



(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)

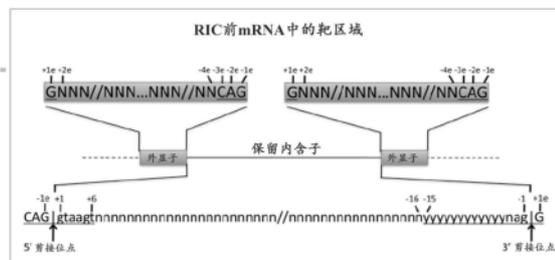
(56) 对比文件  
 CN 102625840 A, 2012.08.01  
 HALINA SIERAKOWSKA et al..Repair of thalassemic human b-globin mRNA in mammalian cells by antisense oligonucleotides.《Proc. Natl. Acad. Sci. USA》.1996,第93卷第12840-12844页.  
 HALINA SIERAKOWSKA et al..Repair of thalassemic human b-globin mRNA in mammalian cells 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 (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、 $\beta$ 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 $\beta$ 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 $\beta$ 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°C,优选至少50°C,并且通常为60°C至约90°C的T<sub>m</sub>。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<sub>m</sub>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、phosphoranilate、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

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
$\beta$ 地中海贫血 (BTI)	HBB	1
$\beta$ 地中海贫血	HBG1/2	2
镰状细胞病	HBG1/2	2
[0166] 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	ctgtcttgaacctgat	104
HBBIVS1+7	cctgtcttgaacctga	105
HBBIVS1+8	acctgtcttgaacctg	106
[0172] HBBIVS1+9	aacctgtcttgaacctt	107
HBBIVS1+10	aaacctgtcttgaacct	108
HBBIVS1+11	taaacctgtcttgaacc	109
HBBIVS1+12	ttaaacctgtcttgaac	110
HBBIVS1+13	cttaaacctgtcttgtaa	111
HBBIVS1+14	ccttaaacctgtcttgt	112
HBBIVS1+15	tccttaaacctgtcttgt	113
HBBIVS1+16	ctccttaaacctgtcttg	114
HBBIVS1+17	tctccttaaacctgtctt	115
HBBIVS1+18	gtctccttaaacctgtct	116
HBBIVS1+19	ggtctccttaaacctgtc	117
HBBIVS1+20	tggctccttaaacctgt	118
[0173] HBBIVS1+21	ttggctccttaaacctg	119
HBBIVS1+22	attggctccttaaacct	120
HBBIVS1+23	tattggctccttaaac	121
HBBIVS1+24	ctattggctccttaaac	122
HBBIVS1+25	tctattggctccttaaa	123
HBBIVS1+26	ttctattggctccttaa	124
HBBIVS1+27	tttctattggctcctta	125
HBBIVS1+28	gtttctattggctcctt	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

ASO	序列	SEQ ID NO
P31-IVS10+6	accggacccccagggccc	127
P31-IVS10+11	tgcctaccggacccccag	128
P31-IVS10+16	ccccatgcctaccggacc	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
P31-IVS10-26	cagggagtccggctgggag	136
P31-IVS10-21	ggcgccagggagtccgct	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	ttgtgtccctcgggtcccc	147
P31-IVS12+31	ccacctgtgtccctcgg	148
P31-IVS12+36	tccccacctgtgtcc	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	cacccuccugcagcagc	155
ADAM-IVS25+36	uugcccacccuccugca	156
ADAM-IVS25+41	ugccuuugcccacccuc	157

[0181]

ADAM-IVS25+46	gaagaugccuuugcccac	158
ADAM-IVS25-16	gagacagguaagcagugc	159
ADAM-IVS25-21	agguaagcagugcuucc	160
ADAM-IVS25-26	agcagugcuuccccgauu	161
ADAM-IVS25-31	ugcuuccccgauucccag	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	aggacuggagcacccaag	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

ASO	序列	SEQ ID NO
TSC1-IVS5+6	ucaaauccuacaaacau	198
TSC1-IVS5+11	uucauucaaauccuuaca	199
TSC1-IVS5+16	accuuuacuucaaaucc	200
TSC1-IVS5+21	auaaaaccuuuacuuca	201
TSC1-IVS5+26	uacucauaaaaccuuuc	202
[0185] TSC1-IVS5+31	aacuauacucauaaaacc	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	uuccagaaagcagagg	219
TSC1-IVS10+36	ucagcuuccagaaagc	220
TSC1-IVS10+41	aaggguccagcuuccag	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	gucauccagagguuuau	228
TSC1-IVS10-51	ccacgagguuuauaucca	229
TSC1-IVS11+6	aauccaaccuaagacaua	230
TSC1-IVS11+11	aaucaaauccaaccuaag	231
TSC1-IVS11+16	caacuaaucaaauccaac	232
TSC1-IVS11+21	aaaaccaacuaaucaaa	233
TSC1-IVS11+26	aggccaaaaccaacuaau	234
TSC1-IVS11+31	aaggcaggccaaaacca	235
TSC1-IVS11+36	cauuaaaggcaggccaaa	236
TSC1-IVS11+41	ccugccauuaaaggcagg	237
TSC1-IVS11-16	agaacauuaugaacacu	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

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	ugagcgggcccugaagg	252	
[0190]	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	cgguggcaugagcgggccc	269
	IMP-IVS14+52	ucgguggcaugagcgggccc	270
	IMP-IVS14+53	gucgguggcaugagcgggccc	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

	ASO	序列	SEQ ID NO
	PKD1-IVS32+6	cgagguuucucuaggaa	272
	PKD1-IVS32+11	gggcucgagguuucucua	273
	PKD1-IVS32+16	caccagggcucgagguuu	274
	PKD1-IVS32+21	accugcaccagggcucga	275
	PKD1-IVS32+26	cagugaccugcaccaggg	276
[0194]	PKD1-IVS32+31	agacacagugaccugcac	277
	PKD1-IVS32+36	acccagacacagugacc	278
	PKD1-IVS32+41	ccggcaccagacacag	279
	PKD1-IVS32-16	gucagcaagguaccaggg	280
	PKD1-IVS32-32	gggaugugucacacacac	281
	PKD1-IVS32-37	gugucacacacagccc	282
	PKD1-IVS32-42	acacacacagcccacccc	283
	PKD1-IVS32-47	cacagcccaccccgucc	284

[0195]

PKD1-IVS32-52	cccacccccguccaguca	285
PKD1-IVS32-57	ccccguccagucacgcac	286
PKD1-IVS32-62	uccagucacgcacggaca	287
PKD1-IVS33+6	ccccuccucacccccag	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	gggccccagcugcaagggg	294
PKD1-IVS33-21	aggguggggcccagcugca	295
PKD1-IVS33-16	gcauaggguggggcccagc	296
PKD1-IVS37+6	gcacaggccgcaccagg	297
PKD1-IVS37+8	gggcacaggccgcacca	298
PKD1-IVS37+24	gagacggagguggcaggg	299
PKD1-IVS37+29	gacaagagacggaggugg	300
PKD1-IVS37+34	ugggagacaagagacgga	301
PKD1-IVS37+39	ggagguggggagacaagag	302
PKD1-IVS37+44	gggugggaggugggagac	303
PKD1-IVS37+49	ugcaugggugggaggugg	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

	PKD1-IVS38+11	gacagaccagugcaccgg	314
	PKD1-IVS38+16	cagaagacagaccagugc	315
	PKD1-IVS38+21	aagcccagaagacagacc	316
	PKD1-IVS38+26	aacuaaaagcccagaagac	317
	PKD1-IVS38+31	ggcaaaacuaaaagcccag	318
	PKD1-IVS38+36	cuaaaggcaaaacuaaag	319
	PKD1-IVS38+41	cuggacuaaaggcaaaac	320
[0196]	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	ucgagugagcggccacca	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

	ASO	序列	SEQ ID NO
	IKB-IVS7+6	uuaacugcaauauuuuc	329
	IKB-IVS7+11	guuguuuuacugcaauau	330
	IKB-IVS7+16	uuauuguuguuuacugc	331
[0199]	IKB-IVS7+21	auuuuuuuuuguuguuuu	332
	IKB-IVS7+26	uaaaaauuuuuuuauuguu	333
	IKB-IVS7+31	uaagauaaaauuuuuuu	334
	IKB-IVS7+36	uuuaauaagauaaaauu	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	acacuuaaaacauuuga	340
IKB-IVS7-36	uaaaacauuugauaaaa	341
IKB-IVS7-41	cauuugauaaaaguugu	342
IKB-IVS7-46	ugauaaaaguugucauu	343
IKB-IVS7-51	aaaguugucaauucagaa	344
IKB-IVS8+6	cuaagguuucuucucca	345
IKB-IVS8+11	uuucucuaagguuucuuc	346
IKB-IVS8+16	aagaauuucucuaagguu	347
IKB-IVS8+21	guccaagaauuucucua	348
IKB-IVS8+26	cucugguccaagaauuu	349
IKB-IVS8+31	cucuacucugguccaag	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	aauagauaaaauccagaa	360
IKB-IVS7+22M	aauuuuuuauuguuuuu	361
IKB-IVS7+23M	aaauuuuuuuauuguuu	362
IKB-IVS7+24M	aaaauuuuuuuauuguu	363
IKB-IVS7+25M	aaaauuuuuuuuauuguug	364
IKB-IVS7+26M	uaaaaauuuuuuuuauuguu	365

	IKB-IVS7+27M	auaaaaauuuuuuauugu	366
	IKB-IVS7+28M	gauaaaaauuuuuuauug	367
	IKB-IVS7+29M	agauaaaaauuuuuuauu	368
	IKB-IVS7+30M	aagauaaaaauuuuuuau	369
[0201]	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是非生产性的(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。

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
[0233] 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
是	否	否	20
否	否	是	21
[0234] 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 $\beta$ 地中海贫血有关的HBB (人 $\beta$ 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 $\beta$ 微管蛋白抗体来检测作为加样对照的 $\beta$ 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 $\beta$ 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, 1156 High Street, Santa Cruz, CA 95064)运行并由例如Rosenbloom等人,2015,“The UCSC Genome Browser database: 2015 update,” *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(人肝细胞癌)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 AAUUCGACAAGUGGCAGGAGCCGCCUGUGA AGCAGGUGAAGCCGCUGCCUGCGCCCCUGGAUG GACAGCGGAAGAAGCGAGGCGGCCG
2	内含子 10	gggcccuggggguccgguaggcaugggggucauggaggggagaagccgg cguccuccuccagccgacuccuggcgccgcca
3	外显子 11	UACCGCAAGAUGAAGGAGCGGCUGGGGCUGACG GAGAUCGGAAGCAGGCCAACCGUAUGAGCUUC GGA
4	外显子 12	UCGAGGAGGACGCCUACCAGGAGGACCUGGGAU UCAGCCUGGGCCACCUGGGCAAGUCGGGCAGUG GGCGUGUGCGGCAGACACAGGUAAACGAGGCCA CCAAGGCCAGGAUCUCCAAGACGCUG
5	内含子 12	ggccagaccaguggggcuggggaccgaggacacaagguggggggag cccagaucgcagccucc
6	外显子 13	GGACCCUGCAGAAGCAGAGCGUCGUAUAUGGCG GGAAGUCCACCAUCCGCGACCGCUCCUCGGGCA

[0309]

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

[0310]

表12:RB1靶序列

SEQ ID NO	区域	靶序列
7	外显子 24	AUCUUAGUAUCAAUUGGUGAAUCAUUC
[0311]		tttttctttctatgaaatataatagtgatgcattgtaagtataaaagaattaaagctttct ataattgaatttccaaatgcagttattcaaacacctcatccaggcatattgcatagaa tttatgagatataatctcagatttcaaatcaagtttaattcctcaatcatactc ctaattggtgaactcaaaacttttctaaatccacttgagattatataatacatatata cattgtgtatatacatatatactgagctgttttctcacaacatttctatcacc aatgtgtgagattttttctcaccctcaatctattctcaactctctggtgttctacaattc aattcaattctgacactaattaccagagtcagcatcagactccacaggtcaagg gctcagtcaccacaaaatggtctcactgcagacaccagtcacaagtgctcaggtcc ccaggctacaccacacttccgtctgacttgaatacgaagttggggggtccgatag tgctcttcttacagttgatccactgccagaactactcacaaaactctggaaaata ttctacttactattatcagttcatcataaaagatacaaatgaacagccagatgaagaa atattatatagggtgaggtccagaagagtccttagcacaggggcttctgtccctgg ggagttgggtgcaccacctcctagcacttagacatgtttaccaactccaaagat ctccaaccttattgttgaggggttttatgggggttcattataggcataattgatt aactcaattccaaccccctcccctccctggatagagggtggggctgaaagtcca agcttctactcaagacttggtctttctggcaaccagcttccatcctaaattagctaggt accaccaagtatcacctcattagaacaaaagatggtcccatcacccttatcacac atgaaattcgaagggttttaggagctctgtcccaggaaccagggacaaagaccaa atatcttcaatgataccatgtatgtatgtacataacctcacaggaatctttataaac aatttgaaattcactcattatgagtgattgaaatgagatactccaaaatgtaagc ccgatatccaaatgtcaccagcctgtccctgctactggtctccttcatacatatgc actttttgcttgccttctcagacttctaggatattcttttctggtacactgattagg aattgttgcagatcctgcctcagtgaaagtggcagagcttcttaggagat
8	内含子 24	

[0312]

		<p>ccaagggaaagctttgctttgaaacatttattctaggctgcaaatccacaaccctag  ttggccttcattaaagtcactaattcagcagtccecatattcaatgactactgttaa  tatgttgaccatctccattcccctgagagcttatattttaatttttaatttttag  agacagtgtctcactctgtcacctactattataacctcaaactcctcggccaagc  agtctctcaccttagcctcccaagttgccaggactacaggcatgaccaccatgt  ccagctaattttaaattttttagagacagggtttctatgttgccagattggtattg  aactcctggctccacgataccccgtctcagcctcccaagaactgggattacaga  tgtgagccactgcacctggccagagagcttatattcttataggaatgggaagactg  cctatgttatgttgctacataatacattacccccaaactagtgactaaaacaac  gcttattatctccatttctgtgggtcaataatctaggcatgacttagctgggccagag  ttctccaaagtctgtgatcaaggtgtcagttgggctgggctgcagtcattcaag  gctccactagaggagcattcactggcagacttattcaaatggctgttgctgatcct  cgatggctattggcccctctattggttcttgccttgggcccctcatagtagtctt  gctattcacaacatggcagcttgccttggccagagcagggactctgagggaggca  gggaaataaagagcaagagagaggtcacagtcttattgtaactaattctggaaat  gacagcccattacttttggcatatttttgggttagaagcaagacaacagtagatcta  gcccacacacgaggggaggaggatcacacaaggagggtgaataccaggagggtg  gggtcattgggagccatctgagaggctgccaccacactgcctcaagtaactag  ggagaggtaaaagtattatgccagatgaccaaatattaaaatgtgtgttacaata  gttcacgatgggctcagctgtcagactttacaaggagctatgggacctataagg  acagttggaactggctaggtatcacatagtggtcttcaaacatttttgcctgcataa  cctctaaaataattgggaaaaagttgaatgtacttccatatctaaagctgataattta  aaatattatacatttaatagcagcacgggatttagttttgttaaattgtatgtgctcc  aaatagattaccatcaaaacctgtttgaattaatattgggagaattcgtagtttaa  ttttggaaaataaagtataattggcaaagctaactcactgttgaatctatccgtca  aatcagatataattctatcagaaagtctatatgactgtcaacataataccataaag  tgaatcaaaaattattattcattgaacacatcatctctatcaaatctgtgaccttctt  ctggttgtataatagcctaaaaacaaaaaaaggacaaaaagcaagttccagaaa  gctgttctgacttgctacttctgaaaagtagtctgtatgggtgggttctgaaaatga</p>
--	--	---

		ggaaccaggactgcagagtaggcagttgctggaggaagaatgtgagctgcatg ggaaaagacaggaggatttacaagagtgggtgttaattggggatggaattagg tagttattctgatttttagattttcatatcttttatttggccaatgaagcagaaaatttaa atgaagtattaccttgcctgattttgacacacctcaaactataacttgagggtgcta actatgaaacactggcatttaataatgatttaaagtaaagaa
[0313]	9 外显子 25	CUUCUGAGAAGUUCAGAAAAUAAAUCAGAUGG UAUGU AACAGCGACCGUGUGCUAAAAGAAGUG CUGAAGGAAGCAACCCUCCUAAACCACUGAAAA AACUACGCUUUGAUUUUGAAGGAUCAGAUGAAG CAGAUGG

[0314] 表13:HBB靶序列

SEQ ID NO	区域	靶序列
10	外显子 1	AUGGUGCAUCUGACUCCUGAGGAGAAGUCUGCC GUUACUGCCCUGUGGGGCAAGGUGAACGUGGAU GAAGUUGGUGGUGAGGCCUGGG
[0315] 11	内含子 1	tatcaaggtacaagacaggttaaggagaccaatagaaactgggcatgtggaga cagagaagactcttgggttctgataggeactgactctctctgectattggtcta
12	外显子 2	CUGCUGGUGGUCUACCCUUGGACCCAGAGGUUC UUUGAGUCCUUUGGGGAUCUGUCCACUCCUGAU GCUGUUAUGGGCAACCCUAAGGUGAAGGCUCAU GGCAAGAAAGUGCUCGGUGCCUUUAGUGAUGGC CUGGCUCACCUGGACAACCUCAAGGGCACCUUU GCCACACUGAGUGAGCUGCACUGUGACAAGCUG CACGUGGAUCCUGAGAACUUC

[0316] 表14:HBG1/HBG2靶序列

SEQ ID NO	区域	靶序列
13	外显子 1	ACACUCGCUUCUGGAACGUCUGAGGUUAUCAAU AAGCUCCUAGUCCAGACGCCAUGGGUCAUUUCA CAGAGGAGGACAAGGCUACUAUCAAGCCUGU GGGGCAAGGUGAAUGUGGAAGAUGCUGGAGGA GAAACCCUGGG
14	内含子 1-5'	ctctggtgaccaggacaagggagggaaggaaggaccctgtgcttgcaaaagt ccaggtcgcttctcaggatttggcacccttctgactgtcaaaactgttc
15	外显子 2	CUCCUGGUUGUCUACCCAUGGACCCAGAGGUUC UUUGACAGCUUUGGCAACCUGUCCUCUGCCUCU GCCAUCAUGGGCAACCCCAAAGUCAAGGCACAU GGCAAGAAGGUGCUGACUCCUUGGGAGAUGCC ACAAAGCACCUGGAUGAUCUCAAGGGCACCUUU GCCCAGCUGAGUGAACUGCACUGUGACAAGCUG CAUGUGGAUCCUGAGAACUUC
16	内含子 2	tccaggagatgtttcagccctgttgcttttagtctcagggaacttagacaacgga gtattgatctgagcacagcagggtgtgagctgttgaagatactgggggtgggggt gaagaaactgcagaggactaactgggctgagaccagtggtaatgttttagggcc taaggagtgcctctaaaaatctagatggacaatttgactttgagaaaagagaggt ggaaatgaggaaaatgacttttcttattagattccagtagaaagaactttcatcttc cctcattttgtgttttaaacatctatctggaggcaggacaagtatggtcgtaaaa agatgcaggcagaaggcatatattggctcagtcaaagtgaggactttggtggcc aaacatacattgctaaggctattcctatatcagctggacacatataaaatgctgctaa tgcttcattacaaacttatatccttaattccagatgggggcaaagtatgtccagggg tgaggaacaattgaaacattgggctggagtagatttgaaagtcagctctgtgtgt gtgtgtgtgtgctgcgcgcgcgctgtgtgtgtgtgtgcagcgtgtgtttctttaac

[0317]

[0318]		gtcttcagcctacaacatacagggttcattggtggcaagaagatagcaagatttaa ttatggccagtgactagtgtctgaaggggaacaactacctgcatttaattgggaagg caaaatctcaggctttgaggggaagtaacataggcttgattctgggtggaagcttg gtgtgtagttatctggaggccaggctggagctctcagctcactatgggttcatttta ttgtctc
	17 外显子 3	UCCUGGGAAAUGUGCUGGUGACCGUUUUGGCAA UCCAUUUCGGCAAAGAAUUCACCCCUGAGGUGC AGGCUUCCUGGCAGAAGAUGGUGACUGCAGUGG CCAGUGCCCUGUCCUCCAGAUACCAC

[0319] 表15:CFTR靶序列

SEQ ID NO	区域	靶序列
[0320]	18 外显子 1	AAUUGGAAGCAAUGACAUCACAGCAGGUCAGA GAAAAGGGUUGAGCGGCAGGCACCCAGAGUAG UAGGUCUUUGGCAUUAGGAGCUUGAGCCCAGAC GGCCCUAGCAGGGACCCAGCGCCCGAGAGACC AUGCAGAGGUCGCCUCUGGAAAAGGCCAGCGUU GUCUCCAAACUUUUUUU
	19 内含子 1	aaggtggccaaccgagcttcggaaagacacgtgccacgaaagaggaggcg tgtgtatgggttgggttgggtaaggaataagcagttttaaaagatgcgctat cattcattgtttgaaagaaaatgtgggtattgtagaataaaacagaaagcattaaga agagatggaagaatgaactgaagctgattgaatagagagccacatctactgcaa ctgaaaagttagaatctcaagactcaagtacgctactatgcactgttttattcatttt ctaagaaactaaaaatactgttaataagtacctaagtatggtttattggtttccccct tcatgccttgacacttgattgtcttcttggcacatacaggtgccatgcctgcatata gtaagtgctcagaaaacatttctgactgaattcagccaacaaaaatttgggtag gtagaaaatatatgcttaaagtatttattgtatgagactggatatactagattgtca

[0321]

		<p>caggtaaatgattcttcaaaaattgaaagcaaatgttgaaatatttttgaaaaa                  gttacttcacaagctataaattttaaagccataggaatagataccgaagtatatcc                  aactgacatttaataaattgtattcatagcctaagtgtgatgagccacagaagcttgca                  aactttaatgagattttttaaataagcatctaagttcggaaatcttaggcaaagtgtgtt                  agatgtagcacttcatattgaaagtgttctttggatattgcatctactttgttctgttatt                  atactgggtggaatgaatgaataggtactgctctctctgggacattacttgacacat                  aattaccaatgaataagcatactgaggtatcaaaaaagtcaaatatgttataaata                  gctcatatatgtgtgtaggggggaaggaatttagctttcacatctctttagtttagtt                  ctctgcat.....ccaaataaggtctgaatgacacaaatttagaactctccagaga                  aaagaaagatgctgagggaaaaagcataggtttggactcactaaatcccagttc                  aattcctttttaataaataattcaattttacctgagaaagctctcgtgctctcgaattt                  tatttagaaattctctttgtacatgattgatttcacaatccttctctgctcctctctac                  ttctctttctagatttctctatctttatgaagattattctgccttatctcaacagttaga                  aacaatattttgaaaatcactacgggtatctgcatagtgatttcccatgccaacttta                  ctaattccattataaattatttatttgatgcctagagggcagatgagtgtagctgct                  atggagtgaggagacaaaacataagaaagttagatcctacctcaggtaatgatt                  cagacatgataattaagtcaacaaattgatagaaactaatcactaactctctgctat                  agtcattcttcaatgaatagctcattactgagtatgcatgctacagtaacaaaattat                  ataaggctgttgattaaatgttgattaaagtgcattcttattcagagtttttatatttga                  aatggaagaggctggacttcagtaatttgcataaactgctagtatatgattattgg                  gggcagttatttttaagaataatttaaatatggaatgttagcagtttgttttccctg                  ggaaaaccatactatttccctcccaatccctttgacaaagtgcagtcacatta                  gttcagagatattgatgtttatacaggtgtagcctgtaagagatgaagcctggattt                  atagaaattgacttatttattctcatatttacatgtgcataatttccatagccagaaa                  agttgaatagtatcagattccaaatctgtatggagaccaaatcaagtgaatatctgtt                  cctc</p>
<p>20</p>	<p>外显子 2</p>	<p>UGGACCAGACCAUUUUUGAGGAAAGGAUACAGA                  CAGCGCCUGGAAUUGUCAGACAUAUACCAAUC                  CCUUCUGUUGAUUCUGCUGACAAUCUAUCUGAA</p>

[0322]

		AAAUUGGA
21	内含子 2	<p>ttcatgtacattgtttagttgaagagagaaattcatattattaattattagagaagaga  aagcaaacatattataagttaattcttatatttaaaaataggagccaagtatggtggc  taatgcctgtaatccaactatttgggaggccaagatgagaggattgcttgagacc  aggagtttgataaccagcctgggcaacatagcaagatgtatctctacacaaaataa  aaaagttagctgggaatggtagtgcattgcttattcccagctactcaggaggctg  aagcaggagggttacttgagcccaggagttgaggtgacgtgagctatgattgtg  cactgcactccagcttgggtgacacagcaaacctctctcttaaaaaaaaaaaa  aaaaaggaacatctcatttcacactgaaatgtgactgaaatcattaacaataaa  atcataaaagaaaaataatcagtttctaagaaatgattttttctgaaaaatacac  atttggttcagagaattgtcttattagagaccatgagatggattttgtgaaaactaa  agtaacaccattatgaagtaaatcgtgtatatttgccttcaaacctttatattgaata  caaatgtactccctgggaagtcttaaggtaatggctactggttatcaacaatgta  aaaattgtatattttgagtacctgttacatgccaggtagaatatctcctctcagccac  tctgagtggaaagcatcattatctctattttacagaaaagcaaacctgaggctcagag  agataatatactttgccagttaatgaatgatggagccatgattccagctgaggtctgt  attgccttgctctctaggaatggtagtccccccataaagaatctctcagtttctttc  caatcaaaaggttaggatcctttgattgccagtgacagaaaccaatttactagctt  aagtaaataaaaaggaac.....gcccgccttggcctcccaaagtgtgggattagtg  gcgtgagccactgccccggcctattactccttagagtgatttagagccatgttact  tatggtaacttgacagtaatgggaataaccactgatgaaacgtaaagcctttgtcta  attgttacctagttcttcttgggtcatgaaattttcatctctgtacagttgaaaatt  aagatgataatatttagagatatatttcttcttgaagagaaaaaggcttcattaa  cagaaatcagtggcaataacttaataatacaatcagctggtgttctatagtatta  aaagaaaacagaaagtttactagatttcagccagtttcagactatthaatgtctattct  tactataatagaaaatataaattgatcttgttctcattttcaaaccttataacatg  atatttagtagtgaaaatgaagttaatgatagttatgcctctacttttaaaaacaaagt  ctaacagattttctcatgttaaatcacagaaaagccacctgacattttaactgttttt  gatttgacagtgaatcttataaatctgccacagttctaaaccaataaagatcaaggt</p>

		<p>ataagggaaaaatgtagaatgtttgtgtgtttatTTTTccacctgttctaagcacagc  aatgagcattcgtaaaagccttactttatTTgtccaccctttcattgtTTTTagaagcc  caacactttcttaacacatacaatgtggcctttcatgaaatcaattccctgcacag  tgatataatggcagagcattgaattctgccaataatctggctgagtgtttgggtgtgat  ggtctccatgagattttgtctctataaacttgggttaactctcttggatatacttgtgtg  aatcaaactatgttaagggaataggacaactaaaatattgcacatgcaactattg  gtcccactt</p>
22	外显子 3	<p>GAAUGGGAUAGAGAGCUGGCUUCAAGAAAA  UCCUAAACUCAUUAUGCCCUUCGGCGAUGUUU  UUUCUGGAGAUUUAUGUUCUAUGGAAUCUUUU  UAUAUUUA</p>
[0323]		<p>gatctcattgtacattcattatgtatcacataactatattcattttgtgattatgaaaag  actacgaaatctggtgaatagggtgtaaaaatataaaggatgaatccaactccaac  actaagaaaccacctaaaactctagtaaggataagtaaaaatcctttggaactaaa  atgtcctggaacacgggtggcaattacaatctcaatgggctcagcaaaataaatt  gcttgcttaaaaaatttttctgttatgattccaaatcacattatcttactagtacatga  gattactggtgccttattttgctgtattcaacaggagagtgcaggagacaatgtca  gcagaattaggtcaaatgcagctaattacatatatgaatgtttgtaataatttgaaatc  atatctgcatggtgaattgttcaaagaaaaactaaaaatttaaagtatagcagct  ttaaactaaataaataactaaaaatttaaagttctcttgaatataattttctaataat  cttacatctcatcagtgtgaaaagttgcacatctgaaaatccaggctttgtggtgttta  agtgccttgatgttccccagttgctgtccaatgtgactctgattattattttctacatc  atgaaagcattattgaaatccttgggtgtaacctataaaaggagacagattcaagact  tgtttaatcttctgttaaagctgtgcacaatattgctttggggcgttacttatcatatg  gattgactgtgtttatattggtctttatgcctcaggaggttaaacagtgtctcccaga  gaaatgccattgtgttacattgcttgaaaaatttcagttcatacaccatgaaaa  atacattaaaacttatcttaacaaagatgagtacacttaggccagaatgttctctaa  tgctcttgataattcctagaagaaattttctgactttgaaataatagatccat.....at  ttcctctcagggttaccctctgatccctattttactaaatcgttataaaacaaaatgag</p>
23	内含子 3	

[0324]

		<p>gaattatgtgccttccctttgaagccaatgtaacaagatgggtaagaattagacct  cctgagttcaaaatccctggattcagatctattcctgtatattcaggagaagtggtaa  taaattcgatggacaatttggtttagtagtcgattgaggaccctgatgaggtatattg  ggaaaacataacttccgctctctcattgactcacgggcctttgaggagtccagg  agtcattggaatctggcctgaggtgaggctgctggcaaaactcctcccaaagt  ccattcctattgctgactgagaagggactagcattggaagtggctgatttaatac  cgctagtgtggtgtgctcctccctccattcccagctctgctttgtgtagttgcctg  agaagctaagttcattctgaaaataatgccattgcacaaaacacttttgaaagtcta  gttgaaattacatcaggtcacttggctgtgtggcctcagtttctcatctgccatgtg  aaaataataatgcctactctgtagcaaaagaaagtctctatagtaaacaaaaaaaaa  gcctactctgatactgaaagttgtatgaaaaataaaaaagggaatgctttagaaa  ctgttaagtgtatgtagatgttactaattaacaaaccatttcagaaactatacttttat  tttatggccactattcactgtttaactaaaatacctcatatgtaaactgtctcccactg  ttgctataacaaatccaagtcttatttcaaagtaaccaagatattgaaaatagtgctaa  gagttcacatatggtatgacctctatataaactcatttaagtctcctctaaagatga  aaagtctgtgttgaaattctcagggtattttatgagaaataaatgaaatttaattctct  gtt</p>
<p>24</p>	<p>外显子 4</p>	<p>AAGUCACCAAAGCAGUACAGCCUCUCUUACUGG  GAAGAAUCAUAGCUUCCUAUGACCCGGAUACA  AGGAGGAACGCUCUAUCGCGAUUUUUCUAGGCA  UAGGCUUAUGCCUUCUCUUUAUUGUGAGGACAC  UGCUCUACACCCAGCCAUUUUUGGCCUUCAUC  ACAUUGGAAUGCAGAUGAGAAUAGCUAUGUUU  AGUUUGAUUUUAUAAG</p>
<p>25</p>	<p>内含子 4-5'</p>	<p>acttcttgcacaggccccatggcacatatattctgtatcgtacatgtttaatgcat  aaattaggtagtgagctggtacaagtaaggataaatgctgaaattaattaatg  cctattaataaatggcaggaataattaatgctcttaattatccttgataatttaattga  cttaactgataattattgagtatcttctgtaaactgcctctgtgtagtttttttctcct  aatcatgttatcattttttggaatccatggttctctgtaagatgactcacacagccta</p>

[0325]

		<p>cataaaagtaattgacaaaatatcatcttataagtaaaatgccacatatctttatgttca  gcaagaagagtataatatatgattgtaatgataacccaacaacaaaagattcac  cttaactggttgcataagtagtagtatccaccgccttattttagtggattttatcat  cctatgagccctacaaattaaagttttggaacagcacgtgcattgaaccataag  aacctactctgctttctgcatgtattgtccagacaagagaccaaattgccgaggca  tcatttaggtgaattctaattaacatttagctacctacaaccacaattcaaggtgftt  caaaggcatgtgcttgcacatcctgattcactaccatgtgttactaactggatctg  caaagtcattataaaaagctgtttgatggacttattggatattgctttacccttctct  ctctttctttatcaatgtaaaaacattatatgttaaatacttggcttttaagagcataga  tctgaaatctgcctctagcaaaataaccataacacttctaagatatacctgcaaggt  caattgtgttgtaaaacctgataaccatactttattgttcaaaaaagcctttatgaag  gcagaagttaaaaaaaaaaacaaaaaacagagtccacagttatcacctcag  ctacaatctcatcagttcacaagtagcagcaaacatgtgataagtaacaacatgtt  ttattcaatctgaacatttacgtaagtgaagactttgtagatatcattggaatgtgg  aatctacacagttggcatatcagagaaggtgaattcagtttaataaatgtttataga  aagtgcttgttatcataatgataatagctcaggatgtgcatgacaagcttttaagcga  ttgggtacactatctcattgatcttctgcacaactattaatggtaggtactattatccct  atcttatggataagtaaaactaagatttaaaaagtacagaacatgggtggaactgc  ttcaaaatttctaaaataggtaaatcacgatctctaaactggagggttgcaccac  tagggacaatagagtactgatatttagtggctcagactgtaatcggggaagagaca  ggcatgggctaaacgggtgtagagatcaaataaggggcaggttagttgtaaca  tgtccatatgtaacatttagcacaatacaggataggtgctttcagaccagctg  cattgataaaaagttaggtggtattgtatctgtcttcttctcaatgttgcatactgtg  ttcttgccagtttgcctctctctagccacacttattggcctacaatggcatcatca  ccaaagaaggcaatcccatctccgtgtggctttggttgctccctaaagtaaacctt  gtgttactttcccagggtctcatgcttcccatatctgacctgtttgtcctcatggcca  ggatattgtggaccttctacaatgttccaaagttgtaataagagcttctctgcttt  gttccaaattctgcaacatttactttaaataatgaatttaatacaaacaaacttgagc  ttgcctatactttcaagaatgcagagataactaaattaataaaaaatattcattgagtc</p>
--	--	--

[0326]

		<p>cttactgtgcacacagctctatgtaagccttgtgcagaactcaaagtcactcgaga                  ttaagcctgttactaagttatgtgcaatttagctcagtggattccccacttcatattg                  ctctgataatgttttgaattaactgccttgattccttctttctctgcttgtctatacacta                  ttattattctacaccatctcaaaftctaactcctcaagaaaatcctccagatgatttt                  ctaaccaggagtttaacttcttttaactaccctattactttctacttcttaactcatct                  atcatattatatttagttattatatactaggtcgccttgaagaaggattgtgtttcat                  aaatcttaataatccctgaggcatcaagtacagtgatttgcatttactaaatgctcaa                  caaatatgtgaggattcacttgaactaatattagataattcccagtcгааagtgatc                  taatagcaaatcaattcttcagttttataggcaaagtatgactctggtttccataatca                  taattaattgtcaactttataatttaattaagtaaatttaattggtagataaataagtag                  ataaaaataattacctgcttaactacgtttcatatagcattgttttctttgtaaаat                  ttaagaattttgtattaataaactttttacaaaagtattaattatcagttattcatcatat                  acttttattgactaaaagtaattttatcaaaagagttagtataggactacatgaaaa                  ttcaaggccaaggcttaatttcaaatttactgcctttggctctatcttttaaaacaaaa                  caaaaaactcccgcacaatatcaatgggtatttaagtataatcattctcattgtga                  ggagaaaaaataattatttctgccttagatgctgggaaataaaacaactagaagcat                  gccagtataatattgactgttgaaagaaacatttatgaacctgagaagatagtaagc                  tagatgaatagaatataattttcattacctttacttaataatgaatgcataaactgaat                  tagtcatattataattttacttataatataattgtattttgtttgttgaattatctaacttt</p>
<p>26</p>	<p>外显子 5</p>	<p>CUUUAAGCUGUCAAGCCGUGUUCUAGAUAAA                  UAAGUAUUGGACAACUUGUUAGUCUCCUUCCA                  ACAACCUGAACAAUUUGAU</p>
<p>27</p>	<p>内含子 5</p>	<p>tacctattgatttaatcttttaggcactattgttataaattatacaactggaaaggcgga                  gtttctgggtcagataatagtaattagtggttaagtcttgctcagctctagcttccct                  attctggaaactaagaaaggcaattgtatagcagagcaccattctggggtctggt                  agaaccaccaactcaaaggcaccttagcctgttgaataagattttcaaaactta                  attcttatcagaccttcttcttttaaaactttaaactctgtatgtactttggccagatat                  gatacctgagcaattctgttctgggtgtcttatgtgaaaaataaattcaaggctcct                  gggacagataatgtgtttatttatctttgcatatccattacttaaacagcattggacc</p>

[0327]

		<p>cacagctggtacaaaattaattactgtgaattgagcaaatatftattctaaatgtctct                  gtcaaatgacagagtgtggtgtgtggattaagtccctggagagagttctttgttctc                  tcatgttctatgctgtggttcttgccttatgcaaaaagaagtaagttacttaaacctg                  gacatgatacttaagatgtccaatcttgattccactgaataaaaatatgcttaaaaat                  gcaactgactgaaattgtttttgggaaaaccgattctatgtgtagaatgtttaagca                  cattgctatgtgctccatgtaatgattacctagatttttagtgtgctcagaaccacgaa                  gtggttgatcatataagctccttttacttgctttctttcatatatgattgtagtttctaggg                  gtggaagatacaatgacacctgtttttgctgt</p>
28	外显子 6	<p>GACUUGCAUUGGCACAUUUCGUGUGGAUCGCUC                  CUUUGCAAGUGGCACUCCUCAUGGGGCUAAUCU                  GGGAGUUGUUACAGGCGUCUGCCUUCUGUGGAC                  UUGGUUUCUGAUAGUCCUUGCCCUUUUUCAGG                  CUGGGCUAGGGAGAAUGAUGAUGAAGUA</p>
29	内含子 6	<p>aacctatfttcataactgaaagtttaaaaattatgttttcaaaaagcccactttagtaa                  aaccaggactgctctatgcatagaacagtgatcttcagtgcattaaatfttttttttt                  tttttttgagacagagtctagatctgtcaccaggetggagtgcaagtgccacgatc                  ttggctcactgcaacttctgcctcccaggctcaagcaattctcctgcctcag                  cctccggagtagctgggattagaggcgcacatgccaccacaccagctaattttgta                  ttttagtagagacagggttcaccagggtgccaggctggtctcgaatgcctgacct                  caggtgatccgccacctcggcctcccaaagtactgatattacaggcatgagcta                  ccgcgcccggcctaaaaaatacttttaagatggtgtaaatattactttctgtatcaat                  ggtacatttttactgtcagctctagaattctttataaatatgttgattcagttcatttt                  gtagattataaacaggtaaaaaaggataaaacatttatgtgaattaaagggaatac                  ctaattttgtgtagagtttattagcttttactactctggtttatggatcatcacaccaga                  gccttagttactttgtgttacagaataactaatatgagtgaatgaatgacttacacaa                  gtcactgcttaggataaaggccttgagttgtcagctagagtatgacagaaagtatc                  taagtttggagtcaaatagcactttgtttgaatcccagattgatgcttactagttatg                  tgaccttagtcaagccacttcacctactgagtctttgctttttcatctctaaaataga                  gataccaccgctcataggctgtcataagggatagagatagcatatggaatgagt</p>

		ctgtacagcgtctggcacataggaggcatttaccaaacagtagttattatTTTTgttac catctatttgataataaaataatgcccatctgttgaataaaagaaatagacttaaac cttgagcagttcttaatagataattgacttgTTTTactattagattgattgattgattga
30	外显子 7	GAUCAGAGAGCUGGGAAGAUCAGUGAAAGACUU GUGAUUACCUCAGAAAUGAUUGAAAAUAUCCAA UCUGUUAAGGCAUACUGCUGGGAAGAAGCAAUG GAAAAAUGAUUGAAAACUUAAG
[0328]		ttgtccaataattcaatattgtagtaattctgtccttaatttttaaaaatgttatca tgtagactccacctcatatttgatgtttgtgacaatcaaatgattgcatttaagttct gtcaatattcatgcattagttgcacaaattcacttcatgggctgtagttttatgtagttg gtccaggggtgtattttatgctgcaagtataactgatacgttattaagaatttct acatatgttactgctgctcaatacatttattcgttaaacaattatcaagatactgaa ggctgattgtaactcacatggaactgggagagtatacaattctgaaccaaataga tgattctctattattatcttaattatgtgttatggtatattaacatgaaaaaattgta ttggtagaatatgtttgctcttcttaactcgggaatgacatagggtaatattcaca gattgggttctataaatcctccacttgaagtgaagtcagttcaagtaatgaaagcta cctcctgagatagaatcagtacttggcacctatctctagtgttctttcacctcatataa ccttactgattagtaaagattatccaacaagaagtacagcacagactgag atatgattactgagataaattgggcaaaatataaactacagcatttctgtagcaatg agaccattttctcagttgagctccatgttctacaaactcaatcaaaaaaggttcta ggagactcagtgaaagttgatacactgttcaaggaacaataattcagcacatgg gaattcacagggaaaaataactaaaaagagaggtaccattttggatggtgtcaat atgggttatgaggaattcaggtgctgagtcagtgataatggaaactgagctgc aggtgtgtgattgtaacaacaaaagaaatgctgaaatattaagtcctttgccatgtaa atagaaaaagagtatttattccaaacattattgctcacctgttttgttatgccttca agataaatccaggaaaggaattgcatttcttccagaaaacaagttcttgggggaa ttgtcaattggtagatgtgttttctcattaacaagtgagtgctccatcacacttctg agtgtccatcacacttgcctctgcattactcctctgectgcaaacacatatatagc aagggtgatgacaaggatcagagggctgtgttttctcaactcatgataaactca
31	内含子 7	

[0329]

	<p>       tggctgggtcattcttgggtgctgattttactttgtttttgtgtattgttccctcttctca        aaagatgaaatctatccctcttacttggaaattctctttgatataatagcgaatgtttgggt        gtaacctgtataatctggcatgaaattgtcactcgaagaggctagaagtgtgacat        aaatatgggacagcaagagttgctcctactcaagagagcaaatataatgttctgga        agagattggcagaattcacatcaaaggagtgattactcagcctgggccactgttg        tactggcaaaaggctgtgcaaagctctctgaaaatccactctttattgctctttagt        aataaagtcactttcaatttaaaaaataacaaactgatataattttatgactcataaaat        gttagcaattatattatggagaatctactttctgggtgattcttacaatgttcttggatc        tatttttttcttatagtacctattctccattttctcagctctagttaatatattcaaca        acagttcaacaaatftaacattttataaaaagtgttctctatcattttataaataccagc        ctagtccatgttattcctttctgttgaggagaaaggacacacattgtaaattcaaat        atagacctctactgtgctatttaattcttgtaacaactccacaaaggagatgacatgt        ttccttctatagaggtagattctgtaaagttagaggggaagagtgacttgcttaagat        ggcataagctgtaactggcagaaccaggattcaaagccagggtgggatgccaaaa        tcataatctgtcttcagtgtaagttactgaaattggtaaacatttagacctaaatagac        ggaattgcaatccgggtgggcacattaaactcattttctcatcaatgtgctcaga        ttacattttactttcaggctaaaaatggaaaaaagagtcctcttagttctgcactt        gagaatgagaatagctttctgaattatacaaggaagaagaactaatgccccaaatg        ccaggtaaccacatgactatgcatggcacagctgttgcccccttaccagag        cctctctctgtatcctgggtgaccttcttgggcaagagctgggtggggaggatc        acaagtgactccaatttgatggcttcgggaagactgggaccgagctgaaggca        gtgttgcctctgcactccctgtttctgtctgctggagcactgaagcctcatatgt        attaaaaaataatttccatttgcatttcagactagaagattgaacgtatagtgaatg        tgattgcaataattatattgaaatgagacagagaggatgtagtatctactgtcataa        ttttcaaaaccacctgcaactgaattaaaagaaccactgggtttttttttgttca        aacgcaaatcctggaaacctactgagactcattcagtcagtatcttaagaggcaa        gcttgagactgtatatttaaaaagcatctcaggtgattttacacatgctaaggcttaa        gaaccactctctgtagcttatatgttattttcaatgttctcctcaaagccaagttagaatt        ccaaagtgttaagaatccattagacaatcacagaattgctttttctttataaatcttg     </p>
--	---

[0330]

		<p>caatggtgttcattccatacttaacttaaaacaccaaccaaccaagcaa                  aaaatgattagtctaactaatattacaagtaataatgaagtaaaggttaaaaataat                  gtcataataatgtaataacaaattattaattataatftaaaaataatattataatftaaa                  aataatattfacaagtactacaagcaaaacactggactttcattgttatctttcatata                  aggtaactgaggccagagagattaaataacatgcccaaggtcacacaggtcat                  atgatgtggagccagggttaaaatataaggcagaaagactctagagaccatgctca                  gatcttcattccaagatccctgatattgaaaaataaaataacatcctgaattttattg                  t</p>
32	外显子 8	<p>ACAGAACUGAAACUGACUCGGAAGGCAGCCUAU                  GUGAGAUACUCAAUAGCUCAGCCUUCUUCUUC                  UCAGGGUUCUUUGUGGUGUUUUUAUCUGUGCUU                  CCCUAUGCACUAAUCAAGGAAUCAUCCUCCGG                  AAAUAUUCACCACCAUCUCAUUCUGCAUUGUU                  CUGCGCAUGGCGGUCACUCGGCAAUUUCCUGG                  GCUGUACAAACAUGGUAUGACUCUCUUGGAGCA                  AUAAACAAAUA</p>
33	内含子 8	<p>gtaccataatgctgcattatatactatgattaaataatcagtcaatagatcagttctaa                  tgaactttgcaaaaatgtgcgaaaagatagaaaaagaaatttcctcactaggaagt                  tataaaagttgccagctaataactaggaatgttcacctaaacttttcttagcatttctct                  ggacagtatgatggatgagagtggcattttatgccaaattaccttaaaatcccaata                  atactgatgtagctagcagctttgagaaattctaaagtttcaagtataagactcaa                  ttatacaaagctaattggataaactgtatatgattaagaagcaataaataacttatta                  tgctttttgctgtttattaaatatttaaccagaaaataagtcactgtgacagaaata                  aaaatgagagagaaggggtgagccactcttaggtagtctggcattttaatctagg                  ccagaggtgcaaatggtgtccatagaactaattttggctctagacctgtcttattt                  aacctttcatttaaaaaattgtattggtgccagcaattaaaaattgggagatgtctc                  acacacacacacataaacacacacactcatgtgtgcagcctctttgaagaatt                  ggaataactagtcaactgcgtcctctttccacaagctgtgacagctccctgctca                  cagagcacctgcctctctgttcatcatgctctctctcagtccttcttcttattata</p>

[0331]

		<p>tcaccttttgctctgagactaagtgagtttgagatctgtgatttagacaaagtgg                      gaatctagctctgaatcatagtaagtagctctgggaatcatcttcttctgttagccc                      attgagagagaaatagagagagagagagagagaaagaagaagaacag                      atctggggagagtcactgaatgggagcatagagacagagaacagatctagaaa                      accaaactgggagaaaatgagagaaacaaaagagaggttagagaggagcaga                      gaagaaaatgaagaagcaaggcaaggaccaggcttttcattattcttatggcca                      agacttcagtatgctggacttaattcttcttatgctcctacctccctagggaact                      gatttggagtctctaatagagccctcttttagaatcacagtttgatgccttaaaacta                      gttatataccttcacatgcttcttaaccacagaagtgatgctaatagaggcccttaa                      taaggagcgtgctattaagatgaagacattcatTTTTTctccgtccaatggttgatta                      aggcacattagtgggtaattcagggttgctttgtaaattcatcactaagggttagcatg                      taatagtacaaggaagaatcagttgtatgtaaatctaataataaaaaagtttataaa                      atatcatatgtttagagagtataattcaaatatgatgaatcctagtgcttggcaaattaa                      ctttagaacactaataaaattattttattaagaaataactatttcattataaaattcat                      atataagatgtagcacaatgagagtataaagtagatgtaataatgcattaatgctatt                      ctgattctataatatgttttgct</p>
<p>34</p>	<p>外显子 9</p>	<p>AUUUCUUACAAAAGCAAGAAUUAUAAGACAUUGG                      AAUUAACUUAACGACUACAGAAGUAGUGAUGG                      AGAAUGUAACAGCCUUCUGGGAG</p>
<p>35</p>	<p>内含子 9-5'</p>	<p>aatttttaaaaaattgttctctaaacacctaactgtttcttcttctgtgaatatggatttc                      atcctaattggcgaataaaattagaatgatgatataactggtagaactggaaggagg                      atcactcacttatttctagattaagaagtagaggaatggccaggtgctcatggttgt                      aatcccagcactttgggagaccaaggcgggtggatcacctgaggtcaggagttc                      aagaccagcctggccaacatggtaaaacccggctctactaaaaatacaaaaaat                      taactgggcatggtggcagatgctgtagtcccagctgctcgggaggctgaggca                      ggagaatcacttgaacctgggagggcggaggtgcagtgagctaagatcacgcca                      ctgcactccagcctgggcaacaaggcgagactctgtctgaaaaagaaaaaaaaa                      taaaaataaaaaataaaaagaagtggaggaatattaatgcaatataaaaagctttttt</p>

[0332]

		<p> atthtaagtacatacaattgtttcacataacagatcaggaaataatacagagatcata  agtttggagctgggttgaatcctggctctgccattactttctgtgtaatctaagca  agttactgaactttgtgggcctctggctctccatgtgtaaatggagaatattaatat  ttacctgcaagtttgtgtgaagactgaaggagagaatftaggtaaaacattcatca  gagtacctgcacacagttgttctcaataaacattagcttctctgattgcaagtcc  agtctaaagtgtttatataaccagccaataaaaaggatgagagagagatatacca  gtgtattgtttctaccattttaaacctatttcatccactgttacaattctatcatactgc  tccacataaaaaatattatcaatgatttttagtctctgaagtgcaatattgattattgag  cacacctgtgaagtttagttctctcacttcatgggtgtgtaaaggtaggaggt  ataaaaccagtgtccttaggtctaaatctttctaatgtcatactttggattcattgatata  agtaactgagcaccagcgcttactttacttcatthtaagatataagagagtaat  tccatctgcctagcaaaattgttttagaaaagttgtggatcagattatthtacttt  gatttaggaattcaagtgtctctgctggcatgaaggaaaaatgcagttgacat  ttctactactttcaggtcattatthtctactctgggtgcaaaaacctcaattctgtct  cactccatctaatcaaataggttagcatgcttgagccctactatgtgccaggcacta  ggataagcactttatatgtttgtccaattaattctcacagcatttctatgacctaata  aaaattaatattttcatttccaataataaaaatggaggcttcaaaaagtttagggact  tggtcagctcacacaactggcaaggactgaaaatggattttagcccaaatgtca  taggctagagcccttcaactaaactgttctctccatctggtggcatcctcttctcca  gtctttgtcacctaaactctgggcaccccttgatggcattacttatgatggatgct  tgtaaaacttctgtttgcgacttcaacgtccatataaatgagcttccaactgtact  tagaacttatattttgtagtgacttctttaaagctttctcttagtcatacctgagttt  gttagcacctggacttaccttactttgaaatgttgactctgaaatctttctcagct  tggaatttctaacttccaactgtttgagcttttaattctacattactgcctttccatt  catcaggatttctagtctctttaaattctcttttgaactcctctgatttaacctctgctt  attcgaagaacaataattttattctctcagctgcactctcaattcccttttcttttggtg  atthtcttttctacagaacacttactttatcagtttggagaaggaagtctatctgg  gtaacagtagtgctatctgttgactctagcaactgtaagttttatacattattgtttaa  accttatatgggtctataatccttcttgggaaatcctttcattgtctttaaattcctttacc </p>
--	--	--

[0333]

		<p>atttcctaaaggctattccagatTTTTatcacattcacaaaattcccgtcttttctcagg  atctgtcacccccagtagatagccttgtctcccacaatacatggagaaaatagag  gccaccgtcatatttgaatgttccaacttctcttccaccttgggaattatcttttctct  tttgtgtctaagagaaagatgtatacttcttacccttgtctgaactactctatttgc  tcatcttctcagaacaggggaccagcaattattctctccagaagcttcaacatctt  ttgtcaactgactccttctcatgtttaaataatttcaagtaaacaatttcttctgacttt  cgctcacgcaacctcatgccccaaaaccttatcacttcttcccttggctgcaaggc  tgttctcacttctcactttttgtggacttctccccactacaacatagattctgctatcac  caatctattaaactgttatacttctgtgaatttatcatttaatttagctcagtgaacc  gttcttccagattatttggcctcagaccatgacttctaagtctgccgtgcttggcact  taagtgatgatgggccagtggttcccacctaggcctctgtgtagtctgttttcatg  ttgtgataaagacatacccaagaatgggcaatttacagaagaaaggggttgag  ggactcacagttccatgtgactggggaggcctcacaatcatggtggatgatgaaa  ggcatgtctcatatggaggcagataagagcatagaactgtgcagggaaacttcc  ctttattaaaccaccaggtctgtgagacttctcactatcacgagaataggatgggc  aagacctccccatgattcaattatctcccactgggtccctcccacaacacatgg  gaattatgggagctataattcaagatgagatttgggtgaggacatagccaaacct  atcagcctccttctggcttttatgttctccgtgggtgacctctctcaggctcaagtga  taaccaatgtgctgatgactctcaaatgcgcatctctggctcagttcttcttgaac  tcatacatatgtttccaaatttctcgctgtacctcaaggttctgttcatcacttccc  agcttcataaacgcactcattttagtgattctctgtctcctttagatagcatcctgaga  ggcaagtccctggtagttatatacaactcctcccttgcctcaaacctgagagtaa  gtaacattcctattaacatattaggaagctgaggcttagacagtttaagtaactcaag  catggttacacaactagctagggcagagctaaaatgtcaggctaggcttctgtgac  tccaaagcccttctcacttagcatatcatcacttatttttttttaacacatatatgatt  tttttcttaagagatagaatcttctctatcacgtgggctggagtgcagtggcaca  atcatagctcactgtaaccttgaacttgggctcaagtatcctcctgccttagcctac  tgagtagctagggtacagacacacaccacctgcctagctaattttattttattt  ttatttttgagacagagtctcactctgtcaccaggctggagtgcagtgggtcgat</p>
--	--	--

[0334]

		<p>cttggctcactggaacctctgctgccccgggtcaagcgattctctgcctcagcctc  ctgagtagctgggattacaggtgcctgccactgtgccagctaattttgtatttttag  tagagacggggttccaccatctggccaggctgtcttgaactcctgacctcgtgat  ccactcgcctcggcctcccaaagtgtgggattacaggtgtgagccaccacgcct  ggccacctacctaattttaattttttgtagagacagggtcactacgttggccagg  ctggtcttgaactcctgttctcaacaatcctcctgcctcggacaccccaagtgcag  ggattacaggcatgagtcattgcagctgacctgtatatatgatttttagtatatgtaa  tatacatatttataaatgtaaataataataaatgtgtggagtgatatccattgaaat  gttaacatagttctcagtggtacaactacaggtgatttctctttctatttctggtttc  tgtgtttccaaattcttgaatgtgtcttctgtaatcagaaataaaagtattagtaac  aacagtcttccactggtacaagtgccttattggataaaagtcccacttctaagcatgat  actcacaacttttaggttaatagccttctgtcaccttgccatatacatctgatccagcca  ctcacaccattcctgagatataattttgttcttctgtgcctaaatcattgtgcatgcagat  ccatcttctggaacacctataaccatttcttagtctgtgaaatcctacttacatcctt  catagcctagcatgtatgtcattatttggcaagggtgagttggttcttcttgaatg  tactgcatatgacgtgggtgtgatttcaattgtagcaccaagtcattgcaatattaat  tcgtttgtcatttcccattgtaggatgttgaagtagtttctaacacagagattatactc  aataaatatttattagataaataaatgaataagggaataacaaatgcctttgtctcatt  taaaatacttctcattgttagctaccatataataaaaaactaaaagcagtagtttcaa  gcatgattgtttatgtatgccttaaagaattttgaaaacctatgtaccctgacacac  tttaagttaactataaattttcaacatagtttaagtggggcaaatgatgtagttct  tgtgtattttaaactgcttaagtatgctatacatggatttctcaaacctgaagctgc  agttcagtgcatcatttatggaaaagaattaatttataaaattggttcttattgtca  agtcaatcagctaaatataacttgccttctgtcaggaaaagctgactttaaataca  gataagtaataactattattaattaattaattataaaattaaaataattaataattgt  taattaaaatgccttattcccactatttctgcaatttgactctaagaatagatagga  catgtagattgccttaggttgaatctgggtgaaataagatactgcctcctcagtat  ttctgccttgcctttatgggagcctcttcaagaaaaagtcattctctcatggccttt  gttgagtcccagaggtttcctactccagaaagtcaacgtagtgagactagtact</p>
--	--	---

[0335]

		<p>atactcccttgcataagtgagaaggctgtctgtataaaatgaggggaaggactc  atgagaggggaagtaggtcaggagaaatgataggttctcaggcaggttaattttag  gaaagagtgaatagagtccctfaaaacaaggtgcatctgcttctctgatcaatct  ttaggactgtttactttgattgaagaccactatgctaaagctcccacgggggcaat  agtgaggcaaggaatttttaaaaggaattacttctcgtagctactttgtgaaatg  aattcattgaattatctggcaatctctcatatttatattcaacaataattacttaagaa  atgctttgagcttctcagaggagggtgctaccagtgtgatggagtagaattcagatt  tgggtagtgactttaaagctgtgtgacttttagtcatttaactgctgagtcacagtctac  agctttgaaagaggaggattataaaatctatctcatgtaaatgctgaagattaataa  tagtgttatgtaccccgcttataggagaagagggtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgt  gtgtgtgtatgtgtatgtatacatgtatgtattcagctttactgaaattaaatcttt  aacttgataatgggcaaataatcttagtttagatcatgtcctctagaaaccgatgcta  tataattatgtactataaagtaataatgtatacagtgaatggatcatgggccatgtgc  tttcaaactaattgtacataaaacaagcatctattgaaaatatctgacaaactcatctt  ttattttgatgtgtgtgtgtgtgtgtgtgt</p>
<p>36</p>	<p>外显子 10</p>	<p>GAUUUGGGGAAUUUUUGAGAAAGCAAACAA  AACAAUAACAAUAGAAAACUUCUAAUGGUGAU  GACAGCCUCUUCUUCAGUAAUUUCUCACUUCU  GGUACUCCUGUCCUGAAAGAUUUAAUUUCAAG  AUAGAAAGAGGACAGUUGUUGGCGGUUGCUGG  AUCCACUGGAGCAGGC</p>
<p>37</p>	<p>内含子 10</p>	<p>tctttgttctcactattaagaacttaatttggtgtccatgtctcttttttctagtgtga  gtgctggaaggtattttggagaaatcttacatgagcattaggagaatgtatgggt  gtagtgtctgtataatagaattgtccactgataattactctagttttttctctcat  attattttcagtggctttttctccacatctttatattttgcaccacattcaacactgtatct  tgcacatggcgagcattcaataactttattgaataaacaatcatccattttatccatt  cttaaccagaacagacatttttcagagctggccaggaaaatcatgacttacatttt  gccttagtaaccacataaacaaggctctccattttgttaacattacaattttcagaa  tagatttagatttgcttatgatataattataaggaaaaatttttagtgggatagttttga</p>



[0337]

		<p>UGCCUGGCACCAUUAAGAAAAUAUCAUCUUUG  GUGUUUCCUAUGAUGAAUAUAGAUACAGAAGCG  UCAUCAAGCAUGCCAACUAGAA</p>
<p>39</p>	<p>内含子 11</p>	<p>aaactatgtgaaaactttttgattatgcatatgaaccctcacactacccaaattatata  ttggctccatattcaatcggttagctacatatattatgttctctatgggtaagcta  ctgtgaatggatcaattaataaaacacatgacctatgctttaagaagcttgcaaac  catgaaataaatgcaatttttttaataatgggttcattgatcacaataaatgcatt  ttatgaaatggtgagaattttgtcactcattagtgagacaaacgtcctcaatggttat  ttatggtcatgcatataagtgatatgtggtatcttttaaaagataccacaaaatgatg  catcttataaaatatactccaaaaattattaagatttttaataatttaataatactata  gcctaattggaatgagcattgatctgccagcagagaattagaggggtaaaattgtg  aagatattgtatccctggcttgaacaaataccatataacttctagtactgcaattctt  tgatgcagaggcaaaatgaagatgatgtcattactcattcacaacaatattggaga  atgagctaattatctgaaaattacatgaagtattccaagagaaaccagtatatggat  cttgtgctgtcactatgtaaattgtgtgatggtgggttcagtagttattgctgtaaag  ttagggcagggaaatgttactatgaagttattgacagtatactccaaatagtgtttg  tgattcaaaagcaatatctttgatagttggcatttgaattcctttatataatctttatga  aaaaaattgcagagaaaagtaaatgtagcttaaaatacagtatccaaaaaatgga  aaagggcaaaccgtggattagatagaaatggcaattctataaaaagggtgcatg  cttcatgaatggcttccatgtatatactcagtcattcaacagtttttttagagc....  .gaggaggtggaacgaatgtacaaggatgggaggagaaaaggagagagac  tttttttttaaggcgagagttactacctatctaactcttcgattcttgaagtctcag  accaaatcccatcggttgaaagcctctagggtattctatctattgtatacttctgttat  gtacaaaattaattgccaattaattgtgaactgtttataaactatcttaaatggttag  ttaaatcttgggatagatttagcttctccaggattatgacttaccttctaaattagac  atacaatgcctaggagtcaaggacttttgcataaattccagtcttctttacaatgc  ctagaatgattgttaccacagaaatattcattacctgggagaaaggatgacaggag  gggcagaatgaatggagagaggtcgtgagaatgaggtgctgaggatggacgag  gaagaaagctgttttagtgggaggataggtgacagaagcatggaaaggaattgc</p>

[0338]

		<p>cttggacccatggaagcccagtgagatacttagatcctgcaggggtggaataat                  gttcttttagttctcttcttaggaggtttgttcattttgggagattctttgaaaagagt                  gaacttaaattggagaaaagtacattttagtagttgataacatttgaattgtaaaatg                  gacctatggatgatctacacatatttatataccataaatacacatatttaattttg                  gtattttataattattttaatgatcattcatgacattttaaaaattacagaaaaatttac                  atctaaaatttcagcaatgttgttttgaccaactaaataaattgcatttgaaataatgg                  agatgcaatgttcaaaattcaactgtggttaaagcaatagtgtgatatatgattacat                  tagaaggagatgtgcccttcaaatcagattgagcactaaaagtgactctctaatttc</p>
40	外显子 12	<p>ACAUCUCCAAGUUUGCAGAGAAAGACAAUUAUAG                  UUCUUGGAGAAGGUGGAAUCACACUGAGUGGAG                  GUCAACGAGCAAGAAUUUCUUUAGC</p>
41	内含子 12-5'	<p>taactaattattggtctagcaagcattgctgtaaattgcattcatgtaaaaaattaca                  gacatttctctattgctttatattctgtttctggaattgaaaaatcctgggggtttatgg                  ctagtgggttaagaatcacatttaagaactataaataatggtatagtatccagattg                  gtagagattatggttactcagaatctgtgcccgtatcttgggtcagtgattgtttgc                  ctcatagtatagttactacaaatggaaaactctaggattctgcataatactggacag                  agaagatgtaaatatctgttagttccatcatagaccctgccactccaatgtacacac                  cagctttaggcttcttggtagataaacatacattttcaaaattttcatcataatttca                  taacaaaataggaaggcaatgatgtcacttggcttaaaatctataatatttaaata                  aacaggacaaatgcattaacattgttgggggaggaggtcccttagtagaaacact                  cttggtccaagcattttaaagctgtcaaagagatgtaaatatagataatgtatgtcaa                  ggagagagctttgtggttaaactgtaactttcagtttaacaattattggtgactctga                  tgtcaaatgtttctcaagctttatctgaacaaaattcttctcactttgttgcmaaagtcg                  taacaagaaatcacattgactcattgatgttttggctcctttcccttactttctgttcttt                  ccaaaagctgagacaggaaactaacctaactgagcacctgcaattgcctggtag                  tattctagtcatgtgtgtaactttgtgtgtatgtaatccccctacagctctgcaaagtaa                  gaattgttctccctgctttacagaagagatcataagataattgaggctgttagatgta                  acttgccaaaagccatacaggaaaatggtagagtcacagtttgaaccaggtccttt</p>

[0339]

		<p>tgattctttacattaaaccatgctttgatcttgaaatacactgtaaggcaataaatca  atagatacggataattcacaggcttctaaataaatggaagtgattgttttatctgtg  agccaaagtaagacttattctaagaattccacaaatttagataagatagagtatatg  gcttctagacatccaacatagaactgagttgtgtatcagtttaagattggtttgct  gtaagggtgcacacactttgaggaactaaaaataattgtctgttcttattctgatcaga  atgtgtaatgtgtgtccagtttggatgatgaattcttatttctaactcataagaaac  ttgtcatagatgtgaggagagaattaagaacagagtggtgggaagaaactgtgt  acattttgatgggatccattatgtagctcttcatactgtctcaaaaaataagttact  ataaaggttgttttagacttttaagtttgccattggttttaaaaaatttttaattgg  ctttaaaaatttctaattgtgtgctgaatacaatttcttattacagaagtaccaacaa  ttacatgtataaacagagaatcctatgtacttgagatataagtaaggttactatcaatc  acacctgaaaaatttaaatgttatgaagaaattatctcatttctattaatatgggaactg  tgtcttcatcttattactgttctaaggctcaactcaatgtagatttacttgcttatggttc  atattttagctaaatagtaaaataatggatatacattttgtgtgacttactcacttt  ccttatttggactttatgaatatgatatagagactgaaactacaaggaacaaaatg  caatatcaattatacagttgtggcagcactgctatcaatttgtgatagtggttaacac  ttagaaaacattttaaataatttcacataagtaaatgaatttattagctgtctctgac  attttacagtttgaatagttattttcttttgggtgcctcaccaaaaccaacatctca  agggcaggaactgtataattttgccattgtattttgagcacatagcatgggtacttgc  ctctaaatagatactattgttaaataatttttaaggtaataattttaaagtgtatgctatgg  tacagttcagttgtgacttttctagtttatgccacttacagttagcaaaatcacttca  gcagttcttgaatgtgtgaaaagtataaaaatcttctgcaacttattcctttattcc  tcatttaaataatctaccatagtaaaaacatgtataaaaagtgtacttctgcaccact  tttgagaatagtgatttctcagtgatcgatgtggtgaccatattgtaatgcatgtagt  gaactgtttaaggcaaatcatctacactagatgaccaggaaatagagaggaaatgt  aatttaattt</p>
<p>42</p>	<p>外显子 13</p>	<p>GCAGUAUACAAAGAUGCUGAUUUGUAUUUUAUU  AGACUCUCCUUUUGGAUACCUAGAUGUUUUAAAC  AGAAAAAGAAAUAUUUGA</p>

[0340]

43	内含子 13	<p>ttctttgaataccttacttataatgctcatgctaaaataaaagaaagacagactgtccc  atcatagattgcattttacctcttgagaaatatgtcaccattgttggtatggcagaat  gtagcatggattactcaaactgatctgcctactgggccaggattcaagattact  tccattaaaacctttctcaccgcctcatgctaaaccagttctctcattgctatactgtt  atagcaattgctatctatgtagttttgcagtatcattgccttgatataatattactttaa  ttattattacttaacatttttactttttgtgtagtattttattctgtctctccttagat  agtaaccttctaagaaaatatatgctaagtgtttactggtttaatatgcttagacta  ctcatctacctcaatacttcttggagatctcctcctcagtcacacagagctcagga  cttatatttcttggaaactcctgtagggccaatgtacatgaaattccttagacagac  agacagtcagttatatggcttgatttcaaagttcaaaatgatttaattggactatcaag  tagttattaggagaacagttattatactcttctaaaataaagactttaagcaataaa  gatgtatatgtatataaaatggctgggttattcctagaagtaccttcttagaatttagtt  aaatttaatatccaagatactatctttcaaccctgagattgtgaaaagtaacttctatc  aatataaactttactacatttgattgtgtagtggttacagtataatctagaacaatgt  gtctttctatatgatatatgacatttaatgcctaaaaaaactgatatgtcttagatgatt  ctagtcaggatttacttctagaatagattaaaattctatttgaggagagtcaaattaatt  atcgaattctcagttgttattattgctgtttatttttagtgaacagattagctttaatgta  aacacttgagaaataaattgatggtaacctaaaatgtaaaaaagaaattaatagaa  aatttaaagagcaacaaagctctgacattaaaagaaatgaagtacaaatctctag  ggaccttaagatcatctaataatttctcattttctagataaataaactgagagacc  cgaggataaatgatttgcctcaaagtcaaatactacttaatataggaaatttaattcat  tctcagctctgtaacatgcaactttcaatatagcatgttatttcatgctatcagaattca  caaggtaccaatttaattactacagagtacttatagaatcatttaaaatataataaaatt  gtatgatagagatttatgcaataaaacattaacaaaatgctaaaatacagagacata  ttgcaataaagtattataaaattgatatttatatgt</p>
44	外显子 14	<p>UGUGUCUGUAAACUGAUGGCUAACAAAACUAGG  AUUUUGGUCACUUCUAAAUGGAACAUUUAAAG  AAAGCUGACAAAUAUUAAUUUUGCAUGAAGG  UAGCAGCUAUUUUUAUGGGACAUUUUCAGAACU</p>

[0341]

		<p>CCAAAUCUACAGCCAGACUUUAGCUCAAAACU  CAUGGGAUGUGAUUCUUUCGACCAAUUUAGUGC  AGAAAGAAGAAAUUCAAUCCUAACUGAGACCUU  ACACCGUUUCUCAUUAGAAGGAGAUGCUCUGU  CUCCUGGACAGAAACAAAAAAACAAUCUUUUA  ACAGACUGGAGAGUUUGGGGAAAAAAGGAAGA  AUUCUAUUCUCAAUCCAUAACUCUAUACGAA  AAUUUCCAUUGUGCAAAGACUCCCUUACAAA  UGAAUGGCAUCGAAGAGGAUUCUGAUGAGCCUU  UAGAGAGAAGGCUGUCCUAGUACCAGAUUCUG  AGCAGGGAGAGGCGAUACUGCCUCGCAUCAGCG  UGAUCAGCACUGGCCCCACGCUUCAGGCACGAA  GGAGGCAGUCUGUCCUGAACCUGAUGACACACU  CAGUUAACCAAGGUCAGAACAUCACCGAAAGA  CAACAGCAUCCACACGAAAAGUGUCACUGGCC  CUCAGGCAAACUUGACUGAACUGGAUUAUUAU  CAAGAAGGUUAUCUCAAGAAACUGGCUUGGAAA  UAAGUGAAGAAUUAACGAAGAAGACUUA</p>
45	内含子 14	<p>tatacatcgcttgggggtatttcacccacagaatgcaattgagtagaatgcaatat  gtagcatgtaacaaaatttactaaaatcataggattaggataaggtgtatcttaaac  tcagaaaagtatgaagttcattaattatacaagcaacgttaaaatgtaaaataacaaat  gattcttttgcaatggacatatcttccataaaatgggaaaggatttagttttggt  ccttactaagccagtgataactgtgactataagtagaaagcatttgctttattacca  tcttgaaccctctgtgggaagaggtgcagtataaataactgtataaataatagtag  cttcattattatagctcgcaaaataatctgtatggaagtagcatatataaggtatata  aacatttagcctcttgataggactaactcacattctggttgatatcagcttgcctga  atttagctagtgtgggcttttttatctgtgagttgctttatacattgggttctgaaaa  gatttcttttagagaatgtatataagcttaacatgtactagtccaatcttcagacaga  aattttgtctattaggtttaagaataaaagcattttattttaaaacaggaaataatata</p>

[0342]

		aaaaggagagttttgtgttttagtagaaaacttaatgccttggatgaaatgagcca tgggcagggttgaatgaattgatatgttaatagtagatcatttgaataatg accttgacaagacacaagccattaacatctgtaggcagaagttccttctttgtaaa atgaggggaataaaatagatccctaaagtgtgaatttagtatttctaaactttatgaa ggtttctaaatgataattcatctatatagtgtttttgtgtttgtttgtttgtttga gatggagtctcgtctgtcacctaggctggagtgcaatgggcaacctcggctca ctgcaacctctgcctcctgggtcaagctaactcctgcctcagcctcctgagtagc tgagattacaggcatgcaccaccatgccgagctaattttgtatttttagtagagaag gggttcatcatgttgaccaggctggcttgaactcctgacctgtgatccaccac ctgacctccaaaagtgtggtattacaggcgtgtgccaccacgtccagcctgag ccactgcgcccagcccattatagtttaatatcaatctaaatgaatttctcagtcct gagcctaaaaatttagttgtaaagaatgatatccttgaactaataatagttctattaatg gattgcatctagtgttaggtggcatatatttagtcccacaactaccctggaaggt ttaaaattttcacatttcagataaggaaactaaagttcagagttcggcaacatgct tgaattcaagcagctcctaggatgtaatggtggagggtgggttcaatccagatct gtctgactcaaaaaatgcatactcctaaccagtgcactatatcccaattccatagga gcccttctttgtgattcatagcactttccatgagtttgtgattttgtgagaacaaa actcttttctttggactgtctggaatctctcttttcaaattttgaaatgtatttctatgc caaaagacaaagatttctagaggaatatgcctaggatgagaattatgtaatttaaat cacagctggaaagagagaaagtcctaagttactaagaaatgtcaaacacaaatg agcttctagctattggaagacctttatagctagaagtatactgaactgtactgtcca tggaccctgaagaaacagggttaaatcaagagagttctgggaaacttcattaga tggatcattcattgataaaaggtatgccactgttaagcctttaatggtaaaattgtcc aataataacagttatataatcagtgatacattttagaatttgaaaaattacgatgtt tctcattttaataaagctgtgttctccagtagacattattctggctatagaatgacat catacatggcatttataatgatttatattgttaaaatacacttagattcaagtaacta ttctttatttcatatattaaaaataaaaccacaatgggtggcatgaaactgtactgtctt attgtaatagccat
46	外显子 15	AGUGCUUUUUUGAUGAUAUGGAGAGCAUACCAG

[0343]

		CAGUGACUACAUGGAACACAUACCUUCGAUUA UUACUGUCCACAAGAGCUUAAUUUUUGUGCUAA UUUGGUGCUUAGUAAUUUUUCUGGCA
47	内含子 15	aatgttctattgtaaagtattactggatttaaagttaaattaagatagttggggatgta tacatatatatgcacacataaatatgtatatatacacatgtatacatgtataagtat gcatatatacacacatatatcactatatgtatatatgtatatattacatatatttgatgattt acagtatataatggtatagattcatatagttcttagcttctgaaaaatcaacaagtaga accactactgatattttattttcatattacatataaaaatatattaaatacaaatataag aagagttttaatagatttttaataataaaaggttaagagattcgaaagctcaaagtag aaggcttttatttgattgaaattaaacaattagaatcactgttgatattttattttcat attacatataaaaatatattaaatataaagataaagagttttaatagattttataataaat gttaagagattaaaaaactgaaaaatagaaggcttttatttgattgaaattaaaggcc aggcatggtggtcatgcctgtaatcccagaatttaggagactgagtgaggagg attgctgagcccaggggtcaagaccagcctgggcaacacagtgagacaccgta tctacaaaataattaaataatgctgggcatggtggtgtgtgcctgtatgctaccat taactaaggaggctgaggtgggagaatcgcttgagcctgggaggtcaaggctgc cctgaactgtgattgtgccattgcattccagcctgggtgccagagagagaccctat ctctaaataaataaataagtaaataaataaacagcaacaacaaaaactcaagc aaatctgactaaatttgaattcattctgagaggtgacagcatgctggcagtcctgg cagccctcgctcactctcagggcctccttgacctgacgcccactctggctgtgcg tgaggagccct.....tagaacagagcacagatgatctaaatataaaaagaactaca aaaatcacagttgttaaaaagggtttttgtttgttatatatggtgcagaacattgttc cttagccaaatgtttccacctgagaaaagctatagagattctatgtagtcctagtacc aataatgttttaacctgaatgtaccttattcataaactgtgacttttactg ctgaaactttttttaagacaatctcactctgtcgtccagtctggagtgcagcagtg gtgtgatcttggtcactgcaacctctacctctgtgtcaagcaattctggtgcctcg gccacctgagtagttgggatcacaggtgtacaccaccaggcctggctaataagttt tgatattctagtagagatgagtttggccattggccaggctggcctgaaactcctg gcctcaagtgatctgcctgcctggcctccaaagtgttggtattacaagtgtgagc

[0344]

		<p>cactgtgcctggcctgaaactcataatcattccattaatattaatctcacctttcca                  ataattaattgatttcacaagtattagccccctataatcattgaatggctaataaaattat                  ttatagcaaacagattaattatctgccagcagctctgagattagttcttaaaaaatgtt                  tattattaaaacattcagctgtgatcttggcttcttctgtgaggttcaatagttctattga                  gtaaaggagagaaatggcagagaattfacttcagtgaatttgaattccattaactta                  atgtggtctcatcacaataatagtaacttagaacacctagtacagctgctggacca                  ggaacacaaagcaaaggaagatgaaattgtgttaccttgatattggtacacacat                  caaatggtgtgatgtgaatttagatgtgggcatgggaggaataggtgaagatgta                  gaaaaaaatcaactgtgt</p>
48	外显子 16	<p>UGGCUGCUUCUUUGGUUGUGCUGUGGCUCCUUG                  G</p>
49	内含子 16	<p>tattccatgtcctattgtgtagattgtgttttattctgttgattaatattgtaatccactat                  gtttgtatgtattgtaatccactttgttcatttctccaagcattatgtagtggaaga                  taaggtttttgtttaaataatgatgaccattagttgggtgaggtgacacattcctgtagtc                  ctagctcctccacaggetgacgcaggaggatcacttgagcccaggagttcaggg                  ctgtagtgtgtatcattgtgagtagccaccgactccagcctggacaatatagtga                  gatcctatatctaaaataaaataaaataaaatgaataaattgtgagcatgtgcagctc                  ctgcagtttctaaagaatatagttctgttcagtttctgtgaaacacaataaaaaatattg                  aaataacattacatatttagggtttctcaaatttttaatttaataaagaacaactcaat                  ctctatcaatagtgagaaaacatatctatttcttgcaataatagtagattttgaggtta                  aggggtgatgctcttctaataatgcaaaatattgtattttagactcaagtttagttccatt                  tacatgtattggaaattcagtaagtaactttggctgccaataacgatttc</p>
50	外显子 17	<p>ACUCCUCUUCAAGACAAAGGGAAUAGUACUCAU                  AGUAGAAUAACAGCUAUGCAGUGAUUAUCACC                  AGCACCAGUUCGUUUUAUGUGUUUUACAUUUAC                  GUGGGAGUAGCCGACACUUUGCUUGCUAUGGGA                  UUCUUCAGAGGUCUACCACUGGUGCAUACUCUA                  AUCACAGUGUCGAAAUUUUACACCACAAAUG                  UUACAUUCUGUUCUUCAAGCACCUAUGUCAACC</p>

[0345]

		CUCAACACGUUGAAAG
51	内含子 17	<p>ttactaggtctaagaaatgaaactgctgatccaccatcaatagggcctgtggtttgt  tggttttctaatggcagtgtggtttgcacagaggcatgtgcccttggttgaacctc  cattgactggcatgcacatgtctcagatattataggtatcatatattgttctcctaa  tattctgtgtagataattagagtagcttggttgtaagaatgtgatgttgggtgggact  gtagcagaacaagaaggcccttatgggtcagtcatacctctctttcaaatatttgg  ctagctctcttctgggcatctgttgccaatatatagtattgctcaaaagggcaggag  atttgaagtgatcaaggaaaatatattttctattgattaagtctttgatggggtaga  ataatctaattcatgtaactgctcaaagttatatggtagggggatcccaaatgtattt  aaaactattttatcatcatatttgaagtaatagaaagtcagagtagcagaataaa  ggtactaaaaatttaaaaactaataaggtactttgaaagaaatcaattatgttgattc  ctcattaaacaaatttgcacttaagactgaggtaataaggatttcccaagtttttc  atagcaacctgtgagcactttctctgttgaggcatttatggtagaaaagatgagtaa  ggcacagtcttgcctggagaaggcacaggtgagaggaggagtgcacacaga  aacattgatataaagcaaggaataaattccaagactaaaatttcagaaatctaaaa  aactcaagataagaaaaaccattatattttctgggtaacaaaatttcagtgttattaa  catgtaggaagatcttgatattattctgaagcccatgtgtgttctgaaatattgccg  cattgcatatactcatcaccatcctctgtttggagctaagaatttagactcaagat  gtctaattaagttgatccattgattttattttatggaaatctgagaccacagaaggc  aggggatttggccacatttctagaagagtacacatgagcgatgaggcacagtgg  aaagaacatgagcattgcctgagctctgagttggcgtataagagcagtgatcatg  ggcaagtgactctctgagcctggcctcctcacctgtaagtgaagaaaagaatat  tcagaagatctttgtgagaatgaacaaggcaatttacttgcctgtacatagcca  atgggaaatcaatataagttcccgtggttcccttctgtggggtttgttcccacaga  gggtgactggccattccacttcttcttccaagctcctcattcccttaacgctgttc  atagttggtccaaccatttgaatatataaagcaccaggatggtttttcttccac  caaagcaaatttcatttctaaacactgtttataaatcaatggctatttttcaattttg  attatcatgaaaatatacaaatatgtttaattaatatgctaaagaatgtattaataat  atgtattaataattcctacatataaggccttttgcctggggtatgggtgatacaaaa</p>

[0346]

		<p>taaatgtggcatgaaccactgacctctagcaatttataacctagaaaaagagttat  gatatgtttataagttcctgtgatataagacatgcatatagtcattataacagaggtgc  aaacaagatgtatcaagtatgtccagaggaggaagagattaatcccagctggag  gaaactgatgctttctgcagcaggggcatttgagttgagaaagggaggaaac  atagatttgacaatgagagctgaggggaaaggggttcaggtggagggaaaccg  catgtggaagcagggaggtaggaaagtgtagagtgtttaagaatagacca  gttgctgaaacaggatatttgagcagaggaagctgtactaggtaggtgggtg  aggccaaattatgcaaggcattaaatattaaactaggaatttggactttatcctgca  gttatgggggtaaatgataagattcaatatcacttattgtacagtattatgttacat  ttatctaattgtttgtaattcctgtctagacaatgaattcctcaagggcaaggagca  tggcttattcacctcagtaattcagtcctagcattgtgcctggtacaaagtggaca  cttgatataaccttttaattgaagcaacaagttgtcaaccttacaatgtgaatccg  tgattcagatgacaggtgaaatgtagattgtctgcgaagagggcgaaagagag  tatgacaaaggaggacaagacagtggggcagggagagagagagcagcca  gggttcggtagaggtatgtcaaaaaggtatggaagtcagaggagaaggagacc  cctatgtatagaatacaaatggaagggaaatgatgacaacagtaagttgtcattaa  atgcaaggttgcaaaagtaagattgtaaagcaggatgagtaaccacctattcctga  cataatttatagtaaaagctatttcagagaaattggtcggtacttgaatcttacaagaa  tctgaaacttttaaaaaggtttaaaagtaaaaagacaataactgaacacataattttt  agaatgtttggaagaaacaaaaatttctaagtctatctgattctatttgctaattctat  ttgggtctgaatgcgtctactgtgatccaaacttagtattgaatatattgatatacttt  aaaaaattagtgtttttgaggaattgtca</p>
52	外显子 18	<p>UGGGAUUCUUAUAGAUUCUCCAAAGAUUAGC  AAUUUUGGAUGACCUUCUGCCUCUACCAUAU  UGACUUCAUC</p>
53	内含子 18	<p>taaaaataagtaccgttaagtatgtctgtattataaaaaacaataacaaaagcaaa  tgtgatttgtttcatttttatttgattgaggggtgaagtcctgtctattgcattaatttgt  aattatccaaagcctcaaaatagacataagtttagtaattcaataataagtcagaa  ctgcttacctggcccaaacctgaggcaatcccacatttagatgtaataagctgtctac</p>

[0347]

	<p>ttgggagtgatttgagaggcacaaggaccatcttcccaaatcactggccacaa  agtgtgacatttggcattggcatcactatcttgatggaagccaacctcccccaaaa  ggcctgtattagaatgaagatggattccctgggtgggttacactgaaactagcctc  acccatgaacacttggcacagattagctagcccattccccacagtaaggaccat  aaggaaggacagaagcaagataagttttagaacaaaagagaggggaaaga  aaaaatctagggtttatgagggtgtccctgagtgatagatgtgaataggcctcca  gggcaggctggctcagaggctgactcttgggtgggtgactgattggtggtga  ggatggagaagaaaaggggagtggaggagtgaaagtgacctgggacattag  gtctcataagtacaggatttaaggagtgtgtaagctgtggttggaccaggt  ttaagcacagcttctgacttctgactggtttaggtcaagctccagagagcaaat  gccacagtctcagtgatctcctgggaaaacagttggaataggatgtgccatggt  gggatgagtcattgtccgctcttctcttccctaccctgcaaaataataactgta  ttgattgaacatataaaaacaaagaaggattatcacataagtatgtatataacca  acattggcagggtgcagaaaaaccagactgtcagttgcctcatctgaaatgattga  cacaacaaatataattactgtcccaagtgaacttggcatttggatccttcagtt  gttctgttaaagatataacttagaagcagctgatggaatattaaatccatgcgtga  attcatgcattcaaagaacatgtcctgagtcactaaatgctgacattgttttcatgt  taagagttaaataactggcccaaatataatattattacatcagataaaaactggaa  tgtgaacctcttaactgattgtgaaagtatttggcaatggctccttgataattattg  aggctcactcagaactcctctggaagggttaatttttaaatagtcattttataaattaa  cattttgacatatgtgatggctctcaaattttctttatgccagittgaatcattctgc  tcaatttttttaattgggatggagtctcactctgttggccaggctggagtgcagtg  atgcaatctggctgactgcaacctccacctcctcggttcaagcgattctctcgc  cagcctccagagtagctgggattacaggcgcgcaccaccatgcctggataatttt  gtattactagagatggggttcaccacgttggccaggctggtcttgaactcctg  aactcctgacctcaagtgatccacctgcctcagcctctaaagagctggaattatag  gtgtgagccactgcaccaggccctgtcaacttttaagtctaagattcattgtgtg  ttcacaagtgattaggcagaggcttttatattaattaccattttattgtaagagag  tctcatattaaggaagcataatataatgacaatccaatacagtaacaaatttggttaatt</p>
--	--

[0348]

		<p>ttgattttgtaaataattaatcacaggggtccttcaaattgtgagctcctctggtata  cttatgttttacctctggtataacttaattcaacaatgaaattcattctattcatgata  ttcagaagcagatctgtgcacaaaataaagcataacctataaattttcttttttaaaa  aaaagtctctgttactctattttctattttttcttttttaaaattgaattttattgtggc  aagtcacttaacatgagattaccctcttaacagattttatgtgtaaaatacaatatt  gttcacatgggtaaattgtgcacagcagatctctggaactattcattttgactact  gaaattttataacctgttgattagtatctcccattccctctctcccctgtcctgttacc  atgggtctgttctttgcttcttgagttgagattttgataacctcatgtaattcattctat  ttctaactttgacaatgttctgacaaattgctttccggattggagcactgtatagtga  aaattgaaaatcttggtattttctacagattcccactattttaccttgagcagacactt  atcttgaagggtctcagattgtcactgtagaatggggaataaaacctgataatgg  tcccttcagttctaaagttatatcagttgaaaatacatgtgtcacttatgtaacgggt  agagaactggctcactgaacagcatatggatattataaagtggtttttttaatecttc  tgcagacagttactttatactttattcaaattggattattgtgaagtacatgttagcgga  ctttgtaccttttaaaaatgtatgtatttgggtgaatgtagaaatatagaaattattaagt  atgatttattcaatgttaagcatgagaaaatagctccgaaagggttagatagcttgc  ctaatgacaagcttgtatttcaagcagaactttctgaatcaaaagactccaagacg  aatgcccagcttcaaaaactgtctaaccaaaataaatcctaagattcaccttcatac  taaaattatttaaaaatagttattttaaattaatattcacttaaaatgtatttatcatgcaa  tactttaaagtgtctgggaaatgaaaatatcaaagatcaagaacaccatgttttca  aactcaaaaatgttatcagtgacctaaacaatttttaaaattttcatagagcctatga  aaaatgtacttgcaaatggctacttctgactaggaatagaatggggagagtattta  gtccaacaatgatagactggattaagaaaatgtggcacatataccatggaaca  ctatgcagccataaaaaatgatgagttcatgtcctttgtaggacatggatgaaatt  ggaaaacatcattctcagtaaactatcgcaagaacaaaaaaccaaacaccgcata  ttctactcataggtgggaattgaacaatgagatcacatggacacaggaagggga  atatcacactctggggactgtgtggggtggggggaggggggagggatagcact  gggagatatacctaagtctagatgacgagttagtgggtgcagtgaccagcatgg  cacatgtatacatatgtaactaacctgcacaatgtgcacatgtaccctaaaacttaa</p>
--	--	---

[0349]

		gtataataaaaaaaaaataaaaaaaaaagtttgaggtgtttaagtatgcaaaaaaaaaa aagaataaatcactgacacactttgtccactttgcaatgtgaaaatgttactcacc aacatgttt
54	外显子 19	UGUUAUUAUUUGUGAUUGGAGCUAUAGCAGUU GUCGCAGUUUUACAACCCUACAUCUUUGUUGCA ACAGUGCCAGUGAUAGUGGCUUUUAUUAUGUUG AGAGCAUAUUUCCUCCAACCUCACAGCAACUC AAACAACUGGAAUCUG
55	内含子 19	acagtgaatgtgcgatactcatcttgtaaaaaagctataagagctatttgagattcttt attgtaatctacttaaaaaaattctgcttttaacttttcatcatataacaataatttt ttctacatgcatgtgtatataaaaggaaactatattacaaagtacacatggatttttt cttaattaatgaccatgtgacttcattttggtttaaaataggtatatagaatcttaccac agttggtgtacaggacattcattataataaacttatatcagtc aaattaaacaaggat agtgtgctattactaaaggttctctgggtcccaaatgatactgaccaaattgtc cctttggcttgtgtcttcagacaccctttctcatgtgtggagctgccattcgtgtg ccccaaactctacttgagctgttagggaatcacattttgcagtgacagccttagtgt gggtgcatttcaggcaactttttcagtatattctgctttgtagattattagctaaat caagtcacataaacttcttaatttagatacttgaaaaattgtcttaaaagaaaatttt tttagtaagaattaattagaattagccagaaaactcccagtggtagccaagaaaga ggaataaatattggtgtaatttttaagttcccatctctggtagccaagtaaaaaa gagggtaactcattaataaaataacaaatcatatctattcaagaatggcaccagtg tgaaaaaagcttttaaccaatgacatttggatgattattctaatttagtcttttca ggtacaagatattatgaaattacattttgtgtttatgttatttgcaatgttttctat
56	外显子 20	CAGGAGUCCA AUUUUCACUCAUCUUGUUACAAG CUUAAAAGGACUAUGGACACUUCGUGCCUUCGG ACGGCAGCCUACUUUGAAACUCUGUCCACAA AGCUCUGAAUUUACAUCUGCCAACUGGUUCU GUACCUGUCAACACUGCGCUGGUUCCAAAUGAG AAUAGAAAUGAUUUUUGUCAUCUUCUUCUUGC

[0350]

		UGUUACCUUCAUUUCCAUUUUUUAACAA
57	内含子 20	atgaactcattaacttttagctaagcatttaagtaaaaaatttcaatgaataaaatgct gcattctataggttatcaattttgatatctttagagtttagtaattaacaaattgttggt tattattgaacaagtgatttcttgaattccattgtttattgttaacaaataattcctt gaaatcggatatatatatatatgtatatatatatatatatatatacatatat atatatagttatccctgtttcacagtttaaaaaccgatgcacacagattgtcagat agcaattctgtgattgaaggggaaatatgtcacctctcactcatattggtgaagg gtcctagctcaaaattaatagattcctaaagaggggaaatgaaacatccgcattta cacacacacacacacacacacacagagttcctctgtcggttaagttttgtttttt aaatcttactagataaaaattgttatctaattgtgagtttacacaaagaaaaactgtc acagaaaagaaagacagtgtcacattttcaaaagaaaaagaagaaaagaaagt gccatgttttcaaatacaaatgttctggattgatttaggatcttagtgaaaaacaaa gtattcataataagtaaaataaaaatctatgtaggtaaattgttctctaattagaa ttgaattctgagtatttatgataagtggtgaaataactcttatatgtgacagtgaata ctggcagagcaaatgccaaatcaatgccaaatctgtaggatcattgattgtagga acagaatttactcaaaccgaaagcaggcatttctggagttacagaaaggcctc atggaacaccgagaaggtggtgccattcgactctaaagaagctgcaacaggca caagagagtcagctgcagctcttctcttgagtctatatctgtcctgggtccattcct tttggttgcttcttctctctctgaagactggttttctgggtctaccagggtat gccacattgactttatgtagtctcattctggcctctgaatttacaggagagttcc tctgtacaaactcaaagctctggagagaacagaaaacagcttcttttggtcagg ggtccaactgcagctactctgctgctatgaggatagtggttcaccaccttgtgt tctctcagctagggcagtgggaaatgactctatgaaaggaatatacatgggcagg caaatgtactaatcctcatcagctactgtaatttaagcaacttaaaaaattctttaagt tattgaaaataagatcaaagaaggctgaattacataaatgaagattgttaacaatt aattcaaccaatataacacatgctataacatggttgagtgtgattgagcttgattta ttaggggcaataatcaaaacatttaacaatcattatagtacagaacttaccatcaaa tcagatgctcagccggagtggatgtggccaccagctattattatccctggctcaa ttggtctcagctgtgtaactgcaaacattaattaactatctaagcccctcatttct

[0351]

		<p>caagtgtaaatagacacaataatattacctattccataggtgtgggtgaatagtaa  atgtaataattgtcctaaacttagtatagtgctggtccatggtaaatactaaata  aatgttatctgacttattataaaattttatcttctcagcttaacctcagaacagtaatat  attgggtctagataaatcttgcctatatgaaaataatttaactacatgcagatata  tgctgtgtatattatgccttctgtagaggaattgcagaaacaaaaattcaattaata  ataagatgaattatttctcccaattgtagaatctttgacaattttatcatgcattacaga  tgaagaactcttgattgggacttgatagcttaactttataataatttaagaacattcct  cttagagaatttctatggccataactgaacacatgaattttaattagctgtcctcttt  agccctaaaaaaaaaattactgtaatttaacacttaagtgtgttctcccagggtaca  gtaactttttttttttttttttttgcatagagggtaatctttctcttccaaatggca  gaactgttagtttctgactgtccggtgaaattctaagtccacttacttccaatagca  tgcaattagcaaaggctcctctgcaaaaggcacagaacacacctaacaatcttgca  gatgctgtttggacactctcccctgcttttggtctctttgtaaagcagctcatctggat  acaggatctctttcccattgccattctaataatgttaccgttacttataagaata  atagtagaagagacaaatattgtacctaccattaccaacaacacctccaatacca  gtaacatttttaaaaagggaacactttcctaattcaatcgctctttgatttaaaatc  ctggtgaatacttactatagcagagcattattctattagtagatgctgtgatgaact  gagatttaaaaattgtaaaattagcataaaattgaaatgtaatttaattgtgatgtg  ccctaggagaagtgtgaataaagtcgttcacagaagagagaaataacatgaggtt  cattacgtct</p>
58	外显子 21	<p>AGAAGGAGAAGGAAGAGUUGGUAUUAUCCUGA  CUUUAGCCAUGAAUAUCAUGAGUACAUUGCAGU  GGGCUGUAAACUCCAGCAUAGAUGUGGAUAGC</p>
59	内含子 21	<p>tcttatcatcttttaactttatgaaaaaattcagacaagtaacaaagtatgagtaat  agcatgaggaagaactatataaccgtatattgagcttaagaaataaaacattacagat  aaattgagggtcactgtgtatctgtcattaaatccttatcttcttctctctcatagat  agccactatgaagatctaactgcagtgagcattcttcacctgttctcttattcagg  atcttctaggagaaatacctaggggtgtattgctgggtcataggattcaccatgct  taactgagtgggtgccaattgtcctcaagtctgtgtactgatataatccccatcaa</p>

[0352]

		<p>gagagtacaagaattctcatagctatgtatcttcaacaacacttgggtgctgtagat                  gtgaagtgattactaaaaatataggaagctgcatacataattattggcttttgctgtt                  ctcttacattaatttcttattcatgttgattactcattgtcacctagtttttcttcttaatt                  aaattgtaggaatttatgaattatggattgatcatcagctctatacatttcaacataat                  ccctcagtcagtggttggcttatagagcttttgatgaaaagaagctttaagttaa                  taaagttcaattattgtcttttcttattgtttgtgcttttggtatcttgattaagaactcc                  ttccttatttgggttctcaaatttagcagcataacatttcatactattttaaatttttt                  cacattatttagtgatagcacctttcttattcctaaagtgtttatcattgccttctgtcttc                  tgcttgataaatattgccacacattgtatactttattagtggtgacaaagaccacattt                  agttgtgttatttcttctgttttggtttctagaatgcagagccattaatattatagtaatg                  cttatgtgctaataccatatacaggggcacaaa.....aaataagagcagtaaaattgt                  gtctaatacagctactaataatctgggaaggattgagccacaggatcaaatggtat                  ctttaaaaatagaagttgagtgaaattcggcttcaaattcttctttttattcatttatatt                  atttactcattagtatattcattccttattcatgtattgttcaaataatattgggtacttat                  tatatgccaagttgttttaaaatcacattccaaattcccgtaagtcataattattcaga                  gatgtatgttttttaaaaaaattgaacaccttataaaattatcaagctttttatttct                  gtatgcattaaagataaaacttactaaatgttcatgaatagattataaagcagataa                  atatttaatttcaatataacccttatatgcaattatatttcttagcactaaaaatgaat                  atttaagtaatttatataaaagtgaattatctaactgcagatgtatgccaatgacttaa                  attgtttaaagattatagcaaagttgtttaaattgtctaatacatgaagagttcacttaa                  ccacctggttgacacataaaattatagttagttactaaggtagttcgagagaaagag                  aagaatcttcagtagtggtttgaggtgtggtacattttattataatataccggttatac                  agcattgtgcagtgctgctcatagtagaaataaattttcttttgatgctatctattccc                  ttgtgtggcttacataactgagaattaggtgatcacaaaaataaacaggcctataca                  gagcccatttatataagtcctggttatttctcttcagttaaacttttaattatatccaatta                  tttctgttagttcattgaaaagcccgacaataaccaagtgacaaatagcaagtg                  tgcattttacaagttatttttaggaagcatcaaactaattgtgaaattgtctgccattct                  taaaacaaaaatgttg</p>
60	外显子 22	UGCGAUCUGUGAGCCGAGUCUUUAAGUUCAUUG

[0353]

		<p>ACAUGCCAACAGAAGGUAAACCUACCAAGUCAAC          CCAAACCAUACAAGAAUGGCCAACUCUCGAAAG          UUAUGAUUAUUGAGAAUUCACACGUGAAGAAA          GAUGACAUCUGGCCUCAGGGGGCCAAAUGACU          GUCAAAGAUCUCACAGCAAAAUACACAGAAGGU          GGAAAUGCCAUAUUAGAGAACAUUUCCUUCUCA          AUAAGUCCUGGCCAG</p>
61	内含子 22	<p>atttgaacactgcttgctttgtagactgtgttcagtaagtgaatcccagtagcctgaa          gcaatgtgttagcagaatctatttgaacattattgtacagtagaatcaatattaa          cacacatgttttattatggagtcattttttaatatgaaatttaattgacagagtcctg          aacctatataatgggtttattttaaattgtgattgtactgcagaatatctaattaattgct          aggttaataactaaagaagccattaaataaatcaaaattgtaacatgttttagatttcc          catcttgaaaatgtcttccaaaatatcttattgctgactccatctattgtcttaatttta          tctaagttccattctgccaaacaagtgatacttttttctagctttttcagtttgttgttt          gttttcttgaagtttaattcagacatagattttttccagttattactatattatta          agcatgagtaattgacatttttgaatccttcttatggatcccagcactgggctga          acacatagaaggaacttaatatatactgatttctggaattgattcttgagacaggg          atggtcattatccatatacttcaggctccataaacatatttcttaattgccttcaaatec          ctattctggactgctctataaatctagacaagagtattatataatttgattgatattttta          gataaaataaaaggagctgaaaactgaattgcaactgaattttaaactttatctc          tctgtggttaattgcaaacacagatacaaaaatatagagagatacagttagtaaa          gatgttaggtcaccgttactaacactgacatagaacagttttgctcatgagttcag          aatatatgagtttgattttgccatggattttagaatatttgataaacatttaattgcattgt          acaaattctgtgaaaacatatataggatgtgcga....aacaaaactgtccttcaact          acagattgaaaagcattatactaaaagaccatttgcagttatagtatataaaggcc          aatgacttaaaaacaaattatgtaaggagaaggaaacaaccatttattcagtgcc          actaactgcagccagtttttcagtggtcagttaatgactgcagtagtggtctacctt          gctcaaagcaccctcctcaagttctggcatctaagctgacatcagaacacagagtt          ggggctctctgtgggtcacctctagcacttgatctcctcatgcagtgcatggtgctc</p>

[0354]

		<p>tcacgtctatgctatgttcttatggctcttaggtaacaagaataatfttctttctttcctta                  ctatacatfttgctttctgaaattcccttctcgccaatccaggtgaatgtcagaatgtg                  atttgacaactgtccaaagtactcattcactgaggagtggtaaggccttcgcccaa                  cctgccttctctgggaatatactgctgcctgaacatatcattgtttattgccaggcttg                  aacttcaccaaattaatttatttagggtaacatctaaatattagaactatttcagattaa                  ttttaagtcgtatccactttgggtactagatcaaattgcaggtctctgcttctggcttg                  agcctatgttagagatgatgtgcataagacactctttgctttcctttatgcaaaat                  gggcattttcaatcttttgcattagtaaaggctcagtataaggaagtctgcatca                  ggggtccaattccttatggccagtttctctattctgttccaagggtgtttgtctccatata                  tcaacattgggtcaggattgaaagtgtgcaacaagggttgaatgaataagtgaaaatc                  ttccactggtgacaggataaaatattccaatggtttttattgaagtacaatactgaatt                  atgtttatggcatggtacctatattgtcacagaagtgatcccatc</p>
62	外显子 23	<p>UGGGCCUCUUGGGAAGAACUGGAUCAGGGAAGA                  GUACUUUGUUAUCAGCUUUUUUGAGACUACUGA                  ACACUGAAGGAGAAAUCCAGAUCGAUGGUGUGU                  CUUGGGAUUCAAUAACUUUGCAACAGUGGAGGA                  AAGCCUUUGGAGUGAUACCA</p>
63	内含子 23	<p>caaaaggacttagccagaaaaaggcaactaaattatatttttactgctatttgata                  cttgtactcaagaaattcatattactctgcaaaatataattgttatgcattgctgtcttttt                  ctccagtgcagtttctcatagccagaaaagatgtctctaaaagtttgaatttcaa                  attctggttattgaaatgttcatagctttgatagtgttttcagaagaccaaatttacagt                  gggagccttgggcttttgttttaacagctctttttgttctgcttcagtgccctgacc                  tccaagttagcaatcgccaggttgagaaatgctttgcgagacataacagatgctcc                  tgaataacaacacttggatcatgaggtagtgaattgaaaatagaaagtgtag                  tgattgtttttgtatttgatgggatgaacaatgtcagattagtctgtaactattttttt                  taatgcactctgattggtcacaaaggatctctagtctcattgccttagtatcattcta                  cgaattagaatgtgttactgtgtaagagcacttctgtatagagagaaatagcaac                  agttccagtttaaagtgatataaatggaaccaagaaatgtctttactgggacaaa                  tctggacagcatttactgtattttgctggtattttctctagtctttccgggtatattcaca</p>

[0355]

		<p>ttaatgatcacttttctcccttggctaatggacactgaatccattccactaccatag                  ttcttgctaatactactctactttttacacaaaattaaaatgccaggagcacctccagg                  tagactgactataaatctagactgaaaaaaaaagcttgatttctaacagattaccttg                  tggaacatttgctccttcaactaatgaggcactaaatattgtaactgctcaactggt                  gcttttaatttattgtctagactttgcatgttgccagaagctttatcctg.....ttgactt                  gacttggtggtccttggaccagatggccactaaatattctcattcaaggcaatt                  ggtaaaaactacactcaagaaattcattcttaattccccttagtggatgttattaacc                  aaaggcaaaagaaaaaaaaaggtaaaaaaatattctaaatgtaatatcaaaaata                  ttatttcaattcacccaggcacagagaactaagtattattgctattgcaccggc                  attcccaatgagacagtgatttctttaagacattttaaataatataggcagaatta                  agtagacggtgatctggtaagtagatgttcagggtaacagctgtgcaatgctccat                  gcagggaattagattgtcattttattccttaccaggaacatacattcagttaaacaatt                  attgacttctgctcttccactgatttctaagttgaggctctctctgtgctgtctgatc                  agataagtagagttgtgccttggttatagatgagataaatgtgtattgaataagcat                  aagttaaagaaattttaaatacccttaggaagctaggcttatcagagaaatccaagg                  aaatacattaacaaactaggaattgttctaacaggtaattataactcataaacttatt                  gggttttttacctttaaatttatattacattgcttataataaggaatattgctaggaata                  aaatttttaattctacaattaacaattatctcaatttcttattctaaagacattgggat                  tagaaaaatgttcacaagggactccaaatattgctgtagtattgttcttaaaagaat                  gatacaaagcagacatgataaaatattaaaattgagagaactgatggttaagtaca                  tgggtgttcttattttaaataattttctacttgaaatatttacaatacaataagggaa                  aaataaaaagttatttaagttattcactttcttcttctt</p>
64	外显子 24	<p>AAGUAUUUUAUUUUUCUGGAACAUUUAGAAAA                  AACUUGGAUCCCUAUGAACAGUGGAGUGAUCAA                  GAAAUAUGGAAAGUUGCAGAU</p>
65	内含子 24	<p>gctgctaactgaaatgattttgaaagggtaactcataccaacacaaatggctgat                  atagctgacatcattctacacactttgtgtgcatgtatgtgtgcacaactttaa                  ggagtaccctaacatacctggagcaacaggtactttgactggacctaccctaac                  tgaatgattttgaaagaggtaactcataccaacacaaatggttgatattggctaaga</p>

[0356]

	<p>tcattctacacactttgtgtgcatgtatttctgtgcacaacttcaaaatggagtaccct  aaaatacctggcgcgacaagtacttttgactgagcctacttctctcactggtatg  gctccaaccatcaggccctatcttgggccatttaggctgctaaaataaaataccaaa  gactgagctgcttataagcaatcttggaggctgagaagtcaaagatcaaggtgcc  agcaggttctgtctctgtgagagcatacttctgggtcattgatgggtcttcttctgt  gtgtcctcacataatggaagggaagacctctctgggtctcttttacaatggcac  taatcccatcatgagggtttgttctcatgacctaatcacctcccacatgtcctacatt  ctaatactatcaccttgggggttaggatttaacatataaattgaggaggtggcgg  gggggacacaaatatttagaccatagcatttactcctgacctcaaagttcatgtc  ttcttccatgcaaaatacattcattccatccaatagcccccaaagtcttaacttgtt  ccagcatcaactacaaggctaaagtccaaggttcatctaaatatcagctaaatca  gcacaaacagctaaatcaggtagagtgggacttaagggtgtattcctctttaggca  gattgctctccaactatgaaattgtgaaatcaaacctattatgtactttcaaaataaaa  tggtgaaacaggcacaggctag.....ataagattcttctgagccattatctcattcta  tattacagtcaggtggagcccatcttacctcctacactaaattctagacttctcaag  ggcaggagacaatcatctgtatatcttcttggccttcatacactcaggagtactggc  aaaaataaacatttaatgcacatttattgaataattgataagatccaatactcaataa  cttctgtcatattttatagaatgggttctatatctcatttgcatttcaaaccttactttact  gtctagctttaaaaaaaaaagccttctgacttaatacagccctcatattctacccaat  atctaagaggcttatactctctagtggtgtaccactatttcaactccagatttttactt  catagttttacctatttgttacagttagttttatgaattcaagagatgaatagcaatttc  catatgtaatttaaaaaaccccacagttgactattttatgctatctttgtcctcagtc  gacagagtagaagatgggaggtagcaccaggatgatgtcatacctccatcctt  atgctacattctatcttctgtctacataagatgtcactagagggcatactgcaatg  tatacatattatctttccagcatgcattcagttgtgttgaataatttatgtacaccttta  taaacgctgagcctcacaagagccatgtgccacgtattgtttcttactacttttggg  atacctggcacgtaatagacactcattgaaagttcctaataatgaatgaagtacaaga  taaaacaagttatagactgattctttgagctgtcaaggttgaatagacttttctca  atcaattcaaatggtggcaggtagtggggtagagggttgggtatgaaaaacata</p>
--	---

[0357]

		agctttcagaactcctgtgtttatTTTTAGAATGtcaactgcttgagtgttttaactctgt ggtatctgaactat
66	外显子 25	UUGGGCUCAGAUCUGUGAUAGAACAGUUUCCUG GGAAGCUUGACUUUGUCCUUGUGGAUGGGGGCU GUGUCCUAAGCCAUGGCCACAAGCAGUUGAUGU GCUUGGCUAGAUCUGUUCUCAGUAAGGCGAAGA UCUUGCUGCUUGAUGAACCCAGUGCUCAUUUGG AUCC
67	内含子 25	ttcagatgttctgttacttaatagcacagtgggaacagaatcattatgcctgcttcat ggtgacacatatTTCTATTAGGCTGTCATGTCTGCGTGTGGGGTCTCCCCAAGAT atgaaataattgccagtggaatgagcataaatgcataTTCTTGCTAAGAGTCTT gtgtttcttccgaagatagTTTTAGTTTcatacaaacttcccccttgcaacacatg atgaagctTTAAATACATGGGCCTAATCTGATCCTTATGATTTGCCTTGTATCCATTT ataccataagcatgTTTATAGCCCCAAATAAAGAAGTACTGGTGATTCTACATAATGA aaaatgtactcattattaaagttctttgaaatattgtcctgtttattatggatacttag agtctaccccatggttgaagctgattgtggctaacgctatatcaacattatgtgaa aagaacttaagaataagtaatttaaagagataatagaacaatagacatattatca aggtaaatacagatcattactgttctgtgatattatgtgtgttatt
68	外显子 26	ACAUACCAAAUAAUUAGAAGAACUCUAAAACAA GCAUUUGCUGAUUGCACAGUAAUUCUCUGUGAA CACAGGAUAGAAGCAAUGCUGGAAUGCCAACAA UUU
69	内含子 26	tctttataactttacttaagatctcattgcccttgaattcttgataacaatctcacatgtg atagttcctgcaaattgcaacaatgtacaagttctttcaaaaatgtatcatacagc catccagctttactcaaaatagctgcacaagttttcactttgatctgagccatgtggt gaggtgaaatatagtaaatctaaatggcagcatattactaagtattgtttataaata ggatatatactttttgagccctttatttggggaccaagtcatacaaaatactctact gtttaagatttataaaaaggtccctgtgattctttcaataactaaatgtcccatggatgt ggtctgggacaggcctagtgtcttacagtctgatttatggtattaatgacaaagttg

[0358]

		<p>agaggcacatttcattttctagccatgatttgggtcaggtagtagtacctttctcaacca                  ccttctcactgttcttaaaaaaactgtcacatggccaggcacagtggcttacatctgt                  aatceccaatacttgggaggctgaggtggggggattactgaggccaggaattca                  agaccagcccaggcaacatagtgaggccccatctgtctttataaaacaaaacaa                  aactgtcacagcttcttcaagtgatgtttacaaattccctatggtttagtcacaagga                  agttctgaggatgatgtatcacgtcatttctgttcaggctttgagcctcctggaggta                  aatggtttccttactgaaggctgttattaccatgattatcactaagcttgaagtaaca                  aattaggggggcagactcacaacctcttgccctgccatggacaagttcaagaatct                  aagtaaagtcctctattgtctgatcttgatttgcacactgaacaagccaaggag                  gtgtattaaactcaggcacatcctgaccaatttgaattcttaagcttcagatcactgt                  ggaagaggctcaactctttatgggtctgtagacttacgctcatttctaggaatttat                  aagggacctaatattttgtttcaaagcaacttcagttctactaaacctccctgaaga                  atcttcagctgctgagtagaaaatcacaactaattcacagatggtagaacctcct                  agagcaaaaggacacagcagftaaatgtgacatacctgattgtcaaaatgcaag                  gctctggacattgcattcttgactttattttcctttgagcctgtgccagttctgtccct                  gctctggctgacctgccttctgtcccagatctcactaa</p>
70	外显子 27	<p>UCAUAGAAGAGAACAAAGUGCGGCAGUACGAUU                  CCAUCCAGAAACUGCUGAACGAGAGGAGCCUCU                  UCCGGCAAGCCAUCAGCCCCUCCGACAGGGUGA                  AGCUCUUUCCCCACCGGAACUCAAGCAAGUGCA                  AGUCUAAGCCCCAGAUUGCUGCUCUGAAAGAGG                  AGACAGAAGAAGAGGUGCAAGAUACAAGGCUU</p>

[0359] 表16:ADAMTS13靶序列

[0360]

SEQ ID NO	区域	靶序列
71	外显子 25	<p>GCUCUGUUUCCUGUGGGGAUGGCAUCCAGCGCC                  GGCGUGACACCGGCCUCGGACCCCAGGCCAGG</p>

[0361]

		CGCCUGUGCCAGCUGAUUUCUGCCAGCACUUGC CCAAGCCGGUGACUGUGCGUGGCUGCUGGGCUG GGCCCUGUGUGGGACAGGGUACGCCAGCCUGG UGCCCCACGAAGAAGCCGCUGCUCCAGGACGGA CCACAGCCACCCUGCUGGGUGCCUCCCUGGAGU GGUCCCAGGCCCGGGGCCUGCUCUUCUCCCCGG CUCCCAGCCUCGGCGGCUCCUGCCCGGGCCCA GGAAAACUCAGUGCAGU
72	内含子 25	guccuguccuccuuccugucaggcagcugcugcaggaggggugggcaaa ggcaucuuccucugggaaggacuggcacaagcacuugguccuggguug ugugccugggaggccgggaucagggcuggccucuuccuccuggcaaa gcaaaaccuccuuuuacuacuaucaaggggaaguaacuugaagguagga accagcuugugagcccccuaGCCUCUGGGCUGCUCUGCAUGGCCCU cuugcuggaucaucugguagcagcccugugcccugagggugaugcucug accuauGcagccccuccuguccugagaaggcuuccagcugggcccug gaggacaggguccaccuccuaccuccuggucuccuuccucagcuuggaagc cccggagccugcccugcugggaaucggggaagcacugcuuaccugucuc
73	外显子 26	UGCCUGUGGCAGGCAGCACCUUGAGCCAACAGG AACCAUUGACAUGCGAGGCCAGGGCAGGCAGA CUGUGCAGUGGCCAUUGGGCGGCCCCUCGGGGA GGUGGUGACCCUCCGCGUCCUUGAGAGUUCUCU CAACUGCAGUG
74	外显子 27	GGACAUGUUGCUGCUUUGGGGCCGGCUCACCUG GAGGAAGAUGUGCAGGAAGCUGUUGGACAUGAC UUUCAGCUCCAAGACCAACACGCUGGUGGUGAG GCAGCGCUGCGGGCGGCCAGGAGGUGGGGUGCU GCUGCGGUAUGGGAGCCAGCUUGCUCUGAAC CUUCUACA
75	内含子 27	gccaggccuuccaccuccuugggugcuccaguccuggcaggagggc

[0362]

		ugggugggugcugcuggggauggggccaguccaguggggcaguggga agauacggagggaacugacugagauggaaggaacuggggguuggccagug ucagucugcacgugccagggaggggucacaggaugaugcuauaucccu ccuuuuugggaccgugcagcaagauaggacggauugggacaugguccac auccucagucaguccucaggccucugccccacaccaccugccccgccc caccuccagccuuucaagggcuuuuaggguuuuguggaagccacugu ccucagcccuguuucagugcacuggguaagcagacaugcuuguacau gcaugugcaccacaagcacaccucaggcagaggauGCCaccucagggac uccagccuugcccugggccccucgauauccucugauagcccucucgguu guccuggggggcuugcccucuccaacagcccgagcuggccgaaguugg cuuccuagcugguuccagagguuccucggcucccccaggugucugggg cuuaguggcaacaggggcuuagccucugcagagaccuagugcgcgcccu cuugccccagaccugcccgggagagagccguguauuguguccagugcac aggcgcugcugggcccugccaaaaggccacaagcccacugucaccguuca cauugcuucucgcuucccgcccagccccgccacacaggcaucugccuu gaaagaggugcaggagguacaggcaggugggggcuuccagugagcucuga ggaacagcaguggccgccauggguggagccuauuuuguugccaguuuc aguguuaaacacucucgacgugugacaucuuagaguccuaaagaccacu cugcucagugcaugccauuguuuuccuucaguuacagaggagggaaccag agcccagaacauuuagccuuugccuaaagucacugggccaggaaguggua gagguggggguucagcaggauuuugccugggaaccccauuuuugaccacag ugccaugcugcccugcacggcucccuggcugugaguuguccuggccucu ggcaccaccggucugucuggguuccuauugccuu
76	外显子 28	AUGUGACAUGCAGCUCUUUGGGCCCUGGGGUGA AAUCGUGAGCCCUCGCUGAGUCCAGCCACGAG UAAUGCAGGGGGCUGCCGGCUCUUCAUUAUGU GGCUCCGCACGCACGGAUUGCCAUCCAUGCCCU GGCCACCAACAUGGGCGCUGGGACCGAGGGAGC CAAUGCCAGCUACAUC

[0363] 表17:TSC1靶序列



[0365]

		<p>                     auaaucuaaauggauuggugagaauuaaaucaaauggauugaugagaa                      uaauaacuaauuuugaggcacaucauuuaguucagauugcaaaacacuua                      ucuuuuccaaaagaguacguuuuuguuaaucauggauaagucucaguuu                      gacuguuaggaaaugaaaucagggcuaguucuuucugcugagaauc<u>au</u>                      ua<u>u</u>auaguc<u>cau</u>auauuuc<u>ca</u>auuuc<u>cu</u>accaauauuuauuuc<u>u</u>uac                      ggauaucuuccgaaugaaaggcuugaugcuugauguaaaaaucaaaua                      ua<u>uu</u>uaaaacuuuauuccagac<u>cau</u>agauuccuauucuaauagga<u>ua</u>                      auggaugucuaaccuacauaguagucuuu<u>g</u>auuaauaucuuguu<u>ca</u>                      uaaaucugaauu<u>ca</u>uc<u>u</u>accuggcaa<u>ca</u>uuc<u>au</u>gauuu<u>aa</u>uuuauuggg                      ucaggugagcugcug<u>u</u>agcuagcuagucagagcugauugag<u>ua</u>uccauu                      ggguguu<u>aa</u>guguc<u>u</u>caguuagccugaaguuuuuuuu<u>g</u>acuu<u>aa</u>ua                      uuuaaacug<u>u</u>agggcugcugaaaguuuccauauauauauuuuuuuuu                      uacuggucucuaaa<u>u</u>acugcuuu<u>g</u>aagugagccuuu<u>aa</u>guugacu<u>uu</u>                      agugcuaua<u>g</u>aa<u>uu</u>uc<u>cu</u>cauuuauacuuc<u>u</u>guuguaguucuu<u>ua</u>                      aaaaauag<u>ua</u>aguuacuug<u>ca</u>augugcaguuuuuuuuuuuuuu<u>aa</u>ua                      acaaaaag<u>ua</u>ag<u>ua</u>ucuuaggauuu<u>g</u>guugaagaaugaaacagagcag<u>u</u>                      gcuccuguguuuu<u>g</u>u<u>g</u>aaaagcagcuccuuuu<u>g</u>uuuu<u>ca</u>uccaacugc                      ua<u>ca</u>auagggcauccu<u>aa</u>ggcugcaggacuugggugucccaag<u>ua</u>ag                      uu<u>g</u>aacucgucucccggaugccuu<u>g</u>cauagguguguu<u>g</u>uaaaugguc                      cucacugac<u>ca</u>uuacag<u>u</u>agaguu<u>g</u>gggcucaguguuc<u>u</u>guugaguc                      guu<u>g</u>aauguu<u>au</u>ccuucag<u>ua</u>auccu<u>u</u>aggga<u>u</u>agggaaaugag<u>ua</u>c                      gugag<u>ua</u>acuugugauuu<u>g</u>u<u>g</u>auucucaguguuuagagccu<u>u</u>ca                      uguacug<u>ua</u>caaugccgauccggugccagugccugacagacg<u>uu</u>uccu                      guu<u>g</u>a                 </p>
79	外显子 6	<p>                     UGGACACUGACGUCGUUGUCCUCACAACAGGCG                      UCUUGGUGUUGAUAAACCAUGCUACCAAUGAUUC                      CACAGUCUGGGAAACAGCAUCUUCUUGAUUUCU                      UUGACAUUUUUGGCCGUCUGUCAUCAUGGUGCC                      UGAAGAAAC                 </p>

80	外显子 10	GUGUGCUACUUCUACCCCUUACUCCACGUCUCG GCUGAUGUUGUAAAUAUGCCAGGGCAGCUACC UCAGACUCUGAGUUCCCAUCGACACGGCUGAU AACUGAACCA
81	内含子 10	gugucaacuagugugccucgucucuccucugcuuucuggugaagcugac ccuuugggucagauuuaguauugguugggaaaauuucacacugcucau uucaggagucacuuuuaggauccaugauuuagcaaaagaauguuacug uugccucuagauucaucuugaagucuugauuuacaaaugcaacuugu uucuugauacgcuuuuaaagaugccuuuuucuagaugaaaaagcuaa auuuagcugaacacuggccauggauuaaaaccucguggaugacuuaagca uuccuuugccacugcugauguacu
82	外显子 11	CUACUCUUUGGAGCCCAUCUAUGGUUUGUGGUA UGACCACUCCUCCAACUUCUCCUGGAAAUGUCC CACCUGAUCUGUCACACCCUACAGUAAAGUCU UUGGUACAA
83	内含子 11	uaugucuuagguuggauuuagauuaguugguuuuggccugccuuuaag gcaggaggagcucucuuuuagaucuaagggaccacuugcuguuguaaac uuguuuuugacacuuauugcaaaucccuggggcuuucagaauguguaaaa gugaaccuaaaaacaaaaagagagagacugaucuagaucuccagaaagu uaacucuagcagcuuuuuuuaguaauaguuuauaggcugaaaaaauc ggcaguuuuucuaauaguugggcucaguguucauauauguucu
84	外显子 12	AGGUGGAAAAGGAACUCCUCUGGGAACCCAGC AACCUCUCCUCCUCCAGCCCCACUCUGUCAUUCG GAUGACUACGUGCACAUUUCACUCCCCAGGCC ACAGUCACACCCCCAGG

[0366]

[0367] 表18: IMPDH1 靶序列

SEQ ID NO	区域	靶序列
85	外显子 14	GAUGAUGGGGCUCCCUGCUGGCCGCCACUACGGA GGCCCCUGGCGAGUACUUCUUCUCAGACGGGGU GCGGCUCAAGAAGUACCGGGGCAUGGGCUCACU GGAUGCCAUGGAGAAGAGCAGCAGCAGCCAGAA ACGAUACUU
[0368] 86	内含子 14	cugaccugggccccaccugggcagaucagcccacaacccuucagggcc gcucaugccaccgacuuccccagauggcagccaguccccauauggguguu cuggaaacugaggcacaggguuaaguagcagaccaggauucuguccug ggccaucugacucagcccagugagggguggccugggggaccuuccuggg cgguaucccguuuuugccuuuaagaggugggguggguccucugagcuu caagcugcugggcucagucuu
87	外显子 15	GAGGGGGAUAAAGUGAAGAUCGCGCAGGGUGUC UCGGGCUCCAUCCAGGACAAAGGAUCCAUCAG AAGUUCGUGCCCUACCUCAUAGCAGGCAUCCAA CACGGCUGCCAGGAUAUCGGGGCCCGCAGCCUG UCUGUCCU

[0369] 表19:PKD1靶序列

SEQ ID NO	区域	靶序列
[0370] 88	外显子 32	AGGCCUUUGUUGGACAGAUGAAGAGUGACUUGU UUCUGGAUGAUUCUAA
89	内含子 32	uucccuagagaaaccucgagcccuggugcaggucacugugucuggggug ccgggggugugcgggcugcuguccuugcugggugucuguggccau

		guggucacaccacccgggagcagguuugcucggaagcccaggguguccg ugcgugacuggacgggggugggcugugugugugacacaucuccugguac cuugcugac
90	外显子 33	CUGGUGUGCUGGCCCUCCGGCGAGGGAACGCUC AGUUGGCCGGACCUGCUCAGUGACCCGUCCA GUGGGUAGCAAUCUGCGGCAGCUGGCACGGGGC CAGGCGGGCCAUGGGCUGGGCCCAGAGGAGGAC GGCUUCUCCUGGCCAGCCCUACUCGCCUGCCA AAUCCUUCUCAGCAU
91	内含子 33	cuggggugagaggagggggcucugaagcucacccuugcagcugggccc cccaugc
92	外显子 34	UGAAGACCUGAUCCAGCAGGUCCUUGCCGAGGG GGUCAGCAGCCCAGCCCUACCCAAGACACCCAC AUGGAAACGGACCUGCUCAGCAG
[0371]	93 外显子 37	UCUUGCUGGAAGCCUGUACUUCUCACUGGUGG CCAAGCGGCUGCACCCGGAUGAAGAUGACACCC UGGUAGAGAGCCCGGCUGUGACGCCUGUGAGCG CACGUGUGCCCCGCGUACGGCCACCCACGGCU UUGCACUCUUCUGGCCAAGGAAGAAGCCCGCA AGGUCAAGAGGCUACAUGGCAUGCUG
94	内含子 37	ccugggugcggccugugccccugccaccuccgucucuuugucuccaccuc ccaccaugcacgcaggacacuccugucuccccuuuccucaccucagaaggc ccuuagggguucaaugcucugcagccuuugcccggucuccuccuacccc acgccccacauugcugcccagucccugccagggcccagcuccaauagccc acuccugccuggcccugaaggccccuaagcaccacugcaguggccugugu gucugccccagguggggguuccgggcagggugugugcugccauuaccu ggccagguagagucuuuggggcgccccugccagcucaccuuccugcagcc acaccugccgagccauggcuccagccguugccaaagcccugcugucacu gugggcuggggccaggcugaccacagggc





	<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	
[0001]	ugggcuacga acugaaggau gagaucgagc gcaaaauuca caaguggcag gagccgccgc	60
	cugugaagca ggugaagccg cugccugcgc ccuggaugg acagcggag 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 ugggggggagc 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	
	tattttcttt ctatgaaata taatagtatg cattgtaagt ataaaagaaa ttaaagcttt	60
	ctataatttg aatttccaaa tgcagttatt caaacacctc atccaggcat attgcataga	120
	atthiatgag atatatatat ctgagattta ctttcaaate aagtttaate tcaaatcata	180
	ctcctaattg gtgaacttca aaacttttct aaatatccac ttgagattat ataatacata	240
	tatacatthg tgtatataca tacatatata cgtgagctgt ttttgetcac aacattttcta	300
	tcaccaaagtg tgtgagattt ttttctcacc caaatctatt cttcaactct ctgggtttct	360
	acaattcaat tcaattctga cactaattac ccagagtcag catcagactc cacaggttca	420
	agggtcagtg cccacaaaaa tggctcact gcagacacca gtcacaagtg tcaggtcccc	480
	aggctacacc acacttccgt ctgacttgaa tacgaagttg gggggttccg atagtgcctc	540
	ttccttacag tttgatccac tgccagaact actcacaaaa ctctggaaaa tattctactt	600
[0003]	actattatca gttcatcata aaagatacaa atgaacagcc agatgaagaa atattatata	660
	gggtgaggtc cagaagagtc cctagcacag gggcttctgt ccctggggag ttggggtgca	720
	ccaccttct agcacttaga catgtttacc aactccaaag atctcccaac cttattgttg	780
	agggttttt atgggggttt cattatatag gcataattga ttaactcaat ttccaacccc	840
	ctccccccc tggatagagg gtggggctga aagttccaag cttctactca agacttggtc	900
	tttctggcaa ccagettcca tctaaatta gctaggtacc caccaagtat cacctcatta	960
	gaacaaaaga tgggtccatc acccttatca cacatgaaat tcgaagggtt ttaggagctc	1020
	tgtcccagga accagggaca aagaccaaag atctttcaat gataccatgt atgtatgtac	1080
	ataacctcac aggaatcttt ataaaacaat tttgaaattc actcattatg agtgtgattt	1140
	gaaatgagat actccaaaat gtaagcccga tatccaaatg tcaccagcct gtcctgcct	1200
	actggctccc ttccatacat atgcactttt tgettgtcct tctctcaga cttctaggat	1260
	attcttttct tggctactg attaggaatt gtttgcata gatcctgcct cagtgaaagt	1320
	ggcagagctt cattctagga gatccaaggg aaagctttgc tttgaaacat ttattctagg	1380

	ctgcaaatcc acaaccctag ttggccttcc attaaagtca ctaattcagc agtcccatat	1440
	tcaatatgca ttactgttaa tatgttgcaac catctccatt ccctgagag cttatatatt	1500
	taatttttaa atttttatt ttagagacag tgtctcactc tgtcacctac ttattataac	1560
	ctcaaaactcc tcggcccaag cagtcctctc accttagcct cccaagttgc caggactaca	1620
	ggcatgcacc accatgtcca gctaattttt aaattttttg tagagacagg gttttctatg	1680
	ttggccagat tggattgaa ctcttgctt ccacgatacc cegtctcagc ctcccaaaga	1740
	actgggatta cagatgtgag ccactgcacc tggccagaga gcttatattc ttataggaat	1800
	gggaagactg cctatgttat gtgttgctac ataatacatt acccccaaac ttagtgactt	1860
	aaaacaaaag cttattatct ccatttctgt gggcaataa tctagcatg acttagctgg	1920
	gccagagttt ctccaaagtc tgtgatcaag gtgtcagttg ggctgggect gcagtcactc	1980
	caaggtcca ctagaggagc attcactggc agacttattc aaatggctgt tggctgatcc	2040
	tcgatggcta ttggccctc tattggtttc ttgcccttgg gccctccat agtactgctt	2100
[0004]	gctattcaca acatggcagc ttgctttgcc cagagcaggg actctgaggg aggcagggaa	2160
	ataaagagca agagagaggt cacagcttta ttgtaatcia attctggaaa tgacagecca	2220
	ttacttttgg catattattt tggttagaag caagacaaca gtagatctag cccacacagc	2280
	aggggaggag gatcacacaa ggaggtgaat accaggaggt ggggtcattg ggagccatct	2340
	gagaggctgc ccaccacact gcctcaagta actagggaga ggtaaaagtt tatatgccag	2400
	atgaccaaat attaaaatgt gtgttacaaa tagttcacga tgggctcagc tgcagactt	2460
	tacaaaggag ctatgggacc ttataaggac agttggaact ggctaggtat cacatagtgg	2520
	tcttcaaaca tttttgcttg ccataacctc taaaataatt gggaaaaagt tgaatgtact	2580
	tccatatctt aaagctgata atttaaaata ttatacattt aatagcagca cgggatttag	2640
	tttttgtaa atgtatatg tgctccaaat agatttacca tcaaaacctg ttttgaattt	2700
	aatattggga gaattcgcta gtttaatttt tggaaaataa agtataattg gcaaagctaa	2760
	tcctcactgt tgaatctatc cgtcaaatca gatataattt ctatcagaaa gtctatatga	2820
	cttgtcaaca taatacccat aaagtgaate aaaaattatt attcattgaa cacatcatct	2880

	cttatcaaat tcttgtgacc ttccttctgg ttgtataata gcctaaaaaa caaaaaaagg	2940
	acaaaagcaa gtttccagaa agctgttctg acttgcctac ttctgaaaag tagtcctgta	3000
	tggtgggttc tgaaaatgag gaaccaggac ttgcagagta ggcagttgct ggaggaagaa	3060
	tgtgagctgc atgggaaaag acaggaggat ttacaaagag tgggtgttta attgggatg	3120
	gaattaggta gttattctga tttttagatt tttcatact tttatttggc ccaatgaagc	3180
	agaaaattta aatgaagtta ttaccttgc ctgatttttg acacacctca aactataact	3240
	tgaggttgc 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 ctggcatgt ggagacagag	60
	aagactcttg gtttctgat aggcactgac tctctctgcc tatttgtcta	110

<210> 12		
<211> 219		
<212> RNA		
<213> 智人		
<400> 12		
cugcuggugg ucuacccuug gaccagagg uucuuugagu ccuuugggga ucuguccacu		60
ccugaugcug uuaugggcaa ccuaaggug 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		
acacucguu cuggaacguc ugagguuauc aaauagcucc uaguccagac gccauggguc		60
auuucacaga ggaggacaag gcuacuauca 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 gaccagagg 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 gtgagetggt tgaagatact ggggttgggg gtgaagaaac	120
	tgacagaggac taactgggct gagaccaggt ggtaatgttt tagggcctaa ggagtgcctc	180
	taaaaatcta gatggacaat ttgactttg agaaaagaga ggtggaaatg aggaaaatga	240
	cttttcttta ttagattcca gtagaaagaa ctttcatctt tccctcattt ttgttgtttt	300
	aaaacatcta tctggaggca ggacaagtat gtcgttaaa aagatgcagg cagaaggcat	360
	atattggctc agtcaaagtg gggaactttg gtggccaaac atacattgct aaggctatc	420
	ctatatcagc tggacacata taaaatgctg ctaatgcttc attacaaact tatatccttt	480
[0007]	aattccagat gggggcaaag tatgtccagg ggtgaggaac aattgaaaca tttgggctgg	540
	agtagatfff gaaagtcagc tctgtgtgtg tgtgtgtgtg tgcgcgcgcg cgtgtgtgtg	600
	tgtgtgtcag cgtgtgttfc ttttaacgfc ttcagcctac aacatacagg gttcatggtg	660
	gcaagaagat agcaagattt aaattatggc cagtgactag tgcttgaagg ggaacaacta	720
	cctgcattta atgggaagge aaaatctcag gctttgaggg aagttaacat aggcttgatt	780
	ctgggtggaa gcttgggtgtg tagttatctg gaggccagge tggagctctc agctcactat	840
	gggttcatct ttattgtctc	860
	<210> 17	
	<211> 125	
	<212> RNA	
	<213> 智人	
	<400> 17	
	uccugggaaa ugugcuggug accguuuugg caauccauuu cggcaaagaa uucacccug	60
	aggugcagge uuccuggcag aagaugguga cugcagugge 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
gcccgagaga ccaugcagag gucgccucug gaaaaggcca gcuugucuc caaacuuuuu	180
uu	182
<210> 19	
<211> 1000	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 19	
[0008] aaggtggcca accgagcttc ggaaagacac gtgccacga aagaggagg cggtgtatg	60
ggttgggttt ggggtaaagg aataagcagt ttttaaaaag atgcgctatc attcattggt	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 ctttcagcc ttggacactt	360
gattgtcttc ttggcacata caggtgccat gcctgcatat agtaagtgtc cagaaaacat	420
ttcttgactg aattcagcca acaaaaattt tgggtaggt agaaaatata tgcttaaagt	480
atatttggtt atgagactgg atatatctag tatttgtcac aggtaaatga ttcttcaaaa	540
attgaaagca aatttggtga aatatttatt ttgaaaaag ttacttcaca agctataaat	600
tttaaaagcc ataggaatag ataccgaagt tatatccaac tgacatttaa taaattgtat	660
tcatagccta atgtgatgag ccacagaagc ttgcaaactt taatgagatt ttttaaaata	720
gcatetaagt tcggaatctt aggcaaagtg ttgttagatg tagcaettca tatttgaagt	780

gttccttggga tattgcatct actttgttcc tgttattata ctgggtgtaa tgaatgaata	840
ggtactgctc tctcttggga cactacttga cacataatta cccaatgaat aagcactctg	900
aggatcaaaa aaagtcaaat atgttataaa tagctcatat atgtgtgtag gggggaagga	960
atthagcttt cacatctctc ttatgittag ttctctgcat	1000
<210> 20	
<211> 107	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 20	
uggaccagac caauuuugag gaaaggauac agacagcgcc uggaauuguc agacauauac	60
caaaucuuuuguu cuguugauuc ugcugacaau cuaucugaaa aaauugga	107
<210> 21	
<211> 1000	
<212> DNA	
<213> 智人	
[0009]	
<400> 21	
ttcatgtaca ttgtttagtt gaagagagaa attcatatta ttaattatit agagaagaga	60
aagcaaacat attataagtt taattcttat atttaaaaat aggagccaag tatggtggct	120
aatgcctgta atcccaacta tttgggaggc caagatgaga ggattgcttg agaccaggag	180
tttgatacca gcctgggcaa catagcaaga tgttatctct acacaaaata aaaaagttag	240
ctgggaatgg tagtgcacgc ttgtattccc agctactcag gaggctgaag caggagggtt	300
acttgagccc aggagtttga ggttgacgtg agctatgatt gtgccactgc actccagctt	360
gggtgacaca gcaaaacct ctctctctaa aaaaaaaaaa aaaaaggaac atctcatttt	420
cacactgaaa tgttgactga aatcattaaa caataaaatc ataaaagaaa aataatcagt	480
ttcctaagaa atgatttttt ttctgaaaa atacacattt ggtttcagag aatttgcctt	540
attagagacc atgagatgga ttttggaaa actaaagtaa caccattatg aagtaaatcg	600
tgtatatttg ctttcaaac ctttatattt gaatacaaat gtactccctg ggaagtctta	660
aggtaatggc tactggttat caaacaaatg taaaaattgt atatttttga gtacctgtta	720

	catgccaggt agaatatctc ctctcagcca ctctgagtgg aaagcatcat tatctctatt	780
	ttacagaaaa gcaaaactgag gctcagagag ataataact ttgccagtta atgaatgatg	840
	gagccatgat tccagctgag gtctgtattg ccttgctctc taggaatggt agtcccccc	900
	ataaagaatc tctcagtttc ctttccaate aaaaggttag gatccttttg attgccagtg	960
	acagaaacc aatttactag cttaagtaaa taaaaggaac	1000
	<210> 22	
	<211> 105	
	<212> RNA	
	<213> 智人	
	<400> 22	
	gaaugggaua gagagcuggc uucaaagaaa aauccuaaac ucauuuaugc ccuucggcga	60
	uguuuuuuucu ggagauuuau guucuaugga aucuuuuuuau auuuu	105
	<210> 23	
	<211> 1000	
[0010]	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 23	
	gatctcattt gtacattcat tatgtatcac ataactatat tcatttttgt gattatgaaa	60
	agactacgaa atctggtgaa taggtgtaaa aaataaagg atgaatccaa ctccaaacac	120
	taagaacca cctaaaactc tagtaaggat aagtaaaaat cctttggaac taaaatgtcc	180
	tggaacacgg gtggcaattt acaatctcaa tgggctcage aaaataaatt gettgcttaa	240
	aaaattattt tctgttatga ttccaaatca cattatctta ctagtacatg agattactgg	300
	tgceittatt ttgctgtatt caacaggaga gtgtcaggag acaatgtcag cagaattagg	360
	tcaaatgcag ctaattacat atatgaatgt ttgtaatatt ttgaaatcat atctgcatgg	420
	tgaattgttt caaagaaaa cactaaaaat ttaaagtata gcagctttaa atactaaata	480
	aataatacta aaaatttaaa gttctcttgc aatataattt cttaatatct tacatctcat	540
	cagtgtgaaa agttgcacat ctgaaaatcc aggcctttgtg gtgtttaagt gccttgtatg	600
	ttccccagtt getgtccaat gtgactctga tttattattt tctacatcat gaaagcatta	660

tttgaatcct tggttgtaac ctataaaagg agacagattc aagacttggt taatcttctt	720
gttaaagctg tgcacaatat ttgctttggg gcgtttactt atcatatgga ttgacttggtg	780
tttatattgg tctttatgcc tcaggaggtt aacagtgtc tcccagagaa atgccatttg	840
tgttacattg cttgaaaaat ttcagttcat acaccccat gaaaaataca tttaaaactt	900
atcttaacaa agatgagtac acttaggccc agaatgttct ctaatgctct tgataatttc	960
ctagaagaaa tttttctgac ttttgaata atagatccat	1000
<210> 24	
<211> 212	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 24	
aagucaccaa agcaguacag ccucucuuac uggaagaau cauagcuucc uaugaccgg	60
auaacaagga ggaacgcucu aucgcgauuu aucuaggcau aggcuuauge cuucucuuua	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 acaggcecca tggcacatat attctgtatc gtacatgttt taatgtcata	60
aattaggtag tgagctggta caagtaaggg ataaatgctg aaattaattt aatatgccta	120
ttaaataaat ggcaggaata attaatgctc ttaattatcc ttgataattt aattgactta	180
aactgataat tattgagtat cttctgtaa ctcctctgt ttagtitttt tttttctct	240
aatcatgtta tcattttttt ggaatccatg gtttcctgtt aagatgactc acacagccta	300
cataaaagta attgacaaaa tatcatctta tagtaaatg ccacatatct ttatgttcag	360
caagaagagt ataatatatg attgttaatg ataaccctaa caacaaaaga tttcacctta	420
actggttgc ataagtagta gtatccaccg cettattttg agttggattt ttatcatcct	480

	atgagcccta caaatTTaaa gTTTTTggaa cagcacgtgc attgaaccca taagaaccta	540
	ctctgctttt ctgcatgtat tgtccagaca agagacccaa ttgccgaggc atcatttagg	600
	tgaattctaa ttaacattta gctaccttac aaccacaatt caaggttggt tcaaaggcat	660
	gtgcttgc atcctgatt cactaccatg tgttactaac ttggatctgc aaagtcatta	720
	taaaaagctg ttttgatgga cttatttggga tattgcttta cccttcttct ctcttttctt	780
	ttatcaatgt aaaaacatta tatgttaa atcttgcttt taagagcata gatctgaaat	840
	ctgctctag caaataacc ataacacttc taagatatac ctgcaaggtc aattgtgttg	900
	taaaaccttg ataaccatac tttattgttc aaaaagcct tttatgaagg cagaagttaa	960
	aaaaaaaa caaaaaaac agagtccaca gttatcacct cagctacaat ctcatcagtt	1020
	cacaagtacc agcaaacat gtgataagtc aacaaatggt ttatttcaat ctgaacattt	1080
	tacgtaagtg aagactttgt tagatatcat ttggaatgtg gaatctacac agttggcata	1140
	tcagagaagg ttgaattcag ttaataaat gtttatagaa agtgcttggt atcataatga	1200
[0012]	taatagctca ggatgtgcat gacaagcttt taagcgattg ggtacactat ctcatctgat	1260
	cttctgcaca actattaatg gtaggtacta ttatccctat cttatggata agtaaaactaa	1320
	gatttaaaaa gtacagaaca tgggtggaac actgcttcaa aatttctaaa ataggtaa at	1380
	cacgatctct aaactggagg gttgtccaac cactagggac aatagagtac tgatatttag	1440
	tggtcagact gtaatgcggg aagagacagg catgggctaa acgggtgtag agatcaaata	1500
	aggggcaggt tagtttgtaa acatgtccat atgtaacatt tagcacaat acaggatata	1560
	ggtgctttca gaccagctg cattgataaa aagttagggt gtattgtatc tgccttctt	1620
	tctcaatggt gcatatctgt gttcttgcce agtttgette atctctctag ccacacttat	1680
	tggectacaa tggcatcat accaaagaag gcaatcccat ctccgtgtgg ctttggtttg	1740
	ctccctaaag taaaccttgt gtttactttt ccaggtctc atgcttctcc atatctgacc	1800
	tgttttgtcc tcatggccag gatattggg acctttctca caatgttcca aagtttgtaa	1860
	tagagctctt ctctgctttg ttccaaatc tgcaacattt tactttaaat aatgaattta	1920
	aatacaaa caacttgagct ttgectatac ttttcaagaa tgcagagata actaaattaa	1980

	taaaaatatt cattgagtcc ttactgtgca cacagctcta tgtaagcct tgtgcagaac	2040
	tcaaagtcac tcgagattaa gccgttact aagttatgtg caatttagct cagtggattt	2100
	ccccacttc atattgctct gataatgttt tggaattaac tgccttgatt cttcttttc	2160
	tctgettgc tatacactat ttattattct acaccatctc aaattctaac tcctcaagaa	2220
	aatcctcca gatgattttt ctaaccagga gttttaactt cttttaact acctattac	2280
	tttctacttc cttaaactcat ctatcatatt atatttagtt atttatatac taggtgcct	2340
	tgaagaaggg attgtgtttt cataaatctt aataatccct gaggcatcaa gtacagtgat	2400
	ttgcatttac taaatgctca acaaatatgt gagggattca cttgaaacta atattagata	2460
	attcccagtc aaagtgatct aatagcaaat caattctca gttttatagg caaagtatga	2520
	ctctggtttt ccataatcat aattaatttg tcaactttat aattttaatt aagtaaattt	2580
	aattgtaga taaataagta gataaaaaat aatttacctg cttactacg tttcatatag	2640
	cattgcattt ttctttgtaa aatttaagaa ttttgtatta ataaactttt ttacaaaagt	2700
[0013]	attaattatt cagtattca tcatatactt ttattgactt aaaagtaatt ttattcaaaa	2760
	gagttagtat aggactacat gaaaaattca aggccaaggc ttaatttcaa atttactgc	2820
	ctttgctct atcttttaa 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 tttttcaaaa ctttaattctt	240
	atcagacctt gcttcttttt aaaactttaa atctgttatg tactttggcc agatatgata	300
	cctgagcaat tcttgttctg ggttgcctta tggaaaaat aaattcaagg tccttgggac	360
	agataatgtg ttttatttat ctttgcataat ccattactta aaacagcatt ggaccacag	420
	ctggtaacaaa attaattact gttgaattga gcaaatatct attctaaatg tctctgtcaa	480
[0014]	atgacagagt gtggttgtgt ggattaagtc cctggagaga gttctttggt ctctcatggt	540
	ctatgctgtg gttcttgctt tatgcaaaaa gaagtaagtt acttaaaacc tggacatgat	600
	acttaagatg tccaatcttg attccactga ataaaaatat gcttaaaaaat gcaactgactt	660
	gaaatttggt ttttgggaaa accgattcta tgtgtagaat gtttaagcac attgctatgt	720
	gctccatgta atgattacct agattttagt gtgctcagaa ccacgaagtg tttgatcata	780
	taagctcctt ttacttgctt 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

ccuuuuuca ggcugggcuu gggagaauga ugaugaagua	160
<210> 29	
<211> 1116	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 29	
aacctatfff cataacttga aagttttaaa aattatgttt tcaaaaagcc cactttagta	60
aaaccaggac tgctctatgc atagaacagt gatcttcagt gtcattaaat tttttttttt	120
tttttttttt tgagacagag tctagatctg tcaccaggc tggagtgcag tggcagatc	180
ttggtcact gcactgcaac tctgcctcc caggctcaag caattctct gcctcagcct	240
ccggagtagc tgggattaga ggcgatgcc accacacca gctaattttt gtatfctagt	300
agagacaggg tttcaccagg ttgccaggc tggctcgaat tgctgacct caggatgatc	360
gcccacctcg gcctcccaaa gtactgatat tacaggcatg agctaccgag cccggcctaa	420
aaaactctt ttaagatggt gtaaataata ctttctgtat caatggtaca tttttactt	480
[0015] gtcagtctct agaatttctt tataaatatg ttgattcagt tcatttttgt agattataaa	540
acaggtaaaa aaggataaaa catttatgtg aattaaaggg aatacctaat tttgtgtag	600
agtttattag cttttactac tctggtttat ggatcatcac accagagcct tagttacttt	660
gtgttacaga ataactaata tgagtgaatg aatgacttac acaagtcact gcttaggata	720
aagggttga gttgtcagc tagagtatga cagaaagtat ctaagttttg gagtcaaata	780
gcactttggt tgaatcccag attgcatgct tactagttat gtgacctag tcaagccact	840
tcacctcact gagtctttgc tttttctac tctaaaatag agataccac cgctcatagg	900
ctgtcataag ggatagagat agcatatgga atgagtctgt acagcgtctg gcacatagga	960
ggcatttacc aaacagtagt tattatfctt gttaccatct atttgataat aaaataatgc	1020
ccatctgttg aataaaaagaa atatgactta aaaccttgag cagttcttaa tagataatfct	1080
gacttgtttt tactattaga ttgattgatt gattga	1116
<210> 30	
<211> 122	

<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 30	
gaucagagag cugggaagau cagugaaaga cuugugauua ccucagaaau gauugaaaau	60
auccaaucug uuaaggcaua cugcugggaa gaagcaaugg aaaaaaugau ugaaaacuua	120
ag	122
<210> 31	
<211> 3406	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 31	
ttgttccaat aatttcaata ttgttagtaa ttctgtcctt aatTTTTTaa aaatatgttt	60
atcatggtag acttccacct catatttgat gtttTgaca atcaaatgat tgcatttaag	120
ttctgtcaat attcatgcat tagttgcaca aattcacttt catgggctgt agttttatgt	180
agttTgtcca gggTgttatt ttatgtTgca agtatattat actgatacgt tattaaagaa	240
[0016] tttcctacat atgttTcactg ctgtTcaata catttatttc gttaaaacaa ttatcaagat	300
actgaaggct gattTgTaac tcacatggaa ctgggagagt atacaattct gaaccaaata	360
gatgattctc tattattata tcttaattta tgtgttatgg tatattaaac atgaaaaaaa	420
ttgtattTgg ttagaatatg ttTgtcttc cttaactcgg gaatgacata gggtaatatt	480
cacagattgg gttcctataa atcctccact tgaagtgaag tcagttcaag taatgaaagc	540
tacctctga gatagaatca gtactTgca cctatctcta gtgttcttc acctcatata	600
accttTcact gattagTaaa gattatatcc aacaaagaaa gtacagcaca gactgagata	660
Tgattactga gataaattTg ggcaaaatat aaactacagc atttctgtag caatgagacc	720
atTTTTcttc agttgagctc catgttctac aaacttcaat caaaaaaggt tctaggagac	780
tcagtgaaag ttgatacact gttcaaggaa caaataattt cagcacatgg gaatttcaca	840
gggaaaaata tactaaaaag agaggtacca tttTgatTg tgtcaatatg ggttatgagg	900
aattcaggct gctgagTcca gTgtacaatg gaaactgagc tgcaggTgtg tgattgTaac	960
aacaaaagaa atgctgaaat attaagtctt ttgcatTgta aatagaaaaa gagtatttat	1020

	ttcccaaaca ttattgctca cctgtttttg ttatgccttt caagataaat ccaggaaagg	1080
	aattgcattt tctttccaga aaacaagttc ttgggggaat tgttcaattg gtagatgttg	1140
	ttttctcat taacaagtga gtgctccatc acacttgctg agtgctccat cacacttgct	1200
	ctctgcatta ctctctgcc tgcaaacaca tatatagcaa gggatgatgac aaggatatca	1260
	gagggtctgg ttttctcaaa ctcatgataa actcatggct gggtcattct tgggtctgat	1320
	tttactttgt tttttgttgt tattgttccc tcttctcaa aagatgaaat ctatccctct	1380
	tacttggaaat ttctctttga tatatagcga atgtttgggt gtaacctgta taatctggca	1440
	tgaaattgtc actcgaaaag gctagaagtg ttgacataaa tatgggacag caagagttgc	1500
	tcctactcaa gagagcaaat ataatgttct ggaagagatt ggcagaattc acatcaaagg	1560
	agtgattact tcagcctggg ccactgttgt actggctcaa aggctgtgca aagctctctg	1620
	aaaatccact cttttattgc tctttagtaa taaagtcact ttcaatttta aaaataacia	1680
	actgatatat ttttatgact cataaaatgt tagcaattat attatggaga atctactttc	1740
[0017]	tgggtgattc ttacaaatgt tcttggatct atttttttt cttatagtac ctattcttcc	1800
	catttttctc agctctagtt aatatatttc aacaacagtt caacaaattt aacattttta	1860
	taaaaagtgt ttctatcat tttataaata ccagcctagt ccatgttatt cttttcttg	1920
	ttgaggagaa aggacacaca ttgtaaattc aatatagac ctctacttg ctatttaate	1980
	ttgtaacaa ctccacaaag gagatgacat gtttcttc tatagaggta gattctgtaa	2040
	agttagaggg 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
	ttcaccaga gcctctctc tgtatcctgg ttgaccttc cttgggcaag agctgggtg	2460
	ggaggatcac aagtgactcc aatttggatg gcttcgggaa gactgggacc gagctgaagg	2520

	cagtgtgtgc ctctgcactc cctgttttct gctctgtgga gcactgaagc ctcacatatg	2580
	tattaaanaa ataatttcca ttgcatctc agactagaag attgaacgta tagtgaatg	2640
	tgattgcaaa taattatatt gaaatgagac agagaggatg tagtatctac tgtcataatt	2700
	tttcaaaacc cacctgcaac ttgaattaaa agaaccactt gggttttttt tttgtttca	2760
	aacgcaaatc ctggaaacct actgagactc attcagtcag tatctctaag aggcaagctt	2820
	gagactgtat atttaaaaag catctcaggt gatttttaca catgctaagg cttagaacc	2880
	acttctctgt agcttatatg ttattttcaa tgttctcaa agccaagta gaatttcaa	2940
	agtgtaaga atccattaga caatcacaga attgtctttt tcctttataa atcttgaat	3000
	gttgttctca ttccatact taattactta aaacaccaac caaccaaca gcaaaaaatg	3060
	attagtctaa ctaatattac aagttaataa tgaagtaaag gtttaaaaat aatgcataa	3120
	taatgtaat aacaaattat taattataat ttaaaaataa tatttataat ttaaaaataa	3180
	tatttacaag tactacaagc aaaacactgg tactttcatt gttatctttt catataaggt	3240
[0018]	aactgaggcc cagagagatt aaataacatg cccaaggcca cacaggtcat atgatgtgga	3300
	gccaggtaa aatatagcc agaaagactc tagagacat gctcagatct tccattcaa	3360
	gatccctgat atttgaanaa taaaataaca tctgaattt tattgt	3406
	<210> 32	
	<211> 243	
	<212> RNA	
	<213> 智人	
	<400> 32	
	acagaacuga aacugacucg gaaggcagcc uaugugagau acuucaauag cucagccuuc	60
	uuuuucucag gguucuuugu gguguuuuuu ucugugcuuc ccuaugcacu aaucaaaagga	120
	aucauccucc ggaaaauuu caccaccauc ucauucugca uuguucugcg caugcgguc	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 ttccttact aggaagttat	120
aaaagtgcc agctaatact aggaatgttc accttaaact tttcctagca tttctctgga	180
cagtatgatg gatgagagtg gcattttatg ccaaattacc ttaaaatccc aataatactg	240
atgtagctag cagctttgag aaattctaaa gttttcaagt gataagactc aatttataca	300
aagctaattg gataaacttg tatatgatta agaagcaaat aaatacttat tatgcttttt	360
tgctgtttat ttaaataattt aaccagaaa ataagtcact gtgacagaaa taaaatgag	420
agagaagggt gagccactct taggtagttc tggcattatt taatctagcc cagaggttgc	480
aaatggtgtc ccatagaact aattttgget cctagacctg tcttatttaa ctttctatt	540
aaaaaatttg tattggttgc cagcaattaa aaattgggag atgtctcaca cacacacaca	600
[0019] cataaacaca cacactcatg tgtgcagcct cttttgaaga attggaataa ctagtcaact	660
gcgtcctcct tttccacaag ctgtgacagc tcctgtctca cagagcacct gcctctcct	720
gttcatcatg ctctcttctc agtccattc cttcattata tcacctattt ggtcctgaga	780
ctaagtgagt ttgagatctg tgatttagac aaagtgggga atctagctct gaatcatagt	840
aagtagctct gggaatcatc ttgtcttctg ttagcccatt gagagagaaa tagagagaga	900
gagagagaga aagaaagaag aagaaacaga tctggggaga gtcactgaat gggagcatag	960
agacagagaa acagatctag aaaaccaaac tgggagaaaa tgagagaaac caaaagagag	1020
gtagagagga gcagagaaga aatgaagaa gcaaggcaag gaccaggctt tttcattatt	1080
tcttatggcc aagacttcag tatgcgtgga ctttaattctt ccttatgctc ctacctccc	1140
taggaaaact gatttggagt ctctaataga gcccttcttt tagaatcaca gtttgatgcc	1200
ttaaaactag ttatatacct tcacatgctt ccttaacca cagaagtgat gctaatgagg	1260
cccttaataa ggagcgtgct attaagatga agacattcat ttttttctc cgtccaatgt	1320
tggattaagg cacattagtg ggtaattcag ggttgctttg taaattcatc actaaggtta	1380

	gcatgtaata gtacaaggaa gaatcagttg tatgttaaat ctaatgtata aaaagtttta	1440
	taaaatatca tatgtttaga gagtatattt caaatatgat gaatcctagt gcttggcaaa	1500
	ttaactttag aacactaata aaattatittt 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 aaagcaaggaa uauaagacau uggaauuaaa 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 caagaccage	240
	ctggccaaca tggtaaaacc cggctctctac taaaataca aaaaattaac tgggcatggt	300
	ggcagatgct gtagtcccag ctgctcggga ggctgaggca ggagaatcac ttgaacctgg	360
	gaggcggagg ttgcagtgag ctaagatcac gccactgcac tccagcctgg gcaacaaggc	420
	gagactctgt ctgaaaaaga aaaaaaata aaaataaaaa taaaaagaag tggaggaata	480
	ttaaatgcaa tataaaagct ttttttattt ttaagtcata caatttgitt cacataacag	540
	atcaggaaat aatacagaga tcataagttt tggagctggg tttgaatcct ggctctgcca	600
	tttactttct gtgtaatcta agtcaagtta ctgaactttg tgggcctctt ggetctccat	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 accattttaa acctatttct atccactgtt	900
	acaaattcta tcatactgct ccacataaaa aatattatca atgattttta gtctctgaag	960
	tgcaatattt gattattgag cacacctgtt gaagttttag tttctctca cttacatggg	1020
	ttgtgtaaag gtaggaggta taaaaccagt gccttaggtc taaatcttct ttaatgtcat	1080
	actttggatt cattgatata agtaacttga gcaccagegc ttcattttac ttcatttttt	1140
	aaagatatag taagagtaat tcccatctgc ctagcaaaat tgttttgtag aaaagtttgt	1200
	ggatcagatt tattttactt tgattttagg aatttcaagt gtcttcgtcg gcatgaagga	1260
	aaaatatgca gtttgacatt ttctactact ttcaggtcat tattttccta ctctggtgca	1320
	aaaacctca attcctgtct cactccatct aatcaaatag gtagcatgct tgagccctta	1380
[0021]	ctatgtgcca ggcactagga taagcacttt atatgttttg tcccaattaa ttctcacage	1440
	atttctatga cctaaataaa attaataattt tcatttcacc aataataaaa tggaggcttc	1500
	aaaaagttta gggacttggc tcagctcaca caactggcaa ggactgaaaa tggattttag	1560
	tcccaaatgt cataggctag ageccittca ctaaactggt gtcttccatc tgggtgcatc	1620
	ctcttctctc agtctttgtc acctaaactc tgggcacccc ttgatggcat ttacttatga	1680
	tggatgatgct tgtaaactt cctgtttgag acttcaactg ccatataaat gagtcttcca	1740
	atactgtact tagaacttat atttttagt gacttcttta aaagetttct ctcttagtca	1800
	tatcctgagt tttgttagca cctggactta ccttactttg gaaatgttgc actctgaaat	1860
	ctctttctca gcttgggaatt tcctaactct ccaactgttt gactctttta attctacatt	1920
	tactgccttt ccatttcate aggatttcta gtctctttta ttcttctttt 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 gggctataa 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 tttgcttcat ctctcagaa caggggacca gcaattatc	2520
	ttctccaga agcttcaaca tcttttgtca actgactcct tctcatgttt aaatattttc	2580
	aagttaaaca atttctttcc tgactttcgc tcacgcaacc tcatgcccac aaccttatca	2640
	ctcttcttcc ctttctgtc aaggetgttc tcacttcttc actttttgtg gaettctccc	2700
	cactacaaca tagattctgc taccaccaat ctattaaac tgttatactc ttgtggaatt	2760
	tatcatttaa tttagcttca gtgaaccgtt ctttccagat tattttggcc tcagaccatg	2820
	acttctaagt ctgccgtgct tgccacttaa gtagatgatgg gccagtgggt cccacctag	2880
[0022]	gcctctgtgt tagtctgttt tcatgttctg 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 gaccctccc catgattcaa ttatctccca ctgggtccct cccacaacac	3180
	atgggaatta tgggagctat aattcaagat gagatttggg tgaggacata gccaaacct	3240
	atcagcctcc ttctggcttt ttatgttctc cgtgggtgac ctctctcagg ctcaagtgat	3300
	aaccaatgtg ctgatgactc tcaaatgcgc atctctgget tcagtttctt cettgaactt	3360
	catacatatg ttccaaatt tctgcgtgt acctcaaggt tcttgttcat cacttcccaa	3420
	gcttcataaa cgcactcatt ttagtgatt ctctgtctcc ttgatagca tccctgagag	3480
	gcaagtcctt ggtgagttaa atacaactcc tccttgcctc caaacctgag agtaagtaac	3540
	attcctatta acatattagg aagctgaggc ttagacagtt taagtaactc aagcatggtt	3600
	acacaactag ctagggcaga gctaaaatgt caggctagge ttctgtgact ccaaagcct	3660

	ttctcactta gcatatcatc acttattttt ttttttaate acatataatga ttttttttcc	3720
	tttaagagat agaattcttgc tctatcacgt gggctggagt gcagtggcac aatcatagct	3780
	cactgtaacc ttgaacttgg gctcaagtga tcctcctgcc ttagcctact gagtagctag	3840
	ggctacagac acacaccacc atgcctagct aattttattt tattttattt tattttttga	3900
	gacagagtct cactctgtca cccaggctgg agtgcagtgg tgcgatcttg gtcactgga	3960
	acctctgctg cccgggttca agcgattctc ctgcctcage ctctgagta gctgggatta	4020
	caggtgcttg ccactgtgcc cagctaattt ttgtattttt agtagagacg gggtttcacc	4080
	atcttggcca ggcttgtctt gaactcctga cctcgtgatc cactcgctc ggctcccaa	4140
	agtgetggga ttacaggtgt gagccaccac gcttgccac ctacctaat ttttaatttt	4200
	ttgtagagac agggctctac tacgttgccc aggctggctc tgaactcctg ttctcaaca	4260
	atctctctgc ctggacacc ccaagtgcag ggattacagg catgagtcac tgcagctgac	4320
	ctgtatatat gatttttagt atatgtaaat atacatattt attaaatgta aatataaata	4380
[0023]	taaatgtgtg gactgatata cattgaaatg ttaaacaatag ttctcagtgg tacaactaca	4440
	ggtagtttct cttttcttat ttctggtttt ctgtgttttc caaatttctt gaaatgtgtc	4500
	ttctgtaate agaaataaaa gttattagta acaacagtct tccactggta caagtgccta	4560
	ttggataaaa gtcccacttc taagcatgat actcacaact tttaggttaa tagcctttgt	4620
	caccttgcca tatacatctg atccagccac tcacaccatt cctgagatat attttgttcc	4680
	tttgtgcta aatcattgtg catgcagatc catcttctg gaacacctat aaccatttct	4740
	tagtcctgtg aaatcctact tacatccttc atagcctagc atgtatgtca ttattttggt	4800
	caagggtgag ttggttgttc tcttgaatgt actgcatat gacgtgggtg gatttcaatt	4860
	gtagaccaa gctcattgca atattaatc gtttgtcatt ctcccatgta ggatgtttga	4920
	agtagtttct aacacagaga ttatactcaa taaatattta ttagataaat aatgaataa	4980
	gggaataaca aatgcctttg tctcatttta aaatacttcc attgttagct acctatataa	5040
	taaaaaacta aaagcagtag ttttcaagca tgattgttta tgtatgcctt aaaagaattt	5100
	tgaaaaccta tgtaccctg acacaacttt aagttaactt ataaattttt caacatagtt	5160

	ttaagtggtg gcaaatgatg tagtttcttg tgtattttaa actgcttaag tatgctatac	5220
	atggatttct tcaaaacct gaagctgcag ttcagtgca ttcaatttat ggaaaagaaa	5280
	ttaatttata aaattgggtc ttattgcaa 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 ttcagtattt ctgcctttgc ttttatggga gcctctttca	5580
	agaaaaagtc attctctcat ggtccctttg tttgagtccc agaggttttc ctactccaga	5640
	aagtgcaacg tagtgagact agtactatac tcctttgcat ggtaagtgag aaggctgtct	5700
	gtataaaatg aggaaggac tcatgagagg gaagtaggtc aggagaaatg atagttctc	5760
	aggcaggtta attttaggaa agagtgaata gagtccctta aaacaagggt catctgcttc	5820
	ctcctgatca atcttttagga ctgtttactt tgatttgaag accactatgc taaagcttcc	5880
[0024]	cacgggggca atagtgagge aaggaatfff taaaagggaa ttacttcttc gtagctactt	5940
	ttgtgaaatg aattcatttg aattatctgg caatctcttc atatttatat tcaacaataa	6000
	ttacttaaag aaatgctttg agcttctcag aggagggtgc taccagtgtg atggagtaga	6060
	attcagattt gggtagtgac tttaaagctg tggacttta gtcatttaac tgctgagtca	6120
	cagtctacag ctttgaaaga ggaggattat aaaatctatc tcatgttaat gctgaagatt	6180
	aaataatagt gtttatgtac cccgcttata ggagaagagg gtgtgtgtgt gtgtgtgtgt	6240
	gtgtgtgtgt gtatgtgtat gtatacatgt atgtattcag tctttactga aattaaaaaa	6300
	tctttaactt gataatgggc aaatatctta gtttagatc 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 aaagcaaac aaaacaauaa caauagaaaa acuucuaaug	60
gugaugacag ccucuucuuc aguaauuucu cacuucuugg uacuccuguc cugaaagaua	120
uuauuuucau gauagaaaga ggacaguugu uggcgguugc uggauccacu ggagcagge	179
<210> 37	
<211> 1000	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 37	
tctttgttc ttcactatta agaacttaat ttggtgtcca tgtctcttt tttttctagt	60
ttgtagtgtc 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 cagagctggt ccaggaaaat catgacttac	360
atTTTgcctt agtaaccaca taaacaaaag gtctccattt ttgttaacat tacaattttc	420
agaatagatt tagatttgtc 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 aaccattgt gtagataatg gtaaaaactt gctctctttt aactattgag	720
gaaataaatt taaagacatg aaagaatcaa attagagatg agaaagagct ttctagtatt	780
agaatgggct aaagggaat aggtatttgc ttcagaagtc tataaaatgg ttccttggtc	840
ccatttgatt gtcattttag ctgtggtact ttgtagaaat gtgagaaaa gtttagtggt	900
ctcttgaagc ttttcaaaat actttctaga attataccga ataactaag 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 aagcgucauc aaagcaugcc	180
	aacuagaa	188
	<210> 39	
	<211> 1000	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 39	
	aaactatgtg aaaacttttt gattatgcat atgaaccctt cacactacc aaattatata	60
[0026]	tttggctcca tattcaatcg gttagtctac atatatttat gtttcctcta tgggtaagct	120
	actgtgaatg gatcaattaa taaaacacat gacctatgct ttaagaagct tgcaaacaca	180
	tgaataaat gcaatttatt ttttaataa tgggttcatt tgatcacaat aaatgcattt	240
	tatgaaatgg tgagaatfff gttcactcat tagtgagaca aacgtcctca atggttattt	300
	atatggcatg catataagtg atatgtgta tctttttaa agataccaca aaatatgcat	360
	ctttaaaaat atactccaaa aattattaag attatfttaa taattftaat aatactatag	420
	cctaattgaa tgagcattga tctgccagca gagaattaga ggggtaaaat tgtgaagata	480
	ttgtatccct ggctttgaac aaataccata taacttctag tgactgcaat tctttgatgc	540
	agaggcaaaa tgaagatgat gtcattactc atttcacaac aatattggag aatgagctaa	600
	ttatctgaaa attaccatgaa gtattccaag agaaaccagt atatggatct tigtctgttc	660
	actatgtaaa ttgtgtgatg gtgggttcag tagttattgc tgtaaatggt agggcaggga	720
	atatgttact atgaagtfta ttgacagtat actccaata gtgftttgta tftcaaaagca	780
	atatctttga tagttggcat ttgcaattcc tttatataat cttttatgaa aaaaattgca	840

	gagaaagtaa aatgtagctt aaaatacagt atccaaaaaa atggaaaagg gcaaaccgtg	900
	gattagatag aaatggcaat tcttataaaa agggttgcat gcttacaatga atggctttcc	960
	atgtatatac tcagtcattc aacagttttt ttttagagc	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 ttggtctagc aagcatttgc tgtaaattgc attcatgtaa aaaaattaca	60
	gacatttctc tattgcttta 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
	acaatgcat taacattggt gggggaggag gtcccttagt agaaacactc ttggtccaag	540
	cattttaaag ctgtcaaaga gatgtaaata tagataatgt atgtcaagga gagagctttg	600
	tggttaaact gtaactttca gtttaacaa ttattggtga ctctgatgtc aaatgtttct	660
	caagctttat ctgaacaaaa ttcttctcac tttgttgcca aagtcgttaa caagaaatca	720
	cattgactca ttgatgtttt ggctccttcc ccttactttc tgttgetttc caaaagctga	780

	gacagaaac taaccctaac tgagcacctg caattgcctg gtagtattct agtcatgtgt	840
	gtacttttgt gtgtatgtaa tccccttaca gctctgcaaa 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 aatggaagt gattgttttt atctgtgagc caaagtaaga cttattctaa	1140
	gaattccaca aatthagata agatagagta tatggcttct agacatccaa catagaactg	1200
	agtttgtgtt atcagtttaa gatttggttt tgctgtaagg tgcacacact ttgaggaact	1260
	aaaaataatt gctgtttctt attctgatca gaatgtgtaa tgtgttgctc 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 tgtgctgaat	1560
	acaattttct ttattacaga agtaccaaca attacatgta taaacagaga atcctatgta	1620
	cttgagatat aagtaagggt actatcaatc acacctgaaa aatttaaag ttatgaagaa	1680
	attatctcat ttctattaat atgggaactg tgccttcate ttattactg ttetaaggte	1740
	aactcaatgt agattttact tgcttatggt ttcataatct agctaaatag taaaataata	1800
	tggatataca ttttgttggt acttactcat acttctctta tttggaactt ttatgaatat	1860
	gatatagaga ctgaaactac aaggaacaaa atgcaatac aattatacag ttgtggcagc	1920
	actgctatca atttgttgat agtgggtaac acttagaaaa acattttaaa aataatttca	1980
	cataagtaat gtaatttatt agctgtctct gacattttac agtttggaaat agtttatttt	2040
	ctttttggtg tctcaccxaa aaccaacat cttcaagggc aggaactgta taatttttgc	2100
	cattgtattt tgagcacata gcatggtact tgcctctaaa tagatactat tgttaaaata	2160
	tttttaagg taatatttta aagtgtatgc tatggtacag ttcagtttgt gacttttget	2220
	agtttatgcc acttacagtt agcaaaaatca cttcagcagt tcttggaaatg ttgtgaaaag	2280

tgataaaaat cttctgcaac ttattccttt attcctcatt taaaataatc taccatagta	2340
aaaacatgta taaaagtget acttctgcac cacttttgag aatagtgta tttcagtga	2400
tcgatgtggt gaccatattg taatgcatgt agtgaactgt ttaaggcaaa tcactacac	2460
tagatgacca ggaaatagag aggaaatgta atttaattt	2499
<210> 42	
<211> 83	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 42	
gcaguauaca aagaugcuga uuuguauuuu uuagacucuc cuuuuggaua ccuagauguu	60
uuacagaaa aagaaauuu uga	83
<210> 43	
<211> 1474	
<212> DNA	
<213> 智人	
[0029]	
<400> 43	
ttcttgaat accttactta taatgctcat gctaaaataa aagaaagaca gactgtccca	60
tcatagattg cattttacct cttgagaaat atgttcacca ttgttggtat ggcagaatgt	120
agcatggtat taactcaaat ctgatctgcc ctactgggcc aggattcaag attacttcca	180
ttaaaacctt ttctaccgc ctcatgctaa accagtttct ctcatgcta tactgttata	240
gcaattgcta tetatgtagt ttttgcagta tcattgcctt gtgatataata ttactttaat	300
tattattata cttaacattt ttatttactt ttgtgttag tattttattc tgtcttctcc	360
ttagatagta accttcttaa gaaaatata atgctaagt ttttactggt ttaatatgct	420
tagactactc atctacctca atacttcctt ggagatctcc tcctcagtca cacagagctc	480
aggacttata tttccttgga actcctgtta gggccaatg tacatgaaat tcctagaca	540
gacagacagt cagttatag 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 tttgtattgt gttagtgtgt tacagtataa tctagaacaa	840
tgtgtctttc tatatgatat atgacatttt aatgcctaaa aaaactgata tgccttagat	900
gattctagtc aggatttact tctagaatag attaaaattc tatttgagga gagtcaaatt	960
aattatcgaa ttctcagttg ttattattgc tgttttattt ttagtgaaac agattagtct	1020
taatgtaaac acttgagaaa taaattgatg gtcaacctaa aatgtaaaaa agaaattaat	1080
agaaaattta aagagcaaca aagctctgac atttaaaaga aatgaagtac aaatctctag	1140
ggaccitaaa gatcatctaa taatttctc attttctaga taaataaact gagagacccc	1200
gaggataaat gatttgctca aagtcaaata tctacttaat ataggaaatt taatttcatt	1260
ctcagctgtg taacatgcaa cttttcaata tagcatgta tttcatgcta tcagaattca	1320
caaggtacca atttaattac tacagagtac ttatagaatc atttaaaata taataaaatt	1380
gtatgataga gatttatgc aataaaacat taacaaaatg ctaaaatag agacatattg	1440
[0030] caataaagta tttataaaat 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 ucaaaaaucu acagccagac uuugcucuaa aacucauggg augugauucu	180
uucgaccaau uuagugcaga aagaagaaau ucaauccuaa cugagaccuu acaccguuuc	240
ucauuagaag gagaugcucc ugucuccugg acagaaacaa aaaaacauc uuuuaaacag	300
acuggagagu uuggggaaaa aaggaagaau ucuauucua auccaauca cucuauacga	360
aaaauuucca uuugcaaaa gacucuuua caaaugaauug gcaucgaaga ggauucugau	420
gagccuuuag agagaaggcu guccuuagua ccagauucug agcagggaga ggcgauacug	480

	ccucgcauca gcgugaucag cacuggcccc acgcuucagg cacgaaggag gcagucuguc	540
	cugaaccuga ugacacacuc aguuuaccaa ggucagaaca uucaccgaaa gacaacagca	600
	uccacacgaa aagugucacu ggccccucag gcaaacuuga cugaacugga uauauuuca	660
	agaagguuau cucaagaac uggcuuggaa auaagugaag aaauaacga agaagacuua	720
	<210> 45	
	<211> 2252	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 45	
	tatacatgc ttgggggtat ttcacccac agaatgcaat tgagtagaat gcaatatgta	60
	gcatgtaaca aaatttacta aatcatagg attaggataa ggtgtatctt aaaactcaga	120
	aagtatgaag ttcattaatt atacaagcaa cgttaaaatg taaaataaca aatgatttct	180
	ttttgcaatg gacatatctc tccccataaa atgggaaagg atttagtttt tggctctcta	240
	ctaagccagt gataactgtg actataagtt agaaagcatt tgctttatta ccatctttaa	300
[0031]	ccctctgtgg gaagaggtgc agtataaata actgtataaa taaatagtag ctttcattat	360
	ttatagctcg caaaataatc tgtatggaag tagcatatat aaggtatata aacatttagc	420
	ctcttgatag gactaactca cattctggtt tgtatatcag tcttgccgta atttagctag	480
	tgtgggcttt tttttatctt gtgagtttgc tttatacatt gggtttctga aaagatttct	540
	tttagagaat gtatataagc ttaacatgia ctagtgccaa tcttcagaca gaaattttgt	600
	tctattaggt tttagaata aaagcatttt attttaaaa caggaaataa tataaaaagg	660
	agagtttttg ttgttttagt agaaaactta atgccttggg tgaaatgagc catgggcagg	720
	gttgtaatga attgatatgt ttaatagtat agatcatttg tgaataatat gacctttgac	780
	aagacacaag ccattaacat ctgtaggcag aagtttcctt ctttgtaaaa tgagggaata	840
	aaatagatcc ctaaagtgtg taattttagt atttctaaac tttatgaagg tttcctaat	900
	gataattcat ctatatagtg tttttttgtg tgtttgtttg tttgtttgtt tgagatggag	960
	tctcgtctg tcacctagc tggagtgcaa tgggtcaacc tcggtcact gcaacctctg	1020
	cctcctgggt tcaagctaat ctctgcctc agcctcctga gtagctgaga ttacaggeat	1080

gcaccacat gccgagctaa tttttgtatt tttagtagag aaggggtttc atcatgttga	1140
ccaggetggt cttgaactcc tgaccttgtg atccaccac ctcagcctcc caaagtgctg	1200
gtattacagg cgtgtgccac cacgtccagc ctgagccact gcgcccagcc catctatata	1260
gtttaatata aatctaaatg aattttctcag tcttgagcct aaaaatttag ttgtaaagaa	1320
tgatatacctt gactaataat agttttctatt aatggattgc atctagtgt aggtggcata	1380
tatttagtcc ccacaactac cctggaaggt atttaaaatt tttcacattt gcagataagg	1440
aaactaaagt tcagagtccg gcaacatgct tgaattcaag cagctcctag gatgttaatg	1500
gtggaggttg ggttcaaatc cagatctgtc tgactcaaaa aatgcatact cctaaccagt	1560
gcactatata ccaattccat aggagccctt ctttgtgatt catagcactt tcccatgagt	1620
tttgttgatt ttgtgagaaa caaaactctt tttcctttgg actgtctgga atctctcttt	1680
ttcaaatttt tgaatgtat ttctatgcca aaagacaaag atttctagag gaatatgctt	1740
aggatgagaa ttatgtaatt taaatcacag ctggaaagag agaaagtctt aagttaactaa	1800
[0032] gaaatgtca aacacaaatg agctttcagt ctattggaag acctttatag ctagaagtat	1860
actgaactgt acttgtccat ggaccctga agaaacaggt taaatcaaag agagttctgg	1920
gaaacttcat ttagatggta tcattcattt gataaaaggt atgccactgt taagccttta	1980
atggtaaaat tgtccaataa taatacagtt atataatcag tgatacattt ttagaatttt	2040
gaaaaattac gatgtttctc atttttaata aagctgtgtt gctccagtag acattattct	2100
ggctatagaa tgacatcata catggcattt ataatgattt atatttgta aaatacactt	2160
agattcaagt aatactattc ttttatttcc 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 tactggattt aaagttaaata taagatagtt tggggatgta	60
tacatatata tgcacacaca taaatatgta tatatacaca tgtatacatg tataagtatg	120
catatataca cacatatatc actatatgta tatatgtata tattacatat atttgtgatt	180
ttacagtata taatggtata gattcatata gttcttagct tctgaaaaat caacaagtag	240
aaccactact gatatTTTTAT tatttcatat tacatataaa atatatttaa atacaaatat	300
aagaagagtt tttaatagat ttttaataat aaaggTTAAG 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 tgtgctgta tgctaccatt aactaaggag	720
gctgaggtgg gagaatcgct tgagcctggg aggtcaaggc tgccctgaac tgtgattgtg	780
ccattgcatt ccagcctggg tgccagagag agaccctatc tctaaataaa taaataagta	840
aataaataaa cagcaacaac aaaaacactc aaagcaaatac tgtactaaat tttgaattca	900
ttctgagagg tgacagcatg ctggcagtcc tggcagcctc cgctcactct caggcctcc	960
ttgaccttga cgcccactct ggetgtgcgt gaggagcct	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		
<400> 49		
tattccatgt cctattgtgt agattgtggt ttatttctgt tgattaaata ttgtaatcca		60
ctatgtttgt atgtattgta atccactttg tttcatttct cccaagcatt atggtagtgg		120
aaagataaagg tttttgtttt aaatgatgac cattagtgg gtgaggtgac acattcctgt		180
agtcctagct cctccacagg ctgacgcagg aggatcactt gagcccagga gttcagggt		240
gtagtgttgt atcattgtga gtagccaccg cactccagcc tggacaatat agtgagatcc		300
tatatctaaa ataaaataaa ataaaatgaa taaattgtga gcatgtgcag ctccctgcagt		360
ttctaaagaa tatagtctctg ttcagtttct gtgaaacaca ataaaaatat ttgaaataac		420
[0034] attacatatt tagggtttct tccaatttt ttaatttaat aaagaacaac tcaatctcta		480
tcaatagtga gaaaacatat ctattttctt gcaataatag tatgattttg aggttaaggg		540
tgcattctct tctaatagcaa 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 ugggaguagc cgacacuuug		120
cuugcuauagg gauucuucag agguacuacca 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 gccctttggt gaacctccat	120
ttgactggca tgcacatgct tcagatatta taggttatca tatattggtg ctccataat	180
ttctgtgtta gataattaga gtagcttggg ttgtaagaat gtgatgttg tgggactgta	240
gcagaacaag aaggccctta tgggtcagtc atacctctct tttcaaatat ttggtctagc	300
tctcttctgg gcatcttgtt gccaatatat agtattgctc aaaagggcag gagatttgaa	360
gtgatcaagg aaaatatatt ttttctattg attaagtctt ttgatggggg agaataatct	420
aatttcatgt aactgctcaa agttatatgg tagggggatc ccaaatgtat tttaaaacta	480
ttttatatac atcatatttg aagtaataga aagtcagagt agcagaataa aggtactaaa	540
[0035] aattttaaaa actaataagg tactttgaaa gaaatcaatt atgttgattc ctcatataac	600
aaatttgcac ttaaagactg aggttaataa ggatttcccc aagtttttcc atagcaacct	660
gtgagcactt tctctgttga ggcatttatg gtatgaaaag atgagtaagg cacagttctt	720
gccctggaga aggtcacagg tgagaggagg agttgacaca gaaacatttg atataaagca	780
aggaataaat tccaagacta aaattttcag aatctaaaa aactcaagat aagaaaaacc	840
cattatattt tctgggtaac aaaatttcag tgttattaac atgtaggaag atcttgatat	900
ttattctgaa gcccatgtgt gttgctgaaa tattgccgca tttgcatata ctcatacca	960
tcctctgttt tggagctaag aattttagac tcaagatgct taattaagtt gatccattga	1020
ttttattttt tatggaaatc tgagaccac agaaggcagg ggatttggcc acatttctag	1080
aagagtcaga catgagcgt gaggcacagt ggaaagaaca tgagcattgc ctgagctctg	1140
agttggcgct ataagagcag tgatcatggg caagtgactc ttctgagcct tggcctctc	1200
acctgttaag tgaagaaaag aatatttcag aagatctttg tgagaatgaa acaaggcaat	1260
ttacttgctt getacatagc caatgggaaa tcaatataag ttccecgagg ttccttctg	1320

	tggggttttg ttcccacaga ggggtgactg gccattccac ttcttctttt ccaagctcct	1380
	cattcccttt aacgetgttc atagttggtt ccaaaccatt tgaaatataa taagcaccag	1440
	gatggttttt tctttccacc aaagcaaatt tcattttcta aacactgttt ataaatatca	1500
	atggctattt tttcaatfff tgattatcat gaaaatatac aaatatgttt aattaaatat	1560
	gctaaagaat gtattaataa atatgtatta aataattcct acatataagg cctttttgct	1620
	tggggtatgg gtgatacaaa ataaatgtgg catgaacca ctgacctcta gcaatttata	1680
	acctagaaaa agagtatatga 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 gcagggaggt aggaaagtgt agagtgtggt taaagaatag accagtttgg	1980
	ctgaaacagg atatttgagc agaggaagct tgtactaggt aggtgggttg aggccaaatt	2040
[0036]	atgcaaggca ttaaataata aactaggaat tttggacttt atcctgcagt ttatgggggg	2100
	taaagataa gattcaatat cactttatff gtacagtatt atgttacatt ttatctaatt	2160
	gtttgtttaa ttctgtcta gacaatgaat tcctcaaggg caaggagcat ggcttattca	2220
	cctcagtaat ttcagtgcct agcattgtgc ctggtacaaa gtggacactt gtatataacc	2280
	tttttaatt gaagcaacaa gttgtcaacc ttacaaatgt gaatccgtga ttcagatgac	2340
	aggttgaaat gtagattgtc tgcgaagagg gcagaaagag agtatgacaa aggaggacaa	2400
	gacagtgggg caggcagga gagagagcag ccagggtttc ggtagaggta tgtcaaaaag	2460
	gtatggaagt cagaggagaa ggagaccctt atgttataga atacaaatgg aagggaaatg	2520
	atgacaacag taagttgtca ttaaattgcaa gtttgcaaaa gtaagattgt aaagcaggat	2580
	gagtaccac ctattctga cataatttat agtaaaagct atttcagaga aattggctct	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 agcauuuuug gaugaccuuc ugccucuac	60
	cauauuugac 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 cccacattia gatgtaatag ctgtctactt	240
	gggagtgatt tgagaggcac aaaggacat ctttcccaa atcactggcc acaaagtgtg	300
	acattttgac attggcatca ctatttgatg gaagccaacc tcccccaaa aggccgtgat	360
	tagaatgaag atggattccc tgggtgggtt acaattgaaa 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 ggaggaggtg	660
	aaagtgacct tgggacatta ggtctccata agtgacagga ttttaaggagt gttgtaagct	720
	gtggttgttg gaccaggttt aagcacagct tctgagctt cctgactggt ttaggtcaag	780
	ctccagagag caaatgccac agtctcagtg atctccttgg agaaacagtt ggaataggat	840
	gttgeccatg ttgggatgag tcattgtccg ctcttctct ttcctacce ctgcaaaata	900

	ataatactgt atttgattga acatataaaa caaaagaagg attatcacat aagtatgtat	960
	atataaccaa cattggcagg tgcagaaaaa ccagactgtc agtttgctc atctgaaatg	1020
	attgacacaa acaaatatat ttactgtccc aagtgaactt tggcattttg gatatccttc	1080
	agttgttctg tttaaagata taacttagaa gcagctgatg gaatatttaa atccatgcgt	1140
	tgaattcatg cattcaaaga aacatgtcct gagtcactaa atgctgacat ttgtttttca	1200
	tgtaagagt gtaaataact ggtcccaaat ataataattat tacatcagat aaaaactgga	1260
	atgtgaacct cttacttga ttgtgaaagt atttgccaat ggtgctctt gataattatt	1320
	tgaggctcac ttcagaactc ctctggaagg gtaattttt aaatagtcac ttataaatt	1380
	aacatttttg acatatgtga tgctctcaa attttttctt ttatgccagt ttgaatcatt	1440
	tctgctcaat ttttttttt aattgggatg gagtctcact ctgttgcca ggctggagtg	1500
	cagtgatgca atcttgctg actgcaacct ccacctctc ggttcaagcg attctctcgc	1560
	atcagcctcc agagtagctg ggattacagg cgcgcaccac catgcctgga taatttttgt	1620
[0038]	attattacta gagatggggt ttcaccagt tggccaggct ggtcttgaac tcctgaactc	1680
	ctgacctcaa gtagccacc tgcctcagcc tcttaaagag ctggaattat aggtgtgagc	1740
	cactgcacca ggccctgttc aacttttaat gctaagattc atttgttgtt gttcacaag	1800
	tgattaggca gaggtctttt atattaattt acccatttta ttgtaagag agtctcatat	1860
	taaggaagca taatatatga caatccaat acagtacaaa ttgggtaat ttgattttg	1920
	ttaaataatt aatcacaggg gtcttcaaa ttgtgagctc ctctggttat acttatgttt	1980
	tacctctggt tatacttaat ttcaacaaa tgaatttca ttctattcat gatatttcag	2040
	aagcagatct gttgcacaaa ataaagcata cctataaatt ttcttttttt aaaaaaagt	2100
	ctctgttcac tctattttct attatttttc tctttttaa atttgaattt tattgtggca	2160
	agtcactta acatgagatt taccctctta acagattttt atgtgtaaaa tacaatattg	2220
	ttaccatgg gtaaattgtg cacagcagat ctctggaact tattcatttt gcactactga	2280
	aattttatac ctgttgatta gtatctccc atttccctct ctcccctgct ctgttacca	2340
	tggttctgtt ctttgettct ttgagtttga gtattttgat acctcatgta atcttcattc	2400

tattttctaa ctttgacaat gttctgacaa atttgctttc cggattggag cactgtatag	2460
tgaaaattga aaatcttggg tattttctac agattccac tattttacct tgagcagaca	2520
cttatcttga aggtctcag atttgcact tgiagaatgg ggaatataaa cctgataatg	2580
gtcccttca gttctaaagt tatacagtt gaaaatacat gtgtcactta tggtaacggg	2640
tagagaactg gtcactgaa cagcatatgg atattataaa gtggtttttt ttaatccttt	2700
ctgcagacag ttactttata ctttattcaa atggattatt gtgaagtaca tgtagcgga	2760
ctttgtacct tttaaaaatg tatgtatttg gtglaatgta gaaatataga aatttattaa	2820
gtatgattta tttcaatgtt aagcatgaga aaatatgctc cgaaaggta gatagcttgc	2880
ctaaatgaca agcttgtatt tcaagcagaa ctttctgaat caaaagactc caagacgaat	2940
gcccagcttt caaaaactgt ctaacaaaa taaatcctaa gattcacctt catactaaaa	3000
ttatttaaaa atagtttatt ttaaattaat attcacttaa aatgtattta tcatgcaata	3060
ctttaaagtg tctgggaaat gaaaatatcc aaagatcaaa gaacacatg tttcaaact	3120
[0039] tcaaaaatgt taccagtac ctaaacaatt tttaaaattt tcatagagcc tatgaaaaat	3180
gtacttgcaa atggctactt tctgactagg aatagaatgg ggagagtatt tagtccaaca	3240
atgatagact ggattaagaa aatgtggcac atataacca tggaacacta tgcagccata	3300
aaaaatgatg agttcatgtc cttttagggg acatggatga aattggaaaa catcattctc	3360
agtaaactat cgcaagaaca aaaaacaaa caccgcatat tctcactcat aggtgggaat	3420
tgaacaatga gatcacatgg acacaggaag gggaatatca cactctgggg actgttgtgg	3480
ggtgggggga gggggaggg atagcactgg gagatatacc taatgctaga tgacagttta	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	
uguuuuuuuu ugugauugga gcuauagcag uugucgcagu uuuacaacce uacaucuuug	60
uugcaacagu gccagugaua guggcuuuua uuauugugag agcauuuuuc 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 ttaaactttt acatcatata acaataattt	120
ttttctacat gcatgtgtat ataaaaggaa actatattac aaagtacaca tggatttttt	180
ttcttaatta atgaccatgt gacttcattt tggttttaa ataggtatat agaatcttac	240
[0040] cacagttggt gtacaggaca ttcatttata ataaacttat atcagtcaaa ttaaacaagg	300
atagtgctgc tattactaaa ggtttctctg ggttcccaaa tgatacttga ccaaatgtgt	360
ccctttggct tgttgtcttc agacaccctt tcttcatgtg ttggagctgc catttcgtgt	420
gccccaaaac tctacttgag ctgttaggga atcacatfff gcagtgacag ccttagtgtg	480
ggtgcatttt caggcaatac tttttcagta tatttctgct ttgtagatta ttagctaaat	540
caagtcacat aaacttcctt aatttagata cttgaaaaaa ttgtcttaaa agaaaatfff	600
tttagtaaga attaatttag aattagccag aaaactccca gtggtagcca agaaagagga	660
ataaatattg gtggtaattt ttaagtcc catctctggt agccaagtaa aaaaagaggg	720
taactcatta ataaaataac aatcatatc tattcaaaga atggcaccag tgtgaaaaaa	780
agctttttaa ccaatgacat ttgtgatag 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 aagcuuaaaa 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 ttagagtta gtaattaaca aatttgttgg	120
tttattattg aacaagtgat ttctttgaat ttccattggt ttattgtaa acaataatt	180
[0041] tccttgaaat cggatatata tatatatatg tatatatata tatatatata tatatatata	240
catatatata tatagtatta tcctgtttt cacagtttta aaaaccgatg cacacagatt	300
gtcagatagc aattctgtga ttgaaggga aatatgtcac ctcttcatac tcatattggt	360
gaagggtcct agcttcaaaa ttaatagatt cctaaagagg ggaaatgaaa catccgcatt	420
tacacacaca cacacacaca cacacacaga gttcctcttg tggtaagtt ttgtttttt	480
taaatctcta ctagataaaa ttgttatct aattgtgagt ttacacaaa gaaaactgt	540
cacagaaaag aaagacagtg tcacattttt caaaagaaa agaagaaaag aaagtgcat	600
gtttttcaaa tacaatggt ctgattgat tttaggatct ttagtgaaa acaaagtatt	660
tcataataag taaaataaaa atctatgtag gtaaatttgt ttctctaatt taagaatttg	720
aatttctgag tatttatgat aagtgttgaa ataacttctt atatgtgaca gtgaatactg	780
gcagagcaaa tgccaaatca atgccaaatc tgtaggatca ttgtattgta ggaacagaat	840
tctactcaaa ccgaaagcag gcatttgctg gagttacaga aaggcctcat ggaacaccga	900
gaagggtgtg ccattcgact cttaaagaag ctgcaacagg cacaagagag tcagctgcag	960

	ctcttcttct tgagtctata tctgtcctgg gtccattcct ttttgtggtt gettcattcc	1020
	tttctctctc tgaagactgg tttttctggg ctaccagggc tatgccacat tgactttatg	1080
	tagtgctccc attctggcct cctgaattta caggagagtt cctctgtaca aactcaaagt	1140
	cctggagaga acagaaaaca gtttcctttt 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 tttaacaate	1500
	attatagtac agaacttacc aatcaaatca gatgctcagc cggagtggat gttggccacc	1560
	cagctattat tatccctggc tcaattgggc ttcagctgtg ttaacttgca aacattaatt	1620
	aactatctaa gccctcatt ttcctcaagt gtaaatagac acaataatat tacctattcc	1680
[0042]	ataggtgtgg ggtgaatagt aaatgtaata atttgtcaa aacacttagt atagtgcctg	1740
	gtccatggta aatactaaat aaatgttata tgacttatta ttaaaatfff 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 gtetaacttt	2040
	ataataatff aagaacattc ctcttagaga atttctatgg ccataaact gaacacatga	2100
	atfttaatta gctgtctctt ttagccctaa aaaaaaatt actgtaatff aacacttaag	2160
	tgttgttctt cccaggtaca gtaatctfff tftftftftt tftftftftt tgcatagagg	2220
	gtaatctfff ctctttcaa atggcagaac tgitagtttt ctgactgtcc ggtgaaatfc	2280
	taagfccact tacttcccaa tagcatgcaa ttagcaaagg tctctcttgc 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 guauuuuccu gacuuuagcc augaauauca ugaguacauu	60
gcagugggcu guaaacucca gcouagaugu ggauagc	97
[0043] <210> 59	
<211> 1000	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 59	
tettatcate tttttaactt ttatgaaaaa aattcagaca agtaacaaag tatgagtaat	60
agcatgagga agaactatat accgtatatt gagcttaaga aataaacat tacagataaa	120
ttgagggtca ctgtgtatct gtcattaaat cettatctct tctttccttc tcatagatag	180
ccactatgaa gatctaatac tgcagtgagc attctttcac ctgtttcctt attcaggatt	240
ttctaggaga aatacctagg ggttgatttg ctgggtcata ggattcacc atgettaact	300
gagtgggtgcc aaattgtcct caagtctggt gtaactgat ataccat caagagagta	360
caagaattct catagctatg tatcttcaac aacacttgggt gtcttgtaga tgtgaagtga	420
ttactaaaaa tataggaag ctgcatacat aattattggc ttttctggt ctcttacatt	480
aatttcttat tcatgttgat tactcatttg tcacctagtt tttcttct taattaaatt	540
gtaggaattt atgaattatg gattgatcat cagctctata catttcaaac ataatectc	600

agtcagtggc ttggcttata gagtcctttg atgaaaagaa gcttttaagt ttaataaagt	660
tcaatttatt gtcttttcct ttatgttttg tgcctttggg 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 tcttgttttg gttttctaga atgcagagcc attaatatta	960
tagtaatgct tatgtgctaa taccatatca ggggcacaaa	1000
<210> 60	
<211> 245	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 60	
ugcgaucugu gagccgaguc uuuuaguuca uugacaugcc aacagaaggu aaaccuacca	60
agucaaccaa accauacaag aauggccaac ucucgaaagu uaugauuuuu gagaaaucac	120
acgugaagaa agaugacauc uggeccucag ggggccaaa 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 gcagaatctt tttgtaacat tattattgta cagtagaatc aatattaac	120
acacatgttt tatttatatgg agtcattatt tttaatatga aatttaattt gcagagtctt	180
gaacctatat aatgggttta ttttaaatgt gattgtactt gcagaatata taattaattg	240
ctaggttaat aactaaagaa gccattaaat aaatcaaaat tgtaacatgt tttagatttc	300
ccatcttgaa aatgtcttcc aaaaatatct tattgctgac tccatctatt gtcttaaat	360

[0044]

	ttatctaagt tccattctgc caaacaagtg atactttttt tctagctttt ttcagtttgt	420
	ttgttttggt tttctttgaa gttttaattc agacatagat tattttttcc cagttattta	480
	ctatatttat taagcatgag taattgacat tattttgaaa tccttcttat ggatcccagc	540
	actgggctga acacatagaa ggaacttaat atatactgat ttctggaatt gattccttga	600
	gacagggatg gtcattatcc atatacttca ggtccataa acatatttct taattgcctt	660
	caaatcccta ttctggactg ctctataaat ctagacaaga gtattatata ttttgattga	720
	tatttttttag ataaaataaa agggagctga aaactgaatt gcaaactgaa ttttaaaact	780
	ttatctctct gtggttaatt gcaaacacag atacaaaaat atagagagag atacagttag	840
	taaagatggt aggtcaccgt tactaacact gacatagaaa cagttttgct catgagtttc	900
	agaatatatg agtttgattt tgcccatgga ttttagaata tttgataaac atttaatgca	960
	ttgtacaaat tctgtgaaaa catatatata ggatgtgcga	1000
	<210> 62	
[0045]	<211> 152	
	<212> RNA	
	<213> 智人	
	<400> 62	
	ugggccucuu gggaagaacu ggaucagggga 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
	tgtaactcaag aaattcatat tactctgcaa aatatatttg ttatgcatig ctgtcttttt	120
	tctccagtgc agttttctca taggcagaaa agatgtctct aaaagtgttg aattctcaaa	180
	ttctggttat tgaatgttc 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 tttttctct agtctttccg ggtatattca catttaatga	720
tcacttttct cccctttgtgc taatggacac tgaatccatt ccaactaccat agttcttget	780
aatactactc tactttttac acaaaattaa aatgccagga gcacctccag gtagactgac	840
tataaatcta gactgaaaaa aaagcttgta tttcttaaca gattaccttg tggaacattt	900
gctcctttca actaatgagg cactaaatat tgtaactgct caactgggtgc 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 ctaccctaa ctgaaatgat	180

	tttgaagag gtaactcata ccaacacaaa tggttgatat ggctaagatc attctacaca	240
	ctttgtgtgc atgtatttct gtgcacaact tcaaaatgga gtaccctaaa atacctggcg	300
	cgacaagtac ttttgactga gcctacttct ctctcactg gtatggctcc aaccatcagg	360
	ccctatcttg gtccatttag gctgctaaaa taaaatacca aagactgagc tgcttataag	420
	caatctttgg aggctgagaa gtcaaagatc aagggtccag caggtttgct gtctcgtgag	480
	agcatacttc ctggttcatt gatggtgctt tcttgctgtg tcctcacata atggaaaggg	540
	caagacctct ctggtgtctc ttttacaatg gactaatcc catcatgagg gctttgttct	600
	catgacctaa tcacctcca catgtcctac attctaatac taccacctg ggggttagga	660
	ttttaacata tgaatttgag gaggtggcgg gggggacaca aatatttaga ccatagcatt	720
	tcactcctga cctccaaagt tcatgtcttc tcacatgca aaatacttc attccatccc	780
	aatagccccc aaagtcttaa cttgttccag catcaactta caaggctaaa gtccaaggtt	840
	tcactctaat 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 gaacaguuuu 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 tetgttactt aatagcacag tgggaacaga atcattatgc ctgcttcattg	60

	gtgacacata tttctattag gctgtcatgt ctgcgtgtgg gggctctccc caagatatga	120
	aataattgcc cagtggaaat gagcataaat gcatatttcc 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 tttgaaatat ttgtcctggt tattttatgga tacttagagt	420
	ctaccccatg gttgaaaagc tgattgtggc taacgctata tcaacattat gtgaaaagaa	480
	cttaaagaaa taagtaattt aaagagataa tagaacaata gacatattat caaggtaaat	540
	acagatcatt actgttctgt gatattatgt gtggattt	578
	<210> 68	
	<211> 102	
	<212> RNA	
	<213> 智人	
[0048]	<400> 68	
	acauacccaaa uaaauagaag 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 caaaaatag tatcatacag	120
	ccatccagct ttactcaaaa tagctgcaca agtttttccac tttgatctga gccatgtggt	180
	gaggttgaaa tatagtaaata ctaaaatggc agcatattac taagttatgt ttataaatag	240
	gatatatata ctttttgagc cttttatttg gggaccaagt catacaaaaat actctactgt	300
	ttaagatttt aaaaaaggtc cctgtgattc ttcaataac taaatgtccc atggatgtgg	360
	tctgggacag gcctagttgt cttacagtct gatttatggt attaatgaca aagttgagag	420

	gcacatttca tttttctagc catgatttgg gttcaggtag tacctttctc aaccaccttc	480
	tcaactgttct taaaaaaact gtcacatggc caggcacagt ggcttacatc tgtaatccca	540
	atactttggg aggctgaggt ggggggatta ctigaggcca ggaattcaag accagcccag	600
	gcaacatagt gaggccccat ctgtctttat taaaacaaaa caaaactgtc acagcttctt	660
	tcaagtgatg ttacaaatt ccctatgggt tagtcacaag gaagttctga ggatgatgta	720
	tcacgtcatt tctgttcagg cttttgagcc tcctggaggt aaatggtttc cttactgaag	780
	gcttgttatt accatgatta tcactaagct tgaagtaaca aattaggggg gcagactcac	840
	aacctcttgc cctgccatgg acaagttcaa gaatctaagt aaagtcctct attgtctgat	900
	cttggatttg ctcaacctga acaagccaag gaggtgtatt aaactcagge acatcctgac	960
	caatttggaa ttcttaagct tcagatcact gtggaagagg ctcaactctt tatggtgctg	1020
	tagacttacg ctcattttct aggtaattta taagggacct aatattttgt tttcaaagca	1080
	acttcagttc tactaaacct ccctgaagaa tcttcagct gctgagtaga aatcacaac	1140
[0049]	taatttcaca gatggtagaa cctccttaga gcaaaaggac acagcagtta aatgtgacat	1200
	acctgattgt tcaaaatgca aggctctgga cattgcattc tttgactttt attttcttt	1260
	gagcctgtgc cagttttctgt 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 gcucuuuccc 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 guacgccag ccuggugccc cacgaagaag	180
	ccgcugcucc aggacggacc acagccacc cugcuggugc cuccuggag ugguccagg	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 uuuuucucc uggcaaagca aaaccuccu uuuaucua ucaaggggaa	180
	guaacuugaa gguaggaacc cagcuuguga gccccuagc cucugggcug cucugcaugu	240
	gccccucuu gcuggaucau cugguagcag ccucugccc ugagggugau gcucugaccu	300
	augcagcccc ccuccuguc cugagaaggc uuccagcugg gccuuggagg acagggucca	360
	ccccuaccuc cuggucuccu uccucagcuu ggaagccccg gagccugccc ugcugggaau	420
	cggggaagca cugcuuaccu gucuc	445
	<210> 73	
	<211> 143	
	<212> RNA	
	<213> 智人	
	<400> 73	
	ugccuguggc aggcagcacc uugagccaac aggaaccauu gacaugcgag gcccagggea	60
	ggcagacugu gcaguggcca uugggcggcc ccucggggag guggugaccc uccgcguccu	120

	ugagaguucu cucaacugca gug	143
	<210> 74	
	<211> 173	
	<212> RNA	
	<213> 智人	
	<400> 74	
	ggacauuguug 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 cagggaggcu gggugggugc	60
[0051]	ugcuggggau ggggccaguc ccaguggggc agugggaaga uacggaggga acugacugag	120
	auggaaggaa cugggguugg ccagugucag ucugcacgug ccaggaggagg gucacaggau	180
	gaaugcuaua ucccuccuuu uugggaccgu gcagcaagau ggacggaugu gggacauggu	240
	ccacauccuc agucagucc ucagccucu gccccacacc caccugcccc gccccaccc	300
	cuccagccuu ucaagggcuu uuaggguuuu 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 gcuggucca gagguuccuc ggcucccca ggugucuggg gcuuaguggc	600
	aacaggggcu uagccucugc agagaccuag ugcgcccu ccuugccca gaccugccc	660
	ggcagagagc cguguauug ucccagugca caggcgcugc ugggccucg caaaaggcca	720
	caagcccacu gucaccguuc acauugcuuc ucgcuuccg gccagcccc gccacacag	780
	gcaucugccu ugaaagaggu gcaggaggua caggcaggug ggggcuccag ugagcucuga	840

	ggaacagcag uggccgccau ggguggagcc uaucuuuguu gccaguuuca guguuuaaca	900
	cucuugcagc ugugacauca uugaguccua aagaccacuc ugcucagugc augccauugu	960
	uuccuucagu uacagaggag ggaaccagag cccagaacau uuagccuuug ccuaaaguca	1020
	cugggccagg aagugguaga ggugggguuc agcaggauuu gccugggaac cccaauauug	1080
	accacagugc caugcugccc ugcacggcuc ccuggcugug aguuguccug gccucuggca	1140
	ccaccggucu gucuggguuc cuauguccu	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 cacucguuuu uccauccucu	60
	cguuacuggg ucaugucaua agacugcagc caucuuggaa gcauaagcuc ucucaagcac	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 aaccuucuag gcuuuuggcu	120
	uuucucaaa uagaauugu ccagaguugg uacuuaguua guucucaaa acaucacuau	180
	gacuauugaa uaccuugucc augcaaguau ggaaaauuu cgaucaaug gguucaaugu	240
	uacauuuuuc caaaccucu gauuucguca ucguuuagcc uucccucuu uaaaaacauc	300
	cuggauuuuc uuuugggaau ccuguuuuu aaauuauuu uuagcuaua gaaaaauggc	360
	uuaaaguuu uguuaaccu uuaggaguau ggucugguug cagcuauuu uaagacuuug	420
	uugauguaaa uucuaauag uugcauucua uuuuuugcac uaaauuuagu gcuuuuuuu	480
	auauaggag ucaaaaucua aaugaacuu uaugguuuu guuuuacag uggcgugcag	540
	ccauacucag gguuuuuuu uuaaucuuu uuaguuccug gacuuguuu cuaucuaua	600
	aaauagaaa uguguuuuu auuaacugcc uguaccucac agagacauga aaauacca	660
	uaguauuuu uccaggauug caguaccuu ggauucauu gcucacagcac caugcauuu	720
	gauuuuuug ucugccaaga aggguaacuc uuuuuuuuuc ccuagaggug ggucccaagg	780
[0053]	agucacauug gcaggguuu auaaaaacu gcuuuuuuu cagaaaaau agaacaguu	840
	uuacaacuu aauguuuuu aaacaaugg auugaugaga auuaauucua auuauggau	900
	uggugagaau auauucuaaa uggauugaug agaauuuuu cuaaauggau uggugagaau	960
	auauucuaaa uggauugaug agaauuuuu cuuuuuuga ggcacaucau uuaguucaga	1020
	uugcaaaaca cuuauuuuu ccaaaagagu acguuuuuu aaucaggau aagucucag	1080
	uuagacuuu aggaaaauga auucaggcu aguucuuuu gcugagaauc auuuuuuuu	1140
	cucuuuuuu cucauuuc cuaccauuu auuuuuuuu cuggauuuu uccguuuga	1200
	aaggcuugau gcuuugauga aaaaucuaaa uuuuuuuuu acuuuuuuu cagacucua	1260
	gauuccuuu cuuuuaggaa uuauuggau cuuaccuac auaguaguu uuuguuuuu	1320
	aucuuuuuu auuuuucua auuuuucua ccuggcaaac auucauguu uuuuuuugg	1380
	ucaggugagc ugcugagcu agcuagucag agcuguuuu guauccauug gguguuuuu	1440
	gucuuucuu agccugaagu uuuuuuuuu acuuuuuuu uaaacugag gcgugcugaa	1500
	agguuuuuu auuuuuuuu uuuuuuuuu uggucucua auucuguuu gaagugagcc	1560

	uuuaaguuga cuuguuagug cuauaugaau uucuccuuca auuauacuuc uguuguaguu	1620
	cuuuuuuuuu uaguaaguua cuugucuaug 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
	uguuuugaug uuaucuccuuc aguaauccuu agggauaggg aaaugaguac 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 ucuacccuu acuccagcuc ucggcugaug uuguuuuuuu ugccagggca	60
	gcuaccucag acucugaguu cccaucgac acggcugaua acugaaccac ca	112
	<210> 81	
	<211> 319	
	<212> RNA	
	<213> 智人	
	<400> 81	
	gugucaacua gugugccugc ucucuccucu gcuuucuggu gaagcugacc cuuuggguca	60

	gauuuaguau gugguuggga aaauucaca cugcucuuu caggagucac uuuuaaggau	120
	ccaugauuu agcaaagaaa guuacuguug ccucuuagau ucaucuugaa gucuugauuu	180
	acaaaugca acuuguuucu ugauacgcu uuaauaagau gccuuuuucu agaugaaaa	240
	gcuaaaauua agcugaacac uggccaugga uauaaaccuc guggaugacu uagcauuccu	300
	uugccacugc ugauguacu	319
	<210> 82	
	<211> 108	
	<212> RNA	
	<213> 智人	
	<400> 82	
	cuacucuuug gageccaucu augguuugug guaugaccac uccuccaacu ucuccuggaa	60
	auguuccacc ugaucuguca cacccuaca guaaagucuu ugguaaa	108
	<210> 83	
	<211> 289	
	<212> RNA	
	<213> 智人	
	<400> 83	
	uaugucuuag guuggauuug auuaguuggu uuuggccugc cuuuauuggc aggaggagcu	60
	cucuuuuaga ucuaaggac cacuugcugu uguaacuug uuuuugacac uuauugcaaa	120
	ucccuggggc uuucagaaug uguaaaguga accuaaaaac aaaaaagaga gagacugauc	180
	uagaucceca gaaaguuaac ucuagcagcu uuauuuauag uaauaguuuu aggcugaaaa	240
	aaaucggca guuuuucuaa uaguugggcu caguguucau auauguucu	289
	<210> 84	
	<211> 118	
	<212> RNA	
	<213> 智人	
	<400> 84	
	agguggaaaa ggaacuccuc ugggaacccc agcaaccucu ccuccuccag ccccacucug	60
	ucauucggau gacuacugc acauuucacu cccccaggcc acagucacac cccccagg	118

[0055]

	<210> 85	
	<211> 141	
	<212> RNA	
	<213> 智人	
	<400> 85	
	gaugaugggc uccugcugg 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 cccacaacce uucagggcc gcucaugcca	60
	ccgacuucc cagauggcag ccagucucca uaugguguu cuggaaacug aggcacaggg	120
	cuuaaguagc agaccagga ucuguccug ggccaucuga cucagcccag ugaggggugg	180
[0056]	ccugggggac cuuccugggc gguauccegu uuuugccuu aagagguggg gugggguccu	240
	cugagcuuca agcugcuggg cucagucuu	269
	<210> 87	
	<211> 140	
	<212> RNA	
	<213> 智人	
	<400> 87	
	gagggggaua aagugaagau cgcgcagggu gucucgggcu ccauccagga caaaggaucc	60
	auucagaagu ucgugccua ccucauagca ggcauccaac acggcugcca ggauaucggg	120
	gccccagcc 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 ccucuggugca 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

	caccacaug gaaacggacc ugcucagcag	90
	<210> 93	
	<211> 191	
	<212> RNA	
	<213> 智人	
	<400> 93	
	ucuugcugga agcccuguac uucucacugg uggccaagcg gcugcaccgg gaugaagaug	60
	acaccucuggu agagagcccg gcugugacgc cugugagcgc acgugugccc cgcguacggc	120
	caccccacgg cuuugcacuc uuccuggcca aggaagaagc ccgcaagguc aagaggcuac	180
	auggcaugcu g	191
	<210> 94	
	<211> 430	
	<212> RNA	
	<213> 智人	
	<400> 94	
[0058]	ccugggugcg gccugugccc cugccaccuc cgucucuugu cucccaccuc ccaccauge	60
	acgcaggaca cuccuguccc ccuuuccuca ccucagaagg ccuuagggg uucaaugcuc	120
	ugcagccuuu gcccggucuc ccuccuacc cagcccccc acuugcugcc ccagucccug	180
	ccagggccca guccaaugc ccacuccugc cuggcccuga aggccccuaa 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
	<210> 97	
	<211> 109	
	<212> RNA	
	<213> 智人	
	<400> 97	
	ucugaggagc ucuggccaug gauggcccac 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	

[0059]

<400> 99  
 gaaauauuu gcaguuuac aacaauaaaa auuuuuuauc uuauuuuuuu uaaggaaaau 60  
 uuucuuucuu uugcuuugag uaggguaaua auuauacaua ugaggcaagg augugcugcu 120  
 uuaaauguga aaugagguua gaguuuagaa uuagaagagu ccuuugaggc cauuuggucc 180  
 auccuccuac cugguggaca caaaauugua acaaaaauaa ucuaauuggc uauguuuuac 240  
 cauggcaguu uuuuuuugua aggaaggugu uugaauaguu cugaauugac aacuuuuuac 300  
 auaauguuuu 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 aaauucuuugg aaccagagua gagguggugg uacacaugga 60  
 uacagaugau acagauguuu guguaacaca aaaggauuuu uacguuuuuu cauuugguuu 120  
 uaaggcugua ucuaucuuug uuucuuuuuu uuuuuuuuuu uuauuccug aagucugaau 180  
 ucaacucgaa uaguagauuu uacgcuucuu cacagauuuc auuguuccaa ggccgcauau 240  
 auuuugcauu ccuaacucuu aaaaggcugu gguuuuuaagg caggguauau augaagccau 300  
 uguacagagc agaaauggu guuuagaagg gaaggcccag uuugcaaggc ucuguggggc 360  
 aauggugcu uuuguggaaa uuagggaaag agccuccuuc cuuggcacia auuuccuaca 420  
 gcagaggauuc ugcuuugcaa ggagcaugca ggcuggauuc agaccugcu cuuuccuucc 480  
 auucuccucc uuggcccagu acccuugugc agguuacaau uugccuguca uauguggcug 540  
 ccugauuuua gauagaagau guaucuccuc uguuuuggug auaucuguug uauguagacc 600

	ucuuguuucc caccaguauc ugaauuguau uauaugauag agcagaagag aaauguauuu	660
	gaauuuuuac ccuagagaca aaauagaaua agaugaggca auuaagaugu uuucaacauu	720
	uggugaaguc uuaaaaaaga ccuacuggag cauagaauau uugcugaagu uguauaaugg	780
	aaggagaaau agauuuugau uuuuaggaca uuauaccugg aaugguuuag auaacuuauu	840
	auuuuuuuag ucauccaaau gcaauguaaa uauguaaggu uuugugggca aauggagccu	900
	cuguguaaaa caggaaaagg cacucuuucc ucugggcaag uacaguccca cagugggaug	960
	aaccgcucgc cgagagacaa gggacacaug ggauuuuuuu cuuccuugga uaaagauauu	1020
	cauuuuuucg uucauucuuu 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 uuucacacuuc ccuuccuuua 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	
	ccagtgtat 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	

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

	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	
[0063]	ttaaacctgt cttgtaac	18
	<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

	<210> 113	
	<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> 113	
	tccttaaacc tgccttgt	18
	<210> 114	
	<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> 114	
	ctccttaaac ctgtcttg	18
[0064]	<210> 115	
	<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> 115	
	tctcctaaa cctgtctt	18
	<210> 116	
	<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> 116	
	gtctccttaa acctgtct	18
	<210> 117	

	<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> 117	
	ggtctcctta aacctgtc	18
	<210> 118	
	<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> 118	
	tggctcctt aaacctgt	18
[0065]	<210> 119	
	<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> 119	
	ttggtctcct taaacctg	18
	<210> 120	
	<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> 120	
	attggtctcc ttaacct	18
	<210> 121	
	<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> 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	
	tctattggtc tccttaa	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 caggcccc		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		
	tgctaccgg 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		

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

	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	
[0069]	agtcggctgg gaggagga	18
	<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

	<210> 138	
	<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> 138	
	tgggcggcgc cagggagt	18
	<210> 139	
	<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> 139	
	ccccacctgg gtctggcc	18
[0070]	<210> 140	
	<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> 140	
	cccagcccca cctgggtc	18
	<210> 141	
	<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> 141	
	cgtccccag cccacct	18
	<210> 142	

	<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> 142	
	tcctcggtc cccagccc	18
	<210> 143	
	<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> 143	
	ggaggctgcg atctgggc	18
[0071]	<210> 144	
	<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> 144	
	ctgcatctg ggctcccc	18
	<210> 145	
	<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> 145	
	atctgggctc cccccacc	18
	<210> 146	
	<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> 146	
	ggctcccccc accttggtg	18
	<210> 147	
	<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> 147	
	ttgtgtccct cggcccc	18
	<210> 148	
	<211> 18	
	<212> DNA	
[0072]	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400> 148	
	ccaccttggtg tccctcgg	18
	<210> 149	
	<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> 149	
	tccccccacc ttgtgtcc	18
	<210> 150	
	<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> 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		

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

	gaagaugccu uugcccac	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	
[0075]	agguaagcag ugcuuccc	18
	<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 auuccag	18

	<210> 163	
	<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> 163	
	ccccgauucc cagcaggg	18
	<210> 164	
	<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> 164	
	auucccagca ggcaggc	18
[0076]	<210> 165	
	<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> 165	
	cagcagggca ggcuccgg	18
	<210> 166	
	<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> 166	
	agcagggcag gcuccggg	18
	<210> 167	

	<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	
	aaggaggug 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	

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

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

	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	
[0081]	gcagcugccu gacaggaa	18
	<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

	<210> 188	
	<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> 188	
	gcagcagcug ccugacag	18
	<210> 189	
	<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> 189	
	ugcagcagcu gccugaca	18
[0082]	<210> 190	
	<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> 190	
	cugcagcagc ugccugac	18
	<210> 191	
	<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> 191	
	ccugcagcag cugccuga	18
	<210> 192	

	<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	
		accuuucau ucaaaucc	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	
		auaaaacc aucauuca	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	

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

	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	
[0087]	aggcacuggc accaggau	18
	<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	
	accaggaucg gcauugua	18

	<210> 213	
	<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> 213	
	gaucggcauu guacagua	18
	<210> 214	
	<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> 214	
	aggcacacua guugacac	18
[0088]	<210> 215	
	<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> 215	
	agagcaggca cacuaguu	18
	<210> 216	
	<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> 216	
	aggagagagc aggcacac	18
	<210> 217	

	<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		
	gcuaaguc au 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		

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

	aaaaccaacu aaucaaaau	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	
	aggcctaaaac 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	
[0093]	aaggcaggcc aaaaccaa	18
	<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	
	cauuuaaggc aggcctaaa	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	
	agaacauaua 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 gcccaacu	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	

	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400> 246	
	gggcccaggg ucag	14
	<210> 247	
	<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> 247	
	cugaucugcc cagguggg	18
	<210> 248	
	<211> 18	
	<212> RNA	
[0096]	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400> 248	
	gugggcugau cugcccag	18
	<210> 249	
	<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> 249	
	ggguuguggg cugaucug	18
	<210> 250	
	<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> 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	
[0099]	<400> 260 ggaccccacc ccaccucu	18
	<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 ucuaagg	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

	<210> 263	
	<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> 263	
	caugagcggg cccugaag	18
	<210> 264	
	<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> 264	
	gcaugagcgg gccugaa	18
[0100]	<210> 265	
	<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> 265	
	ggcaugagcg ggcccuga	18
	<210> 266	
	<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> 266	
	uggcaugagc ggcccug	18
	<210> 267	

	<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 cgggcccc	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	
	cgagguuuu 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	
	caccagggcu 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		
	acccagaca 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		

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

	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	
[0105]	cccacccccg uccaguca	18
	<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 cacccag	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	
	agagccccc 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	

	<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> 292	
	gcaaggguga gcuucaga	18
	<210> 293	
	<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> 293	
	cagcugcaag ggugagcu	18
[0107]	<210> 294	
	<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> 294	
	gggccagcu gcaaggu	18
	<210> 295	
	<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> 295	
	agggugggcc cagcugca	18
	<210> 296	
	<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> 296	
	gc <u>ca</u> uagggug ggcccagc	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	
	gcacagggccg cacccagg	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 cgcaccca	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		

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

	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	
[0111]	ccacagugac agcagggc	18
	<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	
	aacuaaaagcc 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 ggcaaac	18
	<210> 321	
	<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> 321	
	ucacacgcuc cagcccu	18
	<210> 322	
	<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> 322	
	cgcuccagcc ccuacugc	18
	<210> 323	
	<211> 18	
	<212> RNA	
[0114]	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400> 323	
	cagcccuac ugcccau	18
	<210> 324	
	<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> 324	
	ccuacugccc caugcccg	18
	<210> 325	
	<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> 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		

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

	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	
[0117]	uuuaauaaga uaaaaauu	18
	<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	
	uuauuuuuua 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	
	cauuaugaua 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 uucucca	18
	<210> 346	
	<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> 346	
	uuucucuaag guuucuuc	18
	<210> 347	
	<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> 347	
	aagaauuucu cuaagguu	18
	<210> 348	
	<211> 18	
	<212> RNA	
[0120]	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400> 348	
	guccaagaa uuucucua	18
	<210> 349	
	<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> 349	
	cucugguucc aagaauuu	18
	<210> 350	
	<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> 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		

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

	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	
[0123]	aauagauaaa auccagaa	18
	<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

	<210> 363	
	<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> 363	
	aaaauuuuuu auuguugu	18
	<210> 364	
	<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> 364	
	aaaauuuuuu uauuguug	18
[0124]	<210> 365	
	<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> 365	
	uaaaaauuuu uuauuguu	18
	<210> 366	
	<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> 366	
	auaaaauuuu uuuuuugu	18
	<210> 367	

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

	<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 gectctctct ctactttctt ctttctagat	240
	tttctatct ttatgaagat tattctgect tctctcaac agttagaaac aatatttttg	300
	aaaatcacta cggatctctg catagtgatt tcccatgcca actttactaa tttccattat	360
	aaattattat ttattgatgc ctagagggca gatgagtgta gctgctatgg agtgaggaga	420
	caaacataa gaaagttatg atcctaccct caggtaatga ttcagacatg ataattaagt	480
	caacaaattg atagaaacta atcactaact ctctggctat agtcattctt tcaatgaata	540
	gctcattact gagtatgcat gctacagtaa caaaattata taaggctgtt gattaaatgt	600
	tgattaagtg catgtcttat tcagagtttt ttatatttg aaatggaaga ggctggactt	660
	cagtaatttg ctataaactg ctagtatatg attatttggg ggcagttatt ttttaaagaa	720
[0127]	taatttaaat atggaatgtt tagcagtttg ttttttccct gggaaaaacc atactattat	780
	tccctcccaa tccctttgac aaagtgacag tcacattagt tcagagatat tgatgtttta	840
	tacagtgta gcctgtaaga gatgaagcct ggtatttata gaaattgact tattttatc	900
	tcatatttac atgtgcataa ttttccatat gccagaaaag ttgaatagta tcagattcca	960
	aatctgtatg gagaccaa at caagtgaata tctgttctc	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 aagagaaaa aggctttcat taacagaaat cagtggcaat aacttaataa	300
	atacaatcag ctggtgttcc tatagtattt aaaagaaaac agaaagtta ctagatttca	360
	gccagtttc agactattta atgtctatic ttactataat agaaaatata taatttgatc	420
	ttgttctcat ttttcaaga cctttaatac atgattttag tagttgaaa tgaagttta	480
	tgatagtta tgccttact tttaaaaaca aagtctaaca gatttttctc atgttaaate	540
	acagaaaaag ccacctgaca ttttaacttg tttttgattt gacagtgaaa tcttataat	600
	ctgccacagt tctaaacaa taaagatcaa ggtataaggg aaaaatgtag aatgtttgtg	660
	tgtttatfff ttccacttg ttctaagcac agcaatgagc attcgtaaaa gccttacttt	720
	atgttccac ccttttcatt gttttttaga agccaacac ttttcttaa cacatacaat	780
	gtggcctfff catgaaatca attcctgca cagtgatata tggcagagca ttgaattctg	840
	ccaaatatct ggctgagtgt ttggtgttgt atggtctcca tgagattttg tctctataat	900
	acttgggtta atctccttg atatacttgt gtgaatcaaa ctatgttaag ggaaatagga	960
[0128]	caactaaaat atttgacat gcaacttatt ggtcccactt	1000

<210> 377

<211> 1000

<212> DNA

<213> 智人

<400> 377

	atttctctc agggttaccc tctgatccct attttactaa atcgttataa aacaaaatga	60
	ggaattatgt gtccttcct tttgaagcca atgtaacaag atgggtaaga attagacctc	120
	ctgagttcaa aatccttga ttcagatcta ttctgtata ttcaggagaa gtggtataa	180
	attcgatgga caatttggt tagtagtcca ttgaggacce tgatgaggta tatttgggaa	240
	aacataactt ccgctctctc tcattgactc acgggccttt gaggagtcca ggagtcatg	300
	gaatctggcc tgaggttgag gctgctgcca aaactcctc cccaaagtcc attcctattg	360
	ctgactgaga agggactagc attggaagtg gctgatttta aataccgcta gtgctggtgt	420
	gctcctcct cccattccca gctctgcttt gtgtagttgc cttgagaagc taagttcatt	480
	ctgaaaataa tgccattgca caaaacactt ttgaaagttc tagtttgaaa ttacatcagg	540

	tcacttggtc tgtgtggcct cagtttcttc atctgccatg tgaaaataat aatgcctact	600
	ctgtagcaaa gaaagtctct atagtaaaca aaaaaaaaagc ctactctgat actgaaagtt	660
	gttatgaaaa ataaaaaagg gaaatgcttt agaaactgtt aagtgcctatg tagatgttac	720
	taattaacaa accatttcag aaactatact ttttatttta tggccactat tcactgttta	780
	acttaaaata cctcatatgt aaacttgtct cccactgttg ctataacaaa tccaagtct	840
	tatttcaaag taccaagata ttgaaaatag tgctaagagt ttcacatatg gtatgaccct	900
	ctatataaac tcattttaag tctcctctaa agatgaaaag tcttgtgttg aaattctcag	960
	ggtattttat gagaaataaa tgaatttaa tttctctgtt	1000
	<210> 378	
	<211> 1000	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 378	
[0129]	gaggctgagg caggagaatg gcgtgaacc aggaggcaga acttgcagtg agccgagatc	60
	gcgccactgc actctagcct ggggtgacaga gtgagactct gtctctaaat aaataaataa	120
	ataaataaat aaataaataa aatcagtgc ttttcttct ctgctacctc ctttcttct	180
	actcagtttt agtcagtagt attatctttt ttcagattta tctttgtatt gttaaatctg	240
	cttatgettc tattacttta tttattagct ttaaatagata cttttgact ttcagctttt	300
	cttaataaag caatcagcaa atttcttta cactccacac ttatacceca tttcctttgt	360
	ttgtttatth ggtttttact tctaactttt cttattgca ggacatataa catatttaa	420
	ctttgttttt caactegaat tctgccatta gttttaatth ttgttcacag ttatataat	480
	ctttgttcac tgatagctct tttgtactat catctcttaa atgactttat actccaagaa	540
	aggctcatgg gaacaatatt acctgaatat gtctctatta cttaatctgt acctaaat	600
	atgaaggtaa tctactttgt aggatttctg tgaagattaa ataaattaat atagttaaag	660
	cacatagaac agcactcgac acagagtgag cacttggcaa ctgtagctg ttactaacct	720
	ttccattct tectccaaac 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 cagaccaaat	120
cccatcggtt tgaagcctc tagggtatc tatctattgt atacttctgt tatgtacaaa	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 ggcagaatg	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 acatatttta atttttggta ttttataatt attatttaat	780
gatcattcat gacattttaa aaattacaga aaaatttaca tctaaaattt cagcaatggt	840
gtttttgacc aactaaataa attgcatttg aaataatgga gatgcaatgt tcaaaatttc	900
aactgtgggtt 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 tctttatca taaactgtga ctttttacac tgctgaaact tttttttta	240
	agacaatctc actctgtcgt ccagtctgga gtgcagcagt ggtgtgatct tggtcactg	300
	caacctctac cttctgtgtt caagcaattc tggcgctcg gccacctgag tagttgggat	360
	cacagtgta caccaccagg cctggctaata agttttgat atttctagta gagatgagtt	420
	ttgccacatt ggccagctg gctgaaact 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 tccattaact taatgtggtc tcatcacaaa taatagtact	840
	tagaacacct agtacagctg ctggaccag gaacacaaag caaaggaaga tgaattgtg	900
	tgtaccttga tatttgtaca cacatcaaat ggtgtgatgt gaatttagat gtgggcatgg	960
	gaggaatagg tgaagatggt agaaaaaaaa tcaactgtgt	1000
	<210> 381	
	<211> 1000	
	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 381	
	aaataagagc agtaaaattg tgcctaata gctactaata tctgggaagg attgagccac	60
	aggatcaaag atggtatctt ttaaaaatag aagttgagtg aattcggctt tcaaattctt	120

tctttttatt catttatatt tatttactca ttagtatatt cattccttta ttcattgtatt	180
gttcaaatat atattgggta cttattatat gccaaagtgt ttttaaaatc acattccaaa	240
ttcccgttag tcataattat tcagagatgt atgttttttt taaaaaaat tgaacacctt	300
taaaaattat caagtccttt tttttctgta tgcattaaag ataaacttta ctaaagtta	360
catgaataga ttataaagc agataaatat ttaattcaa atataaccct tatatgcaat	420
tatattttcc ttagcactaa aaatgaatat ttaagtaatt tatattaaaa gtgtaattat	480
ttaactgcag atgatgcca atgacttaaa ttgtttaaag attatagcaa agttgtttaa	540
aattgtctaa tcatgaagag ttcacttaac cacctgggtg acacataaaa ttatagttag	600
ttactaaggt agttcgagag aaagagaaga atcttcagta gtggttttga ggtgtggtac	660
attttattat aatataccgg ttatacagca ttgtgcagtg ctgctcatag tagaaataaa	720
ttttctcttt gatgcatct attcccttgt gtggcttaca taactgagaa ttaggtgatc	780
acaaaaataa acaggcctat acagagccca tttatataag tcttggttat tctcttcag	840
[0132] ttaaaactttt aattatatcc aattatttcc tgttagtcca ttgaaaagcc cgacaaataa	900
ccaagtgaca aatagcaagt gttgcatttt acaagttatt ttttaggaag catcaaacta	960
attgtgaaat tgtctgceat tcttaaaaaac aaaaatgttg	1000
<210> 382	
<211> 1000	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 382	
aacaaaactg tcttcaacta 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
acagagttgg ggctctctgt gggtcacctc tagcacttga tctcctcatg cagtgcattg	300
tgtctcactg tctatgctat gttcttatgg tctttaggta acaagaataa ttttcttct	360

	tttcttact atacatttg 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 tttgggtact agatcaaatt gcaggctctt gcttctgget	660
	tgagcctatg tttagagatg atgtgcatga agacactctt tgcttttctt ttatgcaaaa	720
	tgggcatttt caatcttttt gtcattagta aaggtcagtg ataaaggaag tctgcatcag	780
	gggtccaatt ccttatggcc agtttcteta ttctgttcca aggttgtttg tctccatata	840
	tcaacattgg tcaggattga aagtgtgcaa caaggtttga atgaataagt gaaaatcttc	900
	cactggtgac aggataaaat attccaatgg tttttattga agtacaatac tgaattatgt	960
	ttatggcatg gtacctatat gtcacagaag tgateccate	1000
	<210> 383	
	<211> 1000	
[0133]	<212> DNA	
	<213> 智人	
	<400> 383	
	ttgacttgac ttgtgtgggt ccttgtggac cagatggcca ctaaatttc tcatttcaag	60
	gcaattggta aaaactacac ttcaagaaat ttcatctta attcccetta gtggatgta	120
	ttaaccaaag gcaaaagaaa aaaagggtaa aaaaaatatt ctaaattgta atatcaaaaa	180
	tattattttc aattcacccc aggcacagag aactaagtat tattattgct attgcaccgg	240
	cattccccea tgagacagtg attttctttt aagacatttt taaataatat aggcagaatt	300
	aagtagacgg tgatctggta agtagatgtt tcagggtaac agctgtgcaa tgctccatgc	360
	agggaattag attgtcattt tttccttac caggaacata cattcagtta acaattatt	420
	tgaettctgc tcttccactg atttctaagt tgaggctctc tcttgtgcct gtctgatcag	480
	ataagtagag ttgtgccttg gtttatagat gagataaatg tgtatttgaa taagcataag	540
	ttaaagaaat tttaaaatcc cttaggaage taggcttate agagaaatcc aaggaaatac	600
	attaacaaac taggaatttg ttctaacagg ttaattataa ctcataaact tattgggttt	660

ttttaccttt taattttata ttacatttgc ttataataag gaatattgct aggaataaaa	720
ttttttaata ttctacaatt aacaattate tcaatttctt tattctaaag acattgggat	780
tagaaaaatg ttcacaaggg actccaaata ttgctgtagt atttgtttct taaaagaatg	840
atacaaagca gacatgataa aatattaaaa ttgagagaa cttgatggta agtacatggg	900
tgtttcttat tttaaaataa tttttctact tgaaatattt tacaatacaa taagggaaaa	960
ataaaaagtt atttaagtta ttcatacttt cttcttcttt	1000
<210> 384	
<211> 1000	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 384	
ataagattct ttctgagcca ttatctcatt ctatattaca gtcaggtgga gcccatctta	60
cctctcata ctaaattcta gacttctcaa gggcaggaga caatcatctg tatatctctt	120
[0134] tggccttcat aactcagga gtacttgcca aaaataaaca tttaatgcac atttatttga	180
ataattgata agatccaata ctccaataac tttgtcatat ttttatagaa tgggtttcta	240
tatctcattt gcattttcaa actttacttt tactgtctag ctttaaaaaa aaagcctttg	300
actctaatac agccctcata ttctacceca atatctaaga ggctttatat ctccatagtgt	360
tgtaccacta ttttaactcc agtatTTTTT acttcatagt tttacctatt tgttacagtt	420
agtttttatg aattcaagag atgaatagca attttcata tgtaatttaa aaaacccac	480
agttgactat tttatgctat cttttgtcct cagtcatgac agagtagaag atgggaggt	540
gcaccaagga tgatgcata cctccatcct ttatgtiaca ttctatcttc tgtctacata	600
agatgtcata ctagagggca tatctgcaat gtatacatat tatcttttcc agcatgcatt	660
cagtttggtt ggaataattt atgtacacct ttataaacgc tgagcctcac aagagccatg	720
tgccacgtat tgttttctta ctactttttg ggatacctgg cacgtaatag aactcattg	780
aaagtttctt aatgaatgaa gtacaaagat aaaacaagtt atagactgat tcttttgagc	840
tgtcaaggtt gtaaatagac ttttgctcaa tcaattcaaa tgggtggcagg tagtgggggt	900

	agagggattg gtatgaaaa 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	
	caggtaaagtn 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 nnnnnnnyyy yyyyyyyyn agg	33
	<210> 387	
	<211> 17	
	<212> RNA	

	<213> 智人	
	<400> 387 auuuucccac 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 uuuuucccuc 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 ccccagc	17
	<210> 391 <211> 63 <212> DNA <213> 智人	
	<400> 391 gttatgtcct gtctccttc ctgtcaggca gctgctgcag gaggggtggg caaagcatc	60
	ttc	63

<210> 392		
<211> 80		
<212> DNA		
<213> 智人		
<400> 392		
tcctcagctt ggaagccccg ggcctgccc tgctgggaat cggggaagca ctgcttacct		60
gtctcctgct cccttttcag		80
<210> 393		
<211> 58		
<212> DNA		
<213> 智人		
<400> 393		
gtatggtgtc aactagtgig cctgctctct cctctgcttt ctggtgaagc tgaccctt		58
<210> 394		
<211> 68		
<212> DNA		
<213> 智人		
[0137] <400> 394		
tggatataaa cctcgtggat gacttagcat tcctttgcca ctgctgatgt actttattaa		60
cttcccag		68
<210> 395		
<211> 65		
<212> DNA		
<213> 智人		
<400> 395		
gttcctgac cctgggcccc acctgggcag atcagccac aaccctcag ggcccgtca		60
tgcca		65
<210> 396		
<211> 68		
<212> DNA		
<213> 智人		
<400> 396		
ccttaagagg tggggtgggg tcctctgagc ttcaagctgc tgggtcagt ctccaccct		60

ccacgcag	68
<210> 397	
<211> 70	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 397	
gttcctgac cctgggcccc acctgggcag atcagccac aaccctcag ggcccgtca	60
tgccaccgac	70
<210> 398	
<211> 66	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 398	
gtgagcctgg gtgcggcctg tgcccctgcc acctcctct cttgtctccc acctcccacc	60
catgca	66
[0138]	
<210> 399	
<211> 68	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 399	
cgttgcaaaa 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 tcataatggt 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

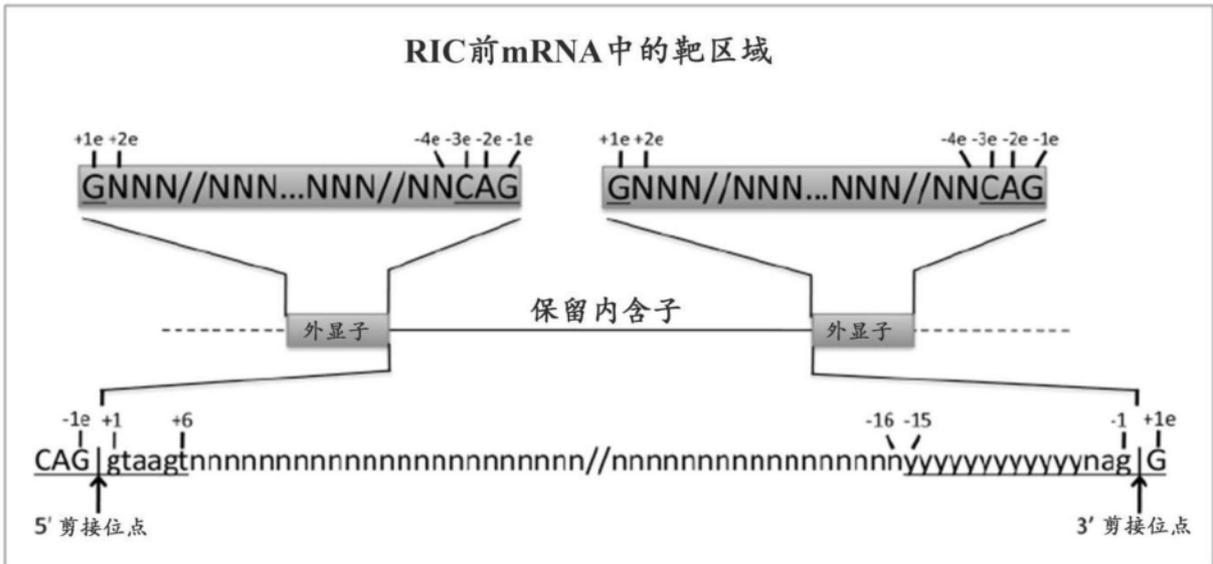


图1

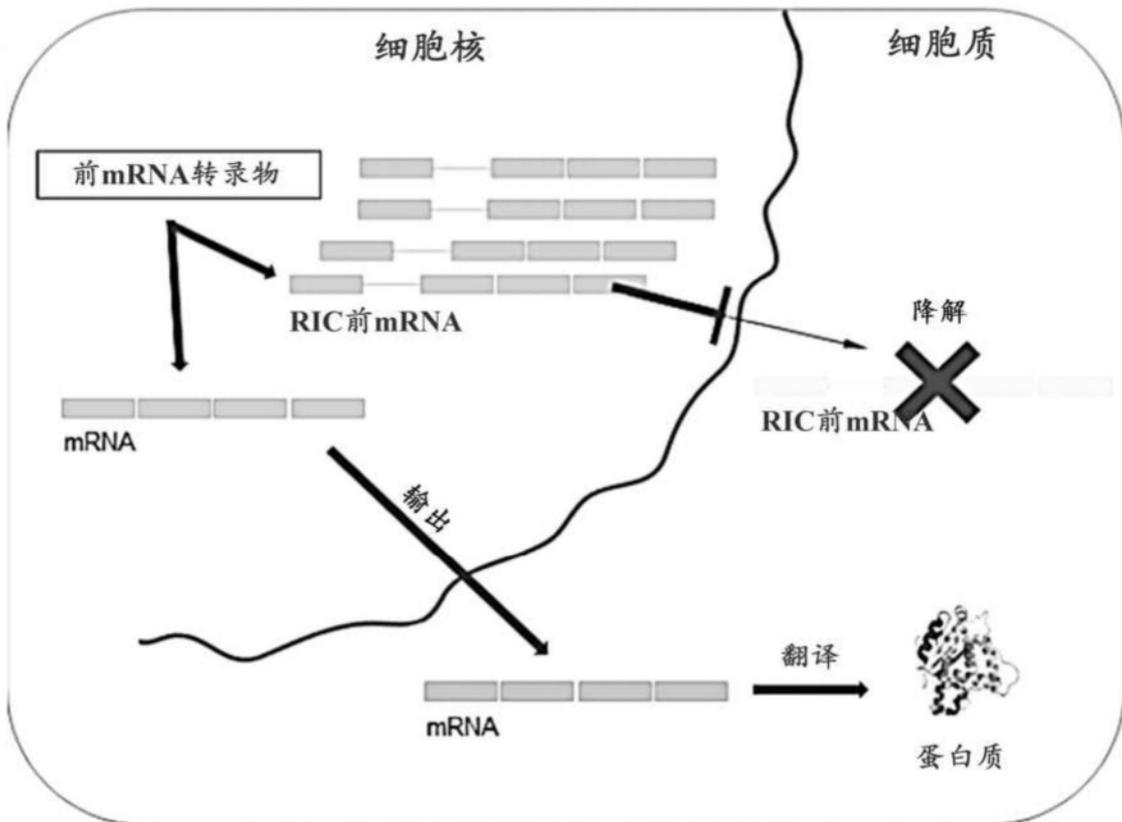


图2A

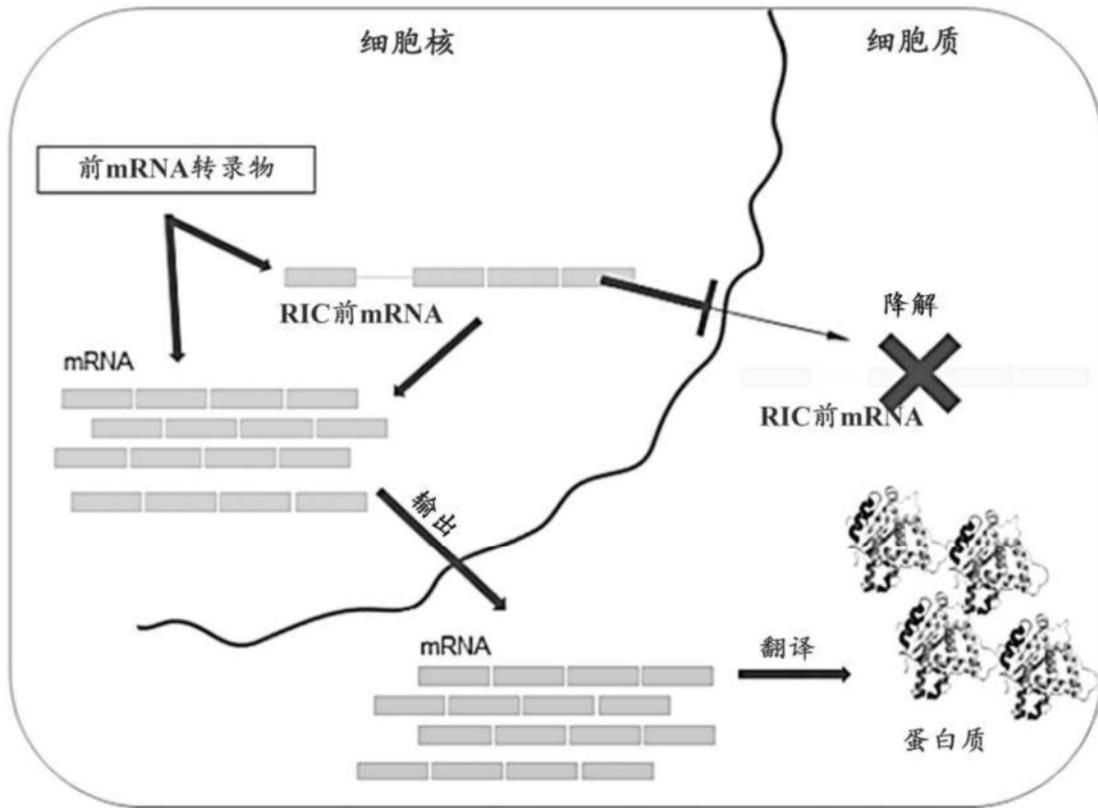


图2B

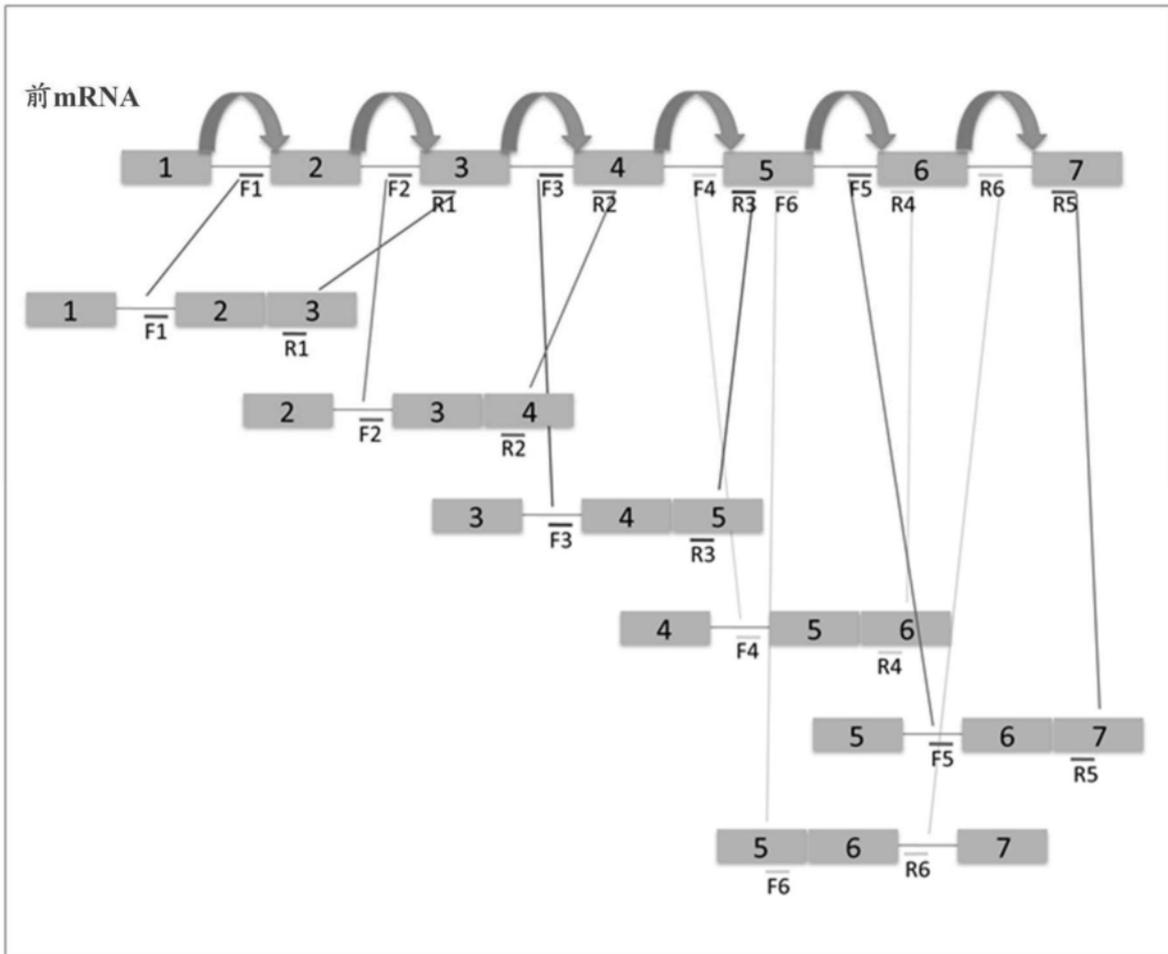


图3

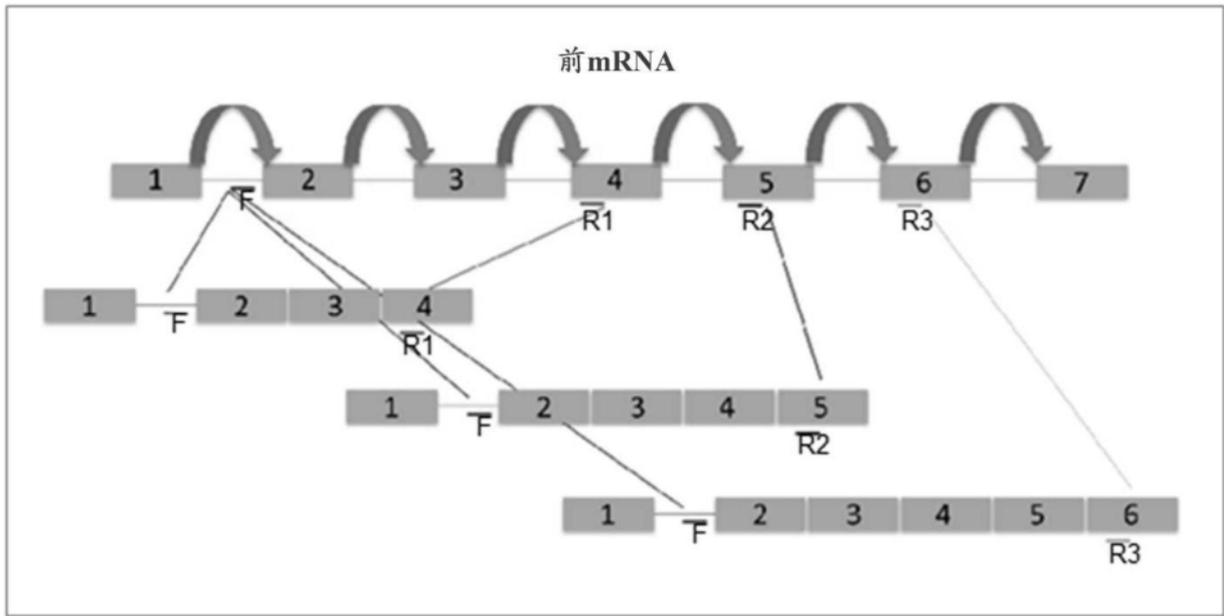


图4

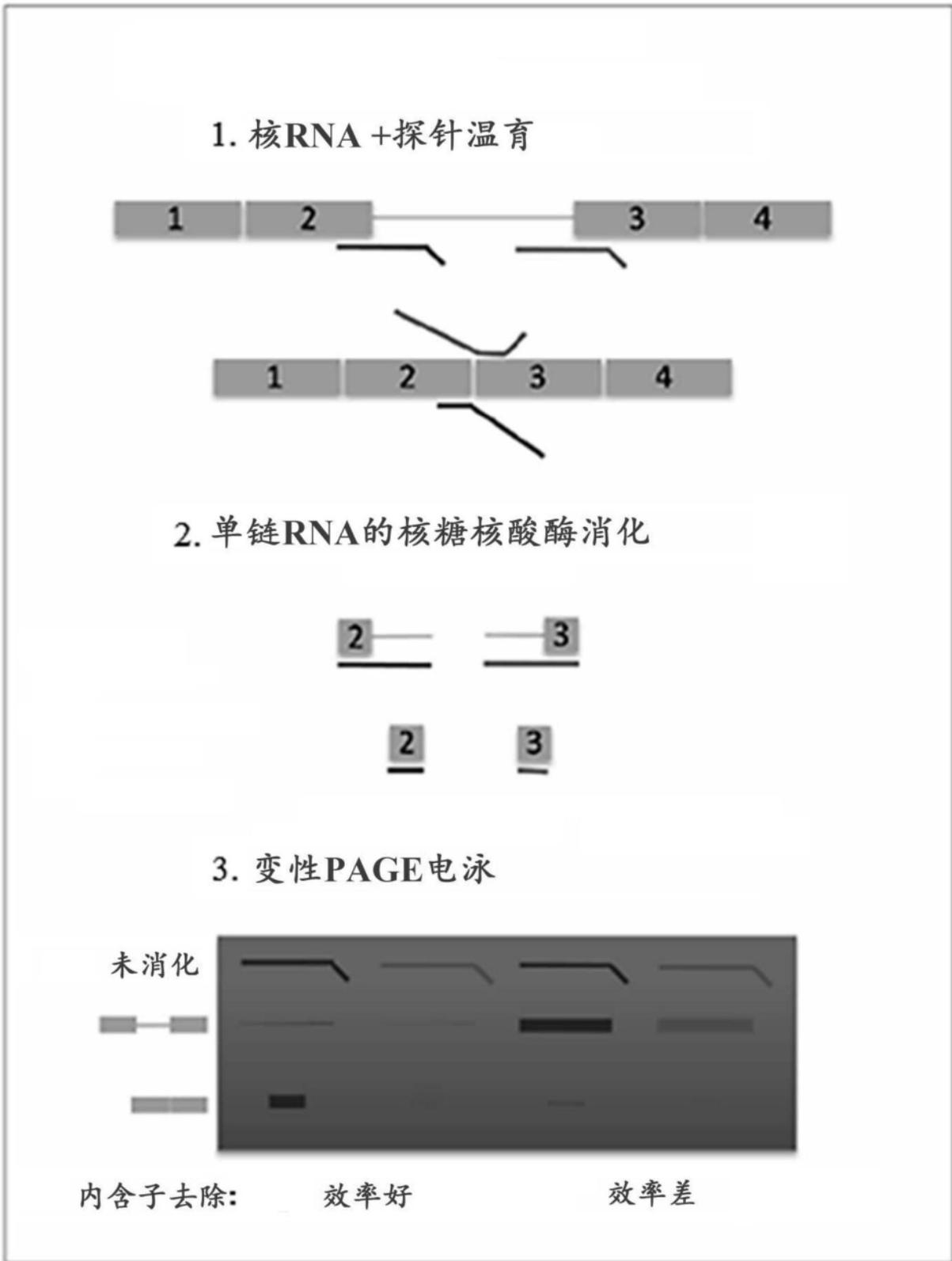


图5

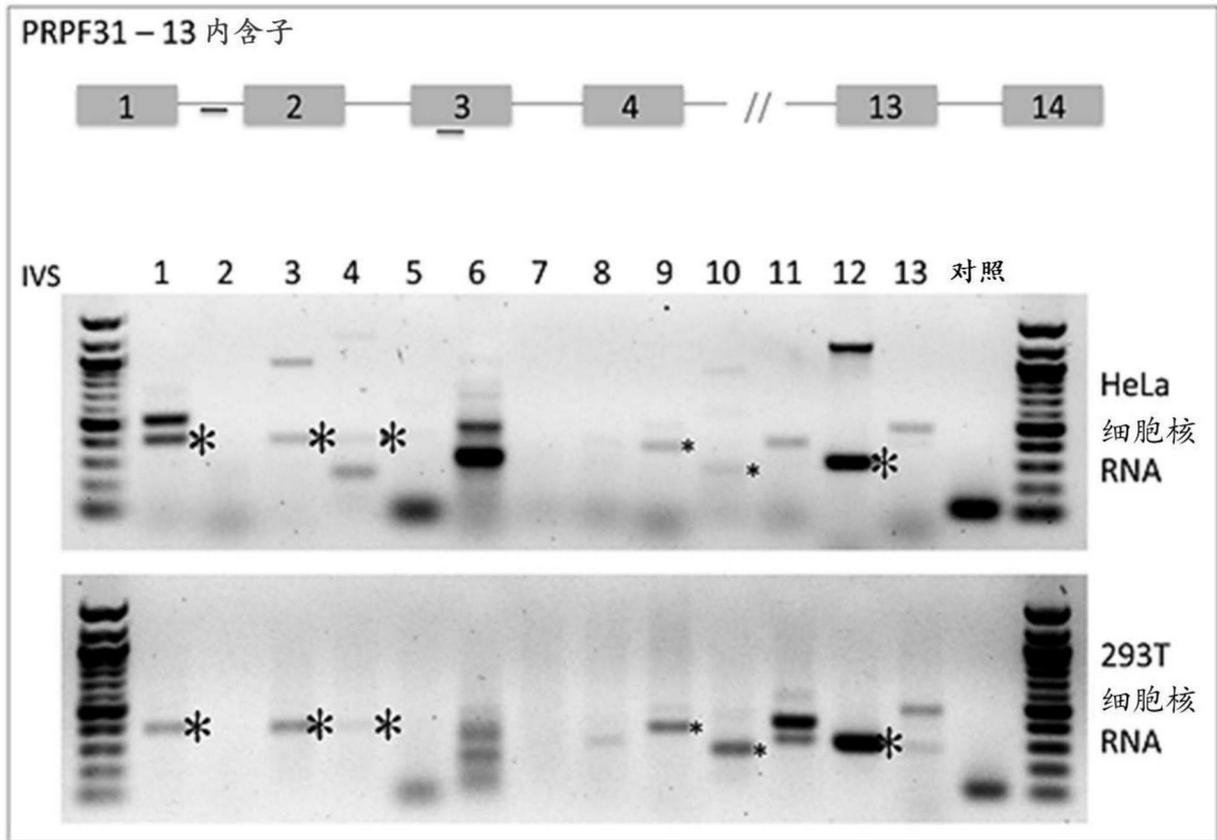


图6A

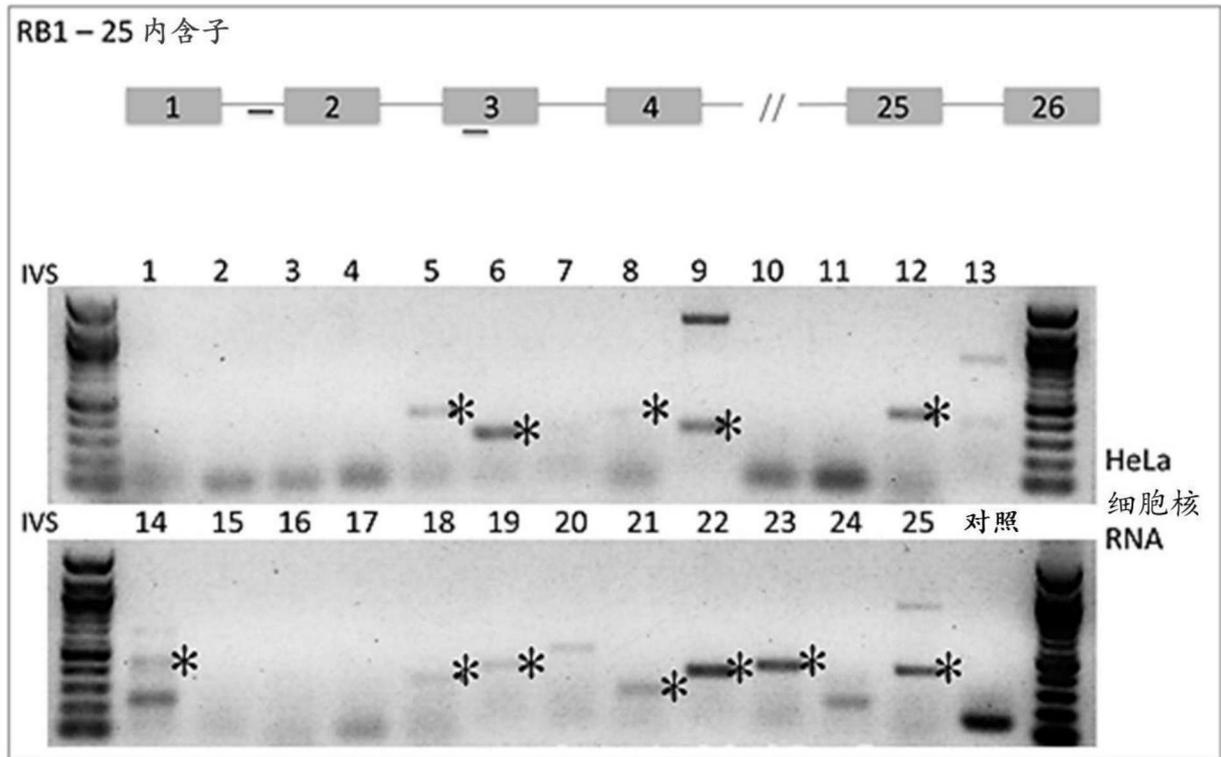


图6B

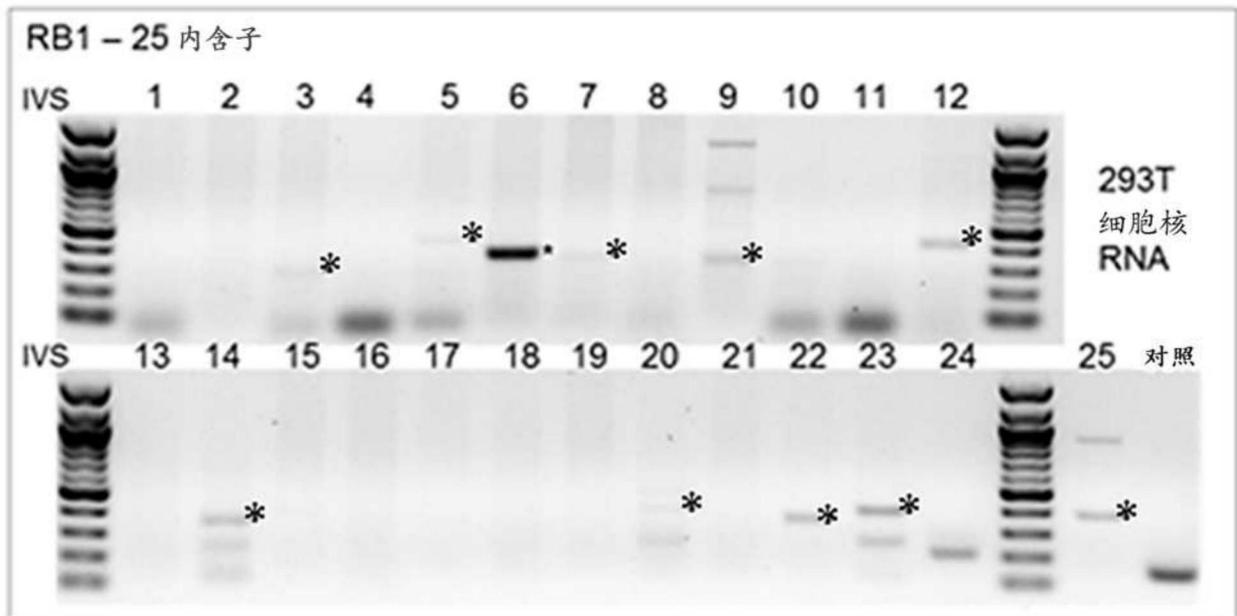


图6C

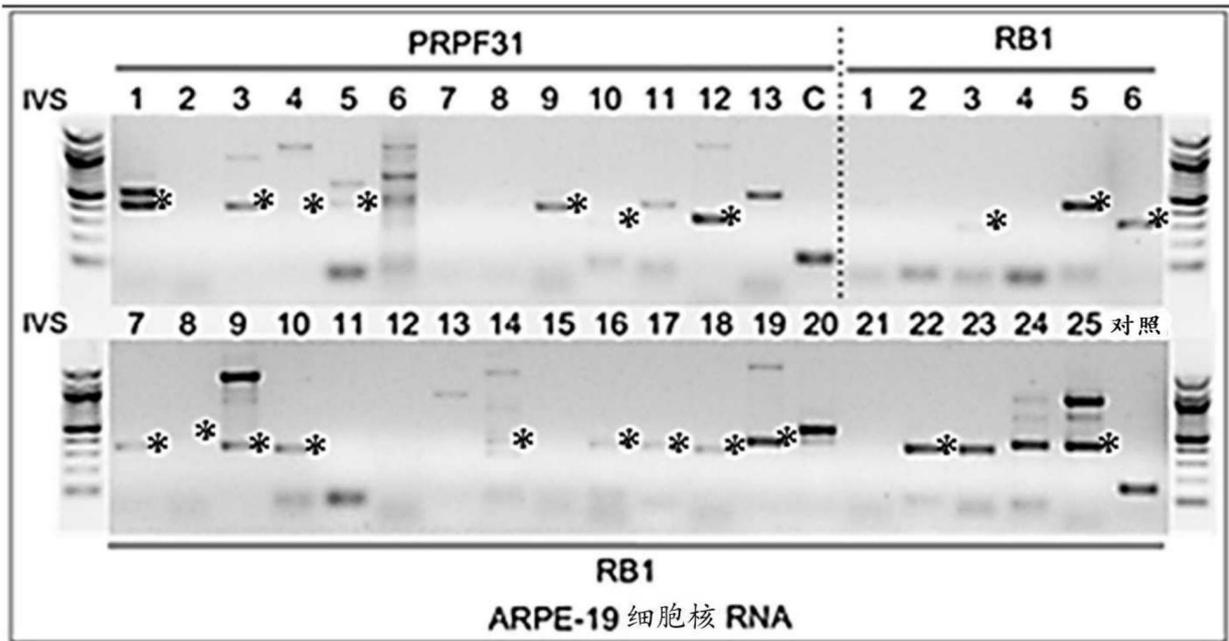


图6D

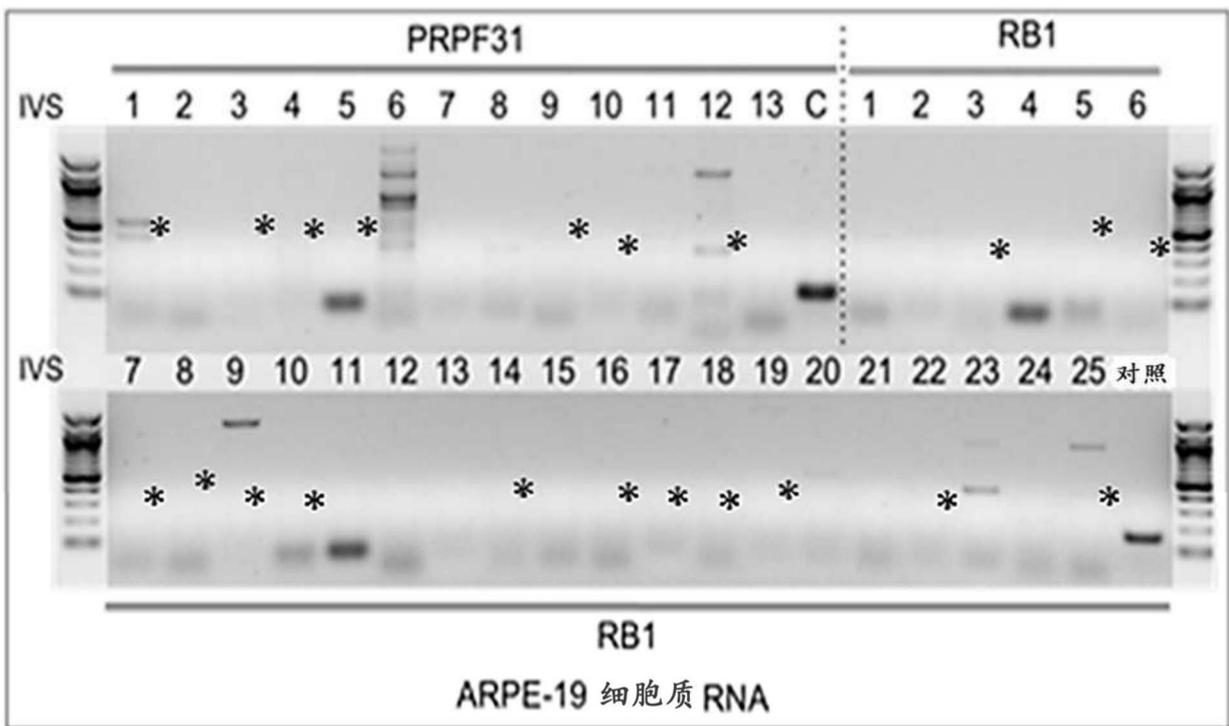


图6E

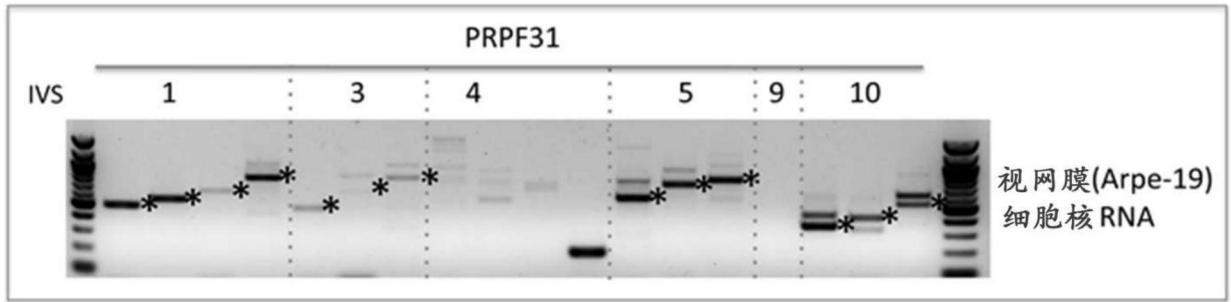


图7A

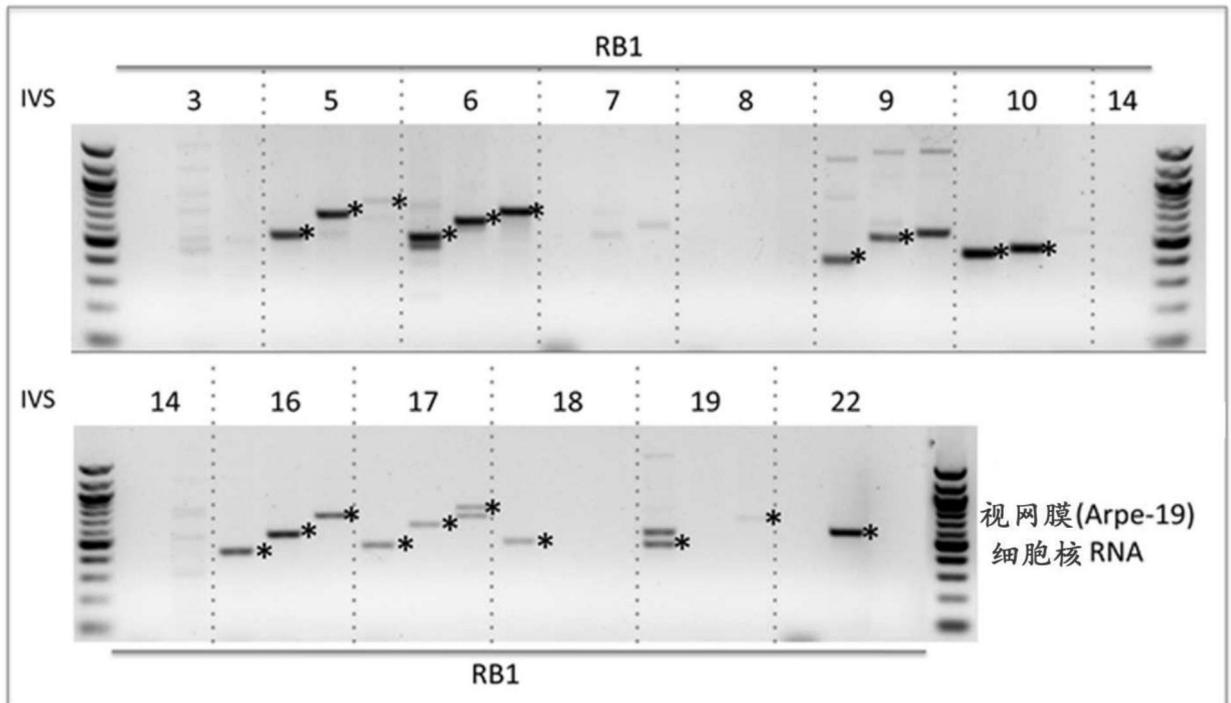


图7B



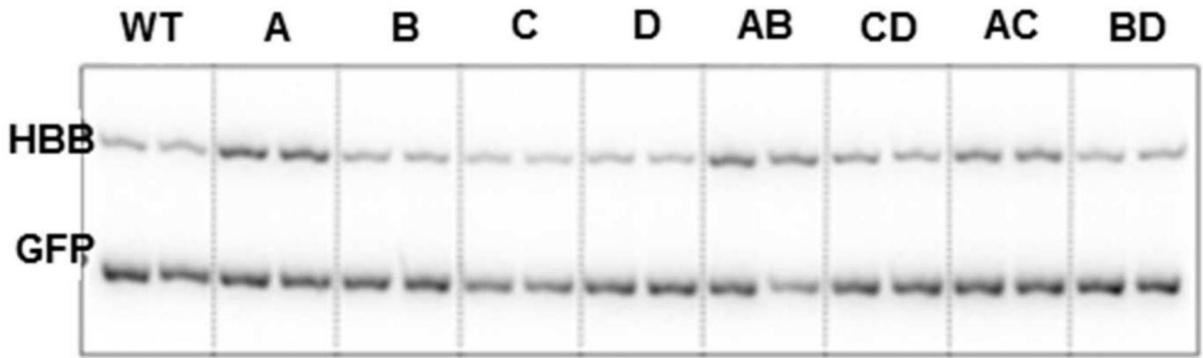


图8B

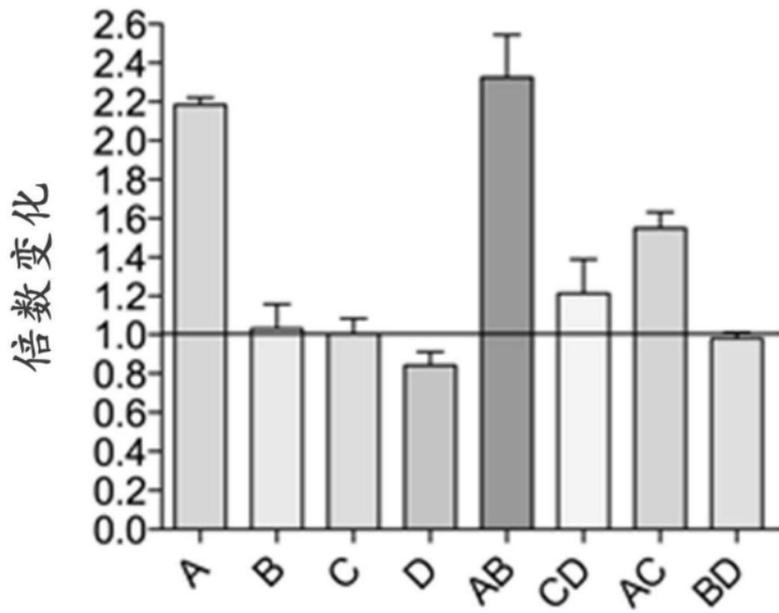


图8C



图9A

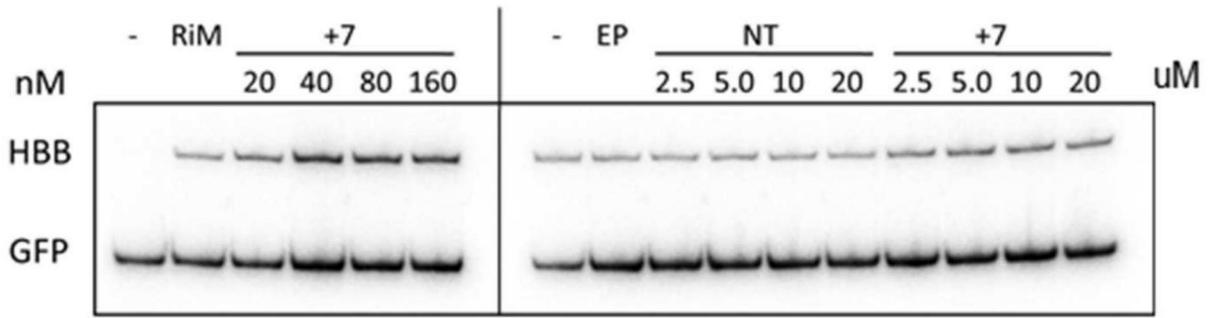


图9B

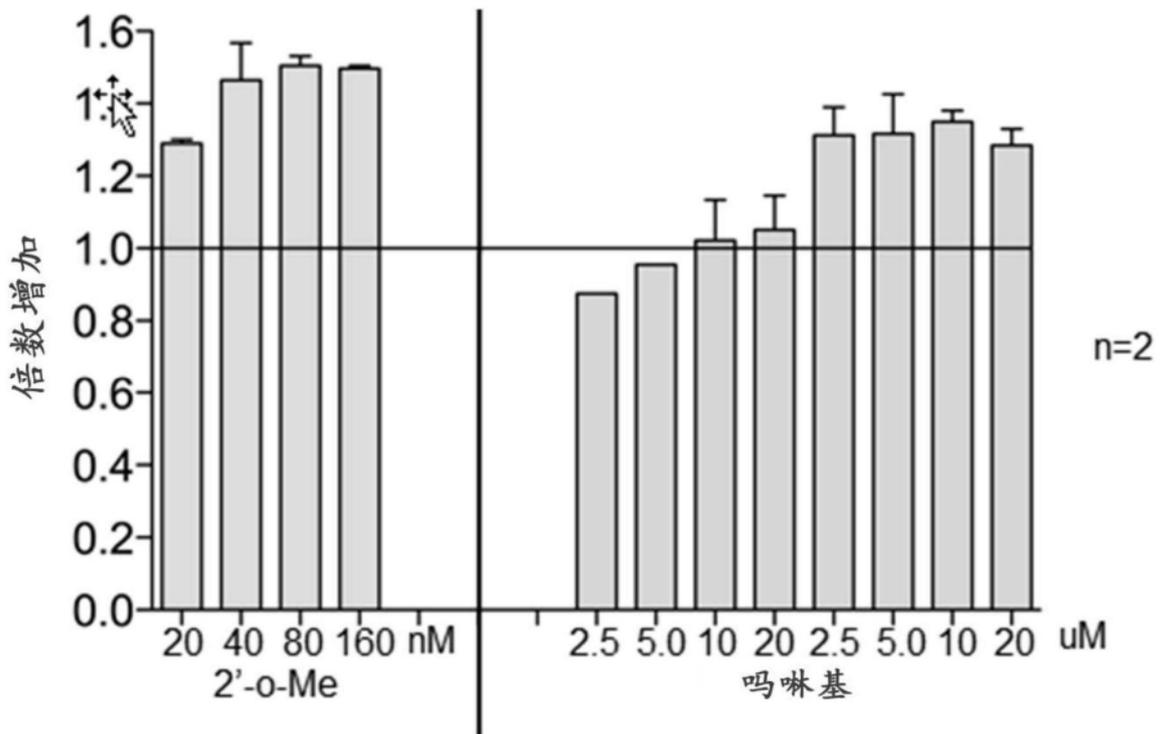


图9C



图10A

蛋白质

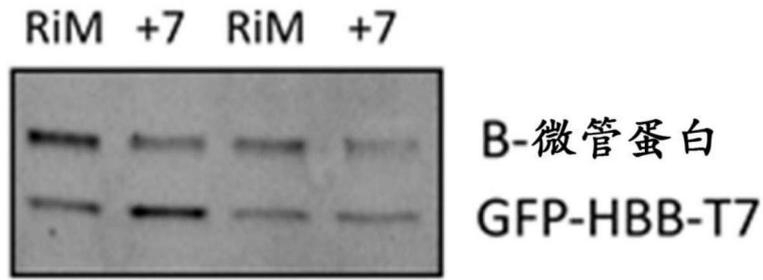


图10B

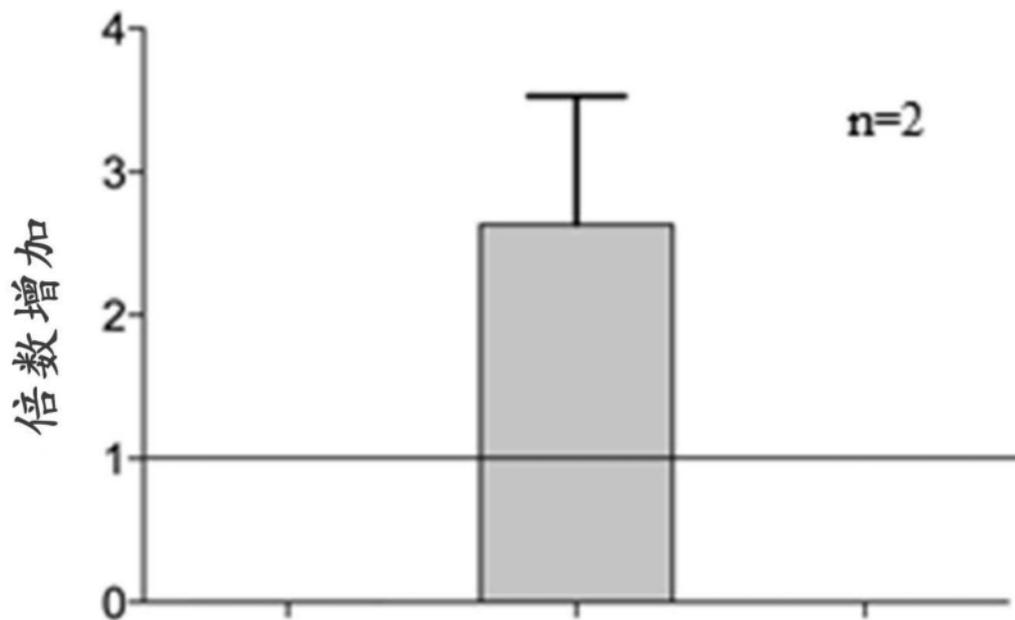


图10C

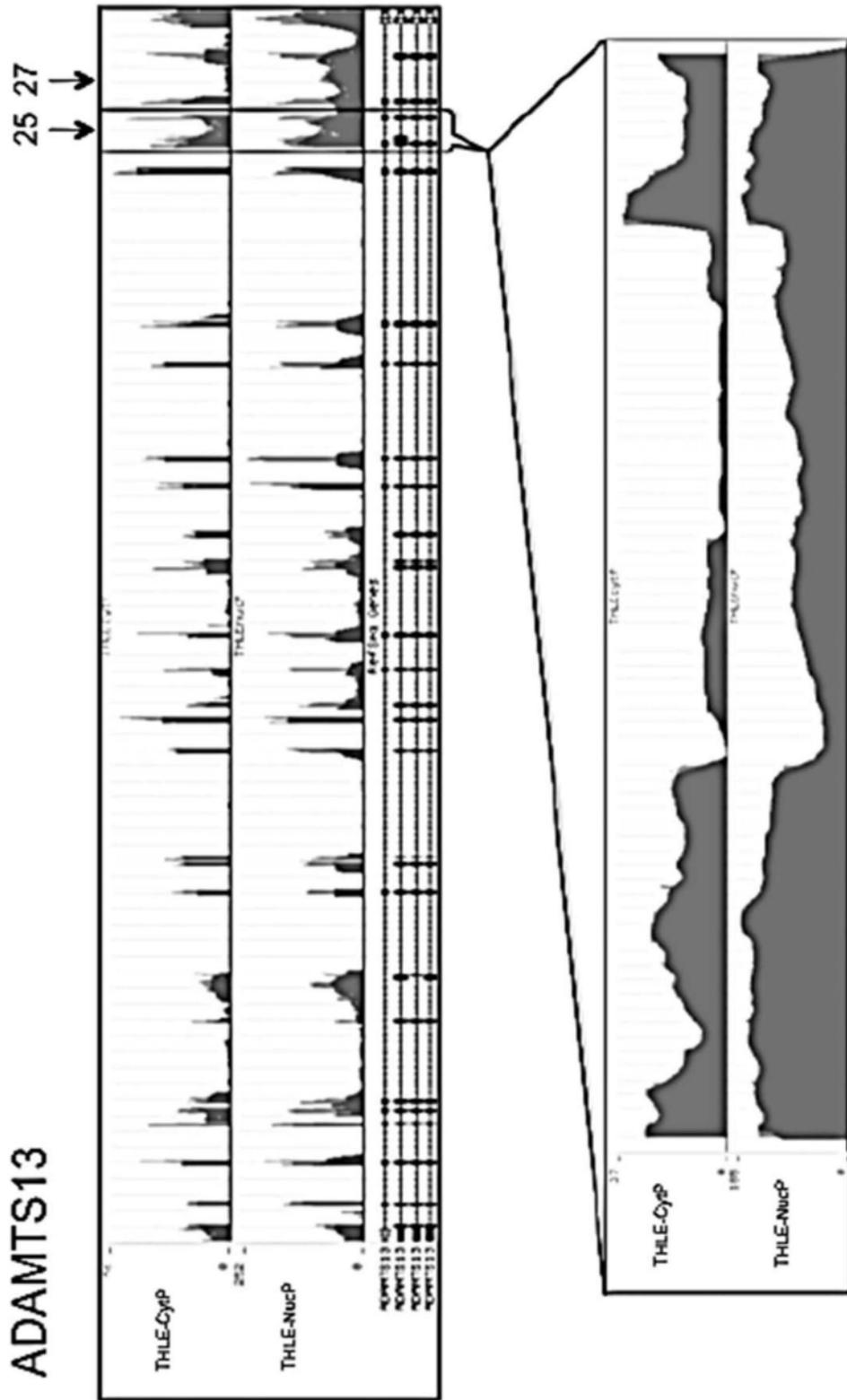


图11

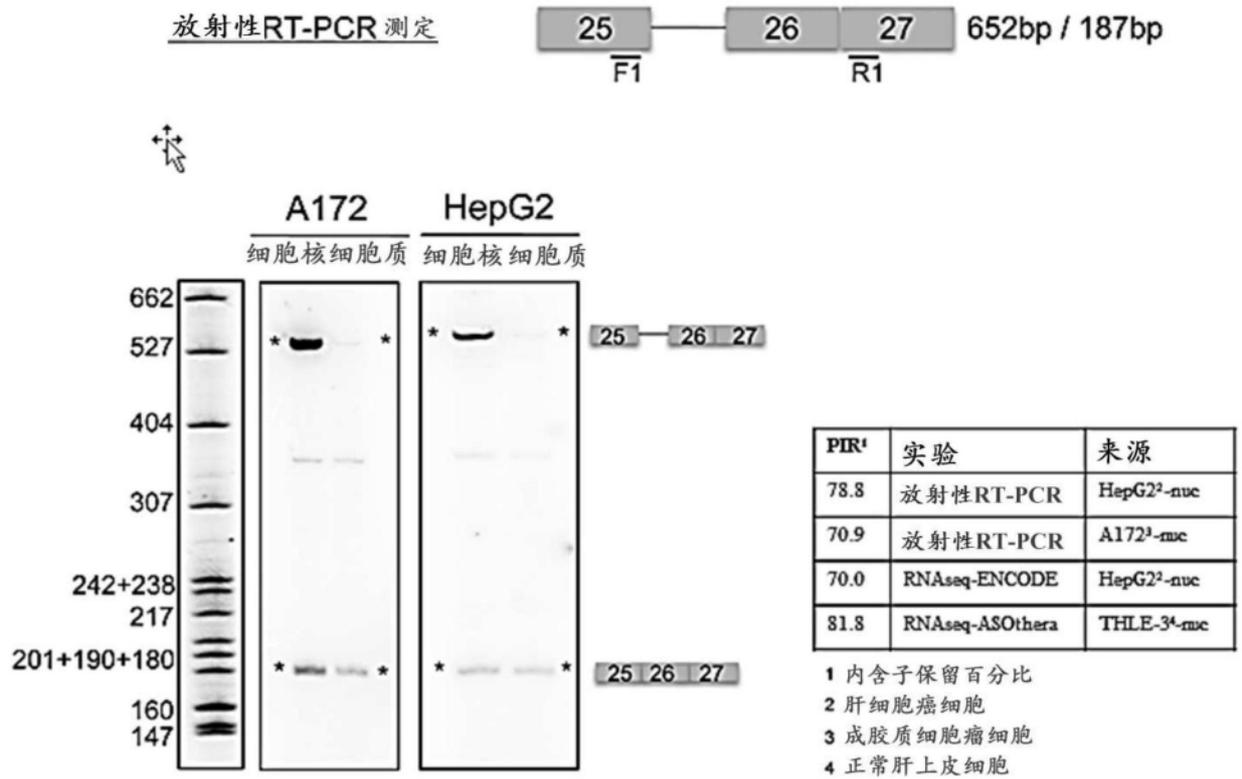
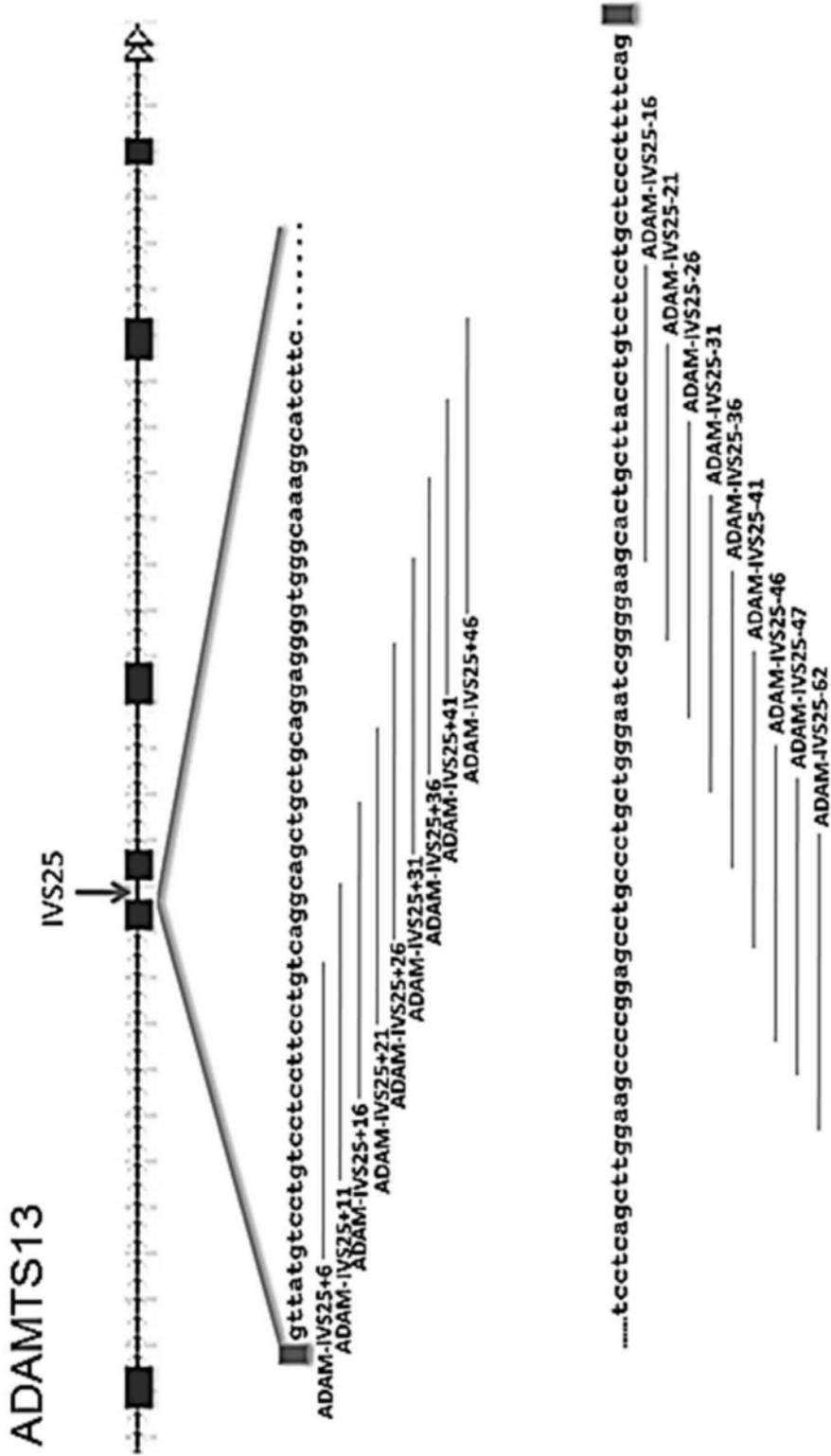


图12



ASO: 18聚体, 2'-o-Me RNA, PS 主链

图13



放射性RT-PCR 测定

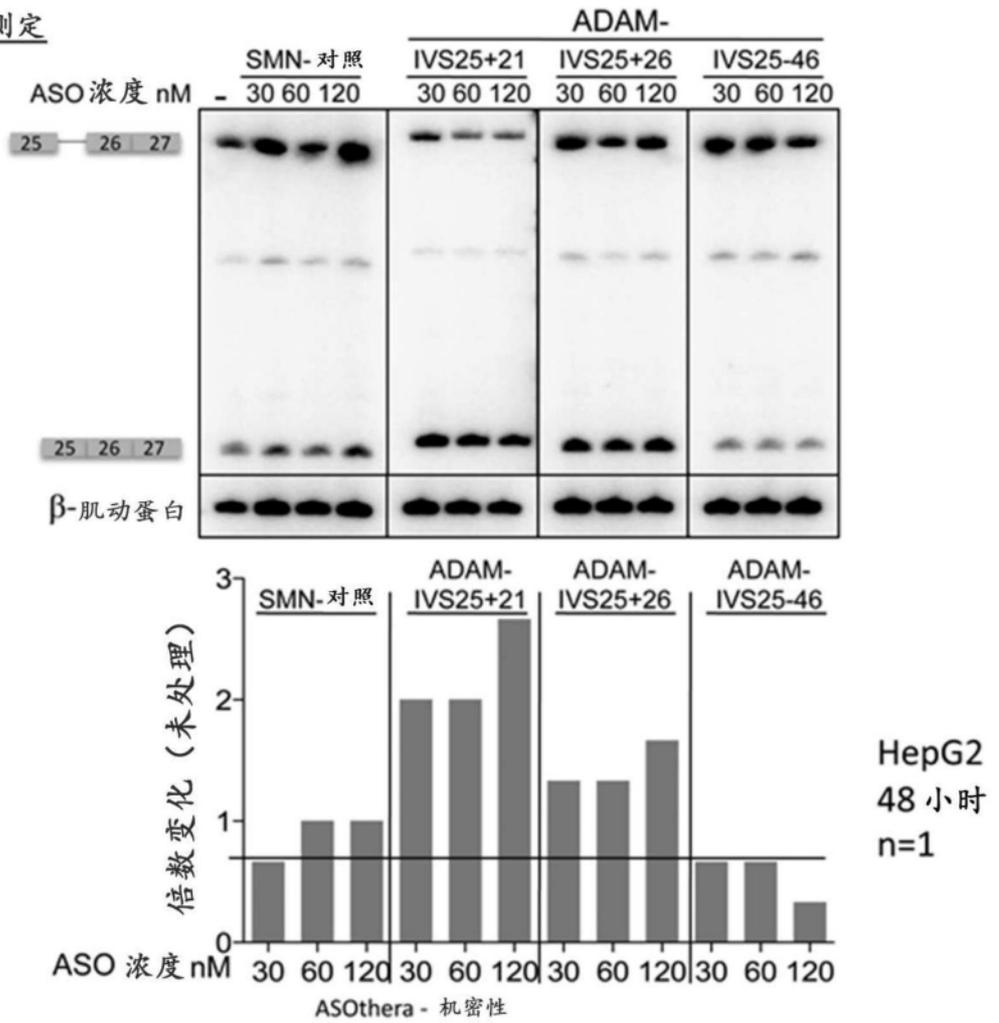


图15

蛋白质印迹分析

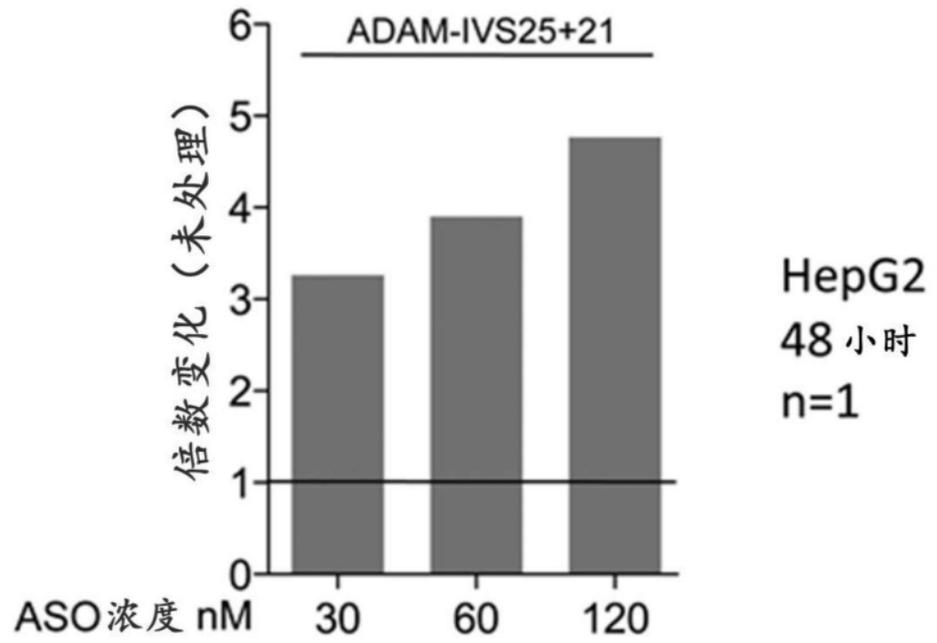
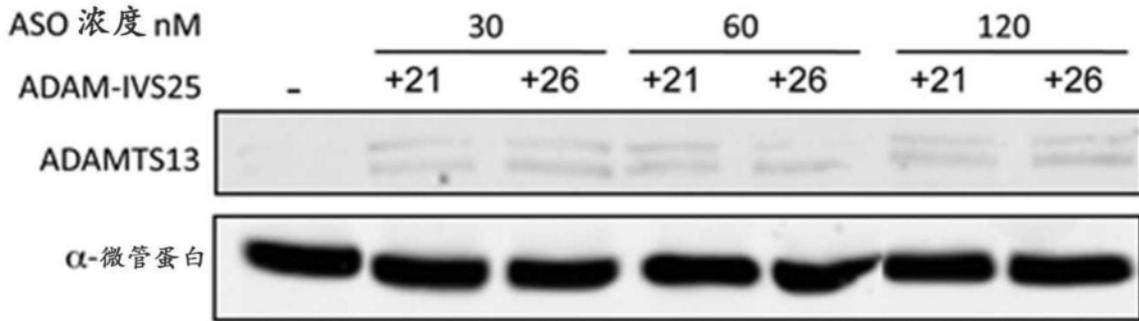


图16

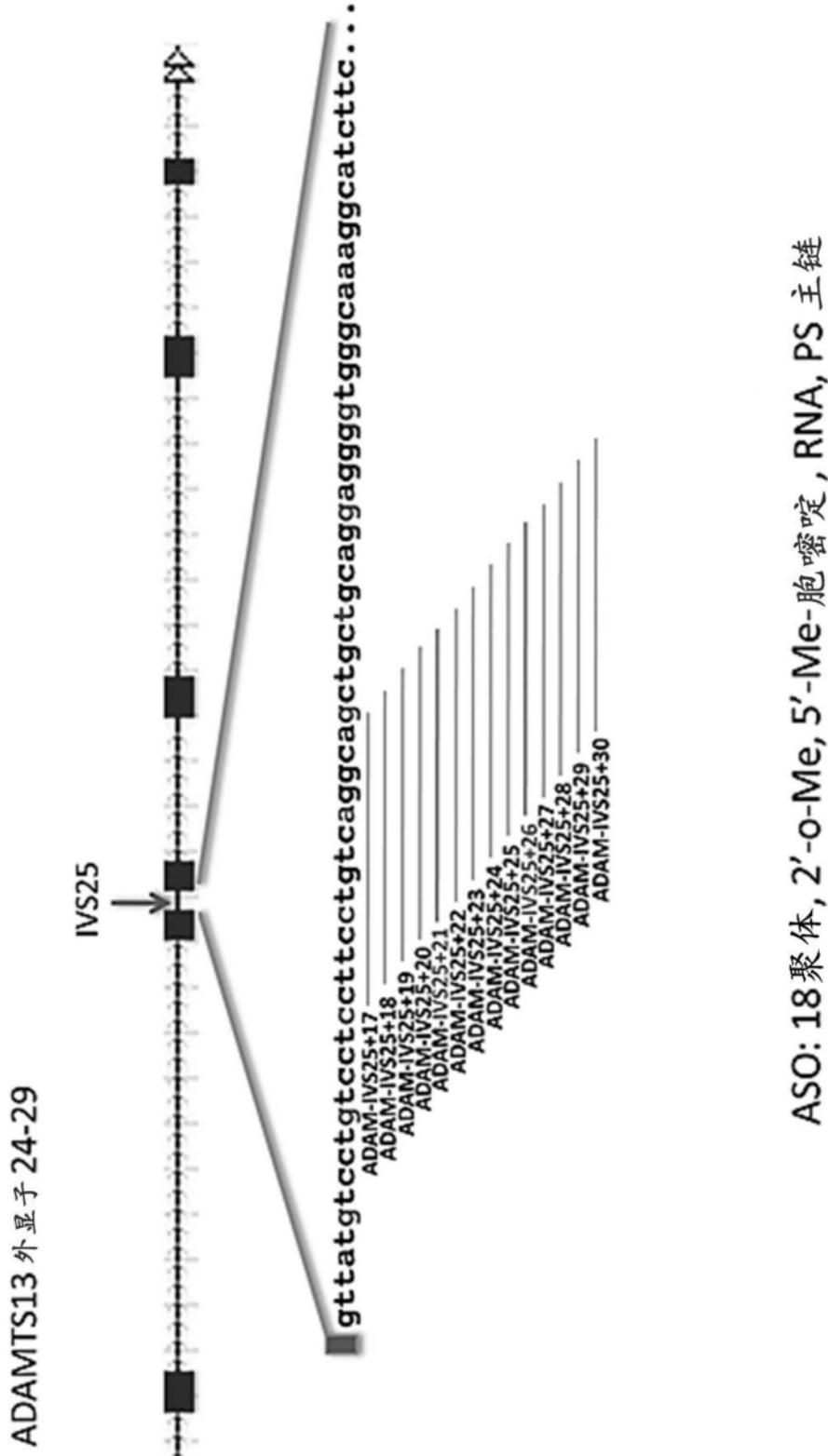


图17

放射性RT-PCR测定

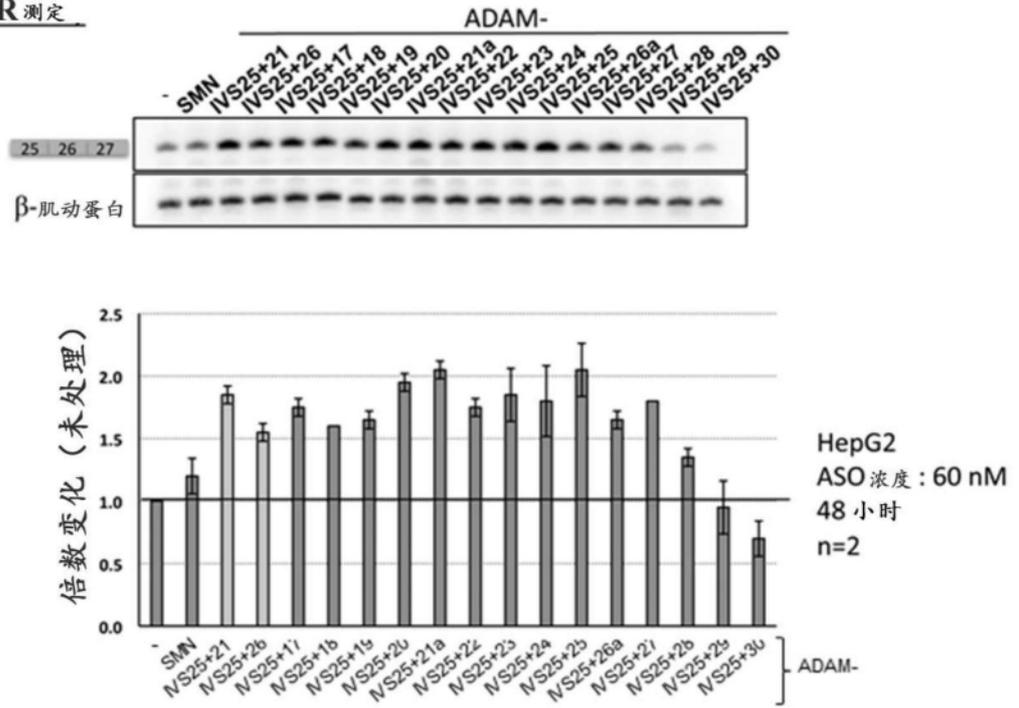


图18

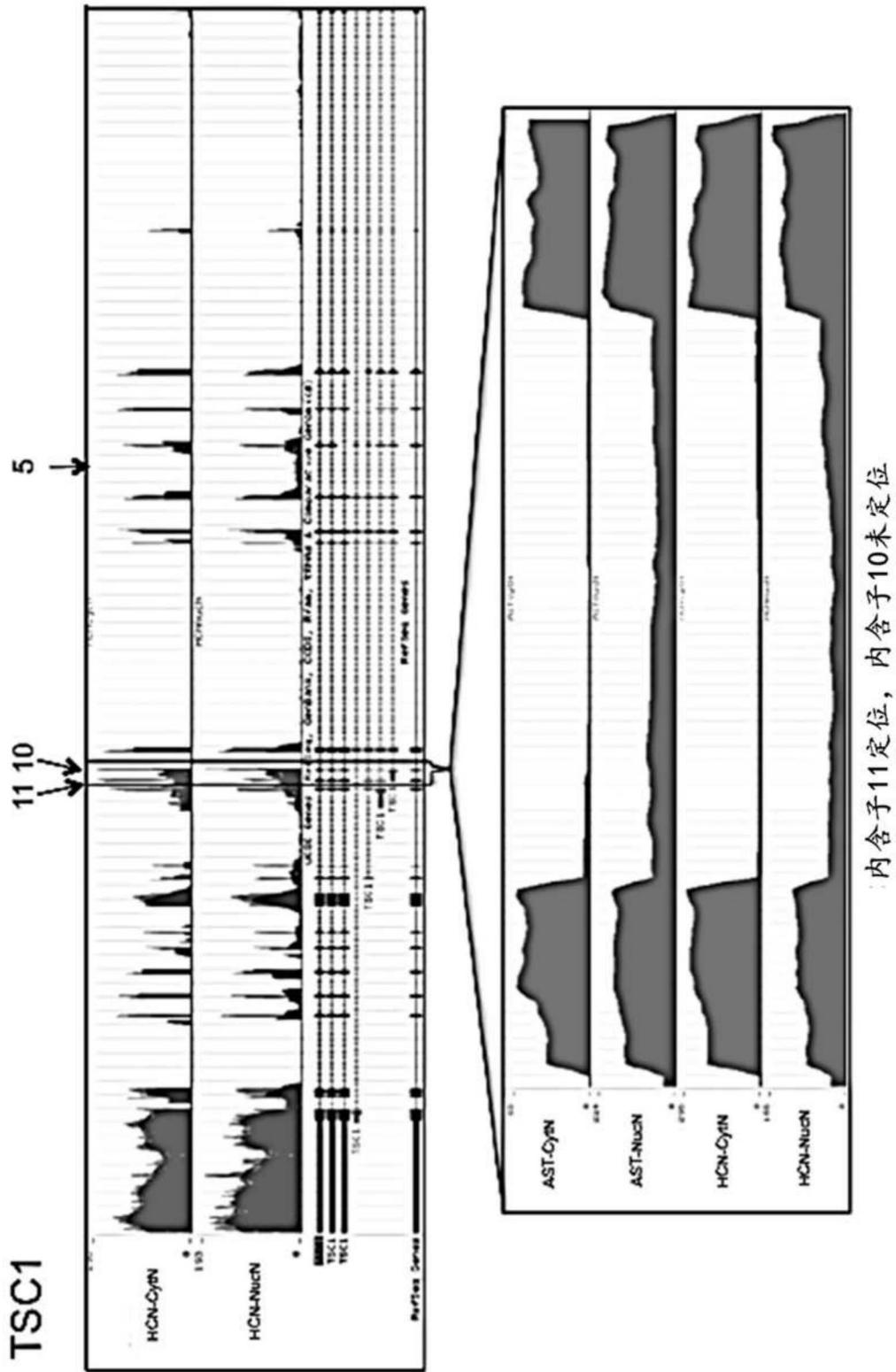
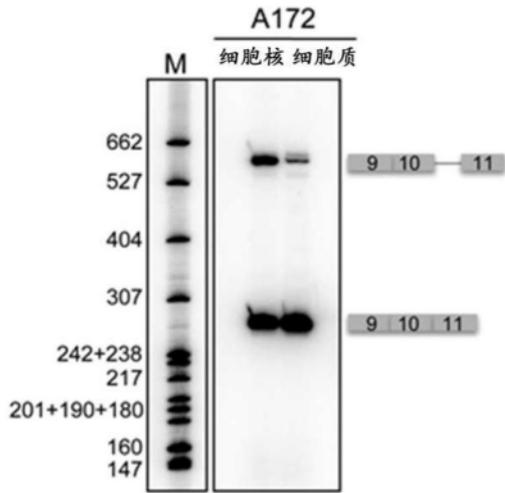


图19

放射性RT-PCR测定



PIR <sup>1</sup>	实验	来源
36.5	放射性RT-PCR	A172 <sup>2</sup> -nuc
30.0	RNAseq-Blencowe	脑
N/A	RNAseq-ENCODE	N/A
N/A	RNAseq-ASO <sup>thera</sup>	N/A

<sup>1</sup>内含子保留百分比

<sup>2</sup>成胶质细胞瘤细胞

图20



放射性RT-PCR测定

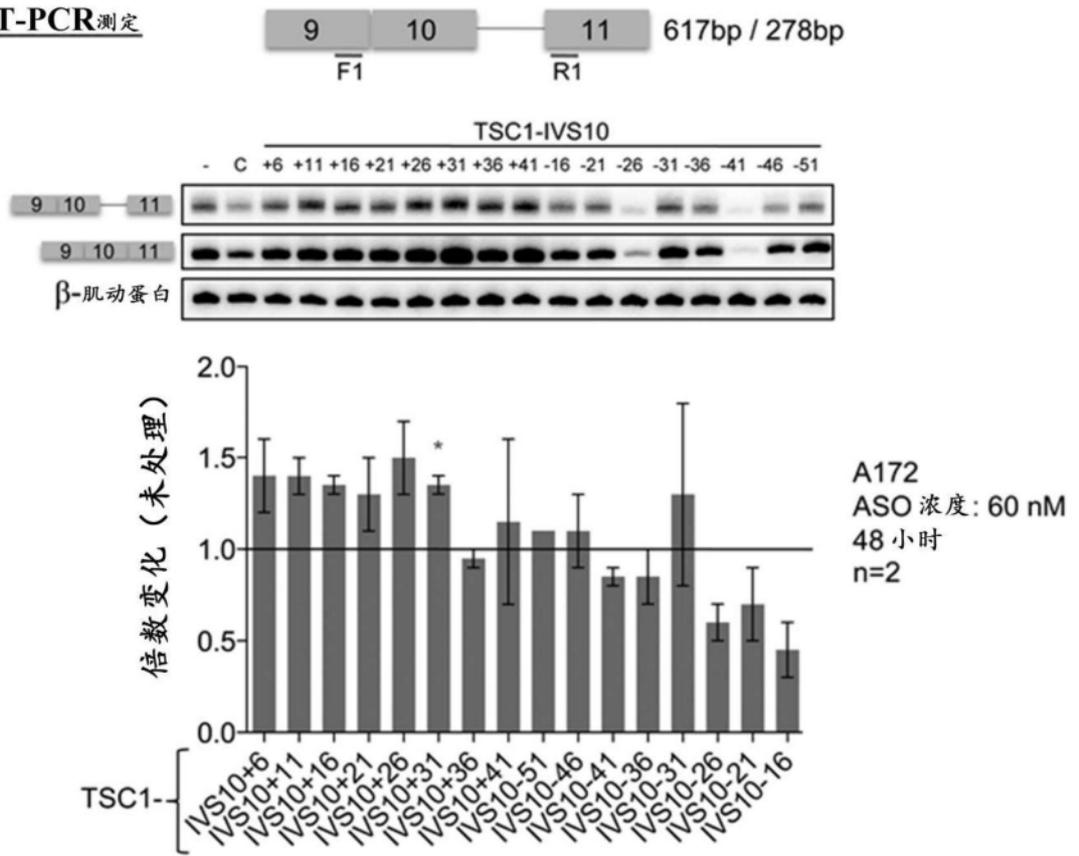


图22

**放射性RT-PCR测定**

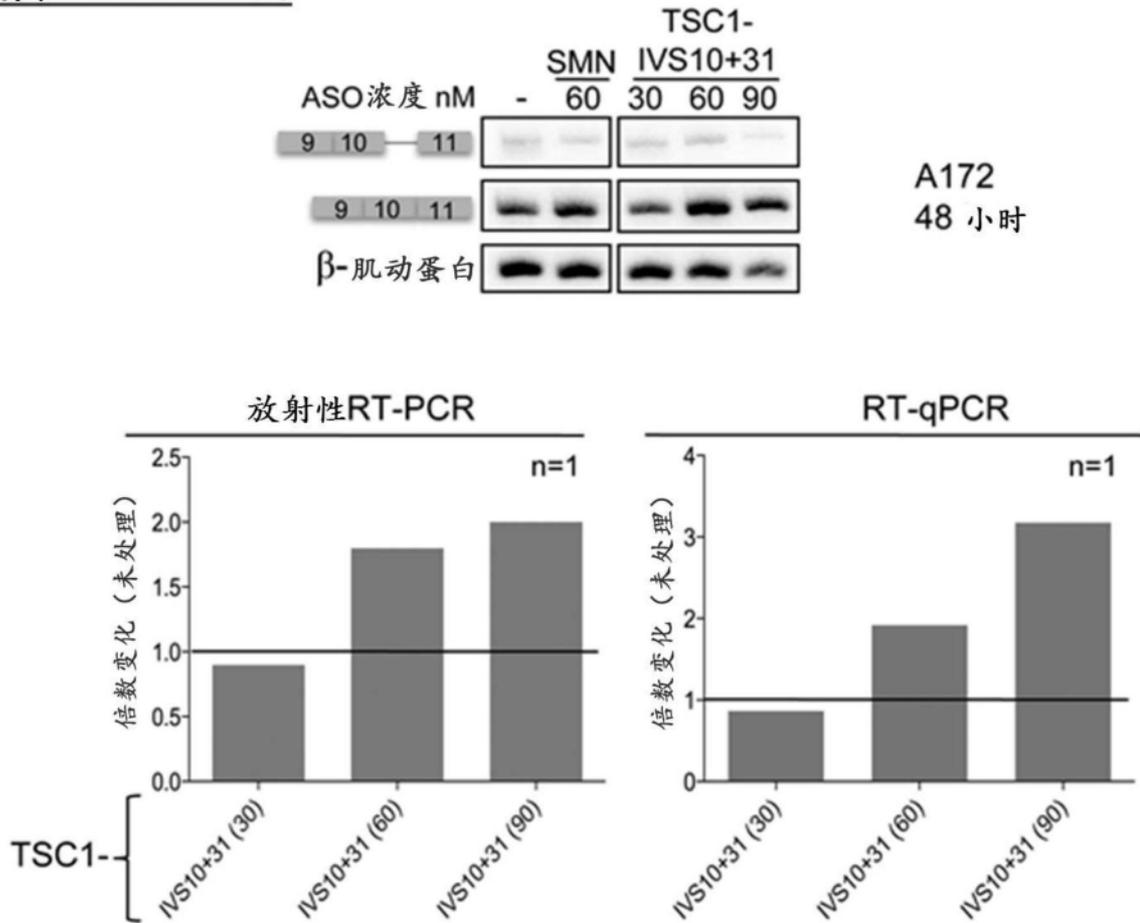


图23

### 蛋白质印迹分析

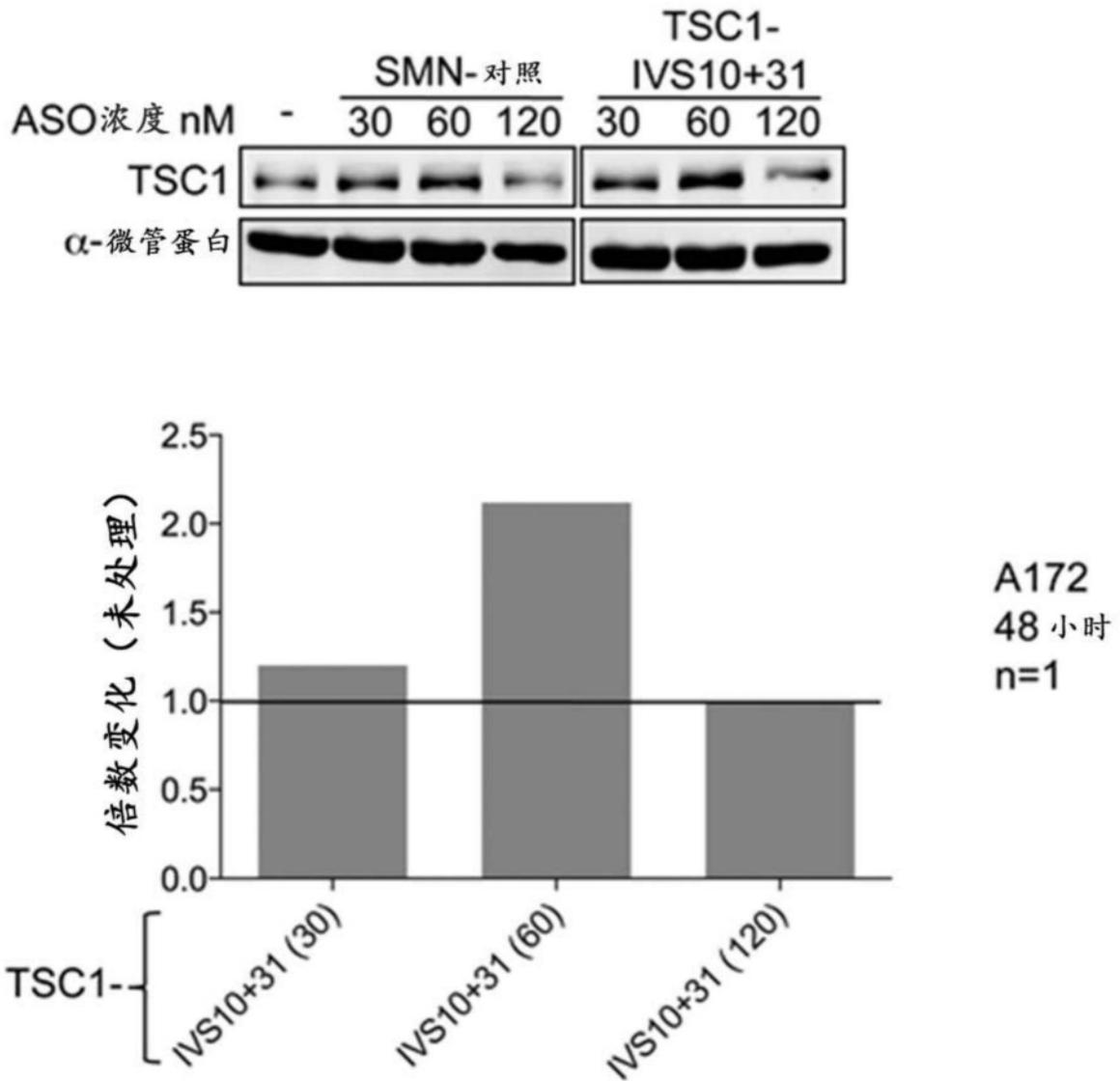


图24

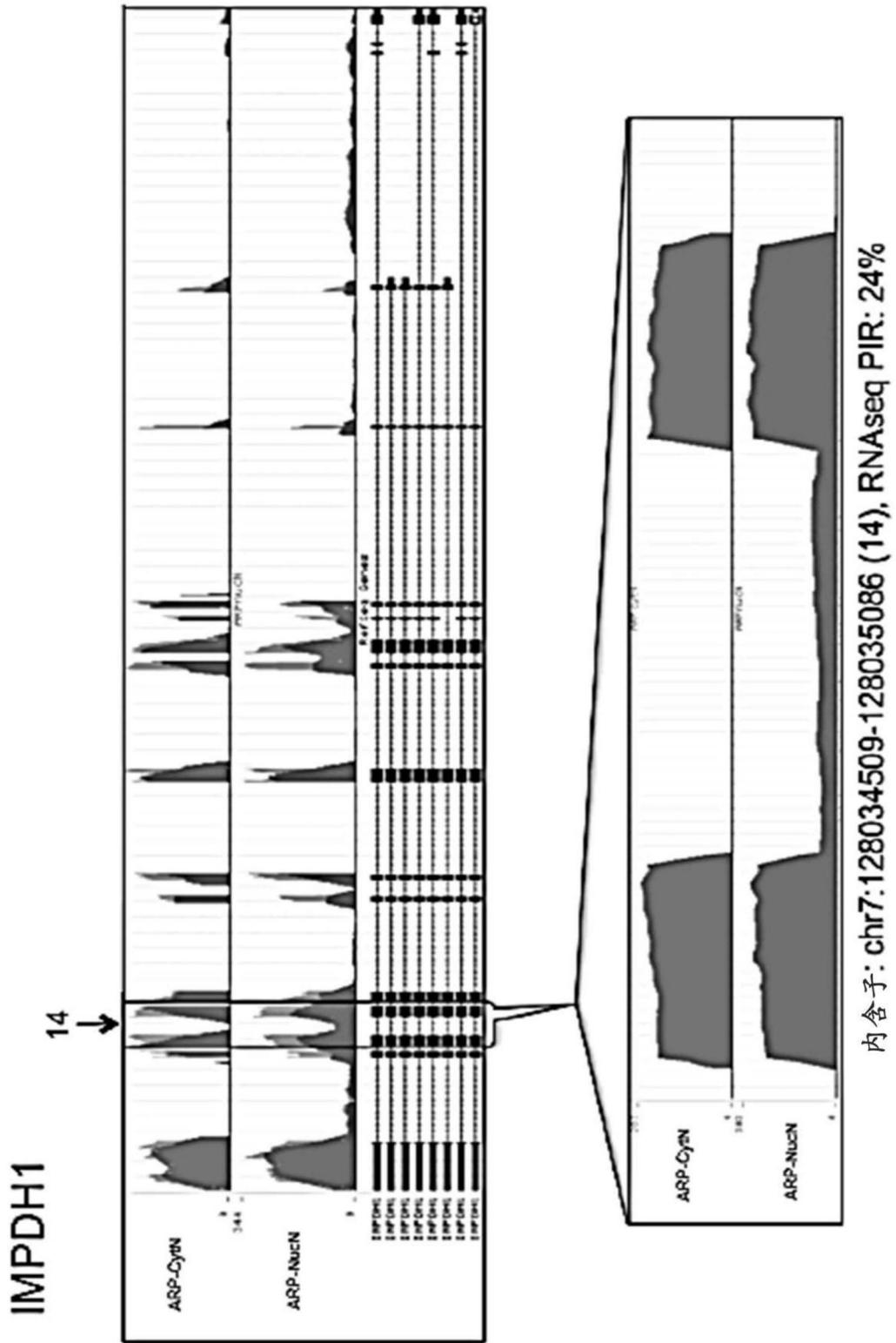


图25

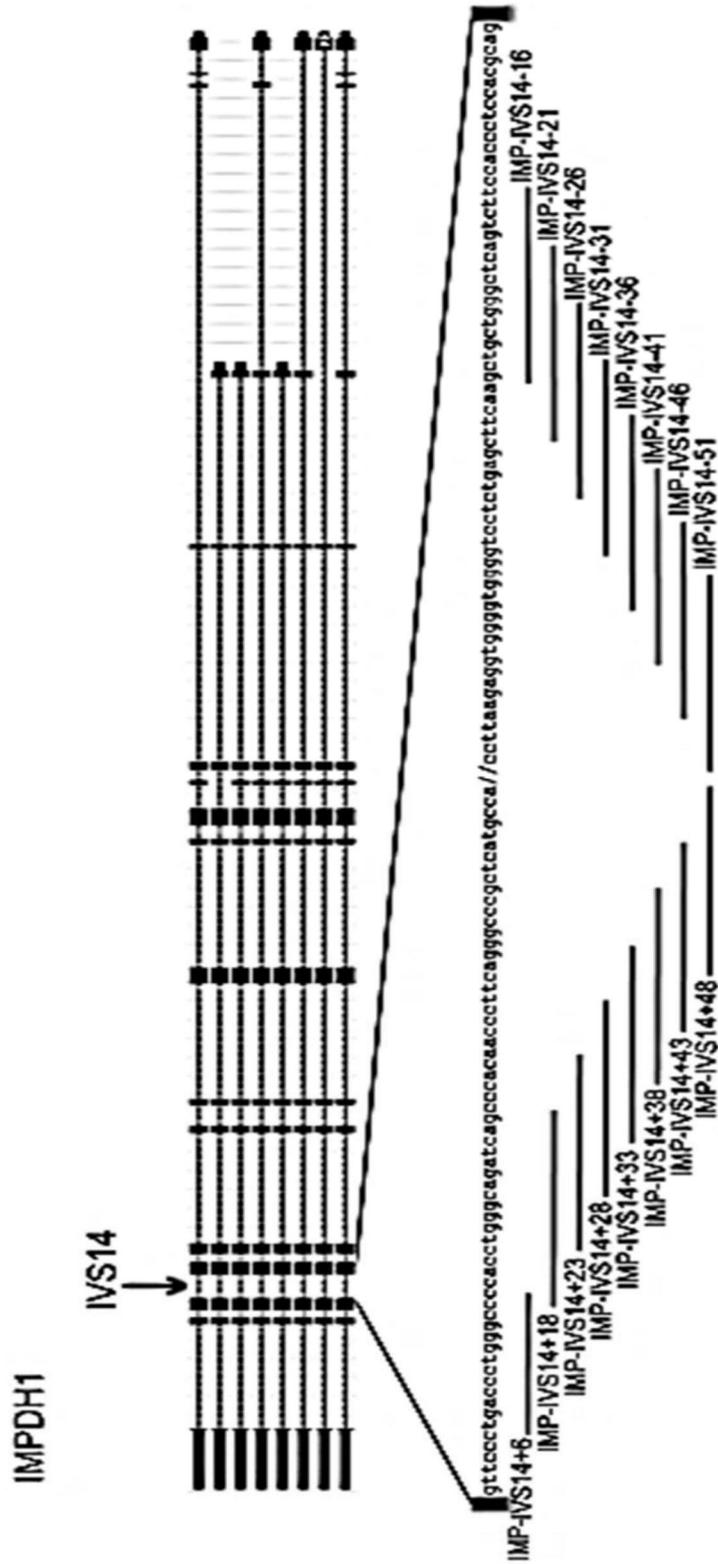


图26

放射性RT-PCR测定

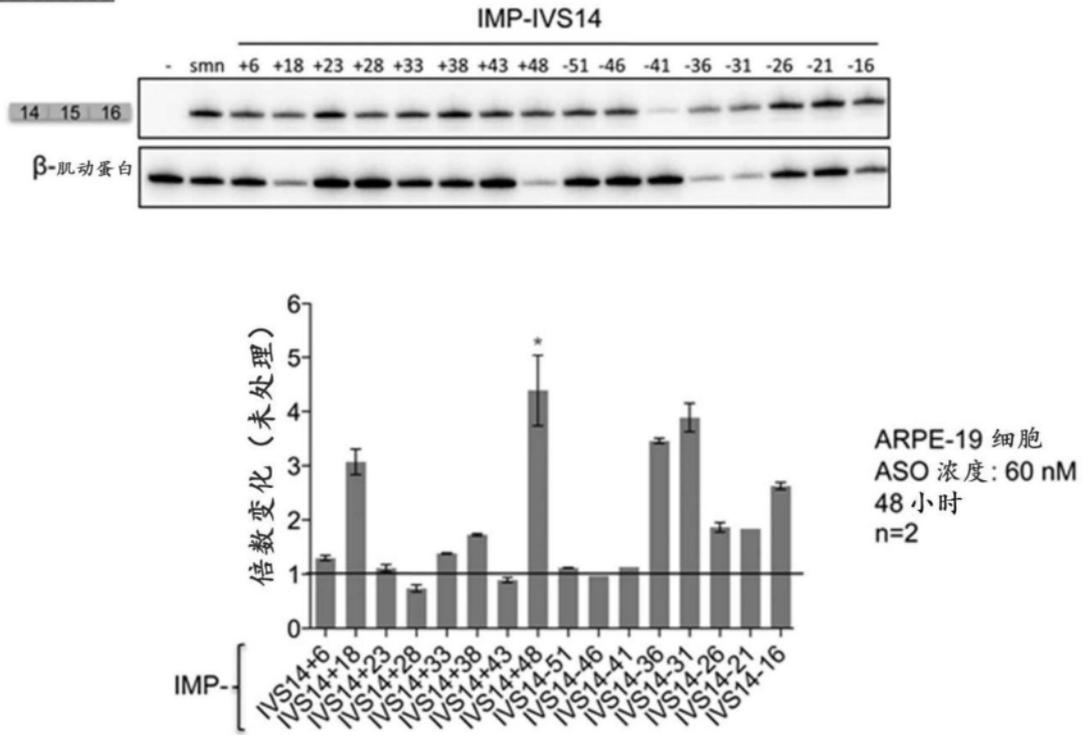


图27

放射性RT-PCR测定

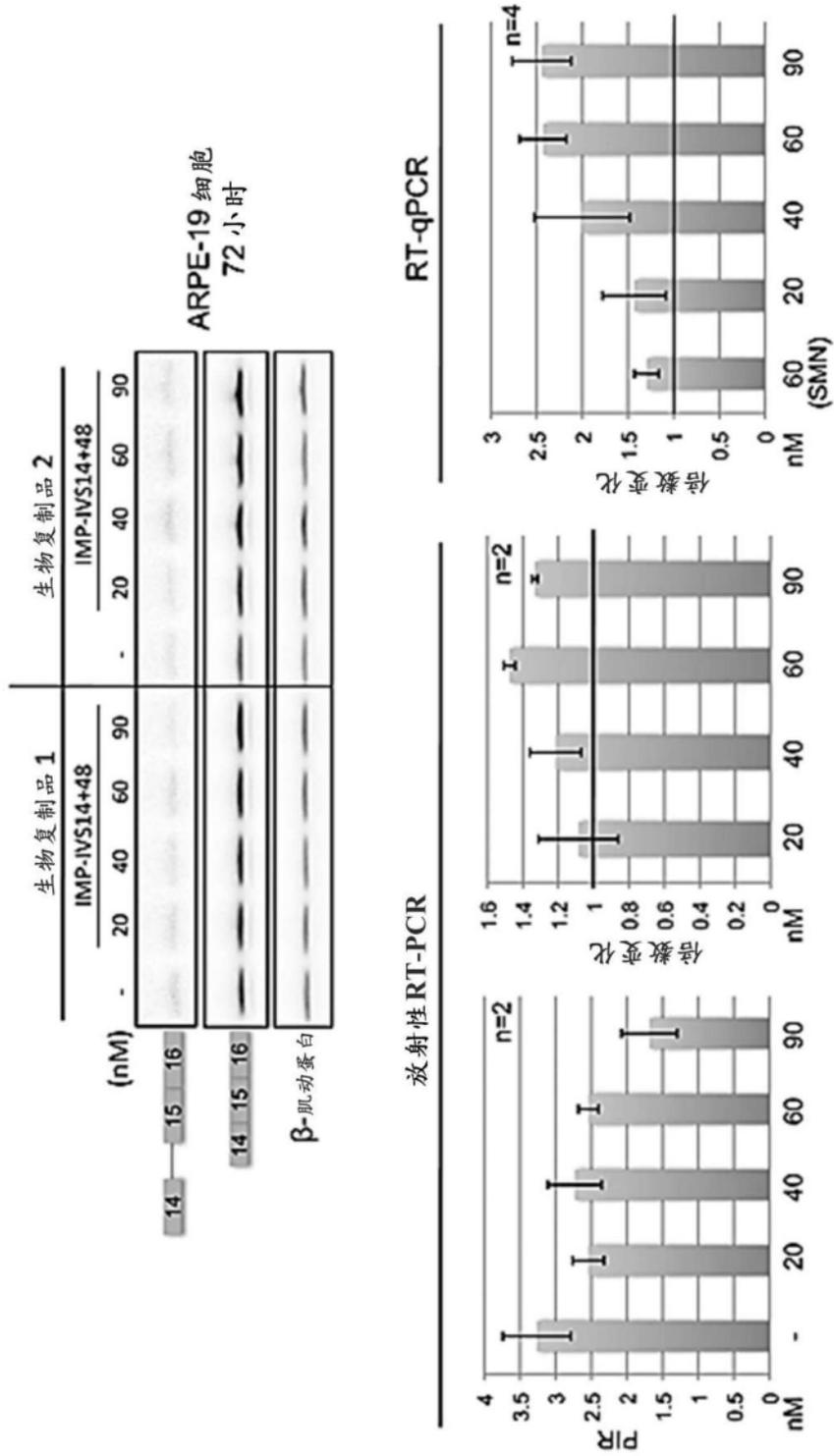


图28

蛋白质印迹分析

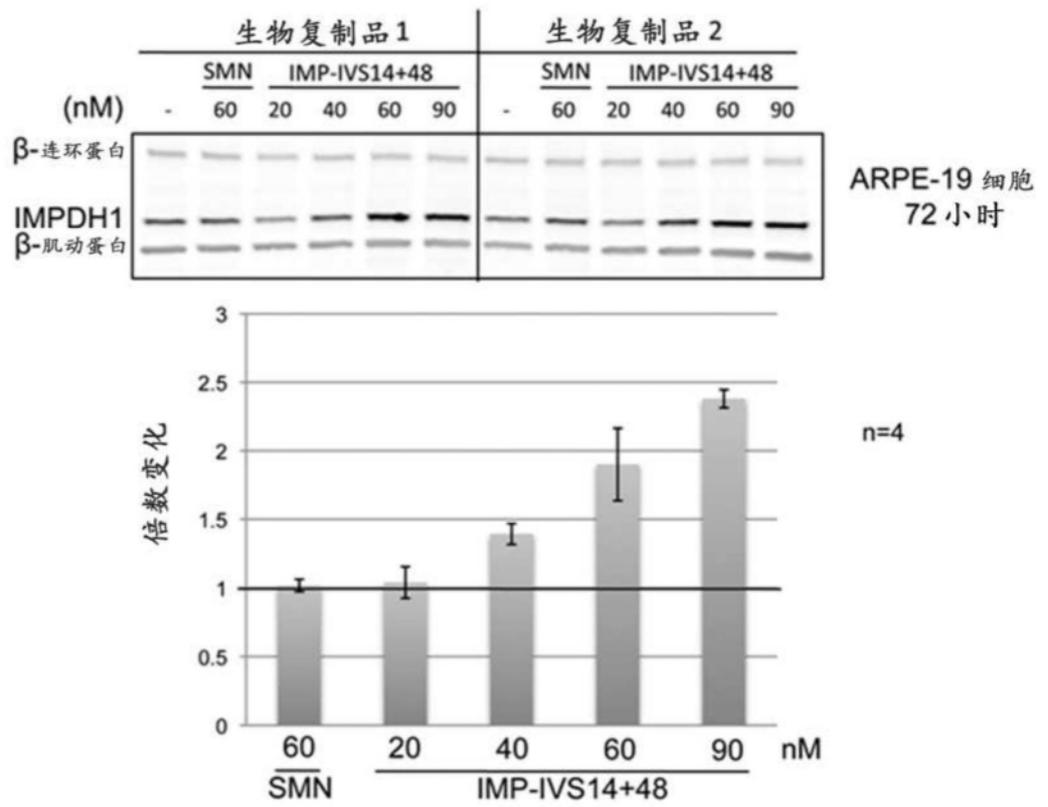


图29

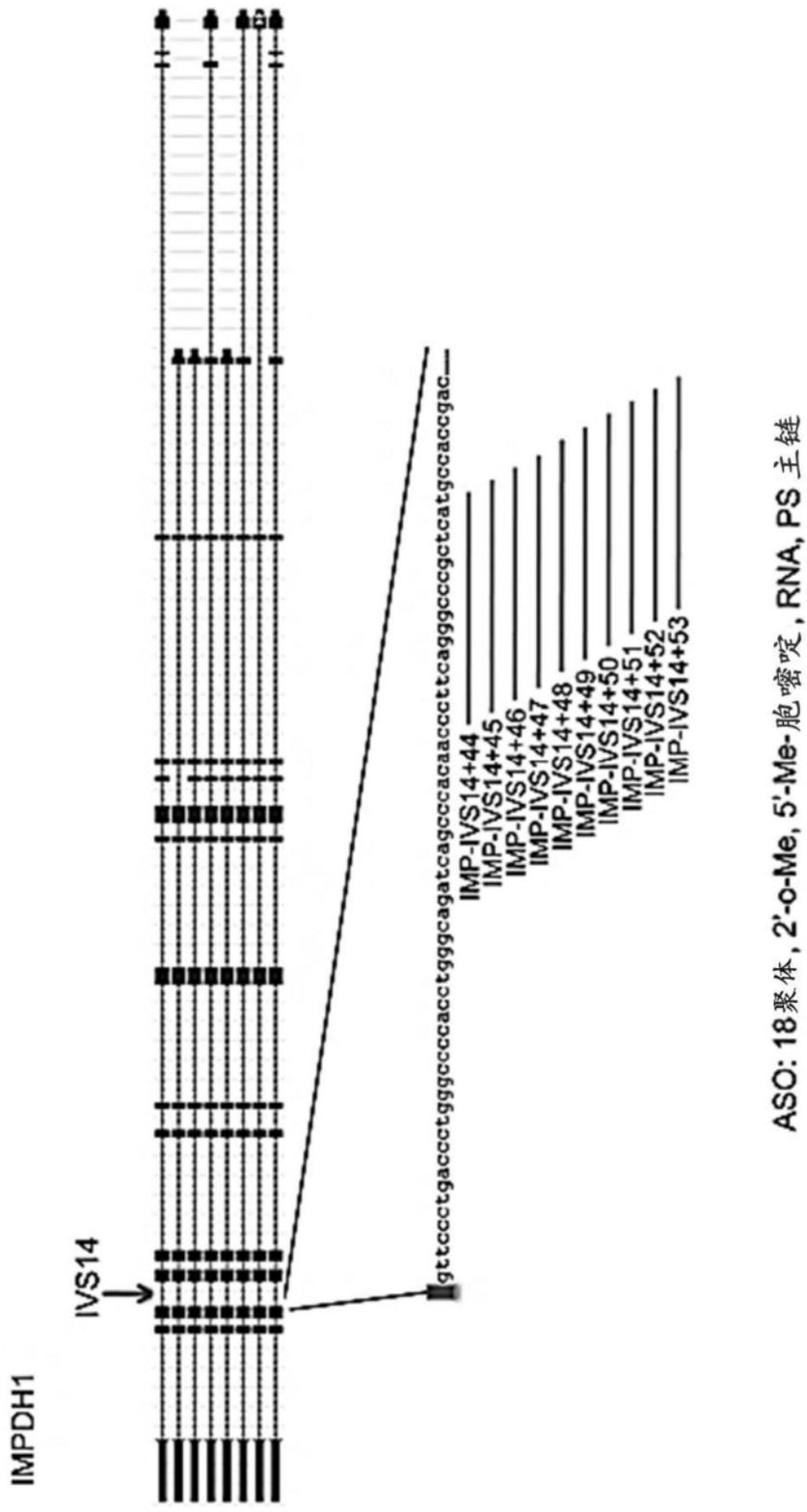


图30

ARPE-19 细胞  
ASO 浓度: 60 nM  
48 小时  
n=2

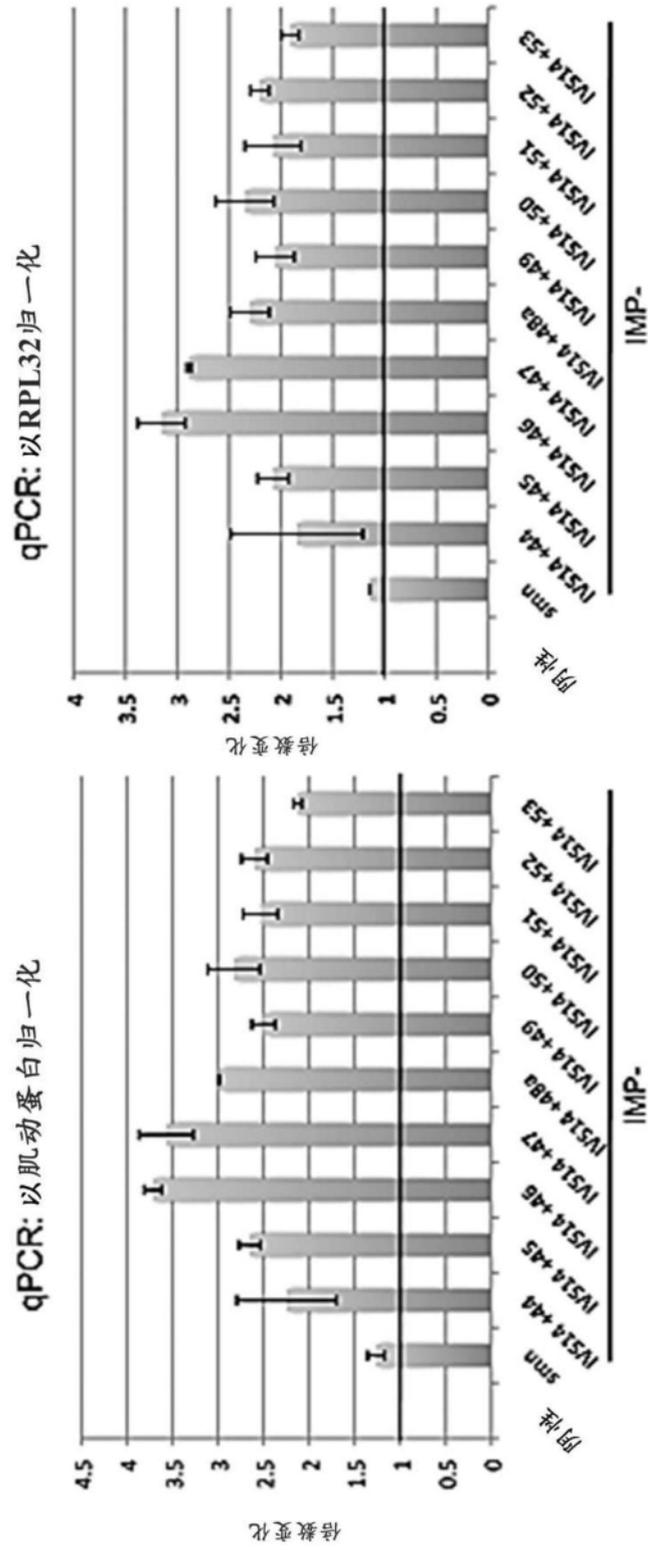


图31

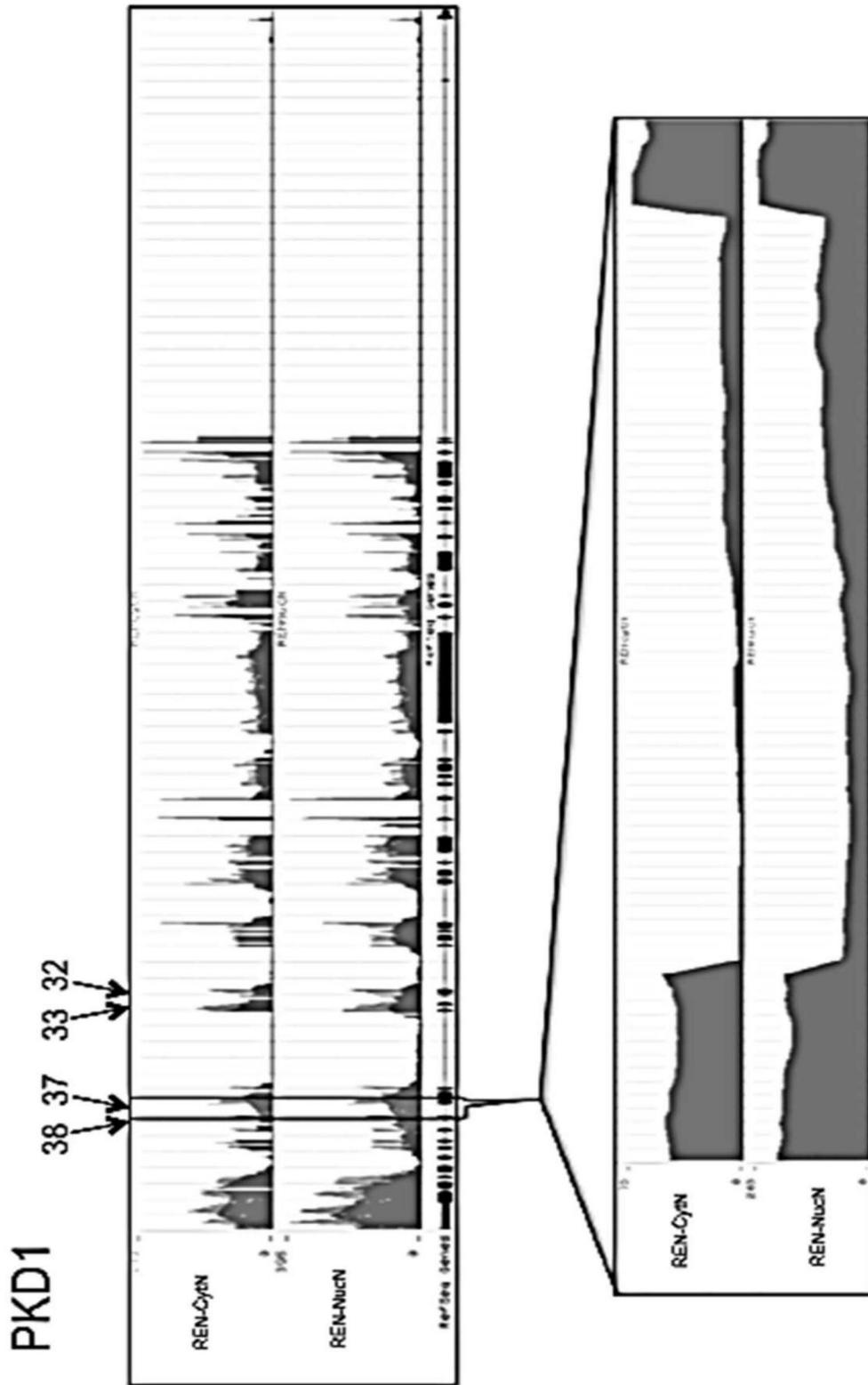


图32



放射性RT-PCR测定

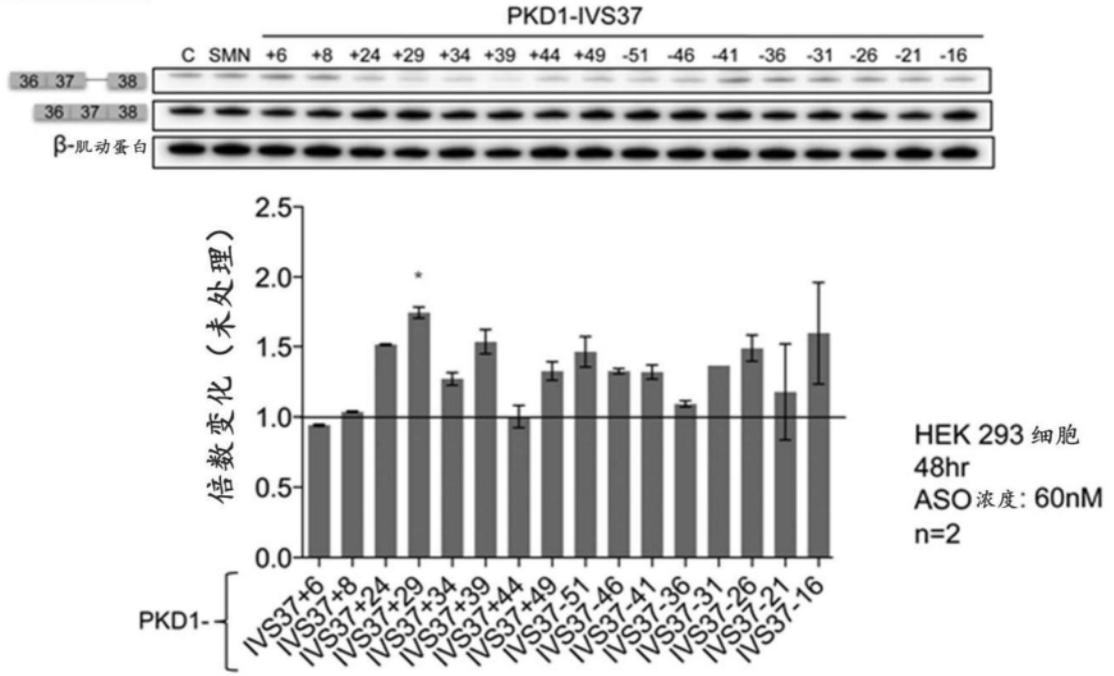


图34

放射性RT-PCR测定

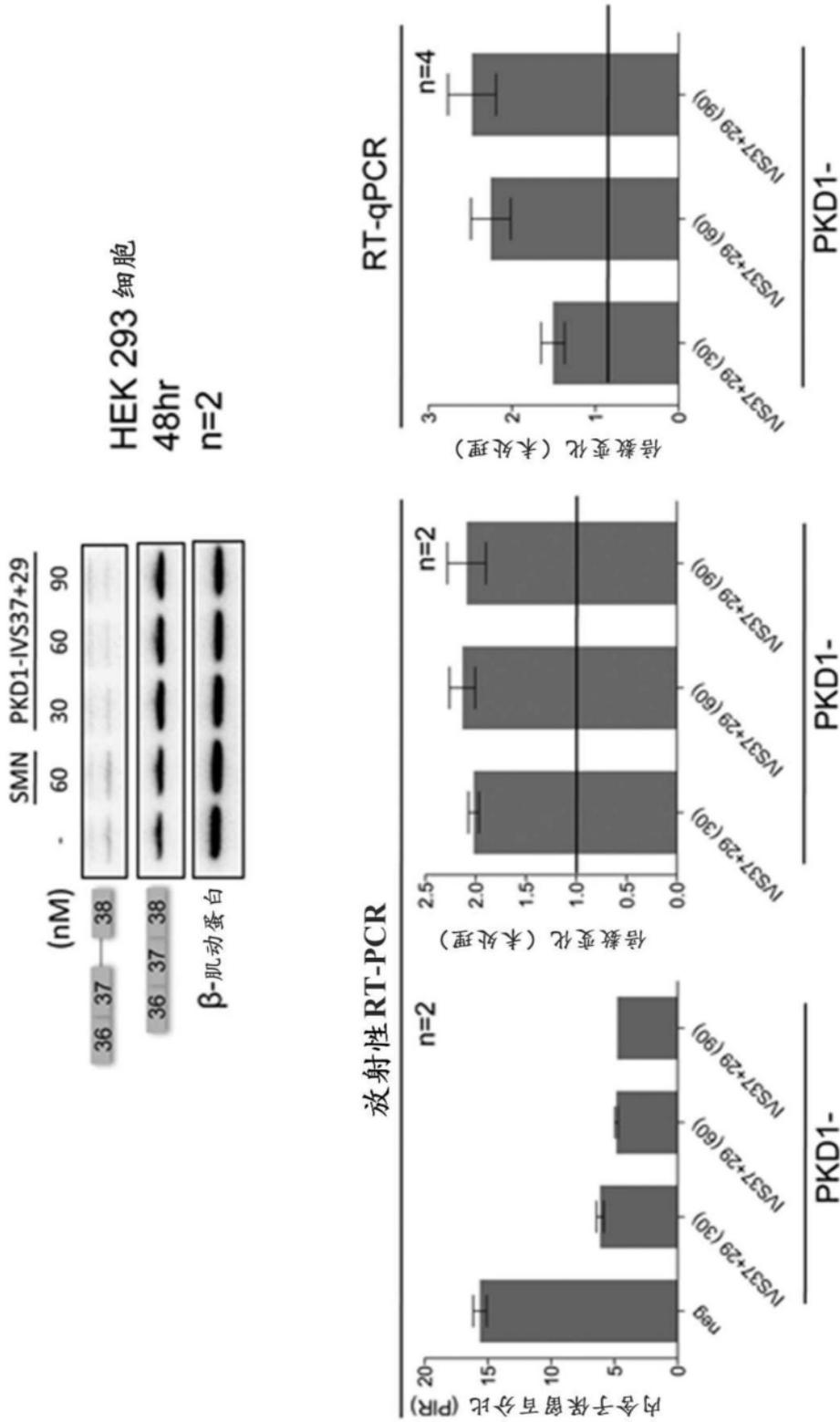


图35

流式细胞术测定

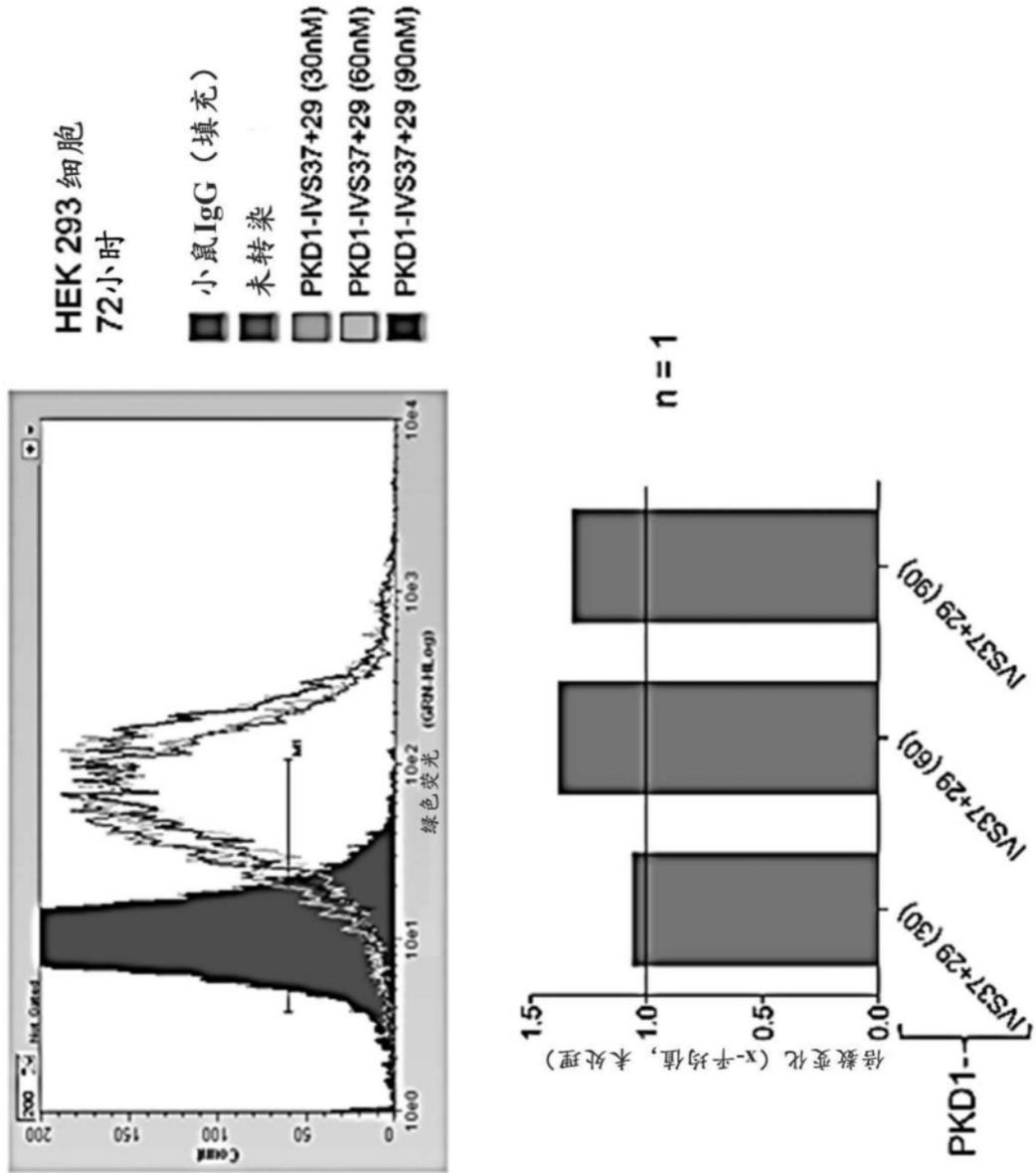


图36

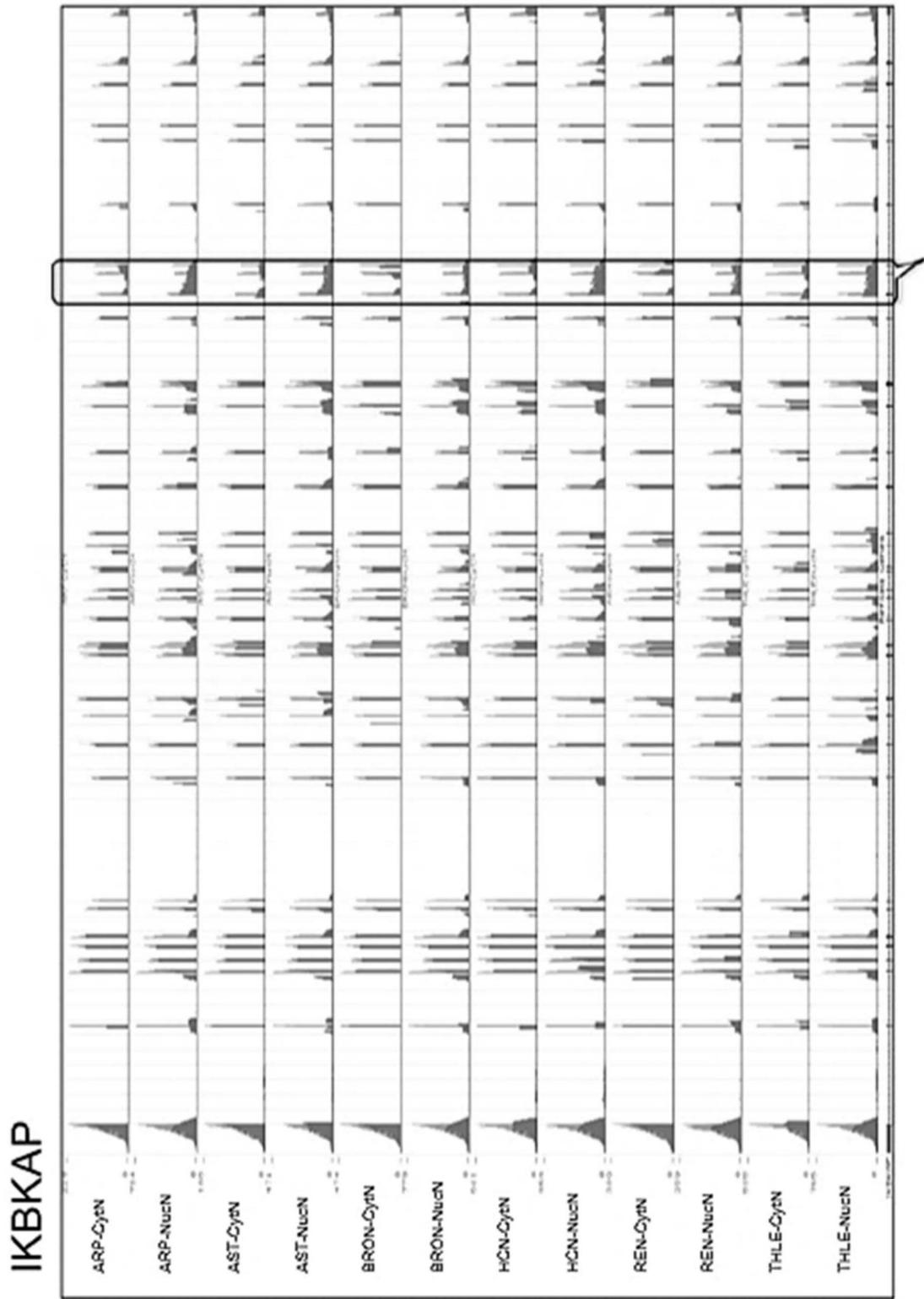


图37A

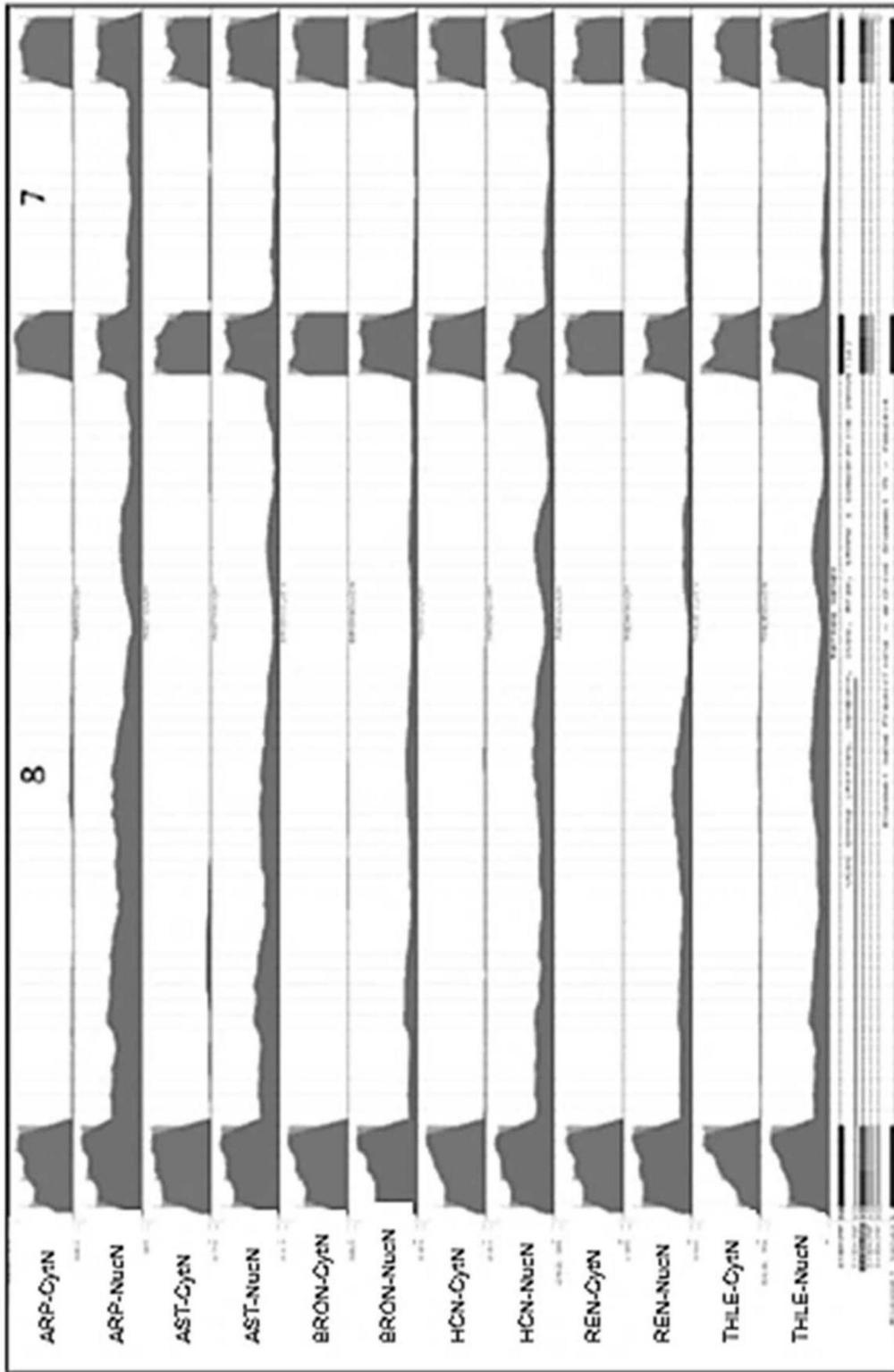
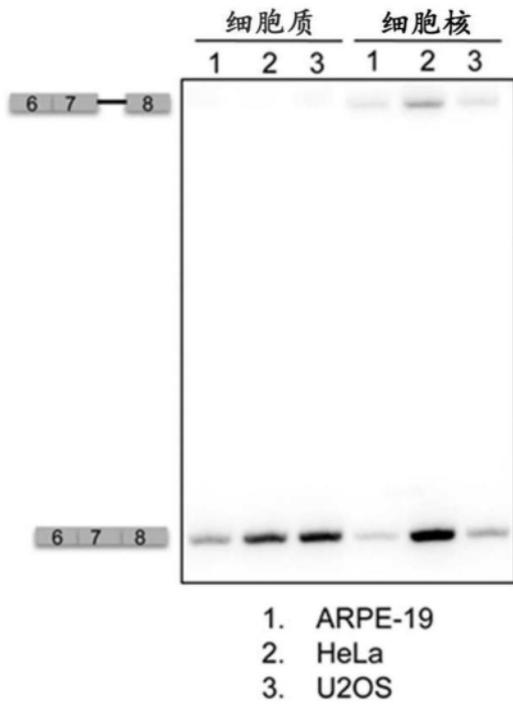


图37B

放射性RT-PCR分析



PIR <sup>1</sup>	实验	来源
35.5	放射性RT-PCR	ARPE19 <sup>2</sup>
18	放射性RT-PCR	HeLa <sup>3</sup>
26	放射性RT-PCR	U2OS <sup>4</sup>
33	RNAseq-ASO <sup>thera</sup>	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



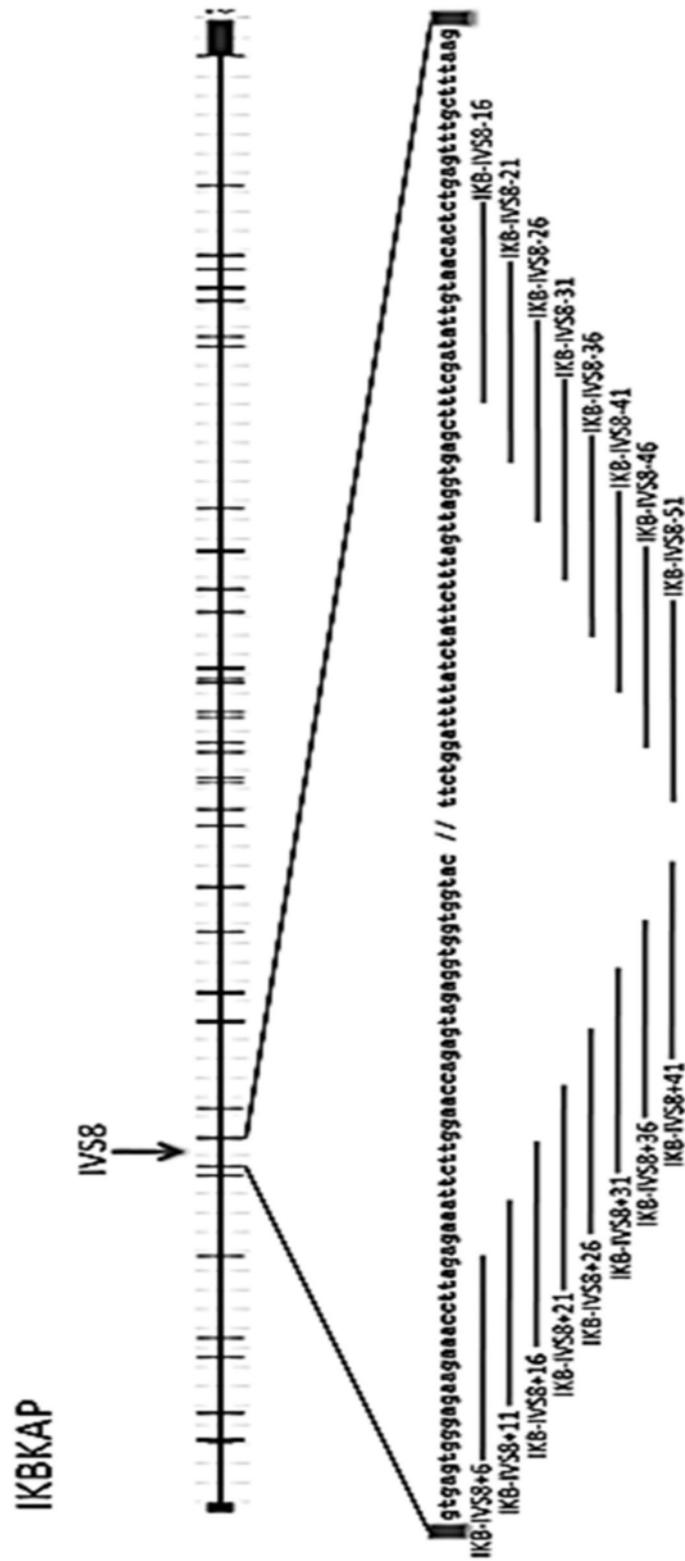


图39B

RT-qPCR 分析

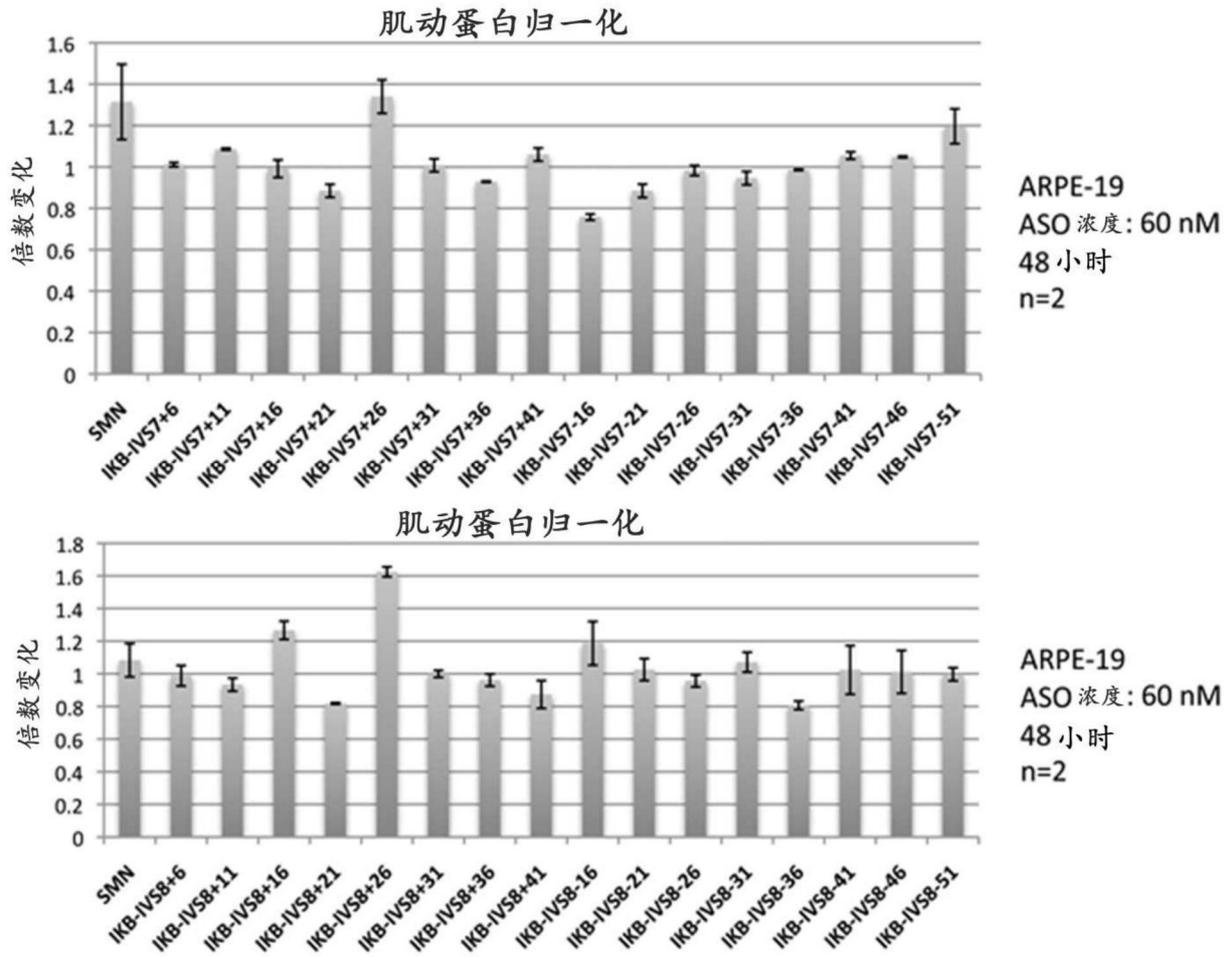


图40

放射性RT-PCR分析

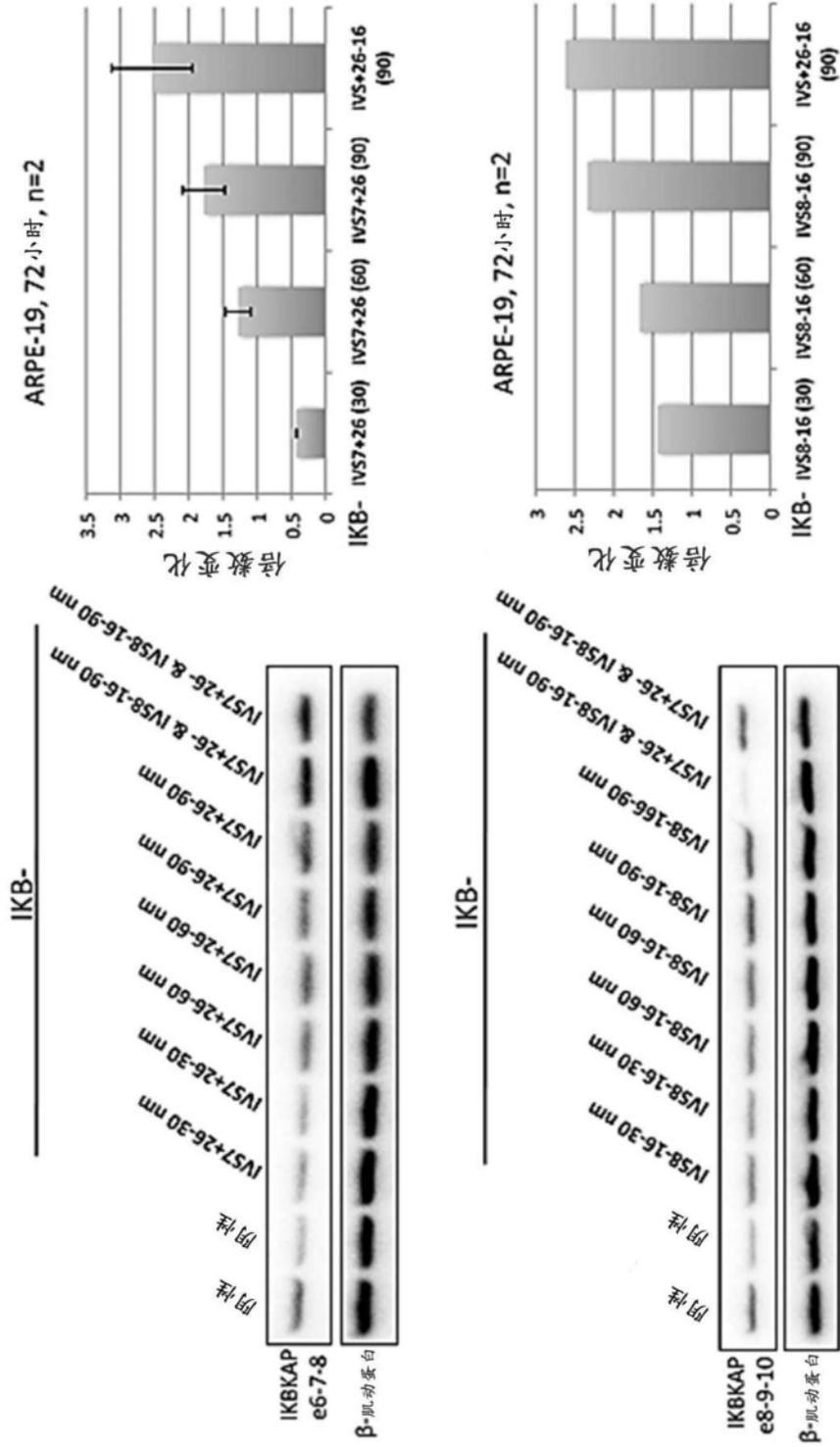


图41

蛋白质印迹分析

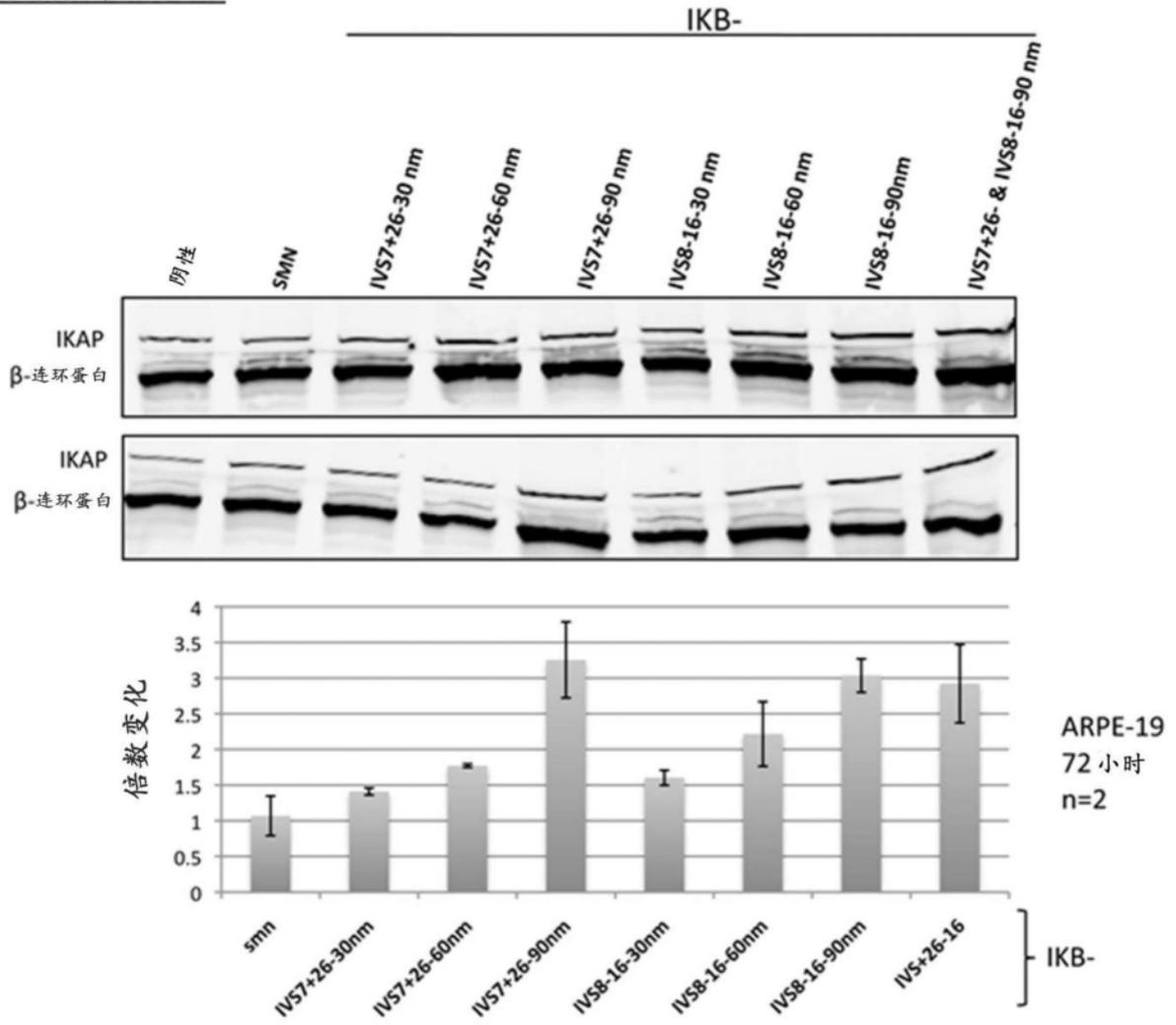


图42