
547457	89
547927	54
548048	95

Анализ белка

Около 0,9 мл крови отбирали у всех доступных животных до введения дозы, на 17 день, на 31 день, на 45 день, на 59 день и на 73 день, и помещали в пробирки, содержащие 3,2% цитрата натрия. Пробирки центрифугировали (3000 об./мин. в течение 10 минут при комнатной температуре) для получения плазмы. Уровни белка ПКП определяли с помощью твердофазного иммуноферментного анализа. Результаты, выраженные как процент ингибирования относительно контрольного образца с PBS, представлены в таблице 173. Результаты демонстрируют, что олигонуклеотиды ISIS существенно снижают уровни белка ПКП.

Таблица 173

Снижение (%) уровня белка ПКП в плазме яванских макак относительно контрольных уровней

	17 день	31 день	45 день	59 день	73 день
ISIS 546232	53	58	72	75	70
ISIS 546251	71	75	75	81	77
ISIS 546254	38	51	63	74	73
ISIS 546343	56	74	69	70	70
ISIS 546828	0	8	23	39	39
ISIS 547455	26	33	43	58	58
ISIS 547457	68	75	79	76	80
ISIS 547927	8	0	15	10	18
ISIS 548048	90	93	95	95	95

Исследования переносимости

Функция печени

Для оценки влияния олигонуклеотидов ISIS на печеночную функцию, обезьян

выдерживали без пищи в течение ночи. Во всех экспериментальных группах отбирали образцы крови объемом около 1,5 мл. Кровь собирали в пробирки без антикоагулянта для отделения сыворотки. Пробирки выдерживали при комнатной температуре в течение не менее 90 минут, а затем центрифугировали при 3000 об./мин в течение 10 минут. Уровни различных маркеров функции печени измеряли с помощью анализатора химического состава Toshiba 120FR NEO (Toshiba Co., Япония). Результаты представлены в таблице 174 и демонстрируют, что антисмысловые олигонуклеотиды не оказывают воздействия на функцию печени, выходящего за пределы ожидаемого диапазона для антисмысловых олигонуклеотидов.

Таблица 174

Уровни маркеров функции печени в плазме яванских макак

	Альбумин (г/дл)	AST (ед./л)	ALT (ед./л)
PBS	4,2	48	60
ISIS 546232	4,1	63	140
ISIS 546251	3,7	51	58
ISIS 546254	3,8	68	54
ISIS 546343	4,3	49	76
ISIS 546828	3,7	75	67
ISIS 547455	3,8	56	61
ISIS 547457	4,0	54	52
ISIS 547927	4,2	59	61
ISIS 548048	4,2	44	47

Гематология

Чтобы оценить влияние олигонуклеотидов ISIS на гематологические параметры яванских макак, образцы крови объемом около 1,2 мл крови отбирали до введения дозы и на 87 день или 88 день у каждого из доступных экспериментальных животных в пробирки, содержащие K_2-ЭДТА. Образцы анализировали на содержание красных кровяных телец (RBC), содержание белых кровяных телец (WBC), количество тромбоцитов, содержание гемоглобина и на гематокрит, используя анализатор гематологии ADVIA2120i (SIEMENS, США). Данные представлены в таблице 175.

Данные показывают, что лечение большинство олигонуклеотидов не вызывает каких-либо изменений гематологических параметров за пределами ожидаемого диапазона для антисмысловых олигонуклеотидов в указанной дозе.

Таблица 175

Гематологические параметры у яванских макак

	RBC (x 10^6/мкл)	Тромбоциты (x 10^3/мкл)	WBC (x 10^3/мкл)	Гемоглобин (г/дл)	HCT (%)
PBS	5,4	458	13	13,1	43
ISIS 546232	5,4	391	11	12,9	42
ISIS 546251	5,7	419	8	12,9	43
ISIS 546254	5,3	436	11	12,4	41
ISIS 546343	5,5	373	14	12,6	42
ISIS 546828	6,0	408	11	12,9	43
ISIS 547455	4,5	448	13	10,2	34
ISIS 547457	6,4	367	10	13,8	45
ISIS 547927	5,2	461	45	12,5	41
ISIS 548048	5,9	393	11	13,4	44

Функция почек

Для оценки влияния олигонуклеотидов ISIS на функцию почек обезьян выдерживали без пищи в течение ночи. Во всех экспериментальных группах отбирали образцы крови объемом около 1,5 мл. Кровь собирали в пробирки без антикоагулянта для отделения сыворотки. Пробирки выдерживали при комнатной температуре в течение не менее 90 минут, а затем центрифугировали при 3000 об./мин в течение 10 минут. Уровни АМК и креатинина измеряли с помощью анализатора химического состава Toshiba 120FR NEO (Toshiba Co., Япония). Результаты, представленные в таблице 176, выражены в мг/дл. Данные химического анализа плазмы показывают, что большинство олигонуклеотидов ISIS не оказывали какого-либо влияния на почечную функцию за пределами ожидаемого для антисмысловых олигонуклеотидов диапазона. В частности, лечение с применением ISIS 546254 хорошо переносилось с точки зрения функции почек обезьян.

Функцию почек оценивали также с помощью анализа мочи. Свежую мочу всех животных собирали, используя чистый лоток для клеток на мокром льду. За день до сбора свежей мочи животным в течение ночи не давали пищу, оставив только воду. Уровни общего белка и креатинина измеряли с помощью автоматического анализатора химического состава Toshiba 120FR NEO (Toshiba Co., Япония), и рассчитали также соотношение белка к креатинину. Результаты представлены в таблице 177.

Таблица 176

Уровни АМК и креатинина (мг/дл) у яванских макак

	АМК	Креатинин
PBS	22,8	0,9
ISIS 546232	22,7	1,0
ISIS 546251	25,4	1,1
ISIS 546254	25,7	0,9
ISIS 546343	26,2	1,0
ISIS 546828	24,7	0,9
ISIS 547455	29,4	0,9
ISIS 547457	24,3	1,0
ISIS 547927	22,3	1,0
ISIS 548048	21,9	0,9

Таблица 177

Соотношение белка/креатинина в моче яванских макак

	Соотношение
ISIS 546232	0,03
ISIS 546251	0,12
ISIS 546254	0,04
ISIS 546343	0,01
ISIS 546828	0,03
ISIS 547455	0,70
ISIS 547457	0,03
ISIS 547927	0,04
ISIS 548048	0,03
PBS	0,06

Анализ уровня С-реактивного белка

Для оценки возможного воспалительного действия олигонуклеотидов ISIS у яванских макак обезьян выдерживали без пищи в течение ночи. Во всех экспериментальных группах отбирали образцы крови объемом около 1,5 мл. Кровь собирали в пробирки без антикоагулянта для отделения сыворотки. Пробирки выдерживали при комнатной температуре в течение не менее 90 минут, а затем центрифугировали при 3000 об./мин в течение 10 минут. С-реактивный белок (CRP), который синтезируется в печени и служит маркером воспаления, измеряли с помощью анализатора химического состава

Toshiba 120FR NEO (Toshiba Co., Япония). Таким же образом измеряли комплемент C3, и данные представлены как процент от исходных значений. Результаты представлены в таблице 178 и показывают, что лечение олигонуклеотидами ISIS не вызывало воспаления у обезьян.

Таблица 178

Уровни С-реактивного белка и С3 в плазме яванских макак

	CRP (мг/дл)	C3 (% от исходного значения)
PBS	0,2	73
ISIS 546232	0,5	50
ISIS 546251	0,7	62
ISIS 546254	0,8	61
ISIS 546343	0,2	60
ISIS 546828	0,6	56
ISIS 547455	1,9	64
ISIS 547457	0,3	53
ISIS 547927	0,2	73
ISIS 548048	0,2	69

Пример 122: Антисмысловое ингибирование мРНК мышиного ПКП в первичных гепатоцитах мышей

Были сконструированы антисмысловые олигонуклеотиды, нацеленные на нуклеиновую кислоту ПКП мышей, и было протестировано их влияние на мРНК ПКП in vitro. Культивированные первичные гепатоциты мышей с плотностью 10000 клеток на лунку трансфицировали с помощью реагента Cytofectin с концентрациями антисмыслового олигонуклеотида 12,5 нМ, 25,0 нМ, 50,0 нМ, 100,0 нМ и 200,0 нМ. После периода обработки длительностью около 24 часов РНК выделяли из клеток и измеряли уровни мРНК ПКП мышей с помощью количественной ПЦР в реальном времени, используя мышиный набор праймерных зондов RTS3313 (прямая последовательность TGCCTGCTGTTCAGCTTTCTC, обозначенная в настоящем документе как SEQ ID NO: 2228; обратная последовательность TGGCAAAGTCCCTGTAATGCT, обозначенная в данном описании как SEQ ID NO: 2229; последовательность зонда CGTGACTCCACCCAAAGAGACAAATAAACG, обозначенная в данном описании как SEQ ID NO: 2230). Уровни мРНК ПКП скорректировали в соответствии с общим содержанием РНК, измеренным с помощью RIBOGREEN.

Химерные антисмысловые олигонуклеотиды были сконструированы как 5-10-5 MOE гэпмеры. Гэпмеры имеют 20 нуклеотидов в длину, причем центральный сегмент гэп состоит из десяти 2'-дезоксинуклеозидов и с обеих сторон (с 5' конца и с 3' конца) окружен

сегментами крыльев, содержащими по 5 нуклеозидов каждый. Каждый нуклеозид в 5' сегменте крыла и каждый нуклеозид в 3' сегменте крыла содержит 2'-О-метоксиэтильную модификацию. Межнуклеозидные связи в каждом гэпмере представляют собой тиофосфатные связи. Все остатки цитозина в каждом гэпмере представляют собой 5-метилцитозины. Результаты дедмонстрируют, что уровни мРНК ПКП были существенно снижены дозозависимым образом.

В одном конкретном примере ISIS 482584 (GGCATATTGGTTTTTGGAAT; SEQ ID NO: 2244) обеспечивал снижение мРНК ПКП дозозависимым образом с полумаксимальной ингибирующей концентрацией (IC_{50}) 84 нМ (см. таблицу 179). ISIS 482584 нацелен на SEQ ID NO: 11 (номер доступа GENBANK NM_008455.2) и имеет сайт-мишень инициации 1586 и сайт-мишень терминации 1605. «Сайт-мишень инициации» указывает 5'-крайний нуклеотид, на который нацелен гэпмер. «Сайт-мишень терминации» указывает 3'-крайний нуклеотид, на который нацелен гэпмер.

Таблица 179

Дозозависимое ингибирование уровней мРНК мышиного ПКП под действием ISIS 482584

Доза	% ингибирования
12,5 нМ	0
25,0 нМ	47
50,0 нМ	27
100,0 нМ	60
200,0 нМ	82

Пример 123: Антисмысловое ингибирование мРНК ПКП у мышей BALB/c

Испытали влияние ISIS 482584 на мРНК мышиного ПКП in vivo.

Лечение

Шесть групп самцов мышей BALB/c лечили, используя 2,5 мг/кг, 5,0 мг/кг, 10,0 мг/кг, 20,0 мг/кг, 40,0 мг/кг или 80,0 мг/кг ISIS 482584, которые вводили подкожно дважды в неделю в течение 3 недель (еженедельные дозы 5,0 мг/кг, 10,0 мг/кг, 20,0 мг/кг, 40,0 мг/кг, 80,0 мг/кг или 160 мг/кг). Контрольную группу мышей BALB/c лечили с PBS, который вводили подкожно дважды в неделю в течение 3 недель. Через два дня после введения последней дозы антисмыслового олигонуклеотида или PBS мышей из всех групп усыпили с помощью 150 мг/кг кетамина, смешанного с 10 мг/кг ксилазина, введенных внутрибрюшинной инъекцией. Для анализа РНК собрали печень.

Анализ РНК

РНК выделили из ткани печени для проведения анализа ПКП с помощью ПЦР в реальном времени. Уровни мРНК ПКП измеряли с использованием мышиного набора праймерных зондов (прямая последовательность ACAAGTGCATTTTACAGACCAGAGTAC, обозначенная в настоящем документе как SEQ ID NO: 2231; обратная последовательность GGTTGTCCGCTGACTTTATGCT, обозначенная в данном описании как SEQ ID NO: 2232; последовательность зонда AAGCACAGTGCAAGCGGAACACCC, обозначенная в данном описании как SEQ ID NO: 2233). Результаты представлены как процент ингибирования ПКП относительно контроля с PBS. Как показано в таблице 180, лечение с ISIS 482584 привело к существенному дозозависимому снижению мРНК ПКП в сравнении с контролем с PBS.

Таблица 180
Дозозависимое снижение мРНК ПКП в печени мышей BALB/c

Доза (мг/кг/неделя)	% ингибирования
5	3
10	42
20	68
40	85
80	91
160	94

Анализ белка

Плазму собирали в пробирки, содержащие цитрат натрия в качестве антикоагулянта. Образцы пропускали через SDS-полиакриламидный гель с градиентом 4-12% (Invitrogen), затем анализировали иммуноблоттингом с мышиным антителом ПКП (R&D Systems). Блоты инкубировали со вторичными, мечеными флуорофором антителами (LI-COR) и визуализировали на приборе Odyssey Imager (LI-COR). Результаты представлены как процент ингибирования ПКП относительно контроля с PBS. Как показано в таблице 181, лечение с ISIS 482584 привело к существенному дозозависимому снижению белка ПКП плазмы в сравнении с контролем с PBS.

Таблица 181
Дозозависимое снижение белка ПКП в плазме мышей BALB/c

Доза (мг/кг/неделя)	% ингибирования
5	5
10	24
20	47
40	76
80	81
160	н.д.

н.д. = нет данных

Пример 124: In vivo влияние антисмыслового ингибирования мышиного ПКП в мышиной модели ангионевротического отека

Наследственный ангионевротический отек (HAE) характеризуется локальным опуханием и увеличением сосудистой проницаемостью подкожных тканей (Morgan, B.P. N. Engl. J. Med. 363: 581-83, 2010). Причиной является дефицит ингибитора C1, белка системы комплемента. В данном исследовании использовали две мышиные модели, включая традиционную мышиную модель дефицита C1-INH и модель опухоли, вызванной каптоприлом, которые обусловливают проницаемость сосудов, что является признаком HAE. Реверсирование сосудистой проницаемости сопровождается повышенными уровнями высокомолекулярного кининогена (HMWK) в плазме.

В первой модели ангионевротический отек индуцировали введением каптоприла, известного антигипертензивного агента, который увеличивает сосудистую проницаемость у мышей и воспроизводит патологию наследственного ангионевротического отека.

Во второй модели, ангионевротический отек индуцировали лечением ISIS 461756, антисмысловым олигонуклеотидом, который нацелен на мРНК мышиного ингибитора C1, что увеличивает сосудистую проницаемость у мышей и воспроизводит патологию наследственного ангионевротического отека. ISIS 461756 (SEQ ID NO: 2245; AAAGTGGTTGATACCCTGGG) представляет собой 5-10-5 MOE гэпмер, нацеленный на нуклеозиды 1730-1749 NM_009776.3 (SEQ ID NO: 2243).

Влияние HOE-140 и ISIS 482584, антисмыслового олигонуклеотидного ингибитора ПКП, оценивали в мышиных моделях сосудистой проницаемости, индуцированной каптоприлом и ISIS 461756. Некоторые группы мышей лечили с помощью HOE-140, селективного антагониста рецептора брадикинина B2, который блокирует расширение

сосудов и проницаемость сосудов (Cruden and Newby, Expert Opin. Pharmacol. 9: 2383-90, 2008). Других мышей лечили с помощью ISIS 482584, который ингибирует экспрессию мРНК ПКП. Эффективность лечения с применением HOE-140 сравнили с эффективностью лечения с применением ISIS 482584.

Лечение

Различные экспериментальные группы для данного анализа представлены в таблице 182.

Группа 1 состояла из 4 мышей C57BL/6J-Tyrc-2J, которым подкожно вводили PBS дважды в неделю в течение 4 недель. Другого лечения для группы 1, которая служила контрольной группой для измерения базовых уровней сосудистой проницаемости, не проводилось.

Группа 2 состояла из 8 мышей C57BL/6J-Tyrc-2J, которым подкожно вводили PBS дважды в неделю в течение 4 недель. В конце лечения мышам внутрибрюшинно вводили 20 мкг каптоприла. Группа 2 служила контрольной группой с PBS для индуцированной каптоприлом сосудистой проницаемости.

Группа 3 состояла из 8 мышей C57BL/6J-Tyrc-2J, которым подкожно вводили PBS дважды в неделю в течение 4 недель. На 14 день мышам вводили 50 мг/кг антисмыслового олигонуклеотида, направленного на ингибитор C1, ISIS 461756, который вводили подкожно дважды в неделю в течение 2 недель. В конце периода лечения мышам внутрибрюшинно вводили 20 мкг каптоприла. Группа 3 служила контрольной группой с PBS для индуцированной каптоприлом и ISIS 461756 сосудистой проницаемости.

Группа 4 состояла из 8 мышей C57BL/6J-Tyrc-2J, которым подкожно вводили PBS дважды в неделю в течение 4 недель. На 14 день мышам вводили 50 мг/кг антисмыслового олигонуклеотида, направленного на ингибитор C1, ISIS 461756, который вводили подкожно дважды в неделю в течение 2 недель. В конце периода лечения мышам внутрибрюшинно вводили 20 мкг каптоприла. Затем мышам также внутрибрюшинно вводили 30 мкг HOE-140. Группа 4 служила положительным контролем ингибирования сосудистой проницаемости с HOE-140.

Группа 5 состояла из 8 мышей C57BL/6J-Tyrc-2J, которым вводили 40 мг/кг контрольного олигонуклеотида ISIS 141923, 5-10-5 MOE гэпмера без известной мишени у мышей (CCTTCCCTGAAGGTTCCTCC; SEQ ID NO: 2246), который вводили подкожно дважды в неделю в течение 4 недель. На 14 день мышам вводили 50 мг/кг антисмыслового олигонуклеотида, направленного на ингибитор C1, ISIS 461756, который вводили подкожно дважды в неделю в течение 2 недель. В конце периода лечения мышам внутрибрюшинно вводили 20 мкг каптоприла. Группа 5 служила контрольной группой для индуцированной каптоприлом и ISIS 461756 сосудистой проницаемости.

Группа 6 состояла из 8 мышей C57BL/6J-Tyrc-2J, которым подкожно вводили 40 мг/кг ISIS 482584 дважды в неделю в течение 4 недель. В конце периода лечения мышам внутрибрюшинно вводили 20 мкг каптоприла. Группа 6 служила экспериментальной группой лечения для исследования влияния ПКП ASO на индуцированную каптоприлом сосудистую проницаемость.

Группа 7 состояла из 8 мышей C57BL/6J-Tyrc-2J, которым подкожно вводили 40 мг/кг ISIS 482584 дважды в неделю в течение 4 недель. На 14 день мышам вводили 50 мг/кг антисмыслового олигонуклеотида, направленного на ингибитор C1, ISIS 461756, который вводили подкожно дважды в неделю в течение 2 недель. В конце периода лечения мышам внутрибрюшинно вводили 20 мкг каптоприла. Группа 7 служила экспериментальной группой лечения для исследования влияния ПКП ASO на

индуцированную каптоприлом и ISIS 461756 сосудистую проницаемость.

Затем всем группам вводили инъекции 30 мг/кг раствора Evans Blue в хвостовую вену. Мышей усыпляли через 30 минут после введения раствора Evans Blue, и извлекали ободочную кишку, стопы, уши и кишечник. Образцы крови получали пункцией сердца.

Таблица 182
Группы лечения

Группа №	Лечение	Каптоприл	ISIS 461756	HOE-140
1. (N=4)	PBS	Нет	Нет	Нет
2. (N=8)	PBS	Да	Нет	Нет
3. (N=8)	PBS	Да	Да	Нет
4. (N=8)	PBS	Да	Да	Да
5. (N=8)	ISIS 141923	Да	Да	Нет
6. (N=8)	ISIS 482584	Да	Нет	Нет
7. (N=8)	ISIS 482584	Да	Да	Нет

Количественное определение сосудистой проницаемости

Собранные ткани стоп, ободочной кишки, ушей и кишечника по отдельности помещали на ночь в раствор формамида для выщелачивания красителя Evans Blue. Раствор формамида, содержащий ткань уха и стопы, нагревали до 55°C и оставляли на ночь. Затем интенсивность окрашивания раствора формамида с инфундировавшим красителем измеряли при $OD_{600\ нм}$, и результаты приведены в таблице 183. Мыши, демонстрирующие проявления ангионевротического отека, захватывают больше красителя и, таким образом, демонстрируют более высокие значения OD.

показано в таблице 183, лечение ISIS 482584 предупреждает возникновение сосудистой проницаемости у мышей, получавших каптоприл (группа 6), и у мышей, получавших каптоприл и ISIS 461756 (группа 7), по сравнению с соответствующими контрольными группами с PBS (группы 2 и 3). Степень сосудистой проницаемости у мышей из групп 6 и 7 также была снижена в большинстве тканей, по сравнению с мышами, которых лечили контрольным олигонуклеотидом, ISIS 141923 (группа 5), где сосудистую проницаемость индуцировали каптоприлом и ISIS 461756. Степень сосудистой проницаемости в ткани ободочной кишки и ступней в обеих экспериментальных группах (группа 6 и 7) была сравнима с исходными значениями, которые наблюдали у мышей, которым вводили только PBS (группа 1). Снижение сосудистой проницаемости у мышей, которым вводили ISIS 482584, было сравнимо со снижением, наблюдаемым у мышей, которых лечили антагонистом рецептора брадикинина 2, HOE140, который служил в данном анализе положительным контролем.

Следовательно, антисмысловое ингибирование мРНК ПКП может иметь преимущество для лечения и предупреждения сосудистой проницаемости, которая является симптомом HAE.

Таблица 183
$OD_{600\ нм}$ красителя Evans Blue для измерения сосудистой проницаемости

Группа №	Лечение	Каптоприл	ISIS 461756	HOE-140	Ободочная кишка	Кишечник	Ступни	Уши
1	PBS	Нет	Нет	Нет	0,26	0,16	0,11	0,02
2	PBS	Да	Нет	Нет	0,49	0,29	0,12	0,07
3	PBS	Да	Да	Нет	0,49	0,34	0,11	0,12
4	PBS	Да	Да	Да	0,14	0,18	0,07	0,09
5	ISIS 141923	Да	Да	Нет	0,44	0,29	0,14	0,08
6	ISIS 482584	Да	Нет	Нет	0,27	0,30	0,07	0,14
7	ISIS 482584	Да	Да	Нет	0,21	0,34	0,07	0,06

Количественное определение высокомолекулярного кининогена (HMWK)

Количественное определение HMWK вестерн-блоттингом из образцов крови.

Образцы из групп 1 и 2 имеют низкие уровни HMWK по сравнению с группами 6 и 7, что указывает на то, что сосудистая проницаемость в группах 6 и 7 реверсирована. Образцы из групп 1 и 2 имеют повышенное содержание продукта расщепления HMWK по сравнению с группами 6 и 7. Таким образом, недостаток HMWK обусловлен расщеплением HMWK под действием ПКП до продуктов расщепления (в том числе брадикинина и HKa).

Пример 125: In vivo влияние антисмыслового ингибирования мышиного ПКП на базовую проницаемость и индуцированную каптоприлом проницаемость у мышей

Базовая проницаемость представляет собой степень сосудистой проницаемости в тканях ранее не подверженных экспериментам и лечению мышей. Было оценено влияние ISIS 482584 с точки зрения предотвращения сосудистой проницаемости, базовой или индуцированной каптоприлом.

Лечение

Различные экспериментальные группы для данного анализа представлены в таблице 184.

Группа 1 состояла из 8 мышей и получала PBS, который вводили подкожно два раза в неделю в течение 4 недель. Другого лечения для группы 1, которая служила контрольной группой для измерения базовых уровней сосудистой проницаемости, не проводилось.

Группа 2 состояла из 8 мышей и получала PBS, который вводили подкожно два раза в неделю в течение 4 недель. В конце периода лечения мышам внутрибрюшинно вводили 20 мкг каптоприла. Группа 2 служила группой отрицательного контроля для индуцированной каптоприлом сосудистой проницаемости.

Группа 3 состояла из 8 мышей и получала PBS, который вводили подкожно два раза в неделю в течение 4 недель. В конце периода лечения мышам внутрибрюшинно вводили 30 мкг HOE-140. Группа 3 служила положительным контролем для ингибирования базовой сосудистой проницаемости.

Группа 4 состояла из 8 мышей и получала PBS, который вводили подкожно два раза в неделю в течение 4 недель. В конце периода лечения мышам внутрибрюшинно вводили 20 мкг каптоприла. Мышам также внутрибрюшинно вводили 30 мкг HOE-140. Группа 4 служила положительным контролем ингибирования индуцированной каптоприлом сосудистой проницаемости.

Группа 5 состояла из 8 мышей, которым подкожно вводили 40 мг/кг ISIS 482584 два раза в неделю в течение 4 недель. Группа 5 служила экспериментальной группой лечения для исследования влияния ISIS 482584 на базовую сосудистую проницаемость.

Группа 6 состояла из 8 мышей, которым подкожно вводили 40 мг/кг ISIS 482584 два раза в неделю в течение 4 недель. В конце периода лечения мышам внутрибрюшинно

вводили 20 мкг каптоприла. Группа 6 служила экспериментальной группой лечения для исследования влияния ISIS 482584 на индуцированную каптоприлом сосудистую проницаемость.

Затем всем группам вводили инъекции 30 мг/кг раствора Evans Blue. Мышей усыпляли через 30 минут после введения раствора Evans Blue, и извлекали ободочную кишку, стопы, уши и кишечник.

Таблица 184

Группы лечения

Группа №	Лечение	Каптоприл	HOE-140
1. (N=8)	PBS	Нет	Нет
2. (N=8)	PBS	Да	Нет
3. (N=8)	PBS	Нет	Да
4. (N=8)	PBS	Да	Да
5. (N=8)	ISIS 482584	Нет	Нет
6. (N=8)	ISIS 482584	Да	Нет

Количественное определение сосудистой проницаемости

Собранные ткани стоп, ободочной кишки, кишечника и ушей по отдельности помещали на ночь в раствор формамида для выщелачивания красителя Evans Blue. Раствор формамида, содержащий ткань стопы и уха, нагревали до 55°C и оставляли на ночь. Затем интенсивность окрашивания раствора формамида с инфундировавшим красителем измеряли при $OD_{600\ нм}$, и результаты приведены в таблице 185. Мыши, демонстрирующие проявления ангионевротического отека, захватывают больше красителя и, таким образом, демонстрируют более высокие значения OD.

Как показано в таблице 185, мыши, которых лечили ISIS 482584, демонстрируют сниженную базовую сосудистую проницаемость по сравнению с контролем с PBS (группа 5 в сравнении с группой 1). Снижение базовой сосудистой проницаемости в результате лечения с применением ISIS 482584 сравнимо со снижением, вызванным лечением HOE-140 (группа 3, которая служила положительным контролем). Мыши, которых лечили с применением ISIS 482584, демонстрировали также снижение индуцированной каптоприлом сосудистой проницаемости в большинстве тканей, по сравнению с контролем с PBS (группа 6 в сравнении с группой 2). Снижение индуцированной каптоприлом сосудистой проницаемости в результате лечения с применением ISIS 482584 сравнимо со снижением, вызванным лечением HOE-140 (группа 4, которая служила положительным контролем).

Таблица 185

$OD_{600\ нм}$ красителя Evans Blue для измерения сосудистой проницаемости

Группа №	Лечение	Каптоприл	HOE-140	Ободочная кишка	Ступни	Кишечник	Уши
1	PBS	Нет	Нет	0,27	0,08	0,23	0,06
2	PBS	Да	Нет	0,61	0,08	0,24	0,01
3	PBS	Нет	Да	0,18	0,06	0,21	0,03
4	PBS	Да	Да	0,29	0,03	0,14	0,00
5	ISIS 482584	Нет	Нет	0,19	0,07	0,22	0,04
6	ISIS 482584	Да	Нет	0,37	0,05	0,22	0,00

Пример 126: Дозозависимое влияние антисмыслового ингибирования мышиного ПКП на индуцированную каптоприлом сосудистую проницаемость

Было оценено влияние различных доз ISIS 482584 на индуцированную каптоприлом сосудистую проницаемость.

Лечение

Различные экспериментальные группы для данного анализа представлены в таблице 186.

Группа 1 состояла из 4 мышей и получала PBS, который вводили подкожно два раза в неделю в течение 3 недель. Другого лечения для группы 1, которая служила контрольной группой для измерения базовых уровней сосудистой проницаемости, не проводилось.

Группа 2 состояла из 8 мышей и получала PBS, который вводили подкожно два раза в неделю в течение 3 недель. В конце периода лечения мышам внутрибрюшинно вводили 20 мкг каптоприла. Группа 2 служила контрольной группой для индуцированной каптоприлом сосудистой проницаемости.

Группа 3 состояла из 4 мышей и получала PBS, который вводили подкожно два раза в неделю в течение 3 недель. В конце периода лечения мышам внутрибрюшинно вводили 20 мкг каптоприла. Мышам также внутрибрюшинно вводили 30 мкг Icatibant (HOE-140). Группа 4 служила положительным контролем ингибирования индуцированной каптоприлом сосудистой проницаемости.

Группы 4, 5, 6, 7, 8 и 9 состояли из 8 мышей каждая и получали 2,5 мг/кг, 5 мг/кг, 10 мг/кг, 20 мг/кг, 40 мг/кг или 80 мг/кг (что соответствовало 5 мг/кг, 10 мг/кг, 20 мг/кг, 40 мг/кг, 80 мг/кг или 160 мг/кг в неделю), соответственно, ISIS 482584, который вводили подкожно два раза в неделю в течение 3 недель. В конце периода лечения мышам всех групп внутрибрюшинно вводили 20 мкг каптоприла. Группы 4-9 служили экспериментальными группами лечения для исследования влияния различных доз ISIS 482584 на индуцированную каптоприлом сосудистую проницаемость.

Затем всем группам вводили инъекции 30 мг/кг раствора Evans Blue в хвостовую вену. Мышей усыпляли через 30 минут после введения раствора Evans Blue, и извлекали ободочную кишку, стопы, уши и кишечник. Образцы крови получали пункцией сердца.

Таблица 186
Группы лечения

Группа №	Лечение	Доза (мг/кг/неделя)	Каптоприл	HOE-140
1. (N=4)	PBS	-	Нет	Нет
2. (N=8)	PBS	-	Да	Нет
3. (N=4)	PBS	-	Да	Да
4. (N=8)	ISIS 482584	160	Да	Нет
5. (N=8)	ISIS 482584	80	Да	Нет
6. (N=8)	ISIS 482584	40	Да	Нет
7. (N=8)	ISIS 482584	20	Да	Нет
8. (N=8)	ISIS 482584	10	Да	Нет
9. (N=8)	ISIS 482584	5	Да	Нет

Количественное определение сосудистой проницаемости

Собранные ткани помещали на ночь в раствор формамида для выщелачивания красителя Evans Blue. Раствор формамида, содержащий ткань стопы и уха, нагревали до 55°C и оставляли на ночь. Затем интенсивность окрашивания раствора формамида с инфундировавшим красителем измеряли при $OD_{600\ нм}$, и результаты приведены в таблице 187. Мыши, демонстрирующие проявления ангионевротического отека, захватывают больше красителя и, таким образом, демонстрируют более высокие

значения OD.

Как показано в таблице 187, у мышей, которым вводили более высокие дозы ISIS 482584 (группы 4, 5 и 6), уровни индуцированной каптоприлом сосудистой проницаемости были снижены, по сравнению с соответствующей контрольной группой с PBS (группа 2). Уменьшение сосудистой проницаемости у мышей из этих групп лечения (группы 4 и 5) было сравнимым с уровнями базовой сосудистой проницаемости (как показано для группы 1), а также с показателями мышей, получавших HOE-140 (группа 3).

Таблица 187

$OD_{600\ нм}$ красителя Evans Blue для измерения сосудистой проницаемости

Группа №	Лечение	Доза (мг/кг)	Каптоприл	HOE-140	Ободочная кишка	Ступни	Кишечник	Уши
1	PBS	-	Нет	Нет	0,16	0,07	0,13	0,01
2	PBS	-	Да	Нет	0,39	0,12	0,18	0,07
3	PBS	-	Да	Да	0,15	0,03	0,10	0,04
4	ISIS 482584	160	Да	Нет	0,26	0,10	0,15	0,05
5	ISIS 482584	80	Да	Нет	0,21	0,04	0,17	0,03
6	ISIS 482584	40	Да	Нет	0,36	0,10	0,20	0,05
7	ISIS 482584	20	Да	Нет	0,40	0,11	0,20	0,07
8	ISIS 482584	10	Да	Нет	0,41	0,10	0,19	0,05
9	ISIS 482584	5	Да	Нет	0,41	0,10	0,17	0,05

Количественное определение транссудации

Кровь, полученную пункцией сердца, сразу смешивали с 3-кратным объемом ледяного этанола. Раствор центрифугировали при 15000 g в течение 20 минут при 4°C, чтобы удалить клеточный дебрис и осажденные белки плазмы. Этанольные экстракты дополнительно очищали ультрафильтрацией через фильтр с НОММ 10 кДа. После этого, интенсивность окрашивания экстрагированного этанолом раствора плазмы измеряли при $OD_{620\ нм}$. Результаты представлены в таблице 188 как процент возрастания или уменьшения значений OD относительно показателей контрольной группы 1 с PBS. Ожидалось, что ткани мышей, демонстрирующих проявления ангионевротического отека, будет демонстрировать более высокую транссудацию красителя из плазмы и, таким образом, значения OD будут более низкими, тогда как экспериментальные могут демонстрировать более высокие значения OD за счет уменьшения транссудации. Мыши, которым вводили 160 мг/кг/неделю и 80 мг/кг/неделю ISIS 482584 (группы 4 и 5), продемонстрировали меньшую транссудацию, по сравнению с отрицательным контролем с PBS, получавшим каптоприл (группа 2). Результаты групп 4 и 5 были сравнимы с положительным контролем, получавшим HOE-140 (группа 3).

Таблица 188

Процент $OD_{620\ нм}$ красителя Evans Blue, по сравнению с базовым контролем с PBS, для измерения транссудации

Группа №	Лечение	Доза (мг/кг)	Каптоприл	HOE-140	Плазма
2	PBS	-	Да	Нет	-43
3	PBS	-	Да	Да	5
4	ISIS 482584	160	Да	Нет	91
5	ISIS 482584	80	Да	Нет	40
6	ISIS 482584	40	Да	Нет	-31
7	ISIS 482584	20	Да	Нет	-26
8	ISIS 482584	10	Да	Нет	-20
9	ISIS 482584	5	Да	Нет	-23

Пример 127: Дозозависимое влияние антисмыслового ингибирования мышиного ПКП на базовую проницаемость у мышей

Было оценено влияние различных доз ISIS 482584 на базовую сосудистую проницаемость.

Лечение

Различные экспериментальные группы для данного анализа представлены в таблице 189.

Группа 1 состояла из 8 мышей и получала PBS, который вводили подкожно два раза в неделю в течение 3 недель. Другого лечения для группы 1, которая служила контрольной группой для измерения базовых уровней сосудистой проницаемости, не проводилось.

Группа 2 состояла из 4 мышей и получала PBS, который вводили подкожно два раза в неделю в течение 3 недель. В конце периода лечения мышам внутрибрюшинно вводили 30 мкг HOE-140. Группа 2 служила положительным контролем для ингибирования базовой сосудистой проницаемости.

Группы 3, 4, 5, 6, 7 и 8 состояли из 8 мышей каждая и получали 2,5 мг/кг, 5 мг/кг, 10 мг/кг, 20 мг/кг, 40 мг/кг или 80 мг/кг (что соответствовало 5 мг/кг, 10 мг/кг, 20 мг/кг, 40 мг/кг, 80 мг/кг или 160 мг/кг в неделю), соответственно, ISIS 482584, который вводили подкожно два раза в неделю в течение 3 недель. Группы 4-9 служили экспериментальными группами лечения для исследования влияния различных доз ISIS 482584 на базовую сосудистую проницаемость.

Затем всем группам вводили инъекции 30 мг/кг раствора Evans Blue в хвостовую вену. Мышей усыпляли через 30 минут после введения раствора Evans Blue, извлекали ободочную кишку, стопы и уши и исследовали на предмет нарушений проницаемости. Образцы крови получали пункцией сердца.

Таблица 189
Группы лечения

Группа №	Лечение	Доза (мг/кг/неделю)	HOE-140
1. (N=8)	PBS	-	Нет
2. (N=4)	PBS	-	Да
3. (N=8)	ISIS 482584	160	Нет
4. (N=8)	ISIS 482584	80	Нет
5. (N=8)	ISIS 482584	40	Нет
6. (N=8)	ISIS 482584	20	Нет
7. (N=8)	ISIS 482584	10	Нет
8. (N=8)	ISIS 482584	5	Нет

Количественное определение сосудистой проницаемости

Собранные ткани стоп, ободочной кишки и ушей помещали на ночь в раствор формамида для выщелачивания красителя Evans Blue. Раствор формамида, содержащий ткань стопы и уха, нагревали до 55°C и оставляли на ночь. Затем интенсивность окрашивания раствора формамида с инфундировавшим красителем измеряли при $OD_{600\ нм}$, и результаты приведены в таблице 190. Более высокие значения OD связаны с более высокими уровнями проницаемости.

Как показано в таблице 190, большинство тканей мышей, которым вводили ISIS 482584 во всех дозах (группы 3-8), продемонстрировали сниженную базовую сосудистую проницаемость, по сравнению с контролем с PBS (группа 1). Уменьшение базовой сосудистой проницаемости леченных олигонуклеотидом ISIS групп было сравнимым с показателями в группе положительного контроля, получавшей HOE-140 (группа 2).

Таблица 190
$OD_{600\ нм}$ красителя Evans Blue для измерения сосудистой проницаемости

Группа №	Лечение	Доза (мг/кг/неделю)	HOE-140	Ободочная кишка	Ступни	Уши
1	PBS	-	Нет	0,27	0,17	0,013
2	PBS	-	Да	0,24	0,09	0,047
3	ISIS 482584	160	Нет	0,25	0,11	0,019
4	ISIS 482584	80	Нет	0,24	0,09	0,014
5	ISIS 482584	40	Нет	0,27	0,11	0,011
6	ISIS 482584	20	Нет	0,26	0,11	0,009
7	ISIS 482584	10	Нет	0,31	0,10	0,015
8	ISIS 482584	5	Нет	0,32	0,11	0,009

Количественное определение транссудации

Кровь, полученную пункцией сердца, сразу смешивали с 3-кратным объемом ледяного этанола. Раствор центрифугировали при 15000 g в течение 20 минут при 4°C, чтобы удалить клеточный дебрис и осажденные белки плазмы. Этанольные экстракты дополнительно очищали ультрафильтрацией через фильтр с НОММ 10 кДа. После этого, интенсивность окрашивания экстрагированного этанолом раствора плазмы измеряли при $OD_{620\ нм}$. Результаты представлены в таблице 191 как процент возрастания или уменьшения значений OD относительно показателей контрольной группы 1 с PBS. Ожидалось, что группы лечения могут демонстрировать более высокие значения OD за счет уменьшения транссудации. Все мыши в группах, которым вводили

олигонуклеотид ISIS, продемонстрировали значительно сниженную транссудацию, по сравнению с отрицательным контролем с PBS.

Таблица 191

Процент $OD_{620\ нм}$ красителя Evans Blue, по сравнению с базовым контролем с PBS, для измерения транссудации

Группа №	Лечение	Доза (мг/кг/неделю)	HOE-140	Плазма
2. (N=8)	ISIS 482584	160	Нет	95
3. (N=8)	ISIS 482584	80	Нет	93
4. (N=8)	ISIS 482584	40	Нет	83
5. (N=8)	ISIS 482584	20	Нет	56
6. (N=8)	ISIS 482584	10	Нет	36

Количественное определение высокомолекулярного кининогена (HMWK)

Количественное определение HMWK вестерн-блоттингом из образцов крови представлено в таблицах 192 и 193.

Как показано в таблице 192, в группах, которым вводили 482584, наблюдали более высокие уровни HMWK по сравнению с контролем с PBS, возрастающие дозозависимым образом. Лечение антисмысловым олигонуклеотидом против ПКП приводит к стабилизации HMWK. Таким образом, сосудистая проницаемость снижалась в группах, которым вводили ISIS 482584, дозозависимым образом. Как показано в таблице 193, в группах, которым вводили ISIS 482584, наблюдали более низкое содержание продукта расщепления HMWK по сравнению с контролем с PBS, снижающийся дозозависимым образом. Таким образом, снижение HMWK обусловлено расщеплением HMWK под действием ПКП до продуктов расщепления (в том числе брадикинина и HKa). Данные представлены в единицах интенсивности, по результатам измерения денситометром.

Таблица 192

Количественное определение HMWK с помощью денситометра

Группа №	Лечение	Доза (мг/кг/неделю)	Единицы интенсивности
1	PBS	-	89
3	ISIS 482584	160	21358
4	ISIS 482584	80	7279
5	ISIS 482584	40	873
6	ISIS 482584	20	608
7	ISIS 482584	10	507

Таблица 193

Количественное определение продукта расщепления HMWK с помощью денситометра

Группа №	Лечение	Доза (мг/кг/неделю)	Единицы интенсивности
1	PBS	-	401738
3	ISIS 482584	160	19936
4	ISIS 482584	80	204482
5	ISIS 482584	40	388135
6	ISIS 482584	20	403360
7	ISIS 482584	10	414774

Пример 128: Комбинированная терапия антисмысловыми олигонуклеотидами, нацеленными на ПКП и фактор 12, при индуцированной каптоприлом сосудистой проницаемости у мышей

Мышей лечили различными дозами ISIS 410944, 5-10-5 MOE гэпмера, нацеленного

на фактор 12 (GCATGGGACAGAGATGGTGC; SEQ ID NO: 2247), и ISIS 482584 в модели индуцированной каптоприлом сосудистой проницаемости.

Лечение

Различные экспериментальные группы для данного анализа представлены в таблице 194.

Группа 1 состояла из 4 мышей и получала PBS, который вводили подкожно два раза в неделю в течение 3 недель. Другого лечения для группы 1, которая служила контрольной группой для измерения базовых уровней сосудистой проницаемости, не проводилось.

Группа 2 состояла из 8 мышей и получала PBS, который вводили подкожно два раза в неделю в течение 3 недель. В конце периода лечения мышам внутрибрюшинно вводили 20 мкг каптоприла. Группа 2 служила контрольной группой для индуцированной каптоприлом сосудистой проницаемости.

Группа 3 состояла из 4 мышей и получала PBS, который вводили подкожно два раза в неделю в течение 3 недель. В конце периода лечения мышам внутрибрюшинно вводили 20 мкг каптоприла. Мышам также внутрибрюшинно вводили 30 мкг HOE-140. Группа 3 служила группой положительного контроля для ингибирования индуцированной каптоприлом сосудистой проницаемости.

Группы 4, 5, 6, 7, и 8 состояли из 8 мышей каждая и получали 2,5 мг/кг, 5 мг/кг, 10 мг/кг, 20 мг/кг или 40 мг/кг (что соответствовало 5 мг/кг, 10 мг/кг, 20 мг/кг, 40 мг/кг или 80 мг/кг в неделю), соответственно, ISIS 482584 и ISIS 410944, каждый из которых вводили подкожно два раза в неделю в течение 3 недель. В конце периода лечения мышам всех групп внутрибрюшинно вводили 20 мкг каптоприла. Группы 4-8 служили экспериментальными группами лечения для исследования влияния ISIS 410944 и ISIS 482584 на индуцированную каптоприлом сосудистую проницаемость.

Затем всем группам вводили инъекции 30 мг/кг раствора Evans Blue в хвостовую вену. Мышей усыпляли через 30 минут после введения раствора Evans Blue, и извлекали ободочную кишку, стопы, уши и кишечник.

Таблица 194

Группы лечения

Группа №	Лечение	Доза (мг/кг/неделю) каждого ASO	Каптоприл	HOE-140
1. (N=4)	PBS	-	Нет	Нет
2. (N=8)	PBS	-	Да	Нет
3. (N=4)	PBS	-	Да	Да
4. (N=8)	ISIS 482584+ISIS 410944	80	Да	Нет
5. (N=8)	ISIS 482584+ISIS 410944	40	Да	Нет
6. (N=8)	ISIS 482584+ISIS 410944	20	Да	Нет
7. (N=8)	ISIS 482584+ISIS 410944	10	Да	Нет
8. (N=8)	ISIS 482584+ISIS 410944	5	Да	Нет

Количественное определение сосудистой проницаемости

Собранные ткани стоп, ободочной кишки и ушей помещали на ночь в раствор формамида для выщелачивания красителя Evans Blue. Раствор формамида, содержащий ткань стопы и уха, нагревали до 55°C и оставляли на ночь. Затем интенсивность

окрашивания раствора формамида с инфундировавшим красителем измеряли при $OD_{600\ нм}$, и результаты приведены в таблице 195. Более высокие значения OD связаны с более высокими уровнями проницаемости.

Как показано в таблице 195, большинство тканей мышей, которым вводили комбинацию ISIS 482584 and ISIS 410944 во всех дозах (группы 3-8), продемонстрировали сниженную сосудистую проницаемость, по сравнению с контролем с PBS (группа 1). Уменьшение сосудистой проницаемости в группах, которым вводили олигонуклеотид ISIS, было сравнимым с показателями в базовой контрольной группе с PBS (группа 1), а также в группе положительного контроля, получавшей HOE-140 (группа 2). Комбинация антисмысловых олигонуклеотидов, нацеленных на ПКП и фактор 12, приводит к синергетическому снижению проницаемости. Ожидалось также наблюдение соответствующего синергетического снижения транссудации.

Таблица 195

$OD_{600\ нм}$ красителя Evans Blue для измерения сосудистой проницаемости

Группа №	Лечение	Доза (мг/кг/неделю) каждого ASO	Каптоприл	HOE-140	Ободочная кишка	Ступни	Кишечник	Уши
1	PBS	-	Нет	Нет	0,24	0,11	0,13	0,01
2	PBS	-	Да	Нет	0,38	0,15	0,11	0,05
3	PBS	-	Да	Да	0,23	0,06	0,15	0,04
4	ISIS 482584+ISIS 410944	80	Да	Нет	0,19	0,07	0,11	0,04
5	ISIS 482584+ISIS 410944	40	Да	Нет	0,19	0,07	0,12	0,03
6	ISIS 482584+ISIS 410944	20	Да	Нет	0,22	0,08	0,12	0,04
7	ISIS 482584+ISIS 410944	10	Да	Нет	0,38	0,13	0,13	0,05
8	ISIS 482584+ISIS 410944	5	Да	Нет	0,53	0,12	0,13	0,03

Пример 129: Влияние комбинированной терапии антисмысловыми олигонуклеотидами, нацеленными на ПКП и фактор 12, на базовую сосудистую проницаемость у мышей

Мышей лечили различными дозами ISIS 410944, антисмыслового олигонуклеотида, нацеленного на фактор 12, и ISIS 482584 в модели базовой сосудистой проницаемости.

Лечение

Различные экспериментальные группы для данного анализа представлены в таблице 196.

Группа 1 состояла из 8 мышей и получала PBS, который вводили подкожно два раза в неделю в течение 3 недель. Другого лечения для группы 1, которая служила контрольной группой для измерения базовых уровней сосудистой проницаемости, не проводилось.

Группа 2 состояла из 4 мышей и получала PBS, который вводили подкожно два раза в неделю в течение 3 недель. В конце периода лечения мышам внутрибрюшинно вводили 30 мкг HOE-140. Группа 2 служила положительным контролем для ингибирования базовой сосудистой проницаемости.

Группы 3, 4, 5, 6 и 7 состояли из 8 мышей каждая и получали 2,5 мг/кг, 5 мг/кг, 10 мг/кг, 20 мг/кг или 40 мг/кг (что соответствовало 5 мг/кг, 10 мг/кг, 20 мг/кг, 40 мг/кг или 80 мг/кг в неделю), соответственно, ISIS 482584 и ISIS 410944, каждый из которых

вводили подкожно два раза в неделю в течение 3 недель. Группы 3-7 служили экспериментальными группами лечения для исследования влияния ISIS 410944 и ISIS 482584 на базовую сосудистую проницаемость.

Затем всем группам вводили инъекции 30 мг/кг раствора Evans Blue в хвостовую вену. Мышей усыпляли через 30 минут после введения раствора Evans Blue, и извлекали ободочную кишку, стопы, уши и кишечник.

Таблица 196
Группы лечения

Группа №	Лечение	Доза (мг/кг/неделя)	HOE-140
1. (N=8)	PBS	-	Нет
2. (N=4)	PBS	-	Да
3. (N=8)	ISIS 482584+ISIS 410944	80	Нет
4. (N=8)	ISIS 482584+ISIS 410944	40	Нет
5. (N=8)	ISIS 482584+ISIS 410944	20	Нет
6. (N=8)	ISIS 482584+ISIS 410944	10	Нет
7. (N=8)	ISIS 482584+ISIS 410944	5	Нет

Количественное определение сосудистой проницаемости

Собранные ткани стоп, ободочной кишки, кишечника и ушей помещали на ночь в раствор формамида для выщелачивания красителя Evans Blue. Раствор формамида, содержащий ткань стопы и уха, нагревали до 55°C и оставляли на ночь. Затем интенсивность окрашивания раствора формамида с инфундировавшим красителем измеряли при $OD_{600\,нм}$, и результаты приведены в таблице 197. Более высокие значения OD связаны с более высокими уровнями проницаемости.

Как показано в таблице 197, большинство тканей мышей, которым вводили комбинацию ISIS 482584 and ISIS 410944 во всех дозах (группы 2-7), продемонстрировали сниженную сосудистую проницаемость, по сравнению с контролем с PBS (группа 1). Уменьшение сосудистой проницаемости леченных олигонуклеотидом ISIS групп было сравнимым с показателями в группе положительного контроля, получавшей HOE-140 (группа 2). Комбинация антисмысловых олигонуклеотидов, нацеленных на ПКП и фактор 12, приводит к синергетическому снижению проницаемости. Ожидалось также наблюдение соответствующего синергетического снижения транссудации.

Таблица 197

$OD_{600\ нм}$ красителя Evans Blue для измерения сосудистой проницаемости

Группа №	Лечение	Доза (мг/кг/неделя)	НОЕ-140	Ободочная кишка	Ступни	Кишечник	Уши
1	PBS	-	Нет	0,19	0,08	0,10	0,004
2	PBS	-	Да	0,14	0,04	0,08	0,008
3	ISIS 482584+ISIS 410944	80	Нет	0,14	0,04	0,09	0,01
4	ISIS 482584+ISIS 410944	40	Нет	0,15	0,05	0,10	0,006
5	ISIS 482584+ISIS 410944	20	Нет	0,15	0,04	0,10	0,007
6	ISIS 482584+ISIS 410944	10	Нет	0,15	0,06	0,10	0,004
7	ISIS 482584+ISIS 410944	5	Нет	0,14	0,05	0,13	0,002

Пример 130: Ингибирование активации белка фактора 12 под действием ISIS 482584

Оценили влияние антисмыслового ингибирования мРНК ПКП на активацию белка фактора 12.

Лечение

Различные экспериментальные группы для данного анализа представлены в таблице 198.

Группа 1 состояла из 8 мышей и получала PBS, который вводили подкожно два раза в неделю в течение 3 недель. Другого лечения для группы 1, которая служила контрольной группой для измерения активации фактора 12, не проводилось.

Группы 2, 3, 4, 5 и 6 состояли из 8 мышей каждая и получали 2,5 мг/кг, 5 мг/кг, 10 мг/кг, 20 мг/кг или 40 мг/кг (что соответствовало 5 мг/кг, 10 мг/кг, 20 мг/кг, 40 мг/кг или 80 мг/кг в неделю), соответственно, ISIS 482584, который вводили подкожно два раза в неделю в течение 3 недель. Группы 2-6 служили экспериментальными группами для измерения влияния ISIS 482584 на активацию фактора 12.

В конце периода лечения у мышей собирали плазму для амидолитического анализа фактора 12 в плазме на основе фактора 12a Spectrozyme®.

Таблица 198

Группы лечения

Группа №	Лечение	Доза (мг/кг/неделя)
1. (N=8)	PBS	-
2. (N=8)	ISIS 482584	80
3. (N=8)	ISIS 482584	40
4. (N=8)	ISIS 482584	20
5. (N=8)	ISIS 482584	10
6. (N=8)	ISIS 482584	5

Анализ активации фактора 12 в плазме

Плазму (5 мкл) добавляли к 85 мкл PBS с 1 мкг/мл сульфата декстрана (500 кДа) в 96-луночном полипропиленовом микропланшете и инкубировали раствор в течение 5 минут при комнатной температуре. Добавляли Spectrozyme® FXIIa (10 мкл 2 мМ раствора) и 0,2 мМ раствор KALLISTOP™, и измеряли кинетику поглощения при 405 нм. Активацию фактора 12 измеряли в линейной фазе накопления поглощения. Результаты представлены в таблице 199 как процент активации фактора 12, измеренной

в контрольном образце с PBS. Как показано в таблице 199, ингибирование ПКП под действием ISIS 482584 приводит к снижению активации фактора 12 его субстратом, подразумевая, что указанный ПКП необходим для надлежащей активации фактора 12.

Таблица 199

Процент активации фактора 12 по сравнению с контролем с PBS

Доза (мг/кг/неделя)	% активации F12
80	14
40	24
20	47
10	63
5	82

Пример 131: In vivo влияние антисмыслового ингибирования мышиного ПКП на сосудистую проницаемость, индуцированную антисмысловым олигонуклеотидом C1-INH

Сосудистая проницаемость, индуцированная ISIS 461756, антисмысловым олигонуклеотидом, который направлен на мРНК ингибитора мышиного C1, увеличивает сосудистую проницаемость у мышей и воспроизводит патологию наследственного ангионевротического отека. Исследовали влияние ISIS 482584 на данную модель.

Лечение

Одну группу из 8 мышей лечили с применением 40 мг/кг ISIS 482584, который подкожно вводили два раза в неделю в течение 3 недель (недельная доза 80 мг/кг). Вторую группу из 8 мышей лечили с применением 40 мг/кг контрольного олигонуклеотида, ISIS 141923, который подкожно вводили два раза в неделю в течение 3 недель (недельная доза 80 мг/кг). Третью группу из 8 мышей лечили с применением PBS, который подкожно вводили два раза в неделю в течение 3 недель. На 14 день всем группам подкожно вводили 12,5 мг/кг ISIS 461756, два раза в неделю в течение 3 недель (недельная доза 25 мг/кг). Контрольную группу мышей лечили с PBS, который подкожно вводили два раза в неделю в течение 3 недель, но им не вводили ISIS 461756.

В конце периода лечения всем группам в хвостовую вену ввели инъекцию 30 мг/кг раствора Evans Blue. Мышей усыпляли через 30 минут после введения раствора Evans Blue, и извлекали ободочную кишку, стопы, уши и кишечник. Для анализа РНК собрали также печень.

Анализ РНК

РНК выделили из печени для проведения анализа C1-INH и мРНК ПКП с помощью ПЦР в реальном времени. Набор праймерных зондов для C1-INH представляет собой RTS3218 (прямая последовательность GAGTCCCCCAGAGCCTACAGT, обозначенная в настоящем документе как SEQ ID NO: 2234; обратная последовательность TGTCATTTGTTATTGTGATGGCTACA, обозначенная в настоящем документе как SEQ ID NO: 2235; последовательность зонда CTGCCCTCTACCTGGCCAACAACCA, обозначенная в настоящем документе как SEQ ID NO: 2236). Набор праймерных зондов для ПКП представляет собой RTS3287 (прямая последовательность ACAAGTGCATTTTACAGACCAGAGTAC, обозначенная в настоящем документе как SEQ ID NO: 2237; обратная последовательность GGTTGTCCGCTGACTTTATGCT, обозначенная в настоящем документе как SEQ ID NO: 2238; последовательность зонда AAGCACAGTGCAAGCGGAACACCC, обозначенная в настоящем документе как SEQ ID NO: 2239). Результаты представлены в таблице 200 как процент ингибирования по сравнению с контрольным образцом с PBS, не обработанным ISIS 461756. Данные демонстрируют, что ISIS 461756 существенно снижает экспрессию мРНК C1-INH и что обработка с применением ISIS 482584 существенно снижает экспрессию ПКП.

Таблица 200

Процент ингибирования экспрессии мРНК у мышей, которым вводили ISIS 461756, по сравнению с необработанным контролем с PBS

Лечение	мРНК	мРНК
	C1-INH	ПКП
PBS	76	0
ISIS 141923	79	0
ISIS 482584	77	78

Количественное определение сосудистой проницаемости

Собранные ткани стоп, ободочной кишки и кишечника помещали на ночь в раствор формамида для выщелачивания красителя Evans Blue. Раствор формамида, содержащий ткань стопы, нагревали до 55°C и оставляли на ночь. Затем интенсивность окрашивания раствора формамида с инфундировавшим красителем измеряли при $OD_{600\ нм}$. Данные представлены в таблице 201 как процент увеличения или снижения по сравнению с контрольным образцом с PBS, не обработанным ISIS 461756. Данные демонстрируют, что лечение с применением ISIS 482584 предотвращает сосудистую проницаемость, индуцированную ISIS 461756.

Таблица 201

Процентное изменение сосудистой проницаемости у мышей, которым вводили ISIS 461756, по сравнению с необработанным контролем с PBS

Лечение	Ободочная кишка	Ступни	Кишечник
PBS	13	70	27
ISIS 141923	2	80	14
ISIS 482584	-23	2	-25

Пример 132: In vivo влияние антисмыслового ингибирования мышиного ПКП в модели индуцированного $FeCl_3$ тромбоза нижней полой вены

ISIS 482584, который демонстрирует существенное in vitro и in vivo ингибирование ПКП, проверили в мышиной модели индуцированного $FeCl_3$ тромбоза нижней полой вены.

Лечение

Трем группам по 8 самцов мышей BALB/c подкожно вводили 10 мг/кг, 20 мг/кг или 40 мг/кг ISIS 482584, два раза в неделю в течение 3 недель (недельные дозы 20 мг/кг, 40 мг/кг или 80 мг/кг). Две контрольнце группы по 12 мышей BALB/c лечили PBS, который подкожно вводили два раза в неделю в течение 3 недель. Через два дня после введения последней дозы антисмыслового олигонуклеотида или PBS мышей из всех групп усыпили с помощью 150 мг/кг кетамина, смешанного с 10 мг/кг ксилазина, введенных внутрибрюшинной инъекцией. Образование тромба индуцировали с помощью $FeCl_3$ во всех группах усыпленных мышей, за исключением первой контрольной группы.

У мышей, подвернутых обработке $FeCl_3$, образование тромба индуцировали накладыванием кусочка фильтровальной бумаги (2×4 мм), предварительно пропитанной 10% раствором $FeCl_3$, непосредственно на полую вену. Через 3 минуты воздействия фильтровальную бумагу убирали. Через тридцать минут после нанесения фильтровальной бумаги вырезали вену фиксированной длины, содержащую тромб, для проведения анализа тромбоцитов. Для анализа РНК собрали печень.

Количественное определение состава тромбоцитов

Для количественного определения тромбоцитов в полой вене как меры образования тромба использовали количественное определение тромбоцитарного фактора 4 (PF-4)

с помощью ПЦР в реальном времени. Уровни мРНК PF-4 измеряли с использованием мышиного набора праймерных зондов mPF4_LTS_00086 (прямая последовательность AGACCCATTTCCTCAAGGTAGAACT, обозначенная в настоящем документе как SEQ ID NO: 2240; обратная последовательность CGCAGCGACGCTCATG, обозначенная в настоящем документе как SEQ ID NO: 2241; последовательность зонда TCTTTGGGTCCAGTGGCACCCTCTT, обозначенная в настоящем документе как SEQ ID NO: 2242). Результаты представлены как процент PF-4 у мышей, которым вводили олигонуклеотид ISIS, по сравнению с двумя контрольными группами, которым вводили PBS. Как показано в таблице 202, лечение с применением ISIS 482584 привело к существенному снижению PF-4 в сравнении с контролем с PBS. Таким образом, снижение ПКП под действием соединения, предложенного в настоящем документе, подходит для подавления образования тромба.

Таблица 202

Анализ образования тромба с помощью количественного определения PF-4 методом ПЦР в реальном времени в модели индуцированного $FeCl_3$ тромбоза вен

	Доза в мг/кг/неделю	PF-4
PBS-$FeCl_3$	-	0
PBS+$FeCl_3$	-	100
ISIS 482584	20	62
	40	34
	80	25

Пример 133: In vivo влияние антисмыслового ингибирования мышиного ПКП в анализе кровотечения из хвоста

Измеряли кровотечение из хвоста для проверки того, вызывает ли лечение с применением ISIS 48254 чрезмерное кровотечение или кровопотерю у мышей.

Лечение

Группам по 10 самцов мышей BSLB/c подкожно вводили 10 мг/кг, 20 мг/кг или 40 мг/кг ISIS 482584, два раза в неделю в течение 3 недель (недельные дозы 20 мг/кг, 40 мг/кг или 80 мг/кг). Контрольную группу из 8 мышей BALB/c лечили с PBS, который вводили подкожно дважды в неделю в течение 3 недель.

Анализ кровотечения из хвоста

Через два дня после введения последней дозы олигонуклеотида ISIS или PBS мышей помещали в камеру для испытания кровотечения из хвоста. Мышей усыпляли в камере с помощью изофлурана. Затем стерильными ножницами отрезали небольшие кусочки хвоста (примерно 4 мм от кончика). Отрезанный хвост сразу помещали в пробирку Falcon объемом 15 мл, содержащую около 10 мл 0,9% буферного раствора NaCl, нагретого до 37°C. Кровь собирали в течение 40 минут. Наполненные солевым раствором пробирки взвешивали до и после кровотечения. Результаты приведены в таблице 203.

Лечение с применением ISIS 482584 не оказало существенного влияния на кровотечение. Эти данные позволяют предположить, что геморрагический потенциал соединений, предложенных в настоящем документе, является низким. Полученные данные вместе с результатами, представленными в примере 19, позволяют предположить, что ингибирование ПКП соединениями, описанными в настоящем документе, подходит для обеспечения антитромботической активности без сопутствующего риска кровотечения.

Таблица 203

Анализ кровотечения из хвоста после лечения ISIS 482584

	Доза (мг/кг/неделя)	Кровотечение (мл)
PBS	-	0,03
ISIS 482584	20	0,03
	40	0,14
	80	0,07

Пример 134: In vivo влияние антисмыслового ингибирования мышиного ПКП в модели индуцированного $FeCl_3$ тромбоза брыжеечных сосудов

ISIS 482584 исследовали в мышиной модели индуцированного $FeCl_3$ тромбоза брыжеечных сосудов.

Лечение

Группу из 6-8 швейцарских мышей Вебстер лечили с применением 40 мг/кг ISIS 482584, который подкожно вводили два раза в неделю в течение 3 недель (недельная доза 80 мг/кг). Контрольную группу 6 швейцарских мышей Вебстер лечили с PBS, который вводили подкожно дважды в неделю в течение 3 недель. Через два дня после введения последней дозы антисмыслового олигонуклеотида или PBS мышей из всех групп усыпили с помощью 75 мг/кг кетамина, смешанного с 25 мг/кг ксилазина, введенных подкожной инъекцией.

Для окрашивания тромбоцитов подкожно ввели инъекцию красителя родамина 6G в дозе 5 мг/кг. Для окрашивания фибрина в хвостовую вену ввели инъекцию антифибриногенного антитела, меченного реагентом Alexa-647, в дозе 1 мг/кг. Брюшную полость вскрывали путем срединного разреза. Висцеральную брыжейку распределяли на покровном стекле, и брыжеечные артериолы (70-120 мкм) располагали для наблюдения под микроскопом. Образование тромба индуцировали накладыванием хлопковых нитей (2×0,3 мм), предварительно пропитанных 6% раствором $FeCl_3$, непосредственно на целевой сосуд. Через три минуты воздействия нить убирали и считывали интенсивность окрашивания обоих красителей с помощью флуоресцентной микроскопии (конфокальный лазерный сканирующий микроскоп Olympus FluoView 1000) с соответствующими фильтрами в течение 70 минут.

Результаты агрегации тромбоцитов в контрольных и экспериментальных группах, выраженные в условных единицах (у.е.), представлены в таблице 204. Агрегация тромбоцитов была снижена у мышей, которым вводили ISIS 482584 в дозе 80 мг/кг/неделю, по сравнению с мышами, которым вводили PBS. Результаты образования фибрина в контрольных и экспериментальных группах, также выраженные в условных единицах (у.е.), представлены в таблице 205. Образование фибрина было снижено у мышей, которым вводили ISIS 482584 в дозе 80 мг/кг/неделю, по сравнению с мышами, которым вводили PBS. Таким образом, полученные результаты позволяют предположить, что ISIS 482584 подавляет образование тромба.

Таблица 204

Анализ агрегации тромбоцитов с помощью измерения интенсивности флуоресценции (у.е.) в реальном времени в модели индуцированного $FeCl_3$ тромбоза брыжеечных сосудов

Время (с)	PBS	80 мг/кг/неделю
752	54	74
1018	315	11
1284	485	7
1550	654	0
1815	1079	0
2081	1164	0
2347	1452	0
2613	1440	38
2879	1689	148
3144	1716	129
3410	1845	169
3676	1865	131
3944	2055	87

Таблица 205

Анализ образования фибрина с помощью измерения интенсивности флуоресценции (у.е.) в реальном времени в модели индуцированного $FeCl_3$ тромбоза брыжеечных сосудов

Время (с)	PBS	80 мг/кг/неделю
752	9	54
1018	86	7
1284	203	1
1550	319	10
1815	521	16
2081	598	15
2347	831	61
2613	959	88
2879	1157	141
3144	1236	150
3410	1374	173
3676	1629	160
3944	1822	128

Пример 135: In vivo влияние антисмыслового ингибирования мышеного ПКП в модели индуцированного стенозом тромбоза нижней полой вены

ISIS 482584 исследовали в модели индуцированного стенозом тромбоза нижней полой вены (IVC). Снижение кровотока и эндотелиальное повреждение являются характерными признаками указанной модели, также известной как модель св. Томаса.

Лечение

Четырем группам по 6-8 мышей BALB/c подкожно вводили 5 мг/кг, 10 мг/кг, 20 мг/кг или 40 мг/кг ISIS 482584, два раза в неделю в течение 3 недель (недельные дозы 10 мг/кг, 20 мг/кг, 40 мг/кг или 80 мг/кг). Контрольную группу из 8 мышей BALB/c лечили с PBS, который вводили подкожно дважды в неделю в течение 3 недель. Через два дня после введения последней дозы антисмыслового олигонуклеотида или PBS мышей из всех групп усыпили с помощью ингаляции 2,5% изофлурана. IVC мышей обнажали посредством срединного надреза брюшины ниже левой почечной вены, и отделяли от брюшной аорты тупой диссекцией. Шелковую нить 6-0 (Ethicon, Великобритания) помещали за кровеносным сосудом непосредственно под левой почечной веной, а металлическую нить 4-0 (Ethicon, Великобритания) помещали вдоль над IVC для

закрепления шелковой нити сверху. Затем металлическую нить удаляли. Два хирургических зажима для нервных окончаний и сосудов (Braun Medical Inc, штат Пенсильвания) помещали в два разных положения под перевязкой на 20 секунд каждый, после чего их удаляли. Затем содержимое брюшной полости извлекали и закрывали брюшную полость. Через 24 часа IVC вскрывали и проверяли на образование тромба. Образованные тромбы собирали и фиксировали в 10% формалине в течение 24 часов.

Тромбы взвешивали, а результаты, выраженные в миллиграммах, представлены в таблице 206. Результаты демонстрируют, что лечение увеличивающимися дозами ISIS 482584 приводит к соответствующему снижению массы тромбов. Результаты демонстрируют, что антисмысловое ингибирование ПКП подходит для подавления образования тромба.

Таблица 206

Масса тромбов в модели индуцированного стенозом тромбоза IVC

	Доза в мг/кг/неделю	Масса (мг)
PBS	-	10
ISIS 482584	10	8
	20	6
	40	5
	80	3

Пример 136: Ингибирование мышиного ПКП антисымсловым олигонуклеотидом, содержащим группу конъюгата $GalNAc_3$

ISIS 482584 и ISIS 722059, представленные в следующей таблице, испытали на их влияние на мРНК мышиного ПКП in vivo.

Таблица 207

ISIS 722059, содержащий группу конъюгата $GalNAc_3$, и его исходное соединение, ISIS 482584

Isis №	Последовательность (от 5' к 3')	Химизм	SEQ ID NO.
482584	$G_{es}G_{es}{}^{m}C_{cs}A_{cs}T_{es}A_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{ds}G_{ds}$ $T_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{es}G_{es}A_{es}A_{es}T_{e}$	Без группы конъюгата и полностью PS	2244
722059	$GalNAc_3\text{-}7_{a\text{-}o}\text{-}G_{es}G_{es}{}^{m}C_{eo}A_{eo}T_{es}A_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{ds}G_{ds}$ $T_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{eo}G_{eo}A_{es}A_{es}T_{e}$	5'-$GalNAc_3$-7 и смешанные PS/PO	2244

Нижние индексы: «e» означает 2'-MOE модифицированный нуклеозид; «d» означает β-D-2'-дезоксирибонуклеозид; «s» означает тиофосфатные межнуклеозидные связи (PS); «o» означает фосфодиэфирные межнуклеозидные связи (PO); и «o'» означает OP(=O)(OH)-. Верхний индекс «m» означает 5-метилцитозины. Структура «$GalNAc_3$-7» показана в Примере 48.

Лечение

Четырем группам по четыре мыши C57Bl/6J-$Tyr^{c\text{-}2J}$ подкожно вводили 5,0 мг/кг, 10,0 мг/кг, 20,0 мг/кг или 40,0 мг/кг ISIS 482584, два раза в неделю в течение 3 недель (недельные дозы 10,0 мг/кг, 20,0 мг/кг, 40,0 мг/кг или 80,0 мг/кг). Четырем группам по четыре мыши BALB/c подкожно вводили 1,0 мг/кг, 2,0 мг/кг, 4,0 мг/кг или 8,0 мг/кг ISIS 722059, два раза в неделю в течение 3 недель (недельные дозы 2,0 мг/кг, 4,0 мг/кг, 8,0 мг/кг или 16,0 мг/кг). Контрольную группу из четырех мышей BALB/c лечили с PBS,

который вводили подкожно дважды в неделю в течение 3 недель. Через три дня после введения последней дозы антисмыслового олигонуклеотида или PBS мышей из всех групп усыпили с помощью распыленного в воздухе изофлурана в концентрации 2,5% в качестве ударной дозы, а затем 1-2% изофлурана из распылителя в качестве поддерживающей дозы. Затем выполнили смещение шейных позвонков. После усыпления собрали печень для анализа РНК.

Анализ РНК

РНК выделили из ткани печени для проведения анализа ПКП с помощью ПЦР в реальном времени. Уровни мРНК ПКП измеряли с использованием мышиного набора праймерных зондов (прямая последовательность ACAAGTGCATTTTACAGACCAGAGTAC, обозначенная в настоящем документе как SEQ ID NO: 2231; обратная последовательность GGTTGTCCGCTGACTTTATGCT, обозначенная в данном описании как SEQ ID NO: 2232; последовательность зонда AAGCACAGTGCAAGCGGAACACCC, обозначенная в данном описании как SEQ ID NO: 2233). Результаты представлены как процент ингибирования ПКП относительно контроля с PBS. Как показано ниже в таблице 208, Isis 722059, содержащий группу конъюгата $GalNAc_3$, значительно более эффективно снижает мРНК ПКП, чем исходный антисмысловый олигонуклеотид, Isis 482584. Такое результат согласуется с результатами представленных выше примеров, в которых антисмысловые олигонуклеотиды, содержащие группу конъюгата $GalNAc_3$, были существенно более эффективными, чем их исходные антисмысловые олигонуклеотиды, в отношении многих генов-мишеней, как у мышей, так и у людей. Таким образом, можно предположить, что антисмысловые олигонуклеотиды против человеческого ПКП, содержащие группу конъюгата $GalNAc_3$, будут таким же образом снижать мРНК человеческого ПКП, значительно более эффективно, чем их исходные антисмысловые олигонуклеотиды, которые не содержат группу конъюгата.

Таблица 208

Процент ингибирования мРНК ПКП в печени относительно контроля с PBS

ISIS №	Доза (мг/кг/неделю)	% ингибирования	ED_{50} (мг/кг/неделя)
482584	10	42,6	17,2
	20	53,3	
	40	71,4	
	80	90,8	
722059	2	50,1	2,09
	4	76,7	
	8	80,8	
	16	86,1	

Пример 137: Ингибирование человеческого ПКП антисмысловым олигонуклеотидом, содержащим группу конъюгата $GalNAc_3$

ISIS 546254 и ISIS 721744, представленные в следующей таблице, испытали на их влияние на мРНК человеческого ПКП in vitro.

Таблица 209

ISIS 721744, содержащий группу конъюгата $GalNAc_3$, и его исходное соединение, ISIS 546254

Isis №	Последовательность (от 5' к 3')	Химизм	SEQ ID NO.
546254	$T_{es}G_{es}{}^{m}C_{es}A_{es}A_{es}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{ds}$ $G_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{es}A_{es}A_{es}{}^{m}C_{es}A_{e}$	Без группы конъюгата и полностью PS	570
721744	$GalNAc_3\text{-}7_{a\text{-}o'}T_{es}G_{es}{}^{m}C_{eo}A_{eo}A_{es}G_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}{}^{m}C_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{ds}$ $G_{ds}{}^{m}C_{ds}A_{eo}A_{eo}A_{es}{}^{m}C_{es}A_{e}$	5'-$GalNAc_3\text{-}7_{a\text{-}o'}$ и смешанные PS/PO	570

Нижние индексы: «e» означает 2'-MOE модифицированный нуклеозид; «d» означает β-D-2'-дезоксирибонуклеозид; «s» означает тиофосфатную межнуклеозидную связь (PS); и «o» означает фосфодиэфирную межнуклеозидную связь (PO). Верхний индекс «ь» означает 5-метилцитозин. Структура «$GalNAc_3$-7» представлена в Примере 48, и «$GalNAc_3\text{-}7_{a\text{-}o'}$» означает группу конъюгата $GalNAc_3$-7, в которой расщепляемый фрагмент представляет собой -O-P(=O)(OH)-.

Совместные культуры первичных гепатоцитов человека, которые содержали стромальные клетки для имитации физиологического микроокружения печени in vitro (HepatoPac, набор HPHU-TX-96S, Hepregen, Медфорд, штат Массачусетс), использовали по инструкциям производителя Концентрацию олигонуклеотида Isis, указанную в представленной ниже таблице, или PBS добавляли в каждую лунку без какого-либо трансфицирующего агента. Через 96 часов клетки лизировали и выделяли из клеток РНК. Уровни мРНК ПКП измеряли с помощью количественной ПЦР в реальном времени, используя набор праймерных зондов RTS3454, и нормализовали к общему содержанию РНК, измеренному с помощью RIBOGREEN®. Результаты, представленные в следующей таблице, выражены как процент ингибирования уровней мРНК ПКП по сравнению с клетками, обработанными PBS; и значения IC_{50} рассчитывали с помощью 4-параметрической логистической модели (JMP Software, Кэри, штат Северная Каролина). Результаты показывают, что в условиях свободного поглощения, в которых не использованы никакие реагенты или электроимпульсные приемы для искусственного ускорения входа олигонуклеотидов в клетки, олигонуклеотиды, содержащие конъюгат GalNAc, были существенно более эффективными, чем исходный олигонуклеотид, который не содержит конъюгат GalNAc.

Таблица 210

Процент ингибирования мРНК ПКП относительно контроля с PBS

ISIS №	Концентрация (мкМ)	Ингибирование (%)	IC_{50} (мкМ)
546254	0,1	30	2,12
	0,3	25	
	1,0	24	
	3,0	63	
	10,0	85	
721744	0,03	34	0,07
	0,1	52	
	0,3	81	
	1,0	92	
	3,0	98	

(57) Формула изобретения

1. Соединение для снижения количества РНК прекалликреина (ПКП), содержащее

(a) модифицированный олигонуклеотид, содержащий по меньшей мере одну модифицированную межнуклеозидную связь, модифицированный сахар или модифицированное основание, и

(b) группу конъюгата, содержащую атом или группу атомов,

причем модифицированный олигонуклеотид состоит из 12-30 связанных нуклеозидов и имеет последовательность азотистых оснований, содержащую по меньшей мере 8, по меньшей мере 9, по меньшей мере 10, по меньшей мере 11, по меньшей мере 12, по меньшей мере 13, по меньшей мере 14, по меньшей мере 15, по меньшей мере 16, по меньшей мере 17, по меньшей мере 18, по меньшей мере 19 или по меньшей мере 20 последовательных азотистых оснований последовательности азотистых оснований SEQ ID NO: 570, где группа конъюгата ковалентно связана с модифицированным олигонуклеотидом на 5'-конце модифицированного олигонуклеотида.

2. Соединение по п. 1, отличающееся тем, что последовательность азотистых оснований модифицированного олигонуклеотида по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 81%, по меньшей мере на 82%, по меньшей мере на 83%, по меньшей мере на 84%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 86%, по меньшей мере на 87%, по меньшей мере на 88%, по меньшей мере на 89%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или на 100% комплементарна SEQ ID NO: 10.

3. Соединение по п. 1 или 2, состоящее из одноцепочечного модифицированного олигонуклеотида и группы конъюгата.

4. Соединение по любому из пп. 1-3, отличающееся тем, что по меньшей мере одна межнуклеозидная связь модифицированного олигонуклеотида представляет собой модифицированную межнуклеозидную связь.

5. Соединение по п. 4, отличающееся тем, что по меньшей мере одна модифицированная межнуклеозидная связь модифицированного олигонуклеотида представляет собой тиофосфатную межнуклеозидную связь.

6. Соединение по п. 4, отличающееся тем, что модифицированный олигонуклеотид содержит по меньшей мере 1 фосфодиэфирную межнуклеозидную связь.

7. Соединение по п. 4, отличающееся тем, что модифицированный олигонуклеотид содержит по меньшей мере 2 фосфодиэфирные межнуклеозидные связи.

8. Соединение по п. 4, отличающееся тем, что модифицированный олигонуклеотид содержит по меньшей мере 3 фосфодиэфирные межнуклеозидные связи.

9. Соединение по п. 4, отличающееся тем, что модифицированный олигонуклеотид содержит по меньшей мере 4 фосфодиэфирные межнуклеозидные связи.

10. Соединение по п. 4, отличающееся тем, что каждая межнуклеозидная связь модифицированного олигонуклеотида выбрана из фосфодиэфирной межнуклеозидной связи и тиофосфатной межнуклеозидной связи.

11. Соединение по п. 5, отличающееся тем, что каждая межнуклеозидная связь модифицированного олигонуклеотида представляет собой тиофосфатную связь.

12. Соединение по любому из пп. 1-11, отличающееся тем, что по меньшей мере один нуклеозид модифицированного олигонуклеотида содержит модифицированное азотистое основание.

13. Соединение по п. 12, отличающееся тем, что модифицированное азотистое основание представляет собой 5-метилцитозин.

14. Соединение по любому из пп. 1-13, отличающееся тем, что модифицированный олигонуклеотид содержит по меньшей мере один модифицированный сахар.

15. Соединение по п. 14, отличающееся тем, что модифицированный сахар представляет собой 2'-модифицированный сахар, БНК или ТГП.

16. Соединение по п. 15, отличающееся тем, что модифицированный сахар представляет собой любой из 2'-О-метоксиэтил модифицированного сахара, 2'-О-метил модифицированного сахара, стерически затрудненного этила, ЗНК и 3'-фтор-ГНК.

17. Соединение по любому из пп. 1-16, отличающееся тем, что модифицированный олигонуклеотид содержит:

сегмент гэп, состоящий из 10 связанных дезоксинуклеозидов;

сегмент 5'-крыла, состоящий из 5 связанных нуклеозидов; и

сегмент 3'-крыла, состоящий из 5 связанных нуклеозидов;

причем сегмент гэп расположен между сегментом 5'-крыла и сегментом 3'-крыла и, при этом каждый нуклеозид каждого сегмента крыла содержит модифицированный сахар.

18. Соединение по любому из пп. 1-17, отличающееся тем, что модифицированный олигонуклеотид состоит из 20 связанных нуклеозидов.

19. Соединение по любому из пп. 1-17, отличающееся тем, что модифицированный олигонуклеотид состоит из 19 связанных нуклеозидов.

20. Соединение по любому из пп. 1-17, отличающееся тем, что модифицированный олигонуклеотид состоит из 18 связанных нуклеозидов.

21. Соединение для снижения количества РНК прекалликреина (ПКП), состоящее из группы конъюгата, содержащей атом или группу атомов, и модифицированного олигонуклеотида согласно следующей формуле: Tes Ges mCes Aes Aes Gds Tds mCds Tds mCds Tds Tds Gds Gds mCds Aes Aes Aes mCes Ae (SEQ ID NO: 570); где

A = аденин,

mC = 5'-метилцитозин,

G = гуанин,

T = тимин,

e = 2'-О-метоксиэтил-модифицированный нуклеозид,

d = 2'-дезоксинуклеозид, и

s = тиофосфатная межнуклеозидная связь,

отличающееся тем, что группа конъюгата ковалентно связана с модифицированным олигонуклеотидом на 5'-конце модифицированного олигонуклеотида.

22. Соединение по любому из пп. 1-21, отличающееся тем, что группа конъюгата содержит только один лиганд.

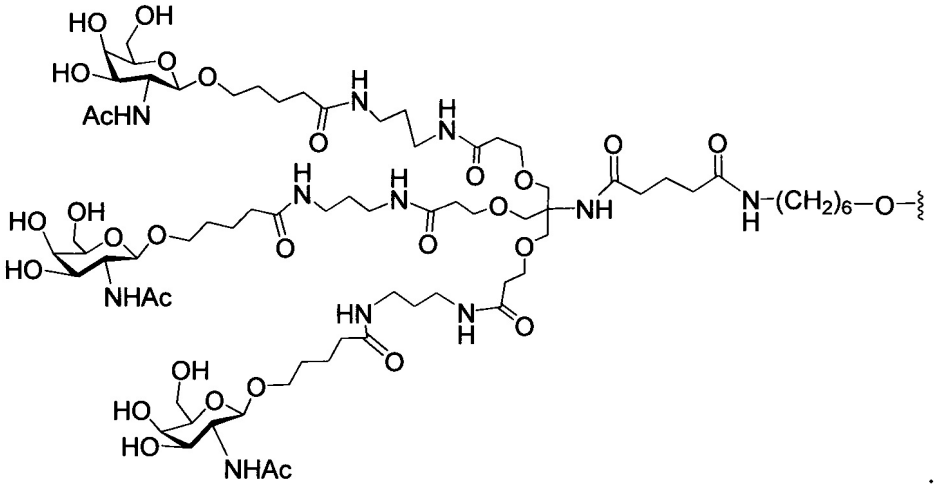
23. Соединение по любому из пп. 1-21, отличающееся тем, что группа конъюгата содержит только два лиганда.

24. Соединение по любому из пп. 1-21, отличающееся тем, что группа конъюгата содержит три или более лигандов.

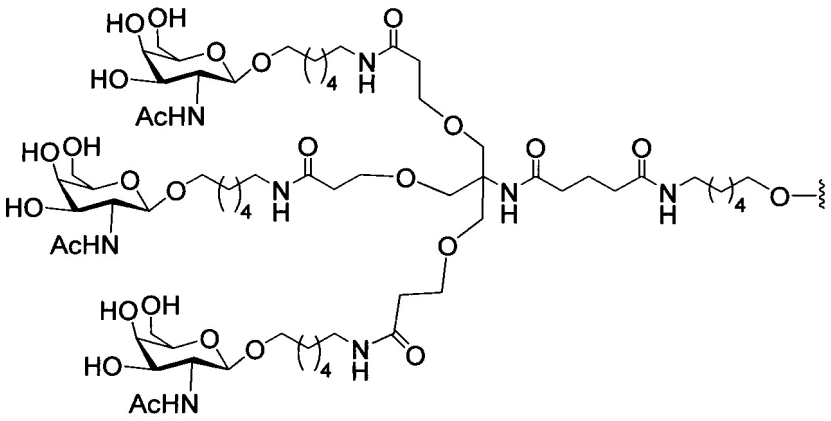
25. Соединение по любому из пп. 1-21, отличающееся тем, что группа конъюгата содержит только три лиганда.

26. Соединение по п. 25, отличающееся тем, что каждый лиганд представляет собой N-ацетилгалактозамин.

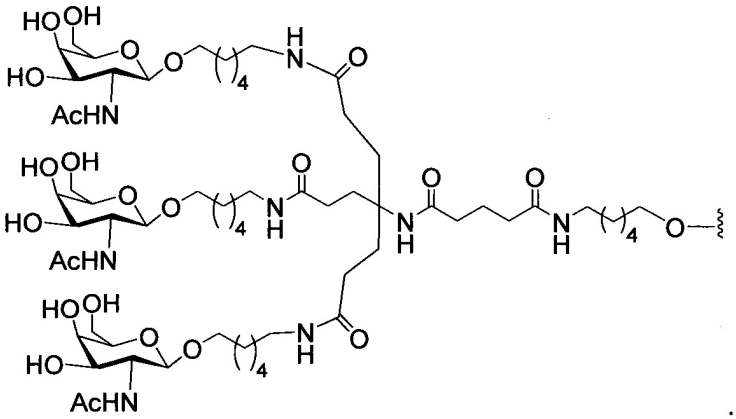
27. Соединение по п. 25, отличающееся тем, что группа конъюгата содержит:



28. Соединение по п. 25, отличающееся тем, что группа конъюгата содержит:



29. Соединение по п. 25, отличающееся тем, что группа конъюгата содержит:



30. Соединение по п. 25, отличающееся тем, что группа конъюгата содержит линкер конъюгата, необязательно, где линкер конъюгата содержит по меньшей мере одну фосфорную связывающую группу или нейтральную связывающую группу.

31. Соединение по любому из пп. 1-30, отличающееся тем, что группа конъюгата содержит расщепляемый фрагмент, выбранный из: фосфодиэфира, амида или сложного эфира.

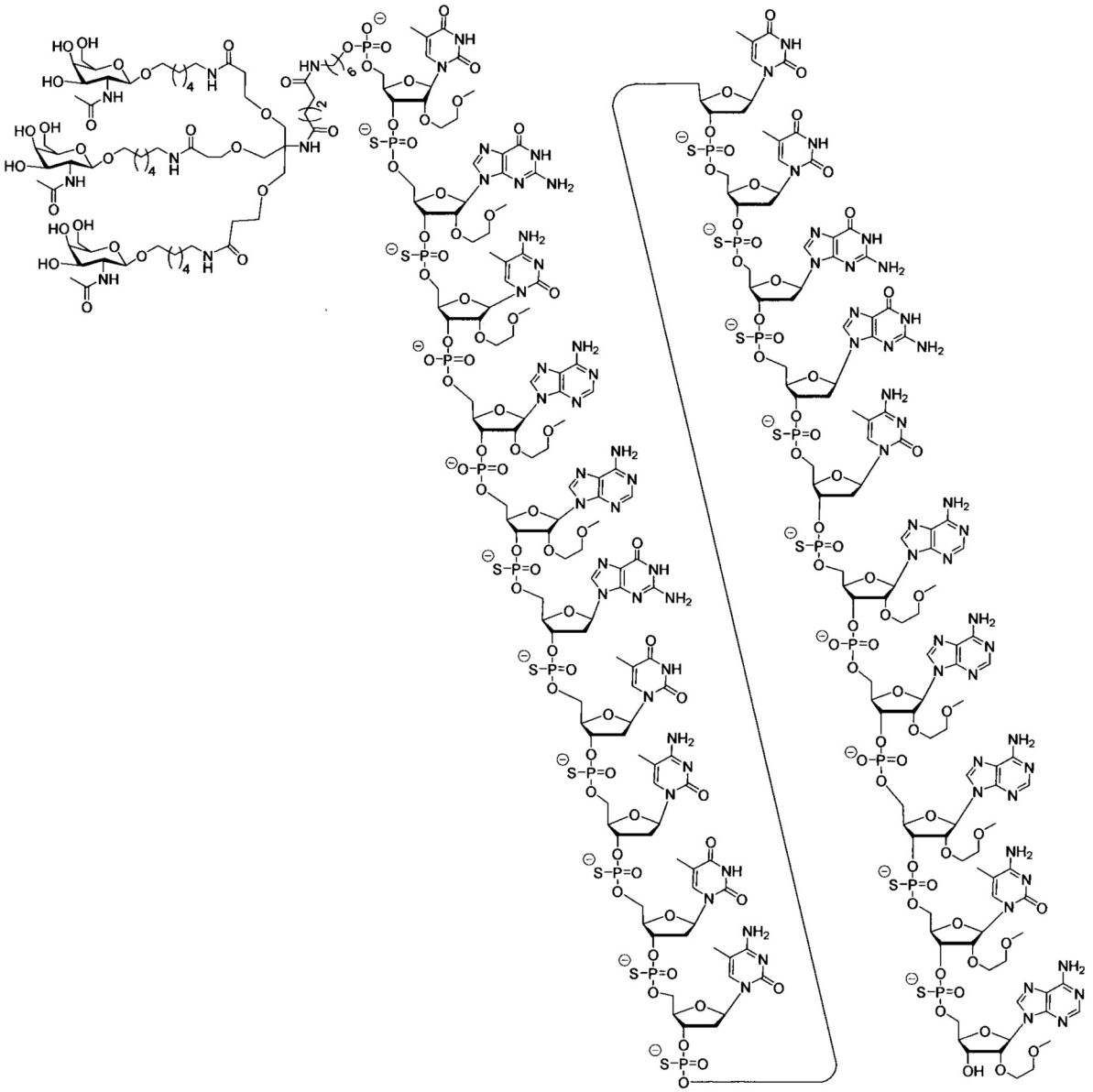
32. Соединение для снижения количества РНК прекалликреина (ПКП), содержащее модифицированный олигонуклеотид и группу конъюгата, содержащую атом или группу атомов, где модифицированный олигонуклеотид представляет собой гэпмер, состоящий из сегмента 5'-крыла, центрального сегмента гэп и сегмента 3'-крыла, причем:

сегмент 5'-крыла состоит из пяти 2'-О-метоксиэтил нуклеозидов,

центральный сегмент гэп состоит из десяти β-D-дезоксирибонуклеозидов и сегмент 3'-крыла состоит из пяти 2'-O-метоксиэтил нуклеозидов,

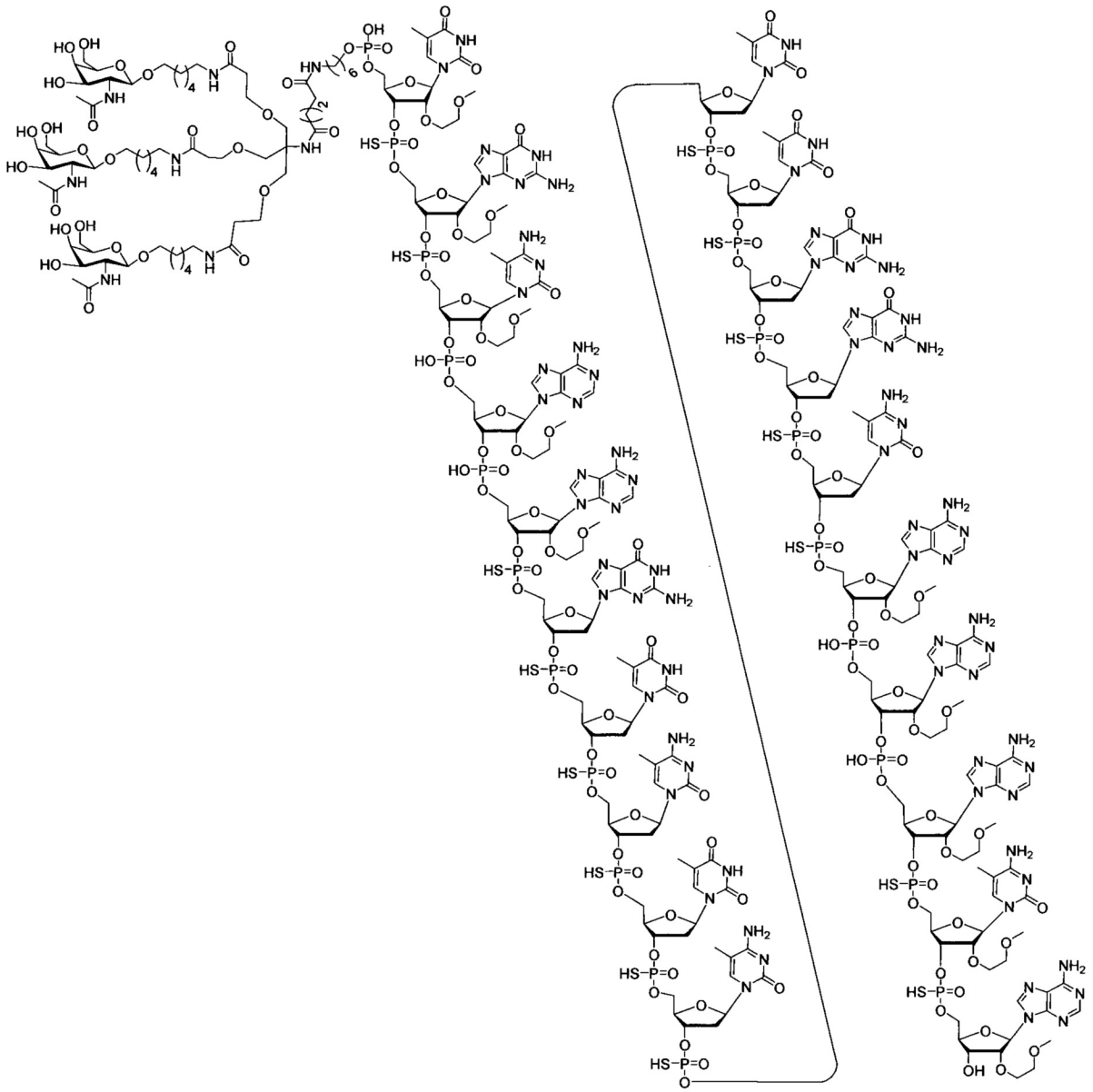
причем группа конъюгата ковалентно связана с модифицированным олигоуклеотидом на 5'-конце модифицированного олигонуклеотида, где модифицированный олигонуклеотид имеет последовательность азотистых оснований 5'-TGCAAGTCTCTTGGCAAACA-3' (SEQ ID NO: 570), где каждый цитозин представляет собой 5-метилцитозин, и где межнуклеозидные связи модифицированного олигонуклеотида представляют собой ssoossssssssssooss в направлении от 5' к 3', где каждый s означает тиофосфатную связь, а каждый о означает фосфодиэфирную связь.

33. Соль соединения, состоящего из модифицированного олигонуклеотида и группы конъюгата, для снижения количества РНК прекалликреина (ПКП), где анион соединения имеет следующую структуру:



(SEQ ID NO: 570).

34. Соединение для снижения количества РНК прекалликреина (ПКП), состоящее из модифицированного олигонуклеотида и группы конъюгата, согласно следующей структуре:



(SEQ ID 570) или его соль.

35. Фармацевтическая композиция для лечения, предупреждения или облегчения протекания заболевания, расстройства или состояния, связанного с ПКП, содержащая терапевтически эффективное количество соединения по любому из пп. 1-32 и 34 или соли по п. 33 и по меньшей мере один из фармацевтически приемлемого носителя или разбавителя.

36. Фармацевтическая композиция по п. 35, отличающаяся тем, что фармацевтически приемлемый разбавитель представляет собой фосфатно-солевой буфер (PBS).

37. Фармацевтическая композиция по п. 36, которая состоит по существу из соединения или соли и PBS.

38. Пролекарство для снижения количества РНК прекалликреина (ПКП), содержащее соединение по любому из пп. 1-32 и 34 или соль по п. 33.

39. Применение соединения по любому из пп. 1-32 и 34, соли по п. 33, фармацевтической композиции по любому из пп. 35-37 или пролекарства по п. 38 для предупреждения, лечения или облегчения заболевания, расстройства или состояния, связанного с ПКП.

40. Применение по п. 39, отличающееся тем, что заболевание, расстройство или

состояние, связанное с ПКП, представляет собой наследственный ангионевротический отек (НАЕ), отек, ангионевротический отек, припухлость, ангионевротический отек век, отек глаза, отек желтого пятна, отек мозга, тромбоз, эмболию, тромбоэмболию, тромбоз глубоких вен, легочную эмболию, инфаркт миокарда, инсульт или инфаркт.

41. Применение соединения по любому из пп. 1-32 и 34, соли по п. 33, фармацевтической композиции по любому из пп. 35-37 или пролекарства по п. 38 для лечения воспалительного заболевания или тромбоэмболического заболевания, при этом воспалительное заболевание представляет собой по меньшей мере одно из сосудистой проницаемости и отека.

1

ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

<110> Isis Pharmaceuticals

<120> КОМПОЗИЦИИ И СПОСОБЫ МОДУЛИРОВАНИЯ ЭКСПРЕССИИ PKK

<130> BIOL0252WO

<150> 62/088459
<151> 2014-12-05

<150> 62/058629
<151> 2014-10-01

<150> 61/987478
<151> 2014-05-01

<160> 2281

<170> PatentIn версии 3.5

<210> 1
<211> 2252
<212> ДНК
<213> homo sapiens

<400> 1
agaacagctt gaagaccgtt catttttaag tgacaagaga ctcacctcca agaagcaatt 60

gtgttttcag aatgatttta ttcaagcaag caacttattt catttccttg tttgctacag 120

tttcctgtgg atgtctgact caactctatg aaaacgcctt cttcagaggt ggggatgtag 180

cttccatgta caccccaaat gcccaatact gccagatgag gtgcacattc cacccaaggt 240

gtttgctatt cagttttctt ccagcaagtt caatcaatga catggagaaa aggtttggtt 300

gcttcttgaa agatagtgtt acaggaaccc tgccaaaagt acatcgaaca ggtgcagttt 360

ctggacattc cttgaagcaa tgtggtcatc aaataagtgc ttgccatcga gacatttata 420

aaggagttga tatgagagga gtcaatttta atgtgtctaa ggttagcagt gttgaagaat 480

gccaaaaaag gtgcaccagt aacattcgct gccagttttt ttcatatgcc acgcaaacat 540

ttcacaaggc agagtaccgg aacaattgcc tattaaagta cagtcccgga ggaacaccta 600

ccgctataaa ggtgctgagt aacgtggaat ctggattctc actgaagccc tgtgcccttt 660

cagaaattgg ttgccacatg aacatcttcc agcatcttgc gttctcagat gtggatgttg 720

ccagggttct cactccagat gcttttgtgt gtcggaccat ctgcacctat caccccaact 780

gcctcttctt tacattctat acaaatgtat ggaaaatcga gtcacaaaga aatgtttgtc 840

ttcttaaaac atctgaaagt ggcacaccaa gttcctctac tcctcaagaa aacaccatat 900

ctggatatag ccttttaacc tgcaaaagaa ctttacctga accctgccat tctaaaattt 960

acccgggagt tgactttgga ggagaagaat tgaatgtgac ttttgttaaa ggagtgaatg 1020

tttgccaaga gacttgcaca aagatgattc gctgtcagtt tttcacttat tctttactcc 1080

cagaagactg taaggaagag aagtgtaagt gtttcttaag attatctatg gatggttctc 1140

caactaggat tgcgtatggg acacaaggga gctctggtta ctctttgaga ttgtgtaaca 1200

ctggggacaa ctctgtctgc acaacaaaaa caagcacacg cattgttgga ggaacaaact 1260

cttcttgggg agagtggccc tggcaggtga gcctgcaggt gaagctgaca gctcagaggc 1320

acctgtgtgg agggtcactc ataggacacc agtgggtcct cactgctgcc cactgctttg 1380

atgggcttcc cctgcaggat gtttggcgca tctatagtgg cattttaaat ctgtcagaca 1440

2

ttacaaaaga tacacctttc tcacaaataa aagagattat tattcaccaa aactataaag 1500

tctcagaagg gaatcatgat atcgccttga taaaactcca ggctcctttg aattacactg 1560

aattccaaaa accaatatgc ctaccttcca aaggtgacac aagcacaatt tataccaact 1620

gttgggtaac cggatggggc ttctcgaagg agaaaggtga aatccaaaat attctacaaa 1680

aggtaaatat tcctttggta acaaatgaag aatgccagaa aagatatcaa gattataaaa 1740

taacccaacg gatggtctgt gctggctata aagaaggggg aaaagatgct tgtaagggag 1800

attcaggtgg tcccttagtt tgcaaacaca atggaatgtg gcgtttggtg ggcatcacca 1860

gctggggtga aggctgtgcc cgcagggagc aacctggtgt ctacaccaaa gtcgctgagt 1920

acatggactg gattttagag aaaacacaga gcagtgatgg aaaagctcag atgcagtcac 1980

cagcatgaga agcagtccag agtctaggca atttttacaa cctgagttca agtcaaattc 2040

tgagcctggg gggtcctcat ctgcaaagca tggagagtgg catcttcttt gcatcctaag 2100

gacgaaaaac acagtgcact cagagctgct gaggacaatg tctggctgaa gcccgctttc 2160

agcacgccgt aaccaggggc tgacaatgcg aggtcgcaac tgagatctcc atgactgtgt 2220

gttgtgaaat aaaatggtga aagatcaaaa aa 2252

<210> 2
<211> 578
<212> ДНК
<213> homo sapiens

<400> 2
atgctctctc tctctcctgc tgccttgtga agaaggtacc tgcttcccct tcaccttcca 60

ccataattct gaacacggat aggatgttca tggaatatgt tgacaggaca aaaagttgaa 120

actgttggca gaaacccaaa gtcaatattg aagccaagca aaatattgcc tgcagtgcca 180

cattagaaca gcttgaagac cgttcatttt taagtgacaa gagactcacc tccaagaagc 240

aattgtgttt tcagaatgat tttattcaag caagcaactt atttcatttc cttgtttgct 300

acagtttcct gtggatgtct gactcaactc tatgaaaacg ccttcttcag aggtggggat 360

gtagcttcca tgtacacccc aaatgcccaa tactgccaga tgaggtgcac attccaccca 420

aggtgtttgc tattcagttt tcttccagca agttcaatca atgacatgga gaaaaggttt 480

ggttgcttct tgaaagatag tgttacagga accctgccaa aagtacatcg aacaggtgca 540

gtttctggac attccttgaa gcaatgtggt catcaaat 578

<210> 3
<211> 681
<212> ДНК
<213> homo sapiens

<400> 3
ggaagccatt cactagtcag attgaccaga gattgttggt gggctgtctg ttggggtcta 60

tgcacaggat ttctgctgga gttctaagga caaaaagttg aaactgttgg cagaaaccca 120

aagtcaatat tgaagccaag caaaatattg cctgcagtgc cacattagaa cagcttgaag 180

accgttcatt tttaagtgac aagagactca cctccaagaa gcaattgtgt tttcagaatg 240

attttattca agcaagcaac ttatttcatt tccttgtttg ctacagtttc ctgtggatgt 300

ctgactcaac tctatgaaaa cgccttcttc agaggtgggg atgtagcttc catgtacacc 360

ccaaatgccc aatactgcca gatgaggtgc acattccacc caaggtgttt gctattcagt 420

3

tttcttccag caagttcaat caatgacatg gagaaaaggt ttggttgctt cttgaaagat 480

agtgttacag gaaccctgcc aaaagtacat cgaacaggtg cagtttctgg acattccttg 540

aagcaatgtg gtcatcaaat aagtgcttgc catcgagaca tttataaagg agttgatatg 600

agaggagtca attttaatgt gtctaaggtt agcagtgttg aagaatgcca aaaaaggtgc 660

accagtaaca ttcgctgcca g 681

<210> 4
<211> 2175
<212> ДНК
<213> homo sapiens

<400> 4
agaacagctt gaagaccgtt cattttaag tgacaagaga ctcacctcca agaagcaatt 60

gtgttttcag tttcctgtga gggagttttc tctgtgtccc cacaaggcat gattctgggt 120

ctatggtgac ttaagagggc cacacaacaa tgagtattta attttcctca gatgtatggc 180

tacaataaac atctatagga tgtctgactc aactctatga aaacgccttc ttcagaggtg 240

gggatgtagc ttccatgtac accccaaatg cccaatactg ccagatgagg tgcacattcc 300

acccaaggtg tttgctattc agttttcttc cagcaagttc aatcaatgac atggagaaaa 360

ggtttggttg cttcttgaaa gatagtgtta caggaaccct gccaaaagta catcgaacag 420

gtgcagtttc tggacattcc ttgaagcaat gtggtcatca aataagtgct tgccatcgag 480

acatttataa aggagttgat atgagaggag tcaattttaa tgtatctaag gttagcagtg 540

ttgaagaatg ccaaaaaagg tgcaccaatg acattcgctg ccagtttttt tcatatgcca 600

cgcaaacatt tcacaaggca gagtaccgga acaattgcct attaaagtac agtcccggag 660

gaacacctac cgctataaag gtgctgagta acgtggaatc tggattctca ctgaagccct 720

gtgccctttc agaaattggt tgccaaatga acatcttcca gcatcttgcg ttctcagatg 780

tggatgttgc cagggttctc actccagatg cttttgtgtg tcggaccatc tgcacctatc 840

accccaactg cctcttcttt acattctata caaatgtatg gaaaatcgag tcacaaagaa 900

atgtttgtct tcttaaaaca tctgaaagtg gcacaccaag ttcctgtact cctcaagaaa 960

acaccatatc tggatatagc cttttaacct gcaaaagaac tttacctgaa ccctgccatt 1020

ctaaaattta cccgggagtt gactttggag gagaagaatt gaatgtgact tttgttaaag 1080

gagtgaatgt ttgccaagag acttgcacaa agatgattcg ctgtcagttt ttcacttatt 1140

ctttactccc agaagactgt aaggaagaga agtgtaagtg tttcttaaga ttatctatgg 1200

atggttctcc aactaggatt gcgtatggga cacaagggag ctctggttac tctttgagat 1260

tgtgtaacac tggggacaac tctgtctgca caacaaaaac aagcacacgc attgttggag 1320

gaacaaactc ttcttgggga gagtggccct ggcaggtgag cctgcaggtg aagctgacag 1380

ctcagaggca cctgtgtgga gggtcactca taggacacca gtgggtcctc actgctgccc 1440

actgctttga tgggcttccc ctgcaggatg tttggcgcat ctatagtggc attttaaatc 1500

tgtcagacat tacaaaagat acacctttct cacaaataaa agagattatt attcaccaaa 1560

actataaagt ctcagaaggg aatcatgata tcgccttgat aaaactccag gctcctttga 1620

attacactga attccaaaaa ccaatatgcc taccttccaa aggtgacaca agcacaattt 1680

ataccaactg ttgggtaacc ggatggggct tctcgaagga gaaagggaga ttcaggtggt 1740

4

cccttagttt gcaaacacaa cggaatgtgg cgtttggtgg gcatcaccag ctggggtgaa 1800

ggctgtgccc gcagggagca acctggtgtc tacaccaaag tcgctgagta catggactgg 1860

attttagaga aaacacagag cagtgatgga aaagctcaga tgcagtcacc agcatgagaa 1920

gcagtccaga gtctaggcaa tttttacaac ctgagttcaa gtcaaattct gagcctgggg 1980

ggtcctcatc tgcaaagcat ggagagtggc atcttctttg catcctaagg acgaaagaca 2040

cagtgcactc agagctgctg aggacaatgt ctggctgaag cccgctttca gcacgccgta 2100

accaggggct gacaatgcga ggtcgcaact gagatctcca tgactgtgtg ttgtgaaata 2160

aaatggtgaa agatc 2175

<210> 5
<211> 569
<212> ДНК
<213> homo sapiens

<400> 5
agtgccacat tagaacagct tgaagaccgt tcatttttaa gtgacaagag actcacctcc 60

aagaagcaat tgtgttttca gtttcctgtg gatgtctgac tcaactctat gaaaacgcct 120

tcttcagagg tggggatgta gcttccatgt acaccccaaa tgcccaatac tgccagatga 180

ggtgcacatt ccacccaagg tgtttgctat tcagttttct tccagcaagt tcaatcaatg 240

acatggagaa aaggtttggt tgcttcttga aagatagtgt tacaggaacc ctgccaaaag 300

tacatcgaac aggtgcagtt tctggacatt ccttgaagca atgtggtcat caaataagtg 360

cttgccatcg agacatttat aaaggagttg atatgagagg agtcaatttt aatgtgtcta 420

aggttagcag tgttgaagaa tgccaaaaaa ggtgcaccaa taacattcgc tgccagtttt 480

tttcatatgc cacgcaaaca tttcacaagg cagagtaccg gaacaattgc ctattaaagt 540

acagtcccgg aggaacacct accgctata 569

<210> 6
<211> 392
<212> ДНК
<213> homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<222> (379)..(379)
<223> n представляет собой a, c, g или t

<400> 6
ttgaagaccg ttcattttta agtgacaaga gactcacctc caagaagcaa ttgtgttttc 60

agaatgattt tattcaagca agcaacttat ttcatttcct tgtttgctac agtttcctgt 120

ggatgtctga ctcaactcta tgaaaacgcc ttcttcagag gtggggatgt agcttccatg 180

tacaccccaa atgcccaata ctgccagatg aggtgcacat tccacccaag gtgtttgcta 240

ttcagttttc ttccagcaag ttcaatcaat gacatggagg gtttggttgc ttcttgaaag 300

atagtgttac aggaaccctg cctcaaataa gtgcttgcca tcgagacatt tatggagttg 360

atatgagagg agtcaattnt atgtgtctgg tt 392

<210> 7
<211> 802
<212> ДНК

5

<213> homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<222> (760)..(760)
<223> n представляет собой a, c, g или t

<220>
<221> misc_feature
<222> (775)..(775)
<223> n представляет собой a, c, g или t

<220>
<221> misc_feature
<222> (796)..(796)
<223> n представляет собой a, c, g или t

<220>
<221> misc_feature
<222> (800)..(800)
<223> n представляет собой a, c, g или t

<220>
<221> misc_feature
<222> (802)..(802)
<223> n представляет собой a, c, g или t

<400> 7
gggtaatcct cttcagttac ttcaggtcat ctagatgtat acgtgcaggc ctgggcccag 60

aggcgacatt cctgtcttct tatattaata agaaaaagaa aacgaaatag tggttgccac 120

atgaacatct tccagcatct tgcgttctca gatgtggatg ttgccagggc tctcactcca 180

gatgcttttg tgtgtcggac catctgcacc tatcacccca actgcctctt ctttacattc 240

tatacaaatg tatggaaaat cgagtcacaa aggcgagtat gcatggaaaa tcgcatcaca 300

aaggcgagta tgcatgggga gcacttgctg ctgtactttc atcactttta tagtctgagt 360

tcttaaaagt ttcgttcatt tccctcaaaa cacttgaacc tgcagtttca gtaggtactg 420

ttctgccagg tgcagattag ttaagagatt agcagacttc tctgcctatc ttctcttact 480

ttaaaacaaa tgttaccatt gaatcaagga agcaatagcc atgagaaaaa agaaggatct 540

gacgcctttg aatgaagatt caaaacatga tcttcatgtt ttgtattagc ttggagtaaa 600

atccacttgc tggcaatata gcccttaagc ttgttgcctc ttctctttgt ttcagaaact 660

agagccctgt ttattctgat caaggctctg gcccactgtc tttatctcag ataacccacc 720

ctcttctgca cacagcatgg agctaagaga aggtgtctan gtatgtatat catcngcagc 780

ataaatccca gaattngtcn tn 802

<210> 8
<211> 2058
<212> ДНК
<213> homo sapiens

<400> 8
tcacctccaa gaagcaattg tgttttcaga atgattttat tcaagcaagc aacttatttc 60

atttccttgt ttgctacagt ttcctgtgga tgtctgactc aactctatga aaacgccttc 120

ttcagaggtg gggatgtagc ttccatgtac accccaaatg cccaatactg ccagatgagg 180

tgcacattcc acccaaggtg tttgctattc agttttcttc cagcaagttc aatcaatgac 240

atggagaaaa ggtttggttg cttcttgaaa gatagtgtta caggaaccct gccaaaagta 300

catcgaacag gtgcagtttc tggacattcc ttgaagcaat gtggtcatca aataagtgct 360

6

tgccatcgag acatttataa aggagttgat atgagaggag tcaattttaa tgtgtctaag 420

gttagcagtg ttgaagaatg ccaaaaaagg tgcaccaata acattcgctg ccagtttttt 480

tcatatgcca cgcaaacatt tcacaaggca gagtaccgga acaattgcct attaaagtac 540

agtcccggag gaacacctac cgctataaag gtgctgagta acgtggaatc tggattctca 600

ctgaagccct gtgccctttc agaaattggt tgccacatga acatcttcca gcatcttgcg 660

ttctcagatg tggatgttgc cagggttctc actccagatg cttttgtgtg tcggaccatc 720

tgcacctatc accccaactg cctcttcttt acattctata caaatgtatg gaaaatcgag 780

tcacaaaggc gagtatgcat ggaaaatcgc atcacaaaga aatgtttgtc ttcttaaaac 840

atctgaaagt ggcacaccaa gttcctctac tcctcaagaa aacaccatat ctggatatag 900

ccttttaacc tgcaaaagaa ctttacctga accctgccat tctaaaattt acccgggagt 960

tgactttgga ggagaagaat tgaatgtgac ttttgttaaa ggagtgaatg tttgccaaga 1020

gacttgcaca aagatgattc gctgtcagtt tttcacttat tctttactcc cagaagactg 1080

taaggaagag aagtgtaagt gtttcttaag attatctatg gatggttctc caactaggat 1140

tgcgtatggg acacaaggga gctctggtta ctctttgaga ttgtgtaaca ctggggacaa 1200

ctctgtctgc acaacaaaaa caagcacacg cattgttgga ggaacaaact cttcttgggg 1260

agagtggccc tggcaggtga gcctgcaggt gaagctgaca gctcagaggc acctgtgtgg 1320

agggtcactc ataggacacc agtgggtcct cactgctgcc cactgctttg atgggcttcc 1380

cctgcaggat gtttggcgca tctatagtgg cattttaaat ctgtcagaca ttacaaaaga 1440

tacacctttc tcacaaataa aagagattat tattcaccaa aactataaag tctcagaagg 1500

gaatcatgat atcgccttga taaaactcca ggctcctttg aattacactg aattccaaaa 1560

accaatatgc ctaccttcca aaggtgacac aagcacaatt tataccaact gttgggtaac 1620

cggatggggc ttctcgaagg agaaaggtga aatccaaaat attctacaaa aggtaaatat 1680

tcctttggta acaaatgaag aatgccagaa aagatatcaa gattataaaa taacccaacg 1740

gatggtctgt gctggctata aagaaggggg aaaagatgct tgtaagggag attcaggtgg 1800

tcccttagtt tgcaaacaca atggaatgtg gcgtttggtg ggcatcacca gctggggtga 1860

aggctgtgcc cgcagggagc aacctggtgt ctacaccaaa gtcgctgagt acatggactg 1920

gattttagag aaaacacaga gcagtgatgg aaaagctcag atgcagtcac cagcatgaga 1980

agcagtccag agtctaggca atttttacaa cctgagttca agtcaaattc tgagcctggg 2040

gggtcctcat ctgcaaag 2058

<210> 9
<211> 577
<212> ДНК
<213> homo sapiens

<400> 9
gttaccattc taaaatttac ccgggagttg actttggagg agaagaattg aatgtgactt 60

ttgttaaagg agtgaatgtt tgccaagaga cttgcacaaa gatgattcgc tgtcagtttt 120

tcacttattc tttactccca gaagactgta aggaagagaa gtaaaggaaa ttttatttt 180

caaagacagt tgacatgacc atttcatatt ctctttcccc ctgtgaaggc ttactctttc 240

tactgttcat ttcatctagg tgtaagtgtt tcttaagatt atctatggat ggttctccaa 300

7

ctaggattgc gtatgggaca caagggagct ctggttactc tttgagattg tgtaacactg 360

gggacaactc tggtgagtaa cctcactttt tcgtggacct gtcagggatg tctgtcatgt 420

tgatagtttg cttagtctta aggaattatg tgtcttgttc tccttggtta gaagggactt 480

tgattcactt ctaattccaa ccattagcgt caacgctctc ttttcagtct gcacaacaaa 540

aacaagcaca cgcattgttg gaggaacaaa ctcttct 577

<210> 10
<211> 37000
<212> ДНК
<213> homo sapiens

<400> 10
agagcctctg cctagatttc acaggatgtg tggaaacacc tggctgtcca ggcagaagcc 60

tgctgcaggg acccagccct catggagaac ctctattagg gcagtgcaga ggtgaactgt 120

ggggttggag cccacacaca gagaccccac tggagcactg cccagtggag ctgtgaaaag 180

agttccccca tcttccagat gccagaatgg tagatccact gactggaaag ttgcaggcac 240

tcagtgccgg cccatgaagg cagccgtagg ggctgtaccc tgcaaagcca cagggacaga 300

gctgcccaag gccttaacag cccacacctt gcatcagcat gccctgggtg tgagacaggg 360

gctccaagga gattattttg gagctttaaa atttaatgac ttccctgcta ggttttgcat 420

atgcttggga cctgtggccc ctttatttttg gccaatttct cccatttgga atgggaacat 480

ttacccaatt cctgtaccca cattgtgttt tggaagtaac taacttgttt tttattttaa 540

aggctcattg agggaaggga cttgccttgt ctcaaatgag actttggact cggacttttg 600

ggttactgtg gaatgagtta agactttggg ggactgttgg aaagacatca ttggttttga 660

aatctgaaaa ggacatgaga tttgggaaag gccaggggaa gaatgatatg gtttggctct 720

gtgtcctcat ccaaatctcg tcttgaattg taatccccac atgggattac atgggagggg 780

cctggtgaga ggtgattgga tcatggaggt ggtttcccct gtgctgtgat ctcatgatag 840

tgagggattt aaaagtgaca gtttcccctg cacatacaca ctctctctct cgtatcacct 900

tgtgaagaag gtgtctgctt ccctctgcc ttccatcgtg attataagtt tcctgaggcc 960

tccccagcca tgggtaactg tgagtcagtt aaacctcttt tgtttataaa ttacccagtc 1020

tcaggtagta tctttacagc agtgtgaaac tggactaata catctgggaa attcttttttg 1080

tctccttcct ttctgaagga cagctttgcc tgatattata ttcttggttg ccaggttttg 1140

tactttcaat actttgaata tatcatccca ctctctcttg gcctacatga tttctgctga 1200

gaaatccacc aataatctta tgaagcttcc cttgtatgtg aagaattgct tttctcttgc 1260

ttctttgaaa attctctctt tgtcatggtg aggatttctt ttttttttttt ttttttttag 1320

atggagtcta gctctgttgt ccaggctgga gtgcagtgtg cagtggcgca atctcggctc 1380

actgcaagct ccgtctcctg ggttcacacc attttcctgt ctcagcctct ggagtagctg 1440

agactacagg tgcccaccac cacgcctggc taaatttttt ttgtattttt agtagagatg 1500

gggtttcact gtgttagcca ggatggtctc gatctcctga cctcatgatc cacccatctt 1560

ggcctcccaa agtgctggga ttacaggcat gagccactgc acctggccga ggatctcttt 1620

atatttaatc tatttggagt tcttttgggc ttcataaatc tggatgttta tttcatttat 1680

gtctccaaat tttgagagtt ttctattctt attttttttaa ataagtttct gcaactttct 1740

8

ctttctctac ttcttctgga actcttctaa tgcatattaa ttttcttaac agtgtcctat 1800
aagtcttgtc agctttctgc aatttttatc attccttta ttactctgac tgggtaattt 1860
caaatgacct gtatctgagc atgctgattc tttctcctgc ttgatctagt ctgctgctga 1920
agctgtttgt gaatttttc aattcagtca ttttgttctt tagctccaga atttctgttt 1980
cattcttttt tatggttcct atctatcttt ttgttgaact tctaattttg ctcatgtatt 2040
gttttcctga ttttgtttac tgtctatcta tattgttttg tagcttattg agctttctta 2100
aggcaattat ttttagctct tgtcatgcag taaagatctc catttcttta gggtcacctc 2160
ctgctgcttt atttccttcc tttggtggtt tcttgtttcc ccgattattt gtgatcagtg 2220
tggccttgca ctgaagtagg cacctatttc agtctttaca tactagcttc agcagagaaa 2280
gccattcact agtcagattg accagagatt gttggtgggc tgtctgttgg ggtctatgca 2340
caggatttct gctggagttc taaggtggga agggctggat tctgggttca ttcactgtgg 2400
ttgtctgtat tctgtgcaca aggactggct tgaagcatgg atccttgggg gctgacttgg 2460
cactgaaatg agccttaagc ctgcgtctgc aggggccagc ctaacatggg gatcacctgg 2520
cacctgagtt catggggata ggcctgttcc tgagtttatt caggctgtcc tgggaacaag 2580
gtccactggg gtgagcccag catctgggtc cacatggccc agcatggagc caagatctct 2640
ggaggctgac ctggtgctgg atctgcaggg gatggcctgg attctaggcc catgggtgcc 2700
aacttggagc ctggggttgc tggggctaac gtggaggcta gatagagtct tgggggccag 2760
gctagagctg gagcaggcct gaagtctagg ttttgtgtgg ccatcttgga gcctgaagcc 2820
ccaggggctg acctggtctg gggtgagcat ggggctgagg ccacagaggc tggtctggcc 2880
tgtggcaggc ctgaatcctg gtgctggggt ttactggagt gggcttggtg cttgggatct 2940
gtggtgaagt taggttctat cttaactgtc cctcctccat gcaagagggc atctctctcc 3000
atactgtgct gcccaggctt gaaggtgaga tgacaccggt aatgtgaaat tgtccttcct 3060
atacacttct atgtgtcttt tcttatttct gtgctgcaac caggtggcat aacctctcac 3120
ctgattcctt agctctagtg aagttatttt cgtgcatgga tacttgttcg aattgatgtt 3180
tctgcaaggg atgagcgcta gaaactcctg ttctgacaaa ctcctattcc tattcttgct 3240
gacatcactc cctgaaatag ttaatatact taacagctga acacggatag gatgttcatg 3300
gaatatgttg acaggacaaa aagttgaaac tgttggcaga aacccaaagt caatattgaa 3360
gccaagcaaa atattgcctg cagtgccaca ttagaacagc ttgaagaccg ttcattttta 3420
agtgacaaga gactcacctc caagaagcaa ttgtgttttc aggtagcaaa tttttattat 3480
tctgattgtt tccaaataaa ctataatttt taagtataat tttttacttt atgagaaaat 3540
taatcattta tattctaatt tcctgagtat gtagagagta tagataatgt tcctttatgt 3600
agaaatattt aaatgtaaga tgattttaaa tcagaaagaa tatttgattg atttaaaatt 3660
tttaaatggg ctttaatatt ttcagaggtt ttctttactt agggattttt ggactgacat 3720
tattgccatt atttattaat tttgtttttg cccaaatcaa gaggtttcat aattgtttac 3780
tctctctcta ccaattccct ttccaacatt actagccaca gagttggcca atgaacaata 3840
aacacaacag tagtctggag gtctcaattt gtatcttggg aagcattata aattttccaa 3900
ctccctagac acaaatgtac caaaaaaaaa cccttgtttt ctataccagt aattgtgtgc 3960

9

tttgtcttgc aattcagaca tttacaagaa aatctaaatc accttaaatt aagatttatg 4020
ttaaatgtgg tctaaaacca gcagagttat gtattgtttt ctttttaga atgattttat 4080
tcaagcaagc aacttatttc atttccttgt ttgctacagt ttcctgtggt aagtgaatta 4140
tctataaaac atggaattca ggctaagaca ggagtagcca agcaagtggc accacccctg 4200
gagaaagcta ttgaacatac agcttcgggg gtggagattg tccctgatga ttcaggacac 4260
gtgtctattt aatgttccac aacaaggacc acttgtcagg tatattgctg tagacatatg 4320
ttgcagacca gaggaaggag ctcagaagta ggaatgtctt gggacttgtg ttaacaaaaa 4380
cttctgttcg cagatgacac tctgcaaagc aaaacttgaa acaaaaaaaa attagtcctc 4440
tatttttatt atcaacagta aaaaattaaa ctttatctga aaattcaaaa gagtgctagg 4500
cattttatag tgtctgggtc caatccaagt atctgttagg aacaccatac atagttttac 4560
tctggaccgc tagggaacca tttcaaaaat gaaagtaact ggtttaaatt taacttagca 4620
aaccatgcat ttggatagtt ctaggtgaat agctttcaac accagattta gatctcattt 4680
ctctattaat ttcattaatt tttggagaat aaaaatgatt ctggacattt cattaatcat 4740
tacagaggga gttttctctg tgtccccaca aggcatgatt ctgggtctat ggtgacttaa 4800
gagggccaca caacaatgag tatttaattt tcctcagatg tatggctaca ataaacatct 4860
ataggtaagg tttacattca taaagagacc ttttttttttc caggaaaaaa gacttttatt 4920
ccccctaaat cacaactccc ctgtgtctgt ccctcaaccc tgatttctct tctaaaccgt 4980
aatttacaaa cccatgtgca aacccactga aaggtgagaa ggagcataag ccagagacac 5040
tgggaaccac agccaactac agggggtttt tcatttttttt gttttgtttt gttttttggc 5100
aaaataaatc atgattatgg ctaggaaaat cagggatgta agtaagcaaa aatttagaaa 5160
ctacatattg catgtagtcc ccaaattcag aaacagtcat cgttaaacat cttttattta 5220
gtctttcaga tatttttcta catataccta tttgcacatt tcacaaaaaa gagttattaa 5280
ctgtggacac tctttgactt gcattttcca cttatagcta tcttttggtg caaataagta 5340
atatattttg gagcttgcta ttcttctctt tttatggtat ttttgtgtgc acattcttat 5400
gctcttattc agttatttct gtagaataca atttttgaaa taaaaatact agattcaaag 5460
gtgtgaatat ttttgaaggt tttgtggtgt ggtatcatga aattaggttt cagaaagttt 5520
actccatagt tgacttttttc taccagctaa taagagtgct catttacccc acttaggcca 5580
actctaacag gcttctgttg ctttgcatcc tgacatattt atctttctgg aaacagtgtc 5640
ctaatttatt tctgcagagc tactgcctct cagttttggt ccatgtggtt ctggtgaccc 5700
tgattcttct gctgaaccag aaagtgcaca catcctcctg gctgtggtga cccaatcaga 5760
gccaacgtct tgcaatgaag cttttcttta gacatctaga aataagactc ttatgttttt 5820
tttttccaat ttgacttgaa acttaagaca atacacaggc ctgagttgtt ggtactattt 5880
tgctactacg tggagcttga gagtaatggt aacaccaaga ctggagcaag tggaaggaga 5940
catattgtcc actgatgcta tcagttgagc acaatgtgca gttacttttt aagccagatt 6000
caccatgggc tttttggctc ctgaaccaat agatttcatt tgttttcaag ccactttgta 6060
ctaggttttc catcatttgc aatcaaaacc agtatacaaa cactggttat ttaatttttc 6120
atttttgcta atctcaggga taaaatggct tctagttgtt ttaacttggc tatatttgtg 6180
attcttccca ttttcatata cttactaatc acttctattt cttttgtaaa ttatcttttc 6240

```
atatttgtta tctaattctt taaaatttga gtactttaat tctcattatt gtttgtggaa     6300
ttgttaaaca agactgaata atctgcccaa agtccatgga catgggggcc catgtaaaag     6360
ctttgaaagc caccatcatt atgagataaa ttatataata gtactttaca taggctccaa     6420
aatacagcac agacacagct atcattgtca tggtcatcat tatcatcatg atcaccaact     6480
tatgaggata agcaagaaca cctactagaa gtttctttcc attcagcaac aaaattggtg     6540
tctttctagt cactcccttc cctgactgtc acatagcagt tcacagaggc tcagttgcag     6600
aatgagaagc tctgggccag gacctgccat tgtatgcatc cttgcatggg aactgggggc     6660
tggaagagga gtgactgctt gataattatg agtcagtcaa aaccaccaac tgtctgaaaa     6720
aaataggcct ttttgtaact agtattgtca ctaaaccaac tcctccatgt tttgtgcata     6780
catgaaatct aggcaataca cttgtattcc caaaagcttc cacttgaaga gatctgtgct     6840
ctttccaaat ataaacctta cccgagaggt ggtcatcttg gccacacctc agagagggag     6900
agaggcagtc ttgttgggtt gggtggtcat aatggggctc agggccaaat ccccaggggg     6960
taggatagtg cagagaagat ggcactctcc agtgcttaat aaaatgcacg tggtctaagc     7020
tgcccactcc ctcaaaggca ataaaaaata ggtactattt aaattgaaga gtaactactg     7080
ccccagggaa tggacaggtt gtcattggaa tagccatggt taatggtccc agttgacaac     7140
tgaaatgaat gtgctacctg aacaggaaag cttattaacc agatttcaaa gacagtcttt     7200
cccggtaaat ccaaatttac aaattaaagc cagtaaagac accgaattct ctaataatat     7260
gtggggtgca gtatatttta gagctgggaa taattccaaa cagcaaatag ttcaaaattt     7320
attttcaatt tagcatatgc atgcatttgc ttaaactgtc ttaaaaatga gtaaaaaata     7380
ctgtcagttt gtttcaatca tactgagatg aggaacaatg tttagcattg catgctagaa     7440
aaggacacag gattgggagt cagggctggg tgaccgtcac aggactttca ctaactgtgt     7500
ggatcttggg caagtctgtg tgccctgaga ctcagttatt taactttctt ttaaaaaaca     7560
tagtccagat gcagataaca aagcctgcct ctaatttccc ttacagaatt gtgagaagct     7620
ggtggagatg tttgttacaa aagtgttttg aaaatagagc aaatattatt ctttttaagg     7680
catgatgttt tcatagcatg tcaggcaaca ggaaaaaact aagttaggat tttatttttat     7740
tgtggggaat ttatgtgcaa attattgtgc aatttaatga aaataagcca atgttttata     7800
cagaagtacc cagaaaatta aataacacta tacattgttc aaatagttgc cttaatatat     7860
tttattttct cagcataatt agagttgtat tatacaggtc tttgagtagt cagtcagtgg     7920
gagaagttaa gacaacagat atctttttat taaaattatt atatgaatta tcgcaaatta     7980
atttttatgg ttctgtcaca ggatgtctga ctcaactcta tgaaaacgcc ttcttcagag     8040
gtggggatgt agcttccatg tacaccccaa atgcccaata ctgccagatg aggtgcacat     8100
tccacccaag gtgtttgcta ttcagttttc ttccagcaag ttcaatcaat gacatggaga     8160
aaaggtaaaa gttggtattt cattattgga gaagctgttt ttcaaaactg aatcagtttt     8220
gtgcagaaag gtgtagtata actgagagtt cttcctcaca cggggttcaa ggaccagctt     8280
cagcaaaatc ccgtcaagtg gttcttacaa atgcagattc ctaggccaca acccagatct     8340
gctgaaccaa agtttcttgt gaccaggaat ctgcatttta aacaatcact gtgtttcttt     8400
aaagtagtag aagctagtca ttttctattc aaagcctcaa aatgcttgaa tatcattggg     8460
```

11

ctaagggatt gtctcaagaa agagtctaac aggtgcacat ttcatctgaa taaagaaaca 8520
gatttaactg tgtgacccat gatcacatta gcggatagca cagtccaaag aaaataacat 8580
aagacaagca ttttgctgag aatgtaattg agaaagatct agaacttgtg attttgggac 8640
agggcagttc taaatggggc ctatagtgag ccagtttggg cacctgtggc atgatgctat 8700
gtatggtgtg tgtgtgtatg tgtgcttgtg cttgtgtgaa tatgtattat taactggaaa 8760
tttgtaaaag tattggaaaa atagtactta cgattttgtg tgtgtgtgtg atggagtctc 8820
gctttgtagc ccaggctgga gtgcagtggc gtgatctcgg ctcactgcaa cttccacctc 8880
ccaggttcaa gcgattctcc tgcctcagcc tcccaagtag ctgggattac aggcacgcac 8940
caccacgtcc agctaatttt tgtagtttta gtagagacgg ggtttcacca cattggccag 9000
gctggccttg aactcctgac ctcgtgatcc acctgcctct acctcctaat gtgctgggat 9060
tacaggcatg agccaccgca cccagcggta attacaattt ttattaggtc agagagatgc 9120
ttattaatca cgagccacag tttcatctta atgatttttc cttttgatta atatccagag 9180
taagcttttc tttgttgttc ccatttccat gttcataact ctttactcat cttcactcta 9240
tgtgagttta ccaactagaa attggatagt cattctctga tcccacatgt taaacttgta 9300
gagaaaactc agattgtatg tgaggatcat catattaaaa gtggaggaag gttctagaat 9360
tcttataaat aatgaaatta acatgaaggt ggacatctaa gacagaggga agtcttccat 9420
taagtgcaga ctacaaggag ttaataagca agatgaacac gatatacaaa tccagctctt 9480
atcactaagt taacttttta agtaaatgaa agtatttgca aaaataatta ccaattgaga 9540
acatagttgc ctgaaagttt aagaacacag gaaaaatcat taactcttta atatggttga 9600
tttcctgtac ttaaaaaatg tgagtgtaaa gaaaacgcag tgatggagtt agatattatg 9660
gggtgttata aaattagctc taagagtgtt ctttccagca agtattgggg aagctatatt 9720
attttcctta ttcctggttt tatttgttag tgtgtagaaa atgctagaca tttcctcaat 9780
gtatgtttat tattctactt cctaagtaaa gctacttta aaataggttt ggttgcttct 9840
tgaaagatag tgttacagga accctgccaa aagtacatcg aacaggtgca gtttctggac 9900
attccttgaa gcaatgtggt catcaaataa gtggtaagtt gtgaatttct tagctacatt 9960
tgagttaata ttggatctcg cttagaacag cttttgctca aagtttgtac tgctacagct 10020
ttttggaagg catcactcat aaagatagga gatggggcag tattctggac acaaaagagg 10080
gacccatatt catctggaca cttctattgt ctttataaat caacacatac ttaatgagcc 10140
tctattattt atgaggttag cgctcaagtg taagatttgc agaaaatgaa tccaaataat 10200
tgtgtctcgt ttccagataa gaatttttaa gaaaacacaa gggaacatct ctctcaagtt 10260
cacttgaggg taatttttac atcagtgatt ctcaaccagc agtgattttg tctcttccac 10320
tggggacatt tgacaatgtc tggagacatt tttggtggct acaactaggg aggatgctat 10380
tagcatttac taagtagagg ccagaatgtt tgaatgctga ccaacattct acaaggcaca 10440
gggcagtcgt ccacagcaaa taatttttctg gcccaaaacg tcaacagtgc tgacatcaag 10500
aaactctgtg atataccact aggcccaaat tgaagaactg agttctgcaa atcttgctaa 10560
gaataatact tcctaaagga aacttgagga ctaggatgct agagaacttt gattctgaca 10620
tctgaagcta ctgatgtctt gggaaacagt ttccaatgct atcctaataa atttaagaca 10680
aatgaactat ttctcaaaca tgactgggac tgataagaaa gtgaaaagtg ctgaaaagat 10740

12

tcaactgatg ggttgtcaga atcttaaaat aactgctgtt attctatgta tgactatata 10800
tcattactat tttattttca ttatgcacaa ttaattttgt aggttcaaat ttcagatgtt 10860
tttaaatttg tcatcctttc ctccctcatt gatatcacct cttcaatacg tacacacttt 10920
gagcctgctg tttgcatttt aaccagttat caaaggatgg caatgccttc attataaatg 10980
tgggcctgac ttagccagta taataggtgt agtctacgtg aggtggagta catttcctat 11040
tttaaaagat caatttttat gttaatccaa tttggtataa attattcgag taagtgctat 11100
ttctgattgt tgtatcttgt agcaaaattt aaagaaaaag taatttgtgc ctttctcaat 11160
attcctgtta ttgttcatgt attctaaaac tcactgttac tcacttagct tgcttttaat 11220
gtttttttaaa gtgaaaaatt gttcccaagt acataaaatc tctacactca agaacaattc 11280
tagtcaaaag catttagagc ttccgtatga acacttaaag agtttttatt tgtaagagtc 11340
gcatcccaac tcttagcctg ttcttttctc acatgcagaa aaataggaaa gagacttcgt 11400
ttccacagtc tgcaaattcc tgtgtttaag aaccacagtg aataatccac ctccctgccc 11460
aactcatcgt actgtcatat agttttcctg acagtttgtg tattttctgt ctttcccacc 11520
cttaaattta gttttatgac ttcaaccata cttcttagga gtggaaaggt atctgtagta 11580
gattatggtt tattccacat aatcttgggg aataaaactt taaaaaagta tacagtttat 11640
acttctggtt acattacttc cttaaccaaa agtctaacca agaaatttga atctttaaaa 11700
aaaaaagagg ccgggcgcgg tggctcacgc ctgtaatccc agcactttgg gaggccgaga 11760
cgggcggatc acgaggtcag gagatcgaga ccatcctggc tgacacggtg aaaccccgtc 11820
tctactaaaa atacaaaaat tagccgggcg tggtggcgcg cgcctgtagt cccagctact 11880
cgggaggctg aggcaggaga atggcgtgaa cccgggaggc ggagcttgca gtgagtcgag 11940
atcgcgccac tgcgctccag cctgggcgac agagcgagac tccgtctcaa aaaaaaaaaa 12000
aaaaaaaaga gcctaatttt gcttcactgt ctgtgaaaag aattatctgt atcttttgca 12060
tgtaagacaa atctcaatga aaagggtgct taaatagaag ttaacactat tttaaagcaa 12120
gaatggaagt ggtttcatca tgcgtaaaca acaactctcc acattttgta atgattgatc 12180
tggatgcaat ttgtcatcag acaggagaag tcgaaagcaa agaaataaca ctgggagata 12240
gagaagctct ttcattcaat gcgaaaggtc aaaggcacat cagtttcttt aataatgcaa 12300
acctcagcac acattatcag tgtcctcatt attattgcct tgtttatttc ccactgctca 12360
ttgataattt caacgtgaaa tttacctgta ttgctgcatg catcttgcag tttaagaagt 12420
gaagtaaccc aatttcaaag ctagtgcttt agggaaaata ttggattgta tttacttcaa 12480
gcagagttcg ataatttatg tacataataa aaattttaaa tcccttagtt aatatagcag 12540
ttgccaaaac tgggctatta tcattctaaa ctaccaaccc aaatggtagt gggtatctaa 12600
tctacctcta gaaagaaaat ggactgtatt tgctctatgt atttttcttg tacagcttgc 12660
catcgagaca tttataaagg agttgatatg agaggagtca attttaatgt gtctaaggtt 12720
agcagtgttg aagaatgcca aaaaaggtgc accagtaaca ttcgctgcca gtttttttca 12780
tatgccacgc aaacatttca caaggcagag taccggtgag tacaattcaa ggtgtgtgtt 12840
ctttgtattg gtgcctccag gatttcactg tattcttctt aacctctttt gttcccaaac 12900
taaaaaccaa acagggcttt tattctaacc actttcctca tttacttact ctattttatt 12960

13

ttttttatctt ttatttattt atttatttat tgagatggag tcgcgctctg tcgcccaggc 13020
tagagtgcag tggcgtaatc tcgactcact acaacctccg cttcccgggt tcaagcgatt 13080
ctcctgcctc agcctcccga gtagctggga ttacaggcgt ccgccaccat gcctggctaa 13140
tttttgtatt tttagtagag tcggggtttt actatgttgg tcaggctggt ctcgaactcc 13200
tgatcttgtg atccacccac ctcagcctcc caaagcgctg ggattacagg catgagccac 13260
tgcgcctcgc ccttcatttt ttaattaaat aattcattta atttcatttg tttctctact 13320
cttttcccct ggcatgtaat tgtaccgcat cttcaaagcc tgacatcctc ttcccctact 13380
tctccaaagc tgattcttgc aggtctttcc tcaaataccg tcccctccaa aagcccattt 13440
ctgagcattc tcttttaagt cacactcagc tctgtttatt tcattcatag agctaatcac 13500
aatttgatat taacttgtga tttttttcct tatttttaaa tcttattttt atttgcatag 13560
atgtatgggg tacaagtgta attttgttac tttgatgtat tttacagtgg taaagtctgg 13620
gcttttggta tatccatcac tggagtcatg tacattgtac ccactaagct atttttcaac 13680
gcccgccccc ttcccacctc tctgtcacct tcccagtctc tactgtctat cgctccatgc 13740
tctactcaat tttggtgtca ttttttcctg aagcaaaatt ttggtgtcat tttttctgaa 13800
gtcattttct gaagtctgtg tcatttttcg ctttcctgaa gcgaattttg gtgtcatttt 13860
tcctgaagtt ccgtttgccc cacacatagg ccttgcttat agaatgaggg tttagtgtca 13920
cggagtctcc tgcctcattc tcaccctaac ttttccttta ccccttgcg aggggaagga 13980
tgtccattag gttaataatg cagaccccta acccactcat tatcagggtc attgtttttc 14040
cactgtgcat tttaatacta actgttacct gcactgctcc ctgcccctca aagtgcagaa 14100
agcaaagtaa cctcttttct tcccattcag gaacaattgc ctattaaagt acagtcccgg 14160
aggaacacct accgctataa aggtgctgag taacgtggaa tctggattct cactgaagcc 14220
ctgtgccctt tcagaaattg gtaattgtag gactacttca ctttgtgatt gtggtaggtg 14280
gaataggagc ccccagagac gtccctgtgc tgagccctgg gacctgtgcg tgtgttccca 14340
tagctggcaa aagcgtttct gtcaatggca tgcagttacg ggcttcgaga tggggagttt 14400
actctggatt ttctgaatgg gcccaatgta ctcacagggt tgagtgctca caaggctcat 14460
aagaaaaaga gagaggcgga aggctcagag ccagagagag aggtttgaag gtattacact 14520
gctggctttg aagatgaagg tccgtgagcc aaggaatgca ggcggcctct agaagttgaa 14580
aagggcgagg aaagagtttc cctgtggagc gtcctggagg aagaagccct gctgatgtct 14640
tgattttagc ccagtaagac ccaatctcta gaacagtaag ataattaatt tgtgttgttt 14700
ttaaccacta agtttgtggt tatgccccta gagcagcagt tataggaaac tagtacagtg 14760
atactgttag agttatagga cagtgatata ggacagtgat actgttatag ttataggaaa 14820
ctagtacagt gatactgtta gagttatagg acagtgatat aggacagtga tattgttata 14880
gttataggaa actagtacag tgatactgtt agagttatag gtacagtgat attgttatag 14940
ttataggaaa ctagtacagt gatactgtta caggtacagt gatataggac agtgatactg 15000
ttataggaaa ctagtacagt gatactgtta gagttatagg tacagtgaca taggacagtg 15060
atactgttat agttatagga aactagtaca gtgatactgt tagagttata ggtagagtga 15120
tataggacag tgatactgtt atagttatag aaaactagta cagtgatact gttatagtta 15180
taggacagtg atataggaca gtgatattgt tatagttata ggaaactagt acagtgatac 15240

14

tgttagagtt ataggtacag tgatatagga cagtgatatt gttatagtta taggaaacta 15300
gtacagtgat actgttagag ttataggtac agtgatattg ttatagttat aggaaactag 15360
tacagtgata ctgttatagg tacagtgata taggacagtg atactgttat aggaaactag 15420
tacagtgata ctgttagagt tataggtaca gtgacatagg acagtgatac tgttatagtt 15480
ataggaaact agtacagtga tactgttaga gttataggta cagtgatata ggacagtgat 15540
actgttatag ttataggaaa ctagtacagt gatactgtta tagttatagg acagtgatat 15600
tgttatagtt ataggaaact agtacagtga tactgttaga gttataggta cagtgatata 15660
ggacagtgat attgttatag ttataggaaa ctagtacagt gatactgtta tagttatagg 15720
acagtgatat aggacagtga tattgttata gttataggaa actagtacgg tgatactgtt 15780
atagttatag gtacagtgat attgttatag ttataggaaa ctagtacagt gatactgtta 15840
gagttatagg tacagtgata taggacagtg atattgttat agttatagga aactagtaca 15900
gtgatactgt tatagttgta ggacagtgat attgttatag ttataggaaa ctagtacagt 15960
gatactgtta gagttatagg tacagtgata taggacagtg atactgttat agttatagga 16020
cagtgatatt cttatagtta ccgtggtata gttatagtta aaggtacagt gatattgtta 16080
tagttatagg acagtgatat tgttatagtt ataggacagt gatgtagtta cagtgatata 16140
ggtacagtga tattgttata gttataggac agtgatatag ttataggaca gtgatattgt 16200
tacagttata ggtacagtga cgttgtaata gttataggac agtgatattg ttatagttat 16260
aggtacagtg atgttgtagc aaaactgtaa ggtcattcct tggttgtgtc cctatctagt 16320
gaaatgactc taccaggggt agggaaataa aactctgtcg tttcacacat aaaggtaatt 16380
tcaatggaat tatccagaaa attgccatga cattccacct catttagcat gtcaggatgt 16440
taatgacaag atgttactaa aagcaaatcc cttacggcca gttttccgca gtactgggtg 16500
ctggctctgt gcctggccct gtattgggtg ctgggctagg atttccctgt ggaagattgg 16560
gaaggttggt tacaaggtgg ctattttcct gtctcctctt tgcgacagca caccttctcc 16620
atggtgtgtg ccaggttcac gtgtactggt gatttaattt taacgttcat attatttttt 16680
tctgggagag tttttgaagg ctgccaggag gcaggactcg atgcaaacat gctccattct 16740
gtacccagcc ctgttgctgg aaggatttgc tgcacttacc cagggaacag gcaagctcgt 16800
gctgtggctc tgggctgtca cagctgctgt ccacacctgg gagagcaccc tggatggctc 16860
atctgtgtac ttgctttctt gttaaattgc agtgagttca catgtgattt aatcggatca 16920
aatggccttt acagactgat aaaaatatgg ctgtttcagg tggtgttttg agctgctaag 16980
ggcgtggctt ttcactgagt acgtggtccc cgttcctcag ggaacaccca gtagccacat 17040
gcctcctaaa cctagagtag ggctgtctcc tggcctaact gcccaaatga gattcataag 17100
ttagggatga tctgtagtta tcactacaga tttgtccttg gtttcaccaa ggattttcct 17160
aattttacaa acaaaacccc taaggctcct ggaaggaggg tagaagtgaa ggtgctccgg 17220
gggcaacaca gctgatgagc tgaaccagaa ctcgaccctt gggtcacaca catttcacag 17280
tgctcactcc acctttttgtt tttttaatgg atttaatggt gttttaaagc ctcctgcctc 17340
tcaacacata tgaattcatt atatttacag atttccttct cttgtggtcc atcttcctgc 17400
atagatcttg agagatgtca ggctaaccac gtttcctcag ttaatttaac aaaaccattt 17460

15

gcaactctga catggaaaat tcctaccatg tgacttatta atttatcaat tgagatggta 17520
cacatatttt caagccaaaa ggaggaaaac ataaattgga aaaaaaaggt ttttttattt 17580
ttatcacctc tggggaagaa agtctgataa acgaagctgg ttgataaaat tgcaattagg 17640
ggaagcaaca tcatggtttc tgttcggagg ctaaccagat ggcatacttg aaatagagaa 17700
tgtcctagaa atcaactggt tgcttggcca aaatatctat aaatagtgcc caacatatta 17760
gataggaaaa gcaaagtaaa aacaatttta acaggttagg acattgggct gaagtattgc 17820
atatatttaa tgtcatgtgc gtccgtgtga agagaccact aaacaggctt tgtgtgagca 17880
agaaagcttt ttaatcacct gggtgcaggc aggctgagtc cgaaaagaga gtcagtgaag 17940
ggagatgggg tggggacgtt ttataggatt tgggtaggta gtggaaaatt acagtcaaag 18000
ggggttgttc tctggcgggc agcggtgggg ggtcacaagg tgctcagtgg gggagcttct 18060
gagccaggag aaggaatttc acaaggtaac gtcatcagtt aaggcaggaa ccggccattt 18120
tcacttcttt tgtctttctt cagttacttc aggtcatcta gatgtatacg tgcaggcctg 18180
ggcccagagg cctgacattc ctgtcttctt atattaataa gaaaaagaaa acgaaatagt 18240
ggtaaagtgt tggggtggcg aaagtttttg ggggtggtat ggagagataa tgggcgatgt 18300
ttctcagggc tgcttcgagc gggattaggg gcggcgtggg aacctacagt gggagagatg 18360
aagctgaagg aatattttat ggtaaggggt gatattgtgg ggttgttaga agcagcattt 18420
gtcatataga atgattggtg atggcctgga tatggttttg tgtgaaatga gaaactaaat 18480
ggaagacaca aggtctgaat aagagaagga gaaaaacagg tgttaaagga ctaagaattg 18540
ggaggaccca ggacatctaa ttagagagtg cctaaggggg ttcagtgtaa ttacttgctt 18600
ggttggtgag tttttgggct ctatccttga cagagtcctc ctttttaagt tggaggctga 18660
gcttggtgag gtgtgttttt aaaagaccat tagtctgttc tacctttcct gaagattgag 18720
gatggtgagg ggtatgaagg ttttactgaa taccaagagc ctgagaaact gcttgggtga 18780
tttgactaat aaaggccggt ctgttatcgg attgtataga gatggaaagg ccaaactgag 18840
gaattatgtc tgacagaagg gaagaaatga ccacggtggc cttctcagac cctgtgggaa 18900
aggcctctac ccatccagtg aaagtgtcta cccagaccaa gaggtatttt agtttcctga 18960
ctccgggtat gtgagtaaag tcaatctgcc agtcctgggc gggggcaaat ccccgagctt 19020
gatgtgtagg gaagggaggg ggcctgagca atccctgagg aggagtggag tagcagatgg 19080
aacactgagc agttatttttt tgaggataga tttttacgac ggaaaggaaa agtgaggttt 19140
taagaggtgg gttagtggct tgtaacttac atggaagagt ttatgaaatg atgacagaat 19200
agaatgggcc tgtgaggctg gaggagatat tttccttggt ccaagaatta tttgccttgt 19260
gtgggaagag attgataggt ggaagtttca atgggggagt agatgggagt gacagatgag 19320
gaagaaaaaa actggctgtg agggatagaa gttggaatgc tcgctgcttt tttagctacc 19380
ttatcagcat aggcattgtc ctgagcagtg ggatctgatg ccttttggtg gcccttgcag 19440
tgaatggctt cagcttcctt tggaagtaaa gtggccttga gaggagtttt tattaaagag 19500
gcattaagat ggagaaccct tgtgtagtga ggaaacctcc ttcagcccat ataaccgcat 19560
ggtggtgcag aatatggaag gcatatttag agtcagtata aatattgaca cgtagtccct 19620
ttgcaagagt gagggcctga gttaaggcaa tgagttcagc ttgctgagag gtagtggagc 19680
ggggcagagc agtagcctca gtgatagatg tggaagatac tacagcatag cctgcctttg 19740

16

ctggtgagtg gtgattaggc ctggtggaac tgccatcaat aaaccaagtg tgatcagggt 19800
aaggaacagg aaagaaggaa atatggggaa atggagtgga tgtcaggtgg atcagagaga 19860
tacagtcatg ggggtggggg ccagcctaaa acagtaaggt caagttgttt gaacagaaag 19920
gctacagggc gtggtcctgg ctcttgtgta agaattttga ctgcgcagcc ctgcacttcg 19980
gctgtgtgta atgaaaaggg ttgggatgag ttagggagag ctagtgtggg agcagtttct 20040
agggctgttt ttaaggaatg gcaagaggag tggctaaagg atttaggatc tttggggtca 20100
gctagctttg cttttgtgag tttatataat ggtttagtca ggatggtaaa acttagtatc 20160
caaaggcgga agtacttaac catacctagg aagaaaagga gttgttttgt agaaggggtt 20220
ggggtttggg agatgagcca gacacaatca gcagggagag cacatgtgtt ttcatgaaga 20280
attatgccga gataggtaat ggatgaggaa gaaatttggg cttgactgaa gtaatggggg 20340
ctgtcctcga agccttgtgg cagtacagcc caagtaagtt gctgaggctg acgggtgtca 20400
gggtcagtcc aagtgaaagc gaagagaggc tgggatgaag ggtgcaaagg aatagtaaag 20460
aaagcatgtt tgagatccag aacagaataa tgggttgtgg agggaggtat tgaggatagg 20520
agagtatatg gctttggtac catggggtga ataggcaaga caatttggtt aatgaggcac 20580
agatcctgaa ctaacctgta aggcttgtcc ggtttttgga caggtaaaat gggggaattg 20640
taaggagagt ttataggctt caaaaggcca cgctgtaaca ggtgagtgat aacaggcttt 20700
aatccttta aagcatgctg tgggatggga tattggcatt gagcggggta agtgtgatta 20760
ggttttaatg ggatggtaag gggtgcacga taggttgcca aggagggagc agaggtgtcc 20820
tatacttgtg gattaaggtg gggacacaca aggggaggat gtgaaggagg ctttgaactg 20880
gggaaagggt ggcattgagg tgtggctgtg gcctaagaac agtcagggaa gcggataatt 20940
gagttaaaat gcctcgacct agtaagggag ctgggcaggt ggtgataact aaaaaggagt 21000
gcataaaaga atgttgtcca agttggcacc agagttgggg agttttaaga ggtttagaag 21060
cctggcggtc aatacctaca acagttatgg aggcaaggga aacaggccct tgaaaagaac 21120
gtaatgtgga gtgggtagcc tctgtattaa ttaagaaggg gatggattta ccctccactg 21180
taagagttac ctaaagcatc tgtgatggtc caggaggctt ctaaggtgat cgggcagcgt 21240
cagtcttcag ccgctaagcc aagaagatct gggaagcagt cagtcagaga gccttgggcc 21300
agagttccag gggctctggg agtggcagcc aggccagtta gacagtccga tttctagtgg 21360
ggtcccacac agatgagaca cagcttagga ggaatcccag gctgcgggca ttccttggcc 21420
cattggccag atttctggca cttgaaacaa gatcctgatg gaggaggtcc tgtaggaatg 21480
cttgaccact gcagtttagg cattttgaag tttttgtgtg tgctggagat gtggctgggt 21540
tttgtctcac agcagaggca aggaatcgca actcagaaat acattgctac ttggctgcct 21600
ctattattgt acatcttgaa ggcgaggtta attaagtcct cttgtggggt ttgagggctg 21660
gaatctaatt tttggagttt ttttttgttt gttttttggt ttttttttt taatgtcagg 21720
agctgactgg gtgataaaat gcatattgag aataagaggc cttctgaccc ttctgggtct 21780
agggctgtaa agcgtctcag ggttgctgcc aaacgggcca tgaactgggc tgggtttttc 21840
atatttgatg aaaaagagcc taaacgctaa ctgatttggg agaggtcgga taaataaaaa 21900
ggaacattaa tcttgactat gcctttagct ccaaccacct ctttaagagg aaattgttgg 21960

17

gcaggtgggg gagggctagt cgtggaatga aactgtaagc tggaccgggt gtgaggaggg 22020
gaggtgatag aaggattata gggtggagga gcagaggctg aggaagaatt gggatctggc 22080
ttggcctggc aaggagcagc ctggggagga ggggagaggt cagatgggtc catagaaaag 22140
gaggattgga aagactcagc aacacttggg gttgggattg agaggacaga tgggttggga 22200
ttgaggggac agatgggagg gaaagaagga agatttggga caagttgcat tgggaacaga 22260
gactagggag ggaccaatgt gtaaaagaat gcctggacgt caggcacctc agaccgtttg 22320
cccattttat gacaagaatt atctagatct tgtaggatgg aaaaatcgaa agtgccgttt 22380
tctggctatt tggaaccatt gtcgagtttg tattggggtt aagcagcatt gcagaagaaa 22440
ataaggcatt taggttttag gtcaggtgtg agttgaagag gttttaagtt cttgagaaca 22500
taggctaagg gagaagaagg aggaatggag ggtggaaagt tgcctatagt gaaggaggca 22560
agcccagaga aaagagaggg tagagacatg gagagaaggg gtgggggggt gcttgccccc 22620
aggaaagtgg ttcttgccac taagggtgaa ggatcaaggc aggcattcgc gcggtgatca 22680
gatacctctg aaacgtgggt gaataatcaa gcaggtgtcc ctgcagtgat taaacagcaa 22740
ggaaagacta tcttcccaag tccatgacca gtgccagagt tttgggttca tggataaaac 22800
gcgtctcctc tgtctctacc agaaaatgaa aggaattgaa attaagagaa gggagagatt 22860
gaaggatggc gccaagattg aaaggaaaaa gaggttgagg gatagggaga gaggttggat 22920
aagagagtaa aaagaggctg cttacccaat ttaaaatcgg tgagatgttc cttgggcttg 22980
ttggtctgag gaccagaggt catgggtgga tctttctcat ggagcaaaga gcagggggac 23040
aggggattga tttcccaagg gaggtcccct gatctgagtc acagcaccaa atatcacgtg 23100
tgtccatgcg aagagaccac caaacaggct ttgtgtgagc aagaaagctt tttaatcacc 23160
tgggtgcagg cgggctgagt ccaaaaagag agtcagtgaa gggagatagg ggtggggacg 23220
ttttatagga tttgggtagg tagtggaaaa ttacagtcaa agggggttgt tctctggcgg 23280
gcaggggtgg ggggtcacaa ggtgctcagt gggggagctt ctgagccagg agaaggaatt 23340
tcacaaggta acgtcatcag ttaaggcagg aaccggccat tttcacttct tttgtcattc 23400
ttcagttact tcaggccatc tggatgtatg catgtaggct tgggcccaga ggcctgacat 23460
ttaacatgga taaatgtaaa gttcttagaa tcatacatac actttggaaa agatggggct 23520
taatcgcact ttataagact tgaaggatgt ttgagaatca ctatgaaact gctgaaaata 23580
ccaagaaaat ttaattctta tgtatataaa taatgtgtct gttttacatg aatcccttct 23640
acaagcttgg tatttaatat ggcatatatt gttttttcat agtagattta aaatttttga 23700
tatctaattt agataacata aaattaaccc tttgaaagtg tacaactccg tggtttttag 23760
tatatccacc tgattgcaca acgatcacca ctgtctagtt ccagaacatt tttatcacca 23820
caaaagaaag gctgtatcca ggccgggcac ggtggctcac gcctgtaatc ccagcacttt 23880
gggaggccga ggcgggcgga tcacggggtc aggagattga aaccatcctg ggtaacacgg 23940
tgaagcccta tctgtactaa agatacaaaa aaattagctg ggcatgatgg cagatgcctg 24000
tagtcccagc tactcaggag gctgaggcag gagaatggcc tgaacccagg aagcggagct 24060
tgcagtgagc caagattgcg ccactgcact ccagcctggg cgacagagca agactccatc 24120
tcacaaaaaa ataataaaaa taaaataaaa aaaaaaaaga aaggctgtct ttctcctttc 24180
ccattggccg tctttctcca ttccctactc ctccaatccc ctggcaacca ctaaatctac 24240

```
tttccatgtc tgtggacttg actcttcggg acattttaca taaatggaat catgcaatgc    24300
agcacatttt gcatctggct tttttcacct ggcgtgtttt caaggctcat tcgtattcta    24360
gcatatatca atactttgtt cctatttagg actaaataag attctattgt atgaataaaa    24420
catattttgt ttatatactt agtttgatga acatttgagt tgtttctgga ttttttttt     24480
ttttttttg cctcttatga ataatgctgc tatggacaac agtttttggg taggcatgca    24540
ttttaaattc tcttatgtat atacttagga ttaaaattgc tggatcacag agtaactcca    24600
tgtttaactt tttgatgaat tgccaaactg tttttgagag cagctacaca atgttacatt    24660
cttaccagca acaattgagg gcttcagtct ctctacaacc ttaacaacac ttgttattgt    24720
ctttgtaatt attgcctttc taggcagtgt gaagtggtgt ctcactgtgg ttttgatatg    24780
catttcccta atgactaaca atgttgtgta tcttttcgtg tgctcatttt caatttgaat    24840
acattctttg ggaaaatctc tgtttaaatc ttttggccat taaaaataat tgggttattt    24900
tcattgttga gttgtatgaa ctctttatat actctggata ctacactctt atgacatata    24960
ttattttcaa aaatttttctg tgcatctgca ggtcatcttt tcactttact gatggtgttc    25020
tttgaagcac caaagttttt aaacttgatg aaatccagtc tggctttatt cttgcacgtg    25080
ctttacctaa aacgccaaaa cctaattcat ggttttgaag atttttgctt atgatttgtt    25140
cttagaggtt tatagtttta gctcttacat ttaggcattt gatgcatttt aaattaaatt    25200
ttgtatatgg tgtaaagtag caatccaact taattcttgc atgtgggtat tcagttattc    25260
cattgtcttg aaaccctttt caaaatcaat tgtctataaa tgtaagagtt tatttttgga    25320
ccatcagttc tatcctgttg acctatatat gcctatccta atgccagtta cacacagtct    25380
tgattaccat aactttgcag taagttttga actcagacag tctgagtgct tttattttgt    25440
ccttttttcaa gattaatttg gttattccgg atcttttgca tttccatatg aattttagga    25500
tggttgtcaa tttctgcaat agaaaagcag caggattttg atagagagtg cattgaatct    25560
gtagaccaat gagtatcaat ggaattatgt gttatcaaat ttagtaaact acataaacga    25620
tatgtacaca actaaaacaa aactaagata taagatcata ttaatgtaat gataataaaa    25680
gtggattgtc tcctgttcta attttaatag gcacaaggca tttttgttaa tcacttctta    25740
ttaaagaatt ttttataata ttcaggaaaa tacaacaaaa aaacccttac attcctaagg    25800
cctcagagtc agagtaatat aaaggaaatg taaacacatg ctgagtaatg caagcatttg    25860
gcaatggtgg tgactggagc tgggagcaca gcttttattt ctctgaaata ggaatttgcc    25920
ccttagagtt agaccaattt tgccttcctc taaatggcaa acagtttgga gatactttaa    25980
aggacatttt ttcacttagg atgtttagta ctatgaataa taaatagtca caatttcctt    26040
aactatggtg acaaaataca agcaaattta gcctcatgtc atttcctaag gaacatcttc    26100
tctctgtgag ttcacaggtt gccacatgaa catcttccag catcttgcgt tctcagatgt    26160
ggatgttgcc agggttctca ctccagatgc ttttgtgtgt cggaccatct gcacctatca    26220
ccccaactgc ctcttcttta cattctatac aaatgtatgg aaaatcgagt cacaaaggcg    26280
agtatgcatg gaaaatcgca tcacaaaggc gagtatgcat ggggagcact tgctgctgta    26340
ctttcatcac ttttatagtc tgagttctta aaagtttcgt tcatttccct caaaacactt    26400
gaacctgcag tttcagtagg tactgttctg ccaggtgcag attagttaag agattagcag    26460
```

acttctctgc ctatcttctc ttactttaaa acaaatgtta ccattgaatc aaggaagcaa 26520
tagccatgag aaaaaagaag gatctgacgc ctttgaatga agattcaaaa catgatcttc 26580
atgttttgta ttagcttgga gtaaaatcca cttgctggca atatagccct taagcttgtt 26640
gcctcttctc tttgtttcag aaactagagc cctgtttatt ctgatcaagg ctctggccca 26700
ctgtctttat ctcagataac ccaccctctt ctgcacacag catggagcta agagaagggt 26760
gtctagttat gtaatatcat cggcagcata aattcccaga atttgttctt tgatttttt 26820
gtttgttttt ccagttagaa ggtggaactt catcattgtc ctcttttcag gttgtctgtg 26880
cctattagtt ttctccagag ggagaggtgg cttgatttac atttaatctc tgcaatttat 26940
tagagtcctg tagttggatt tactttgaag agagtttccc agaagaataa aatttgctgc 27000
gttgcttttt gggtgtgagc tgcttttgta tttgcctaat gcctttaatg caaatttctt 27060
tctttctctc ttgctttttt ttaaaaaaaa tagaaatgtt tgtcttctta aaacatctga 27120
aagtggcaca ccaagttcct ctactcctca agaaaacacc atatctggat atagcctttt 27180
aacctgcaaa agaactttac ctggtaatgt gatttgataa taatattaca taaaatgtaa 27240
cctatttcat gacttttaac agcaacagtg atgaaacaat cctcaaggta acagaaactt 27300
gtgtaaatgt cgttcattgc ttttcccatc tgatatcttt ttgtgtttat aattgacaca 27360
gaaccctgcc attctaaaat ttacccggga gttgactttg gaggagaaga attgaatgtg 27420
acttttgtta aaggagtgaa tgtttgccaa gagacttgca caaagatgat tcgctgtcag 27480
tttttcactt attctttact cccagaagac tgtaaggaag agaagtaaag gaaattttat 27540
ttttcaaaga cagttgacat gaccatttca tattctcttt ccccctgtga aggcttactc 27600
tttctactgt tcatttcatc taggtgtaag tgtttcttaa gattatctat ggatggttct 27660
ccaactagga ttgcgtatgg gacacaaggg agctctggtt actctttgag attgtgtaac 27720
actggggaca actctggtga gtaacctcac tttttcgtgg acctgtcagg gatgtctgtc 27780
atgttgatag tttgcttagt cttaaggaat tatgtgtctt gttctccttg gttagaaggg 27840
actttgattc acttctaatt ccaaccatta gcgtcaacgc tctcttttca gtctgcacaa 27900
caaaaacaag cacacgcatt gttggaggaa caaactcttc ttggggagag tggccctggc 27960
aggtgagcct gcaggtgaag ctgacagctc agaggcacct gtgtggaggg tcactcatag 28020
gacaccagtg ggtcctcact gctgcccact gctttgatgg gtaagtgttg gatgcatctc 28080
atccagagtc ttatcttggc ttttcatttt gaaggatcta tgatcagctg cttcaccgcc 28140
atgtgacttt atgaatagag acgtgttaaa gcggggatgg tattcacaac atttaactta 28200
tagggtccaa gcactgacca acctgaccat tagaacagag tgtggtctct gtacagggca 28260
gatggcgctg agtgggtatt ctccacagaa agagaaacga agacagtacc ccactcctcc 28320
aacccaccac ccaccaccaa tcccaccacc aattccacca ccaatcctgc cacccaccac 28380
caatctcacc accaatccca ccaccaatcc taccacccac catcaatctc agcaccaatc 28440
ccaccaccaa tcccaccacc aatcccacca cctaccccac caccaatccc gccacccacg 28500
accaatccca ccaccgatcc cgccaccaat cccaccacca atcccaccac ctaccccacc 28560
accaatcccg ccacccacga ccaatcccac caccgatccc gccaccaacc accaatccca 28620
ccaccaatcc caccaccaat ccctgatgtg ttcttcaaag acttatttgt caggcccata 28680
gaaatgttac ttcttgctct ttgattcata aatatactaa gtcataataa tttttaaaag 28740

20

```
tgagagtttc gtactctgta tatttcaatg tatataattt gatctatttc aatttattgg    28800
tcaaatagta gacatgttag gtaagtctta aaatactgag gctttggagt tagacagaac    28860
atggcttaag tgacagcttt gctgcttatt agaggtgtgg ccctagaaga tttgtaaatc    28920
cctctgagct ttatttgatc taaaatatga atagtaatag tcccgaattt gtaacgttgt    28980
tgggaagatt aagtgacaca tttaaaatgc ttagtactgt gtgtagaaca taaacacttc    29040
aaaaaatgta aactgtgatt tctatattca ataagaaatg tagaaatgga caaagcatat    29100
aaaaagcaaa agaaatacta gaagacactt gatttttctc aaaaataaac acaccaagta    29160
tttttgtttt agtgaaattc atgcttacat gctgtatact aggattgaac atactgccac    29220
caaaatatag cagtcggtgg tacatgtggg tggagcaaga ccccctccacc ttgtcatcgt    29280
gtgaaggggc tctgccatac atgaccttgc atgtgacttt aaggtggttg gcctggaaga    29340
aaagtcccaa gatgggaaat agtaggtgtc ttttttacta aatgcactcc aatttgggac    29400
caaaaatttt cattcttgaa ggctcagtat tgtgagttta taagagataa tagacataaa    29460
agtgtaatga tttcattgca aataaaaaaa ggccccttg cacctgatat ctccatcatt    29520
tttctagaat tttgtgcaca catgccttgc actacttggt gatgataaag atttccagat    29580
ctttgcacag aataaggctt tgctttagat cagaattttg gatgtactta gtatacattc    29640
atcttttaaa taatctattt acattttcat actttccaaa atacagatat attttatttt    29700
atttatatat ttatttaatt tatttttga gatggagtct ctctctgttg cccagagtag    29760
agtgcagtgg cacaatcttg gttcactgca gcctctgcct cccgggttca agcgattctc    29820
ctgcctcagc ctcctgagta gctgggatta caggcgcgcg ccacacctgg ctaatttttg    29880
tatttttagt agagacgagg tttcatcatg ttggtcaggc tggtctcgaa ctcctggcct    29940
caagggatcc acccacctcg gcctcccgaa gtgctgggat tacaggtgtg ggccactgtg    30000
cccagctgta tagagatatt ttaaacaaca ctaaagtcct cctactttga ctaattagaa    30060
gagcattaga agatcagcct gacttcttga cagttctgaa tttagtggag caatgaggtt    30120
cagctttggt gaatgagctt aatttttcca tgataaactg ctagtttctt cccactacag    30180
tgtctctcaa aaatgggaca gcaacattct ttttgttttc acttgcagta agcatgatgc    30240
aattacataa atgtacactt ttcaatttgt taaatagaat cttcagagat tcactactgc    30300
cgctattggt gatgaaaaat taccagaagg aggaattagg taggagaaaa tgtgtcctat    30360
gtatttcctt cccagttctt tgaaagagag tgataggaaa aaggaacact attgaaggaa    30420
ggactgccca gtttcaaaca ggtatttatt tttctctcct aggcttcccc tgcaggatgt    30480
ttggcgcatc tatagtggca ttttaaatct gtcagacatt acaaaagata cacctttctc    30540
acaaataaaa gagattatta ttcaccaaaa ctataaagtc tcagaaggga atcatgatat    30600
cgccttgata aaactccagg ctcctttgaa ttacactggt atgtagcata tgtaagaagg    30660
tggagagcag aattgcgctg gttgatattt tcatatcagt ttgaacaaga gggcagacct    30720
agagagactg tcgtcgtttt ctgactggtg gagttgaggg aaacgtgagg gttgctggga    30780
agtgaagacc ccgcgacttg ccgtgaaatc tcttctactt aaagagcaag acatgtgaat    30840
taattctttc agggagggat acaactgcat gcaggtgatg gaaataatgg gcgtgggaaa    30900
tgtctgtgcc gtctgagagg cactgggctt gctttgacaa gagtagcaga actgtcattg    30960
```

21

ctttgggctt agggatattc gaatgtgtga gggcaagtgg gatcagatat ctacttccag 31020
gtataatttg ggtaggaaag agactcatgc agaaagaagc cctggaaggc cagagcatcg 31080
tggtcagagg tgttgccttt ggagggtcat tgctgccagg agccgaatac ccactgtatc 31140
caataacatt catggtcagg aatggtggct cacacctgta atcccaacac tttgggatgc 31200
ccaggtggga ggattgcttg aggccaggag tttgagacca gcctgggcaa cacagtgaga 31260
ccccgtctct acataaaatt agaaaaaaac aattaactgg gtgtggtggt gtgcacctgt 31320
agtcccagct agtcaagagg ctgagacaag aggatctctt gagcccagga gctcaaggct 31380
gtagtgagcc aagatcgtgc cactgcacac aaacaattat gtgacctcgg gcaagttgct 31440
ttacctcttt acacctctta atttccttat ctgtaaaatg aggatgataa tttcttcctg 31500
ggtctgttgt aataattaat acatcaaagc acttcatgtc tggaacagtg aagataccct 31560
gctatgacta ttaaggatag tatacatgga ataagacaca ggaacttcta aatgcttttg 31620
accatagatt taggttctga gttttaagaa tttaactcag gaaattgtaa caccaaaaat 31680
gtcatgtgaa aaatggtggt gacaaatttt cttgaatcat tagccttaga ggttgggcag 31740
aaagcaaaaa attattcttg atgctactct atagaaagag aagacagaaa aagagaaaga 31800
tgtattttta aagtctatat ccataacttt atttgaccaa actctaattt aaaaattatg 31860
tttcagaatt ccaaaaacca atatgcctac cttccaaagg tgacacaagc acaatttata 31920
ccaactgttg ggtaaccgga tggggcttct cgaaggagaa aggtaagcat gacgctttaa 31980
atattgcttc tagagtaagt ctcacatgtt gaaatacatg gagtgggtcg ttttaatcgg 32040
tttctgtctg aaattatatc taaactcttt atctttccta tctatttatt cccaaatatt 32100
tattcagtta ttcttaaaaa atgtattttt gctttggctt gaaaaaaaat tttagggaga 32160
cttttaagca tcttacttca ttataaagat cagttgcttg actttgcatg aagcagattg 32220
ggcccttcta gggctgacaa gcccgtgcaa gaccacccgc tcctcagtgt tagtagcgtt 32280
cccgtctccc aaaaccatgt tctcccttga tgctaatggc cgggagcaca ggcaggtgtg 32340
tcgtctcact atggagaata atatttgtgt cattctttac agaagaaggt agcttgccaa 32400
actgtctcca tctttcccga ttcagtcttt tgttcaagta attcacattt ttagattttt 32460
tattggtaat ctgagacaag aagaaattta aagtaatctt cactaagcca tgaaagctcc 32520
caacattgtt ctccatgaga gatgctggcc tgcatttatt caaaaacaaa agacccctct 32580
gttgccaaag ctcggagggc ttttcagaaa cgatatagtt gtaaattata attttgaata 32640
tataaagcaa aaaaatgaaa agtgagaact tccaggcttt ggattgttgt aggtgataaa 32700
tataaaatgg gatttctggg gggctgctac tgagatgagg ggatggcaga aaacatggaa 32760
gcaaggtctc tggtcagccc agggtgctgg gcttgtccca acaccacgta ggcaataaga 32820
ggacagtaca gggtgccgtc tctctccctc ttcctctctc tgtctctctc tctctgtgtg 32880
tgtgtgtgtg tgtgtgtgta acactacctt cccaattttt actgtctatt tgtattcaaa 32940
gataaggtcc ttatgaaaaa tacactgctc tgattcactt taaaacttat ttccatattt 33000
attatttatt gtgggaataa taatattccc aatattatta tttattattt aagttattat 33060
tattaacttc cctctgaggt tatatattgg ttactcacag gtgaaatcca aaatattcta 33120
caaaaggtaa atattccttt ggtaacaaat gaagaatgcc agaaaagata tcaagattat 33180
aaaataaccc aacggatggt ctgtgctggc tataaagaag ggggaaaaga tgcttgtaag 33240

gtaactcatg agattatgaa aaacacaata ggctgcttga gaaaattcat ttcaaaatat 33300
attttccaat agcataattc aatcatagtt tttaaaaaaa ttcagagaca aatgatctga 33360
taaattgata agcaactttt aacaaattga atatacataa tatatattta tattatttat 33420
gatatatgtc acaatctatg catgtgctat ttaagagggg caaatataca tgcaataatt 33480
gtgctagaat ataaaaacat tagacttcat cattgggatg atgatatcaa gatttctttg 33540
ttagatttat ttcagataga aaaggggata cgaaaaatgc aggcacatga gatacttgga 33600
gaactttaag aaagagtgag tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg tgtgtctggc 33660
aagcaaggtc ttgcacacac acagcacttt gggaggccaa tgcaggtgga tcacttgagc 33720
ctaggaattt gagaccagtc tgggcaatgt gatgaaaccc atctctacaa aaaaatatga 33780
aagtatctgt gtgtgtgtgt tgctgtgtag tggactacag aactttagag gcagtcactt 33840
atttgaatcc cattgtcgta actttctact attttatttt tccactgtga ctcagggaga 33900
ttcaggtggt cccttagttt gcaaacacaa tggaatgtgg cgtttggtgg gcatcaccag 33960
ctggggtgaa ggctgtgccc gcagggagca acctggtgtc tacaccaaag tcgctgagta 34020
catggactgg attttagaga aaacacagag cagtgatgga aaagctcaga tgcagtcacc 34080
agcatgagaa gcagtccaga gtctaggcaa tttttacaac ctgagttcaa gtcaaattct 34140
gagcctgggg ggtcctcatc tgcaaagcat ggagagtggc atcttctttg catcctaagg 34200
acgaaaaaca cagtgcactc agagctgctg aggacaatgt ctggctgaag cccgctttca 34260
gcacgccgta accaggggct gacaatgcga ggtcgcaact gagatctcca tgactgtgtg 34320
ttgtgaaata aaatggtgaa agatcacgat tagcaagtgt tttcttctgg ttgtgaaaca 34380
gaactgaaag taagtggttg aggttccagc acagttcctg ggatccctct aattgcactg 34440
cttcctctgg aactcagtat atctcaaaga tgtaatttcc tctccgtgct gcacctggtc 34500
ggccactgaa acccactatt gcctgcttca cgtgtggcaa agagctagcg ggcttgggtt 34560
ttgttctgcc gagaggaagg gagaacaccc acttttataa gaaagagatg ggttacctga 34620
acccatgggc acctttgcct cttggcctcc taactttgct accagggcat ggctaggagg 34680
gtccaggctg cgcgtgctga ggagctcgag gggctgcagc attgcacagc cttcatggca 34740
ggcaaggaat ctgctttgca aggggcatta gccctggagg ctcagtggat atgggctatt 34800
gcaatagtaa ttcaaggagc atttttaggc ctggcgtggt ggctcacgcc tgtaattcca 34860
acagtttagg agatcaaggc aggtggatca cttgagcata ggagttcgag actagcctgg 34920
ccaatgtgac gaaaccccat ctccacaaaa attagctggg catggtggtg cgcacctgta 34980
atcccagctc ccccagaagc tgaggcagga ggaccgcttg agcccgggga tgtcgtggct 35040
gcagtgagct gagatggcac cactgcatca ctgcattcca gcctgggcaa cagagtgaga 35100
ctgtctcaaa aaaaggaagc attgttaggt ataaattatt attattatta ttattagtag 35160
tagtagtagt agtagtagta ctgagacgga gtcttgctct gttgcccagg ctggagtgca 35220
gtggtgcaat cttggctcac tgcaatctct gcctcccggg ttcacgccat tctcctgcct 35280
cagcctccgg agtagctggg actacaggca cccgccactg tgcttggcta atttttgta 35340
tttttagtag agacgggttt caccatgtta gccagaatgg tctcgatctg ctgaccttgt 35400
gatccacccg cctcggcctc ccaaagtgct gggattacag gcttgagcca ccacacccag 35460

ccctgttagg tataaattat ttcataaaat tcagacttgt aaatttatgg tagcctttgg 35520
aatgggtgat agatgtccta tgccacacaa attcctcaca tgccgaggct caccgtaact 35580
gataccagct cgcttgattc agttcagtta aactgaacaa catttacaca gaattggcga 35640
tttacaaaat cttatgtaag ttaagtagaa aaacagaaaa aagttttctg aaagagtttg 35700
ggtttttcct tcaatgctca agacagaggt ccccaacctt tttggcacca gggaccagtt 35760
ttgtggaaga cagtttttcc atggaccagc atggtggtgg gggatgattc tggaatgatt 35820
caagtgcatg acatttatta tgcactttat ttctattatt actacattgt aatatataat 35880
gaaataatta tgcaactcac cataatgtag aatcagtggg agctctgagc ttgttttcct 35940
gcaactagac agtcccatct gagggtgatg ggagacagtg acagatcatc aggcattaga 36000
ttctcataag gagcctagat ccctcacatg tgcagttcat aacagggttt gagctcctat 36060
gagagtctca tgctgctgcg gatctggcag gaggcagagc tcaggcggtt atgcttgctg 36120
gcctgccact cacctcctgc tgtgcggcct ggctgctaac aggccatgga ccaggtactg 36180
ttctgggccc cgggggttgg gaacccctgc tcagagacac accgggtggt aggaggagct 36240
aaaggtggag agggtgaagg aaaatatgag gtctgggcta tccacaaacc agatagcagg 36300
aaactgaaga gttaaacatt tacttcagaa ttgaatggct tttgtaaaat ctggctagat 36360
tccatgaaac gattttaaaa atgcactatt taaattttgc ctttgcatgc gatgaagaca 36420
ttagtctttg ttcatgtgga tgtttttta tgtttaaaag ggaaaaaatg gtttgcaatg 36480
aaacttttat ctcagtcttt gagtattgat catggggtgt tggaacagga ctttggaatg 36540
cttgcagggt aaacctttgg cctctgttag tcagggaatg acctagtttg gcaaaacaga 36600
ggagagtttt gaaatatgga actttcccga ggcatacatt gtcattttaa agtggtcaat 36660
caaagcccag taggactggg ctggtgtctt ggtgactcac tgtgtgctca tatacagggg 36720
taactgagga gcccttcaca caggtctagc ctcgtgggac taaaaagtgt gacatgggct 36780
aggaaaatgc gaggctggga tgccttcact cccatgagga agcgtgacgg gaggaggcgt 36840
gggccactgg cagttctact tcacaaaggc tgctggcagt gtcaatcctg caagctggcc 36900
ttgccctcct gtggcggcag tgtacacgtg gcatgcaagc acatgcacaa gccacctggc 36960
tccaaggtca gccaagggct ccaacatctg tctcagtccc 37000

<210> 11
<211> 2472
<212> ДНК
<213> mus musculus

<400> 11
agaccgccct cggtgccata ttcagagggc ttgaagacca tcttcatgtg aagactccct 60
ctcctccaga accacaacgt gaccatcctt ccaggatgat tttattcaac cgagtgggtt 120
attttgtttc cttgtttgct accgtctcct gtgggtgtat gactcaactg tataaaaata 180
ccttcttcag aggtggggat ctagctgcca tctacacccc agatgcccag tactgtcaga 240
agatgtgcac ttttcacccc aggtgcctgc tgttcagctt tctcgccgtg actccaccca 300
aagagacaaa taaacggttt ggttgcttca tgaaagagag cattacaggg actttgccaa 360
gaatacaccg gacaggggcc atttctggtc attctttaaa gcagtgtggc catcaaataa 420
gtgcttgcca ccgagacata tacaaaggac ttgatatgag agggtccaac tttaatatct 480

ctaagaccga caatattgaa gaatgccaga aactgtgcac aaataatttt cactgccaat 540
ttttcacata tgctacaagt gcattttaca gaccagagta ccggaagaag tgcctgctga 600
agcacagtgc aagcggaaca cccaccagca taaagtcagc ggacaacctg gtgtctggat 660
tctcactgaa gtcctgtgcg ctttcggaga taggttgccc catggatatt ttccagcact 720
ctgcctttgc agacctgaat gtaagccagg tcatcacccc cgatgccttt gtgtgtcgca 780
ccatctgcac cttccatccc aactgccttt tcttcacgtt ctacacgaat gaatgggaga 840
cagaatcaca gagaaatgtt tgttttctta agacgtctaa aagtggaaga ccaagtcccc 900
ctattcctca agaaaacgct atatctggat atagtctcct cacctgcaga aaaactcgcc 960
ctgaaccctg ccattccaaa atttactctg gagttgactt tgaaggggaa gaactgaatg 1020
tgaccttcgt gcaaggagca gatgtctgcc aagagacttg tacaaagaca atccgctgcc 1080
agtttttttat ttactcctta ctcccccaag actgcaagga ggaggggtgt aaatgttcct 1140
taaggttatc cacagatggc tccccaacta ggatcaccta tggcatgcag gggagctccg 1200
gttattctct gagattgtgt aaacttgtgg acagccctga ctgtacaaca aaaataaatg 1260
cacgtattgt gggaggaaca aacgcttctt taggggagtg gccatggcag gtcagcctgc 1320
aagtgaagct ggtatctcag acccatttgt gtggagggtc catcattggt cgccaatggg 1380
tactgacagc tgcccattgc tttgatggaa ttccctatcc agatgtgtgg cgtatatatg 1440
gcggaattct tagtctgtcc gagattacga aagaaacgcc ttcctcgaga ataaaggagc 1500
ttattattca tcaggaatac aaagtctcag aaggcaatta tgatattgcc ttaataaagc 1560
ttcagacgcc cctgaattat actgaattcc aaaaaccaat atgcctgcct tccaaagctg 1620
acacaaatac aatttatacc aactgttggg tgactggatg gggctacacg aaggaacaag 1680
gtgaaacgca aaatattcta caaaaggcta ctattccttt ggtaccaaat gaagaatgcc 1740
agaaaaaata cagagattat gttataaaca agcagatgat ctgtgctggc tacaaagaag 1800
gcggaacaga cgcttgtaag ggagattccg gtggcccctt agtctgtaaa cacagtggac 1860
ggtggcagtt ggtgggtatc accagctggg gtgaaggctg cgcccgcaag gaccaaccag 1920
gagtctacac caaagtttct gagtacatgg actggatatt ggagaagaca cagagcagtg 1980
atgtaagagc tctggagaca tcttcagcct gaggaggctg ggtaccaagg aggaagaacc 2040
cagctggctt taccacctgc cctcaaggca aactagagct ccaggattct cggctgtaaa 2100
atgttgataa tggtgtctac ctcacatccg tatcattgga ttgaaaattc aagtgtagat 2160
atagttgctg aagacagcgt tttgctcaag tgtgtttcct gccttgagtc acaggagctc 2220
caatgggagc attacaaaga tcaccaagct tgttaggaaa gagaatgatc aaagggtttt 2280
attaggtaat gaaatgtcta gatgtgatgc aattgaaaaa aagaccccag attctagcac 2340
agtccttggg accattctca tgtaactgtt gactctggac ctcagcagat ctcagagtta 2400
cctgtccact tctgacattt gtttattaga gcctgatgct attctttcaa gtggagcaaa 2460
aaaaaaaaaa aa 2472

<210> 12
<211> 260
<212> ДНК
<213> mus musculus

<400> 12

gagtgtaaac actggagcca agcaaagacc gccctcggtg ccatattcag aggggttgaa 60

gaacatcttc atgtgaagaa tccctctcct ccagaagcac aacgtgacca tccttccagg 120

atgaatttat tcgaccgagt gggttatttt gtttccttgt ttggtactgt ctcctgtggg 180

tgtatgagtg gactgttaaa taatacctct gcagaggtgg ggatctagtt ggcatctaga 240

cccctgagga cgagtagtga 260

<210> 13
<211> 30000
<212> ДНК
<213> mus musculus

<400> 13
atgagaagtt attttaaatt taatttttta aagtttattt attcacccct tgccacgctc 60

tccagtcgag tcagtttgac aagcagaagc ttggaagctg gccgtgagga aaagagtttc 120

atggaagctc cctcctggag tctggcactc tctttaatct ctttaaccca tacattaatt 180

ttccactccc atgttagtct agtgtatgga tccacgtgcc ctctattaag cattacccta 240

ttataagtgc catttaagat tgaattctga catagctaaa gcctctccca gtgttccaag 300

atcccagttt acagcaaggt agtttaacct attcagtaac taattaagca ttacaataga 360

cagagccatt aactcagttg tctgcagaaa gagcctggga atctcactga gatagaaatc 420

tttactacag gctacattcc atgccaagag caagttgata tactatactg atatatgggg 480

aattcttcag acaagataag attttacaag acctaggaat ttaggggtcc atgacactac 540

attattcttg aggcctgtca agagttaaaa ccccctggtg ctattaacac taaagtgtga 600

aactcttgcc tggcattagc ctgatcctag gcagggctgg taatttctat tgtaaacatt 660

tatctagttc ctgcaaattc ctttcttgct tgtatctggt aaatttcagt gtaccttgtc 720

ttattgtgat ttgtagctcc tgataattcg ttgtaatata aaatagtcta atgttcgacc 780

agagattaca ttcagattca acacctctct tgtgtgcatc tgtttgtcaa tttaatccta 840

agctttgccc acctactcta gagacccgtt ctacacagac acagggaccc agagggtctg 900

cagcaacctc ttgcatggtt atgtgtgcac acacagaaga agtataggtg tggtggtcaa 960

aggacacttt taggggggttg ccttactccc tccactgtgc aggttctggg gatagaactc 1020

cagtcattag gcttgacagt aaatgccttt gacccccctga gatatcctgc aagctccacc 1080

atgattttag gctttaaaaa catgcaaacc tattagtcat ttatctcttc aatagattct 1140

gggttagcca actgtgcagt tagagttgaa tgtgcaaggc tgtttgaatc tcgggtccat 1200

agaaaatagc ctggcatcag ggtccattgc aattacattg atgattgagt ccctgggctc 1260

atgcttggat acccagttca atggggccag tatcttatga tcgaggactg gcttaaagtg 1320

cagatgttga aatgagccta gaaactgagc ctccagaggc aatgtccaaa ctcaagccca 1380

cgggcatgag tttgttccca aatctacaat tacagtcctg gaaaagattc tacgggggta 1440

gtagacccgg tgactgggcc tgaggttaac atcctggagc ctgggtctgc agggtctggc 1500

cggatactgg aatttcctgg gatgggcttg ttttcagacc cgtgaaaagt aatgtttaca 1560

tcactcttct tcatgcattt ggaacacatc tccttgctgc gctgcttagg attggtagga 1620

gggtttcacg gttaatgtga aaagtctaac attcctcaat gcatattcac taggtccaca 1680

ttttcaaccg gggttggggg gtgcaaccta tcatctggat tccttaacaa ctcggaaggc 1740

```
attttttttt gtgcacagag aattgttccc atggattctt ctgcaaaggg acccattttg  1800
gagcctccag ctctgtcatc gtgtttatat gacttcttga aattggtaac atattaagta  1860
gctgaacctg gactgggatg tccgtggact atattgacag gttaaacagt tgaaactgat  1920
gccagaaacc cagtgtaaac actggagcca agcaaagacc gccctcggtg ccatattcag  1980
agggcttgaa gaccatcttc atgtgaagac tccctctcct ccagaaccac aacgtgacca  2040
tccttccagg tagctgcttt ctaccggtct tgttatttcc tgtgtcttgg gttttttttt  2100
ttcaatataa ctatttctgc atgaacaaaa gctcactggt ataatgcact aatttcctga  2160
gtttttagaa aatctacaag gagttgtttt tctttctata caaatatatt aatgtaaaat  2220
attttaaaac caagaataag tttttgattc ttttcaaaga tgtcctttct gtgaaggttg  2280
tgggtgatat tattgtcctt attcataata attttgcatt aatctggaaa tttaataagt  2340
gtttttaatt atttgtatta actctttaca aaattattag aaataaatct tcaaaattaa  2400
caataaatac actaatacac actgatagta atctagaggt ctcaatttgg atcttgggaa  2460
gcatgataaa tattttaatt ttctatatac aaaatatccc acagccaaat cttccttctc  2520
ctggtgatta tgtgctgtga tttgcaactt agacatttat caaaaaggtg aagtctacat  2580
gaagttaaat tgtctattaa atacatggta aacatgatct caacctagta gttatatgta  2640
tatttttttc tttcaaagga tgattttatt caaccgagtg ggttattttg tttccttgtt  2700
tgctaccgtc tcctgtggta agtattagtt taaggagttc aaattaatag tgtgtgagag  2760
aggaatggtc ttgcaatcta taccactcct ggaggaagcc tttaactgta cagctttggg  2820
ggacaaggca gctgttgata ctccaaggca agaacttaga tacattaccc caaacacaga  2880
tgaacagggg gaggaactta gagacatcac tgcacctgtt agcagaaata tctgttttga  2940
gtttactctt taacagagcc tctcccaccc ccgcagagtt gtttgtcttt ataatatcag  3000
ccttctaaat aaaaactcta cctgaaaatt ggaaataata tcagatattg cataatgatt  3060
tgagtctaat ccaggtatct gattagtata tagtattttt aatataagac atacagagcc  3120
atttctaaac tgaaagtacc tgctttgggt ttcacaagta tagtatccct ttggcagtct  3180
ggagggacag ctttcaacac tcgatgtcag tgctctttcc ctgtttattc ctttgctttt  3240
caggatatga gcatggatgg ccctgaacag cccctctcaa cagtcattat agagggagat  3300
ttccctgggt ataacatgtc aggtgtattc tgagtcaaag ctgacttaga tatagccaca  3360
cgcaaggatt gttttcttct tctttttttt ttttttttct ttttttggt tttttggttt  3420
tttggttttt caagacaggg tttctctgtg tagccctggc tgtcctggaa ctcactctgt  3480
agaccaggct ggcctcgaac tcagaaatcc acctgcctct acctcctgag tgctgggatt  3540
aaaggcgtgt gccaccacgc ctggcaagga ttgttttctt gactttcaag tatatggcaa  3600
agataggctt gtccttgtaa gtagaagtca tttctctagg taagctcttt tttcccatcc  3660
ctctctgctc cctacatctg gcccatcatc tgtaactgct ctcctgtacc ataactactg  3720
ccatgttcaa accaactaaa cacgaatagt gataaccaga gatgctatgg gccatggcta  3780
taaaattcat aatcatgaca ggaaaatgag acatgggaat acatataata cttgaaaaca  3840
aatactttat ataatcctaa agtacaaaat aatgatcgcc aatttttttct ttagtctttc  3900
atatttttcc gcatgaatct atctgttgta taaagtgtta ttcatgaata ataatttaa  3960
ttaaaaatta tgaacactaa tgaaaaataa ttttaactta cctttggtat ttatagctaa  4020
```

27

```
tgttaatgca aatgaacatt tatgttattt gttcttcttc atggatattt tgtaagtatg     4080
gacattctct gcacatatcc aattatttct atagattaaa tttttggaaa taaagatttt     4140
agatagagga gtatgaatac ctttgaaggc tttatagcat gcattatggt attagcttct     4200
agacaggcat tctctgtttg gttttcccca caagcatgtg gaagtgaatt aacaatacaa     4260
tctcttagaa atgagatgtc aatattaaat acgttttatg ttaaaaaata aaatttacag     4320
gttcacaaca ctggtttaaa cagctaggtt aacaaagatt aaatttgaaa caatcaatat     4380
ttgtgcgctg gctttgatca caaatgaaag aaaatcaagc agtacagctt taatataaat     4440
gagtttaaga gttcagaaat ccatgtgccc agtgaatggc ttctggagta cttagacact     4500
gcccaatgat ggcacccgca catagtgtgt ctgcattgct ttactgcatt gtacgctgct     4560
gccttcatct caggatgcac aatagcaagg caggaccagc agcccaagtc gccttggaaa     4620
caaaagtaaa tcggagcctt ttcctaagtc tgagaacaag cctgttacag actagctctg     4680
gtcaggtcat tgtaccagct ctgtgtgcag ttctggctct ggtctgattg gctggagcat     4740
caacagcaga agcatcacct ccagcaacat atggaccacc acttgtagat ggttcctcag     4800
gaggaaatct ggatgccaat tcagcaaggt ggctctatgc caggctacaa agtaacagat     4860
gcctattgga gctcactgtt ctaagtgggc aggcatggtg caggaggagc tgagagttct     4920
acatcttcat caaaaggctg ctagcagaat actgagttcc aggcagatag gatgagggtc     4980
ttataggcca cacccacagt gacacaccta ctcctacaag cacacctact cccacagggc     5040
cacaccttct aatagtgtca ctccctgaga tgaacacata caaaccatca cagtgcccat     5100
ttgctgcaaa gagaggcttc gttgatgtgg gacagtcact acagttatct agggaaggtg     5160
gtcatctcac tgttagcagc tttcatatac ttacagttat ttacactcct ttggtaaatt     5220
atcttttcat atctgacatt gaatgtttaa aacattttag catttatcta tttttgtatc     5280
tatgtctgca cacgcatgtg cacatataca catgtgctgt ggagcacgtg tggagatgaa     5340
ggggcatctt gtggaggtca agaggtcaat ttgaaaactg aagggcctca ttacaggttg     5400
tttaggttaa ataaactctg tacaaataat gctgttgtta taatcattac caccaccttc     5460
gttatcattg ctgccgttat cattgcaact gaggaggata agcagtccca cagttagaat     5520
gtgtctagtc actcttttc attgcctgag tcacatgtta gtttaccaac attcaattgc     5580
aggatagaaa cttccaggct atcagcggat cacagtttgt gtttgtgttt gtgtacgtct     5640
ctgtgcaatg ggatggcaag ggagcctctg cttgataatt atgagatgct aaccacataa     5700
aaaaacaagt ctctttatag ctatcctcac cactgggcct actattcagt gcattgtgca     5760
aatgggacac cttagggtat acacttggga acatatattc ctaggagaat ttacccagga     5820
atatctgttc tttccaaata taaacctgac ttaagaggta ggcatggtga cacctctctg     5880
ataagaagaa aaacaatatt gctaggttgg ttcatccaaa cttgtctcag tggcaggatc     5940
cccatataga tagaacatag aaactcttac ctctttagtg cttattaaaa gacatgttgt     6000
ctagacaacc attccttgaa aagtaaggac aatgtgggca atgttgccac tggagtattc     6060
cataattaat gaaaacctga ctggtgaaaa cagacaggct gcctaaggtg gaaagctaag     6120
tacaaagatt tgaacggaat cttttcaggg agatcccagt tcttcaatgg atttaaagag     6180
ctgctctcta atgatatgtg gggtgcagga tacccacatg atggagtcag cagaagcgat     6240
```

gtatctcagt ttattttcaa gttagcttac tttaattttt tttttaattt gaaaggtatt 6300
agccttttt tctgatttat tgaaaatatt cttttctcat gccatatatc ctgattatat 6360
attttccttc cctctactcc tccaagttcc tccccagctc ccatcttctc cccatccact 6420
ccctttctgc ctctcattag ataagaacaa ggtttctaag agacaacacc tatacagaac 6480
aacataaaat ataataagat gaagcaaaaa ccaccacagc aaagttggac aaggcaagtc 6540
aacagaagga gaagagcccc caagagaagg gacaagagtc agagacccat tcaggagtgc 6600
catgaaaatt ctcaggggaa ggctacaaaa tatacgtaga ggaccctgtg cagatctgtg 6660
taggccctgg tgcttcagtc tctgtttgct cacaggagcc ttacttagtt ggttcagagg 6720
accttgtttt cttggtgtcc tctggcccct ctagctctga gactccttct gtctcctctt 6780
tcacagggat ggatctctca gctctgagag gaaggatttg atgaagacat accactcaga 6840
gctgtgtgtc ctaaggactc tgactctccc ctctccgttc tcctctctct actcttctcc 6900
ctctctctcc cctcttctct ttcttctctc ctctctcatc tctcctccct cccctcccca 6960
ctctgtaaaa tgtctgagtg tgggtttctg caaatacatt ttctttatca agaaatgagc 7020
aacagaaaaa cagtacccaa tacttattat tttgcttaaa taaggctggc taaacatcaa 7080
catgcaacat tgcatgttag aaaaagggga cagacaggat tgagagtcag aaagagtaag 7140
tttatgtccc aggatatcta ttcactgtgt gatattagcc acatttgaac tctgagactc 7200
agttattgac ttctttcatg aaaaaagggg gaaaagagag gtgcaactaa tggtcctgac 7260
ctcaagttgc cctccaagtg ttgtcctaaa aagcattttg aaaaaaatgc tgtattttca 7320
tttctaaggt gagatgtttt cacagcatgt tagacagcag gcagaaaaaa attatactgt 7380
attttagtag ataatttatg taaaaattat tatataggta ataaaagagt caacttctat 7440
gcataaatgt tcataagatg actttaaata gcatgctgta ttgtttgaca gttgtcagac 7500
ccgtgaagtt gtaatgacta ttaggataaa taaaacagga atgtcaaaac agatgcattt 7560
ctattaaaat ggttacactt tcccccaaaa tcaactttta aatcacaggg tgtatgactc 7620
aactgtataa aaataccttc ttcagaggtg gggatctagc tgccatctac accccagatg 7680
cccagtactg tcagaagatg tgcacttttc accccaggtg cctgctgttc agctttctcg 7740
ccgtgactcc acccaaagag acaaataaac ggtaagatgt gatggtttgt cattgccagg 7800
ttagatgtta cttaaactgc ttccagttat atgccaaaat agtgccatgt ttctcagagt 7860
gttcaaagac tctttgcatc agaagctcct aggctgggtc ttttcaatgc agacccaaag 7920
tactgaaccc agagacagac tctaaacagc cacaacactt gttcacagtg ataggaggta 7980
gtgatgctac agccaaggcc tgaagacaga gcatgtgaca agaaagggtc cttcctcaca 8040
ctgcaatact tagccttttt tcactttcaa catgttattc tgtccccaca tgtacatctg 8100
ttatgtatat aaatgttatt agctgggtta tgcatatgag ggagaacctg agggtttttt 8160
ttctttctga gattatatgg cttcccttaa tattaaaaat actaagtcca tccattttcc 8220
tacaattttt gtgatttcat ttctcttcag cgcataatag cattgcatta catattttct 8280
gttttattca tttgtgtatt aattaattta ttataaatgc tgcaaataaa acaatcacag 8340
aaccaaatta accagactca gagactgtgc aactcagtga acttctatcc agttacagta 8400
attgtttgaa aaggaagcca gggaatgtca caatgcactt gatactttca ctatcaaatt 8460
tatattttaa tcatatatat tgctttctaa taaatggtga caatttcacc tgcatagaga 8520

aatatattta attgctttac tagctaccat atttataggg agcaaagttg agaaagtata 8580
agccaggaat tttgttgata ataaatttga gacccagtag gcaagtctca atagtgcctg 8640
cagtggacca gtttacactt ttagaatatg cattttctct ctctctctct ctctccctct 8700
ctctctctcc ctctctctct ctccctctct ctctctctct ctctctctct ctctctctgt 8760
gtgtgtgtgt gtgtgtgtgt gtgtgtgtat gtgtgtgtgt tttattaggt ggtaattttg 8820
gcaagaacaa ttattaaaaa tatatttgga aattttacct taatttttctt tcatttgatc 8880
aagagccaaa tgtaaatttt tgcttctttt tccatacaca taactttcat cttcaactat 8940
gtgaatttaa gaattagaat tttaaaactc attctctgat ccctacatgc taatctgtac 9000
caaaaaaaac ccaaacaaac aaacaaacaa acaaaaaaac ccagaccata tgtgagattt 9060
acatttttaa aaaaattgaa ccaggttcta agattcttat aaatagcaac gttaacatag 9120
cgttgatatt gaagacagaa aaagcctccc attacatgga cactaccggg aatcaataca 9180
ccagatgaac atcacatgca gacctaactc atagctgagt cagtttttt aaaagtaaat 9240
taaaatcttt ataacaataa tcaccatttt agaaaatgtg gatgtttcag acaggagaat 9300
cgtaagttta aagtcagctt gtgtaagtta acaagatcct ttgtcaaagc aaactaagta 9360
aaagcttggg gtggcatggg gggaggaaaa ggctggtgat aattattagg atttgattag 9420
catatttgaa gcccaggctc tcctcctcag taccacataa actaagaaca aaaccaatga 9480
tcttttggaa agaggagcca gcgacgttca gaatgagaaa agaatcatca acccttcagt 9540
gtggttggct ctccgcactt gcagcgtaaa cagtaagaaa aacaacgcta tagagagcat 9600
ggacttgtcg caagaacgtt ctcttcagca agtgacaagg ccatgttatt agtttcctga 9660
ccctgggctt tatttattaa catgtacaaa atactgcatc atttcttaat gtgtgtttgt 9720
tcaattccgc ttttaaaatg tgtttttta aaaaacaggt ttggttgctt catgaaagag 9780
agcattacag ggactttgcc aagaatacac cggacagggg ccatttctgg tcattcttta 9840
aagcagtgtg gccatcaaat aagtggtaag atgtggattt tttttcccaa ctaaatttga 9900
gttaataaca ctcaaactca gagtagcttt tgctgcaagt ttatactatg atggactttt 9960
agacgagacc accaagaaag ataatagagc tgaggcagca tcatggctgt aagaaggggg 10020
tactttcacc ttgataatgt tcacatcttt atcagttata gtgctcagcc ttaacgggcc 10080
tctattacct atggtattca cacacaatgt aagatttgtg ggaaatgaat atgcacccag 10140
ataataggcc ttccctgttt ccgcaacaga ctttttaggt aagactcggg gacatctcat 10200
cccaaagtgg attttggggt aattggtggt caccccccaga actgactttg ccctctccat 10260
gtcaaagaac agctgaaaat gtctggagac agtttagatt gttaaaattg gggaaaatgg 10320
tactttacgg taatgctcag agttggtgca gtcagactca gcagaaaaca ttctggccac 10380
cacggggcca ttgataaggg attaagactg tggttctcag ccttcctaat gctgcagctc 10440
tttaatacag attctcttgt ggtggaggtt accagctata cacttttcat cgccacctca 10500
taactgtaat tttgctactc taataaatca tagttgtaaa catttgtgtt ttccaatggt 10560
cttaggcgac ccctgtgaaa gggtcttgca acccctccaa aatgggttgt gacccacggg 10620
ttgagcaatg ccggtttaag aaatcttatt tttgccactc ggtccagact gaaagactga 10680
gttctgtcca tcttgctaag cgtaatattt cttacaagga atgtgaacgc taggatgtta 10740

30

gagcgctttc tctgtgactg ctgttgcaac tgatgtctta gaacacacca tcttaattct 10800
cagaccatct taaaggctta ggataaagaa ggcatttta taagatgaca gggactgtta 10860
gaaagtgaaa gtgctaaaaa agaatgaggc ggtgagttcg attatattgc tttgttttta 10920
cgtccttcat tccgtaggtt caaatttcaa atgttctcat tttgctccag taataataac 10980
agccctctca ccacataaac attcagtgtc tgcagtttaa attttaggca atgaatgaag 11040
aatgacaatg gcttagctat aaatccatat atttatatgt acatatattt aacctgaagt 11100
gaactacatc aagatcaatc cataaactaa cttgctgtat attgcttgat gaagtgtcta 11160
attactgtga ccaacgacaa cattttaaaa aatagaacta ttgtgacttc cccaaagctg 11220
cttagttgtc tttttctccc cctaactttg taacttttt ccaaatactt tcaagaaaga 11280
tcttcaagtt aaaaagggat ctcaaggagc cagttttagt aaaaactatt gagaggtggg 11340
cttaaagtgt acagataatc attaagaaaa tattttattt gtttctacct tatcccaacc 11400
ctcagctcat ttcttttctt atctgaagca aatttaaaag aaccttattt ttacaattta 11460
cagtttccta ccctgtaaac tgctgggagt ttaggacccc tacaccctaa cataatgctt 11520
tccttttttt ttattggata gtttctttat ttacatttca aatgttataa cctttcctgg 11580
ttccctcccc caccccaagt cccctatccc atccccctct ctctgcttct attaggctac 11640
tcccccaccc acccacccac tcccgcctcc ccacccaggc attctcctac actggggcat 11700
caagccttca caggaccaaa ggcctttcct cccattgatg cctgacaagg ccatcctctg 11760
ctatatattc ggctagagcc atgggtccct ccatgtgtac tctttggttg gtgatttagt 11820
ccctgggagc tctggggggt ctggttggtt gatattgttg ttcttcctat ggggttgcaa 11880
acccccttcag ctccctttcta ttagtttgta tatgcatagt gtctcctgtg tttaattaat 11940
ttcacaattt ttagaaactt atagttatgt acaatagaat attgtttgtg ctaacacaca 12000
cacacacaca cacacacaca cacacactgc ttgcttaact aagtatctaa ttaaaacaaa 12060
acgtaagagc ttaatttggc ttaatttctg ttaaaagaat caactatttt caatatataa 12120
gataaattcc agtaaaagga tgcttaaata gaattgaaga aacctttaaa aactggtgtg 12180
ctagcacatg gctatcatct cagtaccagg gaagcagagg caaagaacat tttaagttca 12240
aagccagtct ggtctgaaat tcgagattgc cacattcagc atggcttggg ggctggaaaa 12300
ctgagtaaga acattaaggg aagaaaggac agacacacag acccatgtgc agggaagctg 12360
gaatagtgtg agttatgaga ctgaacccct aacccccaga atgcttgtta catacacagg 12420
ggaagggtta aatagtctca gagggcggtc aggcaatctc tcctcttggt ctataatcat 12480
cttggagtag aaggtgaagt tgctggtcat tgtgcacact ggtcaattgc tcctaaacac 12540
tactgctgag acccagggat atctctgccc ttttcccatg ggtctgagcc actgatcctt 12600
cacatgtggt cctcagacta cagaccacag acttcacctg ctcctttcac atttactggg 12660
gtttcccatg gttaccacag gagttccaaa ccagccaggc tagaaaggac aaggaaggat 12720
gcagtggctg cggtggtggc cagtggtggt ggtggtggtg gtcatagaac ttaagagagg 12780
tttaaagcaa gaagggaaat gatttcactg tgcgtataaa taaattgaga cagtctgtta 12840
aaagatttga cacaggcatc agtgttgtga ctaatagtca caaatagcaa tcagacctga 12900
ataggcgaag gaagagaaac tgatgcagat catgattttg ttttgttttg ttttttggt 12960
tgtttgcatt gttggtggtg gttgttggtt tgggtttttt ttttgcgta tttgtttttt 13020

31

gttttgtttt tgacccagaa gtcaaaggtt cgccgtttgt caaatacttt gtgtctctgg 13080
cacacactat caggacccct gttgctgttg ccttccttgc ttatcagtgc ctctgctagc 13140
ttccatgtgg aagtgcattg ttttgtattg ttgcatactc gttgcagttt aagaggcaaa 13200
ataacctgtt tttaatgctg gggccaggta aacacacccg aggtgagcta atgtccagca 13260
gtgtttgata atttagacat gcaaaaaaca ttttaattcc tgtacttacc agggaagtca 13320
ccaaaatggg ataccaacct tcaaaaatga ctctgaggga agagcagttt atttgtgtct 13380
aaaaagaagt ttggtcgaac gtctctgtgt ttcctttcag cttgccaccg agacatatac 13440
aaaggacttg atatgagagg gtccaacttt aatatctcta agaccgacaa tattgaagaa 13500
tgccagaaac tgtgcacaaa taattttcac tgccaatttt tcacatatgc tacaagtgca 13560
ttttacagac cagagtaccg gtgagtgagg cacagatccg agaggacact ccagggatgt 13620
gttagcatga aaaaaaaaat cttccctcca gtcaaggtgc aaggggcatg caatccccag 13680
ccctgcccct attttattcc ttatttacat agttaatttc aatgtaattt cctcctaaag 13740
gtagcaaact ccctgtagtc aactgatagg ctgtgtatgg gcatagtgtc agacaatggt 13800
gtctgccact ccattcgcag aagggaaaag catctgttga ttgatgttgc ccaactgtgc 13860
ccctctgtgg ttatcaattc gataacgaat attatccgca cgtctttgtg cgccccaaca 13920
aaggaagcat aacaacatct tttgtgacat ccaggaagaa gtgcctgctg aagcacagtg 13980
caagcggaac acccaccagc ataaagtcag cggacaacct ggtgtctgga ttctcactga 14040
agtcctgtgc gctttcggag ataggtaact agatgacgat tattccactg tgattgcgat 14100
gccctaaaca agagtgccaa gaaataccca cgtgccattc ccagggacct ggggaatatg 14160
atgccttttt atagatgtga ttgcatggaa atacttggca atcggaatga tgttgggtta 14220
ccagaatatg cccctgccca ggctcaaggg ttcttatatg ataaagagag aaacagaggg 14280
gtcagtgtca gagtagaaag acttgaatgg tctatattgc tgcctttaaa gatggaagaa 14340
gagtccaaaa gcaaagggta gcagaaatta aaaagggcac agaacaggtc tccctgttaa 14400
ttatataaat atattatatt tatcttccaa aggactataa aggcagaaac cacaacatga 14460
taattttggg aagccaaatt cactcatatc ctatttgggt gtgggcaagg cttgattttg 14520
caatatacat ccagcaggtg cctcagtcgt ccaagcaagc aagcgtttca cacaaaatcg 14580
gaacttagca actagcctgt taaatctttg ccccgttacc ttgcaagaat agctgaggcc 14640
gtggcatatt ttgtaacact caggcaattt tatttttgc ccagctgtac caggaagtgg 14700
tccatcaatg gacagggtac attcaatgta agaacaactt cttcatggct tatatgagct 14760
taaaggaaca ttttgttttt acaagccgag cagagtaaac gtatcctcta attatattgt 14820
tcccaatcat cggaccttat gctgtgctgt agcgtggtag aaaatcacag gtcaatgtgc 14880
atgtgtggaa gatacagaga acaaacagag gccttggttt agagcaacct gcccttgtgg 14940
ggtaactgac ctagtccagt gagagcagga acaggtatta cccaattcac gtggaatgca 15000
acttcacgac tttgcactag gccatactgc caccttggga agcaagcgtc accaggattt 15060
ttgctgcggg caaagcacac tccagccaga acagcacact gctgcaaggg tgttttaaac 15120
acaggtttaa agacaaggtt tttttttgtt ttgtttttgt ttttttttt gttttgtttt 15180
tttttctgcc tcaagtgctg tccacagtct caacaagtga ggtctgctag cattctgtct 15240

aaactccacc cccacagtta cctggcaaca gccaggtagg ctccttcctc tcttaccctc 15300
ttgggctctc ccctactctc ccccccctccc tactcccttc cctcctctct ccacatgctc 15360
atggctagac tctacttctc tactctcttc ttctctctgc ctttctctgc ctctactact 15420
ctcttaactc tccccccccc ccatgccctg aataaactct attctattct ataccttcta 15480
taccttcgtg tagctggtcc ccaggggggaa aggctgcctt ggcatggacc tgcagagata 15540
tccccttccc ccacacttca ccataccccc atagaacata tcttaatatc tctatatctt 15600
ttttataatc acaacattgg ttaaaggctt gttttcagag tttaggcatg gactttgaaa 15660
gctttggaga taatcatagt tgccctgtta atggatcaat actatttaca attctaatta 15720
aaaggactcc tcttttcctg ttgtaggttt ggcatttgcc ctgatctgta ttttcatctt 15780
aggaggcaga tgtcatgtcc cataatcacc aggatccatt gcttctcccc accttcccct 15840
ctctcttttt cccctcctat ccctcctcct ttgtaccccg tctccttctc cctctccttc 15900
ccctccctct ctccccctcc tcctctcttc ctccccctttt ccccttcccc ctctctcttc 15960
ctcccccttt ccctctctcc gtcccctcct cctcccccctc cgtctctctt ttgtctttct 16020
ccctcctttc ttccttcttc ctctttctgt agacacatgc tctcaaggaa agggctggaa 16080
acactaggca aaacaggagt caggtctgat aaacttaagc cctgtgagca gaattttcca 16140
gggagcttct tgacaaaccg agtgatgatt gttgtctggg aacgagggac agtggctttg 16200
gaggtgctcc aaccattctg acatgttgat tttcagcaca tccatggggc tgttttccag 16260
gtctctatgg atctgagaaa ggggcacaaa tataaggcag ttcaacccca cacagctctt 16320
gctgaaggtc agccatttgt ttctatctca ggattagtct caattgtgtg tccctttggt 16380
taatttctag ggattaaaaa aaaagtgact tgactcattt tactagtatt taacatagtt 16440
ataaaagaag acgaatgcag gctggtggta acatttgcct ttaatcccag tgttcaggag 16500
gtaaaggctg agttcaaggc tagcccggtc tacagagtga gttccagaac aaccagggct 16560
acacagagaa agcctatatt gaaaacaaac aaacaaacaa acaaacaaga tggattctgg 16620
gcacttgtat tctctcagcc tcgctaacat tctgtaacac ttttaattaa cagagtgacc 16680
cacttagggt tattgttgtt gtgatgaaac accataacca aagcaactca gggaggaaag 16740
gtttagttca gtttatactt ctggataaca gtgaagaaag tccaggaggg tgggacctca 16800
aacagggcaa gaacacggag gcaggagctg atgcagaggg ggtggaagaa tgctgcttac 16860
tgccttgctc atcatggctt gctcagcctg ctttcttata gaacccagga ccaccagcct 16920
atggatggca ctacctacca tggactgggc ccaactctga tcactaatta agaaaatgcc 16980
ctataggctt gccttcagct ggatcctatg gaggcattga tgctccctct tctctgatga 17040
ctctagcttc tgtcaagttg acataaaacc agccaggtca tatagctaac aacctaacgt 17100
tggagtggaa aatgtctttg gaaagccaga tgctcatctt gcctgggtca ggttctgcat 17160
tttgtgtgga acaataggaa gctggagtat agccaactag ggcaaccatc ttgacggaat 17220
tcttagaagt aatggaaaat ttagaaacca gtaaaggaag atgttaagta tattcaactt 17280
gaacagaaga ctgccttggc gtttggcgaa gtctcctctg ttctgaaagg ctgtcattag 17340
ggactgggtc agtacacaat cccgtagggt tgttttagaa aggtaggact ttgtagaaag 17400
taatttttttg aagtccctaa catcttcagc ggtccagaaa agaagttgac tttgtcacat 17460
ggtggtgaac tccttttcaa ctacaaatgt cccaggaaag ttgtaaagtg acatgccagg 17520

33

gatgtcttgg agatacagtt gtaggttggc atggttacct gaacattctc ttccagtagc 17580
aaggctcttc atgatttttt tttttaattc aagtggtaga atcagcttcc aagactacac 17640
aagtgggatg tgagctctct tgatccaact gtcttgagtt tgactggcct atcgttattc 17700
ttaagtgtcc attttattag tatggaatca aattgattct tacatgctat cgaattgagc 17760
aactcatgta aatagcataa ataaaaatag atgaaaaata aaatgatata agggggatg 17820
aaaatgaagc ttttctgttc tcatcgaagg gcatgcttgt tagccctttg gaatttatgt 17880
taatgtcttt tcattaaaat gcttctcaca atactcagaa acaaagcatg aaacagcatg 17940
ttcccaaggc ttagtcataa tacaagggaa actcgagtca tctaatgtcc tattagaaat 18000
gacagtgctg cttattctac agcacccagt tgctgtcttt cccagtagaa caacttttac 18060
ttttttagca aagaacaaac tacaaattct gagataagtt aacaggcttt cctcctctta 18120
ttgaaatgga ttctctctct ctctctctct ctctctctct ctctctctct ctctctctct 18180
ctctcacaca cacacacaca cacacacaca cacacacaca caatatatcc tgatcccggt 18240
ttccactccc attactcctc ccacaacacc tcccctccat ttctatcatt agaaaagaaa 18300
caggcttcta agtaataaaa caaggcaaaa atgaaacaag aaaacaaaac cgaacacatt 18360
gaacttgaac aaattgaaga aacaaacgag agaaggcaca agattcagag agctacacac 18420
acgtccgcac actcaggaat ccccattaaa aatagtcaag tggaagctat acccagggga 18480
cctcttgcag accagtgcag ccccagtgca tgctgcctca gtctctcaac gggcagtttt 18540
taacacaggg tgctgattcc cgccaatatc aattgtcata atcaccttag ttactatgtt 18600
gaaacaaaca caagcaaact cgggcattgt gtcactgagg aatgttcacc gctgagttca 18660
caggttgccc catggatatt ttccagcact ctgcctttgc agacctgaat gtaagccagg 18720
tcatcacccc cgatgccttt gtgtgtcgca ccatctgcac cttccatccc aactgccttt 18780
tcttcacgtt ctacacgaat gaatgggaga cagaatcaca gaggtgagtg tgagcggcgt 18840
gcgccccctt ctagcccttt ccgttccttg cgagggtctt gctcgttgcc ctaacagcgc 18900
tggagcctgt ggtttaaccg gatgcttttc agccaggtgc aggttacttc acagattaac 18960
aaattcttcc cttccataaa acaagcctac tatttagtca aaccacagcg gcagaggcag 19020
aagggagcag gaagcattct cactggcatt aaggtttggg attggcttgg gttacagctg 19080
ctcatgcaaa ctgtccttta atcttgtgag aaaccagagc cctgcttatc cagatctagg 19140
gtctagtctg acctcttcat ctttacacag catttccttt atgtacgccg tggggcctgc 19200
agaaggatgt gtgtggacat aataccatgg gtagcataaa tccaaaccaa cagtcttttg 19260
atgccttctc tttttccttt ttctaattag aaggtggact ttaatcctct gtcctctttt 19320
ctggatgtct gtacctacca ggtatttttt gccagaggga gaggtgactc tacttacatt 19380
taagccctgt gatatttttg gagtcttgca gtctgactga ctgaaaataa tttctcagaa 19440
gaataccatt tatggagttg cttagagagg aaggaaggaa ggaaggaagg aaggaaggaa 19500
ggaaggaagg aaggaaggaa ggaaggaagg aaagaaggaa ggagagagag agagagagag 19560
agagagaaag agaaagagaa agaaagaaag aaagaaagaa agaaagaaag aaagaaagaa 19620
agaaagaaag aaaggaagga aggaaggtag gtctgtctag tgcttctaat gctgtcttct 19680
tcttctttct catttatttt taatagaaat gtttgttttc ttaagacgtc taaaagtgga 19740

agaccaagtc cccctattcc tcaagaaaac gctatatctg gatatagtct cctcacctgc 19800
agaaaaactc gccctggtaa tgactcaatc ttagtggcac atggcatgtg tccgggtttg 19860
gttcttggtt gcttgataaa tactatgacc aaaagcaagt tgggagagaa aggagtttgt 19920
tttgttcaca tgtcccagtc atagctgatt cctgagggaa gtcaggctag aaactcaagc 19980
agaagcagag gcagggactg ggcagagacc atggagaaat gttgcttctt agcttgcttc 20040
tgtgaatata tatatatata tatatatatt catgctacct gcccagaatt gacactgacc 20100
tggttagacg gaccctcttc catccatcat taatccaaag aacatcccac agacatgcct 20160
ataagttagt ctgaggaaga cgattctcag actgatggtc catcttttca ggtgactcta 20220
ttttgtatca agttgacaaa cactaacagc cacatggtgc agcacatctt ggggtcctct 20280
aagagttaat gaaatggttc tcacgactct agaaactttg ccaatgtgac tcgtttcctg 20340
acttgtgata tatcctttga tatttgtgta tggtgcagaa ccctgccatt ccaaaattta 20400
ctctggagtt gactttgaag gggaagaact gaatgtgacc ttcgtgcaag gagcagatgt 20460
ctgccaagag acttgtacaa agacaatccg ctgccagttt tttatttact ccttactccc 20520
ccaagactgc aaggaggagg ggtaaggaaa cctttctttg atgatcagca aggtaattgt 20580
tttctagttt tctccctgtg tgggggttta attttagact gttcatttat ttccaggtgt 20640
aaatgttcct taaggttatc cacagatggc tccccaacta ggatcaccta tggcatgcag 20700
gggagctccg gttattctct gagattgtgt aaacttgtgg acagccctgg tgagtgaggt 20760
tcgtttgtta cggaactgca tggctggctt ggctgttgtg attaatgtct tggtcttatg 20820
tgatgggatt gtttatatgg tttctgttat ggtttgtata tgggagtggc actatcagaa 20880
ggtgtgaccc tgttggagta ggtgtgtcac tgtgggtgtg ggctttaaga ccctcatcct 20940
agctgtctgg aagtcagtat tctgctagca gccttcagat taaggtgtag aattctcagc 21000
tcctcctgaa ccaagtctgc ctgcatgctg ccatgttccc accttgatga tagtggactg 21060
aacctctgaa acctgtaagc cagccccaat taaaacttgt ccttggtcat ggtgtctgtt 21120
cacagccgtg aaaccctaac taagacagtt tccttggata aagggaaaga atgcttatct 21180
gtgtctaatc ctgccacatc tcaacacttt tcagactgta caacaaaaat aaatgcacgt 21240
attgtgggag gaacaaacgc ttctttaggg gagtggccat ggcaggtcag cctgcaagtg 21300
aagctggtat ctcagaccca tttgtgtgga gggtccatca ttggtcgcca atgggtactg 21360
acagctgccc attgctttga tgggtaagtt tcagggtcat cttattatac caatgtgtgt 21420
gtgtgtgtgt gtgtgtgtgt gtgtgtgtgt gtgtgtgtgt gtgtgcatgt agaggttaat 21480
ctcgggtatc tacttgtact gcttgttcat cttatttgtt gagatagggt aattcactga 21540
acctagtgct aacctttttg actagacaga taggtatctg cctgtctctg tctcctggta 21600
catccttagc cctagttctg ggttggggat ctgaacttga atcctcaggt ttgagaacca 21660
agccctttgc ccactctgcc atctccttgg ccctgagata tttgttttta ggacaagaaa 21720
agtttcaaag tccttgccta gaaaatatta taattttaaa ttcagcctgt atatccttta 21780
cgtggttaat ttaaaattca aaggaaaggt aggtagattt ttaagcaaca aaatacctttt 21840
aattcctgct ggggcttatt ttaatcagta cagctacatg aaggctcgga taatgagagc 21900
aactgttttt ggggttggta gactgaacct gattctccca aaggttcttc aaaaggcaca 21960
gaagcactcc tgtgctctta cttgaaataa acagaaagta atttttaagt acgtcttgag 22020

35

tgtttccagc cacagcgttt atactgtgaa ctgtaatcct ttaggaacac agtgcaacag 22080
aatatgagcg tcttccaaga ttttagcaac agtaaagggt ccctgaaggg acactgataa 22140
aaatgaatcc acaataaaaa gtatgacaaa cccgaggcat tctgagagcc ctctcctgtg 22200
ctgtgtctga ggattcctct gcagcctttg ttcctgacac acaacatcat gcttactgtg 22260
cactgtgcat atcgccaggc tgcgtagtac cagcagatgg taccctaaac ccaatcaatc 22320
agactgagga ttctttaatg gtgtgaaact ggtgtgtgtg gtatgtgtgc cttaggattt 22380
ctgctcttac aggaacataa cagtataatt ttaaacaatt taaaaaaaaa cattaagatg 22440
tctcttgtca cagtgtgtct ttggattgta cagtgttaaa ctctgatttt cagtgttgct 22500
ccagctggtt agttgagttt cataaaaact cattgaatga acttgggctt ggatattaga 22560
gtttccaaaa ctttctaaac cgtccttaat ctaagactat catttggttc tccacattta 22620
tgtgaagtgg tgcttctcag ctttatcagt tataaaagta aaaaattaag gaactcctaa 22680
aaacattgag gttgttcttc gtcttttagt atgaaatact tagacatgtt ttaattattt 22740
atgtggaaat aaacaagccc attattctat taatatgagc gtttgctaat aagtggtaaa 22800
aattctccat acatcaaaaa ttgtcttgca gtaaatttct ttataatata ttaccagtaa 22860
atgtttaata tgtgtacctg cttcatatag tcacacacag agacataaaa ataaaatctt 22920
ttcaggcaaa agggagtctt aaatggaaga aagttttatt acaaactaaa tcttcaaagt 22980
ccaatacgac tgctgtaagc aatgacaggt tgccttgcca ggaaaaggtg actaggtcat 23040
atggaatgtt gtctttcttt tctctccacc ccttcaagaa aatgtgctaa gaaaaaggag 23100
cggaggaagg atgccaacgt tactttgttt ccctcctaga attccctatc cagatgtgtg 23160
gcgtatatat ggcggaattc ttagtctgtc cgagattacg aaagaaacgc cttcctcgag 23220
aataaaggag cttattattc atcaggaata caaagtctca gaaggcaatt atgatattgc 23280
cttaataaag cttcagacgc ccctgaatta tactggtatg cagcatattt aagaggaacc 23340
tgcacaactc aatggtattg gtgtcaattt ccacttcagt ttgcatgaga agagagatct 23400
gcagcaattg tctttgtgtc ctggttggtg aggctgaggg agagatgagg ccacctgggc 23460
agtagaaatc ccgtgtcttc ccatacattc actgctatct gaggggcaaa aaagcttcat 23520
tactttctca gagtggcatg caactgagtg tatggtattg gtctaggaaa gattttgaca 23580
tctggggaca ttgggcatct tctgacaaga ttggcagaat gactatggct taggaatata 23640
caaccatatg aaagtgaacg ggactagatg ttagtgccca agaataccct ggttgacaat 23700
ggggggacac ggagcatgga gctgctttgg aggcacatca ctccacagga atggaatgtc 23760
tgccaacacc attacctgca agtgtctgtg aacagtcatg agaccttaga cagcttggct 23820
ttcctccttc cacctctaat atctgctgca cgcgtgctga tctccgtgtt gcttccttgc 23880
aatcattaag caacgtattc aaataaagcc ctgggagagt atggctattt ttgctctgtt 23940
tctgaattct gctacagtgt atattaaaca agacataaga aagtagacat atgtttgcca 24000
ataaattttg gttgaagagt ccctcttccc catagaaatt tcgttccaaa atgccataca 24060
gaatgtgaga attgtcttga attgtgggct ttagaaattg ctcagaaagc tggagggtcg 24120
ttctttttag ttttagtaat gggtttcatt atatttcata catatgcata gtatgatgta 24180
attgtattca catccttcac tctctcttgt cattttcact cctgcagttc tccctgctcc 24240

tcccaagtag tcccagactg gtcattcttg ctttgttgct ttgtagaaaa agaataagag 24300
aaaaagatag atactaattt ttgaagttcc catctatggt ttcaattagt ccaaatctat 24360
tcatgaaatt ttctttcaga attccaaaaa ccaatatgcc tgccttccaa agctgacaca 24420
aatacaattt ataccaactg ttgggtgact ggatggggct acacgaagga acaaggtaca 24480
gtatggcatg tgaaatgttc ctgtcttaca tgctaaagta catagagtag atccactcaa 24540
caagccttac tcatgacctt tctgttcatt ccaaactatt ggtcctctga ttcccaagaa 24600
tgtgaatttt tttacattaa acatcaatga gctaatcctt taagaatatt actcataata 24660
gagattattt ttatgagtct gcattaagaa ctgtggccct atgatactat caagtccact 24720
gaatcccatg tggtcctcag tacttactgt gtccctgttt gctaagttct cccttggtat 24780
caatagctaa ggtgccagca tctctcttga agaacagttc ttaatattta tttaaatgcc 24840
ttcttgtaaa aaatctgaca tttcctctaa ttatgccatt aaatccttat gtaaaataca 24900
tagattcata aagagagaaa agtagattgc agtacagtta ccaacatttg ttaatagaat 24960
tttacatagt gatgatcata tttgattatt agtgtactca gttgcaaatt gttttaaaat 25020
ctaccataat gttgaagtag ttatgggcat aaacaacatt ttcctttctg tcgtaactac 25080
aattcaaagt atctgtgacc cttacactac agtgctgcca acaatatcac attcctgcat 25140
tagttatctg aacttaaaac tgaagggcgt ctgcagcttt atttgaaagg ttgagaatat 25200
agaggcgagt ttttcgcttt cccttccgct gagtgtatgg atgcctcgat tgtgtggctc 25260
tgaactcaag acccctgtgt gctgagactt gagctatttc tctagaaata agaatgcttt 25320
ctttctagac tgagtgccag ataaccagca ttagacatat ttgagtgatt ttttttaaag 25380
gagatgattg gctgtgtctt ctttatattt cctgaaccag tcagtactgt attcaattag 25440
ttcccatttt ccactacatt tacttggcta cctatatgtg gacacacaca tatatacatg 25500
catatacata catacataca tacaaacata catacaaaca tctgagaaat atagacatgg 25560
gtagacatta agttatctgt aaatgtatca tttattgcag aacaaaatac tactctgctg 25620
tcagatgttt gggatgtatt ctcataaatt gtacatttta ttataatttg aatttctaaa 25680
acaatgaaag gcaagaacat cctttaaagg tacaaatgtg tgagacaaca ttttttgagg 25740
ggggcatcgg ttgatatagg aggatgcctg agatcataga aacaagtctg cagaggcttg 25800
ggtgctagcg agtctgaaat atgtcactag aaggaaggca gcacggatca ctgctccttc 25860
atctccttct ccccttctc cttctccctc tcccggtctc tcttctccct ccacctcttg 25920
cttcccttct ccctcccttt ccctctgccc tatttattga acttcctctc cttaaaggca 25980
cttcttgatt gcttcatagg tgaaacgcaa aatattctac aaaaggctac tattcctttg 26040
gtaccaaatg aagaatgcca gaaaaaatac agagattatg ttataaacaa gcagatgatc 26100
tgtgctggct acaaagaagg cggaacagac gcttgtaagg taatggggaa aaaatacaca 26160
atagttccat gaagacagtt cattcaaaaa cgaatctcca aagttatatt tcattagttt 26220
tggttctgaa gttccagagt taaacgattt gaaggctatt tgaaacgata gcctttaaca 26280
aattaaacac acatagtgca tattatatgt tacttataat agttatgcta gaatatgtat 26340
tgctgtgaca ggtatgtcac agtgaggaca ggggcatgcc aaatttaagg acaattttta 26400
catgccatgg tcatgctaaa atacaagaaa agtagattta tttgaacttg gagtaaagat 26460
gctaagtctg ttgggtttat ctgagaatgg gagagggaat aaattggcct tgtaaccatt 26520

37

```
cacttatttt ttttttcatg gctaatggga tgcacagaaa ttgagaggct ccgtggtggt    26580
gtgtaaagtg tgactgccaa atattaaaga catctgtcta tgagcaaggg gctccttatt    26640
tgcatcatca ccattacccc tctctacctt tgtatttctc taccctctgt gacccaggga    26700
gattccggtg gcccccttagt ctgtaaacac agtggacggt ggcagttggt gggtatcacc    26760
agctggggtg aaggctgcgc ccgcaaggac caaccaggag tctacaccaa agtttctgag    26820
tacatggact ggatattgga gaagacacag agcagtgatg taagagctct ggagacatct    26880
tcagcctgag gaggctgggt accaaggagg aagaacccag ctggctttac cacctgccct    26940
caaggcaaac tagagctcca ggattctcgg ctgtaaaatg ttgataatgg tgtctacctc    27000
acatccgtat cattggattg aaaattcaag tgtagatata gttgctgaag acagcgtttt    27060
gctcaagtgt gtttcctgcc ttgagtcaca ggagctccaa tgggagcatt acaaagatca    27120
ccaagcttgt taggaaagag aatgatcaaa gggttttatt aggtaatgaa atgtctagat    27180
gtgatgcaat tgaaaaaaag accccagatt ctagcacagt ccttgggacc attctcatgt    27240
aactgttgac tctggacctc agcagatctc agagttacct gtccacttct gacatttgtt    27300
tattagagcc tgatgctatt ctttcaagtg gagcaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa    27360
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaactgaga aagaggtaga aatctttgta acatttcatt    27420
tagaataaaa agagtctcta cttgaacctg atgggacatc taaaccacct ttctggccat    27480
tgctgcagag ttctgcatgg tcatgactgc atgaggtttc ctacccctgg agcagagcca    27540
tctgggcatg agggttgctt gtataaactt catgttcctc cctcaggaaa taacctctct    27600
gcctaggtta ttgaggaata tcctctctgc caggacagcc cttaagactg tgggaaagaa    27660
ctcttaaaac ataagttcaa gaatatataa tttctcagct atgtaaaata taaggataca    27720
atatgaattg tataaggaga ttcgattcgt ggacctaaaa gaacaaaggc agctgcacta    27780
tgagccagct tgtcagaaag atactactga aggagataaa gagataaaga gatttaggga    27840
gtggtgataa cagggcaaga tcccagccag ctaagtttat tatttgtgct tacataggca    27900
ggcagagtcc tgagttcaag atcagcctgg gacagagcta gtttagaccc agggttggtg    27960
ggaatcccac ccagctagct tgttgtctat gctaagaaag acaggcagat ctctgaattc    28020
atttggcatg ttttttttt ttaaaaaaag tacctgatgt cttttcttaa gaatcaagag    28080
gctagagtca tggaatgctg actcatgggt taaacaaaag ggaatctaga gtaagtgact    28140
gagttgatat gtaaataaaa gactgggctt tagtctgcaa gagctgagct acctggatga    28200
gctgtctgga gatctctgta gagcagaata ctagtctcta attttttag attttttttt    28260
tttctagtag ctactcagag agaactgctt agagaatgaa atgaacattg ctattttagt    28320
tgtgttgttt tgttttttt tttttctaga aaatccaaaa atattttata gaagcttctc    28380
tgactctagt cagaaaaccc atgagctagc cagagagctt ttggattttt ttttcctagc    28440
aagagaaagc tgtctcaaga agagacagct gtctcaagca aaagagctgc cttgagcaga    28500
aagctatctc tatcagactg catagccaag agctatctgc agaaagctgt ccagctgtct    28560
agactacaag gctgtcagct tgcaacccat catatgactt tgagttgttt ctttcaccgc    28620
tcccagacac cccttctcgc aggaacctcc ctccaagcca aggctggtcc tgggcacctt    28680
gccacatggt cttggctaca gatgtgtgca agacctgtaa ggctatattt ttcttcttgt    28740
```

gtgcagctcc tgcaataggc ctatcacaca gtactcacac agggcaaggg atctgatgag 28800
aacctcctgg ggaaccctcg gggttcagct gatgctgtat tctgcaatag taattcatgt 28860
aatgtcattg ggtgtaaagt gttgtataaa attcaagctt ccaattgagt tgaaagtgaa 28920
aagcaatctt ggaatggatg acattaatcc tcatgcaaga caaatttcca gcttcccatt 28980
gattcataaa gtgggtcatc tgtgcttaac tccatttagt taacctggtt aatatttaga 29040
cagaattagc catttacgaa ctactgtgca agttaaacag acaaatagaa aagtgaaatt 29100
tcctaaagaa gattaaactt ttccttgcat atataaaggc ttgttgagta gtgcagaggg 29160
ttaaatatgg aagatcctgt gggttatcta cagagttcac catgggaagt gtaagaggtg 29220
gaagcaaatg gctttggaaa aatcttccaa gcacacaact tcaactttta attttgtaca 29280
ccatttcatc ttaatctgtg tggcagttgt tttatattta aaaagaaaga agtggttctc 29340
aatgaaaatc ttgtatctca aggtttcata ttaataaccc taacaggtat ttacacaagg 29400
tgtcacagta cttactgggt aaactttggg ctttggtttc tcaaggaatg gcctcatttg 29460
agcaaaacag agttttgaaa tgagggattt ccctatggcg taaagtacca tgatcacgtt 29520
gccagctgga gtccagctgg gctggaatgc tctgcttttc attgtgtgtt cctgcacaaa 29580
gtagcccgtc ttccactcga agccttaaga ggctgagaaa atgagagggc cggataacat 29640
cacttttaca agacaaagtg gaggcaggag gccctagatc tttggcaggt ccatccaaga 29700
aagggagtgt cacctctgga atggaacaat gccggcactg ttcttcctgg gccgcacgtg 29760
gagagcacac agcacaccac taacacttct agagctcaac gggaagctca aagggctgtc 29820
tgatctctat ctatttttttt tcttgtagtt cttgcttatg gctaccagcc ctacaaactg 29880
tcaacaactc tgaaggatgc tcttgcatct ctgcctctct ctttcatcag tacttcatgt 29940
gaataggaat gtggcaaata ggagagattt gggtttgctg ttattatttt tgttgctgtg 30000

<210> 14
<211> 2513
<212> ДНК
<213> Rattus norvegicus

<400> 14
tgaagactag cttcatgtga agactccttc tcctccagca gcacaaagca accatccttc 60
caggatgatt ttattcaaac aagtgggtta ttttgtttcc ttgttcgcta cagtttcctg 120
tgggtgtctg tcacaactgt atgcaaatac cttcttcaga ggtggggatc tggctgccat 180
ctacaccccg gatgcccagc actgtcagaa gatgtgcacg tttcacccca ggtgcctgct 240
cttcagcttc cttgccgtga gtccaaccaa ggagacagat aaaaggtttg ggtgcttcat 300
gaaagagagc attacaggga ctttgccaag aatacaccgg acaggggcca tttctggtca 360
ttctttaaaa cagtgtggcc atcaattaag tgcttgccac caagacatat acgaaggact 420
ggatatgaga gggtccaact ttaatatatc taagaccgac agtattgaag aatgccagaa 480
actgtgcaca aataatattc actgccaatt tttcacatat gctacaaaag catttcacag 540
accagagtac aggaagagtt gcctgctgaa gcgcagttca agtggaacgc ccaccagtat 600
aaagccagtg gacaacctgg tgtctggatt ctcactgaag tcctgtgctc tctcagagat 660
cggttgcccc atggatattt tccagcactt tgcctttgca gacctgaatg taagccatgt 720
cgtcaccccc gatgccttcg tgtgtcgcac cgtttgcacc ttccatccca actgcctctt 780

39

cttcacattc tacacgaatg agtgggagac ggaatcacag aggaatgttt gttttcttaa 840

gacatctaaa agtggaagac caagtccccc tattattcaa gaaaatgctg tatctggata 900

cagtctcttc acctgcagaa aagctcgccc tgaaccctgc catttcaaga tttactctgg 960

agttgccttc gaaggggaag aactgaacgc gaccttcgtg cagggagcag atgcgtgcca 1020

agagacttgt acaaagacca tccgctgtca gttttttact tactcattgc ttccccaaga 1080

ctgcaaggca gaggggtgta aatgttcctt aaggttatcc acggatggct ctccaactag 1140

gatcacctat gaggcacagg ggagctctgg ttattctctg agactgtgta aagttgtgga 1200

gagctctgac tgtacgacaa aaataaatgc acgtattgtg ggaggaacaa actcttcttt 1260

aggagagtgg ccatggcagg tcagcctgca agtaaagttg gtttctcaga atcatatgtg 1320

tggagggtcc atcattggac gccaatggat actgacggct gcccattgct ttgatgggat 1380

tccctatcca gacgtgtggc gtatatatgg cgggattctt aatctgtcag agattacaaa 1440

caaaacgcct ttctcaagta taaaggagct tattattcat cagaaataca aaatgtcaga 1500

aggcagttac gatattgcct taataaagct tcagacaccg ttgaattata ctgaattcca 1560

aaaaccaata tgcctgcctt ccaaagctga cacaaataca atttatacca actgctgggt 1620

gactggatgg ggctacacaa aggaacgagg tgagacccaa aatattctac aaaaggcaac 1680

tattcccttg gtaccaaatg aagaatgcca gaaaaaatat agagattatg ttataaccaa 1740

gcagatgatc tgtgctggct acaaagaagg tggaatagat gcttgtaagg gagattccgg 1800

tggcccctta gtttgcaaac atagtggaag gtggcagttg gtgggtatca ccagctgggg 1860

cgaaggctgt gcccgcaagg agcaaccagg agtctacacc aaagttgctg agtacattga 1920

ctggatattg gagaagatac agagcagcaa ggaaagagct ctggagacat ctccagcatg 1980

aggaggctgg gtactgatgg ggaagagccc agctggcacc agctttacca cctgccctca 2040

agtcctacta gagctccaga gttctcttct gcaaaatgtc gatagtggtg tctacctcgc 2100

atccttacca taggattaaa agtccaaatg tagacacagt tgctaaagac agcgccatgc 2160

tcaagcgtgc ttcctgcctt gagcaacagg aacgccaatg agaactatcc aaagattacc 2220

aagcctgttt ggaaataaaa tggtcaaagg atttttatta ggtagtgaaa ttaggtagtt 2280

gtccttggaa ccattctcat gtaactgttg actctggacc tcagcagatc acagttacct 2340

tctgtccact tctgacattt gtgtactgga acctgatgct gttcttccac ttggagcaaa 2400

gaactgagaa acctggttct atccattggg aaaaagagat ctttgtaaca tttcctttac 2460

aataaaaaga tgttctactt ggacttgaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaa 2513

<210> 15
<211> 30000
<212> ДНК
<213> Rattus norvegicus

<400> 15
attcctccag cccctgtatc acgtcaaact cgaaactcca gctccaggac tagctgcagg 60

cattgatgct tctgcgctgt ttccattctg tgatcatgtc ttctccatac ctacctctaa 120

gttttccatg aggtctcaaa gtaaaagctt taagaagaaa aaaaaagtgt tgtccagcag 180

gtttcagtaa gctttgctgg agaggaccag ataataaaat cttagtttgc ttgtttgttt 240

tgttgttgtt actgaagacc gttctataat cataggaagt aggcaggcat acatcgtgca 300

gcagtgaatg gacatggttg tgttccatta aaacttcagc tagaaggaca aatcccaagc 360
aagatttgtt ctgtaaacag tggattatta actcagtact gggtggatct gaacatgaac 420
ttccagtgta ataaaaaggt agaaaagcag aagtgtgaag aatcccgaga gctcagggga 480
gaccactgct tctgctcaca ttcctggccc aagaggactc cccctggaga cctctggaca 540
caagaaccga ggagcagtct ggttcctgcc tgtacccaga actgacactg taacacatct 600
acacagtgga gtattactca gctattaaaa acaatgactt catgaaattt ataggcaaat 660
ggatggaagt agaaaatatc gtgagtgagg tcacccaatc acaaaagacc cacacggtat 720
gccctcactg ataagtggat attagcccaa aagctcggat tacccaagat acaatccaca 780
gaccacagga agctcaagaa gaaggaccac caaagatgca gatgcttcag tccttcttag 840
aaggggggaca aaaatattca taggagaaga taaggagaca aagtttggag cagagactca 900
atgaatggtc attcagagct gccccacctg gtgatccagc ccacatgcat acagccacca 960
aacccagaca gtatttctca tgccaagaaa tgcatgctga caggagcctg atatagttgt 1020
ctccagagag actttgccag ctcatgacaa aaacagaaga gaatgtttgc agccaatcat 1080
tgaactgaaa ccagggtccc tgttggagga gttagtgaaa agattgatgc aaccccgtaa 1140
gaacaacaat accaaccaac cagagctccc agggactaaa ctaacttcca aagagtactc 1200
atgaacaggc caatgtctcc agctgtatgt atgtagcaca ggatggcctt tctgggcacc 1260
agaggaagaa gcccctggtc ctgccaaggc tggaccctcc cccagtgtag gggaatgtca 1320
agatggagag gtgggaagag gtaggttttt gggttgggaa aaggtgataa catttgaaat 1380
gtaaatttta aaaatccaat ttaaaaaagg tagaaaacca ataccttgct ttgattctcc 1440
tataggagct gtctacccca cccccacatt gaggtgtgcc tccaggaaat ttcaatagaa 1500
gtatacacac acacacacac acacacacac acacacacac acacacacac acttgtaaag 1560
gcaaataggt aagaatcaag ctgttagtcc ccaaataaag agatatgacc attttcaaaa 1620
tgggagacct atgcctgaat tgtgtgtccc tagtataaag cacttctctt tcttcagcat 1680
aagcacttaa acgcatttcc catgtataat ttatttaaaa tgggttcttg atatgcttgt 1740
aatataatga tatcttggta tacatgaaca ctgtaacatt atttccactc taaagttact 1800
taacacagtc accatctcag acaattatta tgtatgttac gaatacctgc ataccagggt 1860
acagtgtgta cacctataat ccagcactct gaagatctag attcagtggt tctcaacctg 1920
gggagagggg tcacatatca gatatttaca attcataaaa gcagcaaaat tacaattatg 1980
acgtagcaac aaaatacctt tatggttggg gatcactata catgaggaac tatattaagt 2040
cgcagcttag aaaggttgag aactactgct ctataggatg caaagacagc tcaggggtgc 2100
tcttgaagag aacccaagct cagttcccag caaccacatc aggtggctca caaggacctg 2160
tgtctccagc tccaggggac ctgattccct ctgtcggtct gcaacgtgca tgcatttgca 2220
gtgaaagaga cacatcatta gaaataaaat aaatggttaa aatttaacta atgttgctat 2280
tgctgggcat gggatcttgc agtctattag ttctaaaagc tgaaattttg tatcctttca 2340
caaacaccac ccatgacacc aagtttcaga tcctgacact caccatccca cttgtttcta 2400
gggcttgcct ttttcaaatg ccacatgtaa gtatagctct tcaaatggcc atatgttttt 2460
atatctccac cagttttgca tcactgcaat ccaatacctt gagcccctat gtcgaattta 2520
taatctgccc atcagttgac tttaatttat ttagggttgc ttataagttc ctaatttttt 2580

41

tcttttggtg attttgtttt tcttttctga ttatttgtga tcttctggct ttgtgttggt 2640
gtttgcactt ttagataaga ggctatttta aatttaattt ttaaaaattt atttattcac 2700
ccattgcaag gctatgtgtg tgtgttctgt gcaggttctg gggattggac tcaggtcatc 2760
aggcttgatg gcaaatgctt ttgacctact gagatgtctt gtaagctcca cgatgatttt 2820
agacttttaa agcttgcttc actgggcaaa cctagtagtc atgtatctca tcaatggatt 2880
ctgggttagc caactgtgta gttagagttg gatatgcaag gctaggtttg aatcttgggt 2940
ccacagaaaa gagcattgca tcagggtcca ccgtgattac attgatgact gaattcctag 3000
agcccatgct tgaatcctca gatcagtggg gccacgatct tatgattgag gactgcctta 3060
acatgttgat attgaaatga acctgaaaac tgagcctcca gtggccatgt taacgaactc 3120
aagcccgtgg gcatgggttt gttcctgaat ctacaatcgc tgtcctggaa atgagccctg 3180
gaaatgggac aatctggtgg ctggcctgag gtatcatcct ggagcctggg tctgcagggt 3240
cagcctgata actgggattt cctggaatgg acttgtttac atctgtcttt attcataggg 3300
aacacatcgc cattctgtgc tgcccaggct tagtagcagg gttttatggt taaagtgaag 3360
gatcgaacac tcttcaatgc ctattcacta tgtccacagt ttcaccgggg gctgtaacct 3420
atcatctggc tttcttaaca cttggaaagg catggggaat tgttcccatg gattcttctg 3480
caaagggatg cgtggtggag attccaattt tgtcatggtg tttacatgac tttctggaat 3540
cggtaacata ttaagtactt gaacctggac tggaaggtcc atggactgta ttgacaggtc 3600
aaacagaaga cactgatgcc agaagcccag tgtcaacact ggagccaagc agagaccaac 3660
ctcagtgcca tattcggaga gcttgaagac tagcttcatg tgaagactcc ttctcctcca 3720
gcagcacaaa gcaaccatcc ttccaggtag ctactctcca ccattctcat tgtagcctat 3780
gtcttaggaa tttatttttt taaaaaagta taactatatc tgcatgaaaa agtctattgg 3840
tgtaatgcac taatttcctg agggtttaga aaatctacaa ggaattgttt ttctttgtac 3900
agctatatta atgtaaaata ttttaaagcc aaggataagc ttttgattct tttcaaagat 3960
gctctttatg tgggggttgt gggtgatatt attgtactca ttcataataa ttttgcataa 4020
atctagaaat ttaataagtg tttaattatt tgtatcaact ctctttacaa aattaataga 4080
aataattctt caaaattaac aataaataca ctaatacaca ctaattgtag tctagaggtc 4140
tcaatttgta tcttggggag catgataaat attttaattt tctatatcca aaatgtcccc 4200
tcctccaaat cctctttctc ctggtgatta tgtgttgtga tttgcaattt agacatttac 4260
caaaaaggtg aagtgtacat taaattaaat tgtctattaa atacatggta aacatgatct 4320
caacctagta gtagctaaat ttatttttt ctttcaaagg atgattttat tcaaacaagt 4380
gggttatttt gtttccttgt tcgctacagt ttcctgtggt aagtattagc ctgggagttc 4440
aaattaagtt agtgtgtgaa actataccac tcctggagaa agcctttaaa agctttgggg 4500
aagaaggcag ctgctgatag tccaaggcaa gaacctctcc ttagatacat tactcctgac 4560
acagaacggg gtgggggggg aacttagaag cttcaatgct tctgctagca gaaatttctg 4620
tatcaagatt tctctctagc agagtcctcc caccccaaag atttgcttgt gtttattacc 4680
agccctctaa ataaaaactc tacctgaaaa tcggaaagaa tatcagatat tgcataatga 4740
ttgagtccaa tccaagcttc tgattagtat atggtatttt taatataagg catagagagc 4800

```
catttctgaa ctgaaaacac ctgctttgga tttaatgagt gtagtaaccc tttggtagtg     4860
tggatggaca gctttaacac tagatgtcag tgttctttct ctgtgaattc cattacggtt     4920
cagaatgtga gcatggccct ggacaccccc ttctcaatag tcattataga gtgagatttc     4980
cctgggcata tcatagtatt ccgatcaaag ctgactttgt ctagccacac ctcaagggct     5040
gatcttgact ctcaagtatt tggcaaagat gagcttatcc ttgtcaatag aagccatttc     5100
tctgggtaaa ctcattgttt tccctctctg ctccctccat ctggcccatc aactgtaact     5160
gcttttctgt gccacaacta ctgccatgat caaaccaatt aaacacgagc agtggtagtc     5220
agagatgcta tgggccatgg ctataaaatt tacgatcatg acaggaacgt gagacatgga     5280
aatacattta atacttgaga acaagtactt tacatagtcc taaagtacaa aataatgatt     5340
gcttgctttt ctttagtctt tcttattttt ctgcatgaat ctgttgtata aaagtgttat     5400
tcgtgaataa taattttaat gagaaattat gactattaat gacaaatcat ttttgactta     5460
cctttgctat ttatagctaa tgttaacaca aacaagcact tttgtcattc gttcttcttc     5520
acgctattct gtatgcatgt gacattctat gcacacattc aattatttct actgattcaa     5580
attttagaaa taaaaatttt tagatacaaa catgtgaata cctttgaagg ttttatggca     5640
tgcattatgg tattagcttc cagaaaggca tcctctgttt ggttttccct acgagcatgt     5700
gggagtgttc aaccatccca gttagagtga gccctaacag gcatctgtta ctttgtagtc     5760
tggcgtagga tcaccgttct aaaatagcat ccagatttct tcctgaggaa ccatctccaa     5820
cggatggccc acatggtact ggagatgatt ctcctgctgc agtcagacca gaactgcaga     5880
cagtgctggt gtgatgacct gaccagagct agtcttgtaa caggcttttt ctcagactta     5940
gaaaaaggct cagatttatt tttatttcca actcaacttg agctgctggt cctgccttac     6000
tagtgtgcat cttgagatga aggcagcatc acacaataga gtaaatcaac gctgacacac     6060
tgtgcatgga tgccattcct gagcagtgtc tagtgctcca taagccattg gctgtggaca     6120
catgggtttc tgaactgtta aactcattta tattcaaact gctctgattg attttctttt     6180
atttgtgaac aaagccagca cacaaatatt gtttcaagtt taatctttgt taacctggct     6240
gtttaaccca gtgttctgag tctgagactc ttacattttg ttttttaac ataaaatgta     6300
tttaatattg acatatcatt tctaagagat tatattgtta attcagaaaa agaatgtgtt     6360
atctacattc ttaaaatatc ataaagattt agacaatgat ttctttttta gaaagttatc     6420
taaattatca ctaatatgaa atatcaggtg gaatatcgtg tatttgtttt tctagtttag     6480
aaagaattaa tctgtagctt gtatgtattg actttgtgaa tgatgatagt ttttaaatgt     6540
ttttaattga cactaggatt ataccacccc tttcctccct ctagtttctc ctaggaacac     6600
ttccttgagc ttctcccatg ttcccctcac tctgaagctg attgcctctc ttttcattta     6660
gtattaatgc tacatatgta catatgtaca cagagatgta tgaatgcaac ttgttgagtc     6720
catttttgtt tgtgggtata tggtttgtgt gtgcttgtgc atattgaaca actagtaagt     6780
gggctcagct ctggaaaagg ttaattctct ttctccaaaa ggtcattagc tgcctatagt     6840
tctttgtcta aggtggggcc ccatgaaatt ccccccttcca tgttactaca tccattgata     6900
ttgccatcgt tctggtccct tctgggaggg actgtttcac agcaaacttc ctgatattct     6960
ggctatcatt acctttctgt gttctctttc atgatatccc tcgagccata ggtttgggat     7020
atgagatgta gatatatcga ctggggctgg gagccccaca gtatgttgac ctccgcattg     7080
```

```
tgtccagttg tggatttttg tgatggtgtc tgtcttagtt agggttttac tgctgtgaac     7140
agacaccatg accaagataa gtcttataaa ggacagcatt taattggggc tggcttacac     7200
attcagaggt tcagcccatt atcatcaagg caggaacatg gtagtgtcca aggcaggcgt     7260
tgttcaggca gagctgagag ttctgtcttc atctgaaagc tactagcaga atgctgagtt     7320
ccaggcagtt aggatgaggg tcttaaagcc cacacccaca gtggcacatc tactccaaca     7380
gggccacacc ttcgaatcat gctaatccct gagttgagca aatacaaacc atcagtgtcc     7440
atttgctacc aagagaggct tctttgatga gagagagtag ctacctttat ctaggaaggg     7500
tggctcctgc actgttagca gcttttatac acatatagtt acttttatta attcggtaaa     7560
ttatcttttc atatctgatg ctgaatttta aaagttttag catttattta tttttactct     7620
atatctgcac atgcgtatac atatatacac atgtgctgtg gagcacatgt ggagatgaga     7680
ggacaacatg tggaggctca gttttctctc tgccactcac ctagagtttt gagttaagat     7740
gcttcattta tctatggaat ttttcctttt ctttcttttt gattatgtac atttttaata     7800
tgactaaata actcagtcat ggtccatgga cctgcagttt attgaaagac atcattatag     7860
atcaattagg tcatacagac tctgtgcaaa caaggctgtc attgttctaa tcattactgc     7920
tcaccatcgt tatcattgct gccatcatca actgaggagg ataatccatt ctccagttag     7980
aatgtttcga ctcattcatt ctcattgact gagtcacgtg ttagtttacc aacactcaac     8040
tgcaggatag aaacttctag gctgccactc gatgatggtt tgtgattttg tatgtgtctg     8100
tgcaatggga tagtgaggga gtctctgctc aataattatg agatgctaac acattaaaaa     8160
aaaaagcaag tctctttata gctactgtca gcactgggcc tgctactcag tgtgttgtgc     8220
aaatgggaca gcctgggttg tacacttggg aacatatatt cctaggagca attacccagg     8280
aaaatctcct ctttccaaat ataaatctga cttaagaagg taggcatggc aacacccctc     8340
tgataagaag aaaaacagta ttgcaaggtt gcctcatcca aattggactc agtggcagga     8400
tctccatata agtagaacat agaaactctt aactttccgg ttcttattga aaaacgtatt     8460
gtctagatag ctattcctta acaaacaatg gcaacatgga caacactgcc actggagtat     8520
tgcataatta atgaaaactt gactgctgaa aatggacagg ctgcctgttg gaaagctaag     8580
taaaatgatt tgaactgaat cttttcaggg aaatccgaat tcttcaatgg atttaaagac     8640
agttctctaa tgatatatgg ggtgcaggat acccacataa tggagttgtg agtcagcaca     8700
agcagtgtat cttattttca agttagctta ctttcatttt tgtaataatt tgaaaattat     8760
ttagcctttc cccattatat tgaaaataga gtcttttctc atgcaatata ttctgattat     8820
gacttcccct cttcttcccc ttccagttcc acccccacct cccatcttct cctggtctaa     8880
tccctttctg cctctcatta gataagaaca aaacttctaa gagatagcaa tcagacacaa     8940
caaaataaaa tataataaaa cagaaaccat cacatgaaag ttgtacaagg caacccaaca     9000
gaaggaaaag agcctaagag aaggcacaag aatcggagac ccattcagga gtcccataaa     9060
aatactcagc tgaaagctat aaaatatatg tagaggaccc tgtgcagacc tgtctaggcc     9120
ctggttcttc agtctctgct catatgagcc tgacttagtg gaatcacagg actttgtttt     9180
cttggtgtcc tccatcccct ctaggtctta gagtctttct ccctcctctt tcacaggaat     9240
ccctcagctc tgaggggagg gatttgatgg agacacacca tcagagctat gtgtcctaag     9300
```

gactctgact cttccttctc ttcccctccc cccatctctc tctctctctc tctctctctc 9360
tctctctctc tctgtgtgtg tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg tgtgtgtaat gtctgaatgt 9420
gggtctctac aaatacaatt ttattaagaa atgagctagt aggaaatcag tactcaatat 9480
ttattatttt atttaagtaa ggctgggtaa acagcatcat gggacagcac ctgctgtgct 9540
ggaaaaaagg acagaaaagg attgtgagtc aggaaggatg agtttatgtc cgaggatatt 9600
tattcactgt gtggtactaa tgacatctga actctgagac tcagttattg acttccttca 9660
tggaaaaaaa aaaggaaaaa acaaaaaaaa agaaatgcaa ataatagtcc tgacctcaag 9720
tcgcccttaa agcgctgagg aatctaggga gattgttgtc ctaaaagcgt tttgaaaaaa 9780
tgctgtattt ccatttttaa ggtgagatgt ttccccagcc tgttagacag caggcagaaa 9840
aaatatattt taacagatac tttatgtaaa attatatagg caataaaaat tttattgcat 9900
aaatttattc aattttatgc ataaatgtcc ataggatgac tttatttatt ttttttttt 9960
acgccccgcg ggggcccata ggatgacttt aaatagcgtg ctgtattgtt taaacagttg 10020
tcatatgttt cattctacct gtgtggttgt atatatcttt gggtagtcat tgggataaat 10080
aaaaaggaaa aacaacatag atgtatttct actaaaatgg ttacactttc tccggaatca 10140
acttttatat cacagggtgt ctgtcacaac tgtatgcaaa taccttcttc agaggtgggg 10200
atctggctgc catctacacc ccggatgccc agcactgtca gaagatgtgc acgtttcacc 10260
ccaggtgcct gctcttcagc ttccttgccg tgagtccaac caaggagaca gataaaaggt 10320
aagatgtccg tgagtccaac caaggagaca gataaaaggt aagatgtccg tgagtccaat 10380
caaggagaca gataaaaggt aagatgtgct gttttatcac tgccgggtga gacgtttctc 10440
aaatagcttc ctgtcgtatg caaaattggt gtcatagttc tcagagtgtt cacagactga 10500
ttgcatcaga agctcctagg ctgggttttc tccaatgcaa actactagag tgctgaaccc 10560
agagacggag attctaaacg accacggcat ttgttcacac agcataggag ggagtgatgc 10620
ttcagccaag gcctgaagac agagcgtgta acaagaacgg gtccttcctc acgctgtaat 10680
acttagcttt cttcttcact ttcaacacgc tatactgtcc ccacgtgtac acttgttatg 10740
tgtataaata tgttattagt caggttctgc atctgaggga gaacatgagt tttttccttt 10800
ctgagattat gtggcttcac ttaatatcac acattctaag tccatccatt ttcatacagt 10860
ttttgtgatt tgatttttct tcagcactaa atagcattcc tttatatatt ttctgtttta 10920
ttcatgattt attatgcatt aattataatt tactacaaat gctacaaatg aaacaatcac 10980
acacccaaat taaccagatc cagagactgt acaattcagg gaccttctat ccagttacag 11040
tagtcatttg aaaaggaagc atggaacttc gcaaggattc tatactttat caaatatata 11100
tatatatata tatattttaa tcatatatat atattgcttg ctgatagaag gtgaaaattt 11160
cacctgcata aagaaatata tttgttttac ttgttaccgt atttatgggg agcaaagttg 11220
aagatgtaca aaccaggaat tttgttgata atagatttga aatccagcag gcaagcctca 11280
atggtatatg tagtgagcct ctctctctct ctctctctct ctctctctct ctctctctct 11340
ctctctgtgt atgtgcatgc atgtgcatgt atgcatgtgc gtgtatcatt aagtggtaat 11400
tttggcaagg acaaatatta gaaatatagt tcggaatttt accttaattt tctttcattt 11460
gatcaatagt caaatgtaaa tttttgcctt ccattttcat acacattact tttatcttcg 11520
gtctatctga atttaagaat tagaaatttg aaactcattc tctgatctct acatgcttac 11580

ctgtacaaaa caaaataaaa caacaaaaac aaaaccaaaa cccagactgt atgtgtgatt 11640
cacttttttt aaaacttgaa ctaggtccta ggattcttat aaagagtaaa gttaacaccg 11700
agctgatatt gaagattgaa aaaacctccc cttatatgga aactaccaga tcaataaacc 11760
agatgaatat cacatacaga cccaacttag ctgattcaaa ttttttaaag taaattacaa 11820
tatttataaa aataatcacc attttagaaa acgtagaagt ttcagacagg agaatcattg 11880
gttttaaaat cagcttgtgt aagttaacaa gatcttttct caaaatagac taaataaaag 11940
ctggcagtgg aatgggaaga acgaggctgt tgagtgatta gcacttgatg aacatatctg 12000
aagcccaggc tttcctcctc agtcccacat aaaccaaaac caaaaccgat tatcttctgg 12060
aaagaggagc tatgaaataa tcctcaactc tgggatgtgg gtggccttct gcactcgaag 12120
catgaacact aagaaaacca acgattgtag atagtatgaa cttgtcttaa gaatgtcctt 12180
tccagcacat gtcgagaaat gtaattagtt tcctgacctt attttattta ttaacatatc 12240
caaaatgctg tataatttct taatgtgtat ttgtcgtttt attccccttt taaaatgtga 12300
ttttttttta aaccaggttt gggtgcttca tgaaagagag cattacaggg actttgccaa 12360
gaatacaccg gacaggggcc atttctggtc attctttaaa acagtgtggc catcaattaa 12420
gtggtaagat gtggattttt tttccaacta aatttatgtt actagcactc aaactcagag 12480
tagtttttgc tgaaagtcta tactatgatg gacttttaga agagaacacc gagaaagata 12540
acagacggag cagcatcatg gacctaagga ggggtctttc ttcctgataa tgttcatgtc 12600
tttatcagtt gtaatgcacg gccttaaagg gcttccatta tctatagtac tcacacacaa 12660
tgtaagattt gtgggaaatg aatgtgtagt ccagataata ggtcttctgt tccatagcag 12720
acatttcaga taagattcag gacacatctc accccaaagt gaaccctgga gagtaagtca 12780
ttgtcaccac cagaactgat tgtgcccttt ccacatcaaa caacagttgg tattctctgg 12840
ggacaattta ggtggttaca actgggagag atggtactct atggtaatgg ccaaggttgg 12900
tgcagtcaga cacaacaaca acaaaaaaag ttctgaaaag ttctggcccc cactagggtc 12960
attgagaagg gtttaagata gtggctctca actgtcctta cgctgcagct ctttctcttg 13020
ttgtggtggc tcccaaccat aaactattta catcaccatt tcataactat aattttgcta 13080
ctcttatgaa tcataattat aaatatttgt gttttccagt ggtcttaggc aactcctgtg 13140
aaagggtctt tcaatccccc caaaaggggt catgacccac aggttcagaa atgctggctt 13200
aagagatctt gtttgtcact cagtccagac tgcaggactg agttctgtca atcttgctaa 13260
gcatactatt tcttgcaagg ggtgtaaatg caaggatgtt agagagcttt ctctcaggcc 13320
accattgtaa ctgatgtcct aggaaacaac atcctaattt ccacaccatc ttaaaggctt 13380
aatacaaaga gggcgtttta ataaaacgat gggggctgtt agaaagtgaa agtgctaaca 13440
aagaatgagt tgggttgtat cgtttagctt tgtttttaac gtcattcatt ccgtaggctc 13500
aaatttcaaa tgttctcatt ttgccccaat aacaacaacc ctctcaccac atatacagtc 13560
agagtctgaa acttaagctt tagggagtta atgaagggtg acaatggctt agttataaat 13620
actgcttcac tggtgtaata tcttctctat cttataagat caaacccata taccaatata 13680
acttgctgca tattatttga tgaaatgttg tgtctaatta ttgtgaccaa caacaaaata 13740
taaaaaaata gaaacattat gccttttcca aagctgctta gttgtcacat gccccctccc 13800

ccctagctta accttcttca ctgagtttgg ctctaaagtt tatttgcaac tttctcccaa 13860
ataccttga gaaagatctt caagttaaaa aatgtttgca ggaaccaatt ttagtaaaaa 13920
ctattgagag gcaggcttaa tatttacaga taatcattaa aaatatgttt tatttgtaac 13980
tacttcatcc caatcctcag ttcatttcct ttcttatctg aagcaaattt aaaagaaccc 14040
cattttatg atttacaatt ttctgccctg taaactgctg ggagcttagc acccctacac 14100
cctaacataa tgctttttca attagtttat atatacagtc tgtctcctgt gtttaaatta 14160
atttcacaat tcttagaaac ttatagttat gtacaataga atattgtttg tgctaacaca 14220
cacacacaca cacacacaca cacacactgc ttgcttaact aagaatctaa ttatgttgtc 14280
ttaaaaacaa aacctaagag cttaatttgg cttgatttct gttaaaagaa tcaactattt 14340
ttaacatgta agataaactt caatgaaggg atattttaaa taaactgaag aaacgtttta 14400
aaactggcgt gctagtgcat ggctataatc ccagcactag ggaagcaggg gcaaagaaca 14460
ttttaagttc aaagccagcc tgatctgaag tgggagatta ccacatccag catggcttgg 14520
gtcctggaaa actgagagga acatcaagag aataagaaag gacagacaca gagacccctg 14580
tccagagaag ctagaacagt gtgagctttg agcactgaac ctccaatccc cagagtgctt 14640
attagacaca gcacagtgga ggggttaact agtcacagag gggtgtctcc ctcttggtct 14700
ctcctcttgg tctgtaatca tcttggagta gaaggtgacg tcacggtaca cactggtcaa 14760
tagttcctaa acactgttgc tgagacccag ggaaggcttt gccgaagtcc catggggctg 14820
agccattggt ccttcacatg gctacggact tcaaactaca gatttcacct gctcctttca 14880
cagttactca gggcttccca tggttaccac aggagttcca agccagccag ttttgaaagg 14940
acaagaaagg gttcggtggc tgcggtggtg gtggtagtgg tgatggtggt taatagaatt 15000
taagaaagtt ttaaagcaag aaggaaaatg atttcattgt gcatataaat aaattgagat 15060
aatctgttaa agattcgaca cagatatcag tgttgtgact aacagtcaca aatcacaatc 15120
agacctgaat agatgaagga agagaaatag atgcagatcg tgattttgtt gatttgtctg 15180
ttttttgtt tcgttgttgt tgggttttgg tttggggttt ttgtttgttt gtttttgact 15240
cagaagtcaa aggctcgata tttgtcaatt actttgcgtc tctgtcacac actatcagga 15300
cggttgcttt cttggtttat caatacctct gatagccttc ttctgaaact gtattgttct 15360
gaattgttgc atatcccttg cagtttaaga agcagaataa cctgtgttta atgcaaaggt 15420
caggttaagc acacctgcgg tgagctaatg tctagcagca cttgataatt tagacacgtg 15480
ataaacattt taattcctgt acttaccagg gtggtcacaa aaatgggata ctagccttca 15540
aaatgactcc gagggctgag cagtttatct gtgtccaata tacatatatt ataatacata 15600
tatatacata tatgtatgta tatatatatg gtcgaatgtc tctctgtgtt tcatttcagc 15660
ttgccaccaa gacatatacg aaggactgga tatgagaggg tccaacttta atatatctaa 15720
gaccgacagt attgaagaat gccagaaact gtgcacaaat aatattcact gccaattttt 15780
cacatatgct acaaaagcat ttcacagacc agagtacagg tgagtgagtc atggttccct 15840
gagaggacat tccaggatgc atcagcatcc gcagtgaaaa agacaagtct gcttccctcc 15900
agtcaaagac aaggggtggg cagtcctgag ccccttcctt ccttaaattt cttagttaca 15960
tacttaattt cagtggaatt tcctcccaga gatagtgaac ttcgtttagt gactggtaag 16020
ctatgtatgg gcataatgtc agacaatgat gtccgccact ccatttgcag ccgcctgtcc 16080

47

```
cctttgcaga agggaaaagt gtctattgat cactaatggc ccaactgtgc ccctttgtgg    16140
taacaaatat tatctgcaca cctttgcaca cctcaaggaa ggaagcataa catcttttgt    16200
tgacactcag gaagagttgc ctgctgaagc gcagttcaag tggaacgccc accagtataa    16260
agccagtgga caacctggtg tctggattct cactgaagtc ctgtgctctc tcagagatcg    16320
gtaattagat gacgattatt cctctgtgtc tgtgatgtcc taaggaaggg ttcccagaaa    16380
catccacatg ctgttccccg ggacccagga atatgatgcc tttttataga tgtgattacg    16440
tggaaatagt ttgcaatcag agttatttgg gattaccaga atatgtgcct atccactctc    16500
aggggttctt agatgataaa gcgggtaaca gagaggtcag tgtcagaggt agatagactt    16560
gaaaggtgga acaagagtcc gaaagccaaa ggggtaccag tggtctgtag acattgaaaa    16620
ggacatagaa cagaggaaca gaagcaagcc aacctttgac tggcacccag gaagacttgc    16680
tttggccttc cagcctctag gaaaggtgat aaatttctgt tgctgtaacc tctagtttta    16740
ctataatatg cctacaacaa catcattaga agaggaagct ccaccataaa gaaaaccaca    16800
agatcattct gtggtatccg tatccagaga aatatgcaca ttgtcgtgaa tcaaccaagc    16860
cctgtaactt cacacacaga ggtagcgcta aatgaattac ccggacagtt gccttcaaat    16920
ttaggacacc aaggtgtcag tggtgagatt tactgagacc agtccactta tagtaaatag    16980
taccaatact gaatgctggc cctacaccag gccctgtgtt aggtttccga attctgtggt    17040
atgacctctg tctgaaagac tgagaagtca gaagcaacat agctctttcc ctatttgtgt    17100
tttcttttct ctatgtgtcc ccaccaggct gtgccattca gatggcttaa atatattaac    17160
tatttaattt taatattccc cttttctagt ttttggaaac ttgtctatag gagatagggc    17220
tctttattca acagtgttcc cttttgtata ctgcgcttat cttagactgc accctgcagc    17280
tatagccaga tgccagagga ctgggaaaca ggcaatttaa aactcaggat gctgactgct    17340
gcaaatacca attgtcataa tcaccttagt ttctatgttg aaaagcaagc aaactccaca    17400
tcgtgtcact gagaaatgtt caccactgag ttcacaggtt gccccatgga tattttccag    17460
cactttgcct ttgcagacct gaatgtaagc catgtcgtca cccccgatgc cttcgtgtgt    17520
cgcaccgttt gcaccttcca tcccaactgc ctcttcttca cattctacac gaatgagtgg    17580
gagacggaat cacagaggtg agtgtcagca gcatatgctc ccttcttagc cttttccggt    17640
cctagcagag gcttgcaagg gtcttgctgg tttccctaac agcgctggag cctgtggttt    17700
aacaggatgc ttttcagacg ggtgcaggtt acttcgcaga ttagcagatt catcctcaca    17760
ctttccttct tccataaaac aaacgcgcta ttcactcaga ccacagtggc aggggcaaag    17820
ggagcaggca gcgttctcac tggcattaag gttgaggatt ggcttgggta acagctgctc    17880
atgcaatcca tcctttaatc ttgtgagaaa tccgagccct gcttaccctg atctagggtc    17940
tagtctgacc tcttcatctt tacacaacac ttcctttatg tataccctgg ggccggcaaa    18000
aggatgcgtg tggacgtaat accgcaggca gcataaatcc aaaccaacag tcctttgatg    18060
ccttctcttt ttctttttct aattagaagg tggactttaa tcctctgtcc tcttctctgg    18120
ctgtctgtac ttactaggtt ttttttttct ttttttttct ttttgccgga gggagaggtg    18180
gctccattta catttaagcc ctgtgatatt ttggagtctt gttgtctgac tgactgaaga    18240
gaatttctca gaatacaatt tacagagttg ctttaaaaag aaaggaagaa agaaagaagg    18300
```

taagtaggta ggtaggaagg aaggaaggaa agaaggaagg aaggaaggaa agaaggaagg 18360
aagggtgggt cttagtcagg gtttctattc ctgcacaaaa catcatgacc aggaagcaag 18420
ttgaggagga aaggaattat tcagcttaca catccacatc gctgttcatc accaaaggaa 18480
gtcaggactg gaactcacac agggcaggag gcaggagctg atgcagaggc catggaggga 18540
tgttacttac tggcttgctt cccctggctt gttcagcttg ctctcttata gaacccaaga 18600
ccaccagccc agggacggca ccacccacaa tgggctgggt ccttcccccc tgatcactgg 18660
ttgagaaaat gccttacagc tgggtctcat ggaggcattt cctcaaggga gtctcctttc 18720
tctgtgataa ctccagcttg tgtcaagctg acacacaaaa ccaatctgta caggaaggaa 18780
ggaaggaaag aaagaatatg tctagtgctt ctaatgctgt cttctttctc tttcttgttt 18840
atttttaata ggaatgtttg ttttcttaag acatctaaaa gtggaagacc aagtccccct 18900
attattcaag aaaatgctgt atctggatac agtctcttca cctgcagaaa agctcgccct 18960
ggtaatgtca ctcaacctcg atggcgtgtg acttgtgtcc tggtttggtt cttggttgct 19020
gtaataaata ccatgaccaa aagcaagttg gggaggagag aggtgttttg ttcacatgtc 19080
cctgttatag ccgattcctg agggaagtca ggctaggaac tcaagcagag gcaaagacag 19140
gaactgagca tagacctcag agaaatgctg ccttttgac ttgctcctgt gattgatcat 19200
atatgtgtat gtgtatgtat gtgtatgtgt gtgtttgtgt gtgtatgtgt atatgatgtg 19260
tagatgacgt atgtatatgt gtatgagttt gtgtgtgtgt ttgtgtatat gatgtgtaga 19320
tgacgtatgt atatgtgtat atgtgtacgt gtttgtgtgt gtatgtgtat atgatgtgta 19380
gatgtatgta tatgtgtatg tgtttgtatg tgtgtttgtg tgtgtatgtg tatatgtata 19440
ggttgtagat gtataagtat acgatgtata tgatgtatgc atcatgtgca tatgatgtgt 19500
gtgtgtgtgt gtgtgtgtgt gtatcagtag cccatgacca cctgcccaga gtggatactg 19560
ccccccagtt ggctgaccct cttctttcca tcattaatcc aaagaacatc ccatagacat 19620
tcctttaagt tagcctgagg gaggcaattc ttcaagggat gttccatctt ttcaggtgac 19680
tcttttatgt caagttgaca aacactaggt gtaccacatc ttgggagcct ctaagagtta 19740
atgaaatggg tctcaagtcc ctagaaacgt tgccaatatg ccttatgtcc tgacttgtca 19800
tatctccttt ggtgtttgta tgtggtgcag aaccctgcca tttcaagatt tactctggag 19860
ttgccttcga aggggaagaa ctgaacgcga ccttcgtgca gggagcagat gcgtgccaag 19920
agacttgtac aaagaccatc cgctgtcagt tttttactta ctcattgctt ccccaagact 19980
gcaaggcaga ggggtaaggg aacctttctt taacgataat cagcaaggta attttttttct 20040
agttttctct ctctgtgggt ttaattttgt actgttcatt tttttccagg tgtaaatgtt 20100
ccttaaggtt atccacggat ggctctccaa ctaggatcac ctatgaggca caggggagct 20160
ctggttattc tctgagactg tgtaaagttg tggagagctc tggtgagtga agctcacttg 20220
ttatggaact gcatggctgg cttgactgct gtgatgaatg tcttggtctt atataatggg 20280
attgtttata tggtttctgt tatggtttgt atgtgcttgg cccagggtgt ggccctgttg 20340
gagtaacttg ttggagtggg tgtgtcactg tgggtatggg ctataagacc ctcatgctag 20400
ctgcctggaa gtcagtattc tgctagcagc cttcagatga aggcaccatg catgcctgga 20460
tgccgccatg ttcccatctt ggcgataatg gactgaacct ttaaacctct aaaccagctc 20520
caattaaatg ttgtctttat aagagttgcc ttggtcatgg tgtctgttcg cacagtaaaa 20580

49

accctaacta agacagtttc cttggataaa gggagggaat gctgatctgt gtctaattct 20640
gccacacatc tcaacacttt tcagactgta cgacaaaaat aaatgcacgt attgtgggag 20700
gaacaaactc ttctttagga gagtggccat ggcaggtcag cctgcaagta aagttggttt 20760
ctcagaatca tatgtgtgga gggtccatca ttggacgcca atggatactg acggctgccc 20820
attgctttga tgggtaagtt ttcgatccat cttattttac caatgtgtgt gtgtgtgtgt 20880
gtgtgtgtgt gtgtgtgtgt gtgtgtgtgt gtgtgagcat gcacgtgtat ggacccttac 20940
ctgcacatgt gtatataaag aggttagcct caggtatctt cgtgtactgc ttgcttttct 21000
tatttgttga gacagggttg ttcactgagt ctagtgctaa ccctttgac tagactggct 21060
gcacagccag tcccagagat ctgtctgcct ctgtctcccg gcacattctt agccctagtt 21120
cagtgttggg gctctgaact tgaatgttca tgtttgagaa gcaagccctt tgcccactta 21180
gccatctcct tggccctgag gcatttgttt tgatgataat aaaagtttcc aagcctttgt 21240
ctagaaaata ttatgatttt aaatttagct tatatatctt ttacatggtc aatttaaaat 21300
tcaaaagata tgtaggtaca ttttaagcaa caaaataacc ttaattccta ctggggctta 21360
ttttaatcgt tacagctgct tgatggctct gatgtaatga aagcaattgc ttttaggtct 21420
ggtaaactga acttaattct cctaaagctt cttcaaaagg cacagaagca ttcccgtatt 21480
tttacttgta ataaatataa agcaattgtt aagtttgttt tgagtatttt caaccacagc 21540
ttttatactg tgctctgtaa tcctatatgg acacagttca gctgaatatg agcccctcaa 21600
agattttaga aacagtaaag ggatcctgaa ggaacactga ccaaaattca atcaaaataa 21660
aatgttatga caaacctgag gcattctgag aatcctctcc tgtgcatatt tcaggactcc 21720
actgggtttg taaacataca acatgcttac tgtgcactgt gcatgccacc atgctgtgta 21780
gtaccaacag atggtaccct aaagacaatc agactgaaga ttatgtaatg ttgtgaacca 21840
tggtgtctgt agtacgtgtg ccttaggttt tctgctctta caaaacataa gagtttaatt 21900
tcaaagaaca aaagcattaa aatgtgtctt gtcacagtcg cctttgggtt gtacagtgtt 21960
aaactttgat tttcaacatt gtttcataaa aactcattga atgaacttgg gtttgggtat 22020
tagagtttcc aaagctttct aaatggtcct taatctaaga ctatcatttg gtcctccata 22080
tgtatgtgaa gtggtgttct tagcattatc agttataaaa gtaaaatatt aagaaactct 22140
taaaagcatt gaggatgttc tttgtcttat agtatcaaat attcagacat attttaatta 22200
tgtatgtcga cataaataaa cacgttattc tattaagatg tgcatttgct gataagtggt 22260
aaaattatct gtgcaccaaa aattgtcttg tagtaagttt ctttataata tatcatcagt 22320
aaatgtttaa tatgtgtgcc tgcttcatgt aatcacacac aaaaacaaaa aattatcttt 22380
tcaggcaaaa gggagtctca catggacaaa gttttattat aaactaaatc ttcgaagtcc 22440
aatactgctg ctgtaaacaa caataggtgg ccttgccaga aaaagtaact aggtcatatg 22500
gaatgttttc gttcttctcc ctcctcccct tcaaagaaat gtgctaagaa aaaggagcaa 22560
ggaaggatgc caacgttact ttgttctcct gcttctctcc taggattccc tatccagacg 22620
tgtggcgtat atatggcggg attcttaatc tgtcagagat tacaaacaaa acgcctttct 22680
caagtataaa ggagcttatt attcatcaga aatacaaaat gtcagaaggc agttacgata 22740
ttgccttaat aaagcttcag acaccgttga attatactgg tatgcagcgt atttaagggg 22800

50

aaactgtaca attcacttgt attggcgtta gcttccagtt caatttgagc gagaagacag 22860
atctgcagca attgtctttg tgtcctggtt ggtggggctg agggagagat gaggctgcct 22920
gggaagtaaa aaccccacga cctaccatgc atttgctgct acttaagggg gcaaaagagc 22980
ttcattactt tctcagagtg caacggagtg tatggtattg aaacagttgg tatagggaag 23040
attttgacat ctggggacat tgggtatctt ttgacaagat tggcaggatg actcttgctt 23100
gggcttagga atatacaact atatgaacat gaatgggact agaggttagt gcctaagaag 23160
acactgggct gacagtggag gaacatgaag aatggaactg ccattggtgg cacatcactc 23220
cacagaaaca gaatgcctgc caataccatt agctgcaagt gtctgctaac agtcatgtgt 23280
ccttagacag ctcgcctttc ttccttccac ctctaatatc cactgtatgt gtgctgacta 23340
cttcattgct ttcttgcaat aattaagcaa gatattcaag taaaatacca ggacagcatg 23400
gctatgtttg ctctgcttct gaattctgtt acagtgtagg tttaccaaag cataaggatg 23460
tttaccaata cattttggtt gaagagtccc tcttccccat ggaaatttca ttctgaaatg 23520
ccattcaaac tgtgagaatt tccttgaatc atgggcttta gaaatggctg gagggccatt 23580
ctttatactc tttagtttca gcaatggttt cattatatct catacatggg catggtatgt 23640
tttgattgca tgcacccccc tcaccctctc ttgcccttcc cactcctgtt gttcgcccta 23700
ctcctcccgt gtagtcccac atggctcatt cttgctctgt tgctttgtag aaaaagaata 23760
aggcaaaaga tagatattaa tttttcagat ccctatctat ggttttaatt agcctaaatc 23820
tattcatgaa attttctttc agaattccaa aaaccaatat gcctgccttc caaagctgac 23880
acaaatacaa tttataccaa ctgctgggtg actggatggg gctacacaaa ggaacgaggt 23940
aagcctggca tgtggaatgt tcctctctta tgtgctaagg tacatggagt agagccactc 24000
aacaacccgt agtcatgatc cttctgtaga tccattcaac agcccttact catggccttt 24060
ctgttcattc caaaatgatc ccaagaatat gacttttttg cattaaaaac tgatgagcta 24120
atccattaaa catattactc ataatagaga tcattttcat gactctgcat caagaactgt 24180
aaccctatgg tgctcttaag tccactgaag ctcatctgat ccccagttct cacagcatcc 24240
ctgtttacta tgctctccct tgctatgaat agccaaagtg ccagcatctc tttaaggaca 24300
gtgccatata tatatatata ttatagtata gtagtgccaa atatatatat ttgtagtata 24360
ataaatctaa ctttccctct aattatgctg ttaacttctt gtgtaaaata catagattca 24420
taaagacaag tagattgcag cacaattgcc attattttta gcagaatttc acacagggat 24480
aaacatacat ctgtattaat gtaatcctta gcaagttgtt tgaatatcta ccataatgtt 24540
taaataacta tgcacaagaa caatatcttc ctttctgttg taactacaat tcaaagaatc 24600
cgtgactctt acacagcagt gctggtgaca atatcacact tccgtatttg ttatctgcat 24660
ttgaaacaga gggtggggtt cagccttact tggaagggag agactgtaga ggccagtttt 24720
tctccttccc ttcctcggag tttatggata gatcagttgt atgcgtggct ctcaaatcaa 24780
gggatctgtg tgttaagact tgagacattt ctctagaaat aagcatgttt tccttttaga 24840
ctgagtgcca gatagcatgt ttgagtgatt tttttaaaaa aagagatgat tggctgtgtc 24900
ttctttatat tttctgaacc agttagtact gtattcaatt aatcctcatt ttcactatgt 24960
tgacttggct acaaatacgt ggacacacac atatacatgt gtgcacatgc acacacatac 25020
acacacatac atatacacac atacatacat acaaccaaga aatatagaaa tgggtgtaga 25080

51

acaaaatact tctctgctgt taaatgtttg ggatttattt tcataaattg tatatttgtg 25140
ttataatttg aatttataaa acaatgaaag gcaagagcat ccacgtatta aaggtacaaa 25200
tgtttaaaac aacatatttt tctgaggaga gccttggttg atacaggagg atggctgaga 25260
tcatagaaac caagtctgtg gtagcttggg tgatagggga gcttcagtca acacagatca 25320
ttgcttcttc atctccatct ccctcccctg ctctccctcc acttcttgct tcctttctcc 25380
ctccctcttt ctcccctact tattgtattt cctctcttta atgctacttc ctgattgctt 25440
cataggtgag acccaaaata ttctacaaaa ggcaactatt cccttggtac caaatgaaga 25500
atgccagaaa aaatatagag attatgttat aaccaagcag atgatctgtg ctggctacaa 25560
agaaggtgga atagatgctt gtaaggtaac tctgggaaaa atacgtaata gttcactgga 25620
gactgctcat ccaaaagcaa atttcccaag ttacatttca ttagtttcag ttttgaagtt 25680
gcagagttaa gtgacatgga gacttttttt tttttaaaga tttatttta tttatgtgag 25740
tgtacactgt cactgttttc accagaagag ggcatcggat tccattacag atggttgtga 25800
gccaccatgt ggttgctggg aattgaactc agaacctctg gaagagcagt cagtgctctt 25860
agctgctgag ccatctctct agccccagac ctggagactt tttaaacagc ctttaacaaa 25920
ctaaacacac acaatgcaca tcatgtgttc cttataatag ttacgttaga atttgtattg 25980
actgtgacgg gtgtgtcaca gtcagtacag ggacatgcca tatttaagga caattttaca 26040
tacatggtca tgctaaaata caaggaaaca gatttatttg aactttgggt aaagatgcta 26100
aaattgttgg gtttatctga gaacgggaga gggaataaat tggccttgta accatccact 26160
tactttcttc atggctaatg gggtgcagag aaattgagaa gttgcatgtg tgatatgtaa 26220
aatatgatag caaaatgtta aagacatcta tctttgaaca aggggctcct aatttgaatc 26280
atcactgtta tagctctcta tcatttttt tctactcact gtgatccagg gagattccgg 26340
tggcccctta gtttgcaaac atagtggaag gtggcagttg gtgggtatca ccagctgggg 26400
cgaaggctgt gcccgcaagg agcaaccagg agtctacacc aaagttgctg agtacattga 26460
ctggatattg gagaagatac agagcagcaa ggaaagagct ctggagacat ctccagcatg 26520
aggaggctgg gtactgatgg ggaagagccc agctggcacc agctttacca cctgccctca 26580
agtcctacta gagctccaga gttctcttct gcaaaatgtc gatagtggtg tctacctcgc 26640
atccttacca taggattaaa agtccaaatg tagacacagt tgctaaagac agcgccatgc 26700
tcaagcgtgc ttcctgcctt gagcaacagg aacgccaatg agaactatcc aaagattacc 26760
aagcctgttt ggaaataaaa tggtcaaagg atttttatta ggtagtgaaa ttaggtagtt 26820
gtccttggaa ccattctcat gtaactgttg actctggacc tcagcagatc acagttacct 26880
tctgtccact tctgacattt gtgtactgga acctgatgct gttcttccac ttggagcaaa 26940
gaactgagaa acctggttct atccattggg aaaaagagat ctttgtaaca tttcctttac 27000
aataaaaaga tgttctactt ggacttgatg ggacagagca ccttttcata taaaccacct 27060
ttctggccat tgctgctgag tcctgcatgg tcatgagtaa ggagctcgtg acagggtttc 27120
ccacccctgg agcaaaacca gctagatgtt aggcttgttt gtataaattt caagttcctc 27180
ctttgggaag tattctctct gcctagatta ttgggggaat atcctctctg tcagggcagc 27240
ccttaagatt gtgggaaaca tgagaatata taatttctct acaatgcaaa atataaggat 27300

acagtctgaa ttatataagg agatccatgg acctaagaga acagaggcag ctacactatg 27360
agccagcttg tcagaaagat actactgaag gagttaaaga gataaagaga tttggggaat 27420
agctatcaca gggcaagatc ccacccagct aagtttatta tttgtgttta caaagacagc 27480
cagattcctg agttcaaggt catcctggga cagagctggt ttaggcccag ggtaatgggg 27540
gtcccactca gctagcttat tgtctatgct tttaaatgca ggcagatttc tgaattcatt 27600
tgccatgtta aaaaaaatgt acctgatgtc ttttcctaag atatacgggt ctagagtcat 27660
ggaatgctga ttcatgggtt aatcaaaagg gaacctagag taaacgcctg tactgataga 27720
tacataaaag tctgggcttt ggtctacaaa tgttgagcta tgtggatgag ctgtgtagag 27780
ctaaagattg aacagtggtc tctaattatt tttttagatt atttttttct agcagctacc 27840
cagagagaac ggcttagaga gtaaatattg ctattttaga ttttttttttc tagaaaatcc 27900
aagaattttt atagcagctt ttctgacact ggtcagaaaa cccatgagct atccagaaag 27960
cttttagatt ttttttttttc aagagagaac tgtctcaagt agagacagct ctctcaatca 28020
gagagagctg cctggagcag aaagctatct cgatcagact acagagccaa gagctattta 28080
caaagagctg tctagggagc cattttaagc aggctataag gctgtcagct tgcaccccat 28140
catttgactt tgagttgttt ctttcaccac tctcaaacac cccttctctc aggaactcct 28200
ctccaagcca agactggttc ttggcacatt gccacatggt cttggctacg tatgcatgta 28260
agacctgtag ggctatattt ttcttcttgt gtgcagctcc aacaataggc ttatcacaca 28320
gtactcatac agggcacgga atctgatgag aatctccccc agggaaccct ttggagttcg 28380
gttgatactg tattctgcaa tagtaattca tggaatgtca ttggatgtaa agtgttgtat 28440
aaaattcagg cttgtagttg agttgaaagt aaaaagcaat cttggaaggg atgacagtaa 28500
tcctcatgta agacaaattt ccagcttccc agtgattcat aaagtggacc atatgggctt 28560
aactccattt agttaagctg attaatattt agaattagcc atttacaaac tattgtgcaa 28620
gttaaataga caaacagaaa agtgaaattt cctaaagaag attaaacctt tcactgcaaa 28680
ggtttgttga gtagtgcaga ggattaaata tggaaaagcc agtgggttat ccacagaatt 28740
tgccacggga agtggaggag gtggttatta tctgaggagc aaataaatgg cttttgtaaa 28800
atctgtctgg attcccatga aatcactccc ctttaaagca caccacttca acttttaatt 28860
ttgtatacaa tttcatctta atctgttctg tgtggaagtt attttatatt taaaatgaaa 28920
gaagtggttc tcaatgaaaa tcacgtatct caggatttca tactgataac cctaacaggt 28980
gttcacacaa ggtgtcagag tgctggctgg gtagaccttg ggctttggtt tctcaaggaa 29040
tggcctcatt tgatctaaac agttttgaaa tgtttaattt ccctggggca taaagtaaca 29100
ttataacatt gccagtggga gtccagttag attggaaggc tctgtttatt ttttgttgtg 29160
tgttccagca caaagtagcc tgtcttccac ttggggcctt atggggctag tgagaaagtg 29220
agaggcttga ataacatcac tgtcacaagg cagagaggag gcaggaggcc ctagatcttt 29280
ggcaggtcca tccaaaaaag ggagtgttat ctctgggaaa gaacacggtt cttcctgggt 29340
cacacatgca gaacacactg catactgttc acatgtgtgg agttcaaccc aaagctcaga 29400
gggctgtctc tcatcgttga cttttcttct tgtaattctt gcttatgcct gccagcccta 29460
tagattgtca gtaactagga aggaggttct ccctgactct gtctctctct ttcatcaata 29520
ctacatgtga atgagcatgt ggcacatgtc tccctttaga tttaccttta ttatctttgt 29580

53

tgatgtgttg tttaattgta tgtcacgtgg ttgctagtgc ctgacaccaa ctgatcaaag 29640

cgtaacttct gagcaactgc cttctaccag agtaaaatag agtagtcctt catgtcaaga 29700

tctcttcaaa gtcatacaca ggcacacaca catggacaca catgcaggaa agcatggaca 29760

cacatacaca tacacatgca tacacacgtg ttgtagttac cattattttg agtgtttact 29820

ataccccctt tttgccttta actatttatt aggtatttct accctacttt agataattta 29880

gttcccaaat aaaagacaca ggaatctttg gatttagaat aaactttaga gcactgggca 29940

gatatcaacc ctctatgcta tcttgtctgt ttccctatca aattgctgga gatactactt 30000

<210> 16

<400> 16
000

<210> 17
<211> 2353
<212> ДНК
<213> Macaca mulatta

<400> 17
ggaagccgtt cactagtcag attgaccaga gattatgggt gggctgtctg ttggggtcta 60

tgcacaggat ttctgttgga gttctaagga caaaaagttg aaactgttgg cagaaaccca 120

aagtcaatat cgaagccaag gaaaacattg cctgcggtgc cacattagaa cagcttgaag 180

accgttcatt tttaagtgac aagagactca cctccaagaa gcaattgtgt ttgcagaatg 240

attttattca agcaagcaac ttatttcatt tccttgtttg ctacagtttc ctgtggatgt 300

ctgactcaac tatatgaaaa cgccttcttc agaggtgggg atgtagcttc catgtacacc 360

ccgaacgccc agcactgcca gatgatgtgc acattccacc caaggtgttt gctattcagt 420

tttcttccag caagttccat caatgacatg gagaaaaggt ttggctgctt cttgaaagat 480

agtgttacag gaaccttgcc aaaagtacgt cgagcaggtg caatttctgg acattcctta 540

aagcagtgtg gtcatcaaat aagtgcttgc caccgagaca tttataaagg aattgatatg 600

agaggagtca attttaatgt atctaaggtt agcagtgttg aagaatgcca aaaaaggtgc 660

accaataaca ttcgctgcca attttttttca tatgccacac aaacatttca caatgcagag 720

taccggaaca cttgcctctt aaagcacagt cccggaggaa cgcctaccac tataaaggtg 780

ctgaataacg tggaatctgg attctcactg aagccctgtg ccctttcaga aattggttgt 840

cacatgaaca tcttccagca tcttgccttc tcggatgtgg atgttgccag agttctcgcc 900

ccagatgctt ttgtgtgtcg aaccatctgc acctatcatc ccagctgcct cttctttacg 960

ttctatacga atgcatggaa gatcgagtca caaaggcgag tatgcatggc tagcacttgc 1020

tgctgtactt tcatcaattt tattttagaa actttacctg aaccctgcca ttctaaaatt 1080

tacccgggag ttgactttgg aggagaagaa ttgaatgtga ctttcgttaa aggagtgaat 1140

gtttgccaag agacttgtac aaagatgatt cgctgtcagt ttttcactta ctctttactc 1200

ccagaagact gtaaggagga gaagtgtaag tgtttcttaa gattatcttc ggatggttct 1260

ccaactagga ttacatatgg gacacaaggg agctctggtt actctttgag attgtgtaac 1320

actggggaca gctctgtctg cacaacaaaa acaagctcac gcattgttgg aggaacaaac 1380

tcttcttggg gagagtggcc ctggcaagtg agcctgcagg tgaagctgat ggctcagagg 1440

cacctgtgtg gagggtcact cataggacac cagtgggtcc tcactgctgc ccactgcttt 1500

gatgggcttc ccttaccgga tgtttggcgc atttatagtg gcattttaaa tctgtcagac 1560

attacaaaag aaacaccttt ctcacaaata aaagagatca ttattcacca aaactataga 1620

atctcagaag ggaatcatga tatcgcctta ataaaactcc aggctccttt gaattacact 1680

gaattccaaa aaccaatatg cctaccttcc aaaggtgaca caaacacaat ttataccaac 1740

tgttgggtaa ctggatgggg cttctcgaag gaaaaaggtg aaatccaaga tattctacaa 1800

aaggtaaata ttcctttggt aacaaatgaa gaatgccaga aaagatatca agattataaa 1860

ataacccaac ggatggtctg tgctggctat aaagaagggg gaaaagatgc ttgtaaggga 1920

gattcagggg gtcccttagc ttgcaaacac aatggaatgt ggcgtttggt gggcatcacc 1980

agctggggcg aaggctgtgc ccgcagggag caacctggtg tctacaccaa agtcgctgag 2040

tacatggact ggattttaga gaaaacacag agcagtgatg gaaacgctcg gatgcaggcg 2100

ccagcatgag gagcagccca gagtcttggc gagttttaca acctgggttc aagtcaaatt 2160

ctgagcctgg gggtcctcat ctgcaaagca tggagagtgg catctacttt gcatcctgtc 2220

ataaggacaa aagacagtgc actcagagct gctgaggaca atgttttgct gaagccagct 2280

ttcagcattc agtaactggg agctgataat gtgaagtcgc aaccgagatc tccatgattg 2340

tgtgtcgtaa aat 2353

<210> 18
<211> 33001
<212> ДНК
<213> Macaca mulatta

<220>
<221> misc_feature
<222> (17364)..(18312)
<223> n представляет собой a, c, g или t

<220>
<221> misc_feature
<222> (23228)..(23609)
<223> n представляет собой a, c, g или t

<400> 18
actgttggaa agacatcatt ggttttgaaa tctgaaaagg acgtgagatt tgggaaaggc 60

caggggaaga atgatatagt ttggctccat gtccccaccc aaacctcatc ttgaattgta 120

atccctgcat gttgaaggag gggcctggtg ggaggtgata ggatcattgg ggtggtttcc 180

cctgtgctgt gttctcatga tagtgaggga tttaaaagta gctgtttccc ctgcacatgc 240

acactctgtc tctcctatca ccttgtgaag aaggtgtctg cttcccctct gccttccatc 300

atgattataa gtttcctgag gcctccccag ccatgggtaa ccgtgggtca gttcaacctc 360

ttttgtttat aaattgccca gtctcaggta gtatctttac agcaatgtga aactgaacta 420

atacatctgg gaaattcttt ttctctcctt cctttctgaa ggacagcttt gcctgatatt 480

atattcctgg ttgccaggtt ttgtactttc agtactttga atatatcatc ccattctctc 540

agcctacatg atttctgctg agaaatccac tgataatctt atgaagcttc ccttgtatgt 600

gaagaattgc ttttctcttg cttctttgaa aattctctct ttgtcatggt gaggatctct 660

ttatatttaa tctattggag ttcttttggg cttcataaat ctggatgttt atttcattta 720

tgtctccaaa ttttgagagt tttctgttct tatttttaaa aataagtttc tgcaactttc 780

tctttctctg cttcttctgg aactcttgtc atgcatatta gttttcttaa cagtgtcctg 840
taatttttgt cagctttctg caatctttat cattcctttt attactctga ctgggtaatt 900
tcaaatgacc tgtatctgag tgtgctgatc ctttctcctg cttgatcaag tctgctgctg 960
aagatgtttg tgaatttttt caattcagtc attgtgttct tcagttcgag aatttctgtt 1020
tggttctttt tatggttcct atctatcttt ttgttgaact tctaattttg ctcatgtatt 1080
attttcctga ttttgtttac tgtctatcta tattgttttg tagctcactg agctttctta 1140
agataattat ttttaactct ttgtcatgca gtatagatct ccatttcttt agagtcgcct 1200
cctgctgctt tattttcttc ctttggtggt ttcttgtttc cctgattatt tgtgatcagt 1260
gtggccttgc attgaagtag gtacctattt cagtctttac atactagctt cagtagagga 1320
agccgttcac tagtcagatt gaccagagat tatgggtggg ctgtctgttg gggtctatgc 1380
acaggatttc tgttggagtt ctaaggtagg cagggctgga ttctgggttc attcattgtg 1440
gttgtctgta ttctgtgcac aaggactggc ttgaagcatg gatccttgag ggctgacttg 1500
gcactgaaat gagccttaag cctgagtctg caggggccag cctaacatgg ggatcaccta 1560
gcacctgagt tcatggggac agacctgttc ctgagtttat tcaggctgtc ctgggaccag 1620
ggtccactgg ggtgagccca gcatctgggt ccacatggcc aagatctctg gaggctgacc 1680
tggtgctgga tctgcagggg atggcctgaa ttctaggccc atgggtacca acttggagcc 1740
ttgggctgct ggggctaatg tggaggctag agtcttgggg gccaggctag agctggggca 1800
ggtctgaagt ctaggtcttc tgtggccacc ttggagtcta gacccccagg ggctgacctg 1860
gtctggggtg agcatggggc tgaggccaca gaggccagtc tggcctgtgg caggcctgaa 1920
tcctggtgcc ggggtttact ggagtgggct tggtgcttgg ggtctgtggt gaaggtgggt 1980
gctatcttaa ctgtctctct tccacgcaag agggtatctc tctccatgct gtgctgccca 2040
ggcttgaagg tggggtgaca ctggtaatgt gaaattgtcc ttcctatgca cttcaatgtg 2100
tcttttctta cttctgtgct gcaactgggt ggtacaacct ctcacctgat tcctgagctc 2160
tagtgaagtt attttcgtgc atggatactt attcaaattg atgtttctgc aagggatgag 2220
cactagaaac tcctgttctg acaaactcct attccggttc ttgctgacat cactccctga 2280
aatagttaat atacttaaca gctgaacacg gataggatgt tcacggaata tgttgacagg 2340
acaaaaagtt gaaactgttg gcagaaaccc aaagtcaata tcgaagccaa ggaaaacatt 2400
gcctgcggtg ccacattaga acagcttgaa gaccgttcat ttttaagtga caagagactc 2460
acctccaaga agcaattgtg tttgcaggta gcaaatttct attattctga ttgtttccaa 2520
agaaactata atttttaaag tatagttttt tactttatga gaaaattagt catttatatt 2580
ctaatttcct gagtatatag atagtagaga aggaactaat attcctttat gtagaaatat 2640
ttaaatgtaa gatgacttta aatcaaaaag aatacttgat tgatttaaaa tttttaattg 2700
ggctttaata ttttcagagg ttttctttac ttagggattt ttggactgac attattgcca 2760
ttatttatta attttctttt tgctcaaatc aagaggtttc ataactgttt aatctctctc 2820
tctaccaatt ccctttccaa cattactagc cacagagttt gccaatcaac aataaacaca 2880
acagtagtct ggaggtctca atttgtatct tgggaagcat tataaacttt ccaactccct 2940
agacacaaat gtagagaaaa aacccccttgt tttctatacc agaaactgtg tgctttgtct 3000

tgtaattcag acatttacaa gaaaatctgt atcaccttaa attaagattt atgttaaatg 3060
cagtctaaaa ccaacagagt tatgtattgt tttctttttt agaatgattt tattcaagca 3120
agcaacttat ttcatttcct tgtttgctac agtttcctgt ggtaagtgaa ttatctataa 3180
agcatgaaat tcaggctaag acaggagtag ccaagcaagt cgcaccacct ctggagaaag 3240
ctattgaaca tacagcttcg gggatggaga tagtccctga tgattcagga cacgtgtcta 3300
tttaatgttc cagaacaagt acgacttgtg agatatattg ctgtatacat acattgcaga 3360
ccagaggaag gagctcagaa gcgggaatgt cttgggactt gtgttaataa aaacttctgt 3420
tcacagatga cactctgcaa aacaaaactc aaaacaaaaa aattactcct ctatttttat 3480
caacattaaa aaattaaaca ttatctgaaa tttcaaaaga gtgctgggca ttatatagtg 3540
tctgggtcca atccaagtat ctgttaggta catgatacat agttttactc tggacagcca 3600
gggaaccatt tcaaaaatga aagtacctgg tttaaattta acttagcaaa ccaggcattt 3660
ggatagttct aggtgaataa ctttcaacac tagatttcga tctcatttct ctattaatat 3720
cattaatttt tggagaataa aaatgattct ggacatttca ttaatcgcta tagagggagt 3780
tttctctgtg tccccacaag gcatgattct gagtctatgg tgacttaaga gggccacata 3840
acaatgagta tttaactttc ctctcgtatg gctacaataa acgtctacag ggaaggttta 3900
cattcataaa gagactactt ttccaggaaa aaaggctttg attcccccta aatcacaact 3960
cccctgtgtc tgtccctcaa ccctgattgc ttttctaaac cgtaatttac caacccatgt 4020
gcaaacccac tgaaaactga aaaggagcat gagccaggga tactgtgaac cacggccacc 4080
tccaggtggt ttctcatttt ctgtttttt cttctggcaa aataaatcat gattatggct 4140
aggaaaatta aggatgtaaa taagcaaaaa actataaact acatattgca tgtagtcccc 4200
aaattcagaa gcagtcgttg ttaaacatct tttgtttagt ctttcagata tttttctaca 4260
tatgcctatt tgcacatttt acaaaaaaga gttattaact atggatactc tttgacttgc 4320
attttccact tacagctacc ttttggtgca aataaatgac atttttgga gcttgctatt 4380
ctctttttat ggtatgtttg tgtgcacatt cttatgcact tagttatttc tgtagaatac 4440
atttttgaa ataaaaatac tagattcaaa ggtatgaata ttttagaagg ttttatggtg 4500
tggcatcatg aaattatctt tcagaaaagt tactccctag ttgacttctt ctaccagcta 4560
ataagagtcc ttatttaccc cacttaggcc aacactaaca ggcttctgtt gctttgcatc 4620
ccgacatgtt tatctttctg gaaacagtat cctaatttat ttctgcagag ctactgcctc 4680
tcagttttgg tccatgtggt tctggtgacc ctgactcttc tgctgaacca ggaagtgcac 4740
acatcctgct gactgcagtg acccaatcag agccaacatc ttgcaatgaa gcgtttgttt 4800
agacgtctag aaataggact cttacttttt tttttccaat ttaacttgaa acataagaga 4860
atacagaggc ctgagctgct ggtcctattt tgctactatg tggagcttga gagtaatggt 4920
aacaccatga ctggagcaag cggaaggaga ctattgtcca ctgatgctat ccgttgagca 4980
caatgtgggg ttactcctta agccagagtc accatgggct ttttggctcc tgaaccaata 5040
gatttcattt gtattcaagc cactttgtac taggttttcc atcatttgca atcaaaacca 5100
gtatacaaat actggttatt taatttttca tttttactaa tctcatggaa aactggcttc 5160
tagttgtttt aacttgcctg tatttgtgat tcttcccatt ttcgtgtact tactaatcac 5220
ttctatttct tttgtaaatt atcttttcat atttgtccac taattcttta aaattagagt 5280

57

```
acttttcttc tccttattgt ttatgtaatt gttaaacaag actgaataac ctgcccaaaa  5340
tccgtggaca tgggagccca tgtgaaagct ttgaaagcca ccatcattat gagataaact  5400
atataacagt actttacata tgctccaaaa tacagtacag acacggctat cattgtcatg  5460
atcatgatca tcattatcag catgatcacc aacttaggag gataagcaag aacacctact  5520
agaagtttct ttccattcag caacaaagtt ggcgtttttc tagtcactcc cttccctgac  5580
tgagtcacat ggcaggtcac agaggctcaa tggcagaatg ggaagctctg ggccagcacc  5640
agccattgtg tgcatccttg cgtgtgaacc taggtgctgg aagaggagtg actgcttgat  5700
aattatgagt cagtcaaaac caccaactgt ctgacaaaac agacctcttt gtaacctgta  5760
ttgtcactaa accaatgcct ccatgctttg tgcatacatg aaatctaggc aatacacttg  5820
tattccccaa agcttccatt tgaagagatc tgtgctcttc ccaaatgtaa accttacccg  5880
agaggtggtc atctggccgc acctctgaga gggatagaag tcttgctgtg ttgggtggtc  5940
agactggggc tcagggccag aattcccagg gggtaggatt gtgcagagaa gatggcactc  6000
tccagtgctt aataaaatgc acgtggtcta agttgcccat tccctcaaag gcaataaaaa  6060
aataggtact atttaaattg aagagtaact actgccccag cgaatggaca ggttgtcatc  6120
ggaatagcca tggttaatgc cccagcgaat ggacaggttg tcatcggaat agccatggtt  6180
aatgccccag cgaatggaca ggttatcatc ggagtagcca tggttaatgg tcagttgact  6240
gactgaaatg aatatgctgg ctgaccagga aagctcatta agcagacttg gaagagagtc  6300
tttccaggta aatccacatt tacaaattaa agcagtaatg acacctaatt ctctaataat  6360
aggtggggtg cagtgtattt tagagctggg aataattcca aacagcaaat agttcaaaat  6420
ttattttcca tttagcatat gcatgcattt gcttaaacta tcttaaaaat gagtaaaaaa  6480
tattgtcagt ttgcttgaat catactgaga tgcggaacaa tatttagcac tgcatgctag  6540
aaaaggacac aggattggga gtcagggctg ggtgactgtc gcaggatttt cattaagtgt  6600
gtggatcttg ggcaagtctg tatgccctga gattcagtta tttaactttc tttcaaaaaa  6660
cctaatccag atgcagataa caaaacctgc ttctaacttc ccttacagaa ttgtgagaag  6720
ctggtggaga tgtttgtaac caaagtgttt tgaaaataga gcaaatatta ttctttttaa  6780
ggcatgatat tttcatagca tgtcaggcaa cagggaaaaa ctaagttagg attttatttt  6840
attgtgggta atttatgtgc aaattttggt gcaatttaat gaaaataagc caaagtttta  6900
atgcagaagt gcccagaaaa ttaaataaca atctacattg ttcaaatggt tgccttaata  6960
tattttattt tctcagcata attagaatta tattatacag gtcttggagt agtcagtcag  7020
tgggagaagt taagacaaca gatatctttt tgttaaaatt attatttgaa ttatctcaaa  7080
ttaactttta tggttctatc acaggatgtc tgactcaact atatgaaaac gccttcttca  7140
gaggtgggga tgtagcttcc atgtacaccc cgaacgccca gcactgccag atgatgtgca  7200
cattccaccc aaggtgtttg ctattcagtt ttcttccagc aagttccatc aatgacatgg  7260
agaaaaggta aaagttgata tttcattatt ggagaagcca tttttctaaa ctgaatcggt  7320
tttgtgcaaa gaggtgtagt ataactgaga gttctgtctc agacggggct caaggaccag  7380
cttcagcaaa atcccttcaa gtggttctta ccaatgcaga ttcctcggca acaacccaga  7440
tttgctgaac caaagtttct tgggactaga aattgcattt taaacaatca ctgtgtttat  7500
```

ttaaagtagt agaagttagt cattttctat tcaaagcctc aaaatgcttg aacatcgttg 7560
ggctaagaga ttgtctccag aaagcatcta acaggcgaac atttcatctg aataaagaaa 7620
cagacttaac tgtgtgaccc gtgatcacat tagtggctag cacagtccga aggaaataac 7680
gtaagacaag cattttgcgg agaatataat tgagaaacat ctagaacttg tgattttggg 7740
acagggcaga tctgaatgac gcctaaagtg agccagtttg ggcacctatg gcatgatgct 7800
atgtatggta tgtgtgtgtt catgtgtgct tgtgcttgtg tgaatatgta ttattaactg 7860
gagatttgta aaagtattgg aaaaatacta cttatgattt ttttttttt tgagatggag 7920
tcttgctttg taacccaggc tggagtgcag tggcacgatc ttggctcact gcaacttccg 7980
cctcccaggt tcaagcgatt ctcctgcctt agcctcccaa gtagctggga ttacaggcac 8040
gcaccactac atctggctaa tttttgtatt tttagtagag acggggtttc accatattgg 8100
ccaggctggc cttgaactcc tgaccttgtg atccacctgc ctctgcctcc taaagtgctg 8160
ggattacagg cgtgagccac cgcacccggc tgtaattaca atttttatta catcagagag 8220
atgcttatta atcacaagct acagtttcat cttaatgatt ttcattttga ataagaataa 8280
gcttttcttt gttcttccca tttccatatt cataactctt ttctcatctt ctccacgtga 8340
gtttgtgaac tagaaattgg atagtcattc tctgatccta catgttaaac ttgtagagaa 8400
aacccagatt gtatgtgagg atcatcatct taaaagtgga ggtaggttct agaattctta 8460
taaataatga aattaacatg gaggctgaca tttgagacag agggaagtct ttcattaagt 8520
gcagactaca aggagttaat aagcaagatg aacacacaat atacagatcc agctcttatc 8580
actaagttaa ttttttaagt aaatgaaagt atttgcaaaa ataattacca attaaggaca 8640
tagttgcctg aaggtttaag aatacaggaa aagtcattaa ctcttcaatg tggttgactt 8700
cctgtactta aaaaatgtga gtgtaaagaa aacgcaatgc tgaagttaaa tattatgggg 8760
atgttataaa attacctcta agagtgttct ttccagcaag ttttggggaa gctatattat 8820
ttcccttatt cctggtttta tgttagtgta tagaaaatgc tagacatttc ctcaatgtat 8880
gtttgttgtt ctacttccta aataaagcta cttttaaaac aggtttggct gcttcttgaa 8940
agatagtgtt acaggaacct tgccaaaagt acgtcgagca ggtgcaattt ctggacattc 9000
cttaaagcag tgtggtcatc aaataagtgg taagctgcga atttcttagc tacatttgag 9060
ttaatattga atctacctta gaacagcttt tgctaaaagt ctgtactgct acagcctttg 9120
ggaaggaatc actcataaag atagaagatg gggcagtatt ctggacacaa aagagggacc 9180
catattcatc tggacacttc tgttgtcttt atcaatcgac acgtatttaa tgagcctcta 9240
ttatttatga ggttagcact caagtgtaag atttgcagaa aatgaatcca aataatcgtg 9300
tctccttgtt tccagataag aatttttaag aaaacacgag ggaacatctc tctcaggttc 9360
acgtgagggt aatttttata tcagtgattc tcaactggca gtgatttttg tctcttccat 9420
taggggacat ttgacaatgt ctggagacac ttttggttgc tatgactagg gagggcgtta 9480
ttagcattta ctaagtagag gccagaatgc ctctctcatt tactaagaag aggccagaac 9540
gttcgaatgc tgctgcccaa ccttctacaa ggcacagagc agtcctccac agcaaataat 9600
cttctggccc aaaatgtcaa cagtgctgac atcaagaaac tctgatatac cattaggccc 9660
aaactgaaga actgggttct gcaaatcttg ctaagaataa tacttcttaa aggaaacttg 9720
aggactagga tgctagagaa ctttgatttt acatctgaag ctactgatgt cttgggaaat 9780

59

aatttccaac actatcctaa taaatttaag acaaatgaac tatttctcaa acatgactgg 9840
gactgatcag aaagtgagaa gtgctgaaaa gattcaactg atgggttgtc ggaatcttaa 9900
aatagctgtg ctgtgattct atgtgtgact atacatcata actattttat ttgtattatg 9960
cacaattaat tttgtaggtt caaatttcag atgtttttaa atttgtcatc ctttcctccc 10020
tcattgatat cacccccttcg atacatacac actttgagcc tgctgtttgc atgttaacca 10080
gttatcaaag gatggcaaag cgttcgttat gaatatgggc ctgacttagc cagtgtaata 10140
agtgtagtct acctgaggtg gggtacattt cctgttttat aagaccaatg tgtatgttca 10200
tctaatttgg tataaagtat tcaaggaagt gctgtttcca attgttgtat cttatagcaa 10260
aatttaaaga aaaagtaaca ttgtgccttc cccaatattc ctgttattgt taatgtattc 10320
taaaactcag tgttactcac ttagcttgct tttaatgttt ttttctaact tcatcatctt 10380
aaagtgaaaa attgttccca agtacataaa atctctactt tcaggaacaa ttctagtcga 10440
aagcatttag agctttcaca tgaacactta caaagttgtt atttgtgaga gtcccatccc 10500
aactcttagc ctactctttt ctcacacgca gaaaaattgg aaagagattt catttcgacc 10560
gtctgcaaat tcctgtgttt aagaaccact gtgaataatc cacctcccta cccaattccc 10620
aattcgacat gcagttttcc tgacagtttg tatgttttct gtctttccca cccttaaatt 10680
tagttttatg acttcaacca cacttcttag gagtggaaag ttacctgtaa tagattatgg 10740
tttattccac ataatcttgg ggaataaaac tttaaaaaag tttatggttt agacttctgg 10800
tttacattac ttccttaacc aaaagtctaa ctaagaaatt tgaatattta aaaaaaaaaa 10860
gagcctaatt ttgcttcctt gtctgtgaaa agaattatct atatcttttg catgtaagac 10920
aaatctcagt gaaaagggtg cttaaataga agttaacact attttaaagc aagaatggaa 10980
gtggcttcat catgcataaa caacaactct ccacattttg taacgattga tccagatgca 11040
atttgtagtc agacaggaga agttgaaagc agagaaagaa cactgggaga tagagaagct 11100
ccttcattca atgcaaaagg tcaaaggcac atcagtttct ttaataatgc aaacctcagc 11160
acacatgatc agtgtcctca ttattattgc cttgtttatt tcccactgct cactgttaat 11220
ttcaacgtga aatttacctg tattgctgca tgcatcttgc agtttaagaa gcgaagtaac 11280
ccaatttcca agctagtgct ttcaggaaaa tactggattg tatttacttc gagcagagtt 11340
tgataattta tggacatcat aaaaatttta aatcccttaa ttaatatagc aattgccaaa 11400
actgggctgt tatccttcta aactaccggc ccaaatggta gtgggatcct tctaaactac 11460
cagcccaaat ggtagtgggt atctaatcta cctctagaaa gaaaatggac tgtgtttgct 11520
ctatttcctt tttcttgtac agcttgccac cgagacattt ataaaggaat tgatatgaga 11580
ggagtcaatt ttaatgtatc taaggttagc agtgttgaag aatgccaaaa aaggtgcacc 11640
aataacattc gctgccaatt tttttcatat gccacacaaa catttcacaa tgcagagtac 11700
cggtgagtac aattcatggt gtttgttctt tatattagtg cccccaggat ttcactgtat 11760
tcttcacaac ctcttttgtt cccaaactaa aaaccaaaca gggcttttac tcctaaccac 11820
tttccttatt tacttactct attttatatt tttatcttct ttttttttt ttttttgaga 11880
tggagtctcg cgtgttgccc aggctggagt gcagtggctc aatctcggct cactgcaacc 11940
tgtgcttcct ggcttcaagc aatcctcctt cctcagcctc ccatgtagct aggactacag 12000

60

gcgcccacca ccacacctag ctaattttta tgtttttact agagacgggg ttttaccatg 12060
ttgctcaggc tggtctggaa ctcctgatct cgtgatccac ccacctgggc ctcccaaagc 12120
gctgggatta caggcatgag ccactgctcc cggcccttca ttttaaagtt aaataattca 12180
tttaatttca tttgtttctc tactcttttc ctctggcagg taattgtacc ccatcttcaa 12240
agcctggcat cctcttccac cacttctcca aaggctgatt ctttcaggtc tttcctcaga 12300
taccgtcccc tccaaagggc catttctgag cattctcttt taagccacat tcagctctgt 12360
ttatttcatt cgtagagcta atcacaattt gattttaact tgtgaatttc tttccttatt 12420
tttaaatctc gtttttgttt gcatagatgt atggggtaca agtgtaattt tgttaccttg 12480
gtgtattgta cagtggtaaa gtctgggctt ttggtatatc catcactgga gtcacgtaca 12540
ttgtacccac taagcaattt gtcatcacct gccccttcc cacctctcta tcgccttccc 12600
agtctctact gtcgatcact ccatgctctt ctcaattgtg gtgtcatttt tcctgaagcg 12660
aaatttcggt gtcattgttt ctgaagtcat tttctgacgt ctgtgtcatt ttttgctttc 12720
ctgaagtgaa ttttggtgtc atttttcctg aagttccatt tgccccacgc ataggcctta 12780
cttgtagaat gagggtttag tgtcatggtg tctcctgcct cattctcacc ccaactttcc 12840
cttgacccct ttgcgaggag aaggatgtcc atttgattaa taatgcaaac ccctaaccca 12900
ctcattatca gcatcattgt tttttccact gtccgtttga atactaaatg ttacctggac 12960
tgctacctcc gcctcaaagt gcaggaagca aagtcacctc ttttcttccc attcaggaac 13020
acttgcctct taaagcacag tcccggagga acgcctacca ctataaaggt gctgaataac 13080
gtggaatctg gattctcact gaagccctgt gccctttcag aaattggtaa ttgtaggacc 13140
acttcacctt gtgattgtag taggcggaat aggacccccc agagatgtcc ctgtgcggag 13200
ccccggtacc tgtgcgtgtg ttcccatagc tggcaaaagc gtttctatca atgggattca 13260
gttaaggact ttgagatggg gagtttactc tggatttcct cgatgggccc aatgtactca 13320
caggattggg tgctcacaag gctaataaga aaaagggaga ggcagaaggg tcagaggcag 13380
agagaggttt gaaggtgtta cactgctggc tttgaagatg aaggtccatg agccaaggaa 13440
tgcaagtggc ctctagaagt tgaaaagggc gaggaaacag tttccctgtg gagcatcctg 13500
gaggaacaag ccctgctgat gtcttgattt tagcccagta agacccaatc tctagaatgg 13560
taagataata aatttttgtt gtttttaacc actgagtttg tggttatgcc cctatagcag 13620
cagttatagg aaactagtac agtgatattg ttataggtac aatgatattg tagcaaaact 13680
gtaaggacct tccttggttg tgtccctatc tagggaaatg actctaccgg ggggagggaa 13740
ataacattct gtcgtgtcac acataaaggt aatttcaatg gaattgtcca gaaaattgcc 13800
atgacattcc acctcattta gcgtatcagg atgttaacga caagatgtta ctgaaaccaa 13860
atcccttact gccagttctc cgcagtagtg ggtgctggct ctgtgcctgg ccctgtattg 13920
ggtgctgggc taggatttcc ctgtggaaga ttgggaaggt tggttacaag gtgtctattt 13980
tcctgtctcc tctttgtgac agcacacctt ctccacggtg cgtgccaggt tcacgtgtac 14040
tgatgatgtg attttaacgt tcatattatt tttttccggg agagtttttg aaggctgcca 14100
ggaggcagga ctcgatgcaa gcatgctcca ttctgtaccc agcactgttg ctggaaggat 14160
ttgctgcact tacccaggga acaggcaagc tcatgccgtg gttctgggct gtcacagctg 14220
ctgtccacac ctgggagagc accctggatg gctcatctct gtacttgctt tcttgttaaa 14280

61

ttgcagtgag ttcacatgtg atttaatctg atcaaatggc ctttacagac tggtaaaaat 14340
ctggctgttt caggcagtgt tttgagctgc taaaggcatg gcttttcact gagtacgtgt 14400
tccccgttcc tcagggaaca cccagtagct acgtgcctcc tcaacctgga gtagggctgt 14460
ctcctggcct cactgcccag atgagattca taagttaggg atcatctgta gtcatcacta 14520
caggtttgtc cttagtttca ccatggattt ttctaatttt acaaacaaaa cccctaaggc 14580
tcctagaagg agggcagaag tgaaggtgct tgggggtcat atagctgatg agctgaacga 14640
gaacttgacc cttgggtcac acagatttca cattgctcac tccccatttt gatttttaa 14700
tggatttaat ggtgttttaa agtctcctgc ctctcaactc atataaattc atcatattta 14760
cagatttcct tctcttgcgg tccatcttcc tgcatagatc ttgacagatg tcagggtaat 14820
cacatcttcc cagttaattt aacaaaaccg tttgcaattc tgatatggga aatctaccat 14880
atgacttatt aatttatcaa ttgaggtgat aaacatattt ttcaagccaa aagtaggaga 14940
acataaactg gaaaaaaaag tttttttatt ttttatttt ttatttttat cacctctggg 15000
gaagaaaatc tgataaatga acctggttga tgaaattgca attagtggga gcaacatcat 15060
ggtttctgtt ctgagaataa ccagatggta tacttgaaat agagaatgtc ctagaaatca 15120
actggttgct tggccaaaat atctataaat agtgcccgac atattagata ggaaaagcaa 15180
agtaaaagca attttaatag gttaggacat tgggctgaag tattgcatat atttaatgtc 15240
acgtgcatct gtgtgaagag accaccaaac aggctttgtg tgagcaataa agctttttaa 15300
tcacctgggt gcaggaaggc tgagtccaaa aagagagtca gggaagcgag ataggggtgg 15360
ggccatttta caggatttgg gtaggtaacg gaaaattaca gtcaaagggg ttgttctctg 15420
gtgggcaggg gtgggggtca caaggtgctc agtgggagag cttctgagcc aggagaagga 15480
atttcacaag gtaatgtcat cagttaaggc aggaaccgac tattttcact tcttttgtca 15540
ttcttcagtt acttcaggcc atctggatgt atgtgttcag gcttaggccc agaggcctga 15600
cattcctgtc ttctcatatt aataagaaaa ataaaatgaa ataggagtaa agtgttgggg 15660
tggcaaaaat tttggaggtg gtatggagag ataacgggca atgtttctca gggctgcttc 15720
gagcaggatt aggggtggcg tgggaaccta gagtgggaga gattaagctg aagaaagatt 15780
ttgtggtaaa ggttgatatt gtggggttgt tagtgggagc atttgtcgta tagaatgatt 15840
ggtgatagcc tggatatggt tttgtatgaa ttgagaaact aaacagaaga cataaggtct 15900
gaataagaga aggagaaaaa caggtattaa aggactaaga attgggagga cccaggacat 15960
ctaattagag agtgcctgag ggggttcaac ataattagtt gcttggttgc tgagtttttg 16020
ggctctatcc ttgacagagt cctccttctt aagttggagg ctgagcttgg tgaggtgtgt 16080
ttttaaaaga ccattagtcc tttctacctt tcctgaagat tgaggagagt aaggagtatg 16140
aaggttttac tgactactaa gagcctgaga aactgcttgg gtgatttgac taataaaggc 16200
cagtccatta tcagattgta tagaggtggg aagtccaaac caaggaatta tgtcttacag 16260
aagggaagaa atgaccacgg tggccttctc agaccctgtg ggaaaggcct ctacccatcc 16320
agtgaaagtg tctgcccaga ccaagaggta ttttagtttc ctgactcggg gcatgtgagt 16380
aaagtcaatt taccagtcct ctgcagggac aaatccccaa gcttgatgtg tagggaaggg 16440
agggggcctg aacaatcctt gaggagtagt agaatagcag atggaatact gagaagtgat 16500

62

ttccttgggg atagatttcc acaatggaaa ggaaaagagg ggttttaaga ggcaggctag 16560
tggcttgtaa cttacatgga agaggttacg aaatgatgac agaatagaat gggcctgtga 16620
ggctggaagg agatattttc cttggtccaa gaactatttg ccttgtgtgg gaagagattg 16680
ataggtggaa gtttcaatgt gggagtagat gggagtgacc gattagaggg aggaaaaact 16740
ggccgtgagg gacagaagtt ggaatgctag ctgcttttat aactacctta tcagcatggg 16800
tgttgccttg agcaatggga tctgatgcct tttgatggcc cttgcagtga atgactccag 16860
cttcctttgg acgtaaagtg gccttgagaa gagtttttat taaagaggca ttaatgatgg 16920
aggacccttg cagagtgagg aaacctcttt cagcccatat aacagcatag tggtgcagga 16980
tatggaaggc atatttagag tcagtgtaaa tattgatgca tagtaccttt gcaagagtga 17040
ggacctgagt taaggcaatg agtttggctt gctgagaggt aagttaaggc aatgagtttg 17100
gcttgctgag aggtagtgga ggggtgcaga gtggtagcct caatgataga tgtagaagat 17160
attatagcat accctgcctt tgctggtggg tggagattag gcctggtgga actgccatca 17220
ataaaccaag tgtgattagg gtaaggaata ggaaagacag aagtatgggg aaatggagtg 17280
gatgtcaggt ggatcagaga gatacagtca tggggatggg ggccagccta aaacagtaag 17340
gtcaagttgt ttctacagaa agcnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn 17400
nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn 17460
nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn 17520
nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn 17580
nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn 17640
nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn 17700
nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn 17760
nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn 17820
nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn 17880
nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn 17940
nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn 18000
nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn 18060
nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn 18120
nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn 18180
nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn 18240
nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn 18300
nnnnnnnnnn nnctggcgag gagcagcctg gggaggaggg gagaggtcag atgggtccat 18360
agaaaaggaa gattggaaag actcagcaac gcttggggtt gggattgagg ggacaggcgg 18420
gagggaaaga aggaagattt gggatgagtt gcattgggaa caaagactag ggagggactg 18480
atgtgtaaaa gactgcctgg acatcaggca gctcagacca tttgcccatt ttacaacaag 18540
aattatctag atcttgtagg atggaaaaat caaaagtgcc gttttctggc tatttggaac 18600
cattgtcaag tttgtattgg ggttaagcgg cattgcagaa gaaaataagg cgttttggtt 18660
ttaggtcagg tgtgagttga agaggtttta agttcttgag aacataggct gagggagaag 18720
aaggaggagt ggagggtgga aagttgccta tagtgaatga ggcaagccca gagaaaagag 18780

63

agggtagaga cacggagaga aggggtcagg gtgcttgccc cccaggaaag tggtgcttgc 18840
cactaagggt gaaggatcaa ggcaggcatc cctaaggtga tcagacacct ctgaaacatg 18900
ggcgcataat caagcaggtg tccctgtagt gattaaatgc caagggaaga ctgtcttccc 18960
gagtccatga ctggtgccag agttttgggt tcacagataa aacgcgtctc ctctgtctct 19020
accagaaaat gaaatgaatt gaaattaaga gaagggagag attgaaggat ggcgccaaga 19080
ttaaaaggag aaagaggttg agggatagtg agagagattg gataagagag taaaaagagg 19140
ccgtttaccc aatttaaaat tggtgagatg ttccttgggc tggttggtct gaggaccaga 19200
ggtcataggt ggatctttct cacagagcaa agagcaggag gacaggggat tgatctccca 19260
agggaggtcc cccaatccgt gtcacggcac caaatgtcat gtgcacccgt gtgaagagac 19320
cactaaacag gctttgtgtg agcaataaag ctttttaatc acctgggtgc aggtgggctg 19380
agtcagaaaa gagagtcagt gaagggagat aggggtgggc cgttttatag gatttgggtg 19440
ggtaatagaa aattatagtc aaaggggttg ttctctgatg ggcagggttg gagctcacaa 19500
ggtgctcagt gggtgagctt ctgagccagg agaaggaatt tcataaggtg atgtcatcag 19560
ttaaggcagg aaccggccat tttcacttct tttgtcattc ttcacttact tcaggccatc 19620
tggatgtatg cgtgcaggct tgggcccaga gacctgacat ttaacatgaa taaatgtgaa 19680
gttcttagaa tcatacatac acattggaaa agatggggtt taatagcact ttataaggag 19740
acttgaagaa tgtttgagaa tccaccatga agctgctgaa aatatcaaga aaatttaatt 19800
cttatgtata taaataatgt gtctgtttta catgaattcc ctctatcaag tttggtattt 19860
taatatagca tatattattt tttcatagta gatttaaaat ttttgatgta taatttagat 19920
aacataaaat taacccttttg aaagtgtaca actcagtggt ttttagtata tccacctgat 19980
ttcacaagaa tcaccactat ctagttccag aacattttta ttaccactga agaaagactg 20040
tatccattgg cagtctttct ccattgccta ctcctccaat cccctgacaa ccactaatct 20100
actttctatg tctgtggact tgactcttcg ggacatttta cataaatgca atcatgcaat 20160
gcagcacatt ttgcatctag ctttttttcat ctggagtgtt ttcaaggctc attcatattc 20220
tagcatatat cggtactttg ttcctattta ggactaaata gtattctatt atatgaataa 20280
accatatttt gtttatatac ttagtttgat gaacatttga gttgtttctg gatttttttt 20340
ttttttttttt ttttgcctct tatgaataat gctgcaatgg acagcagttt ttgtgtaggc 20400
atacatttta aattatctta tgtatatact taggattaaa attgttggat catacagtaa 20460
ctccatgttt aacttttga ggaagtgtca aactgttttt gagagcagct acacaatttt 20520
acattcttac cagcaacaac tgagtgcttc aatctctcta caaccttaac aacacttgtt 20580
attgtctttt ttattattgc ctttctaggc agtgtgaagt ggtgtctcac tgtggttttg 20640
atatgtattt ccctaatgac taataatgtt gtgtatcttt tcatatgctt attatcaatt 20700
tgaataaatt ctttggggaa atctctgttt aaatccttta gccattaaaa ataattgggt 20760
tattttgttt tcattgttga gttgtatgaa ctctttatat actctggata ctacactctt 20820
gtaacatata ttattggcaa attttctgtg catctgcagg tcatcttttc actttagtga 20880
tggtgttctc tgaagcgcaa aagtttttaa acttgatgaa atacagtctg gctttattct 20940
tgcatgtgct ttacctaaaa tgccaaaacc taattcatgg ttatgaagat ttttgtgtat 21000

gatttgttct tagaggttta tagttttagc tcttacattt aggcatttga tgcattttaa 21060
attaaatttt gtatatggtg taaagtagga atccaactta attcttgtat gtggatattc 21120
agttattcca ttgtcttgaa actcttttca aaatcaattt tctataaatg taagagttta 21180
tttttagacc atcagttcta tcccattgac ctgtatgtct gtcctaatgc cagttacaca 21240
cagtcttgat taccataact tcgtagtaag ttttgaactc agacagtctg agtgctttta 21300
ttttgttctt tttcaagatt aatttggtta ttccggatct tttgcatttc catatgaatt 21360
gtaggttggt tgtcaatttc tgcaaccaga aggcagcagg attttgacag agagggcatt 21420
gaatctgtag accaatgagt atcaatagaa ttatgtgtta tcaaatttag taaactacgt 21480
aaacgatagg aacacagcta aaataaaact aagatataag atcgtattaa tgtaatgtta 21540
ataaaagtag attgtctccc attctaattt taatgggcac aaggcatttt tgttaatcac 21600
ttcttattaa ataatttttt ataatattca ggaaaatata acaacaaaaa acccttacat 21660
tccaaaggcc tcagagtcag agtaatagaa ggaaaacgta aacacatgct gagtaatgca 21720
aacatttggc aacggtggtg actggagctg ggagcacagc ttttatttct ctgacatagg 21780
agtttgcccc ttagagttgg accagttttg ccttcctcta aatgacaaac agtttggagg 21840
tattttaaag gacgttttgt cacttaggat gtttagtacc atgaataata taaatagtca 21900
taattcctta attacgatga caaaatacaa gcgaatttag catcgtgtgg tttcctaagg 21960
aacatctctc tctgagttca caggttgtca catgaacatc ttccagcatc ttgccttctc 22020
ggatgtggat gttgccagag ttctcgcccc agatgctttt gtgtgtcgaa ccatctgcac 22080
ctatcatccc agctgcctct tctttacgtt ctatacgaat gcatggaaga tcgagtcaca 22140
aaggcgagta tgcatggcta gcacttgctg ctgtactttc atcaatttta ttttagagtc 22200
tgagttttta aaagtttcct tcatttccct caaaacactt ggacctgcag tttaagtagg 22260
tacttttctg ccaggtgcag attagttaag agattagcag acttctctgc ctgtcttctc 22320
ttactttaaa acacatgtta ccagctgggt gcggtggctc ccacctgtaa tcccagcaca 22380
ttgggaggcc gaggcgggtg gatcacgagg tcaggagatg gagaccatcc tggctaacac 22440
ggtgaaaccc cgtctctact aaaaatacac aaaattagcc gggcgaggtg gcggcgcctg 22500
tagtcccagc tcctcgggag gctgaggcag gagaatggcg ggaacccggg gggcggagct 22560
tgcagggagc caagatggcg ccgctcactc cagcctgggt gactgagcga gactccgtct 22620
caaacaaaaa aacaaaaaca aacaaacaaa aaaaaacacg ttaccattga atccaggaag 22680
caatagccat gagaacaaag aaggatctga cgcctttgaa tgaagattca aaacacgatc 22740
ttcacgtttt gtattagctt ggagtaaaag ccactccctg gcagaatatc ccttaagctt 22800
gttgcctctt ccctttgttt cagaaactag agctctgttt attctgatca aggctctgtc 22860
ccactctctt tatctcagat aacccaccct cttctacaca cagcatggag ctaagagaag 22920
ggtgcctagt tatggaatat catcagcagc ataaactccc agaatttctt ctttgatttt 22980
tttgtttgtt tgtttttcca gttagaaggt ggaacttcgt cactgtcctc tcttcaggtt 23040
gtctgtgcct attagttttc tccagaggga gatgtggttt gatttacatt taatctctgc 23100
aatttattag agtcctgtag tcggatttac ttggaagaga gtttcccaaa agaataaaat 23160
ttgccaactt ccttttttggg tgtgagctgc ttttgtattt gcctaatgcc tttaatgcaa 23220
acttcttnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn 23280

65

nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn 23340
nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn 23400
nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn 23460
nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn 23520
nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn 23580
nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnna gaactttacc tggtaatgtg attcaataat 23640
aatattacat aaaacgtaac atatttcatg acttaacagc aacagtgttg aaacaatcca 23700
caaggtaaca gaaacttttg taaatgtcgt tcattgcttt tctcatttgg tatcttttca 23760
tgtttataat tgacacagaa ccctgccatt ctaaaattta cccgggagtt gactttggag 23820
gagaagaatt gaatgtgact ttcgttaaag gagtgaatgt ttgccaagag acttgtacaa 23880
agatgattcg ctgtcagttt ttcacttact ctttactccc agaagactgt aaggaggaga 23940
agtaagggac attttatttt tcatgatcat ttcatatcct ttttccccta gtgaaggctt 24000
actctttcta ctgttcattt catctaggtg taagtgtttc ttaagattat cttcggatgg 24060
ttctccaact aggattacat atgggacaca agggagctct ggttactctt tgagattgtg 24120
taacactggg gacagctctg gtgagtaacc tcacttttttc atggaactgt aagggatgtc 24180
tgtcatgttg atagtgtgct tagtcttaag gaattatatg tcttgttctc cttggttaga 24240
agggactttg attcacttct aatttcaacc attagcatca acactcttgt ttcagtctgc 24300
acaacaaaaa caagctcacg cattgttgga ggaacaaact cttcttgggg agagtggccc 24360
tggcaagtga gcctgcaggt gaagctgatg gctcagaggc acctgtgtgg agggtcactc 24420
ataggacacc agtgggtcct cactgctgcc cactgctttg atgggtaagt gttggatgca 24480
tctcatccag agtcttacct tgacttttca ttttgaaggg tctgtgatca gctgcttcac 24540
cgtcatgtga ctttatgaat agagacgtgt taaagcaggg atggtattca caacatttaa 24600
ctagcagagt ccaagcactg accagtctga ccatcataac agagtgtggt ctctgtacag 24660
gactgatggc cctgggtggg tattctccca cagaaagaga aacaaacaca atacaccact 24720
cctccaaccc accacccgcc accaatccca ccacccatcc caccacacaa cccaccaccc 24780
atcctgacac caatcccaac accaattcca ccaccaatcc caccaccacc caccaccaat 24840
ccctccacca atcccaccac cacccaccac caatcccatc accaatccca ccaccaatcc 24900
caccaccacc caccaccaat cccaccacca atcccagcac ccgtcccacc accaatccct 24960
ccaccaatcc caccaccaat cccaccacca cccaccacca cccaccacca agcccgccac 25020
caatcccagc acccatccca ccaccaatcc caccatcacc caccaccacc catcaccaat 25080
cccaccacca ataacaccac cagtcccaac gctacccacc accaatccca ccaccaatcc 25140
cagcacccat cccaccacca atcccaccac caatcccacc acccatccca ccaccaatcc 25200
caccaccaat cccaccacca ccaatcctac caccacccac caccaatccc accaccaatc 25260
ccaccaccaa tcccaccacc acccaccacc aatcccacca ccagtcccac caccacccac 25320
caccaatccc accaccaatc ccaccaccac ccactaccaa tcccaccagc agtcctacca 25380
ccaatccctc caccaatccc accaccaccc accaccaatc ccaccaccac ccaccactaa 25440
tcccaccacc aatcccacca gcaatcccac cagcaataaa tcaaagactt atttctcagg 25500

```
cccatagaaa tgttacttct tgctttttga ttaataaata tactaataat aatttttaaa    25560
agtgagagtt ttgtactccg tatatttcaa catatgtaat ttgatctatt tcagttttat    25620
tggtcaaata gtagacatgt taggtaagtc ttaaaacact gaggttttgg agttagacaa    25680
aacatggctt gagtgataac tttgctgctt attagaggtg tggccctagg agatttgtaa    25740
atctctctga gctttatttt atctaaaaga taaataataa tagtacctaa tttgtaaggt    25800
tattgggagg attaagtgac acatttaaaa tgcttagtac tatatgtcga acatgaacac    25860
tgctcaacaa atgtaaacta tgatttctat attcaataag aagtgtagaa atggacaaag    25920
catatgaaaa agcaaaagaa atactagaag acacttgatt tttctaaaaa ataaacacaa    25980
agtatttttg ttttagtgaa attcatgctt agatgctgtg tactaggatt gaacatacag    26040
ccgccaaaat atagcagttg gtggtacatg tgggtggagc aagacccctc caccttgtca    26100
ccgtgaaggg gctccgccat acatgccctt gcatgtggtt taaaggtggt tggcctggaa    26160
gaaaaggccc aagatgggaa acagtaggtg tctttttttac taaatgtact ccaatttgag    26220
accaggaatt ttcattcttg aaggctcagt attgtaagtt tataagagat aatagacata    26280
aaagtacgat gatttcatta aaaaaaggct cctttgcacg tgatatctcc gttatttttt    26340
ctagaatatt gtgcacacat gccttgcacc acttggtgat gataaagatt tctagatctt    26400
tgcacagaat aaggctttgc tttagatcat aattttggat gtacttagta tgtattcatc    26460
ttttaaagaa tcaatttaaa ttttcatact ttcatatata tatacacaca cacatacaca    26520
aacacacgca cacactttat tttaatattt tatttattta tttattgaga tggaatctca    26580
ctctgtcacc caggctggag tgcagtggca ggatctcggc tcactgcagc ctccgcctcc    26640
caggttcaag cgagtctcct gcctcatcct cccaaatttt tgtattttca gtagagacgg    26700
ggtttcacca tgttggtcag gctggcctta aactcctggc ctcaagtgat ccacccgcct    26760
cggcctcccg aagtgctggg attacaggtg tgagccactg tgcccggccg tatagagata    26820
ttttaaacaa cactgaagtc ctcctactct gcctaattag aagagcattg aaagatcagt    26880
ctgacttctt gatagttctg aatttaatgg agcaatgagg tgcagctttg gtgaatgagc    26940
ttaatttttc catgataaat tgctagtctc ttcccactac agtgtctctc aaaaatggga    27000
cagcaacatt ctttgtgttt tcacttgcag taagtaagca tgatacaatt acataaatgt    27060
acacttctca gtttgttaaa tagaatcttc agagattcac gtctgccgct attggtgatg    27120
aaaaatgacc cgtaggagga attaggtagg agaaaatatg tcctatgtag tatttccttc    27180
ccagttctct ttgaaagaga gtgataggaa aaaggaacaa tattgaagga aggccttccc    27240
agtttcaaat aggttttatt tttctctcct aggcttccct taccggatgt ttggcgcatt    27300
tatagtggca ttttaaatct gtcagacatt acaaaagaaa cacctttctc acaaataaaa    27360
gagatcatta ttcaccaaaa ctatagaatc tcagaaggga atcatgatat cgccttaata    27420
aaactccagg ctcctttgaa ttacactggt atgtagcgta tgtaagaagg cggatagcag    27480
aattgtgctg gatgatattt tcatatcagt ttggacaaga gggcagatct agagagactg    27540
ttgttatttt ctgaccggtg gagttgaggg aaaggtgagg gttgcatggg aagtgaagat    27600
cccacgactt gccatgaaat ctcttctacg taaagagcaa gaaacgtgaa ttagttcttt    27660
cagggaggag cacagccgcg cgcaggtgat ggaaataatg gacggaggag atgtctgtgc    27720
cgtctgagag gcaccgggct tcttttgaca agagtagcag aactgtcatt gctttgggct    27780
```

67

tagggatatt agaatgtgtg aggaccagtg ggactagata catatttcca ggtataattt 27840
gggtaggaaa gagactgatg ccgaaagaag ccctggaaag gccagaacat cgtgatcaga 27900
ggtgttgcct ttggaggttc attgctgcca ggagctgaat acccactgta tccaataaca 27960
ttaatggcca ggcatggtgg ctcacccctg taatccccac actttgggat gcccaggtgg 28020
gaggattgct tgaggtcagg agtttgagat cagcctgggc aacacagtga gaccctgtct 28080
ctacataaaa ttacaaaaaa aacaattaac tgggtgtggt ggtgtgcacc tgtagtccaa 28140
gctagtcagg aggctgagac aagaggatca tgtcagccca ggaggtcaag gctgtagtga 28200
gccaagatag tgccactgca cacaattatg tgaccttggg caagttgctt tacctctttg 28260
cacctcttaa tttcctcatc tgtaaaatga ggatgataat ttcttcctgg gtttgttgta 28320
ataatcaata cattaaagca cttcatgtct ggaacagtga agacacctgc tatgactatt 28380
aaggatagca tacacggaat aagacgcagg aacttctaaa tgcttttgac cgtagattta 28440
ggttctgagt tttaagaatg taactcagga aattgtaaca ccaaaaaggt catgtgaaaa 28500
atggtggtga caaatttttct tgaatcaata gccttagaag ttgggcagaa agcaaaaaag 28560
ttattcttgg tgctactcta tagaaagaga agacagaaaa agaaaaagat gtatttttaa 28620
agtctatatc cataacttta tttgaccaaa ctctaattta aaaattatgt ttcagaattc 28680
caaaaaccaa tatgcctacc ttccaaaggt gacacaaaca caatttatac caactgttgg 28740
gtaactggat ggggcttctc gaaggaaaaa ggtacagcat gatgctttaa atattgcttc 28800
tagagtaagt cttacatgtt gagatgcatg gagtgggtcg ttttaatcgg cttctctctg 28860
aaattatatc gaaccccttt atctttccta cctatttatt ccccaatatt tattcagtta 28920
ttcttaaaaa acgtattttt gctttggctt gaaaaaaaaa ttttagggag aattttaagc 28980
atcttacttc attctaaaga tcgtttgctt gacttcgcat gaaagattgt ccccatctaa 29040
ggctgacgag cccgtgcaag accatctggt cctcagtgtt agcagcattc ccatctccca 29100
ataccatgtt ctcccttgat gctaatggcc gggagcacag gcaggcgtgt cgcctctctc 29160
tgtggccagt tcttcatctt cttcttccag gcacccttcc tgcaatctga ggaagcctag 29220
gaaccacttc tctaacaatg cttttaaatg cttaaataaa atacacagga ttacaaaaga 29280
aaccaagtga agtgcaagac agttctcaaa atactttcaa aaagtactac aataatatat 29340
atgcctcttt attaatcctc tacatagcga gttattctaa taccaaacct acttttgaaa 29400
tagtggtgag cataaatggc attttcactt atctgccaca acagaaaagg gatatgaaaa 29460
tatctgtaat ctctgttgat ggcaaagtca taggtgccac tgatactgct gtgtttgttg 29520
tctgcattcg taatcgaagg gagtggtagg cttcatctgg aggtttgtga aaacaaagac 29580
ttttttttcta cacaaattta taagccatgt gaattctttc tgaggacctt aggtttgcaa 29640
ttcctacttg tgggtatctg gagtgttcca atcgtccttg aacttttaa aaaacagacc 29700
agtctccctt tccaaaatta tgttcctgat agacactatg gagaataata tctgtgtcat 29760
tctttacaga agaaggtagc ttgccaaact ctctccatct ttcccgattc agtccttagt 29820
tcaagtgatt cacatttttа gatttttac tggtaatctg agacaagaag aaattaaaag 29880
taatcttcac taagcaacga aagctcccaa cactgtcctc cccatgagag atgctcgctt 29940
gcatttactc agaaacaaaa gaccccaaga ccctctgtc gcgaaagctc ggagggcttt 30000

68

tcagaaacga tagggctttc aattataatt tggaatatat gaaacaaaaa aatgaaaagt 30060
gagaacttcc aggctttgga tttttgtaga tgataaatat aaaatgggat ttctggggga 30120
ctgttaccga gatgagggga tggaagaaga cacggaagca aggtctctgg tcagcccagg 30180
gtgctgggct tgtcccaaca ccacacaggt aataagagga cagtgcaggg ctccgtgtct 30240
ctctctctct ctctctctct gtgtgtgtgt gtgtgtgtaa cactaccttc ctaattttta 30300
ctatttgtat tcaaagatac ggcccttata aaaaagtaca ctgctctgat tcacttgaaa 30360
acttatttcc atatttacta tttattgtgt ttcctccctc tgaagttata tattggttac 30420
ttcacaggtg aaatccaaga tattctacaa aaggtaaata ttcctttggt aacaaatgaa 30480
gaatgccaga aaagatatca agattataaa ataacccaac ggatggtctg tgctggctat 30540
aaagaagggg gaaaagatgc ttgtaaggta atgcatgaga ttatgaaaaa cacaataggc 30600
tgcttgagaa aattcacttc aaaatatatt ttccaatagc ataatttatt atagttttta 30660
aaaaaaattc agagacaaat gatctgataa atttataagc aacttttaac aaattgaata 30720
tatacaatac atatttatat tattcatgat gtatgtcaca atctatgcat gtgctaattt 30780
aagagggaca aaaatacata caataattgc actaaaatat aaaaacatta gatttctttg 30840
tcattgggat gatgatatca agatttcttt gttagattta tttaagaatt gaagagggga 30900
tacaaaaaat gcaggcacat gagatacttg gagaacttta agaaagtttg tgtgtgtgtg 30960
tgtgtgtatg tgtatgtgtg tgttgctgtg tagtggacta cagaatttta gaggtggtca 31020
cttatttgag tcccattgtc ataactttct accattttat ttttcccctg tgactcaggg 31080
agattcaggg ggtcccttag cttgcaaaca caatggaatg tggcgtttgg tgggcatcac 31140
cagctggggc gaaggctgtg cccgcaggga gcaacctggt gtctacacca aagtcgctga 31200
gtacatggac tggattttag agaaaacaca gagcagtgat ggaaacgctc ggatgcaggc 31260
gccagcatga ggagcagccc agagtcttgg cgagttttac aacctgggtt caagtcaaat 31320
tctgagcctg ggggtcctca tctgcaaagc atggagagtg gcatctactt tgcatcctgt 31380
cataaggaca aaagacagtg cactcagagc tgctgaggac aatgttttgc tgaagccagc 31440
tttcagcatt cagtaactgg gagctgataa tgtgaagtcg caaccgagat ctccatgatt 31500
gtgtgtcgta aaataaaatg gtaaaagatc acaattagca agtgttttct tctggttgtg 31560
aaacagaact gaaagtaagt ggttgaggtt ctagcacagt gcctggactc cctctaattg 31620
cactacttct tctggaactc agtctatctc aaagatgtaa tttcctctcc ttgctgcacc 31680
tggttagcca ctgaaaccca cgattgtctg cttcacttgt ggcaaagagc tagcaggctt 31740
gggttctgtt ctgccgagtg gaagggagaa cacctgcgtc acacccactc ttataagaaa 31800
gagatgggtt acctgaaccc atagggtata tttgcctctt ggcctcctaa ctttgctact 31860
ggggcatgga taggagggtc caggctgcgt gtgtggagga actcgagggg ctgcagcatt 31920
gcacagcctt catggtaggc aaggaatctg ctttgcaagg ggcattagcc ctggaggctc 31980
agtggatatg ggctattgca atactaattc aaggagcatt tttaggatgg cacattggct 32040
catgcctgta attccaacaa tttgggagat cacggcaggt ggatctcttg agcctaggag 32100
ttcaagacca gcctgggcaa tgtgacaaaa ccccatctct acaaaaatta gctgggcgtg 32160
gtggtgcata cctgtaatcc cagctccccc agaagctgag gcaggaggat cacttgagtg 32220
tggctgcagt gagcagagat cgcactactg cattccagcc tggacgacag agtgagactc 32280

69

tgtctcaaaa aaaaaaggaa gcattgttag gtataaatta ctattattta tttatttatt 32340

tttgaaagga gtctcgctct gtcacccagg ctgcagtgca gtggcgccat ctcggctcac 32400

tgcaagctcc gcctcccagg ttcacagcat tctcctgcct cagcctcccg agtagctggg 32460

attataggtg cccgccacca cgcctggcta atttttgta tttttagtag aaacggggtt 32520

tcactgtgtt ggccaggatg gtctcgatct cctgactttg tgatccacct gccttggcct 32580

cccaaagtgc tgggattaca gacttgaacc accatgcccg gccctgttag gtataaacta 32640

tttcataaaa ttcagacttg taaatttatc atagccttta gaatggatga tagaaatcct 32700

tatgccacac aaattcctca tatgccaggg ctcaccataa ctgataccag ctcacttgat 32760

tcagctcagt ttaacattta cacagaattg gccatttaca aaatcttaca taagttaagt 32820

agaaaaatag aaaagtgagg ttttctgaaa gagtttgggt ttttccttca atgctcaaca 32880

acagaggtcc ccaatctttc tggcaccaga gaccagtttt gtgcaagaca ctttttccat 32940

gaaccagcgt ggtgggggggg ggatgattct ggaatgattc aagtgcatga catttattgt 33000

g 33001

<210> 19

<400> 19
000

<210> 20
<211> 23
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Праймер

<400> 20
ccaaaaaagg tgcaccagta aca 23

<210> 21
<211> 24
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Праймер

<400> 21
cctccgggac tgtactttaa tagg 24

<210> 22
<211> 29
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Зонд

<400> 22
cacgcaaaca tttcacaagg cagagtacc 29

<210> 23
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>

70

<223> Праймер

<400> 23
cctgtgtgga gggtcactca 20

<210> 24
<211> 23
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Праймер

<400> 24
ccactataga tgcgccaaac atc 23

<210> 25
<211> 23
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Зонд

<400> 25
cccactgctt tgatgggctt ccc 23

<210> 26

<400> 26
000

<210> 27

<400> 27
000

<210> 28

<400> 28
000

<210> 29

<400> 29
000

<210> 30
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 30
aacggtcttc aagctgttct 20

<210> 31
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 31
aaatgaacgg tcttcaagct 20

<210> 32

<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 32
cttaaaaatg aacggtcttc 20

<210> 33
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 33
tgtcacttaa aaatgaacgg 20

<210> 34
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 34
tggaggtgag tctcttgtca 20

<210> 35
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 35
cttcttggag gtgagtctct 20

<210> 36
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 36
gcttgaataa aatcattctg 20

<210> 37
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 37
tgcttgcttg aataaaatca 20

<210> 38
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 38
taagttgctt gcttgaataa 20

<210> 39
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 39
ggaaatgaaa taagttgctt 20

<210> 40
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 40
aacaaggaaa tgaaataagt 20

<210> 41
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 41
tagcaaacaa ggaaatgaaa 20

<210> 42
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 42
aactgtagca aacaaggaaa 20

<210> 43
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 43
caggaaactg tagcaaacaa 20

<210> 44
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 44
atccacagga aactgtagca 20

<210> 45
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 45
cagacatcca caggaaactg 20

<210> 46
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 46
atccccacct ctgaagaagg 20

<210> 47
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 47
tacatcccca cctctgaaga 20

<210> 48
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 48
gaagctacat ccccacctct 20

<210> 49
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 49
acatggaagc tacatcccca 20

<210> 50
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 50
ggtgtacatg gaagctacat 20

<210> 51
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 51
accttgggtg gaatgtgcac 20

<210> 52
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 52
caaacacctt gggtggaatg 20

<210> 53
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 53
ctgaatagca aacaccttgg 20

<210> 54
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 54
gaaaactgaa tagcaaacac 20

<210> 55
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 55
tggaagaaaa ctgaatagca 20

<210> 56
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 56
caaacctttt ctccatgtca 20

<210> 57

<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 57
acactatctt tcaagaagca 20

<210> 58
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 58
ggcaagcact tatttgatga 20

<210> 59
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 59
ttaaaattga ctcctctcat 20

<210> 60
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 60
tcaacactgc taaccttaga 20

<210> 61
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 61
attcttcaac actgctaacc 20

<210> 62
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 62
ttggcattct tcaacactgc 20

<210> 63
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 63
ccttttttgg cattcttcaa 20

<210> 64
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 64
tggtgcacct tttttggcat 20

<210> 65
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 65
cttcagtgag aatccagatt 20

<210> 66
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 66
ggcacagggc ttcagtgaga 20

<210> 67
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 67
aatttctgaa agggcacagg 20

<210> 68
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 68
caaccaattt ctgaaagggc 20

<210> 69
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 69
caagatgctg gaagatgttc 20

<210> 70
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 70
gtgccacttt cagatgtttt 20

<210> 71
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 71
ttggtgtgcc actttcagat 20

<210> 72
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 72
ggaacttggt gtgccacttt 20

<210> 73
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 73
gtagaggaac ttggtgtgcc 20

<210> 74
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 74
gaggagtaga ggaacttggt 20

<210> 75
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 75
ttcttgagga gtagaggaac 20

<210> 76
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 76
gtgttttctt gaggagtaga 20

<210> 77
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 77
atatggtgtt ttcttgagga 20

<210> 78
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 78
tccagatatg gtgttttctt 20

<210> 79
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 79
ctatatccag atatggtgtt 20

<210> 80
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 80
ggttaaaagg ctatatccag 20

<210> 81
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 81
ttgcaggtta aaaggctata 20

<210> 82

<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 82
ttcttttgca ggttaaaagg 20

<210> 83
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 83
taaagttctt ttgcaggtta 20

<210> 84
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 84
atggcagggt tcaggtaaag 20

<210> 85
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 85
ttagaatggc agggttcagg 20

<210> 86
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 86
aaattttaga atggcagggt 20

<210> 87
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 87
cgggtaaatt ttagaatggc 20

<210> 88
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

80

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 88
actcccgggt aaattttaga 20

<210> 89
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 89
tccaaagtca actcccgggt 20

<210> 90
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 90
tctcctccaa agtcaactcc 20

<210> 91
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 91
attcttctcc tccaaagtca 20

<210> 92
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 92
attcaattct tctcctccaa 20

<210> 93
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 93
gtcacattca attcttctcc 20

<210> 94
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

81

<400> 94
caaacattca ctcctttaac 20

<210> 95
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 95
cttggcaaac attcactcct 20

<210> 96
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 96
agtctcttgg caaacattca 20

<210> 97
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 97
tgacagcgaa tcatctttgt 20

<210> 98
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 98
aaaactgaca gcgaatcatc 20

<210> 99
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 99
agtgaaaaac tgacagcgaa 20

<210> 100
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 100
cagtcttctg ggagtaaaga 20

<210> 101
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 101
aagaaacact tacacttctc 20

<210> 102
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 102
agataatctt aagaaacact 20

<210> 103
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 103
gagctccctt gtgtcccata 20

<210> 104
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 104
aaccagagct cccttgtgtc 20

<210> 105
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 105
agagtaacca gagctccctt 20

<210> 106
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 106
ctcaaagagt aaccagagct 20

<210> 107

<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 107
gcttgttttt gttgtgcaga 20

<210> 108
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 108
acccaacagt tggtataaat 20

<210> 109
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 109
aggcatattg gtttttggaa 20

<210> 110
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 110
aacacaattg cttcttggag 20

<210> 111
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 111
tgctggaaga tgttcatgtg 20

<210> 112
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 112
tttgttcctc caacaatgcg 20

<210> 113
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 113
aagagtttgt tcctccaaca 20

<210> 114
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 114
ccaagaagag tttgttcctc 20

<210> 115
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 115
tctccccaag aagagtttgt 20

<210> 116
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 116
ccagggccac tctccccaag 20

<210> 117
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 117
agcttcacct gcaggctcac 20

<210> 118
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 118
tatgagtgac cctccacaca 20

<210> 119
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

85

<400> 119
tgtcctatga gtgaccctcc 20

<210> 120
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 120
actggtgtcc tatgagtgac 20

<210> 121
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 121
gacccactgg tgtcctatga 20

<210> 122
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 122
gtgaggaccc actggtgtcc 20

<210> 123
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 123
aagcccatca aagcagtggg 20

<210> 124
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 124
gtctgacaga tttaaaatgc 20

<210> 125
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 125
gtaatgtctg acagatttaa 20

<210> 126
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 126
cttttgtaat gtctgacaga 20

<210> 127
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 127
tttatttgtg agaaaggtgt 20

<210> 128
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 128
tctcttttat ttgtgagaaa 20

<210> 129
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 129
atcatgattc ccttctgaga 20

<210> 130
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 130
aaaggagcct ggagttttat 20

<210> 131
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 131
aattcaaagg agcctggagt 20

<210> 132

<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 132
agtgtaattc aaaggagcct 20

<210> 133
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 133
aattcagtgt aattcaaagg 20

<210> 134
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 134
tttggaattc agtgtaattc 20

<210> 135
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 135
tggtttttgg aattcagtgt 20

<210> 136
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 136
attggttttt ggaattcagt 20

<210> 137
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 137
catattggtt tttggaattc 20

<210> 138
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 138
gtaggcatat tggtttttgg 20

<210> 139
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 139
gtgtcacctt tggaaggtag 20

<210> 140
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 140
aacagttggt ataaattgtg 20

<210> 141
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 141
caacagttgg tataaattgt 20

<210> 142
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 142
tacccaacag ttggtataaa 20

<210> 143
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 143
tccttcgaga agccccatcc 20

<210> 144
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 144
aaaggaatat ttacctttg 20

<210> 145
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 145
ttaccaaagg aatatttacc 20

<210> 146
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 146
atttgttacc aaaggaatat 20

<210> 147
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 147
ggcattcttc atttgttacc 20

<210> 148
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 148
tttctggcat tcttcatttg 20

<210> 149
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 149
gatatctttt ctggcattct 20

<210> 150
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 150
atcttgatat cttttctggc 20

90

<210> 151
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 151
ttataatctt gatatctttt 20

<210> 152
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 152
ttattttata atcttgatat 20

<210> 153
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 153
ttgggttatt ttataatctt 20

<210> 154
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 154
atccgttggg ttattttata 20

<210> 155
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 155
agaccatccg ttgggttatt 20

<210> 156
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 156
agcacagacc atccgttggg 20

<210> 157

<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 157
ctttatagcc agcacagacc 20

<210> 158
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 158
cccttcttta tagccagcac 20

<210> 159
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 159
tttccccctt ctttatagcc 20

<210> 160
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 160
catcttttcc cccttcttta 20

<210> 161
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 161
cccttacaag catcttttcc 20

<210> 162
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 162
acattccatt gtgtttgcaa 20

<210> 163
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 163
tggtgatgcc caccaaacgc 20

<210> 164
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 164
tgctccctgc gggcacagcc 20

<210> 165
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 165
caggttgctc cctgcgggca 20

<210> 166
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 166
gacaccaggt tgctccctgc 20

<210> 167
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 167
gtgtagacac caggttgctc 20

<210> 168
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 168
ctttggtgta gacaccaggt 20

<210> 169
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 169
agcgactttg gtgtagacac 20

<210> 170
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 170
tactcagcga ctttggtgta 20

<210> 171
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 171
ccatgtactc agcgactttg 20

<210> 172
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 172
ccagtccatg tactcagcga 20

<210> 173
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 173
ctgtgttttc tctaaaatcc 20

<210> 174
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 174
ctgctctgtg ttttctctaa 20

<210> 175
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 175
gctcagaatt tgacttgaac 20

<210> 176
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 176
cccaggctca gaatttgact 20

<210> 177
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 177
ctttgcagat gaggacccc 20

<210> 178
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 178
ccatgctttg cagatgagga 20

<210> 179
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 179
actctccatg ctttgcagat 20

<210> 180
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 180
atgccactct ccatgctttg 20

<210> 181
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 181
agcagctctg agtgcactgt 20

<210> 182

<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 182
tcctcagcag ctctgagtgc 20

<210> 183
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 183
cattgtcctc agcagctctg 20

<210> 184
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 184
tggtttttgg aattctgaaa 20

<210> 185
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 185
atattggttt ttggaattct 20

<210> 186
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 186
tgtactagtt tcctataact 20

<210> 187
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 187
atagggacac aaccaaggaa 20

<210> 188
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 188
aggcacagag ccagcaccca 20

<210> 189
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 189
cctgcctcct ggcagccttc 20

<210> 190
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 190
ccaggtgtgg acagcagctg 20

<210> 191
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 191
ggttttgttt gtaaaattag 20

<210> 192
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 192
aaaacaccat taaatccatt 20

<210> 193
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 193
acagaaacca tgatgttgct 20

<210> 194
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 194
tcagcccaat gtcctaacct 20

<210> 195
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 195
ccttcactga ctctcttttc 20

<210> 196
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 196
ttctcctggc tcagaagctc 20

<210> 197
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 197
gaatgtcagg cctctgggcc 20

<210> 198
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 198
ctaacaaccc cacaatatca 20

<210> 199
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 199
cccaattctt agtcctttaa 20

<210> 200
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 200
accaagctca gcctccaact 20

<210> 201
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 201
ttattagtca aatcacccaa 20

<210> 202
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 202
tggatgggta gaggcctttc 20

<210> 203
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 203
ccccctccct tccctacaca 20

<210> 204
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 204
atgtaagtta caagccacta 20

<210> 205
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 205
tgcctcttta ataaaaactc 20

<210> 206
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 206
actcattgcc ttaactcagg 20

<210> 207

<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 207
acttgacctt actgttttag 20

<210> 208
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 208
ctcctcccca ggctgctcct 20

<210> 209
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 209
aagatctaga taattcttgt 20

<210> 210
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 210
tcaactcaca cctgacctaa 20

<210> 211
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 211
tgaacccaaa actctggcac 20

<210> 212
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 212
agcccaagga acatctcacc 20

<210> 213
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

100

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 213
gcctgtttgg tggtctcttc 20

<210> 214
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 214
cttctcctgg ctcagaagct 20

<210> 215
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 215
atgtatgatt ctaagaactt 20

<210> 216
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 216
aacagacaca ttatttatat 20

<210> 217
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 217
agagtcaagt ccacagacat 20

<210> 218
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 218
tcctaaatag gaacaaagta 20

<210> 219
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

101

<400> 219
ttgttaaggt tgtagagaga 20

<210> 220
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 220
acccaattat ttttaatggc 20

<210> 221
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 221
gcctaaatgt aagagctaaa 20

<210> 222
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 222
taaactctta catttataga 20

<210> 223
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 223
aaataaaagc actcagactg 20

<210> 224
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 224
ttggtctaca gattcaatgc 20

<210> 225
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 225
taacaaaaat gccttgtgcc 20

<210> 226
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 226
tcccagctcc agtcaccacc 20

<210> 227
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 227
gtactaaaca tcctaagtga 20

<210> 228
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 228
actcgccttt gtgactcgat 20

<210> 229
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 229
ttttgaatct tcattcaaag 20

<210> 230
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 230
cagagccttg atcagaataa 20

<210> 231
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 231
aagttccacc ttctaactgg 20

<210> 232

<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 232
agcagctcac acccaaaaag 20

<210> 233
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 233
ttctgtgtca attataaaca 20

<210> 234
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 234
tagaaagagt aagccttcac 20

<210> 235
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 235
agtgaggtta ctcaccagag 20

<210> 236
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 236
ttttgttgtg cagactgaaa 20

<210> 237
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 237
ttacccatca aagcagtggg 20

<210> 238
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 238
aatgttgtga ataccatccc 20

<210> 239
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 239
taacatttct atgggcctga 20

<210> 240
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 240
tgtctactat ttgaccaata 20

<210> 241
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 241
tttaaatgtg tcacttaatc 20

<210> 242
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 242
tcactaaaac aaaaatactt 20

<210> 243
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 243
tcttccaggc caaccacctt 20

<210> 244
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 244
tgcaaggcat gtgtgcacaa 20

<210> 245
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 245
tgtttaaaat atctctatac 20

<210> 246
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 246
catggaaaaa ttaagctcat 20

<210> 247
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 247
tgaagattct atttaacaaa 20

<210> 248
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 248
gcctaggaga gaaaaataaa 20

<210> 249
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 249
ccagtgtaat tcaaaggagc 20

<210> 250
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 250
ccattatttc catcacctgc 20

<210> 251
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 251
tacccaaatt atacctggaa 20

<210> 252
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 252
agaggtaaag caacttgccc 20

<210> 253
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 253
tccttaatag tcatagcagg 20

<210> 254
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 254
tcaccaccat ttttcacatg 20

<210> 255
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 255
gttatggata tagactttaa 20

<210> 256
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 256
ctagaagcaa tatttaaagc 20

<210> 257

<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 257
atgaagtaag atgcttaaaa 20

<210> 258
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 258
cttcttgtct cagattacca 20

<210> 259
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 259
tctgaaaagc cctccgagct 20

<210> 260
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 260
aagtgaatca gagcagtgta 20

<210> 261
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 261
accttacaag catcttttcc 20

<210> 262
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 262
atttgttaaa agttgcttat 20

<210> 263
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 263
tgatatcatc atcccaatga 20

<210> 264
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 264
cagacacctt cttcacaagg 20

<210> 265
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 265
aatttcccag atgtattagt 20

<210> 266
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 266
tcagcagaaa tcatgtaggc 20

<210> 267
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 267
ttaaatataa agagatcctc 20

<210> 268
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 268
gtaataaaag gaatgataaa 20

<210> 269
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 269
agacagtaaa caaaatcagg 20

<210> 270
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 270
caagaaacca ccaaaggaag 20

<210> 271
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 271
accccaacag acagcccacc 20

<210> 272
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 272
tgggctcacc ccagtggacc 20

<210> 273
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 273
gcctggcccc caagactcta 20

<210> 274
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 274
aggcctgcca caggccagac 20

<210> 275
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 275
ttcaagcctg ggcagcacag 20

110

<210> 276
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 276
aaaataactt cactagagct 20

<210> 277
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 277
tgttaagtat attaactatt 20

<210> 278
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 278
tactcaggaa attagaatat 20

<210> 279
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 279
ttatgaaacc tcttgatttg 20

<210> 280
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 280
ttcttgtaaa tgtctgaatt 20

<210> 281
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 281
accacaggaa actgtagcaa 20

<210> 282

<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 282
gattggaccc agacactata 20

<210> 283
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 283
cctcttaagt caccatagac 20

<210> 284
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 284
ggttgaggga cagacacagg 20

<210> 285
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 285
ataatcatga tttattttgc 20

<210> 286
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 286
cataagaatg tgcacacaaa 20

<210> 287
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 287
actcttatta gctggtagaa 20

<210> 288
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 288
ggaccaaaac tgagaggcag 20

<210> 289
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 289
ccattactct caagctccac 20

<210> 290
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 290
atctattggt tcaggagcca 20

<210> 291
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 291
gttaaaacaa ctagaagcca 20

<210> 292
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 292
aggtgttctt gcttatcctc 20

<210> 293
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 293
gcagtcactc ctcttccagc 20

<210> 294
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 294
aagtgtattg cctagatttc 20

<210> 295
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 295
gagtgccatc ttctctgcac 20

<210> 296
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 296
ttattcccag ctctaaaata 20

<210> 297
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 297
ctcacaattc tgtaagggaa 20

<210> 298
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 298
ataaaatata ttaaggcaac 20

<210> 299
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 299
ttgagtcaga catcctgtga 20

<210> 300
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 300
taccttttct ccatgtcatt 20

<210> 301
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 301
gggattttgc tgaagctggt 20

<210> 302
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 302
ctttgaatag aaaatgacta 20

<210> 303
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 303
caaaatcaca agttctagat 20

<210> 304
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 304
tttccaatac ttttacaaat 20

<210> 305
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 305
attaataagc atctctctga 20

<210> 306
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 306
tgactatcca atttctagtt 20

<210> 307

<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 307
cttgtagtct gcacttaatg 20

<210> 308
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 308
acatttttta agtacaggaa 20

<210> 309
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 309
gaaatgtcta gcattttcta 20

<210> 310
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 310
ccacttattt gatgaccaca 20

<210> 311
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 311
tccagaatac tgccccatct 20

<210> 312
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 312
tggattcatt ttctgcaaat 20

<210> 313
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 313
agacattgtc aaatgtcccc 20

<210> 314
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 314
ttgatgtcag cactgttgac 20

<210> 315
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 315
acatcagtag cttcagatgt 20

<210> 316
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 316
caaaattaat tgtgcataat 20

<210> 317
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 317
tttttcttta aattttgcta 20

<210> 318
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 318
tagagatttt atgtacttgg 20

<210> 319
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 319
aaacacagga atttgcagac 20

<210> 320
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 320
gtggaataaa ccataatcta 20

<210> 321
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 321
gataattctt ttcacagaca 20

<210> 322
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 322
cttctctatc tcccagtgtt 20

<210> 323
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 323
caatacaggt aaatttcacg 20

<210> 324
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 324
aagggattta aaatttttat 20

<210> 325
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 325
ggcaagctgt acaagaaaaa 20

<210> 326
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 326
tgtactcacc ggtactctgc 20

<210> 327
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 327
aagagaatgc tcagaaatgg 20

<210> 328
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 328
acacttgtac cccatacatc 20

<210> 329
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 329
gacagtagag actgggaagg 20

<210> 330
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 330
taccaatttc tgaaagggca 20

<210> 331
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 331
cagagtaaac tccccatctc 20

<210> 332

<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 332
cttcaaagcc agcagtgtaa 20

<210> 333
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 333
cttactgggc taaaatcaag 20

<210> 334
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 334
tatcactgta ctagtttcct 20

<210> 335
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 335
ctgtactagt ttcctataac 20

<210> 336
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 336
actgtactag tttcctataa 20

<210> 337
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 337
cactgtacta gtttcctata 20

<210> 338
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

120

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 338
tcactgtact agtttcctat 20

<210> 339
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 339
atcactgtac tagtttccta 20

<210> 340
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 340
gtggaatgtc atggcaattt 20

<210> 341
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 341
atgaacggtc ttcaagctgt 20

<210> 342
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 342
aatgaacggt cttcaagctg 20

<210> 343
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 343
aaaatgaacg gtcttcaagc 20

<210> 344
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 344
ttaaaaatga acggtcttca 20

<210> 345
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 345
cacttaaaaa tgaacggtct 20

<210> 346
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 346
tgagtctctt gtcacttaaa 20

<210> 347
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 347
gaggtgagtc tcttgtcact 20

<210> 348
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 348
ggaggtgagt ctcttgtcac 20

<210> 349
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 349
ttggaggtga gtctcttgtc 20

<210> 350
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 350
attgcttctt ggaggtgagt 20

<210> 351
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 351
caattgcttc ttggaggtga 20

<210> 352
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 352
cacaattgct tcttggaggt 20

<210> 353
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 353
acacaattgc ttcttggagg 20

<210> 354
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 354
aaacacaatt gcttcttgga 20

<210> 355
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 355
aaaacacaat tgcttcttgg 20

<210> 356
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 356
gaaaacacaa ttgcttcttg 20

<210> 357

<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 357
ttgcttgaat aaaatcattc 20

<210> 358
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 358
gcttgcttga ataaaatcat 20

<210> 359
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 359
ttgcttgctt gaataaaatc 20

<210> 360
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 360
agttgcttgc ttgaataaaa 20

<210> 361
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 361
gaaataagtt gcttgcttga 20

<210> 362
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 362
aaatgaaata agttgcttgc 20

<210> 363
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 363
actgtagcaa acaaggaaat 20

<210> 364
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 364
ggaaactgta gcaaacaagg 20

<210> 365
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 365
cacaggaaac tgtagcaaac 20

<210> 366
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 366
agacatccac aggaaactgt 20

<210> 367
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 367
gtcagacatc cacaggaaac 20

<210> 368
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 368
tgagtcagac atccacagga 20

<210> 369
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

125

<400> 369
catagagttg agtcagacat 20

<210> 370
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 370
tcatagagtt gagtcagaca 20

<210> 371
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 371
ttcatagagt tgagtcagac 20

<210> 372
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 372
cgttttcata gagttgagtc 20

<210> 373
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 373
ccccacctct gaagaaggcg 20

<210> 374
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 374
catccccacc tctgaagaag 20

<210> 375
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 375
agctacatcc ccacctctga 20

<210> 376
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 376
ggaagctaca tccccacctc 20

<210> 377
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 377
atggaagcta catccccacc 20

<210> 378
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 378
tacatggaag ctacatcccc 20

<210> 379
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 379
gtacatggaa gctacatccc 20

<210> 380
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 380
gggtgtacat ggaagctaca 20

<210> 381
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 381
tggcagtatt gggcatttgg 20

<210> 382

<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 382
catctggcag tattgggcat 20

<210> 383
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 383
ctcatctggc agtattgggc 20

<210> 384
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 384
cctcatctgg cagtattggg 20

<210> 385
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 385
acctcatctg gcagtattgg 20

<210> 386
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 386
tgcacctcat ctggcagtat 20

<210> 387
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 387
gaatgtgcac ctcatctggc 20

<210> 388
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 388
tggaatgtgc acctcatctg 20

<210> 389
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 389
gggtggaatg tgcacctcat 20

<210> 390
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 390
ttgggtggaa tgtgcacctc 20

<210> 391
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 391
cttgggtgga atgtgcacct 20

<210> 392
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 392
tagcaaacac cttgggtgga 20

<210> 393
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 393
actgaatagc aaacaccttg 20

<210> 394
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 394
aaactgaata gcaaacacct 20

<210> 395
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 395
acttgctgga agaaaactga 20

<210> 396
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 396
gaacttgctg gaagaaaact 20

<210> 397
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 397
tgattgaact tgctggaaga 20

<210> 398
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 398
cattgattga acttgctgga 20

<210> 399
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 399
tcattgattg aacttgctgg 20

<210> 400
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 400
tgtcattgat tgaacttgct 20

130

<210> 401
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 401
ccatgtcatt gattgaactt 20

<210> 402
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 402
ctccatgtca ttgattgaac 20

<210> 403
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 403
ttctccatgt cattgattga 20

<210> 404
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 404
cttttctcca tgtcattgat 20

<210> 405
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 405
accaaacctt ttctccatgt 20

<210> 406
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 406
gcaaccaaac cttttctcca 20

<210> 407

<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 407
agcaaccaaa ccttttctcc 20

<210> 408
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 408
gaagcaacca aacctttct 20

<210> 409
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 409
tcaagaagca accaaaccct 20

<210> 410
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 410
ctttcaagaa gcaaccaaac 20

<210> 411
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 411
atctttcaag aagcaaccaa 20

<210> 412
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 412
ctatctttca agaagcaacc 20

<210> 413
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 413
cactatcttt caagaagcaa 20

<210> 414
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 414
aacactatct ttcaagaagc 20

<210> 415
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 415
atgtactttt ggcagggttc 20

<210> 416
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 416
cgatgtactt ttggcagggt 20

<210> 417
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 417
gttcgatgta cttttggcag 20

<210> 418
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 418
cctgttcgat gtacttttgg 20

<210> 419
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 419
gcacctgttc gatgtacttt 20

<210> 420
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 420
ctgcacctgt tcgatgtact 20

<210> 421
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 421
aactgcacct gttcgatgta 20

<210> 422
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 422
gaaactgcac ctgttcgatg 20

<210> 423
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 423
cagaaactgc acctgttcga 20

<210> 424
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 424
ccagaaactg cacctgttcg 20

<210> 425
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 425
tgtccagaaa ctgcacctgt 20

<210> 426
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 426
gaatgtccag aaactgcacc 20

<210> 427
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 427
aggaatgtcc agaaactgca 20

<210> 428
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 428
tcaaggaatg tccagaaact 20

<210> 429
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 429
cttcaaggaa tgtccagaaa 20

<210> 430
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 430
ttgcttcaag gaatgtccag 20

<210> 431
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 431
cattgcttca aggaatgtcc 20

<210> 432

<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 432
gaccacattg cttcaaggaa 20

<210> 433
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 433
tgaccacatt gcttcaagga 20

<210> 434
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 434
atgaccacat tgcttcaagg 20

<210> 435
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 435
ttgatgacca cattgcttca 20

<210> 436
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 436
atttgatgac cacattgctt 20

<210> 437
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 437
ttatttgatg accacattgc 20

<210> 438
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 438
cttatttgat gaccacattg 20

<210> 439
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 439
cacttatttg atgaccacat 20

<210> 440
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 440
agcacttatt tgatgaccac 20

<210> 441
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 441
caagcactta tttgatgacc 20

<210> 442
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 442
cgatggcaag cacttatttg 20

<210> 443
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 443
tgtctcgatg gcaagcactt 20

<210> 444
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 444
atgtctcgat ggcaagcact 20

<210> 445
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 445
aatgtctcga tggcaagcac 20

<210> 446
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 446
ttataaatgt ctcgatggca 20

<210> 447
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 447
tttataaatg tctcgatggc 20

<210> 448
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 448
ctcctttata aatgtctcga 20

<210> 449
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 449
aactccttta taaatgtctc 20

<210> 450
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 450
tcaactcctt tataaatgtc 20

<210> 451
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 451
tatcaactcc tttataaatg 20

<210> 452
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 452
ctctcatatc aactccttta 20

<210> 453
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 453
ctcctctcat atcaactcct 20

<210> 454
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 454
gactcctctc atatcaactc 20

<210> 455
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 455
aattgactcc tctcatatca 20

<210> 456
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 456
attaaaattg actcctctca 20

<210> 457

<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 457
cattaaaatt gactcctctc 20

<210> 458
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 458
cacattaaaa ttgactcctc 20

<210> 459
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 459
gacacattaa aattgactcc 20

<210> 460
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 460
agacacatta aaattgactc 20

<210> 461
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 461
accttagaca cattaaaatt 20

<210> 462
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 462
gctaacctta gacacattaa 20

<210> 463
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

140

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 463
actgctaacc ttagacacat 20

<210> 464
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 464
cactgctaac cttagacaca 20

<210> 465
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 465
acactgctaa ccttagacac 20

<210> 466
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 466
cttcaacact gctaacctta 20

<210> 467
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 467
tcttcaacac tgctaacctt 20

<210> 468
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 468
ggcattcttc aacactgcta 20

<210> 469
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 469
tggcattctt caacactgct 20

<210> 470
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 470
tttggcattc ttcaacactg 20

<210> 471
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 471
aaaactggca gcgaatgtta 20

<210> 472
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 472
ccggtactct gccttgtgaa 20

<210> 473
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 473
attgttccgg tactctgcct 20

<210> 474
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 474
aattgttccg gtactctgcc 20

<210> 475
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 475
caattgttcc ggtactctgc 20

<210> 476
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 476
aataggcaat tgttccggta 20

<210> 477
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 477
taataggcaa ttgttccggt 20

<210> 478
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 478
ctttaatagg caattgttcc 20

<210> 479
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 479
gtactttaat aggcaattgt 20

<210> 480
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 480
cgggactgta ctttaatagg 20

<210> 481
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 481
cgttactcag cacctttata 20

<210> 482

<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 482
gcttcagtga gaatccagat 20

<210> 483
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 483
ccaatttctg aaagggcaca 20

<210> 484
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 484
aaccaatttc tgaaagggca 20

<210> 485
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 485
gcaaccaatt tctgaaaggg 20

<210> 486
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 486
ggcaaccaat ttctgaaagg 20

<210> 487
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 487
agatgctgga agatgttcat 20

<210> 488
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

144

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 488
caacatccac atctgagaac 20

<210> 489
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 489
ggcaacatcc acatctgaga 20

<210> 490
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 490
ccctggcaac atccacatct 20

<210> 491
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 491
gaaccctggc aacatccaca 20

<210> 492
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 492
gagaaccctg gcaacatcca 20

<210> 493
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 493
tgagaaccct ggcaacatcc 20

<210> 494
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 494
ggagtgagaa ccctggcaac 20

<210> 495
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 495
ctggagtgag aaccctggca 20

<210> 496
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 496
atctggagtg agaaccctgg 20

<210> 497
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 497
gcatctggag tgagaaccct 20

<210> 498
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 498
aagcatctgg agtgagaacc 20

<210> 499
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 499
caaaagcatc tggagtgaga 20

<210> 500
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 500
cacaaaagca tctggagtga 20

<210> 501
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 501
tggtccgaca cacaaaagca 20

<210> 502
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 502
atggtccgac acacaaaagc 20

<210> 503
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 503
gatggtccga cacacaaaag 20

<210> 504
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 504
gcagatggtc cgacacacaa 20

<210> 505
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 505
taggtgcaga tggtccgaca 20

<210> 506
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 506
gataggtgca gatggtccga 20

<210> 507

<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 507
gtgataggtg cagatggtcc 20

<210> 508
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 508
gggtgatagg tgcagatggt 20

<210> 509
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 509
gaatgtaaag aagaggcagt 20

<210> 510
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 510
tagaatgtaa agaagaggca 20

<210> 511
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 511
catttgtata gaatgtaaag 20

<210> 512
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 512
tacatttgta tagaatgtaa 20

<210> 513
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 513
ccatacattt gtatagaatg 20

<210> 514
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 514
ctcgattttc catacatttg 20

<210> 515
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 515
tgactcgatt ttccatacat 20

<210> 516
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 516
gtgactcgat tttccataca 20

<210> 517
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 517
tgtgactcga ttttccatac 20

<210> 518
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 518
ctttgtgact cgattttcca 20

<210> 519
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 519
ttctttgtga ctcgattttc 20

<210> 520
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 520
acatttcttt gtgactcgat 20

<210> 521
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 521
aaacatttct ttgtgactcg 20

<210> 522
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 522
tgtgccactt tcagatgttt 20

<210> 523
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 523
gtgtgccact ttcagatgtt 20

<210> 524
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 524
cttggtgtgc cactttcaga 20

<210> 525
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 525
acttggtgtg ccactttcag 20

150

<210> 526
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 526
aggaacttgg tgtgccactt 20

<210> 527
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 527
tggtgttttc ttgaggagta 20

<210> 528
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 528
atggtgtttt cttgaggagt 20

<210> 529
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 529
tatggtgttt tcttgaggag 20

<210> 530
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 530
cagatatggt gttttcttga 20

<210> 531
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 531
ccagatatgg tgttttcttg 20

<210> 532

<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 532
atccagatat ggtgttttct 20

<210> 533
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 533
atatccagat atggtgtttt 20

<210> 534
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 534
ggctatatcc agatatggtg 20

<210> 535
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 535
aaggctatat ccagatatgg 20

<210> 536
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 536
gttaaaaggc tatatccaga 20

<210> 537
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 537
caggttaaaa ggctatatcc 20

<210> 538
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 538
tgcaggttaa aaggctatat 20

<210> 539
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 539
tttgcaggtt aaaaggctat 20

<210> 540
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 540
cttttgcagg ttaaaaggct 20

<210> 541
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 541
gttcttttgc aggttaaaag 20

<210> 542
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 542
aagttctttt gcaggttaaa 20

<210> 543
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 543
gtaaagttct tttgcaggtt 20

<210> 544
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 544
caggtaaagt tcttttgcag 20

<210> 545
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 545
tcaggtaaag ttcttttgca 20

<210> 546
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 546
gttcaggtaa agttcttttg 20

<210> 547
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 547
gggttcaggt aaagttcttt 20

<210> 548
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 548
cagggttcag gtaaagttct 20

<210> 549
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 549
gcagggttca ggtaaagttc 20

<210> 550
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 550
tggcagggtt caggtaaagt 20

<210> 551
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 551
gaatggcagg gttcaggtaa 20

<210> 552
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 552
agaatggcag ggttcaggta 20

<210> 553
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 553
tttagaatgg cagggttcag 20

<210> 554
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 554
attttagaat ggcagggttc 20

<210> 555
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 555
taaattttag aatggcaggg 20

<210> 556
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 556
agtcaactcc cgggtaaatt 20

<210> 557

<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 557
caaagtcaac tcccgggtaa 20

<210> 558
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 558
ccaaagtcaa ctcccgggta 20

<210> 559
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 559
cctccaaagt caactcccgg 20

<210> 560
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 560
ctcctccaaa gtcaactccc 20

<210> 561
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 561
cttctcctcc aaagtcaact 20

<210> 562
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 562
ttcaattctt ctcctccaaa 20

<210> 563
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 563
cattcaattc ttctcctcca 20

<210> 564
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 564
tcacattcaa ttcttctcct 20

<210> 565
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 565
agtcacattc aattcttctc 20

<210> 566
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 566
ggcaaacatt cactccttta 20

<210> 567
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 567
tcttggcaaa cattcactcc 20

<210> 568
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 568
gtctcttggc aaacattcac 20

<210> 569
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 569
caagtctctt ggcaaacatt 20

<210> 570
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 570
tgcaagtctc ttggcaaaca 20

<210> 571
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 571
ctttgtgcaa gtctcttggc 20

<210> 572
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 572
catctttgtg caagtctctt 20

<210> 573
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 573
tcatctttgt gcaagtctct 20

<210> 574
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 574
atcatctttg tgcaagtctc 20

<210> 575
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 575
acagcgaatc atctttgtgc 20

<210> 576
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 576
actgacagcg aatcatcttt 20

<210> 577
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 577
gaaaaactga cagcgaatca 20

<210> 578
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 578
gtgaaaaact gacagcgaat 20

<210> 579
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 579
ggagtaaaga ataagtgaaa 20

<210> 580
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 580
tgggagtaaa gaataagtga 20

<210> 581
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 581
tctgggagta aagaataagt 20

<210> 582

<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 582
gtcttctggg agtaaagaat 20

<210> 583
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 583
acagtcttct gggagtaaag 20

<210> 584
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 584
cttacagtct tctgggagta 20

<210> 585
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 585
ccttacagtc ttctgggagt 20

<210> 586
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 586
tccttacagt cttctgggag 20

<210> 587
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 587
cttccttaca gtcttctggg 20

<210> 588
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 588
cacttacact tctcttcctt 20

<210> 589
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 589
acacttacac ttctcttcct 20

<210> 590
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 590
agaaacactt acacttctct 20

<210> 591
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 591
cttaagaaac acttacactt 20

<210> 592
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 592
ccatagataa tcttaagaaa 20

<210> 593
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 593
catccataga taatcttaag 20

<210> 594
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 594
accatccata gataatctta 20

<210> 595
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 595
gaaccatcca tagataatct 20

<210> 596
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 596
tggagaacca tccatagata 20

<210> 597
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 597
tgtgtcccat acgcaatcct 20

<210> 598
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 598
cccttgtgtc ccatacgcaa 20

<210> 599
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 599
gctcccttgt gtcccatacg 20

<210> 600
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 600
agagctccct tgtgtcccat 20

<210> 601
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 601
ccagagctcc cttgtgtccc 20

<210> 602
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 602
taaccagagc tcccttgtgt 20

<210> 603
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 603
gtaaccagag ctcccttgtg 20

<210> 604
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 604
gagtaaccag agctcccttg 20

<210> 605
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 605
aagagtaacc agagctccct 20

<210> 606
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 606
tcaaagagta accagagctc 20

<210> 607

<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 607
tctcaaagag taaccagagc 20

<210> 608
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 608
aatctcaaag agtaaccaga 20

<210> 609
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 609
caatctcaaa gagtaaccag 20

<210> 610
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 610
cacaatctca aagagtaacc 20

<210> 611
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 611
gttacacaat ctcaaagagt 20

<210> 612
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 612
cagtgttaca caatctcaaa 20

<210> 613
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 613
cccagtgtta cacaatctca 20

<210> 614
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 614
gtccccagtg ttacacaatc 20

<210> 615
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 615
gttgtcccca gtgttacaca 20

<210> 616
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 616
gtttgttcct ccaacaatgc 20

<210> 617
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 617
agagtttgtt cctccaacaa 20

<210> 618
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 618
caagaagagt ttgttcctcc 20

<210> 619
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 619
ccccaagaag agtttgttcc 20

<210> 620
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 620
ctccccaaga agagtttgtt 20

<210> 621
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 621
ctctccccaa gaagagtttg 20

<210> 622
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 622
gggccactct ccccaagaag 20

<210> 623
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 623
cagggccact ctccccaaga 20

<210> 624
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 624
tctgagctgt cagcttcacc 20

<210> 625
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 625
gcctctgagc tgtcagcttc 20

<210> 626
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 626
tcctatgagt gaccctccac 20

<210> 627
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 627
gtcctatgag tgaccctcca 20

<210> 628
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 628
ggtgtcctat gagtgaccct 20

<210> 629
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 629
tggtgtccta tgagtgaccc 20

<210> 630
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 630
ccactggtgt cctatgagtg 20

<210> 631
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 631
cccactggtg tcctatgagt 20

<210> 632

<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 632
gaagcccatc aaagcagtgg 20

<210> 633
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 633
tatagatgcg ccaaacatcc 20

<210> 634
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 634
ctatagatgc gccaaacatc 20

<210> 635
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 635
gccactatag atgcgccaaa 20

<210> 636
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 636
atgccactat agatgcgcca 20

<210> 637
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 637
taatgtctga cagatttaaa 20

<210> 638
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 638
ttgtaatgtc tgacagattt 20

<210> 639
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 639
tgagaaaggt gtatcttttg 20

<210> 640
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 640
ttgtgagaaa ggtgtatctt 20

<210> 641
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 641
tttgtgagaa aggtgtatct 20

<210> 642
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 642
atttgtgaga aaggtgtatc 20

<210> 643
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 643
ttatttgtga gaaaggtgta 20

<210> 644
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 644
ttttatttgt gagaaaggtg 20

<210> 645
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 645
cttttatttg tgagaaaggt 20

<210> 646
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 646
ctcttttatt tgtgagaaag 20

<210> 647
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 647
ttggtgaata ataatctctt 20

<210> 648
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 648
tttggtgaat aataatctct 20

<210> 649
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 649
gttttggtga ataataatct 20

<210> 650
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 650
tatagttttg gtgaataata 20

170

<210> 651
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 651
actttatagt tttggtgaat 20

<210> 652
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 652
cccttctgag actttatagt 20

<210> 653
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 653
gattcccttc tgagacttta 20

<210> 654
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 654
catgattccc ttctgagact 20

<210> 655
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 655
tcatgattcc cttctgagac 20

<210> 656
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 656
tatcatgatt cccttctgag 20

<210> 657

<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 657
atatcatgat tcccttctga 20

<210> 658
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 658
gcgatatcat gattcccttc 20

<210> 659
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 659
ggcgatatca tgattccctt 20

<210> 660
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 660
aaggcgatat catgattccc 20

<210> 661
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 661
tatcaaggcg atatcatgat 20

<210> 662
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 662
gagttttatc aaggcgatat 20

<210> 663
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 663
ctggagtttt atcaaggcga 20

<210> 664
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 664
gcctggagtt ttatcaaggc 20

<210> 665
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 665
aggagcctgg agttttatca 20

<210> 666
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 666
attcaaagga gcctggagtt 20

<210> 667
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 667
gtaattcaaa ggagcctgga 20

<210> 668
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 668
gtgtaattca aaggagcctg 20

<210> 669
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 669
cagtgtaatt caaaggagcc 20

<210> 670
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 670
taggcatatt ggtttttgga 20

<210> 671
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 671
ggtaggcata ttggtttttg 20

<210> 672
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 672
gaaggtaggc atattggttt 20

<210> 673
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 673
cttgtgtcac ctttggaagg 20

<210> 674
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 674
gcttgtgtca cctttggaag 20

<210> 675
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 675
gtgcttgtgt caccttgga 20

<210> 676
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 676
aaattgtgct tgtgtcacct 20

<210> 677
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 677
gtataaattg tgcttgtgtc 20

<210> 678
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 678
ggtataaatt gtgcttgtgt 20

<210> 679
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 679
tggtataaat tgtgcttgtg 20

<210> 680
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 680
gttggtataa attgtgcttg 20

<210> 681
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 681
cagttggtat aaattgtgct 20

<210> 682

<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 682
cccaacagtt ggtataaatt 20

<210> 683
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 683
ttacccaaca gttggtataa 20

<210> 684
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 684
ggttacccaa cagttggtat 20

<210> 685
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 685
gaagccccat ccggttaccc 20

<210> 686
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 686
tcgagaagcc ccatccggtt 20

<210> 687
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 687
ccttcgagaa gccccatccg 20

<210> 688
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 688
tttctccttc gagaagcccc 20

<210> 689
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 689
cctttctcct tcgagaagcc 20

<210> 690
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 690
tcacctttct ccttcgagaa 20

<210> 691
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 691
ttcacctttc tccttcgaga 20

<210> 692
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 692
tttggatttc acctttctcc 20

<210> 693
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 693
tgtagaatat tttggatttc 20

<210> 694
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

177

<400> 694
tttgttacca aaggaatatt 20

<210> 695
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 695
catttgttac caaaggaata 20

<210> 696
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 696
tcatttgtta ccaaaggaat 20

<210> 697
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 697
tcttcatttg ttaccaaagg 20

<210> 698
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 698
cattcttcat ttgttaccaa 20

<210> 699
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 699
cttgatatct tttctggcat 20

<210> 700
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 700
taatcttgat atcttttctg 20

<210> 701
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 701
tataatcttg atatcttttc 20

<210> 702
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 702
ttctttatag ccagcacaga 20

<210> 703
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 703
ccttctttat agccagcaca 20

<210> 704
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 704
ccccttcttt atagccagca 20

<210> 705
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 705
ccccttctt tatagccagc 20

<210> 706
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 706
tccccttct ttatagccag 20

<210> 707

<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 707
caagcatctt ttccccttc 20

<210> 708
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 708
agggaccacc tgaatctccc 20

<210> 709
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 709
ctaagggacc acctgaatct 20

<210> 710
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 710
actaagggac cacctgaatc 20

<210> 711
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 711
caaactaagg gaccacctga 20

<210> 712
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 712
gcaaactaag ggaccacctg 20

<210> 713
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

180

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 713
tgcaaactaa gggaccacct 20

<210> 714
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 714
gtgtttgcaa actaagggac 20

<210> 715
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 715
tgtgtttgca aactaaggga 20

<210> 716
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 716
ccctgcgggc acagccttca 20

<210> 717
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 717
ttgctccctg cgggcacagc 20

<210> 718
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 718
caccaggttg ctccctgcgg 20

<210> 719
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 719
acaccaggtt gctccctgcg 20

<210> 720
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 720
agacaccagg ttgctccctg 20

<210> 721
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 721
gtagacacca ggttgctccc 20

<210> 722
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 722
ctcagcgact ttggtgtaga 20

<210> 723
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 723
gtactcagcg actttggtgt 20

<210> 724
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 724
catgtactca gcgactttgg 20

<210> 725
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 725
cagtccatgt actcagcgac 20

<210> 726
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 726
tccagtccat gtactcagcg 20

<210> 727
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 727
gcttttccat cactgctctg 20

<210> 728
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 728
ctgagctttt ccatcactgc 20

<210> 729
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 729
tctgagcttt tccatcactg 20

<210> 730
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 730
gcatctgagc ttttccatca 20

<210> 731
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 731
actgcatctg agcttttcca 20

<210> 732

<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 732
tggtgactgc atctgagctt 20

<210> 733
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 733
gctggtgact gcatctgagc 20

<210> 734
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 734
atgctggtga ctgcatctga 20

<210> 735
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 735
tcatgctggt gactgcatct 20

<210> 736
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 736
cttctcatgc tggtgactgc 20

<210> 737
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 737
actgcttctc atgctggtga 20

<210> 738
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 738
ggactgcttc tcatgctggt 20

<210> 739
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 739
ctggactgct tctcatgctg 20

<210> 740
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 740
ctctggactg cttctcatgc 20

<210> 741
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 741
agactctgga ctgcttctca 20

<210> 742
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 742
cctagactct ggactgcttc 20

<210> 743
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 743
tgcctagact ctggactgct 20

<210> 744
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 744
attgcctaga ctctggactg 20

<210> 745
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 745
aaaaattgcc tagactctgg 20

<210> 746
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 746
ggttgtaaaa attgcctaga 20

<210> 747
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 747
tcaggttgta aaaattgcct 20

<210> 748
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 748
ctcaggttgt aaaaattgcc 20

<210> 749
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 749
actcaggttg taaaaattgc 20

<210> 750
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 750
gaactcaggt tgtaaaaatt 20

<210> 751
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 751
acttgaactc aggttgtaaa 20

<210> 752
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 752
gacttgaact caggttgtaa 20

<210> 753
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 753
gaatttgact tgaactcagg 20

<210> 754
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 754
ctcagaattt gacttgaact 20

<210> 755
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 755
aggctcagaa tttgacttga 20

<210> 756
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 756
caggctcaga atttgacttg 20

<210> 757

<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 757
ccaggctcag aatttgactt 20

<210> 758
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 758
ccccaggctc agaatttgac 20

<210> 759
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 759
ccccccaggc tcagaatttg 20

<210> 760
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 760
gacccccag gctcagaatt 20

<210> 761
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 761
atgaggaccc cccaggctca 20

<210> 762
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 762
gatgaggacc ccccaggctc 20

<210> 763
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 763
gcagatgagg acccccccagg 20

<210> 764
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 764
tgcagatgag gacccccccag 20

<210> 765
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 765
tttgcagatg aggacccccc 20

<210> 766
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 766
ctccatgctt tgcagatgag 20

<210> 767
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 767
gccactctcc atgctttgca 20

<210> 768
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 768
agatgccact ctccatgctt 20

<210> 769
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 769
gaagatgcca ctctccatgc 20

<210> 770
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 770
agaagatgcc actctccatg 20

<210> 771
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 771
caaagaagat gccactctcc 20

<210> 772
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 772
gatgcaaaga agatgccact 20

<210> 773
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 773
ggatgcaaag aagatgccac 20

<210> 774
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 774
taggatgcaa agaagatgcc 20

<210> 775
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 775
tccttaggat gcaaagaaga 20

190

<210> 776
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 776
cgtccttagg atgcaaagaa 20

<210> 777
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 777
attgtcctca gcagctctga 20

<210> 778
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 778
ccagacattg tcctcagcag 20

<210> 779
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 779
agccagacat tgtcctcagc 20

<210> 780
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 780
tcagccagac attgtcctca 20

<210> 781
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 781
cttcagccag acattgtcct 20

<210> 782

<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 782
agcgggcttc agccagacat 20

<210> 783
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 783
gaaagcgggc ttcagccaga 20

<210> 784
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 784
ctgaaagcgg gcttcagcca 20

<210> 785
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 785
cgtgctgaaa gcgggcttca 20

<210> 786
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 786
gtcagcccct ggttacggcg 20

<210> 787
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 787
ttgtcagccc ctggttacgg 20

<210> 788
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 788
cattgtcagc ccctggttac 20

<210> 789
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 789
gcattgtcag cccctggtta 20

<210> 790
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 790
cctcgcattg tcagcccctg 20

<210> 791
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 791
gacctcgcat tgtcagcccc 20

<210> 792
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 792
gcgacctcgc attgtcagcc 20

<210> 793
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 793
ctcagttgcg acctcgcatt 20

<210> 794
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

193

<400> 794
tctcagttgc gacctcgcat 20

<210> 795
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 795
gtcatggaga tctcagttgc 20

<210> 796
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 796
cacagtcatg gagatctcag 20

<210> 797
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 797
ccatgaacat cctatccgtg 20

<210> 798
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 798
tgtcctgtca acatattcca 20

<210> 799
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 799
gggtttctgc caacagtttc 20

<210> 800
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 800
gactttgggt ttctgccaac 20

194

<210> 801
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 801
atattgactt tgggtttctg 20

<210> 802
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 802
ggcttcaata ttgactttgg 20

<210> 803
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 803
ctgcaggcaa tattttgctt 20

<210> 804
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 804
atgtggcact gcaggcaata 20

<210> 805
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 805
ttctaatgtg gcactgcagg 20

<210> 806
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 806
tcaagctgtt ctaatgtggc 20

<210> 807

<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 807
acggtcttca agctgttcta 20

<210> 808
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 808
ggtcaatctg actagtgaat 20

<210> 809
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 809
tctctggtca atctgactag 20

<210> 810
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 810
gcccaccaac aatctctggt 20

<210> 811
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 811
gaccccaaca gacagcccac 20

<210> 812
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 812
ccagaatcat gccttgtggg 20

<210> 813
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 813
gtcaccatag acccagaatc 20

<210> 814
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 814
gtggccctct taagtcacca 20

<210> 815
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 815
ctcattgttg tgtggccctc 20

<210> 816
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 816
gtagccatac atctgaggaa 20

<210> 817
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 817
atgtttattg tagccataca 20

<210> 818
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 818
ctcgcctttg tgactcgatt 20

<210> 819
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 819
catactcgcc tttgtgactc 20

<210> 820
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 820
gcatactcgc ctttgtgact 20

<210> 821
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 821
tgcatactcg cctttgtgac 20

<210> 822
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 822
ttcacaacac acagtcatgg 20

<210> 823
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 823
ttttttgatc tttcaccatt 20

<210> 824
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 824
atgcatactc gcctttgtga 20

<210> 825
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 825
catgcatact cgcctttgtg 20

<210> 826
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 826
ccatgcatac tcgcctttgt 20

<210> 827
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 827
acacacagtc atggagatct 20

<210> 828
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 828
acaacacaca gtcatggaga 20

<210> 829
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 829
ttatttcaca acacacagtc 20

<210> 830
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 830
tccatgcata ctcgcctttg 20

<210> 831
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 831
ttccatgcat actcgccttt 20

<210> 832

<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 832
tttccatgca tactcgcctt 20

<210> 833
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 833
gattttccat gcatactcgc 20

<210> 834
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 834
gtgatgcgat tttccatgca 20

<210> 835
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 835
gcagcaagtg ctccccatgc 20

<210> 836
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 836
gtgatgaaag tacagcagca 20

<210> 837
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 837
tcctatccgt gttcagctgt 20

<210> 838
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

200

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 838
tactctctac atactcagga 20

<210> 839
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 839
tgagacctcc agactactgt 20

<210> 840
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 840
ctctgctggt tttagaccac 20

<210> 841
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 841
gggacaatct ccacccccga 20

<210> 842
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 842
tgcagagtgt catctgcgaa 20

<210> 843
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 843
tggttcccta gcggtccaga 20

<210> 844
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

201

<400> 844
cccctgtagt tggctgtggt 20

<210> 845
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 845
gcaagtcaaa gagtgtccac 20

<210> 846
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 846
gaagcctgtt agagttggcc 20

<210> 847
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 847
cccccatgtc catggacttt 20

<210> 848
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 848
ctgccaacag tttcaacttt 20

<210> 849
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 849
ttttgcttgg cttcaatatt 20

<210> 850
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 850
atctgactag tgaatggctt 20

<210> 851
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 851
agacagccca ccaacaatct 20

<210> 852
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 852
tgcatagacc ccaacagaca 20

<210> 853
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 853
cctgtgcata gaccccaaca 20

<210> 854
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 854
ccagcagaaa tcctgtgcat 20

<210> 855
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 855
agaactccag cagaaatcct 20

<210> 856
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 856
ttgtgtggcc ctcttaagtc 20

<210> 857

<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 857
tatagatgtt tattgtagcc 20

<210> 858
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 858
atactcgcct ttgtgactcg 20

<210> 859
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 859
ttttccatgc atactcgcct 20

<210> 860
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 860
tcgcctttgt gatgcgattt 20

<210> 861
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 861
atactcgcct ttgtgatgcg 20

<210> 862
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 862
catactcgcc tttgtgatgc 20

<210> 863
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 863
gcatactcgc ctttgtgatg 20

<210> 864
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 864
tgcatactcg cctttgtgat 20

<210> 865
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 865
cccatgcata ctcgcctttg 20

<210> 866
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 866
ccccatgcat actcgccttt 20

<210> 867
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 867
tccccatgca tactcgcctt 20

<210> 868
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 868
ctccccatgc atactcgcct 20

<210> 869
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

205

<400> 869
tgctccccat gcatactcgc 20

<210> 870
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 870
gctctgattg ggtcaccaca 20

<210> 871
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 871
tgtctccttc cacttgctcc 20

<210> 872
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 872
gccattttat ccctgagatt 20

<210> 873
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 873
ctgtgctgta ttttggagcc 20

<210> 874
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 874
ggatttggcc ctgagcccca 20

<210> 875
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 875
caacctgtcc attccctggg 20

<210> 876
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 876
attcggtgtc tttactggct 20

<210> 877
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 877
tcctgttgcc tgacatgcta 20

<210> 878
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 878
ctcccactga ctgactactc 20

<210> 879
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 879
gctggtcctt gaaccccgtg 20

<210> 880
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 880
ctggctcact ataggcccca 20

<210> 881
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 881
ataagcatct ctctgaccta 20

<210> 882

<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 882
gcttccccaa tacttgctgg 20

<210> 883
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 883
gtgtccagaa tactgcccca 20

<210> 884
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 884
gtggacgact gccctgtgcc 20

<210> 885
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 885
tctctagcat cctagtcctc 20

<210> 886
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 886
atactggcta agtcaggccc 20

<210> 887
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 887
ggcagggagg tggattattc 20

<210> 888
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 888
gcttctctat ctcccagtgt 20

<210> 889
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 889
gatgcatgca gcaatacagg 20

<210> 890
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 890
gtctcgatgg caagctgtac 20

<210> 891
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 891
gtactcaccg gtactctgcc 20

<210> 892
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 892
atgaagggcg aggcgcagtg 20

<210> 893
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 893
ccccatacat ctatgcaaat 20

<210> 894
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 894
acatgactcc agtgatggat 20

<210> 895
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 895
aaaatgacac caaaattcgc 20

<210> 896
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 896
tggacatcct tcccctcgca 20

<210> 897
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 897
gctctgagcc ttccgcctct 20

<210> 898
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 898
actagtttcc tataactgct 20

<210> 899
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 899
tactagtttc ctataactgc 20

<210> 900
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 900
gtactagttt cctataactg 20

210

<210> 901
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 901
gtatcactgt actagtttcc 20

<210> 902
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 902
agtatcactg tactagtttc 20

<210> 903
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 903
cagtatcact gtactagttt 20

<210> 904
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 904
acagtatcac tgtactagtt 20

<210> 905
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 905
aacagtatca ctgtactagt 20

<210> 906
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 906
taacagtatc actgtactag 20

<210> 907

211

<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 907
tctaacagta tcactgtact 20

<210> 908
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 908
ctctaacagt atcactgtac 20

<210> 909
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 909
actctaacag tatcactgta 20

<210> 910
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 910
aactctaaca gtatcactgt 20

<210> 911
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 911
taactctaac agtatcactg 20

<210> 912
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 912
ataactctaa cagtatcact 20

<210> 913
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

212

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 913
tataactcta acagtatcac 20

<210> 914
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 914
ctataactct aacagtatca 20

<210> 915
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 915
cctataactc taacagtatc 20

<210> 916
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 916
ctgtcctata actctaacag 20

<210> 917
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 917
cactgtccta taactctaac 20

<210> 918
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 918
tcactgtcct ataactctaa 20

<210> 919
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

213

<400> 919
tatcactgtc ctataactct 20

<210> 920
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 920
gtcctatatc actgtcctat 20

<210> 921
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 921
tgtcctatat cactgtccta 20

<210> 922
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 922
ctgtcctata tcactgtcct 20

<210> 923
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 923
actgtcctat atcactgtcc 20

<210> 924
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 924
tcactgtcct atatcactgt 20

<210> 925
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 925
cccccagttc ccatgcaagg 20

214

<210> 926
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 926
gagcacagat ctcttcaagt 20

<210> 927
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 927
gacggtcacc cagcccctgac 20

<210> 928
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 928
aagggaaatt agaggcaggc 20

<210> 929
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 929
ctttcttgag acaatcccctt 20

<210> 930
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 930
gtgggatcag agaatgacta 20

<210> 931
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 931
ccctctgtct tagatgtcca 20

<210> 932

215

<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 932
cttatcagtc ccagtcatgt 20

<210> 933
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 933
aagagttggg atgcgactct 20

<210> 934
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 934
tccactccta agaagtatgg 20

<210> 935
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 935
gcacccttttt cattgagatt 20

<210> 936
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 936
actaccattt gggttggtag 20

<210> 937
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 937
aagccctgtt tggtttttag 20

<210> 938
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

216

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 938
aaatgacacc aaaattgagt 20

<210> 939
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 939
aaatgacacc aaaattcgct 20

<210> 940
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 940
taagcaaggc ctatgtgtgg 20

<210> 941
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 941
acacgcacag gtcccagggc 20

<210> 942
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 942
gggaaactct ttcctcgccc 20

<210> 943
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 943
ctagtttcct ataactgctg 20

<210> 944
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 944
ctaacagtat cactgtacta 20

<210> 945
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 945
gtcctataac tctaacagta 20

<210> 946
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 946
tgtcctataa ctctaacagt 20

<210> 947
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 947
atcactgtcc tataactcta 20

<210> 948
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 948
atatcactgt cctataactc 20

<210> 949
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 949
tatatcactg tcctataact 20

<210> 950
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 950
cactgtccta tatcactgtc 20

<210> 951
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 951
atcactgtcc tatatcactg 20

<210> 952
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 952
tatcactgtc ctatatcact 20

<210> 953
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 953
agtatcactg tcctatatca 20

<210> 954
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 954
cagtatcact gtcctatatc 20

<210> 955
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 955
acagtatcac tgtcctatat 20

<210> 956
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 956
taacagtatc actgtcctat 20

<210> 957

<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 957
ataacagtat cactgtccta 20

<210> 958
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 958
aactataaca gtatcactgt 20

<210> 959
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 959
tataactata acagtatcac 20

<210> 960
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 960
ctataactat aacagtatca 20

<210> 961
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 961
tttcctataa ctataacagt 20

<210> 962
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 962
ctagtttcct ataactataa 20

<210> 963
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

220

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 963
taacaatatc actgtcctat 20

<210> 964
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 964
aactataaca atatcactgt 20

<210> 965
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 965
taactataac aatatcactg 20

<210> 966
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 966
ataactataa caatatcact 20

<210> 967
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 967
tataactata acaatatcac 20

<210> 968
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 968
gtttcctata actataacaa 20

<210> 969
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

221

<400> 969
acctataact ctaacagtat 20

<210> 970
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 970
tacctataac tctaacagta 20

<210> 971
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 971
tgtacctata actctaacag 20

<210> 972
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 972
ctgtacctat aactctaaca 20

<210> 973
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 973
actgtaccta taactctaac 20

<210> 974
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 974
cactgtacct ataactctaa 20

<210> 975
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 975
caatatcact gtacctataa 20

222

<210> 976
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 976
ataacaatat cactgtacct 20

<210> 977
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 977
actataacaa tatcactgta 20

<210> 978
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 978
gtcctatatc actgtacctg 20

<210> 979
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 979
cactgtccta tatcactgta 20

<210> 980
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 980
cctataacag tatcactgtc 20

<210> 981
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 981
tttcctataa cagtatcact 20

<210> 982

223

<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 982
gtttcctata acagtatcac 20

<210> 983
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 983
agtttcctat aacagtatca 20

<210> 984
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 984
tagtttccta taacagtatc 20

<210> 985
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 985
ctagtttcct ataacagtat 20

<210> 986
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 986
actagtttcc tataacagta 20

<210> 987
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 987
gtatcactgt cctatatcac 20

<210> 988
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

224

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 988
aacagtatca ctgtcctata 20

<210> 989
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 989
tataacagta tcactgtcct 20

<210> 990
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 990
ctataacagt atcactgtcc 20

<210> 991
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 991
actataacag tatcactgtc 20

<210> 992
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 992
taactataac agtatcactg 20

<210> 993
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 993
ataactataa cagtatcact 20

<210> 994
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

225

<400> 994
cctataacta taacagtatc 20

<210> 995
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 995
tcctataact ataacagtat 20

<210> 996
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 996
ttcctataac tataacagta 20

<210> 997
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 997
gtttcctata actataacag 20

<210> 998
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 998
actagtttcc tataactata 20

<210> 999
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 999
tactagtttc ctataactat 20

<210> 1000
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1000
caatatcact gtcctatatc 20

226

<210> 1001
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1001
actataacaa tatcactgtc 20

<210> 1002
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1002
ttcctataac tataacaata 20

<210> 1003
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1003
tttcctataa ctataacaat 20

<210> 1004
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1004
gtacctataa ctctaacagt 20

<210> 1005
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1005
tcactgtacc tataactcta 20

<210> 1006
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1006
tatcactgta cctataactc 20

<210> 1007

<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1007
atatcactgt acctataact 20

<210> 1008
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1008
acaatatcac tgtacctata 20

<210> 1009
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1009
aacaatatca ctgtacctat 20

<210> 1010
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1010
taacaatatc actgtaccta 20

<210> 1011
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1011
tataacaata tcactgtacc 20

<210> 1012
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1012
ctataacaat atcactgtac 20

<210> 1013
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1013
tgtaacagta tcactgtact 20

<210> 1014
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1014
ctgtaacagt atcactgtac 20

<210> 1015
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1015
cctgtaacag tatcactgta 20

<210> 1016
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1016
ctatatcact gtacctgtaa 20

<210> 1017
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1017
cctatatcac tgtacctgta 20

<210> 1018
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1018
tcctatatca ctgtacctgt 20

<210> 1019
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1019
tgtcctatat cactgtacct 20

<210> 1020
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1020
ctgtcctata tcactgtacc 20

<210> 1021
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1021
actgtcctat atcactgtac 20

<210> 1022
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1022
tcctataaca gtatcactgt 20

<210> 1023
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1023
ttcctataac agtatcactg 20

<210> 1024
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1024
tactagtttc ctataacagt 20

<210> 1025
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1025
gtcactgtac ctataactct 20

230

<210> 1026
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1026
tgtcactgta cctataactc 20

<210> 1027
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1027
atgtcactgt acctataact 20

<210> 1028
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1028
tatgtcactg tacctataac 20

<210> 1029
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1029
ctatgtcact gtacctataa 20

<210> 1030
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1030
cctatgtcac tgtacctata 20

<210> 1031
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1031
tcctatgtca ctgtacctat 20

<210> 1032

<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1032
gtcctatgtc actgtaccta 20

<210> 1033
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1033
tgtcctatgt cactgtacct 20

<210> 1034
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1034
ctgtcctatg tcactgtacc 20

<210> 1035
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1035
actgtcctat gtcactgtac 20

<210> 1036
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1036
cactgtccta tgtcactgta 20

<210> 1037
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1037
tcactgtcct atgtcactgt 20

<210> 1038
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1038
tatcactgtc ctatgtcact 20

<210> 1039
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1039
gtatcactgt cctatgtcac 20

<210> 1040
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1040
agtatcactg tcctatgtca 20

<210> 1041
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1041
aacagtatca ctgtcctatg 20

<210> 1042
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1042
ctacctataa ctctaacagt 20

<210> 1043
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1043
actgtcctat aactataaca 20

<210> 1044
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

233

<400> 1044
cactgtccta taactataac 20

<210> 1045
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1045
cctatatcac tgtacctata 20

<210> 1046
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1046
tcctatatca ctgtacctat 20

<210> 1047
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1047
tacctataac agtatcactg 20

<210> 1048
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1048
ataactataa cagtatcacc 20

<210> 1049
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1049
tcactgtacc tataactata 20

<210> 1050
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1050
aacaatatca ctgtaccttt 20

234

<210> 1051
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1051
taacaatatc actgtacctt 20

<210> 1052
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1052
gtcctataac tataacaata 20

<210> 1053
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1053
cagtatcact gtcctatgtc 20

<210> 1054
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1054
acagtatcac tgtcctatgt 20

<210> 1055
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1055
tctacctata actctaacag 20

<210> 1056
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1056
ctctacctat aactctaaca 20

<210> 1057

235

<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1057
actctaccta taactctaac 20

<210> 1058
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1058
actgtcctat atcactctac 20

<210> 1059
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1059
cactgtccta tatcactcta 20

<210> 1060
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1060
tcactgtcct atatcactct 20

<210> 1061
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1061
atcactgtcc tatatcactc 20

<210> 1062
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1062
atcactgtac tagttttcta 20

<210> 1063
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1063
tatcactgta ctagttttct 20

<210> 1064
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1064
gtatcactgt actagttttc 20

<210> 1065
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1065
agtatcactg tactagtttt 20

<210> 1066
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1066
ataacagtat cactgtacta 20

<210> 1067
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1067
gtcctataac tataacagta 20

<210> 1068
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1068
tgtcctataa ctataacagt 20

<210> 1069
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1069
ctgtcctata actataacag 20

<210> 1070
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1070
tcactgtcct ataactataa 20

<210> 1071
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1071
atcactgtcc tataactata 20

<210> 1072
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1072
tatcactgtc ctataactat 20

<210> 1073
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1073
atatcactgt cctataacta 20

<210> 1074
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1074
ctatatcact gtacctataa 20

<210> 1075
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1075
gtcctatatc actgtaccta 20

<210> 1076
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1076
cctataacag tatcactgta 20

<210> 1077
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1077
acctataaca gtatcactgt 20

<210> 1078
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1078
gtacctataa cagtatcact 20

<210> 1079
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1079
tgtacctata acagtatcac 20

<210> 1080
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1080
tcactgtacc tataacagta 20

<210> 1081
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1081
atcactgtac ctataacagt 20

<210> 1082

<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1082
tatcactgta cctataacag 20

<210> 1083
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1083
aatatcactg tcctataact 20

<210> 1084
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1084
caatatcact gtcctataac 20

<210> 1085
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1085
acaatatcac tgtcctataa 20

<210> 1086
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1086
cgtactagtt tcctataact 20

<210> 1087
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1087
actataacag tatcaccgta 20

<210> 1088
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

240

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1088
aactataaca gtatcaccgt 20

<210> 1089
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1089
taactataac agtatcaccg 20

<210> 1090
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1090
acctataact ataacagtat 20

<210> 1091
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1091
tacctataac tataacagta 20

<210> 1092
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1092
gtacctataa ctataacagt 20

<210> 1093
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1093
tgtacctata actataacag 20

<210> 1094
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

241

<400> 1094
atcactgtac ctataactat 20

<210> 1095
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1095
tatcactgta cctataacta 20

<210> 1096
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1096
caactataac agtatcactg 20

<210> 1097
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1097
acaactataa cagtatcact 20

<210> 1098
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1098
tacaactata acagtatcac 20

<210> 1099
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1099
ctacaactat aacagtatca 20

<210> 1100
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1100
caatatcact gtcctacaac 20

<210> 1101
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1101
gaatatcact gtcctataac 20

<210> 1102
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1102
acaatatcac tgtaccttta 20

<210> 1103
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1103
tgtcctataa ctataacaat 20

<210> 1104
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1104
ctgtcctata actataacaa 20

<210> 1105
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1105
gcacctggca gaacagtacc 20

<210> 1106
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1106
gacagtgggc cagagccttg 20

<210> 1107

<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1107
acatcactgt cctataacta 20

<210> 1108
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1108
gtacctatat cactgtaact 20

<210> 1109
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1109
atatcactgt acctatatca 20

<210> 1110
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1110
tcactgtcct ataactatat 20

<210> 1111
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1111
cgtcactgta cctataactg 20

<210> 1112
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1112
atcactgtcc tataactatt 20

<210> 1113
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1113
aacatcactg tacctataac 20

<210> 1114
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1114
gccatccagg gtgctctccc 20

<210> 1115
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1115
gcccccggag caccttcact 20

<210> 1116
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1116
cgtggttagc ctgacatctc 20

<210> 1117
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1117
gccatctggt tagcctccga 20

<210> 1118
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1118
tacactgaac ccccttaggc 20

<210> 1119
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

245

<400> 1119
cagtttggcc tttccatctc 20

<210> 1120
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1120
gccactaacc cacctcttaa 20

<210> 1121
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1121
actcccatct actcccccat 20

<210> 1122
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1122
ctgctgattg tgtctggctc 20

<210> 1123
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1123
acaaggcttc gaggacagcc 20

<210> 1124
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1124
gcgattcctt gcctctgctg 20

<210> 1125
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1125
caccgcgcga atgcctgcct 20

<210> 1126
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1126
atccaacctc tctccctatc 20

<210> 1127
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1127
gcccaagcct acatgcatac 20

<210> 1128
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1128
ggcctggata cagcctttct 20

<210> 1129
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1129
gtcccgaaga gtcaagtcca 20

<210> 1130
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1130
actgttgtcc atagcagcat 20

<210> 1131
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1131
agccctcaat tgttgctggt 20

<210> 1132

<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1132
gatgacctgc agatgcacag 20

<210> 1133
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1133
caggatagaa ctgatggtcc 20

<210> 1134
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1134
agaacaggag acaatccact 20

<210> 1135
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1135
gttcatgtgg caacctgtga 20

<210> 1136
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1136
catcactgtc ctataactat 20

<210> 1137
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1137
tacctatatc actgtaacta 20

<210> 1138
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1138
tgtacctata tcactgtaac 20

<210> 1139
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1139
tatcactgta cctatatcac 20

<210> 1140
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1140
aatatcactg tacctatatc 20

<210> 1141
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1141
caatatcact gtacctatat 20

<210> 1142
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1142
actatatcac tgtcctataa 20

<210> 1143
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1143
taactatatc actgtcctat 20

<210> 1144
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

249

<400> 1144
ataactatat cactgtccta 20

<210> 1145
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1145
ctgtcctata actatatcac 20

<210> 1146
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1146
actgtcctat aactatatca 20

<210> 1147
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1147
cactgtccta taactatatc 20

<210> 1148
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1148
gtaacaatat cactgtccta 20

<210> 1149
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1149
ctgtaacaat atcactgtcc 20

<210> 1150
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1150
actgtaacaa tatcactgtc 20

250

<210> 1151
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1151
cactgtacct ataactgtaa 20

<210> 1152
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1152
tcactgtacc tataactgta 20

<210> 1153
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1153
gtcactgtac ctataactgt 20

<210> 1154
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1154
actgtcctat aactattaca 20

<210> 1155
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1155
cactgtccta taactattac 20

<210> 1156
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1156
tcactgtcct ataactatta 20

<210> 1157

<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1157
acctataact ataacaatat 20

<210> 1158
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1158
tacctataac tataacaata 20

<210> 1159
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1159
gtacctataa ctataacaat 20

<210> 1160
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1160
catcactgta cctataacta 20

<210> 1161
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1161
acatcactgt acctataact 20

<210> 1162
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1162
caacatcact gtacctataa 20

<210> 1163
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1163
acatcttgtc attaacatcc 20

<210> 1164
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1164
gcacccaata cagggccagg 20

<210> 1165
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1165
tgcctcctgg cagccttcaa 20

<210> 1166
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1166
tgaaaagcca cgcccttagc 20

<210> 1167
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1167
gccaggagac agccctactc 20

<210> 1168
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1168
agcccaatgt cctaacctgt 20

<210> 1169
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

253

<400> 1169
tgcggttata tgggctgaag 20

<210> 1170
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1170
cctttagcca ctcctcttgc 20

<210> 1171
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1171
ccccatggta ccaaagccat 20

<210> 1172
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1172
ctcaatgcca ccctttcccc 20

<210> 1173
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1173
ctgtctaact ggcctggctg 20

<210> 1174
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1174
ggtcagaagg cctcttattc 20

<210> 1175
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1175
ccatctgtcc cctcaatccc 20

<210> 1176
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1176
actctggcac tggtcatgga 20

<210> 1177
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1177
ataaagtgcg attaagcccc 20

<210> 1178
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1178
taccaagctt gtagaaggga 20

<210> 1179
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1179
gaaagacggc caatgggaaa 20

<210> 1180
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1180
ctctatcaaa atcctgctgc 20

<210> 1181
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1181
ctccagtcac caccattgcc 20

<210> 1182

255

<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1182
aagagtaagc cttcacaggg 20

<210> 1183
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1183
ctcaccagag ttgtccccag 20

<210> 1184
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1184
gcagctcaca cccaaaaagc 20

<210> 1185
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1185
tctgttacct tgaggattgt 20

<210> 1186
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1186
cgccatctgc cctgtacaga 20

<210> 1187
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1187
ttggtggtgg gattggtggt 20

<210> 1188
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1188
aattggtggt gggattggtg 20

<210> 1189
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1189
gaattggtgg tgggattggt 20

<210> 1190
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1190
ggcaggattg gtggtggaat 20

<210> 1191
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1191
tgagattggt ggtgggtggc 20

<210> 1192
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1192
ggtggtggga ttggtgctga 20

<210> 1193
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1193
gtaggtggtg ggattggtgg 20

<210> 1194
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

257

<400> 1194
ggtaggtggt gggattggtg 20

<210> 1195
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1195
ggtggcggga ttggtggtgg 20

<210> 1196
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1196
gatcggtggt gggattggtc 20

<210> 1197
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1197
ggatcggtgg tgggattggt 20

<210> 1198
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1198
ttggtggcgg gatcggtggt 20

<210> 1199
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1199
attggtggcg ggatcggtgg 20

<210> 1200
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1200
gattggtggc gggatcggtg 20

<210> 1201
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1201
ggattggtgg cgggatcggt 20

<210> 1202
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1202
tggtggtggg attggtggtt 20

<210> 1203
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1203
tcttctaggg ccacacctct 20

<210> 1204
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1204
tggtcccaaa ttggagtgca 20

<210> 1205
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1205
tctctataca gctgggcaca 20

<210> 1206
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1206
cacttcccag caaccctcac 20

<210> 1207

<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1207
gctcctggca gcaatgaccc 20

<210> 1208
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1208
gggtatcttc actgttccag 20

<210> 1209
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1209
cgtcatgctt acctttctcc 20

<210> 1210
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1210
gccctccgag ctttggcaac 20

<210> 1211
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1211
gcagcccccc agaaatccca 20

<210> 1212
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1212
tctcaagcag cctattgtgt 20

<210> 1213
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

260

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1213
gtgcaagacc ttgcttgcca 20

<210> 1214
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1214
ctgtagtcca ctacacagca 20

<210> 1215
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1215
tctccctgag tcacagtgga 20

<210> 1216
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1216
ccaggtgcag cacggagagg 20

<210> 1217
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1217
tagaatggca gggttctgtg 20

<210> 1218
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1218
gatgcatcca acacttaccc 20

<210> 1219
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

261

<400> 1219
attggtggtg ggattggtgg 20

<210> 1220
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1220
gcaggattgg tggtggaatt 20

<210> 1221
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1221
tggcaggatt ggtggtggaa 20

<210> 1222
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1222
gagattggtg gtgggtggca 20

<210> 1223
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1223
gtgagattgg tggtgggtgg 20

<210> 1224
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1224
gattggtggt gggattggtg 20

<210> 1225
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1225
ggattggtgg tgggattggt 20

<210> 1226
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1226
aggattggtg gtgggattgg 20

<210> 1227
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1227
taggattggt ggtgggattg 20

<210> 1228
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1228
gtaggattgg tggtgggatt 20

<210> 1229
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1229
ggtaggattg gtggtgggat 20

<210> 1230
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1230
tggtaggatt ggtggtggga 20

<210> 1231
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1231
tggtggtggg attggtgctg 20

<210> 1232

<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1232
ttggtggtgg gattggtgct 20

<210> 1233
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1233
attggtggtg ggattggtgc 20

<210> 1234
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1234
aggtggtggg attggtggtg 20

<210> 1235
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1235
taggtggtgg gattggtggt 20

<210> 1236
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1236
atcggtggtg ggattggtcg 20

<210> 1237
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1237
ggtggtggga ttggtggcgg 20

<210> 1238
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1238
tggtggtggg attggtggcg 20

<210> 1239
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1239
ttggtggtgg gattggtggc 20

<210> 1240
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1240
gttggtggcg ggatcggtgg 20

<210> 1241
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1241
ggttggtggc gggatcggtg 20

<210> 1242
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1242
tggttggtgg cgggatcggt 20

<210> 1243
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1243
gtggttggtg gcgggatcgg 20

<210> 1244
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

265

<400> 1244
gggattggtg gttggtggcg 20

<210> 1245
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1245
gggtcttgct ccacccacat 20

<210> 1246
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1246
ccaagtagtg caaggcatgt 20

<210> 1247
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1247
atcatgctta ctgcaagtga 20

<210> 1248
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1248
tgaaactggg cagtccttcc 20

<210> 1249
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1249
ccaccttctt acatatgcta 20

<210> 1250
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1250
gcctctcaga cggcacagac 20

<210> 1251
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1251
ttgccctcac acattcgaat 20

<210> 1252
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1252
tgctttctgc ccaacctcta 20

<210> 1253
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1253
ctgtgctccc ggccattagc 20

<210> 1254
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1254
gagacagttt ggcaagctac 20

<210> 1255
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1255
ggagagagac ggcaccctgt 20

<210> 1256
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1256
tcacctgtga gtaaccaata 20

<210> 1257

<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1257
cccctcttaa atagcacatg 20

<210> 1258
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1258
ccaagtatct catgtgcctg 20

<210> 1259
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1259
ctagtttcct ataact 16

<210> 1260
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1260
actagtttcc tataac 16

<210> 1261
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1261
tactagtttc ctataa 16

<210> 1262
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1262
gtactagttt cctata 16

<210> 1263
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1263
tgtactagtt tcctat 16

<210> 1264
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1264
ctgtactagt ttccta 16

<210> 1265
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1265
actgtactag tttcct 16

<210> 1266
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1266
cactgtacta gtttcc 16

<210> 1267
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1267
tcactgtact agtttc 16

<210> 1268
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1268
atcactgtac tagttt 16

<210> 1269
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1269
tatcactgta ctagtt 16

<210> 1270
<211> 17
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1270
actagtttcc tataact 17

<210> 1271
<211> 17
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1271
tactagtttc ctataac 17

<210> 1272
<211> 17
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1272
gtactagttt cctataa 17

<210> 1273
<211> 17
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1273
tgtactagtt tcctata 17

<210> 1274
<211> 17
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1274
ctgtactagt ttcctat 17

<210> 1275
<211> 17
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1275
actgtactag tttccta 17

270

<210> 1276
<211> 17
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1276
cactgtacta gtttcct 17

<210> 1277
<211> 17
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1277
tcactgtact agtttcc 17

<210> 1278
<211> 17
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1278
atcactgtac tagtttc 17

<210> 1279
<211> 17
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1279
tatcactgta ctagttt 17

<210> 1280
<211> 18
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1280
tactagtttc ctataact 18

<210> 1281
<211> 18
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1281
gtactagttt cctataac 18

<210> 1282

271

<211> 18
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1282
tgtactagtt tcctataa 18

<210> 1283
<211> 18
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1283
ctgtactagt ttcctata 18

<210> 1284
<211> 18
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1284
actgtactag tttcctat 18

<210> 1285
<211> 18
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1285
cactgtacta gtttccta 18

<210> 1286
<211> 18
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1286
tcactgtact agtttcct 18

<210> 1287
<211> 18
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1287
atcactgtac tagtttcc 18

<210> 1288
<211> 18
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1288
tatcactgta ctagtttc 18

<210> 1289
<211> 17
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1289
gtatcactgt actagtt 17

<210> 1290
<211> 17
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1290
agtatcactg tactagt 17

<210> 1291
<211> 17
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1291
cagtatcact gtactag 17

<210> 1292
<211> 17
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1292
aacagtatca ctgtact 17

<210> 1293
<211> 17
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1293
taacagtatc actgtac 17

<210> 1294
<211> 17
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

273

<400> 1294
ctaacagtat cactgta 17

<210> 1295
<211> 17
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1295
tctaacagta tcactgt 17

<210> 1296
<211> 17
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1296
ctctaacagt atcactg 17

<210> 1297
<211> 17
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1297
tatcactgtc ctataac 17

<210> 1298
<211> 17
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1298
atatcactgt cctataa 17

<210> 1299
<211> 17
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1299
tatatcactg tcctata 17

<210> 1300
<211> 17
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1300
tatcactgtc ctatatc 17

<210> 1301
<211> 17
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1301
gtatcactgt cctatat 17

<210> 1302
<211> 17
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1302
agtatcactg tcctata 17

<210> 1303
<211> 17
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1303
taacagtatc actgtcc 17

<210> 1304
<211> 17
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1304
ataacagtat cactgtc 17

<210> 1305
<211> 17
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1305
tataacagta tcactgt 17

<210> 1306
<211> 17
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1306
ctataacagt atcactg 17

<210> 1307

<211> 17
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1307
cctataacta taacagt 17

<210> 1308
<211> 17
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1308
tcctataact ataacag 17

<210> 1309
<211> 17
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1309
cctataacta taacaat 17

<210> 1310
<211> 17
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1310
gtaacagtat cactgta 17

<210> 1311
<211> 17
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1311
ataacagtat cactgta 17

<210> 1312
<211> 17
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1312
gtcctataac tataaca 17

<210> 1313
<211> 17
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1313
tgtcctataa ctataac 17

<210> 1314
<211> 17
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1314
acctataact ataacag 17

<210> 1315
<211> 17
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1315
tacctataac tataaca 17

<210> 1316
<211> 17
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1316
acctataact ataacaa 17

<210> 1317
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1317
cctttctcct tcgaga 16

<210> 1318
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1318
acctttctcc ttcgag 16

<210> 1319
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

277

<400> 1319
caccttctc cttcga 16

<210> 1320
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1320
atttgttacc aaagga 16

<210> 1321
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1321
tcttcatttg ttacca 16

<210> 1322
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1322
ccttctttat agccag 16

<210> 1323
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1323
cccttcttta tagcca 16

<210> 1324
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1324
ccccttcttt atagcc 16

<210> 1325
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1325
aagcatcttt tccccc 16

<210> 1326
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1326
agggaccacc tgaatc 16

<210> 1327
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1327
aagggaccac ctgaat 16

<210> 1328
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1328
taagggacca cctgaa 16

<210> 1329
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1329
ctaagggacc acctga 16

<210> 1330
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1330
actaagggac cacctg 16

<210> 1331
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1331
aactaaggga ccacct 16

<210> 1332

279

<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1332
aaactaaggg accacc 16

<210> 1333
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1333
caaactaagg gaccac 16

<210> 1334
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1334
tgcaaactaa gggacc 16

<210> 1335
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1335
ttgcaaacta agggac 16

<210> 1336
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1336
tttgcaaact aaggga 16

<210> 1337
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1337
gtttgcaaac taaggg 16

<210> 1338
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

280

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1338
tgtttgcaaa ctaagg 16

<210> 1339
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1339
gtgtttgcaa actaag 16

<210> 1340
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1340
tgctccctgc gggcac 16

<210> 1341
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1341
agacaccagg ttgctc 16

<210> 1342
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1342
ctcagcgact ttggtg 16

<210> 1343
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1343
actcagcgac tttggt 16

<210> 1344
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

281

<400> 1344
tactcagcga ctttgg 16

<210> 1345
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1345
gtactcagcg actttg 16

<210> 1346
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1346
tgtactcagc gacttt 16

<210> 1347
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1347
atgtactcag cgactt 16

<210> 1348
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1348
catgtactca gcgact 16

<210> 1349
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1349
ccatgtactc agcgac 16

<210> 1350
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1350
tccatgtact cagcga 16

<210> 1351
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1351
gagcttttcc atcact 16

<210> 1352
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1352
gcatctgagc ttttcc 16

<210> 1353
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1353
tgcatctgag cttttc 16

<210> 1354
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1354
gactgcatct gagctt 16

<210> 1355
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1355
gtgactgcat ctgagc 16

<210> 1356
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1356
ggtgactgca tctgag 16

<210> 1357

<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1357
tggtgactgc atctga 16

<210> 1358
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1358
catgctggtg actgca 16

<210> 1359
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1359
tcatgctggt gactgc 16

<210> 1360
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1360
ctcatgctgg tgactg 16

<210> 1361
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1361
tctcatgctg gtgact 16

<210> 1362
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1362
tggactgctt ctcatg 16

<210> 1363
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

284

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1363
tctggactgc ttctca 16

<210> 1364
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1364
ctctggactg cttctc 16

<210> 1365
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1365
agactctgga ctgctt 16

<210> 1366
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1366
tagactctgg actgct 16

<210> 1367
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1367
ctagactctg gactgc 16

<210> 1368
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1368
tgcctagact ctggac 16

<210> 1369
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

285

<400> 1369
ttgcctagac tctgga 16

<210> 1370
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1370
attgcctaga ctctgg 16

<210> 1371
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1371
tttgacttga actcag 16

<210> 1372
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1372
atttgacttg aactca 16

<210> 1373
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1373
aatttgactt gaactc 16

<210> 1374
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1374
gaatttgact tgaact 16

<210> 1375
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1375
agaatttgac ttgaac 16

<210> 1376
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1376
cagaatttga cttgaa 16

<210> 1377
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1377
tcagaatttg acttga 16

<210> 1378
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1378
ggctcagaat ttgact 16

<210> 1379
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1379
aggctcagaa tttgac 16

<210> 1380
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1380
ccccaggctc agaatt 16

<210> 1381
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1381
agatgaggac ccccca 16

<210> 1382

<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1382
cagatgagga cccccc 16

<210> 1383
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1383
gcagatgagg accccc 16

<210> 1384
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1384
actctccatg ctttgc 16

<210> 1385
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1385
cactctccat gctttg 16

<210> 1386
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1386
atgccactct ccatgc 16

<210> 1387
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1387
atgcaaagaa gatgcc 16

<210> 1388
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

288

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1388
gtccttagga tgcaaa 16

<210> 1389
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1389
cgtccttagg atgcaa 16

<210> 1390
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1390
gcagctctga gtgcac 16

<210> 1391
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1391
gacattgtcc tcagca 16

<210> 1392
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1392
cagacattgt cctcag 16

<210> 1393
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1393
cacttatttg atgacc 16

<210> 1394
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

289

<400> 1394
gcacttattt gatgac 16

<210> 1395
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1395
cgatggcaag cactta 16

<210> 1396
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1396
tcgatggcaa gcactt 16

<210> 1397
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1397
ctcgatggca agcact 16

<210> 1398
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1398
atgtctcgat ggcaag 16

<210> 1399
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1399
aatgtctcga tggcaa 16

<210> 1400
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1400
aaatgtctcg atggca 16

290

<210> 1401
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1401
taaatgtctc gatggc 16

<210> 1402
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1402
ataaatgtct cgatgg 16

<210> 1403
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1403
tataaatgtc tcgatg 16

<210> 1404
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1404
atcaactcct ttataa 16

<210> 1405
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1405
tatcaactcc tttata 16

<210> 1406
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1406
catatcaact ccttta 16

<210> 1407

<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1407
ctctcatatc aactcc 16

<210> 1408
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1408
cctctcatat caactc 16

<210> 1409
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1409
tcctctcata tcaact 16

<210> 1410
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1410
actcctctca tatcaa 16

<210> 1411
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1411
gactcctctc atatca 16

<210> 1412
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1412
tgactcctct catatc 16

<210> 1413
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

292

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1413
ttgactcctc tcatat 16

<210> 1414
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1414
aaaattgact cctctc 16

<210> 1415
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1415
ttaaaattga ctcctc 16

<210> 1416
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1416
ccttagacac attaaa 16

<210> 1417
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1417
accttagaca cattaa 16

<210> 1418
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1418
aaccttagac acatta 16

<210> 1419
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

293

<400> 1419
ctaaccttag acacat 16

<210> 1420
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1420
gctaacctta gacaca 16

<210> 1421
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1421
tgctaacctt agacac 16

<210> 1422
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1422
ctgctaacct tagaca 16

<210> 1423
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1423
actgctaacc ttagac 16

<210> 1424
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1424
cactgctaac cttaga 16

<210> 1425
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1425
acactgctaa ccttag 16

<210> 1426
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1426
aacactgcta acctta 16

<210> 1427
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1427
tcaacactgc taacct 16

<210> 1428
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1428
ttcaacactg ctaacc 16

<210> 1429
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1429
attcttcaac actgct 16

<210> 1430
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1430
ctggcagcga atgtta 16

<210> 1431
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1431
actggcagcg aatgtt 16

<210> 1432

295

<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1432
cgtggcatat gaaaaa 16

<210> 1433
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1433
ctctgccttg tgaaat 16

<210> 1434
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1434
cggtactctg ccttgt 16

<210> 1435
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1435
ttccggtact ctgcct 16

<210> 1436
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1436
ttgttccggt actctg 16

<210> 1437
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1437
attgttccgg tactct 16

<210> 1438
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

296

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1438
caattgttcc ggtact 16

<210> 1439
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1439
gcaattgttc cggtac 16

<210> 1440
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1440
ggcaattgtt ccggta 16

<210> 1441
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1441
ctttaatagg caattg 16

<210> 1442
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1442
gtactttaat aggcaa 16

<210> 1443
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1443
tgtactttaa taggca 16

<210> 1444
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1444
ctgtacttta ataggc 16

<210> 1445
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1445
actgtacttt aatagg 16

<210> 1446
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1446
ctcagcacct ttatag 16

<210> 1447
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1447
actcagcacc tttata 16

<210> 1448
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1448
tactcagcac ctttat 16

<210> 1449
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1449
ttactcagca cctta 16

<210> 1450
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1450
atttctgaaa gggcac 16

<210> 1451
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1451
caatttctga aagggc 16

<210> 1452
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1452
ccaatttctg aaaggg 16

<210> 1453
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1453
accaatttct gaaagg 16

<210> 1454
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1454
tggcaaccaa tttctg 16

<210> 1455
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1455
atccacatct gagaac 16

<210> 1456
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1456
gcaacatcca catctg 16

<210> 1457

<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1457
ggcaacatcc acatct 16

<210> 1458
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1458
tggcaacatc cacatc 16

<210> 1459
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1459
cctggcaaca tccaca 16

<210> 1460
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1460
accctggcaa catcca 16

<210> 1461
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1461
aaccctggca acatcc 16

<210> 1462
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1462
gaaccctggc aacatc 16

<210> 1463
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

300

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1463
tgaacggtct tcaagc 16

<210> 1464
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1464
atgaacggtc ttcaag 16

<210> 1465
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1465
taaaaatgaa cggtct 16

<210> 1466
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1466
gagtctcttg tcactt 16

<210> 1467
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1467
tgagtctctt gtcact 16

<210> 1468
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1468
ggtgagtctc ttgtca 16

<210> 1469
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

301

<400> 1469
aggtgagtct cttgtc 16

<210> 1470
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1470
tggaggtgag tctctt 16

<210> 1471
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1471
ttggaggtga gtctct 16

<210> 1472
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1472
cttggaggtg agtctc 16

<210> 1473
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1473
tcttggaggt gagtct 16

<210> 1474
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1474
ttgcttcttg gaggtg 16

<210> 1475
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1475
attgcttctt ggaggt 16

<210> 1476
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1476
caattgcttc ttggag 16

<210> 1477
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1477
cacaattgct tcttgg 16

<210> 1478
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1478
gcttgaataa aatcat 16

<210> 1479
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1479
gttgcttgct tgaata 16

<210> 1480
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1480
agttgcttgc ttgaat 16

<210> 1481
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1481
aagttgcttg cttgaa 16

<210> 1482

303

<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1482
taagttgctt gcttga 16

<210> 1483
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1483
gaaataagtt gcttgc 16

<210> 1484
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1484
tgaaataagt tgcttg 16

<210> 1485
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1485
actgtagcaa acaagg 16

<210> 1486
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1486
tccacaggaa actgta 16

<210> 1487
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1487
atccacagga aactgt 16

<210> 1488
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1488
tcatagagtt gagtca 16

<210> 1489
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1489
acctctgaag aaggcg 16

<210> 1490
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1490
atccccacct ctgaag 16

<210> 1491
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1491
agctacatcc ccacct 16

<210> 1492
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1492
gaagctacat ccccac 16

<210> 1493
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1493
acatggaagc tacatc 16

<210> 1494
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

305

<400> 1494
tacatggaag ctacat 16

<210> 1495
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1495
gtacatggaa gctaca 16

<210> 1496
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1496
tgtacatgga agctac 16

<210> 1497
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1497
gtgtacatgg aagcta 16

<210> 1498
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1498
gggtgtacat ggaagc 16

<210> 1499
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1499
gcagtattgg gcattt 16

<210> 1500
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1500
catctggcag tattgg 16

<210> 1501
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1501
tcatctggca gtattg 16

<210> 1502
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1502
cctcatctgg cagtat 16

<210> 1503
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1503
acctcatctg gcagta 16

<210> 1504
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1504
gtgcacctca tctggc 16

<210> 1505
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1505
ggtggaatgt gcacct 16

<210> 1506
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1506
gggtggaatg tgcacc 16

<210> 1507

<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1507
aacttgctgg aagaaa 16

<210> 1508
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1508
gaacttgctg gaagaa 16

<210> 1509
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1509
tgaacttgct ggaaga 16

<210> 1510
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1510
gattgaactt gctgga 16

<210> 1511
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1511
cattgattga acttgc 16

<210> 1512
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1512
tcattgattg aacttg 16

<210> 1513
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1513
caaacctttt ctccat 16

<210> 1514
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1514
gcaaccaaac cttttc 16

<210> 1515
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1515
agcaaccaaa cctttt 16

<210> 1516
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1516
cgatgtactt ttggca 16

<210> 1517
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1517
tcgatgtact tttggc 16

<210> 1518
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1518
ttcgatgtac ttttgg 16

<210> 1519
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

309

<400> 1519
gttcgatgta cttttg 16

<210> 1520
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1520
cctgttcgat gtactt 16

<210> 1521
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1521
acctgttcga tgtact 16

<210> 1522
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1522
gcacctgttc gatgta 16

<210> 1523
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1523
ctgcacctgt tcgatg 16

<210> 1524
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1524
actgcacctg ttcgat 16

<210> 1525
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1525
aactgcacct gttcga 16

310

<210> 1526
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1526
aaactgcacc tgttcg 16

<210> 1527
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1527
ccagaaactg cacctg 16

<210> 1528
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1528
tccagaaact gcacct 16

<210> 1529
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1529
tgtccagaaa ctgcac 16

<210> 1530
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1530
cttcaaggaa tgtcca 16

<210> 1531
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1531
gcttcaagga atgtcc 16

<210> 1532

311

<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1532
ttgcttcaag gaatgt 16

<210> 1533
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1533
cacattgctt caagga 16

<210> 1534
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1534
gatgaccaca ttgctt 16

<210> 1535
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1535
ctcatatcaa ctcctt 16

<210> 1536
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1536
caacactgct aacctt 16

<210> 1537
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1537
ccggtactct gccttg 16

<210> 1538
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

312

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1538
tccggtactc tgcctt 16

<210> 1539
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1539
aggcaattgt tccggt 16

<210> 1540
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1540
taggcaattg ttccgg 16

<210> 1541
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1541
ataggcaatt gttccg 16

<210> 1542
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1542
gagaaccctg gcaaca 16

<210> 1543
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1543
tgagaaccct ggcaac 16

<210> 1544
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

313

<400> 1544
tggagtgaga accctg 16

<210> 1545
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1545
atctggagtg agaacc 16

<210> 1546
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1546
gtccgacaca caaaag 16

<210> 1547
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1547
ggtccgacac acaaaa 16

<210> 1548
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1548
atggtccgac acacaa 16

<210> 1549
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1549
gatggtccga cacaca 16

<210> 1550
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1550
agatggtccg acacac 16

314

<210> 1551
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1551
tgataggtgc agatgg 16

<210> 1552
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1552
gtgataggtg cagatg 16

<210> 1553
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1553
cgattttcca tacatt 16

<210> 1554
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1554
tcgattttcc atacat 16

<210> 1555
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1555
ctcgattttc cataca 16

<210> 1556
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1556
actcgatttt ccatac 16

<210> 1557

315

<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1557
gactcgattt tccata 16

<210> 1558
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1558
tgtgactcga ttttcc 16

<210> 1559
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1559
ttgtgactcg attttc 16

<210> 1560
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1560
tttgtgactc gatttt 16

<210> 1561
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1561
tttctttgtg actcga 16

<210> 1562
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1562
gtgtgccact ttcaga 16

<210> 1563
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

316

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1563
ggtgtgccac tttcag 16

<210> 1564
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1564
tggtgtgcca ctttca 16

<210> 1565
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1565
acttggtgtg ccactt 16

<210> 1566
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1566
aacttggtgt gccact 16

<210> 1567
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1567
gaacttggtg tgccac 16

<210> 1568
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1568
ggaacttggt gtgcca 16

<210> 1569
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

317

<400> 1569
aggaacttgg tgtgcc 16

<210> 1570
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1570
gtgttttctt gaggag 16

<210> 1571
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1571
ggtgttttct tgagga 16

<210> 1572
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1572
agatatggtg ttttct 16

<210> 1573
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1573
cagatatggt gttttc 16

<210> 1574
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1574
ctatatccag atatgg 16

<210> 1575
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1575
taaaaggcta tatcca 16

318

<210> 1576
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1576
gttaaaaggc tatatc 16

<210> 1577
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1577
ggttaaaagg ctatat 16

<210> 1578
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1578
caggttaaaa ggctat 16

<210> 1579
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1579
gcaggttaaa aggcta 16

<210> 1580
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1580
tgcaggttaa aaggct 16

<210> 1581
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1581
ttgcaggtta aaaggc 16

<210> 1582

319

<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1582
tttgcaggtt aaaagg 16

<210> 1583
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1583
gttcaggtaa agttct 16

<210> 1584
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1584
ggttcaggta aagttc 16

<210> 1585
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1585
gggttcaggt aaagtt 16

<210> 1586
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1586
agggttcagg taaagt 16

<210> 1587
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1587
ggcagggttc aggtaa 16

<210> 1588
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

320

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1588
ttagaatggc agggtt 16

<210> 1589
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1589
tcccgggtaa atttta 16

<210> 1590
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1590
ctcccgggta aatttt 16

<210> 1591
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1591
tcaactcccg ggtaaa 16

<210> 1592
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1592
aagtcaactc ccgggt 16

<210> 1593
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1593
aaagtcaact cccggg 16

<210> 1594
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

321

<400> 1594
caaagtcaac tcccgg 16

<210> 1595
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1595
ccaaagtcaa ctcccg 16

<210> 1596
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1596
cctccaaagt caactc 16

<210> 1597
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1597
cttggcaaac attcac 16

<210> 1598
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1598
gtctcttggc aaacat 16

<210> 1599
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1599
aagtctcttg gcaaac 16

<210> 1600
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1600
tctttgtgca agtctc 16

322

<210> 1601
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1601
aatcatcttt gtgcaa 16

<210> 1602
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1602
gaatcatctt tgtgca 16

<210> 1603
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1603
cgaatcatct ttgtgc 16

<210> 1604
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1604
gcgaatcatc tttgtg 16

<210> 1605
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1605
cagcgaatca tctttg 16

<210> 1606
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1606
acagcgaatc atcttt 16

<210> 1607

<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1607
tgacagcgaa tcatct 16

<210> 1608
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1608
ctgacagcga atcatc 16

<210> 1609
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1609
actgacagcg aatcat 16

<210> 1610
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1610
tacagtcttc tgggag 16

<210> 1611
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1611
ccttacagtc ttctgg 16

<210> 1612
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1612
tagataatct taagaa 16

<210> 1613
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1613
ccatccatag ataatc 16

<210> 1614
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1614
gtgtcccata cgcaat 16

<210> 1615
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1615
tgtgtcccat acgcaa 16

<210> 1616
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1616
ttgtgtccca tacgca 16

<210> 1617
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1617
cttgtgtccc atacgc 16

<210> 1618
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1618
ccttgtgtcc catacg 16

<210> 1619
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

325

<400> 1619
cccttgtgtc ccatac 16

<210> 1620
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1620
accagagctc ccttgt 16

<210> 1621
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1621
aaccagagct cccttg 16

<210> 1622
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1622
taaccagagc tcccttt 16

<210> 1623
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1623
agtaaccaga gctccc 16

<210> 1624
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1624
agagtaacca gagctc 16

<210> 1625
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1625
caaagagtaa ccagag 16

<210> 1626
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1626
ctcaaagagt aaccag 16

<210> 1627
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1627
tctcaaagag taacca 16

<210> 1628
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1628
gttacacaat ctcaaa 16

<210> 1629
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1629
agtgttacac aatctc 16

<210> 1630
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1630
ccagtgttac acaatc 16

<210> 1631
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1631
tccccagtgt tacaca 16

<210> 1632

<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1632
gtccccagtg ttacac 16

<210> 1633
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1633
tgtccccagt gttaca 16

<210> 1634
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1634
ttgtccccag tgttac 16

<210> 1635
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1635
aagagtttgt tcctcc 16

<210> 1636
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1636
caagaagagt ttgttc 16

<210> 1637
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1637
ccaagaagag tttgtt 16

<210> 1638
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

328

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1638
ccccaagaag agtttg 16

<210> 1639
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1639
tccccaagaa gagttt 16

<210> 1640
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1640
cactctcccc aagaag 16

<210> 1641
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1641
ccactctccc caagaa 16

<210> 1642
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1642
gcttcacctg caggct 16

<210> 1643
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1643
gctgtcagct tcacct 16

<210> 1644
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

329

<400> 1644
tgagctgtca gcttca 16

<210> 1645
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1645
gtcctatgag tgaccc 16

<210> 1646
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1646
gtgtcctatg agtgac 16

<210> 1647
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1647
ggtgtcctat gagtga 16

<210> 1648
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1648
tggtgtccta tgagtg 16

<210> 1649
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1649
ctggtgtcct atgagt 16

<210> 1650
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1650
gatgcgccaa acatcc 16

330

<210> 1651
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1651
agatgcgcca aacatc 16

<210> 1652
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1652
atagatgcgc caaaca 16

<210> 1653
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1653
cactatagat gcgcca 16

<210> 1654
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1654
ccactataga tgcgcc 16

<210> 1655
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1655
aatgtctgac agattt 16

<210> 1656
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1656
taatgtctga cagatt 16

<210> 1657

<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1657
gaaaggtgta tctttt 16

<210> 1658
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1658
gtgagaaagg tgtatc 16

<210> 1659
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1659
tgtgagaaag gtgtat 16

<210> 1660
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1660
tttgtgagaa aggtgt 16

<210> 1661
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1661
atttgtgaga aaggtg 16

<210> 1662
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1662
tggtgaataa taatct 16

<210> 1663
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1663
ttatagtttt ggtgaa 16

<210> 1664
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1664
tatcatgatt cccttc 16

<210> 1665
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1665
gatatcatga ttccct 16

<210> 1666
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1666
cgatatcatg attccc 16

<210> 1667
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1667
gcgatatcat gattcc 16

<210> 1668
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1668
aggcgatatc atgatt 16

<210> 1669
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

333

<400> 1669
aaggcgatat catgat 16

<210> 1670
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1670
caaaggagcc tggagt 16

<210> 1671
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1671
attcaaagga gcctgg 16

<210> 1672
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1672
aattcaaagg agcctg 16

<210> 1673
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1673
gtaattcaaa ggagcc 16

<210> 1674
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1674
gtgtaattca aaggag 16

<210> 1675
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1675
catattggtt tttgga 16

334

<210> 1676
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1676
gcatattggt ttttgg 16

<210> 1677
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1677
taggcatatt ggtttt 16

<210> 1678
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1678
cttgtgtcac ctttgg 16

<210> 1679
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1679
gcttgtgtca cctttg 16

<210> 1680
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1680
ataaattgtg cttgtg 16

<210> 1681
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1681
gtataaattg tgcttg 16

<210> 1682

335

<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1682
tggtataaat tgtgct 16

<210> 1683
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1683
ttggtataaa ttgtgc 16

<210> 1684
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1684
cagttggtat aaattg 16

<210> 1685
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1685
caacagttgg tataaa 16

<210> 1686
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1686
ccaacagttg gtataa 16

<210> 1687
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1687
cccaacagtt ggtata 16

<210> 1688
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

336

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1688
agaagcccca tccggt 16

<210> 1689
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1689
tttctccttc gagaag 16

<210> 1690
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1690
ctttctcctt cgagaa 16

<210> 1691
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1691
gggcttcagc cagaca 16

<210> 1692
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1692
cgggcttcag ccagac 16

<210> 1693
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1693
tgctgaaagc gggctt 16

<210> 1694
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1694
gtgctgaaag cgggct 16

<210> 1695
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1695
cgtgctgaaa gcgggc 16

<210> 1696
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1696
tcagcccctg gttacg 16

<210> 1697
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1697
attgtcagcc cctggt 16

<210> 1698
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1698
gcattgtcag cccctg 16

<210> 1699
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1699
cgcattgtca gcccct 16

<210> 1700
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1700
tcgcattgtc agcccc 16

338

<210> 1701
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1701
ctcgcattgt cagccc 16

<210> 1702
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1702
cctcgcattg tcagcc 16

<210> 1703
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1703
acctcgcatt gtcagc 16

<210> 1704
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1704
gacctcgcat tgtcag 16

<210> 1705
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1705
cgacctcgca ttgtca 16

<210> 1706
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1706
gcgacctcgc attgtc 16

<210> 1707

<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1707
tgcgacctcg cattgt 16

<210> 1708
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1708
ttgcgacctc gcattg 16

<210> 1709
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1709
gttgcgacct cgcatt 16

<210> 1710
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1710
agttgcgacc tcgcat 16

<210> 1711
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1711
cagttgcgac ctcgca 16

<210> 1712
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1712
tcagttgcga cctcgc 16

<210> 1713
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

340

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1713
ctcagttgcg acctcg 16

<210> 1714
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1714
tctcagttgc gacctc 16

<210> 1715
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1715
atctcagttg cgacct 16

<210> 1716
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1716
gatctcagtt gcgacc 16

<210> 1717
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1717
agatctcagt tgcgac 16

<210> 1718
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1718
gagatctcag ttgcga 16

<210> 1719
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

341

<400> 1719
ggagatctca gttgcg 16

<210> 1720
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1720
tcatggagat ctcagt 16

<210> 1721
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1721
gtcatggaga tctcag 16

<210> 1722
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1722
agtcatggag atctca 16

<210> 1723
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1723
cagtcatgga gatctc 16

<210> 1724
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1724
acagtcatgg agatct 16

<210> 1725
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1725
aacacacagt catgga 16

342

<210> 1726
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1726
caacacacag tcatgg 16

<210> 1727
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1727
catcctatcc gtgttc 16

<210> 1728
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1728
catgaacatc ctatcc 16

<210> 1729
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1729
tattccatga acatcc 16

<210> 1730
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1730
gtcaacatat tccatg 16

<210> 1731
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1731
cctgtcaaca tattcc 16

<210> 1732

<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1732
tgtcctgtca acatat 16

<210> 1733
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1733
gccaacagtt tcaact 16

<210> 1734
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1734
ttctgccaac agtttc 16

<210> 1735
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1735
caatattgac tttggg 16

<210> 1736
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1736
tgcttggctt caatat 16

<210> 1737
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1737
actgcaggca atattt 16

<210> 1738
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1738
gcactgcagg caatat 16

<210> 1739
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1739
ctaatgtggc actgca 16

<210> 1740
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1740
tgttctaatg tggcac 16

<210> 1741
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1741
gctgttctaa tgtggc 16

<210> 1742
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1742
tgactagtga atggct 16

<210> 1743
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1743
tctgactagt gaatgg 16

<210> 1744
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

345

<400> 1744
tcaatctgac tagtga 16

<210> 1745
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1745
ggtcaatctg actagt 16

<210> 1746
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1746
ctggtcaatc tgacta 16

<210> 1747
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1747
ctctggtcaa tctgac 16

<210> 1748
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1748
caatctctgg tcaatc 16

<210> 1749
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1749
caacaatctc tggtca 16

<210> 1750
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1750
accaacaatc tctggt 16

346

<210> 1751
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1751
agcccaccaa caatct 16

<210> 1752
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1752
gacagcccac caacaa 16

<210> 1753
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1753
cagacagccc accaac 16

<210> 1754
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1754
gcatagaccc caacag 16

<210> 1755
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1755
gtgcatagac cccaac 16

<210> 1756
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1756
ctgtgcatag acccca 16

<210> 1757

<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1757
tcctgtgcat agaccc 16

<210> 1758
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1758
gaaatcctgt gcatag 16

<210> 1759
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1759
gcagaaatcc tgtgca 16

<210> 1760
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1760
actccagcag aaatcc 16

<210> 1761
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1761
aatcatgcct tgtggg 16

<210> 1762
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1762
tagacccaga atcatg 16

<210> 1763
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1763
ccatagaccc agaatc 16

<210> 1764
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1764
agtcaccata gaccca 16

<210> 1765
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1765
taagtcacca tagacc 16

<210> 1766
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1766
gtggccctct taagtc 16

<210> 1767
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1767
gttgtgtggc cctctt 16

<210> 1768
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1768
cattgttgtg tggccc 16

<210> 1769
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

349

<400> 1769
tactcattgt tgtgtg 16

<210> 1770
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1770
aatactcatt gttgtg 16

<210> 1771
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1771
gccatacatc tgagga 16

<210> 1772
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1772
attgtagcca tacatc 16

<210> 1773
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1773
ttattgtagc cataca 16

<210> 1774
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1774
tctagatgac ctgaag 16

<210> 1775
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1775
tacatctaga tgacct 16

350

<210> 1776
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1776
gtatacatct agatga 16

<210> 1777
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1777
actcgccttt gtgact 16

<210> 1778
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1778
tactcgcctt tgtgac 16

<210> 1779
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1779
atactcgcct ttgtga 16

<210> 1780
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1780
catactcgcc tttgtg 16

<210> 1781
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1781
gcatactcgc ctttgt 16

<210> 1782

<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1782
atgcatactc gccttt 16

<210> 1783
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1783
catgcatact cgcctt 16

<210> 1784
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1784
ccatgcatac tcgcct 16

<210> 1785
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1785
ttccatgcat actcgc 16

<210> 1786
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1786
cgattttcca tgcata 16

<210> 1787
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1787
tgcgattttc catgca 16

<210> 1788
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

352

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1788
tgtgatgcga ttttcc 16

<210> 1789
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1789
ctttgtgatg cgattt 16

<210> 1790
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1790
gcctttgtga tgcgat 16

<210> 1791
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1791
actcgccttt gtgatg 16

<210> 1792
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1792
tactcgcctt tgtgat 16

<210> 1793
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1793
cccatgcata ctcgcc 16

<210> 1794
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

353

<400> 1794
ccccatgcat actcgc 16

<210> 1795
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1795
gctccccatg catact 16

<210> 1796
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1796
agtgctcccc atgcat 16

<210> 1797
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1797
caagtgctcc ccatgc 16

<210> 1798
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1798
gtgatgaaag tacagc 16

<210> 1799
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1799
aggagtttgt cagaac 16

<210> 1800
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1800
ttcagggagt gatgtc 16

354

<210> 1801
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1801
cctatccgtg ttcagc 16

<210> 1802
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1802
ctctacatac tcagga 16

<210> 1803
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1803
cagtccaaaa atccct 16

<210> 1804
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1804
cctcttgatt tgggca 16

<210> 1805
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1805
ttggccaact ctgtgg 16

<210> 1806
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1806
gacctccaga ctactg 16

<210> 1807

355

<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1807
tgtgtctagg gagttg 16

<210> 1808
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1808
agcacacaat tactgg 16

<210> 1809
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1809
ctgctggttt tagacc 16

<210> 1810
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1810
ttcacttacc acagga 16

<210> 1811
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1811
ggtgccactt gcttgg 16

<210> 1812
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1812
aatctccacc cccgaa 16

<210> 1813
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

356

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1813
tacctgacaa gtggtc 16

<210> 1814
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1814
gtcccaagac attcct 16

<210> 1815
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1815
cagagtgtca tctgcg 16

<210> 1816
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1816
ggattggacc cagaca 16

<210> 1817
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1817
ggttccctag cggtcc 16

<210> 1818
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1818
cacctagaac tatcca 16

<210> 1819
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

357

<400> 1819
ctccctctgt aatgat 16

<210> 1820
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1820
ggttgaggga cagaca 16

<210> 1821
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1821
gtgggtttgc acatgg 16

<210> 1822
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1822
ggcttatgct ccttct 16

<210> 1823
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1823
ccccctgtag ttggct 16

<210> 1824
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1824
gcttacttac atccct 16

<210> 1825
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1825
gggactacat gcaata 16

<210> 1826
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1826
gtcaaagagt gtccac 16

<210> 1827
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1827
gaatagcaag ctccaa 16

<210> 1828
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1828
catgatacca caccac 16

<210> 1829
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1829
gagcactctt attagc 16

<210> 1830
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1830
cctgttagag ttggcc 16

<210> 1831
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1831
aggacactgt ttccag 16

<210> 1832

359

<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1832
gtcaccagaa ccacat 16

<210> 1833
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1833
gtgtgcactt tctggt 16

<210> 1834
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1834
ctctgattgg gtcacc 16

<210> 1835
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1835
accaacaact caggcc 16

<210> 1836
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1836
actctcaagc tccacg 16

<210> 1837
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1837
ggacaatatg tctcct 16

<210> 1838
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

360

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1838
cattgtgctc aactga 16

<210> 1839
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1839
gcccatggtg aatctg 16

<210> 1840
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1840
cctagtacaa agtggc 16

<210> 1841
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1841
gccattttat ccctga 16

<210> 1842
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1842
gggcccccat gtccat 16

<210> 1843
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1843
gttcttgctt atcctc 16

<210> 1844
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

361

<400> 1844
atgtgacagt caggga 16

<210> 1845
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1845
ttctgcaact gagcct 16

<210> 1846
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1846
aatggcaggt cctggc 16

<210> 1847
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1847
agacagttgg tggttt 16

<210> 1848
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1848
gaggagttgg tttagt 16

<210> 1849
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1849
tgaccacctc tcgggt 16

<210> 1850
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1850
atttggccct gagccc 16

<210> 1851
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1851
gcctttgagg gagtgg 16

<210> 1852
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1852
acaacctgtc cattcc 16

<210> 1853
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1853
gttgtcaact gggacc 16

<210> 1854
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1854
ctgttcaggt agcaca 16

<210> 1855
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1855
ccgggaaaga ctgtct 16

<210> 1856
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1856
actgcacccc acatat 16

<210> 1857

<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1857
cctcatctca gtatga 16

<210> 1858
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1858
gcacacagac ttgccc 16

<210> 1859
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1859
ctgcatctgg actatg 16

<210> 1860
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1860
agggaaatta gaggca 16

<210> 1861
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1861
ctgttgcctg acatgc 16

<210> 1862
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1862
acataaattc cccaca 16

<210> 1863
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1863
cccactgact gactac 16

<210> 1864
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1864
tcctgtgaca gaacca 16

<210> 1865
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1865
ctacaccttt ctgcac 16

<210> 1866
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1866
ggtccttgaa ccccgt 16

<210> 1867
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1867
agcagatctg ggttgt 16

<210> 1868
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1868
gactagcttc tactac 16

<210> 1869
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

365

<400> 1869
acaatccctt agccca 16

<210> 1870
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1870
gatgaaatgt gcacct 16

<210> 1871
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1871
gactgtgcta tccgct 16

<210> 1872
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1872
gctcactata ggcccc 16

<210> 1873
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1873
tagcatcatg ccacag 16

<210> 1874
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1874
gcacattagg aggtag 16

<210> 1875
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1875
taccgctggg tgcggt 16

366

<210> 1876
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1876
atgaaactgt ggctcg 16

<210> 1877
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1877
acatgtggga tcagag 16

<210> 1878
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1878
gatgatcctc acatac 16

<210> 1879
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1879
tagaaccttc ctccac 16

<210> 1880
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1880
ggaagacttc cctctg 16

<210> 1881
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1881
tagtgataag agctgg 16

<210> 1882

<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1882
ggcaactatg ttctca 16

<210> 1883
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1883
ctaactccat cactgc 16

<210> 1884
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1884
tccccaatac ttgctg 16

<210> 1885
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1885
gctgttctaa gcgaga 16

<210> 1886
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1886
tgagtgatgc cttcca 16

<210> 1887
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1887
tccagaatac tgcccc 16

<210> 1888
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1888
gcgctaacct cataaa 16

<210> 1889
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1889
ctggaaacga gacaca 16

<210> 1890
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1890
gagagagatg ttccct 16

<210> 1891
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1891
ctgctggttg agaatc 16

<210> 1892
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1892
atgtccccag tggaag 16

<210> 1893
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1893
gcatcctccc tagttg 16

<210> 1894
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

369

<400> 1894
tgttggtcag cattca 16

<210> 1895
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1895
gacgactgcc ctgtgc 16

<210> 1896
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1896
atttgggcct agtggt 16

<210> 1897
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1897
cctagtcctc aagttt 16

<210> 1898
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1898
caagacatca gtagct 16

<210> 1899
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1899
cttatcagtc ccagtc 16

<210> 1900
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1900
gacaacccat cagttg 16

370

<210> 1901
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1901
cagcaggctc aaagtg 16

<210> 1902
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1902
tggctaagtc aggccc 16

<210> 1903
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1903
tgtactccac ctcacg 16

<210> 1904
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1904
agcaagctaa gtgagt 16

<210> 1905
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1905
gttcttgagt gtagag 16

<210> 1906
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1906
gtgttcatac ggaagc 16

<210> 1907

<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1907
gttgggatgc gactct 16

<210> 1908
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1908
acgaagtctc tttcct 16

<210> 1909
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1909
cgatgagttg ggcagg 16

<210> 1910
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1910
gataccttтc cactcc 16

<210> 1911
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1911
tccccaagat tatgtg 16

<210> 1912
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1912
gcacccttтt cattga 16

<210> 1913
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1913
tcgacttctc ctgtct 16

<210> 1914
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1914
gcctttgacc tttcgc 16

<210> 1915
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1915
gtgtgctgag gtttgc 16

<210> 1916
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1916
gcaagatgca tgcagc 16

<210> 1917
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1917
atcgaactct gcttga 16

<210> 1918
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1918
gcccagtttt ggcaac 16

<210> 1919
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

373

<400> 1919
cccactacca tttggg 16

<210> 1920
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1920
caactataac agtatc 16

<210> 1921
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1921
ctataccacg gtaact 16

<210> 1922
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1922
cctatatcac tgtaac 16

<210> 1923
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1923
acctatatca ctgtaa 16

<210> 1924
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1924
tcactgtacc tatatc 16

<210> 1925
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1925
gtcctataac tatatc 16

374

<210> 1926
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1926
ctgtacctat aactgt 16

<210> 1927
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1927
cgtcactgta cctata 16

<210> 1928
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1928
catcactgta cctata 16

<210> 1929
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1929
caacatcact gtacct 16

<210> 1930
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1930
ttccctaccc ctggta 16

<210> 1931
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1931
ggtggaatgt catggc 16

<210> 1932

375

<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1932
gcggaaaact ggccgt 16

<210> 1933
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1933
cccaatacag ggccag 16

<210> 1934
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1934
ccaaccttcc caatct 16

<210> 1935
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1935
gaaggtgtgc tgtcgc 16

<210> 1936
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1936
atcgagtcct gcctcc 16

<210> 1937
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1937
gcaaatcctt ccagca 16

<210> 1938
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

376

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1938
gcacgagctt gcctgt 16

<210> 1939
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1939
gagccatcca gggtgc 16

<210> 1940
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1940
aggccatttg atccga 16

<210> 1941
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1941
gccacgccct tagcag 16

<210> 1942
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1942
gttccctgag gaacgg 16

<210> 1943
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1943
ggcagttagg ccagga 16

<210> 1944
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

377

<400> 1944
ctacagatca tcccta 16

<210> 1945
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1945
ccccggagca ccttca 16

<210> 1946
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1946
gtgacccaag ggtcga 16

<210> 1947
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1947
cgtggttagc ctgaca 16

<210> 1948
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1948
tccatgtcag agttgc 16

<210> 1949
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1949
cctccttttg gcttga 16

<210> 1950
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1950
ttccccagag gtgata 16

<210> 1951
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1951
tctggttagc ctccga 16

<210> 1952
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1952
tggccaagca accagt 16

<210> 1953
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1953
gcccaatgtc ctaacc 16

<210> 1954
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1954
ccaccgctgc ccgcca 16

<210> 1955
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1955
tgtgaccccc caccgc 16

<210> 1956
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1956
ttgtgacccc ccaccg 16

<210> 1957

<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1957
actgaacccc cttagg 16

<210> 1958
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1958
ccttcatacc cctcac 16

<210> 1959
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1959
ccgataacag accggc 16

<210> 1960
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1960
atacccggag tcagga 16

<210> 1961
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1961
attgctcagg cccccт 16

<210> 1962
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1962
caagccacta acccac 16

<210> 1963
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

380

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1963
aattcttgga ccaagg 16

<210> 1964
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1964
ccatctactc ccccat 16

<210> 1965
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1965
gcagcgagca ttccaa 16

<210> 1966
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1966
ggacaatgcc tatgct 16

<210> 1967
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1967
gaagccattc actgca 16

<210> 1968
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1968
aaactcctct caaggc 16

<210> 1969
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

381

<400> 1969
gcaccaccat gcggtt 16

<210> 1970
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1970
tgcagggctg cgcagt 16

<210> 1971
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1971
ttagccactc ctcttg 16

<210> 1972
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1972
agctagctga ccccaa 16

<210> 1973
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1973
tccgcctttg gatact 16

<210> 1974
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1974
cctgctgatt gtgtct 16

<210> 1975
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1975
tcgaggacag ccccca 16

382

<210> 1976
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1976
acccgtcagc ctcagc 16

<210> 1977
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1977
cttgcctatt cacccc 16

<210> 1978
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1978
cggacaagcc ttacag 16

<210> 1979
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1979
cacacttacc ccgctc 16

<210> 1980
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1980
cctccccttg tgtgtc 16

<210> 1981
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1981
ccgcttccct gactgt 16

<210> 1982

<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1982
cagctccctt actagg 16

<210> 1983
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1983
aggtattgac cgccag 16

<210> 1984
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1984
ggtaaatcca tcccct 16

<210> 1985
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1985
gcccgatcac cttaga 16

<210> 1986
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1986
gtctaactgg cctggc 16

<210> 1987
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1987
ctaagctgtg tctcat 16

<210> 1988
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

384

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1988
tgtttcaagt gccaga 16

<210> 1989
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1989
tgcagtggtc aagcat 16

<210> 1990
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1990
gcgattcctt gcctct 16

<210> 1991
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1991
ataatagagg cagcca 16

<210> 1992
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1992
gtcagaaggc ctctta 16

<210> 1993
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1993
tatttatccg acctct 16

<210> 1994
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

385

<400> 1994
gaggtggttg gagcta 16

<210> 1995
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1995
cagatcccaa ttcttc 16

<210> 1996
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1996
gagtctttcc aatcct 16

<210> 1997
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1997
tctcaatccc aacccc 16

<210> 1998
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1998
cctcaatccc aaccca 16

<210> 1999
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 1999
tagtggcaag aaccac 16

<210> 2000
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2000
cgcgcgaatg cctgcc 16

386

<210> 2001
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2001
gacacctgct tgatta 16

<210> 2002
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2002
ggcactggtc atggac 16

<210> 2003
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2003
gcgccatcct tcaatc 16

<210> 2004
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2004
gatccaccca tgacct 16

<210> 2005
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2005
gctgtgactc agatca 16

<210> 2006
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2006
ctcttcgcat ggacac 16

<210> 2007

<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2007
gcccaagcct acatgc 16

<210> 2008
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2008
gtgcgattaa gcccca 16

<210> 2009
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2009
gcttgtagaa gggatt 16

<210> 2010
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2010
tgtgcaatca ggtgga 16

<210> 2011
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2011
ccggcctgga tacagc 16

<210> 2012
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2012
cggccaatgg gaaagg 16

<210> 2013
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

388

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2013
tggaggagta gggaat 16

<210> 2014
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2014
cccgaagagt caagtc 16

<210> 2015
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2015
gtgctgcatt gcatga 16

<210> 2016
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2016
acacgccagg tgaaaa 16

<210> 2017
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2017
atgcatgcct acccaa 16

<210> 2018
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2018
gttactctgt gatcca 16

<210> 2019
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

389

<400> 2019
aacattgtgt agctgc 16

<210> 2020
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2020
gagactgaag ccctca 16

<210> 2021
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2021
cactgcctag aaaggc 16

<210> 2022
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2022
tgtagtatcc agagta 16

<210> 2023
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2023
agatgacctg cagatg 16

<210> 2024
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2024
aaaccatgaa ttaggt 16

<210> 2025
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2025
ttgctacttt acacca 16

390

<210> 2026
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2026
ggcattagga taggca 16

<210> 2027
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2027
cactcagact gtctga 16

<210> 2028
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2028
agatccggaa taacca 16

<210> 2029
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2029
attgacaacc atccta 16

<210> 2030
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2030
actcattggt ctacag 16

<210> 2031
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2031
atgccttgtg cctatt 16

<210> 2032

391

<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2032
actctgaggc cttagg 16

<210> 2033
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2033
gcattactca gcatgt 16

<210> 2034
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2034
ccagtcacca ccattg 16

<210> 2035
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2035
ggtctaactc taaggg 16

<210> 2036
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2036
tgtcctttaa agtatc 16

<210> 2037
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2037
tcatgtggca acctgt 16

<210> 2038
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

392

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2038
aatctgcacc tggcag 16

<210> 2039
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2039
catggctatt gcttcc 16

<210> 2040
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2040
gggctatatt gccagc 16

<210> 2041
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2041
ccagagcctt gatcag 16

<210> 2042
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2042
ggtgggttat ctgaga 16

<210> 2043
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2043
tagctccatg ctgtgt 16

<210> 2044
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

393

<400> 2044
gggaatttat gctgcc 16

<210> 2045
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2045
tgatgaagtt ccacct 16

<210> 2046
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2046
taggcacaga caacct 16

<210> 2047
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2047
tccaactaca ggactc 16

<210> 2048
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2048
ttctgggaaa ctctct 16

<210> 2049
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2049
agctcacacc caaaaa 16

<210> 2050
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2050
tctgttacct tgagga 16

394

<210> 2051
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2051
tggtcatgtc aactgt 16

<210> 2052
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2052
gtaagccttc acaggg 16

<210> 2053
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2053
ctcaccagag ttgtcc 16

<210> 2054
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2054
catccctgac aggtcc 16

<210> 2055
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2055
cccttctaac caagga 16

<210> 2056
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2056
ggatgagatg catcca 16

<210> 2057

395

<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2057
atggcggtga agcagc 16

<210> 2058
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2058
tgaataccat ccccgc 16

<210> 2059
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2059
gcgccatctg ccctgt 16

<210> 2060
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2060
tgggttggag gagtgg 16

<210> 2061
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2061
tggtggtggg attggt 16

<210> 2062
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2062
ttggtggtgg gattgg 16

<210> 2063
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

396

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2063
ggtggtggaa ttggtg 16

<210> 2064
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2064
gagattggtg gtgggt 16

<210> 2065
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2065
gtggtgggat tggtgc 16

<210> 2066
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2066
tggcgggatt ggtggt 16

<210> 2067
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2067
cggtggtggg attggt 16

<210> 2068
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2068
tcggtggtgg gattgg 16

<210> 2069
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

397

<400> 2069
atcggtggtg ggattg 16

<210> 2070
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2070
gatcggtggt gggatt 16

<210> 2071
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2071
ggatcggtgg tgggat 16

<210> 2072
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2072
gcgggatcgg tggtgg 16

<210> 2073
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2073
ggcgggatcg gtggtg 16

<210> 2074
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2074
gagcaaatac agtcca 16

<210> 2075
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2075
gtctcgatgg caagct 16

398

<210> 2076
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2076
ctcaccggta ctctgc 16

<210> 2077
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2077
tcctggaggc accaat 16

<210> 2078
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2078
agccctgttt ggtttt 16

<210> 2079
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2079
tgaagggcga ggcgca 16

<210> 2080
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2080
aagaggatgt caggct 16

<210> 2081
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2081
ttgaggaaag acctgc 16

<210> 2082

399

<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2082
gctgagtgtg acttaa 16

<210> 2083
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2083
gtacatgact ccagtg 16

<210> 2084
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2084
gtagagcatg gagcga 16

<210> 2085
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2085
cgcttcagga aagcga 16

<210> 2086
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2086
ggcaggagac tccgtg 16

<210> 2087
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2087
atccttcccc tcgcaa 16

<210> 2088
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

400

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2088
taatgagtgg gttagg 16

<210> 2089
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2089
ggagcagtgc aggtaa 16

<210> 2090
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2090
ataggcaatt gttcct 16

<210> 2091
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2091
agtcctacaa ttacca 16

<210> 2092
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2092
gggctcctat tccacc 16

<210> 2093
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2093
gccagctatg ggaaca 16

<210> 2094
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

401

<400> 2094
ccccatctcg aagccc 16

<210> 2095
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2095
gagtacattg ggccca 16

<210> 2096
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2096
gagccttccg cctctc 16

<210> 2097
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2097
cggaccttca tcttca 16

<210> 2098
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2098
tctagaggcc gcctgc 16

<210> 2099
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2099
cctataactg ctgctc 16

<210> 2100
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2100
gtatcactgt actagt 16

<210> 2101
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2101
agtatcactg tactag 16

<210> 2102
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2102
cagtatcact gtacta 16

<210> 2103
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2103
taacagtatc actgta 16

<210> 2104
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2104
ctaacagtat cactgt 16

<210> 2105
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2105
tctaacagta tcactg 16

<210> 2106
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2106
ataactctaa cagtat 16

<210> 2107

<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2107
ctataactct aacagt 16

<210> 2108
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2108
actgtcctat aactct 16

<210> 2109
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2109
tatatcactg tcctat 16

<210> 2110
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2110
cctatatcac tgtcct 16

<210> 2111
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2111
tcctatatca ctgtcc 16

<210> 2112
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2112
cactgtccta tatcac 16

<210> 2113
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

404

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2113
gtatcactgt cctata 16

<210> 2114
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2114
agtatcactg tcctat 16

<210> 2115
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2115
cagtatcact gtccta 16

<210> 2116
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2116
aacagtatca ctgtcc 16

<210> 2117
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2117
tataacagta tcactg 16

<210> 2118
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2118
ctataacagt atcact 16

<210> 2119
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

405

<400> 2119
taactataac agtatc 16

<210> 2120
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2120
tataactata acagta 16

<210> 2121
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2121
cctataacta taacag 16

<210> 2122
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2122
tacctataac tctaac 16

<210> 2123
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2123
actgtaccta taactc 16

<210> 2124
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2124
tatcactgta cctata 16

<210> 2125
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2125
acaatatcac tgtacc 16

<210> 2126
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2126
aacaatatca ctgtac 16

<210> 2127
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2127
atatcactgt acctgt 16

<210> 2128
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2128
tatatcactg tacctg 16

<210> 2129
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2129
ctatatcact gtacct 16

<210> 2130
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2130
cctatatcac tgtacc 16

<210> 2131
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2131
cctataacag tatcac 16

<210> 2132

<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2132
tcctataaca gtatca 16

<210> 2133
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2133
ttcctataac agtatc 16

<210> 2134
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2134
gtttcctata acagta 16

<210> 2135
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2135
ctatgtcact gtacct 16

<210> 2136
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2136
cctatgtcac tgtacc 16

<210> 2137
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2137
tcctatgtca ctgtac 16

<210> 2138
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2138
cactgtccta tgtcac 16

<210> 2139
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2139
tcactgtcct atgtca 16

<210> 2140
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2140
atcactgtcc tatgtc 16

<210> 2141
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2141
ctacctataa ctctaa 16

<210> 2142
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2142
gtcctataac tataac 16

<210> 2143
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2143
tatatcactg taccta 16

<210> 2144
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

409

<400> 2144
tacctataac agtatc 16

<210> 2145
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2145
actgtaccta taacag 16

<210> 2146
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2146
caccgtacta gtttcc 16

<210> 2147
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2147
tataacagta tcaccg 16

<210> 2148
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2148
ctataacagt atcacc 16

<210> 2149
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2149
acctataact ataaca 16

<210> 2150
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2150
tggcgggatc ggtggt 16

410

<210> 2151
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2151
tggtggcggg atcggt 16

<210> 2152
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2152
ttggtggcgg gatcgg 16

<210> 2153
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2153
attggtggcg ggatcg 16

<210> 2154
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2154
gattggtggc gggatc 16

<210> 2155
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2155
gttggtggcg ggatcg 16

<210> 2156
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2156
ggttggtggc gggatc 16

<210> 2157

<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2157
tggttggtgg cgggat 16

<210> 2158
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2158
gaacacatca gggatt 16

<210> 2159
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2159
tttctatggg cctgac 16

<210> 2160
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2160
gctgtcactt aagcca 16

<210> 2161
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2161
tctagggcca cacctc 16

<210> 2162
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2162
gttctacaca cagtac 16

<210> 2163
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

412

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2163
gcagtatgtt caatcc 16

<210> 2164
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2164
cccacatgta ccaccg 16

<210> 2165
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2165
gtatggcaga gcccct 16

<210> 2166
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2166
cccatcttgg gacttt 16

<210> 2167
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2167
tggtcccaaa ttggag 16

<210> 2168
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2168
ctcacaatac tgagcc 16

<210> 2169
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

413

<400> 2169
ggagatatca ggtgca 16

<210> 2170
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2170
caaggcatgt gtgcac 16

<210> 2171
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2171
gccttattct gtgcaa 16

<210> 2172
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2172
aggtgtggcg cgcgcc 16

<210> 2173
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2173
ctctatacag ctgggc 16

<210> 2174
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2174
gctgatcttc taatgc 16

<210> 2175
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2175
cctcattgct ccacta 16

414

<210> 2176
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2176
tgggaagaaa ctagca 16

<210> 2177
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2177
gaatgttgct gtccca 16

<210> 2178
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2178
gcatcatgct tactgc 16

<210> 2179
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2179
gcggcagtag tgaatc 16

<210> 2180
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2180
cctacctaat tcctcc 16

<210> 2181
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2181
aactgggcag tccttc 16

<210> 2182

415

<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2182
ccagcgcaat tctgct 16

<210> 2183
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2183
cgtttccctc aactcc 16

<210> 2184
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2184
cacggcaagt cgcggg 16

<210> 2185
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2185
cagttgtatc cctccc 16

<210> 2186
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2186
gcctctcaga cggcac 16

<210> 2187
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2187
ctgatcccac ttgccc 16

<210> 2188
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

416

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2188
agtctctttc ctaccc 16

<210> 2189
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2189
ccacgatgct ctggcc 16

<210> 2190
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2190
tcggctcctg gcagca 16

<210> 2191
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2191
accattcctg accatg 16

<210> 2192
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2192
cccgaggtca cataat 16

<210> 2193
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2193
ttacaacaga cccagg 16

<210> 2194
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

417

<400> 2194
agcagggtat cttcac 16

<210> 2195
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2195
gaagttcctg tgtctt 16

<210> 2196
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2196
ccaacctcta aggcta 16

<210> 2197
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2197
atgcttacct ttctcc 16

<210> 2198
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2198
acgacccact ccatgt 16

<210> 2199
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2199
tgcttaaaag tctccc 16

<210> 2200
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2200
gccctagaag ggccca 16

418

<210> 2201
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2201
gcgggtggtc ttgcac 16

<210> 2202
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2202
gctcccggcc attagc 16

<210> 2203
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2203
tctccatagt gagacg 16

<210> 2204
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2204
tggcaagcta ccttct 16

<210> 2205
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2205
gggagctttc atggct 16

<210> 2206
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2206
aatgcaggcc agcatc 16

<210> 2207

419

<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2207
gaaaagccct ccgagc 16

<210> 2208
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2208
caacaatcca aagcct 16

<210> 2209
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2209
ccccccagaa atccca 16

<210> 2210
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2210
gaccttgctt ccatgt 16

<210> 2211
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2211
gagagacggc accctg 16

<210> 2212
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2212
gggaaggtag tgttac 16

<210> 2213
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

420

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2213
gtgaatcaga gcagtg 16

<210> 2214
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2214
tcacctgtga gtaacc 16

<210> 2215
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2215
gagttacctt acaagc 16

<210> 2216
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2216
tctcaagcag cctatt 16

<210> 2217
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2217
gcccctctta aatagc 16

<210> 2218
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2218
gatatcatca tcccaa 16

<210> 2219
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

421

<400> 2219
gtatcccctt ttctat 16

<210> 2220
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2220
agtatctcat gtgcct 16

<210> 2221
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2221
caagaccttg cttgcc 16

<210> 2222
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2222
tagtccacta cacagc 16

<210> 2223
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2223
acgacaatgg gattca 16

<210> 2224
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2224
gaatctccct gagtca 16

<210> 2225
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2225
tagagggatc ccagga 16

422

<210> 2226
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2226
ccaggtgcag cacgga 16

<210> 2227
<211> 27
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2227
gcgtttgctc ttcttcttgc gtttttt 27

<210> 2228
<211> 21
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Праймер

<400> 2228
tgcctgctgt tcagctttct c 21

<210> 2229
<211> 21
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Праймер

<400> 2229
tggcaaagtc cctgtaatgc t 21

<210> 2230
<211> 30
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Зонд

<400> 2230
cgtgactcca cccaaagaga caaataaacg 30

<210> 2231
<211> 27
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Праймер

<400> 2231
acaagtgcat tttacagacc agagtac 27

<210> 2232

423

<211> 22
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Праймер

<400> 2232
ggttgtccgc tgactttatg ct 22

<210> 2233
<211> 24
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Зонд

<400> 2233
aagcacagtg caagcggaac accc 24

<210> 2234
<211> 21
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Праймер

<400> 2234
gagtccccca gagcctacag t 21

<210> 2235
<211> 26
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Праймер

<400> 2235
tgtcatttgt tattgtgatg gctaca 26

<210> 2236
<211> 25
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Зонд

<400> 2236
ctgccctcta cctggccaac aacca 25

<210> 2237
<211> 27
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Праймер

<400> 2237
acaagtgcat tttacagacc agagtac 27

<210> 2238
<211> 22
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

424

<220>
<223> Праймер

<400> 2238
ggttgtccgc tgactttatg ct 22

<210> 2239
<211> 24
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Зонд

<400> 2239
aagcacagtg caagcggaac accc 24

<210> 2240
<211> 25
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Праймер

<400> 2240
agacccattt cctcaaggta gaact 25

<210> 2241
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Праймер

<400> 2241
cgcagcgacg ctcatg 16

<210> 2242
<211> 25
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Зонд

<400> 2242
tctttgggtc cagtggcacc ctctt 25

<210> 2243
<211> 1837
<212> ДНК
<213> mus musculus

<400> 2243
actgattctc tgcgactgtc tgctcagtct gtcctgaagc tgcctagtga ccaagaactt 60

ggaccaggac gcagctgaca tcgctgccca gatggcctcc aggctgaccc cactgaccct 120

cctgctgctg ctgctggctg gggatagagc cttctcagat cccgaagcta ccagccacag 180

cacccaggat ccactggagg ctcaagcgaa aagcagagag agcttccctg aaagagatga 240

ctcctggagt cccccagagc ctacagtact gccctctacc tggccaacaa ccagtgtagc 300

catcacaata acaaatgaca ccatgggtaa agtagccaac gagtccttca gccagcacag 360

ccagccagct gctcagctac ccacagattc tccaggacag ccccctctga attcttccag 420

425

ccagccctcc actgcctcag atcttcccac ccaggctact actgaaccct tctgcccgga 480

gccgcttgct cagtgctctg attcagacag agactcctca gaggcaaagc tctcagaggc 540

tttgacagat ttctctgtga agctctacca cgccttctca gctaccaaga tggctaagac 600

caacatggcc ttttccccat tcagcattgc cagcctcctc acacaggttc ttcttggggc 660

tggagacagc accaagagca acttggagag catcctttcc taccccaagg attttgcctg 720

tgtccaccaa gcactaaagg gcttttcatc caaaggtgtc acttctgtgt ctcagatttt 780

ccacagccca gatctggcca taagggacac ctatgtgaat gcatctcaga gcctgtatgg 840

aagcagcccc agagtcctgg gcccagacag tgctgctaac ttagaactca tcaacacctg 900

ggtggctgag aacaccaacc ataagatccg caagctgctg gacagcctgc cttctgacac 960

ctgcctcgtc cttctcaatg ctgtctactt gagtgccaag tggaagataa catttgaacc 1020

aaaaaagatg atggcgcctt tcttctacaa aaactctatg attaaagtgc ccatgatgag 1080

tagcgtaaag taccctgtgg cccaattcga tgaccatact ttgaaggcca aggtgggaca 1140

gctgcagctc tctcacaacc tgagctttgt gatcgtggta cccgtgttcc caaagcacca 1200

acttaaagat gtagaaaagg ctctcaaccc cactgtcttc aaggccatca tgaagaagct 1260

ggagctgtcc aaattcctgc ccacttacct gacgatgcct catataaaag taaagagcag 1320

ccaagacatg ctgtcagtca tggagaaact ggaattcttt gacttcactt acgatctcaa 1380

cctgtgcggg ctgaccgagg acccagatct tcaggtgtct gccatgaaac acgagacagt 1440

gctggaactg acagagtcag gggtggaagc agctgcagcc tctgccatct cctttggccg 1500

aagcttaccc atctttgagg tgcagcgacc tttcctcttc ctgctctggg accagcaaca 1560

caggttccca gtcttcatgg gtcgtgtata tgaccccagg ggttgagaca ggcttgggta 1620

aacattgtca cccaagcttc agctcctccg gttatttcct tgccactgcc tgcccgagcc 1680

acttcaagcc ttaggaactg gcagacggaa ctgtttccat ccaccaaccc ccagggtatc 1740

aaccactttt ttgcagcttt tacggttcaa acctatcaaa ctctacaaat aaaacttgca 1800

gacattttct tctctcacta aaaaaaaaaa aaaaaaa 1837

<210> 2244
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2244
ggcatattgg tttttggaat 20

<210> 2245
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2245
aaagtggttg ataccctggg 20

<210> 2246

426

<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2246
ccttccctga aggttcctcc 20

<210> 2247
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2247
gcatgggaca gagatggtgc 20

<210> 2248
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2248
agcttcttgt ccagctttat 20

<210> 2249
<211> 21
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2249
agcttcttgt ccagctttat a 21

<210> 2250
<211> 14
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2250
tcagtcatga cttc 14

<210> 2251
<211> 15
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2251
tcagtcatga cttca 15

<210> 2252
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

427

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2252
gctgattaga gagaggtccc 20

<210> 2253
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2253
tcccatttca ggagacctgg 20

<210> 2254
<211> 15
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2254
atcagtcatg acttc 15

<210> 2255
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2255
cggtgcaagg cttaggaatt 20

<210> 2256
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2256
gcttcagtca tgacttcctt 20

<210> 2257
<211> 21
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2257
gcttcagtca tgacttcctt a 21

<210> 2258
<211> 21
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

428

<400> 2258
agcttcagtc atgacttcct t 21

<210> 2259
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2259
tggtaatcca ctttcagagg 20

<210> 2260
<211> 21
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2260
tggtaatcca ctttcagagg a 21

<210> 2261
<211> 21
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2261
tgcttcagtc atgacttcct t 21

<210> 2262
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2262
cactgatttt tgcccaggat 20

<210> 2263
<211> 21
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2263
cactgatttt tgcccaggat a 21

<210> 2264
<211> 21
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2264
aagcttcttg tccagcttta t 21

429

<210> 2265
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2265
acccaattca gaaggaagga 20

<210> 2266
<211> 21
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2266
acccaattca gaaggaagga a 21

<210> 2267
<211> 21
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2267
aacccaattc agaaggaagg a 21

<210> 2268
<211> 21
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2268
atggtaatcc actttcagag g 21

<210> 2269
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2269
tcttggttac atgaaatccc 20

<210> 2270
<211> 21
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2270
tcttggttac atgaaatccc a 21

<210> 2271

430

<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2271
attcactttc ataatgctgg 20

<210> 2272
<211> 21
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2272
attcactttc ataatgctgg a 21

<210> 2273
<211> 21
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2273
atcttggtta catgaaatcc c 21

<210> 2274
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2274
atgcatggtg atgcttctga 20

<210> 2275
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2275
cagctttatt agggacagca 20

<210> 2276
<211> 21
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2276
cagctttatt agggacagca a 21

<210> 2277
<211> 21
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

431

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2277
acagctttat tagggacagc a 21

<210> 2278
<211> 16
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2278
ttcagtcatg acttcc 16

<210> 2279
<211> 18
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(4)
<223> Основания в указанных положениях представляют собой РНК

<220>
<221> misc_feature
<222> (15)..(18)
<223> Основания в указанных положениях представляют собой РНК

<400> 2279
gcuucagtca tgactucc 18

<210> 2280
<211> 21
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2280
tgctccgttg gtgcttgttc a 21

<210> 2281
<211> 20
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический олигонуклеотид

<400> 2281
tgctccgttg gtgcttgttc 20