



(12) 发明专利

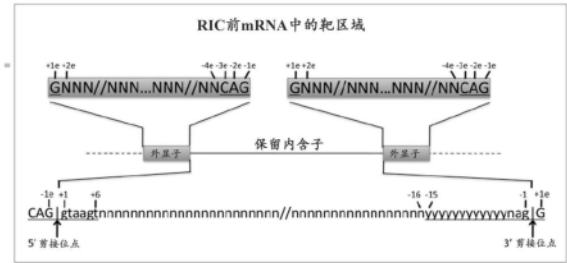
(10) 授权公告号 CN 107109411 B
(45) 授权公告日 2022. 07. 01

(21) 申请号 201580066206.7
(22) 申请日 2015.10.03
(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 107109411 A
(43) 申请公布日 2017.08.29
(30) 优先权数据
62/059,847 2014.10.03 US
(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2017.06.05
(86) PCT国际申请的申请数据
PCT/US2015/053896 2015.10.03
(87) PCT国际申请的公布数据
W02016/054615 EN 2016.04.07
(73) 专利权人 冷泉港实验室
地址 美国纽约州
(72) 发明人 阿德里安·克莱纳
伊莎贝尔·阿兹纳雷兹
(74) 专利代理机构 北京安信方达知识产权代理
有限公司 11262
专利代理师 郑霞
(51) Int.Cl.
C12N 15/113 (2006.01)

(56) 对比文件
CN 102625840 A,2012.08.01
HALINA SIERAKOWSKA et al..Repair of
thalassemic human b-globin mRNA in
mammalian cells by antisense
oligonucleotides.《Proc. Natl. Acad. Sci.
USA》.1996,第93卷第12840-12844页.
HALINA SIERAKOWSKA et al..Repair of
thalassemic human b-globin mRNA in
mammalian cells by antisense
oligonucleotides.《Proc. Natl. Acad. Sci.
USA》.1996,第93卷第12840-12844页.
Jana Kralovicova et al..Optimal
antisense target reducing INS intron 1
retention is adjacent to a parallel G
quadruplex.《Nucleic Acids Research》.2014,
第42卷(第12期),第8161-8173页.
Karin Mayer et al..Three novel types
of splicing aberrations in the tuberous
sclerosis TSC2 gene caused by mutations
apart from splice consensus sequences.
《Biochimica et Biophysica Acta》.2000,(第
1502期),第495-507页.
审查员 韩津
权利要求书3页 说明书108页
序列表139页 附图47页

(54) 发明名称
核基因输出的定向增加
(57) 摘要

本文提供了用于增加细胞产生靶蛋白或功
能RNA的量的方法和组合物。



1. 反义寡聚体 (ASO) 在制备用于增加受试者的细胞表达功能性靶蛋白或功能靶RNA的药物中的用途, 包括

使所述受试者的细胞与所述反义寡聚体 (ASO) 相接触,

其中所述细胞具有包含保留内含子的前mRNA (RIC前mRNA), 其中所述RIC前mRNA包含保留内含子、位于5' 剪接位点侧翼的外显子、位于3' 剪接位点侧翼的外显子, 并且其中所述RIC前mRNA编码所述功能性靶蛋白或所述功能靶RNA;

其中所述反义寡聚体结合所述RIC前mRNA的靶向区, 其中所述RIC前mRNA的靶向区在所述保留内含子内, 并且在 (a) 相对所述保留内含子5' 剪接位点的+6至+100区域内, 或者 (b) 相对所述保留内含子3' 剪接位点的-16至-100区域内,

其中所述反义寡聚体引起所述保留内含子持续从编码所述功能性靶蛋白或功能靶RNA的所述RIC前mRNA剪接, 从而在所述受试者的细胞中增加编码所述功能性靶蛋白或功能靶RNA的mRNA的水平, 以及增加所述功能性靶蛋白或功能靶RNA的表达;

其中所述受试者具有特征在于所述功能性靶蛋白或所述功能靶RNA的单倍性不足所导致的所述功能性靶蛋白的量或活性缺陷或所述功能靶RNA的量或活性缺陷的疾病或病况;

其中所述反义寡聚体并不是通过调节由编码所述功能靶RNA或所述功能性靶蛋白的基因转录的前mRNA的选择性剪接来增加所述功能性靶蛋白或所述功能靶RNA的量; 并且

其中所述反义寡聚体并不是通过调节由编码所述功能性靶蛋白或所述功能靶RNA的基因的突变所导致的异常剪接来增加所述功能性靶蛋白或所述功能靶RNA的量。

2. 反义寡聚体 (ASO) 在制备用于增加受试者的细胞表达功能性靶蛋白或功能靶RNA的药物中的用途, 包括

使所述受试者的细胞与所述反义寡聚体相接触,

其中所述细胞具有包含保留内含子的前mRNA (RIC前mRNA), 其中所述RIC前mRNA包含保留内含子、位于5' 剪接位点侧翼的外显子、位于3' 剪接位点侧翼的外显子, 并且其中所述RIC前mRNA编码所述功能性靶蛋白或功能靶RNA;

其中所述反义寡聚体结合所述RIC前mRNA的靶向区, 其中所述RIC前mRNA的靶向区在所述保留内含子内, 并且在 (a) 在相对所述保留内含子5' 剪接位点的+6至+100区域内, 或者 (b) 在相对所述保留内含子3' 剪接位点的-16至-100区域内,

其中所述反义寡聚体引起所述保留内含子持续从编码所述功能性靶蛋白或功能靶RNA的所述RIC前mRNA剪接, 从而在所述受试者的细胞中增加编码所述功能性靶蛋白或功能靶RNA的加工的mRNA的水平, 以及增加所述功能性靶蛋白或功能靶RNA的表达;

其中所述受试者具有特征在于由于编码所述功能性靶蛋白或所述功能靶RNA的基因中存在亚等位基因突变导致的功能性靶蛋白的量或活性缺陷或所述功能靶RNA的量或活性缺陷的疾病或病况, 且其中所述疾病或病况是由于在编码所述功能性靶蛋白或所述功能靶RNA的基因中存在亚等位基因突变导致的;

其中所述反义寡聚体并不是通过调节由编码所述功能靶RNA或所述功能性靶蛋白的基因转录的前mRNA的选择性剪接来增加所述功能性靶蛋白或所述功能靶RNA的量; 并且

其中所述反义寡聚体并不是通过调节由编码所述功能性靶蛋白或所述功能靶RNA的基因的突变所导致的异常剪接来增加所述功能性靶蛋白或所述功能靶RNA的量。

3. 根据权利要求1或2所述的用途, 其中所述RIC前mRNA由全长前mRNA的部分剪接或野

生型前mRNA的部分剪接所产生。

4. 根据权利要求1所述的用途,其中编码所述功能性靶蛋白或功能靶RNA的加工的mRNA是全长成熟mRNA或野生型成熟mRNA。

5. 根据权利要求1或2所述的用途,其中所产生的功能性靶蛋白是全长蛋白或野生型蛋白。

6. 根据权利要求1或2所述的用途,其中与编码在对照细胞中所产生的功能性靶蛋白或功能靶RNA的加工的mRNA的总量相比,编码在与所述反义寡聚体相接触的细胞中所产生的功能性靶蛋白或功能靶RNA的加工的mRNA的总量增加至至少1.1倍。

7. 根据权利要求1或2所述的用途,其中与对照细胞所产生的功能性靶蛋白的总量相比,与所述反义寡聚体相接触的细胞所产生的功能性靶蛋白的总量增加至至少1.1倍。

8. 根据权利要求1或2所述的用途,其中所述反义寡聚体包含主链修饰,该主链修饰包含硫代磷酸酯键或磷二酰胺键。

9. 根据权利要求1或2所述的用途,其中所述反义寡聚体包含磷二酰胺吗啉基、锁定核酸、肽核酸、2'-O-甲基、2'-氟或2'-O-甲氧乙基部分。

10. 根据权利要求1或2所述的用途,其中所述反义寡聚体包含至少一个经修饰的糖部分。

11. 根据权利要求10所述的用途,其中每一个糖部分均为经修饰的糖部分。

12. 根据权利要求1或2所述的用途,其中所述反义寡核苷酸由8至50个核碱基组成。

13. 根据权利要求1或2所述的用途,其中所述反义寡聚体包含与编码所述功能性靶蛋白或所述功能靶RNA的RIC前mRNA的靶向区域至少80%互补的序列。

14. 根据权利要求1或2所述的用途,其中所述反义寡聚体与包含选自SEQ ID NO:1-102的序列的RIC前mRNA的区域相结合。

15. 根据权利要求1或2所述的用途,其中所述反义寡聚体包含选自SEQ ID NO:103-374的序列。

16. 根据权利要求1所述的用途,其中所述疾病或病症选自:血栓性血小板减少性紫癜、复合型结节性硬化症、多囊肾病、家族性自主神经功能异常、10型视网膜色素变性、11型视网膜色素变性、囊性纤维化、视网膜母细胞瘤、家族性腺瘤性息肉病、蛋白S缺陷症、 β 地中海贫血和镰状细胞病。

17. 根据权利要求1所述的用途,其中所述功能性靶蛋白或所述功能靶RNA和所述RIC前mRNA由选自ADAMTS13、TSC1、PKD1、IKBKAP、IMPDH1、PRPF31、CFTR、RB1、HBG1、HBG2和HBB的基因编码。

18. 根据权利要求1或2所述的用途,其中在位于所述5'剪接位点侧翼的外显子的-3e至-1e和所述保留内含子的+1至+6处的核苷酸与相应的野生型相应位置的核苷酸相同。

19. 根据权利要求1或2所述的用途,其中在所述保留内含子的-15至-1和位于所述3'剪接位点侧翼的外显子的+1e处的核苷酸与相应的野生型相应位置的核苷酸相同。

20. 根据权利要求1或2所述的用途,其中所述细胞与所述反义寡核苷酸在离体情况下相接触。

21. 根据权利要求1或2所述的用途,其中所述反义寡聚体通过玻璃体内注射、鞘内注射、腹膜内注射、皮下注射或静脉内注射来施用于所述受试者。

22. 根据权利要求1或2所述的用途,其中所述反义寡聚体进一步配置为药物组合物。

23. 根据权利要求22所述的用途,其中所述药物组合物还包含药学上可接受的赋形剂或载体。

核基因输出的定向增加

[0001] 交叉引用

[0002] 本申请要求2014年10月3日提交的第62/059,847号美国临时申请的权益,该申请通过引用并入本文。

背景技术

[0003] 一些遗传病由单倍性不足而引起,其中仅存在基因的一个功能性拷贝,并且该单个拷贝无法产生足够的基因产物。例如,这可由半合子缺失而引起,其中该基因的一个拷贝丢失。其他遗传病则由改变基因产物使其仅具有部分功能的突变而引起。

发明内容

[0004] 如本文所述,可使用反义寡聚体(ASO),通过促进在含内含子的基因的内含子剪接位点处的组成性剪接(采用野生型序列)以增加基因产物的表达,来增加蛋白质或功能RNA(在非蛋白质编码基因的情况下)的产生量。针对用于这些方法而描述的ASO促进组成性剪接且不校正由突变导致的异常剪接,或促进组成性剪接且不调节其它剪接。因此,本文所述的方法可用来治疗由基因产物的表达减少或活性不足所导致的病况。

[0005] 本文描述了增加在细胞中表达由前mRNA编码的靶蛋白的方法,该前mRNA包含至少一个保留内含子(RIC前mRNA);保留内含子是当一个或多个其他内含子被剪接掉(去除)时仍然存在的内含子。靶蛋白的表达依赖于细胞核的前mRNA中全部内含子的完全剪接(去除)以生成成熟mRNA,成熟mRNA随后输出到细胞质并翻译为靶蛋白。内含子的未充分剪接(去除)导致含保留内含子(RIC)的前mRNA主要蓄积在细胞核中,并且如果被输出到细胞质则其降解,使得RIC前mRNA未翻译为靶蛋白。用本文方法所述的反义寡聚体(ASO)处理可以促进将保留内含子从前mRNA转录物(包含一个或多个内含子的前mRNA种类)上剪接,以及导致mRNA的增加,该增加的mRNA得到翻译以提供更高水平的靶蛋白。

[0006] 在实施方案中,所述方法是增加具有含保留内含子的前mRNA(RIC前mRNA)的细胞表达靶蛋白或功能RNA的方法,该RIC前mRNA包含保留内含子、位于保留内含子的5'剪接位点侧翼的外显子、位于保留内含子的3'剪接位点侧翼的外显子,并且其中该RIC前mRNA编码该靶蛋白或功能RNA。在实施方案中,该方法包括使所述细胞与同编码靶蛋白或功能RNA的RIC前mRNA的靶向部分互补的ASO相接触,借此将保留内含子从编码靶蛋白或功能RNA的RIC前mRNA中组成性剪接,从而增加编码靶蛋白或功能RNA的mRNA的水平,以及增加该细胞中靶蛋白或功能RNA的表达。在实施方案中,所述细胞在受试者中或来自受试者,并且所述方法是治疗该受试者以增加该受试者的细胞表达靶蛋白或功能RNA的方法。在实施方案中,所述细胞在具有由靶蛋白的量或活性缺陷或功能RNA的量或活性缺陷引起的病况的受试者中,或来自该受试者。在实施方案中,该靶蛋白或该功能RNA是补偿蛋白或补偿功能RNA,其功能性地增加或代替在受试者中的量或活性缺陷的靶蛋白或功能RNA。

[0007] 在实施方案中,由靶蛋白的量或活性缺陷或功能RNA的量或活性缺陷引起的病况并非由ASO所靶向的保留内含子的其它剪接或异常剪接而引起的病况。在实施方案中,由靶

蛋白的量或活性缺陷或功能RNA的量或活性缺陷引起的病况并非由在编码该靶蛋白或功能RNA的RIC前mRNA中的任何保留内含子的其它剪接或异常剪接而引起的病况。

[0008] 在实施方案中,靶蛋白的量的缺陷由该靶蛋白的单倍性不足所导致,其中该受试者具有编码功能性靶蛋白的第一等位基因,以及不产生该靶蛋白的第二等位基因,或编码非功能性靶蛋白的第二等位基因,并且其中所述反义寡聚体与由第一等位基因所转录的RIC前mRNA的靶向部分结合。

[0009] 在其他实施方案中,受试者具有由常染色体隐性病症引起的病况,该常染色体隐性病症由靶蛋白的量或功能缺陷导致,其中该受试者具有a) 第一突变体等位基因,由其i) 产生靶蛋白的水平与由野生型等位基因产生相比降低,ii) 产生与对应的野生型蛋白相比功能降低的形式的靶蛋白,或iii) 不产生靶蛋白,以及b) 第二突变体等位基因,由其i) 产生靶蛋白的水平与由野生型等位基因产生相比降低,ii) 产生与对应的野生型蛋白相比功能降低的形式的靶蛋白,或iii) 不产生靶蛋白,并且其中RIC前mRNA由该第一等位基因和/或该第二等位基因转录。在实施方案中,与对应的野生型蛋白相比,以降低的水平产生功能降低的形式的靶蛋白。

[0010] 在实施方案中,与对应的野生型蛋白相比,产生功能降低的形式的靶蛋白。在其他实施方案中,与对应的野生型蛋白相比,产生完全功能性形式的靶蛋白。

[0011] 在实施方案中,功能RNA的量的缺陷由该功能RNA的单倍性不足所导致,其中受试者具有编码功能性的功能RNA的第一等位基因,以及不产生该功能RNA的第二等位基因,或编码非功能性的功能RNA的第二等位基因,并且其中所述反义寡聚体与由该第一等位基因所转录的RIC前mRNA的靶向部分结合。

[0012] 在其他实施方案中,受试者具有由常染色体隐性病症引起的病况,该常染色体隐性病症由功能RNA的量或功能缺陷导致,其中该受试者具有a) 第一突变体等位基因,由其i) 产生功能RNA的水平与由野生型等位基因产生相比降低,ii) 产生与对应的野生型蛋白相比功能降低的形式的功能RNA,或iii) 不产生功能RNA,以及b) 第二突变体等位基因,由其i) 产生功能RNA的水平与由野生型等位基因产生相比降低,ii) 产生与对应的野生型蛋白相比功能降低的形式的功能RNA,或iii) 不产生功能RNA,并且其中RIC前mRNA由该第一等位基因和/或该第二等位基因转录。在实施方案中,与对应的野生型功能RNA相比,以降低的水平产生功能降低的形式的功能RNA。

[0013] 在实施方案中,产生与对应的野生型蛋白相比功能降低的形式的功能RNA。在其他实施方案中,产生与对应的野生型蛋白相比为完全功能性形式的功能RNA。

[0014] 在实施方案中,RIC前mRNA的靶向部分在保留内含子中相对于该保留内含子的5'剪接位点的+6区域至相对于该保留内含子的3'剪接位点的-16区域之内。在实施方案中,RIC前mRNA的靶向部分在保留内含子中相对于该保留内含子的5'剪接位点的+6至+100区域内;或在相对于该保留内含子的3'剪接位点的-16至-100区域内。在实施方案中,RIC前mRNA的靶向部分在位于该保留内含子的5'剪接位点侧翼的外显子中的+2e至-4e区域内;或在位于该保留内含子的3'剪接位点侧翼的外显子中的+2e至-4e区域内。

[0015] 在实施方案中,所述反义寡聚体并不是通过调节由编码功能RNA或靶蛋白的基因转录的前mRNA的其它剪接来增加该靶蛋白或该功能RNA的量。在实施方案中,该反义寡聚体并不是通过调节由编码靶蛋白或功能RNA的基因的突变所导致的异常剪接来增加该靶蛋白

或该功能RNA的量。

[0016] 在实施方案中,所述RIC前mRNA由全长前mRNA的部分剪接或野生型前mRNA的部分剪接所产生。在实施方案中,编码靶蛋白或功能RNA的mRNA是全长成熟mRNA或野生型成熟mRNA。在实施方案中,所产生的靶蛋白是全长蛋白或野生型蛋白。在实施方案中,所产生的功能RNA是全长功能RNA或野生型功能RNA。

[0017] 在实施方案中,与编码在对照细胞中所产生的靶蛋白或功能RNA的mRNA的总量或成熟mRNA的总量相比,编码在与所述反义寡聚体相接触的细胞中所产生的靶蛋白或功能RNA的mRNA的总量或成熟mRNA的总量增加至约1.1至约10倍、约1.5至约10倍、约2至约10倍、约3至约10倍、约4至约10倍、约1.1至约5倍、约1.1至约6倍、约1.1至约7倍、约1.1至约8倍、约1.1至约9倍、约2至约5倍、约2至约6倍、约2至约7倍、约2至约8倍、约2至约9倍、约3至约6倍、约3至约7倍、约3至约8倍、约3至约9倍、约4至约7倍、约4至约8倍、约4至约9倍,至少约1.1倍、至少约1.5倍、至少约2倍、至少约2.5倍、至少约3倍、至少约3.5倍、至少约4倍、至少约5倍或至少约10倍。

[0018] 在实施方案中,与编码在对照细胞中所产生的靶蛋白或功能RNA的mRNA的总量相比,编码在与所述反义寡聚体相接触的细胞中所产生的靶蛋白或功能RNA的mRNA的总量增加至约1.1至约10倍、约1.5至约10倍、约2至约10倍、约3至约10倍、约4至约10倍、约1.1至约5倍、约1.1至约6倍、约1.1至约7倍、约1.1至约8倍、约1.1至约9倍、约2至约5倍、约2至约6倍、约2至约7倍、约2至约8倍、约2至约9倍、约3至约6倍、约3至约7倍、约3至约8倍、约3至约9倍、约4至约7倍、约4至约8倍、约4至约9倍,至少约1.1倍、至少约1.5倍、至少约2倍、至少约2.5倍、至少约3倍、至少约3.5倍、至少约4倍、至少约5倍或至少约10倍。

[0019] 在实施方案中,与编码在对照细胞中所产生的靶蛋白或功能RNA的成熟mRNA的总量相比,编码在与所述反义寡聚体相接触的细胞中所产生的靶蛋白或功能RNA的成熟mRNA的总量增加至约1.1至约10倍、约1.5至约10倍、约2至约10倍、约3至约10倍、约4至约10倍、约1.1至约5倍、约1.1至约6倍、约1.1至约7倍、约1.1至约8倍、约1.1至约9倍、约2至约5倍、约2至约6倍、约2至约7倍、约2至约8倍、约2至约9倍、约3至约6倍、约3至约7倍、约3至约8倍、约3至约9倍、约4至约7倍、约4至约8倍、约4至约9倍,至少约1.1倍、至少约1.5倍、至少约2倍、至少约2.5倍、至少约3倍、至少约3.5倍、至少约4倍、至少约5倍或至少约10倍。

[0020] 在实施方案中,与对照细胞所产生的靶蛋白或功能RNA的量相比,与所述反义寡聚体相接触的细胞所产生的靶蛋白或功能RNA的总量增加至约1.1至约10倍、约1.5至约10倍、约2至约10倍、约3至约10倍、约4至约10倍、约1.1至约5倍、约1.1至约6倍、约1.1至约7倍、约1.1至约8倍、约1.1至约9倍、约2至约5倍、约2至约6倍、约2至约7倍、约2至约8倍、约2至约9倍、约3至约6倍、约3至约7倍、约3至约8倍、约3至约9倍、约4至约7倍、约4至约8倍、约4至约9倍,至少约1.1倍、至少约1.5倍、至少约2倍、至少约2.5倍、至少约3倍、至少约3.5倍、至少约4倍、至少约5倍或至少约10倍。

[0021] 在实施方案中,所述方法包括使具有RIC前mRNA的细胞与包含主链修饰的反义寡聚体接触,该主链修饰包含硫代磷酸酯键或磷二酰胺键。在实施方案中,该反义寡聚体包含磷二酰胺吗啉基(PMO)、锁定核酸(LNA)、肽核酸(PNA)、2'-O-甲基、2'-氟或2'-O-甲氧乙基部分。在实施方案中,该反义寡聚体包含至少一个经修饰的糖部分。在相关的实施方案中,每一个糖部分均为经修饰的糖部分。

[0022] 在实施方案中,所述反义寡聚体由8至50个核碱基组成。在实施方案中,该反义寡聚体由8至40个核碱基、8至35个核碱基、8至30个核碱基、8至25个核碱基、8至20个核碱基、8至15个核碱基、9至50个核碱基、9至40个核碱基、9至35个核碱基、9至30个核碱基、9至25个核碱基、9至20个核碱基、9至15个核碱基、10至50个核碱基、10至40个核碱基、10至35个核碱基、10至30个核碱基、10至25个核碱基、10至20个核碱基、10至15个核碱基、11至50个核碱基、11至40个核碱基、11至35个核碱基、11至30个核碱基、11至25个核碱基、11至20个核碱基、11至15个核碱基、12至50个核碱基、12至40个核碱基、12至35个核碱基、12至30个核碱基、12至25个核碱基、12至20个核碱基或12至15个核碱基组成。在实施方案中,该反义寡聚体与编码所述蛋白质的RIC前mRNA的靶向部分至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%互补。

[0023] 在任何前述方法中,所述细胞可包含由编码靶蛋白或功能RNA的基因所转录的一群RIC前mRNA,其中该群RIC前mRNA包含两个或更多个保留内含子,并且其中所述反义寡聚体与该群RIC前mRNA中最丰富的保留内含子结合。在这些实施方案中,该反义寡聚体与最丰富的保留内含子的结合可诱导所述两个或更多个保留内含子从该群RIC前mRNA中剪接掉,以产生编码该靶蛋白或功能RNA的mRNA。

[0024] 在其他实施方案中,所述细胞包含由编码靶蛋白或功能RNA的基因所转录的一群RIC前mRNA,其中该群RIC前mRNA包含两个或更多个保留内含子,并且其中所述反义寡聚体与该群RIC前mRNA中第二丰富的保留内含子结合。在这些实施方案中,该反义寡聚体与第二丰富的保留内含子的结合可诱导所述两个或更多个保留内含子从该群RIC前mRNA中剪接掉,以产生编码该靶蛋白或功能RNA的mRNA。

[0025] 在前述方法中,所述病况可以是疾病或病症。在这些实施方案中,该疾病或病症可选自:血栓性血小板减少性紫癜、复合型结节性硬化症、多囊肾病、家族性自主神经功能异常、10型视网膜色素变性、11型视网膜色素变性、囊性纤维化、视网膜母细胞瘤、家族性腺瘤性息肉病、蛋白S缺陷症、B地中海贫血和镰状细胞病。在相关的实施方案中,所述靶蛋白和RIC前mRNA由选自ADAMTS13、TSC1、PKD1、IKBKAP、IMPDH1、PRPF31、CFTR、RB1、APC、PROS1、NEDD4L、HBG1、HBG2和HBB的基因编码。在实施方案中,所述反义寡聚体可与选自SEQ ID NO: 1-102的RIC前mRNA的一部分结合。

[0026] 在实施方案中,任何前述方法进一步包括评估蛋白质表达。

[0027] 在一些实施方案中,所述受试者是人。在其他实施方案中,该受试者是非人类动物。在实施方案中,所述反义寡聚体通过受试者的玻璃体内注射、鞘内注射、腹膜内注射、皮下注射或静脉内注射来施用。在实施方案中,所述细胞是离体的。

[0028] 在实施方案中,在位于5'剪接位点侧翼的外显子的-3e至-1e和保留内含子的+1至+6处的9个核苷酸与相应的野生型序列相同。在实施方案中,在保留内含子的-15至-1和位于3'剪接位点侧翼的外显子的+1e处的16个核苷酸与相应的野生型序列相同。

[0029] 本文描述了包含用于本文所述方法的反义寡聚体的组合物。还描述了包含该反义寡聚体和赋形剂的药物组合物。在实施方案中,包含该反义寡聚体的组合物意在用于增加细胞表达靶蛋白或功能RNA的方法中,以治疗受试者中与缺陷蛋白质或缺陷功能RNA相关的病况,其中该缺陷蛋白质或缺陷功能RNA是该受试者中量或活性的缺陷,其中该反义寡聚体增强编码靶蛋白或功能RNA的含保留内含子的前mRNA (RIC前mRNA) 的组成性剪接,其中该靶

蛋白为：(a) 所述缺陷蛋白质；或 (b) 在功能上增加或代替该受试者中的缺陷蛋白质的补偿蛋白；并且其中该功能RNA为：(a) 所述缺陷RNA；或 (b) 在功能上增加或代替该受试者中的缺陷功能RNA的补偿功能RNA；其中该RIC前mRNA包含保留内含子，位于5' 剪接位点侧翼的外显子，以及位于3' 剪接位点侧翼的外显子，并且其中将该保留内含子从编码该靶蛋白或该功能RNA的RIC前mRNA中剪接，从而增加该受试者中靶蛋白或功能RNA的产生量或活性。

[0030] 在实施方案中，包含所述反义寡聚体的组合物意在用于治疗受试者中与靶蛋白或功能RNA相关的疾病或病症的方法，该方法包括增加该受试者的细胞表达该靶蛋白或功能RNA的步骤，其中该细胞具有含保留内含子的前mRNA (RIC前mRNA)，该RIC前mRNA包含保留内含子，位于该保留内含子的5' 剪接位点侧翼的外显子，位于该保留内含子的3' 剪接位点侧翼的外显子，并且其中该RIC前mRNA编码该靶蛋白或功能RNA，该方法包括使所述细胞与反义寡聚体相接触，借此将该保留内含子从编码该靶蛋白或功能RNA的RIC前mRNA转录物中组成性剪接，从而增加该受试者的细胞中编码该靶蛋白或功能RNA的mRNA的水平，并且增加该受试者的细胞中该靶蛋白或功能RNA的表达。

[0031] 在实施方案中，所述包含反义寡聚体的组合物意在用于治疗受试者中由靶蛋白或功能RNA的量或活性缺陷所导致的病况的方法。在实施方案中，该病况是疾病或病症。在实施方案中，该疾病或病症选自：血栓性血小板减少性紫癜、复合型结节性硬化症、多囊肾病、家族性自主神经功能异常、10型视网膜色素变性、11型视网膜色素变性、囊性纤维化、视网膜母细胞瘤、家族性腺瘤性息肉病、蛋白S缺陷症、 β 地中海贫血和镰状细胞病。在实施方案中，该组合物意在用于一种方法，其中靶蛋白和RIC前mRNA由选自ADAMTS13、TSC1、PKD1、IKBKAP、IMPDH1、PRPF31、CFTR、RB1、APC、PROS1、NEDD4L、HBG1、HBG2和HBB的基因编码。

[0032] 在实施方案中，所述组合物的反义寡聚体靶向RIC前mRNA的一部分，该部分在保留内含子中相对于该保留内含子的5' 剪接位点的+6区域至相对于该保留内含子的3' 剪接位点的-16区域内。在实施方案中，该组合物的反义寡聚体靶向RIC前mRNA的一部分，该部分在保留内含子中相对于该保留内含子的5' 剪接位点的+6至+100区域内；或在相对于该保留内含子的3' 剪接位点的-16至-100区域内。在实施方案中，所述反义寡聚体靶向RIC前mRNA的一部分，该部分在所述至少一个保留内含子的5' 剪接位点下游约100个核苷酸至所述至少一个保留内含子的3' 剪接位点上游约100个核苷酸的区域内。在实施方案中，所述RIC前mRNA的靶向部分在位于该保留内含子的5' 剪接位点侧翼的外显子中的+2e至-4e区域内；或在位于该保留内含子的3' 剪接位点侧翼的外显子中的+2e至-4e区域内。

[0033] 在实施方案中，所述组合物的或如本文所述方法中所用的反义寡聚体并不是通过调节由编码靶蛋白或功能RNA的基因所转录的前mRNA的其它剪接来增加该靶蛋白或功能RNA的量。在实施方案中，所述组合物的或如本文所述方法中所用的反义寡聚体并不是通过调节由编码靶蛋白或功能RNA的基因的突变导致的异常剪接来增加该靶蛋白或功能RNA的量。

[0034] 在实施方案中，所述RIC前mRNA由全长前mRNA或野生型前mRNA的部分剪接而产生。在实施方案中，编码靶蛋白或功能RNA的mRNA是全长成熟mRNA或野生型成熟mRNA。在实施方案中，所产生的靶蛋白是全长蛋白或野生型蛋白。在实施方案中，所产生的功能RNA是全长功能RNA或野生型功能RNA。

[0035] 在实施方案中，所述保留内含子为限速内含子。在实施方案中，该保留内含子为所

述RIC前mRNA中最丰富的内含子。在实施方案中,该保留内含子为所述RIC前mRNA中第二丰富的内含子。

[0036] 在实施方案中,所述组合物的或如本文所述方法中所用的反义寡聚体包含主链修饰,该主链修饰包含硫代磷酸酯键或磷二酰胺键。在实施方案中,该反义寡聚体为反义寡核苷酸。

[0037] 在实施方案中,该反义寡聚体包含磷二酰胺吗啉基、锁定核酸、肽核酸、2'-O-甲基、2'-氟或2'-O-甲氧乙基部分。在实施方案中,该反义寡聚体包含至少一个经修饰的糖部分。在相关的实施方案中,每一个糖部分均为经修饰的糖部分。

[0038] 该反义寡聚体可由8至50个核碱基组成。在实施方案中,反义寡聚体由8至40个核碱基、8至35个核碱基、8至30个核碱基、8至25个核碱基、8至20个核碱基、8至15个核碱基、9至50个核碱基、9至40个核碱基、9至35个核碱基、9至30个核碱基、9至25个核碱基、9至20个核碱基、9至15个核碱基、10至50个核碱基、10至40个核碱基、10至35个核碱基、10至30个核碱基、10至25个核碱基、10至20个核碱基、10至15个核碱基、11至50个核碱基、11至40个核碱基、11至35个核碱基、11至30个核碱基、11至25个核碱基、11至20个核碱基、11至15个核碱基、12至50个核碱基、12至40个核碱基、12至35个核碱基、12至30个核碱基、12至25个核碱基、12至20个核碱基或12至15个核碱基组成。

[0039] 在实施方案中,该反义寡聚体与编码所述蛋白质的RIC前mRNA的靶向部分至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%互补。在实施方案中,该反义寡聚体与选自SEQ ID NO:1-102的RIC前mRNA的一部分结合。

[0040] 在实施方案中,该反义寡聚体被包含在包含赋形剂的药物组合物中。

[0041] 本文描述了从每一个均与编码靶蛋白或功能RNA的RIC前mRNA的靶区域杂交的一组反义寡聚体中鉴定反义寡聚体的方法,该反义寡聚体通过诱导保留内含子从所述RIC前mRNA中组成性剪接来增加编码该靶蛋白或功能RNA的mRNA的量,其中所述RIC前mRNA包含至少一个保留内含子,其中该组中的反义寡聚体以每1至5个核苷酸进行平铺(tile),并且其中该组中的反义寡聚体与在以下序列内的RIC前mRNA杂交,该序列在:所述至少一个保留内含子的5'剪接位点上游约100个核苷酸至所述至少一个保留内含子的5'剪接位点下游约100个核苷酸;或所述至少一个保留内含子的3'剪接位点上游约100个核苷酸至所述至少一个保留内含子的3'剪接位点下游约100个核苷酸;所述方法包括:a)将该组中的第一反义寡聚体递送至包含该RIC前mRNA的细胞;b)在第一反义寡聚体所递送到的细胞中测量RIC前mRNA的量和测量编码该靶蛋白或功能RNA的mRNA的量;c)在对照细胞中测量RIC前mRNA的量和测量编码靶蛋白或功能RNA的mRNA的量;以及d)比较在b和c中所测得的RIC前mRNA和编码靶蛋白或功能RNA的mRNA的量;其中根据与对照细胞相比,在第一反义寡聚体所递送到的细胞中观察到RIC前mRNA的量减少和观察到编码靶蛋白或功能RNA的mRNA的量增加,将第一反义寡聚体鉴定为通过诱导所述至少一种保留内含子从RIC前mRNA中组成性剪接而增加编码该靶蛋白或功能RNA的mRNA的量的反义寡聚体;以及根据需要采用该组反义寡聚体中另外的反义寡聚体来重复步骤a到d,以鉴定通过诱导保留内含子从RIC前mRNA中组成性剪接而增加细胞中来自基因的mRNA的量的反义寡聚体。

[0042] 本文还描述了鉴定用于治疗病况的反义寡聚体(ASO)的方法,其中该病况由基因产物的产生量不足所导致,该方法包括:鉴定来自具有该病况的受试者的细胞核中至少一

种RIC前mRNA的存在,其中该RIC前mRNA包含至少一个保留内含子且由编码该基因产物的基因转录,并且其中所鉴定的RIC前mRNA在完全剪接为成熟mRNA时编码完全功能性或部分功能性形式的基因产物;a)制备每一个均与所述至少一个RIC前mRNA的靶区域杂交的一组ASO,其中该组中的反义寡聚体以每1至5个核苷酸进行平铺,并且其中该组中的反义寡聚体与在以下序列内的至少一种RIC前mRNA杂交,该序列在:所述至少一个保留内含子的5'剪接位点上游约100个核苷酸至所述至少一个保留内含子的5'剪接位点下游约100个核苷酸;或所述至少一个保留内含子的3'剪接位点上游约100个核苷酸至所述至少一个保留内含子的3'剪接位点下游约100个核苷酸;b)将该组ASO中的第一ASO递送至包含所述至少一个RIC前mRNA的细胞;c)在第一反义寡聚体所递送到的细胞中测量RIC前mRNA的量和测量编码该基因产物的mRNA的量;d)在对照细胞中测量RIC前mRNA的量和测量编码该基因产物的mRNA的量;以及e)比较步骤c和d中得到的值;其中根据与对照细胞相比,在第一反义寡聚体所递送到的细胞中观察到RIC前mRNA的量减少和观察到编码该基因产物的mRNA的量增加,将第一反义寡聚体鉴定为通过诱导所述至少一种保留内含子从RIC前mRNA中组成性剪接而增加编码该基因产物的mRNA的量的反义寡聚体;以及根据需要采用该组反义寡聚体中另外的反义寡聚体来重复步骤a到e,以鉴定通过诱导保留内含子从RIC前mRNA中组成性剪接而增加编码细胞中来自基因的基因产物的mRNA的量的反义寡聚体;以及对于通过诱导保留内含子从RIC前mRNA中组成性剪接而增加细胞中编码所述基因产物的mRNA的量的反义寡聚体,进一步测试其增加由细胞产生的基因产物的量的能力。

[0043] 援引并入

[0044] 本说明书中提及的所有出版物、专利和专利申请均通过引用并入本文,其程度如同特别且单独地指出每一个单独的出版物、专利或专利申请通过引用并入。

附图说明

[0045] 并未打算按比例来绘制附图。附图仅是说明性的并且不是实现本发明所需的。出于清楚的目的,可以不将每一个组分都标在每张图中。在所述附图中:

[0046] 图1示出了示例性的含保留内含子(RIC)的前mRNA转录物的示意图。用-3e至-1e和+1至+6(标有“e”的数字是外显子的而未标记的数字是内含子的)的加下划线字母(字母为核苷酸;大写字母:外显子部分,小写字母:内含子部分)指示5'剪接位点共有序列。用-15至-1和+1e(标有“e”的数字是外显子的而未标记的数字是内含子的)的加下划线字母(字母为核苷酸;大写字母:外显子部分,小写字母:内含子部分)指示3'剪接位点共有序列。用于ASO筛选的内含子靶区域包含相对于保留内含子的5'剪接位点(左侧箭头)的+6至相对于保留内含子的3'剪接位点(右侧箭头)的-16的核苷酸。在实施方案中,用于ASO筛选的内含子靶区域包含相对于保留内含子的5'剪接位点的+6至+100和相对于保留内含子的3'剪接位点的-16至-100的核苷酸。外显子靶区域包含位于保留内含子的5'剪接位点侧翼的外显子中的+2e至-4e和位于保留内含子的3'剪接位点侧翼的外显子中的+2e至-4e的核苷酸。“n”或“N”表示任何核苷酸,“y”表示嘧啶。所示出的序列代表哺乳动物剪接位点的共有序列,并且单独的内含子和外显子不需要在每个位置匹配该共有序列。

[0047] 图2A-2B示出了核基因输出定向增加(TANGO)方法的示意图。图2A显示了分为细胞核和细胞质区室的细胞。在细胞核中,由外显子(矩形)和内含子(连接线)组成的靶基因的

前mRNA转录物经历剪接以生成mRNA,并且该mRNA被输出到细胞质并翻译为靶蛋白。对于该靶基因,内含子1的剪接是低效的且含保留内含子(RIC)的前mRNA主要在细胞核中积累,并且如果输出到细胞质则降解,导致无靶蛋白产生。图2B示出了分为细胞核和细胞质区室的相同细胞的实例。用反义寡聚体(ASO)处理促进了内含子1的剪接并导致mRNA的增加,该增加的mRNA继而翻译为更高水平的靶蛋白。

[0048] 图3示出了利用如实施例1所述的RT-PCR筛选7-外显子/6-内含子基因的内含子保留的实例的示意图。编号矩形表示通过表示内含子的线连接的外显子。弓形箭头指示剪接事件。短的水平条表示用来评估内含子保留的引物对。正向引物用“F”指示而反向引物则用“R”指示,即,F1和R1、F2和R2、F3和R3、F4和R4、F5和R5以及F6和R6对。当这样的内含子存在且观察到相邻内含子被剪接掉(去除)时,该内含子被鉴定为保留内含子。

[0049] 图4示出了利用如实施例2所述的RT-PCR筛选以确认7-外显子/6-内含子基因的内含子保留的实例的示意图。编号矩形表示通过表示内含子的线连接的外显子。弓形箭头指示剪接事件。短的水平条表示用来评估内含子保留的引物对。正向引物用“F”标记而反向引物则用“R1”、“R2”或“R3”标记。当这样的内含子存在且观察到一个或多个相邻内含子被剪接掉(去除)时,所述内含子被鉴定为保留内含子。

[0050] 图5示出了测定内含子去除效率的示例性核糖核酸酶保护测定(RPA)的示意图。

[0051] 图6A-6E示出了如实施例1所述鉴定PRPF31和RB1基因中的内含子保留事件。图6A示出了PRPF31基因的示意图,其中编号矩形表示外显子且中间连线表示内含子。正向(“F”)和反向(“R”)引物由短线表示。下面是示出对应于PRPF31中内含子保留事件的RT-PCR产物的代表性凝胶。该产物在1.5%溴化乙锭染色的琼脂糖凝胶中分离。顶部凝胶对应于来自HeLa细胞的细胞核部分的产物,而底部凝胶则对应于来自293T细胞的细胞核部分的产物。星号指示对于内含子保留事件的正确产物(按大小)。图6B示出了RB1基因的示意图,其中编号矩形表示外显子且中间连线表示内含子。下面是显示对应于RB1中内含子保留事件的来自HeLa细胞核提取物的RT-PCR产物的代表性凝胶。该RT-PCR产物在1.5%溴化乙锭染色的琼脂糖凝胶中分离。图6C示出了对应于RB1中内含子保留事件的来自293T细胞核提取物的RT-PCR产物的代表性凝胶。图6D示出了对应于PRPF31和RB1中内含子保留事件的来自ARPE-19细胞核提取物的RT-PCR产物的代表性凝胶。RT-PCR产物在1.5%溴化乙锭染色的琼脂糖凝胶中分离。图6E示出了对应于PRPF31和RB1中内含子保留事件的来自ARPE-19细胞质提取物的RT-PCR产物的代表性凝胶。IVS:间插序列(内含子)。

[0052] 图7A-7B示出了如实施例2所述鉴定PRPF31和RB1基因中的内含子保留事件。图7A示出了对应于PRPF31中内含子保留事件的RT-PCR产物的代表性凝胶。来自Arpe-19细胞核提取物的RT-PCR产物在1.5%溴化乙锭染色的琼脂糖凝胶中分离。图7B示出了对应于RB1中内含子保留事件的RT-PCR产物的代表性凝胶。来自Arpe-19细胞核提取物的RT-PCR产物在1.5%溴化乙锭染色的琼脂糖凝胶中分离。星号指示利用所示引物对针对内含子保留事件的正确产物(按大小)。IVS:间插序列(内含子)。

[0053] 图8A-8C示出了如实施例3所述通过经由剪接位点诱变提升剪接效率而增加的基因表达。图8A示出了HBB报道基因的示意图,其包括表示外显子的编号矩形。绘制标记出内含子-外显子边界的实际HBB剪接位点序列。用星号指示的剪接位点序列内的核苷酸显示通过将剪接位点序列带入共有序列(在HBB剪接位点正下方的序列)的定点诱变而引入的核苷

酸置换的位置。A: IVS1 5' 剪接位点突变体, B: IVS1 3' 剪接位点突变体, C: IVS2 5' 剪接位点突变体, D: IVS2 3' 剪接位点突变体。AB、CD、AC和BD: 组合突变体。图8B示出了野生型 (WT) 和突变HBB报道基因的放射性RT-PCR产物的代表性凝胶。该RT-PCR产物在5%聚丙烯酰胺凝胶中分离。图8C示出了相对于GFP归一化的对应于HBB转录物的条带强度的柱状图。以相对于WT HBB产物的倍数变化进行绘图。黑线指示比率为1, 没有变化。

[0054] 图9A-9C示出了如实施例3所述, 靶向HBB IVS1 5' 剪接位点下游紧邻序列的ASO增加了HBB mRNA。图9A示出了HBB报道基因的示意图。编号矩形表示外显子, 并且中间连线表示内含子。橙色线指示IVS1+6ASO (“+6”), 灰色线指示IVS1+7ASO (“+7”)。黑色线指示在HBB转录物的PCR扩增中使用的正向 (“F”) 和反向 (“R”) 引物。图9B呈现了未处理的 (-)、模拟处理的 (RiM、RNAiMAX或EP、EndoPorter) 或用所示浓度的非靶向 (NT) 或IVS1+7 2'-O-Me (凝胶的左侧部分) 或PMO (凝胶的右侧部分) ASO处理的野生型HBB报道基因的放射性RT-PCR产物的代表性凝胶。该RT-PCR产物在5%聚丙烯酰胺凝胶中分离。图9C示出了相对于GFP归一化的对应于HBB转录物的条带强度的柱状图。以相对于来自模拟处理的细胞的产物的倍数变化进行绘图。绿柱对应于用IVS+7 2'-O-Me ASO处理, 而橙柱对应于用IVS+7PMO ASO处理。黑线指示比率为1, 没有变化。

[0055] 图10A-10C示出了如实施例4所述, 靶向HBB IVS1 5' 剪接位点下游紧邻序列的IVS1+7 2'-O-Me ASO增加了GFP-HBB-T7蛋白水平。图10A示出了已整合在U2OS细胞的基因组中的GFP-HBB-T7报道基因的示意图。标有“GFP”的矩形表示GFP的开放读框, 编号矩形表示HBB外显子, 中间连线表示内含子, 而标有“T7”的矩形表示编码T7标签的序列。标有“+7”的线指示IVS1+7ASO。图10B呈现了模拟处理的 (RiM、RNAiMAX) 或用浓度为50nM的IVS1+7 2'-O-Me ASO处理的野生型GFP-HBB-T7报道基因的蛋白质产物的代表性凝胶。该蛋白质产物在4-20% SDS-聚丙烯酰胺凝胶上分离。采用抗GFP和 β 微管蛋白的抗体来检测蛋白质产物。图10C示出了来自两个生物复制品的相对于 β 微管蛋白归一化的对应于GFP-HBB-T7蛋白的条带强度的柱状图。以相对于来自模拟处理的细胞的产物的倍数变化进行绘图。黑线指示比率为1, 没有变化。

[0056] 图11示出了如实施例5所述, 在UCSC基因组浏览器中所显现的, 利用RNA测序 (RNAseq) 鉴定ADAMTS13基因中的内含子保留事件。顶部图幅 (panel) 示出了对应于在THLE-3 (人肝上皮) 细胞中表达且位于细胞质 (顶部) 或细胞核部分 (底部) 中的ADAMTS13转录物的读数密度。在该幅图的底部, 按比例示出了ADAMTS13基因的所有参考序列 (refseq.) 同种型的图示。读数密度显示为峰。最高的读数密度对应于外显子 (黑框), 而对于任一细胞部分中的大多数内含子 (带箭头的线) 均未观察到读数。与细胞质部分相比, 对于细胞核部分中的内含子25和27检测到较高的读数密度 (箭头所指), 这表明内含子25和27的剪接效率低, 导致了内含子保留。含保留内含子的前mRNA转录物保留在细胞核中而不向外输出到细胞质中。底部的图片详细地示出了对于THLE-3细胞中的内含子25的读数密度。

[0057] 图12示出了如实施例6所述, 经由放射性RT-PCR验证生物信息学分析。图12描绘了验证图11所示生物信息学预测的放射性RT-PCR测定的示意图。编号矩形表示外显子, 并且中间连线表示内含子。黑线指示在ADAMTS-13转录物的PCR扩增中使用的正向 (“F1”) 和反向 (“R1”) 引物, 其产生两种产物: 内含子25保留的 (652bp) 和正确剪接的 (187bp) 产物。下方示出在5%聚丙烯酰胺凝胶中分离的来自A172 (成胶质细胞瘤, 左侧) 和HepG2 (肝细胞癌, 右

侧) 细胞的细胞核和细胞质部分的放射性RT-PCR产物的代表性凝胶。星号指示正确的产物(按大小)。结果显示了对应于两个细胞系的细胞核部分中的内含子25保留的产物的条带, 该产物不存在于两个细胞质部分中。右侧表格中则示出了根据放射性RT-PCR和RNAseq实验按内含子保留百分比(PIR) 计算的ADAMTS13内含子25保留的量化总结。

[0058] 图13示出了如实施例7所述, 利用2'-O-Me ASO (PS主链), 针对5' 剪接位点下游紧邻或3' 剪接位点上游紧邻的ADAMTS13 IVS 25靶向序列进行的ASO步移(walk) 的图示。将ASO设计为通过一次移位5个核苷酸来覆盖这些区域。按比例绘制外显子24至29和内含子序列。

[0059] 图14描绘了如实施例8所述的靶向内含子25的ASO步移的结果。在顶部, 代表性凝胶示出了HepG2细胞中用浓度为60nM的模拟处理的(-, 仅RNAiMAX)、经SMN-对照ASO处理的或如图13所述靶向内含子25的2'-O-Me ASO处理的ADAMTS13的放射性RT-PCR产物。来自3个独立实验的相对于β肌动蛋白归一化的对应于ADAMTS13产物的条带的量化以相对于SMN-对照-ASO处理的产物的倍数变化绘制在下面的柱状图中。黑线指示比率为1, 没有变化。星号指示导致mRNA水平增加最多的ASO。

[0060] 图15示出了如实施例9所述, ADAM-IVS25+21、ADAM-IVS25+26 (两种最佳靶向ASO) 以及ADAM-IVS-46 (一种导致ADAMTS13转录物减少的ASO) 的剂量-响应曲线。在顶部图幅中, 代表性凝胶显示了来自模拟处理的、所示浓度的SMN-对照、ADAM-IVS25+21、ADAM-IVS25+26或ADAM-IVS-46处理的HepG2细胞的放射性RT-PCR ADAMTS13产物。该RT-PCR产物在5%聚丙烯酰胺凝胶中分离。相对于β肌动蛋白归一化的对应于ADAMTS13产物的条带的量化以相对于模拟处理的产物的倍数变化绘制在下面的柱状图中。黑线指示比率为1, 没有变化。

[0061] 图16图示了如实施例10所述, 用ADAM-IVS25+21和ADAM-IVS25+26ASO处理HepG2细胞而导致的ADAMTS13蛋白的增加。在顶部图幅中, 代表性凝胶显示了来自模拟处理的、所示浓度的ADAM-IVS25+21或ADAM-IVS25+26处理的HepG2细胞的ADAMTS13蛋白产物。该蛋白质产物在8%SDS-聚丙烯酰胺凝胶上分离。采用抗ADAMTS-13和α微管蛋白的抗体来检测蛋白质产物。下方的柱状图示出了相对于α微管蛋白归一化的对应于来自ADAM-IVS25+21处理的细胞的ADAMTS-13蛋白水平的条带强度的量化。以相对于来自模拟处理的细胞的产物的倍数变化进行绘图。黑线指示比率为1, 没有变化。ADAM-IVS25+21以剂量依赖性的方式增加ADAMTS13蛋白产物。

[0062] 图17示出了如实施例11所述, 利用2'-O-Me、5'-Me-胞嘧啶ASO, 针对在ADAM-IVS25+21和ADAM-IVS25+26ASO的区域中的ADAMTS13 IVS 25靶向序列进行的ASO微步移(microwalk) 的图示。将ASO设计为通过一次移位1个核苷酸来覆盖该区域。按比例绘制外显子24至29和内含子序列。

[0063] 图18描绘了如实施例12所述, 靶向内含子25中ADAM-IVS25+21和ADAM-IVS25+26区域的ASO微步移的结果。在顶部, 代表性凝胶示出了HepG2中用浓度为60nM的模拟处理的(-)、经SMN-对照ASO处理的或2'-O-Me、5'-Me-胞嘧啶ASO (如图17描述) 处理的ADAMTS13的放射性RT-PCR产物。来自2个独立实验的相对于β肌动蛋白归一化的对应于ADAMTS13产物的条带的量化以相对于模拟处理的产物的倍数变化绘制在下方的柱状图中。黑线指示比率为1, 没有变化。两个淡灰色的柱指示图14和图15中描述的IVS25 2'-O-Me ASO ADAM-IVS25+21和ADAM-IVS25+26。

[0064] 图19示出了如实施例13所述,在UCSC基因组浏览器中显现的,利用RNA测序(RNAseq)来鉴定TSC1基因中的内含子保留事件。顶部图幅示出了对应于在HCN(原代人皮质神经元)细胞中表达且位于细胞质(顶部)或细胞核部分(底部)中的TSC1转录物的读数密度。在该幅图的底部,按比例示出了TSC1基因的所有参考序列同种型的图示。读数密度显示为峰。最高的读数密度对应于外显子(黑框),而对于任一细胞部分中的大多数内含子(带箭头的线)均未观察到读数。与细胞质部分相比,对于细胞核部分中的内含子5、10和11检测到较高的读数密度(箭头所指),这表明内含子5、10和11的剪接效率低,导致了内含子保留。含保留内含子的前mRNA转录物保留在细胞核中而不向外输出到细胞质中。在底部图片中则详细示出了对于HCN细胞和AST(原代人星形细胞)细胞的内含子10的读数密度。

[0065] 图20示出了如实施例14所述验证图19中所示生物信息学预测的放射性RT-PCR测定的示意图。编号矩形表示外显子,并且中间连线表示内含子。黑线指示在TSC1转录物的PCR扩增中使用的正向(“F1”)和反向(“R1”)引物,其产生两种产物:内含子10保留的(617bp)和正确剪接的(278bp)产物。下方是显示在5%聚丙烯酰胺凝胶中分离的来自A172(成胶质细胞瘤)细胞的细胞核和细胞质部分的放射性RT-PCR产物的代表性凝胶。结果示出了对应于A172细胞的细胞核部分中的内含子10保留的产物的条带,该产物在细胞质部分中显著减少。条带的量化表明约36%的TSC1转录物含有内含子10并且表明该产物保留在细胞核中。此外,如对于ADAMTS13所示,放射性RT-PCR结果验证了生物信息学预测。右侧表格示出了根据放射性RT-PCR和RNAseq实验按内含子保留百分比(PIR)计算的TSC1内含子10保留的量化总结。

[0066] 图21示出了如实施例15所述,利用2'-O-Me ASO(PS主链),针对5'剪接位点下游紧邻或3'剪接位点上游紧邻的TSC1 IVS 10靶向序列进行的ASO步移的图示。将ASO设计为通过一次移位5个核苷酸来覆盖这些区域。按比例绘制TSC1外显子-内含子结构。

[0067] 图22描绘了如实施例16所述的靶向内含子10的ASO步移的结果。在顶部,代表性凝胶示出了A172细胞中用浓度为60nM的模拟处理的(-)、经SMN-对照ASO处理的或如图21所述靶向内含子10的2'-O-Me ASO处理的TSC1的放射性RT-PCR产物。来自2个独立实验的相对于β肌动蛋白归一化的对应于TSC1产物的条带的量化以相对于模拟处理的产物的倍数变化绘制在下方的柱状图中。黑线指示比率为1,没有变化。星号指示导致TSC1 mRNA水平增加的ASO。

[0068] 图23示出了如实施例17所述针对TSC1-IVS10+31ASO的剂量-响应曲线。在顶部图幅中,代表性凝胶示出了来自模拟处理的、所示浓度的SMN-对照或TSC1-IVS10+31处理的A172细胞的放射性RT-PCR TSC1产物。该RT-PCR产物在5%聚丙烯酰胺凝胶中分离。相对于β肌动蛋白归一化的对应于TSC1产物的条带的量化以相对于模拟处理的产物的倍数变化绘制在左下方的柱状图中。相对于模拟处理的产物的相同实验的RT-qPCR结果绘制在右侧柱状图上,以证实放射性RT-PCR结果。黑线指示比率为1,没有变化。

[0069] 图24图示了如实施例18所述,用TSC1-IVS10+31ASO处理A172细胞而导致的TSC1蛋白的增加。在顶部图幅中,代表性凝胶示出了来自模拟处理的、所示浓度的SMN-对照或TSC1-IVS10+31ASO处理的A172细胞的TSC1蛋白产物。该蛋白产物在10%SDS-聚丙烯酰胺凝胶上分离。采用抗TSC1和α微管蛋白的抗体来检测该蛋白产物。下方的柱状图示出了相对α微管蛋白归一化的对应于来自TSC1-IVS10+31处理的细胞的TSC1蛋白的条带强度的量化。

以相对于来自模拟处理的细胞的产物的倍数变化进行绘图。黑线指示比率为1,没有变化。TSC1-IVS10+31增加了TSC1蛋白产物。

[0070] 图25示出了如实施例19所述,在UCSC基因组浏览器中显现的,采用RNA测序(RNAseq)鉴定IMPDH1基因中的内含子保留事件。顶部图幅示出了对应于在ARPE19(人视网膜上皮)细胞中表达且位于细胞质(顶部)或细胞核部分(底部)中的IMPDH1转录物的读数密度。在该幅图的底部,按比例示出了IMPDH1基因的所有参考序列同种型的图示。读数密度显示为峰。最高的读数密度对应于外显子(黑框),而对于任一细胞部分中的大多数内含子(带箭头的线)均未观察到读数。与细胞质部分相比,对于细胞核部分中的内含子14检测到较高的读数密度(箭头所指),这表明内含子14的剪接效率低,导致了内含子保留。含保留内含子的前mRNA转录物保留在细胞核中而未向外输出到细胞质。在底部图片中详细示出了对于ARPE19细胞的内含子14的读数密度。

[0071] 图26示出了使用如实施例20所述的2'-O-Me ASO(PS主链),针对5'剪接位点下游紧邻或3'剪接位点上游紧邻的IMPDH1 IVS 14靶向序列进行的ASO步移的图示。将ASO设计为通过一次移位5个核苷酸来覆盖这些区域,除非在ASO中存在一段四个鸟嘌呤。按比例绘制IMPDH1外显子-内含子结构。

[0072] 图27描绘了如实施例21所述的靶向内含子14的ASO步移的结果。在顶部,代表性凝胶示出了ARPE19细胞中用浓度为60nM的模拟处理的(-)、经SMN-对照ASO处理的或如图21所述靶向内含子14的2'-O-Me ASO处理的IMPDH1的放射性RT-PCR产物。来自2个独立实验的相对于β肌动蛋白归一化的对应于IMPDH1产物的条带量化以相对于模拟处理的产物的倍数变化绘制在下方的柱状图中。黑线指示比率为1,没有变化。星号指示导致IMPDH1 mRNA水平增加最多的ASO。

[0073] 图28示出了如实施例22所述,用所示浓度的IMP-IVS14+48ASO处理ARPE19细胞而导致的IMPDH1基因表达水平以剂量依赖性方式的增加。来自ARPE-19细胞的IMPDH1(内含子14保留的和正确剪接的)和β肌动蛋白的放射性RT-PCR产物在5%聚丙烯酰胺凝胶上分离。左侧柱状图证实了与模拟处理的细胞相比,相对于来自IMP-IVS14+48ASO处理的细胞的总转录物(内含子14保留的和正确剪接的)所计算的内含子保留百分比(PIR)的剂量依赖性减少(两个独立实验)。来自两个独立实验的正确剪接的转录物水平相对于模拟处理的细胞的倍数变化绘制在中间的图中,其示出了IMPDH1转录物水平的剂量依赖性增加。进行RT-qPCR(右侧柱状图)并将所得值相对于β肌动蛋白进行归一化。以四个生物复制品相对于模拟处理的IMPDH1产物的倍数变化进行绘图,确认了放射性RT-PCR结果。

[0074] 图29示出了如实施例23所述,经由ARPE19细胞中所示浓度的IMP-IVS14+48ASO靶向而获得的IMPDH1蛋白水平的增加。来自ARPE-19细胞的蛋白质裂解物在4-20%SDS-聚丙烯酰胺凝胶上分离。采用抗IMPDH1、β肌动蛋白和β连环蛋白的抗体来检测蛋白质产物。将IMPDH1蛋白条带的强度相对于β肌动蛋白条带的强度进行归一化,并计算相对于来自四个生物复制品的模拟处理的产物的倍数变化,并且绘制在下方的柱状图中。

[0075] 图30示出了如实施例24所述,利用2'-O-Me、5'-Me-胞嘧啶ASO,针对IMP-IVS14+48ASO的区域中的IMPDH1 IVS14靶向序列进行的ASO微步移的图示。将ASO设计为通过一次移位1个核苷酸来覆盖该区域。按比例绘制IMPDH1外显子-内含子结构。

[0076] 图31示出了如实施例25所述,如图30所示的微步移导致的MPDH1表达水平的增加。

对从ARPE-19细胞中提取的总RNA进行RT-qPCR,所述总RNA在60nM的ASO浓度下进行处理。将IMPDH1基因的Ct值相对于ct值 β 肌动蛋白(左侧)和RPL32(右侧)管家基因进行归一化,并将相对于来自模拟处理的细胞的产物的倍数变化绘制在柱状图中。该微步移鉴定了进一步增加IMPDH1转录物水平的两种另外的ASO。

[0077] 图32示出了如实施例26所述,在UCSC基因组浏览器中显现的,利用RNA测序(RNAseq)鉴定PKD1基因中的内含子保留事件。顶部图幅示出了对应于在原代人肾上皮细胞(REN)中表达且位于细胞质(顶部)或细胞核部分(底部)中的PKD1转录物的读数密度。在该幅图的底部,按比例示出了PKD1基因的参考序列同种型的图示。读数密度示出为峰。最高的读数密度对应于外显子(黑框),而对于任一细胞部分中的大多数内含子(带箭头的线)均未观察到读数。与细胞质部分相比,对于细胞核部分中的内含子32、33、37和38检测到较高的读数密度(箭头所指),这表明这些内含子的剪接效率低,导致了内含子保留。含保留内含子的前mRNA转录物保留在细胞核中而未向外输出到细胞质中。在底部图片中详细示出了对于REN细胞的内含子37的读数密度。

[0078] 图33示出了如实施例27所述,利用2'-O-Me ASO(PS主链),针对5'剪接位点下游紧邻或3'剪接位点上游紧邻的PKD1 IVS 37靶向序列进行的ASO步移的图示。将ASO设计为通过一次移位5个核苷酸来覆盖这些区域,除非在ASO中存在一段四个鸟嘌呤。按比例绘制PKD1外显子-内含子结构。

[0079] 图34描绘了如实施例28所述的靶向内含子37的ASO步移的结果。在顶部,代表性凝胶示出了HEK293(人胚肾上皮)细胞中用浓度为60nM的模拟处理的(C)、经SMN-对照ASO处理的或如图33所述靶向内含子37的2'-O-Me ASO处理的PKD1的放射性RT-PCR产物。来自2个独立实验的相对于 β 肌动蛋白归一化的对应于PKD1产物的条带量化以相对于模拟处理的产物的倍数变化绘制在下方的柱状图中。黑线指示比率为1,没有变化。星号指示导致PKD1 mRNA水平增加最多的ASO。

[0080] 图35示出了如实施例29所述,利用所示浓度的PKD1-IVS37 ASO处理HEK293细胞而导致的PKD1基因表达水平以剂量依赖性方式的增加。来自HEK293细胞的PKD1(内含子37保留的和正确剪接的)和 β 肌动蛋白的放射性RT-PCR产物在5%聚丙烯酰胺凝胶上分离。左侧柱状图证实了与模拟处理的细胞相比,相对于来自PKD1-IVS37+29ASO处理的细胞的总转录物(内含子37保留的和正确剪接的)所计算的内含子保留百分比(PIR)的剂量依赖性减少(两个独立实验)。来自两个独立实验的正确剪接的转录物水平相对于模拟处理的细胞的倍数变化绘制在中间的图中,其示出了PKD1转录物水平的增加。进行RT-qPCR(右侧柱状图)并将所得值相对于 β 肌动蛋白进行归一化。以四个生物复制品相对于模拟处理的PKD1产物的倍数变化进行绘图,确认了放射性RT-PCR结果并且示出了PKD1转录物水平的剂量依赖性增加。

[0081] 图36示出了如实施例30所述,经由HEK293细胞中所示浓度的PKD1-IVS37+29ASO靶向而获得的PKD1蛋白水平的增加。将HEK293固定和透化处理,并用抗PKD1抗体或IgG同种型对照进行处理。在每一种情况下针对10,000个处理的细胞进行流式细胞术分析,并对荧光强度进行绘图。计算相对于模拟处理的(未转染的)产物的倍数变化并将其绘制在下方的柱状图中,表明用PKD1-IVS37+29ASO处理后PKD1水平的增加。

[0082] 图37A和37B示出了如实施例31所述,在UCSC基因组浏览器中显现的,利用RNA测序

(RNAseq) 鉴定IKBKAP基因中的内含子保留事件。图37A示出了对应于在ARPE19、AST、原代人支气管上皮细胞 (BRON)、HCN、REN和THLE3细胞中表达且位于细胞质 (每一个细胞系的顶部) 或细胞核部分 (每一个细胞系的底部) 中的PKD1转录物的读数密度。在图37A底部, 按比例示出了IKBKAP基因的所有参考序列同种型的图示。读数密度显示为峰。最高的读数密度对应于外显子 (黑框), 而对于任一细胞部分中的大多数内含子 (带箭头的线) 均未观察到读数。与细胞质部分相比, 对于细胞核部分中的内含子7和8检测到较高的读数密度 (箭头所指), 这表明这些内含子的剪接效率低, 导致了内含子保留。图37B示出了含保留内含子的前mRNA转录物保留在细胞核中而未向外输出到细胞质中。图37B中详细显示了对于所有分析的细胞的内含子7和8的读数密度。

[0083] 图38分别示出了如实施例32所述, ARPE-19、HeLa和U2OS细胞系中的IKBKAP内含子7保留水平。从ARPE-19、HeLa和U2OS细胞中提取细胞核和细胞质RNA部分, 并将它们相应的放射性RT-PCR产物在5%聚丙烯酰胺凝胶上分离。编号矩形表示外显子, 并且中间连线表示内含子。结果示出了对应于三种细胞系的细胞核部分中的内含子7保留的产物的条带, 该产物不存在于相应的细胞质部分中。条带的量化表明约35%的IKBKAP转录物含有内含子7并且表明该产物保留在细胞核中。再者, 放射性RT-PCR结果验证了生物信息学预测。右侧表格中显示了根据放射性RT-PCR以及RNAseq实验按相对于总转录物 (内含子7保留的和正确剪接的) 的内含子保留百分比 (PIR) 计算的IKBKAP内含子7保留的量化总结。

[0084] 图39A和图39B示出了如实施例33所述, 利用2'-O-Me ASO (PS主链), 针对5' 剪接位点下游紧邻或3' 剪接位点上游紧邻的IKBKAP IVS7 (图39A) 和IVS8 (图39B) 靶向序列进行的ASO步移的图示。将ASO设计为通过一次移位5个核苷酸来覆盖这些区域。按比例绘制IKBKAP外显子-内含子结构。

[0085] 图40示出了如实施例34所述, 经由如图39所示内含子7 (顶部) 和8 (底部) 的特异性ASO靶向而获得的IKBKAP基因表达水平的增加。从用浓度为60nM的模拟处理的、SMN-对照ASO处理的或每一种ASO处理的ARPE-19细胞中提取细胞质RNA。进行RT-qPCR以测量IKBKAP表达水平, 并将来自IKBKAP的ct值相对于β肌动蛋白产物的相应ct值进行归一化。以相对于模拟物处理产物的倍数变化进行绘图。

[0086] 图41表明如实施例35所述, 在用所示浓度的IKB-IVS7+26或IKB-IVS8-16 ASO或用各为45nM (总计90nM) 的两种ASO的组合处理的细胞中, IKBKAP转录物水平以剂量依赖性方式的增加。将利用来自ARPE-19细胞的细胞质RNA的对应于外显子6-8 (IKB-IVS7+26, 顶部) 或外显子8-10 (IKB-IVS8-16, 底部) 的放射性RT-PCR产物在5%聚丙烯酰胺凝胶上分离。IKBKAP的表达通过测量条带强度予以量化, 并将所述值相对于β-肌动蛋白的值进行归一化。以相对于模拟处理的细胞的产物的来自两个生物复制品的倍数变化进行绘图, 并且将其显示在每个代表性凝胶右侧的柱状图中。

[0087] 图42示出了如实施例36所述, 在用所示浓度的IKB-IVS7+26或IKB-IVS8-16 ASO或用各为45nM (总计90nM) 的两种ASO的组合处理的ARPE19细胞中, IKAP蛋白水平的剂量依赖性增加。从ARPE-19细胞中提取蛋白质裂解物并在4-20% SDS-聚丙烯酰胺凝胶上分离。采用抗IKAP和β连环蛋白的抗体来检测分离的蛋白质产物。将IKAP蛋白条带的强度相对于β连环蛋白条带的强度进行归一化, 并相对于模拟处理的细胞计算两个生物复制品的倍数变化, 并绘制在下方的柱状图中。

[0088] 序列

[0089] 本申请包括核苷酸序列SEQ ID NO:1-374,并且这些核苷酸序列在权利要求书之前的表2至表8和表11至表20中列出。表11至表20中以SEQ ID NO:1-102示出的核苷酸序列是可被反义寡聚体通过本文所述方法予以靶向的序列的实例。表2至表8中以SEQ ID NO:103-374示出的核苷酸序列是可用于本文所述方法的反义寡聚体的实例。在所有的表格中,大写字母代表外显子序列而小写字母代表内含子序列。

具体实施方式

[0090] 百分之八十五(85%)的人类蛋白质编码基因具有至少一个内含子;每个基因的内含子的平均数目为八,且内含子数目可在1至316的范围内。单独的内含子以不同的效率从初级转录物中剪接,并且在大多数情况下只有完全剪接的mRNA才通过核孔输出以供随后在细胞质中翻译。在细胞核中可检测到未剪接的及部分剪接的转录物。一般认为,未完全剪接的转录物的细胞核保留是防止细胞质中可翻译为蛋白质的潜在有毒mRNA的积累的机制。对于一些基因,在细胞质中翻译之前,最低效的内含子的剪接是在基因表达中的转录后限速步骤。如果对于基因表达的细胞核阶段限速的内含子剪接可更有效地进行,则完全剪接的成熟mRNA的稳态产生量以及相应蛋白质的翻译可增加。此类方法还将帮助上调靶基因的表达,它具有大量临床和研究应用。增加基因的输出(正常和/或突变等位基因)可用于补偿减少其基因产物例如蛋白质或功能RNA的活性量的任何突变。许多遗传病和遗传失调是蛋白质产生量减少或产生仅具有部分功能的蛋白质的结果。

[0091] 如本文所用,术语“包含”或其变化形式如“包括”或“含有”应理解为指示包含任何所述特征(例如在反义寡聚体的情况下,包含限定的核碱基序列),但不排除任何其他特征。因此,如本文所用,术语“包含”是包含性的,并且不排除另外的未引用的特征(例如,在反义寡聚体的情况下,存在其他未述及的核碱基)。

[0092] 在本文提供的任何组合物和方案的实施方案中,“包含”可以用“基本上由...组成”或“由...组成”代替。本文采用短语“基本上由...组成”来表示需要指定的特征(例如,核碱基序列)以及实质上不影响要求保护的发明的特性或功能的那些特征。如本文所用,术语“由...组成”用来指示仅存在所述特征(例如,核碱基序列)(因此在由指定核碱基序列组成的反义寡聚体的情况下,排除其他未述及的核碱基的存在)。

[0093] 核基因输出的定向增加

[0094] 本文描述了增加靶蛋白的表达的方法,其被称为核基因输出的定向增加(TANGO)。该方法包括使具有(包含)含保留内含子的前mRNA(RIC前mRNA)的细胞与互补于RIC前mRNA的靶向部分的反义寡聚体(ASO)相接触,该RIC前mRNA包含保留内含子,位于5'剪接位点侧翼的外显子,位于3'剪接位点侧翼的外显子,并且编码靶蛋白。ASO与RIC前mRNA的所述部分的杂交导致在保留内含子的剪接位点(5'剪接位点或3'剪接位点)处增强的剪接,并且随后增加了靶蛋白产生量。

[0095] 术语“前mRNA”和“前mRNA转录物”可互换使用,是指含有至少一个内含子的任何前mRNA种类。前mRNA或前mRNA转录物可包含5'-7-甲基鸟苷帽和/或聚A尾部。在一些实施方案中,前mRNA转录物不包含5'-7-甲基鸟苷帽和/或聚A尾部。前mRNA转录物在未被翻译为蛋白质(或从细胞核转运到细胞质中)时为非生产性的信使RNA(mRNA)分子。

[0096] 如本文所用,“含保留内含子的前mRNA”(“RIC前mRNA”)是含有至少一个保留内含子的前mRNA转录物。该RIC前mRNA含有保留内含子、位于该保留内含子的5'剪接位点侧翼的外显子、位于该保留内含子的3'剪接位点侧翼的外显子,并且该RIC前mRNA编码靶蛋白。“RIC前mRNA编码靶蛋白”被理解为当完全剪接时编码靶蛋白。“保留内含子”是当由相同基因编码的一个或多个其他内含子如相邻内含子已经从同一前mRNA转录物中剪接掉时,存在于该前mRNA转录物中的任何内含子。在一些实施方案中,保留内含子为编码靶蛋白的RIC前mRNA中最丰富的内含子。在实施方案中,保留内含子为细胞中编码靶蛋白的基因所转录的一群RIC前mRNA中最丰富的内含子,其中该组RIC前mRNA包含两个或更多个保留内含子。在实施方案中,靶向编码靶蛋白的RIC前mRNA群中最丰富的内含子的反义寡聚体诱导将该群中两个或更多个保留内含子剪接掉,包括该反义寡聚体靶向或结合的保留内含子。在实施方案中,由此产生编码靶蛋白的成熟mRNA。术语“成熟mRNA”和“完全剪接的mRNA”在本文可互换使用,以描述编码靶蛋白的完全加工的mRNA(例如,从细胞核输出到细胞质中并翻译为靶蛋白的mRNA)或完全加工的功能RNA。术语“生产性mRNA”还可以用来描述编码靶蛋白的完全加工的mRNA。

[0097] 在一些实施方案中,所靶向的区域在保留内含子中,该保留内含子是编码靶蛋白的RIC前mRNA中第二丰富的内含子。例如,由于第二丰富的保留内含子的核苷酸序列的独特性,将ASO设计为靶向特定核苷酸序列的便利性,和/或用ASO靶向内含子导致的蛋白质产生的增量,所以可以靶向第二丰富的保留内含子而非最丰富的保留内含子。在实施方案中,该保留内含子为细胞中编码靶蛋白的基因所转录的RIC前mRNA群中第二丰富的内含子,其中该群RIC前mRNA包含两个或更多个保留内含子。在实施方案中,靶向编码靶蛋白的该群RIC前mRNA中第二丰富的内含子的反义寡聚体诱导将该群中的两个或更多个保留内含子剪接掉,包括该反义寡聚体靶向或结合的保留内含子。在实施方案中,由此产生编码靶蛋白的完全剪接(成熟)的mRNA。

[0098] 在实施方案中,反义寡聚体与RIC前mRNA中非保留内含子内的靶向区域互补。在实施方案中,RIC前mRNA的靶向部分在相对于该非保留内含子的5'剪接位点的+6至+100区域内;或在相对于该非保留内含子的3'剪接位点的-16至-100区域内。在实施方案中,RIC前mRNA的靶向部分在相对于该非保留内含子的5'剪接位点的+100至相对于该非保留内含子的3'剪接位点的-100区域内。在用来确定区域或序列的位置时,“在...内”被理解为包括所述位置处的残基。例如,+6至+100区域包括位置+6和+100处的残基。在实施方案中,由此产生编码靶蛋白的完全剪接(成熟)的mRNA。

[0099] 在一些实施方案中,RIC前mRNA的保留内含子是低效剪接的内含子。如本文所用,“低效剪接”可指与RIC前mRNA中另一剪接位点处的剪接频率相比,与保留内含子相邻的剪接位点(5'剪接位点或3'剪接位点)处相对低频率的剪接。术语“低效剪接”还可以指剪接位点处剪接的相对速率或动力学,其中“低效剪接的”内含子可以在与RIC前mRNA中另一内含子相比较慢的速率下被剪接或去除。

[0100] 在一些实施方案中,在位于5'剪接位点侧翼的外显子的-3e至-1e和保留内含子的+1至+6处的9-核苷酸序列与相应的野生型序列相同。在一些实施方案中,在保留内含子的-15至-1和位于3'剪接位点侧翼的外显子的+1e处的16核苷酸序列与相应的野生型序列相同。如本文所用,“野生型序列”是指在NCBI生物和科学信息储存库(由National Center

for Biotechnology Information, National Library of Medicine, 8600 Rockville Pike, Bethesda, MD USA 20894运行)中登录的公开参考基因组中的靶基因的核苷酸序列。如本文所用,用“e”表示的核苷酸位置表示该核苷酸存在于外显子的序列中(例如,位于5'剪接位点侧翼的外显子或位于3'剪接位点侧翼的外显子)。

[0101] 所述方法包括使细胞接触与编码靶蛋白或功能RNA的前mRNA的一部分互补的ASO,从而导致靶蛋白或功能RNA的表达增加。如本文所用,“接触”或施用于细胞是指提供与该细胞紧邻的ASO从而使得ASO与细胞相互作用的任何方法。与ASO接触的细胞将该ASO吸收或转运到该细胞中。所述方法包括使病况或疾病相关或病况或疾病有关的细胞与本文描述的任何ASO相接触。在一些实施方案中,该ASO可以进一步修饰或附接(例如,共价附接)到另一分子,以将该ASO靶向至细胞类型,增强该ASO与病况或疾病相关或病况或疾病有关的细胞之间的接触,或增强该ASO的吸收。

[0102] 如图2A所示,在细胞核中,由外显子和内含子组成的前mRNA转录物经历剪接,以生成可从该细胞的细胞核输出到细胞质中的mRNA,在细胞质中它被翻译为蛋白质。在含有至少一个低效剪接内含子(保留内含子)的前mRNA转录物的实例中,存在RIC前mRNA,它被保持在细胞核中,并且如果它被输出到细胞质则不翻译为蛋白质而是降解。不希望受到任何特定理论的束缚,在与前mRNA转录物的靶向部分互补的ASO的存在下,保留内含子的剪接得到增强,从而也增加了可输出并翻译为蛋白质的mRNA的量(图2B)。

[0103] 如本文所用,术语“增加蛋白质产生量”或“增加靶蛋白的表达”意指增加细胞中由mRNA翻译的蛋白质(例如,靶蛋白)的量。“靶蛋白”可以是需要增加表达/产生量的任何蛋白质。在一些实施方案中,该靶蛋白是疾病相关蛋白质,如表1中示出的任何蛋白质。例如,使表达RIC前mRNA的细胞接触与RIC前mRNA转录物的靶向部分互补的ASO导致由该前mRNA编码的蛋白质(例如,靶蛋白)的量有可测得的增加。测量或检测蛋白质的产生量的方法对于本领域技术人员是显而易见的,并且包括例如蛋白质印迹法、流式细胞术、免疫荧光显微术和ELISA。

[0104] 在一些实施方案中,使细胞接触与RIC前mRNA转录物的靶向部分互补的ASO,与在不存在该ASO/不存在处理的情况下由细胞产生的蛋白质的量相比,导致所产生的蛋白质(例如,靶蛋白)的量增加了至少10%、20%、30%、40%、50%、60%、80%、100%、200%、300%、400%、500%或1000%。在实施方案中,与对照化合物产生的靶蛋白的量相比,该反义寡聚体所接触的细胞产生的靶蛋白的总量增加至约1.1倍至约10倍、约1.5倍至约10倍、约2倍至约10倍、约3倍至约10倍、约4倍至约10倍、约1.1倍至约5倍、约1.1倍至约6倍、约1.1倍至约7倍、约1.1倍至约8倍、约1.1倍至约9倍、约2倍至约5倍、约2倍至约6倍、约2倍至约7倍、约2倍至约8倍、约2倍至约9倍、约3倍至约6倍、约3倍至约7倍、约3倍至约8倍、约3倍至约9倍、约4倍至约7倍、约4倍至约8倍、约4倍至约9倍,至少约1.1倍、至少约1.5倍、至少约2倍、至少约2.5倍、至少约3倍、至少约3.5倍、至少约4倍、至少约5倍或至少约10倍。对照化合物可以是例如不与RIC前mRNA的靶向部分互补的寡核苷酸。

[0105] 在一些实施方案中,使细胞与互补于RIC前mRNA转录物的靶向部分的ASO相接触导致编码靶蛋白或功能RNA的mRNA(包括编码该靶蛋白或功能RNA的成熟mRNA)的量增加。在一些实施方案中,与在不存在该ASO/不存在处理的情况下由细胞所产生的蛋白质的量相比,编码靶蛋白或功能RNA的mRNA或编码靶蛋白或功能RNA的成熟mRNA的量增加了至少10%、

20%、30%、40%、50%、60%、80%、100%、200%、300%、400%、500%或1000%。在实施方案中,与未处理的细胞例如未处理的细胞或用对照化合物处理的细胞中产生的成熟RNA的量相比,在反义寡聚体所接触的细胞中产生的编码靶蛋白或功能RNA的mRNA或编码靶蛋白或功能RNA的成熟mRNA的总量增加至约1.1倍至约10倍、约1.5倍至约10倍、约2倍至约10倍、约3倍至约10倍、约4倍至约10倍、约1.1倍至约5倍、约1.1倍至约6倍、约1.1倍至约7倍、约1.1倍至约8倍、约1.1倍至约9倍、约2倍至约5倍、约2倍至约6倍、约2倍至约7倍、约2倍至约8倍、约2倍至约9倍、约3倍至约6倍、约3倍至约7倍、约3倍至约8倍、约3倍至约9倍、约4倍至约7倍、约4倍至约8倍、约4倍至约9倍,至少约1.1倍、至少约1.5倍、至少约2倍、至少约2.5倍、至少约3倍、至少约3.5倍、至少约4倍、至少约5倍或至少约10倍。对照化合物可以是例如不与RIC前mRNA的靶向部分互补的寡核苷酸。

[0106] 在实施方案中,使细胞与互补于RIC前mRNA转录物的靶向部分的ASO相接触导致功能RNA的量增加。在一些实施方案中,与在不存在ASO/不存在处理的情况下由细胞所产生的功能RNA的量相比,功能RNA的量增加了至少10%、20%、30%、40%、50%、60%、80%、100%、200%、300%、400%、500%或1000%。在实施方案中,与未处理的细胞例如未处理的细胞或用对照化合物处理的细胞中产生的功能RNA的量相比,该反义寡聚体所接触的细胞中产生的功能RNA的总量增加至约1.1倍至约10倍、约1.5倍至约10倍、约2倍至约10倍、约3倍至约10倍、约4倍至约10倍、约1.1倍至约5倍、约1.1倍至约6倍、约1.1倍至约7倍、约1.1倍至约8倍、约1.1倍至约9倍、约2倍至约5倍、约2倍至约6倍、约2倍至约7倍、约2倍至约8倍、约2倍至约9倍、约3倍至约6倍、约3倍至约7倍、约3倍至约8倍、约3倍至约9倍、约4倍至约7倍、约4倍至约8倍、约4倍至约9倍,至少约1.1倍、至少约1.5倍、至少约2倍、至少约2.5倍、至少约3倍、至少约3.5倍、至少约4倍、至少约5倍或至少约10倍。对照化合物可以是例如不与RIC前mRNA的靶向部分互补的寡核苷酸。可利用本文提供的任何方法来增加功能RNA,例如不编码蛋白质的mRNA如非蛋白质编码RNA的产生量。在一些实施方案中,功能RNA或非蛋白质编码RNA与病况例如疾病或病症相关。

[0107] 保留内含子从RIC前mRNA中的组成性剪接

[0108] 本文提供的方法和反义寡核苷酸组合物可用于通过增加编码靶蛋白或功能RNA的mRNA或编码靶蛋白或功能RNA的成熟mRNA的水平,来增加例如在具有由该靶蛋白或功能RNA的量或活性缺陷引起的病况的受试者的细胞中靶蛋白或功能RNA的表达。特别地,本文所述的方法和组合物诱导保留内含子从编码靶蛋白或功能RNA的RIC前mRNA转录物中的组成性剪接,从而增加编码该靶蛋白或功能RNA的mRNA,或编码该靶蛋白或功能RNA的成熟mRNA的水平,并增加该靶蛋白或功能RNA的表达。

[0109] 保留内含子从RIC前mRNA中的组成性剪接将该保留内含子从该RIC前mRNA中正确地去除,其中该保留内含子具有野生型剪接序列。如本文所用,组成性剪接不包括保留内含子从由具有以下突变的基因或等位基因转录的RIC前mRNA中的剪接,该突变引起由该基因或等位基因转录的前mRNA的其它剪接或异常剪接。例如,利用本文提供的方法和反义寡核苷酸诱导的保留内含子的组成性剪接并不校正前mRNA中的异常剪接或并不影响前mRNA的其它剪接,以导致靶蛋白或功能RNA的表达增加。

[0110] 在实施方案中,组成性剪接将保留内含子从RIC前mRNA中正确地去除,其中该RIC前mRNA由野生型基因或等位基因或编码完全功能性靶蛋白或功能RNA的多态性基因或等位

基因转录,并且其中该基因或等位基因不具有引起该保留内含子的其它剪接或异常剪接的突变。

[0111] 在一些实施方案中,保留内含子从编码靶蛋白或功能RNA的RIC前mRNA中的组成性剪接将保留内含子从编码该靶蛋白或功能RNA的RIC前mRNA中正确地去除,其中该RIC前mRNA由基因或等位基因转录,该基因或等位基因与由野生型等位基因产生相比以降低的水平产生靶基因或功能RNA,并且其中该基因或等位基因不具有引起该保留内含子的其它剪接或异常剪接的突变。在这些实施方案中,当与对应的野生型蛋白或功能RNA相比时,组成性剪接的保留内含子的正确去除导致功能性的靶蛋白或功能RNA的产生。

[0112] 在其他实施方案中,组成性剪接将保留内含子从RIC前mRNA中正确地去除,其中该RIC前mRNA由基因或等位基因转录,该基因或等位基因编码与对应的野生型蛋白或功能RNA相比以功能降低的形式产生的靶蛋白或功能RNA,并且其中该基因或等位基因不具有引起该保留内含子的选择性剪接或异常剪接的突变。在这些实施方案中,当与对应的野生型蛋白或功能RNA相比时,组成性剪接的保留内含子的正确去除导致部分功能性的靶蛋白或部分功能性的功能RNA的产生。

[0113] 通过组成性剪接“正确去除”保留内含子是指去除整个内含子,而不去除外显子的任何部分。

[0114] 在实施方案中,本文描述的或在任何本文所述方法中使用的反义寡聚体并不是通过调节由编码功能RNA或靶蛋白的基因转录的前mRNA的其它剪接或异常剪接来增加编码该靶蛋白或功能RNA的mRNA的量、该靶蛋白的量或该功能RNA的量。可以利用任何已知的分析RNA种类的序列和长度的方法,例如,通过RT-PCR以及使用本文别处和文献中描述的方法,来测量其它剪接或异常剪接的调节。在实施方案中,根据所剪接的感兴趣种类的量增加或减少至少10%或至1.1倍来确定其它或异常剪接的调节。在实施方案中,如本文关于在本发明的方法中测定编码靶蛋白或功能RNA的mRNA的增加所描述的,根据增加或减少至少10%至100%或至1/1.1至1/10的水平来确定调节。

[0115] 在实施方案中,所述方法是一种通过部分剪接野生型前mRNA而产生RIC前mRNA的方法。在实施方案中,该方法是一种通过部分剪接野生型前mRNA而产生RIC前mRNA的方法。在实施方案中,该RIC前mRNA由全长前mRNA的部分剪接而产生。在这些实施方案中,与具有野生型剪接位点序列的保留内含子的剪接相比,全长前mRNA可在保留内含子的剪接位点处具有不损害保留内含子的正确剪接的多态性。

[0116] 在实施方案中,编码靶蛋白或功能RNA的mRNA是全长成熟mRNA或野生型成熟mRNA。在这些实施方案中,与由野生型成熟mRNA编码的靶蛋白或功能RNA的活性相比,全长成熟mRNA可具有不影响由成熟mRNA编码的靶蛋白或功能RNA的活性的多态性。

[0117] 反义寡聚体

[0118] 本公开内容的一方面是包含通过与RIC前mRNA的靶向部分结合而加强剪接的反义寡聚体的组合物。如本文所用,术语“ASO”和“反义寡聚体”可互换使用,并指包含核碱基的寡聚体如多核苷酸,该寡聚体通过Watson-Crick碱基配对或摆动碱基配对(G-U)与靶核酸(例如,RIC前mRNA)序列杂交。ASO可具有互补于靶序列的确切序列或近似的互补性(例如,足以结合靶序列和加强剪接位点处的剪接的互补性)。将ASO设计为使得它们与靶核酸(例如,前mRNA转录物的靶向部分)结合(杂交)并在生理条件下保持杂交。通常,如果它们与预

期(靶向)核酸序列之外的位点杂交,则它们与有限数目的非靶核酸的序列(一些非靶核酸的位点)杂交。ASO的设计可以考虑前mRNA转录物的靶向部分的核酸序列,或基因组或细胞前mRNA或转录物组中其他位置中的足够类似的核酸序列的存在,使得ASO将结合其他位点并引起“脱靶”效应的可能性有限。本领域已知的,例如在作为WO 2015/035091公开的名称为“Reducing Nonsense-Mediated mRNA Decay”的PCT申请号PCT/US2014/054151中的任何反义寡聚体可用来实施本文所述的方法。

[0119] 在一些实施方案中,ASO与靶核酸或RIC前mRNA的靶向部分“特异性杂交”或对其为“特异的”。通常,此类杂交的发生伴随着基本大于37℃,优选至少50℃,并且通常为60℃至约90℃的T_m。这样的杂交优选对应于严格的杂交条件。在给定的离子强度和pH下,T_m为50%的靶序列与互补寡核苷酸杂交时的温度。

[0120] 当杂交在两个单链多核苷酸之间的反平行结构中发生时,寡聚体如寡核苷酸彼此“互补”。如果杂交可在第一多核苷酸的一条链与第二多核苷酸之间发生,则双链多核苷酸可与另一个多核苷酸“互补”。互补性(一个多核苷酸与另一个互补的程度)是按照在相对链中根据普遍接受的碱基配对原则预计彼此形成氢键的碱基的比例(例如,百分比)而可量化的。反义寡聚体(ASO)的序列不必与其靶核酸的序列100%互补才能杂交。在某些实施方案中,ASO可包含与其靶向的靶核酸序列内的靶区域至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的序列互补性。例如,寡聚体化合物的20个核碱基中的18个与靶区域互补并将因此特异性杂交的ASO将表现出90%的互补性。在该实例中,其余非互补的核碱基可与互补的核碱基聚集在一起或散布,并且不必彼此相接或与互补的核碱基相接。常规地可利用BLAST程序(基本局部比对检索工具)和本领域已知的PowerBLAST程序(Altschul等人,J.Mol.Biol.,1990,215,403-410; Zhang和Madden,Genome Res.,1997,7,649-656)来确定ASO与靶核酸的区域的互补性百分比。

[0121] ASO不需要与靶序列中的所有核碱基杂交,并且与之杂交的核碱基可以是连续的或不连续的。ASO可以在前mRNA转录物的一个或多个区段上杂交,使得介于中间或相邻的区段不参与该杂交事件(例如,可形成环结构或发夹结构)。在某些实施方案中,ASO与靶前mRNA转录物中不连续的核碱基杂交。例如,ASO可以与前mRNA转录物中被不与ASO杂交的一个或多个核碱基隔开的核碱基杂交。

[0122] 本文所述的ASO包含与在RIC前mRNA的靶部分中存在的核碱基互补的核碱基。术语ASO包括寡核苷酸以及任何其他包含能够与靶mRNA上的互补核碱基杂交的核碱基但不含糖部分如肽核酸(PNA)的寡聚体分子。ASO可包含天然存在的核苷酸、核苷酸类似物、修饰的核苷酸或前述两个或三个的任意组合。术语“天然存在的核苷酸”包括脱氧核糖核苷酸和核糖核苷酸。术语“修饰的核苷酸”包括具有修饰的或取代的糖基团和/或具有修饰的主链的核苷酸。在一些实施方案中,ASO的所有核苷酸是修饰的核苷酸。与本文所述的方法和组合物相容的ASO的化学修饰或ASO的组分对于本领域技术人员将是显而易见的,并且可在例如第8,258,109B2号美国专利、第5,656,612号美国专利、第2012/0190728号美国专利公开以及Dias和Stein,Mol.Cancer Ther.2002,1,347-355中找到,其均通过引用它们的全文并入本文。

[0123] ASO的核碱基可以是任何天然存在的、未修饰的核碱基如腺嘌呤、鸟嘌呤、胞嘧啶、

胸腺嘧啶和尿嘧啶,或任何合成或修饰的核碱基,其十分类似于未修饰的核碱基,使得其与靶前mRNA上存在的核碱基能够氢键键合。修饰的核碱基的实例包括但不限于次黄嘌呤、黄嘌呤、7-甲基鸟嘌呤、5,6-二氢尿嘧啶、5-甲基胞嘧啶和5-羟甲基胞嘧啶。

[0124] 本文所述的ASO还包含连接寡聚体的组分的主链结构。术语“主链结构”和“寡聚体连接”可互换使用并指该ASO的单体之间的连接。在天然存在的寡核苷酸中,主链包含连接寡聚体的糖部分的3'-5'磷酸二酯键。本文所述的ASO的主链结构或寡聚体连接可包括(但不限于)硫代磷酸酯(phosphorothioate)、二硫代磷酸酯(phosphorodithioate)、硒代磷酸酯(phosphoroselenoate)、二硒代磷酸酯(phosphorodiselenoate)、phosphoroanilothioate、phosphoraniladate、氨基磷酸酯(phosphoramidate)等。参见,例如LaPlanche等人Nucleic Acids Res.14:9081(1986);Stec等人J.Am.Chem.Soc.106:6077(1984),Stein等人Nucleic Acids Res.16:3209(1988),Zon等人Anti Cancer Drug Design 6:539(1991);Zon等人Oligonucleotides and Analogues:A Practical Approach,第87-108页(F.Eckstein编著,Oxford University Press,Oxford England(1991));Stec等人,第5,151,510号美国专利;Uhlmann and Peyman Chemical Reviews90:543(1990)。在一些实施方案中,ASO的主链结构不含有磷而含有肽键,例如在肽核酸(PNA)中,或含有连接基团,包括氨基甲酸酯、酰胺以及直链烃基团和环状烃基团。在一些实施方案中,主链修饰是硫代磷酸酯键。在一些实施方案中,主链修饰是氨基磷酸酯键。

[0125] 本文所述的任何ASO可含有包含如天然存在的核苷酸中存在的核糖或脱氧核糖的糖部分,或含有包括吗啉环在内的经修饰的糖部分或糖类似物。经修饰的糖部分的非限制性实例包括2'取代,如2'-O-甲基(2'-O-Me)、2'-O-甲氧乙基(2'MOE)、2'-O-氨基乙基、2'F;N3'->P5'氨基磷酸酯、2'二甲基氨基乙氧基、2'二甲基氨基乙氧基乙氧基、2'-胍、2'-O-胍乙基、氨基甲酸酯修饰的糖和双环修饰的糖。在一些实施方案中,该糖部分修饰选自2'-O-Me、2'F和2'MOE。在一些实施方案中,该糖部分修饰是额外的桥键,如在锁定核酸(LNA)中。在一些实施方案中,该糖类似物含有吗啉环,如磷二酰胺吗啉基(PMO)。在一些实施方案中,该糖部分包含呋喃核糖基或2'呋喃脱氧核糖基修饰。在一些实施方案中,该糖部分包含2'4'-约束的2'0-甲氧乙基(cMOE)修饰。在一些实施方案中,该糖部分包含cEt 2',4'约束的2'0-乙基BNA修饰。

[0126] 在一些实施方案中,该糖部分包含三环DNA(tcDNA)修饰。在一些实施方案中,该糖部分包含乙烯核酸(ENA)修饰。在一些实施方案中,该糖部分包含MCE修饰。修饰是本领域已知的并且描述在文献中,例如,Jarver等人,2014,“A Chemical View of Oligonucleotides for Exon Skipping and Related Drug Applications,”Nucleic Acid Therapeutics 24(1):37-47,其通过引用并入本文用于此目的。

[0127] 在一些实例中,ASO的每个单体以相同的方式修饰,例如ASO的主链的每个连接包含硫代磷酸酯键或每个核糖糖部分包含2'0-甲基修饰。存在于ASO的每个单体组分上的此类修饰被称为“均一修饰”。在一些实例中,可能需要不同修饰的组合,例如,ASO可包含磷二酰胺键和含有吗啉环(吗啉基)的糖部分的组合。ASO的不同修饰的组合被称为“混合修饰”或“混合化学”。

[0128] 在一些实施方案中,所述ASO包含一个或多个主链修饰。在一些实施方案中,该ASO包含一个或多个糖部分修饰。在一些实施方案中,该ASO包含一个或多个主链修饰和一个或

多个糖部分修饰。在一些实施方案中,该ASO包含2' MOE修饰和硫代磷酸酯主链。在一些实施方案中,该ASO包含磷二酰胺吗啉基(PMO)。在一些实施方案中,该ASO包含肽核酸(PNA)。本文所述的任何ASO或ASO的任何组分(例如,核碱基、糖部分、主链)均可进行修饰,以便获得ASO的所需性质或活性或减少ASO的不需要的性质或活性。例如,ASO或任何ASO的一个或多个组分可被修饰为增强与前mRNA转录物上靶序列的结合亲和力;减少与任何非靶序列的结合;减少被细胞核酸酶(即,核糖核酸酶H)的降解;改善ASO向细胞中和/或向细胞的细胞核中的吸收;改变ASO的药代动力学或药效学;以及调节ASO的半衰期。

[0129] 在一些实施方案中,所述ASO由2'-O-(2-甲氧乙基)(MOE)硫代磷酸酯修饰的核苷酸组成。由此类核苷酸组成的ASO尤其适合于本文公开的方法;具有此类修饰的寡聚体已显示出具有显著增强的对核酸酶降解的抗性和增加的生物利用度,使得它们适合于例如在本文所述的一些实施方案中的口服递送。参见,例如,Geary等人,J Pharmacol Exp Ther.2001;296(3):890-7;Geary等人,J Pharmacol Exp Ther.2001;296(3):898-904。

[0130] 本领域技术人员将知晓合成ASO的方法。备选地或另外地,ASO可从商业来源获得。

[0131] 除非另有规定,否则单链核酸(例如,前mRNA转录物、寡核苷酸、ASO等)序列的左手端为5'端,并且单链或双链核酸序列的左手方向被称为5'方向。类似地,核酸序列(单链或双链)的右手端或右手方向为3'端或3'方向。通常,核酸中5'到参考点的区域或序列被称为“上游”,而核酸中3'到参考点的区域或序列被称为“下游”。通常,mRNA的5'方向或5'端是启动或起始密码子所处的位置,而3'端或3'方向是终止密码子所处的位置。在一些方面,在核酸中参考点上游的核苷酸可以用负数加以标明,而在参考点下游的核苷酸则可以用正数加以标明。例如,参考点(例如,mRNA中的外显子-外显子接合点)可标为“零”点,并且直接相邻且在该参考点上游的核苷酸标为“负一”,例如,“-1”,而直接相邻且在该参考点下游的核苷酸标为“正一”,例如,“+1”。

[0132] 在其他实施方案中,所述ASO互补于(且结合)在RIC前mRNA中保留内含子的5'剪接位点下游(在3'方向)的RIC前mRNA的靶向部分(例如,相对于5'剪接位点的以正数标明的方向)(图1)。在一些实施方案中,该ASO互补于在相对于保留内含子的5'剪接位点的+6至+100区域内的RIC前mRNA的靶向部分。在一些实施方案中,该ASO不互补于相对于5'剪接位点的+1至+5核苷酸(位于5'剪接位点下游的前五个核苷酸)。在一些实施方案中,该ASO可互补于在相对于保留内含子的5'剪接位点的+6至+50之间核苷酸区域内的RIC前mRNA的靶向部分。在一些方面,该ASO互补于在相对于保留内含子的5'剪接位点的+6至+90、+6至+80、+6至+70、+6至+60、+6至+50、+6至+40、+6至+30或+6至+20区域内的靶向部分。

[0133] 在一些实施方案中,该ASO互补于在RIC前mRNA中保留内含子的3'剪接位点上游(5'相对的)的RIC前mRNA的靶向部分(例如,在以负数标明的方向)(图1)。在一些实施方案中,该ASO互补于在相对于保留内含子的3'剪接位点的-16至-100区域内的RIC前mRNA的靶向部分。在一些实施方案中,该ASO不互补于相对于3'剪接位点的-1至-15核苷酸(位于3'剪接位点上游的前15个核苷酸)。在一些实施方案中,该ASO互补于在相对于保留内含子的3'剪接位点的-16至-50区域内的RIC前mRNA的靶向部分。在一些方面,该ASO互补于在相对于保留内含子的3'剪接位点的-16至-90、-16至-80、-16至-70、-16至-60、-16至-50、-16至-40或-16至-30区域内的靶向部分。

[0134] 在实施方案中,RIC前mRNA的靶向部分在相对于保留内含子的5'剪接位点的+100

至相对于保留内含子的3'剪接位点的-100的区域内。

[0135] 在一些实施方案中,所述ASO互补于在保留内含子的5'剪接位点侧翼(上游)的外显子内的RIC前mRNA的靶向部分(图1)。在一些实施方案中,该ASO互补于在保留内含子的5'剪接位点侧翼的外显子中+2e至-4e区域内的RIC前mRNA的靶向部分。在一些实施方案中,该ASO不互补于相对于保留内含子的5'剪接位点的-1e至-3e核苷酸。在一些实施方案中,该ASO互补于在相对于保留内含子的5'剪接位点的-4e至-100e、-4e至-90e、-4e至-80e、-4e至-70e、-4e至-60e、-4e至-50e、-4e至-40e、-4e至-30e或-4e至-20e区域内的RIC前mRNA的靶向部分。

[0136] 在一些实施方案中,该ASO互补于在保留内含子的3'剪接位点侧翼(下游)的外显子内的RIC前mRNA的靶向部分(图1)。在一些实施方案中,该ASO互补于在保留内含子的3'剪接位点侧翼的外显子中+2e至-4e区域内的RIC前mRNA的靶向部分。在一些实施方案中,该ASO不互补于相对于保留内含子的3'剪接位点的+1e核苷酸。在一些实施方案中,该ASO互补于在相对于保留内含子的3'剪接位点的+2e至+100e、+2e至+90e、+2e至+80e、+2e至+70e、+2e至+60e、+2e至+50e、+2e至+40e、+2e至+30e或+2e至+20e区域内的RIC前mRNA的靶向部分。该ASO可以是适合于特异性结合和有效加强剪接的任何长度。在一些实施方案中,该ASO由8至50个核碱基组成。例如,该ASO的长度可以为8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、40、45或50个核碱基。在一些实施方案中,该ASO由多于50个核碱基组成。在一些实施方案中,该ASO的长度为8至50个核碱基、8至40个核碱基、8至35个核碱基、8至30个核碱基、8至25个核碱基、8至20个核碱基、8至15个核碱基、9至50个核碱基、9至40个核碱基、9至35个核碱基、9至30个核碱基、9至25个核碱基、9至20个核碱基、9至15个核碱基、10至50个核碱基、10至40个核碱基、10至35个核碱基、10至30个核碱基、10至25个核碱基、10至20个核碱基、10至15个核碱基、11至50个核碱基、11至40个核碱基、11至35个核碱基、11至30个核碱基、11至25个核碱基、11至20个核碱基、11至15个核碱基、12至50个核碱基、12至40个核碱基、12至35个核碱基、12至30个核碱基、12至25个核碱基、12至20个核碱基、12至15个核碱基、13至50个核碱基、13至40个核碱基、13至35个核碱基、13至30个核碱基、13至25个核碱基、13至20个核碱基、14至50个核碱基、14至40个核碱基、14至35个核碱基、14至30个核碱基、14至25个核碱基、14至20个核碱基、15至50个核碱基、15至40个核碱基、15至35个核碱基、15至30个核碱基、15至25个核碱基、15至20个核碱基、20至50个核碱基、20至40个核碱基、20至35个核碱基、20至30个核碱基、20至25个核碱基、25至50个核碱基、25至40个核碱基、25至35个核碱基或25至30个核碱基。在一些实施方案中,该ASO的长度为18个核苷酸。在一些实施方案中,该ASO的长度为15个核苷酸。在一些实施方案中,该ASO的长度为25个核苷酸。

[0137] 在一些实施方案中,使用具有不同化学但与RIC前mRNA的相同靶向部分互补的两个或更多个ASO。在一些实施方案中,使用与RIC前mRNA的不同靶向部分互补的两个或更多个ASO。

[0138] 在实施方案中,本发明的反义寡核苷酸经化学连接至一个或多个部分或缀合物,例如,增强该寡核苷酸的活性或细胞吸收的靶向部分或其他缀合物。此类部分包括但不限于脂质部分,例如,胆固醇部分、胆固醇基部分、脂肪链,例如,十二烷二醇或十一烷基残基、多胺或聚乙二醇链或金刚烷乙酸。在公开的文献中已描述了包含亲脂性部分的寡核苷酸和

制备方法。在实施方案中,该反义寡核苷酸与某部分缀合,该部分包括但不限于无碱基核苷酸、聚醚、多胺、聚酰胺、肽、碳水化合物,例如,N-乙酰半乳糖胺(GalNAc)、N-Ac-葡糖胺(GluNAc)或甘露糖(例如,甘露糖-6-磷酸酯)、脂质或聚烃化合物。如本领域理解的和文献中描述的,例如可使用连接体将缀合物与构成反义寡核苷酸的任何核苷酸中的一个或多个在糖、碱基或磷酸基团上若干位置的任何一处连接。连接体可包括二价或三价分支连接体。在实施方案中,该缀合物附接至该反义寡核苷酸的3'端。制备寡核苷酸缀合物的方法描述在例如第8,450,467号美国专利,“Carbohydrate conjugates as delivery agents for oligonucleotides”中,其通过引用并入本文。

[0139] 在一些实施方案中,被ASO靶向的核酸是在细胞如真核细胞中表达的RIC前mRNA。在一些实施方案中,术语“细胞”可指细胞群体。在一些实施方案中,该细胞在受试者中。在一些实施方案中,该细胞从受试者中分离。在一些实施方案中,该细胞是离体的。在一些实施方案中,该细胞是病况或疾病有关的细胞或细胞系。在一些实施方案中,该细胞在体外(例如,在细胞培养物中)。

[0140] 药物组合物

[0141] 包含所述组合物的反义寡核苷酸且用于任何所述方法的药物组合物或制剂可根据制药工业中公知的和公开文献中描述的常规技术进行制备。在实施方案中,用于治疗受试者的药物组合物或制剂包含有效量的上述任何反义寡聚体,或其药学上可接受的盐、溶剂化物、水合物或酯,以及药学上可接受的稀释剂。药物制剂的反义寡聚体可进一步包含药学上可接受的赋形剂、稀释剂或载体。

[0142] 药学上可接受的盐适用于与人和低等动物的组织相接触而没有不当的毒性、刺激、变态反应等,并且对应合理的受益/风险比。参见,例如,S.M.Berge等人,J.Pharmaceutical Sciences,66:1-19(1977),其通过引用并入本文用于此目的。所述盐可以在化合物的最终分离和纯化期间原位制备,或通过使游离碱官能与合适的有机酸反应予以单独制备。药学上可接受的、无毒的酸加成盐的实例是氨基基团与无机酸如盐酸、氢溴酸、磷酸、硫酸和高氯酸或与有机酸如乙酸、草酸、马来酸、酒石酸、柠檬酸、琥珀酸或丙二酸所形成的盐,或通过利用其他记录的方法如离子交换形成的盐。其他药学上可接受的盐包括己二酸盐、藻酸盐、抗坏血酸盐、天冬氨酸盐、苯磺酸盐、苯甲酸盐、硫酸氢盐、硼酸盐、丁酸盐、樟脑酸盐、樟脑磺酸盐、柠檬酸盐、环戊烷丙酸盐、二葡萄糖酸盐、十二烷基硫酸盐、乙磺酸盐、甲酸盐、富马酸盐、葡庚糖酸盐、甘油磷酸盐、葡萄糖酸盐、半硫酸盐、庚酸盐、己酸盐、氢碘酸盐、2-羟基-乙磺酸盐、乳糖酸盐、乳酸盐、月桂酸盐、月桂基硫酸盐、苹果酸盐、马来酸盐、丙二酸盐、甲磺酸盐、2-萘磺酸盐、烟酸盐、硝酸盐、油酸盐、草酸盐、棕榈酸盐、双羟萘酸盐、果胶酸盐、过硫酸盐、3-苯基丙酸盐、磷酸盐、苦味酸盐、新戊酸盐、丙酸盐、硬脂酸盐、琥珀酸盐、硫酸盐、酒石酸盐、硫氰酸盐、对甲苯磺酸盐、十一酸盐、戊酸盐等。代表性的碱金属或碱土金属盐包括钠、锂、钾、钙、镁盐等。视情况而定,另外的药学上可接受的盐包括利用抗衡离子如卤离子、氢氧根、羧酸根、硫酸根、磷酸根、硝酸根、低级烷基磺酸根和芳基磺酸根与铵、季铵和胺阳离子形成的无毒盐。

[0143] 在实施方案中,将组合物配制为许多可能剂型中的任何一种,例如但不限于片剂、胶囊、凝胶胶囊、液体糖浆、软凝胶、栓剂和灌肠剂。在实施方案中,将组合物在水性、非水性或混合介质中配制为悬浮液。水性悬浮液可进一步含有增加该悬浮液的粘度的物质,包括

例如羧甲基纤维素钠、山梨糖醇和/或葡聚糖。该悬浮液还可以含有稳定剂。在实施方案中，本发明的药物制剂或组合物包括但不限于溶液、乳液、微乳液、泡沫或含脂质体的制剂（例如，阳离子型或非阳离子型脂质体）。

[0144] 本发明的药物组合物或制剂可包含视情况而定的且本领域技术人员公知的或公开文献中描述的一种或多种渗透促进剂、载体、赋形剂或其他活性或非活性成分。在实施方案中，脂质体还包括空间稳定的脂质体，例如，包含一种或多种特化脂质的脂质体。这些特化脂质导致具有延长的循环寿命的脂质体。在实施方案中，空间稳定的脂质体包含一种或多种糖酯，或用一种或多种亲水性聚合物如聚乙二醇（PEG）部分来衍生。在实施方案中，所述药物制剂或组合物中包含表面活性剂。在药物产品、制剂和乳液中使用表面活性剂是本领域公知的。在实施方案中，本发明采用渗透促进剂来实现反义寡核苷酸的有效递送，例如，以帮助跨细胞膜的扩散和/或加强亲脂性药物的渗透性。在实施方案中，该渗透促进剂是表面活性剂、脂肪酸、胆汁盐、螯合剂或非螯合非表面活性剂。

[0145] 在实施方案中，所述药物制剂包含多种反义寡核苷酸。在实施方案中，该反义寡核苷酸与另一种药物或治疗剂联合施用。在实施方案中，该反义寡核苷酸通过本领域已知的任何方法与能够促进该反义寡核苷酸跨越血脑屏障渗透的一种或多种药剂一起施用。例如，在第6,632,427号美国专利，“Adenoviral-vector-mediated gene transfer into medullary motor neurons”中描述了通过将腺病毒载体施用于肌肉组织中的运动神经元来递送药剂，其通过引用并入本文。例如，在第6,756,523号美国专利，“Adenovirus vectors for the transfer of foreign genes into cells of the central nervous system particularly in brain”中描述了将载体直接递送至脑，例如，纹状体、丘脑、海马体或黑质体，其通过引用并入本文。

[0146] 在实施方案中，所述反义寡核苷酸与提供所需药物或药效学性质的药剂连接或缀合。在实施方案中，该反义寡核苷酸与本领域已知的物质例如转铁蛋白受体的抗体偶联以促进跨越血脑屏障的渗透或转运。在实施方案中，该反义寡核苷酸与病毒载体连接，例如，以使该反义化合物更有效或增加跨越血脑屏障的转运。在实施方案中，通过输注糖，例如内消旋赤藓醇、木糖醇、D(+) 半乳糖、D(+) 乳糖、D(+) 木糖、卫矛醇、肌醇、L(-) 果糖、D(-) 甘露醇、D(+) 葡萄糖、D(+) 阿拉伯糖、D(-) 阿拉伯糖、纤维二糖、D(+) 麦芽糖、D(+) 棉子糖、L(+) 鼠李糖、D(+) 蜜二糖、D(-) 核糖、侧金盏花醇、D(+) 阿拉伯糖醇、L(-) 阿拉伯糖醇、D(+) 岩藻糖、L(-) 岩藻糖、D(-) 来苏糖、L(+) 来苏糖和L(-) 来苏糖，或氨基酸，例如谷氨酰胺、赖氨酸、精氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、半胱氨酸、谷氨酸、甘氨酸、组氨酸、亮氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸、缬氨酸和牛磺酸，来帮助渗透性血脑屏障破坏。用于加强血脑屏障渗透的方法和材料描述在例如第4,866,042号美国专利，“Method for the delivery of genetic material across the blood brain barrier”，第6,294,520号美国专利，“Material for passage through the blood-brain barrier”，以及第6,936,589号美国专利，“Parenteral delivery systems”中，其每一个均通过引用并入本文。

[0147] 在实施方案中，本发明的反义寡核苷酸经化学连接至一个或多个部分或缀合物，例如，增强该寡核苷酸的活性或细胞吸收的靶向部分或其他缀合物。此类部分包括但不限于脂质部分，例如，胆固醇部分、胆固醇基部分、脂肪链，例如，十二烷二醇或十一烷基残基、多胺或聚乙二醇链或金刚烷乙酸。在公开的文献中已描述了包含亲脂性部分的寡核苷酸和

制备方法。在实施方案中,该反义寡核苷酸与某部分缀合,该部分包括但不限于无碱基核苷酸、聚醚、多胺、聚酰胺、肽、碳水化合物,例如,N-乙酰半乳糖胺(GalNAc)、N-Ac-葡萄糖胺(GluNAc)或甘露糖(例如,甘露糖-6-磷酸酯)、脂质或聚烃化合物。如本领域理解的和文献中描述的,例如可使用连接体将缀合物与构成反义寡核苷酸的任何核苷酸中的一个或多个在糖、碱基或磷酸基团上若干位置的任何一处连接。连接体可包括二价或三价支链连接体。在实施方案中,该缀合物附接至该反义寡核苷酸的3'端。制备寡核苷酸缀合物的方法描述在例如第8,450,467号美国专利,“Carbohydrate conjugates as delivery agents for oligonucleotides”中,其通过引用并入本文。

[0148] 疾病和病症

[0149] 与由包含至少一个内含子(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10个或更多个内含子)的前mRNA编码的蛋白质或功能RNA的产生量或活性降低相关的任何病况,例如,疾病或病症,可通过本文提供的方法和组合物予以治疗。待治疗的疾病或病症可以是单倍性不足的结果,其中基因的一个等位基因编码功能(野生型)蛋白质而该基因的一个等位基因被突变且编码非功能性蛋白质或具有降低功能/部分功能的蛋白质。其他疾病或病症可由半合子缺失引起,其中基因的一个等位基因丢失且由该基因的另一个等位基因所产生的蛋白质的量不足。其他疾病或病症可能由亚等位基因突变引起,其中编码蛋白质的基因被突变,导致产生了具有部分功能的蛋白质。

[0150] 在一些实施方案中,本文所述方法用来增加功能蛋白质的产生量。如本文所用,术语“功能性”是指消除疾病的任何一种或多种症状所需的蛋白质的活性的量或功能。在一些实施方案中,所述方法用来增加部分功能性蛋白质或RNA的产生量。如本文所用,术语“部分功能性”是指低于消除或预防疾病的任何一种或多种症状所需的活性量或功能的蛋白质或RNA的任何活性量或功能。在一些实施方案中,部分功能性蛋白质或RNA将具有比完全功能性蛋白质或RNA低至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少75%、至少80%、85%、至少90%或至少95%的活性。

[0151] 在实施方案中,所述方法是一种增加具有编码靶蛋白或功能RNA的RIC前mRNA的受试者细胞表达该靶蛋白或功能RNA的方法,其中该受试者具有由该靶蛋白或功能RNA的活性的量缺陷而引起的病况,并且其中该靶蛋白或功能RNA的量缺陷由该靶蛋白或功能RNA的单倍性不足而引起。在这样的实施方案中,受试者具有编码功能性靶蛋白或功能性的功能RNA的第一等位基因,和不产生该靶蛋白或功能RNA的第二等位基因。在另一个这样的实施方案中,受试者具有编码功能性靶蛋白或功能性的功能RNA的第一等位基因,和编码非功能性靶蛋白或非功能性的功能RNA的第二等位基因。在这些实施方案的任何一个中,所述反义寡聚体与由第一等位基因(编码功能性靶蛋白)转录的RIC前mRNA的靶向部分结合,从而诱导保留内含子从该RIC前mRNA中组成性剪接,并引起编码靶蛋白或功能RNA的mRNA的水平增加,以及在受试者细胞中该靶蛋白或功能RNA的表达增加。

[0152] 在相关的实施方案中,所述方法是一种增加具有编码靶蛋白或功能RNA的RIC前mRNA的受试者细胞表达该靶蛋白或功能RNA的方法,其中该受试者具有由常染色体隐性失常引起的病况,该常染色体隐性失常由该靶蛋白或功能RNA的量或功能缺陷而导致。在这些实施方案中,受试者具有:

[0153] a. 第一突变体等位基因,由其

- [0154] i) 产生该靶蛋白或功能RNA的水平与由野生型等位基因产生相比降低,
- [0155] ii) 产生与对应的野生型蛋白相比功能降低的形式的该靶蛋白或功能RNA,或
- [0156] iii) 不产生该靶蛋白或功能RNA;以及
- [0157] b. 第二突变体等位基因,由其
- [0158] i) 产生该靶蛋白或功能RNA的水平与从野生型等位基因产生相比降低,
- [0159] ii) 产生与对应的野生型蛋白相比功能降低的形式的该靶蛋白或功能RNA,或
- [0160] iii) 不产生该靶蛋白或功能RNA,并且
- [0161] 其中所述RIC前mRNA由第一等位基因和/或第二等位基因转录。在这些实施方案中,所述反义寡聚体与由第一等位基因或第二等位基因所转录的RIC前mRNA的靶向部分结合,从而诱导保留内含子从该RIC前mRNA中的组成性剪接,并引起编码靶蛋白或功能RNA的mRNA的水平增加,以及在受试者细胞中靶蛋白或功能RNA的表达增加。在这些实施方案中,由保留内含子从RIC前mRNA中组成性剪接导致表达水平增加的靶蛋白或功能RNA为与对应的野生型蛋白相比功能降低的形式(部分功能性),或与对应的野生型蛋白相比具有完全功能的形式(完全功能性)。
- [0162] 在实施方案中,如本文别处所述,当与在对照细胞(例如,未用反义寡聚体处理的细胞或用不与RIC前mRNA的靶向部分结合的反义寡聚体处理的细胞)中产生的编码靶蛋白的mRNA、该靶蛋白或功能RNA的量相比时,编码该靶蛋白的mRNA、该靶蛋白或该功能RNA的水平增加至1.1至10倍。
- [0163] 在实施方案中,由靶蛋白的量或活性缺陷或功能RNA的量或活性缺陷引起的病况不是由ASO所靶向的保留内含子的其它或异常剪接所引起的病况。在实施方案中,由靶蛋白的量或活性缺陷或功能RNA的量或活性缺陷引起的病况不是由在编码该靶蛋白或功能RNA的RIC前mRNA中的任何保留内含子的其它或异常剪接所引起的病况。
- [0164] 表1提供了疾病和靶基因的实例,所述靶基因与可利用本文提供的方法和组合物治疗的每种疾病相关。
- [0165] 表1

[0166]	疾病	靶基因	潜在内含子靶标的数目
	11 型视网膜色素变性	PRPF31	2
	视网膜母细胞瘤	RB1	1
	β 地中海贫血 (BTI)	HBB	1
	β 地中海贫血	HBG1/2	2
	镰状细胞病	HBG1/2	2
	囊性纤维化	CFTR	26
	血栓性血小板减少性紫癜	ADAMTS13	2
	复合型结节性硬化症	TSC1	3
	10 型视网膜色素变性	IMPDH1	1
	多囊肾病	PKD1	4
	家族性自主神经功能异常	IKBKAP	2

[0167] 在一些实施方案中,编码引起疾病的蛋白质的前mRNA转录物被本文所述的ASO所靶向。在一些实施方案中,编码不引起疾病的蛋白质的前mRNA转录物被所述ASO所靶向。例如,作为特定途径中第一蛋白质突变或缺陷的结果的疾病可通过靶向编码第二蛋白质的前mRNA,从而增加该第二蛋白质的产生量来改善。在一些实施方案中,第二蛋白质的功能能够补偿第一蛋白质的突变或缺陷。

[0168] 可将本文提供的任何组合物施用于个体。“个体”可与“受试者”或“患者”互换使用。个体可以是哺乳动物,例如人或动物,如非人灵长类、啮齿动物、兔、大鼠、小鼠、马、驴、山羊、猫、狗、牛、猪或绵羊。在一些实施方案中,个体是人。在其他的实施方案中,个体可以是另一种真核生物,如植物。在一些实施方案中,将本文提供的组合物施用于离体细胞。

[0169] 在一些实施方案中,将本文提供的组合物作为治疗疾病或病症的方法施用于个体。在一些实施方案中,该个体患有遗传病,如本文所述的任何疾病。在一些实施方案中,该个体处于患有疾病如本文所述的任何疾病的风险中。在一些实施方案中,该个体处于患有由蛋白质的量不足或蛋白质的活性不足引起的疾病或病症的增加了的风险中。如果个体处于患有蛋白质的量不足或蛋白质的活性不足引起的疾病或病症的“增加了的风险”中,则该方法包括预防性或防范性处理。例如,个体可能由于该疾病的家族史而处于患有这样的疾病或病症的增加了的风险中。通常,处于患有这样的疾病或病症的增加了的风险中的个体受益于防范性处理(例如,通过预防或延迟该疾病或病症的发作或进展)。

[0170] 表2提供了用于通过靶向由HBB基因转录的RIC前mRNA的区域来增加由HBB基因编码的蛋白质的产生量的ASO的序列的非限制性列表。

[0171] 表2. 靶向HBB基因的ASO的列表

ASO	序列	SEQ ID NO
非靶向	CCAGTGGTATTGCTTACC	103
HBBIVS1+6	ctgtcttgtaacctgat	104
HBBIVS1+7	cctgtcttgtaacctga	105
HBBIVS1+8	acctgtcttgtaacctg	106
[0172] HBBIVS1+9	aacctgtcttgtaacctt	107
HBBIVS1+10	aaacctgtcttgtaacct	108
HBBIVS1+11	taaacctgtcttgtaacc	109
HBBIVS1+12	ttaacctgtcttgtaac	110
HBBIVS1+13	cttaacctgtcttgtaa	111
HBBIVS1+14	ccttaacctgtcttgta	112
HBBIVS1+15	tccttaacctgtcttgt	113
HBBIVS1+16	ctccttaacctgtcttg	114
HBBIVS1+17	tctccttaacctgtctt	115
HBBIVS1+18	gtctccttaacctgtct	116
HBBIVS1+19	gggtccttaacctgtc	117
HBBIVS1+20	tgggtccttaacctgt	118
[0173] HBBIVS1+21	ttgggtccttaacctg	119
HBBIVS1+22	attgggtccttaacct	120
HBBIVS1+23	tattgggtccttaacc	121
HBBIVS1+24	ctattgggtccttaac	122
HBBIVS1+25	tctattgggtccttaa	123
HBBIVS1+26	ttctattgggtccttaa	124
HBBIVS1+27	tttctattgggtcctta	125
HBBIVS1+28	gtttctattgggtcctt	126

[0174] 表3提供了用于通过靶向由PRPF31基因转录的RIC前mRNA的区域来增加由PRPF31基因编码的蛋白质的产生量的ASO的序列的非限制性列表。

[0175] 表3. 靶向PRPF31基因的ASO的列表

[0176]

ASO	序列	SEQ ID NO
P31-IVS10+6	accggacccccagggccc	127
P31-IVS10+11	tgcctaccggacccccag	128
P31-IVS10+16	cccatgcctaccggacc	129
P31-IVS10+21	atgacccccatgcctacc	130
P31-IVS10+26	cctccatgacccccatgc	131
P31-IVS10+31	tctcccctccatgacccc	132
P31-IVS10-41	gaggaggacgccggcttc	133
P31-IVS10-36	gctgggaggaggacgccg	134
P31-IVS10-31	agtcggctgggaggagga	135

[0177]

P31-IVS10-26	cagggagtctggctgggag	136
P31-IVS10-21	ggcgccagggagtctggct	137
P31-IVS10-16	tgggcggcgccagggagt	138
P31-IVS12+6	ccccacctgggtctggcc	139
P31-IVS12+11	cccagccccacctgggtc	140
P31-IVS12+16	cggtccccagccccacct	141
P31-IVS12+21	tccctcgggtccccagccc	142
P31-IVS12-16	ggaggctgcgatctgggc	143
P31-IVS12-21	ctgcgatctgggtcccc	144
P31-IVS12-26	atctgggtccccccacc	145
P31-IVS12-31	gggtccccccacctgtg	146
P31-IVS12+26	ttgtgtccctcgggtccc	147
P31-IVS12+31	ccacctgtgtccctcgg	148
P31-IVS12+36	tccccccacctgtgtcc	149

[0178] 表4提供了用于通过靶向由ADAMTS13基因转录的RIC前mRNA的区域来增加由ADAMTS13基因编码的蛋白质的产生量的ASO的序列的非限制性列表。

[0179] 表4. 靶向ADAMTS13基因的ASO的列表

[0180]

ASO	序列	SEQ ID NO
ADAM-IVS25+6	caggaaggaggacaggac	150
ADAM-IVS25+11	ccugacaggaaggaggac	151
ADAM-IVS25+16	agcugccugacaggaagg	152
ADAM-IVS25+21	gcagcagcugccugacag	153
ADAM-IVS25+26	cuccugcagcagcugccu	154
ADAM-IVS25+31	caccccuccugcagcagc	155
ADAM-IVS25+36	uugcccaccccuccugca	156
ADAM-IVS25+41	ugccuuugcccaccccuc	157

[0181]

ADAM-IVS25+46	gaagaugccuuugccac	158
ADAM-IVS25-16	gagacagguaagcagugc	159
ADAM-IVS25-21	agguaagcagugcuucc	160
ADAM-IVS25-26	agcagugcuucccgauu	161
ADAM-IVS25-31	ugcuucccgauuccag	162
ADAM-IVS25-36	ccccgauucccagcaggg	163
ADAM-IVS25-41	auucccagcagggcaggc	164
ADAM-IVS25-46	cagcagggcaggcuccgg	165
ADAM-IVS25-47	agcagggcaggcuccggg	166
ADAM-IVS25-62	gggcuuccaagcugagga	167
ADAM-IVS27+6	agguggagaaggccuggc	168
ADAM-IVS27+11	aaggagguggagaaggc	169
ADAM-IVS27+16	caccaaggagguggag	170
ADAM-IVS27+21	uggagcaccaaggagg	171
ADAM-IVS27+26	aggacuggagcaccaag	172
ADAM-IVS27+31	cugccaggacuggagcac	173
ADAM-IVS27+36	ccuccugccaggacugg	174
ADAM-IVS27+41	cccagccuccugccagg	175
ADAM-IVS27-16	agggacauaggaaccag	176
ADAM-IVS27-21	cauaggaaccagacaga	177
ADAM-IVS27-26	gaaccagacagaccggu	178
ADAM-IVS27-31	cagacagaccgguggugc	179
ADAM-IVS27-36	agaccgguggugccagag	180
ADAM-IVS27-41	gguggugccagaggccag	181
ADAM-IVS27-46	ugccagaggccaggacaa	182
ADAM-IVS27-51	gaggccaggacaacucac	183
ADAM-IVS25+17	cagcugccugacaggaag	184
ADAM-IVS25+18	gcagcugccugacaggaa	185
ADAM-IVS25+19	agcagcugccugacagga	186

[0182]

ADAM-IVS25+20	cagcagcugccugacagg	187
ADAM-IVS25+21a	gcagcagcugccugacag	188
ADAM-IVS25+22	ugcagcagcugccugaca	189
ADAM-IVS25+23	cugcagcagcugccugac	190
ADAM-IVS25+24	ccugcagcagcugccuga	191
ADAM-IVS25+25	uccugcagcagcugccug	192
ADAM-IVS25+26a	cuccugcagcagcugccu	193
ADAM-IVS25+27	ccuccugcagcagcugcc	194
ADAM-IVS25+28	cccuccugcagcagcugc	195
ADAM-IVS25+29	ccccuccugcagcagcug	196
ADAM-IVS25+30	acccuccugcagcagcu	197

[0183] 表5提供了用于通过靶向由TSC1基因转录的RIC前mRNA的区域来增加由TSC1基因编码的蛋白质的产生量的ASO的序列的非限制性列表。

[0184] 表5. 靶向TSC1基因的ASO的列表

[0185]

ASO	序列	SEQ ID NO
TSC1-IVS5+6	ucaaauccuacaaacau	198
TSC1-IVS5+11	uucuucaaauccuuaca	199
TSC1-IVS5+16	accuuuucuucaaaucc	200
TSC1-IVS5+21	auaaaaccuuuucuuca	201
TSC1-IVS5+26	uacucauaaaaccuuuc	202
TSC1-IVS5+31	aacuaauacucauaaaacc	203
TSC1-IVS5+36	ucagaaacuauacucaua	204
TSC1-IVS5+41	aaauuucagaaacuauac	205
TSC1-IVS5-16	ucaaacaggaaacgucug	206
TSC1-IVS5-21	caggaaacgucugucagg	207
TSC1-IVS5-26	aacgucugucaggcacug	208
TSC1-IVS5-31	cugucaggcacuggcacc	209

[0186]

TSC1-IVS5-36	aggcacuggcaccaggau	210
TSC1-IVS5-41	cuggcaccaggauaggca	211
TSC1-IVS5-46	accaggauaggcauugua	212
TSC1-IVS5-51	gaucggcauuguacagua	213
TSC1-IVS10+6	aggcacacuaguugacac	214
TSC1-IVS10+11	agagcaggcacacuaguu	215
TSC1-IVS10+16	aggagagagcaggcacac	216
TSC1-IVS10+21	agcagaggagagagcagg	217
TSC1-IVS10+26	cagaaagcagaggagaga	218
TSC1-IVS10+31	uuccacagaaagcagagg	219
TSC1-IVS10+36	ucagcuuccacagaaagc	220
TSC1-IVS10+41	aaggguccagcuuccacag	221
TSC1-IVS10-16	aguacaucagcaguggca	222
TSC1-IVS10-21	aucagcaguggcaaagga	223
TSC1-IVS10-26	caguggcaaaggaaugcu	224
TSC1-IVS10-31	gcaaaggaaugcuaaguc	225
TSC1-IVS10-36	ggaaugcuaagucaucca	226
TSC1-IVS10-41	gcuaagucauccacgagg	227
TSC1-IVS10-46	gucauccacgagguuuau	228
TSC1-IVS10-51	ccacgagguuuauaucca	229
TSC1-IVS11+6	aauccaaccuaagacaua	230
TSC1-IVS11+11	aaucaaauccaaccuaag	231
TSC1-IVS11+16	caacuaaucaaauccaac	232
TSC1-IVS11+21	aaaaccaacuaaucaau	233
TSC1-IVS11+26	aggccaaaaccaacuaau	234
TSC1-IVS11+31	aaggcaggccaaaaccaa	235
TSC1-IVS11+36	cauuaaaggcaggccaaa	236
TSC1-IVS11+41	ccugccauuaaaggcagg	237
TSC1-IVS11-16	agaacauauaugaacacu	238

[0187]

TSC1-IVS11-21	auauaugaacacugagcc	239
TSC1-IVS11-26	ugaacacugagcccaacu	240
TSC1-IVS11-31	acugagcccaacuauuag	241
TSC1-IVS11-36	gccaacuauuagaaaaa	242
TSC1-IVS11-41	acuauuagaaaaacugcc	243
TSC1-IVS11-46	uagaaaaacugccgauuu	244
TSC1-IVS11-51	aaacugccgauuuuuuuu	245

[0188] 表6提供了用于通过靶向由IMPDH1基因转录的RIC前mRNA的区域来增加由IMPDH1基因编码的蛋白质的产生量的ASO的序列的非限制性列表。

[0189] 表6. 靶向IMPDH1基因的ASO的列表

[0190]

ASO	序列	SEQ ID NO
IMP-IVS14+6	gggcccaggguacag	246
IMP-IVS14+18	cugaucugcccagguggg	247
IMP-IVS14+23	gugggcugaucugcccag	248
IMP-IVS14+28	ggguugugggcugaucug	249
IMP-IVS14+33	cugaaggguugugggcug	250
IMP-IVS14+38	gggcccugaaggguugug	251
IMP-IVS14+43	ugagcgggcccugaaggg	252
IMP-IVS14+48	uggcaugagcgggcccug	253
IMP-IVS14-16	aagacugagcccagcagc	254
IMP-IVS14-21	ugagcccagcagcuugaa	255
IMP-IVS14-26	ccagcagcuugaagcuca	256
IMP-IVS14-31	agcuugaagcucagagga	257
IMP-IVS14-36	gaagcucagaggaccca	258
IMP-IVS14-41	ucagaggaccccaccca	259
IMP-IVS14-46	ggaccccaccccaccucu	260
IMP-IVS14-51	ccaccccaccucuaagg	261

[0191]

IMP-IVS14+44	augagcgggcccugaagg	262
IMP-IVS14+45	caugagcgggcccugaag	263
IMP-IVS14+46	gcaugagcgggcccugaa	264
IMP-IVS14+47	ggcaugagcgggcccuga	265
IMP-IVS14+48a	uggcaugagcgggcccug	266
IMP-IVS14+49	guggcaugagcgggccc	267
IMP-IVS14+50	gguggcaugagcgggccc	268
IMP-IVS14+51	cgguggcaugagcgggcc	269
IMP-IVS14+52	ucgguggcaugagcgggc	270
IMP-IVS14+53	gucgguggcaugagcggg	271

[0192] 表7提供了用于通过靶向由PKD1基因转录的RIC前mRNA的区域来增加由PKD1基因编码的蛋白质的产生量的ASO的序列的非限制性列表。

[0193] 表7. 靶向PKD1基因的ASO的列表

[0194]

ASO	序列	SEQ ID NO
PKD1-IVS32+6	cgagguuucucuaggga	272
PKD1-IVS32+11	gggcucgagguuucucua	273
PKD1-IVS32+16	caccagggcucgagguuu	274
PKD1-IVS32+21	accugcaccagggcucga	275
PKD1-IVS32+26	cagugaccugcaccaggg	276
PKD1-IVS32+31	agacacagugaccugcac	277
PKD1-IVS32+36	acccagacacagugacc	278
PKD1-IVS32+41	ccggcaccacagacacag	279
PKD1-IVS32-16	gucagcaagguaccaggg	280
PKD1-IVS32-32	gggaugugucacacacac	281
PKD1-IVS32-37	gugucacacacacagccc	282
PKD1-IVS32-42	acacacacagcccacccc	283
PKD1-IVS32-47	cacagcccacccccgucc	284

[0195]

PKD1-IVS32-52	ccccccccguccaguca	285
PKD1-IVS32-57	ccccguccagucacgcac	286
PKD1-IVS32-62	uccagucacgcacggaca	287
PKD1-IVS33+6	ccccuccucucaccccag	288
PKD1-IVS33+11	agagccccuccucucac	289
PKD1-IVS33+16	gcuucagagccccuccu	290
PKD1-IVS33+21	ggugagcuucagagcccc	291
PKD1-IVS33+26	gcaagggugagcuucaga	292
PKD1-IVS33-31	cagcugcaagggugagcu	293
PKD1-IVS33-26	gggcccagcugcaagggg	294
PKD1-IVS33-21	aggguggggcccagcugca	295
PKD1-IVS33-16	gcuaaggguggggcccagc	296
PKD1-IVS37+6	gcacaggccgcacccagg	297
PKD1-IVS37+8	gggcacaggccgcaccca	298
PKD1-IVS37+24	gagacggagguggcaggg	299
PKD1-IVS37+29	gacaagagacggaggugg	300
PKD1-IVS37+34	ugggagacaagagacgga	301
PKD1-IVS37+39	ggagguggggagacaagag	302
PKD1-IVS37+44	ggguggggaggugggagac	303
PKD1-IVS37+49	ugcauggggugggaggugg	304
PKD1-IVS37-16	gcccuguggucagccugg	305
PKD1-IVS37-21	guggucagccuggcccca	306
PKD1-IVS37-26	cagccuggccccagccca	307
PKD1-IVS37-31	uggccccagcccacagug	308
PKD1-IVS37-36	ccagcccacagugacagc	309
PKD1-IVS37-41	ccacagugacagcagggc	310
PKD1-IVS37-46	gugacagcagggcuuugg	311
PKD1-IVS37-51	agcagggcuuuggcaacg	312
PKD1-IVS38+6	accagugcaccggaugcc	313

[0196]

PKD1-IVS38+11	gacagaccagugcaccgg	314
PKD1-IVS38+16	cagaagacagaccagugc	315
PKD1-IVS38+21	aagcccagaagacagacc	316
PKD1-IVS38+26	aacuaaagcccagaagac	317
PKD1-IVS38+31	ggcaaaacuaaagcccag	318
PKD1-IVS38+36	cuaaaggcaaaacuaaag	319
PKD1-IVS38+41	cuggacuaaaggcaaaac	320
PKD1-IVS38-16	ucacacgcuccagcccu	321
PKD1-IVS38-21	cgcuccagcccuacugc	322
PKD1-IVS38-26	cagcccuacugcccau	323
PKD1-IVS38-31	ccuacugcccaugcccg	324
PKD1-IVS38-36	ugcccaugcccgccucg	325
PKD1-IVS38-41	caugcccgccucgaguga	326
PKD1-IVS38-46	ccgccucgagugagcggc	327
PKD1-IVS38-51	ucgagugagcgccacca	328

[0197] 表8提供了用于通过靶向由IKBKAP基因转录的RIC前mRNA的区域来增加由IKBKAP基因编码的蛋白质的产生量的ASO的序列的非限制性列表。

[0198] 表8. 靶向IKBKAP基因的ASO的列表

[0199]

ASO	序列	SEQ ID NO
IKB-IVS7+6	uuaacugcaauauuuuc	329
IKB-IVS7+11	guuguuuuacugcaauau	330
IKB-IVS7+16	uuauuguuguuuacugc	331
IKB-IVS7+21	auuuuuuauuguuuua	332
IKB-IVS7+26	uaaaaauuuuuuauuguu	333
IKB-IVS7+31	uaagauaaaauuuuua	334
IKB-IVS7+36	uuuaauaagauaaaaau	335
IKB-IVS7+41	uuaauuuuauaagauaa	336

[0200]

IKB-IVS7-16	gucaaacacacauacaca	337
IKB-IVS7-21	acacacauacacacuuaa	338
IKB-IVS7-26	cauacacacuuaaaacau	339
IKB-IVS7-31	acacuuaaaacauuauga	340
IKB-IVS7-36	uaaaacauuaugauaaaa	341
IKB-IVS7-41	cauuauagauaaaaguugu	342
IKB-IVS7-46	ugauaaaaguugucaauu	343
IKB-IVS7-51	aaaguugucaauucagaa	344
IKB-IVS8+6	cuaagguuucuucucca	345
IKB-IVS8+11	uuucucuaagguuucuuc	346
IKB-IVS8+16	aagaauuucucuaagguu	347
IKB-IVS8+21	guuccaagaauuucucua	348
IKB-IVS8+26	cucugguuccaagaauuu	349
IKB-IVS8+31	cucuacucugguuccaag	350
IKB-IVS8+36	accaccucuacucugguu	351
IKB-IVS8+41	guaccaccaccucuacuc	352
IKB-IVS8-16	gaguguuacaauaucgaa	353
IKB-IVS8-21	uuacaauaucgaaagcuc	354
IKB-IVS8-26	auaucgaaagcucaccua	355
IKB-IVS8-31	gaaagcucaccuaacuaa	356
IKB-IVS8-36	cucaccuaacuaaagaau	357
IKB-IVS8-41	cuaacuaaagaauagaua	358
IKB-IVS8-46	uaaagaauagauaaauc	359
IKB-IVS8-51	aaauagauaaaauccagaa	360
IKB-IVS7+22M	aauuuuuuauuguuguuu	361
IKB-IVS7+23M	aaaauuuuuauuguuguu	362
IKB-IVS7+24M	aaaauuuuuauuguugu	363
IKB-IVS7+25M	aaaaauuuuuauuguug	364
IKB-IVS7+26M	uaaaaauuuuuuauuguu	365

[0201]	IKB-IVS7+27M	auaaaaauuuuuuauugu	366
	IKB-IVS7+28M	gauaaaaauuuuuuauug	367
	IKB-IVS7+29M	agauaaaaauuuuuuauu	368
	IKB-IVS7+30M	aagauaaaaauuuuuuau	369
	IKB-IVS8-16M	gaguguuacaauaucgaa	370
	IKB-IVS8-17M	aguguuacaauaucgaaa	371
	IKB-IVS8-18M	guguuacaauaucgaaag	372
	IKB-IVS8-19M	uguuacaauaucgaaagc	373
	IKB-IVS8-20M	guuacaauaucgaaagcu	374

[0202] 鉴定保留内含子的方法

[0203] 在本公开内容的范围内还包括鉴定(确定)当相邻(上游或下游)内含子从细胞中的前mRNA中剪接掉时前mRNA转录物中的保留内含子的方法。在一个实例中,可通过以下方法测量外显子剪接和连接以及每个内含子从靶基因中去除的程度。本领域技术人员将会理解,可以使用任何方法来确定内含子是否相对于从前mRNA转录物中剪接掉的相邻内含子而保留在前mRNA转录物中,以及靶内含子是否相对于在由相同基因编码的前mRNA内的一个或多个其他内含子而在较大程度上得以保留。

[0204] I. 筛选保留内含子

[0205] 可利用从细胞或组织(例如,疾病相关细胞)中分离出的细胞核RNA进行内含子保留的第一轮筛选,并通过逆转录酶-PCR(RT-PCR)进行分析,例如,以研究由靶基因编码的前RNA。靶基因可以是含有至少一个内含子且编码与疾病或病症相关的或怀疑相关的或引起疾病或病症的蛋白质或功能RNA的任何基因。对于RT-PCR分析,通过设计一系列引物对评估由基因编码的前mRNA中保留的每一个内含子,其中该引物对中的一个引物针对该靶前mRNA的内含子的区域是特异性的,并且该引物对中的另一个引物针对外显子的区域是特异性的,该外显子区域为该内含子上游或下游的两个外显子(图3)。在一些实施方案中,上游或正向引物可与内含子(例如,图3中外显子1与2之间的内含子)内的区域互补和杂交;而下游或反向引物可与位于与所评估的内含子相距两个外显子的外显子内(例如在如图3所示的外显子3内)的区域互补和杂交。或者,上游或正向引物可与外显子内(例如,图3中在外显子2中)的区域互补和杂交;而下游或反向引物可与距正向引物两个外显子的内含子内(例如在如图3所示的外显子3与4之间的内含子内)的区域互补和杂交。可针对每一个由基因编码的内含子来重复引物对的设计。

[0206] 采用每一个引物对进行RT-PCR后,通过本领域已知的任何方法分析RT-PCR产物,例如,在琼脂糖凝胶中分离和可视化。如果存在靶内含子,则预期的RT-PCR产物的近似大小可根据基因和/或前mRNA的核酸序列来估算。RT-PCR分析不存在产物表明,靶内含子不存在且已从前mRNA中去除/剪接,因此在所测试的条件下其并非保留内含子。RT-PCR反应存在约等于估算的产物大小的产物表明,靶内含子存在于前mRNA中且在测试条件下未从前mRNA中去除/剪接,此类内含子被称为“保留内含子”。

[0207] 在需要对许多前RNA或在整个转录物组水平上进行分析的实例中,可通过RNA-seq或任何其他高通量转录分析方法来分析内含子保留的筛选。利用合适的深度测序读数的定位和统计方法进行RNA-seq分析,来测定整个转录物组中的内含子保留事件。

[0208] II. 内含子保留事件的确认

[0209] 可进行前mRNA内的内含子的第二轮筛选以利用诸如RT-PCR等方法来确认内含子保留事件。可再次评估在上述第一轮筛选时被鉴定为保留内含子的每一个内含子。对于RT-PCR分析,通过设计引物对来评估由基因编码的前mRNA中保留的每一个保留内含子,其中该引物对中的一个引物针对该靶前mRNA的内含子的区域是特异性的,并且该引物对中的另一个引物针对外显子的区域是特异性的,该外显子区域为该内含子上游或下游的三个、四个或五个外显子(图4)。在图4所示的示意图中,待评估的保留内含子位于外显子1与2之间。上游或正向引物针对一个区域是特异性的,并在该保留内含子内杂交,而下游或反向引物被设计为与外显子4、外显子5和外显子6中的区域杂交,这些外显子分别与该保留内含子相距3、4和5个外显子。利用所述正向引物和每一个所述反向引物进行RT-PCR反应。

[0210] RT-PCR后,通过本领域已知的任何方法分析RT-PCR产物,例如,在琼脂糖凝胶中分离和可视化。根据来自每一个反应的RT-PCR产物的分子大小,可以确定除所测试的内含子(以上鉴定的保留内含子)之外每一个内含子(例如,外显子2与3、3与4以及4与5之间的内含子)是否也得到保留。当已去除/剪接一个或多个相邻内含子时被发现保留的保留内含子可被称为“低效剪接内含子”。

[0211] III. 测定内含子剪接效率

[0212] 可以进一步评估相对于相同前mRNA中被去除/剪接的其他内含子被鉴定为持久内含子或低效剪接内含子的由靶基因编码的前mRNA中的任何内含子,以测定内含子保留的比例或效率。

[0213] 可通过进行测定如核糖核酸酶保护测定来评估内含子以测定内含子保留的效率(图5)。设计一对RNA探针(例如,放射性标记的RNA探针),其中每一个探针对跨越保留内含子和相邻外显子的末端的区域是特异性的。例如,RNA探针被设计为与跨越保留内含子的5'端和保留内含子上游的外显子的3'端的区域杂交;而第二RNA探针被设计为与跨越保留内含子的3'端和保留内含子下游的外显子的5'端的区域杂交。在一些实施方案中,与该内含子杂交的探针部分的长度为至少100个核苷酸,而与该外显子杂交的探针部分的长度为至少50个核苷酸(图5)。在探针与前mRNA的区域杂交形成双链RNA的区域的条件下,将从疾病相关细胞、组织或细胞系中提取的核RNA与RNA探针对一起温育。前mRNA和RNA探针的混合物用降解单链RNA的核糖核酸酶如核糖核酸酶A和/或核糖核酸酶T1进行消化。双链RNA不被降解。

[0214] 通过本领域已知的任何方法分析核糖核酸酶消化反应,例如,在琼脂糖凝胶中分离和可视化。对应于RNA探针全长(例如,150个核苷酸)的RNA分子的量指示前mRNA中存在的保留内含子的量。对应于消化的RNA探针的RNA分子(例如,长度为约50个核苷酸的RNA分子)的量代表当与RNA探针杂交的内含子不存在于前mRNA中时(例如,被剪接掉)剪接的RNA的量。内含子保留(全长RNA探针的量,例如,100个核苷酸的RNA分子)与剪接RNA(降解的RNA探针的量,例如,50个核苷酸的RNA分子)的比例指示内含子的剪接效率。相对于相同前mRNA的其他内含子的比例为最高的前mRNA的内含子指示该内含子是由靶基因编码的前mRNA的最

低效剪接内含子或最高保留内含子。

[0215] 鉴定增强剪接的ASO的方法

[0216] 本发明的范围内还包括用于鉴定(确定)增强靶前mRNA(特别是靶内含子处)的剪接的ASO的方法。可筛选与前mRNA的靶区域内的不同核苷酸特异性杂交的ASO以鉴定(确定)增加靶内含子的剪接速度和/或程度的ASO。在一些实施方案中,该ASO可阻断或干扰剪接阻抑物/沉默基因的结合位点。可利用本领域已知的任何方法来鉴定(确定)当与内含子的靶区域杂交时导致所需效果(例如,提高的剪接、蛋白质或功能RNA产生)的ASO。这些方法还可用于鉴定通过与位于保留内含子侧翼的外显子中或非保留内含子中的靶向区域结合而增强保留内含子的剪接的ASO。以下提供了可采用的方法的实例。

[0217] 被称为ASO“步移”的一轮筛选可采用被设计为与前mRNA的靶区域杂交的ASO来进行。例如,ASO步移中所用的ASO可从保留内含子的5'剪接位点上游约100个核苷酸(例如,位于靶/保留内含子上游的外显子序列的一部分)至该靶/保留内含子的5'剪接位点下游约100个核苷酸,和/或从该保留内含子的3'剪接位点上游约100个核苷酸至该靶/保留内含子的3'剪接位点下游约100个核苷酸(例如,位于该靶/保留内含子下游的外显子序列的一部分)以每5个核苷酸进行平铺。例如,长度为15个核苷酸的第一ASO可设计为与相对于靶/保留内含子的5'剪接位点的+6至+20核苷酸特异性杂交。将第二ASO设计为与相对于靶/保留内含子的5'剪接位点的+11至+25核苷酸特异性杂交。将ASO设计为跨越前mRNA的靶区域。在实施方案中,ASO可更紧密地平铺,例如,每1个、2个、3个或4个核苷酸。此外,ASO可从5'剪接位点下游的100个核苷酸至3'剪接位点上游的100个核苷酸进行平铺。

[0218] 例如,通过转染将一个或多个ASO或对照ASO(具有错义序列——预期不与靶区域杂交的序列——的ASO)递送至表达靶前mRNA(例如,本文别处所述的RIC前mRNA)的疾病相关细胞系中。如本文所述(参见“内含子保留事件的鉴定”),可通过本领域已知的任何方法,例如通过使用跨越剪接点的引物的逆转录酶(RT)-PCR,评估每一个ASO的剪接诱导效果。与在对照ASO处理的细胞中相比,在ASO处理的细胞中使用跨越剪接点的引物产生的RT-PCR产物的减少或不存在表明靶内含子的剪接已得到加强。在一些实施方案中,可利用本文所述的ASO来提高剪接效率、剪接的与未剪接的前mRNA之比、剪接速度或剪接程度。还可以评估由靶前mRNA编码的蛋白质或功能RNA的量以确定每一个ASO是否均获得所需效果(例如,增加的蛋白质产生量)。可以使用本领域已知用于评估和/或量化蛋白质产生量的任何方法,如蛋白质印迹法、流式细胞术、免疫荧光显微术和ELISA。

[0219] 可利用被设计为与前mRNA的靶区域杂交的ASO来进行被称为ASO“微步移”的第二轮筛选。ASO微步移中所用的ASO以每隔1个核苷酸进行平铺,以进一步精修当与ASO杂交时导致剪接增强的前mRNA的核苷酸序列。

[0220] 借助于ASO“微步移”,包括以1-nt步长间隔的ASO以及更长的ASO(通常为18-25nt),更详细地探索了由促进靶内含子的剪接的ASO所限定的区域。

[0221] 如上对于ASO步移所述,通过将一个或多个ASO或对照ASO(具有错乱(scrambled)序列——预期不与靶区域杂交的序列——的ASO)例如通过转染递送至表达靶前mRNA的疾病相关细胞系中进行ASO微步移。如本文所述(参见“内含子保留事件的鉴定”),可通过本领域已知的任何方法,例如通过采用跨越剪接点的引物的逆转录酶(RT)-PCR,评估每一个ASO的剪接诱导效果。与在对照ASO处理的细胞中相比,在ASO处理的细胞中采用跨越剪接点

的引物所产生的RT-PCR产物的减少或不存在表明靶内含子的剪接已经得到增强。在一些实施方案中,可利用本文所述的ASO来提高剪接效率、已剪接的与未剪接的前mRNA之比、剪接速度或剪接程度。还可以评估由靶前mRNA编码的蛋白质或功能RNA的量以确定每一个ASO是否均达到所需效果(例如,增加的蛋白质产生量)。可以使用本领域已知用于评估和/或量化蛋白质产生量的任何方法,如蛋白质印迹法、流式细胞术、免疫荧光显微术和ELISA。

[0222] 当与前mRNA的区域杂交时导致增强的剪接和增加的蛋白质产生量的ASO可利用动物模型,例如已敲入全长人基因的转基因小鼠模型,或在疾病的人源化小鼠模型中进行体内测试。合适的ASO施用途径可根据需要递送ASO的疾病和/或细胞类型而变化。例如,可通过玻璃体内注射、鞘内注射、腹膜内注射、皮下注射或静脉内注射来施用ASO。施用后,可评估模型动物的细胞、组织和/或器官,以通过例如由本领域已知和本文所述的方法评价剪接(效率、速度、程度)和蛋白质产生量来确定ASO治疗的效果。动物模型还可以是疾病或疾病严重程度的任何表型或行为指示。

[0223] 实施例

[0224] 本发明将通过以下实施例更具体地加以说明。然而,应当理解,本发明不以任何方式由这些实施例来限制。

[0225] 实施例1:内含子保留事件是基因固有的,并且是非生产性的

[0226] 利用本文所述方法对PRPF31 (11型视网膜色素变性) 和RB1 (视网膜母细胞瘤) 基因中的内含子保留事件进行第一轮筛选(图3)。简而言之,从HeLa (人上皮宫颈腺癌) 和293T (人胚肾上皮) 细胞的细胞核部分以及ARPE-19 (人视网膜) 细胞的细胞核和细胞质部分中分离出RNA提取物。采用来自每一个所述细胞类型的RNA提取物进行逆转录酶PCR (RT-PCR)。简而言之,采用寡核苷酸dT进行cDNA合成以仅生成聚A RNA (完全转录的RNA) 的DNA拷贝,并进行PCR以评估PRPF31和RB1转录物中的内含子保留。该PCR产物在1.5%溴化乙锭染色的琼脂糖凝胶上分离(图6A-图6D)。结果显示在测试的三种细胞系中的每一个的细胞核中两个基因 (PRPF31和RB1) 的若干内含子保留事件(由黑色星号标记) (图6A-图6D)。

[0227] 表9和表10列出了在分别针对PRPF31和RB1测试的三种细胞系中发生的所有内含子保留事件。在所有三种细胞系中发生的事件(存在或不存在内含子保留)用星号指示。所述表格显示在这三种细胞系间存在非常高的一致性,这表明内含子保留事件是基因固有的,并且不受不同细胞环境的影响。

[0228] 为了讨论这些事件是否为非生产性的(即能够导致蛋白质产生),采用ARPE-19细胞的细胞质部分进行RT-PCR(图6E)。结果显示,大多数所观察到的内含子保留事件不存在于ARPE-19细胞的细胞质中(图6E,星号标记条带应在的位置),正如预期的,表明内含子保留事件导致转录物保留在细胞核中或在细胞质中被无义介导的mRNA分解所降解,并因此是非生产性的转录物。

[0229] 表9:PRPF31基因中内含子保留事件的结果的总结。“是”指示存在内含子保留;“否”指示不存在内含子保留;“?”指示无法作出结论的结果。在三种细胞系之间存在一致性的情况以星号标记。

PRPF31			
293T	视网膜	HeLa	内含子
是	是	是	1*
否	否	否	2*
是	是	是	3*
是	是	是	4*
否	是	否	5
否	否	否	6*
否	否	否	7*
否	否	否	8*
?	是	?	9
?	是	?	10
否	否	否	11*
是	是	是	12*
否	否	否	14*

[0232] 表10.RB1基因中内含子保留事件的结果的总结。“是”指示存在内含子保留；“否”指示不存在内含子保留。在三种细胞系之间存在一致性的情况以星号标记。

[0233]

RB1			
293T	视网膜	HeLa	内含子
否	否	否	1*
否	否	否	2*
是	是	否	3
否	否	否	4*
是	是	是	5*
是	是	是	6*
是	是	否	7
否	是	是	8
是	是	是	9*
否	是	否	10
否	否	否	11*
是	否	是	12
否	否	否	13*
是	是	是	14*
否	否	否	15*
否	是	否	16
否	是	否	17
否	是	是	18
否	是	是	19

[0234]

是	否	否	20
否	否	是	21
是	是	是	22*
是	是	是	23*
否	否	否	24*
是	是	是	25*

[0235] 实施例2:内含子保留事件的确认

[0236] 使用本文所述方法对PRPF31 (11型视网膜色素变性) 和RB1 (视网膜母细胞瘤) 基因中的内含子保留事件进行第二轮筛选(图4)。简而言之,如实施例1中所述采用来自ARPE-19 (人视网膜) 细胞的细胞核RNA提取物进行逆转录酶PCR (RT-PCR)。在该实施例中,在其中从前mRNA中剪接掉(去除)超过一个内含子的情况下评估内含子保留。结果显示与图6A-图6D的结果相比,两个基因 (PRPF31和RB1) 的内含子保留事件(用黑色星号标记) 均较少(图7A-图7B),减少了候选内含子保留事件的数目。

[0237] 实施例3:经由内含子区域的诱变或ASO靶向而提高的剪接效率增加了基因表达

[0238] 我们旨在提高与 β 地中海贫血有关的HBB (人 β 珠蛋白) 基因的两个内含子中每一个的剪接效率,并评估这是否会导致转录物水平增加。整个HBB开放读框被克隆在小基因报道基因中。将突变引入两个内含子的5' 和3' 剪接位点,以便将它们带入完全共有序列。图8A示出了HBB基因和在剪接位点处引入的突变的示意图。使用Fugene转染试剂将在每个剪接位点处携带突变以及这些突变的组合的小基因报道基因独立地转染至HEK293 (人胚肾上皮) 细胞中24小时。放射性RT-PCR结果显示,仅改善内含子1 (IVS1) 的5' 剪接位点的突变增加了HBB转录物水平(图8B)。对应于突变小基因的HBB PCR产物的条带强度的量化相对于GFP的条带强度进行归一化,并相对于野生型HBB进行绘图。这些柱条表明,当内含子1的剪接效率提高时,HBB的表达水平增加超过2倍(图8C)。我们先前已观察到,HBB内含子1是低效剪接的并且是该基因中的限速内含子(数据未示出)。我们在此证明了通过提高低效剪接内含子的剪接效率可以获得基因表达的显著增加。

[0239] 目的是确定我们是否还可以通过利用ASO提高HBB内含子1的剪接效率来获得HBB-报道基因(小基因) 表达的增加。为此,生成18聚体2'-O-Me ASO以靶向在位置+7处开始的内含子1,以及生成两个18聚体PMO-ASO以靶向分别在相对于5' 剪接点的位置+6和+7处开始的内含子1(图9A;表2,分别为SEQ ID NO:104和105)。首先利用Fugene转染试剂用野生型HBB小基因报道基因和GFP(作为转染对照) 共转染HEK293细胞。四个小时后,利用RNAiMAX (RiM) (Invitrogen) 或EndoPorter (EP) (GeneTools) 递送试剂,对细胞进行未转染、模拟转染或用每一种靶向ASO或非靶向ASO对照独立地进行转染。使用如图9B所示浓度渐增的ASO进行实验达48小时。放射性RT-PCR结果显示,与模拟转染或非靶向ASO相比,具有两种化学的+7靶向ASO增加了HBB转录物水平(图9B)。对于+6PMO-ASO获得了类似的结果(数据未示出)。将对应于来自靶向-ASO转染细胞的HBB PCR产物的条带强度相对于GFP进行归一化,并相对于来自模拟处理的细胞的归一化HBB PCR产物进行绘图。该分析的结果表明,两种靶向ASO(+6和+7) 使HBB转录物水平增加了将近50%(图9C)。这些结果表明,利用ASO提高HBB基因中限速内含子的剪接效率导致基因表达增加。

[0240] 实施例4:经由靶向内含子区域的ASO而提高的剪接效率增加了蛋白质产生量

[0241] 为了检测用+7 2'-O-Me ASO靶向HBB内含子1时蛋白质产生量的增加,我们生成了由上游侧翼为GFP开放读框且下游侧翼为编码T7标签的序列的HBB小基因构成的报道基因构建体(图10A)。将该报道基因整合在模拟内源基因的U2OS细胞的基因组中。模拟转染或用+72'-O-Me ASO转染表达GFP-HBB-T7报道基因的U2OS细胞,并通过蛋白质印迹法分析蛋白质提取物。简而言之,来自两个独立生物复制品的蛋白质提取物在4-20% SDS-聚丙烯酰胺凝胶上运行,转移到硝酸纤维素膜。为了证明蛋白质产生量的增加,采用抗GFP抗体来检测来自GFP-HBB-T7报道基因的蛋白质产物,并采用抗 β 微管蛋白抗体来检测作为加样对照的 β 微

管蛋白。图10B示出了蛋白质印迹结果,其表明在用+7 2'-O-Me ASO处理时增加了GFP-HBB-T7蛋白质(底部条带)。将对应于来自靶向-ASO转染细胞的GFP-HBB-T7蛋白质的条带强度相对于内源性 β 微管蛋白进行归一化,并相对于来自模拟处理的细胞的归一化GFP-HBB-T7蛋白质条带进行绘图。

[0242] 该分析的结果表明,靶向ASO(+7)使GFP-HBB-T7蛋白水平增加超过2.5倍(图10C)。这些结果证实,通过使用靶向限速内含子的5'剪接位点下游区域的ASO来提升剪接效率导致了靶蛋白产生量的增加,如图2所示。

[0243] 实施例5:利用新一代测序通过RNAseq来鉴定ADAMTS13转录物中的内含子保留事件

[0244] 我们使用新一代测序进行全转录物组鸟枪法测序,以概略显示由ADAMTS13基因产生的转录物,从而鉴定内含子保留事件。为此目的,我们从THLE-3(人肝上皮)细胞的细胞核和细胞质部分中分离出聚A+RNA,并使用Illumina的TruSeq Stranded mRNA文库制备试剂盒来构建cDNA文库。对该文库进行对-端测序,产生了定位到人类基因组的100个核苷酸读数(2009年2月,GRCh37/hg19组装体)。针对ADAMTS13的测序结果显示在图11中。简而言之,图11示出了使用由UCSC基因组信息学组(Center for Biomolecular Science&Engineering,University of California,Santa Cruz,1156High Street,Santa Cruz,CA 95064)运行并由例如Rosenbloom等人,2015,“The UCSC Genome Browser database: 2015update,”Nucleic Acids Research 43,Database Issue(doi:10.1093/nar/gku1177)描述的UCSC基因组浏览器显现的定位读数,并且可通过峰值信号推测读数的覆盖范围和数目。峰高指示由特定区域中读数的密度给出的表达水平。所有ADAMTS13同种型的示意图(按比例绘制)由UCSC基因组浏览器(读数信号下面)来提供,使得峰值可与ADAMTS13外显子和内含子区域相匹配。根据此显示,我们鉴定了在THLE-3细胞的细胞核部分中具有高读数密度,但在这些细胞的细胞质部分中具有极低读数至无读数的两个内含子(25和27,由箭头指示)(如图11的底部图示中的内含子25所示)。这表明这两个内含子均被保留并且含内含子25和内含子27的转录物仍然在细胞核中。这提示这些含保留内含子(RIC)的ADAMTS13前mRNA是非生产性的,因为它们不向外输出至细胞质。

[0245] 实施例6:通过ADAMTS13的RNAseq分析所鉴定的内含子保留事件的验证

[0246] 利用本文所述的方法进行ADAMTS13(血栓性血小板减少性紫癜)基因中内含子25-保留事件的验证(图12)。简而言之,如实施例1中所述采用来自A172(人成胶质细胞瘤)和HepG2(人肝细胞瘤)细胞的细胞核和细胞质RNA提取物进行放射性逆转录酶PCR(RT-PCR)。在本实施例中,使用导致含内含子25的转录物和正确剪接的转录物二者扩增的位于外显子25和外显子27中的引物来评估内含子保留。产物在5%聚丙烯酰胺凝胶中运行,并通过磷成像进行可视化。以对应于含内含子25的产物的条带强度相对于总转录物(含内含子的加上正确剪接的)的内含子保留百分比(PIR)来计算内含子25保留水平。条带的量化表明约80%的ADAMTS13转录物含有内含子25并且该产物保留在细胞核中。此外,放射性RT-PCR结果验证了生物信息学预测,证实RNAseq结果的生物信息学分析是鉴定内含子保留事件的有力工具。

[0247] 实施例7:靶向ADAMTS13的内含子25的ASO步移的设计

[0248] 将ASO步移设计为利用本文所述方法靶向内含子25(图13)。用2'-O-Me RNA(PS主

链)、以5个核苷酸间隔移位的18聚体ASO(除了1种ASO——ADAM-IVS25-47以外,以避免一段四个鸟嘌呤)靶向内含子25 5'剪接位点下游紧邻的跨越+6至+58核苷酸的区域和内含子25 3'剪接位点上游紧邻的跨越-16至-79核苷酸的区域(图13;表4,SEQ ID NO:150至167)。根据内含子调节元件集中于剪接位点相邻的序列中的知识选择了这些靶区域。

[0249] 实施例8:经由ADAMTS13内含子25的ASO靶向而提高的剪接效率增加了转录物水平

[0250] 为了确定我们是否可以通过利用ASO提高ADAMTS13内含子25的剪接效率来获得ADAMTS13表达的增加,我们采用了本文所述的方法(图14)。为此,利用RNAiMAX (RiM) (Invitrogen)递送试剂,对HepG2细胞进行模拟转染,或用图13和表4中描述的靶向ASO,SEQ ID NO:150至167中的每一种或非靶向SMN-ASO对照独立地进行转染。利用60nM ASO(如图14所示)进行实验达48小时。放射性RT-PCR结果显示,与模拟转染或非靶向ASO相比,+21和+26靶向ASO增加了ADAMTS13转录物水平(图14)。将对应于来自靶向-ASO转染细胞的ADAMTS13 PCR产物的条带强度相对于 β 肌动蛋白进行归一化,并相对于来自经对照ASO处理的细胞的归一化ADAMTS13 PCR产物进行绘图。该分析的结果表明,两种靶向ASO(+21和+26)使ADAMTS13转录物水平增加将近2.5倍(图14)。这些结果表明,利用ASO提高ADAMTS13基因中限速内含子的剪接效率导致基因表达增加。

[0251] 实施例9:靶向ADAMTS13内含子25的ASO的剂量响应效应

[0252] 为了确定+21和+26ASO以及表现出相反效应的-46ASO的剂量响应效应(图14),我们采用了本文所述的方法(图15)。利用RNAiMAX (RiM) (Invitrogen)递送试剂,如图15所示以浓度渐增的方式对HepG2细胞进行模拟转染,或用三种ASO中的每一种或非靶向SMN-ASO对照独立地转染48小时。放射性RT-PCR结果显示,+21和+26靶向ASO与模拟转染或非靶向ASO相比增加了ADAMTS13转录物水平,而-46ASO与模拟转染或非靶向ASO相比则降低了ADAMTS13转录物水平(图15)。将对应于来自靶向-ASO转染细胞的ADAMTS13 PCR产物的条带强度相对于 β 肌动蛋白进行归一化,并相对于来自经对照ASO处理的细胞的归一化ADAMTS13 PCR产物进行绘图。该分析的结果表明,两种靶向ASO(+21和+26)使ADAMTS13转录物水平增加将近2.5倍(图15)。这些结果确认,利用ASO提高ADAMTS13基因中限速内含子的剪接效率导致基因表达增加。

[0253] 实施例10:经由ADAMTS13内含子25的ASO靶向而提高的剪接效率增加了蛋白质水平

[0254] 为了检测在用+21或+26ASO靶向ADAMTS13内含子25后蛋白质产生量的增加,我们采用了本文所述的方法(图16)。利用RNAiMAX (RiM) (Invitrogen)递送试剂,如图16所示以浓度渐增的方式对HepG2细胞进行模拟转染,或用三种ASO中的每一种或非靶向SMN-ASO对照单独转染48小时。简而言之,来自经HepG2处理的细胞的蛋白质提取物在8% SDS-聚丙烯酰胺凝胶上运行,并转移到硝酸纤维素膜。为了证明蛋白质产生量的增加,采用抗ADAMTS13抗体或抗 α 微管蛋白抗体分别检测ADAMTS13和作为加样对照的 α 微管蛋白。图16示出了蛋白质印迹结果,其表明在用+21或+26ASO处理后ADAMTS13(顶部图幅)以剂量依赖性的方式增加。将对应于来自靶向-ASO转染细胞的ADAMTS13蛋白质的条带强度相对于内源性 α 微管蛋白进行归一化,并相对于来自模拟处理的细胞的归一化ADAMTS13蛋白质条带进行绘图。该分析的结果表明,靶向ASO(+21和+26)使ADAMTS13蛋白水平增加至超过3倍(图16)。这些结果证实,通过采用靶向ADAMTS13内含子25(限速内含子)的5'剪接位点下游的区域的ASO来提升

剪接效率导致了靶蛋白产生量的增加,如图2所示。

[0255] 实施例11:靶向ADAMTS13内含子25的+21至+26区域的ASO微步移的设计

[0256] 将ASO微步移设计为利用本文所述方法靶向内含子25的+21至+26区域(图17)。用2'-O-Me、5'-Me-胞嘧啶RNA(PS主链)、以1个核苷酸间隔移位的18聚体ASO靶向内含子25的5'剪接位点下游的跨越+17至+46的区域(图17;表4,SEQ ID NO:184至197)。根据所观察到的ASO+21和+26的效果(图16)来选择靶区域。

[0257] 实施例12:经由ADAMTS13内含子25+21至+26区域的ASO微步移靶向而提高的剪接效率增加转录物水平

[0258] 为了确定我们是否可以通过利用微步移ASO提高ADAMTS13内含子25的剪接效率来获得ADAMTS13表达的增加,我们采用了本文所述的方法(图18)。为此,利用RNAiMAX(RiM)(Invitrogen)递送试剂,对HepG2细胞进行模拟转染,或用图17以及表4中SEQ ID NO:184至197所描述的靶向ASO中的每一种或非靶向SMN-ASO对照独立地进行转染。利用60nM ASO(如图18所示)进行实验达48小时。放射性RT-PCR结果显示,与模拟转染或非靶向ASO以及两种原始的+21和+26ASO(淡灰色柱条,图18)相比,具有5'-Me-胞嘧啶的+21和+25靶向ASO进一步增加了ADAMTS13转录物水平。将对应于来自靶向-ASO转染细胞的ADAMTS13 PCR产物的条带强度相对于β肌动蛋白进行归一化,并相对于来自经对照ASO处理的细胞的归一化ADAMTS13 PCR产物进行绘图。该分析的结果表明,两种靶向ASO(+21和+25)使ADAMTS13转录物水平增加至将近2.0倍(图18)。这些结果表明,利用ASO提高ADAMTS13基因中限速内含子的剪接效率导致了基因表达的增加,并且通过微步移精修靶区域可导致鉴定更有效的ASO。

[0259] 实施例13:使用新一代测序通过RNAseq鉴定TSC1转录物中的内含子保留事件

[0260] 我们使用新一代测序进行全转录物组鸟枪法测序,以概略显示由TSC1基因产生的转录物,从而鉴定内含子保留事件。为此,我们从原代人星形细胞(AST)和原代人皮质神经元(HCN)细胞的细胞核和细胞质部分中分离出聚A+RNA,并使用Illumina的TruSeq Stranded mRNA文库制备试剂盒构建cDNA文库。对该文库进行对-端测序,产生了定位到人类基因组的100个核苷酸的读数(2009年2月,GRCh37/hg19组装体)。TSC1的测序结果显示在图19中。简而言之,图19显示了利用UCSC基因组浏览器所显现的定位读数,并且读数的覆盖范围和数目可通过峰值信号来推测。峰高指示由特定区域中读数的密度给出的表达水平。所有TSC1同种型的示意图(按比例绘制)由UCSC基因组浏览器(读数信号下面)提供,使得峰值可与TSC1外显子和内含子区域相匹配。根据此显示,我们鉴定了在AST和HCN细胞的细胞核部分中具有高读数密度,但在这些细胞的细胞质部分中具有极低读数至无读数的三个内含子(5、10和11,由箭头指示)(如图19的底部图示中的内含子10所示)。这表明两个内含子均被保留,并且含内含子5、内含子10和内含子11的转录物仍然在细胞核中。这提示这些含保留内含子(RIC)的TSC1前mRNA是非生产性的,因为它们未向外输出至细胞质。

[0261] 实施例14:通过TSC1的RNAseq分析所鉴定的内含子保留事件的验证

[0262] 利用本文所述的方法进行TSC1(复合型结节性硬化症1)基因中内含子10-保留事件的验证(图20)。简而言之,如实施例1中所述利用来自A172(人成胶质细胞瘤)细胞的细胞核和细胞质RNA提取物进行放射性逆转录酶PCR(RT-PCR)。在该实施例中,利用导致含内含子10的转录物和正确剪接的转录物均扩增的位于外显子9和外显子11中的引物来评估内含子保留。产物在5%聚丙烯酰胺凝胶中运行,并通过磷成像进行可视化。以对应于含内含子

10的产物的条带强度相对于总转录物(含内含子的加上正确剪接的)的内含子保留百分比(PIR)来计算内含子10保留水平。条带的量化表明约36%的TSC1转录物含有内含子10并且该产物保留在细胞核中。此外,放射性RT-PCR结果验证了生物信息学预测,证实RNAseq结果的生物信息学分析是鉴定内含子保留事件的有力工具。

[0263] 实施例15:靶向TSC1的内含子10的ASO步移的设计

[0264] 将ASO步移设计为利用本文所述方法靶向内含子10(图21)。用2'-O-Me RNA(PS主链)、以5个核苷酸间隔移位的18聚体ASO靶向内含子10的5'剪接位点下游紧邻的跨越+6至+58核苷酸的区域和内含子10的3'剪接位点上游紧邻的跨越-16至-68核苷酸的区域(图21;表5,SEQ ID NO:214至229)。根据内含子调节元件集中于剪接位点相邻的序列中的知识选择了这些靶区域。

[0265] 实施例16:经由TSC1内含子10的ASO靶向而提高的剪接效率增加转录物水平

[0266] 为了确定我们是否可以通过利用ASO提高TSC1内含子10的剪接效率来获得TSC1表达的增加,我们采用了本文所述的方法(图22)。为此,利用RNAiMAX(RiM)(Invitrogen)递送试剂,对A172细胞进行模拟转染,或用图21以及表5中SEQ ID NO:214至229所描述的靶向ASO中的每一种或非靶向SMN-ASO对照独立地进行转染。利用60nM ASO(如图22所示)进行实验达48小时。放射性RT-PCR结果显示,与模拟转染或非靶向ASO相比,+31靶向ASO增加了TSC1转录物水平(图22)。将对应于来自靶向-ASO转染细胞的TSC1 PCR产物的条带强度相对于β肌动蛋白进行归一化,并相对于来自模拟处理的细胞的归一化TSC1 PCR产物进行绘图。该分析的结果表明,若干种ASO(包括+31)使TSC1转录物水平增加至将近1.5倍(图22)。这些结果表明,利用ASO提高TSC1基因中限速内含子的剪接效率导致基因表达增加。

[0267] 实施例17:靶向TSC1内含子10的ASO的剂量响应效应

[0268] 为了确定+31ASO的剂量响应效应,我们采用了本文所述的方法(图23)。使用RNAiMAX(RiM)(Invitrogen)递送试剂,如图23所示以浓度渐增的方式对A172细胞进行模拟转染或用+31ASO或非靶向SMN-ASO对照独立转染达72小时。放射性RT-PCR结果显示,与模拟转染或非靶向ASO相比,+31靶向ASO增加了TSC1转录物水平(图23)。将对应于来自靶向-ASO转染细胞的TSC1 PCR产物的条带强度相对于β肌动蛋白进行归一化,并相对于来自模拟处理的细胞的归一化TSC1 PCR产物进行绘图。该分析的结果表明,+31靶向ASO使TSC1转录物水平以剂量依赖性的方式增加至将近2.0倍(图23)。利用TSC1转录物中别处的引物通过RTqPCR确认了这些结果,显示了至3倍的增加以及对ASO处理的剂量依赖性响应。这些结果确认,利用ASO提高TSC1基因中限速内含子的剪接效率导致基因表达增加。

[0269] 实施例18:经由TSC1内含子10的ASO靶向而提高的剪接效率增加蛋白质水平

[0270] 为了检测在用+31ASO靶向TSC1内含子10后蛋白质产生量的增加,我们采用了本文所述的方法(图24)。利用RNAiMAX(RiM)(Invitrogen)递送试剂,如图24所示以浓度渐增的方式对A172细胞进行模拟转染或用+31ASO或非靶向SMN-ASO对照独立转染72小时。简而言之,来自经A172处理的细胞的蛋白质提取物在10%SDS-聚丙烯酰胺凝胶上运行,并转移到硝酸纤维素膜。为了证明蛋白质产生量的增加,采用抗TSC1抗体或抗α微管蛋白抗体分别检测TSC1和作为加样对照的α微管蛋白。图24显示了蛋白质印迹结果,其表明在用30和60nM的+31ASO处理后TSC1(顶部图幅)以剂量依赖性的方式增加。将对应于来自靶向-ASO转染细胞的TSC1蛋白的条带强度相对于内源性α微管蛋白进行归一化,并相对于来自模拟处理的细

胞的归一化TSC1蛋白条带进行绘图。该分析的结果表明,靶向ASO(+31)使TSC1蛋白水平增加超过2倍(图24)。这些结果证实,通过利用靶向TSC1内含子10(限速内含子)的5'剪接位点下游的区域的ASO来提升剪接效率导致了靶蛋白产生量的增加,如图2所示。

[0271] 实施例19:利用新一代测序通过RNAseq鉴定IMPDH1转录物中的内含子保留事件

[0272] 我们利用新一代测序进行全转录物组鸟枪法测序,以概略显示由IMPDH1基因(10型视网膜色素变性)产生的转录物,从而鉴定内含子保留事件。为此目的,我们从ARPE-19(人视网膜上皮)细胞的细胞核和细胞质部分中分离出聚A+RNA,并利用Illumina的TruSeq Stranded mRNA文库制备试剂盒来构建cDNA文库。对该文库进行对-端测序,产生了定位到人类基因组的100个核苷酸的读数(2009年2月,GRCh37/hg19组装体)。IMPDH1的测序结果显示在图25中。简而言之,图25显示了利用UCSC基因组浏览器显现的定位读数,并且读数的覆盖范围和数目可通过峰值信号来推断。峰高指示由特定区域中读数的密度给出的表达水平。所有IMPDH1同种型的示意图(按比例绘制)由UCSC基因组浏览器(读数信号下面)来提供,使得峰值可与IMPDH1外显子和内含子区域相匹配。根据此显示,我们鉴定了在ARPE-19细胞的细胞核部分中具有高读数密度,但在这些细胞的细胞质部分中没有读数的一个内含子(14,由箭头指示)(如图25的底部图示中的内含子14所示)。这表明内含子14被保留并且含内含子14的转录物仍然在细胞核中。这提示含保留内含子(RIC)的IMPDH1前mRNA是非生产性的,因为它未向外输出至细胞质。

[0273] 实施例20:靶向IMPDH1的内含子14的ASO步移的设计

[0274] 将ASO步移设计为利用本文所述方法靶向内含子14(图26)。用2'-O-Me RNA(PS主链)、以5个核苷酸间隔移位的18聚体ASO(除了1种ASO——IMP-IVS14+18以外,以避免一段四个鸟嘌呤)来靶向内含子14的5'剪接位点下游紧邻的跨越+6至+65核苷酸的区域和内含子14的3'剪接位点上游紧邻的跨越-16至-68核苷酸的区域(图26;表6,SEQ ID NO:246至261)。根据内含子调节元件集中于剪接位点相邻的序列中的知识选择了这些靶区域。

[0275] 实施例21:经由IMPDH1内含子14的ASO靶向而提高的剪接效率增加转录物水平

[0276] 为了确定我们是否可以通过利用ASO提高IMPDH1内含子14的剪接效率来获得IMPDH1表达的增加,我们采用了本文所述的方法(图27)。为此,利用RNAiMAX(RiM)(Invitrogen)递送试剂,对ARPE-19细胞进行模拟转染,或用图26和表6中SEQ ID NO:246至261所描述的靶向ASO中的每一种或非靶向SMN-ASO对照独立地进行转染。利用60nM ASO(如图27所示)进行实验达48小时。放射性RT-PCR结果显示,与模拟转染或非靶向ASO相比,+48靶向ASO增加了IMPDH1转录物水平(图27)。将对应于来自靶向-ASO转染细胞的IMPDH1 PCR产物的条带强度相对于β肌动蛋白进行归一化,并相对于来自经对照ASO处理的细胞的归一化IMPDH1 PCR产物进行绘图。该分析的结果表明,靶向ASO(+48)使IMPDH1转录物水平增加4.0倍(图27)。这些结果表明,利用ASO提高IMPDH1基因中限速内含子的剪接效率导致基因表达增加。

[0277] 实施例22:靶向IMPDH1内含子14的ASO+48的剂量响应效应

[0278] 为了确定+48ASO的剂量响应效应,我们采用了本文所述的方法(图28)。利用RNAiMAX(RiM)(Invitrogen)递送试剂,如图28所示以浓度渐增的方式对ARPE-19细胞进行模拟转染或用+48ASO或非靶向SMN-ASO对照独立转染72小时。放射性RT-PCR结果显示,与模拟转染或非靶向ASO相比,+48靶向ASO以剂量依赖性的方式增加了IMPDH1转录物水平(图

28)。将对应于来自靶向-ASO转染细胞的IMPDH1 PCR产物的条带强度相对于β肌动蛋白进行归一化,并相对于来自模拟处理的细胞的归一化IMPDH1 PCR产物进行绘图。该分析的结果表明,靶向ASO(+48)使IMPDH1转录物水平增加将近1.5倍(图28,中间图)。利用IMPDH1转录物中别处的引物通过RTqPCR证实了这些结果,显示了2.5倍的增加以及对ASO处理的剂量依赖性响应(图28,右图)。此外,对于内含子14保留计算PIR(如实施例6所述)并对所述值进行绘图,其表明随着ASO浓度和正确剪接的转录物增加,观察到内含子14保留的减少(图28,左图)。这些结果确认,利用ASO提高IMPDH1基因中限速内含子的剪接效率导致基因表达增加。

[0279] 实施例23:经由IMPDH1内含子14的ASO靶向而提高的剪接效率增加蛋白质水平

[0280] 为了检测在用+48ASO靶向IMPDH1内含子14后蛋白质产生量的增加,我们采用了本文所述的方法(图29)。利用RNAiMAX (RiM) (Invitrogen)递送试剂,如图29所示以浓度渐增的方式对ARPE-19细胞进行模拟转染或用+48ASO或非靶向SMN-ASO对照独立转染72小时。简而言之,来自经ARPE-19处理的细胞的蛋白质提取物在4-20%SDS-聚丙烯酰胺凝胶上运行,并转移到硝酸纤维素膜。为了证明蛋白质产生量的增加,采用抗IMPDH1抗体、抗β连环蛋白抗体或β肌动蛋白分别检测IMPDH1,和作为加样对照的β连环蛋白或β肌动蛋白。图29显示了蛋白质印迹结果,其表明在用+48ASO处理后IMPDH1以剂量依赖性的方式增加。将对应于来自靶向-ASO转染细胞的IMPDH1蛋白的条带强度相对于内源性β肌动蛋白进行归一化,并相对于来自模拟处理的细胞的归一化IMPDH1蛋白条带进行绘图。该分析的结果表明,靶向ASO(+48)使IMPDH1蛋白水平增加至将近2.5倍(图29)。这些结果证实,通过利用靶向IMPDH1内含子14(限速内含子)的5'剪接位点下游的区域的ASO来提升剪接效率导致了靶蛋白产生量的增加,如图2所示。

[0281] 实施例24:靶向IMPDH1内含子14的+48区域的ASO微步移的设计

[0282] 将ASO微步移设计为利用本文所述方法靶向内含子14的+44至+70区域(图30)。用2'-O-Me、5'-Me-胞嘧啶RNA(PS主链)、以1个核苷酸间隔移位的18聚体ASO靶向内含子14的5'剪接位点下游的跨越+44至+70的区域(图30;表6,SEQ ID NO:262至271)。根据所观察到的ASO+48的效果(图29)选择了靶区域。

[0283] 实施例25:经由IMPDH1内含子14+48区域的ASO微步移靶向而提高的剪接效率增加转录物水平

[0284] 为了确定我们是否可以通过利用微步移ASO提高IMPDH1内含子14的剪接效率来获得IMPDH1表达的增加,我们采用了本文所述的方法(图31)。为此,利用RNAiMAX (RiM) (Invitrogen)递送试剂,对ARPE-19细胞进行模拟转染,或用图30和表6SEQ ID NO:262至271中所描述的靶向ASO中的每一种或非靶向SMN-ASO对照独立地进行转染。利用60nM ASO(如图31所示)进行实验达48小时。RT-qPCR结果显示,与模拟转染或非靶向ASO以及原始的+48ASO相比,+46和+47靶向ASO进一步增加了IMPDH1转录物水平(图31)。该分析的结果表明,两种靶向ASO(+46和+47)使IMPDH1转录物水平增加至超过3.0倍(图31)。这些结果表明,利用ASO提高IMPDH1基因中限速内含子的剪接速度导致了基因表达的增加,并且通过微步移精修靶区域可导致鉴定更有效的ASO。

[0285] 实施例26:利用新一代测序通过RNAseq鉴定PKD1转录物中的内含子保留事件

[0286] 我们利用新一代测序进行全转录物组鸟枪法测序,以概略显示由PKD1基因(多囊肾病)产生的转录物,从而鉴定内含子保留事件。为此,我们从原代人肾上皮(REN)细胞的细

胞核和细胞质部分中分离出聚A+RNA,并利用Illumina的TruSeq Stranded mRNA文库制备试剂盒来构建cDNA文库。对该文库进行对-端测序,产生了定位到人类基因组的100个核苷酸的读数(2009年2月,GRCh37/hg19组装体)。PKD1的测序结果显示在图32中。简而言之,图32显示了利用UCSC基因组浏览器显现的定位读数,并且读数的覆盖范围和数目可通过峰值信号加以推断。峰高指示由特定区域中读数的密度给出的表达水平。所有PKD1同种型的示意图(按比例绘制)由UCSC基因组浏览器(读数信号下面)提供,使得峰值可与PKD1外显子和内含子区域相匹配。根据此显示,我们鉴定了在REN细胞的细胞核部分中具有高读数密度,但在这些细胞的细胞质部分中具有极低读数至无读数的四个内含子(32、33、37和38,由箭头指示)(如图32的底部图示中的内含子37所示)。这表明这四个内含子均被保留并且含内含子32、内含子33、内含子37和内含子38的转录物仍然在细胞核中。这提示这些含保留内含子(RIC)的PKD1前mRNA是非生产性的,因为它们未向外输出至细胞质。

[0287] 实施例27:靶向PKD1的内含子37的ASO步移的设计

[0288] 将ASO步移设计为利用本文所述方法靶向内含子37(图33)。用2'-O-Me RNA(PS主链)、以5个核苷酸间隔移位的18聚体ASO(除了2种ASO——PKD1-IVS37+8和+24以外,以避免一段四个鸟嘌呤)靶向内含子37 5'剪接位点下游紧邻的跨越+6至+66核苷酸的区域和内含子37 3'剪接位点上游紧邻的跨越-16至-51核苷酸的区域(图33;表7,SEQ ID NO:297至312)。根据内含子调节元件集中于剪接位点相邻的序列中的知识选择了这些靶区域。

[0289] 实施例28:经由PKD1内含子37的ASO靶向而提高的剪接效率增加转录物水平

[0290] 为了确定我们是否可以通过利用ASO提高PKD1内含子37的剪接效率来获得PKD1表达的增加,我们采用了本文所述的方法(图34)。为此,利用RNAiMAX(RiM)(Invitrogen)递送试剂,对HEK293细胞进行模拟转染,或用图33和表7中SEQ ID NO:297至312所描述的靶向ASO中的每一种或非靶向SMN-ASO对照独立地进行转染。利用60nM ASO(如图34所示)进行实验达48小时。放射性RT-PCR结果显示,与模拟转染或非靶向ASO相比,+29靶向ASO增加了PKD1转录物水平(图34)。将对应于来自靶向-ASO转染细胞的PKD1 PCR产物的条带强度相对于β肌动蛋白进行归一化,并相对于来自模拟处理的细胞的归一化PKD1 PCR产物进行绘图。来自该分析的结果表明,+29ASO使PKD1转录物水平增加至1.8倍(图34)。这些结果表明,利用ASO提高PKD1基因中限速内含子的剪接效率导致基因表达增加。

[0291] 实施例29:靶向PKD1内含子37的ASO的剂量响应效应

[0292] 为了确定+29ASO的剂量-响应效应,我们采用了本文所述的方法(图35)。利用RNAiMAX(RiM)(Invitrogen)递送试剂,如图35所示以浓度渐增的方式对HEK293细胞进行模拟转染或用+29ASO或非靶向SMN-ASO对照独立转染48小时。放射性RT-PCR结果显示,与模拟转染或非靶向ASO相比,+29靶向ASO增加了PKD1转录物水平(图35)。将对应于来自靶向-ASO转染细胞的PKD1 PCR产物的条带强度相对于β肌动蛋白进行归一化,并相对于来自模拟处理的细胞的归一化PKD1 PCR产物进行绘图。该分析的结果表明,+29靶向ASO使PKD1转录物水平以剂量依赖性的方式增加至超过2.0倍(图35,中间图)。使用PKD1转录物中别处的引物通过RTqPCR确认了这些结果,显示了超过2倍的增加以及对ASO处理的剂量依赖性响应(图35,右图)。此外,对于内含子37保留计算PIR(如实施例6所述)并对所述值进行绘图,其表明随着ASO浓度和正确剪接的转录物增加,观察到内含子37保留的减少(图35,左图)。这些结果确认,利用ASO提高PKD1基因中限速内含子的剪接效率导致基因表达增加。

[0293] 实施例30:经由PKD1内含子37的ASO靶向而提高的剪接效率增加蛋白质水平

[0294] 为了检测在用+29ASO靶向PKD1内含子37后蛋白质产生量的增加,我们采用了本文所述的方法(图36)。利用RNAiMAX (RiM) (Invitrogen) 递送试剂,如图36所示以浓度渐增的方式对HEK293细胞进行模拟转染或用+29ASO或非靶向SMN-ASO对照独立转染72小时。简而言之,将细胞固定和透化处理,并用抗PKD1抗体或IgG同种型对照抗体进行处理。通过流式细胞术计数10,000个细胞来分析细胞。图36显示了荧光强度/细胞计数的图,其表明与模拟处理(未处理)的细胞相比,ASO浓度越高的细胞具有越强的PKD1信号。由对应于经+29ASO处理的细胞的荧光强度相对于对应于模拟处理的细胞的荧光强度的倍数变化进行绘图。该分析的结果表明,靶向ASO(+29)使PKD1蛋白水平增加至将近1.5倍(图36)。这些结果证实,通过利用靶向PKD1内含子37(限速内含子)的5'剪接位点下游的区域的ASO来提升剪接效率导致了靶蛋白产生量的增加,如图2所示。

[0295] 实施例31:利用新一代测序通过RNAseq鉴定IKBKAP转录物中的内含子保留事件

[0296] 我们利用新一代测序进行全转录物组鸟枪法测序,以概略显示由IKBKAP基因产生的转录物,从而鉴定内含子保留事件。为此目的,我们从ARPE-19、AST、人支气管上皮(BRON)、HCN、REN和THLE-3细胞的细胞核和细胞质部分中分离出聚A+RNA,并利用Illumina的TruSeq Stranded mRNA文库制备试剂盒来构建cDNA文库。对该文库进行对-端测序,产生了定位到人类基因组的100个核苷酸的读数(2009年2月,GRCh37/hg19组装体)。IKBKAP的测序结果显示在图37A和图37B中。简而言之,图37A和图37B显示了利用UCSC基因组浏览器显现的定位读数,并且读数的覆盖范围和数目可通过峰值信号加以推断。峰高指示由特定区域中读数的密度给出的表达水平。所有IKBKAP同种型的示意图(按比例绘制)由UCSC基因组浏览器(读数信号下面)提供,使得峰值可与IKBKAP外显子和内含子区域相匹配。根据此显示,我们鉴定了在所有测序细胞的细胞核部分中具有高读数密度,但在这些细胞的细胞质部分中没有读数的2个内含子(7和8,由箭头指示)(如图37B中的两个内含子所示)。这表明内含子7和8均被保留并且含内含子7和内含子8的转录物仍然在细胞核中。这提示含保留内含子(RIC)的IKBKAP前mRNA是非生产性的,因为它们未向外输出至细胞质。

[0297] 实施例32:通过IKBKAP的RNAseq分析鉴定的内含子保留事件的验证

[0298] 利用本文所述的方法进行IKBKAP(家族性自主神经功能异常)基因中内含子7-保留事件的验证(图38)。简而言之,如实施例1中所述采用来自ARPE-19、HeLa和U2OS细胞的细胞核和细胞质RNA提取物进行放射性逆转录酶PCR(RT-PCR)。在该实施例中,利用导致含内含子7的转录物和正确剪接的转录物均扩增的位于外显子6和外显子8中的引物来评估内含子保留。产物在5%聚丙烯酰胺凝胶中运行,并通过磷成像进行可视化。以对应于含内含子7的产物的条带强度相对于总转录物(含内含子的加上正确剪接的)的内含子保留百分比(PIR)来计算内含子7保留水平。条带的量化表明约35%的IKBKAP转录物含有内含子7并且该产物保留在细胞核中。此外,放射性RT-PCR结果验证了生物信息学预测,证实RNAseq结果的生物信息学分析是鉴定内含子保留事件的有力工具。

[0299] 实施例33:靶向IKBKAP的内含子7和8的ASO步移的设计

[0300] 将ASO步移设计为利用本文所述方法靶向内含子7(图39A)或内含子8(图39B)。用2'-O-Me RNA(PS主链)、以5个核苷酸间隔移位的18聚体ASO靶向内含子7或8的5'剪接位点下游紧邻的跨越+6至+58核苷酸的区域和内含子7或8的3'剪接位点上游紧邻的跨越-16至-

68核苷酸的区域(图39A和图39B;表8,SEQ ID NO:329至360)。根据内含子调节元件集中于剪接位点相邻的序列中的知识选择了这些靶区域。

[0301] 实施例34:经由IKBKAP内含子7和8的ASO靶向而提高的剪接效率增加转录物水平

[0302] 为了确定我们是否可以通过利用ASO提高IKBKAP内含子7或8的剪接效率来获得IKBKAP表达的增加,我们采用了本文所述的方法(图40)。为此,利用RNAiMAX (RiM) (Invitrogen) 递送试剂,对ARPE-19细胞进行模拟转染,或用图39A和图39B和表8中SEQ ID NO:329至360所描述的靶向ASO中的每一种或非靶向SMN-ASO对照独立地进行转染。利用60nM ASO(如图40所示)进行实验达48小时。相对于来自模拟处理的细胞的归一化IKBKAP PCR产物而绘图的RT-qPCR结果显示,与模拟转染或非靶向ASO相比,IVS7+26靶向ASO(顶部图)以及IVS8+26和-16(底部图)靶向ASO增加了IKBKAP转录物水平(图40)。该分析表明,这些ASO使IKBKAP转录物水平增加将近1.2-1.6倍(图40)。这些结果表明,利用ASO提高IKBKAP基因中限速内含子的剪接效率导致基因表达增加。

[0303] 实施例35:靶向IKBKAP内含子7和8的ASO的剂量响应效应

[0304] 为了确定IVS7+26和IVS8-16 ASO的剂量-响应效应,我们采用了本文所述的方法(图41)。利用RNAiMAX (RiM) (Invitrogen) 递送试剂,以浓度渐增的方式对ARPE-19细胞进行模拟转染,或用IVS7+26或IVS8-16 ASO,或非靶向SMN-ASO对照独立地进行转染,或用各自45nM的两种ASO的组合转染72小时(图41)。放射性RT-PCR结果显示,与模拟转染或非靶向ASO相比,IVS7+26或IVS8-16靶向ASO以剂量依赖性的方式增加了IKBKAP转录物水平(图41)。将对应于来自靶向-ASO转染细胞的IKBKAP PCR产物的条带强度相对于β肌动蛋白进行归一化,并相对于来自模拟处理的细胞的归一化IKBKAP PCR产物进行绘图。该分析的结果表明,IVS7+26和IVS8-16靶向ASO,并且它们的组合使IKBKAP转录物水平以剂量依赖性的方式增加至2.0-2.5倍(图40)。这些结果确认,利用ASO提高IKBKAP基因中限速内含子的剪接效率导致基因表达增加。

[0305] 实施例36:经由IKBKAP内含子7或8的ASO靶向而提高的剪接效率增加蛋白质水平

[0306] 为了分别检测在用IVS7+26ASO或IVS8-16 ASO靶向IKBKAP内含子7或8后蛋白质产生量的增加,我们采用了本文所述的方法(图42)。利用RNAiMAX (RiM) (Invitrogen) 递送试剂,以浓度渐增的方式对ARPE-19细胞进行模拟转染,或用IVS7+26ASO或IVS8-16 ASO,或非靶向SMN-ASO对照独立地进行转染,或用各自45nM的两种ASO的组合转染72小时(图42)。简而言之,来自经ARPE-19处理的细胞的蛋白质提取物在4-20%SDS-聚丙烯酰胺凝胶上运行,并转移到硝酸纤维素膜。为了证明蛋白质产生量的增加,采用抗IKAP抗体或抗β连环蛋白抗体分别检测IKAP,和作为加样对照的β连环蛋白。图42显示了蛋白质印迹结果,其表明在用IVS7+26ASO或IVS8-16 ASO或两种ASO的组合处理后IKAP以剂量依赖性的方式增加。将对应于来自靶向-ASO转染细胞的IKAP蛋白的条带强度相对于内源性β连环蛋白进行归一化,并相对于来自模拟处理的细胞的归一化IKAP蛋白质条带进行绘图。该分析的结果表明,靶向ASO IVS7+26和IVS8-16使IKAP蛋白水平增加至约3倍(图42)。这些结果证实,通过利用靶向IKBKAP内含子7的5'剪接位点下游的区域或IKBKAP内含子8的3'剪接位点上游的区域的ASO来提升剪接效率导致了靶蛋白产生量的增加,如图2所述。

[0307] 表11:PRPF31靶序列

[0308]

SEQ ID NO	区域	靶序列
1	外显子 10	UGGGCUACGAACUGAAGGAUGAGAUCGAGCGCA AAUUCGACAAGUGGCAGGAGCCGCCGCCUGUGA AGCAGGUGAAGCCGCUGCCUGCGCCCCUGGAUG GACAGCGGAAGAAGCGAGGCGGCCG
2	内含子 10	ggggccugggggguccgguaggcaugggggucauggaggggagaagccgg cguccuccuuccagccgacuccuggcgccgccca
3	外显子 11	UACCGCAAGAUGAAGGAGCGGCUGGGGCUGACG GAGAUCGGAAGCAGGCCAACCGUAUGAGCUUC GGA
4	外显子 12	UCGAGGAGGACGCCUACCAGGAGGACCUGGGAU UCAGCCUGGGCCACCUGGGCAAGUCGGGCAGUG GGCGUGUGCGGCAGACACAGGUAAACGAGGCCA CCAAGGCCAGGAUCUCCAAGACGCUG
5	内含子 12	ggccagaccaggguggggcuggggaccgaggacacaagguggggggag cccagaucgcagccucc
6	外显子 13	GGACCCUGCAGAAGCAGAGCGUCGUUAUAUGGCG GGAAGUCCACCAUCCGCGACCGCUCCUCGGGCA

[0309]

		CGGCCUCCAGCGUGGCCUUCACCCCACUC
--	--	-------------------------------

[0310] 表12:RB1靶序列

[0311]

SEQ ID NO	区域	靶序列
7	外显子 24	AUCUUAGUAUCAAUUGGUGAAUCAUUC
8	内含子 24	tttttctttctatgaaatataatagtatgcattgtaagtataaaagaaattaaagctttct ataattgaatttccaaatgcagttattcaaacacctcatccaggcatattgcatagaa tttatgagatatatatctcagatttactttcaaatcaagtttaattctcaaatcatactc ctaattggtgaacttcaaaacttttctaaatatccacttgagattatataatacatatata catttggtatatacatatatactgagctgttttctcacaacatttctatcacc aaatgtgtgagattttttctcaccctaatctattctcaactctctggtgttctacaattc aattcaattctgacactaattaccagagtcagcatcagactccacaggtcaagg gctcagtcacacaaaaatgggtctcactgcagacaccagtcacaagtgtcaggtcc ccaggctacaccacacttccgtctgacttgaatacgaagttggggggtccgatag tgcctcttcttacagttgatccactgccagaactactcacaaaactctggaaaata ttctacttactattatcagttcatcataaaagatacaaatgaacagccagatgaagaa atattatatagggtgaggtccagaagagtccttagcacaggggcttctgtccctgg ggagttggggtgcaccaccttccctagcacttagacatgtttaccaactccaaagat ctccaaccttattgttgaggggttttatgggggttcattatataggcataattgatt aactcaatttccaacccccctccctccctggatagagggtggggctgaaagtcca agcttctactcaagacttggtctttctggcaaccagcttccatcctaaattagctaggt acccaccaagtatcacctcattagaacaaaagatgggtcccatcacccttatcacac atgaaattcgaagggttttaggagctctgtcccaggaaccaggggacaaagaccaa atatctttcaatgataccatgtatgtatgtacataacctcacaggaattttataaaac aatttgaaattcactcattatgagtgtgattgaaatgagatactccaaaatgtaagc ccgatatccaaatgtcaccagcctgtccctgcctactggtctccttcatacatatgc actttttgcttgccttctctcagacttctaggatattcttttctggtacactgattagg aattgttgcagatgcctgcctcagtgaaagtggcagagcttcattctaggagat

[0312]

ccaagggaaagctttgctttgaaacatttattctaggctgcaaattccacaaccctag
 ttggccttcattaaagtcactaattcagcagtccecatattcaatatgcattactgttaa
 tatgttgcaccatctccattcccctgagagcttatatttttaatttttaatttttttag
 agacagtgtctcactctgtcacctacttattataacctcaaactcctcggcccaagc
 agtcctctcaccttagcctcccaagttgccaggactacaggcatgcaccaccatgt
 ccagctaatttttaattttttgtagagacagggtttctatgttggccagattggtattg
 aactcctggcttcacgataccccgtctcagcctcccaaagaactgggattacaga
 tgtgagccactgcacctggccagagagcttatattcttataggaatgggaagactg
 cctatgttatgtgtgtacataatacattacccccaaactagtgtacttaaaacaaac
 gcttattatctccatttctgtgggtcaataatctaggcatgacttagctgggccagag
 ttctccaaagtctgtgatcaagggtgtcagttgggctgggcctgcagtcattcaag
 gctccactagaggagcattcactggcagacttattcaaatggctgttggctgatcct
 cgatggctattggcccctctattggttcttggccttgggcccctccatagtactgctt
 gctattcacaacatggcagcttgccttggccagagcagggactctgaggagggca
 gggaaataaagagcaagagagaggtcacagtcttattgtaatctaattctggaaat
 gacagcccattacttttggcatattatttgggttagaagcaagacaacagtagatcta
 gcccacacacgaggggaggaggatcacacaaggagggtgaataccaggagggtg
 gggctattgggagccatctgagaggctgccaccacactgcctcaagtaactag
 ggagagggtaaaagtattatgccagatgaccaaataataaatgtgtgtacaaata
 gttcacgatgggctcagctgtcagactttacaaaggagctatgggacctataagg
 acagttggaactggctaggtatcacatagtggtcttcaaacatttttgcctgccataa
 cctctaaaataattgggaaaaagtgaatgtacttccatatcttaaagctgataattta
 aaatattatacatttaatagcagcacgggatttagttttgttaaattgtatatgtctcc
 aaatagatttaccatcaaaacctgtttgaatttaatttgggagaattcgtagttaa
 ttttggaaaataaagtataattggcaaagctaactcactgttgaatctatccgtca
 aatcagatataatttctatcagaaagtctatatgactgtcaacataatacccataaag
 tgaatcaaaaattattattcattgaacacatcatctcttatcaaatcttgtgaccttctt
 ctggttgataatagcctaaaaaacaacaaaaaggacaaaaagcaagttccagaaa
 gctgttctgacttgcctacttctgaaaagtagtcctgtatgggtgggttctgaaaatga

[0313]

		ggaaccaggactgcagagtaggcagttgctggaggaagaatgtgagctgcatg ggaaaagacaggaggatttacaagagtgggtgtttaattggggatggaattagg tagttattctgatttttagattttcatatcttttatttggccaatgaagcagaaaatttaa atgaagtattacctttgcctgatttttgacacacctcaaactataacttgagggtgcta actatgaaacactggcatttaatgatttaaagtaaagaa
9	外显子 25	CUUCUGAGAAGUUCCAGAAAAUAAAUCAGAUGG UAUGUAAACAGCGACCGUGUGCUCAAAGAAGUG CUGAAGGAAGCAACCCUCCUAAACCACUGAAAA AACUACGCUUUGAUUUUGAAGGAUCAGAUGAAG CAGAUGG

[0314] 表13:HBB靶序列

[0315]

SEQ ID NO	区域	靶序列
10	外显子 1	AUGGUGCAUCUGACUCCUGAGGAGAAGUCUGCC GUUACUGCCCUGUGGGGCAAGGUGAACGUGGAU GAAGUUGGUGGUGAGGCCUUGG
11	内含子 1	tatcaaggttacaagacaggtttaaggagaccaatagaaactgggcatgtggaga cagagaagactcttgggtttctgataggcactgactctctctgcctattggteta
12	外显子 2	CUGCUGGUGGUCUACCCUUGGACCCAGAGGUUC UUUGAGUCCUUUGGGGAUCUGUCCACUCCUGAU GCUGUUAUGGGCAACCCUAAGGUGAAGGCUCAU GGCAAGAAAGUGCUCGGUGCCUUUAGUGAUGGC CUGGCUCACCUGGACAACCUCAAGGGCACCUUU GCCACACUGAGUGAGCUGCACUGUGACAAGCUG CACGUGGAUCCUGAGAACUUC

[0316] 表14:HBG1/HBG2靶序列

[0317]

SEQ ID NO	区域	靶序列
13	外显子 1	ACACUCGCUUCUGGAACGUCUGAGGUUAUCAAU AAGCUCCUAGUCCAGACGCCAUGGGUCAUUUCA CAGAGGAGGACAAGGCUACUAUCACAAGCCUGU GGGGCAAGGUGAAUGUGGAAGAUGCUGGAGGA GAAACCCUGGG
14	内含子 1-5'	ctctggtgaccaggacaagggaggggaaggaaggaccctgtgcctggcaaaagt ccaggtcgcttctcaggatttgtggcaccttctgactgtcaaactgttc
15	外显子 2	CUCCUGGUUGUCUACCCAUGGACCCAGAGGUUC UUUGACAGCUUUGGCAACCUGUCCUCUGCCUCU GCCAUC AUGGGCAACCCCAAAGUCAAGGCACAU GGCAAGAAGGUGCUGACUCCUUGGGAGAUGCC ACAAAGCACCUGGAUGAUCUCAAGGGCACCUUU GCCCAGCUGAGUGAACUGCACUGUGACAAGCUG CAUGUGGAUCCUGAGAACUUC
16	内含子 2	tccaggagatgtttcagccctgttgcttttagtctcgaggcaacttagacaacgga gtattgatctgagcacagcagggtgtgagctgtttgaagatactgggggtgggggt gaagaaactgcagaggactaactgggctgagaccagtggtaatgttttagggcc taaggagtgcctctaaaaatctagatggacaatttgactttgagaaaagagaggt ggaaatgaggaaaatgacttttcttattagattccagtagaaagaactttcatcttc cctcattttgtgttttaaacatctatctggaggcaggacaagtatggtcgttaaaa agatgcaggcagaaggcatatattggctcagtcaaagtggggaactttggtggcc aaacatacattgctaaggctattcctatatcagctggacacatataaaatgctgctaa tgcttcattacaaacttatatcctttaattccagatgggggcaaagtatgtccagggg tgaggaacaattgaaacatttgggctggagtagattttgaaagtcagctctgtgtgt gtgtgtgtgtgtgcgcgcgcgcgtgtgtgtgtgtgtgtcagcgtgtgttctttaac

[0318]

		gtcttcagcctacaacatacagggttcatggtggcaagaagatagcaagatttaa ttatggccagtgactagtgttggaaggggaacaactacctgcatttaattgggaagg caaaatctcaggctttgaggggaagtaacataggcttgattctgggtggaagcttg gtgtgtagtattctggaggccaggctggagctctcagctcactatgggttcatttta ttgtctc
17	外显子 3	UCCUGGGAAAUGUGCUGGUGACCGUUUUGGCAA UCCAUUUCGGCAAAGAAUUCACCCCUGAGGUGC AGGCUUCCUGGCAGAAGAUGGUGACUGCAGUGG CCAGUGCCCUGUCCUCCAGAUACCAC

[0319] 表15:CFTR靶序列

[0320]

SEQ ID NO	区域	靶序列
18	外显子 1	AAUUGGAAGCAAAUGACAUCACAGCAGGUCAGA GAAAAAGGGUUGAGCGGCAGGCACCCAGAGUAG UAGGUCUUUGGCAUUAGGAGCUUGAGCCCAGAC GGCCCUAGCAGGGACCCCAGCGCCCGAGAGACC AUGCAGAGGUCGCCUCUGGAAAAGGCCAGCGUU GUCUCCAAACUUUUUUU
19	内含子 1	aaggtggccaaccgagcttcggaaagacacgtgccacgaaagaggagggcg tgtgtatgggttgggttggggttaaaggaataagcagttttaaaaagatgcgctat cattcattgtttgaaagaaaatgtgggtattgtagaataaaacagaaagcattaaga agagatggaagaatgaactgaagctgattgaatagagagccacatctacttgcaa ctgaaaagttagaatctcaagactcaagtacgctactatgcacttgttttatttcatttt ctaagaaactaaaaatactgttaataagtacctaagtatggtttattggttttccccct tcatgccttgacacttgattgtcttcttggcacatacaggtgccatgcctgcata gtaagtgctcagaaaacatttctgactgaattcagccaacaaaaatttgggtag gtagaaaatatatgcttaaagtatttattgttatgagactggatatatctagtattgtca

[0321]

		caggtaaatagtattcttcaaaaattgaaagcaaattgttgaaatatttattttgaaaaa gttacttcacaagctataaattttaaaagccataggaatagataccgaagtatatcc aactgacatttaataaattgtattcatagcctaattgtgatgagccacagaagcttgca aactttaatgagattttttaaataagcatctaagttcggaatcttaggcaaagtgtgtt agatgtagcacttcataattgaaagtgttctttggatattgcatctactttgttctgttatt atactgggtgtgaatgaatgaataggtactgctctctcttgggacattacttgacacat aattaccaatgaataagcatactgaggtatcaaaaaagtcaaatatgtataaata gctcatatatgtgtgtaggggggaaggaaatttagctttcacatctctcttatgttttagtt ctctgcat.....ccaaataaggtctgaatgacacaaatttagaactctccagaga aaagaaagatgctgagggaaaaagcataggtttgggactcactaaatcccagttc aattcctttcttaataaataatattcaattttacctgagaaagctctcgtgctctcgaattt tatttagaaattctctttgtacatgattgatttcacaatccttctctgctcctctctac tttctctttctagattttctctatctttatgaagattattctgccttatctcaacagttaga aacaatattttgaaaatcactacgggtatctgcatagtgatttcccatgccaaacttta ctaattccattataaattatttatttattgatgcctagagggcagatgagtgtagctgct atggagtgaggagacaaaacataagaaagttatgacacctaccctcaggtaatgatt cagacatgataattaagtcaacaaattgatagaaactaatcactaactctctggtat agtcattcttcaatgaatagctcattactgagtatgcatgctacagtaacaaaattat ataaggctgttgattaaatgttgattaaagtgcattgttattcagagttttttatattga aatggaagaggctggacttcagtaatttgctataaactgctagtatatgattattgg gggcagttatttttaaagaataatttaaataatggaatgtttagcagtttgttttcctg ggaaaaaccatactattattccctcccaatcccttgacaaagtgcagtcacatta gttcagagatattgatgttttatacaggtgtagcctgtaagagatgaagcctgggtatt atagaaattgacttattttattctcatatttacatgtgcataattttccatatgccagaaa agttgaatagtatcagattccaaatctgtatggagaccaaataagtgaaatctgtt cctc
20	外显子 2	UGGACCAGACCAAUUUUGAGGAAAGGAUACAGA CAGCGCCUGGAAUUGUCAGACAUAUACCAAUC CCUUCUGUUGAUUCUGCUGACAAUCUAUCUGAA

[0322]

		AAAUUGGA
21	内含子 2	<p> ttcatgtacattgttttagttgaagagagaaattcatattattaattatttagagaagaga aagcaaacatattataagtttaattcttatatttaaaaataggagccaagtatggtggc taatgcctgtaatcccaactatttgggaggccaagatgagaggattgcttgagacc aggagtttgataaccagcctgggcaacatagcaagatgttatctctacacaaaataa aaaagtttagctgggaatggtagtgcattgtattcccagctactcaggaggctg aagcaggagggttacttgagcccaggagtttgagggtgcagtgagctatgattgtg ccactgcactccagcttgggtgacacagcaaaacctctctctctaaaaaaaaaaaa aaaaaaggaacatctcatttcacactgaaatgttgactgaaatcattaacaataaa atcataaaaagaaaaataatcagtttcctaagaaatgattttttcctgaaaaatacac atttggttcagagaattgtcttattagagaccatgagatggattttgtgaaaactaa agtaacaccattatgaagtaaatcgtgtatatttgctttcaaaacctttatatttgaata caaatgtactccctgggaagtcttaaggtaatggctactgggtatcaaacaaatgta aaaattgtatattttgagtacctgttacatgccaggtagaatatctcctctcagccac tctgagtggaaagcatcattatctctattttacagaaaagcaaaactgaggctcagag agataatatactttgccagttaatgaatgatggagccatgattccagctgaggctgtg attgccttgctctctaggaatggtagtccccccataaagaatctctcagtttccttc caatcaaaagggttaggatcctttgattgccagtgcagaaaccaatttactagctt aagtaataaaaaggaac.....gcccgccttggcctcccaaagtgttgggattagtg gcgtgagccactgccccggcctattactccttagagtatttagagccatgtttact tatggtaacttgacagtaatgggaataaccactgatgaaacgtaaagcctttgtcta attgtttacctagttcttcttgtggttcattgaaattttcatctctgtacagttgaaaatt aagatgataatatttagagatatatttattcctttgtgaagagaaaaaggcttcattaa cagaaatcagtggcaataacttaataaatacaatcagctgggtgtcctatagtattta aaagaaaacagaaagtttactagatttcagccagtttcagactatttaattgtctattct tactataatagaaaatatataatttgatcttgttctcattttcaagaccttaatacatg attttagtagtgaaaatgaagttaatgatagtttatgcctctacttttaaaaacaaagt ctaacagatttttctcatgttaaatcacagaaaaagccacctgacattttaacttgtttt gatttgacagtgaatcttataaatctgccacagttctaaaccaataaagatcaagggt </p>

[0323]

		ataagggaataatgtagaatgtttgtgtgtttatTTTTccacctgttctaagcacagc aatgagcattcgtaaaagccttactttatTTgtccaccttttcattgtttttagaagcc caacacttttcttaacacatacaatgtggcctttcatgaaatcaattccctgcacag tgatatatggcagagcattgaattctgccaaatatctggctgagtgttgggtgtgtat ggtctccatgagattttgtctctataatacttgggttaatctccttggatatacttgtgtg aatcaaactatgttaagggaataggacaactaaaatattgcacatgcaactattg gtcccactt
22	外显子 3	GAAUGGGAUAGAGAGCUGGCUUCAAGAAAAA UCCUAAACUCAUUAUGCCCUUCGGCGAUGUUU UUUCUGGAGAUUUAUGUUCUAUGGAAUCUUUU UAUAUUUA
23	内含子 3	gatctcattgtacattcattatgtatcacataactatattcattttgtgattatgaaaag actacgaaatctggtgaatagggtgaaaaatataaaggatgaatccaactccaaac actaagaaaccacctaaaactctagtaaggataagtaaaaatcctttggaactaaa atgtcctggaacacgggtggcaattacaatctcaatgggctcagcaaaaataaatt gcttgcttaaaaaattatTTctgttatgattccaaatcacattatcttactagtacatga gattactgggtgcctttatTTgtctgtattcaacaggagagtgtcaggagacaatgtca gcagaattaggtcaaatgcagctaattacatatatgaatgtttgtaatatTTtgaaatc atatctgcatgggtgaattgtttcaaagaaaaacactaaaaatttaaagtatagcagct ttaaatactaaataaataactaaaaatttaaagttctcttgcataatatttcttaatat cttacatctcatcagtggtgaaaagttgcacatctgaaaaaccaggctttgtgggtgttta agtgccttgatgttccccagttgctgtccaatgtgactctgatttattttctacatc atgaaagcattatttgaatccttgggtgtaacctataaaaggagacagattcaagact tgtttaatcttctgttaaagctgtgcacaatattgctttggggcggttacttatcatatg gattgacttgtgtttatattggctttatgcctcaggaggttaaacagtgctctccaga gaaatgccatttgtgttacattgcttgaaaaattcagttcatacaccatgaaaa atacatttaaaacttatcttaacaaagatgagtacacttaggccagaatgttctctaa tgctcttgataatttctagaagaaattttctgacttttgaaataatagatccat.....at ttctctcagggttaccctctgatccctattttactaaatcgttataaaacaaaatgag

[0324]

		gaattatgtgtccttccctttgaagccaatgtaacaagatgggtaagaattagacct cctgagttcaaaatccctggattcagatctattcctgtatattcaggagaagtggtaa taaattcgatggacaatttggtttagtagtcgattgaggaccctgatgaggtatatttg ggaaaacataacttccgctctctcattgactcacgggccttgaggagtccagg agtcattggaatctggcctgaggttgaggctgtggcaaaactcctcccaaagt ccattcctattgctgactgagaagggactagcattggaagtggctgattttaatac cgctagtgtggtgtgtcctccctccattcccagctctgctttgtgtagttgccttg agaagctaagttcattctgaaaataatgccattgcacaaaacacttttgaaagttcta gtttgaaattacatcaggtcacttggtctgtgtggcctcagtttctcatctgccatgtg aaaataataatgcctactctgtagcaaagaaagtctctatagtaaacaacaaaaaaa gcctactctgatactgaaagttgtatgaaaaataaaaaagggaatgctttagaaa ctgttaagtgctatgtagatgttactaattaacaaaccatttcagaaactatacttttat tttatggccactattcactgtttaactaaaataacctcatatgtaaactgtctcccactg ttgtataacaaatccaagtcttatttcaaagtaaccaagatattgaaaatagtgttaa gagttcacatatggtatgacctctatataaactcattttaagtctcctctaaagatga aaagtctgtgttgaaattctcagggtattttatgagaaataaatgaaatttaattctct gtt
24	外显子 4	AAGUCACCAAAGCAGUACAGCCUCUCUUACUGG GAAGAAUCAUAGCUUCCUAUGACCCGGAUAACA AGGAGGAACGCUCUAUCGCGAUUUUAUCUAGGCA UAGGCUUAUGCCUUCUCUUUAUUGUGAGGACAC UGCUCUACACCCAGCCAUUUUUGGCCUUCAUC ACAUUGGAAUGCAGAUGAGAAUAGCUAUGUUU AGUUUGAUUUUAUAAG
25	内含子 4-5'	acttccttgcacaggcccatggcacatatattctgtatcgtacatgtttaatgtcat aaattaggtagtgtgagctggtacaagtaaggataaatgctgaaattaattaatatg cctattaaataaatggcaggaataattaatgctcttaattatccttgataatttaattga cttaaaactgataattattgagtatcttctgtaaactgcctctgtgtagtttttttctcct aatcatgttatcattttttggaatccatggttcctgttaagatgactcacacagccta

[0325]

cataaaagtaattgacaaaatatcatcttatagtaaaatgccacatatctttatgttca
 gcaagaagagtataatatatgattgttaatgataacccaaacaacaaaagatttcac
 cttaactggttgcataagtagtagtatccaccgccttattttgagttggattttatcat
 cctatgagccctacaaatttaaagttttggaacagcacgtgcattgaaccataag
 aacctactctgctttctgcatgtattgtccagacaagagaccaaattgccgaggca
 tcatttaggtgaattctaattaacatttagctaccttacaaccacaattcaaggtgttt
 caaaggcatgtgcttgcacatcctgattcactaccatgtgttactaacttggatctg
 caaagtcattataaaaagctgtttgatggacttatttggatattgctttacccttctct
 ctctttcttttatcaatgtaaaaacattatatgttaataacttggcctttaagagcataga
 tctgaaatctgcctctagcaataacccataacacttctaagatatacctgcaaggt
 caattgtgttgtaaaaccttgataaccatactttattgttcaaaaaagcctttatgaag
 gcagaagttaaaaaaaaaaaaaacacagagtcacagttatcacctcag
 ctacaatctcatcagttcacaagtagcagcaaacatgtgataagtaacaatgtt
 ttatttcaatctgaacattttacgtaagtgaagactttgtagatatcatttggatgtgg
 aatctacacagttggcatatcagagaaggttgaattcagtttaataaatgtttataga
 aagtgttgttatcataatgataatagctcaggatgtgcatgacaagcctttaagcga
 ttgggtacactatctcatttgatcttctgcacaactattaatggtaggtactattatccct
 atcttatggataagtaaaactaagatttaaaaagtacagaacatgggtgtgaactgc
 ttcaaaatttctaaaataggtaaatcacgatctctaaactggagggtgtccaaccac
 tagggacaatagagtactgatatttagtgggtcagactgtaatgcgggaagagaca
 ggcatgggctaaacgggtgtagagatcaaataaggggcagggttagttgtaaaca
 tgtccatatgtaacatttagcacaatacaggataggtgctttcagaccagctg
 cattgataaaaagttaggtggtattgtatctgtcttcttctcaatgttgcatactgtg
 ttcttggccagtttgcttcatctcttagccacacttattggcctacaatggcatcatca
 ccaaagaaggcaatcccatctccgtgtggctttggttgctccctaaagtaaaccctt
 gtgtttactttccaggtctcatgctttcccatatctgacctgtttgtcctcatggcca
 ggatatgtgggacctttcctacaatgttccaaagtttgaatagagcttctctgcttt
 gttccaaattctgcaacattttactttaataatgaatttaatacaacaaacttgagc
 ttgcctatactttcaagaatgcagagataactaaattaataaaaaatattcattgagtc

[0326]

		cttactgtgcacacagctctatgttaagccttgtgcagaactcaaagtcactcgaga ttaagcctgttactaagttatgtgcaatttagctcagtggatttccccacttcatattg ctctgataatgttttgaattaactgccttgattccttctttctctgcttgctatacacta ttattattctacaccatctcaaaftctaactcctcaagaaaatcctccagatgatttt ctaaccaggagtttaacttcttttaactaccctattactttctacttcttaactcatct atcatattatatttagttatttatatactaggtcgccttgaagaagggtattgtgtttcat aatcttaataatccctgaggcatcaagtacagtgatttgcatttactaaatgctcaa caaatatgtgagggttacttgaaactaatattagataattcccagtcaaaagtgatc taatagcaaatcaattcttcagttttataggcaaaagtatgactctggttttccataatca taattaattgtcaactttataattttaattaagtaaatttaattggtagataaataagtag ataaaaaataattacctgcttaactacgtttcataatagcattgcatttttctttgtaaat ttaagaattttgtattaataaaactttttacaaaagtattaattattcagttattcatcatat acttttattgacttaaaagtaattttattcaaaagagtttagtataggactacatgaaaa ttcaaggccaaggcttaatttcaaatttctactgcctttggctctatcttttaaaacaaaa caaaaaactcccgcacaaatcaatgggtatttaagtataataatcattctcattgtga ggagaaaaaataattatttctgcctagatgctgggaaataaaacaactagaagcat gccagtataatattgactgttgaaagaaacatttatgaacctgagaagatagtaagc tagatgaatagaatataattttcattacctttacttaataatgaatgcataataactgaat tagtcatattataattttacttataataatattgtattttgtttgttgaaattatctaacttt
26	外显子 5	CUUUAAGCUGUCAAGCCGUGUUCUAGAUAAAA UAAGUAUUGGACAACUUGUUAGUCUCCUUUCCA ACAACCUGAACAAAUUUGAU
27	内含子 5	tacctattgatttaatcttttaggcactattgttataaattatacaactggaaaggcgga gttttctgggtcagataatagtaattagtggttaagtcttgctcagctctagcttcct attctggaaactaagaaaggcaattgtatagcagagcaccattctgggtctggt agaaccacccaactcaaaggcaccttagcctgttgtaataagattttcaaaactta attcttatcagaccttgccttcttttaaaactttaaatctgttatgtactttggccagatat gataacctgagcaattcttgttctgggtgtcttatgtgaaaaataaattcaaggctcct gggacagataatgtgttttatttatctttgcataatccattacttaaaacagcattggacc

[0327]

		cacagctggtacaaaattaattactgtgaattgagcaaatatttattctaaatgtctct gtcaaatgacagagtgtggtgtgtggattaagtccctggagagagttctttgtctc tcattgtctatgctgtggttcttgctttatgcaaaaagaagtaagttacttaaaacctg gacatgatacttaagatgtccaatcttgattccactgaataaaaatatgcttaaaaat gcactgacttgaaattgtttttgggaaaaccgattctatgtgtagaatgtttaagca cattgctatgtgctccatgtaatgattacctagatttttagtgtgctcagaaccacgaa gtgtttgatcatataagctccttttacttgctttctttcatatatgattgttagttctaggg gtggaagatacaatgacacctgttttgctgt
28	外显子 6	GACUUGCAUUGGCACAUUUCGUGUGGAUCGCUC CUUUGCAAGUGGCACUCCUCAUGGGGCUAAUCU GGGAGUUGUUACAGGCGUCUGCCUUCUGUGGAC UUGGUUUCUGAUAGUCCUUGCCCUUUUUCAGG CUGGGCUAGGGAGAAUGAUGAUGAAGUA
29	内含子 6	aacctattttcataacttgaaagttttaaaattatgttttcaaaaagcccactttagtaa aaccaggactgctctatgcatagaacagtgatcttcagtgcattaaattttttttttt ttttttgagacagagtctagatctgtcaccaggtggagtgagtgacgacgatc ttggctcactgcactgcaacttctgcctcccaggctcaagcaattctcctgcctcag cctccggagtagctgggattagaggcgcatgccaccacaccagctaattttgta tttagtagagacagggtttcaccagggtgccaggctggtctcgaatgcctgacct cagggtgatccgccacctcggcctcccaaagtactgatattacaggcatgagcta ccgcgcccggcctaaaaaatacttttaagatgggtgtaaatattactttctgtatcaat ggtacatttttactgtcagctcttagaatttcttataaatatgttgattcagttcatttt gtagattataaaacaggtaaaaaaggataaaacatttatgtgaattaaagggaatac ctaattttgtgtagagttattagcttttactactctggtttatggatcatcacaccaga gccttagttactttgtgttacagaataactaatatgagtgaatgaatgacttacacaa gtcactgcttaggataaagggttgagttgtcagctagagtatgacagaaagtatc taagttttggagtcaaatagcactttgtttgaatcccagattgcatgcttactagttatg tgaccttagtcaagccacttcacctactgagtcctttgctttttcatctctaaaataga gataccaccgctcataggctgtcataagggatagagatagcatatggaatgagt

[0328]

		ctgtacagcgtctggcacataggaggcatttaccaaacagtagttattatgtttgtac catctatttgataataaaataatgcccatctgttgaataaaagaaatgacttaaaac cttgagcagttcttaatagataattgacttggtttactattagattgattgattgattga
30	外显子 7	GAUCAGAGAGCUGGGAAGAUCAGUGAAAGACUU GUGAUUACCUCAGAAAUGAUUGAAAAUAUCCAA UCUGUUAAGGCAUACUGCUGGGAAGAAGCAAUG GAAAAAUGAUUGAAAACUUAAG
31	内含子 7	ttgttccaataattcaatattgtagtaattctgtccttaatttttaaaaaatgtttatca tggtagacttcacctcatatttgatgtttgtgacaatcaaatgattgcatttaagttct gtcaatattcatgcattagttgcacaaattcacttcatgggctgtagttttatgtagttg gtccagggtgttattttatgctgcaagtattatactgatacgttattaaagaatttct acatatgttcactgctgctcaatacatttatttcgttaaaacaattatcaagatactgaa ggctgattggttaactcacatggaactgggagagtatacaattctgaaccaaataga tgattctctattattatcttaatttatgtgttatggtatattaacatgaaaaaattgta tttggttagaatatgtttgctcttcttaactcgggaatgacatagggtaatattcaca gattgggttcctataaatcctccacttgaagtgaagtcagttcaagtaatgaaagcta cctcctgagatagaatcagtacttggcacctatctctagtgttcttccactcatataa ccttccactgattagtaaagattatatccaacaaagaaagtacagcacagactgag atatgattactgagataaatttgggcaaaatataaactacagcatttctgtagcaatg agaccattttcttcagttgagctccatgttctacaaactcaatcaaaaaagggtcta ggagactcagtgaaagttgatacactgttcaaggaacaaataattcagcacatgg gaatttcacagggaataataactaaaaagagaggtaccattttggatggtgtcaat atgggttatgaggaattcaggtgctgagtcagtgatgacaatggaaactgagctgc agggtgtgtattgtaacaacaaaagaatgctgaaatattaagtcctttgccatgtaa atagaaaaagagtatttatttccaaacattattgctcacctgttttgttatgcctttca agataaatccaggaaaggaattgcattttcttccagaaaacaagttcttgggggaa ttgtcaattggtagatgttgttttctcattaacaagtgagtgctccatcacacttgctg agtgtccatcacacttgctctctgcattactcctctgectgcaaacacatatatagc aagggtgatgacaaggatatcagagggtctggttttctcaaactcatgataaactca

[0329]

tggtgggtcattcttggtgctgattttactttgtttttgtgtattgttccctcttctca
 aaagatgaaatctatccctcttacttggaatttctctttgatataatagcgaatgttggtt
 gtaacctgtataatctggcatgaaattgtcactcgaaaaggctagaagtgtgacat
 aaatatgggacagcaagagttgtcctactcaagagagcaaatataatgttctgga
 agagattggcagaattcacatcaaaggagtgttacttcagcctgggccactgttg
 tactggtcaaaaaggctgtgcaaagctctctgaaaatccactcttttattgctctttagt
 aataaagtcactttcaattttaaaaataacaaactgatataattttatgactcataaaat
 gtttagcaattatattatggagaatctactttctgggtgattcttacaatgttcttggaac
 tatttttttcttatagtacattcttccattttctcagctctagttaatatattcaaca
 acagttcaacaaatttaacattttataaaaagtgttccctatcattttataaataccagc
 ctagtccatgttattcctttctgttgaggagaaaggacacacattgtaaattcaaat
 atagacctctactgtgctatttaattcttgtaacaactccacaaaggagatgacatgt
 ttctctctatagaggtagattctgtaaagtagagggaagagtgttcttgaagat
 ggcataagctgtaactggcagaaccaggattcaaagccagggtgggatgccaaaa
 tcataatctgtcttcagtgtaagttactgaaattggtaaacatttagacctaaatagac
 ggaattgcaatccgggtgggcacattaaactccattttctcatcaatgtgtctcaga
 ttacattttacttttcaggctaaaaatggaaaaaagagtcctcttagttctgcactt
 gagaatgagaatagctttctgaattatacaaggagaagaactaatgccccaaatg
 ccagggtaccacatgcactatgcatggcacagctgttgcccccttcaccagag
 ccctctctctgtatcctgggtgacctttccttgggcaagagctgggtggggaggatc
 acaagtgactccaatttgatggcttcgggaagactgggaccgagctgaaggca
 gtgtgtcctctgcactccctgtttctgtctgttgagcactgaagcctcacatatgt
 attaaaaaataatttccatttgcatttcagactagaagattgaacgtatagtgtaatg
 tgattgcaaataattatattgaaatgagacagagaggatgtagtatctactgtcataa
 ttttcaaaacccacctgcaactgaattaaaagaaccactgggtttttttttgtttca
 aacgcaaatcctggaaacctactgagactcattcagtcagtatcttaagaggcaa
 gcttgagactgtatatttaaaaagcatctcagggtgattttacacatgctaaggcttaa
 gaaccacttctctgtagcttatatgttattttcaatgttctcctcaaagccaagtagaattt
 ccaaagtgttaagaatccattagacaatcacagaattgtcttttctttataaatcttg

[0330]

		caatgttggttcatttccatacttaattacttaaaacaccaaccaaccaacaagcaa aaaatgattagtctaactaatattacaagttaataatgaagtaaagggttaaaaaataat gtcataataatgttaataacaaattattaattataatttaaaaaataatattataatttaa aataatatttacaagtgactacaagcaaaacactgggtactttcattgttatctttcatata aggtaactgaggccagagagattaaataacatgcccaagggtcacacagggtcat atgatgtggagccagggttaaaaatataggcagaaagactctagagaccatgtctca gatcttccattccaagatccctgataattgaaaaataaaataacatcctgaattttattg t
32	外显子 8	ACAGAACUGAAACUGACUCGGAAGGCAGCCUAU GUGAGAUACUCAAUAGCUCAGCCUUCUUCUUC UCAGGGUUCUUUGUGGUGUUUUUAUCUGUGCUU CCCUAUGCACUAAUCAAGGAUCAUCCUCCGG AAAUAUUCACCACCAUCUCAUUCUGCAUUGUU CUGCGCAUGGCGGUCACUCGGCAAUUUCCCUGG GCUGUACAAACAUGGUAUGACUCUCUUGGAGCA AUAAACAAAAUA
33	内含子 8	gtaccataatgctgcattatatactatgatttaaataatcagtcaatagatcagttctaa tgaactttgcaaaaatgtgcgaaaagatagaaaaagaaatttccttactaggaagt tataaaagttgccagctaatactaggaatgttcaccttaaaccttttcttagcatttctct ggacagtatgatggatgagagtggcattttatgccaaattaccttaaaatcccaata atactgatgtagctagcagctttgagaaattctaaagtttcaagtataagactcaa ttatacaaagctaattggataaacttgatatgattaagaagcaaataaatacttatta tgctttttgctgtttatttaaataatttaaccagaaaataagtcactgtgacagaaata aaaatgagagagaagggtgagccactcttaggtagtctggcattttaatctagg ccagagggtgcaaatggtgtccatagaactaattttggctcttagacctgtcttattt aacctttcatttaaaaaatttgattggtgccagcaattaaaaattgggagatgtctc acacacacacacataaacacacacactcatgtgtgcagcctctttgaagaatt ggaataactagtcactgcgtcctctttccacaagctgtgacagctccctgtctca cagagcacctgcctctcctgttcacatcatgtctcttctcagtccttctcattata

[0331]

		<p>tcacctatgttgctcctgagactaagtgagtttgagatctgtgatttagacaaagtggg gaatctagctctgaatcatagtaagtagctctgggaatcatctgtcttctgttagccc attgagagagaaatagagagagagagagagagaaagaagaagaagaacag atctggggagagtcactgaatgggagcatagagacagagaaacagatctagaaa accaaactgggagaaaatgagagaaacaaaagagaggttagagaggagcaga gaagaaaatgaagaagcaaggcaaggaccaggcttttcattatttcttatggcca agacttcagtatgcgtggacttaattcttcttatgctcctaccttccttagggaaact gatttggagtctctaataagagcccttctttagaatcacagtttgatgccttaaaacta gttatataccttcacatgcttcttaacccacagaagtgatgctaagaggcccttaa taaggagcgtgctattaagatgaagacattcatTTTTTctccgtccaatgttgatta aggcacattagtggttaattcagggttgctttgtaaattcatcactaagggttagcatg taatagtacaaggaagaatcagttgtatgttaaatctaattgataaaaaagtttataaa atatcatatgttttagagagtatatTTTcaaatatgatgaatcctagtgtctggcaaattaa ctttagaacactaataaaattattttattaagaaataattactatttcattattaaaattcat atataagatgtagcacaatgagagtataaagtagatgtaataatgcattaatgctatt ctgattctataatatgttttgct</p>
34	外显子 9	<p>AUUUCUUACAAAAGCAAGAAUUAUAAGACAUUGG AAUAUAACUUAACGACUACAGAAGUAGUGAUGG AGAAUGUAACAGCCUUCUGGGAG</p>
35	内含子 9-5'	<p>aatttttaaaaaattgtttgctctaaacacctaactgttttcttcttgtgaatatggatttc atcctaattggcgaataaaattagaatgatgatataactggtagaactggaaggagg atcactcacttattttctagattaagaagtagaggaatggccaggtgctcatggttgt aatcccagcactttgggagaccaaggcgggtggatcacctgaggtcaggagttc aagaccagcctggccaacatggtaaaacccgggtcttactaaaaatacaaaaaat taactgggcatggtggcagatgctgtagtcccagctgctcgggaggctgaggca ggagaatcacttgaacctgggagggcgaggttcagtgagctaagatcaccca ctgcactccagcctgggcaacaaggcgagactctgtctgaaaaagaaaaaaaaa taaaaataaaaaataaaaagaagtggaggaatattaaatgcaatataaaagctttttt</p>

[0332]

attttaagtcatacaatttgtttcacataacagatcaggaaataatacagagatcata
 agttttggagctgggtttgaatcctggctctgccatttactttctgtgtaatctaagtca
 agttactgaactttgtgggcctctggctctccatgtgtaaaatggagaatattaatat
 ttaccttgcaagtttgtgtgaagactgaaggagagaatttaggtaaaacattcatca
 gagtaccatgcacacagttgttctcaataaacattagcttctctgattgcaagtcc
 agtctaaagtgtttatatataccagccaataaaaaggatgagagagatatacca
 gtgtattgtttctaccattttaaacctatttcatccactgttacaattctatcatactgc
 tccacataaaaaatattatcaatgatttttagtctctgaagtgaatatttgattattgag
 cacacctgtgaagtttagtttctctcacttcatgggtgtgtaaaggtaggaggt
 ataaaaccagtgtccttaggtctaaatctttcttaatgtcatactttggattcattgatata
 agtaactgagcaccagcgcttcatttacttcatttttaaaagatatagtaagagtaat
 tcccatctgcctagcaaaattgtttgtagaaaagttgtggatcagattattttacttt
 gattttaggaatttcaagtgtcttcgtcggcatgaaggaaaaatgcagtttgacat
 tttctactactttcaggtcattattttctactctgggtgcaaaaaccctcaattcctgtct
 cactccatctaatacaataggttagcatgcttgagcccttactatgtgccaggcacta
 ggataagcactttatatgtttgtccaattaattctcacagcatttctatgacctaaat
 aaaattaataatttcatttcaccaataataaaaatggaggcttcaaaaagtttagggact
 tggtcagctcacacaactggcaaggactgaaaatggatttttagtcccaaatgtca
 taggctagagcccttcaactaaactgtgtcttccatctgggtggcatcctcttctcca
 gtctttgtcacctaaactctgggcaccccttgatggcatttacttatgatggatgct
 tgttaaacttctgtttgcgacttcaacgtccatataaatgagcttccaatactgtact
 tagaacttatattttagtgacttctttaaagctttctcttagtcataatcctgagttt
 gttagcacctggacttaccttactttggaaatgttgactctgaaatctcttctcagct
 tggaatttctaacttccaactgtttgagcttcttaattctacatttactgcctttccattt
 catcaggatttctagtctctttaaattctctttgaactcctcctgatttaacctctgctt
 attcgaagaacaataattttattctctcagctgcactctcaattcccttttcttttggtg
 attttcttttctacagaacacttactttatcagttttggagaaggaagtctatctgg
 gtaacagtagtgctatctgttgactctagtcaactgtaagttttatacatttattgtttaa
 accttatatgggtctataatccttcttgggaaatccttcaattgtctttaaattcctttacc

[0333]

atttcctaaaggctattccagatTTTTatcacattcacaaaattcccgtcttttctcagg
 atctgttcacccccagtagatagccttgtctcccacaatacatggagaaaatagag
 gccaccgtcatatttgaatgtttccaacttctcttccaccttgggaattatcttttcttct
 tttgtgtctaagagaaagatgtatacttcttcttacccttgtctgaactactctattttgt
 tcatttctcagaacaggggaccagcaattatttctctccagaagcttcaacatctt
 ttgtcaactgactccttctcatgtttaaatatttcaagttaaacaatttcttctgacttt
 cgctcacgcaacctcatgccccaaaccttatcacttcttcccttggctgtcaaggc
 tgttctcacttctcactttttgtggacttctccccactacaacatagattctgctatcac
 caatctattaaactgttatacttctgtggaatttatcatttaatttagcttcagtgaacc
 gttctttccagattattttggcctcagaccatgacttctaagtctgccgtgcttgccact
 taagtgatgatgggccagtggtgtccacacctaggcctctgtgttagtctgtttcatg
 ttgtgataaagacatacccaagaatgggcaatttacagaagaagggtttgag
 ggactcacagttccatgtgactggggaggcctcacaatcatggtggatgatgaaa
 ggcatgtctcatatggaggcagataagagcatagaactgtgcagggaacttcc
 ctttattaaaccaccagggtctgtgagacttctcactatcacgagaataggatgggc
 aagacctcccccatgattcaattatctccactgggtccctcccaacacatgg
 gaattatgggagctataattcaagatgagatttgggtgaggacatagccaaacct
 atcagcctccttctggcttttatgttctccgtgggtgacctctctcaggctcaagtga
 taaccaatgtgtgatgactctcaaatgcgcactcttggttcagtttcttctgaac
 ttcatatatgtttccaaatttctgcgtgtacctcaaggttctgttcacttccca
 agcttcataaacgcactcattttagtgtattctctgtctcctttgatagcatccctgaga
 ggcaagtccctgggtgagttatatacaactcctccctgtccaaacctgagagtaa
 gtaacattcctattaacatattaggaagctgaggcttagacagttaagtaactcaag
 catgggttacacaactagctagggcagagctaaaatgtcaggctaggcttctgtgac
 tccaaagcccttctcacttagcatatcatcacttatttttttttaacacatatatgatt
 tttttctttaagagatagaatcttgcctatcacgtgggctggagtgcagtggcaca
 atcatagctcactgtaaccttgaacttgggctcaagtatcctcctgccttagcctac
 tgagtagctagggtacagacacacaccacctgcctagctaattttattttat
 ttatttttgagacagagtctcactctgtcaccaggctggagtgcagtgggtgcgat

[0334]

cttggctcactggaacctctgtgcccgggtcaagcgattctcctgcctcagcctc
 ctgagtagctgggattacaggtgcctgccactgtgccagctaattttgtatttttag
 tagagacgggggttcaccatcttgccaggctgtcttgaactcctgacctcgtgat
 ccactcgcctcggcctcccaaagtgtgggattacaggtgtgagccaccacgcct
 ggccacctacctaatttttaattttttgtagagacagggtctcactacgttgcccagg
 ctggtcttgaactcctgttctcaacaatcctcctgcctcggacaccccaagtgcag
 ggattacaggcatgagtcattgcagctgacctgtatatatgatttttagtatatgtaaa
 tatacataatttataaatgtaaatataaatataaatgtgtggagtgatatccattgaaat
 gttaacatagttctcagtgggtacaactacaggtgatttctctttcttatttctggtttc
 tgtgtttccaaatttctgaaatgtgtcttctgtaatcagaaataaaagtattagtaac
 aacagtcttccactgggtacaagtgcattattggataaaagtcccacttctaagcatgat
 actcacaacttttaggttaatagccttctgtcaccttgccatatacatctgatccagcca
 ctcacaccattcctgagatataattttgttccttctgtgcctaaatcattgtgcagatgcagat
 ccatcttcttgaacacctataaccatttcttagtctgtgaaatcctacttacatcctt
 catagcctagcatgtatgtcatttatttgggtcaagggtgagttgggtgttctcttgaatg
 tactgccatatgacgtgggtgtgatttcaattgtagcaccaagctcattgcaatattaat
 tcgtttgtcatttctcccatgtaggatgttgaagtagtttctaacacagagattatactc
 aataaatatttattagataaataaatgaataagggaataacaaatgcctttgtctcattt
 taaaatactttcattgttagctaccatataataaaaaactaaaaagcagtagtttcaa
 gcatgattgtttatgtatgccttaaaagaattttgaaaacctatgtaccctgacacac
 ttttaagttaactataaattttcaacatagttttaagtgggtggcaaagatgtagtttct
 tgtgtattttaactgcttaagtatgctatacatggatttcttcaaaacctgaagctgc
 agtttcagtgcatcattcaatttatggaaaagaaattaatttataaaattgggtcttattgtca
 agtcaatcagctaaatataacttgccttctgtcaggaaaagctgactttaaataca
 gataagtaataactattattaattaattaaattattaaaattaaaataattaaataattgt
 taattaaaatgccttattcccctacttatttctgcaatttgactetaagaatagatagga
 catgtagattgccttaggtttgaaatctgggtgaaataagatactgcctccttcagtat
 ttctgcctttgctttatgggagcctcttcaagaaaaagtcattctctcatgggtcccttt
 gtttgagtcccagagggtttcctactccagaaagtgaacgtagtgagactagtact

[illegible]

[0337]

		UGCCUGGCACCAUUAAGAAAAUAUCAUCUUUG GUGUUUCCUAUGAUGAAUAUAGAUACAGAAGCG UCAUCAAGCAUGCCAACUAGAA
39	内含子 11	aaactatgtgaaaacttttggattatgcatatgaaccctcacactacccaaattatata tttggctccatattcaatcggttagctacatatattatgttctctatgggtaagcta ctgtgaatggatcaattaataaaacacatgacctatgcttaagaagcttgcaaaca catgaaataaatgcaatttttttaataatgggttcattgatcacaataaatgcatt ttatgaaatggtgagaattttgttctcatttagtgagacaaacgtcctcaatgggtat ttatatggcatgcataaagtatatgtggtatcttttaaaagataccacaaaatatg catctttaaataatactccaaaaattattaagatttttaataatttaataatactata gcctaattggaatgagcattgatctgccagcagagaattagaggggtaaaattgtg aagatatgtatccctggccttgaacaaatccatataaacttctagtactgcaattctt tgatgcagaggcaaaatgaagatgatgtcattactcatttcacaacaatttggaga atgagctaattatctgaaaattacatgaagtattccaagagaaaccagtatatggat cttgtgctgttctactatgtaaattgtgtgatgggtgggttcagtagttattgctgtaa ttagggcaggggaatatgttactatgaagttattgacagtatactccaaatagtgttg tgattcaaaagcaatatctttagatgttggcatttgaattcctttatataatctttatga aaaaaattgcagagaaagttaaattgtagcttaaaatacagtatccaaaaaatgga aaagggcaaaccgtggattagatagaaatggcaattctataaaaagggttgcattg cttcatgaatggcttccatgtatatactcagtcattcaacagtttttttagagc.... .gaggaggtggaaacgaatgtacaaggatgggaggagaaaaaggagagagac tttttttttaaggcgagagtttactacctatctaactcttcgattcttgaagtctcag accaaatcccatcggttgaaagcctctagggtattctatctattgtatacttctgttat gtacaaaattaatttgccaattaattgtgaactgtttataaactatcttaaaatggttag ttaaatcttgggatatgtatttagcttctccaggattatgacttaccttctaaattagac atacaatgcctaggagtcaaggactatttgcataaattccagttcttcttacaatgc ctagaatgattgttaccacagaaatattcattacctgggagaaaggatgacaggag gggcagaatgaatggagagaggtcgtgagaatgaggtgctgaggatggacgag gaagaaagctgttttagtgggaggataggtgacagaagcatggaaaggaattgc

[0338]

		cttggacccatggaagcccagtgagatacttagatcctgcaggggtgtgaataat gttcttttagtttcttcttaggaggtttgttcattttgggagatttctttgaaaagagt gaacttaaattggagaaaagtacatttttagtatgttgataacatttgaatttgtaaatg gacctatggatgatctacacataatttatatacccataaatatacacataatttaattttg gtattttataaattattttaatgatcattcatgacattttaaaaattacagaaaaatttac atctaaaatttcagcaatgttggtttgaccaactaaataaattgcatttgaaataatgg agatgcaatgttcaaaattcaactgttggttaaagcaatagtgtgatatatgattacat tagaaggaagatgtgcctttcaaattcagattgagcatactaaaagtgactctctaatttc
40	外显子 12	ACAUCUCCAAGUUUGCAGAGAAAGACAAUUAUAG UUCUUGGAGAAGGUGGAAUCACACUGAGUGGAG GUCAACGAGCAAGAAUUUCUUUAGC
41	内含子 12-5'	taactaattattggtctagcaagcattgctgtaaattgcattcatgtaaaaaattaca gacatttctctattgctttatattctgtttctggaattgaaaaaatcctgggggtttatgg ctagtgggttaagaatcacatttaagaactataaataatggtatagtatccagattg gtagagattatgggtactcagaatctgtgcccgatcttggtgtcagtgtattgtttgc ctcatagtatagtttactacaaatggaaaactctaggattctgcataatactggacag agaagatgtaaatatctgttagttccatcatagaccctgccactccaatgtacacac cagctttaggcttcttggtatagataaacatacattttcaaaattttcatcataattttca taacaaaataggaaggcaaatgatgtcacttggccttaaaatctataattttaaata aacaggacaaatgcattaacattgttgggggaggagggtcccttagtagaaacact cttggtccaagcattttaagctgtcaaagagatgtaaatatagataatgtatgtcaa ggagagagctttgtggttaaactgtaactttcagtttaacaattattggtgactctga tgtcaaatgtttctcaagctttatctgaacaaaattcttctcactttgttgccaaagtcgt taacaagaaatcacattgactcattgatgttttggtcctttcccttactttctgttcttt ccaaaagctgagacaggaaactaacctaactgagcacctgcaattgcctggtag tattctagtcatgtgtgtacttttgtgtatgtaatcccttacagctctgcaaagtaa gaattgttctccctgctttacagaagagatcataagataattgaggctgttagatgtta acttgccaaaagccatacaggaaaatggtagagtcacagtttgaaccaggtccttt

[0339]

		<p> tgattctttacattaaaccatgctttgatcttgaaatacactgtaaggcaataaatca atagatacggataattcacaggcttctaaataaatggaagttgattgttttatctgtg agccaaagtaagacttattctaagaattccacaaatttagataagatagagtatatg gcttctagacatccaacatagaactgagtttgtgtatcagtttaagattggtttgct gtaagggtgcacacactttgaggaactaaaaataattgtctgttcttattctgatcaga atgtgtaatgtgtgtccagtttggatgatgaatttctatttctaatctcataagaac ttgtcatagatgtgaggagagaattaagaacagagtgtggggaagaaactgtgt acattttgatgggatccattatgtagctcttcatactgtcttcaaaaaataagttacact ataaagggtgttttagacttttaaagtttggcattggttttaaaaaatttttaattgg ctttaaaaatttcttaattgtgtgctgaatacaatttctttattacagaagtaccaaca ttacatgtataaacagagaatcctatgtacttgagatataagtaagggtactatcaatc acacctgaaaaatttaaatgttatgaagaaattatctcatttctattaatatgggaactg tgtcttcatttattactgttctaagggtcaactcaatgtagattttacttgcttatggttc atatttttagctaaatagtaaaataatatggatatacattttgtgtgacttactcatactt ccttatttggaaactttatgaatatgatatagagactgaaactacaaggaacaaaatg caatatcaattatacagttgtggcagcactgctatcaatttgttgatagtggtaacac ttagaaaaacattttaaaataatttcacataagtaatgaatttattagctgtctctgac attttacagtttgaatagttattttcttttgggtgcctcacaaaaccaacatctca agggcaggaactgtataattttgccattgtattttgagcacatagcatgggtacttgc ctctaaatagatactattgttaaaatatttttaaggtaatattttaaagtgtatgctatgg tacagttcagtttgtgacttttctagtttatgccacttacagttagcaaaatcacttca gcagttcttgaatgtgtgaaaagtataaaaatcttctgcaacttattcctttattcc tcatttaaaataatctaccatagtaaaaacatgtataaaagtgtacttctgcaccact ttgagaatagtgttatttcagtgaatcgatgtggtgaccatattgtaatgcatgtagt gaactgtttaaggcaaatcatctacactagatgaccaggaaatagagaggaaatgt aatttaattt </p>
42	外显子 13	<p> GCAGUAUACAAAGAUGCUGAUUUGUAUUUAUU AGACUCUCCUUUUGGAUACCUAGAUGUUUUAAC AGAAAAAGAAUAUUUGA </p>

[0340]

43	内含子 13	<p>ttctttgaataccttacttataatgctcatgctaaaataaaagaaagacagactgtccc atcatagattgcattttacctcttgagaaatatgttcaccattgttggtatggcagaat gtagcatgggtattaaactcaaactgatctgccctactgggccaggattcaagattact tccattaaaacctttctcaccgcctcatgctaaaccagttctctcattgctatactgtt atagcaattgctatctatgtagttttgcagtatcattgccttgatataatattactttaa ttattattatacttaacattttatttactttttgtgtagtattttattctgtcttctccttagat agtaaccttcttaagaaaatatatatgctaagtgtttactgggttaatatgcttagacta ctcatctacctcaatacttcttggagatctcctcctcagtcacacagagctcagga cttatatttcttggaaactcctgttagggccaatgtacatgaaattccctagacagac agacagtcagttatatggcttgatttcaaagtccaagttaaatggactatcaag tagttattaggagaacagttattatactcttctaaaaataaagactttaagcaataaa gatgtatatgtatataaaatggctgggttattcctagaagtaccttcttagaatttagtt aaatttaatatccaagatactatctttcaaccctgagattgtgaaaagtaacttctatc aatataaactttactacatttgattgtgttagtggttacagtataatctagaacaatgt gtctttctatatgatatatgacattttaatgcctaaaaaaactgatatgtcttagatgatt ctagtcaggatttacttctagaatagattaaaattctatttgaggagagtcaaattaatt atcgaattctcagttgttattattgctgtttatttttagtgaaacagattagtcttaatgta aacacttgagaaataaattgatggtaacctaataatgtaaaaaagaaattaatagaa aatttaaagagcaacaaagctctgacatttaaaagaaatgaagtacaaatctctag ggaccttaagatcatctaataatttctcattttctagataaataaactgagagaccc cgaggataaatgatttgctcaaagtcaaatactacttaatataggaaatttaatttcat tctcagctctgtaacatgcaacttttcaatatagcatgttatttcatgctatcagaattca caaggtaccaatttaattactacagagtacttatagaatcatttaaaatataataaaatt gtatgatagagatttatatgcaataaaacattaacaaaatgctaaaatacagagacata ttgcaataaagtatttataaaattgatatttatatgt</p>
44	外显子 14	<p>UGUGUCUGUAAACUGAUGGCUAACAAAACUAGG AUUUUGGUCACUUCUAAAAUGGAACAUUUAAAG AAAGCUGACAAAAUAUUAAUUUUGCAUGAAGG UAGCAGCUAUUUUUAUGGGACAUUUUCAGAACU</p>

[0341]

		CCAAAAUCUACAGCCAGACUUUAGCUCAAAACU CAUGGGAUGUGAUUCUUUCGACCAAUUUAGUGC AGAAAGAAGAAAUUCAAUCCUAACUGAGACCUU ACACCGUUUCUCAUUAGAAGGAGAUGCUCUGU CUCCUGGACAGAAACAAAAAAACAAUCUUUUA ACAGACUGGAGAGUUUGGGGAAAAAAGGAAGA AUUCUAUUCUCAAUCCAUAACUCUAUACGAA AAUUUUCCAUUGUGCAAAGACUCCCUUACAAA UGAAUGGCAUCGAAGAGGAUUCUGAUGAGCCUU UAGAGAGAAGGCUGUCCUUAGUACCAGAUUCUG AGCAGGGAGAGGGCGAUACUGCCUCGCAUCAGCG UGAUCAGCACUGGCCCCACGCUUCAGGCACGAA GGAGGCAGUCUGUCCUGAACCUGAUGACACACU CAGUUAACCAAGGUCAGAACAUCACCGAAAGA CAACAGCAUCCACACGAAAAGUGUCACUGGCCC CUCAGGCAAACUUGACUGAACUGGAUAUAUAUU CAAGAAGGUUAUCUCAAGAAACUGGCUUGGAAA UAAGUGAAGAAAUUAACGAAGAAGACUUA
45	内含子 14	tatacatcgcttgggggtatttcacccacagaatgcaattgagtagaatgcaatat gtagcatgtaacaaaatttactaaaatcataggattaggataaggtgtatcttaaac tcagaaagtatgaagttcattaattatacaagcaacgttaaaatgtaaaataacaaat gatttcttttgcaatggacatatcttccataaaatgggaaaggatttagttttggt cctctactaagccagtataactgtgactataagttagaaagcatttgctttattacca tcttgaaccctctgtgggaagaggtgcagtataaataactgtataaataaatagtag ctttcattatttatagctcgcaaaataatctgtatggaagtagcatatataaggtatata aacatttagcctcttgataggactaactcacattctggttgatatcagtttgctga atttagctagtgtgggcttttttatctgtgagtttgctttatacattgggttctgaaaa gatttcttttagagaatgtatataagcttaacatgtactagtccaatcttcagacaga aattttgttctattaggttttaagaataaaagcattttatttttaaacaggaaataatata

[0342]

		aaaaggagagttttgtgttttagtagaaaacttaatgccttggatgaaatgagcca tgggcagggttgaatgaattgatatgtttaatagtagatcatttgaataatag accttgacaagacacaagccattaacatctgtaggcagaagttccttcttgtaaa atgaggggaataaaatagatccctaaagtgtgaatttagtatttctaaactttatgaa ggtttcctaaatgataattcatctatatagtggtttttgtgtgtttgtttgtttga gatggagtctcgtctgtcacctaggctggagtgcaatgggtgcaacctcggtca ctgcaacctctgcctcctgggtcaagctaattcctgcctcagcctcctgagtagc tgagattacaggcatgcaccaccatgccgagctaattttgtatttttagtagagaag gggtttcatcatgttgaccaggctggcttgaactcctgacctgtgatcccccac ctgagcctcccaaagtgtgtgtattacaggcgtgtgccaccacgtccagcctgag ccactgcgcccagcccattatagtttaatatcaatctaaatgaatttctcagtcct gagcctaaaaatttagttgtaaagaatgatatccttgactaataatagttctattaatg gattgcatctagtgttaggtggcatatatttagtccccacaactaccctggaaggta tttaaaattttcacatttgcagataaggaaactaaagttcagagttcggcaacatgct tgaattcaagcagctcctaggatgttaatgggtggagggtgggttcaaattccagatct gtctgactcaaaaaatgcatactcctaaccagtgcactatatcccaattccatagga gcccttctttgtgattcatagcactttcccatgagttttgtgattttgtgagaaacaaa actcttttcctttggactgtctggaatctctcttttcaaattttgaaatgtatttctatgc caaaagacaaagatttctagaggaatatgcctaggatgagaattatgtaatttaaat cacagctggaaagagagaaagtcctaagttactaagaaatgttcaaacacaaatg agctttcagtcatttgaagacctttatagctagaagtatactgaactgtactgtcca tggaccctgaagaaacagggttaaatcaaagagagttctgggaaacttcatttaga tggatcattcatttgataaaagggtatgccactgttaagcctttaatggtaaaattgtcc aataataatacagttatataatcagtgtacattttagaattttgaaaaattacgatgtt tctcatttttaataaagctgtgtgtctccagtagacattattctggctatagaatgacat catacatggcatttataatgatttatatttgtaaaatacacttagattcaagtaatacta ttcttttatttcatatatataaaaaataaaaccacaatgggtggcatgaaactgtactgtctt attgtaatagccat
46	外显子 15	AGUGCUUUUUUGAUGAUAUGGAGAGCAUACCAG

[0343]

		CAGUGACUACAUGGAACACAUACCUUCGAUUA UUACUGUCCACAAGAGCUUAAUUUUUGUGCUAA UUUGGUGCUUAGUAAUUUUUCUGGCA
47	内含子 15	aatgttctattgtaaagtattactggatttaaagttaaattaagatagtttggggatgta tacatatatatgcacacataaatatgtatatatacacatgtatacatgtataagtat gcatatatacacacatatatcactatatgtatatatgtatatattacatatatttgtgatttt acagtatataatggtatagattcatatagttcttagcttctgaaaaatcaacaagtaga accactactgataattttattttcatattacatataaaatatatttaaatacaaatataag aagagtttttaataagatttttaataataaagggttaagagattcgaaagctcaaagtag aaggcttttatttgattgaaattaaacaattagaatcactgttgatattttattttcat attacatataaaatatatttaaataataaagataaagagtttttaatagattttataataaat gttaagagattaaaaaactgaaaaatagaaggcttttatttgattgaaattaaaggcc aggcatggtggtcatgcctgtaatcccagaatttaggagactgagtgaggagg attgcttgagcccaggggtcaagaccagcctgggcaacacagtgagacaccgta tctacaaaataattaaaaaattagctgggcatggtggtgtgtgcctgtatgctaccat taactaaggaggctgaggtgggagaatcgcttgagcctgggaggtcaaggctgc cctgaactgtgattgtgccattgcattccagcctgggtgccagagagagaccctat ctctaaataaataaataagtaaataaataaacagcaacaacaaaaaactcaaagc aaatctgtactaaattttgaattcattctgagaggtgacagcatgctggcagtcctgg cagccctcgctcactctcagggcctccttgacctgacgcccactctggctgtgcg tgaggagccct.....tagaacagagcacagatgatctaaatataaaaaagaactaca aaaatcacagttgtttaaagggtttttgtttgtttatatatggtgcagaacatttgttc cttagccaaatgtttccaccttgagaaagctatagagattctatgtagtcctagtacc aataatatgttttaacctgaatgtaccttatcttattcataaactgtgacttttacactg ctgaaactttttttaagacaatctcactctgtcgtccagtctggagtgcagcagtg gtgtgatcttggctcactgcaacctctacctctgtgttcaagcaattctggtgcctcg gccacctgagtagtgggatcacaggtgtacaccaccaggcctggctaataagtttt tgatatttctagtagagatgagttttgccacattggccaggctggcctgaaactcctg gcctcaagtgatctgcctgccttggcctcccaaagtgttggtattacaagtgtgagc

[0344]

		cactgtgcctggcctgaaactcataattcatttcattaatattaatctcacctttcca ataattaattgatttcacaagtattagctccctataatcattgaatggctaataaaattat ttatagcaaacagattaattatctgccagcagctctgagattagttctttaaaaaatgtt tattattaaaacattcagctgtgatcttggcttcttgtgaggttcaatagttctattga gtaaaggagagaaatggcagagaatttacttcagtgaatttgaattccattaactta atgtggtctcatcacaataatagttacttagaacacctagtagctgtggacca ggaacacaaagcaaagggaagatgaaattgtgtgtaccttgatattggtacacacat caaatggtgtgatgtgaatttagatgtgggcattgggaggaataggtgaagatgtta gaaaaaaaaatcaactgtgt
48	外显子 16	UGGCUGCUUCUUUGGUUGUGCUGUGGCUCCUUG G
49	内含子 16	tattccatgtcctattgtgtagattgtgtttatttctgttgattaaatattgtaatccactat gtttgtatgtattgtaatccactttgttcatttctccaagcattatggtagtggaaga taagggtttttgtttaaatgatgaccattagttgggtgaggtgacacattcctgtagtc ctagctcctccacaggtgacgcaggaggatcacttgagcccaggagttcaggg ctgtagtggtgtatcattgtgagtagccaccgcactccagcctggacaatatagtga gatcctatatctaaaataaaaataaaaatgaataaattgtgagcatgtgcagctc ctgcagtttctaaagaatatagttctgttcagtttctgtgaaacacaataaaaaatattg aaataacattacatatttaggggtttctcaatttttaatttaataaagaacaactcaat ctctatcaatagtgagaaaacatatctatttcttgcaataatagtagattttgaggtta agggtgcatgctcttctaataatgcaaaatattgtatttatttagactcaagtttagttccatt tacatgtattggaaattcagtaagtaactttggctgccaataacgatttc
50	外显子 17	ACUCCUCUUCAAGACAAAGGGAAUAGUACUCAU AGUAGAAAUAACAGCUAUGCAGUGAUUAUCACC AGCACCAGUUCGUUUUAUGUGUUUUACAUUUAC GUGGGAGUAGCCGACACUUUGCUUGCUAUGGGA UUCUUCAGAGGUCUACCACUGGUGCAUACUCUA AUCACAGUGUCGAAAAUUUUACACCACAAAUG UUACAUUCUGUUCUUCAAGCACCUAUGUCAACC

[0345]

		CUCAACACGUUGAAAG
51	内含子 17	ttactaggtctaagaaatgaaactgctgatccaccatcaatagggcctgtggtttgt tggttttctaattggcagtgtggttttgcacagaggcatgtgcccttgttgaaacctc catttgactggcatgcacatgtctcagatattataggttatcatatattgttctcctaa tatttctgtgtagataattagagtagcttgggttgtaagaatgtgatgttggtgggact gtagcagaacaagaaggcccttatgggtcagtcatacctctctttcaaatatttgggt ctagctctcttctgggcatcttgttgccaatatatagtattgctcaaaagggcaggag atttgaagtgatcaaggaaaatatattttctattgattaagtcttttgatggggtaga ataatctaatttcatgtaactgctcaaagttatatggtagggggatcccaaatgtattt aaaactattttatatcatcatatttgaagtaatagaaagtcagagtagcagaataaa ggtactaaaaattttaaaactaataaggtactttgaaagaaatcaattatgttgattc ctcatataacaaatttgcacttaaagactgaggtaataaggatttccccaggttttctc atagcaacctgtgagcactttctctgttgaggcatttatggtatgaaaagatgagtaa ggcacagttcttgccttgagaagggtcacagggtgagaggaggagtgtacacaga aacatttgatataaagcaaggaataaattccaagactaaaatttccagaaatctaaaa aactcaagataagaaaaaccattatattttctgggtaacaaaatttcagtgttattaa catgtaggaagatcttgatatttattctgaagcccatgtgtgttctgaaattatgccg catttgcatactcatcaccatcctctgttttgagctaagaatttagactcaagat gtctaattaagttgatccattgattttatttttatggaaatctgagaccacagaaggc aggggatttggccacatttctagaagagtcagacatgagcgatgaggcacagtgg aaagaacatgagcattgcctgagctctgagttggcgctataagagcagtgatcatg ggcaagtgactcttctgagccttggcctcctcacctgttaagtgaagaaaagaatat tcagaagatcttctgtgagaatgaaacaaggcaatttacttgcctgctacatagcca atgggaaatcaatataagttccccgtggttcccttctgtgggtttgttcccacaga ggggtgactggccattccacttcttctttccaagctcctcattccctttaacgctgttc atagttggttccaaaccatttgaaatataataagcaccaggatgggttttcttccac caaagcaaatttcattttctaaacactgtttataaatatcaatggctatttttcaattttg attatcatgaaaatatacaaatatgtttaattaaatatgctaaagaatgtattaataaat atgtattaaataattcctacatataaggcccttttgccttgggggtatgggtgatacaaaa

[0346]

		taaatgtggcatgaaccactgacctctagcaatttataacctagaaaaagagttat gatatgtttataagttcctgtgatataagacatgcatatagtcattataacagaggtgc aaacaagatgtatcaagtatgtccagaggaggaagagattaatcccagctggag gaaacactgatgctttctgcagcaggggcatttgagttgagaaagggaggaaac atagattttgacaatgagagctgaggggaaaggggttcaggtggagggaaccg catgtggaaagcaggaggttaggaaagtgtagagtgtgttaagaatagacca gtttgctgaaacaggatatttgagcagaggaagctgtactaggtaggtgggtg aggccaaattatgcaaggcattaaatattaaactaggaattttggactttatcctgca gtttatggggggtaaatgataagattcaatatcactttattgtacagtattatgttacat ttatctaatgtttgttaattcctgtctagacaatgaattcctcaagggaaggagca tggcttattcacctcagtaatttcagtcctagcattgtgcctggtagaaagtggaca cttgtatataacctttttaattgaagcaacaagttgtcaaccttacaatgtgaatccg tgattcagatgacaggtgaaatgtagattgtctgcgaagagggcagaaagagag tatgacaaaggaggacaagacagtggggcaggcaggagagagagcagcca ggggttcggtagaggtatgtcaaaaaggtatggaagtcagaggagaaggagacc cctatgttatagaatacaaatggaagggaatgatgacaacagtaagttgtcattaa atgcaagggttgcaaaagtaagattgtaaagcaggatgagtaccacatttcctga cataatttatagtaaaagctatttcagagaaattggcgttacttgaatcttacaagaa tctgaaacttttaaaaagggtttaaaagtaaaagacaataactgaacacataattttt agaatgtttggaagaaacaaaaatttctaagtctatctgattctatttgctaattctat ttgggttctgaatgcgtctactgtgatccaaacttagtattgaatatattgatatatcttt aaaaaattagtggttttgaggaatttgtca
52	外显子 18	UGGGAUUCUUAUAGAUUCUCCAAAGAUUAUAGC AAUUUUGGAUGACCUUCUGCCUCUUACCAUAUU UGACUUCAUC
53	内含子 18	taaaaataagtaccgttaagtatgtctgtattattaaaaaacaataacaaaagcaaa tgtgattttgtttcattttttatttgattgaggggtgaagtcctgtctattgcattaattttgt aattatccaaagccttcaaaatagacataagtttagtaaattcaataataagtcagaa ctgcttacctggcccaaacctgaggcaatcccacatttagatgtaatagctgtctac

[0347]

ttgggagtgatttgagaggcacaaggaccatcttcccaaatcactggccacaa
 agtgtgacattttggcattggcatcactatttgatggaagccaacctcccccaaaa
 ggctgtattagaatgaagatggattccctgggtgggttacacttgaaactagcctc
 acccatgaacactttggcacagattagctagcccatccccacagtaaggaccat
 aagggaaggacagaagcaaagataagttttagaacaaaagagaggggaaaga
 aaaaatctagggtttatgagggtgtccctgagtgatagatgtgaataggcctcca
 gggcaggctggctcagaggctgactcttgggtgggtgactgattggtggtga
 ggatggagaagaaaaggggagtgaggagggtgaaagtgacctgggacattag
 gtctccataagtacaggatttaaggagtgtgtaagctgtggtgttgaccaggt
 ttaagcacagcttctgagcttctgactggtttaggtcaagctccagagagcaaat
 gccacagtctcagtgatctccttgagaaaacagttggaataggatgttgcccatgtt
 gggatgagtcattgtccgctcttgccttccctaccctgcaaaaataataactgta
 ttgattgaacataataaaacaaaagaaggattatcacataagtatgtatataacca
 acattggcagggtgcagaaaaaccagactgtcagttgcctcatctgaaatgattga
 cacaacaaatatattactgtcccaagtgaactttggcattttggatatccttcagtt
 gttctgtttaaagatataacttagaagcagctgatggaatatttaaatccatgcgtga
 attcatgcattcaaagaacatgtcctgagtcactaaatgctgacatttgttttcatgt
 taagagtgtaaataactggcccaaatataatattattacatcagataaaaactggaa
 tgtgaacctcttaacttgattgtgaaagtatttgccaatgggtgcctcttgataattattg
 aggtcacttcagaactcctctggaagggttaatttttaaatagtcattttataaattaa
 cattttgacatatgtgatggctctcaaattttcttttatgccagtttgatcatttctgc
 tcaattttttttaattgggatggagtctcactctgttggccaggctggagtgcagtg
 atgcaatctggctgactgcaacctccacctcctcggttcaagcgattctctcgcat
 cagcctccagagtagctgggattacaggcgccaccacatgcctggataatttt
 gtattattactagagatgggggttcaccacgttggccaggctggtcttgaactcctg
 aactcctgacctcaagtgatccacctgcctcagcctctaaagagctggaattatag
 gtgtgagccactgcaccaggccctgttcaacttttaagtctaagattcatttgtgtg
 tttcacaagtgattaggcagaggcttttatattaatttaccattttatttgaagagag
 tctcatattaaggaagcataatatgacaatccaaatacagtacaaatttggttaatt

[0348]

ttgattttgttaaataattaatcacaggggtccttcaaattgtgagctcctctggtata
 cttatgttttacctctggtatacttaattcaacaaatgaaatttcattctattcatgata
 tttcagaagcagatctgtgcacaaaataaagcatacctataaattttcttttttaaaa
 aaaagtctctgttcactctattttctattttttctcttttaaaattgaattttattgtggc
 aagtcacttaacatgagatttacctcttaacagatttttatgtgtaaaatacaatatt
 gttcaccatgggtaaatgttgcacagcagatctctggaacttattcattttgcactact
 gaaattttatacctgttgattagtatctccccattccctctctccccgtcctgttacc
 atgggtctgttctttgcttctttgagttgagttttgatacctcatgtaatttcattctat
 ttctaaacttgacaatgttctgacaaatttgctttccggattggagcactgtatagtga
 aaattgaaaatcttggttattttctacagattcccactattttaccttgagcagacactt
 atcttgaagggtctcagatttgcactttagaatggggaatataaacctgataatgg
 tccctttcagttctaaagttatatcagttgaaaatacatgtgtcacttatggtaacgggt
 agagaactggctcactgaacagcatatggatattataaagtggtttttttaatecttc
 tgcagacagttactttatactttattcaaatggattattgtgaagtacatgttagcgga
 ctttgtaccttttaaaaatgtatgtatttgggtgaatgtagaaatatagaaattattaagt
 atgatttatttcaatgttaagcatgagaaaatatgctccgaaagggttagatagcttgc
 cttaatgacaagcttgtatttcaagcagaactttctgaatcaaaagactccaagacg
 aatgcccagctttcaaaaactgtctaaccaaaataaatcctaagattcaccttcatac
 taaaattatttaaaaatagttatttttaaatattcacttaaaatgtatttatcatgcaa
 tactttaagtgcttgggaaatgaaaatatccaaagatcaagaacaccatgtttca
 aactcaaaaatgttatcagtgacctaaacaatttttaaaattttcatagagcctatga
 aaaatgtacttgcaaatggctactttctgactaggaatagaatggggagagtattta
 gtccaacaatgatagactggattaagaaaatgtggcacatatacaccatggaaca
 ctatgcagccataaaaaatgatgagttcatgtcctttgtagggacatggatgaaatt
 ggaaaacatcattctcagtaaaactatcgcaagaacaaaaaaccaaacaccgcata
 ttctcactcataggtgggaattgaacaatgagatcacatggacacaggaagggga
 atatcacactctggggactgttgtggggtggggggaggggggagggatagcact
 gggagatatacctaagtctagatgacgagttagtgggtgcagtgaccagcatgg
 cacatgtatacatatgtaactaacctgcacaatgtgcacatgtaccctaaaacttaaa

[0349]

		gtataataaaaaaaaaataaaaaaaaaagtttgaggtgtttaagtatgcaaaaaaaaaa aagaaataaatcactgacacactttgtccactttgcaatgtgaaaatgtttactcacc aacatgttt
54	外显子 19	UGUUAUUAUUGUGAUUGGAGCUAUAGCAGUU GUCGCAGUUUUACAACCCUACAUCUUUGUUGCA ACAGUGCCAGUGAUAGUGGCUUUUAUUAUGUUG AGAGCAUAUUUCCUCCAAACCUCACAGCAACUC AAACAACUGGAAUCUG
55	内含子 19	acagtgaatgtgcgatactcatcttgtaaaaaagctataagagctatttgagattcttt attgttaatctacttaaaaaaattctgcttttaacttttacatcatataacaataatttt ttctacatgcatgtgtatataaaaggaaactatattacaaagtacacatggattttttt cttaattaatgaccatgtgacttcattttgggttttaaaataggtatatagaatcttaccac agttggtgtacaggacattcatttataataaaacttatatcagtcaaattaaacaaggat agtgctgctattactaaagggttctctgggtcccaaatgatacttgaccaaattgtc cctttggcttggtgtcttcagacaccctttctcatgtgttgagctgccatttcgtgtg ccccaaactctacttgagctgttagggaatcacattttgcagtgacagccttagtgt gggtgcattttcaggcaatacttttcagtataattctgctttgtagattattagctaaat caagtcacataaacttccttaatttagatacttgaaaaaattgtcttaaaagaaaatttt tttagtaagaattaatttagaattagccagaaaactcccagtggttagccaagaaaga ggaataaataattggtggttaatttttaagttcccatctctggttagccaagtaaaaaa gagggttaactcattaataaaaataacaaatcatatctattcaagaatggcaccagtg tgaaaaaaagcttttaaccaatgacatttgtgatgattattctaatttagtcttttca ggtacaagatattatgaaattacattttgtgtttatgttatttgcaatgtttctat
56	外显子 20	CAGGAGUCCAAUUUUCACUCAUCUUGUUACAAG CUUAAAAGGACUAUGGACACUUCGUGCCUUCGG ACGGCAGCCUACUUUGAAACUCUGUCCACAA AGCUCUGAAUUUACAUCUGCCAACUGGUUCUU GUACCUGUCAACACUGCGCUGGUUCCAAAUGAG AAUAGAAAUGAUUUUUGUCAUCUUCUUCUUGC

[0350]

		UGUUACCUUCAUUUCCAUUUUUAACAA
57	内含子 20	atgaactcattaacttttagctaagcatttaagtaaaaaattttcaatgaataaaatgct gcattctataggttatcaattttgatatcttttagagtttagtaattaacaaatttggtggt tattattgaacaagtgatttcttgaattccattgtttattgttaaacaataatttcctt gaaatcggatatatatatatatgtatatatatatatatatatatatatacatatat atatatagttatccctgtttcacagtttataaaaccgatgcacacagattgtcagat agcaattctgtgattgaaggggaaatatgtcacctcttcatactcatattggtgaagg gtcctagcttcaaaattaatagattcctaaagaggggaaatgaaacatccgcattta cacacacacacacacacacacacagagttcctctgtcggtaagtttgtttttt aaatctctactagataaaatttggtatctaattgtgagtttacacaaagaaaaactgtc acagaaaagaaagacagtgtcacattttcaaaagaaaaagaagaaaagaaagt gccatgttttcaaatacaaatgttctggattgattttaggatcttttagtgaanaacaaa gtatttcataataagtaaaataaaaaatctatgtaggtaaattgttctctaatttaagaa ttgaattctgagtatttatgataagtgtgaaataacttctatatgtgacagtgaata ctggcagagcaaagtccaaatcaatgccaaatctgtaggatcatttgattgtagga acagaattctactcaaaccgaaagcaggcatttgcagggttacagaaaggcctc atggaacaccgagaaggtggtgccattcgactctaaagaagctgcaacaggca caagagagtcagctgcagctcttctctgtagtctatatctgtcctgggtccattcctt tttggtgtgcttcattccttctctctgaagactggttttctgggtctaccagggtat gccacattgactttatgtagtgtctccattctggcctcctgaatttacaggagagttcc tctgtacaaactcaaagtcctggagagaaacagaaaacagcttcttttggtcagg ggccaactgcagctctactctgctgtatgaggatagtggttcaccaccttggtgt tctctcagctagggcagtgaggaaatgactctatgaaaggaatatacatgggcagg caaatgtactaatcctcatcagtactgtaattttaagcaacttataaaattctttaagt tatttgaaaataagatcaaagaaggctgaattacataaatgaagatttgtaacaatt aattcaaaccaatataacacatgctataacatgggtgagtggtgattgagcttgattta ttaggggcaataatcaaaacatttaacaatcattatagtacagaacttaccatcaaa tcagatgctcagccggagtggatgttggccaccagctattattatccctgggtcaa ttggtcttcagctgtgttaactgcaaacattaattaactatctaagccctcatttcct

[0351]

		caagtgtaaatagacacaataatattacctattccataggtgtgggtgaatagtaa atgtaataattgtccaaacacttagtatagtgcctgggtccatggtaataactaaata aatgttatctgacttattatataaaattttatcttctcagcttaaccttcagaacagtaatat attggggctctagataaatcttgcctatatgaaaataatttaactacatgcagatata tgctgtgtatattatgccttctgttagaggaattgcagaaacaaaaatttcaattaata ataagatgaattatttctcccaattgtagaatctttgacaattttatcatgcattacaga tgtaagaactcttgattgggacttgatagtctaactttataataatttaagaacattcct cttagagaatttctatggccataatactgaacacatgaattttaattagctgtcctcttt agccctaaaaaaaaaattactgtaatttaacacttaagtgtgttcttcccaggtaca gtaatctttttttttttttttttttgcatagagggtaatctttctcttccaaatggca gaactgttagtttctgactgtccggtgaaattctaagtccacttacttcccaatagca tgcaattagcaaaggctcctcttgcaaaggcacagaacacacctaaacatcttgca gatgtgtttggacactcttcccctgcttttggtctctttgtaaagcagctcatctggat acaggatctctttcccattgccattctaataatgttaccgttattacttatagaata atagtagaagagacaaatatggtacctaccattaccaacaacacctccaatacca gtaacattttttaaaaagggaacactttcctaattcaatcgctctttgatttaaaatc ctggttgaatacttacttatatgcagagcattattctattagtagatgctgtgatgaact gagatttaaaaattgttaaaattagcataaaattgaaatgtaaatttaattgtgatgtg ccctaggagaagtgtgaataaagtcgttcacagaagagagaaataacatgaggtt catttacgtct
58	外显子 21	AGAAGGAGAAGGAAGAGUUGGUAUUAUCCUGA CUUUAGCCAUGAAUAUCAUGAGUACAUUGCAGU GGGCUGUAAACUCCAGCAUAGAUGUGGAUAGC
59	内含子 21	tcttatcatcttttaactttatgaaaaaattcagacaagtaacaaagtatgagtaat agcatgaggaagaactatataccgtatattgagcttaagaaataaaacattacagat aaattgagggtcactgtgtatctgtcattaaatccttatcttcttcttctcatagat agccactatgaagatctaatactgcagtgagcattcttcacctgttcttattcagg atcttctaggagaaatacctaggggtgtattgctgggtcataggattcacccatgct taactgagtgggtgccaaattgtcctcaagtctgtgtactgatatatatccccatcaa

[0352]

		<p> gagagtacaagaattctcatagctatgtatcttcaacaacacttgggtgctggtagat gtgaagtgattactaaaaatataggaagctgcatacataattattggcctttgctgtt ctcttacattaatttcttattcatgttgattactcattgtcacctagtttttcttccttaatt aaattgtaggaatttatgaattatggattgatcatcagctctatacatttcaaacataat ccctcagtcagtggttggttatagagcttttgatgaaaagaagcttttaagttaa taaagttcaattattgtcttttctttatgtttgtgcttttggtatcttgattaagaactcc ttccttatattgggttctcaaattagcagcataacatttcatactattttaaatttttt cacattatttagtgatagcacctttcttattcctaaagtgtttatcattgccttctgtctttc tgcttgataaatattgccacacatttgatactttattagtggtgtacaagaccacatttt agttgtgttatttcttctgttttggtttctagaatgcagagccattaatattatagtaatg cttatgtgctaataccatatcaggggcacaaa.....aaataagagcagtaaaattgt gtctaatacagctactaataatctgggaaggattgagccacaggatcaaatggtat ctttaaaaatagaagttgagtgaattcgggtctcaaattcttctttttattcatttatatt atttactcattagtatattcattcctttattcatgtattgttcaaataatattgggtacttat tatatgccaagttgttttaaaatcacattccaaattcccgtaatgcataattattcaga gatgtatgttttttaaaaaaattgaacacctttaaaattatcaagctcttttttct gtatgcattaaagataaaactttactaaatgtacatgaatagatttataaagcagataa atatttaatttcaaatataacccttatatgcaattatatttcttagcactaaaaatgaat atttaagtaatttatattaaaagtgtattatctaactgcagatgtatgccaatgacttaa attgtttaaagattatagcaaagttgtttaaattgtctaatacgaagagttcacttaa ccacctggttgacacataaaattatagttagtactaaggtagttcgagagaaagag aagaatcttcagtagtggtttgaggtgtggtacattttattataatataccggttatac agcattgtgcagtgctgctcatagtagaaataaattttctcttgatgtcatctattccc ttgtgtggcttacataactgagaattaggtgatcacaaaaataaacaggcctataca gagccatttatataagtcctggttatttctcttcagttaaacttttaattatatccaatta tttctgttagttcattgaaaagcccgacaaataaccaagtgacaaatagcaagtg tgcattttacaagttatttttaggaagcatcaaactaattgtgaaattgtctgccattct taaaaacaaaaatgttg </p>
60	外显子 22	UGCGAUCUGUGAGCCGAGUCUUUAAGUUCAUUG

[0353]

		ACAUGCCAACAGAAGGUAAACCUACCAAGUCA CCAAACCAUACAAGAAUGGCCAACUCUCGAAAG UUAUGAUUAUUGAGAAUUCACACGUGAAGAAA GAUGACAUCUGGCCUCAGGGGGCCAAAUGACU GUCAAAGAUCUCACAGCAAAAUACACAGAAGGU GGAAAUGCCAUAUUAGAGAACAUUUCUUCUCA AUAAGUCCUGGCCAG
61	内含子 22	atttgaacactgcttgctttagactgtgttcagtaagtgaatcccagtagcctgaa gcaatgtgttagcagaatctatttgaacattattgtacagtagaatcaatattaa cacacatgtttattatatggagtcattttttaatatgaaatttaatttgcagagtcctg aacctatataatgggtttattttaaattgtgattgtacttgcagaatatctaattaattgct aggttaataactaaagaagccattaaataaatcaaaattgtaacatgttttagatttcc catcttgaattgtcttccaaaatatcttattgtctgactccatctattgtcttaatttta tctaagttccattctgccaaacaagtgtacttttttctagctttttcagttgtttgttt gttttctttgaagttttaattcagacatagattttttccagttatttactatattatta agcatgagtaattgacattattttgaaatccttcttatggatcccagcactgggctga acacatagaaggaacttaatatatactgatttctggaattgattcttgagacaggg atggtcattatccatatacttcaggctccataaacatatttcttaattgccttcaaatec ctattctggactgctctataaatctagacaagagtattatatatttgattgatattttta gataaaataaaaggagctgaaaactgaattgcaaactgaattttaaaactttatctc tctgtggttaattgcaaacacagatacaaaaatatagagagatacagtttagtaaa gatgttaggtcaccgttactaacactgacatagaaacagtttctcatgagtttcag aatatatgagtttgattttgccatggattttagaatatttgataaacatttaattgcattgt acaaattctgtgaaaacatatatataggatgtgcga.....aacaaaactgtccttcaact acagattgaaaagcattatactaaaagaccatttgcctcagttatagtatataaaggcc aatgacttaaaaacaaattatgtaaggagaaggaaacaaccatttattcagtgcc actaactgtcagccagtttttgcagtggtcagttaatgactgcagtagtggtctacctt gctcaaagcaccctcctcaagttctggcatctaagctgacatcagaacacagagtt ggggctctctgtgggtcacctctagcacttgatctcctcatgcagtgcatgggtctc

[0354]

		<p>tcacgtctatgctatgttcttatggctctttaggtaacaagaataattttctttctttcctta ctatacattttgctttctgaaattcccttctcgccaatccaggtgaatgtcagaatgtg atttgacaactgtccaaagtactcattcactgaggagtggtaaggccttcgcccaa cctgccttctctgggaatatactgctgcctgaacatatcattgtttattgccaggcttg aacttcaccaaattaatttatttagggtaacatctaaatattagaactatttcagattaa ttttaagtcgtatccactttgggtactagatcaaattgcaggctctctgcttctggcttg agcctatgtttagagatgatgtgcatgaagacactctttgcttttcctttatgcaaaat gggcattttcaatctttttgtcattagtaaagggtcagtataagggaagtctgcatca gggtccaattcccttatggccagtttctctattctgttccaagggtgtttgtctccatata tcaacattgggtcaggattgaaagtgtgcaacaagggttgatgaataagtgaataatc ttccactgggtgacaggataaaatattccaatgggttttattgaagtacaatactgaatt atgtttatggcatgggtacctatatgtcacagaagtgatcccatc</p>
62	外显子 23	<p>UGGGCCUCUUGGGAAGAACUGGAUCAGGGAAGA GUACUUUGUUAUCAGCUUUUUUGAGACUACUGA ACACUGAAGGAGAAAUCCAGAUCGAUGGUGUGU CUUGGGAUUCAAUAACUUUGCAACAGUGGAGGA AAGCCUUUGGAGUGAUACCA</p>
63	内含子 23	<p>caaaaggacttagccagaaaaaaggcaactaaattatatttttactgctatttgata cttgactcaagaaattcatattactctgcaaaatataattgttatgcattgctgtcttttt ctccagtgcagttttctataggcagaaaagatgtctctaaaagtttgaatttctcaa attctggttattgaaatgttcatagccttgatagtgttttcagaagaccaaatttacagt gggagccttgggcttttgttttaacagctctttttgttctgcttcagtggcctgacc tccaagttagcaatcgccagggtgagaaatgctttgcgagacataacagatgctcc tgaaataacaaacacttggatcatgaggtagtgaattgaaaatagaaagtgtag tgattgtttttgtatttgatgggatgaacaatgtcagattagtctgtaactattttttt taatgtcactctgattgggtcacaaggatctctagtctcattgccttagtatcattcta cgaattagaatgtgttactgtgtaagagcacttctgtatatgagagaaatagcaac agttccagtttaaagtgatataaatggaaaccaagaaatgtctttactgggaccaa tctggacagcatttactgtatttttctgtgtattttctctagtctttccgggtatattcaca</p>

[0355]

		<p> ttaaagatgacacttttctcccttgtgctaataaggacactgaatccattccactaccatag ttcttgctaatactactctactttttacacaaaattaaaatgccaggagcacctccagg tagactgactataaatctagactgaaaaaaaaagcttgatttctaacagattaccttg tggaacatttgctccttcaactaatgaggcactaaatattgtaactgctcaactggt gcttttaatttattgtctagactttgtcatgttgccagaagctttatcctg.....tgactt gacttggtggttccttggtgaccagatggccactaaatattctcatttcaaggcaatt ggtaaaaactacacttcaagaaatttcattcttaattccccttagtggatgttattaacc aaaggcaaaagaaaaaaagggtaaaaaaatattctaaatgttaatatcaaaaata ttatttcaattcacccaggcacagagaactaagtattattgctattgcaccggc attccccaatgagacagtgttttctttaagacatttttaataatataggcagaatta agtagacggtgatctggtaagtagatgttcagggtaacagctgtgcaatgctccat gcagggaattagattgtcattttattccttaccaggaacatacattcagttaaacaatt atttgacttctgctcttccactgatttctaagttgaggctctctctgtgctgtctgatc agataagtagagttgtgccttgggttatagatgagataaatgtgtattgaataagcat aagttaaagaaattttaaatcccttaggaagctaggcttatcagagaaatccaagg aaatacattaacaaactaggaattgttctaacagggttaattataactcataaacttatt gggttttttaccttttaattttatattacatttgcttataataaggaatattgctaggaata aaatttttaatttctacaattaacaattatctcaatttcttattctaaagacattgggat tagaaaaatgttcacaagggactccaaatattgctgtagtattgttctttaaagaat gatacaaagcagacatgataaaatattaaaatttgagagaactgatggttaagtaca tgggtgttcttatttttaaaataatttttctacttgaaatattttacaatacaataaggga aaataaaaagttatttaagttattcatacttcttcttctt </p>
64	外显子 24	<p> AAGUAUUUAUUUUUCUGGAACAUUUAGAAAA AACUUGGAUCCCUAUGAACAGUGGAGUGAUCAA GAAUAUGGAAAGUUGCAGAU </p>
65	内含子 24	<p> gctgctaactgaaatgattttgaaaggggtaactcataccaacacaaatggctgat atagctgacatcattctacacactttgtgtgcatgtatgtgtgcacaactttaa ggagtaccctaacatacctggagcaacagggtactttgactggacctaccctaac tgaaatgattttgaaagaggtaactcataccaacacaaatggttgatattggctaaga </p>

[0356]

tcattctacacactttgtgtgcatgtatttctgtgcacaacttcaaaatggagtaccct
 aaaataacctggcgcgacaagtacttttgactgagcctacttctcctcactggtatg
 gctccaaccatcaggccctatcttgggtccatttaggctgctaaaaataaaataccaaa
 gactgagctgcttataagcaatcttggaggctgagaagtcaaagatcaagggtgcc
 agcaggttctgtctcgtgagagcatacttctgggtcattgatgggtcttcttctgt
 gtgtcctcacataatggaaagggaagacctctctgggtgtctcttttacaatggcac
 taatcccatcatgagggtttgttctcatgacctaatcacctcccacatgtcctacatt
 ctaatactatcaccttgggggttaggattttaacatatgaattgaggaggtggcgg
 gggggacacaaatatttagaccatagcatttctcctgacctcaaagttcatgtc
 ttcttcacatgcaaaatacattcattccatcccaatagcccccaaagtcttaactgtt
 ccagcatcaactacaaggctaaagtccaaggttcatctaaatatcagctaaatca
 gcacaaacagctaaatcaggtagagtgggacttaagggtgtgattcctctttaggca
 gattgctctccaactatgaaattgtgaaatcaaacctattatgtactttcaaaataaaa
 tgggtgaaacaggcacaggctag.....ataagattcttctgagccattatctcattcta
 tattacagttaggtggagcccatcttacctcctcatactaaattctagacttctcaag
 ggcaggagacaatcatctgtatatctcttggccttcatactcaggagtacttgcc
 aaaaataaacatttaaatgcacatttattgaataattgataagatccaatactcaataa
 ctttgtcatattttatagaatgggttctatatctcatttgcatttcaaaccttactttact
 gtctagctttaaaaaaaaaagcctttagctctaatacagccctcatattctaccccaat
 atctaagaggctttatatctcctagtgtgtaccactattttaactccagtttttactt
 catagttttacctatttgttacagttagttttatgaattcaagagatgaatagcaatttc
 catatgtaatttaaaaaacccacagttgactattttatgctatctttgtcctcagtc
 gacagagtagaagatgggaggtagcaccaaggatgatgtcatacctccatcctt
 atgtacattctatcttctgtctacataagatgtcatactagagggcatactgcaatg
 tatacataattatctttccagcatgcattcagttgtgttgaataatttatgtacacctta
 taaacgctgagcctcacaagagccatgtgccacgtattgtttcttactacttttggg
 atacctggcacgtaatagacactcattgaaagttcctaataatgaagtacaaaga
 taaaacaagttatagactgattctttgagctgtcaagggtgtaaatagacttttgc
 atcaattcaaatgggtggcaggtagtggttagagggttaggtatgaaaaacata

[0357]

		agctttcagaactcctgtgtttattttagaatgtcaactgcttgagtgttttaactctgt ggtatctgaactat
66	外显子 25	UUGGGCUCAGAUCUGUGAUAGAACAGUUUCCUG GGAAGCUUGACUUUGUCCUUGUGGAUGGGGGGCU GUGUCCUAAGCCAUGGCCACAAGCAGUUGAUGU GCUUGGCUAGAUCUGUUCUCAGUAAGGCGAAGA UCUUGCUGCUUGAUGAACCCAGUGCUCAUUUGG AUCC
67	内含子 25	tttcagatgttctgttacttaatagcacagtgggaacagaatcattatgcctgcttcat ggtgacacatatcttattaggtgtcatgtctgcgtgtgggggtctccccaagat atgaaataattgccagtggaatgagcataaatgcataattccttgctaagagtctt gtgtttcttccgaagatagtttttagttcatacaaactcttccccctgtcaacacatg atgaagcttttaatacatgggcctaattctgacattatgatttgccttgtatccattt ataccataagcatgtttatagcccaaataaagaagtactggtgattctacataatga aaaatgtactcattattaaagttctttgaaatattgtcctgtttattatggatacttag agtctaccccatggttgaaaagctgattgtggctaacgctatatcaacattatgtgaa aagaacttaagaataagtaatttaaagagataatagaacaatagacatatattatca aggtaaatacagatcattactgttctgtgatattatgtgtgtgatt
68	外显子 26	ACAUACCAAAUAAUUAGAAGAACUCUAAAACAA GCAUUUGCUGAUUGCACAGUAAUUCUCUGUGAA CACAGGAUAGAAGCAAUGCUGGAAUGCCAACAA UUU
69	内含子 26	tctttataactttacttaagatctcattgcccttgtaattcttgataacaatctcacatgtg atagttcctgcaaattgcaacaatgtacaagttctttcaaaaatattgtatcacacagc catccagctttactcaaaatagctgcacaagttttcactttgatctgagccatgtggt gaggttgaaatatagtaaatctaaatggcagcatattactaagtattgtttataaata ggatatatactttttgagccctttatttggggaccaagtcatacaaaatactctact gtttaagattttaaaaaagggtccctgtgattctttcaataactaaatgtcccatggatgt ggtctgggacaggcctagtgtcttacagtctgatttatggtattaatgacaaagttg

[0358]

		agaggcacatfttcatttttctagccatgatttgggttcaggtagtaccttttcaacca ccttctcactgttcttaaaaaaactgtcacatggccaggcacagtggcttacatctgt aatcccaatactttgggaggctgaggtggggggattacttgaggccaggaattca agaccagcccaggcaacatagtgaggccccatctgtctttattaaaacaaaacaa aactgtcacagcttcttcaagtgatgtttacaaattccctatggtttagtcacaagga agttctgaggatgatgtatcacgtcatttctgttcaggctttgagcctcctggaggta aatggtttccttactgaaggctgttattaccatgattatcactaagcttgaagtaaca aattaggggggcagactcacaacctcttgccctgccatggacaagttcaagaatct aagtaaagtcctctattgtctgatcttgatttgcacacctgaacaagccaaggag gtgtattaaactcaggcacatcctgaccaatttgaattcttaagcttcagatcactgt ggaagaggctcaactctttatgggtctgtagacttacgctcatttctaggtaatat aagggaacctaatattttgtttcaaagcaacttcagttctactaaacctccctgaaga atcttcagctgctgagtagaaaatcacaactaatttcacagatggtagaacctcct agagcaaaaggacacagcagttaaatgtgacatacctgattgttcaaaatgaag gctctggacattgcattcttgactttattttcctttgagcctgtgccagttctgtccct gctctggcttgacctgccttctgtcccagatctcactaa
70	外显子 27	UCAUAGAAGAGAACAAAGUGCGGCAGUACGAUU CCAUCCAGAAACUGCUGAACGAGAGGAGCCUCU UCCGGCAAGCCAUCAGCCCCUCCGACAGGGUGA AGCUCUUUCCCCACCGGAACUCAAGCAAGUGCA AGUCUAAGCCCCAGAUUGCUGCUCUGAAAGAGG AGACAGAAGAAGAGGUGCAAGAUACAAGGCUU

[0359] 表16:ADAMTS13靶序列

[0360]

SEQ ID NO	区域	靶序列
71	外显子 25	GCUCUGUUUCCUGUGGGGAUGGCAUCCAGCGCC GGCGUGACACCUGCCUCGGACCCCAGGCCAGG

[0361]

		CGCCUGUGCCAGCUGAUUUCUGCCAGCACUUGC CCAAGCCGGUGACUGUGCGUGGCUGCUGGGCUG GGCCCUGUGUGGGACAGGGUACGCCCAGCCUGG UGCCCCACGAAGAAGCCGCUGCUCCAGGACGGA CCACAGCCACCCCUGCUGGUGCCUCCCUGGAGU GGUCCCAGGCCCGGGGCCUGCUCUUCUCCCCGG CUCCCCAGCCUCGGCGGCUCCUGCCCCGGGCCCA GGAAAACUCAGUGCAGU
72	内含子 25	guccuguccuccuuccugucaggcagcugcugcaggaggggugggcaaa ggcaucuuccucuggggaaggacuggcacaagcacuugguuccugggguug ugugccugggaggccgggaucagggcugggccucuucuccugggcaaa gcaaaaccuccuuuuacuacuaucagggaagaaacuugaagguagga accagcuugugagcccccuaaggcucugggcugcucugcaugugccccc cuugcuggaucaucugguagcagcccugugcccugaggguagaugcucug accuaugcagccccccuccuguccugagaaggcuuccagcugggccuug gaggacaggguccacccuaccuccugguccuuccucagcuuggaagc cccggagccugcccugcugggaauccgggaagcacugcuuaccugucuc
73	外显子 26	UGCCUGUGGCAGGCAGCACCUUGAGCCAACAGG AACCAUUGACAUGCGAGGCCAGGGCAGGCAGA CUGUGCAGUGGCCAUUGGGCGGCCCCUCGGGGA GGUGGUGACCCUCCGCGUCCUUGAGAGUUCUCU CAACUGCAGUG
74	外显子 27	GGACAUGUUGCUGCUUUGGGGCCGGCUCACCUG GAGGAAGAUGUGCAGGAAGCUGUUGGACAUGAC UUUCAGCUCCAAGACCAACACGCUGGUGGUGAG GCAGCGCUGCGGGCGGCCAGGAGGUGGGGUGCU GCUGCGGUAUGGGAGCCAGCUUGCUCUCCUGAAAC CUUCUACA
75	内含子 27	gccaggccuuccaccuccuugggugcuccaguccuggcaggagggc

[0362]

		ugggugggugcugcuggggauggggccaguccaguggggcaguggga agauacggagggaacugacugagauggaaggaacugggguuggccagug ucagucugcacugccagggaggggucacaggaugaugcuauaucccu ccuuuuugggaccgugcagcaagauaggacggauuggggacaugguccac auccucagucagucccucaggccucugccccacaccaccugccccgccc caccuccagccuuucaagggcuuuuaggguuuuguggaagccacugu ccucagcccuguuucagugcacuggguuaagcagacaugcuuguacau gcaugugcaccacaagcacaccucaggcagaggauGCCaccucagggac uccagccuugcccguaggccccucgauauccucugauagcccucucgguu guccuggggggcuugcccucuccaagcccagcugggcgaaguugg cuuccuagcugguuccagagguuccucggcucccccaggugucugggg cuuaguggcaacaggggcuuagccucugcagagaccuagugcgcgccuc cuugccccagaccugcccgggcagagagccguguauuguguccagugcac aggcgcugcugggcccugccaaaaggccacaagcccacugucaccguuca cauugcuucucgcuuccggcccagccccgccacacaggcaucugccuu gaaagaggugcaggagguacaggcaggugggggcuccagugagcucuga ggaacagcaguggccgccaugggugggagccuauuuuguugccaguuuc aguguuaaacacucucgacgugugacaucauugaguccuaaagaccacu cugcucagugcaugccauuguuuuccuucaguuacagaggagggaaccag agcccagaacauuuagccuuugccuaaagucacuggggccaggaaguggua gaggugggguucagcaggauuugccuggggaaccccauuauugaccacag ugccaugcugcccugcacggcucccuggcugugaguuguccuggcucu ggcaccaccggucugucugggguuccuauuguccu
76	外显子 28	AUGUGACAUGCAGCUCUUUGGGCCCUGGGGUGA AAUCGUGAGCCCCUCGCUGAGUCCAGCCACGAG UAAUGCAGGGGGCUGCCGGCUCUUCAUUAUGU GGCUCCGCACGCACGGAUUGCCAUCCAUGCCCU GGCCACCAACAUGGGCGCUGGGACCGAGGGAGC CAAUGCCAGCUACAUC

[0363] 表17:TSC1靶序列

[0364]

SEQ ID NO	区域	靶序列
77	外显子 5	ACCUCUUGGACAGGAUUAACGAAUAUGUGGGCA AAGCCGCCACUCGUUUAUCCAUCCUCUCGUUAC UGGGUCAUGUCAUAAGACUGCAGCCAUCUUGGA AGCAUAAGCUCUCUCAAGCACCUCUUUUGCCUU CUUUACUAAAUGUCUC
78	内含子 5	auguuuguaaggauuugaauugaauguuuuugaguauaguucugaa auuuuaggcaacuuaaagcaaggaagcuagauuuuacuuiuagaguuu aaaaccuucuaggcauuuggcuuuucuaaaugaaguuguccagagu ugguacuuaaguaaguucuaaaauacaucauagacuauugaauaccuug uccaugcaaguauggaaaauuucgaucagauuggguucaanguuacauu auuccaaaccucuugauuucgucaucguuuagccuucccucauuuaaaaa cauccuggauuaucuuuugggaaucccuguuucuaaaauaucuuuagc uaauagaaaaauggcuuaaaguuuucuguuaaccuuuaggaguaugguc ugguugcagcuauaauuaagacuuguugauguaaaauucuacuaaguug cauucuaauuuuugcacuaaaauuagugcauuuucuaauauaggaguc aaaaucuaaaauagaacuuaauggguuuuaguuuuaacaguggcgugcagc cauacucaggguuauuuuguuuuauucuguuuuaguuccuggacuuguuu ucuaucuaauaaaaaagaaaaugugguuaauauuaacugccuguaccuca cagagacaugaaaaauaccauaguauuuguuccaggauggcaguaccu uggauucaucugcuacagcaccaugcaauuugauuuuugugucugccaa gaaggguaacucuuuuauuuaucccuagaggugggucccaaggagucaca uuggcaggguauuuauaaaaacaugcauuuauuucagaaaaauaggaaca guuuuaacaacuuaauguuuuuuaacaaauggauugaugagaauauaa ucuaauuaauggauuggugagaauauaaucuaaauggauugaugagaau

[0365]

		auaaaucaaaauggauuggugagaauuaaaucaaaauggauugaugagaa uaauaaucaauuuugaggcacaucauuuaguucagauugcaaaacacuua ucuuuuccaaaagaguacguuuuguuaaucauggauaagucuucaguua gacuguuaggaaaugaaaucagggcuaguucuuucugcugagaaucau uaauauagucucauauauucucaauucuccuaccaauauauuauucuuacu ggauaucuuccgaaugaaaggcuugaugcuugauguaaaaaucaaaaaua uaauuaaaacuuuauucccagacucauagauuccuauucuaauaggaaua auggaugucuaaccuacauaguagucuuuugauuaauaucuuguuuca uaaaucugaauuucacuaaccuggcaaacaauucaugauuuauuuauaggg ucaggugagcugcuguagcuagcuagucagagcugauugaguauccauu ggguguaaagugucucaguuagccugaaguuaauuuuuuugacuuaaua uuuaaacuguaaggcgugcugaaaggguuccauauauauauuuuuuuuu uacugggucucuaaaauacugcuuuugaagugagccuuuaaguugacuuguu agugcuauaugaauuucuccuucuuuauuacuuucuguuguaguucuuua aaaaauaguaaguuacuugucaaugugcaguuuuuuuuuuuuuuuuuuuu acaaaaaguaaguaucuuaggauuuugguugaauugaauagaacagagcagu gcuccuguguuuuguugaaaagcagcuccuuuuuguuuuucaccaacugc uaucaauagggauccuaaggcugcaggacuugggguguccccaagucaag uuugaacucgucucccggaugccuuugcauagguguguuuguaaaugguc cucacugacucauuacaguagaguuggggcucaguguucuguugagucuc guuugaauguuaucuccuucaguaauccuuagggaauagggaauagaguac gugagucaacuugugauuuugauucucucaguguuuagagccucuuca uguacuguacaaugccgauccuggugccagugccugacagacguuuuccu guuuga
79	外显子 6	UGGACACUGACGUCGUUGUCCUCACAACAGGCG UCUUGGUGUUGAUAAACCAUGCUACCAUUGAUUC CACAGUCUGGGAAACAGCAUCUUCUUGAUUUCU UUGACAUUUUUGGCCGUCUGUCAUCAUGGUGCC UGAAGAAAC

[0366]

80	外显子 10	GUGUGCUACUUCUACCCCUUACUCCACGUCUCG GCUGAUGUUGUUAUAAUAUGCCAGGGCAGCUACC UCAGACUCUGAGUUCCCCAUCGACACGGCUGAU AACUGAACCACCA
81	内含子 10	gugucaacuagugugccugcucucuccucugcuuucuggugaagcugac ccuuugggucagauuuaguaugugguugggaaaauuucacacugcucau uucaggagucacuuuuuaggauccaugauuuagcaaagaauguuacug uugccucuagauucaucuugaagucuugauuuacaaaugcaacuugu uucuugauacgcuuuuuauaagaugccuuuuucuagaugaaaaagcuua auuuuagcugaacacuggccauggauauaaaccucguggaugacuuaagca uuccuuugccacugcugauguacu
82	外显子 11	CUACUCUUUGGAGCCCAUCUAUGGUUUGUGGUA UGACCACUCCUCCAACUUCUCCUGGAAAUGUCC CACCUGAUCUGUCACACCCUACAGUAAAGUCU UUGGUACAA
83	内含子 11	uaugucuuagguuggauuuagauuaguugguuuuggccugccuuuaug gcaggaggagcucucuuuuagaucuaagggaccacuugcuguuguaaac uuguuuuugacacuuauugcaaaucccuggggcuuucagaauguguaaa gugaaccuaaaaacaaaaagagagagacugaucuagaucuccagaaagu uaacucuaagcagcuuuuuuauaguaauaguuaauaggcugaaaaaaaauc ggcaguuuuucuaauaguugggcucaguguucauauauguucu
84	外显子 12	AGGUGGAAAAGGAACUCCUCUGGGAACCCCAGC AACCUCUCCUCCUCCAGCCCCACUCUGUCAUUCG GAUGACUACGUGCACAUUUCACUCCCCCAGGCC ACAGUCACACCCCCCAGG

[0367] 表18: IMPDH1 靶序列

[0368]

SEQ ID NO	区域	靶序列
85	外显子 14	GAUGAUGGGGCUCCCUGCUGGCCGCCACUACGGA GGCCCCUGGCGAGUACUUCUUCUCAGACGGGGU GCGGCUCAAGAAGUACCGGGGCAUGGGGCUCACU GGAUGCCAUGGAGAAGAGCAGCAGCAGCCAGAA ACGAUACUU
86	内含子 14	cugaccugggccccaccugggcagaucagcccacaacccuucagggccc gcucaugccaccgacuuccccagauggcagccaguccccauauggugguu cuggaaacugaggcacagggcuaaaguagcagaccaggaucuguccug ggccaucugacucagcccagugaggggugggccugggggaccuuccuggg cgguaucccguuuuugcccuuaagagguggggugggguccucugagcuu caagcugcugggcucagucuu
87	外显子 15	GAGGGGGGAUAAAGUGAAGAUCGCGCAGGGUGUC UCGGGCUCCAUCCAGGACAAAGGAUCCAUCAG AAGUUCGUGCCCUACCUCAUAGCAGGCAUCCAA CACGGCUGCCAGGAUAUCGGGGCCCGCAGCCUG UCUGUCCU

[0369] 表19:PKD1靶序列

[0370]

SEQ ID NO	区域	靶序列
88	外显子 32	AGGCCUUUGUUGGACAGAUGAAGAGUGACUUGU UUCUGGAUGAUUCUAA
89	内含子 32	uucccuagagaaaccucgagcccuggugcaggucacugugucuggggug ccgggggugugcgggcugcguguccuugcugggugucugugggcuccau

[0371]

		guggucacaccacccgggagcagguuugcucggaagcccaggguguccg ugcgugacuggacgggggugggcugugugugugacacaucuccugguac cuugcugac
90	外显子 33	CUGGUGUGCUGGCCCUCGCGGAGGGAACGCUC AGUUGGCCGGACCUGCUCAGUACCCGUCCA GUGGGUAGCAAUCUGCGGCAGCUGGCACGGGGC CAGGCGGGCCAUGGGCUGGGCCCAGAGGAGGAC GGCUUCUCCCUGGCCAGCCCCUACUCGCCUGCCA AAUCCUUCUCAGCAU
91	内含子 33	cuggggugagaggagggggcucugaagcucacccuugcagcuggggccca cccuauhc
92	外显子 34	UGAAGACCUGAUCCAGCAGGUCCUUGCCGAGGG GGUCAGCAGCCCAGCCCCUACCCAAGACACCCAC AUGGAAACGGACCUGCUCAGCAG
93	外显子 37	UCUUGCUGGAAGCCCUGUACUUCUCACUGGUGG CCAAGCGGCUGCACCCGGAUGAAGAUGACACCC UGGUAGAGAGCCCGGCUGUGACGCCUGUGAGCG CACGUGUGCCCCGCGUACGGCCACCCACGGCU UUGCACUCUUCUGGCCAAGGAAGAAGCCCGCA AGGUCAAGAGGCUACAUGGCAUGCUG
94	内含子 37	ccugggugcggccugugccccugccaccuccgucucuuugucuccaccuc ccacccaugcacgcaggacacuccugucuccccuuuccucaccucagaaggc ccuuaggggguucaaugcucugcagccuuugcccggucuccuccuacccc acgccccccacuugcugccccagucccugccaggggccagcuccaauhgcc acuccugccugggccugaaggccccuaagcaccacugcagugggccugugu gucugccccagguaggguuccgggcaggguugugucugccauuacccu ggccagguagagucuuaggggcgccccugccagcucaccuuccugcagcc acaccugccgcagccauggcuccagccguugccaaagcccugcugucacu gugggcugggggccaggcugaccacagggc

[0372]

[0373] 表20: IKBKAP靶序列

[0374]

<110> 冷泉港实验室	
<120> 核基因输出的定向增加	
<130> 47991-701.601	
<140> PCT/US2015/053896	
<141> 2015-10-03	
<150> 62/059,847	
<151> 2014-10-03	
<160> 403	
<170> PatentIn version 3.5	
<210> 1	
<211> 124	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 1	
ugggcuacga acugaaggau gagaucgagc gcaaaucga caaguggcag gagccgccgc	60
cugugaagca ggugaagccg cugccugcgc ccuggaugg acagcgaag aagcgaggcg	120
gccg	124
<210> 2	
<211> 84	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 2	
gggcccuggg gguccgguag gcaugggggu cauggagggg agaagccggc guccuccucc	60
cagccgacuc ccuggcgccg ccca	84
<210> 3	
<211> 69	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 3	
uaccgcaaga ugaaggagcg gcuggggcug acggagaucc ggaagcaggc caaccguaug	60

	agcuucgga	69
	<210> 4	
	<211> 125	
	<212> RNA	
	<213> 智人	
	<400> 4	
	ucgaggagga cgccuaccag gaggaccugg gauucagccu gggccaccug ggcaagucgg	60
	gcagugggcg ugugcggcag acacagguaa acgaggccac caaggccagg aucuccaaga	120
	cgcug	125
	<210> 5	
	<211> 66	
	<212> RNA	
	<213> 智人	
	<400> 5	
	ggccagaccc agguggggcu ggggaccgag ggacacaagg uggggggagc ccagaucgca	60
[0002]	gccucc	66
	<210> 6	
	<211> 95	
	<212> RNA	
	<213> 智人	
	<400> 6	
	ggaccucgca gaagcagagc gucguauaug gcgggaaguc caccauccgc gaccgcuccu	60
	cgggcacggc cuccagcgug gccuucaccc cacuc	95
	<210> 7	
	<211> 27	
	<212> RNA	
	<213> 智人	
	<400> 7	
	aucuuaguau caauugguga aucauuc	27
	<210> 8	
	<211> 3290	

<212> DNA

<213> 智人

<400> 8

tat t t t t c t t t	c t a t g a a a t a	t a a t a g t a t g	c a t t g t a a g t	a t a a a a g a a a	t t a a a g c t t t	60
c t a t a a t t t g	a a t t t c c a a a	t g c a g t t a t t	c a a a c a c c t c	a t c c a g g c a t	a t t g c a t a g a	120
a t t t t a t g a g	a t a t a t a t a t	c t c a g a t t t a	c t t t c a a a t c	a a g t t t a a t c	t c a a a t c a t a	180
c t c c t a a t t g	g t g a a c t t c a	a a a c t t t t c t	a a a t a t c c a c	t t g a g a t t a t	a t a a t a c a t a	240
t a t a c a t t t g	t g t a t a t a c a	t a c a t a t a t a	c g t g a g c t g t	t t t t g c t c a c	a a c a t t t c t a	300
t c a c c a a a t g	t g t g a g a t t t	t t t t c t c a c c	c a a a t c t a t t	c t t c a a c t c t	c t g g t g t t c t	360
a c a a t t c a a t	t c a a t t c t g a	c a c t a a t t a c	c c a g a g t c a g	c a t c a g a c t c	c a c a g g t t c a	420
a g g g c t c a g t	c c c a c a a a a a	t g g t c t c a c t	g c a g a c a c c a	g t c a c a a g t g	t c a g g t c c c c	480
a g g c t a c a c c	a c a c t t c c g t	c t g a c t t g a a	t a c g a a g t t g	g g g g g t t c c g	a t a g t g c c t c	540
t t c c t t a c a g	t t t g a t c c a c	t g c c a g a a c t	a c t c a c a a a a	c t c t g g a a a a	t a t t c t a c t t	600
[0003] a c t a t t a t c a	g t t c a t c a t a	a a a g a t a c a a	a t g a a c a g c c	a g a t g a a g a a	a t a t t a t a t a	660
g g g t g a g g t c	c a g a a g a g t c	c c t a g c a c a g	g g g c t t c t g t	c c c t g g g g a g	t t g g g g t g c a	720
c c a c t t c c t	a g c a c t t a g a	c a t g t t t a c c	a a c t c c a a a g	a t c t c c c a a c	c t t a t t g t t g	780
a g g g g t t t t t	a t g g g g g t t t	c a t t a t a t a g	g c a t a a t t g a	t t a a c t c a a t	t t c c a a c c c c	840
c t c c c c t c c c	t g g a t a g a g g	g t g g g g c t g a	a a g t t c c a a g	c t t c t a c t c a	a g a c t t g g t c	900
t t t c t g g c a a	c c a g e t t c c a	t c c t a a a t t a	g c t a g g t a c c	c a c c a a g t a t	c a c c t c a t t a	960
g a a c a a a a g a	t g g t c c c a t c	a c c c t t a t c a	c a c a t g a a a t	t c g a a g g g t t	t t a g g a g c t c	1020
t g t c c c a g g a	a c c a g g g a c a	a a g a c c a a a t	a t c t t t c a a t	g a t a c c a t g t	a t g t a t g t a c	1080
a t a a c c t c a c	a g g a a t c t t t	a t a a a c a a a t	t t t g a a a t t c	a c t c a t t a t g	a g t g t g a t t t	1140
g a a a t g a g a t	a c t c c a a a a t	g t a a g c c c g a	t a t c c a a a t g	t c a c c a g c c t	g t c c c t g c c t	1200
a c t g g t c t c c	t t c c a t a c a t	a t g c a c t t t t	t g c t t g t c c t	t c c t c t c a g a	c t t c t a g g a t	1260
a t t c t t t t t c	t g g t a c a c t g	a t t a g g a a t t	g t t t g c a t g a	g a t c c t g c c t	c a g t g a a a g t	1320
g g c a g a g c t t	c a t t c t a g g a	g a t c c a a g g g	a a a g c t t t g c	t t t g a a a c a t	t t a t t c t a g g	1380

	ctgcaaatecc acaaccctag ttggccttcc attaaagtca ctaattcagc agtcccatat	1440
	tcaatatgca ttactgttaa tatgttgca cactccatt cccctgagag cttatatatt	1500
	taatttttaa atttttattt ttagagacag tgtctcactc tgtcacctac ttattataac	1560
	ctcaaaactcc tcggcccaag cagtcctctc acctagcct cccaagtgc caggactaca	1620
	ggcatgcacc accatgtcca gctaattttt aaattttttg tagagacagg gttttctatg	1680
	ttggccagat tggattgaa ctcttggtt ccacgatacc cgtctcagc ctcccaaaga	1740
	actgggatta cagatgtgag ccactgcacc tggccagaga gcttatattc ttataggaat	1800
	gggaagactg cctatgttat gtgttgctac ataatacatt acccccaaac ttagtgactt	1860
	aaaacaaacg cttattatct ccatttctgt gggtaataa tctagcatg acttagctgg	1920
	gccagagttt ctccaaagtc tgtgatcaag gtgtcagttg ggctgggcct gcagtcactc	1980
	caaggtcca ctagaggagc attcactggc agacttattc aaatggctgt tggctgatcc	2040
	tcgatggcta ttggccctc tattggtttc ttgcccttgg gccctccat agtactgctt	2100
[0004]	gctattcaca acatggcagc ttgctttgcc cagagcaggg actctgaggg aggcaggga	2160
	ataaagagca agagagaggt cacagtctta ttgtaatcta attctggaaa tgacagccca	2220
	ttacttttgg catattattt tggttagaag caagacaaca gtagatctag cccacacacg	2280
	aggggaggag gatcacacaa ggaggtgaat accaggaggt ggggtcattg ggagccatct	2340
	gagaggctgc ccaccacact gcctcaagta actagggaga ggtaaaagtt tatatgccag	2400
	atgaccaaatt attaaaatgt gtgttacaaa tagttcacga tgggtcagc tgtcagactt	2460
	tacaaaggag ctatgggacc ttataaggac agttggaact ggctaggtat cacatagtgg	2520
	tcttcaaaca tttttgcttg ccataacctc taaaataatt gggaaaaagt tgaatgtact	2580
	tccatattctt aaagctgata atttaaaata ttatacattt aatagcagca cgggatttag	2640
	tttttgtaa attgtatatg tgctccaaat agatttacca tcaaaacctg ttttgaattt	2700
	aatattggga gaattcgcta gtttaatttt tggaaaataa agtataattg gcaaagctaa	2760
	tcctcactgt tgaatctatc cgtcaaatca gatataattt ctatcagaaa gtctatatga	2820
	cttgtcaaca taatacccat aaagtgaatc aaaaattatt attcattgaa cacatcatct	2880

	cttatcaaat tcttgtgacc ttccttctgg ttgtataata gcctaaaaaa caaaaaaagg	2940
	acaaaagcaa gtttcagaa agctgttctg acttgcctac ttctgaaaag tagtcctgta	3000
	tggtgggttc tgaaaatgag gaaccaggac ttgcagagta ggcagttgct ggaggaagaa	3060
	tgtgagctgc atgggaaaag acaggaggat ttacaaagag tgggtgttta attggggatg	3120
	gaattaggta gttattctga tttttagatt tttcatact tttatttggc ccaatgaagc	3180
	agaaaattta aatgaagtta ttacctttgc ctgatttttg acacacctca aactataact	3240
	tgaggttgct aactatgaaa cactggcatt taatgattta aagtaaagaa	3290
	<210> 9	
	<211> 139	
	<212> RNA	
	<213> 智人	
	<400> 9	
	cuucugagaa guuccagaaa auaaaucaga ugguauguaa cagcgaccgu gugcucaaaa	60
[0005]	gaagugcuga aggaagcaac ccuccuaaac cacugaaaaa acuacgcuuu gauauugaag	120
	gaucagauga agcagaugg	139
	<210> 10	
	<211> 89	
	<212> RNA	
	<213> 智人	
	<400> 10	
	auggugcauc ugacuccuga ggagaagucu gccguuacug ccugugggg caaggugaac	60
	guggaugaag uuggugguga ggcccuggg	89
	<210> 11	
	<211> 110	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 11	
	tatcaaggtt acaagacagg ttttaaggaga ccaatagaaa ctgggcatgt ggagacagag	60
	aagactcttg gttttctgat aggcactgac tctctctgcc tatttgtcta	110

<210> 12		
<211> 219		
<212> RNA		
<213> 智人		
<400> 12		
cugcuggugg ucuacccuug gacccagagg uucuuugagu ccuuugggga ucuguccacu	60	
ccugaugcug uuaugggcaa cccuaaggug aaggcucaug gcaagaaagu gcucggugcc	120	
uuuagugaug gccuggcuca ccuggacaac cucaagggca ccuuugccac acugagugag	180	
cugcacugug acaagcugca cguggauccu gagaacuuc	219	
<210> 13		
<211> 142		
<212> RNA		
<213> 智人		
<400> 13		
acacucgcuu cuggaacguc ugagguuauc aaauagcucc uaguccagac gccauggguc	60	
auuucacaga ggaggacaag gcuacuauc caagccugug gggcaaggug aauguggaag	120	
[0006] augcuggagg agaaaccug gg	142	
<210> 14		
<211> 102		
<212> DNA		
<213> 智人		
<400> 14		
ctctggtgac caggacaagg gaggaagga aggaccctgt gcctggcaaa agtccagtc	60	
gcttctcagg atttgtggca ctttctgact gtcaaactgt tc	102	
<210> 15		
<211> 219		
<212> RNA		
<213> 智人		
<400> 15		
cuccugguug ucuacccaug gacccagagg uucuuugaca gcuuuggcaa ccuguccucu	60	
gccucugcca ucaugggcaa ccccaaaguc aaggcacaug gcaagaaggu gcugacuucc	120	
uugggagaug ccacaaagca ccuggaugau cucaagggca ccuuugccca gcugagugaa	180	

	cugcacugug acaagcugca uguggauccu gagaacuuc	219
	<210> 16	
	<211> 860	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 16	
	tccaggagat gtttcagccc tgttgccctt agtctcgagg caacttagac aacggagtat	60
	tgatctgagc acagcagggt gtgagctgtt tgaagatact ggggttgggg gtgaagaaac	120
	tgacagaggac taactgggct gagaccagt ggtaatgttt tagggcctaa ggagtgcctc	180
	taaaaatcta gatggacaat ttgtactttg agaaaagaga ggtggaaatg aggaaaatga	240
	cttttcttta ttagattcca gtagaaagaa ctttcattct tccctcattt ttgttgtttt	300
	aaaacatcta tctggaggca ggacaagtat ggtcgtaaaa aagatgcagg cagaaggcat	360
	atattggctc agtcaaagtg gggaactttg gtggccaaac atacattgct aaggctattc	420
	ctatatcagc tggacacata taaaatgctg ctaatgcttc attacaaact tatatccttt	480
[0007]	aattccagat gggggcaaag tatgtccagg ggtgaggaac aattgaaaca tttgggctgg	540
	agtagatttt gaaagtcagc tctgtgtgtg tgtgtgtgtg tgcgcgcgcg cgtgtgtgtg	600
	tgtgtgtcag cgtgtgtttc ttttaacgtc ttcagcctac aacatacagg gttcatgtgtg	660
	gcaagaagat agcaagattt aaattatggc cagtgactag tgcttgaagg ggaacaacta	720
	cctgcattta atgggaaggc aaaatctcag gctttgaggg aagttaacat aggcttgatt	780
	ctgggtggaa gcttggtgtg tagttatctg gaggccaggc tggagctctc agctcactat	840
	gggttcatct ttattgtctc	860
	<210> 17	
	<211> 125	
	<212> RNA	
	<213> 智人	
	<400> 17	
	uccugggaaa ugugcuggug accguuuugg caauccauuu cggcaaagaa uucacccug	60
	aggugcaggc uuccuggcag aagaugguga cugcaguggc cagugcccug uccuccagau	120

	accac	125
	<210> 18	
	<211> 182	
	<212> RNA	
	<213> 智人	
	<400> 18	
	aaauuggaagc aaaugacauc acagcagguc agagaaaaag gguugagcgg caggcaccca	60
	gaguaguagg ucuuuggcau uaggagcuug agcccagacg gcccuagcag ggaccccagc	120
	gcccagagaga ccaugcagag gucgccucug gaaaaggcca gcuugucuc caaacuuuuu	180
	uu	182
	<210> 19	
	<211> 1000	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 19	
[0008]	aaggtggcca accgagcttc ggaaagacac gtgcccacga aagaggaggc cgtgtgtatg	60
	ggttgggttt ggggtaaagg aataagcagt ttttaaaaag atgcgctatc attcattgtt	120
	ttgaaagaaa atgtgggtat tgtagaataa aacagaaagc attaagaaga gatggaagaa	180
	tgaactgaag ctgattgaat agagagccac atctacttgc aactgaaaag ttagaatctc	240
	aagactcaag tacgctacta tgcacttggt ttatttcatt tttctaagaa actaaaaata	300
	cttgtaata agtacctaag tatggtttat tggttttccc cttcatgcc ttggacactt	360
	gattgtcttc ttggcacata caggtgccat gcctgcataat agtaagtgc cagaaaacat	420
	ttcttgactg aattcagcca acaaaaattt tggggtaggt agaaaatata tgcttaaagt	480
	atttattgtt atgagactgg atatatctag tatttgtcac aggtaatga ttcttcaaaa	540
	attgaaagca aatttggtga aatatttatt ttgaaaaaag ttacttcaca agctataaat	600
	tttaaaagcc ataggaatag ataccgaagt tatatccaac tgacatttaa taaattgtat	660
	tcatagccta atgtgatgag ccacagaagc ttgcaaactt taatgagatt ttttaaaata	720
	gcataaagt tcggaatctt aggcaaagtg ttgttagatg tagcacttca tatttgaagt	780

	gttcctttgga tattgcatct actttgttcc tgttattata ctggtgtgaa tgaatgaata	840
	ggtactgctc tctcttggga cttacttga cacataatta cccaatgaat aagcatactg	900
	aggatatcaaa aaagtcaa atgttataaa tagctcatat atgtgtgtag gggggaagga	960
	atttagcttt cacatctctc ttatgittag ttctctgcat	1000
	<210> 20	
	<211> 107	
	<212> RNA	
	<213> 智人	
	<400> 20	
	uggaccagac caauuuugag gaaaggauac agacagcgcc uggaauuguc agacauauac	60
	caaaucuccuu cuguugauuc ugcugacaau cuaucugaaa aaauugga	107
	<210> 21	
	<211> 1000	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
[0009]	<400> 21	
	ttcatgtaca ttgttttagtt gaagagagaa attcatatta ttaattatit agagaagaga	60
	aagcaaacat attataagtt taattcttat atttaaaaat aggagccaag tatggtggct	120
	aatgccitga atcccaacta ttitgggagc caagatgaga ggattgcttg agaccaggag	180
	tttgatacca gcctgggcaa catagcaaga tgttatctct acacaaaata aaaaagttag	240
	ctgggaatgg tagtgcacgc ttgtattccc agctactcag gaggtgaag caggagggtt	300
	acttgagccc aggagtttga ggttgacgtg agctatgatt gtgccactgc actccagctt	360
	gggtgacaca gcaaaacct ctctctctaa aaaaaaaaaa aaaaaggaac atctcatitt	420
	cacactgaaa tgttgactga aatcattaaa caataaaatc ataaaagaaa aataatcagt	480
	ttcctaagaa atgatttttt ttctgaaaa atacacattt ggtttcagag aatttgtctt	540
	attagagacc atgagatgga ttttgtgaaa actaaagtaa caccattatg aagtaaatcg	600
	tgtatatttg ctttcaaaac ctttatattt gaatacaaat gtactccctg ggaagtctta	660
	aggtaatggc tactggttat caaacaaatg taaaaattgt atatttttga gtacctgtta	720

	catgccaggt agaatatctc ctctcagcca ctctgagtgg aaagcatcat tatctctatt	780
	ttacagaaaa gcaaactgag gctcagagag ataataact ttgccagtta atgaatgatg	840
	gagccatgat tccagctgag gtctgtattg ccttgctctc taggaatggg agtccccccc	900
	ataaagaatc tctcagtttc ctttccaate aaaaggttag gatccttttg attgccagtg	960
	acagaaaccc aatttactag ctttaagtaaa taaaaggaac	1000
	<210> 22	
	<211> 105	
	<212> RNA	
	<213> 智人	
	<400> 22	
	gaaugggaua gagagcuggc uucaagaaa aauccuaaac ucauuuaugc ccuucggcga	60
	uguuuuuuu guuuaugga aucuuuuuu auuuu	105
	<210> 23	
	<211> 1000	
[0010]	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 23	
	gatctcattt gtacattcat tatgtatcac ataactatat tcatttttgt gattatgaaa	60
	agactacgaa atctggtaga taggtgtaaa aatataaagg atgaatccaa ctccaaacac	120
	taagaaacca ctaaaactc tagtaaggat aagtaaaaat cctttggaac taaaatgtcc	180
	tggaacacgg gtggcaattt acaatctcaa tgggctcagc aaaataaatt gcttgcttaa	240
	aaaattatct tctgttatga ttccaaatca cattatctta ctagtacatg agattactgg	300
	tgccctttatt ttgctgtatt caacaggaga gtgtcaggag acaatgtcag cagaattagg	360
	tcaaatgcag ctaattacat atatgaatgt ttgtaatat ttgaaatcat atctgcatgg	420
	tgaattgttt caaagaaaaa cactaaaaat ttaaagtata gcagctttaa atactaaata	480
	aataatacta aaaattttaa gtctcttgc aatataatct cttaatatct tacatctcat	540
	cagtgtgaaa agttgcacat ctgaaaatcc aggcctttgtg gtgtttaagt gccttgatg	600
	ttccccagtt gtgtccaat gtgactctga tttattatct tctacatcat gaaagcatta	660

	tttgaatcct tggttgtaac ctataaaagg agacagattc aagacttggt taatcttctt	720
	gttaaagctg tgcacaatat ttgctttggg gcgtttactt atcatatgga ttgacttggtg	780
	tttatattgg tctttatgcc tcaggaggtt aaacagtgtc tcccagagaa atgccatttg	840
	tgttacattg ctgaaaaat ttcagttcat acaccccat gaaaaataca tttaaaactt	900
	atcttaacaa agatgagtac acttaggcc agaatgttct ctaatgctct tgataatttc	960
	ctagaagaaa tttttctgac ttttgaaata atagatccat	1000
	<210> 24	
	<211> 212	
	<212> RNA	
	<213> 智人	
	<400> 24	
	aagucaccaa agcaguacag ccucucuac uggaagaau cauagcuucc uaugacccgg	60
	auaacaagga ggaacgcucu aucgcgauuu aucuaggcau aggcuuauge cuucucuua	120
	uugugaggac acugcuccua caccagcca uuuuuggccu ucaucacauu ggaaugcaga	180
[0011]	ugagaauagc uauguuuagu uugauuuaua ag	212
	<210> 25	
	<211> 3141	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 25	
	acttccttgc acaggcccca tggcacatat attctgtatc gtacatgttt taatgtcata	60
	aattaggtag tgagctggta caagtaaggg ataaatgctg aaattaattt aatatgccta	120
	ttaaataaat ggcaggaata attaatgtc ttaattatcc ttgataattt aattgactta	180
	aactgataat tattgagtat cttctgtaaa ctgcctctgt ttagtitttt tttttctcct	240
	aatcatgtta tcattttttt ggaatccatg gtttcctgtt aagatgactc acacagccta	300
	cataaaagta attgacaaaa tatcatctta tagtaaaatg ccacatatct ttatgttcag	360
	caagaagagt ataatatatg attgttaatg ataaccctaa caacaaaaga tttcacctta	420
	actggttgtc ataagtagta gtatccaccg ccttatittg agttggattt ttatcatcct	480

	atgagcccta caaatTTaaa gTTTTtgga cagcacgtgc attgaaccca taagaaccta	540
	ctctgctttt ctgcatgtat tgtccagaca agagacccaa ttgccgaggc atcatttagg	600
	tgaattctaa ttaacattta gctaccttac aaccacaatt caaggttggt tcaaaggcat	660
	gtgcttgcac cactctgatt cactaccatg tgttactaac ttggatctgc aaagtcatta	720
	taaaaagctg ttttgatgga cttatttgga tattgcttta cccttcttct ctcttttctt	780
	ttatcaatgt aaaaacatta tatgttaaact acttggtctt taagagcata gatctgaaat	840
	ctgcctctag caaataaccc ataacacttc taagatatat ctgcaaggtc aattgtgttg	900
	taaaaccttg ataaccatac tttattgttc aaaaaagcct tttatgaagg cagaagttaa	960
	aaaaaaaaa caaaaaaac agagtccaca gttatcacct cagctacaat ctcacagtt	1020
	cacaagtacc agcaaacat gtgataagtc aacaaatgtt ttatttcaat ctgaacattt	1080
	tacgtaagtg aagactttgt tagatatcat ttggaatgtg gaatctacac agttggcata	1140
	tcagagaagg ttgaattcag tttataaaat gtttatagaa agtgcttggt atcataatga	1200
[0012]	taatagctca ggatgtgcat gacaagcttt taagcgattg ggtacactat ctcatttgat	1260
	cttctgcaca actattaatg gtaggtacta ttatccctat cttatggata agtaaaactaa	1320
	gatttaaaaa gtacagaaca tgggtgtgaac actgcttcaa aatttctaaa ataggtaaact	1380
	cacgatctct aaactggagg gttgtccaac cactagggtac aatagagtac tgatatttag	1440
	tggtcagact gtaatgcggg aagagacagg catgggctaa acgggtgtag agatcaaata	1500
	aggggcaggt tagtttgtaa acatgtccat atgtaacatt tagcacaact acaggatata	1560
	ggtgctttca gaccagctg cattgataaa aagttagggt gtattgtatc tgtcttcctt	1620
	tctcaatgtt gcatactgtt gttcttgccc agtttgcttc atctctctag ccacacttat	1680
	tgccctacaa tggcatcatc accaaagaag gcaatcccat ctccgtgtgg ctttggtttg	1740
	ctccctaaag taaaccttgt gtttactttt cccagggtctc atgttttccc atatctgacc	1800
	tgttttgtcc tcatggccag gatatgtggg acctttccta caatgttcca aagtttgtaa	1860
	tagagctctt ctctgctttg ttccaaattc tgcaacattt tactttaaat aatgaattta	1920
	aatacaaaac aacttgagct ttgcctatac ttttcaagaa tgcagagata actaaattaa	1980

	taaaaatatt cattgagtcc ttactgtgca cacagctcta tgtaagcct tgtgcagaac	2040
	tcaaagtcac tcgagattaa gccgtgtact aagttatgtg caatttagct cagtggattt	2100
	ccccacttc atattgtctt gataatgttt tggaattaac tgccttgatt cttcttttc	2160
	tctgcttgtc tatacactat ttattattct acaccatctc aaattctaac tcctcaagaa	2220
	aatccttcca gatgattttt ctaaccagga gttttaactt cttttaact accctattac	2280
	tttctacttc cttaaactcat ctatcatatt atatttagtt atttatatac taggtgcct	2340
	tgaagaaggg attgtgtttt cataaatctt aataatccct gaggcataca gtacagtgat	2400
	ttgcatttac taaatgctca acaaatatgt gagggattca cttgaaacta atattagata	2460
	attcccagtc aaagtgatct aatagcaaat caattcttca gttttatagg caaagtatga	2520
	ctctggtttt ccataatcat aattaatttg tcaactttat aattttaatt aagtaaattt	2580
	aattggtaga taaataagta gataaaaaat aatttacctg cttactacg ttcatatag	2640
	cattgcatth ttctttgtaa aatttaagaa ttttgtatta ataaactttt ttacaaaagt	2700
[0013]	attaattatt cagtatttca tcatatactt ttattgactt aaaagtaatt ttattcaaaa	2760
	gagttagtat aggactacat gaaaaattca aggccaaaggc ttaatttcaa atttactgc	2820
	ctttggtctt atcttttaaa acaaaacaaa aaactcccgc acaatatcaa tgggtattta	2880
	agtataatat cattctcatt gtgaggagaa aaaataatta tttctgccta gatgctggga	2940
	aataaaacaa ctagaagcat gccagtataa tattgactgt tgaaagaaac atttatgaac	3000
	ctgagaagat agtaagctag atgaatagaa tataattttc attaccttta cttataatg	3060
	aatgcataat aactgaatta gtcataattat aattttactt ataatatatt tgtattttgt	3120
	ttgttgaaat tatctaactt t	3141
	<210> 26	
	<211> 86	
	<212> RNA	
	<213> 智人	
	<400> 26	
	cuuuuaagcu gucaagccgu guucuagaua aaauaaguau uggacaacuu guuagucucc	60

	uuuccaacaac ccugaacaaa uuugau	86
	<210> 27	
	<211> 862	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 27	
	tacctattga tttaatcttt taggcactat tgttataaat tatacaactg gaaaggcgga	60
	gttttcctgg gtcagataat agtaattagt ggtaagtct tgctcagctc tagcttcct	120
	attctggaaa ctaagaaagg tcaattgtat agcagagcac cattctgggg tctggtagaa	180
	ccaccaact caaaggcacc ttagcctgtt gtaataaga ttttcacaaa ctttaattctt	240
	atcagacctt gcttcttttt aaaactttta atctgttatg tactttggcc agatatgata	300
	cctgagcaat tcttgttctg gggtgtctta tggaaaaat aaattcaagg tccttgggac	360
	agataatgtg ttttatttat ctttgcataat ccattactta aaacagcatt ggaccacag	420
	ctggtaacaaa attaattact gttgaattga gcaaatattt attctaaatg tctctgtcaa	480
[0014]	atgacagagt gtggttgtgt ggattaagtc cctggagaga gttctttgtt ctctcatgtt	540
	ctatgctgtg gtcttgcct tatgcaaaaa gaagtaagtt acttaaaacc tggacatgat	600
	acttaagatg tccaatcttg attccactga ataaaaatat gcttaaaaaat gcactgactt	660
	gaaatttggt ttttgggaaa accgattcta tgtgtagaat gtttaagcac attgctatgt	720
	gtccatgta atgattacct agattttagt gtgctcagaa ccacgaagtg tttgatcata	780
	taagctcctt ttacttgcct tctttcatat atgattgtta gtttctaggg gtggaagata	840
	caatgacacc tgtttttgct gt	862
	<210> 28	
	<211> 160	
	<212> RNA	
	<213> 智人	
	<400> 28	
	gacuugcauu ggcacauuuc guguggaucg cuccuuugca aguggcacuc cucauggggc	60
	uaaucuggga guuguuacag gcgucugccu ucuguggacu ugguuuccug auaguccuug	120

	ccuuuuuua ggcugggcua gggagaauga ugaugaagua	160
	<210> 29	
	<211> 1116	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 29	
	aacctatttt cataacttga aagttttaaa aattatgttt tcaaaaagcc cactttagta	60
	aaaccaggac tgctctatgc atagaacagt gatcttcagt gtcattaaat tttttttttt	120
	tttttttttt tgagacagag tctagatctg tcaccaggc tggagtgcag tggcacgac	180
	ttggtcact gcactgcaac ttctgcctcc caggctcaag caattctcct gcctcagcct	240
	ccggagtagc tgggattaga ggcgcagtc accacacca gctaattttt gtattttagt	300
	agagacaggg ttccaccagg ttgccaggc tggctcga tgcctgacct caggatgac	360
	gccacctcg gcctcccaa gtactgatat tacaggcatg agctaccg cccggcctaa	420
	aaaatacttt ttaagatggt gtaaataatta cttctgtat caatggtaca tttttactt	480
[0015]	gtcagtctct agaatttctt tataaatatg ttgattcagt tcatttttgt agattataaa	540
	acaggtaaaa aaggataaaa catttatgtg aattaaagg aatacctaatt tttgtgtag	600
	agtttattag cttttactac tctggtttat ggatcatcac accagagcct tagttacttt	660
	gtgttacaga ataactaata tgagtgaatg aatgacttac acaagtcact gcttaggata	720
	aagggttga gttgtgcagc tagagtatga cagaaagtat ctaagttttg gactcaaata	780
	gcactttgtt tgaatcccag attgcatgct tactagttat gtgaccttag tcaagccact	840
	tcacctcact gactctttgc ttttttcac tctaaaatag agataccac cgctcatagg	900
	ctgtcataag ggatagagat agcatatgga atgagctgt acagcgtctg gcacatagga	960
	ggcatttacc aaacagtagt tattattttt gttaccatct atttgataat aaaataatgc	1020
	ccatctgttg aataaaagaa atatgactta aaacctgag cagttcttaa tagataattt	1080
	gacttgtttt tactattaga ttgattgatt gattga	1116
	<210> 30	
	<211> 122	

<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 30	
gaucagagag cugggaagau cagugaaaga cuugugauua ccucagaaau gauugaaaau	60
auccaauaug uuaaggcaua cugcugggaa gaagcaaugg aaaaaaugau ugaaaacuuu	120
ag	122
<210> 31	
<211> 3406	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 31	
ttgttccaat aatttcaata ttgttagtaa ttctgtcctt aattttttaa aaatatgttt	60
atcatggttag acttccacct catatttgat gtttgtgaca atcaaatgat tgcatttaag	120
ttctgtcaat attcatgcat tagttgcaca aattcacttt catgggctgt agttttatgt	180
agttgggtcca ggggtgttatt ttatgtgca agtatattat actgatacgt tattaagaa	240
[0016] tttcctacat atgttcactg ctgctcaata catttatitc gttaaaacaa ttatcaagat	300
actgaaggct gattggtaac tcacatggaa ctgggagagt atacaattct gaaccaaata	360
gatgattctc tattattata tcttaattta tgtgttatgg tatattaaac atgaaaaaaa	420
ttgtatttgg ttagaatatg ttgtctcttc cttaactcgg gaatgacata gggtaatatt	480
cacagattgg gtccctataa atccctccact tgaagtgaag tcagttcaag taatgaaagc	540
tacctctga gatagaatca gtacttggca cctatctcta gtgttcttcc acctcatata	600
acctttcact gattagtaaa gattatatcc aacaaagaaa gtacagcaca gactgagata	660
tgattactga gataaatttg ggcaaaatat aaactacagc atttctgtag caatgagacc	720
atttttcttc agttgagctc catgttctac aaacttcaat caaaaaaggt tctaggagac	780
tcagtgaag ttgatacact gttcaaggaa caaataattt cagcacatgg gaatttcaca	840
gggaaaaata tactaaaaag agaggtacca ttttgatgg tgtcaatatg ggttatgagg	900
aattcaggct gctgagtcca gtgtacaatg gaaactgagc tgcagggtgtg tgattgtaac	960
aacaaaagaa atgctgaaat attaagtcct ttgccatgta aatagaaaaa gattatttat	1020

	ttcccaaaca ttattgctca cctgtttttg ttatgccttt caagataaat ccaggaaagg	1080
	aattgcattt tctttccaga aaacaagttc ttgggggaat tgttcaattg gtagatgttg	1140
	tttttctcat taacaagtga gtgctccatc acacttgctg agtgctccat cacacttgct	1200
	ctctgcatta ctctctgcc tgcaaacaca tatatagcaa gggtagtgac aaggatatca	1260
	gagggtctgg ttttctcaaa ctcatgataa actcatggct gggtcattct tggtagtgat	1320
	tttactttgt tttttgttgt tattgttccc tcttctcaa aagatgaaat ctatccctct	1380
	tacttggaaat ttctctttga tatatagcga atgtttgggt gtaacctgta taatctggca	1440
	tgaaattgtc actcgaaaag gctagaagtg ttgacataaa tatgggacag caagagttgc	1500
	tctactcaa gagagcaaata ataatgttct ggaagagatt ggcagaattc acatcaaagg	1560
	agtgattact tcagcctggg ccactgttgt actgggtcaa aggctgtgca aagctctctg	1620
	aaaatccact cttttattgc tctttagtaa taaagtcact ttcaatttta aaaataacaa	1680
	actgatatat ttttatgact cataaaatgt tagcaattat attatggaga atctactttc	1740
[0017]	tgggtgattc ttacaaatgt tcttgatct attttttttt cttatagtac ctattcttcc	1800
	catttttctc agctctagtt aatatatttc aacaacagtt caacaaattt aacattttta	1860
	taaaaagtgt ttcctatcat ttataaata ccagcctagt ccatgttatt cttttcttg	1920
	ttgaggagaa aggacacaca ttgtaaattc aaatatagac ctctacttg ctatttaatc	1980
	ttggttaacaa ctccacaaag gagatgacat gttttcttc tatagaggta gattctgtaa	2040
	agtttagagg aagagtgact tgcttaagat ggcataagct gtaactggca gaaccaggat	2100
	tcaaagccag gtgggatgcc aaaatcataa tctgtcttca gtgtcaagtt actgaaattg	2160
	gtaaacatta gacctaaata gacggaattg caatccgggt tgggcacatt aaactccatt	2220
	ttcttcatca atgtgctcag attacatttt acttttcagg ctaaaaatgg aaaaaaagag	2280
	tcctcttag ttctgcactt gagaatgaga atagcttttc tgaattatac aaggaagaag	2340
	aactaatgcc caaatgccag gtaccacat gcactatgcc atggcacagc tgttgcccc	2400
	tttcaccaga gccctctctc tgtatcctgg ttgaccttc cttgggcaag agctgggtgg	2460
	ggaggatcac aagtgactcc aatttggatg gcttcgggaa gactgggacc gagctgaagg	2520

	cagtgttgtc ctctgcactc cctgttttct gtctgttgga gcactgaagc ctcacatatg	2580
	tattaaaaaa ataatttcca ttgcatctc agactagaag attgaacgta tagtgtaatg	2640
	tgattgcaaa taattatatt gaaatgagac agagaggatg tagtatctac tgtcataatt	2700
	tttcaaaacc cacctgcaac ttgaattaaa agaaccactt gggttttttt tttgtttca	2760
	aacgcaaadc ctggaaacct actgagactc attcagtcag tatctctaag aggcaagctt	2820
	gagactgtat atttaaaaag catctcaggt gatttttaca catgctaagg cttagaacc	2880
	acttctctgt agcttatatg ttattttcaa tgttctcaa agccaagta gaatttcaa	2940
	agtgttaaga atccattaga caatcacaga attgtctttt tcctttataa atcttgcaat	3000
	gttgttctca ttccatact taattactta aaacaccaac caaccaacaa gcaaaaaatg	3060
	attagtctaa ctaatattac aagttaataa tgaagtaaag gtttaaaaat aatgtcataa	3120
	taatgttaat aacaaattat taattataat ttaaaaataa tatttataat ttaaaaataa	3180
	tatttacaag tactacaagc aaaacactgg tactttcatt gttatctttt catataaggt	3240
[0018]	aactgaggcc cagagagatt aaataacatg cccaaggta cacaggtcat atgatgtgga	3300
	gccaggttaa aaatatagc agaaagactc tagagaccat gctcagatct tccattccaa	3360
	gatccctgat atttgaaaaa taaaataaca tctgaattt tattgt	3406
	<210> 32	
	<211> 243	
	<212> RNA	
	<213> 智人	
	<400> 32	
	acagaacuga aacugacucg gaaggcagcc uaugugagau acuucaauag cucagccuuc	60
	uuuucucag gguucuuugu gguguuuuuu ucugugcuuc ccuaugcacu aaucaaaagga	120
	aucauccucc ggaaaaauuu caccaccauc ucauucugca uuguucugcg cauggcgguc	180
	acucggcaau uucccugggc uguacaaaca ugguaugacu cucuuggagc aauaaacaaa	240
	aua	243
	<210> 33	

	<211> 1649	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 33	
	gtaccataat gctgcattat atactatgat ttaaataatc agtcaataga tcagttctaa	60
	tgaactttgc aaaaatgtgc gaaaagatag aaaaagaaat ttccttcact aggaagttat	120
	aaaagtggcc agctaatact aggaatgttc accttaaaact tttcctagca tttctctgga	180
	cagtatgatg gatgagagtg gcattttatg ccaaattacc ttaaaatccc aataatactg	240
	atgtagctag cagctttgag aaattctaaa gttttcaagt gataagactc aatttataca	300
	aagctaattg gataaacttg tatatgatta agaagcaaataa aaatacttat tatgcttttt	360
	tgctgtttat ttaaataattt aaccagaaa ataagtcact gtgacagaaa taaaatgag	420
	agagaagggt gagccactct taggtagttc tggcattatt taatctaggc cagaggttgc	480
	aatgggtgc ccatagaact aattttggct cctagacctg tcttatttaa cctttcattt	540
	aaaaaatttg tattgggtgc cagcaattaa aaattgggag atgtctcaca cacacacaca	600
[0019]	cataaacaca cacactcatg tgtgcagcct cttttgaaga attggaataa ctagtcaact	660
	gcgtcctcct tttccacaag ctgtgacagc tccctgctca cagagcacct gccctctcct	720
	gttcatcatg ctctcttctc agtccattc cttcattata tcacctattt ggtcctgaga	780
	ctaagtgagt ttgagatctg tgatttagac aaagtgggtga atctagctct gaatcatagt	840
	aagtagctct gggaatcatc ttgtcttctg ttagccatt gagagagaaa tagagagaga	900
	gagagagaga aagaagaag aagaacaga tctggggaga gtcactgaat gggagcatag	960
	agacagagaa acagatctag aaaaccaaac tgggagaaaa tgagagaaac caaaagagag	1020
	gtagagagga gcagagaaga aatgaagaa gcaaggcaag gaccaggctt tttcattatt	1080
	tcttatggcc aagacttcag tatgcgtgga cttaattctt ccttatgctc ctacctccc	1140
	tagggaaact gatttggagt ctctaataga gcccttcttt tagaatcaca gtttgatgcc	1200
	ttaaaactag ttataacct tcacatgctt ccttaacca cagaagtgat gctaagagg	1260
	cccttaataa ggagcgtgct attaatga agacattcat ttttttctc cgtccaatgt	1320
	tggattaagg cacattagtg ggtaattcag ggttgctttg taaattcatc actaaggtta	1380

	gcatgtaata gtacaaggaa gaatcagttg tatgttaaata ctaatgtata aaaagtttta	1440
	taaaatatca tatgtttaga gagtatatat caaatatgat gaatcctagt gcttggcaaa	1500
	ttaacttttag aacactaata aaattatitit attaagaaat aattactatt tcattattaa	1560
	aattcatata taagatgtag cacaatgaga gtataaagta gatgtaataa tgcattaatg	1620
	ctattctgat tctataatat gtttttgct	1649
	<210> 34	
	<211> 89	
	<212> RNA	
	<213> 智人	
	<400> 34	
	auuucuuaa aaagcaagaa uauaagacau uggaauuaa cuuaacgacu acagaaguag	60
	ugauggagaa uguaacagcc uucugggag	89
	<210> 35	
	<211> 6512	
[0020]	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 35	
	aatttttaaa aaattgtttg ctctaaacac ctaactgttt tcttctttgt gaatatggat	60
	ttcatcctaa tggcgaataa aattagaatg atgatataac tggtagaact ggaaggagga	120
	tcactcactt attttctaga ttaagaagta gaggaatggc caggtgctca tggttgtaat	180
	cccagcactt tgggagacca aggcgggtgg atcacctgag gtcaggagtt caagaccagc	240
	ctggccaaca tggtaaaacc cggctctctac taaaaataca aaaaattaac tgggcatggt	300
	ggcagatgct gtagtcccag ctgctcgga ggctgaggca ggagaatcac ttgaacctgg	360
	gaggcggagg ttgcagtgag ctaagatcac gccactgcac tccagcctgg gcaacaaggc	420
	gagactctgt ctgaaaaaga aaaaaaata aaaataaaaa taaaaagaag tggaggaata	480
	ttaaatgcaa tataaaagct ttttttatit ttaagtcata caatttgitt cacataacag	540
	atcaggaaat aatacagaga tcataagttt tggagctggg tttgaatcct ggctctgcca	600
	tttactttct gtgtaatcta agtcaagtta ctgaactttg tgggccctct ggctctccat	660

	gtgtaaaatg gagaatatta atatttacct tgcaagtttg ttgtgaagac tgaaggagag	720
	aatttaggta aaacattcat cagagtacca tgcacacagt tgttcctcaa taaacattag	780
	cttctctgat tgcaagttcc agtctaaagt gctttatata taccagccaa taaaaggatg	840
	cgagagagat ataccagtgt attgttttct accattttta acctattttc atccactgtt	900
	acaaattcta tcatactgct ccacataaaa aatattatca atgattttta gtctctgaag	960
	tgcaatattt gattattgag cacacctgtt gaagttttag tttcttctca ctacatggg	1020
	ttgtgtaaag gtaggaggta taaaaccagt gtcctaggtc taaatctttc ttaatgtcat	1080
	actttggatt cattgatata agtaacttga gcaccagcgc ttcattttac ttcatttttt	1140
	aaagatatag taagagtaat tcccatctgc ctagcaaaat tgttttgtag aaaagtttgt	1200
	ggatcagatt tattttactt tgattttagg aatttcaagt gtcttcgtcg gcatgaagga	1260
	aaaatatgca gtttgacatt ttctactact ttcaggtcat tattttcta ctctggtgca	1320
	aaaaccctca attcctgtct cactccatct aatcaaata gtagcatgct tgagccctta	1380
[0021]	ctatgtgcca ggcactagga taagcacttt atatgttttg tcccaattaa ttctcacagc	1440
	atttctatga cctaaataaa attaatattt tcatttcacc aataataaaa tggaggcttc	1500
	aaaaagttta gggacttggc tcagctcaca caactggcaa ggactgaaaa tggattttag	1560
	tcccaaatgt cataggctag agccctttca ctaaactgtt gtcttccatc tgggtggcatc	1620
	ctcttctctc agtctttgtc acctaaactc tgggcacccc ttgatggcat ttacttatga	1680
	tggatgatgt tgttaaactt cctgtttgag acttcaacgt ccatataaat gagtcttcca	1740
	atactgtact tagaacttat atttttagt gacttcttta aaagctttct ctcttagtca	1800
	tatcctgagt ttgttagca cctggactta ccttactttg gaaatgttgc actctgaaat	1860
	ctctttctca gcttggatt tcctaactct ccaactgttt gagtctttta attctacatt	1920
	tactgccttt ccatttcac aggatttcta gtctctttta ttcttcttt tgaactctc	1980
	ctgatttaac ctctgcttat tcgaagaaca ataattttat tctctcagct gcactctcaa	2040
	ttcccttttc cttttggtga tttttctttt tctacagaa cacttacttt atcagttttg	2100
	gagaaggaag tgctatctgg gtaacagtag tgctatctgt tgactctagt caactgtaag	2160

	ttttatacat ttattgttta aaccttatat gggctctataa tccttcttgg gaaatccttt	2220
	catttgtctt taatttcctt taccatttcc ctaaaggcta ttccagattt ttatcacatt	2280
	cacaaaattc ccgtcttttc tcaggatctg ttcaccccca gtagatagcc ttgtctccca	2340
	caatacatgg agaaaataga ggccaccgtc atatttgaat gtttccaact tctctcttca	2400
	cctttggaat tatctttttc ttcttttgtg tctaagagaa agatgtatac ttcttcttac	2460
	ccttgtctga actactctat ttgtcttcat ctctcagaa caggggacca gcaattattc	2520
	ttcctccaga agcttcaaca tcttttgtca actgactcct tctcatgttt aaatattttc	2580
	aagttaaaca atttctttcc tgactttcgc tcacgcaacc tcatgcccac aaccttatca	2640
	ctcttcttcc ctttgcctgc aaggtctgtc tcacttcttc actttttgtg gacttctccc	2700
	cactacaaca tagattctgc tatcaccaat ctattaaaac tgttatactc ttgttgaatt	2760
	tatcatttaa tttagcttca gtgaaccgtt ctttccagat tattttggcc tcagaccatg	2820
	acttctaagt ctgccgtgct tgccacttaa gtagatgatgg gccagtgggt cccacctag	2880
[0022]	gcctctgtgt tagtctgttt tcatgttgc gataaagaca tacccaagaa tgggcaattt	2940
	acagaagaaa ggggtttgag ggactcacag ttccatgtga ctggggaggc ctcaaatca	3000
	tggtggatga tgaaaggcat gtctcacatg gaggcagata agagcataga acttgtgcag	3060
	ggaaacttcc ctttattaaa ccaccaggtc ttgtgagact tcttactat cagagaata	3120
	ggatgggcaa gacctcccc catgattcaa ttatctccca ctgggtccct cccacaacac	3180
	atgggaatta tgggagctat aattcaagat gagatttggg tgaggacata gccaaacct	3240
	atcagcctcc ttctggcttt ttatgttctc cgtgggtgac ctctctcagg ctcaagtgat	3300
	aaccaatgtg ctgatgactc tcaaatgcgc atctctggct tcagtttctt ccttgaactt	3360
	catacatatg ttccaaatt tcctgcgtgt acctcaaggt tcttgttcat cacttcccaa	3420
	gcttcataaa cgcactcatt ttagtgtatt ctctgtctcc ttgatagca tccctgagag	3480
	gcaagtcctt ggtgagttat atacaactcc tcccttgctc caaacctgag agtaagtaac	3540
	attcctatta acatattagg aagctgaggc ttagacagtt taagtaactc aagcatggtt	3600
	acacaactag ctagggcaga gctaaaatgt caggctagge ttctgtgact ccaaagccct	3660

	ttctcactta gcatatcatc acttatTTTT tttttaatc acatatatga ttttttttc	3720
	tttaagagat agaattcttg tctatcacgt gggtggagt gcagtggcac aatcatagct	3780
	cactgtaacc ttgaacttgg gctcaagtga tcctcctgcc ttagcctact gagtagctag	3840
	ggctacagac acacaccacc atgcctagct aattttatTT tattttatTT tattttttga	3900
	gacagagtct cactctgtca ccaggtctgg agtgcagtgg tgcgatcttg gtcactgga	3960
	acctctgctg ccgggttca agcattctc ctgcctcagc ctctgagta gctgggatta	4020
	caggtgcctg ccactgtgcc cagctaattt ttgtatTTTT agtagagacg gggtttcacc	4080
	atcttggcca ggcttgtctt gaactcctga cctcgtgac cactgcctc ggctcccaa	4140
	agtctggga ttacaggtgt gagccaccac gcctggccac ctacctaat tttatTTTT	4200
	ttgtagagac aggtctcac tacgttccc aggtgtgtc tgaactcctg ttctcaaca	4260
	atctcctgc ctggacacc ccaagtgcag ggattacagg catgagtcac tgcagctgac	4320
	ctgtatatat gatTTTTagt atatgaaat atacatattt attaaatgta aatataaata	4380
[0023]	taaatgtgtg gagtgatatc cattgaaatg ttaaacaatag ttctcagtgg tacaactaca	4440
	ggtgatttct cttttcttat ttctggtttt ctgtgttttc caaatttctt gaaatgtgtc	4500
	ttctgtaatc agaaataaaa gttattagta acaacagtct tccactggta caagtgccta	4560
	ttggataaaa gtccacttc taagcatgat actcacaact tttaggtaa tagcctttgt	4620
	caccttgcca tatacatctg atccagccac tcacaccatt cctgagatat atttgttcc	4680
	tttgtccta aatcattgtg catgcagatc catcttctg gaacacctat aaccatttct	4740
	tagtcctgtg aaatcctact tacatcctc atagcctagc atgtatgtca tttatttgg	4800
	caagggtgag ttggtgttc tcttgaatgt actgccatat gacgtggtgt gatttcaatt	4860
	gtagaccaa gtcattgca atattaattc gttgtcatt ctcccatgta ggatgtttga	4920
	agtagtttct aacacagaga ttatactcaa taaatattta ttagataaat aaatgaataa	4980
	gggaataaca aatgcctttg tctatttta aaatacttc attgttagct acctatataa	5040
	taaaaaacta aaagcagtag tttcaagca tgattgttta tgtatgcctt aaaagaattt	5100
	tgaaaacctt tgtaccctg acacactttt aagttaactt ataaattttt caacatagtt	5160

	ttaagtgggtg gcaaatgatg tagtttcttg tgtattttta actgcttaag tatgctatac	5220
	atggatttct tcaaaaccct gaagctgcag tttcagtga ttcaatttat ggaaaagaaa	5280
	ttaatttata aaattgggtc ttattgtcaa gtcaatcagc taaatataac ttgctttctg	5340
	tcaggaaaag tctgacttta aaatacagat aagtaataac tattattaat taattaaatt	5400
	attaaaatta aaataattaa ataatttggt aattaaatg ccttattccc ctacttattt	5460
	ctgcaatttg actctaagaa tagataggac atgtagattg ccttaggttt gaaatctggg	5520
	tgaaataaga tactgcctcc ttcagtatgt ctgcccttgc ttttatggga gcctctttca	5580
	agaaaaagtc attctctcat ggtcccttgg tttgagtccc agaggttttc ctactccaga	5640
	aagtgcacg tagtgagact agtactatac tcccttgcat ggtaagtga aaggctgtct	5700
	gtataaaatg aggaaggac tcatgagagg gaagtaggtc aggagaaatg ataggttctc	5760
	aggcaggta attttaggaa agagtgaata ggtccctta aaacaagggt catctgcttc	5820
	ctcctgatca atcttttagga ctgtttactt tgatttgaag accactatgc taaagcttcc	5880
[0024]	cacgggggca atagtgaggc aaggaatgtt taaaaggga ttacttcttc gtagctactt	5940
	ttgtgaaatg aattcatttg aattatctgg caatctcttc atatttatat tcaacaataa	6000
	ttacttaaag aaatgcttgg agcttctcag aggagggtgc taccagtgtg atggagtaga	6060
	attcagattt gggtagtga tttaaagctg tggacttta gtcatttaac tgcagagtca	6120
	cagtctacag ctttgaaaga ggaggattat aaaatctatc tcatgttaat gctgaagatt	6180
	aaataatagt gtttatgtac cccgcttata ggagaagagg gtgtgtgtgt gtgtgtgtgt	6240
	gtgtgtgtgt gtatgtgtat gtatacatgt atgtattcag tctttactga aattaaataa	6300
	tctttaactt gataatgggc aaatatctta gttttagatc atgtcctcta gaaaccgtat	6360
	gctatataat tatgtactat aaagtaataa tgtatacagt gtaatggatc atgggccatg	6420
	tgcttttcaa actaattgta cataaaacaa gcactattg aaaatatctg acaaactcat	6480
	cttttatttt tgatgtgtgt gtgtgtgtgt gt	6512
	<210> 36	
	<211> 179	

<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 36	
gauuugggga auuauuugag aaagcaaaac aaaacaauaa caauagaaaa acuucuaaug	60
gugaugacag ccucuucuuc aguaauuucu cacuucuugg uacuccuguc cugaaagaua	120
uuauuuucaa gauagaaaga ggacaguugu uggcgguugc uggauccacu ggagcaggc	179
<210> 37	
<211> 1000	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 37	
tcttttgttc ttcactatta agaacttaat ttggtgtcca tgtctctttt tttttctagt	60
ttgtagtgct ggaaggtatt tttggagaaa ttcttacatg agcattagga gaatgtatgg	120
gtgtagtgtc ttgtataata gaaattgttc cactgataat ttactctagt tttttatttc	180
ctcatattat tttcagtggc tttttcttcc acatctttat attttgcacc acattcaaca	240
[0025] ctgtatcttg cacatggcga gcattcaata actttattga ataaacaaat catccatttt	300
atccattctt aaccagaaca gacatTTTTT cagagctggc ccaggaaaaat catgacttac	360
atTTTgcctt agtaaccaca taaacaaaag gtctccattt ttgttaacat tacaattttc	420
agaatagatt tagatttget tatgatatat tataaggaaa aattatttag tgggatagtt	480
ttttgaggaa atacatagga atgttaattt attcagtggc catcctcttc tccatatccc	540
accctaagaa caacttaacc tggcatattt ggagatacat ctgaaaaaat agtagattag	600
aaagaaaaaa cagcaaaagg accaaaactt tattgtcagg agaagacttt gtagtgatct	660
tcaagaatat aaccatttgt gtagataatg gtaaaaactt gctctctttt aactattgag	720
gaaataaatt taaagacatg aaagaatcaa attagagatg agaaagagct ttctagtatt	780
agaatgggct aaagggcaat aggtatttgc ttcagaagtc tataaaatgg ttccttggtc	840
ccatttgatt gtcatttttag ctgtggtact ttgtagaaat gtgagaaaaa gtttagtggt	900
ctcttgaagc ttttcaaaat actttctaga attataccga ataatctaag acaaacagaa	960
aaagaaagag aggaaggaag aaagaaggaa atgaggaaga	1000

	<210> 38	
	<211> 188	
	<212> RNA	
	<213> 智人	
	<400> 38	
	cuucacuucu aauggugauu augggagaac uggagccuuc agaggguaaa auuaagcaca	60
	guggaagaau uucauucugu ucucaguuuu ccuggauuau gccuggcacc auuaaagaaa	120
	auaucaucuu ugguguuuucc uaugaugaau auagauacag aagcguauc aaagcaugcc	180
	aacuagaa	188
	<210> 39	
	<211> 1000	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 39	
	aaactatgtg aaaacttttt gattatgcat atgaaccctt cactacacc aaattatata	60
[0026]	tttggctcca tattcaatcg gttagtctac atatatttat gtttcctcta tgggtaagct	120
	actgtgaatg gatcaattaa taaaacacat gacctatgct ttaagaagct tgcaaacaca	180
	tgaaataaat gcaattttatt ttttaataa tgggttcatt tgatcacaat aaatgcattt	240
	tatgaaatgg tgagaatttt gttcactcat tagtgagaca aacgtcctca atggttattt	300
	atatggcatg catataagtg atatgtgta tctttttaa agataccaca aaatatgcat	360
	ctttaaaaat atactccaaa aattattaag attattttaa taattttaat aatactatag	420
	cctaattgaa tgagcattga tctgccagca gagaattaga ggggtaaaat tgtgaagata	480
	ttgtatccct ggctttgaac aaataccata taacttctag tgactgcaat tctttgatgc	540
	agaggcaaaa tgaagatgat gtcattactc atttcacaac aatattggag aatgagctaa	600
	ttatctgaaa attacatgaa gtattccaag agaaaccagt atatggatct tgtgctgttc	660
	actatgtaaa ttgtgtgatg gtgggttcag tagttattgc tgtaaatgtt agggcaggga	720
	atatgttact atgaagttaa ttgacagtat actccaaata gtgtttgtga ttcaaaagca	780
	atatctttga tagttggcat ttgcaattcc tttatataat cttttatgaa aaaaattgca	840

	gagaaagtaa aatgtagctt aaaatacagt atccaaaaaa atggaaaagg gcaaaccgtg	900
	gattagatag aaatggcaat tcttataaaa agggttgcat gcttacatga atggetttcc	960
	atgtatatac tcagtcattc aacagttttt tttttagagc	1000
	<210> 40	
	<211> 91	
	<212> RNA	
	<213> 智人	
	<400> 40	
	acaucuccaa guuugcagag aaagacaaua uaguucuugg agaaggugga aucacacuga	60
	guggagguca acgagcaaga auuucuuuag c	91
	<210> 41	
	<211> 2499	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 41	
[0027]	taactaatta ttgtctagc aagcatttgc tgtaaattgc attcatgtaa aaaaattaca	60
	gacatttctc tattgtttta tattctgttt ctggaattga aaaaatcctg gggttttatg	120
	gctagtggtg taagaatcac atttaagaac tataaataat ggtatagtat ccagatttgg	180
	tagagattat ggttactcag aatctgtgcc cgtatcttgg tgtcagtga tttgtttgcc	240
	tcatagtata gtttactaca aatggaaaac tctaggattc tgcataatac tggacagaga	300
	agatgtaaat atctgttagt tccatcatag accctgccac tccaatgtac acaccagctt	360
	taggcttctt ggtatagata aacatacatt ttcaaaattt ttcatcataa ttttcataac	420
	aaaataggaa ggcaaatgat gtcacttggc ttaaaatcta taatatttaa aataaacagg	480
	acaaatgcat taacattggt gggggaggag gtcccttagt agaaacactc ttgttccaag	540
	cattttaaag ctgtcaaaga gatgtaaata tagataatgt atgtcaagga gagagctttg	600
	tggttaaact gtaactttca gtttaacaa ttatttggtga ctctgatgtc aaatgtttct	660
	caagctttat ctgaacaaaa ttcttctcac ttgttgcca aagtcgttaa caagaaatca	720
	cattgactca ttgatgtttt ggctccttcc ccttactttc tgttgcttcc caaagctga	780

	gacaggaaac taaccctaac tgagcacctg caattgcctg gtagtattct agtcatgtgt	840
	gtacttttgt gtgtatgtaa tccccttaca gctctgcaa gtaagaattg ttctccctgc	900
	tttacagaag agatcataag ataattgagg ctgttagatg ttaacttgcc aaaagccata	960
	caggaaaatg gtagagtcac agtttgaacc aggtcctttt gattctttac attaaacat	1020
	gctttgatct tggaaataca ctgtaaggca ataaatcaat agatacggat aattcacagg	1080
	cttctaaata aatggaagtt gattgttttt atctgtgagc caaagtaaga cttattctaa	1140
	gaattccaca aatttagata agatagagta tatggcttct agacatccaa catagaactg	1200
	agtttgtgtt atcagtttaa gatttggttt tgctgtaagg tgcacacact ttgaggaact	1260
	aaaaataatt gtctgttctt attctgatca gaatgtgtaa tgtgttgtcc agttttggat	1320
	gatgaatttc ttatttctaa tctcataaga aacttgtcat agatgtgagg gagagaatta	1380
	agaacagagt gtggggaaga aactgtgtac attttgatgg gatccattat gtagctcttg	1440
	catactgtct tcaaaaataa gttacactat aaaggttgtt ttagactttt aaagttttgc	1500
[0028]	cattggtttt taaaaaatt tttaaattgg ctttaaaaat ttcttaattg tgtctgaat	1560
	acaattttct ttattacaga agtaccaaca attacatgta taaacagaga atcctatgta	1620
	cttgagatat aagtaaggtt actatcaatc acacctgaaa aattttaatg ttatgaagaa	1680
	attatctcat ttctattaat atgggaactg tgccttcac tttattactg ttctaaggtc	1740
	aactcaatgt agattttact tgcttatggt ttcataattt agctaaatag taaaataata	1800
	tggatataca ttttgttgtg acttactcat actttcctta ttggaactt ttatgaatat	1860
	gataatagaga ctgaaactac aaggaacaaa atgcaatac aattatacag ttgtggcagc	1920
	actgctatca atttgttgat agtggttaac acttagaaaa acattttaaa aataatttca	1980
	cataagtaat gtaatttatt agctgtctct gacattttac agtttggaaat agtttatatt	2040
	ctttttggtg tctcaccaa aaccaacat cttcaagggc aggaactgta taatttttgc	2100
	cattgtatatt tgagcacata gcatggtact tgcctctaaa tagatactat tgttaaaata	2160
	ttttttaagg taatatttta aagtgtatgc tatggtacag ttcagtttgt gacttttgct	2220
	agtttatgcc acttacagtt agcaaaatca cttcagcagt tcttggaatg ttgtgaaaag	2280

	tgataaaaat cttctgcaac ttattccttt attcctcatt taaaataatc taccatagta	2340
	aaaacatgta taaaagtgtc acttctgcac cacttttgag aatagtgtta tttcagtga	2400
	tcgatgtggt gaccatattg taatgcatgt agtgaactgt ttaaggcaaa tcatctacac	2460
	tagatgacca ggaaatagag aggaaatgta atttaattt	2499
	<210> 42	
	<211> 83	
	<212> RNA	
	<213> 智人	
	<400> 42	
	gcaguauaca aagaucuga uuuguauuuu uuagacucuc cuuuuggaua ccuagauguu	60
	uuacagaaa aagaaauuu uga	83
	<210> 43	
	<211> 1474	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
[0029]	<400> 43	
	ttctttgaat accttactta taatgctcat gctaaaataa aagaaagaca gactgtccca	60
	tcatagattg cattttacct cttgagaaat atgttcacca ttgttggtat ggcagaatgt	120
	agcatgggtat taactcaaat ctgatctgcc ctactgggcc aggattcaag attacttcca	180
	ttaaaacctt ttctaccgc ctcatgctaa accagtttct ctcatgcta tactgttata	240
	gcaattgcta tctatgtagt ttttgcagta tcattgcctt gtgatatata ttactttaat	300
	tattattata cttaacattt ttatttactt ttgtgttag tattttattc tgtcttctcc	360
	ttagatagta accttcttaa gaaaatatat atgctaagtg ttttactggt ttaatatgct	420
	tagactactc atctacctca atacttcctt ggagatctcc tcctcagtca cacagagctc	480
	aggacttata tttccttgga actcctgtta gggccaatg tacatgaaat tccctagaca	540
	gacagacagt cagttatatg gcttgatttc aaagtttcaa aatgatttaa tggactatca	600
	agtagtttat taggagaaca gttattatac tcttctaaaa ataaagactt taagcaataa	660
	agatgtatat gtatataaaa tggctgggtt attcctagaa gtacctttct tagaatttag	720

	ttaaatttaa tatccaagat actatctttt caaccctgag attgtgaaaa gtaacttcta	780
	tcaatataaa ctttactaca ttigtattgt gttagtgtgt tacagtataa tctagaacaa	840
	tgtgtctttc tatatgatat atgacatttt aatgcctaaa aaaactgata tgccttagat	900
	gattctagtc aggatttact tctagaatag attaaaaattc tatttgagga gagtcaaatt	960
	aattatcgaa ttctcagttg ttattattgc tgttttattt ttagtgaaac agattagtct	1020
	taatgtaaac acttgagaaa taaattgatg gtcaacctaa aatgtaaaaa agaaattaat	1080
	agaaaattta aagagcaaca aagctctgac atttaaaaga aatgaagtac aaatctctag	1140
	ggaccttaaa gatcatctaa taatttcctc attttctaga taaataaact gagagacccc	1200
	gaggataaat gatttgctca aagtcaaata tctacttaat ataggaaatt taatttcatt	1260
	ctcagtcigt taacatgcaa cttttcaata tagcatgta tttcatgcta tcagaattca	1320
	caaggtacca atttaattac tacagagtac ttatagaatc atttaaaata taataaaatt	1380
	gtatgataga gatttatgc aataaaacat taacaaatg ctaaaatacg agacatattg	1440
[0030]	caataaagta ttataaaat tgatatttat atgt	1474

<210> 44

<211> 720

<212> RNA

<213> 智人

<400> 44

ugugucugua aacugauggc uaacaaaacu aggauuuugg ucacuucuaa aauggaacau	60
uuaaagaaag cugacaaaau auuaauuuug caugaaggua gcagcuauuu uuauugggaca	120
uuuucagaac ucaaaaau cuacagccagac uuuaagcucaa aacucauggg augugauucu	180
uucgaccaau uuagugcaga aagaagaaau ucaauccuaa cugagaccuu acaccguuuc	240
ucauuagaag gagaugcucc ugucuccugg acagaaacaa aaaaacaauc uuuuaaacag	300
acuggagagu uuggggaaaa aaggaagaau ucuauucua auccaaucua cucuauacga	360
aaaauuucca uuugcaaaa gacucccuua caaauaag gcaucgaaga ggauucugau	420
gagccuuuag agagaaggcu guccuuagua ccagauucug agcagggaga ggcgauacug	480

	ccucgcauca gcgugaucag cacuggcccc acgcuucagg cacgaaggag gcagucuguc	540
	cugaaccuga ugacacacuc aguuaaccaa ggucagaaca uucaccgaaa gacaacagca	600
	uccacacgaa aagugucacu ggccccucag gcaaacuuga cugaacugga uauauauuca	660
	agaagguuau cucaagaaac ugguuuggaa auaagugaag aaauaacga agaagacuua	720
	<210> 45	
	<211> 2252	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 45	
	tatacatcgc ttgggggtat ttcacccac agaatgcaat tgagtagaat gcaatatgta	60
	gcatgtaaca aaatttacta aaatcatagg attaggataa ggtgtatctt aaaactcaga	120
	aagtatgaag ttcattaatt atacaagcaa cgttaaaatg taaaataaca aatgatttct	180
	ttttgcaatg gacatatctc ttcccataaa atgggaaagg atttagtttt tggtcctcta	240
	ctaagccagt gataactgtg actataagtt agaaagcatt tgctttatta ccatcttgaa	300
[0031]	ccctctgtgg gaagagggtc agtataaata actgtataaa taaatagtag ctttcattat	360
	ttatagctcg caaaataatc tgtatggaag tagcatatat aaggtatata aacatttagc	420
	ctcttgatag gactaactca cattctgggt tgtatatcag tcttgccga atttagctag	480
	tgtgggcttt tttttatctt gtgagtttgc tttatacatt gggtttctga aaagatttct	540
	tttagagaat gtatataagc ttaacatgta ctagtgccaa tcttcagaca gaaattttgt	600
	tctattaggt tttagaata aaagcatttt atttttaaaa caggaaataa tataaaaagg	660
	agagtttttg ttgttttagt agaaaactta atgccttgga tgaaatgagc catgggcagg	720
	gttgtaatga attgatatgt ttaatagtat agatcatttg tgaataatat gaccttgac	780
	aagacacaag ccattaacat ctgtaggcag aagtctcctt ctttgtaaaa tgagggaata	840
	aaatagatcc cttaaagtgt taattttagt atttctaaac tttatgaagg ttccctaaat	900
	gataattcat ctatatagtg tttttttgtg tgtttgtttg tttgtttgtt tgagatggag	960
	tctcgtcttg tcacctaggc tggagtgcaa tgggtcaacc tcggtcact gcaacctctg	1020
	cctcctgggt tcaagctaata ctctgcctc agcctcctga gtagctgaga ttacaggcat	1080

	gcaccaccat gccgagctaa tttttgtatt tttagtagag aaggggtttc atcatgttga	1140
	ccaggtcgtt cttgaactcc tgaccttggt atccaccac ctcagcctcc caaagtgtg	1200
	gtattacagg cgtgtgccac cacgtccagc ctgagccact gcgcccagcc catctatata	1260
	gtttaatatc aatctaaatg aattttctcag tcttgagcct aaaaatttag ttgtaaagaa	1320
	tgatatcctt gactaataat agttttctatt aatggattgc atctagtgt aggtggcata	1380
	tatttagtcc ccacaactac cctggaaggt atttaaaatt tttcacattt gcagataagg	1440
	aaactaaagt tcagagtctg gcaacatgct tgaattcaag cagctcctag gatgttaatg	1500
	gtggaggttg ggttcaaate cagatctgtc tgactcaaaa aatgcatact cctaaccagt	1560
	gcactatate ccaattccat aggagccctt ctttgtgatt catagcattt tcccatgagt	1620
	tttgttgatt ttgtgagaaa caaaactctt tttcctttgg actgtctgga atctctcttt	1680
	ttcaaatttt tgaaatgtat ttctatgcca aaagacaaag atttctagag gaatatgcct	1740
	aggatgagaa ttatgtaatt taaatcacag ctggaaagag agaaagtcct aagttactaa	1800
[0032]	gaaatgttca aacacaaatg agctttcagt ctattggaag acctttatag ctagaagtat	1860
	actgaactgt acttgtccat ggaccctga agaaacaggt taaatcaaag agagttcttg	1920
	gaaacttcat ttagatggtt tcattcattt gataaaaggt atgccactgt taagccttta	1980
	atggtaaaat tgtccaataa taatacagtt atataatcag tgatacattt ttagaatttt	2040
	gaaaaattac gatgtttctc atttttaata aagctgtgtt gctccagtag acattattct	2100
	ggctatagaa tgacatcata catggcattt ataattgatt atatttgta aaatacattt	2160
	agattcaagt aatactattc ttttattttc atatattaaa aataaaacca caatggtggc	2220
	atgaaactgt actgtcttat tgtaatagcc at	2252
	<210> 46	
	<211> 125	
	<212> RNA	
	<213> 智人	
	<400> 46	
	agugcuuuuu ugaugauaug gagagcauac cagcagugac uacauggaac acauaccuuc	60

	gauauuuuac uguccacaag agcuuaauuu uugugcuaau uuggugcuua guauuuuuuc	120
	uggca	125
	<210> 47	
	<211> 1000	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 47	
	aatgttctat tgtaaagtat tacttgattt aaagttaa ataatagtt tgggatgta	60
	tacatatata tgcacacaca taaatatgta tatatacaca tgtatacatg tataagtatg	120
	catatatata cacatatatc actatatgta tatatgtata tattacatat atttgtgatt	180
	ttacagtata taatggtata gattcatata gttcttagct tctgaaaaat caacaagtag	240
	aaccactact gatattttat ttttcatat tacatataaa atatatttaa atacaaatat	300
	aagaagagtt tttaatagat ttttaataat aaaggtaaag agattcgaaa gctcaaagta	360
	gaaggctttt atttggattg aaattaaaca attagaatca ctgttgatat tttattattt	420
[0033]	catattacat ataaaatata tttaaatata aagataagag tttttaatag attttataat	480
	aaatgttaag agattaaaaa actgaaaata gaaggctttt atttggattg aaattaaagg	540
	ccaggcatgg tggttcatgc ctgtaatccc agaatttttag gagactgagt ggggaggatt	600
	gcttgagccc aggggtcaag accagcctgg gcaacacagt gagacaccgt atctacaaaa	660
	taattaaaaa attagctggg catggtggtg tgtgacctgta tgctaccatt aactaaggag	720
	gctgaggtgg gagaatcgct tgagcctggg aggtcaaggc tgccctgaac tgtgattgtg	780
	ccattgcatt ccagcctggg tgccagagag agaccctatc tctaaataaa taaataagta	840
	aataaataaa cagcaacaac aaaaacactc aaagcaaatac tgtactaaat ttgaattca	900
	ttctgagagg tgacagcatg ctggcagtcc tggcagccct cgctcactct cagggcctcc	960
	ttgaccttga cgcccactct ggctgtgcgt gaggagccct	1000
	<210> 48	
	<211> 34	
	<212> RNA	
	<213> 智人	

	<400> 48	
	uggcugcuuc uuugguugug cuguggcucc uugg	34
	<210> 49	
	<211> 648	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
[0034]	<400> 49	
	tattccatgt cctatttgtt agatttgtgt ttatttctgt tgattaaata ttgtaatcca	60
	ctatgtttgt atgtattgta atccactttg tttcatttct cccaagcatt atggtagtgg	120
	aaagataagg ttttttgttt aaatgatgac cattagtgg gtgaggtgac acattcctgt	180
	agtcctagct cctccacagg ctgacgcagg aggatcactt gagcccagga gttcagggt	240
	gtagtgttgt atcatttgtga gtagccaccg cactccagcc tggacaatat agtgagatcc	300
	tatatctaaa ataaaataaa ataaaatgaa taaattgtga gcatgtgcag ctccctgcagt	360
	ttctaaagaa tatagtcttg ttcagtttct gtgaaacaca ataaaaatat ttgaaataac	420
	attacatatt tagggttttc ttcaaatttt ttaatttaat aaagaacaac tcaatctcta	480
	tcaatagtga gaaaacatat ctattttctt gcaataatag tatgatattg aggttaaggg	540
	tgcatgctct tctaatacaa aatattgtat ttatttagac tcaagtttag ttccatttac	600
	atgtattgga aattcagtaa gtaactttgg ctgccaaata acgatttc	648
	<210> 50	
	<211> 247	
	<212> RNA	
	<213> 智人	
	<400> 50	
	acuccucuuc aagacaaagg gaauaguacu cauaguagaa auaacagcua ugcagugauu	60
	aucaccagca ccaguucgua uuauguguuu uacauuuacg ugaggaguagc cgacacuuug	120
	cuugcuaugg gauucuucag aggucuacca cuggugcaua cucuaaucac agugucgaaa	180
	auuuuacacc acaaaauguu acauucuguu cuucaagcac cuaugucaac ccucaacacg	240
	uugaaag	247

<210>	51	
<211>	2871	
<212>	DNA	
<213>	智人	
<400>	51	
	ttactaggtc taagaaatga aactgctgat ccaccatcaa tagggcctgt ggttttgttg	60
	gttttctaataat ggcagtgcig gcttttgcac agaggcatgt gccctttgtt gaacctccat	120
	ttgactggca tgcacatgtc tcagatatta taggttatca tatattgttg ctcctaatat	180
	ttctgtgtta gataattaga gtagcttggg ttgtaagaat gtgatgttgg tgggactgta	240
	gcagaacaag aaggccctta tgggtcagtc atacctctct tttcaaatat ttggtctagc	300
	tctcttctgg gcatcttgtt gccaatatat agtattgctc aaaagggcag gagatttgaa	360
	gtgatcaagg aaaatatatt ttttctattg attaagtcct ttgatggggg agaataatct	420
	aatttcatgt aactgctcaa agttatatgg tagggggatc ccaaatgtat tttaaaacta	480
	tttttatatc atcatatttg aagtaataga aagtcagagt agcagaataa aggtactaaa	540
[0035]	aattttaaaa actaataagg tactttgaaa gaaatcaatt atgttgattc ctcattaaac	600
	aaatttgcac ttaaagactg aggttaataa ggatttcccc aagttttttc atagcaacct	660
	gtgagcactt tctctgttga ggcatttatg gtatgaaaag atgagtaagg cacagttctt	720
	gccctggaga aggtcacagg tgagaggagg agttgacaca gaaacatttg atataaagca	780
	aggaataaat tccaagacta aaattttcag aaatctaaaa aactcaagat aagaaaaacc	840
	cattatattt tctgggtaac aaaatttcag tgttattaac atgtaggaag atcttgatat	900
	ttattctgaa gcccatgtgt gttgctgaaa tattgccgca tttgcatata ctcacacca	960
	tcctctgttt tggagctaag aatttttagac tcaagatgtc taattaagtt gatccattga	1020
	ttttattttt tatggaaatc tgagaccac agaaggcagg ggatttgccc acatttctag	1080
	aagagtcaga catgagcgat gaggcacagt ggaaagaaca tgagcattgc ctgagctctg	1140
	agttggcgct ataagagcag tgatcatggg caagtgactc ttctgagcct tggcctctc	1200
	acctgttaag tgaagaaaag aatatttcag aagatctttg tgagaatgaa acaaggcaat	1260
	ttacttgect gtacatagc caatgggaaa tcaatataag ttccccgtgg ttcccttctg	1320

	tggggttttg ttcccacaga ggggtgcactg gccattccac ttcttctttt ccaagctcct	1380
	cattcccttt aacgctgttc atagtgtgtt ccaaaccatt tgaaatataa taagcaccag	1440
	gatggttttt tctttccacc aaagcaaatt tcattttcta aacactgttt ataaatatca	1500
	atggctattt ttcaatttt tgattatcat gaaaatatac aaatatgttt aattaaatat	1560
	gctaaagaat gtattaataa atatgtatta aataattcct acatataagg cttttttgct	1620
	tggggtatgg gtgatacaaa ataaatgtgg catgaacca ctgacctcta gcaatttata	1680
	acctagaaaa agagttaatga tatgtttata agttcctgtg atataagaca tgcatatagt	1740
	cattataaca gaggtgcaaa caagatgtat caagtatgtc cagaggagga agagattaat	1800
	cccagctgga ggaaacactg atgctttctt gcagcagggg catttgagtt gagaaaggga	1860
	ggaaacatag attttgacaa tgagagctga ggggaaaggg gtttcaggtg gagggaaccg	1920
	catgtggaaa gcaggaggt aggaaagtgt agagtgtgtt taaagaatag accagtttgg	1980
	ctgaaacagg atatttgagc agaggaagct tgtactaggt aggtgggttg aggccaaatt	2040
[0036]	atgcaaggca ttaaataatta aactaggaat tttggacttt atcctgcagt ttatgggggg	2100
	taaatgataa gattcaatat cactttattt gtacagtatt atgttacatt ttatctaatt	2160
	gtttgtttaa ttctgtcta gacaatgaat tcctcaaggg caaggagcat ggcttattca	2220
	cctcagtaat ttcagtgcct agcattgtgc ctggtacaaa gtggacactt gtatataacc	2280
	ttttttaatt gaagcaacaa gttgtcaacc ttacaaatgt gaatccgtga ttcagatgac	2340
	aggttgaaat gtagattgtc tgcaagagg gcagaaagag agtatgacaa aggaggacaa	2400
	gacagtgggg caggcaggga gagagagcag ccagggtttc ggtagaggta tgtcaaaaag	2460
	gtatggaagt cagaggagaa ggagaccct atgttataga atacaaatgg aagggaatg	2520
	atgacaacag taagttgtca ttaaattgcaa ggttgcaaaa gtaagattgt aaagcaggat	2580
	gagtaccac ctattctga cataatttat agtaaaagct atttcagaga aattggctgt	2640
	tacttgaatc ttacaagaat ctgaaacttt taaaaaggtt taaaagtaaa agacaataac	2700
	ttgaacacat aattatttag aatgtttgga aagaaacaaa aatttctaag tctatctgat	2760
	tctatttgct aattcttatt tgggttctga atgcgtctac tgtgatccaa acttagtatt	2820

	gaatatattg atatatcttt aaaaaattag tgttttttga ggaatttgtc a	2871
	<210> 52	
	<211> 76	
	<212> RNA	
	<213> 智人	
	<400> 52	
	ugggauucuu aaugauucu ccaaagauau agcauuuug gaugaccuuc ugccucuac	60
	cauuuugac uucauc	76
	<210> 53	
	<211> 3745	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 53	
	taaaaataag taccgttaag tatgtctgta ttattaaaaa aacaataaca aaagcaaag	60
	tgattttgtt ttcatttttt atttgattga gggttgaagt cctgtctatt gcattaattt	120
[0037]	tgtaattatc caaagccttc aaaatagaca taagtttagt aaattcaata ataagtcaga	180
	actgcttacc tggcccaaac ctgaggcaat cccacattta gatgtaatag ctgtctactt	240
	gggagtgatt tgagaggcac aaaggacat ctttcccaa atcactggcc acaaagtgtg	300
	acattttggc attggcatca ctatttgatg gaagccaacc tcccccaaa aggccgtgat	360
	tagaatgaag atggattccc tgggtgggtt acacttgaaa ctagcctcac ccatgaacac	420
	tttggcacag attagctagc ccattcccc acagtaagga ccataaggaa gggacagaag	480
	caaagataag ttttagaaca aaagagagg gaaagaaaa atctagggtt ttatgagggc	540
	tgtccctgag tgatagatgt gaataggcct ccagggcagg ctggctcaga ggctgactct	600
	ttgggttggg gtgactgatt ggtggtgagg atggagaaga aaaggggagt ggaggagtg	660
	aaagtgacct tgggacatta ggtctccata agtgacagga tttaaggagt gttgtaagct	720
	gtggttggtt gaccaggttt aagcacagct tcctgagctt cctgactggt ttaggtcaag	780
	ctccagagag caaatgccac agtctcagt atctccttgg agaaacagtt ggaataggat	840
	gttccccatg ttgggatgag tcattgtcgc ctcttgcctt ttcctaccc ctgcaaaata	900

	ataatactgt atttgattga acatataaaa caaaagaagg attatcacat aagtatgtat	960
	atataaccaa catlggcagg tgcagaaaaa ccagactgtc agtttgccctc atctgaaatg	1020
	attgacacaa acaaataatat ttactgtccc aagtgaactt tggcattttg gatatccttc	1080
	agttgttctg tttaaagata taacttagaa gcagctgatg gaatatttaa atccatgcgt	1140
	tgaattcatg cattcaaaga aacatgtcct gagtactaa atgctgacat ttgtttttca	1200
	tgtaagagt gtaaataact ggtcccaaat ataataattat tacatcagat aaaaactgga	1260
	atgtgaacct cttacttga ttgtgaaagt atttgccaat ggtgccctctt gataattatt	1320
	tgaggctcac ttcagaactc ctctggaagg gtaattttt aaatagtcac tttataaatt	1380
	aacatttttg acatatgtga tggtctctca attttttctt ttatgccagt ttgaatcatt	1440
	tctgtcaat tttttttttt aattgggatg gagtctcact ctgttgccca ggctggagtg	1500
	cagtgatgca atcttggtg actgcaacct ccacctctc ggttcaagcg attctctcgc	1560
	atcagcctcc agagtagctg ggattacagg cgcgcaccac catgcctgga taatttttgt	1620
[0038]	attattacta gagatggggt ttcaccacgt tgccaggct ggtcttgaac tcctgaactc	1680
	ctgacctcaa gtagccacc tgcctcagcc tcttaaagag ctggaattat aggtgtgagc	1740
	cactgcacca ggccctgttc aacttttaat gctaagattc atttgttgtt gtttcacaag	1800
	tgattaggca gaggtctttt atattaattt acccatttta ttgtgaagag agtctcatat	1860
	taaggaagca taatatatga caatccaaat acagtacaaa ttgtgtaat ttgattttg	1920
	ttaaataatt aatcacagg gtccttcaaa ttgtgagctc ctctggttat acttatgttt	1980
	tacctctggt tatacttaat ttcaaacaaa tgaaatttca ttctattcat gatatttcag	2040
	aagcagatct gttgcacaaa ataaagcata cctataaatt ttcttttttt aaaaaaagt	2100
	ctctgttcac tctattttct attatttttc tctttttaaa atttgaattt tattgtggca	2160
	agtcactta acatgagatt taccctctta acagattttt atgtgtaaaa tacaatattg	2220
	ttcaccatgg gtaaagtgtg cacagcagat ctctggaact tattcathtt gcactactga	2280
	aattttatac ctgttgatta gtatctcccc atttccctct ctccccgtgc ctgttacca	2340
	tggttctgtt ctttgcctct ttgagtttga gtattttgat acctcatgta atcttcattc	2400

	tat ttttctaa ctttgacaat gttctgacaa atttgctttc cggattggag cactgtatag	2460
	tgaaaattga aaatcttggt tat ttttctac agattccac tat ttttacct tgagcagaca	2520
	cttatcttga aggtctcag atttgctact tgtagaatgg ggaatataaa cctgataatg	2580
	gtccctttca gttctaaagt tatatcagtt gaaaatacat gtgtcactta tggtaacggg	2640
	tagagaactg gtcactgaa cagcatatgg atattataaa gtggtttttt ttaatccttt	2700
	ctgcagacag ttactttata ctttattcaa atggattatt gtgaagtaca tgtagcgga	2760
	ctttgtacct tttaaaaatg tatgtatttg gtgtaatgta gaaatataga aatttattaa	2820
	gtatgattta tttcaatgtt aagcatgaga aaatatgctc cgaaaggta gatagcttgc	2880
	ctaaatgaca agcttgtatt tcaagcagaa ctttctgaat caaaagactc caagacgaat	2940
	gccagcttt caaaaactgt ctaacaaaa taaatcctaa gattcacctt catactaaaa	3000
	ttatttaaaa atagtttatt ttaaattaat attcacttaa aatgtattta tcatgcaata	3060
	ctttaaagtg tctgggaaat gaaaatatcc aaagatcaaa gaacaccatg tttcaaact	3120
[0039]	tcaaaaatgt tatcagtgac ctaaacaatt tttaaaattt tcatagagcc tatgaaaaat	3180
	gtacttgcaa atggctactt tctgactagg aatagaatgg ggagagtatt tagtccaaca	3240
	atgatagact ggattaagaa aatgtggcac atataacca tggaacacta tgcagccata	3300
	aaaaatgatg agttcatgtc ctttgiaggg acatggatga aattggaaaa catcattctc	3360
	agtaaaactat cgcaagaaca aaaaaccaa caccgcata tctcactcat aggtgggaat	3420
	tgaacaatga gatcacatgg acacaggaag gggaatatca cactctgggg actgttgtgg	3480
	ggtgggggga ggggggaggg atagcactgg gagatatacc taatgctaga tgacgagtta	3540
	gtgggtgcag tgcaccagca tggcacatgt atacatatgt aactaacctg cacaatgtgc	3600
	acatgtaccc taaaacttaa agtataataa aaaaaataaa aaaaagtttg aggtgtttaa	3660
	agtatgcaaa aaaaaaaaaa gaaataaatc actgacacac tttgtccact ttgcaatgtg	3720
	aaaatgttta ctaccaaca tgttt	3745
	<210> 54	
	<211> 147	

<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 54	
uguuauuaau ugugauugga gcuauagcag uugucgcagu uuuacaaccc uacaucuuug	60
uugcaacagu gccagugaua guggcuuuua uuauguugag agcauauuuc cuccaaaccu	120
cacagcaacu caaacaacug gaaucug	147
<210> 55	
<211> 891	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 55	
acagtgaatg tgcgatactc atcttgtaaa aaagctataa gagctatttg agattcttta	60
ttgttaatct acttaaaaaa aattctgctt ttaaacittt acatcatata acaataattt	120
ttttctacat gcatgtgtat ataaaaggaa actatattac aaagtacaca tggatttttt	180
ttcttaatta atgaccatgt gacttcattt tggttttaaa ataggtatat agaatcttac	240
[0040] cacagtiggt gtacaggaca ttcatittata ataaacttat atcagtcaaa ttaaacaagg	300
atagtgtctg tattactaaa ggtttctctg ggttcccaaa tgatacttga ccaaatttgt	360
ccctttggct tgttgtcttc agacaccctt tcttcatttg ttggagctgc catttcgtgt	420
gccccaaac tctacttgag ctgttaggga atcacatitt gcagtgacag ccttagtgtg	480
ggtgcatttt caggcaatac tttttcagta tatttctgct ttgtagatta ttagctaaat	540
caagtcacat aaacttcctt aatttagata cttgaaaaaa ttgtcttaaa agaaaatitt	600
tttagtaaga attaatttag aattagccag aaaactccca gtggtagcca agaaagagga	660
ataaatattg gtggtaattt ttttaagttcc catctctggt agccaagtaa aaaaagaggg	720
taactcatta ataaaataac aaatcatatc tattcaaaga atggcaccag tgtgaaaaaa	780
agctttttta ccaatgacat ttgtgatatg attattctaa tttagtcttt ttcaggtaca	840
agatattatg aaattacatt ttgtgtttat gttatttgca atgttttcta t	891
<210> 56	
<211> 224	

	<212> RNA	
	<213> 智人	
	<400> 56	
	caggagucca auuuucacuc aucuuguuac aagcuuuuuu ggacuaugga cacuucgugc	60
	cuucggacgg cagccuuacu uugaaacucu guuccacaaa gcucugaauu uacauacugc	120
	caacugguuc uuguaccugu caacacugcg cugguuccaa augagaauag aaaugauuuu	180
	ugucaucuuc uucauugcug uuaccuucan uucauuuuu acaa	224
	<210> 57	
	<211> 2784	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 57	
	atgaactcat taactttagc taagcattta agtaaaaaat tttcaatgaa taaaatgctg	60
	cattctatag gttatcaatt ttgatatact ttagagttaa gtaattaaca aatttggttg	120
	tttattattg aacaagtgat ttctttgaat ttccattggt ttattgttaa acaataatt	180
[0041]	tccttgaaat cggatatata tatatatatg tatatatata tatatatata tatatatata	240
	catatatata tatagtatta tccctgtttt cacagtttta aaaaccgatg cacacagatt	300
	gtcagatagc aattctgtga ttgaaggga aatatgtcac ctcttcatac tcatattggt	360
	gaagggtect agcttcaaaa ttaatagatt cctaaaggagg ggaatgaaa catccgcatt	420
	tacacacaca cacacacaca cacacacaga gttcctcttg tcggtaagtt ttgtttttt	480
	taaatctcta ctagataaaa ttgtttatct aattgtgagt ttacacaaa gaaaaactgt	540
	cacagaaaag aaagacagtg tcacattttt caaaagaaa agaagaaaag aaagtgccat	600
	gtttttcaaa tacaatggtt ctggattgat tttaggatct ttagtgaaaa acaaagtatt	660
	tcataataag taaaataaaa atctatgtag gtaaatgtt ttctctaatt taagaatttg	720
	aatttctgag tatttatgat aagtgttgaa ataacttctt atatgtgaca gtgaatactg	780
	gcagagcaaa tgccaaatca atgccaaatc tgtaggatca ttgtattgta ggaacagaat	840
	tctactcaaa ccgaaagcag gcatttgctg gagttacaga aaggcctcat ggaacaccga	900
	gaaggtggtg ccattcgact cttaaagaag ctgcaacagg cacaagagag tcagctgcag	960

	ctcttcttct tgagtctata tctgtcctgg gtccattcct ttttgtgggt gcttcattcc	1020
	tttctctctc tgaagactgg ttttcttggt ctaccagggc tatgccacat tgactttatg	1080
	tagtgctccc attctggcct cctgaattta caggagagtt cctctgtaca aactcaaagt	1140
	cctggagaga acagaaaaca gcttcctttt ggctcagggg tccaactgca gtctactctg	1200
	ctgctatgag gatagtgggt tcaccacctt tgttgttctc tcagctaggg cagtgggaaa	1260
	tgactctatg aaaggaatat acatgggcag gcaaatgtac taatcctcat cagtactgta	1320
	attttaagca actttaaaaa attcttttaa gttatttgaa aataagatca aagaaggctg	1380
	aattacataa atgaagattt gttaacaatt aattcaaacc aatataacac atgctataac	1440
	atggttgagt gtgattgagt cttgatttat taggggcaat aatcaaaaaca tttaacaatc	1500
	attatagtac agaacttacc aatcaaatca gatgctcagc cggagtggat gttggccacc	1560
	cagctattat tatecctggc tcaattggtc ttcagctgtg ttaacttgca aacattaatt	1620
	aactatctaa gcccctcatt ttcctcaagt gtaaatagac acaataatat tacctattcc	1680
[0042]	ataggtgtgg ggtgaatagt aaatgtaata atttgtccaa aacacttagt atagtgcctg	1740
	gtccatggta aatactaaat aaatgttata tgacttatta ttaaaatttt atcttctcag	1800
	cttaaccttc agaacagtaa tatattgggg tctagataaa tcttgcctat atgaaaataa	1860
	tttaatacta catgcagata tatgctgtgt atattatgcc ttctgttaga ggaattgcag	1920
	aaacaaaaat ttcaattaat aataagatga attatttctc ccaattgtag aatcttttga	1980
	caattttatc atgcattaca gatgtaagaa ctcttgattg ggacttgata gtctaacttt	2040
	ataataattt aagaacattc ctcttagaga atttctatgg ccataaact gaacacatga	2100
	attttaatta gctgtcctct ttagccctaa aaaaaaatt actgtaattt aacacttaag	2160
	tgttgttctt cccaggtaca gtaatctttt ttttttttt ttttttttt tgcatagagg	2220
	gtaatctttt ctctttccaa atggcagaac tgtagtttt ctgactgtcc ggtgaaattc	2280
	taagtccact tacttcccaa tagcatgcaa ttagcaaagg tcctccttgc aaaggcacag	2340
	aacacaccta aacatcttgc agatgctgtt tggacactct tcccctgctt ttggtctctt	2400
	tgtaaagcag ctcatctgga tacaggatct cttttcccca ttgcccattc taatatatgt	2460

	taccgttatt acttatagaa taatagtaga agagacaaat atggtaccta cccattacca	2520
	acaacacctc caataccagt aacatttttt aaaaaggcca acactttcct aatattcaat	2580
	cgctctttga tttaaaatcc tggttgaata ctactatat gcagagcatt attctattag	2640
	tagatgctgt gatgaactga gatttaaaaa ttgttaaaat tagcataaaa ttgaaatgta	2700
	aatttaatgt gatatgtgcc ctaggagaag tgtgaataaa gtcgttcaca gaagagagaa	2760
	ataacatgag gttcatttac gtct	2784
	<210> 58	
	<211> 97	
	<212> RNA	
	<213> 智人	
	<400> 58	
	agaaggagaa ggaagaguug guauuuauccu gacuuuagcc augaauauca ugaguacauu	60
	gcagugggcu guaaacucca gcuaugaugu ggauagc	97
[0043]	<210> 59	
	<211> 1000	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 59	
	tcttatcatc tttttaactt ttatgaaaaa aattcagaca agtaacaaag tatgagtaat	60
	agcatgagga agaactatat accgtatatt gagcttaaga aataaaacat tacagataaa	120
	ttgagggtca ctgtgtatct gtcattaaat ccttatctct tctttccttc tcatagatag	180
	ccactatgaa gatctaatac tgcagtgagc attctttcac ctgtttcctt attcaggatt	240
	ttctaggaga aatacctagg ggttgatttg ctgggtcata ggattcaccc atgcttaact	300
	gagtgggtgcc aaattgtcct caagctctgtt gtactgatat atatccccat caagagagta	360
	caagaattct catagctatg tatcttcaac aacacttggg gtcttggtaga tgtgaagtga	420
	ttactaaaaa tatagggaag ctgcatacat aattattggc ttttgctgtt ctcttacatt	480
	aatttcttat tcatgttgat tactcatttg tcacctagtt ttttctcct taattaaatt	540
	gtaggaattt atgaattatg gattgatcat cagctctata catttcaaac ataatccctc	600

	agtcagtggc ttggcttata gagtcttttg atgaaaagaa gcttttaagt ttaataaagt	660
	tcaatttatt gtcttttcct ttatgttttg tgcttttggt atcttgatta agaactcctt	720
	ccttatattg ggttctcaaa tttagcagca taacattttc atactattat ttaaattttt	780
	ttcacattat ttagtgatag cacctttctt attcctaaag tgtttatcat tgccttctgt	840
	ctttctgctt gataaatatt gccacacatt tgtatacttt attagtgtgt acaaagacca	900
	cattttagtt gtgttatttc tcttgitttg gttttctaga atgcagagcc attaataatta	960
	tagtaatgct tatgtgctaa taccatatca ggggcacaaa	1000
	<210> 60	
	<211> 245	
	<212> RNA	
	<213> 智人	
	<400> 60	
	ugcgaucugu gagccgaguc uuuaaguuca uugacaugcc aacagaaggu aaaccuacca	60
	agucaacca accauacaag aauggccaac ucucgaaagu uaugauuuuu gagaaaucac	120
[0044]	acgugaagaa agaugacauc ugcccucag ggggccaaau gacugucaaa gaucucacag	180
	caaaauacac agaaggugga aaugccauau uagagaacau uuccuucua auaaguccug	240
	gccag	245
	<210> 61	
	<211> 1000	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 61	
	atttgaacac tgcttgcttt gttagactgt gttcagtaag tgaatcccag tagcctgaag	60
	caatgtgtta gcagaatcta ttgttaacat tattattgta cagtagaatc aatattaaac	120
	acacatgttt tatttatatgg agtcattatt tttaatatga aatttaattt gcagagtcct	180
	gaacctatat aatgggttta ttttaaattg gattgtactt gcagaatata taattaatg	240
	ctaggttaat aactaaagaa gccattaaat aaatcaaaat tgtaacatgt tttagatttc	300
	ccatcttgaa aatgtcttcc aaaaatatct tattgtctgac tccatctatt gtcttaaatt	360

	ttatctaagt tccattctgc caaacaagtg atactttttt tctagctttt ttcagtttgt	420
	ttgttttgtt tttctttgaa gttttaattc agacatagat tattttttcc cagttattta	480
	ctatatattat taagcatgag taattgacat tattttgaaa tccttcttat ggatcccagc	540
	actgggctga acacatagaa ggaacttaat atatactgat ttctggaatt gattcttgga	600
	gacagggatg gtcattatcc atatacttca ggctccataa acatatttct taattgcctt	660
	caaatcccta ttctggactg ctctataaat ctagacaaga gtattatata ttttgattga	720
	tatttttttag ataaaataaa agggagctga aaactgaatt gcaaactgaa ttttaaaact	780
	ttatctctct gtggtttaatt gcaaacacag atacaaaaat atagagagag atacagttag	840
	taaagatgtt aggtcaccgt tactaacact gacatagaaa cagttttgct catgagtttc	900
	agaatatatg agtttgattt tgcccatgga ttttagaata ttgataaac atttaatgca	960
	ttgtacaaat tctgtgaaaa catatatata ggatgtgcga	1000
[0045]	<210> 62	
	<211> 152	
	<212> RNA	
	<213> 智人	
	<400> 62	
	ugggccucuu gggaagaacu ggaucaggga agaguacuuu guuaucagcu uuuuugagac	60
	uacugaacac ugaaggagaa auccagaucg augguguguc uugggauuca auaacuuugc	120
	aacaguggag gaaagccuuu ggagugauac ca	152
	<210> 63	
	<211> 1000	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 63	
	caaaaggact tagccagaaa aaaggcaact aaattatatt ttttactgct atttgatact	60
	tgtactcaag aaattcatat tactctgcaa aatataattg ttatgcatig ctgtcttttt	120
	tctccagtgc agttttctca taggcagaaa agatgtctct aaaagtittg aattctcaaa	180
	ttctggttat tgaaatgttc atagctttga tagtgttttt cagaagacca aatttacagt	240

	gggagccttg ggcttttgtt ttttaacagc tcttttttgt tcctgcttca gtggcctgac	300
	ctccaagtta gcaatcgcca ggttgagaaa tgctttgcga gacataacag atgctcctga	360
	aataacaaac acttggaaac atgaggtagt ggaattgaaa atagaaagtg tagtgattgt	420
	tttttgttat ttggatggga tgaacaatgt cagattagtc tgtaactatt tttttttaat	480
	gtcactctga tttggtcaca aaggatctct agtctcattg ccttagtatac attctacgaa	540
	ttagaatgtg ttactgtgta agagcacttc ttgtatatga gagaaatagc aacagttcca	600
	gtttaaagtg atataaatgg aaaccaagaa atgtctttac tgggaccaa tctggacagc	660
	atttactgta tttttgctgg tattttctct agtctttccg ggtatatcca catttaatga	720
	tcacttttct cccittgtgc taatggacac tgaatecatt ccactaccat agttcttgc	780
	aatactactc tactttttac acaaaattaa aatgccagga gcacctccag gtagactgac	840
	tataaatcta gactgaaaaa aaagcttgta tttcttaaca gattaccttg tggaacattt	900
	gctcctttca actaatgagg cactaaatat tgtaactgct caactggtgc ttttaattta	960
[0046]	tttgtctaga ctttgtcatg ttgccagaag ctttatectg	1000
<210> 64 <211> 86 <212> RNA <213> 智人		
<400> 64 aaguauuuau uuuuucugga acauuuagaa aaaacuugga ucccuugaa caguggagug		60
	aucaagaaau auggaaaguu gcagau	86
<210> 65 <211> 1000 <212> DNA <213> 智人		
<400> 65 gctgctaact gaaatgattt tgaaaggggt aactcatacc aacacaaatg gctgatatag		60
	ctgacatcat tctacacact ttgtgtgcat gtatgtgtgt gcacaacttt aaaatggagt	120
	accctaacat acctggagca acaggtactt ttgactggac ctacccttaa ctgaaatgat	180

	tttgaaagag gtaactcata ccaacacaaa tggttgatat ggctaagatc attctacaca	240
	ctttgtgtgc atgtatttct gtgcacaact tcaaaatgga gtaccctaaa atacctggcg	300
	cgacaagtac ttttgactga gcctacttct ctccctactg gtatggctcc aaccatcagg	360
	ccctatcttg gtccatttag gctgctaaaa taaaatacca aagactgagc tgcttataag	420
	caatctttgg aggctgagaa gtcaaagatc aagggtccag caggtttgct gtctcgtgag	480
	agcatacttc ctggttcatt gatgggtgctt tcttgctgtg tcctcacata atggaaaggg	540
	caagacctct ctggtgtctc ttttacaatg gcactaatcc catcatgagg gctttgttct	600
	catgacctaa tcacctcca catgtcctac attctaatac tatcaccttg ggggttagga	660
	ttttaacata tgaatttgag gaggtggcgg gggggacaca aatatttaga ccatagcatt	720
	tcactcctga cctccaaagt tcatgtcttc ttacatgca aaatacatte attccatccc	780
	aatagccccc aaagtcttaa cttgttccag catcaactta caaggctaaa gtccaaggtt	840
	tcatctaaat atcagctaaa tcagcacaaa cagctaaatc aggtagagtg ggacttaagg	900
[0047]	tgtgattcct ctttaggcag attgctctcc aactatgaaa ttgtgaaatc aaacctatta	960
	tgtactttca aaataaaatg gtgaaacagg cacaggctag	1000
	<210> 66	
	<211> 169	
	<212> RNA	
	<213> 智人	
	<400> 66	
	uugggcucag aucugugaua gaacaguuc cugggaagcu ugacuuuguc cuuguggaug	60
	ggggcugugu ccuaagccau ggccacaagc aguugaugug cuuggcuaga ucuguucuca	120
	guaaggcgaa gaucuugcug cuugaugaac ccagugcuca uuuggaucc	169
	<210> 67	
	<211> 578	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 67	
	tttcagatgt tctgttactt aatagcacag tgggaacaga atcattatgc ctgcttcattg	60

	gtgacacata tttctattag gctgtcatgt ctgcgtgtgg gggctctcccc caagatatga	120
	aataattgcc cagtggaaat gagcataaat gcataattcc ttgctaagag tcttgtgttt	180
	tcttccgaag atagttttta gtttcataca aactcttccc ccttgtcaac acatgatgaa	240
	gcttttaaat acatgggcct aatctgatcc ttatgatttg cctttgtatc ccatttatac	300
	cataagcatg tttatagccc caaataaaga agtactgggtg attctacata atgaaaaatg	360
	tactcattta ttaaagtttc ttgaaatat ttgtcctgtt tatttatgga tacttagagt	420
	ctaccccatg gttgaaaagc tgattgtggc taacgctata tcaacattat gtgaaaagaa	480
	cttaaagaaa taagtaattt aaagagataa tagaacaata gacataattat caaggtaa	540
	acagatcatt actgttctgt gatattatgt gtggtatt	578
	<210> 68	
	<211> 102	
	<212> RNA	
	<213> 智人	
[0048]	<400> 68	
	acauacccaaa uauuugaag aacucuaaaa caagcauuug cugauugcac aguaauucuc	60
	ugugaacaca ggauagaagc aaugcuggaa ugccaacaau uu	102
	<210> 69	
	<211> 1323	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 69	
	tctttataac ttactttaag atctcattgc ccttgtaatt cttgataaca atctcacatg	60
	tgatagtcc tgcaaattgc aacaatgtac aagttctttt caaaaatatg tatcatacag	120
	ccatccagct ttactcaaaa tagctgcaca agtttttcac tttgatctga gccatgtggt	180
	gaggttgaaa tatagtaa	240
	atctctactgt	300
	atggatgtgg	360
	attaatgaca aagttgagag	420

	gcacatttca tttttctagc catgatttgg gttcaggtag tacctttctc aaccaccttc	480
	tcactgttct taaaaaaact gtcacatggc caggcacagt ggcttacatc tgtaatccca	540
	atactttggg aggctgaggt ggggggatta ctigaggcca ggaattcaag accagcccag	600
	gcaacatagt gaggcccat ctgtctttat taaaacaaaa caaaactgtc acagcttctt	660
	tcaagtgatg ttacaaatt ccctatgggt tagtcacaag gaagttctga ggatgatgta	720
	tcacgtcatt tctgttcagg cttttgagcc tcttgagggt aaatggttc cttactgaag	780
	gcttggtatt accatgatta tcactaagct tgaagtaaca aattaggggg gcagactcac	840
	aacctcttgc cctgccatgg acaagttcaa gaatctaagt aaagtcctct attgtctgat	900
	cttggaattg ctcaacctga acaagccaag gaggtgtatt aaactcaggc acatcctgac	960
	caatttgga tctttaagct tcagatcact gtggaagagg ctcaactctt tatggtgctg	1020
	tagacttacg ctcatTTTTCT aggttaattta taagggacct aatattttgt tttcaaagca	1080
	acttcagttc tactaaacct ccctgaagaa tcttcagct gctgagtaga aaatcacaa	1140
[0049]	taatttcaca gatggtagaa cctccttaga gcaaaaggac acagcagtta aatgtgacat	1200
	acctgattgt tcaaaatgca aggctctgga cattgcattc ttgactttt attttcctt	1260
	gagcctgtgc cagtttctgt ccctgctctg gtctgacctg ctttctgtcc cagatctcac	1320
	taa	1323
	<210> 70	
	<211> 197	
	<212> RNA	
	<213> 智人	
	<400> 70	
	ucauagaaga gaacaaagug cggcaguacg auuccaucca gaaacugcug aacgagagga	60
	gccucuuccg gcaagccauc agccccuccg acagggugaa gcucuuuucc caccggaacu	120
	caagcaagug caagucuaag ccccagauug cugcucugaa agaggagaca gaagaagagg	180
	ugcaagauac aaggcuu	197
	<210> 71	

	<211> 315	
	<212> RNA	
	<213> 智人	
	<400> 71	
	gcucuguuuc cuguggggau ggcauccagc gccggcguga caccugccuc ggaccccagg	60
	cccaggcgcc ugugccagcu gauuucugcc agcacuugcc caagccggug acugugcgug	120
	gcugcugggc ugggcccugu gugggacagg guacggccag ccuggugccc cacgaagaag	180
	ccgcugcucc aggacggacc acagccaccc cugcuggugc cuccuggag uggucccagg	240
	cccggggccu gcucuucucc ccggcucucc agccucggcg gcuccugccc gggccccagg	300
	aaaacucagu gcagu	315
	<210> 72	
	<211> 445	
	<212> RNA	
	<213> 智人	
	<400> 72	
[0050]	guccuguccu ccuuccuguc aggcagcugc ugcaggaggg gugggcaaag gcaucuuccu	60
	cugggaagga cuggcacaag cacuuggucc cuggguugug ugccugggag gccgggauca	120
	gggcuggccc ucuuucucc uggcaaagca aaaccuccu uuacuacua ucaaggggaa	180
	guaacuugaa gguaggaacc cagcuuguga gccccuagc cucugggcug cucugcaugu	240
	gccccucuu gcuggaucau cugguagcag ccugugccc ugaggugau gcucugaccu	300
	augcagcccc ccuccuguc cugagaaggc uccagcugg gccuuggagg acagggucca	360
	ccccuaccuc cuggucuccu uccucagcuu ggaagccccg gaccugccc ugcugggaau	420
	cggggaagca cugcuuaccu gucuc	445
	<210> 73	
	<211> 143	
	<212> RNA	
	<213> 智人	
	<400> 73	
	ugccuguggc aggcagcacc uugagccaac aggaaccauu gacaugcgag gcccagggca	60
	ggcagacugu gcaguggcca uugggcggcc ccucggggag guggugaccc uccgcguccu	120

	ugagaguucu cucaacugca gug	143
	<210> 74	
	<211> 173	
	<212> RNA	
	<213> 智人	
	<400> 74	
	ggacauugug cugcuuuggg gccggcucac cuggaggaag augugcagga agcuguugga	60
	caugacuuuc agcuccaaga ccaacacgcu gguggugagg cagcgcugcg ggcggccagg	120
	agguggggug cugcugcggu augggagcca gcuugcuccu gaaaccuucu aca	173
	<210> 75	
	<211> 1170	
	<212> RNA	
	<213> 智人	
	<400> 75	
	gccaggccuu cuccaccucc cuugggugcu ccaguccugg caggaggagcu gggugggugc	60
[0051]	ugcuggggau ggggccaguc ccaguggggc agugggaaga uacggaggga acugacugag	120
	auggaaggaa cugggguugg ccagugucag ucugcacug ccaggaggga gucacaggau	180
	gaaugcuaua ucccuccuuu uugggaccgu gcagcaagau ggacggau guggacauggu	240
	ccacauccuc agucagucc ucaggccucu gccccacacc caccugcccc gccccaccc	300
	cuccagccuu ucaaggguu uuaggguuu guggaagcca cuguccuca gccuguuuc	360
	agugcacugg uguaagcaga caugcuugua caugcaugug caccacaag cacaccucag	420
	gcagaggau ccaccucagg gacuccagcc uugcccugg ccccucgau auccucugau	480
	agcccucug guuguccugg ggggcuugcc cucuccaac agcccagcu ggccgaaguu	540
	ggcuuccua gcugguucca gagguuccuc ggcuccccca ggugucuggg gcuuagugc	600
	aacaggggcu uagccucugc agagaccuag ugcgccgcu ccuugcccc gaccugccc	660
	ggcagagagc cguguaugug ucccagugca caggcgcugc ugggcccugc caaaaggcca	720
	caagcccacu gucaccguuc acauugcuuc ucguucccg gccagcccc gccacacag	780
	gcaucugccu ugaaagaggu gcaggaggua caggcaggug ggggcuccag ugagcucuga	840

	ggaacagcag uggccgccau ggguggagcc uaucuuuguu gccaguuuca guguuuaaca	900
	cucuugcacg ugugacauca uugaguccua aagaccacuc ugcucagugc augccauugu	960
	uuccuucagu uacagaggag ggaaccagag cccagaacau uuagccuuug ccuaaaguca	1020
	cugggccagg aagugguaga gguggggguuc agcaggauuu gccugggaac cccaauauug	1080
	accacagugc caugcugccc ugcacggcuc ccuggcugug aguuguccug gccucuggca	1140
	ccaccggucu gucuggguuc cuaugucccu	1170
	<210> 76	
	<211> 181	
	<212> RNA	
	<213> 智人	
	<400> 76	
	augugacaug cagcucuuug ggcccugggg ugaaaucgug agccccucgc ugaguccagc	60
	cacgaguaau gcagggggcu gccggcucuu cauuaaugug gcuccgcacg cacggauugc	120
[0052]	cauccaugcc cuggccacca acaugggcgc ugggaccgag ggagccaaug ccagcuacau	180
	c	181
	<210> 77	
	<211> 149	
	<212> RNA	
	<213> 智人	
	<400> 77	
	accucuugga caggauuaac gaauaugugg gcaaagccgc cacucguuaa uccauccucu	60
	cguuacuggg ucaugucaua agacugcagc caucuuggaa gcauaagcuc ucuaagcac	120
	cucuuuugcc uucuuuacua aaaugucuc	149
	<210> 78	
	<211> 2074	
	<212> RNA	
	<213> 智人	
	<400> 78	
	auguuuguaa ggauuugaau gaaaugguuu uaugaguaua guuucugaaa uuuuaggcaa	60

	cuuaaagcaa ggaagcuaga uuuuaacuuu uagaguuuua aaccuucua gcauuuggcu	120
	uuucucaaa uagauguugu ccagaguugg uacuuaguua guucucaaa acaucacuau	180
	gacuauugaa uaccuugucc augcaaguau ggaaaaauu cgaucagaug gguucaaugu	240
	uacauuauuc caaaccucuu gauuucguca ucguuuagcc uucccucuu uaaaaacau	300
	cuggauuau uuuugggaau ccuguuucu aaauuauuu uuagcuaua gaaaaauggc	360
	uuaauguuuc uguuaaccu uuaggaguau ggucugguug cagcuauau uagacuug	420
	uugauguaa uucuaauag uugcauucua uuuuuugcac uaaauuuagu gcauuuuu	480
	auauaggag ucaaaucua aaugaacuu uaugguuuu guuuuacag uggcgugcag	540
	ccauacucag gguuuuuu uuaaucugu uuaguuccug gacuuguuu cuaucuaua	600
	aaauagaaa ugugguuau auuacugcc uguaccucac agagacuga aaauaucaa	660
	uaguauuugu uccaggagg caguaccuu ggauucauc gcucagcac caugcaauu	720
	gauuuuugug ucugccaaga aggguauc uuuuuuau ccuaggug ggucccaagg	780
[0053]	agucacauug gcaggguuu auaaaaacau gcauuuuuu cagaaaaau aggaacagu	840
	uuacaacuu aauguuuuu aaacaaugg auugaugaga auauauucua auuauuggau	900
	uggugagaau auauucuaa uggauugaug agaauauau cuauuuggau uggugagaau	960
	auauucuaa uggauugaug agaauauau cuauuuuuga ggcacaucau uuaguucaga	1020
	uugcaaaaca cuuauuuuu ccaaaagagu acguuuugu aaucaggau aagucuucag	1080
	uuagacugu aggaaauga auucagggu aguuuuuu gcugagaauc auuauuagu	1140
	cucuuuuu cucauucuc cuaccauu auuauucua cuggauauc uccguuuga	1200
	aaggcuugau gcuugaugua aaaaucuaa uauuuuuu acuuuuuucc cagacucua	1260
	gauuccuuu cuauuaggaa uauuggaug cuuaccuac auaguaguc uuugauuuau	1320
	auuuuuuu auuuuucua auuucucua ccuggcaaac auuauugau uauuuuugg	1380
	ucaggugagc ugcuguagcu agcuagucag agcugauuga guauccauug gguguuagu	1440
	gucuuucagu agccugaagu uuuuuuuu acuuuuuu uaaacugag gcgugcugaa	1500
	agguuuucc auauauau uuuuuuuu uggucucua auucugcuu gaugugagcc	1560

	uuuaaguuga cuuguuagug cuauaugaau uucuccuua auuauacuuc uguuguaguu	1620
	cuuuaaaaaa uaguaaguua cuugucaaug ugcaguuuuu uuuuuuuuuu auuaacaaaa	1680
	aguaaguauuc uuaggauuug guugaaugaa ugaaacagag cagugcuccu guguuuuguu	1740
	gaaaagcagc uccuuuuguu uucauccaac ugcuaucaau agggcauccu aaggcugcag	1800
	gacuugggug uccccaaguc aaguuugaac ucgucucccg gaugccuuug cauaggugug	1860
	uuguaaaugg uccucacuga cucauuacag uagaguuggg gcucaguguu cuguugaguc	1920
	uguuugaaug uuaucccuuc aguaauccuu agggauaggg aaugaguac gugagucaac	1980
	uugugauuug ugauucucuc aguguuuaga gccucucau guacuguaca augccgaucc	2040
	uggugccagu gccugacaga cguuuccugu uuga	2074
	<210> 79	
	<211> 141	
	<212> RNA	
	<213> 智人	
[0054]	<400> 79	
	uggacacuga cgucguuguc cucacaacag gcgucuuggu guugauaacc augcuaccaa	60
	ugauuccaca gucugggaaa cagcaucuuc uugauuucuu ugacauuuuu ggccgucugu	120
	caucauggug ccugaagaaa c	141
	<210> 80	
	<211> 112	
	<212> RNA	
	<213> 智人	
	<400> 80	
	gugugcuacu ucuaccccuu acuccacguc ucggcugaug uuguuaaaua ugccagggca	60
	gcuaccucag acucugaguu ccccaucgac acggcugaua acugaaccac ca	112
	<210> 81	
	<211> 319	
	<212> RNA	
	<213> 智人	
	<400> 81	
	gugucaacua gugugccugc ucucuccucu gcuuucuggu gaagcugacc cuuuggguca	60

	gauuuaguau gugguuggga aaauuucaca cugcucuuu caggagucac uuuuaaggau	120
	ccaugauuu agcaaagaaa guuacuguug ccucuuagau ucaucuugaa gucuugauuu	180
	acaaaugca acuuguuucu ugauacgcuu uuaauaagau gccuuuuucu agaugaaaa	240
	gcuaauuuu agcugaacac uggccaugga uauaaaccuc guggaugacu uagcauuccu	300
	uugccacugc ugauguacu	319
	<210> 82	
	<211> 108	
	<212> RNA	
	<213> 智人	
	<400> 82	
	cuacucuuug gagcccaucu augguuugug guaugaccac uccuccaacu ucuccugaa	60
	auguccacc ugaucuguca cacccuaca guaaagucuu ugguacaa	108
	<210> 83	
	<211> 289	
	<212> RNA	
	<213> 智人	
	<400> 83	
	uagucuuag guuggauuug auuaguuggu uuuggccugc cuuuauuggc aggaggagcu	60
	cucuuuuaga ucuaggac cacuugcugu uguaaacuug uuuuugacac uuauugcaaa	120
	ucccuggggc uuucagaug uguaaaguga accuaaaaac aaaaaagaga gagacugauc	180
	uagaucacca gaaaguuaac ucuagcagcu uuauuuauag uaauaguau aggcugaaaa	240
	aaaucggca guuuuucuaa uaguugggcu cagugucau auauguucu	289
	<210> 84	
	<211> 118	
	<212> RNA	
	<213> 智人	
	<400> 84	
	agguggaaaa ggaacuccuc ugggaacccc agcaaccucu ccuccuccag cccacucug	60
	ucauucggau gacuacugc acauuucacu cccccaggcc acagucacac cccccagg	118

[0055]

	<210> 85	
	<211> 141	
	<212> RNA	
	<213> 智人	
	<400> 85	
	gaugaugggc ucccugcugg ccgccacuac ggaggcccu ggcgaguacu ucuucucaga	60
	cggggugcgg cucaagaagu accggggcau gggcucacug gaugccaugg agaagagcag	120
	cagcagccag aaacgauacu u	141
	<210> 86	
	<211> 269	
	<212> RNA	
	<213> 智人	
	<400> 86	
	cugaccugg gccccaccug ggcagaucag cccacaacc uucagggcc gcucaugcca	60
	ccgacuucc cagauggcag ccagucccca uauuguguu cuggaaacug aggcacaggg	120
	cuuaaguagc agaccagga ucuguccug ggccaucuga cucagcccag ugaggggugg	180
[0056]	ccugggggac cuuccugggc gguauccegu uuugcccu aagagguggg gugggguccu	240
	cugagcuuca agcugcuggg cucagucuu	269
	<210> 87	
	<211> 140	
	<212> RNA	
	<213> 智人	
	<400> 87	
	gagggggaua aagugaagau cgcgcagggu gucucgggu ccauccagga caaaggaucc	60
	auucagaagu ucgugccua ccucauagca ggcauccaac acggcugcca ggauaucggg	120
	gcccgcagcc ugucuguccu	140
	<210> 88	
	<211> 49	
	<212> RNA	
	<213> 智人	
	<400> 88	

	aggccuuugu uggacagaug aagagugacu uguuucugga ugauucuaa	49
	<210> 89	
	<211> 204	
	<212> RNA	
	<213> 智人	
	<400> 89	
	uucccuagag aaaccucgag ccugggugca ggucacugug ucuggggugc cgggggugug	60
	cgggcugcgu guccuugcug ggugucugug gcuccaugug gucacaccac ccgggagcag	120
	guuugcucgg aagcccaggg uguccugcg ugacuggacg ggggugggcu guguguguga	180
	cacaucuccu gguaccuugc ugac	204
	<210> 90	
	<211> 181	
	<212> RNA	
	<213> 智人	
	<400> 90	
[0057]	cuggugugcu ggcccuccgg cgaggaacg cucaguuggc cggaccugcu cagugacccg	60
	uccauugugg guagcaaucu gcggcagcug gcacggggcc aggcgggcca ugggcugggc	120
	ccagaggagg acggcuucuc ccuggccagc ccuacucgc cugccaaauc cuucucagca	180
	u	181
	<210> 91	
	<211> 57	
	<212> RNA	
	<213> 智人	
	<400> 91	
	cuggggugag aggagggggc ucugaagcuc acccuugcag cugggcccac ccuaugc	57
	<210> 92	
	<211> 90	
	<212> RNA	
	<213> 智人	
	<400> 92	
	ugaagaccug auccagcagg uccuugccga gggggucagc agcccagccc cuaccaaga	60

	caccacacaug gaaacggacc ugcucagcag	90
	<210> 93	
	<211> 191	
	<212> RNA	
	<213> 智人	
	<400> 93	
	ucuugcugga agcccuguac uucucacugg uggccaagcg gcugcaccg gaugaagaug	60
	acaccuggu agagagcccg gcugugacgc cugugagcgc acgugugccc cgcguacggc	120
	cacccacgg cuuugcacuc uuccuggcca aggaagaagc ccgcaagguc aagaggcuac	180
	auggcaugcu g	191
	<210> 94	
	<211> 430	
	<212> RNA	
	<213> 智人	
	<400> 94	
[0058]	ccugggucg gccugugccc cugccaccuc cgucucuugu cuccaccuc ccaccaugc	60
	acgcaggaca cuccuguccc ccuuuccuca ccucagaagg ccuuagggg uucaaugcuc	120
	ugcagccuuu gcccggucuc ccuccuacc cagcccccc acuugcugcc ccagucccug	180
	ccagggccca gcuccaauugc ccacuccugc cuggcccuga agggcccuua gcaccacugc	240
	aguggccugu gugucugccc ccaggugggg uuccgggcag ggugugugcu gccauuacc	300
	uggccaggua gagucuuggg gcgccccug ccagcucacc uuccugcagc cacaccugcc	360
	gcagccaugg cuccagccgu ugccaaagcc cugcugucac ugugggcugg ggccaggcug	420
	accacagggc	430
	<210> 95	
	<211> 136	
	<212> RNA	
	<213> 智人	
	<400> 95	
	gccuccuggu guacaugcuu uuucugcugg ugaccucugcu ggccagcuau ggggaugccu	60
	caugccaugg gcacgccuac cgucugcaaa gcgccaauaa gcaggagcug cacagccggg	120

	ccuuccuggc caucac	136
	<210> 96	
	<211> 341	
	<212> RNA	
	<213> 智人	
	<400> 96	
	ggcauccggu gcacuggucu gucuucuggg cuuuaguuuu gccuuuaguc cagccagacc	60
	cuaggggaca uguggacaug uguagauacc uuuguggcug cuagaacugg agguaggugc	120
	ugcuggcauc aguaggcaga ggggagggac acagguccgu gucuugcagu gcacaggacg	180
	ggcccaugac agacaacugu cugccccaga acauccccag gauaaggcug agaagcccag	240
	gucuagccgu ggccagcagg gcagugggag ccauguuccc ugggucucug guggccgcuc	300
	acucgaggcg ggcauggggc aguaggggcu ggagcgugug a	341
[0059]	<210> 97	
	<211> 109	
	<212> RNA	
	<213> 智人	
	<400> 97	
	ucugaggagc ucuggccaug gauggccac gugcugcugc ccuacgucca cggaaccag	60
	uccagcccag agcuggggcc cccacggcug cggcaggugc ggcugcagg	109
	<210> 98	
	<211> 93	
	<212> RNA	
	<213> 智人	
	<400> 98	
	augagucugc uuugcccugg gaugaccaua gaccacaagu uaccuggcgg ggggauggac	60
	aguuuuuugc ugugaguguu guuugcccag aaa	93
	<210> 99	
	<211> 331	
	<212> RNA	
	<213> 智人	

<400> 99
 gaaauauuu gcaguuaaac aacaauaaaa aauiuuuuuuc uuauuuuuuu uaaggaaaau 60
 uuucuuucuu uugcuuugag uaggguauua auuauacaua ugaggcaagg augugcugcu 120
 uuaaauguga aaugagguua gaguuuagaa uuagaagagu ccuuugaggc cauuuggucc 180
 auccuccuac cugguggaca caaauiugua acaaauiuaa ucuauiuggc uauguuaaac 240
 cauggcaguu uiuuuiugua aggaaggugu uugaauaguu cugaauugac aacuiuuuuc 300
 auuauuuuu aaguguguau guguguuuga c 331

<210> 100
 <211> 87
 <212> RNA
 <213> 智人

<400> 100
 ggcucggaag gucagagugu ggaaccgaga guuugcuuug cagucaacca gugagccugu 60
 ggcaggacug ggaccagccc ugguuug 87

[0060]

<210> 101
 <211> 1120
 <212> RNA
 <213> 智人

<400> 101
 ugggagaaga aaccuuagag aauiucuuug aaccagagua gagguggugg uacacaugga 60
 uacagaugau acagauiuuu guguaacaca aaaggauuuu uacguuucuu cauiugguua 120
 uaaggcugua ucuaucuuug uiuuucuuuu uiuuuuuuuuc uuauucccug aagucugaau 180
 ucaacucgaa uaguagauuu uacguuucuu cacagauuuc auuguuccaa ggccgcgauu 240
 auuiugcauu ccuaacucuu aaaaggcugu gguuuuaagg caggguauau augaagccau 300
 uguacagagc agaaaauggu guuuagaagg gaaggcccag uuugcaaggc ucuguggggc 360
 aauggugcu uiuugggaaa uuagggaag agccuccuuc cuuggcaca aauiuccuaca 420
 gcagaggauu ucuugccaa ggagcaugca ggcuggauuc agaccugcu cuuuccuucc 480
 auucuccucc uuggcccagu acccuugugc agguuacaau uugccugua uaugggcug 540
 ccugauuuua gauagaagau guaucuccuc uguuucggug auaucuguug uauguagacc 600

	ucuuguuucc caccaguauc ugaauugguau uauaugauag agcagaagag aaauguauuu	660
	gaauuuuuac ccuagagaca aaauagaaua agaugaggca auuaagaugu uuucaacauu	720
	uggugaaguc uuaaaaaaga ccuacuggag cauagaauau uugcugaagu uguauaaugg	780
	aaggagaaau agauuuugau uuuuaggaca uuauaccugg aaugguuuag auaacuuuuu	840
	auuuuuuaag ucauccaaaau gcaauguaaa uauguaaggu uuugugggca aauggagccu	900
	cuguguaaaa caggaaaagg cacucuucc ucugggcaag uacaguccca cagugggaug	960
	aaccgcucgc cgagagacaa gggacacaug ggauuuuaaa cuuccuugga uaaagauuuu	1020
	cauuuuuucg uucauucuu cauucauguu ugcuggaaaa aaaacucuuc uggauuuuuu	1080
	cuauucuuua guuaggugag cuuucgauau uguaacacuc	1120
	<210> 102	
	<211> 120	
	<212> RNA	
	<213> 智人	
[0061]	<400> 102	
	cccucaggca guuugauugc aucuacacaa gauaaaccca accagcagga uauuguguuu	60
	uuugagaaaa auggacuccu ucauggacac uuacacuuc ccuuccuuaa agaugagguu	120
	<210> 103	
	<211> 18	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸	
	<400> 103	
	ccagtgttat tgcttacc	18
	<210> 104	
	<211> 18	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸	

	<p><400> 104 ctgtcttgta accttgat</p>	18
	<p><210> 105 <211> 18 <212> DNA <213> 人工序列</p>	
	<p><220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸</p>	
	<p><400> 105 cctgtcttgt aaccttga</p>	18
	<p><210> 106 <211> 18 <212> DNA <213> 人工序列</p>	
	<p><220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸</p>	
[0062]	<p><400> 106 acctgtcttg taaccttg</p>	18
	<p><210> 107 <211> 18 <212> DNA <213> 人工序列</p>	
	<p><220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸</p>	
	<p><400> 107 aacctgtctt gtaacctt</p>	18
	<p><210> 108 <211> 18 <212> DNA <213> 人工序列</p>	
	<p><220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸</p>	
	<p><400> 108</p>	

	aaacctgtct tgtaacct	18
	<210> 109 <211> 18 <212> DNA <213> 人工序列 <220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸 <400> 109 taaacctgtc ttgtaacc	18
	<210> 110 <211> 18 <212> DNA <213> 人工序列 <220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸 <400> 110 ttaaacctgt cttgtaac	18
[0063]	<210> 111 <211> 18 <212> DNA <213> 人工序列 <220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸 <400> 111 cttaaacctg tcttgtaa	18
	<210> 112 <211> 18 <212> DNA <213> 人工序列 <220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸 <400> 112 ccttaaacct gtcttgta	18

	<p><210> 113 <211> 18 <212> DNA <213> 人工序列</p> <p><220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸</p> <p><400> 113 tccttaaacc tgtcttgt</p>	18
	<p><210> 114 <211> 18 <212> DNA <213> 人工序列</p> <p><220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸</p> <p><400> 114 ctccttaaac ctgtcttg</p>	18
[0064]	<p><210> 115 <211> 18 <212> DNA <213> 人工序列</p> <p><220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸</p> <p><400> 115 tctccttaaa cctgtctt</p>	18
	<p><210> 116 <211> 18 <212> DNA <213> 人工序列</p> <p><220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸</p> <p><400> 116 gtctccttaa acctgtct</p>	18
	<p><210> 117</p>	

	<p><211> 18 <212> DNA <213> 人工序列</p> <p><220> <223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸</p> <p><400> 117 ggtctcctta aacctgtc</p>	18
	<p><210> 118 <211> 18 <212> DNA <213> 人工序列</p> <p><220> <223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸</p> <p><400> 118 tggtctcctt aaacctgt</p>	18
[0065]	<p><210> 119 <211> 18 <212> DNA <213> 人工序列</p> <p><220> <223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸</p> <p><400> 119 ttggtctcct taaacctg</p>	18
	<p><210> 120 <211> 18 <212> DNA <213> 人工序列</p> <p><220> <223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸</p> <p><400> 120 attggtctcc ttaacct</p>	18
	<p><210> 121 <211> 18 <212> DNA</p>	

	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400> 121	
	tattggtctc cttaaacc	18
	<210> 122	
	<211> 18	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400> 122	
	ctattggtct ccttaaac	18
	<210> 123	
	<211> 18	
	<212> DNA	
[0066]	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400> 123	
	tctattgggc tccttaaa	18
	<210> 124	
	<211> 18	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400> 124	
	ttctattggt ctcttaa	18
	<210> 125	
	<211> 18	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	

	<220>	
	<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸	
	<400> 125	
	tttctattgg tctcctta	18
	<210> 126	
	<211> 18	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸	
	<400> 126	
	gtttctattg gtctcctt	18
	<210> 127	
	<211> 18	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
[0067]	<220>	
	<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸	
	<400> 127	
	accggacccc cagggccc	18
	<210> 128	
	<211> 18	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸	
	<400> 128	
	tgccctaccgg acccccag	18
	<210> 129	
	<211> 18	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸	

	<p><400> 129 cccatgcct accggacc</p>	18
	<p><210> 130 <211> 18 <212> DNA <213> 人工序列</p>	
	<p><220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸</p>	
	<p><400> 130 atgaccccca tgcctacc</p>	18
	<p><210> 131 <211> 18 <212> DNA <213> 人工序列</p>	
	<p><220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸</p>	
[0068]	<p><400> 131 cctccatgac ccccatgc</p>	18
	<p><210> 132 <211> 18 <212> DNA <213> 人工序列</p>	
	<p><220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸</p>	
	<p><400> 132 tctcccctcc atgacccc</p>	18
	<p><210> 133 <211> 18 <212> DNA <213> 人工序列</p>	
	<p><220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸</p>	
	<p><400> 133</p>	

	gaggaggacg ccggcttc	18
	<210> 134 <211> 18 <212> DNA <213> 人工序列 <220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸 <400> 134 gctgggagga ggacgccg	18
	<210> 135 <211> 18 <212> DNA <213> 人工序列 <220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸 <400> 135 agtcggctgg gaggagga	18
[0069]	<210> 136 <211> 18 <212> DNA <213> 人工序列 <220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸 <400> 136 cagggagtcg gctgggag	18
	<210> 137 <211> 18 <212> DNA <213> 人工序列 <220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸 <400> 137 ggcgccaggg agtcggct	18

	<p><210> 138 <211> 18 <212> DNA <213> 人工序列</p> <p><220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸</p> <p><400> 138 tgggcggcgc cagggagt</p>	18
	<p><210> 139 <211> 18 <212> DNA <213> 人工序列</p> <p><220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸</p> <p><400> 139 ccccacctgg gtctggcc</p>	18
[0070]	<p><210> 140 <211> 18 <212> DNA <213> 人工序列</p> <p><220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸</p> <p><400> 140 cccagcccca cctgggtc</p>	18
	<p><210> 141 <211> 18 <212> DNA <213> 人工序列</p> <p><220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸</p> <p><400> 141 cgtccccag cccacct</p>	18
	<p><210> 142</p>	

	<p><211> 18 <212> DNA <213> 人工序列</p> <p><220> <223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸</p> <p><400> 142 tcctctgggtc cccagccc</p>	18
	<p><210> 143 <211> 18 <212> DNA <213> 人工序列</p> <p><220> <223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸</p> <p><400> 143 ggaggctgcg atctgggc</p>	18
[0071]	<p><210> 144 <211> 18 <212> DNA <213> 人工序列</p> <p><220> <223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸</p> <p><400> 144 ctgcatctg ggctcccc</p>	18
	<p><210> 145 <211> 18 <212> DNA <213> 人工序列</p> <p><220> <223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸</p> <p><400> 145 atctgggctc cccccacc</p>	18
	<p><210> 146 <211> 18 <212> DNA</p>	

	<p><213> 人工序列</p> <p><220></p> <p><223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸</p> <p><400> 146</p> <p>ggctccccc accttggtg</p>	18
	<p><210> 147</p> <p><211> 18</p> <p><212> DNA</p> <p><213> 人工序列</p> <p><220></p> <p><223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸</p> <p><400> 147</p> <p>ttgtgtccct cggtcgcc</p>	18
[0072]	<p><210> 148</p> <p><211> 18</p> <p><212> DNA</p> <p><213> 人工序列</p> <p><220></p> <p><223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸</p> <p><400> 148</p> <p>ccaccttggtg tccctcgg</p>	18
	<p><210> 149</p> <p><211> 18</p> <p><212> DNA</p> <p><213> 人工序列</p> <p><220></p> <p><223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸</p> <p><400> 149</p> <p>tcceccacc ttgtgtcc</p>	18
	<p><210> 150</p> <p><211> 18</p> <p><212> RNA</p> <p><213> 人工序列</p>	

	<220>	
	<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸	
	<400> 150	
	caggaaggag gacaggac	18
	<210> 151	
	<211> 18	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸	
	<400> 151	
	ccugacagga aggaggac	18
	<210> 152	
	<211> 18	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
[0073]	<220>	
	<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸	
	<400> 152	
	agcugccuga caggaagg	18
	<210> 153	
	<211> 18	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸	
	<400> 153	
	gcagcagcug ccugacag	18
	<210> 154	
	<211> 18	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸	

	<p><400> 154 cuccugcagc agcugccu</p>	18
	<p><210> 155 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列</p>	
	<p><220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸</p>	
	<p><400> 155 cacccuccu gcagcagc</p>	18
	<p><210> 156 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列</p>	
	<p><220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸</p>	
[0074]	<p><400> 156 uugcccaccc cuccugca</p>	18
	<p><210> 157 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列</p>	
	<p><220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸</p>	
	<p><400> 157 ugccuuugcc cacccuc</p>	18
	<p><210> 158 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列</p>	
	<p><220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸</p>	
	<p><400> 158</p>	

	gaagaugccu uugccac	18
	<210> 159 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列 <220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸 <400> 159 gagacaggua agcagugc	18
	<210> 160 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列 <220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸 <400> 160 agguaagcag ugcuuccc	18
[0075]	<210> 161 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列 <220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸 <400> 161 agcagugcuu ccccgauu	18
	<210> 162 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列 <220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸 <400> 162 ugcuuucccg auucccag	18

	<p><210> 163 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列</p> <p><220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸</p> <p><400> 163 ccccgauucc cagcaggg</p>	18
	<p><210> 164 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列</p> <p><220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸</p> <p><400> 164 auucccagca gggcaggc</p>	18
[0076]	<p><210> 165 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列</p> <p><220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸</p> <p><400> 165 cagcagggca ggcuccgg</p>	18
	<p><210> 166 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列</p> <p><220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸</p> <p><400> 166 agcagggcag gcuccggg</p>	18
	<p><210> 167</p>	

	<211> 18	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400> 167	
	gggcuuccaa gcugagga	18
	<210> 168	
	<211> 18	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400> 168	
	agguggagaa ggccuggc	18
[0077]	<210> 169	
	<211> 18	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400> 169	
	aagggaggug gagaaggc	18
	<210> 170	
	<211> 18	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400> 170	
	caccaaggg agguggag	18
	<210> 171	
	<211> 18	
	<212> RNA	

	<p><213> 人工序列</p> <p><220></p> <p><223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸</p> <p><400> 171</p> <p>uggagcaccc aaggagg</p>	18
	<p><210> 172</p> <p><211> 18</p> <p><212> RNA</p> <p><213> 人工序列</p> <p><220></p> <p><223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸</p> <p><400> 172</p> <p>aggacuggag cacccaag</p>	18
[0078]	<p><210> 173</p> <p><211> 18</p> <p><212> RNA</p> <p><213> 人工序列</p> <p><220></p> <p><223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸</p> <p><400> 173</p> <p>cugccaggac uggagcac</p>	18
	<p><210> 174</p> <p><211> 18</p> <p><212> RNA</p> <p><213> 人工序列</p> <p><220></p> <p><223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸</p> <p><400> 174</p> <p>ccuccugcc aggacugg</p>	18
	<p><210> 175</p> <p><211> 18</p> <p><212> RNA</p> <p><213> 人工序列</p>	

	<220>	
	<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸	
	<400> 175	
	cccagccucc cugccagg	18
	<210> 176	
	<211> 18	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸	
	<400> 176	
	agggacauag gaacccag	18
	<210> 177	
	<211> 18	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
[0079]	<220>	
	<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸	
	<400> 177	
	cauaggaacc cagacaga	18
	<210> 178	
	<211> 18	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸	
	<400> 178	
	gaaccagac agaccggu	18
	<210> 179	
	<211> 18	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸	

	<p><400> 179 cagacagacc gguggugc</p>	18
	<p><210> 180 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列</p>	
	<p><220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸</p>	
	<p><400> 180 agaccggugg ugccagag</p>	18
	<p><210> 181 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列</p>	
	<p><220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸</p>	
[0080]	<p><400> 181 gguggugcca gaggccag</p>	18
	<p><210> 182 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列</p>	
	<p><220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸</p>	
	<p><400> 182 ugccagaggc caggacaa</p>	18
	<p><210> 183 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列</p>	
	<p><220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸</p>	
	<p><400> 183</p>	

	gaggccagga caacucac	18
	<210> 184 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列 <220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸 <400> 184 cagcugccug acaggaag	18
	<210> 185 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列 <220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸 <400> 185 gcagcugccu gacaggaa	18
[0081]	<210> 186 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列 <220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸 <400> 186 agcagcugcc ugacagga	18
	<210> 187 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列 <220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸 <400> 187 cagcagcugc cugacagg	18

	<p><210> 188 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列</p> <p><220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸</p> <p><400> 188 gcagcagcug ccugacag</p>	18
	<p><210> 189 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列</p> <p><220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸</p> <p><400> 189 ugcagcagcu gccugaca</p>	18
[0082]	<p><210> 190 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列</p> <p><220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸</p> <p><400> 190 cugcagcagc ugccugac</p>	18
	<p><210> 191 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列</p> <p><220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸</p> <p><400> 191 ccugcagcag cugccuga</p>	18
	<p><210> 192</p>	

	<211> 18	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400> 192	
	uccugcagca gcugccug	18
	<210> 193	
	<211> 18	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400> 193	
	cuccugcagc agcugccu	18
[0083]	<210> 194	
	<211> 18	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400> 194	
	ccuccugcag cagcugcc	18
	<210> 195	
	<211> 18	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400> 195	
	cccuccugca gcagcugc	18
	<210> 196	
	<211> 18	
	<212> RNA	

	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400> 196	
	ccccuccugc agcagcug	18
	<210> 197	
	<211> 18	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400> 197	
	acccuccug cagcagcu	18
	<210> 198	
	<211> 18	
	<212> RNA	
[0084]	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400> 198	
	ucaaauccuu acaaacau	18
	<210> 199	
	<211> 18	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400> 199	
	uucauucaaa uccuuaca	18
	<210> 200	
	<211> 18	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	

	<220>	
	<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸	
	<400> 200	
	accuuuau ucaauucc	18
	<210> 201	
	<211> 18	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸	
	<400> 201	
	auaaaaccu uucauua	18
	<210> 202	
	<211> 18	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
[0085]	<220>	
	<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸	
	<400> 202	
	uacucauaaa accauuuc	18
	<210> 203	
	<211> 18	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸	
	<400> 203	
	aacuauacuc auaaaacc	18
	<210> 204	
	<211> 18	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸	

	<p><400> 204 ucagaaacua uacucaua</p>	18
	<p><210> 205 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列</p>	
	<p><220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸</p>	
	<p><400> 205 aaauuucaga aacuaauac</p>	18
	<p><210> 206 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列</p>	
	<p><220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸</p>	
[0086]	<p><400> 206 ucaaacagga aacgucug</p>	18
	<p><210> 207 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列</p>	
	<p><220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸</p>	
	<p><400> 207 caggaaacgu cugucagg</p>	18
	<p><210> 208 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列</p>	
	<p><220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸</p>	
	<p><400> 208</p>	

	aacgucuguc aggcacug	18
	<210> 209 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列 <220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸 <400> 209 cugucaggca cuggcacc	18
	<210> 210 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列 <220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸 <400> 210 aggcacuggc accaggau	18
[0087]	<210> 211 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列 <220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸 <400> 211 cuggcaccag gaucggca	18
	<210> 212 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列 <220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸 <400> 212 accaggau cg gcauugua	18

	<p><210> 213 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列</p> <p><220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸</p> <p><400> 213 gaucggcauu guacagua</p>	18
	<p><210> 214 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列</p> <p><220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸</p> <p><400> 214 aggcacacua guugacac</p>	18
[0088]	<p><210> 215 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列</p> <p><220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸</p> <p><400> 215 agagcaggca cacuaguu</p>	18
	<p><210> 216 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列</p> <p><220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸</p> <p><400> 216 aggagagagc aggcacac</p>	18
	<p><210> 217</p>	

	<211> 18 <212> RNA <213> 人工序列	
	<220> <223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400> 217 agcagaggag agagcagg	18
	<210> 218 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列	
	<220> <223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400> 218 cagaaagcag aggagaga	18
[0089]	<210> 219 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列	
	<220> <223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400> 219 uucaccagaa agcagagg	18
	<210> 220 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列	
	<220> <223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400> 220 ucagcuucac cagaaagc	18
	<210> 221 <211> 18 <212> RNA	

	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400> 221	
	aagggucagc uucaccag	18
	<210> 222	
	<211> 18	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400> 222	
	aguacaucag caguggca	18
	<210> 223	
	<211> 18	
	<212> RNA	
[0090]	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400> 223	
	aucagcagug gcaaagga	18
	<210> 224	
	<211> 18	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400> 224	
	caguggcaaa ggaaugcu	18
	<210> 225	
	<211> 18	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	

	<220>	
	<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸	
	<400> 225	
	gcaaaggaaU gcuaaguc	18
	<210> 226	
	<211> 18	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸	
	<400> 226	
	ggaaugcuaa gucaucca	18
	<210> 227	
	<211> 18	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
[0091]	<220>	
	<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸	
	<400> 227	
	gcuaagucAU ccacgagg	18
	<210> 228	
	<211> 18	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸	
	<400> 228	
	gucauccacg agguuuau	18
	<210> 229	
	<211> 18	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸	

	<p><400> 229 ccacgagguu uauaucca</p>	18
	<p><210> 230 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列</p>	
	<p><220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸</p>	
	<p><400> 230 aauccaaccu aagacaua</p>	18
	<p><210> 231 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列</p>	
	<p><220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸</p>	
[0092]	<p><400> 231 aaucaaaucc aaccuaag</p>	18
	<p><210> 232 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列</p>	
	<p><220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸</p>	
	<p><400> 232 caacuaauca aauccaac</p>	18
	<p><210> 233 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列</p>	
	<p><220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸</p>	
	<p><400> 233</p>	

	aaaaccaacu aaucaaau	18
	<210> 234 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列 <220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸 <400> 234 aggccaaaac caacuaau	18
	<210> 235 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列 <220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸 <400> 235 aaggcaggcc aaaaccaa	18
[0093]	<210> 236 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列 <220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸 <400> 236 cauuaaaggc aggccaaa	18
	<210> 237 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列 <220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸 <400> 237 ccugccauua aaggcagg	18

	<210> 238	
	<211> 18	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400> 238	
	agaacaua ugaacacu	18
	<210> 239	
	<211> 18	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400> 239	
	auauaugaac acugagcc	18
[0094]	<210> 240	
	<211> 18	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400> 240	
	ugaacacuga gccaacu	18
	<210> 241	
	<211> 18	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400> 241	
	acugagcca acuauuag	18
	<210> 242	

	<211> 18	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400> 242	
	gccaacuau uagaaaa	18
	<210> 243	
	<211> 18	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400> 243	
	acuauuagaa aaacugcc	18
[0095]	<210> 244	
	<211> 18	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400> 244	
	uagaaaacu gccgauuu	18
	<210> 245	
	<211> 18	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400> 245	
	aaacugccga uuuuuuuu	18
	<210> 246	
	<211> 14	
	<212> RNA	

	<p><213> 人工序列</p> <p><220></p> <p><223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸</p> <p><400> 246</p> <p>gggcccaggg ucag</p>	14
	<p><210> 247</p> <p><211> 18</p> <p><212> RNA</p> <p><213> 人工序列</p> <p><220></p> <p><223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸</p> <p><400> 247</p> <p>cugaucugcc cagguggg</p>	18
[0096]	<p><210> 248</p> <p><211> 18</p> <p><212> RNA</p> <p><213> 人工序列</p> <p><220></p> <p><223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸</p> <p><400> 248</p> <p>gugggcugau cugcccag</p>	18
	<p><210> 249</p> <p><211> 18</p> <p><212> RNA</p> <p><213> 人工序列</p> <p><220></p> <p><223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸</p> <p><400> 249</p> <p>ggguuguggg cugaucug</p>	18
	<p><210> 250</p> <p><211> 18</p> <p><212> RNA</p> <p><213> 人工序列</p>	

	<220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸	
	<400> 250 cugaaggguu gugggcug	18
	<210> 251 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列	
	<220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸	
	<400> 251 gggcccugaa gguugug	18
	<210> 252 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列	
[0097]	<220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸	
	<400> 252 ugagcgggcc cugaagg	18
	<210> 253 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列	
	<220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸	
	<400> 253 uggcaugagc gggcccug	18
	<210> 254 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列	
	<220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸	

	<400> 254 aagacugagc ccagcagc	18
	<210> 255 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列	
	<220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸	
	<400> 255 ugagcccagc agcuugaa	18
	<210> 256 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列	
	<220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸	
[0098]	<400> 256 ccagcagcuu gaagcuca	18
	<210> 257 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列	
	<220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸	
	<400> 257 agcuugaagc ucagagga	18
	<210> 258 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列	
	<220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸	
	<400> 258	

	gaagcucaga ggacccca	18
	<210> 259 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列 <220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸 <400> 259 ucagaggacc ccacccca	18
	<210> 260 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列 <220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸 <400> 260 ggaccccacc ccaccucu	18
[0099]	<210> 261 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列 <220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸 <400> 261 ccaccccacc ucuuaagg	18
	<210> 262 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列 <220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸 <400> 262 augagcgggc ccugaagg	18

	<p><210> 263 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列</p> <p><220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸</p> <p><400> 263 caugagcggg ccugaag</p>	18
	<p><210> 264 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列</p> <p><220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸</p> <p><400> 264 gcaugagcgg gccugaa</p>	18
[0100]	<p><210> 265 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列</p> <p><220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸</p> <p><400> 265 ggcaugagcg ggcccuga</p>	18
	<p><210> 266 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列</p> <p><220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸</p> <p><400> 266 uggcaugagc gggcccug</p>	18
	<p><210> 267</p>	

	<211> 18 <212> RNA <213> 人工序列	
	<220> <223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400> 267 guggcaugag cgggcccu	18
	<210> 268 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列	
	<220> <223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400> 268 gguggcauga gcgggccc	18
[0101]	<210> 269 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列	
	<220> <223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400> 269 cgguggcaug agcgggcc	18
	<210> 270 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列	
	<220> <223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400> 270 ucgguggcau gagcgggc	18
	<210> 271 <211> 18 <212> RNA	

	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400> 271	
	gucgguggca ugagcggg	18
	<210> 272	
	<211> 18	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400> 272	
	cgagguuucu cuaggaa	18
	<210> 273	
	<211> 18	
	<212> RNA	
[0102]	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400> 273	
	gggcucgagg uuucucua	18
	<210> 274	
	<211> 18	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400> 274	
	caccaggguu cgagguuu	18
	<210> 275	
	<211> 18	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	

	<220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸	
	<400> 275 accugcacca gggcucga	18
	<210> 276 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列	
	<220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸	
	<400> 276 cagugaccug caccaggg	18
	<210> 277 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列	
[0103]	<220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸	
	<400> 277 agacacagug accugcac	18
	<210> 278 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列	
	<220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸	
	<400> 278 accccagaca cagugacc	18
	<210> 279 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列	
	<220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸	

	<p><400> 279 ccggcacccc agacacag</p>	18
	<p><210> 280 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列</p>	
	<p><220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸</p>	
	<p><400> 280 gucagcaagg uaccaggg</p>	18
	<p><210> 281 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列</p>	
	<p><220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸</p>	
[0104]	<p><400> 281 gggauguguc acacacac</p>	18
	<p><210> 282 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列</p>	
	<p><220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸</p>	
	<p><400> 282 gugucacaca cacagccc</p>	18
	<p><210> 283 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列</p>	
	<p><220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸</p>	
	<p><400> 283</p>	

	acacacacag cccacccc	18
	<210> 284 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列 <220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸 <400> 284 cacagcccac ccccgucc	18
	<210> 285 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列 <220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸 <400> 285 cccacccccg uccaguca	18
[0105]	<210> 286 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列 <220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸 <400> 286 ccccguccag ucacgcac	18
	<210> 287 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列 <220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸 <400> 287 uccagucacg cacggaca	18

	<210> 288	
	<211> 18	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸	
	<400> 288	
	ccccuccucu caccag	18
	<210> 289	
	<211> 18	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸	
	<400> 289	
	agagccccu ccucac	18
[0106]	<210> 290	
	<211> 18	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸	
	<400> 290	
	gcuucagagc cccuccu	18
	<210> 291	
	<211> 18	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸	
	<400> 291	
	ggugagcuuc agagccc	18
	<210> 292	

	<p><211> 18 <212> RNA <213> 人工序列</p> <p><220> <223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸</p> <p><400> 292 gcaaggguga gcuucaga</p>	18
	<p><210> 293 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列</p> <p><220> <223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸</p> <p><400> 293 cagcugcaag ggugagcu</p>	18
[0107]	<p><210> 294 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列</p> <p><220> <223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸</p> <p><400> 294 gggcccagcu gcaagggg</p>	18
	<p><210> 295 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列</p> <p><220> <223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸</p> <p><400> 295 agggugggcc cagcugca</p>	18
	<p><210> 296 <211> 18 <212> RNA</p>	

	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400> 296	
	gc <u>au</u> agg <u>g</u> g <u>g</u> cc <u>c</u> agc	18
	<210> 297	
	<211> 18	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400> 297	
	gcacaggccg cacc <u>c</u> agg	18
	<210> 298	
	<211> 18	
	<212> RNA	
[0108]	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400> 298	
	gggcacaggc cgcac <u>cc</u> a	18
	<210> 299	
	<211> 18	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400> 299	
	gagacggagg uggcaggg	18
	<210> 300	
	<211> 18	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	

	<220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸	
	<400> 300 gacaagagac ggaggugg	18
	<210> 301 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列	
	<220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸	
	<400> 301 ugggagacaa gagacgga	18
	<210> 302 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列	
[0109]	<220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸	
	<400> 302 ggagguggga gacaagag	18
	<210> 303 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列	
	<220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸	
	<400> 303 gggugggagg ugggagac	18
	<210> 304 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列	
	<220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸	

	<p><400> 304 ugcaugggug ggaggugg</p>	18
	<p><210> 305 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列</p>	
	<p><220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸</p>	
	<p><400> 305 gccuguggu cagccugg</p>	18
	<p><210> 306 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列</p>	
	<p><220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸</p>	
[0110]	<p><400> 306 guggucagcc uggcccca</p>	18
	<p><210> 307 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列</p>	
	<p><220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸</p>	
	<p><400> 307 cagccuggcc ccagccca</p>	18
	<p><210> 308 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列</p>	
	<p><220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸</p>	
	<p><400> 308</p>	

	uggccccagc ccacagug	18
	<210> 309 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列 <220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸 <400> 309 ccagcccaca gugacagc	18
	<210> 310 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列 <220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸 <400> 310 ccacagugac agcagggc	18
[0111]	<210> 311 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列 <220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸 <400> 311 gugacagcag ggcuuugg	18
	<210> 312 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列 <220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸 <400> 312 agcagggcuu uggcaacg	18

	<210> 313	
	<211> 18	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸	
	<400> 313	
	accagugcac cggaugcc	18
	<210> 314	
	<211> 18	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸	
	<400> 314	
	gacagaccag ugcaccgg	18
[0112]	<210> 315	
	<211> 18	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸	
	<400> 315	
	cagaagacag accagugc	18
	<210> 316	
	<211> 18	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸	
	<400> 316	
	aagcccagaa gacagacc	18
	<210> 317	

	<211> 18 <212> RNA <213> 人工序列	
	<220> <223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400> 317 aacuaaagcc cagaagac	18
	<210> 318 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列	
	<220> <223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400> 318 ggcaaaacua aagcccag	18
[0113]	<210> 319 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列	
	<220> <223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400> 319 cuaaaggcaa aacuaaag	18
	<210> 320 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列	
	<220> <223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400> 320 cuggacuaaa ggcaaaac	18
	<210> 321 <211> 18 <212> RNA	

	<p><213> 人工序列</p> <p><220></p> <p><223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸</p> <p><400> 321</p> <p>ucacacgcuc cagccccu</p>	18
	<p><210> 322</p> <p><211> 18</p> <p><212> RNA</p> <p><213> 人工序列</p> <p><220></p> <p><223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸</p> <p><400> 322</p> <p>cgcuccagcc ccuacugc</p>	18
[0114]	<p><210> 323</p> <p><211> 18</p> <p><212> RNA</p> <p><213> 人工序列</p> <p><220></p> <p><223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸</p> <p><400> 323</p> <p>cagccccuac ugccccau</p>	18
	<p><210> 324</p> <p><211> 18</p> <p><212> RNA</p> <p><213> 人工序列</p> <p><220></p> <p><223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸</p> <p><400> 324</p> <p>ccuacugccc caugcccg</p>	18
	<p><210> 325</p> <p><211> 18</p> <p><212> RNA</p> <p><213> 人工序列</p>	

	<220>	
	<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸	
	<400> 325	
	ugccccaugc ccgccucg	18
	<210> 326	
	<211> 18	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸	
	<400> 326	
	caugcccgcc ucgaguga	18
	<210> 327	
	<211> 18	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
[0115]	<220>	
	<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸	
	<400> 327	
	ccgccucgag ugagcggc	18
	<210> 328	
	<211> 18	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸	
	<400> 328	
	ucgagugagc ggccacca	18
	<210> 329	
	<211> 18	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸	

	<p><400> 329 uuaacugcaa uauuuuc</p>	18
	<p><210> 330 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列</p>	
	<p><220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸</p>	
	<p><400> 330 guuguuuuac ugcaauau</p>	18
	<p><210> 331 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列</p>	
	<p><220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸</p>	
[0116]	<p><400> 331 uuauuguugu uuaacugc</p>	18
	<p><210> 332 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列</p>	
	<p><220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸</p>	
	<p><400> 332 auuuuuuuuu guuguuuu</p>	18
	<p><210> 333 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列</p>	
	<p><220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸</p>	
	<p><400> 333</p>	

	uaaaaauuuu uuauuguu	18
	<210> 334 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列 <220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸 <400> 334 uaagauaaaa auuuuuua	18
	<210> 335 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列 <220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸 <400> 335 uuuaauaaga uaaaaauu	18
[0117]	<210> 336 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列 <220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸 <400> 336 uuauuuuuaa uaagauaa	18
	<210> 337 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列 <220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸 <400> 337 gucaaacaca cauacaca	18

	<210> 338	
	<211> 18	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400> 338	
	acacacauac acacuuaa	18
	<210> 339	
	<211> 18	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400> 339	
	cauacacacu uaaaacau	18
[0118]	<210> 340	
	<211> 18	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400> 340	
	acacuuaaaa cauuauga	18
	<210> 341	
	<211> 18	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400> 341	
	uaaaacauua ugauaaaa	18
	<210> 342	

	<211> 18	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400> 342	
	cauuauaugaua aaaguugu	18
	<210> 343	
	<211> 18	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400> 343	
	ugauaaaagu ugucauu	18
[0119]	<210> 344	
	<211> 18	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400> 344	
	aaaguuguca auucagaa	18
	<210> 345	
	<211> 18	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400> 345	
	cuaagguuuc uucuccca	18
	<210> 346	
	<211> 18	
	<212> RNA	

	<p><213> 人工序列</p> <p><220></p> <p><223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸</p> <p><400> 346</p> <p>uuucucuaag guuucuuc</p>	18
	<p><210> 347</p> <p><211> 18</p> <p><212> RNA</p> <p><213> 人工序列</p> <p><220></p> <p><223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸</p> <p><400> 347</p> <p>aagaauuucu cuaagguu</p>	18
[0120]	<p><210> 348</p> <p><211> 18</p> <p><212> RNA</p> <p><213> 人工序列</p> <p><220></p> <p><223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸</p> <p><400> 348</p> <p>guuccaagaa uuucucua</p>	18
	<p><210> 349</p> <p><211> 18</p> <p><212> RNA</p> <p><213> 人工序列</p> <p><220></p> <p><223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸</p> <p><400> 349</p> <p>cucugguucc aagaauuu</p>	18
	<p><210> 350</p> <p><211> 18</p> <p><212> RNA</p> <p><213> 人工序列</p>	

	<220>	
	<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸	
	<400> 350	
	cucuacucug guuccaag	18
	<210> 351	
	<211> 18	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸	
	<400> 351	
	accaccucua cucugguu	18
	<210> 352	
	<211> 18	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
[0121]	<220>	
	<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸	
	<400> 352	
	guaccaccac cucuacuc	18
	<210> 353	
	<211> 18	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸	
	<400> 353	
	gaguguuaca auaucgaa	18
	<210> 354	
	<211> 18	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸	

	<p><400> 354 uuacaauauc gaaagcuc</p>	18
	<p><210> 355 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列</p>	
	<p><220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸</p>	
	<p><400> 355 auaucgaaag cucaccua</p>	18
	<p><210> 356 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列</p>	
	<p><220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸</p>	
[0122]	<p><400> 356 gaaagcucac cuaacuaa</p>	18
	<p><210> 357 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列</p>	
	<p><220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸</p>	
	<p><400> 357 cucaccuaac uaaagaau</p>	18
	<p><210> 358 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列</p>	
	<p><220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸</p>	
	<p><400> 358</p>	

	cuaacuaaag aauagaua	18
	<210> 359 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列 <220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸 <400> 359 uaaagaauag auaaaauc	18
	<210> 360 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列 <220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸 <400> 360 aauagauaaa auccagaa	18
[0123]	<210> 361 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列 <220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸 <400> 361 aauuuuuuau uguuguuu	18
	<210> 362 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列 <220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸 <400> 362 aaauuuuuua uguuguuu	18

	<p><210> 363 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列</p> <p><220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸</p> <p><400> 363 aaaauuuuuu auuguugu</p>	18
	<p><210> 364 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列</p> <p><220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸</p> <p><400> 364 aaaauuuuuu uauuguug</p>	18
[0124]	<p><210> 365 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列</p> <p><220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸</p> <p><400> 365 uaaaaauuuu uuauuguu</p>	18
	<p><210> 366 <211> 18 <212> RNA <213> 人工序列</p> <p><220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸</p> <p><400> 366 auaaaaauuu uuuauguu</p>	18
	<p><210> 367</p>	

	<211> 18	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸	
	<400> 367	
	gauaaaaau uuuuuuug	18
	<210> 368	
	<211> 18	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸	
	<400> 368	
	agauaaaaau uuuuuuuu	18
[0125]	<210> 369	
	<211> 18	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸	
	<400> 369	
	aagauaaaaa uuuuuuuu	18
	<210> 370	
	<211> 18	
	<212> RNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸	
	<400> 370	
	gaguguuaca auaucgaa	18
	<210> 371	
	<211> 18	
	<212> RNA	

	<p><213> 人工序列</p> <p><220></p> <p><223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸</p> <p><400> 371</p> <p>aguguuacaa uaucgaaa</p>	18
	<p><210> 372</p> <p><211> 18</p> <p><212> RNA</p> <p><213> 人工序列</p> <p><220></p> <p><223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸</p> <p><400> 372</p> <p>guguuacaau aucgaaag</p>	18
[0126]	<p><210> 373</p> <p><211> 18</p> <p><212> RNA</p> <p><213> 人工序列</p> <p><220></p> <p><223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸</p> <p><400> 373</p> <p>uguuacaaua ucgaaagc</p>	18
	<p><210> 374</p> <p><211> 18</p> <p><212> RNA</p> <p><213> 人工序列</p> <p><220></p> <p><223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸</p> <p><400> 374</p> <p>guuacaauau cgaaagcu</p>	18
	<p><210> 375</p> <p><211> 1000</p> <p><212> DNA</p> <p><213> 智人</p>	

[0127]	<400> 375	
	ccaaataagg tctgaatgac acaaatttta gaactctcca gagaaaagaa agatgctgag	60
	ggaaaaagca taggtttggg actcactaaa tcccagttca attcctttct ttaataaata	120
	tattcaattt tacctgagaa agctctcgtg ctctcgaatt ttatttagaa atttctcttt	180
	gtacatgatt gatttcacia teettcttct gcctcctctt ctactttctt ctttctagat	240
	tttctatct ttatgaagat tattctgcct taccctcaac agttagaaac aatatttttg	300
	aaaatcacta cggatctctg catagtgatt tcccatgcca actttactaa ttccattat	360
	aaattattat ttattgatgc ctagagggca gatgagtgtg gctgctatgg agtgaggaga	420
	caaacataa gaaagttagt atcctaccct caggtaatga ttcagacatg ataattaagt	480
	caacaaattg atagaaacta atcactaact ctctggctat agtcattctt tcaatgaata	540
	gctcattact gagtatgcat gctacagtaa caaaattata taaggctgtt gattaaatgt	600
	tgattaagtg catgtcttat tcagagtttt ttatatattg aaatggaaga ggctggactt	660
	cagtaatttg ctataaactg ctagtatatg attatttggg ggcagttatt ttttaaagaa	720
	taatttaa atggaatgtt tagcagtttg ttttttcctt gggaaaaacc atactattat	780
	tccctcccaa tccctttgac aaagtgcag tcacattagt tcagagatat tgatgtttta	840
	tacagggtga gcctgtaaga gatgaagcct ggtatttata gaaattgact tattttatcc	900
	tcatatattac atgtgcataa ttttccatat gccagaaaag ttgaatagta tcagattcca	960
	aatctgtatg gagaccaaat caagtgaata tctgttcttc	1000
	<210> 376	
	<211> 1000	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 376	
	gcccgccttg gcctcccaaa gtgttgggat tagtggcgtg agccactgcc ccggcctatt	60
	actcctttag agtgatttag agccatgttt acttatggta acttgacagt aatgggaata	120
	accactgatg aaacgtaaag cctttgtcta attgtttacc tagttcttcc ttgtggttca	180
	tgaaattttt catctctgta cagtttgaaa attaagatga taatatttag agatatttta	240

	ttcctttgtg aagagaaaaa aggctttcat taacagaaat cagtggcaat aacttaataa	300
	atacaatcag ctggtgttcc tatagtattt aaaagaaaac agaaagtta ctagatttca	360
	gccagttttc agactattta atgtctattc ttactataat agaaaatata taatttgatc	420
	ttgttctcat ttttcaaaga cctttaatac atgatttttag tagttgaaa tgaagttaa	480
	tgatagtta tgcctctact tttaaaaaca aagtctaaca gatttttctc atgttaaate	540
	acagaaaaag ccacctgaca ttttaacttg tttttgattt gacagtgaaa tcttataaat	600
	ctgccacagt tctaaaccaa taaagatcaa ggtataaggg aaaaatgtag aatgtttgtg	660
	tgtttatttt ttccaccttg ttctaagcac agcaatgagc attcgtaaaa gccttacttt	720
	attgtccac ccttttcatt gttttttaga agcccaacac ttttctttaa cacatacaat	780
	gtggcctttt catgaaatca attccctgca cagtgatata tggcagagca ttgaattctg	840
	ccaaatatct ggctgagtgt ttggtgttgt atggctcca tgagattttg tctctataat	900
	acttgggtta atctccttgg atatacttgt gtgaatcaaa ctatgttaag ggaaatagga	960
[0128]	caactaaaat atttgacat gcaacttatt ggtcccactt	1000
	<210> 377	
	<211> 1000	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 377	
	atttcctctc agggttaccc tctgatccct attttactaa atcgttataa aacaaaatga	60
	ggaattatgt gtccttcctt ttgaagcca atgtaacaag atgggtaaga attagacctc	120
	ctgagttcaa aatccctgga ttcagatcta ttctgtata ttcaggagaa gtggaataa	180
	attcgatgga caatttggtt tagtagtcga ttgaggacct tgatgaggta tatttgggaa	240
	aacataactt ccgtctctc tcattgactc acgggccttt gaggagtcca ggagtcattg	300
	gaatctggcc tgaggttgag gctgctggca aaactccttc cccaaagtcc attcctattg	360
	ctgactgaga agggactagc attggaagtg gctgatttta aataccgcta gtgctggtgt	420
	gctcctccct ccattccca gctctgcttt gtgtagttgc cttgagaagc taagttcatt	480
	ctgaaaataa tgccattgca caaaacactt ttgaaagttc tagtttgaaa ttacatcagg	540

	tcacttggtc tgtgtggcct cagtttcttc atctgccatg tgaaaataat aatgcctact	600
	ctgtagcaaa gaaagtctct atagtaaaca aaaaaaagc ctactctgat actgaaagtt	660
	gttatgaaaa ataaaaagg gaaatgcttt agaaactgtt aagtgtatg tagatgttac	720
	taattaacaa accatttcag aaactatact ttttatttta tggccactat tcactgttta	780
	acttaaaata cctcatatgt aaacttgtct cccactgttg ctataacaaa tcccaagtct	840
	tatttcaaag taccaagata ttgaaaatag tgctaagagt ttcacatatg gtatgacct	900
	ctatataaac tcattttaag tctcctctaa agatgaaaag tcttgtgttg aaattctcag	960
	ggtattttat gagaaataaa tgaaatttaa tttctctgtt	1000
	<210> 378	
	<211> 1000	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 378	
[0129]	gaggctgagg caggagaatg gcgtgaacc aggaggcaga acttgcagtg agccgagatc	60
	gcgccactgc actctagcct ggggtacaga gtgagactct gtctctaaat aaataaataa	120
	ataaataaat aaataaataa aatcagtgc ttttcttcct ctgctacctc ctttccttct	180
	actcagtttt agtcagtagt attatctttt ttcagattta tctttgtatt gttaaactctg	240
	cttatgettc tattacttta tttattagct ttaaatagata ctttttgact ttcagctttt	300
	cttaataaag caatcagcaa atttccttta cactccacac ttatacccca tttcctttgt	360
	ttgtttattt ggtttttact tctaactttt cttattgtca ggacatataa catatttaaa	420
	ctttgttttt caactcgaat tctgccatta gttttaattt ttgttcacag ttatataaat	480
	ctttgttcac tgatagtcct tttgtactat catctcttaa atgactttat actccaagaa	540
	aggctcatgg gaacaatatt acctgaatat gtctctatta cttaactctgt acctaaat	600
	atgaaggtaa tctactttgt aggatttctg tgaagattaa ataaattaat atagttaaag	660
	cacatagaac agcactcgac acagagttag cacttggcaa ctgttagctg ttactaacct	720
	ttccattct tctccaaac ctattccaac tatctgaatc atgtgccct tctctgtgaa	780

	cctctatcat aatacttgtc acactgtatt gtaattgtct cttttacttt cccttgtatc	840
	ttttgtgcat agcagagtac ctgaaacagg aagtatttta aatattttga atcaaatgag	900
	ttaatagaat ctttacaat aagaatatac acttctgctt aggatgataa ttggaggcaa	960
	gtgaatcctg agcgtgattt gataatgacc taataatgat	1000
	<210> 379	
	<211> 1000	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 379	
	gaggaggtgg aaacgaatgt acaaggatgg gaggagaaaa gggagagaga cttttttttt	60
	tttaaggcga gagtttacta cctatctaac tcttcgcatt cttgaagtct cagaccaa	120
	cccatcggtt tgaaagcctc tagggtattc tatctattgt atacttctgt tatgtacaa	180
	attaatttgc caattaattg tgaactgttt tataaactat cttaaaatgg ttagttaaat	240
[0130]	ctttgggata gtatttagct ttctccagga ttatgactta ctttctaaat tagacataca	300
	atgcctagga gtcaaggact attttgcata aattccagtc ttcttttaca atgcctagaa	360
	tgattgttac cacagaaata ttcattacct gggagaaagg atgacaggag gggcagaatg	420
	aatggagaga ggtcgtgaga atgaggtgct gaggatggac gaggaagaaa gctgttttag	480
	ttgggaggat aggtgacaga agcatggaaa ggaattgcct tggacccatg gaagcccagt	540
	gaagatactt agatcctgca ggggtgtgaa taatgttctt ttagtttctc ttcttaggag	600
	gtttgttcat tttgggagat ttcttttgaa aagagtgaac ttaaattgga gaaaagtaca	660
	ttttagtatg ttgataacat ttgaatttgt aaaatggacc tatggatgat ctacacatat	720
	ttatataccc ataaatatac acataatttta atttttggta ttttataatt attatttaat	780
	gatcattcat gacattttta aaattacaga aaaatttaca tctaaaattt cagcaatgtt	840
	gtttttgacc aactaaataa attgcatttg aaataatgga gatgcaatgt tcaaaatttc	900
	aactgtgggt aaagcaatag tgtgatatat gattacatta gaaggaagat gtgcctttca	960
	aattcagatt gagcatacta aaagtgactc tctaattttc	1000

	<210> 380	
	<211> 1000	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 380	
	tagaacagag cacagatgat ctaaataataa aaagaactac aaaaatcaca gttgtttaaa	60
	aaggtttttt gtttgtttat atatggtgca gaacatttgt tccttagcca aatgtttcca	120
	ccttgagaaa gctatagaga ttctatgtag tcctagtacc aataatatgt tttaacctga	180
	atgtacctta tctttattca taaactgtga ctttttacac tgctgaaact tttttttta	240
	agacaatctc actctgtcgt ccagtctgga gtgcagcagt ggtgtgatct tggctcactg	300
	caacctctac cttctgtgtt caagcaattc tggcgccctg gccacctgag tagttgggat	360
	cacaggtgta caccaccagg cctggctaata agtttttgat atttctagta gagatgagtt	420
	ttgccacatt ggccaggtg gcctgaaact cctggcctca agtgatctgc ctgccttggc	480
	ctcccaaagt gttggtatta caagtgtgag ccactgtgcc tggcctgaaa ctcataattc	540
[0131]	atttccatta atattaatct caccttttcc aataattaat tgatttcaca agtattagtc	600
	ccctataatc attgaatggc taataaaatt atttatagca aacagattaa ttatctgcca	660
	gcagtctgag attagtttct ttaaaaaatg tttattattt aaaacattca gctgtgatct	720
	tggctttctt gtgaggttca atagtttcta ttgagtaaag gagagaaatg gcagagaatt	780
	tacttcagtg aaatttgaat tccattaaact taatgtggtc tcatcacaaa taatagtact	840
	tagaacacct agtacagctg ctggaccag gaacacaaag caaaggaaga tgaaattgtg	900
	tgtaccttga tattggtaca cacatcaaat ggtgtgatgt gaatttagat gtgggcatgg	960
	gaggaatagg tgaagatgtt agaaaaaaaa tcaactgtgt	1000
	<210> 381	
	<211> 1000	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 381	
	aaataagagc agtaaaattg tgcctaata gctactaata tctgggaagg attgagccac	60
	aggatcaaag atggtatctt ttaaaaaatg aagttgagtg aattcggctt tcaaattctt	120

	tctttttatt catttatatt tatttactca ttagtatatt cattccttta ttcattgtatt	180
	gttcaaatat atattgggta cttattatat gccaaagtgt ttttaaaatc acattccaaa	240
	ttcccgtaa tcataattat tcagagatgt atgttttttt taaaaaaaat tgaacacctt	300
	taaaaattat caagtccttt tatttctgta tgcattaaag ataaacttta ctaaatgtta	360
	catgaataga ttataaagc agataaatat ttaatttcaa atataaccct tatatgcaat	420
	tatatatttcc ttagcactaa aaatgaatat ttaagtaatt tatattaaaa gtgtaattat	480
	ttaactgcag atgtatgcca atgacttaaa ttgttttaaag attatagcaa agttgtttta	540
	aattgtctaa tcatgaagag ttcacttaac cacctgggtg acacataaaa ttatagttag	600
	ttactaaggt agttcgagag aaagagaaga atcttcagta gtggttttga ggtgtggtac	660
	attttattat aatataccgg ttatacagca ttgtgcagtg ctgctcatag tagaaataaa	720
	ttttctcttt gatgtcatct attcccttgt gtggcttaca taactgagaa ttaggtgatc	780
	acaaaaataa acaggcctat acagagccca ttatataaag tcttggttat ttctcttcag	840
[0132]	ttaaactttt aattatatcc aattatttcc tgtagttca ttgaaaagcc cgacaaataa	900
	ccaagtgaca aatagcaagt gtgcatttt acaagttatt ttttaggaag catcaaacta	960
	attgtgaaat tgtctgcat tcttaaaaac aaaaatgttg	1000
	<210> 382	
	<211> 1000	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 382	
	aacaaaactg tcttccacta cagattgaaa agcattatac taaaagacca ttgctcagt	60
	tatagtatat aaaggccaaa tgacttaaaa acaaattatg taaggagaag gaaacaacca	120
	tttattcagt gccactaact gtcagccagt tttttcagtg gtcagttaat gactgcagta	180
	gtgttctacc ttgtcaaag caccctctc aagttctggc atctaagctg acatcagaac	240
	acagagtgg ggctctctgt gggtcacctc tagcacttga tctcctcatg cagtgcattg	300
	tgtctcagc tctatgctat gttcttatgg tctttaggta acaagaataa tttctttct	360

	tttccttact atacattttg ctttctgaaa ttcccttctc gccaatccag gtgaatgtca	420
	gaatgtgatt tgacaactgt ccaaagtact cattcactga ggagtggtaa ggccttcgcc	480
	caacctgcct tctctgggaa tatactgctg cctgaacata tcattgttta ttgccagget	540
	tgaacttcac caaattaatt tattagggtc aacatctaaa tattagaact atttcagatt	600
	aatttttaag tcgtatccac ttgggttact agatcaaatt gcaggtctct gcttctgget	660
	tgagcctatg tttagagatg atgtgcatga agacactctt tgcttttcct ttatgcaaaa	720
	tgggcatttt caatcttttt gtcattagta aaggtcagtg ataaaggaag tctgcatcag	780
	gggtccaatt ccttatggcc agtttctcta ttctgttcca aggttggttg tctccatata	840
	tcaacattgg tcaggattga aagtgtgcaa caaggtttga atgaataagt gaaaatcttc	900
	cactggtgac aggataaaat attccaatgg tttttattga agtacaatac tgaattatgt	960
	ttatggcatg gtacctatat gtcacagaag tgatcccate	1000
[0133]	<210> 383	
	<211> 1000	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 383	
	ttgacttgac ttgtgtggtt ccttgtggac cagatggcca ctaaatattc tcatttcaag	60
	gcaattggta aaaactacac ttcaagaaat ttcattctta attcccctta gtggatgta	120
	ttaaccaaag gcaaaagaaa aaaagggtaa aaaaaatatt ctaaatgta atatcaaaaa	180
	tattattttc aattcacccc aggcacagag aactaagtat tattattgct attgcaccgg	240
	cattccccaa tgagacagtg attttctttt aagacatttt taaataatat aggcagaatt	300
	aagtagacgg tgatctggta agtagatggt tcagggtaac agctgtgcaa tgctccatgc	360
	agggaattag attgtcattt ttttccttac caggaacata cattcagtta aacaattatt	420
	tgacttctgc tcttcactg atttctaagt tgaggctctc tcttgtgcct gtctgatcag	480
	ataagtagag ttgtgccttg gtttatagat gagataaatg tgtatttgaa taagcataag	540
	ttaaagaaat tttaaaatcc cttaggaagc taggcttatt agagaaatcc aaggaaatac	600
	attaacaaac taggaatttg ttctaacagg ttaattataa ctcataaact tattgggttt	660

	ttttaccttt taattttata ttacatttgc ttataataag gaattattgct aggaataaaa	720
	ttttttaata ttctacaatt aacaattatc tcaatttctt tattctaaag acattgggat	780
	tagaaaaatg ttcacaaggg actccaaata ttgctgtagt atttgtttct taaaagaatg	840
	atacaaagca gacatgataa aatattaaaa ttigagagaa cttgatggta agtacatggg	900
	tgtttcttat tttaaaataa tttttctact tgaaatatTT tacaatacaa taagggaana	960
	ataaaaagtt atttaagtta ttcatacttt cttcttcttt	1000
	<210> 384	
	<211> 1000	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 384	
	ataagattct ttctgagcca ttatctcatt ctatattaca gtcaggTgga gcccattta	60
	cctctcata ctaaattcta gacttctcaa gggcaggaga caatcatctg tatatctctt	120
[0134]	tggccttcat acactcagga gtacttgcca aaaataaaca tttaatgcac atttatttga	180
	ataattgata agatccaata ctccaataac ttgtcatat ttttatagaa tgggtttcta	240
	tatctcatTT gcatTTTcaa actttacttt tactgtctag ctttaaaaaa aaagccttTg	300
	actctaatac agccctcata ttctacccca atatctaaga ggctttatat ctccatagtT	360
	tgtaccacta ttttaactcc agtatTTTT acttcatagt ttacctatt tgttacagtt	420
	agTTTTtatg aattcaagag atgaatagca atTTTccata tgtaatttaa aaaacccac	480
	agttgactat tttatgctat cttttgtcct cagtcatgac agagtagaag atgggaggt	540
	gcaccaagga tgatgcata cctccatcct ttatgtiaca ttctatcttc tgtctacata	600
	agatgtcata ctagagggca tatctgcaat gtatacatat tatcttttcc agcatgcatt	660
	cagttgtgtt ggaataattt atgtacacct ttataaacgc tgagcctcac aagagccatg	720
	tgccacgtat tgttttctta ctactttttg ggatacctgg cacgtaatag acactcattg	780
	aaagtttctt aatgaatgaa gtacaaagat aaaacaagtt atagactgat tcttttgagc	840
	tgtcaaggtt gtaaatagac ttttgcTcaa tcaattcaaa tggTggcagg tagtgggggt	900

	agagggattg gtatgaaaaa cataagcttt cagaactcct gtgtttattt ttagaatgtc	960
	aactgcttga gtgtttttaa ctctgtggta tctgaactat	1000
	<210> 385 <211> 32 <212> DNA <213> 人工序列 <220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸 <220> <221> 修饰的碱基 <222> (10).. (32) <223> a、c、t、g、未知或其他 <400> 385 caggtaagtn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nn	32
[0135]	<210> 386 <211> 33 <212> DNA <213> 人工序列 <220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸 <220> <221> 修饰的碱基 <222> (1).. (17) <223> a、c、t、g、未知或其他 <220> <221> 修饰的碱基 <222> (30).. (30) <223> a、c、t、g、未知或其他 <400> 386 nnnnnnnnnn nnnnnnnnyy yyyyyyyyyn agg	33
	<210> 387 <211> 17 <212> RNA	

	<213> 智人	
	<400> 387 auuuuuccac ccuuagg	17
	<210> 388 <211> 17 <212> RNA <213> 智人	
	<400> 388 uauucuuccuc ccacagc	17
	<210> 389 <211> 17 <212> RNA <213> 人工序列	
	<220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸	
[0136]	<400> 389 uuuuuuccuc ccuuagg	17
	<210> 390 <211> 17 <212> RNA <213> 人工序列	
	<220> <223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸	
	<400> 390 uuucuuccuc cccagc	17
	<210> 391 <211> 63 <212> DNA <213> 智人	
	<400> 391 gttatgtcct gtcctccttc ctgtcaggca gctgctgcag gaggggtggg caaaggcac ttc	60 63

[0137]	<210> 392		
	<211> 80		
	<212> DNA		
	<213> 智人		
	<400> 392		
	tcctcagctt ggaagccccc gagcctgccc tgctgggaat cggggaagca ctgcttacct	60	
	gtctcctgct ccccttttcag	80	
	<210> 393		
	<211> 58		
	<212> DNA		
	<213> 智人		
	<400> 393		
	gtatggtgtc aactagtgtg cctgctctct cctctgcttt ctggtgaagc tgaccctt	58	
	<210> 394		
	<211> 68		
	<212> DNA		
	<213> 智人		
	<400> 394		
	tggatataaa cctcgtggat gacttagcat tcctttgccca ctgctgatgt actttattaa	60	
	cttcccag	68	
	<210> 395		
	<211> 65		
	<212> DNA		
	<213> 智人		
	<400> 395		
	gttccttgac cctgggcccc acctgggcag atcagccac aacccttcag ggcccgtca	60	
	tgcca	65	
	<210> 396		
	<211> 68		
	<212> DNA		
	<213> 智人		
	<400> 396		
	ccttaagagg tggggtgggg tcctctgagc ttcaagctgc tgggtcagt cttccacct	60	

ccacgcag	68
<210> 397	
<211> 70	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 397	
gttccttgac cctgggcccc acctgggcag atcagccac aacccttcag ggcccgtca	60
tgccaccgac	70
<210> 398	
<211> 66	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 398	
gtgagcctgg gtgcggcctg tgccccctgcc acctecgtct cttgtctccc acctcccacc	60
catgca	66
[0138]	
<210> 399	
<211> 68	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 399	
cgttgccaaa gccctgctgt cactgtgggc tggggccagg ctgaccacag ggcccccccg	60
tccaccag	68
<210> 400	
<211> 58	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 400	
gtatggaaat atattgcagt taaacaacaa taaaaaattt ttatcttatt aaaattaa	58
<210> 401	
<211> 68	
<212> DNA	
<213> 智人	

	<400> 401	
	ttctgaattg acaactttta tcataatgtt ttaagtgtgt atgtgtgttt gactccactc	60
	ccgcacag	68
	<210> 402	
	<211> 58	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
[0139]	<400> 402	
	gtgagtggga gaagaaacct tagagaaatt cttggaacca gagtagaggt ggtggtac	58
	<210> 403	
	<211> 68	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 403	
	ttctggatit tttctattct ttagttaggt gagctttcga tattgtaaca ctctgagttt	60
	gctttaag	68

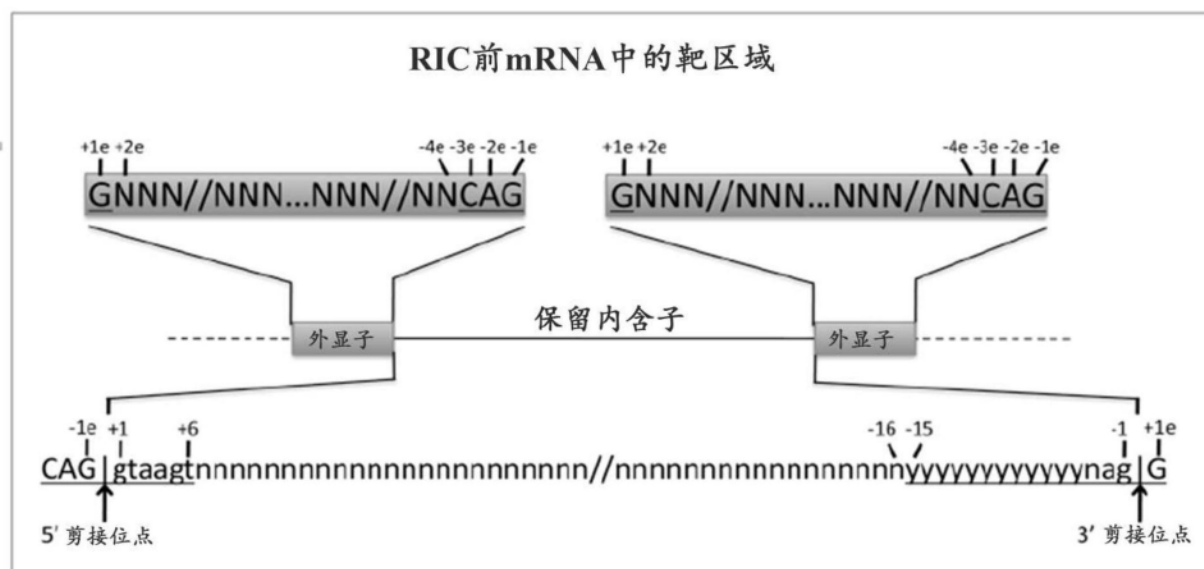


图1

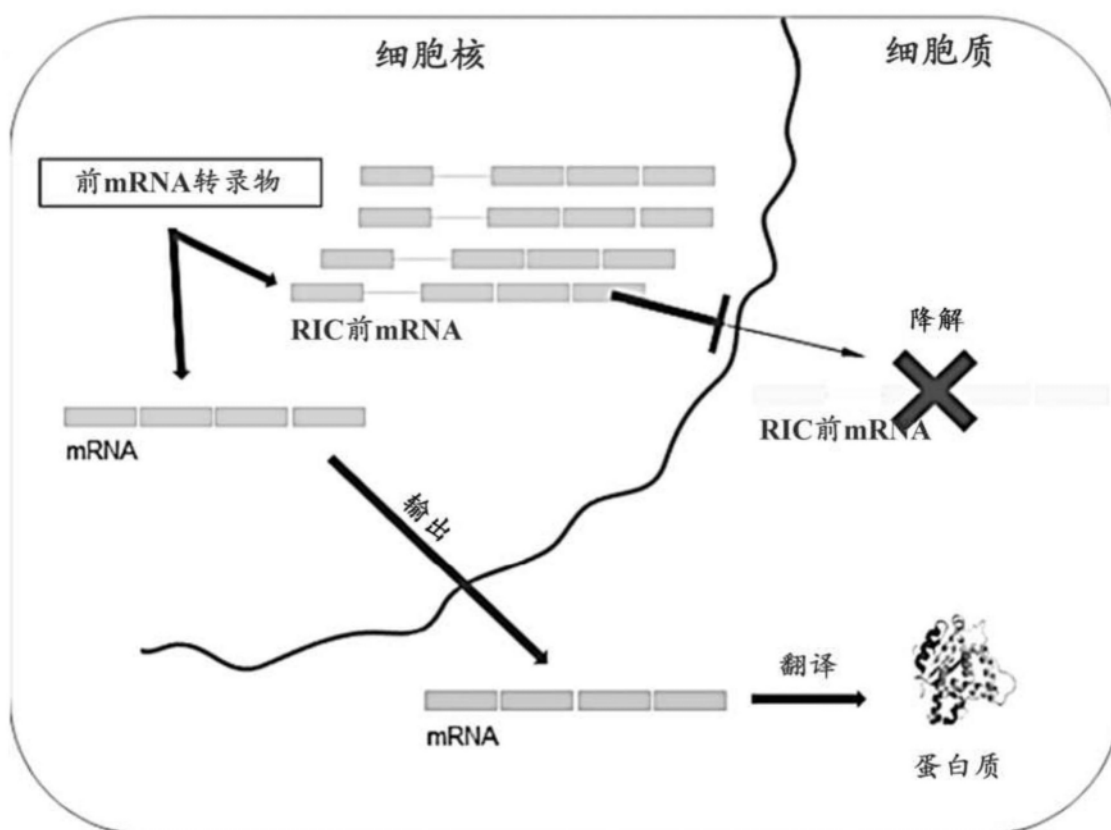


图2A

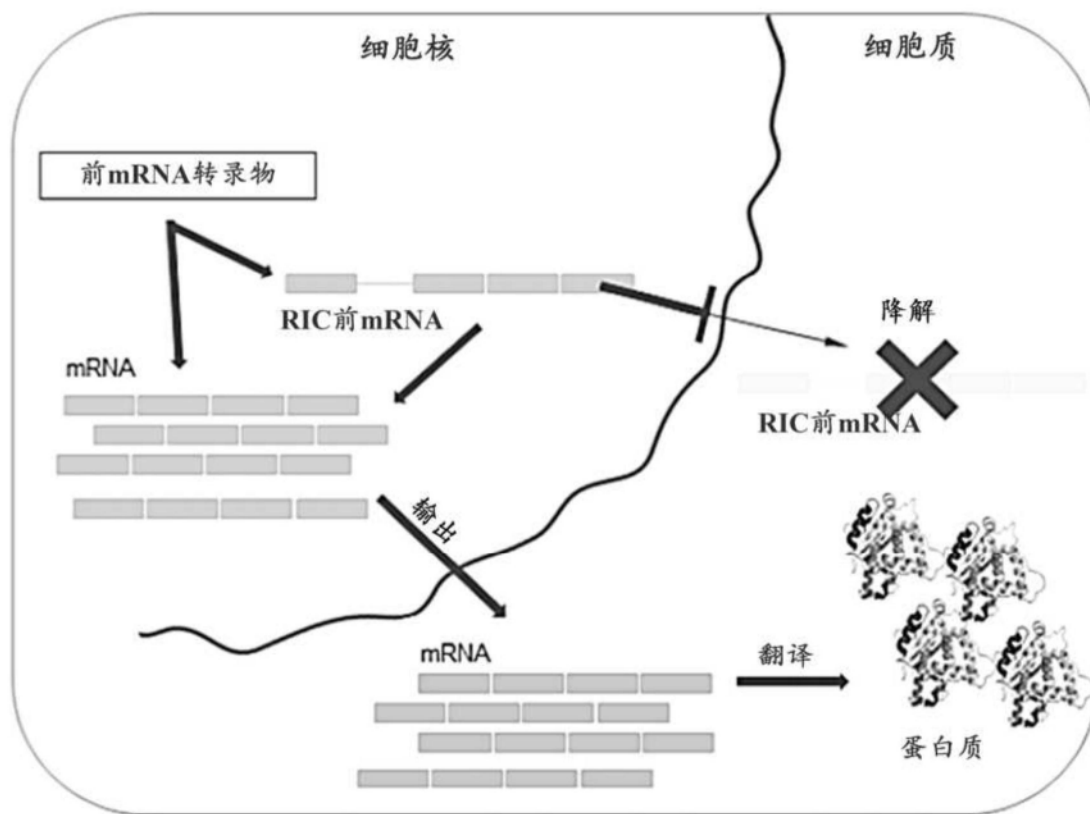


图2B

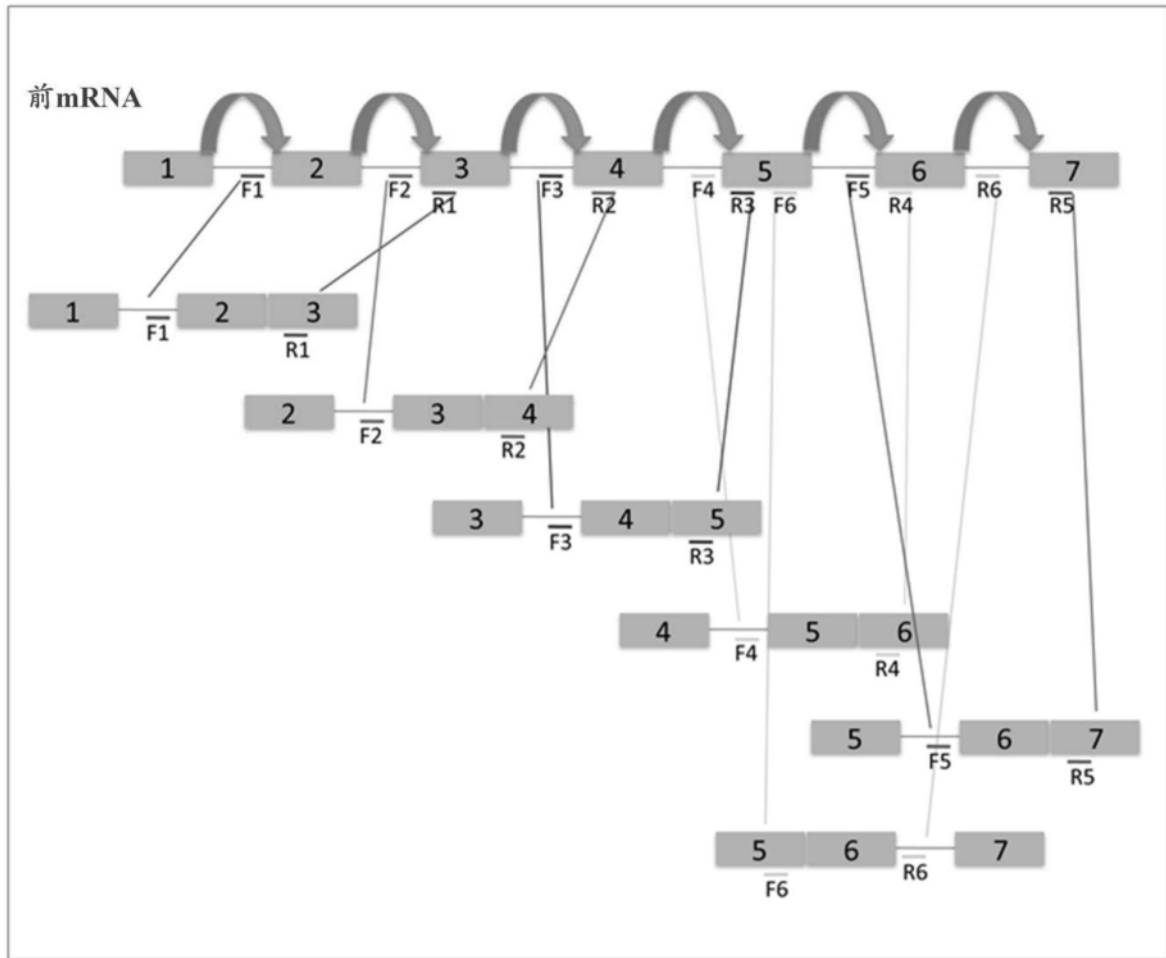


图3

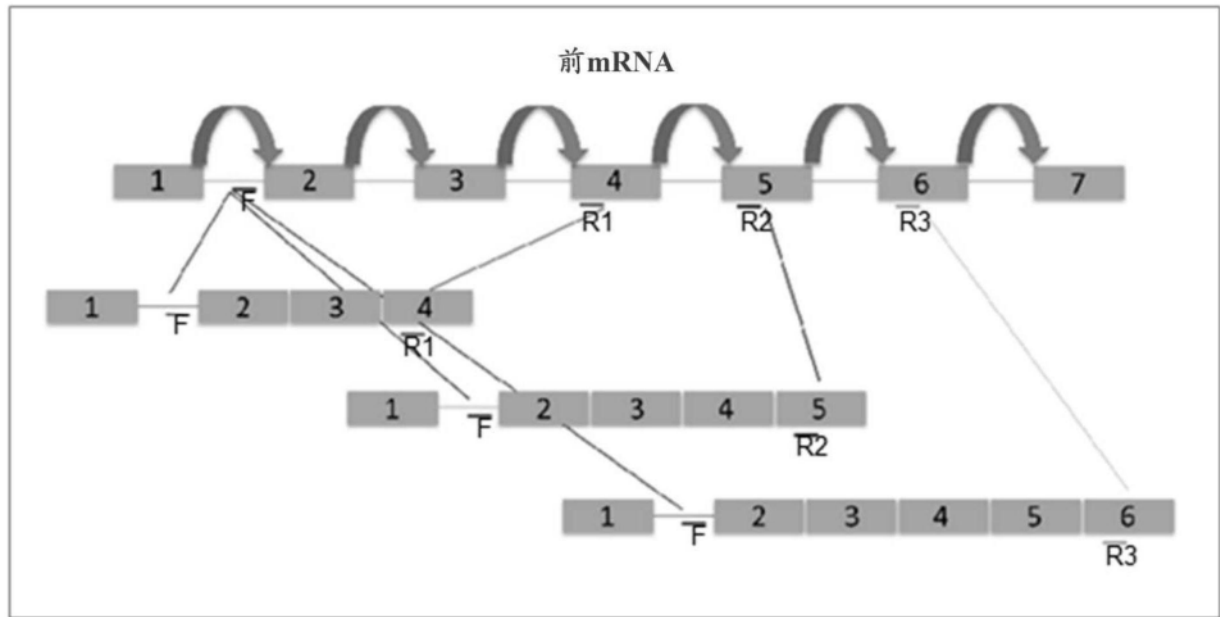


图4

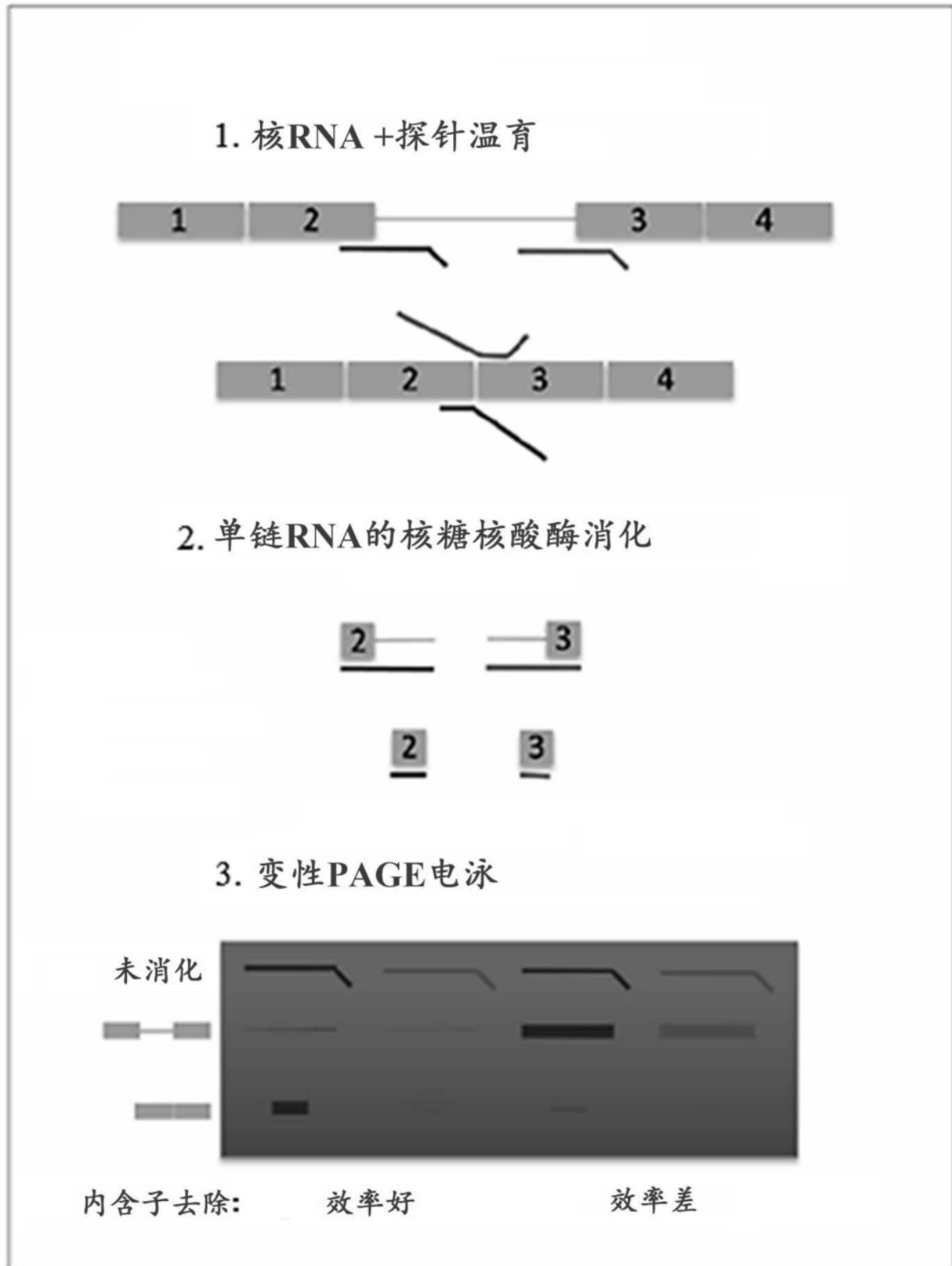


图5

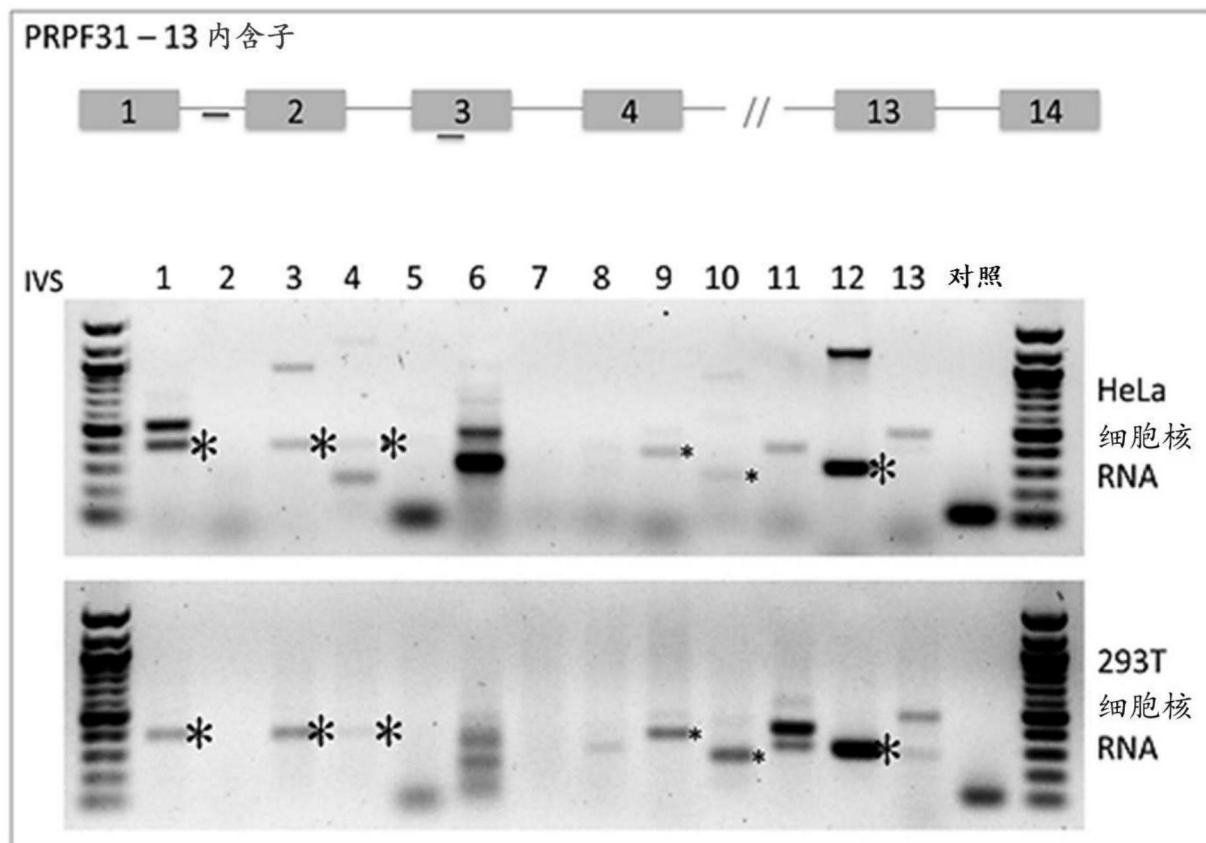


图6A

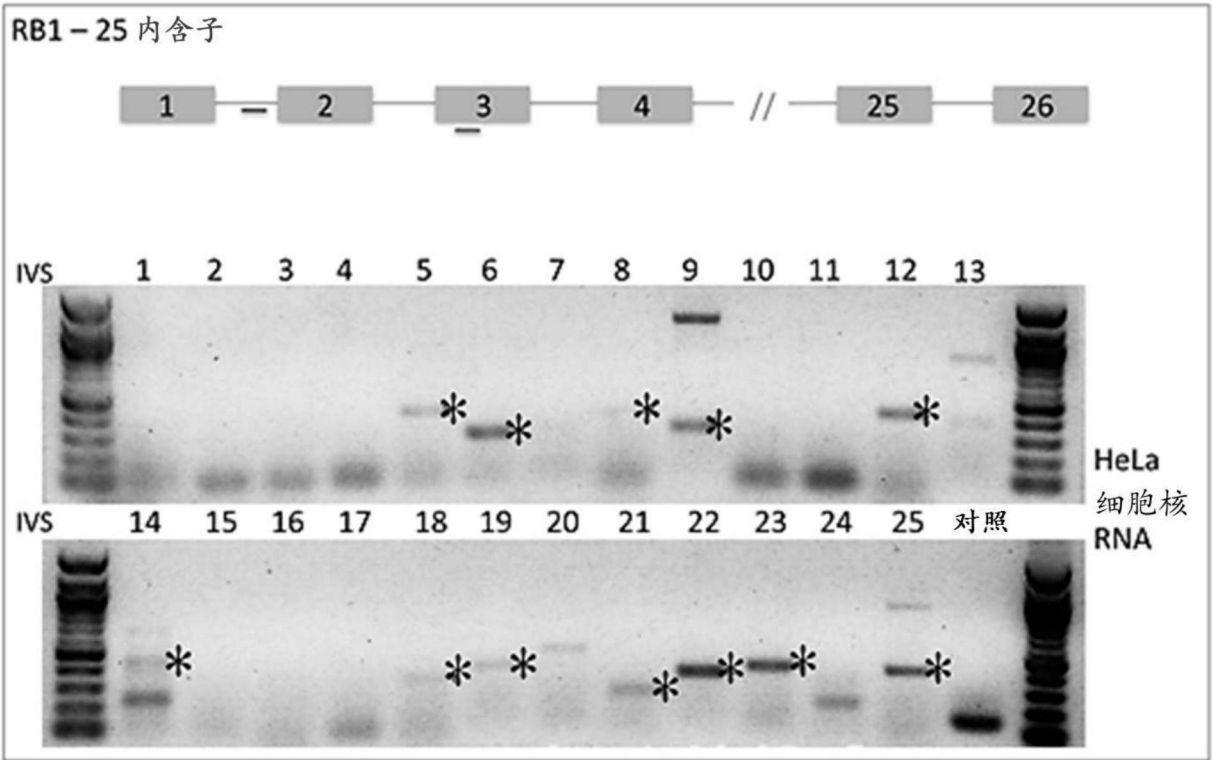


图6B

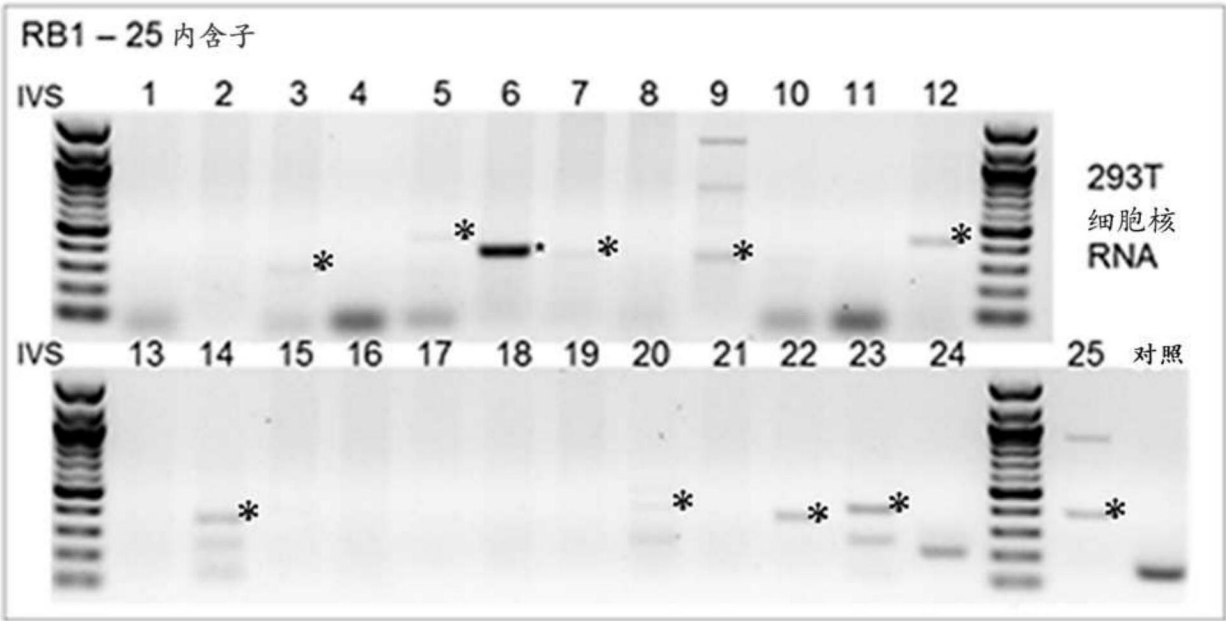


图6C

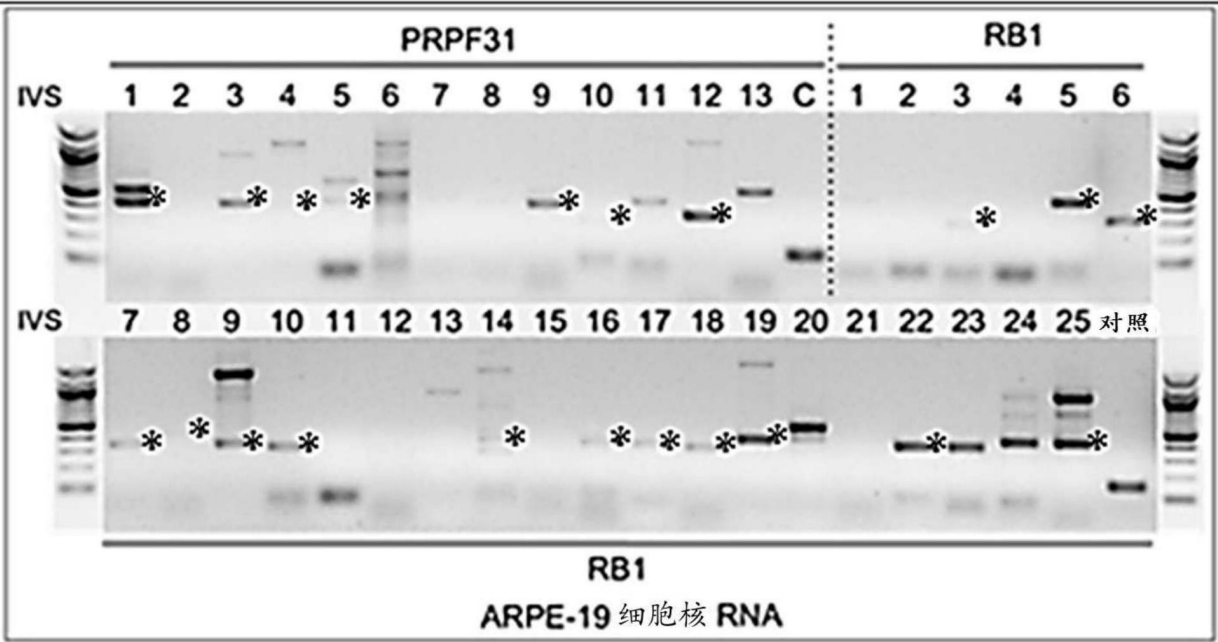


图6D

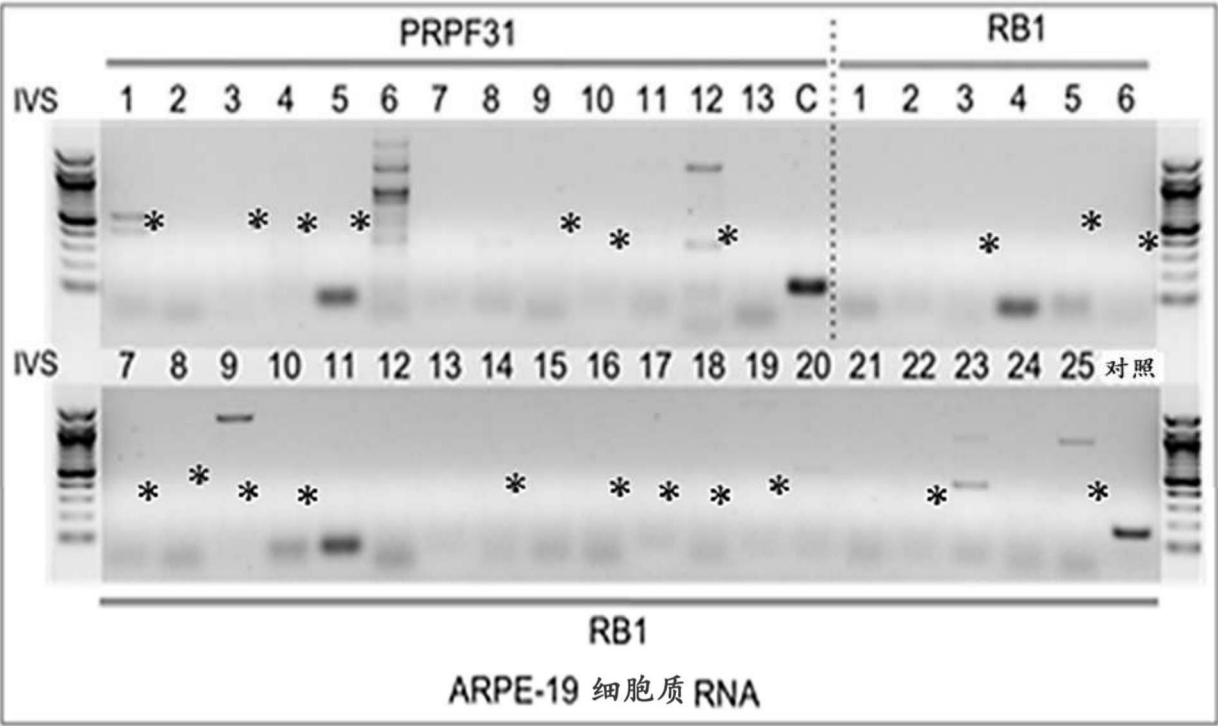


图6E

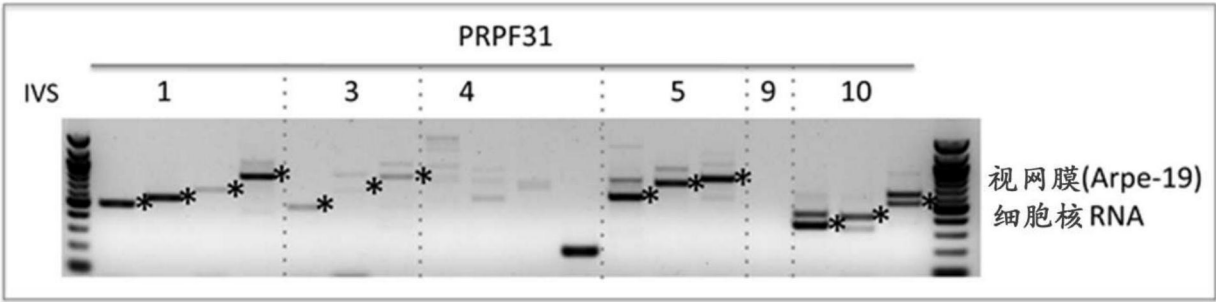


图7A

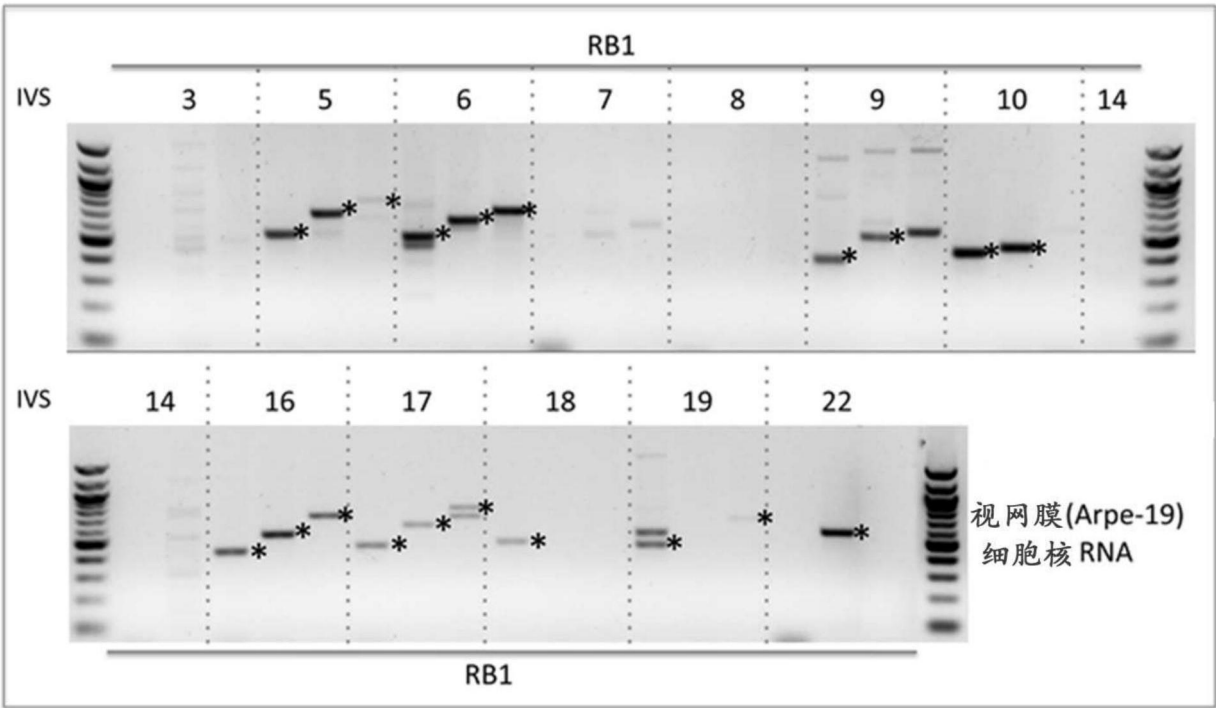


图7B

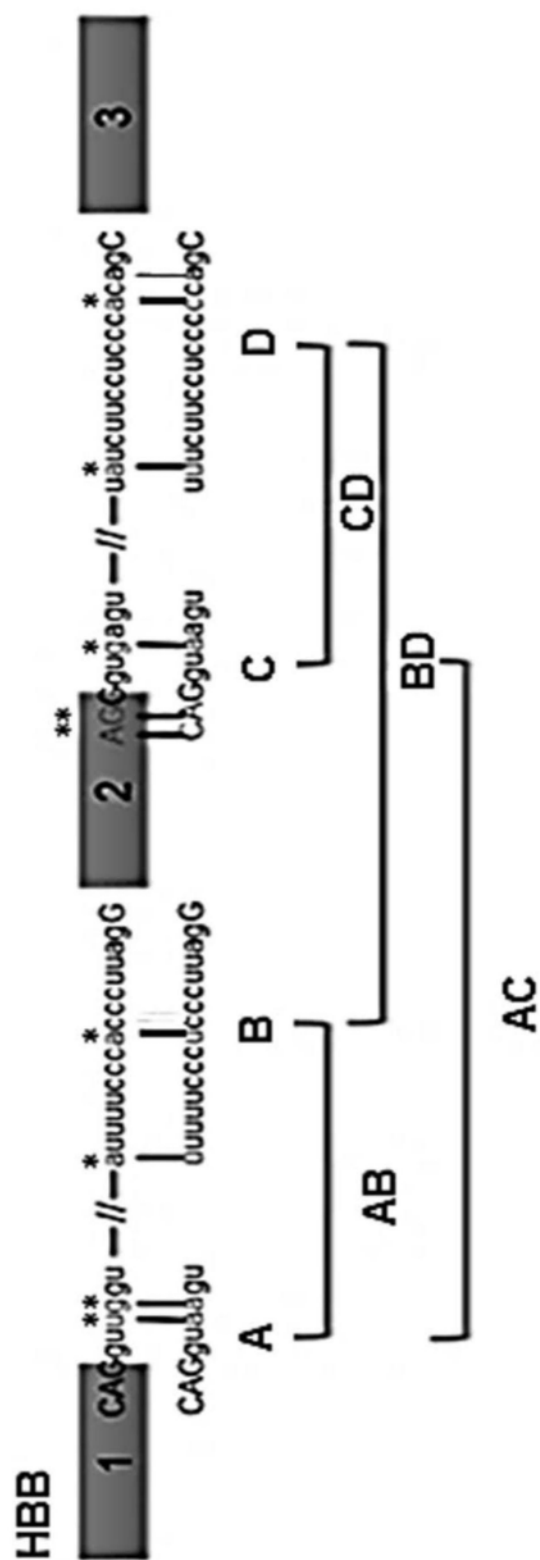


图8A

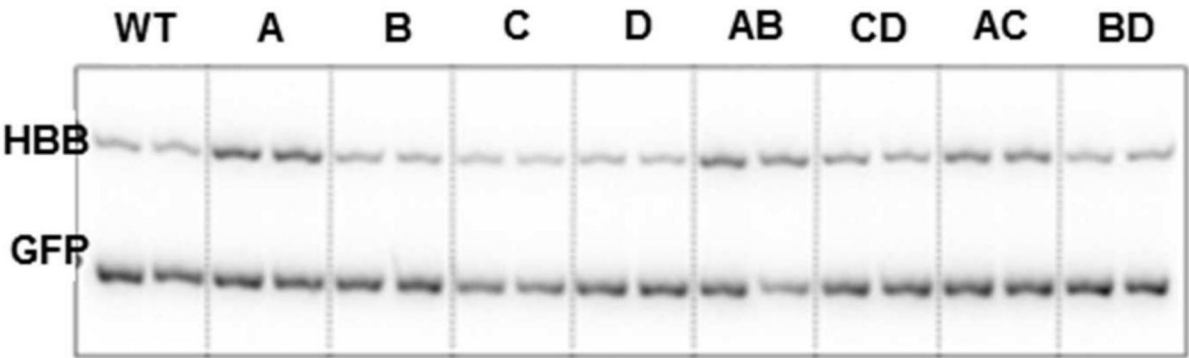


图8B

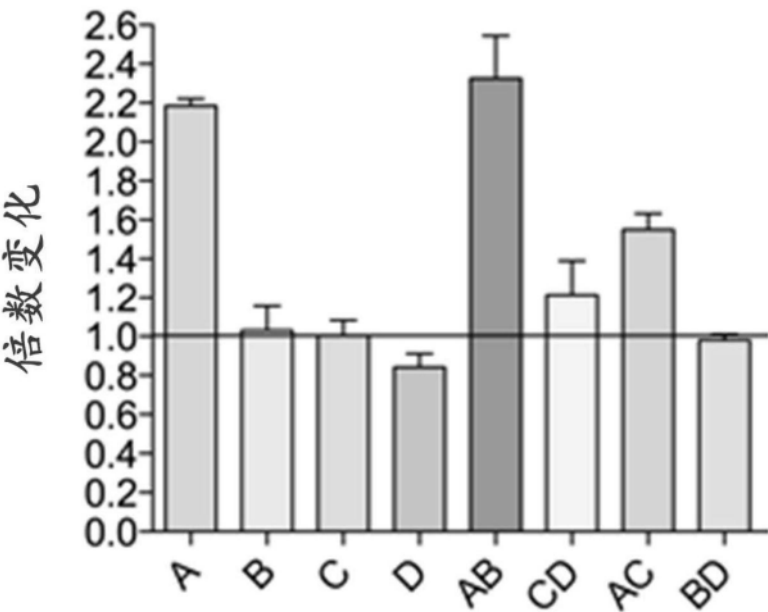


图8C



图9A

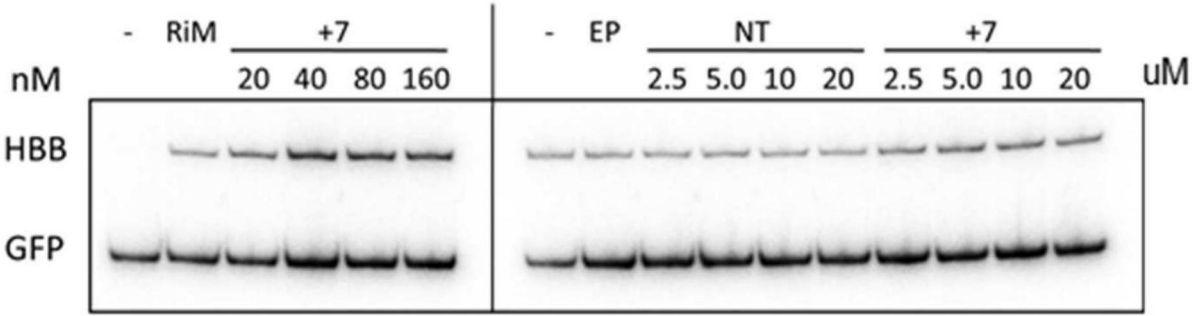


图9B

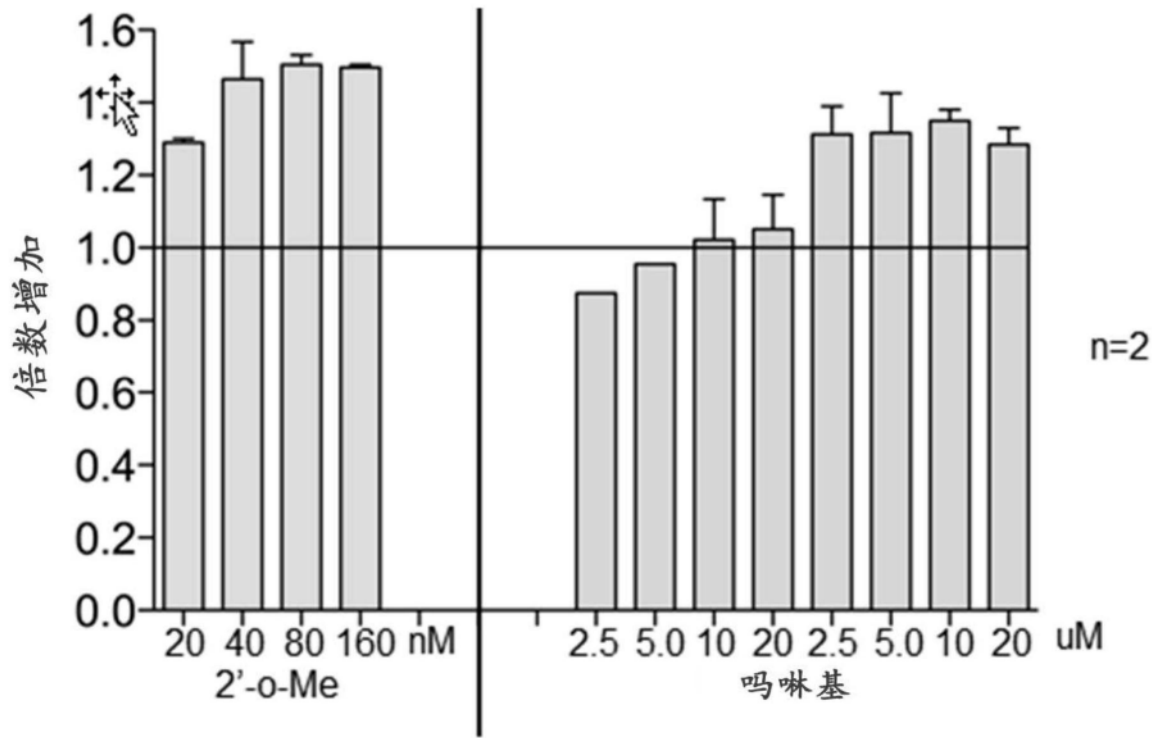


图9C



图10A

蛋白质

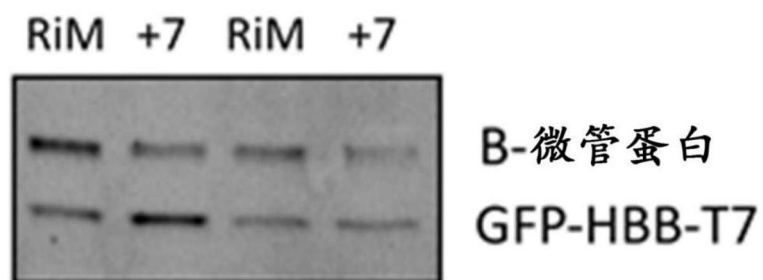


图10B

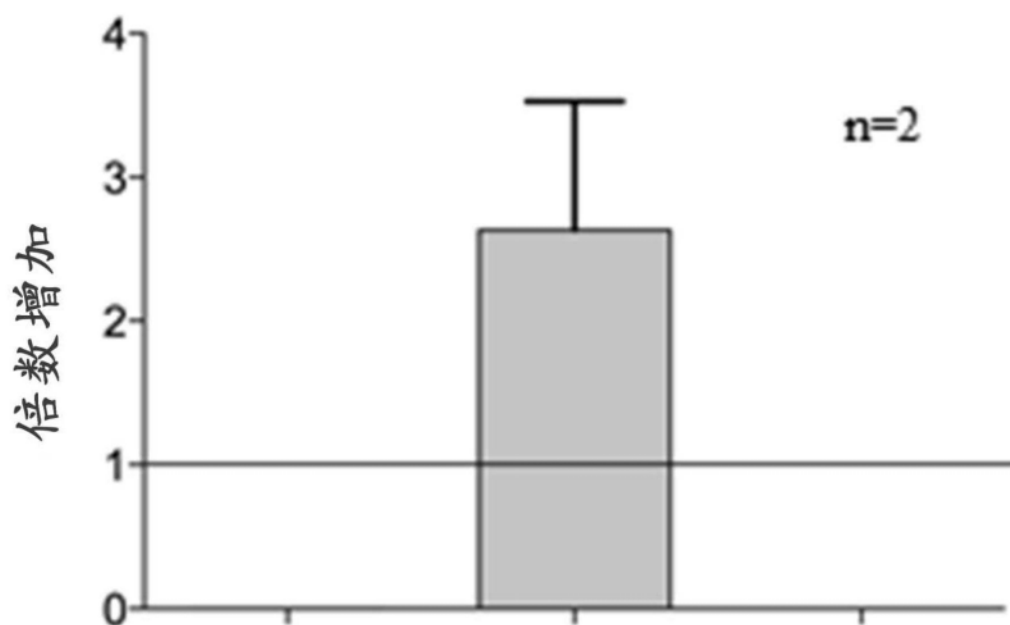


图10C

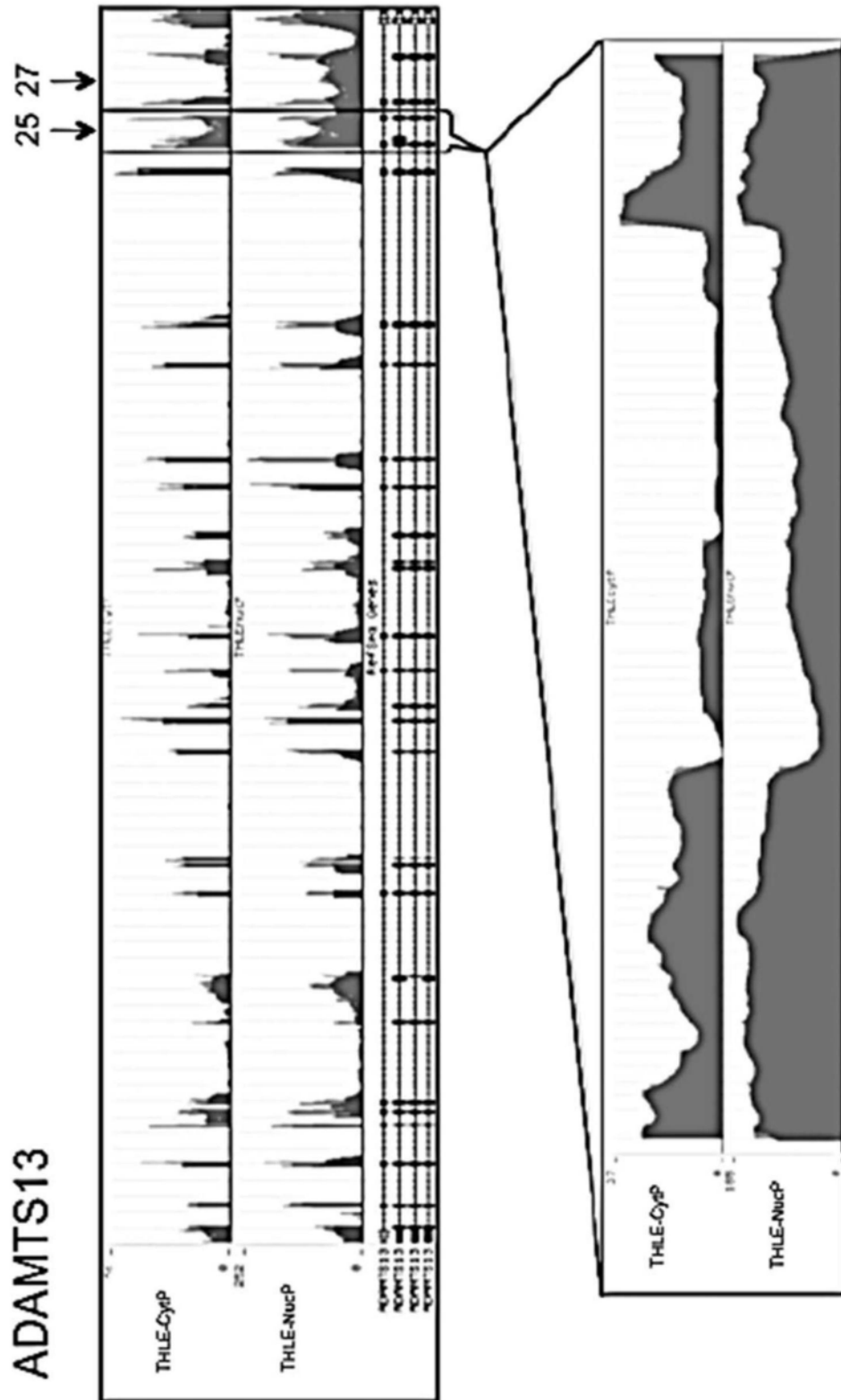


图11

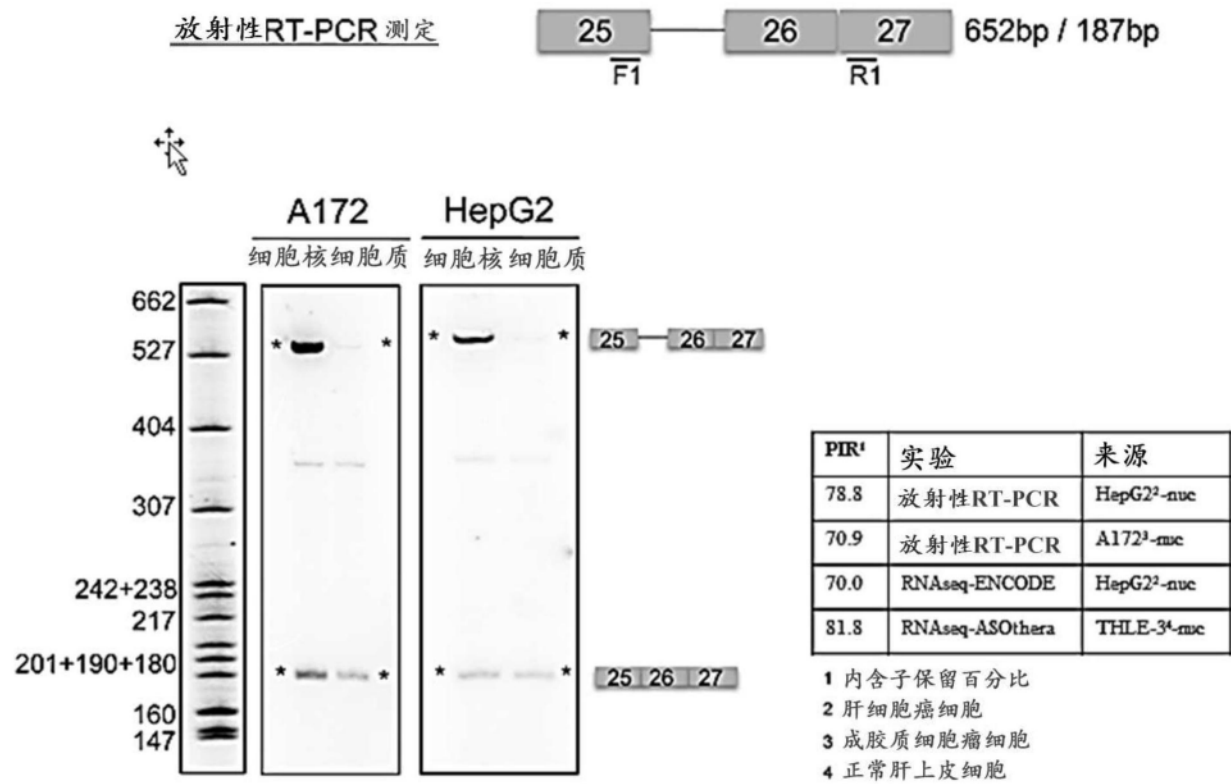


图12

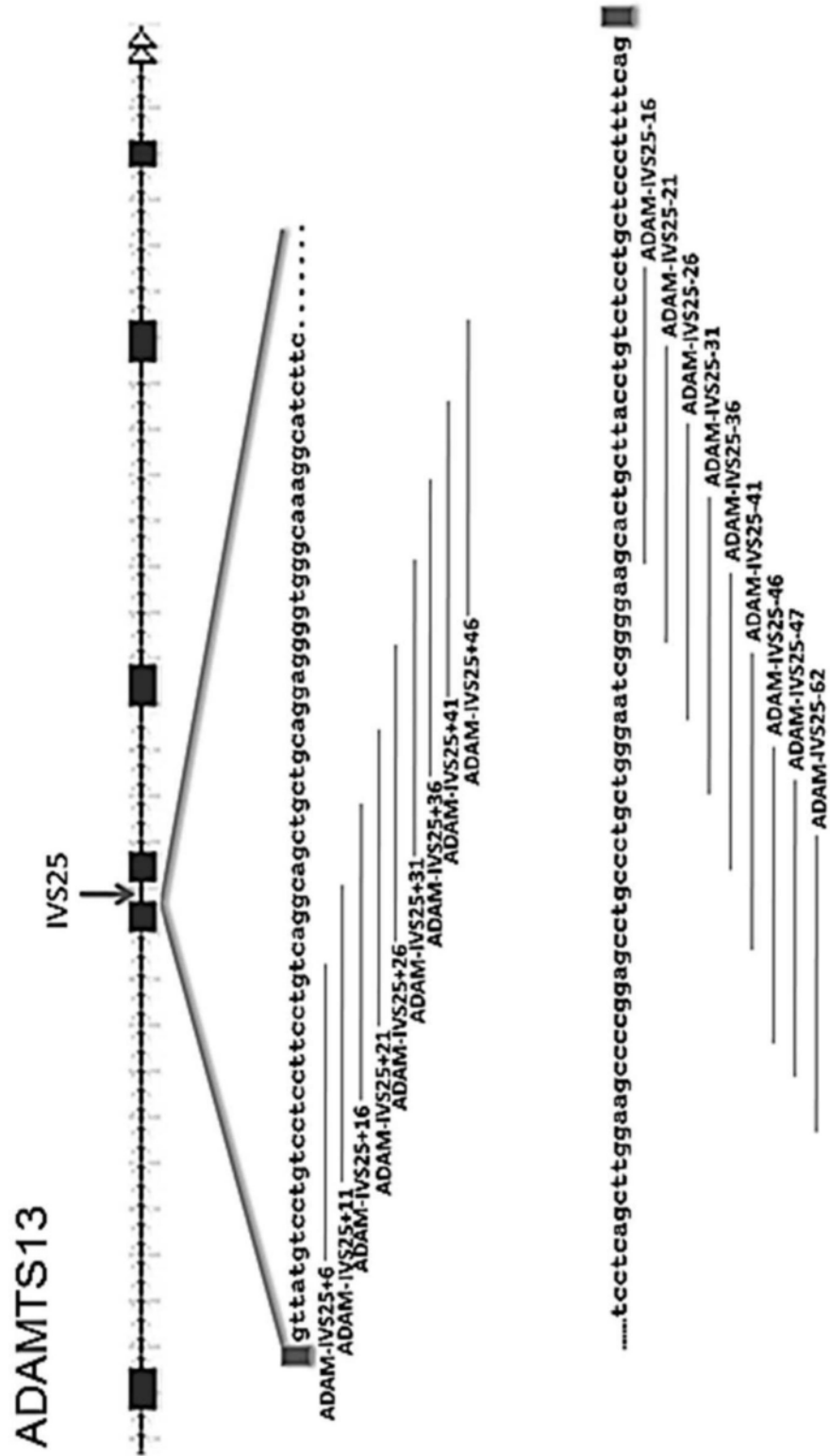


图13

放射性RT-PCR 测定

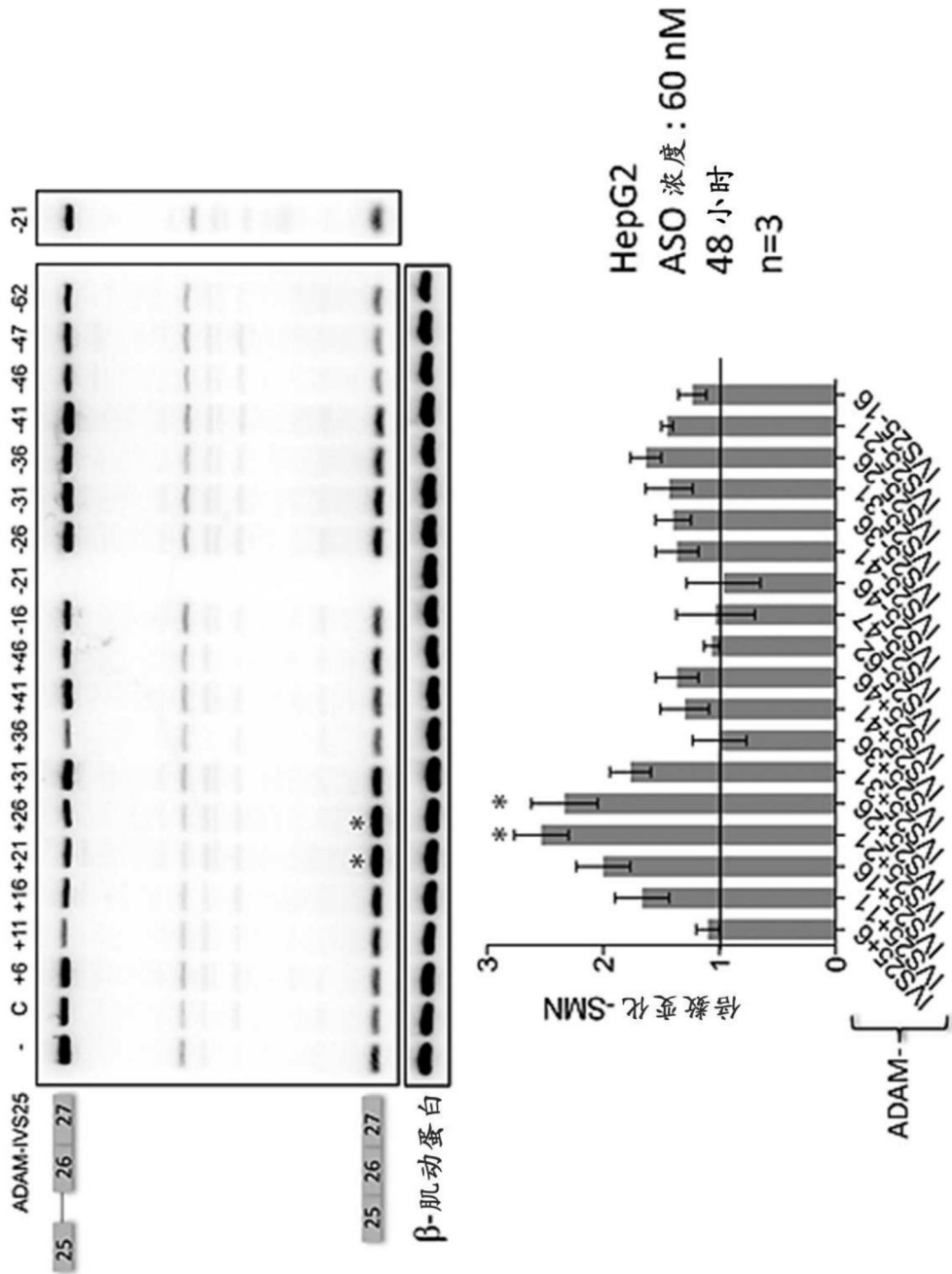


图14

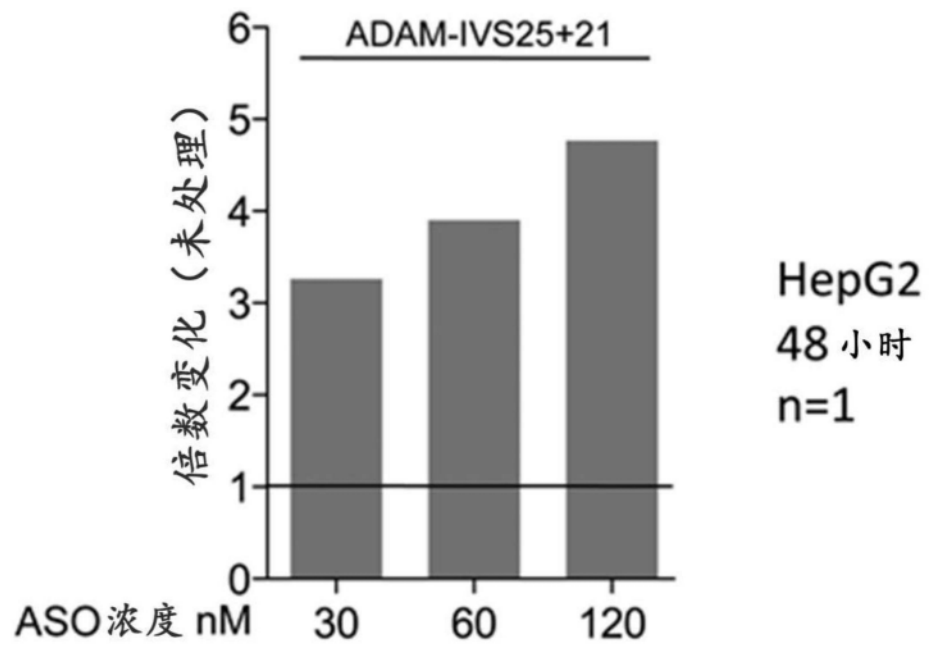
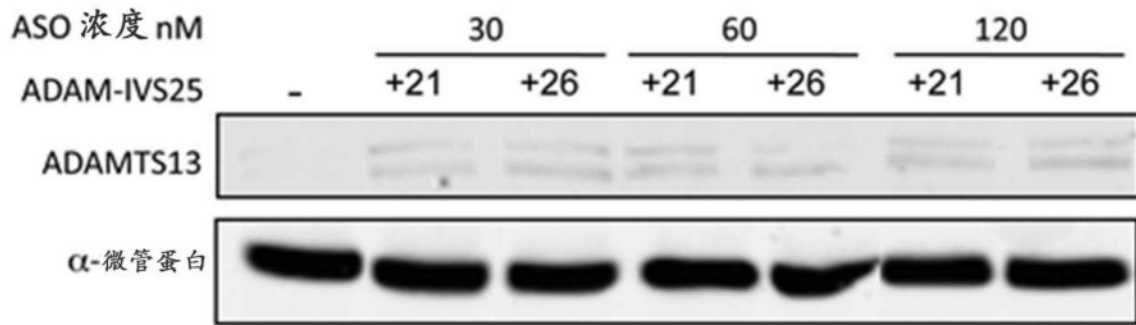
蛋白质印迹分析

图16

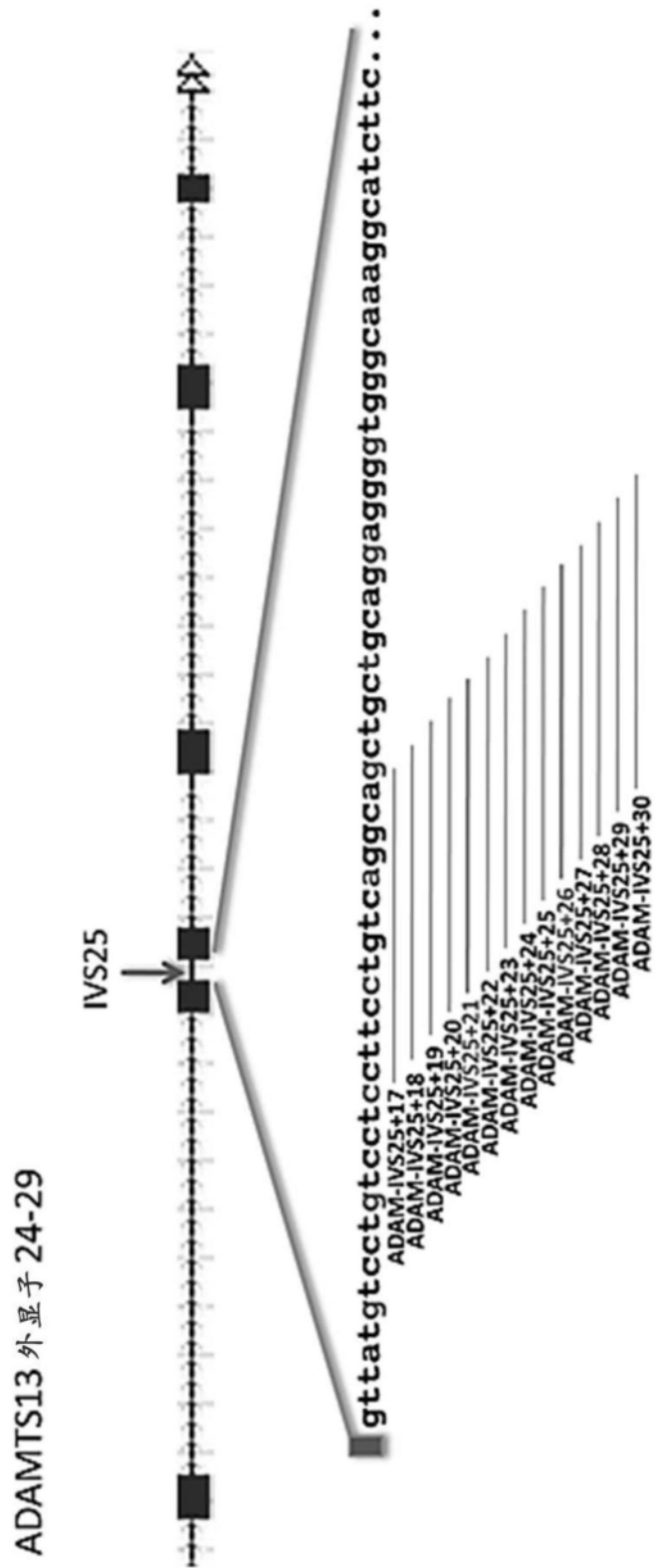


图17

放射性RT-PCR测定

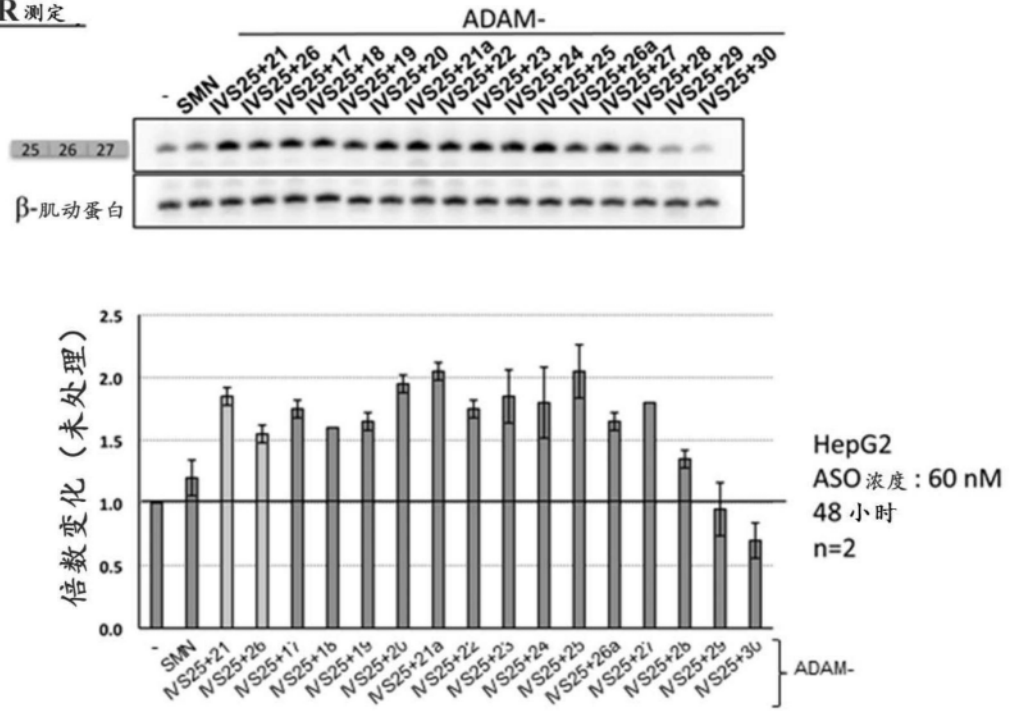


图18

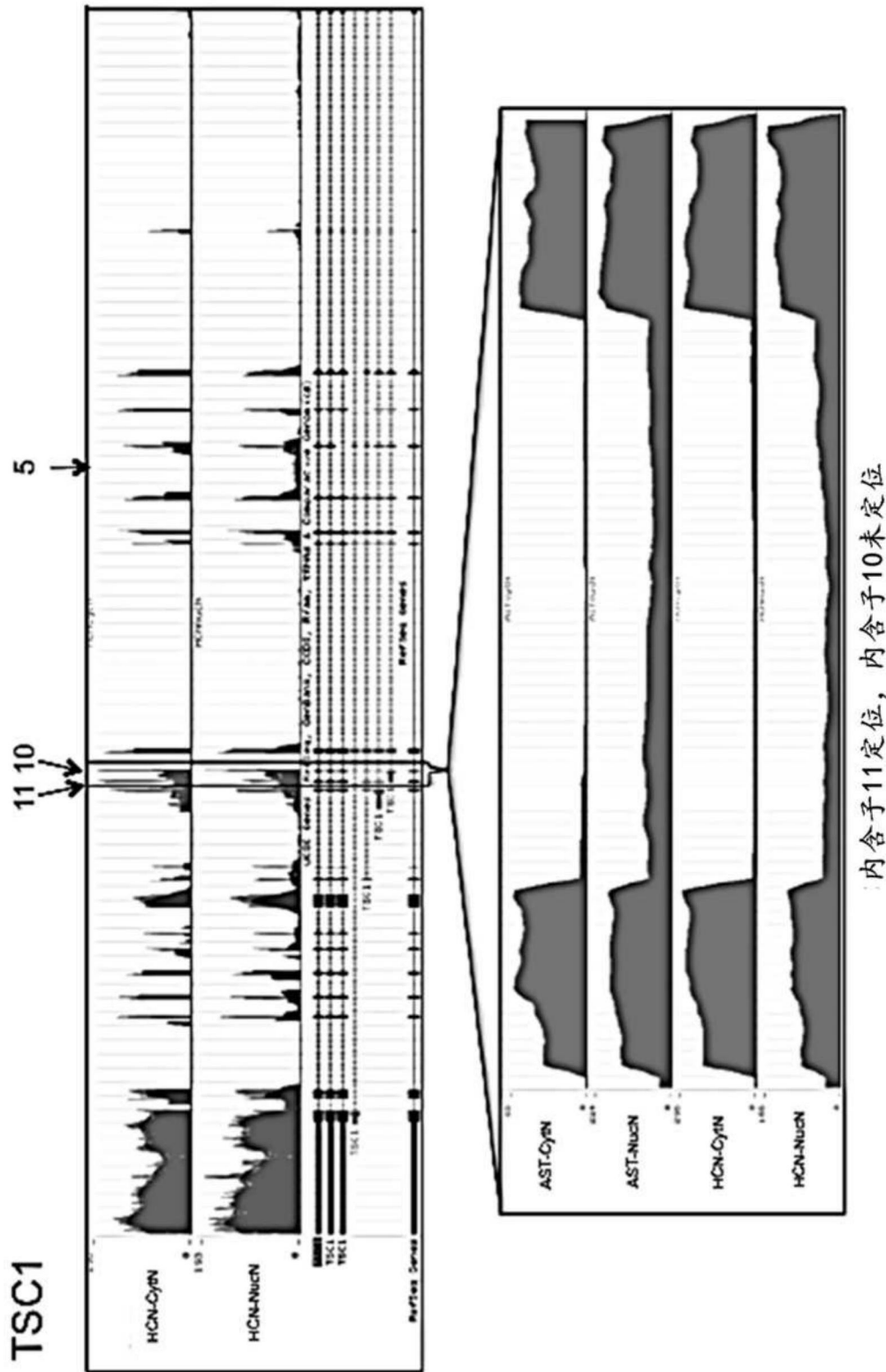


图19

放射性RT-PCR测定

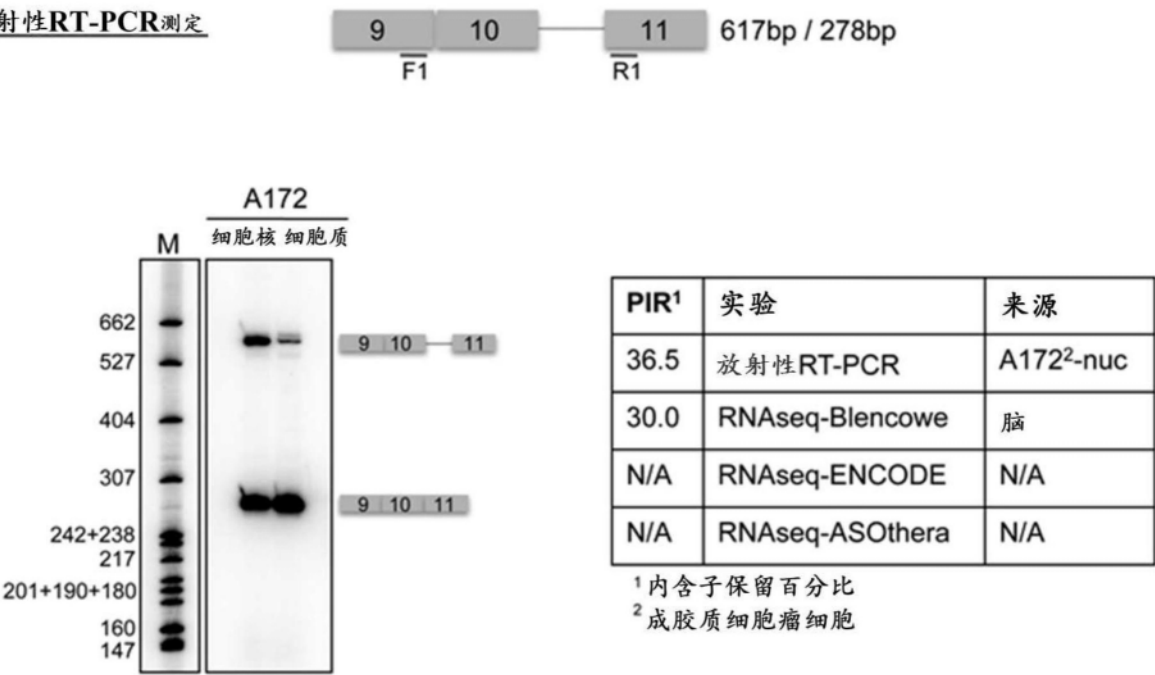


图20

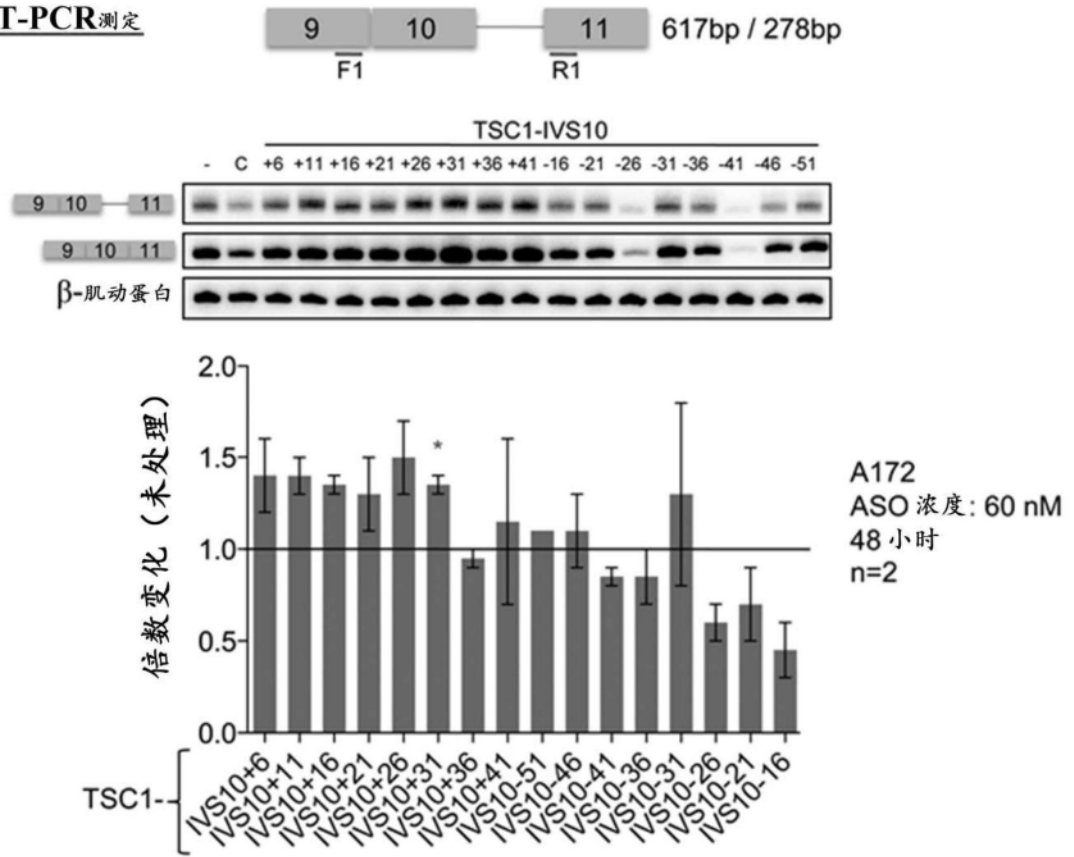
放射性RT-PCR测定

图22

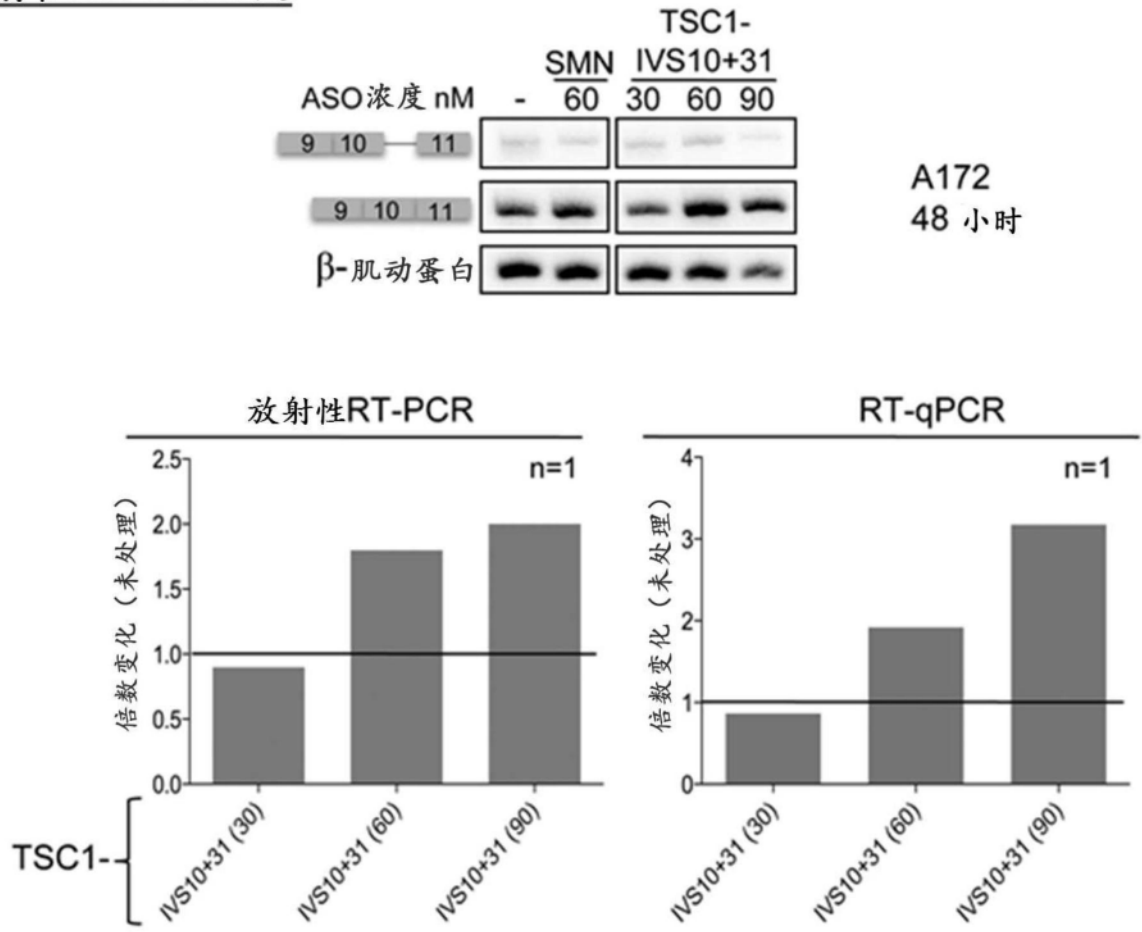
放射性RT-PCR测定

图23

蛋白质印迹分析

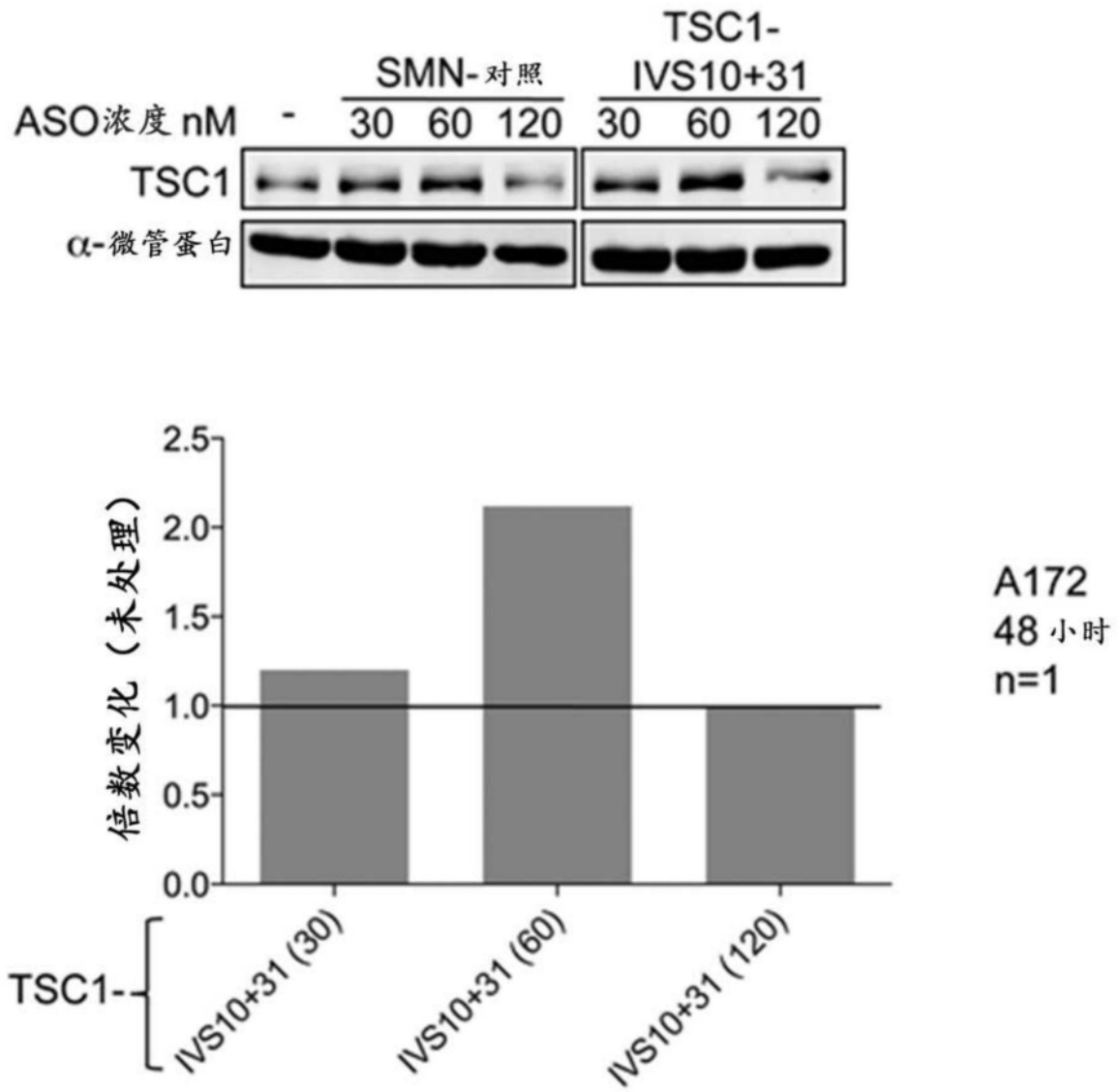


图24

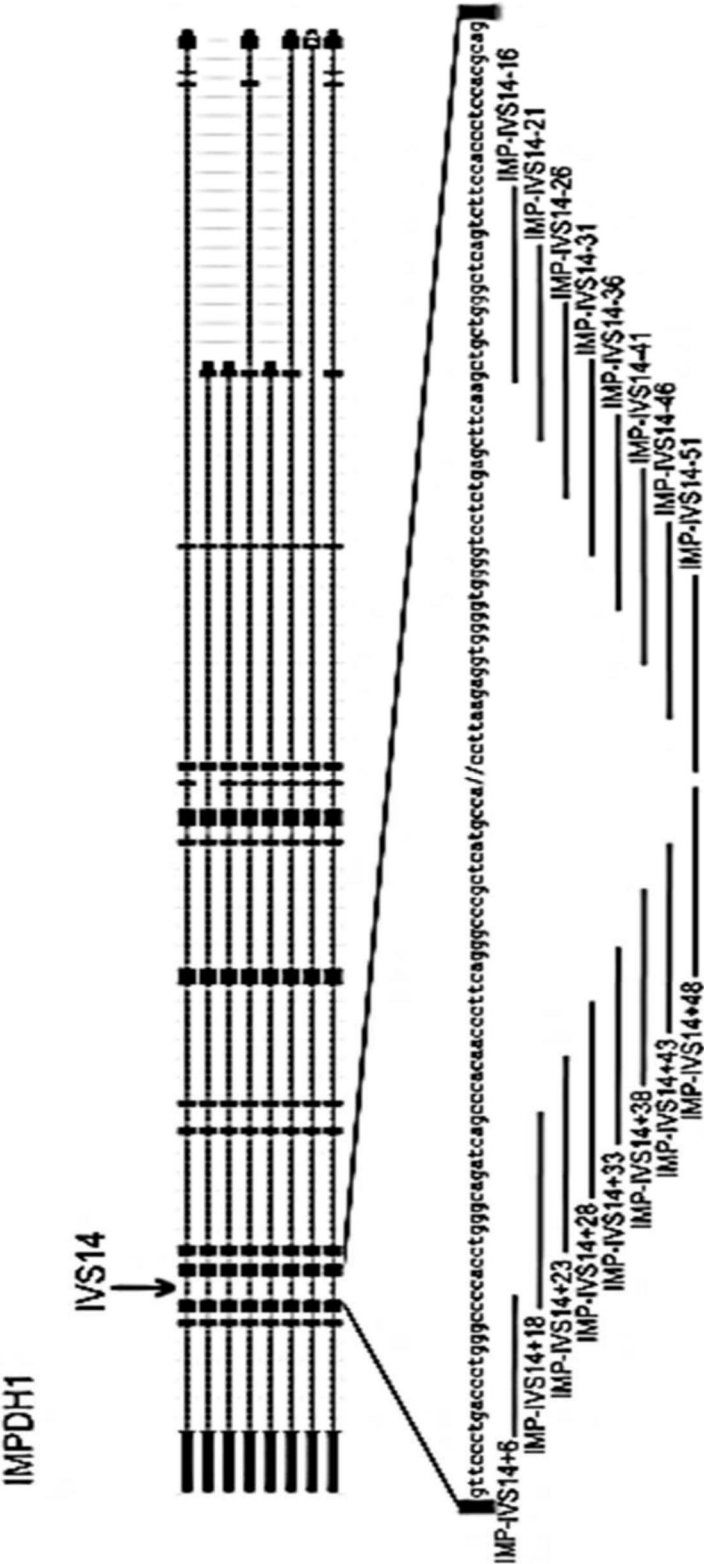


图26

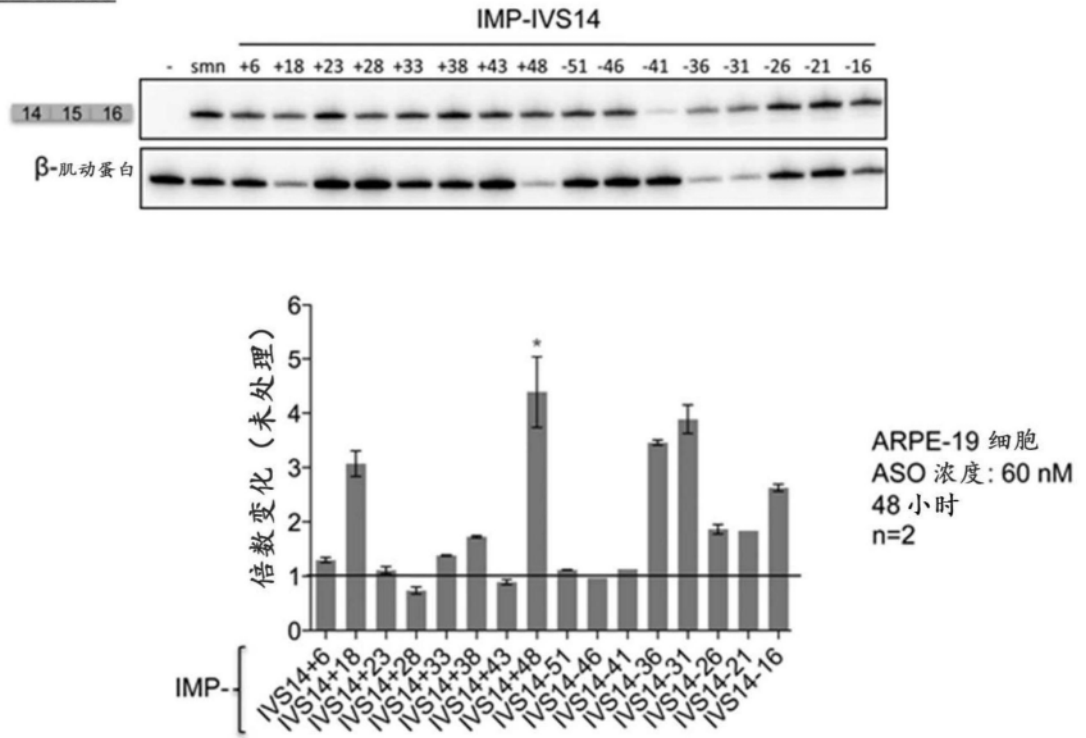
放射性RT-PCR测定

图27

蛋白质印迹分析

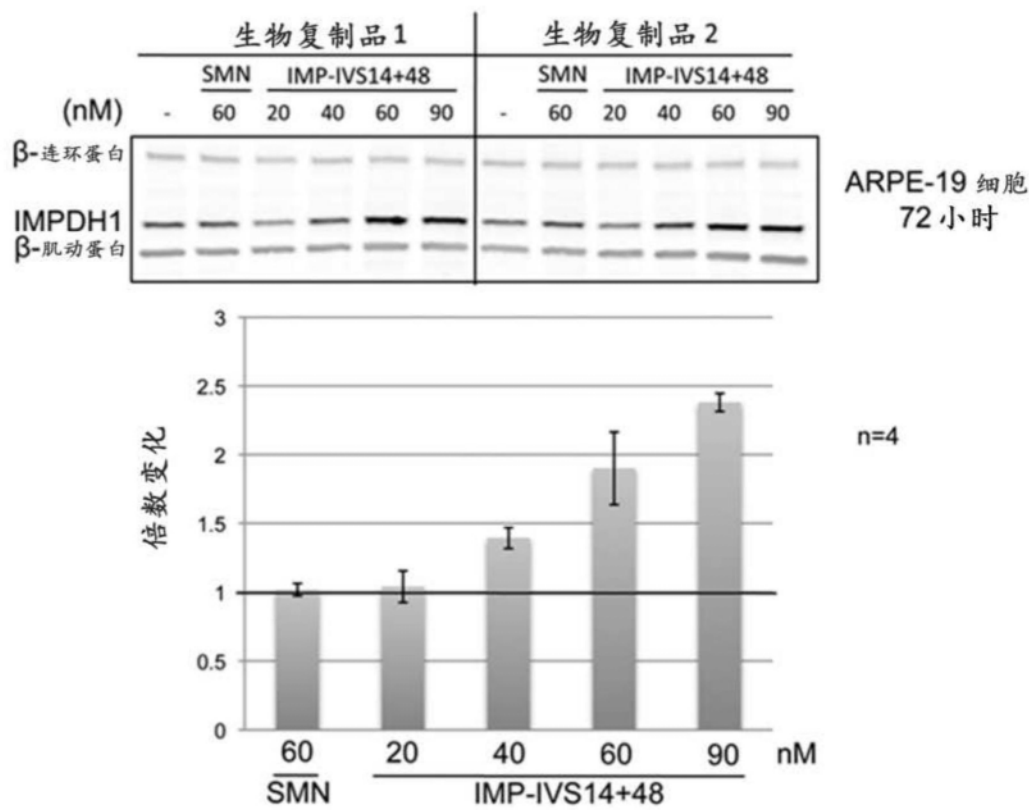


图29

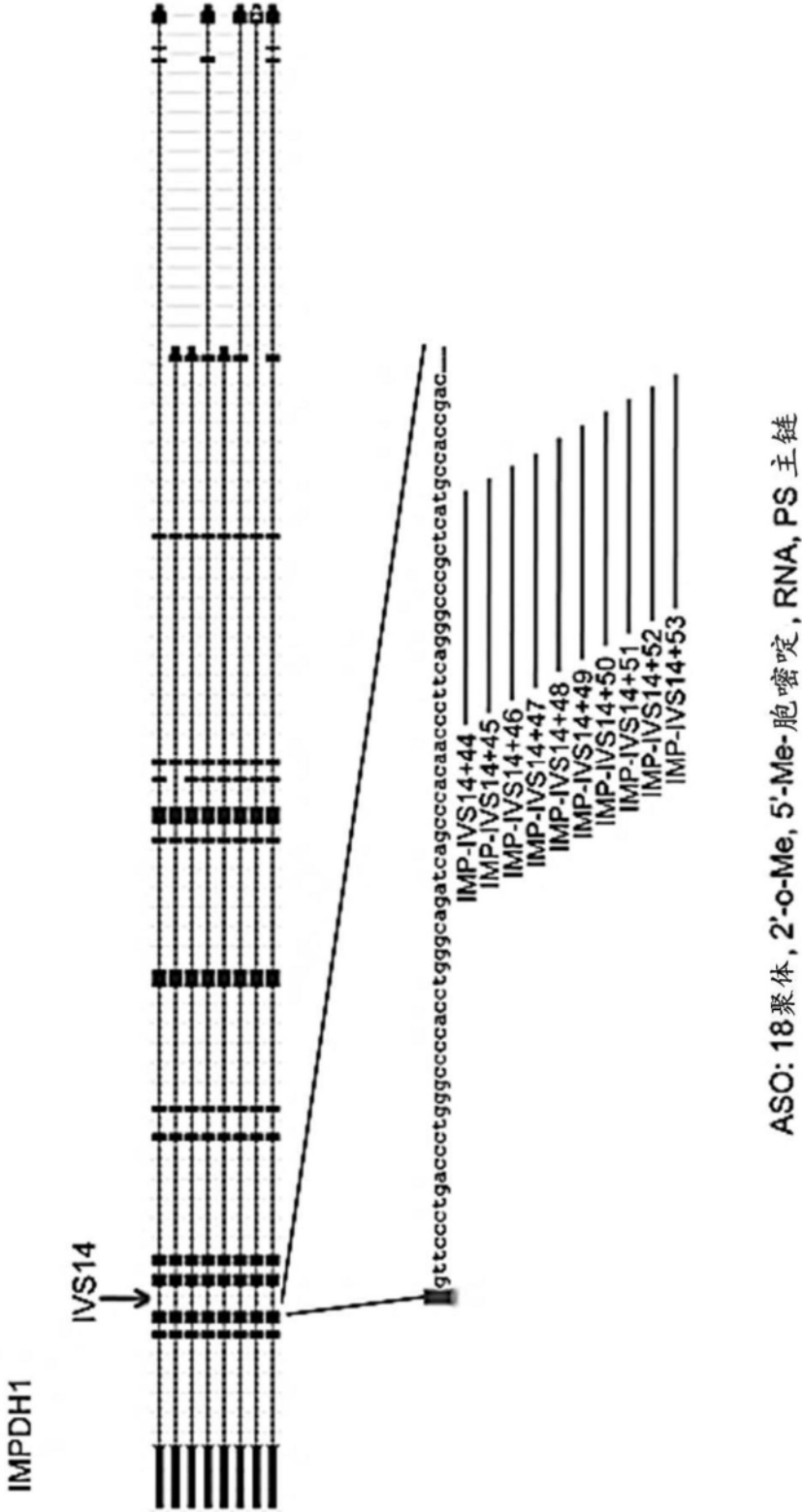


图30

ARPE-19 细胞
ASO 浓度: 60 nM
48 小时
n=2

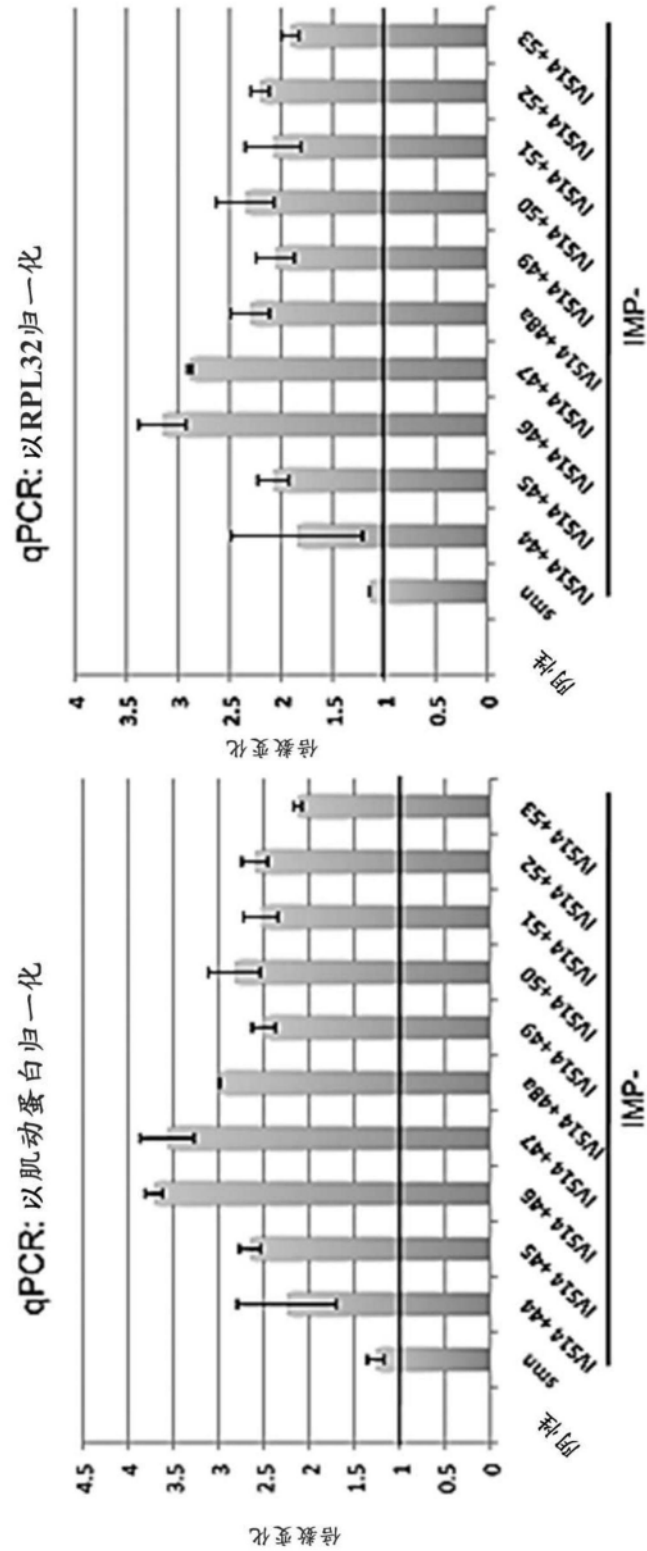


图31

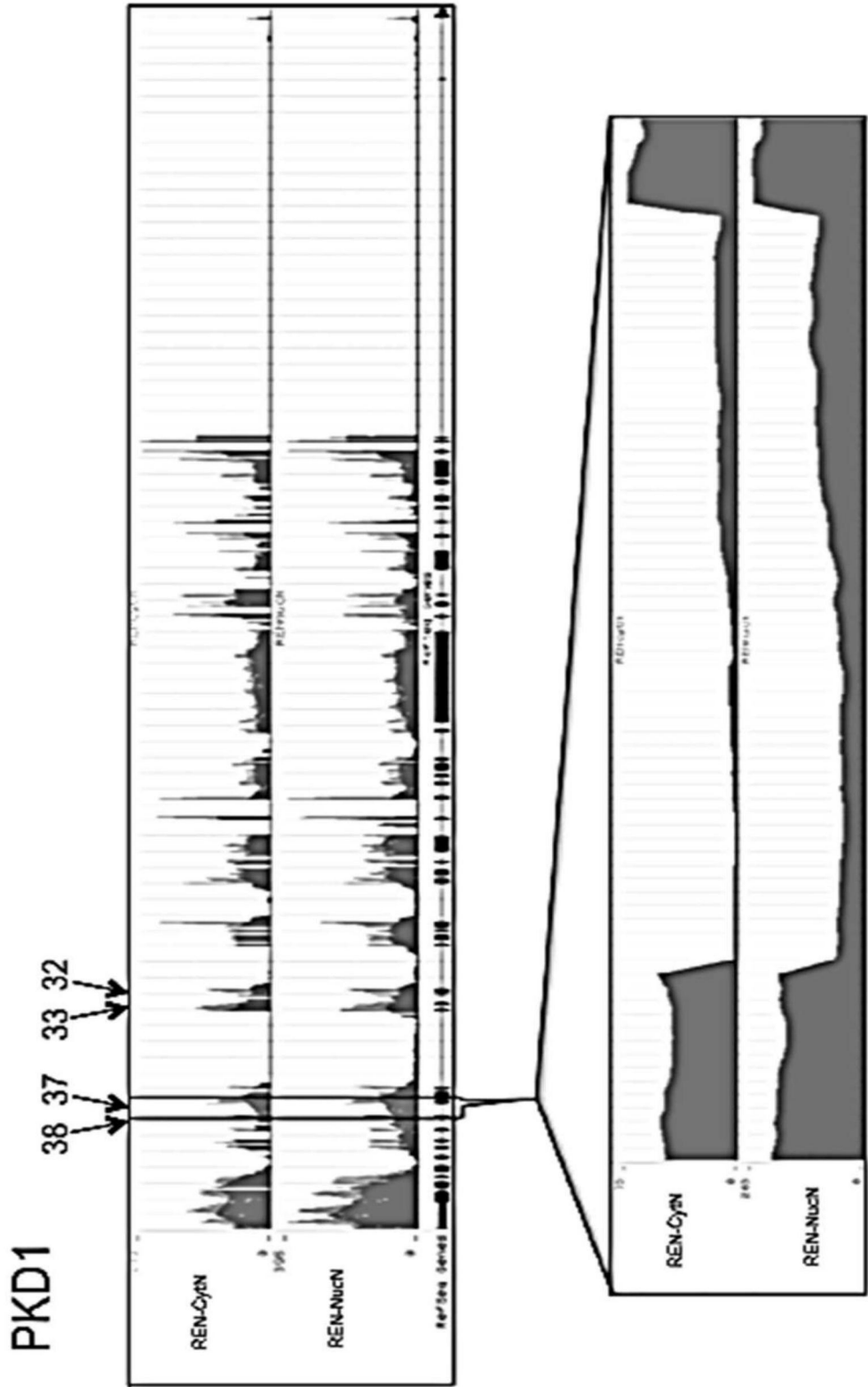


图32

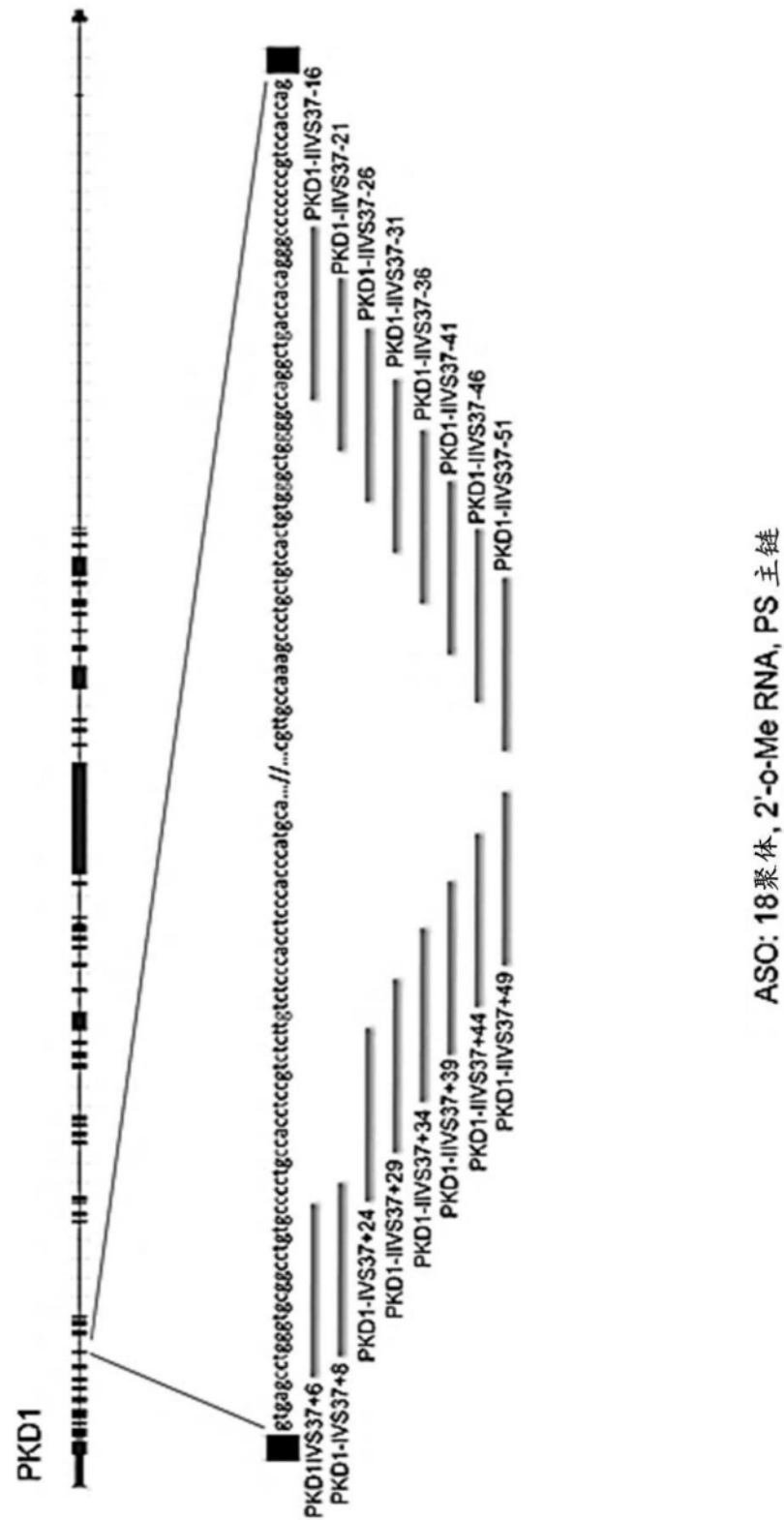


图33

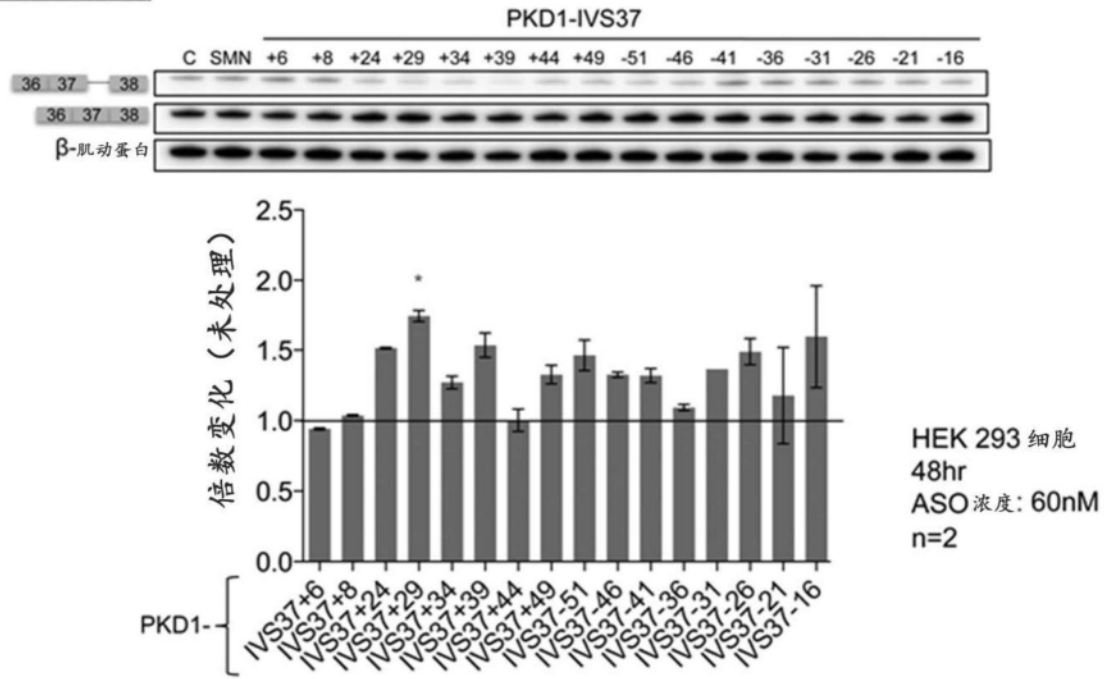
放射性RT-PCR测定

图34

流式细胞术测定

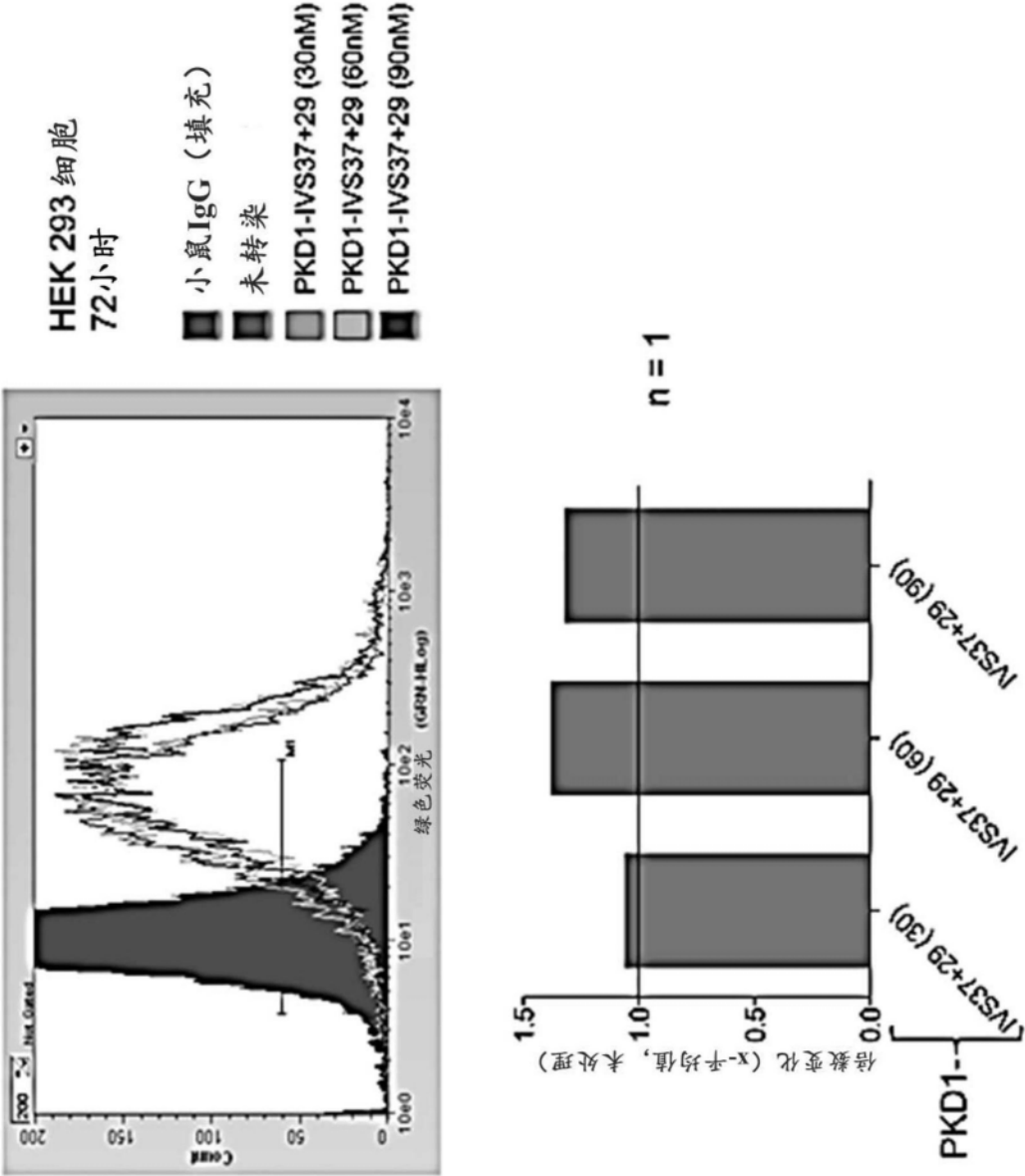


图36

IKBKAP

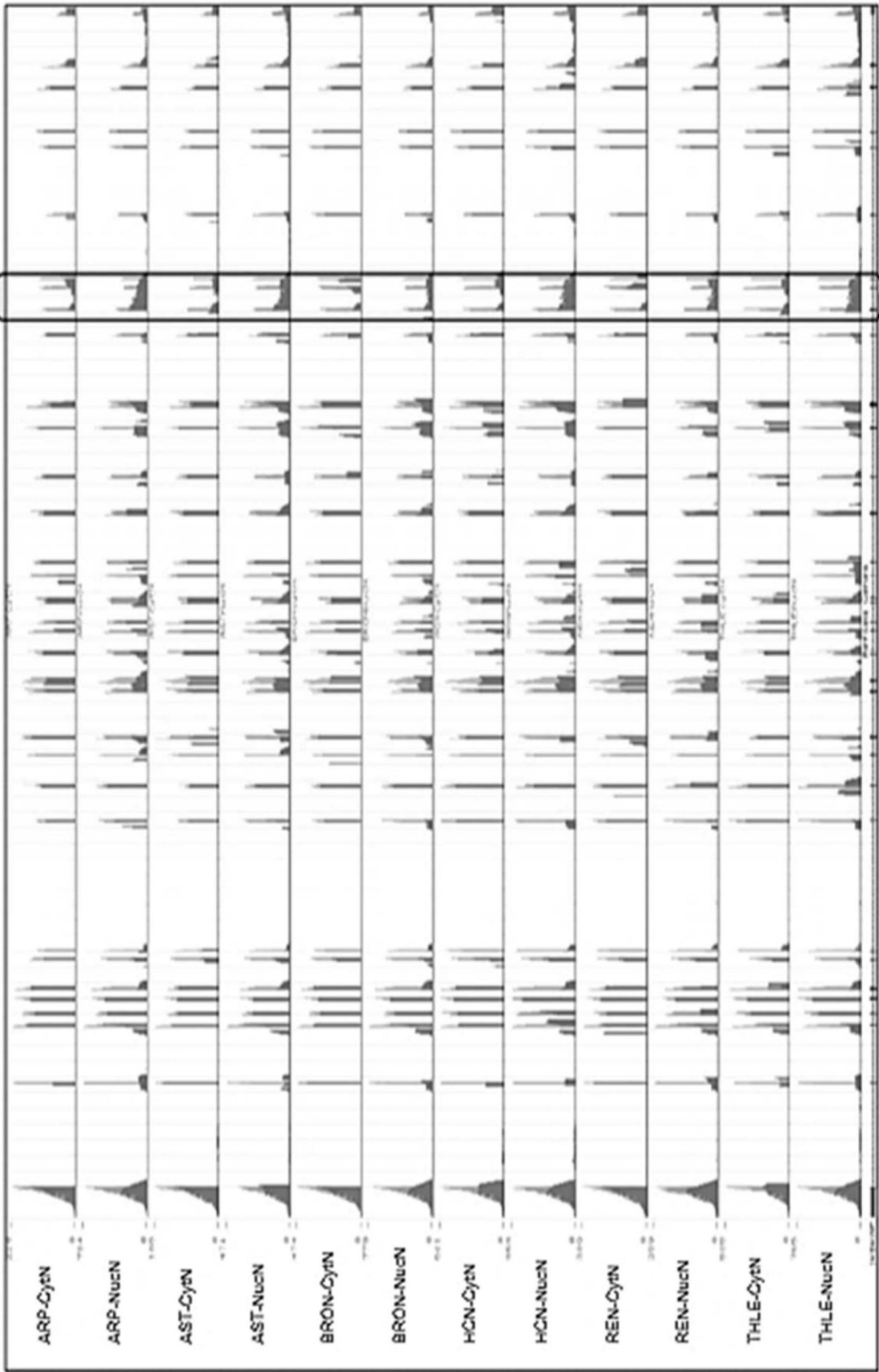


图37A

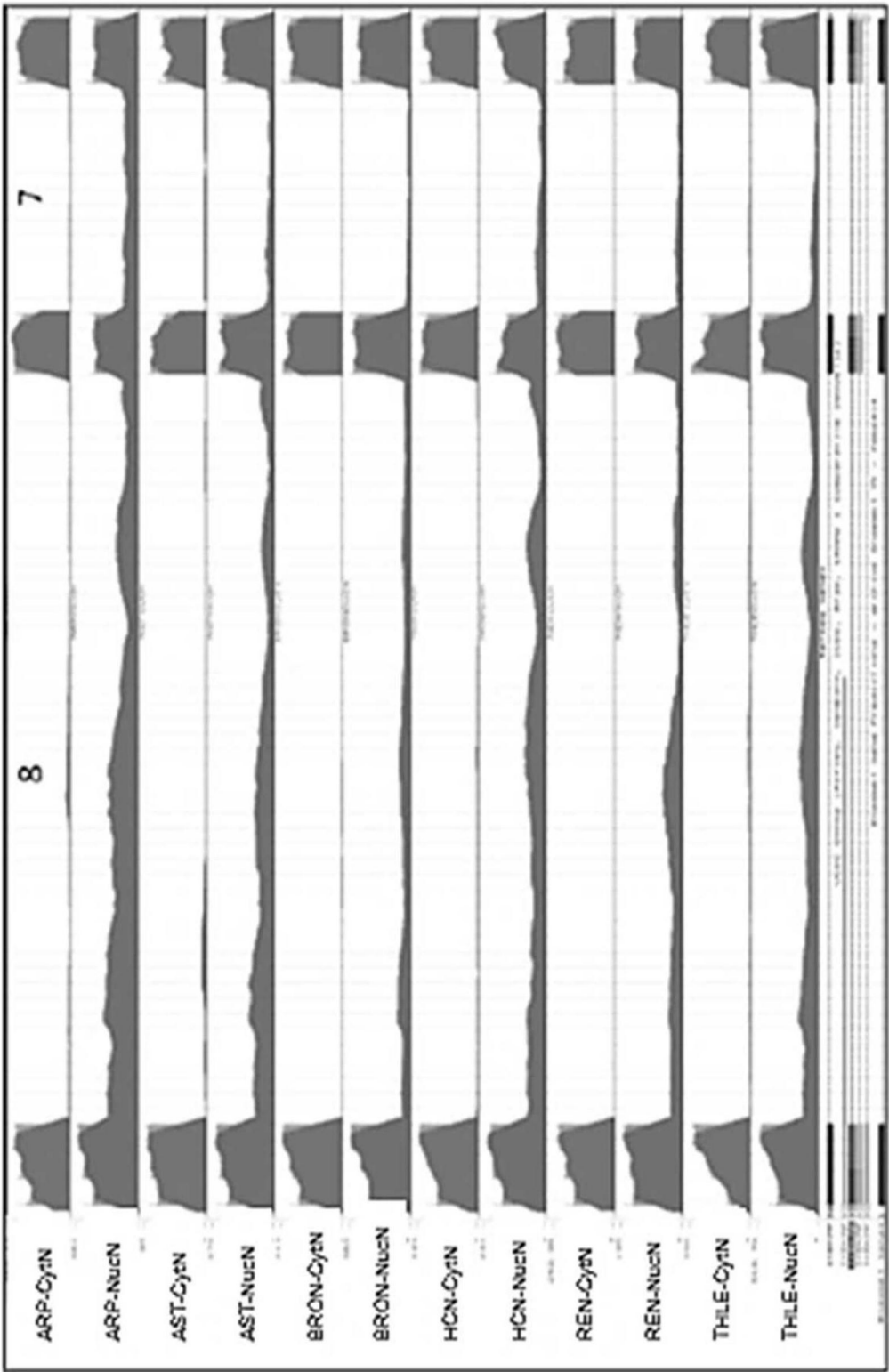
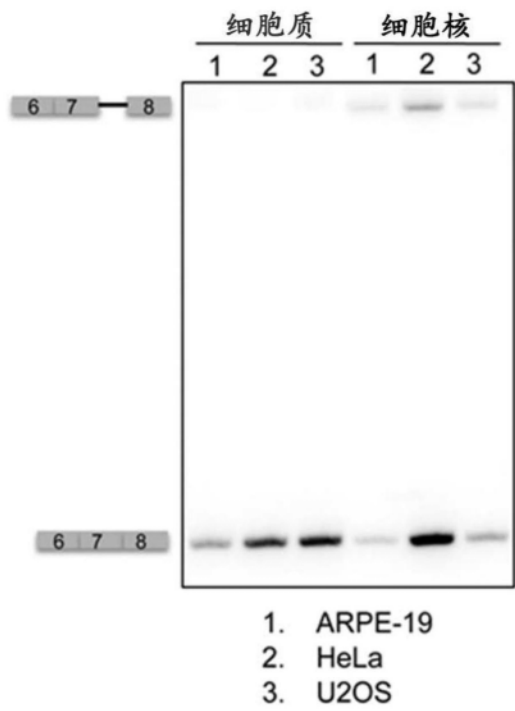


图37B

放射性RT-PCR分析



PIR ¹	实验	来源
35.5	放射性RT-PCR	ARPE19 ²
18	放射性RT-PCR	HeLa ³
26	放射性RT-PCR	U2OS ⁴
33	RNAseq-ASO ^{thera}	ARPE-19

1内含子保留百分比
2视网膜上皮
3宫颈癌
4骨肉瘤

图38

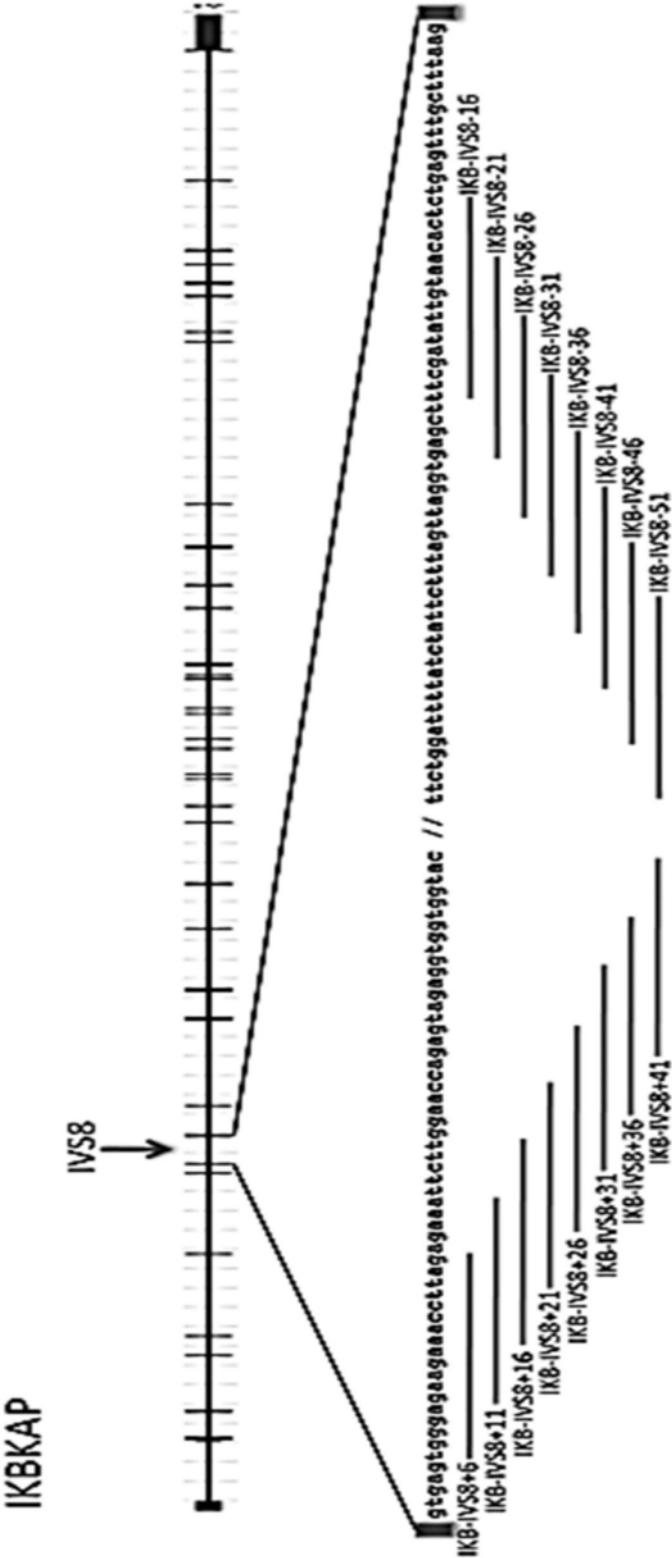


图39B

RT-qPCR 分析

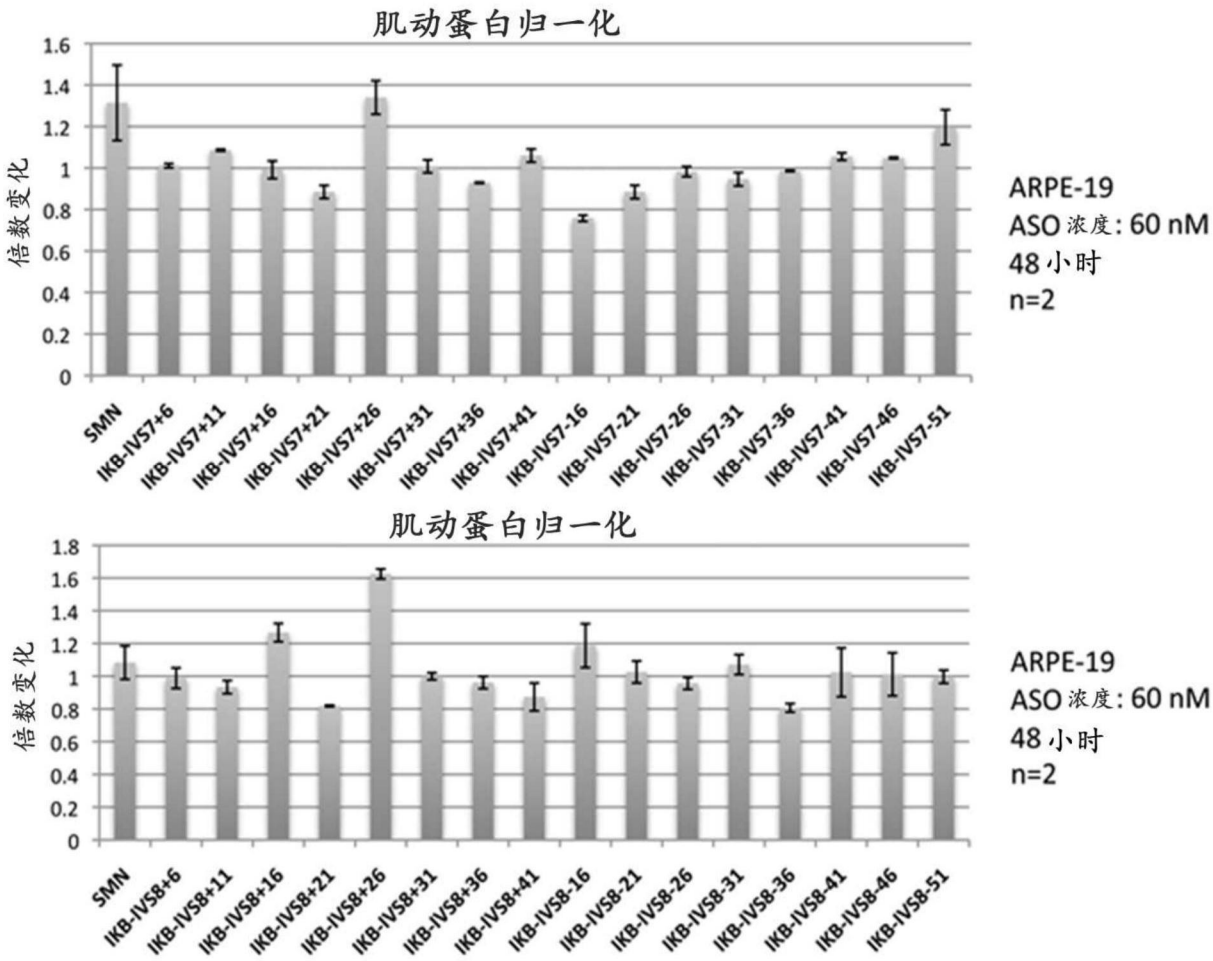


图40

放射性RT-PCR分析

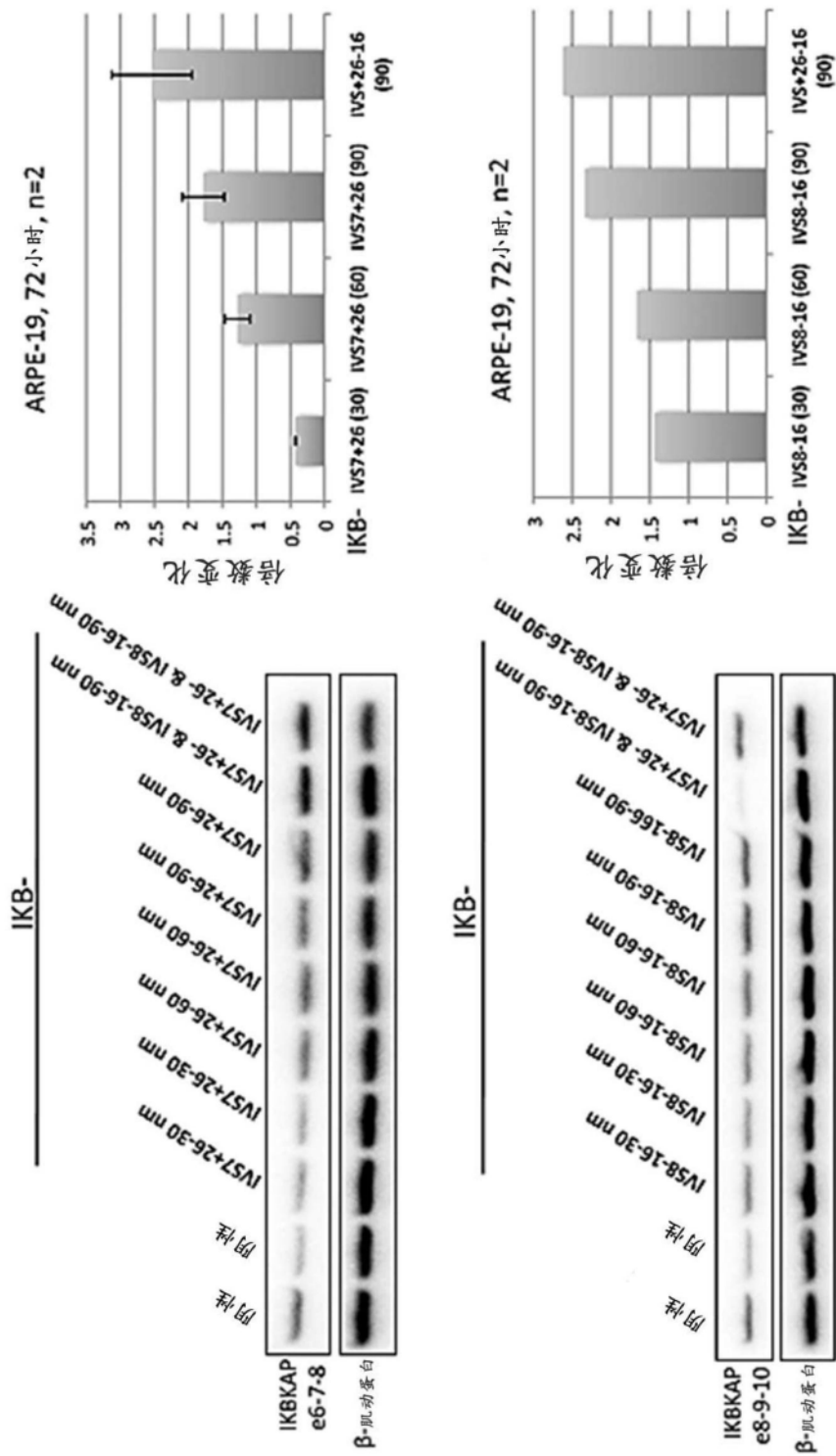


图41

蛋白质印迹分析

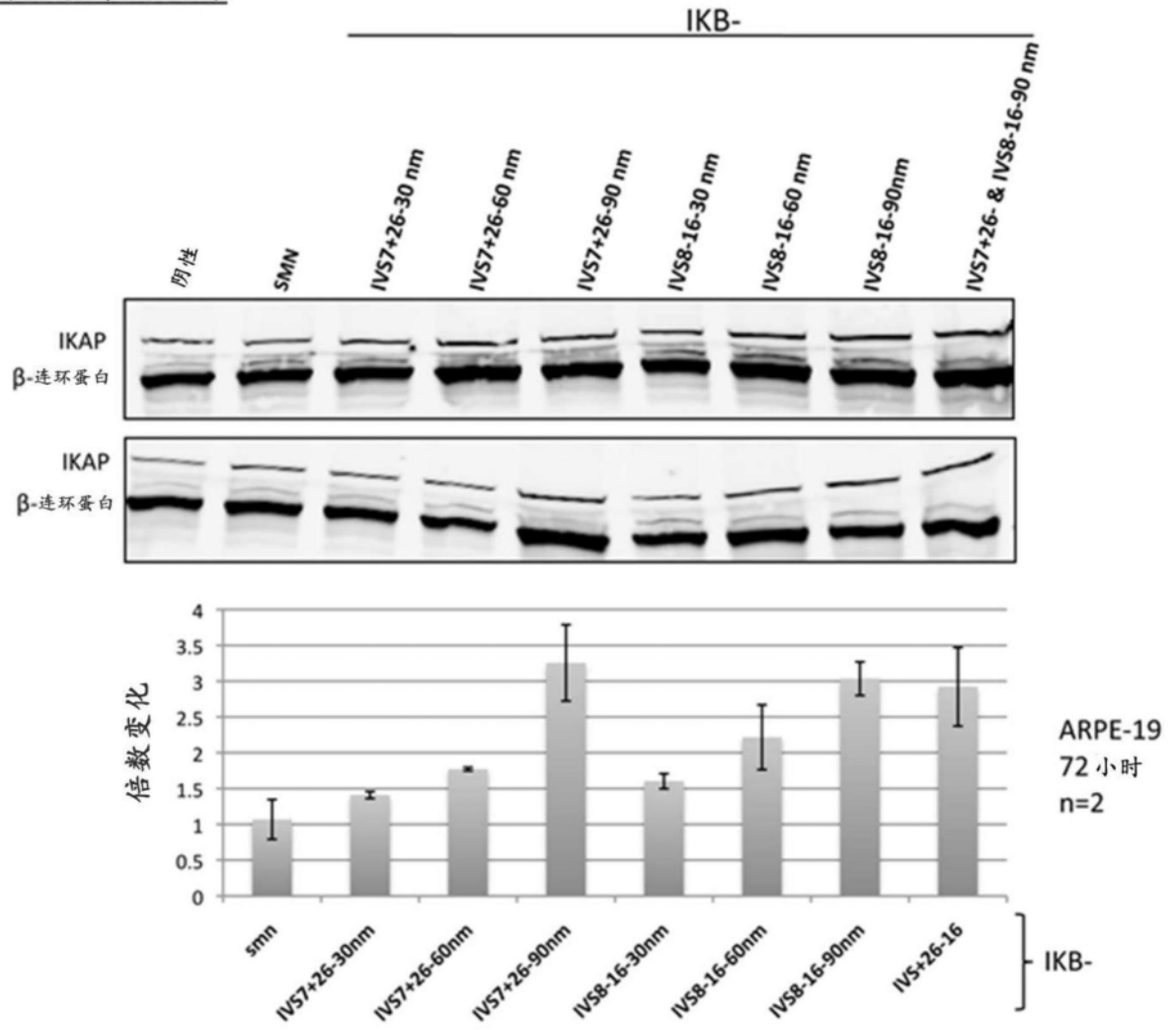


图42