(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 116157527 A
(43)申请公布日 2023.05.23

(21)申请号 202180062323.1
(22)申请日 2021.08.10
(30)优先权数据
63/063,851 2020.08.10 US
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2023.03.10
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2021/045447 2021.08.10
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2022/035903 EN 2022.02.17
(71)申请人 普利维尔治疗公司
地址 美国纽约州
(72)发明人 阿萨·阿贝利奥维奇
杰弗里·思维格尼
特拉维斯·刘易斯
奥尔加·乌斯片斯卡亚
(74)专利代理机构 中原信达知识产权代理有限责任公司 11219
专利代理师 金海霞 刘慧
(51)Int.Cl.
C12N 15/861(2006.01)

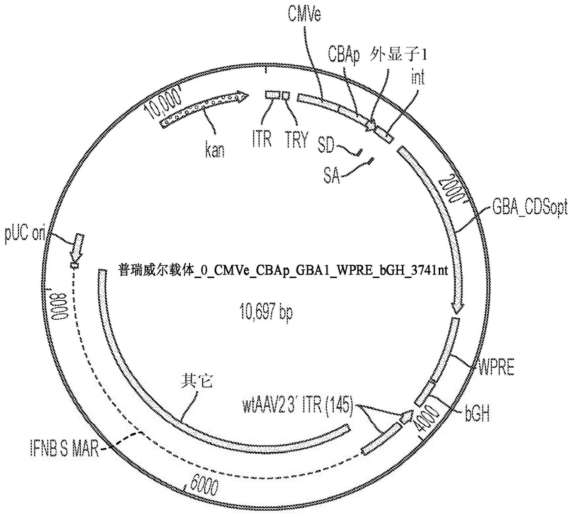
权利要求书10页 说明书83页
序列表126页 附图81页

(54)发明名称

用于溶酶体病症的基因疗法

(57)摘要

本公开涉及用于治疗如帕金森氏病和戈谢病等与异常溶酶体功能相关的疾病的组合物和方法。本公开提供了通过向有需要的受试者施用包括编码β-葡糖脑苷脂酶的转基因、靶向α-突触核蛋白的抑制性RNA或前述的组合的表达构建体来治疗戈谢病、帕金森氏病或其它突触核蛋白病的方法。



CN 116157527 A

1.一种用于治疗患有或怀疑患有具有葡糖脑苷脂酶-1(GBA1)突变的帕金森氏病(Parkinson's disease)的受试者的方法,所述方法包括向所述受试者施用:

重组腺相关病毒(rAAV),所述rAAV包括:

(i)rAAV载体,所述rAAV载体包括核酸,所述核酸包括表达构建体,所述表达构建体包括与编码葡糖脑苷脂酶(Gcase)蛋白的转基因插入片段可操作地连接的启动子,其中所述转基因插入片段包括SEQ ID NO:15的核苷酸序列;以及

(ii)腺相关病毒(AAV)9衣壳蛋白;以及以下中的一种或多种:

(A)西罗莫司(sirolimus);

(B)甲基强的松龙(methylprednisolone);

(C)利妥昔单抗(rituximab);以及

(D)强的松(prednisone)。

2.一种用于抑制患有或怀疑患有具有葡糖脑苷脂酶-1(GBA1)突变的帕金森氏病的受试者的免疫应答的方法,所述方法包括向所述受试者施用:

重组腺相关病毒(rAAV),所述rAAV包括:

(i)rAAV载体,所述rAAV载体包括核酸,所述核酸包括表达构建体,所述表达构建体包括与编码葡糖脑苷脂酶(Gcase)蛋白的转基因插入片段可操作地连接的启动子,其中所述转基因插入片段包括SEQ ID NO:15的核苷酸序列;以及

(ii)腺相关病毒(AAV)9衣壳蛋白;以及以下中的一种或多种:

(A)西罗莫司;

(B)甲基强的松龙;

(C)利妥昔单抗;以及

(D)强的松。

3.根据权利要求1或2所述的方法,其中所述rAAV以范围为约5x 10^{13}个载体基因组(vg)至约5x 10^{14}个vg的剂量向所述受试者施用。

4.根据权利要求1或2所述的方法,其中所述rAAV以约1.4x 10^{14}个vg或约2.8x 10^{14}个vg的剂量向所述受试者施用。

5.一种用于治疗患有或怀疑患有2型戈谢病(Gaucher disease)或3型戈谢病的受试者的方法,所述方法包括向所述受试者施用:

重组腺相关病毒(rAAV),所述rAAV包括:

(i)rAAV载体,所述rAAV载体包括核酸,所述核酸包括表达构建体,所述表达构建体包括与编码葡糖脑苷脂酶(Gcase)蛋白的转基因插入片段可操作地连接的启动子,其中所述转基因插入片段包括SEQ ID NO:15的核苷酸序列;以及

(ii)腺相关病毒(AAV)9衣壳蛋白;以及以下中的一种或多种:

(A)西罗莫司;

(B)甲基强的松龙;

(C)利妥昔单抗;以及

(D)强的松。

6.一种用于抑制患有或怀疑患有2型戈谢病或3型戈谢病的受试者的免疫应答的方法,所述方法包括向所述受试者施用:

重组腺相关病毒(rAAV),所述rAAV包括:

(i)rAAV载体,所述rAAV载体包括核酸,所述核酸包括表达构建体,所述表达构建体包括与编码葡糖脑苷脂酶(Gcase)蛋白的转基因插入片段可操作地连接的启动子,其中所述转基因插入片段包括SEQ ID NO:15的核苷酸序列;以及

(ii)腺相关病毒(AAV)9衣壳蛋白;以及以下中的一种或多种:

(A)西罗莫司;

(B)甲基强的松龙;

(C)利妥昔单抗;以及

(D)强的松。

7.根据权利要求5或6所述的方法,其中所述rAAV以范围为约5x 10^{10}个vg/g脑至约5x 10^{11}个vg/g脑的剂量向所述受试者施用。

8.根据权利要求5或6所述的方法,其中所述rAAV以约1.3x 10^{11}个vg/g脑的剂量向所述受试者施用。

9.根据权利要求1至8中任一项所述的方法,其中所述rAAV通过注射到小脑延髓池中施用。

10.一种用于治疗患有或怀疑患有1型戈谢病的受试者的方法,所述方法包括向所述受试者施用:

重组腺相关病毒(rAAV),所述rAAV包括:

(i)rAAV载体,所述rAAV载体包括核酸,所述核酸包括表达构建体,所述表达构建体包括与编码葡糖脑苷脂酶(Gcase)蛋白的转基因插入片段可操作地连接的启动子,其中所述转基因插入片段包括SEQ ID NO:15的核苷酸序列;以及

(ii)腺相关病毒(AAV)9衣壳蛋白;以及以下中的一种或多种:

(A)西罗莫司;

(B)甲基强的松龙;

(C)利妥昔单抗;以及

(D)强的松。

11.一种用于抑制患有或怀疑患有1型戈谢病的受试者的免疫应答的方法,所述方法包括向所述受试者施用:

重组腺相关病毒(rAAV),所述rAAV包括:

(i)rAAV载体,所述rAAV载体包括核酸,所述核酸包括表达构建体,所述表达构建体包括与编码葡糖脑苷脂酶(Gcase)蛋白的转基因插入片段可操作地连接的启动子,其中所述转基因插入片段包括SEQ ID NO:15的核苷酸序列;以及

(ii)腺相关病毒(AAV)9衣壳蛋白;以及以下中的一种或多种:

(A)西罗莫司;

(B)甲基强的松龙;

(C)利妥昔单抗;以及

(D)强的松。

12.根据权利要求10或11所述的方法,其中所述rAAV以范围为约5x 10^{13}个vg至约5x 10^{14}个vg的剂量向所述受试者施用。

13.根据权利要求10至12中任一项所述的方法,其中所述rAAV是静脉内施用的。

14.一种用于治疗患有或怀疑患有突触核蛋白病或震颤麻痹的受试者的方法,所述方法包括向所述受试者施用:

重组腺相关病毒(rAAV),所述rAAV包括:

(i)rAAV载体,所述rAAV载体包括核酸,所述核酸包括表达构建体,所述表达构建体包括转基因,所述转基因包括

(a)包括SEQ ID NO:15的核苷酸序列的Gcase蛋白编码序列;以及

(b)包括SEQ ID NO:20的核苷酸序列的抑制性核酸编码序列;以及

(ii)腺相关病毒(AAV)9衣壳蛋白;以及以下中的一种或多种:

(A)西罗莫司;

(B)甲基强的松龙;

(C)利妥昔单抗;以及

(D)强的松。

15.一种用于抑制患有或怀疑患有突触核蛋白病或震颤麻痹的受试者的免疫应答的方法,所述方法包括向所述受试者施用:

重组腺相关病毒(rAAV),所述rAAV包括:

(i)rAAV载体,所述rAAV载体包括核酸,所述核酸包括表达构建体,所述表达构建体包括转基因,所述转基因包括

(a)包括SEQ ID NO:15的核苷酸序列的Gcase蛋白编码序列;以及

(b)包括SEQ ID NO:20的核苷酸序列的抑制性核酸编码序列;以及

(ii)腺相关病毒(AAV)9衣壳蛋白;以及以下中的一种或多种:

(A)西罗莫司;

(B)甲基强的松龙;

(C)利妥昔单抗;以及

(D)强的松。

16.一种用于治疗患有或怀疑患有突触核蛋白病或震颤麻痹的受试者的方法,所述方法包括向所述受试者施用:

重组腺相关病毒(rAAV),所述rAAV包括:

(i)rAAV载体,所述rAAV载体包括核酸,所述核酸包括表达构建体,所述表达构建体包括转基因,所述转基因包括抑制性核酸编码序列,所述抑制性核酸编码序列包括SEQ ID NO:20的核苷酸序列;以及

(ii)腺相关病毒(AAV)9衣壳蛋白;以及以下中的一种或多种:

(A)西罗莫司;

(B)甲基强的松龙;

(C)利妥昔单抗;以及

(D)强的松。

17.一种用于抑制患有或怀疑患有突触核蛋白病或震颤麻痹的受试者的免疫应答的方法,所述方法包括向所述受试者施用:

重组腺相关病毒(rAAV),所述rAAV包括:

(i)rAAV载体,所述rAAV载体包括核酸,所述核酸包括表达构建体,所述表达构建体包括转基因,所述转基因包括抑制性核酸编码序列,所述抑制性核酸编码序列包括SEQ ID NO:20的核苷酸序列;以及

(ii)腺相关病毒(AAV)9衣壳蛋白;以及以下中的一种或多种:

(A)西罗莫司;

(B)甲基强的松龙;

(C)利妥昔单抗;以及

(D)强的松。

18.根据权利要求14至17中任一项所述的方法,其中所述突触核蛋白病或震颤麻痹是多系统萎缩、帕金森氏病、具有GBA1突变的帕金森氏病、路易体病(Lewy body disease)、路易体痴呆(dementia with Lewy bodies)、具有GBA1突变的路易体痴呆、进行性核上性麻痹或皮质基底综合征。

19.根据权利要求1至18中任一项所述的方法,其中所述启动子是鸡β肌动蛋白(CBA)启动子。

20.根据权利要求1至19中任一项所述的方法,其中所述rAAV载体进一步包括巨细胞病毒(CMV)增强子。

21.根据权利要求1至20中任一项所述的方法,其中所述rAAV载体进一步包括土拨鼠肝炎病毒转录后调控元件(Woodchuck Hepatitis Virus PosttranscriptionalRegulatory Element,WPRE)。

22.根据权利要求1至21中任一项所述的方法,其中所述rAAV载体进一步包括牛生长激素polyA信号尾部。

23.根据权利要求1至22中任一项所述的方法,其中所述核酸包括侧接所述表达构建体的两个腺相关病毒反向末端重复(ITR)序列。

24.根据权利要求23所述的方法,其中每个ITR序列是AAV2 ITR序列。

25.根据权利要求23或24所述的方法,其中所述rAAV载体进一步包括5'ITR与所述表达构建体之间的TRY区,其中所述TRY区包括SEQ ID NO:28。

26.一种用于治疗患有或怀疑患有具有GBA1突变的帕金森氏病的受试者的方法,所述方法包括向所述受试者施用:

重组腺相关病毒(rAAV),所述rAAV包括:

(i)rAAV载体,所述rAAV载体包括核酸,所述核酸按5'至3'顺序包括:

(a)腺相关病毒(AAV)2ITR;

(b)巨细胞病毒(CMV)增强子;

(c)鸡β肌动蛋白(CBA)启动子;

(d)编码Gcase蛋白的转基因插入片段,其中所述转基因插入片段包括SEQ ID NO:15的核苷酸序列;

(e)土拨鼠肝炎病毒转录后调控元件(WPRE);

(f)牛生长激素polyA信号尾部;以及

(g)AAV2反向末端重复序列(ITR);以及

(ii)AAV9衣壳蛋白;以及以下中的一种或多种:

(A)西罗莫司;

(B)甲基强的松龙;

(C)利妥昔单抗;以及

(D)强的松,

其中所述rAAV以范围为约5x 10^{13}个vg至约5x 10^{14}个vg的剂量向所述受试者施用。

27.一种用于抑制患有或怀疑患有具有GBA1突变的帕金森氏病的受试者的免疫应答的方法,所述方法包括向所述受试者施用:

重组腺相关病毒(rAAV),所述rAAV包括:

(i)rAAV载体,所述rAAV载体包括核酸,所述核酸按5'至3'顺序包括:

(a)腺相关病毒(AAV)2ITR;

(b)巨细胞病毒(CMV)增强子;

(c)鸡β肌动蛋白(CBA)启动子;

(d)编码Gcase蛋白的转基因插入片段,其中所述转基因插入片段包括SEQ ID NO:15的核苷酸序列;

(e)土拨鼠肝炎病毒转录后调控元件(WPRE);

(f)牛生长激素polyA信号尾部;以及

(g)AAV2反向末端重复序列(ITR);以及

(ii)AAV9衣壳蛋白;以及以下中的一种或多种:

(A)西罗莫司;

(B)甲基强的松龙;

(C)利妥昔单抗;以及

(D)强的松,

其中所述rAAV以范围为约5x 10^{13}个vg至约5x 10^{14}个vg的剂量向所述受试者施用。

28.一种用于治疗患有或怀疑患有2型戈谢病或3型戈谢病的受试者的方法,所述方法包括向所述受试者施用:

重组腺相关病毒(rAAV),所述rAAV包括:

(i)rAAV载体,所述rAAV载体包括核酸,所述核酸按5'至3'顺序包括:

(a)腺相关病毒(AAV)2ITR;

(b)巨细胞病毒(CMV)增强子;

(c)鸡β肌动蛋白(CBA)启动子;

(d)编码Gcase蛋白的转基因插入片段,其中所述转基因插入片段包括SEQ ID NO:15的核苷酸序列;

(e)土拨鼠肝炎病毒转录后调控元件(WPRE);

(f)牛生长激素polyA信号尾部;以及

(g)AAV2反向末端重复序列(ITR);以及

(ii)AAV9衣壳蛋白;以及以下中的一种或多种:

(A)西罗莫司;

(B)甲基强的松龙;

(C)利妥昔单抗;以及

(D)强的松，

其中所述rAAV以范围为约5x 10^{10}个vg/g脑至约5x 10^{11}个vg/g脑的剂量向所述受试者施用。

29.一种用于抑制患有或怀疑患有2型戈谢病或3型戈谢病的受试者的免疫应答的方法，所述方法包括向所述受试者施用：

重组腺相关病毒(rAAV)，所述rAAV包括：

(i)rAAV载体，所述rAAV载体包括核酸，所述核酸按5'至3'顺序包括：

(a)腺相关病毒(AAV)2ITR；

(b)巨细胞病毒(CMV)增强子；

(c)鸡β肌动蛋白(CBA)启动子；

(d)编码Gcase蛋白的转基因插入片段，其中所述转基因插入片段包括SEQ ID NO:15的核苷酸序列；

(e)土拨鼠肝炎病毒转录后调控元件(WPRE)；

(f)牛生长激素polyA信号尾部；以及

(g)AAV2反向末端重复序列(ITR)；以及

(ii)AAV9衣壳蛋白；以及以下中的一种或多种：

(A)西罗莫司；

(B)甲基强的松龙；

(C)利妥昔单抗；以及

(D)强的松，

其中所述rAAV以范围为约5x 10^{10}个vg/g脑至约5x 10^{11}个vg/g脑的剂量向所述受试者施用。

30.根据权利要求26至29中任一项所述的方法，其中所述rAAV通过注射到小脑延髓池中施用。

31.根据权利要求1至30中任一项所述的方法，其中所述rAAV在包括约20mM Tris，pH 8.0、约1mM $MgCl_2$、约200mM NaCl和约0.001％w/v泊洛沙姆188的调配物中施用。

32.根据权利要求1至31中任一项所述的方法，其中所述甲基强的松龙在施用所述rAAV的前一天或同一天以约1000mg的剂量静脉内施用。

33.根据权利要求1至32中任一项所述的方法，其中所述强的松

(A)在从施用约1000mg的所述甲基强的松龙后的第二天开始以每天约30mg的剂量口服施用，持续14天；并且

(B)在(A)的14天时间段结束后的7天期间逐渐减少。

34.根据权利要求1至33中任一项所述的方法，其中所述利妥昔单抗在施用所述rAAV之前14天至之前1天之间的任何一天以约1000mg的剂量静脉内施用。

35.根据权利要求34所述的方法，其中在施用所述利妥昔单抗之前施用所述甲基强的松龙。

36.根据权利要求35所述的方法，其中在施用所述利妥昔单抗之前至少约30分钟施用所述甲基强的松龙。

37.根据权利要求34所述的方法，其中所述甲基强的松龙和所述利妥昔单抗均在施用

所述rAAV的前一天施用;并且其中所述甲基强的松龙在施用所述利妥昔单抗之前至少约30分钟施用。

38.根据权利要求34所述的方法,其中所述利妥昔单抗在施用所述rAAV之前14天至之前2天之间的任何一天施用;并且其中甲基强的松龙在施用所述利妥昔单抗的同一天在施用所述利妥昔单抗之前至少约30分钟以约100mg的剂量静脉内施用。

39.根据权利要求1至38中任一项所述的方法,其中所述西罗莫司

(A)在施用所述rAAV之前三天、两天或一天以约6mg的单剂量口服施用;并且

(B)在施用所述rAAV之后以每天约2mg的剂量口服施用,以维持约4ng/ml至约9ng/mL的血清低谷水平,持续约90天;

其中在单剂量的约6mg的所述西罗莫司之后的第二天施用第一剂量的每天约2mg的所述西罗莫司。

40.根据权利要求5至13、28和29中任一项所述的方法,其中所述西罗莫司

(A)以各约1.0mg/m^2的两个剂量口服施用,其中所述两个剂量在施用所述rAAV之前1天或2天施用,其中第一剂量在早上施用,并且第二剂量在施用所述两个剂量的当天的晚上施用;并且

(B)在施用所述rAAV之后以约0.6mg/m^2/天至约1.0mg/m^2/天的剂量口服施用,以维持约2ng/ml至约8ng/mL的血清低谷水平,持续约3个月。

41.根据权利要求39或40所述的方法,其中所述西罗莫司施用在施用所述rAAV之后的90天时间段结束后的15天至30天期间逐渐减少。

42.根据权利要求1至39和41中任一项所述的方法,所述方法包括:

(i)以约1000mg的剂量静脉内施用所述甲基强的松龙;

(ii)在步骤(i)的所述甲基强的松龙施用后约30分钟以约1000mg的剂量静脉内施用所述利妥昔单抗;

(iii)在步骤(i)的所述甲基强的松龙施用后第二天通过注射到小脑延髓池中施用所述rAAV;

(iv)从步骤(i)的所述甲基强的松龙施用后第二天开始,以每天约30mg的剂量口服施用所述强的松,持续14天,并且

(v)在步骤(iv)的14天时间段结束后的7天期间逐渐减少所述强的松的施用;

(vi)在步骤(iii)的所述rAAV施用之前三天、两天或一天以约6mg的单剂量口服施用所述西罗莫司;

(vii)在步骤(iii)的所述rAAV施用后,以每天约2mg的剂量口服施用所述西罗莫司,以维持约4ng/ml至约9ng/ml的血清低谷水平,持续约90天;

其中在单剂量的约6mg的所述西罗莫司之后的第二天施用第一剂量的每天约2mg的所述西罗莫司;并且

(viii)在步骤(vii)的90天时间段结束后的15天至30天期间逐渐减少所述西罗莫司的施用。

43.根据权利要求1至39和41中任一项所述的方法,所述方法包括:

(i)在步骤(iv)的所述rAAV施用之前14天和之前2天之间的任何一天以约100mg的剂量静脉内施用所述甲基强的松龙;

(ii)在步骤(i)的所述甲基强的松龙施用后约30分钟以约1000mg的剂量静脉内施用所述利妥昔单抗;

(iii)在步骤(iv)的所述rAAV施用前一天或当天以约1000mg的剂量静脉内施用所述甲基强的松龙;

(iv)通过注射到小脑延髓池中施用所述rAAV;

(v)从步骤(iii)的所述甲基强的松龙施用后第二天开始,以每天约30mg的剂量口服施用所述强的松,持续14天,并且

(vi)在步骤(v)的14天时间段结束后的7天期间逐渐减少所述强的松的施用;

(vii)在步骤(iv)的所述rAAV施用之前三天、两天或一天以约6mg的单剂量口服施用所述西罗莫司;

(viii)在步骤(iv)的所述rAAV施用后,以每天约2mg的剂量口服施用所述西罗莫司,以维持约4ng/ml至约9ng/ml的血清低谷水平,持续约90天;

其中在单剂量的约6mg的所述西罗莫司之后的第二天施用第一剂量的每天约2mg的所述西罗莫司;并且

(ix)在步骤(viii)的90天时间段结束后的15天至30天期间逐渐减少所述西罗莫司的施用。

44.根据权利要求2、6、11、15、17、27和29中任一项所述的方法,其中所述免疫应答是对所述rAAV的免疫应答。

45.根据权利要求2、6、11、15、17、27、29和44中任一项所述的方法,其中所述免疫应答是T细胞应答。

46.根据权利要求2、6、11、15、17、27、29和44中任一项所述的方法,其中所述免疫应答是B细胞应答。

47.根据权利要求2、6、11、15、17、27、29和44中任一项所述的方法,其中所述免疫应答是抗体应答。

48.根据权利要求2、6、11、15、17、27、29和44中任一项所述的方法,其中所述免疫应答是细胞增多。

49.根据权利要求48所述的方法,其中所述细胞增多是脑脊液(CSF)细胞增多。

50.根据权利要求2、6、11、15、17、27、29和44中任一项所述的方法,其中所述免疫应答是CSF蛋白的异常水平。

51.根据权利要求1至50中任一项所述的方法,其中向所述受试者进一步施用另外的免疫抑制剂,所述另外的免疫抑制剂不是西罗莫司、甲基强的松龙、利妥昔单抗或强的松。

52.一种重组腺相关病毒(rAAV)的治疗性组合,

所述rAAV包括:

(i)rAAV载体,所述rAAV载体包括核酸,所述核酸包括表达构建体,所述表达构建体包括与编码Gcase蛋白的转基因插入片段可操作地连接的启动子,其中所述转基因插入片段包括SEQ ID NO:15的核苷酸序列;以及

(ii)腺相关病毒(AAV)9衣壳蛋白;以及以下中的一种或多种:

(A)西罗莫司;

(B)甲基强的松龙;

(C)利妥昔单抗;以及

(D)强的松,

所述治疗性组合用于治疗受试者的1型戈谢病、2型戈谢病、3型戈谢病或具有GBA1突变的帕金森氏病的方法。

53.一种重组腺相关病毒(rAAV)的治疗性组合,

所述rAAV包括:

(i)rAAV载体,所述rAAV载体包括核酸,所述核酸包括表达构建体,所述表达构建体包括与编码Gcase蛋白的转基因插入片段可操作地连接的启动子,其中所述转基因插入片段包括SEQ ID NO:15的核苷酸序列;以及

(ii)腺相关病毒(AAV)9衣壳蛋白;以及以下中的一种或多种:

(A)西罗莫司;

(B)甲基强的松龙;

(C)利妥昔单抗;以及

(D)强的松,

所述治疗性组合用于抑制患有或怀疑患有1型戈谢病、2型戈谢病、3型戈谢病或具有GBA1突变的帕金森氏病的受试者的免疫应答的方法。

54.根据权利要求52或53所述的供使用的治疗性组合,其中所述组合包括约5x 10^{13}个vg至约5x 10^{14}个vg的所述rAAV。

55.根据权利要求52或53所述的供使用的治疗性组合,其中所述组合包括约1.4x 10^{14}个vg或约2.8x 10^{14}个vg的所述rAAV。

56.一种重组腺相关病毒(rAAV)的治疗性组合,

所述rAAV包括:

(i)rAAV载体,所述rAAV载体包括核酸,所述核酸包括表达构建体,所述表达构建体包括与转基因插入片段可操作地连接的启动子,所述转基因插入片段包括:

(a)包括SEQ ID NO:15的核苷酸序列的Gcase蛋白编码序列;以及

(b)包括SEQ ID NO:20的核苷酸序列的抑制性核酸编码序列;以及

(ii)腺相关病毒(AAV)9衣壳蛋白;以及以下中的一种或多种:

(A)西罗莫司;

(B)甲基强的松龙;

(C)利妥昔单抗;以及

(D)强的松,

所述治疗性组合用于治疗受试者的突触核蛋白病或震颤麻痹的方法。

57.一种重组腺相关病毒(rAAV)的治疗性组合,

所述rAAV包括:

(i)rAAV载体,所述rAAV载体包括核酸,所述核酸包括表达构建体,所述表达构建体包括与转基因插入片段可操作地连接的启动子,所述转基因插入片段包括:

(a)包括SEQ ID NO:15的核苷酸序列的Gcase蛋白编码序列;以及

(b)包括SEQ ID NO:20的核苷酸序列的抑制性核酸编码序列;以及

(ii)腺相关病毒(AAV)9衣壳蛋白;以及以下中的一种或多种:

(A)西罗莫司;

(B)甲基强的松龙;

(C)利妥昔单抗;以及

(D)强的松,

所述治疗性组合用于抑制患有或怀疑患有突触核蛋白病或震颤麻痹的受试者的免疫应答的方法。

58.一种重组腺相关病毒(rAAV)的治疗性组合,

所述rAAV包括:

(i)rAAV载体,所述rAAV载体包括核酸,所述核酸包括表达构建体,所述表达构建体包括与转基因插入片段可操作地连接的启动子,所述转基因插入片段包括抑制性核酸编码序列,所述抑制性核酸编码序列包括SEQ ID NO:20的核苷酸序列;以及

(ii)腺相关病毒(AAV)9衣壳蛋白;以及以下中的一种或多种:

(A)西罗莫司;

(B)甲基强的松龙;

(C)利妥昔单抗;以及

(D)强的松,

所述治疗性组合用于治疗受试者的突触核蛋白病或震颤麻痹的方法。

59.一种重组腺相关病毒(rAAV)的治疗性组合,

所述rAAV包括:

(i)rAAV载体,所述rAAV载体包括核酸,所述核酸包括表达构建体,所述表达构建体包括与转基因插入片段可操作地连接的启动子,所述转基因插入片段包括抑制性核酸编码序列,所述抑制性核酸编码序列包括SEQ ID NO:20的核苷酸序列;以及

(ii)腺相关病毒(AAV)9衣壳蛋白;以及以下中的一种或多种:

(A)西罗莫司;

(B)甲基强的松龙;

(C)利妥昔单抗;以及

(D)强的松,

所述治疗性组合用于抑制患有或怀疑患有突触核蛋白病或震颤麻痹的受试者的免疫应答的方法。

用于溶酶体病症的基因疗法

[0001] 相关申请交叉引用

[0002] 本申请要求于2020年8月10日提交的美国临时专利申请第63/063,851号的权益，所述美国临时专利申请的公开内容通过全文引用的方式特此并入。

[0003] 以电子方式提交的文本文件的描述

[0004] 与本申请一起以电子方式提交的文本文件的内容通过引用以其整体并入本文:序列表的计算机可读形式副本(文件名:PRVL_014_01WO_SeqList.txt,记录日期:2021年8月10日,文件大小为约361,207字节)。

背景技术

[0005] 蛋白质,如溶酶体酸β-葡糖脑苷脂酶(Gcase)和α-突触核蛋白的异常表达涉及许多中枢神经系统病症。戈谢病(Gaucher disease)是由Gcase的缺乏引起的鞘糖脂代谢的罕见先天性缺陷。患者患有非CNS症状,以及包含肝脾肿大、骨髓功能不全的发现,导致全血细胞减少、肺病症和纤维化以及骨缺损。另外,大量患者患有神经表现,包含缺陷性眼球跳动和凝视、癫痫发作、认知缺陷、发育延迟和运动病症,包含帕金森氏病(Parkinson's disease)。

[0006] 存在若干种治疗剂,其解决了外周疾病以及造血骨髓和内脏中的主要临床表现,包含酶替代疗法、与缺陷型Gcase结合并改善稳定性的伴侣蛋白样小分子药物,以及阻断在戈谢病中累积从而导致症状和病理的底物的产生的底物减少疗法。然而,戈谢病的其它方面看起来对于治疗是难治性的。

[0007] 除了戈谢病患者(在GBA1基因的两个染色体等位基因中都有突变)外,GBA1的仅一个等位基因突变的患者患上帕金森氏病(PD)的风险也很高。升高的α-突触核蛋白水平同样是如PD等突触核蛋白病的起因。PD症状-包含步态困难、休息时的震颤、僵硬和通常的抑郁、睡眠困难和认知下降-的严重程度与酶活性降低的程度相关。因此,戈谢病患者具有最严重的病程,而患有GBA1中的单一轻度突变的患者通常具有更良性的病程。突变携带者还面临其它PD相关病症的高风险,包含以执行功能障碍、精神病和PD样运动病症为特征的路易体痴呆(Lewy Body Dementia),以及多系统萎缩和特征性运动和认知障碍。不存在改变这些病症和其它突触核蛋白病的不可阻挡的病程的疗法。

技术领域

[0008] 本公开涉及基因疗法领域和使用所述基因疗法的方法。

发明内容

[0009] 本文提供了一种用于治疗患有或怀疑患有具有葡糖脑苷脂酶-1(GBA1)突变的帕金森氏病(Parkinson's disease)的受试者的方法,所述方法包括向所述受试者施用:

[0010] 重组腺相关病毒(rAAV),所述rAAV包括:

[0011] (i)rAAV载体,所述rAAV载体包括核酸,所述核酸包括表达构建体,所述表达构建

体包括与编码葡糖脑苷脂酶(Gcase)蛋白的转基因插入片段可操作地连接的启动子,其中所述转基因插入片段包括SEQ ID NO:15的核苷酸序列;以及

[0012] (ii)腺相关病毒(AAV)9衣壳蛋白;以及以下中的一种或多种:

[0013] (A)西罗莫司(sirolimus);

[0014] (B)甲基强的松龙(methylprednisolone);

[0015] (C)利妥昔单抗(rituximab);以及

[0016] (D)强的松(prednisone)。

[0017] 本文进一步提供了一种用于抑制患有或怀疑患有具有葡糖脑苷脂酶-1(GBA1)突变的帕金森氏病的受试者的免疫应答的方法,所述方法包括向所述受试者施用:

[0018] 重组腺相关病毒(rAAV),所述rAAV包括:

[0019] (i)rAAV载体,所述rAAV载体包括核酸,所述核酸包括表达构建体,所述表达构建体包括与编码葡糖脑苷脂酶(Gcase)蛋白的转基因插入片段可操作地连接的启动子,其中所述转基因插入片段包括SEQ ID NO:15的核苷酸序列;以及

[0020] (ii)腺相关病毒(AAV)9衣壳蛋白;以及以下中的一种或多种:

[0021] (A)西罗莫司;

[0022] (B)甲基强的松龙;

[0023] (C)利妥昔单抗;以及

[0024] (D)强的松。

[0025] 在本文所提供的方法的一些实施例中,所述rAAV以范围为约$5x10^{13}$个载体基因组(vg)至约$5x10^{14}$个vg的剂量向所述受试者施用。在本文所提供的方法的一些实施例中,所述rAAV以约$1.4x10^{14}$个vg或约$2.8x10^{14}$个vg的剂量向所述受试者施用。

[0026] 本文提供了一种用于治疗患有或怀疑患有2型戈谢病或3型戈谢病的受试者的方法,所述方法包括向所述受试者施用:

[0027] 重组腺相关病毒(rAAV),所述rAAV包括:

[0028] (i)rAAV载体,所述rAAV载体包括核酸,所述核酸包括表达构建体,所述表达构建体包括与编码葡糖脑苷脂酶(Gcase)蛋白的转基因插入片段可操作地连接的启动子,其中所述转基因插入片段包括SEQ ID NO:15的核苷酸序列;以及

[0029] (ii)腺相关病毒(AAV)9衣壳蛋白;以及以下中的一种或多种:

[0030] (A)西罗莫司;

[0031] (B)甲基强的松龙;

[0032] (C)利妥昔单抗;以及

[0033] (D)强的松。

[0034] 本文进一步提供了一种用于抑制患有或怀疑患有2型戈谢病或3型戈谢病的受试者的免疫应答的方法,所述方法包括向所述受试者施用:

[0035] 重组腺相关病毒(rAAV),所述rAAV包括:

[0036] (i)rAAV载体,所述rAAV载体包括核酸,所述核酸包括表达构建体,所述表达构建体包括与编码葡糖脑苷脂酶(Gcase)蛋白的转基因插入片段可操作地连接的启动子,其中所述转基因插入片段包括SEQ ID NO:15的核苷酸序列;以及

[0037] (ii)腺相关病毒(AAV)9衣壳蛋白;以及以下中的一种或多种:

[0038] (A)西罗莫司;

[0039] (B)甲基强的松龙;

[0040] (C)利妥昔单抗;以及

[0041] (D)强的松。

[0042] 在本文所提供的方法的一些实施例中,所述rAAV以范围为约$5x10^{10}$个vg/g脑至约$5x10^{11}$个vg/g脑的剂量向所述受试者施用。在本文所提供的方法的一些实施例中,所述rAAV以约$1.3x10^{11}$个vg/g脑的剂量向所述受试者施用。

[0043] 在本文所提供的方法的一些实施例中,所述rAAV通过注射到小脑延髓池中施用。

[0044] 本文提供了一种用于治疗患有或怀疑患有1型戈谢病的受试者的方法,所述方法包括向所述受试者施用:

[0045] 重组腺相关病毒(rAAV),所述rAAV包括:

[0046] (i)rAAV载体,所述rAAV载体包括核酸,所述核酸包括表达构建体,所述表达构建体包括与编码葡糖脑苷脂酶(Gcase)蛋白的转基因插入片段可操作地连接的启动子,其中所述转基因插入片段包括SEQ ID NO:15的核苷酸序列;以及

[0047] (ii)腺相关病毒(AAV)9衣壳蛋白;以及以下中的一种或多种:

[0048] (A)西罗莫司;

[0049] (B)甲基强的松龙;

[0050] (C)利妥昔单抗;以及

[0051] (D)强的松。

[0052] 本文进一步提供了一种用于抑制患有或怀疑患有1型戈谢病的受试者的免疫应答的方法,所述方法包括向所述受试者施用:

[0053] 重组腺相关病毒(rAAV),所述rAAV包括:

[0054] (i)rAAV载体,所述rAAV载体包括核酸,所述核酸包括表达构建体,所述表达构建体包括与编码葡糖脑苷脂酶(Gcase)蛋白的转基因插入片段可操作地连接的启动子,其中所述转基因插入片段包括SEQ ID NO:15的核苷酸序列;以及

[0055] (ii)腺相关病毒(AAV)9衣壳蛋白;以及以下中的一种或多种:

[0056] (A)西罗莫司;

[0057] (B)甲基强的松龙;

[0058] (C)利妥昔单抗;以及

[0059] (D)强的松。

[0060] 在本文所提供的方法的一些实施例中,所述rAAV以范围为约$5x10^{13}$个vg至约$5x10^{14}$个vg的剂量向所述受试者施用。在本文所提供的方法的一些实施例中,所述rAAV是静脉内施用的。

[0061] 本文进一步提供了一种用于治疗患有或怀疑患有突触核蛋白病或震颤麻痹的受试者的方法,所述方法包括向所述受试者施用:

[0062] 重组腺相关病毒(rAAV),所述rAAV包括:

[0063] (i)rAAV载体,所述rAAV载体包括核酸,所述核酸包括表达构建体,所述表达构建体包括转基因,所述转基因包括

[0064] (a)包括SEQ ID NO:15的核苷酸序列的Gcase蛋白编码序列;以及

[0065] (b)包括SEQ ID NO:20的核苷酸序列的抑制性核酸编码序列;以及

[0066] (ii)腺相关病毒(AAV)9衣壳蛋白;以及以下中的一种或多种:

[0067] (A)西罗莫司;

[0068] (B)甲基强的松龙;

[0069] (C)利妥昔单抗;以及

[0070] (D)强的松。

[0071] 本文提供了一种用于抑制患有或怀疑患有突触核蛋白病或震颤麻痹的受试者的免疫应答的方法,所述方法包括向所述受试者施用:

[0072] 重组腺相关病毒(rAAV),所述rAAV包括:

[0073] (i)rAAV载体,所述rAAV载体包括核酸,所述核酸包括表达构建体,所述表达构建体包括转基因,所述转基因包括

[0074] (a)包括SEQ ID NO:15的核苷酸序列的Gcase蛋白编码序列;以及

[0075] (b)包括SEQ ID NO:20的核苷酸序列的抑制性核酸编码序列;以及

[0076] (ii)腺相关病毒(AAV)9衣壳蛋白;以及以下中的一种或多种:

[0077] (A)西罗莫司;

[0078] (B)甲基强的松龙;

[0079] (C)利妥昔单抗;以及

[0080] (D)强的松。

[0081] 本文提供了一种用于治疗患有或怀疑患有突触核蛋白病或震颤麻痹的受试者的方法,所述方法包括向所述受试者施用:

[0082] 重组腺相关病毒(rAAV),所述rAAV包括:

[0083] (i)rAAV载体,所述rAAV载体包括核酸,所述核酸包括表达构建体,所述表达构建体包括转基因,所述转基因包括抑制性核酸编码序列,所述抑制性核酸编码序列包括SEQ ID NO:20的核苷酸序列;以及

[0084] (ii)腺相关病毒(AAV)9衣壳蛋白;以及以下中的一种或多种:

[0085] (A)西罗莫司;

[0086] (B)甲基强的松龙;

[0087] (C)利妥昔单抗;以及

[0088] (D)强的松。

[0089] 本文进一步提供了一种用于抑制患有或怀疑患有突触核蛋白病或震颤麻痹的受试者的免疫应答的方法,所述方法包括向所述受试者施用:

[0090] 重组腺相关病毒(rAAV),所述rAAV包括:

[0091] (i)rAAV载体,所述rAAV载体包括核酸,所述核酸包括表达构建体,所述表达构建体包括转基因,所述转基因包括抑制性核酸编码序列,所述抑制性核酸编码序列包括SEQ ID NO:20的核苷酸序列;以及

[0092] (ii)腺相关病毒(AAV)9衣壳蛋白;以及以下中的一种或多种:

[0093] (A)西罗莫司;

[0094] (B)甲基强的松龙;

[0095] (C)利妥昔单抗;以及

[0096] (D)强的松。

[0097] 在本文所提供的方法的一些实施例中,所述启动子是鸡β肌动蛋白(CBA)启动子。在本文所提供的方法的一些实施例中,所述rAAV载体进一步包括巨细胞病毒(CMV)增强子。在本文所提供的方法的一些实施例中,所述rAAV载体进一步包括土拨鼠肝炎病毒转录后调控元件(Woodchuck Hepatitis Virus Posttranscriptional Regulatory Element,WPRE)。在本文所提供的方法的一些实施例中,所述rAAV载体进一步包括牛生长激素polyA信号尾部。

[0098] 在本文所提供的方法的一些实施例中,所述核酸包括侧接所述表达构建体的两个腺相关病毒反向末端重复(ITR)序列。在本文所提供的方法的一些实施例中,每个ITR序列是AAV2 ITR序列。在本文所提供的方法的一些实施例中,所述rAAV载体进一步包括5'ITR与所述表达构建体之间的TRY区,其中所述TRY区包括SEQ ID NO:28。

[0099] 本文提供了一种用于治疗患有或怀疑患有具有GBA1突变的帕金森氏病的受试者的方法,所述方法包括向所述受试者施用:

[0100] 重组腺相关病毒(rAAV),所述rAAV包括:

[0101] (i)rAAV载体,所述rAAV载体包括核酸,所述核酸按5'至3'顺序包括:

[0102] (a)腺相关病毒(AAV)2ITR;

[0103] (b)巨细胞病毒(CMV)增强子;

[0104] (c)鸡β肌动蛋白(CBA)启动子;

[0105] (d)编码Gcase蛋白的转基因插入片段,其中所述转基因插入片段包括SEQ ID NO:15的核苷酸序列;

[0106] (e)土拨鼠肝炎病毒转录后调控元件(WPRE);

[0107] (f)牛生长激素polyA信号尾部;以及

[0108] (g)AAV2反向末端重复序列(ITR);以及

[0109] (ii)AAV9衣壳蛋白;以及以下中的一种或多种:

[0110] (A)西罗莫司;

[0111] (B)甲基强的松龙;

[0112] (C)利妥昔单抗;以及

[0113] (D)强的松,

[0114] 其中所述rAAV以范围为约$5x10^{13}$个vg至约$5x10^{14}$个vg的剂量向所述受试者施用。

[0115] 本文进一步提供了一种用于抑制患有或怀疑患有具有GBA1突变的帕金森氏病的受试者的免疫应答的方法,所述方法包括向所述受试者施用:

[0116] 重组腺相关病毒(rAAV),所述rAAV包括:

[0117] (i)rAAV载体,所述rAAV载体包括核酸,所述核酸按5'至3'顺序包括:

[0118] (a)腺相关病毒(AAV)2ITR;

[0119] (b)巨细胞病毒(CMV)增强子;

[0120] (c)鸡β肌动蛋白(CBA)启动子;

[0121] (d)编码Gcase蛋白的转基因插入片段,其中所述转基因插入片段包括SEQ ID NO:15的核苷酸序列;

[0122] (e)土拨鼠肝炎病毒转录后调控元件(WPRE);

[0123] (f)牛生长激素polyA信号尾部;以及

[0124] (g)AAV2反向末端重复序列(ITR);以及

[0125] (ii)AAV9衣壳蛋白;以及以下中的一种或多种:

[0126] (A)西罗莫司;

[0127] (B)甲基强的松龙;

[0128] (C)利妥昔单抗;以及

[0129] (D)强的松,

[0130] 其中所述rAAV以范围为约$5x10^{13}$个vg至约$5x10^{14}$个vg的剂量向所述受试者施用。

[0131] 本文提供了一种用于治疗患有或怀疑患有2型戈谢病或3型戈谢病的受试者的方法,所述方法包括向所述受试者施用:

[0132] 重组腺相关病毒(rAAV),所述rAAV包括:

[0133] (i)rAAV载体,所述rAAV载体包括核酸,所述核酸按5'至3'顺序包括:

[0134] (a)腺相关病毒(AAV)2ITR;

[0135] (b)巨细胞病毒(CMV)增强子;

[0136] (c)鸡β肌动蛋白(CBA)启动子;

[0137] (d)编码Gcase蛋白的转基因插入片段,其中所述转基因插入片段包括SEQ ID NO:15的核苷酸序列;

[0138] (e)土拨鼠肝炎病毒转录后调控元件(WPRE);

[0139] (f)牛生长激素polyA信号尾部;以及

[0140] (g)AAV2反向末端重复序列(ITR);以及

[0141] (ii)AAV9衣壳蛋白;以及以下中的一种或多种:

[0142] (A)西罗莫司;

[0143] (B)甲基强的松龙;

[0144] (C)利妥昔单抗;以及

[0145] (D)强的松,

[0146] 其中所述rAAV以范围为约$5x10^{10}$个vg/g脑至约$5x10^{11}$个vg/g脑的剂量向所述受试者施用。

[0147] 本文提供了一种用于抑制患有或怀疑患有2型戈谢病或3型戈谢病的受试者的免疫应答的方法,所述方法包括向所述受试者施用:

[0148] 重组腺相关病毒(rAAV),所述rAAV包括:

[0149] (i)rAAV载体,所述rAAV载体包括核酸,所述核酸按5'至3'顺序包括:

[0150] (a)腺相关病毒(AAV)2ITR;

[0151] (b)巨细胞病毒(CMV)增强子;

[0152] (c)鸡β肌动蛋白(CBA)启动子;

[0153] (d)编码Gcase蛋白的转基因插入片段,其中所述转基因插入片段包括SEQ ID NO:15的核苷酸序列;

[0154] (e)土拨鼠肝炎病毒转录后调控元件(WPRE);

[0155] (f)牛生长激素polyA信号尾部;以及

[0156] (g)AAV2反向末端重复序列(ITR);以及

[0157] (ii)AAV9衣壳蛋白;以及以下中的一种或多种:

[0158] (A)西罗莫司;

[0159] (B)甲基强的松龙;

[0160] (C)利妥昔单抗;以及

[0161] (D)强的松,

[0162] 其中所述rAAV以范围为约$5x10^{10}$个vg/g脑至约$5x10^{11}$个vg/g脑的剂量向所述受试者施用。

[0163] 在本文所提供的方法的一些实施例中,所述rAAV通过注射到小脑延髓池中施用。

[0164] 在本文所提供的方法的一些实施例中,所述rAAV在包括约20mM Tris,pH 8.0、约1mM $MgCl_2$、约200mM NaCl和约0.001%w/v泊洛沙姆188的调配物中施用。

[0165] 在本文所提供的方法的一些实施例中,所述甲基强的松龙在施用所述rAAV的前一天或同一天以约1000mg的剂量静脉内施用。

[0166] 在本文所提供的方法的一些实施例中,所述强的松(A)在从施用约1000mg的所述甲基强的松龙后的第二天开始以每天约30mg的剂量口服施用,持续14天;并且(B)在(A)的14天时间段结束后的7天期间逐渐减少。

[0167] 在本文所提供的方法的一些实施例中,所述利妥昔单抗在施用所述rAAV之前14天至之前1天之间的任何一天以约1000mg的剂量静脉内施用。在本文所提供的方法的一些实施例中,在施用所述利妥昔单抗之前施用所述甲基强的松龙。在本文所提供的方法的一些实施例中,在施用所述利妥昔单抗之前至少约30分钟施用所述甲基强的松龙。

[0168] 在本文所提供的方法的一些实施例中,所述甲基强的松龙和所述利妥昔单抗均在施用所述rAAV的前一天施用;并且其中所述甲基强的松龙在施用所述利妥昔单抗之前至少约30分钟施用。

[0169] 在本文所提供的方法的一些实施例中,所述利妥昔单抗在施用所述rAAV之前14天至之前2天之间的任何一天施用;并且其中甲基强的松龙在施用所述利妥昔单抗的同一天在施用所述利妥昔单抗之前至少约30分钟以约100mg的剂量静脉内施用。

[0170] 在本文所提供的方法的一些实施例中,所述西罗莫司(A)在施用所述rAAV之前三天、两天或一天以约6mg的单剂量口服施用;并且(B)在施用所述rAAV之后以每天约2mg的剂量口服施用,以维持约4ng/ml至约9ng/mL的血清低谷水平,持续约90天;其中在单剂量的约6mg的所述西罗莫司之后的第二天施用第一剂量的每天约2mg的所述西罗莫司。

[0171] 在本文所提供的方法的一些实施例中,所述西罗莫司(A)以各约1.0mg/m^2的两个剂量口服施用,其中所述两个剂量在施用所述rAAV之前1天或2天施用,其中第一剂量在早上施用,并且第二剂量在施用所述两个剂量的当天的晚上施用;并且(B)在施用所述rAAV之后以约0.6mg/m^2/天至约1.0mg/m^2/天的剂量口服施用,以维持约2ng/ml至约8ng/mL的血清低谷水平,持续约3个月。

[0172] 在本文所提供的方法的一些实施例中,所述西罗莫司施用在施用所述rAAV之后的90天时间段结束后的15天至30天期间逐渐减少。

[0173] 在本文所提供的方法的一些实施例中,所述方法包括:

[0174] (i)以约1000mg的剂量静脉内施用所述甲基强的松龙;

[0175] (ii)在步骤(i)的所述甲基强的松龙施用后约30分钟以约1000mg的剂量静脉内施

用所述利妥昔单抗；

[0176] (iii)在步骤(i)的所述甲基强的松龙施用后第二天通过注射到小脑延髓池中施用所述rAAV；

[0177] (iv)从步骤(i)的所述甲基强的松龙施用后第二天开始，以每天约30mg的剂量口服施用所述强的松，持续14天，并且

[0178] (v)在步骤(iv)的14天时间段结束后的7天期间逐渐减少所述强的松的施用；

[0179] (vi)在步骤(iii)的所述rAAV施用之前三天、两天或一天以约6mg的单剂量口服施用所述西罗莫司；

[0180] (vii)在步骤(iii)的所述rAAV施用后，以每天约2mg的剂量口服施用所述西罗莫司，以维持约4ng/ml至约9ng/ml的血清低谷水平，持续约90天；其中在单剂量的约6mg的所述西罗莫司之后的第二天施用第一剂量的每天约2mg的所述西罗莫司；并且

[0181] (viii)在步骤(vii)的90天时间段结束后的15天至30天期间逐渐减少所述西罗莫司的施用。

[0182] 在本文所提供的方法的一些实施例中，所述方法包括：

[0183] (i)在步骤(iv)的所述rAAV施用之前14天和之前2天之间的任何一天以约100mg的剂量静脉内施用所述甲基强的松龙；

[0184] (ii)在步骤(i)的所述甲基强的松龙施用后约30分钟以约1000mg的剂量静脉内施用所述利妥昔单抗；

[0185] (iii)在步骤(iv)的所述rAAV施用前一天或当天以约1000mg的剂量静脉内施用所述甲基强的松龙；

[0186] (iv)通过注射到小脑延髓池中施用所述rAAV；

[0187] (v)从步骤(iii)的所述甲基强的松龙施用后第二天开始，以每天约30mg的剂量口服施用所述强的松，持续14天，并且

[0188] (vi)在步骤(v)的14天时间段结束后的7天期间逐渐减少所述强的松的施用；

[0189] (vii)在步骤(iv)的所述rAAV施用之前三天、两天或一天以约6mg的单剂量口服施用所述西罗莫司；

[0190] (viii)在步骤(iv)的所述rAAV施用后，以每天约2mg的剂量口服施用所述西罗莫司，以维持约4ng/ml至约9ng/ml的血清低谷水平，持续约90天；其中在单剂量的约6mg的所述西罗莫司之后的第二天施用第一剂量的每天约2mg的所述西罗莫司；并且

[0191] (ix)在步骤(viii)的90天时间段结束后的15天至30天期间逐渐减少所述西罗莫司的施用。

[0192] 在本文所提供的方法的一些实施例中，所述免疫应答是对所述rAAV的免疫应答。在本文所提供的方法的一些实施例中，所述免疫应答是T细胞应答。在本文所提供的方法的一些实施例中，所述免疫应答是B细胞应答。在本文所提供的方法的一些实施例中，所述免疫应答是抗体应答。在本文所提供的方法的一些实施例中，所述免疫应答是细胞增多。在本文所提供的方法的一些实施例中，所述细胞增多是脑脊液(CSF)细胞增多。在本文所提供的方法的一些实施例中，所述免疫应答是CSF蛋白的异常水平。

[0193] 在本文所提供的方法的一些实施例中，向所述受试者进一步施用另外的免疫抑制剂，所述另外的免疫抑制剂不是西罗莫司、甲基强的松龙、利妥昔单抗或强的松。

[0194] 在本文所提供的方法的一些实施例中,所述突触核蛋白病或震颤麻痹是多系统萎缩、帕金森氏病、具有GBA1突变的帕金森氏病、路易体病(Lewy body disease)、路易体痴呆(dementia with Lewy bodies)、具有GBA1突变的路易体痴呆、进行性核上性麻痹或皮质基底综合征。

[0195] 本文提供了一种重组腺相关病毒(rAAV)的治疗性组合,

[0196] 所述rAAV包括:

[0197] (i)rAAV载体,所述rAAV载体包括核酸,所述核酸包括表达构建体,所述表达构建体包括与编码Gcase蛋白的转基因插入片段可操作地连接的启动子,其中所述转基因插入片段包括SEQ ID NO:15的核苷酸序列;以及

[0198] (ii)腺相关病毒(AAV)9衣壳蛋白;以及以下中的一种或多种:

[0199] (A)西罗莫司;

[0200] (B)甲基强的松龙;

[0201] (C)利妥昔单抗;以及

[0202] (D)强的松,

[0203] 所述治疗性组合用于治疗受试者的1型戈谢病、2型戈谢病、3型戈谢病或具有GBA1突变的帕金森氏病的方法。

[0204] 本文还提供了一种重组腺相关病毒(rAAV)的治疗性组合,

[0205] 所述rAAV包括:

[0206] (i)rAAV载体,所述rAAV载体包括核酸,所述核酸包括表达构建体,所述表达构建体包括与编码Gcase蛋白的转基因插入片段可操作地连接的启动子,其中所述转基因插入片段包括SEQ ID NO:15的核苷酸序列;以及

[0207] (ii)腺相关病毒(AAV)9衣壳蛋白;以及以下中的一种或多种:

[0208] (A)西罗莫司;

[0209] (B)甲基强的松龙;

[0210] (C)利妥昔单抗;以及

[0211] (D)强的松,

[0212] 所述治疗性组合用于抑制患有或怀疑患有1型戈谢病、2型戈谢病、3型戈谢病或具有GBA1突变的帕金森氏病的受试者的免疫应答的方法。

[0213] 在一些实施例中,治疗性组合包括约$5x10^{13}$个vg至约$5x10^{14}$个vg的所述rAAV。在一些实施例中,治疗性组合包括约$1.4x10^{14}$个vg至约$2.8x10^{14}$个vg的所述rAAV。

[0214] 本文提供了一种重组腺相关病毒(rAAV)的治疗性组合,

[0215] 所述rAAV包括:

[0216] (i)rAAV载体,所述rAAV载体包括核酸,所述核酸包括表达构建体,所述表达构建体包括与转基因插入片段可操作地连接的启动子,所述转基因插入片段包括:

[0217] (a)包括SEQ ID NO:15的核苷酸序列的Gcase蛋白编码序列;以及

[0218] (b)包括SEQ ID NO:20的核苷酸序列的抑制性核酸编码序列;以及

[0219] (ii)腺相关病毒(AAV)9衣壳蛋白;以及以下中的一种或多种:

[0220] (A)西罗莫司;

[0221] (B)甲基强的松龙;

[0222] (C)利妥昔单抗;以及

[0223] (D)强的松,

[0224] 所述治疗性组合用于治疗受试者的突触核蛋白病或震颤麻痹的方法。

[0225] 本文进一步提供了一种重组腺相关病毒(rAAV)的治疗性组合,

[0226] 所述rAAV包括:

[0227] (i)rAAV载体,所述rAAV载体包括核酸,所述核酸包括表达构建体,所述表达构建体包括与转基因插入片段可操作地连接的启动子,所述转基因插入片段包括:

[0228] (a)包括SEQ ID NO:15的核苷酸序列的Gcase蛋白编码序列;以及

[0229] (b)包括SEQ ID NO:20的核苷酸序列的抑制性核酸编码序列;以及

[0230] (ii)腺相关病毒(AAV)9衣壳蛋白;以及以下中的一种或多种:

[0231] (A)西罗莫司;

[0232] (B)甲基强的松龙;

[0233] (C)利妥昔单抗;以及

[0234] (D)强的松,

[0235] 所述治疗性组合用于抑制患有或怀疑患有突触核蛋白病或震颤麻痹的受试者的免疫应答的方法。

[0236] 本文进一步提供了一种重组腺相关病毒(rAAV)的治疗性组合,

[0237] 所述rAAV包括:

[0238] (i)rAAV载体,所述rAAV载体包括核酸,所述核酸包括表达构建体,所述表达构建体包括与转基因插入片段可操作地连接的启动子,所述转基因插入片段包括抑制性核酸编码序列,所述抑制性核酸编码序列包括SEQ ID NO:20的核苷酸序列;以及

[0239] (ii)腺相关病毒(AAV)9衣壳蛋白;以及以下中的一种或多种:

[0240] (A)西罗莫司;

[0241] (B)甲基强的松龙;

[0242] (C)利妥昔单抗;以及

[0243] (D)强的松,

[0244] 所述治疗性组合用于治疗受试者的突触核蛋白病或震颤麻痹的方法。

[0245] 本文提供了一种重组腺相关病毒(rAAV)的治疗性组合,

[0246] 所述rAAV包括:

[0247] (i)rAAV载体,所述rAAV载体包括核酸,所述核酸包括表达构建体,所述表达构建体包括与转基因插入片段可操作地连接的启动子,所述转基因插入片段包括抑制性核酸编码序列,所述抑制性核酸编码序列包括SEQ ID NO:20的核苷酸序列;以及

[0248] (ii)腺相关病毒(AAV)9衣壳蛋白;以及以下中的一种或多种:

[0249] (A)西罗莫司;

[0250] (B)甲基强的松龙;

[0251] (C)利妥昔单抗;以及

[0252] (D)强的松,

[0253] 所述治疗性组合用于抑制患有或怀疑患有突触核蛋白病或震颤麻痹的受试者的免疫应答的方法。

附图说明

[0254] 图1是描绘包括包含编码Gcase(例如,GBA1或其一部分)的表达构建体的rAAV载体的质粒的一个实施例的示意图。

[0255] 图2是描绘包括包含编码Gcase(例如,GBA1或其一部分)和LIMP2(SCARB2)或其一部分的表达构建体的rAAV载体的质粒的一个实施例的示意图。Gcase和LIMP2的编码序列由内部核糖体进入位点(IRES)分离。

[0256] 图3是描绘包括包含编码Gcase(例如,GBA1或其一部分)和LIMP2(SCARB2)或其一部分的表达构建体的rAAV载体的质粒的一个实施例的示意图。Gcase和LIMP2的编码序列的表达各自由单独的启动子驱动。

[0257] 图4是描绘包括包含编码Gcase(例如,GBA1或其一部分)、LIMP2(SCARB2)或其一部分以及α-Syn的干扰RNA的表达构建体的rAAV载体的质粒的一个实施例的示意图。

[0258] 图5是描绘包括包含编码Gcase(例如,GBA1或其一部分)、激活蛋白原(例如,PSAP或其一部分)以及α-Syn的干扰RNA的表达构建体的rAAV载体的质粒的一个实施例的示意图。

[0259] 图6是描绘包括包含编码Gcase(例如,GBA1或其一部分)以及激活蛋白原(例如,PSAP或其一部分)的表达构建体的rAAV载体的质粒的一个实施例的示意图。Gcase和激活蛋白原的编码序列由内部核糖体进入位点(IRES)分离。

[0260] 图7是描绘包含编码Gcase(例如,GBA1或其一部分)的表达构建体的rAAV载体的一个实施例的示意图。在此实施例中,载体包括由以下四个部分组成的CBA启动子元件(CBA):CMV增强子(CMVe)、CBA启动子(CBAp)、外显子1和内含子(int),以组成性地表达人GBA1的密码子优化的编码序列。3'区还含有WPRE调控元件,随后为bGH polyA尾部。在启动子区的5'端处包含三个转录调节激活位点:TATA、RBS和YY1。侧接的ITR允许正确包装间插序列。评估了5'ITR序列的两种变体(套印框);这些变体在野生型AAV2 ITR的20核苷酸"D"区内具有若干个核苷酸差异。在一些实施例中,rAAV载体含有在顶部线上示出的"D"结构域核苷酸序列。在一些实施例中,rAAV载体包括突变的"D"结构域(例如,"S"结构域,其中核苷酸变化在底部线上示出)。

[0261] 图8是描绘编码图7中所描述的rAAV载体的质粒的一个实施例的示意图。

[0262] 图9A-图9F示出了CBE小鼠模型验证的代表性数据。每天检查2次存活率(图9A),并且每天记录体重(图9B),并且在P27时进行分析(图9C)。所有组以n=8开始。通过P24时的转棒仪掉落潜伏期(图9D)和在旷场中行进的总距离(图9F)来评估行为。由于早期致死率,每组中的动物数量不同:针对PBS为n=8,CBE为25mg/kg,针对37.5mg/kg CBE为n=4。由于到P24的完全致死率,未在转棒仪中评估50mg/kg CBE处理组。使用ANOVA,随后使用图基HSD检验(Tukey's HSD test)呈现统计结果以与PBS组进行比较。在PBS和25mg/kg CBE处理组的小鼠的大脑皮质中分析GCase底物的水平。聚集GlusSph和GalSph水平(图9E)示出为pmol/mg组织湿重。使用斯图登氏t测试(student's t-test)呈现统计结果。呈现了平均值。误差条是平均值的标准误差(SEM)。*P<0.05;**P<0.01;***P<0.001。

[0263] 图10是描绘CBE小鼠模型中编码GCase的rAAV的最大剂量的研究设计的一个实施例的示意图。在P3时通过ICV注射递送4μL PR001B或dPBS,并且在P8时开始每天25mg/kg CBE处理。在P24时,在转棒仪测定中评估行为。一半的动物在P36时,即在P35的末次CBE剂量

后1天处死，而剩余的一半在P38时，即在P35的末次CBE剂量后3天处死。“vg”是指载体基因组。

[0264] 图11A-图11D示出了CBE小鼠模型中最大PR001B rAAV剂量的生命评估的代表性数据。在P3时，通过ICV递送用赋形剂或8.8e9 vg rAAV处理小鼠。PBS或25mg/kg CBE的每天IP递送在P8时开始。在研究结束时，一半的小鼠在P36(第1天)的末次CBE剂量之后一天处死，而剩余的一半在P38(第3天)处死之前经历3天的CBE停用。每天对所有处理组(赋形剂+PBS n＝8，rAAV+PBS n＝7，赋形剂+CBE n＝8，并且rAAV+CBE n＝9)进行称重(图11A)，并且分析P33时的重量(图11B)。通过在P23(图11D)时在旷场中行进的总距离和在P24(图11C)时的转棒仪掉落潜伏期来评估行为，并且将每只动物的行为作为3次试验的中值进行评估。由于致死率，对于赋形剂+CBE组的行为测定，n＝7，而对于所有其它组，n＝8。呈现了跨动物的平均值。误差条是SEM。*p<0.05;***p<0.001，在经CBE处理的动物中通过线性回归确定处理组的标称p值。

[0265] 图12A-图12B示出了CBE小鼠模型中最大PR001B rAAV剂量的生物化学评估的代表性数据。所有处理组的大脑皮质用于测量载体基因组(图12A)和GCase活性(图12B)。生物分布示出为每1μg基因组DNA(gDNA)的载体基因组。虚线(在100个载体基因组/μg gDNA处)表示阳性载体存在的检测阈值。通过使用安普莱克司红(AmplexRed)(英杰公司(Invitrogen);#A22189)测量GCase的葡萄糖产生速率来评估酶促活性，然后使用重组GCase参考标准曲线将酶活性转换为有效的GCase活性水平。一个单元被定义为相对于总蛋白的mg归一化的1ng/mL的重组纯化GCase的活性。每组n＝6-9。呈现了平均值。误差条是SEM。*P<0.05;经CBE处理的动物的处理组的标称P值，收集日期和性别校正为协变量。

[0266] 图12C-图12D示出了CBE小鼠模型中最大PR001B rAAV剂量的糖脂分析的代表性数据。使用所有处理组的大脑皮质(PBS+dPBS[每个图中的左条]n＝4，CBE+dPBS[每个图的中央条]n＝6，CBE+PR001B[每个图中的右条]n＝9)来测量CBE停用之前(第1天)或之后(第3天)各组的GluSph水平(图12C)和GluCer水平(图12D)。GluSph和GluCer水平示出为pmol/nmol磷酸盐。呈现了平均值。误差条是SEM。*P<0.1;**P<0.01;***P<0.001，根据多元线性回归的经CBE处理的动物的处理组的标称P值，收集日期和性别校正为协变量。

[0267] 图13示出了施用赋形剂+PBS、赋形剂+CBE和PR001B rAAV+CBE处理组后CBE小鼠模型中的行为和生物化学相关性的代表性数据。在处理组之间，在转棒仪上的表现与GluCer累积呈负相关(A，通过线性回归，p＝0.0012)，并且GluSph累积与GCase活性增加呈负相关(B，通过线性回归，p＝0.0086)。

[0268] 图14示出了CBE小鼠模型中PR001B rAAV的生物分布的代表性数据。使用载体参考标准曲线，通过定量PCR对载体基因组存在进行定量;通过A260光学密度测量结果评价基因组DNA浓度。虚线(在100个载体基因组/μg gDNA处)表示阳性载体存在的检测阈值。呈现了平均值。误差条是SEM。每组n＝7-9。

[0269] 图15A是描绘CBE小鼠模型中编码GCase的rAAV的剂量范围的研究设计的一个实施例的示意图。在P3时通过ICV注射递送PR001A，并且在P8时开始每天25mg/kg CBE处理。在P21-P22时的旷场和转棒仪测定中以及在P28时通过锥形横木评估行为。在最终CBE剂量之后1天，在P38-P40时处死动物。分析皮质的GluSph和GluCer底物水平和GCase活性。每个处理组中有10只小鼠(5只雄性，5只雌性)。

[0270] 图15B-图15E示出了CBE小鼠模型中PR001 rAAV剂量范围的生命评估的代表性数据。小鼠接受赋形剂或3种不同剂量的PR001A中的1种，在P3时通过4μL ICV递送：低剂量(中间条)、中等剂量(右起第二条)或高剂量(最右条)。在P8时，开始25mg/kg CBE的每天IP处理。接受赋形剂和CBE(左起第二条)或赋形剂和PBS(最左条)的小鼠作为对照。所有处理组以每组n＝10(5M/5F)开始。将所有小鼠在其最终CBE剂量(P38-P40)之后1天处死。所有处理组每天称重(图15B)，并且在P37时分析其重量(图15C)。通过P24(图15D)时的转棒仪掉落潜伏期和P30时(图15E)在锥形横木上的来回移动的潜伏期来评估运动表现。由于早期致死率，参与行为测定的小鼠的数量为：赋形剂+PBS(最左条)n＝10；赋形剂+CBE(左起第二条)n＝9；低剂量PR001A+CBE(中间条)n＝6；中等剂量PR001A+CBE(右起第二条)n＝10；高剂量PR001A+CBE(最右条)n＝7。呈现了平均值。误差条是SEM。*P<0.05；对于经CBE处理的组中的标称P值，**P<0.01，其中将性别校正为协变量。

[0271] 图16A示出了PR001A的剂量范围CBE模型研究中的生物分布的代表性数据。小鼠接受赋形剂或3种不同剂量的PR001A中的1种，在P3时通过ICV递送：低剂量(中间条)、中等剂量(右起第二条)或高剂量(最右条)。在P8时，开始25mg/kg CBE的每天IP处理。接受赋形剂和CBE(左起第二条)或赋形剂和PBS(最左条)的小鼠作为对照。在最终CBE剂量之后1天，在P38-P40时处死所有小鼠。评估每个组织和所有处理组中载体基因组的存在，示出为每1μg的基因组DNA的载体拷贝数。使用载体参考标准曲线，通过qPCR对载体基因组存在进行定量；每组分别为N＝10、9、6、10、7。虚线表示阳性载体存在的检测阈值。呈现了平均值。误差条是SEM。

[0272] 图16B示出了PR001A的剂量范围CBE模型研究中的GCase酶促活性的代表性数据。显示了每个组织和所有处理组的有效酶促GCase活性。活性显示为每mg总蛋白的单元，其中一个单元被定义为1ng/mL的重组纯化GCase的活性。呈现了平均值。误差条是SEM。呈现了统计结果，用于与赋形剂+CBE组(左起第二条)进行比较。每组分别为N＝10、9、6、10、7。*P<0.05；**P<0.01；***P<0.001，通过ANOVA，随后为图基HSD多重检验校正(Tukey's HSD multiple tests correction)。

[0273] 图16C-图16D示出了PR001A的剂量范围CBE模型研究中的糖脂分析的代表性数据。GluSph(图16C)和GluCer(图16D)水平示出为pmol/nmol磷酸盐。呈现了平均值。误差条是SEM。**P<0.01；***P<0.001，通过ANOVA，随后为图基HSD多重检验校正。

[0274] 图16E示出了PR001A的剂量范围CBE模型研究中苏木精和伊红染色分析的代表性数据。处理脑组织以用于用苏木精和伊红(H&E)染色，并且评估组织切片的病理变化。显示了对作为神经炎症的迹象的大脑皮质胶质瘢痕呈阳性的动物的百分比。与经赋形剂处理的对照相比，CBE处理导致胶质瘢痕的显著增加。PR001A以剂量依赖性方式显著减少CBE诱导的胶质瘢痕。呈现统计结果用于与CBE+赋形剂组(左条)进行比较。每组分别为N＝10、9、6、10、7。对于费希尔精确检验(Fischer's exact test)，*:P<0.05；**:P<0.01；***:P<0.001。

[0275] 图16F示出了PR001A的剂量范围CBE模型研究中针对大脑皮质免疫组织化学分析的代表性数据。图呈现了大脑皮质内测量的免疫反应性区的平均值(每组n＝5-10)。经CBE+赋形剂处理的动物(左起第二条)中的Iba1(离子化钙结合衔接子分子1)免疫反应性区显著高于所研究的所有其它组的小鼠中的Iba1免疫反应性区。呈现了平均值，并且误差条是SEM。通过单因素ANOVA和Sidak事后检验分析数据用于多重比较。**:P<0.01；***:P<0.001。

[0276] 图17示出了基因小鼠模型中最大剂量GBA1 rAAV中的锥形横木分析的代表性数据。在rAAV施用后4周，通过横木行走(Beam Walk)测定处理组(WT+赋形剂，n＝5)、4L/PS-NA+赋形剂(n＝6)和4L/PS-NA+rAAV(n＝5))的运动表现。总滑倒次数和活动时间显示为在不同横木上超过5次试验的总次数。速度和每种速度的滑倒次数显示为在不同横木上超过5次试验的平均值。呈现了平均值。误差条是SEM。

[0277] 图18示出了编码GBA1与激活蛋白原(PSAP)、SCARB2和/或一种或多种抑制性核酸的组合的rAAV构建体的体外表达的代表性数据。数据指示用每种构建体转染HEK293细胞引起所关注转基因相对于经GFP转染的细胞的过表达。

[0278] 图19是描绘包括位于ITR的“外部”(例如，相对于转基因插入片段或表达构建体，ITR的末端近侧)的“D”区的rAAV载体(顶部)以及在载体的“内部”(例如，载体的转基因插入片段近侧)具有ITR的野生型rAAV载体的示意图。

[0279] 图20示出了使用具有ITR的rAAV进行的HEK293细胞转导的数据，所述ITR具有野生型(圆形)或替代性(例如，“外部”；正方形)“D”序列位置。具有放置在“外部”上的ITR的rAAV能够像具有野生型ITR的rAAV一样有效地转导细胞。

[0280] 图21是描绘包括包含编码Gcase的表达构建体(例如，GBA1或其一部分)的rAAV载体的质粒的一个实施例的示意图。

[0281] 图22是描绘包括包含编码Gcase的表达构建体(例如，GBA1或其一部分)的rAAV载体的质粒的一个实施例的示意图。

[0282] 图23是描绘包括包含编码Gcase(例如，GBA1或其一部分)以及α-Syn的干扰RNA的表达构建体的rAAV载体的质粒的一个实施例的示意图。

[0283] 图24是描绘包括包含编码Gcase(例如，GBA1或其一部分)以及α-Syn的干扰RNA的表达构建体的rAAV载体的质粒的一个实施例的示意图。

[0284] 图25是描绘包括包含编码激活蛋白原(例如，PSAP或其一部分)的表达构建体的rAAV载体的质粒的一个实施例的示意图。

[0285] 图26是描绘包括包含编码Gcase的表达构建体(例如，GBA1或其一部分)的rAAV载体的质粒的一个实施例的示意图。

[0286] 图27是描绘包括包含编码Gcase(例如，GBA1或其一部分)、激活蛋白原(例如，PSAP或其一部分)以及α-Syn的干扰RNA的表达构建体的rAAV载体的质粒的一个实施例的示意图。

[0287] 图28示出了代表性数据，指示施用编码Gcase的rAAV载体减少了体内胶质瘢痕。处理组织以用于用苏木精和伊红(H&E)染色，并且评估载玻片的病理变化。每组中对作为反应性星形胶质细胞增生的反映的胶质瘢痕呈阳性的动物的百分比以淡阴影示出，而对胶质瘢痕呈阴性的动物的百分比以黑色示出。与经赋形剂处理的对照相比，CBE处理导致胶质瘢痕显著增加。rAAV-GBA1以剂量依赖性方式显著减少了CBE诱导的胶质瘢痕。呈现了统计结果用于与赋形剂+CBE组(红色)进行比较。每组分别为N＝10、9、6、10、7。对于费希尔精确检验，*:$p<0.05$;**:$p<0.01$;***:$p<0.001$。

[0288] 图29A-图29B示出了在施用rAAV-GBA1或赋形剂的小鼠的皮质(每组n＝6-10)内测量的免疫荧光信号的平均值的代表性数据。GCase的定量(图19A)免疫标记在经高剂量rAAV-GBA1处理的动物中显示出最强免疫荧光标记，其次是经中等剂量和低剂量rAAV-GBA1

处理的动物。Iba1(图29B)在经CBE/赋形剂处理的动物中的免疫反应性区显著高于在所研究的所有其它组的小鼠中的免疫反应性区。使用单因素ANOVA和Sidak事后检验分析数据用于多重比较。条形图表示组平均值+SEM。

[0289] 图30是示出研究PRV-2018-016中在第183天时PR001A转基因的生物分布的代表性数据的条形图。实例12中描述了此研究。在小脑延髓池(ICM)内注射赋形剂、低剂量PR001A($6.2x10^{10}$个vg/g脑)或高剂量PR001A($2.3x10^{11}$个vg/g脑)183天后,使用qPCR方法分析NHP(非人灵长类动物)的转基因水平。每个条表示每组3只动物的平均值±SEM;低于定量型限制的值绘制为零。由于每个区的经赋形剂处理的动物的qPCR值为零,所以此比例的图上未示出赋形剂条。

[0290] 图31A-图31B是示出研究PRV-2018-016中第183天的人GCase表达的代表性数据的图。实例12中描述了此研究。在通过Simple Western™(Jess公司(Jess))分析在第183天时收集的NHP(非人灵长类动物)皮质、海马体和中脑样品中测定Gcase表达水平。示出了来自用赋形剂(每个图的左侧)、低剂量的PR001A($6.2x10^{10}$个vg/g脑重;每个图的中间)或高剂量的PR001A($2.3x10^{11}$个vg/g脑重;每个图的右侧)处理的NHP的GCase表达水平。图31A呈现了来自单独皮质、海马体和中脑区的数据。图31B示出了相对于经赋形剂处理的组(左)、低剂量(中)组和高剂量(右)组的变化百分比。此图的数据在组织内平均归一化,并且针对皮质、海马体和中脑组合。每个条表示每个剂量的平均归一化数据的赋形剂组中位数的百分比。为了计算显著性,进行单因素ANOVA以考虑将经低剂量和高剂量处理的动物两者纳入赋形剂组的组合处理组的显著性。P值=0.014(*<0.05)。

[0291] 图32是示出研究PRV-2019-005中通过qPCR定量的PR001A转基因的生物分布的代表性数据的一系列图。实例12中描述了此研究。在赋形剂或PR001A($7.0x10^{11}$个vg/g脑)的小脑延髓池内(ICM)注射后30天和90天,使用qPCR方法在NHP(非人灵长类动物)中分析转基因水平。每个图以平均值±SEM表示每个个体动物(n=3/组)。

[0292] 图33是示出用PR001A体外转导HEK293T细胞后GCase活性的代表性数据的线图。测定在不同感染复数(MOI)下用PR001A转导的HEK293T细胞的GCase活性。通过前荧光底物试卤灵(resorufin)β-D-吡喃葡萄糖苷的水解来测量活性。在573nm的激发和610nm的发射处使用读板器测定经切割底物的荧光。值为平均值±SEM,n=2;一个单位等同于1ng/mL的重组纯化GCase的活性。

[0293] 图34A-图34B是示出用PR001A体外转导HeLa细胞后,GCase活性(图34A)和α-突触核蛋白水平(图34B)的代表性数据的条形图。在处理后72小时收集用赋形剂(左条)处理或用$2x10^5$个vg/细胞PR001A(中间条)或$2x10^6$个vg/细胞PR001A(右条)转导的HeLa细胞,并通过荧光酶测定分析GCase活性水平(图34A)或通过ELISA分析α-突触核蛋白水平(图34B)。有效的酶促GCase活性显示为每mg总蛋白的单元,其中一个单元被定义为1ng/mL的重组纯化GCase的活性。α-突触核蛋白浓度表示为ng/mL每mg总蛋白。研究以生物学一式三份进行。呈现了平均值。误差条是SEM。使用单因素ANOVA,随后进行邓尼特多重比较检验(Dunnett's multiple comparisons test)。

[0294] 图35A-图35B是示出用PR001A体外转导小鼠海马神经元后,GCase活性(图35A)和α-突触核蛋白水平(图35B)的代表性数据的条形图。在体外第2天(DIV),用赋形剂(左条)处理或用$1.3x10^5$个vg/细胞PR001A(中条)或$1.3x10^6$个vg/细胞PR001A(右条)转导小鼠海马神

经元的原代培养物。在DIV9,收集细胞,并通过荧光酶测定分析GCase活性水平(图35A)或通过ELISA分析α-突触核蛋白水平(图35B)。GCase活性显示为每小时每mg总蛋白的相对荧光单位(RFU)。α-突触核蛋白浓度表示为ng/mL每mg总蛋白。研究以生物学一式两份进行。呈现了平均值。误差条是SEM。使用单因素ANOVA,随后进行邓尼特多重比较检验。

[0295] 图36是描绘在CBE小鼠模型中用编码GCase的rAAV进行长期处理的研究设计的一个实施例的示意图。在P3时通过ICV注射递送PR001A,并且在P8时开始每天CBE处理。在第3周、第6周和第15周时在转棒仪测定中评估行为,并且在第4周、第7周、第13周时在锥形横木测定中评估行为。在最终CBE剂量后约第26周1天处死动物。分析大脑皮质的GluSph和GluCer底物水平和GCase活性。每个处理组有10-11只动物,每个处理组包含雄性小鼠和雌性小鼠。

[0296] 图37A-图37D示出了对CBE模型中的长期PR001A处理的评估的代表性数据。所有处理组的皮质(PBS+赋形剂:左条,CBE+赋形剂:中条栏,CBE+$2.0x10^{10}$个vg PR001A:右条)用于测量载体基因组(图37A)、GCase活性(图37B)、GluSph水平(图37C)和GluCer水平(图37D)。评估每个组织和所有处理组中载体基因组的存在,示出为每1μg的基因组DNA的载体拷贝数。使用载体参考标准曲线,通过qPCR对载体基因组存在进行定量。有效的酶促GCase活性显示为每mg总蛋白的单元,其中一个单元被定义为1ng/mL的重组纯化GCase的活性。GluSph和GluCer水平示出为pmol/nmol磷酸盐。呈现了平均值。误差条是SEM。每组分别为N=10、11、10。(*)P<0.1,*P<0.05;**P<0.01;***P<0.001,通过ANOVA,随后为图基HSD多重检验校正。

[0297] 图38A-图38E示出了CBE模型中另外的剂量范围PR001A的生命评估的代表性数据。所有处理组每天称重(图38A),并且在P45时分析其重量(图38B)。通过第3周(图38C)和第5周(图38D)时的转棒仪掉落潜伏期和第4周(图38E)时在锥形横木上的来回移动的潜伏期评估运动表现。每组n=8-11。呈现了平均值。误差条是SEM。呈现统计结果用于与CBE+赋形剂组(左起第二条)进行比较。***P<0.001,通过ANOVA,随后为图基HSD检验。

[0298] 图39示出了另外的剂量范围CBE模型研究中的生物分布的代表性数据。评估每个组织和所有处理组中载体基因组的存在,示出为每1μg的gDNA的载体拷贝数。使用载体参考标准曲线,通过qPCR对载体基因组存在进行定量;每组n=9-11。黑色虚线(在100个载体基因组/μg gDNA处)表示阳性载体存在的检测阈值。呈现了平均值。误差条是SEM。

[0299] 图40示出了另外的剂量范围CBE模型研究中的GCase酶促活性的代表性数据。测量并示出了所有处理组的大脑皮质的有效酶促GCase活性。活性显示为每mg总蛋白的单元,其中一个单元被定义为1ng/mL的重组纯化GCase的活性。呈现了平均值。误差条是SEM。呈现统计结果用于与CBE+赋形剂组(左起第二条)进行比较。每组n=9-11。(*)P<0.1,通过ANOVA,随后为图基HSD检验。

[0300] 图41A-图41B示出了另外的剂量范围CBE模型研究中的糖脂分析的代表性数据。GluSph(图41A)和GluCer(图41B)水平示出为pmol/nmol磷酸盐。呈现了平均值。误差条是SEM。呈现统计结果用于与CBE+赋形剂组(左起第二条)进行比较。每组n=9-11。**P<0.01;***P<0.001,通过ANOVA,随后为图基HSD检验。

[0301] 图42A-图42D示出了CBE模型研究中另外的剂量范围PR001A的生命评估的代表性数据。所有处理组每天称重(图42A),并且在P37时分析其重量(图42B)。通过第3周(图42C)

时的转棒仪掉落潜伏期和第4周(图42D)时在锥形横木上的来回移动的潜伏期评估运动表现。每组n＝9-10。呈现了平均值。误差条是SEM。呈现统计结果用于与CBE+赋形剂组(左起第二条)进行比较。***P<0.001,通过ANOVA,随后为图基HSD检验。

[0302] 图43A-图43B示出了在CBE模型研究中的另外的剂量范围PR001A中的生物分布和GCase酶促活性的代表性数据。在所有处理组的大脑皮质中测量载体基因组(图43A),并且显示为每1μg的基因组DNA(gDNA)的载体拷贝数。使用载体参考标准曲线,通过qPCR对载体基因组存在进行定量。黑色虚线表示阳性载体存在(以100个载体基因组/μg gDNA)的检测阈值。在大脑皮质中测量有效酶促GCase活性(图43B),并且显示为每mg总蛋白的单元,其中一个单元被定义为1ng/mL的重组纯化GCase的活性。呈现了平均值。误差条是SEM。每组N＝9-10。***P<0.001;通过ANOVA,随后为图基HSD检验。

[0303] 图44A-图44B示出了CBE模型研究中另外的剂量范围PR001A中的糖脂分析的代表性数据。GluSph(图44A)和GluCer(图44B)水平示出为pmol/nmol磷酸盐。呈现了平均值。误差条是SEM。呈现统计结果用于与CBE+赋形剂组(左起第二条)进行比较。每组n＝9-10。***P<0.001,通过ANOVA,随后为图基HSD检验。

[0304] 图45是描绘在4L/PS-NA基因小鼠模型中用编码GCase的rAAV进行处理的研究设计的一个实施例的示意图。通过ICV注射将PR001A递送至3-4周龄的4L/PS-NA小鼠。在生命的第8周、第12周和第18周(ICV处理后的第5周、第9周和第15周)测试横木行走,并且在生命的第12周和第18周(ICV处理后的第9周和第15周)测试转棒仪。在第18周处死小鼠。分析大脑皮质的GCase酶促活性,并且分析小脑的GluSph和GluCer底物水平。每个处理组中有3只雄性小鼠和3只雌性小鼠。

[0305] 图46示出了4L/PS-NA基因小鼠模型中的最大剂量PR001A中的生物分布的代表性数据。评估每个组织和所有处理组中载体基因组的存在,示出为每1μg的基因组DNA(gDNA)的载体拷贝数。使用载体参考标准曲线,通过qPCR对载体基因组存在进行定量。呈现了平均值。误差条是SEM。每组n＝4-5。虚线表示阳性载体存在(以100个载体基因组/μg gDNA)的检测阈值。

[0306] 图47示出了4L/PS-NA基因小鼠模型中的最大剂量PR001A中的GCase酶促活性的代表性数据。测量并示出了每个组织和所有处理组的有效酶促GCase活性。活性显示为每mg总蛋白的单元,其中一个单元被定义为1ng/mL的重组纯化GCase的活性。呈现了平均值。误差条是SEM。每组N＝4-5。*:P<0.05;**:P<0.01;***:P<0.001,通过ANOVA,随后为图基HSD多重检验校正。

[0307] 图48A-图48B示出了4L/PS-NA基因小鼠模型中的PR001A的糖脂分析的代表性数据。在出生后第P23天,4L/PS-NA小鼠接受赋形剂(中间条)或$1.5x10^{10}$个vg PR001A(右条),并且对照小鼠通过ICV递送接受赋形剂(左条)。使用小脑测量GluSph(图48A)和GluCer(图48B)水平。水平显示为pmol/nmol磷酸盐。呈现了平均值。误差条是SEM。每组分别为n＝4、5、5。*:P<0.05;**:P<0.01;***:P<0.001,通过ANOVA,随后为图基HSD多重检验校正。

[0308] 图49A-图49B示出了4L/PS-NA基因小鼠模型中的大脑皮质α-突触核蛋白累积的生物化学评估的代表性数据。在出生后第23天,4L/PS-NA小鼠接受ICV赋形剂(中间条)或$1.5x10^{10}$个vg PR001A(右条),并且对照小鼠接受ICV赋形剂(左条)。使用定制的免疫吸附测定分析来自大脑皮质的脑裂解物的Triton X可溶性和Triton X不溶性级分的α-突触核蛋

白水平。示出了不溶性α-突触核蛋白(图49A)和不溶性与可溶性α-突触核蛋白的比率(图49B)。呈现了平均值。误差条是SEM。每组N＝3-5。(*):P<0.20,ANOVA,随后为图基HSD多重检验校正。

[0309] 图50是描绘4L/PS-NA基因小鼠模型中的剂量范围PR001A rAAV的研究设计的一个实施例的示意图。在3-4周时通过ICV注射将PR001A递送至4L/PS-NA小鼠。在生命的第8周、第12周和第18周(ICV处理后的第5周、第9周和第15周)评估横木行走,并且在生命的第12周和第18周(ICV处理后的第9周和第15周)评估转棒仪。在第18周处死小鼠。分析大脑皮质的GCase酶促活性,并且分析小脑的GluSph和GluCer底物水平。每个处理组有10-11只小鼠。

[0310] 图51示出了4L/PS-NA基因小鼠模型中的剂量范围PR001A中的第18周行为分析的代表性数据。评估横木行走中的运动表现,并且示出了在不同横木上进行的2次试验的每个速度的平均总滑倒次数。每组分别为N＝10、6、5、7、4、8。呈现了平均值。误差条是SEM;*:P<0.05;***:P<0.001,通过ANOVA,随后为图基HSD多重检验校正。

[0311] 图52A-图52B示出了4L/PS-NA基因小鼠模型中的剂量范围PR001A中的生物分布和GCase酶促活性的代表性数据。在所有处理组的大脑皮质中测量载体基因组(图52A),并且显示为每1μg的基因组DNA(gDNA)的载体拷贝数。使用载体参考标准曲线,通过qPCR对载体基因组存在进行定量。虚线表示阳性载体基因组存在(以100个载体基因组/μg gDNA)的检测阈值。在大脑皮质中测量有效酶促GCase活性(图52B),并且显示为每mg总蛋白的单元,其中一个单元被定义为1ng/mL的重组纯化GCase的活性。呈现了平均值。误差条是SEM。每组分别为n＝10、10、10、10、7、8。***P<0.001,通过ANOVA,随后为图基HSD多重检验校正。

[0312] 图53A-图53B示出了4L/PS-NA基因小鼠模型中的剂量范围PR001A中的糖脂分析的代表性数据。使用小脑测量GluSph(图53A)和GluCer(图53B)水平。水平显示为pmol/nmol磷酸盐。呈现了平均值。误差条是SEM。每组分别为n＝10、10、10、10、7、8。***:P<0.001,通过ANOVA,随后为图基HSD多重检验校正。(#):P<0.1;#:P<0.05,通过对所有动物的基因型和剂量进行多元线性回归。

[0313] 图54A-图54B示出了经CBE处理的α-突触核蛋白转基因小鼠中的α-突触核蛋白水平的生物化学评估的代表性数据。使用Simple Western™(Jess公司)自动化毛细管蛋白质印迹系统和MJFR-14-6-4-2α-突触核蛋白抗体分析海马脑裂解物的aα-突触核蛋白浓度。在48kDa与230kDa之间观察到多个条带,并且将所述多个条带分组为“高分子量”(HMW)。在18kDa处存在单个条带,与α-突触核蛋白单体的预测分子量一致。呈现了相对于A53T+赋形剂组的归一化平均值的平均变化倍数。误差条是SEM。每组N＝3-5。*:P<0.05,通过ANOVA,随后为图基HSD多重检验校正。

[0314] 图55是描绘包括编码人Gcase的表达构建体的编码重组腺相关病毒载体(PR001A)的质粒的一个实施例的示意图。“bp”是指“碱基对”。“kan”是指对卡那霉素(kanamycin)产生抗性的基因。“ORF1”是指Gcase的开放阅读框。“ITR”是指腺相关病毒反向末端重复序列。“TRY”是指包括以下三个转录调节激活位点的序列:TATA、RBS和YY1。“CBAp”是指鸡β-肌动蛋白启动子。“CMVe”是指巨细胞病毒增强子。“WPRE”是指土拨鼠肝炎病毒转录后调控元件。“bGH”是指牛生长激素polyA信号尾部。“int”是指内含子。PR001A的两条链的核苷酸序列在SEQ ID NO:39和40中提供。

[0315] 图56是描绘包括编码人Gcase的表达构建体和靶向α-突触核蛋白的shRNA的编码

重组腺相关病毒载体(PR004X)的质粒的一个实施例的示意图。“bp”是指“碱基对”。“kan”是指对卡那霉素产生抗性的基因。“aSyn_MshRNA”是指编码抑制α-突触核蛋白的shRNA的区。“GBA_CDSopt”是指Gcase的开放阅读框。“ITR”是指腺相关病毒反向末端重复序列。“TRY”是指包括以下三个转录调节激活位点的序列:TATA、RBS和YY1。“CBAp”是指鸡β-肌动蛋白启动子。“CMVe”是指巨细胞病毒增强子。“WPRE”是指土拨鼠肝炎病毒转录后调控元件。“bGH”是指牛生长激素polyA信号尾部。“int”是指内含子。PR004X的两条链的核苷酸序列(序列已验证)在SEQ ID NO:41和42中提供。

[0316] 图57是描绘包括编码人Gcase的表达构建体和靶向α-突触核蛋白的shRNA的编码重组腺相关病毒载体(PR004Y)的质粒的一个实施例的示意图。“bp”是指“碱基对”。“kan”是指对卡那霉素产生抗性的基因。“shSNCA”是指编码抑制α-突触核蛋白的shRNA的区。“GBA_CDSopt”是指Gcase的开放阅读框。“ITR”是指腺相关病毒反向末端重复序列。“TRY”是指包括以下三个转录调节激活位点的序列:TATA、RBS和YY1。“CBAp”是指鸡β-肌动蛋白启动子。“CMVe”是指巨细胞病毒增强子。“WPRE”是指土拨鼠肝炎病毒转录后调控元件。“bGH”是指牛生长激素polyA信号尾部。“int”是指内含子。PR004Y的两条链的核苷酸序列(理论上)在SEQ ID NO:43和44中提供。

[0317] 图58是描绘包括编码靶向α-突触核蛋白的shRNA的表达构建体的编码重组腺相关病毒载体(PR014X)的质粒的一个实施例的示意图。“bp”是指“碱基对”。“kan”是指对卡那霉素产生抗性的基因。“aSyn_MshRNA”是指编码抑制α-突触核蛋白的shRNA的区。“ITR”是指腺相关病毒反向末端重复序列。“TRY”是指包括以下三个转录调节激活位点的序列:TATA、RBS和YY1。“CBAp”是指鸡β-肌动蛋白启动子。“CMVe”是指巨细胞病毒增强子。“WPRE”是指土拨鼠肝炎病毒转录后调控元件。“bGH”是指牛生长激素polyA信号尾部。“int”是指内含子。PR014X的两条链的核苷酸序列(理论上)在SEQ ID NO:45和46中提供。编码shRNA的区的两条链的核苷酸序列(理论上)在SEQ ID NO:47和48中提供。

[0318] 图59是描绘D409V Hom基因小鼠模型中的剂量范围PR001 rAAV的研究设计的一个实施例的示意图。通过静脉内(IV)注射将PR001递送至D409V Hom小鼠。在5周后评估图中列出的参数。

[0319] 图60A-图60C示出了D409V Hom基因小鼠模型中PR001静脉内(IV)施用的肝脏生物化学的代表性数据。在IV注射后5周处死小鼠。对细胞因子水平(图60A)和糖脂水平(图60B;图60C)进行定量。使用ANOVA测定统计,随后通过邓尼特测试(Dunnett's test)与D409V Hom+赋形剂组进行比较。呈现了平均值+/-SEM(n＝8-10/组)。****:p<0.0001;***:p<0.001;**:p<0.01;*:p<0.05;(*):p＝0.10。GluCer＝葡糖神经酰胺。GluSph＝葡糖鞘氨醇。WT＝野生型。

[0320] 图61A-图61B示出了D409V Hom基因小鼠模型中PR001静脉内(IV)施用的脑生物化学的代表性数据。在IV注射后5周处死小鼠。对糖脂水平进行定量。使用ANOVA测定统计,随后通过邓尼特测试与D409V Hom+赋形剂组进行比较。呈现了平均值+/-SEM(n＝8-10/组)。****:p<0.0001;*:p<0.05。GluCer＝葡糖神经酰胺。GluSph＝葡糖鞘氨醇。WT＝野生型。

[0321] 图62示出了D409V Hom基因小鼠模型中PR001静脉内(IV)施用的肺生物化学的代表性数据。在IV注射后5周处死小鼠。对细胞因子水平进行定量。使用ANOVA测定统计,随后

通过邓尼特测试与D409V Hom+赋形剂组进行比较。呈现了平均值+/-SEM(n＝8-10/组)。*:p<0.05。WT＝野生型。

[0322] 图63是描绘4L/PS-NA基因小鼠模型中的剂量范围PR001 rAAV的研究设计的一个实施例的示意图。通过静脉内(IV)注射将PR001递送至4L/PS-NA小鼠。在所示时间点评估图中列出的参数。

[0323] 图64A-图64B示出了4L/PS-NA基因小鼠模型中PR001静脉内(IV)施用的肝脏生物化学的代表性数据。在IV注射后15周处死小鼠。对糖脂水平进行定量。使用ANOVA测定统计，随后通过邓尼特测试与4L/PS-NA+赋形剂组进行比较。呈现了平均值+/-SEM(n＝10/组)。****:p<0.0001;***:p<0.001;*:p<0.05。GluCer＝葡糖神经酰胺。GluSph＝葡糖鞘氨醇。

[0324] 图65A-图65B示出了4L/PS-NA基因小鼠模型中PR001静脉内(IV)施用的脑生物化学的代表性数据。在IV注射后15周处死小鼠。对糖脂水平进行定量。使用ANOVA测定统计，随后通过邓尼特测试与4L/PS-NA+赋形剂组进行比较。呈现了平均值+/-SEM(n＝10/组)。****:p<0.0001;**:p<0.01;*:p<0.05。GluCer＝葡糖神经酰胺。GluSph＝葡糖鞘氨醇。

[0325] 图66A-图66B示出了用PR004或PR014转导后HeLa细胞中的α-突触核蛋白水平和Gcase活性的代表性数据。用PR004、PR014或赋形剂处理HeLa细胞，并在72小时后测量细胞裂解物中的α-突触核蛋白水平(图66A)和GCase活性(图66B)。数据以平均值±SEM(n＝3/条件)的形式呈现。

[0326] 图67A-图67C示出了来自帕金森氏病患者来源的诱导多能干细胞(iPSC)的神经元培养物中PR004功效的代表性数据。来源于具有SNCA三倍体的帕金森氏病患者的诱导多能干细胞分化为神经元(图67A)。用PR004或赋形剂处理iPSC衍生的神经元，并且两周后在细胞裂解物中测量GCase活性(图67B)和α-突触核蛋白水平(图67C)。通过非配对t检验确定统计;*＝p<0.05,**＝p<0.01。数据以平均值±SEM(n＝2-3/组)的形式呈现。

[0327] 图68A-图68B示出了通过qRT-PCR评估靶向来自HEK293细胞中的PR004载体的SNCA的shRNA的研究的代表性数据。用PR004或对照转染HEK293细胞，并且在72小时后提取RNA。针对各种基因进行qRT-PCR，并且相对于GAPDH表达归一化。将数据相对于对照条件归一化，并且以平均值±SEM(n＝3/组)的形式呈现。

[0328] 图69是描绘在施用PR004之后检查SNCA-A53T PAC小鼠模型中的胃肠道、运动行为和生物化学终点的研究设计的一个实施例的示意图。ICV＝脑室内。

[0329] 图70是描绘在施用PR004之后检查AAV2-SNCA-A53T IPa注射小鼠模型中的运动行为和生物化学分析的研究设计的一个实施例的示意图。IPa＝实质内。SN＝黑质。ICV＝脑室内。

[0330] 图71A-图71B示出了评估AAV2-SNCA-A53T小鼠模型中PR004施用后运动表型的研究的代表性数据。(1)通过IPa注射到SN向十周龄小鼠给药AAV-无效或AAV-SNCA-A53T，并且(2)通过ICV注射向十周龄小鼠给药赋形剂或PR004。在处理后4周(图71A)和9周(图71B)时进行精细动作运动学步态分析(MotoRater)。通过ANOVA测定统计，随后为邓尼特多重检验校正(Dunnett's multiple tests correction);*＝p<0.05,**＝p<0.01。数据以平均值±SEM(n＝10/组)的形式呈现。IPa＝实质内。SN＝黑质。ICV＝脑室内。

具体实施方式

[0331] 本公开涉及如帕金森氏病(PD)、戈谢病(GD)和突触核蛋白病等与异常溶酶体功能相关联的疾病的基因疗法。具体地，本公开涉及与重组腺相关病毒(rAAV)组合施用的免疫抑制方案。rAAV可以递送编码蛋白质Gcase的GBA1基因的功能性拷贝。另外地或可替代地，rAAV可以递送编码抑制α-突触核蛋白的表达的干扰核酸的核酸。需要免疫抑制方案来降低接受基因疗法治疗的受试者的免疫相关不良事件的风险。

[0332] 本公开部分地基于用于某些基因产物(例如，与中枢神经系统(CNS)疾病相关联的基因产物)的组合在受试者中的表达的组合物和方法。基因产物可以是蛋白质、蛋白质的片段(例如，部分)、抑制CNS疾病相关基因的干扰核酸等。在一些实施例中，基因产物是由CNS疾病相关基因编码的蛋白质或蛋白质片段。在一些实施例中，基因产物是抑制CNS疾病相关基因的干扰核酸(例如，shRNA、siRNA、miRNA、amiRNA等)。

[0333] CNS疾病相关基因是指编码基因产物的基因，所述基因产物与中枢神经系统(CNS)疾病，如帕金森氏病(PD)、戈谢病(GD)或突触核蛋白病在基因上、生物化学上或功能上相关。例如，已经观察到与没有GBA1突变的个体相比，具有GBA1基因(其编码蛋白Gcase)突变的个体患上PD的风险增加。在另一个实例中，PD与包括α-突触核蛋白(α-Syn)蛋白质的蛋白质聚集体的累积相关联；因此，SNCA(其编码α-Syn)是CNS疾病相关基因。在一些实施例中，本文所描述的表达盒编码CNS疾病相关基因(或其编码序列)的野生型或非突变形式。表1中列出了CNS疾病相关基因的实例。

[0334] 表1:CNS疾病相关基因的实例

[0335]

名称	基因	功能	NCBI 登录号
溶酶体膜蛋白 2	*SCARB2/LIMP2*	葡糖神经酰胺酶的溶酶体受体（GBA 靶向）	NP_005497.1（同种型 1），NP_001191184.1（同种型 2）
激活蛋白原	*PSAP*	鞘脂激活蛋白 A、B、C 和 D 的前体，其定位在溶酶体区室并且促进具有短寡糖基团的鞘糖脂的分解代谢	AAH01503.1，AAH07612.1，AAH04275.1，AAA60303.1
β-葡糖脑苷脂酶	*GBA1*	切割葡糖脑苷脂的 β-糖苷键	NP_001005742.1（同种型 1），NP_001165282.1（同种型 2），NP_001165283.1（同种型 3）
α-突触核蛋白	*SNCA*	通过聚集突触囊泡，在维持突触前末端中的突触小泡的供应方面起作用，并且可以有助于调节多巴胺的释放	NP_001139527.1

[0336] 如溶酶体酸β-葡糖脑苷脂酶(例如，GBA1基因的基因产物；也被称为GCase)等酶的缺陷，以及与溶酶体功能或大分子向溶酶体的运输有关的许多基因中的常见变体(例如，溶酶体膜蛋白1(LIMP)，也被称为SCARB2)已经与PD风险增加和/或戈谢病(例如，神经病变型戈谢病，如2型戈谢病或3型戈谢病)风险增加相关联。本公开部分地基于编码Gcase(或其一部分)、激活蛋白原(或其一部分)、LIMP2(或其一部分)或者Gcase(或其一部分)和来自与中枢神经系统(CNS)疾病(例如，PD、戈谢病等)相关的基因(例如，LIMP2、激活蛋白原和/或α-突触核蛋白(α-Syn))的一种或多种另外的基因产物的组合的表达构建体(例如，载体)。在

一些实施例中，本文所描述的基因产物的组合一起作用(例如，协同作用)以在受试者中表达时，减少CNS疾病的一种或多种体征和症状。

[0337] 因此，在一些方面，本公开提供了分离的核酸，其包括编码Gcase(例如，GBA1基因的基因产物)的表达构建体。在一些实施例中，分离的核酸包括已经密码子优化(例如，经密码子优化以在哺乳动物细胞，例如人细胞中表达)的Gcase编码序列。在一些实施例中，编码Gcase的核酸序列编码包括如SEQ ID NO:14中所示(例如，如NCBI参考序列NP_000148.2中所示)的氨基酸序列的蛋白质。在一些实施例中，分离的核酸包括SEQ ID NO:15中所示的序列。SEQ ID NO:15中所示的密码子优化序列消除了在野生型GBA1核苷酸序列中始于核苷酸49处的预测的供体剪接位点。在一些实施例中，表达构建体包括腺相关病毒(AAV)反向末端重复序列(ITR)，例如，侧接编码Gcase的核酸序列的AAV ITR。

[0338] 在一些方面，本公开提供了分离的核酸，其包括编码激活蛋白原(例如，PSAP基因的基因产物)的表达构建体。在一些实施例中，分离的核酸包括已经密码子优化(例如，经密码子优化以在哺乳动物细胞，例如人细胞中表达)的激活蛋白原编码序列。在一些实施例中，编码激活蛋白原的核酸序列编码包括如SEQ ID NO:16中所示(例如，如NCBI参考序列NP_002769.1中所示)的氨基酸序列的蛋白质。在一些实施例中，分离的核酸包括SEQ ID NO:17中所示的序列。在一些实施例中，表达构建体包括腺相关病毒(AAV)反向末端重复序列(ITR)，例如，侧接编码激活蛋白原的核酸序列的AAV ITR。

[0339] 在一些方面，本公开提供了分离的核酸，其包括编码LIMP2/SCARB2(例如，SCARB2基因的基因产物)的表达构建体。在一些实施例中，分离的核酸包括已经密码子优化(例如，经密码子优化以在哺乳动物细胞，例如人细胞中表达)的SCARB2编码序列。在一些实施例中，编码LIMP2/SCARB2的核酸序列编码包括如SEQ ID NO:18中所示(例如，如NCBI参考序列NP_005497.1中所示)的氨基酸序列的蛋白质。在一些实施例中，分离的核酸包括SEQ ID NO:29中所示的序列。在一些实施例中，表达构建体包括腺相关病毒(AAV)反向末端重复序列(ITR)，例如，侧接编码SCARB2的核酸序列的AAV ITR。

[0340] 在一些方面，本公开提供了包括编码第一基因产物和第二基因产物的表达构建体的分离的核酸，其中每个基因产物独立地选自表1中所示的基因产物或其部分。

[0341] 在一些实施例中，第一基因产物或第二基因产物是Gcase蛋白或其一部分。在一些实施例中，第一基因产物或第二基因产物是LIMP2或其一部分或者激活蛋白原或其一部分。在一些实施例中，第一基因产物是Gcase蛋白，并且第二基因产物是LIMP2或其一部分或者激活蛋白原或其一部分。

[0342] 在一些实施例中，表达构建体编码干扰核酸(例如，shRNA、miRNA、dsRNA等)(例如，单独或除另一种基因产物之外)。在一些实施例中，干扰核酸抑制α-突触核蛋白(α-Syn)的表达。在一些实施例中，靶向α-突触核蛋白的干扰核酸包括SEQ ID NO:20-25中任一个中所示的序列。在一些实施例中，靶向α-突触核蛋白的干扰核酸包括SEQ ID NO:20中所示的序列。在一些实施例中，靶向α-突触核蛋白的干扰核酸与SEQ ID NO:20-25中任一个中所示的序列结合(例如，与其杂交)。在一些实施例中，靶向α-突触核蛋白的干扰核酸与SEQ ID NO:20中所示的序列结合(例如，与其杂交)。

[0343] 在一些实施例中，表达构建体进一步包括一个或多个启动子。在一些实施例中，启动子是鸡-β肌动蛋白(CBA)启动子、CAG启动子、CD68启动子或JeT启动子。在一些实施例中，

启动子是RNA pol II启动子或RNA pol III启动子(例如,U6等)。

[0344] 在一些实施例中,表达构建体进一步包括内部核糖体进入位点(IRES)。在一些实施例中,IRES位于第一基因产物与第二基因产物之间。

[0345] 在一些实施例中,表达构建体进一步包括自切割肽编码序列。在一些实施例中,自切割肽是T2A肽。

[0346] 在一些实施例中,表达构建体包括两个腺相关病毒(AAV)反向末端重复(ITR)序列。在一些实施例中,ITR序列侧接第一基因产物和第二基因产物(例如,从5'端至3'端排列如下:ITR-第一基因产物-第二基因产物-ITR)。在一些实施例中,分离的核酸的ITR序列之一缺少功能性末端解链位点(trs)。例如,在一些实施例中,ITR之一是ΔITR。

[0347] 在一些方面,本公开涉及包括ITR的rAAV载体,所述ITR具有经修饰的"D"区(例如,相对于野生型AAV2 ITR修饰的D序列,SEQ ID NO:29)。在一些实施例中,具有经修饰的D区的ITR是rAAV载体的5'ITR。在一些实施例中,经修饰的"D"区包括"S"序列,例如,如SEQ ID NO:26中所示。在一些实施例中,具有经修饰的"D"区的ITR是rAAV载体的3'ITR。在一些实施例中,经修饰的"D"区包括3'ITR,其中"D"区定位在ITR的3'端处(例如,相对于载体的转基因插入片段在ITR的外部或末端上)。在一些实施例中,经修饰的"D"区包括如SEQ ID NO:26或27中所示的序列。

[0348] 在一些实施例中,分离的核酸(例如,rAAV载体)包括TRY区。在一些实施例中,TRY区包括SEQ ID NO:28中所示的序列。

[0349] 在一些实施例中,本公开所描述的分离的核酸包括SEQ ID NO:1至13、15、17、19和32-48中任一个中所示的序列或由其组成。在一些实施例中,本公开所描述的分离的核酸编码包括SEQ ID NO:14、16和18中任一个中所示的序列或由其组成的肽。

[0350] 在一些方面,本公开提供了包括如本公开所描述的分离的核酸的载体。在一些实施例中,载体是质粒或病毒载体。在一些实施例中,病毒载体是重组AAV(rAAV)载体。在一些实施例中,rAAV载体是单链的(例如,单链DNA)。

[0351] 在一些方面,本公开提供了包括如本公开所描述的分离的核酸或如本公开所描述的载体的宿主细胞。

[0352] 在一些方面,本公开提供了包括衣壳蛋白和如本公开所描述的分离的核酸或载体的重组腺相关病毒(rAAV)。

[0353] 在一些实施例中,衣壳蛋白能够穿过血脑屏障,例如,AAV9衣壳蛋白或AAVrh.10衣壳蛋白。在一些实施例中,rAAV转导中枢神经系统(CNS)的神经元细胞和非神经元细胞。

[0354] 在一些方面,本公开提供了用于治疗患有或怀疑患有中枢神经系统(CNS)疾病的受试者的方法,所述方法包括向所述受试者施用如本公开所描述的组合物(例如,包括分离的核酸或载体或rAAV的组合物)。在一些实施例中,CNS疾病是神经退行性疾病,如表4中列出的神经退行性疾病。在一些实施例中,CNS疾病是突触核蛋白病,如表5中列出的突触核蛋白病。在一些实施例中,CNS疾病是tau蛋白病(tauopathy),如表6中列出的tau蛋白病。在一些实施例中,CNS疾病是溶酶体贮积病,如表7中列出的溶酶体贮积病。在一些实施例中,溶酶体贮积病是神经病变型戈谢病,如1型戈谢病、2型戈谢病或3型戈谢病。

[0355] 在一些方面,本公开提供了用于治疗患有帕金森氏病的受试者的方法,所述方法包括向所述受试者施用如本公开所描述的组合物(例如,包括分离的核酸或载体或rAAV的

组合物)。

[0356] 在一些实施例中,本公开提供了用于治疗患有2型戈谢病或3型戈谢病的受试者的方法,所述方法包括向所述受试者施用rAAV,所述rAAV包括核酸,所述核酸包括表达构建体,所述表达构建体包括与编码Gcase蛋白的序列可操作地连接的启动子,其中所述编码Gcase蛋白的序列包括SEQ ID NO:15;并且其中所述rAAV包括具有AAV9血清型的衣壳蛋白。在一些实施例中,rAAV以约$1.3x10^{11}$个载体基因组(vg)/g脑的剂量向患有2型戈谢病或3型戈谢病的受试者施用。

[0357] 在一些实施例中,本公开提供了用于治疗患有具有葡糖脑苷脂酶-1(GBA1)突变的帕金森氏病的受试者的方法,所述方法包括向所述受试者施用rAAV,所述rAAV包括核酸,所述核酸包括表达构建体,所述表达构建体包括与编码Gcase蛋白的序列可操作地连接的启动子,其中所述编码Gcase蛋白的序列包括SEQ ID NO:15;并且其中所述rAAV包括具有AAV9血清型的衣壳蛋白。在一些实施例中,rAAV以约$1x10^{14}$个载体基因组(vg)或约$2x10^{14}$个vg的剂量向患有帕金森氏病的受试者施用。

[0358] 在一些实施例中,rAAV通过枕骨下注射施用到小脑延髓池中。

[0359] 在一些实施例中,组合物包括编码两种或更多种基因产物(例如,CNS疾病相关基因产物),例如,本申请所描述的2种、3种、4种、5种或更多种基因产物的核酸(例如,rAAV基因组,例如由AAV衣壳蛋白包裹)。在一些实施例中,组合物包括两种或更多种(例如,2种、3种、4种、5种或更多种)不同的核酸(例如,两个或多个rAAV基因组,例如分别由AAV衣壳蛋白包裹),每种核酸编码一种或多种不同基因产物。在一些实施例中,向受试者施用两种或更多种不同的组合物,每种组合物包括编码不同基因产物的一种或多种核酸。在一些实施例中,不同基因产物与相同启动子类型(例如,相同的启动子)可操作地连接。在一些实施例中,不同基因产物与不同启动子可操作地连接。

[0360] 分离的核酸和载体

[0361] 分离的核酸可以是DNA或RNA。在一些方面,本公开提供了分离的核酸,其包括编码Gcase(例如,GBA1基因的基因产物)或其一部分的表达构建体。Gcase,也被称为β-葡糖脑苷脂酶或GBA,是指切割作为糖脂代谢中的中间体的化学葡糖脑苷脂的β-糖苷键的溶酶体蛋白。缺少作为糖脂的正常代谢所需的关键溶酶体酶的Gcase导致Gcase糖脂底物葡糖神经酰胺(GluCer)和葡糖鞘氨醇(GluSph)的累积。在人类中,Gcase由位于染色体1上的GBA1基因编码。在一些实施例中,GBA1编码由NCBI参考序列NP_000148.2(SEQ ID NO:14)表示的肽。在一些实施例中,分离的核酸包括已经密码子优化(例如,经密码子优化以在哺乳动物细胞,例如人细胞中表达)的Gcase编码序列,如SEQ ID NO:15中所示的序列。

[0362] 在一些方面,本公开提供了分离的核酸,其包括编码激活蛋白原(例如,PSAP基因的基因产物)的表达构建体。激活蛋白原是鞘脂激活蛋白(sphingolipid activator protein/saposin)A、B、C和D的前体糖蛋白,其促进具有短寡糖基团的鞘糖脂的分解代谢。在人类中,PSAP基因位于染色体10上。在一些实施例中,PSAP编码由NCBI参考序列NP_002769.1(例如,SEQ ID NO:16)表示的肽。在一些实施例中,分离的核酸包括已经密码子优化(例如,经密码子优化以在哺乳动物细胞,例如人细胞中表达)的激活蛋白原编码序列,如SEQ ID NO:17中所示的序列。

[0363] 本公开的各方面涉及分离的核酸,其包括编码LIMP2/SCARB2(例如,SCARB2基因的

基因产物)的表达构建体。SCARB2是指调节细胞内的溶酶体和内体转运的膜蛋白。在人类中,SCARB2基因位于染色体4上。在一些实施例中,SCARB2基因编码由NCBI参考序列NP_005497.1(SEQ ID NO:18)表示的肽。在一些实施例中,分离的核酸包括SEQ ID NO:19中所示的序列。在一些实施例中,分离的核酸包括已经密码子优化的SCARB2编码序列。

[0364] 在一些方面,本公开提供了包括编码第一基因产物和第二基因产物的表达构建体的分离的核酸,其中每个基因产物独立地选自表1中所示的基因产物或其部分。

[0365] 在一些实施例中,本公开所描述的分离的核酸或载体(例如,rAAV载体)包括SEQ ID NO:1-48中任一个中所示的序列或由其组成。在一些实施例中,本公开所描述的分离的核酸或载体(例如,rAAV载体)包括与SEQ ID NO:1-48中任一个中所示的序列互补的序列(例如去,其补体)或由其组成。在一些实施例中,本公开所描述的分离的核酸或载体(例如,rAAV载体)包括作为SEQ ID NO:1-48中任一个中所示的序列的反向补体的序列或由其组成。在一些实施例中,本公开所描述的分离的核酸或载体(例如,rAAV载体)包括SEQ ID NO:1-48中任一个中所示的序列的一部分或由其组成。一部分可以包括SEQ ID NO:1-48中任一个中所示的序列的至少25%、50%、60%、70%、80%、90%、95%或99%。在一些实施例中,本公开所描述的核酸序列是核酸有义链(例如,5'至3'链),或者在病毒序列的上下文中是正(+)链。在一些实施例中,本公开所描述的核酸序列是核酸反义链(例如,3'至5'链),或者在病毒序列的上下文中是负(-)链。

[0366] 在一些实施例中,基因产物由天然存在的基因的编码部分(例如,cDNA)编码。在一些实施例中,第一基因产物是由GBA1基因编码的蛋白质(或其片段)。在一些实施例中,基因产物是由SCARB2/LIMP2基因和/或PSAP基因编码的蛋白质(或其片段)。然而,本领域的技术人员认识到,第一基因产物(例如,Gcase)和第二基因产物(例如,LIMP2)的表达顺序通常可以颠倒(例如,LIMP2是第一基因产物,并且Gcase是第二基因产物)。在一些实施例中,基因产物是表1中列出的基因的片段(例如,部分)。蛋白质片段可以包括由表1中列出的基因编码的蛋白质的约50%、约60%、约70%、约80%、约90%或约99%。在一些实施例中,蛋白质片段包括由表1中列出的基因编码的蛋白质的50%与99.9%之间(例如,50%与99.9%之间)。

[0367] 在一些实施例中,表达构建体是单顺反子的(例如,表达构建体编码包括第一基因产物和第二基因产物的单一融合蛋白)。在一些实施例中,表达构建体是多顺反子的(例如,表达构建体编码两种不同基因产物,例如两种不同的蛋白质或蛋白质片段)。

[0368] 多顺反子表达载体可以包括一个或多个(例如,1个、2个、3个、4个、5个或更多个)启动子。可以使用任何合适的启动子,例如,组成型启动子、诱导型启动子、内源性启动子、组织特异性启动子(例如,CNS特异性启动子)等。在一些实施例中,启动子是鸡β-肌动蛋白启动子(CBA启动子)、CAG启动子(例如,如Alexopoulou等人(2008)《BMC细胞生物学(BMC Cell Biol.)》9:2;doi:10.1186/1471-2121-9-2所描述)、CD68启动子或JeT启动子(例如,如Tornøe等人(2002)《基因(Gene)》297(1-2):21-32所描述)。在一些实施例中,启动子与编码第一基因产物、第二基因产物或者第一基因产物和第二基因产物的核酸序列可操作地连接。在一些实施例中,表达盒包括一个或多个另外的调节序列,包含但不限于转录因子结合序列、内含子剪接位点、poly(A)添加位点、增强子序列、阻遏物结合位点或前述的任何组合。

[0369] 在一些实施例中,编码第一基因产物的核酸序列和编码第二基因产物的核酸序列由编码内部核糖体进入位点(IRES)的核酸序列分离。IRES位点的实例例如由Mokrejs等人(2006)《核酸研究(Nucleic Acids Res.)》34(数据库发行号):D125-30描述。在一些实施例中,编码第一基因产物的核酸序列和编码第二基因产物的核酸序列由编码自切割肽的核酸序列分离。自切割肽的实例包含但不限于T2A、P2A、E2A、F2A、BmCPV 2A和BmIFV 2A,以及由Liu等人(2017)《科学报告(Sci Rep.)》7:2193所描述的自切割肽。在一些实施例中,自切割肽是T2A肽。

[0370] 在病理上,如PD和戈谢病等病症与主要由α-突触核蛋白(α-Syn)蛋白质构成的蛋白质聚集体的累积相关联。因此,在一些实施例中,本文所描述的分离的核酸包括减少或防止α-Syn蛋白的表达的抑制性核酸。编码抑制性核酸的序列可以放置在表达载体的非翻译区(例如,内含子、5'UTR、3'UTR等)中。

[0371] 在一些实施例中,抑制性核酸定位在表达构建体的内含子中,例如,在编码第一基因产物的序列上游的内含子中。抑制性核酸可以是双链RNA(dsRNA)、siRNA、shRNA、微小RNA(miRNA)、人工miRNA(amiRNA)或RNA适体。通常,抑制性核酸与靶RNA(例如,mRNA)的约6至约30(例如,6与30之间的任何整数,包含6和30)个连续核苷酸结合(例如,与其杂交)。在一些实施例中,抑制性核酸分子是miRNA或AmiRNA,例如靶向SNCA(编码α-Syn蛋白的基因)的miRNA。在一些实施例中,miRNA不包括与其杂交的SNCA mRNA区的任何错配(例如,miRNA被"完善")。在一些实施例中,抑制性核酸是shRNA(例如,靶向SNCA的shRNA)。在一些实施例中,靶向SNCA的shRNA由SEQ ID NO:47编码。在一些实施例中,靶向SNCA的shRNA由包括SEQ ID NO:20的序列编码。

[0372] 技术人员认识到,当提及包括或编码抑制性核酸(例如,dsRNA、siRNA、shRNA、miRNA、amiRNA等)的核酸序列时,本文所提供的序列中的任何一个或多个胸苷(T)核苷酸或尿苷(U)核苷酸可以被适用于与腺苷核苷酸的碱基配对(例如,通过沃森-克里克碱基对(Watson-Crick base pair))的任何其它核苷酸替换。例如,T可以替换为U,并且U可以替换为T。

[0373] 如本文所描述的分离的核酸可以单独存在或者作为载体的一部分存在。通常,载体可以是质粒、粘粒、噬菌粒、细菌人工染色体(BAC)或病毒载体(例如,腺病毒载体、腺相关病毒(AAV)载体、逆转录病毒载体、杆状病毒载体等)。在一些实施例中,载体是质粒(例如,包括如本文所描述的分离的核酸的质粒)。在一些实施例中,载体是重组AAV(rAAV)载体。在一些实施例中,rAAV载体是单链的(例如,单链DNA)。在一些实施例中,载体是杆状病毒载体(例如,苜蓿银纹夜蛾(Autographa californica)核型多角体病(AcNPV)载体)。

[0374] 通常,rAAV载体(例如,rAAV基因组)包括侧接两个AAV反向末端重复(ITR)序列的转基因(例如,包括以下中的每一个中的一个或多个的表达构建体:启动子、内含子、增强子序列、蛋白质编码序列、抑制性RNA编码序列、polyA尾部序列等)。在一些实施例中,rAAV载体的转基因包括如由本公开所描述的分离的核酸。在一些实施例中,rAAV载体的两个ITR序列中的每一个是全长ITR(例如,长度为大约145bp,并且含有功能性Rep结合位点(RBS)和末端解链位点(trs))。在一些实施例中,rAAV载体的ITR之一被截短(例如,缩短或非全长)。在一些实施例中,截短的ITR缺少功能性末端解链位点(trs)并且用于产生自互补的AAV载体(scAAV载体)。在一些实施例中,截短的ITR是ΔITR,例如,如McCarty等人(2003)《基因疗法

(Gene Ther.)》10(26):2112-8所描述。在一些实施例中,两个ITR序列中的每一个是AAV2 ITR序列。

[0375] 本公开的各方面涉及包括ITR的分离的核酸(例如,rAAV载体),所述ITR相对于野生型AAV ITR,例如相对于野生型AAV2 ITR(例如,SEQ ID NO:29)具有一个或多个修饰(例如,核酸添加、缺失、取代等)。野生型AAV2 ITR的结构在图19中示出。通常,野生型ITR包括125个核苷酸区,其自粘接以形成回文双链T形发夹结构,所述发夹结构由两个交叉臂(分别由被称为B/B'和C/C'的序列形成)、较长的茎区(由序列A/A'形成)和被称为"D"区的单链末端区组成。(图19)。通常,ITR的"D"区定位在由A/A'序列形成的茎区与含有rAAV载体的转基因的插入之间(例如,相对于ITR的末端定位在ITR的"内部"上或在rAAV载体的转基因插入片段或表达构建体的近侧)。在一些实施例中,"D"区包括SEQ ID NO:27中所示的序列。已观察到"D"区在rAAV载体通过衣壳蛋白衣壳化中发挥重要作用,例如,如Ling等人(2015)《分子和基因医学杂志(J Mol Genet Med)》9(3)所描述。

[0376] 本公开部分地基于以下令人惊讶的发现:与具有ITR和未修饰的(例如,野生型)ITR的rAAV载体相比,包括位于ITR"外部"(例如,相对于转基因插入片段或表达构建体,在ITR的末端的近侧)的"D"区的rAAV载体由AAV衣壳蛋白有效包裹。在一些实施例中,相对于具有野生型ITR序列的rAAV载体,具有经修饰的"D"序列(例如,在"外部"位置的"D"序列)的rAAV载体具有降低的毒性。

[0377] 在一些实施例中,经修饰的"D"序列相对于野生型"D"序列(例如,SEQ ID NO:27)包括至少一个核苷酸取代。经修饰的"D"序列相对于野生型"D"序列(例如,SEQ ID NO:27)可以具有至少1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个或多于10个核苷酸取代。在一些实施例中,经修饰的"D"序列相对于野生型"D"序列(例如,SEQ ID NO:27)包括至少10个、11个、12个、13个、14个、15个、16个、17个、18个或19个核酸取代。在一些实施例中,经修饰的"D"序列与野生型"D"序列(例如,SEQ ID NO:27)约10%至约99%(例如,10%、15%、20%、25%、30%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或99%)相同。在一些实施例中,经修饰的"D"序列包括SEQ ID NO:26中所示的序列,也被称为"S"序列,如Wang等人(1995)《分子生物学杂志(J Mol Biol)》250(5):573-80中所描述。

[0378] 如本公开所描述的分离的核酸或rAAV载体可以进一步包括"TRY"序列,例如,如SEQ ID NO:28中所示,或者如Francois等人,(2005)《病毒学杂志(J.Virol.)》79(17):11082-11094中所描述。在一些实施例中,TRY序列定位在分离的核酸或rAAV载体的ITR(例如,5'ITR)与表达构建体(例如,转基因编码插入)之间。

[0379] 在一些方面,本公开涉及包括如由本公开所描述的分离的核酸或rAAV载体的杆状病毒载体。在一些实施例中,杆状病毒载体是苜蓿银纹夜蛾核型多角体病(AcNPV)载体,例如,如Urabe等人(2002)《人类基因疗法(Hum Gene Ther)》13(16):1935-43和Smith等人(2009)《分子疗法(Mol Ther)》17(11):1888-1896所描述。

[0380] 在一些方面,本公开提供了包括如本文所描述的分离的核酸或载体的宿主细胞。宿主细胞可以是原核细胞或真核细胞。例如,宿主细胞可以是哺乳动物细胞、细菌细胞、酵母细胞、昆虫细胞等。在一些实施例中,宿主细胞是哺乳动物细胞,例如,HEK293T细胞。在一些实施例中,宿主细胞是细菌细胞,例如,大肠杆菌(E.coli)细胞。

[0381] rAAVs

[0382] 在一些方面，本公开涉及重组AAV(rAAV)，其包括编码如本文所描述的核酸的转基因(例如，如本文所描述的rAAV载体)。术语“rAAV”通常指病毒颗粒，所述病毒颗粒包括由一种或多种AAV衣壳蛋白包裹的rAAV载体。由本公开描述的rAAV可以包括具有选自AAV1、AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9和AAV10的血清型的衣壳蛋白。在一些实施例中，rAAV包括来自非人宿主的衣壳蛋白，例如，恒河猴AAV衣壳蛋白，如AAVrh.10、AAVrh.39等。在一些实施例中，本公开所描述的rAAV包括作为野生型衣壳蛋白的变体的衣壳蛋白，如相对于其来源于的野生型AAV衣壳蛋白包含至少1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个或多于10个(例如，15个、20个、25个、50个、100个等)氨基酸取代(例如，突变)的衣壳蛋白质变体。在一些实施例中，AAV衣壳蛋白变体是AAV1RX衣壳蛋白，例如，如Albright等人《分子疗法》2018年2月7;26(2):510-523所描述。在一些实施例中，衣壳蛋白变体是AAV TM6衣壳蛋白，例如，如Rosario等人《分子疗法-方法和临床发展(Mol Ther Methods Clin Dev.)》2016;3:16026所描述。

[0383] 在一些实施例中，本公开所描述的rAAV容易地扩散通过CNS，特别是当引入到CSF空间中或直接引入到脑实质中时。因此，在一些实施例中，本公开所描述的rAAV包括能够穿过血脑屏障(BBB)的衣壳蛋白。例如，在一些实施例中，rAAV包括具有AAV9或AAVrh.10血清型的衣壳蛋白。例如，Samulski等人(1989)《病毒学杂志(J Virol.)》63(9):3822-8和Wright(2009)《人类基因疗法》20(7):698-706描述了rAAV的产生。在一些实施例中，rAAV包括特异性或优先靶向骨髓细胞，例如，小胶质细胞的衣壳蛋白。

[0384] 在一些实施例中，本公开提供了被称为“PR001”的rAAV。此rAAV表达人GBA1的密码子优化的编码序列(SEQ ID NO:15)。在一些实施例中，本公开提供了被称为“PR001A”的rAAV。PR001A(AAV9.CBA.GBA1.A)是递送功能性人GBA1基因，从而导致功能性人Gcase的表达增加的rAAV。PR001A载体插入包括鸡β-肌动蛋白(CBA)启动子元件，所述启动子元件包括4个部分：巨细胞病毒(CMV)增强子、CBA启动子、外显子1和内含子(int)，以组成性地表达人GBA1的密码子优化编码序列(SEQ ID NO:15)。3’区还含有土拨鼠肝炎病毒转录后调控元件(WPRE)，随后为牛生长激素多腺苷酸化信号尾部。在启动子区的5’端处包含三个充分描述的转录调节激活位点：TATA、RBS和YY1(参见例如，Francois等人，(2005)《病毒学杂志》79(17):11082-11094)。侧接反向末端重复序列(ITR)允许正确包装间插序列。提供了5’ITR序列的两种变体(图7，套印框，底部序列)；这些变体在ITR的20个核苷酸“D”区内具有若干个核苷酸差异，据信这会影响包装和表达的效率。PR001A含有图7所示的“D”结构域核苷酸序列(套印框，顶部序列;SEQ ID NO:30)。在一些实施例中，本公开提供了被称为“PR001B”的变体载体，其携带突变的“D”结构域(在本文中被称为“S”结构域，其中核苷酸变化通过图7中SEQ ID NO:31中的底纹示出)。除了不同的5’ITR序列之外，PR001B与PR001A相同。骨架含有赋予对卡那霉素的抗性的基因以及防止反向包装的填充序列。描绘编码rAAV载体的质粒的示意图示出于图55中。SEQ ID NO:39提供了图55中所示的编码PR001A载体的质粒的第一链的核苷酸序列(按5’至3’顺序)。SEQ ID NO:40提供了图55中所示的编码PR001A载体的质粒的第二链的核苷酸序列(按5’至3’顺序)。PR001A包括AAV9衣壳蛋白。

[0385] 在一些实施例中，本公开提供了被称为“PR004”的rAAV。此rAAV表达人GBA1的密码子优化编码序列(SEQ ID NO:15)和靶向减少α-突触核蛋白并包括SEQ ID NO:20的核苷酸序列的抑制性核酸编码序列。在一些实施例中，本公开提供了被称为“PR004X”的rAAV。在一

些实施例中,本公开提供了被称为“PR004Y”的rAAV。PR004X和PR004Y中的每一个是(i)递送功能性人GBA1基因从而导致功能性人Gcase的表达增加并且(ii)编码通过RNA干扰降低α-突触核蛋白水平的shRNA的rAAV。PR004载体插入包括鸡β-肌动蛋白(CBA)启动子元件,所述启动子元件包括4个部分:巨细胞病毒(CMV)增强子、CBA启动子、外显子1和内含子(int),以组成性地表达人GBA1的密码子优化编码序列(SEQ ID NO:15),以及包含SEQ ID NO:20的核苷酸序列的抑制性核酸编码序列。3'区还含有土拨鼠肝炎病毒转录后调控元件(WPRE),随后为牛生长激素多腺苷酸化信号尾部。在启动子区的5'端处包含三个充分描述的转录调节激活位点:TATA、RBS和YY1(参见例如,Francois等人,(2005)《病毒学杂志》79(17):11082-11094)。侧接反向末端重复序列(ITR)允许正确包装间插序列。骨架含有赋予对卡那霉素的抗性的基因以及防止反向包装的填充序列。描绘编码rAAV PR004X载体的质粒的示意图示出于图56中。SEQ ID NO:41提供了图56中所示的编码PR004X载体的质粒的第一链的核苷酸序列(按5'至3'顺序)。SEQ ID NO:42提供了图56中所示的编码PR004X载体的质粒的第二链的核苷酸序列(按5'至3'顺序)。描绘编码rAAV PR004Y载体的质粒的示意图示出于图57中。SEQ ID NO:43提供了图57中所示的编码PR004Y载体的质粒的第一链的核苷酸序列(按5'至3'顺序)。SEQ ID NO:44提供了图57中所示的编码PR004Y载体的质粒的第二链的核苷酸序列(按5'至3'顺序)。PR004X和PR004Y各自包括AAV9衣壳蛋白。PR004X和PR004Y载体被设计成减少所有形式的α-突触核蛋白,包含聚集形式和细胞外形式的累积。

[0386] 在一些实施例中,本公开提供了被称为“PR014”的rAAV。此rAAV表达靶向减少α-突触核蛋白并包括SEQ ID NO:20的核苷酸序列的抑制性核酸编码序列。在一些实施例中,本公开提供了被称为“PR014X”的rAAV。PR014X是编码通过RNA干扰降低α-突触核蛋白水平的shRNA的rAAV。PR014X载体插入包括鸡β-肌动蛋白(CBA)启动子元件,所述启动子元件包括4个部分:巨细胞病毒(CMV)增强子、CBA启动子、外显子1和内含子(int),以组成性地表达包含SEQ ID NO:20的核苷酸序列的抑制性核酸编码序列。3'区还含有土拨鼠肝炎病毒转录后调控元件(WPRE),随后为牛生长激素多腺苷酸化信号尾部。在启动子区的5'端处包含三个充分描述的转录调节激活位点:TATA、RBS和YY1(参见例如,Francois等人,(2005)《病毒学杂志》79(17):11082-11094)。侧接反向末端重复序列(ITR)允许正确包装间插序列。骨架含有赋予对卡那霉素的抗性的基因以及防止反向包装的填充序列。描绘编码rAAV载体的质粒的示意图示出于图58中。SEQ ID NO:45提供了图60中所示的编码PR014X载体的质粒的第一链的核苷酸序列(按5'至3'顺序)。SEQ ID NO:46提供了图60中所示的编码PR014X载体的质粒的第二链的核苷酸序列(按5'至3'顺序)。SEQ ID NO:47提供了图58中所示的编码PR014X载体的质粒中的shRNA的第一链的核苷酸序列(按5'至3'顺序)。SEQ ID NO:48提供了图58中所示的编码PR014X载体的质粒中的shRNA的第二链的核苷酸序列(按5'至3'顺序)。PR014X包括AAV9衣壳蛋白。PR014X载体被设计成减少所有形式的α-突触核蛋白,包含聚集形式和细胞外形式的累积。

[0387] 在一些实施例中,在杆状病毒载体表达系统(BEVS)中产生如本公开所描述的rAAV(例如,包括由AAV衣壳蛋白包裹以形成rAAV衣壳颗粒的重组rAAV基因组)。例如,Urabe等人(2002)《人类基因疗法》13(16):1935-43、Smith等人(2009)《分子疗法》17(11):1888-1896、美国专利第8,945,918号、美国专利第9,879,282号和国际PCT公开WO 2017/184879描述了使用BEVS产生rAAV。然而,可以使用任何合适的方法(例如,使用重组rep和cap基因)产生

rAAV。在一些实施例中，本文所公开的rAAV在HEK293(人胚肾)细胞中产生。

[0388] 药物组合物

[0389] 在一些方面，本公开提供了包括如本文所描述的分离的核酸或rAAV和药学上可接受的载体的药物组合物。如本文所使用的，术语“药学上可接受的”是指不消除化合物的生物学活性或性质并且相对无毒的材料，如载体或稀释剂，例如所述材料可以在不引起不期望的生物效应或者不会以有害的方式与含有所述材料的组合物的任何组分相互作用的情况下施用于个体。

[0390] 如本文所使用的，术语“药学上可接受的载体”意指如液体或固体填充剂、稳定剂、分散剂、悬浮剂、稀释剂、赋形剂、增稠剂、溶剂或包封材料等药学上可接受的材料、组合物或载体，涉及在患者内载运或输送在本发明内有用的化合物或向患者载运或输送在本发明内有用的化合物，使得所述化合物可以执行其预期功能。可以包含在本发明实践中使用的药物组合物中的另外的成分是本领域已知的并且描述于例如《雷明顿氏药物科学(Remington’s Pharmaceutical Sciences)》(Genaro编辑，宾夕法尼亚州伊斯顿市的麦克出版公司(Mack Publishing Co.,Easton,PA),1985)中，其通过引用并入本文。

[0391] 本文所提供的组合物(例如，药物组合物)可以通过任何途径施用，包含肠内(例如，口服)、肠外、静脉内、肌肉内、动脉内、髓内、鞘内、皮下、脑室内、经皮、皮间、直肠、阴道内、腹膜内、局部(如通过粉末、软膏、乳膏和/或滴剂)、粘膜、鼻部、口腔、舌下、通过气管内滴注、支气管滴注和/或吸入和/或作为口腔喷雾剂、鼻喷雾剂和/或气雾剂。具体地，考虑的途径是口服施用、静脉内施用(例如，全身静脉内注射)、通过血液和/或淋巴供应的区域施用和/或直接施用于患处。最适当的施用途径通常将取决于各种因素，包含药剂的性质(例如，其在胃肠道的环境中的稳定性)和/或受试者的病状(例如，受试者是否能够耐受口服施用)。在某些实施例中，本文所描述的化合物或药物组合物适于局部施用于受试者的眼部。

[0392] 在一些实施例中，本公开提供了包括上文所描述的以水性溶液形式呈现的PR001 rAAV的PR001(例如，PR001A)成品药物产品。在一些实施例中，最终调配物缓冲液包括约20mM Tris[pH 8.0]、约1mM $MgCl_2$、约200mM NaCl和约0.001％[w/v]泊洛沙姆188。在一些实施例中，成品药物产品和最终调配物缓冲液适于小脑延髓池内(ICM)注射或静脉内施用。

[0393] 本公开涵盖(A)rAAV的治疗性组合，所述rAAV包括：(a)rAAV载体，所述rAAV载体包括核酸，所述核酸包括表达构建体，所述表达构建体包括与编码Gcase蛋白的转基因插入片段可操作地连接的启动子，其中所述转基因插入片段包括SEQ ID NO:15的核苷酸序列；以及(b)AAV9衣壳蛋白；以及(B)西罗莫司，所述治疗性组合用于治疗受试者的1型戈谢病、2型戈谢病、3型戈谢病或具有GBA1突变的帕金森氏病的方法。

[0394] 本公开涵盖(A)rAAV的治疗性组合，所述rAAV包括：(i)rAAV载体，所述rAAV载体包括核酸，所述核酸包括表达构建体，所述表达构建体包括与转基因插入片段可操作地连接的启动子，所述转基因插入片段包括：(a)包括SEQ ID NO:15的核苷酸序列的Gcase蛋白编码序列；以及(b)包括SEQ ID NO:20的核苷酸序列的抑制性核酸编码序列；以及(ii)AAV9衣壳蛋白；以及(B)西罗莫司，所述治疗性组合用于治疗受试者的突触核蛋白病或震颤麻痹的方法。

[0395] 本公开涵盖以下的治疗性组合：(A)rAAV，所述rAAV包括：(i)rAAV载体，所述rAAV载体包括核酸，所述核酸包括表达构建体，所述表达构建体包括与转基因插入片段可操作

地连接的启动子,所述转基因插入片段包括抑制性核酸编码序列,所述抑制性核酸编码序列包括SEQ ID NO:20的核苷酸序列;以及(ii)AAV9衣壳蛋白;以及(B)西罗莫司,所述治疗性组合用于治疗受试者的突触核蛋白病或震颤麻痹的方法。

[0396] 本文提供了一种重组腺相关病毒(rAAV)的治疗性组合,所述rAAV包括:(i)rAAV载体,所述rAAV载体包括核酸,所述核酸包括表达构建体,所述表达构建体包括与编码Gcase蛋白的转基因插入片段可操作地连接的启动子,其中所述转基因插入片段包括SEQ ID NO:15的核苷酸序列;以及(ii)腺相关病毒(AAV)9衣壳蛋白;以及一种或多种免疫抑制剂,所述治疗性组合用于治疗受试者的1型戈谢病、2型戈谢病、3型戈谢病或具有GBA1突变的帕金森氏病的方法。本文提供了一种重组腺相关病毒(rAAV)的治疗性组合,所述rAAV包括:(i)rAAV载体,所述rAAV载体包括核酸,所述核酸包括表达构建体,所述表达构建体包括与编码Gcase蛋白的转基因插入片段可操作地连接的启动子,其中所述转基因插入片段包括SEQ ID NO:15的核苷酸序列;以及(ii)腺相关病毒(AAV)9衣壳蛋白;以及以下中的一种或多种:(A)西罗莫司;(B)甲基强的松龙;(C)利妥昔单抗;以及(D)强的松,所述治疗性组合用于治疗受试者的1型戈谢病、2型戈谢病、3型戈谢病或具有GBA1突变的帕金森氏病的方法。

[0397] 本文提供了一种重组腺相关病毒(rAAV)的治疗性组合,所述rAAV包括:(i)rAAV载体,所述rAAV载体包括核酸,所述核酸包括表达构建体,所述表达构建体包括与编码Gcase蛋白的转基因插入片段可操作地连接的启动子,其中所述转基因插入片段包括SEQ ID NO:15的核苷酸序列;以及(ii)腺相关病毒(AAV)9衣壳蛋白;以及以下中的一种或多种:(A)西罗莫司;(B)甲基强的松龙;(C)利妥昔单抗;以及(D)强的松,所述治疗性组合用于抑制患有或怀疑患有1型戈谢病、2型戈谢病、3型戈谢病或具有GBA1突变的帕金森氏病的受试者的免疫应答的方法。

[0398] 本文提供了一种重组腺相关病毒(rAAV)的治疗性组合,所述rAAV包括:(i)rAAV载体,所述rAAV载体包括核酸,所述核酸包括表达构建体,所述表达构建体包括与转基因插入片段可操作地连接的启动子,所述转基因插入片段包括:(a)包括SEQ ID NO:15的核苷酸序列的Gcase蛋白编码序列;以及(b)包括SEQ ID NO:20的核苷酸序列的抑制性核酸编码序列;以及(ii)腺相关病毒(AAV)9衣壳蛋白;以及一种或多种免疫抑制剂,所述治疗性组合用于治疗受试者的突触核蛋白病或震颤麻痹的方法。本文提供了一种重组腺相关病毒(rAAV)的治疗性组合,所述rAAV包括:(i)rAAV载体,所述rAAV载体包括核酸,所述核酸包括表达构建体,所述表达构建体包括与转基因插入片段可操作地连接的启动子,所述转基因插入片段包括:(a)包括SEQ ID NO:15的核苷酸序列的Gcase蛋白编码序列;以及(b)包括SEQ ID NO:20的核苷酸序列的抑制性核酸编码序列;以及(ii)腺相关病毒(AAV)9衣壳蛋白;以及以下中的一种或多种:(A)西罗莫司;(B)甲基强的松龙;(C)利妥昔单抗;以及(D)强的松,所述治疗性组合用于治疗受试者的突触核蛋白病或震颤麻痹的方法。

[0399] 本文提供了一种重组腺相关病毒(rAAV)的治疗性组合,所述rAAV包括:(i)rAAV载体,所述rAAV载体包括核酸,所述核酸包括表达构建体,所述表达构建体包括与转基因插入片段可操作地连接的启动子,所述转基因插入片段包括:(a)包括SEQ ID NO:15的核苷酸序列的Gcase蛋白编码序列;以及(b)包括SEQ ID NO:20的核苷酸序列的抑制性核酸编码序列;以及(ii)腺相关病毒(AAV)9衣壳蛋白;以及以下中的一种或多种:(A)西罗莫司;(B)甲基强的松龙;(C)利妥昔单抗;以及(D)强的松,所述治疗性组合用于抑制患有或怀疑患有突

触核蛋白病或震颤麻痹的受试者的免疫应答的方法。

[0400] 本文提供了一种重组腺相关病毒(rAAV)的治疗性组合,所述rAAV包括:(i)rAAV载体,所述rAAV载体包括核酸,所述核酸包括表达构建体,所述表达构建体包括与转基因插入片段可操作地连接的启动子,所述转基因插入片段包括抑制性核酸编码序列,所述抑制性核酸编码序列包括SEQ ID NO:20的核苷酸序列;以及(ii)腺相关病毒(AAV)9衣壳蛋白;以及一种或多种免疫抑制剂,所述治疗性组合用于治疗受试者的突触核蛋白病或震颤麻痹的方法。本文提供了一种重组腺相关病毒(rAAV)的治疗性组合,所述rAAV包括:(i)rAAV载体,所述rAAV载体包括核酸,所述核酸包括表达构建体,所述表达构建体包括与转基因插入片段可操作地连接的启动子,所述转基因插入片段包括抑制性核酸编码序列,所述抑制性核酸编码序列包括SEQ ID NO:20的核苷酸序列;以及(ii)腺相关病毒(AAV)9衣壳蛋白;以及以下中的一种或多种:(A)西罗莫司;(B)甲基强的松龙;(C)利妥昔单抗;以及(D)强的松,所述治疗性组合用于治疗受试者的突触核蛋白病或震颤麻痹的方法。

[0401] 本文提供了一种重组腺相关病毒(rAAV)的治疗性组合,所述rAAV包括:(i)rAAV载体,所述rAAV载体包括核酸,所述核酸包括表达构建体,所述表达构建体包括与转基因插入片段可操作地连接的启动子,所述转基因插入片段包括抑制性核酸编码序列,所述抑制性核酸编码序列包括SEQ ID NO:20的核苷酸序列;以及(ii)腺相关病毒(AAV)9衣壳蛋白;以及以下中的一种或多种:(A)西罗莫司;(B)甲基强的松龙;(C)利妥昔单抗;以及(D)强的松,所述治疗性组合用于抑制患有或怀疑患有突触核蛋白病或震颤麻痹的受试者的免疫应答的方法。

[0402] 在一些实施例中,所述治疗性组合包括约$5x10^{13}$个vg至约$5x10^{14}$个vg的所述rAAV。在一些实施例中,所述治疗性组合包括约$1.4x10^{14}$个vg至约$2.8x10^{14}$个vg的所述rAAV。

[0403] 在一些实施例中,治疗性组合包括另外的免疫抑制剂,所述另外的免疫抑制剂不是西罗莫司、甲基强的松龙、利妥昔单抗或强的松。

[0404] 方法

[0405] 本公开的各方面涉及将经工程化以表达CNS疾病相关基因产物的组合物(例如,分离的核酸、rAAV等)递送至一个或多个细胞(例如,受试者的一个或多个细胞)。

[0406] 如在实例部分中进一步描述的,本公开的各方面涉及表达抑制或防止胶质瘢痕(例如,胶质增生)的基因产物的组合物。因此,在一些方面,本公开提供了用于抑制受试者的胶质瘢痕的方法,所述方法包括向所述受试者施用如本文所,描述的组合物(例如,分离的核酸或rAAV)。

[0407] 在一些实施例中,受试者患有或怀疑患有中枢神经系统(CNS)疾病。在一些实施例中,受试者患有戈谢病(GD)。在一些实施例中,受试者患有神经病变型GD(nGD)(例如,2型GD或3型GD)。在一些实施例中,受试者患有1型GD。在一些实施例中,患有GD的受试者不具有PD或PD症状。在一些实施例中,受试者患有震颤麻痹。在一些实施例中,受试者患有帕金森氏病(PD)。在一些实施例中,受试者患有非典型帕金森病症。在一些实施例中,非典型帕金森病症是路易体痴呆、进行性核上性麻痹、多系统萎缩或皮质基底综合征。

[0408] 本公开部分地基于用于在受试者中表达一种或多种CNS疾病相关基因产物以治疗CNS相关疾病的组合物。一种或多种CNS疾病相关基因产物可以由一种或多种分离的核酸或rAAV载体编码。在一些实施例中,向受试者施用编码一种或多种(1种、2种、3种、4种、5种或

更多种)基因产物的单个载体(例如,分离的核酸、rAAV等)。在一些实施例中,向受试者施用多种(例如,2种、3种、4种、5种或更多种)载体(例如,分离的核酸、rAAV等),其中每种载体编码不同的CNS疾病相关基因产物。在一些实施例中,组合物表达GBA或其一部分。在一些实施例中,组合物表达靶向α-突触核蛋白的干扰RNA。在一些实施例中,组合物表达GBA或其一部分以及靶向α-突触核蛋白的干扰RNA。

[0409] CNS相关疾病可以是神经退行性疾病、突触核蛋白病、tau蛋白病或溶酶体贮积病。表4中列出了神经退行性疾病及其相关基因的实例。

[0410] "突触核蛋白病"是指特征在于受试者(例如,相对于健康受试者,例如未患有突触核蛋白病的受试者)的α-突触核蛋白(SNCA的基因产物)的累积的疾病或病症。表5中列出了突触核蛋白病及其相关基因的实例。

[0411] "tau蛋白病"是指特征在于异常Tau蛋白在受试者中的累积(例如,相对于未患有tau蛋白病的健康受试者)的疾病或病症。表6中列出了tau蛋白病及其相关基因的实例。

[0412] "溶酶体贮积病"是指特征在于受试者的溶酶体中的毒性细胞产物的异常累积的疾病。表7中列出了溶酶体贮积病及其相关基因的实例。

[0413] 如本文所使用的,"治疗(treat/treating)"是指(a)预防或延迟CNS疾病的发作;(b)降低CNS疾病的严重程度;(c)减少或预防CNS疾病的特征性症状的发展;(d)和/或预防CNS疾病的特征性症状的恶化。CNS疾病的症状可以包含,例如,运动功能障碍(例如,颤抖、僵硬、行动迟缓、行走困难、瘫痪)、认知功能障碍(例如,痴呆、抑郁、焦虑、精神病)、记忆困难以及情绪和行为功能障碍。

[0414] 本公开部分地基于用于在受试者中表达一种或多种PD相关基因产物的组合物,所述组合物共同作用(例如,协同作用)以治疗帕金森氏病。

[0415] 因此,在一些方面,本公开提供了用于治疗患有帕金森氏病的受试者的方法,所述方法包括向所述受试者施用如本公开所描述的组合物(例如,包括分离的核酸或载体或rAAV的组合物)。

[0416] 本公开部分地基于用于在受试者中表达一种或多种病(CNS疾病相关基因产物以治疗戈谢病(GD)的组合物。GD的诊断通过GBA1中存在双等位基因致病性突变或发现外周血白细胞中的正常GCase活性小于15%来建立。引起更严重的酶缺乏的GBA1突变与疾病发病较早、症状进展较快以及出现神经症状的可能性较高相关联(Svennerholm等人,《临床遗传学(Clin Genet.)》1986;30(2):131-5;Cox,《生物制品学(Biologics)》.2010;4:299-313)。GD在传统上被细分为三种更宽泛的表型,其通过存在神经性表现(神经病变型[2型GD和3型GD;nGD]或非神经病变型[1型GD])来区分。

[0417] 在nGD内,2型GD与3型GD之间的区别可以表示CNS和内脏症状的急性至慢性呈递的表型连续体。患有被称为神经病变型形式的2型GD的婴儿经典地呈现早期延髓体征(例如,斜视和/或吞咽困难)、角弓反张或痉挛状态、核上性凝视麻痹以及未能实现运动、行为和认知里程碑。大多数儿童在2岁前死亡。(Goker-Alpan等人,《儿科杂志(J Pediatr.)》2003;143(2):273-6;Roshan和Sidransky,《疾病(Diseases)》.2017;5(1):pii:E10)。在3型GD中,标志性临床体征是缓慢的水平核上性凝视麻痹,其它神经系统表现从认知障碍到共济失调,到癫痫发作,到儿童或青少年早期死亡(Goker-Alpan等人,《儿科杂志》2003;143(2):273-6;Tylki-Szymańska等人,《遗传性代谢病杂志(J Inherit Metab Dis.)》2010;33(4):

339-46)。

[0418] 因此,在一些方面,本公开提供了用于治疗患有神经病变型戈谢病的受试者的方法,所述方法包括向所述受试者施用如本公开所描述的组合物(例如,包括分离的核酸或载体或rAAV的组合物)。

[0419] 在一些方面,本公开提供了用于治疗患有2型戈谢病或3型戈谢病的受试者的方法,所述方法包括向所述受试者施用rAAV,所述rAAV包括核酸,所述核酸包括表达构建体,所述表达构建体包括与编码Gcase蛋白的序列可操作地连接的启动子,其中所述编码Gcase蛋白的序列包括SEQ ID NO:15;并且其中所述rAAV包括具有AAV9血清型的衣壳蛋白。在一些实施例中,本公开提供了用于治疗患有2型戈谢病或3型戈谢病的受试者的神经症状的方法,所述方法包括向所述受试者施用rAAV,所述rAAV包括核酸,所述核酸包括表达构建体,所述表达构建体包括与编码Gcase蛋白的序列可操作地连接的启动子,其中所述编码Gcase蛋白的序列包括SEQ ID NO:15;并且其中所述rAAV包括具有AAV9血清型的衣壳蛋白。在一些实施例中,2型戈谢病或3型戈谢病的神经症状是核上性凝视麻痹、肌张力减退、癫痫发作、痉挛状态、运动功能减退、运动或行为发育延迟或障碍、认知延迟或障碍、共济失调、意向性震颤或僵硬。

[0420] 在一些实施例中,患有某些形式的戈谢病的患者表现出周围神经病变的症状,例如,如Biegstraaten等人(2010)《脑(Brain)》133(10):2909-2919中所描述。在一些实施例中,本公开提供了用于治疗患有戈谢病(例如,1型戈谢病)的受试者的周围神经病变的方法,所述方法包括向所述受试者施用:(A)rAAV,所述rAAV包括核酸,所述核酸包括表达构建体,所述表达构建体包括与编码Gcase蛋白的序列可操作地连接的启动子,其中所述编码Gcase蛋白的序列包括SEQ ID NO:15;并且其中所述rAAV包括具有AAV9血清型的衣壳蛋白;以及(B)西罗莫司。在一些实施例中,本公开提供了用于治疗受试者的1型戈谢病的方法,所述方法包括向所述受试者施用:(A)rAAV,所述rAAV包括核酸,所述核酸包括表达构建体,所述表达构建体包括与编码Gcase蛋白的序列可操作地连接的启动子,其中所述编码Gcase蛋白的序列包括SEQ ID NO:15;并且其中所述rAAV包括具有AAV9血清型的衣壳蛋白;以及(B)西罗莫司。在一些实施例中,向受试者静脉内施用rAAV以治疗1型戈谢病。

[0421] 在一些实施例中,本公开提供了用于治疗患有具有葡糖脑苷脂酶-1(GBA1)突变(例如,致病性GBA1突变)的帕金森氏病(PD)的受试者的方法,所述方法包括向所述受试者施用rAAV,所述rAAV包括核酸,所述核酸包括表达构建体,所述表达构建体包括与编码Gcase蛋白的序列可操作地连接的启动子,其中所述编码Gcase蛋白的序列包括SEQ ID NO:15;并且其中所述rAAV包括具有AAV9血清型的衣壳蛋白。在一些实施例中,本公开提供了用于治疗患有具有GBA1突变的PD的受试者的症状的方法,所述方法包括向所述受试者施用rAAV,所述rAAV包括核酸,所述核酸包括表达构建体,所述表达构建体包括与编码Gcase蛋白的序列可操作地连接的启动子,其中所述编码Gcase蛋白的序列包括SEQ ID NO:15;并且其中所述rAAV包括具有AAV9血清型的衣壳蛋白。在一些实施例中,PD的运动症状是静止性震颤、运动徐缓、僵硬或步态困难。在一些实施例中,PD的非运动症状是认知障碍/痴呆、抑郁、妄想/幻觉、思觉失调、睡眠障碍、便秘、泌尿系症状、疼痛、嗅觉丧失症、吞咽困难或低血压。在一些实施例中,患有PD的受试者具有一个GBA1突变。在一些实施例中,患有PD的受试者具有两个GBA1突变。

[0422] 在一些实施例中，以范围为约$1x10^{12}$个载体基因组(vg)至约$1x10^{15}$个vg、或约$1x10^{13}$个vg至约$5x10^{14}$个vg、或约$5x10^{13}$个vg至约$5x10^{14}$个vg、或约$3.4x10^{13}$个vg至约$1x10^{14}$个vg、或约$1x10^{14}$个vg至约$5x10^{14}$个vg、或约$1x10^{14}$个vg至约$3x10^{14}$个vg、或约$1x10^{14}$个vg至约$2x10^{14}$个vg的剂量向受试者施用编码Gcase蛋白的rAAV，所述rAAV用于治疗1型戈谢病、2型戈谢病或3型戈谢病或具有GBA1突变的帕金森氏病。总剂量假设成年人脑质量为1.3kg(Hakim和Mathieson,《神经学(Neurology)》,1979;29(9Pt 1):1209-14)。对于儿科受试者，剂量可以相应地按比例调整。在一些实施例中，针对儿科受试者的剂量可以使用按年龄进行的脑重量估计，例如，基于包含来自21份尸检和神经成像出版物的推导出的脑重量的复合数据集(Vannucci和Vannucci,《美国体质人类学杂志(Am J Phys Anthropol.)》2019;168(2):247-61)来调整。

[0423] 在一些实施例中，以约$1x10^{14}$个vg、约$2x10^{14}$个vg、约$3x10^{14}$个vg、约$4x10^{14}$个vg或约$5x10^{14}$个vg的剂量向受试者(例如，人类成年受试者)施用用于治疗具有GBA1突变的帕金森氏病的编码Gcase蛋白的rAAV。在一些实施例中，以约$1x10^{14}$个vg(约$7.7x10^{10}$个vg/g脑)、约$2x10^{14}$个vg(约$1.5x10^{11}$个vg/g脑)或约$3x10^{14}$个vg(约$1.9x10^{11}$个vg/g脑)的剂量向受试者(例如，人类成年受试者)施用用于治疗具有GBA1突变的帕金森氏病的rAAV。在一些实施例中，以约$1.4x10^{14}$个vg或约$2.8x10^{14}$个vg的剂量向受试者(例如，人类成年受试者)施用用于治疗具有GBA1突变的帕金森氏病的rAAV。

[0424] 在一些实施例中，以范围为约$5x10^{10}$个vg/g脑至约$5x10^{11}$个vg/g脑的剂量向受试者(例如，人类儿科受试者)施用用于治疗2型或3型戈谢病的编码Gcase蛋白的rAAV。在一些实施例中，以约$1.3x10^{11}$个vg/g脑(约$5.9x10^{13}$个vg至约$1.7x10^{14}$个vg)的剂量向受试者(例如，人类儿科受试者)施用用于治疗2型戈谢病或3型戈谢病的rAAV。在一些实施例中，以约$1.9x10^{11}$个vg/g脑(约$8.6x10^{13}$个vg至约$2.5x10^{14}$个vg)的剂量向受试者(例如，人类儿科受试者)施用用于治疗2型戈谢病或3型戈谢病的rAAV。在一些实施例中，以约$7.7x10^{10}$个vg/g脑(约$3.4x10^{13}$个vg至约$1x10^{14}$个vg)的剂量或约$2.3x10^{11}$个vg/g脑(约$1x10^{14}$个vg至约$3x10^{14}$个vg)的剂量向受试者(例如，人类儿科受试者)施用用于治疗2型戈谢病或3型戈谢病的rAAV。

[0425] 在一些实施例中，用于治疗1型、2型或3型戈谢病或具有GBA1突变的帕金森氏病的编码Gcase蛋白的rAAV作为单剂量向受试者施用，并且随后不向受试者施用rAAV。

[0426] 在一些实施例中，编码Gcase蛋白的rAAV通过单次枕骨下注射施用到小脑延髓池中。在一些实施例中，到小脑延髓池内的注射在射线照相术引导下进行。

[0427] 在一些实施例中，本公开提供了用于治疗患有突触核蛋白病或震颤麻痹的受试者的方法，所述方法包括向所述受试者施用：(A)rAAV，所述rAAV包括核酸，所述核酸包括表达构建体，所述表达构建体包括转基因，所述转基因包括(a)包括SEQ ID NO:15的核苷酸序列的Gcase蛋白编码序列；以及(b)包括SEQ ID NO:20或SEQ ID NO:47的核苷酸序列的抑制性核酸序列；其中所述rAAV包括具有AAV9血清型的衣壳蛋白；以及(B)西罗莫司。

[0428] 在一些实施例中，本公开提供了用于治疗患有以下疾病的受试者的方法：多系统萎缩、帕金森氏病、具有GBA1突变的帕金森氏病、路易体病、路易体痴呆、具有GBA1突变的路易体痴呆、进行性核上性麻痹或皮质基底综合征，所述方法包括向所述受试者施用：(A)rAAV，所述rAAV包括核酸，所述核酸包括表达构建体，所述表达构建体包括转基因，所述转

基因包括(a)包括SEQ ID NO:15的核苷酸序列的Gcase蛋白编码序列;以及(b)包括SEQ ID NO:20或SEQ ID NO:47的核苷酸序列的抑制性核酸序列;其中所述rAAV包括具有AAV9血清型的衣壳蛋白;以及(B)西罗莫司。

[0429] 在一些实施例中,本公开提供了用于治疗患有突触核蛋白病或震颤麻痹的受试者的方法,所述方法包括向所述受试者施用:(A)rAAV,所述rAAV包括核酸,所述核酸包括表达构建体,所述表达构建体包括转基因,所述转基因包括抑制性核酸序列,所述抑制性核酸序列包括SEQ ID NO:20或SEQ ID NO:47的核苷酸序列;其中所述rAAV包括具有AAV9血清型的衣壳蛋白;以及(B)西罗莫司。

[0430] 在一些实施例中,本公开提供了用于治疗患有以下疾病的受试者的方法:多系统萎缩、帕金森氏病、具有GBA1突变的帕金森氏病、路易体病、路易体痴呆、具有GBA1突变的路易体痴呆、进行性核上性麻痹或皮质基底综合征,所述方法包括向所述受试者施用:(A)rAAV,所述rAAV包括核酸,所述核酸包括表达构建体,所述表达构建体包括转基因,所述转基因包括抑制性核酸序列,所述抑制性核酸序列包括SEQ ID NO:20或SEQ ID NO:47的核苷酸序列;其中所述rAAV包括具有AAV9血清型的衣壳蛋白;以及(B)西罗莫司。

[0431] 受试者通常是哺乳动物,优选地人类。在一些实施例中,受试者的年龄介于1月龄与10岁之间(例如,1月龄、2月龄、3月龄、4月龄、5月龄、6月龄、7月龄、8月龄、9月龄、10月龄、11月龄、12月龄、13月龄、14月龄、15月龄、16月龄、17月龄、18月龄、19月龄、20月龄、21月龄、22月龄、23月龄、24月龄、3岁、4岁、5岁、6岁、7岁、8岁、9岁、10岁或其之间的任何年龄)。在一些实施例中,受试者介于2岁与20岁之间。在一些实施例中,受试者介于30岁与100岁之间。在一些实施例中,受试者大于55岁。

[0432] 在一些实施例中,直接向受试者的CNS施用组合物,例如通过直接注射到受试者的脑和/或脊髓中。CNS直接施用模式的实例包含但不限于脑内注射、脑室内注射、脑池内注射、实质内注射、鞘内注射和前述的任何组合。在一些实施例中,通过小脑延髓池内(ICM)注射向受试者施用组合物。在一些实施例中,到受试者的CNS中的直接注射引起受试者的中脑、纹状体和/或大脑皮质中的转基因表达(例如,第一基因产物、第二基因产物和第三基因产物(如果适用)的表达)。在一些实施例中,到CNS中的直接注射引起受试者的脊髓和/或CSF中的转基因表达(例如,第一基因产物、第二基因产物和第三基因产物(如果适用)的表达)。

[0433] 在一些实施例中,到受试者的CNS的直接注射包括对流增强递送(CED)。对流增强递送是治疗策略,其涉及脑的外科手术暴露和将小直径导管直接放置在脑的目标区域中,随后将治疗剂(例如,如本文所述的组合物或rAAV)直接输注到受试者的脑。CED例如由Debinski等人(2009)《神经治疗学专家综述(Expert Rev Neurother.)》9(10):1519-27描述。

[0434] 在一些实施例中,例如通过外周注射向受试者外周地施用组合物。外周注射的实例包含皮下注射、静脉内注射、动脉内注射、腹膜内注射或前述的任何组合。在一些实施例中,外周注射是动脉内注射,例如注射到受试者的颈动脉中。

[0435] 在一些实施例中,外周地并且直接向至受试者的CNS施用本公开所描述的组合物(例如,包括分离的核酸或载体或rAAV的组合物)。例如,在一些实施例中,通过动脉内注射(例如,注射到颈动脉中)和通过实质内注射(例如,通过CED的实质内注射)向受试者施用组

合物。在一些实施例中，直接注射到CNS和外周注射是同时的(例如，同时发生)。在一些实施例中，直接注射在外周注射之前(例如，1分钟至1周，或之前更长时间)发生。在一些实施例中，直接注射在外周注射之后(例如，1分钟至1周，或之后更长时间)发生。

[0436] 在一些实施例中，在如本文所描述的组合物之前(例如，之前1个月至1分钟)或同时向受试者施用免疫抑制剂。在一些实施例中，所述免疫抑制剂是皮质类固醇(例如，强的松、布地奈德(budesonide)等)、mTOR抑制剂(例如，西罗莫司、依维莫司(everolimus)等)、抗体(例如，阿达木单抗(adalimumab)、依那西普(etanercept)、那他珠单抗(natalizumab)等)或甲氨蝶呤(methotrexate)。

[0437] 在一些实施例中，在第-1天(窗口第-3天至第-1天)(其中第0天是rAAV的施用)向受试者施用约6mg的西罗莫司口服负荷剂量。例如，可以在第-3天、第-2天或第-1天施用西罗莫司剂量。在一些实施例中，在第-1天(窗口第-2天至第-1天)(其中第0天是rAAV的施用)的早晨和晚上(即，2个剂量)向儿科受试者(例如，0月龄至24月龄的人类受试者)施用约1.0mg/m^2的西罗莫司口服负荷剂量。例如，可以在第-2天或第-1天向儿科受试者施用两个西罗莫司剂量，每剂量为约1.0mg/m^2。在一些实施例中，根据需要施用和调整约2mg的随后西罗莫司维持剂量，以维持约4ng/mL(在约2ng/mL至约8ng/mL的范围内)的血清低谷水平，直到第3个月。在一些实施例中，对于儿科受试者，根据需要施用和调整约0.6mg/m^2/天至约1.0mg/m^2/天的随后西罗莫司维持剂量，以维持约4ng/mL(在约2ng/mL至约8ng/mL的范围内)的血清低谷水平，直到第3个月。在一些实施例中，根据需要施用和调整2mg的随后西罗莫司维持剂量，以维持约4ng/ml至约9ng/mL的血清低谷水平，直到第3个月。在一些实施例中，在随后的15天至30天期间(在第3个月结束后)，逐渐减少西罗莫司。在一些实施例中，在施用西罗莫司剂量之前收集低谷水平。

[0438] 在一些实施例中，在第0天(窗口第-1天至第0天)向受试者施用约1g的甲基强的松龙静脉内负荷剂量，随后从rAAV施用至后第二天开始口服施用约30mg强的松，持续14天。在一些实施例中，在施用rAAV之前，在第0天向儿科受试者(例如，0月龄至24月龄的人类受试者)施用约10mg/kg的甲基强的松龙静脉内负荷剂量，随后为从施用rAAV的当天开始，口服施用约0.5mg/kg强的松或强的松龙，持续14天。在一些实施例中，在随后的7天至8天期间逐渐减少强的松或强的松龙。在一些实施例中，从第1天开始，以每天0.5mg/kg的剂量作为伴随用药口服施用强的松或强的松龙，持续14天，然后每天0.25mg/kg，持续4天，随后经4天从每天0.1mg/kg缓慢地减少至每天0mg/kg。在一些实施例中，甲基强的松龙和强的松或强的松龙施用与上文所描述的西罗莫司施用组合。在一些实施例中，可以使用较高剂量或更长时间逐渐减少的强的松或强的松龙(例如，在AST/ALT升高的情况下)。

[0439] 本文进一步提供了用于治疗患有具有GBA1突变的帕金森氏病的受试者的方法，所述方法包括向所述受试者施用：(A)rAAV，所述rAAV包括：(i)rAAV载体，所述rAAV载体包括核酸，所述核酸按5'至3'顺序包括：(a)AAV2 ITR；(b)CMV增强子；(c)CBA启动子；(d)编码Gcase蛋白的转基因插入片段，其中所述转基因插入片段包括SEQ ID NO:15的核苷酸序列；(e)WPRE；(f)牛生长激素polyA信号尾部；以及(g)AAV2 ITR；以及(ii)AAV9衣壳蛋白；以及(B)西罗莫司；其中所述西罗莫司(A)在施用rAAV之前1天至3天的范围内以约6mg的剂量口服施用；并且(B)在施用rAAV之后以约2mg的剂量口服施用，以维持约2ng/mL至约8ng/mL的血清低谷水平，持续约3个月；并且其中所述西罗莫司施用在施用rAAV之后的3个月时间段

结束后的15天至30天期间逐渐减少。

[0440] 本文还提供了用于治疗患有2型戈谢病或3型戈谢病的受试者(例如,儿科受试者)的方法,所述方法包括向所述受试者施用:(A)rAAV,所述rAAV包括:(i)rAAV载体,所述rAAV载体包括核酸,所述核酸按5'至3'顺序包括:(a)AAV2 ITR;(b)CMV增强子;(c)CBA启动子;(d)编码Gcase蛋白的转基因插入片段,其中所述转基因插入片段包括SEQ ID NO:15的核苷酸序列;(e)WPRE;(f)牛生长激素polyA信号尾部;以及(g)AAV2 ITR;以及(ii)AAV9衣壳蛋白;以及(B)西罗莫司;其中所述西罗莫司(A)以各约1.0mg/m^2的两个剂量口服施用,其中所述两个剂量在施用所述rAAV之前1天或2天施用,其中所述第一剂量在早上施用,并且第二剂量在施用所述两个剂量的当天的晚上施用;并且(B)在施用所述rAAV之后以每天约0.6mg/m^2/天至约1.0mg/m^2/天的剂量口服施用,以维持约2ng/ml至约8ng/mL的血清低谷水平,持续约3个月;并且其中所述西罗莫司施用在施用rAAV之后的3个月时间段结束后的15天至30天期间逐渐减少。

[0441] 本公开提供了用于治疗患有或怀疑患有具有GBA1突变的帕金森氏病、1型戈谢病、2型戈谢病或3型戈谢病的受试者的方法,所述方法将(1)施用递送编码野生型Gcase的GBA1基因的功能性拷贝的rAAV与(2)施用免疫抑制剂方案组合。

[0442] 本公开还提供了用于治疗患有或怀疑患有突触核蛋白病或震颤麻痹的受试者的方法,所述方法将(1)施用递送编码野生型Gcase的GBA1基因的功能性拷贝和靶向α-突触核蛋白的抑制性核酸编码序列的rAAV与(2)施用免疫抑制剂方案组合。

[0443] 本公开还提供了用于治疗患有或怀疑患有突触核蛋白病或震颤麻痹的受试者的方法,所述方法将(1)施用递送靶向α-突触核蛋白的抑制性核酸编码序列的rAAV与(2)施用免疫抑制剂方案组合。

[0444] 在一些实施例中,免疫抑制剂方案包括施用以下中的一种或多种:西罗莫司;甲基强的松龙;抗CD20抗体;和强的松。在一些实施例中,免疫抑制剂方案包括施用所有以下:西罗莫司;甲基强的松龙;抗CD20抗体;和强的松。在一些实施例中,免疫抑制剂方案由施用所有以下组成:西罗莫司;甲基强的松龙;抗CD20抗体;和强的松。在一些实施例中,抗CD20抗体是利妥昔单抗。

[0445] 在一些实施例中,免疫抑制剂方案抑制受试者的AAV相关和/或转基因蛋白质表达相关免疫应答。在一些实施例中,免疫抑制剂方案减少受试者的AAV9衣壳免疫应答。在一些实施例中,免疫抑制剂方案减少受试者的CSF炎性应答。

[0446] 本文提供了一种用于治疗患有或怀疑患有具有葡糖脑苷脂酶-1(GBA1)突变的帕金森氏病的受试者的方法,所述方法包括向所述受试者施用:

[0447] 重组腺相关病毒(rAAV),所述rAAV包括:

[0448] (i)rAAV载体,所述rAAV载体包括核酸,所述核酸包括表达构建体,所述表达构建体包括与编码葡糖脑苷脂酶(Gcase)蛋白的转基因插入片段可操作地连接的启动子,其中所述转基因插入片段包括SEQ ID NO:15的核苷酸序列;以及

[0449] (ii)腺相关病毒(AAV)9衣壳蛋白;以及以下中的一种或多种:

[0450] (A)西罗莫司;

[0451] (B)甲基强的松龙;

[0452] (C)利妥昔单抗;以及

[0453] (D)强的松。

[0454] 本文还提供了一种用于治疗患有或怀疑患有具有GBA1突变的帕金森氏病的受试者的方法,所述方法包括向所述受试者施用:

[0455] 重组腺相关病毒(rAAV),所述rAAV包括:

[0456] (i)rAAV载体,所述rAAV载体包括核酸,所述核酸按5'至3'顺序包括:

[0457] (a)腺相关病毒(AAV)2ITR;

[0458] (b)巨细胞病毒(CMV)增强子;

[0459] (c)鸡β肌动蛋白(CBA)启动子;

[0460] (d)编码Gcase蛋白的转基因插入片段,其中所述转基因插入片段包括SEQ ID NO:15的核苷酸序列;

[0461] (e)土拨鼠肝炎病毒转录后调控元件(WPRE);

[0462] (f)牛生长激素polyA信号尾部;以及

[0463] (g)AAV2反向末端重复序列(ITR);以及

[0464] (ii)AAV9衣壳蛋白;以及以下中的一种或多种:

[0465] (A)西罗莫司;

[0466] (B)甲基强的松龙;

[0467] (C)利妥昔单抗;以及

[0468] (D)强的松,

[0469] 其中所述rAAV以范围为约$5x10^{13}$个vg至约$5x10^{14}$个vg的剂量向所述受试者施用。

[0470] 本文提供了一种用于治疗患有或怀疑患有2型戈谢病或3型戈谢病的受试者的方法,所述方法包括向所述受试者施用:

[0471] 重组腺相关病毒(rAAV),所述rAAV包括:

[0472] (i)rAAV载体,所述rAAV载体包括核酸,所述核酸包括表达构建体,所述表达构建体包括与编码葡糖脑苷脂酶(Gcase)蛋白的转基因插入片段可操作地连接的启动子,其中所述转基因插入片段包括SEQ ID NO:15的核苷酸序列;以及

[0473] (ii)腺相关病毒(AAV)9衣壳蛋白;以及以下中的一种或多种:

[0474] (A)西罗莫司;

[0475] (B)甲基强的松龙;

[0476] (C)利妥昔单抗;以及

[0477] (D)强的松。

[0478] 本文进一步提供了一种用于治疗患有或怀疑患有2型戈谢病或3型戈谢病的受试者的方法,所述方法包括向所述受试者施用:

[0479] 重组腺相关病毒(rAAV),所述rAAV包括:

[0480] (i)rAAV载体,所述rAAV载体包括核酸,所述核酸按5'至3'顺序包括:

[0481] (a)腺相关病毒(AAV)2ITR;

[0482] (b)巨细胞病毒(CMV)增强子;

[0483] (c)鸡β肌动蛋白(CBA)启动子;

[0484] (d)编码Gcase蛋白的转基因插入片段,其中所述转基因插入片段包括SEQ ID NO:15的核苷酸序列;

[0485] (e)土拨鼠肝炎病毒转录后调控元件(WPRE)；

[0486] (f)牛生长激素polyA信号尾部;以及

[0487] (g)AAV2反向末端重复序列(ITR)；以及

[0488] (ii)AAV9衣壳蛋白;以及以下中的一种或多种：

[0489] (A)西罗莫司；

[0490] (B)甲基强的松龙；

[0491] (C)利妥昔单抗;以及

[0492] (D)强的松，

[0493] 其中所述rAAV以范围为约$5x10^{10}$个vg/g脑至约$5x10^{11}$个vg/g脑的剂量向所述受试者施用。

[0494] 本文进一步提供了一种用于治疗患有或怀疑患有1型戈谢病的受试者的方法,所述方法包括向所述受试者施用：

[0495] 重组腺相关病毒(rAAV),所述rAAV包括：

[0496] (i)rAAV载体,所述rAAV载体包括核酸,所述核酸包括表达构建体,所述表达构建体包括与编码葡糖脑苷脂酶(Gcase)蛋白的转基因插入片段可操作地连接的启动子,其中所述转基因插入片段包括SEQ ID NO:15的核苷酸序列;以及

[0497] (ii)腺相关病毒(AAV)9衣壳蛋白;以及以下中的一种或多种：

[0498] (A)西罗莫司；

[0499] (B)甲基强的松龙；

[0500] (C)利妥昔单抗;以及

[0501] (D)强的松。

[0502] 本文提供了一种用于治疗患有或怀疑患有突触核蛋白病或震颤麻痹的受试者的方法,所述方法包括向所述受试者施用：

[0503] 重组腺相关病毒(rAAV),所述rAAV包括：

[0504] (i)rAAV载体,所述rAAV载体包括核酸,所述核酸包括表达构建体,所述表达构建体包括转基因,所述转基因包括

[0505] (a)包括SEQ ID NO:15的核苷酸序列的Gcase蛋白编码序列;以及

[0506] (b)包括SEQ ID NO:20的核苷酸序列的抑制性核酸编码序列;以及

[0507] (ii)腺相关病毒(AAV)9衣壳蛋白;以及以下中的一种或多种：

[0508] (A)西罗莫司；

[0509] (B)甲基强的松龙；

[0510] (C)利妥昔单抗;以及

[0511] (D)强的松。

[0512] 本文提供了一种用于治疗患有或怀疑患有突触核蛋白病或震颤麻痹的受试者的方法,所述方法包括向所述受试者施用：

[0513] 重组腺相关病毒(rAAV),所述rAAV包括：

[0514] (i)rAAV载体,所述rAAV载体包括核酸,所述核酸包括表达构建体,所述表达构建体包括转基因,所述转基因包括抑制性核酸编码序列,所述抑制性核酸编码序列包括SEQ ID NO:20的核苷酸序列;以及

[0515] (ii)腺相关病毒(AAV)9衣壳蛋白;以及以下中的一种或多种:

[0516] (A)西罗莫司;

[0517] (B)甲基强的松龙;

[0518] (C)利妥昔单抗;以及

[0519] (D)强的松。

[0520] 在本文所公开的用于抑制受试者的免疫应答的方法中,免疫抑制是由免疫抑制剂(例如,西罗莫司、甲基强的松龙、抗CD20抗体和强的松)产生的,而不是由基因疗法(例如,rAAV)产生的。

[0521] 在一些实施例中,在施用rAAV之前的一天,以约1000mg的剂量静脉内施用甲基强的松龙。在一些实施例中,在施用rAAV的同一天,以约1000mg的剂量静脉内施用甲基强的松龙。

[0522] 在一些实施例中,所述强的松(A)在从施用约1000mg的所述甲基强的松龙后的第二天开始以每天约30mg的剂量口服施用,持续14天;并且(B)在(A)的14天时间段结束后的7天期间逐渐减少。在一些实施例中,在最初14天逐渐减量结束时,在呈现ALT和/或AST>3x正常上限(ULN)的受试者中经另外4周使用更长时间的强的松逐渐减量。

[0523] 在一些实施例中,抗CD20抗体(例如,利妥昔单抗)在施用rAAV之前14天至之前1天之间的任何一天以约1000mg的剂量静脉内施用。

[0524] 在一些实施例中,在施用抗CD20抗体(例如,利妥昔单抗)之前施用甲基强的松龙。在一些实施例中,在施用抗CD20抗体(例如,利妥昔单抗)之前至少约30分钟施用甲基强的松龙。在一些实施例中,甲基强的松龙和抗CD20抗体(例如,利妥昔单抗)均在施用rAAV的前一天施用;并且在施用抗CD20抗体(例如,利妥昔单抗)之前至少约30分钟施用甲基强的松龙。在一些实施例中,抗CD20抗体(例如,利妥昔单抗)在施用rAAV之前14天至之前2天之间的任何一天施用;并且其中所述甲基强的松龙在施用抗CD20抗体(例如,利妥昔单抗)的同一天在施用抗CD20抗体(例如,利妥昔单抗)之前至少约30分钟以约100mg的剂量静脉内施用。

[0525] 在一些实施例中,西罗莫司(A)在施用rAAV之前三天、两天或一天以约6mg的单剂量口服施用;并且(B)在施用rAAV之后以每天约2mg的剂量口服施用,以维持约4ng/ml至约9ng/mL的血清低谷水平,持续约90天;其中在单剂量的约6mg的西罗莫司之后的第二天施用第一剂量的每天约2mg的西罗莫司。在一些实施例中,西罗莫司施用在施用rAAV之后的90天时间段结束后的15天至30天期间逐渐减少。

[0526] 本文提供了用于治疗患有或怀疑患有具有GBA1突变的帕金森氏病、1型戈谢病、2型戈谢病、3型戈谢病、突触核蛋白病或震颤麻痹的受试者的方法,所述方法包括:

[0527] (i)以约1000mg的剂量静脉内施用所述甲基强的松龙;

[0528] (ii)在步骤(i)的所述甲基强的松龙施用后约30分钟以约1000mg的剂量静脉内施用所述利妥昔单抗;

[0529] (iii)在步骤(i)的甲基强的松龙施用后第二天通过注射到小脑延髓池中施用如本文所公开的rAAV;

[0530] (iv)从步骤(i)的所述甲基强的松龙施用后第二天开始,以每天约30mg的剂量口服施用所述强的松,持续14天,并且

[0531] (v)在步骤(iv)的14天时间段结束后的7天期间逐渐减少所述强的松的施用;

[0532] (vi)在步骤(iii)的所述rAAV施用之前三天、两天或一天以约6mg的单剂量口服施用所述西罗莫司;

[0533] (vii)在步骤(iii)的所述rAAV施用后,以每天约2mg的剂量口服施用所述西罗莫司,以维持约4ng/ml至约9ng/ml的血清低谷水平,持续约90天;其中在单剂量的约6mg的所述西罗莫司之后的第二天施用第一剂量的每天约2mg的所述西罗莫司;并且

[0534] (viii)在步骤(vii)的90天时间段结束后的15天至30天期间逐渐减少所述西罗莫司的施用。

[0535] 本文提供了用于治疗患有或怀疑患有具有GBA1突变的帕金森氏病、1型戈谢病、2型戈谢病、3型戈谢病、突触核蛋白病或震颤麻痹的受试者的方法,所述方法包括:

[0536] (i)在步骤(iv)的所述rAAV施用之前14天和之前2天之间的任何一天以约100mg的剂量静脉内施用所述甲基强的松龙;

[0537] (ii)在步骤(i)的所述甲基强的松龙施用后约30分钟以约1000mg的剂量静脉内施用所述利妥昔单抗;

[0538] (iii)在步骤(iv)的所述rAAV施用前一天或当天以约1000mg的剂量静脉内施用所述甲基强的松龙;

[0539] (iv)通过注射到小脑延髓池中施用如本文所公开的rAAV;

[0540] (v)从步骤(iii)的所述甲基强的松龙施用后第二天开始,以每天约30mg的剂量口服施用所述强的松,持续14天,并且

[0541] (vi)在步骤(v)的14天时间段结束后的7天期间逐渐减少所述强的松的施用;

[0542] (vii)在步骤(iv)的所述rAAV施用之前三天、两天或一天以约6mg的单剂量口服施用所述西罗莫司;

[0543] (viii)在步骤(iv)的所述rAAV施用后,以每天约2mg的剂量口服施用所述西罗莫司,以维持约4ng/ml至约9ng/ml的血清低谷水平,持续约90天;其中在单剂量的约6mg的所述西罗莫司之后的第二天施用第一剂量的每天约2mg的所述西罗莫司;并且

[0544] (ix)在步骤(viii)的90天时间段结束后的15天至30天期间逐渐减少所述西罗莫司的施用。

[0545] 本文提供了用于抑制患有或怀疑患有具有GBA1突变的帕金森氏病、1型戈谢病、2型戈谢病、3型戈谢病、突触核蛋白病或震颤麻痹的受试者的免疫应答的方法,所述方法包括:

[0546] (i)以约1000mg的剂量静脉内施用所述甲基强的松龙;

[0547] (ii)在步骤(i)的所述甲基强的松龙施用后约30分钟以约1000mg的剂量静脉内施用所述利妥昔单抗;

[0548] (iii)在步骤(i)的甲基强的松龙施用后第二天通过注射到小脑延髓池中施用如本文所公开的rAAV;

[0549] (iv)从步骤(i)的所述甲基强的松龙施用后第二天开始,以每天约30mg的剂量口服施用所述强的松,持续14天,并且

[0550] (v)在步骤(iv)的14天时间段结束后的7天期间逐渐减少所述强的松的施用;

[0551] (vi)在步骤(iii)的所述rAAV施用之前三天、两天或一天以约6mg的单剂量口服施

用所述西罗莫司；

[0552] (vii)在步骤(iii)的所述rAAV施用后，以每天约2mg的剂量口服施用所述西罗莫司，以维持约4ng/ml至约9ng/ml的血清低谷水平，持续约90天；其中在单剂量的约6mg的所述西罗莫司之后的第二天施用第一剂量的每天约2mg的所述西罗莫司；并且

[0553] (viii)在步骤(vii)的90天时间段结束后的15天至30天期间逐渐减少所述西罗莫司的施用。

[0554] 本文提供了用于抑制患有或怀疑患有具有GBA1突变的帕金森氏病、1型戈谢病、2型戈谢病、3型戈谢病、突触核蛋白病或震颤麻痹的受试者的免疫应答的方法，所述方法包括：

[0555] (i)在步骤(iv)的所述rAAV施用之前14天和之前2天之间的任何一天以约100mg的剂量静脉内施用所述甲基强的松龙；

[0556] (ii)在步骤(i)的所述甲基强的松龙施用后约30分钟以约1000mg的剂量静脉内施用所述利妥昔单抗；

[0557] (iii)在步骤(iv)的所述rAAV施用前一天或当天以约1000mg的剂量静脉内施用所述甲基强的松龙；

[0558] (iv)通过注射到小脑延髓池中施用如本文所公开的rAAV；

[0559] (v)从步骤(iii)的所述甲基强的松龙施用后第二天开始，以每天约30mg的剂量口服施用所述强的松，持续14天，并且

[0560] (vi)在步骤(v)的14天时间段结束后的7天期间逐渐减少所述强的松的施用；

[0561] (vii)在步骤(iv)的所述rAAV施用之前三天、两天或一天以约6mg的单剂量口服施用所述西罗莫司；

[0562] (viii)在步骤(iv)的所述rAAV施用后，以每天约2mg的剂量口服施用所述西罗莫司，以维持约4ng/ml至约9ng/ml的血清低谷水平，持续约90天；其中在单剂量的约6mg的所述西罗莫司之后的第二天施用第一剂量的每天约2mg的所述西罗莫司；并且

[0563] (ix)在步骤(viii)的90天时间段结束后的15天至30天期间逐渐减少所述西罗莫司的施用。

[0564] 在一些实施例中，受试者的免疫应答是对rAAV的免疫应答。在一些实施例中，免疫应答是T细胞应答。在一些实施例中，免疫应答是B细胞应答。在一些实施例中，免疫应答是抗体应答。在一些实施例中，免疫应答是细胞增多。在一些实施例中，细胞增多是脑脊液(CSF)细胞增多。在一些实施例中，免疫应答是CSF蛋白的异常水平。在一些实施例中，CSF蛋白的异常水平大于70mg/dL。

[0565] 在一些实施例中，预防性IV皮质类固醇治疗(其靶向T细胞和B细胞两者)在用rAAV治疗的前一天开始，并且口服治疗持续14天，随后经7天逐渐减少。主要靶向T细胞的西罗莫司治疗在用rAAV治疗的前一天开始，并且将继续90天，随后逐渐减少。主要靶向B细胞的利妥昔单抗优选地在用rAAV治疗的前一天给药一次，并且其活性预期持续6个月。

[0566] 在一些实施例中，受试者接受由皮质类固醇、利妥昔单抗和西罗莫司组成的免疫抑制剂方案。受试者在第-1天(允许在第-1天或第0天)接受1000mg甲基强的松龙IV脉冲的负荷剂量。从1000mg IV甲基强的松龙脉冲(第0天或第1天)之后第二天起，以30mg/天的剂量口服给予强的松作为伴随用药，持续14天，并且然后经随后的7天逐渐减少。受试者在第-

14天与第-1天之间的任何一天接受1000mg利妥昔单抗IV 1次剂量。为了缓解与利妥昔单抗相关联的输注相关反应(IRR)的风险和严重程度,受试者在接受IV利妥昔单抗之前接受IV甲基强的松龙。对于第-1天的利妥昔单抗剂量施用,受试者在上文所描述的1000mg IV甲基强的松龙脉冲后至少30分钟接受利妥昔单抗输注。对于第-14天与第-2天之间的利妥昔单抗剂量施用,受试者在接受IV利妥昔单抗之前大约30分钟接受100mg甲基强的松龙IV输注。受试者在第-1天(第-3天至第-1天窗口)接受6mg的西罗莫司口服负荷剂量。从第0天开始(或者如果在第-3天或第-2天施用西罗莫司负荷剂量,则从西罗莫司负荷剂量之后开始),后续的2mg/天的西罗莫司口服维持剂量作为伴随用药提供,并根据需要调整,持续90天,以维持6ng/mL(范围为4-9ng/mL)的血清低谷水平,持续90天。然后经随后的15至30天逐渐减少西罗莫司。可以使用更高剂量或更长时间逐渐减少的皮质类固醇和西罗莫司。

[0567] 在一些实施例中,可以使用更长时间逐渐减少的免疫抑制剂治疗或重新开始免疫抑制剂治疗(例如,在AST或ALT升高、CSF中的炎性变化或其它疑似免疫系统反应的情况下)。

[0568] 在一些实施例中,向受试者进一步施用另外的免疫抑制剂,所述另外的免疫抑制剂不是西罗莫司、甲基强的松龙、利妥昔单抗或强的松。

[0569] 在一些实施例中,本文所公开的方法可以包括增加免疫抑制剂的剂量、延长的减量方案、使用另外的药剂或基于与免疫应答一致的临床体征或症状重新开始治疗,例如:

[0570] • 无症状细胞增多以及白细胞计数(WBC)>30mm^{3}和/或高脑脊液(CSF)蛋白(>70mg/dL)

[0571] • CSF细胞增多和/或蛋白质增加,伴有临床症状(包含潜在FTD症状的失代偿)

[0572] • 基于神经检查和/或治疗诱发神经病变评估量表(TNAS)的感觉症状的出现

[0573] • 丙氨酸转氨酶(ALT)和/或天冬氨酸转氨酶(AST)升高>5x正常上限(ULN),并伴有肝炎症状(例如,黄疸、疲劳)

[0574] • ALT和/或AST升高>10xULN,不考虑存在或不存在临床症状。

[0575] 向受试者施用的如本公开所描述的组合物(例如,包括分离的核酸或载体或rAAV的组合物)的量将根据施用方法而变化。例如,在一些实施例中,以约10^9个基因组拷贝(GC)/kg与约10^{14}个GC/kg之间(例如,约10^9个GC/kg、约10^{10}个GC/kg、约10^{11}个GC/kg、约10^{12}个GC/kg、约10^{12}个GC/kg或约10^{14}个GC/kg)的滴度向受试者施用如本文所描述的rAAV。在一些实施例中,通过注射到CSF空间或通过实质内注射向受试者施用高滴度(例如,>10^{12}个基因组拷贝GC/kg)的rAAV。在一些实施例中,以约1x10^{10}个载体基因组(vg)至约1x10^{17}个vg的剂量通过静脉内注射向受试者施用如本文所描述的rAAV。在一些实施例中,以约1x10^{10}个vg至约1x10^{16}个vg的剂量通过注射到小脑延髓池中向受试者施用如本文所描述的rAAV。

[0576] 可以向受试者一次或多次(例如,2次、3次、4次、5次、6次、7次、8次、9次、10次、20次或更多次)施用如本公开所描述的组合物(例如,包括分离的核酸或载体或rAAV的组合物)。在一些实施例中,例如通过输注泵向受试者连续地(例如,慢性地)施用组合物。

[0577] 实例

[0578] 实例1:rAAV载体

[0579] 使用细胞,如用于三质粒转染的HEK293细胞,生成AAV载体。ITR序列侧接表达构建体,所述表达构建体包括每个所关注转基因的启动子/增强子元件、3'polyA信号和翻译后

信号，如WPRE元件。通过融合蛋白序列，或使用2A肽接头(如T2A或P2A)，其由于防止肽键的产生而导致2个具有添加的氨基酸的肽片段，或使用IRES元件或用2个分离的表达盒表达，可以同时表达多种基因产物，如GBA1和LIMP2和/或激活蛋白原。在表达基因的上游存在的有效剪接的短内含子序列可以提高表达水平。shRNA和其它调控RNA可以潜在地包含在这些序列内。包括本公开所描述的rAAV载体的质粒的实例示出于图1-6、图21-27和图55-58以及下面的表2中。

[0580] 表2

[0581]

名称	启动子 1	shRNA	CDS1	PolyA 1	双顺反子元件	启动子 2	CDS2	PolyA2	ITR 之间的长度
CMVe_CBAp_GBA1_WPRE_bGH	CBA		GBA1	WPRE-bGH					3741
LT1s_JetLong_mRNAiaSYn_SCARB2-T2A-GBA1_bGH	JetLong	aSyn	SCARB2	bGH	T2A		GBA1		4215
LI1_JetLong_SCARB2-IRES-GBA1_bGH	JetLong		SCARB2	bGH	IRES		GBA1		4399
FP1_JetLong_GBA1_bGH_JetLong_SCARB2_SV40L	JetLong		GBA1	bGH		JetLong	SCARB2	SV40L	4464
普瑞威尔载体_LT2s_JetLong_mRNAiaSYn_PSAP-T2A-GBA1_bGH_ 4353nt	JetLong	aSyn	PSAP	bGH	T2A	-	GBA1	-	4353
普瑞威尔载体_LI2_JetLong_PSAP_IRES_GBA1_合成polyA_4337nt	JetLong	-	PSAP	合成 pA	IRES	-	GBA1	-	4337

[0582] 实例2:关于病毒转导到GBA缺陷细胞中的基于细胞的测定

[0583] 获得缺少GBA1的细胞，例如作为来自GD患者的成纤维细胞、单核细胞或hES细胞或患者来源的诱导多能干细胞(iPSC)。这些细胞累积底物，如葡糖神经酰胺和葡糖鞘氨醇(GluCer和GluSph)。用Gcase抑制剂(如CBE)处理野生型或突变型培养细胞系也用于获得GBA缺陷细胞。

[0584] 使用此类细胞模型，就蛋白质聚集体的累积，如α-突触核蛋白和针对此蛋白质或磷酸-αSyn的抗体的累积，对溶酶体缺陷进行定量，随后使用荧光显微镜检查进行成像。还进行通过ICC针对蛋白质标志物(如LAMP1、LAMP2、LIMP1、LIMP2)或使用染料(如溶酶体示踪剂(Lysotracker))的溶酶体异常的成像，或者通过荧光右旋糖酐的内吞隔室或其它标志物的摄取的成像。还可以进行针对因与溶酶体的缺陷融合引起的自噬标志物累积，如针对LC3的成像。使用蛋白质印迹和/或ELISA对这些标志物的异常累积进行定量。同样，使用标准方法测量GBA1的糖脂底物和产物的累积。

[0585] 在AAV载体的转导的表达的背景下测量治疗终点(例如，PD相关病理学的减少)，以确认活性和功能并进行定量。也可使用蛋白质ELISA测量或通过标准Gcase活性测定对Gcase进行定量。

[0586] 实例2.1:编码Gcase的rAAV的体外药理学研究

[0587] 转导和功效

[0588] 评估PR001A(AAV9.CBA.GBA1.A)(编码图55中提供的载体的质粒示意图)，包括人GBA1的密码子优化编码序列(SEQ ID NO:15)，在HEK293T细胞中表达GBA1转基因的能力的

体外研究显示,在HEK293T细胞中的PR001A转导后,GCase活性呈剂量依赖性增加(图33)。

[0589] 功效测量(α-突触核蛋白)

[0590] 同样在HeLa细胞、人细胞系和原代小鼠海马神经元中进行体外研究。在用$2x10^6$个vg/细胞PR001A处理的HeLa细胞中,观察到与经赋形剂处理的对照细胞相比,GCase活性水平增加大约2倍,并且总α-突触核蛋白水平减少(图34A和图34B)。在较低剂量的PR001A中未观察到类似效果。

[0591] 用$1.3x10^5$个vg/细胞或$1.3x10^6$个vg/细胞PR001A转导的小鼠海马神经元显示GCase活性水平升高,并且显示总α-突触核蛋白水平降低的趋势(图35A和图35B)。

[0592] 总之,细胞系和原代神经元培养物中的PR001A转导引起GCase活性增加。在HeLa细胞和小鼠海马神经元中,PR001A转导也引起α-突触核蛋白水平降低,从而支持GCase活性与α-突触核蛋白水平之间的联系(Mazzulli等人,《细胞(Cell)》.2011;146(1):37-52)。

[0593] 实例3:使用突变小鼠的体内测定

[0594] 此实例描述了使用突变小鼠的AAV载体的体内测定。突变小鼠中的上述AAV载体的体内研究是使用例如由Liou等人(2006)《生物化学杂志(J.Biol.Chem.)》281(7):4242-4253,Sun等人(2005)《脂质研究杂志(J.Lipid Res.)》46:2102-2113和Farfel-Becker等人(2011)《疾病模型与机制(Dis.Model Mech.)》4(6):746-752所描述的测定进行的。

[0595] 媒剂对照和AAV载体的鞘内或脑室内递送(例如,剂量为$2x10^{11}$个vg/小鼠)使用浓缩AAV储液,例如,以5-10μL的注射量进行。通过对流增强的递送进行实质内递送。

[0596] 在症状发作之前或发作之后开始处理。测量的终点是CNS和CSF中的底物累积、通过ELISA的Gcase酶累积和酶活性的累积、运动和认知终点、溶酶体功能障碍和α-突触核蛋白单体、原纤维或纤维的累积。

[0597] 实例4:疾病的化学模型

[0598] 此实例描述了使用化学诱导的戈谢病小鼠模型(例如,CBE小鼠模型)进行AAV载体的体内测定。这些AAV载体的体内研究在化学诱导的戈谢病小鼠模型中进行,例如,如Vardi等人(2016)《病理学杂志(J Pathol.)》239(4):496-509所描述。

[0599] 媒剂对照和AAV载体的鞘内或脑室内递送(例如,剂量为$2x10^{11}$个vg/小鼠)使用浓缩AAV储液,例如,以5-10μL的注射量进行。通过对流增强的递送进行实质内递送。外周递送通过尾静脉注射来实现。

[0600] 在症状发作之前或发作之后开始处理。测量的终点是CNS和CSF中的底物累积、通过ELISA的Gcase酶累积和酶活性的累积、运动和认知终点、溶酶体功能障碍和α-突触核蛋白单体、原纤维或纤维的累积。

[0601] 实例5:在PD、LBD、戈谢病患者中的临床试验

[0602] 在一些实施例中,患有某些形式的戈谢病(例如,GD1)的患者患上帕金森氏病(PD)或路易体痴呆(LBD)的风险增加。本实例描述了在患有戈谢病、PD和/或LBD的患者中评估如本公开所描述的rAAV的安全性和功效的临床试验。

[0603] 此类载体用于治疗戈谢病、PD和/或LBD的临床试验使用类似于Grabowski等人(1995)《内科学年鉴(Ann.Intern.Med.)》122(1):33-39中所描述的研究设计的研究设计进行。

[0604] 实例6:周围疾病的治疗

[0605] 在一些实施例中，患有某些形式的戈谢病的患者表现出周围神经病变的症状，例如，如Biegstraaten等人(2010)《脑》133(10):2909-2919中所描述。

[0606] 此实例描述了如本文所描述的AAV载体用于治疗与戈谢病(例如，1型戈谢病)相关联的周围神经病变的体内测定。简而言之，对鉴定为具有周围神经病变的体征或症状的1型戈谢病患者施用rAAV，如本公开所描述。在一些实施例中，例如在施用rAAV之后，使用Biegstraaten等人中所描述的方法监测受试者的周围神经体征和症状。

[0607] 例如通过蛋白质印迹分析、酶促功能测定或成像研究来测定患者体内(例如，患者的血清中、患者的周围组织(例如，肝脏组织、脾组织等)中)存在的本公开所描述的经转导的基因产物的水平。

[0608] 实例7:CNS形式的治疗

[0609] 此实例描述了如本文所描述的rAAV用于治疗戈谢病的CNS形式的体内测定。简而言之，对被鉴定为具有戈谢病的CNS形式的戈谢病(例如，2型或3型戈谢病)的患者施用如本公开所描述的rAAV。例如通过蛋白质印迹分析、酶促功能测定或成像研究测定存在于患者的CNS中(例如，患者的CNS的血清中、患者的脑脊液(CSF)中或患者的CNS组织中)的如本公开所描述的经转导的基因产物的水平。

[0610] 实例8:具有GBA1突变的受试者的帕金森氏病的基因疗法

[0611] 此实例描述了向患有以GBA1基因突变为特征的帕金森氏病的受试者施用编码GBA1的重组腺相关病毒(rAAV)。

[0612] rAAV载体插入含有由以下四个部分组成的CBA启动子元件(CBA):CMV增强子(CMVe)、CBA启动子(CBAp)、外显子1和内含子(int)，以组成性地表达人GBA1(栗色)的密码子优化的编码序列(CDS)。3'区还含有土拨鼠肝炎病毒转录后调控元件(WPRE)，随后为牛生长激素polyA信号(bGH polyA)尾部。侧接的ITR允许正确包装间插序列。评估了5'ITR序列的两种变体(图7，套印框，底部序列)；这些变体在ITR的20个核苷酸"D"区内具有若干个核苷酸差异，据信这会影响包装和表达的效率。rAAV产物含有图7所示的"D"结构域核苷酸序列(套印框，顶部序列)。变体载体携带在临床前研究中类似地进行的突变"D"结构域(在本文中被称为"S"结构域，其中核苷酸变化由底纹示出)。骨架含有赋予对卡那霉素的抗性的基因以及防止反向包装的填充序列。描绘rAAV载体的示意图示出于图8中。使用AAV9血清型衣壳蛋白将rAAV载体包装到rAAV中。

[0613] 通过到小脑延髓池(脑池内延髓池;ICM)内的荧光透视引导的皮下注射向受试者施用单剂量GBA1-rAAV。给药方案研究的一个实施例如下：

[0614] 实例8.1:编码Gcase的rAAV的体内药理学研究

[0615] 在化学小鼠模型中进行了初步研究，所述研究涉及每天递送作为GCase抑制剂的牛弥菜醇(conduritol)-β-环氧化物(CBE)，以评估PR001A rAAV载体(AAV9.CBA.GBA1.A)的功效和安全性(图55中提供的编码载体的质粒的示意图)，所述载体包括人GBA1的密码子优化编码序列(SEQ ID NO:15)和PR001B rAAV S变体构建体(如下文进一步描述)。另外地，在携带纯合GBA1突变并且部分地缺乏鞘脂激活蛋白(4L/PS-NA)的基因小鼠模型中进行初始研究。在小鼠和非人灵长类动物(NHP)中进行另外的剂量范围研究，以进一步评估载体的安全性和功效。

[0616] 这些小鼠模型表现出nGD(神经病变型戈谢病)和PD-GBA(患有以GBA1基因中的突

变为特征的帕金森氏病)的特性表型,包含GCase活性降低、GCase的糖脂底物的累积、运动行为缺陷以及神经病理学变化,包含星形胶质细胞增生和小胶质细胞增生,其反映了炎症。PR001A的脑室内注射抑制所有这些疾病相关表型。另外地,4L/PS-NA小鼠模型显示α-突触核蛋白的累积,并且在4L/PS-NA模型中的PR001A的ICV施用减少了α-突触核蛋白的累积。

[0617] 测试AAV骨架中5'反向末端重复序列(ITR)的两个略微不同的版本以评估可制造性和转基因表达(图7)。145bp 5'ITR内的20bp"D"结构域被认为是最佳病毒载体产生所必需的,但在一些情况下也已报道"D"结构域内的突变增加转基因表达。因此,除了携带完整"D"结构域的PR001A病毒载体之外,还评估了具有突变D结构域(在本文中被称为"S"结构域)的第二载体形式(PR001B)。PR001A rAAV和变体PR001B rAAV两者表达相同的转基因。虽然两种载体产生在体内有效的病毒,但如下文详述的,选择含有野生型"D"结构域的PR001A rAAV用于进一步开发。

[0618] 表14中总结了非临床体内药理学(功效)研究。完成了总共10项研究;4项主要研究在后续章节中详细讨论。

[0619] 实例8.1.1:CBE小鼠模型研究

[0620] CBE模型概述

[0621] 在CBE化学小鼠模型中,使用GCase的选择性和不可逆共价竞争性抑制剂实现GCase活性的药理学抑制,导致糖脂(GluCer和GluSph)累积、神经病理学改变,包含星形胶质细胞增生和小胶质细胞增生,以及运动行为缺陷(Manning-Boğ 等人,《神经毒理学(Neurotoxicology)》.2009;30(6):1127-32;Farfel-Becker等人,《疾病模型与机制》2011;4(6):746-52;Rocha等人,《抗氧化剂与氧化还原信号(Antioxid Redox Signal.)》2015;23(6):550-64)。

[0622] CBE是GCase的药理学抑制剂,并且用CBE治处理小鼠显示出与GCase功能丧失一致的表型。通过改变CBE剂量,并且因此改变体内GCase抑制程度,可以概括在不同GBA1相关病症中观察到的不同程度的酶缺乏,从而调节所得表型的严重程度。出于此原因,CBE小鼠模型具有优于GCase缺乏的基因模型的显著技术优势,这使其成为PD-GBA的具有吸引力的模型。CBE模型中GCase活性的全身性降低概括了患有PD-GBA的患者在整个CNS和周围器官中GCase活性的降低。预计此模型将低估PR001A的作用,因为CBE将抑制内源性GCase活性以及由PR001A治疗产生的外源性GCase活性。

[0623] 研究PRV-2017-001:CBE剂量范围研究

[0624] 为了建立GCase缺乏的CBE模型,使用作为GCase的特异性抑制剂的CBE对幼年小鼠给药。从出生后第8天(P8)开始,每天通过IP注射给予小鼠CBE。测试了三种不同的CBE剂量(25mg/kg、37.5mg/kg、50mg/kg)或每天腹膜内(IP)媒剂(PBS),以建立表现出行为表型的模型(图9A-图9F)。较高剂量的CBE以剂量依赖性方式导致致死率。用50mg/kg CBE处理的所有小鼠在P23时死亡,并且用37.5mg/kg CBE处理的8只小鼠中的5只在P27时死亡(图9A)。在用25mg/kg CBE处理的小鼠中不存在致死率。用CBE处理的小鼠显示未增加与CBE剂量相关的重量。在P27时,即研究的存活期部分结束时,对照动物与用25或37.5mg/kg CBE处理的动物之间的重量差异是统计学显著的;用50mg/kg CBE处理的小鼠均未存活至P27(图9B、图9C)。尽管经CBE注射的小鼠在旷场测定中没有表现出一般的运动缺陷(以与被给予PBS的小鼠相同的速度行进相同的距离;图9F),但经CBE处理的小鼠表现出如通过转棒仪测定测量的运

动协调和平衡缺陷(图9D)。

[0625] 存活至研究结束的小鼠在其末次CBE剂量(P27,“第1天”)后的第二天或在CBE停用三天(P29,“第3天”)后被处死。对给予25mg/kg CBE的小鼠的皮质进行脂质分析,以评估第1天和第3天队列两者中GCase底物的累积。与经PBS处理的对照组相比,经CBE处理的小鼠中的GluSph和GalSph水平(在此实例中总体测量)显著累积,与GCase不足一致(图9E)。

[0626] 总之,每天IP注射的25mg/kg CBE的剂量引起运动行为缺陷和GCase底物的累积(GluSph和GalSph水平的聚集),这与GCase活性的抑制一致。因此,选择25mg/kg剂量用于后续研究,因为这概括了人类疾病的核心特征,同时准许用于评估载体的持久性的较长的研究。

[0627] 研究PRV-2018-002:PR001B在CBE模型中的功效

[0628] 基于上文所描述的研究,选择25mg/kg CBE剂量,因为其产生行为缺陷,而不影响存活率。对于所有非临床小鼠研究,选择脑室内(ICV)注射作为施用途径(ROA)。由于小脑延髓池内(ICM)注射(预期的临床ROA)在小鼠中技术上困难,因此ICV注射被认为是用于概括将治疗剂ICM递送到脑脊液(CSF)中的最合适的替代性方法。为了在CBE处理期间实现GBA1在整个脑中的广泛分布和转基因表达,在P3时通过ICV注射递送4μL媒剂(dPBS+0.001%普朗尼克(Pluronic)F68,“dPBS”)或$8.8x10^9$个vg($5.9x10^{10}$个vg/g脑,基于150mg脑重)PR001B,并且在P8时开始每天IP注射PBS或25mg/kg CBE处理(图10)。为了确定CBE处理是否完全掩蔽PR001B的作用,将一半动物在P36其最后的CBE注射后1天处死,而另一半经受CBE停用并且在P38其最后的CBE注射后3天处死。对于所有测量,将各组合并进行分析,校正采集日作为协变量。

[0629] 经CBE处理的小鼠显示出降低的体重演变,而PR001B处理的体重演变减弱(图11A;图11B)。接受rAAV的经CBE处理的小鼠比接受赋形剂的小鼠在转棒仪上统计学显著地表现更好(图11C)。变体载体处理组中的小鼠在测试期间行进的总距离方面与经赋形剂处理的小鼠没有差异(图11D)。

[0630] 在存活研究完成时,将一半小鼠在其末次CBE剂量(P36,“第1天”)之后的第二天或在CBE停用三天(P38,“第3天”)后处死,以用于生物化学分析(图12B-图12D)。使用以生物学一式三份进行的荧光酶测定,在皮质中评估GCase活性。在用PR001B rAAV处理的小鼠中GCase活性增加,而CBE处理降低了GCase活性(图12B)。另外地,接受CBE和PR001B rAAV两者的小鼠具有与PBS处理组类似的GCase活性水平,这指示rAAV的递送能够克服CBE处理诱导的GCase活性的抑制。对小鼠的运动皮质进行脂质分析,以检查底物GluCer和GluSph的水平。两种脂质在被给予CBE的小鼠的脑中累积,并且rAAV处理显著减少了GluCer累积并且倾向于减少GluSph累积(图12C;图12D)。

[0631] 跨各处理组的脂质水平与GCase活性和在转棒仪上的表现两者呈负相关。在rAAV施用后增加的GCase活性与底物减少和增强的运动功能相关联(图13)。

[0632] 如图14所示,通过载体基因组存在评估初步生物分布,如通过qPCR所测量(具有>100个载体基因组每1μg基因组DNA被定义为阳性)。接受PR001B rAAV的小鼠,含有或不含CBE,皮质中rAAV载体基因组均为阳性(图12A),这指示ICV递送引起rAAV递送到皮质。另外地,在肝脏、脾、心脏和肺中检测到载体基因组,其中在肾脏中水平较低,并且在性腺中不存在(图14)。对于所有测量,第1天组与第3天组之间没有统计学显著差异(数据未示出)。

[0633] 总之，在ICV注射8.8x10^{9}个vg(5.9x10^{10}个vg/g脑)的剂量下，PR001B分布在脑和周围组织中，并且酶促活性GCase在脑中表达。PR001B改善了生物化学(即，糖脂水平)缺陷和在转棒仪上的表现。因为CBE停用对于看到PR001B的作用来说不是必需的，所以在所有未来的研究中，在末次CBE剂量后1天处死小鼠。

[0634] 研究PRV-2018-005:CBE模型中的剂量范围PR001A

[0635] 图15A中提供了示出说明性剂量范围研究设计的示意图。

[0636] 在CBE模型中的较大研究进一步探索了CBE模型中PR001 rAAV的有效剂量。使用25mg/kg CBE剂量模型，在P3时通过ICV递送赋形剂或PR001 rAAV，并且在P8时开始每天IP PBS或CBE处理。鉴于在先前研究中观察到的具有和不具有CBE停用的组之间的类似性，在最终的CBE剂量(P38-40)后的一天处死所有小鼠。评估了三种不同rAAV剂量的作用，产生以下五个组，其中每组10只小鼠(5M/5F)：

[0637] 赋形剂ICV+PBS IP

[0638] 赋形剂ICV+25mg/kg CBE IP

[0639] 2.0e9个vg(1.3e10个vg/g脑)rAAV ICV+25mg/kg CBE IP

[0640] 6.2e10个vg(4.2e10个vg/g脑)rAAV ICV+25mg/kg CBE IP

[0641] 2.0e10个vg(1.3e11个vg/g脑)rAAV ICV+25mg/kg CBE IP。

[0642] 经CBE处理的动物以低于对照动物的速率增加重量，这是在此动物模型中的典型观察。在最高剂量下，PR001A纠正了CBE处理相关的增重失败。另外地，与未接受PR001A的CBE处理组相比，此剂量引起转棒仪和锥形横木行走任务的统计学显著改善(图15B-图15E)。脑GCase活性与在转棒仪上的表现呈正相关。在包含赋形剂处理组和rAAV处理组两者的若干组中观察到致死率。

[0643] 在存活研究完成时，处死小鼠以进行生物分布和生物化学分析(图16A-图16D)。在检查的组织中，脑、脊髓、肝脏、脾脏、心脏、肾脏和肺在中等剂量和最高剂量下对于载体基因组呈阳性。在低剂量下，脑、脊髓、肺和心脏也呈阳性(图16A)。在任何剂量下，生殖腺均不呈阳性。使用荧光测定通过测量所有组织中的酶促活性来评估的有效GCase活性在用CBE处理后降低至多60％(图16B)。在最高剂量的PR001A下，脑、脊髓和心脏中的GCase活性显著增加。应注意，由于CBE处理抑制PR001A编码的GCase的活性的程度与内源性GCase的程度相同，为大约50％，因此CBE模型研究可能低估如通过GCase活性测量的PR001A的效力大约2倍。经CBE处理的小鼠在脑皮质中表现出GluCer和GluSph的累积。高剂量的PR001A减少了其累积(图16C;图16D)。

[0644] 反应性星形胶质细胞增生和小胶质细胞激活是神经病变型GD和PD-GBA患者中描述的CNS病理学的显著炎性方面(Wong等人2004;Ginns等人2014)。在本研究中，经CBE处理的小鼠在大脑皮质中显示出胶质瘢痕，这是反应性星形胶质细胞增生的表现，这与在CBE的背景下显示CNS激活的先前研究一致(Sun等人2011)。PR001A处理导致胶质瘢痕表型的统计学显著的剂量依赖性减少(图16E)。因此，PR001处理抑制与CNS中的GCase缺乏相关联的神经病理学。来自本研究的组织病理学发现的完整描述在毒理学部分中讨论。

[0645] 免疫组织化学检测皮质中GCase和电离钙结合衔接分子1(Iba1;小胶质细胞增生的标志物)的表达(图16F)(Wong等人2004;Vitner等人2016)。与经CBE+赋形剂处理的动物相比，用PR001A处理的所有小鼠的GCase的表达显著增加，并且与递送的剂量相关。与接受

CBE+赋形剂的小鼠相比，在用PR001A处理的小鼠中，Iba1染色以剂量依赖性方式显著减少，其中与接受PBS的小鼠相比，Iba1染色显著增加。

[0646] 总之，研究PRV-2018-005的结果显示，以3个剂量水平ICV施用PR001A导致广泛的载体基因组生物分布、GCase活性增加、运动行为终点改善和糖脂累积减少。两种不同的神经炎症度量(小胶质细胞增生和星形胶质细胞增生)在用PR001A处理的小鼠中显示出剂量依赖性的统计学显著的减少。CBE模型固有地低估了PR001A的效力，因为CBE还抑制由于PR001A处理的酶活性。总之，这些结果指示，以$2.0x10^{10}$个vg($1.3x10^{11}$个vg/g脑)ICV施用PR001A在CBE小鼠模型中是有效的。在终点的子集中，在较低剂量的PR001A下观察到功效趋势。

[0647] 研究PRV-2018-007:CBE模型中的长期PR001A作用

[0648] 本研究评估了PR001A载体拷贝数生物分布的持久性和PR001A介导的GCase在CBE小鼠模型中的表达的耐久性。在P3时通过ICV递送单剂量的赋形剂或PR001A，并且在P8使开始每天IP PBS或CBE处理，并且继续直到P183至P185(图36)。将所有小鼠在最终CBE剂量之后1天处死。在任何组中均未观察到致死率。

[0649] 在经CBE处理的小鼠中的PR001A的单次ICV剂量导致给药后6个月(图37A)载体基因组拷贝的存在，其水平与ICV给药后大约1个月的水平相当(参见研究PRV-2018-005)。慢性CBE处理引起GCase活性水平降低;GCase活性在接受PR001A的小鼠中几乎归一化，这指示单剂量的PR001A导致GCase的持久表达(图37B)。与接受1个月CBE处理的小鼠相比，经六个月CBE处理的小鼠显示出大脑皮质中糖脂底物GluCer和GluSph的明显累积。在P3时施用单一PR001A引起GluCer和GluSph水平显著降低至接近野生型水平(图37C;图37D)。

[0650] 研究PRV-2018-008:CBE模型中另外的剂量范围PR001A

[0651] 本研究旨在评估另外的PR001A剂量，以确定最小有效剂量并检查较高剂量的耐受性。然而，由于非预期的给药偏差，本研究复制了PRV-2018-005的剂量。按照与PRV-2018-005类似的设计(图15A)，在P3时通过ICV递送4μL赋形剂或PR001A，并且在P8时开始每天IP PBS或CBE处理，并且继续直到P51至P53。

[0652] 与先前研究不同，CBE处理不会导致体重的显著变化。尽管CBE处理引起转棒仪和横木行走上的表现显著较差，但用PR001A处理并未显著改变这种表现(图38A-图38E)。

[0653] 在检查的组织中，脑、脊髓、肝脏、心脏和肺在所有剂量水平下对于PR001A呈阳性。在中等剂量和最高剂量下，肾脏也呈阳性，而在最高剂量下，仅脾脏呈阳性。也检查了生殖腺，但其在任何剂量水平下均不呈阳性(图39)。仅评估了所选器官中的GCase活性。在大脑皮质中，PR001A的低剂量和中等剂量将GCase活性水平恢复到相当于PBS+赋形剂水平的或更高水平，但是这未达到统计显著性。与经CBE+赋形剂处理的动物中的水平相比，高剂量的PR001A倾向于GCase活性显著增加(图40)。

[0654] 与此模型中的其它研究一致，经CBE处理的小鼠显示出脑中GluSph和GluCer的累积，其通过施用PR001A而减少(图41;图41B)。所有剂量的PR001A以剂量依赖性方式显著降低GluSph水平，而中等剂量和高剂量显著降低GluCer水平。

[0655] 本研究证实了PRV-2018-005的发现，显示PR001A处理引起广泛的生物分布和GCase活性的稳健升高，这显著地减少了由CBE处理引起的糖脂底物累积。本研究未复制在PRV-2018-005中观察到的行为表型;然而，已知这些表型在小鼠中是可变的并且不太可靠。

[0656] PRV-2018-025:CBE模型中另外的剂量范围PR001A

[0657] 鉴于PRV-2018-008中的研究偏差,在CBE模型中进行另外研究以扩展先前的剂量范围研究。PR001A的ICV给药和PBS或CBE的IP注射遵循与PRV-2018-005相同的方案。然而,本研究包含较低的PR001A剂量以检查最小有效剂量,并且包含较高剂量以检查耐受性。

[0658] 在本研究中,CBE处理不会随时间推移导致重量增加失败;然而,在CBE+赋形剂动物中观察到在转棒仪和锥形横木两者中运动表现的统计学显著降低。使用$5.2x10^{10}$个vg的PR001A处理将运动表现显著改善为与PBS+赋形剂动物几乎相同的水平。在用$1.7x10^{10}$个vg PR001A处理的动物中也观察到改善,尽管这没有达到显著性(图42A-图42D)。

[0659] 用PR001A处理的动物的大脑皮质在所有剂量下对于载体基因组呈阳性,并且用$5.2x10^{10}$个vg PR001A处理导致GCase活性显著增加。用$1.7x10^{10}$个vg PR001A处理使活性恢复到接近野生型水平(图43A-图43B),但是这未达到统计显著性。

[0660] 与此模型中的其它研究一致,经CBE处理的小鼠显示出脑中GluSph和GluCer的累积,其通过以$1.7x10^{10}$个vg或$5.2x10^{10}$个vg施用PR001A而显著减少(图44A-图44B)。

[0661] 本研究证实并扩展了CBE模型中先前研究的发现。尽管此研究没有完全复制PRV-2018-005中观察到的行为表型,但在使用$1.7x10^{10}$个vg PR001A的转棒仪和锥形横木中都没有显著改善,而使用$5.2x10^{10}$个vg PR001A的处理显著改善了两项任务中的表现。另外地,任一剂量下的处理减少了糖脂底物累积,从而证实了来自其它CBE研究的结果。

[0662] CBE模型研究总结

[0663] 来自CBE模型研究的结果显示,PR001A可以通过ICV注射有效地递送至CNS和周围组织。在CNS内,PR001A的ICV递送引起GCase活性的一致增加、糖脂底物GluCer和GluSph的减少、胶质瘢痕的减少以及一些运动缺陷的改善。在评估的情况下,这些作用在处理后6个月时持续。

[0664] 实例8.1.2:4L/PS-NA基因小鼠模型研究

[0665] 4L/PS-NA模型的概述

[0666] 4L/PS-NA小鼠是已建立的GD和PD-GABA基因模型(Sun等人,《脂质研究杂志(J Lipid Res.)》2005;46(10):2102-13;Mazzulli等人,《细胞》.2011;146(1):37-52;Xu等人,《分子遗传学与新陈代谢(Mol Genet Metab.)》2011;102(4):436-47)。这些小鼠对于GBA1中的V394L突变是纯合的,并且另外地携带PSAP中的突变,其编码鞘脂激活蛋白C,GCase的激活因子;突变GCase酶的存在和低水平的GCase激活因子鞘脂激活蛋白C一起导致GCase活性的严重降低、糖脂底物的累积以及运动行为缺陷。这些小鼠表现出运动强度、协调和平衡缺陷,如其在横木行走、转棒仪和线挂(wire hang)测定中的表现所证明。通常,这些小鼠的寿命少于22周。这项研究中的"对照"小鼠对于Gba1中的V394L突变是纯合的,但对于内源性激活蛋白原基因是野生型,并且因此GCase活性有更适度的降低。应注意,由于用PR001A处理对鞘脂激活蛋白C没有影响,因此在4L/PS-NA小鼠中获得的结果可能低估了在人类中的预计的作用。使用PR001A在这些小鼠中进行了两项研究。

[0667] 研究PRV-2018-006:4L/PS-NA基因模型中的PR001A

[0668] 在研究PRV-2018-006中,PR001A或赋形剂ICV递送至3至4周龄4L/PS-NA小鼠,并且在PR001A施用后15周处死动物。施用3μL剂量的未稀释载体(总共$1.5x10^{10}$个vg;$3.7x10^{10}$个vg/g脑)(图45)。

[0669] 在4L/PS-NA小鼠中观察到进行性运动缺陷，并且用PR001A处理引起处理后5周和9周时的横木行走无显著改善。在处理后15周，各组间没有统计学显著差异。在给药后大约15周，对4L/PS-NA小鼠中PR001A载体基因组的生物分布进行定量。检查的所有组织，包含大脑皮质、脊髓、肝脏、肾脏、心脏、肺、脾脏和生殖腺，对于载体基因组呈阳性。(图46)。使用荧光测定评估的组织裂解物中的GCase活性的分析揭示皮质和肝脏中的有效GCase活性显著增加(图47)。

[0670] 相对于来自对照动物的裂解物，在来自4L/PS-NA小鼠的脑裂解物中存在统计学显著的GluSph和GluCer累积。在4L/PS-NA小鼠中，使用PR001A处理导致GluSph累积的统计学显著减少和GluCer降低的趋势(P＝0.16)(图48A;图48B)。

[0671] 先前的研究表明，4L/PS-NA小鼠模型的皮质中α-突触核蛋白的累积增加，这与GCase在α-突触核蛋白病理学中的作用一致(Sun等人，《脂质研究杂志》.2005;46(10):2102-13;Mazzulli等人，《细胞》.2011;146(1):37-52;Xu等人，《分子遗传学与新陈代谢》2011;102(4):436-47)。对可溶性和不溶性α-突触核蛋白的大脑皮质水平进行生物化学检查。在用赋形剂处理的4L/PS-NA小鼠中，大脑皮质中的不溶性α-突触核蛋白和不溶性与可溶性α-突触核蛋白的比率存在非显著增加;使用ICV PR001A处理逆转了这些作用(分别为P＝0.19、P＝0.87)(图49A;图49B)。这些数据与实例2.1中所描述的体外研究一致，所述体外研究表明α-突触核蛋白的累积减少。

[0672] 在rAAV递送后4周评估横木行走测试中的运动表现。与使用赋形剂处理的突变小鼠相比，接受PR001A rAAV的突变小鼠组显示出较少总滑倒次数和较少每速度滑倒次数的趋势，将运动功能恢复到接近野生型水平(图17)。

[0673] 研究PRV-2018-011:4L/PS-NA基因模型中的剂量范围PR001A

[0674] 使用4L/PS-NA小鼠的第二研究使用与研究PRV-2018-006中使用的设计类似的设计，探索了PR001A剂量范围(图50)。

[0675] 在横木行走测试方面，4L/PS-NA小鼠比对照小鼠表现明显更差。与在第18周使用赋形剂处理的4L/PS-NA小鼠相比，使用$2.9x10^{11}$个vg、$9.3x10^{10}$个vg或$2.9x10^{10}$个vg PR001A处理的4L-PS-NA小鼠表现出显著改善(图51)。PR001A在较早的时间点没有影响。4L/PS-NA小鼠与对照小鼠之间无转棒仪测试结果差异，并且PR001A处理似乎对此结果没有影响。

[0676] 所有PR001A处理组对于皮质中的载体基因组均呈阳性。在皮质中测量使用荧光测定评估的有效GCase活性，并且发现其在使用$2.9x10^{11}$个vg PR001A处理的小鼠中显著增加(图52A;图52B)。

[0677] 对可溶性和不溶性α-突触核蛋白的大脑皮质和海马水平进行生物化学检查。4L/PS-NA小鼠与对照动物之间的这些水平没有差异;文献中发布的报告已显示出可变的α-突触核蛋白表型。

[0678] 使用赋形剂处理的4L/PS-NA小鼠的小脑中存在统计学显著的GluSph和GluCer累积。使用PR001A处理导致GluSph水平降低的剂量依赖性趋势，以及GluCer的显著剂量依赖性减少(图53A;图53B)。

[0679] 4L/PS-NA基因小鼠模型总结

[0680] 尽管4L/PS-NA小鼠在2个研究中显示出关于所测量表型的可变性，但总体数据与CBE模型发现和公布的数据一致:GCase缺乏与糖脂底物水平增加和运动行为缺陷相关联。

使用ICV PR001A的处理强烈减弱了这些表型。在研究PRV-2018-006中，相对于对照小鼠，4L/PS-NA小鼠的大脑皮质中的不溶性α-突触核蛋白水平没有显著增加，如已发表的研究所报告(Sun等人，《脂质研究杂志》2005;46(10):2102-13;Mazzulli等人，《细胞》.2011;146(1):37-52;Xu等人，《分子遗传学与新陈代谢》2011;102(4):436-47)。使用ICV PR001A的处理逆转了此类累积，这与本文所公开的体外分析一致。总之，这些研究支持PR001A的临床开发。

[0681] 实例8.1.3:体内α-突触核蛋白模型研究

[0682] 研究PRV-2018-019和PRV-2019-001:使用CBE处理的α-突触核蛋白转基因小鼠中的PR001A

[0683] 为了进一步检查PR001A对α-突触核蛋白病理学的影响，在dbl-PAC-Tg(SNCAA53T)$Snca^{-/-}$小鼠中进行了2项研究，所述小鼠其在Snca敲除背景下对于人PD相关α-突触核蛋白A53T突变转基因是纯合的(Snca编码小鼠α-突触核蛋白)。据报道，这些小鼠在6月龄至12月龄时表现出胃肠道表型和细微的运动异常，但脑中的α-突触核蛋白病理学并不广泛(Kuo等人，《人类分子遗传学(Hum Mol Genet.)》2010;19(9):1633-50)。先前在人α-突触核蛋白A53T转基因小鼠模型中的研究已报道，使用CBE处理此类小鼠会导致α-突触核蛋白水平升高(Rockenstein等人，《人类分子遗传学》2016;25(13):2645-60;Papadopoulos等人，《人类分子遗传学》2018;27(10):1696-1710)。由于这些已发表的发现，并且为了验证此模型中GCase缺乏的影响，使用CBE处理这些小鼠。在9至10周龄时，通过ICV注射使用10μL赋形剂或$2.9x10^{11}$个vg($7.4x10^{11}$个vg/g脑，基于400mg的脑重量)PR001A处理小鼠。在ICV处理后两周，每天给予IP PBS或100mg/kg CBE，持续1周。

[0684] 在大脑皮质中评估载体基因组的存在和GCase活性。对于PRV-2018-019，证实了使用CBE处理增加了皮质糖脂底物，并且使用Jess公司仪器上的自动化毛细管Simple Western™免疫印迹系统评估了来自海马裂解物的α-突触核蛋白水平。观察到多个α-突触核蛋白免疫反应性条带，这与单体和高分子量(HMW)物种的存在一致。在使用PR001A处理的经CBE给药的α-突触核蛋白转基因小鼠中观察到HMWα-突触核蛋白物种与单体α-突触核蛋白水平的比率在统计学上显著降低(图54A;图54B)。

[0685] 非临床功效研究总结

[0686] 上述研究表明，PR001A的单次ICV注射有效地将GBA1递送至小鼠的CNS和周围组织。在PD-GBA和nGD的两个动物模型中，PR001A升高了CNS中的GCase活性。增加的GCase活性减少了脑中糖脂底物的累积;这些糖脂底物被提出作为预期临床试验的生物标志物结果量度。重要地，这些益处在使用PR001A单次处理后持续至少6个月。CBE模型表现出反应性星形胶质细胞增生和小胶质细胞增生，这是患有PD-GABA、nGD的患者和这些病症的动物模型中的典型组织病理学发现(Hamby和Sofroniew，《神经治疗学(Neurotherapeutics)》2010;7(4):494-506;Farfel-Becker等人，《疾病模型与机制》2011;4(6):746-752;Farfel-Becker等人，《人类分子遗传学》2011;20(7):1375-86;Booth等人，《神经科学趋势(Trends Neurosci.)》2017;40(6):358-70;McMahon等人，《分子遗传学与新陈代谢》2018;123(2):S93)。PR001A能够预防或逆转CBE诱导的反应性胶质增生和小胶质细胞增生。两种模型都显示出运动缺陷，并且使用PR001A处理改善了两种模型中的这些缺陷中的一些缺陷。与这两种模型一起，使用另外的小鼠模型来研究α-突触核蛋白病理学。虽然在小鼠模型中α-突触

核蛋白表型是可变的，但当观察到时，PR001A能够抑制或逆转表型；另外的体外研究支持PR001A在降低α-突触核蛋白水平方面的有效性。这些研究共同支持PR001A在PD-GBA和nGD模型中的功效。

[0687] 实例8.1.4:毒理学

[0688] 单剂量小鼠研究

[0689] 表15中总结了使用PR001A在小鼠模型中进行的安全性和毒理学研究。小鼠模型功效研究中的两项研究(PRV-2018-005和PRV-2018-006)还包含所选安全性终点，如组织病理学，以评估PR001A在疾病模型中的安全性。

[0690] 研究PRV-2018-005:CBE模型中的剂量范围PR001A

[0691] 通过脑、胸椎脊髓、心脏、肝脏、脾脏、肺和肾脏的苏木精和伊红(H&E)染色进行组织病理学分析；结果由经委员会认证的兽医病理学家评估。在使用CBE处理的小鼠中，CNS中的发现包含大脑皮质、脑干和胸椎脊髓中的胶质瘢痕和神经元坏死。剂量为至多$1.3x10^{11}$个vg/g的脑室内PR001A在这些小鼠中被良好耐受，并且这种最高剂量引起这些CNS发现的发生率显著降低；低剂量和中等剂量PR001A在具有大脑皮质中的胶质瘢痕的动物数量中剂量依赖性地减少，其对其它CNS发现(如神经元坏死)的影响不明确。在周围组织中未观察到CBE或PR001A的不良作用。总之，在使用CBE小鼠模型的研究中，不存在由于使用PR001A的处理的不良组织病理学发现或毒性的证据。

[0692] 实例9:rAAV载体的体外分析

[0693] 进行了一项初步研究，以评估编码激活蛋白原(PSAP)和SCARB2的rAAV载体单独或与GBA1和/或一种或多种抑制性RNA组合的体外活性。还测试了编码PSAP和颗粒蛋白前体(PGRN)的一个构建体。测试的载体包含表3中所示的载体。“Opt”是指针对在哺乳动物细胞(例如，人细胞)中表达而优化的核酸序列密码子。图18示出了指示与模拟转染的细胞相比，用构建体中的每个构建体转染HEK293细胞引起对应基因产物的过表达的代表性数据。

[0694] 表3

[0695]

ID	启动子	抑制性RNA	启动子	转基因
I00015	JL_内含子	SNCA	JetLong	Opt-PSAP_GBA1
I00039	-	-	JetLong	Opt-PSAP-GRN
I00046	-	-		Opt-PSAP
I00014	JetLong	SNCA	JetLong	Opt-SCARB2_GBA1

[0696] 实例10:ITR“D”序列放置和细胞转导

[0697] 研究了ITR“D”序列的放置对rAAV载体的细胞转导的影响。HEK 293细胞用Gcase编码的rAAV转导，所述rAAV具有:1)野生型ITR(例如，“D”序列在转基因插入片段的近侧并且在ITR的末端的远侧)；或者2)其中“D”序列位于载体的“外部”的ITR(例如，“D”序列在ITR的末端的近侧并且在转基因插入片段的远侧)，如图19所示。令人惊讶的是，数据指示具有位于“外部”位置的“D”序列的rAAV保留被包装并且有效地转导细胞的能力(图20)。

[0698] 实例11:体内毒性研究

[0699] 在出生后第3天，通过4μl脑室内(ICV)注射向五十(50)只小鼠施用GBA1编码的rAAV。从出生后第8天至研究结束，所有小鼠每天接受腹膜内(IP)注射牛弥菜醇B-环氧化物(CBE)或PBS，具体取决于处理组。在最后的IP剂量之后24小时对动物实施安乐死。在安乐死

后，采集靶组织，在冷冻的4％多聚甲醛中滴定固定，并且在4℃下储存，然后送往组织病理学处理和评估。

[0700] 将来自在38-40天时安乐死的四十二(42)只动物的组织修剪、加工并包埋在石蜡块中。然后将其以约5μm切片，用苏木精和伊红(H&E)染色，并固定到载玻片上用于评估。

[0701] 不存在由于使用rAAV的处理的组织病理学发现或毒性的证据。在使用牛弥菜醇B-环氧化物(CBE)处理的小鼠中，在中枢神经系统(CNS)中的发现包含大脑皮质中的胶质瘢痕和神经元坏死，以及脑干和胸椎脊髓中的神经元坏死。高剂量rAAV处理引起这些CNS发现的发生率显著降低，而低剂量和中等剂量病毒在大脑皮质中的胶质瘢痕发生率方面具有剂量依赖性降低，其对其它CNS发现的影响不明确(图28)。

[0702] 进行免疫组织化学以评估皮质中的GCase和Iba1表达(图29A-29B)。与经CBE/赋形剂处理的动物相比，在使用rAAV-GBA1处理的所有动物中GCase表达显著增加。GCase表达的增加与递送的剂量相关，其中在经高剂量处理的动物中观察到最高GCase表达，随后为中等剂量和低剂量处理的动物。在使用CBE/赋形剂处理的动物中，小胶质细胞增生的标志物Iba1显著增加。所有剂量的rAAV-GBA1减少了Iba1染色，因此减轻了CBE模型中的小胶质细胞增生。小胶质细胞增生是神经病变型GD和这种病症的模型中的良好描述终点。

[0703] 表4:神经退行性疾病的实例

[0704]

疾病	相关联的基因
阿尔茨海默氏病	*APP, PSEN1, PSEN2, APOE*
帕金森氏病	*LRRK2, PARK7, PINK1, PRKN, SNCA, GBA, UCHL1, ATP13A2, VPS35*
亨廷顿氏病（Huntington's disease）	*HTT*
肌萎缩侧索硬化症	*ALS2, ANG, ATXN2, C9orf72, CHCHD10, CHMP2B, DCTN1, ERBB4, FIG4, FUS, HNRNPA1, MATR3, NEFH, OPTN, PFN1, PRPH, SETX, SIGMAR1, SMN1, SOD1, SPG11, SQSTM1, TARDBP, TBK1, TRPM7, TUBA4A, UBQLN2, VAPB, VCP*
巴藤病（Batten disease）（神经元蜡样脂褐质沉积症）	*PPT1, TPP1, CLN3, CLN5, CLN6, MFSD8, CLN8, CTSD, DNAJC5, CTSF, ATP13A2, GRN, KCTD7*
弗里德希氏共济失调（Friedreich's ataxia）	*FXN*
路易体病	*APOE, GBA, SNCA, SNCB*
脊髓性肌肉萎缩症	*SMN1, SMN2*
多发性硬化症	*CYP27B1, HLA-DRB1, IL2RA, IL7R, TNFRSF1A*
朊病毒病（克鲁兹佛得-雅克病（Creutzfeldt-Jakob disease）、致命性家族性失眠症、格-斯-谢三氏综合征（Gertsmann-Straussler-Scheinker syndrome）、变异性蛋白酶敏感性朊蛋白病）	*PRNP*

[0705] 表5:突触核蛋白病的实例

[0706]

疾病	相关联的基因
帕金森氏病	*LRRK2*、*PARK7*、*PINK1*、*PRKN*、*SNCA*、*GBA*、*UCHL1*、*ATP13A2*、*VPS35*
路易体痴呆	*APOE*、*GBA*、*SNCA*、*SNCB*
多系统萎缩	*COQ2*、*SNCA*

[0707] 表6:tau蛋白病的实例

[0708]

疾病	相关联的基因
阿尔茨海默氏病	*APP*、*PSEN1*、*PSEN2*、*APOE*
原发性年龄相关性 tau 蛋白病	*MAPT*
进行性核上性麻痹	*MAPT*
皮质基底节变性	*MAPT*、*GRN*、*C9orf72*、*VCP*、*CHMP2B*、*TARDBP*、*FUS*
具有震颤麻痹-17 的额颞叶痴呆	*MAPT*
亚急性硬化性全脑炎	*SCN1A*
帕金森氏病-痴呆-肌萎缩侧索硬化复合征（Lytico-Bodig disease）	
神经节胶质细胞瘤、神经节细胞瘤	
脑膜血管瘤病	
脑炎后震颤麻痹	
慢性创伤性脑病变	

[0709] 表7：溶酶体贮积病的实例

[0710]

疾病	相关联的基因
尼曼-皮克病（Niemann-Pick disease）	*NPC1, NPC2, SMPD1*
法布里病（Fabry disease）	*GLA*
克拉伯病（Krabbe disease）	*GALC*
戈谢病	*GBA*
戴萨克斯病（Tach-Sachs disease）	*HEXA*
异染性脑白质营养不良	*ARSA, PSAP*
法伯病（Farber disease）	*ASAH1*
半乳糖唾液酸贮积症	*CTSA*
辛德勒病（Schindler disease）	*NAGA*
GM1 神经节苷脂病	*GLB1*
GM2 神经节苷脂病	*GM2A*
山德霍夫氏病（Sandhoff disease）	*HEXB*
溶酶体酸性脂肪酶缺乏症	*LIPA*
多发性硫酸酯酶缺乏症	*SUMF1*
I 型粘多糖贮积症	*IDUA*
II 型粘多糖贮积症	*IDS*
III 型粘多糖贮积症	*GNS, HGSNAT, NAGLU, SGSH*
IV 型粘多糖贮积症	*GALNS, GLB1*
VI 型粘多糖贮积症	*ARSB*
VII 型粘多糖贮积症	*GUSB*
IX 型粘多糖贮积症	*HYAL1*
II 型粘脂糖症	*GNPTAB*
III 型 α/β 粘脂糖症	*GNPTAB*
III 型 γ 粘脂糖症	*GNPTG*
IV 型粘脂糖症	*MCOLN1*
神经元蜡样脂褐质沉积症	*PPT1, TPP1, CLN3, CLN5, CLN6, MFSD8, CLN8, CTSD, DNAJC5, CTSF, ATP13A2, GRN, KCTD7*
α-甘露糖苷贮积症	*MAN2B1*
β-甘露糖苷贮积症	*MANBA*
天冬氨酰基葡萄糖胺尿症	*AGA*
岩藻糖苷贮积症	*FUCA1*

[0711] 实例12：使用编码Gcase的rAAV的非人灵长类动物研究在非人灵长类动物(NHP)中体内评估了PR001A(AAV9.CBA.GBA1.A)，包括人GBA1的密码子优化的编码序列(SEQ ID NO:15)的安全性。上文提供了PR001A组分的另外的详细信息。NHP的脑与人类的脑最相似，并且NHP脊髓和CSF体积和流量的解剖特征准许ICM(小脑延髓池内)注射。由于与人类的解剖类

似性，预期NHP研究将提供支持PR001A的临床给药的可靠的生物分布数据。

[0712] 在猕猴的以下三项毒理学研究中评估了PR001A的安全性和生物分布(表8)：两项非GLP(良好实验室规范)研究(PRV-2018-015和PRV-2019-005)和一项更大的21CFR58 GLP合规性研究(PRV-2018-016)。

[0713] 表8：使用PR001A的NHP非临床安全性研究总结

[0714]

研究编号	监管 监督	物种（年龄）	ROA	剂量组 （vg/g 脑）	总计 PR001A 剂量（vg）	尸检 时间点	终点
PRV-2018-015	非 GLP	猕猴（2-3 岁）	ICM ICM +IPa	0 2.0×10^{11} 2.1×10^{11}	0 1.47×10^{13} 1.53×10^{13}	D18	生存期安全性； 生物分布； 组织病理学
PRV-2018-016	GLP	猕猴（2-4 岁）	ICM	0 6.2×10^{10} 2.3×10^{11}	0 4.6×10^{12} 1.7×10^{13}	D7、D30、 D183	生存期安全性； 生物分布； 组织病理学； CBC；载体 脱落
PRV-2019-005	非 GLP	猕猴（2-3 岁）	ICM	0 7.0×10^{11}	0 5.2×10^{13}	D30、D90	生存期安全性； 生物分布； 组织病理学

[0715] 缩写：CBC，全血细胞计数；D，天；GLP，良好实验室规范；ICM，小脑延髓池内；IPa，实质内；NHP，非人灵长类动物；ROA，施用途径；vg，载体基因组。

[0716] 在NHP中进行了初步非GLP研究(PRV-2018-015)，以证实最终PR001A产物在ICM施用后递送至NHP脑。在NHP中进行的GLP毒理学和生物分布研究(PRV-2018-016)评估了PR001A的安全性和生物分布。

[0717] 在NHP中测试的剂量包含由施用体积和测试产物滴度确定的最大可行剂量。另外，还在GLP研究中评估了较低剂量。选择GLP研究的时间点以评估处理后但在峰值表达(第7天)、峰值表达开始(第30天)和长期

[0718] 表达后峰值(第183天)之前的安全性。

[0719] 研究PRV-2018-015：PR001A的非GLP NHP研究

[0720] 在雄性猕猴中进行了PR001A的非GLP初步耐受性和生物分布研究。这项研究的目的是验证ICM递送后，PR001A在各种脑区域和主要周围器官的生物分布。选择处死的时间点是因为它被预测为允许对潜在的早期毒性进行有意义的测量，以为计划的GLP NHP毒理学研究提供信息，最值得注意的是如通过功能性观测电池(FOB)测量的早期存活期观察。鞘内AAV递送的研究已表明，转基因表达在注射后2至3周达到峰值(Hinderer等人，《分子疗法》2014；22(12)：2018-27；Hinderer等人，《分子疗法-方法和临床发展》2014；1：14051；Hinderer等人，《分子疗法》2015；23(8)1298-307；Hinderer等人，《分子遗传学与新陈代谢》2016；119(1-2)：124-30)。因此，第18天评估应检测由于注射程序或对测试制品的先天性炎性应答引起的即时毒性，并且在对应于早期峰表达的时间点提供关于转基因生物分布和表达的信息。研究设计包含雷帕霉素(rapamycin)处理(0.3mg/kg口服，第-3天至第18天)与PR001A组合的组，以确定免疫抑制是否有益于缓解潜在毒性。为了增加脑中的转基因表达，研究中的一个组包含将PR001A直接实质内(IPa)施用到中脑中，靶向双侧黑质致密部，结合ICM递送。ICM剂量体积为0.5mL，这是有经验的最大剂量，并且IPa剂量为10μL双边，即对于单独ICM，为$1.47x10^{13}$个vg，并且对于使用ICM和IPa两者的处理，为$1.53x10^{13}$个vg。在估计脑重量为74g的情况下，ICM剂量为$2.0x10^{11}$个vg/g脑，并且对于接受ICM与IPa组合施用的组，剂量为$2.1x10^{11}$个vg/g脑。表9中提供了此研究的设计的表格总结。

[0721] 表9:非GLP NHP研究PRV-2018-015概述

[0722]

在NHP中施用PR001A后的生物分布和安全性研究	
目的	评估PR001A在NHP中的耐受性和生物分布
监管合规	非GLP
测试制品	PR001A
动物总数	8只雄性猕猴
重量（年龄）	3-4 kg（2-3岁）
动物数量/组	2只/组

[0723]

研究设计	组分配 组 | 剂量（vg/g脑） | ROA | 免疫抑制 | 动物数量 1 | 0 | ICM | 否 | 2 2 | 2.0×10^{11} | ICM | 否 | 2 3 | 2.0×10^{11} | ICM | 是 | 2 4 | 2.1×10^{11} | ICM + IPa | 否 | 2
给药途径和频率	ICM，使用注射器；使用Hamilton注射器单次注射0.5 mL IPa；在每个半球双侧注射10 μL
调配物	提供的给药溶液浓度为2.9×10^{13}个vg/mL；对照组中使用的赋形剂是与临床预期类似的调配物（20 mM Tris pH 8.0，200 mM NaCl，1 mM $MgCl_2$和0.001% [w/v]泊洛沙姆188）
FOB	每周
体重	每周
尸检	第18天
H&E和qPCR	检查来自所有组中的所有动物的以下组织： 肝脏 额皮质 室旁 肺 顶叶皮质 核 肾脏 枕叶皮质 脑桥 生殖腺 岛叶皮质 内嗅皮质 心脏 扣带回皮质 髓质 脾脏 海马体 小脑背 根神经节 壳核 中脑颈 脊髓 对于中脑H&E，包含至少12个切片，其包含IPa组中的输注部位周围的6个切片；单独ICM组（1-3）包含相同的解剖学水平

[0724] 缩写:FOB,功能性观测电池;GLP,良好实验室规范;H&E,苏木精和伊红;ICM,小脑延髓池内;Immunosupp,免疫抑制;IPa,实质内;MgCl2,氯化镁;NaCl,氯化钠;NHP,非人类灵长类动物;qPCR,定量聚合酶链反应;ROA,施用途径;vg,载体基因组。

[0725] H&E分析由两名经独立委员会认证的兽医病理学家进行,并且两者均得出结论,没有PR001A相关毒性发现。观察到的脊髓变化可能是ICM注射时的创伤的结果,并且不认为与PR001A相关。在非神经系统组织中的所有组织病理学发现都被认为是在对照猴中常见的自发性或偶然变化。总体而言,在脑或脊髓中不存在明确的不良PR001A作用。

[0726] 审查病理学家注意到,脑脊膜、脑或脊髓实质中和/或注射位点(在这些组织中)处的非特异性变化(主要为单核细胞的可变浸润)可能与测试制品相关联,但病理学家并不认为这些变化是不利的。在所指出的严重程度下,可以合理地预期在任何猴中观察到类似的浸润,其中实验程序破坏脑脊膜和/或血脑屏障。另外地,在对照猴中通常观察到一些浸润

(尤其是脉络丛内的浸润,以及偶尔在实质内的浸润)(Butt等人,《毒理病理学(Toxicol Pathol.)》2015;43:513-8)。观察到的所有其它组织病理学发现被认为是偶然的和/或具有与在赋形剂和PR001A处理的动物中类似的发生率和严重程度,并且因此被认为与PR001A的施用无关。审查相同组织样品的第二个独立的经委员会认证的兽医病理学家指出,所有发现与注射程序期间发生的偶然发现或创伤是无法区分的,因为发现是非特异性的,并且跨所有组,包含仅接受赋形剂的对照组。另外,另一名经委员会认证的兽医病理学家审查了非GLP组织,并得出结论,不存在PR001A相关作用。

[0727] 总体而言,在研究进程期间,无论组和时间点如何,FOB评分、体重增加或食物消耗均没有变化。中脑中的小胶质细胞形态似乎在处理组之间没有差异(如使用Iba1染色所测定)。中脑的酪氨酸羟化酶阳性神经元的表达和形态似乎在处理组之间没有差异。到第18天,所有经PR001A处理的动物中AAV9-nAb滴度增加,而经赋形剂处理的对照动物仅显示出相对于基线的适度变化。与接受PR001A处理的其它动物(>1:256)相比,接受口服雷帕霉素的组中的猴中的一只猴在第18天时具有较低的AAV9 nAb滴度(1:64);滴度差异似乎不影响生物分布,但样品大小太低,使得无法得出结论。

[0728] 使用定量聚合酶链反应(qPCR)评估收集的所有测试样品中的生物分布;认为组织对于至少100个vg/μg DNA呈阳性(这些标准也用于评估小鼠功效研究中的阳性组织)。测试的所有组织在使用PR001A处理的所有组中都是阳性的,这指示在整个CNS和周围中的广泛分布。另外,接受到中脑中的PR001A的ICM施用与双侧IPa施用结合的动物具有增加的局部表达。使用雷帕霉素处理似乎对安全性或生物分布没有任何影响(图30)。值得注意的是,来自对照动物的若干组织(脑桥、脊髓、室旁、背根神经节和肺)也为阳性,如通过qPCR所测定。注意到关于尸检程序的若干个问题,所述尸检程序指示不同处理组中和每只动物内的不同器官之间的跨动物交叉污染风险增加。在尸检程序中实施改变,以最小化污染以用于未来研究。然而,在任何对qPCR呈阳性的动物中均没有不良毒性发现。转基因表达的分析(GCase活性)指示,与对照相比,经PR001A处理的动物中的GCase活性没有显著增加;在GLP NHP毒性研究PRV-2018-016中对GCase活性进行了更详细的探索。

[0729] 总之,非GLP NHP研究PRV-2018-015的结果表明,在任何存活期或尸检后评估中均不存在安全性或毒性问题。所有动物存活至计划的尸检日期,并且尸检后病理学分析指示没有不良毒性问题。研究还显示PR001A在脑中的均匀生物分布。

[0730] 研究PRV-2018-016:PR001A的GLP NHP研究

[0731] 研究设计

[0732] 本GLP研究的目的是评估PR001A在猕猴中通过ICM注射施用一次时的毒性和生物分布,其中施用后观察期为7天、30天或183天。本研究旨在评估2个剂量水平:最大剂量是以1.2mL体积的未稀释测试产物可实现的最大可行剂量(施用时经历的最高体积),以及比高剂量低1/2对数单位的较低剂量。剂量相当于$4.6x10^{12}$个vg的低剂量和$1.7x10^{13}$个vg的高剂量;其中猕猴的脑重量估计为74g,这相当于大约$6.2x10^{10}$个vg/g脑和$2.3x10^{11}$个vg/g脑。此研究还包含对照组,其中动物仅接受1.2mL赋形剂(20mM Tris pH 8.0、200mM NaCl、1mM $MgCl_2$和0.001%[w/v]泊洛沙姆188)。此研究利用了雄性和雌性猕猴两者。第7天组包含最高剂量的1只雄性,并且被设计为早期毒性的前哨;剩余2个时间点(第30天和第183天)包含每个剂量2只雄性和1只雌性。除了来自多个脑区的样品之外,还收集周围组织样品用于

qPCR分析。分析对qPCR呈阳性的所有样品的转基因表达。表10中提供了此研究的设计的表格总结。

[0733] 表10:GLP NHP研究PRV-2018-016概述

<table>
<tr><td colspan="2">在猕猴中的 7 天、30 天或 183 天观察期的单剂量池内毒性和生物分布研究</td></tr>
<tr><td>目的</td><td>评估 PR001A 在 NHP 中的耐受性和生物分布</td></tr>
<tr><td>监管合规</td><td>GLP</td></tr>
<tr><td>测试制品</td><td>PR001A</td></tr>
<tr><td>动物总数</td><td>19 只猕猴</td></tr>
<tr><td>重量（年龄）</td><td>2-5 kg（25-50 月龄）</td></tr>
<tr><td>研究设计</td><td>组分配
<table>
<tr><td rowspan="2">组</td><td rowspan="2">剂量（vg/g 脑）</td><td colspan="3">动物数量</td></tr>
<tr><td>尸检（第 7 天）</td><td>尸检（第 30 天）</td><td>尸检(第 183 天）</td></tr>
<tr><td>1</td><td>0</td><td>0</td><td>2M/1F</td><td>2M/1F</td></tr>
<tr><td>2</td><td>6.2×10^{10}</td><td>0</td><td>2M/1F</td><td>2M/1F</td></tr>
<tr><td>3</td><td>2.3×10^{11}</td><td>IM</td><td>2M/1F</td><td>2M/1F</td></tr>
</table></td></tr>
<tr><td>给药途径和频率</td><td>ICM，使用注射器；1-3 cc 注射器和脊髓穿刺针（Pencan 25 G x 2.5 cm BBraun）；以 0.5 立方厘米/分钟的最大速率单次缓慢推注递送</td></tr>
<tr><td>调配物</td><td>提供的剂量溶液的浓度为 1.42×10^{13} 个 vg/mL</td></tr>
<tr><td>临床体征</td><td>每日（包含食物消耗）；每周详细观察</td></tr>
<tr><td>体重</td><td>每周</td></tr>
<tr><td>神经学、眼科和心电图检查</td><td>给药前和第 2 周和第 26 周期间一次</td></tr>
<tr><td>临床病理学</td><td>所有组血液学、临床化学、凝血参数</td></tr>
<tr><td>[0734] 血液学</td><td>红细胞计数 平均红细胞体积
血红蛋白 血小板计数
红细胞比容 白细胞计数
平均红细胞 血涂片
血红蛋白 绝对网织红细胞计数
平均红细胞 白细胞计数
血红蛋白浓度 差别血细胞计数</td></tr>
<tr><td>临床化学</td><td>葡萄糖 丙氨酸转氨酶
尿素氮 碱性磷酸酶
酸酐 γ 谷氨酰转移酶
总蛋白 天冬氨酸转氨酶
白蛋白 钙
球蛋白 无机磷
白蛋白/球蛋白比 钠
胆固醇 钾
总胆红素 氯化物
肌酸激酶 甘油三酯</td></tr>
<tr><td>凝血</td><td>凝血酶原时间
纤维蛋白原
激活部分凝血活酶时间</td></tr>
<tr><td>载体脱落（尿/粪便）</td><td>处死时</td></tr>
<tr><td>尸检</td><td>第 7 天、第 30 天、第 183 天</td></tr>
<tr><td>用于组织病理学的组织保存</td><td>将来自每只动物的以下组织收集在 10%中性缓冲福尔马林中（除非另有说明），或者记录为缺失（如果适用的话）：</td></tr>
</table>

[0735]

组织病理学	所有组-所有组织
生物分布	将通过 qPCR 分析以下组织的生物分布： 额皮质 肝脏 海马体 DRG（颈椎） 腹侧中脑 DRG（胸椎） 旁灰质 DRG（腰椎） 壳核 脊髓（胸椎） 睾丸 脊髓（腰椎） 卵巢 脊髓（颈椎） 肾脏 脾脏 胃（幽门） 心脏（顶） 血液 CSF
GCase 表达	将评估所有对 qPCR 呈阳性的样品的 GCase 表达
组织保存	肾上腺[a] 注射部位 直肠 主动脉 （覆盖皮肤） 唾液腺 骨，股骨和 空肠 坐骨神经 骨髓 肾脏[a] 精囊[a] 和骨髓 肝脏[a] 脊髓 脑[a] 肺和大 （颈椎，胸椎， 盲肠 支气管 腰椎） 宫颈 淋巴结 脾脏[a] 结肠 （下颌） 胃 十二指肠 淋巴结 睾丸[a] 附睾[a] （肠系膜） 胸腺[a] 食道 乳腺 甲状腺和 眼[b] 肌肉，肱二头肌 甲状旁腺[a] 胆囊 股四头肌 舌 GALT（派伊尔 视神经 气管 结（Peyer's patch）） 卵巢[a] 膀胱 心脏[a] 输卵管 子宫[a] 回肠 胰腺 阴道 垂体 前列腺[a]
	[a]器官（当存在时）将被称重或备注为缺失： [b]收集在改良的戴维森固定液（Davidson's fixative）中，并且储存在 10%中性缓冲福尔马林中

[0736] 缩写:CSF,脑脊液;DRG,背根神经节;F,女性;GALT,肠相关淋巴组织;GLP,良好实验室规范;ICM,小脑延髓池内;M,男性;$MgCl_2$,氯化镁;NaCl,氯化钠;NHP,非人灵长类动物;qPCR,定量聚合酶链反应;vg,载体基因组。[a] 20mM Tris pH 8.0、200mM NaCl、1mM $MgCl_2$和0.001%(w/v)泊洛沙姆188。

[0737] 通过多次存活期观察和测量,包含死亡率/发病率(每天)、临床观察(每天)、体重(基线和此后每周)、食物消耗的目视检查(每天)、神经学观察(基线和第2周和第26周期间)、间接眼底镜检查(基线和第2周和第26周期间)和心电图测量(基线和第2周和第26周期间)对猕猴NHP进行评估。

[0738] 在基线以及在第7天、第30天或第183天处死时,对AAV9衣壳的nAb进行分析。由血液学、凝血、临床化学和尿液分析组成的临床病理学在基线进行两次(血液测试;一次用于尿液分析),并且在给药期的第1周和第13周期间进行一次。

[0739] 将动物安乐死,并且在第7天、第30天或第183天采集组织。从所有动物中收集组

织,称重(如果适用的话),并且分成重复品。将一个重复品保存在10%中性缓冲福尔马林中(除了需要用于最佳固定的特别固定剂外),用于组织病理学评估(所有动物)。收集另外的重复品用于qPCR和转基因表达分析。

[0740] 安全性和毒性

[0741] 所有动物存活至计划的尸检日期,其中没有意外死亡。任何组的存活期评估均没有顾虑或问题;尸检时的大体宏观检查显示任何队列中均没有PR001A相关异常。

[0742] 在第7天或第30天中期处死时或在第183天终末处死时,在任何组中均不存在PR001A相关器官重量差异或宏观或微观发现。主要在脑干区中以血管周围出血的局灶区域为特征的出血存在于所有组中,包含对照,并且因此被视为与程序相关(尸检前CSF收集)并且与PR001A无关。所有其它微观发现,包含脑或脊髓中最小单核细胞浸润,被认为是自发性的和/或偶然的,因为它们的发生率较低,在各组中随机分布(包含并行对照),和/或其严重程度与此年龄的猴的预期相同;因此,其被视为与PR001A无关。

[0743] 在临床病理学测试结果中未观察到PR001A相关发现;在显示出最高抗AAV9滴度的动物中注意到纤维蛋白原增加,这与针对载体的免疫应答一致。到第7天,在施用PR001A的所有动物中观察到抗AAV9抗体的阳性滴度。未注意到PR001A相关临床观察、体重变化、眼部观察或身体或神经检查发现。在施用任一剂量的PR001A的仅雄性或组合性别中未观察到平均PR间隔、QRS持续时间、QT间隔、校正QT(QTc)间隔或心率中的PR001A相关差异。未观察到PR001A相关心律失常或异常波形。

[0744] 当通过单次注射向雄性和磁性猴在小脑延髓池处施用时,0、$6.2x10^{10}$或$2.3x10^{11}$个vg/g脑PR001A的剂量水平耐受性良好。未观察到被认为与PR001A基因产物相关的存活期、临床病理或解剖病理观察结果。

[0745] 生物分布和免疫应答

[0746] 使用基于qPCR的测定(载体存在)进行载体基因组拷贝的生物分布分析;在对于载体基因组存在呈阳性的样品中测量转基因的表达(GBA1)。在第30天和第183天,在使用高剂量($2.3x10^{11}$个vg/g脑)处理后,通过qPCR分析,所有检查的组织(包含CNS和周围)均呈阳性(来自第183天的所选代表性区域示出于图30中)。在第30天,在用高剂量PR001A($2.3x10^{11}$个vg/g脑)处理的所有NHP中,从睾丸和卵巢收集的组织样品对于转导呈阳性。另外,在第30天,用低剂量PR001A($6.2x10^{10}$个vg/g脑)处理的1只雄性NHP在睾丸中呈阳性。在第183天,在用高剂量处理后,1只雄性和1只雌性在性腺中对于PR001A转导呈阳性,并且用低剂量处理的2只雄性在睾丸中呈阳性。

[0747] 为了证实人GCase在经处理的NHP中产生,在Jess公司仪器上的Simple Western™免疫印迹系统上评估蛋白质水平。来自从用PR001A给药的NHP获得的皮质、海马体和中脑样品的结果指示,当以聚集体分析时,与仅接受赋形剂的正常NHP的样品相比,GCase表达水平升高;将低剂量和高剂量组组合,用于与对照组进行统计比较(图31A和图31B)。这些结果指示,ICM施用后NHP中PR001A的有效和广泛转导导致GCase表达增加。

[0748] 总之,生物分布发现指示PR001A在NHP中的ICM施用引起脑和周围器官中的人GBA1转基因的稳健和广泛转导。在NHP生物分布数据的总结中,PR001A的ICM施用引起整个脑中的广泛生物分布,其与小鼠模型中显示为有效的水平相当;这种转导导致脑中的GCase蛋白水平升高。

[0749] 研究PRV-2019-005:PR001A的非GLP NHP研究

[0750] 研究设计

[0751] 在12只雄性猕猴中进行了非GLP研究,以评估当通过ICM注射施用并且具有30天和90天施用后观察期时PR001A的毒性和生物分布。此研究旨在评估单剂量水平:5.2x10^{13}个vg或7.0x10^{11}个vg/g脑,假设猕猴的平均脑重量为74g。所施用的剂量是用1.2mL体积(施用时所经历的最高体积)的未稀释的PR001A产物可实现的最大可行剂量。此研究包含对照组,其中动物仅接受1.2mL赋形剂(20mM Tris pH 8.0、200mM NaCl和1mM MgCl2+0.001%[w/v]普朗尼克F68)。收集来自多个脑区和周围器官的样品用于qPCR分析以测量生物分布,并且进行临床病理学测量和组织病理学以评估安全性。表11中提供了此研究的设计的表格总结。

[0752] 表11:非GLP NHP研究PRV-2019-005概述

[0753]

在非人灵长类动物中进行小脑延髓池内 PR001A 施用后的非 GLP 毒理学和生物分布研究			
目的	评估 PR001A 在 NHP 中的耐受性和生物分布		
监管合规	非 GLP		
测试制品	PR001A		
动物总数	12 只猕猴		
重量（年龄）	2-4 kg（2-3 岁）		
研究设计	组分配		
	组	剂量（vg/g 脑）	动物数量
			第 30 天 / 第 90 天
	1	0	3 / 3
	2	7.0 x 10^{11}	3 / 3

[0754]

给药途径和频率	小脑延髓池内；经 3 分钟单次缓慢推注递送
调配物	提供的剂量溶液的浓度为 4.3 x 10^{13} 个 vg/mL
临床体征	每日（包含食物消耗）
体重	每日
FOB	第-14 天、第 7 天、第 30 天、第 60 天、第 90 天
临床病理学（化学和血液学）	第-14 天、第 7 天、第 30 天、第 60 天、第 90 天
血液学	红细胞计数　平均红细胞体积 血红蛋白 血小板计数 红细胞比容　白细胞计数 平均红细胞　血涂片 血红蛋白 网织红细胞计数 平均红细胞　差别血细胞计数 血红蛋白浓度
临床化学	葡萄糖　碱性丙氨酸转氨酶 尿素氮　磷酸酶 酸酐γ谷氨酰转移酶 总蛋白　天冬氨酸转氨酶 白蛋白　钙 球蛋白　无机磷 白蛋白/球蛋白比　钠 胆固醇　钾 总胆红素 氯化物 甘油三酯
尸检	第 30 天和第 90 天
组织保存	检查来自所有组中的所有动物的以下组织： 额皮质　肝脏 海马体　肾脏 腹侧中脑 心脏（顶） 室周核　脾脏 壳核 胃（幽门） 背根神经节（颈椎）　睾丸 背根神经节（胸）　脊髓（颈椎） 背根神经节（腰椎）　脊髓（胸椎） CSF 脊髓（腰椎）
组织病理学	将保存以上列出的组织的样品并且进行石蜡包埋用于 H&E 组织学
生物分布	将收集和储存上述组织列表。将通过定量 PCR（qPCR）分析所有动物的样品的生物分布。

[0755] 缩写:CSF,脑脊液;FOB,功能性观测电池;GLP,良好实验室规范;H&E,苏木精和伊红;NHP,非人灵长类动物;qPCR,定量聚合酶链反应;vg,载体基因组。

[0756] 作为此研究的一部分,将组织固定在10%福尔马林中,包埋在石蜡中,并且加工以产生经H&E染色的载玻片。由经独立委员会认证的兽医病理学家制备并检查数字载玻片。在处理后30天和90天两者时,没有发现与PR001A处理有关的结果,因为经PR001A处理的动物的结果与猕猴中常见的结果一致(Chamanza等人,《毒理病理学》2010;38(4):642-57)和/或在媒剂对照动物和PR001A处理的动物中都观察到所述结果,并且因此被认为是偶然的。

[0757] 向小脑延髓池施用PR001A对增重或食物消耗没有影响,因为在研究过程期间,处理组与对照组之间没有统计学差异。另外,无论组和时间点如何,FOB评分没有变化,这指示在研究的存活期期间没有问题或顾虑。使用体外测定测量抗AAV9的nAb的血浆水平。在基线(ICM施用前)和处死时(第30天或第90天)从研究中的动物制备样品。在第30天和第90天两者时,使用PR001A处理引起基线与尸检时间之间的AAV9 nAb滴度增加,而经媒剂处理的动物的总体滴度保持稳定或降低。

[0758] PR001A的生物分布和表达

[0759] 使用qPCR评估收集的所有测试样品中PR001A转基因的生物分布;认为组织的至少50个vg/μg DNA呈阳性,这是所述测定的定量下限。测试的所有组织在使用PR001A处理的所有组中都是阳性的,这指示在整个CNS和周围中的广泛分布。来自第30天和第90天队列两者的所选代表性区的数据示出于图32中。

[0760] 总之,非GLP NHP研究PRV-2019-005的结果表明,在任何存活期或尸检后评估中均不存在安全性或毒性问题。所有动物存活至计划的尸检日期,并且尸检后病理学分析指示没有不良毒性问题。

[0761] 表16中总结了使用PR001A在NHP中进行的安全性和毒理学研究。

[0762] 实例13:人类受试者中的1/2期试验

[0763] 具有GBA1突变的帕金森氏病

[0764] 将人类受试者纳入PR001A rAAV的开放标签递增剂量试验。受试者纳入标准包括:单或双等位基因GBA1突变、中度至重度帕金森氏病,并且在研究产物给药之前稳定使用背景帕金森氏病药物。将受试者分为两组:(1)PR001低剂量(1.4x10^{14}个)(N=6);以及(2)PR001高剂量(2.8x10^{14}个vg)(N=6)。每个受试者将接受作为单次ICM(小脑延髓池内)注射的研究产物。此试验将包含3个月生物标志物读数、12个月临床读数和5年安全性和临床随访。此试验将分析:(1)安全性和耐受性;(2)关键生物标志物,包含:Gcase、GluCer和GluSph(CSF和血液);(3)另外的生物标志物,包含:α-突触核蛋白、NfL(神经丝轻链)、DAT(多巴胺转运蛋白)、SPECT(单光子发射体层成像);和MRI(磁共振成像);以及(4)功效:MDS-UPDRS(运动病症学会统一帕金森氏病评定量表);认知;和ADL(日常生活活动)。

[0765] 2型戈谢病

[0766] 将人类受试者(n=15)纳入PR001A rAAV的开放标签试验。受试者纳入标准包括:婴儿,0-24月龄;双等位基因GBA1突变;与2型戈谢病一致的神经体征和症状;以及稳定的护理标准背景药物。每个受试者将接受作为单次ICM(小脑延髓池内)注射的研究产物。此试验将包含3个月生物标志物读数、12个月临床读数和5年安全性和临床随访。此试验将分析:(1)安全性和耐受性;(2)关键生物标志物,包含:Gcase、GluCer和GluSph(CSF和血液);(3)至临床事件的时间(例如,气管造口术、PEG(内窥镜胃造口术)放置、死亡);以及(4)功效:行为、认知、总运动、功能、生活质量(生活质量)。

[0767] 实例14:静脉内施用编码Gcase的rAAV的研究

[0768] 在D409V Hom小鼠模型中进行PR001静脉内剂量范围研究。纯合$Gba1^{D409V/D409V}$(D409V Hom)小鼠(缅因州巴尔港的杰克森实验室(The Jackson Laboratory,Bar Harbor,ME))显示出戈谢病相关表型,包含GCase活性降低(参见例如,Sardi等人,《美国国家科学院院刊(Proc Natl Acad Sci U S A)》.2011;108(29):12101-6)。图59中提供了研究设计。表12中提供了组和剂量。

[0769] 表12:用于D409V Hom小鼠中PR001静脉内施用的组和剂量

[0770]

组	载体基因组/kg
WT† +赋形剂	不适用
D409V +赋形剂	不适用
D409V + PR001 剂量 1	1.1×10^{10}
D409V + PR001 剂量 2	1.1×10^{11}
D409V + PR001 剂量 3	1.1×10^{12}
D409V + PR001 剂量 4	1.1×10^{13}
D409V + PR001 剂量 5	1.1×10^{14}

[0771] †从杰克森实验室(缅因州巴尔港)购买的野生型动物,而不是同窝动物。

[0772] 静脉内施用PR001减少肝脏中的炎症(图60A)。D409V Hom小鼠显示出肝脏中的糖脂累积,其通过PR001处理以剂量依赖性方式抑制(图60B;图60C)。D409V Hom小鼠显示出脑中的GluSph累积,其通过PR001处理减少(图61B)。静脉内施用PR001减少肺中的炎症(图62中)。

[0773] 在4L/PS-NA小鼠模型中也进行了PR001静脉内剂量范围研究。图63中提供了研究设计。表13中提供了组和剂量。

[0774] 表13:用于4L/PS-NA小鼠中PR001静脉内施用的组和剂量

[0775]

组	载体基因组/kg
对照+赋形剂	不适用
4L/PS-NA+赋形剂	不适用
4L/PS-NA+PR001剂量1	$9.5x10^{12}$
4L/PS-NA+PR001剂量2	$3.0x10^{13}$
4L/PS-NA+PR001剂量3	$9.5x10^{13}$
4L/PS-NA+PR001剂量4	$3.0x10^{14}$

[0776] 4L/PS-NA小鼠显示出肝脏中的糖脂累积,其通过PR001处理减少(图64A;图64B)。4L/PS-NA小鼠显示出脑中的糖脂累积,其通过PR001处理减少(图65A;图65B)。

[0777] 实例15:编码靶向α-突触核蛋白的抑制性RNA的rAAV的研究

[0778] 用PR004或PR014以若干感染复数(MOI)转导HeLa细胞。PR004和PR014两者以剂量依赖性方式降低α-突触核蛋白水平(图66A)。PR004以剂量依赖性方式增加GCase活性(图66B)。

[0779] 在来自帕金森氏病的患者来源的诱导多能干细胞(iPSC)的神经元培养物中评估PR004功效。来源于具有SNCA三倍体的帕金森氏病患者的诱导多能干细胞分化为神经元(图67A)。用PR004转导的神经元具有增加的GCase活性(图67B)和降低的α-突触核蛋白水平(图67C)。

[0780] 未观察到PR004 rAAV载体的脱靶效应。通过qRT-PCR在HEK293细胞中评估来自PR004载体的靶向SNCA的shRNA的脱靶效应。评估了与SNCA的靶区序列最类似的15个基因的表达(图68A)。还评估了SNCA家族成员β-突触核蛋白和γ-突触核蛋白(分别为SNCB和SNCG)

的表达(图68B)。这些基因的mRNA水平未受到PR004影响。

[0781] 在AAV2-SNCA-A53T AAV帕金森氏病小鼠模型中评估PR004功效(图69;图70)。将编码具有A53T突变的人SNCA的AAV2直接注射到成年野生型小鼠的黑质中。从注射后4周开始，动物表现出步态异常、多巴胺代谢变化、多巴胺能神经元丢失、神经炎症和磷酸化的α-突触核蛋白表达。在PR004脑室内注射后4周(图71A)和9周(图71B)时进行自动运动步态分析(MotoRater)。在两个时间点观察到PR004处理效应的趋势。

[0782] 实例16:针对人类受试者的编码Gcase的rAAV的临床施用

[0783] 以$1.3x10^{14}$个vg($1.1x10^{11}$个vg/g脑)的剂量通过小脑延髓池内注射施用PR001来治疗患有2型戈谢病的22月龄人类婴儿。受试者的脑脊液(CSF)中的Gcase酶活性从在基线处无法检测到增加至在PR001施用后第4个月的正常水平(参见表17)。

[0784] 表17:施用PR001的GD2受试者在第0天的Gcase活性

[0785]

	第 0 天	第 1 个月	第 4 个月	正常范围（成年人）
CSF 中的 GCase 活性（μmol/L/d）	不可检测	1.0	4.7	1.1-8.1

[0786] 以$1.4x10^{14}$个vg的剂量通过小脑延髓池内注射施用PR001来治疗患有具有GBA1突变的帕金森氏病的受试者。受试者的两个染色体拷贝中都有GBA1突变。受试者的CSF中的Gcase酶活性从在基线处无法检测到增加至在PR001施用后约第3个月的正常水平(参见表18)。

[0787] 表18:施用PR001的PD-GBA受试者在第0天的Gcase活性

[0788]

	第 0 天	约第 3 个月	正常范围（成年人）
CSF 中的 GCase 活性（μmol/L/d）	不可检测	3.0	1.1-8.1

[0789] 实例17:评估PR001和免疫抑制方案在人类患者中的安全性和对Gcase水平的影响的1/2期研究

[0790] PR001A是研究性基因疗法，其利用AAV9病毒载体将编码野生型GBA1的DNA(编码Gcase的基因)递送至患者的细胞(参见图55)。将由手术医生通过到小脑延髓池中的皮下注射向患有具有GBA1突变的帕金森氏病或戈谢病(2型或3型)的患者施用一次性剂量的PR001A。参见实例13获得关于在人受试者中进行的1/2期试验的描述。在每个方案中在第0天时向受试者施用单剂量rAAV(PR001A)。

[0791] 免疫抑制剂施用

[0792] 皮质类固醇施用:患者将在第-1天(根据现场设置，允许在第-1天或第0天)接受1000mg甲基强的松龙(MPS)IV脉冲的负荷剂量。参见以下部分，了解在利妥昔单抗(RTX)施用前第-14天至第-2天之间可能的100mg IV甲基强的松龙施用。从1000mg IV甲基强的松龙脉冲(第0天或第1天)之后第二天起，将以30mg/天的剂量口服给予强的松作为伴随用药，持续14天，并且然后将经随后的7天逐渐减少。医疗保健提供者可以自行决定使用更高剂量或更长时间逐渐减少的皮质类固醇。

[0793] 利妥昔单抗施用:患者将在第-14天与第-1天之间的任何一天接受1000mg利妥昔单抗IV 1次剂量。为了缓解与利妥昔单抗相关联的输注相关反应(IRR)的风险和严重程度，患者将在接受IV利妥昔单抗之前接受IV甲基强的松龙。对于第-1天的利妥昔单抗剂量施

用,患者将在上文所描述的1000mg IV甲基强的松龙脉冲后至少30分钟接受其利妥昔单抗输注。对于第-14天与第-2天之间的利妥昔单抗剂量施用,患者将在接受其IV利妥昔单抗之前大约30分钟接受100mg甲基强的松龙IV输注。

[0794] 根据当地实践和/或医疗保健提供者的酌情决定,除了IRR预防之外,还可以提供对乙酰氨基酚(acetaminophen)和/或苯海拉明(diphenhydramine)。

[0795] 西罗莫司施用:患者将在第-1天(第-3天至第-1天窗口)接受6mg的西罗莫司口服负荷剂量。从第0天开始(如果在第-3天或第-2天施用西罗莫司负荷剂量,则从西罗莫司负荷剂量之后开始),后续的2mg/天的西罗莫司口服维持剂量作为伴随用药提供,并根据需要调整,持续90天,以维持6ng/mL(范围为4-9ng/mL)的血清低谷水平。然后经随后的15至30天逐渐减少西罗莫司。对于每次访视,在西罗莫司剂量施用之前,将收集西罗莫司低谷水平。医疗保健提供者可以自行决定使用更高剂量或更长时间逐渐减少的西罗莫司。

[0796] 免疫抑制监测标准:除监测西罗莫司的低谷水平外,还将评估每位患者的临床状态、实验室发现和潜在的不良事件。

[0797] 还应考虑需要增加免疫抑制剂的剂量、延长逐渐减量方案、添加另外的药剂或基于与免疫应答一致的临床体征或症状重新开始治疗,包含:

[0798] • 无症状细胞增多以及白细胞计数(WBC)>30mm^{3}和/或高脑脊液(CSF)蛋白(>70mg/dL)

[0799] • CSF细胞增多和/或蛋白质增加,伴有临床症状(包含潜在FTD症状的失代偿)

[0800] • 基于神经检查和/或治疗诱发神经病变评估量表(TNAS)的感觉症状的出现

[0801] • 丙氨酸转氨酶(ALT)和/或天冬氨酸转氨酶(AST)升高>5x正常上限(ULN),并伴有肝炎症状(例如,黄疸、疲劳)

[0802] • ALT和/或AST升高>10xULN,不考虑存在或不存在临床症状。

[0803] 医疗保健提供者应考虑在最初14天逐渐减量结束时,在呈现ALT和/或AST>3xULN的患者中实施另外4周更长的强的松逐渐减量。在对于强的松治疗难治的AST/ALT升高的情况下,医疗保健提供者应寻求肝脏科医生的专家建议。在CSF炎性变化需要援救免疫抑制的情况下,应在免疫抑制再启动/剂量增加/引入另外的免疫抑制剂后1至2个月之间进行计划外腰椎穿刺。

[0804] 池穿刺前程序

[0805] 患者将经受标准护理医学评估以准备进行池穿刺,包含麻醉医生咨询。手术医生和麻醉科医师将审查筛查临床实验室分析(包含记录的阴性妊娠试验)、脑和颈椎(如果手术医生要求的话)MRI和MRA以及局部ECG结果。将针对任何近期变化审查病史以及当前处方和非处方药。根据麻醉科医师的判断,可以进行另外的临床评估(专门针对伴随医疗病状)。

[0806] 脑池内注射

[0807] 在第0天时,将由手术医生通过枕下注射到小脑延髓池内施用单剂量PR001A。在注射之前,将去除相当于PR001A给药体积的一定体积的脑池内流体。此程序将在全身麻醉或深度镇静下并且使用成像指导进行。在PR001A施用后,将保持对患者进行观察,持续24小时(住院过夜)。

[0808] 本申请通过引用整体并入以下文件:美国申请公开第2020/0338148号;国际PCT申请公开第WO 2019/070894号;国际PCT申请公开第WO 2019/070891号;于2017年10月3日提

交的题为“用于溶酶体病症的基因疗法”的美国临时申请序列号62/567,311;于2017年10月3日提交的题为“用于溶酶体病症的基因疗法”的62/567,319;于2018年10月3日提交的题为“用于溶酶体病症的基因疗法”的62/567,301;于2017年10月3日提交的题为“用于溶酶体病症的基因疗法”的62/567,310;于2017年10月3日提交的题为“用于溶酶体病症的基因疗法”的62/567,303;以及于2017年10月3日提交的题为“用于溶酶体病症的基因疗法”的62/567,305。

[0809] 已经因此描述了本发明的至少一个实施例的若干方面,应了解,本领域的技术人员将容易想到各种改变、修改和改进。此类改变、修改和改进旨在作为本公开的部分,并且旨在处于本发明的精神和范围内。因此,前述描述和附图仅作为实例。

[0810] 尽管本文已经描述和展示了本发明的若干个实施例,但本领域的普通技术人员将容易想到用于执行本文所描述的功能和/或获得这些结果和/或这些优点中的一个或多个优点的各种其它装置和/或结构,并且此类变型和/或修改中的每一个被认为是在本发明的范围内。更一般来讲,本领域的技术人员将容易认识到,本文中描述的所有参数、尺寸、材料以及配置意味着是示例性的,并且实际参数、尺寸、材料和/或配置将取决于本发明的教导内容所用于的一种或多种具体应用。本领域的技术人员将认识到或者使用仅常规实验能够确定,本文描述的本发明的具体实施例的许多等效形式。因此,应理解的是,前述实施例是仅通过实例方式来介绍的,并且在所附权利要求和其等效物的范围内,本发明可以按与具体描述和要求不同的方式来实践。本发明涉及本文中描述的每个单独的特征、系统、物品、材料和/或方法。此外,两个或更多个这样的特征、系统、物品、材料和/或方法的任何组合,如果这样的特征、系统、物品、材料和/或方法并不相互矛盾,被包含在本发明的范围内。

[0811] 如本文在说明书和权利要求中使用的,除非明确指出相反,否则不定冠词“一个”和“一种”应理解为意指“至少一个/种”。

[0812] 如本文在说明书和权利要求中使用的,短语“和/或”应理解为意指如此结合的元素的“任一或两者”,即在一些情况下结合存在和在其它情况下分离存在的元素。除了用“和/或”短语具体标识的元件,其它元件可以任选地存在,无论是与具体标识的那些元件相关还是不相关,除非明确相反地指出。因此,作为非限制性实例,在一个实施例中,当与如“包括”等开放式语言结合使用时,对“A和/或B”的引用可以指A,不含B(任选地包含除B以外的要素);在另一个实施例中,指B,不包含A(任选地包含除A以外的要素);在又另一个实施例中,指A和B两者(任选地包含其它要素);等。

[0813] 如本文在说明书和权利要求中使用的,“或”应理解为具有与如上定义的“和/或”相同的含义。例如,当在列表中分开项目时,“或”或“和/或”应解释为包括在内的,即包括许多元素或元素列表中的至少一个,但还包含许多元素或元素列表中的超过一个,以及任选的另外未列出的项目。仅明确指出相反的术语例如“仅一个”或“确切一个”或当在权利要求中使用时“由……组成”,指包括许多元素或元素列表中的确切一个元素。一般而言,当前面为排他性术语例如“任一”、“之一”、“唯一一个”或“确切一个”时,如本文使用的术语“或”应仅解释为指示唯一的备选方案(即,“一个或另一个,但不是两者”)。

[0814] 如本文在说明书和权利要求中使用的,提及一个或多个元素列表中的短语“至少一个”,应理解为意指选自元素列表中的任何一个或多个元素的至少一个元素,但不一定包含在元素列表内具体列出的每个和每一个元素中的至少一个,且不排除元素列表中的任何

元素组合。该定义还允许除术语“至少一个”所指元素列表内具体确定的元素外，还可以任选存在元素，无论与具体确定的这些元素相关还是无关。因此，作为非限制性实例，“A和B中的至少一个”(或等效地“A或B中的至少一个”或等效地“A和/或B中的至少一个”)在一个实施例中可以指代至少一个、任选地包含多于一个A，而不存在B(并且任选地包含除了B之外的要素)；在另一个实施例中可以指代至少一个、任选地包含多于一个B，而不存在A(并且任选地包含除了A之外的要素)；在又另一个实施例中可以指代至少一个、任选地包含多于一个A，以及至少一个、任选地包含多于一个B(并且任选地包含其它要素)；等。

[0815] 在权利要求书中使用如“第一”、“第二”、“第三”等顺序术语来修改权利要求元素本身并不意味着一个权利要求元素的任何优先权、优先级、或顺序优于另一个权利要求元素或者方法的动作被执行的时间顺序，而是仅用作用于将具有某个名称的一个权利要求元素与具有相同名称(但使用顺序术语)的另一元素进行区分的标签，从而区分这些权利要求元素。

[0816] 还应该理解，除非清楚地相反指示，在本文要求保护的包含多于一个步骤或动作的任何方法中，该方法的步骤或动作的次序不一定限于其中叙述该方法的步骤或动作的次序。

[0817] 本申请中提及的美国专利、美国专利申请公开、美国专利申请、国外专利、国外专利申请以及非专利公开中的每一个通过整体引用并入本文。

[0818] 序列

[0819] 在一些实施例中，编码一种或多种基因产物(例如，第一基因产物、第二基因产物和/或第三基因产物)的表达盒包括SEQ ID NO:1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47或48中任一个中所示的序列或由其组成(或编码具有其的肽)。在一些实施例中，编码一种或多种基因产物的表达盒包括与SEQ ID NO:1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47或48中任一个中所示的序列互补(例如，其补体)的序列或由其组成。在一些实施例中，编码一种或多种基因产物的表达盒包括作为SEQ ID NO:1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47或48中任一个中所示的序列的反向补体的序列或由其组成。在一些实施例中，基因产物由SEQ ID NO:1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47或48中任一个的一部分(例如，片段)编码。在一些实施例中，核酸序列是核酸有义链(例如，5’至3’链)，或者在病毒序列的上下文中是正(+)链。在一些实施例中，核酸序列是核酸反义链(例如，3’至5’链)，或者在病毒序列的上下文中是负(-)链。

[0820] 编号的实施例

[0821] 尽管有所附权利要求，本公开阐述了以下编号的实施例：

[0822] 1.一种用于治疗患有或怀疑患有具有葡糖脑苷脂酶-1(GBA1)突变的帕金森氏病(Parkinson’s disease)的受试者的方法，所述方法包括向所述受试者施用：

[0823] 重组腺相关病毒(rAAV)，所述rAAV包括：

[0824] (i)rAAV载体，所述rAAV载体包括核酸，所述核酸包括表达构建体，所述表达构建

体包括与编码葡糖脑苷脂酶(Gcase)蛋白的转基因插入片段可操作地连接的启动子,其中所述转基因插入片段包括SEQ ID NO:15的核苷酸序列;以及

[0825] (ii)腺相关病毒(AAV)9衣壳蛋白;以及以下中的一种或多种:

[0826] (A)西罗莫司(sirolimus);

[0827] (B)甲基强的松龙(methylprednisolone);

[0828] (C)利妥昔单抗(rituximab);以及

[0829] (D)强的松(prednisone)。

[0830] 2.一种用于抑制患有或怀疑患有具有葡糖脑苷脂酶-1(GBA1)突变的帕金森氏病的受试者的免疫应答的方法,所述方法包括向所述受试者施用:

[0831] 重组腺相关病毒(rAAV),所述rAAV包括:

[0832] (i)rAAV载体,所述rAAV载体包括核酸,所述核酸包括表达构建体,所述表达构建体包括与编码葡糖脑苷脂酶(Gcase)蛋白的转基因插入片段可操作地连接的启动子,其中所述转基因插入片段包括SEQ ID NO:15的核苷酸序列;以及

[0833] (ii)腺相关病毒(AAV)9衣壳蛋白;以及以下中的一种或多种:

[0834] (A)西罗莫司;

[0835] (B)甲基强的松龙;

[0836] (C)利妥昔单抗;以及

[0837] (D)强的松。

[0838] 3.根据实施例1或2所述的方法,其中所述rAAV以范围为约$5x10^{13}$个载体基因组(vg)至约$5x10^{14}$个vg的剂量向所述受试者施用。

[0839] 4.根据实施例1或2所述的方法,其中所述rAAV以约$1.4x10^{14}$个vg或约$2.8x10^{14}$个vg的剂量向所述受试者施用。

[0840] 5.一种用于治疗患有或怀疑患有2型戈谢病(Gaucher disease)或3型戈谢病的受试者的方法,所述方法包括向所述受试者施用:

[0841] 重组腺相关病毒(rAAV),所述rAAV包括:

[0842] (i)rAAV载体,所述rAAV载体包括核酸,所述核酸包括表达构建体,所述表达构建体包括与编码葡糖脑苷脂酶(Gcase)蛋白的转基因插入片段可操作地连接的启动子,其中所述转基因插入片段包括SEQ ID NO:15的核苷酸序列;以及

[0843] (ii)腺相关病毒(AAV)9衣壳蛋白;以及以下中的一种或多种:

[0844] (A)西罗莫司;

[0845] (B)甲基强的松龙;

[0846] (C)利妥昔单抗;以及

[0847] (D)强的松。

[0848] 6.一种用于抑制患有或怀疑患有2型戈谢病或3型戈谢病的受试者的免疫应答的方法,所述方法包括向所述受试者施用:

[0849] 重组腺相关病毒(rAAV),所述rAAV包括:

[0850] (i)rAAV载体,所述rAAV载体包括核酸,所述核酸包括表达构建体,所述表达构建体包括与编码葡糖脑苷脂酶(Gcase)蛋白的转基因插入片段可操作地连接的启动子,其中所述转基因插入片段包括SEQ ID NO:15的核苷酸序列;以及

[0851] (ii)腺相关病毒(AAV)9衣壳蛋白;以及以下中的一种或多种:

[0852] (A)西罗莫司;

[0853] (B)甲基强的松龙;

[0854] (C)利妥昔单抗;以及

[0855] (D)强的松。

[0856] 7.根据实施例5或6所述的方法,其中所述rAAV以范围为约$5x10^{10}$个vg/g脑至约$5x10^{11}$个vg/g脑的剂量向所述受试者施用。

[0857] 8.根据实施例5或6所述的方法,其中所述rAAV以约$1.3x10^{11}$个vg/g脑的剂量向所述受试者施用。

[0858] 9.根据实施例1至8中任一项所述的方法,其中所述rAAV通过注射到小脑延髓池中施用。

[0859] 10.一种用于治疗患有或怀疑患有1型戈谢病的受试者的方法,所述方法包括向所述受试者施用:

[0860] 重组腺相关病毒(rAAV),所述rAAV包括:

[0861] (i)rAAV载体,所述rAAV载体包括核酸,所述核酸包括表达构建体,所述表达构建体包括与编码葡糖脑苷脂酶(Gcase)蛋白的转基因插入片段可操作地连接的启动子,其中所述转基因插入片段包括SEQ ID NO:15的核苷酸序列;以及

[0862] (ii)腺相关病毒(AAV)9衣壳蛋白;以及以下中的一种或多种:

[0863] (A)西罗莫司;

[0864] (B)甲基强的松龙;

[0865] (C)利妥昔单抗;以及

[0866] (D)强的松。

[0867] 11.一种用于抑制患有或怀疑患有1型戈谢病的受试者的免疫应答的方法,所述方法包括向所述受试者施用:

[0868] 重组腺相关病毒(rAAV),所述rAAV包括:

[0869] (i)rAAV载体,所述rAAV载体包括核酸,所述核酸包括表达构建体,所述表达构建体包括与编码葡糖脑苷脂酶(Gcase)蛋白的转基因插入片段可操作地连接的启动子,其中所述转基因插入片段包括SEQ ID NO:15的核苷酸序列;以及

[0870] (ii)腺相关病毒(AAV)9衣壳蛋白;以及以下中的一种或多种:

[0871] (A)西罗莫司;

[0872] (B)甲基强的松龙;

[0873] (C)利妥昔单抗;以及

[0874] (D)强的松。

[0875] 12.根据实施例10或11所述的方法,其中所述rAAV以范围为约$5x10^{13}$个vg至约$5x10^{14}$个vg的剂量向所述受试者施用。

[0876] 13.根据实施例10至12中任一项所述的方法,其中所述rAAV是静脉内施用的。

[0877] 14.一种用于治疗患有或怀疑患有突触核蛋白病或震颤麻痹的受试者的方法,所述方法包括向所述受试者施用:

[0878] 重组腺相关病毒(rAAV),所述rAAV包括:

[0879] (i)rAAV载体,所述rAAV载体包括核酸,所述核酸包括表达构建体,所述表达构建体包括转基因,所述转基因包括

[0880] (a)包括SEQ ID NO:15的核苷酸序列的Gcase蛋白编码序列;以及

[0881] (b)包括SEQ ID NO:20的核苷酸序列的抑制性核酸编码序列;以及

[0882] (ii)腺相关病毒(AAV)9衣壳蛋白;以及以下中的一种或多种:

[0883] (A)西罗莫司;

[0884] (B)甲基强的松龙;

[0885] (C)利妥昔单抗;以及

[0886] (D)强的松。

[0887] 15.一种用于抑制患有或怀疑患有突触核蛋白病或震颤麻痹的受试者的免疫应答的方法,所述方法包括向所述受试者施用:

[0888] 重组腺相关病毒(rAAV),所述rAAV包括:

[0889] (i)rAAV载体,所述rAAV载体包括核酸,所述核酸包括表达构建体,所述表达构建体包括转基因,所述转基因包括

[0890] (a)包括SEQ ID NO:15的核苷酸序列的Gcase蛋白编码序列;以及

[0891] (b)包括SEQ ID NO:20的核苷酸序列的抑制性核酸编码序列;以及

[0892] (ii)腺相关病毒(AAV)9衣壳蛋白;以及以下中的一种或多种:

[0893] (A)西罗莫司;

[0894] (B)甲基强的松龙;

[0895] (C)利妥昔单抗;以及

[0896] (D)强的松。

[0897] 16.一种用于治疗患有或怀疑患有突触核蛋白病或震颤麻痹的受试者的方法,所述方法包括向所述受试者施用:

[0898] 重组腺相关病毒(rAAV),所述rAAV包括:

[0899] (i)rAAV载体,所述rAAV载体包括核酸,所述核酸包括表达构建体,所述表达构建体包括转基因,所述转基因包括抑制性核酸编码序列,所述抑制性核酸编码序列包括SEQ ID NO:20的核苷酸序列;以及

[0900] (ii)腺相关病毒(AAV)9衣壳蛋白;以及以下中的一种或多种:

[0901] (A)西罗莫司;

[0902] (B)甲基强的松龙;

[0903] (C)利妥昔单抗;以及

[0904] (D)强的松。

[0905] 17.一种用于抑制患有或怀疑患有突触核蛋白病或震颤麻痹的受试者的免疫应答的方法,所述方法包括向所述受试者施用:

[0906] 重组腺相关病毒(rAAV),所述rAAV包括:

[0907] (i)rAAV载体,所述rAAV载体包括核酸,所述核酸包括表达构建体,所述表达构建体包括转基因,所述转基因包括抑制性核酸编码序列,所述抑制性核酸编码序列包括SEQ ID NO:20的核苷酸序列;以及

[0908] (ii)腺相关病毒(AAV)9衣壳蛋白;以及以下中的一种或多种:

[0909] (A)西罗莫司;

[0910] (B)甲基强的松龙;

[0911] (C)利妥昔单抗;以及

[0912] (D)强的松。

[0913] 18.根据实施例14至17中任一项所述的方法,其中所述突触核蛋白病或震颤麻痹是多系统萎缩、帕金森氏病、具有GBA1突变的帕金森氏病、路易体病(Lewy body disease)、路易体痴呆(dementia with Lewy bodies)、具有GBA1突变的路易体痴呆、进行性核上性麻痹或皮质基底综合征。

[0914] 19.根据实施例1至18中任一项所述的方法,其中所述启动子是鸡β肌动蛋白(CBA)启动子。

[0915] 20.根据实施例1至19中任一项所述的方法,其中所述rAAV载体进一步包括巨细胞病毒(CMV)增强子。

[0916] 21.根据实施例1至20中任一项所述的方法,其中所述rAAV载体进一步包括土拨鼠肝炎病毒转录后调控元件(Woodchuck Hepatitis Virus Posttranscriptional Regulatory Element,WPRE)。

[0917] 22.根据实施例1至21中任一项所述的方法,其中所述rAAV载体进一步包括牛生长激素polyA信号尾部。

[0918] 23.根据实施例1至22中任一项所述的方法,其中所述核酸包括侧接所述表达构建体的两个腺相关病毒反向末端重复(ITR)序列。

[0919] 24.根据实施例23所述的方法,其中每个ITR序列是AAV2 ITR序列。

[0920] 25.根据实施例23或24所述的方法,其中所述rAAV载体进一步包括5'ITR与所述表达构建体之间的TRY区,其中所述TRY区包括SEQ ID NO:28。

[0921] 26.一种用于治疗患有或怀疑患有具有GBA1突变的帕金森氏病的受试者的方法,所述方法包括向所述受试者施用:

[0922] 重组腺相关病毒(rAAV),所述rAAV包括:

[0923] (i)rAAV载体,所述rAAV载体包括核酸,所述核酸按5'至3'顺序包括:

[0924] (a)腺相关病毒(AAV)2ITR;

[0925] (b)巨细胞病毒(CMV)增强子;

[0926] (c)鸡β肌动蛋白(CBA)启动子;

[0927] (d)编码Gcase蛋白的转基因插入片段,其中所述转基因插入片段包括SEQ ID NO:15的核苷酸序列;

[0928] (e)土拨鼠肝炎病毒转录后调控元件(WPRE);

[0929] (f)牛生长激素polyA信号尾部;以及

[0930] (g)AAV2反向末端重复序列(ITR);以及

[0931] (ii)AAV9衣壳蛋白;以及以下中的一种或多种:

[0932] (A)西罗莫司;

[0933] (B)甲基强的松龙;

[0934] (C)利妥昔单抗;以及

[0935] (D)强的松,

[0936] 其中所述rAAV以范围为约$5x10^{13}$个vg至约$5x10^{14}$个vg的剂量向所述受试者施用。

[0937] 27.一种用于抑制患有或怀疑患有具有GBA1突变的帕金森氏病的受试者的免疫应答的方法,所述方法包括向所述受试者施用:

[0938] 重组腺相关病毒(rAAV),所述rAAV包括:

[0939] (i)rAAV载体,所述rAAV载体包括核酸,所述核酸按5'至3'顺序包括:

[0940] (a)腺相关病毒(AAV)2ITR;

[0941] (b)巨细胞病毒(CMV)增强子;

[0942] (c)鸡β肌动蛋白(CBA)启动子;

[0943] (d)编码Gcase蛋白的转基因插入片段,其中所述转基因插入片段包括SEQ ID NO:15的核苷酸序列;

[0944] (e)土拨鼠肝炎病毒转录后调控元件(WPRE);

[0945] (f)牛生长激素polyA信号尾部;以及

[0946] (g)AAV2反向末端重复序列(ITR);以及

[0947] (ii)AAV9衣壳蛋白;以及以下中的一种或多种:

[0948] (A)西罗莫司;

[0949] (B)甲基强的松龙;

[0950] (C)利妥昔单抗;以及

[0951] (D)强的松,

[0952] 其中所述rAAV以范围为约$5x10^{13}$个vg至约$5x10^{14}$个vg的剂量向所述受试者施用。

[0953] 28.一种用于治疗患有或怀疑患有2型戈谢病或3型戈谢病的受试者的方法,所述方法包括向所述受试者施用:

[0954] 重组腺相关病毒(rAAV),所述rAAV包括:

[0955] (i)rAAV载体,所述rAAV载体包括核酸,所述核酸按5'至3'顺序包括:

[0956] (a)腺相关病毒(AAV)2ITR;

[0957] (b)巨细胞病毒(CMV)增强子;

[0958] (c)鸡β肌动蛋白(CBA)启动子;

[0959] (d)编码Gcase蛋白的转基因插入片段,其中所述转基因插入片段包括SEQ ID NO:15的核苷酸序列;

[0960] (e)土拨鼠肝炎病毒转录后调控元件(WPRE);

[0961] (f)牛生长激素polyA信号尾部;以及

[0962] (g)AAV2反向末端重复序列(ITR);以及

[0963] (ii)AAV9衣壳蛋白;以及以下中的一种或多种:

[0964] (A)西罗莫司;

[0965] (B)甲基强的松龙;

[0966] (C)利妥昔单抗;以及

[0967] (D)强的松,

[0968] 其中所述rAAV以范围为约$5x10^{10}$个vg/g脑至约$5x10^{11}$个vg/g脑的剂量向所述受试者施用。

[0969] 29.一种用于抑制患有或怀疑患有2型戈谢病或3型戈谢病的受试者的免疫应答的

方法,所述方法包括向所述受试者施用:

[0970] 重组腺相关病毒(rAAV),所述rAAV包括:

[0971] (i)rAAV载体,所述rAAV载体包括核酸,所述核酸按5'至3'顺序包括:

[0972] (a)腺相关病毒(AAV)2ITR;

[0973] (b)巨细胞病毒(CMV)增强子;

[0974] (c)鸡β肌动蛋白(CBA)启动子;

[0975] (d)编码Gcase蛋白的转基因插入片段,其中所述转基因插入片段包括SEQ ID NO:15的核苷酸序列;

[0976] (e)土拨鼠肝炎病毒转录后调控元件(WPRE);

[0977] (f)牛生长激素polyA信号尾部;以及

[0978] (g)AAV2反向末端重复序列(ITR);以及

[0979] (ii)AAV9衣壳蛋白;以及以下中的一种或多种:

[0980] (A)西罗莫司;

[0981] (B)甲基强的松龙;

[0982] (C)利妥昔单抗;以及

[0983] (D)强的松,

[0984] 其中所述rAAV以范围为约$5x10^{10}$个vg/g脑至约$5x10^{11}$个vg/g脑的剂量向所述受试者施用。

[0985] 30.根据实施例26至29中任一项所述的方法,其中所述rAAV通过注射到小脑延髓池中施用。

[0986] 31.根据实施例1至30中任一项所述的方法,其中所述rAAV在包括约20mM Tris,pH 8.0、约1mM $MgCl_2$、约200mM NaCl和约0.001%w/v泊洛沙姆188的调配物中施用。

[0987] 32.根据实施例1至31中任一项所述的方法,其中所述甲基强的松龙在施用所述rAAV的前一天或同一天以约1000mg的剂量静脉内施用。

[0988] 33.根据实施例1至32中任一项所述的方法,其中所述强的松

[0989] (A)在从施用约1000mg的所述甲基强的松龙后的第二天开始以每天约30mg的剂量口服施用,持续14天;并且

[0990] (B)在(A)的14天时间段结束后的7天期间逐渐减少。

[0991] 34.根据实施例1至33中任一项所述的方法,其中所述利妥昔单抗在施用所述rAAV之前14天至之前1天之间的任何一天以约1000mg的剂量静脉内施用。

[0992] 35.根据实施例34所述的方法,其中在施用所述利妥昔单抗之前施用所述甲基强的松龙。

[0993] 36.根据实施例35所述的方法,其中在施用所述利妥昔单抗之前至少约30分钟施用所述甲基强的松龙。

[0994] 37.根据实施例34所述的方法,其中所述甲基强的松龙和所述利妥昔单抗均在施用所述rAAV的前一天施用;并且其中所述甲基强的松龙在施用所述利妥昔单抗之前至少约30分钟施用。

[0995] 38.根据实施例34所述的方法,其中所述利妥昔单抗在施用所述rAAV之前14天至之前2天之间的任何一天施用;并且其中甲基强的松龙在施用所述利妥昔单抗的同一天在

施用所述利妥昔单抗之前至少约30分钟以约100mg的剂量静脉内施用。

[0996] 39.根据实施例1至38中任一项所述的方法,其中所述西罗莫司

[0997] (A)在施用所述rAAV之前三天、两天或一天以约6mg的单剂量口服施用;并且

[0998] (B)在施用所述rAAV之后以每天约2mg的剂量口服施用,以维持约4ng/ml至约9ng/mL的血清低谷水平,持续约90天;

[0999] 其中在单剂量的约6mg的所述西罗莫司之后的第二天施用第一剂量的每天约2mg的所述西罗莫司。

[1000] 40.根据实施例5至13、28和29中任一项所述的方法,其中所述西罗莫司

[1001] (A)以各约1.0mg/m^2的两个剂量口服施用,其中所述两个剂量在施用所述rAAV之前1天或2天施用,其中第一剂量在早上施用,并且第二剂量在施用所述两个剂量的当天的晚上施用;并且

[1002] (B)在施用所述rAAV之后以约0.6mg/m^2/天至约1.0mg/m^2/天的剂量口服施用,以维持约2ng/ml至约8ng/mL的血清低谷水平,持续约3个月。

[1003] 41.根据实施例39或40所述的方法,其中所述西罗莫司施用在施用所述rAAV之后的90天时间段结束后的15天至30天期间逐渐减少。

[1004] 42.根据实施例1至39和41中任一项所述的方法,所述方法包括:

[1005] (i)以约1000mg的剂量静脉内施用所述甲基强的松龙;

[1006] (ii)在步骤(i)的所述甲基强的松龙施用后约30分钟以约1000mg的剂量静脉内施用所述利妥昔单抗;

[1007] (iii)在步骤(i)的所述甲基强的松龙施用后第二天通过注射到小脑延髓池中施用所述rAAV;

[1008] (iv)从步骤(i)的所述甲基强的松龙施用后第二天开始,以每天约30mg的剂量口服施用所述强的松,持续14天,并且

[1009] (v)在步骤(iv)的14天时间段结束后的7天期间逐渐减少所述强的松的施用;

[1010] (vi)在步骤(iii)的所述rAAV施用之前三天、两天或一天以约6mg的单剂量口服施用所述西罗莫司;

[1011] (vii)在步骤(iii)的所述rAAV施用后,以每天约2mg的剂量口服施用所述西罗莫司,以维持约4ng/ml至约9ng/ml的血清低谷水平,持续约90天;其中在单剂量的约6mg的所述西罗莫司之后的第二天施用第一剂量的每天约2mg的所述西罗莫司;并且

[1012] (viii)在步骤(vii)的90天时间段结束后的15天至30天期间逐渐减少所述西罗莫司的施用。

[1013] 43.根据实施例1至39和41中任一项所述的方法,所述方法包括:

[1014] (i)在步骤(iv)的所述rAAV施用之前14天和之前2天之间的任何一天以约100mg的剂量静脉内施用所述甲基强的松龙;

[1015] (ii)在步骤(i)的所述甲基强的松龙施用后约30分钟以约1000mg的剂量静脉内施用所述利妥昔单抗;

[1016] (iii)在步骤(iv)的所述rAAV施用前一天或当天以约1000mg的剂量静脉内施用所述甲基强的松龙;

[1017] (iv)通过注射到小脑延髓池中施用所述rAAV;

[1018] (v)从步骤(iii)的所述甲基强的松龙施用后第二天开始,以每天约30mg的剂量口服施用所述强的松,持续14天,并且

[1019] (vi)在步骤(v)的14天时间段结束后的7天期间逐渐减少所述强的松的施用;

[1020] (vii)在步骤(iv)的所述rAAV施用之前三天、两天或一天以约6mg的单剂量口服施用所述西罗莫司;

[1021] (viii)在步骤(iv)的所述rAAV施用后,以每天约2mg的剂量口服施用所述西罗莫司,以维持约4ng/ml至约9ng/ml的血清低谷水平,持续约90天;其中在单剂量的约6mg的所述西罗莫司之后的第二天施用第一剂量的每天约2mg的所述西罗莫司;并且

[1022] (ix)在步骤(viii)的90天时间段结束后的15天至30天期间逐渐减少所述西罗莫司的施用。

[1023] 44.根据实施例2、6、11、15、17、27和29中任一项所述的方法,其中所述免疫应答是对所述rAAV的免疫应答。

[1024] 45.根据实施例2、6、11、15、17、27、29和44中任一项所述的方法,其中所述免疫应答是T细胞应答。

[1025] 46.根据实施例2、6、11、15、17、27、29和44中任一项所述的方法,其中所述免疫应答是B细胞应答。

[1026] 47.根据实施例2、6、11、15、17、27、29和44中任一项所述的方法,其中所述免疫应答是抗体应答。

[1027] 48.根据实施例2、6、11、15、17、27、29和44中任一项所述的方法,其中所述免疫应答是细胞增多。

[1028] 49.根据实施例48所述的方法,其中所述细胞增多是脑脊液(CSF)细胞增多。

[1029] 50.根据实施例2、6、11、15、17、27、29和44中任一项所述的方法,其中所述免疫应答是CSF蛋白的异常水平。

[1030] 51.根据实施例1至50中任一项所述的方法,其中向所述受试者进一步施用另外的免疫抑制剂,所述另外的免疫抑制剂不是西罗莫司、甲基强的松龙、利妥昔单抗或强的松。

[1031] 52.一种重组腺相关病毒(rAAV)的治疗性组合,

[1032] 所述rAAV包括:

[1033] (i)rAAV载体,所述rAAV载体包括核酸,所述核酸包括表达构建体,所述表达构建体包括与编码Gcase蛋白的转基因插入片段可操作地连接的启动子,其中所述转基因插入片段包括SEQ ID NO:15的核苷酸序列;以及

[1034] (ii)腺相关病毒(AAV)9衣壳蛋白;以及以下中的一种或多种:

[1035] (A)西罗莫司;

[1036] (B)甲基强的松龙;

[1037] (C)利妥昔单抗;以及

[1038] (D)强的松,

[1039] 所述治疗性组合用于治疗受试者的1型戈谢病、2型戈谢病、3型戈谢病或具有GBA1突变的帕金森氏病的方法。

[1040] 53.一种重组腺相关病毒(rAAV)的治疗性组合,

[1041] 所述rAAV包括:

[1042] (i)rAAV载体,所述rAAV载体包括核酸,所述核酸包括表达构建体,所述表达构建体包括与编码Gcase蛋白的转基因插入片段可操作地连接的启动子,其中所述转基因插入片段包括SEQ ID NO:15的核苷酸序列;以及

[1043] (ii)腺相关病毒(AAV)9衣壳蛋白;以及以下中的一种或多种:

[1044] (A)西罗莫司;

[1045] (B)甲基强的松龙;

[1046] (C)利妥昔单抗;以及

[1047] (D)强的松,

[1048] 所述治疗性组合用于抑制患有或怀疑患有1型戈谢病、2型戈谢病、3型戈谢病或具有GBA1突变的帕金森氏病的受试者的免疫应答的方法。

[1049] 54.根据实施例52或53所述的供使用的治疗性组合,其中所述组合包括约$5x10^{13}$个vg至约$5x10^{14}$个vg的所述rAAV。

[1050] 55.根据实施例52或53所述的供使用的治疗性组合,其中所述组合包括约$1.4x10^{14}$个vg或约$2.8x10^{14}$个vg的所述rAAV。

[1051] 56.一种重组腺相关病毒(rAAV)的治疗性组合,

[1052] 所述rAAV包括:

[1053] (i)rAAV载体,所述rAAV载体包括核酸,所述核酸包括表达构建体,所述表达构建体包括与转基因插入片段可操作地连接的启动子,所述转基因插入片段包括:

[1054] (a)包括SEQ ID NO:15的核苷酸序列的Gcase蛋白编码序列;以及

[1055] (b)包括SEQ ID NO:20的核苷酸序列的抑制性核酸编码序列;以及

[1056] (ii)腺相关病毒(AAV)9衣壳蛋白;以及以下中的一种或多种:

[1057] (A)西罗莫司;

[1058] (B)甲基强的松龙;

[1059] (C)利妥昔单抗;以及

[1060] (D)强的松,

[1061] 所述治疗性组合用于治疗受试者的突触核蛋白病或震颤麻痹的方法。

[1062] 57.一种重组腺相关病毒(rAAV)的治疗性组合,

[1063] 所述rAAV包括:

[1064] (i)rAAV载体,所述rAAV载体包括核酸,所述核酸包括表达构建体,所述表达构建体包括与转基因插入片段可操作地连接的启动子,所述转基因插入片段包括:

[1065] (a)包括SEQ ID NO:15的核苷酸序列的Gcase蛋白编码序列;以及

[1066] (b)包括SEQ ID NO:20的核苷酸序列的抑制性核酸编码序列;以及

[1067] (ii)腺相关病毒(AAV)9衣壳蛋白;以及以下中的一种或多种:

[1068] (A)西罗莫司;

[1069] (B)甲基强的松龙;

[1070] (C)利妥昔单抗;以及

[1071] (D)强的松,

[1072] 所述治疗性组合用于抑制患有或怀疑患有突触核蛋白病或震颤麻痹的受试者的免疫应答的方法。

[1073] 58.一种重组腺相关病毒(rAAV)的治疗性组合，

[1074] 所述rAAV包括：

[1075] (i)rAAV载体，所述rAAV载体包括核酸，所述核酸包括表达构建体，所述表达构建体包括与转基因插入片段可操作地连接的启动子，所述转基因插入片段包括抑制性核酸编码序列，所述抑制性核酸编码序列包括SEQ ID NO:20的核苷酸序列；以及

[1076] (ii)腺相关病毒(AAV)9衣壳蛋白；以及以下中的一种或多种：

[1077] (A)西罗莫司；

[1078] (B)甲基强的松龙；

[1079] (C)利妥昔单抗；以及

[1080] (D)强的松，

[1081] 所述治疗性组合用于治疗受试者的突触核蛋白病或震颤麻痹的方法。

[1082] 59.一种重组腺相关病毒(rAAV)的治疗性组合，

[1083] 所述rAAV包括：

[1084] (i)rAAV载体，所述rAAV载体包括核酸，所述核酸包括表达构建体，所述表达构建体包括与转基因插入片段可操作地连接的启动子，所述转基因插入片段包括抑制性核酸编码序列，所述抑制性核酸编码序列包括SEQ ID NO:20的核苷酸序列；以及

[1085] (ii)腺相关病毒(AAV)9衣壳蛋白；以及以下中的一种或多种：

[1086] (A)西罗莫司；

[1087] (B)甲基强的松龙；

[1088] (C)利妥昔单抗；以及

[1089] (D)强的松，

[1090] 所述治疗性组合用于抑制患有或怀疑患有突触核蛋白病或震颤麻痹的受试者的免疫应答的方法。

[1091] 表14：非临床体内药理学(功效)研究总结

[1092]

研究编号	目的	状态	结果
PRV-2017-001	验证 CBE 小鼠作为 GCase 缺乏的模型	完成	• 25 mg/kg CBE 概括了 GCase 缺乏的核心特征 • 糖脂（聚集 GlusSph 和半乳糖基鞘氨醇[GalSph]）相对于对照累积 • 转棒仪测定中的运动缺陷
PRV-2018-002	证明最高的可能剂量的 PR001B[a] 在 CBE 小鼠中的功效	完成	• PR001B 的广泛载体基因组生物分布 • GCase 活性的增加与糖脂底物累积的减少相关 • 在转棒仪测定中的行为表现改进 • 未观察到 PR001B 相关的不良反应
PRV-2018-005	测定 CBE 小鼠模型中 ICV PR001A 的有效剂量	完成	• PR001A 的广泛载体基因组生物分布 • GCase 活性增加并且异常糖脂底物累积减少 • 星形胶质细胞增生和小胶质细胞增生减少 • 运动行为缺陷改进 • 未观察到 PR001A 相关的不良反应
PRV-2018-007	ICV PR001A 在 CBE 小鼠模型中的长期（6 个月）耐久性	完成	• 处理后 6 个月，载体基因组持续存在，GCase 活性持续增加，并且糖脂减少 • 未观察到 PR001A 相关的不良反应
PRV-2018-008	CBE 小鼠模型中另外的剂量范围 ICV PR001A	完成	• PR001A 的广泛载体基因组生物分布 • 皮质 GCase 活性增加并且异常糖脂底物累积减少 • 未观察到 PR001A 相关的不良反应
PRV-2018-025	CBE 小鼠模型中另外的剂量范围 ICV PR001A	进行中	• PR001A 的皮质载体基因组生物分布 • 皮质 GCase 活性增加并且异常糖脂底物累积减少 • 运动行为缺陷改进
PRV-2018-006	证明 ICV PR001A 在 4L/PS-NA 小鼠模型中的功效	完成	• PR001A 的广泛载体基因组生物分布 • CNS 和周围 GCase 活性的增加与糖脂底物累积的减少相关 • 运动行为改进趋势 • 不溶性 α-突触核蛋白的累积减少 • 未观察到 PR001A 相关的不良反应
PRV-2018-011	4L/PS-NA 基因小鼠模型中的剂量范围 ICV PR001A	完成	• PR001A 的广泛载体基因组生物分布 • GCase 活性增加并且异常糖脂底物累积减少 • 运动行为缺陷改进 • 未观察到 PR001A 相关的不良反应
PRV-2018-019	ICV PR001A 对经 CBE 处理的转基因小鼠的 α-突触核蛋白的影响	进行中	• PR001A 的皮质载体基因组生物分布以及糖脂减少 • 不溶性 α-突触核蛋白的累积减少，并且不溶性 α-突触核蛋白的可溶性累积与不溶性累积的比率降低 • 未观察到 PR001A 相关的不良反应

[1093]

研究编号	目的	状态	结果
PRV-2019-001	ICV PR001A 对经 CBE 处理的转基因小鼠的 α-突触核蛋白的影响	进行中	• PR001A 的皮质载体基因组生物分布以及皮质 GCase 活性增加 • 未观察到 PR001A 相关的不良反应

[1094] 缩写：CBE，牛弥菜醇-β-环氧化物；CNS，中枢神经系统；GCase，葡糖脑苷脂酶；GlusSph，葡糖基鞘氨醇；ICV，脑室内；vg，载体基因组。

[1095] [a]PR001B是具有改变的D结构域的PR001A的版本；PR001A和PR001B在其它方面相同。

[1096] 表15：PR001A的小鼠功效研究中的安全性评估总结

[1097]

研究目的	研究编号	施用途径	种	剂量（vg/g脑）	总 PR001A 剂量（vg）	注射体积（μl）	尸检时间点[a]
所选安全性终点的功效	PRV-2018-005	ICV	注射 CBE 的 C57BL/6J 小鼠	1.3×10^{10} 4.2×10^{10} 1.3×10^{11}	2.0×10^{9} 6.2×10^{9} 2.0×10^{10}	4	第 35-37 天
所选安全性终点的功效	PRV-2018-006	ICV	4L/PS-NA 小鼠	3.7×10^{10}	1.5×10^{10}	3	第 15 周

[1098] 缩写：CBE，牛弥菜醇-β-环氧化物；ICV，脑室内；vg，载体基因组。

[1099] [a]PR001A处理后

[1100] 表16：PR001A的NHP安全性研究中的安全性评估总结

[1101]

研究目的	研究编号	施用途径	种	剂量（vg/g脑）	总 PR001A 剂量（vg）	注射体积（μl）	尸检时间点 [a]
初步非 GLP 毒理学	PRV-2018-015	ICM ICM + IPa（中脑）	猕猴	2.0×10^{11} 2.1×10^{11}	1.47×10^{13} 1.53×10^{13}	500 520	第 18 天
GLP 毒理学	PRV-2018-016	ICM	猕猴	6.2×10^{10} 2.3×10^{11}	4.6×10^{12} 1.7×10^{13}	1200	第 7 天、第 30 天、第 183 天
非 GLP 毒理学	PRV-2019-005	ICM	猕猴	7.0×10^{11}	5.2×10^{13}	1200	第 30 天、第 90 天

[1102] 缩写:GLP,良好实验室规范;ICM,小脑延髓池内;IPa,实质内;NHP,非人灵长类动物;vg,载体基因组。

序列表

<110> 普利维尔治疗公司(Prevail Therapeutics, Inc.)

<120> 用于溶酶体病症的基因疗法

<130> PRVL-014/01WO 334806-2134

<150> US 63/063,851

<151> 2020-08-10

<160> 48

<170> PatentIn 3.5版

<210> 1

<211> 10697

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多核苷酸

<400> 1

ttggccactc cctctctgcg cgctcgctcg ctcactgagg ccgggcgacc aaaggtcgcc 60
cgacgcccgg gctttgcccg ggcggcctca gtgagcgagc gagcgcgcag agagggagtg 120
gccaactcca tcactagggg ttcctgctag ctctgggtat ttaagcccga gtgagcacgc 180
agggtctcca ttttgaagcg ggaggttacg cgttcgtcga ctactagtgg gtaccagagc 240
tccctaggtt ctagaaccgg tgacgtctcc catggtgaag cttggatctg aattcggtac 300
cctagttatt aatagtaatc aattacgggg tcattagttc atagcccata tatggagttc 360
cgcgttacat aacttacggt aaatggcccg cctggctgac cgcccaacga cccccgccca 420
ttgacgtcaa taatgacgta tgttcccata gtaacgccaa tagggacttt ccattgacgt 480
caatgggtgg actatttacg gtaaactgcc cacttggcag tacatcaagt gtatcatatg 540
ccaagtacgc cccctattga cgtcaatgac ggtaaatggc ccgcctggca ttatgcccag 600
tacatgacct tatgggactt tcctacttgg cagtacatct acgtattagt catcgctatt 660
accatggtcg aggtgagccc cacgttctgc ttcactctcc ccatctcccc cccctcccca 720
cccccaattt tgtatttatt tatttttaa ttattttgtg cagcgatggg ggcgggggggg 780
ggggggggcc gcgcgccagg cggggcgggg cggggcgagg ggcggggcgg ggcgaggcgg 840
agaggtgcgg cggcagccaa tcagagcggc gcgctccgaa agtttccttt tatggcgagg 900
cggcggcggc ggcggcccta taaaaagcga agcgcgcggc gggcgggagt cgctgcgacg 960
ctgccttcgc cccgtgcccc gctccgccgc cgcctcgcgc cgcccgcccc ggctctgact 1020
gaccgcgtta ctcccacagg tgagcgggcg ggacggccct tctcctccgg gctgtaatta 1080
gcgcttggtt taatgacggc ttgttttctg tggctgcgtg aaagccttga ggggctccgg 1140
gagctagagc ctctgctaac catgttcatg ccttcttctt tttcctacag ctcctgggca 1200
acgtgctggt tattgtgctg tctcatcatt ttggcaaaga attcctcgaa gatccgaagg 1260
gaaagtcttc cacgactgtg ggatccgttc gaagatatca ccggttgagc caccatggaa 1320
ttcagcagcc ccagcagaga ggaatgcccc aagcctctga gccgggtgtc aatcatggcc 1380

ggatctctga caggactgct gctgcttcag gccgtgtctt gggcttctgg cgctagacct 1440
tgcatcccca agagcttcgg ctacagcagc gtcgtgtgcg tgtgcaatgc cacctactgc 1500
gacagcttcg accctcctac ctttcctgct ctgggcacct tcagcagata cgagagcacc 1560
agatccggca gacggatgga actgagcatg ggacccatcc aggccaatca cacaggcact 1620
ggcctgctgc tgacactgca gcctgagcag aaattccaga aagtgaaagg cttcggcgga 1680
gccatgacag atgccgccgc tctgaatatc ctggctctgt ctccaccagc tcagaacctg 1740
ctgctcaaga gctacttcag cgaggaaggc atcggctaca acatcatcag agtgcccatg 1800
gccagctgcg acttcagcat caggacctac acctacgccg acacacccga cgatttccag 1860
ctgcacaact tcagcctgcc tgaagaggac accaagctga agatccctct gatccacaga 1920
gccctgcagc tggcacaaag acccgtgtca ctgctggcct ctccatggac atctcccacc 1980
tggctgaaaa caaatggcgc cgtgaatggc aagggcagcc tgaaaggcca acctggcgac 2040
atctaccacc agacctgggc cagatacttc gtgaagttcc tggacgccta tgccgagcac 2100
aagctgcagt tttgggccgt gacagccgag aacgaacctt ctgctggact gctgagcggc 2160
taccccttтc agtgcctggg ctttacaccc gagcaccagc gggactttat cgcccgtgat 2220
ctgggaccca cactggccaa tagcacccac cataatgtgc ggctgctgat gctggacgac 2280
cagagactgc ttctgcccca ctgggctaaa gtggtgctga cagatcctga ggccgccaaa 2340
tacgtgcacg gaatcgccgt gcactggtat ctggactttc tggcccctgc caaggccaca 2400
ctgggagaga cacacagact gttccccaac accatgctgt tcgccagcga agcctgtgtg 2460
ggcagcaagt tttgggaaca gagcgtgcgg ctcggcagct gggatagagg catgcagtac 2520
agccacagca tcatcaccaa cctgctgtac cacgtcgtcg gctggaccga ctggaatctg 2580
gccctgaatc ctgaaggcgg ccctaactgg gtccgaaact tcgtggacag ccccatcatc 2640
gtggacatca ccaaggacac cttctacaag cagcccatgt tctaccacct gggacacttc 2700
agcaagttca tccccgaggg ctctcagcgc gttggactgg tggcttccca gaagaacgat 2760
ctggacgccg tggctctgat gcaccctgat ggatctgctg tggtggtggt cctgaaccgc 2820
agcagcaaag atgtgcccct gaccatcaag gatcccgccg tgggattcct ggaaacaatc 2880
agccctggct actccatcca cacctacctg tggcgtagac agtgacaatt gttaattaag 2940
tttaaaccct cgaggccgca agcttatcga taatcaacct ctggattaca aaatttgtga 3000
aagattgact ggtattctta actatgttgc tccttttacg ctatgtggat acgctgcttt 3060
aatgcctttg tatcatgcta ttgcttcccg tatggctttc attttctcct ccttgtataa 3120
atcctggttg ctgtctcttt atgaggagtt gtggcccgtt gtcaggcaac gtggcgtggt 3180
gtgcactgtg tttgctgacg caacccccac tggttggggc attgccacca cctgtcagct 3240
cctttccggg actttcgctt tccccctccc tattgccacg gcggaactca tcgccgcctg 3300
ccttgcccgc tgctggacag gggctcggct gttgggcact gacaattccg tggtgttgtc 3360
ggggaaatca tcgtcctttc cttggctgct cgcctgtgtt gccacctgga ttctgcgcgg 3420
gacgtccttc tgctacgtcc cttcggccct caatccagcg gaccttcctt cccgcggcct 3480
gctgccggct ctgcggcctc ttccgcgtct tcgccttcgc cctcagacga gtcggatctc 3540
cctttgggcc gcctccccgc atcgataccg tcgactagag ctcgctgatc agcctcgact 3600
gtgccttcta gttgccagcc atctgttgtt gtgcccctcc ccgtgccttc cttgaccctg 3660
gaaggtgcca ctcccactgt cctttcctaa taaaatgagg aaattgcatc gcattgtctg 3720

agtaggtgtc attctattct gggggtgggg gtggggcagg acagcaaggg ggaggattgg 3780
gaagacaata gcaggcatgc tggggagaga tccacgataa caaacagctt ttttggggtg 3840
aacatattga ctgaattccc tgcaggttgg ccactccctc tctgcgcgct cgctcgctca 3900
ctgaggccgc ccgggcaaag cccgggcgtc gggcgacctt tggtcgcccg gcctcagtga 3960
gcgagcgagc gcgcagagag ggagtggcca actccatcac taggggttcc tgcggccgct 4020
cgtacggtct cgaggaattc ctgcaggata acttgccaac ctcattctaa aatgtatata 4080
gaagcccaaa agacaataac aaaaatattc ttgtagaaca aaatgggaaa gaatgttcca 4140
ctaaatatca agatttagag caaagcatga gatgtgtggg gatagacagt gaggctgata 4200
aaatagagta gagctcagaa acagacccat tgatatatgt aagtgaccta tgaaaaaaat 4260
atggcatttt acaatgggaa aatgatggtc tttttctttt ttagaaaaac agggaaatat 4320
atttatatgt aaaaaataaa agggaaccca tatgtcatac catacacaca aaaaaattcc 4380
agtgaattat aagtctaaat ggagaaggca aaactttaaa tcttttagaa aataatatag 4440
aagcatgcag accagcctgg ccaacatgat gaaaccctct ctactaataa taaaatcagt 4500
agaactactc aggactactt tgagtgggaa gtccttttct atgaagactt ctttggccaa 4560
aattaggctc taaatgcaag gagatagtgc atcatgcctg gctgcactta ctgataaatg 4620
atgttatcac catctttaac caaatgcaca ggaacaagtt atggtactga tgtgctggat 4680
tgagaaggag ctctacttcc ttgacaggac acatttgtat caacttaaaa aagcagattt 4740
ttgccagcag aactattcat tcagaggtag gaaacttaga atagatgatg tcactgatta 4800
gcatggcttc cccatctcca cagctgcttc ccacccaggt tgcccacagt tgagtttgtc 4860
cagtgctcag ggctgcccac tctcagtaag aagccccaca ccagcccctc tccaaatatg 4920
ttggctgttc cttccattaa agtgacccca ctttagagca gcaagtggat ttctgtttct 4980
tacagttcag gaaggaggag tcagctgtga gaacctggag cctgagatgc ttctaagtcc 5040
cactgctact ggggtcaggg aagccagact ccagcatcag cagtcaggag cactaagccc 5100
ttgccaacat cctgtttctc agagaaactg cttccattat aatggttgtc ctttttaag 5160
ctatcaagcc aaacaaccag tgtctaccat tattctcatc acctgaagcc aagggttcta 5220
gcaaaagtca agctgtcttg taatggttga tgtgcctcca gcttctgtct tcagtcactc 5280
cactcttagc ctgctctgaa tcaactctga ccacagttcc ctggagcccc tgccacctgc 5340
tgcccctgcc accttctcca tctgcagtgc tgtgcagcct tctgcactct tgcagagcta 5400
ataggtggag acttgaagga agaggaggaa agtttctcat aatagccttg ctgcaagctc 5460
aaatgggagg tgggcactgt gcccaggagc cttggagcaa aggctgtgcc caacctctga 5520
ctgcatccag gtttggtctt gacagagata agaagccctg gcttttggag ccaaaatcta 5580
ggtcagactt aggcaggatt ctcaaagttt atcagcagaa catgaggcag aagacccttt 5640
ctgctccagc ttcttcaggc tcaaccttca tcagaataga tagaaagaga ggctgtgagg 5700
gttcttaaaa cagaagcaaa tctgactcag agaataaaca acctcctagt aaactacagc 5760
ttagacagag catctggtgg tgagtgtgct cagtgtccta ctcaactgtc tggtatcagc 5820
cctcatgagg acttctcttc tttccctcat agacctccat ctctgttttc cttagcctgc 5880
agaaatctgg atggctattc acagaatgcc tgtgctttca gagttgcatt ttttctctgg 5940
tattctggtt caagcatttg aaggtaggaa aggttctcca agtgcaagaa agccagccct 6000
gagcctcaac tgcctggcta gtgtggtcag taggatgcaa aggctgttga atgccacaag 6060

gccaaacttt aacctgtgta ccacaagcct agcagcagag gcagctctgc tcactggaac 6120
tctctgtctt ctttctcctg agccttttct tttcctgagt tttctagctc tcctcaacct 6180
tacctctgcc ctacccagga caaacccaag agccactgtt tctgtgatgt cctctccagc 6240
cctaattagg catcatgact tcagcctgac cttccatgct cagaagcagt gctaatccac 6300
ttcagatgag ctgctctatg caacacaggc agagcctaca aacctttgca ccagagccct 6360
ccacatatca gtgtttgttc atactcactt caacagcaaa tgtgactgct gagattaaga 6420
ttttacacaa gatggtctgt aatttcacag ttagttttat cccattaggt atgaaagaat 6480
tagcataatt ccccttaaac atgaatgaat cttagatttt ttaataaata gttttggaag 6540
taaagacaga gacatcagga gcacaaggaa tagcctgaga ggacaaacag aacaagaaag 6600
agtctggaaa tacacaggat gttcttggcc tcctcaaagc aagtgcaagc agatagtacc 6660
agcagcccca ggctatcaga gcccagtgaa gagaagtacc atgaaagcca cagctctaac 6720
caccctgttc cagagtgaca gacagtcccc aagacaagcc agcctgagcc agagagagaa 6780
ctgcaagaga aagtttctaa tttaggttct gttagattca gacaagtgca ggtcatcctc 6840
tctccacagc tactcacctc tccagcctaa caaagcctgc agtccacact ccaaccctgg 6900
tgtctcacct cctagcctct cccaacatcc tgctctctga ccatcttctg catctctcat 6960
ctcaccatct cccactgtct acagcctact cttgcaacta ccatctcatt ttctgacatc 7020
ctgtctacat cttctgccat actctgccat ctaccatacc acctcttacc atctaccaca 7080
ccatctttta tctccatccc tctcagaagc ctccaagctg aatcctgctt tatgtgttca 7140
tctcagcccc tgcatggaaa gctgacccca gaggcagaac tattcccaga gagcttggcc 7200
aagaaaaaca aaactaccag cctggccagg ctcaggagta gtaagctgca gtgtctgttg 7260
tgttctagct tcaacagctg caggagttcc actctcaaat gctccacatt tctcacatcc 7320
tcctgattct ggtcactacc catcttcaaa gaacagaata tctcacatca gcatactgtg 7380
aaggactagt catgggtgca gctgctcaga gctgcaaagt cattctggat ggtggagagc 7440
ttacaaacat ttcatgatgc tccccccgct ctgatggctg gagcccaatc cctacacaga 7500
ctcctgctgt atgtgttttc ctttcactct gagccacagc cagagggcag gcattcagtc 7560
tcctcttcag gctggggctg gggcactgag aactcaccca acaccttgct ctcactcctt 7620
ctgcaaaaca agaaagagct ttgtgctgca gtagccatga agaatgaaag gaaggcttta 7680
actaaaaaat gtcagagatt attttcaacc ccttactgtg gatcaccagc aaggaggaaa 7740
cacaacacag agacattttt tcccctcaaa ttatcaaaag aatcactgca tttgttaaag 7800
agagcaactg aatcaggaag cagagttttg aacatatcag aagttaggaa tctgcatcag 7860
agacaaatgc agtcatggtt gtttgctgca taccagccct aatcattaga agcctcatgg 7920
acttcaaaca tcattccctc tgacaagatg ctctagccta actccatgag ataaaataaa 7980
tctgcctttc agagccaaag aagagtccac cagcttcttc tcagtgtgaa caagagctcc 8040
agtcaggtta gtcagtccag tgcagtagag gagaccagtc tgcatcctct aattttcaaa 8100
ggcaagaaga tttgtttacc ctggacacca ggcacaagtg aggtcacaga gctcttagat 8160
atgcagtcct catgagtgag gagactaaag cgcatgccat caagacttca gtgtagagaa 8220
aacctccaaa aaagcctcct cactacttct ggaatagctc agaggccgag gcggcctcgg 8280
cctctgcata ataaaaaaaa attagtcagc catggggcgg agaatgggcg gaactgggcg 8340
gagttagggg cgggatgggc ggagttaggg gcgggactat ggttgctgac taattgagat 8400

gcatgctttg catacttctg cctgctgggg agcctgggga ctttccacac ctggttgctg 8460
actaattgag atgcatgctt tgcatacttc tgcctgctgg ggagcctggg gactttccac 8520
accctaactg acacacattc cacagctgca ttaatgaatc ggccaacgcg cggggagagg 8580
cggtttgcgt attgggcgct cttccgcttc ctcgctcact gactcgctgc gctcggtcgt 8640
tcggctgcgg cgagcggtat cagctcactc aaaggcggta atacggttat ccacagaatc 8700
aggggataac gcaggaaaga acatgtgagc aaaaggccag caaaaggcca ggaaccgtaa 8760
aaaggccgcg ttgctggcgt ttttccatag gctccgcccc cctgacgagc atcacaaaaa 8820
tcgacgctca agtcagaggt ggcgaaaccc gacaggacta taaagatacc aggcgtttcc 8880
ccctggaagc tccctcgtgc gctctcctgt tccgaccctg ccgcttaccg gatacctgtc 8940
cgcctttctc ccttcgggaa gcgtggcgct ttctcatagc tcacgctgta ggtatctcag 9000
ttcggtgtag gtcgttcgct ccaagctggg ctgtgtgcac gaacccccg ttcagcccga 9060
ccgctgcgcc ttatccggta actatcgtct tgagtccaac ccggtaagac acgacttatc 9120
gccactggca gcagccactg gtaacaggat tagcagagcg aggtatgtag gcggtgctac 9180
agagttcttg aagtggtggc ctaactacgg ctacactaga agaacagtat ttggtatctg 9240
cgctctgctg aagccagtta ccttcggaaa aagagttggt agctcttgat ccggcaaaca 9300
aaccaccgct ggtagcggtg gtttttttgt ttgcaagcag cagattacgc gcagaaaaaa 9360
aggatctcaa gaagatcctt tgatcttttc tacggggtct gacgctcagt ggaacgaaaa 9420
ctcacgttaa gggattttgg tcatgagatt atcaaaaagg atcttcacct agatcctttt 9480
aaattaaaaa tgaagtttta aatcaatcta aagtatatat gagtaaactt ggtctgacag 9540
ttaccaatgc ttaatcagtg aggcacctat ctcagcgatc tgtctatttc gttcatccat 9600
agttgcctga ctcctgcaaa ccacgttgtg tctcaaaatc tctgatgtta cattgcacaa 9660
gataaaaata tatcatcatg aacaataaaa ctgtctgctt acataaacag taatacaagg 9720
ggtgttatga gccatattca acgggaaacg tcttgctcga ggccgcgatt aaattccaac 9780
atggatgctg atttatatgg gtataaatgg gctcgcgata atgtcgggca atcaggtgcg 9840
acaatctatc gattgtatgg gaagcccgat gcgccagagt tgtttctgaa acatggcaaa 9900
ggtagcgttg ccaatgatgt tacagatgag atggtcagac taaactggct gacggaattt 9960
atgcctcttc cgaccatcaa gcattttatc cgtactcctg atgatgcatg gttactcacc 10020
actgcgatcc ccgggaaaac agcattccag gtattagaag aatatcctga ttcaggtgaa 10080
aatattgttg atgcgctggc agtgttcctg cgccggttgc attcgattcc tgtttgtaat 10140
tgtccttta acagcgatcg cgtatttcgt ctcgctcagg cgcaatcacg aatgaataac 10200
ggtttggttg atgcgagtga ttttgatgac gagcgtaatg gctggcctgt tgaacaagtc 10260
tggaaagaaa tgcataagct tttgccattc tcaccggatt cagtcgtcac tcatggtgat 10320
ttctcacttg ataaccttat ttttgacgag gggaaattaa taggttgtat tgatgttgga 10380
cgagtcggaa tcgcagaccg ataccaggat cttgccatcc tatggaactg cctcggtgag 10440
ttttctcctt cattacagaa acggcttttt caaaaatatg gtattgataa tcctgatatg 10500
aataaattgc agtttcattt gatgctcgat gagtttttct aagggcggcc tgccaccata 10560
cccacgccga aacaagcgct catgagcccg aagtggcgag cccgatcttc cccatcggtg 10620
atgtcggcga tataggcgcc agcaaccgca cctgtggcgc cggtgatgag ggcgcgccaa 10680
gtcgacgtcc ggcagtc 10697

<210> 2
<211> 11355
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多核苷酸
<400> 2

ttggccactc cctctctgcg cgctcgctcg ctcactgagg ccgggcgacc aaaggtcgcc 60
cgacgcccgg gctttgcccg ggcggcctca gtgagcgagc gagcgcgcag agagggagtg 120
gccaactcca tcactagggg ttcctgctag ctctgggtat ttaagcccga gtgagcacgc 180
agggtctcca ttttgaagcg ggaggttacg cgttcgtcga ctactagtgg gtaccagagc 240
tccctaggtt ctagaaccgg tgacgtctcc catggtgaag cttggatctg agggcggagt 300
tagggcggag ccaatcagcg tgcgccgttc cgaaagttgc cttttatggc tgggcggaga 360
atgggcggtg aacgccgatg attatataag gacgcgccgg gtgtggcaca gctagttccg 420
tcgcagccgg gatttgggtc gcggttcttg tttgtggatc cctgtgatcg tcacttggta 480
agtcactgac tgtctatgcc tgggaaaggg tgggcaggag atggggcagt gcaggaaaag 540
tggcactatg aaccctgcag ccctaggaat gcatctagac aattgtacta accttcttct 600
ctttcctctc ctgacagtcc ggaaagccac catgggccgc tgctgcttct acaccgccgg 660
caccctgagc ctgctgctgc tggtgaccag cgtgaccctg ctggtggccc gcgtgttcca 720
gaaggccgtg gaccagagca tcgagaagaa gatcgtgctg cgcaacggca ccgaggcctt 780
cgacagctgg gagaagcccc ccctgcccgt gtacacccag ttctacttct tcaacgtgac 840
caaccccgag gagatcctgc gcggcgagac cccccgcgtg gaggaggtgg gcccctacac 900
ctaccgcgag ctgcgcaaca aggccaacat ccagttcggc gacaacggca ccaccatcag 960
cgccgtgagc aacaaggcct acgtgttcga gcgcgaccag agcgtgggcg accccaagat 1020
cgacctgatc cgcaccctga acatccccgt gctgaccgtg atcgagtgga gccaggtgca 1080
cttcctgcgc gagatcatcg aggccatgct gaaggcctac cagcagaagc tgttcgtgac 1140
ccacaccgtg gacgagctgc tgtggggcta caaggacgag atcctgagcc tgatccacgt 1200
gttccgcccc gacatcagcc cctacttcgg cctgttctac gagaagaacg gcaccaacga 1260
cggcgactac gtgttcctga ccggcgagga cagctacctg aacttcacca agatcgtgga 1320
gtggaacggc aagaccagcc tggactggtg gatcaccgac aagtgcaaca tgatcaacgg 1380
caccgacggc gacagcttcc acccccctgat caccaaggac gaggtgctgt acgtgttccc 1440
cagcgacttc tgccgcagcg tgtacatcac cttcagcgac tacgagagcg tgcagggcct 1500
gcccgccttc cgctacaagg tgcccgccga gatcctggcc aacaccagcg acaacgccgg 1560
cttctgcatc cccgagggca actgcctggg cagcggcgtg ctgaacgtga gcatctgcaa 1620
gaacggcgcc cccatcatca tgagcttccc ccacttctac caggccgacg agcgcttcgt 1680
gagcgccatc gagggcatgc accccaacca ggaggaccac gagaccttcg tggacatcaa 1740
ccccctgacc ggcatcatcc tgaaggccgc caagcgcttc cagatcaaca tctacgtgaa 1800
gaagctggac gacttcgtgg agaccggcga catccgcacc atggtgttcc ccgtgatgta 1860
cctgaacgag agcgtgcaca tcgacaagga gaccgccagc cgcctgaaga gcatgatcaa 1920

caccaccctg atcatcacca acatccccta catcatcatg gccctgggcg tgttcttcgg 1980
cctggtgttc acctggctgg cctgcaaggg ccagggcagc atggacgagg gcaccgccga 2040
cgagcgcgcc cccctgatcc gcacctgatt gtggccgaac cgccgaactc agaggccggc 2100
cccagaaaac ccgagcgagt agggggcggc gcgcaggagg gaggagaact gggggcgcgg 2160
gaggctggtg ggtgtggggg gtggagatgt agaagatgtg acgccgcggc ccggcgggtg 2220
ccagattagc ggacgcggtg cccgcggttg caacgggatc ccgggcgctg cagcttggga 2280
ggcggctctc cccaggcggc gtccgcggag acacccatcc gtgaacccca ggtcccgggc 2340
cgccggctcg ccgcgcacca ggggccggcg gacagaagag cggccgagcg gctcgaggct 2400
gggggaccgc gggcgcggcc gcgcgctgcc gggcgggagg ctgggggccc ggggccgggg 2460
ccgtgccccg gagcgggtcg gaggccgggg ccggggccgg gggacggcgg ctccccgcgc 2520
ggctccagcg gctcggggat cccggccggg ccccgcaggg accatgatgg aattcagcag 2580
ccccagcaga gaggaatgcc ccaagcctct gagccgggtg tcaatcatgg ccggatctct 2640
gacaggactg ctgctgcttc aggccgtgtc ttgggcttct ggcgctagac cttgcatccc 2700
caagagcttc ggctacagca gcgtcgtgtg cgtgtgcaat gccacctact gcgacagctt 2760
cgaccctcct acctttcctg ctctgggcac cttcagcaga tacgagagca ccagatccgg 2820
cagacggatg gaactgagca tgggacccat ccaggccaat cacacaggca ctggcctgct 2880
gctgacactg cagcctgagc agaaattcca gaaagtgaaa ggcttcggcg gagccatgac 2940
agatgccgcc gctctgaata tcctggctct gtctccacca gctcagaacc tgctgctcaa 3000
gagctacttc agcgaggaag gcatcggcta caacatcatc agagtgccca tggccagctg 3060
cgacttcagc atcaggacct acacctacgc cgacacaccc gacgatttcc agctgcacaa 3120
cttcagcctg cctgaagagg acaccaagct gaagatccct ctgatccaca gagccctgca 3180
gctggcacaa agacccgtgt cactgctggc ctctccatgg acatctccca cctggctgaa 3240
aacaaatggc gccgtgaatg gcaagggcag cctgaaaggc caacctggcg acatctacca 3300
ccagacctgg gccagatact tcgtgaagtt cctggacgcc tatgccgagc acaagctgca 3360
gttttgggcc gtgacagccg agaacgaacc ttctgctgga ctgctgagcg gctacccctt 3420
tcagtgcctg ggctttacac ccgagcacca gcgggacttt atcgcccgtg atctgggacc 3480
cacactggcc aatagcaccc accataatgt gcggctgctg atgctggacg accagagact 3540
gcttctgccc cactgggcta aagtggtgct gacagatcct gaggccgcca aatacgtgca 3600
cggaatcgcc gtgcactggt atctggactt tctggcccct gccaaggcca cactgggaga 3660
gacacacaga ctgttcccca acaccatgct gttcgccagc gaagcctgtg tgggcagcaa 3720
gttttgggaa cagagcgtgc ggctcggcag ctgggataga ggcatgcagt acagccacag 3780
catcatcacc aacctgctgt accacgtcgt cggctggacc gactggaatc tggccctgaa 3840
tcctgaaggc ggccctaact gggtccgaaa cttcgtggac agccccatca tcgtggacat 3900
caccaaggac accttctaca agcagcccat gttctaccac ctgggacact tcagcaagtt 3960
catccccgag ggctctcagc gcgttggact ggtggcttcc cagaagaacg atctggacgc 4020
cgtggctctg atgcaccctg atggatctgc tgtggtggtg gtcctgaacc gcagcagcaa 4080
agatgtgccc ctgaccatca aggatcccgc cgtgggattc ctggaaacaa tcagccctgg 4140
ctactccatc cacacctacc tgtggcgtag acagtgacaa ttgttaatta agtttaaacc 4200
ctcgaggccg caagccgcat cgataccgtc gactagagct cgctgatcag cctcgactgt 4260

gccttctagt tgccagccat ctgttgtttg cccctccccc gtgccttcct tgaccctgga 4320
aggtgccact cccactgtcc tttcctaata aaatgaggaa attgcatcgc attgtctgag 4380
taggtgtcat tctattctgg ggggtggggt ggggcaggac agcaaggggg aggattggga 4440
agacaatagc aggcatgctg gggagagatc cacgataaca aacagctttt ttggggtgaa 4500
catattgact gaattccctg caggttggcc actccctctc tgcgcgctcg ctcgctcact 4560
gaggccgccc gggcaaagcc cgggcgtcgg gcgacctttg gtcgcccggc ctcagtgagc 4620
gagcgagcgc gcagagaggg agtggccaac tccatcacta ggggttcctg cggccgctcg 4680
tacggtctcg aggaattcct gcaggataac ttgccaacct cattctaaaa tgtatataga 4740
agcccaaaag acaataacaa aaatattctt gtagaacaaa atgggaaaga atgttccact 4800
aaatatcaag atttagagca aagcatgaga tgtgtgggga tagacagtga ggctgataaa 4860
atagagtaga gctcagaaac agacccattg atatatgtaa gtgacctatg aaaaaaatat 4920
ggcattttac aatgggaaaa tgatggtctt tttctttttt agaaaaacag ggaaatatat 4980
ttatatgtaa aaaataaaag ggaacccata tgtcatacca tacacacaaa aaaattccag 5040
tgaattataa gtctaaatgg agaaggcaaa actttaaatc ttttagaaaa taatatagaa 5100
gcatgcagac cagcctggcc aacatgatga aaccctctct actaataata aaatcagtag 5160
aactactcag gactactttg agtgggaagt ccttttctat gaagacttct ttggccaaaa 5220
ttaggctcta aatgcaagga gatagtgcat catgcctggc tgcacttact gataaatgat 5280
gttatcacca tctttaacca aatgcacagg aacaagttat ggtactgatg tgctggattg 5340
agaaggagct ctacttcctt gacaggacac atttgtatca acttaaaaaa gcagattttt 5400
gccagcagaa ctattcattc agaggtagga aacttagaat agatgatgtc actgattagc 5460
atggcttccc catctccaca gctgcttccc acccaggttg cccacagttg agtttgtcca 5520
gtgctcaggg ctgcccactc tcagtaagaa gccccacacc agcccctctc caaatatgtt 5580
ggctgttcct tccattaaag tgaccccact ttagagcagc aagtggattt ctgtttctta 5640
cagttcagga aggaggagtc agctgtgaga acctggagcc tgagatgctt ctaagtccca 5700
ctgctactgg ggtcagggaa gccagactcc agcatcagca gtcaggagca ctaagccctt 5760
gccaacatcc tgtttctcag agaaactgct tccattataa tggttgtcct tttttaagct 5820
atcaagccaa acaaccagtg tctaccatta ttctcatcac ctgaagccaa gggttctagc 5880
aaaagtcaag ctgtcttgta atggttgatg tgcctccagc ttctgtcttc agtcactcca 5940
ctcttagcct gctctgaatc aactctgacc acagttccct ggagcccctg ccacctgctg 6000
cccctgccac cttctccatc tgcagtgctg tgcagccttc tgcactcttg cagagctaat 6060
aggtggagac ttgaaggaag aggaggaaag tttctcataa tagccttgct gcaagctcaa 6120
atgggaggtg ggcactgtgc ccaggagcct tggagcaaag gctgtgccca acctctgact 6180
gcatccaggt ttggtcttga cagagataag aagccctggc ttttggagcc aaaatctagg 6240
tcagacttag gcaggattct caaagtttat cagcagaaca tgaggcagaa gacccttttct 6300
gctccagctt cttcaggctc aaccttcatc agaatagata gaaagagagg ctgtgagggt 6360
tcttaaaaca gaagcaaatc tgactcagag aataaacaac ctcctagtaa actacagctt 6420
agacagagca tctggtggtg agtgtgctca gtgtcctact caactgtctg gtatcagccc 6480
tcatgaggac ttctcttctt tccctcatag acctccatct ctgttttcct tagcctgcag 6540
aaatctggat ggctattcac agaatgcctg tgctttcaga gttgcatttt ttctctggta 6600

ttctggttca agcatttgaa ggtaggaaag gttctccaag tgcaagaaag ccagccctga 6660
gcctcaactg cctggctagt gtggtcagta ggatgcaaag gctgttgaat gccacaaggc 6720
caaactttaa cctgtgtacc acaagcctag cagcagaggc agctctgctc actggaactc 6780
tctgtcttct ttctcctgag ccttttcttt tcctgagttt tctagctctc ctcaacctta 6840
cctctgccct acccaggaca aacccaagag ccactgtttc tgtgatgtcc tctccagccc 6900
taattaggca tcatgacttc agcctgacct tccatgctca gaagcagtgc taatccactt 6960
cagatgagct gctctatgca acacaggcag agcctacaaa cctttgcacc agagccctcc 7020
acatatcagt gtttgttcat actcacttca acagcaaatg tgactgctga gattaagatt 7080
ttacacaaga tggtctgtaa tttcacagtt agttttatcc cattaggtat gaaagaatta 7140
gcataattcc ccttaaacat gaatgaatct tagatttttt aataaatagt tttggaagta 7200
aagacagaga catcaggagc acaaggaata gcctgagagg acaaacagaa caagaaagag 7260
tctggaaata cacaggatgt tcttggcctc ctcaaagcaa gtgcaagcag atagtaccag 7320
cagccccagg ctatcagagc ccagtgaaga gaagtaccat gaaagccaca gctctaacca 7380
ccctgttcca gagtgacaga cagtccccaa gacaagccag cctgagccag agagagaact 7440
gcaagagaaa gtttctaatt taggttctgt tagattcaga caagtgcagg tcatcctctc 7500
tccacagcta ctcacctctc cagcctaaca aagcctgcag tccacactcc aaccctggtg 7560
tctcacctcc tagcctctcc caacatcctg ctctctgacc atcttctgca tctctcatct 7620
caccatctcc cactgtctac agcctactct tgcaactacc atctcatttt ctgacatcct 7680
gtctacatct tctgccatac tctgccatct accataccac ctcttaccat ctaccacacc 7740
atcttttatc tccatccctc tcagaagcct ccaagctgaa tcctgcttta tgtgttcatc 7800
tcagcccctg catggaaagc tgaccccaga ggcagaacta ttcccagaga gcttggccaa 7860
gaaaaacaaa actaccagcc tggccaggct caggagtagt aagctgcagt gtctgttgtg 7920
ttctagcttc aacagctgca ggagttccac tctcaaatgc tccacatttc tcacatcctc 7980
ctgattctgg tcactaccca tcttcaaaga acagaatatc tcacatcagc atactgtgaa 8040
ggactagtca tgggtgcagc tgctcagagc tgcaaagtca ttctggatgg tggagagctt 8100
acaaacattt catgatgctc cccccgctct gatggctgga gcccaatccc tacacagact 8160
cctgctgtat gtgttttcct ttcactctga gccacagcca gagggcaggc attcagtctc 8220
ctcttcaggc tggggctggg gcactgagaa ctcacccaac accttgctct cactccttct 8280
gcaaaacaag aaagagcttt gtgctgcagt agccatgaag aatgaaagga aggctttaac 8340
taaaaaatgt cagagattat tttcaacccc ttactgtgga tcaccagcaa ggaggaaaca 8400
caacacagag acatttttc ccctcaaatt atcaaaagaa tcactgcatt tgttaaagag 8460
agcaactgaa tcaggaagca gagttttgaa catatcagaa gttaggaatc tgcatcagag 8520
acaaatgcag tcatggttgt ttgctgcata ccagccctaa tcattagaag cctcatggac 8580
ttcaaacatc attccctctg acaagatgct ctagcctaac tccatgagat aaaataaatc 8640
tgcctttcag agccaaagaa gagtccacca gcttcttctc agtgtgaaca agagctccag 8700
tcaggttagt cagtccagtg cagtagagga gaccagtctg catcctctaa ttttcaaagg 8760
caagaagatt tgtttaccct ggacaccagg cacaagtgag gtcacagagc tcttagatat 8820
gcagtcctca tgagtgagga gactaaagcg catgccatca agacttcagt gtagagaaaa 8880
cctccaaaaa agcctcctca ctacttctgg aatagctcag aggccgaggc ggcctcggcc 8940

tctgcataaa taaaaaaaat tagtcagcca tggggcggag aatgggcgga actgggcgga 9000
gttaggggcg ggatgggcgg agttaggggc gggactatgg ttgctgacta attgagatgc 9060
atgctttgca tacttctgcc tgctggggag cctggggact ttccacacct ggttgctgac 9120
taattgagat gcatgctttg catacttctg cctgctgggg agcctgggga ctttccacac 9180
cctaactgac acacattcca cagctgcatt aatgaatcgg ccaacgcgcg gggagaggcg 9240
gtttgcgtat tgggcgctct tccgcttcct cgctcactga ctcgctgcgc tcggtcgttc 9300
ggctgcggcg agcggtatca gctcactcaa aggcggtaat acggttatcc acagaatcag 9360
gggataacgc aggaaagaac atgtgagcaa aaggccagca aaaggccagg aaccgtaaaa 9420
aggccgcgtt gctggcgttt ttccataggc tccgcccccc tgacgagcat cacaaaaatc 9480
gacgctcaag tcagaggtgg cgaaacccga caggactata aagataccag gcgtttcccc 9540
ctggaagctc cctcgtgcgc tctcctgttc cgaccctgcc gcttaccgga tacctgtccg 9600
cctttctccc ttcgggaagc gtggcgcttt ctcatagctc acgctgtagg tatctcagtt 9660
cggtgtaggt cgttcgctcc aagctgggct gtgtgcacga acccccgtt cagcccgacc 9720
gctgcgcctt atccggtaac tatcgtcttg agtccaaccc ggtaagacac gacttatcgc 9780
cactggcagc agccactggt aacaggatta gcagagcgag gtatgtaggc ggtgctacag 9840
agttcttgaa gtggtggcct aactacggct acactagaag aacagtattt ggtatctgcg 9900
ctctgctgaa gccagttacc ttcggaaaaa gagttggtag ctcttgatcc ggcaaacaaa 9960
ccaccgctgg tagcggtggt ttttttgttt gcaagcagca gattacgcgc agaaaaaaag 10020
gatctcaaga agatcctttg atcttttcta cggggtctga cgctcagtgg aacgaaaact 10080
cacgttaagg gattttggtc atgagattat caaaaaggat cttcacctag atccttttaa 10140
attaaaaatg aagttttaaa tcaatctaaa gtatatatga gtaaacttgg tctgacagtt 10200
accaatgctt aatcagtgag gcacctatct cagcgatctg tctatttcgt tcatccatag 10260
ttgcctgact cctgcaaacc acgttgtgtc tcaaaatctc tgatgttaca ttgcacaaga 10320
taaaaatata tcatcatgaa caataaaact gtctgcttac ataaacagta atacaagggg 10380
tgttatgagc catattcaac gggaaacgtc ttgctcgagg ccgcgattaa attccaacat 10440
ggatgctgat ttatatgggt ataaatgggc tcgcgataat gtcgggcaat caggtgcgac 10500
aatctatcga ttgtatggga agcccgatgc gccagagttg tttctgaaac atggcaaagg 10560
tagcgttgcc aatgatgtta cagatgagat ggtcagacta aactggctga cggaatttat 10620
gcctcttccg accatcaagc attttatccg tactcctgat gatgcatggt tactcaccac 10680
tgcgatcccc gggaaaacag cattccaggt attagaagaa tatcctgatt caggtgaaaa 10740
tattgttgat gcgctggcag tgttcctgcg ccggttgcat tcgattcctg tttgtaattg 10800
tccttttaac agcgatcgcg tatttcgtct cgctcaggcg caatcacgaa tgaataacgg 10860
tttggttgat gcgagtgatt ttgatgacga gcgtaatggc tggcctgttg aacaagtctg 10920
gaaagaaatg cataagcttt tgccattctc accggattca gtcgtcactc atggtgattt 10980
ctcacttgat aaccttattt ttgacgaggg gaaattaata ggttgtattg atgttggacg 11040
agtcggaatc gcagaccgat accaggatct tgccatccta tggaactgcc tcggtgagtt 11100
ttctccttca ttacagaaac ggctttttca aaaatatggt attgataatc ctgatatgaa 11160
taaattgcag tttcatttga tgctcgatga gtttttctaa gggcggcctg ccaccatacc 11220
cacgccgaaa caagcgctca tgagcccgaa gtggcgagcc cgatcttccc catcggtgat 11280

gtcggcgata taggcgccag caaccgcacc tgtggcgccg gtgatgaggg cgcgccaagt 11340
cgacgtccgg cagtc 11355

<210> 3

<211> 11420

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多核苷酸

<400> 3

ttggccactc cctctctgcg cgctcgctcg ctcactgagg ccgggcgacc aaaggtcgcc 60
cgacgcccgg gctttgcccg ggcggcctca gtgagcgagc gagcgcgcag agagggagtg 120
gccaactcca tcactagggg ttcctgctag ctctgggtat ttaagcccga gtgagcacgc 180
agggtctcca ttttgaagcg ggaggttacg cgttcgtcga ctactagtgg gtaccagagc 240
tccctaggtt ctagaaccgg tgacgtctcc catggtgaag cttggatctg agggcggagt 300
tagggcggag ccaatcagcg tgcgccgttc cgaaagttgc cttttatggc tgggcggaga 360
atgggcggtg aacgccgatg attatataag gacgcgccgg gtgtggcaca gctagttccg 420
tcgcagccgg gatttgggtc gcggttcttg tttgtggatc cctgtgatcg tcacttggta 480
agtcactgac tgtctatgcc tgggaaaggg tgggcaggag atggggcagt gcaggaaaag 540
tggcactatg aaccctgcag ccctaggaat gcatctagac aattgtacta accttcttct 600
ctttcctctc ctgacagtcc ggaaagccac catggaattc agcagcccca gcagagagga 660
atgccccaag cctctgagcc gggtgtcaat catggccgga tctctgacag gactgctgct 720
gcttcaggcc gtgtcttggg cttctggcgc tagaccttgc atccccaaga gcttcggcta 780
cagcagcgtc gtgtgcgtgt gcaatgccac ctactgcgac agcttcgacc ctcctacctt 840
tcctgctctg ggcaccttca gcagatacga gagcaccaga tccggcagac ggatggaact 900
gagcatggga cccatccagg ccaatcacac aggcactggc ctgctgctga cactgcagcc 960
tgagcagaaa ttccagaaag tgaaaggctt cggcggagcc atgacagatg ccgccgctct 1020
gaatatcctg gctctgtctc caccagctca gaacctgctg ctcaagagct acttcagcga 1080
ggaaggcatc ggctacaaca tcatcagagt gcccatggcc agctgcgact tcagcatcag 1140
gacctacacc tacgccgaca cacccgacga tttccagctg cacaacttca gcctgcctga 1200
agaggacacc aagctgaaga tccctctgat ccacagagcc ctgcagctgg cacaaagacc 1260
cgtgtcactg ctggcctctc catggacatc tcccacctgg ctgaaaacaa atggcgccgt 1320
gaatggcaag ggcagcctga aaggccaacc tggcgacatc taccaccaga cctgggccag 1380
atacttcgtg aagttcctgg acgcctatgc cgagcacaag ctgcagtttt gggccgtgac 1440
agccgagaac gaaccttctg ctggactgct gagcggctac ccctttcagt gcctgggctt 1500
tacacccgag caccagcggg actttatcgc ccgtgatctg ggacccacac tggccaatag 1560
cacccaccat aatgtgcggc tgctgatgct ggacgaccag agactgcttc tgccccactg 1620
ggctaaagtg gtgctgacag atcctgaggc cgccaaatac gtgcacggaa tcgccgtgca 1680
ctggtatctg gactttctgg cccctgccaa ggccacactg ggagagacac acagactgtt 1740
ccccaacacc atgctgttcg ccagcgaagc ctgtgtgggc agcaagtttt gggaacagag 1800

cgtgcggctc ggcagctggg atagaggcat gcagtacagc cacagcatca tcaccaacct 1860
gctgtaccac gtcgtcggct ggaccgactg gaatctggcc ctgaatcctg aaggcggccc 1920
taactgggtc cgaaacttcg tggacagccc catcatcgtg gacatcacca aggacacctt 1980
ctacaagcag cccatgttct accacctggg acacttcagc aagttcatcc ccgagggctc 2040
tcagcgcgtt ggactggtgg cttcccagaa gaacgatctg gacgccgtgg ctctgatgca 2100
ccctgatgga tctgctgtgg tggtggtcct gaaccgcagc agcaaagatg tgcccctgac 2160
catcaaggat cccgccgtgg gattcctgga aacaatcagc cctggctact ccatccacac 2220
ctacctgtgg cgtagacagt gacaattgtt aattaagttt catcgatacc gtcgactaga 2280
gctcgctgat cagcctcgac tgtgccttct agttgccagc catctgttgt ttgcccctcc 2340
cccgtgcctt ccttgaccct ggaaggtgcc actcccactg tcctttccta ataaaatgag 2400
gaaattgcat cgcattgtct gagtaggtgt cattctattc tgggggggtgg ggtggggcag 2460
gacagcaagg gggaggattg ggaagacaat agcaggcatg ctggggagag atccacgata 2520
acaaacagct tttttggggg ggcggagtta gggcggagcc aatcagcgtg cgccgttccg 2580
aaagttgcct tttatggctg ggcggagaat gggcggtgaa cgccgatgat tatataagga 2640
cgcgccgggt gtggcacagc tagttccgtc gcagccggga tttgggtcgc ggttcttgtt 2700
tgtggatccc tgtgatcgtc acttggtaag tcactgactg tctatgcctg ggaaagggtg 2760
ggcaggagat ggggcagtgc aggaaaagtg gcactatgaa ccctgcagcc ctaggaatgc 2820
atctagacaa ttgtactaac cttcttctct ttcctctcct gacagtccgg aaagccacca 2880
tgggccgctg ctgcttctac accgccggca ccctgagcct gctgctgctg gtgaccagcg 2940
tgaccctgct ggtggcccgc gtgttccaga aggccgtgga ccagagcatc gagaagaaga 3000
tcgtgctgcg caacggcacc gaggccttcg acagctggga gaagcccccc ctgcccgtgt 3060
acacccagtt ctacttcttc aacgtgacca accccgagga gatcctgcgc ggcgagaccc 3120
cccgcgtgga ggaggtgggc ccctacacct accgcgagct gcgcaacaag gccaacatcc 3180
agttcggcga caacggcacc accatcagcg ccgtgagcaa caaggcctac gtgttcgagc 3240
gcgaccagag cgtgggcgac cccaagatcg acctgatccg caccctgaac atccccgtgc 3300
tgaccgtgat cgagtggagc caggtgcact tcctgcgcga gatcatcgag gccatgctga 3360
aggcctacca gcagaagctg ttcgtgaccc acaccgtgga cgagctgctg tggggctaca 3420
aggacgagat cctgagcctg atccacgtgt tccgccccga catcagcccc tacttcggcc 3480
tgttctacga gaagaacggc accaacgacg gcgactacgt gttcctgacc ggcgaggaca 3540
gctacctgaa cttcaccaag atcgtggagt ggaacggcaa gaccagcctg gactggtgga 3600
tcaccgacaa gtgcaacatg atcaacggca ccgacggcga cagcttccac cccctgatca 3660
ccaaggacga ggtgctgtac gtgttcccca gcgacttctg ccgcagcgtg tacatcacct 3720
tcagcgacta cgagagcgtg cagggcctgc ccgccttccg ctacaaggtg cccgccgaga 3780
tcctggccaa caccagcgac aacgccggct tctgcatccc cgagggcaac tgcctgggca 3840
gcggcgtgct gaacgtgagc atctgcaaga acggcgcccc catcatcatg agcttccccc 3900
acttctacca ggccgacgag cgcttcgtga gcgccatcga gggcatgcac cccaaccagg 3960
aggaccacga gaccttcgtg gacatcaacc ccctgaccgg catcatcctg aaggccgcca 4020
agcgcttcca gatcaacatc tacgtgaaga agctggacga cttcgtggag accggcgaca 4080
tccgcaccat ggtgttcccc gtgatgtacc tgaacgagag cgtgcacatc gacaaggaga 4140

ccgccagccg cctgaagagc atgatcaaca ccaccctgat catcaccaac atcccctaca 4200
tcatcatggc cctgggcgtg ttcttcggcc tggtgttcac ctggctggcc tgcaagggcc 4260
agggcagcat ggacgagggc accgccgacg agcgcgcccc cctgatccgc acctgaccca 4320
ggggactcaa tcagcctcga agacatgata agatacattg atgagtttgg acaaaccaca 4380
acaagaatgc agtgaaaaaa atgctttatt tgtgaaattt gtgatgctat tgctttattt 4440
gtaaccatta taagctgcaa taaacaagtt aacaacaaca attgcattca ttttatgttt 4500
caggttcagg gggagatgtg ggaggttttt taaagcaagt aaaacctcta caaatgtggt 4560
atgaacatat tgactgaatt ccctgcaggt tggccactcc ctctctgcgc gctcgctcgc 4620
tcactgaggc cgcccgggca aagcccgggc gtcgggcgac ctttggtcgc ccggcctcag 4680
tgagcgagcg agcgcgcaga gagggagtgg ccaactccat cactaggggt tcctgcggcc 4740
gctcgtacgg tctcgaggaa ttcctgcagg ataacttgcc aacctcattc taaaatgtat 4800
atagaagccc aaaagacaat aacaaaaata ttcttgtaga acaaaatggg aaagaatgtt 4860
ccactaaata tcaagattta gagcaaagca tgagatgtgt ggggatagac agtgaggctg 4920
ataaaataga gtagagctca gaaacagacc cattgatata tgtaagtgac ctatgaaaaa 4980
aatatggcat tttacaatgg gaaaatgatg gtctttttct tttttagaaa aacagggaaa 5040
tatatttata tgtaaaaaat aaaagggaac ccatatgtca taccatacac acaaaaaaat 5100
tccagtgaat tataagtcta aatggagaag gcaaaacttt aaatctttta gaaaatataa 5160
tagaagcatg cagaccagcc tggccaacat gatgaaaccc tctctactaa taataaaatc 5220
agtagaacta ctcaggacta ctttgagtgg gaagtccttt tctatgaaga cttctttggc 5280
caaaattagg ctctaaatgc aaggagatag tgcatcatgc ctggctgcac ttactgataa 5340
atgatgttat caccatcttt aaccaaatgc acaggaacaa gttatggtac tgatgtgctg 5400
gattgagaag gagctctact tccttgacag gacacatttg tatcaactta aaaaagcaga 5460
tttttgccag cagaactatt cattcagagg taggaaactt agaatagatg atgtcactga 5520
ttagcatggc ttccccatct ccacagctgc ttcccaccca ggttgcccac agttgagttt 5580
gtccagtgct cagggctgcc cactctcagt aagaagcccc acaccagccc ctctccaaat 5640
atgttggctg ttccttccat taaagtgacc ccactttaga gcagcaagtg gatttctgtt 5700
tcttacagtt caggaaggag gagtcagctg tgagaacctg gagcctgaga tgcttctaag 5760
tcccactgct actggggtca gggaagccag actccagcat cagcagtcag gagcactaag 5820
cccttgccaa catcctgttt ctcagagaaa ctgcttccat tataatggtt gtccttttt 5880
aagctatcaa gccaaacaac cagtgtctac cattattctc atcacctgaa gccaagggtt 5940
ctagcaaaag tcaagctgtc ttgtaatggt tgatgtgcct ccagcttctg tcttcagtca 6000
ctccactctt agcctgctct gaatcaactc tgaccacagt tccctggagc ccctgccacc 6060
tgctgcccct gccaccttct ccatctgcag tgctgtgcag ccttctgcac tcttgcagag 6120
ctaataggtg gagacttgaa ggaagaggag gaaagtttct cataatagcc ttgctgcaag 6180
ctcaaatggg aggtgggcac tgtgcccagg agccttggag caaaggctgt gcccaacctc 6240
tgactgcatc caggtttggt cttgacagag ataagaagcc ctggcttttg gagccaaaat 6300
ctaggtcaga cttaggcagg attctcaaag tttatcagca gaacatgagg cagaagaccc 6360
tttctgctcc agcttcttca ggctcaacct tcatcagaat agatagaaag agaggctgtg 6420
agggttctta aaacagaagc aaatctgact cagagaataa acaacctcct agtaaactac 6480

agcttagaca gagcatctgg tggtgagtgt gctcagtgtc ctactcaact gtctggtatc 6540
agccctcatg aggacttctc ttctttccct catagacctc catctctgtt ttccttagcc 6600
tgcagaaatc tggatggcta ttcacagaat gcctgtgctt tcagagttgc atttttctc 6660
tggtattctg gttcaagcat ttgaaggtag gaaaggttct ccaagtgcaa gaaagccagc 6720
cctgagcctc aactgcctgg ctagtgtggt cagtaggatg caaaggctgt tgaatgccac 6780
aaggccaaac tttaacctgt gtaccacaag cctagcagca gaggcagctc tgctcactgg 6840
aactctctgt cttctttctc ctgagccttt tcttttcctg agttttctag ctctcctcaa 6900
ccttacctct gccctaccca ggacaaaccc aagagccact gtttctgtga tgtcctctcc 6960
agccctaatt aggcatcatg acttcagcct gaccttccat gctcagaagc agtgctaatc 7020
cacttcagat gagctgctct atgcaacaca ggcagagcct acaaaccttt gcaccagagc 7080
cctccacata tcagtgtttg ttcatactca cttcaacagc aaatgtgact gctgagatta 7140
agattttaca caagatggtc tgtaatttca cagttagttt tatcccatta ggtatgaaag 7200
aattagcata attcccctta aacatgaatg aatcttagat tttttaataa atagttttgg 7260
aagtaaagac agagacatca ggagcacaag gaatagcctg agaggacaaa cagaacaaga 7320
aagagtctgg aaatacacag gatgttcttg gcctcctcaa agcaagtgca agcagatagt 7380
accagcagcc ccaggctatc agagcccagt gaagagaagt accatgaaag ccacagctct 7440
aaccaccctg ttccagagtg acagacagtc cccaagacaa gccagcctga gccagagaga 7500
gaactgcaag agaaagtttc taatttaggt tctgttagat tcagacaagt gcaggtcatc 7560
ctctctccac agctactcac ctctccagcc taacaaagcc tgcagtccac actccaaccc 7620
tggtgtctca cctcctagcc tctcccaaca tcctgctctc tgaccatctt ctgcatctct 7680
catctcacca tctcccactg tctacagcct actcttgcaa ctaccatctc attttctgac 7740
atcctgtcta catcttctgc catactctgc catctaccat accacctctt accatctacc 7800
acaccatctt ttatctccat ccctctcaga agcctccaag ctgaatcctg ctttatgtgt 7860
tcatctcagc ccctgcatgg aaagctgacc ccagaggcag aactattccc agagagcttg 7920
gccaagaaaa acaaaactac cagcctggcc aggctcagga gtagtaagct gcagtgtctg 7980
ttgtgttcta gcttcaacag ctgcaggagt tccactctca aatgctccac atttctcaca 8040
tcctcctgat tctggtcact acccatcttc aaagaacaga atatctcaca tcagcatact 8100
gtgaaggact agtcatgggt gcagctgctc agagctgcaa agtcattctg gatggtggag 8160
agcttacaaa catttcatga tgctcccccc gctctgatgg ctggagccca atccctacac 8220
agactcctgc tgtatgtgtt ttcctttcac tctgagccac agccagaggg caggcattca 8280
gtctcctctt caggctgggg ctggggcact gagaactcac ccaacacctt gctctcactc 8340
cttctgcaaa acaagaaaga gctttgtgct gcagtagcca tgaagaatga aaggaaggct 8400
ttaactaaaa aatgtcagag attattttca acccccttact gtggatcacc agcaaggagg 8460
aaacacaaca cagagacatt ttttcccctc aaattatcaa aagaatcact gcatttgtta 8520
aagagagcaa ctgaatcagg aagcagagtt ttgaacatat cagaagttag gaatctgcat 8580
cagagacaaa tgcagtcatg gttgtttgct gcataccagc cctaatcatt agaagcctca 8640
tggacttcaa acatcattcc ctctgacaag atgctctagc ctaactccat gagataaaat 8700
aaatctgcct ttcagagcca aagaagagtc caccagcttc ttctcagtgt gaacaagagc 8760
tccagtcagg ttagtcagtc cagtgcagta gaggagacca gtctgcatcc tctaattttc 8820

aaaggcaaga agatttgttt accctggaca ccaggcacaa gtgaggtcac agagctctta 8880
gatatgcagt cctcatgagt gaggagacta aagcgcatgc catcaagact tcagtgtaga 8940
gaaaacctcc aaaaaagcct cctcactact tctggaatag ctcagaggcc gaggcggcct 9000
cggcctctgc ataaataaaa aaaattagtc agccatgggg cggagaatgg gcggaactgg 9060
gcggagttag gggcgggatg ggcggagtta ggggcgggac tatggttgct gactaattga 9120
gatgcatgct ttgcatactt ctgcctgctg gggagcctgg ggactttcca cacctggttg 9180
ctgactaatt gagatgcatg ctttgcatac ttctgcctgc tggggagcct ggggactttc 9240
cacaccctaa ctgacacaca ttccacagct gcattaatga atcggccaac gcgcggggag 9300
aggcggtttg cgtattgggc gctcttccgc ttcctcgctc actgactcgc tgcgctcggt 9360
cgttcggctg cggcgagcgg tatcagctca ctcaaaggcg gtaatacggt tatccacaga 9420
atcaggggat aacgcaggaa agaacatgtg agcaaaaggc cagcaaaagg ccaggaaccg 9480
taaaaaggcc gcgttgctgg cgtttttcca taggctccgc ccccctgacg agcatcacaa 9540
aaatcgacgc tcaagtcaga ggtggcgaaa cccgacagga ctataaagat accaggcgtt 9600
tccccctgga agctccctcg tgcgctctcc tgttccgacc ctgccgctta ccggatacct 9660
gtccgccttt ctcccttcgg gaagcgtggc gctttctcat agctcacgct gtaggtatct 9720
cagttcggtg taggtcgttc gctccaagct gggctgtgtg cacgaacccc ccgttcagcc 9780
cgaccgctgc gccttatccg gtaactatcg tcttgagtcc aacccggtaa gacacgactt 9840
atcgccactg gcagcagcca ctggtaacag gattagcaga gcgaggtatg taggcggtgc 9900
tacagagttc ttgaagtggt ggcctaacta cggctacact agaagaacag tatttggtat 9960
ctgcgctctg ctgaagccag ttaccttcgg aaaaagagtt ggtagctctt gatccggcaa 10020
acaaaccacc gctggtagcg gtggtttttt tgtttgcaag cagcagatta cgcgcagaaa 10080
aaaaggatct caagaagatc ctttgatctt ttctacgggg tctgacgctc agtggaacga 10140
aaactcacgt taagggattt tggtcatgag attatcaaaa aggatcttca cctagatcct 10200
tttaaattaa aaatgaagtt ttaaatcaat ctaaagtata tatgagtaaa cttggtctga 10260
cagttaccaa tgcttaatca gtgaggcacc tatctcagcg atctgtctat ttcgttcatc 10320
catagttgcc tgactcctgc aaaccacgtt gtgtctcaaa atctctgatg ttacattgca 10380
caagataaaa atatatcatc atgaacaata aaactgtctg cttacataaa cagtaataca 10440
aggggtgtta tgagccatat tcaacgggaa acgtcttgct cgaggccgcg attaaattcc 10500
aacatggatg ctgatttata tgggtataaa tgggctcgcg ataatgtcgg gcaatcaggt 10560
gcgacaatct atcgattgta tgggaagccc gatgcgccag agttgtttct gaaacatggc 10620
aaaggtagcg ttgccaatga tgttacagat gagatggtca gactaaactg gctgacggaa 10680
tttatgcctc ttccgaccat caagcatttt atccgtactc ctgatgatgc atggttactc 10740
accactgcga tccccgggaa aacagcattc caggtattag aagaatatcc tgattcaggt 10800
gaaaatattg ttgatgcgct ggcagtgttc ctgcgccggt tgcattcgat tcctgtttgt 10860
aattgtcctt ttaacagcga tcgcgtattt cgtctcgctc aggcgcaatc acgaatgaat 10920
aacggtttgg ttgatgcgag tgattttgat gacgagcgta atggctggcc tgttgaacaa 10980
gtctggaaag aaatgcataa gcttttgcca ttctcaccgg attcagtcgt cactcatggt 11040
gatttctcac ttgataacct tatttttgac gaggggaaat taataggttg tattgatgtt 11100
ggacgagtcg gaatcgcaga ccgataccag gatcttgcca tcctatggaa ctgcctcggt 11160

gagttttctc cttcattaca gaaacggctt tttcaaaaat atggtattga taatcctgat 11220
atgaataaat tgcagtttca tttgatgctc gatgagtttt tctaagggcg gcctgccacc 11280
atacccacgc cgaaacaagc gctcatgagc ccgaagtggc gagcccgatc ttccccatcg 11340
gtgatgtcgg cgatataggc gccagcaacc gcacctgtgg cgccggtgat gagggcgcgc 11400
caagtcgacg tccggcagtc 11420

<210> 4
<211> 11171
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多核苷酸
<400> 4

ttggccactc cctctctgcg cgctcgctcg ctcactgagg ccgggcgacc aaaggtcgcc 60
cgacgcccgg gctttgcccg ggcggcctca gtgagcgagc gagcgcgcag agagggagtg 120
gccaactcca tcactagggg ttcctgctag ctctgggtat ttaagcccga gtgagcacgc 180
agggtctcca ttttgaagcg ggaggttacg cgttcgtcga ctactagtgg gtaccagagc 240
tccctaggtt ctagaaccgg tgacgtctcc catggtgaag cttggatctg agggcggagt 300
tagggcggag ccaatcagcg tgcgccgttc cgaaagttgc cttttatggc tgggcggaga 360
atgggcggtg aacgccgatg attatataag gacgcgccgg gtgtggcaca gctagttccg 420
tcgcagccgg gatttgggtc gcggttcttg tttgtggatc cctgtgatcg tcacttggta 480
agtcactgac tgtctatgcc tgggaaaggg tgggcaggag atggggcagt gcaggaaaag 540
tggcactatg aaccctcctg gtggcgaggg gagggggtg gtcctcgaac gccttgcaga 600
actggcctgg atacagagtg gaccggctgg ccccatctgg aagacttcga gatacactgt 660
tgtcttactg cgctcaacag tgtatctcga agtcttccaa atggtgccag ccatcgcagc 720
ggggtgcagg aaatgggggc agccccccctt tttggctatc cttccacgtg ttctttttg 780
tatcttttgt gtttcctaga aaacatctca gtcaccaccg cagccctagg aatgcatcta 840
gacaattgta ctaaccttct tctctttcct ctcctgacag tccggaaagc caccatgggc 900
cgctgctgct tctacaccgc cggcaccctg agcctgctgc tgctggtgac cagcgtgacc 960
ctgctggtgg cccgcgtgtt ccagaaggcc gtggaccaga gcatcgagaa gaagatcgtg 1020
ctgcgcaacg gcaccgaggc cttcgacagc tgggagaagc ccccctgcc cgtgtacacc 1080
cagttctact tcttcaacgt gaccaacccc gaggagatcc tgcgcggcga gacccccgc 1140
gtggaggagg tgggccccta cacctaccgc gagctgcgca acaaggccaa catccagttc 1200
ggcgacaacg gcaccaccat cagcgccgtg agcaacaagg cctacgtgtt cgagcgcgac 1260
cagagcgtgg gcgaccccaa gatcgacctg atccgcaccc tgaacatccc cgtgctgacc 1320
gtgatcgagt ggagccaggt gcacttcctg cgcgagatca tcgaggccat gctgaaggcc 1380
taccagcaga agctgttcgt gacccacacc gtggacgagc tgctgtgggg ctacaaggac 1440
gagatcctga gcctgatcca cgtgttccgc cccgacatca gcccctactt cggcctgttc 1500
tacgagaaga acggcaccaa cgacggcgac tacgtgttcc tgaccggcga ggacagctac 1560
ctgaacttca ccaagatcgt ggagtggaac ggcaagacca gcctggactg gtggatcacc 1620

gacaagtgca acatgatcaa cggcaccgac ggcgacagct tccaccccct gatcaccaag 1680
gacgaggtgc tgtacgtgtt ccccagcgac ttctgccgca gcgtgtacat caccttcagc 1740
gactacgaga gcgtgcaggg cctgcccgcc ttccgctaca aggtgcccgc cgagatcctg 1800
gccaacacca gcgacaacgc cggcttctgc atccccgagg gcaactgcct gggcagcggc 1860
gtgctgaacg tgagcatctg caagaacggc gcccccatca tcatgagctt cccccacttc 1920
taccaggccg acgagcgctt cgtgagcgcc atcgagggca tgcaccccaa ccaggaggac 1980
cacgagacct tcgtggacat caacccccctg accggcatca tcctgaaggc cgccaagcgc 2040
ttccagatca acatctacgt gaagaagctg gacgacttcg tggagaccgg cgacatccgc 2100
accatggtgt tccccgtgat gtacctgaac gagagcgtgc acatcgacaa ggagaccgcc 2160
agccgcctga agagcatgat caacaccacc ctgatcatca ccaacatccc ctacatcatc 2220
atggccctgg gcgtgttctt cggcctggtg ttcacctggc tggcctgcaa gggccagggc 2280
agcatggacg agggcaccgc cgacgagcgc gcccccctga tccgcaccga gggcagagga 2340
agtcttctga catgcggaga cgtggaagag aatcccggcc ctatggaatt cagcagcccc 2400
agcagagagg aatgccccaa gcctctgagc cgggtgtcaa tcatggccgg atctctgaca 2460
ggactgctgc tgcttcaggc cgtgtcttgg gcttctggcg ctagaccttg catccccaag 2520
agcttcggct acagcagcgt cgtgtgcgtg tgcaatgcca cctactgcga cagcttcgac 2580
cctcctacct ttcctgctct gggcaccttc agcagatacg agagcaccag atccggcaga 2640
cggatggaac tgagcatggg acccatccag gccaatcaca caggcactgg cctgctgctg 2700
acactgcagc ctgagcagaa attccagaaa gtgaaaggct tcggcggagc catgacagat 2760
gccgccgctc tgaatatcct ggctctgtct ccaccagctc agaacctgct gctcaagagc 2820
tacttcagcg aggaaggcat cggctacaac atcatcagag tgcccatggc cagctgcgac 2880
ttcagcatca ggacctacac ctacgccgac acacccgacg atttccagct gcacaacttc 2940
agcctgcctg aagaggacac caagctgaag atccctctga tccacagagc cctgcagctg 3000
gcacaaagac ccgtgtcact gctggcctct ccatggacat ctcccacctg gctgaaaaca 3060
aatggcgccg tgaatggcaa gggcagcctg aaaggccaac ctggcgacat ctaccaccag 3120
acctgggcca gatacttcgt gaagttcctg gacgcctatg ccgagcacaa gctgcagttt 3180
tgggccgtga cagccgagaa cgaaccttct gctggactgc tgagcggcta ccccctttcag 3240
tgcctgggct ttacacccga gcaccagcgg gactttatcg cccgtgatct gggacccaca 3300
ctggccaata gcacccacca taatgtgcgg ctgctgatgc tggacgacca gagactgctt 3360
ctgccccact gggctaaagt ggtgctgaca gatcctgagg ccgccaaata cgtgcacgga 3420
atcgccgtgc actggtatct ggactttctg gcccctgcca aggccacact gggagagaca 3480
cacagactgt tccccaacac catgctgttc gccagcgaag cctgtgtggg cagcaagttt 3540
tgggaacaga gcgtgcggct cggcagctgg gatagaggca tgcagtacag ccacagcatc 3600
atcaccaacc tgctgtacca cgtcgtcggc tggaccgact ggaatctggc cctgaatcct 3660
gaaggcggcc ctaactgggt ccgaaacttc gtggacagcc ccatcatcgt ggacatcacc 3720
aaggacacct tctacaagca gcccatgttc taccacctgg gacacttcag caagttcatc 3780
cccgagggct ctcagcgcgt tggactggtg gcttcccaga agaacgatct ggacgccgtg 3840
gctctgatgc accctgatgg atctgctgtg gtggtggtcc tgaaccgcag cagcaaagat 3900
gtgcccctga ccatcaagga tcccgccgtg ggattcctgg aaacaatcag ccctggctac 3960

tccatccaca cctacctgtg gcgtagacag tgacaattgt taattaagtt taaaccctcg 4020
aggccgcaag ccgcatcgat accgtcgact agagctcgct gatcagcctc gactgtgcct 4080
tctagttgcc agccatctgt tgtttgcccc tcccccgtgc cttccttgac cctggaaggt 4140
gccactccca ctgtcctttc ctaataaaat gaggaaattg catcgcattg tctgagtagg 4200
tgtcattcta ttctgggggg tggggtgggg caggacagca agggggagga ttgggaagac 4260
aatagcaggc atgctgggga gagatccacg ataacaaaca gctttttgg ggtgaacata 4320
ttgactgaat tccctgcagg ttggccactc cctctctgcg cgctcgctcg ctcactgagg 4380
ccgcccgggc aaagcccggg cgtcgggcga cctttggtcg cccggcctca gtgagcgagc 4440
gagcgcgcag agagggagtg gccaactcca tcactagggg ttcctgcggc cgctcgtacg 4500
gtctcgagga attcctgcag gataacttgc caacctcatt ctaaaatgta tatagaagcc 4560
caaaagacaa taacaaaaat attcttgtag aacaaaatgg gaaagaatgt tccactaaat 4620
atcaagattt agagcaaagc atgagatgtg tggggataga cagtgaggct gataaaatag 4680
agtagagctc agaaacagac ccattgatat atgtaagtga cctatgaaaa aaatatggca 4740
ttttacaatg ggaaaatgat ggtctttttc ttttttagaa aaacagggaa atatatttat 4800
atgtaaaaaa taaaagggaa cccatatgtc ataccataca cacaaaaaaa ttccagtgaa 4860
ttataagtct aaatggagaa ggcaaaactt taaatctttt agaaaataat atagaagcat 4920
gcagaccagc ctggccaaca tgatgaaacc ctctctacta ataataaaat cagtagaact 4980
actcaggact actttgagtg ggaagtcctt ttctatgaag acttctttgg ccaaaattag 5040
gctctaaatg caaggagata gtgcatcatg cctggctgca cttactgata aatgatgtta 5100
tcaccatctt taaccaaatg cacaggaaca agttatggta ctgatgtgct ggattgagaa 5160
ggagctctac ttccttgaca ggacacattt gtatcaactt aaaaaagcag atttttgcca 5220
gcagaactat tcattcagag gtaggaaact tagaatagat gatgtcactg attagcatgg 5280
cttccccatc tccacagctg cttcccaccc aggttgccca cagttgagtt tgtccagtgc 5340
tcagggctgc ccactctcag taagaagccc cacaccagcc cctctccaaa tatgttggct 5400
gttccttcca ttaaagtgac cccactttag agcagcaagt ggatttctgt ttcttacagt 5460
tcaggaagga ggagtcagct gtgagaacct ggagcctgag atgcttctaa gtcccactgc 5520
tactggggtc agggaagcca gactccagca tcagcagtca ggagcactaa gcccttgcca 5580
acatcctgtt tctcagagaa actgcttcca ttataatggt tgtccttttt taagctatca 5640
agccaaacaa ccagtgtcta ccattattct catcacctga agccaagggt tctagcaaaa 5700
gtcaagctgt cttgtaatgg ttgatgtgcc tccagcttct gtcttcagtc actccactct 5760
tagcctgctc tgaatcaact ctgaccacag ttccctggag cccctgccac ctgctgcccc 5820
tgccaccttc tccatctgca gtgctgtgca gccttctgca ctcttgcaga gctaataggt 5880
ggagacttga aggaagagga ggaaagtttc tcataatagc cttgctgcaa gctcaaatgg 5940
gaggtgggca ctgtgcccag gagccttgga gcaaaggctg tgcccaacct ctgactgcat 6000
ccaggtttgg tcttgacaga gataagaagc cctggctttt ggagccaaaa tctaggtcag 6060
acttaggcag gattctcaaa gtttatcagc agaacatgag gcagaagacc ctttctgctc 6120
cagcttcttc aggctcaacc ttcatcagaa tagatagaaa gagaggctgt gagggttctt 6180
aaaacagaag caaatctgac tcagagaata aacaacctcc tagtaaacta cagcttagac 6240
agagcatctg gtggtgagtg tgctcagtgt cctactcaac tgtctggtat cagccctcat 6300

gaggacttct cttctttccc tcatagacct ccatctctgt tttccttagc ctgcagaaat 6360
ctggatggct attcacagaa tgcctgtgct ttcagagttg catttttct ctggtattct 6420
ggttcaagca tttgaaggta ggaaaggttc tccaagtgca agaaagccag ccctgagcct 6480
caactgcctg gctagtgtgg tcagtaggat gcaaaggctg ttgaatgcca caaggccaaa 6540
ctttaacctg tgtaccacaa gcctagcagc agaggcagct ctgctcactg gaactctctg 6600
tcttctttct cctgagcctt ttcttttcct gagttttcta gctctcctca accttacctc 6660
tgccctaccc aggacaaacc caagagccac tgtttctgtg atgtcctctc cagccctaat 6720
taggcatcat gacttcagcc tgaccttcca tgctcagaag cagtgctaat ccacttcaga 6780
tgagctgctc tatgcaacac aggcagagcc tacaaacctt tgcaccagag ccctccacat 6840
atcagtgttt gttcatactc acttcaacag caaatgtgac tgctgagatt aagattttac 6900
acaagatggt ctgtaatttc acagttagtt ttatcccatt aggtatgaaa gaattagcat 6960
aattcccctt aaacatgaat gaatcttaga ttttttaata aatagttttg gaagtaaaga 7020
cagagacatc aggagcacaa ggaatagcct gagaggacaa acagaacaag aaagagtctg 7080
gaaatacaca ggatgttctt ggcctcctca aagcaagtgc aagcagatag taccagcagc 7140
cccaggctat cagagcccag tgaagagaag taccatgaaa gccacagctc taaccaccct 7200
gttccagagt gacagacagt ccccaagaca agccagcctg agccagagag agaactgcaa 7260
gagaaagttt ctaatttagg ttctgttaga ttcagacaag tgcaggtcat cctctctcca 7320
cagctactca cctctccagc ctaacaaagc ctgcagtcca cactccaacc ctggtgtctc 7380
acctcctagc ctctcccaac atcctgctct ctgaccatct tctgcatctc tcatctcacc 7440
atctcccact gtctacagcc tactcttgca actaccatct cattttctga catcctgtct 7500
acatcttctg ccatactctg ccatctacca taccacctct taccatctac cacaccatct 7560
tttatctcca tccctctcag aagcctccaa gctgaatcct gctttatgtg ttcatctcag 7620
cccctgcatg gaaagctgac cccagaggca gaactattcc cagagagctt ggccaagaaa 7680
aacaaaacta ccagcctggc caggctcagg agtagtaagc tgcagtgtct gttgtgttct 7740
agcttcaaca gctgcaggag ttccactctc aaatgctcca catttctcac atcctcctga 7800
ttctggtcac tacccatctt caaagaacag aatatctcac atcagcatac tgtgaaggac 7860
tagtcatggg tgcagctgct cagagctgca aagtcattct ggatggtgga gagcttacaa 7920
acatttcatg atgctccccc cgctctgatg gctggagccc aatccctaca cagactcctg 7980
ctgtatgtgt tttcctttca ctctgagcca cagccagagg gcaggcattc agtctcctct 8040
tcaggctggg gctggggcac tgagaactca cccaacacct tgctctcact ccttctgcaa 8100
aacaagaaag agctttgtgc tgcagtagcc atgaagaatg aaaggaaggc tttaactaaa 8160
aaatgtcaga gattattttc aacccccttac tgtggatcac cagcaaggag gaaacacaac 8220
acagagacat tttttcccct caaattatca aaagaatcac tgcatttgtt aaagagagca 8280
actgaatcag gaagcagagt tttgaacata tcagaagtta ggaatctgca tcagagacaa 8340
atgcagtcat ggttgtttgc tgcataccag ccctaatcat tagaagcctc atggacttca 8400
aacatcattc cctctgacaa gatgctctag cctaactcca tgagataaaa taaatctgcc 8460
tttcagagcc aaagaagagt ccaccagctt cttctcagtg tgaacaagag ctccagtcag 8520
gttagtcagt ccagtgcagt agaggagacc agtctgcatc ctctaatttt caaaggcaag 8580
aagatttgtt taccctggac accaggcaca agtgaggtca cagagctctt agatatgcag 8640

tcctcatgag tgaggagact aaagcgcatg ccatcaagac ttcagtgtag agaaaacctc 8700
caaaaaagcc tcctcactac ttctggaata gctcagaggc cgaggcggcc tcggcctctg 8760
cataaataaa aaaaattagt cagccatggg gcggagaatg ggcggaactg ggcggagtta 8820
ggggcgggat gggcggagtt aggggcggga ctatggttgc tgactaattg agatgcatgc 8880
tttgcatact tctgcctgct ggggagcctg gggactttcc acacctggtt gctgactaat 8940
tgagatgcat gctttgcata cttctgcctg ctggggagcc tggggacttt ccacacccta 9000
actgacacac attccacagc tgcattaatg aatcggccaa cgcgcgggga gaggcggttt 9060
gcgtattggg cgctcttccg cttcctcgct cactgactcg ctgcgctcgg tcgttcggct 9120
gcggcgagcg gtatcagctc actcaaaggc ggtaatacgg ttatccacag aatcagggga 9180
taacgcagga aagaacatgt gagcaaaagg ccagcaaaag gccaggaacc gtaaaaaggc 9240
cgcgttgctg gcgtttttcc ataggctccg ccccccctgac gagcatcaca aaaatcgacg 9300
ctcaagtcag aggtggcgaa acccgacagg actataaaga taccaggcgt ttcccccctgg 9360
aagctccctc gtgcgctctc ctgttccgac cctgccgctt accggatacc tgtccgcctt 9420
tctcccttcg ggaagcgtgg cgctttctca tagctcacgc tgtaggtatc tcagttcggt 9480
gtaggtcgtt cgctccaagc tgggctgtgt gcacgaaccc cccgttcagc ccgaccgctg 9540
cgccttatcc ggtaactatc gtcttgagtc caacccggta agacacgact tatcgccact 9600
ggcagcagcc actggtaaca ggattagcag agcgaggtat gtaggcggtg ctacagagtt 9660
cttgaagtgg tggcctaact acggctacac tagaagaaca gtatttggta tctgcgctct 9720
gctgaagcca gttaccttcg gaaaaagagt tggtagctct tgatccggca aacaaaccac 9780
cgctggtagc ggtggttttt ttgtttgcaa gcagcagatt acgcgcagaa aaaaaggatc 9840
tcaagaagat cctttgatct tttctacggg gtctgacgct cagtggaacg aaaactcacg 9900
ttaagggatt ttggtcatga gattatcaaa aaggatcttc acctagatcc ttttaaatta 9960
aaaatgaagt tttaaatcaa tctaaagtat atatgagtaa acttggtctg acagttacca 10020
atgcttaatc agtgaggcac ctatctcagc gatctgtcta tttcgttcat ccatagttgc 10080
ctgactcctg caaaccacgt tgtgtctcaa aatctctgat gttacattgc acaagataaa 10140
aatatatcat catgaacaat aaaactgtct gcttacataa acagtaatac aaggggtgtt 10200
atgagccata ttcaacggga aacgtcttgc tcgaggccgc gattaaattc caacatggat 10260
gctgatttat atgggtataa atgggctcgc gataatgtcg ggcaatcagg tgcgacaatc 10320
tatcgattgt atgggaagcc cgatgcgcca gagttgtttc tgaaacatgg caaaggtagc 10380
gttgccaatg atgttacaga tgagatggtc agactaaact ggctgacgga atttatgcct 10440
cttccgacca tcaagcattt tatccgtact cctgatgatg catggttact caccactgcg 10500
atccccggga aaacagcatt ccaggtatta gaagaatatc ctgattcagg tgaaaatatt 10560
gttgatgcgc tggcagtgtt cctgcgccgg ttgcattcga ttcctgtttg taattgtcct 10620
tttaacagcg atcgcgtatt tcgtctcgct caggcgcaat cacgaatgaa taacggtttg 10680
gttgatgcga gtgattttga tgacgagcgt aatggctggc ctgttgaaca agtctggaaa 10740
gaaatgcata agcttttgcc attctcaccg gattcagtcg tcactcatgg tgatttctca 10800
cttgataacc ttatttttga cgaggggaaa ttaataggtt gtattgatgt tggacgagtc 10860
ggaatcgcag accgatacca ggatcttgcc atcctatgga actgcctcgg tgagttttct 10920
ccttcattac agaaacggct ttttcaaaaa tatggtattg ataatcctga tatgaataaa 10980

ttgcagtttc atttgatgct cgatgagttt ttctaagggc ggcctgccac catacccacg 11040
ccgaaacaag cgctcatgag cccgaagtgg cgagcccgat cttccccatc ggtgatgtcg 11100
gcgatatagg cgccagcaac cgcacctgtg gcgccggtga tgagggcgcg ccaagtcgac 11160
gtccggcagt c 11171

<210> 5
<211> 11309
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多核苷酸
<400> 5

ttggccactc cctctctgcg cgctcgctcg ctcactgagg ccgggcgacc aaaggtcgcc 60
cgacgcccgg gctttgcccg ggcggcctca gtgagcgagc gagcgcgcag agagggagtg 120
gccaactcca tcactagggg ttcctgctag ctctgggtat ttaagcccga gtgagcacgc 180
agggtctcca ttttgaagcg ggaggttacg cgttcgtcga ctactagtgg gtaccagagc 240
tccctaggtt ctagaaccgg tgacgtctcc catggtgaag cttggatctg agggcggagt 300
tagggcggag ccaatcagcg tgcgccgttc cgaaagttgc cttttatggc tgggcggaga 360
atgggcggtg aacgccgatg attatataag gacgcgccgg gtgtggcaca gctagttccg 420
tcgcagccgg gatttgggtc gcggttcttg tttgtggatc cctgtgatcg tcacttggta 480
agtcactgac tgtctatgcc tgggaaaggg tgggcaggag atggggcagt gcaggaaaag 540
tggcactatg aaccctcctg gtggcgaggg gagggggtg gtcctcgaac gccttgcaga 600
actggcctgg atacagagtg gaccggctgg ccccatctgg aagacttcga gatacactgt 660
tgtcttactg cgctcaacag tgtatctcga agtcttccaa atggtgccag ccatcgcagc 720
ggggtgcagg aaatgggggc agccccccctt tttggctatc cttccacgtg ttctttttg 780
tatcttttgt gtttcctaga aaacatctca gtcaccaccg cagccctagg aatgcatcta 840
gacaattgta ctaaccttct tctctttcct ctcctgacag tccggaaagc caccatgtac 900
gccctgttcc tgctggccag cctgctgggc gccgccctgg ccggccccgt gctgggcctg 960
aaggagtgca cccgcggcag cgccgtgtgg tgccagaacg tgaagaccgc cagcgactgc 1020
ggcgccgtga agcactgcct gcagaccgtg tggaacaagc ccaccgtgaa gagcctgccc 1080
tgcgacatct gcaaggacgt ggtgaccgcc gccggcgaca tgctgaagga caacgccacc 1140
gaggaggaga tcctggtgta cctggagaag acctgcgact ggctgcccaa gcccaacatg 1200
agcgccagct gcaaggagat cgtggacagc tacctgcccg tgatcctgga catcatcaag 1260
ggcgagatga gccgcccccgg cgaggtgtgc agcgccctga acctgtgcga gagcctgcag 1320
aagcacctgg ccgagctgaa ccaccagaag cagctggaga gcaacaagat ccccgagctg 1380
gacatgaccg aggtggtggc ccccttcatg gccaacatcc ccctgctgct gtacccccag 1440
gacggccccc gcagcaagcc ccagcccaag gacaacggcg acgtgtgcca ggactgcatc 1500
cagatggtga ccgacatcca gaccgccgtg cgcaccaaca gcaccttcgt gcaggccctg 1560
gtggagcacg tgaaggagga gtgcgaccgc ctgggccccg gcatggccga catctgcaag 1620
aactacatca gccagtacag cgagatcgcc atccagatga tgatgcacat gcagcccaag 1680

gagatctgcg ccctggtggg cttctgcgac gaggtgaagg agatgcccat gcagaccctg 1740
gtgcccgcca aggtggccag caagaacgtg atccccgccc tggagctggt ggagcccatc 1800
aagaagcacg aggtgcccgc caagagcgac gtgtactgcg aggtgtgcga gttcctggtg 1860
aaggaggtga ccaagctgat cgacaacaac aagaccgaga aggagatcct ggacgccttc 1920
gacaagatgt gcagcaagct gcccaagagc ctgagcgagg agtgccagga ggtggtggac 1980
acctacggca gcagcatcct gagcatcctg ctggaggagg tgagccccga gctggtgtgc 2040
agcatgctgc acctgtgcag cggcacccgc ctgcccgccc tgaccgtgca cgtgacccag 2100
cccaaggacg gcggcttctg cgaggtgtgc aagaagctgg tgggctacct ggaccgcaac 2160
ctggagaaga acagcaccaa gcaggagatc ctggccgccc tggagaaggg ctgcagcttc 2220
ctgcccgacc cctaccagaa gcagtgcgac cagttcgtgg ccgagtacga gcccgtgctg 2280
atcgagatcc tggtggaggt gatggacccc agcttcgtgt gcctgaagat cggcgcctgc 2340
cccagcgccc acaagccccc gctgggcacc gagaagtgca tctggggccc cagctactgg 2400
tgccagaaca ccgagaccgc cgcccagtgc aacgccgtgg agcactgcaa gcgccacgtg 2460
tggaacgagg gcagaggaag tcttctgaca tgcggagacg tggaagagaa tcccggccct 2520
atggaattca gcagccccag cagagaggaa tgccccaagc ctctgagccg ggtgtcaatc 2580
atggccggat ctctgacagg actgctgctg cttcaggccg tgtcttgggc ttctggcgct 2640
agaccttgca tccccaagag cttcggctac agcagcgtcg tgtgcgtgtg caatgccacc 2700
tactgcgaca gcttcgaccc tcctaccttt cctgctctgg gcaccttcag cagatacgag 2760
agcaccagat ccggcagacg gatggaactg agcatgggac ccatccaggc caatcacaca 2820
ggcactggcc tgctgctgac actgcagcct gagcagaaat tccagaaagt gaaaggcttc 2880
ggcggagcca tgacagatgc cgccgctctg aatatcctgg ctctgtctcc accagctcag 2940
aacctgctgc tcaagagcta cttcagcgag gaaggcatcg gctacaacat catcagagtg 3000
cccatggcca gctgcgactt cagcatcagg acctacacct acgccgacac acccgacgat 3060
ttccagctgc acaacttcag cctgcctgaa gaggacacca agctgaagat ccctctgatc 3120
cacagagccc tgcagctggc acaaagaccc gtgtcactgc tggcctctcc atggacatct 3180
cccacctggc tgaaaacaaa tggcgccgtg aatggcaagg gcagcctgaa aggccaacct 3240
ggcgacatct accaccagac ctgggccaga tacttcgtga agttcctgga cgcctatgcc 3300
gagcacaagc tgcagttttg ggccgtgaca gccgagaacg aaccttctgc tggactgctg 3360
agcggctacc cctttcagtg cctgggcttt acacccgagc accagcggga ctttatcgcc 3420
cgtgatctgg gacccacact ggccaatagc acccaccata atgtgcggct gctgatgctg 3480
gacgaccaga gactgcttct gccccactgg gctaaagtgg tgctgacaga tcctgaggcc 3540
gccaaatacg tgcacggaat cgccgtgcac tggtatctgg actttctggc ccctgccaag 3600
gccacactgg gagagacaca cagactgttc cccaacacca tgctgttcgc cagcgaagcc 3660
tgtgtgggca gcaagttttg ggaacagagc gtgcggctcg gcagctggga tagaggcatg 3720
cagtacagcc acagcatcat caccaacctg ctgtaccacg tcgtcggctg gaccgactgg 3780
aatctggccc tgaatcctga aggcggccct aactgggtcc gaaacttcgt ggacagcccc 3840
atcatcgtgg acatcaccaa ggacaccttc tacaagcagc ccatgttcta ccacctggga 3900
cacttcagca agttcatccc cgagggctct cagcgcgttg gactggtggc ttcccagaag 3960
aacgatctgg acgccgtggc tctgatgcac cctgatggat ctgctgtggt ggtggtcctg 4020

aaccgcagca gcaaagatgt gcccctgacc atcaaggatc ccgccgtggg attcctggaa 4080
acaatcagcc ctggctactc catccacacc tacctgtggc gtagacagtg acaattgtta 4140
attaagttta aaccctcgag gccgcaagcc gcatcgatac cgtcgactag agctcgctga 4200
tcagcctcga ctgtgccttc tagttgccag ccatctgttg tttgcccctc ccccgtgcct 4260
tccttgaccc tggaaggtgc cactcccact gtcctttcct aataaaatga ggaaattgca 4320
tcgcattgtc tgagtaggtg tcattctatt ctgggggggtg gggtggggca ggacagcaag 4380
ggggaggatt gggaagacaa tagcaggcat gctggggaga gatccacgat aacaaacagc 4440
ttttttgggg tgaacatatt gactgaattc cctgcaggtt ggccactccc tctctgcgcg 4500
ctcgctcgct cactgaggcc gcccgggcaa agcccgggcg tcgggcgacc tttggtcgcc 4560
cggcctcagt gagcgagcga gcgcgcagag agggagtggc caactccatc actaggggtt 4620
cctgcggccg ctcgtacggt ctcgaggaat tcctgcagga taacttgcca acctcattct 4680
aaaatgtata tagaagccca aaagacaata acaaaaatat tcttgtagaa caaaatggga 4740
aagaatgttc cactaaatat caagatttag agcaaagcat gagatgtgtg gggatagaca 4800
gtgaggctga taaaatagag tagagctcag aaacagaccc attgatatat gtaagtgacc 4860
tatgaaaaaa atatggcatt ttacaatggg aaaatgatgg tctttttctt ttttagaaaa 4920
acagggaaat atatttatat gtaaaaaata aaagggaacc catatgtcat accatacaca 4980
caaaaaaatt ccagtgaatt ataagtctaa atggagaagg caaaacttta aatcttttag 5040
aaaataatat agaagcatgc agaccagcct ggccaacatg atgaaaccct ctctactaat 5100
aataaaatca gtagaactac tcaggactac tttgagtggg aagtcctttt ctatgaagac 5160
ttctttggcc aaaattaggc tctaaatgca aggagatagt gcatcatgcc tggctgcact 5220
tactgataaa tgatgttatc accatcttta accaaatgca caggaacaag ttatggtact 5280
gatgtgctgg attgagaagg agctctactt ccttgacagg acacatttgt atcaacttaa 5340
aaaagcagat ttttgccagc agaactattc attcagaggt aggaaactta gaatagatga 5400
tgtcactgat tagcatggct tccccatctc cacagctgct tcccacccag gttgcccaca 5460
gttgagtttg tccagtgctc agggctgccc actctcagta agaagcccca caccagcccc 5520
tctccaaata tgttggctgt tccttccatt aaagtgaccc cactttagag cagcaagtgg 5580
atttctgttt cttacagttc aggaaggagg agtcagctgt gagaacctgg agcctgagat 5640
gcttctaagt cccactgcta ctggggtcag ggaagccaga ctccagcatc agcagtcagg 5700
agcactaagc ccttgccaac atcctgtttc tcagagaaac tgcttccatt ataatggttg 5760
tccttttta agctatcaag ccaaacaacc agtgtctacc attattctca tcacctgaag 5820
ccaagggttc tagcaaaagt caagctgtct tgtaatggtt gatgtgcctc cagcttctgt 5880
cttcagtcac tccactctta gcctgctctg aatcaactct gaccacagtt ccctggagcc 5940
cctgccacct gctgcccctg ccaccttctc catctgcagt gctgtgcagc cttctgcact 6000
cttgcagagc taataggtgg agacttgaag gaagaggagg aaagtttctc ataatagcct 6060
tgctgcaagc tcaaatggga ggtgggcact gtgcccagga gccttggagc aaaggctgtg 6120
cccaacctct gactgcatcc aggtttggtc ttgacagaga taagaagccc tggcttttgg 6180
agccaaaatc taggtcagac ttaggcagga ttctcaaagt ttatcagcag aacatgaggc 6240
agaagaccct ttctgctcca gcttcttcag gctcaacctt catcagaata gatagaaaga 6300
gaggctgtga gggttcttaa aacagaagca aatctgactc agagaataaa caacctccta 6360

gtaaactaca gcttagacag agcatctggt ggtgagtgtg ctcagtgtcc tactcaactg 6420
tctggtatca gccctcatga ggacttctct tctttccctc atagacctcc atctctgttt 6480
tccttagcct gcagaaatct ggatggctat tcacagaatg cctgtgcttt cagagttgca 6540
ttttttctct ggtattctgg ttcaagcatt tgaaggtagg aaaggttctc caagtgcaag 6600
aaagccagcc ctgagcctca actgcctggc tagtgtggtc agtaggatgc aaaggctgtt 6660
gaatgccaca aggccaaact ttaacctgtg taccacaagc ctagcagcag aggcagctct 6720
gctcactgga actctctgtc ttctttctcc tgagcctttt cttttcctga gttttctagc 6780
tctcctcaac cttacctctg ccctacccag gacaaaccca agagccactg tttctgtgat 6840
gtcctctcca gccctaatta ggcatcatga cttcagcctg accttccatg ctcagaagca 6900
gtgctaatcc acttcagatg agctgctcta tgcaacacag gcagagccta caaacctttg 6960
caccagagcc ctccacatat cagtgtttgt tcatactcac ttcaacagca aatgtgactg 7020
ctgagattaa gattttacac aagatggtct gtaatttcac agttagtttt atcccattag 7080
gtatgaaaga attagcataa ttccccttaa acatgaatga atcttagatt ttttaataaa 7140
tagttttgga agtaaagaca gagacatcag gagcacaagg aatagcctga gaggacaaac 7200
agaacaagaa agagtctgga aatacacagg atgttcttgg cctcctcaaa gcaagtgcaa 7260
gcagatagta ccagcagccc caggctatca gagcccagtg aagagaagta ccatgaaagc 7320
cacagctcta accaccctgt tccagagtga cagacagtcc ccaagacaag ccagcctgag 7380
ccagagagag aactgcaaga gaaagtttct aatttaggtt ctgttagatt cagacaagtg 7440
caggtcatcc tctctccaca gctactcacc tctccagcct aacaaagcct gcagtccaca 7500
ctccaaccct ggtgtctcac ctcctagcct ctcccaacat cctgctctct gaccatcttc 7560
tgcatctctc atctcaccat ctcccactgt ctacagccta ctcttgcaac taccatctca 7620
ttttctgaca tcctgtctac atcttctgcc atactctgcc atctaccata ccacctctta 7680
ccatctacca caccatcttt tatctccatc cctctcagaa gcctccaagc tgaatcctgc 7740
tttatgtgtt catctcagcc cctgcatgga aagctgaccc cagaggcaga actattccca 7800
gagagcttgg ccaagaaaaa caaaactacc agcctggcca ggctcaggag tagtaagctg 7860
cagtgtctgt tgtgttctag cttcaacagc tgcaggagtt ccactctcaa atgctccaca 7920
tttctcacat cctcctgatt ctggtcacta cccatcttca aagaacagaa tatctcacat 7980
cagcatactg tgaaggacta gtcatgggtg cagctgctca gagctgcaaa gtcattctgg 8040
atggtggaga gcttacaaac atttcatgat gctccccccg ctctgatggc tggagcccaa 8100
tccctacaca gactcctgct gtatgtgttt tcctttcact ctgagccaca gccagagggc 8160
aggcattcag tctcctcttc aggctggggc tggggcactg agaactcacc caacaccttg 8220
ctctcactcc ttctgcaaaa caagaaagag ctttgtgctg cagtagccat gaagaatgaa 8280
aggaaggctt taactaaaaa atgtcagaga ttattttcaa ccccttactg tggatcacca 8340
gcaaggagga aacacaacac agagacattt tttcccctca aattatcaaa agaatcactg 8400
catttgttaa agagagcaac tgaatcagga agcagagttt tgaacatatc agaagttagg 8460
aatctgcatc agagacaaat gcagtcatgg ttgtttgctg cataccagcc ctaatcatta 8520
gaagcctcat ggacttcaaa catcattccc tctgacaaga tgctctagcc taactccatg 8580
agataaaata aatctgcctt tcagagccaa agaagagtcc accagcttct tctcagtgtg 8640
aacaagagct ccagtcaggt tagtcagtcc agtgcagtag aggagaccag tctgcatcct 8700

ctaattttca aaggcaagaa gatttgttta ccctggacac caggcacaag tgaggtcaca 8760
gagctcttag atatgcagtc ctcatgagtg aggagactaa agcgcatgcc atcaagactt 8820
cagtgtagag aaaacctcca aaaaagcctc ctcactactt ctggaatagc tcagaggccg 8880
aggcggcctc ggcctctgca taaataaaaa aaattagtca gccatggggc ggagaatggg 8940
cggaactggg cggagttagg ggcgggatgg gcggagttag gggcgggact atggttgctg 9000
actaattgag atgcatgctt tgcatacttc tgcctgctgg ggagcctggg gactttccac 9060
acctggttgc tgactaattg agatgcatgc tttgcatact tctgcctgct ggggagcctg 9120
gggactttcc acaccctaac tgacacacat tccacagctg cattaatgaa tcggccaacg 9180
cgcggggaga ggcggtttgc gtattgggcg ctcttccgct tcctcgctca ctgactcgct 9240
gcgctcggtc gttcggctgc ggcgagcggt atcagctcac tcaaaggcgg taatacggtt 9300
atccacagaa tcaggggata acgcaggaaa gaacatgtga gcaaaaggcc agcaaaaggc 9360
caggaaccgt aaaaaggccg cgttgctggc gtttttccat aggctccgcc cccctgacga 9420
gcatcacaaa aatcgacgct caagtcagag gtggcgaaac ccgacaggac tataaagata 9480
ccaggcgttt ccccctggaa gctccctcgt gcgctctcct gttccgaccc tgccgcttac 9540
cggatacctg tccgcctttc tcccttcggg aagcgtggcg ctttctcata gctcacgctg 9600
taggtatctc agttcggtgt aggtcgttcg ctccaagctg ggctgtgtgc acgaaccccc 9660
cgttcagccc gaccgctgcg ccttatccgg taactatcgt cttgagtcca acccggtaag 9720
acacgactta tcgccactgg cagcagccac tggtaacagg attagcagag cgaggtatgt 9780
aggcggtgct acagagttct tgaagtggtg gcctaactac ggctacacta gaagaacagt 9840
atttggtatc tgcgctctgc tgaagccagt taccttcgga aaaagagttg gtagctcttg 9900
atccggcaaa caaaccaccg ctggtagcgg tggttttttt gtttgcaagc agcagattac 9960
gcgcagaaaa aaaggatctc aagaagatcc tttgatcttt tctacggggt ctgacgctca 10020
gtggaacgaa aactcacgtt aagggatttt ggtcatgaga ttatcaaaaa ggatcttcac 10080
ctagatcctt ttaaattaaa aatgaagttt taaatcaatc taaagtatat atgagtaaac 10140
ttggtctgac agttaccaat gcttaatcag tgaggcacct atctcagcga tctgtctatt 10200
tcgttcatcc atagttgcct gactcctgca aaccacgttg tgtctcaaaa tctctgatgt 10260
tacattgcac aagataaaaa tatatcatca tgaacaataa aactgtctgc ttacataaac 10320
agtaatacaa ggggtgttat gagccatatt caacgggaaa cgtcttgctc gaggccgcga 10380
ttaaattcca acatggatgc tgatttatat gggtataaat gggctcgcga taatgtcggg 10440
caatcaggtg cgacaatcta tcgattgtat gggaagcccg atgcgccaga gttgtttctg 10500
aaacatggca aaggtagcgt tgccaatgat gttacagatg agatggtcag actaaactgg 10560
ctgacggaat ttatgcctct tccgaccatc aagcatttta tccgtactcc tgatgatgca 10620
tggttactca ccactgcgat ccccgggaaa acagcattcc aggtattaga agaatatcct 10680
gattcaggtg aaaatattgt tgatgcgctg gcagtgttcc tgcgccggtt gcattcgatt 10740
cctgtttgta attgtccttt taacagcgat cgcgtatttc gtctcgctca ggcgcaatca 10800
cgaatgaata acggtttggt tgatgcgagt gattttgatg acgagcgtaa tggctggcct 10860
gttgaacaag tctggaaaga aatgcataag cttttgccat tctcaccgga ttcagtcgtc 10920
actcatggtg atttctcact tgataacctt atttttgacg aggggaaatt aataggttgt 10980
attgatgttg gacgagtcgg aatcgcagac cgataccagg atcttgccat cctatggaac 11040

tgcctcggtg agttttctcc ttcattacag aaacggcttt ttcaaaaata tggtattgat 11100
aatcctgata tgaataaatt gcagtttcat ttgatgctcg atgagttttt ctaagggcgg 11160
cctgccacca tacccacgcc gaaacaagcg ctcatgagcc cgaagtggcg agcccgatct 11220
tccccatcgg tgatgtcggc gatataggcg ccagcaaccg cacctgtggc gccggtgatg 11280
agggcgcgcc aagtcgacgt ccggcagtc 11309

<210> 6
<211> 11293
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多核苷酸
<400> 6

ttggccactc cctctctgcg cgctcgctcg ctcactgagg ccgggcgacc aaaggtcgcc 60
cgacgcccgg gctttgcccg ggcggcctca gtgagcgagc gagcgcgcag agagggagtg 120
gccaactcca tcactagggg ttcctgctag ctctgggtat ttaagcccga gtgagcacgc 180
agggtctcca ttttgaagcg ggaggttacg cgttcgtcga ctactagtgg gtaccagagc 240
tccctaggtt ctagaaccgg tgacgtctcc catggtgaag cttggatctg agggcggagt 300
tagggcggag ccaatcagcg tgcgccgttc cgaaagttgc cttttatggc tgggcggaga 360
atgggcggtg aacgccgatg attatataag gacgcgccgg gtgtggcaca gctagttccg 420
tcgcagccgg gatttgggtc gcggttcttg tttgtggatc cctgtgatcg tcacttggta 480
agtcactgac tgtctatgcc tgggaaaggg tgggcaggag atggggcagt gcaggaaaag 540
tggcactatg aaccctgcag ccctaggaat gcatctagac aattgtacta accttcttct 600
ctttcctctc ctgacagtcc ggaaagccac catgtacgcc ctgttcctgc tggccagcct 660
gctgggcgcc gccctggccg gccccgtgct gggcctgaag gagtgcaccc gcggcagcgc 720
cgtgtggtgc cagaacgtga agaccgccag cgactgcggc gccgtgaagc actgcctgca 780
gaccgtgtgg aacaagccca ccgtgaagag cctgccctgc gacatctgca aggacgtggt 840
gaccgccgcc ggcgacatgc tgaaggacaa cgccaccgag gaggagatcc tggtgtacct 900
ggagaagacc tgcgactggc tgcccaagcc caacatgagc gccagctgca aggagatcgt 960
ggacagctac ctgcccgtga tcctggacat catcaagggc gagatgagcc gccccggcga 1020
ggtgtgcagc gccctgaacc tgtgcgagag cctgcagaag cacctggccg agctgaacca 1080
ccagaagcag ctggagagca acaagatccc cgagctggac atgaccgagg tggtggcccc 1140
cttcatggcc aacatccccc tgctgctgta cccccaggac ggcccccgca gcaagcccca 1200
gcccaaggac aacggcgacg tgtgccagga ctgcatccag atggtgaccg acatccagac 1260
cgccgtgcgc accaacagca ccttcgtgca ggccctggtg gagcacgtga aggaggagtg 1320
cgaccgcctg ggccccggca tggccgacat ctgcaagaac tacatcagcc agtacagcga 1380
gatcgccatc cagatgatga tgcacatgca gcccaaggag atctgcgccc tggtgggctt 1440
ctgcgacgag gtgaaggaga tgcccatgca gaccctggtg cccgccaagg tggccagcaa 1500
gaacgtgatc cccgccctgg agctggtgga gcccatcaag aagcacgagg tgcccgccaa 1560
gagcgacgtg tactgcgagg tgtgcgagtt cctggtgaag gaggtgacca agctgatcga 1620

caacaacaag accgagaagg agatcctgga cgccttcgac aagatgtgca gcaagctgcc 1680
caagagcctg agcgaggagt gccaggaggt ggtggacacc tacggcagca gcatcctgag 1740
catcctgctg gaggaggtga gccccgagct ggtgtgcagc atgctgcacc tgtgcagcgg 1800
cacccgcctg cccgccctga ccgtgcacgt gacccagccc aaggacggcg gcttctgcga 1860
ggtgtgcaag aagctggtgg gctacctgga ccgcaacctg gagaagaaca gcaccaagca 1920
ggagatcctg gccgccctgg agaagggctg cagcttcctg cccgaccccc accagaagca 1980
gtgcgaccag ttcgtggccg agtacgagcc cgtgctgatc gagatcctgg tggaggtgat 2040
ggaccccagc ttcgtgtgcc tgaagatcgg cgcctgcccc agcgcccaca agcccctgct 2100
gggcaccgag aagtgcatct ggggccccag ctactggtgc cagaacaccg agaccgccgc 2160
ccagtgcaac gccgtggagc actgcaagcg ccacgtgtgg aactgattgt ggccgaaccg 2220
ccgaactcag aggccggccc cagaaaaccc gagcgagtag ggggcggcgc gcaggaggga 2280
ggagaactgg gggcgcggga ggctggtggg tgtggggggt ggagatgtag aagatgtgac 2340
gccgcggccc ggcgggtgcc agattagcgg acgcggtgcc cgcggttgca acgggatccc 2400
gggcgctgca gcttgggagg cggctctccc caggcggcgt ccgcggagac acccatccgt 2460
gaaccccagg tcccgggccg ccggctcgcc gcgcaccagg ggccggcgga cagaagagcg 2520
gccgagcggc tcgaggctgg gggaccgcgg gcgcggccgc gcgctgccgg gcgggaggct 2580
gggggggccgg ggccggggcc gtgccccgga gcgggtcgga ggccggggcc ggggccgggg 2640
gacggcggct ccccgcgcgg ctccagcggc tcggggatcc cggccgggcc ccgcagggac 2700
catgatggaa ttcagcagcc ccagcagaga ggaatgcccc aagcctctga gccgggtgtc 2760
aatcatggcc ggatctctga caggactgct gctgcttcag gccgtgtctt gggcttctgg 2820
cgctagacct tgcatcccca agagcttcgg ctacagcagc gtcgtgtgcg tgtgcaatgc 2880
cacctactgc gacagcttcg accctcctac ctttcctgct ctgggcacct tcagcagata 2940
cgagagcacc agatccggca gacggatgga actgagcatg ggacccatcc aggccaatca 3000
cacaggcact ggcctgctgc tgacactgca gcctgagcag aaattccaga aagtgaaagg 3060
cttcggcgga gccatgacag atgccgccgc tctgaatatc ctggctctgt ctccaccagc 3120
tcagaacctg ctgctcaaga gctacttcag cgaggaaggc atcggctaca acatcatcag 3180
agtgcccatg gccagctgcg acttcagcat caggacctac acctacgccg acacacccga 3240
cgatttccag ctgcacaact tcagcctgcc tgaagaggac accaagctga agatccctct 3300
gatccacaga gccctgcagc tggcacaaag acccgtgtca ctgctggcct ctccatggac 3360
atctcccacc tggctgaaaa caaatggcgc cgtgaatggc aagggcagcc tgaaaggcca 3420
acctggcgac atctaccacc agacctgggc cagatacttc gtgaagttcc tggacgccta 3480
tgccgagcac aagctgcagt tttgggccgt gacagccgag aacgaacctt ctgctggact 3540
gctgagcggc taccccttc agtgcctggg ctttacaccc gagcaccagc gggactttat 3600
cgcccgtgat ctgggaccca cactggccaa tagcacccac cataatgtgc ggctgctgat 3660
gctggacgac cagagactgc ttctgcccca ctgggctaaa gtggtgctga cagatcctga 3720
ggccgccaaa tacgtgcacg gaatcgccgt gcactggtat ctggactttc tggcccctgc 3780
caaggccaca ctgggagaga cacacagact gttccccaac accatgctgt tcgccagcga 3840
agcctgtgtg ggcagcaagt tttgggaaca gagcgtgcgg ctcggcagct gggatagagg 3900
catgcagtac agccacagca tcatcaccaa cctgctgtac cacgtcgtcg gctggaccga 3960

ctggaatctg gccctgaatc ctgaaggcgg ccctaactgg gtccgaaact tcgtggacag 4020
ccccatcatc gtggacatca ccaaggacac cttctacaag cagcccatgt tctaccacct 4080
gggacacttc agcaagttca tccccgaggg ctctcagcgc gttggactgg tggcttccca 4140
gaagaacgat ctggacgccg tggctctgat gcaccctgat ggatctgctg tggtggtggt 4200
cctgaaccgc agcagcaaag atgtgcccct gaccatcaag gatcccgccg tgggattcct 4260
ggaaacaatc agccctggct actccatcca cacctacctg tggcgtagac agtgacaatt 4320
gttaattaag tttaaaccct cgaggccgca agcaataaaa tatctttatt ttcattacat 4380
ctgtgtgttg gtttttgtg tggagatcca cgataacaaa cagcttttt ggggtgaaca 4440
tattgactga attccctgca ggttggccac tccctctctg cgcgctcgct cgctcactga 4500
ggccgcccgg gcaaagcccg ggcgtcgggc gacctttggt cgcccggcct cagtgagcga 4560
gcgagcgcgc agagagggag tggccaactc catcactagg ggttcctgcg gccgctcgta 4620
cggtctcgag gaattcctgc aggataactt gccaacctca ttctaaaatg tatatagaag 4680
cccaaaagac aataacaaaa atattcttgt agaacaaaat gggaaagaat gttccactaa 4740
atatcaagat ttagagcaaa gcatgagatg tgtggggata gacagtgagg ctgataaaat 4800
agagtagagc tcagaaacag acccattgat atatgtaagt gacctatgaa aaaaatatgg 4860
cattttacaa tgggaaaatg atggtctttt tctttttag aaaaacaggg aaatatattt 4920
atatgtaaaa aataaaaggg aacccatatg tcataccata cacacaaaaa aattccagtg 4980
aattataagt ctaaatggag aaggcaaaac tttaaatctt ttagaaaata atatagaagc 5040
atgcagacca gcctggccaa catgatgaaa ccctctctac taataataaa atcagtagaa 5100
ctactcagga ctactttgag tgggaagtcc ttttctatga agacttcttt ggccaaaatt 5160
aggctctaaa tgcaaggaga tagtgcatca tgcctggctg cacttactga taaatgatgt 5220
tatcaccatc tttaaccaaa tgcacaggaa caagttatgg tactgatgtg ctggattgag 5280
aaggagctct acttccttga caggacacat ttgtatcaac ttaaaaaagc agatttttgc 5340
cagcagaact attcattcag aggtaggaaa cttagaatag atgatgtcac tgattagcat 5400
ggcttcccca tctccacagc tgcttcccac ccaggttgcc cacagttgag tttgtccagt 5460
gctcagggct gcccactctc agtaagaagc cccacaccag cccctctcca aatatgttgg 5520
ctgttccttc cattaaagtg accccacttt agagcagcaa gtggatttct gtttcttaca 5580
gttcaggaag gaggagtcag ctgtgagaac ctggagcctg agatgcttct aagtcccact 5640
gctactgggg tcagggaagc cagactccag catcagcagt caggagcact aagcccttgc 5700
caacatcctg tttctcagag aaactgcttc cattataatg gttgtccttt tttaagctat 5760
caagccaaac aaccagtgtc taccattatt ctcatcacct gaagccaagg gttctagcaa 5820
aagtcaagct gtcttgtaat ggttgatgtg cctccagctt ctgtcttcag tcactccact 5880
cttagcctgc tctgaatcaa ctctgaccac agttccctgg agcccctgcc acctgctgcc 5940
cctgccacct tctccatctg cagtgctgtg cagccttctg cactcttgca gagctaatag 6000
gtggagactt gaaggaagag gaggaaagtt tctcataata gccttgctgc aagctcaaat 6060
gggaggtggg cactgtgccc aggagccttg gagcaaaggc tgtgcccaac ctctgactgc 6120
atccaggttt ggtcttgaca gagataagaa gccctggctt ttggagccaa aatctaggtc 6180
agacttaggc aggattctca aagtttatca gcagaacatg aggcagaaga ccctttctgc 6240
tccagcttct tcaggctcaa ccttcatcag aatagataga aagagaggct gtgagggttc 6300

ttaaaacaga agcaaatctg actcagagaa taaacaacct cctagtaaac tacagcttag 6360
acagagcatc tggtggtgag tgtgctcagt gtcctactca actgtctggt atcagccctc 6420
atgaggactt ctcttctttc cctcatagac ctccatctct gttttcctta gcctgcagaa 6480
atctggatgg ctattcacag aatgcctgtg ctttcagagt tgcatttttt ctctggtatt 6540
ctggttcaag catttgaagg taggaaaggt tctccaagtg caagaaagcc agccctgagc 6600
ctcaactgcc tggctagtgt ggtcagtagg atgcaaaggc tgttgaatgc cacaaggcca 6660
aactttaacc tgtgtaccac aagcctagca gcagaggcag ctctgctcac tggaactctc 6720
tgtcttcttt ctcctgagcc ttttcttttc ctgagtttc tagctctcct caaccttacc 6780
tctgccctac ccaggacaaa cccaagagcc actgtttctg tgatgtcctc tccagcccta 6840
attaggcatc atgacttcag cctgaccttc catgctcaga agcagtgcta atccacttca 6900
gatgagctgc tctatgcaac acaggcagag cctacaaacc tttgcaccag agccctccac 6960
atatcagtgt ttgttcatac tcacttcaac agcaaatgtg actgctgaga ttaagatttt 7020
acacaagatg gtctgtaatt tcacagttag ttttatccca ttaggtatga aagaattagc 7080
ataattcccc ttaaacatga atgaatctta gatttttaa taaatagttt tggaagtaaa 7140
gacagagaca tcaggagcac aaggaatagc ctgagaggac aaacagaaca agaaagagtc 7200
tggaaataca caggatgttc ttggcctcct caaagcaagt gcaagcagat agtaccagca 7260
gccccaggct atcagagccc agtgaagaga agtaccatga aagccacagc tctaaccacc 7320
ctgttccaga gtgacagaca gtccccaaga caagccagcc tgagccagag agagaactgc 7380
aagagaaagt ttctaattta ggttctgtta gattcagaca agtgcaggtc atcctctctc 7440
cacagctact cacctctcca gcctaacaaa gcctgcagtc cacactccaa ccctggtgtc 7500
tcacctccta gcctctccca acatcctgct ctctgaccat cttctgcatc tctcatctca 7560
ccatctccca ctgtctacag cctactcttg caactaccat ctcattttct gacatcctgt 7620
ctacatcttc tgccatactc tgccatctac cataccacct cttaccatct accacaccat 7680
cttttatctc catccctctc agaagcctcc aagctgaatc ctgctttatg tgttcatctc 7740
agcccctgca tggaaagctg accccagagg cagaactatt cccagagagc ttggccaaga 7800
aaaacaaaac taccagcctg gccaggctca ggagtagtaa gctgcagtgt ctgttgtgtt 7860
ctagcttcaa cagctgcagg agttccactc tcaaatgctc cacatttctc acatcctcct 7920
gattctggtc actacccatc ttcaaagaac agaatatctc acatcagcat actgtgaagg 7980
actagtcatg ggtgcagctg ctcagagctg caaagtcatt ctggatggtg gagagcttac 8040
aaacatttca tgatgctccc cccgctctga tggctggagc ccaatcccta cacagactcc 8100
tgctgtatgt gttttccttt cactctgagc cacagccaga gggcaggcat tcagtctcct 8160
cttcaggctg gggctggggc actgagaact cacccaacac cttgctctca ctccttctgc 8220
aaaacaagaa agagctttgt gctgcagtag ccatgaagaa tgaaaggaag gctttaacta 8280
aaaaatgtca gagattattt tcaacccctt actgtggatc accagcaagg aggaaacaca 8340
acacagagac attttttccc ctcaaattat caaaagaatc actgcatttg ttaaagagag 8400
caactgaatc aggaagcaga gttttgaaca tatcagaagt taggaatctg catcagagac 8460
aaatgcagtc atggttgttt gctgcatacc agccctaatc attagaagcc tcatggactt 8520
caaacatcat tccctctgac aagatgctct agcctaactc catgagataa aataaatctg 8580
cctttcagag ccaaagaaga gtccaccagc ttcttctcag tgtgaacaag agctccagtc 8640

aggttagtca gtccagtgca gtagaggaga ccagtctgca tcctctaatt ttcaaaggca 8700
agaagatttg tttaccctgg acaccaggca caagtgaggt cacagagctc ttagatatgc 8760
agtcctcatg agtgaggaga ctaaagcgca tgccatcaag acttcagtgt agagaaaacc 8820
tccaaaaaag cctcctcact acttctggaa tagctcagag gccgaggcgg cctcggcctc 8880
tgcataaata aaaaaaatta gtcagccatg gggcggagaa tgggcggaac tgggcggagt 8940
taggggcggg atgggcggag ttaggggcgg gactatggtt gctgactaat tgagatgcat 9000
gctttgcata cttctgcctg ctggggagcc tggggacttt ccacacctgg ttgctgacta 9060
attgagatgc atgctttgca tacttctgcc tgctggggag cctggggact ttccacaccc 9120
taactgacac acattccaca gctgcattaa tgaatcggcc aacgcgcggg gagaggcggt 9180
ttgcgtattg ggcgctcttc cgcttcctcg ctcactgact cgctgcgctc ggtcgttcgg 9240
ctgcggcgag cggtatcagc tcactcaaag gcggtaatac ggttatccac agaatcaggg 9300
gataacgcag gaaagaacat gtgagcaaaa ggccagcaaa aggccaggaa ccgtaaaaag 9360
gccgcgttgc tggcgttttt ccataggctc cgccccctg acgagcatca caaaaatcga 9420
cgctcaagtc agaggtggcg aaacccgaca ggactataaa gataccaggc gtttcccct 9480
ggaagctccc tcgtgcgctc tcctgttccg accctgccgc ttaccggata cctgtccgcc 9540
tttctccctt cgggaagcgt ggcgctttct catagctcac gctgtaggta tctcagttcg 9600
gtgtaggtcg ttcgctccaa gctgggctgt gtgcacgaac cccccgttca gcccgaccgc 9660
tgcgccttat ccggtaacta tcgtcttgag tccaacccgg taagacacga cttatcgcca 9720
ctggcagcag ccactggtaa caggattagc agagcgaggt atgtaggcgg tgctacagag 9780
ttcttgaagt ggtggcctaa ctacggctac actagaagaa cagtatttgg tatctgcgct 9840
ctgctgaagc cagttacctt cggaaaaaga gttggtagct cttgatccgg caaacaaacc 9900
accgctggta gcggtggttt ttttgtttgc aagcagcaga ttacgcgcag aaaaaaagga 9960
tctcaagaag atcctttgat cttttctacg gggtctgacg ctcagtggaa cgaaaactca 10020
cgttaaggga ttttggtcat gagattatca aaaaggatct tcacctagat ccttttaaat 10080
taaaaatgaa gttttaaatc aatctaaagt atatatgagt aaacttggtc tgacagttac 10140
caatgcttaa tcagtgaggc acctatctca gcgatctgtc tatttcgttc atccatagtt 10200
gcctgactcc tgcaaaccac gttgtgtctc aaaatctctg atgttacatt gcacaagata 10260
aaaatatatc atcatgaaca ataaaactgt ctgcttacat aaacagtaat acaaggggtg 10320
ttatgagcca tattcaacgg gaaacgtctt gctcgaggcc gcgattaaat tccaacatgg 10380
atgctgattt atatgggtat aaatgggctc gcgataatgt cgggcaatca ggtgcgacaa 10440
tctatcgatt gtatgggaag cccgatgcgc cagagttgtt tctgaaacat ggcaaaggta 10500
gcgttgccaa tgatgttaca gatgagatgg tcagactaaa ctggctgacg gaatttatgc 10560
ctcttccgac catcaagcat tttatccgta ctcctgatga tgcatggtta ctcaccactg 10620
cgatccccgg gaaaacagca ttccaggtat tagaagaata tcctgattca ggtgaaaata 10680
ttgttgatgc gctggcagtg ttcctgcgcc ggttgcattc gattcctgtt tgtaattgtc 10740
cttttaacag cgatcgcgta tttcgtctcg ctcaggcgca atcacgaatg aataacggtt 10800
tggttgatgc gagtgatttt gatgacgagc gtaatggctg gcctgttgaa caagtctgga 10860
aagaaatgca taagcttttg ccattctcac cggattcagt cgtcactcat ggtgatttct 10920
cacttgataa ccttattttt gacgagggga aattaatagg ttgtattgat gttggacgag 10980

tcggaatcgc agaccgatac caggatcttg ccatcctatg gaactgcctc ggtgagtttt 11040
ctccttcatt acagaaacgg ctttttcaaa aatatggtat tgataatcct gatatgaata 11100
aattgcagtt tcatttgatg ctcgatgagt ttttctaagg gcggcctgcc accataccca 11160
cgccgaaaca agcgctcatg agcccgaagt ggcgagcccg atcttcccca tcggtgatgt 11220
cggcgatata ggcgccagca accgcacctg tggcgccggt gatgagggcg cgccaagtcg 11280
acgtccggca gtc 11293

<210> 7
<211> 10700
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多核苷酸
<400> 7

ttggccactc cctctctgcg cgctcgctcg ctcactgagg ccgcccgggc aaagcccggg 60
cgtcgggcga cctttggtcg cccggcctca gtgagcgagc gagcgcgcag agagggagtg 120
gccaactcca tcactagggg ttcctgctag ctctgggtat ttaagcccga gtgagcacgc 180
agggtctcca ttttgaagcg ggaggttacg cgttcgtcga ctactagtgg gtaccagagc 240
tccctaggtt ctagaaccgg tgacgtctcc catggtgaag cttggatctg aattcggtac 300
ctagttatta atagtaatca attacggggt cattagttca tagcccatat atggagttcc 360
gcgttacata acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat 420
tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc 480
aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc 540
caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt 600
acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta 660
ccatggtcga ggtgagcccc acgttctgct tcactctccc catctccccc ccctccccac 720
ccccaatttt gtatttattt atttttaat tattttgtgc agcgatgggg gcgggggggg 780
ggggggggcg cgcgccaggc ggggcggggc ggggcgaggg gcggggcggg gcgaggcgga 840
gaggtgcggc ggcagccaat cagagcggcg cgctccgaaa gtttcctttt atggcgaggc 900
ggcggcggcg gcggccctat aaaaagcgaa gcgcgcggcg ggcgggagtc gctgcgacgc 960
tgccttcgcc ccgtgccccg ctccgccgcc gcctcgcgcc gcccgccccg gctctgactg 1020
accgcgttac tcccacaggt gagcgggcgg gacggccctt ctcctccggg ctgtaattag 1080
cgcttggttt aatgacggct tgtttctttt ctgtggctgc gtgaaagcct tgaggggctc 1140
cgggagctag agcctctgct aaccatgttc atgccttctt ctttttccta cagctcctgg 1200
gcaacgtgct ggttattgtg ctgtctcatc attttggcaa agaattcctc gaagatccga 1260
agggaaagtc ttccacgact gtgggatccg ttcgaagata tcaccggttg agccaccatg 1320
gaattcagca gccccagcag agaggaatgc cccaagcctc tgagccgggt gtcaatcatg 1380
gccggatctc tgacaggact gctgctgctt caggccgtgt cttgggcttc tggcgctaga 1440
ccttgcatcc ccaagagctt cggctacagc agcgtcgtgt gcgtgtgcaa tgccacctac 1500
tgcgacagct tcgaccctcc tacctttcct gctctgggca ccttcagcag atacgagagc 1560

accagatccg gcagacggat ggaactgagc atgggaccca tccaggccaa tcacacaggc 1620
actggcctgc tgctgacact gcagcctgag cagaaattcc agaaagtgaa aggcttcggc 1680
ggagccatga cagatgccgc cgctctgaat atcctggctc tgtctccacc agctcagaac 1740
ctgctgctca agagctactt cagcgaggaa ggcatcggct acaacatcat cagagtgccc 1800
atggccagct gcgacttcag catcaggacc tacacctacg ccgacacacc cgacgatttc 1860
cagctgcaca acttcagcct gcctgaagag gacaccaagc tgaagatccc tctgatccac 1920
agagccctgc agctggcaca aagacccgtg tcactgctgg cctctccatg gacatctccc 1980
acctggctga aaacaaatgg cgccgtgaat ggcaagggca gcctgaaagg ccaacctggc 2040
gacatctacc accagacctg ggccagatac ttcgtgaagt tcctggacgc ctatgccgag 2100
cacaagctgc agttttgggc cgtgacagcc gagaacgaac cttctgctgg actgctgagc 2160
ggctacccct ttcagtgcct gggctttaca cccgagcacc agcgggactt tatcgcccgt 2220
gatctgggac ccacactggc caatagcacc caccataatg tgcggctgct gatgctggac 2280
gaccagagac tgcttctgcc ccactgggct aaagtggtgc tgacagatcc tgaggccgcc 2340
aaatacgtgc acggaatcgc cgtgcactgg tatctggact ttctggcccc tgccaaggcc 2400
acactgggag agacacacag actgttcccc aacaccatgc tgttcgccag cgaagcctgt 2460
gtgggcagca agttttggga acagagcgtg cggctcggca gctgggatag aggcatgcag 2520
tacagccaca gcatcatcac caacctgctg taccacgtcg tcggctggac cgactggaat 2580
ctggccctga atcctgaagg cggccctaac tgggtccgaa acttcgtgga cagccccatc 2640
atcgtggaca tcaccaagga caccttctac aagcagccca tgttctacca cctgggacac 2700
ttcagcaagt tcatccccga gggctctcag cgcgttggac tggtggcttc ccagaagaac 2760
gatctggacg ccgtggctct gatgcaccct gatggatctg ctgtggtggt ggtcctgaac 2820
cgcagcagca aagatgtgcc cctgaccatc aaggatcccg ccgtgggatt cctggaaaca 2880
atcagccctg gctactccat ccacacctac ctgtggcgta gacagtgaca attgttaatt 2940
aagtttaaac cctcgaggcc gcaagcttat cgataatcaa cctctggatt acaaaatttg 3000
tgaaagattg actggtattc ttaactatgt tgctcctttt acgctatgtg gatacgctgc 3060
tttaatgcct ttgtatcatg ctattgcttc ccgtatggct ttcattttct cctccttgta 3120
taaatcctgg ttgctgtctc tttatgagga gttgtggccc gttgtcaggc aacgtggcgt 3180
ggtgtgcact gtgtttgctg acgcaacccc cactggttgg ggcattgcca ccacctgtca 3240
gctcctttcc gggactttcg ctttcccccc ccctattgcc acggcggaac tcatcgccgc 3300
ctgccttgcc cgctgctgga caggggctcg gctgttgggc actgacaatt ccgtggtgtt 3360
gtcggggaaa tcatcgtcct ttccttggct gctcgcctgt gttgccacct ggattctgcg 3420
cgggacgtcc ttctgctacg tcccttcggc cctcaatcca gcggaccttc cttcccgcgg 3480
cctgctgccg gctctgcggc ctcttccgcg tcttcgcctt cgccctcaga cgagtcggat 3540
ctccctttgg gccgcctccc cgcatcgata ccgtcgacta gagctcgctg atcagcctcg 3600
actgtgcctt ctagttgcca gccatctgtt gtttgcccct cccccgtgcc ttccttgacc 3660
ctggaaggtg ccactcccac tgtcctttcc taataaaatg aggaaattgc atcgcattgt 3720
ctgagtaggt gtcattctat tctgggggggt ggggtggggc aggacagcaa gggggaggat 3780
tgggaagaca atagcaggca tgctggggag agatccacga taacaaacag ctttttttggg 3840
gtgaacatat tgactgaatt ccctgcaggt tggccactcc ctctctgcgc gctcgctcgc 3900

tcactgaggc cgcccgggca aagcccgggc gtcgggcgac ctttggtcgc ccggcctcag 3960
tgagcgagcg agcgcgcaga gagggagtgg ccaactccat cactaggggt tcctgcggcc 4020
gctcgtacgg tctcgaggaa ttcctgcagg ataacttgcc aacctcattc taaaatgtat 4080
atagaagccc aaaagacaat aacaaaaata ttcttgtaga acaaaatggg aaagaatgtt 4140
ccactaaata tcaagattta gagcaaagca tgagatgtgt ggggatagac agtgaggctg 4200
ataaaataga gtagagctca gaaacagacc cattgatata tgtaagtgac ctatgaaaaa 4260
aatatggcat tttacaatgg gaaaatgatg gtctttttct tttttagaaa aacagggaaa 4320
tatatttata tgtaaaaaat aaaagggaac ccatatgtca taccatacac acaaaaaaat 4380
tccagtgaat tataagtcta aatggagaag gcaaaacttt aaatctttta gaaaataata 4440
tagaagcatg cagaccagcc tggccaacat gatgaaaccc tctctactaa taataaaatc 4500
agtagaacta ctcaggacta ctttgagtgg gaagtccttt tctatgaaga cttctttggc 4560
caaaattagg ctctaaatgc aaggagatag tgcatcatgc ctggctgcac ttactgataa 4620
atgatgttat caccatcttt aaccaaatgc acaggaacaa gttatggtac tgatgtgctg 4680
gattgagaag gagctctact tccttgacag gacacatttg tatcaactta aaaaagcaga 4740
tttttgccag cagaactatt cattcagagg taggaaactt agaatagatg atgtcactga 4800
ttagcatggc ttccccatct ccacagctgc ttcccaccca ggttgcccac agttgagttt 4860
gtccagtgct cagggctgcc cactctcagt aagaagcccc acaccagccc ctctccaaat 4920
atgttggctg ttccttccat taaagtgacc ccactttaga gcagcaagtg gatttctgtt 4980
tcttacagtt caggaaggag gagtcagctg tgagaacctg gagcctgaga tgcttctaag 5040
tcccactgct actggggtca gggaagccag actccagcat cagcagtcag gagcactaag 5100
cccttgccaa catcctgttt ctcagagaaa ctgcttccat tataatggtt gtccttttt 5160
aagctatcaa gccaaacaac cagtgtctac cattattctc atcacctgaa gccaagggtt 5220
ctagcaaaag tcaagctgtc ttgtaatggt tgatgtgcct ccagcttctg tcttcagtca 5280
ctccactctt agcctgctct gaatcaactc tgaccacagt tccctggagc ccctgccacc 5340
tgctgcccct gccaccttct ccatctgcag tgctgtgcag ccttctgcac tcttgcagag 5400
ctaataggtg gagacttgaa ggaagaggag gaaagtttct cataatagcc ttgctgcaag 5460
ctcaaatggg aggtgggcac tgtgcccagg agccttggag caaaggctgt gcccaacctc 5520
tgactgcatc caggtttggt cttgacagag ataagaagcc ctggcttttg gagccaaaat 5580
ctaggtcaga cttaggcagg attctcaaag tttatcagca gaacatgagg cagaagaccc 5640
tttctgctcc agcttcttca ggctcaacct tcatcagaat agatagaaag agaggctgtg 5700
agggttctta aaacagaagc aaatctgact cagagaataa acaacctcct agtaaactac 5760
agcttagaca gagcatctgg tggtgagtgt gctcagtgtc ctactcaact gtctggtatc 5820
agccctcatg aggacttctc ttctttccct catagacctc catctctgtt ttccttagcc 5880
tgcagaaatc tggatggcta ttcacagaat gcctgtgctt tcagagttgc atttttctc 5940
tggtattctg gttcaagcat ttgaaggtag gaaaggttct ccaagtgcaa gaaagccagc 6000
cctgagcctc aactgcctgg ctagtgtggt cagtaggatg caaaggctgt tgaatgccac 6060
aaggccaaac tttaacctgt gtaccacaag cctagcagca gaggcagctc tgctcactgg 6120
aactctctgt cttctttctc ctgagccttt tcttttcctg agttttctag ctctcctcaa 6180
ccttacctct gccctaccca ggacaaaccc aagagccact gtttctgtga tgtcctctcc 6240

agccctaatt aggcatcatg acttcagcct gaccttccat gctcagaagc agtgctaatc 6300
cacttcagat gagctgctct atgcaacaca ggcagagcct acaaaccttt gcaccagagc 6360
cctccacata tcagtgtttg ttcatactca cttcaacagc aaatgtgact gctgagatta 6420
agattttaca caagatggtc tgtaatttca cagttagttt tatcccatta ggtatgaaag 6480
aattagcata attcccctta aacatgaatg aatcttagat tttttaataa atagttttgg 6540
aagtaaagac agagacatca ggagcacaag gaatagcctg agaggacaaa cagaacaaga 6600
aagagtctgg aaatacacag gatgttcttg gcctcctcaa agcaagtgca agcagatagt 6660
accagcagcc ccaggctatc agagcccagt gaagagaagt accatgaaag ccacagctct 6720
aaccaccctg ttccagagtg acagacagtc cccaagacaa gccagcctga gccagagaga 6780
gaactgcaag agaaagtttc taatttaggt tctgttagat tcagacaagt gcaggtcatc 6840
ctctctccac agctactcac ctctccagcc taacaaagcc tgcagtccac actccaaccc 6900
tggtgtctca cctcctagcc tctcccaaca tcctgctctc tgaccatctt ctgcatctct 6960
catctcacca tctcccactg tctacagcct actcttgcaa ctaccatctc attttctgac 7020
atcctgtcta catcttctgc catactctgc catctaccat accacctctt accatctacc 7080
acaccatctt ttatctccat ccctctcaga agcctccaag ctgaatcctg ctttatgtgt 7140
tcatctcagc ccctgcatgg aaagctgacc ccagaggcag aactattccc agagagcttg 7200
gccaagaaaa acaaaactac cagcctggcc aggctcagga gtagtaagct gcagtgtctg 7260
ttgtgttcta gcttcaacag ctgcaggagt tccactctca aatgctccac atttctcaca 7320
tcctcctgat tctggtcact acccatcttc aaagaacaga atatctcaca tcagcatact 7380
gtgaaggact agtcatgggt gcagctgctc agagctgcaa agtcattctg gatggtggag 7440
agcttacaaa catttcatga tgctcccccc gctctgatgg ctggagccca atccctacac 7500
agactcctgc tgtatgtgtt ttcctttcac tctgagccac agccagaggg caggcattca 7560
gtctcctctt caggctgggg ctggggcact gagaactcac ccaacacctt gctctcactc 7620
cttctgcaaa acaagaaaga gctttgtgct gcagtagcca tgaagaatga aaggaaggct 7680
ttaactaaaa aatgtcagag attattttca acccccttact gtggatcacc agcaaggagg 7740
aaacacaaca cagagacatt ttttccccctc aaattatcaa aagaatcact gcatttgtta 7800
aagagagcaa ctgaatcagg aagcagagtt ttgaacatat cagaagttag gaatctgcat 7860
cagagacaaa tgcagtcatg gttgtttgct gcataccagc cctaatcatt agaagcctca 7920
tggacttcaa acatcattcc ctctgacaag atgctctagc ctaactccat gagataaaat 7980
aaatctgcct ttcagagcca aagaagagtc caccagcttc ttctcagtgt gaacaagagc 8040
tccagtcagg ttagtcagtc cagtgcagta gaggagacca gtctgcatcc tctaattttc 8100
aaaggcaaga agatttgttt accctggaca ccaggcacaa gtgaggtcac agagctctta 8160
gatatgcagt cctcatgagt gaggagacta aagcgcatgc catcaagact tcagtgtaga 8220
gaaaacctcc aaaaaagcct cctcactact tctggaatag ctcagaggcc gaggcggcct 8280
cggcctctgc ataaataaaa aaaattagtc agccatgggg cggagaatgg gcggaactgg 8340
gcggagttag gggcgggatg ggcggagtta ggggcgggac tatggttgct gactaattga 8400
gatgcatgct ttgcatactt ctgcctgctg gggagcctgg ggactttcca cacctggttg 8460
ctgactaatt gagatgcatg ctttgcatac ttctgcctgc tggggagcct ggggactttc 8520
cacaccctaa ctgacacaca ttccacagct gcattaatga atcggccaac gcgcggggag 8580

aggcggtttg cgtattgggc gctcttccgc ttcctcgctc actgactcgc tgcgctcggt 8640
cgttcggctg cggcgagcgg tatcagctca ctcaaaggcg gtaatacggt tatccacaga 8700
atcaggggat aacgcaggaa agaacatgtg agcaaaaggc cagcaaaagg ccaggaaccg 8760
taaaaaggcc gcgttgctgg cgtttttcca taggctccgc ccccctgacg agcatcacaa 8820
aaatcgacgc tcaagtcaga ggtggcgaaa cccgacagga ctataaagat accaggcgtt 8880
tccccctgga agctccctcg tgcgctctcc tgttccgacc ctgccgctta ccggatacct 8940
gtccgccttt ctcccttcgg gaagcgtggc gctttctcat agctcacgct gtaggtatct 9000
cagttcggtg taggtcgttc gctccaagct gggctgtgtg cacgaacccc ccgttcagcc 9060
cgaccgctgc gccttatccg gtaactatcg tcttgagtcc aacccggtaa gacacgactt 9120
atcgccactg gcagcagcca ctggtaacag gattagcaga gcgaggtatg taggcggtgc 9180
tacagagttc ttgaagtggt ggcctaacta cggctacact agaagaacag tatttggtat 9240
ctgcgctctg ctgaagccag ttaccttcgg aaaaagagtt ggtagctctt gatccggcaa 9300
acaaaccacc gctggtagcg gtggtttttt tgtttgcaag cagcagatta cgcgcagaaa 9360
aaaaggatct caagaagatc ctttgatctt ttctacgggg tctgacgctc agtggaacga 9420
aaactcacgt taagggattt tggtcatgag attatcaaaa aggatcttca cctagatcct 9480
tttaaattaa aaatgaagtt ttaaatcaat ctaaagtata tatgagtaaa cttggtctga 9540
cagttaccaa tgcttaatca gtgaggcacc tatctcagcg atctgtctat ttcgttcatc 9600
catagttgcc tgactcctgc aaaccacgtt gtgtctcaaa atctctgatg ttacattgca 9660
caagataaaa atatatcatc atgaacaata aaactgtctg cttacataaa cagtaataca 9720
aggggtgtta tgagccatat tcaacgggaa acgtcttgct cgaggccgcg attaaattcc 9780
aacatggatg ctgatttata tgggtataaa tgggctcgcg ataatgtcgg gcaatcaggt 9840
gcgacaatct atcgattgta tgggaagccc gatgcgccag agttgtttct gaaacatggc 9900
aaaggtagcg ttgccaatga tgttacagat gagatggtca gactaaactg gctgacggaa 9960
tttatgcctc ttccgaccat caagcatttt atccgtactc ctgatgatgc atggttactc 10020
accactgcga tccccgggaa aacagcattc caggtattag aagaatatcc tgattcaggt 10080
gaaaatattg ttgatgcgct ggcagtgttc ctgcgccggt tgcattcgat tcctgtttgt 10140
aattgtcctt ttaacagcga tcgcgtattt cgtctcgctc aggcgcaatc acgaatgaat 10200
aacggtttgg ttgatgcgag tgattttgat gacgagcgta atggctggcc tgttgaacaa 10260
gtctggaaag aaatgcataa gcttttgcca ttctcaccgg attcagtcgt cactcatggt 10320
gatttctcac ttgataacct tatttttgac gaggggaaat taataggttg tattgatgtt 10380
ggacgagtcg gaatcgcaga ccgataccag gatcttgcca tcctatggaa ctgcctcggt 10440
gagttttctc cttcattaca gaaacggctt tttcaaaaat atggtattga taatcctgat 10500
atgaataaat tgcagtttca tttgatgctc gatgagtttt tctaagggcg gcctgccacc 10560
atacccacgc cgaaacaagc gctcatgagc ccgaagtggc gagcccgatc ttccccatcg 10620
gtgatgtcgg cgatataggc gccagcaacc gcacctgtgg cgccggtgat gagggcgcgc 10680
caagtcgacg tccggcagtc 10700

<210> 8

<211> 10700

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多核苷酸

<400> 8

ttggccactc cctctctgcg cgctcgctcg ctcactgagg ccgggcgacc aaaggtcgcc 60
cgacgcccgg gctttgcccg ggcggcctca gtgagcgagc gagcgcgcag agagggagtg 120
gccaactatt agatctgatg gccgcgctag ctctgggtat ttaagcccga gtgagcacgc 180
agggtctcca ttttgaagcg ggaggttacg cgttcgtcga ctactagtgg gtaccagagc 240
tccctaggtt ctagaaccgg tgacgtctcc catggtgaag cttggatctg aattcggtac 300
ctagttatta atagtaatca attacggggt cattagttca tagcccatat atggagttcc 360
gcgttacata acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat 420
tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc 480
aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc 540
caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt 600
acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta 660
ccatggtcga ggtgagcccc acgttctgct tcactctccc catctccccc ccctccccac 720
ccccaatttt gtatttattt atttttaat tattttgtgc agcgatgggg gcgggggggg 780
gggggggcg cgcgccaggc ggggcggggc ggggcgaggg gcggggcggg gcgaggcgga 840
gaggtgcggc ggcagccaat cagagcggcg cgctccgaaa gtttcctttt atggcgaggc 900
ggcggcggcg gcggccctat aaaaagcgaa gcgcgcggcg ggcgggagtc gctgcgacgc 960
tgccttcgcc ccgtgccccg ctccgccgcc gcctcgcgcc gcccgccccg gctctgactg 1020
accgcgttac tcccacaggt gagcgggcgg gacggccctt ctcctccggg ctgtaattag 1080
cgcttggttt aatgacggct tgtttctttt ctgtggctgc gtgaaagcct tgaggggctc 1140
cgggagctag agcctctgct aaccatgttc atgccttctt ctttttccta cagctcctgg 1200
gcaacgtgct ggttattgtg ctgtctcatc attttggcaa agaattcctc gaagatccga 1260
agggaaagtc ttccacgact gtgggatccg ttcgaagata tcaccggttg agccaccatg 1320
gaattcagca gccccagcag agaggaatgc cccaagcctc tgagccgggt gtcaatcatg 1380
gccggatctc tgacaggact gctgctgctt caggccgtgt cttgggcttc tggcgctaga 1440
ccttgcatcc ccaagagctt cggctacagc agcgtcgtgt gcgtgtgcaa tgccacctac 1500
tgcgacagct tcgaccctcc tacctttcct gctctgggca ccttcagcag atacgagagc 1560
accagatccg gcagacggat ggaactgagc atgggaccca tccaggccaa tcacacaggc 1620
actggcctgc tgctgacact gcagcctgag cagaaattcc agaaagtgaa aggcttcggc 1680
ggagccatga cagatgccgc cgctctgaat atcctggctc tgtctccacc agctcagaac 1740
ctgctgctca agagctactt cagcgaggaa ggcatcggct acaacatcat cagagtgccc 1800
atggccagct gcgacttcag catcaggacc tacacctacg ccgacacacc cgacgatttc 1860
cagctgcaca acttcagcct gcctgaagag gacaccaagc tgaagatccc tctgatccac 1920
agagccctgc agctggcaca aagacccgtg tcactgctgg cctctccatg gacatctccc 1980
acctggctga aaacaaatgg cgccgtgaat ggcaagggca gcctgaaagg ccaacctggc 2040
gacatctacc accagacctg ggccagatac ttcgtgaagt tcctggacgc ctatgccgag 2100

cacaagctgc agttttgggc cgtgacagcc gagaacgaac cttctgctgg actgctgagc 2160
ggctacccct ttcagtgcct gggctttaca cccgagcacc agcgggactt tatcgcccgt 2220
gatctgggac ccacactggc caatagcacc caccataatg tgcggctgct gatgctggac 2280
gaccagagac tgcttctgcc ccactgggct aaagtggtgc tgacagatcc tgaggccgcc 2340
aaatacgtgc acggaatcgc cgtgcactgg tatctggact ttctggcccc tgccaaggcc 2400
acactgggag agacacacag actgttcccc aacaccatgc tgttcgccag cgaagcctgt 2460
gtgggcagca agttttggga acagagcgtg cggctcggca gctgggatag aggcatgcag 2520
tacagccaca gcatcatcac caacctgctg taccacgtcg tcggctggac cgactggaat 2580
ctggccctga atcctgaagg cggccctaac tgggtccgaa acttcgtgga cagccccatc 2640
atcgtggaca tcaccaagga caccttctac aagcagccca tgttctacca cctgggacac 2700
ttcagcaagt tcatccccga gggctctcag cgcgttggac tggtggcttc ccagaagaac 2760
gatctggacg ccgtggctct gatgcaccct gatggatctg ctgtggtggt ggtcctgaac 2820
cgcagcagca aagatgtgcc cctgaccatc aaggatcccg ccgtgggatt cctggaaaca 2880
atcagccctg gctactccat ccacacctac ctgtggcgta gacagtgaca attgttaatt 2940
aagtttaaac cctcgaggcc gcaagcttat cgataatcaa cctctggatt acaaaatttg 3000
tgaaagattg actggtattc ttaactatgt tgctcctttt acgctatgtg gatacgctgc 3060
tttaatgcct ttgtatcatg ctattgcttc ccgtatggct ttcattttct cctccttgta 3120
taaatcctgg ttgctgtctc tttatgagga gttgtggccc gttgtcaggc aacgtggcgt 3180
ggtgtgcact gtgtttgctg acgcaacccc cactggttgg ggcattgcca ccacctgtca 3240
gctcctttcc gggactttcg ctttcccccct ccctattgcc acggcggaac tcatcgccgc 3300
ctgccttgcc cgctgctgga caggggctcg gctgttgggc actgacaatt ccgtggtgtt 3360
gtcggggaaa tcatcgtcct ttccttggct gctcgcctgt gttgccacct ggattctgcg 3420
cgggacgtcc ttctgctacg tcccttcggc cctcaatcca gcggaccttc cttcccgcgg 3480
cctgctgccg gctctgcggc ctcttccgcg tcttcgcctt cgccctcaga cgagtcggat 3540
ctccctttgg gccgcctccc cgcatcgata ccgtcgacta gagctcgctg atcagcctcg 3600
actgtgcctt ctagttgcca gccatctgtt gtttgcccct cccccgtgcc ttccttgacc 3660
ctggaaggtg ccactcccac tgtcctttcc taataaaatg aggaaattgc atcgcattgt 3720
ctgagtaggt gtcattctat tctgggggggt ggggtggggc aggacagcaa gggggaggat 3780
tgggaagaca atagcaggca tgctggggag agatccacga taacaaacag ctttttttggg 3840
gtgaacatat tgactgaatt ccctgcaggt tggccactcc ctctctgcgc gctcgctcgc 3900
tcactgaggc cgcccgggca aagcccgggc gtcgggcgac ctttggtcgc ccggcctcag 3960
tgagcgagcg agcgcgcaga gagggagtgg ccaactccat cactaggggt tcctgcggcc 4020
gctcgtacgg tctcgaggaa ttcctgcagg ataacttgcc aacctcattc taaaatgtat 4080
atagaagccc aaaagacaat aacaaaaata ttcttgtaga acaaaatggg aaagaatgtt 4140
ccactaaata tcaagattta gagcaaagca tgagatgtgt ggggatagac agtgaggctg 4200
ataaaataga gtagagctca gaaacagacc cattgatata tgtaagtgac ctatgaaaaa 4260
aatatggcat tttacaatgg gaaaatgatg gtctttttct tttttagaaa aacagggaaa 4320
tatatttata tgtaaaaaat aaaagggaac ccatatgtca taccatacac acaaaaaaat 4380
tccagtgaat tataagtcta aatggagaag gcaaaacttt aaatctttta gaaaataata 4440

tagaagcatg cagaccagcc tggccaacat gatgaaaccc tctctactaa taataaaatc 4500
agtagaacta ctcaggacta ctttgagtgg gaagtccttt tctatgaaga cttctttggc 4560
caaaattagg ctctaaatgc aaggagatag tgcatcatgc ctggctgcac ttactgataa 4620
atgatgttat caccatcttt aaccaaatgc acaggaacaa gttatggtac tgatgtgctg 4680
gattgagaag gagctctact tccttgacag gacacatttg tatcaactta aaaaagcaga 4740
tttttgccag cagaactatt cattcagagg taggaaactt agaatagatg atgtcactga 4800
ttagcatggc ttccccatct ccacagctgc ttcccaccca ggttgcccac agttgagttt 4860
gtccagtgct cagggctgcc cactctcagt aagaagcccc acaccagccc ctctccaaat 4920
atgttggctg ttccttccat taaagtgacc ccactttaga gcagcaagtg gatttctgtt 4980
tcttacagtt caggaaggag gagtcagctg tgagaacctg gagcctgaga tgcttctaag 5040
tcccactgct actggggtca gggaagccag actccagcat cagcagtcag gagcactaag 5100
cccttgccaa catcctgttt ctcagagaaa ctgcttccat tataatggtt gtccttttt 5160
aagctatcaa gccaaacaac cagtgtctac cattattctc atcacctgaa gccaagggtt 5220
ctagcaaaag tcaagctgtc ttgtaatggt tgatgtgcct ccagcttctg tcttcagtca 5280
ctccactctt agcctgctct gaatcaactc tgaccacagt tccctggagc ccctgccacc 5340
tgctgcccct gccaccttct ccatctgcag tgctgtgcag ccttctgcac tcttgcagag 5400
ctaataggtg gagacttgaa ggaagaggag gaaagtttct cataatagcc ttgctgcaag 5460
ctcaaatggg aggtgggcac tgtgcccagg agccttggag caaaggctgt gcccaacctc 5520
tgactgcatc caggtttggt cttgacagag ataagaagcc ctggcttttg gagccaaaat 5580
ctaggtcaga cttaggcagg attctcaaag tttatcagca gaacatgagg cagaagaccc 5640
tttctgctcc agcttcttca ggctcaacct tcatcagaat agatagaaag agaggctgtg 5700
agggttctta aaacagaagc aaatctgact cagagaataa acaacctcct agtaaactac 5760
agcttagaca gagcatctgg tggtgagtgt gctcagtgtc ctactcaact gtctggtatc 5820
agccctcatg aggacttctc ttctttccct catagacctc catctctgtt ttccttagcc 5880
tgcagaaatc tggatggcta ttcacagaat gcctgtgctt tcagagttgc atttttctc 5940
tggtattctg gttcaagcat ttgaaggtag gaaaggttct ccaagtgcaa gaaagccagc 6000
cctgagcctc aactgcctgg ctagtgtggt cagtaggatg caaaggctgt tgaatgccac 6060
aaggccaaac tttaacctgt gtaccacaag cctagcagca gaggcagctc tgctcactgg 6120
aactctctgt cttctttctc ctgagccttt tcttttcctg agttttctag ctctcctcaa 6180
ccttacctct gccctaccca ggacaaaccc aagagccact gtttctgtga tgtcctctcc 6240
agccctaatt aggcatcatg acttcagcct gaccttccat gctcagaagc agtgctaatc 6300
cacttcagat gagctgctct atgcaacaca ggcagagcct acaaaccttt gcaccagagc 6360
cctccacata tcagtgtttg ttcatactca cttcaacagc aaatgtgact gctgagatta 6420
agattttaca caagatggtc tgtaatttca cagttagttt tatcccatta ggtatgaaag 6480
aattagcata attcccctta aacatgaatg aatcttagat tttttaataa atagttttgg 6540
aagtaaagac agagacatca ggagcacaag gaatagcctg agaggacaaa cagaacaaga 6600
aagagtctgg aaatacacag gatgttcttg gcctcctcaa agcaagtgca agcagatagt 6660
accagcagcc ccaggctatc agagcccagt gaagagaagt accatgaaag ccacagctct 6720
aaccaccctg ttccagagtg acagacagtc cccaagacaa gccagcctga gccagagaga 6780

gaactgcaag agaaagtttc taatttaggt tctgttagat tcagacaagt gcaggtcatc 6840
ctctctccac agctactcac ctctccagcc taacaaagcc tgcagtccac actccaaccc 6900
tggtgtctca cctcctagcc tctcccaaca tcctgctctc tgaccatctt ctgcatctct 6960
catctcacca tctcccactg tctacagcct actcttgcaa ctaccatctc attttctgac 7020
atcctgtcta catcttctgc catactctgc catctaccat accacctctt accatctacc 7080
acaccatctt ttatctccat ccctctcaga agcctccaag ctgaatcctg ctttatgtgt 7140
tcatctcagc ccctgcatgg aaagctgacc ccagaggcag aactattccc agagagcttg 7200
gccaagaaaa acaaaactac cagcctggcc aggctcagga gtagtaagct gcagtgtctg 7260
ttgtgttcta gcttcaacag ctgcaggagt tccactctca aatgctccac atttctcaca 7320
tcctcctgat tctggtcact acccatcttc aaagaacaga atatctcaca tcagcatact 7380
gtgaaggact agtcatgggt gcagctgctc agagctgcaa agtcattctg gatggtggag 7440
agcttacaaa catttcatga tgctcccccc gctctgatgg ctggagccca atccctacac 7500
agactcctgc tgtatgtgtt ttcctttcac tctgagccac agccagaggg caggcattca 7560
gtctcctctt caggctgggg ctggggcact gagaactcac ccaacacctt gctctcactc 7620
cttctgcaaa acaagaaaga gctttgtgct gcagtagcca tgaagaatga aaggaaggct 7680
ttaactaaaa aatgtcagag attattttca acccccttact gtggatcacc agcaaggagg 7740
aaacacaaca cagagacatt ttttccccctc aaattatcaa aagaatcact gcatttgtta 7800
aagagagcaa ctgaatcagg aagcagagtt ttgaacatat cagaagttag gaatctgcat 7860
cagagacaaa tgcagtcatg gttgtttgct gcataccagc cctaatcatt agaagcctca 7920
tggacttcaa acatcattcc ctctgacaag atgctctagc ctaactccat gagataaaat 7980
aaatctgcct ttcagagcca aagaagagtc caccagcttc ttctcagtgt gaacaagagc 8040
tccagtcagg ttagtcagtc cagtgcagta gaggagacca gtctgcatcc tctaattttc 8100
aaaggcaaga agatttgttt accctggaca ccaggcacaa gtgaggtcac agagctctta 8160
gatatgcagt cctcatgagt gaggagacta aagcgcatgc catcaagact tcagtgtaga 8220
gaaaacctcc aaaaaagcct cctcactact tctggaatag ctcagaggcc gaggcggcct 8280
cggcctctgc ataaataaaa aaaattagtc agccatgggg cggagaatgg gcggaactgg 8340
gcggagttag gggcgggatg ggcggagtta ggggcgggac tatggttgct gactaattga 8400
gatgcatgct ttgcatactt ctgcctgctg gggagcctgg ggactttcca cacctggttg 8460
ctgactaatt gagatgcatg ctttgcatac ttctgcctgc tggggagcct ggggactttc 8520
cacaccctaa ctgacacaca ttccacagct gcattaatga atcggccaac gcgcggggag 8580
aggcggtttg cgtattgggc gctcttccgc ttcctcgctc actgactcgc tgcgctcggt 8640
cgttcggctg cggcgagcgg tatcagctca ctcaaaggcg gtaatacggt tatccacaga 8700
atcaggggat aacgcaggaa agaacatgtg agcaaaaggc cagcaaaagg ccaggaaccg 8760
taaaaaggcc gcgttgctgg cgttttcca taggctccgc ccccctgacg agcatcacaa 8820
aaatcgacgc tcaagtcaga ggtggcgaaa cccgacagga ctataaagat accaggcgtt 8880
tccccctgga agctccctcg tgcgctctcc tgttccgacc ctgccgctta ccggatacct 8940
gtccgccttt ctcccttcgg gaagcgtggc gctttctcat agctcacgct gtaggtatct 9000
cagttcggtg taggtcgttc gctccaagct gggctgtgtg cacgaacccc ccgttcagcc 9060
cgaccgctgc gccttatccg gtaactatcg tcttgagtcc aacccggtaa gacacgactt 9120

atcgccactg gcagcagcca ctggtaacag gattagcaga gcgaggtatg taggcggtgc 9180
tacagagttc ttgaagtggt ggcctaacta cggctacact agaagaacag tatttggtat 9240
ctgcgctctg ctgaagccag ttaccttcgg aaaaagagtt ggtagctctt gatccggcaa 9300
acaaaccacc gctggtagcg gtggtttttt tgtttgcaag cagcagatta cgcgcagaaa 9360
aaaaggatct caagaagatc ctttgatctt ttctacgggg tctgacgctc agtggaacga 9420
aaactcacgt taagggattt tggtcatgag attatcaaaa aggatcttca cctagatcct 9480
tttaaattaa aaatgaagtt ttaaatcaat ctaaagtata tatgagtaaa cttggtctga 9540
cagttaccaa tgcttaatca gtgaggcacc tatctcagcg atctgtctat ttcgttcatc 9600
catagttgcc tgactcctgc aaaccacgtt gtgtctcaaa atctctgatg ttacattgca 9660
caagataaaa atatatcatc atgaacaata aaactgtctg cttacataaa cagtaataca 9720
aggggtgtta tgagccatat tcaacgggaa acgtcttgct cgaggccgcg attaaattcc 9780
aacatggatg ctgatttata tgggtataaa tgggctcgcg ataatgtcgg gcaatcaggt 9840
gcgacaatct atcgattgta tgggaagccc gatgcgccag agttgtttct gaaacatggc 9900
aaaggtagcg ttgccaatga tgttacagat gagatggtca gactaaactg gctgacggaa 9960
tttatgcctc ttccgaccat caagcatttt atccgtactc ctgatgatgc atggttactc 10020
accactgcga tccccgggaa aacagcattc caggtattag aagaatatcc tgattcaggt 10080
gaaaatattg ttgatgcgct ggcagtgttc ctgcgccggt tgcattcgat tcctgtttgt 10140
aattgtcctt ttaacagcga tcgcgtattt cgtctcgctc aggcgcaatc acgaatgaat 10200
aacggtttgg ttgatgcgag tgattttgat gacgagcgta atggctggcc tgttgaacaa 10260
gtctggaaag aaatgcataa gcttttgcca ttctcaccgg attcagtcgt cactcatggt 10320
gatttctcac ttgataacct tatttttgac gaggggaaat taataggttg tattgatgtt 10380
ggacgagtcg gaatcgcaga ccgataccag gatcttgcca tcctatggaa ctgcctcggt 10440
gagttttctc cttcattaca gaaacggctt tttcaaaaat atggtattga taatcctgat 10500
atgaataaat tgcagtttca tttgatgctc gatgagtttt tctaagggcg gcctgccacc 10560
atacccacgc cgaaacaagc gctcatgagc ccgaagtggc gagcccgatc ttccccatcg 10620
gtgatgtcgg cgatataggc gccagcaacc gcacctgtgg cgccggtgat gagggcgcgc 10680
caagtcgacg tccggcagtc 10700

<210> 9
<211> 10700
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多核苷酸
<400> 9

ttggccactc cctctctgcg cgctcgctcg ctcactgagg ccgggcgacc aaaggtcgcc 60
cgacgcccgg gctttgcccg ggcggcctca gtgagcgagc gagcgcgcag agagggagtg 120
gccaactcca tcactagggg ttcctgctag ctctgggtat ttaagcccga gtgagcacgc 180
agggtctcca ttttgaagcg ggaggttacg cgttcgtcga ctactagtgg gtaccagagc 240
tccctaggtt ctagaaccgg tgacgtctcc catggtgaag cttggatctg aattcggtac 300

ctagttatta atagtaatca attacggggt cattagttca tagcccatat atggagttcc 360
gcgttacata acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat 420
tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc 480
aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc 540
caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt 600
acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta 660
ccatggtcga ggtgagcccc acgttctgct tcactctccc catctccccc ccctccccac 720
ccccaatttt gtatttattt atttttaat tattttgtgc agcgatgggg gcgggggggg 780
gggggggcg cgcgccaggc ggggcggggc ggggcgaggg gcggggcggg gcgaggcgga 840
gaggtgcggc ggcagccaat cagagcggcg cgctccgaaa gtttcctttt atggcgaggc 900
ggcggcggcg gcggccctat aaaaagcgaa gcgcgcggcg ggcgggagtc gctgcgacgc 960
tgccttcgcc ccgtgccccg ctccgccgcc gcctcgcgcc gcccgccccg gctctgactg 1020
accgcgttac tcccacaggt gagcgggcgg gacggccctt ctcctccggg ctgtaattag 1080
cgcttggttt aatgacggct tgtttctttt ctgtggctgc gtgaaagcct tgaggggctc 1140
cgggagctag agcctctgct aaccatgttc atgccttctt ctttttccta cagctcctgg 1200
gcaacgtgct ggttattgtg ctgtctcatc attttggcaa agaattcctc gaagatccga 1260
agggaaagtc ttccacgact gtgggatccg ttcgaagata tcaccggttg agccaccatg 1320
gaattcagca gccccagcag agaggaatgc cccaagcctc tgagccgggt gtcaatcatg 1380
gccggatctc tgacaggact gctgctgctt caggccgtgt cttgggcttc tggcgctaga 1440
ccttgcatcc ccaagagctt cggctacagc agcgtcgtgt gcgtgtgcaa tgccacctac 1500
tgcgacagct tcgaccctcc tacctttcct gctctgggca ccttcagcag atacgagagc 1560
accagatccg gcagacggat ggaactgagc atgggaccca tccaggccaa tcacacaggc 1620
actggcctgc tgctgacact gcagcctgag cagaaattcc agaaagtgaa aggcttcggc 1680
ggagccatga cagatgccgc cgctctgaat atcctggctc tgtctccacc agctcagaac 1740
ctgctgctca agagctactt cagcgaggaa ggcatcggct acaacatcat cagagtgccc 1800
atggccagct gcgacttcag catcaggacc tacacctacg ccgacacacc cgacgatttc 1860
cagctgcaca acttcagcct gcctgaagag gacaccaagc tgaagatccc tctgatccac 1920
agagccctgc agctggcaca aagacccgtg tcactgctgg cctctccatg gacatctccc 1980
acctggctga aaacaaatgg cgccgtgaat ggcaagggca gcctgaaagg ccaacctggc 2040
gacatctacc accagacctg ggccagatac ttcgtgaagt tcctggacgc ctatgccgag 2100
cacaagctgc agttttgggc cgtgacagcc gagaacgaac cttctgctgg actgctgagc 2160
ggctacccct ttcagtgcct gggctttaca cccgagcacc agcgggactt tatcgcccgt 2220
gatctgggac ccacactggc caatagcacc caccataatg tgcggctgct gatgctggac 2280
gaccagagac tgcttctgcc ccactgggct aaagtggtgc tgacagatcc tgaggccgcc 2340
aaatacgtgc acggaatcgc cgtgcactgg tatctggact ttctggcccc tgccaaggcc 2400
acactgggag agacacacag actgttcccc aacaccatgc tgttcgccag cgaagcctgt 2460
gtgggcagca agttttggga acagagcgtg cggctcggca gctgggatag aggcatgcag 2520
tacagccaca gcatcatcac caacctgctg taccacgtcg tcggctggac cgactggaat 2580
ctggccctga atcctgaagg cggccctaac tgggtccgaa acttcgtgga cagccccatc 2640

atcgtggaca tcaccaagga caccttctac aagcagccca tgttctacca cctgggacac 2700
ttcagcaagt tcatccccga gggctctcag cgcgttggac tggtggcttc ccagaagaac 2760
gatctggacg ccgtggctct gatgcaccct gatggatctg ctgtggtggt ggtcctgaac 2820
cgcagcagca aagatgtgcc cctgaccatc aaggatcccg ccgtgggatt cctggaaaca 2880
atcagccctg gctactccat ccacacctac ctgtggcgta gacagtgaca attgttaatt 2940
aagtttaaac cctcgaggcc gcaagcttat cgataatcaa cctctggatt acaaaatttg 3000
tgaaagattg actggtattc ttaactatgt tgctcctttt acgctatgtg gatacgctgc 3060
tttaatgcct ttgtatcatg ctattgcttc ccgtatggct ttcattttct cctccttgta 3120
taaatcctgg ttgctgtctc tttatgagga gttgtggccc gttgtcaggc aacgtggcgt 3180
ggtgtgcact gtgtttgctg acgcaacccc cactggttgg ggcattgcca ccacctgtca 3240
gctcctttcc gggactttcg ctttcccccc ccctattgcc acggcggaac tcatcgccgc 3300
ctgccttgcc cgctgctgga caggggctcg gctgttgggc actgacaatt ccgtggtgtt 3360
gtcggggaaa tcatcgtcct ttccttggct gctcgcctgt gttgccacct ggattctgcg 3420
cgggacgtcc ttctgctacg tcccttcggc cctcaatcca gcggaccttc cttcccgcgg 3480
cctgctgccg gctctgcggc ctcttccgcg tcttcgcctt cgccctcaga cgagtcggat 3540
ctccctttgg gccgcctccc cgcatcgata ccgtcgacta gagctcgctg atcagcctcg 3600
actgtgcctt ctagttgcca gccatctgtt gtttgccccc ccccgtgcc ttccttgacc 3660
ctggaaggtg ccactcccac tgtcctttcc taataaaatg aggaaattgc atcgcattgt 3720
ctgagtaggt gtcattctat tctgggggggt ggggtggggc aggacagcaa gggggaggat 3780
tgggaagaca atagcaggca tgctggggag agatccacga taacaaacag ctttttggg 3840
gtgaacatat tgactgaatt ccctgcaggt tggccactcc ctctctgcgc gctcgctcgc 3900
tcactgaggc cgcccgggca aagcccgggc gtcgggcgac ctttggtcgc ccggcctcag 3960
tgagcgagcg agcgcgcaga gagggagtgg ccaactccat cactaggggt tcctgcggcc 4020
gctcgtacgg tctcgaggaa ttcctgcagg ataacttgcc aacctcattc taaaatgtat 4080
atagaagccc aaaagacaat aacaaaaata ttcttgtaga acaaaatggg aaagaatgtt 4140
ccactaaata tcaagattta gagcaaagca tgagatgtgt ggggatagac agtgaggctg 4200
ataaaataga gtagagctca gaaacagacc cattgatata tgtaagtgac ctatgaaaaa 4260
aatatggcat tttacaatgg gaaaatgatg gtctttttct tttttagaaa aacagggaaa 4320
tatatttata tgtaaaaaat aaaagggaac ccatatgtca taccatacac acaaaaaaat 4380
tccagtgaat tataagtcta aatggagaag gcaaaacttt aaatctttta gaaaataata 4440
tagaagcatg cagaccagcc tggccaacat gatgaaaccc tctctactaa taataaaatc 4500
agtagaacta ctcaggacta ctttgagtgg gaagtccttt tctatgaaga cttctttggc 4560
caaaattagg ctctaaatgc aaggagatag tgcatcatgc ctggctgcac ttactgataa 4620
atgatgttat caccatcttt aaccaaatgc acaggaacaa gttatggtac tgatgtgctg 4680
gattgagaag gagctctact tccttgacag gacacatttg tatcaactta aaaaagcaga 4740
tttttgccag cagaactatt cattcagagg taggaaactt agaatagatg atgtcactga 4800
ttagcatggc ttccccatct ccacagctgc ttcccaccca ggttgcccac agttgagttt 4860
gtccagtgct cagggctgcc cactctcagt aagaagcccc acaccagccc ctctccaaat 4920
atgttggctg ttccttccat taaagtgacc ccactttaga gcagcaagtg gatttctgtt 4980

tcttacagtt caggaaggag gagtcagctg tgagaacctg gagcctgaga tgcttctaag 5040
tcccactgct actggggtca gggaagccag actccagcat cagcagtcag gagcactaag 5100
cccttgccaa catcctgttt ctcagagaaa ctgcttccat tataatggtt gtccttttt 5160
aagctatcaa gccaaacaac cagtgtctac cattattctc atcacctgaa gccaagggtt 5220
ctagcaaaag tcaagctgtc ttgtaatggt tgatgtgcct ccagcttctg tcttcagtca 5280
ctccactctt agcctgctct gaatcaactc tgaccacagt tccctggagc ccctgccacc 5340
tgctgcccct gccaccttct ccatctgcag tgctgtgcag ccttctgcac tcttgcagag 5400
ctaataggtg gagacttgaa ggaagaggag gaaagtttct cataatagcc ttgctgcaag 5460
ctcaaatggg aggtgggcac tgtgcccagg agccttggag caaaggctgt gcccaacctc 5520
tgactgcatc caggtttggt cttgacagag ataagaagcc ctggcttttg gagccaaaat 5580
ctaggtcaga cttaggcagg attctcaaag tttatcagca gaacatgagg cagaagaccc 5640
tttctgctcc agcttcttca ggctcaacct tcatcagaat agatagaaag agaggctgtg 5700
agggttctta aaacagaagc aaatctgact cagagaataa acaacctcct agtaaactac 5760
agcttagaca gagcatctgg tggtgagtgt gctcagtgtc ctactcaact gtctggtatc 5820
agccctcatg aggacttctc ttctttccct catagacctc catctctgtt ttccttagcc 5880
tgcagaaatc tggatggcta ttcacagaat gcctgtgctt tcagagttgc atttttctc 5940
tggtattctg gttcaagcat ttgaaggtag gaaaggttct ccaagtgcaa gaaagccagc 6000
cctgagcctc aactgcctgg ctagtgtggt cagtaggatg caaaggctgt tgaatgccac 6060
aaggccaaac tttaacctgt gtaccacaag cctagcagca gaggcagctc tgctcactgg 6120
aactctctgt cttctttctc ctgagccttt tcttttcctg agttttctag ctctcctcaa 6180
ccttacctct gccctaccca ggacaaaccc aagagccact gtttctgtga tgtcctctcc 6240
agccctaatt aggcatcatg acttcagcct gaccttccat gctcagaagc agtgctaatc 6300
cacttcagat gagctgctct atgcaacaca ggcagagcct acaaaccttt gcaccagagc 6360
cctccacata tcagtgtttg ttcatactca cttcaacagc aaatgtgact gctgagatta 6420
agattttaca caagatggtc tgtaatttca cagttagttt tatcccatta ggtatgaaag 6480
aattagcata attcccctta aacatgaatg aatcttagat tttttaataa atagttttgg 6540
aagtaaagac agagacatca ggagcacaag gaatagcctg agaggacaaa cagaacaaga 6600
aagagtctgg aaatacacag gatgttcttg gcctcctcaa agcaagtgca agcagatagt 6660
accagcagcc ccaggctatc agagcccagt gaagagaagt accatgaaag ccacagctct 6720
aaccaccctg ttccagagtg acagacagtc cccaagacaa gccagcctga gccagagaga 6780
gaactgcaag agaaagtttc taatttaggt tctgttagat tcagacaagt gcaggtcatc 6840
ctctctccac agctactcac ctctccagcc taacaaagcc tgcagtccac actccaaccc 6900
tggtgtctca cctcctagcc tctcccaaca tcctgctctc tgaccatctt ctgcatctct 6960
catctcacca tctcccactg tctacagcct actcttgcaa ctaccatctc attttctgac 7020
atcctgtcta catcttctgc catactctgc catctaccat accacctctt accatctacc 7080
acaccatctt ttatctccat ccctctcaga agcctccaag ctgaatcctg ctttatgtgt 7140
tcatctcagc ccctgcatgg aaagctgacc ccagaggcag aactattccc agagagcttg 7200
gccaagaaaa acaaaactac cagcctggcc aggctcagga gtagtaagct gcagtgtctg 7260
ttgtgttcta gcttcaacag ctgcaggagt tccactctca aatgctccac atttctcaca 7320

tcctcctgat tctggtcact acccatcttc aaagaacaga atatctcaca tcagcatact 7380
gtgaaggact agtcatgggt gcagctgctc agagctgcaa agtcattctg gatggtggag 7440
agcttacaaa catttcatga tgctcccccc gctctgatgg ctggagccca atccctacac 7500
agactcctgc tgtatgtgtt ttcctttcac tctgagccac agccagaggg caggcattca 7560
gtctcctctt caggctgggg ctggggcact gagaactcac ccaacacctt gctctcactc 7620
cttctgcaaa acaagaaaga gctttgtgct gcagtagcca tgaagaatga aaggaaggct 7680
ttaactaaaa aatgtcagag attattttca acccccttact gtggatcacc agcaaggagg 7740
aaacacaaca cagagacatt ttttcccctc aaattatcaa aagaatcact gcatttgtta 7800
aagagagcaa ctgaatcagg aagcagagtt ttgaacatat cagaagttag gaatctgcat 7860
cagagacaaa tgcagtcatg gttgtttgct gcataccagc cctaatcatt agaagcctca 7920
tggacttcaa acatcattcc ctctgacaag atgctctagc ctaactccat gagataaaat 7980
aaatctgcct ttcagagcca aagaagagtc caccagcttc ttctcagtgt gaacaagagc 8040
tccagtcagg ttagtcagtc cagtgcagta gaggagacca gtctgcatcc tctaattttc 8100
aaaggcaaga agatttgttt accctggaca ccaggcacaa gtgaggtcac agagctctta 8160
gatatgcagt cctcatgagt gaggagacta aagcgcatgc catcaagact tcagtgtaga 8220
gaaaacctcc aaaaaagcct cctcactact tctggaatag ctcagaggcc gaggcggcct 8280
cggcctctgc ataaataaaa aaaattagtc agccatgggg cggagaatgg gcggaactgg 8340
gcggagttag gggcgggatg ggcggagtta ggggcgggac tatggttgct gactaattga 8400
gatgcatgct ttgcatactt ctgcctgctg gggagcctgg ggactttcca cacctggttg 8460
ctgactaatt gagatgcatg ctttgcatac ttctgcctgc tggggagcct ggggactttc 8520
cacaccctaa ctgacacaca ttccacagct gcattaatga atcggccaac gcgcggggag 8580
aggcggtttg cgtattgggc gctcttccgc ttcctcgctc actgactcgc tgcgctcggt 8640
cgttcggctg cggcgagcgg tatcagctca ctcaaaggcg gtaatacggt tatccacaga 8700
atcaggggat aacgcaggaa agaacatgtg agcaaaaggc cagcaaaagg ccaggaaccg 8760
taaaaaggcc gcgttgctgg cgttttcca taggctccgc ccccctgacg agcatcacaa 8820
aaatcgacgc tcaagtcaga ggtggcgaaa cccgacagga ctataaagat accaggcgtt 8880
tccccctgga agctccctcg tgcgctctcc tgttccgacc ctgccgctta ccggatacct 8940
gtccgccttt ctcccttcgg gaagcgtggc gctttctcat agctcacgct gtaggtatct 9000
cagttcggtg taggtcgttc gctccaagct gggctgtgtg cacgaacccc ccgttcagcc 9060
cgaccgctgc gccttatccg gtaactatcg tcttgagtcc aacccggtaa gacacgactt 9120
atcgccactg gcagcagcca ctggtaacag gattagcaga gcgaggtatg taggcggtgc 9180
tacagagttc ttgaagtggt ggcctaacta cggctacact agaagaacag tatttggtat 9240
ctgcgctctg ctgaagccag ttaccttcgg aaaaagagtt ggtagctctt gatccggcaa 9300
acaaaccacc gctggtagcg gtggtttttt tgtttgcaag cagcagatta cgcgcagaaa 9360
aaaaggatct caagaagatc ctttgatctt ttctacgggg tctgacgctc agtggaacga 9420
aaactcacgt taagggattt tggtcatgag attatcaaaa aggatcttca cctagatcct 9480
tttaaattaa aaatgaagtt ttaaatcaat ctaaagtata tatgagtaaa cttggtctga 9540
cagttaccaa tgcttaatca gtgaggcacc tatctcagcg atctgtctat ttcgttcatc 9600
catagttgcc tgactcctgc aaaccacgtt gtgtctcaaa atctctgatg ttacattgca 9660

caagataaaa atatatcatc atgaacaata aaactgtctg cttacataaa cagtaataca 9720
aggggtgtta tgagccatat tcaacgggaa acgtcttgct cgaggccgcg attaaattcc 9780
aacatggatg ctgatttata tgggtataaa tgggctcgcg ataatgtcgg gcaatcaggt 9840
gcgacaatct atcgattgta tgggaagccc gatgcgccag agttgtttct gaaacatggc 9900
aaaggtagcg ttgccaatga tgttacagat gagatggtca gactaaactg gctgacggaa 9960
tttatgcctc ttccgaccat caagcatttt atccgtactc ctgatgatgc atggttactc 10020
accactgcga tccccgggaa aacagcattc caggtattag aagaatatcc tgattcaggt 10080
gaaaatattg ttgatgcgct ggcagtgttc ctgcgccggt tgcattcgat tcctgtttgt 10140
aattgtcctt ttaacagcga tcgcgtattt cgtctcgctc aggcgcaatc acgaatgaat 10200
aacggtttgg ttgatgcgag tgattttgat gacgagcgta atggctggcc tgttgaacaa 10260
gtctggaaag aaatgcataa gcttttgcca ttctcaccgg attcagtcgt cactcatggt 10320
gatttctcac ttgataacct tatttttgac gaggggaaat taataggttg tattgatgtt 10380
ggacgagtcg gaatcgcaga ccgataccag gatcttgcca tcctatggaa ctgcctcggt 10440
gagttttctc cttcattaca gaaacggctt tttcaaaaat atggtattga taatcctgat 10500
atgaataaat tgcagtttca tttgatgctc gatgagtttt tctaagggcg gcctgccacc 10560
atacccacgc cgaaacaagc gctcatgagc ccgaagtggc gagcccgatc ttccccatcg 10620
gtgatgtcgg cgatataggc gccagcaacc gcacctgtgg cgccggtgat gagggcgcgc 10680
caagtcgacg tccggcagtc 10700

<210> 10
<211> 10700
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多核苷酸
<400> 10

ttggccactc cctctctgcg cgctcgctcg ctcactgagg ccgcccgggc aaagcccggg 60
cgtcgggcga cctttggtcg cccggcctca gtgagcgagc gagcgcgcag agagggagtg 120
gccaactcca tcactagggg ttcctgctag ctctgggtat ttaagcccga gtgagcacgc 180
agggtctcca ttttgaagcg ggaggttacg cgttcgtcga ctactagtgg gtaccagagc 240
tccctaggtt ctagaaccgg tgacgtctcc catggtgaag cttggatctg aattcggtac 300
ctagttatta atagtaatca attacggggt cattagttca tagcccatat atggagttcc 360
gcgttacata acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat 420
tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc 480
aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc 540
caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt 600
acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta 660
ccatggtcga ggtgagcccc acgttctgct tcactctccc catctccccc ccctccccac 720
ccccaatttt gtatttattt atttttaat tattttgtgc agcgatgggg gcgggggggg 780
gggggggcg cgcgccaggc ggggcggggc ggggcgaggg gcggggcggg gcgaggcgga 840

gaggtgcggc ggcagccaat cagagcggcg cgctccgaaa gtttcctttt atggcgaggc 900
ggcggcggcg gcggccctat aaaaagcgaa gcgcgcggcg ggcgggagtc gctgcgacgc 960
tgccttcgcc ccgtgccccg ctccgccgcc gcctcgcgcc gcccgccccg gctctgactg 1020
accgcgttac tcccacaggt gagcgggcgg gacggccctt ctcctccggg ctgtaattag 1080
cgcttggttt aatgacggct tgtttctttt ctgtggctgc gtgaaagcct tgaggggctc 1140
cgggagctag agcctctgct aaccatgttc atgccttctt ctttttccta cagctcctgg 1200
gcaacgtgct ggttattgtg ctgtctcatc attttggcaa agaattcctc gaagatccga 1260
agggaaagtc ttccacgact gtgggatccg ttcgaagata tcaccggttg agccaccatg 1320
gaattcagca gccccagcag agaggaatgc cccaagcctc tgagccgggt gtcaatcatg 1380
gccggatctc tgacaggact gctgctgctt caggccgtgt cttgggcttc tggcgctaga 1440
ccttgcatcc ccaagagctt cggctacagc agcgtcgtgt gcgtgtgcaa tgccacctac 1500
tgcgacagct tcgaccctcc tacctttcct gctctgggca ccttcagcag atacgagagc 1560
accagatccg gcagacggat ggaactgagc atgggaccca tccaggccaa tcacacaggc 1620
actggcctgc tgctgacact gcagcctgag cagaaattcc agaaagtgaa aggcttcggc 1680
ggagccatga cagatgccgc cgctctgaat atcctggctc tgtctccacc agctcagaac 1740
ctgctgctca agagctactt cagcgaggaa ggcatcggct acaacatcat cagagtgccc 1800
atggccagct gcgacttcag catcaggacc tacacctacg ccgacacacc cgacgatttc 1860
cagctgcaca acttcagcct gcctgaagag gacaccaagc tgaagatccc tctgatccac 1920
agagccctgc agctggcaca aagacccgtg tcactgctgg cctctccatg gacatctccc 1980
acctggctga aaacaaatgg cgccgtgaat ggcaagggca gcctgaaagg ccaacctggc 2040
gacatctacc accagacctg ggccagatac ttcgtgaagt tcctggacgc ctatgccgag 2100
cacaagctgc agttttgggc cgtgacagcc gagaacgaac cttctgctgg actgctgagc 2160
ggctacccct ttcagtgcct gggctttaca cccgagcacc agcgggactt tatcgcccgt 2220
gatctgggac ccacactggc caatagcacc caccataatg tgcggctgct gatgctggac 2280
gaccagagac tgcttctgcc ccactgggct aaagtggtgc tgacagatcc tgaggccgcc 2340
aaatacgtgc acggaatcgc cgtgcactgg tatctggact ttctggcccc tgccaaggcc 2400
acactgggag agacacacag actgttcccc aacaccatgc tgttcgccag cgaagcctgt 2460
gtgggcagca agttttggga acagagcgtg cggctcggca gctgggatag aggcatgcag 2520
tacagccaca gcatcatcac caacctgctg taccacgtcg tcggctggac cgactggaat 2580
ctggccctga atcctgaagg cggccctaac tgggtccgaa acttcgtgga cagccccatc 2640
atcgtggaca tcaccaagga caccttctac aagcagccca tgttctacca cctgggacac 2700
ttcagcaagt tcatccccga gggctctcag cgcgttggac tggtggcttc ccagaagaac 2760
gatctggacg ccgtggctct gatgcaccct gatggatctg ctgtggtggt ggtcctgaac 2820
cgcagcagca aagatgtgcc cctgaccatc aaggatcccg ccgtgggatt cctggaaaca 2880
atcagccctg gctactccat ccacacctac ctgtggcgta gacagtgaca attgttaatt 2940
aagtttaaac cctcgaggcc gcaagcttat cgataatcaa cctctggatt acaaaatttg 3000
tgaaagattg actggtattc ttaactatgt tgctcctttt acgctatgtg gatacgctgc 3060
tttaatgcct ttgtatcatg ctattgcttc ccgtatggct ttcattttct cctccttgta 3120
taaatcctgg ttgctgtctc tttatgagga gttgtggccc gttgtcaggc aacgtggcgt 3180

ggtgtgcact gtgtttgctg acgcaacccc cactggttgg ggcattgcca ccacctgtca 3240
gctcctttcc gggactttcg ctttcccccc ccctattgcc acggcggaac tcatcgccgc 3300
ctgccttgcc cgctgctgga caggggctcg gctgttgggc actgacaatt ccgtggtgtt 3360
gtcggggaaa tcatcgtcct ttccttggct gctcgcctgt gttgccacct ggattctgcg 3420
cgggacgtcc ttctgctacg tcccttcggc cctcaatcca gcggaccttc cttcccgcgg 3480
cctgctgccg gctctgcggc ctcttccgcg tcttcgcctt cgccctcaga cgagtcggat 3540
ctccctttgg gccgcctccc cgcatcgata ccgtcgacta gagctcgctg atcagcctcg 3600
actgtgcctt ctagttgcca gccatctgtt gtttgcccct cccccgtgcc ttccttgacc 3660
ctggaaggtg ccactcccac tgtcctttcc taataaaatg aggaaattgc atcgcattgt 3720
ctgagtaggt gtcattctat tctgggggggt ggggtggggc aggacagcaa gggggaggat 3780
tgggaagaca atagcaggca tgctggggag agatccacga taacaaacag ctttttggg 3840
gtgaacatat tgactgaatt ccctgcagga ggaaccccta gtgatggagt tggccactcc 3900
ctctctgcgc gctcgctcgc tcactgaggc cgcccgggca aagcccgggc gtcgggcgac 3960
ctttggtcgc ccggcctcag tgagcgagcg agcgcgcaga gagggagtgg ccaagcggcc 4020
gctcgtacgg tctcgaggaa ttcctgcagg ataacttgcc aacctcattc taaaatgtat 4080
atagaagccc aaaagacaat aacaaaaata ttcttgtaga acaaaatggg aaagaatgtt 4140
ccactaaata tcaagattta gagcaaagca tgagatgtgt ggggatagac agtgaggctg 4200
ataaaataga gtagagctca gaaacagacc cattgatata tgtaagtgac ctatgaaaaa 4260
aatatggcat tttacaatgg gaaaatgatg gtctttttct tttttagaaa aacagggaaa 4320
tatatttata tgtaaaaaat aaaagggaac ccatatgtca taccatacac acaaaaaaat 4380
tccagtgaat tataagtcta aatggagaag gcaaaacttt aaatctttta gaaaataata 4440
tagaagcatg cagaccagcc tggccaacat gatgaaaccc tctctactaa taataaaatc 4500
agtagaacta ctcaggacta ctttgagtgg gaagtccttt tctatgaaga cttctttggc 4560
caaaattagg ctctaaatgc aaggagatag tgcatcatgc ctggctgcac ttactgataa 4620
atgatgttat caccatcttt aaccaaatgc acaggaacaa gttatggtac tgatgtgctg 4680
gattgagaag gagctctact tccttgacag gacacatttg tatcaactta aaaaagcaga 4740
tttttgccag cagaactatt cattcagagg taggaaactt agaatagatg atgtcactga 4800
ttagcatggc ttccccatct ccacagctgc ttcccaccca ggttgcccac agttgagttt 4860
gtccagtgct cagggctgcc cactctcagt aagaagcccc acaccagccc ctctccaaat 4920
atgttggctg ttccttccat taaagtgacc ccactttaga gcagcaagtg gatttctgtt 4980
tcttacagtt caggaaggag gagtcagctg tgagaacctg gagcctgaga tgcttctaag 5040
tcccactgct actggggtca gggaagccag actccagcat cagcagtcag gagcactaag 5100
cccttgccaa catcctgttt ctcagagaaa ctgcttccat tataatggtt gtccttttt 5160
aagctatcaa gccaaacaac cagtgtctac cattattctc atcacctgaa gccaagggtt 5220
ctagcaaaag tcaagctgtc ttgtaatggt tgatgtgcct ccagcttctg tcttcagtca 5280
ctccactctt agcctgctct gaatcaactc tgaccacagt tccctggagc ccctgccacc 5340
tgctgccccc gccaccttct ccatctgcag tgctgtgcag ccttctgcac tcttgcagag 5400
ctaataggtg gagacttgaa ggaagaggag gaaagtttct cataatagcc ttgctgcaag 5460
ctcaaatggg aggtgggcac tgtgcccagg agccttggag caaaggctgt gcccaacctc 5520

tgactgcatc caggtttggt cttgacagag ataagaagcc ctggcttttg gagccaaaat 5580
ctaggtcaga cttaggcagg attctcaaag tttatcagca gaacatgagg cagaagaccc 5640
tttctgctcc agcttcttca ggctcaacct tcatcagaat agatagaaag agaggctgtg 5700
agggttctta aaacagaagc aaatctgact cagagaataa acaacctcct agtaaactac 5760
agcttagaca gagcatctgg tggtgagtgt gctcagtgtc ctactcaact gtctggtatc 5820
agccctcatg aggacttctc ttctttccct catagacctc catctctgtt ttccttagcc 5880
tgcagaaatc tggatggcta ttcacagaat gcctgtgctt tcagagttgc atttttctc 5940
tggtattctg gttcaagcat ttgaaggtag gaaaggttct ccaagtgcaa gaaagccagc 6000
cctgagcctc aactgcctgg ctagtgtggt cagtaggatg caaaggctgt tgaatgccac 6060
aaggccaaac tttaacctgt gtaccacaag cctagcagca gaggcagctc tgctcactgg 6120
aactctctgt cttctttctc ctgagccttt tcttttcctg agttttctag ctctcctcaa 6180
ccttacctct gccctaccca ggacaaaccc aagagccact gtttctgtga tgtcctctcc 6240
agccctaatt aggcatcatg acttcagcct gaccttccat gctcagaagc agtgctaatc 6300
cacttcagat gagctgctct atgcaacaca ggcagagcct acaaaccttt gcaccagagc 6360
cctccacata tcagtgtttg ttcatactca cttcaacagc aaatgtgact gctgagatta 6420
agattttaca caagatggtc tgtaatttca cagttagttt tatcccatta ggtatgaaag 6480
aattagcata attcccctta aacatgaatg aatcttagat tttttaataa atagttttgg 6540
aagtaaagac agagacatca ggagcacaag gaatagcctg agaggacaaa cagaacaaga 6600
aagagtctgg aaatacacag gatgttcttg gcctcctcaa agcaagtgca agcagatagt 6660
accagcagcc ccaggctatc agagcccagt gaagagaagt accatgaaag ccacagctct 6720
aaccaccctg ttccagagtg acagacagtc cccaagacaa gccagcctga gccagagaga 6780
gaactgcaag agaaagtttc taatttaggt tctgttagat tcagacaagt gcaggtcatc 6840
ctctctccac agctactcac ctctccagcc taacaaagcc tgcagtccac actccaaccc 6900
tggtgtctca cctcctagcc tctcccaaca tcctgctctc tgaccatctt ctgcatctct 6960
catctcacca tctcccactg tctacagcct actcttgcaa ctaccatctc attttctgac 7020
atcctgtcta catcttctgc catactctgc catctaccat accacctctt accatctacc 7080
acaccatctt ttatctccat ccctctcaga agcctccaag ctgaatcctg ctttatgtgt 7140
tcatctcagc ccctgcatgg aaagctgacc ccagaggcag aactattccc agagagcttg 7200
gccaagaaaa acaaaactac cagcctggcc aggctcagga gtagtaagct gcagtgtctg 7260
ttgtgttcta gcttcaacag ctgcaggagt tccactctca aatgctccac atttctcaca 7320
tcctcctgat tctggtcact acccatcttc aaagaacaga atatctcaca tcagcatact 7380
gtgaaggact agtcatgggt gcagctgctc agagctgcaa agtcattctg gatggtggag 7440
agcttacaaa catttcatga tgctcccccc gctctgatgg ctggagccca atccctacac 7500
agactcctgc tgtatgtgtt ttcctttcac tctgagccac agccagaggg caggcattca 7560
gtctcctctt caggctgggg ctggggcact gagaactcac ccaacacctt gctctcactc 7620
cttctgcaaa acaagaaaga gctttgtgct gcagtagcca tgaagaatga aaggaaggct 7680
ttaactaaaa aatgtcagag attattttca acccccttact gtggatcacc agcaaggagg 7740
aaacacaaca cagagacatt ttttcccctc aaattatcaa aagaatcact gcatttgtta 7800
aagagagcaa ctgaatcagg aagcagagtt ttgaacatat cagaagttag gaatctgcat 7860

cagagacaaa tgcagtcatg gttgtttgct gcataccagc cctaatcatt agaagcctca 7920
tggacttcaa acatcattcc ctctgacaag atgctctagc ctaactccat gagataaaat 7980
aaatctgcct ttcagagcca aagaagagtc caccagcttc ttctcagtgt gaacaagagc 8040
tccagtcagg ttagtcagtc cagtgcagta gaggagacca gtctgcatcc tctaattttc 8100
aaaggcaaga agatttgttt accctggaca ccaggcacaa gtgaggtcac agagctctta 8160
gatatgcagt cctcatgagt gaggagacta aagcgcatgc catcaagact tcagtgtaga 8220
gaaaacctcc aaaaaagcct cctcactact tctggaatag ctcagaggcc gaggcggcct 8280
cggcctctgc ataaataaaa aaaattagtc agccatgggg cggagaatgg gcggaactgg 8340
gcggagttag gggcgggatg ggcggagtta ggggcgggac tatggttgct gactaattga 8400
gatgcatgct ttgcatactt ctgcctgctg gggagcctgg ggactttcca cacctggttg 8460
ctgactaatt gagatgcatg ctttgcatac ttctgcctgc tggggagcct ggggactttc 8520
cacaccctaa ctgacacaca ttccacagct gcattaatga atcggccaac gcgcggggag 8580
aggcggtttg cgtattgggc gctcttccgc ttcctcgctc actgactcgc tgcgctcggt 8640
cgttcggctg cggcgagcgg tatcagctca ctcaaaggcg gtaatacggt tatccacaga 8700
atcaggggat aacgcaggaa agaacatgtg agcaaaaggc cagcaaaagg ccaggaaccg 8760
taaaaaggcc gcgttgctgg cgtttttcca taggctccgc ccccctgacg agcatcacaa 8820
aaatcgacgc tcaagtcaga ggtggcgaaa cccgacagga ctataaagat accaggcgtt 8880
tccccctgga agctccctcg tgcgctctcc tgttccgacc ctgccgctta ccggatacct 8940
gtccgccttt ctcccttcgg gaagcgtggc gctttctcat agctcacgct gtaggtatct 9000
cagttcggtg taggtcgttc gctccaagct gggctgtgtg cacgaacccc ccgttcagcc 9060
cgaccgctgc gccttatccg gtaactatcg tcttgagtcc aacccggtaa gacacgactt 9120
atcgccactg gcagcagcca ctggtaacag gattagcaga gcgaggtatg taggcggtgc 9180
tacagagttc ttgaagtggt ggcctaacta cggctacact agaagaacag tatttggtat 9240
ctgcgctctg ctgaagccag ttaccttcgg aaaaagagtt ggtagctctt gatccggcaa 9300
acaaaccacc gctggtagcg gtggtttttt tgtttgcaag cagcagatta cgcgcagaaa 9360
aaaaggatct caagaagatc ctttgatctt ttctacgggg tctgacgctc agtggaacga 9420
aaactcacgt taagggattt tggtcatgag attatcaaaa aggatcttca cctagatcct 9480
tttaaattaa aaatgaagtt ttaaatcaat ctaaagtata tatgagtaaa cttggtctga 9540
cagttaccaa tgcttaatca gtgaggcacc tatctcagcg atctgtctat ttcgttcatc 9600
catagttgcc tgactcctgc aaaccacgtt gtgtctcaaa atctctgatg ttacattgca 9660
caagataaaa atatatcatc atgaacaata aaactgtctg cttacataaa cagtaataca 9720
aggggtgtta tgagccatat tcaacgggaa acgtcttgct cgaggccgcg attaaattcc 9780
aacatggatg ctgatttata tgggtataaa tgggctcgcg ataatgtcgg gcaatcaggt 9840
gcgacaatct atcgattgta tgggaagccc gatgcgccag agttgtttct gaaacatggc 9900
aaaggtagcg ttgccaatga tgttacagat gagatggtca gactaaactg gctgacggaa 9960
tttatgcctc ttccgaccat caagcatttt atccgtactc ctgatgatgc atggttactc 10020
accactgcga tccccgggaa aacagcattc caggtattag aagaatatcc tgattcaggt 10080
gaaaatattg ttgatgcgct ggcagtgttc ctgcgccggt tgcattcgat tcctgtttgt 10140
aattgtcctt ttaacagcga tcgcgtattt cgtctcgctc aggcgcaatc acgaatgaat 10200

aacggtttgg ttgatgcgag tgattttgat gacgagcgta atggctggcc tgttgaacaa 10260
gtctggaaag aaatgcataa gcttttgcca ttctcaccgg attcagtcgt cactcatggt 10320
gatttctcac ttgataacct tatttttgac gaggggaaat taataggttg tattgatgtt 10380
ggacgagtcg gaatcgcaga ccgataccag gatcttgcca tcctatggaa ctgcctcggt 10440
gagttttctc cttcattaca gaaacggctt tttcaaaaat atggtattga taatcctgat 10500
atgaataaat tgcagtttca tttgatgctc gatgagtttt tctaagggcg gcctgccacc 10560
atacccacgc cgaaacaagc gctcatgagc ccgaagtggc gagcccgatc ttccccatcg 10620
gtgatgtcgg cgatataggc gccagcaacc gcacctgtgg cgccggtgat gagggcgcgc 10680
caagtcgacg tccggcagtc 10700

<210> 11

<211> 11188

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多核苷酸

<400> 11

ttggccactc cctctctgcg cgctcgctcg ctcactgagg ccgggcgacc aaaggtcgcc 60
cgacgcccgg gctttgcccg ggcggcctca gtgagcgagc gagcgcgcag agagggagtg 120
gccaactatt agatctgatg gccgcgctag ctctgggtat ttaagcccga gtgagcacgc 180
agggtctcca ttttgaagcg ggaggttacg cgttcgtcga ctactagtgg gtaccagagc 240
gtggtgactg agatgttttc taggaaacac aaaagataca aaaaagaaca cgtggaagga 300
tagccaaaaa ggggggctgc ccccatttcc tgcaccccgc tgcgatggct ggcaccattt 360
ggaagacttc gagatacact gttgagcgca gtaagacaac agtgtatctc gaagtcttcc 420
agatggggcc agccggtcca ctctgtatcc aggccagttc tgcaaggcgt tcgaggacca 480
ccccccctccc ctcgccacca gggtggtctc atacagaact tataagattc ccaaatccaa 540
agacatttca cgtttatggt gatttcccag aacacatagc gacatgcaaa tattgcaggg 600
cgccactccc ctgtccctca cagccatctt cctgccaggg cgcacgcgcg ctgggtgttc 660
ccgcctagtg acactgggcc cgcgattcct tggagcgggt tgatgacgtc agcgtttccc 720
atggtgaatc cctaggttct agaaccggtg acgtctccca tggtgaagct tggatctgaa 780
ttcggtacct agttattaat agtaatcaat tacggggtca ttagttcata gcccatatat 840
ggagttccgc gttacataac ttacggtaaa tggcccgcct ggctgaccgc ccaacgaccc 900
ccgcccattg acgtcaataa tgacgtatgt tcccatagta acgccaatag ggactttcca 960
ttgacgtcaa tgggtggagt atttacggta aactgcccac ttggcagtac atcaagtgta 1020
tcatatgcca agtacgcccc ctattgacgt caatgacggt aaatggcccg cctggcatta 1080
tgcccagtac atgaccttat gggactttcc tacttggcag tacatctacg tattagtcat 1140
cgctattacc atggtcgagg tgagccccac gttctgcttc actctcccca tctccccccc 1200
ctccccaccc ccaattttgt atttatttat tttttaatta ttttgtgcag cgatgggggc 1260
ggggggggag gggggcgcg cgccaggcgg ggcggggcgg ggcgaggggc ggggcggggc 1320
gaggcggaga ggtgcggcgg cagccaatca gagcggcgcg ctccgaaagt ttccttttat 1380

ggcgaggcgg cggcggcggc ggccctataa aaagcgaagc gcgcggcggg cgggagtcgc 1440
tgcgacgctg ccttcgcccc gtgccccgct ccgccgccgc ctcgcgccgc ccgccccggc 1500
tctgactgac cgcgttactc ccacaggtga gcgggcggga cggcccttct cctccgggct 1560
gtaattagcg cttggtttaa tgacggcttg tttcttttct gtggctgcgt gaaagccttg 1620
aggggctccg ggagctagag cctctgctaa ccatgttcat gccttcttct ttttcctaca 1680
gctcctgggc aacgtgctgg ttattgtgct gtctcatcat tttggcaaag aattcctcga 1740
agatccgaag ggaaagtctt ccacgactgt gggatccgtt cgaagatatc accggttgag 1800
ccaccatgga attcagcagc cccagcagag aggaatgccc caagcctctg agccgggtgt 1860
caatcatggc cggatctctg acaggactgc tgctgcttca ggccgtgtct tgggcttctg 1920
gcgctagacc ttgcatcccc aagagcttcg gctacagcag cgtcgtgtgc gtgtgcaatg 1980
ccacctactg cgacagcttc gaccctccta cctttcctgc tctgggcacc ttcagcagat 2040
acgagagcac cagatccggc agacggatgg aactgagcat gggacccatc caggccaatc 2100
acacaggcac tggcctgctg ctgacactgc agcctgagca gaaattccag aaagtgaaag 2160
gcttcggcgg agccatgaca gatgccgccg ctctgaatat cctggctctg tctccaccag 2220
ctcagaacct gctgctcaag agctacttca gcgaggaagg catcggctac aacatcatca 2280
gagtgcccat ggccagctgc gacttcagca tcaggaccta cacctacgcc gacacacccg 2340
acgatttcca gctgcacaac ttcagcctgc ctgaagagga caccaagctg aagatccctc 2400
tgatccacag agccctgcag ctggcacaaa gacccgtgtc actgctggcc tctccatgga 2460
catctcccac ctggctgaaa acaaatggcg ccgtgaatgg caagggcagc ctgaaaggcc 2520
aacctggcga catctaccac cagacctggg ccagatactt cgtgaagttc ctggacgcct 2580
atgccgagca caagctgcag ttttgggccg tgacagccga gaacgaacct tctgctggac 2640
tgctgagcgg ctaccccttt cagtgcctgg gctttacacc cgagcaccag cgggacttta 2700
tcgcccgtga tctgggaccc acactggcca atagcaccca ccataatgtg cggctgctga 2760
tgctggacga ccagagactg cttctgcccc actgggctaa agtggtgctg acagatcctg 2820
aggccgccaa atacgtgcac ggaatcgccg tgcactggta tctggacttt ctggcccctg 2880
ccaaggccac actgggagag acacacagac tgttccccaa caccatgctg ttcgccagcg 2940
aagcctgtgt gggcagcaag ttttgggaac agagcgtgcg gctcggcagc tgggatagag 3000
gcatgcagta cagccacagc atcatcacca acctgctgta ccacgtcgtc ggctggaccg 3060
actggaatct ggccctgaat cctgaaggcg gccctaactg ggtccgaaac ttcgtggaca 3120
gccccatcat cgtggacatc accaaggaca ccttctacaa gcagcccatg ttctaccacc 3180
tgggacactt cagcaagttc atccccgagg gctctcagcg cgttggactg gtggcttccc 3240
agaagaacga tctggacgcc gtggctctga tgcaccctga tggatctgct gtggtggtgg 3300
tcctgaaccg cagcagcaaa gatgtgcccc tgaccatcaa ggatcccgcc gtgggattcc 3360
tggaaacaat cagccctggc tactccatcc acacctacct gtggcgtaga cagtgacaat 3420
tgttaattaa gtttaaaccc tcgaggccgc aagcttatcg ataatcaacc tctggattac 3480
aaaatttgtg aaagattgac tggtattctt aactatgttg ctccttttac gctatgtgga 3540
tacgctgctt taatgccttt gtatcatgct attgcttccc gtatggcttt cattttctcc 3600
tccttgtata aatcctggtt gctgtctctt tatgaggagt tgtggcccgt tgtcaggcaa 3660
cgtggcgtgg tgtgcactgt gtttgctgac gcaaccccca ctggttgggg cattgccacc 3720

acctgtcagc tcctttccgg gactttcgct ttccccctcc ctattgccac ggcggaactc 3780
atcgccgcct gccttgcccg ctgctggaca ggggctcggc tgttgggcac tgacaattcc 3840
gtggtgttgt cggggaaatc atcgtccttt ccttggctgc tcgcctgtgt tgccacctgg 3900
attctgcgcg ggacgtcctt ctgctacgtc ccttcggccc tcaatccagc ggaccttcct 3960
tcccgcggcc tgctgccggc tctgcggcct cttccgcgtc ttcgccttcg ccctcagacg 4020
agtcggatct ccctttgggc cgcctccccg catcgatacc gtcgactaga gctcgctgat 4080
cagcctcgac tgtgccttct agttgccagc catctgttgt ttgcccctcc cccgtgcctt 4140
ccttgaccct ggaaggtgcc actcccactg tcctttccta ataaaatgag gaaattgcat 4200
cgcattgtct gagtaggtgt cattctattc tgggggggtgg ggtggggcag gacagcaagg 4260
gggaggattg ggaagacaat agcaggcatg ctggggagag atccacgata acaaacagct 4320
tttttggggt gaacatattg actgaattcc ctgcaggttg gccactccct ctctgcgcgc 4380
tcgctcgctc actgaggccg cccgggcaaa gcccgggcgt cgggcgacct ttggtcgccc 4440
ggcctcagtg agcgagcgag cgcgcagaga gggagtggcc aactccatca ctaggggttc 4500
ctgcggccgc tcgtacggtc tcgaggaatt cctgcaggat aacttgccaa cctcattcta 4560
aaatgtatat agaagcccaa aagacaataa caaaaatatt cttgtagaac aaaatgggaa 4620
agaatgttcc actaaatatc aagatttaga gcaaagcatg agatgtgtgg ggatagacag 4680
tgaggctgat aaaatagagt agagctcaga aacagaccca ttgatatatg taagtgacct 4740
atgaaaaaaa tatggcattt tacaatggga aaatgatggt ctttttcttt tttagaaaaa 4800
cagggaaata tatttatatg taaaaaataa aagggaaccc atatgtcata ccatacacac 4860
aaaaaaattc cagtgaatta taagtctaaa tggagaaggc aaaactttaa atcttttaga 4920
aaataatata gaagcatgca gaccagcctg gccaacatga tgaaaccctc tctactaata 4980
ataaaatcag tagaactact caggactact ttgagtggga agtccttttc tatgaagact 5040
tctttggcca aaattaggct ctaaatgcaa ggagatagtg catcatgcct ggctgcactt 5100
actgataaat gatgttatca ccatctttaa ccaaatgcac aggaacaagt tatggtactg 5160
atgtgctgga ttgagaagga gctctacttc cttgacagga cacatttgta tcaacttaaa 5220
aaagcagatt tttgccagca gaactattca ttcagaggta ggaaacttag aatagatgat 5280
gtcactgatt agcatggctt ccccatctcc acagctgctt cccacccagg ttgcccacag 5340
ttgagtttgt ccagtgctca gggctgccca ctctcagtaa gaagccccac accagcccct 5400
ctccaaatat gttggctgtt ccttccatta aagtgacccc actttagagc agcaagtgga 5460
tttctgtttc ttacagttca ggaaggagga gtcagctgtg agaacctgga gcctgagatg 5520
cttctaagtc ccactgctac tggggtcagg gaagccagac tccagcatca gcagtcagga 5580
gcactaagcc cttgccaaca tcctgtttct cagagaaact gcttccatta taatggttgt 5640
ccttttttaa gctatcaagc caaacaacca gtgtctacca ttattctcat cacctgaagc 5700
caagggttct agcaaaagtc aagctgtctt gtaatggttg atgtgcctcc agcttctgtc 5760
ttcagtcact ccactcttag cctgctctga atcaactctg accacagttc cctggagccc 5820
ctgccacctg ctgcccctgc caccttctcc atctgcagtg ctgtgcagcc ttctgcactc 5880
ttgcagagct aataggtgga gacttgaagg aagaggagga aagtttctca taatagcctt 5940
gctgcaagct caaatgggag gtgggcactg tgcccaggag ccttggagca aaggctgtgc 6000
ccaacctctg actgcatcca ggtttggtct tgacagagat aagaagccct ggcttttgga 6060

gccaaaatct aggtcagact taggcaggat tctcaaagtt tatcagcaga acatgaggca 6120
gaagaccctt tctgctccag cttcttcagg ctcaaccttc atcagaatag atagaaagag 6180
aggctgtgag ggttcttaaa acagaagcaa atctgactca gagaataaac aacctcctag 6240
taaactacag cttagacaga gcatctggtg gtgagtgtgc tcagtgtcct actcaactgt 6300
ctggtatcag ccctcatgag gacttctctt ctttccctca tagacctcca tctctgtttt 6360
ccttagcctg cagaaatctg gatggctatt cacagaatgc ctgtgctttc agagttgcat 6420
tttttctctg gtattctggt tcaagcattt gaaggtagga aaggttctcc aagtgcaaga 6480
aagccagccc tgagcctcaa ctgcctggct agtgtggtca gtaggatgca aaggctgttg 6540
aatgccacaa ggccaaactt taacctgtgt accacaagcc tagcagcaga ggcagctctg 6600
ctcactggaa ctctctgtct tctttctcct gagccttttc ttttcctgag ttttctagct 6660
ctcctcaacc ttacctctgc cctacccagg acaaacccaa gagccactgt ttctgtgatg 6720
tcctctccag ccctaattag gcatcatgac ttcagcctga ccttccatgc tcagaagcag 6780
tgctaatcca cttcagatga gctgctctat gcaacacagg cagagcctac aaacctttgc 6840
accagagccc tccacatatc agtgtttgtt catactcact tcaacagcaa atgtgactgc 6900
tgagattaag attttacaca agatggtctg taatttcaca gttagtttta tcccattagg 6960
tatgaaagaa ttagcataat tccccttaaa catgaatgaa tcttagattt tttaataaat 7020
agttttggaa gtaaagacag agacatcagg agcacaagga atagcctgag aggacaaaca 7080
gaacaagaaa gagtctggaa atacacagga tgttcttggc ctcctcaaag caagtgcaag 7140
cagatagtac cagcagcccc aggctatcag agcccagtga agagaagtac catgaaagcc 7200
acagctctaa ccaccctgtt ccagagtgac agacagtccc caagacaagc cagcctgagc 7260
cagagagaga actgcaagag aaagtttcta atttaggttc tgttagattc agacaagtgc 7320
aggtcatcct ctctccacag ctactcacct ctccagccta acaaagcctg cagtccacac 7380
tccaaccctg gtgtctcacc tcctagcctc tcccaacatc ctgctctctg accatcttct 7440
gcatctctca tctcaccatc tcccactgtc tacagcctac tcttgcaact accatctcat 7500
tttctgacat cctgtctaca tcttctgcca tactctgcca tctaccatac cacctcttac 7560
catctaccac accatctttt atctccatcc ctctcagaag cctccaagct gaatcctgct 7620
ttatgtgttc atctcagccc ctgcatggaa agctgacccc agaggcagaa ctattcccag 7680
agagcttggc caagaaaaac aaaactacca gcctggccag gctcaggagt agtaagctgc 7740
agtgtctgtt gtgttctagc ttcaacagct gcaggagttc cactctcaaa tgctccacat 7800
ttctcacatc ctcctgattc tggtcactac ccatcttcaa agaacagaat atctcacatc 7860
agcatactgt gaaggactag tcatgggtgc agctgctcag agctgcaaag tcattctgga 7920
tggtggagag cttacaaaca tttcatgatg ctccccccgc tctgatggct ggagcccaat 7980
ccctacacag actcctgctg tatgtgtttt cctttcactc tgagccacag ccagagggca 8040
ggcattcagt ctcctcttca ggctggggct ggggcactga gaactcaccc aacaccttgc 8100
tctcactcct tctgcaaaac aagaaagagc tttgtgctgc agtagccatg aagaatgaaa 8160
ggaaggcttt aactaaaaaa tgtcagagat tattttcaac cccttactgt ggatcaccag 8220
caaggaggaa acacaacaca gagacatttt ttcccctcaa attatcaaaa gaatcactgc 8280
atttgttaaa gagagcaact gaatcaggaa gcagagtttt gaacatatca gaagttagga 8340
atctgcatca gagacaaatg cagtcatggt tgtttgctgc ataccagccc taatcattag 8400

aagcctcatg gacttcaaac atcattccct ctgacaagat gctctagcct aactccatga 8460
gataaaataa atctgccttt cagagccaaa gaagagtcca ccagcttctt ctcagtgtga 8520
acaagagctc cagtcaggtt agtcagtcca gtgcagtaga ggagaccagt ctgcatcctc 8580
taattttcaa aggcaagaag atttgtttac cctggacacc aggcacaagt gaggtcacag 8640
agctcttaga tatgcagtcc tcatgagtga ggagactaaa gcgcatgcca tcaagacttc 8700
agtgtagaga aaacctccaa aaaagcctcc tcactacttc tggaatagct cagaggccga 8760
ggcggcctcg gcctctgcat aaataaaaaa aattagtcag ccatggggcg gagaatgggc 8820
ggaactgggc ggagttaggg gcgggatggg cggagttagg ggcgggacta tggttgctga 8880
ctaattgaga tgcatgcttt gcatacttct gcctgctggg gagcctgggg actttccaca 8940
cctggttgct gactaattga gatgcatgct ttgcatactt ctgcctgctg gggagcctgg 9000
ggactttcca caccctaact gacacacatt ccacagctgc attaatgaat cggccaacgc 9060
gcggggagag gcggtttgcg tattgggcgc tcttccgctt cctcgctcac tgactcgctg 9120
cgctcggtcg ttcggctgcg gcgagcggta tcagctcact caaaggcggt aatacggtta 9180
tccacagaat caggggataa cgcaggaaag aacatgtgag caaaaggcca gcaaaaggcc 9240
aggaaccgta aaaaggccgc gttgctggcg tttttccata ggctccgccc ccctgacgag 9300
catcacaaaa atcgacgctc aagtcagagg tggcgaaacc cgacaggact ataaagatac 9360
caggcgtttc cccctggaag ctccctcgtg cgctctcctg ttccgaccct gccgcttacc 9420
ggatacctgt ccgcctttct cccttcggga agcgtggcgc tttctcatag ctcacgctgt 9480
aggtatctca gttcggtgta ggtcgttcgc tccaagctgg gctgtgtgca cgaacccccc 9540
gttcagcccg accgctgcgc cttatccggt aactatcgtc ttgagtccaa cccggtaaga 9600
cacgacttat cgccactggc agcagccact ggtaacagga ttagcagagc gaggtatgta 9660
ggcggtgcta cagagttctt gaagtggtgg cctaactacg gctacactag aagaacagta 9720
tttggtatct gcgctctgct gaagccagtt accttcggaa aaagagttgg tagctcttga 9780
tccggcaaac aaaccaccgc tggtagcggt ggtttttttg tttgcaagca gcagattacg 9840
cgcagaaaaa aaggatctca agaagatcct ttgatctttt ctacggggtc tgacgctcag 9900
tggaacgaaa actcacgtta agggattttg gtcatgagat tatcaaaaag gatcttcacc 9960
tagatccttt taaattaaaa atgaagtttt aaatcaatct aaagtatata tgagtaaact 10020
tggtctgaca gttaccaatg cttaatcagt gaggcaccta tctcagcgat ctgtctattt 10080
cgttcatcca tagttgcctg actcctgcaa accacgttgt gtctcaaaat ctctgatgtt 10140
acattgcaca agataaaaat atatcatcat gaacaataaa actgtctgct tacataaaca 10200
gtaatacaag gggtgttatg agccatattc aacgggaaac gtcttgctcg aggccgcgat 10260
taaattccaa catggatgct gatttatatg ggtataaatg ggctcgcgat aatgtcgggc 10320
aatcaggtgc gacaatctat cgattgtatg ggaagcccga tgcgccagag ttgtttctga 10380
aacatggcaa aggtagcgtt gccaatgatg ttacagatga gatggtcaga ctaaactggc 10440
tgacggaatt tatgcctctt ccgaccatca agcattttat ccgtactcct gatgatgcat 10500
ggttactcac cactgcgatc cccgggaaaa cagcattcca ggtattagaa gaatatcctg 10560
attcaggtga aaatattgtt gatgcgctgg cagtgttcct gcgccggttg cattcgattc 10620
ctgtttgtaa ttgtcctttt aacagcgatc gcgtatttcg tctcgctcag gcgcaatcac 10680
gaatgaataa cggtttggtt gatgcgagtg attttgatga cgagcgtaat ggctggcctg 10740

ttgaacaagt ctggaaagaa atgcataagc ttttgccatt ctcaccggat tcagtcgtca 10800
ctcatggtga tttctcactt gataacctta tttttgacga ggggaaatta ataggttgta 10860
ttgatgttgg acgagtcgga atcgcagacc gataccagga tcttgccatc ctatggaact 10920
gcctcggtga gttttctcct tcattacaga aacggctttt tcaaaaatat ggtattgata 10980
atcctgatat gaataaattg cagtttcatt tgatgctcga tgagtttttc taagggcggc 11040
ctgccaccat acccacgccg aaacaagcgc tcatgagccc gaagtggcga gcccgatctt 11100
ccccatcggt gatgtcggcg atataggcgc cagcaaccgc acctgtggcg ccggtgatga 11160
gggcgcgcca agtcgacgtc cggcagtc 11188

<210> 12
<211> 11187
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多核苷酸
<400> 12

ctagaaccgg tgacgtctcc catggtgaag cttggatctg aattcggtac ctagttataa 60
tagtaatcaa ttacggggtc attagttcat agcccatata tggagttccg cgttacataa 120
cttacggtaa atggcccgcc tggctgaccg cccaacgacc cccgcccatt gacgtcaata 180
atgacgtatg ttcccatagt aacgccaata gggactttcc attgacgtca atgggtggag 240
tatttacggt aaactgccca cttggcagta catcaagtgt atcatatgcc aagtacgccc 300
cctattgacg tcaatgacgg taaatggccc gcctggcatt atgcccagta catgacctta 360
tgggactttc ctacttggca gtacatctac gtattagtca tcgctattac catggtcgag 420
gtgagcccca cgttctgctt cactctcccc atctcccccc cctccccacc cccaattttg 480
tatttattta ttttttaatt attttgtgca gcgatggggg cgggggggg gggggggcgc 540
gcgccaggcg gggcggggcg gggcgagggg cggggcgggg cgaggcggag aggtgcggcg 600
gcagccaatc agagcggcgc gctccgaaag tttccttta tggcgaggcg gcggcggcgg 660
cggccctata aaaagcgaag cgcgcggcgg gcgggagtcg ctgcgacgct gccttcgccc 720
cgtgccccgc tccgccgccg cctcgcgccg cccgccccgg ctctgactga ccgcgttact 780
cccacaggtg agcgggcggg acggcccttc tcctccgggc tgtaattagc gcttggttta 840
atgacggctt gtttcttttc tgtggctgcg tgaaagcctt gaggggctcc gggagctaga 900
gcctctgcta accatgttca tgccttcttc tttttcctac agctcctggg caacgtgctg 960
gttattgtgc tgtctcatca ttttggcaaa gaattcctcg aagatccgaa gggaaagtct 1020
tccacgactg tgggatccgt tcgaagatat caccggttga gccaccatgg aattcagcag 1080
ccccagcaga gaggaatgcc ccaagcctct gagccgggtg tcaatcatgg ccggatctct 1140
gacaggactg ctgctgcttc aggccgtgtc ttgggcttct ggcgctagac cttgcatccc 1200
caagagcttc ggctacagca gcgtcgtgtg cgtgtgcaat gccacctact gcgacagctt 1260
cgaccctcct acctttcctg ctctgggcac cttcagcaga tacgagagca ccagatccgg 1320
cagacggatg gaactgagca tgggacccat ccaggccaat cacacaggca ctggcctgct 1380
gctgacactg cagcctgagc agaaattcca gaaagtgaaa ggcttcggcg gagccatgac 1440

agatgccgcc gctctgaata tcctggctct gtctccacca gctcagaacc tgctgctcaa 1500
gagctacttc agcgaggaag gcatcggcta caacatcatc agagtgccca tggccagctg 1560
cgacttcagc atcaggacct acacctacgc cgacacaccc gacgatttcc agctgcacaa 1620
cttcagcctg cctgaagagg acaccaagct gaagatccct ctgatccaca gagccctgca 1680
gctggcacaa agacccgtgt cactgctggc ctctccatgg acatctccca cctggctgaa 1740
aacaaatggc gccgtgaatg gcaagggcag cctgaaaggc caacctggcg acatctacca 1800
ccagacctgg gccagatact tcgtgaagtt cctggacgcc tatgccgagc acaagctgca 1860
gttttgggcc gtgacagccg agaacgaacc ttctgctgga ctgctgagcg gctacccctt 1920
tcagtgcctg ggctttacac ccgagcacca gcgggacttt atcgcccgtg atctgggacc 1980
cacactggcc aatagcaccc accataatgt gcggctgctg atgctggacg accagagact 2040
gcttctgccc cactgggcta aagtggtgct gacagatcct gaggccgcca aatacgtgca 2100
cggaatcgcc gtgcactggt atctggactt tctggcccct gccaaggcca cactgggaga 2160
gacacacaga ctgttcccca acaccatgct gttcgccagc gaagcctgtg tgggcagcaa 2220
gttttgggaa cagagcgtgc ggctcggcag ctgggataga ggcatgcagt acagccacag 2280
catcatcacc aacctgctgt accacgtcgt cggctggacc gactggaatc tggccctgaa 2340
tcctgaaggc ggccctaact gggtccgaaa cttcgtggac agccccatca tcgtggacat 2400
caccaaggac accttctaca agcagcccat gttctaccac ctgggacact tcagcaagtt 2460
catccccgag ggctctcagc gcgttggact ggtggcttcc cagaagaacg atctggacgc 2520
cgtggctctg atgcaccctg atggatctgc tgtggtggtg gtcctgaacc gcagcagcaa 2580
agatgtgccc ctgaccatca aggatcccgc cgtgggattc ctggaaacaa tcagccctgg 2640
ctactccatc cacacctacc tgtggcgtag acagtgacaa ttgttaatta agtttaaacc 2700
ctcgaggccg caagcttatc gataatcaac ctctggatta caaaatttgt gaaagattga 2760
ctggtattct taactatgtt gctcctttta cgctatgtgg atacgctgct ttaatgcctt 2820
tgtatcatgc tattgcttcc cgtatggctt tcattttctc ctccttgtat aaatcctggt 2880
tgctgtctct ttatgaggag ttgtggcccg ttgtcaggca acgtggcgtg gtgtgcactg 2940
tgtttgctga cgcaaccccc actggttggg gcattgccac cacctgtcag ctcctttccg 3000
ggactttcgc tttccccctc cctattgcca cggcggaact catcgccgcc tgccttgccc 3060
gctgctggac aggggctcgg ctgttgggca ctgacaattc cgtggtgttg tcggggaaat 3120
catcgtcctt tccttggctg ctcgcctgtg ttgccacctg gattctgcgc gggacgtcct 3180
tctgctacgt cccttcggcc ctcaatccag cggaccttcc ttcccgcggc ctgctgccgg 3240
ctctgcggcc tcttccgcgt cttcgccttc gccctcagac gagtcggatc tccctttggg 3300
ccgcctcccc gcatcgatac cgtcgactag agctcgctga tcagcctcga ctgtgccttc 3360
tagttgccag ccatctgttg tttgcccctc ccccgtgcct tccttgaccc tggaaggtgc 3420
cactcccact gtcctttcct aataaaatga ggaaattgca tcgcattgtc tgagtaggtg 3480
tcattctatt ctgggggtg gggtggggca ggacagcaag ggggaggatt gggaagacaa 3540
tagcaggcat gctggggaga gatccacgat aacaaacagc ttttttgggg tgaacatatt 3600
gactgaattc cctgcaggtt ggccactccc tctctgcgcg ctcgctcgct cactgaggcc 3660
gcccgggcaa agcccgggcg tcgggcgacc tttggtcgcc cggcctcagt gagcgagcga 3720
gcgcgcagag agggagtggc caactccatc actaggggtt cctgcggccg ctcgtacggt 3780

ctcgaggaat tcctgcagga taacttgcca acctcattct aaaatgtata tagaagccca 3840
aaagacaata acaaaaatat tcttgtagaa caaaatggga aagaatgttc cactaaatat 3900
caagatttag agcaaagcat gagatgtgtg gggatagaca gtgaggctga taaaatagag 3960
tagagctcag aaacagaccc attgatatat gtaagtgacc tatgaaaaaa atatggcatt 4020
ttacaatggg aaaatgatgg tctttttctt ttttagaaaa acagggaaat atatttatat 4080
gtaaaaaata aaagggaacc catatgtcat accatacaca caaaaaaatt ccagtgaatt 4140
ataagtctaa atggagaagg caaaacttta aatcttttag aaaataatat agaagcatgc 4200
agaccagcct ggccaacatg atgaaaccct ctctactaat aataaaatca gtagaactac 4260
tcaggactac tttgagtggg aagtcctttt ctatgaagac ttctttggcc aaaattaggc 4320
tctaaatgca aggagatagt gcatcatgcc tggctgcact tactgataaa tgatgttatc 4380
accatcttta accaaatgca caggaacaag ttatggtact gatgtgctgg attgagaagg 4440
agctctactt ccttgacagg acacatttgt atcaacttaa aaaagcagat ttttgccagc 4500
agaactattc attcagaggt aggaaactta gaatagatga tgtcactgat tagcatggct 4560
tccccatctc cacagctgct tcccacccag gttgcccaca gttgagtttg tccagtgctc 4620
agggctgccc actctcagta agaagcccca caccagcccc tctccaaata tgttggctgt 4680
tccttccatt aaagtgaccc cactttagag cagcaagtgg atttctgttt cttacagttc 4740
aggaaggagg agtcagctgt gagaacctgg agcctgagat gcttctaagt cccactgcta 4800
ctggggtcag ggaagccaga ctccagcatc agcagtcagg agcactaagc ccttgccaac 4860
atcctgtttc tcagagaaac tgcttccatt ataatggttg tccttttta agctatcaag 4920
ccaaacaacc agtgtctacc attattctca tcacctgaag ccaagggttc tagcaaaagt 4980
caagctgtct tgtaatggtt gatgtgcctc cagcttctgt cttcagtcac tccactctta 5040
gcctgctctg aatcaactct gaccacagtt ccctggagcc cctgccacct gctgcccctg 5100
ccaccttctc catctgcagt gctgtgcagc cttctgcact cttgcagagc taataggtgg 5160
agacttgaag gaagaggagg aaagtttctc ataatagcct tgctgcaagc tcaaatggga 5220
ggtgggcact gtgcccagga gccttggagc aaaggctgtg cccaacctct gactgcatcc 5280
aggtttggtc ttgacagaga taagaagccc tggcttttgg agccaaaatc taggtcagac 5340
ttaggcagga ttctcaaagt ttatcagcag aacatgaggc agaagaccct ttctgctcca 5400
gcttcttcag gctcaacctt catcagaata gatagaaaga gaggctgtga gggttcttaa 5460
aacagaagca aatctgactc agagaataaa caacctccta gtaaactaca gcttagacag 5520
agcatctggt ggtgagtgtg ctcagtgtcc tactcaactg tctggtatca gccctcatga 5580
ggacttctct tctttccctc atagacctcc atctctgttt tccttagcct gcagaaatct 5640
ggatggctat tcacagaatg cctgtgcttt cagagttgca ttttttctct ggtattctgg 5700
ttcaagcatt tgaaggtagg aaaggttctc caagtgcaag aaagccagcc ctgagcctca 5760
actgcctggc tagtgtggtc agtaggatgc aaaggctgtt gaatgccaca aggccaaact 5820
ttaacctgtg taccacaagc ctagcagcag aggcagctct gctcactgga actctctgtc 5880
ttctttctcc tgagcctttt cttttcctga gttttctagc tctcctcaac cttacctctg 5940
ccctacccag gacaaaccca agagccactg tttctgtgat gtcctctcca gccctaatta 6000
ggcatcatga cttcagcctg accttccatg ctcagaagca gtgctaatcc acttcagatg 6060
agctgctcta tgcaacacag gcagagccta caaacctttg caccagagcc ctccacatat 6120

cagtgtttgt tcatactcac ttcaacagca aatgtgactg ctgagattaa gattttacac 6180
aagatggtct gtaatttcac agttagtttt atcccattag gtatgaaaga attagcataa 6240
ttccccttaa acatgaatga atcttagatt ttttaataaa tagttttgga agtaaagaca 6300
gagacatcag gagcacaagg aatagcctga gaggacaaac agaacaagaa agagtctgga 6360
aatacacagg atgttcttgg cctcctcaaa gcaagtgcaa gcagatagta ccagcagccc 6420
caggctatca gagcccagtg aagagaagta ccatgaaagc cacagctcta accaccctgt 6480
tccagagtga cagacagtcc ccaagacaag ccagcctgag ccagagagag aactgcaaga 6540
gaaagtttct aatttaggtt ctgttagatt cagacaagtg caggtcatcc tctctccaca 6600
gctactcacc tctccagcct aacaaagcct gcagtccaca ctccaaccct ggtgtctcac 6660
ctcctagcct ctcccaacat cctgctctct gaccatcttc tgcatctctc atctcaccat 6720
ctcccactgt ctacagccta ctcttgcaac taccatctca ttttctgaca tcctgtctac 6780
atcttctgcc atactctgcc atctaccata ccacctctta ccatctacca caccatcttt 6840
tatctccatc cctctcagaa gcctccaagc tgaatcctgc tttatgtgtt catctcagcc 6900
cctgcatgga aagctgaccc cagaggcaga actattccca gagagcttgg ccaagaaaaa 6960
caaaactacc agcctggcca ggctcaggag tagtaagctg cagtgtctgt tgtgttctag 7020
cttcaacagc tgcaggagtt ccactctcaa atgctccaca tttctcacat cctcctgatt 7080
ctggtcacta cccatcttca aagaacagaa tatctcacat cagcatactg tgaaggacta 7140
gtcatgggtg cagctgctca gagctgcaaa gtcattctgg atggtggaga gcttacaaac 7200
atttcatgat gctccccccg ctctgatggc tggagcccaa tccctacaca gactcctgct 7260
gtatgtgttt tcctttcact ctgagccaca gccagagggc aggcattcag tctcctcttc 7320
aggctggggc tggggcactg agaactcacc caacaccttg ctctcactcc ttctgcaaaa 7380
caagaaagag ctttgtgctg cagtagccat gaagaatgaa aggaaggctt taactaaaaa 7440
atgtcagaga ttattttcaa ccccttactg tggatcacca gcaaggagga aacacaacac 7500
agagacattt tttcccctca aattatcaaa agaatcactg catttgttaa agagagcaac 7560
tgaatcagga agcagagttt tgaacatatc agaagttagg aatctgcatc agagacaaat 7620
gcagtcatgg ttgtttgctg cataccagcc ctaatcatta gaagcctcat ggacttcaaa 7680
catcattccc tctgacaaga tgctctagcc taactccatg agataaaata aatctgcctt 7740
tcagagccaa agaagagtcc accagcttct tctcagtgtg aacaagagct ccagtcaggt 7800
tagtcagtcc agtgcagtag aggagaccag tctgcatcct ctaattttca aaggcaagaa 7860
gatttgttta ccctggacac caggcacaag tgaggtcaca gagctcttag atatgcagtc 7920
ctcatgagtg aggagactaa agcgcatgcc atcaagactt cagtgtagag aaaacctcca 7980
aaaaagcctc ctcactactt ctggaatagc tcagaggccg aggcggcctc ggcctctgca 8040
taaataaaaa aaattagtca gccatggggc ggagaatggg cggaactggg cggagttagg 8100
ggcgggatgg gcggagttag gggcgggact atggttgctg actaattgag atgcatgctt 8160
tgcatacttc tgcctgctgg ggagcctggg gactttccac acctggttgc tgactaattg 8220
agatgcatgc tttgcatact tctgcctgct ggggagcctg gggactttcc acaccctaac 8280
tgacacacat tccacagctg cattaatgaa tcggccaacg cgcggggaga ggcggtttgc 8340
gtattgggcg ctcttccgct tcctcgctca ctgactcgct gcgctcggtc gttcggctgc 8400
ggcgagcggt atcagctcac tcaaaggcgg taatacggtt atccacagaa tcaggggata 8460

acgcaggaaa gaacatgtga gcaaaaggcc agcaaaaggc caggaaccgt aaaaaggccg 8520
cgttgctggc gtttttccat aggctccgcc cccctgacga gcatcacaaa aatcgacgct 8580
caagtcagag gtggcgaaac ccgacaggac tataaagata ccaggcgttt cccccctggaa 8640
gctccctcgt gcgctctcct gttccgaccc tgccgcttac cggatacctg tccgcctttc 8700
tcccttcggg aagcgtggcg ctttctcata gctcacgctg taggtatctc agttcggtgt 8760
aggtcgttcg ctccaagctg ggctgtgtgc acgaaccccc cgttcagccc gaccgctgcg 8820
ccttatccgg taactatcgt cttgagtcca acccggtaag acacgactta tcgccactgg 8880
cagcagccac tggtaacagg attagcagag cgaggtatgt aggcggtgct acagagttct 8940
tgaagtggtg gcctaactac ggctacacta gaagaacagt atttggtatc tgcgctctgc 9000
tgaagccagt taccttcgga aaaagagttg gtagctcttg atccggcaaa caaaccaccg 9060
ctggtagcgg tggtttttt gtttgcaagc agcagattac gcgcagaaaa aaaggatctc 9120
aagaagatcc tttgatcttt tctacggggt ctgacgctca gtggaacgaa aactcacgtt 9180
aagggatttt ggtcatgaga ttatcaaaaa ggatcttcac ctagatcctt ttaaattaaa 9240
aatgaagttt taaatcaatc taaagtatat atgagtaaac ttggtctgac agttaccaat 9300
gcttaatcag tgaggcacct atctcagcga tctgtctatt tcgttcatcc atagttgcct 9360
gactcctgca aaccacgttg tgtctcaaaa tctctgatgt tacattgcac aagataaaaa 9420
tatatcatca tgaacaataa aactgtctgc ttacataaac agtaatacaa ggggtgttat 9480
gagccatatt caacgggaaa cgtcttgctc gaggccgcga ttaaattcca acatggatgc 9540
tgatttatat gggtataaat gggctcgcga taatgtcggg caatcaggtg cgacaatcta 9600
tcgattgtat gggaagcccg atgcgccaga gttgtttctg aaacatggca aaggtagcgt 9660
tgccaatgat gttacagatg agatggtcag actaaactgg ctgacggaat ttatgcctct 9720
tccgaccatc aagcatttta tccgtactcc tgatgatgca tggttactca ccactgcgat 9780
ccccgggaaa acagcattcc aggtattaga agaatatcct gattcaggtg aaaatattgt 9840
tgatgcgctg gcagtgttcc tgcgccggtt gcattcgatt cctgtttgta attgtccttt 9900
taacagcgat cgcgtatttc gtctcgctca ggcgcaatca cgaatgaata acggtttggt 9960
tgatgcgagt gattttgatg acgagcgtaa tggctggcct gttgaacaag tctggaaaga 10020
aatgcataag cttttgccat tctcaccgga ttcagtcgtc actcatggtg atttctcact 10080
tgataacctt atttttgacg aggggaaatt aataggttgt attgatgttg gacgagtcgg 10140
aatcgcagac cgataccagg atcttgccat cctatggaac tgcctcggtg agttttctcc 10200
ttcattacag aaacggcttt ttcaaaaata tggtattgat aatcctgata tgaataaatt 10260
gcagtttcat ttgatgctcg atgagttttt ctaagggcgg cctgccacca tacccacgcc 10320
gaaacaagcg ctcatgagcc cgaagtggcg agcccgatct tccccatcgg tgatgtcggc 10380
gatataggcg ccagcaaccg cacctgtggc gccggtgatg agggcgcgcc aagtcgacgt 10440
ccggcagtct tggccactcc ctctctgcgc gctcgctcgc tcactgaggc cgggcgacca 10500
aaggtcgccc gacgcccggg ctttgcccgg gcggcctcag tgagcgagcg agcgcgcaga 10560
gagggagtgg ccaactccat cactaggggt tcctgctagc tctgggtatt taagcccgag 10620
tgagcacgca gggtctccat tttgaagcgg gaggttacgc gttcgtcgac tactagtggg 10680
taccagagcg tggtgactga gatgttttct aggaaacaca aaagatacaa aaaagaacac 10740
gtggaaggat agccaaaaag gggggctgcc cccatttcct gcaccccgct gcgatggctg 10800

gcaccatttg gaagacttcg agatacactg ttgagcgcag taagacaaca gtgtatctcg 10860
aagtcttcca gatggggcca gccggtccac tctgtatcca ggccagttct gcaaggcgtt 10920
cgaggaccac ccccctcccc tcgccaccag ggtggtctca tacagaactt ataagattcc 10980
caaatccaaa gacatttcac gtttatggtg atttcccaga acacatagcg acatgcaaat 11040
attgcagggc gccactcccc tgtccctcac agccatcttc ctgccagggc gcacgcgcgc 11100
tgggtgttcc cgcctagtga cactgggccc gcgattcctt ggagcgggtt gatgacgtca 11160
gcgtttccca tggtgaatcc ctaggtt 11187

<210> 13
<211> 10960
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多核苷酸
<400> 13

ttggccactc cctctctgcg cgctcgctcg ctcactgagg ccgggcgacc aaaggtcgcc 60
cgacgcccgg gctttgcccg ggcggcctca gtgagcgagc gagcgcgcag agagggagtg 120
gccaactcca tcactagggg ttcctgctag ctctgggtat ttaagcccga gtgagcacgc 180
agggtctcca ttttgaagcg ggaggttacg cgttcgtcga ctactagtgg gtaccagagc 240
tccctaggtt ctagaaccgg tgacgtctcc catggtgaag cttggatctg aattcggtac 300
cctagttatt aatagtaatc aattacgggg tcattagttc atagcccata tatggagttc 360
cgcgttacat aacttacggt aaatggcccg cctggctgac cgcccaacga cccccgccca 420
ttgacgtcaa taatgacgta tgttcccata gtaacgccaa tagggacttt ccattgacgt 480
caatgggtgg actatttacg gtaaactgcc cacttggcag tacatcaagt gtatcatatg 540
ccaagtacgc cccctattga cgtcaatgac ggtaaatggc ccgcctggca ttatgcccag 600
tacatgacct tatgggactt tcctacttgg cagtacatct acgtattagt catcgctatt 660
accatggtcg aggtgagccc cacgttctgc ttcactctcc ccatctcccc cccctcccca 720
cccccaattt tgtatttatt tatttttaa ttattttgtg cagcgatggg ggcgggggggg 780
ggggggggcc gcgcgccagg cggggcgggg cggggcgagg ggcggggcgg ggcgaggcgg 840
agaggtgcgg cggcagccaa tcagagcggc gcgctccgaa agtttccttt tatggcgagg 900
cggcggcggc ggcggcccta taaaaagcga agcgcgcggc gggcgggagt cgctgcgacg 960
ctgccttcgc cccgtgcccc gctccgccgc cgcctcgcgc cgcccgcccc ggctctgact 1020
gaccgcgtta ctcccacagg tgagcgggcg ggacggccct tctcctccgg gctgtaatta 1080
gcgcttggtt taatgacggc ttgtcctggt ggcgagggga ggggggtggt cctcgaacgc 1140
cttgcagaac tggcctggat acagagtgga ccggctggcc ccatctggaa gacttcgaga 1200
tacactgttg tcttactgcg ctcaacagtg tatctcgaag tcttccaaat ggtgccagcc 1260
atcgcagcgg ggtgcaggaa atgggggcag ccccccttt tggctatcct tccacgtgtt 1320
ctttttgta tcttttgtgt ttcctagaaa acatctcagt caccaccttt ctgtggctgc 1380
gtgaaagcct tgaggggctc cgggagctag agcctctgct aaccatgttc atgccttctt 1440
ctttttccta cagctcctgg gcaacgtgct ggttattgtg ctgtctcatc attttggcaa 1500

agaattcctc gaagatccga agggaaagtc ttccacgact gtgggatccg ttcgaagata 1560
tcaccggttg agccaccatg gaattcagca gccccagcag agaggaatgc cccaagcctc 1620
tgagccgggt gtcaatcatg gccggatctc tgacaggact gctgctgctt caggccgtgt 1680
cttgggcttc tggcgctaga ccttgcatcc ccaagagctt cggctacagc agcgtcgtgt 1740
gcgtgtgcaa tgccacctac tgcgacagct tcgaccctcc tacctttcct gctctgggca 1800
ccttcagcag atacgagagc accagatccg gcagacggat ggaactgagc atgggaccca 1860
tccaggccaa tcacacaggc actggcctgc tgctgacact gcagcctgag cagaaattcc 1920
agaaagtgaa aggcttcggc ggagccatga cagatgccgc cgctctgaat atcctggctc 1980
tgtctccacc agctcagaac ctgctgctca agagctactt cagcgaggaa ggcatcggct 2040
acaacatcat cagagtgccc atggccagct gcgacttcag catcaggacc tacacctacg 2100
ccgacacacc cgacgatttc cagctgcaca acttcagcct gcctgaagag gacaccaagc 2160
tgaagatccc tctgatccac agagccctgc agctggcaca aagacccgtg tcactgctgg 2220
cctctccatg gacatctccc acctggctga aaacaaatgg cgccgtgaat ggcaagggca 2280
gcctgaaagg ccaacctggc gacatctacc accagacctg ggccagatac ttcgtgaagt 2340
tcctggacgc ctatgccgag cacaagctgc agttttgggc cgtgacagcc gagaacgaac 2400
cttctgctgg actgctgagc ggctacccct ttcagtgcct gggctttaca cccgagcacc 2460
agcgggactt tatcgcccgt gatctgggac ccacactggc caatagcacc caccataatg 2520
tgcggctgct gatgctggac gaccagagac tgcttctgcc ccactgggct aaagtggtgc 2580
tgacagatcc tgaggccgcc aaatacgtgc acggaatcgc cgtgcactgg tatctggact 2640
ttctggcccc tgccaaggcc acactgggag agacacacag actgttcccc aacaccatgc 2700
tgttcgccag cgaagcctgt gtgggcagca agttttggga acagagcgtg cggctcggca 2760
gctgggatag aggcatgcag tacagccaca gcatcatcac caacctgctg taccacgtcg 2820
tcggctggac cgactggaat ctggccctga atcctgaagg cggccctaac tgggtccgaa 2880
acttcgtgga cagccccatc atcgtggaca tcaccaagga caccttctac aagcagccca 2940
tgttctacca cctgggacac ttcagcaagt tcatccccga gggctctcag cgcgttggac 3000
tggtggcttc ccagaagaac gatctggacg ccgtggctct gatgcaccct gatggatctg 3060
ctgtggtggt ggtcctgaac cgcagcagca aagatgtgcc cctgaccatc aaggatcccg 3120
ccgtgggatt cctggaaaca atcagccctg gctactccat ccacacctac ctgtggcgta 3180
gacagtgaca attgttaatt aagtttaaac cctcgaggcc gcaagcttat cgataatcaa 3240
cctctggatt acaaaatttg tgaaagattg actggtattc ttaactatgt tgctcctttt 3300
acgctatgtg gatacgctgc tttaatgcct ttgtatcatg ctattgcttc ccgtatggct 3360
ttcattttct cctccttgta taaatcctgg ttgctgtctc tttatgagga gttgtggccc 3420
gttgtcaggc aacgtggcgt ggtgtgcact gtgtttgctg acgcaacccc cactggttgg 3480
ggcattgcca ccacctgtca gctcctttcc gggactttcg ctttcccccc ccctattgcc 3540
acggcggaac tcatcgccgc ctgccttgcc cgctgctgga caggggctcg gctgttgggc 3600
actgacaatt ccgtggtgtt gtcggggaaa tcatcgtcct ttccttggct gctcgcctgt 3660
gttgccacct ggattctgcg cgggacgtcc ttctgctacg tcccttcggc cctcaatcca 3720
gcggaccttc cttcccgcgg cctgctgccg gctctgcggc ctcttccgcg tcttcgcctt 3780
cgccctcaga cgagtcggat ctccctttgg gccgcctccc cgcatcgata ccgtcgacta 3840

gagctcgctg atcagcctcg actgtgcctt ctagttgcca gccatctgtt gtttgcccct 3900
cccccgtgcc ttccttgacc ctggaaggtg ccactcccac tgtcctttcc taataaaatg 3960
aggaaattgc atcgcattgt ctgagtaggt gtcattctat tctgggggggt ggggtggggc 4020
aggacagcaa gggggaggat tgggaagaca atagcaggca tgctggggag agatccacga 4080
taacaaacag ctttttgggg gtgaacatat tgactgaatt ccctgcaggt tggccactcc 4140
ctctctgcgc gctcgctcgc tcactgaggc cgcccgggca aagcccgggc gtcgggcgac 4200
ctttggtcgc ccggcctcag tgagcgagcg agcgcgcaga gagggagtgg ccaactccat 4260
cactaggggt tcctgcggcc gctcgtacgg tctcgaggaa ttcctgcagg ataacttgcc 4320
aacctcattc taaaatgtat atagaagccc aaaagacaat aacaaaaata ttcttgtaga 4380
acaaaatggg aaagaatgtt ccactaaata tcaagattta gagcaaagca tgagatgtgt 4440
ggggatagac agtgaggctg ataaaataga gtagagctca gaaacagacc cattgatata 4500
tgtaagtgac ctatgaaaaa aatatggcat tttacaatgg gaaaatgatg gtctttttct 4560
tttttagaaa aacagggaaa tatatttata tgtaaaaaat aaaagggaac ccatatgtca 4620
taccatacac acaaaaaaat tccagtgaat tataagtcta aatggagaag gcaaaacttt 4680
aaatctttta gaaaataata tagaagcatg cagaccagcc tggccaacat gatgaaaccc 4740
tctctactaa taataaaatc agtagaacta ctcaggacta ctttgagtgg gaagtccttt 4800
tctatgaaga cttctttggc caaaattagg ctctaaatgc aaggagatag tgcatcatgc 4860
ctggctgcac ttactgataa atgatgttat caccatcttt aaccaaatgc acaggaacaa 4920
gttatggtac tgatgtgctg gattgagaag gagctctact tccttgacag gacacatttg 4980
tatcaactta aaaaagcaga tttttgccag cagaactatt cattcagagg taggaaactt 5040
agaatagatg atgtcactga ttagcatggc ttccccatct ccacagctgc ttcccaccca 5100
ggttgcccac agttgagttt gtccagtgct cagggctgcc cactctcagt aagaagcccc 5160
acaccagccc ctctccaaat atgttggctg ttccttccat taaagtgacc ccactttaga 5220
gcagcaagtg gatttctgtt tcttacagtt caggaaggag gagtcagctg tgagaacctg 5280
gagcctgaga tgcttctaag tcccactgct actggggtca gggaagccag actccagcat 5340
cagcagtcag gagcactaag cccttgccaa catcctgttt ctcagagaaa ctgcttccat 5400
tataatggtt gtccttttt aagctatcaa gccaaacaac cagtgtctac cattattctc 5460
atcacctgaa gccaagggtt ctagcaaaag tcaagctgtc ttgtaatggt tgatgtgcct 5520
ccagcttctg tcttcagtca ctccactctt agcctgctct gaatcaactc tgaccacagt 5580
tccctggagc ccctgccacc tgctgcccct gccaccttct ccatctgcag tgctgtgcag 5640
ccttctgcac tcttgcagag ctaataggtg gagacttgaa ggaagaggag gaaagtttct 5700
cataatagcc ttgctgcaag ctcaaatggg aggtgggcac tgtgcccagg agccttggag 5760
caaaggctgt gcccaacctc tgactgcatc caggtttggt cttgacagag ataagaagcc 5820
ctggcttttg gagccaaaat ctaggtcaga cttaggcagg attctcaaag tttatcagca 5880
gaacatgagg cagaagaccc tttctgctcc agcttcttca ggctcaacct tcatcagaat 5940
agatagaaag agaggctgtg agggttctta aaacagaagc aaatctgact cagagaataa 6000
acaacctcct agtaaactac agcttagaca gagcatctgg tggtgagtgt gctcagtgtc 6060
ctactcaact gtctggtatc agccctcatg aggacttctc ttctttccct catagacctc 6120
catctctgtt ttccttagcc tgcagaaatc tggatggcta ttcacagaat gcctgtgctt 6180

tcagagttgc attttttctc tggtattctg gttcaagcat ttgaaggtag gaaaggttct 6240
ccaagtgcaa gaaagccagc cctgagcctc aactgcctgg ctagtgtggt cagtaggatg 6300
caaaggctgt tgaatgccac aaggccaaac tttaacctgt gtaccacaag cctagcagca 6360
gaggcagctc tgctcactgg aactctctgt cttctttctc ctgagccttt tcttttcctg 6420
agttttctag ctctcctcaa ccttacctct gccctaccca ggacaaaccc aagagccact 6480
gtttctgtga tgtcctctcc agccctaatt aggcatcatg acttcagcct gaccttccat 6540
gctcagaagc agtgctaatc cacttcagat gagctgctct atgcaacaca ggcagagcct 6600
acaaaccttt gcaccagagc cctccacata tcagtgtttg ttcatactca cttcaacagc 6660
aaatgtgact gctgagatta agattttaca caagatggtc tgtaatttca cagttagttt 6720
tatcccatta ggtatgaaag aattagcata attcccctta aacatgaatg aatcttagat 6780
tttttaataa atagttttgg aagtaaagac agagacatca ggagcacaag gaatagcctg 6840
agaggacaaa cagaacaaga aagagtctgg aaatacacag gatgttcttg gcctcctcaa 6900
agcaagtgca agcagatagt accagcagcc ccaggctatc agagcccagt gaagagaagt 6960
accatgaaag ccacagctct aaccaccctg ttccagagtg acagacagtc cccaagacaa 7020
gccagcctga gccagagaga gaactgcaag agaaagtttc taatttaggt tctgttagat 7080
tcagacaagt gcaggtcatc ctctctccac agctactcac ctctccagcc taacaaagcc 7140
tgcagtccac actccaaccc tggtgtctca cctcctagcc tctcccaaca tcctgctctc 7200
tgaccatctt ctgcatctct catctcacca tctcccactg tctacagcct actcttgcaa 7260
ctaccatctc attttctgac atcctgtcta catcttctgc catactctgc catctaccat 7320
accacctctt accatctacc acaccatctt ttatctccat ccctctcaga agcctccaag 7380
ctgaatcctg ctttatgtgt tcatctcagc ccctgcatgg aaagctgacc ccagaggcag 7440
aactattccc agagagcttg gccaagaaaa acaaaactac cagcctggcc aggctcagga 7500
gtagtaagct gcagtgtctg ttgtgttcta gcttcaacag ctgcaggagt tccactctca 7560
aatgctccac atttctcaca tcctcctgat tctggtcact acccatcttc aaagaacaga 7620
atatctcaca tcagcatact gtgaaggact agtcatgggt gcagctgctc agagctgcaa 7680
agtcattctg gatggtggag agcttacaaa catttcatga tgctcccccc gctctgatgg 7740
ctggagccca atccctacac agactcctgc tgtatgtgtt ttcctttcac tctgagccac 7800
agccagaggg caggcattca gtctcctctt caggctgggg ctggggcact gagaactcac 7860
ccaacacctt gctctcactc cttctgcaaa acaagaaaga gctttgtgct gcagtagcca 7920
tgaagaatga aaggaaggct ttaactaaaa aatgtcagag attattttca acccccttact 7980
gtggatcacc agcaaggagg aaacacaaca cagagacatt ttttcccctc aaattatcaa 8040
aagaatcact gcatttgtta aagagagcaa ctgaatcagg aagcagagtt ttgaacatat 8100
cagaagttag gaatctgcat cagagacaaa tgcagtcatg gttgtttgct gcataccagc 8160
cctaatcatt agaagcctca tggacttcaa acatcattcc ctctgacaag atgctctagc 8220
ctaactccat gagataaaat aaatctgcct ttcagagcca aagaagagtc caccagcttc 8280
ttctcagtgt gaacaagagc tccagtcagg ttagtcagtc cagtgcagta gaggagacca 8340
gtctgcatcc tctaatttc aaaggcaaga agatttgttt accctggaca ccaggcacaa 8400
gtgaggtcac agagctctta gatatgcagt cctcatgagt gaggagacta aagcgcatgc 8460
catcaagact tcagtgtaga gaaaacctcc aaaaaagcct cctcactact tctggaatag 8520

ctcagaggcc gaggcggcct cggcctctgc ataaataaaa aaaattagtc agccatgggg 8580
cggagaatgg gcggaactgg gcggagttag gggcgggatg ggcggagtta ggggcgggac 8640
tatggttgct gactaattga gatgcatgct ttgcatactt ctgcctgctg gggagcctgg 8700
ggactttcca cacctggttg ctgactaatt gagatgcatg ctttgcatac ttctgcctgc 8760
tggggagcct ggggactttc cacaccctaa ctgacacaca ttccacagct gcattaatga 8820
atcggccaac gcgcggggag aggcggtttg cgtattgggc gctcttccgc ttcctcgctc 8880
actgactcgc tgcgctcggt cgttcggctg cggcgagcgg tatcagctca ctcaaaggcg 8940
gtaatacggt tatccacaga atcaggggat aacgcaggaa agaacatgtg agcaaaaggc 9000
cagcaaaagg ccaggaaccg taaaaaggcc gcgttgctgg cgtttttcca taggctccgc 9060
ccccctgacg agcatcacaa aaatcgacgc tcaagtcaga ggtggcgaaa cccgacagga 9120
ctataaagat accaggcgtt tccccctgga agctccctcg tgcgctctcc tgttccgacc 9180
ctgccgctta ccggatacct gtccgccttt ctcccttcgg gaagcgtggc gctttctcat 9240
agctcacgct gtaggtatct cagttcggtg taggtcgttc gctccaagct gggctgtgtg 9300
cacgaacccc ccgttcagcc cgaccgctgc gccttatccg gtaactatcg tcttgagtcc 9360
aacccggtaa gacacgactt atcgccactg gcagcagcca ctggtaacag gattagcaga 9420
gcgaggtatg taggcggtgc tacagagttc ttgaagtggt ggcctaacta cggctacact 9480
agaagaacag tatttggtat ctgcgctctg ctgaagccag ttaccttcgg aaaaagagtt 9540
ggtagctctt gatccggcaa acaaaccacc gctggtagcg gtggtttttt tgtttgcaag 9600
cagcagatta cgcgcagaaa aaaaggatct caagaagatc ctttgatctt ttctacgggg 9660
tctgacgctc agtggaacga aaactcacgt taagggattt tggtcatgag attatcaaaa 9720
aggatcttca cctagatcct tttaaattaa aaatgaagtt ttaaatcaat ctaaagtata 9780
tatgagtaaa cttggtctga cagttaccaa tgcttaatca gtgaggcacc tatctcagcg 9840
atctgtctat ttcgttcatc catagttgcc tgactcctgc aaaccacgtt gtgtctcaaa 9900
atctctgatg ttacattgca caagataaaa atatatcatc atgaacaata aaactgtctg 9960
cttacataaa cagtaataca aggggtgtta tgagccatat tcaacgggaa acgtcttgct 10020
cgaggccgcg attaaattcc aacatggatg ctgatttata tgggtataaa tgggctcgcg 10080
ataatgtcgg gcaatcaggt gcgacaatct atcgattgta tgggaagccc gatgcgccag 10140
agttgtttct gaaacatggc aaaggtagcg ttgccaatga tgttacagat gagatggtca 10200
gactaaactg gctgacggaa tttatgcctc ttccgaccat caagcatttt atccgtactc 10260
ctgatgatgc atggttactc accactgcga tccccgggaa aacagcattc caggtattag 10320
aagaatatcc tgattcaggt gaaaatattg ttgatgcgct ggcagtgttc ctgcgccggt 10380
tgcattcgat tcctgtttgt aattgtcctt ttaacagcga tcgcgtattt cgtctcgctc 10440
aggcgcaatc acgaatgaat aacggtttgg ttgatgcgag tgattttgat gacgagcgta 10500
atggctggcc tgttgaacaa gtctggaaag aaatgcataa gcttttgcca ttctcaccgg 10560
attcagtcgt cactcatggt gatttctcac ttgataacct tatttttgac gaggggaaat 10620
taataggttg tattgatgtt ggacgagtcg gaatcgcaga ccgataccag gatcttgcca 10680
tcctatggaa ctgcctcggt gagttttctc cttcattaca gaaacggctt tttcaaaaat 10740
atggtattga taatcctgat atgaataaat tgcagtttca tttgatgctc gatgagtttt 10800
tctaagggcg gcctgccacc atacccacgc cgaaacaagc gctcatgagc ccgaagtggc 10860

gagcccgatc ttccccatcg gtgatgtcgg cgatataggc gccagcaacc gcacctgtgg 10920
cgccggtgat gagggcgcgc caagtcgacg tccggcagtc 10960

<210> 14
<211> 536
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 14

Met Glu Phe Ser Ser Pro Ser Arg Glu Glu Cys Pro Lys Pro Leu Ser
1 5 10 15
Arg Val Ser Ile Met Ala Gly Ser Leu Thr Gly Leu Leu Leu Leu Gln
20 25 30
Ala Val Ser Trp Ala Ser Gly Ala Arg Pro Cys Ile Pro Lys Ser Phe
35 40 45
Gly Tyr Ser Ser Val Val Cys Val Cys Asn Ala Thr Tyr Cys Asp Ser
50 55 60
Phe Asp Pro Pro Thr Phe Pro Ala Leu Gly Thr Phe Ser Arg Tyr Glu
65 70 75 80
Ser Thr Arg Ser Gly Arg Arg Met Glu Leu Ser Met Gly Pro Ile Gln
85 90 95
Ala Asn His Thr Gly Thr Gly Leu Leu Leu Thr Leu Gln Pro Glu Gln
100 105 110
Lys Phe Gln Lys Val Lys Gly Phe Gly Gly Ala Met Thr Asp Ala Ala
115 120 125
Ala Leu Asn Ile Leu Ala Leu Ser Pro Pro Ala Gln Asn Leu Leu Leu
130 135 140
Lys Ser Tyr Phe Ser Glu Glu Gly Ile Gly Tyr Asn Ile Ile Arg Val
145 150 155 160
Pro Met Ala Ser Cys Asp Phe Ser Ile Arg Thr Tyr Thr Tyr Ala Asp
165 170 175
Thr Pro Asp Asp Phe Gln Leu His Asn Phe Ser Leu Pro Glu Glu Asp
180 185 190
Thr Lys Leu Lys Ile Pro Leu Ile His Arg Ala Leu Gln Leu Ala Gln
195 200 205
Arg Pro Val Ser Leu Leu Ala Ser Pro Trp Thr Ser Pro Thr Trp Leu
210 215 220
Lys Thr Asn Gly Ala Val Asn Gly Lys Gly Ser Leu Lys Gly Gln Pro
225 230 235 240
Gly Asp Ile Tyr His Gln Thr Trp Ala Arg Tyr Phe Val Lys Phe Leu
245 250 255

Asp Ala Tyr Ala Glu His Lys Leu Gln Phe Trp Ala Val Thr Ala Glu
260 265 270
Asn Glu Pro Ser Ala Gly Leu Leu Ser Gly Tyr Pro Phe Gln Cys Leu
275 280 285
Gly Phe Thr Pro Glu His Gln Arg Asp Phe Ile Ala Arg Asp Leu Gly
290 295 300
Pro Thr Leu Ala Asn Ser Thr His His Asn Val Arg Leu Leu Met Leu
305 310 315 320
Asp Asp Gln Arg Leu Leu Leu Pro His Trp Ala Lys Val Val Leu Thr
325 330 335
Asp Pro Glu Ala Ala Lys Tyr Val His Gly Ile Ala Val His Trp Tyr
340 345 350
Leu Asp Phe Leu Ala Pro Ala Lys Ala Thr Leu Gly Glu Thr His Arg
355 360 365
Leu Phe Pro Asn Thr Met Leu Phe Ala Ser Glu Ala Cys Val Gly Ser
370 375 380
Lys Phe Trp Glu Gln Ser Val Arg Leu Gly Ser Trp Asp Arg Gly Met
385 390 395 400
Gln Tyr Ser His Ser Ile Ile Thr Asn Leu Leu Tyr His Val Val Gly
405 410 415
Trp Thr Asp Trp Asn Leu Ala Leu Asn Pro Glu Gly Gly Pro Asn Trp
420 425 430
Val Arg Asn Phe Val Asp Ser Pro Ile Ile Val Asp Ile Thr Lys Asp
435 440 445
Thr Phe Tyr Lys Gln Pro Met Phe Tyr His Leu Gly His Phe Ser Lys
450 455 460
Phe Ile Pro Glu Gly Ser Gln Arg Val Gly Leu Val Ala Ser Gln Lys
465 470 475 480
Asn Asp Leu Asp Ala Val Ala Leu Met His Pro Asp Gly Ser Ala Val
485 490 495
Val Val Val Leu Asn Arg Ser Ser Lys Asp Val Pro Leu Thr Ile Lys
500 505 510
Asp Pro Ala Val Gly Phe Leu Glu Thr Ile Ser Pro Gly Tyr Ser Ile
515 520 525
His Thr Tyr Leu Trp Arg Arg Gln
530 535

<210> 15

<211> 1608

<212> DNA

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 15

atggaattca gcagccccag cagagaggaa tgccccaagc ctctgagccg ggtgtcaatc 60
atggccggat ctctgacagg actgctgctg cttcaggccg tgtcttgggc ttctggcgct 120
agaccttgca tccccaagag cttcggctac agcagcgtcg tgtgcgtgtg caatgccacc 180
tactgcgaca gcttcgaccc tcctaccttt cctgctctgg gcaccttcag cagatacgag 240
agcaccagat ccggcagacg gatggaactg agcatgggac ccatccaggc caatcacaca 300
ggcactggcc tgctgctgac actgcagcct gagcagaaat tccagaaagt gaaaggcttc 360
ggcggagcca tgacagatgc cgccgctctg aatatcctgg ctctgtctcc accagctcag 420
aacctgctgc tcaagagcta cttcagcgag gaaggcatcg gctacaacat catcagagtg 480
cccatggcca gctgcgactt cagcatcagg acctacacct acgccgacac acccgacgat 540
ttccagctgc acaacttcag cctgcctgaa gaggacacca agctgaagat ccctctgatc 600
cacagagccc tgcagctggc acaaagaccc gtgtcactgc tggcctctcc atggacatct 660
cccacctggc tgaaaacaaa tggcgccgtg aatggcaagg gcagcctgaa aggccaacct 720
ggcgacatct accaccagac ctgggccaga tacttcgtga agttcctgga cgcctatgcc 780
gagcacaagc tgcagttttg ggccgtgaca gccgagaacg aaccttctgc tggactgctg 840
agcggctacc cctttcagtg cctgggcttt acacccgagc accagcggga ctttatcgcc 900
cgtgatctgg gacccacact ggccaatagc acccaccata atgtgcggct gctgatgctg 960
gacgaccaga gactgcttct gccccactgg gctaaagtgg tgctgacaga tcctgaggcc 1020
gccaaatacg tgcacggaat cgccgtgcac tggtatctgg actttctggc ccctgccaag 1080
gccacactgg gagagacaca cagactgttc cccaacacca tgctgttcgc cagcgaagcc 1140
tgtgtgggca gcaagttttg ggaacagagc gtgcggctcg gcagctggga tagaggcatg 1200
cagtacagcc acagcatcat caccaacctg ctgtaccacg tcgtcggctg gaccgactgg 1260
aatctggccc tgaatcctga aggcggccct aactgggtcc gaaacttcgt ggacagcccc 1320
atcatcgtgg acatcaccaa ggacaccttc tacaagcagc ccatgttcta ccacctggga 1380
cacttcagca agttcatccc cgagggctct cagcgcgttg gactggtggc ttcccagaag 1440
aacgatctgg acgccgtggc tctgatgcac cctgatggat ctgctgtggt ggtggtcctg 1500
aaccgcagca gcaaagatgt gcccctgacc atcaaggatc ccgccgtggg attcctggaa 1560
acaatcagcc ctggctactc catccacacc tacctgtggc gtagacag 1608

<210> 16

<211> 524

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 16

Met Tyr Ala Leu Phe Leu Leu Ala Ser Leu Leu Gly Ala Ala Leu Ala
1 5 10 15
Gly Pro Val Leu Gly Leu Lys Glu Cys Thr Arg Gly Ser Ala Val Trp
20 25 30
Cys Gln Asn Val Lys Thr Ala Ser Asp Cys Gly Ala Val Lys His Cys

35 40 45

Leu Gln Thr Val Trp Asn Lys Pro Thr Val Lys Ser Leu Pro Cys Asp
50 55 60

Ile Cys Lys Asp Val Val Thr Ala Ala Gly Asp Met Leu Lys Asp Asn
65 70 75 80

Ala Thr Glu Glu Glu Ile Leu Val Tyr Leu Glu Lys Thr Cys Asp Trp
85 90 95

Leu Pro Lys Pro Asn Met Ser Ala Ser Cys Lys Glu Ile Val Asp Ser
100 105 110

Tyr Leu Pro Val Ile Leu Asp Ile Ile Lys Gly Glu Met Ser Arg Pro
115 120 125

Gly Glu Val Cys Ser Ala Leu Asn Leu Cys Glu Ser Leu Gln Lys His
130 135 140

Leu Ala Glu Leu Asn His Gln Lys Gln Leu Glu Ser Asn Lys Ile Pro
145 150 155 160

Glu Leu Asp Met Thr Glu Val Val Ala Pro Phe Met Ala Asn Ile Pro
165 170 175

Leu Leu Leu Tyr Pro Gln Asp Gly Pro Arg Ser Lys Pro Gln Pro Lys
180 185 190

Asp Asn Gly Asp Val Cys Gln Asp Cys Ile Gln Met Val Thr Asp Ile
195 200 205

Gln Thr Ala Val Arg Thr Asn Ser Thr Phe Val Gln Ala Leu Val Glu
210 215 220

His Val Lys Glu Glu Cys Asp Arg Leu Gly Pro Gly Met Ala Asp Ile
225 230 235 240

Cys Lys Asn Tyr Ile Ser Gln Tyr Ser Glu Ile Ala Ile Gln Met Met
245 250 255

Met His Met Gln Pro Lys Glu Ile Cys Ala Leu Val Gly Phe Cys Asp
260 265 270

Glu Val Lys Glu Met Pro Met Gln Thr Leu Val Pro Ala Lys Val Ala
275 280 285

Ser Lys Asn Val Ile Pro Ala Leu Glu Leu Val Glu Pro Ile Lys Lys
290 295 300

His Glu Val Pro Ala Lys Ser Asp Val Tyr Cys Glu Val Cys Glu Phe
305 310 315 320

Leu Val Lys Glu Val Thr Lys Leu Ile Asp Asn Asn Lys Thr Glu Lys
325 330 335

Glu Ile Leu Asp Ala Phe Asp Lys Met Cys Ser Lys Leu Pro Lys Ser
340 345 350

Leu Ser Glu Glu Cys Gln Glu Val Val Asp Thr Tyr Gly Ser Ser Ile
355 360 365
Leu Ser Ile Leu Leu Glu Glu Val Ser Pro Glu Leu Val Cys Ser Met
370 375 380
Leu His Leu Cys Ser Gly Thr Arg Leu Pro Ala Leu Thr Val His Val
385 390 395 400
Thr Gln Pro Lys Asp Gly Gly Phe Cys Glu Val Cys Lys Lys Leu Val
405 410 415
Gly Tyr Leu Asp Arg Asn Leu Glu Lys Asn Ser Thr Lys Gln Glu Ile
420 425 430
Leu Ala Ala Leu Glu Lys Gly Cys Ser Phe Leu Pro Asp Pro Tyr Gln
435 440 445
Lys Gln Cys Asp Gln Phe Val Ala Glu Tyr Glu Pro Val Leu Ile Glu
450 455 460
Ile Leu Val Glu Val Met Asp Pro Ser Phe Val Cys Leu Lys Ile Gly
465 470 475 480
Ala Cys Pro Ser Ala His Lys Pro Leu Leu Gly Thr Glu Lys Cys Ile
485 490 495
Trp Gly Pro Ser Tyr Trp Cys Gln Asn Thr Glu Thr Ala Ala Gln Cys
500 505 510
Asn Ala Val Glu His Cys Lys Arg His Val Trp Asn
515 520

<210> 17
<211> 1572
<212> DNA
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 17

atgtacgccc tgttcctgct ggccagcctg ctgggcgccg ccctggccgg ccccgtgctg 60
ggcctgaagg agtgcacccg cggcagcgcc gtgtggtgcc agaacgtgaa gaccgccagc 120
gactgcggcg ccgtgaagca ctgcctgcag accgtgtgga acaagcccac cgtgaagagc 180
ctgccctgcg acatctgcaa ggacgtggtg accgccgccg gcgacatgct gaaggacaac 240
gccaccgagg aggagatcct ggtgtacctg gagaagacct gcgactggct gcccaagccc 300
aacatgagcg ccagctgcaa ggagatcgtg gacagctacc tgcccgtgat cctggacatc 360
atcaagggcg agatgagccg ccccggcgag gtgtgcagcg ccctgaacct gtgcgagagc 420
ctgcagaagc acctggccga gctgaaccac cagaagcagc tggagagcaa caagatcccc 480
gagctggaca tgaccgaggt ggtggccccc ttcatggcca acatcccccct gctgctgtac 540
ccccaggacg gcccccgcag caagccccag cccaaggaca acggcgacgt gtgccaggac 600
tgcatccaga tggtgaccga catccagacc gccgtgcgca ccaacagcac cttcgtgcag 660
gccctggtgg agcacgtgaa ggaggagtgc gaccgcctgg gccccggcat ggccgacatc 720

tgcaagaact acatcagcca gtacagcgag atcgccatcc agatgatgat gcacatgcag 780
cccaaggaga tctgcgccct ggtgggcttc tgcgacgagg tgaaggagat gcccatgcag 840
accctggtgc ccgccaaggt ggccagcaag aacgtgatcc ccgccctgga gctggtggag 900
cccatcaaga agcacgaggt gcccgccaag agcgacgtgt actgcgaggt gtgcgagttc 960
ctggtgaagg aggtgaccaa gctgatcgac aacaacaaga ccgagaagga gatcctggac 1020
gccttcgaca agatgtgcag caagctgccc aagagcctga gcgaggagtg ccaggaggtg 1080
gtggacacct acggcagcag catcctgagc atcctgctgg aggaggtgag ccccgagctg 1140
gtgtgcagca tgctgcacct gtgcagcggc acccgcctgc ccgccctgac cgtgcacgtg 1200
acccagccca aggacggcgg cttctgcgag gtgtgcaaga agctggtggg ctacctggac 1260
cgcaacctgg agaagaacag caccaagcag gagatcctgg ccgccctgga gaagggctgc 1320
agcttcctgc ccgaccccta ccagaagcag tgcgaccagt tcgtggccga gtacgagccc 1380
gtgctgatcg agatcctggt ggaggtgatg gaccccagct tcgtgtgcct gaagatcggc 1440
gcctgcccca gcgcccacaa gcccctgctg ggcaccgaga agtgcatctg gggccccagc 1500
tactggtgcc agaacaccga gaccgccgcc cagtgcaacg ccgtggagca ctgcaagcgc 1560
cacgtgtgga ac 1572

<210> 18
<211> 478
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 18

Met Gly Arg Cys Cys Phe Tyr Thr Ala Gly Thr Leu Ser Leu Leu Leu
1 5 10 15
Leu Val Thr Ser Val Thr Leu Leu Val Ala Arg Val Phe Gln Lys Ala
20 25 30
Val Asp Gln Ser Ile Glu Lys Lys Ile Val Leu Arg Asn Gly Thr Glu
35 40 45
Ala Phe Asp Ser Trp Glu Lys Pro Pro Leu Pro Val Tyr Thr Gln Phe
50 55 60
Tyr Phe Phe Asn Val Thr Asn Pro Glu Glu Ile Leu Arg Gly Glu Thr
65 70 75 80
Pro Arg Val Glu Glu Val Gly Pro Tyr Thr Tyr Arg Glu Leu Arg Asn
85 90 95
Lys Ala Asn Ile Gln Phe Gly Asp Asn Gly Thr Thr Ile Ser Ala Val
100 105 110
Ser Asn Lys Ala Tyr Val Phe Glu Arg Asp Gln Ser Val Gly Asp Pro
115 120 125
Lys Ile Asp Leu Ile Arg Thr Leu Asn Ile Pro Val Leu Thr Val Ile
130 135 140
Glu Trp Ser Gln Val His Phe Leu Arg Glu Ile Ile Glu Ala Met Leu

145 150 155 160
Lys Ala Tyr Gln Gln Lys Leu Phe Val Thr His Thr Val Asp Glu Leu
165 170 175
Leu Trp Gly Tyr Lys Asp Glu Ile Leu Ser Leu Ile His Val Phe Arg
180 185 190
Pro Asp Ile Ser Pro Tyr Phe Gly Leu Phe Tyr Glu Lys Asn Gly Thr
195 200 205
Asn Asp Gly Asp Tyr Val Phe Leu Thr Gly Glu Asp Ser Tyr Leu Asn
210 215 220
Phe Thr Lys Ile Val Glu Trp Asn Gly Lys Thr Ser Leu Asp Trp Trp
225 230 235 240
Ile Thr Asp Lys Cys Asn Met Ile Asn Gly Thr Asp Gly Asp Ser Phe
245 250 255
His Pro Leu Ile Thr Lys Asp Glu Val Leu Tyr Val Phe Pro Ser Asp
260 265 270
Phe Cys Arg Ser Val Tyr Ile Thr Phe Ser Asp Tyr Glu Ser Val Gln
275 280 285
Gly Leu Pro Ala Phe Arg Tyr Lys Val Pro Ala Glu Ile Leu Ala Asn
290 295 300
Thr Ser Asp Asn Ala Gly Phe Cys Ile Pro Glu Gly Asn Cys Leu Gly
305 310 315 320
Ser Gly Val Leu Asn Val Ser Ile Cys Lys Asn Gly Ala Pro Ile Ile
325 330 335
Met Ser Phe Pro His Phe Tyr Gln Ala Asp Glu Arg Phe Val Ser Ala
340 345 350
Ile Glu Gly Met His Pro Asn Gln Glu Asp His Glu Thr Phe Val Asp
355 360 365
Ile Asn Pro Leu Thr Gly Ile Ile Leu Lys Ala Ala Lys Arg Phe Gln
370 375 380
Ile Asn Ile Tyr Val Lys Lys Leu Asp Asp Phe Val Glu Thr Gly Asp
385 390 395 400
Ile Arg Thr Met Val Phe Pro Val Met Tyr Leu Asn Glu Ser Val His
405 410 415
Ile Asp Lys Glu Thr Ala Ser Arg Leu Lys Ser Met Ile Asn Thr Thr
420 425 430
Leu Ile Ile Thr Asn Ile Pro Tyr Ile Ile Met Ala Leu Gly Val Phe
435 440 445
Phe Gly Leu Val Phe Thr Trp Leu Ala Cys Lys Gly Gln Gly Ser Met
450 455 460

Asp Glu Gly Thr Ala Asp Glu Arg Ala Pro Leu Ile Arg Thr
465 470 475

<210> 19
<211> 1434
<212> DNA
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 19
atgggccgct gctgcttcta caccgccggc accctgagcc tgctgctgct ggtgaccagc 60
gtgaccctgc tggtggcccg cgtgttccag aaggccgtgg accagagcat cgagaagaag 120
atcgtgctgc gcaacggcac cgaggccttc gacagctggg agaagccccc cctgcccgtg 180
tacacccagt tctacttctt caacgtgacc aaccccgagg agatcctgcg cggcgagacc 240
ccccgcgtgg aggaggtggg cccctacacc taccgcgagc tgcgcaacaa ggccaacatc 300
cagttcggcg acaacggcac caccatcagc gccgtgagca acaaggccta cgtgttcgag 360
cgcgaccaga gcgtgggcga ccccaagatc gacctgatcc gcaccctgaa catccccgtg 420
ctgaccgtga tcgagtggag ccaggtgcac ttcctgcgcg agatcatcga ggccatgctg 480
aaggcctacc agcagaagct gttcgtgacc cacaccgtgg acgagctgct gtggggctac 540
aaggacgaga tcctgagcct gatccacgtg ttccgccccg acatcagccc ctacttcggc 600
ctgttctacg agaagaacgg caccaacgac ggcgactacg tgttcctgac cggcgaggac 660
agctacctga acttcaccaa gatcgtggag tggaacggca agaccagcct ggactggtgg 720
atcaccgaca agtgcaacat gatcaacggc accgacggcg acagcttcca ccccctgatc 780
accaaggacg aggtgctgta cgtgttcccc agcgacttct gccgcagcgt gtacatcacc 840
ttcagcgact acgagagcgt gcagggcctg cccgccttcc gctacaaggt gcccgccgag 900
atcctggcca acaccagcga caacgccggc ttctgcatcc ccgagggcaa ctgcctgggc 960
agcggcgtgc tgaacgtgag catctgcaag aacggcgccc ccatcatcat gagcttcccc 1020
cacttctacc aggccgacga gcgcttcgtg agcgccatcg agggcatgca ccccaaccag 1080
gaggaccacg agaccttcgt ggacatcaac cccctgaccg gcatcatcct gaaggccgcc 1140
aagcgcttcc agatcaacat ctacgtgaag aagctggacg acttcgtgga gaccggcgac 1200
atccgcacca tggtgttccc cgtgatgtac ctgaacgaga gcgtgcacat cgacaaggag 1260
accgccagcc gcctgaagag catgatcaac accaccctga tcatcaccaa catcccctac 1320
atcatcatgg ccctgggcgt gttcttcggc ctggtgttca cctggctggc ctgcaagggc 1380
cagggcagca tggacgaggg caccgccgac gagcgcgccc ccctgatccg cacc 1434

<210> 20
<211> 23
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多核苷酸
<400> 20
tggaagactt cgagatacac tgt 23

<210> 21
<211> 23
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多核苷酸
<400> 21
acagtgtatc tcgaagtctt cca 23
<210> 22
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多核苷酸
<400> 22
tttagaaata agtggtagtc a 21
<210> 23
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多核苷酸
<400> 23
tgactaccac ttatttctaa a 21
<210> 24
<211> 19
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多核苷酸
<400> 24
agggtatcaa gactacgaa 19
<210> 25
<211> 19
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多核苷酸
<400> 25

ttcgtagtct tgataccct 19

<210> 26

<211> 19

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多核苷酸

<400> 26

tattagatct gatggccgc 19

<210> 27

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多核苷酸

<400> 27

ctccatcact aggggttcct 20

<210> 28

<211> 60

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多核苷酸

<400> 28

agctctgggt atttaagccc gagtgagcac gcagggtctc cattttgaag cgggaggtta 60

<210> 29

<211> 145

<212> DNA

<213> 未知

<220>

<223> AAV2 ITR

<400> 29

aggaacccct agtgatggag ttggccactc cctctctgcg cgctcgctcg ctcactgagg 60

ccgggcgacc aaaggtcgcc cgacgcccgg gctttgcccg ggcggcctca gtgagcgagc 120

gagcgcgcag agagggagtg gccaa 145

<210> 30

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多核苷酸
<400> 30
tattagatct gatggccgcg 20
<210> 31
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多核苷酸
<400> 31
tccatcacta ggggttcctg 20
<210> 32
<211> 4013
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多核苷酸
<400> 32
ttggccactc cctctctgcg cgctcgctcg ctcactgagg ccgcccgggc aaagcccggg 60
cgtcgggcga cctttggtcg cccggcctca gtgagcgagc gagcgcgcag agagggagtg 120
gccaactcca tcactagggg ttcctgctag ctctgggtat ttaagcccga gtgagcacgc 180
agggtctcca ttttgaagcg ggaggttacg cgttcgtcga ctactagtgg gtaccagagc 240
tccctaggtt ctagaaccgg tgacgtctcc catggtgaag cttggatctg aattcggtac 300
ctagttatta atagtaatca attacggggt cattagttca tagcccatat atggagttcc 360
gcgttacata acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat 420
tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc 480
aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc 540
caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt 600
acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta 660
ccatggtcga ggtgagcccc acgttctgct tcactctccc catctccccc ccctccccac 720
ccccaatttt gtatttattt atttttaat tattttgtgc agcgatgggg gcgggggggg 780
gggggggcg cgcgccaggc ggggcggggc ggggcgaggg gcggggcggg gcgaggcgga 840
gaggtgcggc ggcagccaat cagagcggcg cgctccgaaa gtttcctttt atggcgaggc 900
ggcggcggcg gcggccctat aaaaagcgaa gcgcgcggcg ggcgggagtc gctgcgcgct 960
gccttcgccc cgtgccccgc tccgccgccg cctcgcgccg cccgccccgg ctctgactga 1020
ccgcgttact cccacaggtg agcgggcggg acggcccttc tcctccgggc tgtaattagc 1080
gcttggttta atgacggctt gtttcttttc tgtggctgcg tgaaagcctt gaggggctcc 1140
gggagctaga gcctctgcta accatgttca tgccttcttc tttttcctac agctcctggg 1200

caacgtgctg gttattgtgc tgtctcatca ttttggcaaa gaattcctcg aagatccgaa 1260
gggaaagtct tccacgactg tgggatccgt tcgaagatat caccggttga gccaccatgg 1320
aattcagcag ccccagcaga gaggaatgcc ccaagcctct gagccgggtg tcaatcatgg 1380
ccggatctct gacaggactg ctgctgcttc aggccgtgtc ttgggcttct ggcgctagac 1440
cttgcatccc caagagcttc ggctacagca gcgtcgtgtg cgtgtgcaat gccacctact 1500
gcgacagctt cgaccctcct acctttcctg ctctgggcac cttcagcaga tacgagagca 1560
ccagatccgg cagacggatg gaactgagca tgggacccat ccaggccaat cacacaggca 1620
ctggcctgct gctgacactg cagcctgagc agaaattcca gaaagtgaaa ggcttcggcg 1680
gagccatgac agatgccgcc gctctgaata tcctggctct gtctccacca gctcagaacc 1740
tgctgctcaa gagctacttc agcgaggaag gcatcggcta caacatcatc agagtgccca 1800
tggccagctg cgacttcagc atcaggacct acacctacgc cgacacaccc gacgatttcc 1860
agctgcacaa cttcagcctg cctgaagagg acaccaagct gaagatccct ctgatccaca 1920
gagccctgca gctggcacaa agacccgtgt cactgctggc ctctccatgg acatctccca 1980
cctggctgaa aacaaatggc gccgtgaatg gcaagggcag cctgaaaggc caacctggcg 2040
acatctacca ccagacctgg gccagatact tcgtgaagtt cctggacgcc tatgccgagc 2100
acaagctgca gttttgggcc gtgacagccg agaacgaacc ttctgctgga ctgctgagcg 2160
gctacccctt tcagtgcctg ggctttacac ccgagcacca gcgggacttt atcgcccgtg 2220
atctgggacc cacactggcc aatagcaccc accataatgt gcggctgctg atgctggacg 2280
accagagact gcttctgccc cactgggcta aagtggtgct gacagatcct gaggccgcca 2340
aatacgtgca cggaatcgcc gtgcactggt atctggactt tctggcccct gccaaggcca 2400
cactgggaga gacacacaga ctgttcccca acaccatgct gttcgccagc gaagcctgtg 2460
tgggcagcaa gttttgggaa cagagcgtgc ggctcggcag ctgggataga ggcatgcagt 2520
acagccacag catcatcacc aacctgctgt accacgtcgt cggctggacc gactggaatc 2580
tggccctgaa tcctgaaggc ggccctaact gggtccgaaa cttcgtggac agccccatca 2640
tcgtggacat caccaaggac accttctaca agcagcccat gttctaccac ctgggacact 2700
tcagcaagtt catccccgag ggctctcagc gcgttggact ggtggcttcc cagaagaacg 2760
atctggacgc cgtggctctg atgcaccctg atggatctgc tgtggtggtg gtcctgaacc 2820
gcagcagcaa agatgtgccc ctgaccatca aggatcccgc cgtgggattc ctggaaacaa 2880
tcagccctgg ctactccatc cacacctacc tgtggcgtag acagtgacaa ttgttaatta 2940
agtttaaacc ctcgaggccg caagcttatc gataatcaac ctctggatta caaaatttgt 3000
gaaagattga ctggtattct taactatgtt gctcctttta cgctatgtgg atacgctgct 3060
ttaatgcctt tgtatcatgc tattgcttcc cgtatggctt tcattttctc ctccttgtat 3120
aaatcctggt tgctgtctct ttatgaggag ttgtggcccg ttgtcaggca acgtggcgtg 3180
gtgtgcactg tgtttgctga cgcaaccccc actggttggg gcattgccac cacctgtcag 3240
ctcctttccg ggactttcgc tttccccctc cctattgcca cggcggaact catcgccgcc 3300
tgccttgccc gctgctggac aggggctcgg ctgttgggca ctgacaattc cgtggtgttg 3360
tcggggaaat catcgtcctt tccttggctg ctcgcctgtg ttgccacctg gattctgcgc 3420
gggacgtcct tctgctacgt cccttcggcc ctcaatccag cggaccttcc ttcccgcggc 3480
ctgctgccgg ctctgcggcc tcttccgcgt cttcgccttc gccctcagac gagtcggatc 3540

tccctttggg ccgcctcccc gcatcgatac cgtcgactag agctcgctga tcagcctcga 3600
ctgtgccttc tagttgccag ccatctgttg tttgcccctc ccccgtgcct tccttgaccc 3660
tggaaggtgc cactcccact gtcctttcct aataaaatga ggaaattgca tcgcattgtc 3720
tgagtaggtg tcattctatt ctgggggggtg gggtggggca ggacagcaag ggggaggatt 3780
gggaagacaa tagcaggcat gctggggaga gatccacgat aacaaacagc ttttttgggg 3840
tgaacatatt gactgaattc cctgcaggtt ggccactccc tctctgcgcg ctcgctcgct 3900
cactgaggcc gcccgggcaa agcccgggcg tcgggcgacc tttggtcgcc cggcctcagt 3960
gagcgagcga gcgcgcagag agggagtggc caactccatc actaggggtt cct 4013

<210> 33
<211> 4013
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多核苷酸
<400> 33

ttggccactc cctctctgcg cgctcgctcg ctcactgagg ccgcccgggc aaagcccggg 60
cgtcgggcga cctttggtcg cccggcctca gtgagcgagc gagcgcgcag agagggagtg 120
gccaactcca tcactagggg ttcctgctag ctctgggtat ttaagcccga gtgagcacgc 180
agggtctcca ttttgaagcg ggaggttacg cgttcgtcga ctactagtgg gtaccagagc 240
tccctaggtt ctagaaccgg tgacgtctcc catggtgaag cttggatctg aattcggtac 300
ctagttatta atagtaatca attacggggt cattagttca tagcccatat atggagttcc 360
gcgttacata acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat 420
tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc 480
aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc 540
caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt 600
acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta 660
ccatggtcga ggtgagcccc acgttctgct tcactctccc catctccccc ccctccccac 720
ccccaatttt gtatttattt atttttaat tattttgtgc agcgatgggg gcgggggggg 780
gggggggcg cgcgccaggc ggggcggggc ggggcgaggg gcggggcggg gcgaggcgga 840
gaggtgcggc ggcagccaat cagagcggcg cgctccgaaa gtttcctttt atggcgaggc 900
ggcggcggcg gcggccctat aaaaagcgaa gcgcgcggcg ggcgggagtc gctgcgcgct 960
gccttcgccc cgtgccccgc tccgccgccg cctcgcgccg cccgccccgg ctctgactga 1020
ccgcgttact cccacaggtg agcgggcggg acggcccttc tcctccgggc tgtaattagc 1080
gcttggttta atgacggctt gtttcttttc tgtggctgcg tgaaagcctt gaggggctcc 1140
gggagctaga gcctctgcta accatgttca tgccttcttc tttttcctac agctcctggg 1200
caacgtgctg gttattgtgc tgtctcatca ttttggcaaa gaattcctcg aagatccgaa 1260
gggaaagtct tccacgactg tgggatccgt tcgaagatat caccggttga gccaccatgg 1320
aattcagcag ccccagcaga gaggaatgcc ccaagcctct gagccgggtg tcaatcatgg 1380
ccggatctct gacaggactg ctgctgcttc aggccgtgtc ttgggcttct ggcgctagac 1440

cttgcatccc caagagcttc ggctacagca gcgtcgtgtg cgtgtgcaat gccacctact 1500
gcgacagctt cgaccctcct acctttcctg ctctgggcac cttcagcaga tacgagagca 1560
ccagatccgg cagacggatg gaactgagca tgggacccat ccaggccaat cacacaggca 1620
ctggcctgct gctgacactg cagcctgagc agaaattcca gaaagtgaaa ggcttcggcg 1680
gagccatgac agatgccgcc gctctgaata tcctggctct gtctccacca gctcagaacc 1740
tgctgctcaa gagctacttc agcgaggaag gcatcggcta caacatcatc agagtgccca 1800
tggccagctg cgacttcagc atcaggacct acacctacgc cgacacaccc gacgatttcc 1860
agctgcacaa cttcagcctg cctgaagagg acaccaagct gaagatccct ctgatccaca 1920
gagccctgca gctggcacaa agacccgtgt cactgctggc ctctccatgg acatctccca 1980
cctggctgaa aacaaatggc gccgtgaatg gcaagggcag cctgaaaggc caacctggcg 2040
acatctacca ccagacctgg gccagatact tcgtgaagtt cctggacgcc tatgccgagc 2100
acaagctgca gttttgggcc gtgacagccg agaacgaacc ttctgctgga ctgctgagcg 2160
gctacccctt tcagtgcctg ggctttacac ccgagcacca gcgggacttt atcgcccgtg 2220
atctgggacc cacactggcc aatagcaccc accataatgt gcggctgctg atgctggacg 2280
accagagact gcttctgccc cactgggcta aagtggtgct gacagatcct gaggccgcca 2340
aatacgtgca cggaatcgcc gtgcactggt atctggactt tctggcccct gccaaggcca 2400
cactgggaga gacacacaga ctgttcccca acaccatgct gttcgccagc gaagcctgtg 2460
tgggcagcaa gttttgggaa cagagcgtgc ggctcggcag ctgggataga ggcatgcagt 2520
acagccacag catcatcacc aacctgctgt accacgtcgt cggctggacc gactggaatc 2580
tggccctgaa tcctgaaggc ggccctaact gggtccgaaa cttcgtggac agccccatca 2640
tcgtggacat caccaaggac accttctaca agcagcccat gttctaccac ctgggacact 2700
tcagcaagtt catccccgag ggctctcagc gcgttggact ggtggcttcc cagaagaacg 2760
atctggacgc cgtggctctg atgcaccctg atggatctgc tgtggtggtg gtcctgaacc 2820
gcagcagcaa agatgtgccc ctgaccatca aggatcccgc cgtgggattc ctggaaacaa 2880
tcagccctgg ctactccatc cacacctacc tgtggcgtag acagtgacaa ttgttaatta 2940
agtttaaacc ctcgaggccg caagcttatc gataatcaac ctctggatta caaaatttgt 3000
gaaagattga ctggtattct taactatgtt gctcctttta cgctatgtgg atacgctgct 3060
ttaatgcctt tgtatcatgc tattgcttcc cgtatggctt tcattttctc ctccttgtat 3120
aaatcctggt tgctgtctct ttatgaggag ttgtggcccg ttgtcaggca acgtggcgtg 3180
gtgtgcactg tgtttgctga cgcaaccccc actggttggg gcattgccac cacctgtcag 3240
ctcctttccg ggactttcgc tttccccctc cctattgcca cggcggaact catcgccgcc 3300
tgccttgccc gctgctggac aggggctcgg ctgttgggca ctgacaattc cgtggtgttg 3360
tcggggaaat catcgtcctt tccttggctg ctcgcctgtg ttgccacctg gattctgcgc 3420
gggacgtcct tctgctacgt cccttcggcc ctcaatccag cggaccttcc ttcccgcggc 3480
ctgctgccgg ctctgcggcc tcttccgcgt cttcgccttc gccctcagac gagtcggatc 3540
tccctttggg ccgcctcccc gcatcgatac cgtcgactag agctcgctga tcagcctcga 3600
ctgtgccttc tagttgccag ccatctgttg tttgcccctc ccccgtgcct tccttgaccc 3660
tggaaggtgc cactcccact gtcctttcct aataaaatga ggaaattgca tcgcattgtc 3720
tgagtaggtg tcattctatt ctgggggggtg gggtggggca ggacagcaag ggggaggatt 3780

gggaagacaa tagcaggcat gctggggaga gatccacgat aacaaacagc ttttttgggg 3840
tgaacatatt gactgaattc cctgcaggtt ggccactccc tctctgcgcg ctcgctcgct 3900
cactgaggcc gcccgggcaa agcccgggcg tcgggcgacc tttggtcgcc cggcctcagt 3960
gagcgagcga gcgcgcagag agggagtggc caactccatc actaggggtt cct 4013

<210> 34
<211> 4162
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多核苷酸
<400> 34

ttggccactc cctctctgcg cgctcgctcg ctcactgagg ccgggcgacc aaaggtcgcc 60
cgacgcccgg gctttgcccg ggcggcctca gtgagcgagc gagcgcgcag agagggagtg 120
gccaactcca tcactagggg ttcctgctag ctctgggtat ttaagcccga gtgagcacgc 180
agggtctcca ttttgaagcg ggaggttacg cgttcgtcga ctactagtgg gtaccagagc 240
tccctaggtt ctagaaccgg tgacgtctcc catggtgaag cttggatctg aattcggtac 300
ctagttatta atagtaatca attacggggt cattagttca tagcccatat atggagttcc 360
gcgttacata acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat 420
tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc 480
aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc 540
caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt 600
acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta 660
ccatggtcga ggtgagcccc acgttctgct tcactctccc catctccccc ccctccccac 720
ccccaatttt gtatttattt atttttaat tattttgtgc agcgatgggg gcgggggggg 780
gggggggcg cgcgccaggc ggggcggggc ggggcgaggg gcggggcggg gcgaggcgga 840
gaggtgcggc ggcagccaat cagagcggcg cgctccgaaa gtttcctttt atggcgaggc 900
ggcggcggcg gcggccctat aaaaagcgaa gcgcgcggcg ggcgggagtc gctgcgacgc 960
tgccttcgcc ccgtgccccg ctccgccgcc gcctcgcgcc gcccgccccg gctctgactg 1020
accgcgttac tcccacaggt gagcgggcgg gacggccctt ctcctcagcg ctgtaattag 1080
cgcttggttt aatgacggct tgttggaggc ttgctgaagg ctgtatgctg ttgtctttag 1140
aaataagtgg tagtcaagtg aagccacaga tgtgactacc acttatttct aaaaggacac 1200
aaggcctgtt actagcactc acatggaaca aatggccacc gtgggaggat gacaatttct 1260
gtggctgcgt gaaagccttg aggggctccg ggagctagag cctctgctaa ccatgttcat 1320
gccttcttct ttttcctaca gctcctgggc aacgtgctgg ttattgtgct gtctcatcat 1380
tttggcaaag aattcctcga agatccgaag ggaaagtctt ccacgactgt gggatccgtt 1440
cgaagatatc accggttgag ccaccatgga attcagcagc cccagcagag aggaatgccc 1500
caagcctctg agccgggtgt caatcatggc cggatctctg acaggactgc tgctgcttca 1560
ggccgtgtct tgggcttctg gcgctagacc ttgcatcccc aagagcttcg gctacagcag 1620
cgtcgtgtgc gtgtgcaatg ccacctactg cgacagcttc gaccctccta cctttcctgc 1680

tctgggcacc ttcagcagat acgagagcac cagatccggc agacggatgg aactgagcat 1740
gggacccatc caggccaatc acacaggcac tggcctgctg ctgacactgc agcctgagca 1800
gaaattccag aaagtgaaag gcttcggcgg agccatgaca gatgccgccg ctctgaatat 1860
cctggctctg tctccaccag ctcagaacct gctgctcaag agctacttca gcgaggaagg 1920
catcggctac aacatcatca gagtgcccat ggccagctgc gacttcagca tcaggaccta 1980
cacctacgcc gacacacccg acgatttcca gctgcacaac ttcagcctgc ctgaagagga 2040
caccaagctg aagatccctc tgatccacag agccctgcag ctggcacaaa gacccgtgtc 2100
actgctggcc tctccatgga catctcccac ctggctgaaa acaaatggcg ccgtgaatgg 2160
caagggcagc ctgaaaggcc aacctggcga catctaccac cagacctggg ccagatactt 2220
cgtgaagttc ctggacgcct atgccgagca caagctgcag ttttgggccg tgacagccga 2280
gaacgaacct tctgctggac tgctgagcgg ctaccccttt cagtgcctgg gctttacacc 2340
cgagcaccag cgggacttta tcgcccgtga tctgggaccc acactggcca atagcaccca 2400
ccataatgtg cggctgctga tgctggacga ccagagactg cttctgcccc actgggctaa 2460
agtggtgctg acagatcctg aggccgccaa atacgtgcac ggaatcgccg tgcactggta 2520
tctggacttt ctggcccctg ccaaggccac actgggagag acacacagac tgttccccaa 2580
caccatgctg ttcgccagcg aagcctgtgt gggcagcaag ttttgggaac agagcgtgcg 2640
gctcggcagc tgggatagag gcatgcagta cagccacagc atcatcacca acctgctgta 2700
ccacgtcgtc ggctggaccg actggaatct ggccctgaat cctgaaggcg gccctaactg 2760
ggtccgaaac ttcgtggaca gccccatcat cgtggacatc accaaggaca ccttctacaa 2820
gcagcccatg ttctaccacc tgggacactt cagcaagttc atccccgagg gctctcagcg 2880
cgttggactg gtggcttccc agaagaacga tctggacgcc gtggctctga tgcaccctga 2940
tggatctgct gtggtggtgg tcctgaaccg cagcagcaaa gatgtgcccc tgaccatcaa 3000
ggatcccgcc gtgggattcc tggaaacaat cagccctggc tactccatcc acacctacct 3060
gtggcgtaga cagtgacaat tgttaattaa gtttaaaccc tcgaggccgc aagcttatcg 3120
ataatcaacc tctggattac aaaatttgtg aaagattgac tggtattctt aactatgttg 3180
ctccttttac gctatgtgga tacgctgctt taatgccttt gtatcatgct attgcttccc 3240
gtatggcttt cattttctcc tccttgtata aatcctggtt gctgtctctt tatgaggagt 3300
tgtggcccgt tgtcaggcaa cgtggcgtgg tgtgcactgt gtttgctgac gcaaccccca 3360
ctggttgggg cattgccacc acctgtcagc tcctttccgg gactttcgct ttccccctcc 3420
ctattgccac ggcggaactc atcgccgcct gccttgcccg ctgctggaca ggggctcggc 3480
tgttgggcac tgacaattcc gtggtgttgt cggggaaatc atcgtccttt ccttggctgc 3540
tcgcctgtgt tgccacctgg attctgcgcg ggacgtcctt ctgctacgtc ccttcggccc 3600
tcaatccagc ggaccttcct tcccgcggcc tgctgccggc tctgcggcct cttccgcgtc 3660
ttcgccttcg ccctcagacg agtcggatct ccctttgggc cgcctccccg catcgatacc 3720
gtcgactaga gctcgctgat cagcctcgac tgtgccttct agttgccagc catctgttgt 3780
ttgcccctcc cccgtgcctt ccttgaccct ggaaggtgcc actcccactg tcctttccta 3840
ataaaatgag gaaattgcat cgcattgtct gagtaggtgt cattctattc tgggggggtgg 3900
ggtggggcag gacagcaagg gggaggattg ggaagacaat agcaggcatg ctggggagag 3960
atccacgata acaaacagct tttttggggc ccacatgtac actgaattcc ctgcaggttg 4020

gccactccct ctctgcgcgc tcgctcgctc actgaggccg cccgggcaaa gcccgggcgt 4080
cgggcgacct ttggtcgccc ggcctcagtg agcgagcgag cgcgcagaga gggagtggcc 4140
aactccatca ctaggggttc ct 4162

<210> 35
<211> 4162
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多核苷酸
<400> 35

ttggccactc cctctctgcg cgctcgctcg ctcactgagg ccgggcgacc aaaggtcgcc 60
cgacgcccgg gctttgcccg ggcggcctca gtgagcgagc gagcgcgcag agagggagtg 120
gccaactcca tcactagggg ttcctgctag ctctgggtat ttaagcccga gtgagcacgc 180
agggtctcca ttttgaagcg ggaggttacg cgttcgtcga ctactagtgg gtaccagagc 240
tccctaggtt ctagaaccgg tgacgtctcc catggtgaag cttggatctg aattcggtac 300
ctagttatta atagtaatca attacggggt cattagttca tagcccatat atggagttcc 360
gcgttacata acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat 420
tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc 480
aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc 540
caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt 600
acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta 660
ccatggtcga ggtgagcccc acgttctgct tcactctccc catctccccc ccctccccac 720
ccccaatttt gtatttattt atttttaat tattttgtgc agcgatgggg gcgggggggg 780
gggggggcg cgcgccaggc ggggcggggc ggggcgaggg gcggggcggg gcgaggcgga 840
gaggtgcggc ggcagccaat cagagcggcg cgctccgaaa gtttcctttt atggcgaggc 900
ggcggcggcg gcggccctat aaaaagcgaa gcgcgcggcg ggcgggagtc gctgcgacgc 960
tgccttcgcc ccgtgccccg ctccgccgcc gcctcgcgcc gcccgccccg gctctgactg 1020
accgcgttac tcccacaggt gagcgggcgg gacggccctt ctcctcagcg ctgtaattag 1080
cgcttggttt aatgacggct tgttggaggc ttgctgaagg ctgtatgctg ttgtctttag 1140
aaataagtgg tagtcaagtg aagccacaga tgtgactacc acttatttct aaaaggacac 1200
aaggcctgtt actagcactc acatggaaca aatggccacc gtgggaggat gacaatttct 1260
gtggctgcgt gaaagccttg aggggctccg ggagctagag cctctgctaa ccatgttcat 1320
gccttcttct ttttcctaca gctcctgggc aacgtgctgg ttattgtgct gtctcatcat 1380
tttggcaaag aattcctcga agatccgaag ggaaagtctt ccacgactgt gggatccgtt 1440
cgaagatatc accggttgag ccaccatgga attcagcagc cccagcagag aggaatgccc 1500
caagcctctg agccgggtgt caatcatggc cggatctctg acaggactgc tgctgcttca 1560
ggccgtgtct tgggcttctg gcgctagacc ttgcatcccc aagagcttcg gctacagcag 1620
cgtcgtgtgc gtgtgcaatg ccacctactg cgacagcttc gaccctccta cctttcctgc 1680
tctgggcacc ttcagcagat acgagagcac cagatccggc agacggatgg aactgagcat 1740

gggacccatc caggccaatc acacaggcac tggcctgctg ctgacactgc agcctgagca 1800
gaaattccag aaagtgaaag gcttcggcgg agccatgaca gatgccgccg ctctgaatat 1860
cctggctctg tctccaccag ctcagaacct gctgctcaag agctacttca gcgaggaagg 1920
catcggctac aacatcatca gagtgcccat ggccagctgc gacttcagca tcaggaccta 1980
cacctacgcc gacacacccg acgatttcca gctgcacaac ttcagcctgc ctgaagagga 2040
caccaagctg aagatccctc tgatccacag agccctgcag ctggcacaaa gacccgtgtc 2100
actgctggcc tctccatgga catctcccac ctggctgaaa acaaatggcg ccgtgaatgg 2160
caagggcagc ctgaaaggcc aacctggcga catctaccac cagacctggg ccagatactt 2220
cgtgaagttc ctggacgcct atgccgagca caagctgcag ttttgggccg tgacagccga 2280
gaacgaacct tctgctggac tgctgagcgg ctaccccttt cagtgcctgg gctttacacc 2340
cgagcaccag cgggacttta tcgcccgtga tctgggaccc acactggcca atagcaccca 2400
ccataatgtg cggctgctga tgctggacga ccagagactg cttctgcccc actgggctaa 2460
agtggtgctg acagatcctg aggccgccaa atacgtgcac ggaatcgccg tgcactggta 2520
tctggacttt ctggcccctg ccaaggccac actgggagag acacacagac tgttccccaa 2580
caccatgctg ttcgccagcg aagcctgtgt gggcagcaag ttttgggaac agagcgtgcg 2640
gctcggcagc tgggatagag gcatgcagta cagccacagc atcatcacca acctgctgta 2700
ccacgtcgtc ggctggaccg actggaatct ggccctgaat cctgaaggcg gccctaactg 2760
ggtccgaaac ttcgtggaca gccccatcat cgtggacatc accaaggaca ccttctacaa 2820
gcagcccatg ttctaccacc tgggacactt cagcaagttc atccccgagg gctctcagcg 2880
cgttggactg gtggcttccc agaagaacga tctggacgcc gtggctctga tgcaccctga 2940
tggatctgct gtggtggtgg tcctgaaccg cagcagcaaa gatgtgcccc tgaccatcaa 3000
ggatcccgcc gtgggattcc tggaaacaat cagccctggc tactccatcc acacctacct 3060
gtggcgtaga cagtgacaat tgttaattaa gtttaaaccc tcgaggccgc aagcttatcg 3120
ataatcaacc tctggattac aaaatttgtg aaagattgac tggtattctt aactatgttg 3180
ctccttttac gctatgtgga tacgctgctt taatgccttt gtatcatgct attgcttccc 3240
gtatggcttt cattttctcc tccttgtata aatcctggtt gctgtctctt tatgaggagt 3300
tgtggcccgt tgtcaggcaa cgtggcgtgg tgtgcactgt gtttgctgac gcaaccccca 3360
ctggttgggg cattgccacc acctgtcagc tcctttccgg gactttcgct ttccccctcc 3420
ctattgccac ggcggaactc atcgccgcct gccttgcccg ctgctggaca ggggctcggc 3480
tgttgggcac tgacaattcc gtggtgttgt cggggaaatc atcgtccttt ccttggctgc 3540
tcgcctgtgt tgccacctgg attctgcgcg ggacgtcctt ctgctacgtc ccttcggccc 3600
tcaatccagc ggaccttcct tcccgcggcc tgctgccggc tctgcggcct cttccgcgtc 3660
ttcgccttcg ccctcagacg agtcggatct ccctttgggc cgcctccccg catcgatacc 3720
gtcgactaga gctcgctgat cagcctcgac tgtgccttct agttgccagc catctgttgt 3780
ttgcccctcc cccgtgcctt ccttgaccct ggaaggtgcc actcccactg tcctttccta 3840
ataaaatgag gaaattgcat cgcattgtct gagtaggtgt cattctattc tgggggggtgg 3900
ggtggggcag gacagcaagg gggaggattg ggaagacaat agcaggcatg ctggggagag 3960
atccacgata acaaacagct tttttggggc ccacatgtac actgaattcc ctgcaggttg 4020
gccactccct ctctgcgcgc tcgctcgctc actgaggccg cccgggcaaa gcccgggcgt 4080

cgggcgacct ttggtcgccc ggcctcagtg agcgagcgag cgcgcagaga gggagtggcc 4140
aactccatca ctaggggttc ct 4162
<210> 36
<211> 3977
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多核苷酸
<400> 36
ttggccactc cctctctgcg cgctcgctcg ctcactgagg ccgcccgggc aaagcccggg 60
cgtcgggcga cctttggtcg cccggcctca gtgagcgagc gagcgcgcag agagggagtg 120
gccaactcca tcactagggg ttcctgctag ctctgggtat ttaagcccga gtgagcacgc 180
agggtctcca ttttgaagcg ggaggttacg cgttcgtcga ctactagtgg gtaccagagc 240
tccctaggtt ctagaaccgg tgacgtctcc catggtgaag cttggatctg aattcggtac 300
ctagttatta atagtaatca attacggggt cattagttca tagcccatat atggagttcc 360
gcgttacata acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat 420
tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc 480
aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc 540
caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt 600
acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta 660
ccatggtcga ggtgagcccc acgttctgct tcactctccc catctccccc ccctccccac 720
ccccaatttt gtatttattt atttttaat tattttgtgc agcgatgggg gcgggggggg 780
gggggggcg cgcgccaggc ggggcggggc ggggcgaggg gcggggcggg gcgaggcgga 840
gaggtgcggc ggcagccaat cagagcggcg cgctccgaaa gtttcctttt atggcgaggc 900
ggcggcggcg gcggccctat aaaaagcgaa gcgcgcggcg ggcgggagtc gctgcgcgct 960
gccttcgccc cgtgccccgc tccgccgccg cctcgcgccg cccgccccgg ctctgactga 1020
ccgcgttact cccacaggtg agcgggcggg acggcccttc tcctccgggc tgtaattagc 1080
gcttggttta atgacggctt gtttcttttc tgtggctgcg tgaaagcctt gaggggctcc 1140
gggagctaga gcctctgcta accatgttca tgccttcttc tttttcctac agctcctggg 1200
caacgtgctg gttattgtgc tgtctcatca ttttggcaaa gaattcctcg aagatccgaa 1260
gggaaagtct tccacgactg tgggatccgt tcgaagatat caccggttga gccaccatgt 1320
acgccctgtt cctgctggcc agcctgctgg gcgccgccct ggccggcccc gtgctgggcc 1380
tgaaggagtg cacccgcggc agcgccgtgt ggtgccagaa cgtgaagacc gccagcgact 1440
gcggcgccgt gaagcactgc ctgcagaccg tgtggaacaa gcccaccgtg aagagcctgc 1500
cctgcgacat ctgcaaggac gtggtgaccg ccgccggcga catgctgaag gacaacgcca 1560
ccgaggagga gatcctggtg tacctggaga agacctgcga ctggctgccc aagcccaaca 1620
tgagcgccag ctgcaaggag atcgtggaca gctacctgcc cgtgatcctg gacatcatca 1680
agggcgagat gagccgcccc ggcgaggtgt gcagcgccct gaacctgtgc gagagcctgc 1740
agaagcacct ggccgagctg aaccaccaga agcagctgga gagcaacaag atccccgagc 1800

tggacatgac cgaggtggtg gccccttca tggccaacat ccccctgctg ctgtaccccc 1860
aggacggccc ccgcagcaag ccccagccca aggacaacgg cgacgtgtgc caggactgca 1920
tccagatggt gaccgacatc cagaccgccg tgcgcaccaa cagcaccttc gtgcaggccc 1980
tggtggagca cgtgaaggag gagtgcgacc gcctgggccc cggcatggcc gacatctgca 2040
agaactacat cagccagtac agcgagatcg ccatccagat gatgatgcac atgcagccca 2100
aggagatctg cgccctggtg ggcttctgcg acgaggtgaa ggagatgccc atgcagaccc 2160
tggtgcccgc caaggtggcc agcaagaacg tgatccccgc cctggagctg gtggagccca 2220
tcaagaagca cgaggtgccc gccaagagcg acgtgtactg cgaggtgtgc gagttcctgg 2280
tgaaggaggt gaccaagctg atcgacaaca acaagaccga gaaggagatc ctggacgcct 2340
tcgacaagat gtgcagcaag ctgcccaaga gcctgagcga ggagtgccag gaggtggtgg 2400
acacctacgg cagcagcatc ctgagcatcc tgctggagga ggtgagcccc gagctggtgt 2460
gcagcatgct gcacctgtgc agcggcaccc gcctgcccgc cctgaccgtg cacgtgaccc 2520
agcccaagga cggcggcttc tgcgaggtgt gcaagaagct ggtgggctac ctggaccgca 2580
acctggagaa gaacagcacc aagcaggaga tcctggccgc cctggagaag ggctgcagct 2640
tcctgcccga cccctaccag aagcagtgcg accagttcgt ggccgagtac gagcccgtgc 2700
tgatcgagat cctggtggag gtgatggacc ccagcttcgt gtgcctgaag atcggcgcct 2760
gccccagcgc ccacaagccc ctgctgggca ccgagaagtg catctggggc cccagctact 2820
ggtgccagaa caccgagacc gccgcccagt gcaacgccgt ggagcactgc aagcgccacg 2880
tgtggaactg acaattgtta attaagttta aaccctcgag gccgcaagct tatcgataat 2940
caacctctgg attacaaaat ttgtgaaaga ttgactggta ttcttaacta tgttgctcct 3000
tttacgctat gtggatacgc tgctttaatg cctttgtatc atgctattgc ttcccgtatg 3060
gctttcattt tctcctcctt gtataaatcc tggttgctgt ctctttatga ggagttgtgg 3120
cccgttgtca ggcaacgtgg cgtggtgtgc actgtgtttg ctgacgcaac ccccactggt 3180
tggggcattg ccaccacctg tcagctcctt tccgggactt tcgctttccc cctccctatt 3240
gccacggcgg aactcatcgc cgcctgcctt gcccgctgct ggacaggggc tcggctgttg 3300
ggcactgaca attccgtggt gttgtcgggg aaatcatcgt cctttccttg gctgctcgcc 3360
tgtgttgcca cctggattct gcgcgggacg tccttctgct acgtcccttc ggccctcaat 3420
ccagcggacc ttccttcccg cggcctgctg ccggctctgc ggcctcttcc gcgtcttcgc 3480
cttcgccctc agacgagtcg gatctccctt tgggccgcct ccccgcatcg ataccgtcga 3540
ctagagctcg ctgatcagcc tcgactgtgc cttctagttg ccagccatct gttgtttgcc 3600
cctcccccgt gccttccttg accctggaag gtgccactcc cactgtcctt tcctaataaa 3660
atgaggaaat tgcatcgcat tgtctgagta ggtgtcattc tattctgggg ggtggggtgg 3720
ggcaggacag caagggggag gattgggaag acaatagcag gcatgctggg gagagatcca 3780
cgataacaaa cagcttttt ggggcccaca tgtacactga attccctgca ggttggccac 3840
tccctctctg cgcgctcgct cgctcactga ggccgcccgg gcaaagcccg ggcgtcgggc 3900
gacctttggt cgcccggcct cagtgagcga gcgagcgcgc agagagggag tggccaactc 3960
catcactagg ggttcct 3977

<210> 37

<211> 4013

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多核苷酸

<400> 37

ttggccactc cctctctgcg cgctcgctcg ctcactgagg ccgcccgggc aaagcccggg 60
cgtcgggcga cctttggtcg cccggcctca gtgagcgagc gagcgcgcag agagggagtg 120
gccaactcca tcactagggg ttcctgctag ctctgggtat ttaagcccga gtgagcacgc 180
agggtctcca ttttgaagcg ggaggttacg cgttcgtcga ctactagtgg gtaccagagc 240
tccctaggtt ctagaaccgg tgacgtctcc catggtgaag cttggatctg aattcggtac 300
ctagttatta atagtaatca attacggggt cattagttca tagcccatat atggagttcc 360
gcgttacata acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat 420
tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc 480
aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc 540
caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt 600
acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta 660
ccatggtcga ggtgagcccc acgttctgct tcactctccc catctccccc ccctccccac 720
ccccaatttt gtatttattt atttttaat tattttgtgc agcgatgggg gcgggggggg 780
gggggggcg cgcgccaggc ggggcggggc ggggcgaggg gcggggcggg gcgaggcgga 840
gaggtgcggc ggcagccaat cagagcggcg cgctccgaaa gtttcctttt atggcgaggc 900
ggcggcggcg gcggccctat aaaaagcgaa gcgcgcggcg ggcgggagtc gctgcgcgct 960
gccttcgccc cgtgccccgc tccgccgccg cctcgcgccg cccgccccgg ctctgactga 1020
ccgcgttact cccacaggtg agcgggcggg acggcccttc tcctccgggc tgtaattagc 1080
gcttggttta atgacggctt gtttcttttc tgtggctgcg tgaaagcctt gaggggctcc 1140
gggagctaga gcctctgcta accatgttca tgccttcttc tttttcctac agctcctggg 1200
caacgtgctg gttattgtgc tgtctcatca ttttggcaaa gaattcctcg aagatccgaa 1260
gggaaagtct tccacgactg tgggatccgt tcgaagatat caccggttga gccaccatgg 1320
aattcagcag ccccagcaga gaggaatgcc ccaagcctct gagccgggtg tcaatcatgg 1380
ccggatctct gacaggactg ctgctgcttc aggccgtgtc ttgggcttct ggcgctagac 1440
cttgcatccc caagagcttc ggctacagca gcgtcgtgtg cgtgtgcaat gccacctact 1500
gcgacagctt cgaccctcct acctttcctg ctctgggcac cttcagcaga tacgagagca 1560
ccagatccgg cagacggatg gaactgagca tgggacccat ccaggccaat cacacaggca 1620
ctggcctgct gctgacactg cagcctgagc agaaattcca gaaagtgaaa ggcttcggcg 1680
gagccatgac agatgccgcc gctctgaata tcctggctct gtctccacca gctcagaacc 1740
tgctgctcaa gagctacttc agcgaggaag gcatcggcta caacatcatc agagtgccca 1800
tggccagctg cgacttcagc atcaggacct acacctacgc cgacacaccc gacgatttcc 1860
agctgcacaa cttcagcctg cctgaagagg acaccaagct gaagatccct ctgatccaca 1920
gagccctgca gctggcacaa agacccgtgt cactgctggc ctctccatgg acatctccca 1980
cctggctgaa aacaaatggc gccgtgaatg gcaagggcag cctgaaaggc caacctggcg 2040

acatctacca ccagacctgg gccagatact tcgtgaagtt cctggacgcc tatgccgagc 2100
acaagctgca gttttgggcc gtgacagccg agaacgaacc ttctgctgga ctgctgagcg 2160
gctacccctt tcagtgcctg ggctttacac ccgagcacca gcgggacttt atcgcccgtg 2220
atctgggacc cacactggcc aatagcaccc accataatgt gcggctgctg atgctggacg 2280
accagagact gcttctgccc cactgggcta aagtggtgct gacagatcct gaggccgcca 2340
aatacgtgca cggaatcgcc gtgcactggt atctggactt tctggcccct gccaaggcca 2400
cactgggaga gacacacaga ctgttcccca acaccatgct gttcgccagc gaagcctgtg 2460
tgggcagcaa gttttgggaa cagagcgtgc ggctcggcag ctgggataga ggcatgcagt 2520
acagccacag catcatcacc aacctgctgt accacgtcgt cggctggacc gactggaatc 2580
tggccctgaa tcctgaaggc ggccctaact gggtccgaaa cttcgtggac agccccatca 2640
tcgtggacat caccaaggac accttctaca agcagcccat gttctaccac ctgggacact 2700
tcagcaagtt catccccgag ggctctcagc gcgttggact ggtggcttcc cagaagaacg 2760
atctggacgc cgtggctctg atgcaccctg atggatctgc tgtggtggtg gtcctgaacc 2820
gcagcagcaa agatgtgccc ctgaccatca aggatcccgc cgtgggattc ctggaaacaa 2880
tcagccctgg ctactccatc cacacctacc tgtggcgtag acagtgacaa ttgttaatta 2940
agtttaaacc ctcgaggccg caagcttatc gataatcaac ctctggatta caaaatttgt 3000
gaaagattga ctggtattct taactatgtt gctcctttta cgctatgtgg atacgctgct 3060
ttaatgcctt tgtatcatgc tattgcttcc cgtatggctt tcattttctc ctccttgtat 3120
aaatcctggt tgctgtctct ttatgaggag ttgtggcccg ttgtcaggca acgtggcgtg 3180
gtgtgcactg tgtttgctga cgcaaccccc actggttggg gcattgccac cacctgtcag 3240
ctcctttccg ggactttcgc tttccccctc cctattgcca cggcggaact catcgccgcc 3300
tgccttgccc gctgctggac aggggctcgg ctgttgggca ctgacaattc cgtggtgttg 3360
tcggggaaat catcgtcctt tccttggctg ctcgcctgtg ttgccacctg gattctgcgc 3420
gggacgtcct tctgctacgt cccttcggcc ctcaatccag cggaccttcc ttcccgcggc 3480
ctgctgccgg ctctgcggcc tcttccgcgt cttcgccttc gccctcagac gagtcggatc 3540
tccctttggg ccgcctcccc gcatcgatac cgtcgactag agctcgctga tcagcctcga 3600
ctgtgccttc tagttgccag ccatctgttg tttgcccctc ccccgtgcct tccttgaccc 3660
tggaaggtgc cactcccact gtcctttcct aataaaatga ggaaattgca tcgcattgtc 3720
tgagtaggtg tcattctatt ctgggggggtg gggtggggca ggacagcaag ggggaggatt 3780
gggaagacaa tagcaggcat gctggggaga gatccacgat aacaaacagc ttttttgggg 3840
tgaacatatt gactgaattc cctgcaggtt ggccactccc tctctgcgcg ctcgctcgct 3900
cactgaggcc gcccgggcaa agcccgggcg tcgggcgacc tttggtcgcc cggcctcagt 3960
gagcgagcga gcgcgcagag agggagtggc caactccatc actaggggtt cct 4013

<210> 38
<211> 4606
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多核苷酸

<400> 38

ttggccactc cctctctgcg cgctcgctcg ctcactgagg ccgggcgacc aaaggtcgcc 60
cgacgcccgg gctttgcccg ggcggcctca gtgagcgagc gagcgcgcag agagggagtg 120
gccaactcca tcactagggg ttcctgctag ctctgggtat ttaagcccga gtgagcacgc 180
agggtctcca ttttgaagcg ggaggttacg cgttcgtcga ctactagtgg gtaccagagc 240
tccctaggtt ctagaaccgg tgacgtctcc catggtgaag cttggatctg agggcggagt 300
tagggcggag ccaatcagcg tgcgccgttc cgaaagttgc cttttatggc tgggcggaga 360
atgggcggtg aacgccgatg attatataag gacgcgccgg gtgtggcaca gctagttccg 420
tcgcagccgg gatttgggtc gcggttcttg tttgtggatc cctgtgatcg tcacttggta 480
agtcactgac tgtctatgcc tgggaaaggg tgggcaggag atggggcagt gcaggaaaag 540
tggcactatg aaccctcctg gtggcgaggg gagggggtg gtcctcgaac gccttgcaga 600
actggcctgg atacagagtg gaccggctgg ccccatctgg aagacttcga gatacactgt 660
tgtcttactg cgctcaacag tgtatctcga agtcttccaa atggtgccag ccatcgcagc 720
ggggtgcagg aaatgggggc agccccccct tttggctatc cttccacgtg ttctttttg 780
tatcttttgt gtttcctaga aaacatctca gtcaccaccg cagccctagg aatgcatcta 840
gacaattgta ctaaccttct tctctttcct ctcctgacag tccggaaagc caccatgtac 900
gccctgttcc tgctggccag cctgctgggc gccgccctgg ccggccccgt gctgggcctg 960
aaggagtgca cccgcggcag cgccgtgtgg tgccagaacg tgaagaccgc cagcgactgc 1020
ggcgccgtga agcactgcct gcagaccgtg tggaacaagc ccaccgtgaa gagcctgccc 1080
tgcgacatct gcaaggacgt ggtgaccgcc gccggcgaca tgctgaagga caacgccacc 1140
gaggaggaga tcctggtgta cctggagaag acctgcgact ggctgcccaa gcccaacatg 1200
agcgccagct gcaaggagat cgtggacagc tacctgcccg tgatcctgga catcatcaag 1260
ggcgagatga gccgcccccgg cgaggtgtgc agcgccctga acctgtgcga gagcctgcag 1320
aagcacctgg ccgagctgaa ccaccagaag cagctggaga gcaacaagat ccccgagctg 1380
gacatgaccg aggtggtggc ccccttcatg gccaacatcc ccctgctgct gtacccccag 1440
gacggccccc gcagcaagcc ccagcccaag gacaacggcg acgtgtgcca ggactgcatc 1500
cagatggtga ccgacatcca gaccgccgtg cgcaccaaca gcaccttcgt gcaggccctg 1560
gtggagcacg tgaaggagga gtgcgaccgc ctgggccccg gcatggccga catctgcaag 1620
aactacatca gccagtacag cgagatcgcc atccagatga tgatgcacat gcagcccaag 1680
gagatctgcg ccctggtggg cttctgcgac gaggtgaagg agatgcccat gcagaccctg 1740
gtgcccgcca aggtggccag caagaacgtg atccccgccc tggagctggt ggagcccatc 1800
aagaagcacg aggtgcccgc caagagcgac gtgtactgcg aggtgtgcga gttcctggtg 1860
aaggaggtga ccaagctgat cgacaacaac aagaccgaga aggagatcct ggacgccttc 1920
gacaagatgt gcagcaagct gcccaagagc ctgagcgagg agtgccagga ggtggtggac 1980
acctacggca gcagcatcct gagcatcctg ctggaggagg tgagccccga gctggtgtgc 2040
agcatgctgc acctgtgcag cggcacccgc ctgcccgccc tgaccgtgca cgtgacccag 2100
cccaaggacg gcggcttctg cgaggtgtgc aagaagctgg tgggctacct ggaccgcaac 2160
ctggagaaga acagcaccaa gcaggagatc ctggccgccc tggagaaggg ctgcagcttc 2220
ctgcccgacc cctaccagaa gcagtgcgac cagttcgtgg ccgagtacga gcccgtgctg 2280

atcgagatcc tggtggaggt gatggacccc agcttcgtgt gcctgaagat cggcgcctgc 2340
cccagcgccc acaagcccct gctgggcacc gagaagtgca tctggggccc cagctactgg 2400
tgccagaaca ccgagaccgc cgcccagtgc aacgccgtgg agcactgcaa gcgccacgtg 2460
tggaacagaa gaaagagagg aagtggagag ggcagaggaa gtcttctgac atgcggagac 2520
gtggaagaga atcccggccc tatggaattc agcagcccca gcagagagga atgccccaag 2580
cctctgagcc gggtgtcaat catggccgga tctctgacag gactgctgct gcttcaggcc 2640
gtgtcttggg cttctggcgc tagaccttgc atccccaaga gcttcggcta cagcagcgtc 2700
gtgtgcgtgt gcaatgccac ctactgcgac agcttcgacc ctcctacctt tcctgctctg 2760
ggcaccttca gcagatacga gagcaccaga tccggcagac ggatggaact gagcatggga 2820
cccatccagg ccaatcacac aggcactggc ctgctgctga cactgcagcc tgagcagaaa 2880
ttccagaaag tgaaaggctt cggcggagcc atgacagatg ccgccgctct gaatatcctg 2940
gctctgtctc caccagctca gaacctgctg ctcaagagct acttcagcga ggaaggcatc 3000
ggctacaaca tcatcagagt gcccatggcc agctgcgact tcagcatcag gacctacacc 3060
tacgccgaca cacccgacga tttccagctg cacaacttca gcctgcctga agaggacacc 3120
aagctgaaga tccctctgat ccacagagcc ctgcagctgg cacaaagacc cgtgtcactg 3180
ctggcctctc catggacatc tcccacctgg ctgaaaacaa atggcgccgt gaatggcaag 3240
ggcagcctga aaggccaacc tggcgacatc taccaccaga cctgggccag atacttcgtg 3300
aagttcctgg acgcctatgc cgagcacaag ctgcagtttt gggccgtgac agccgagaac 3360
gaaccttctg ctggactgct gagcggctac ccctttcagt gcctgggctt tacacccgag 3420
caccagcggg actttatcgc ccgtgatctg ggacccacac tggccaatag cacccaccat 3480
aatgtgcggc tgctgatgct ggacgaccag agactgcttc tgccccactg ggctaaagtg 3540
gtgctgacag atcctgaggc cgccaaatac gtgcacggaa tcgccgtgca ctggtatctg 3600
gactttctgg cccctgccaa ggccacactg ggagagacac acagactgtt ccccaacacc 3660
atgctgttcg ccagcgaagc ctgtgtgggc agcaagtttt gggaacagag cgtgcggctc 3720
ggcagctggg atagaggcat gcagtacagc cacagcatca tcaccaacct gctgtaccac 3780
gtcgtcggct ggaccgactg gaatctggcc ctgaatcctg aaggcggccc taactgggtc 3840
cgaaacttcg tggacagccc catcatcgtg gacatcacca aggacacctt ctacaagcag 3900
cccatgttct accacctggg acacttcagc aagttcatcc ccgagggctc tcagcgcgtt 3960
ggactggtgg cttcccagaa gaacgatctg gacgccgtgg ctctgatgca ccctgatgga 4020
tctgctgtgg tggtggtcct gaaccgcagc agcaaagatg tgcccctgac catcaaggat 4080
cccgccgtgg gattcctgga aacaatcagc cctggctact ccatccacac ctacctgtgg 4140
cgtagacagt gacaattgtt aattaagttt aaaccctcga ggccgcaagc cgcatcgata 4200
ccgtcgacta gagctcgctg atcagcctcg actgtgcctt ctagttgcca gccatctgtt 4260
gtttgccccct cccccgtgcc ttccttgacc ctggaaggtg ccactcccac tgtcctttcc 4320
taataaaatg aggaaattgc atcgcattgt ctgagtaggt gtcattctat tctgggggggt 4380
ggggtggggc aggacagcaa gggggaggat tgggaagaca atagcaggca tgctggggat 4440
gtacactgaa ttccctgcag gttggccact ccctctctgc gcgctcgctc gctcactgag 4500
gccgcccggg caaagcccgg gcgtcgggcg acctttggtc gcccggcctc agtgagcgag 4560
cgagcgcgca gagagggagt ggccaactcc atcactaggg gttcct 4606

<210> 39
<211> 10699
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> PR001A载体第一链序列
<400> 39

ttggccactc cctctctgcg cgctcgctcg ctcactgagg ccgcccgggc aaagcccggg 60
cgtcgggcga cctttggtcg cccggcctca gtgagcgagc gagcgcgcag agagggagtg 120
gccaactcca tcactagggg ttcctgctag ctctgggtat ttaagcccga gtgagcacgc 180
agggtctcca ttttgaagcg ggaggttacg cgttcgtcga ctactagtgg gtaccagagc 240
tccctaggtt ctagaaccgg tgacgtctcc catggtgaag cttggatctg aattcggtac 300
ctagttatta atagtaatca attacggggt cattagttca tagcccatat atggagttcc 360
gcgttacata acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat 420
tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc 480
aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc 540
caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt 600
acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta 660
ccatggtcga ggtgagcccc acgttctgct tcactctccc catctccccc ccctccccac 720
ccccaatttt gtatttattt atttttaat tattttgtgc agcgatgggg gcgggggggg 780
gggggggcg cgcgccaggc ggggcggggc ggggcgaggg gcggggcggg gcgaggcgga 840
gaggtgcggc ggcagccaat cagagcggcg cgctccgaaa gtttcctttt atggcgaggc 900
ggcggcggcg gcggccctat aaaaagcgaa gcgcgcggcg ggcgggagtc gctgcgcgct 960
gccttcgccc cgtgccccgc tccgccgccg cctcgcgccg cccgccccgg ctctgactga 1020
ccgcgttact cccacaggtg agcgggcggg acggcccttc tcctccgggc tgtaattagc 1080
gcttggttta atgacggctt gtttcttttc tgtggctgcg tgaaagcctt gaggggctcc 1140
gggagctaga gcctctgcta accatgttca tgccttcttc tttttcctac agctcctggg 1200
caacgtgctg gttattgtgc tgtctcatca ttttggcaaa gaattcctcg aagatccgaa 1260
gggaaagtct tccacgactg tgggatccgt tcgaagatat caccggttga gccaccatgg 1320
aattcagcag ccccagcaga gaggaatgcc ccaagcctct gagccgggtg tcaatcatgg 1380
ccggatctct gacaggactg ctgctgcttc aggccgtgtc ttgggcttct ggcgctagac 1440
cttgcatccc caagagcttc ggctacagca gcgtcgtgtg cgtgtgcaat gccacctact 1500
gcgacagctt cgaccctcct acctttcctg ctctgggcac cttcagcaga tacgagagca 1560
ccagatccgg cagacggatg gaactgagca tgggacccat ccaggccaat cacacaggca 1620
ctggcctgct gctgacactg cagcctgagc agaaattcca gaaagtgaaa ggcttcggcg 1680
gagccatgac agatgccgcc gctctgaata tcctggctct gtctccacca gctcagaacc 1740
tgctgctcaa gagctacttc agcgaggaag gcatcggcta caacatcatc agagtgccca 1800
tggccagctg cgacttcagc atcaggacct acacctacgc cgacacaccc gacgatttcc 1860
agctgcacaa cttcagcctg cctgaagagg acaccaagct gaagatccct ctgatccaca 1920

gagccctgca gctggcacaa agacccgtgt cactgctggc ctctccatgg acatctccca 1980
cctggctgaa aacaaatggc gccgtgaatg gcaagggcag cctgaaaggc caacctggcg 2040
acatctacca ccagacctgg gccagatact tcgtgaagtt cctggacgcc tatgccgagc 2100
acaagctgca gttttgggcc gtgacagccg agaacgaacc ttctgctgga ctgctgagcg 2160
gctacccctt tcagtgcctg ggctttacac ccgagcacca gcgggacttt atcgcccgtg 2220
atctgggacc cacactggcc aatagcaccc accataatgt gcggctgctg atgctggacg 2280
accagagact gcttctgccc cactgggcta aagtggtgct gacagatcct gaggccgcca 2340
aatacgtgca cggaatcgcc gtgcactggt atctggactt tctggcccct gccaaggcca 2400
cactgggaga gacacacaga ctgttcccca acaccatgct gttcgccagc gaagcctgtg 2460
tgggcagcaa gttttgggaa cagagcgtgc ggctcggcag ctgggataga ggcatgcagt 2520
acagccacag catcatcacc aacctgctgt accacgtcgt cggctggacc gactggaatc 2580
tggccctgaa tcctgaaggc ggccctaact gggtccgaaa cttcgtggac agccccatca 2640
tcgtggacat caccaaggac accttctaca agcagcccat gttctaccac ctgggacact 2700
tcagcaagtt catccccgag ggctctcagc gcgttggact ggtggcttcc cagaagaacg 2760
atctggacgc cgtggctctg atgcaccctg atggatctgc tgtggtggtg gtcctgaacc 2820
gcagcagcaa agatgtgccc ctgaccatca aggatcccgc cgtgggattc ctggaaacaa 2880
tcagccctgg ctactccatc cacacctacc tgtggcgtag acagtgacaa ttgttaatta 2940
agtttaaacc ctcgaggccg caagcttatc gataatcaac ctctggatta caaaatttgt 3000
gaaagattga ctggtattct taactatgtt gctcctttta cgctatgtgg atacgctgct 3060
ttaatgcctt tgtatcatgc tattgcttcc cgtatggctt tcattttctc ctccttgtat 3120
aaatcctggt tgctgtctct ttatgaggag ttgtggcccg ttgtcaggca acgtggcgtg 3180
gtgtgcactg tgtttgctga cgcaaccccc actggttggg gcattgccac cacctgtcag 3240
ctcctttccg ggactttcgc tttccccctc cctattgcca cggcggaact catcgccgcc 3300
tgccttgccc gctgctggac aggggctcgg ctgttgggca ctgacaattc cgtggtgttg 3360
tcggggaaat catcgtcctt tccttggctg ctcgcctgtg ttgccacctg gattctgcgc 3420
gggacgtcct tctgctacgt cccttcggcc ctcaatccag cggaccttcc ttcccgcggc 3480
ctgctgccgg ctctgcggcc tcttccgcgt cttcgccttc gccctcagac gagtcggatc 3540
tccctttggg ccgcctcccc gcatcgatac cgtcgactag agctcgctga tcagcctcga 3600
ctgtgccttc tagttgccag ccatctgttg tttgcccctc ccccgtgcct tccttgaccc 3660
tggaaggtgc cactcccact gtcctttcct aataaaatga ggaaattgca tcgcattgtc 3720
tgagtaggtg tcattctatt ctgggggggtg gggtggggca ggacagcaag ggggaggatt 3780
gggaagacaa tagcaggcat gctggggaga gatccacgat aacaaacagc ttttttgggg 3840
tgaacatatt gactgaattc cctgcaggtt ggccactccc tctctgcgcg ctcgctcgct 3900
cactgaggcc gcccgggcaa agcccgggcg tcgggcgacc tttggtcgcc cggcctcagt 3960
gagcgagcga gcgcgcagag agggagtggc caactccatc actaggggtt cctgcggccg 4020
ctcgtacggt ctcgaggaat tcctgcagga taacttgcca acctcattct aaaatgtata 4080
tagaagccca aaagacaata acaaaaatat tcttgtagaa caaaatggga aagaatgttc 4140
cactaaatat caagatttag agcaaagcat gagatgtgtg gggatagaca gtgaggctga 4200
taaaatagag tagagctcag aaacagaccc attgatatat gtaagtgacc tatgaaaaaa 4260

atatggcatt ttacaatggg aaaatgatgg tctttttctt ttttagaaaa acagggaaat 4320
atatttatat gtaaaaaata aaagggaacc catatgtcat accatacaca caaaaaaatt 4380
ccagtgaatt ataagtctaa atggagaagg caaaacttta aatcttttag aaaataatat 4440
agaagcatgc agaccagcct ggccaacatg atgaaaccct ctctactaat aataaaatca 4500
gtagaactac tcaggactac tttgagtggg aagtcctttt ctatgaagac ttctttggcc 4560
aaaattaggc tctaaatgca aggagatagt gcatcatgcc tggctgcact tactgataaa 4620
tgatgttatc accatcttta accaaatgca caggaacaag ttatggtact gatgtgctgg 4680
attgagaagg agctctactt ccttgacagg acacatttgt atcaacttaa aaaagcagat 4740
ttttgccagc agaactattc attcagaggt aggaaactta gaatagatga tgtcactgat 4800
tagcatggct tccccatctc cacagctgct tcccacccag gttgcccaca gttgagtttg 4860
tccagtgctc agggctgccc actctcagta agaagcccca caccagcccc tctccaaata 4920
tgttggctgt tccttccatt aaagtgaccc cactttagag cagcaagtgg atttctgttt 4980
cttacagttc aggaaggagg agtcagctgt gagaacctgg agcctgagat gcttctaagt 5040
cccactgcta ctggggtcag ggaagccaga ctccagcatc agcagtcagg agcactaagc 5100
ccttgccaac atcctgtttc tcagagaaac tgcttccatt ataatggttg tccttttta 5160
agctatcaag ccaaacaacc agtgtctacc attattctca tcacctgaag ccaagggttc 5220
tagcaaaagt caagctgtct tgtaatggtt gatgtgcctc cagcttctgt cttcagtcac 5280
tccactctta gcctgctctg aatcaactct gaccacagtt ccctggagcc cctgccacct 5340
gctgcccctg ccaccttctc catctgcagt gctgtgcagc cttctgcact cttgcagagc 5400
taataggtgg agacttgaag gaagaggagg aaagtttctc ataatagcct tgctgcaagc 5460
tcaaatggga ggtgggcact gtgcccagga gccttggagc aaaggctgtg cccaacctct 5520
gactgcatcc aggtttggtc ttgacagaga taagaagccc tggcttttgg agccaaaatc 5580
taggtcagac ttaggcagga ttctcaaagt ttatcagcag aacatgaggc agaagaccct 5640
ttctgctcca gcttcttcag gctcaacctt catcagaata gatagaaaga gaggctgtga 5700
gggttcttaa aacagaagca aatctgactc agagaataaa caacctccta gtaaactaca 5760
gcttagacag agcatctggt ggtgagtgtg ctcagtgtcc tactcaactg tctggtatca 5820
gccctcatga ggacttctct tctttccctc atagacctcc atctctgttt tccttagcct 5880
gcagaaatct ggatggctat tcacagaatg cctgtgcttt cagagttgca ttttttctct 5940
ggtattctgg ttcaagcatt tgaaggtagg aaaggttctc caagtgcaag aaagccagcc 6000
ctgagcctca actgcctggc tagtgtggtc agtaggatgc aaaggctgtt gaatgccaca 6060
aggccaaact ttaacctgtg taccacaagc ctagcagcag aggcagctct gctcactgga 6120
actctctgtc ttctttctcc tgagcctttt cttttcctga gttttctagc tctcctcaac 6180
cttacctctg ccctacccag gacaaaccca agagccactg tttctgtgat gtcctctcca 6240
gccctaatta ggcatcatga cttcagcctg accttccatg ctcagaagca gtgctaatcc 6300
acttcagatg agctgctcta tgcaacacag gcagagccta caaacctttg caccagagcc 6360
ctccacatat cagtgtttgt tcatactcac ttcaacagca aatgtgactg ctgagattaa 6420
gattttacac aagatggtct gtaatttcac agttagtttt atcccattag gtatgaaaga 6480
attagcataa ttccccttaa acatgaatga atcttagatt ttttaataaa tagttttgga 6540
agtaaagaca gagacatcag gagcacaagg aatagcctga gaggacaaac agaacaagaa 6600

agagtctgga aatacacagg atgttcttgg cctcctcaaa gcaagtgcaa gcagatagta 6660
ccagcagccc caggctatca gagcccagtg aagagaagta ccatgaaagc cacagctcta 6720
accaccctgt tccagagtga cagacagtcc ccaagacaag ccagcctgag ccagagagag 6780
aactgcaaga gaaagtttct aatttaggtt ctgttagatt cagacaagtg caggtcatcc 6840
tctctccaca gctactcacc tctccagcct aacaaagcct gcagtccaca ctccaaccct 6900
ggtgtctcac ctcctagcct ctcccaacat cctgctctct gaccatcttc tgcatctctc 6960
atctcaccat ctcccactgt ctacagccta ctcttgcaac taccatctca ttttctgaca 7020
tcctgtctac atcttctgcc atactctgcc atctaccata ccacctctta ccatctacca 7080
caccatcttt tatctccatc cctctcagaa gcctccaagc tgaatcctgc tttatgtgtt 7140
catctcagcc cctgcatgga aagctgaccc cagaggcaga actattccca gagagcttgg 7200
ccaagaaaaa caaaactacc agcctggcca ggctcaggag tagtaagctg cagtgtctgt 7260
tgtgttctag cttcaacagc tgcaggagtt ccactctcaa atgctccaca tttctcacat 7320
cctcctgatt ctggtcacta cccatcttca aagaacagaa tatctcacat cagcatactg 7380
tgaaggacta gtcatgggtg cagctgctca gagctgcaaa gtcattctgg atggtggaga 7440
gcttacaaac atttcatgat gctccccccg ctctgatggc tggagcccaa tccctacaca 7500
gactcctgct gtatgtgttt tcctttcact ctgagccaca gccagagggc aggcattcag 7560
tctcctcttc aggctggggc tggggcactg agaactcacc caacaccttg ctctcactcc 7620
ttctgcaaaa caagaaagag ctttgtgctg cagtagccat gaagaatgaa aggaaggctt 7680
taactaaaaa atgtcagaga ttattttcaa ccccttactg tggatcacca gcaaggagga 7740
aacacaacac agagacattt tttcccctca aattatcaaa agaatcactg catttgttaa 7800
agagagcaac tgaatcagga agcagagttt tgaacatatc agaagttagg aatctgcatc 7860
agagacaaat gcagtcatgg ttgtttgctg cataccagcc ctaatcatta gaagcctcat 7920
ggacttcaaa catcattccc tctgacaaga tgctctagcc taactccatg agataaaata 7980
aatctgcctt tcagagccaa agaagagtcc accagcttct tctcagtgtg aacaagagct 8040
ccagtcaggt tagtcagtcc agtgcagtag aggagaccag tctgcatcct ctaattttca 8100
aaggcaagaa gatttgttta ccctggacac caggcacaag tgaggtcaca gagctcttag 8160
atatgcagtc ctcatgagtg aggagactaa agcgcatgcc atcaagactt cagtgtagag 8220
aaaacctcca aaaaagcctc ctcactactt ctggaatagc tcagaggccg aggcggcctc 8280
ggcctctgca taaataaaaa aaattagtca gccatggggc ggagaatggg cggaactggg 8340
cggagttagg ggcgggatgg gcggagttag gggcgggact atggttgctg actaattgag 8400
atgcatgctt tgcatacttc tgcctgctgg ggagcctggg gactttccac acctggttgc 8460
tgactaattg agatgcatgc tttgcatact tctgcctgct ggggagcctg gggactttcc 8520
acaccctaac tgacacacat tccacagctg cattaatgaa tcggccaacg cgcggggaga 8580
ggcggtttgc gtattgggcg ctcttccgct tcctcgctca ctgactcgct gcgctcggtc 8640
gttcggctgc ggcgagcggt atcagctcac tcaaaggcgg taatacggtt atccacagaa 8700
tcaggggata acgcaggaaa gaacatgtga gcaaaaggcc agcaaaaggc caggaaccgt 8760
aaaaaggccg cgttgctggc gttttttccat aggctccgcc cccctgacga gcatcacaaa 8820
aatcgacgct caagtcagag gtggcgaaac ccgacaggac tataaagata ccaggcgttt 8880
ccccctggaa gctccctcgt gcgctctcct gttccgaccc tgccgcttac cggatacctg 8940

tccgcctttc tcccttcggg aagcgtggcg ctttctcata gctcacgctg taggtatctc 9000
agttcggtgt aggtcgttcg ctccaagctg ggctgtgtgc acgaaccccc cgttcagccc 9060
gaccgctgcg ccttatccgg taactatcgt cttgagtcca acccggtaag acacgactta 9120
tcgccactgg cagcagccac tggtaacagg attagcagag cgaggtatgt aggcggtgct 9180
acagagttct tgaagtggtg gcctaactac ggctacacta gaagaacagt atttggtatc 9240
tgcgctctgc tgaagccagt taccttcgga aaaagagttg gtagctcttg atccggcaaa 9300
caaaccaccg ctggtagcgg tggtttttt gtttgcaagc agcagattac gcgcagaaaa 9360
aaaggatctc aagaagatcc tttgatcttt tctacggggt ctgacgctca gtggaacgaa 9420
aactcacgtt aagggatttt ggtcatgaga ttatcaaaaa ggatcttcac ctagatcctt 9480
ttaaattaaa aatgaagttt taaatcaatc taaagtatat atgagtaaac ttggtctgac 9540
agttaccaat gcttaatcag tgaggcacct atctcagcga tctgtctatt tcgttcatcc 9600
atagttgcct gactcctgca aaccacgttg tgtctcaaaa tctctgatgt tacattgcac 9660
aagataaaaa tatatcatca tgaacaataa aactgtctgc ttacataaac agtaatacaa 9720
ggggtgttat gagccatatt caacgggaaa cgtcttgctc gaggccgcga ttaaattcca 9780
acatggatgc tgatttatat gggtataaat gggctcgcga taatgtcggg caatcaggtg 9840
cgacaatcta tcgattgtat gggaagcccg atgcgccaga gttgtttctg aaacatggca 9900
aaggtagcgt tgccaatgat gttacagatg agatggtcag actaaactgg ctgacggaat 9960
ttatgcctct tccgaccatc aagcatttta tccgtactcc tgatgatgca tggttactca 10020
ccactgcgat ccccgggaaa acagcattcc aggtattaga agaatatcct gattcaggtg 10080
aaaatattgt tgatgcgctg gcagtgttcc tgcgccggtt gcattcgatt cctgtttgta 10140
attgtccttt taacagcgat cgcgtatttc gtctcgctca ggcgcaatca cgaatgaata 10200
acggtttggt tgatgcgagt gattttgatg acgagcgtaa tggctggcct gttgaacaag 10260
tctggaaaga aatgcataag cttttgccat tctcaccgga ttcagtcgtc actcatggtg 10320
atttctcact tgataacctt atttttgacg aggggaaatt aataggttgt attgatgttg 10380
gacgagtcgg aatcgcagac cgataccagg atcttgccat cctatggaac tgcctcggtg 10440
agttttctcc ttcattacag aaacggcttt ttcaaaaata tggtattgat aatcctgata 10500
tgaataaatt gcagtttcat ttgatgctcg atgagttttt ctaagggcgg cctgccacca 10560
tacccacgcc gaaacaagcg ctcatgagcc cgaagtggcg agcccgatct tccccatcgg 10620
tgatgtcggc gatataggcg ccagcaaccg cacctgtggc gccggtgatg agggcgcgcc 10680
aagtcgacgt ccggcagtc 10699

<210> 40
<211> 10699
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> PR001A载体第二链序列
<400> 40

gactgccgga cgtcgacttg gcgcgccctc atcaccggcg ccacaggtgc ggttgctggc 60
gcctatatcg ccgacatcac cgatggggaa gatcgggctc gccacttcgg gctcatgagc 120

gcttgtttcg gcgtgggtat ggtggcaggc cgcccttaga aaaactcatc gagcatcaaa 180
tgaaactgca atttattcat atcaggatta tcaataccat atttttgaaa aagccgtttc 240
tgtaatgaag gagaaaactc accgaggcag ttccatagga tggcaagatc ctggtatcgg 300
tctgcgattc cgactcgtcc aacatcaata caacctatta atttcccctc gtcaaaaata 360
aggttatcaa gtgagaaatc accatgagtg acgactgaat ccggtgagaa tggcaaaagc 420
ttatgcattt ctttccagac ttgttcaaca ggccagccat tacgctcgtc atcaaaatca 480
ctcgcatcaa ccaaaccgtt attcattcgt gattgcgcct gagcgagacg aaatacgcga 540
tcgctgttaa aaggacaatt acaaacagga atcgaatgca accggcgcag gaacactgcc 600
agcgcatcaa caatattttc acctgaatca ggatattctt ctaatacctg gaatgctgtt 660
ttcccgggga tcgcagtggt gagtaaccat gcatcatcag gagtacggat aaaatgcttg 720
atggtcggaa gaggcataaa ttccgtcagc cagtttagtc tgaccatctc atctgtaaca 780
tcattggcaa cgctaccttt gccatgtttc agaaacaact ctggcgcatc gggcttccca 840
tacaatcgat agattgtcgc acctgattgc ccgacattat cgcgagccca tttataccca 900
tataaatcag catccatgtt ggaatttaat cgcggcctcg agcaagacgt ttcccgttga 960
atatggctca taacacccct tgtattactg tttatgtaag cagacagttt tattgttcat 1020
gatgatatat ttttatcttg tgcaatgtaa catcagagat tttgagacac aacgtggttt 1080
gcaggagtca ggcaactatg gatgaacgaa atagacagat cgctgagata ggtgcctcac 1140
tgattaagca ttggtaactg tcagaccaag tttactcata tatactttag attgatttaa 1200
aacttcattt ttaatttaaa aggatctagg tgaagatcct ttttgataat ctcatgacca 1260
aaatccctta acgtgagttt tcgttccact gagcgtcaga ccccgtagaa aagatcaaag 1320
gatcttcttg agatcctttt tttctgcgcg taatctgctg cttgcaaaca aaaaaaccac 1380
cgctaccagc ggtggtttgt ttgccggatc aagagctacc aactcttttt ccgaaggtaa 1440
ctggcttcag cagagcgcag ataccaaata ctgttcttct agtgtagccg tagttaggcc 1500
accacttcaa gaactctgta gcaccgccta catacctcgc tctgctaatc ctgttaccag 1560
tggctgctgc cagtggcgat aagtcgtgtc ttaccgggtt ggactcaaga cgatagttac 1620
cggataaggc gcagcggtcg ggctgaacgg ggggttcgtg cacacagccc agcttggagc 1680
gaacgaccta caccgaactg agatacctac agcgtgagct atgagaaagc gccacgcttc 1740
ccgaagggag aaaggcggac aggtatccgg taagcggcag ggtcggaaca ggagagcgca 1800
cgagggagct tccagggggа aacgcctggt atctttatag tcctgtcggg tttcgccacc 1860
tctgacttga gcgtcgattt ttgtgatgct cgtcaggggg gcggagccta tggaaaaacg 1920
ccagcaacgc ggcctttttа cggttcctgg ccttttgctg gccttttgct cacatgttct 1980
ttcctgcgtt atcccctgat tctgtggata accgtattac cgcctttgag tgagctgata 2040
ccgctcgccg cagccgaacg accgagcgca gcgagtcagt gagcgaggaa gcggaagagc 2100
gcccaatacg caaaccgcct ctccccgcgc gttggccgat tcattaatgc agctgtggaa 2160
tgtgtgtcag ttagggtgtg gaaagtcccc aggctcccca gcaggcagaa gtatgcaaag 2220
catgcatctc aattagtcag caaccaggtg tggaaagtcc ccaggctccc cagcaggcag 2280
aagtatgcaa agcatgcatc tcaattagtc agcaaccata gtcccgcccc taactccgcc 2340
catcccgccc ctaactccgc ccagttccgc ccattctccg ccccatggct gactaatttt 2400
ttttatttat gcagaggccg aggccgcctc ggcctctgag ctattccaga agtagtgagg 2460

aggctttttt ggaggttttc tctacactga agtcttgatg gcatgcgctt tagtctcctc 2520
actcatgagg actgcatatc taagagctct gtgacctcac ttgtgcctgg tgtccagggt 2580
aaacaaatct tcttgccttt gaaaattaga ggatgcagac tggtctcctc tactgcactg 2640
gactgactaa cctgactgga gctcttgttc acactgagaa gaagctggtg gactcttctt 2700
tggctctgaa aggcagattt attttatctc atggagttag gctagagcat cttgtcagag 2760
ggaatgatgt ttgaagtcca tgaggcttct aatgattagg gctggtatgc agcaaacaac 2820
catgactgca tttgtctctg atgcagattc ctaacttctg atatgttcaa aactctgctt 2880
cctgattcag ttgctctctt taacaaatgc agtgattctt ttgataattt gaggggaaaa 2940
aatgtctctg tgttgtgttt cctccttgct ggtgatccac agtaaggggt tgaaaataat 3000
ctctgacatt ttttagttaa agccttcctt tcattcttca tggctactgc agcacaaagc 3060
tctttcttgt tttgcagaag gagtgagagc aaggtgttgg gtgagttctc agtgccccag 3120
ccccagcctg aagaggagac tgaatgcctg ccctctggct gtggctcaga gtgaaaggaa 3180
aacacataca gcaggagtct gtgtagggat tgggctccag ccatcagagc ggggggagca 3240
tcatgaaatg tttgtaagct ctccaccatc cagaatgact ttgcagctct gagcagctgc 3300
acccatgact agtccttcac agtatgctga tgtgagatat tctgttcttt gaagatgggt 3360
agtgaccaga atcaggagga tgtgagaaat gtggagcatt tgagagtgga actcctgcag 3420
ctgttgaagc tagaacacaa cagacactgc agcttactac tcctgagcct ggccaggctg 3480
gtagttttgt ttttcttggc caagctctct gggaatagtt ctgcctctgg ggtcagcttt 3540
ccatgcaggg gctgagatga acacataaag caggattcag cttggaggct tctgagaggg 3600
atggagataa aagatggtgt ggtagatggt aagaggtggt atggtagatg gcagagtatg 3660
gcagaagatg tagacaggat gtcagaaaat gagatggtag ttgcaagagt aggctgtaga 3720
cagtgggaga tggtgagatg agagatgcag aagatggtca gagagcagga tgttgggaga 3780
ggctaggagg tgagacacca gggttggagt gtggactgca ggctttgtta ggctggagag 3840
gtgagtagct gtggagagag gatgacctgc acttgtctga atctaacaga acctaaatta 3900
gaaactttct cttgcagttc tctctctggc tcaggctggc ttgtcttggg gactgtctgt 3960
cactctggaa cagggtggtt agagctgtgg ctttcatggt acttctcttc actgggctct 4020
gatagcctgg ggctgctggt actatctgct tgcacttgct ttgaggaggc caagaacatc 4080
ctgtgtattt ccagactctt tcttgttctg tttgtcctct caggctattc cttgtgctcc 4140
tgatgtctct gtctttactt ccaaaactat ttattaaaaa atctaagatt cattcatgtt 4200
taaggggaat tatgctaatt ctttcatacc taatgggata aaactaactg tgaaattaca 4260
gaccatcttg tgtaaaatct taatctcagc agtcacattt gctgttgaag tgagtatgaa 4320
caaacactga tatgtggagg gctctggtgc aaaggtttgt aggctctgcc tgtgttgcat 4380
agagcagctc atctgaagtg gattagcact gcttctgagc atggaaggtc aggctgaagt 4440
catgatgcct aattagggct ggagaggaca tcacagaaac agtggctctt gggtttgtcc 4500
tgggtagggc agaggtaagg ttgaggagag ctagaaaact caggaaaaga aaaggctcag 4560
gagaaagaag acagagagtt ccagtgagca gagctgcctc tgctgctagg cttgtggtac 4620
acaggttaaa gtttggcctt gtggcattca acagcctttg catcctactg accacactag 4680
ccaggcagtt gaggctcagg gctggctttc ttgcacttgg agaacctttc ctaccttcaa 4740
atgcttgaac cagaatacca gagaaaaaat gcaactctga aagcacaggc attctgtgaa 4800

tagccatcca gatttctgca ggctaaggaa aacagagatg gaggtctatg agggaaagaa 4860
gagaagtcct catgagggct gataccagac agttgagtag gacactgagc acactcacca 4920
ccagatgctc tgtctaagct gtagtttact aggaggttgt ttattctctg agtcagattt 4980
gcttctgttt taagaaccct cacagcctct ctttctatct attctgatga aggttgagcc 5040
tgaagaagct ggagcagaaa gggtcttctg cctcatgttc tgctgataaa ctttgagaat 5100
cctgcctaag tctgacctag attttggctc caaaagccag ggcttcttat ctctgtcaag 5160
accaaacctg gatgcagtca gaggttgggc acagcctttg ctccaaggct cctgggcaca 5220
gtgcccacct cccatttgag cttgcagcaa ggctattatg agaaactttc ctcctcttcc 5280
ttcaagtctc cacctattag ctctgcaaga gtgcagaagg ctgcacagca ctgcagatgg 5340
agaaggtggc aggggcagca ggtggcaggg gctccaggga actgtggtca gagttgattc 5400
agagcaggct aagagtggag tgactgaaga cagaagctgg aggcacatca accattacaa 5460
gacagcttga cttttgctag aacccttggc ttcaggtgat gagaataatg gtagacactg 5520
gttgtttggc ttgatagctt aaaaaaggac aaccattata atggaagcag tttctctgag 5580
aaacaggatg ttggcaaggg cttagtgctc ctgactgctg atgctggagt ctggcttccc 5640
tgaccccagt agcagtggga cttagaagca tctcaggctc caggttctca cagctgactc 5700
ctccttcctg aactgtaaga aacagaaatc cacttgctgc tctaaagtgg ggtcacttta 5760
atggaaggaa cagccaacat atttggagag gggctggtgt ggggcttctt actgagagtg 5820
ggcagccctg agcactggac aaactcaact gtgggcaacc tgggtgggaa gcagctgtgg 5880
agatggggaa gccatgctaa tcagtgacat catctattct aagtttccta cctctgaatg 5940
aatagttctg ctggcaaaaa tctgcttttt taagttgata caaatgtgtc ctgtcaagga 6000
agtagagctc cttctcaatc cagcacatca gtaccataac ttgttcctgt gcatttggtt 6060
aaagatggtg ataacatcat ttatcagtaa gtgcagccag gcatgatgca ctatctcctt 6120
gcatttagag cctaattttg gccaaagaag tcttcataga aaaggacttc ccactcaaag 6180
tagtcctgag tagttctact gattttatta ttagtagaga gggtttcatc atgttggcca 6240
ggctggtctg catgcttcta tattattttc taaaagattt aaagttttgc cttctccatt 6300
tagacttata attcactgga atttttttgt gtgtatggta tgacatatgg gttccctttt 6360
atttttaca tataaatata tttccctgtt tttctaaaaa agaaaaagac catcattttc 6420
ccattgtaaa atgccatatt tttttcatag gtcacttaca tatatcaatg ggtctgtttc 6480
tgagctctac tctattttat cagcctcact gtctatcccc acacatctca tgctttgctc 6540
taaatcttga tatttagtgg aacattcttt cccattttgt tctacaagaa tatttttgtt 6600
attgtctttt gggcttctat atacatttta gaatgaggtt ggcaagttat cctgcaggaa 6660
ttcctcgaga ccgtacgagc ggccgcagga acccctagtg atggagttgg ccactccctc 6720
tctgcgcgct cgctcgctca ctgaggccgg gcgaccaaag gtcgcccgac gcccgggctt 6780
tgcccgggcg gcctcagtga gcgagcgagc gcgcagagag ggagtggcca acctgcaggg 6840
aattcagtca atatgttcac cccaaaaaag ctgtttgtta tcgtggatct ctccccagca 6900
tgcctgctat tgtcttccca atcctccccc ttgctgtcct gccccacccc acccccccaga 6960
atagaatgac acctactcag acaatgcgat gcaatttcct catttttatta ggaaaggaca 7020
gtgggagtgg caccttccag ggtcaaggaa ggcacggggg aggggcaaac aacagatggc 7080
tggcaactag aaggcacagt cgaggctgat cagcgagctc tagtcgacgg tatcgatgcg 7140

gggaggcggc ccaaagggag atccgactcg tctgagggcg aaggcgaaga cgcggaagag 7200
gccgcagagc cggcagcagg ccgcgggaag gaaggtccgc tggattgagg gccgaaggga 7260
cgtagcagaa ggacgtcccg cgcagaatcc aggtggcaac acaggcgagc agccaaggaa 7320
aggacgatga tttccccgac aacaccacgg aattgtcagt gcccaacagc cgagcccctg 7380
tccagcagcg ggcaaggcag gcggcgatga gttccgccgt ggcaataggg agggggaaag 7440
cgaaagtccc ggaaaggagc tgacaggtgg tggcaatgcc ccaaccagtg ggggttgcgt 7500
cagcaaacac agtgcacacc acgccacgtt gcctgacaac gggccacaac tcctcataaa 7560
gagacagcaa ccaggattta tacaaggagg agaaaatgaa agccatacgg gaagcaatag 7620
catgatacaa aggcattaaa gcagcgtatc cacatagcgt aaaaggagca acatagttaa 7680
gaataccagt caatctttca caaattttgt aatccagagg ttgattatcg ataagcttgc 7740
ggcctcgagg gtttaaactt aattaacaat tgtcactgtc tacgccacag gtaggtgtgg 7800
atggagtagc cagggctgat tgtttccagg aatcccacgg cgggatcctt gatggtcagg 7860
ggcacatctt tgctgctgcg gttcaggacc accaccacag cagatccatc agggtgcatc 7920
agagccacgg cgtccagatc gttcttctgg gaagccacca gtccaacgcg ctgagagccc 7980
tcggggatga acttgctgaa gtgtcccagg tggtagaaca tgggctgctt gtagaaggtg 8040
tccttggtga tgtccacgat gatggggctg tccacgaagt ttcggaccca gttagggccg 8100
ccttcaggat tcagggccag attccagtcg gtccagccga cgacgtggta cagcaggttg 8160
gtgatgatgc tgtggctgta ctgcatgcct ctatcccagc tgccgagccg cacgctctgt 8220
tcccaaaact tgctgcccac acaggcttcg ctggcgaaca gcatggtgtt ggggaacagt 8280
ctgtgtgtct ctcccagtgt ggccttggca ggggccagaa agtccagata ccagtgcacg 8340
gcgattccgt gcacgtattt ggcggcctca ggatctgtca gcaccacttt agcccagtgg 8400
ggcagaagca gtctctggtc gtccagcatc agcagccgca cattatggtg ggtgctattg 8460
gccagtgtgg gtcccagatc acgggcgata aagtcccgct ggtgctcggg tgtaaagccc 8520
aggcactgaa aggggtagcc gctcagcagt ccagcagaag gttcgttctc ggctgtcacg 8580
gcccaaaact gcagcttgtg ctcggcatag gcgtccagga acttcacgaa gtatctggcc 8640
caggtctggt ggtagatgtc gccaggttgg cctttcaggc tgcccttgcc attcacggcg 8700
ccatttgttt tcagccaggt gggagatgtc catggagagg ccagcagtga cacgggtctt 8760
tgtgccagct gcagggctct gtggatcaga gggatcttca gcttggtgtc ctcttcaggc 8820
aggctgaagt tgtgcagctg gaaatcgtcg ggtgtgtcgg cgtaggtgta ggtcctgatg 8880
ctgaagtcgc agctggccat gggcactctg atgatgttgt agccgatgcc ttcctcgctg 8940
aagtagctct tgagcagcag gttctgagct ggtggagaca gagccaggat attcagagcg 9000
gcggcatctg tcatggctcc gccgaagcct ttcactttct ggaatttctg ctcaggctgc 9060
agtgtcagca gcaggccagt gcctgtgtga ttggcctgga tgggtcccat gctcagttcc 9120
atccgtctgc cggatctggt gctctcgtat ctgctgaagg tgcccagagc aggaaaggta 9180
ggagggtcga agctgtcgca gtaggtggca ttgcacacgc acacgacgct gctgtagccg 9240
aagctcttgg ggatgcaagg tctagcgcca gaagcccaag acacggcctg aagcagcagc 9300
agtcctgtca gagatccggc catgattgac acccggctca gaggcttggg gcattcctct 9360
ctgctggggc tgctgaattc catggtggct caaccggtga tatcttcgaa cggatcccac 9420
agtcgtggaa gactttccct tcggatcttc gaggaattct ttgccaaaat gatgagacag 9480

cacaataacc agcacgttgc ccaggagctg taggaaaaag aagaaggcat gaacatggtt 9540
agcagaggct ctagctcccg gagcccctca aggctttcac gcagccacag aaaagaaaca 9600
agccgtcatt aaaccaagcg ctaattacag cccggaggag aagggccgtc ccgcccgctc 9660
acctgtggga gtaacgcggt cagtcagagc cggggcgggc ggcgcgaggc ggcggcggag 9720
cggggcacgg ggcgaaggca gcgcgcagcg actcccgccc gccgcgcgct tcgctttta 9780
tagggccgcc gccgccgccg cctcgccata aaaggaaact ttcggagcgc gccgctctga 9840
ttggctgccg ccgcacctct ccgcctcgcc ccgccccgcc cctcgccccg ccccgccccg 9900
cctggcgcgc gccccccccc ccccccccgcc cccatcgctg cacaaaataa ttaaaaaata 9960
aataaataca aaattggggg tggggagggg ggggagatgg ggagagtgaa gcagaacgtg 10020
gggctcacct cgaccatggt aatagcgatg actaatacgt agatgtactg ccaagtagga 10080
aagtcccata aggtcatgta ctgggcataa tgccaggcgg gccatttacc gtcattgacg 10140
tcaatagggg gcgtacttgg catatgatac acttgatgta ctgccaagtg ggcagtttac 10200
cgtaaatact ccacccattg acgtcaatgg aaagtcccta ttggcgttac tatgggaaca 10260
tacgtcatta ttgacgtcaa tgggcggggg tcgttgggcg gtcagccagg cgggccattt 10320
accgtaagtt atgtaacgcg gaactccata tatgggctat gaactaatga ccccgtaatt 10380
gattactatt aataactagg taccgaattc agatccaagc ttcaccatgg gagacgtcac 10440
cggttctaga acctagggag ctctggtacc cactagtagt cgacgaacgc gtaacctccc 10500
gcttcaaaat ggagaccctg cgtgctcact cgggcttaaa tacccagagc tagcaggaac 10560
ccctagtgat ggagttggcc actccctctc tgcgcgctcg ctcgctcact gaggccgggc 10620
gaccaaaggt cgcccgacgc ccgggctttg cccgggcggc ctcagtgagc gagcgagcgc 10680
gcagagaggg agtggccaa 10699

<210> 41
<211> 10960
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> PR004B载体第一链序列
<400> 41

ttggccactc cctctctgcg cgctcgctcg ctcactgagg ccgggcgacc aaaggtcgcc 60
cgacgcccgg gctttgcccg ggcggcctca gtgagcgagc gagcgcgcag agagggagtg 120
gccaactcca tcactagggg ttcctgctag ctctgggtat ttaagcccga gtgagcacgc 180
agggtctcca ttttgaagcg ggaggttacg cgttcgtcga ctactagtgg gtaccagagc 240
tccctaggtt ctagaaccgg tgacgtctcc catggtgaag cttggatctg aattcggtac 300
cctagttatt aatagtaatc aattacgggg tcattagttc atagcccata tatggagttc 360
cgcgttacat aacttacggt aaatggcccg cctggctgac cgcccaacga cccccgccca 420
ttgacgtcaa taatgacgta tgttcccata gtaacgccaa tagggacttt ccattgacgt 480
caatgggtgg actatttacg gtaaactgcc cacttggcag tacatcaagt gtatcatatg 540
ccaagtacgc cccctattga cgtcaatgac ggtaaatggc ccgcctggca ttatgcccag 600
tacatgacct tatgggactt tcctacttgg cagtacatct acgtattagt catcgctatt 660

accatggtcg aggtgagccc cacgttctgc ttcactctcc ccatctcccc cccctcccca 720
cccccaattt tgtatttatt tatttttaa ttattttgtg cagcgatggg ggcgggggg 780
gggggggggc gcgcgccagg cggggcgggg cggggcgagg ggcggggcgg ggcgaggcgg 840
agaggtgcgg cggcagccaa tcagagcggc gcgctccgaa agtttccttt tatggcgagg 900
cggcggcggc ggcggcccta taaaaagcga agcgcgcggc gggcgggagt cgctgcgacg 960
ctgccttcgc cccgtgcccc gctccgccgc cgcctcgcgc cgcccgcccc ggctctgact 1020
gaccgcgtta ctcccacagg tgagcgggcg ggacggccct tctcctccgg gctgtaatta 1080
gcgcttggtt taatgacggc ttgtcctggt ggcgagggga ggggggtggt cctcgaacgc 1140
cttgcagaac tggcctggat acagagtgga ccggctggcc ccatctggaa gacttcgaga 1200
tacactgttg tcttactgcg ctcaacagtg tatctcgaag tcttccaaat ggtgccagcc 1260
atcgcagcgg ggtgcaggaa atgggggcag ccccccctttt tggctatcct tccacgtgtt 1320
ctttttgta tcttttgtgt ttcctagaaa acatctcagt caccaccttt ctgtggctgc 1380
gtgaaagcct tgaggggctc cgggagctag agcctctgct aaccatgttc atgccttctt 1440
ctttttccta cagctcctgg gcaacgtgct ggttattgtg ctgtctcatc attttggcaa 1500
agaattcctc gaagatccga agggaaagtc ttccacgact gtgggatccg ttcgaagata 1560
tcaccggttg agccaccatg gaattcagca gccccagcag agaggaatgc cccaagcctc 1620
tgagccgggt gtcaatcatg gccggatctc tgacaggact gctgctgctt caggccgtgt 1680
cttgggcttc tggcgctaga ccttgcatcc ccaagagctt cggctacagc agcgtcgtgt 1740
gcgtgtgcaa tgccacctac tgcgacagct tcgaccctcc tacctttcct gctctgggca 1800
ccttcagcag atacgagagc accagatccg gcagacggat ggaactgagc atgggaccca 1860
tccaggccaa tcacacaggc actggcctgc tgctgacact gcagcctgag cagaaattcc 1920
agaaagtgaa aggcttcggc ggagccatga cagatgccgc cgctctgaat atcctggctc 1980
tgtctccacc agctcagaac ctgctgctca agagctactt cagcgaggaa ggcatcggct 2040
acaacatcat cagagtgccc atggccagct gcgacttcag catcaggacc tacacctacg 2100
ccgacacacc cgacgatttc cagctgcaca acttcagcct gcctgaagag gacaccaagc 2160
tgaagatccc tctgatccac agagccctgc agctggcaca aagacccgtg tcactgctgg 2220
cctctccatg gacatctccc acctggctga aaacaaatgg cgccgtgaat ggcaagggca 2280
gcctgaaagg ccaacctggc gacatctacc accagacctg ggccagatac ttcgtgaagt 2340
tcctggacgc ctatgccgag cacaagctgc agttttgggc cgtgacagcc gagaacgaac 2400
cttctgctgg actgctgagc ggctaccct ttcagtgcct gggctttaca cccgagcacc 2460
agcgggactt tatcgcccgt gatctgggac ccacactggc caatagcacc caccataatg 2520
tgcggctgct gatgctggac gaccagagac tgcttctgcc ccactgggct aaagtggtgc 2580
tgacagatcc tgaggccgcc aaatacgtgc acggaatcgc cgtgcactgg tatctggact 2640
ttctggcccc tgccaaggcc acactgggag agacacacag actgttcccc aacaccatgc 2700
tgttcgccag cgaagcctgt gtgggcagca agttttggga acagagcgtg cggctcggca 2760
gctgggatag aggcatgcag tacagccaca gcatcatcac caacctgctg taccacgtcg 2820
tcggctggac cgactggaat ctggccctga atcctgaagg cggccctaac tgggtccgaa 2880
acttcgtgga cagccccatc atcgtggaca tcaccaagga caccttctac aagcagccca 2940
tgttctacca cctgggacac ttcagcaagt tcatccccga gggctctcag cgcgttggac 3000

tggtggcttc ccagaagaac gatctggacg ccgtggctct gatgcaccct gatggatctg 3060
ctgtggtggt ggtcctgaac cgcagcagca aagatgtgcc cctgaccatc aaggatcccg 3120
ccgtgggatt cctggaaaca atcagccctg gctactccat ccacacctac ctgtggcgta 3180
gacagtgaca attgttaatt aagtttaaac cctcgaggcc gcaagcttat cgataatcaa 3240
cctctggatt acaaaatttg tgaaagattg actggtattc ttaactatgt tgctcctttt 3300
acgctatgtg gatacgctgc tttaatgcct ttgtatcatg ctattgcttc ccgtatggct 3360
ttcattttct cctccttgta taaatcctgg ttgctgtctc tttatgagga gttgtggccc 3420
gttgtcaggc aacgtggcgt ggtgtgcact gtgtttgctg acgcaacccc cactggttgg 3480
ggcattgcca ccacctgtca gctcctttcc gggactttcg ctttcccccct ccctattgcc 3540
acggcggaac tcatcgccgc ctgccttgcc cgctgctgga caggggctcg gctgttgggc 3600
actgacaatt ccgtggtgtt gtcggggaaa tcatcgtcct ttccttggct gctcgcctgt 3660
gttgccacct ggattctgcg cgggacgtcc ttctgctacg tcccttcggc cctcaatcca 3720
gcggaccttc cttcccgcgg cctgctgccg gctctgcggc ctcttccgcg tcttcgcctt 3780
cgccctcaga cgagtcggat ctccctttgg gccgcctccc cgcatcgata ccgtcgacta 3840
gagctcgctg atcagcctcg actgtgcctt ctagttgcca gccatctgtt gtttgcccct 3900
cccccgtgcc ttccttgacc ctggaaggtg ccactcccac tgtcctttcc taataaaatg 3960
aggaaattgc atcgcattgt ctgagtaggt gtcattctat tctgggggggt ggggtggggc 4020
aggacagcaa gggggaggat tgggaagaca atagcaggca tgctggggag agatccacga 4080
taacaaacag ctttttgggg gtgaacatat tgactgaatt ccctgcaggt tggccactcc 4140
ctctctgcgc gctcgctcgc tcactgaggc cgcccgggca aagcccgggc gtcgggcgac 4200
ctttggtcgc ccggcctcag tgagcgagcg agcgcgcaga gagggagtgg ccaactccat 4260
cactaggggt tcctgcggcc gctcgtacgg tctcgaggaa ttcctgcagg ataacttgcc 4320
aacctcattc taaaatgtat atagaagccc aaaagacaat aacaaaaata ttcttgtaga 4380
acaaaatggg aaagaatgtt ccactaaata tcaagattta gagcaaagca tgagatgtgt 4440
ggggatagac agtgaggctg ataaaataga gtagagctca gaaacagacc cattgatata 4500
tgtaagtgac ctatgaaaaa aatatggcat tttacaatgg gaaaatgatg gtctttttct 4560
tttttagaaa aacagggaaa tatatttata tgtaaaaaat aaaagggaac ccatatgtca 4620
taccatacac acaaaaaaat tccagtgaat tataagtcta aatggagaag gcaaaacttt 4680
aaatctttta gaaaataata tagaagcatg cagaccagcc tggccaacat gatgaaaccc 4740
tctctactaa taataaaatc agtagaacta ctcaggacta ctttgagtgg gaagtccttt 4800
tctatgaaga cttctttggc caaaattagg ctctaaatgc aaggagatag tgcatcatgc 4860
ctggctgcac ttactgataa atgatgttat caccatcttt aaccaaatgc acaggaacaa 4920
gttatggtac tgatgtgctg gattgagaag gagctctact tccttgacag gacacatttg 4980
tatcaactta aaaaagcaga tttttgccag cagaactatt cattcagagg taggaaactt 5040
agaatagatg atgtcactga ttagcatggc ttccccatct ccacagctgc ttcccaccca 5100
ggttgcccac agttgagttt gtccagtgct cagggctgcc cactctcagt aagaagcccc 5160
acaccagccc ctctccaaat atgttggctg ttccttccat taaagtgacc ccactttaga 5220
gcagcaagtg gatttctgtt tcttacagtt caggaaggag gagtcagctg tgagaacctg 5280
gagcctgaga tgcttctaag tcccactgct actggggtca gggaagccag actccagcat 5340

cagcagtcag gagcactaag cccttgccaa catcctgttt ctcagagaaa ctgcttccat 5400
tataatggtt gtccttttt aagctatcaa gccaaacaac cagtgtctac cattattctc 5460
atcacctgaa gccaagggtt ctagcaaaag tcaagctgtc ttgtaatggt tgatgtgcct 5520
ccagcttctg tcttcagtca ctccactctt agcctgctct gaatcaactc tgaccacagt 5580
tccctggagc ccctgccacc tgctgcccct gccaccttct ccatctgcag tgctgtgcag 5640
ccttctgcac tcttgcagag ctaataggtg gagacttgaa ggaagaggag gaaagtttct 5700
cataatagcc ttgctgcaag ctcaaatggg aggtgggcac tgtgcccagg agccttggag 5760
caaaggctgt gcccaacctc tgactgcatc caggtttggt cttgacagag ataagaagcc 5820
ctggcttttg gagccaaaat ctaggtcaga cttaggcagg attctcaaag tttatcagca 5880
gaacatgagg cagaagaccc tttctgctcc agcttcttca ggctcaacct tcatcagaat 5940
agatagaaag agaggctgtg agggttctta aaacagaagc aaatctgact cagagaataa 6000
acaacctcct agtaaactac agcttagaca gagcatctgg tggtgagtgt gctcagtgtc 6060
ctactcaact gtctggtatc agccctcatg aggacttctc ttctttccct catagacctc 6120
catctctgtt ttccttagcc tgcagaaatc tggatggcta ttcacagaat gcctgtgctt 6180
tcagagttgc atttttctc tggtattctg gttcaagcat ttgaaggtag gaaaggttct 6240
ccaagtgcaa gaaagccagc cctgagcctc aactgcctgg ctagtgtggt cagtaggatg 6300
caaaggctgt tgaatgccac aaggccaaac tttaacctgt gtaccacaag cctagcagca 6360
gaggcagctc tgctcactgg aactctctgt cttctttctc ctgagccttt tcttttcctg 6420
agttttctag ctctcctcaa ccttacctct gccctaccca ggacaaaccc aagagccact 6480
gtttctgtga tgtcctctcc agccctaatt aggcatcatg acttcagcct gaccttccat 6540
gctcagaagc agtgctaatc cacttcagat gagctgctct atgcaacaca ggcagagcct 6600
acaaaccttt gcaccagagc cctccacata tcagtgtttg ttcatactca cttcaacagc 6660
aaatgtgact gctgagatta agattttaca caagatggtc tgtaatttca cagttagttt 6720
tatcccatta ggtatgaaag aattagcata attcccctta aacatgaatg aatcttagat 6780
tttttaataa atagttttgg aagtaaagac agagacatca ggagcacaag gaatagcctg 6840
agaggacaaa cagaacaaga aagagtctgg aaatacacag gatgttcttg gcctcctcaa 6900
agcaagtgca agcagatagt accagcagcc ccaggctatc agagcccagt gaagagaagt 6960
accatgaaag ccacagctct aaccaccctg ttccagagtg acagacagtc cccaagacaa 7020
gccagcctga gccagagaga gaactgcaag agaaagtttc taatttaggt tctgttagat 7080
tcagacaagt gcaggtcatc ctctctccac agctactcac ctctccagcc taacaaagcc 7140
tgcagtccac actccaaccc tggtgtctca cctcctagcc tctcccaaca tcctgctctc 7200
tgaccatctt ctgcatctct catctcacca tctcccactg tctacagcct actcttgcaa 7260
ctaccatctc attttctgac atcctgtcta catcttctgc catactctgc catctaccat 7320
accacctctt accatctacc acaccatctt ttatctccat ccctctcaga agcctccaag 7380
ctgaatcctg ctttatgtgt tcatctcagc ccctgcatgg aaagctgacc ccagaggcag 7440
aactattccc agagagcttg gccaagaaaa acaaaactac cagcctggcc aggctcagga 7500
gtagtaagct gcagtgtctg ttgtgttcta gcttcaacag ctgcaggagt tccactctca 7560
aatgctccac atttctcaca tcctcctgat tctggtcact acccatcttc aaagaacaga 7620
atatctcaca tcagcatact gtgaaggact agtcatgggt gcagctgctc agagctgcaa 7680

agtcattctg gatggtggag agcttacaaa catttcatga tgctcccccc gctctgatgg 7740
ctggagccca atccctacac agactcctgc tgtatgtgtt ttcctttcac tctgagccac 7800
agccagaggg caggcattca gtctcctctt caggctgggg ctggggcact gagaactcac 7860
ccaacacctt gctctcactc cttctgcaaa acaagaaaga gctttgtgct gcagtagcca 7920
tgaagaatga aaggaaggct ttaactaaaa aatgtcagag attattttca acccccttact 7980
gtggatcacc agcaaggagg aaacacaaca cagagacatt ttttcccctc aaattatcaa 8040
aagaatcact gcatttgtta aagagagcaa ctgaatcagg aagcagagtt ttgaacatat 8100
cagaagttag gaatctgcat cagagacaaa tgcagtcatg gttgtttgct gcataccagc 8160
cctaatcatt agaagcctca tggacttcaa acatcattcc ctctgacaag atgctctagc 8220
ctaactccat gagataaaat aaatctgcct ttcagagcca aagaagagtc caccagcttc 8280
ttctcagtgt gaacaagagc tccagtcagg ttagtcagtc cagtgcagta gaggagacca 8340
gtctgcatcc tctaattttc aaaggcaaga agatttgttt accctggaca ccaggcacaa 8400
gtgaggtcac agagctctta gatatgcagt cctcatgagt gaggagacta aagcgcatgc 8460
catcaagact tcagtgtaga gaaaacctcc aaaaaagcct cctcactact tctggaatag 8520
ctcagaggcc gaggcggcct cggcctctgc ataaataaaa aaaattagtc agccatgggg 8580
cggagaatgg gcggaactgg gcggagttag gggcgggatg ggcggagtta ggggcgggac 8640
tatggttgct gactaattga gatgcatgct ttgcatactt ctgcctgctg gggagcctgg 8700
ggactttcca cacctggttg ctgactaatt gagatgcatg ctttgcatac ttctgcctgc 8760
tggggagcct ggggactttc cacaccctaa ctgacacaca ttccacagct gcattaatga 8820
atcggccaac gcgcggggag aggcggtttg cgtattgggc gctcttccgc ttcctcgctc 8880
actgactcgc tgcgctcggt cgttcggctg cggcgagcgg tatcagctca ctcaaaggcg 8940
gtaatacggt tatccacaga atcaggggat aacgcaggaa agaacatgtg agcaaaaggc 9000
cagcaaaagg ccaggaaccg taaaaaggcc gcgttgctgg cgttttcca taggctccgc 9060
ccccctgacg agcatcacaa aaatcgacgc tcaagtcaga ggtggcgaaa cccgacagga 9120
ctataaagat accaggcgtt tccccctgga agctccctcg tgcgctctcc tgttccgacc 9180
ctgccgctta ccggatacct gtccgccttt ctcccttcgg gaagcgtggc gctttctcat 9240
agctcacgct gtaggtatct cagttcggtg taggtcgttc gctccaagct gggctgtgtg 9300
cacgaacccc ccgttcagcc cgaccgctgc gccttatccg gtaactatcg tcttgagtcc 9360
aacccggtaa gacacgactt atcgccactg gcagcagcca ctggtaacag gattagcaga 9420
gcgaggtatg taggcggtgc tacagagttc ttgaagtggt ggcctaacta cggctacact 9480
agaagaacag tatttggtat ctgcgctctg ctgaagccag ttaccttcgg aaaaagagtt 9540
ggtagctctt gatccggcaa acaaaccacc gctggtagcg gtggtttttt tgtttgcaag 9600
cagcagatta cgcgcagaaa aaaaggatct caagaagatc ctttgatctt ttctacgggg 9660
tctgacgctc agtggaacga aaactcacgt taagggattt tggtcatgag attatcaaaa 9720
aggatcttca cctagatcct tttaaattaa aaatgaagtt ttaaatcaat ctaaagtata 9780
tatgagtaaa cttggtctga cagttaccaa tgcttaatca gtgaggcacc tatctcagcg 9840
atctgtctat ttcgttcatc catagttgcc tgactcctgc aaaccacgtt gtgtctcaaa 9900
atctctgatg ttacattgca caagataaaa atatatcatc atgaacaata aaactgtctg 9960
cttacataaa cagtaataca aggggtgtta tgagccatat tcaacgggaa acgtcttgct 10020

cgaggccgcg attaaattcc aacatggatg ctgatttata tgggtataaa tgggctcgcg 10080
ataatgtcgg gcaatcaggt gcgacaatct atcgattgta tgggaagccc gatgcgccag 10140
agttgtttct gaaacatggc aaaggtagcg ttgccaatga tgttacagat gagatggtca 10200
gactaaactg gctgacggaa tttatgcctc ttccgaccat caagcatttt atccgtactc 10260
ctgatgatgc atggttactc accactgcga tccccgggaa aacagcattc caggtattag 10320
aagaatatcc tgattcaggt gaaaatattg ttgatgcgct ggcagtgttc ctgcgccggt 10380
tgcattcgat tcctgtttgt aattgtcctt ttaacagcga tcgcgtattt cgtctcgctc 10440
aggcgcaatc acgaatgaat aacggtttgg ttgatgcgag tgattttgat gacgagcgta 10500
atggctggcc tgttgaacaa gtctggaaag aaatgcataa gcttttgcca ttctcaccgg 10560
attcagtcgt cactcatggt gatttctcac ttgataacct tatttttgac gaggggaaat 10620
taataggttg tattgatgtt ggacgagtcg gaatcgcaga ccgataccag gatcttgcca 10680
tcctatggaa ctgcctcggt gagttttctc cttcattaca gaaacggctt tttcaaaaat 10740
atggtattga taatcctgat atgaataaat tgcagtttca tttgatgctc gatgagtttt 10800
tctaagggcg gcctgccacc atacccacgc cgaaacaagc gctcatgagc ccgaagtggc 10860
gagcccgatc ttccccatcg gtgatgtcgg cgatataggc gccagcaacc gcacctgtgg 10920
cgccggtgat gagggcgcgc caagtcgacg tccggcagtc 10960

<210> 42
<211> 10960
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> PR004B载体第二链序列
<400> 42

gactgccgga cgtcgacttg gcgcgccctc atcaccggcg ccacaggtgc ggttgctggc 60
gcctatatcg ccgacatcac cgatggggaa gatcgggctc gccacttcgg gctcatgagc 120
gcttgtttcg gcgtgggtat ggtggcaggc cgcccttaga aaaactcatc gagcatcaaa 180
tgaaactgca atttattcat atcaggatta tcaataccat atttttgaaa aagccgtttc 240
tgtaatgaag gagaaaactc accgaggcag ttccatagga tggcaagatc ctggtatcgg 300
tctgcgattc cgactcgtcc aacatcaata caacctatta atttcccctc gtcaaaaata 360
aggttatcaa gtgagaaatc accatgagtg acgactgaat ccggtgagaa tggcaaaagc 420
ttatgcattt ctttccagac ttgttcaaca ggccagccat tacgctcgtc atcaaaatca 480
ctcgcatcaa ccaaaccgtt attcattcgt gattgcgcct gagcgagacg aaatacgcga 540
tcgctgttaa aaggacaatt acaaacagga atcgaatgca accggcgcag gaacactgcc 600
agcgcatcaa caatattttc acctgaatca ggatattctt ctaatacctg gaatgctgtt 660
ttcccgggga tcgcagtggt gagtaaccat gcatcatcag gagtacggat aaaatgcttg 720
atggtcggaa gaggcataaa ttccgtcagc cagtttagtc tgaccatctc atctgtaaca 780
tcattggcaa cgctaccttt gccatgtttc agaaacaact ctggcgcatc gggcttccca 840
tacaatcgat agattgtcgc acctgattgc ccgacattat cgcgagccca tttataccca 900
tataaatcag catccatgtt ggaatttaat cgcggcctcg agcaagacgt ttcccgttga 960

atatggctca taacacccct tgtattactg tttatgtaag cagacagttt tattgttcat 1020
gatgatatat ttttatcttg tgcaatgtaa catcagagat tttgagacac aacgtggttt 1080
gcaggagtca ggcaactatg gatgaacgaa atagacagat cgctgagata ggtgcctcac 1140
tgattaagca ttggtaactg tcagaccaag tttactcata tatactttag attgatttaa 1200
aacttcattt ttaatttaaa aggatctagg tgaagatcct ttttgataat ctcatgacca 1260
aaatccctta acgtgagttt tcgttccact gagcgtcaga ccccgtagaa aagatcaaag 1320
gatcttcttg agatcctttt tttctgcgcg taatctgctg cttgcaaaca aaaaaaccac 1380
cgctaccagc ggtggtttgt ttgccggatc aagagctacc aactcttttt ccgaaggtaa 1440
ctggcttcag cagagcgcag ataccaaata ctgttcttct agtgtagccg tagttaggcc 1500
accacttcaa gaactctgta gcaccgccta catacctcgc tctgctaatc ctgttaccag 1560
tggctgctgc cagtggcgat aagtcgtgtc ttaccgggtt ggactcaaga cgatagttac 1620
cggataaggc gcagcggtcg ggctgaacgg ggggttcgtg cacacagccc agcttggagc 1680
gaacgaccta caccgaactg agatacctac agcgtgagct atgagaaagc gccacgcttc 1740
ccgaagggag aaaggcggac aggtatccgg taagcggcag ggtcggaaca ggagagcgca 1800
cgagggagct tccagggga aacgcctggt atctttatag tcctgtcggg tttcgccacc 1860
tctgacttga gcgtcgattt ttgtgatgct cgtcaggggg gcggagccta tggaaaaacg 1920
ccagcaacgc ggcctttta cggttcctgg ccttttgctg gccttttgct cacatgttct 1980
ttcctgcgtt atcccctgat tctgtggata accgtattac cgcctttgag tgagctgata 2040
ccgctcgccg cagccgaacg accgagcgca gcgagtcagt gagcgaggaa gcggaagagc 2100
gcccaatacg caaaccgcct ctccccgcgc gttggccgat tcattaatgc agctgtggaa 2160
tgtgtgtcag ttagggtgtg gaaagtcccc aggctcccca gcaggcagaa gtatgcaaag 2220
catgcatctc aattagtcag caaccaggtg tggaaagtcc ccaggctccc cagcaggcag 2280
aagtatgcaa agcatgcatc tcaattagtc agcaaccata gtcccgcccc taactccgcc 2340
catcccgccc ctaactccgc ccagttccgc ccattctccg ccccatggct gactaatttt 2400
ttttatttat gcagaggccg aggccgcctc ggcctctgag ctattccaga agtagtgagg 2460
aggctttttt ggaggttttc tctacactga agtcttgatg gcatgcgctt tagtctcctc 2520
actcatgagg actgcatatc taagagctct gtgacctcac ttgtgcctgg tgtccagggt 2580
aaacaaatct tcttgccttt gaaaattaga ggatgcagac tggtctcctc tactgcactg 2640
gactgactaa cctgactgga gctcttgttc acactgagaa gaagctggtg gactcttctt 2700
tggctctgaa aggcagattt attttatctc atggagttag gctagagcat cttgtcagag 2760
ggaatgatgt ttgaagtcca tgaggcttct aatgattagg gctggtatgc agcaaacaac 2820
catgactgca tttgtctctg atgcagattc ctaacttctg atatgttcaa aactctgctt 2880
cctgattcag ttgctctctt taacaaatgc agtgattctt ttgataattt gaggggaaaa 2940
aatgtctctg tgttgtgttt cctccttgct ggtgatccac agtaaggggt tgaaaataat 3000
ctctgacatt ttttagttaa agccttcctt tcattcttca tggctactgc agcacaaagc 3060
tctttcttgt tttgcagaag gagtgagagc aaggtgttgg gtgagttctc agtgccccag 3120
ccccagcctg aagaggagac tgaatgcctg ccctctggct gtggctcaga gtgaaaggaa 3180
aacacataca gcaggagtct gtgtagggat tgggctccag ccatcagagc ggggggagca 3240
tcatgaaatg tttgtaagct ctccaccatc cagaatgact ttgcagctct gagcagctgc 3300

acccatgact agtccttcac agtatgctga tgtgagatat tctgttcttt gaagatgggt 3360
agtgaccaga atcaggagga tgtgagaaat gtggagcatt tgagagtgga actcctgcag 3420
ctgttgaagc tagaacacaa cagacactgc agcttactac tcctgagcct ggccaggctg 3480
gtagttttgt ttttcttggc caagctctct gggaatagtt ctgcctctgg ggtcagcttt 3540
ccatgcaggg gctgagatga acacataaag caggattcag cttggaggct tctgagaggg 3600
atggagataa aagatggtgt ggtagatggt aagaggtggt atggtagatg gcagagtatg 3660
gcagaagatg tagacaggat gtcagaaaat gagatggtag ttgcaagagt aggctgtaga 3720
cagtgggaga tggtgagatg agagatgcag aagatggtca gagagcagga tgttgggaga 3780
ggctaggagg tgagacacca gggttggagt gtggactgca ggctttgtta ggctggagag 3840
gtgagtagct gtggagagag gatgacctgc acttgtctga atctaacaga acctaaatta 3900
gaaactttct cttgcagttc tctctctggc tcaggctggc ttgtcttggg gactgtctgt 3960
cactctggaa cagggtggtt agagctgtgg ctttcatggt acttctcttc actgggctct 4020
gatagcctgg ggctgctggt actatctgct tgcacttgct ttgaggaggc caagaacatc 4080
ctgtgtattt ccagactctt tcttgttctg tttgtcctct caggctattc cttgtgctcc 4140
tgatgtctct gtctttactt ccaaaactat ttattaaaaa atctaagatt cattcatgtt 4200
taaggggaat tatgctaatt ctttcatacc taatgggata aaactaactg tgaaattaca 4260
gaccatcttg tgtaaaatct taatctcagc agtcacattt gctgttgaag tgagtatgaa 4320
caaacactga tatgtggagg gctctggtgc aaaggtttgt aggctctgcc tgtgttgcat 4380
agagcagctc atctgaagtg gattagcact gcttctgagc atggaaggtc aggctgaagt 4440
catgatgcct aattagggct ggagaggaca tcacagaaac agtggctctt gggtttgtcc 4500
tgggtagggc agaggtaagg ttgaggagag ctagaaaact caggaaaaga aaaggctcag 4560
gagaaagaag acagagagtt ccagtgagca gagctgcctc tgctgctagg cttgtggtac 4620
acaggttaaa gtttggcctt gtggcattca acagcctttg catcctactg accacactag 4680
ccaggcagtt gaggctcagg gctggctttc ttgcacttgg agaacctttc ctaccttcaa 4740
atgcttgaac cagaatacca gagaaaaaat gcaactctga aagcacaggc attctgtgaa 4800
tagccatcca gatttctgca ggctaaggaa aacagagatg gaggtctatg agggaaagaa 4860
gagaagtcct catgagggct gataccagac agttgagtag gacactgagc acactcacca 4920
ccagatgctc tgtctaagct gtagtttact aggaggttgt ttattctctg agtcagattt 4980
gcttctgttt taagaaccct cacagcctct ctttctatct attctgatga aggttgagcc 5040
tgaagaagct ggagcagaaa gggtcttctg cctcatgttc tgctgataaa ctttgagaat 5100
cctgcctaag tctgacctag attttggctc caaaagccag ggcttcttat ctctgtcaag 5160
accaaacctg gatgcagtca gaggttgggc acagcctttg ctccaaggct cctgggcaca 5220
gtgcccacct cccatttgag cttgcagcaa ggctattatg agaaactttc ctcctcttcc 5280
ttcaagtctc cacctattag ctctgcaaga gtgcagaagg ctgcacagca ctgcagatgg 5340
agaaggtggc aggggcagca ggtggcaggg gctccaggga actgtggtca gagttgattc 5400
agagcaggct aagagtggag tgactgaaga cagaagctgg aggcacatca accattacaa 5460
gacagcttga cttttgctag aacccttggc ttcaggtgat gagaataatg gtagacactg 5520
gttgtttggc ttgatagctt aaaaaaggac aaccattata atggaagcag tttctctgag 5580
aaacaggatg ttggcaaggg cttagtgctc ctgactgctg atgctggagt ctggcttccc 5640

tgaccccagt agcagtggga cttagaagca tctcaggctc caggttctca cagctgactc 5700
ctccttcctg aactgtaaga aacagaaatc cacttgctgc tctaaagtgg ggtcacttta 5760
atggaaggaa cagccaacat atttggagag gggctggtgt ggggcttctt actgagagtg 5820
ggcagccctg agcactggac aaactcaact gtgggcaacc tgggtgggaa gcagctgtgg 5880
agatggggaa gccatgctaa tcagtgacat catctattct aagtttccta cctctgaatg 5940
aatagttctg ctggcaaaaa tctgcttttt taagttgata caaatgtgtc ctgtcaagga 6000
agtagagctc cttctcaatc cagcacatca gtaccataac ttgttcctgt gcatttggtt 6060
aaagatggtg ataacatcat ttatcagtaa gtgcagccag gcatgatgca ctatctcctt 6120
gcatttagag cctaattttg gccaaagaag tcttcataga aaaggacttc ccactcaaag 6180
tagtcctgag tagttctact gattttatta ttagtagaga gggtttcatc atgttggcca 6240
ggctggtctg catgcttcta tattattttc taaaagattt aaagttttgc cttctccatt 6300
tagacttata attcactgga atttttttgt gtgtatggta tgacatatgg gttccctttt 6360
atttttaca tataaatata tttccctgtt tttctaaaaa agaaaaagac catcattttc 6420
ccattgtaaa atgccatatt tttttcatag gtcacttaca tatatcaatg ggtctgtttc 6480
tgagctctac tctattttat cagcctcact gtctatcccc acacatctca tgctttgctc 6540
taaatcttga tatttagtgg aacattcttt cccattttgt tctacaagaa tatttttgtt 6600
attgtctttt gggcttctat atacatttta gaatgaggtt ggcaagttat cctgcaggaa 6660
ttcctcgaga ccgtacgagc ggccgcagga acccctagtg atggagttgg ccactccctc 6720
tctgcgcgct cgctcgctca ctgaggccgg gcgaccaaag gtcgcccgac gcccgggctt 6780
tgcccgggcg gcctcagtga gcgagcgagc gcgcagagag ggagtggcca acctgcaggg 6840
aattcagtca atatgttcac cccaaaaaag ctgtttgtta tcgtggatct ctccccagca 6900
tgcctgctat tgtcttccca atcctccccc ttgctgtcct gccccacccc acccccccaga 6960
atagaatgac acctactcag acaatgcgat gcaatttcct cattttatta ggaaaggaca 7020
gtgggagtgg caccttccag ggtcaaggaa ggcacggggg aggggcaaac aacagatggc 7080
tggcaactag aaggcacagt cgaggctgat cagcgagctc tagtcgacgg tatcgatgcg 7140
gggaggcggc ccaaagggag atccgactcg tctgagggcg aaggcgaaga cgcggaagag 7200
gccgcagagc cggcagcagg ccgcgggaag gaaggtccgc tggattgagg gccgaaggga 7260
cgtagcagaa ggacgtcccg cgcagaatcc aggtggcaac acaggcgagc agccaaggaa 7320
aggacgatga tttccccgac aacaccacgg aattgtcagt gcccaacagc cgagcccctg 7380
tccagcagcg ggcaaggcag gcggcgatga gttccgccgt ggcaataggg agggggaaag 7440
cgaaagtccc ggaaaggagc tgacaggtgg tggcaatgcc ccaaccagtg ggggttgcgt 7500
cagcaaacac agtgcacacc acgccacgtt gcctgacaac gggccacaac tcctcataaa 7560
gagacagcaa ccaggattta tacaaggagg agaaaatgaa agccatacgg gaagcaatag 7620
catgatacaa aggcattaaa gcagcgtatc cacatagcgt aaaaggagca acatagttaa 7680
gaataccagt caatctttca caaattttgt aatccagagg ttgattatcg ataagcttgc 7740
ggcctcgagg gtttaaactt aattaacaat tgtcactgtc tacgccacag gtaggtgtgg 7800
atggagtagc cagggctgat tgtttccagg aatcccacgg cgggatcctt gatggtcagg 7860
ggcacatctt tgctgctgcg gttcaggacc accaccacag cagatccatc agggtgcatc 7920
agagccacgg cgtccagatc gttcttctgg gaagccacca gtccaacgcg ctgagagccc 7980

tcggggatga acttgctgaa gtgtcccagg tggtagaaca tgggctgctt gtagaaggtg 8040
tccttggtga tgtccacgat gatggggctg tccacgaagt ttcggaccca gttagggccg 8100
ccttcaggat tcagggccag attccagtcg gtccagccga cgacgtggta cagcaggttg 8160
gtgatgatgc tgtggctgta ctgcatgcct ctatcccagc tgccgagccg cacgctctgt 8220
tcccaaaact tgctgcccac acaggcttcg ctggcgaaca gcatggtgtt ggggaacagt 8280
ctgtgtgtct ctcccagtgt ggccttggca ggggccagaa agtccagata ccagtgcacg 8340
gcgattccgt gcacgtattt ggcggcctca ggatctgtca gcaccacttt agcccagtgg 8400
ggcagaagca gtctctggtc gtccagcatc agcagccgca cattatggtg ggtgctattg 8460
gccagtgtgg gtcccagatc acgggcgata aagtcccgct ggtgctcggg tgtaaagccc 8520
aggcactgaa aggggtagcc gctcagcagt ccagcagaag gttcgttctc ggctgtcacg 8580
gcccaaaact gcagcttgtg ctcggcatag gcgtccagga acttcacgaa gtatctggcc 8640
caggtctggt ggtagatgtc gccaggttgg cctttcaggc tgcccttgcc attcacggcg 8700
ccatttgttt tcagccaggt gggagatgtc catggagagg ccagcagtga cacgggtctt 8760
tgtgccagct gcagggctct gtggatcaga gggatcttca gcttggtgtc ctcttcaggc 8820
aggctgaagt tgtgcagctg gaaatcgtcg ggtgtgtcgg cgtaggtgta ggtcctgatg 8880
ctgaagtcgc agctggccat gggcactctg atgatgttgt agccgatgcc ttcctcgctg 8940
aagtagctct tgagcagcag gttctgagct ggtggagaca gagccaggat attcagagcg 9000
gcggcatctg tcatggctcc gccgaagcct ttcactttct ggaatttctg ctcaggctgc 9060
agtgtcagca gcaggccagt gcctgtgtga ttggcctgga tgggtcccat gctcagttcc 9120
atccgtctgc cggatctggt gctctcgtat ctgctgaagg tgcccagagc aggaaaggta 9180
ggagggtcga agctgtcgca gtaggtggca ttgcacacgc acacgacgct gctgtagccg 9240
aagctcttgg ggatgcaagg tctagcgcca gaagcccaag acacggcctg aagcagcagc 9300
agtcctgtca gagatccggc catgattgac acccggctca gaggcttggg gcattcctct 9360
ctgctggggc tgctgaattc catggtggct caaccggtga tatcttcgaa cggatcccac 9420
agtcgtggaa gactttccct tcggatcttc gaggaattct ttgccaaaat gatgagacag 9480
cacaataacc agcacgttgc ccaggagctg taggaaaaag aagaaggcat gaacatggtt 9540
agcagaggct ctagctcccg gagcccctca aggctttcac gcagccacag aaaggtggtg 9600
actgagatgt tttctaggaa acacaaaaga tacaaaaaag aacacgtgga aggatagcca 9660
aaaaggggggg ctgcccccat ttcctgcacc ccgctgcgat ggctggcacc atttggaaga 9720
cttcgagata cactgttgag cgcagtaaga caacagtgta tctcgaagtc ttccagatgg 9780
ggccagccgg tccactctgt atccaggcca gttctgcaag gcgttcgagg accacccccc 9840
tcccctcgcc accaggacaa gccgtcatta aaccaagcgc taattacagc ccggaggaga 9900
agggccgtcc cgcccgctca cctgtgggag taacgcggtc agtcagagcc ggggcgggcg 9960
gcgcgaggcg gcggcggagc ggggcacggg gcgaaggcag cgtcgcagcg actcccgccc 10020
gccgcgcgct tcgcttttta tagggccgcc gccgccgccg cctcgccata aaaggaaact 10080
ttcggagcgc gccgctctga ttggctgccg ccgcacctct ccgcctcgcc ccgccccgcc 10140
cctcgccccg ccccgccccg cctggcgcgc gccccccccc cccccccgcc cccatcgctg 10200
cacaaaataa ttaaaaaata aataaataca aaattggggg tggggagggg ggggagatgg 10260
ggagagtgaa gcagaacgtg gggctcacct cgaccatggt aatagcgatg actaatacgt 10320

agatgtactg ccaagtagga aagtcccata aggtcatgta ctgggcataa tgccaggcgg 10380
gccatttacc gtcattgacg tcaatagggg gcgtacttgg catatgatac acttgatgta 10440
ctgccaagtg ggcagtttac cgtaaatagt ccacccattg acgtcaatgg aaagtcccta 10500
ttggcgttac tatgggaaca tacgtcatta ttgacgtcaa tgggcggggg tcgttgggcg 10560
gtcagccagg cgggccattt accgtaagtt atgtaacgcg gaactccata tatgggctat 10620
gaactaatga ccccgtaatt gattactatt aataactagg gtaccgaatt cagatccaag 10680
cttcaccatg ggagacgtca ccggttctag aacctaggga gctctggtac ccactagtag 10740
tcgacgaacg cgtaacctcc cgcttcaaaa tggagaccct gcgtgctcac tcgggcttaa 10800
atacccagag ctagcaggaa cccctagtga tggagttggc cactccctct ctgcgcgctc 10860
gctcgctcac tgaggccgcc cgggcaaagc ccgggcgtcg ggcgaccttt ggtcgcccgg 10920
cctcagtgag cgagcgagcg cgcagagagg gagtggccaa 10960

<210> 43
<211> 10960
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> PR004E载体第一链序列
<400> 43

ttggccactc cctctctgcg cgctcgctcg ctcactgagg ccgggcgacc aaaggtcgcc 60
cgacgcccgg gctttgcccg ggcggcctca gtgagcgagc gagcgcgcag agagggagtg 120
gccaactcca tcactagggg ttcctgctag ctctgggtat ttaagcccga gtgagcacgc 180
agggtctcca ttttgaagcg ggaggttacg cgttcgtcga ctactagtgg gtaccagagc 240
tccctaggtt ctagaaccgg tgacgtctcc catggtgaag cttggatctg aattcggtac 300
cctagttatt aatagtaatc aattacgggg tcattagttc atagcccata tatggagttc 360
cgcgttacat aacttacggt aaatggcccg cctggctgac cgcccaacga cccccgccca 420
ttgacgtcaa taatgacgta tgttcccata gtaacgccaa tagggacttt ccattgacgt 480
caatgggtgg actatttacg gtaaactgcc cacttggcag tacatcaagt gtatcatatg 540
ccaagtacgc cccctattga cgtcaatgac ggtaaatggc ccgcctggca ttatgcccag 600
tacatgacct tatgggactt tcctacttgg cagtacatct acgtattagt catcgctatt 660
accatggtcg aggtgagccc cacgttctgc ttcactctcc ccatctcccc cccctcccca 720
cccccaattt tgtatttatt tatttttaa ttattttgtg cagcgatggg ggcgggggg 780
ggggggggc gcgcgccagg cggggcgggg cggggcgagg ggcggggcgg ggcgaggcgg 840
agaggtgcgg cggcagccaa tcagagcggc gcgctccgaa agtttccttt tatggcgagg 900
cggcggcggc ggcggcccta taaaaagcga agcgcgcggc gggcgggagt cgctgcgacg 960
ctgccttcgc cccgtgcccc gctccgccgc cgcctcgcgc cgcccgcccc ggctctgact 1020
gaccgcgtta ctcccacagg tgagcgggcg ggacggccct tctcctccgg gctgtaatta 1080
gcgcttggtt taatgacggc ttgtcctggt ggcgagggga gggggtggt cctcgaacgc 1140
cttgcagaac tggcctggat acagagtgga ccggctggcc ccatctggaa gacttcgaga 1200
tacactgttg tcttactgcg ctcaacagtg tatctcgaag tcttccaaat ggtgccagcc 1260

atcgcagcgg ggtgcaggaa atgggggcag ccccccttttt tggctatcct tccacgtgtt 1320
ctttttgta tcttttgtgt ttcctagaaa acatctcagt caccaccttt ctgtggctgc 1380
gtgaaagcct tgaggggctc cgggagctag agcctctgct aaccatgttc atgccttctt 1440
ctttttccta cagctcctgg gcaacgtgct ggttattgtg ctgtctcatc attttggcaa 1500
agaattcctc gaagatccga agggaaagtc ttccacgact gtgggatccg ttcgaagata 1560
tcaccggttg agccaccatg gaattcagca gccccagcag agaggaatgc cccaagcctc 1620
tgagccgggt gtcaatcatg gccggatctc tgacaggact gctgctgctt caggccgtgt 1680
cttgggcttc tggcgctaga ccttgcatcc ccaagagctt cggctacagc agcgtcgtgt 1740
gcgtgtgcaa tgccacctac tgcgacagct tcgaccctcc tacctttcct gctctgggca 1800
ccttcagcag atacgagagc accagatccg gcagacggat ggaactgagc atgggaccca 1860
tccaggccaa tcacacaggc actggcctgc tgctgacact gcagcctgag cagaaattcc 1920
agaaagtgaa aggcttcggc ggagccatga cagatgccgc cgctctgaat atcctggctc 1980
tgtctccacc agctcagaac ctgctgctca agagctactt cagcgaggaa ggcatcggct 2040
acaacatcat cagagtgccc atggccagct gcgacttcag catcaggacc tacacctacg 2100
ccgacacacc cgacgatttc cagctgcaca acttcagcct gcctgaagag gacaccaagc 2160
tgaagatccc tctgatccac agagccctgc agctggcaca aagacccgtg tcactgctgg 2220
cctctccatg gacatctccc acctggctga aaacaaatgg cgccgtgaat ggcaagggca 2280
gcctgaaagg ccaacctggc gacatctacc accagacctg ggccagatac ttcgtgaagt 2340
tcctggacgc ctatgccgag cacaagctgc agttttgggc cgtgacagcc gagaacgaac 2400
cttctgctgg actgctgagc ggctacccct ttcagtgcct gggctttaca cccgagcacc 2460
agcgggactt tatcgcccgt gatctgggac ccacactggc caatagcacc caccataatg 2520
tgcggctgct gatgctggac gaccagagac tgcttctgcc ccactgggct aaagtggtgc 2580
tgacagatcc tgaggccgcc aaatacgtgc acggaatcgc cgtgcactgg tatctggact 2640
ttctggcccc tgccaaggcc acactgggag agacacacag actgttcccc aacaccatgc 2700
tgttcgccag cgaagcctgt gtgggcagca agttttggga acagagcgtg cggctcggca 2760
gctgggatag aggcatgcag tacagccaca gcatcatcac caacctgctg taccacgtcg 2820
tcggctggac cgactggaat ctggccctga atcctgaagg cggccctaac tgggtccgaa 2880
acttcgtgga cagccccatc atcgtggaca tcaccaagga caccttctac aagcagccca 2940
tgttctacca cctgggacac ttcagcaagt tcatccccga gggctctcag cgcgttggac 3000
tggtggcttc ccagaagaac gatctggacg ccgtggctct gatgcaccct gatggatctg 3060
ctgtggtggt ggtcctgaac cgcagcagca aagatgtgcc cctgaccatc aaggatcccg 3120
ccgtgggatt cctggaaaca atcagccctg gctactccat ccacacctac ctgtggcgta 3180
gacagtgaca attgttaatt aagtttaaac cctcgaggcc gcaagcttat cgataatcaa 3240
cctctggatt acaaaatttg tgaaagattg actggtattc ttaactatgt tgctcctttt 3300
acgctatgtg gatacgctgc tttaatgcct ttgtatcatg ctattgcttc ccgtatggct 3360
ttcattttct cctccttgta taaatcctgg ttgctgtctc tttatgagga gttgtggccc 3420
gttgtcaggc aacgtggcgt ggtgtgcact gtgtttgctg acgcaacccc cactggttgg 3480
ggcattgcca ccacctgtca gctcctttcc gggactttcg ctttcccccct ccctattgcc 3540
acggcggaac tcatcgccgc ctgccttgcc cgctgctgga caggggctcg gctgttgggc 3600

actgacaatt ccgtggtgtt gtcggggaaa tcatcgtcct ttccttggct gctcgcctgt 3660
gttgccacct ggattctgcg cgggacgtcc ttctgctacg tcccttcggc cctcaatcca 3720
gcggaccttc cttcccgcgg cctgctgccg gctctgcggc ctcttccgcg tcttcgcctt 3780
cgccctcaga cgagtcggat ctccctttgg gccgcctccc cgcatcgata ccgtcgacta 3840
gagctcgctg atcagcctcg actgtgcctt ctagttgcca gccatctgtt gtttgcccct 3900
cccccgtgcc ttccttgacc ctggaaggtg ccactcccac tgtcctttcc taataaaatg 3960
aggaaattgc atcgcattgt ctgagtaggt gtcattctat tctgggggggt ggggtggggc 4020
aggacagcaa gggggaggat tgggaagaca atagcaggca tgctggggag agatccacga 4080
taacaaacag ctttttgggg gtgaacatat tgactgaatt ccctgcagga ggaaccccta 4140
gtgatggagt tggccactcc ctctctgcgc gctcgctcgc tcactgaggc cgcccgggca 4200
aagcccgggc gtcgggcgac ctttggtcgc ccggcctcag tgagcgagcg agcgcgcaga 4260
gagggagtgg ccaagcggcc gctcgtacgg tctcgaggaa ttcctgcagg ataacttgcc 4320
aacctcattc taaaatgtat atagaagccc aaaagacaat aacaaaaata ttcttgtaga 4380
acaaaatggg aaagaatgtt ccactaaata tcaagattta gagcaaagca tgagatgtgt 4440
ggggatagac agtgaggctg ataaaataga gtagagctca gaaacagacc cattgatata 4500
tgtaagtgac ctatgaaaaa aatatggcat tttacaatgg gaaaatgatg gtctttttct 4560
tttttagaaa aacagggaaa tatatttata tgtaaaaaat aaaagggaac ccatatgtca 4620
taccatacac acaaaaaaat tccagtgaat tataagtcta aatggagaag gcaaaacttt 4680
aaatctttta gaaaataata tagaagcatg cagaccagcc tggccaacat gatgaaaccc 4740
tctctactaa taataaaatc agtagaacta ctcaggacta ctttgagtgg gaagtccttt 4800
tctatgaaga cttctttggc caaaattagg ctctaaatgc aaggagatag tgcatcatgc 4860
ctggctgcac ttactgataa atgatgttat caccatcttt aaccaaatgc acaggaacaa 4920
gttatggtac tgatgtgctg gattgagaag gagctctact tccttgacag gacacatttg 4980
tatcaactta aaaaagcaga tttttgccag cagaactatt cattcagagg taggaaactt 5040
agaatagatg atgtcactga ttagcatggc ttccccatct ccacagctgc ttcccaccca 5100
ggttgcccac agttgagttt gtccagtgct cagggctgcc cactctcagt aagaagcccc 5160
acaccagccc ctctccaaat atgttggctg ttccttccat taaagtgacc ccactttaga 5220
gcagcaagtg gatttctgtt tcttacagtt caggaaggag gagtcagctg tgagaacctg 5280
gagcctgaga tgcttctaag tcccactgct actggggtca gggaagccag actccagcat 5340
cagcagtcag gagcactaag cccttgccaa catcctgttt ctcagagaaa ctgcttccat 5400
tataatggtt gtccttttt aagctatcaa gccaaacaac cagtgtctac cattattctc 5460
atcacctgaa gccaagggtt ctagcaaaag tcaagctgtc ttgtaatggt tgatgtgcct 5520
ccagcttctg tcttcagtca ctccactctt agcctgctct gaatcaactc tgaccacagt 5580
tccctggagc ccctgccacc tgctgcccct gccaccttct ccatctgcag tgctgtgcag 5640
ccttctgcac tcttgcagag ctaataggtg gagacttgaa ggaagaggag gaaagtttct 5700
cataatagcc ttgctgcaag ctcaaatggg aggtgggcac tgtgcccagg agccttggag 5760
caaaggctgt gcccaacctc tgactgcatc caggtttggt cttgacagag ataagaagcc 5820
ctggcttttg gagccaaaat ctaggtcaga cttaggcagg attctcaaag tttatcagca 5880
gaacatgagg cagaagaccc tttctgctcc agcttcttca ggctcaacct tcatcagaat 5940

agatagaaag agaggctgtg agggttctta aaacagaagc aaatctgact cagagaataa 6000
acaacctcct agtaaactac agcttagaca gagcatctgg tggtgagtgt gctcagtgtc 6060
ctactcaact gtctggtatc agccctcatg aggacttctc ttctttccct catagacctc 6120
catctctgtt ttccttagcc tgcagaaatc tggatggcta ttcacagaat gcctgtgctt 6180
tcagagttgc atttttctc tggtattctg gttcaagcat ttgaaggtag gaaaggttct 6240
ccaagtgcaa gaaagccagc cctgagcctc aactgcctgg ctagtgtggt cagtaggatg 6300
caaaggctgt tgaatgccac aaggccaaac tttaacctgt gtaccacaag cctagcagca 6360
gaggcagctc tgctcactgg aactctctgt cttctttctc ctgagccttt tcttttcctg 6420
agttttctag ctctcctcaa ccttacctct gccctaccca ggacaaaccc aagagccact 6480
gtttctgtga tgtcctctcc agccctaatt aggcatcatg acttcagcct gaccttccat 6540
gctcagaagc agtgctaatc cacttcagat gagctgctct atgcaacaca ggcagagcct 6600
acaaaccttt gcaccagagc cctccacata tcagtgtttg ttcatactca cttcaacagc 6660
aaatgtgact gctgagatta agattttaca caagatggtc tgtaatttca cagttagttt 6720
tatcccatta ggtatgaaag aattagcata attcccctta aacatgaatg aatcttagat 6780
tttttaataa atagttttgg aagtaaagac agagacatca ggagcacaag gaatagcctg 6840
agaggacaaa cagaacaaga aagagtctgg aaatacacag gatgttcttg gcctcctcaa 6900
agcaagtgca agcagatagt accagcagcc ccaggctatc agagcccagt gaagagaagt 6960
accatgaaag ccacagctct aaccaccctg ttccagagtg acagacagtc cccaagacaa 7020
gccagcctga gccagagaga gaactgcaag agaaagtttc taatttaggt tctgttagat 7080
tcagacaagt gcaggtcatc ctctctccac agctactcac ctctccagcc taacaaagcc 7140
tgcagtccac actccaaccc tggtgtctca cctcctagcc tctcccaaca tcctgctctc 7200
tgaccatctt ctgcatctct catctcacca tctcccactg tctacagcct actcttgcaa 7260
ctaccatctc attttctgac atcctgtcta catcttctgc catactctgc catctaccat 7320
accacctctt accatctacc acaccatctt ttatctccat ccctctcaga agcctccaag 7380
ctgaatcctg ctttatgtgt tcatctcagc ccctgcatgg aaagctgacc ccagaggcag 7440
aactattccc agagagcttg gccaagaaaa acaaaactac cagcctggcc aggctcagga 7500
gtagtaagct gcagtgtctg ttgtgttcta gcttcaacag ctgcaggagt tccactctca 7560
aatgctccac atttctcaca tcctcctgat tctggtcact acccatcttc aaagaacaga 7620
atatctcaca tcagcatact gtgaaggact agtcatgggt gcagctgctc agagctgcaa 7680
agtcattctg gatggtggag agcttacaaa catttcatga tgctcccccc gctctgatgg 7740
ctggagccca atccctacac agactcctgc tgtatgtgtt ttcctttcac tctgagccac 7800
agccagaggg caggcattca gtctcctctt caggctgggg ctggggcact gagaactcac 7860
ccaacacctt gctctcactc cttctgcaaa acaagaaaga gctttgtgct gcagtagcca 7920
tgaagaatga aaggaaggct ttaactaaaa aatgtcagag attattttca acccccttact 7980
gtggatcacc agcaaggagg aaacacaaca cagagacatt ttttcccctc aaattatcaa 8040
aagaatcact gcatttgtta aagagagcaa ctgaatcagg aagcagagtt ttgaacatat 8100
cagaagttag gaatctgcat cagagacaaa tgcagtcatg gttgtttgct gcataccagc 8160
cctaatcatt agaagcctca tggacttcaa acatcattcc ctctgacaag atgctctagc 8220
ctaactccat gagataaaat aaatctgcct ttcagagcca aagaagagtc caccagcttc 8280

ttctcagtgt gaacaagagc tccagtcagg ttagtcagtc cagtgcagta gaggagacca 8340
gtctgcatcc tctaattttc aaaggcaaga agatttgttt accctggaca ccaggcacaa 8400
gtgaggtcac agagctctta gatatgcagt cctcatgagt gaggagacta aagcgcatgc 8460
catcaagact tcagtgtaga gaaaacctcc aaaaaagcct cctcactact tctggaatag 8520
ctcagaggcc gaggcggcct cggcctctgc ataaataaaa aaaattagtc agccatgggg 8580
cggagaatgg gcggaactgg gcggagttag gggcgggatg ggcggagtta ggggcgggac 8640
tatggttgct gactaattga gatgcatgct ttgcatactt ctgcctgctg gggagcctgg 8700
ggactttcca cacctggttg ctgactaatt gagatgcatg ctttgcatac ttctgcctgc 8760
tggggagcct ggggactttc cacaccctaa ctgacacaca ttccacagct gcattaatga 8820
atcggccaac gcgcggggag aggcggtttg cgtattgggc gctcttccgc ttcctcgctc 8880
actgactcgc tgcgctcggt cgttcggctg cggcgagcgg tatcagctca ctcaaaggcg 8940
gtaatacggt tatccacaga atcaggggat aacgcaggaa agaacatgtg agcaaaaggc 9000
cagcaaaagg ccaggaaccg taaaaaggcc gcgttgctgg cgtttttcca taggctccgc 9060
ccccctgacg agcatcacaa aaatcgacgc tcaagtcaga ggtggcgaaa cccgacagga 9120
ctataaagat accaggcgtt tccccctgga agctccctcg tgcgctctcc tgttccgacc 9180
ctgccgctta ccggatacct gtccgccttt ctcccttcgg gaagcgtggc gctttctcat 9240
agctcacgct gtaggtatct cagttcggtg taggtcgttc gctccaagct gggctgtgtg 9300
cacgaacccc ccgttcagcc cgaccgctgc gccttatccg gtaactatcg tcttgagtcc 9360
aacccggtaa gacacgactt atcgccactg gcagcagcca ctggtaacag gattagcaga 9420
gcgaggtatg taggcggtgc tacagagttc ttgaagtggt ggcctaacta cggctacact 9480
agaagaacag tatttggtat ctgcgctctg ctgaagccag ttaccttcgg aaaaagagtt 9540
ggtagctctt gatccggcaa acaaaccacc gctggtagcg gtggtttttt tgtttgcaag 9600
cagcagatta cgcgcagaaa aaaaggatct caagaagatc ctttgatctt ttctacgggg 9660
tctgacgctc agtggaacga aaactcacgt taagggattt tggtcatgag attatcaaaa 9720
aggatcttca cctagatcct tttaaattaa aaatgaagtt ttaaatcaat ctaaagtata 9780
tatgagtaaa cttggtctga cagttaccaa tgcttaatca gtgaggcacc tatctcagcg 9840
atctgtctat ttcgttcatc catagttgcc tgactcctgc aaaccacgtt gtgtctcaaa 9900
atctctgatg ttacattgca caagataaaa atatatcatc atgaacaata aaactgtctg 9960
cttacataaa cagtaataca aggggtgtta tgagccatat tcaacgggaa acgtcttgct 10020
cgaggccgcg attaaattcc aacatggatg ctgatttata tgggtataaa tgggctcgcg 10080
ataatgtcgg gcaatcaggt gcgacaatct atcgattgta tgggaagccc gatgcgccag 10140
agttgtttct gaaacatggc aaaggtagcg ttgccaatga tgttacagat gagatggtca 10200
gactaaactg gctgacggaa tttatgcctc ttccgaccat caagcatttt atccgtactc 10260
ctgatgatgc atggttactc accactgcga tccccgggaa aacagcattc caggtattag 10320
aagaatatcc tgattcaggt gaaaatattg ttgatgcgct ggcagtgttc ctgcgccggt 10380
tgcattcgat tcctgtttgt aattgtcctt ttaacagcga tcgcgtattt cgtctcgctc 10440
aggcgcaatc acgaatgaat aacggtttgg ttgatgcgag tgattttgat gacgagcgta 10500
atggctggcc tgttgaacaa gtctggaaag aaatgcataa gcttttgcca ttctcaccgg 10560
attcagtcgt cactcatggt gatttctcac ttgataacct tatttttgac gaggggaaat 10620

taataggttg tattgatgtt ggacgagtcg gaatcgcaga ccgataccag gatcttgcca 10680
tcctatggaa ctgcctcggt gagttttctc cttcattaca gaaacggctt tttcaaaaat 10740
atggtattga taatcctgat atgaataaat tgcagtttca tttgatgctc gatgagtttt 10800
tctaagggcg gcctgccacc atacccacgc cgaaacaagc gctcatgagc ccgaagtggc 10860
gagcccgatc ttccccatcg gtgatgtcgg cgatataggc gccagcaacc gcacctgtgg 10920
cgccggtgat gagggcgcgc caagtcgacg tccggcagtc 10960

<210> 44
<211> 10960
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> PR004E载体第二链序列
<400> 44

gactgccgga cgtcgacttg gcgcgccctc atcaccggcg ccacaggtgc ggttgctggc 60
gcctatatcg ccgacatcac cgatggggaa gatcgggctc gccacttcgg gctcatgagc 120
gcttgtttcg gcgtgggtat ggtggcaggc cgcccttaga aaaactcatc gagcatcaaa 180
tgaaactgca atttattcat atcaggatta tcaataccat atttttgaaa aagccgtttc 240
tgtaatgaag gagaaaactc accgaggcag ttccatagga tggcaagatc ctggtatcgg 300
tctgcgattc cgactcgtcc aacatcaata caacctatta atttcccctc gtcaaaaata 360
aggttatcaa gtgagaaatc accatgagtg acgactgaat ccggtgagaa tggcaaaagc 420
ttatgcattt ctttccagac ttgttcaaca ggccagccat tacgctcgtc atcaaaatca 480
ctcgcatcaa ccaaaccgtt attcattcgt gattgcgcct gagcgagacg aaatacgcga 540
tcgctgttaa aaggacaatt acaaacagga atcgaatgca accggcgcag gaacactgcc 600
agcgcatcaa caatattttc acctgaatca ggatattctt ctaatacctg gaatgctgtt 660
ttcccgggga tcgcagtggt gagtaaccat gcatcatcag gagtacggat aaaatgcttg 720
atggtcggaa gaggcataaa ttccgtcagc cagtttagtc tgaccatctc atctgtaaca 780
tcattggcaa cgctaccttt gccatgtttc agaaacaact ctggcgcatc gggcttccca 840
tacaatcgat agattgtcgc acctgattgc ccgacattat cgcgagccca tttataccca 900
tataaatcag catccatgtt ggaatttaat cgcggcctcg agcaagacgt ttcccgttga 960
atatggctca taacacccct tgtattactg tttatgtaag cagacagttt tattgttcat 1020
gatgatatat ttttatcttg tgcaatgtaa catcagagat tttgagacac aacgtggttt 1080
gcaggagtca ggcaactatg gatgaacgaa atagacagat cgctgagata ggtgcctcac 1140
tgattaagca ttggtaactg tcagaccaag tttactcata tatactttag attgatttaa 1200
aacttcattt ttaatttaaa aggatctagg tgaagatcct ttttgataat ctcatgacca 1260
aaatccctta acgtgagttt tcgttccact gagcgtcaga ccccgtagaa aagatcaaag 1320
gatcttcttg agatcctttt tttctgcgcg taatctgctg cttgcaaaca aaaaaaccac 1380
cgctaccagc ggtggtttgt ttgccggatc aagagctacc aactcttttt ccgaaggtaa 1440
ctggcttcag cagagcgcag ataccaaata ctgttcttct agtgtagccg tagttaggcc 1500
accacttcaa gaactctgta gcaccgccta catacctcgc tctgctaatc ctgttaccag 1560

tggctgctgc cagtggcgat aagtcgtgtc ttaccgggtt ggactcaaga cgatagttac 1620
cggataaggc gcagcggtcg ggctgaacgg ggggttcgtg cacacagccc agcttggagc 1680
gaacgaccta caccgaactg agatacctac agcgtgagct atgagaaagc gccacgcttc 1740
ccgaagggag aaaggcggac aggtatccgg taagcggcag ggtcggaaca ggagagcgca 1800
cgagggagct tccagggga aacgcctggt atctttatag tcctgtcggg tttcgccacc 1860
tctgacttga gcgtcgattt ttgtgatgct cgtcaggggg gcggagccta tggaaaaacg 1920
ccagcaacgc ggcctttta cggttcctgg ccttttgctg gccttttgct cacatgttct 1980
ttcctgcgtt atcccctgat tctgtggata accgtattac cgcctttgag tgagctgata 2040
ccgctcgccg cagccgaacg accgagcgca gcgagtcagt gagcgaggaa gcggaagagc 2100
gcccaatacg caaaccgcct ctccccgcgc gttggccgat tcattaatgc agctgtggaa 2160
tgtgtgtcag ttagggtgtg gaaagtcccc aggctcccca gcaggcagaa gtatgcaaag 2220
catgcatctc aattagtcag caaccaggtg tggaaagtcc ccaggctccc cagcaggcag 2280
aagtatgcaa agcatgcatc tcaattagtc agcaaccata gtcccgcccc taactccgcc 2340
catcccgccc ctaactccgc ccagttccgc ccattctccg ccccatggct gactaatttt 2400
ttttatttat gcagaggccg aggccgcctc ggcctctgag ctattccaga agtagtgagg 2460
aggctttttt ggaggttttc tctacactga agtcttgatg gcatgcgctt tagtctcctc 2520
actcatgagg actgcatatc taagagctct gtgacctcac ttgtgcctgg tgtccagggt 2580
aaacaaatct tcttgccttt gaaaattaga ggatgcagac tggtctcctc tactgcactg 2640
gactgactaa cctgactgga gctcttgttc acactgagaa gaagctggtg gactcttctt 2700
tggctctgaa aggcagattt attttatctc atggagttag gctagagcat cttgtcagag 2760
ggaatgatgt ttgaagtcca tgaggcttct aatgattagg gctggtatgc agcaaacaac 2820
catgactgca tttgtctctg atgcagattc ctaacttctg atatgttcaa aactctgctt 2880
cctgattcag ttgctctctt taacaaatgc agtgattctt ttgataattt gaggggaaaa 2940
aatgtctctg tgttgtgttt cctccttgct ggtgatccac agtaaggggt tgaaaataat 3000
ctctgacatt ttttagttaa agccttcctt tcattcttca tggctactgc agcacaaagc 3060
tctttcttgt tttgcagaag gagtgagagc aaggtgttgg gtgagttctc agtgccccag 3120
ccccagcctg aagaggagac tgaatgcctg ccctctggct gtggctcaga gtgaaaggaa 3180
aacacataca gcaggagtct gtgtagggat tgggctccag ccatcagagc ggggggagca 3240
tcatgaaatg tttgtaagct ctccaccatc cagaatgact ttgcagctct gagcagctgc 3300
acccatgact agtccttcac agtatgctga tgtgagatat tctgttcttt gaagatgggt 3360
agtgaccaga atcaggagga tgtgagaaat gtggagcatt tgagagtgga actcctgcag 3420
ctgttgaagc tagaacacaa cagacactgc agcttactac tcctgagcct ggccaggctg 3480
gtagttttgt ttttcttggc caagctctct gggaatagtt ctgcctctgg ggtcagcttt 3540
ccatgcaggg gctgagatga acacataaag caggattcag cttggaggct tctgagaggg 3600
atggagataa aagatggtgt ggtagatggt aagaggtggt atggtagatg gcagagtatg 3660
gcagaagatg tagacaggat gtcagaaaat gagatggtag ttgcaagagt aggctgtaga 3720
cagtgggaga tggtgagatg agagatgcag aagatggtca gagagcagga tgttgggaga 3780
ggctaggagg tgagacacca gggttggagt gtggactgca ggctttgtta ggctggagag 3840
gtgagtagct gtggagagag gatgacctgc acttgtctga atctaacaga acctaaatta 3900

gaaactttct cttgcagttc tctctctggc tcaggctggc ttgtcttggg gactgtctgt 3960
cactctggaa cagggtggtt agagctgtgg ctttcatggt acttctcttc actgggctct 4020
gatagcctgg ggctgctggt actatctgct tgcacttgct ttgaggaggc caagaacatc 4080
ctgtgtattt ccagactctt tcttgttctg tttgtcctct caggctattc cttgtgctcc 4140
tgatgtctct gtctttactt ccaaaactat ttattaaaaa atctaagatt cattcatgtt 4200
taaggggaat tatgctaatt ctttcatacc taatgggata aaactaactg tgaaattaca 4260
gaccatcttg tgtaaaatct taatctcagc agtcacattt gctgttgaag tgagtatgaa 4320
caaacactga tatgtggagg gctctggtgc aaaggtttgt aggctctgcc tgtgttgcat 4380
agagcagctc atctgaagtg gattagcact gcttctgagc atggaaggtc aggctgaagt 4440
catgatgcct aattagggct ggagaggaca tcacagaaac agtggctctt gggtttgtcc 4500
tgggtagggc agaggtaagg ttgaggagag ctagaaaact caggaaaaga aaaggctcag 4560
gagaaagaag acagagagtt ccagtgagca gagctgcctc tgctgctagg cttgtggtac 4620
acaggttaaa gtttggcctt gtggcattca acagcctttg catcctactg accacactag 4680
ccaggcagtt gaggctcagg gctggctttc ttgcacttgg agaacctttc ctaccttcaa 4740
atgcttgaac cagaatacca gagaaaaaat gcaactctga aagcacaggc attctgtgaa 4800
tagccatcca gatttctgca ggctaaggaa aacagagatg gaggtctatg agggaaagaa 4860
gagaagtcct catgagggct gataccagac agttgagtag gacactgagc acactcacca 4920
ccagatgctc tgtctaagct gtagtttact aggaggttgt ttattctctg agtcagattt 4980
gcttctgttt taagaaccct cacagcctct ctttctatct attctgatga aggttgagcc 5040
tgaagaagct ggagcagaaa gggtcttctg cctcatgttc tgctgataaa ctttgagaat 5100
cctgcctaag tctgacctag attttggctc caaaagccag ggcttcttat ctctgtcaag 5160
accaaacctg gatgcagtca gaggttgggc acagcctttg ctccaaggct cctgggcaca 5220
gtgcccacct cccatttgag cttgcagcaa ggctattatg agaaactttc ctcctcttcc 5280
ttcaagtctc cacctattag ctctgcaaga gtgcagaagg ctgcacagca ctgcagatgg 5340
agaaggtggc aggggcagca ggtggcaggg gctccaggga actgtggtca gagttgattc 5400
agagcaggct aagagtggag tgactgaaga cagaagctgg aggcacatca accattacaa 5460
gacagcttga cttttgctag aacccttggc ttcaggtgat gagaataatg gtagacactg 5520
gttgtttggc ttgatagctt aaaaaaggac aaccattata atggaagcag tttctctgag 5580
aaacaggatg ttggcaaggg cttagtgctc ctgactgctg atgctggagt ctggcttccc 5640
tgaccccagt agcagtggga cttagaagca tctcaggctc caggttctca cagctgactc 5700
ctccttcctg aactgtaaga aacagaaatc cacttgctgc tctaaagtgg ggtcacttta 5760
atggaaggaa cagccaacat atttggagag gggctggtgt ggggcttctt actgagagtg 5820
ggcagccctg agcactggac aaactcaact gtgggcaacc tgggtgggaa gcagctgtgg 5880
agatggggaa gccatgctaa tcagtgacat catctattct aagtttccta cctctgaatg 5940
aatagttctg ctggcaaaaa tctgcttttt taagttgata caaatgtgtc ctgtcaagga 6000
agtagagctc cttctcaatc cagcacatca gtaccataac ttgttcctgt gcatttggtt 6060
aaagatggtg ataacatcat ttatcagtaa gtgcagccag gcatgatgca ctatctcctt 6120
gcatttagag cctaattttg gccaaagaag tcttcataga aaaggacttc ccactcaaag 6180
tagtcctgag tagttctact gattttatta ttagtagaga gggtttcatc atgttggcca 6240

ggctggtctg catgcttcta tattattttc taaaagattt aaagttttgc cttctccatt 6300
tagacttata attcactgga attttttttgt gtgtatggta tgacatatgg gttccctttt 6360
atttttttaca tataaatata tttccctgtt tttctaaaaa agaaaaagac catcattttc 6420
ccattgtaaa atgccatatt tttttcatag gtcacttaca tatatcaatg ggtctgtttc 6480
tgagctctac tctattttat cagcctcact gtctatcccc acacatctca tgctttgctc 6540
taaatcttga tatttagtgg aacattcttt cccattttgt tctacaagaa tatttttgtt 6600
attgtctttt gggcttctat atacatttta gaatgaggtt ggcaagttat cctgcaggaa 6660
ttcctcgaga ccgtacgagc ggccgcttgg ccactccctc tctgcgcgct cgctcgctca 6720
ctgaggccgg gcgaccaaag gtcgcccgac gcccgggctt tgcccgggcg gcctcagtga 6780
gcgagcgagc gcgcagagag ggagtggcca actccatcac taggggttcc tcctgcaggg 6840
aattcagtca atatgttcac cccaaaaaag ctgtttgtta tcgtggatct ctccccagca 6900
tgcctgctat tgtcttccca atcctccccc ttgctgtcct gccccacccc acccccccaga 6960
atagaatgac acctactcag acaatgcgat gcaatttcct cattttatta ggaaaggaca 7020
gtgggagtgg caccttccag ggtcaaggaa ggcacggggg aggggcaaac aacagatggc 7080
tggcaactag aaggcacagt cgaggctgat cagcgagctc tagtcgacgg tatcgatgcg 7140
gggaggcggc ccaaagggag atccgactcg tctgagggcg aaggcgaaga cgcggaagag 7200
gccgcagagc cggcagcagg ccgcgggaag gaaggtccgc tggattgagg gccgaaggga 7260
cgtagcagaa ggacgtcccg cgcagaatcc aggtggcaac acaggcgagc agccaaggaa 7320
aggacgatga tttccccgac aacaccacgg aattgtcagt gcccaacagc cgagcccctg 7380
tccagcagcg ggcaaggcag gcggcgatga gttccgccgt ggcaataggg agggggaaag 7440
cgaaagtccc ggaaaggagc tgacaggtgg tggcaatgcc ccaaccagtg ggggttgcgt 7500
cagcaaacac agtgcacacc acgccacgtt gcctgacaac gggccacaac tcctcataaa 7560
gagacagcaa ccaggattta tacaaggagg agaaaatgaa agccatacgg gaagcaatag 7620
catgatacaa aggcattaaa gcagcgtatc cacatagcgt aaaaggagca acatagttaa 7680
gaataccagt caatctttca caaattttgt aatccagagg ttgattatcg ataagcttgc 7740
ggcctcgagg gtttaaactt aattaacaat tgtcactgtc tacgccacag gtaggtgtgg 7800
atggagtagc cagggctgat tgtttccagg aatcccacgg cgggatcctt gatggtcagg 7860
ggcacatctt tgctgctgcg gttcaggacc accaccacag cagatccatc agggtgcatc 7920
agagccacgg cgtccagatc gttcttctgg gaagccacca gtccaacgcg ctgagagccc 7980
tcggggatga acttgctgaa gtgtcccagg tggtagaaca tgggctgctt gtagaaggtg 8040
tccttggtga tgtccacgat gatggggctg tccacgaagt ttcggaccca gttagggccg 8100
ccttcaggat tcagggccag attccagtcg gtccagccga cgacgtggta cagcaggttg 8160
gtgatgatgc tgtggctgta ctgcatgcct ctatcccagc tgccgagccg cacgctctgt 8220
tcccaaaact tgctgcccac acaggcttcg ctggcgaaca gcatggtgtt ggggaacagt 8280
ctgtgtgtct ctcccagtgt ggccttggca ggggccagaa agtccagata ccagtgcacg 8340
gcgattccgt gcacgtattt ggcggcctca ggatctgtca gcaccacttt agcccagtgg 8400
ggcagaagca gtctctggtc gtccagcatc agcagccgca cattatggtg ggtgctattg 8460
gccagtgtgg gtcccagatc acgggcgata aagtcccgct ggtgctcggg tgtaaagccc 8520
aggcactgaa aggggtagcc gctcagcagt ccagcagaag gttcgttctc ggctgtcacg 8580

gcccaaaact gcagcttgtg ctcggcatag gcgtccagga acttcacgaa gtatctggcc 8640
caggtctggt ggtagatgtc gccaggttgg cctttcaggc tgcccttgcc attcacggcg 8700
ccatttgttt tcagccaggt gggagatgtc catggagagg ccagcagtga cacgggtctt 8760
tgtgccagct gcagggctct gtggatcaga gggatcttca gcttggtgtc ctcttcaggc 8820
aggctgaagt tgtgcagctg gaaatcgtcg ggtgtgtcgg cgtaggtgta ggtcctgatg 8880
ctgaagtcgc agctggccat gggcactctg atgatgttgt agccgatgcc ttcctcgctg 8940
aagtagctct tgagcagcag gttctgagct ggtggagaca gagccaggat attcagagcg 9000
gcggcatctg tcatggctcc gccgaagcct ttcactttct ggaatttctg ctcaggctgc 9060
agtgtcagca gcaggccagt gcctgtgtga ttggcctgga tgggtcccat gctcagttcc 9120
atccgtctgc cggatctggt gctctcgtat ctgctgaagg tgcccagagc aggaaaggta 9180
ggagggtcga agctgtcgca gtaggtggca ttgcacacgc acacgacgct gctgtagccg 9240
aagctcttgg ggatgcaagg tctagcgcca gaagcccaag acacggcctg aagcagcagc 9300
agtcctgtca gagatccggc catgattgac acccggctca gaggcttggg gcattcctct 9360
ctgctggggc tgctgaattc catggtggct caaccggtga tatcttcgaa cggatcccac 9420
agtcgtggaa gactttccct tcggatcttc gaggaattct ttgccaaaat gatgagacag 9480
cacaataacc agcacgttgc ccaggagctg taggaaaaag aagaaggcat gaacatggtt 9540
agcagaggct ctagctcccg gagcccctca aggctttcac gcagccacag aaaggtggtg 9600
actgagatgt tttctaggaa acacaaaaga tacaaaaaag aacacgtgga aggatagcca 9660
aaaaggggggg ctgcccccat ttcctgcacc ccgctgcgat ggctggcacc atttggaaga 9720
cttcgagata cactgttgag cgcagtaaga caacagtgta tctcgaagtc ttccagatgg 9780
ggccagccgg tccactctgt atccaggcca gttctgcaag gcgttcgagg accacccccc 9840
tcccctcgcc accaggacaa gccgtcatta aaccaagcgc taattacagc ccggaggaga 9900
agggccgtcc cgcccgctca cctgtgggag taacgcggtc agtcagagcc ggggcgggcg 9960
gcgcgaggcg gcggcggagc ggggcacggg gcgaaggcag cgtcgcagcg actcccgccc 10020
gccgcgcgct tcgcttttta tagggccgcc gccgccgccg cctcgccata aaaggaaact 10080
ttcggagcgc gccgctctga ttggctgccg ccgcacctct ccgcctcgcc ccgccccgcc 10140
cctcgccccg ccccgccccg cctggcgcgc gccccccccc ccccccgcgc cccatcgctg 10200
cacaaaataa ttaaaaaata aataaataca aaattggggg tggggagggg ggggagatgg 10260
ggagagtgaa gcagaacgtg gggctcacct cgaccatggt aatagcgatg actaatacgt 10320
agatgtactg ccaagtagga aagtcccata aggtcatgta ctgggcataa tgccaggcgg 10380
gccatttacc gtcattgacg tcaatagggg gcgtacttgg catatgatac acttgatgta 10440
ctgccaagtg ggcagtttac cgtaaatagt ccacccattg acgtcaatgg aaagtcccta 10500
ttggcgttac tatgggaaca tacgtcatta ttgacgtcaa tgggcggggg tcgttgggcg 10560
gtcagccagg cgggccattt accgtaagtt atgtaacgcg gaactccata tatgggctat 10620
gaactaatga ccccgtaatt gattactatt aataactagg gtaccgaatt cagatccaag 10680
cttcaccatg ggagacgtca ccggttctag aacctaggga gctctggtac ccactagtag 10740
tcgacgaacg cgtaacctcc cgcttcaaaa tggagaccct gcgtgctcac tcgggcttaa 10800
atacccagag ctagcaggaa cccctagtga tggagttggc cactccctct ctgcgcgctc 10860
gctcgctcac tgaggccgcc cgggcaaagc ccgggcgtcg ggcgaccttt ggtcgcccgg 10920

cctcagtgag cgagcgagcg cgcagagagg gagtggccaa 10960

<210> 45

<211> 9348

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> PR014A载体第一链序列

<400> 45

ttggccactc cctctctgcg cgctcgctcg ctcactgagg ccgcccgggc aaagcccggg 60
cgtcgggcga cctttggtcg cccggcctca gtgagcgagc gagcgcgcag agagggagtg 120
gccaactcca tcactagggg ttcctgctag ctctgggtat ttaagcccga gtgagcacgc 180
agggtctcca ttttgaagcg ggaggttacg cgttcgtcga ctactagtgg gtaccagagc 240
tccctaggtt ctagaaccgg tgacgtctcc catggtgaag cttggatctg aattcggtac 300
ctagttatta atagtaatca attacggggt cattagttca tagcccatat atggagttcc 360
gcgttacata acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat 420
tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc 480
aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc 540
caagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt 600
acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta 660
ccatggtcga ggtgagcccc acgttctgct tcactctccc catctccccc ccctccccac 720
ccccaatttt gtatttattt atttttaat tattttgtgc agcgatgggg gcgggggggg 780
gggggggcg cgcgccaggc ggggcggggc ggggcgaggg gcggggcggg gcgaggcgga 840
gaggtgcggc ggcagccaat cagagcggcg cgctccgaaa gtttcctttt atggcgaggc 900
ggcggcggcg gcggccctat aaaaagcgaa gcgcgcggcg ggcgggagtc gctgcgacgc 960
tgccttcgcc ccgtgccccg ctccgccgcc gcctcgcgcc gcccgccccg gctctgactg 1020
accgcgttac tcccacaggt gagcgggcgg gacggccctt ctcctcagcg ctgtaattag 1080
cgcttggttt aatgacggct tgtcctggtg gcgaggggag gggggtggtc ctcgaacgcc 1140
ttgcagaact ggcctggata cagagtggac cggctggccc catctggaag acttcgagat 1200
acactgttgt cttactgcgc tcaacagtgt atctcgaagt cttccaaatg gtgccagcca 1260
tcgcagcggg gtgcaggaaa tgggggcagc ccccctttt ggctatcctt ccacgtgttc 1320
ttttttgtat cttttgtgtt tcctagaaaa catctcagtc accacctttc tgtggctgcg 1380
tgaaagcctt gaggggctcc gggagctaga gcctctgcta accatgttca tgccttcttc 1440
ttttcctac agctcctggg caacgtgctg gttattgtgc tgtctcatca ttttggcaaa 1500
gaattcctcg aagatccgaa gggaaagtct tccacgactg tgggatccgt tcgaagatat 1560
caccggttga gccacccaat tgttaattaa gtttaaaccc tcgaggccgc aagcttatcg 1620
ataatcaacc tctggattac aaaatttgtg aaagattgac tggtattctt aactatgttg 1680
ctccttttac gctatgtgga tacgctgctt taatgccttt gtatcatgct attgcttccc 1740
gtatggcttt cattttctcc tccttgtata aatcctggtt gctgtctctt tatgaggagt 1800
tgtggcccgt tgtcaggcaa cgtggcgtgg tgtgcactgt gtttgctgac gcaaccccca 1860

ctggttgggg cattgccacc acctgtcagc tcctttccgg gactttcgct ttccccctcc 1920
ctattgccac ggcggaactc atcgccgcct gccttgcccg ctgctggaca ggggctcggc 1980
tgttgggcac tgacaattcc gtggtgttgt cggggaaatc atcgtccttt ccttggctgc 2040
tcgcctgtgt tgccacctgg attctgcgcg ggacgtcctt ctgctacgtc ccttcggccc 2100
tcaatccagc ggaccttcct tcccgcggcc tgctgccggc tctgcggcct cttccgcgtc 2160
ttcgccttcg ccctcagacg agtcggatct ccctttgggc cgcctccccg catcgatacc 2220
gtcgactaga gctcgctgat cagcctcgac tgtgccttct agttgccagc catctgttgt 2280
ttgcccctcc cccgtgcctt ccttgaccct ggaaggtgcc actcccactg tcctttccta 2340
ataaaatgag gaaattgcat cgcattgtct gagtaggtgt cattctattc tgggggggtgg 2400
ggtggggcag gacagcaagg gggaggattg ggaagacaat agcaggcatg ctggggagag 2460
atccacgata acaaacagct tttttggggt gaacatattg actgaattcc ctgcaggagg 2520
aacccctagt gatggagttg gccactccct ctctgcgcgc tcgctcgctc actgaggccg 2580
cccgggcaaa gcccgggcgt cgggcgacct ttggtcgccc ggcctcagtg agcgagcgag 2640
cgcgcagaga gggagtggcc aagcggccgc tcgtacggtc tcgaggaatt cctgcaggat 2700
aacttgccaa cctcattcta aaatgtatat agaagcccaa aagacaataa caaaaatatt 2760
cttgtagaac aaaatgggaa agaatgttcc actaaatatc aagatttaga gcaaagcatg 2820
agatgtgtgg ggatagacag tgaggctgat aaaatagagt agagctcaga aacagaccca 2880
ttgatatatg taagtgacct atgaaaaaaa tatggcattt tacaatggga aaatgatggt 2940
ctttttcttt tttagaaaaa cagggaaata tatttatatg taaaaaataa aagggaaccc 3000
atatgtcata ccatacacac aaaaaaattc cagtgaatta taagtctaaa tggagaaggc 3060
aaaactttaa atcttttaga aaataatata gaagcatgca gaccagcctg gccaacatga 3120
tgaaaccctc tctactaata ataaaatcag tagaactact caggactact ttgagtggga 3180
agtccttttc tatgaagact tctttggcca aaattaggct ctaaatgcaa ggagatagtg 3240
catcatgcct ggctgcactt actgataaat gatgttatca ccatctttaa ccaaatgcac 3300
aggaacaagt tatggtactg atgtgctgga ttgagaagga gctctacttc cttgacagga 3360
cacatttgta tcaacttaaa aaagcagatt tttgccagca gaactattca ttcagaggta 3420
ggaaacttag aatagatgat gtcactgatt agcatggctt ccccatctcc acagctgctt 3480
cccacccagg ttgcccacag ttgagtttgt ccagtgctca gggctgccca ctctcagtaa 3540
gaagccccac accagcccct ctccaaatat gttggctgtt ccttccatta aagtgacccc 3600
actttagagc agcaagtgga tttctgtttc ttacagttca ggaaggagga gtcagctgtg 3660
agaacctgga gcctgagatg cttctaagtc ccactgctac tggggtcagg gaagccagac 3720
tccagcatca gcagtcagga gcactaagcc cttgccaaca tcctgtttct cagagaaact 3780
gcttccatta taatggttgt ccttttttaa gctatcaagc caaacaacca gtgtctacca 3840
ttattctcat cacctgaagc caagggttct agcaaaagtc aagctgtctt gtaatggttg 3900
atgtgcctcc agcttctgtc ttcagtcact ccactcttag cctgctctga atcaactctg 3960
accacagttc cctggagccc ctgccacctg ctgcccctgc caccttctcc atctgcagtg 4020
ctgtgcagcc ttctgcactc ttgcagagct aataggtgga gacttgaagg aagaggagga 4080
aagtttctca taatagcctt gctgcaagct caaatgggag gtgggcactg tgcccaggag 4140
ccttggagca aaggctgtgc ccaacctctg actgcatcca ggtttggtct tgacagagat 4200

aagaagccct ggcttttgga gccaaaatct aggtcagact taggcaggat tctcaaagtt 4260
tatcagcaga acatgaggca gaagaccctt tctgctccag cttcttcagg ctcaaccttc 4320
atcagaatag atagaaagag aggctgtgag ggttcttaaa acagaagcaa atctgactca 4380
gagaataaac aacctcctag taaactacag cttagacaga gcatctggtg gtgagtgtgc 4440
tcagtgtcct actcaactgt ctggtatcag ccctcatgag gacttctctt ctttccctca 4500
tagacctcca tctctgtttt ccttagcctg cagaaatctg gatggctatt cacagaatgc 4560
ctgtgctttc agagttgcat tttttctctg gtattctggt tcaagcattt gaaggtagga 4620
aaggttctcc aagtgcaaga aagccagccc tgagcctcaa ctgcctggct agtgtggtca 4680
gtaggatgca aaggctgttg aatgccacaa ggccaaactt taacctgtgt accacaagcc 4740
tagcagcaga ggcagctctg ctcactggaa ctctctgtct tctttctcct gagccttttc 4800
ttttcctgag ttttctagct ctcctcaacc ttacctctgc cctacccagg acaaacccaa 4860
gagccactgt ttctgtgatg tcctctccag ccctaattag gcatcatgac ttcagcctga 4920
ccttccatgc tcagaagcag tgctaatcca cttcagatga gctgctctat gcaacacagg 4980
cagagcctac aaacctttgc accagagccc tccacatatc agtgtttgtt catactcact 5040
tcaacagcaa atgtgactgc tgagattaag attttacaca agatggtctg taatttcaca 5100
gttagtttta tcccattagg tatgaaagaa ttagcataat tccccttaaa catgaatgaa 5160
tcttagattt tttaataaat agttttggaa gtaaagacag agacatcagg agcacaagga 5220
atagcctgag aggacaaaca gaacaagaaa gagtctggaa atacacagga tgttcttggc 5280
ctcctcaaag caagtgcaag cagatagtac cagcagcccc aggctatcag agcccagtga 5340
agagaagtac catgaaagcc acagctctaa ccaccctgtt ccagagtgac agacagtccc 5400
caagacaagc cagcctgagc cagagagaga actgcaagag aaagtttcta atttaggttc 5460
tgttagattc agacaagtgc aggtcatcct ctctccacag ctactcacct ctccagccta 5520
acaaagcctg cagtccacac tccaaccctg gtgtctcacc tcctagcctc tcccaacatc 5580
ctgctctctg accatcttct gcatctctca tctcaccatc tcccactgtc tacagcctac 5640
tcttgcaact accatctcat tttctgacat cctgtctaca tcttctgcca tactctgcca 5700
tctaccatac cacctcttac catctaccac accatctttt atctccatcc ctctcagaag 5760
cctccaagct gaatcctgct ttatgtgttc atctcagccc ctgcatggaa agctgacccc 5820
agaggcagaa ctattcccag agagcttggc caagaaaaac aaaactacca gcctggccag 5880
gctcaggagt agtaagctgc agtgtctgtt gtgttctagc ttcaacagct gcaggagttc 5940
cactctcaaa tgctccacat ttctcacatc ctcctgattc tggtcactac ccatcttcaa 6000
agaacagaat atctcacatc agcatactgt gaaggactag tcatgggtgc agctgctcag 6060
agctgcaaag tcattctgga tggtggagag cttacaaaca tttcatgatg ctccccccgc 6120
tctgatggct ggagcccaat ccctacacag actcctgctg tatgtgtttt cctttcactc 6180
tgagccacag ccagagggca ggcattcagt ctcctcttca ggctggggct ggggcactga 6240
gaactcaccc aacaccttgc tctcactcct tctgcaaaac aagaaagagc tttgtgctgc 6300
agtagccatg aagaatgaaa ggaaggcttt aactaaaaaa tgtcagagat tattttcaac 6360
cccttactgt ggatcaccag caaggaggaa acacaacaca gagacatttt ttcccctcaa 6420
attatcaaaa gaatcactgc atttgttaaa gagagcaact gaatcaggaa gcagagtttt 6480
gaacatatca gaagttagga atctgcatca gagacaaatg cagtcatggt tgtttgctgc 6540

ataccagccc taatcattag aagcctcatg gacttcaaac atcattccct ctgacaagat 6600
gctctagcct aactccatga gataaaataa atctgccttt cagagccaaa gaagagtcca 6660
ccagcttctt ctcagtgtga acaagagctc cagtcaggtt agtcagtcca gtgcagtaga 6720
ggagaccagt ctgcatcctc taattttcaa aggcaagaag atttgtttac cctggacacc 6780
aggcacaagt gaggtcacag agctcttaga tatgcagtcc tcatgagtga ggagactaaa 6840
gcgcatgcca tcaagacttc agtgtagaga aaacctccaa aaaagcctcc tcactacttc 6900
tggaatagct cagaggccga ggcggcctcg gcctctgcat aaataaaaaa aattagtcag 6960
ccatggggcg gagaatgggc ggaactgggc ggagttaggg gcgggatggg cggagttagg 7020
ggcgggacta tggttgctga ctaattgaga tgcatgcttt gcatacttct gcctgctggg 7080
gagcctgggg actttccaca cctggttgct gactaattga gatgcatgct ttgcatactt 7140
ctgcctgctg gggagcctgg ggactttcca caccctaact gacacacatt ccacagctgc 7200
attaatgaat cggccaacgc gcggggagag gcggtttgcg tattgggcgc tcttccgctt 7260
cctcgctcac tgactcgctg cgctcggtcg ttcggctgcg gcgagcggta tcagctcact 7320
caaaggcggt aatacggtta tccacagaat caggggataa cgcaggaaag aacatgtgag 7380
caaaaggcca gcaaaaggcc aggaaccgta aaaaggccgc gttgctggcg tttttccata 7440
ggctccgccc ccctgacgag catcacaaaa atcgacgctc aagtcagagg tggcgaaacc 7500
cgacaggact ataaagatac caggcgtttc cccctggaag ctccctcgtg cgctctcctg 7560
ttccgaccct gccgcttacc ggatacctgt ccgcctttct cccttcggga agcgtggcgc 7620
tttctcatag ctcacgctgt aggtatctca gttcggtgta ggtcgttcgc tccaagctgg 7680
gctgtgtgca cgaacccccc gttcagcccg accgctgcgc cttatccggt aactatcgtc 7740
ttgagtccaa cccggtaaga cacgacttat cgccactggc agcagccact ggtaacagga 7800
ttagcagagc gaggtatgta ggcggtgcta cagagttctt gaagtggtgg cctaactacg 7860
gctacactag aagaacagta tttggtatct gcgctctgct gaagccagtt accttcggaa 7920
aaagagttgg tagctcttga tccggcaaac aaaccaccgc tggtagcggt ggtttttttg 7980
tttgcaagca gcagattacg cgcagaaaaa aaggatctca agaagatcct ttgatctttt 8040
ctacggggtc tgacgctcag tggaacgaaa actcacgtta agggattttg gtcatgagat 8100
tatcaaaaag gatcttcacc tagatccttt taaattaaaa atgaagtttt aaatcaatct 8160
aaagtatata tgagtaaact tggtctgaca gttaccaatg cttaatcagt gaggcaccta 8220
tctcagcgat ctgtctattt cgttcatcca tagttgcctg actcctgcaa accacgttgt 8280
gtctcaaaat ctctgatgtt acattgcaca agataaaaat atatcatcat gaacaataaa 8340
actgtctgct tacataaaca gtaatacaag gggtgttatg agccatattc aacgggaaac 8400
gtcttgctcg aggccgcgat taaattccaa catggatgct gatttatatg ggtataaatg 8460
ggctcgcgat aatgtcgggc aatcaggtgc gacaatctat cgattgtatg ggaagcccga 8520
tgcgccagag ttgtttctga aacatggcaa aggtagcgtt gccaatgatg ttacagatga 8580
gatggtcaga ctaaactggc tgacggaatt tatgcctctt ccgaccatca agcattttat 8640
ccgtactcct gatgatgcat ggttactcac cactgcgatc cccgggaaaa cagcattcca 8700
ggtattagaa gaatatcctg attcaggtga aaatattgtt gatgcgctgg cagtgttcct 8760
gcgccggttg cattcgattc ctgtttgtaa ttgtcctttt aacagcgatc gcgtatttcg 8820
tctcgctcag gcgcaatcac gaatgaataa cggtttggtt gatgcgagtg attttgatga 8880

cgagcgtaat ggctggcctg ttgaacaagt ctggaaagaa atgcataagc ttttgccatt 8940
ctcaccggat tcagtcgtca ctcatggtga tttctcactt gataacctta tttttgacga 9000
ggggaaatta ataggttgta ttgatgttgg acgagtcgga atcgcagacc gataccagga 9060
tcttgccatc ctatggaact gcctcggtga gttttctcct tcattacaga aacggctttt 9120
tcaaaaatat ggtattgata atcctgatat gaataaattg cagtttcatt tgatgctcga 9180
tgagtttttc taagggcggc ctgccaccat acccacgccg aaacaagcgc tcatgagccc 9240
gaagtggcga gcccgatctt ccccatcggt gatgtcggcg atataggcgc cagcaaccgc 9300
acctgtggcg ccggtgatga gggcgcgcca agtcgacgtc cggcagtc 9348

<210> 46
<211> 9348
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> PR014A载体第二链序列
<400> 46

gactgccgga cgtcgacttg gcgcgccctc atcaccggcg ccacaggtgc ggttgctggc 60
gcctatatcg ccgacatcac cgatggggaa gatcgggctc gccacttcgg gctcatgagc 120
gcttgtttcg gcgtgggtat ggtggcaggc cgcccttaga aaaactcatc gagcatcaaa 180
tgaaactgca atttattcat atcaggatta tcaataccat atttttgaaa aagccgtttc 240
tgtaatgaag gagaaaactc accgaggcag ttccatagga tggcaagatc ctggtatcgg 300
tctgcgattc cgactcgtcc aacatcaata caacctatta atttcccctc gtcaaaaata 360
aggttatcaa gtgagaaatc accatgagtg acgactgaat ccggtgagaa tggcaaaagc 420
ttatgcattt ctttccagac ttgttcaaca ggccagccat tacgctcgtc atcaaaatca 480
ctcgcatcaa ccaaaccgtt attcattcgt gattgcgcct gagcgagacg aaatacgcga 540
tcgctgttaa aaggacaatt acaaacagga atcgaatgca accggcgcag gaacactgcc 600
agcgcatcaa caatattttc acctgaatca ggatattctt ctaatacctg gaatgctgtt 660
ttcccgggga tcgcagtggt gagtaaccat gcatcatcag gagtacggat aaaatgcttg 720
atggtcggaa gaggcataaa ttccgtcagc cagtttagtc tgaccatctc atctgtaaca 780
tcattggcaa cgctaccttt gccatgtttc agaaacaact ctggcgcatc gggcttccca 840
tacaatcgat agattgtcgc acctgattgc ccgacattat cgcgagccca tttataccca 900
tataaatcag catccatgtt ggaatttaat cgcggcctcg agcaagacgt ttcccgttga 960
atatggctca taacacccct tgtattactg tttatgtaag cagacagttt tattgttcat 1020
gatgatatat ttttatcttg tgcaatgtaa catcagagat tttgagacac aacgtggttt 1080
gcaggagtca ggcaactatg gatgaacgaa atagacagat cgctgagata ggtgcctcac 1140
tgattaagca ttggtaactg tcagaccaag tttactcata tatactttag attgatttaa 1200
aacttcattt ttaatttaaa aggatctagg tgaagatcct ttttgataat ctcatgacca 1260
aaatccctta acgtgagttt tcgttccact gagcgtcaga ccccgtagaa aagatcaaag 1320
gatcttcttg agatcctttt tttctgcgcg taatctgctg cttgcaaaca aaaaaaccac 1380
cgctaccagc ggtggtttgt ttgccggatc aagagctacc aactcttttt ccgaaggtaa 1440

ctggcttcag cagagcgcag ataccaaata ctgttcttct agtgtagccg tagttaggcc 1500
accacttcaa gaactctgta gcaccgccta catacctcgc tctgctaatc ctgttaccag 1560
tggctgctgc cagtggcgat aagtcgtgtc ttaccgggtt ggactcaaga cgatagttac 1620
cggataaggc gcagcggtcg ggctgaacgg ggggttcgtg cacacagccc agcttggagc 1680
gaacgaccta caccgaactg agatacctac agcgtgagct atgagaaagc gccacgcttc 1740
ccgaagggag aaaggcggac aggtatccgg taagcggcag ggtcggaaca ggagagcgca 1800
cgagggagct tccagggga aacgcctggt atctttatag tcctgtcggg tttcgccacc 1860
tctgacttga gcgtcgattt ttgtgatgct cgtcaggggg gcggagccta tggaaaaacg 1920
ccagcaacgc ggccttttta cggttcctgg ccttttgctg gccttttgct cacatgttct 1980
ttcctgcgtt atcccctgat tctgtggata accgtattac cgcctttgag tgagctgata 2040
ccgctcgccg cagccgaacg accgagcgca gcgagtcagt gagcgaggaa gcggaagagc 2100
gcccaatacg caaaccgcct ctccccgcgc gttggccgat tcattaatgc agctgtggaa 2160
tgtgtgtcag ttagggtgtg gaaagtcccc aggctcccca gcaggcagaa gtatgcaaag 2220
catgcatctc aattagtcag caaccaggtg tggaaagtcc ccaggctccc cagcaggcag 2280
aagtatgcaa agcatgcatc tcaattagtc agcaaccata gtcccgcccc taactccgcc 2340
catcccgccc ctaactccgc ccagttccgc ccattctccg ccccatggct gactaatttt 2400
ttttatttat gcagaggccg aggccgcctc ggcctctgag ctattccaga agtagtgagg 2460
aggctttttt ggaggtttc tctacactga agtcttgatg gcatgcgctt tagtctcctc 2520
actcatgagg actgcatatc taagagctct gtgacctcac ttgtgcctgg tgtccagggt 2580
aaacaaatct tcttgccttt gaaaattaga ggatgcagac tggtctcctc tactgcactg 2640
gactgactaa cctgactgga gctcttgttc acactgagaa gaagctggtg gactcttctt 2700
tggctctgaa aggcagattt attttatctc atggagttag gctagagcat cttgtcagag 2760
ggaatgatgt ttgaagtcca tgaggcttct aatgattagg gctggtatgc agcaaacaac 2820
catgactgca tttgtctctg atgcagattc ctaacttctg atatgttcaa aactctgctt 2880
cctgattcag ttgctctctt taacaaatgc agtgattctt ttgataattt gaggggaaaa 2940
aatgtctctg tgttgtgttt cctccttgct ggtgatccac agtaaggggt tgaaaataat 3000
ctctgacatt ttttagttaa agccttcctt tcattcttca tggctactgc agcacaaagc 3060
tctttcttgt tttgcagaag gagtgagagc aaggtgttgg gtgagttctc agtgccccag 3120
ccccagcctg aagaggagac tgaatgcctg ccctctggct gtggctcaga gtgaaaggaa 3180
aacacataca gcaggagtct gtgtagggat tgggctccag ccatcagagc ggggggagca 3240
tcatgaaatg tttgtaagct ctccaccatc cagaatgact ttgcagctct gagcagctgc 3300
acccatgact agtccttcac agtatgctga tgtgagatat tctgttcttt gaagatgggt 3360
agtgaccaga atcaggagga tgtgagaaat gtggagcatt tgagagtgga actcctgcag 3420
ctgttgaagc tagaacacaa cagacactgc agcttactac tcctgagcct ggccaggctg 3480
gtagttttgt ttttcttggc caagctctct gggaatagtt ctgcctctgg ggtcagcttt 3540
ccatgcaggg gctgagatga acacataaag caggattcag cttggaggct tctgagaggg 3600
atggagataa aagatggtgt ggtagatggt aagaggtggt atggtagatg gcagagtatg 3660
gcagaagatg tagacaggat gtcagaaaat gagatggtag ttgcaagagt aggctgtaga 3720
cagtgggaga tggtgagatg agagatgcag aagatggtca gagagcagga tgttgggaga 3780

ggctaggagg tgagacacca gggttggagt gtggactgca ggctttgtta ggctggagag 3840
gtgagtagct gtggagagag gatgacctgc acttgtctga atctaacaga acctaaatta 3900
gaaactttct cttgcagttc tctctctggc tcaggctggc ttgtcttggg gactgtctgt 3960
cactctggaa cagggtggtt agagctgtgg ctttcatggt acttctcttc actgggctct 4020
gatagcctgg ggctgctggt actatctgct tgcacttgct ttgaggaggc caagaacatc 4080
ctgtgtattt ccagactctt tcttgttctg tttgtcctct caggctattc cttgtgctcc 4140
tgatgtctct gtctttactt ccaaaactat ttattaaaaa atctaagatt cattcatgtt 4200
taaggggaat tatgctaatt ctttcatacc taatgggata aaactaactg tgaaattaca 4260
gaccatcttg tgtaaaatct taatctcagc agtcacattt gctgttgaag tgagtatgaa 4320
caaacactga tatgtggagg gctctggtgc aaaggtttgt aggctctgcc tgtgttgcat 4380
agagcagctc atctgaagtg gattagcact gcttctgagc atggaaggtc aggctgaagt 4440
catgatgcct aattagggct ggagaggaca tcacagaaac agtggctctt gggtttgtcc 4500
tgggtagggc agaggtaagg ttgaggagag ctagaaaact caggaaaaga aaaggctcag 4560
gagaaagaag acagagagtt ccagtgagca gagctgcctc tgctgctagg cttgtggtac 4620
acaggttaaa gtttggcctt gtggcattca acagcctttg catcctactg accacactag 4680
ccaggcagtt gaggctcagg gctggctttc ttgcacttgg agaacctttc ctaccttcaa 4740
atgcttgaac cagaatacca gagaaaaaat gcaactctga aagcacaggc attctgtgaa 4800
tagccatcca gatttctgca ggctaaggaa aacagagatg gaggtctatg agggaaagaa 4860
gagaagtcct catgagggct gataccagac agttgagtag gacactgagc acactcacca 4920
ccagatgctc tgtctaagct gtagtttact aggaggttgt ttattctctg agtcagattt 4980
gcttctgttt taagaaccct cacagcctct ctttctatct attctgatga aggttgagcc 5040
tgaagaagct ggagcagaaa gggtcttctg cctcatgttc tgctgataaa ctttgagaat 5100
cctgcctaag tctgacctag attttggctc caaaagccag ggcttcttat ctctgtcaag 5160
accaaacctg gatgcagtca gaggttgggc acagcctttg ctccaaggct cctgggcaca 5220
gtgcccacct cccatttgag cttgcagcaa ggctattatg agaaactttc ctcctcttcc 5280
ttcaagtctc cacctattag ctctgcaaga gtgcagaagg ctgcacagca ctgcagatgg 5340
agaaggtggc aggggcagca ggtggcaggg gctccaggga actgtggtca gagttgattc 5400
agagcaggct aagagtggag tgactgaaga cagaagctgg aggcacatca accattacaa 5460
gacagcttga cttttgctag aacccttggc ttcaggtgat gagaataatg gtagacactg 5520
gttgtttggc ttgatagctt aaaaaaggac aaccattata atggaagcag tttctctgag 5580
aaacaggatg ttggcaaggg cttagtgctc ctgactgctg atgctggagt ctggcttccc 5640
tgaccccagt agcagtggga cttagaagca tctcaggctc caggttctca cagctgactc 5700
ctccttcctg aactgtaaga aacagaaatc cacttgctgc tctaaagtgg ggtcacttta 5760
atggaaggaa cagccaacat atttggagag gggctggtgt ggggcttctt actgagagtg 5820
ggcagccctg agcactggac aaactcaact gtgggcaacc tgggtgggaa gcagctgtgg 5880
agatggggaa gccatgctaa tcagtgacat catctattct aagtttccta cctctgaatg 5940
aatagttctg ctggcaaaaa tctgcttttt taagttgata caaatgtgtc ctgtcaagga 6000
agtagagctc cttctcaatc cagcacatca gtaccataac ttgttcctgt gcatttggtt 6060
aaagatggtg ataacatcat ttatcagtaa gtgcagccag gcatgatgca ctatctcctt 6120

gcatttagag cctaattttg gccaaagaag tcttcataga aaaggacttc ccactcaaag 6180
tagtcctgag tagttctact gattttatta ttagtagaga gggtttcatc atgttggcca 6240
ggctggtctg catgcttcta tattattttc taaaagattt aaagttttgc cttctccatt 6300
tagacttata attcactgga atttttttgt gtgtatggta tgacatatgg gttccctttt 6360
atttttaca tataaatata tttccctgtt tttctaaaaa agaaaaagac catcattttc 6420
ccattgtaaa atgccatatt tttttcatag gtcacttaca tatatcaatg ggtctgtttc 6480
tgagctctac tctattttat cagcctcact gtctatcccc acacatctca tgctttgctc 6540
taaatcttga tatttagtgg aacattcttt cccattttgt tctacaagaa tatttttgtt 6600
attgtctttt gggcttctat atacatttta gaatgaggtt ggcaagttat cctgcaggaa 6660
ttcctcgaga ccgtacgagc ggccgcttgg ccactccctc tctgcgcgct cgctcgctca 6720
ctgaggccgg gcgaccaaag gtcgcccgac gcccgggctt tgcccgggcg gcctcagtga 6780
gcgagcgagc gcgcagagag ggagtggcca actccatcac taggggttcc tcctgcaggg 6840
aattcagtca atatgttcac cccaaaaaag ctgtttgtta tcgtggatct ctccccagca 6900
tgcctgctat tgtcttccca atcctccccc ttgctgtcct gccccacccc acccccccaga 6960
atagaatgac acctactcag acaatgcgat gcaatttcct cattttatta ggaaaggaca 7020
gtgggagtgg caccttccag ggtcaaggaa ggcacggggg aggggcaaac aacagatggc 7080
tggcaactag aaggcacagt cgaggctgat cagcgagctc tagtcgacgg tatcgatgcg 7140
gggaggcggc ccaaagggag atccgactcg tctgagggcg aaggcgaaga cgcggaagag 7200
gccgcagagc cggcagcagg ccgcgggaag gaaggtccgc tggattgagg gccgaaggga 7260
cgtagcagaa ggacgtcccg cgcagaatcc aggtggcaac acaggcgagc agccaaggaa 7320
aggacgatga tttccccgac aacaccacgg aattgtcagt gcccaacagc cgagcccctg 7380
tccagcagcg ggcaaggcag gcggcgatga gttccgccgt ggcaataggg agggggaaag 7440
cgaaagtccc ggaaaggagc tgacaggtgg tggcaatgcc ccaaccagtg ggggttgcgt 7500
cagcaaacac agtgcacacc acgccacgtt gcctgacaac gggccacaac tcctcataaa 7560
gagacagcaa ccaggattta tacaaggagg agaaaatgaa agccatacgg gaagcaatag 7620
catgatacaa aggcattaaa gcagcgtatc cacatagcgt aaaaggagca acatagttaa 7680
gaataccagt caatctttca caaatttgt aatccagagg ttgattatcg ataagcttgc 7740
ggcctcgagg gtttaaactt aattaacaat tgggtggctc aaccggtgat atcttcgaac 7800
ggatcccaca gtcgtggaag actttccctt cggatcttcg aggaattctt tgccaaaatg 7860
atgagacagc acaataacca gcacgttgcc caggagctgt aggaaaaaga agaaggcatg 7920
aacatggtta gcagaggctc tagctcccgg agcccctcaa ggctttcacg cagccacaga 7980
aaggtggtga ctgagatgtt ttctaggaaa cacaaaagat acaaaaaaga acacgtggaa 8040
ggatagccaa aaaggggggc tgcccccatt tcctgcaccc cgctgcgatg gctggcacca 8100
tttggaagac ttcgagatac actgttgagc gcagtaagac aacagtgtat ctcgaagtct 8160
tccagatggg gccagccggt ccactctgta tccaggccag ttctgcaagg cgttcgagga 8220
ccacccccct cccctcgcca ccaggacaag ccgtcattaa accaagcgct aattacagcg 8280
ctgaggagaa gggccgtccc gcccgctcac ctgtgggagt aacgcggtca gtcagagccg 8340
gggcgggcgg cgcgaggcgg cggcggagcg gggcacgggg cgaaggcagc gtcgcagcga 8400
ctcccgcccg ccgcgcgctt cgctttttat agggccgccg ccgccgccgc ctcgccataa 8460

aaggaaactt tcggagcgcg ccgctctgat tggctgccgc cgcacctctc cgcctcgccc 8520
cgccccgccc ctcgccccgc cccgccccgc ctggcgcgcg ccccccccccc ccccccgccc 8580
ccatcgctgc acaaaataat taaaaaataa ataaatacaa aattgggggt ggggaggggg 8640
gggagatggg gagagtgaag cagaacgtgg ggctcacctc gaccatggta atagcgatga 8700
ctaatacgta gatgtactgc caagtaggaa agtcccataa ggtcatgtac tgggcataat 8760
gccaggcggg ccatttaccg tcattgacgt caataggggg cgtacttggc atatgataca 8820
cttgatgtac tgccaagtgg gcagtttacc gtaaatactc cacccattga cgtcaatgga 8880
aagtccctat tggcgttact atgggaacat acgtcattat tgacgtcaat gggcgggggt 8940
cgttgggcgg tcagccaggc gggccattta ccgtaagtta tgtaacgcgg aactccatat 9000
atgggctatg aactaatgac cccgtaattg attactatta ataactaggt accgaattca 9060
gatccaagct tcaccatggg agacgtcacc ggttctagaa cctagggagc tctggtaccc 9120
actagtagtc gacgaacgcg taacctcccg cttcaaaatg gagaccctgc gtgctcactc 9180
gggcttaaat acccagagct agcaggaacc cctagtgatg gagttggcca ctccctctct 9240
gcgcgctcgc tcgctcactg aggccgggcg accaaaggtc gcccgacgcc cgggctttgc 9300
ccgggcggcc tcagtgagcg agcgagcgcg cagagaggga gtggccaa 9348

<210> 47
<211> 263
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 编码aSyn-shRNA的第一链序列
<400> 47
cctggtggcg aggggagggg ggtggtcctc gaacgccttg cagaactggc ctggatacag 60
agtggaccgg ctggccccat ctggaagact tcgagataca ctgttgtctt actgcgctca 120
acagtgtatc tcgaagtctt ccaaatggtg ccagccatcg cagcggggtg caggaaatgg 180
gggcagcccc ccttttggc tatccttcca cgtgttcttt tttgtatctt ttgtgtttcc 240
tagaaaacat ctcagtcacc acc 263

<210> 48
<211> 263
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 编码aSyn-shRNA的第二链序列
<400> 48
ggtggtgact gagatgtttt ctaggaaaca caaaagatac aaaaaagaac acgtggaagg 60
atagccaaaa agggggggctg cccccatttc ctgcaccccg ctgcgatggc tggcaccatt 120
tggaagactt cgagatacac tgttgagcgc agtaagacaa cagtgtatct cgaagtcttc 180
cagatggggc cagccggtcc actctgtatc caggccagtt ctgcaaggcg ttcgaggacc 240
acccccctcc cctcgccacc agg 263

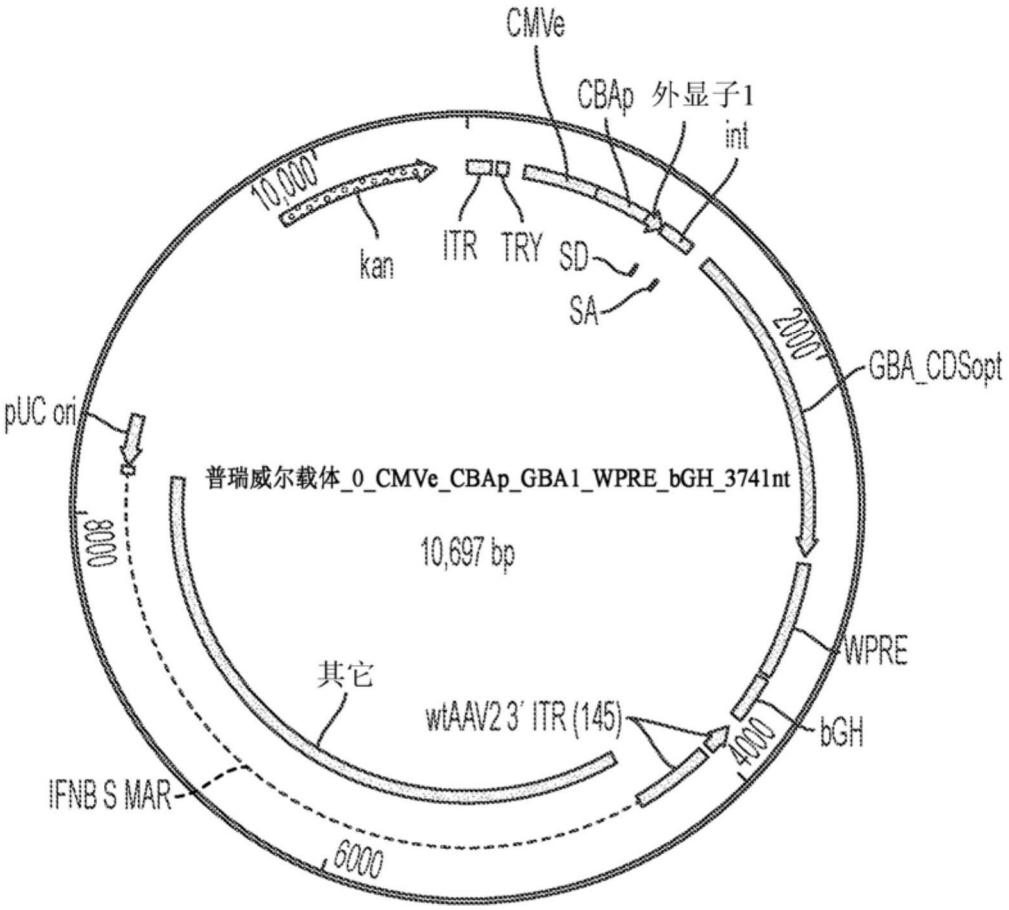

CMVe
CBAp
外显子1
int
10,000
kan
ITR
TRY
SD
SA
2000
GBA_CDSopt
pUC ori
普瑞威尔载体_0_CMVe_CBAp_GBA1_WPRE_bGH_3741nt
10,697 bp
8000
其它
wtAAV2 3' ITR (145)
4000
bGH
WPRE
IFNB S MAR
6000

图1

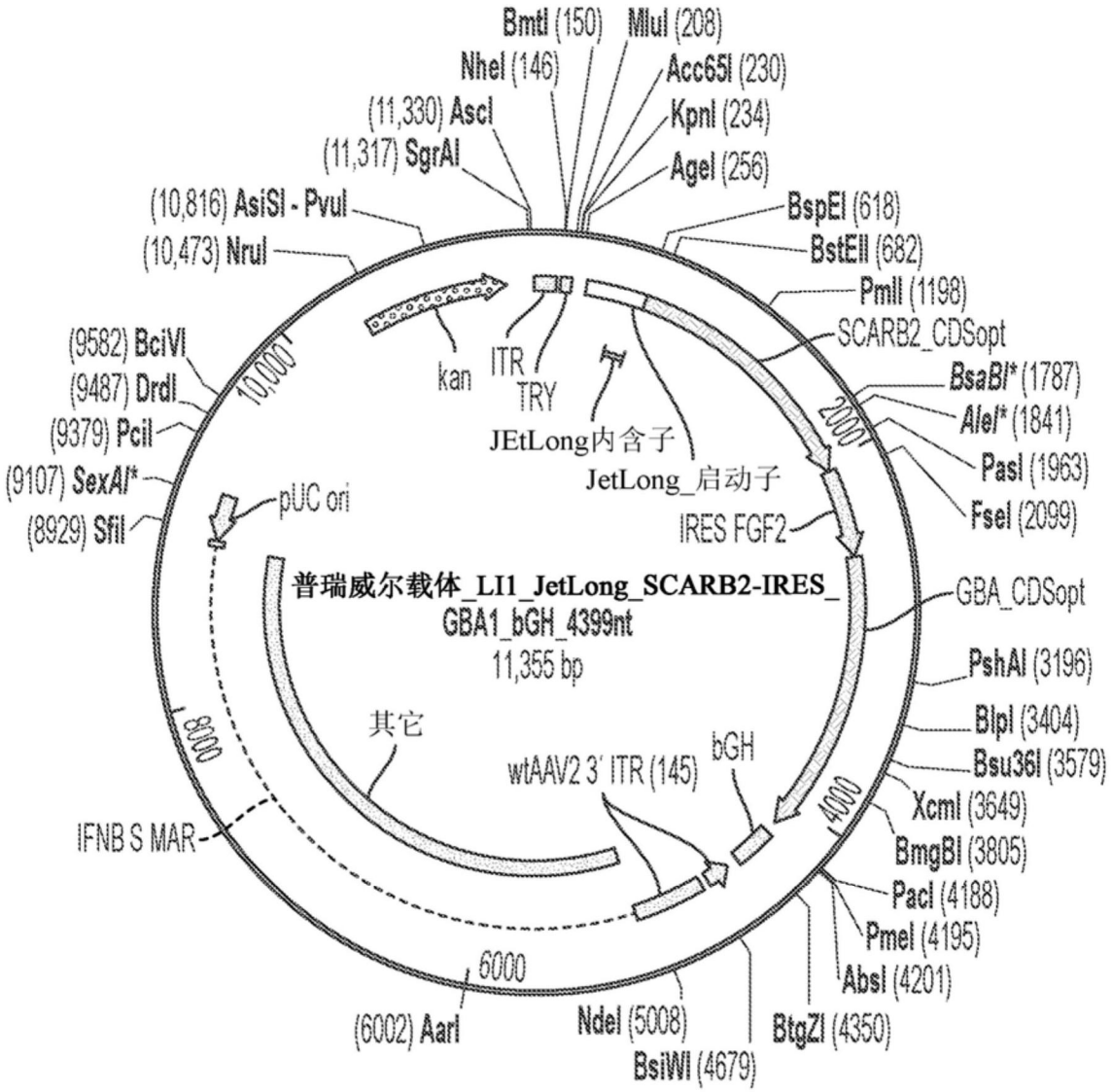
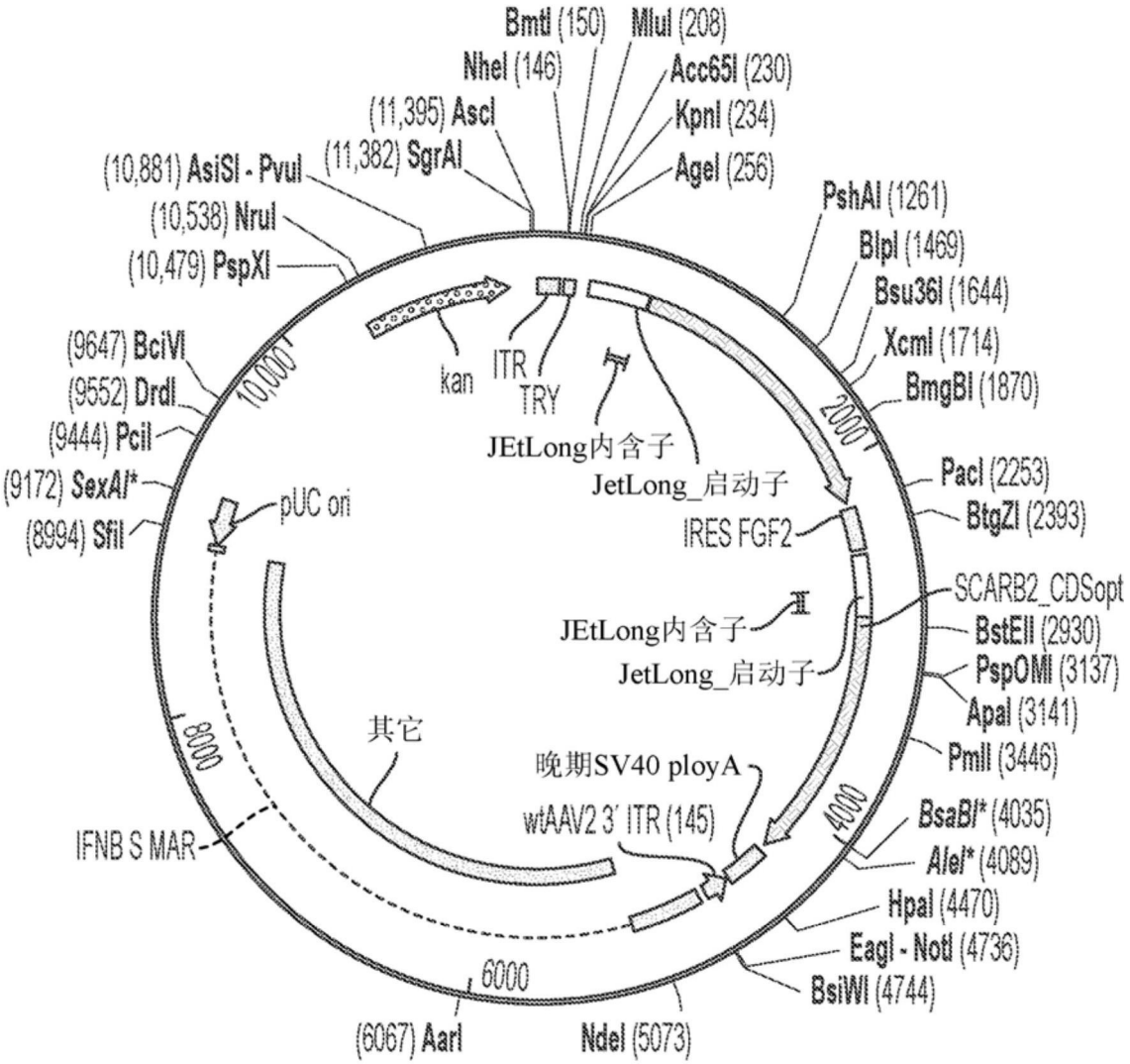

BmtI (150)
MluI (208)
NheI (146)
Acc65I (230)
(11,330) AscI
KpnI (234)
(11,317) SgrAI
AgeI (256)
(10,816) AsiSI - PvuI
BspEI (618)
(10,473) NruI
BstEII (682)
PmlI (1198)
SCARB2_CDSopt
(9582) BciVI
(9487) DrdI
(9379) PciI
(9107) SexAI*
(8929) SfiI
10,000
kan
ITR
TRY
JEtLong内含子
JetLong_启动子
2000
BsaBI* (1787)
AleI* (1841)
PasI (1963)
FseI (2099)
pUC ori
IRES FGF2
普瑞威尔载体_LI1_JetLong_SCARB2-IRES_
GBA1_bGH_4399nt
11,355 bp
GBA_CDSopt
PshAI (3196)
BlpI (3404)
Bsu36I (3579)
其它
wtAAV2 3' ITR (145)
bGH
8000
4000
XcmI (3649)
BmgBI (3805)
IFNB S MAR
PacI (4188)
PmeI (4195)
AbsI (4201)
6000
(6002) AarI
NdeI (5008)
BtgZI (4350)
BsiWI (4679)

图2



普瑞威尔载体_FP1_JetLong_GBA1_bGH_JetLong_SCARB2_SV40L_4464nt

11,420 bp

图3

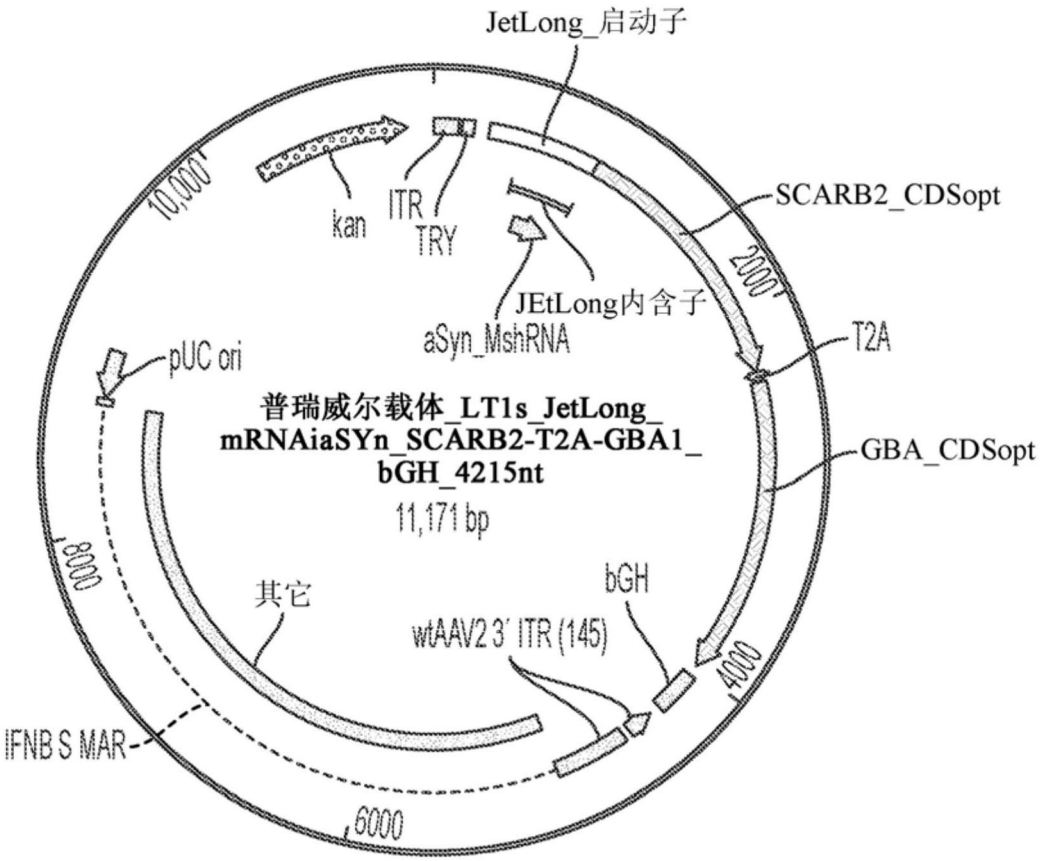

JetLong_启动子
SCARB2_CDSopt
T2A
GBA_CDSopt
bGH
wtAAV2 3′ ITR (145)
其它
IFNB S MAR
pUC ori
kan
ITR
TRY
JEtLong内含子
aSyn_MshRNA
普瑞威尔载体_LT1s_JetLong_
mRNAiaSYn_SCARB2-T2A-GBA1_
bGH_4215nt
11,171 bp
10,000
2000
4000
6000
8000

图4

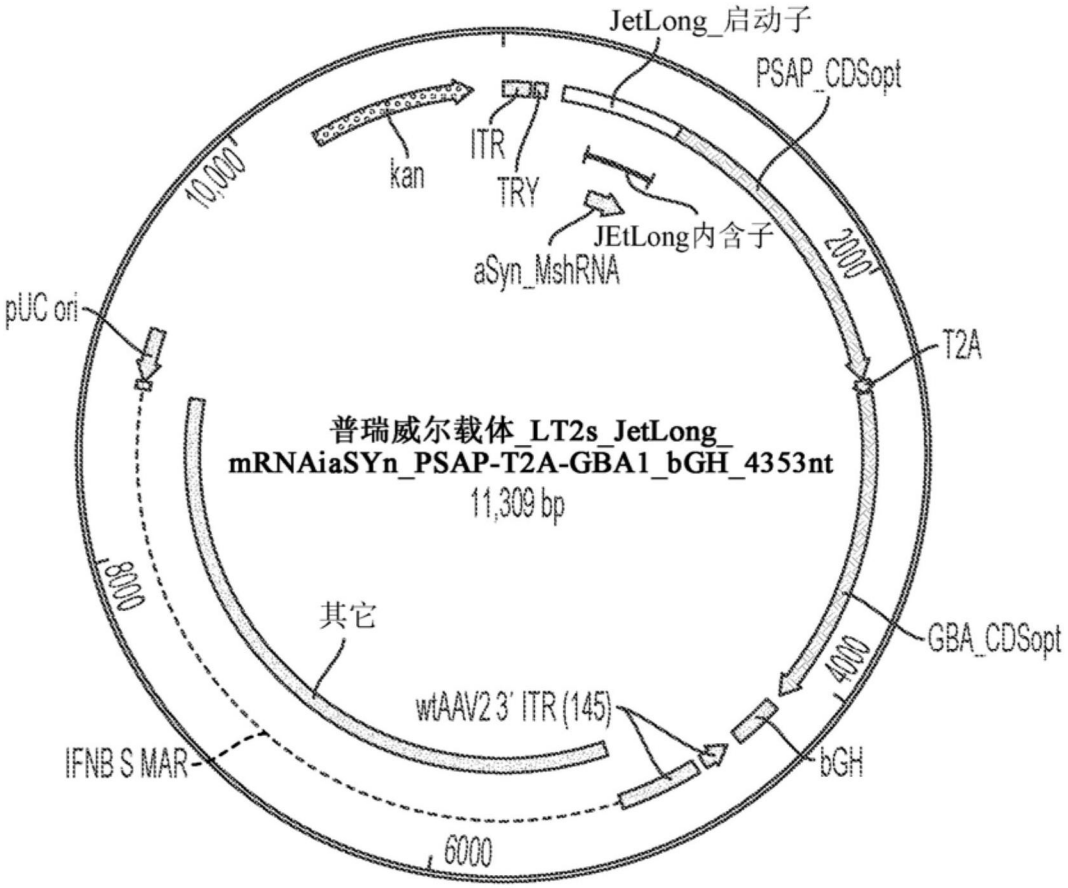

JetLong_启动子
PSAP_CDSopt
ITR
kan
TRY
JEtLong内含子
aSyn_MshRNA
10,000
2000
pUC ori
T2A
普瑞威尔载体_LT2s_JetLong_
mRNAiaSYn_PSAP-T2A-GBA1_bGH_4353nt
11,309 bp
8000
其它
GBA_CDSopt
4000
wtAAV2 3' ITR (145)
IFNB S MAR
bGH
6000

图5

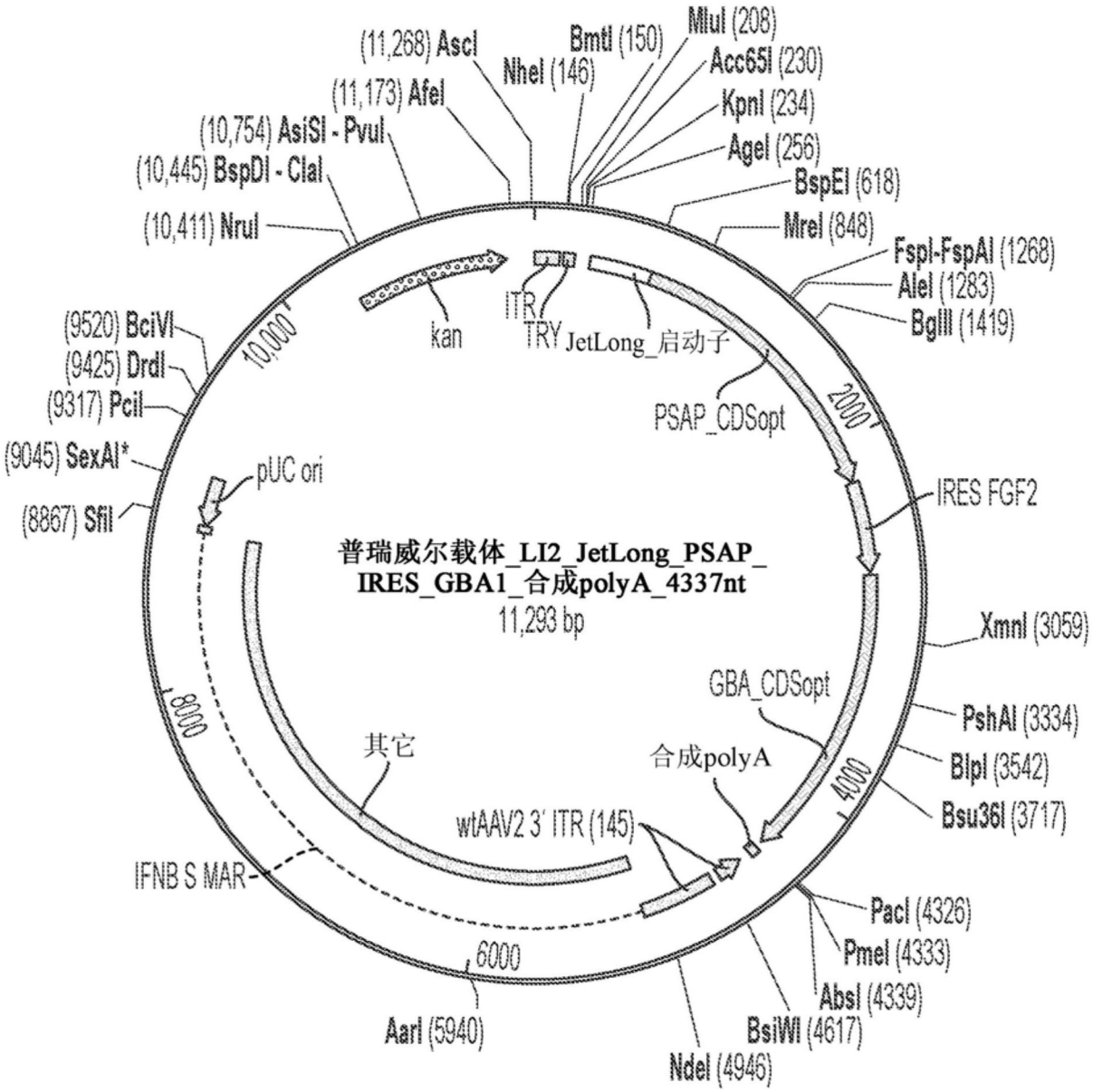

普瑞威尔载体_LI2_JetLong_PSAP_
IRES_GBA1_合成polyA_4337nt
11,293 bp
(11,268) AscI
NheI (146)
BmtI (150)
MluI (208)
Acc65I (230)
KpnI (234)
AgeI (256)
BspEI (618)
MreI (848)
FspI-FspAI (1268)
AleI (1283)
BglII (1419)
XmnI (3059)
PshAI (3334)
BlpI (3542)
Bsu36I (3717)
PacI (4326)
PmeI (4333)
AbsI (4339)
BsiWI (4617)
NdeI (4946)
AarI (5940)
(9520) BciVI
(9425) DrdI
(9317) PciI
(9045) SexAI*
(8867) SfiI
(10,411) NruI
(10,445) BspDI - ClaI
(10,754) AsiSI - PvuI
(11,173) AfeI
kan
ITR
TRY
JetLong_启动子
PSAP_CDSopt
IRES FGF2
GBA_CDSopt
合成polyA
其它
wtAAV2 3' ITR (145)
IFNB S MAR
pUC ori
2000
4000
6000
8000
10,000

图6

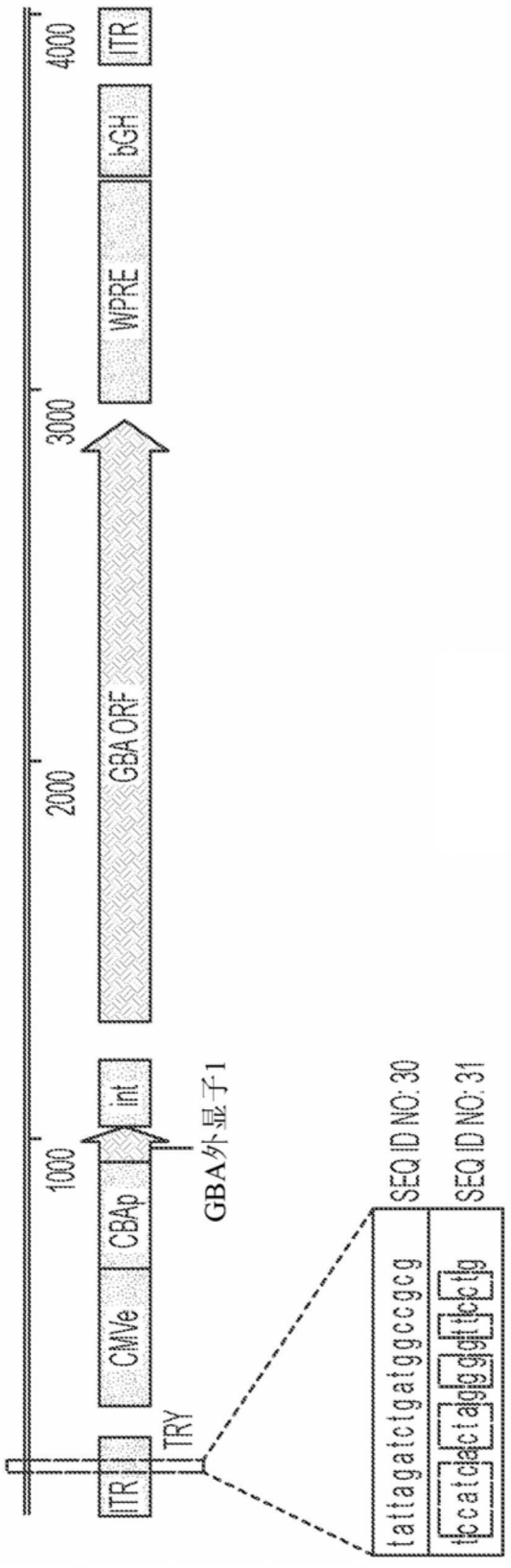

4000
3000
2000
1000
ITR
bGH
WPRE
GBA ORF
int
CBAp
CMVe
TRY
ITR
GBA外显子1
SEQ ID NO: 30
SEQ ID NO: 31
tattagatctgatggccgcg
tbcatcgtgctagtggggttctctg

图7

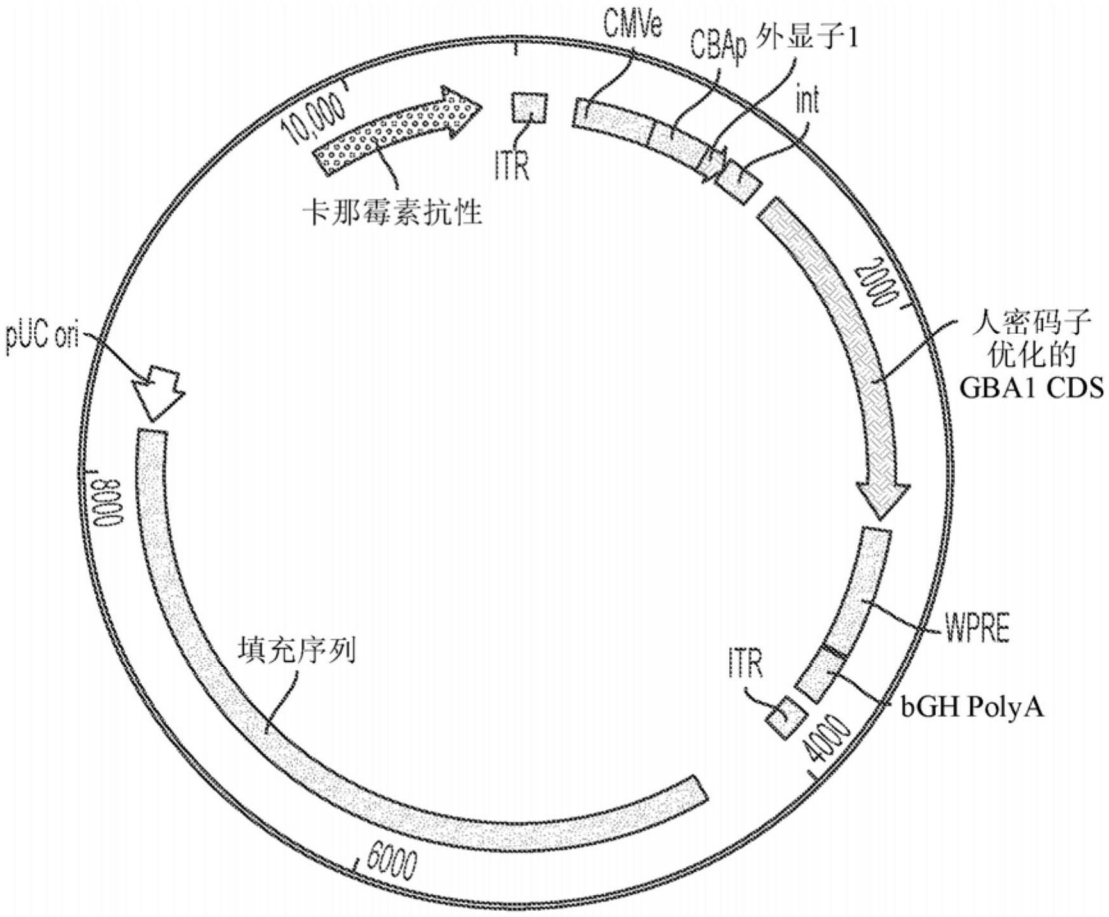

CMVe
CBAp
外显子1
int
10,000
ITR
卡那霉素抗性
2000
人密码子
优化的
GBA1 CDS
pUC ori
8000
填充序列
WPRE
ITR
bGH PolyA
4000
6000

图8

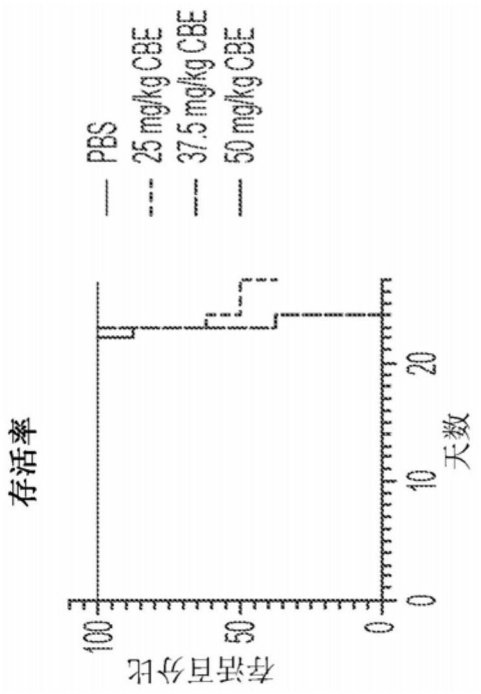

存活率
PBS
25 mg/kg CBE
37.5 mg/kg CBE
50 mg/kg CBE
存活百分比
100
50
0
0
10
20
天数

图9A

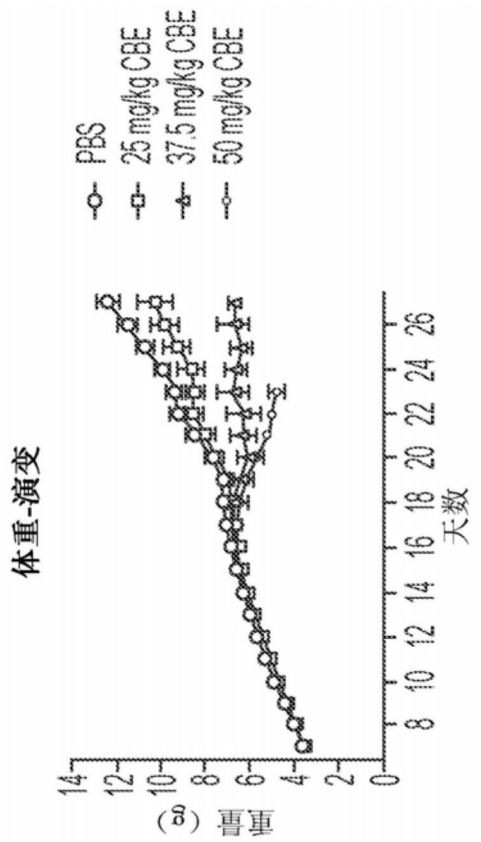

体重-演变
PBS
25 mg/kg CBE
37.5 mg/kg CBE
50 mg/kg CBE
重量（g）
14
12
10
8
6
4
2
0
8 10 12 14 16 18 20 22 24 26
天数

图9B

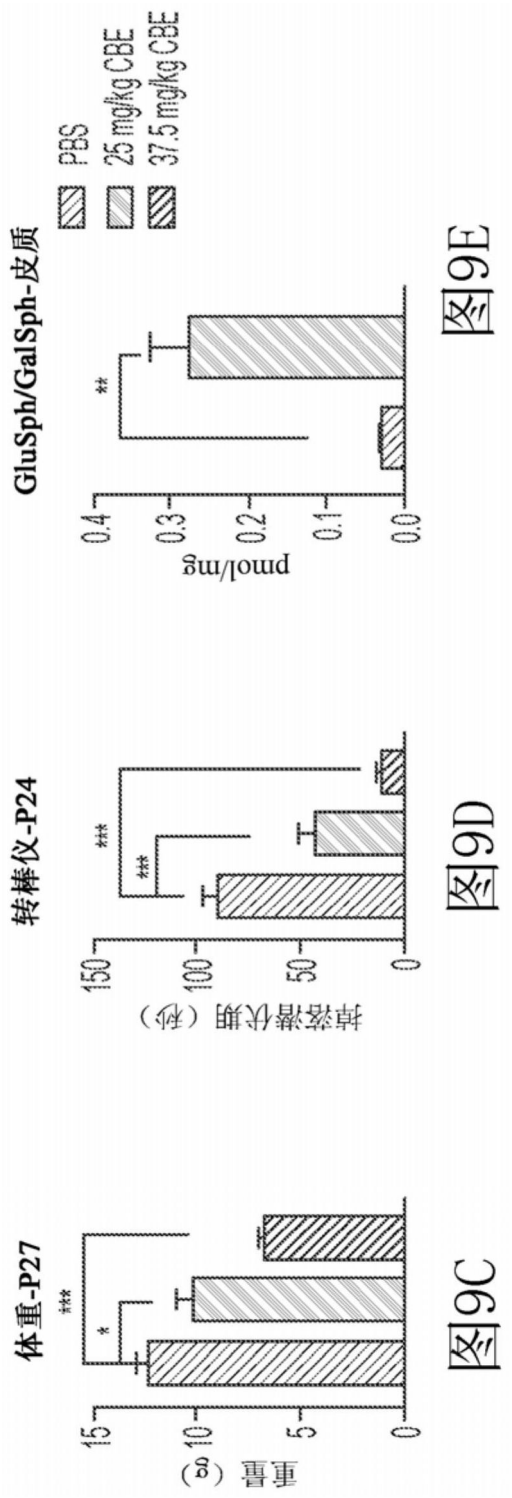

GluSph/GalSph-皮质
PBS
25 mg/kg CBE
37.5 mg/kg CBE
pmol/mg
0.4
0.3
0.2
0.1
0.0
**
转棒仪-P24
掉落潜伏期（秒）
150
100
50
0
***
***
体重-P27
重量（g）
15
10
5
0
***
*

图9E

图9D

图9C

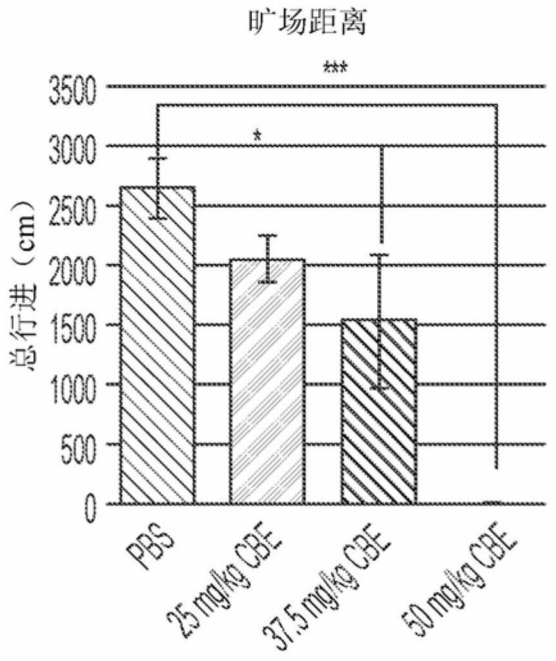

旷场距离
***
*
3500
3000
2500
2000
1500
1000
500
0
总行进（cm）
PBS
25 mg/kg CBE
37.5 mg/kg CBE
50 mg/kg CBE

图9F

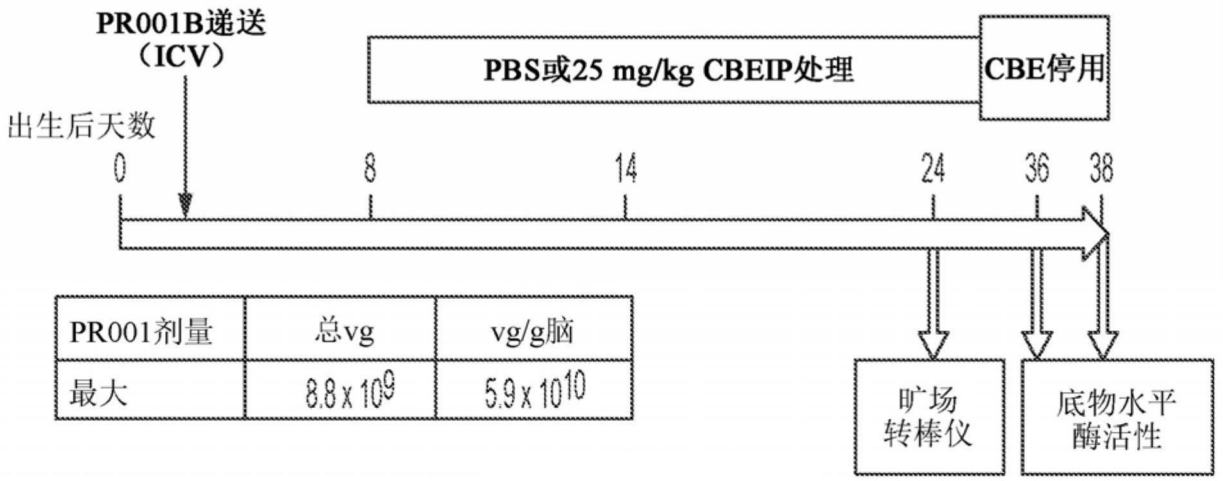

PR001B递送
（ICV）
PBS或25 mg/kg CBEIP处理
CBE停用
出生后天数
0
8
14
24
36
38
PR001剂量
总vg
vg/g脑
最大
8.8 x 10^9
5.9 x 10^10
旷场
转棒仪
底物水平
酶活性

图10

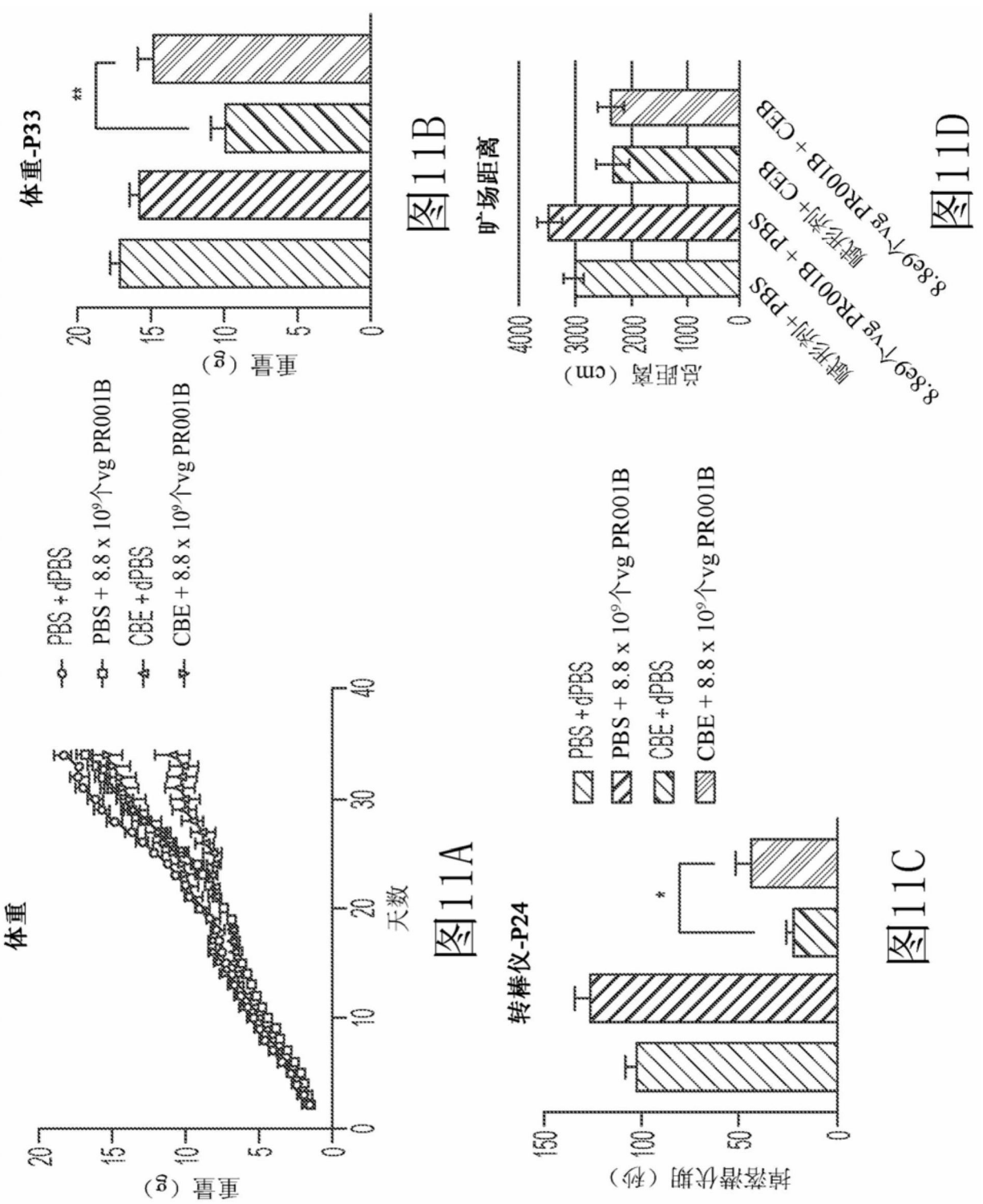


图11A 图11B 图11C 图11D

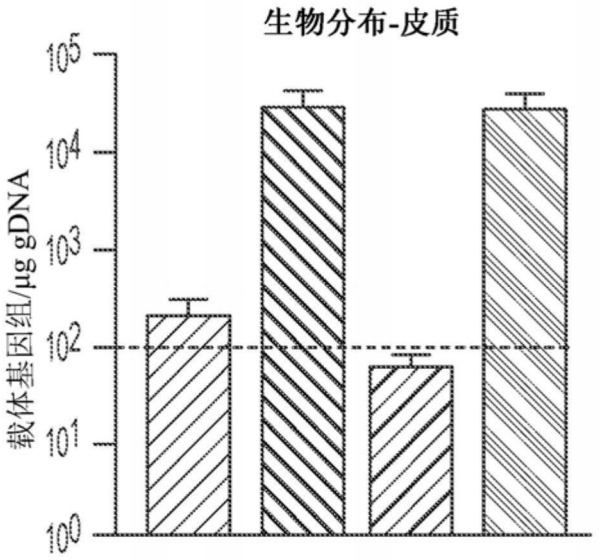

生物分布-皮质
载体基因组/μg gDNA
10^5
10^4
10^3
10^2
10^1
10^0

图12A

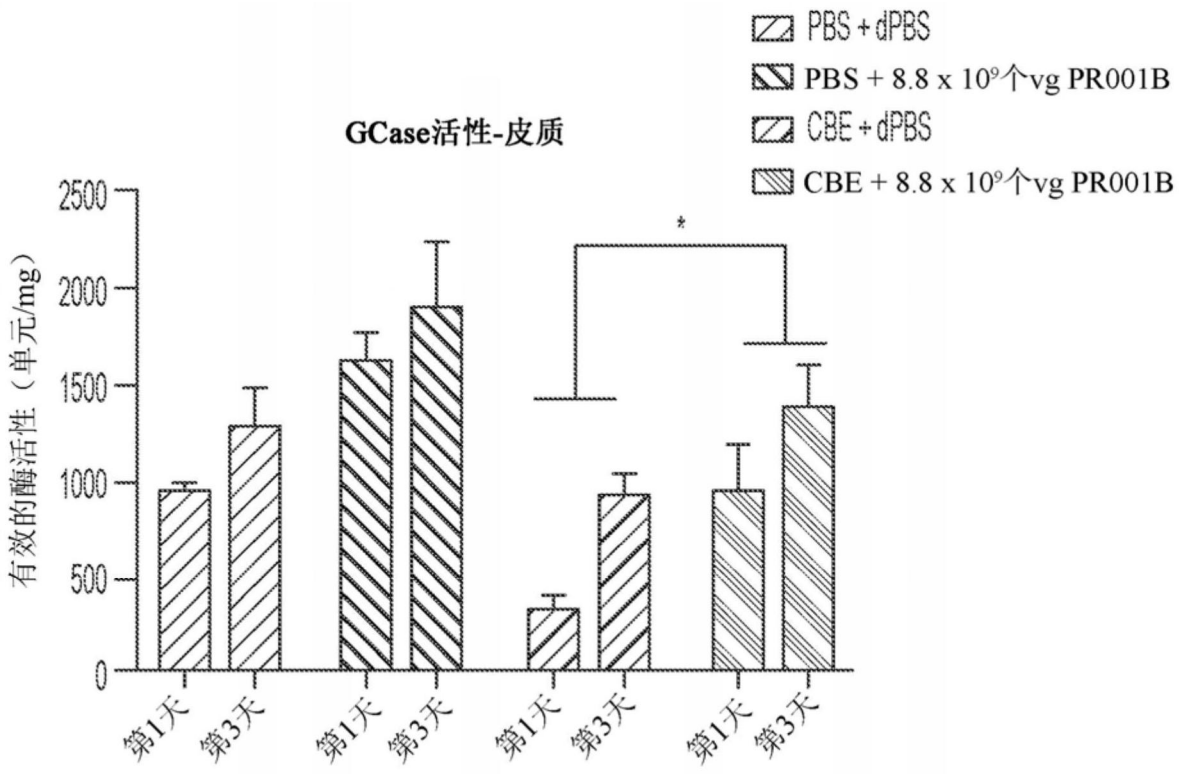

PBS + dPBS
PBS + 8.8 x 10^9个vg PR001B
CBE + dPBS
CBE + 8.8 x 10^9个vg PR001B
GCase活性-皮质
有效的酶活性（单元/mg）
2500
2000
1500
1000
500
0
*
第1天
第3天
第1天
第3天
第1天
第3天
第1天
第3天

图12B

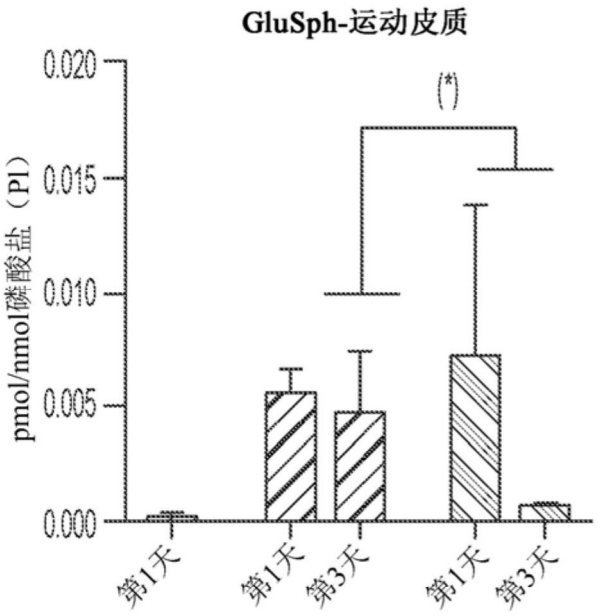

GluSph-运动皮质
pmol/nmol磷酸盐（PI）
0.020
0.015
0.010
0.005
0.000
(*)
第1天
第1天
第3天
第1天
第3天

图12C

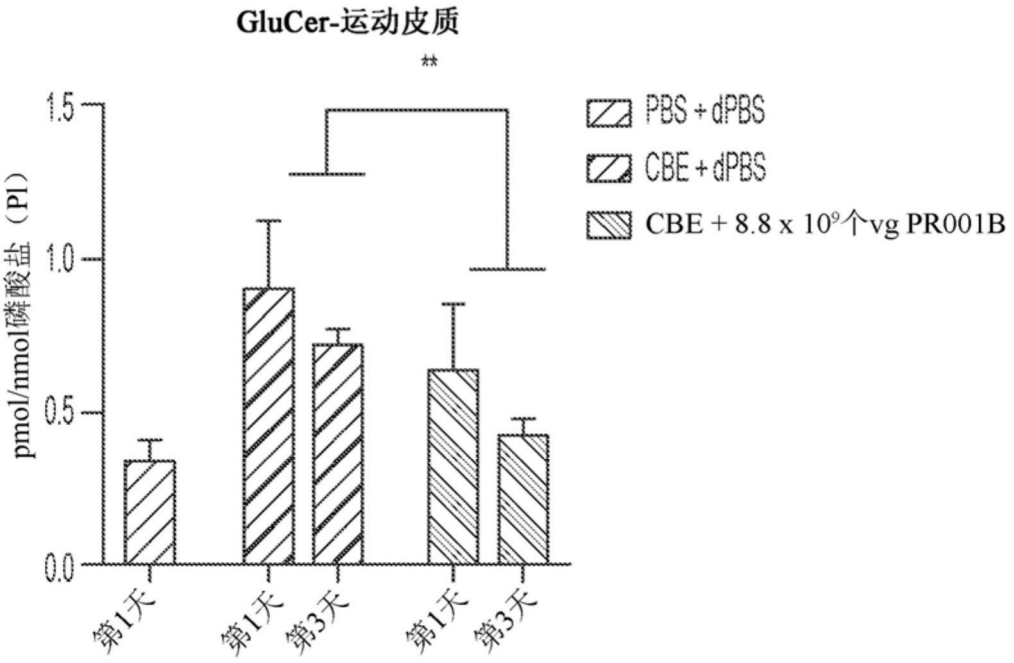

GluCer-运动皮质
**
pmol/nmol磷酸盐（PI）
1.5
1.0
0.5
0.0
PBS + dPBS
CBE + dPBS
CBE + 8.8 x 10⁹个vg PR001B
第1天
第1天
第3天
第1天
第3天

图12D

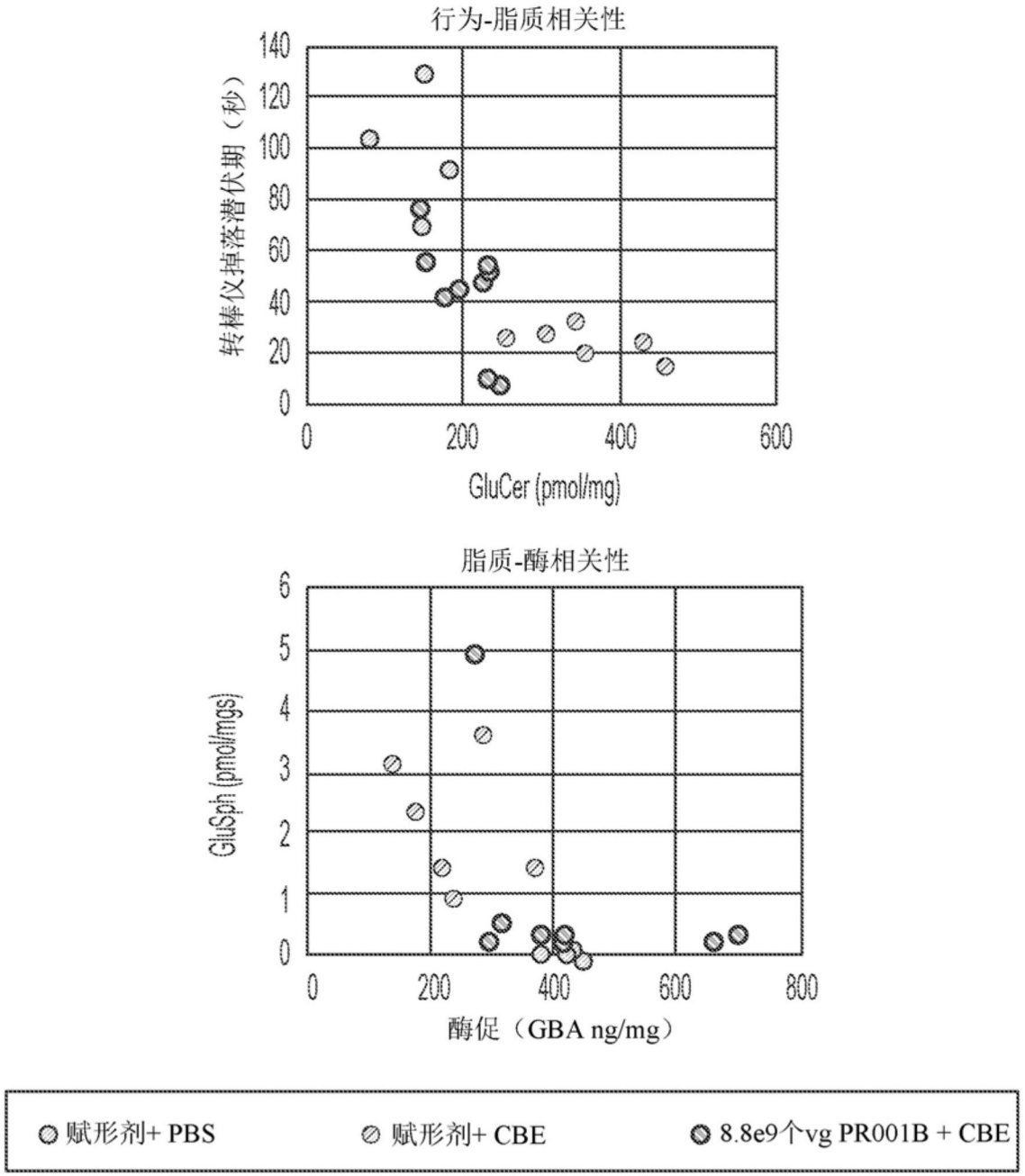

行为-脂质相关性
转棒仪掉落潜伏期（秒）
140
120
100
80
60
40
20
0
0
200
400
600
GluCer (pmol/mg)
脂质-酶相关性
GluSph (pmol/mgs)
6
5
4
3
2
1
0
0
200
400
600
800
酶促（GBA ng/mg）
赋形剂+ PBS
赋形剂+ CBE
8.8e9个vg PR001B + CBE

图13

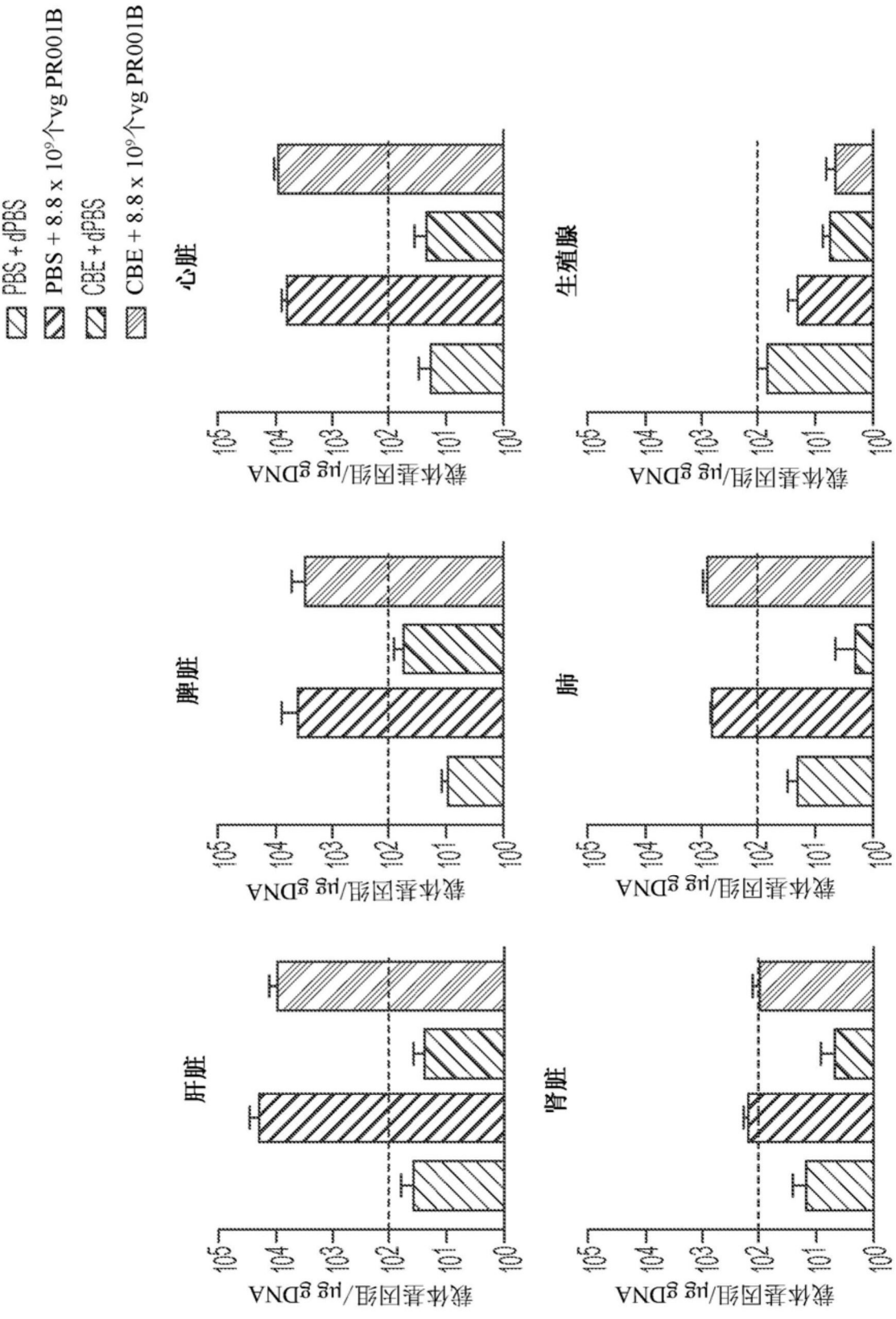
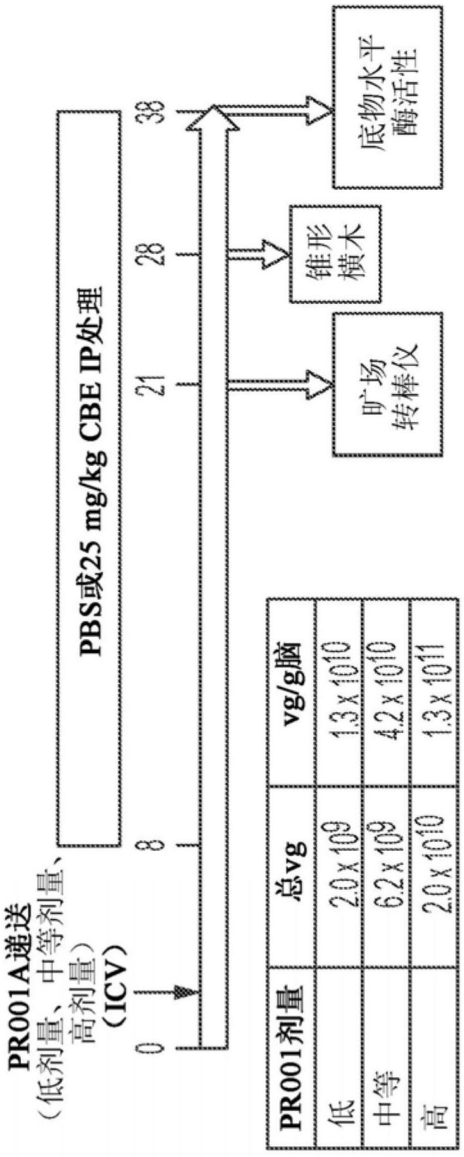

PBS + dPBS
PBS + 8.8 x 10⁹个vg PR001B
CBE + dPBS
CBE + 8.8 x 10⁹个vg PR001B
心脏
生殖腺
脾脏
肺
肝脏
肾脏
载体基因组/μg gDNA
105
104
103
102
101
100

图14



PR001剂量	总vg	vg/g脑
低	2.0×10^{9}	1.3×10^{10}
中等	6.2×10^{9}	4.2×10^{10}
高	2.0×10^{10}	1.3×10^{11}

图15A

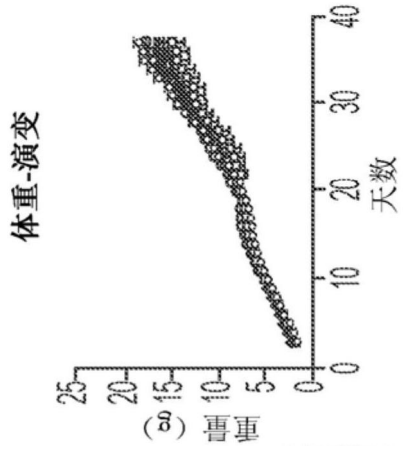


图15B

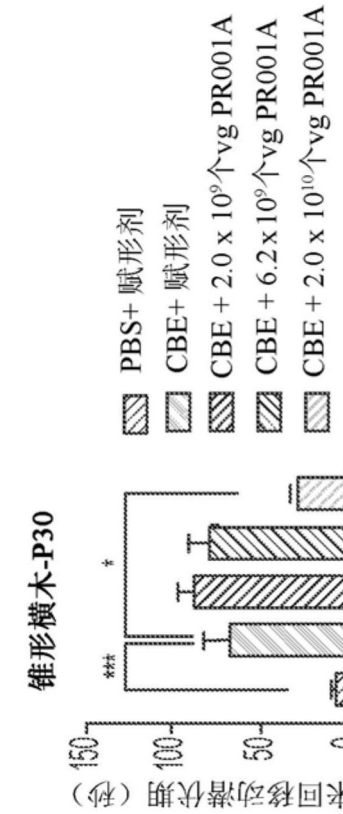


图15C

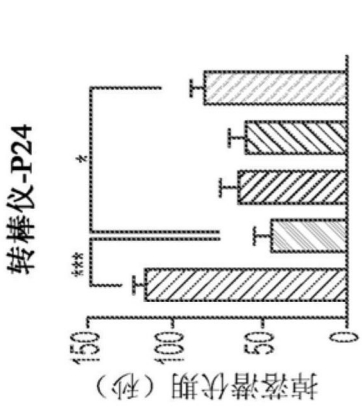


图15D

图15E

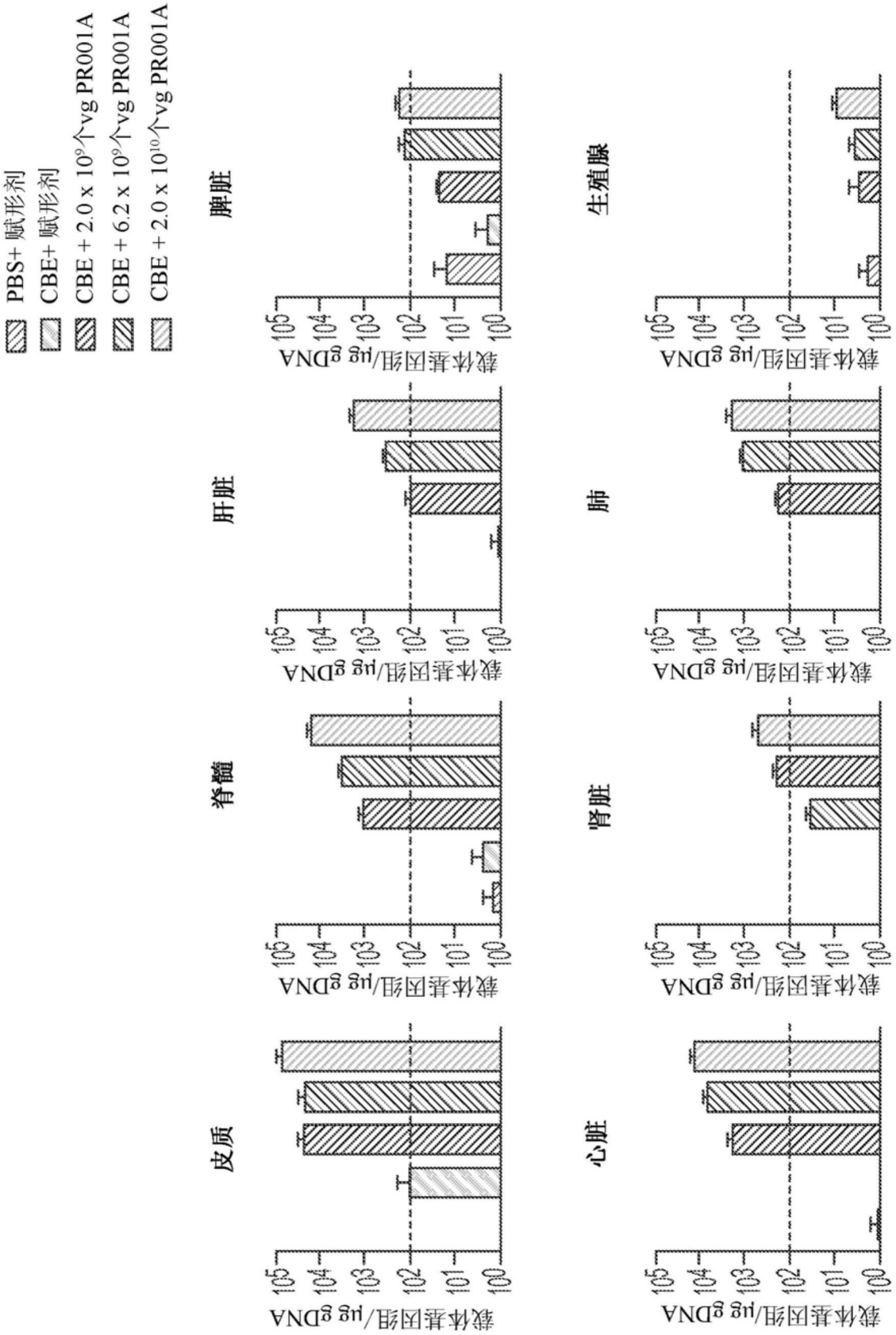

PBS+ 赋形剂
CBE+ 赋形剂
CBE + 2.0 x 10⁹个vg PR001A
CBE + 6.2 x 10⁹个vg PR001A
CBE + 2.0 x 10¹⁰个vg PR001A
皮质
脊髓
肝脏
脾脏
心脏
肾脏
肺
生殖腺
载体基因组/μg gDNA
100
101
102
103
104
105

图16A

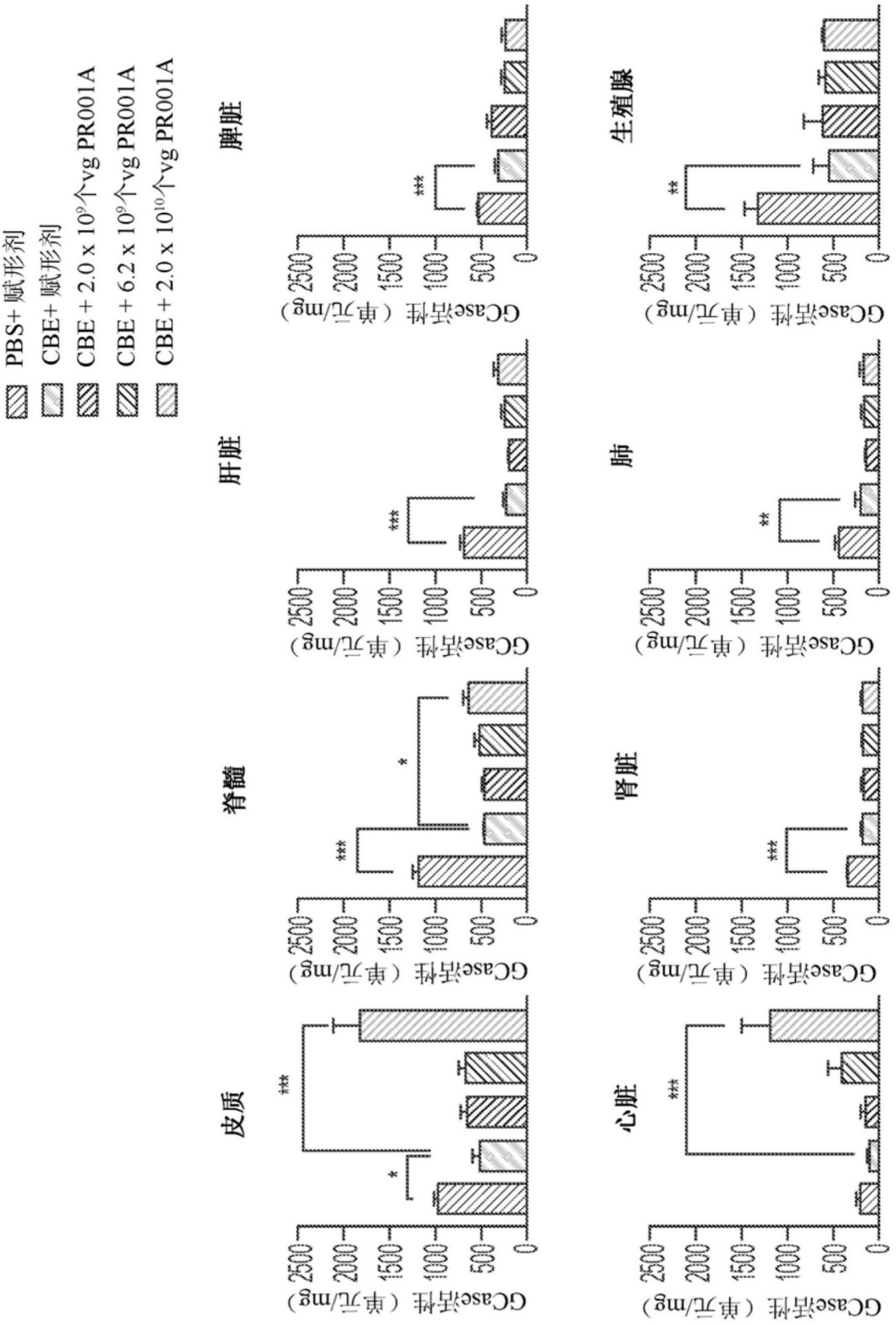

PBS+ 赋形剂
CBE+ 赋形剂
CBE + 2.0 x 10⁹个vg PR001A
CBE + 6.2 x 10⁹个vg PR001A
CBE + 2.0 x 10¹⁰个vg PR001A
皮质
脊髓
肝脏
脾脏
心脏
肾脏
肺
生殖腺
GCase活性（单元/mg）
0
500
1000
1500
2000
2500
*
**
***

图16B

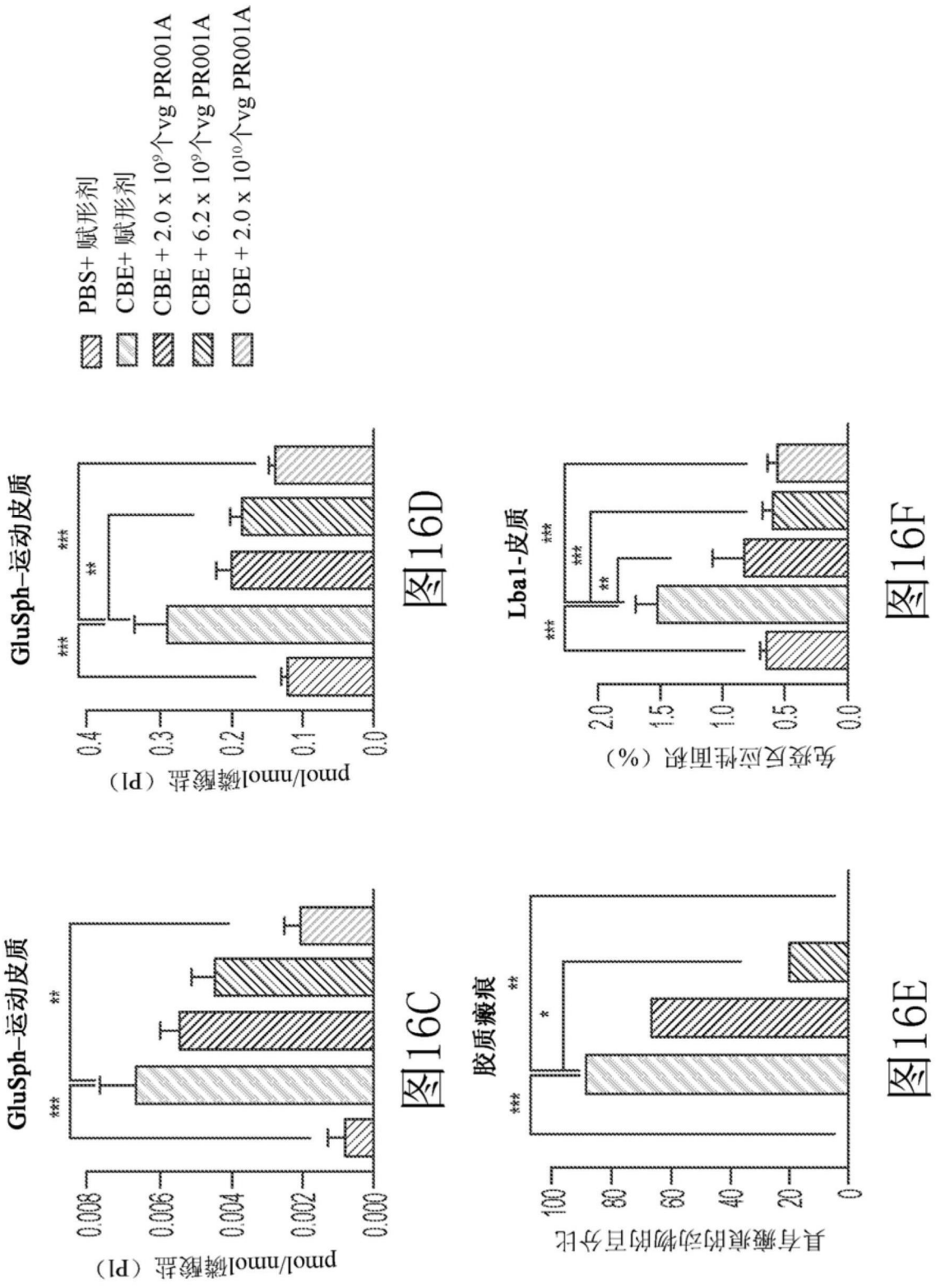


图16C 图16D 图16E 图16F

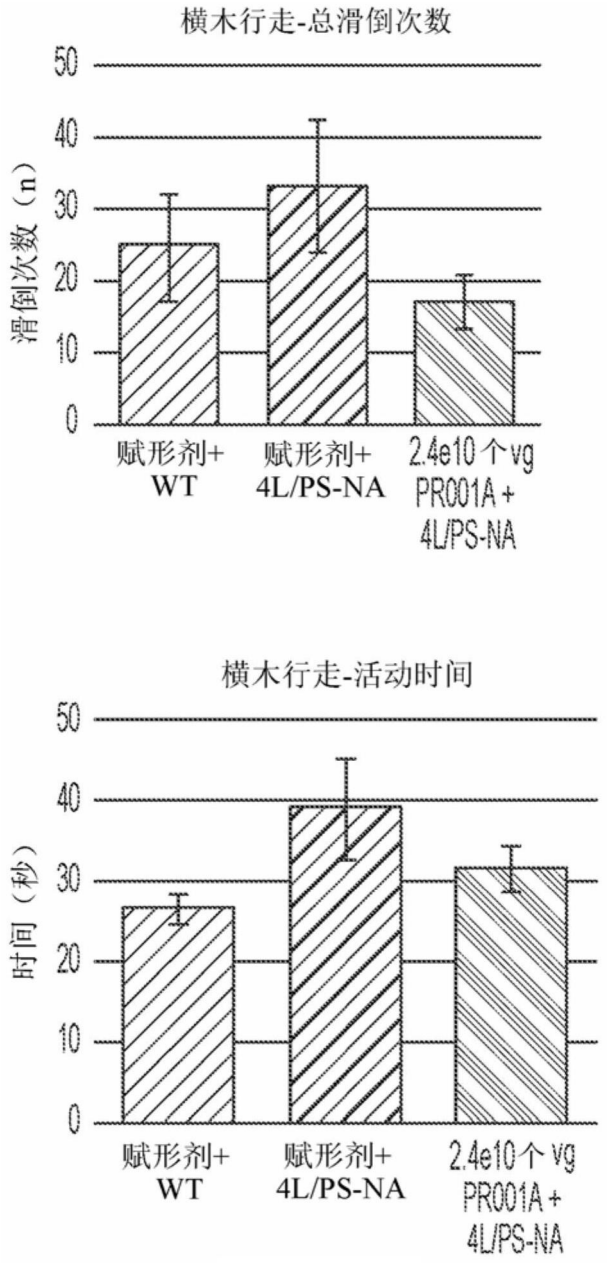

横木行走-总滑倒次数
滑倒次数（n）
50
40
30
20
10
0
赋形剂+ WT
赋形剂+ 4L/PS-NA
2.4e10个vg PR001A + 4L/PS-NA
横木行走-活动时间
时间（秒）
50
40
30
20
10
0
赋形剂+ WT
赋形剂+ 4L/PS-NA
2.4e10个vg PR001A + 4L/PS-NA

图17

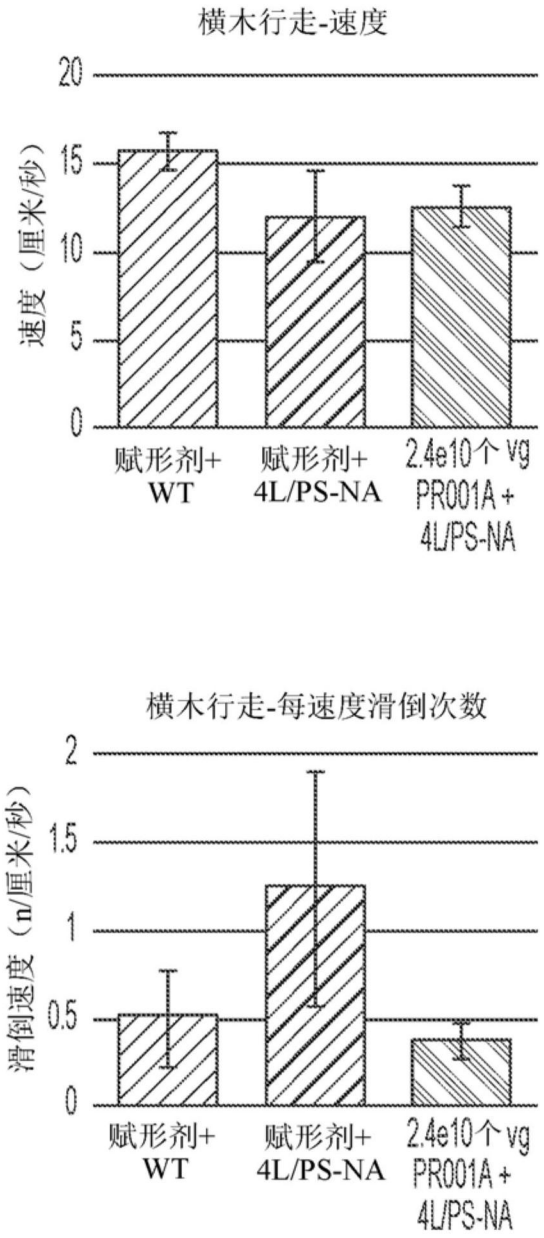

横木行走-速度
速度（厘米/秒）
20
15
10
5
0
赋形剂+ WT
赋形剂+ 4L/PS-NA
2.4e10个 vg PR001A + 4L/PS-NA
横木行走-每速度滑倒次数
滑倒速度（n/厘米/秒）
2
1.5
1
0.5
0
赋形剂+ WT
赋形剂+ 4L/PS-NA
2.4e10个 vg PR001A + 4L/PS-NA

图17续

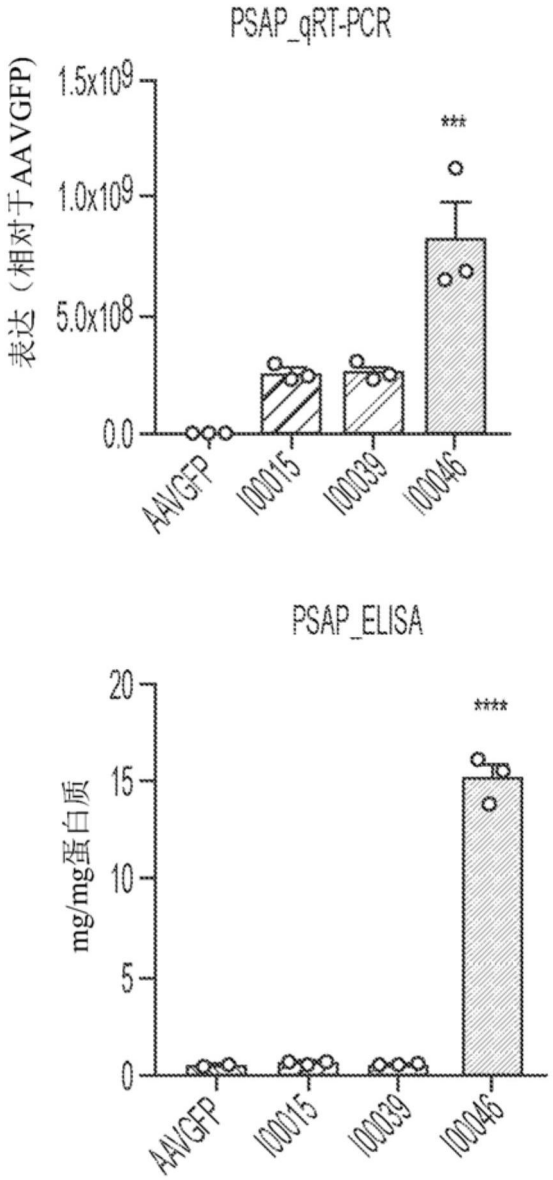

PSAP_qRT-PCR
表达（相对于AAVGFP）
1.5x10^9
1.0x10^9
5.0x10^8
0.0
***
AAVGFP
I00015
I00039
I00046
PSAP_ELISA
mg/mg蛋白质
20
15
10
5
0
****
AAVGFP
I00015
I00039
I00046

图18

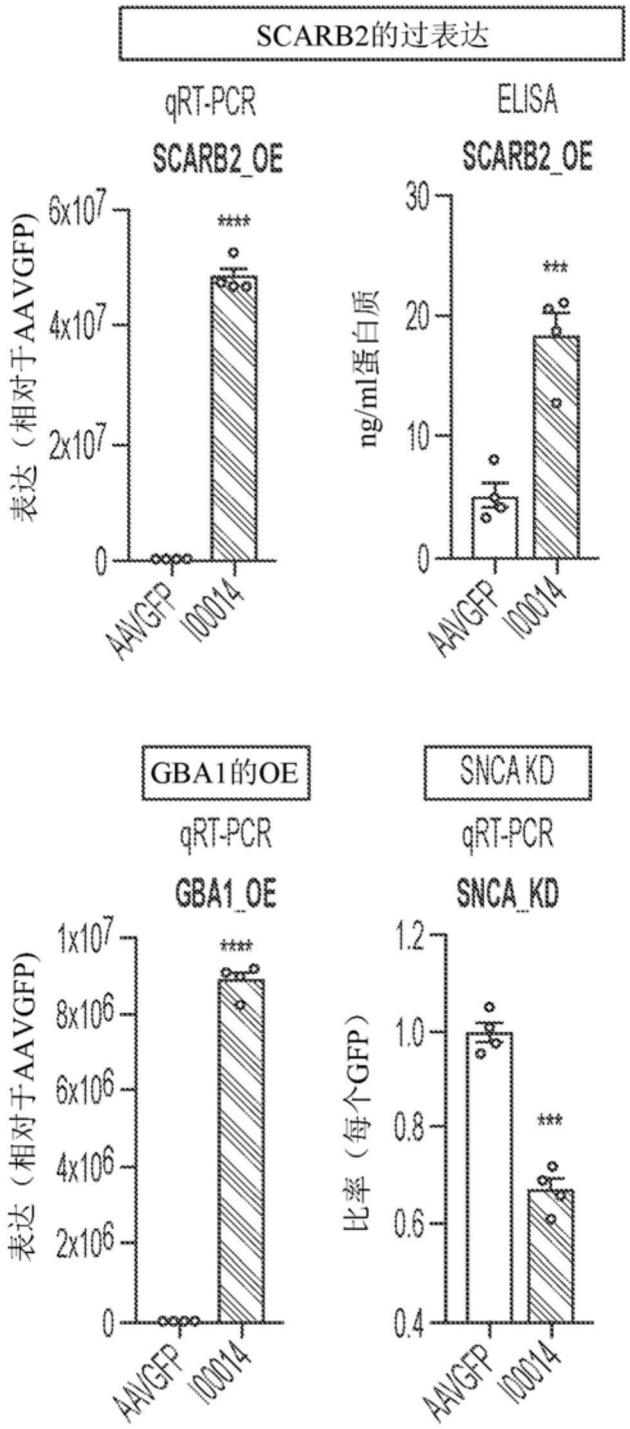

SCARB2的过表达
qRT-PCR
SCARB2_OE
表达（相对于AAVGFP）
6x10^7
4x10^7
2x10^7
0
****
AAVGFP
I00014
ELISA
SCARB2_OE
ng/ml蛋白质
30
20
10
0
***
AAVGFP
I00014
GBA1的OE
qRT-PCR
GBA1_OE
表达（相对于AAVGFP）
1x10^7
8x10^6
6x10^6
4x10^6
2x10^6
0
****
AAVGFP
I00014
SNCA KD
qRT-PCR
SNCA_KD
比率（每个GFP）
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
***
AAVGFP
I00014

图18续

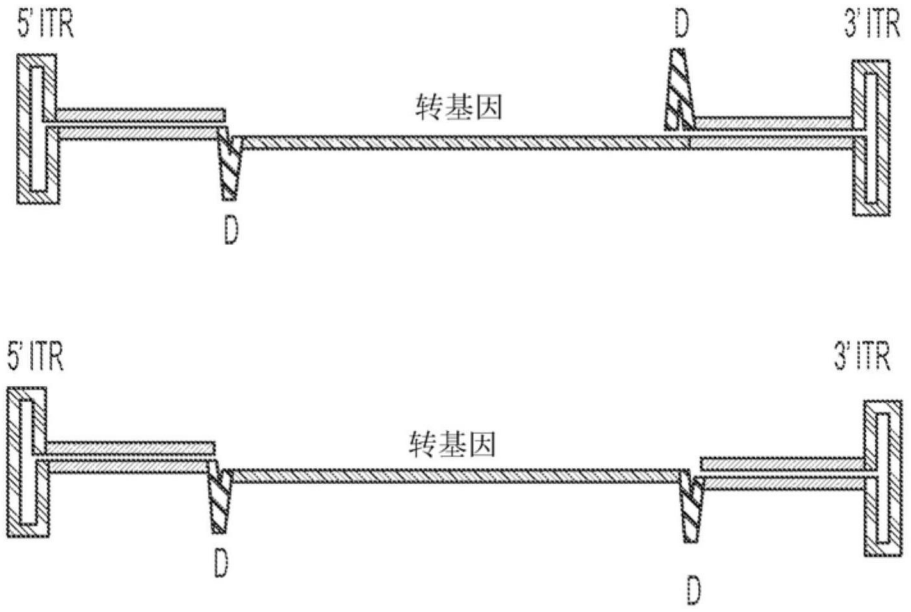

5'ITR
D
3'ITR
转基因
D
5'ITR
3'ITR
转基因
D
D

图19

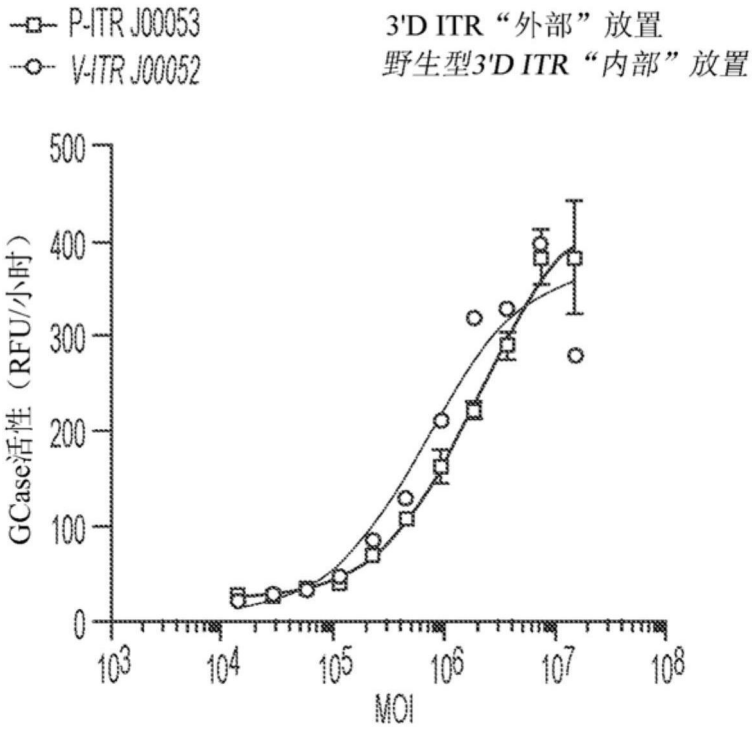

P-ITR J00053
V-ITR J00052
3'D ITR“外部”放置
野生型3'D ITR“内部”放置
GCase活性（RFU/小时）
500
400
300
200
100
0
10^3
10^4
10^5
10^6
10^7
10^8
MOI

图20

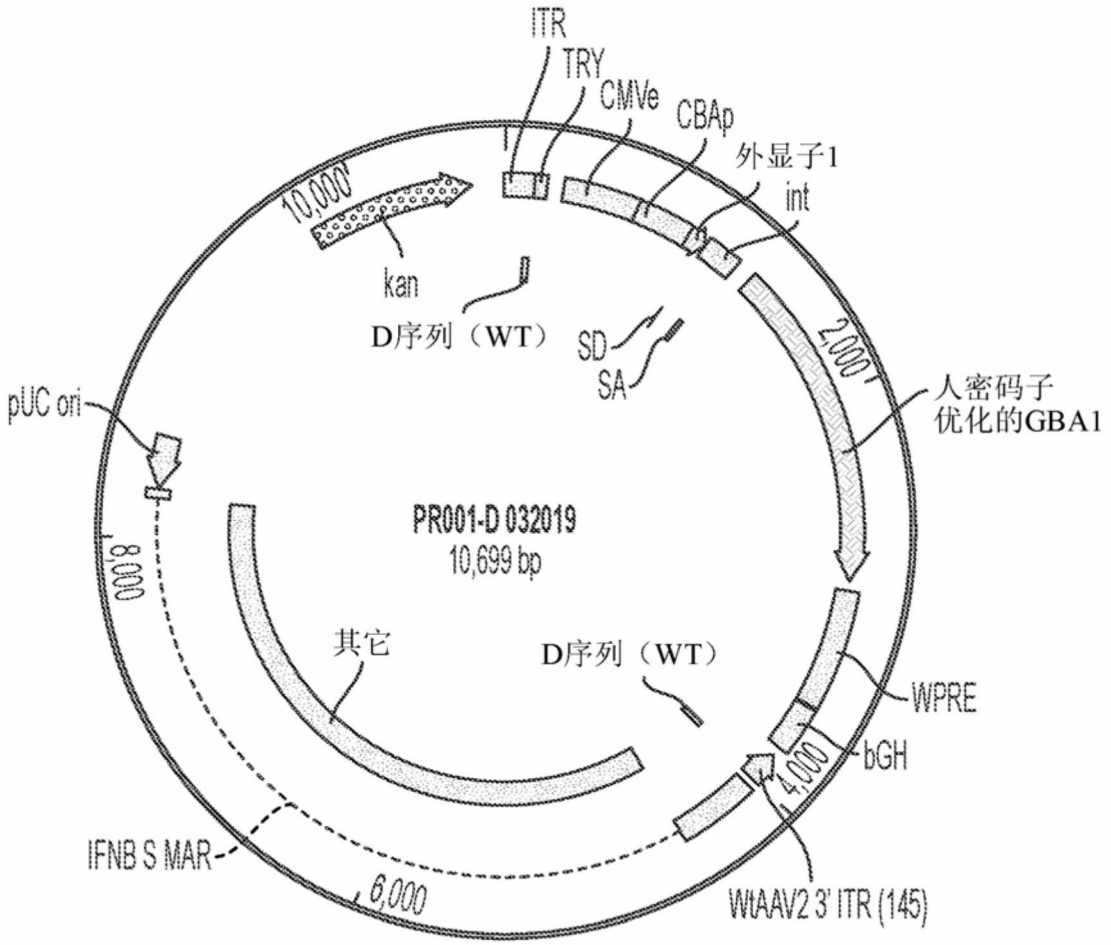

ITR
TRY
CMVe
CBAp
外显子1
int
10,000
kan
D序列（WT）
SD
SA
2,000
人密码子
优化的GBA1
pUC ori
PR001-D 032019
10,699 bp
8,000
其它
D序列（WT）
WPRE
bGH
4,000
IFNB S MAR
6,000
WtAAV2 3' ITR (145)

图21

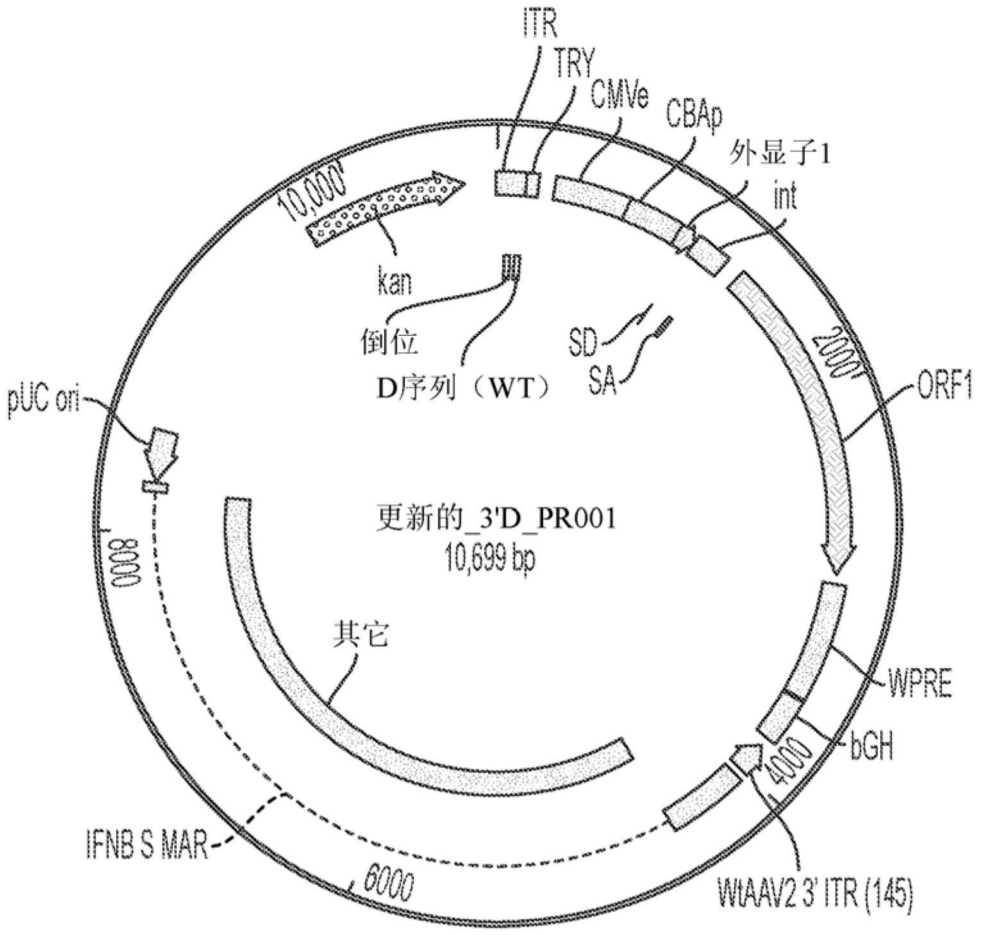

ITR
TRY
CMVe
CBAp
外显子1
int
10,000
kan
倒位
D序列（WT）
SD
SA
2000
ORF1
pUC ori
更新的_3'D_PR001
10,699 bp
8000
其它
WPRE
bGH
4000
IFNB S MAR
6000
WtAAV2 3' ITR (145)

图22

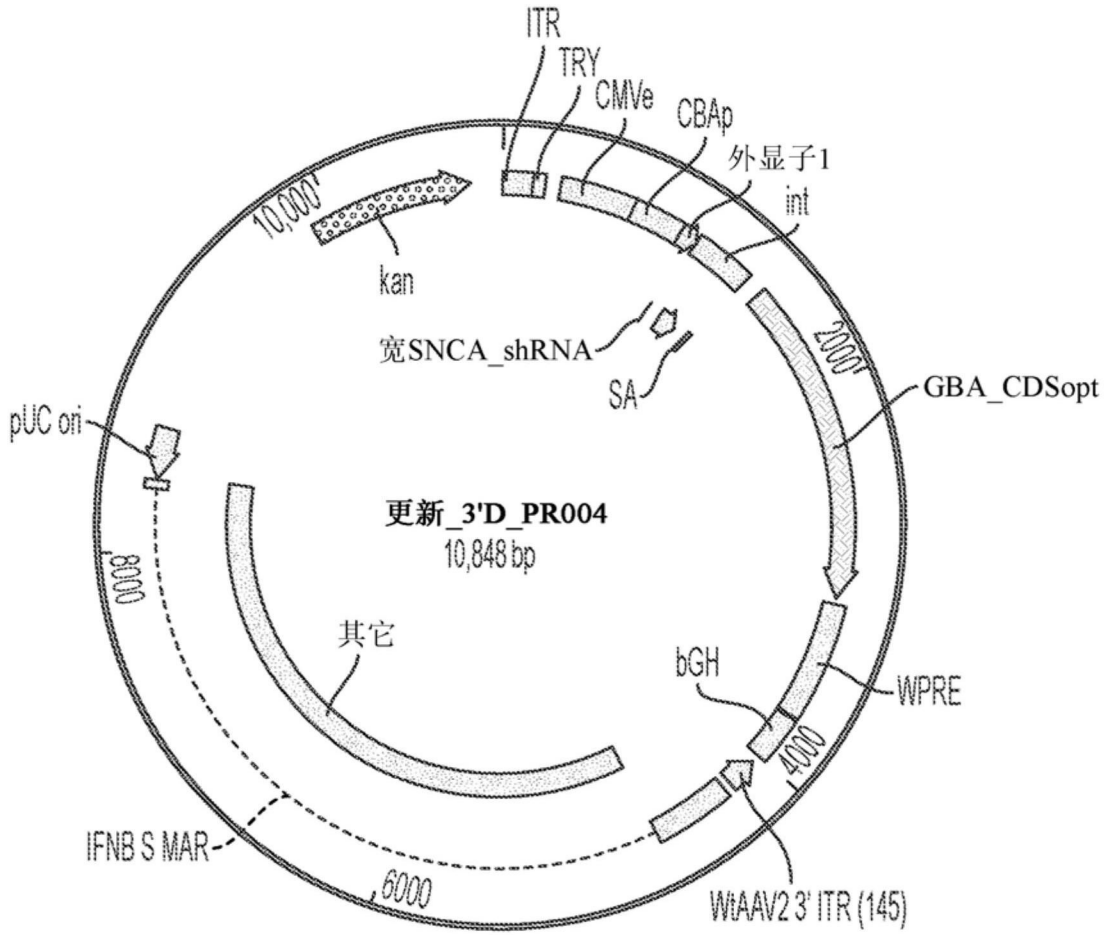

ITR
TRY
CMVe
CBAp
外显子1
int
10,000
kan
宽SNCA_shRNA
SA
2000
GBA_CDSopt
pUC ori
更新_3'D_PR004
10,848 bp
8000
其它
bGH
WPRE
4000
IFNB S MAR
6000
WtAAV2 3' ITR (145)

图23

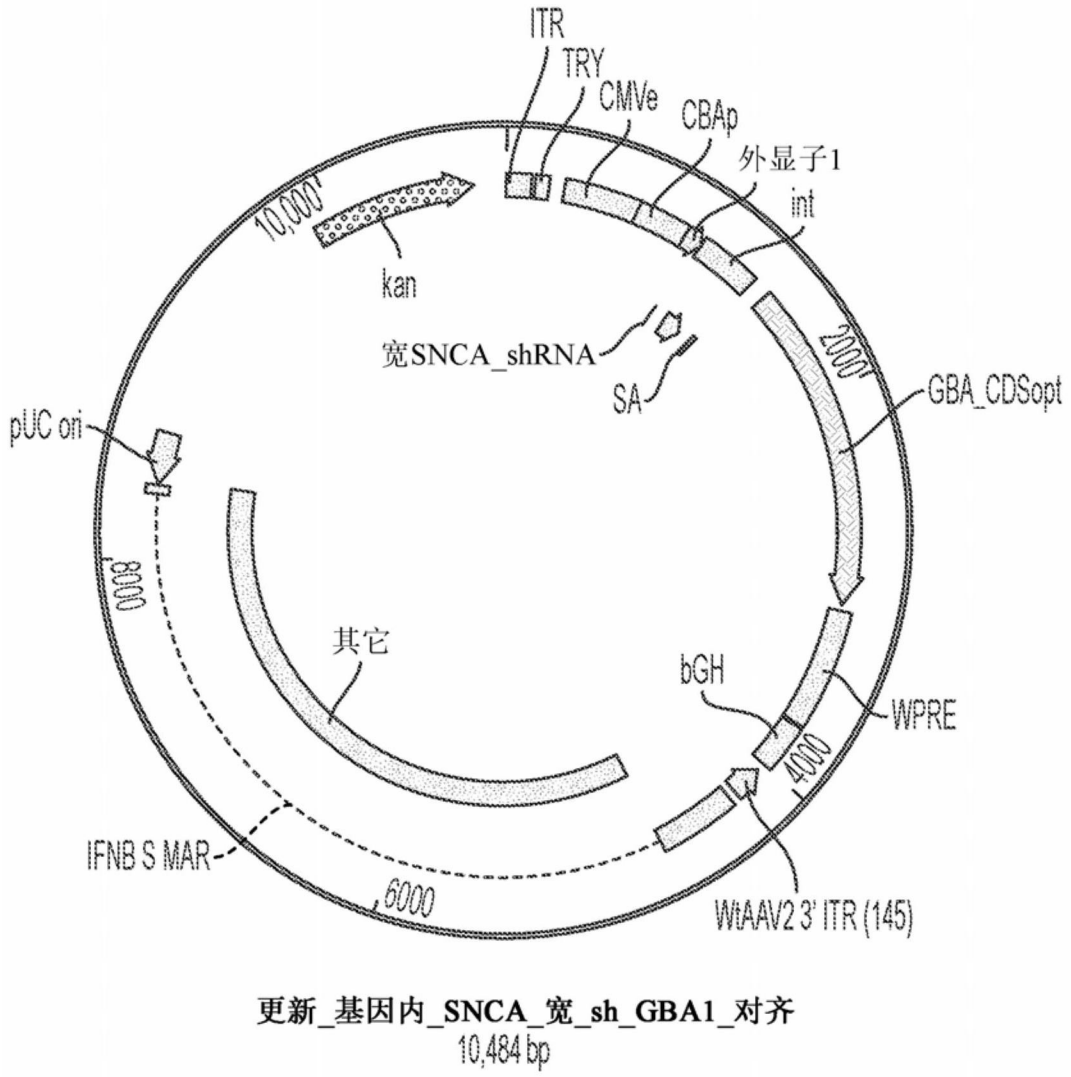

ITR
TRY
CMVe
CBAp
外显子1
int
10,000
kan
宽SNCA_shRNA
SA
2000
GBA_CDSopt
pUC ori
8000
其它
bGH
WPRE
4000
IFNB S MAR
6000
WtAAV2 3' ITR (145)
更新_基因内_SNCA_宽_sh_GBA1_对齐
10,484 bp

图24

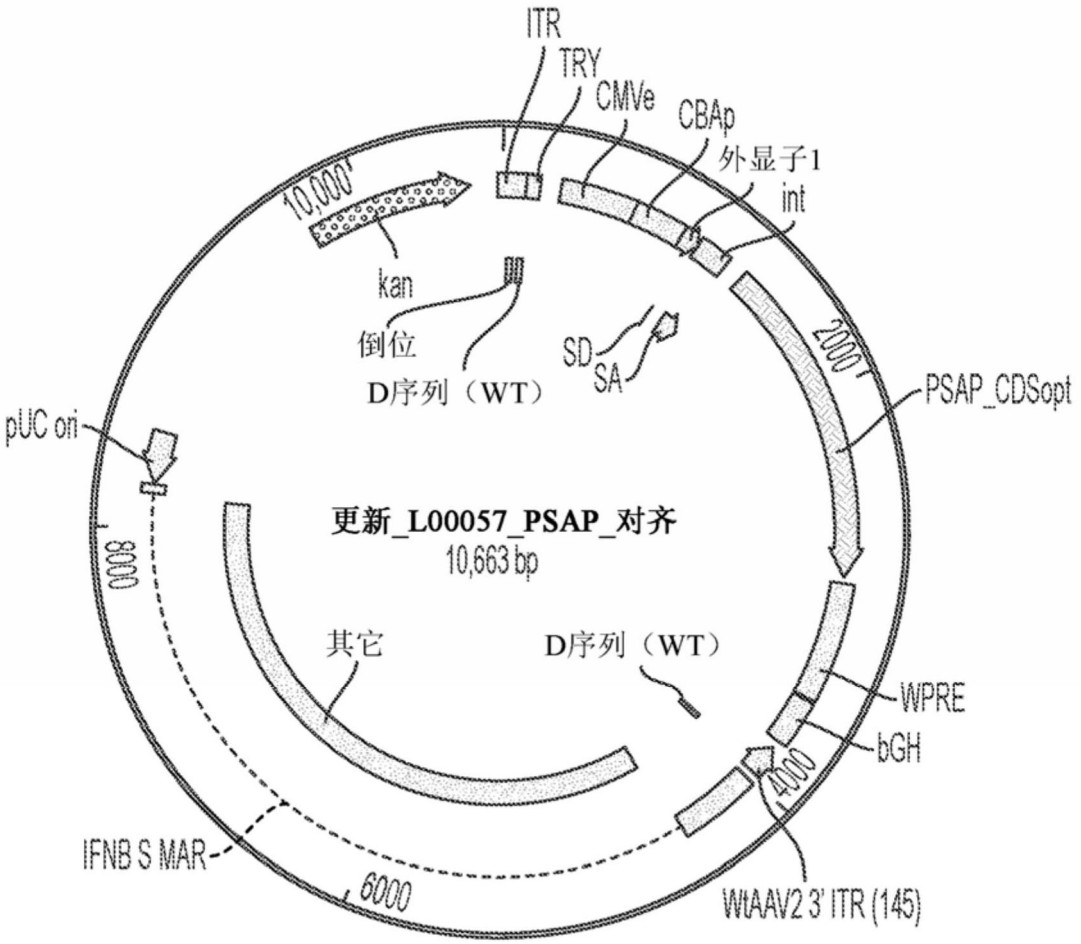

ITR
TRY
CMVe
CBAp
外显子1
int
10,000
kan
倒位
D序列（WT）
SD
SA
2000
PSAP_CDSopt
pUC ori
更新_L00057_PSAP_对齐
10,663 bp
8000
其它
D序列（WT）
WPRE
bGH
4000
IFNB S MAR
6000
WtAAV2 3' ITR (145)

图25

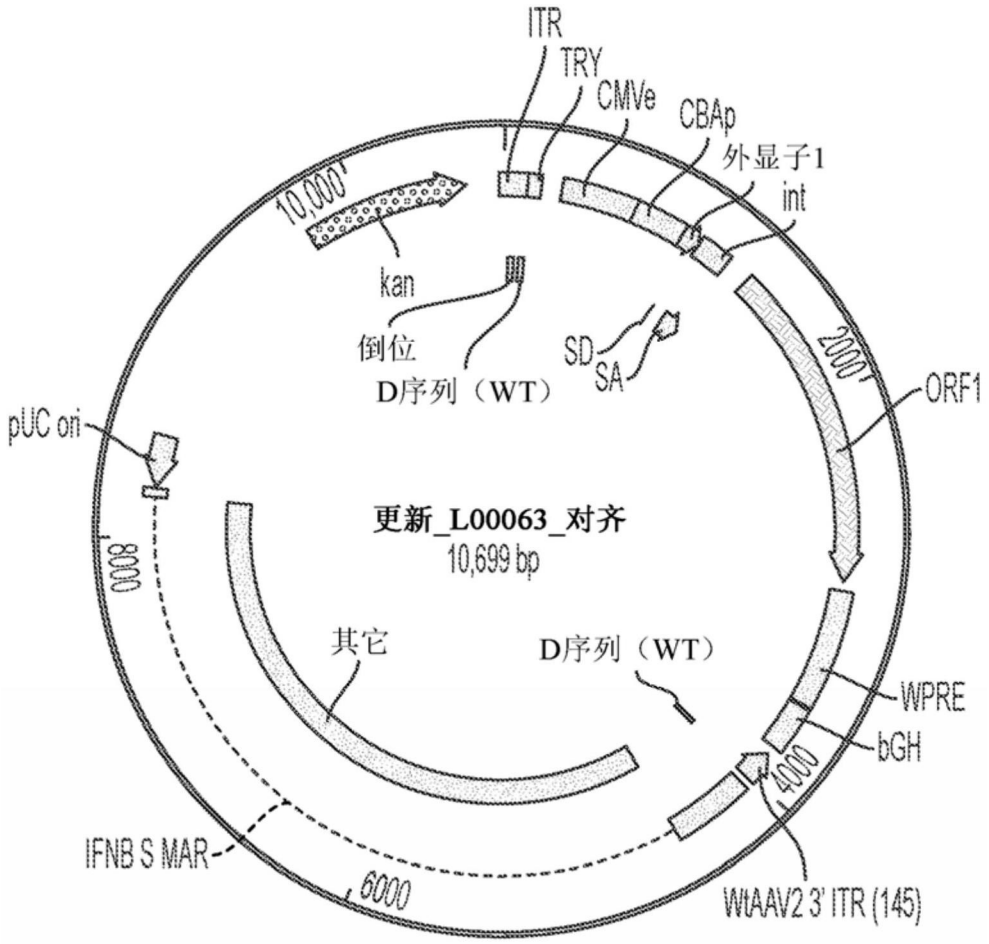

ITR
TRY
CMVe
CBAp
外显子1
int
10,000
kan
倒位
D序列（WT）
SD
SA
2000
ORF1
pUC ori
更新_L00063_对齐
10,699 bp
8000
其它
D序列（WT）
WPRE
bGH
4000
IFNB S MAR
6000
WtAAV2 3' ITR (145)

图26

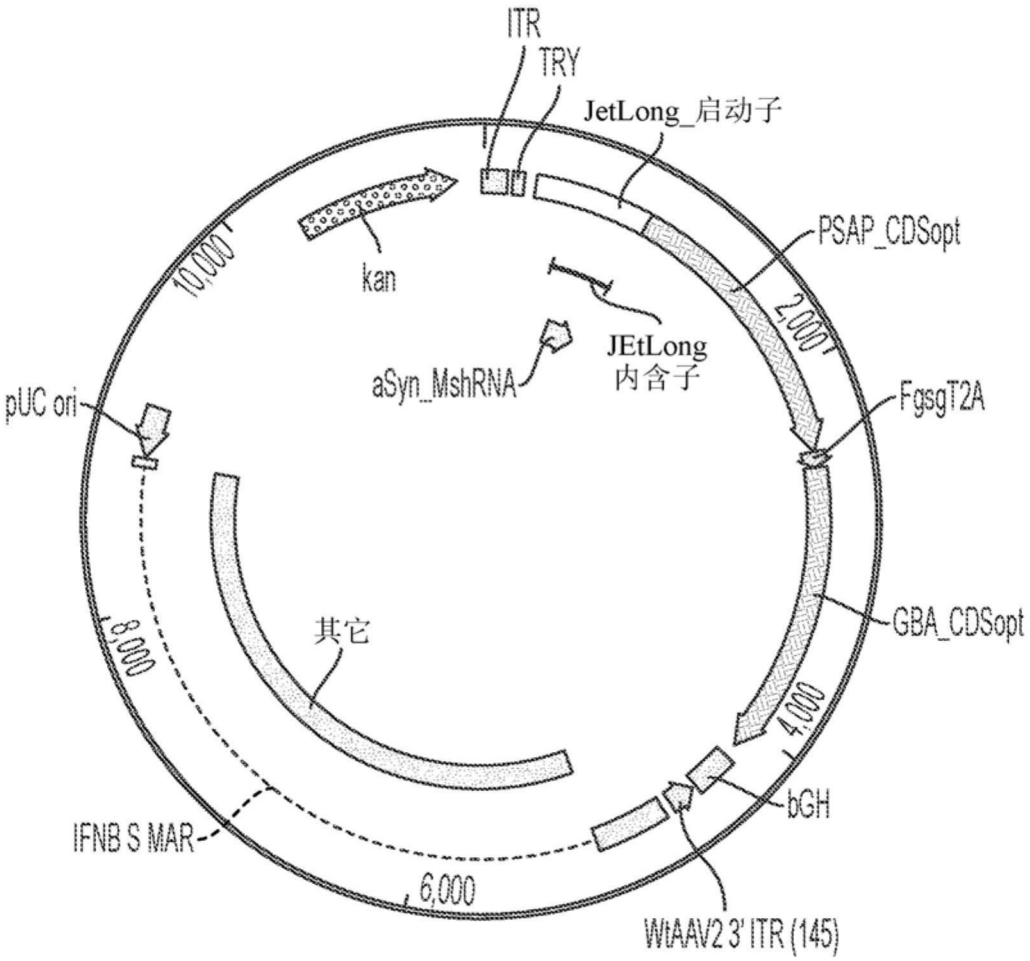

ITR
TRY
JetLong_启动子
PSAP_CDSopt
2,000
FgsgT2A
GBA_CDSopt
4,000
bGH
WtAAV2 3' ITR (145)
6,000
IFNB S MAR
8,000
pUC ori
10,000
kan
aSyn_MshRNA
JEtLong
内含子
其它
更新_普瑞威尔载体_LT2s_JetLong_mRNAiaSYn_
PSAP-FgsgT2A-GBA1_bGH_4374nt_对齐
11,292 bp

图27

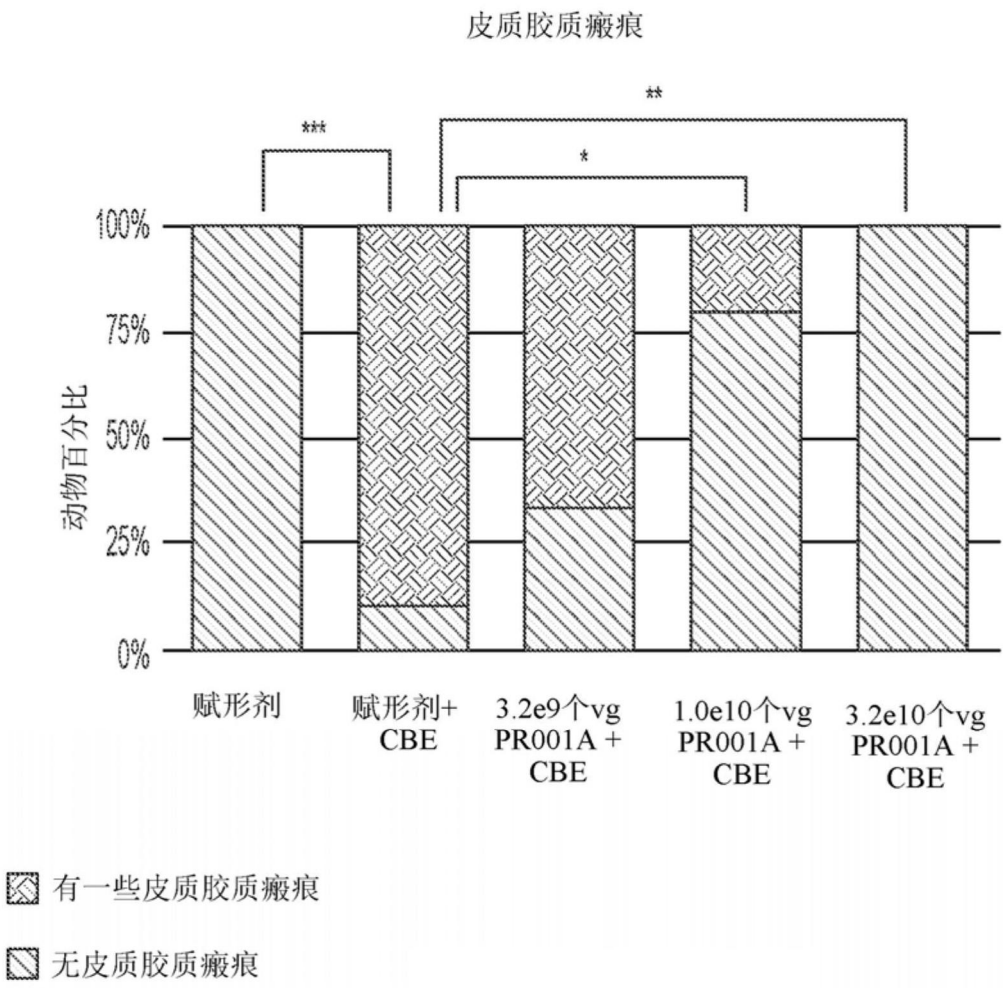

皮质胶质瘢痕
***
**
*
100%
75%
50%
25%
0%
动物百分比
赋形剂
赋形剂+ CBE
3.2e9个vg PR001A + CBE
1.0e10个vg PR001A + CBE
3.2e10个vg PR001A + CBE
有一些皮质胶质瘢痕
无皮质胶质瘢痕

图28

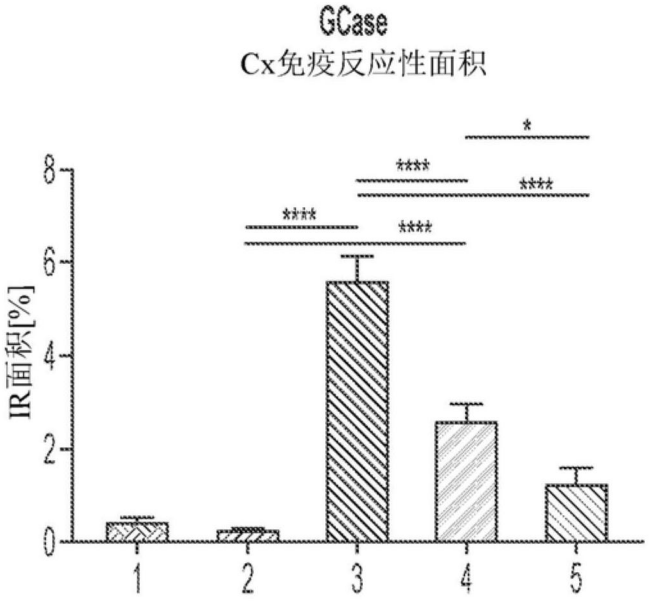


图29A

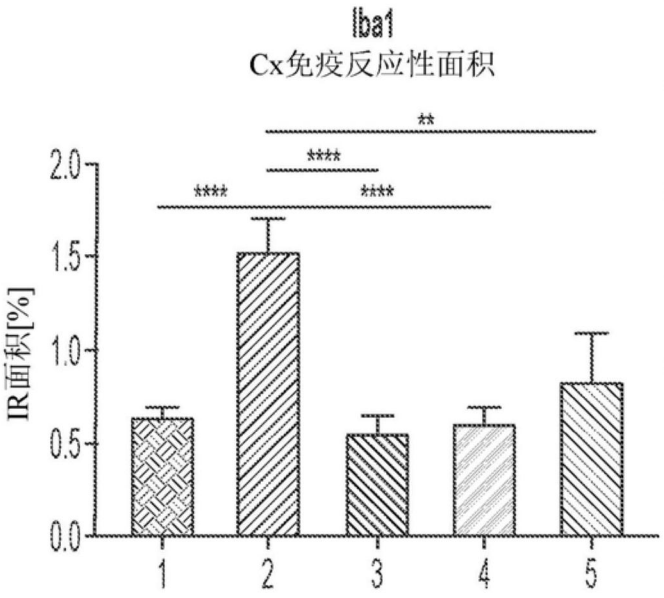


图29B

ICV：媒剂
IP：媒剂（PBS）

ICV：媒剂
IP：牛弥菜醇β环氧化物

ICV：4 μl未稀释的病毒
IP：牛弥菜醇β环氧化物

ICV：1.3 μl病毒+ +2.7 μl媒剂
IP：牛弥菜醇β环氧化物

ICV：0.4 μl病毒+ 3.6 μl媒剂
IP：牛弥菜醇β环氧化物

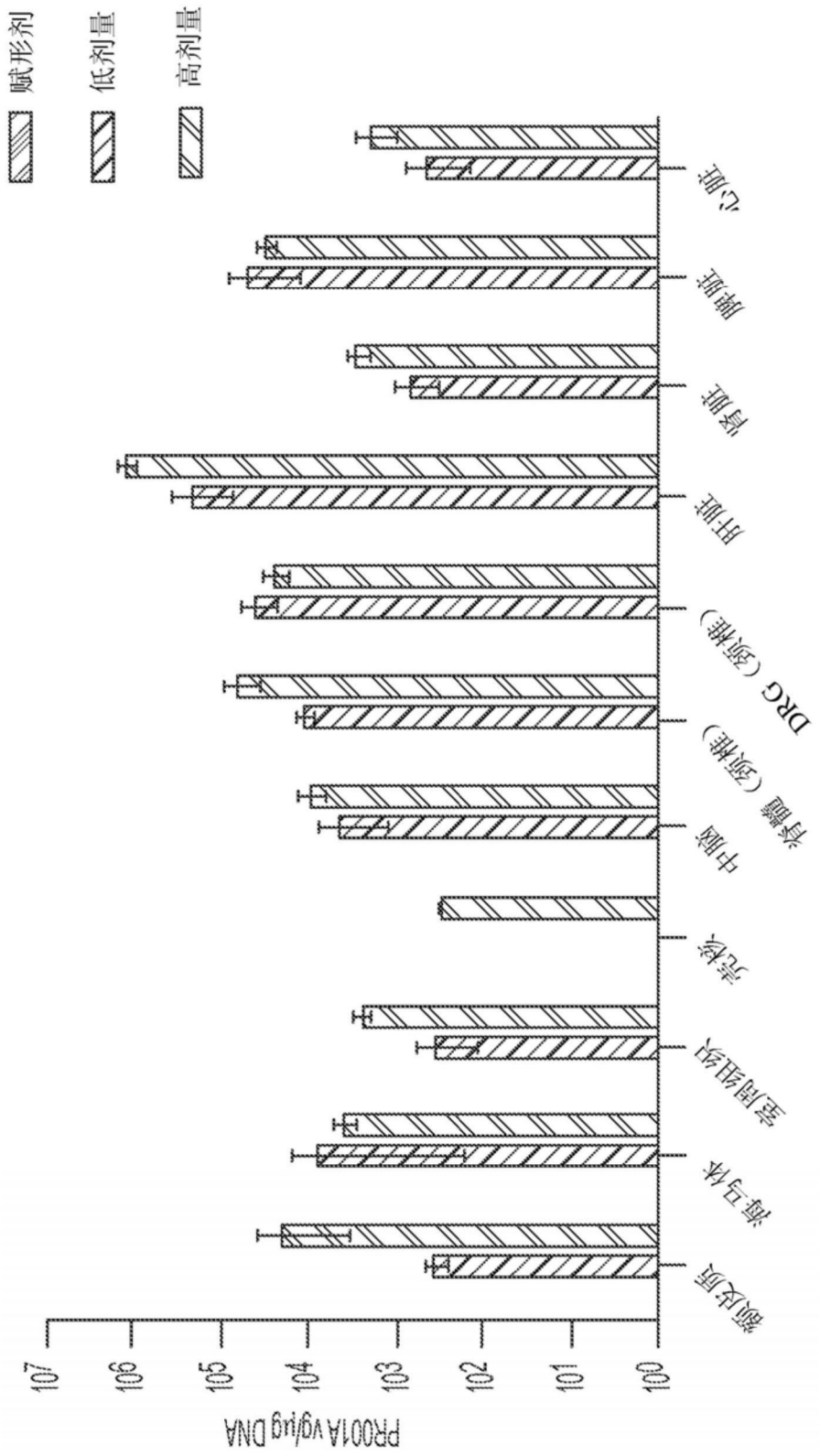

赋形剂
低剂量
高剂量
心脏
肺脏
脊髓
肝脏
DRG（颈椎）
脊髓（颈椎）
中脑
壳核
垂体后叶
海马体
额皮质
107
106
105
104
103
102
101
100
PR001A vg/μg DNA

图30

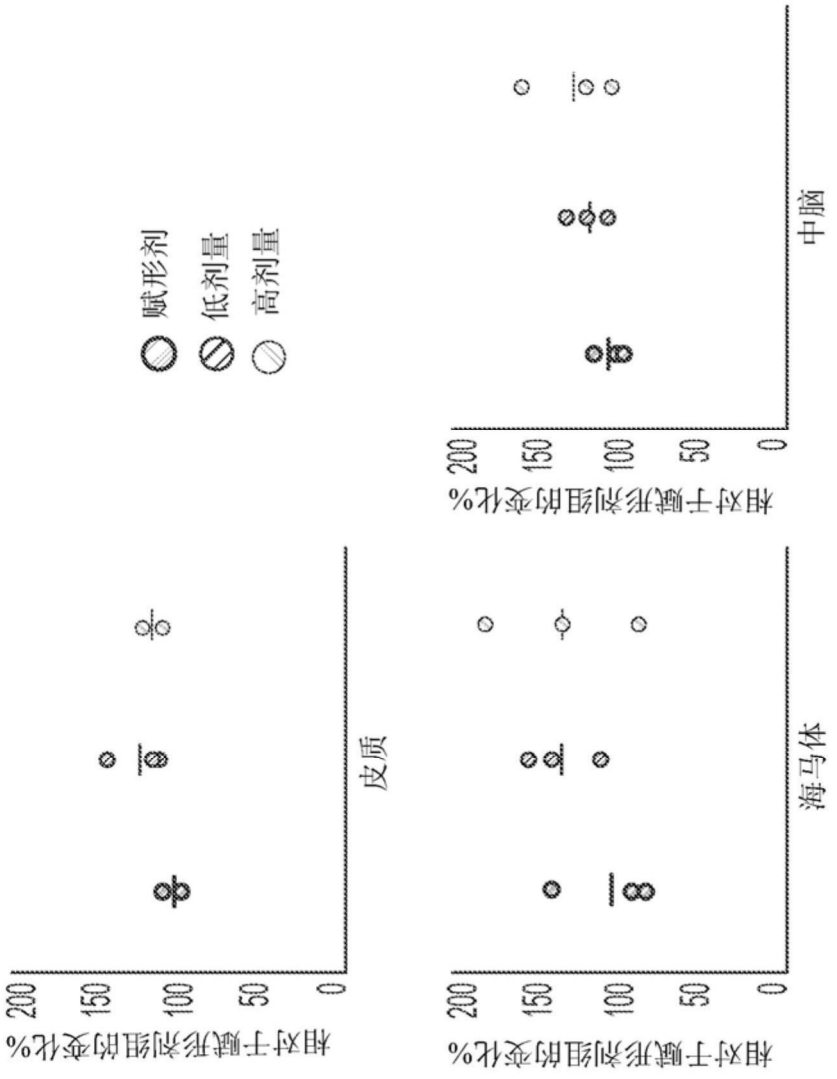

赋形剂
低剂量
高剂量
中脑
海马体
皮质
相对于赋形剂组的变化%
0
50
100
150
200

图31A

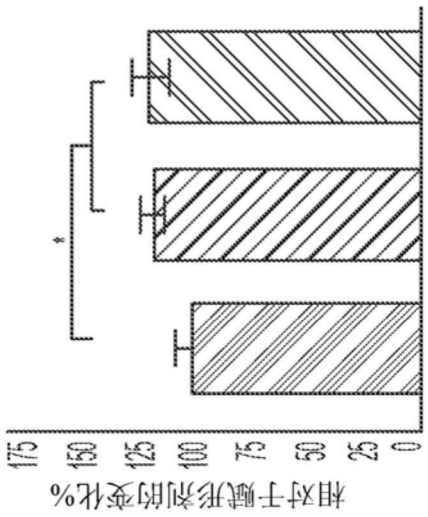

相对于赋形剂的变化%
0
25
50
75
100
125
150
175

图31B

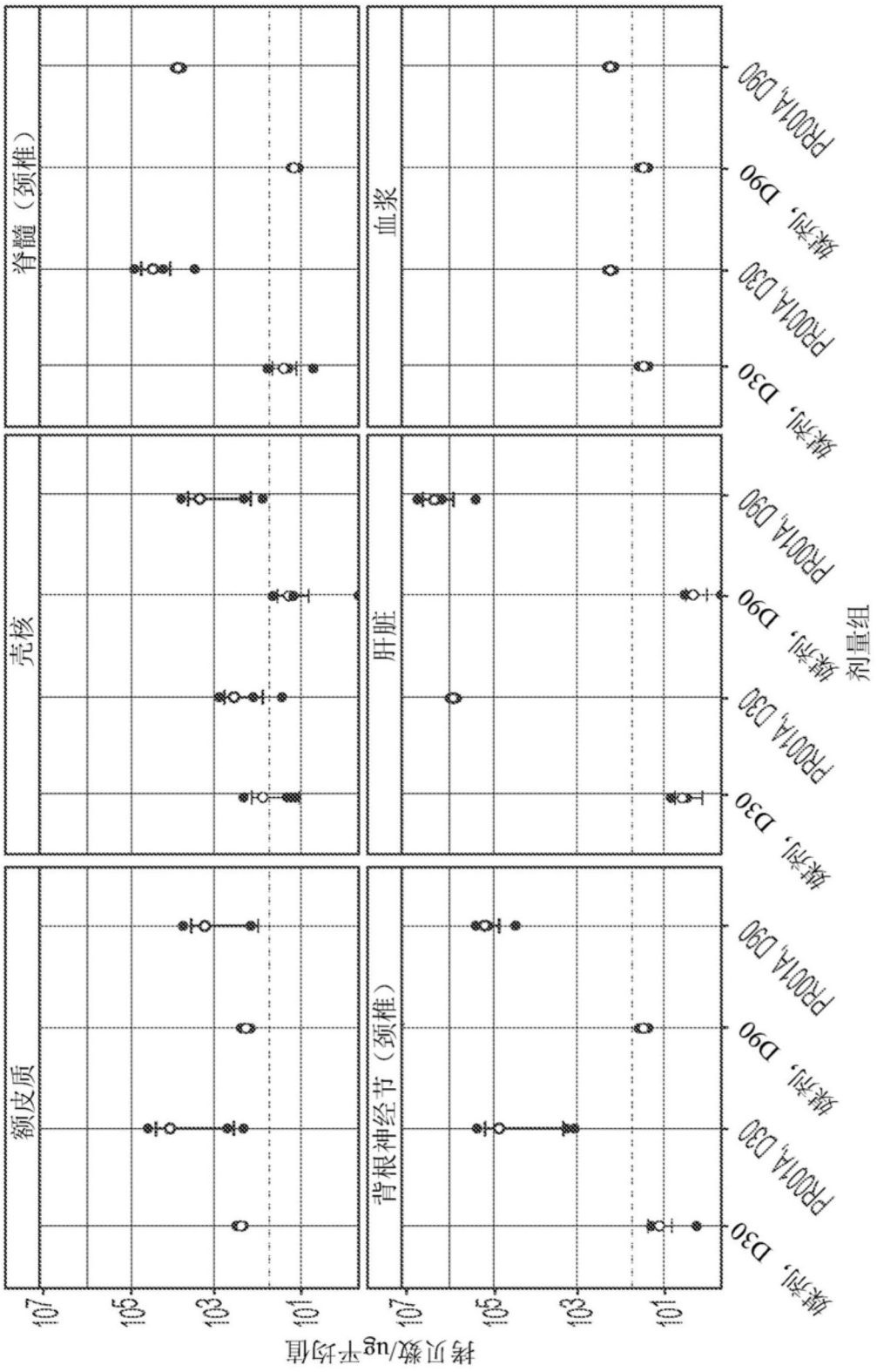

额皮质
壳核
脊髓（颈椎）
背根神经节（颈椎）
肝脏
血浆
拷贝数/ng平均值
107
105
103
101
媒剂, D30
PR0014, D30
媒剂, D90
PR0014, D90
剂量组

图32

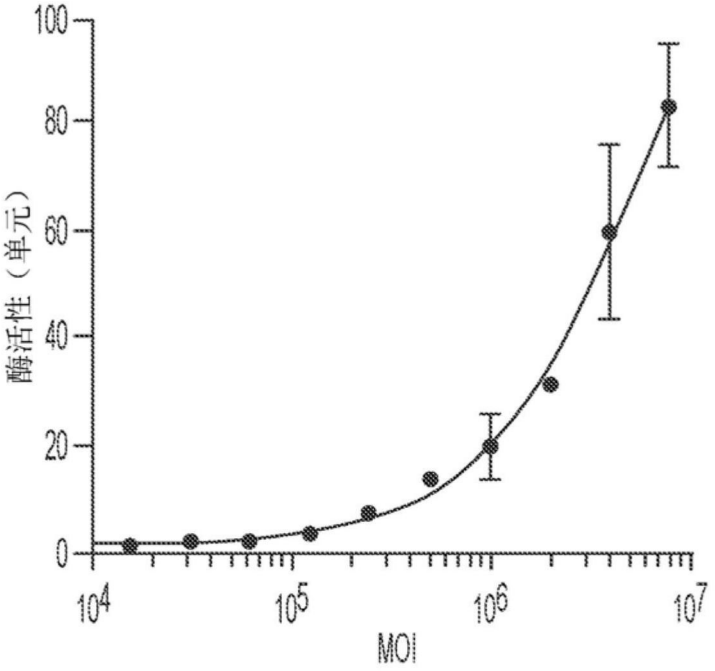

酶活性（单元）
100
80
60
40
20
0
10^4
10^5
10^6
10^7
MOI

图33

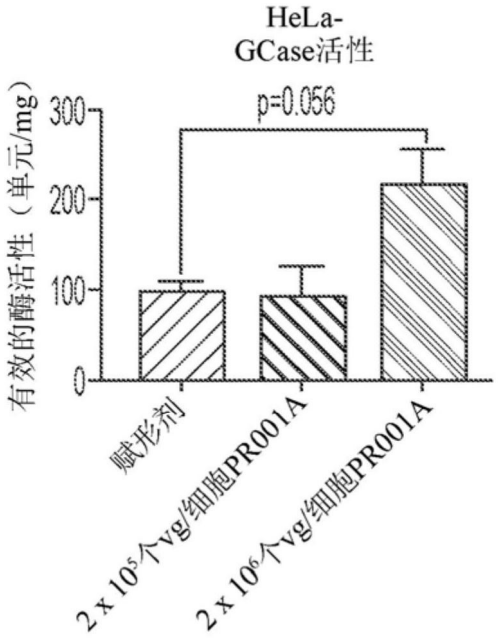

HeLa-
GCase活性
p=0.056
有效的酶活性（单元/mg）
300
200
100
0
赋形剂
2 x 10^5个vg/细胞PR001A
2 x 10^6个vg/细胞PR001A

图34A

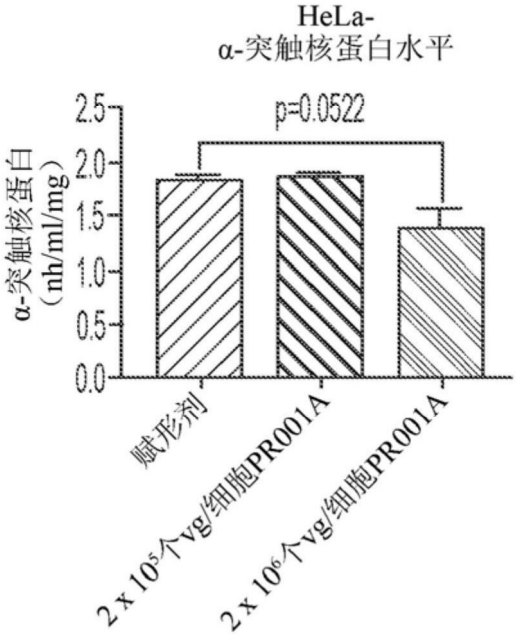

HeLa-
α-突触核蛋白水平
α-突触核蛋白
(nh/ml/mg)
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
p=0.0522
赋形剂
2 x 10⁵个vg/细胞PR001A
2 x 10⁶个vg/细胞PR001A

图34B

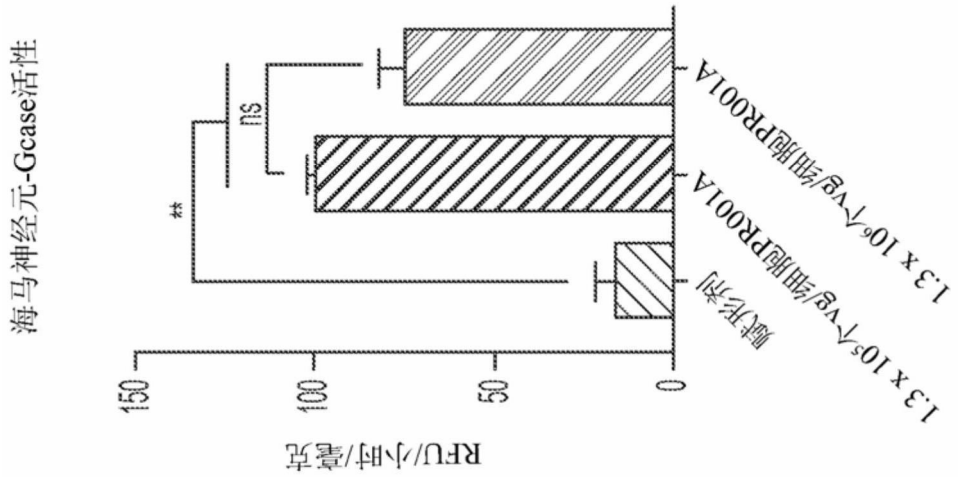

海马神经元-Gcase活性
RFU/小时/毫克
150
100
50
0
ns
**
赋形剂
1.3 x 10⁵个vg/细胞PR001A
1.3 x 10⁶个vg/细胞PR001A

图35A

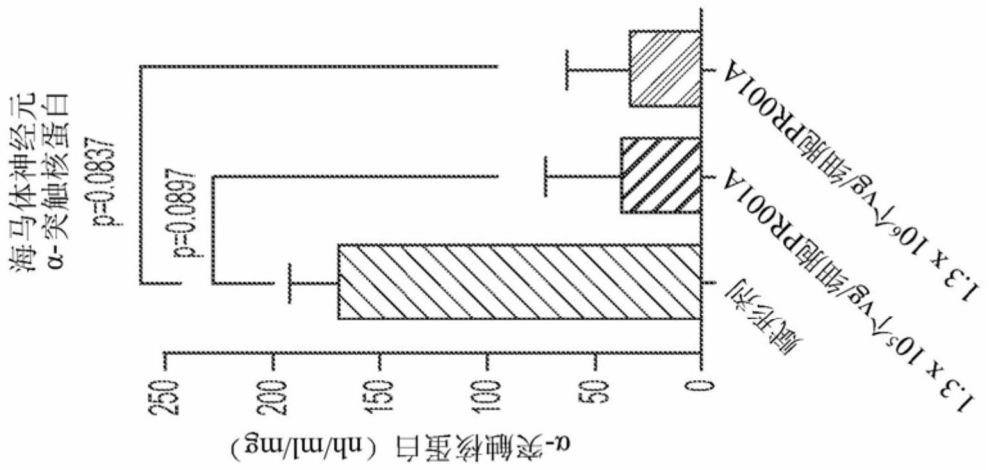

海马体神经元
α-突触核蛋白
p=0.0837
p=0.0897
250
200
150
100
50
0
α-突触核蛋白（nh/ml/mg）
赋形剂
1.3 x 10⁵个Vg/细胞PR001A
1.3 x 10⁶个Vg/细胞PR001A

图35B

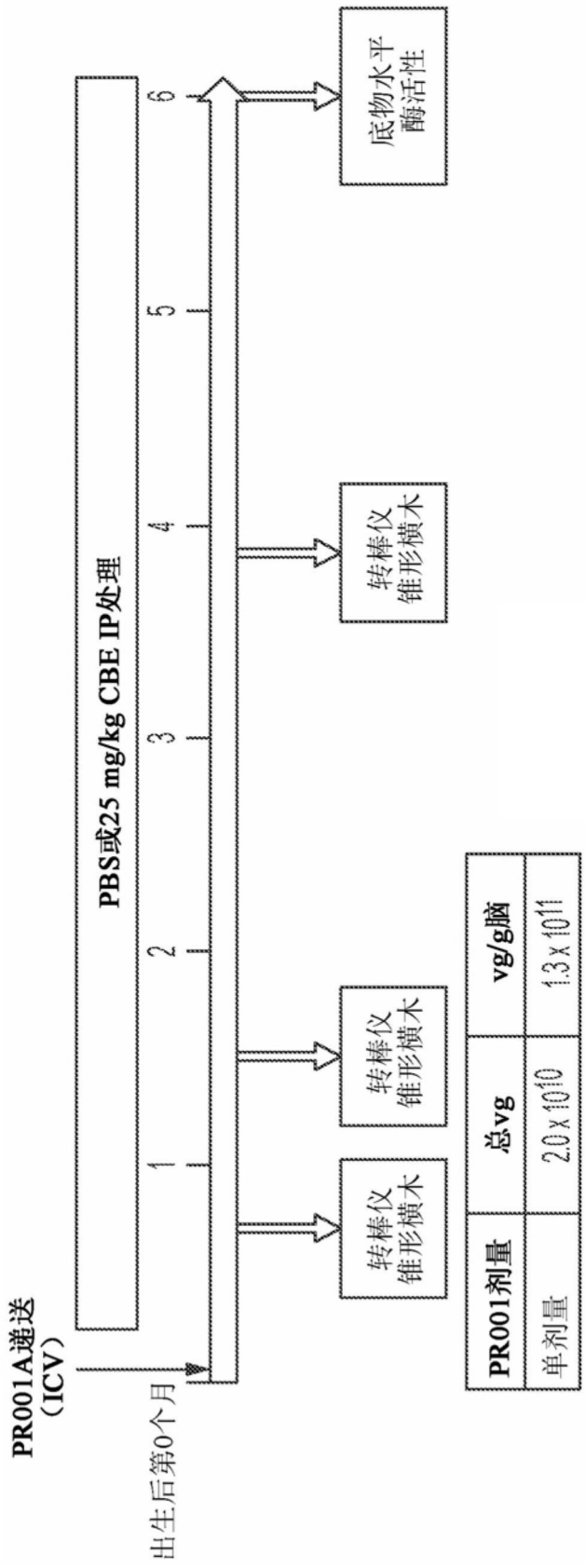

PR001A递送
(ICV)
出生后第0个月
PBS或25 mg/kg CBE IP处理
1
2
3
4
5
6
转棒仪
锥形横木
转棒仪
锥形横木
转棒仪
锥形横木
底物水平
酶活性
PR001剂量
总vg
vg/g脑
单剂量
2.0 x 1010
1.3 x 1011

图36

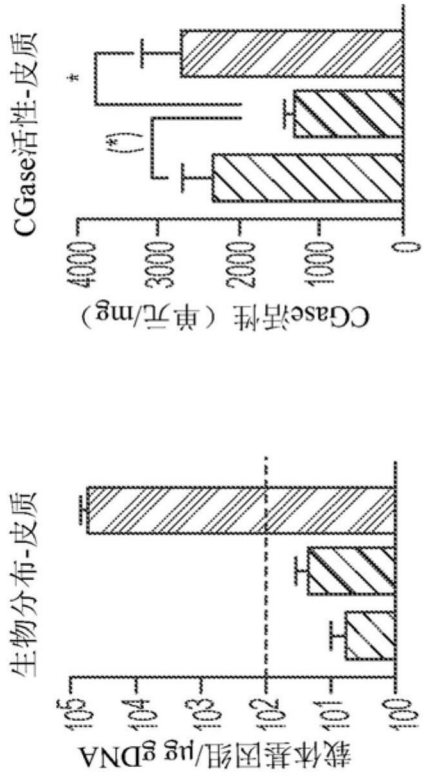


图37A

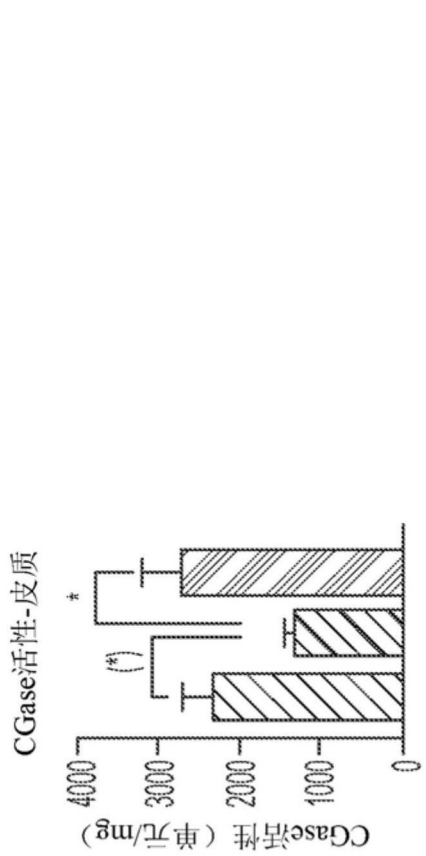


图37B

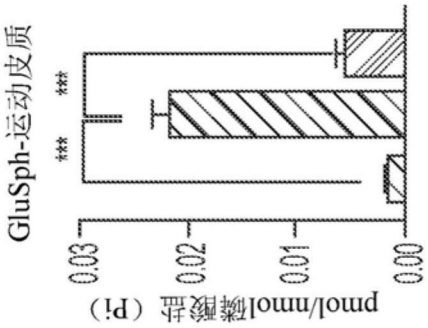


图37C

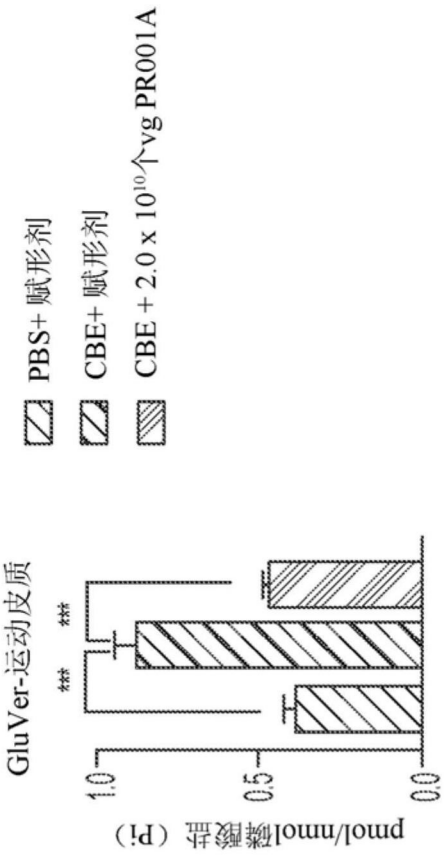


图37D

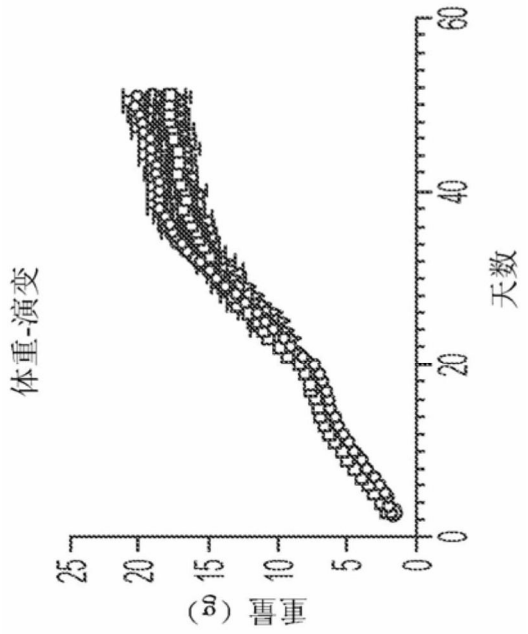


图38A

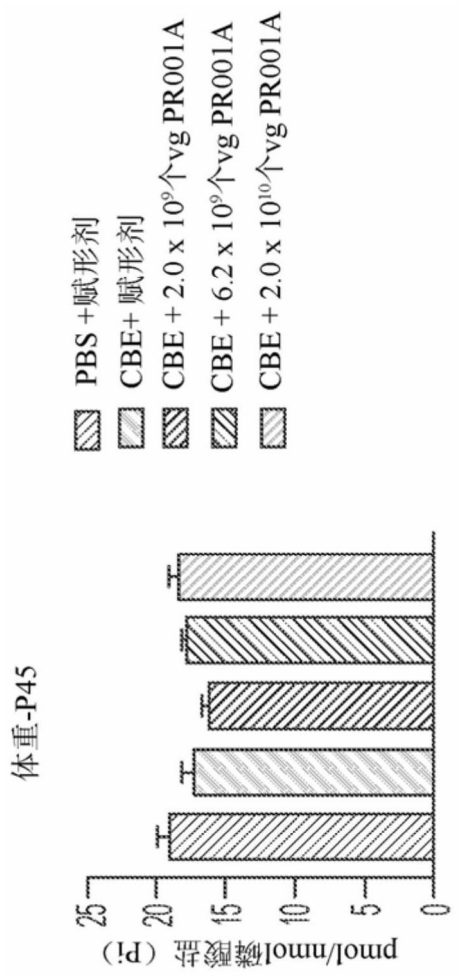

PBS +赋形剂
CBE+ 赋形剂
CBE + 2.0 x 10⁹个vg PR001A
CBE + 6.2 x 10⁹个vg PR001A
CBE + 2.0 x 10¹⁰个vg PR001A
体重-P45
pmol/nmol磷酸盐（Pi）
0
5
10
15
20
25

图38B

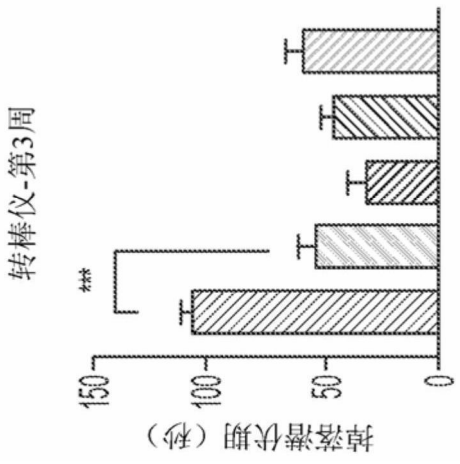

转棒仪-第3周
***
掉落潜伏期（秒）
0
50
100
150

图38C

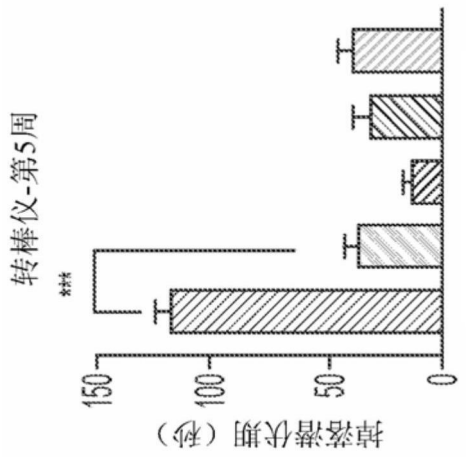


图38D

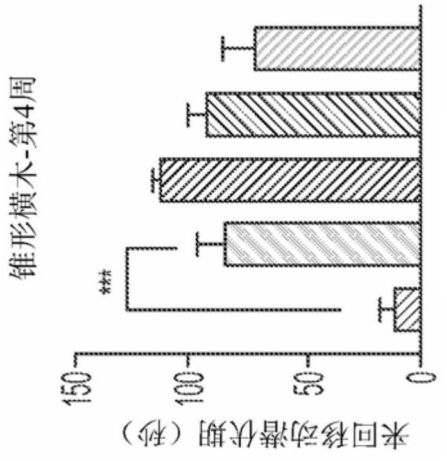


图38E

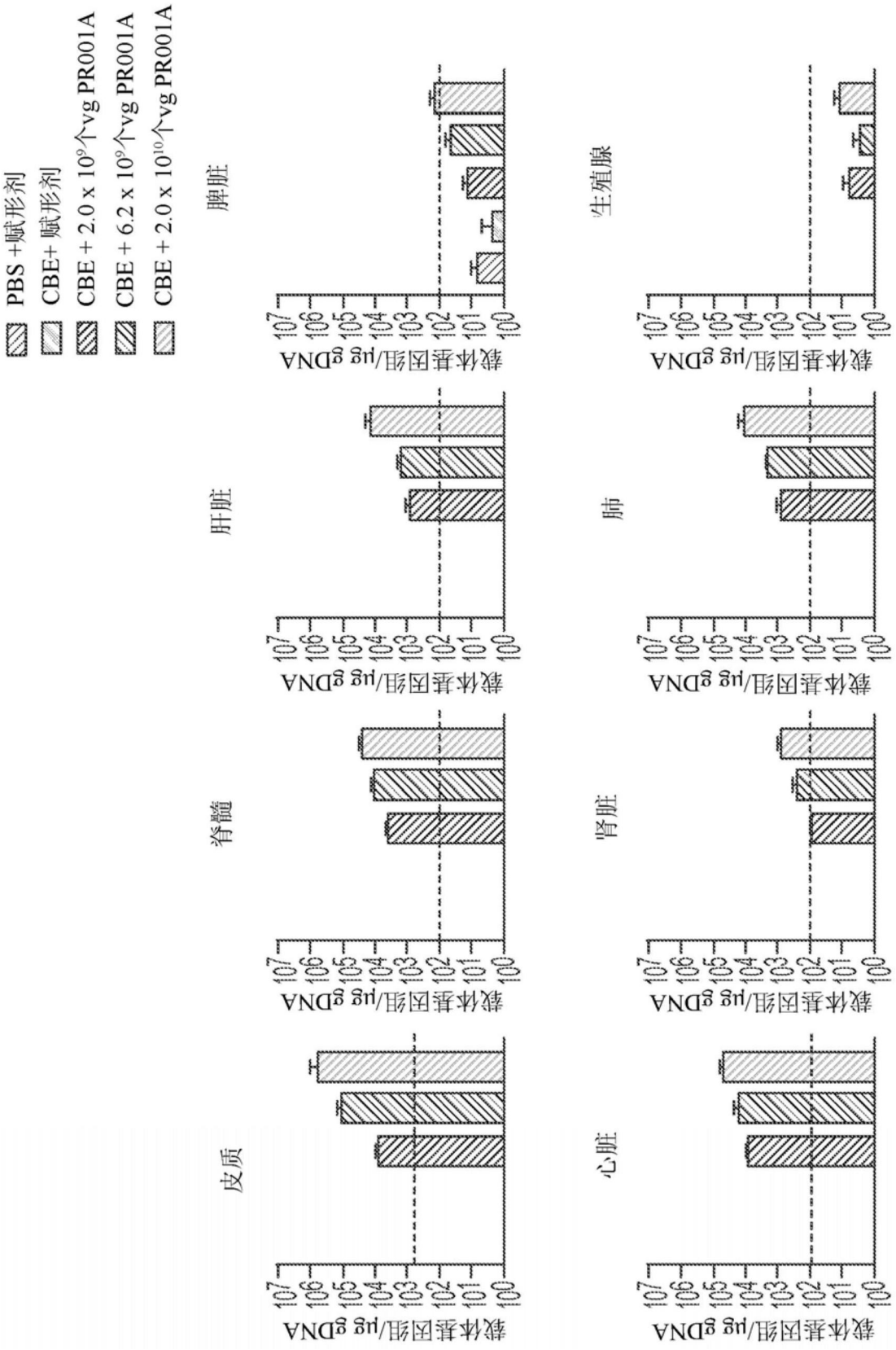

PBS +赋形剂
CBE+ 赋形剂
CBE + 2.0 x 10⁹个vg PR001A
CBE + 6.2 x 10⁹个vg PR001A
CBE + 2.0 x 10¹⁰个vg PR001A
脾脏
肝脏
脊髓
皮质
生殖腺
肺
肾脏
心脏
载体基因组/μg gDNA
107
106
105
104
103
102
101
100

图39

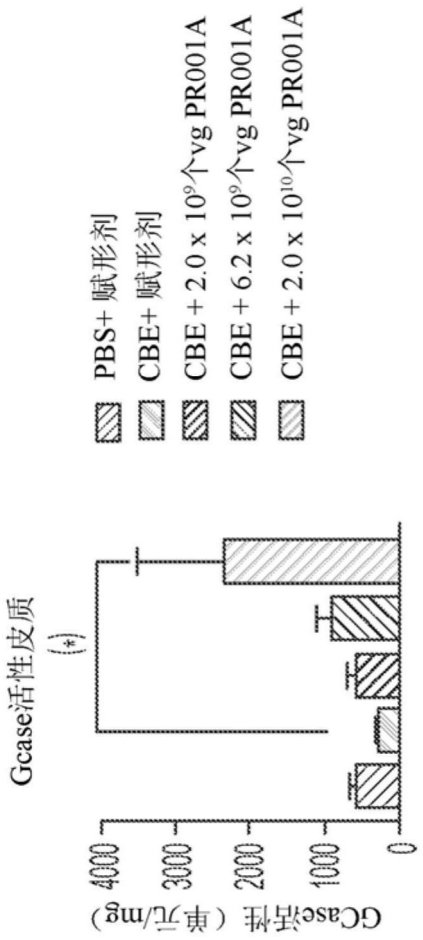

PBS+ 赋形剂
CBE+ 赋形剂
CBE + 2.0 x 10⁹个vg PR001A
CBE + 6.2 x 10⁹个vg PR001A
CBE + 2.0 x 10¹⁰个vg PR001A
Gcase活性皮质
(*)
GCase活性（单元/mg）
4000
3000
2000
1000
0

图40

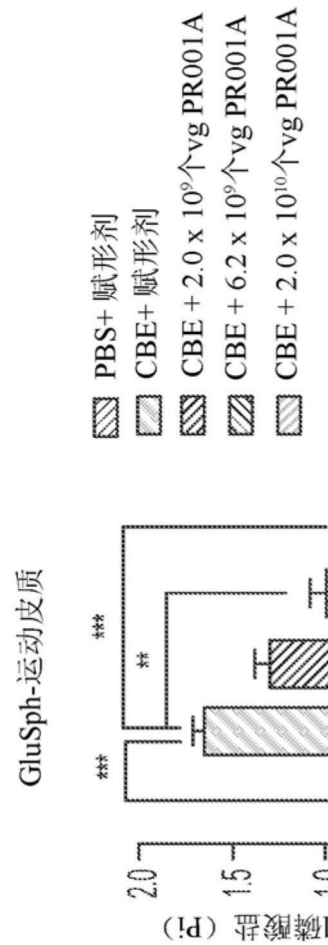

PBS+ 赋形剂
CBE+ 赋形剂
CBE + 2.0 x 10⁹个vg PR001A
CBE + 6.2 x 10⁹个vg PR001A
CBE + 2.0 x 10¹⁰个vg PR001A
GluSph-运动皮质
pmol/nmol磷酸盐（Pi）
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
***
**
***

图41B

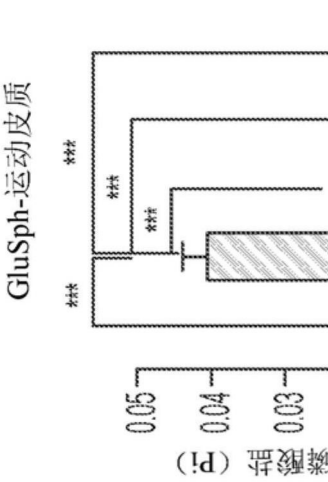

GluSph-运动皮质
pmol/nmol磷酸盐（Pi）
0.05
0.04
0.03
0.02
0.01
0.00
***
***
***
***

图41A

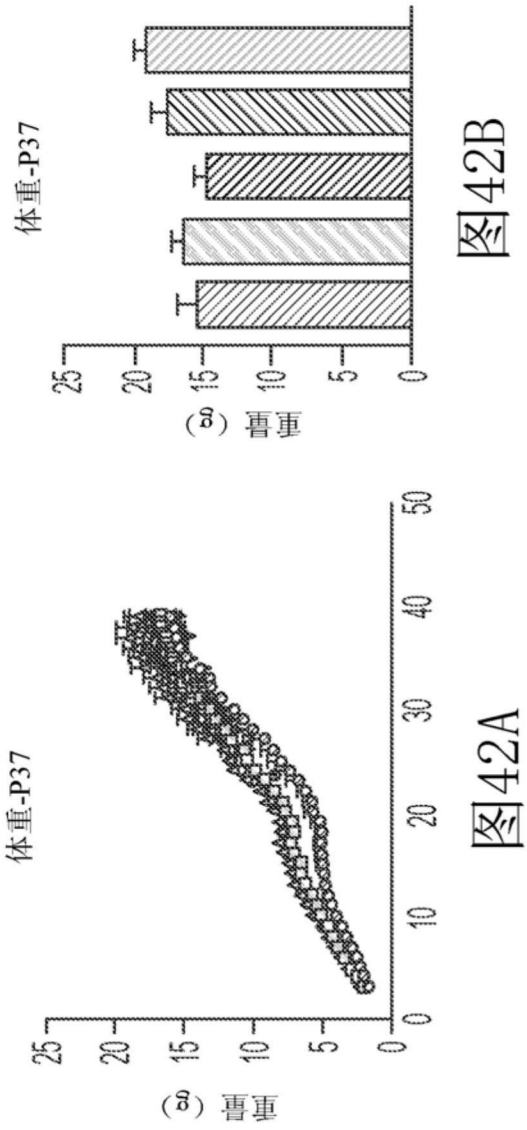


图42A

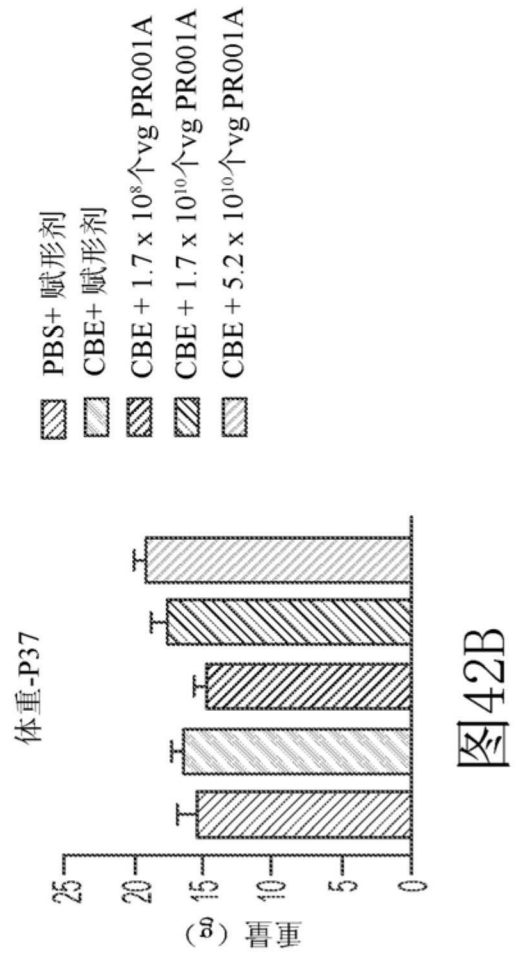


图42B

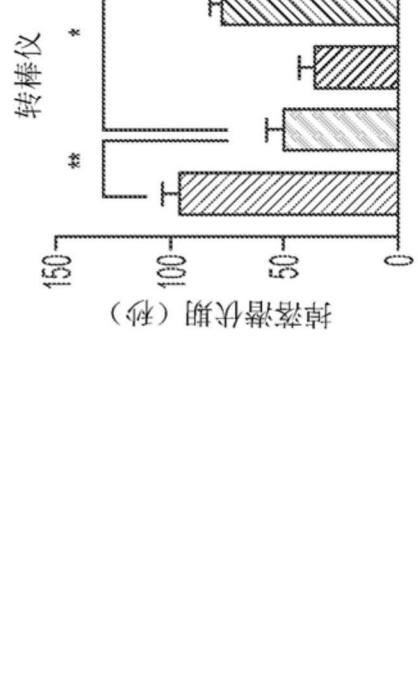


图42C

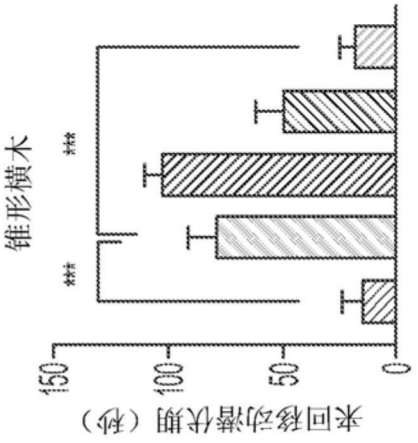


图42D

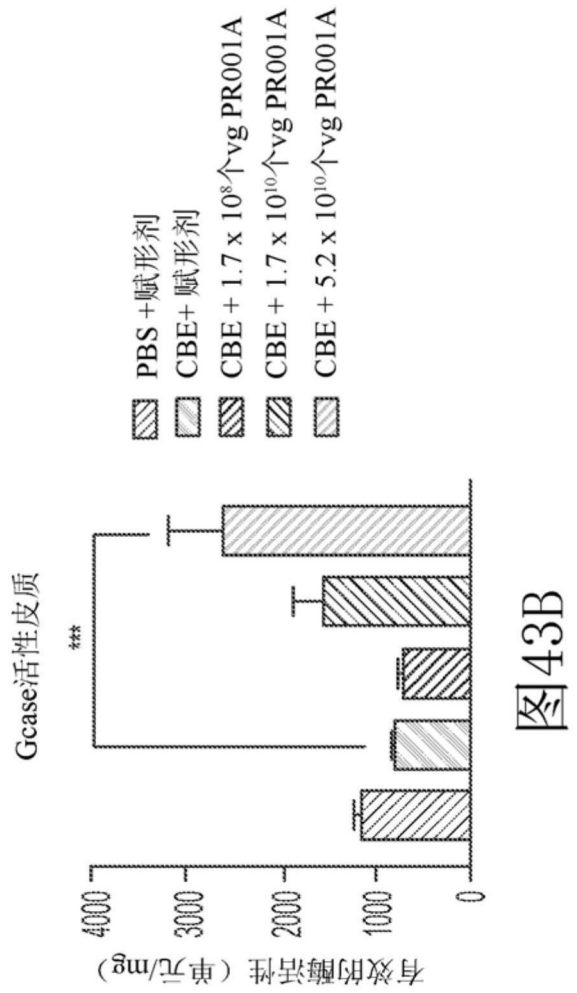

PBS +赋形剂
CBE+ 赋形剂
CBE + 1.7 x 10^8个vg PR001A
CBE + 1.7 x 10^10个vg PR001A
CBE + 5.2 x 10^10个vg PR001A
Gcase活性皮质
***
有效的酶活性（单元/mg）
4000
3000
2000
1000
0

图43B

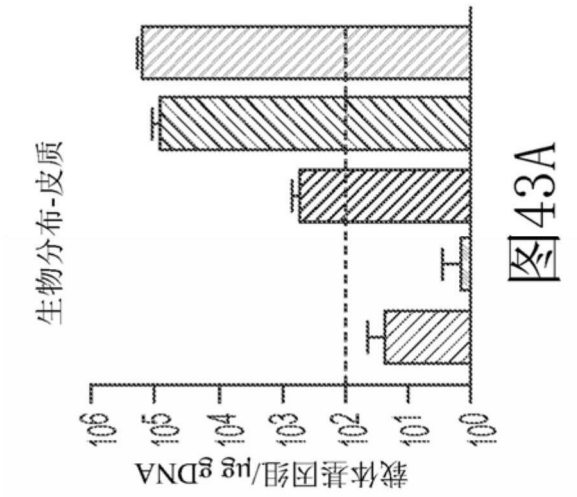

生物分布-皮质
载体基因组/μg gDNA
10^6
10^5
10^4
10^3
10^2
10^1
10^0

图43A

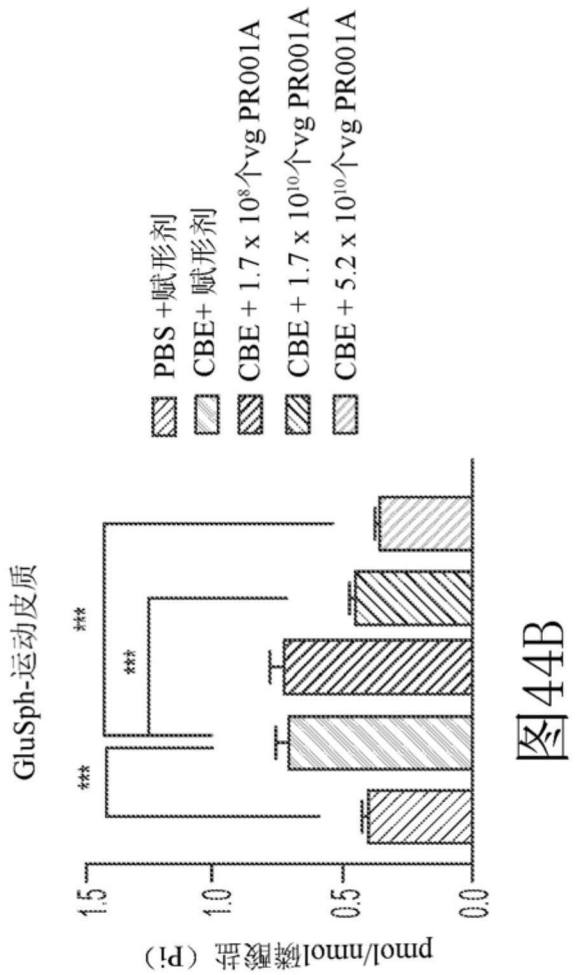

PBS +赋形剂
CBE+ 赋形剂
CBE + 1.7 x 10^8个vg PR001A
CBE + 1.7 x 10^10个vg PR001A
CBE + 5.2 x 10^10个vg PR001A
GluSph-运动皮质
pmol/nmol磷酸盐（Pi）
1.5
1.0
0.5
0.0
***
***
***

图44B

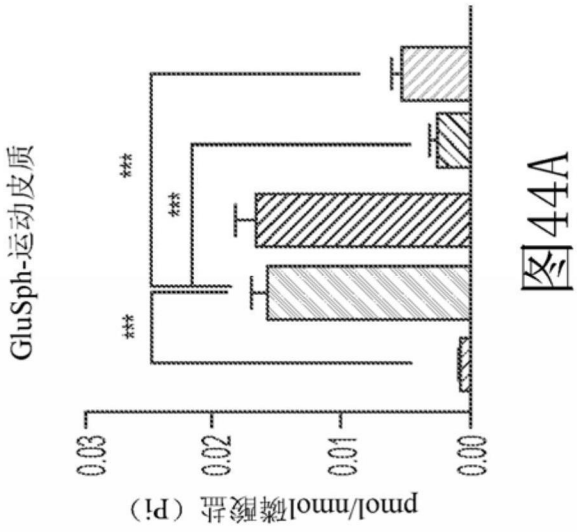

GluSph-运动皮质
pmol/nmol磷酸盐（Pi）
0.03
0.02
0.01
0.00
***
***
***

图44A

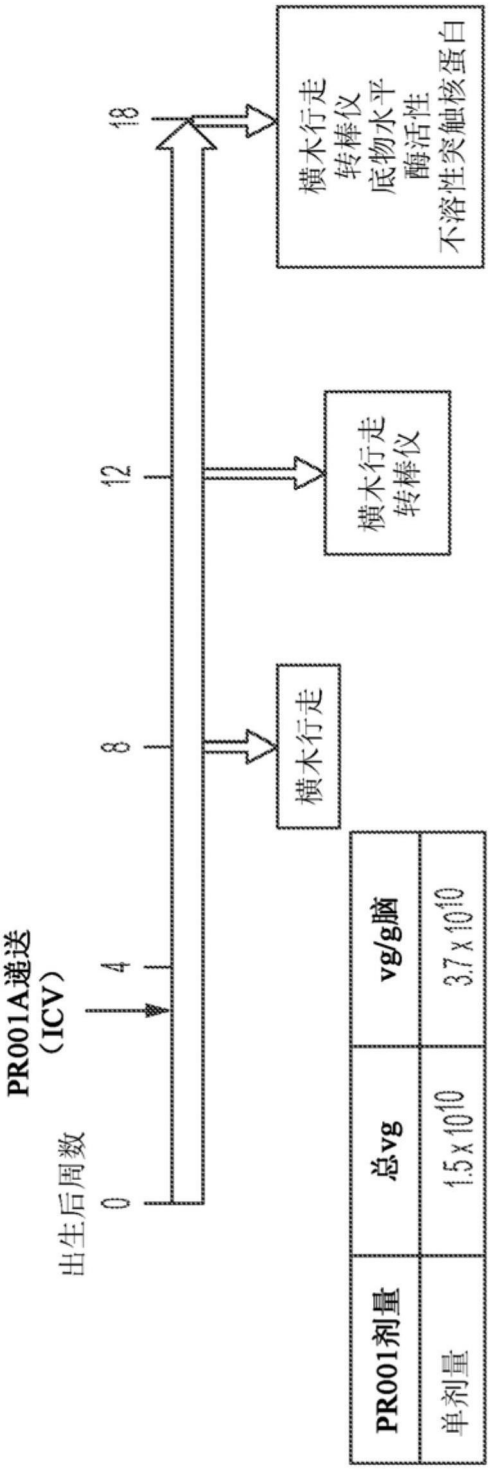

出生后周数
0
4
8
12
18
PR001A递送
（ICV）
横木行走
横木行走
转棒仪
横木行走
转棒仪
底物水平
酶活性
不溶性突触核蛋白
PR001剂量
总vg
vg/g脑
单剂量
1.5 x 10^10
3.7 x 10^10

图45

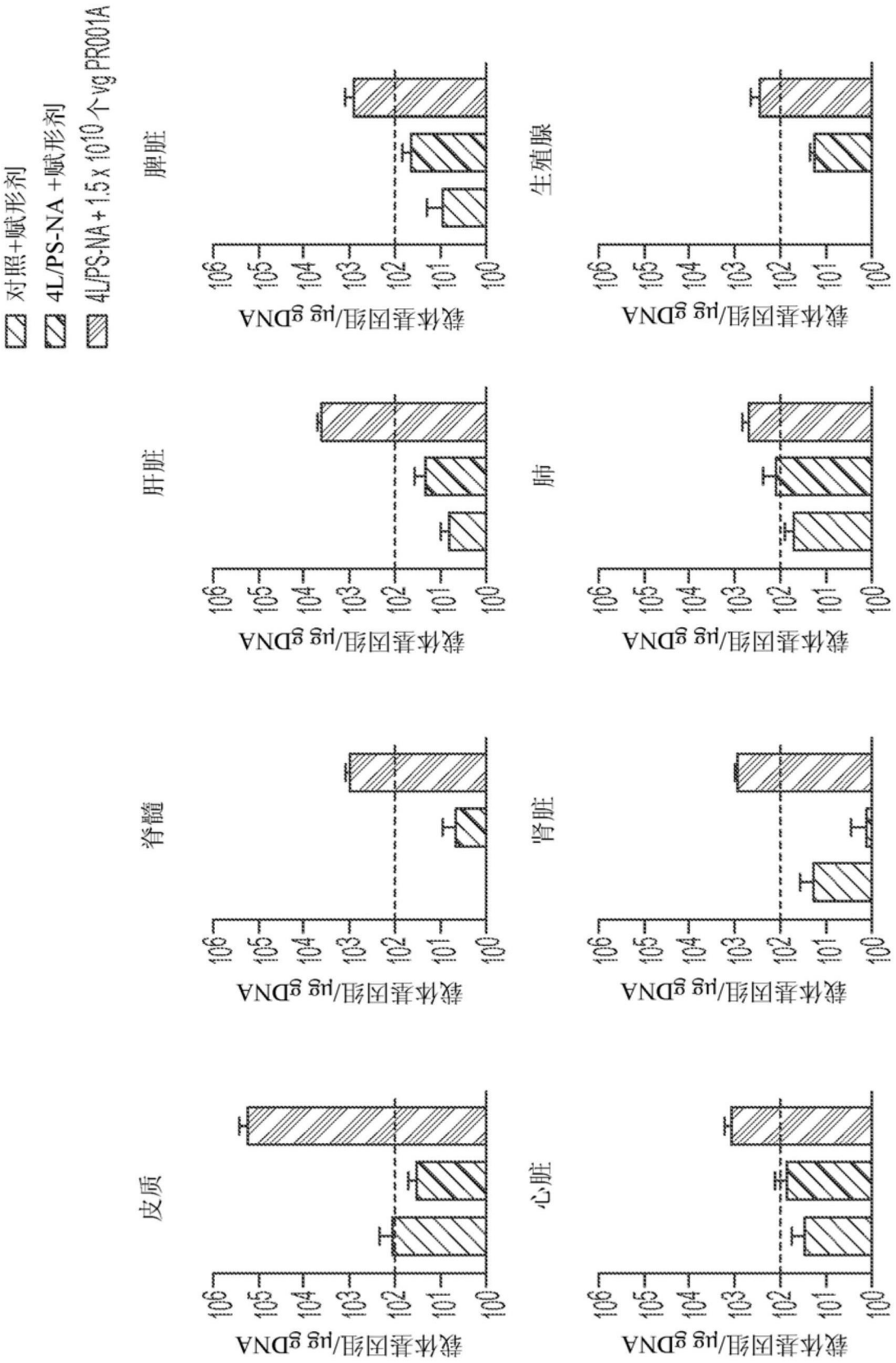

对照+赋形剂
4L/PS-NA +赋形剂
4L/PS-NA + 1.5 x 10^10个vg PR001A
脾脏
生殖腺
肝脏
肺
脊髓
肾脏
皮质
心脏
载体基因组/μg gDNA
100
101
102
103
104
105
106

图46

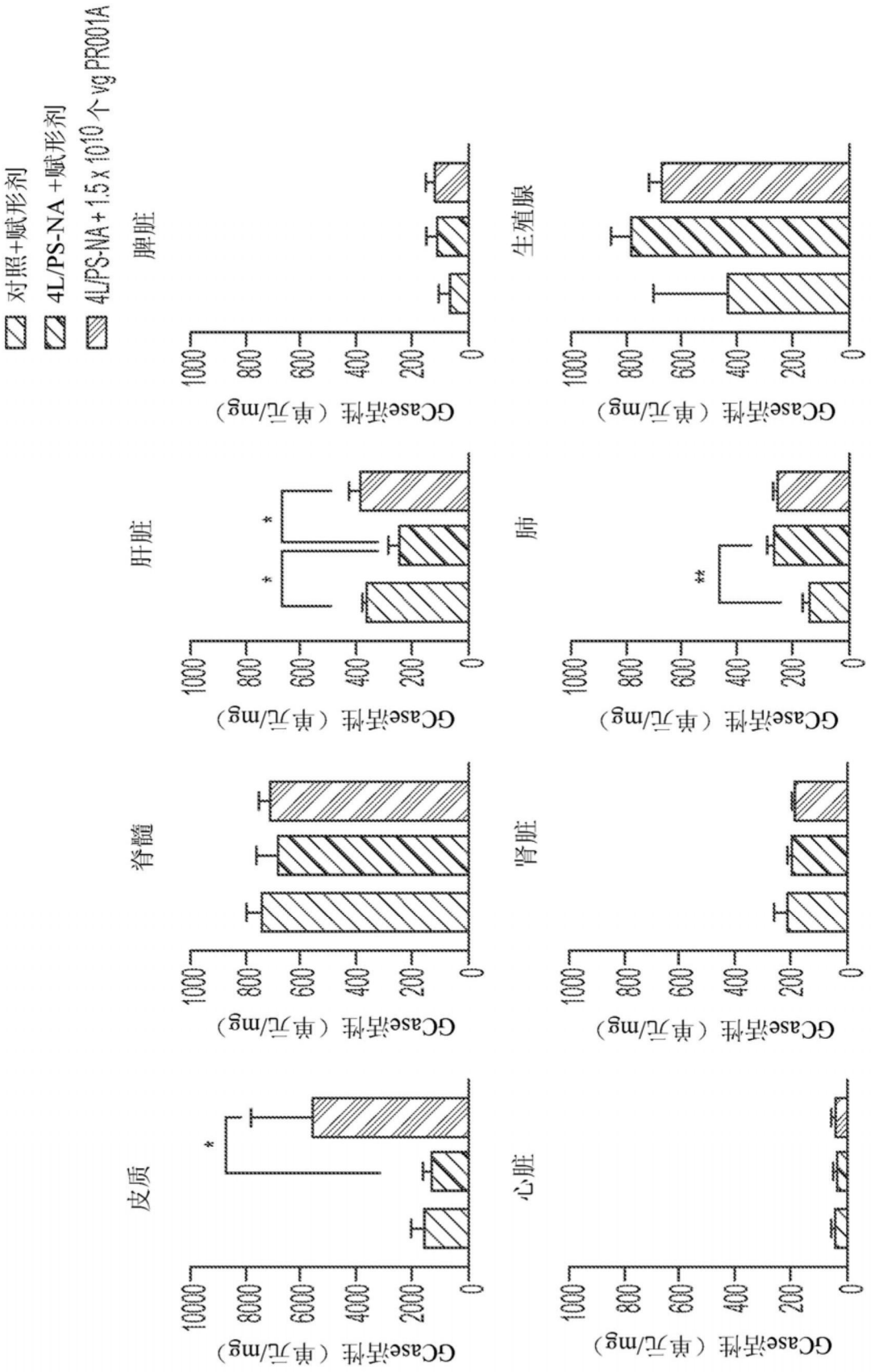

对照+赋形剂
4L/PS-NA +赋形剂
4L/PS-NA + 1.5 x 1010 个 vg PR001A
皮质
脾脏
脊髓
肝脏
肾脏
肺
心脏
生殖腺
GCase活性（单元/mg）
0
2000
4000
6000
8000
10000
200
400
600
800
1000
*
**

图47

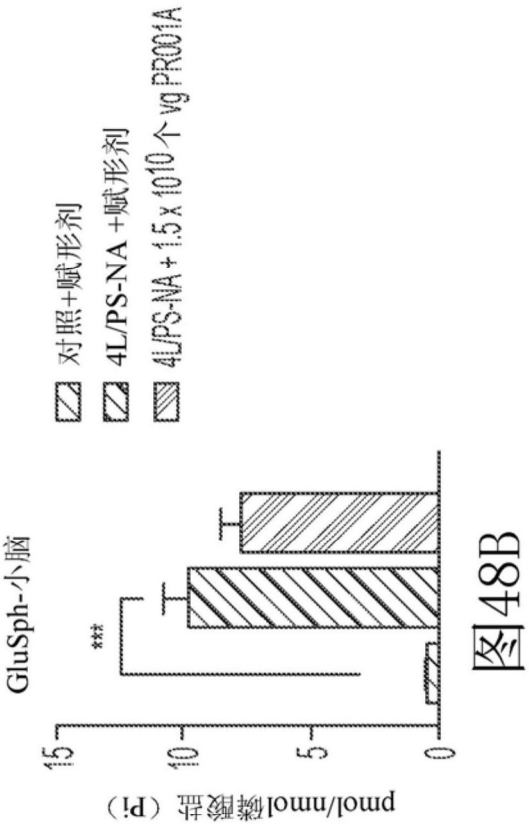

对照+赋形剂
4L/PS-NA +赋形剂
4L/PS-NA + 1.5 x 1010个 vg PR001A
GluSph-小脑
pmol/nmol磷酸盐（Pi）
0
5
10
15
***

图48B

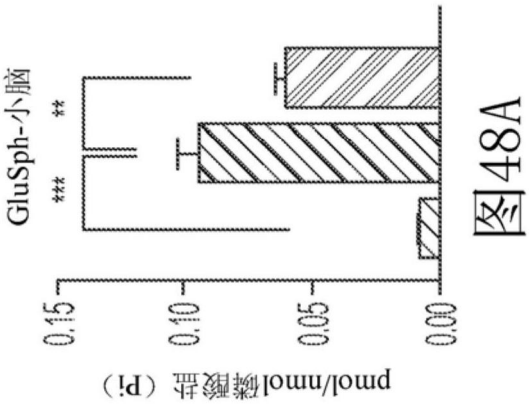

GluSph-小脑
pmol/nmol磷酸盐（Pi）
0.00
0.05
0.10
0.15
***
**

图48A

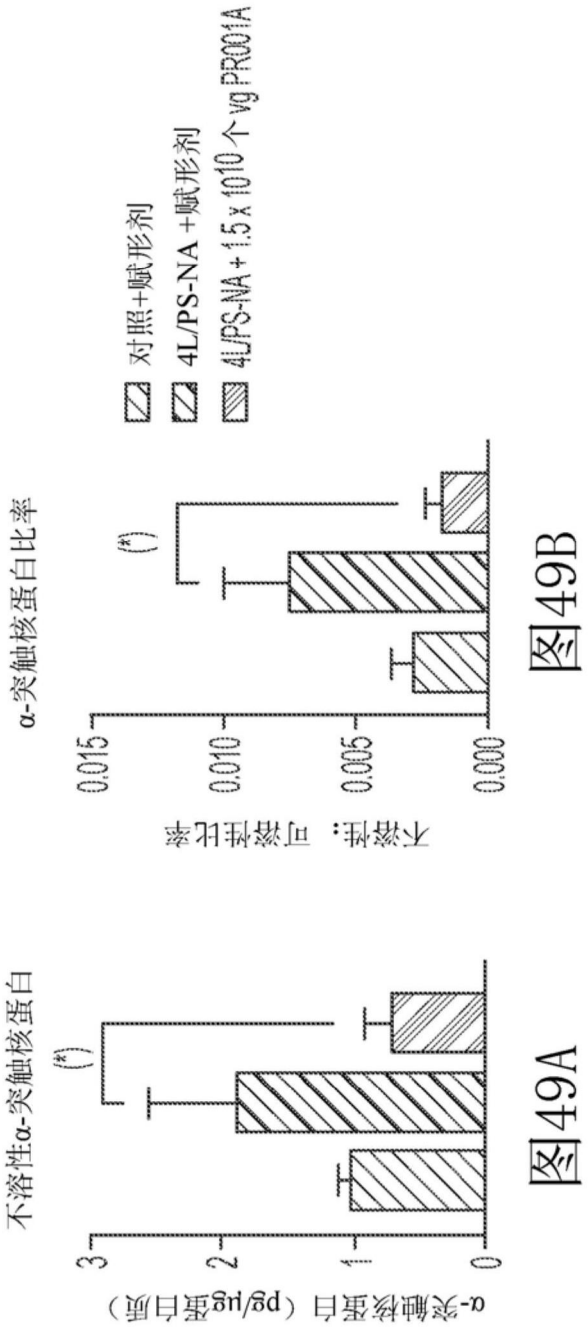
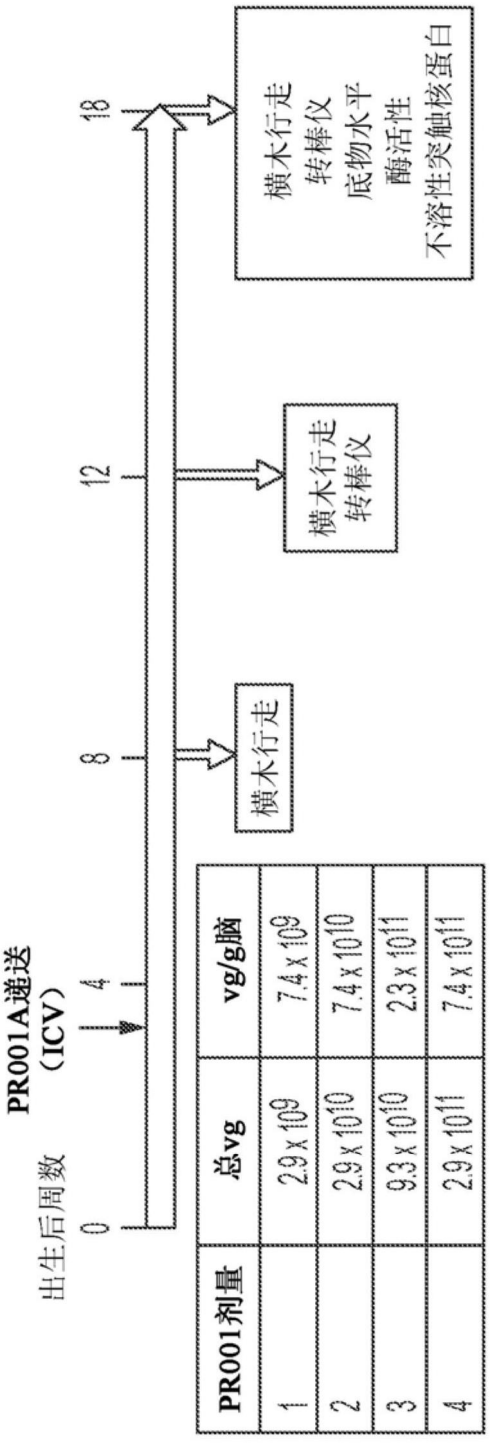

不溶性α-突触核蛋白
(*)
3
2
1
0
α-突触核蛋白（pg/μg蛋白质）
α-突触核蛋白比率
(*)
0.015
0.010
0.005
0.000
不溶性：可溶性比率
对照+赋形剂
4L/PS-NA +赋形剂
4L/PS-NA + 1.5 x 1010 个 vg PR001A

图49A

图49B



PR001剂量	总vg	vg/g脑
1	2.9×10^9	7.4×10^9
2	2.9×10^{10}	7.4×10^{10}
3	9.3×10^{10}	2.3×10^{11}
4	2.9×10^{11}	7.4×10^{11}

图50

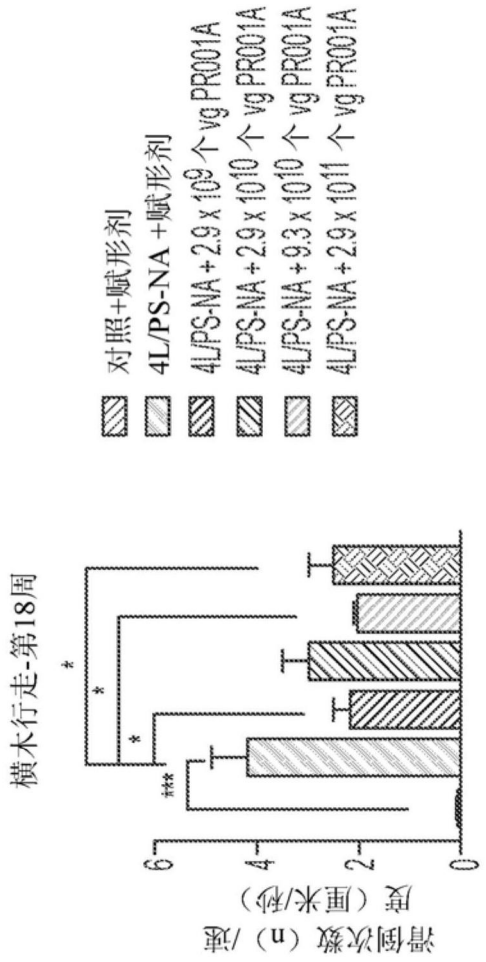

对照+赋形剂
4L/PS-NA +赋形剂
4L/PS-NA + 2.9 x 10^9 个 vg PR01A
4L/PS-NA + 2.9 x 10^10 个 vg PR01A
4L/PS-NA + 9.3 x 10^10 个 vg PR01A
4L/PS-NA + 2.9 x 10^11 个 vg PR01A
横木行走-第18周
滑倒次数（n）/速度（厘米/秒）
0
2
4
6
***
*
*
*

图51

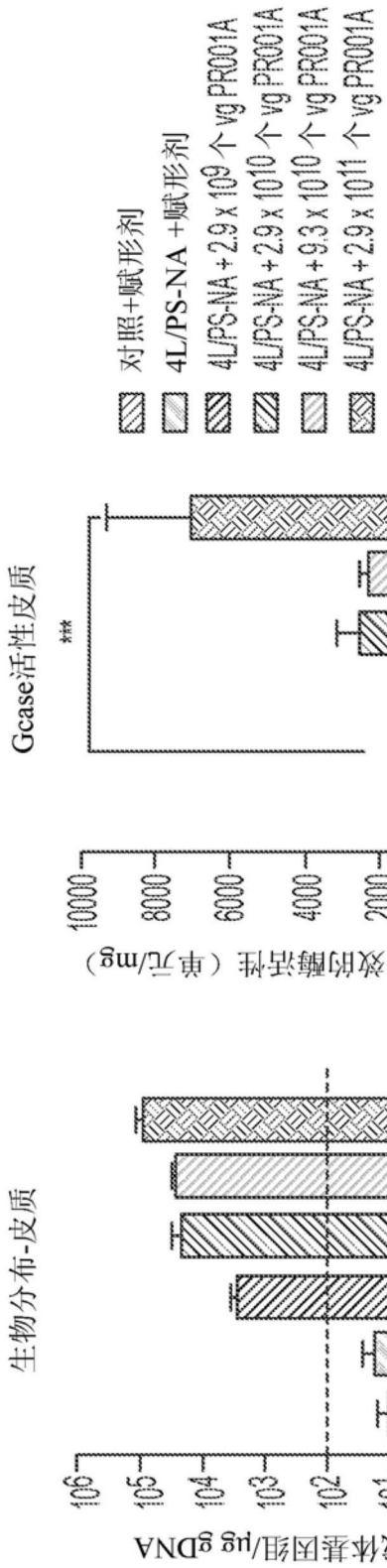

生物分布-皮质
载体基因组/μg gDNA
100
101
102
103
104
105
106

图52A

Gcase活性皮质
有效的酶活性（单元/mg）
***
0
2000
4000
6000
8000
10000
对照+赋形剂
4L/PS-NA +赋形剂
4L/PS-NA + 2.9 x 10^9 个 vg PR001A
4L/PS-NA + 2.9 x 1010 个 vg PR001A
4L/PS-NA + 9.3 x 1010 个 vg PR001A
4L/PS-NA + 2.9 x 1011 个 vg PR001A

图52B

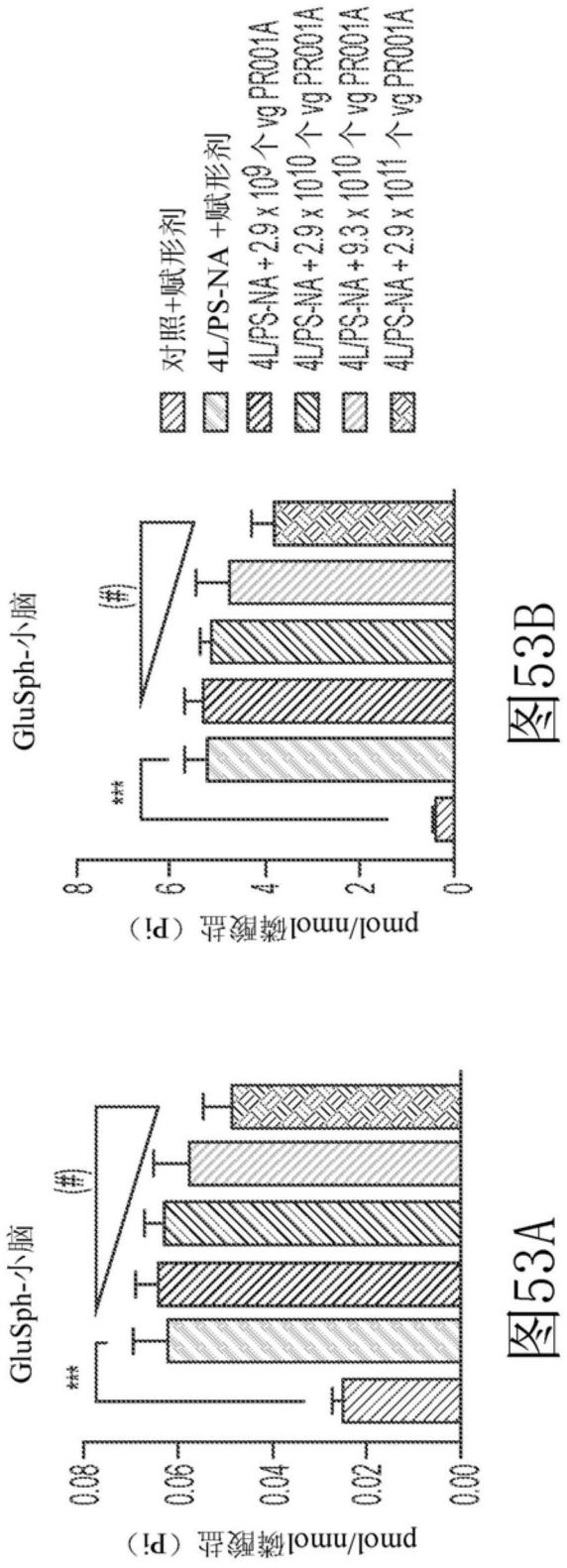

对照+赋形剂
4L/PS-NA +赋形剂
4L/PS-NA + 2.9 x 10^9 个 vg PR001A
4L/PS-NA + 2.9 x 1010 个 vg PR001A
4L/PS-NA + 9.3 x 1010 个 vg PR001A
4L/PS-NA + 2.9 x 1011 个 vg PR001A
GluSph-小脑
pmol/nmol磷酸盐（Pi）
0.08
0.06
0.04
0.02
0.00
***
(#)
GluSph-小脑
pmol/nmol磷酸盐（Pi）
8
6
4
2
0
***
(#)

图53A

图53B

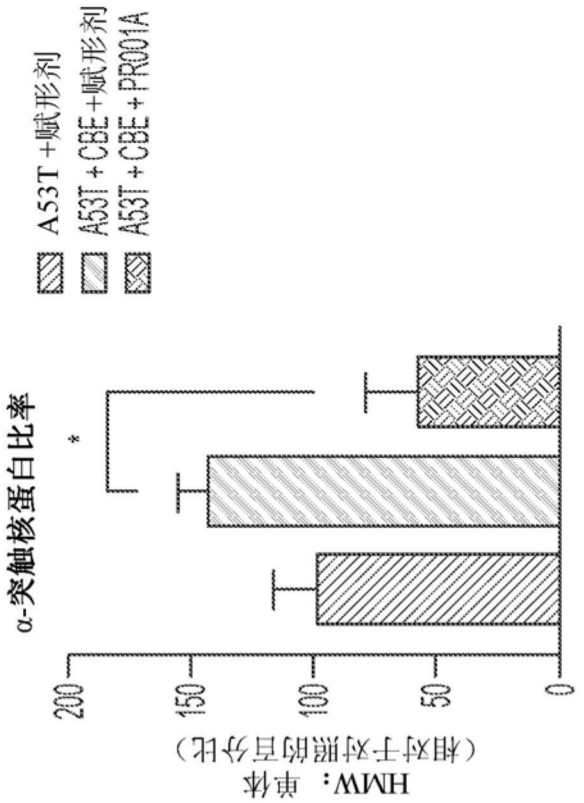

A53T +赋形剂
A53T + CBE +赋形剂
A53T + CBE + PR001A
α-突触核蛋白比率
*
200
150
100
50
0
HMW：单体
（相对于对照的百分比）

图54B

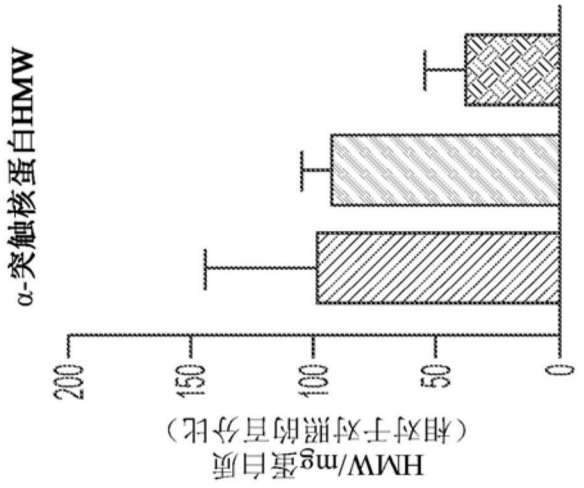

α-突触核蛋白HMW
200
150
100
50
0
HMW/mg蛋白质
（相对于对照的百分比）

图54A

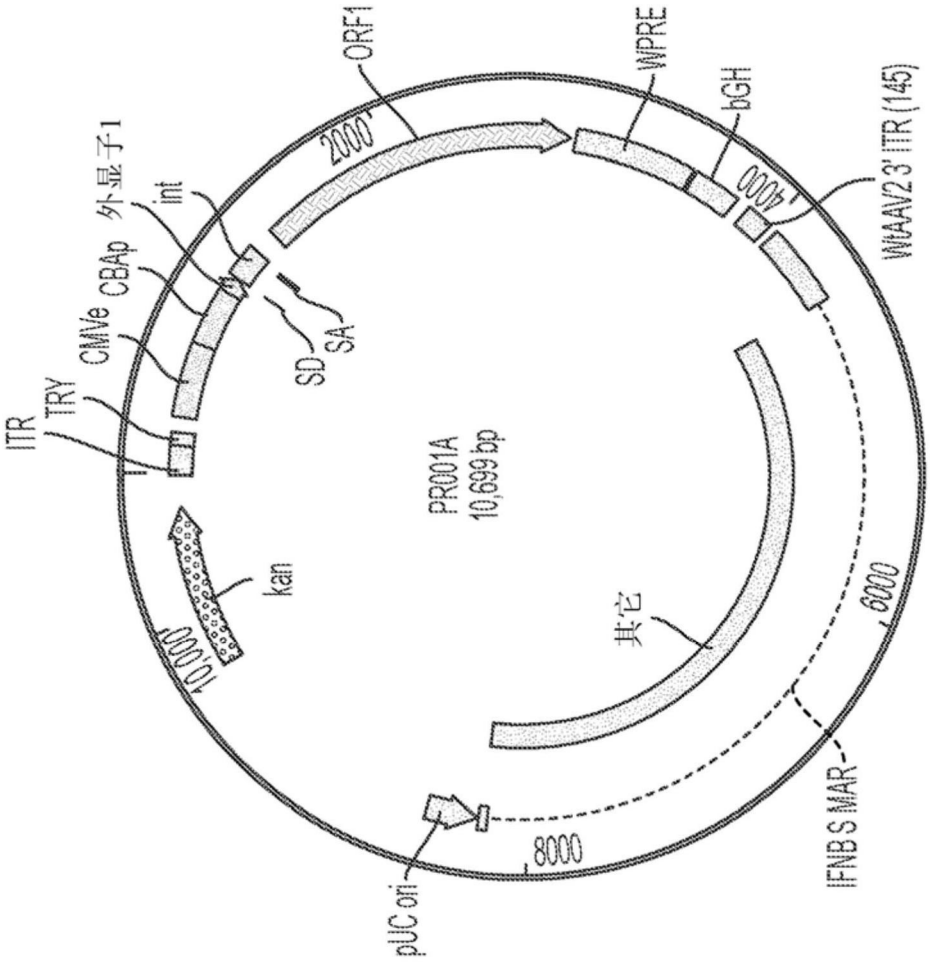

ORF1
2000
WPRE
bGH
4000
WtAAV2 3' ITR (145)
外显子1
int
CBAp
CMVe
TRY
ITR
SD
SA
PR001A
10,699 bp
kan
10000
其它
6000
IFNB S MAR
8000
pUC ori

图55

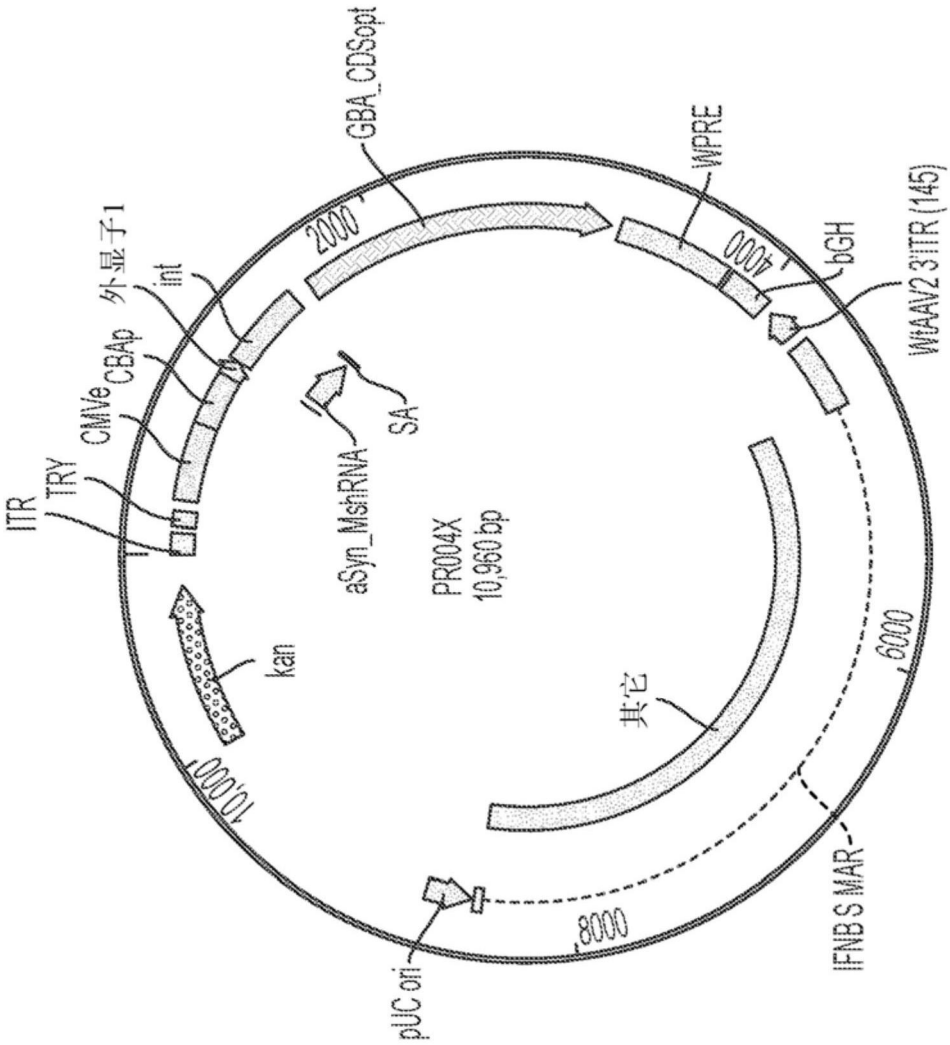

GBA_CDSopt
WPRE
外显子1
int
CBAp
CMVe
TRY
ITR
aSyn_MshRNA
SA
bGH
WtAAV2 3'ITR (145)
PR004X
10,960 bp
kan
其它
IFNB S MAR
pUC ori
2000
4000
6000
8000
10000

图56

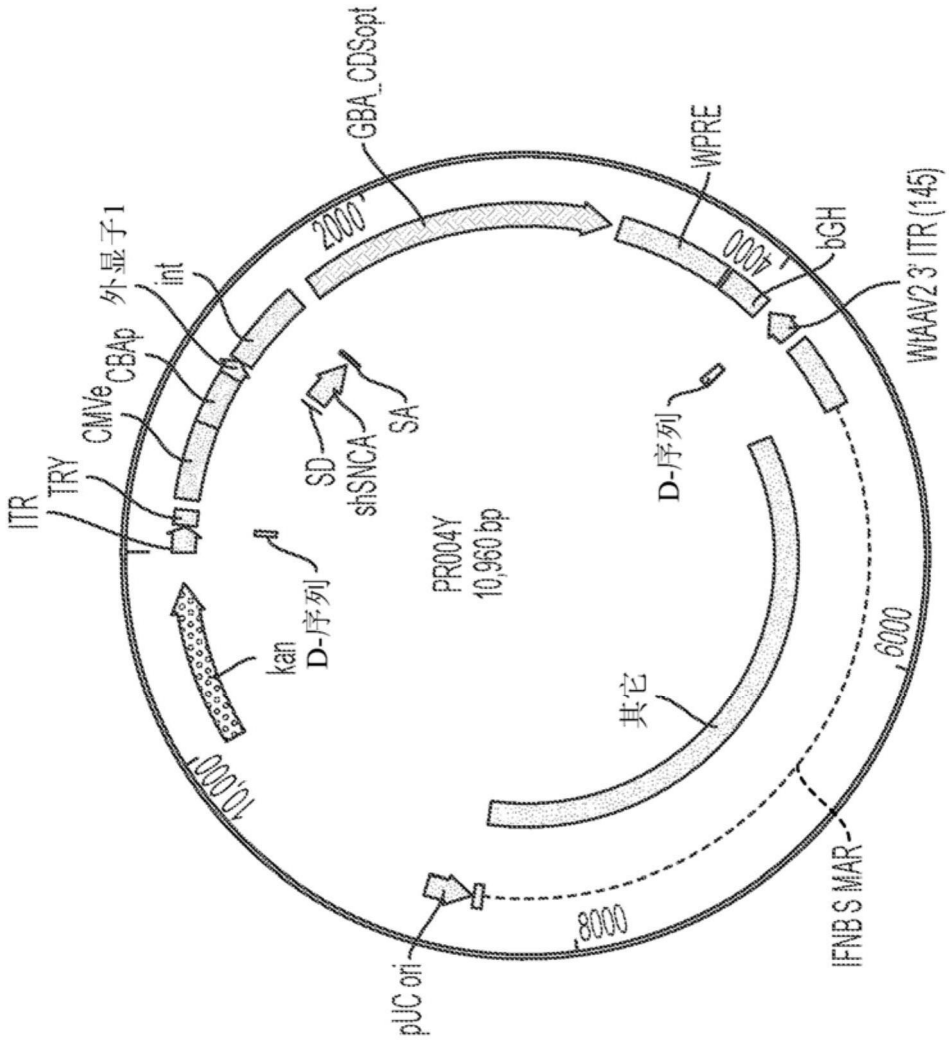

GBA_CDSopt
WPRE
bGH
WtAAV2 3' ITR (145)
外显子1
int
CBAp
CMVe
TRY
ITR
SD
shSNCA
SA
D-序列
PR004Y
10,960 bp
D-序列
kan
其它
2000
4000
6000
8000
10000
pUC ori
IFNB S MAR

图57

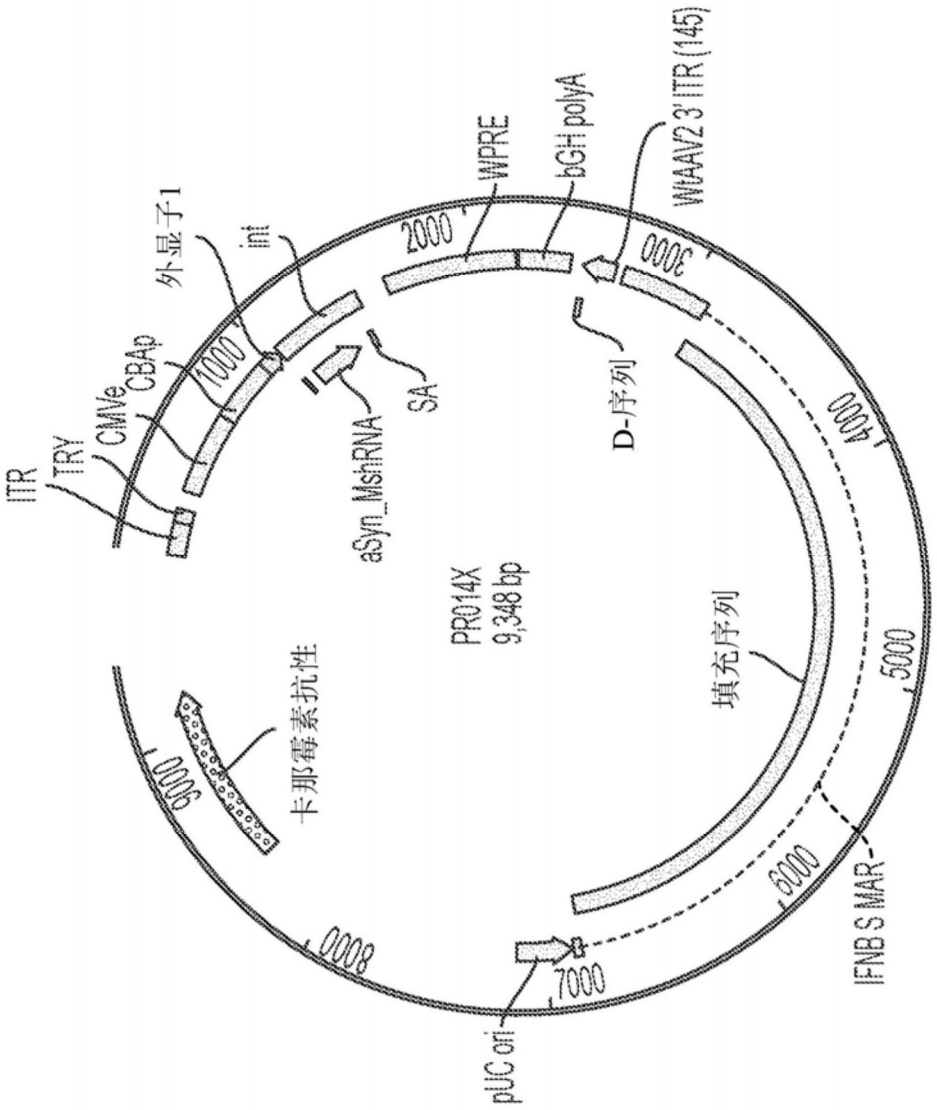

ITR
TRY
CMVe
CBAp
外显子1
init
1000
aSyn_MshRNA
SA
2000
WPRE
bGH polyA
WtAAV2 3'ITR(145)
3000
D-序列
4000
PR014X
9,348 bp
填充序列
5000
6000
IFNB S MAR
7000
pUC ori
8000
卡那霉素抗性
9000

图58

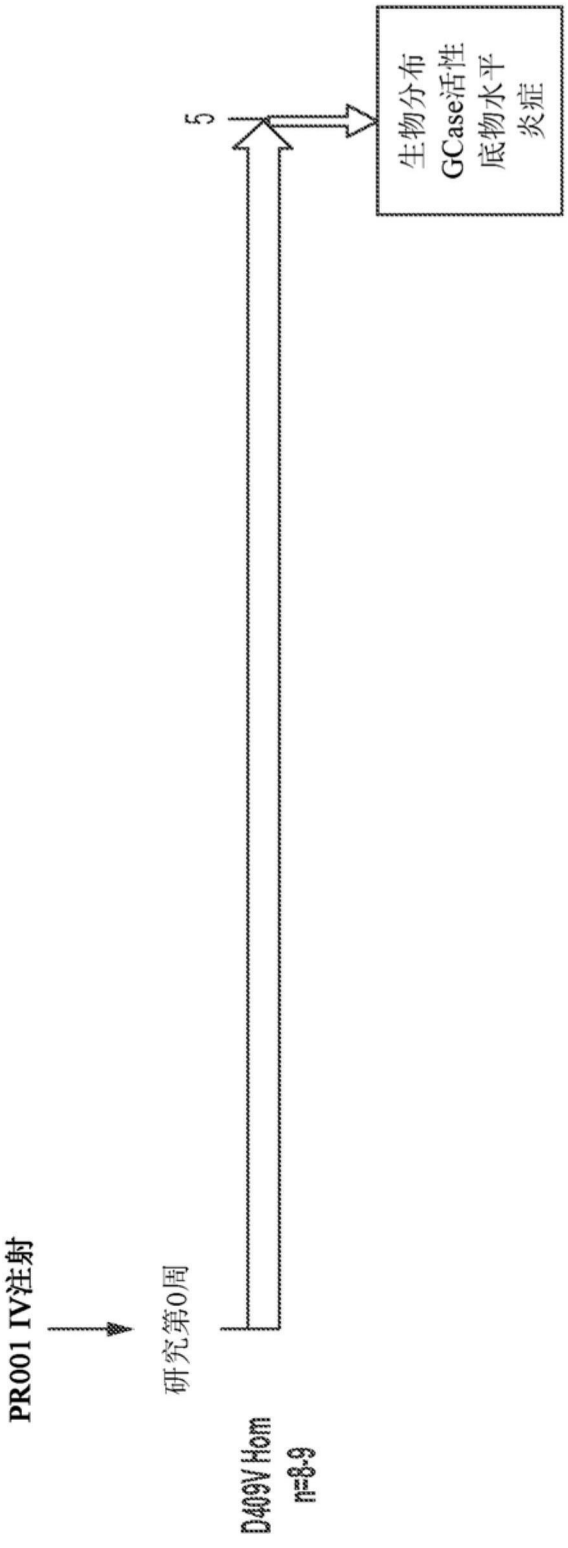


图59

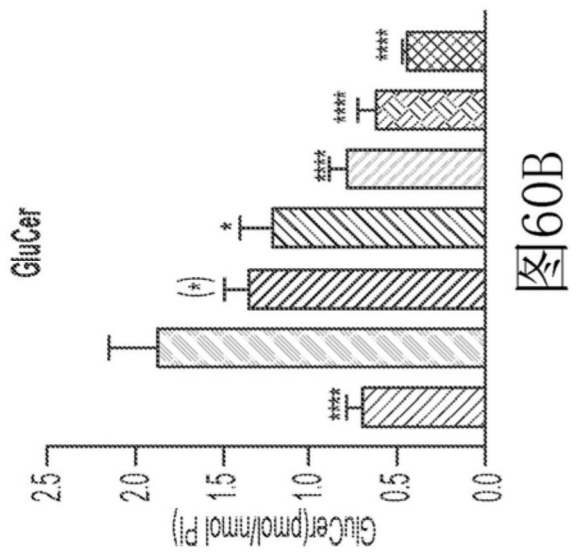
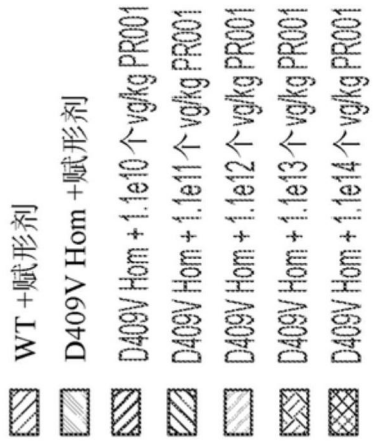


图60B



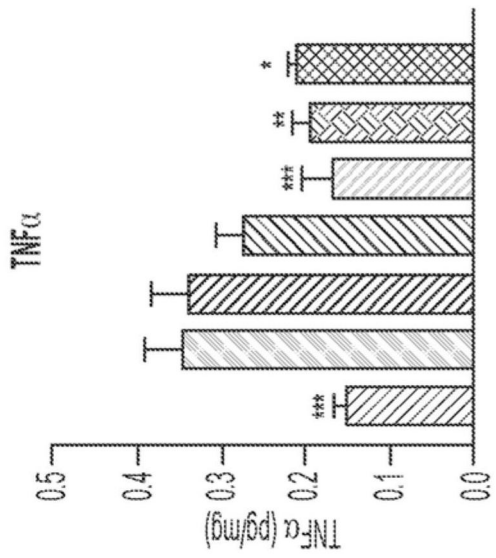


图60A

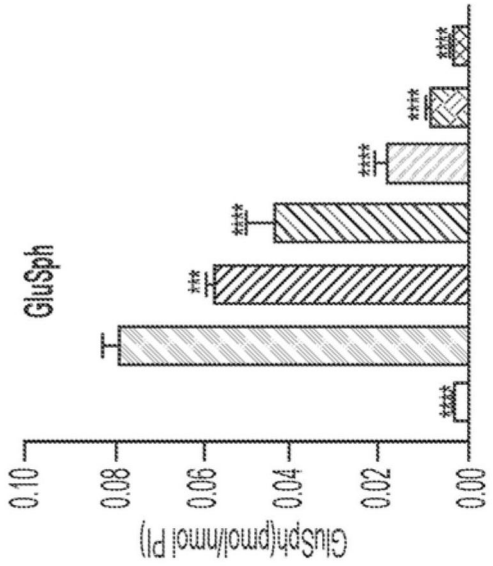


图60C

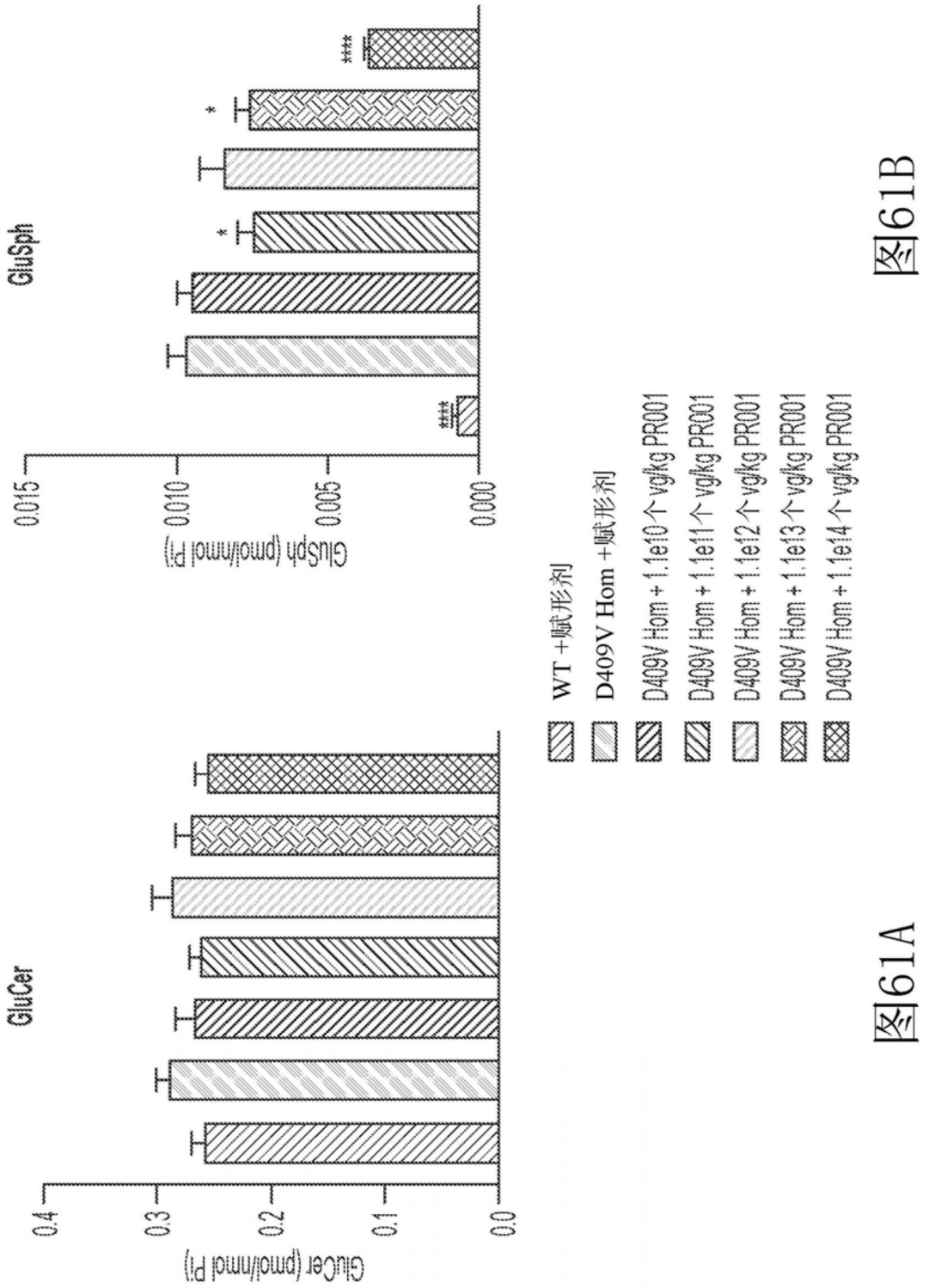

GluSph
GluSph (pmol/nmol PI)
0.015
0.010
0.005
0.000
****
*
*
*
GluCer
GluCer (pmol/nmol PI)
0.4
0.3
0.2
0.1
0.0
WT +赋形剂
D409V Hom +赋形剂
D409V Hom + 1.1e10个 vg/kg PR001
D409V Hom + 1.1e11个 vg/kg PR001
D409V Hom + 1.1e12个 vg/kg PR001
D409V Hom + 1.1e13个 vg/kg PR001
D409V Hom + 1.1e14个 vg/kg PR001

图61A

图61B

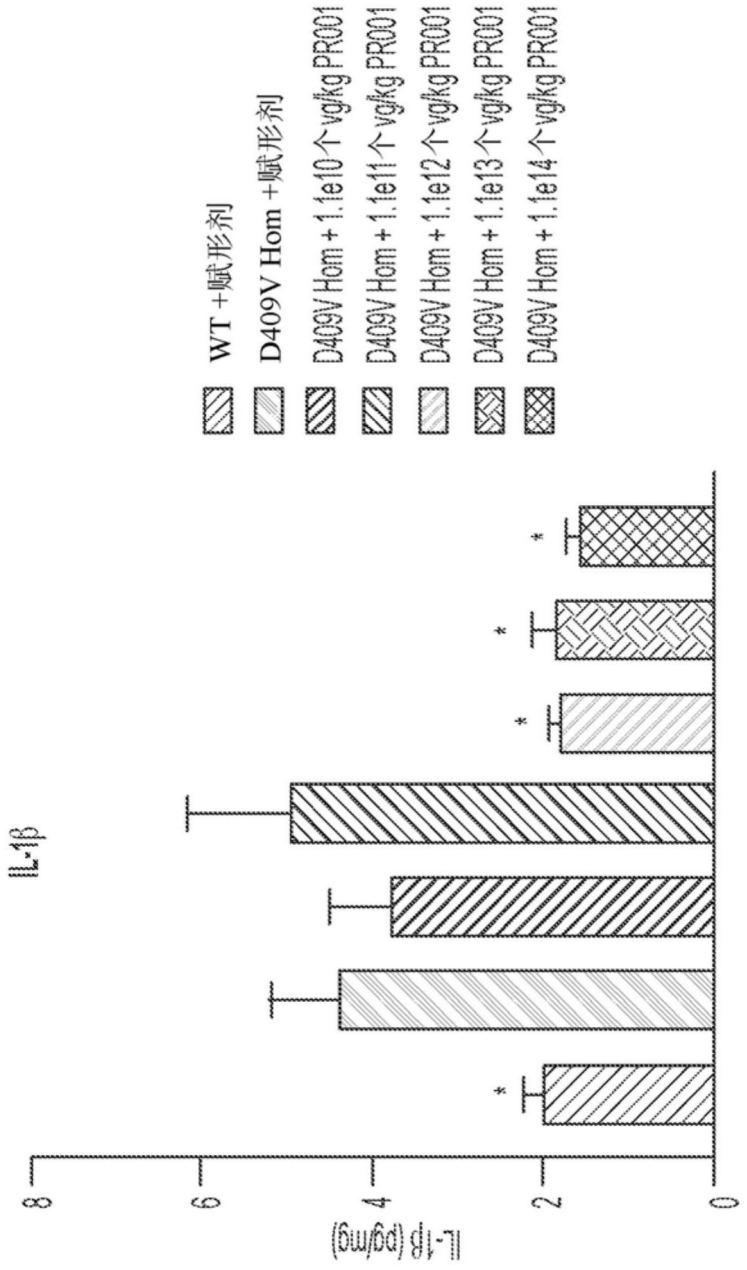

WT +赋形剂
D409V Hom +赋形剂
D409V Hom + 1.1e10个vg/kg PR001
D409V Hom + 1.1e11个vg/kg PR001
D409V Hom + 1.1e12个vg/kg PR001
D409V Hom + 1.1e13个vg/kg PR001
D409V Hom + 1.1e14个vg/kg PR001
IL-1β
IL-1β (pg/mg)
0
2
4
6
8
*
*
*
*
*

图62

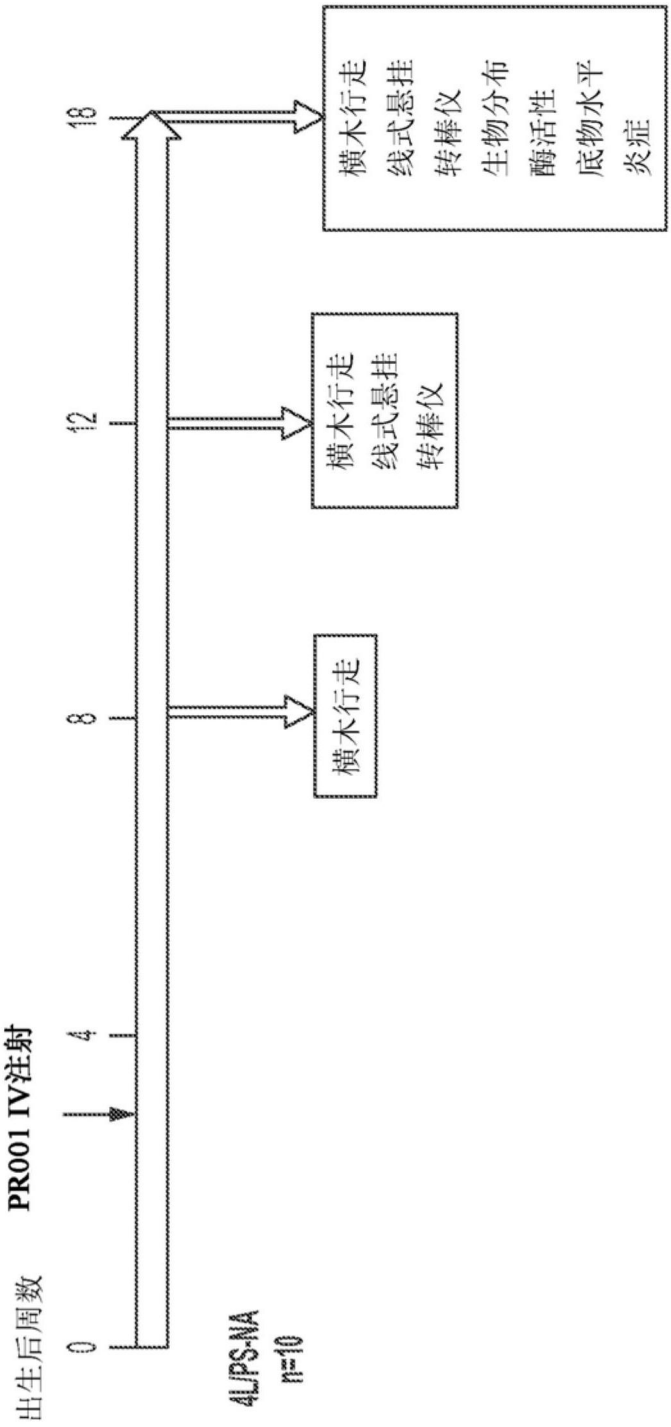

出生后周数
0
4
8
12
18
PR001 IV注射
4L/PS-NA
n=10
横木行走
横木行走
线式悬挂
转棒仪
横木行走
线式悬挂
转棒仪
生物分布
酶活性
底物水平
炎症

图63

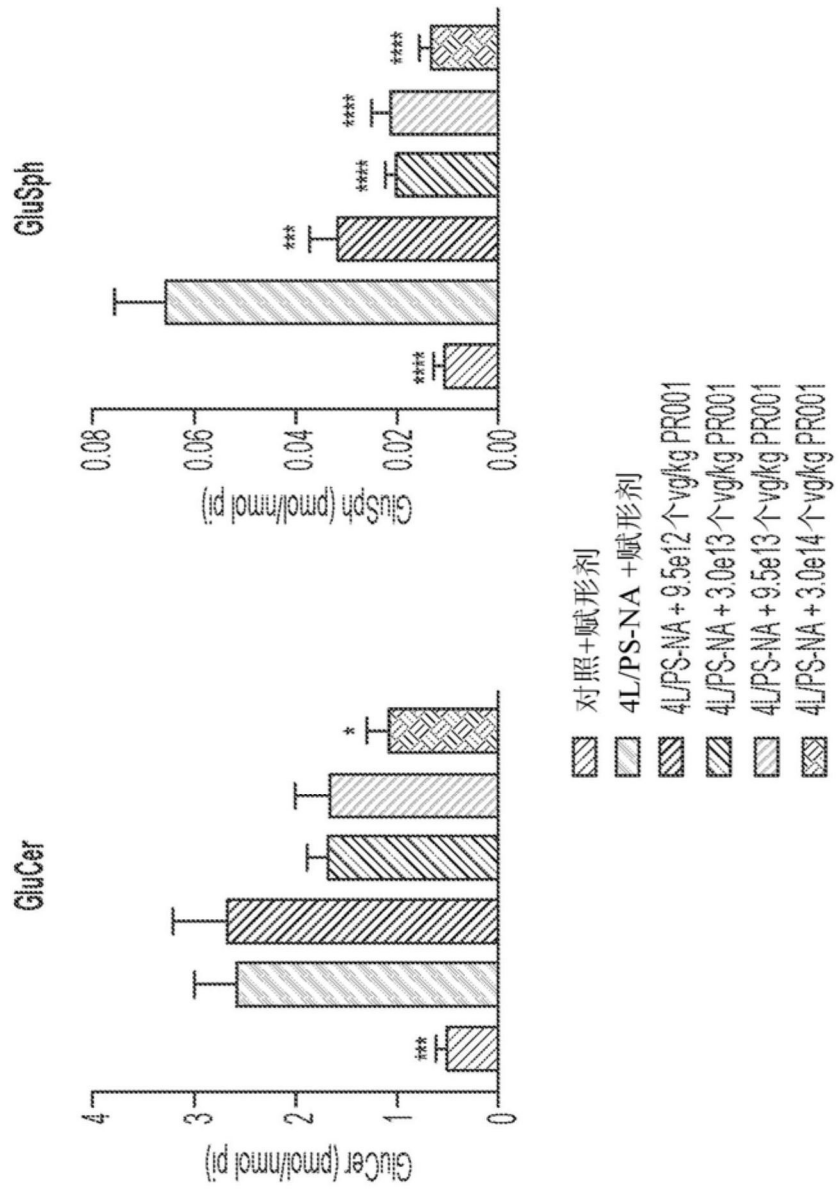

GluCer
GluCer (pmol/nmol pl)
0
1
2
3
4
GluSph
GluSph (pmol/nmol pl)
0.00
0.02
0.04
0.06
0.08
对照+赋形剂
4L/PS-NA +赋形剂
4L/PS-NA + 9.5e12 个vg/kg PR001
4L/PS-NA + 3.0e13 个vg/kg PR001
4L/PS-NA + 9.5e13 个vg/kg PR001
4L/PS-NA + 3.0e14 个vg/kg PR001

图64A

图64B

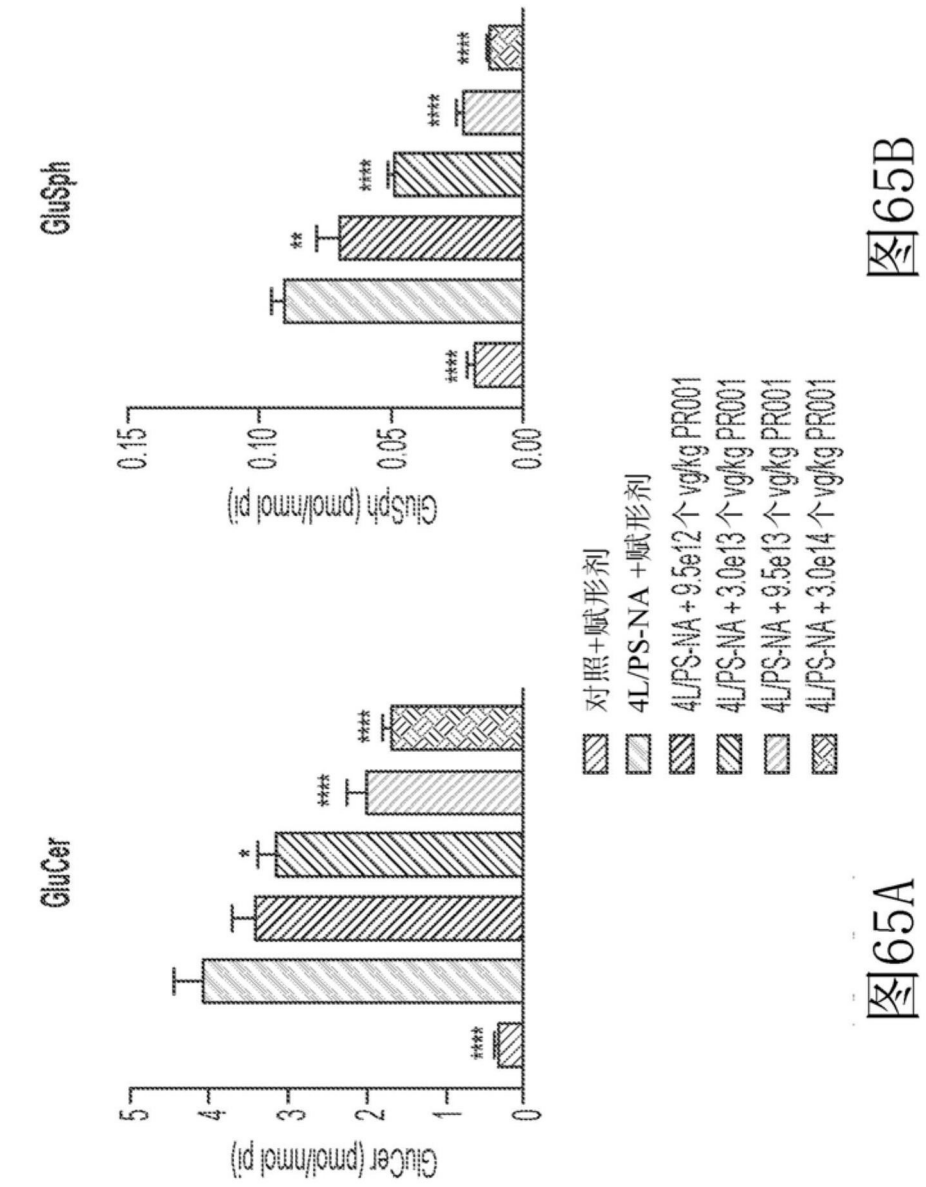

GluCer
GluSph
GluCer (pmol/nmol pl)
GluSph (pmol/nmol pl)
0
1
2
3
4
5
0.00
0.05
0.10
0.15
对照+赋形剂
4L/PS-NA +赋形剂
4L/PS-NA + 9.5e12个 vg/kg PR001
4L/PS-NA + 3.0e13个 vg/kg PR001
4L/PS-NA + 9.5e13个 vg/kg PR001
4L/PS-NA + 3.0e14个 vg/kg PR001

图65A

图65B

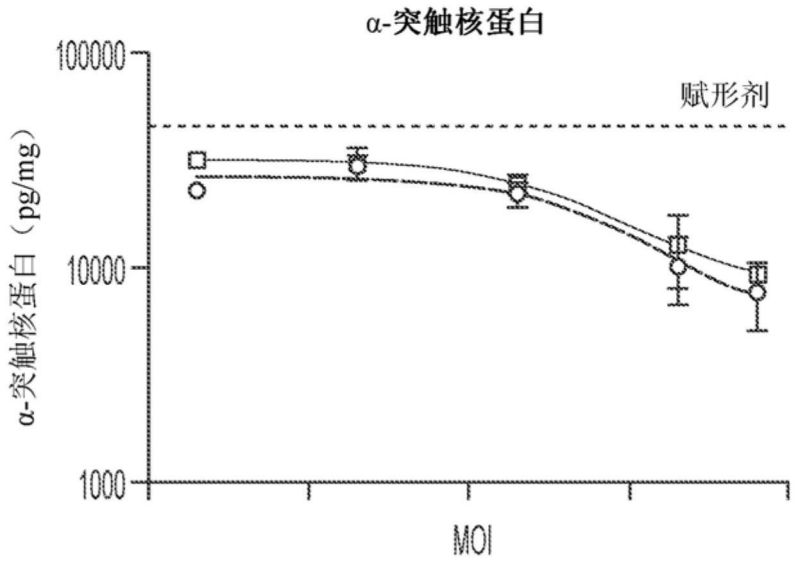

α-突触核蛋白
100000
10000
1000
α-突触核蛋白（pg/mg）
赋形剂
MOI

图66A

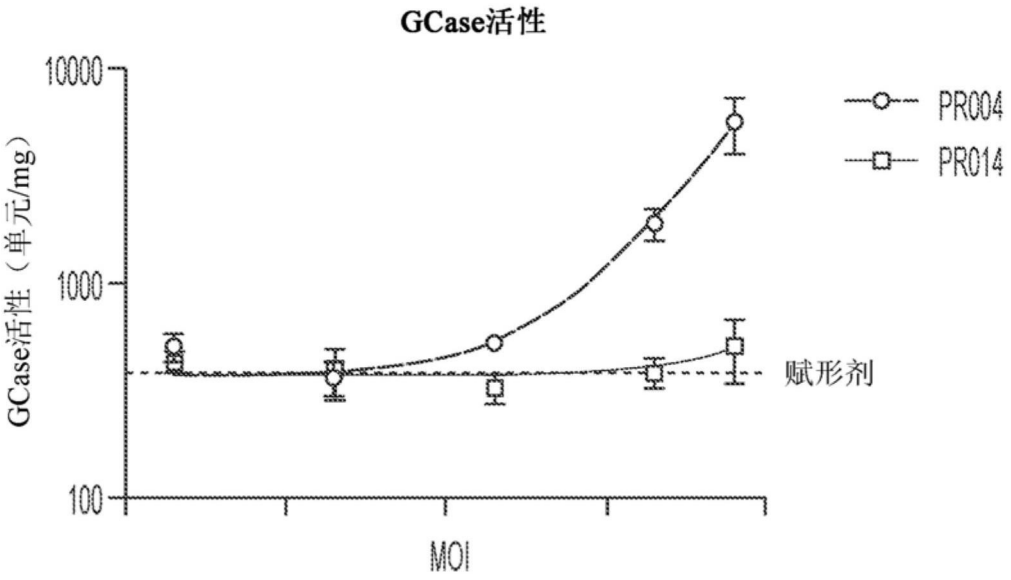

GCase活性
10000
1000
100
GCase活性（单元/mg）
PR004
PR014
赋形剂
MOI

图66B

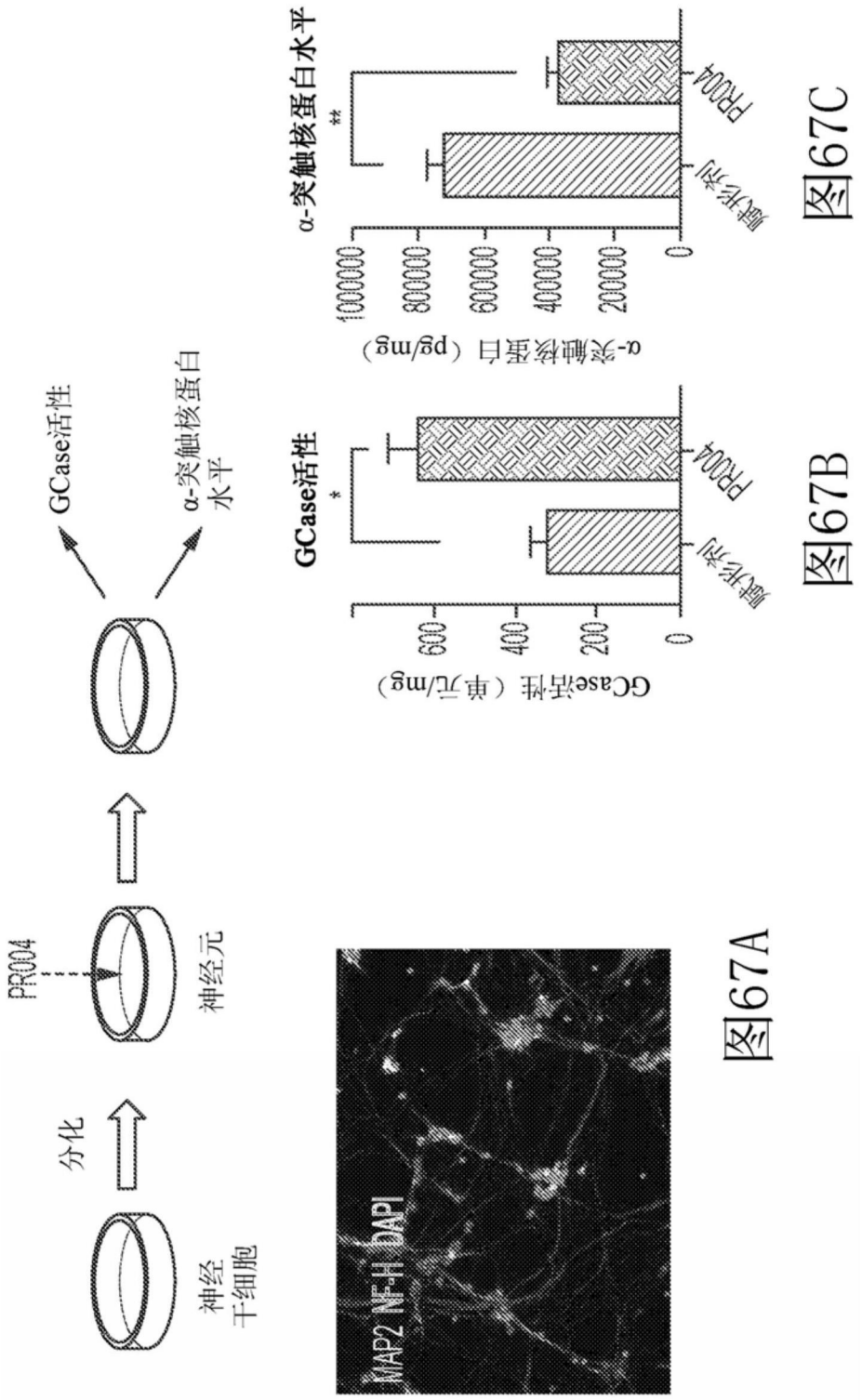


图67A 图67B 图67C

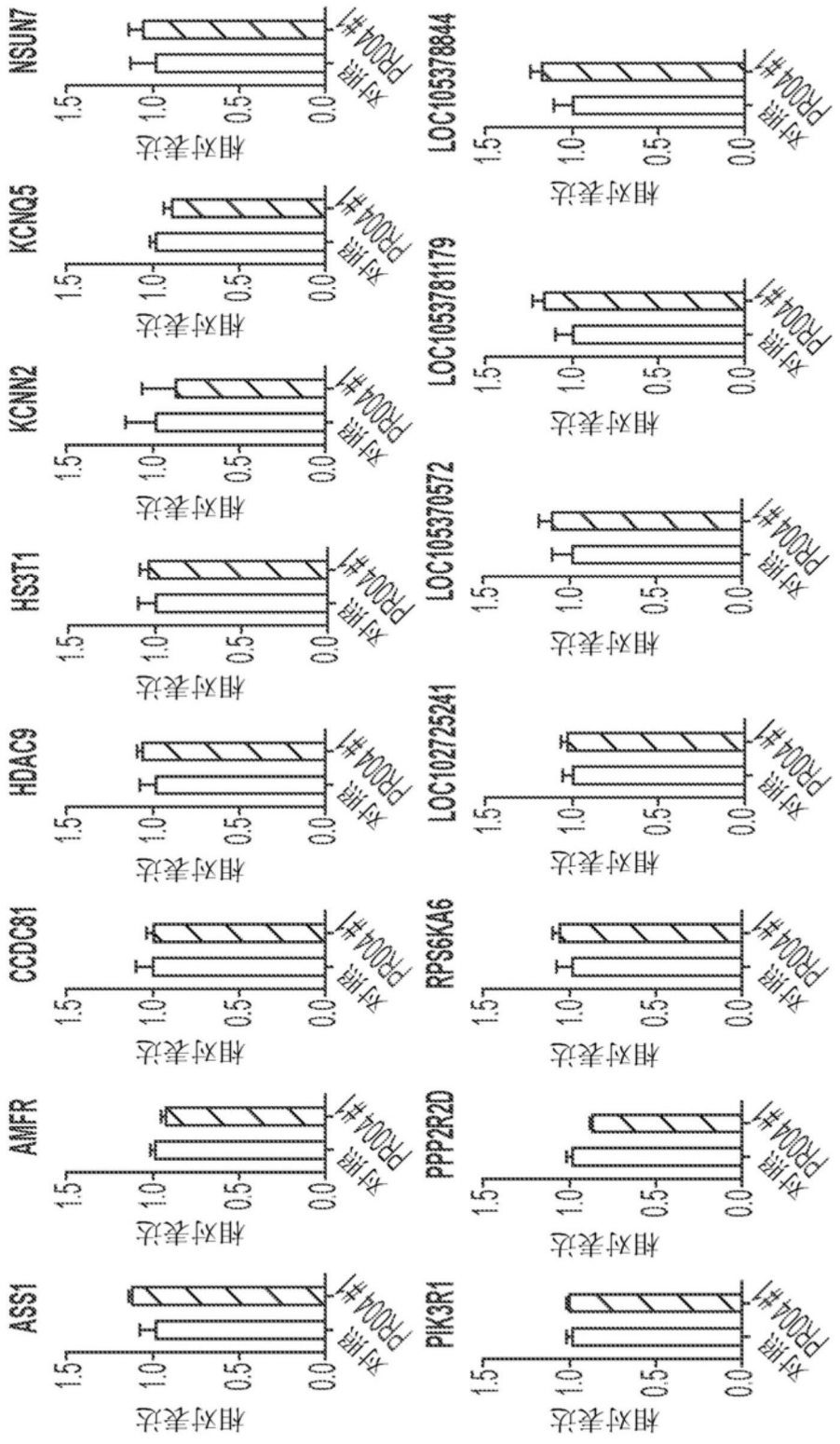

NSUN7
KCNQ5
KCNN2
HS3T1
HDAC9
CCDC81
AMFR
ASS1
LOC105378844
LOC105378179
LOC105370572
LOC102725241
RPS6KA6
PPP2R2D
PIK3R1
相对表达
1.5
1.0
0.5
0.0
对照
PR004#1

图68A

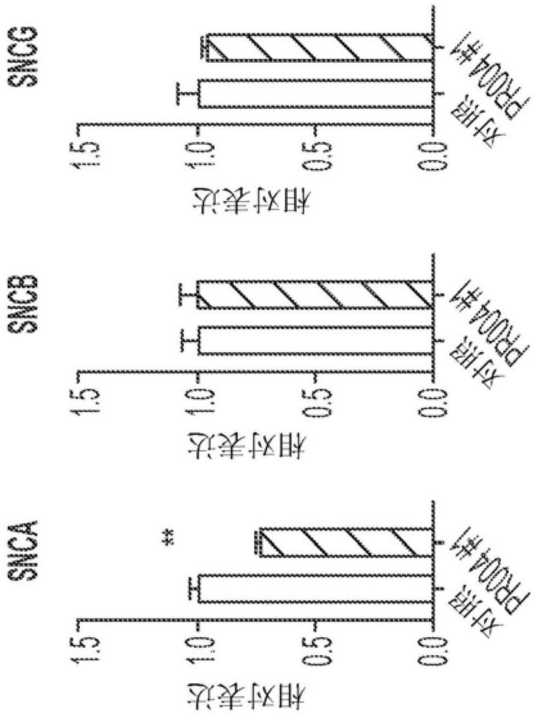


图68B

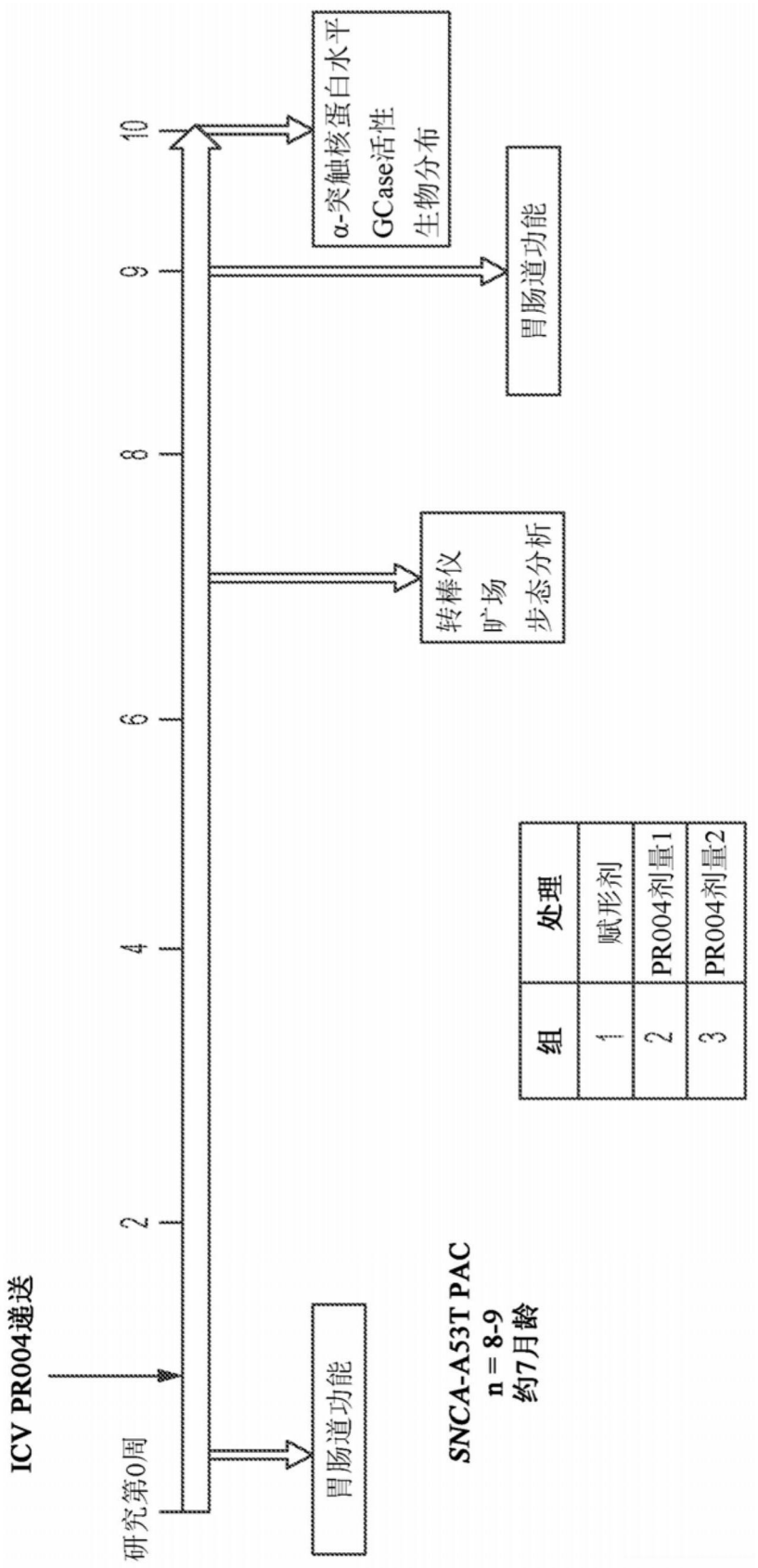

ICV PR004递送
研究第0周
2
4
6
8
9
10
胃肠道功能
SNCA-A53T PAC
n = 8-9
约7月龄
转棒仪
旷场
步态分析
α-突触核蛋白水平
GCase活性
生物分布
胃肠道功能
组
处理
1
赋形剂
2
PR004剂量1
3
PR004剂量2

图69

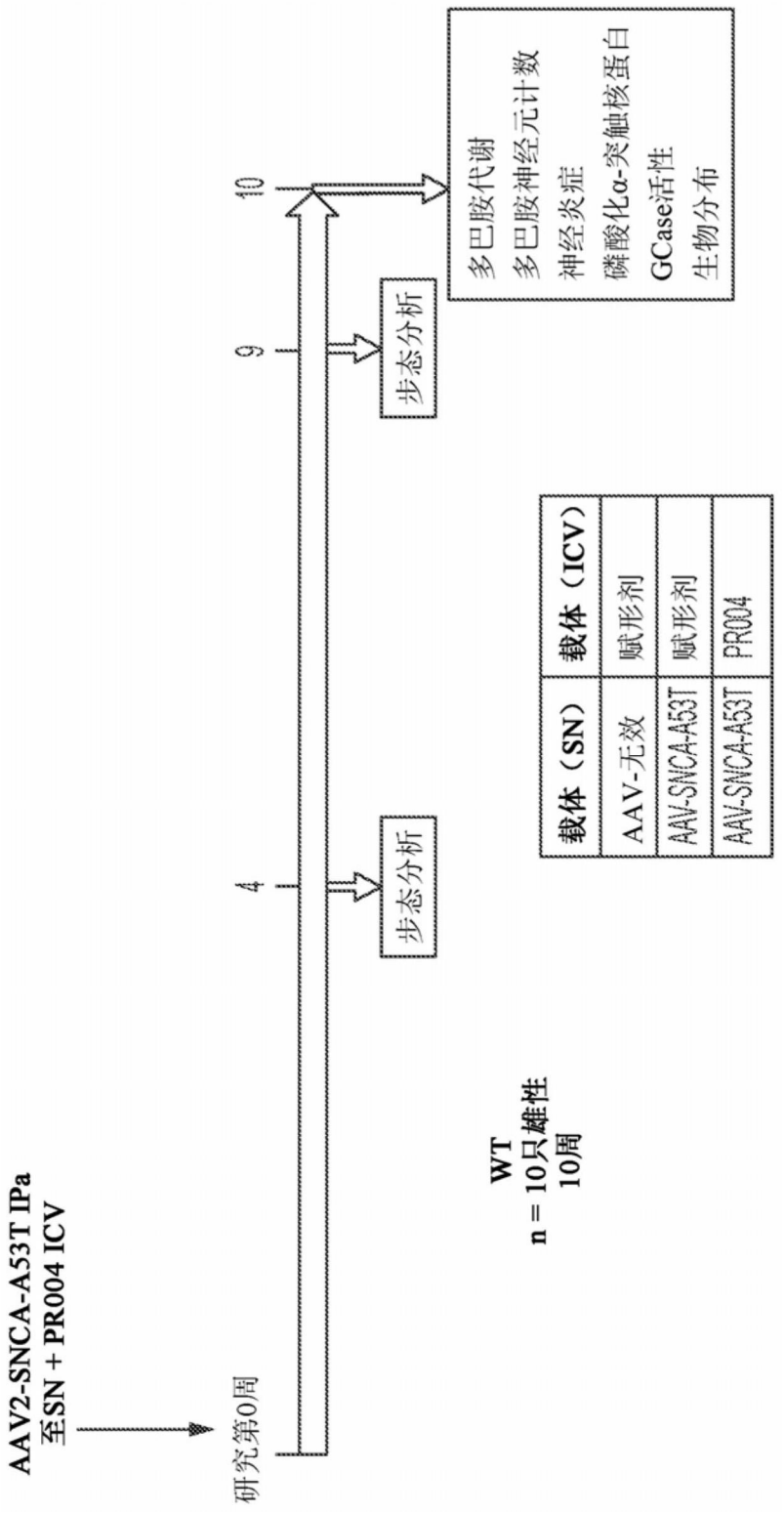

AAV2-SNCA-A53T IPa
至SN + PR004 ICV
研究第0周
4
9
10
步态分析
步态分析
多巴胺代谢
多巴胺神经元计数
神经炎症
磷酸化α-突触核蛋白
GCase活性
生物分布
WT
n = 10只雄性
10周
载体（SN）
载体（ICV）
AAV-无效
赋形剂
AAV-SNCA-A53T
赋形剂
AAV-SNCA-A53T
PR004

图70

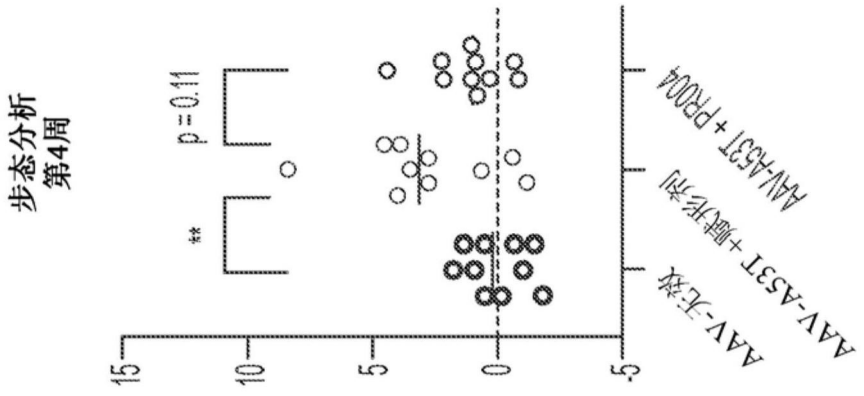

步态分析
第4周
p = 0.11
**
15
10
5
0
-5
AAV-无载
AAV-A531T+赋形剂
AAV-A531T+PR004

图71A

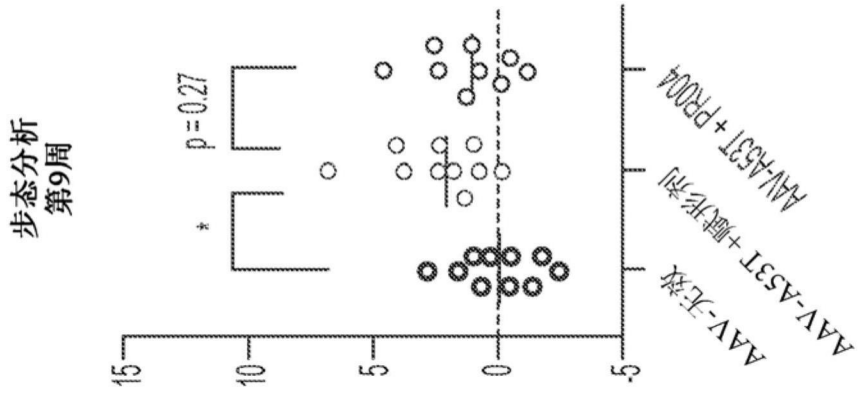

步态分析
第9周
p = 0.27
*
15
10
5
0
-5
AAV-无载
AAV-A531T+赋形剂
AAV-A531T+PR004

图71B