



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2018-0105730
(43) 공개일자 2018년09월28일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/7088 (2006.01) *A61K 48/00* (2006.01)
A61P 21/00 (2006.01)

(52) CPC특허분류
A61K 31/7088 (2013.01)
A61K 48/00 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2018-7026597(분할)

(22) 출원일자(국제) 2011년07월19일
심사청구일자 없음

(62) 원출원 특허 10-2013-7003953
원출원일자(국제) 2011년07월19일
심사청구일자 2016년07월19일

(85) 번역문제출일자 2018년09월13일

(86) 국제출원번호 PCT/US2011/044555

(87) 국제공개번호 WO 2012/012443
국제공개일자 2012년01월26일

(30) 우선권주장
61/365,762 2010년07월19일 미국(US)
(뒷면에 계속)

(71) 출원인
아이오니스 파마수티컬즈, 인코포레이티드
미합중국 캘리포니아주 92010 칼스바드 2855 가젤
코트
유니버시티 오브 로체스터
미국 뉴욕주 14642 로체스터 박스 유알브이 엘름
우드 애비뉴 601

(72) 발명자
베네트, 씨., 프란크
미국 92008 캘리포니아주 칼스배드 루더포드 로드
1896
프리에르, 수잔, 엠.
미국 92008 캘리포니아주 칼스배드 루더포드 로드
1896
(뒷면에 계속)

(74) 대리인
양영준, 김영

전체 청구항 수 : 총 1 항

(54) 발명의 명칭 근육긴장성 이영양증-단백질 키나제(DMPK) 발현의 조절 방법

(57) 요약

동물에서 DMPK mRNA 및 단백질의 발현을 감소시키기 위한 방법, 화합물 및 조성물이 본원에 제공된다. 동물에서 CUGexp DMPK RNA를 선택적으로 감소시키거나, 근육긴장증을 감소시키거나, 스플라이스오패시를 감소시키기 위한 방법, 화합물 및 조성물이 또한 본원에 제공된다. 이러한 방법, 화합물 및 조성물은 타입 1 근육긴장성 이영양증 또는 이의 증상을 치료하거나, 예방하거나, 지연시키거나, 개선시키는데 유용하다.

(52) CPC특허분류

A61P 21/00 (2018.01)

(72) 발명자

마클레오드, 로버트, 에이.

미국 92008 캘리포니아주 칼스배드 루더포드 로드
1896

판데이, 산자이, 케이.

미국 92008 캘리포니아주 칼스배드 루더포드 로드
1896

손튼, 찰스, 에이.

미국 14618 뉴욕주 로체스터 팔머스톤 로드 48

휠러, 투르만

미국 14623 뉴욕주 로체스터 돈카스터 로드 135

쳉, 쟝, 에이치.

미국 01760 메사추세츠주 나틱 제니손 서클 10

리거, 앤드류

미국 02118 메사추세츠주 보스톤 에이피티. 4 메사
추세츠 애비뉴 565

웬트워스, 브루스, 엠.

미국 01532 메사추세츠주 노스보로 럿지 로드 27

(30) 우선권주장

61/365,775 2010년07월19일 미국(US)

61/478,021 2011년04월21일 미국(US)

명세서

청구범위

청구항 1

타입 1 근육긴장성 이영양증을 지닌 동물을 치료하는 방법으로서,

a. 타입 1 근육긴장성 이영양증을 지닌 동물을 확인하는 단계; 및

b. DMPK를 표적으로 하는 10 내지 30개의 결합된 뉴클레오사이드 길이의 변형된 올리고뉴클레오타이드를 포함하는 치료적 유효량의 화합물을 상기 동물에게 투여하는 단계를 포함하되,

상기 타입 1 근육긴장성 이영양증을 지닌 동물이 치료되는 것인 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001]

서열목록

[0002]

본 출원은 전자 포맷의 서열목록과 함께 출원된다. 서열목록은 약 216Mb 크기의 2011년 7월 19일에 생성된 BIOL0134USL2SEQ.txt를 제목으로 하는 파일로 제공된다. 서열목록의 전자 포맷의 정보는 전체내용이 참조로서 본원에 포함된다.

[0003]

분야

[0004]

동물에서 DMPK mRNA 및 단백질의 발현을 감소시키기 위한 방법, 화합물 및 조성물이 본원에 제공된다. 또한, 동물에서 CUGexp DMPK RNA를 선택적으로(preferentially) 감소시키거나, 근육긴장증을 감소시키거나, 스플라이스오페시(spliceopathy)를 감소시키기 위한 방법, 화합물, 및 DMPK 억제제를 포함하는 조성물이 본원에 제공된다. 이러한 방법, 화합물 및 조성물은, 예를 들어, 동물에서 타입 1 근육긴장성 이영양증(DM1)을 치료하거나, 예방하거나, 개선시키는데 유용하다.

배경기술

[0005]

근육긴장성 이영양증 타입 1(DM1)은 7,500명 중 1명의 추정 빈도로 성인에 존재하는 가장 흔한 형태의 근육 이영양증이다(Harper PS., *Myotonic Dystrophy*. London: W.B. Saunders Company; 2001). DM1은 DMPK1에서의 비-코딩 CTG 반복부의 확장에 의해 야기되는 보통염색체 우성 질환이다. DMPK1은 세포질 세린/트레오닌 키나제를 엔코딩하는 유전자이다(Brook JD, et al., *Cell*, 1992, 68(4):799-808). 상기 키나제의 생리학적 기능 및 기질은 완전히 결정되지 않았다. 확장된 CTG 반복부는 DMPK1의 3' 비번역 영역(UTR)에 위치된다. 이러한 돌연변이는 확장된 CUG 반복부(CUGexp)를 함유하는 RNA의 발현이 세포 기능이상을 유도하는 과정인 RNA 우세를 발생시킨다(Osborne RJ and Thornton CA., *Human Molecular Genetics*, 2006, 15(2): R162-R169).

[0006]

DMPK 유전자는 보통 3' 비번역 영역 내에 5-37개의 CTG 반복부를 갖는다. 근육긴장성 이영양증 타입 1에서, 이러한 수는 현저히 확장되고, 이는, 예를 들어, 50개 내지 3,500개 초과의 범위이다(Harper, *Myotonic Dystrophy* (Saunders, London, ed.3, 2001); *Annu. Rev. Neurosci.* 29: 259, 2006; *EMBO J.* 19: 4439, 2000; *Curr Opin Neurol.* 20: 572, 2007).

[0007]

CUGexp 트랙(tract)은 스플라이싱 인자인 muscleblind-유사(MBNL) 단백질을 포함하는 RNA 결합 단백질과 상호작용하고, 돌연변이 전사물이 핵 초점(nuclear foci) 내에 유지되도록 한다. 이러한 RNA의 독성은 RNA 결합 단백질의 격리 및 신호전달 경로의 활성화로부터 발생한다. 동물 모델에서의 연구에서 CUGexp RNA의 독성이 감소되는 경우에 DM1의 표현형이 역전될 수 있는 것으로 밝혀졌다(Wheeler TM, et al., *Science*, 2009, 325(5938):336-339; Mulders SA, et al., *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(33):13915-13920).

[0008]

DM1에서, 골격근은 가장 심각하게 영향을 받는 조직이나, 상기 질병은 또한 심장 및 평활근, 안구 렌즈 및 뇌에 중요한 영향을 미친다. 두개, 말단지(distal limb) 및 횡경막 근육이 우선적으로 영향을 받는다. 수동민첩성(Manual dexterity)은 초기에 손상되고, 이는 수십년간의 심한 장애를 야기시킨다. 사망시의 정중 연령은 55세

이고, 이러한 사망은 보통 호흡부전으로부터 유래된다(de Die-Smulders CE, et al., *Brain.*, 1998, 121(Pt 8): 1557-1563).

[0009] 안티센스 기술은 특정 유전자 생성물의 발현을 조절하기 위한 효과적인 수단으로 최근 만들어졌으며, 따라서 이는 DMPK1의 조절을 위한 다수의 치료, 진단 및 연구 적용에 독특하게 유용한 것을 알 수 있다. CAG-반복부를 표적으로 하는 완전히 변형된 올리고뉴클레오타이드의 근대 주사는 마우스에서 CUGexp-MBNL1 복합체의 형성을 차단하고, CUGexp 전사물의 핵 초점을 분산시키고, CUGexp 전사물의 핵세포질 수송(nucleocytoplasmic transport) 및 번역을 항상시키고, 핵질로 MBNL 단백질을 방출시키고, MBNL-의존성 엑손의 대안적 스플라이싱을 정상화시키고, CUGexp-발현 트랜스제닉 마우스에서 근육긴장증을 제거하는 것으로 밝혀졌다(Wheeler TM, et al., *Science.*, 2009, 325(5938):336-339; WO2008/036406).

[0010] 현재, DM1의 과정을 조절할 수 있는 치료가 없다. 따라서, 질병의 부담이 현저하다. 따라서, DM1을 치료하기 위한 화합물, 조성물 및 방법을 제공하는 것이 본원의 목적이다.

발명의 내용

[0011] DMPK의 발현을 억제하고, DMPK 관련 질병 및/또는 이의 증상을 치료하거나, 예방하거나, 자연시키거나, 개선시키는 방법, 화합물 및 조성물이 본원에 제공된다. 특정 구체예에서, 상기 화합물 및 조성물은 돌연변이 DMPK 또는 CUGexp DMPK를 억제한다.

[0012] 특정 구체예는 DMPK를 표적으로 하는 본원에 추가로 기재되는 바와 같은 변형된 올리고뉴클레오타이드를 포함하는 화합물을 동물에게 투여하는 것을 포함하는 동물의 DMPK 발현을 감소시키는 방법을 제공한다.

[0013] 특정 구체예는 CUGexp DMPK를 표적으로 하는 본원에 추가로 기재되는 바와 같은 변형된 올리고뉴클레오타이드를 포함하는 화합물을 동물에게 투여하는 것을 포함하는 동물에서 CUGexp DMPK를 선택적으로 감소시키거나, 근육긴장증을 감소시키거나, 스플라이스오페시를 감소시키는 방법을 제공한다. CUGexp DMPK 전사물은 이의 핵에서의 보다 긴 체류 시간으로 인해 핵 리보누클레아제를 통한 안티센스 낙다운(knockdown)에 특히 민감한 것으로 생각되며, 이러한 민감성은 안티센스 올리고뉴클레오타이드의 조직 흡수에 대한 생체분포 장벽에도 불구하고 근육과 같은 관련 조직에서 CUGexp DMPK 전사물의 효과적인 안티센스 억제를 가능케 하는 것으로 생각된다. 예를 들어, 문헌[Wheeler TM, et al., *Science.*, 2009, 325(5938):336-339] 및 WO2008/036406호에 기재된 CAG-반복부 ASO와 같은 핵 리보누클레아제를 통한 절단을 유도하지 않는 안티센스 메커니즘은 동일한 치료 장점을 제공하지 않는다.

[0014] 특정 구체예는 타입 1 근육긴장성 이영양증을 지닌 동물을 치료하는 방법을 제공한다. 특정 구체예에서, 상기 방법은 DMPK를 표적으로 하는 본원에 추가로 기재되는 바와 같은 변형된 올리고뉴클레오타이드를 포함하는 치료적 유효량의 화합물을 동물에게 투여하는 것을 포함한다. 특정 구체예에서, 상기 방법은 타입 1 근육긴장성 이영양증을 지닌 동물을 확인하는 것을 포함한다.

[0015] 특정 구체예는 근육 경직, 근육긴장증, 불능화 원위 약화(disabling distal weakness), 안면 및 턱 근육의 약화, 연하(swallowing)의 어려움, 눈꺼풀의 힘없음(안검하수증), 목 근육의 약화, 팔 및 다리 근육의 약화, 지속적인 근육 통통, 과다수면, 근육 소모, 연하곤란, 호흡기능부전, 불규칙한 심박동, 심장 근육 손상, 무감동, 인슐린 내성, 및 백내장을 포함하는 DM1의 발달과 관련된 증상 및 결과를 치료하거나, 예방하거나, 자연시키거나, 개선시키는 방법을 제공한다. 특정 구체예는 발달 지연, 학습 장애, 언어 및 말 문제, 및 인격 발달 문제를 포함하는 아동에서의 DM1의 발달과 관련된 증상 및 결과를 치료하거나, 예방하거나, 자연시키거나, 개선시키는 방법을 제공한다.

[0016] 특정 구체예는 병원성 전사물의 절단을 유도함으로써 RNA 우세를 중화시키는 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 투여하는 방법을 제공한다.

[0017] 특정 구체예에서, DMPK는 유전자은행 등록번호(GenBank Accession No.) NM_001081560.1에 나열된 바와 같은 서열(서열번호 1로 본원에 포함됨)을 갖는다. 특정 구체예에서, DMPK는 뉴클레오타이드 18540696으로부터 18555106까지 트렁케이션된 유전자은행 등록번호 NT_011109.15에 나열된 바와 같은 서열(서열번호 2로 본원에 포함됨)을 갖는다. 특정 구체예에서, DMPK는 뉴클레오타이드 16666001로부터 16681000까지 트렁케이션된 유전자은행 등록번호 NT_039413.7에 나열된 바와 같은 서열(서열번호 3으로 본원에 포함됨)을 갖는다. 특정 구체예에서, DMPK는 유전자은행 등록번호 NM_032418.1에 나열된 바와 같은 서열(서열번호 4로 본원에 포함됨)을 갖는다. 특정 구체예에서, DMPK는 유전자은행 등록번호 AI007148.1에 나열된 바와 같은 서열(서열번호 5로 본원에

포함됨)을 갖는다. 특정 구체예에서, DMPK는 유전자은행 등록번호 AI304033.1에 나열된 바와 같은 서열(서열번호 6으로 본원에 포함됨)을 갖는다. 특정 구체예에서, DMPK는 유전자은행 등록번호 BC024150.1로 본원에 나열된 바와 같은 서열(서열번호 7로 본원에 포함됨)을 갖는다. 특정 구체예에서, DMPK는 유전자은행 등록번호 BC056615.1에 나열된 바와 같은 서열(서열번호 8로 본원에 포함됨)을 갖는다. 특정 구체예에서, DMPK는 유전자은행 등록번호 BC075715.1에 나열된 바와 같은 서열(서열번호 793으로 본원에 포함됨)을 갖는다. 특정 구체예에서, DMPK는 유전자은행 등록번호 BU519245.1에 나열된 바와 같은 서열(서열번호 794로 본원에 포함됨)을 갖는다. 특정 구체예에서, DMPK는 유전자은행 등록번호 CB247909.1에 나열된 바와 같은 서열(서열번호 795로 본원에 포함됨)을 갖는다. 특정 구체예에서, DMPK는 유전자은행 등록번호 CX208906.1에 나열된 바와 같은 서열(서열번호 796으로 본원에 포함됨)을 갖는다. 특정 구체예에서, DMPK는 유전자은행 등록번호 CX732022.1에 나열된 바와 같은 서열(서열번호 797로 본원에 포함됨)을 갖는다. 특정 구체예에서, DMPK는 유전자은행 등록번호 S60315.1에 나열된 바와 같은 서열(서열번호 798로 본원에 포함됨)을 갖는다. 특정 구체예에서, DMPK는 유전자은행 등록번호 S60316.1에 나열된 바와 같은 서열(서열번호 799로 본원에 포함됨)을 갖는다. 특정 구체예에서, DMPK는 유전자은행 등록번호 NM_001081562.1에 나열된 바와 같은 서열(서열번호 800으로 본원에 포함됨)을 갖는다. 특정 구체예에서, DMPK는 유전자은행 등록번호 NM_001100.3에 나열된 바와 같은 서열(서열번호 801로 본원에 포함됨)을 갖는다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0018]

상기 일반적 기재 및 하기의 상세한 설명 둘 모두는 단지 예시적이고 설명을 위한 것이며, 청구되는 바와 같은 본 발명을 제한하는 것이 아님이 이해되어야 한다. 본원에서, 단수의 사용은 특별히 달리 언급되지 않는 한 복수를 포함한다. 본원에서, "또는"의 사용은 달리 언급하지 않는 한 "및/또는"을 의미한다. 더욱이, 용어 "포함하는" 뿐만 아니라 다른 형태, 예를 들어, "포함하다" 및 "포함된"의 사용은 제한되지 않는다. 또한, "성분" 또는 "구성요소"와 같은 용어는 특별히 달리 언급되지 않는 한 하나의 유닛을 포함하는 성분 및 구성요소 및 하나 이상의 서브유닛을 포함하는 성분 및 구성요소 둘 모두를 포함한다.

[0019]

본원에서 사용되는 섹션 제목은 단지 구성 목적을 위한 것이며, 기재된 주제를 제한하는 것으로 해석되어선 안된다. 특히, 특히 출원, 문헌, 서적 및 논문을 포함하나 이에 제한되지는 않는 본 출원에 본 출원에 인용된 모든 문서 또는 문서의 일부는 본원에 논의된 이러한 문서의 일부뿐만 아니라 이의 전체내용에 있어서 참조로서 특별히 본원에 포함된다.

[0020]

정의

[0021]

특정한 정의가 제공되지 않는 한, 본원에 기재된 분석 화학, 합성 유기 화학, 및 의약 화학 및 제약 화학의 절차 및 기술과 관련되어 사용되는 명명법은 당 분야에 널리 공지되고 통상적으로 사용되는 것이다. 화학 합성 및 화학 분석을 위해 표준 기술이 사용될 수 있다. 허용되는 경우, 본원의 개시 전체에 걸쳐 언급되는 모든 특히, 출원, 공개된 출원 및 다른 출원, 미국 국립생물정보센터(NCBI)와 같은 데이터베이스를 통해 입수 가능한 유전자은행 등록번호 및 관련 서열 정보 및 다른 데이터는 본원에 논의된 이러한 문서의 일부뿐만 아니라 이의 전체내용에 있어서 참조로서 본원에 포함된다.

[0022]

달리 표시하지 않는 한, 하기 용어는 하기 의미를 갖는다:

[0023]

"2'-0-메톡시에틸"(또한, 2'-MOE 및 2'-O(CH₂)₂-OCH₃)은 푸라노실 고리의 2' 위치의 0-메톡시-에틸 변형을 의미한다. 2'-0-메톡시에틸 변형된 당은 변형된 당이다.

[0024]

"2'-0-메톡시에틸 뉴클레오타이드"는 2'-0-메톡시에틸 변형된 당 모이아티를 포함하는 뉴클레오타이드를 의미한다.

[0025]

"5-메틸사이토신"은 위치 5에 부착된 메틸기로 변형된 사이토신을 의미한다. 5-메틸사이토신은 변형된 핵염기이다.

[0026]

"약"은 값의 ±7% 내를 의미한다. 예를 들어, "화합물이 DMPK의 적어도 70% 억제에 영향을 줬다"라고 언급되는 경우, 이는 DMPK 수준이 63% 및 77%의 범위 내에서 억제되는 것을 의미한다.

[0027]

"활성 약학적 작용제"는 개체에 투여되는 경우에 치료적 이점을 제공하는 약학적 조성물 내의 물질 또는 물질들을 의미한다. 예를 들어, 특정 구체예에서, DMPK를 표적으로 하는 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 활성 약학적 작용제이다.

- [0028] "활성 표적 영역" 또는 "표적 영역"은 하나 이상의 활성 안티센스 화합물이 표적으로 하는 영역을 의미한다. "활성 안티센스 화합물"은 표적 핵산 수준 또는 단백질 수준을 감소시키는 안티센스 화합물을 의미한다.
- [0029] "동시 투여된"은 2개의 작용제의 약리학적 효과가 동시에 환자에서 나타나는 임의의 방식의 2개의 작용제의 공동 투여를 의미한다. 동시 투여는 둘 모두의 작용제가 단일한 약학적 조성물, 동일한 투여 형태 또는 동일한 투여 경로로 투여되는 것을 필요로 하지 않는다. 둘 모두의 작용제의 효과는 동시에 둘 모두의 작용제 효과 자체가 나타나는 것을 필요로 하지 않는다. 상기 효과는 단지 일정 기간 동안 중첩되는 것을 필요로 하며, 공존하는 것을 필요로 하지 않는다.
- [0030] "투여하는"은 동물에게 작용제를 제공하는 것을 의미하며, 이는 의학 전문가에 의한 투여 및 자가 투여를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.
- [0031] "작용제"는 동물에게 투여되는 경우에 치료적 이점을 제공할 수 있는 활성 물질을 의미한다. "첫번째 작용제"는 본 발명의 치료 화합물을 의미한다. 예를 들어, 첫번째 작용제는 DMPK를 표적으로 하는 안티센스 올리고뉴클레오타이드일 수 있다. "두번째 작용제"는 본 발명의 두번째 치료 화합물(예를 들어, DMPK를 표적으로 하는 두번째 안티센스 올리고뉴클레오타이드) 및/또는 비-DMPK 치료 화합물을 의미한다.
- [0032] "개선"은 관련 질병, 장애 또는 질환의 적어도 하나의 지표, 징후 또는 증상의 감소를 의미한다. 지표의 중증도는 당업자에게 공지된 주관적 또는 객관적 척도에 의해 결정될 수 있다.
- [0033] "동물"은 인간, 또는 마우스, 래트, 토끼, 개, 고양이, 돼지를 포함하나 이에 제한되지는 않는 비-인간 동물, 및 원숭이 및 침팬지를 포함하나 이에 제한되지는 않는 비-인간 영장류를 의미한다.
- [0034] "안티센스 활성"은 안티센스 화합물의 표적 핵산에 대한 안티센스 화합물의 하이브리드화에 기인하는 임의의 검출가능하거나 측정가능한 활성을 의미한다. 특정 구체예에서, 안티센스 활성은 표적 핵산 또는 상기 표적 핵산에 의해 엔코딩되는 단백질의 양 또는 발현에서의 감소이다.
- [0035] "안티센스 화합물"은 수소 결합을 통한 표적 핵산으로의 하이브리드화를 경험할 수 있는 올리고머 화합물을 의미한다. 안티센스 화합물의 예는 단일 가닥 및 이중 가닥의 화합물, 예를 들어, 안티센스 올리고뉴클레오타이드, siRNA, shRNA, snoRNA, miRNA 및 위성 반복부(satellite repeat)를 포함한다.
- [0036] "안티센스 억제"는 안티센스 화합물의 부재하에서의 표적 핵산 수준 또는 표적 단백질 수준에 비한 표적 핵산에 상보적인 안티센스 화합물의 존재하에서의 표적 핵산 수준 또는 표적 단백질 수준의 감소를 의미한다.
- [0037] "안티센스 올리고뉴클레오타이드"는 표적 핵산의 상응하는 영역 또는 세그먼트에 대한 하이브리드화를 가능케 하는 핵염기 서열을 갖는 단일 가닥의 올리고뉴클레오타이드를 의미한다.
- [0038] "바이사이클릭 당"은 2개의 비-이중(non-geminal) 탄소 고리 원자의 브릿지 형성에 의해 변형된 푸라노실 고리를 의미한다. 바이사이클릭 당은 변형된 당이다.
- [0039] "바이사이클릭 핵산" 또는 "BNA"는 뉴클레오사이드 또는 뉴클레오타이드의 푸라노스 부분이 푸라노스 고리 상의 2개의 탄소 원자를 연결시키는 브릿지를 포함함으로써 바이사이클릭 고리 시스템을 형성하는 뉴클레오사이드 또는 뉴클레오타이드를 의미한다.
- [0040] "캡 구조" 또는 "말단 캡 모이어티"는 안티센스 화합물의 어느 한 말단에 통합된 화학적 변형을 의미한다.
- [0041] "화학적으로 별개의 영역"은 동일한 안티센스 화합물의 또 다른 영역과 어떤 점에서든지 화학적으로 상이한 안티센스 화합물의 영역을 의미한다. 예를 들어, 2'-0-메톡시에틸 뉴클레오타이드를 갖는 영역은 2'-0-메톡시에틸 변형을 갖지 않는 뉴클레오타이드를 갖는 영역과 화학적으로 별개이다.
- [0042] "키메라 안티센스 화합물"은 적어도 2개의 화학적으로 별개의 영역을 갖는 안티센스 화합물을 의미한다.
- [0043] "공동 투여"는 개체로의 2개 이상의 작용제의 투여를 의미한다. 2개 이상의 작용제는 단일한 약학적 조성물로 존재할 수 있거나, 별개의 약학적 조성물로 존재할 수 있다. 2개 이상의 작용제 각각은 동일하거나 상이한 투여 경로를 통해 투여될 수 있다. 공동 투여는 병행 또는 순차적 투여를 포함한다.
- [0044] "상보성"은 첫번째 핵산 및 두번째 핵산의 핵염기 사이에서 쌍을 형성하는 능력을 의미한다.
- [0045] "연속적 핵염기"는 서로 바로 인접한 핵염기를 의미한다.
- [0046] "CUGexp DMPK"는 확장된 CUG 반복부(CUGexp)를 함유하는 돌연변이 DMPK RNA를 의미한다. 야생형 DMPK 유전자

는 3' 비번역 영역에 5-37개의 CTG 반복부를 갖는다. "CUGexp DMPK"에서(예를 들어, 근육긴장성 이영양증 타입 I 환자에서), 이러한 수는 현저히 확장되고, 이는, 예를 들어, 50개 내지 3,500개 초과의 범위이다(Harper, Myotonic Dystrophy (Saunders, London, ed.3, 2001); Annu. Rev. Neurosci. 29: 259, 2006; EMBO J. 19: 4439, 2000; Curr Opin Neurol. 20: 572, 2007).

- [0047] "희석제"는 약리학적 활성이 결핍되어 있으나, 약학적으로 필요하거나 요망되는 조성물 내의 성분을 의미한다. 예를 들어, 주사되는 조성물 내의 성분은 액체, 예를 들어, 염수 용액일 수 있다.
- [0048] "DMPK"는 DMPK의 임의의 핵산 또는 단백질을 의미한다. DMPK는 CUGexp DMPK 핵산을 포함하는 돌연변이 DMPK일 수 있다.
- [0049] "DMPK 발현"은 DMPK를 엔코딩하는 유전자로부터 전사된 mRNA의 수준 또는 mRNA로부터 번역된 단백질의 수준을 의미한다. DMPK 발현은 노던(Northern) 또는 웨스턴 블롯(Western blot)과 같은 당 분야에 공지된 방법에 의해 결정될 수 있다.
- [0050] "DMPK 핵산"은 DMPK를 엔코딩하는 임의의 핵산을 의미한다. 예를 들어, 특정 구체예에서, DMPK 핵산은 DMPK를 엔코딩하는 DNA 서열, DMPK를 엔코딩하는 DNA(인트론 및 엑손을 포함하는 유전체 DNA를 포함함)로부터 전사된 RNA 서열, 및 DMPK를 엔코딩하는 mRNA 또는 프리-mRNA 서열을 포함한다. "DMPK mRNA"는 DMPK 단백질을 엔코딩하는 mRNA를 의미한다.
- [0051] "용량"은 단일 투여 또는 특정한 기간으로 제공되는 약학적 작용제의 특정량을 의미한다. 특정 구체예에서, 용량은 1, 2 또는 이 이상의 횟수의 볼루스, 정제 또는 주사로 투여될 수 있다. 예를 들어, 피하 투여가 요망되는 특정 구체예에서, 요망되는 용량은 단일 주사에 의해 용이하게 제공되지 않는 부피를 필요로 하며, 따라서 요망되는 용량을 달성하기 위해 2회 이상의 주사가 이용될 수 있다. 특정 구체예에서, 약학적 작용제는 연장된 기간에 걸쳐 또는 지속적으로 주입에 의해 투여된다. 용량은 시간, 일, 주 또는 월 당 약학적 작용제의 양으로 언급될 수 있다.
- [0052] "유효량" 또는 "치료적 유효량"은 작용제를 필요로 하는 개체에서 요망되는 생리학적 결과를 실현하기에 충분한 활성 약학적 작용제의 양을 의미한다. 유효량은 치료되는 개체의 건강 및 신체 상태, 치료되는 개체의 분류집단, 조성물의 제형, 개체의 의학적 상태의 평가, 및 다른 관련 요인에 따라 개체마다 다양할 수 있다.
- [0053] "완전히 상보적" 또는 "100% 상보적"은 첫번째 핵산의 핵염기 서열의 각각의 핵염기가 두번째 핵염기 서열 내에 상보적인 핵염기를 갖는 것을 의미한다. 특정 구체예에서, 첫번째 핵산은 안티센스 화합물이고, 표적 핵산은 두번째 핵산이다.
- [0054] "캡머"는 RNase H 절단을 지지하는 다수의 뉴클레오사이드를 갖는 내부 영역이 하나 이상의 뉴클레오사이드를 갖는 외부 영역 사이에 위치되는 키메라 안티센스 화합물을 의미하며, 상기 내부 영역을 포함하는 뉴클레오사이드는 외부 영역을 포함하는 뉴클레오사이드 또는 뉴클레오사이드들과 화학적으로 별개이다. 내부 영역은 "캡 세그먼트"로 언급될 수 있고, 외부 영역은 "윙 세그먼트"로 언급될 수 있다.
- [0055] "캡-확장된"은 1 내지 6개의 뉴클레오사이드를 갖는 5' 및 3' 왕 세그먼트 사이에 위치되고, 이에 바로 인접한 12개 이상의 연속적 2'-데옥시리보뉴클레오사이드의 캡 세그먼트를 갖는 키메라 안티센스 화합물을 의미한다.
- [0056] "하이브리드화"는 상보적 핵산 분자의 어닐링(annealing)을 의미한다. 특정 구체예에서, 상보적 핵산 분자는 안티센스 화합물 및 표적 핵산을 포함한다.
- [0057] "타입 1 근육긴장성 이영양증을 지닌 동물을 확인"은 1 근육긴장성 이영양증 장애 또는 질환을 갖는 것으로 진단된 동물을 확인하거나, 타입 1 근육긴장성 이영양증 장애 또는 질환이 발달하기 쉬운 동물을 확인하는 것을 의미한다. 예를 들어, 가족력을 갖는 개체는 타입 1 근육긴장성 이영양증 장애 또는 질환이 발달하기 쉬울 수 있다. 이러한 확인은 개체의 의학력(medical history) 및 표준 임상 시험 또는 평가를 평가하는 것을 포함하는 임의의 방법에 의해 달성될 수 있다.
- [0058] "바로 인접한"은 성분 사이에 바로 인접하여 개재 성분이 존재하지 않는 것을 의미한다.
- [0059] "개체"는 치료 또는 요법을 위해 선별된 인간 또는 비-인간 동물을 의미한다.
- [0060] "뉴클레오사이드간 결합"은 뉴클레오사이드 사이의 화학적 결합을 의미한다.
- [0061] "결합된 뉴클레오사이드"는 뉴클레오사이드간 결합에 의해 함께 결합되거나 연결되는 인접한 뉴클레오사이드를

의미한다.

- [0062] "미스매치" 또는 "비-상보적 핵염기"는 첫번째 핵산의 핵염기가 두번째 또는 표적 핵산의 상응하는 핵염기와 쌍을 형성할 수 없는 경우를 의미한다.
- [0063] "변형된 뉴클레오사이드간 결합"은 자연 발생 뉴클레오사이드간 결합(즉, 포스포다이에스터 뉴클레오사이드간 결합)으로부터의 치환 또는 임의의 변화를 의미한다.
- [0064] "변형된 핵염기"는 아데닌, 사이토신, 구아닌, 티미딘 또는 유라실이 아닌 임의의 핵염기를 의미한다. "변형되지 않은 핵염기"는 퓨린 염기 아데닌(A) 및 구아닌(G), 및 퍼리미딘 염기 티민(T), 사이토신(C) 및 유라실(U)을 의미한다.
- [0065] "변형된 뉴클레오타이드"는 변형된 당 모이어티, 변형된 뉴클레오사이드간 결합 또는 변형된 핵염기를 독립적으로 갖는 뉴클레오타이드를 의미한다. "변형된 뉴클레오사이드"는 변형된 당 모이어티 또는 변형된 핵염기를 독립적으로 갖는 뉴클레오사이드를 의미한다.
- [0066] "변형된 올리고뉴클레오타이드"는 적어도 하나의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드를 의미한다.
- [0067] "변형된 당"은 자연 당으로부터의 치환 또는 변형을 의미한다.
- [0068] "모티프"는 안티센스 화합물 내의 화학적으로 별개의 영역의 패턴을 의미한다.
- [0069] "근육긴장증"은 수의 수축 또는 전기 자극 후의 근육의 비정상적인 느린 이완을 의미한다.
- [0070] "핵 리보누클레아제"는 핵에서 발견된 리보누클레아제를 의미한다. 핵 리보누클레아제는 RNase H1 및 RNase H2를 포함하는 RNase H, 이중 가닥의 RNase drosha 및 다른 이중 가닥의 RNase를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.
- [0071] "자연 발생 뉴클레오사이드간 결합"은 3'으로부터 5'으로의 포스포다이에스터 결합을 의미한다.
- [0072] "자연 당 모이어티"는 DNA (2'-H) 또는 RNA (2'-OH)에서 발견되는 당을 의미한다.
- [0073] "핵산"은 모노머 뉴클레오타이드로 구성되는 분자를 의미한다. 핵산은 리보핵산(RNA), 데옥시리보핵산(DNA), 단일 가닥의 핵산, 이중 가닥의 핵산, 작은 간섭 리보핵산(small interfering ribonucleic acid, siRNA) 및 마이크로RNA(miRNA)를 포함한다. 핵산은 또한 단일 분자 내에 상기 성분의 조합을 포함할 수 있다.
- [0074] "핵염기"는 또 다른 핵산의 염기와 쌍을 이룰 수 있는 헤테로사이클릭 모이어티를 의미한다.
- [0075] "핵염기 서열"은 임의의 당, 결합 또는 핵염기 변형과 독립적인 연속적 핵염기의 순서를 의미한다.
- [0076] "뉴클레오사이드"는 당에 결합된 핵염기를 의미한다.
- [0077] "뉴클레오사이드 모방체(mimetic)"는, 예를 들어, 모르폴리노, 사이클로핵세닐, 사이클로헥실, 테트라하이드로페라닐, 바이사이클로 또는 트라이사이클로 당 모방체, 예를 들어, 비 푸라노스 당 유닛을 갖는 뉴클레오사이드 모방체와 같은 올리고머 화합물의 하나 이상의 위치에 당 또는 당 및 염기, 및 반드시 그러한 것은 아니지만 결합을 대체하는데 사용되는 구조를 포함한다.
- [0078] "뉴클레오타이드"는 뉴클레오사이드의 당 부분에 공유적으로 결합된 포스페이트 기를 갖는 뉴클레오사이드를 의미한다.
- [0079] "뉴클레오타이드 모방체"는, 예를 들어, 웨티드 핵산 또는 모르폴리노(모르폴리노는 $-N(H)-C(=O)-O-$ 또는 다른 비-포스포다이에스터 결합에 의해 연결됨)와 같은 올리고머 화합물의 하나 이상의 위치의 뉴클레오사이드 및 결합을 대체하기 위해 사용되는 구조를 포함한다.
- [0080] "올리고머 화합물" 또는 "올리고머"는 핵산 분자의 적어도 한 영역에 하이브리드화될 수 있는 결합된 모노머 서브유닛의 중합체를 의미한다.
- [0081] "올리고뉴클레오타이드"는 각각이 서로 독립적으로 변형되거나 변형되지 않을 수 있는 결합된 뉴클레오사이드의 중합체를 의미한다.
- [0082] "비경구 투여"는 주사 또는 주입을 통한 투여를 의미한다. 비경구 투여는 피하 투여, 정맥내 투여, 근내 투여, 동맥내 투여, 복막내 투여, 또는 두개내 투여, 예를 들어, 수막강내 또는 뇌실내 투여를 포함한다. 투여는 연

속, 또는 만성, 또는 단기, 또는 간헐적 투여일 수 있다.

[0083] "펩티드"는 아미노 결합에 의해 적어도 2개의 아미노산을 결합시킴으로써 형성된 분자를 의미한다. 펩티드는 폴리펩티드 및 단백질을 의미한다.

[0084] "약학적 조성물"은 개체로의 투여에 적합한 물질의 혼합물을 의미한다. 예를 들어, 약학적 조성물은 하나 이상의 활성제 및 멸균 수용액을 포함할 수 있다.

[0085] "약학적으로 허용되는 염"은 안티센스 화합물의 생리학적 및 약학적으로 허용되는 염, 즉, 모(parent) 올리고뉴클레오타이드의 요망되는 생물학적 활성을 보유하고, 모 올리고뉴클레오타이드에 요망되지 않는 독물학적 효과를 제공하지 않는 염을 의미한다.

[0086] "포스포로티오에이트 결합"은 포스포다이에스터 결합이 브릿지를 형성하지 않는 산소 원자 중 하나를 황 원자로 대체함으로써 변형된, 뉴클레오사이드 사이의 결합을 의미한다. 포스포로티오에이트 결합은 변형된 뉴클레오사이드간 결합이다.

[0087] "부분"은 핵산의 연속적(즉, 결합된) 핵염기의 규정된 수를 의미한다. 특정 구체예에서, 부분은 표적 핵산의 연속적 핵염기의 규정된 수이다. 특정 구체예에서, 부분은 안티센스 화합물의 연속적 핵염기의 규정된 수이다.

[0088] "CUG exp DMPK RNA를 선택적으로 감소시키는"은 정상 DMPK 대립유전자로부터의 RNA 전사물에 비한 CUGexp DMPK 대립유전자로부터의 RNA 전사물의 선택적 감소를 의미한다.

[0089] "예방하다"는 수분 내지 무기한의 기간 동안 질병, 장애 또는 질환의 발생 또는 발달을 지연시키거나 미리 방해하는 것을 의미한다. 예방은 또한 질병, 장애 또는 질환이 발달 위험을 감소시키는 것을 의미한다.

[0090] "프로드러그"는 내인성 효소 또는 다른 화합물 또는 상태의 작용에 의해 체내 또는 세포 내에서 활성 형태로 전환되는 비활성 형태로 제조되는 치료제를 의미한다.

[0091] "부작용"은 요망되는 효과가 아닌 치료에 기인하는 생리학적 반응을 의미한다. 특정 구체예에서, 부작용은 주사 부위 반응, 간 기능 시험 이상, 심장 기능 이상, 간 독성, 심장 독성, 중추신경계 이상, 근육병증 및 권태감을 포함한다. 예를 들어, 혈청에서의 증가된 아미노전이효소 수준은 간 독성 또는 간 기능 이상을 나타낼 수 있다. 예를 들어, 증가된 빌리루빈은 간 독성 또는 간 기능 이상을 나타낼 수 있다.

[0092] "단일 가닥의 올리고뉴클레오타이드"는 상보적 가닥에 하이브리드화되지 않은 올리고뉴클레오타이드를 의미한다.

[0093] "특이적으로 하이브리드화가능한"은 특이적 결합이 요망되는 조건, 즉, 생체내 검정 및 치료적 치료의 경우에 생리학적 조건하에서 요망되는 효과를 유도하기에 안티센스 올리고뉴클레오타이드와 표적 핵산 사이에 충분한 정도의 상보성을 갖지만, 비-표적 핵산에 대해서는 최소의 효과를 나타내거나 효과를 나타내지 않는 안티센스 화합물을 의미한다.

[0094] "스플라이스오패시"는 특정 조직 내의 변경된 스플라이스 생성물의 발현을 발생시키는 하나 이상의 RNA의 대안적 스플라이싱에서의 변화를 의미한다.

[0095] "피하 투여"는 피부 바로 아래의 투여를 의미한다.

[0096] "당 대용물(surrogate)"은 약간 더 광범위한 용어 "뉴클레오사이드 모방체"와 중복되지만, 이는 당 단위(푸라노스 고리)만의 대체를 나타내고자 하는 것이다. 본원에 제공된 테트라하이드로피라닐 고리는 푸라노스 당 기가 테트라하이드로피라닐 고리 시스템으로 대체된 당 대용물의 예를 예시한다.

[0097] "표적으로 하는" 또는 "표적화된"은 표적 핵산에 특이적으로 하이브리드화되고, 요망되는 효과를 유도하는 안티센스 화합물의 설계 및 선별 과정을 의미한다.

[0098] "표적 핵산", "표적 RNA" 및 "표적 RNA 전사물" 모두는 안티센스 화합물에 의해 표적화될 수 있는 핵산을 의미한다.

[0099] "표적 세그먼트"는 안티센스 화합물이 표적으로 하는 표적 핵산의 뉴클레오타이드의 서열을 의미한다. "5' 표적 부위"는 표적 세그먼트의 가장 5'의 뉴클레오타이드를 의미한다. "3' 표적 부위"는 표적 세그먼트의 가장 3'의 뉴클레오타이드를 의미한다.

[0100] "치료적 유효량"은 개체에 치료적 이점을 제공하는 작용제의 양을 의미한다.

- [0101] "치료하다"는 질병, 장애 또는 질환의 변경 또는 개선을 성취하기 위해 약학적 조성물을 투여하는 것을 의미한다.
- [0102] "타입 1 근육긴장성 이영양증" 또는 "DM1"은 DMPK에서 비-코딩 CTG 반복부의 확장에 의해 야기되는 보통염색체 우성 장애를 의미한다. 이러한 돌연변이는 확장된 CUG 반복부(CUGexp)를 함유하는 RNA의 발현이 세포 기능이상을 유도하는 과정인 RNA 우세를 발생시킨다. CUGexp 트랙은 RNA 결합 단백질과 상호작용하고, 돌연변이 전사를 이 핵 초점(nuclear foci) 내에 유지되도록 한다. 이러한 RNA의 독성은 RNA 결합 단백질의 격리 및 신호전달 경로의 활성화로부터 발생한다.
- [0103] "변형되지 않은 뉴클레오타이드"는 자연 발생 핵염기, 당 모이어티, 및 뉴클레오사이드간 결합으로 구성되는 뉴클레오타이드를 의미한다. 특정 구체예에서, 변형되지 않은 뉴클레오타이드는 RNA 뉴클레오타이드(즉, β -D-리보뉴클레오사이드) 또는 DNA 뉴클레오타이드(즉, β -D-데옥시리보뉴클레오사이드)이다.
- [0104] 특정 구체예
- [0105] 특정 구체예는 DMPK 발현을 억제하기 위한 방법, 화합물 및 조성물을 제공한다.
- [0106] 특정 구체예는 DMPK를 표적으로 하는 변형된 올리고뉴클레오타이드를 포함하는 화합물을 동물에게 투여하는 것을 포함하는 동물의 DMPK 발현을 감소시키는 방법을 제공한다.
- [0107] 특정 구체예는 DMPK를 표적으로 하는 변형된 올리고뉴클레오타이드를 포함하는 화합물을 동물에게 투여하는 것을 포함하는 동물에서 CUGexp DMPK RNA를 선택적으로 감소시키거나, 근육긴장증을 감소시키거나, 스플라이스오페시를 감소시키는 방법을 제공하며, 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드는 동물에서 CUGexp DMPK RNA를 선택적으로 감소시키거나, 근육긴장증을 감소시키거나, 스플라이스오페시를 감소시킨다.
- [0108] 특정 구체예는 병원성 전사물의 절단을 유도함으로써 RNA 우세를 중화시키는 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 투여하는 방법을 제공한다.
- [0109] 특정 구체예는 *Serca1*의 스플라이스오페시를 감소시키는 방법을 제공한다. 특정 구체예에서, 본원에 제공된 방법은 엑손 22 봉입(inclusion)을 야기시킨다. 특정 구체예에서, 교정 스플라이싱은 앞정강근, 장딴지근 및 대퇴사두근에서 발생한다.
- [0110] 특정 구체예는 *m-Titin*의 스플라이스오페시를 감소시키는 방법을 제공한다. 특정 구체예에서, 본원에 제공된 방법은 엑손 5 봉입을 야기시킨다. 특정 구체예에서, 교정 스플라이싱은 앞정강근, 장딴지근 및 대퇴사두근에서 발생한다.
- [0111] 특정 구체예는 *Cln1*의 스플라이스오페시를 감소시키는 방법을 제공한다. 특정 구체예에서, 본원에 제공된 방법은 엑손 7a 봉입을 야기시킨다. 특정 구체예에서, 교정 스플라이싱은 앞정강근, 장딴지근 및 대퇴사두근에서 발생한다.
- [0112] 특정 구체예는 *Zasp*의 스플라이스오페시를 감소시키는 방법을 제공한다. 특정 구체예에서, 본원에 제공된 방법은 엑손 11 봉입을 야기시킨다. 특정 구체예에서, 교정 스플라이싱은 앞정강근, 장딴지근 및 대퇴사두근에서 발생한다.
- [0113] 특정 구체예는, a) 타입 1 근육긴장성 이영양증을 지닌 동물을 선별하는 단계, 및 b) DMPK를 표적으로 하는 변형된 올리고뉴클레오타이드를 포함하는 치료적 유효량의 화합물을 상기 동물에게 투여하는 단계를 포함하는, 타입 1 근육긴장성 이영양증을 지닌 동물을 치료하는 방법을 제공한다. 특정 구체예에서, 동물에게 투여되는 치료적 유효량의 화합물은 동물에서 CUGexp DMPK RNA를 선택적으로 감소시키거나, 근육긴장증을 감소시키거나, 스플라이스오페시를 감소시킨다.
- [0114] 특정 구체예는 타입 1 근육긴장성 이영양증 또는 CUGexp DMPK RNA를 갖는 것으로 의심되는 피검체에 상기 CUGexp DMPK RNA의 비-반복부 영역에 상보적인 변형된 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 투여하는 단계를 포함하는 CUGexp DMPK RNA의 선택적 감소를 달성하는 방법을 제공한다. 변형된 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 상기 CUGexp DMPK RNA에 결합하는 경우 CUGexp DMPK RNA의 선택적 감소를 달성한다.
- [0115] 특정 구체예는 타입 1 근육긴장성 이영양증 또는 CUGexp DMPK RNA를 갖는 피검체를 선별하는 단계, 및 상기 CUGexp DMPK RNA의 비-반복부 영역에 상보적인 변형된 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 상기 피검체에 투여하는 단계를 포함하는 CUGexp DMPK RNA의 선택적 감소를 달성하는 방법을 제공한다. 변형된 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 상기 CUGexp DMPK RNA에 결합하는 경우 리보누클레아제 또는 핵 리보누클레아제를 활성화시킴으로

써 핵 내의 CUGexp DMPK RNA의 선택적 감소를 달성한다.

- [0116] 특정 구체예는 타입 1 근육긴장성 이영양증 또는 돌연변이 또는 CUGexp DMPK RNA를 갖는 피검체를 선별하는 단계, 및 상기 CUGexp DMPK RNA의 비-반복부 영역에 상보적인 변형된 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 상기 피검체에 전신 투여하는 단계를 포함하는 CUGexp DMPK RNA의 선택적 감소를 달성하는 방법을 제공한다. 변형된 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 상기 돌연변이 또는 CUGexp DMPK RNA에 결합하는 경우 돌연변이 또는 CUGexp DMPK RNA의 선택적 감소를 달성한다.
- [0117] 특정 구체예는 근육긴장증을 감소시킬 필요가 있는 피검체의 근육긴장증을 감소시키는 방법을 제공한다. 상기 방법은 DMPK RNA의 비-반복부 영역에 상보적인 변형된 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 피검체에 투여하는 단계를 포함하며, 상기 변형된 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 DMPK RNA에 결합하는 경우 리보누클레아제 또는 핵 리보누클레아제를 활성화시킴으로써 근육긴장증을 감소시킨다. 특정 구체예에서, 피검체는 타입 1 근육긴장성 이영양증 또는 돌연변이 DMPK RNA 또는 CUGexp DMPK RNA를 갖거나, 이를 갖는 것으로 의심된다. 특정 구체예에서, DMPK RNA는 핵 유지된다.
- [0118] 특정 구체예는 스플라이스오페시를 감소시킬 필요가 있는 피검체의 스플라이스오페시를 감소시키는 방법을 제공한다. 상기 방법은 DMPK RNA의 비-반복부 영역에 상보적인 변형된 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 피검체에 투여하는 단계를 포함하며, 상기 변형된 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 DMPK RNA에 결합하는 경우 리보누클레아제 또는 핵 리보누클레아제를 활성화시킴으로써 스플라이스오페시를 감소시킨다. 특정 구체예에서, 피검체는 타입 1 근육긴장성 이영양증 또는 핵 유지된 CUGexp DMPK RNA를 갖거나, 이를 갖는 것으로 의심된다. 특정 구체예에서, DMPK RNA는 핵 유지된다. 특정 구체예에서, 스플라이스오페시는 MBNL 의존성 스플라이스오페시이다.
- [0119] 특정 구체예에서, 상기 방법의 변형된 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 키메라 안티센스 올리고뉴클레오타이드이다. 특정 구체예에서, 상기 방법의 변형된 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 캡미이다.
- [0120] 본원에 제공된 방법의 특정 구체예에서, 투여는 피하 투여이다. 특정 구체예에서, 투여는 정맥내 투여이다.
- [0121] 특정 구체예에서, 상기 방법의 변형된 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 DMPK RNA의 비-반복부 영역 내의 비-코딩 서열을 표적으로 한다. 특정 구체예에서, 올리고뉴클레오타이드는 돌연변이 DMPK RNA의 코딩 영역, 인트론, 5'UTR 또는 3'UTR을 표적으로 한다.
- [0122] 본원에 제공된 방법의 특정 구체예에서, 핵 리보누클레아제는 RNase H1이다.
- [0123] 상기 방법의 특정 구체예에서, DMPK RNA는 근육 조직에서 감소된다. 특정 구체예에서, 돌연변이 DMPK RNA CUGexp DMPK RNA가 선택적으로 감소된다.
- [0124] 특정 구체예에서, DMPK는 유전자은행 등록번호 NM_001081560.1에 나열된 바와 같은 서열(서열번호 1로 본원에 포함됨)을 갖는다. 특정 구체예에서, DMPK는 뉴클레오타이드 18540696으로부터 18555106까지 트렁케이션된 유전자은행 등록번호 NT_011109.15에 나열된 바와 같은 서열(서열번호 2로 본원에 포함됨)을 갖는다. 특정 구체예에서, DMPK는 뉴클레오타이드 16666001로부터 16681000까지 트렁케이션된 유전자은행 등록번호 NT_039413.7에 나열된 바와 같은 서열(서열번호 3으로 본원에 포함됨)을 갖는다. 특정 구체예에서, DMPK는 유전자은행 등록번호 NM_032418.1에 나열된 바와 같은 서열(서열번호 4로 본원에 포함됨)을 갖는다. 특정 구체예에서, DMPK는 유전자은행 등록번호 AI007148.1에 나열된 바와 같은 서열(서열번호 5로 본원에 포함됨)을 갖는다. 특정 구체예에서, DMPK는 유전자은행 등록번호 AI304033.1에 나열된 바와 같은 서열(서열번호 6으로 본원에 포함됨)을 갖는다. 특정 구체예에서, DMPK는 유전자은행 등록번호 BC024150.1로 본원에 나열된 바와 같은 서열(서열번호 7로 본원에 포함됨)을 갖는다. 특정 구체예에서, DMPK는 유전자은행 등록번호 BC056615.1에 나열된 바와 같은 서열(서열번호 8로 본원에 포함됨)을 갖는다. 특정 구체예에서, DMPK는 유전자은행 등록번호 BC075715.1에 나열된 바와 같은 서열(서열번호 793으로 본원에 포함됨)을 갖는다. 특정 구체예에서, DMPK는 유전자은행 등록번호 BU519245.1에 나열된 바와 같은 서열(서열번호 794로 본원에 포함됨)을 갖는다. 특정 구체예에서, DMPK는 유전자은행 등록번호 CB247909.1에 나열된 바와 같은 서열(서열번호 795로 본원에 포함됨)을 갖는다. 특정 구체예에서, DMPK는 유전자은행 등록번호 CX208906.1에 나열된 바와 같은 서열(서열번호 796으로 본원에 포함됨)을 갖는다. 특정 구체예에서, DMPK는 유전자은행 등록번호 CX732022.1에 나열된 바와 같은 서열(서열번호 797로 본원에 포함됨)을 갖는다. 특정 구체예에서, DMPK는 유전자은행 등록번호 S60315.1에 나열된 바와 같은 서열(서열번호 798로 본원에 포함됨)을 갖는다. 특정 구체예에서, DMPK는 유전자은행 등록번호 S60316.1에 나열된 바와 같은 서열(서열번호 799로 본원에 포함됨)을 갖는다. 특정 구체예에서, DMPK는 유전자은행 등록번호

NM_001081562.1에 나열된 바와 같은 서열(서열번호 800으로 본원에 포함됨)을 갖는다. 특정 구체예에서, DMPK는 유전자은행 등록번호 NM_001100.3에 나열된 바와 같은 서열(서열번호 801로 본원에 포함됨)을 갖는다.

[0125] 특정 구체예에서, 변형된 올리고뉴클레오타이드는 서열번호 12-156, 160-770 및 774-792 중 어느 하나에 열거된 핵염기 서열 중 적어도 8개의 연속적 핵염기를 포함하는 핵염기 서열을 갖는다. 특정 구체예에서, 변형된 올리고뉴클레오타이드는 서열번호 12-156, 160-770 및 774-792 중 어느 하나에 열거된 핵염기 서열 중 적어도 9개, 적어도 10개 또는 적어도 11개의 연속적 핵염기를 포함하는 핵염기 서열을 갖는다.

[0126] 특정 구체예에서, 변형된 올리고뉴클레오타이드는 서열번호 12-156, 160-770 및 774-792 중 어느 하나에 열거된 핵염기 서열 중 적어도 12개의 연속적 핵염기를 포함하는 핵염기 서열을 갖는다. 특정 구체예에서, 변형된 올리고뉴클레오타이드는 서열번호 12-156, 160-770 및 774-792 중 어느 하나에 열거된 핵염기 서열 중 적어도 13개 또는 적어도 14개의 연속적 핵염기를 포함하는 핵염기 서열을 갖는다.

[0127] 특정 구체예에서, 변형된 올리고뉴클레오타이드는 서열번호 12-156, 160-770 및 774-792 중 어느 하나에 열거된 핵염기 서열 중 적어도 15개의 연속적 핵염기를 포함하는 핵염기 서열을 갖는다. 특정 구체예에서, 변형된 올리고뉴클레오타이드는 서열번호 12-156, 160-770 및 774-792 중 어느 하나에 열거된 핵염기 서열 중 적어도 16개 또는 적어도 17개의 연속적 핵염기를 포함하는 핵염기 서열을 갖는다.

[0128] 특정 구체예에서, 변형된 올리고뉴클레오타이드는 서열번호 12-156, 160-770 및 774-792 중 어느 하나에 열거된 핵염기 서열 중 적어도 18개의 연속적 핵염기를 포함하는 핵염기 서열을 갖는다. 특정 구체예에서, 변형된 올리고뉴클레오타이드는 서열번호 12-156, 160-770 및 774-792 중 어느 하나에 열거된 핵염기 서열 중 적어도 19개의 연속적 핵염기를 포함하는 핵염기 서열을 갖는다.

[0129] 특정 구체예에서, 본원에 제공된 변형된 올리고뉴클레오타이드는 서열번호 1:1178-1206, 2159-2182, 2174-2196, 2426-2447, 2450-2518, 2679-2704 및 2697-2725의 영역 중 어느 하나를 표적으로 한다.

[0130] 특정 구체예에서, 본원에 제공된 변형된 올리고뉴클레오타이드는 서열번호 1:178-223, 232-253, 279-299, 366-399, 519-541, 923-975, 1073-1105, 1171-1196, 1215-1246, 1263-1324, 1706-1734, 1743-1763, 1932-1979, 1981-2003, 2077-2108 및 2152-2173의 영역 중 어느 하나를 표적으로 한다.

[0131] 특정 구체예에서, 본원에 제공된 변형된 올리고뉴클레오타이드는 서열번호 2:1251-1303, 1305-1326, 1352-1372, 3762-3795, 4170-4192, 5800-5852, 6124-6149, 6168-6199, 6216-6277, 11979-12007, 12016-12036, 12993-13042, 13044-13066, 13140-13171 및 13215-13236의 영역 중 어느 하나를 표적으로 한다.

[0132] 특정 구체예에서, 동물은 인간이다.

[0133] 특정 구체예에서, 본 발명의 화합물 또는 조성물은 첫번째 작용제로 지정되고, 본 발명의 방법은 두번째 작용제를 투여하는 것을 추가로 포함한다. 특정 구체예에서, 첫번째 작용제 및 두번째 작용제는 공동 투여된다. 특정 구체예에서, 첫번째 작용제 및 두번째 작용제는 순차적으로 또는 동시에 공동 투여된다.

[0134] 특정 구체예에서, 투여는 비경구 투여를 포함한다.

[0135] 특정 구체예에서, 화합물은 단일 가닥의 변형된 올리고뉴클레오타이드이다. 특정 구체예에서, 변형된 올리고뉴클레오타이드의 핵염기 서열은 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드의 전체에 걸쳐 측정 시 서열번호 1-8 및 793-801 중 어느 하나에 적어도 95% 상보적이다. 특정 구체예에서, 변형된 올리고뉴클레오타이드의 핵염기 서열은 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드의 전체에 걸쳐 측정 시 서열번호 1-8 및 793-801 중 어느 하나에 100% 상보적이다.

[0136] 특정 구체예에서, 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드의 적어도 하나의 뉴클레오사이드간 결합은 변형된 뉴클레오사이드간 결합이다. 특정 구체예에서, 각각의 뉴클레오사이드간 결합은 포스포로티오에이트 뉴클레오사이드간 결합이다.

[0137] 특정 구체예에서, 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드의 적어도 하나의 뉴클레오사이드는 변형된 당을 포함한다. 특정 구체예에서, 적어도 하나의 변형된 당은 바이사이클릭 당이다. 특정 구체예에서, 적어도 하나의 변형된 당은 2'-0-메톡시에틸, 또는 n이 1 또는 2인 4'-(CH₂)_n-0-2' 브릿지를 포함한다.

[0138] 특정 구체예에서, 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드의 적어도 하나의 뉴클레오사이드는 변형된 핵염기를 포함한다. 특정 구체예에서, 변형된 핵염기는 5-메틸사이토신이다.

- [0139] 특정 구체예에서, 변형된 올리고뉴클레오타이드는 a) 결합된 테옥시뉴클레오사이드로 구성되는 캡 세그먼트; b) 결합된 뉴클레오사이드로 구성되는 5' 왕 세그먼트; 및 c) 결합된 뉴클레오사이드로 구성되는 3' 왕 세그먼트를 포함한다. 캡 세그먼트는 5' 왕 세그먼트와 3' 왕 세그먼트 사이에 위치되고, 각각의 왕 세그먼트의 각각의 뉴클레오사이드는 변형된 당을 포함한다.
- [0140] 특정 구체예에서, 변형된 올리고뉴클레오타이드는 a) 10개의 결합된 테옥시뉴클레오사이드로 구성되는 캡 세그먼트; b) 5개의 결합된 뉴클레오사이드로 구성되는 5' 왕 세그먼트; 및 c) 5개의 결합된 뉴클레오사이드로 구성되는 3' 왕 세그먼트를 포함한다. 캡 세그먼트는 5' 왕 세그먼트와 3' 왕 세그먼트 사이에 위치되고, 각각의 왕 세그먼트의 각각의 뉴클레오사이드는 2'-0-메톡시에틸 당을 포함하고, 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드의 각각의 뉴클레오사이드간 결합은 포스포로티오에이트 결합이고, 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드 중 각각의 사이토신은 5'-메틸사이토신이다.
- [0141] 특정 구체예에서, 변형된 올리고뉴클레오타이드는 20개의 결합된 뉴클레오사이드로 구성된다.
- [0142] 특정 구체예는 10개의 결합된 테옥시뉴클레오사이드, 5개의 결합된 뉴클레오사이드로 구성되는 5' 왕 세그먼트 및 5개의 결합된 뉴클레오사이드로 구성되는 3' 왕 세그먼트로 구성되는 캡 세그먼트를 갖는 변형된 올리고뉴클레오타이드를 포함하는 화합물을 동물에게 투여하는 것을 포함하는 동물에서 CUGexp DMPK RNA를 선택적으로 감소시키거나, 근육긴장증을 감소시키거나, 스플라이스오페시를 감소시키는 방법을 제공한다. 캡 세그먼트는 5' 왕 세그먼트와 3' 왕 세그먼트 사이에 위치되고, 각각의 왕 세그먼트의 각각의 뉴클레오사이드는 2'-0-메톡시에틸 당을 포함하고, 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드의 각각의 뉴클레오사이드간 결합은 포스포로티오에이트 결합이고, 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드 중 각각의 사이토신은 5'-메틸사이토신이다.
- [0143] 특정 구체예는 본원에 기재된 치료 방법 중 임의의 방법에서 사용하기 위한 약제의 제조에서의 본원에 기재된 바와 같은 임의의 화합물의 용도를 제공한다. 예를 들어, 특정 구체예는 타입 1 근육긴장성 이영양증을 치료하거나, 개선시키거나, 예방하기 위한 약제의 제조에서의 본원에 기재된 바와 같은 화합물의 용도를 제공한다. 특정 구체예는 DMPK의 발현을 억제하고, DMPK 관련 질병 및/또는 이의 증상을 치료하거나, 예방하거나, 지연시키거나, 개선시키기 위한 약제의 제조에서의 본원에 기재된 바와 같은 화합물의 용도를 제공한다. 특정 구체예는 동물에서 DMPK 발현을 감소시키기 위한 약제의 제조에서의 본원에 기재된 바와 같은 화합물의 용도를 제공한다. 특정 구체예는 동물에서 CUGexp DMPK를 선택적으로 감소시키거나, 근육긴장증을 감소시키거나, 스플라이스 오페시를 감소시키기 위한 약제의 제조에서의 본원에 기재된 바와 같은 화합물의 용도를 제공한다. 특정 구체예는 타입 1 근육긴장성 이영양증을 지닌 동물을 치료하기 위한 약제의 제조에서의 본원에 기재된 바와 같은 화합물의 용도를 제공한다. 특정 구체예는 근육 경직, 근육긴장증, 불능화 원위 약화(disabling distal weakness), 안면 및 턱 근육의 약화, 연하(swallowing)의 어려움, 눈꺼풀의 힘없음(안검하수증), 목 근육의 약화, 팔 및 다리 근육의 약화, 지속적인 근육 통통, 과다수면, 근육 소모, 연하곤란, 호흡기능부전, 불규칙한 심박동, 심장 근육 손상, 무감동, 인슐린 내성 및 백내장을 포함하는 DM1의 발달과 관련된 증상 및 결과를 치료하거나, 예방하거나, 지연시키거나, 개선시키기 위한 약제의 제조에서의 본원에 기재된 바와 같은 화합물의 용도를 제공한다. 특정 구체예는 병원성 전사물의 분해를 유도함으로써 RNA 우세를 중화시키는 약제의 제조에서의 본원에 기재된 바와 같은 화합물의 용도를 제공한다.
- [0144] 특정 구체예는 본원에 기재된 바와 같은 타입 1 근육긴장성 이영양증을 치료하거나, 예방하거나, 개선시키기 위한 키트를 제공하며, 상기 키트는 a) 본원에 기재된 바와 같은 화합물, 및 임의로 b) 본원에 기재된 바와 같은 추가 작용제 또는 요법을 포함한다. 키트는 타입 1 근육긴장성 이영양증을 치료하거나, 예방하거나, 개선시키기 위한 키트를 사용하기 위한 설명서 또는 라벨을 추가로 포함할 수 있다.
- [0145] 특정 구체예는 본원에 기재된 치료 방법 중 임의의 치료 방법에서 사용하기 위한 본원에 기재된 바와 같은 임의의 화합물 또는 조성물을 제공한다. 예를 들어, 특정 구체예는 DMPK의 발현을 억제하고, DMPK 관련 질병 및/또는 이의 증상을 치료하거나, 예방하거나, 지연시키거나, 개선시키기 위한 본원에 기재된 바와 같은 화합물 또는 조성물을 제공한다. 특정 구체예는 동물에서의 DMPK 발현을 감소시키는데 사용하기 위한 본원에 기재된 바와 같은 화합물 또는 조성물을 제공한다. 특정 구체예는 동물에서 CUGexp DMPK를 선택적으로 감소시키거나, 근육긴장증을 감소시키거나, 스플라이스오페시를 감소시키는데 사용하기 위한 본원에 기재된 바와 같은 화합물 또는 조성물을 제공한다. 특정 구체예는 타입 1 근육긴장성 이영양증을 지닌 동물을 치료하는데 사용하기 위한 본원에 기재된 바와 같은 화합물 또는 조성물을 제공한다. 특정 구체예는 근육 경직, 근육긴장증, 불능화 원위 약화, 안면 및 턱 근육의 약화, 연하의 어려움, 눈꺼풀의 힘없음(안검하수증), 목 근육의 약화, 팔 및 다리 근육의 약화, 지속적인 근육 통통, 과다수면, 근육 소모, 연하곤란, 호흡기능부전, 불규칙한 심박동, 심장 근육 손상, 무감동, 인슐린 내성 및 백내장을 포함하는 DM1의 발달과 관련된 증상 및 결과를 치료하거나, 예방하거나, 지연시키거나, 개선시키기 위한 약제의 제조에서의 본원에 기재된 바와 같은 화합물 또는 조성물을 제공한다.

상, 무감동, 인슐린 내성, 및 백내장을 포함하는 DM1의 발달과 관련된 증상 및 결과를 치료하거나, 예방하거나, 지연시키거나, 개선시키는데 사용하기 위한 본원에 기재된 바와 같은 화합물 또는 조성물을 제공한다. 특정 구체예에는 병원성 전사물의 절단을 유도함으로써 RNA 우세를 중화시키는데 사용하기 위한 본원에 기재된 바와 같은 화합물 또는 조성물을 제공한다. 특정 구체예에는 서열번호 12-156, 160-770 및 774-792의 핵염기 서열 중 임의의 핵염기 서열의 적어도 12개의 연속적 핵염기를 포함하는 핵염기 서열을 갖는 12 내지 30개의 결합된 뉴클레오사이드로 구성되는 변형된 올리고뉴클레오타이드를 포함하는 화합물을 제공한다.

[0146] 본원에 기재된 방법에 사용될 수 있는 다른 화합물이 또한 제공된다.

[0147] 예를 들어, 특정 구체예에는 서열번호 41, 44, 76, 109, 153, 320, 321, 322, 325, 329, 335 및 657의 핵염기 서열 중 임의의 핵염기 서열의 적어도 8, 적어도 9, 적어도 10, 적어도 11, 적어도 12, 적어도 13, 적어도 14, 적어도 15, 적어도 16, 적어도 17, 적어도 18 또는 적어도 19개의 연속적 핵염기를 포함하는 핵염기 서열을 갖는 10 내지 80, 12 내지 50, 12 내지 30, 15 내지 30, 18 내지 24, 19 내지 22, 또는 20개의 결합된 뉴클레오사이드로 구성되는 변형된 올리고뉴클레오타이드를 포함하는 화합물을 제공한다.

[0148] 특정 구체예에는 서열번호 15, 73, 77, 79, 83, 85, 130, 602, 648, 655, 674 및 680의 핵염기 서열 중 임의의 핵염기 서열의 적어도 8, 적어도 9, 적어도 10, 적어도 11, 적어도 12, 적어도 13, 적어도 14, 적어도 15, 적어도 16, 적어도 17, 적어도 18, 적어도 19개의 연속적 핵염기를 포함하는 핵염기 서열을 갖는 10 내지 80, 12 내지 50, 12 내지 30, 15 내지 30, 18 내지 24, 19 내지 22, 또는 20개의 결합된 뉴클레오사이드로 구성되는 변형된 올리고뉴클레오타이드를 포함하는 화합물을 제공한다.

[0149] 특정 구체예에는 서열번호 1의 핵염기 664-683, 773-792, 926-945, 927-946, 928-947, 931-950, 935-954, 941-960, 2089-2108, 2163-2182, 2490-2509, 2499-2518, 2676-2695, 2685-2704, 2676-2695, 2688-2707, 2697-2716, 2764-2783 및 2770-2789의 동일 길이 부분과 상보적인 적어도 8, 적어도 9, 적어도 10, 적어도 11, 적어도 12, 적어도 13, 적어도 14, 적어도 15, 적어도 16, 적어도 17, 적어도 18 또는 적어도 19개의 연속적 핵염기의 부분을 포함하는 핵염기 서열을 갖는 10 내지 80, 12 내지 50, 12 내지 30, 15 내지 30, 18 내지 24, 19 내지 22, 또는 20개의 결합된 뉴클레오사이드로 구성되는 변형된 올리고뉴클레오타이드를 포함하는 화합물을 제공하며, 상기 핵염기 서열은 서열번호 1에 상보적이다.

[0150] 특정 구체예에는 서열번호 2의 핵염기 812-831, 3629-3648, 4447-4466, 4613-4632, 5803-5822, 5804-5823, 5805-5824, 5808-5827, 5818-5837, 6794-6813, 12463-12482, 13152-13171 및 13553-13572의 동일 길이 부분에 상보적인 적어도 8, 적어도 9, 적어도 10, 적어도 11, 적어도 12, 적어도 13, 적어도 14, 적어도 15, 적어도 16, 적어도 17, 적어도 18 또는 적어도 19개 또는 이 초과의 연속적 핵염기의 부분을 포함하는 핵염기 서열을 갖는 10 내지 80, 12 내지 50, 12 내지 30, 15 내지 30, 18 내지 24, 19 내지 22, 또는 20개의 결합된 뉴클레오사이드로 구성되는 변형된 올리고뉴클레오타이드를 포함하는 화합물을 제공하며, 상기 핵염기 서열은 서열번호 2에 상보적이다.

[0151] 특정 구체예에서, 변형된 올리고뉴클레오타이드는 단일 가닥의 올리고뉴클레오타이드이다.

[0152] 특정 구체예에서, 변형된 올리고뉴클레오타이드의 핵염기 서열은 서열번호 1-8 및 793-801 중 임의의 것에 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 상보적이다.

[0153] 특정 구체예에서, 적어도 하나의 뉴클레오사이드간 결합은 변형된 뉴클레오사이드간 결합이다.

[0154] 특정 구체예에서, 각각의 뉴클레오사이드간 결합은 포스포로티오에이트 뉴클레오사이드간 결합이다.

[0155] 특정 구체예에서, 적어도 하나의 뉴클레오사이드는 변형된 당을 포함한다.

[0156] 특정 구체예에서, 적어도 하나의 변형된 당은 바이사이클릭 당이다.

[0157] 특정 구체예에서, 적어도 하나의 변형된 당은 2'-0-메톡시에틸을 포함한다.

[0158] 특정 구체예에서, 적어도 하나의 뉴클레오사이드는 변형된 핵염기를 포함한다.

[0159] 특정 구체예에서, 변형된 핵염기는 5-메틸사이토신이다.

[0160] 특정 구체예에서, 변형된 올리고뉴클레오타이드는

[0161] 결합된 데옥시뉴클레오사이드로 구성되는 캡 세그먼트;

- [0162] 결합된 뉴클레오사이드로 구성되는 5' 왕 세그먼트; 및
- [0163] 결합된 뉴클레오사이드로 구성되는 3' 왕 세그먼트를 포함하며,
- [0164] 상기 캡 세그먼트는 5' 왕 세그먼트와 3' 왕 세그먼트 사이에 위치되고, 각각의 왕 세그먼트의 각각의 뉴클레오사이드는 변형된 당을 포함한다.
- [0165] 특정 구체예에서, 변형된 올리고뉴클레오타이드는
- [0166] 10개의 결합된 데옥시뉴클레오사이드로 구성되는 캡 세그먼트;
- [0167] 5개의 결합된 뉴클레오사이드로 구성되는 5' 왕 세그먼트; 및
- [0168] 5개의 결합된 뉴클레오사이드로 구성되는 3' 왕 세그먼트를 포함하며,
- [0169] 상기 캡 세그먼트는 5' 왕 세그먼트와 3' 왕 세그먼트 사이에 위치되고, 각각의 왕 세그먼트의 각각의 뉴클레오사이드는 2'-0-메톡시에틸 당을 포함하고, 각각의 뉴클레오사이드간 결합은 포스포로티오에이트 결합이다.
- [0170] 특정 구체예에서, 변형된 올리고뉴클레오타이드는 14개의 결합된 뉴클레오사이드로 구성된다.
- [0171] 특정 구체예에서, 변형된 올리고뉴클레오타이드는 16개의 결합된 뉴클레오사이드로 구성된다.
- [0172] 특정 구체예에서, 변형된 올리고뉴클레오타이드는 20개의 결합된 뉴클레오사이드로 구성된다.
- [0173] 안티센스 화합물
- [0174] 올리고머 화합물은 올리고뉴클레오타이드, 올리고뉴클레오사이드, 올리고뉴클레오타이드 유사체, 올리고뉴클레오타이드 모방체(mimetics), 안티센스 화합물, 안티센스 올리고뉴클레오타이드 및 siRNA를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 올리고머 화합물은 표적 핵산에 대해 "안티센스"일 수 있고, 이는 수소 결합을 통해 표적 핵산에 대한 하이브리드화를 경험할 수 있는 것을 의미한다.
- [0175] 특정 구체예에서, 안티센스 화합물은 5'에서 3' 방향으로 기재하는 경우 표적화되는 표적 핵산의 표적 세그먼트의 역 상보체를 포함하는 핵염기 서열을 갖는다. 상기 특정 구체예에서, 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 5'에서 3' 방향으로 기재하는 경우 표적화되는 표적 핵산의 표적 세그먼트의 역 상보체를 포함하는 핵염기 서열을 갖는다.
- [0176] 특정 구체예에서, 본원에 기재된 바와 같은 DMPK를 표적으로 하는 안티센스 화합물은 10 내지 30개의 뉴클레오타이드 길이이다. 즉, 안티센스 화합물은 일부 구체예에서 10 내지 30개의 결합된 핵염기이다. 다른 구체예에서, 안티센스 화합물은 8 내지 80, 10 내지 80, 12 내지 30, 12 내지 50, 15 내지 30, 18 내지 24, 19 내지 22, 또는 20개의 결합된 핵염기로 구성되는 변형된 올리고뉴클레오타이드를 포함한다. 상기 특정 구체예에서, 안티센스 화합물은 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, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79 또는 80개의 결합된 핵염기 길이, 또는 상기 값 중 임의의 2개에 의해 규정되는 범위로 구성되는 변형된 올리고뉴클레오타이드를 포함한다. 특정 구체예에서, 상기 길이 중 임의의 길이의 안티센스 화합물은 본원에 기재된 예시적 안티센스 화합물 중 임의의 안티센스 화합물의 핵염기 서열의 적어도 8, 적어도 9, 적어도 10, 적어도 11, 적어도 12, 적어도 13, 적어도 14, 적어도 15, 적어도 16, 적어도 17, 적어도 18 또는 적어도 19개의 연속적 핵염기(예를 들어, 서열번호 12-156, 160-770 및 774-792 중 어느 하나에 열거된 핵염기 서열의 적어도 8개의 연속적 핵염기)를 함유한다.
- [0177] 특정 구체예에서, 안티센스 화합물은 단축되거나 트렁케이션된 변형된 올리고뉴클레오타이드를 포함한다. 단축되거나 트렁케이션된 변형된 올리고뉴클레오타이드는 5' 말단(5' 트렁케이션), 또는 대안적으로 3' 말단(3' 트렁케이션)으로부터 결실된 단일 뉴클레오사이드를 가질 수 있다. 단축되거나 트렁케이션된 올리고뉴클레오타이드는 5' 말단으로부터 결실된 2개의 뉴클레오사이드를 가질 수 있거나, 대안적으로 3' 말단으로부터 결실된 2개의 서브유닛을 가질 수 있다. 대안적으로, 결실된 뉴클레오사이드는, 예를 들어, 5'으로부터 결실된 하나의 뉴클레오사이드 및 3' 말단으로부터 결실된 하나의 뉴클레오사이드를 갖는 안티센스 화합물 중의 변형된 올리고뉴클레오타이드 전체에 걸쳐 분산될 수 있다.
- [0178] 단일한 첨가 뉴클레오사이드가 연장된 올리고뉴클레오타이드에 존재하는 경우, 첨가 뉴클레오사이드는 올리고뉴클레오타이드의 5' 또는 3' 말단에 위치될 수 있다. 2개 이상의 첨가 뉴클레오사이드가 존재하는 경우, 첨가된

뉴클레오사이드는, 예를 들어, 올리고뉴클레오타이드의 5' 말단(5' 첨가), 또는 대안적으로 3' 말단(3' 첨가)에 첨가된 2개의 뉴클레오사이드를 갖는 올리고뉴클레오타이드 중에서 서로 인접하여 존재할 수 있다. 대안적으로, 첨가된 뉴클레오사이드는, 예를 들어, 5' 말단에 첨가된 하나의 뉴클레오사이드 및 3' 말단에 첨가된 하나의 서브유닛을 갖는 올리고뉴클레오타이드 중에서 안티센스 화합물 전체에 걸쳐 분산될 수 있다.

[0179] 활성을 제거하지 않고 안티센스 올리고뉴클레오타이드와 같은 안티센스 화합물의 길이를 증가시키거나 감소시키고/시키거나 매스매치 염기를 도입시키는 것이 가능하다. 예를 들어, 문헌[Woolfet al. (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:7305-7309, 1992)]에서, 13-25개 핵염기 길이의 일련의 안티센스 올리고뉴클레오타이드가 난모세포 주입 모델에서 표적 RNA의 절단을 유도하는 능력에 대해 시험되었다. 안티센스 올리고뉴클레오타이드의 말단 근처에 8 또는 11개의 미스매치 염기를 갖는 25개 핵염기 길이의 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 미스매치를 함유하지 않은 안티센스 올리고뉴클레오타이드보다 정도는 덜하지만 표적 mRNA의 특이적 절단을 유도할 수 있었다. 유사하게, 표적 특이적 절단이 1 또는 3개의 미스매치를 갖는 것을 포함하는 13개의 핵염기 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 이용하여 달성되었다.

[0180] 문헌[Gautschi et al (J. Natl. Cancer Inst. 93:463-471, March 2001)]에서 시험관내 및 생체내에서 bcl-2 및 bcl-xL 둘 모두의 발현을 감소시키는, bcl-2 mRNA에 대해 100% 상보성을 갖고 bcl-xL mRNA에 대해 3개의 미스 매치를 갖는 올리고뉴클레오타이드의 능력이 입증되었다. 또한, 이러한 올리고뉴클레오타이드는 생체내에서 효능 있는 항-종양 활성을 나타내었다.

[0181] 문헌[Maher and Dolnick (Nuc. Acid. Res. 16:3341-3358, 1988)]에서 토끼 망상적혈구 검정에서 인간 DHFR의 번역을 억제하는 능력에 대해 일련의 텐덤(tandem)의 14개의 핵염기 안티센스 올리고뉴클레오타이드, 및 2 또는 3개의 텐덤 안티센스 올리고뉴클레오타이드의 서열로 구성되는 28 및 42개의 핵염기 안티센스 올리고뉴클레오타이드가 각각 시험되었다. 3개의 14개의 핵염기 안티센스 올리고뉴클레오타이드 각각은 단독으로 28 또는 42개의 핵염기 안티센스 올리고뉴클레오타이드보다 약한(modest) 수준에도 불구하고 번역을 억제할 수 있었다.

[0182] **안티센스 화합물 모티프**

[0183] 특정 구체예에서, DMPK 핵산을 표적으로 하는 안티센스 화합물은 억제 활성 향상, 표적 핵산에 대한 증가된 결합 친화성, 또는 생체내 누클레아제에 의한 분해에 대한 내성과 같은 특성을 안티센스 화합물에 부여하는, 패턴 또는 모티프로 배열된 화학적으로 변형된 서브유닛을 갖는다.

[0184] 키메라 안티센스 화합물은 통상적으로 누클레아제 분해에 대한 증가된 내성, 증가된 세포 흡수, 표적 핵산에 대한 증가된 결합 친화성 및/또는 증가된 억제 활성을 부여하기 위해 변형된 적어도 하나의 영역을 함유한다. 키메라 안티센스 화합물의 두번째 영역은 RNA:DNA 뷰플렉스(duplex)의 RNA 가닥을 절단하는 세포 엔도누클레아제 RNase H에 대한 기질로 임의로 작용할 수 있다.

[0185] 캡머 모티프를 갖는 안티센스 화합물이 키메라 안티센스 화합물로 간주된다. 캡머에서, RNaseH 절단을 지지하는 다수의 뉴클레오타이드를 갖는 내부 영역은 내부 영역의 뉴클레오사이드와 화학적으로 다른 다수의 뉴클레오타이드를 갖는 외부 영역 사이에 위치된다. 캡머 모티프를 갖는 안티센스 올리고뉴클레오타이드의 경우, 캡 세그먼트는 일반적으로 엔도누클레아제 절단에 대한 기질로 작용하는 한편, 윙 세그먼트는 변형된 뉴클레오사이드를 포함한다. 특정 구체예에서, 캡머의 영역은 각각의 별개의 영역을 포함하는 당 모이어티(moitiy)의 유형에 의해 구별된다. 캡머의 영역을 구별하는데 사용되는 당 모이어티의 유형은 일부 구체예에서 β -D-리보뉴클레오사이드, β -D-데옥시리보뉴클레오사이드, 2'-변형된 뉴클레오사이드(이러한 2'-변형된 뉴클레오사이드는 2'-MOE, 특히 2'-0-CH₃를 포함할 수 있음), 및 바이사이클릭 당 변형된 뉴클레오사이드(이러한 바이사이클릭 당 변형된 뉴클레오사이드는 4'-(CH₂)_n-0-2' 브릿지를 갖는 것을 포함할 수 있으며, 여기서 n=1 또는 n=2임)를 포함할 수 있다. 바람직하게는, 각각의 별개의 영역은 균일한 당 모이어티를 포함한다. 윙-캡-윙 모티프는 종종 "X-Y-Z"로 기재되며, 여기서 "X"는 5' 윙 영역의 길이이고, "Y"는 캡 영역의 길이이고, "Z"는 3' 윙 영역의 길이다. 본원에서 사용되는 바와 같은, "X-Y-Z"로 기재되는 캡머는, 캡 세그먼트가 5' 윙 세그먼트 및 3' 윙 세그먼트 각각에 바로 인접하여 위치되도록 하는 형태를 갖는다. 따라서, 5' 윙 세그먼트와 캡 세그먼트 사이, 또는 캡 세그먼트와 3' 윙 세그먼트 사이에 개재되는 뉴클레오타이드가 존재하지 않는다. 본원에 기재된 안티센스 화합물 중 임의의 안티센스 화합물은 캡머 모티프를 가질 수 있다. 일부 구체예에서, X 및 Z는 동일하고, 다른 구체예에서, 이들은 상이하다. 한 바람직한 구체예에서, Y는 8 내지 15개의 뉴클레오타이드이다. X, Y 또는 Z는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 30개 또는 이 초과의 뉴클레오타이드 중 임의의 뉴클레오타이드일 수 있다. 따라서, 캡머는, 예를 들어, 5-10-5, 4-8-4, 4-12-3,

4-12-4, 3-14-3, 2-13-5, 2-16-2, 1-18-1, 3-10-3, 2-10-2, 1-10-1, 2-8-2, 6-8-6, 5-8-5, 1-8-1 또는 2-6-2를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0186] 특정 구체예에서, "윙머(wingmer)" 모티프로서의 안티센스 화합물은 윙-캡 또는 캡-윙 형태, 즉, 캡머 형태에 대해 상기 기재된 바와 같은 X-Y 또는 Y-Z 형태를 갖는다. 따라서, 윙머 형태는, 예를 들어, 5-10, 8-4, 4-12, 12-4, 3-14, 16-2, 18-1, 10-3, 2-10, 1-10, 8-2, 2-13 또는 5-13을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0187] 특정 구체예에서, DMPK 핵산을 표적으로 하는 안티센스 화합물은 5-10-5 캡머 모티프를 갖는다.

[0188] 특정 구체예에서, DMPK 핵산을 표적으로 하는 안티센스 화합물은 캡-확장된 모티프를 갖는다.

[0189] 특정 구체예에서, 상기 캡머 또는 윙머 모티프 중 임의의 것의 안티센스 화합물은 본원에 기재된 예시적 안티센스 화합물 중 임의의 것의 핵염기 서열의 적어도 8, 적어도 9, 적어도 10, 적어도 11, 적어도 12, 적어도 13, 적어도 14, 적어도 15, 적어도 16, 적어도 17, 적어도 18 또는 적어도 19개의 연속적 핵염기(예를 들어, 서열번호 12-156, 160-770 및 774-792 중 어느 하나에 열거된 핵염기 서열 중 적어도 8개의 연속적 핵염기)를 함유한다.

표적 핵산, 표적 영역 및 뉴클레오타이드 서열

[0191] DMPK를 엔코딩하는 뉴클레오타이드 서열은, 비제한적인 예로, 유전자은행 등록번호 NM_001081560.1(서열번호 1로 본원에 포함됨), 뉴클레오타이드 18540696으로부터 18555106까지 트렁케이션된 유전자은행 등록번호 NT_011109.15(서열번호 2로 본원에 포함됨, 뉴클레오타이드 16666001로부터 16681000까지 트렁케이션된 유전자은행 등록번호 NT_039413.7(서열번호 3으로 본원에 포함됨), 유전자은행 등록번호 NM_032418.1(서열번호 4로 본원에 포함됨), 유전자은행 등록번호 AI007148.1(서열번호 5로 본원에 포함됨), 유전자은행 등록번호 AI304033.1(서열번호 6으로 본원에 포함됨), 유전자은행 등록번호 BC024150.1(서열번호 7로 본원에 포함됨), 유전자은행 등록번호 BC056615.1(서열번호 8로 본원에 포함됨), 유전자은행 등록번호 BC075715.1(서열번호 793으로 본원에 포함됨), 유전자은행 등록번호 BU519245.1(서열번호 794로 본원에 포함됨), 유전자은행 등록번호 CB247909.1(서열번호 795로 본원에 포함됨), 유전자은행 등록번호 CX208906.1(서열번호 796으로 본원에 포함됨), 유전자은행 등록번호 CX732022.1(서열번호 797로 본원에 포함됨), 유전자은행 등록번호 S60315.1(서열번호 798로 본원에 포함됨), 유전자은행 등록번호 S60316.1(서열번호 799로 본원에 포함됨), 유전자은행 등록번호 NM_001081562.1(서열번호 800로 본원에 포함됨) 및 유전자은행 등록번호 NM_001100.3(서열번호 801로 본원에 포함됨)에 나열된 바와 같은 서열을 포함한다. 본원에 포함된 실시예의 각각의 서열번호에 나열된 서열은 당 모이어티, 뉴클레오사이드간 결합, 또는 핵염기에 대한 임의의 변형과 독립적인 것이 이해된다. 이와 같이, 서열번호에 의해 규정되는 안티센스 화합물은 독립적으로 당 모이어티, 뉴클레오사이드간 결합, 또는 핵염기에 대한 하나 이상의 변형을 포함할 수 있다. 아이시스 번호(Isis Number)(Isis No)에 의해 기재된 안티센스 화합물은 핵염기 서열 및 모티프의 조합을 나타낸다.

[0192] 특정 구체예에서, 표적 영역은 표적 핵산의 구조적으로 규정된 영역이다. 예를 들어, 표적 영역은 3' UTR, 5' UTR, 엑손, 인트론, 엑손/인트론 접합부, 코딩 영역, 번역 개시 영역, 번역 종료 영역 또는 다른 규정된 핵산 영역을 포함할 수 있다. DMPK에 대해 구조적으로 규정된 영역은 NCBI와 같은 서열 데이터베이스로부터의 등록 번호에 의해 수득될 수 있고, 이러한 정보는 참조로서 본원에 포함된다. 특정 구체예에서, 표적 영역은 표적 영역 내의 하나의 표적 세그먼트의 5' 표적 부위로부터 표적 영역 내의 또 다른 표적 세그먼트의 3' 표적 부위 까지의 서열을 포함할 수 있다.

[0193] 표적화는 안티센스 화합물이 하이브리드화되어 요망되는 효과가 발생하는 적어도 하나의 표적 세그먼트의 결정을 포함한다. 특정 구체예에서, 요망되는 효과는 mRNA 표적 핵산 수준의 감소이다. 특정 구체예에서, 요망되는 효과는 표적 핵산에 의해 엔코딩되는 단백질 수준의 감소 또는 표적 핵산과 관련된 표현형 변화이다.

[0194] 표적 영역은 하나 이상의 표적 세그먼트를 함유할 수 있다. 표적 영역 내의 다수의 표적 세그먼트는 중첩될 수 있다. 대안적으로, 다수의 표적 세그먼트는 중첩되지 않을 수 있다. 특정 구체예에서, 표적 영역 내의 표적 세그먼트는 약 300개 이하의 뉴클레오타이드에 의해 분리된다. 특정 구체예에서, 표적 영역 내의 표적 세그먼트는 표적 핵산 상의 250, 200, 150, 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20 또는 10개의 뉴클레오타이드, 또는 상기 값의 임의의 2개의 값에 의해 규정된 범위인 다수의 뉴클레오타이드에 의해 분리된다. 특정 구체예에서, 표적 영역 내의 표적 세그먼트는 표적 핵산 상의 5개 이하 또는 약 5개 이하의 뉴클레오타이드에 의해 분리된다. 특정 구체예에서, 표적 세그먼트는 연속적이다. 본원에 나열된 5' 표적 부위 또는 3' 표적 부위 중 임의의 것인 시작 핵산을 갖는 범위에 의해 규정되는 표적 영역이 고려된다.

- [0195] 적합한 표적 세그먼트는 5' UTR, 코딩 영역, 3' UTR, 인트론, 엑손 또는 엑손/인트론 접합부 내에서 발견될 수 있다. 시작 코돈 또는 정지 코돈을 함유하는 표적 세그먼트가 또한 적합한 표적 세그먼트이다. 적합한 표적 세그먼트는 특별히 특정한 구조적으로 규정된 영역, 예를 들어, 시작 코돈 또는 정지 코돈을 배제할 수 있다.
- [0196] 적합한 표적 세그먼트의 결정은 유전체 전체에 걸친 다른 서열에 대한 표적 핵산의 서열의 비교를 포함할 수 있다. 예를 들어, 다양한 핵산 사이에서 유사한 영역을 확인하기 위해 BLAST 알고리즘이 사용될 수 있다. 이러한 비교는 선별된 표적 핵산이 아닌 서열(즉, 비-표적 또는 표적외(off-target) 서열)에 비특이적 방식으로 하이브리드화될 수 있는 안티센스 화합물 서열의 선별을 방지할 수 있다.
- [0197] 활성 표적 영역 내의 안티센스 화합물의 활성에서의 변화(예를 들어, 표적 핵산 수준의 감소 퍼센트에 의해 규정됨)가 존재할 수 있다. 특정 구체예에서, DMPK mRNA 수준에서의 감소는 DMPK 단백질 발현의 억제를 나타낸다. DMPK 단백질 수준의 감소는 또한 표적 mRNA 발현의 억제를 나타낸다. 추가로, 표현형 변화, 예를 들어, 근육긴장증 감소 또는 스플라이스오�패시 감소는 DMPK mRNA 및/또는 단백질 발현의 억제로 나타날 수 있다.
- [0198] 하이브리드화
- [0199] 일부 구체예에서, 하이브리드화는 본원에 개시된 안티센스 화합물과 DMPK 핵산 사이에서 발생한다. 하이브리드화의 가장 통상적인 메커니즘은 핵산 분자의 상보적 핵염기 사이의 수소 결합(예를 들어, 왓슨-크릭(Watson-Crick), 후그스틴(Hoogsteen) 또는 역(reversed) 후그스틴 수소 결합)을 포함한다.
- [0200] 하이브리드화는 다양한 조건하에서 발생할 수 있다. 엄격한 조건은 서열-의존적이고, 하이브리드화되는 핵산 분자의 특성 및 조성에 의해 결정된다.
- [0201] 서열이 표적 핵산에 특이적으로 하이브리드화되는지의 여부를 결정하는 방법은 당 분야에 널리 공지되어 있다 (Sambrooke and Russell, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3rd Ed., 2001). 특정 구체예에서, 본원에 제공된 안티센스 화합물은 DMPK 핵산과 특별히 하이브리드화 가능하다.
- [0202] 상보성
- [0203] 안티센스 화합물 및 표적 핵산은 안티센스 화합물의 충분한 수의 핵염기가 표적 핵산의 상응하는 핵염기와 수소 반응하여 요망되는 결과(예를 들어, 표적 핵산, 예를 들어, DMPK 핵산의 안티센스 억제)가 발생할 수 있는 경우에 서로 상보적이다.
- [0204] 안티센스 화합물은 개재 또는 인접 세그먼트가 하이브리드화 사건과 관련되지 않도록 하면서(예를 들어, 루프 구조, 미스매치 또는 헤어핀 구조) DMPK 핵산의 하나 이상의 세그먼트 상에 하이브리드화 될 수 있다
- [0205] 특정 구체예에서, 본원에 제공된 안티센스 화합물 또는 이의 특정된 부분은 DMPK 핵산, 표적 영역, 표적 세그먼트, 또는 이의 특정된 부분에 적어도 70%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 상보적이다. 특정 구체예에서, 안티센스 화합물은 DMPK 핵산, 표적 영역, 표적 세그먼트, 또는 이의 특정된 부분에 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 상보적이고, 이는 본원에 기재된 예시적 안티센스 화합물 중 임의의 안티센스 화합물의 핵염기 서열의 적어도 8, 적어도 9, 적어도 10, 적어도 11, 적어도 12, 적어도 13, 적어도 14, 적어도 15, 적어도 16, 적어도 17, 적어도 18 또는 적어도 19개의 연속적 핵염기(예를 들어, 서열번호 12-156, 160-770 및 774-792 중 어느 하나에 열거된 핵염기 서열 중 적어도 8개의 연속적 핵염기)를 함유한다. 표적 핵산을 갖는 안티센스 화합물의 상보성 퍼센트는 통상적인 방법을 이용하여 결정될 수 있고, 이는 안티센스 화합물의 전체에 걸쳐 측정된다.
- [0206] 예를 들어, 안티센스 화합물의 20개의 핵염기 중 18개가 표적 영역에 상보적이고, 따라서 특이적으로 하이브리드화되는 안티센스 화합물은 90 퍼센트 상보성을 나타낸다. 이러한 예에서, 나머지 비상보적인 핵염기는 상보적 핵염기에 대해 밀집되거나 산재되어 있을 수 있고, 서로 또는 상보적 핵염기에 대해 연속적일 필요는 없다. 이와 같이, 표적 핵산과 완전한 상보성의 2 영역의 측면에 존재하는 4개(네개)의 비상보적 핵염기를 갖는 18개의 핵염기 길이인 안티센스 화합물은 표적 핵산과 전체적으로 77.8%의 상보성을 가지며, 따라서 본 발명의 범위에 속한다. 안티센스 화합물과 표적 핵산의 영역의 상보성 퍼센트는 당 분야에 공지된 BLAST 프로그램(기본 국소 정렬 검색 도구) 및 PowerBLAST 프로그램을 이용하여 통상적으로 결정될 수 있다(Altschul et al., J. Mol. Biol., 1990, 215, 403-410; Zhang and Madden, Genome Res., 1997, 7, 649-656). 상동성, 서열 동일성 또는

상보성 퍼센트는, 예를 들어, 스미스 및 워터맨(Smith and Waterman)의 알고리즘(Adv. Appl. Math., 1981, 2, 482 489)을 이용하는 디플트 설정을 이용하는 Gap 프로그램(Wisconsin Sequence Analysis Package, Version 8 for Unix, Genetics Computer Group, University Research Park, Madison Wis.)에 의해 결정될 수 있다.

[0207] 특정 구체예에서, 본원에 제공된 안티센스 화합물 또는 이의 특정된 부분은 표적 핵산 또는 이의 특정된 부분에 완전히 상보적(즉, 100% 상보적)이다. 예를 들어, 안티센스 화합물은 DMPK 핵산, 또는 표적 영역, 또는 표적 세그먼트 또는 이의 표적 서열에 완전히 상보적일 수 있다. 본원에서 사용되는 바와 같은 "완전히 상보적"은 안티센스 화합물의 각각의 핵염기가 표적 핵산의 상응하는 핵염기와 정확한 염기쌍을 형성할 수 있는 것을 의미 한다. 예를 들어, 20개의 핵염기 안티센스 화합물은, 안티센스 화합물과 완전히 상보적인 표적 핵산의 상응하는 20개의 핵염기 부분이 존재하는 한 400개의 핵염기 길이인 표적 서열에 완전히 상보적이다. 완전한 상보성은 또한 첫번째 및/또는 두번째 핵산의 특정된 부분과 관련하여 사용될 수 있다. 예를 들어, 30개의 핵염기 안티센스 화합물의 20개의 핵염기 부분은 400개의 핵염기 길이인 표적 서열에 대해 "완전히 상보적"일 수 있다. 30개의 핵염기 올리고뉴클레오타이드 중 20개의 핵염기 부분은, 표적 서열이 각각의 핵염기가 안티센스 화합물의 20개의 핵염기 부분에 상보적인 상응하는 20개의 핵염기 부분을 갖는 경우에, 표적 서열에 완전히 상보적이다. 동시에, 전체 30개의 핵염기 안티센스 화합물은, 안티센스 화합물의 나머지 10개의 핵염기가 또한 표적 서열에 상보적인지의 여부에 따라 표적 서열에 완전히 상보적일 수 있다.

[0208] 비-상보적 핵염기의 위치는 안티센스 화합물의 5' 말단 또는 3' 말단에 존재할 수 있다. 대안적으로, 비-상보적 핵염기 또는 핵염기들은 안티센스 화합물의 내부 위치에 존재할 수 있다. 2개 이상의 비-상보적 핵염기가 존재하는 경우, 이들은 연속적(즉, 연결된 상태)이거나 비-연속적으로 존재할 수 있다. 일 구체예에서, 비-상보적 핵염기는 캡머 안티센스 올리고뉴클레오타이드의 왕 세그먼트에 위치된다.

[0209] 특정 구체예에서, 10, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 핵염기 길이이거나, 그 이하의 핵염기 길이인 안티센스 화합물은 표적 핵산, 예를 들어, DMPK 핵산, 또는 이의 특정된 부분에 비해 4개 이하, 3개 이하, 2개 이하 또는 1개 이하의 비-상보적 핵염기(들)를 포함한다.

[0210] 특정 구체예에서, 10, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 또는 30개의 핵염기 길이이거나, 그 이하의 핵염기 길이인 안티센스 화합물은 표적 핵산, 예를 들어, DMPK 핵산, 또는 이의 특정된 부분에 비해 6개 이하, 5개 이하, 4개 이하, 3개 이하, 2개 이하 또는 1개 이하의 비-상보적 핵염기(들)를 포함한다.

[0211] 본원에 제공된 안티센스 화합물은 또한 표적 핵산의 부분에 상보적인 것을 포함한다. 본원에서 사용되는 용어 "부분"은 표적 핵산의 영역 또는 세그먼트 내의 연속적(즉, 연결된) 핵염기의 규정된 수를 의미한다. "부분"은 또한 안티센스 화합물의 연속적 핵염기의 규정된 수를 의미한다. 특정 구체예에서, 안티센스 화합물은 표적 세그먼트의 적어도 8개의 핵염기 부분에 상보적이다. 특정 구체예에서, 안티센스 화합물은 표적 세그먼트의 적어도 10개의 핵염기 부분에 상보적이다. 특정 구체예에서, 안티센스 화합물은 표적 세그먼트의 적어도 15개의 핵염기 부분에 상보적이다. 표적 세그먼트의 적어도 8, 적어도 9, 적어도 10, 적어도 11, 적어도 12, 적어도 13, 적어도 14, 적어도 15, 적어도 16, 적어도 17, 적어도 18, 적어도 19, 적어도 20개 또는 이 초과의 핵염기 부분, 또는 상기 값의 임의의 2개의 값에 의해 규정된 범위에 상보적인 안티센스 화합물이 또한 고려된다.

[0212] 동일성

[0213] 본원에 제공된 안티센스 화합물은 또한 특정 뉴클레오타이드 서열, 서열번호, 또는 특정 Isis 번호에 의해 표시되는 화합물, 또는 이의 부분에 대한 규정된 동일성 퍼센트를 가질 수 있다. 본원에서 사용되는 바와 같은 안티센스 화합물은 이러한 안티센스 화합물이 동일한 핵염기쌍 형성 능력을 갖는 경우 본원에 개시된 서열과 동일하다. 예를 들어, 개시된 DNA 서열 내에 티미딘 대신 유라실을 함유하는 RNA는 유라실 및 티미딘이 아데닌과 쌍을 형성하므로 DNA 서열과 동일한 것으로 간주된다. 본원에 기재된 안티센스 화합물의 단축된 형태 및 연장된 형태 뿐만 아니라 본원에 제공된 안티센스 화합물과 비교하여 동일하지 않은 염기를 갖는 화합물이 또한 고려된다. 동일하지 않은 염기는 서로 인접하여 존재할 수 있거나, 안티센스 화합물 전체에 걸쳐 분산되어 있을 수 있다. 안티센스 화합물의 동일성 퍼센트는 비교되는 서열에 비해 동일한 염기쌍 형성을 갖는 염기의 수에 따라 계산된다.

[0214] 특정 구체예에서, 안티센스 화합물 또는 이의 부분은 본원에 개시된 예시적 안티센스 화합물 또는 서열번호, 또는 이의 부분 중 하나 이상과 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 동일하다.

[0215]

변형

[0216]

뉴클레오사이드는 염기-당 조합물이다. 뉴클레오사이드의 핵염기(염기로도 공지됨) 부분은 보통 헤테로사이클릭 염기 모이어티이다. 뉴클레오타이드는 뉴클레오사이드의 당 부분에 공유적으로 결합된 포스페이트 기를 추가로 포함하는 뉴클레오사이드이다. 펜토푸라노실 당을 포함하는 뉴클레오사이드에 대해, 포스페이트 기는 당의 2', 3' 또는 5' 하이드록실 모이어티에 결합될 수 있다. 올리고뉴클레오타이드는 서로 인접한 뉴클레오사이드의 공유 결합을 통해 형성되어, 선형의 중합 올리고뉴클레오타이드가 형성된다. 올리고뉴클레오타이드 구조 내에서, 포스페이트 기는 보통 올리고뉴클레오타이드의 뉴클레오사이드간 결합을 형성하는 것으로 언급된다.

[0217]

안티센스 화합물에 대한 변형은 뉴클레오사이드간 결합, 당 모이어티 또는 핵염기에 대한 치환 또는 변화를 포함한다. 요망되는 특성, 예를 들어, 향상된 세포 흡수, 핵산 표적에 대한 향상된 친화성, 뉴클레아제의 존재하에서의 증가된 안정성, 또는 증가된 억제 활성으로 인해 변형된 안티센스 화합물이 종종 자연 형태보다 선호된다.

[0218]

화학적으로 변형된 뉴클레오사이드는 또한 표적 핵산에 대한 단축되거나 트렁케이션된 안티센스 올리고뉴클레오타이드의 결합 친화성을 증가시키기 위해 사용될 수 있다. 결과로서, 상기 화학적으로 변형된 뉴클레오사이드를 갖는 보다 짧은 안티센스 화합물을 이용하여 동등한 결과가 종종 수득될 수 있다.

[0219]

변형된 뉴클레오사이드간 결합

[0220]

RNA 및 DNA의 자연 발생 뉴클레오사이드간 결합은 3'으로부터 5'으로의 포스포다이에스터 결합이다. 요망되는 특성, 예를 들어, 향상된 세포 흡수, 표적 핵산에 대한 향상된 친화성, 및 뉴클레아제의 존재하에서의 증가된 안정성으로 인해 하나 이상의 변형된, 즉, 비-자연 발생의 뉴클레오사이드간 결합을 갖는 안티센스 화합물이 종종 자연 발생 뉴클레오사이드간 결합을 갖는 안티센스 화합물보다 더 선별된다.

[0221]

변형된 뉴클레오사이드간 결합을 갖는 올리고뉴클레오타이드는 인 원자를 보유하는 뉴클레오사이드간 결합뿐만 아니라 인 원자를 갖지 않는 뉴클레오사이드간 결합을 포함한다. 대표적인 인 함유 뉴클레오사이드간 결합은 포스포다이에스터, 포스포트라이에스터, 메틸포스포네이트, 포스포라미데이트 및 포스포로티오에이트를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 인-함유 결합 및 인을 함유하지 않는 결합의 제조 방법은 널리 공지되어 있다.

[0222]

특정 구체예에서, DMPK 핵산을 표적으로 하는 안티센스 화합물은 하나 이상의 변형된 뉴클레오사이드간 결합을 포함한다. 특정 구체예에서, 변형된 뉴클레오사이드간 결합은 포스포로티오에이트 결합이다. 특정 구체예에서, 안티센스 화합물의 각각의 뉴클레오사이드간 결합은 포스포로티오에이트 뉴클레오사이드간 결합이다.

[0223]

변형된 당 모이어티

[0224]

본 발명의 안티센스 화합물은 임의로 당 기가 변형된 하나 이상의 뉴클레오사이드를 함유할 수 있다. 이러한 당 변형된 뉴클레오사이드는 향상된 뉴클레아제 안정성, 증가된 결합 친화성, 또는 안티센스 화합물에 있어서 일부 다른 유리한 생물학적 특성을 제공할 수 있다. 특정 구체예에서, 뉴클레오사이드는 화학적으로 변형된 리보푸라노스 고리 모이어티를 포함한다. 화학적으로 변형된 리보푸라노스 고리의 예는, 비제한적인 예로, 치환된 기(5' 및 2' 치환기를 포함함)의 침가, 바이사이클릭 핵산(BNA)을 형성하는 비-이중(non-geminal) 고리 원자의 브릿징(bridging), 리보실 고리 산소 원자의 S, N(R) 또는 C(R₁)(R₂)(R, R₁ 및 R₂는 각각 독립적으로 H, C₁-C₁₂ 알킬 또는 보호기임)로의 치환, 및 이의 조합을 포함한다. 화학적으로 변형된 당의 예는 2'-F-5'-메틸 치환된 뉴클레오사이드(다른 개시된 5',2'-비스 치환된 뉴클레오사이드에 대해서는 2008년 8월 21일에 공개된 PCT 국제 출원 WO 2008/101157호 참조) 또는 2'-위치에서의 추가 치환과 함께 리보실 고리 산소 원자의 S로의 치환(2005년 6월 16일에 공개된 미국 특허 출원 US2005-0130923호 참조) 또는 대안적으로 BNA의 5'-치환(2007년 11월 22일에 공개된 PCT 국제 출원 WO 2007/134181호 참조, 여기서 LNA는, 예를 들어, 5'-메틸 또는 5'-비닐기로 치환됨)을 포함한다.

[0225]

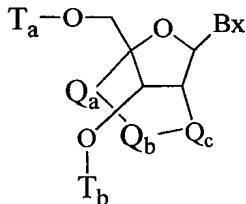
변형된 당 모이어티를 갖는 뉴클레오사이드의 예는, 비제한적인 예로, 5'-비닐, 5'-메틸(R 또는 S), 4'-S, 2'-F, 2'-OCH₃, 2'-OCH₂CH₃, 2'-OCH₂CH₂F 및 2'-O(CH₂)₂OCH₃ 치환기를 포함하는 뉴클레오사이드를 포함한다. 2' 위치에서의 치환은 또한 알릴, 아미노, 아지도, 티오, 0-알릴, 0-C₁-C₁₀ 알킬, OCF₃, OCH₂F, O(CH₂)₂SCH₃, O(CH₂)₂-O-N(R_m)(R_n), O-CH₂-C(=O)-N(R_m)(R_n) 및 O-CH₂-C(=O)-N(R₁)-(CH₂)₂-N(R_m)(R_n)으로부터 선택될 수 있고, 여기서 각각의 R₁, R_m 및 R_n은 독립적으로 H 또는 치환되거나 비치환된 C₁-C₁₀ 알킬이다.

- [0226] 바이사이클릭 핵산(BNA)의 예는, 비제한적인 예로, 4'와 2' 리보실 고리 원자 사이에 브릿지를 포함하는 뉴클레오사이드를 포함한다. 특정 구체예에서, 본원에 제공된 안티센스 화합물을 브릿지가 4'-(CH₂)-0-2'(LNA); 4'-(CH₂)-S-2'; 4'-(CH₂)₂-0-2'(ENA); 4'-CH(CH₃)-0-2' 및 4'-CH(CH₂OCH₃)-0-2'(및 이의 유사체, 2008년 7월 15일에 발행된 미국 특허 제7,399,845호 참조); 4'-C(CH₃)(CH₃)-0-2'(및 이의 유사체, 2009년 1월 8일에 WO/2009/006478호로 공개된 PCT/US2008/068922호 참조); 4'-CH₂-N(OCH₃)-2'(및 이의 유사체, 2008년 12월 11일에 WO/2008/150729호로 공개된 PCT/US2008/064591호 참조); 4'-CH₂-0-N(CH₃)-2'(2004년 9월 2일에 공개된 미국 특허 출원 US2004-0171570호 참조); R이 H, C₁-C₁₂ 알킬 또는 보호기인 4'-CH₂-N(R)-0-2'(2008년 9월 23일에 발행된 미국 특허 제7,427,672호 참조); 4'-CH₂-C(H)(CH₃)-2'(Chattopadhyaya *et al.*, *J. Org. Chem.*, 2009, 74, 118-134 참조); 및 4'-CH₂-C(=CH₂)-2'(및 이의 유사체, 2008년 12월 8일에 WO 2008/154401호로 공개된 PCT/US2008/066154호 참조)의 식 중 하나를 포함하는 하나 이상의 BNA 뉴클레오사이드를 포함한다.
- [0227] 추가 바이사이클릭 뉴클레오사이드는 공개된 문헌에 보고되어 있다(예를 들어, Srivastava *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, 2007, 129(26) 8362-8379; Frieden *et al.*, *Nucleic Acids Research*, 2003, 21, 6365-6372; Elayadi *et al.*, *Curr. Opinion Invens. Drugs*, 2001, 2, 558-561; Braasch *et al.*, *Chem. Biol.*, 2001, 8, 1-7; Orum *et al.*, *Curr. Opinion Mol. Ther.*, 2001, 3, 239-243; Wahlestedt *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 2000, 97, 5633-5638; Singh *et al.*, *Chem. Commun.*, 1998, 4, 455-456; Koshkin *et al.*, *Tetrahedron*, 1998, 54, 3607-3630; Kumar *et al.*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 1998, 8, 2219-2222; Singh *et al.*, *J. Org. Chem.*, 1998, 63, 10035-10039; 미국 특허 제7,399,845호; 제7,053,207호; 제7,034,133호; 제6,794,499호; 제6,770,748호; 제6,670,461호; 제6,525,191호; 제6,268,490호; 미국 특허 공개 번호: US2008-0039618호; US2007-0287831호; US2004-0171570호; 미국 특허 출원 제12/129,154호; 제61/099,844호; 제61/097,787호; 제61/086,231호; 제61/056,564호; 제61/026,998호; 제61/026,995호; 제60/989,574호; 국제 출원 WO 2007/134181호; WO 2005/021570호; WO 2004/106356호; WO 94/14226호; 및 PCT 국제 출원 번호: PCT/US2008/068922호; PCT/US2008/066154호; 및 PCT/US2008/064591호 참조). 상기 바이사이클릭 뉴클레오사이드 각각은, 예를 들어, α-L-리보푸라노스 및 β-D-리보푸라노스를 포함하는 하나 이상의 입체화학 당 형태를 갖도록 제조될 수 있다(WO 99/14226호로 1999년 3월 25일에 공개된 PCT 국제 출원 PCT/DK98/00393호 참조).
- [0228] 특정 구체예에서, 바이사이클릭 뉴클레오사이드는 $-[C(R_a)(R_b)]_n-$, $-C(R_a)=C(R_b)-$, $-C(R_a)=N-$, $-C(=NR_a)-$, $-C(=O)-$, $-C(=S)-$, $-O-$, $-Si(R_a)_2-$, $-S(=O)_x-$ 및 $-N(R_a)-$ 로부터 독립적으로 선택된 1 또는 1 내지 4개의 결합된 기를 포함하는 브릿지를 비제한적인 예로 포함하는 펜토푸라노실 당 모이어티의 4'와 2' 탄소 원자 사이의 브릿지를 포함하며, 상기 식에서, x는 0, 1 또는 2이고, n은 1, 2, 3 또는 4이고; 각각의 R_a 및 R_b는 독립적으로 H, 보호기, 하이드록실, C₁-C₁₂ 알킬, 치환된 C₁-C₁₂ 알킬, C₂-C₁₂ 알케닐, 치환된 C₂-C₁₂ 알케닐, C₂-C₁₂ 알키닐, 치환된 C₂-C₁₂ 알키닐, C₅-C₂₀ 아릴, 치환된 C₅-C₂₀ 아릴, 헤테로사이클 라디칼, 치환된 헤�테로사이클 라디칼, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, C₅-C₇ 알리사이클릭 라디칼, 치환된 C₅-C₇ 알리사이클릭 라디칼, 할로겐, OJ₁, NJ₁J₂, SJ₁, N₃, COOJ₁, 아실 (C(=O)-H), 치환된 아실, CN, 설포닐(S(=O)₂-J₁) 또는 설포실(S(=O)-J₁)이고, 각각의 J₁ 및 J₂는 독립적으로 H, C₁-C₁₂ 알킬, 치환된 C₁-C₁₂ 알킬, C₂-C₁₂ 알케닐, 치환된 C₂-C₁₂ 알케닐, C₂-C₁₂ 알키닐, 치환된 C₂-C₁₂ 알키닐, C₅-C₂₀ 아릴, 치환된 C₅-C₂₀ 아릴, 아실 (C(=O)-H), 치환된 아실, 헤�테로사이클 라디칼, 치환된 헤�테로사이클 라디칼, C₁-C₁₂ 아미노알킬, 치환된 C₁-C₁₂ 아미노알킬 또는 보호기이다.
- [0229] 특정 구체예에서, 바이사이클릭 당 모이어티의 브릿지는 $-[C(R_a)(R_b)]_n-$, $-[C(R_a)(R_b)]_n-O-$, $-C(R_aR_b)-N(R)-O-$ 또는 $-C(R_aR_b)-O-N(R)-$ 이다. 특정 구체예에서, 브릿지는 4'-CH₂-2', 4'-(CH₂)₂-2', 4'-(CH₂)₃-2', 4'-CH₂-0-2', 4'-(CH₂)₂-0-2', 4'-CH₂-O-N(R)-2' 및 4'-CH₂-N(R)-0-2-이고, 상기 식에서 각각의 R은 독립적으로 H, 보호기 또는 C₁-C₁₂ 알킬이다.
- [0230] 특정 구체예에서, 바이사이클릭 뉴클레오사이드는 이성질체 형태에 의해 추가로 규정된다. 예를 들어, 4'-(CH₂)-0-2' 브릿지를 포함하는 뉴클레오사이드는 α-L 형태 또는 β-D 형태로 존재할 수 있다. 이전에, α-L-메틸렌옥시 (4'-CH₂-0-2') BNA가 안티센스 활성을 나타낸 안티센스 올리고뉴클레오타이드로 통합되었었다

(Frieden *et al.*, *Nucleic Acids Research*, 2003, 21, 6365-6372).

[0231] 특정 구체예에서, 바이사이클릭 뉴클레오사이드는 4'으로부터 2'으로의 브릿지를 갖는 것을 포함하며, 여기서 상기 브릿지는, 비제한적인 예로, α -L-4'-(CH₂)-O-2', β -D-4'-(CH₂)-O-2', 4'-(CH₂)₂-O-2', 4'-CH₂-O-N(R)-2', 4'-CH₂-N(R)-O-2', 4'-CH(CH₃)-O-2', 4'-CH₂-S-2', 4'-CH₂-N(R)-2', 4'-CH₂-CH(CH₃)-2' 및 4'-(CH₂)₃-2'을 포함하며, 여기서 R은 H, 보호기 또는 C₁-C₁₂ 알킬이다.

[0232] 특정 구체예에서, 바이사이클릭 뉴클레오사이드는 하기 화학식을 갖는다:



[0233]

[0234] 상기 식에서,

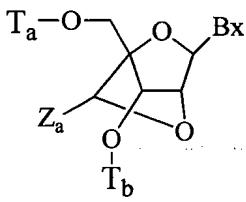
[0235] Bx는 헤테로사이클릭 염기 모이어티이고;

[0236] -Q_a-Q_b-Q_c-는 -CH₂-N(R_c)-CH₂- , -C(=O)-N(R_c)-CH₂- , -CH₂-O-N(R_c)- , -CH₂-N(R_c)-O- 또는 -N(R_c)-O-CH₂○고;

[0237] R_c는 C₁-C₁₂ 알킬 또는 아미노 보호기이고;

[0238] T_a 및 T_b는 각각 독립적으로 H, 하이드록실 보호기, 컨쥬게이트 기, 반응성 인 기, 인 모이어티 또는 지지체 매질에 대한 공유적 부착이다.

[0239] 특정 구체예에서, 바이사이클릭 뉴클레오사이드는 하기 화학식을 갖는다:



[0240]

[0241] 상기 식에서,

[0242] Bx는 헤테로사이클릭 염기 모이어티이고;

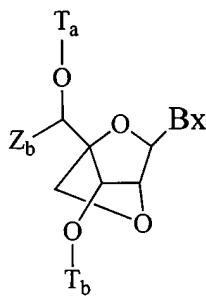
[0243] T_a 및 T_b는 각각 독립적으로 H, 하이드록실 보호기, 컨쥬게이트 기, 반응성 인 기, 인 모이어티 또는 지지체 매질에 대한 공유적 부착이고;

[0244] Z_a는 C₁-C₆ 알킬, C₂-C₆ 알케닐, C₂-C₆ 알키닐, 치환된 C₁-C₆ 알킬, 치환된 C₂-C₆ 알케닐, 치환된 C₂-C₆ 알키닐, 아실, 치환된 아실, 치환된 아미드, 티올 또는 치환된 티올이다.

[0245]

일 구체예에서, 치환된 기 각각은 독립적으로 할로젠, 옥소, 하이드록실, OJ_c, NJ_cJ_d, SJ_c, N₃, OC(=X)J_c 및 NJ_eC(=X)NJ_cJ_d로부터 선택된 치환기로 치환된 모노 또는 폴리이고, 여기서 각각의 J_c, J_d 및 J_e는 독립적으로 H, C₁-C₆ 알킬 또는 치환된 C₁-C₆ 알킬이고, X는 O 또는 NJ_c이다.

[0246] 특정 구체예에서, 바이사이클릭 뉴클레오사이드는 하기 화학식을 갖는다:



[0247]

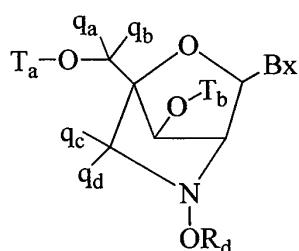
[0248] 상기 식에서,

[0249] Bx는 혼테로사이클릭 염기 모이어티이고;

[0250] T_a 및 T_b는 각각 독립적으로 H, 하이드록실 보호기, 컨쥬게이트 기, 반응성 인기, 인 모이어티 또는 지지체 매질에 대한 공유적 부착이고;

[0251] Z_b는 C₁-C₆ 알킬, C₂-C₆ 알케닐, C₂-C₆ 알카닐, 치환된 C₁-C₆ 알킬, 치환된 C₂-C₆ 알케닐, 치환된 C₂-C₆ 알카닐 또는 치환된 아실 (C(=O)-)이다.

[0252] 특정 구체예에서, 바이사이클릭 뉴클레오사이드는 하기 화학식을 갖는다:



[0253]

[0254] 상기 식에서,

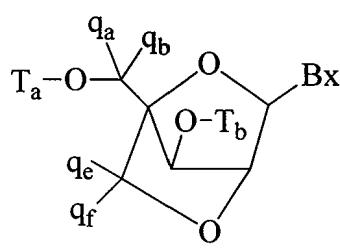
[0255] Bx는 혼테로사이클릭 염기 모이어티이고;

[0256] T_a 및 T_b는 각각 독립적으로 H, 하이드록실 보호기, 컨쥬게이트 기, 반응성 인기, 인 모이어티 또는 지지체 매질에 대한 공유적 부착이고;

[0257] R_d는 C₁-C₆ 알킬, 치환된 C₁-C₆ 알킬, C₂-C₆ 알케닐, 치환된 C₂-C₆ 알케닐, C₂-C₆ 알카닐 또는 치환된 C₂-C₆ 알카닐이고;

[0258] 각각의 q_a, q_b, q_c 및 q_d는 독립적으로 H, 할로겐, C₁-C₆ 알킬, 치환된 C₁-C₆ 알킬, C₂-C₆ 알케닐, 치환된 C₂-C₆ 알케닐, C₂-C₆ 알카닐 또는 치환된 C₂-C₆ 알카닐, C₁-C₆ 알콕실, 치환된 C₁-C₆ 알콕실, 아실, 치환된 아실, C₁-C₆ 아미노알킬 또는 치환된 C₁-C₆ 아미노알킬이다.

[0259] 특정 구체예에서, 바이사이클릭 뉴클레오사이드는 하기 화학식을 갖는다:



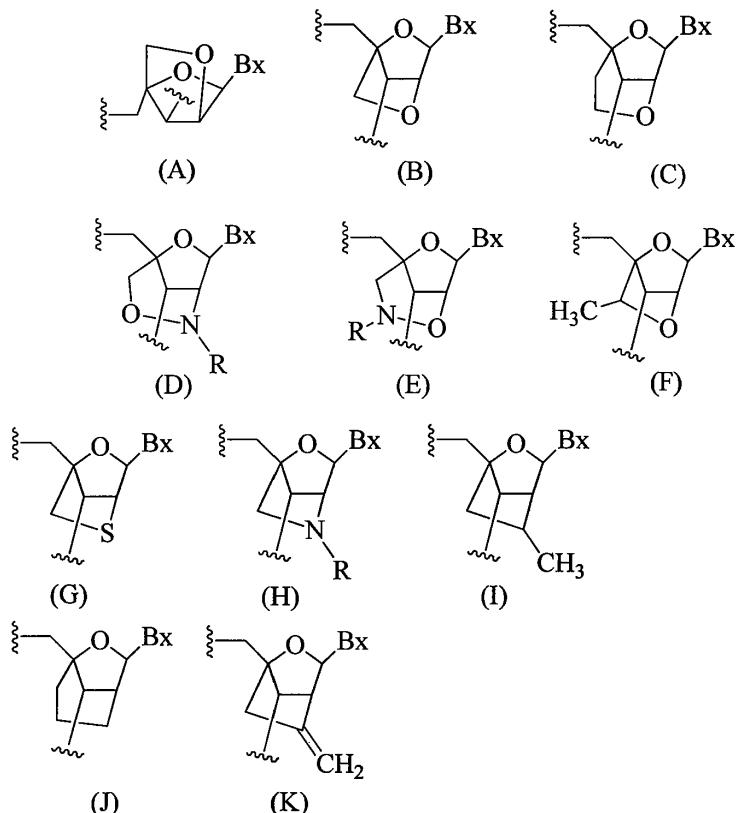
[0260]

[0261] 상기 식에서,

- [0262] Bx는 혼테로사이클릭 염기 모이어티이고;
- [0263] T_a 및 T_b 는 각각 독립적으로 H, 하이드록실 보호기, 컨쥬케이트 기, 반응성 인기, 인 모이어티 또는 지지체 매질에 대한 공유적 부착이고;
- [0264] q_a , q_b , q_e 및 q_f 는 각각 독립적으로 수소, 할로겐, C_1-C_{12} 알킬, 치환된 C_1-C_{12} 알킬, C_2-C_{12} 알케닐, 치환된 C_2-C_{12} 알케닐, C_2-C_{12} 알키닐, 치환된 C_2-C_{12} 알키닐, C_1-C_{12} 알콕시, 치환된 C_1-C_{12} 알콕시, OJ_j , SJ_j , SOJ_j , SO_2J_j , NJ_jJ_k , N_3 , CN , $C(=O)OJ_j$, $C(=O)NJ_jJ_k$, $C(=O)J_j$, $O-C(=O)NJ_jJ_k$, $N(H)C(=NH)NJ_jJ_k$, $N(H)C(=O)NJ_jJ_k$ 또는 $N(H)C(=S)NJ_jJ_k$ 이거나;
- [0265] q_e 및 q_f 는 함께 $=C(q_g)(q_h)$ 이고;
- [0266] q_g 및 q_h 는 각각 독립적으로 H, 할로겐, C_1-C_{12} 알킬 또는 치환된 C_1-C_{12} 알킬이다.
- [0267] 올리고머화, 및 핵산 인지 특성과 함께 4'- CH_2-0-2' 브릿지를 갖는 아데닌, 사이토신, 구아닌, 5-메틸-사이토신, 티민 및 유라실 바이사이클릭 뉴클레오사이드의 합성 및 제조가 기재되어 있다(Koshkin et al., *Tetrahedron*, 1998, 54, 3607-3630). 바이사이클릭 뉴클레오사이드의 합성이 또한 WO 98/39352호 및 WO 99/14226호에 기재되어 있다.
- [0268] 4'- CH_2-0-2' 및 4'- CH_2-S-2' 와 같은 4'으로부터 2'으로의 브릿지 형성 기를 갖는 다양한 바이사이클릭 뉴클레오사이드의 유사체가 또한 제조되었다(Kumar et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 1998, 8, 2219-2222). 핵산 중합효소에 대한 기질로 사용하기 위한 바이사이클릭 뉴클레오사이드를 포함하는 올리고데옥시리보뉴클레오타이드 듀플렉스의 제조가 또한 기재되었다(Wengel et al., WO 99/14226). 더욱이, 신규한 형태적으로 제한된 고-친화성의 올리고뉴클레오타이드 유사체인 2'-아미노-BNA의 합성이 또한 당 분야에서 기재되었다(Singh et al., *J Org. Chem.*, 1998, 63, 10035-10039). 또한, 2'-아미노- 및 2'-메틸아미노-BNA가 제조되었고, 상보적 RNA 및 DNA 가닥과의 듀플렉스의 열 안정성이 이전에 보고되었다.
- [0269] 특정 구체예에서, 바이사이클릭 뉴클레오사이드는 하기 화학식을 갖는다:
-
- [0270] 상기 식에서,
- [0271] Bx는 혼테로사이클릭 염기 모이어티이고;
- [0272] T_a 및 T_b 는 각각 독립적으로 H, 하이드록실 보호기, 컨쥬케이트 기, 반응성 인기, 인 모이어티 또는 지지체 매질에 대한 공유적 부착이고;
- [0273] 각각의 q_i , q_j , q_k 및 q_l 은 독립적으로 H, 할로겐, C_1-C_{12} 알킬, 치환된 C_1-C_{12} 알킬, C_2-C_{12} 알케닐, 치환된 C_2-C_{12} 알케닐, C_2-C_{12} 알키닐, 치환된 C_2-C_{12} 알키닐, C_1-C_{12} 알콕실, 치환된 C_1-C_{12} 알콕실, OJ_j , SJ_j , SOJ_j , SO_2J_j , NJ_jJ_k , N_3 , CN , $C(=O)OJ_j$, $C(=O)NJ_jJ_k$, $C(=O)J_j$, $O-C(=O)NJ_jJ_k$, $N(H)C(=NH)NJ_jJ_k$, $N(H)C(=O)NJ_jJ_k$ 또는 $N(H)C(=S)NJ_jJ_k$ 이거나;
- [0274] q_i 및 q_j 또는 q_l 및 q_k 는 함께 $=C(q_g)(q_h)$ 이고, 여기서 q_g 및 q_h 는 각각 독립적으로 H, 할로겐, C_1-C_{12} 알킬 또는 치환된 C_1-C_{12} 알킬이다.
- [0275] 4'-(CH_2)₃-2' 브릿지 및 알케닐 유사체 브릿지 4'- $CH=CH-CH_2-2'$ 를 갖는 하나의 카보사이클릭 바이사이클릭 뉴클레오사이드가 기재되었다(Friar et al., *Nucleic Acids Research*, 1997, 25(22), 4429-4443 및 Albaek et al.,

J. Org. Chem., 2006, 71, 7731-7740). 올리고머화 및 생화학적 연구와 함께 카보사이클릭 바이사이클릭 뉴클레오사이드의 합성 및 제조가 또한 기재되었다(Srivastava *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* 2007, 129(26), 8362-8379).

[0277] 특정 구체예에서, 바이사이클릭 뉴클레오사이드는 하기 도시되는 바와 같은 (A) α -L-메틸렌옥시 ($4'-\text{CH}_2-\text{O}-2'$) BNA, (B) β -D-메틸렌옥시 ($4'-\text{CH}_2-\text{O}-2'$) BNA, (C) 에틸렌옥시 ($4'-(\text{CH}_2)_2-\text{O}-2'$) BNA, (D) 아미노옥시 ($4'-\text{CH}_2-\text{O}-\text{N}(\text{R})-\text{2}'$) BNA, (E) 옥시아미노 ($4'-\text{CH}_2-\text{N}(\text{R})-\text{O}-2'$) BNA, (F) 메틸(메틸렌옥시) ($4'-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{O}-2'$) BNA (구속 에틸(constrained ethyl) 또는 cEt로도 언급됨), (G) 메틸렌-티오 ($4'-\text{CH}_2-\text{S}-2'$) BNA, (H) 메틸렌-아미노 ($4'-\text{CH}_2-\text{N}(\text{R})-\text{2}'$) BNA, (I) 메틸 카보사이클릭 ($4'-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{CH}_3)-2'$) BNA, (J) 프로필렌 카보사이클릭 ($4'-(\text{CH}_2)_3-2'$) BNA 및 (K) 비닐 BNA를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

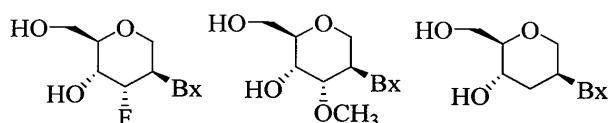


[0278]

[0279] 상기 식에서, Bx는 염기 모이어티이고, R은 독립적으로 H, 보호기, C_1-C_6 알킬 또는 C_1-C_6 알콕시이다.

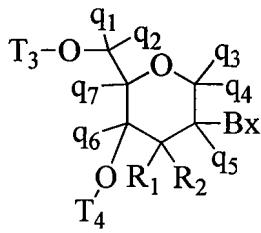
[0280]

특정 구체예에서, 뉴클레오사이드는 리보실 고리의 당 대용물(surrogate)로의 치환에 의해 변형된다. 이러한 변형은 리보실 고리의 대용물 고리 시스템(때때로 DNA 유사체로 언급됨), 예를 들어, 모르폴리노 고리, 사이클로헥세닐 고리, 사이클로헥실 고리 또는 테트라하이드로파라닐 고리, 예를 들어, 하기 화학식 중 하나를 갖는 것을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다:



[0281]

[0282] 특정 구체예에서, 하기 화학식을 갖는 당 대용물이 선택된다:



[0283]

[0284] 상기 식에서,

[0285] Bx는 헤테로사이클릭 염기 모이어티이고;

[0286] T₃ 및 T₄는 각각 독립적으로 올리고며 화합물에 테트라하이드로피란 뉴클레오사이드 유사체를 연결시키는 뉴클레오사이드간 결합기이거나, T₃ 및 T₄ 중 하나는 올리고며 화합물 또는 올리고뉴클레오타이드에 테트라하이드로피란 뉴클레오사이드 유사체를 연결시키는 뉴클레오사이드간 결합기이고, T₃ 및 T₄ 중 나머지는 H, 하이드록실 보호기, 결합된 컨쥬게이트 기 또는 5' 또는 3'-말단 기이고;

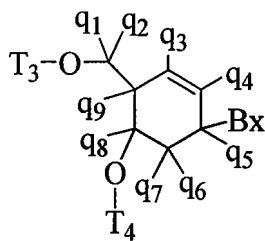
[0287] q₁, q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ 및 q₇은 각각 독립적으로 H, C₁-C₆ 알킬, 치환된 C₁-C₆ 알킬, C₂-C₆ 알케닐, 치환된 C₂-C₆ 알케닐, C₂-C₆ 알키닐 또는 치환된 C₂-C₆ 알키닐이고;

[0288] R₁ 및 R₂ 중 하나는 수소이고, 나머지는 할로겐, 치환되거나 비치환된 알콕시, NJ₁J₂, SJ₁, N₃, OC(=X)J₁, OC(=X)NJ₁J₂, NJ₃C(=X)NJ₁J₂ 및 CN으로부터 선택되고, 여기서 X는 O, S 또는 NJ₁이고, 각각의 J₁, J₂ 및 J₃는 독립적으로 H 또는 C₁-C₆ 알킬이다.

[0289] 특정 구체예에서, q₁, q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ 및 q₇은 각각 H이다. 특정 구체예에서, q₁, q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ 및 q₇ 중 적어도 하나는 H가 아니다. 특정 구체예에서, q₁, q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ 및 q₇ 중 적어도 하나는 메틸이다. 특정 구체예에서, THP 뉴클레오사이드가 제공되고, 여기서 R₁ 및 R₂ 중 하나는 F이다. 특정 구체예에서, R₁은 플루오로이고, R₂는 H이고; R₁은 메톡시이고, R₂는 H이고, R₁은 메톡시에톡시이고, R₂는 H이다.

[0290] 이러한 당 대용물은 핵시톨 핵산(HNA), 알트리톨 핵산(ANA) 및 만니톨 핵산(MNA)으로 당 분야에서 언급되는 것을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다(Leumann, C. J., *Bioorg. & Med. Chem.*, 2002, 10, 841-854 참조).

[0291] 특정 구체예에서, 안티센스 화합물은 자연 발생 뉴클레오사이드 중 펜토푸라노실 잔기 대신에 6-원 사이클로헥세닐을 갖는 뉴클레오사이드인 하나 이상의 변형된 사이클로헥세닐 뉴클레오사이드를 포함한다. 변형된 사이클로헥세닐 뉴클레오사이드는 당 분야에 기재된 것을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다(예를 들어, 통상적으로 소유된 2010년 4월 10일에 공개된 PCT 출원 WO 2010/036696호, Robeyns et al., *J. Am. Chem. Soc.*, 2008, 130(6), 1979-1984; Horvath et al., *Tetrahedron Letters*, 2007, 48, 3621-3623; Nauwelaerts et al., *J. Am. Chem. Soc.*, 2007, 129(30), 9340-9348; Gu et al., *Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids*, 2005, 24(5-7), 993-998; Nauwelaerts et al., *Nucleic Acids Research*, 2005, 33(8), 2452-2463; Robeyns et al., *Acta Crystallographica Section F: Structural Biology and Crystallization Communications*, 2005, F61(6), 585-586; Gu et al., *Tetrahedron*, 2004, 60(9), 2111-2123; Gu et al., *Oligonucleotides*, 2003, 13(6), 479-489; Wang et al., *J. Org. Chem.*, 2003, 68, 4499-4505; Verbeure et al., *Nucleic Acids Research*, 2001, 29(24), 4941-4947; Wang et al., *J. Org. Chem.*, 2001, 66, 8478-82; Wang et al., *Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids*, 2001, 20(4-7), 785-788; Wang et al., *J. Am. Chem.*, 2000, 122, 8595-8602; 공개된 PCT 출원, WO 06/047842호; 및 공개된 PCT 출원 WO 01/049687호를 참조하라; 상기 문헌 각각은 전체내용이 본원에 참조로서 포함됨). 특정한 변형된 사이클로헥세닐 뉴클레오사이드는 하기 화학식을 갖는다:



[0292]

상기 식에서,

[0293]

Bx는 헤테로사이클릭 염기 모이어티이고;

[0294]

T₃ 및 T₄는 각각 독립적으로 안티센스 화합물에 사이클로헥세닐 뉴클레오사이드 유사체를 연결시키는 뉴클레오사이드간 결합기이거나, T₃ 및 T₄ 중 하나는 안티센스 화합물에 테트라하이드로파란 뉴클레오사이드 유사체를 연결시키는 뉴클레오사이드간 결합기이고, T₃ 및 T₄ 중 나머지는 H, 하이드록실 보호기, 결합된 컨쥬게이트 기 또는 5' 또는 3'-말단 기이고; q₁, q₂, q₃, q₄, q₅, q₆, q₇, q₈ 및 q₉ 각각은 독립적으로 H, C₁-C₆ 알킬, 치환된 C₁-C₆ 알킬, C₂-C₆ 알케닐, 치환된 C₂-C₆ 알케닐, C₂-C₆ 알키닐, 치환된 C₂-C₆ 알키닐 또는 다른 당 치환기이다.

[0295]

안티센스 화합물로의 통합을 위해 뉴클레오사이드를 변형시키는데 사용될 수 있는 많은 다른 바이사이클릭 및 트라이사이클릭 당 대용물 고리 시스템이 또한 당 분야에 공지되어 있다(예를 들어, 종설: Leumann, Christian J., *Bioorg. & Med. Chem.*, 2002, 10, 841-854 참조). 이러한 고리 시스템은 활성을 향상시키기 위해 다양한 추가 치환을 겪을 수 있다.

[0296]

변형된 당의 제조 방법은 당업자에게 널리 공지되어 있다. 이러한 변형된 당의 제조를 교시하는 일부 대표적 미국 특허는 미국 특허 제4,981,957호; 제5,118,800호; 제5,319,080호; 제5,359,044호; 제5,393,878호; 제5,446,137호; 제5,466,786호; 제5,514,785호; 제5,519,134호; 제5,567,811호; 제5,576,427호; 제5,591,722호; 제5,597,909호; 제5,610,300호; 제5,627,053호; 제5,639,873호; 제5,646,265호; 제5,670,633호; 제5,700,920호; 제5,792,847호 및 제6,600,032호, 및 2005년 6월 2일에 출원되고, 2005년 12월 22일에 WO 2005/121371호로 공개된 국제 출원 PCT/US2005/019219호를 포함하나, 이에 제한되지는 않고, 상기 특허 각각은 전체내용이 참조로서 본원에 포함된다.

[0297]

변형된 당 모이어티를 갖는 뉴클레오타이드에서, 핵염기 모이어티(자연, 변형 또는 이의 조합물)가 적절한 핵산 표적과의 하이브리드화를 위해 유지된다.

[0298]

특정 구체예에서, DMPK 핵산을 표적으로 하는 안티센스 화합물은 변형된 당 모이어티를 갖는 하나 이상의 뉴클레오타이드를 포함한다. 특정 구체예에서, 변형된 당 모이어티는 2'-MOE이다. 특정 구체예에서, 2'-MOE 변형된 뉴클레오타이드는 껍데 모티프 내에 배열된다.

[0299]

변형된 핵염기

[0300]

핵염기(또는 염기) 변형 또는 치환은 자연 발생 또는 합성의 변형되지 않은 핵염기와 구조적으로 구별가능하나, 기능적으로는 상호 교환된다. 자연 및 변형된 핵염기 둘 모두는 수소 결합에 관여할 수 있다. 이러한 핵염기 변형은 안티센스 화합물에 뉴클레아제 안정성, 결합 친화성 또는 일부 다른 유리한 생물학적 특성을 제공할 수 있다. 변형된 핵염기는 합성 및 자연 핵염기, 예를 들어, 5-메틸사이토신(5-me-C)을 포함한다. 5-메틸사이토신 치환을 포함하는 특정 핵염기 치환이 표적 핵산에 대한 안티센스 화합물의 결합 친화성을 증가시키는데 특히 유용하다. 예를 들어, 5-메틸사이토신 치환은 핵산 듀플렉스 안정성을 0.6-1.2°C까지 증가시키는 것으로 밝혀졌다(Sanghvi, Y.S., Crooke, S.T. and Lebleu, B., eds., *Antisense Research and Applications*, CRC Press, Boca Raton, 1993, pp. 276-278).

[0301]

추가의 변형되지 않은 핵염기는 5-하이드록시메틸 사이토신, 잔틴, 하이포잔틴, 2-아미노아데닌, 6-메틸 및 아데닌 및 구아닌의 다른 알킬 유도체, 2-프로필 및 아데닌 및 구아닌의 다른 알킬 유도체, 2-티오유라실, 2-티오타이민 및 2-티오사이토신, 5-할로유라실 및 사이토신, 5-프로피닐(-C≡C-CH₃) 유라실 및 사이토신 및 피리미딘 염기의 다른 알키닐 유도체, 6-아조 유라실, 사이토신 및 타이민, 5-유라실(슈도유라실), 4-티오유라실, 8-할로, 8-아미노, 8-티올, 8-티오알킬, 8-하이드록실 및 다른 8-치환된 아데닌 및 구아닌, 5-할로, 특히 5-브로모, 5-트리플루오로메틸 및 다른 5-치환된 유라실 및 사이토신, 7-메틸구아닌 및 7-메틸아데닌, 2-F-아데닌,

2-아미노-아데닌, 8-아자구아닌 및 8-아자아데닌, 7-데아자구아닌 및 7-데아자아데닌 및 3-데아자아데닌을 포함한다.

[0303] 헤테로사이클릭 염기 모이어티는 또한 퓨린 또는 퍼리미딘 염기가 다른 헤�테로사이클, 예를 들어, 7-데아자-아데닌, 7-데아자구아노신, 2-아미노페리딘 및 2-페리돈으로 대체된 것을 포함할 수 있다. 안티센스 화합물의 결합 친화성을 증가시키는데 특히 유용한 핵염기는 5-치환된 퍼리미딘, 6-아자페리미딘 및 N-2, N-6 및 O-6 치환된 퓨린, 예를 들어, 2-아미노프로필아데닌, 5-프로파닐유라실 및 5-프로파닐사이토신을 포함한다.

[0304] 특정 구체예에서, DMPK 핵산을 표적으로 하는 안티센스 화합물은 하나 이상의 변형된 핵염기를 포함한다. 특정 구체예에서, DMPK 핵산을 표적으로 하는 캡-확장된 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 하나 이상의 변형된 핵염기를 포함한다. 특정 구체예에서, 변형된 핵염기는 5-메틸사이토신이다. 특정 구체예에서, 각각의 사이토신은 5-메틸사이토신이다.

약학적 조성물을 제형화시키기 위한 조성물 및 방법

[0306] 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 약학적 조성물 또는 제형의 제조를 위해 약학적으로 허용되는 활성 또는 비활성 물질과 혼합될 수 있다. 약학적 조성물의 제형화를 위한 조성 및 방법은 투여 경로, 질병의 정도 또는 투여되는 용량을 포함하나 이에 제한되지는 않는 다수의 기준에 좌우된다.

[0307] DMPK 핵산을 표적으로 하는 안티센스 화합물이 안티센스 화합물과 적합한 약학적으로 허용되는 희석제 또는 담체를 조합시킴으로써 약학적 조성물에서 이용될 수 있다. 약학적으로 허용되는 희석제는 포스페이트-완충 염수(PBS)를 포함한다. PBS는 비경구로 전달되는 조성물에서 사용하기에 적합한 희석제이다. 따라서, 일 구체예에서, 본원에 기재된 방법에서 DMPK 핵산을 표적으로 하는 안티센스 화합물 및 약학적으로 허용되는 희석제를 포함하는 약학적 조성물이 사용된다. 특정 구체예에서, 약학적으로 허용되는 희석제는 PBS이다. 특정 구체예에서, 인티센스 화합물은 안티센스 올리고뉴클레오타이드이다.

[0308] 안티센스 화합물을 포함하는 약학적 조성물은 인간을 포함하는 동물에게 투여시 생물학적으로 활성인 대사물 또는 이의 잔여물을 (직접 또는 간접적으로) 제공할 수 있는 임의의 약학적으로 허용되는 염, 에스터 또는 상기 에스터의 염, 또는 임의의 다른 올리고뉴클레오타이드를 포함한다. 따라서, 예를 들어, 본 발명의 개시는 또한 안티센스 화합물의 약학적으로 허용되는 염, 프로드러그, 상기 프로드러그의 약학적으로 허용되는 염, 및 다른 생물학적 동등물(bioequivalent)에 관한 것이다. 적합한 약학적으로 허용되는 염은 소듐 및 포타슘 염을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0309] 프로드러그는 체내에서 내인성 누클레아제에 의해 절단되어 활성 안티센스 화합물을 형성시키는 안티센스 화합물의 한 말단 또는 양 말단에 추가 뉴클레오사이드의 통합을 포함할 수 있다.

컨쥬게이션된 안티센스 화합물

[0311] 안티센스 화합물은 발생되는 안티센스 올리고뉴클레오타이드의 활성, 세포 분포 또는 세포 흡수를 향상시키는 하나 이상의 모이어티 또는 컨쥬게이트에 공유적으로 결합될 수 있다. 통상적인 컨쥬게이트 기는 콜레스테롤 모이어티 및 지질 모이어티를 포함한다. 추가 컨쥬게이트 기는 탄수화물, 인지질, 비오틴, 페나진, 폴레이트, 폐난트리딘, 안트라퀴논, 아크리딘, 플루오레세인, 로다민, 쿠마린, 및 염료를 포함한다.

[0312] 안티센스 화합물은 또한, 예를 들어, 누클레아제 안정성과 같은 특성을 향상시키기 위해 안티센스 화합물의 한 말단 또는 양 말단에 일반적으로 부착되는 하나 이상의 안정화 기를 갖도록 변형될 수 있다. 캡 구조가 안정화기에 포함된다. 이러한 말단 변형은 말단 핵산을 갖는 안티센스 화합물을 엑소누클레아제 분해로부터 보호하고, 이는 또한 세포 내에서의 전달 및/또는 국소화를 도울 수 있다. 캡은 5'-말단(5'-캡) 또는 3'-말단(3'-캡)에 존재할 수 있거나, 양 말단에 존재할 수 있다. 캡 구조는 당 분야에 널리 공지되어 있고, 이는, 예를 들어, 역위된 데옥시 어베이직(abasic) 캡을 포함한다. 추가로, 누클레아제 안정성을 제공하기 위해 안티센스 화합물의 한 말단 또는 양 말단을 캡핑시키는데 사용될 수 있는 3' 및 5'-안정화 기는 2003년 1월 16일에 공개된 WO 03/004602호에 개시된 것을 포함한다.

세포 배양 및 안티센스 화합물 처리

[0314] DMPK 핵산의 수준, 활성 또는 발현에 대한 안티센스 화합물의 효과는 다양한 세포 유형에서 시험관내 시험될 수 있다. 상기 분석에 사용되는 세포 유형은 시판 업체(예를 들어, American Type Culture Collection, 버지니아 주의 머내서스시에 소재; Zen-Bio, Inc., 노스캐롤라이나주의 리서치 트라이앵글 파크에 소재; Clonetics Corporation, 매릴랜드주의 워커스빌시에 소재)로부터 이용가능하고, 세포는 상업적으로 이용가능한 시약(예를

들어, Invitrogen Life Technologies, 캘리포니아주의 칼스배드시에 소재)을 이용하여 업체의 설명서에 따라 배양된다. 예시적 세포 유형은 HepG2 세포, Hep3B 세포, 일차 간세포, A549 세포, GM04281 섬유모세포 및 LLC-MK2 세포를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0315] 안티센스 올리고뉴클레오타이드의 시험관내 시험

[0316] 다른 안티센스 화합물을 이용한 치료를 위해 적절히 변형될 수 있는, 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 이용한 세포의 처리를 위한 방법이 본원에 기재된다.

[0317] 일반적으로, 세포가 배양 중에 약 60 내지 80% 컨플루언스(confluence)에 도달하는 경우에 세포는 안티센스 올리고뉴클레오타이드로 처리된다.

[0318] 배양된 세포로 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 도입시키는데 통상적으로 사용되는 한 시약은 양이온성 지질 트랜스펙션 시약 LIPOFECTIN(등록상표)(Invitrogen, 캘리포니아주의 칼스배드시에 소재)을 포함한다. 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 100nM 안티센스 올리고뉴클레오타이드 당 통상적으로 2 내지 12 ug/mL 범위인 안티센스 올리고뉴클레오타이드의 요망되는 최종 농도 및 LIPOFECTIN(등록상표) 농도를 달성하기 위해 OPTI-MEM(등록상표) 1 중 LIPOFECTIN(등록상표)(Invitrogen, 캘리포니아주의 칼스배드시에 소재)과 혼합된다.

[0319] 배양된 세포로 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 도입시키기 위해 사용되는 또 다른 시약은 LIPOFECTAMINE 2000(등록상표)(Invitrogen, 캘리포니아주의 칼스배드시에 소재)을 포함한다. 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 OPTI-MEM(등록상표) 1 감소 혈청 배지 중 LIPOFECTAMINE 2000(등록상표)(Invitrogen, 캘리포니아주의 칼스배드시에 소재)과 혼합되어 100nM 안티센스 올리고뉴클레오타이드 당 통상적으로 2 내지 12 ug/mL 범위의 안티센스 올리고뉴클레오타이드의 요망되는 농도 및 LIPOFECTAMINE(등록상표) 농도가 달성된다.

[0320] 배양된 세포로 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 도입시키는데 사용되는 또 다른 시약은 Cytofectin(등록상표)(Invitrogen, 캘리포니아주의 칼스배드시에 소재)을 포함한다. 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 OPTI-MEM(등록상표) 1 감소 혈청 배지 중 Cytofectin(등록상표)(Invitrogen, 캘리포니아주의 칼스배드시에 소재)과 혼합되어 100nM 안티센스 올리고뉴클레오타이드 당 통상적으로 2 내지 12 ug/mL 범위의 안티센스 올리고뉴클레오타이드의 요망되는 농도 및 Cytofectin(등록상표) 농도가 달성된다.

[0321] 배양된 세포로 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 도입시키는데 사용되는 또 다른 기술은 전기천공을 포함한다.

[0322] 세포는 통상적인 방법에 의해 안티센스 올리고뉴클레오타이드로 처리된다. 세포는 통상적으로 안티센스 올리고뉴클레오타이드 처리 16-24시간 후에 수거되고, 이때 표적 핵산의 RNA 또는 단백질 수준이 당 분야에 공지되고 본원에 기재된 방법에 의해 측정된다. 일반적으로, 처리가 다수의 반복으로 수행되는 경우, 데이터는 반복 처리의 평균으로 제시된다.

[0323] 사용된 안티센스 올리고뉴클레오타이드의 농도는 세포주마다 다양하였다. 특정 세포주에 대한 최적의 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 결정하는 방법은 당 분야에 널리 공지되어 있다. 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 통상적으로 LIPOFECTAMINE2000(등록상표), Lipofectin 또는 Cytofectin으로 트랜스펙션되는 경우 1nM 내지 300nM 범위의 농도로 사용된다. 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 전기천공을 이용하여 트랜스펙션되는 경우 625 내지 20,000nM 범위의 높은 농도로 사용된다.

[0324] RNA 분리

[0325] RNA 분석은 전체 세포 RNA 또는 폴리(A)+ mRNA에서 수행될 수 있다. RNA 분리의 방법은 당 분야에 널리 공지되어 있다. RNA는 당 분야에 널리 공지된 방법, 예를 들어, 제조업체의 권장된 프로토콜에 따라 TRIZOL(등록상표) 시약(Invitrogen, 캘리포니아주의 칼스배드시에 소재)을 이용하여 제조된다.

[0326] 표적 수준 또는 발현의 억제의 분석

[0327] DMPK 핵산의 수준 또는 발현의 억제는 당 분야에 공지된 다양한 방식으로 검정될 수 있다. 예를 들어, 표적 핵산 수준은, 예를 들어, 노던 블롯(Northern blot) 분석, 경쟁 중합효소 연쇄반응(PCR) 또는 정량 실시간 PCR에 의해 정량될 수 있다. RNA 분석은 전체 세포 RNA 또는 폴리(A)+ mRNA에서 수행될 수 있다. RNA 분리의 방법은 당 분야에 널리 공지되어 있다. 노던 블롯 분석은 또한 당 분야에서 통상적이다. 정량 실시간 PCR은 PE-어플라이드 바이오시스템즈(PE-Applied Biosystems, 캘리포니아주의 포스터 시티에 소재)에서 이용가능한 시판되고, 제조업체의 설명서에 따라 사용되는 ABI PRISM(등록상표) 7600, 7700 또는 7900 서열 검출 시스템을 이용하여 편리하게 달성될 수 있다.

[0328] 표적 RNA 수준의 정량 실시간 PCR 분석

[0329] 표적 RNA 수준의 정량은 제조업체의 설명서에 따라 ABI PRISM(등록상표) 7600, 7700 또는 7900 서열 검출 시스템(PE-Applied Biosystems, 캘리포니아주의 포스터 시티에 소재)을 이용하여 정량 실시간 PCR에 의해 달성될 수 있다. 정량 실시간 PCR의 방법은 당 분야에 널리 공지되어 있다.

[0330] 실시간 PCR 전에, 분리된 RNA는 실시간 PCR 증폭을 위한 기질로 이후에 사용되는 상보적 DNA(cDNA)를 생성시키는 역전사효소(RT) 반응에 적용된다. RT 및 실시간 PCR 반응은 동일 샘플 웰에서 연속적으로 수행된다. RT 및 실시간 PCR 시약은 Invitrogen(캘리포니아주의 칼스베드시에 소재)으로부터 수득된다. RT, 실시간 PCR 반응은 당업자에게 널리 공지된 방법에 의해 수행된다.

[0331] 실시간 PCR에 의해 수득되는 유전자(또는 RNA) 표적 양은 발현이 일정한 유전자, 예를 들어, 사이클로필린 A(cyclophilin A)의 발현 수준을 이용하거나, RIBOGREEN(등록상표)(Invitrogen, Inc. 캘리포니아주의 칼스베드 시에 소재)을 이용하여 전체 RNA를 정량함으로써 표준화된다. 사이클로필린 A 발현은 실시간 PCR에 의해 정량되고, 이는 표적과 동시에, 또는 다중으로, 또는 독립적으로 수행된다. 전체 RNA는 RIBOGREEN(등록상표) RNA 정량 시약(Invitrogen, Inc. 오리건주의 유진시에 소재)을 이용하여 정량된다. RIBOGREEN(등록상표)에 의한 RNA 정량의 방법은 문헌[Jones, L.J., et al, (Analytical Biochemistry, 1998, 265, 368-374)]에 교시되어 있다. CYTOFLUOR(등록상표) 4000 기계(PE Applied Biosystems)는 RIBOGREEN(등록상표) 형광을 측정하는데 사용된다.

[0332] 프로브 및 프라이머는 DMPK 핵산에 하이브리드화되도록 설계된다. 실시간 PCR 프로브 및 프라이머를 설계하는 방법은 당 분야에 널리 공지되어 있고, 이는 PRIMER EXPRESS(등록상표) 소프트웨어(Applied Biosystems, 캘리포니아주의 포스터 시티에 소재)와 같은 소프트웨어의 사용을 포함할 수 있다.

[0333] 단백질 수준의 분석

[0334] DMPK 핵산의 안티센스 억제는 DMPK 단백질 수준을 측정함으로써 평가될 수 있다. DMPK의 단백질 수준은 당 분야에 널리 공지된 다양한 방식, 예를 들어, 면역침전, 웨스턴 블로트(Western blot) 분석(면역블로팅), 효소결합 면역흡착측정법(ELISA), 정량적 단백질 검정, 단백질 활성 검정(예를 들어, 카스파제 활성 검정), 면역조직화학, 면역세포화학 또는 형광 활성화 세포 분류(FACS)로 평가되거나 정량될 수 있다. 표적에 특이적인 항체는 항체의 MSRS 카탈로그(Aerie Corporation, 미시건주의 베밍엄시에 소재)와 같은 다양한 소스로부터 확인되고 수득될 수 있거나, 이는 당 분야에 널리 공지된 통상적인 모노클로날 또는 폴리클로날 항체 생성 방법을 통해 제조될 수 있다.

[0335] 안티센스 화합물의 생체내 시험

[0336] 안티센스 화합물, 예를 들어, 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 DMPK의 발현을 억제하고, 표현형 변화를 생성시키는 능력을 평가하기 위해 동물에서 시험된다. 시험은 정상 동물, 또는 실험 질병 모델, 예를 들어, 근육긴장성 이영양증(DM1)의 HSA^{LR} 마우스 모델에서 수행될 수 있다.

[0337] HSA^{LR} 마우스 모델은 DM1에 대해 확립된 모델이다(Mankodi, A. et al. Science. 289: 1769, 2000). 마우스는 유전자의 3' UTR에 삽입된 220개의 CTG 반복부를 갖는 인간 콜레 액틴(hACTA1) 트랜스진을 갖는다. *hACTA1-CUG^{exp}* 전사물은 골격근 내의 핵 초점(nuclear foci)으로 축적되고, 이는 인간 DM1의 근육긴장증과 유사한 근육긴장증을 발생시킨다(Mankodi, A. et al. Mol. Cell 10: 35, 2002; Lin, X. et al. Hum. Mol. Genet. 15: 2087, 2006). 그러므로, *hACTA1* 트랜스진의 안티센스 억제에 의한 HSA^{LR} 마우스에서의 DM1 증상의 개선은 DMPK 전사물의 안티센스 억제에 의한 인간 환자에서의 유사한 증상의 개선을 예측하는 것이 예상된다.

[0338] 마우스에서의 CUG^{exp} RNA의 발현은 근육 전사체의 광범위한 리모델링을 야기시키고, 이 중 많은 것은 MBNL1의 제거에 의해 재생된다. 그러므로, HSA^{LR} 마우스에서의 전사체의 정상화는 DMPK 전사물의 안티센스 억제에 의한 DM1 환자에서의 인간 전사체의 정상화를 예측하는 것이 예상된다.

[0339] 동물로의 투여를 위해, 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 약학적으로 허용되는 희석제, 예를 들어, 포스페이트-완충 염수 중에서 제형화된다. 투여는 비경구 투여 경로를 포함한다. 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 이용한 일정 기간의 처리 후, RNA가 조직으로부터 분리되고, DMPK 핵산 발현에서의 변화가 측정된다. DMPK 단백질 수준에서의 변화가 또한 측정된다.

[0340] 스플라이싱

[0341] 근육긴장성 이영양증(DM1)은 DMPK 유전자의 3' 비번역되는 영역 내의 CTG 반복부 확장에 의해 야기된다(Brook, J.D. et al. Cell. 68: 799, 1992). 이러한 돌연변이는 확장된 CUG 반복부(CUGexp)를 함유하는 RNA의 발현이 세포 기능이상을 유도하는 과정인 RNA 우세를 발생시킨다(Osborne RJ and Thornton CA., *Human Molecular Genetics.*, 2006, 15(2): R162-R169). 이러한 CUGexp는 골격근의 핵 초점으로 유지된다(Davis, B.M. et al. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 94:7388, 1997). 핵 초점 내의 CUGexp의 축적은 폴리(CUG)-결합 단백질, 예를 들어, Muscleblind-유사 1(MBLN1)의 격리를 발생시킨다(Miller, J. W. et al. EMBO J. 19: 4439, 2000). MBLN1은 스플라이싱 인자이고, 이는 Serca1, CIC-1, Titin 및 Zasp와 같은 유전자의 스플라이싱을 조절한다. 따라서, CUGexp에 의한 MBLN1의 격리는 MBLN1이 보통 조절하는 유전자의 엑손의 오조절된 대안적 스플라이싱을 촉발시킨다(Lin, X. et al. Hum. Mol. Genet. 15: 2087, 2006). DM1 환자 및 HSALR 마우스 모델에서와 같은 상기 이상조절을 나타내는 동물에서의 대안적 스플라이싱의 교정은 안티센스 올리고구클레오티드를 이용한 처리를 포함하는 처리의 효능에 대한 유용한 지표이다.

[0342] 특정 바이오마커

[0343] 마우스 모델에서의 DM1 중증도는 핵 또는 핵 초점의 CUG^{exp} 전사물 축적의 수준에 의해 적어도 부분적으로 결정된다. DM1 중증도에 대한 유용한 생리학적 마커는 불수의 활동 전위의 고-빈도 수행의 발달(근육긴장증)이다.

[0344] 특정 지표

[0345] 특정 구체예에서, 본원에 기재된 바와 같은 하나 이상의 약학적 조성물을 투여하는 것을 포함하는 개체를 치료하는 방법이 본원에 제공된다. 특정 구체예에서, 개체는 타입 1 근육긴장성 이영양증(DM1)을 갖는다.

[0346] 따라서, 타입 1 근육긴장성 이영양증과 관련된 증상을 개선시킬 필요가 있는 피검체의 타입 1 근육긴장성 이영양증과 관련된 증상을 개선시키는 방법이 본원에 제공된다. 특정 구체예에서, 타입 1 근육긴장성 이영양증과 관련된 증상의 발생 속도를 감소시키는 방법이 제공된다. 특정 구체예에서, 타입 1 근육긴장성 이영양증과 관련된 증상의 중증도를 감소시키는 방법이 제공된다. 특정 구체예에서, DM1과 관련된 증상은 근육 경직, 근육긴장증, 불능화 원위 약화(disabling distal weakness), 안면 및 턱 근육의 약화, 연하(swallowing)의 어려움, 눈꺼풀의 힘없음(안검하수증), 목 근육의 약화, 팔 및 다리 근육의 약화, 지속적인 근육 통증, 과다수면, 근육 소모, 연하곤란, 호흡기능부전, 불규칙한 심박동, 심장 근육 손상, 무감동, 인슐린 내성, 및 백내장을 포함한다. 아동에서, 증상은 또한 발달 지연, 학습 장애, 언어 및 말 문제, 및 인격 발달 문제일 수 있다.

[0347] 특정 구체예에서, 상기 방법은 DMPK 핵산을 표적으로 하는 치료적 유효량의 화합물을 이를 필요로 하는 개체에 투여하는 것을 포함한다.

[0348] 특정 구체예에서, DMPK 핵산을 표적으로 하는 안티센스 화합물의 투여는 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95% 또는 적어도 약 99%, 또는 상기 값 중 임의의 2개의 값에 의해 규정된 범위까지 DMPK 발현의 감소를 발생시킨다.

[0349] 특정 구체예에서, DMPK를 표적으로 하는 안티센스 화합물을 포함하는 약학적 조성물이 타입 1 근육긴장성 이영양증에 걸려 있거나 이에 민감한 환자를 치료하기 위한 약제의 제조를 위해 사용된다.

[0350] 특정 구체예에서, 본원에 기재된 방법은 서열번호 12-156, 160-770 및 774-792에 열거된 서열의 본원에 기재된 바와 같은 연속적 핵염기 부분을 갖는 변형된 올리고뉴클레오티드를 포함하는 화합물을 투여하는 것을 포함한다.

[0351] 투여

[0352] 특정 구체예에서, 본원에 기재된 바와 같은 화합물 및 조성물은 비경구로 투여된다.

[0353] 특정 구체예에서, 비경구 투여는 주입에 의한 것이다. 주입은 만성 또는 연속 또는 단기 또는 간헐적 주입일 수 있다. 특정 구체예에서, 주입된 약학적 작용제는 펌프를 이용하여 전달된다. 특정 구체예에서, 비경구 투여는 주사(예를 들어, 볼루스 주사)에 의한 것이다. 주사는 주사기를 이용하여 전달될 수 있다.

[0354] 비경구 투여는 피하 투여, 정맥내 투여, 근내 투여, 동맥내 투여, 복막내 투여 또는 두개내 투여, 예를 들어,

수막강내 또는 뇌실내 투여를 포함한다. 투여는 연속, 또는 만성, 또는 단기, 또는 간헐적 투여일 수 있다.

[0355] 특정 구체예에서, 투여는 피하, 정맥내, 뇌내, 뇌실내, 수막강내 또는 올리고뉴클레오타이드의 전신 효과를 발생시키는 또 다른 투여(전신 투여는 전신 효과, 즉, 하나 이상의 조직에서의 효과를 특징으로 함) 또는 CNS 또는 CSF로의 전달이다.

[0356] DM1의 HSA^{LR} 마우스 모델에서의 알파 1 액틴의 억제 및 근육긴장증의 감소에 의해 측정되는 바와 같은 작용의 지속기간은 대퇴사두근, 장딴지근 및 앞정강근(하기 실시예 참조)을 포함하는 근육 조직에서 연장된다. 4주 동안의 안티센스 올리고뉴클레오타이드의 피하 주사는 투여 종료 후에 적어도 11주(77일) 동안 HSA^{LR} 마우스의 대퇴사두근, 장딴지근 및 앞정강근에서 적어도 70%까지 알파 1 액틴의 억제를 발생시킨다. 4주 동안의 안티센스 올리고뉴클레오타이드의 피하 주사는 투여 종료 후에 적어도 11주(77일) 동안 HSA^{LR} 마우스의 대퇴사두근, 장딴지근 및 앞정강근에서 근육긴장증의 제거를 발생시킨다.

[0357] 특정 구체예에서, 본원에 기재된 바와 같은 화합물 또는 조성물의 전달은 적어도 77일 동안 표적 mRNA 및/또는 표적 단백질의 적어도 70% 하향조절을 발생시킨다. 특정 구체예에서, 본원에 기재된 바와 같은 화합물 또는 조성물의 전달은 적어도 30일, 적어도 35일, 적어도 40일, 적어도 45일, 적어도 50일, 적어도 55일, 적어도 60일, 적어도 65일, 적어도 70일, 적어도 75일, 적어도 76일, 적어도 77일, 적어도 78일, 적어도 79일, 적어도 80일, 적어도 85일, 적어도 90일, 적어도 95일, 적어도 100일, 적어도 105일, 적어도 110일, 적어도 115일, 적어도 120일, 적어도 1년 동안 표적 mRNA 및/또는 표적 단백질의 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 하향조절을 발생시킨다.

[0358] 특정 구체예에서, 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 77일 동안 매일 1회의 주사 또는 주입에 의해 전달된다. 특정 구체예에서, 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 매월 1회, 2개월에 1회, 3개월에 1회, 6개월에 1회, 1년에 2회 또는 1년에 1회 주사 또는 주입에 의해 전달된다.

특정 병용 요법

[0360] 특정 구체예에서, 본 발명의 변형된 올리고뉴클레오타이드를 포함하는 첫번째 작용제는 하나 이상의 두번째 작용제와 공동 투여된다. 특정 구체예에서, 이러한 두번째 작용제는 본원에 기재된 첫번째 작용제와 동일한 타입 1 근육긴장성 이영양증을 치료하도록 설계된다. 특정 구체예에서, 이러한 두번째 작용제는 본원에 기재된 첫번째 작용제와 상이한 질병, 장애 또는 질환을 치료하도록 설계된다. 특정 구체예에서, 이러한 두번째 작용제는 본원에 기재된 바와 같은 하나 이상의 약학적 조성물의 요망되지 않는 부작용을 치료하도록 설계된다. 특정 구체예에서, 두번째 작용제는 첫번째 작용제의 요망되지 않는 결과를 치료하기 위해 첫번째 작용제와 공동 투여된다. 특정 구체예에서, 두번째 작용제는 조합 효과를 발생시키기 위해 첫번째 작용제와 공동 투여된다. 특정 구체예에서, 두번째 작용제는 상승작용 효과를 생성시키기 위해 첫번째 작용제와 공동 투여된다.

[0361] 특정 구체예에서, 첫번째 작용제 및 하나 이상의 두번째 작용제는 동시에 투여된다. 특정 구체예에서, 첫번째 작용제 및 하나 이상의 두번째 작용제는 상이한 시간에 투여된다. 특정 구체예에서, 첫번째 작용제 및 하나 이상의 두번째 작용제는 단일한 약학적 제형으로 함께 제조된다. 특정 구체예에서, 첫번째 작용제 및 하나 이상의 두번째 작용제는 별개로 제조된다.

실시예

비제한적 개시 및 참조로서의 포함

[0364] 본원에 기재된 특정 화합물, 조성물 및 방법은 특정 구체예에 따라 특이적으로 기재되었으나, 하기 실시예는 단지 본원에 기재된 화합물을 예시하기 위해 제공되며, 이를 제한하고자 하는 것이 아니다. 본 출원에 언급된 참조 각각은 이의 전체내용이 참조로서 본원에 포함된다.

실시예 1: 인간 골격근 세포(hSKM)에서의 인간 근긴장성 이영양증 단백질 키나제(DMPK)의 안티센스 억제

[0366] 인간 DMPK 핵산을 표적으로 하는 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 시험관내 DMPK RNA 전사물에 대한 이의 효과에 대해 시험하였다. 웨일 당 20,000개 세포의 밀도의 배양된 hSKM 세포를 전기천공을 이용하여 100nM 안티센스 올리고뉴클레오타이드로 트랜스펙션시켰다. 약 24시간 후, RNA를 세포로부터 분리시키고, DMPK RNA 전사물 수준을 인간 프라이머 프로브 세트 RTS3164(정방향 서열 AGCCTGAGCCGGAGATG, 서열번호 9로 본원에 표시됨; 역방향 서열 GCGTAGTTGACTGGCGAAGTT, 서열번호 10으로 본원에 표시됨; 프로브 서열 AGGCCATCCGACGGACAACCX, 서열 번호 11로 본원에 표시됨)를 이용한 정량 실시간 PCR에 의해 측정하였다. DMPK RNA 전사물 수준을 RIBOGREEN

(등록상표)에 의해 측정되는 바와 같은 전체 RNA 함량에 따라 조정하였다. 결과는 처리되지 않은 대조군 세포에 비한 hDMPK의 억제 퍼센트로 제시된다.

[0367] 표 1 및 표 2의 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 5'-10-5 캡머이고, 여기서 캡 세그먼트는 10개의 2'-데옥시뉴클레오사이드를 포함하고, 각각의 왕 세그먼트는 5개의 2'-MOE 뉴클레오사이드를 포함한다. 각각의 캡머 전체에 걸친 뉴클레오사이드간 결합은 포스포로티오에이트(P=S) 결합이다. 각각의 캡머 전체에 걸친 모든 사이토신 잔기는 5'-메틸사이토신이다. '표적 시작 부위'는 안티센스 올리고뉴클레오타이드가 표적으로 하는 가장 5'의 뉴클레오사이드를 나타낸다. '표적 정지 부위'는 안티센스 올리고뉴클레오타이드가 표적으로 하는 가장 3'의 뉴클레오사이드를 나타낸다. 표 1에 나열된 모든 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 서열번호 1(유전자은행 등록번호 NM_001081560.1)을 표적으로 한다. 표 2에 나열된 모든 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 서열번호 2(뉴클레오타이드 18540696으로부터 18555106까지 트렁케이션된 유전자은행 등록번호 NT_011109.15의 상보체)를 표적으로 한다.

[0368] 여러 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 상기 특정된 조건하에서 인간 DMPK mRNA 수준의 유의한 억제를 나타내었다.

[0369] 표 1: 서열번호 1을 표적으로 하는 5-10-5 캡머에 의한 hSKMC에서의 인간 DMPK RNA 전사물의 억제

표적 시작 부위	표적 정지 부위	ISIS No	서열	% 억제	서열번호
93	112	299476	CTGGCTGCATGTCTGCCTGT	81	12
277	296	299479	CCAGGAGAAGGTGAGCAGG	57	13
737	756	299493	TCTATGGCCATGACAATCTC	57	14
773	792	299494	ATGTCCCTGTGCACGTAGCC	77	15
1194	1213	299501	ATGTGTCCGGAAGTCGCCCTG	50	16
1628	1647	299511	CTCAGGCTCTGCCGGGTGAG	70	17
1855	1874	299517	GGCACTGGCCCACAGCCACG	78	18
2379	2398	299526	CCTGGCCGAAAGAAAGAAAT	31	19
2367	2386	444380	AAAGAAATGGTCTGTGATCC	56	20
2370	2389	444381	AAGAAAAGAAATGGTCTGTGA	77	21
2376	2395	444382	GGCCGAAAGAAAGAAATGGT	61	22
2385	2404	444383	CCTCAGCCTGGCCGAAAGAA	57	23
2388	2407	444384	GGGCCTCAGCCTGCCGAAA	65	24
2391	2410	444385	TCAGGGCCTCAGCCTGGCCG	61	25
2411	2430	444386	CTGCAGTTGCCCCATCCACG	68	26
2414	2433	444387	GGCCTGCAGTTGCCCCATCC	77	27
2417	2436	444388	CCAGGCCTGCAGTTGCCCA	54	28
2423	2442	444389	GCCTTCCCAGGCCTGCAGTT	77	29
2426	2445	444390	GCTGCCCTCCCCAGGCCTGCA	83	30
2429	2448	444391	CTTGCTGCCCTCCCCAGGCCT	69	31
2435	2454	444392	GCCCCGGCTTGCTGCCCTCCC	82	32
2438	2457	444393	ACGGCCCGGCTTGCTGCCCT	78	33
2441	2460	444394	CGGACGGCCCGGCTTGCTGC	57	34
2444	2463	444395	ACACGGACGGCCCGGCTTG	73	35
2450	2469	444396	GATGGAACACGGACGGCCCG	80	36
2453	2472	444397	GAGGATGGAACACGGACGGC	86	37
2456	2475	444398	GTGGAGGATGGAACACGGAC	84	38
2481	2500	444399	GCGAACCAACGATAGGTGGG	80	39
2484	2503	444400	TTTGCAGAACCAACGGATAGGT	86	40
2490	2509	444401	TTGCACTTTGCGAACCAACG	89	41
2493	2512	444402	GCTTTGCACCTTGCGAACCA	89	42
2496	2515	444403	AAAGCTTGCACCTTGCGAA	83	43
2499	2518	444404	AAGAAAGCTTGCACCTTG	91	44
2502	2521	444405	CACAAGAAAGCTTGCACCT	70	45
2508	2527	444406	GTCATGCACAAGAAAGCTT	34	46
2527	2546	444407	ACGCTCCCCAGAGCAGGGCG	39	47
2543	2562	444408	GCAGAGATCGCGCCAGACGC	85	48

[0370]

2546	2565	444409	CAGGCAGAGATCGGCCAGA	65	49
2549	2568	444410	AAGCAGGCAGAGATCGGCC	84	50
2555	2574	444411	CCGAGTAAGCAGGCAGAGAT	58	51
2558	2577	444412	TTCCCGAGTAAGCAGGCAGA	70	52
2564	2583	444413	GCAAATTCCCGAGTAAGCA	62	53
2567	2586	444414	AAAGCAAATTCCCGAGTAA	53	54
2573	2592	444415	TTGGCAAAAGCAAATTCCC	64	55
2576	2595	444416	GGTTTGGCAAAAGCAAATT	23	56
2579	2598	444417	GCGGGTTGGCAAAAGCAA	70	57
2582	2601	444418	AAAGCGGGTTGGCAAAAGC	43	58
2588	2607	444419	CCCGAAAAAGCGGGTTGGC	71	59
2591	2610	444420	ATCCCCGAAAAAGCGGGTT	53	60
2595	2614	444421	CGGGATCCCCGAAAAAGCGG	45	61
2598	2617	444422	GCGCGGGATCCCCGAAAAAG	48	62
2623	2642	444423	GAGAGCAGCGCAAGTGAGGA	77	63
2626	2645	444424	TCCGAGAGCAGCGCAAGTGA	62	64
2629	2648	444425	GGCTCCGAGAGCAGCGCAAG	79	65
2649	2668	444426	AAGCGGGCGGAGCCGGCTGG	20	66
2652	2671	444427	CCGAAGCGGGCGGAGCCGGC	0	67
2658	2677	444428	AAACCGCCGAAGCGGGCGGA	0	68
2661	2680	444429	TCCAAACCGCCGAAGCGGGC	45	69
2664	2683	444430	ATATCAAACCGCCGAAGCG	31	70
2667	2686	444431	TAAATATCCAACCGCCGA	42	71
2670	2689	444432	CAATAAATATCCAACCGCC	53	72
2676	2695	444433	CGAGGTCAATAAATATCCA	63	73
2679	2698	444434	GGACGAGGTCAATAAATATC	83	74
2682	2701	444435	GGAGGACGAGGTCAATAAAT	82	75
2685	2704	444436	GTCGGAGGACGAGGTCAATA	86	76
2688	2707	444437	CGAGTCGGAGGACGAGGTCA	73	77
2694	2713	444438	TGTCAGCGAGTCGGAGGACG	79	78
2697	2716	444439	GCCTGTCAGCGAGTCGGAGG	83	79
2700	2719	444440	GTAGCCTGTCAGCGAGTCGG	94	80
2703	2722	444441	CCTGTAGCCTGTCAGCGAGT	90	81
2706	2725	444442	GGTCCTGTAGCCTGTCAGCG	90	82
2764	2783	444443	AAATAACCGAGGAATTCGGG	82	83
2767	2786	444444	AATAAAATACCGAGGAATGTC	66	84
2770	2789	444445	GACAATAAATACCGAGGAAT	67	85
2093	2112	445546	CGGGGCCCGGAGTCGAAGA	0	86
2097	2116	445547	CCAACGGGGCCCCGGAGTCG	38	87
2099	2118	445548	TTCCAACGGGGCCCCGGAGT	22	88
2102	2121	445549	GTCTTCCAACGGGGCCCCG	50	89
2104	2123	445550	CAGTCTTCCAACGGGGCCCC	27	90
2106	2125	445551	CTCAGTCTTCCAACGGGGCC	57	91

[0371]

2109	2128	445552	GCACTCAGTCCTTCCAACGGG	69	92
2115	2134	445553	CCCCGGGCACTCAGTCTTCC	76	93
2117	2136	445554	TGCCCCGGGCACTCAGTCTT	59	94
2119	2138	445555	CGTGCCCCGGGCACTCAGTC	61	95
2123	2142	445556	GTGCCGTGCCCGGGCACTC	26	96
2126	2145	445557	TCTGTGCCGTGCCCGGGCA	50	97
2129	2148	445558	GCTTCTGTGCCGTGCCCGG	57	98
2132	2151	445559	GCGGCTTCTGTGCCGTGCC	27	99
2134	2153	445560	GCGCGGCTTCTGTGCCGTGC	0	100
2136	2155	445561	GGGCGCGGCTTCTGTGCCGT	8	101
2142	2161	445562	GGCGGTGGCGCGGCTCTG	62	102
2146	2165	445563	GGCAGGCCGTGGCGCGGCT	49	103
2148	2167	445564	CTGGCAGGCCGTGGCGCGG	51	104
2150	2169	445565	AACTGGCAGGCCGTGGCGC	38	105
2153	2172	445566	GTGAACGGCAGGCCGTGGG	64	106
2157	2176	445567	GGITGTGAACGGCAGGCCGG	66	107
2159	2178	445568	GCGGTTGTGAACGGCAGGC	85	108
2163	2182	445569	CGGAGCGGTTGTGAACGGC	92	109
2167	2186	445570	CGCTCGGAGCGGTTGTGAAC	51	110
2171	2190	445571	CCCACGCTCGGAGCGGTTGT	74	111
2174	2193	445572	AGACCCACGCTCGGAGCGGT	80	112
2177	2196	445573	CGGAGACCCACGCTCGGAGC	83	113
2180	2199	445574	GGGCGGAGACCCACGCTCGG	62	114
2183	2202	445575	GCTGGGGAGACCCACGCT	11	115
2186	2205	445576	GGAGCTGGCGGAGACCCAC	42	116
2188	2207	445577	CTGGAGCTGGCGGAGACCC	17	117
2191	2210	445578	GGACTGGAGCTGGCGGAGA	53	118
2193	2212	445579	CAGGACTGGAGCTGGCGGA	46	119
2197	2216	445580	ATCACAGGACTGGAGCTGGG	66	120
2209	2228	445581	GGGCGGGCCGGATCACAGG	85	121
2211	2230	445582	GGGGCGGGCCGGATCACAA	96	122
179	198	445583	AGGCAGCACCATGGCCCTC	88	123
235	254	445584	GGTCCAACACCAAGCTGCTGG	84	124
418	437	445585	CGATCACCTTCAGAATCTCG	11	125
498	517	445586	CTTGTTCATGATCTTGTGG	0	126
565	584	445587	CCCCATTCAACACAGTC	83	127
583	602	445588	CGCGTATCCACCGGCCGTCC	59	128
639	658	445589	GTAATACTCATGACCAGGT	86	129
664	683	445590	GCAGTGTCACTAGGTCCCCG	83	130
744	763	445591	CACCGAGTCTATGGCCATGA	60	131
761	780	445592	ACGTAGCCAAGCCGGTGCAC	68	132
812	831	445593	ATGTGCCACAGCGGTCCAG	56	133
1099	1118	445594	CTTCGTCCACCAGCGGCAGA	32	134

[0372]

1104	1123	445595	GACCCCTTCGTCCACCAGCG	83	135
1178	1197	445596	CCTGCTCCACCCGGCCAG	82	136
1187	1206	445597	CGGAAGTCGCCCTGCTCCACC	81	137
1229	1248	445598	CGGAGACCATCCAGTCGAG	67	138
1402	1421	445599	TGAGGGCCATGCAGGAGTAG	26	139
1443	1462	445600	CTCCAGTTCATGGGTGTGG	80	140
1477	1496	445601	GCGCTTGCACGTGTGGCTCA	94	141
1526	1545	445602	GCCACTTCAGCTGTTTCATC	54	142
1562	1581	445603	GCCTCAGCCCTGCGCGAGG	71	143
1576	1595	445604	GCAGCGTCACCTCGGCCCTCA	31	144
1630	1649	445605	GGCTCAGGCTCTGCCGGGTG	86	145
1700	1719	445606	ITCCGAGCCTCTGCCCTCGCG	73	146
1708	1727	445607	GGTCCCGGGTCCAGGCCCT	76	147
1742	1761	445608	ATCCGCTCTGCAACTGCCG	93	148
1750	1769	445609	GCAACTCCATCCGCTCCTGC	60	149
1812	1831	445610	AGGTGGATCCGTGGCCCGGG	48	150
2133	2152	445611	CGCGGCTTCTGTGCCGTGCC	24	151
2428	2447	445612	TTGCTGCCCTCCACCGCCTG	80	152

[0373]

[0374]

표 2: 서열번호 2를 표적으로 하는 5'-10'-5' 캡머에 의한 hSKMC에서의 인간 DMPK RNA 전사물의 억제

표적 시작 부위	표적 정지 부위	ISIS No	서열	% 억제	서열번호
812	831	299471	TGCTCCCGACAAGCTCCAGA	95	153
876	895	299473	AGAACCTGCCATTGCTGAA	68	154
2381	2400	299535	CACTGAGGGCCAGACATATG	68	155
3289	3308	299544	CTCTAGATTAGATGCAGGT	88	156

[0375]

표 1 및 표 2로부터의 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 또한 상기 기재된 것과 유사한 조건을 갖는 검정으로 시험하였고, mRNA 수준을 인간 프라이머 프로브 RTS3162(정방향 서열 CGGGCCGTCCGTGTT, 서열번호 157로 본원에 표시됨; 역방향 서열 CTTTGCACCTTGCGAACCAA, 서열번호 158로 본원에 표시됨; 프로브 서열 CATCCTCACGCACCCCCACCA, 서열번호 159로 본원에 표시됨)로 측정하였다. 결과는 표 3에 제시된다. DMPK mRNA 발현을 또한 3'UTR 근처의 DMPK 유전자를 표적으로 하는 RTS3162에 의해 평가하였다. 전체 DMPK 유전자의 발현이 억제된 것을 확인하기 위해 두번째 프라이머 프로브의 사용을 이용하였다.

[0377]

표 3: 프라이머 프로브 세트 RTS3162를 이용하여 측정된 5'-10'-5' 캡머에 의한 hSKMC에서의 인간 DMPK RNA 전사물의 억제

ISIS No	% 억제
299471	91
299473	65
299476	76
299479	53
299493	60
299494	66
299501	44
299511	39
299517	71
299526	39
299535	75
299544	84
444380	72
444381	82
444382	67
444383	63
444384	66
444385	66
444386	74
444387	85
444388	60
444389	81
444390	88
444391	79
444392	94
444393	88
444394	94
444395	96
444396	96
444397	95
444398	96
444399	95
444400	95
444401	95
444402	91
444403	84
444404	89
444405	71

[0378]

444406	47
444407	42
444408	80
444409	56
444410	79
444411	66
444412	67
444413	55
444414	45
444415	57
444416	18
444417	64
444418	51
444419	66
444420	0
444421	46
444422	33
444423	74
444424	73
444425	78
444426	0
444427	0
444428	0
444429	75
444430	28
444431	58
444432	52
444433	60
444434	87
444435	76
444436	83
444437	71
444438	76
444439	73
444440	91
444441	87
444442	93
444443	77
444444	64
444445	67
445546	0
445547	59
445548	49

[0379]

445549	77
445550	62
445551	74
445552	84
445553	70
445554	63
445555	75
445556	52
445557	78
445558	81
445559	58
445560	12
445561	42
445562	70
445563	76
445564	69
445565	60
445566	86
445567	84
445568	92
445569	93
445570	59
445571	84
445572	88
445573	84
445574	74
445575	26
445576	56
445577	38
445578	69
445579	70
445580	75
445581	85
445582	95
445583	88
445584	87
445585	34
445586	0
445587	82
445588	66
445589	87
445590	82
445591	68

[0380]

445592	64
445593	54
445594	52
445595	77
445596	84
445597	78
445598	73
445599	29
445600	68
445601	92
445602	53
445603	70
445604	32
445605	61
445606	84
445607	80
445608	91
445609	68
445610	63
445611	44
445612	91

[0381]

0382] 실시예 2: CUG 반복부를 표적으로 하는 안티센스 올리고뉴클레오타이드의 설계

[0383] 다수의 CUG 반복부를 함유하는 mRNA 전사물을 표적으로 하는 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 설계하였다. 이러한 올리고뉴클레오타이드 뿐만 아니라 이의 서열의 화학은 표 4에 제시되어 있다. 당 유형에 대해 지정된 기호는 아래첨자의 염기 뒤에 제시되고, 이는 다음과 같다: b = 2'-0-N-[2-(디메틸아미노)에틸]아세트아미도 리보스; d = 2'-데옥시리보스; e = 2'-0-메톡시에틸 리보스; f = 2'-알파-플루오로-2'-데옥시리보스; g = 2'-0-2[2-(2-메톡시에톡시)에톡시]에틸 리보스; h = 3'-플루오로-HNA; k = (S)-cEt; l = LNA(잠금 핵산); n = 2'-0-(N-메틸아세트아미드) 리보스; o = 2'-0-디메틸아미노옥시에틸(DMAOE) 리보스; p = PNA; r = 프로필리보스; 및 x = 아미노산 코어. 헤테로사이클명은 아데닌, 사이토신, 티민 및 구아닌에 대해 표준 기호, 5-메틸사이토신에 대해 'mC', 및 리신 측쇄에 대해 'K'로 정의된다. 링커는 아래첨자의 당 유형 뒤에 제시되고, 이는 다음과 같은 기호로 지정된다: g = PNA-글리신 전체; a = 아미노산; 및 s = 티오에이트 에스터.

[0384]

표 4: CUG 반복부를 표적으로 하는 안티센스 올리고뉴클레오타이드의 설계

ISIS No	서열	화학	백본	서열 번호
431896	$G_{ds}C_{ds}A_{ls}G_{ds}C_{ds}A_{ls}G_{ds}C_{ds}A_{ls}$ $G_{ds}C_{ds}A_{ls}G_{ds}C_{ds}A_{ls}G_{ds}C_{ds}A_{ls}G_d$	데옥시 및 LNA 단위	포스포로티오에이트	802
433804	$K_{xa}G_{pg}C_{pg}A_{pg}G_{pg}C_{pg}A_{pg}G_{pg}C_{pg}A_{pg}G_{pg}C_{pg}A_{pg}G_{pg}$ $C_{pg}A_{pg}G_{pg}C_{pg}A_{pg}G_{pg}K_{xa}K_{xa}K_{xa}K_{xa}K_{xa}K_{xa}K_{xa}K_{xa}$	카복시-아미드 말단캡을 갖는 PNA 및 아미노산 코어 단위	흔합	803
444745	$A_{es}G_{es}mC_{es}A_{es}G_{es}mC_{es}A_{es}G_{es}mC_{es}A_{es}G_{es}mC_{es}$ $A_{es}G_{es}mC_{es}A_{es}G_{es}mC_{es}A_{es}G_{es}mC_{es}A_{es}G_{es}mC_{es}A_{es}$	균일한 MOE	포스포로티오에이트	789
444746	$A_{es}G_{es}mC_{es}A_{es}G_{es}mC_{es}A_{es}G_{es}mC_{es}A_{es}G_{es}mC_{es}A_{es}$ $G_{es}mC_{es}A_{es}G_{es}mC_{es}A_{es}G_{es}mC_{es}A_{es}G_{es}$	균일한 MOE	포스포로티오에이트	804
444747	$G_{es}mC_{es}A_{es}G_{es}mC_{es}A_{es}G_{es}mC_{es}A_{es}$ $G_{es}mC_{es}A_{es}G_{es}mC_{es}A_{es}G_{es}mC_{es}A_{es}G_{es}$	균일한 MOE	포스포로티오에이트	802
444748	$G_{es}mC_{es}A_{es}G_{es}mC_{es}A_{es}G_{es}mC_{es}A_{es}$ $G_{es}mC_{es}A_{es}G_{es}mC_{es}A_{es}G_{es}mC_{es}A_{es}$	균일한 MOE	포스포로티오에이트	805
444750	$G_{ks}C_{ks}A_{ds}G_{ds}C_{ks}A_{ds}G_{ds}C_{ks}A_{ds}$ $G_{ds}C_{ks}A_{ds}G_{ds}C_{ks}A_{ds}G_{ds}C_{ks}A_k$	데옥시 및 (S)-cEt 단위	포스포로티오에이트	805
444752	$G_{ks}C_{ks}A_{es}G_{es}C_{ks}A_{es}G_{es}C_{ks}A_{es}$ $G_{es}C_{ks}A_{es}G_{es}C_{ks}A_{es}G_{es}C_{ks}A_k$	MOE 및 (S)-cEt 단위	포스포로티오에이트	805
444754	$G_{es}mC_{es}A_{fs}G_{fs}C_{fs}A_{fs}G_{fs}C_{fs}A_{fs}$ $G_{fs}C_{fs}A_{fs}G_{fs}C_{fs}A_{fs}G_{fs}mC_{es}A_{es}$	MOE 및 2'-알파-플루오로 단위	포스포로티오에이트	805
444759	$G_{hs}mC_{hs}A_{hs}G_{hs}mC_{hs}A_{hs}G_{hs}mC_{hs}A_{hs}$ $G_{hs}mC_{hs}A_{hs}G_{hs}mC_{hs}A_{hs}G_{hs}mC_{hs}A_h$	균일한 3'-플루오로 -HNA	포스포로티오에이트	805
444761	$G_{rs}mC_{rs}A_{rs}G_{rs}mC_{rs}A_{rs}G_{rs}mC_{rs}A_{rs}$ $G_{rs}mC_{rs}A_{rs}G_{rs}mC_{rs}A_{rs}G_{rs}mC_{rs}A_r$	균일한 2'-O-프로필리보스	포스포로티오에이트	805
444762	$G_{ns}mC_{ns}A_{ns}G_{ns}mC_{ns}A_{ns}G_{ns}mC_{ns}A_{ns}$ $G_{ns}mC_{ns}A_{ns}G_{ns}mC_{ns}A_{ns}G_{ns}mC_{ns}A_n$	균일한 2'-O-(N-메틸아세트아미드) 리보스	포스포로티오에이트	805
444763	$G_{os}mC_{es}A_{os}G_{os}mC_{es}A_{os}G_{os}mC_{es}A_{os}$ $G_{os}mC_{es}A_{os}G_{os}mC_{es}A_{os}G_{os}mC_{es}A_o$	MOE 및 2'-O-디메틸아미노데옥시에틸 (DMAOE) 리보스 단위	포스포로티오에이트	805
444764	$G_{gs}mC_{es}A_{es}G_{gs}mC_{es}A_{es}G_{gs}mC_{es}A_{es}$ $G_{gs}mC_{es}A_{es}G_{gs}mC_{es}A_{es}G_{gs}mC_{es}A_{es}G_g$	MOE 및 2'-O-2[2-(2-메톡시에톡시)에톡시]에틸 리보스 단위	포스포로티오에이트	802
444765	$G_{bs}mC_{es}A_{es}G_{bs}mC_{es}A_{es}G_{bs}mC_{es}A_{es}$ $G_{bs}mC_{es}A_{es}G_{bs}mC_{es}A_{es}G_{bs}mC_{es}A_{es}G_b$	MOE 및 2'-O-N-[2-(디메틸아미노)에틸]아세트아미드 리보스 단위	포스포로티오에이트	802
473810	$A_{ks}G_{ds}mC_{ds}A_{ks}G_{ds}mC_{ds}A_{ks}G_{ds}mC_{ds}$ $A_{ks}G_{ds}mC_{ds}A_{ks}G_{ds}mC_{ds}A_{ks}G_{ds}mC_{ds}A_k$	데옥시 및 (S)-cEt 단위	포스포로티오에이트	806
473811	$A_{ks}G_{ds}mC_{ds}A_{ks}G_{ds}mC_{ds}A_{ks}G_{ds}$ $mC_{ds}A_{ks}G_{ds}mC_{ds}A_{ks}G_{ds}mC_{ds}A_k$	데옥시 및 (S)-cEt 단위	포스포로티오에이트	807

[0385]

실시예 3: 인간 골격근 세포에서의 인간 DMPK의 용량 의존성 안티센스 억제

[0386]

hSKMC에서 DMPK의 시험관내 억제를 나타내는 여러 안티센스 올리고뉴클레오타이드(실시예 1 참조)를 다양한 용량으로 시험하였다. 세포를 월 당 20,000개의 세포의 밀도로 플레이팅하고, 전기천공을 이용하여 1,250nM, 2,500nM, 5,000nM, 10,000nM 및 20,000nM 농도의 각각의 안티센스 올리고뉴클레오타이드로 트랜스펙션시켰다. 약 16시간 후, RNA를 세포로부터 분리시키고, DMPK mRNA 전사물 수준을 상기 기재된 프라이머 프로브 세트 RTS3164를 이용한 정량 실시간 PCR에 의해 측정하였다. DMPK mRNA 전사물 수준을 RIBOGREEN(등록상표)에 의해 측정되는 바와 같은 전체 RNA 함량에 대해 표준화시켰다. 결과는 처리되지 않은 대조군 세포에 비한 DMPK의 억제 퍼센트로서 표 5에 제시된다.

[0388]

시험된 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 상기 특정된 조건하에서 DMPK mRNA 수준의 용량 의존적 억제를 나타내었다.

[0389]

표 5: 프라이머 프로브 세트 RTS3164로 시험된 hSKMC에서의 인간 DMPK의 용량 의존적 안티센스 억제

ISIS No.	1,250 nM	2,500 nM	5,000 nM	10,000 nM	20,000 nM	IC ₅₀ (μM)
299471	34	65	87	91	94	1.60
299473	2	33	60	89	92	4.31
299476	15	17	49	81	91	4.89
299535	0	12	34	62	59	9.95
299535	20	33	47	67	80	5.11
299544	32	63	81	85	87	1.82
444397	10	30	58	85	82	4.51
444398	33	57	74	85	87	2.07
444400	52	46	63	82	88	1.76
444401	51	71	84	89	91	0.71
444402	53	79	83	87	84	<1.25
444404	48	68	77	86	90	0.95
444408	26	47	70	87	87	2.80
444410	22	47	67	83	87	3.12
444436	28	67	76	89	92	1.94
444440	70	77	83	89	85	<1.25
444441	33	55	81	87	86	1.99
444442	54	73	84	89	88	<1.25
445568	65	83	85	84	76	<1.25
445569	60	77	87	93	91	<1.25
445581	16	44	78	86	94	3.13

[0390]

445582	0	7	26	96	99	5.60
445583	39	53	73	89	94	2.00
445584	20	26	61	81	93	4.02
445589	42	61	81	91	87	1.36
445601	49	79	87	93	94	0.66
445608	26	59	71	85	97	2.41
445612	46	59	72	88	93	1.51

[0391]

표 5로부터의 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 또한 상기 기재된 프라이머 프로브 세트 RTS3162로 시험하였다. 결과는 표 6에 제시된다. DMPK mRNA 발현을 또한 3'UTR 근처의 DMPK 유전자를 표적으로 하는 RTS3162에 의해 평가하였다. 전체 DMPK 유전자의 발현이 억제된 것을 확인하기 위해 두번째 프라이머 프로브의 사용을 이용하였다.

[0393]

표 6: 프라이머 프로브 세트 RTS3164로 시험된 hSKMC에서의 인간 DMPK의 용량 의존적 안티센스 억제

ISIS No.	1,250 nM	2,500 nM	5,000 nM	10,000 nM	20,000 nM	IC ₅₀ (μM)
299471	40	72	86	91	93	1.17
299473	6	43	63	87	89	3.86
299476	3	21	48	74	86	5.58
299535	9	22	36	62	77	7.05
299535	6	19	49	68	70	6.70
299544	35	66	81	84	87	1.52
444397	88	90	95	97	96	<1.25
444398	91	97	97	97	98	<1.25
444400	72	87	93	96	96	<1.25
444401	86	92	97	98	97	<1.25
444402	83	91	94	95	95	<1.25
444404	49	69	81	90	93	0.92
444408	21	46	70	84	86	3.10
444410	35	55	77	89	91	2.02
444436	37	66	81	89	92	1.50
444440	66	79	89	92	89	<1.25
444441	40	62	85	89	89	1.40
444442	55	75	86	90	91	<1.25
445568	74	92	91	92	91	<1.25
445569	68	83	90	94	93	<1.25
445581	8	48	77	85	92	3.33
445582	15	22	44	97	99	4.29
445583	36	58	71	87	92	1.96

[0394]

445584	25	43	66	86	94	3.05
445589	38	56	77	85	81	1.74
445601	55	76	84	93	93	<1.25
445608	22	56	72	86	94	2.66
445612	61	75	85	91	94	<1.25

[0395]

실시예 4: 인간 골격근 세포에서의 인간 DMPK의 용량 의존적 안티센스 억제

[0396]

hSKMC에서 DMPK의 시험관내 억제를 나타내는 여러 안티센스 올리고뉴클레오타이드(실시예 3 참조)를 다양한 용량으로 시험하였다. 세포를 웨л 당 20,000개의 세포의 밀도로 플레이팅하고, 전기천공을 이용하여 1,250nM, 2,500nM, 5,000nM, 10,000nM 및 20,000nM 농도의 각각의 안티센스 올리고뉴클레오타이드로 트랜스펙션시켰다. 약 16시간 후, RNA를 세포로부터 분리시키고, DMPK mRNA 전사물 수준을 상기 기재된 프라이머 프로브 세트 RTS3164를 이용한 정량 실시간 PCR에 의해 측정하였다. DMPK mRNA 전사물 수준을 RIBOGREEN(등록상표)에 의해 측정되는 바와 같은 전체 RNA 함량에 대해 표준화시켰다. 결과는 처리되지 않은 대조군 세포에 비한 DMPK의 억제 퍼센트로서 표 7에 제시된다.

[0398]

시험된 안티센스 올리고뉴클레오타이드 대부분은 상기 특정된 조건하에서 DMPK mRNA 수준의 용량 의존적 억제를 나타내었다.

[0399]

표 7: 프라이머 프로브 세트 RTS3164로 시험된 hSKMC에서의 인간 DMPK의 용량 의존적 안티센스 억제

ISIS No.	1,250 nM	2,500 nM	5,000 nM	10,000 nM	20,000 nM	IC ₅₀ (μM)
299471	34	65	87	91	94	1.59
299473	2	33	60	89	92	4.31
299476	15	17	49	81	91	4.89
299535	0	12	34	62	59	9.95
299535	20	33	47	67	80	5.11
299544	32	63	81	85	87	1.82
444397	10	30	58	85	82	4.51
444398	33	57	74	85	87	2.07
444400	52	46	63	82	88	1.76
444401	51	71	84	89	91	<1.25
444402	53	79	83	87	84	<1.25
444404	48	68	77	86	90	0.95
444408	26	47	70	87	87	2.80
444410	22	47	67	83	87	3.12

444436	28	67	76	89	92	1.94
444440	66	77	83	89	85	<1.25
444441	33	55	81	87	86	1.99
444442	54	73	84	89	88	<1.25
445568	65	83	85	84	76	<1.25
445569	60	77	87	93	91	<1.25
445581	16	44	78	86	94	3.13
445582	0	7	26	96	99	5.62
445583	39	53	73	89	94	1.97
445584	20	26	61	81	93	4.20
445589	42	61	81	91	87	1.36
445601	49	79	87	93	94	0.66
445608	26	59	71	85	97	2.41
445612	46	59	72	88	93	1.51

[0400]

[0401]

실시예 5: 인간 골격근 세포에서의 인간 DMPK의 용량 의존적 안티센스 억제

[0402]

인간 DMPK mRNA를 표적으로 하는 여러 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 설계하고, 다양한 용량으로 hSKMC에서 시험하였다. 인간 액틴 mRNA를 표적으로 하는 여러 다른 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 설계하고, 또한 다양한 용량으로 hSKMC에서 시험하였다. 새로이 설계된 캡머는 2-10-2 MOE 또는 3-10-3 MOE 캡머이다. 2-10-2 MOE 캡머는 14개의 뉴클레오사이드 길이이고, 여기서 캡 세그먼트는 10개의 2'-데옥시뉴클레오사이드를 포함하고, 각각의 왕 세그먼트는 2개의 2'-MOE 뉴클레오사이드를 포함한다. 3-10-3 MOE 캡머는 16개의 뉴클레오사이드 길이이고, 여기서 캡 세그먼트는 10개의 2'-데옥시뉴클레오사이드를 포함하고, 각각의 왕 세그먼트는 3개의 2'-MOE 뉴클레오사이드를 포함한다. 각각의 캡머 전체에 걸친 뉴클레오사이드간 결합은 포스포로티오에이트 (P=S) 결합이다. 각각의 캡머 전체에 걸친 모든 사이토신 잔기는 5-메틸사이토신이다. '표적 시작 부위'는 안티센스 올리고뉴클레오타이드가 표적으로 하는 가장 5'의 뉴클레오사이드를 나타낸다. '표적 정지 부위'는 안티센스 올리고뉴클레오타이드가 표적으로 하는 가장 3'의 뉴클레오사이드를 나타낸다. 표 8에 나열된 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 서열번호 2로 본원에 표시된 인간 DMPK 유전체 서열(뉴클레오타이드 18540696으로부터 18555106까지 트렁케이션된 유전자은행 등록번호 NT_011109.15의 상보체) 또는 서열번호 801로 본원에 표시된 인간 액틴 서열(유전자은행 등록번호 NM_001100.3)을 표적으로 한다.

[0403]

세포를 웰 당 20,000개의 세포의 밀도로 플레이팅하고, 전기천공을 이용하여 1,250nM, 2,500nM, 5,000nM, 10,000nM 및 20,000nM 농도의 각각의 안티센스 올리고뉴클레오타이드로 트랜스펙션시켰다. 약 16시간 후, RNA를 세포로부터 분리시키고, DMPK mRNA 전사를 수준을 상기 기재된 프라이머 프로브 세트 RTS3162를 이용한 정량 실시간 PCR에 의해 측정하였다. DMPK mRNA 전사를 수준을 RIBOGREEN(등록상표)에 의해 측정되는 바와 같은 전체 RNA 함량에 대해 표준화시켰다. 결과는 처리되지 않은 대조군 세포에 비한 DMPK의 억제 퍼센트로서 표 8에 제시된다. 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 또한 RTS3164와 유사한 조건하에서 시험하였다. 결과는 표 9에 제시된다.

[0405] 시험된 많은 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 상기 특정된 조건하에서 DMPK mRNA 수준의 용량 의존적 억제를 나타내었다.

[0406] 표 8: 프라이머 프로브 세트 RTS3162로 시험된 hSKMC에서의 인간 DMPK 및 인간 액틴의 용량 의존적 안티센스 억제

ISIS No	서열	모티프	표적 서열 목록	시작 부위	1,250 nM	2,500 nM	5,000 nM	10,000 nM	20,000 nM	IC ₅₀ (nM)	표적 서열 목록
468787	CTCCGACAAGCTCCA	3-10-3	2	814	28	47	51	84	88	3.27	808
468772	TCCCGACAAGCTCC	2-10-2	2	815	17	39	67	72	80	4.04	809
468795	GCTTGCACGTGTGGCT	3-10-3	2	10935	32	58	77	85	75	1.94	810
468780	CTTGCACGTGTGGC	2-10-2	2	10936	22	17	43	66	77	6.23	811
468793	GGTTGTGAACTGGCAG	3-10-3	2	13224	69	77	93	96	96	<1.25	812
468778	GTGGTGAACCTGGCA	2-10-2	2	13225	60	69	89	95	97	<1.25	813
468794	GAGCGGTTGTGAACGT	3-10-3	2	13228	21	32	61	70	86	4.27	814
468779	AGCGGTTGTGAACCT	2-10-2	2	13229	40	45	72	91	97	2.20	815
468796	GCTGCCTTCCCAGGCC	3-10-3	2	13493	73	79	91	96	95	<1.25	816
468781	CTGCCTTCCCAGGC	2-10-2	2	13494	36	53	66	86	90	2.28	817
468788	GCACTTGCGAACCAA	3-10-3	2	13555	55	80	84	94	96	<1.25	818
468773	CACTTGCAGAACCA	2-10-2	2	13556	31	52	82	91	93	2.16	819
468789	GAAAGCTTTGCACTTT	3-10-3	2	13564	42	66	83	91	98	1.31	820
468774	AAAGCTTTGCACTT	2-10-2	2	13565	21	0	31	41	55	1.87	821
468790	CGGAGGACGAGGTCAA	3-10-3	2	13750	43	57	79	87	89	1.51	822
468775	GGAGGGACGAGGTCA	2-10-2	2	13751	27	51	58	78	81	3.18	823
468791	AGCCTGTCAGCGAGTC	3-10-3	2	13765	49	63	85	62	95	1.04	824
468776	GCCTGTCAGCGAGT	2-10-2	2	13766	65	47	81	88	93	<1.25	825
468792	TCCTGTAGCCTGTCA	3-10-3	2	13771	38	57	73	85	93	1.91	826
468777	CCTGTAGCCTGTCA	2-10-2	2	13772	15	58	66	85	92	2.99	827
468783	GAAGCGAGGCTTCACT	3-10-3	801	22	0	20	5	0	0	>20.00	828
468768	AAGCGAGGCTTCACT	2-10-2	801	23	25	22	5	17	0	>20.00	829
468784	ACCTGCCGCTGGCA	3-10-3	801	836	15	25	32	18	25	>20.00	830
468769	CCTGCCGCTGGC	2-10-2	801	837	32	11	11	20	32	>20.00	831
468782	GGTCAGCGATCCCAG	3-10-3	801	1030	0	0	0	0	0	>20.00	832
468767	GTCAGCGATCCCAG	2-10-2	801	1031	15	0	11	0	0	>20.00	833
468785	ATTTCTTCCACAGGG	3-10-3	801	1432	12	0	0	0	0	>20.00	834
468770	TTTCTTCCACAGGG	2-10-2	801	1433	36	2	0	0	28	>20.00	835
468786	GAATGACTTTAATGCT	3-10-3	801	1462	0	0	0	4	0	>20.00	836
468771	AATGACTTTAATGC	2-10-2	801	1463	8	16	0	5	0	>20.00	837

[0407]

[0408]

표 9: 프라이머 프로브 세트 RTS3164로 시험된 hSKMC에서의 인간 DMPK의 용량 의존적 안티센스 억제

ISIS No	1,250 nM	2,500 nM	5,000 nM	10,000 nM	20,000 nM	IC ₅₀ (μM)
468777	20	66	72	87	96	2.41
468776	68	48	86	90	96	<1.25
468794	18	23	58	65	86	4.97
468787	36	50	51	88	92	2.69
468772	12	47	69	80	86	3.57
468773	33	48	82	91	96	2.21
468774	21	0	30	42	59	1.60
468790	50	57	77	91	91	1.26
468780	23	22	55	73	85	4.69
468775	29	52	55	79	84	3.03
468782	9	0	0	0	0	>20.00
468786	2	0	0	0	0	>20.00
468785	15	0	1	0	5	>20.00
468788	57	74	76	94	96	<1.25
468791	45	66	88	61	97	1.10
468789	26	65	82	90	97	2.02
468781	28	46	59	82	84	3.08
468779	26	31	66	90	97	3.29
468784	7	23	26	7	18	>20.00
468783	0	16	8	0	0	>20.00
468792	26	49	73	84	92	2.72
468795	30	53	83	86	85	2.14
468793	49	66	90	96	95	0.93
468768	23	3	5	9	0	>20.00
468767	0	0	14	0	0	>20.00
468769	31	0	0	16	25	>20.00
468771	4	0	0	0	0	>20.00
468770	33	0	0	0	32	>20.00
468796	62	72	84	96	95	<1.25
468778	44	58	86	96	98	1.44

[0409]

실시예 6: DM1 섬유모세포 세포에서의 인간 근육긴장성 이영양증-단백질 키나제(DMPK)를 표적으로 하는 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 이용한 용량 반응 연구

[0410]

큰 CUG 반복부를 갖는 DMPK mRNA의 돌연변이 형태는 완전히 전사되고 아데닐중합체형성되나, 핵 내에 포획된 채로 남아 있다(Davis et al, 1997, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 94, 7388-7393). 이러한 돌연변이의 핵-유지된 mRNA는 근육긴장성 이영양증 1(DM1)의 가장 중요한 병리학적 특징 중 하나이다. DM1 섬유모세포 세포에서의 돌연변이 DMPK mRNA의 안티센스 억제를 연구하였다.

[0411]

DMPK 유전자는 보통 3' 비번역 영역 내에 5-37개의 CTG 반복부를 갖는다. 근육긴장성 이영양증 타입 I에서, 이러한 수는 현저히 확장되고, 이는 50개 내지 3,500개 초과의 범위일 수 있다(Harper, *Myotonic Dystrophy* (Saunders, London, ed.3, 2001); *Annu. Rev. Neurosci.* 29: 259, 2006; *EMBO J.* 19: 4439, 2000; *Curr Opin Neurobiol.* 20: 572, 2007). DM1 섬유모세포 세포를 웰 당 4,500개의 세포의 밀도로 플레이팅하고, Cytofectin 시약을 이용하여 9.4nM, 18.8nM, 37.5nM, 75.0nM, 150.0nM 및 300.0nM 농도의 각각의 안티센스 올리고뉴클레오타이드로 트랜스펙션시켰다. 약 16시간 후, RNA를 세포로부터 분리시키고, DMPK RNA 전사를 수준을 상기 기재된 프라이머 프로브 세트 RTS3164를 이용한 정량 실시간 PCR에 의해 측정하였다. DMPK RNA 전사를 수준을 RIBOGREEN(등록상표)에 의해 측정되는 바와 같은 전체 RNA 함량에 대해 표준화시켰다. 결과는 처리되지 않은 대조군 세포에 비한 DMPK의 억제 퍼센트로서 표 10에 제시된다.

[0412]

유사한 조건을 갖는 검정을 또한 DMPK 전사를의 3'-말단을 표적으로 하는 상기 기재된 프라이머 프로브 세트 RTS3162로 수행하였다. 결과는 처리되지 않은 대조군 세포에 비한 DMPK의 억제 퍼센트로 표 11에 제시된다.

[0413]

시험된 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 상기 특정된 조건하에서 DMPK mRNA 수준의 용량 의존적 억제를 나타내었다.

[0415]

표 10: RTS3164를 이용한 DM1 섬유모세포 세포에서의 DMPK mRNA의 용량 의존적 안티센스 억제

ISIS No.	9.4 nM	18.8 nM	37.5 nM	75.0 nM	150.0 nM	300.0 nM	IC ₅₀ (nM)
299471	10	25	31	47	61	73	86.3
444401	8	27	41	60	67	74	64.3
444404	10	21	31	43	55	73	100.0
444436	7	17	36	64	68	70	72.3
445569	19	31	41	59	46	77	72.2

[0416]

표 11: RTS3162를 이용한 DM1 섬유모세포 세포에서의 DMPK mRNA의 용량 의존적 안티센스 억제

ISIS No	9.4 nM	18.8 nM	37.5 nM	75.0 nM	150.0 nM	300.0 nM	IC ₅₀ (nM)
299471	7	25	29	46	48	69	115.3
444401	20	34	52	72	83	89	35.8
444404	5	20	28	42	54	77	98.8
444436	12	15	27	61	68	75	74.3
445569	5	25	33	53	50	76	89.6

[0418]

실시예 7: 인간 골격근 세포(hSKMc)에서의 인간 DMPK의 안티센스 억제

[0420]

인간 DMPK 핵산을 표적으로 하는 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 시험관내에서 DMPK RNA 전사물에 대한 이의 효과에 대해 시험하였다. 웰 당 20,000개 세포의 밀도로 배양된 hSKMc를 전기천공을 이용하여 10,000nM 안티센스 올리고뉴클레오타이드로 트랜스펙션시켰다. 약 24시간 후, RNA를 세포로부터 분리시키고, DMPK 전사물 수준을 정량 실시간 PCR에 의해 측정하였다. DMPK RNA 전사물 수준을 RIBOGREEN(등록상표)에 의해 측정되는 바와 같은 전체 RNA 함량에 따라 조정하였다. 결과는 처리되지 않은 대조군 세포에 비한 DMPK의 억제 퍼센트로 제시된다.

[0421]

표 12 및 표 13의 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 5-10-5 캡마이며, 여기서 캡 세그먼트는 10개의 2'-데옥시뉴클레오사이드를 포함하고, 각각의 왕 세그먼트는 5개의 2'-MOE 뉴클레오사이드를 포함한다. 각각의 캡마 전체에 걸친 뉴클레오사이드간 결합은 포스포로티오에이트(P=S) 결합이다. 각각의 캡마 전체에 걸친 모든 사이트 신 잔기는 5-메틸사이토신이다. '표적 시작 부위'는 안티센스 올리고뉴클레오타이드가 인간 유전체 유전자 서열 내에서 표적으로 하는 가장 5'의 뉴클레오사이드를 나타낸다. '표적 정지 부위'는 안티센스 올리고뉴클레오타이드가 인간 유전체 서열 내에서 표적으로 하는 가장 3'의 뉴클레오사이드를 나타낸다. 표 12에 나열된 모든 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 서열번호 1(유전자은행 등록번호 NM_001081560.1)을 표적으로 한다. 표 13에 나열된 모든 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 서열번호 2(뉴클레오타이드 18540696으로부터 18555106까지 트렁케이션된 유전자은행 등록번호 NT_011109.15의 상보체)를 표적으로 한다.

[0422]

여러 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 상기 특정된 조건하에서 DMPK mRNA 수준의 유의한 억제를 나타내었다.

[0423]

표 12: 서열번호 1을 표적으로 하는 5-10-5 캡머에 의한 hSKMc에서의 인간 DMPK RNA 전사물의 억제

표적 시작 부위	표적 정지 부위	ISIS No	서열	% 억제	서열번호
124	143	502369	GCCTGGCAGCCCCCTGTCCAG	16	160
125	144	502370	GGCCTGGCAGCCCCCTGTCCA	58	161
126	145	502371	GGGCCTGGCAGCCCCCTGTCC	62	162
169	188	502372	ATGGCCCCCTCCCCGGGCCGG	41	163
170	189	502373	CATGGCCCCCTCCCCGGGCCGG	29	164
171	190	502374	CCATGGCCCCCTCCCCGGGCC	34	165
172	191	502375	ACCATGGCCCCCTCCCCGGGC	60	166
173	192	502376	CACCATGGCCCCCTCCCCGGGG	68	167
174	193	502377	GCACCATGGCCCCCTCCCCGG	75	168
175	194	502378	AGCACCATGGCCCCCTCCCCG	65	169
176	195	502379	CAGCACCATGGCCCCCTCCCC	63	170
177	196	502380	GCAGCACCATGGCCCCCTCCC	73	171
178	197	502381	GGCAGCACCATGGCCCCCTCC	80	172
180	199	502382	CAGGCAGCACCATGGCCCC	82	173
181	200	502383	ACAGGCAGCACCATGGCCCC	72	174
183	202	502384	GGACAGGCAGCACCATGGCC	70	175
184	203	502385	TGGACAGGCAGCACCATGGC	71	176
185	204	502386	TTGGACAGGCAGCACCATGG	73	177
186	205	502387	GTTGGACAGGCAGCACCATG	73	178
187	206	502388	TGTTGGACAGGCAGCACCAT	60	179
188	207	502389	ATGTTGGACAGGCAGCACCA	75	180
189	208	502390	CATGTTGGACAGGCAGCAC	81	181
190	209	502391	ACATGTTGGACAGGCAGCAC	67	182
191	210	502392	GACATGTTGGACAGGCAGCA	71	183
192	211	502393	TGACATGTTGGACAGGCAGC	81	184
193	212	502394	CTGACATGTTGGACAGGCAG	76	185
194	213	502395	GCTGACATGTTGGACAGGCA	70	186
195	214	502396	GGCTGACATGTTGGACAGGC	77	187
196	215	502397	CGGCTGACATGTTGGACAGG	74	188

[0424]

197	216	502398	TCGGCTGACATGTTGGACAG	63	189
198	217	502399	CTCGGCTGACATGTTGGACA	80	190
199	218	502400	CCTCGGCTGACATGTTGGAC	71	191
200	219	502401	ACCTCGGCTGACATGTTGGA	64	192
201	220	502402	CACCTCGGCTGACATGTTGG	71	193
202	221	502403	GCACCTCGGCTGACATGTTG	77	194
203	222	502404	CGCACCTCGGCTGACATGTT	80	195
204	223	502405	CCGCACCTCGGCTGACATGT	80	196
205	224	502406	GCCGCACCTCGGCTGACATG	79	197
206	225	502407	AGCCGCACCTCGGCTGACAT	74	198
207	226	502408	CAGCCGCACCTCGGCTGACA	66	199
208	227	502409	TCAGCCGCACCTCGGCTGAC	15	200
209	228	502410	CTCAGCCGCACCTCGGCTGA	32	201
210	229	502411	CCTCAGCCGCACCTCGGCTG	65	202
211	230	502412	GCCTCAGCCGCACCTCGGCT	81	203
232	251	502413	CCAACACCAGCTGCTGGAGC	90	204
233	252	502414	TCCAACACCAGCTGCTGGAG	78	205
234	253	502415	GTCCAACACCAGCTGCTGGA	84	206
236	255	502416	GGGTCCAACACCAGCTGCTG	69	207
257	276	502417	GGCTCCAGCCCCAGGAAGCC	46	208
258	277	502418	GGGCTCCAGCCCCAGGAAGC	28	209
276	295	502419	CAGGAGAAGGTCGAGCAGGG	41	210
278	297	502420	CCCAGGAGAAGGTCGAGCAG	71	211
279	298	502421	GCCCCAGGAGAAGGTCGAGCA	85	212
280	299	451363	CGCCCCAGGAGAAGGTCGAGC	84	213
281	300	502422	ACGCCCCAGGAGAAGGTCGAG	67	214
317	336	502423	TCCTGGGCCAGTTCGGAGGC	58	215
318	337	502424	GTCCTGGGCCAGTTCGGAGG	71	216
319	338	502425	TGTCTGGGCCAGTTCGGAG	69	217
320	339	502426	TTGTCTGGGCCAGTTCGGA	71	218
321	340	502427	CTTGTCTGGGCCAGTTCGG	66	219
322	341	502428	ACTTGTCTGGGCCAGTTCG	59	220
323	342	502429	TACTTGTCTGGGCCAGTTC	75	221
324	343	502430	GTACTTGTCTGGGCCAGTT	78	222

[0425]

325	344	502431	CGTACTTGTCCCTGGGCCAGT	74	223
343	362	502432	ACTGCAAGAAGTCGGCCACG	73	224
345	364	502433	CCACTGCAAGAAGTCGGCCA	65	225
346	365	451364	CCCACTGCAAGAAGTCGGCC	32	226
347	366	502434	GCCCCACTGCAAGAAGTCGGC	70	227
348	367	502435	CGCCCCACTGCAAGAAGTCGG	61	228
349	368	502436	CCGCCCCACTGCAAGAAGTCG	54	229
350	369	502437	TCCGCCCCACTGCAAGAAGTC	40	230
351	370	502438	CTCCGCCCCACTGCAAGAAGT	33	231
352	371	502439	GCTCCGCCCCACTGCAAGAAG	23	232
353	372	502440	GGCTCCGCCCCACTGCAAGAA	23	233
354	373	502441	GGGCTCCGCCCCACTGCAAGA	17	234
355	374	502442	TGGGCTCCGCCCACTGCAAG	22	235
356	375	502443	ATGGGCTCCGCCCACTGCAA	14	236
357	376	502444	GATGGGCTCCGCCCACTGCA	43	237
358	377	502445	CGATGGGCTCCGCCCACTG	37	238
359	378	502446	ACGATGGGCTCCGCCCACTG	0	239
360	379	502447	CACGATGGGCTCCGCCCACT	59	240
361	380	502448	CCACGATGGGCTCCGCCAC	69	241
362	381	502449	ACCACGATGGGCTCCGCCA	63	242
363	382	502450	CACCA CGATGGGCTCCGCC	73	243
364	383	502451	TCACCACGATGGGCTCCGCC	77	244
365	384	502452	CTCACCA CGATGGGCTCCGC	66	245
366	385	502453	CCTCACCA CGATGGGCTCCG	81	246
367	386	502454	GCCTCACCA CGATGGGCTCC	77	247
368	387	502455	AGCCTCACCA CGATGGGCTC	63	248
369	388	502456	AAGCCTCACCA CGATGGGCT	70	249
370	389	502457	TAAGCCTCACCA CGATGGG	78	250
371	390	502458	TTAAGCCTCACCA CGATGG	76	251
372	391	502459	CTTAAGCCTCACCA CGATGG	78	252
373	392	502460	CCTTAAGCCTCACCA CGATG	68	253
374	393	502461	TCCTTAAGCCTCACCA CGAT	67	254
375	394	502462	CTCCTTAAGCCTCACCA CGA	84	255
376	395	502463	CCTCCTTAAGCCTCACCA CG	76	256

[0426]

377	396	502464	ACCTCCTTAAGCCTCACCA	64	257
378	397	502465	GACCTCCTTAAGCCTCACCA	72	258
379	398	502466	GGACCTCCTTAAGCCTCAC	69	259
380	399	502467	CGGACCTCCTTAAGCCTCAC	81	260
381	400	502468	TCGGACCTCCTTAAGCCTCA	78	261
382	401	502469	GTCGGACCTCCTTAAGCCTC	57	262
384	403	502470	CAGTCGGACCTCCTTAAGCC	62	263
385	404	502471	GCAGTCGGACCTCCTTAAGC	45	264
386	405	502472	TGCAGTCGGACCTCCTTAAG	60	265
412	431	502473	CCTTCAGAATCTCGAAGTCG	67	266
413	432	502474	ACCTTCAGAATCTCGAAGTC	50	267
415	434	502475	TCACCTTCAGAATCTCGAAG	54	268
416	435	502476	ATCACCTTCAGAATCTCGAA	38	269
417	436	502477	GATCACCTTCAGAATCTCGA	35	270
419	438	502478	CCGATCACCTTCAGAATCTC	52	271
420	439	502479	TCCGATCACCTTCAGAATCT	50	272
421	440	502480	GTCCGATCACCTTCAGAATC	44	273
422	441	502481	CGTCCGATCACCTTCAGAAT	41	274
467	486	502482	CCCGTCTGCTTCATCTTCAC	67	275
468	487	502483	GCCCCGTCTGCTTCATCTCA	76	276
469	488	502484	GGCCCCGTCTGCTTCATCTC	57	277
470	489	502485	TGGCCCGTCTGCTTCATCTT	64	278
471	490	502486	CTGGCCCGTCTGCTTCATCT	64	279
472	491	502487	CCTGGCCCGTCTGCTTCATC	73	280
473	492	502488	ACCTGGCCCGTCTGCTTCAT	64	281
474	493	502489	CACCTGGCCCGTCTGCTTC	80	282
475	494	502490	ACACCTGGCCCGTCTGCTTC	71	283
476	495	502491	TACACCTGGCCCGTCTGCTT	74	284
497	516	502492	TTGTTCATGATCTTCATGGC	56	285
499	518	502493	ACTTGTTCATGATCTTCATG	23	286
500	519	502494	CACTTGTTCATGATCTTCAT	43	287
501	520	502495	CCACTTGTTCATGATCTTC	43	288
502	521	502496	CCCACTGTTCATGATCTTC	47	289
503	522	502497	TCCCACTGTTCATGATCTT	34	290

[0427]

504	523	502498	GTCCCCACTTGTTCATGATCT	34	291
505	524	502499	TGTCCCCACTTGTTCATGATC	27	292
506	525	502500	ATGTCCCCACTTGTTCATGAT	23	293
507	526	502501	CATGTCCCCACTTGTTCATGA	51	294
508	527	502502	GCATGTCCCCACTTGTTCATG	20	295
509	528	502503	AGCATGTCCCCACTTGTTCAT	52	296
510	529	502504	CAGCATGTCCCCACTTGTTC	72	297
511	530	502505	TCAGCATGTCCCCACTTGTTC	70	298
512	531	502506	TTCAGCATGTCCCCACTTGT	53	299
513	532	502507	CTTCAGCATGTCCCCACTTGT	52	300
514	533	502508	TCTTCAGCATGTCCCCACTTG	45	301
516	535	502509	CCTCTTCAGCATGTCCCCACT	68	302
517	536	502510	CCCTCTTCAGCATGTCCCCAC	68	303
518	537	502511	CCCTCTTCAGCATGTCCCCA	79	304
519	538	502512	GCCCCCTTTCAGCATGTCCC	85	305
520	539	502513	CGCCCCCTTTCAGCATGTCC	84	306
521	540	502514	TCGCCCCCTTTCAGCATGTC	80	307
522	541	502515	CTCGCCCCCTTTCAGCATGT	82	308
523	542	502516	CCTCGCCCCCTTTCAGCATG	78	309
524	543	502517	ACCTCGCCCCCTTTCAGCAT	73	310
525	544	502518	CACCTCGCCCCCTTTCAGCA	76	311
526	545	502519	ACACCTCGCCCCCTTTCAGC	79	312
527	546	502520	GACACCTCGCCCCCTTTCAG	73	313
821	840	502521	GCCAGGCGGATGTGGCCACA	57	314
868	887	502522	ACCGCACCGTTCCATCTGCC	62	315
869	888	502523	GACCGCACCGTTCCATCTGC	29	316
923	942	502524	ACAGCCTGCAGGATCTCGGG	86	317
924	943	502525	CACAGCCTGCAGGATCTCGG	81	318
925	944	502526	CCACAGCCTGCAGGATCTCG	83	319
926	945	502527	CCCACAGCCTGCAGGATCTC	84	320
927	946	502528	GCCCCACAGCCTGCAGGATCT	91	321
928	947	502529	CGCCCCACAGCCTGCAGGATC	90	322
929	948	502530	CCGCCCCACAGCCTGCAGGAT	82	323
930	949	502531	ACCGCCCCACAGCCTGCAGGA	83	324

[0428]

931	950	502532	CACCGCCCCACAGCCTGCAGG	85	325
932	951	502533	CCACCGCCCCACAGCCTGCAG	84	326
933	952	502534	CCCACCGCCCCACAGCCTGCA	80	327
934	953	502535	GCCCACCGCCCCACAGCCTGC	90	328
935	954	502536	GGCCCACCGCCCCACAGCCTG	94	329
936	955	502537	AGGCCACCGCCCCACAGCCT	88	330
937	956	502538	CAGGCCACCGCCCCACAGCC	91	331
938	957	502539	CCAGGCCACCGCCCCACAGC	73	332
939	958	502540	CCCAGGCCACCGCCCCACAG	86	333
940	959	502541	TCCCAGGCCACCGCCCCACA	88	334
941	960	502542	GTCCCAGGCCACCGCCCCAC	84	335
942	961	502543	TGTCCCAGGCCACCGCCCCA	85	336
943	962	502544	CTGTCCCAGGCCACCGCCCC	65	337
944	963	502545	CCTGTCCCAGGCCACCGGCC	81	338
945	964	502546	GCCTGTCCCAGGCCACCGC	90	339
946	965	502547	TGCCTGTCCCAGGCCACCG	85	340
947	966	502548	CTGCCTGTCCCAGGCCACCC	89	341
948	967	502549	GCTGCCTGTCCCAGGCCAC	91	342
949	968	502550	AGCTGCCTGTCCCAGGCCA	94	343
950	969	502551	TAGCTGCCTGTCCCAGGCC	92	344
951	970	502552	GTAGCTGCCTGTCCCAGGCC	88	345
952	971	502553	CGTAGCTGCCTGTCCCAGGC	85	346
953	972	502554	CCGTAGCTGCCTGTCCCAGG	83	347
954	973	502555	CCCGTAGCTGCCTGTCCCAG	64	348
955	974	502556	GCCCCGTAGCTGCCTGTCCCA	83	349
956	975	502557	GGCCCGTAGCTGCCTGTCCC	89	350
1004	1023	502558	TAGAACATTCATAGGCGAA	68	351
1042	1061	502559	TCTCCGCCGTGGAATCCGCG	75	352
1043	1062	502560	GTCTCCGCCGTGGAATCCGC	79	353
1044	1063	502561	GGTCTCCGCCGTGGAATCCG	66	354
1045	1064	502562	AGGTCTCCGCCGTGGAATCC	50	355
1046	1065	502563	TAGGTCTCCGCCGTGGAATC	71	356
1067	1086	502564	TTGTAGTGGACGATCTGCC	68	357
1068	1087	502565	CTTGTAGTGGACGATCTGC	70	358

[0429]

1069	1088	502566	CCTTGTAGTGGACGATCTG	61	359
1070	1089	502567	TCCTTGTAGTGGACGATCTT	72	360
1071	1090	502568	CTCCTTGTAGTGGACGATCT	75	361
1072	1091	502569	GCTCCTTGTAGTGGACGATC	75	362
1073	1092	502570	TGCTCCTTGTAGTGGACGAT	83	363
1074	1093	502571	GTGCTCCTTGTAGTGGACGA	72	364
1075	1094	502572	GGTGCTCCTTGTAGTGGACG	66	365
1076	1095	502573	AGGTGCTCCTTGTAGTGGAC	51	366
1077	1096	502574	GAGGTGCTCCTTGTAGTGGAA	46	367
1078	1097	502575	AGAGGTGCTCCTTGTAGTGG	70	368
1079	1098	502576	GAGAGGTGCTCCTTGTAGTG	47	369
1080	1099	502577	AGAGAGGTGCTCCTTGTAGT	65	370
1081	1100	502578	GAGAGAGGTGCTCCTTGTAG	45	371
1082	1101	502579	AGAGAGAGGTGCTCCTTGT	63	372
1083	1102	502580	CAGAGAGAGGTGCTCCTTGT	77	373
1085	1104	502581	GGCAGAGAGAGGTGCTCCTT	70	374
1086	1105	502582	CGGCAGAGAGAGGTGCTCCT	80	375
1087	1106	502583	CGGGCAGAGAGAGGTGCTCC	62	376
1088	1107	502584	AGCGGCAGAGAGAGAGGTGCTC	44	377
1089	1108	502585	CAGCGGCAGAGAGAGAGGTGCT	78	378
1090	1109	502586	CCAGCGGCAGAGAGAGAGGTG	71	379
1165	1184	502587	GGCCCAGCCGTGTCTCCGG	77	380
1166	1185	502588	CGGCCAGCCGTGTCTCCGG	69	381
1167	1186	502589	CCGGCCCAGCCGTGTCTCCG	70	382
1168	1187	502590	CCCGGGCCCAGCCGTGTCTCC	75	383
1169	1188	502591	CCCCGGCCCAGCCGTGTCTC	77	384
1170	1189	502592	ACCCCGGCCAGCCGTGTCT	73	385
1171	1190	502593	CACCCCGGCCAGCCGTGTC	84	386
1172	1191	502594	CCACCCCGGCCAGCCGTGT	78	387
1173	1192	502595	TCCACCCGGCCCAGCCGTG	71	388
1174	1193	502596	CTCCACCCGGCCCAGCCGT	81	389
1175	1194	502597	GCTCCACCCGGCCCAGCCG	86	390
1176	1195	502598	TGCTCCACCCGGCCCAGCC	83	391
1177	1196	502599	CTGCTCCACCCGGCCCAGC	88	392

[0430]

1199	1218	502600	AAGGGATGTGTCGGAGTC	60	393
1200	1219	502601	GAAGGGATGTGTCGGAGT	58	394
1201	1220	502602	AGAAGGGATGTGTCGGAG	63	395
1202	1221	502603	AAGAAGGGATGTGTCGGAA	62	396
1203	1222	502604	GAAGAAGGGATGTGTCGG	61	397
1204	1223	502605	AGAAGAAGGGATGTGTCGG	62	398
1205	1224	502606	AAGAAGAAGGGATGTGTCG	56	399
1206	1225	502607	AAAGAAGAAGGGATGTGTC	58	400
1207	1226	502608	CAAAGAAGAAGGGATGTGTC	50	401
1208	1227	502609	CCAAAGAAGAAGGGATGTGT	61	402
1210	1229	502610	GGCCAAAGAAGAAGGGATGT	73	403
1211	1230	502611	AGGCCAAAGAAGAAGGGATG	56	404
1212	1231	502612	GAGGCCAAAGAAGAAGGGAT	73	405
1213	1232	502613	CGAGGCCAAAGAAGAAGGG	75	406
1214	1233	502614	TCGAGGCCAAAGAAGAAGGG	75	407
1215	1234	502615	GTCGAGGCCAAAGAAGAAGG	83	408
1216	1235	502616	AGTCGAGGCCAAAGAAGAAG	58	409
1217	1236	502617	CAGTCGAGGCCAAAGAAGAA	52	410
1218	1237	502618	CCAGTCGAGGCCAAAGAAGA	68	411
1219	1238	502619	CCCAGTCGAGGCCAAAGAAG	78	412
1220	1239	502620	TCCCAGTCGAGGCCAAAGAA	66	413
1221	1240	502621	ATCCCAGTCGAGGCCAAAGA	75	414
1222	1241	502622	CATCCCAGTCGAGGCCAAAG	70	415
1223	1242	502623	CCATCCCAGTCGAGGCCAAA	81	416
1224	1243	502624	ACCATCCCAGTCGAGGCCAA	82	417
1225	1244	502625	GACCATCCCAGTCGAGGCCA	88	418
1226	1245	502626	AGACCATCCCAGTCGAGGCC	79	419
1227	1246	502627	GAGACCATCCCAGTCGAGGC	82	420
1228	1247	502628	GGAGACCATCCCAGTCGAGG	60	421
1263	1282	502629	TTCGAAATCCGGTGTAAAGG	84	422
1264	1283	502630	CTTCGAAATCCGGTGTAAAG	57	423
1265	1284	502631	CCTTCGAAATCCGGTGTAAA	64	424
1266	1285	502632	ACCTTCGAAATCCGGTGTAA	73	425
1267	1286	502633	CACCTTCGAAATCCGGTGTAA	77	426

[0431]

1268	1287	502634	GCACCTTCGAAATCCGGTGT	59	427
1269	1288	502635	GGCACCTTCGAAATCCGGT	85	428
1270	1289	502636	TGGCACCTTCGAAATCCGGT	86	429
1271	1290	502637	GTGGCACCTTCGAAATCCGG	74	430
1272	1291	502638	GGTGGCACCTTCGAAATCCG	79	431
1273	1292	502639	CGGTGGCACCTTCGAAATCC	85	432
1274	1293	502640	TCGGTGGCACCTTCGAAATC	71	433
1275	1294	502641	GTCGGTGGCACCTTCGAAAT	88	434
1276	1295	502642	TGTCGGTGGCACCTTCGAAA	89	435
1277	1296	502643	GTGTCGGTGGCACCTTCGAA	88	436
1278	1297	502644	TGTGTCGGTGGCACCTTCGA	87	437
1279	1298	502645	ATGTGTCGGTGGCACCTTCG	88	438
1280	1299	502646	CATGTGTCGGTGGCACCTTC	88	439
1281	1300	502647	GCATGTGTCGGTGGCACCTT	91	440
1282	1301	502648	TGCATGTGTCGGTGGCACCT	87	441
1283	1302	502649	TTGCATGTGTCGGTGGCAC	86	442
1284	1303	502650	GTTGCATGTGTCGGTGGCAC	83	443
1285	1304	502651	AGTTGCATGTGTCGGTGGCA	81	444
1286	1305	502652	AAGTTGCATGTGTCGGTGGC	79	445
1287	1306	502653	GAAGTTGCATGTGTCGGTGG	58	446
1288	1307	502654	CGAAGTTGCATGTGTCGGT	85	447
1289	1309	502655	GTCGAAGTTGCATGTGTCGG	77	448
1291	1310	502656	AGTCGAAGTTGCATGTGTCG	79	449
1292	1311	502657	AAGTCGAAGTTGCATGTGTC	74	450
1293	1312	502658	CAAGTCGAAGTTGCATGTGT	82	451
1294	1313	502659	CCAAGTCGAAGTTGCATGT	82	452
1295	1314	502660	ACCAAGTCGAAGTTGCATGT	70	453
1296	1315	502661	CACCAAGTCGAAGTTGCATG	76	454
1297	1316	502662	CCACCAAGTCGAAGTTGCAT	79	455
1298	1317	502663	TCCACCAAGTCGAAGTTGCA	68	456
1299	1318	502664	CTCCACCAAGTCGAAGTTGC	71	457
1300	1319	502665	CCTCCACCAAGTCGAAGTTG	67	458
1301	1320	502666	TCCTCCACCAAGTCGAAGTT	70	459
1302	1321	502667	GTCCTCCACCAAGTCGAAGT	80	460

[0432]

1303	1322	502668	CGTCCTCCACCAAGTCGAAG	76	461
1304	1323	502669	CCGTCTCCACCAAGTCGA	78	462
1305	1324	502670	CCCGTCTCCACCAAGTCGA	83	463
1306	1325	502671	GCCC GTCTCCACCAAGTCG	76	464
1307	1326	502672	AGCCC GTCTCCACCAAGTC	72	465
1308	1327	502673	GAGCCCGTCTCCACCAAGT	71	466
1309	1328	502674	TGAGCCCGTCTCCACCAAG	60	467
1702	1721	502675	GGTTCCGAGCCTCTGCCTCG	44	468
1703	1722	502676	CGGTTCCGAGCCTCTGCCTC	74	469
1704	1723	502677	CCGGTTCCGAGCCTCTGCCT	72	470
1705	1724	502678	CCCGGTTCCGAGCCTCTGCC	73	471
1706	1725	502679	TCCCGGTTCCGAGCCTCTGC	84	472
1707	1726	502680	GTCCC CGTTCCGAGCCTCTG	66	473
1709	1728	502681	AGGTCCC CGTTCCGAGCCTC	82	474
1710	1729	502682	TAGGTCCC CGTTCCGAGCCT	83	475
1711	1730	502683	CTAGGTCCC CGTTCCGAGCC	81	476
1712	1731	502684	TCTAGGTCCC CGTTCCGAGC	74	477
1713	1732	502685	CTCTAGGTCCC CGTTCCGAG	78	478
1714	1733	502686	CCTCTAGGTCCC CGTTCCGA	75	479
1715	1734	502687	GCCTCTAGGTCCC CGTTCCG	80	480
1743	1762	502688	CATCCGCTCTGCAACTGCC	89	481
1744	1763	502689	CCATCCGCTCTGCAACTGC	81	482
1745	1764	502690	TCCATCCGCTCTGCAACTG	71	483
1746	1765	502691	CTCCATCCGCTCTGCAACT	75	484
1747	1766	502692	ACTCCATCCGCTCTGCAAC	64	485
1748	1767	502693	AACTCCATCCGCTCTGCAA	52	486
1749	1768	502694	CAACTCCATCCGCTCTGCA	45	487
1751	1770	502695	AGCAACTCCATCCGCTCTG	78	488
1752	1771	502696	CAGCAACTCCATCCGCTCCT	64	489
1753	1772	502697	GCAGCAACTCCATCCGCTCC	56	490
1774	1793	502698	CAGCTGTGGCTCCCTCTGCC	60	491
1775	1794	502699	ACAGCTGTGGCTCCCTCTGC	45	492
1776	1795	502700	GACAGCTGTGGCTCCCTCTG	49	493
1777	1796	502701	TGACAGCTGTGGCTCCCTCT	26	494

[0433]

1778	1797	502702	GTGACAGCTGTGGCTCCCTC	32	495
1779	1798	502703	CGTGACAGCTGTGGCTCCCT	28	496
1780	1799	502704	CCGTGACAGCTGTGGCTCCC	35	497
1781	1800	502705	CCCGTGACAGCTGTGGCTCC	33	498
1782	1801	502706	CCCCGTGACAGCTGTGGCTC	53	499
1783	1802	502707	CCCCCGTGACAGCTGTGGCT	39	500
1784	1803	502708	ACCCCCGTGACAGCTGTGGC	53	501
1785	1804	502709	GACCCCCGTGACAGCTGTGG	51	502
1786	1805	502710	GGACCCCCGTGACAGCTGTG	58	503
1787	1806	502711	GGGACCCCCGTGACAGCTGT	71	504
1814	1833	502712	GAAGGTGGATCCGTGGCCG	73	505
1815	1834	502713	GGAAGGTGGATCCGTGCC	70	506
1816	1835	502714	GGGAAGGTGGATCCGTGGCC	72	507
1817	1836	502715	TGGGAAGGTGGATCCGTGGC	50	508
1818	1837	502716	ATGGGAAGGTGGATCCGTGG	62	509
1819	1838	502717	GATGGGAAGGTGGATCCGTG	75	510
1821	1840	502718	TAGATGGGAAGGTGGATCCG	52	511
1822	1841	502719	CTAGATGGGAAGGTGGATCC	56	512
1823	1842	502720	TCTAGATGGGAAGGTGGATC	21	513
1824	1843	502721	ATCTAGATGGGAAGGTGGAT	34	514
1826	1845	502722	CCATCTAGATGGGAAGGTGG	43	515
1827	1846	502723	GCCATCTAGATGGGAAGGTG	17	516
1828	1847	451383	GGCCATCTAGATGGGAAGGT	0	517
1863	1882	502724	CACCAGCGGGCACTGGCCCA	51	518
1864	1883	502725	CCACCAGCGGGCACTGGCCC	55	519
1865	1884	502726	CCCACCAAGCGGGCACTGGCC	61	520
1866	1885	502727	CCCCACCAGCGGGCACTGGC	43	521
1868	1887	502728	GGCCCCACCAGCGGGCACTG	16	522
1869	1888	502729	TGGCCCCACCAGCGGGCACT	43	523
1870	1889	502730	CTGGCCCCACCAGCGGGCAC	43	524
1871	1890	502731	CCTGGCCCCACCAGCGGGCA	41	525
1872	1891	502732	GCCTGGCCCCACCAGCGGGC	30	526
1874	1893	502733	GGGCCTGGCCCCACCAGCGG	66	527
1892	1911	502734	AGGTGGCGGCGGTGCATGGG	31	528

[0434]

1893	1912	502735	CAGGTGGCGGCGGTGCATGG	23	529
1894	1913	502736	GCAGGTGGCGGCGGTGCATG	57	530
1895	1914	502737	AGCAGGTGGCGGCGGTGCAT	54	531
1896	1915	502738	CAGCAGGTGGCGGCGGTGCA	61	532
1897	1916	502739	GCAGCAGGTGGCGGCGGTGC	57	533
1898	1917	502740	AGCAGCAGGTGGCGGCGGTG	36	534
1899	1918	502741	GAGCAGCAGGTGGCGGCGGT	53	535
1900	1919	502742	GGAGCAGCAGGTGGCGGCGG	39	536
1901	1920	502743	GGGAGCAGCAGGTGGCGGCG	36	537
1902	1921	502744	AGGGAGCAGCAGGTGGCGG	62	538
1903	1922	502745	CAGGGAGCAGCAGGTGGCGG	56	539
1904	1923	502746	GCAGGGAGCAGCAGGTGGCG	58	540
1905	1924	502747	GGCAGGGAGCAGCAGGTGGC	65	541
1906	1925	502748	TGGCAGGGAGCAGCAGGTG	47	542
1907	1926	502749	CTGGCAGGGAGCAGCAGGT	41	543
1909	1928	451432	CCCTGGCAGGGAGCAGCAGG	53	544
1910	1929	502750	ACCCCTGGCAGGGAGCAGCAG	52	545
1911	1930	502751	GACCCCTGGCAGGGAGCAGCA	77	546
1912	1931	502752	GGACCCCTGGCAGGGAGCAGC	0	547
1919	1938	502753	GGCCTAGGGACCCCTGGCAGG	39	548
1920	1939	502754	AGGCCTAGGGACCCCTGGCAG	35	549
1922	1941	502755	CCAGGCCTAGGGACCCCTGGC	44	550
1923	1942	502756	GCCAGGCCTAGGGACCCCTGG	60	551
1924	1943	502757	GGCCAGGCCTAGGGACCCCTG	58	552
1925	1944	502758	AGGCCAGGCCTAGGGACCCCT	57	553
1926	1945	502759	TAGGCCAGGCCTAGGGACCC	52	554
1927	1946	502760	ATAGGCCAGGCCTAGGGACC	51	555
1928	1947	502761	GATAGGCCAGGCCTAGGGAC	41	556
1929	1948	502762	CGATAGGCCAGGCCTAGGGGA	69	557
1930	1949	502763	CCGATAGGCCAGGCCTAGGG	80	558
1931	1950	502764	TCCGATAGGCCAGGCCTAGG	78	559
1932	1951	502765	CTCCGATAGGCCAGGCCTAG	89	560
1933	1952	502766	CCTCCGATAGGCCAGGCCTA	79	561
1934	1953	502767	GCCTCCGATAGGCCAGGCCT	73	562

[0435]

1936	1955	502768	GCGCCTCCGATAGGCCAGGC	83	563
1952	1971	502769	AACAGGAGCAGGGAAAGCGC	83	564
1953	1972	502770	GAACAGGAGCAGGGAAAGCG	70	565
1954	1973	502771	CGAACAGGAGCAGGGAAAGC	43	566
1955	1974	502772	GCGAACAGGAGCAGGGAAAG	47	567
1956	1975	502773	GGCGAACAGGAGCAGGGAAA	61	568
1957	1976	502774	CGGCGAACAGGAGCAGGGAA	74	569
1958	1977	502775	ACGGCGAACAGGAGCAGGGAA	60	570
1959	1978	502776	AACGGCGAACAGGAGCAGGG	86	571
1960	1979	502777	CAACGGCGAACAGGAGCAGG	84	572
1981	2000	502778	GGGCGGCGGCACGAGACAGA	80	573
1982	2001	502779	AGGGCGGCAGGCACGAGACAG	76	574
1983	2002	502780	CAGGGCGGCAGGCACGAGACA	58	575
1984	2003	502781	CCAGGGCGGCAGGAGACAG	80	576
1985	2004	502782	CCCAGGGCGGCAGGAGACAGA	59	577
1986	2005	502783	GCCCAGGGCGGCAGGAGACAG	68	578
1987	2006	502784	AGCCCAGGGCGGCAGGAGAC	75	579
1988	2007	502785	CAGCCCAGGGCGGCAGGAGAC	76	580
1989	2008	502786	GCAGCCCAGGGCGGCAGGAGAC	70	581
2026	2045	502787	CTGCGGTGAGTTGGCCGGCG	68	582
2027	2046	502788	ACTGCGGTGAGTTGGCCGGC	67	583
2028	2047	502789	GAUTGCGGTGAGTTGGCCGG	58	584
2029	2048	502790	AGACTGCGGTGAGTTGGCCG	71	585
2030	2049	502791	CAGACTGCGGTGAGTTGGCC	70	586
2031	2050	502792	CCAGACTGCGGTGAGTTGGC	79	587
2032	2051	502793	GCCAGACTGCGGTGAGTTGG	76	588
2033	2052	502794	CGCCAGACTGCGGTGAGTTG	66	589
2077	2096	502795	AAGACAGTTCTAGGGTTCA	87	590
2078	2097	502796	GAAGACAGTTCTAGGGTTCA	78	591
2079	2098	502797	CGAAGACAGTTCTAGGGTT	85	592
2080	2099	502798	TCGAAGACAGTTCTAGGGTT	78	593
2081	2100	502799	GTCGAAGACAGTTCTAGGGT	92	594
2082	2101	502800	AGTCGAAGACAGTTCTAGGG	85	595
2083	2102	502801	GAGTCGAAGACAGTTCTAGG	83	596

[0436]

2084	2103	502802	GGAGTCGAAGACAGTTCTAG	86	597
2085	2104	502803	CGGAGTCGAAGACAGTTCTA	91	598
2086	2105	502804	CCGGAGTCGAAGACAGTTCT	76	599
2087	2106	502805	CCCGGAGTCGAAGACAGTTTC	90	600
2088	2107	502806	CCCCGGAGTCGAAGACAGTT	83	601
2089	2108	502807	GCCCCGGAGTCGAAGACAGT	82	602
2090	2109	502808	GGCCCCGGAGTCGAAGACAG	73	603
2091	2110	502809	GGGCCCCGGAGTCGAAGACA	67	604
2143	2162	502810	AGGCAGGTGGCGCGGCTTCT	73	605
2144	2163	502811	CAGGCAGGTGGCGCGGCTTC	57	606
2145	2164	502812	GCAGGCAGGTGGCGCGGCTT	69	607
2147	2166	502813	TGGCAGGCGGTGGCGCGGC	73	608
2149	2168	502814	ACTGGCAGGCGGTGGCGCG	56	609
2151	2170	502815	GAACCTGGCAGGCGGTGGCG	71	610
2152	2171	502816	TGAACCTGGCAGGCGGTGGC	80	611
2154	2173	502817	TGTGAACCTGGCAGGCGGTGG	85	612
2187	2206	502818	TGGAGCTGGCGGGAGACCA	55	613
2189	2208	502819	ACTGGAGCTGGCGGGAGACC	53	614
2190	2209	502820	GACTGGAGCTGGCGGGAGAC	55	615
2192	2211	502821	AGGACTGGAGCTGGCGGAG	76	616
2194	2213	502822	ACAGGACTGGAGCTGGCGG	77	617
2195	2214	502823	CACAGGACTGGAGCTGGCG	74	618
2196	2215	502824	TCACAGGACTGGAGCTGGC	90	619
2386	2405	502825	GCCTCAGCCTGGCCAAAGA	80	620
2387	2406	502826	GGCCTCAGCCTGGCCAAAG	72	621
2490	2509	444401	TTGCACTTTCGAAACCAACG	97	41

[0437]

[0438]

표 13: 서열번호 2를 표적으로 하는 5-10-5 캡머에 의한 hSKMc에서의 인간 DMPK RNA 전사물의 억제

표적 시작 부위	표적 정지 부위	ISIS No	서열	% 억제	서열번호
503	522	502983	TGGTGGAGCCAAGCCCTCCC	83	622
561	580	502984	GGGCACCCCTCAGAGCCTGAA	82	623

[0439]

1197	1216	502369	GCCTGGCAGCCCCCTGTCCAG	16	160
1198	1217	502370	GGCCTGGCAGCCCCCTGTCCA	58	161
1199	1218	502371	GGGCCTGGCAGCCCCCTGTCC	62	162
1242	1261	502372	ATGGCCCCTCCCCGGGCCGG	41	163
1243	1262	502373	CATGGCCCCTCCCCGGGCCGG	29	164
1244	1263	502374	CCATGGCCCCTCCCCGGGCC	34	165
1245	1264	502375	ACCATGGCCCCTCCCCGGGCC	60	166
1246	1265	502376	CACCATGGCCCCTCCCCGGGG	68	167
1247	1266	502377	GCACCATGGCCCCTCCCCGGG	75	168
1248	1267	502378	AGCACCATGGCCCCTCCCCGG	65	169
1249	1268	502379	CAGCACCATGGCCCCTCCCC	63	170
1250	1269	502380	GCAGCACCATGGCCCCTCCCC	73	171
1251	1270	502381	GGCAGCACCATGGCCCCTCCC	80	172
1253	1272	502382	CAGGCAGCACCATGGCCCCT	82	173
1254	1273	502383	ACAGGCAGCACCATGGCCCC	72	174
1256	1275	502384	GGACAGGCAGCACCATGGCC	70	175
1257	1276	502385	TGGACAGGCAGCACCATGGC	71	176
1258	1277	502386	TTGGACAGGCAGCACCATGG	73	177
1259	1278	502387	GTGGACAGGCAGCACCATG	73	178
1260	1279	502388	TGTTGGACAGGCAGCACCAT	60	179
1261	1280	502389	ATGTTGGACAGGCAGCACCA	75	180
1262	1281	502390	CATGTTGGACAGGCAGCAC	81	181
1263	1282	502391	ACATGTTGGACAGGCAGCAC	67	182
1264	1283	502392	GACATGTTGGACAGGCAGCA	71	183
1265	1284	502393	TGACATGTTGGACAGGCAGC	81	184
1266	1285	502394	CTGACATGTTGGACAGGCAG	76	185
1267	1286	502395	GCTGACATGTTGGACAGGCA	70	186
1268	1287	502396	GGCTGACATGTTGGACAGGC	77	187
1269	1288	502397	CGGCTGACATGTTGGACAGG	74	188
1270	1289	502398	TCGGCTGACATGTTGGACAG	63	189
1271	1290	502399	CTCGGCTGACATGTTGGACA	80	190
1272	1291	502400	CCTCGGCTGACATGTTGGAC	71	191
1273	1292	502401	ACCTCGGCTGACATGTTGGA	64	192
1274	1293	502402	CACCTCGGCTGACATGTTGG	71	193

[0440]

1275	1294	502403	GCACCTCGGCTGACATGTT	77	194
1276	1295	502404	CGCACCTCGGCTGACATGTT	80	195
1277	1296	502405	CCGCACCTCGGCTGACATGT	80	196
1278	1297	502406	GCCGCACCTCGGCTGACATG	79	197
1279	1298	502407	AGCCGCACCTCGGCTGACAT	74	198
1280	1299	502408	CAGCCGCACCTCGGCTGACA	66	199
1281	1300	502409	TCAGCCGCACCTCGGCTGAC	15	200
1282	1301	502410	CTCAGCCGCACCTCGGCTGA	32	201
1283	1302	502411	CCTCAGCCGCACCTCGGCTG	65	202
1284	1303	502412	GCCTCAGCCGCACCTCGGCT	81	203
1305	1324	502413	CCAACACCAGCTGCTGGAGC	90	204
1306	1325	502414	TCCAACACCAGCTGCTGGAG	78	205
1307	1326	502415	GTCCAACACCAGCTGCTGGA	84	206
1309	1328	502416	GGGTCCAACACCAGCTGCTG	69	207
1330	1349	502417	GGCTCCAGCCCCAGGAAGCC	46	208
1331	1350	502418	GGGCTCCAGCCCCAGGAAGC	28	209
1349	1368	502419	CAGGAGAAGGTCGAGCAGGG	41	210
1351	1370	502420	CCCAGGAGAAGGTCGAGCAG	71	211
1352	1371	502421	GCCCAGGAGAAGGTCGAGCA	85	212
1353	1372	451363	CGCCCAGGAGAAGGTCGAGC	84	213
1354	1373	502422	ACGCCAGGAGAAGGTCGAG	67	214
1390	1409	502423	TCCTGGGCCAGTCGGAGGC	58	215
1391	1410	502424	GTCCTGGGCCAGTCGGAGG	71	216
1392	1411	502425	TGTCCTGGGCCAGTCGGAG	69	217
1393	1412	502426	TTGTCCCTGGGCCAGTCGGA	71	218
1394	1413	502427	CTTGTCCCTGGGCCAGTCGG	66	219
1395	1414	502428	ACTTGTCCCTGGGCCAGTCG	59	220
1396	1415	502429	TACTTGTCCCTGGGCCAGTT	75	221
1397	1416	502430	GTACTTGTCCCTGGGCCAGTT	78	222
1398	1417	502431	CGTACTTGTCCCTGGGCCAGT	74	223
1416	1435	502432	ACTGCAAGAAGTCGGCACG	73	224
1418	1437	502433	CCACTGCAAGAAGTCGGCCA	65	225
1419	1438	451364	CCCACTGCAAGAAGTCGGCC	32	226
1421	1440	502985	ACCCCAC TGCAAGAAGTCGG	60	624

[0441]

1551	1570	502986	GCCCCAGGATGGGAGGATCT	58	625
1597	1616	502987	CATAGGACAGAGAAATGTTG	70	626
1630	1649	502988	TGCTGACCTTACTCTGCC	86	627
1666	1685	502989	TAAGCCATGGCTCTGAGTCA	51	628
1712	1731	502990	AGAGAGGCCATGGGAGGCTG	42	629
1841	1860	502991	CTGGCCCTCCTGGCTGCC	72	630
1853	1872	502992	AGCTGCCCATGCTGCC	76	631
1862	1881	502993	GCCCCTGGCAGCTGCC	70	632
1873	1892	502994	CTGTCGGCTGCGCCCTGGC	78	633
1887	1906	502995	CGCCGAACACCTGCCTGTCG	68	634
1931	1950	502996	CCTCCCAGTGCCTGGCACC	52	635
1981	2000	502998	GCGCCTGTCTGCAAAGCTGG	84	636
2025	2044	502999	CCCAAAGTTGCCCTCCTGG	83	637
2038	2057	503000	ACACCCAGAAGAACCCAAAG	75	638
2117	2136	503001	CTGACCCACACGGCTCATAG	65	639
2235	2254	503002	TGGCCCCAGGCCCTGGAAAG	67	640
2278	2297	503003	GACAAGGCAGCTGGCAGAAG	79	641
2331	2350	503004	AAGAAACCAGTGACCAGTGA	85	642
2523	2542	503005	CTGTGAAATGGGAGGGAGGAG	0	643
2578	2597	503006	GAAGGTTTTCCAGAGGCTG	88	644
2615	2634	503007	GGCCAGGAGAGTCATTAGGG	84	645
2710	2729	503008	CCACAAAAGGAGTGCTCCTC	79	646
2789	2808	503009	CCTTTAAGGCAGCAGGAAC	78	647
3629	3648	503010	CTAGGACTGTCTGCTTCCA	88	648
3761	3780	502452	CTCACACGATGGGCTCCGC	66	245
3762	3781	502453	CCTCACACGATGGGCTCCG	81	246
3763	3782	502454	GCCTCACACGATGGGCTCC	77	247
3764	3783	502455	AGCCTCACACGATGGGCTC	63	248
3765	3784	502456	AAGCCTCACACGATGGGCT	70	249
3766	3785	502457	TAAGCCTCACACGATGGC	78	250
3767	3786	502458	TTAAGCCTCACACGATGGG	76	251
3768	3787	502459	CTTAAGCCTCACACGATGG	78	252
3769	3788	502460	CCTTAAGCCTCACACGATG	68	253
3770	3789	502461	TCCTTAAGCCTCACACGAT	67	254

[0442]

3771	3790	502462	CTCCTTAAGCCTCACCA	84	255
3772	3791	502463	CCTCCTTAAGCCTCACCA	76	256
3773	3792	502464	ACCTCCTTAAGCCTCACCA	64	257
3774	3793	502465	GACCTCCTTAAGCCTCACCA	72	258
3775	3794	502466	GGACCTCCTTAAGCCTCACCA	69	259
3776	3795	502467	CGGACCTCCTTAAGCCTCACCA	81	260
3777	3796	502468	TCGGACCTCCTTAAGCCTCACCA	78	261
3778	3797	502469	GTCGGACCTCCTTAAGCCTCACCA	57	262
3780	3799	502470	CAGTCGGACCTCCTTAAGGCC	62	263
3781	3800	502471	GCAGTCGGACCTCCTTAAGC	45	264
3782	3801	502472	TGCAGTCGGACCTCCTTAAG	60	265
3808	3827	502473	CCTTCAGAATCTCGAAGTCG	67	266
3809	3828	502474	ACCTTCAGAATCTCGAAGTC	50	267
3811	3830	502475	TCACCTTCAGAATCTCGAAG	54	268
3812	3831	502476	ATCACCTTCAGAATCTCGAA	38	269
3813	3832	502477	GATCACCTTCAGAATCTCGA	35	270
3815	3834	502478	CCGATCACCTTCAGAATCTC	52	271
3816	3835	502479	TCCGATCACCTTCAGAATCT	50	272
3817	3836	502480	GTCCGATCACCTTCAGAATC	44	273
3818	3837	502481	CGTCCGATCACCTTCAGAAT	41	274
3921	3940	503011	GTCATTCAATTTCTAAG	44	649
4118	4137	502482	CCCGTCTGCTTCATCTCAC	67	275
4119	4138	502483	GCCCCGTCTGCTTCATCTCA	76	276
4120	4139	502484	GGCCCCGTCTGCTTCATCTC	57	277
4121	4140	502485	TGGCCCCGTCTGCTTCATCTT	64	278
4122	4141	502486	CTGGCCCCGTCTGCTTCATCT	64	279
4123	4142	502487	CCTGGCCCCGTCTGCTTCATC	73	280
4124	4143	502488	ACCTGGCCCCGTCTGCTTCAT	64	281
4125	4144	502489	CACCTGGCCCCGTCTGCTTCATCA	80	282
4126	4145	502490	ACACCTGGCCCCGTCTGCTTC	71	283
4127	4146	502491	TACACCTGGCCCCGTCTGCTT	74	284
4148	4167	502492	TTGTTCATGATCTTCATGGC	56	285
4150	4169	502493	ACTTGTTCATGATCTTCATG	23	286
4151	4170	502494	CACTTGTTCATGATCTTCAT	43	287

[0443]

4152	4171	502495	CCACTTGTCATGATCTTC	43	288
4153	4172	502496	CCCACTTGTCATGATCTTC	47	289
4154	4173	502497	TCCCACTTGTCATGATCTT	34	290
4155	4174	502498	GTCCCACCTGTCATGATCT	34	291
4156	4175	502499	TGTCCCACCTGTCATGATC	27	292
4157	4176	502500	ATGTCCCACCTGTCATGAT	23	293
4158	4177	502501	CATGTCCCACCTGTCATGA	51	294
4159	4178	502502	GCATGTCCCACCTGTCATG	20	295
4160	4179	502503	AGCATGTCCCACCTGTCAT	52	296
4161	4180	502504	CAGCATGTCCCACCTGTC	72	297
4162	4181	502505	TCAGCATGTCCCACCTGTC	70	298
4163	4182	502506	TTCAGCATGTCCCACCTGTT	53	299
4164	4183	502507	CTTCAGCATGTCCCACTTGT	52	300
4165	4184	502508	TCTTCAGCATGTCCCACTTG	45	301
4167	4186	502509	CCTCTTCAGCATGTCCCAC	68	302
4168	4187	502510	CCCTCTTCAGCATGTCCCAC	68	303
4169	4188	502511	CCCCCTTCTTCAGCATGTCCC	79	304
4170	4189	502512	GCCCCCTTCTTCAGCATGTCCC	85	305
4171	4190	502513	CGCCCCCTTCTTCAGCATGTCC	84	306
4172	4191	502514	TCGCCCCCTTCTTCAGCATGTC	80	307
4173	4192	502515	CTCGCCCCCTTCTTCAGCATGT	82	308
4174	4193	502516	CCTCGCCCCCTTCTTCAGCATG	78	309
4175	4194	502517	ACCTCGCCCCCTTCTTCAGCAT	73	310
4176	4195	502518	CACCTCGCCCCCTTCTTCAGCA	76	311
4239	4258	503012	GGAGGAGCTGCAGCCGGAGA	7	650
4245	4264	503013	GCACCCGGAGGGAGCTGCAGC	0	651
4261	4280	503014	GCACGACACCTGCAGGGCAC	23	652
4355	4374	503015	AGCTCACCAAGGTAGTTCTCA	49	653
4427	4446	503016	GCTTCCTCTCCCCACCTCCT	65	654
4447	4466	503017	GCAGCACCCCCAATCCTAGA	67	655
4508	4527	503018	GCCCCCTCATCCACCTGACAC	62	656
4613	4632	503019	TTCCAGGTAAGAGACCCCCC	87	657
4679	4698	503020	AGAATAGGTCCCAGACACTC	81	658
4731	4750	503021	CTCCCCCTGAGATGTTCTGG	53	659

[0444]

4858	4877	503022	CCCCAGCCCCAGAGATAACCA	74	660
4927	4946	503023	CCTGATCCATCACGGATGGC	69	661
4987	5006	503024	TACTCCATGACCAGGTAACG	81	662
5185	5204	503025	GCTCTGACCTTCCAAGAAC	56	663
5354	5373	503026	CTCCCTTCTGTGGTCCCAC	0	664
5407	5426	503027	GTCGGGTTTGATGTCCCTGC	75	665
5445	5464	502521	GCCAGGCGGATGTGGCCACA	57	314
5500	5519	503028	AGGGCACTGGCTACCGTTC	45	666
5681	5700	503029	GGGCCCTCCTCCAACCACT	28	667
5708	5727	503030	GCCCACCCCTCTGGGCCAC	45	668
5728	5747	503031	AGGAGCAGAGCGAGGTTGG	38	669
5800	5819	502524	ACAGCCTGCAGGATCTCGG	86	317
5801	5820	502525	CACAGCCTGCAGGATCTCG	81	318
5802	5821	502526	CCACAGCCTGCAGGATCTCG	83	319
5803	5822	502527	CCCACAGCCTGCAGGATCTC	84	320
5804	5823	502528	GCCCCACAGCCTGCAGGATCT	91	321
5805	5824	502529	CGCCCCACAGCCTGCAGGATC	90	322
5806	5825	502530	CGGCCACAGCCTGCAGGAT	82	323
5807	5826	502531	ACCGCCCCACAGCCTGCAGGA	83	324
5808	5827	502532	CACCGCCCCACAGCCTGCAGG	85	325
5809	5828	502533	CCACCGCCCCACAGCCTGCAG	84	326
5810	5829	502534	CCCACCGCCCCACAGCCTGCA	80	327
5811	5830	502535	GCCCCACCGCCCCACAGCCTGC	90	328
5812	5831	502536	GGCCCACCGCCCCACAGCCTG	94	329
5813	5832	502537	AGGCCCCACCGCCCCACAGCCT	88	330
5814	5833	502538	CAGGCCACCGCCCCACAGCC	91	331
5815	5834	502539	CCAGGCCACCGCCCCACAGC	73	332
5816	5835	502540	CCCAGGCCACCGCCCCACAG	86	333
5817	5836	502541	TCCCAGGCCACCGCCCCACA	88	334
5818	5837	502542	GTCCCAGGCCACCGCCCCAC	84	335
5819	5838	502543	TGTCCCAGGCCACCGCCCCA	85	336
5820	5839	502544	CTGTCCCAGGCCACCGCCCC	65	337
5821	5840	502545	CCTGTCCCAGGCCACCGGCC	81	338
5822	5841	502546	GCCTGTCCCAGGCCACCGC	90	339

[0445]

5823	5842	502547	TGCCTGTCCCAGGCCCCACCG	85	340
5824	5843	502548	CTGCCTGTCCCAGGCCCCACC	89	341
5825	5844	502549	GCTGCCTGTCCCAGGCCCCAC	91	342
5826	5845	502550	AGCTGCCTGTCCCAGGCCCCA	94	343
5827	5846	502551	TAGCTGCCTGTCCCAGGCCC	92	344
5828	5847	502552	GTAGCTGCCTGTCCCAGGCC	88	345
5829	5848	502553	CGTAGCTGCCTGTCCCAGGC	85	346
5830	5849	502554	CCGTAGCTGCCTGTCCCAGG	83	347
5831	5850	502555	CCCGTAGCTGCCTGTCCCAG	64	348
5832	5851	502556	GCCCCGTAGCTGCCTGTCCCCA	83	349
5833	5852	502557	GGCCCGTAGCTGCCTGTCCC	89	350
5881	5900	502558	TAGAACATTTCATAGGCGAA	68	351
5919	5938	502559	TCTCCGCCGTGGAATCCGCG	75	352
5920	5939	502560	GTCTCCGCCGTGGAATCCGC	79	353
5921	5940	502561	GGTCTCCGCCGTGGAATCCG	66	354
5922	5941	502562	AGGTCTCCGCCGTGGAATCC	50	355
5923	5942	502563	TAGGTCTCCGCCGTGGAATC	71	356
5944	5963	502564	TTGTAGTGGACGATCTTGCC	68	357
5945	5964	502565	CTTGTAGTGGACGATCTGC	70	358
5946	5965	502566	CCTTGTAGTGGACGATCTTG	61	359
5948	5967	503032	CACCTTGTAGTGGACGATCT	62	670
6039	6058	502582	CGGCAGAGAGAGGGTGTCCCT	80	375
6040	6059	502583	GCGGCAGAGAGAGGGTGTCC	62	376
6041	6060	502584	AGCGGCAGAGAGAGGGTGTCTC	44	377
6042	6061	502585	CAGCGGCAGAGAGAGGGTGT	78	378
6043	6062	502586	CCAGCGGCAGAGAGAGGGTGC	71	379
6118	6137	502587	GGCCCAGCCGTGTCTCCGG	77	380
6119	6138	502588	CGGGCCCAGCCGTGTCTCCG	69	381
6120	6139	502589	CCGGCCCAGCCGTGTCTCCG	70	382
6121	6140	502590	CCCGGCCAGCCGTGTCTCC	75	383
6122	6141	502591	CCCCGGCCCAGCCGTGTCTC	77	384
6123	6142	502592	ACCCCCGGCCCAGCCGTGTCT	73	385
6124	6143	502593	CACCCCCGGCCCAGCCGTGTC	84	386
6125	6144	502594	CCACCCCCGGCCCAGCCGTGT	78	387

[0446]

6126	6145	502595	TCCACCCGGCCCAGCCGT	71	388
6127	6146	502596	CTCCACCCGGCCCAGCCGT	81	389
6128	6147	502597	GCTCCACCCGGCCCAGCCG	86	390
6129	6148	502598	TGCTCCACCCGGCCCAGCC	83	391
6130	6149	502599	CTGCTCCACCCGGCCCAGC	88	392
6152	6171	502600	AAGGGATGTGTCCGGAAGTC	60	393
6153	6172	502601	GAAGGGATGTGTCCGGAAGT	58	394
6154	6173	502602	AGAAGGGATGTGTCCGGAAG	63	395
6155	6174	502603	AAGAAGGGATGTGTCCGGA	62	396
6156	6175	502604	GAAGAAGGGATGTGTCCGGA	61	397
6157	6176	502605	AGAAGAAGGGATGTGTCCG	62	398
6158	6177	502606	AAGAAGAAGGGATGTGTCCG	56	399
6159	6178	502607	AAAGAAGAAGGGATGTGTCC	58	400
6160	6179	502608	CAAAGAAGAAGGGATGTGTC	50	401
6161	6180	502609	CAAAGAAGAAGGGATGTGT	61	402
6163	6182	502610	GGCCAAAGAAGAAGGGATGT	73	403
6164	6183	502611	AGGCCAAAGAAGAAGGGATG	56	404
6165	6184	502612	GAGGCCAAAGAAGAAGGGAT	73	405
6166	6185	502613	CGAGGCCAAAGAAGAAGGG	75	406
6167	6186	502614	TCGAGGCCAAAGAAGAAGGG	75	407
6168	6187	502615	GTCGAGGCCAAAGAAGAAGG	83	408
6169	6188	502616	AGTCGAGGCCAAAGAAGAAG	58	409
6170	6189	502617	CAGTCGAGGCCAAAGAAGAA	52	410
6171	6190	502618	CCAGTCGAGGCCAAAGAAGA	68	411
6172	6191	502619	CCCAGTCGAGGCCAAAGAAG	78	412
6173	6192	502620	TCCCAGTCGAGGCCAAAGAA	66	413
6174	6193	502621	ATCCCAGTCGAGGCCAAAGA	75	414
6175	6194	502622	CATCCCAGTCGAGGCCAAAG	70	415
6176	6195	502623	CCATCCCAGTCGAGGCCAAA	81	416
6177	6196	502624	ACCATCCCAGTCGAGGCCAA	82	417
6178	6197	502625	GACCATCCCAGTCGAGGCCA	88	418
6179	6198	502626	AGACCATCCCAGTCGAGGCC	79	419
6180	6199	502627	GAGACCATCCCAGTCGAGGC	82	420
6181	6200	502628	GGAGACCATCCCAGTCGAGG	60	421

[0447]

6216	6235	502629	TTCGAAATCCGGTGTAAAGG	84	422
6217	6236	502630	CTTCGAAATCCGGTGTAAAG	57	423
6218	6237	502631	CCTTCGAAATCCGGTGTAAA	64	424
6219	6238	502632	ACCTTCGAAATCCGGTGTAA	73	425
6220	6239	502633	CACCTTCGAAATCCGGTGT	77	426
6221	6240	502634	GCACCTTCGAAATCCGGTGT	59	427
6222	6241	502635	GGCACCTTCGAAATCCGGT	85	428
6223	6242	502636	TGGCACCTTCGAAATCCGGT	86	429
6224	6243	502637	GTGGCACCTTCGAAATCCGG	74	430
6225	6244	502638	GGTGGCACCTTCGAAATCCG	79	431
6226	6245	502639	CGGTGGCACCTTCGAAATCC	85	432
6227	6246	502640	TCGGTGGCACCTTCGAAATC	71	433
6228	6247	502641	GTCGGTGGCACCTTCGAAAT	88	434
6229	6248	502642	TGTCGGTGGCACCTTCGAAA	89	435
6230	6249	502643	GTGTCGGTGGCACCTTCGAA	88	436
6231	6250	502644	TGTGTCGGTGGCACCTTCGA	87	437
6232	6251	502645	ATGTGTCGGTGGCACCTTCG	88	438
6233	6252	502646	CATGTGTCGGTGGCACCTTC	88	439
6234	6253	502647	GCATGTGTCGGTGGCACCTT	91	440
6235	6254	502648	TGCATGTGTCGGTGGCACCT	87	441
6236	6255	502649	TTGCATGTGTCGGTGGCAC	86	442
6237	6256	502650	GTTGCATGTGTCGGTGGCAC	83	443
6238	6257	502651	AGTTGCATGTGTCGGTGGCA	81	444
6239	6258	502652	AAGTTGCATGTGTCGGTGGC	79	445
6240	6259	502653	GAAGTTGCATGTGTCGGTGG	58	446
6241	6260	502654	CGAAGTTGCATGTGTCGGT	85	447
6243	6262	502655	GTCGAAGTTGCATGTGTCGG	77	448
6244	6263	502656	AGTCGAAGTTGCATGTGTC	79	449
6245	6264	502657	AAGTCGAAGTTGCATGTGTC	74	450
6246	6265	502658	CAAGTCGAAGTTGCATGTGT	82	451
6247	6266	502659	CCAAGTCGAAGTTGCATGTG	82	452
6248	6267	502660	ACCAAGTCGAAGTTGCATGT	70	453
6249	6268	502661	CACCAAGTCGAAGTTGCATG	76	454
6250	6269	502662	CCACCAAGTCGAAGTTGCAT	79	455

[0448]

6251	6270	502663	TCCACCAAGTCGAAGTTGCA	68	456
6252	6271	502664	CTCCACCAAGTCGAAGTTGC	71	457
6253	6272	502665	CCTCCACCAAGTCGAAGTTG	67	458
6254	6273	502666	TCCTCCACCAAGTCGAAGTT	70	459
6255	6274	502667	GTCCTCCACCAAGTCGAAGT	80	460
6256	6275	502668	CGTCCTCCACCAAGTCGAAG	76	461
6257	6276	502669	CCGTCCTCCACCAAGTCGAA	78	462
6258	6277	502670	CCCGTCCTCCACCAAGTCGA	83	463
6259	6278	502671	GCCCCGTCTCCACCAAGTCG	76	464
6260	6279	502672	AGCCCCGTCTCCACCAAGTC	72	465
6261	6280	502673	GAGCCCCGTCTCCACCAAGT	71	466
6262	6281	502674	TGAGCCCCGTCTCCACCAAG	60	467
6289	6308	503033	CTACCCCCGCCCCCGCTCACC	60	671
6445	6464	503034	CTAGGGTCACTGCTGGGTCT	86	672
6596	6615	503035	CTCAGATAGCTCCCCACTCC	55	673
6794	6813	503036	AATTCCTCTAATTCTCTAGAC	19	674
8666	8685	503037	TACCTGAGGGCCATGCAGGA	51	675
8765	8784	503038	GTTCCAAGACTGATCCTGCA	69	676
11975	11994	502675	GGTTCCGAGCCTCTGCCTCG	44	468
11976	11995	502676	CGGTTCCGAGCCTCTGCCTC	74	469
11977	11996	502677	CCGGTTCCGAGCCTCTGCC	72	470
11978	11997	502678	CCCGGTTCCGAGCCTCTGCC	73	471
11979	11998	502679	TCCCGGTTCCGAGCCTCTGC	84	472
11980	11999	502680	GTCCCGGTTCCGAGCCTCTG	66	473
11982	12001	502681	AGGTCCCAGGTTCCGAGCCTC	82	474
11983	12002	502682	TAGGTCCCCGGTTCCGAGCCT	83	475
11984	12003	502683	CTAGGTCCCCGGTTCCGAGCC	81	476
11985	12004	502684	TCTAGGTCCCCGGTTCCGAGC	74	477
11986	12005	502685	CTCTAGGTCCCCGGTTCCGAG	78	478
11987	12006	502686	CCTCTAGGTCCCCGGTTCCGA	75	479
11988	12007	502687	GCCTCTAGGTCCCCGGTTCCG	80	480
12016	12035	502688	CATCCGCTCTGCAACTGCC	89	481
12017	12036	502689	CCATCCGCTCTGCAACTG	81	482
12018	12037	502690	TCCATCCGCTCTGCAACTG	71	483

[0449]

12019	12038	502691	CTCCATCCGCTCCTGCACT	75	484
12020	12039	502692	ACTCCATCCGCTCCTGCAAC	64	485
12021	12040	502693	AACTCCATCCGCTCCTGCAA	52	486
12022	12041	502694	CAACTCCATCCGCTCCTGCA	45	487
12024	12043	502695	AGCAACTCCATCCGCTCCTG	78	488
12025	12044	502696	CAGCAACTCCATCCGCTCCT	64	489
12026	12045	502697	GCAGCAACTCCATCCGCTCC	56	490
12173	12192	503039	AGGAGGGCGGTGGCGCGCG	0	677
12221	12240	503040	TGACAGCTGGAAGGAGAAGA	41	678
12258	12277	502712	GAAGGTGGATCCGTGGCCCG	73	505
12259	12278	502713	GGAAGGTGGATCCGTGGCCC	70	506
12260	12279	502714	GGGAAGGTGGATCCGTGGCC	72	507
12261	12280	502715	TGGGAAGGTGGATCCGTGGC	50	508
12262	12281	502716	ATGGGAAGGTGGATCCGTGG	62	509
12263	12282	451417	CATGGGAAGGTGGATCCGTG	77	679
12463	12482	503041	GGAGGTTATCTAGGGAGATC	42	680
12542	12561	503042	GAAGGGACAGGTGACCCGAT	69	681
12596	12615	502724	CACCAGCGGGCACTGGCCC	51	518
12597	12616	502725	CCACCAGCGGGCACTGGCCC	55	519
12598	12617	502726	CCCACCAGCGGGCACTGGCC	61	520
12599	12618	502727	CCCCACCAGCGGGCACTGGC	43	521
12601	12620	502728	GGCCCCACCAGCGGGCACTG	16	522
12602	12621	502729	TGGCCCCACCAGCGGGCACT	43	523
12603	12622	502730	CTGGCCCCACCAGCGGGCAC	43	524
12604	12623	502731	CCTGGCCCCACCAGCGGGCA	41	525
12605	12624	502732	GCCTGGCCCCACCAGCGGGC	30	526
12607	12626	502733	GGGCCTGGCCCCACCAGCGG	66	527
12625	12644	502734	AGGTGGCGGGCGGTGCATGG	31	528
12626	12645	502735	CAGGTGGCGGCAGCGGTGCATG	23	529
12627	12646	502736	GCAGGTGGCGGCAGCGGTGCATG	57	530
12628	12647	502737	AGCAGGTGGCGGCAGCGGTGCAT	54	531
12629	12648	502738	CAGCAGGTGGCGGCAGCGGTGCA	61	532
12630	12649	502739	GCAGCAGGTGGCGGCAGCGGTG	57	533
12631	12650	502740	AGCAGCAGGTGGCGGCAGCGGTG	36	534

[0450]

12632	12651	502741	GAGCAGCAGGTGGCGGCGT	53	535
12633	12652	502742	GGAGCAGCAGGTGGCGGCG	39	536
12634	12653	502743	GGGAGCAGCAGGTGGCGGCG	36	537
12635	12654	502744	AGGGAGCAGCAGGTGGCGG	62	538
12636	12655	502745	CAGGGAGCAGCAGGTGGCGG	56	539
12637	12656	502746	GCAGGGAGCAGCAGGTGGCG	58	540
12638	12657	502747	GGCAGGGAGCAGCAGGTGGC	65	541
12639	12658	502748	TGGCAGGGAGCAGCAGGTGG	47	542
12640	12659	502749	CTGGCAGGGAGCAGCAGGTG	41	543
12642	12661	451432	CCCTGGCAGGGAGCAGCAGG	53	544
12643	12662	502750	ACCCCTGGCAGGGAGCAGCAG	52	545
12646	12665	503043	CGTACCCCTGGCAGGGAGCAG	59	682
12918	12937	502977	GGACTCGCCCCGCCTACGCC	71	683
12924	12943	502978	CTCCTGGGACTCGCCCCGC	67	684
12925	12944	503044	GCTCCTGGGACTCGCCCCGC	66	685
12929	12948	503045	ATTGGCTCCTGGGACTCGCC	77	686
12930	12949	502979	GATTGGCTCTGGGACTCGC	70	687
12936	12955	502980	GCCTCTGATTGGCTCCTGGG	56	688
12942	12961	502981	GCATGGGCCTCTGATTGGCT	20	689
12948	12967	502982	CACCCGGCATGGGCCTCTGA	20	690
12986	13005	503046	GCCAGGCCTAGGGACCTGCG	58	691
12990	13009	502760	ATAGGCCAGGCCTAGGGACC	51	555
12991	13010	502761	GATAGGCCAGGCCTAGGGAC	41	556
12992	13011	502762	CGATAGGCCAGGCCTAGGGA	69	557
12993	13012	502763	CCGATAGGCCAGGCCTAGGG	80	558
12994	13013	502764	TCCGATAGGCCAGGCCTAGG	78	559
12995	13014	502765	CTCCGATAGGCCAGGCCTAG	89	560
12996	13015	502766	CCTCCGATAGGCCAGGCCTA	79	561
12997	13016	502767	GCCTCCGATAGGCCAGGCCT	73	562
12999	13018	502768	GCGCCTCCGATAGGCCAGGC	83	563
13015	13034	502769	AACAGGAGCAGGGAAAGCGC	83	564
13016	13035	502770	GAACAGGAGCAGGGAAAGCG	70	565
13017	13036	502771	CGAACAGGAGCAGGGAAAGC	43	566
13018	13037	502772	GCGAACAGGAGCAGGGAAAG	47	567

[0451]

13019	13038	502773	GGCGAACAGGAGCAGGGAAA	61	568
13020	13039	502774	CGGCGAACAGGAGCAGGGAA	74	569
13021	13040	502775	ACGGCGAACAGGAGCAGGGA	60	570
13022	13041	502776	AACGGCGAACAGGAGCAGGG	86	571
13023	13042	502777	CAACGGCGAACAGGAGCAGG	84	572
13044	13063	502778	GGGCGGGCGGCACGAGACAGA	80	573
13045	13064	502779	AGGGCGGGCGGCACGAGACAG	76	574
13046	13065	502780	CAGGGCGGGCGGCACGAGACA	58	575
13047	13066	502781	CCAGGGCGGGCGGCACGAGAC	80	576
13048	13067	502782	CCCAGGGCGGCACGAGACAGA	59	577
13049	13068	502783	GCCCAGGGCGGCACGAGACAG	68	578
13050	13069	502784	AGCCCAGGGCGGCACGAGAC	75	579
13051	13070	502785	CAGCCCAGGGCGGCACGAGAC	76	580
13052	13071	502786	GCAGCCCAGGGCGGCACGAGAC	70	581
13089	13108	502787	CTGCGGTGAGTTGGCCGG	68	582
13090	13109	502788	ACTGCGGTGAGTTGGCCGG	67	583
13091	13110	502789	GAATGCGGTGAGTTGGCCGG	58	584
13092	13111	502790	AGACTGCGGTGAGTTGGCCGG	71	585
13093	13112	502791	CAGACTGCGGTGAGTTGCC	70	586
13094	13113	502792	CCAGACTGCGGTGAGTTGGC	79	587
13095	13114	502793	GCCAGACTGCGGTGAGTTGG	76	588
13096	13115	502794	CGCCAGACTGCGGTGAGTTG	66	589
13140	13159	502795	AAGACAGTTCTAGGGTTCA	87	590
13141	13160	502796	GAAGACAGTTCTAGGGTTCA	78	591
13142	13161	502797	CGAAGACAGTTCTAGGGTT	85	592
13143	13162	502798	TCGAAGACAGTTCTAGGGTT	78	593
13144	13163	502799	GTCGAAGACAGTTCTAGGGT	92	594
13145	13164	502800	AGTCGAAGACAGTTCTAGGG	85	595
13146	13165	502801	GAGTCGAAGACAGTTCTAGG	83	596
13147	13166	502802	GGAGTCGAAGACAGTTCTAG	86	597
13148	13167	502803	CGGAGTCGAAGACAGTTCTA	91	598
13149	13168	502804	CCGGAGTCGAAGACAGTTCT	76	599
13150	13169	502805	CCCGGAGTCGAAGACAGTT	90	600
13151	13170	502806	CCCCGGAGTCGAAGACAGTT	83	601

[0452]

13152	13171	502807	GCCCCGGAGTCGAAGACAGT	82	602
13153	13172	502808	GGCCCCGGAGTCGAAGACAG	73	603
13154	13173	502809	GGGCCCCGGAGTCGAAGACA	67	604
13206	13225	502810	AGGCGGTGGGCGCGGCTTCT	73	605
13207	13226	502811	CAGGCGGTGGGCGCGGCTTC	57	606
13208	13227	502812	GCAGGCAGGCGGTGGCGCGCTT	69	607
13210	13229	502813	TGGCAGGCAGGCGGTGGCGCGC	73	608
13212	13231	502814	ACTGGCAGGCAGGCGGTGGCGCG	56	609
13214	13233	502815	GAACCTGGCAGGCAGGCGGTGGCG	71	610
13215	13234	502816	TGAACCTGGCAGGCAGGCGGTGGC	80	611
13217	13236	502817	TGTGAACCTGGCAGGCAGGCGGTGG	85	612
13250	13269	502818	TGGAGCTGGGCGGAGACCCA	55	613
13252	13271	502819	ACTGGAGCTGGGCGGAGACCC	53	614
13253	13272	502820	GACTGGAGCTGGGCGGAGAC	55	615
13255	13274	502821	AGGACTGGAGCTGGGCGGAG	76	616
13257	13276	502822	ACAGGACTGGAGCTGGGCGG	77	617
13258	13277	502823	CACAGGACTGGAGCTGGGCG	74	618
13259	13278	502824	TCACAGGACTGGAGCTGGGCG	90	619
13449	13468	502825	GCCTCAGCCTGGCCGAAAGA	80	620
13450	13469	502826	GGCCTCAGCCTGGCCGAAAG	72	621
13553	13572	444401	TTGCACTTGCGAACCAACG	97	41
14037	14056	503047	TTCCCTCCCCAACCCCTGATT	34	692
14255	14274	503048	AAGTTTGCGACCAACTTTCT	0	693
14325	14344	503049	GCCCCCTCGGAATTCCCGGCT	0	694
14343	14362	503050	CATCTCGGCCTGCGCTCCGC	39	695
14361	14380	503051	GCAGGGCCCCACATTCCCCA	0	696
14392	14411	503052	CTTCTGCACGCCCTCCGTCTC	30	697

[0453]

실시예 8: 마우스 일차 간세포에서의 뮤린 DMPK의 안티센스 억제

[0455]

뮤린 DMPK 핵산을 표적으로 하는 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 시험관내에서 DMPK RNA 전사물에 대한 이의 효과에 대해 시험하였다. 웰 당 35,000개 세포의 밀도의 배양된 마우스 일차 간세포를 전기천공을 이용하여 8,000nM 안티센스 올리고뉴클레오타이드로 트랜스펙션시켰다. 약 24시간 후, RNA를 세포로부터 분리시키고, DMPK 전사물 수준을 정량 실시간 PCR에 의해 측정하였다. DMPK RNA 전사물 수준을 RIBOGREEN(등록상표)에 의해 측정되는 바와 같은 전체 RNA 함량에 따라 조정하였다. 결과는 처리되지 않은 대조군 세포에 비한 DMPK의 억제 퍼센트로 제시된다.

[0456]

표 14, 표 15 및 표 16의 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 5-10-5 캡머이고, 여기서 캡 세그먼트는 10개의 2'-데옥시뉴클레오사이드를 포함하고, 각각의 왕 세그먼트는 5개의 2'-MOE 뉴클레오사이드를 포함한다. 각각의 캡 머 전체에 걸친 뉴클레오사이드간 결합은 포스포로티오에이트(P=S) 결합이다. 각각의 캡 머 전체에 걸친 모든 사이토신 잔기는 5-메틸사이토신이다. '뮤린 표적 시작 부위'는 안티센스 올리고뉴클레오타이드가 뮤린 유전자 서열 내에서 표적으로 하는 가장 5'의 뉴클레오사이드를 나타낸다. '뮤린 표적 정지 부위'는 안티센스 올리고뉴클레오타이드가 뮤린 유전자 서열 내에서 표적으로 하는 가장 3'의 뉴클레오사이드를 나타낸다. 표 12에 나열된 모든 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 서열번호 3(뉴클레오타이드 16666001로부터 16681000까지 트렁케이션된 유전자은행 등록번호 NT_039413.7)을 표적으로 한다. 표 13에 나열된 모든 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 서열번호 4(유전자은행 등록번호 NM_032418.1)를 표적으로 한다. 표 14의 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 서열번호 5(유전자은행 등록번호 AI007148.1), 서열번호 6(유전자은행 등록번호 AI304033.1), 서열번호 7(유전자은행 등록번호 BC024150.1), 서열번호 8(유전자은행 등록번호 BC056615.1), 서열번호 793(유전자은행 등록번호 BC075715.1), 서열번호 794(유전자은행 등록번호 BU519245.1), 서열번호 795(유전자은행 등록번호 CB247909.1), 서열번호 796(유전자은행 등록번호 CX208906.1), 서열번호 797(유전자은행 등록번호 CX732022.1), 서열번호 798(유전자은행 등록번호 S60315.1) 또는 서열번호 799(유전자은행 등록번호 S60316.1)를 표적으로 한다. 또한, 서열번호 800(유전자은행 등록번호 NM_001081562.1)을 표적으로 하는 인간 안티센스 올리고뉴클레오타이드 ISIS 451421이 또한 상기 검정에 포함되었고, 이는 표 14에 나열되어 있다.

[0457]

표 14, 표 15 및 표 16의 뮤린 올리고뉴클레오타이드는 또한 인간 유전자 서열과 교차 반응될 수 있다. '미스 매치'는 뮤린 올리고뉴클레오타이드가 인간 유전자 서열과 미스매치되는 핵염기의 수를 나타낸다. 뮤린 올리고

뉴클레오타이드와 인간 서열 사이에 상보성이 클수록, 뮤린 올리고뉴클레티드가 인간 서열과 교차 반응할 수 있는 가능성이 더 크다. 표 14, 표 15 및 표 16의 뮤린 올리고뉴클레오타이드를 서열번호 800(유전자은행 등록번호 NM_001081562.1)과 비교하였다. "인간 표적 시작 부위"는 캡머가 인간 유전자 서열 내에서 표적으로 하는 가장 5'의 뉴클레오타이드를 나타낸다. "인간 표적 정지 부위"는 캡머가 인간 유전자 서열 내에서 표적으로 하는 가장 3'의 뉴클레오타이드를 나타낸다.

[0458] 시험된 여러 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 상기 특정된 조건하에서 DMPK mRNA 수준의 유의한 억제를 나타내었다. 시험된 특정 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 인간 유전자 서열과 교차 반응성이다.

[0459] 표 14: 서열번호 800을 표적으로 하는 5-10-5 캡머에 의한 마우스 일차 간세포에서의 뮤린 DMPK RNA 전사물의 억제

뮤린 표적 시작 부위	뮤린 표적 정지 부위	ISIS No	서열	% 억제	서열 번호	인간 표적 시작 부위	인간 표적 정지 부위	미스매치
11904	11923	299516	TGGCCCACAGCCACGGCCGG	47	698	1850	1869	0
11927	11946	299520	GGCCTGGCCCCACCAGCGGG	58	699	1873	1892	0
11962	11981	299521	CCTGGCAGGGAGCAGCAGGT	44	700	1908	1927	0
3345	3364	451360	CAGCCGCACTTCGGCTGACA	29	701	207	226	1
3378	3397	451361	GCCTGGGTCAGCACCAAGCT	67	702	240	259	2
3388	3407	451362	GTCCCCAGGAAGCCTGGGTCC	62	703	250	269	2
3418	3437	451363	CGCCCCAGGAGAAGGTCGAGC	69	213	280	299	0
3484	3503	451364	CCCACTGCAAGAAGTCGGCC	69	226	346	365	0
6264	6283	451366	CGTTAGCAGGTCCCCGCCA	73	704	660	679	2
6342	6361	451367	GTCTATGCCATGACAATCT	61	705	738	757	0
6363	6382	451368	GTAGCCCAGCCGGTGCACGG	54	706	759	778	2
6851	6870	451370	GGGTGCCCCACAGCCACCAGC	72	707	889	908	0
6919	6938	451371	TGGCCCGTAGCTGCCGTGCC	80	708	957	976	2
7448	7467	451373	GGAAATCACCTGCCCCACCT	80	709	n/a	n/a	n/a
7458	7477	451374	GGATGTTCTGGAAATCACC	84	710	n/a	n/a	n/a
7533	7552	451375	GTGGCACCCCTCGAAGTCTGG	77	711	1271	1290	3
7589	7608	451376	CCCCGCTCACCATGGCAGTG	31	712	n/a	n/a	n/a
10278	10297	451378	GGTCGGGACCTGATTGTCT	85	713	n/a	n/a	n/a
3229	3248	451385	GCTGCATGTCTGCCGTCCC	74	714	90	109	1
3244	3263	451386	GGCCCCAGAACCTAGCTGC	73	715	n/a	n/a	n/a
3270	3289	451387	TCACAGGGCTGGCTGCC	62	716	131	150	1
3333	3352	451388	GGCTGACATGTTGGCAGGC	60	717	195	214	1
3250	3269	451389	TGTCCAGGCCCCAGAACCT	68	718	111	130	3
12295	12314	451391	GGCCAGGCCTAGGGATCTGC	51	719	n/a	n/a	n/a
12306	12325	451392	CGCCTCGGATAGGCCAGGCC	52	720	1935	1954	1
12450	12469	451393	GGCTTGGAGTCTTAGGGTTC	85	721	n/a	n/a	n/a
12623	12642	451394	TCCCCGGCGCCAGGTGGCA	43	722	2224	2243	3
12651	12670	451395	GGTGCTGGCACGAGCCTG	62	723	n/a	n/a	n/a
12698	12717	451396	GCCCCAGCTGCTGCAGCAGCG	66	724	n/a	n/a	n/a

[0460]

12876	12895	451397	CCGTGTGTGCTGGCAGAGGT	76	725	n/a	n/a	n/a
13084	13103	451398	ATAAAATCCGAGGAATGTCG	77	726	2766	2785	0
13094	13113	451399	GGGACAGACAATAAATACCG	80	727	2776	2795	0
12362	12381	451405	GTGCAGCCCAGTGTGGCGGC	69	728	1991	2010	3
11175	11194	451415	CCTGGAGAAAGTTCTGGTTGG	48	729	1674	1693	3
11585	11604	451417	CATGGGAAGGTGGATCCGTG	65	679	1819	1838	1
11854	11873	451419	GGTGACCCGATCGGAGCCCA	11	730	n/a	n/a	n/a
11874	11893	451420	AGCTGGAGAGAGAACGGACA	37	731	n/a	n/a	n/a
11379	11398	451422	GTGAGGGACTCGCCTGCGGC	36	732	n/a	n/a	n/a
11479	11498	451423	GGGGCTGCGGTGCCCCAGCC	50	733	n/a	n/a	n/a
11883	11902	451424	GGGCCATCTAGCTGGAGAGA	45	734	n/a	n/a	n/a
3485	3504	451427	CCCCACTGCAAGAACGTCGGC	57	735	347	366	1
4621	4640	451428	TTGAGCCCTTTAAGGCAGC	43	736	n/a	n/a	n/a
6232	6251	451429	TGACCAGGTAAGTGGAGCGG	47	737	n/a	n/a	n/a
10985	11004	451430	CCTGGAGCTGGATCAGTCCC	6	738	n/a	n/a	n/a
11586	11605	451431	ACATGGGAAGGTGGATCCGT	70	739	1820	1839	1
11963	11982	451432	CCCTGGCAGGGAGCAGCAGG	42	544	1909	1928	0
11973	11992	451433	GTGGGACATACCCCTGGCAGG	34	740	n/a	n/a	n/a
12294	12313	451434	GCCAGGCCTAGGGATCTGCA	35	741	n/a	n/a	n/a

[0461]

[0462] 표 15: 서열번호 800을 표적으로 하는 5-10-5 캡머에 의한 마우스 일차 간세포에서의 뮤린 DMPK RNA 전사물의

역제

유린 표적 시작 부위	유린 표적 정지 부위	ISIS No	서열	% 억제	서열 번호	인간 표적 시작 부위	인간 표적 정지 부위	미스매치
330	349	451365	GGAAGCACGACACCTCGCCT	67	742	535	554	1
662	681	451369	CCTCACCATCCATCAGGCT	81	743	n/a	n/a	n/a
881	900	451372	CGGCAGCGACAAGTGTCCC	90	744	n/a	n/a	n/a
1217	1236	451377	GTCTCTGAAGGCCATGCAGC	69	745	1407	1426	3
1329	1348	451379	CAGCCACTTGATCCGGTGGG	62	746	n/a	n/a	n/a
1342	1361	451380	AGGTCGGCCTTCAGCCAC	74	747	n/a	n/a	n/a
1494	1513	451381	GTGGCTGGAGAAGTCTGG	39	748	1678	1697	2
1598	1617	451382	CCCCGTGATGGCTGCGGCTC	54	749	1782	1801	3
1644	1663	451383	GGCCATCTAGATGGGAGGT	21	517	1828	1847	0
1741	1760	451384	AGGCCAGGCCTAGGGATCCT	39	750	1925	1944	1

[0463]

[0464]

표 16: 서열번호 5-8 및 793-799를 표적으로 하는 5-10-5 캡머에 의한 마우스 일차 간세포에서의 유린 DMPK RNA 전사물의 역제

유린 표적 시작 부위	유린 표적 정지 부위	유린 표적 SEQ ID NO	ISIS No	서열	% 억제	서열 번호	인간 표적 시작 부위	인간 표적 정지 부위	미스매치
324	343	5	451410	GGCGCGGTGCCAGCCTGG	67	751	n/a	n/a	n/a
485	504	5	451411	GTCCTGGCCCCACCAGCGGG	66	752	1873	1892	1
534	553	5	451412	CCAGGCCTAGGAATCCTGGC	17	753	1922	1941	2
547	566	5	451413	GCGCCTCGGATAGCCAGGCC	51	754	n/a	n/a	n/a
594	613	5	451414	CCCAGTGTGGCGCAGCAGCC	65	755	n/a	n/a	n/a
393	412	6	451402	GTGTTTCATCTCACCAACCG	80	756	462	481	3
1475	1494	7	451390	AGGTCAGCCTCTCAGCCAC	60	757	n/a	n/a	n/a
n/a	n/a	n/a	451425	GGCCATATGGGAAGGTGGAT	48	758	1824	1843	0
1763	1782	8	451418	GGAGGATTGGCGAGAACGA	48	759	n/a	n/a	n/a
1032	1051	793	451403	CGAAGTCTGCCAACCTCGA	58	760	n/a	n/a	n/a
1042	1061	793	451404	GTGGCACCCCTCGAAGTCTGC	72	761	n/a	n/a	n/a
217	236	794	451400	GGGTCCATTGTAAGGAAGCT	4	762	n/a	n/a	n/a
754	773	794	451401	GGTGCCACAGCCACCAAGGG	82	763	888	907	1
322	341	795	451406	TCCATGGCAGTGAGCCGGTC	55	764	1319	1338	1
523	542	795	451407	GGGACCACTTGATCCGGTGG	63	765	n/a	n/a	n/a
534	553	795	451408	GGATCAGAGTTGGGACACT	0	766	n/a	n/a	n/a
492	511	796	451416	CCCCGTGATGGCTGCGGTTTC	49	767	n/a	n/a	n/a
469	488	797	451409	GTGTGTCCTCATACCCCGCC	60	768	n/a	n/a	n/a
629	648	798	451421	GCACCCCTCGAAGTCTCGACC	72	769	n/a	n/a	n/a
854	873	799	451426	GCTCTGAAGGCCATGCAGCA	52	770	n/a	n/a	n/a

[0465]

실시예 9: 마우스 일차 간세포에서의 유린 DMPK의 용량 의존적 안티센스 역제

[0467]

마우스 일차 간세포에서의 DMPK의 시험관내 역제를 나타내는 여러 안티센스 올리고뉴클레오타이드(실시예 8 참조)를 다양한 용량으로 시험하였다. 세포를 웨 당 35,000개 세포의 밀도로 플레이팅시키고, 전기천공을 이용하여 1,000nM, 2,000nM, 4,000nM, 8,000nM 및 16,000nM 농도의 각각의 안티센스 올리고뉴클레오타이드로 트랜스펙션시켰다. 약 16시간 후, RNA를 세포로부터 분리시키고, DMPK 전사물을 수준을 프라이머 프로브 세트 RTS3181(정방향 서열 GACATATGCCAAGATTGTGCACTAC, 서열번호 771로 본원에 표시됨; 역방향 서열 CACGAATGAGGTCTGAGCTT, 서열번호 772로 본원에 표시됨; 프로브 서열 AACACTTGTGCGCTGCCGCTGGCX, 서열번호 773으로 본원에 표시됨)를 이용한 정량 실시간 PCR에 의해 측정하였다. DMPK 전사물을 수준을 RIBOGREEN(등록상표)에 의해 측정되는 바와 같은 전체 RNA 함량에 대해 표준화시켰다. 결과는 미처리된 대조군 세포에 비한 DMPK의 역제 퍼센트로 표 17에 제시된다.

[0468]

시험된 안티센스 올리고뉴클레오타이드 대부분은 상기 특정된 조건하에서 DMPK mRNA 수준의 용량 의존적 역제를 나타내었다.

[0469]

표 17: 마우스 일차 간세포에서의 뮤린 DMPK의 용량 의존적 안티센스 억제

ISIS No	1,000 nM	2,000 nM	4,000 nM	8,000 nM	16,000 nM	IC ₅₀ (μM)
451369	33	59	78	87	94	1.57
451371	60	77	84	90	91	0.24
451373	53	62	82	89	92	0.74
451374	33	42	76	88	94	2.00
451375	43	62	81	89	88	1.05
451378	39	79	80	87	94	0.87
451385	22	57	80	78	93	2.01
451393	49	63	86	80	80	0.59
451397	63	75	74	81	92	0.22
451398	29	72	84	83	90	1.29
451399	27	53	81	68	80	2.07
451401	34	71	87	86	92	1.12
451402	34	69	75	86	74	1.14

[0470]

실시예 10: HepG2 세포에서의 인간 알파1 골격 액틴의 안티센스 억제

[0471]

마우스 모델에 삽입되는 경우 DM1의 증상을 야기시킬 수 있는 확장된 CTG 반복부를 가질 수 있는 유전자인 인간 알파1 골격 액틴 핵산을 표적으로 하는 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 시험관내에서 알파1 액틴 RNA 전사물에 대한 이의 효과에 대해 시험하였다. 웨당 20,000개 세포의 밀도로 배양된 HepG2 세포를 전기천공을 이용하여 10,000nM 안티센스 올리고뉴클레오타이드로 트랜스펙션시켰다. 약 24시간 후, RNA를 세포로부터 분리시키고, 알파1 액틴 RNA 전사물 수준을 정량 실시간 PCR에 의해 측정하였다. 알파1 액틴 RNA 전사물 수준을 RIBOGREEN(등록상표)에 의해 측정되는 바와 같은 전체 RNA 함량에 따라 조정하였다. 결과는 처리되지 않은 대조군 세포에 비한 알파1 액틴의 억제 퍼센트로 제시된다.

[0472]

표 18의 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 5-10-5 캡머이고, 여기서 캡 세그먼트는 10개의 2'-데옥시뉴클레오사이드를 포함하고, 각각의 왕 세그먼트는 5개의 2'-MOE 뉴클레오사이드를 포함한다. 각각의 캡머 전체에 걸친 뉴클레오사이드간 결합은 포스포로티오에이트(P=S) 결합이다. 각각의 캡머 전체에 걸친 모든 사이토신 잔기는 5-메틸사이토신이다. '표적 시작 부위'는 안티센스 올리고뉴클레오타이드가 표적으로 하는 가장 5'의 뉴클레오사이드를 나타낸다. '표적 정지 부위'는 안티센스 올리고뉴클레오타이드가 표적으로 하는 가장 3'의 뉴클레오사이드를 나타낸다. 표 18에 나열된 모든 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 서열번호 801(유전자은행 등록번호 NM_001100.3)을 표적으로 한다.

[0473]

시험된 안티센스 올리고뉴클레오타이드 서열은 상기 특정된 조건하에서의 알파1 액틴 mRNA 수준의 용량 의존적 억제를 나타내었다.

[0474]

표 18: 서열번호 801을 표적으로 하는 5-10-5 캡머에 의한 HepG2 세포에서의 인간 알파1 액틴 RNA 전사물의 억제

표적 시작 부위	표적 정지 부위	ISIS No	서열	% 억제	서열 번호
16	35	445205	AGCGAGGCTTCACTTGGCGC	74	774
20	39	190403	GGGAAGCGAGGCTTCACTTG	75	775
1028	1047	190401	GCGGTCA CGCGATCCCAGGGT	78	776
1058	1077	445225	GGGTGCCAGCGCGGTGATCT	73	777
1320	1339	445231	TGTTACAAAGAAAGTGACTG	74	778
1339	1358	445232	CGATGGCAGCAACGGAAGTT	96	779
1348	1367	445233	GTCAGTTACGATGGCAGCA	100	780
1417	1436	445235	CAGGGCTTGTTCGAAAAA	91	781
1430	1449	445236	CCATTTCTTCCACAGGGCT	99	782
1447	1466	445237	ATGCTTCTTCAAGTTTCCA	97	783
1460	1479	445238	CAGAATGACTTTAATGCTTC	95	784

[0475]

[0477] 실시예 11: HepG2 세포에서의 인간 알파1 액틴의 용량 의존적 안티센스 억제

HepG2 세포에서의 알파1 액틴의 시험관내 억제를 나타내는 여러 안티센스 올리고뉴클레오타이드(실시예 8 참조)를 다양한 용량으로 시험하였다. 세포를 웰 당 20,000개 세포의 밀도로 플레이팅시키고, 전기천공을 이용하여 625nM, 1,250nM, 2,500nM, 5,000nM, 10,000nM 및 20,000nM 농도의 각각의 안티센스 올리고뉴클레오타이드로 트랜스펙션시켰다. 약 16시간 후, RNA를 세포로부터 분리시키고, 알파1 액틴 RNA 전사를 수준을 프라이머 프로브 세트 RTS3154(정방향 CCACCGCAAATGCTTCTAGAC, 서열번호 785로 본원에 표시됨; 역방향 CCCCCCCCATTGAGAAGATTC, 서열번호 786으로 본원에 표시됨; 프로브 서열 CTCCACCTCCAGCACGCGACTTCTX, 서열번호 787로 본원에 표시됨)를 이용하여 정량 실시간 PCR에 의해 측정하였다. 알파1 액틴 RNA 전사를 수준을 RIBOGREEN(등록상표)에 의해 측정되는 바와 같은 전체 RNA 함량에 따라 표준화시켰다. 결과는 처리되지 않은 대조군 세포에 비한 알파1 액틴의 억제 퍼센트로 표 19에 제시된다.

[0479] 여러 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 상기 특정된 조건하에서 알파1 액틴 mRNA 수준의 용량 의존적 억제를 나타내었다.

표 19: HepG2 세포에서의 인간 알파1 액틴의 용량 의존적 안티센스 억제

ISIS No.	625 nM	1,250 nM	2,500 nM	5,000 nM	10,000 nM	20,000 nM	IC ₅₀ (μM)
445233	21	72	63	82	96	83	1.1
445236	26	68	82	91	90	91	0.8
445237	36	59	76	84	83	90	0.8
445232	14	42	54	59	80	91	2.6
445238	27	43	54	73	76	90	2.0
445235	26	52	29	58	59	24	0.7
190403	25	29	36	25	61	54	11.9
190401	17	14	40	68	76	72	3.9
445225	25	23	49	28	52	50	15.8
445205	26	31	34	28	55	36	7.6
445231	30	25	39	26	42	36	>20.0

[0481] 실시예 12: 트랜스제닉 마우스에서의 근내 투여에 의한 인간 알파1 액틴의 생체내 안티센스 억제

[0482] 근육긴장성 이영양증의 치료를 위한 안티센스 억제의 효과를 시험하기 위해, 적절한 마우스 모델을 필요로 하였다. HSA^{LR} 마우스 모델은 DM1에 대해 확립된 모델이다(Mankodi, A. et al. Science. 289: 1769, 2000). 상기 마우스는 유전자의 3' UTR에 삽입된 220개의 CTG 반복부를 갖는 인간 골격 액틴(hACTA1) 트랜스진을 갖는다. hACTA1-CUGexp 전사를 골격근 내의 핵 초점으로 측정되고, 이는 인간 DM1의 근육긴장증과 유사한 근육긴장증을 발생시킨다(Mankodi, A. et al. Mol. Cell 10: 35, 2002; Lin, X. et al. Hum. Mol. Genet. 15: 2087, 2006). 그러므로, hACTA1 트랜스진의 안티센스 억제에 의한 HSA^{LR} 마우스에서의 DM1 증상의 개선이 DMPK 전사를의 안티센스 억제에 의한 인간 환자에서의 유사한 증상의 개선을 예측하는 것이 예상되었다.

[0483] [0484] HSA(인간 골격 액틴)^{LR} (긴 반복부) DM1 마우스를 인간 골격 액틴의 3' UTR 내의 250개의 CUG 반복부를 갖는 트랜스진의 FVB/N 마우스 내의 삽입에 의해 생성시켰다. 트랜스진은 핵 내에 유지되는 CUG 반복부 RNA로서 마우스에서 발현되어, 근육긴장성 이영양증(DM1)을 갖는 환자의 인간 조직 샘플에서 관찰되는 것과 유사한 핵내 봉입(nuclear inclusion) 또는 초점을 형성시킨다.

[0485] 시험관내에서 통계적으로 유의한 용량 의존적 억제를 나타낸 ISIS 190403 및 ISIS 445238(실시예 11 참조)을 생체내에서 인간 알파1 액틴 RNA 전사를 감소시키는 능력에 대해 평가하였다.

[0486] 처리

[0487] HSA^{LR} 마우스를 12시간의 명/암 주기로 유지시키고, 일반적인 퓨리나(Purina) 마우스 먹이를 무제한적으로 공급하였다. 동물을 실험 개시 전에 연구 시설에서 적어도 7일 동안 새 환경에 순응시켰다. 안티센스 올리고뉴클레오타이드(ASO)를 PBS에서 제조하였고, 0.2 마이크론 필터를 통한 여과에 의해 멀균시켰다. 올리고뉴클레오타

이드를 주사를 위해 0.9% PBS에 용해시켰다.

[0488] 마우스를 2개의 처리군으로 나누었다. 2개의 군에 한 측면의 앞정강근 근육에 0.8nM의 용량으로 ISIS 190403 또는 ISIS 445238을 직접적 근내 주사로 투여하였다. 각각의 마우스의 반대쪽 앞정강근 근육에 PBS를 단일 용량의 근내 주사로 투여하였다. PBS 주사된 근육은 대조군으로 작용하였다.

[0489] 알파1 액틴 RNA의 억제

[0490] 최종 투여 24시간 후, 동물을 희생시키고, 양 측면의 앞정강근 근육으로부터 조직을 분리시켰다. 알파1 액틴의 실시간 PCR 분석을 위해 RNA를 분리시키고, 18s RNA에 대해 표준화시켰다. 표 20에 제시된 바와 같이, 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 이용한 처리는 인간 알파1 액틴 RNA 전사를 발현을 감소시켰다. 결과는 PBS 대조군에 비한 알파1 액틴 전사물의 억제 퍼센트로 표현된다.

[0491] 상기 결과는 ISIS 190403 및 ISIS 445238을 이용한 처리가 마우스에서 알파1 액틴 RNA 수준의 억제를 발생시킨 것을 나타낸다.

[0492] 표 20: HSA^{LR} 마우스에서의 인간 알파1 액틴 RNA 전사물의 억제 퍼센트

ISIS No.	% 억제
190403	38
445238	40

[0493]

[0494] 실시예 13: 트랜스제닉 마우스에서의 근내 투여에 의한 인간 알파1 액틴의 용량 의존적 안티센스 억제

[0495] 시험관내에서 통계적으로 유의한 용량 의존적 억제를 나타낸 ISIS 445236(실시예 11 참조)을 생체내에서 인간 알파1 액틴 RNA 전사물을 감소시키는 이의 능력에 대해 평가하였다.

[0496] 처리

[0497] HSA^{LR} 마우스를 12시간의 명/암 주기로 유지시키고, 일반적인 퓨리나(Purina) 마우스 먹이를 무제한적으로 공급하였다. 동물을 실험 개시 전에 연구 시설에서 적어도 7일 동안 새 환경에 순응시켰다. 안티센스 올리고뉴클레오타이드(ASO)를 PBS에서 제조하였고, 0.2 마이크론 필터를 통한 여과에 의해 멀균시켰다. 올리고뉴클레오타이드를 주사를 위해 0.9% PBS에 용해시켰다.

[0498] 마우스를 3개의 처리군으로 나누었다. 상기 군에 한 측면의 앞정강근 근육에 0.2nM, 0.4nM 또는 0.8nM의 용량으로 ISIS 445236를 직접적 근내 주사로 투여하였다. 각각의 마우스의 반대쪽 앞정강근 근육에 PBS를 단일 용량의 근내 주사로 투여하였다. PBS 주사된 근육은 대조군으로 작용하였다.

[0499] 알파1 액틴 RNA의 억제

[0500] 최종 투여 24시간 후, 동물을 희생시키고, 양 측면의 앞정강근 근육으로부터 조직을 분리시켰다. 알파1 액틴의 실시간 PCR 분석을 위해 RNA를 분리시키고, 18s RNA에 대해 표준화시켰다. 표 21에 제시된 바와 같이, ISIS 445236를 이용한 처리는 모든 투여량에서 인간 알파1 액틴 RNA 전사를 발현을 감소시켰다. 결과는 대조군에 비한 알파1 액틴 전사물의 억제 퍼센트로 표현된다.

[0501] 상기 결과는 ISIS 445236을 이용한 처리가 상기 특정된 조건하에서 알파1 액틴 mRNA 수준의 유의한 억제를 발생시킨 것을 나타낸다.

[0502] 표 21: HSA^{LR} 마우스에서의 ISIS 445236에 의한 인간 알파1 액틴 RNA 전사물의 억제

용량 (nM)	% 억제
0.2	70
0.4	54
0.8	78

[0503]

[0504] 근전도검사에 의한 근육긴장증의 평가

[0505] 근육긴장증은 근섬유의 지연된 이완으로 인한 반복 활동 전위를 의미한다. 이러한 현상은 근육긴장성 이영양증

의 환자뿐만 아니라 HSA^{LR} 마우스에서 관찰된다. EMG 바늘이 근육긴장증 근육에 삽입되는 경우, 전기 활동은 삽입 활동이 보통 정지된 후 수초까지 연장된다. 근육긴장증성 방전의 주파수는 초당 50 내지 100 임펄스 범위이다.

[0506] 근육긴장증을 근전도검사를 통해 측정하고, 다음과 같은 방식으로 등급화시켰다: 등급 0은 어떠한 바늘 삽입에 의해 근육긴장증이 유도되지 않은 것을 나타내고(0%); 등급 1은 50% 미만의 바늘 삽입에 의해 근육긴장증이 유도된 것을 나타내고; 등급 2는 50% 이상의 바늘 삽입에 의해 근육긴장증이 유도된 것을 나타내고; 등급 3은 100% 바늘 삽입에 의해 근육긴장증이 유도된 것을 나타낸다.

[0507] 근전도검사 전, 마우스를 100 mg/kg 케타민, 10 mg/kg 크실라진, 및 3 mg/kg 아세프로마진의 칵테일을 복막내 이용하여 마취시켰다. 좌측 및 우측 대퇴사두근, 좌측 및 우측 장딴지근 근육, 좌측 및 우측 앞정강근 근육 및 요추 척추옆 근육에 대한 근전도검사를 30 게이지 동심 바늘 전극 및 각각의 근육에 대한 최소 10회의 바늘 삽입을 이용하여 이전에 기재(Kanadia et al, 2003, Science, 302: 1978-1980)된 바와 같이 수행하였다. 데이터는 각각의 군의 4마리의 마우스에서 관찰된 평균 근육긴장증 등급으로서 표 22에 제시되고, 이는 ISIS 445236으로 처리된 마우스에서의 근육긴장증의 유의한 감소를 나타내었다.

표 22: 안티센스 올리고뉴클레오타이드 처리된 HSA^{LR} 마우스의 다양한 근육에서의 근육긴장증의 평균 감소

처리	용량 (nM)	근긴장증 등급
PBS		2.7
ISIS 445236	0.2	1.3
	0.4	1.0
	0.8	1.0

[0509]

[0510] 대안적 스플라이싱의 교정

[0511] DM1/HSA^{LR} 마우스 모델에서, 핵 내의 확장된 CUG RNA의 축적은 Muscleblind-유사 1(MBLN1)과 같은 폴리(CUG)-결합 단백질의 격리를 발생시킨다(Miller, J.W. et al. EMBO J. 19: 4439, 2000). *Serca1* 유전자의 대안적 스플라이싱을 조절하는 스플라이싱 인자 MBLN1은 확장된 CUG 초점 내에 격리된다. 이는 상기 유전자의 대안적 스플라이싱의 이상조절을 촉발시킨다. 상기 대안적 스플라이싱에 대한 인간 알파1 액틴의 안티센스 억제의 효과를 평가하기 위해, 전체 RNA를 제조업체의 설명서에 따라 RNeasy Lipid Tissue Mini Kit(Qiagen)를 이용하여 앞정강근, 장딴지근 및 대퇴사두근 근육으로부터 정제하였다. RT-PCR을 cDNA 합성 및 PCR 증폭을 위한 유전자 특이적 프라이머를 이용하여 Superscript III One-Step RT-PCR System 및 Platinum Taq Polymerase(Invitrogen)로 수행하였다. *Serca1*에 대한 정방향 및 역방향 프라이머는 문헌[Bennett and Swayze (Annu. Rev. Pharmacol. 2010; 50: 259-93)]에 기재되어 있다. PCR 생성물을 아가로스 겔 상에서 분리시키고, SybrGreen I Nucleic Acid Gel Stain(Invitrogen)으로 염색시키고, Fujifilm LAS-3000 Intelligent Dark Box를 이용하여 이미지화시켰다.

[0512]

PBS 대조군에서의 *Serca1* 스플라이싱의 PCR 생성물은 MBLN1의 이상조절의 결과로서 엑손 22 배제를 나타내었다. ISIS 445236을 이용한 처리는 엑손 22 봉입 및 앞정강근, 장딴지근 및 대퇴사두근 근육에서의 *Serca1* 유전자의 대안적 스플라이싱의 정상화를 발생시켰다.

[0513]

따라서, 알파1 액틴의 안티센스 억제는 *Serca1* 스플라이싱 이상조절을 교정하였고, 이는 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 이용한 처리가 핵 초점 내의 CUGexp의 축적을 감소시킨 것을 나타낸다. 핵 초점 내의 CUGexp의 감소된 축적은 MBLN1 격리를 교정함으로써, 정상적인 스플라이싱이 발생하도록 한다.

[0514]

실시예 14: 트랜스제닉 마우스에서의 피하 투여에 의한 인간 알파1 액틴의 생체내 안티센스 억제

[0515]

ISIS 190403, ISIS 445236 및 ISIS 445238을 생체내에서 인간 알파1 액틴 RNA 전사물을 감소시키는 이의 능력에 대해 평가하였다.

[0516]

처리

[0517]

HSA^{LR} 마우스를 12시간의 명/암 주기로 유지시키고, 일반적인 퓨리나(Purina) 마우스 먹이를 무제한적으로 공급하였다. 동물을 실험 개시 전에 연구 시설에서 적어도 7일 동안 새 환경에 순응시켰다. 안티센스 올리고뉴클

레오타이드(ASO)를 PBS에서 제조하였고, 0.2 마이크론 필터를 통한 여과에 의해 멸균시켰다. 올리고뉴클레오타이드를 주사를 위해 0.9% PBS에 용해시켰다.

[0518] 마우스를 4개의 처리군으로 나누었다. 처음 3개의 군에 4주 동안 주 당 2회로 25 mg/kg의 용량으로 ISIS 190403, ISIS 445236 또는 ISIS 445238을 피하 주사로 투여하였다. 네번째 군에 4주 동안 1주일에 2회로 PBS를 피하 주사로 투여하였다. PBS 주사된 군은 올리고뉴클레오타이드 처리군과 비교되는 대조군으로 작용하였다.

[0519] 알파1 액틴 RNA의 억제

[0520] 최종 투여 24시간 후, 동물을 희생시키고, 대퇴사두근 근육(좌측 및 우측), 장딴지근 근육(좌측 및 우측) 및 앞정강근 근육(좌측 및 우측)으로부터 조직을 분리시켰다. 알파1 액틴의 실시간 PCR 분석을 위해 RNA를 분리시키고, 18s RNA에 대해 표준화시켰다. 표 23에 제시된 바와 같이, 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 이용한 처리는 인간 알파1 액틴 RNA 전사를 발현을 감소시켰다. 결과는 대조군에 비한 알파1 액틴 전사물의 억제 퍼센트로 표현된다.

[0521] ISIS 445236 및 ISIS 445238 둘 모두는 상기 특정된 조건하에서 알파1 액틴 mRNA 수준의 유의한 억제를 나타내었다.

[0522] 표 23: HSA^{LR} 마우스에서의 인간 알파1 액틴 RNA 전사물의 억제 퍼센트

근육 유형	ISIS 190403	ISIS 445236	ISIS 445238
대퇴사두근	16	83	72
장딴지근	0	85	73
앞정강근	2	81	71

[0523]

[0524] 근육에서의 알파1 액틴의 형광 인 시추 하이브리드화(Fluorescence *in situ* hybridization)

[0525] 동결된 근육 조직 섹션을 15-20분 동안 신선한 PBS 중 3% 파라포름알데하이드 용액에 고정시킨 후, 이를 5분 동안 PBS로 2회 헹구었다. 핵을 5분 동안 0.5% Triton X-100으로 투과화시킨 후, 조직을 30분 동안 정상 염소 혈청으로 차단시켰다. 섹션을 Texas Red(Integrated DNA Technologies)로 5'-표지된 알파1 액틴을 표적으로 하는 2'-0-메틸 RNA와 함께 인큐베이션시켰다. 섹션을 핵을 표지하기 위해 DAPI로 대조 염색시켰다. 섹션을 표준 형광현미경에 올려놓고 관찰하였다. Metavue 소프트웨어에 의해 이미지를 획득하였고, Autoquant 소프트웨어에 의해 디컨볼루션(deconvolution)을 달성하였다.

[0526] ISIS 445236 및 ISIS 445238로 처리된 마우스로부터의 모든 근육 조직 섹션은 리보핵 초점에서 알파1 액틴 신호의 감소된 형광 강도를 나타내었고, 이는 인간 알파1 액틴 mRNA의 안티센스 억제 및 핵 초점에서의 RNA의 감소를 나타낸다.

[0527] 근전도검사에 의한 근육긴장증의 평가

[0528] 근육긴장증은 근섬유의 지연된 이완으로 인한 반복 활동 전위를 의미한다. 이러한 현상은 근육긴장성 이영양증의 환자뿐만 아니라 HSA^{LR} 마우스에서 관찰된다. EMG 바늘이 근육긴장증 근육에 삽입되는 경우, 전기 활동은 삽입 활동이 보통 정지된 후 수초까지 연장된다. 근육긴장증성 방전의 주파수는 초당 50 내지 100 임펄스 범위이다.

[0529] 근육긴장증을 근전도검사를 통해 측정하고, 다음과 같은 방식으로 등급화시켰다: 등급 0은 어떠한 바늘 삽입에 의해 근육긴장증이 유도되지 않은 것을 나타내고(0%); 등급 1은 50% 미만의 바늘 삽입에 의해 근육긴장증이 유도된 것을 나타내고; 등급 2는 50% 이상의 바늘 삽입에 의해 근육긴장증이 유도된 것을 나타내고; 등급 3은 100% 바늘 삽입에 의해 근육긴장증이 유도된 것을 나타낸다.

[0530] 근전도검사 전, 마우스를 100 mg/kg 케타민, 10 mg/kg 크실라진 및 3 mg/kg 아세프로마진 또는 250 mg/kg 2,2-트라이브로모에탄올을 복막내 이용하여 마취시켰다. 좌측 및 우측 대퇴사두근, 좌측 및 우측 장딴지근 근육, 좌측 및 우측 앞정강근 근육 및 요추 척추옆 근육에 대한 근전도검사를 30 케이지 동심 바늘 전극 및 각각의 근육에 대한 최소 10회의 바늘 삽입을 이용하여 이전에 기재(Kanadia et al, 2003, Science, 302: 1978-1980)된 바와 같이 수행하였다. 데이터는 각각의 군의 4마리의 마우스에서 관찰된 평균 근육긴장증 등급으로서

표 24에 제시되고, 이는 ISIS 445236 및 ISIS 445238로 처리된 마우스에서의 근육긴장증의 유의한 감소를 나타내었다.

[0531] 표 24: 안티센스 올리고뉴클레오타이드 처리된 HSA^{LR} 마우스의 다양한 근육에서의 근육긴장증의 평균 감소

	PBS	ISIS 190403	ISIS 445236	ISIS 445238
좌측 대퇴사두근	3.00	3.00	0.00	0.25
우측 대퇴사두근	3.00	3.00	0.00	0.00
좌측 장딴지근	3.00	3.00	0.00	0.25
우측 장딴지근	3.00	3.00	0.00	0.25
좌측 앞정강근	2.75	2.50	0.00	0.00
우측 앞정강근	2.75	2.50	0.00	0.00
요추 척추옆 근육	3.00	3.00	0.00	0.75

[0532]

[0533] 대안적 스플라이싱의 교정

[0534] *Serca1* 스플라이싱, *m-Titin* 스플라이싱, CIC-1 클로라이드 채널 유전자(*Clcn1*) 스플라이싱 및 *Zasp* 스플라이싱을 조절하는 스플라이싱 인자 MBLN1은 확장된 CUG 초점 내에 격리된다. MBLN1 격리는 상기 유전자 각각에서 이상조절된 스플라이싱을 촉발시킨다. 스플라이싱에 대한 인간 알파1 액틴의 안티센스 억제의 효과를 평가하기 위해, 전체 RNA를 실시예 13에 기재된 바와 같이 앞정강근, 장딴지근 및 대퇴사두근 근육으로부터 정제시키고, RT-PCR을 수행하였다. *Serca-1*, *m-Titin*, *Clcn1* 및 *ZASP*에 대한 정방향 및 역방향 프라이머는 문헌[Bennett and Swayze, Annu. Rev. Pharmacol. 2010; 50: 259-93]에 기재되어 있다.

[0535] PBS 처리된 HSA^{LR} 마우스에서, *Serca1* 스플라이싱은 엑손 22 봉입에 의해 입증되는 바와 같이 이상조절된다. ISIS 445236 및 ISIS 445238 각각을 이용한 처리는 앞정강근, 장딴지근 및 대퇴사두근 근육에서 엑손 22 봉입 및 *Serca1* 유전자의 대안적 스플라이싱의 정상화를 발생시켰다.

[0536] PBS 처리된 HSA^{LR} 마우스에서, *m-Titin* 스플라이싱은 엑손 5 봉입에 의해 입증되는 바와 같이 이상조절된다. ISIS 445236 및 ISIS 445238 각각을 이용한 처리는 앞정강근, 장딴지근 및 대퇴사두근 근육에서 엑손 5의 스키핑(skipping) 및 *m-Titin* 유전자의 대안적 스플라이싱의 정상화를 발생시켰다.

[0537] PBS 처리된 HSA^{LR} 마우스에서, *Clcn1* 스플라이싱은 엑손 7a 봉입에 의해 입증되는 바와 같이 이상조절된다. ISIS 445236 및 ISIS 445238 각각을 이용한 처리는 앞정강근, 장딴지근 및 대퇴사두근 근육에서 엑손 7a의 스키핑(skipping) 및 *Clcn1* 유전자의 대안적 스플라이싱의 정상화를 발생시켰다.

[0538] PBS 처리된 HSA^{LR} 마우스에서, *Zasp* 스플라이싱은 엑손 11 봉입에 의해 입증되는 바와 같이 이상조절된다. ISIS 445236 및 ISIS 445238 각각을 이용한 처리는 앞정강근, 장딴지근 및 대퇴사두근 근육에서 엑손 11의 스키핑(skipping) 및 *Zasp* 유전자의 대안적 스플라이싱의 정상화를 발생시켰다.

[0539] 따라서, 알파1 액틴의 안티센스 억제는 *Serca1*, *m-Titin*, *Clcn1* 및 *Zasp* 스플라이싱 이상조절을 교정하였고, 이는 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 이용한 처리가 핵 초점에서 CUGexp의 축적을 감소시킨 것을 나타낸다. 핵 초점 내의 CUGexp의 감소된 축적은 MBLN1 격리를 교정함으로써, 정상적인 스플라이싱이 발생하도록 한다.

[0540] 실시예 15: 트랜스제닉 마우스에서의 인간 알파1 액틴의 생체내 안티센스 억제

[0541] HSA^{LR} 마우스에서의 근육긴장증에 대한 ISIS 445236 및 ISIS 445238에 의한 인간 알파1 액틴 RNA 전사물의 안티센스 억제를 추가로 평가하였다.

[0542] 처리

[0543] HSA^{LR} 마우스를 3개의 처리군으로 나누었다. 처음 2개의 군에 2주 동안 주 당 2회로 25 mg/kg의 용량으로 ISIS 445236 또는 ISIS 445238을 피하 주사로 투여하였다. 세번째 군에 2주 동안 주 당 2회로 PBS를 피하 주사로 투여하였다. PBS 주사된 군은 올리고뉴클레오타이드 처리군과 비교되는 대조군으로 작용하였다.

[0544] 알파1 액틴 RNA의 억제

[0545] 최종 투여 24시간 후, 동물을 희생시키고, 대퇴사두근 근육, 장딴지근 근육 및 앞정강근 근육으로부터 조직을 분리시켰다. 알파1 액틴의 실시간 PCR 분석을 위해 RNA를 분리시키고, 18s RNA에 대해 표준화시켰다. 표 25에 제시된 바와 같이, 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 이용한 처리는 인간 알파1 액틴 RNA 전사를 발현을 감소시켰다. 결과는 PBS 대조군에 비한 알파1 액틴 전사물의 억제 퍼센트로 표현된다.

[0546] ISIS 445236 및 ISIS 445238 둘 모두는 상기 특정된 조건하에서 알파1 액틴 mRNA 수준의 유의한 억제를 나타내었다.

[0547] 표 25: HSA^{LR} 마우스에서의 인간 알파1 액틴 RNA 전사물의 억제 퍼센트

근육 유형	ISIS 445236	ISIS 445238
대퇴사두근	61	64
장딴지근	68	37
앞정강근	68	41

[0548]

[0549] 근전도검사에 의한 근육긴장증의 평가

[0550] 좌측 및 우측 대퇴사두근, 좌측 및 우측 장딴지근 근육, 좌측 및 우측 앞정강근 근육 및 요추 척추옆 근육에 대한 근전도검사를 30 게이지 동심 바늘 전극 및 각각의 근육에 대한 최소 10회의 바늘 삽입을 이용하여 이전에 기재(Kanadia et al, 2003, Science, 302: 1978-1980)된 바와 같이 수행하였다. 데이터는 각각의 군의 4마리의 마우스에서 관찰된 평균 근육긴장증 등급으로서 표 26에 제시되고, 이는 ISIS 445236 및 ISIS 445238로 처리된 마우스에서의 근육긴장증의 유의한 감소를 나타내었다.

[0551]

표 26: 안티센스 올리고뉴클레오타이드 처리된 HSA^{LR} 마우스의 다양한 근육에서의 근육긴장증의 평균 감소

	PBS	ISIS 445236	ISIS 445238
좌측 대퇴사두근	3.00	0.00	1.75
우측 대퇴사두근	3.00	0.00	1.75
좌측 장딴지근	3.00	0.25	1.5
우측 장딴지근	3.00	0.25	1.00
좌측 앞정강근	2.75	0.00	0.00
우측 앞정강근	2.75	0.00	0.00
요추 척추옆 근육	3.00	0.50	2.00

[0552]

[0553] 대안적 스플라이싱의 교정

[0554] *Serca1*의 대안적 스플라이싱에 대한 ISIS 190401의 효과를 평가하기 위해, 앞정강근 장딴지근 및 대퇴사두근 근육으로부터 정제된 전체 RNA를 실시예 13에 기재된 것과 유사한 절차로 분석하였다.

[0555]

PBS 처리된 HSA^{LR} 마우스에서, *Serca1* 스플라이싱은 MBLN1 이상조절의 결과로서 액손 22 배제에 의해 입증되는 바와 같이 이상조절된다. ISIS 445236 및 ISIS 445238 각각을 이용한 처리는 앞정강근 및 대퇴사두근 근육에서 거의 완전한 포함 및 *Serca1* 유전자의 액손 22의 대안적 스플라이싱의 정상화를 발생시켰다.

[0556]

따라서, 알파1 액틴의 안티센스 억제는 *Serca1* 스플라이싱 이상조절을 교정하였고, 이는 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 이용한 처리가 핵 초점에서 CUGexp의 축적을 감소시킨 것을 나타낸다. 핵 초점 내의 CUGexp의 감소된 축적은 MBLN1 격리를 교정함으로써, 정상적인 스플라이싱이 발생하도록 한다.

[0557]

실시예 16: 트랜스제닉 마우스에서의 인간 알파1 액틴의 용량 의존적 안티센스 억제

[0558]

HSA^{LR} 마우스에서의 근육긴장증에 대한 ISIS 445236 및 ISIS 445238에 의한 인간 알파1 액틴 RNA 전사물의 용량 의존적 억제를 평가하였다.

[0559]

처리

[0560]

HSA^{LR} 마우스에 4주 동안 주 당 2회로 2.5 mg/kg, 8.5 mg/kg 또는 25.0 mg/kg의 용량으로 ISIS 445236 또는 ISIS 445238을 피하 주사하였다. 대조군에 4주 동안 주 당 2회로 PBS를 피하 주사로 투여하였다. PBS 주사된 군은 올리고뉴클레오타이드 처리군과 비교되는 대조군으로 작용하였다.

[0561] 알파1 액틴 RNA의 억제

[0562] 최종 투여 24시간 후, 동물을 희생시키고, 대퇴사두근 근육(Quad), 장딴지근 근육(Gastroc) 및 앞정강근 근육(TA)으로부터 조직을 분리시켰다. 알파1 액틴의 실시간 PCR 분석을 위해 RNA를 분리시키고, 18s RNA에 대해 표준화시켰다. 표 27에 제시된 바와 같이, 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 이용한 처리는 인간 알파1 액틴 RNA 전사를 발현을 감소시켰다. 결과는 PBS 대조군에 비한 알파1 액틴 전사물의 억제 퍼센트로 표현된다.

[0563] 둘 모두의 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 상기 특정된 조건하에서 대퇴사두근 근육, 장딴지근 근육 및 앞정강근 근육에서 알파1 액틴 mRNA 수준의 용량 의존적 억제를 나타내었다.

[0564] 표 27: HSA^{LR} 마우스에서의 인간 알파1 액틴 RNA 전사물의 용량 의존적 억제

	mg/kg/wk	대퇴사두근	장딴지근	앞정강근
ISIS 445236	5	24	36	46
	17	53	57	59
	50	86	86	90
ISIS 445238	5	21	37	3
	17	30	39	60
	50	59	81	70

[0565]

[0566] 근전도검사에 의한 근육긴장증의 평가

[0567] 좌측 및 우측 대퇴사두근(Quad), 좌측 및 우측 장딴지근 근육(Gastroc), 좌측 및 우측 앞정강근(TA) 근육 및 요추 척추옆 근육에 대한 근전도검사를 30 게이지 동심 바늘 전극 및 각각의 근육에 대한 최소 10회의 바늘 삽입을 이용하여 이전에 기재(Kanadia et al, 2003, Science, 302: 1978-1980)된 바와 같이 수행하였다. 데이터는 각각의 군의 4마리의 마우스에서 관찰된 평균 근육긴장증 등급으로서 표 28에 제시되고, 이는 ISIS 445236 및 ISIS 445238로 처리된 마우스에서의 근육긴장증의 유의한 용량 의존적 감소를 나타내었다.

[0568]

표 28: 안티센스 올리고뉴클레오타이드 처리된 HSA^{LR} 마우스의 다양한 근육에서의 근육긴장증의 평균 감소

	mg/kg/wk	좌측 대퇴사두근	우측 대퇴사두근	좌측 장딴지근	우측 장딴지근	좌측 앞정강근	우측 앞정강근	요추 척추옆 근육
PBS	-	3.00	3.00	3.00	3.00	2.75	2.75	3.00
ISIS 445236	5	3.00	3.00	3.00	3.00	2.25	2.25	3.00
	17	0.75	0.75	0.75	1.00	0.00	0.00	1.75
	50	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
ISIS 445238	5	2.75	2.75	2.50	2.50	2.00	1.75	2.75
	17	3.00	3.00	2.00	2.25	0.00	0.00	2.75
	50	0.75	0.75	0.25	0.25	0.00	0.00	1.00

[0569]

[0570] 대안적 스플라이싱의 교정

[0571] *Serca1*의 대안적 스플라이싱에 대한 ISIS 190401의 효과를 평가하기 위해, 앞정강근 장딴지근 및 대퇴사두근 근육으로부터 정제된 전체 RNA를 실시예 13에 기재된 것과 유사한 절차로 분석하였다.

[0572]

PBS 처리된 HSA^{LR} 마우스에서, *Serca1* 스플라이싱은 MBLN1 이상조절의 결과로서 엑손 22 배제에 의해 입증되는 바와 같이 이상조절된다. 1주일에 2회 8.5 mg/kg 또는 25.0 mg/kg의 용량(또는 17.0 mg/kg/주 및 50.0 mg/kg/주)의 ISIS 445236 또는 ISIS 445238을 이용한 처리는 모든 3개의 근육 유형에서 완전한 봉입 및 *Serca1* 유전자의 엑손 22의 대안적 스플라이싱의 정상화를 발생시켰다.

[0573]

따라서, 알파1 액틴의 안티센스 억제는 *Serca1* 스플라이싱 이상조절을 교정하였고, 이는 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 이용한 처리가 핵 초점에서 CUGexp의 축적을 감소시킨 것을 나타낸다. 핵 초점 내의 CUGexp의 감소된 축적은 MBLN1 격리를 교정함으로써, 정상적인 스플라이싱이 발생하도록 한다.

[0574]

실시예 17: 트랜스제닉 마우스에서의 인간 알파1 액틴의 HSA 코딩 영역을 표적으로 하는 올리고뉴클레오타이드에 의한 생체내 안티센스 억제

[0575]

HSA^{LR} 마우스에서의 근육긴장증에 대한 ISIS 190401(5'-GCGGTCAGCGATCCAGGGT-3'(서열번호 788), 서열번호 1의

표적 시작 부위 1028)에 의한 인간 알파1 액틴 RNA 전사물의 안티센스 억제를 평가하였다.

[0576] 처리

[0577] HSA^{LR} 마우스에 4주 동안 주당 2회로 25 mg/kg의 용량으로 ISIS 190401을 피하 주사로 투여하였다. 대조군에 2주 동안 주당 2회로 PBS를 피하 주사로 투여하였다. PBS 주사된 군은 올리고뉴클레오타이드 처리군과 비교되는 대조군으로 작용하였다.

[0578] 알파1 액틴 RNA의 억제

[0579] 최종 투여 24시간 후, 동물을 희생시키고, 대퇴사두근 근육, 장딴지근 근육 및 앞정강근 근육으로부터 조직을 분리시켰다. 알파1 액틴의 실시간 PCR 분석을 위해 RNA를 분리시키고, 18s RNA에 대해 표준화시켰다. 표 29에 제시된 바와 같이, 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 이용한 처리는 인간 알파1 액틴 RNA 전사물을 발현을 감소시켰다. 결과는 PBS 대조군에 비한 알파1 액틴 전사물의 억제 퍼센트로 표현된다.

[0580] ISIS 190401을 이용한 처리는 상기 특정된 조건하에서 대퇴사두근 근육, 장딴지근 근육 및 앞정강근 근육에서 알파1 액틴 mRNA 수준의 유의한 억제를 발생시켰다.

[0581] 표 29: HSA^{LR} 마우스에서의 인간 알파1 액틴 RNA 전사물의 안티센스 억제

근육 유형	% 억제
대퇴사두근	85
장딴지근	86
앞정강근	89

[0582] 근전도검사에 의한 근육긴장증의 평가

[0583] 좌측 및 우측 대퇴사두근, 좌측 및 우측 장딴지근 근육, 좌측 및 우측 앞정강근 근육 및 요추 척추옆 근육에 대한 근전도검사를 30 게이지 동심 바늘 전극 및 각각의 근육에 대한 최소 10회의 바늘 삽입을 이용하여 이전에 기재(Kanadia et al, 2003, Science, 302: 1978-1980)된 바와 같이 수행하였다. 데이터는 각각의 군의 4마리의 마우스에서 관찰된 평균 근육긴장증 등급으로서 표 30에 제시되고, 이는 ISIS 190401로 처리된 마우스에서의 근육긴장증의 유의한 감소를 나타내었다.

[0584] 표 30: 안티센스 올리고뉴클레오타이드 처리된 HSA^{LR} 마우스의 다양한 근육에서의 근육긴장증의 평균 감소

	PBS	ISIS 190401
좌측 대퇴사두근	3.00	0.00
우측 대퇴사두근	3.00	0.00
좌측 장딴지근	3.00	0.00
우측 장딴지근	3.00	0.00
좌측 앞정강근	2.50	0.00
우측 앞정강근	2.50	0.00
요추 척추옆 근육	3.00	0.50

[0585] 대안적 스플라이싱의 교정

[0586] *Serca1*의 대안적 스플라이싱에 대한 ISIS 190401의 효과를 평가하기 위해, 앞정강근 장딴지근 및 대퇴사두근 근육으로부터 정제된 전체 RNA를 실시에 13에 기재된 것과 유사한 절차로 분석하였다.

[0587] PBS 처리된 HSA^{LR} 마우스에서, *Serca1* 스플라이싱은 MBLN1 이상조절의 결과로서 엑손 22 배제에 의해 입증되는 바와 같이 이상조절된다. ISIS 190401을 이용한 처리는 모든 3개의 근육 유형에서 완전한 봉입 및 *Serca1* 유전자의 엑손 22의 대안적 스플라이싱의 정상화를 발생시켰다.

[0588] 따라서, 알파1 액틴의 안티센스 억제는 *Serca1* 스플라이싱 이상조절을 교정하였고, 이는 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 이용한 처리가 핵 초점에서 CUGexp의 축적을 감소시킨 것을 나타낸다. 핵 초점 내의 CUGexp의 감소된 축적은 MBLN1 격리를 교정함으로써, 정상적인 스플라이싱이 발생하도록 한다.

[0591] 실시예 18: 트랜스제닉 마우스에서의 인간 알파1 액틴을 표적으로 하는 올리고뉴클레오타이드에 의한 안티센스 억제의 작용 기간

[0592] HSA^{LR} 마우스에서의 ISIS 445236에 의한 인간 알파1 액틴 RNA 전사물의 안티센스 억제의 작용 기간을 평가하였다.

[0593] 처리

[0594] HSA^{LR} 마우스에 4주 동안 주당 2회로 25 mg/kg의 용량으로 ISIS 445236을 피하 주사로 투여하였다. 대조군에 2주 동안 주당 2회로 PBS를 피하 주사로 투여하였다. PBS 주사된 군은 올리고뉴클레오타이드 처리군과 비교되는 대조군으로 작용하였다. 마우스를 마지막 용량의 투여 후 6주 동안 분석하였다.

[0595] 알파1 액틴 RNA의 억제

[0596] 최종 투여 6주 후, 동물을 희생시키고, 대퇴사두근 근육, 장딴지근 근육 및 앞정강근 근육으로부터 조직을 분리하였다. 알파1 액틴의 실시간 PCR 분석을 위해 RNA를 분리시키고, 18s RNA에 대해 표준화시켰다. 표 31에 제시된 바와 같이, ISIS 445236을 이용한 처리는 인간 알파1 액틴 RNA 전사물 발현을 감소시켰고, 이러한 효과는 적어도 6주 동안 지속되었다. 결과는 PBS 대조군에 비한 알파1 액틴 전사물의 억제 퍼센트로 표현된다.

[0597] ISIS 445236을 이용한 처리는 상기 특정된 조건하에서 대퇴사두근 근육, 장딴지근 근육 및 앞정강근 근육에서 알파1 액틴 mRNA 수준의 유의한 억제를 발생시켰다.

[0598] 표 31: HSA^{LR} 마우스에서의 인간 알파1 액틴 RNA 전사물의 안티센스 억제

근육 유형	% 억제
대퇴사두근	88
장딴지근	76
앞정강근	67

[0599]

근전도검사에 의한 근육긴장증의 평가

[0601] 좌측 및 우측 대퇴사두근, 좌측 및 우측 장딴지근 근육, 좌측 및 우측 앞정강근 근육 및 요추 척추옆 근육에 대한 근전도검사를 30 게이지 동심 바늘 전극 및 각각의 근육에 대한 최소 10회의 바늘 삽입을 이용하여 이전에 기재(Kanadia et al, 2003, Science, 302: 1978-1980)된 바와 같이 수행하였다. 데이터는 각각의 군의 4마리의 마우스에서 관찰된 평균 근육긴장증 등급으로서 표 32에 제시되고, 이는 ISIS 445236으로 처리된 마우스에서의 근육긴장증의 유의한 감소를 나타내었다. 따라서, ISIS 445236에 의한 알파 액틴의 안티센스 억제의 효과는 적어도 6주 동안 지속되었다.

[0602] 표 32: 안티센스 올리고뉴클레오타이드 처리된 HSA^{LR} 마우스의 다양한 근육에서의 근육긴장증의 평균 감소

	PBS	ISIS 445236
좌측 대퇴사두근	3.00	0.00
우측 대퇴사두근	3.00	0.00
좌측 장딴지근	3.00	0.00
우측 장딴지근	3.00	0.00
좌측 앞정강근	2.50	0.00
우측 앞정강근	2.50	0.00
요추 척추옆 근육	3.00	0.00

[0603]

실시예 19: 트랜스제닉 마우스에서의 근내 투여에 의한 CUG 반복부를 갖는 mRNA의 안티센스 억제의 생체내 효과

[0604] HSA^{LR} 마우스에서의 근육긴장증에 대한 다수의 CUG 반복부를 함유하는 mRNA 전사물의 안티센스 억제의 효과를 평가하였다. CUG 반복부를 표적으로 하며, 다양한 길이를 갖는 3개의 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 마우스에서 근육긴장증을 억제하는데 있어서의 이의 효과를 검정하였다. ISIS 444745(AGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCA(서열 번호 789)는 포스포로티오에이트 백본을 갖는 25개 뉴클레오타이드 길이의 균일한 2'-0-메톡시에틸 올리고뉴클레오타이드이다. ISIS 444746(AGCAGCAGCAGCAGCAGCAG(서열번호 790)는 포스포로티오에이트 백본을 갖는 20개

뉴클레오타이드 길이의 균일한 2'-0-메톡시에틸 올리고뉴클레오타이드이다. ISIS 444749(GCAGCAGCAGCAGCA(서열 번호 791)는 포스포로티오에이트 백본을 갖는 15개 뉴클레오타이드 길이의 균일한 2'-0-메톡시에틸 올리고뉴클레오타이드이다. ISIS 445236을 양성 대조군으로 검정에 포함시켰다.

[0606] 처리

[0607] HSA^{LR} 마우스를 3개의 처리군으로 나누었다. 상기 군에 앞정강근 근육으로 0.4nM의 용량으로 ISIS 444745, ISIS 444746 또는 ISIS 444749을 직접적 근내 주사로 투여하였다. 각각의 마우스의 반대쪽 앞정강근 근육에 PBS를 단일 용량의 근내 주사로 투여하였다. PBS 주사된 근육은 대조군으로 작용하였다.

[0608] 알파1 액틴 RNA의 억제

[0609] 최종 투여 24시간 후, 동물을 희생시키고, 앞정강근(좌측 및 우측)으로부터 조직을 분리시켰다. 알파1 액틴의 실시간 PCR 분석을 위해 RNA를 분리시키고, 18s RNA에 대해 표준화시켰다. 표 33에 제시된 바와 같이, ISIS 444745를 이용한 처리만이 인간 알파1 액틴 RNA 전사물 발현을 감소시켰다. 결과는 PBS 대조군에 비한 알파1 액틴 전사물의 억제 퍼센트로 표현된다.

[0610] 표 33: HSA^{LR} 마우스에서의 인간 알파1 액틴 RNA 전사물의 억제 퍼센트

ISIS No.	% 억제
444745	51
444746	0
444749	12

[0611]

[0612] 실시예 20: 트랜스제닉 마우스에서의 근내 투여에 의한 CUG 반복부를 갖는 mRNA의 생체내 용량 의존적 억제

[0613] ISIS 444745 및 ISIS 444746을 생체내에서 인간 알파1 액틴 mRNA를 감소시키는 이의 능력에 대해 추가로 평가하였다.

[0614] 처리

[0615] HSA^{LR} 마우스를 12시간의 명/암 주기로 유지시키고, 일반적인 퓨리나(Purina) 마우스 먹이를 무제한적으로 공급하였다. 동물을 실험 개시 전에 연구 시설에서 적어도 7일 동안 새 환경에 순응시켰다. 안티센스 올리고뉴클레오타이드(ASO)를 PBS에서 제조하였고, 0.2 마이크론 필터를 통한 여과에 의해 멀균시켰다. 올리고뉴클레오타이드를 주사를 위해 0.9% PBS에 용해시켰다.

[0616] 마우스를 6개의 처리군으로 나누었다. 3개의 군에 한 측면의 앞정강근 근육에 0.2nM, 0.5nM 또는 1.0nM의 용량으로 ISIS 444745를 직접적 근내 주사로 투여하였다. 또 다른 3개의 군에 한 측면의 앞정강근 근육에 0.2nM, 0.5nM 또는 1.0nM의 용량으로 ISIS 444746를 직접적 근내 주사로 투여하였다. 각각의 마우스의 반대쪽 앞정강근 근육에 PBS를 단일 용량의 근내 주사로 투여하였다. PBS 주사된 근육은 ISIS 올리고뉴클레오타이드로 처리된 상응하는 근육에 대한 대조군으로 작용하였다.

[0617] 근전도검사에 의한 근육긴장증의 평가

[0618] 좌측 및 우측 대퇴사두근, 좌측 및 우측 장딴지근 근육, 좌측 및 우측 앞정강근 근육 및 요추 척추옆 근육에 대한 근전도검사를 30 게이지 동심 바늘 전극 및 각각의 근육에 대한 최소 10회의 바늘 삽입을 이용하여 이전에 기재(Kanadia et al, 2003, Science, 302: 1978-1980)된 바와 같이 수행하였다. 데이터는 각각의 군의 4마리의 마우스에서 관찰된 평균 근육긴장증 등급으로서 표 34에 제시되고, 이는 ISIS 444745 또는 ISIS 444746으로 처리된 마우스에서의 근육긴장증의 유의한 감소를 나타내었다. ISIS 444745 및 444746에 의한 알파 액틴의 안티센스 억제의 효과는 적어도 6주 동안 지속되었다.

[0619] 표 34: 안티센스 올리고뉴클레오타이드 처리된 HSA^{LR} 마우스의 근육에서의 근육긴장증의 용량 의존적 감소

	0.2 nM	0.5 nM	1.0 nM
PBS	3.00	3.00	2.33
ISIS 444745	1.67	1.00	0.33
PBS	2.50	2.00	3.00
ISIS444746	2.00	0.00	1.00

[0620] [0621] 실시예 21: 트랜스제닉 마우스에서의 피하 투여에 의한 CUG 반복부를 갖는 mRNA의 안티센스 억제의 생체내 효과

HSA^{LR} 마우스에서의 근육긴장증에 대한 다수의 CUG 반복부를 함유하는 mRNA 전사물의 안티센스 억제의 효과를 평가하였다. ISIS 445236을 양성 대조군으로 검정에 포함시켰다.

[0623] 처리

[0624] HSA^{LR} 마우스를 5개의 처리군으로 나누었다. 처음 3개의 군에 4주 동안 주 당 2회로 25 mg/kg의 용량으로 ISIS 444745, ISIS 444746 또는 ISIS 444749를 피하 주사로 투여하였다. 네번째 군에 4주 동안 주 당 2회로 PBS를 피하 주사로 투여하였다. 다섯번째 군에 4주 동안 주 당 2회로 25 mg/kg의 용량으로 ISIS 445236을 피하 주사로 투여하였다. PBS 주사된 군은 올리고뉴클레오타이드 처리군과 비교되는 대조군으로 작용하였다.

[0625] 근전도검사에 의한 근육긴장증의 평가

[0626] 좌측 및 우측 대퇴사두근, 좌측 및 우측 장딴지근 근육, 좌측 및 우측 앞정강근 근육 및 요추 척추옆 근육에 대한 근전도검사를 30 게이지 동심 바늘 전극 및 각각의 근육에 대한 최소 10회의 바늘 삽입을 이용하여 이전에 기재(Kanadia et al, 2003, Science, 302: 1978-1980)된 바와 같이 수행하였다. 데이터는 각각의 군의 4마리의 마우스에서 관찰된 평균 근육긴장증 등급으로서 표 35에 제시된다.

[0627] ISIS 445236을 이용한 처리는 근육긴장증에서 유의한 감소를 발생시켰다. ISIS 444745 및 ISIS 444746을 이용한 처리는 또한 시험된 조직 일부에서 감소된 근육긴장증을 발생시켰다.

[0628] 표 35: 안티센스 올리고뉴클레오타이드 처리된 HSA^{LR} 마우스의 다양한 근육에서의 근육긴장증의 평균 감소

	PBS	ISIS 444745	ISIS 444746	ISIS 444749	ISIS 445236
좌측 대퇴사두근	3.00	3.00	3.00	3.00	0.00
우측 대퇴사두근	3.00	3.00	3.00	3.00	0.00
좌측 장딴지근	3.00	2.75	3.00	3.00	0.00
우측 장딴지근	3.00	2.75	2.75	3.00	0.00
좌측 앞정강근	3.00	2.25	2.75	2.75	0.00
우측 앞정강근	3.00	2.25	2.50	2.75	0.00
요추 척추옆 근육	3.00	3.00	3.00	3.00	0.00

[0629] [0630] 실시예 22: 트랜스제닉 마우스에서의 피하 투여에 의한 긴 CUG 반복부 mRNA(HSA^{LR} 마우스) 및 짧은 CUG 반복부 (HSA^{SR} 마우스)의 용량 의존적 억제

[0631] 긴 CUG 반복부(HSA^{LR} 마우스) 및 짧은 CUG 반복부(HSA^{SR} 마우스)를 함유하는 mRNA 전사물의 용량 의존적 억제를 평가하였다. HSA-짧은 반복부(HSA^{SR}) 마우스는, 250개 대신 5개의 CUG 반복물이 3' UTR에 삽입된 것을 제외하고는 HSA^{LR} 마우스와 동일한 트랜스진을 발현한다. HSA^{SR} 마우스는 근육긴장증, 스플라이싱 변화, 또는 임의의 다른 관찰가능한 근육긴장증 표현형을 갖지 않는다. 본 검정에 ISIS 445236을 이용하였다.

[0632] 처리

[0633] HSA^{LR} 마우스를 4개의 처리군으로 나누었다. 처음 3개의 군에 4주 동안 주 당 2회로 2.5 mg/kg, 8.5 mg/kg 또는 25.0 mg/kg의 용량으로 ISIS 445236을 피하 주사로 투여하였다. 네번째 군에 4주 동안 주 당 2회로 PBS를 피하 주사로 투여하였다. PBS 주사된 군은 올리고뉴클레오타이드 처리군과 비교되는 대조군으로 작용하였다.

HSA^{SR} 마우스를 또한 4개의 군으로 나누고, 유사하게 처리하였다.

[0634] 알파1 액틴 RNA의 억제

[0635] 최종 투여 24시간 후, 동물을 회생시키고, 대퇴사두근 근육(좌측 및 우측), 장딴지근 근육(좌측 및 우측) 및 앞정강근 근육(좌측 및 우측)으로부터 조직을 분리시켰다. 알파1 액틴의 실시간 PCR 분석을 위해 RNA를 분리시키고, 18s RNA에 대해 표준화시켰다. 결과는 표 36 및 표 37에 제시되며, 이는 대조군에 비한 알파1 액틴 전사물의 억제 퍼센트로 표현된다. HSA^{SR} 마우스의 근육에서의 비-핵 유지된 짧은 반복부에 비해 HSA^{LR} 마우스의 근육에서 핵 유지된 긴 반복부의 보다 큰 억제가 달성되었다.

표 36: HSA^{LR} 마우스에서의 인간 알파1 액틴 RNA 전사물의 억제 퍼센트

용량 (mg/kg)	대퇴사두근	장딴지근	앞정강근
2.5	24	36	46
8.5	53	66	59
25	86	86	90

표 37: HSA^{SR} 마우스에서의 인간 알파1 액틴 RNA 전사물의 억제 퍼센트

용량 (mg/kg)	대퇴사두근	장딴지근	앞정강근
2.5	15	14	0
8.5	30	11	0
25	59	48	54

[0639] 실시예 23: 트랜스제닉 마우스에서의 인간 DMPK의 생체내 안티센스 억제

[0641] LC15 마우스 계통 A는 전체 인간 DMPK 3'UTR을 함유하는 트랜스제닉 마우스이다(휠러 등(Wheeler et al, University of Rochester)에 의해 개발됨). 상기 마우스는 FVB 백그라운드로 역교배된 마우스의 두번째 세대이다. 상기 트랜스진은 핵에 유지되는 CUG 반복부 RNA로서 마우스에서 발현되어, 근육긴장성 이영양증(DM1)을 갖는 환자의 인간 조직 샘플에서 관찰되는 것과 유사한 핵내 봉입체 또는 초점을 형성한다. DMPK 트랜스진에는 350-400개의 CUG 반복부가 존재한다. 이러한 마우스는 DM1의 초기 징후를 나타내고, 근육 조직 내에서 어떠한 근육긴장증도 나타내지 않는다.

[0642] 시험관내에서 통계적으로 유의한 용량 의존적 억제를 나타낸 ISIS 445569, ISIS 444404, ISIS 444436 및 ISIS 473810(실시예 5 참조)을 생체내에서 인간 DMPK RNA 전사물을 감소시키는 능력에 대해 평가하였다.

[0643] 처리

[0644] LC15 계통 A 마우스를 12시간의 명/암 주기로 유지시키고, 일반적인 퓨리나(Purina) 마우스 먹이를 무제한적으로 공급하였다. 동물을 실험 개시 전에 연구 시설에서 적어도 7일 동안 새 환경에 순응시켰다. 안티센스 올리고뉴클레오타이드(ASO)를 PBS에서 제조하였고, 0.2 마이크론 필터를 통한 여과에 의해 멸균시켰다. 올리고뉴클레오타이드를 주사를 위해 0.9% PBS에 용해시켰다.

[0645] 마우스를 5개의 처리군으로 나누었다. 처음 3개의 군에 4주 동안 주 당 2회로 25 mg/kg의 용량으로 ISIS 445569, ISIS 444404 또는 ISIS 444436을 피하 주사로 투여하였다. 네번째 군에 4주 동안 주 당 2회로 12.5 mg/kg의 용량으로 ISIS 473810을 피하 주사로 투여하였다. 다섯번째 군에 4주 동안 주 당 2회로 PBS를 피하 주사로 투여하였다. PBS 주사된 군은 올리고뉴클레오타이드 처리군과 비교되는 대조군으로 작용하였다.

[0646] DMPK RNA의 억제

[0647] 최종 투여 24시간 후, 동물을 회생시키고, 대퇴사두근 근육으로부터 조직을 분리시켰다. DMPK의 실시간 PCR 분석을 위해 RNA를 분리시키고, 18s RNA에 대해 표준화시켰다. 표 38에 제시된 바와 같이, 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 이용한 처리는 인간 DMPK RNA 전사물 발현을 감소시켰다. 결과는 PBS 대조군에 비한 DMPK 전사물의 억제 퍼센트로 표현된다.

[0648] 표 38: LC15 마우스에서의 인간 DMPK RNA 전사물의 안티센스 억제

ISIS No	mg/kg/wk	% 억제
444404	50	20
444404	50	55
444436	50	41
473810	25	56

[0649]

[0650] 근전도검사에 의한 근육긴장증의 평가

[0651]

좌측 및 우측 대퇴사두근, 좌측 및 우측 장딴지근 근육, 좌측 및 우측 앞정강근 근육 및 요추 척추옆 근육에 대한 근전도검사를 30 게이지 동심 바늘 전극 및 각각의 근육에 대한 최소 10회의 바늘 삽입을 이용하여 이전에 기재(Kanadia et al, 2003, Science, 302: 1978-1980)된 바와 같이 수행하였다. LC15 마우스는 근육긴장증을 갖지 않으므로, 대조군 및 처리군은 시험된 임의의 근육에서 어떠한 근육긴장증도 나타내지 않았다.

[0652]

실시예 24: 트랜스제닉 마우스에서의 인간 DMPK의 생체내 안티센스 억제

[0653]

LC15 마우스 계통 D는 전체 인간 DMPK 3'UTR을 함유하는 트랜스제닉 마우스이다(휠러 등(Wheeler et al, University of Rochester)에 의해 개발됨). 상기 마우스는 FVB 백그라운드로 역교배된 마우스의 세번째 세대이다. 상기 트랜스진은 핵에 유지되는 CUG 반복부 RNA로서 마우스에서 발현되어, 근육긴장성 이영양증(DM1)을 갖는 환자의 인간 조직 샘플에서 관찰되는 것과 유사한 핵내 봉입 또는 초점을 형성한다. DMPK 트랜스진에는 350-400개의 CUG 반복부가 존재한다. 이러한 마우스는 DM1의 초기 징후를 나타내고, 근육 조직 내에서 어떠한 근육긴장증도 나타내지 않는다.

[0654]

ISIS 445569, ISIS 444404, ISIS 444436 및 ISIS 473810을 생체내에서 인간 DMPK RNA 전사물을 감소시키는 이의 능력에 대해 추가로 평가하였다.

[0655] 처리

[0656]

LC15 계통 D 마우스를 12시간의 명/암 주기로 유지시키고, 일반적인 퓨리나(Purina) 마우스 먹이를 무제한적으로 공급하였다. 동물을 실험 개시 전에 연구 시설에서 적어도 7일 동안 새 환경에 순응시켰다. 안티센스 올리고뉴클레오타이드(ASO)를 PBS에서 제조하였고, 0.2 마이크론 필터를 통한 여과에 의해 멸균시켰다. 올리고뉴클레오타이드를 주사를 위해 0.9% PBS에 용해시켰다.

[0657]

마우스를 6개의 처리군으로 나누었다. 처음 3개의 군에 4주 동안 주 당 2회로 25.00 mg/kg의 용량으로 ISIS 445569, ISIS 444404 또는 ISIS 444436을 피하 주사로 투여하였다. 네번째 군에 4주 동안 주 당 2회로 12.50 mg/kg의 용량으로 ISIS 473810을 피하 주사로 투여하였다. 다섯번째 군에 4주 동안 주 당 2회로 6.25 mg/kg의 용량으로 ISIS 473810을 피하 주사로 투여하였다. 여섯번째 군에 4주 동안 주 당 2회로 PBS를 피하 주사로 투여하였다. PBS 주사된 군은 올리고뉴클레오타이드 처리군과 비교되는 대조군으로 작용하였다.

[0658] DMPK RNA의 억제

[0659]

최종 투여 24시간 후, 동물을 희생시키고, 대퇴사두근 근육으로부터 조직을 분리시켰다. DMPK의 실시간 PCR 분석을 위해 RNA를 분리시키고, 18s RNA에 대해 표준화시켰다. 표 39에 제시된 바와 같이, 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 이용한 처리는 인간 DMPK RNA 전사물 발현을 감소시켰다. 결과는 PBS 대조군에 비한 DMPK 전사물의 억제 퍼센트로 표현된다.

[0660]

상기 결과는 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 이용한 처리가 마우스에서 DMPK mRNA의 억제를 발생시킨 것을 나타낸다.

[0661] 표 39: LC15 마우스에서의 인간 DMPK RNA 전사물의 안티센스 억제

ISIS No	mg/kg/wk	% 억제
444404	50.00	24
444404	50.00	30
444436	50.00	17
473810	25.00	7
473810	12.50	18

[0662] 표 39: LC15 마우스에서의 인간 DMPK RNA 전사물의 안티센스 억제

[0663] 근전도검사에 의한 근육긴장증의 평가

[0664] 좌측 및 우측 대퇴사두근, 좌측 및 우측 장딴지근 근육, 좌측 및 우측 앞정강근 근육 및 요추 척추옆 근육에 대한 근전도검사를 30 게이지 동심 바늘 전극 및 각각의 근육에 대한 최소 10회의 바늘 삽입을 이용하여 이전에 기재(Kanadia et al, 2003, Science, 302: 1978-1980)된 바와 같이 수행하였다. LC15 마우스는 근육긴장증을 갖지 않으므로, 대조군 및 처리군은 시험된 임의의 근육에서 어떠한 근육긴장증도 나타내지 않았다.

[0665] 실시예 25: SXL 트랜스제닉 마우스 모델에서의 인간 DMPK의 생체내 안티센스 억제

[0666] hDMPK-표적화 ASO를 이용하여, 가자미근에서의 444401 및 299471 표적 넉다운을 SXL 마우스에서 측정하였다. SXL 마우스는 전체 DMPK 유전자 및 프로모터에 대해 트랜스제닉이고, DMPK 유전자의 3'UTR에 1000개의 CUG 반복부 서열을 함유한다. 마우스에 4주 동안 주 당 2회로 50mg/kg을 투여하였다(n= 군 당 3마리의 마우스, n= 염수 주사된 대조군에 대한 2마리는 예외). Taqman 검정의 결과는 ISISI 444401 또는 ISIS 299471을 이용한 처리가 mut-hDMPK mRNA 수준을 유의하게 감소시켰으나, 내인성 마우스 Dmpk mRNA 수준에는 사소하게 영향을 미친 것을 나타내었다.

[0667] 따라서, ISIS 444401 및 ISIS 299471은 인간 DMPK mRNA 전사물을 선별적으로 표적화한다.

[0668] 실시예 26: 트랜스제닉 마우스에서의 인간 알파1 액틴을 표적으로 하는 올리고뉴클레오타이드에 의한 안티센스 억제의 작용 기간

[0669] HSA^{LR} 마우스에서의 ISIS 190401에 의한 인간 알파1 액틴 RNA 전사물의 안티센스 억제의 작용 기간을 평가하였다.

[0670] 처리

[0671] HSA^{LR} 마우스에 4주 동안 주 당 2회로 25 mg/kg의 용량으로 ISIS 190401을 피하 주사로 투여하였다. 대조군에 4주 동안 주 당 2회로 PBS를 피하 주사로 투여하였다. PBS 주사된 군은 올리고뉴클레오타이드 처리군과 비교되는 대조군으로 작용하였다. 마우스를 마지막 용량의 투여 후에 15주 동안 분석하였다.

[0672] 알파1 액틴 RNA의 억제

[0673] 최종 투여 15주 후, 동물을 희생시키고, 대퇴사두근 근육, 장딴지근 근육 및 앞정강근 근육으로부터 조직을 분리시켰다. 알파1 액틴의 실시간 PCR 분석을 위해 RNA를 분리시키고, 18s RNA에 대해 표준화시켰다. 표 40에 제시된 바와 같이, ISIS 190401을 이용한 처리는 인간 알파1 액틴 RNA 전사물 발현을 감소시켰고, 이러한 효과는 적어도 15주 동안 지속되었다. 결과는 PBS 대조군에 비한 알파1 액틴 전사물의 억제 퍼센트로 표현된다.

[0674] ISIS 190401을 이용한 처리는 상기 특정된 조건하에서 알파1 액틴 mRNA 수준의 유의한 억제를 발생시켰다.

[0675] 표 40: HSA^{LR} 마우스에서의 인간 알파1 액틴 RNA 전사물의 안티센스 억제

근육 유형	% 억제
대퇴사두근	74
장딴지근	81
앞정강근	75

[0676] 표 40: HSA^{LR} 마우스에서의 인간 알파1 액틴 RNA 전사물의 안티센스 억제

[0677] 근전도검사에 의한 근육긴장증의 평가

[0678] 좌측 및 우측 대퇴사두근, 좌측 및 우측 장딴지근 근육, 좌측 및 우측 앞정강근 근육 및 요추 척추옆 근육에 대한 근전도검사를 30 게이지 동심 바늘 전극 및 각각의 근육에 대한 최소 10회의 바늘 삽입을 이용하여 이전에 기재(Kanadia et al, 2003, Science, 302: 1978-1980)된 바와 같이 수행하였다. 데이터는 각각의 군의 4마리의 마우스에서 관찰된 평균 근육긴장증 등급으로서 표 41에 제시되고, 이는 ISIS 190401로 처리된 마우스에서의 근육긴장증의 유의한 감소를 나타내었다. 따라서, ISIS 190401에 의한 알파 액틴의 안티센스 억제의 효과는 적어도 15주 동안 지속되었다.

표 41: 안티센스 올리고뉴클레오타이드 처리된 HSA^{LR} 마우스의 다양한 근육에서의 근육긴장증의 평균 감소

	PBS	ISIS 190401
좌측 대퇴사두근	3.0	0.0
우측 대퇴사두근	3.0	0.0
좌측 장딴지근	2.5	0.0
우측 장딴지근	2.5	0.0
좌측 앞정강근	2.5	0.0
우측 앞정강근	2.5	0.0
요추 척추옆 근육	2.5	0.0

[0680]

[0681] 대안적 스플라이싱의 교정

[0682] *Serca1*의 대안적 스플라이싱에 대한 ISIS 190401의 효과를 평가하기 위해, 앞정강근 장딴지근 및 대퇴사두근 근육으로부터 정제된 전체 RNA를 실시예 13에 기재된 것과 유사한 절차로 분석하였다.

[0683] PBS 처리된 HSA^{LR} 마우스에서, *Serca1* 스플라이싱은 엑손 22 배제에 의해 입증되는 바와 같이 이상조절된다. ISIS 190401을 이용한 처리는 모든 3개의 근육 유형에서 완전한 봉입 및 *Serca1* 유전자의 엑손 22의 대안적 스플라이싱의 정상화를 발생시켰고, 이는 15주 후에도 지속되었다.

[0684] 따라서, 알파1 액틴의 안티센스 억제는 *Serca1* 스플라이싱 이상조절을 교정하였고, 이는 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 이용한 처리가 핵 초점에서 CUGexp의 축적을 감소시킨 것을 나타낸다. 핵 초점 내의 CUGexp의 감소된 축적은 MBLN1 격리를 교정함으로써, 정상적인 스플라이싱이 발생하도록 한다.

[0685] 실시예 27: 인간 액틴의 안티센스 억제의 전사체적 효과(transcriptomic effect)의 마이크로어레이 분석

[0686] 확장된 CUG 반복부를 갖는 액틴 mRNA의 발현은 근육 전사체의 광범위한 리모델링을 야기시킨다. ISIS 190401 및 ISIS 445236의 전체 전사체적 효과를 평가하기 위해, 마이크로어레이 분석을 HSA^{LR} 마우스에서 이용하였다.

[0687] 처리

[0688] HSA^{LR} 마우스에 4주 동안 주당 2회로 25 mg/kg의 용량으로 ISIS 190401 또는 ISIS 445236을 피하 주사로 투여하였다. 대조군에 4주 동안 주 당 2회로 PBS를 피하 주사로 투여하였다. PBS 주사된 군은 올리고뉴클레오타이드 처리군과 비교되는 대조군으로 작용하였다.

[0689] 마이크로어레이에 의한 전사체 분석

[0690] 야생형 또는 HSA^{LR} 마우스의 대퇴사두근 근육으로부터 RNA를 분리시켰다. Agilent Bioanalyzer를 이용하여 RNA 온전성을 확인하였다(RNA 온전성 수 > 7.5). RNA를 상보성 RNA(cRNA)로 처리하고, 제조업체의 권고에 따라 MouseRef-8 v2.0 Expression BeadChip Kits(Illumina, San Diego)를 이용하여 마이크로비드 상에 하이브리드화 시켰다. 이미지 데이터를 BeadStudio 소프트웨어(Illumina)를 이용하여 정량하였다. 신호 강도를 분위수 표준화시켰다. 표준화 전에 2 미만의 임의의 값은 피하기 위해 열-특이적 오프셋(Offset)을 이용하였다. 하이브리드화 혼합물 내의 확장된 반복부(mRNA 내의 CUG 반복부로부터 유래되는 cRNA 내의 CAG 반복부)가 프로브 내의 반복부 서열과 교차 하이브리드화될 수 있는 가능성을 배제시키기 위해 CUG, UGC 또는 GCU 반복부의 6개 이상의 뉴클레오타이드를 갖는 모든 프로브 세트로부터의 데이터를 삭제하였다. 발현이 어레이에서 용이하게 정량되지 않는 유전자를 배제시키기 위해, 0.1 미만의 검출 확률에 대한 P 값을 나타내는 프로브를 모든

샘플에서 삭제하였다. 군 사이의 비교를 요약하고, 평균 발현 수준 및 t 시험의 변화 배수에 의해 순위를 매겼다. 야생형 샘플, ISIS 올리고뉴클레오타이드-처리 샘플 및 PBS-처리 마이크로어레이 샘플에 대한 주요 구성요소 분석(Levin *et al.* In *Antisense Drug Technology: Principles, Strategies, and Applications*, S.T. Crooke, Ed. (CRC Press, Boca Raton, 2008), pp 183-215; Geary *et al.* *Drug Metab. Dispos.* 2003; 31: 1419-28)을 수행하기 위해 소프트웨어 패키지 R(Butler *et al.* *Diabetes*. 2002; 51: 1028-34)을 이용하였다. 주요 구성요소는 3차원 내의 각각의 샘플의 발현 변화의 대부분의 포획을 가능케 한다. 각각의 샘플의 처음 3개의 주요 구성요소를 작도하였다.

[0691] 미처리된 야생형 및 HSA^{LR} 마우스의 주요 구성요소 분석은 광범위하게 군집을 이룬 집단의 야생형 마우스로부터 떨어진 HSA^{LR}의 격리를 나타내었다. 대조적으로, 안티센스 올리고뉴클레오타이드 처리된 HSA^{LR} 마우스는 야생형 마우스에 보다 근접하게 군집을 이루었고, 이는 전반적인 전사체 정상화의 경향을 암시한다. HSA^{LR} 트랜스제닉 마우스와 야생형 마우스의 비교로 하기 표 42에 제시되는 바와 같이 발현 수준이 2배 이상 변경($P < 0.0001$)된 93개의 전사물을 확인하였다. 상기 전사물에 대한 이상조절의 정도는 안티센스 올리고뉴클레오타이드에 대해 감소되거나 정상화되었다(ISIS 445236에 반응된 88%의 이상조절된 전사물, ISIS 445236에 대해 $P < 0.05$, 대 ISIS 190401에 대해 90%가 반응된 PBS 대조군).

[0692] 표적외(off-target) 넉다운을 갖는 전사물을 고려하기 위해, 안티센스 올리고뉴클레오타이드 처리된 HSA^{LR} 마우스에서 발현이 감소된 모든 전사물을 확인하였다(어느 하나의 올리고뉴클레오타이드에 의한 2배를 초과하는 감소, $P < 0.0001$, $n = 41$ 전사물). 상기 기준에 의해 하향 조절된 모든 전사물은 HSA^{LR} 마우스에서 상향조절을 나타내었다. 유일한 예외인 콜라겐 6 알파2는 표적외 절단으로부터 발생할 가능성이 없는데, 이는 상기 콜라겐 6 알파2가 비중첩 서열을 갖는 2개의 안티센스 올리고뉴클레오타이드에 의해 하향조절되었기 때문이다.

[0693] 이러한 결과는 4주 동안의 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 이용한 처리가 표적외 효과에 대한 어떠한 증거 없이 근육 전사체의 전반적 개선을 발생시킨 것을 나타낸다.

표 42: HSA^{LR} 트랜스제닉 마우스와 야생형 마우스의 확인된 93개의 전사물의 비교

전사물	배수-변화 HSALR-영수 대 WT	t 시험 HSALR-영수 대 WT	배수-변화 HSALR-190104 대 HSALR-영수	t 시험 HASLR-190104 대 HSALR-영수	배수-변화 HSALR-190401 대 WT	t 시험 HSALR-190401 대 WT	배수-변화 HSALR-445236 대 HSALR-영수	t 시험 HSALR-445236 대 HSALR-영수	배수-변화 HSALR-445236 대 WT	t 시험 HSALR-445236 대 WT
OSBPL10	15.11	0.0000	0.46	0.0023	6.95	0.0008	0.39	0.0007	5.92	0.0002
FBXL13	12.12	0.0000	0.49	0.0159	5.91	0.0385	0.65	0.0255	7.93	0.0026
NGFR	11.57	0.0000	0.23	0.0001	2.66	0.0314	0.16	0.0000	1.84	0.0133
SLC1A1	9.39	0.0000	0.39	0.0001	3.66	0.0001	0.30	0.0001	2.85	0.0116
CXADR	9.13	0.0000	0.14	0.0000	1.30	0.6119	0.21	0.0001	1.94	0.2244
NFATC2	8.48	0.0000	0.32	0.0002	2.67	0.0043	0.22	0.0001	1.84	0.0394
ATP1B4	7.02	0.0000	0.24	0.0000	1.68	0.0021	0.24	0.0000	1.70	0.0091
UCHL1	6.80	0.0000	0.71	0.0168	4.86	0.0005	0.72	0.1187	4.91	0.0090
TEAD4	6.76	0.0000	0.50	0.0030	3.39	0.0085	0.30	0.0004	2.06	0.1213
TAS1R1	6.72	0.0000	0.28	0.0003	1.91	0.1857	0.43	0.0002	2.88	0.0047
MUSTN1	6.52	0.0000	0.31	0.0000	2.01	0.0006	0.33	0.0000	2.15	0.0115

[0695]

IRF5	6.01	0.0000	0.21	0.0000	1.28	0.0556	0.33	0.0001	1.96	0.0035
CRIP3	5.82	0.0000	0.33	0.0000	1.92	0.0151	0.29	0.0001	1.67	0.1470
TAL2	5.75	0.0000	0.20	0.0001	1.13	0.7717	0.36	0.0002	2.08	0.0274
ORF63	5.39	0.0000	0.27	0.0001	1.45	0.0206	0.47	0.0018	2.51	0.0066
COPG	5.05	0.0000	0.30	0.0000	1.53	0.0218	0.25	0.0001	1.25	0.3617
CAMK1D	4.92	0.0000	0.23	0.0002	1.12	0.8157	0.27	0.0000	1.32	0.2449
HSPA2	4.76	0.0000	0.43	0.0000	2.02	0.0079	0.42	0.0000	2.02	0.0197
CAMK2D	4.70	0.0000	0.36	0.0001	1.70	0.0493	0.45	0.0004	2.12	0.0095
CNTNAP2	4.49	0.0000	0.58	0.0001	2.59	0.0000	0.67	0.0007	3.02	0.0000
TTC7	4.33	0.0000	0.38	0.0000	1.63	0.0085	0.68	0.0468	2.96	0.0126
CD276	4.08	0.0001	0.36	0.0001	1.47	0.1613	0.59	0.0029	2.39	0.0072
USH1C	4.07	0.0000	0.50	0.0011	2.04	0.0077	0.38	0.0029	1.55	0.2881
LRP11	4.03	0.0000	0.55	0.0017	2.24	0.0011	0.55	0.0006	2.23	0.0000
PHLDA3	3.96	0.0000	0.40	0.0001	1.60	0.0019	0.36	0.0001	1.42	0.0609
HSPB7	3.80	0.0000	0.30	0.0000	1.14	0.5358	0.30	0.0000	1.15	0.4474
TRIT1	3.74	0.0000	0.43	0.0000	1.62	0.0003	0.31	0.0000	1.16	0.1043
PCNX	3.66	0.0000	0.37	0.0002	1.34	0.1628	0.42	0.0001	1.53	0.0105
3632451006RIK	3.51	0.0000	0.81	0.1094	2.83	0.0025	0.71	0.0015	2.51	0.0002
AMHR2	3.46	0.0000	0.45	0.0001	1.56	0.0037	0.52	0.0003	1.79	0.0016
SNX13	3.27	0.0000	0.47	0.0000	1.55	0.0007	0.44	0.0000	1.42	0.0003
ATP9A	3.26	0.0000	0.60	0.0001	1.96	0.0024	0.42	0.0002	1.38	0.2009
D030028O16RIK	3.22	0.0000	0.53	0.0011	1.70	0.0104	0.48	0.0001	1.56	0.0007
RPS6KA3	3.09	0.0000	0.38	0.0000	1.17	0.1845	0.44	0.0001	1.37	0.0321
GCA	3.00	0.0000	0.70	0.0031	2.09	0.0005	0.74	0.0103	2.22	0.0006
PACRG	2.89	0.0001	0.51	0.0002	1.46	0.0063	0.46	0.0001	1.34	0.0229
SPSB2	2.88	0.0001	0.33	0.0000	0.95	0.6599	0.37	0.0000	1.07	0.6216
POU4F1	2.83	0.0000	0.42	0.0000	1.19	0.2046	0.60	0.0007	1.68	0.0074
STRN4	2.72	0.0000	0.38	0.0000	1.03	0.8900	0.46	0.0000	1.25	0.2128
NCAM1	2.67	0.0001	0.70	0.0259	1.87	0.0135	0.54	0.0006	1.43	0.0343
A930018M24Rik	2.65	0.0001	0.58	0.0058	1.53	0.0727	0.43	0.0002	1.13	0.3919
TUBA4A	2.60	0.0000	0.42	0.0000	1.09	0.1806	0.50	0.0000	1.31	0.0041
IAP	2.57	0.0000	0.57	0.0002	1.46	0.0108	0.59	0.0016	1.52	0.0333
ANKRD40	2.56	0.0000	0.63	0.0155	1.60	0.0683	0.57	0.0002	1.46	0.0047
UVRAG	2.48	0.0000	0.59	0.0000	1.48	0.0005	0.52	0.0000	1.28	0.0165
HIST1H4H	2.46	0.0001	0.55	0.0001	1.34	0.0474	0.65	0.0014	1.60	0.0125
EPS15	2.44	0.0000	0.61	0.0001	1.50	0.0057	0.77	0.0043	1.87	0.0007
PANX1	2.41	0.0001	0.46	0.0004	1.11	0.4311	0.36	0.0000	0.87	0.0561
CALML4	2.41	0.0001	0.45	0.0008	1.10	0.6994	0.67	0.0154	1.62	0.0538
ASPH	2.40	0.0000	0.40	0.0000	0.95	0.6969	0.44	0.0000	1.05	0.7267
CREB3L2	2.37	0.0001	0.71	0.0287	1.67	0.0416	0.65	0.0051	1.54	0.0410
TRAF3	2.32	0.0001	0.50	0.0001	1.16	0.2851	0.57	0.0001	1.32	0.0481
CMYA1	2.30	0.0000	0.44	0.0007	1.02	0.9450	0.44	0.0000	1.01	0.9265
ADAMTSL5	2.30	0.0001	0.48	0.0000	1.11	0.3365	0.53	0.0004	1.22	0.1827
HS2ST1	2.27	0.0001	0.64	0.0002	1.44	0.0223	0.74	0.0041	1.68	0.0062
HIST1H4J	2.21	0.0000	0.59	0.0000	1.31	0.0283	0.72	0.0002	1.60	0.0023
SPSB1	2.20	0.0000	0.53	0.0005	1.16	0.2409	0.48	0.0000	1.05	0.3088

LANCL1	2.20	0.0000	0.63	0.0002	1.39	0.0002	0.66	0.0006	1.46	0.0005
KCNC4	2.16	0.0000	0.91	0.3892	1.96	0.0036	0.98	0.8712	2.12	0.0029
PRRC1	2.16	0.0000	0.57	0.0001	1.23	0.0324	0.59	0.0000	1.26	0.0070
MID1IP1	2.13	0.0001	1.27	0.0161	2.70	0.0001	1.09	0.4336	2.32	0.0014
DICER1	2.13	0.0000	0.65	0.0006	1.39	0.0051	0.69	0.0018	1.47	0.0035
IKBKB	2.10	0.0001	0.74	0.0240	1.56	0.0262	0.78	0.0039	1.64	0.0015
D5WSU178E	2.10	0.0000	0.86	0.1447	1.80	0.0049	0.88	0.0352	1.84	0.0002
ZFP106	2.08	0.0000	0.53	0.0000	1.11	0.1324	0.58	0.0002	1.20	0.0706
B930041F14RIK	2.06	0.0000	0.71	0.0002	1.47	0.0000	0.72	0.0030	1.49	0.0025
FHL1	2.04	0.0000	0.58	0.0000	1.17	0.1332	0.40	0.0000	0.81	0.0815
UHRF1BP1L	2.04	0.0001	0.78	0.0315	1.59	0.0071	0.68	0.0024	1.38	0.0151
PHCA	2.02	0.0000	0.64	0.0001	1.29	0.0354	0.74	0.0070	1.50	0.0145
B230312A22RIK	2.02	0.0000	0.79	0.0022	1.59	0.0004	0.77	0.0019	1.56	0.0007
PPP2R5C	2.01	0.0000	0.59	0.0001	1.16	0.0161	0.66	0.0017	1.32	0.0177
UCK2	2.01	0.0001	0.70	0.0004	1.41	0.0129	0.64	0.0001	1.28	0.0510
LEPROTL1	0.50	0.0000	1.45	0.0013	0.72	0.0004	1.47	0.0011	0.73	0.0005
COPS7A	0.49	0.0000	1.35	0.0645	0.66	0.0039	1.49	0.0026	0.73	0.0016
PRM17	0.48	0.0001	1.51	0.2023	0.73	0.1585	1.34	0.0445	0.65	0.0002
LDB3	0.47	0.0000	1.55	0.0550	0.73	0.0607	1.57	0.0010	0.74	0.0055
LOC100046120	0.47	0.0000	1.31	0.0077	0.61	0.0000	1.27	0.0381	0.60	0.0002
LOC677317	0.45	0.0001	1.49	0.0004	0.68	0.0012	1.93	0.0011	0.88	0.2082
LDB2	0.45	0.0000	1.73	0.0424	0.78	0.1234	1.23	0.0817	0.56	0.0000
SUM03	0.44	0.0000	1.70	0.0123	0.74	0.0223	1.37	0.0960	0.60	0.0023
LRRC24	0.43	0.0001	1.89	0.0009	0.82	0.0212	1.42	0.0898	0.61	0.0041
HNRPH1	0.42	0.0000	1.64	0.0077	0.69	0.0094	1.70	0.0057	0.71	0.0144
ARMETL1	0.38	0.0000	2.58	0.0000	0.98	0.7666	2.70	0.0000	1.02	0.7109
LOC100041504	0.37	0.0000	2.02	0.0001	0.75	0.0061	1.84	0.0040	0.68	0.0094
MMP9	0.32	0.0000	2.40	0.0006	0.77	0.0340	1.37	0.1834	0.44	0.0009
CBFB	0.28	0.0000	2.66	0.0304	0.75	0.1852	1.94	0.0056	0.55	0.0004
MDH2	0.24	0.0000	1.20	0.0473	0.29	0.0000	1.12	0.1037	0.27	0.0000
APCDD1	0.20	0.0000	1.98	0.2157	0.39	0.0059	4.55	0.0001	0.90	0.2873
LOC654842	0.19	0.0000	1.28	0.1712	0.24	0.0000	1.07	0.8807	0.20	0.0001
F2RL3	0.15	0.0000	5.78	0.0001	0.86	0.1901	4.92	0.0004	0.73	0.0310
EIF3H	0.13	0.0000	1.99	0.2185	0.26	0.0001	1.86	0.1997	0.24	0.0000
AVIL	0.12	0.0000	4.22	0.0156	0.52	0.0081	1.88	0.2270	0.23	0.0001
ACTC1	0.08	0.0000	1.42	0.0346	0.11	0.0000	6.07	0.0098	0.48	0.0087

[0697]

서 열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> C. Frank Bennett

Susan M. Freier

Robert A. MacLeod

Sanjay K. Pandey

Charles A. Thornton

Thurman Wheeler

Seng H. Cheng

Andrew Leger

Bruce M. Wentworth

<120> MODULATION OF DYSTROPHIA

MYOTONICA-PROTEIN KINASE (DMPK) EXPRESSION

<130> BIOL0134WO

<140> PCT/US2011/044555

<141> 2011-07-19

<150> 61/365,775

<151> 2010-07-19

<150> 61/365,762

<151> 2010-07-19

<150> 61/478,021

<151> 2011-04-21

<160> 837

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1

<211> 2877

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 1

aggggggctg gaccaagggg tggggagaag gggaggaggc ctggccggc cgcaagaga 60
 agtggccaga gaggcccagg ggacagccag ggacaggcag acatgcagcc agggctccag 120
 ggcctggaca gggctgcca ggcctgtga caggaggacc ccgagccccc ggccgggga 180
 gggccatgg tctgcctgt ccaacatgtc agccgaggtg cggctgaggc ggctccagca 240
 gctgggtttg gaccgggct tctggggct ggagccctg ctcgacccctc tcctggcgt 300
 ccaccaggag ctggcgcct ccgaactggc ccaggacaag tacgtggccg acttcttgca 360

gtggcggag cccatcgtgg tgaggctaa ggaggtccga ctgcagaggg acgacttcga 420
 gattctgaag gtgatcgac gcggggcggt cagcgggta gcggtagtga agatgaagca 480
 gacggccag gtgtatgcca tgaagatcat gaacaagtgg gacatgtga agagggcga 540
 ggtgtcgtgc ttccgtgagg agagggacgt gttggtaat gggaccggc ggtggatcac 600
 gcacgtgcac ttgccttcc aggtgagaa ctacctgtac ctggcatgg agtattacgt 660
 gggccgggac ctgctgacac tgctgagca gtttggggag cggattccgg ccgagatggc 720
 gcgcttctac ctggcggaga ttgtcatggc catagactcg gtgcaccggc ttggctacgt 780
 gcacaggac atcaaaccgc acaacatctc gctggaccgc tgtggccaca tccgcctggc 840

cgacttcggc tcttcgtca agctgcgggc agatggaacg gtgcggtcg tgggtggctgt 900
 gggcaccggc gactacctgt ccccgagat cctgcaggct gtggcggtg ggcctggac 960
 aggcaatggc gggccggagt gtgactggtg ggcgctgggt gtattgcct atgaaatgtt 1020
 ctatggcag acgccttct acgcggattc cacggcggag acctatggca agatcgtcca 1080

ctacaaggag cacctctctc tgccgctgggt ggacgaaggg gtcctgagg aggctcgaga 1140
 cttcattcag cggttgcgtgt gtcccccggaa gacacggctg ggccgggggtg gagcaggcga 1200
 ctccggaca catcccttct tctttggctt cgactggat ggtctccggg acagcgtgcc 1260
 ccccttataca ccggatttgc aaggtgccac cgacacatgc aacttcgact tggtgagga 1320

cgggctcaact gccatggaga cactgtcgga cattcggaa ggtgcggcgc taggggtcca 1380
 cctgcctttt gtggctact cctactcctg catggccctc agggacagtg aggtcccagg 1440
 ccccacaccc atggaactgg aggccgagca gctgcttggag ccacacgtgc aagcggccag 1500
 cctggagccc tcgggttccc cacaggatga aacagctgaa gtggcagttc cagcggctgt 1560
 ccctgcggca gaggctgagg ccgaggtgac gctgcggag ctccaggaag ccctggagga 1620
 ggaggtgctc accccggcaga gcctgagccg ggagatggag gccatccgca cggacaacca 1680
 gaacttcgccc agtcaactac gcgaggcaga ggctcggaac cgggacactag aggacacagt 1740
 cggcagttt caggagcgga tggagttgtc gcaggcagag ggagccacag ctgtcacggg 1800

ggtccccagt ccccgccca cggatccacc ttcccatcta gatggccccc cggccgtggc 1860
 tgtggccag tgccgcgtgg tggggccagg ccccatgcac cgccgcacc tgctgctccc 1920
 tgccagggtc cctaggcctg gcctatcgga ggcgtttcc ctgctcctgt tcggcgttgt 1980
 tctgtctcggt gcccggccc tgggtctgcat tgggttgggt gcccacgccc gccaactcac 2040
 cgcagtcgtgg cccggcccgag gaggcccccgg cgctccctga accctagaac tgtttcgac 2100
 tccggggccc ctttggaaaga ctgagtggcc gggcacggc acagaagccg cggccaccgc 2160
 ctgcccagtcc acaaccgctc cgagcgtggg tctccggcca gtcggcgttcc tgtgtatccgg 2220
 gccccccccc tagcggccgg ggagggaggg gcccgggtccg cggccggcga acggggctcg 2280

aagggtcctt gtggccggaa atgctgctgc tgctgctgtc gctgctgctg ctgctgctgc 2340
 tgctgctgtc gctgctgctg ctggggggat cacagaccat ttctttctt cggccaggct 2400
 gagggccctga ctggatggg caaaactgcag gcctggaaag gcagcaagcc gggccgtccg 2460
 tggccatcc tccacgcacc cccacctatc gttgggtcgc aaagtgcaaa gctttcttgt 2520
 gcatgacgcc ctgctctggg gagcgtctgg cgcgatctc gcctgcattac tcggaaatt 2580
 tgctttgcc aaacccgctt ttccggggat cccgcggccc ctcctcact tgctgctgc 2640
 tcggagcccc agccggctcc gcccgttgc gcggttggaa tatttattga ctcgtctc 2700
 cgactcgctg acaggctaca ggaccccaa caacccaaat ccacgtttt gatgcactga 2760

gaccccgaca ttccctcgta ttattgtct gtcccccacctt aggaccccaa ccccccggacc 2820
 tcgcaataa aaggccctcc atctgccaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2877
 <210> 2

<211> 14411

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 2

ctccccagccc agcgctccc acccctttc atagcaggaa aagccggagc ccagggaggg 60
 aacggacactg cgagtcacac aactggtgac ccacaccagg ggctggagca ggacccttt 120
 ggggagaaga gcatcctgcc cgccagccagg gcccctcatc aaagtccctg gtgtttttta 180
 aattatcaga actgcccagg accacgtttc ccagggccctg cccagctggg actccctcggt 240
 ccttgcctcc tagttctca ggcctggccc tctcaaggcc caggcacccc aggccggttt 300

gaggccccga ctccactct ggagaaccgt ccaccctgga aagaagagct cagattcctc 360
 ttggctctcg gagccgcagg gagtgtgtct tcccggccca ccctccaccc cccgaaatgt 420
 ttctgtttct aatcccgacc tggcaggaa tgtggctccc cggccagggg ccaaggagct 480
 attttgggtt ctgcgttgc cagggaggcc ttggctccac cactttctc ccccagcctt 540
 tggcagcag gtcacccctg ttcaggctct gagggtgccccc cctcctggc ctgtcctcac 600
 caccccttcc ccacccctg gaaaaaaaaaaaaaaa aaaaaaaaaaaa aaaaaaaagct ggtataaagc 660
 agagagcctg agggctaaat ttaactgtcc gagtcggaat ccatctctga gtcacccaaag 720
 aagctgcctt ggcctccctg ccccttccca ggcctcaacc cctttctccc acccagcccc 780

aacccccagc ctcacccccc tagcccccaag ttctggagct tgcgggagc aaggggggtgg 840
 ttgctactgg gtcactcagc ctcaattggc cctgtttcag caatggcag gttcttctt 900
 aaattcatca cacctgtggc ttccctgtg ctctacctt ttattgggtt gacagtgtga 960
 cagctgagat tctccatgca ttccccctac tctagcactg aagggttctg aaggccctg 1020
 gaaggaggga gcttgggggg ctggcttggc aggggttaag gctgggaggc gggagggggg 1080
 ctggaccaag ggggtggggag aaggggagga ggcctggcc ggccgcagag agaagtggcc 1140
 agagaggccc agggacagc cagggacagg cagacatgca gccaggctc cagggcctgg 1200
 acagggctg ccaggccctg tgacaggagg accccgagcc cccggccctg ggagggccca 1260

tgggtgtgcc tgtccaacat gtcagccgag gtgcggctga ggccggctcca gcagctgg 1320
 ttggacccgg gcttcctggg gctggagccc ctgctcgacc ttctcctggg cgtccaccag 1380
 gagctggcg cctccgaact gcccaggac aagtacgtgg ccgacttctt gcagtggtt 1440
 gagtgccctac cctcgggct cctgcagatg ggggtgggtt gggcaggag acaggtctgg 1500
 gcacagaggc ctggctgtt gggggcagg atggcaggat gggcatggg agatcctccc 1560
 atcctggggc tcagagtgtg gacctggcc ctggggcaac atttctctgt cctatgccac 1620
 cactctggag gggcagagta aggtcagcag aggcttagggt ggctgtgact cagagccatg 1680

gcttaggagt cacagcaggc taggctgcca acagectccc atggcctctc tgcaccccg 1740

ctcagggtca gggtcagggt catgctggga gtccttcctc ctaggaccct ccccccaaaa 1800
 gtgggcctca tggccctctc ccctgggttc ctgtggccctg gggcaagcca ggaggccag 1860
 catggggcag ctgccagggg cgccagccgac aggcagggtt tcggcccgag cctctccagc 1920
 tgcccaaca ggtgcccagg cactgggagg gcggtgactc acgcggccccc tgtggagaa 1980
 ccagcttgc agacaggcgc caccagtgcc ccctccctcg cgatccagga gggacaactt 2040
 tgggttcttc tgggtgtgtc tccttcttt gtaggttctg cacccacccc caccccccagc 2100
 cccaaagtct cggttcctat gagccgtgtg ggtcagccac cattcccgcc accccggtc 2160
 cctgcgtcct ttagttctcc tggcccaaggc cctccaacct tccagctgtc ccacaaaacc 2220

ccttcttgc aaggcttcc agggcctggg gccagggtg gaaggaggat gcttcgcctt 2280
 ctgccagctg cttgtctgc ccacccctc cccaaagccca ggactcgggc tcactggta 2340
 ctggtttctt tcattccag caccctgccc ctctggccct catatgtctg gcccctcagtg 2400
 actgggtttt ggttttggc ctgtgtgtaa caaactgtgt gtgacacttg tttccgttt 2460
 ctccgccttc cccgtcttcc tcttgtgtcc atcttttctt gaccaggcc tggttccctt 2520
 ccctccctt cccatccac agatggaaag gtggaggccca agaaggccca ggccattcag 2580
 cctctggaaa aacccctccca caacctccca cagccctaa tgactctctt ggcctccctt 2640
 tagtagagga tgaagttggg ttggcagggt aaactgagac cgggtgggtt aggggtctgg 2700

cgctcccccagg aggagcactc cttttgtggc ccgagctgca tctcgccggcc cctccctgc 2760
 caggccctggg gggggggagg gggccagggt tcctgtgcc taaaaggc tcaatgtctt 2820
 ggctctctcc tccctcccccc gtcctcagcc ctggctgggt cgtccctgtc ggccactct 2880
 cccggaaaccc cccggaaaccc ctcttttcc tccagaaccc actgtctctt ctcctccct 2940
 cccctcccat acccatccct ctctccatcc tgcctccact tctccaccc cgggagatcc 3000
 aggccctccctt gtcccccacag tccctgagcc acaagccccc accccagctg gtcccccacc 3060
 caggctgccc agtttaacat tccttagtcat aggaccttga ctgtgagag gcctgattgt 3120
 catctgtaaa taaggggttag gactaaagca ctccctctgg aggactgaga gatgggctgg 3180

accggagcac ttgagttctgg gatatgtgac catgtacact ttgtctccct gtccctgttcc 3240
 ttcccccagc cccaaatcca ggttttcca aagtgtgggtt caagaaccac ctgcatactga 3300
 atctagaggt actggatatac accccacgtc tggggccgtt cccaggacat tctacatgag 3360
 aacgtggggg tggggccctg gtcgcacccg aactgtcacc tggagtcagg gtggaaagggt 3420
 gaagaactgg gtcttatttc ctctccctt tgggttttag ggtctgttcc tctgcagact 3480
 ccgttacccc accctaaccac tcctgcacac cttggagcc ctctggccca atgcctgtc 3540

ccgcaaaggc ctttcaggc attcaccc tatgggaggg cattttggc ccccagaacc 3600
 ttacacggtg ttatgtggg gaagccctg ggaagcagac agtcctaggg tgaagctgag 3660

aggcagagag aaggggagac agacagaggg tggggtttc cccctgtct ccagtgcct 3720
 ttctgggtac cctcggtct tttcccccac cacccccca gggagccca tcgtggtag 3780
 gcttaaggag gtccgactgc agagggacga cttcgagatt ctgaaggtga tcggacgccc 3840
 ggcgttacgc gaggttaagcc gaaccggcg ggagcctgac ttgactcgtg gtggcgccc 3900
 catagggttt gggcgccccctt cttagaaattt gatgaatgac cgacgcctttag aacctaggcc 3960
 tgggctggag gggggcttg ggaccaatgg gcgtggtagt gcaggtgggg cggggccacg 4020
 gctgggtgca gaagcgggtg gagttgggtc tggcgagcc cttttttttt cccggctct 4080
 ccactctgtc tcaactatctc gacctcaggt agcggtagtg aagatgaagc agacggccca 4140

ggtgatgcc atgaagatca tgaacaagtg ggacatgctg aagagggcg aggtgaggg 4200
 ctggcgac gtgggggct ttgaggatcc ggcggccgtc tccggctgca gctcccccgg 4260
 gtgcctgca ggtgcgtgc ttccgtgagg agagggacgt ttggtagt gggaccggc 4320
 ggtggatcac gcagtcac ttgcctcc aggtgagaa ctacctggt agctccggc 4380
 cggggtgact aggaagaggg acaagagccc gtgctgtcac tggacgagga ggtgggaga 4440
 ggaagctcta ggattgggg tgctgcccgg aaacgtctgt gggaaagtct gtgtcggt 4500
 agagggtgtc tcaggtggat gaggggcctt ccctatctga gacggggatg gtgccttca 4560
 ctgcccgtt ctgggggtat ctggggact cttataaaga tgtctctgtt gcggggggtc 4620

tcttacctgg aatggatag gtcttcagga attctaacgg ggccactgcc taggaaagga 4680
 gtgtctggaa cctattctct gggtgttggg tggcctctgg gttcttttc ccagaacatc 4740
 tcagggggag tgaatctgcc cagtgacatc ccagggaaatg tttttttttt gtgtttttt 4800
 ttgaggggaggg gggcgccccggg ccgcagggtgg tctctgattt ggccggcag atctctatgg 4860
 ttatctctgg gctggggctg caggctctgg cccaaaggatg ggggtctct gggaggggtt 4920
 gtcccgcca tccgtatgg atcaggccct caggggacta ccaaccaccc atgacgaacc 4980
 cttctcagt acctggcat gggatattac gtggcgccccggg acctgctgac actgctgagc 5040
 aagttgggg agcggattcc ggccgagatg ggcgccttct acctggcgga gattgtcatg 5100

gccatagact cgggtgcaccc gcttggctac gtgcacaggt ggggtgcagca tggccgaggg 5160
 gatagcaagc ttgttccctg gcccggcttct tggaaggtca gagcccagag aggccaggc 5220
 ctggagggg accttcttgg ttggggccca cgggggggtg cctggagta ggggtcagaa 5280
 ctgtagaagc cttacagggg cggaaacccga ggaagtgggg tccctgg cactggccgg 5340
 agggcgccgag cctgggtggaa ccacagaagg gaggttcatt tatcccaccc ttctcttttc 5400

ctccgtgcag ggacatcaa cccgacaaca tcctgtgga ccgctgtgc cacatccgc 5460
 tggccgactt cggctttgc ctcaagctgc gggcagatgg aacggtgagc cagtgcctg 5520
 gccacagagc aactggggct gctgatgagg gatggaaggc acagagtgtg ggagcggac 5580

tggatttggaa gggaaaaga ggtggtgtga cccaggctt agtgtgcatt tgggtggcg 5640
 agttagagac caggcagagg gagggctaa gcatttgggg agtgggtgga aggagggccc 5700
 agagctggtg gccccagagg ggtgggccc agcctcgctc tgctccctt ggtccaggtg 5760
 cggtcgctgg tggctgtggg cacccagac tacctgtccc ccgagatctt gcaggctgtg 5820
 ggcgggtggc ctggacagg cagctacggg cccgagtgtg actgggtggc gctgggtgt 5880
 ttcgcctatg aaatgttcta tggcagacg cccttctacg cggattccac ggcggagacc 5940
 tatgcaaga tcgtccacta caaggtgagc acggccgcag ggagacctgg cctctccgg 6000
 taggcgttcc caggctatcg ctcctctcc ctctgagcag gagcacctt ctctgccc 6060

ggtggacaa ggggtccctg aggaggctcg agacttcatt cagcggttc tgggtcccc 6120
 ggagacacgg ctggccggg gtggagcagg cgacttcgg acacatccct tcttcttgg 6180
 cctcgactgg gatggctcc gggacagcgt gccccctt acaccggatt tcgaagggtc 6240
 caccgacaca tgcaacttcg acttggtgga ggacgggctc actgcatgg tgagcggggg 6300
 cgggtaggt acctgtggcc cctgctggc tgccggaaacc tccccatgtt ccctccataa 6360
 agttggagta aggacagtgc ctaccttctg gggctctgaa tcactcatc cccagagcac 6420
 ctgctctgtg cccatctact actgaggacc cagcagtgc actgacttac agtccagtgg 6480
 gggAACACAG agcagtcttc agacagtaag gccccagagt gatcagggtc gagacaatgg 6540

agtgcagggg gtggggact cctgacttag caaggaaggt cctggaggc tttctggagt 6600
 ggggagctt ctgagcttag acttggaggg atgagaagca ggagaggact cctctccct 6660
 tagggcgctt ctcttcacccg tgtaacaagc tgtcatggc tgcttgcgtg gctctgggtg 6720
 ccctttgtt gaaacaactt gggatccag cacggaccag atgagcttgc gtccctggccc 6780
 tcatccagtt gcagtctaga gaatttagaga attatggaga gtgtggcagg tgccctgaag 6840
 ggaagcaaca ggatacaaga aaaaatgtg gggccaggca cggtggtca cgcctgtaac 6900
 cccagcaatt tggcaggccg aagtgggtgg attgcttgcg cccaggagtt cgagaccagc 6960
 ctggcaatg tggtgagacc cccgtctcta caaaaatgtt taaaaattt gttggcgtg 7020

gtggcgcattt cctgtataact cagctacttag ggtggccgac gtggcttgc gcccaggagg 7080
 tcaaggctgc agtgagctgt gattgtgcca ctgcactcca gcctggcaa cggagagaga 7140
 ctctgtctca aaaataagat aaactgaaat taaaaatag gctgggtgg ccggcgtgg 7200
 tggctcacgc ctgtaatctc agcactttgg gaggccgagg cgggtggatc acgaggtcag 7260

gagatcgaga ccatcttggc taacacgggaa aaccccatc tctcctaaaa atacaaaaaa 7320
 ttagccaggc gtggtggcgg ggcctgtac tcccagctac tcaggaggct gaggcaggag 7380
 aatggcgtga acccgggagg cagagttgc agtgagccga gatcgtgccatc 7440
 gcctggcga cagagcgaga ctctgtctca gaaaaaaaaaaaaaaa aaaaaatagg 7500

ctggaccgcg gcccggcgt gtggctcatg cctgtaatcc cagcacttgc ggagtccaa 7560
 gcccgggtt catgagatca ggagtttga gactaggctg gccaacacgg taaaaccccg 7620
 tctctactaa aaatacaaga aaattagctg ggtgtggctc cgggtgcctg taattccagt 7680
 tactgggaa gctgaggcag gagaattgct tgaacctggg aggcagagtt tgcaatgagc 7740
 caagatcatg ccaactacact ccagtcgtgg tgacagagtg agactctgtc tcaaaaaaaaa 7800
 aaaaaaaaaa aagggttggg caaggtggtt cacgcctgta atccagaac tttgggaggc 7860
 tgagcaggc agatcactgg aagtcaaggat ttcaagacca gcctggccaa catggtaaaa 7920
 ccctgtgtct actaaaaata caaaatttttgc ccaggcttgg tggcgtatgc ctgtatgcc 7980

agctactcag gaggctgagg caggagaatc gcttggattga acctgggagg cagagttgc 8040
 agtgggttgg gtttgcctt ctgcactcta ggctgggaga cagcaagact ccatctaaaa 8100
 aaaaaaaaaaca gaactggct gggcacagtgc gcttatattt gtaatcccag cactttggga 8160
 ggctgaggtt ggaggactgc ttgagccag agtttggac tacaacagct gaggttaggc 8220
 gatcacttga ggtcagaaga tggagaccag cctggccagc gtggcgaaac cccgtctcta 8280
 ccaaaaaat aaaaaatttgc ccaggcgtgg tagagggcgc ctgtatctc agctactcag 8340
 gacgcgttgg caggagaatc gcctgaacct gggaggcggaa gtttgcgttgc agctgagatt 8400
 gcaccactgc actccagctt ggttaacaga gcgagactcc gtatcaaaga aaaagaaaaa 8460

aaaaaaaaaatg ctggaggggc cacttttagat aagccctgag ttggggctgg tttggggggaa 8520
 acatgttaagc caagatcaaa aagcagttag gggccggccc tgacgactgc tgctcacatc 8580
 tgtgtgtctt ggcaggaga cactgtcgaa cattcgaa ggtgcggcgc taggggtcca 8640
 cctgcctttt gtggctact cctactcctg catggccctc aggttaagcac tgccctggac 8700
 ggcctccagg gcccacggc ctgcttggc ttccctggc ctgctccttgc gcagccatg 8760
 gagttgcagg atcagtcttgc aaaccttact gtttggcc caaagactcc taagaggcca 8820
 gagttggagg accttaattt ttcagatcta tgtacttcaa aatgttagat tgaattttaa 8880
 aacccatcagatc acagactg ggcttccatc aatcttgc aaatccatc ttacgtctgt 8940

agtacacaga gcccacaggac ttcagaactt ggaaaaatatg aagtttagac ttttacaatc 9000
 agttgtaaaaa gaatgcaat tcttgcatac agccatataa caataaggcc atttaaaatgt 9060
 attaattttat gggggccgcgt gtggctcact cctgtatcc tagcacttgc ggaggccaa 9120

gcaggtggat catgaggtca ggagatcgag accatcctgg ctaacacggt gaaacccgt 9180
 ctctactaaa aatacaaaaa aattagccgg gcatggtggc gggcgcttgc ggtcccagct 9240
 acttgggagg cgaggcagga gaatggcatg aacccggag gcggagctg cagtgagccg 9300
 agatcatgcc acigcactcc agcctggcg acagagcaag actccgtctc aaaaaaaaaa 9360
 aaaaaaaaaagt atttatttag gccgggtgtg gtggctcacg cctgttaattc cagtgcgtt 9420

ggaggatgag gtgggtggat cacctgaggt caggagttcg agaccagcct gaccaacgtg 9480
 gagaaacctc atctctacta aaaaacaaaaa ttagccagc gtggtggcat atacctgtaa 9540
 tcccgctac tcaggaggct gaggcaggag aatcagaacc caggaggggg aggttgtggt 9600
 gagctgagat cgtccattt cattccagcc tggcaacaa gagtgaaact tcatctcaa 9660
 aaaaaaaaaaaa aaaaagtact aatttacagg ctggcatgg tggctcacgc ttggaatccc 9720
 agcaactttgg gaggctgaag tggacggatt gcttcagccc aggagtcaa gaccagcctg 9780
 agcaacataa tgagaccctg tctctacaaa aaattgaaaa aatcgtgcca ggcattgg 9840
 tctgtgcctg cagtcttagc tactcaggag tctgaagtag gagaatcact tgaggctgga 9900

gtttgaggct tcagtgagcc atgatagatt ccagcctagg caacaaagtg agacctggc 9960
 tcaacaaaag tattaattac acaaataatg cattgtttat cacaagtaaa ttagaaaata 10020
 cagataagga aaaggaagtt gatatctgt gagctcacca gatggcagtg gtcctggct 10080
 cacacgtgta ctgacacatg tttaaatagt ggagaacagg tttttttt gtttgggg 10140
 ttcccttcc tcatgctact ttgtctaaga gaacagttgg tttctagtc agctttatt 10200
 actggacaac attacacata ctataccta tcattaatga actccagctt gattctgaa 10260
 cgctgcgggg cctgaacggt gggcaggat tgaaccatc ctctattaga acccaggcgc 10320

atgtccagga tagcttagtc ctgagccgtg ttcccacagg agggactgct ggggtggagg 10380
 ggacagccac ttcatacccc agggaggagc tgtcccttc ccacagctga gtgggggtgt 10440
 ctgacctcaa gtggccatct tgggtccca tgcccagct taggaccaca tctgtggagg 10500
 tggccagagc caagcgtct ccccatcagg tggccctcc tgcctgagg ccctgagaag 10560
 aggggtctgc agcggtcaca tgtcaaggga ggagatgagc tgaccctaga acatgggggt 10620
 ctggacccca agtccctgca gaagggttag aaagagcagc tcccaggggc ccaaggccag 10680
 gagaggggca gggctttcc taagcagagg agggctatt ggcctacctg ggactctgtt 10740

ctcttcgctc tgctgctccc cttcctcaaa tcaggaggct ttggaaagcag ctgcccctac 10800
 ccacaggcca gaagttctgg ttctccacca gagaatcagc attctgtctc cctccccact 10860
 ccctcctcct ctccccaggg acagtgaggt cccaggcccc acaccatgg aactggggc 10920
 cgagcagctg cttgagccac acgtgcaagc gcccagcctg gagccctcggt tgccccaca 10980

ggatgaaaca gtaagtgg ggagggagg gggccgtca gggacaattg ggagagaaaa 11040
ggtagggct tcccggtgg cgtgcactgt agagccctct agggacttcc tgaacagaag 11100
cagacagaaaa ccacggagag acgaggttac ttccagacatg ggacggctc tggtagttaca 11160

gtggggcatt aagtaagggt gtgtgtgttgcctgggatct gagaagtcgttttgcagct 11220
gagcgctggtaaggagaaaa caagccatgg aaggaaaggt gccaagtggtcaggcgagag 11280
cctccagggc aaaggccttggcaggtggg aatcctgatt tggcctgaa aggttagtttgc 11340
gctgaatcat tcctgagaag gctggagagg ccagcaggaa acaaaaccca gcaaggcctt 11400
ttgtcgtgaggcatttaggg agctggaggg atttgagca gcagagggac ataggttgc 11460
tttagtgtttagcaccagcc ctctggtccc tgtgttagatt tagaggacca gactcaggga 11520
tggggctgaggaggttggaaaggagggggctggatca ttgcaggac tatggggatt 11580

ccagaaatgt tgaggggacg gaggagttagg ggataaacaa ggattcctag cctggaacca 11640
gtgccccaaagt cctgagtcctt ccaggagcca caggcagcct taagcctggt ccccatacac 11700
aggctgaagt ggcagttcca gcggctgtcc ctgcggcaga ggctgaggcc gaggtgacgc 11760
tgcgggagct ccaggaagcc ctggaggagg aggtgctcac ccggcagagc ctgagccggg 11820
agatggaggc catccgcacg gacaaccaga acttcgcag gtcggatcg gggccggggc 11880
cggggccggg atgcgggccc gtggcaaccc ttggcatccc ctctcggtcc gcccggacgg 11940
actcacccgtc cttacccccc cacagtcaac tacgcggaccc agaggctcg aaccggggacc 12000

tagaggcaca cgtccggcag ttgcaggagc ggaatggagtt gctgcaggca gagggagcca 12060
caggtgagtc cctcatgtgt cccctcccc ggaggaccgg gaggaggtgg gccgtctgct 12120
ccgcggggcg tgtatagaca cctggaggag ggaagggacc cacgctgggg cacgcccgc 12180
caccgcctc cttcgccct ccacgcgccc tatgcctt tcttcctt ccagctgtca 12240
cgggggtccc cagtccccgg gccacggatc cacttccca tgtaagaccc ctctcttcc 12300
cctgcctcag acctgctgcc cattctgcag atccccccc tggctctgg tctccccgtc 12360
cagatataagg gctcaccccta cgtctttgcg acttttagagg gcagaagccc ttattcagc 12420

cccatatgtt cttttttttt tttttttttt tttttttttt 12480
ccccaaatcc gttttttttt tttttttttt tttttttttt 12540
gatcggttca cttttttttt tttttttttt tttttttttt 12600
cagtggccgc tggggggggc aggggggggg cccggggggc 12660
gtatgtttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 12720
ccatgggggg tttttttttt tttttttttt tttttttttt 12780

cagccaatca acacaggccg ctaggaagca gccaatgacg agttcggacg ggattcagg 12840

cgtgcgagtg gactaacaac agctgttaggc tggggggcg ggggcgggc gcaggaaaga 12900
 gtgcggggcc acctatggc gtaggcggg cgagtcccag gagccaatca gaggccatg 12960
 cgggtgttg acctcgccct ctccccgcag gtcccttaggc ctggccatc ggaggcgctt 13020
 tccctgtcc tggccgt tggctgtct cgtgcgcggc ccctggctg cattgggtt 13080
 gtggcccaacg cggccaaact caccgcagtc tggcgcggc caggagccgc ccgcgtccc 13140
 tgaaccctag aactgtcttc gactccggg ccccggttga agactgagtg cccggggcac 13200
 ggcacagaag ccgcgcccac cgcctgcag ttcacaaccg ctccgagcgt gggctccgc 13260

ccagctccag tcctgtgatc cggggccgc ccctagcggc cggggaggga gggccgggt 13320
 cgcggccgg cgaacggggc tcgaagggtc ctttagccg ggaatgtgc tgctgctgt 13380
 gctgctgctg ctgctgctgc tgctgctgt gctgctgctg ctgctgggg gatcacagac 13440
 catttcttc ttccggccag gctgaggccc tgacgtggat gggcaactg caggcctgg 13500
 aaggcagcaa gcccggccgt ccgtgttcca tcctccacgc accccaccc atcgttggtt 13560
 cgcaaagtgc aaagctttct tgtgcatgac gcccgtctt gggagcgtc tggcgatc 13620
 tctgcgtct tactcggaa atttgcgtt gccaaacccg cttttcggg gatcccgcgc 13680

ccccctcctc acttgcgtg ctctcgagc cccagccggc tccgcccgt tcggcggtt 13740
 ggatattat tgacctcgtc ctccgactcg ctgacaggtt acaggacccc caacaacccc 13800
 aatccacgtt ttggatgcac tgagaccccg acattctcg gtatttatttgc tctgtcccc 13860
 cctaggaccc ccaccccgaa ccctcgcaaa taaaaggccc tccatctgcc caaagctcg 13920
 gactccacag tgtccgggt ttgcgttgcg gggccggagcc tccgcagcgg gccaatccgg 13980
 aggctgtgg aggccggccgaa aggtctggaa ggagctagcg ggatgcaag cggccgaatc 14040
 agggttgggg gaggaaaagc cacggggcg ggcttggcg tccggccaaat aggagggcga 14100

gcgggccacc cggaggcacc gccccggcc agctgtggcc cagctgtgcc accgagcgtc 14160
 gagaagaggg ggctgggtg gcagcgccgc cggccatctt cttccactg cgcctgcgca 14220
 cgcacgcgc atccgctctt gggacgcag ctcgagaaaa gttgctgcaaa actttctagc 14280
 ccttcccg cccctctcc cggccagacc cggcccccgt gggagccgg gaattccgag 14340
 gggccggagcg caggccgaga tggggaaatgt gggggctgc agaggaccct ggagacggag 14400
 gcgtgcagaa g 14411

<210> 3

<211> 15000

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 3

cagtgcccc actgccaag gctggctca tcacgtaccg cttggctca gctggccagg 60

acacacagtt ctgcctgtgg gacctcacag aagatgtgct ctcctcat ccgtctctgg 120
 cccgtacccg cacccttcgg ggcacacccg gtgcacccccc accagcttct ggtagttctc 180
 gggccggaga gacaggtgca ggccccctgc cccgctccct gtctcggtcc aacagtcctcc 240
 cacacccagc tgggtggc aaggctggc ggcctagtc atcgatggag cctggcatac 300
 cattcagcat tggccgctt gccacactga ccctgcagga gcccgggac cggggagctg 360
 agaaggaaca caaacgctac catagcctgg gaaacatcag ccgcggtggc agtggggca 420
 atagcagcaa tgacaagctc agtggtcctg ccccccgaag ccgattggac ccagctaagg 480
 tgctggcac ggcactgtgc cctcgatcc atgaggtgcc actgctggag cctctgtgt 540

gcaagaagat tgctcaggaa cgccctgaccg tgctactgtt cctggaggat tgtatcatca 600
 ctgcctgcca agagggcctc atctgcacctt gggccggcc aggcaaggcg gtgagtcgc 660
 acctgccaag gcgtcgagg gcaccagttc tgccttacc ggatgcctgt tatccgtcag 720
 cagaaaggctc aggtatagga gacagaatgg ggggaaccac agctaacgtc ttttagacct 780
 ctgctggccc atatggctca tccttagtac ttcacactca aggcaaaacc tggatgtga ttgagctgg 840
 gaaaaatctga agttagatg gtgaaacttt attcaggctc agggatgtga ttgagctgg 900
 ggcccaacttc tggctgcctt ctttagacact gttctgagc cagctgtga aggctggat 960
 ggaaatttgc caggtccag gcctgcactt cctcttgctg ctgtgtggc ctggcattt 1020

ggtctcacag atggctgtg cagtggtgt gcttttagtt ggtgaggtgc aggccgtca 1080
 cctggtcagg cttagcatg tggctcagt gtcttaggacc ctactctgcc ctcagtcctt 1140
 cagtccttg ctggaaagg ctagagtcca gaagccttag aacgtcaggc agttgcagag 1200
 ccactgcccag gctagtaggg ctgcggagt tgactgagtt ctacagaca cccctctgtc 1260
 tcccttagttc acagacgagg agaccgaggc ccaggcaggc caagcaagtt ggcccaaggc 1320
 acccagcaag tcagttgttag aggttaggaca acccctgaag ctgcaagtgg accccagttt 1380
 cttttctctc cactgtcgtc ccctgtatgc ccaggacacc tggggccaca ttactgtgga 1440
 agtgcatactc tgggtcagtg gagacggccg agctgtttgt tcctagctag gacagcagct 1500

ttaggcctgg gggcagatc ccagctgggg cagcagctcc aaggcccttg ggtggctct 1560
 tctccgggtt ctggcagaag cccaggtgt gtctaatcca ctttctcctt cttgttctcc 1620
 ccagggcatac tcctccaaac caggcagctc ccccaagtggc actgtgggt gaaatgtgga 1680
 tgtcccatgt tccggcctc ctagccataa ccctccccgc tgacctcaag aatcactgta 1740

ttaacaagac taatcatgat ggaaggactg ctccaagccc cacgctgcac acatactggg 1800
 ggtcccctag gttggccag ccatgggat gtagtgtcct gtgtggcctt gcccctgtcc 1860
 tccacccact gccaagtaca atgacctgtt ctctgaaaca tcagtgttaa ccatatccct 1920
 gtcccagcat gtgactgttc actcctggga gagacttagc ccacagtacc cctgggtgag 1980

agggcagggc aggggccatc cccactcctg cccaaactcc accccttgct atggctgtg 2040
 attttgaaag ttttaaattt tggaaagccct gagggccctc ctgttcccc tggacctt 2100
 atttatacta aagtccctgt ttgcacagtg tttctgtcc ctggggcagg gtaggggtgg 2160
 gttgcagta ctggcctcc aagctgtgct ctgaccaaag gaagccaaat cttagcttt 2220
 tccccatccc tagccccgag cagagagcc tctgaaagat gagtctcgac ccccaaagtc 2280
 aaggaggctga gatggccttc ctactaggc cttggagatg tttgaaactt gttttaaaca 2340
 ccagggactat ccaagcatgc ttccttggg gagaggagga tgctgaaatt gactgcactc 2400
 cctgcctcct ctgaacatgc cttgcagtc tgctgcccct ggcccatat tgactggcca 2460

tcttagtgcca gctggaggc atgatttcct cccagagaa ctggccaccc tagaaagaag 2520
 ctaactgtc gcctggctt ctgtccaggc agctccgccc tcaaccctta aaatgttct 2580
 gtctctaatac ctagcccagg caggaatgtg gctgccccgg cctgtggcca aggagctatt 2640
 ttggggttct ctttgctta aggaggcctt ggatccacca ctggctccc ccaggctggg 2700
 gccagcaggt caccctggc cctggcggct gagcaaactc tctcctgate ttccttctac 2760
 ctccgtccaa aaaatgggg ggcggtaat acagcaggca cagggctaa atttaactgt 2820
 cccaaagtgc gaatccattt ctgagtcacg aagaagctgc ccctggcctt tgcccccccc 2880
 actacccctt caccctgt tgcccaggca tcagccctt ccccaaccc ctccagctc 2940

tgagttata gactggctt cctggcact gacacccccc acctgttaact ccctgtgctc 3000
 tctttatggg tggtagagt caatggggg gggcaaccct ggagtattac tctgtccct 3060
 gacatgggc tctgaagagt tttgagggc cctggaagaa gggagttggg gtgttgctc 3120
 aggaggggtt aaaaactggg aggccggagg gggctggc caaggggtgg agaaaagagg 3180
 aggaggcctt aagcatagaa ctggccagag agacccaagg gatagtcagg gacggcaga 3240
 catgcagcta gggttctggg gcctggacag gggcagccag gccctgtgac ggaaagaccc 3300
 cgagctccgg cccggggagg ggcctggc ttgcctgccc aacatgtcag ccgaagtgc 3360
 gctgaggcag ctccagcagc tggtgctgga cccaggctc ctggactgg agccctgct 3420

cgaccccttc ctggcggtcc accaggagct gggtgccctt cacctagcccc aggacaagta 3480
 tgtggccgac ttcttgca ggggtgagta tggataggaa gcctgggggtt gggtgcaagg 3540
 cagaggtggg tctacaggc aagaatggc tatggagggg caggaggc tggaaaggc 3600

ttttttaag ggagccaagc agagctcatg acctgacccc aagctccctt ggtgaggcac 3660
 cagggtcagt gaggccacct atgactcagc cagtgcagc tgggtggc atagccctct 3720
 gctatctcag caccacact aggacctggc agcttctct ttaggaccc ttggctctc 3780
 aaactggctt catagccctc cccagtttc cagagtgtgg ggagggacag cgtggggcag 3840
 ctgccagggt gtggccata ggcaggtgtt tggcgtctgc ctccccagct gccctgacag 3900

gtgtccagga gctatgaggg cactgtgact cacagaggcc ctgggggaga accagcccg 3960
 cagacaggcg ccaccgagca ccctttctgt tccccaatt aagaggaagg aacaacttca 4020
 gcttctgagt gtgccatcc ctagcactt gatcccggc agccttgtg ggccagattg 4080
 gtcatccctc ctggcttctc atctgcttt gtggtcttag ctaagaccc ctaattccctc 4140
 tgctgactta aatgccctc cccagaggc ttctcaggcc tagtggacaa gcttggagcc 4200
 ttatctgctc ctgccaaca ttgagccaa gctccagtt accccagctt cttacaagt 4260
 aacgacctgt ttgttgctc tgccttatt attaagggtc caggtcttga ttcttggctg 4320
 tctgcccattt tggtgaccc tagtgcattt tccctccctc ccccgttca cagatggaaa 4380

ggttgaggcc atcggtttaga ctgctaagcc tgtgaaagac tttttctctt ctccagttt 4440
 tagtgtctcc ctcaaccttt ctggtaagg atggggtttggc ggtggcagg gtaaactgag 4500
 aactgggtg gggcagggg gttgtacccctt ctgggaagga gcagtcctt tggcctga 4560
 gcagcatctt gtggccctt cccctgcccag gcctggccgg gggagggggc ctgggttccc 4620
 gctgccttaa aagggtctaa cgccttggtt ctctctctt ccccaccccc cagccttggc 4680
 cctagctgtt tttccccgg ctgcccactt tcccaaaccc ctttcttctc tgtgacccca 4740
 tctccccgtt tccccacacg tccctcttcc atcctactt cccggccttta gaacttccct 4800
 aaggagatc tgacccctt ctgcccaccc cgcaccccca gtcgcccagcc tcagacccat 4860

ctgctctccc ctctggctga accaccctag cacaggaccc tataccctgg agcttgggtt 4920
 ataagaagac ttccttccac cttttggaaa ccaagaaagc ctttccaaaca gtgtccagga 4980
 tgctggaggg cagtgtacccctt cccctgttcc ttcttctgc tggctgtgtt gacacagtc 5040
 cagttcgagg ttgtggcccg agacattaag tgagagcccc gggtgacccctg acttagcacc 5100
 ctgatcatca catggagtg aaaggcctga tgcgccagct tctccactt cctcccttc 5160
 tgccctgcaa ccctgtggaa acaggcagtt ctgggtccca caaacatcac agaggtttgg 5220
 aaagcagaat cctaaagccg attaagggg cagaaggaag gaggctataa agtcaactacc 5280
 cttaccgcta gtgttctgtt gacccttgggtt tcttcttcc ccaccccccgc ccagtggagc 5340

ccattgcagc aaggcttaag gaggtccgac tgcagaggga tgattttgat attttgaagg 5400
 tgatcggcgc tggggcggtt acgcaggtga gtcttcagtg gcctggaaat ggaactttac 5460

ttgatgtggg tggggcataa cagctgggc agagcctaa aaattgatga atgagctga 5520
 attaaggct ggaggggtgg gggcggagct tgggtcagt gggcggtgt cacgtgaggg 5580
 cgggctaa gttgggtgga gataagggtg gagtcctgtc tgggtgagcc ttgctggtt 5640
 tccctgccac ctcttgctgt catctcggtt ccgtatggt gtagcgggtgg tgaagatgaa 5700
 acagacgggc caagtgtatg ccatgaagat tatgaataag tggacatgc tgaagagagg 5760
 cgaggtgagg gccaggattt agggcagcgc cctcatctt ccaactcacc tcctgttagct 5820

tcttcctac ctacaggtg tcgtgcttcc gggaaagaaag ggatgttata gtgaaagggg 5880
 accggcgtg gatcacacag ctgcacttg cttccagga tgagaactac ctggtaagct 5940
 ccgggttcag gtgacttagga aagagtgaca gttacatcgc cccaagtcaa gaaggctgga 6000
 gaagggagaa gctgctgttag atcggggggg tgggggtggg ggggacacac acagggatg 6060
 ggggacgggg gtaggattgt gtctcaagta taggagagac ctcccttgag acaggagtga 6120
 tatctggttt ggccttgga tggggcgctc tctcaactgtc cggggctct ctgtgcttgg 6180
 gaacgggtg tcttggag tcttggggc taccaaaccc ctgtgacaca cccgctccca 6240
 gtacctggtc atgaaatact acgtggcgg ggacctgcta acgctgctga gcaagttgg 6300

ggagcggatc cccggcaga tggctcgctt ctacctggcc gagattgtca tggccataga 6360
 ctccgtgcac cggtggct acgtgcacag gtggcggtgg cggggccctt ggagggttag 6420
 cagaatttgt gtgggaagga agggtacctg aaggtcagat cccattgggg acagaatcgg 6480
 ggtcttagat ttagaatcc tgggtgggt ggaagtggat cgagctgacg gcccctaaga 6540
 gggaaaggttt tcaagaaagc acatttccc tcttcctct atgcacaggg acatcaaacc 6600
 agataacatt ctgctggacc gatgtggca cattcgctg gcagacttcg gctcctgcct 6660
 caaactgcag cctgatggaa tggtaagaag agcctggcga aactctcctc attggtaag 6720
 gaccggatta gggggcgggg ctgggtttag gggcaggagg ggagcttggt ctggatgtc 6780

ctgcccacca tattggaca gtcaagggaa aggttttaag cattcaggc tggatggcac 6840
 aggtgaggct gctgggtggct gtgggcaccc cggactacct gtctcctgag attctgcagg 6900
 ccgttggtgg agggcctggg gcagggcagct acggggcaga gtgtgactgg tggcactgg 6960
 gcgtgttcgc ctatgagatg ttctatggc agacccctt ctacgcccac tccacagccg 7020
 agacatatgc caagattgtg cactacaggg tgagcacaag caccatgcac gggggctgac 7080
 ttagtggctt gtgtcccag actgtcttt ttaaaagata ttattttata tgtgtgttt 7140
 ttctgtgtat gtatatctgt gcactgagta ggtgtgcga ggtcagagg catggatcc 7200
 cctggaaactg gagtacaga ctattgtgtc ctggcatgct gagtgctggg aaacagaacc 7260

ttgatcactc tcaagagca gccagtgcac tggaaacgaca gagccagctc tgcagccag 7320

ggctaactgt tgctttctt tctaaatagg aacacttgc gctgccgtg gcagacacag 7380
 ttgtccccga ggaagctcgac gacccatc gtggcgtct gtgcctgtc gagataaggc 7440
 taggtcgagg tggggcaggt gattccaga aacatcctt cttcttggc cttgattgg 7500
 agggtctccg agacagtgtt ccccccctt a caccagactt cgagggtgcc acggacacat 7560
 gcaatttcga tgtggtggag gaccggctca ctgcccattt gaggcgttggc ggggtacgta 7620
 cctgcagtccctgatccgtt gaggggactt ccctagccctt ttccataaaaa ttggggtgat 7680
 tggccaggtt tgggtggca taccttaat cgtagaactt cataggcaga ggcaggtggc 7740

tctctggtaa atcaaggcca tcttggtcta catagtgact tctaggccag tcaggagtga 7800
 gatccctccct taaaaataa aaaaggggtt gttgacccctc ctgggtccca aattattatc 7860
 ctagagcact gctatgttac cactcaggta tgaggacaca caggtgacca gtcccaaaga 7920
 cagtgagtga ggctctactc ttggcagtac taaaattgtat tggggggc tgggtcttg 7980
 acccagcctg gaaagtgtcg gagggttcc tggaggagga gactagctga gcccagaagg 8040
 atgcaggaga tccttctcg ggtgagtgtct ctcagcatt taacaagctc tagccctgc 8100
 agagagaagt ctgggtggg cagagccca atagaaagca acaagataga agagaaaatg 8160
 gtggagttt ttagtggggc cagttatgcc gtgaacatag agggcgaag ggccatctcg 8220

gataactgct agccacaaga gcccgtctg tcttcttagg agacgctgtc agacatgcag 8280
 gaagacatgc cccttgggtt ggcctgccc ttctgggtt actcctactt ctgcattggcc 8340
 ttctggatgag cactgactgcc ccctgctggg gcctgtgtc aggccacca cagccactca 8400
 attgaaggct cagtcttcaa accaagtatt cctaggagct gtctaaatgtt ggcttctgc 8460
 tgctgcgtt aaccctgact aaaagcaagc tggggaggaa aaggcttac gggcttacgt 8520
 ttccacatgg gagcccatca ctgaaggaag ccaggacagg aactcacagc gggcaggaa 8580
 cgtggagctg atgcagagggc aatggagggg agctgtttac tgacttgatc cttatgttt 8640
 cctcagcctg ttccctgtt gagcccaaggaa ccaccaggcc agtgagggtt ccactcacaa 8700

tgggctgagc tctcatctat gatcaactgt tatgaaaatg cccgataggc ttgcctgcag 8760
 cttcagttt tgaggactt tccttccttc ctcccttc ttcccttc ctcccttc 8820
 ttctttttt ctcccttc ttctttttt ctcccttc ttcccttc ctcccttc 8880
 tagtcttttta gagacagggtt cttctatgt agctctggct gtcttggaaat tcattctgt 8940
 gaccaggctg gtcttattta ttatattat gtatgtgagt ccactatcac tgtccctaga 9000
 cacaccagaa gagggcatca gatccattt cagatggctg tgagccacca tgtgggtgt 9060
 ggaaattgaa ctcaaggactt ctggaaagagc agccagtgtt cctgcctgtt agaggcattt 9120
 tcttcattttt ggttgcgttcc tctctgtatgtt cttgtatgtt ctagctgtt gtgtcaagt 9180

gacataagac taggaaagca gctacacatg cacttggtt attttggtt tgcttttga 9240
 gactgggtct ctccatctca tagctctggc catcctgcct ggtgacattc cagtcagg 9300
 gtataaccta agaatctgag actcagcctt gcagaatcct gctattaacg ggtctaggac 9360
 actccataga atccaggatc ttagaaaaac aaacctgaag tggacagtt tatttiaaga 9420
 acacaattgg agcacataac aataatacaa ctttcagtt ttaaaaagtt ttctgtctt 9480
 tttttgagg caggagctcc ttaatatagt ctaagccgc ctgcgagtgc tgtgattgat 9540
 gggcatgtac caccatgcct agtcaataaa gccttaaaa agcatccgtt atgctggctg 9600
 tgggccaca aacctgtat cccagcattt agaaggtaga ggcaagattt tcagaaattc 9660

aaggccatcc tggctatac agtaatctaa ggctagcctg gtctacaaga gactctgtct 9720
 aaagaaacaa aagataaataa gcacccacta ttgctaggca atataaccct ataaccac 9780
 cattgaggag gctgaggctg gagcatcaact gcaaatttga ggccaggatg gtcaacaat 9840
 aagtcccaga gctggcatag aggaactctg tctcaacaat aaagagaact tatctagcat 9900
 ttatgagggt aaataaaaat ttaccattgc cacaaaaaat gtaaatgaag agactgctt 9960
 taggagtgaa ctggaaagca gggAACACTT agaggatgct cactcacaca ggtatccacc 10020
 atcaggcatg ctcaggcct gcacagggaa ggacaacttgc ttcatgatt tgcaagcagc 10080

atcccatgct ctttagagcg ggttgggccc agcccacccct ctgtggagtt atcgctcagc 10140
 caggcagcaa ggcagccaag gtgctgaggc cctggcagtc tgctcttgc tctgctctg 10200
 acctccctta gctttagcctt aggagcctgg cctggtgccc acaggctagg gagtccctag 10260
 cctttccctc ttctcagaga caatcaggc tcggacccca cccctatggc actagaggcc 10320
 ctgcagttgc ctgtgtcaga ctgcaggg cttgacttgc agccccagt gtccccaccg 10380
 gatcaagtgg ttagtagact gagagggtggg caaagttcc tgggtgggtg tacctgcagt 10440
 gccaactgcc aggtgtttaa ttcatgttgc cactgtcccc aactggccca actgcacatc 10500

ctgttagtcag gaggcacagg cagaaaaatc ccaaatttca ggcttgctcc cgttatgtaa 10560
 tgagatctg tcttggatgta aaaaacaaag aagagaacta gggatagctc agaggtatg 10620
 gctctctgg catgggggtg gggtcagaaa gcaacacca ccggggcctg ggaggagg 10680
 actgccaacc acctggagga gtcgggttgc gacttggatgca acaaaggatca gaggccatca 10740
 ggtggatgc tggtttctta aagccacag ataggtgggtt agcattggaa agaggagtgg 10800
 ggggttgcag aaagtgcacaa gacacaaact ggggaggcct aaggtaaag ccagggttgt 10860
 ctgaagcact gtggagctgg gaggaacacg ctaaaacttgc gacttcagcc ctcatgttcc 10920

cctgttgact acactgtccc cagggaccca gggatgggaa gaggtggacg ggggaggaa 10980
 gtacgggact gatccagctc caggtccaa ctctgatccc caccgacagg ctgaagaggc 11040

tgaccttagt gctgtccctg cccctgtggc tgaggcagag accacggtaa cgctgcagca 11100
 gctccaggaa gccctggaag aagaggtct cacccggcag agcctgagcc gcgagctgga 11160
 ggccatccgg accgccaacc agaacttctc caggtcaggg tcacagtgt ggggtgaggg 11220
 gagaggagag cagcaaccct cgcaacttc tcaccgatacg tccggctcac tcccstatct 11280
 ttcccagcca actacaggag gccgagggtcc gaaaccgaga cctggaggcgc catgttcggc 11340

agctacagga acggatggag atgctgcagg ccccaggagc cgcaaggcgc tccctcacct 11400
 gcttccagcc aagggggcac tgggtggaga tgggggcat gttgggtgt tgaaccctcg 11460
 gggcagggga ggagtccagg ctggggcacc gcagccgcgc cactgcctt ctccatccatc 11520
 ctccacactc catacacctc tctttctcc ttccagccat cacggggcgc cccagtc 11580
 gggccacgga tccaccttcc catgtaaagac ccctctctcc cctcccgat cccatctta 11640
 gatatgtac ccacagccct tctccgtcc acgtttaggg tccattctcc ttgggggttc 11700
 cagaagaaag ctgccttca ctcatccatt cagcatgcac tatctaccag ctctccctcg 11760

tttcaggctt ctgcctaat cctcccaag ggaactccct atactccgt tctggcctcg 11820
 actagattcc cgcaactgcct ctcgcctgc tgctggcgc cgatcggtc acctgtccct 11880
 tctctctcca gctagatggc ccccccggcgg tggctgtggg ccagtggccg ctgggtgggc 11940
 caggccccat gcaccggcgt cacctgctgc tccctgcccag ggtatgtccc acgtccgc 12000
 accacgggcc tctgccttagc tctgcccact gagtgtcacc actgctgtgt gtgcctctgt 12060
 ggagctcgcc ccaccgcagg gagggggggt attcggggcg ccaatcaaca caggctgctg 12120
 ctaagtagcc aatgacgagt tccaaacagga gcttttctt gcgagcagac caacttttagc 12180

tgccggctgt ggggaccaga gatgcgtca gagggccatc tatgggtata ggctggcgg 12240
 ctcccaggag ccagtggcc cctgttagct agtgcataatc caaccttctc tcctgcagat 12300
 cccttaggcct ggcctatccg aggcgcgttg cctgctcctg ttgcgcgtg ctctggctgc 12360
 tgccgccaca ctgggctgca ctgggttggt ggcctataacc ggccgtctca ccccgatctg 12420
 gtgtttcccg ggagccacct tcgccccctg aaccctaaga ctccaaagcca tcttcattt 12480
 aggcctctca ggaagggtcga gcgaccagg agcgacccaa agcgtctctg tgcccatcgc 12540
 gcccccccccc cccccccacc gctccgcctcc acacttctgt gagcctgggt ccccacccag 12600

ctccgcctcgt gtgtatccagg cctgcacccct ggccggcggg gagggaggaa cagggctcgt 12660
 gcccacccacc cctgggttcct gcagaggtgg tagccacccgc tgctgcagca gctggcatt 12720
 cgccgacccctt gctttactca gcccgcacgt ggatggcaca actgctcagc tcatccgatt 12780
 tcacttttc actctccctcag ccatcagtttca caagccataa gcatgagccc cctatttcca 12840
 gggacatccc attcccatag tcatggatca gcaagaccc tcggcagcaca cacggagtct 12900

ttggcttcgg acagcctcac tcctgggggt tgctgcaact cttccccgt gtacacgtct 12960
gcactctaact aacggagcca cagctgcact ccccccctccc ccaaagcagt gtgggtattt 13020

attgatcttg ttatctgact cactgacaga ctccgggacc cacgttttag atgcatttag 13080
actcgacatt cctcggtatt tattgtctgt ccccacctac gacctccact cccgaccctt 13140
gcgaataaaa tacttctggt ctgcctaaa tcccgcgcaa tatctctgtt gtggaaaggaa 13200
aaccgccccg caggccaatg gagagtccaa tagagacaac caatggcttg agtggagct 13260
agaggggagg caaagcgcac gaatcaggtt gaagggtggg gcttaggcat ccagccagta 13320
ggagagaagc aacaagccac cagagacacc accgcccccc accctcccccc ccagctgtga 13380
cccagctgtc ccaactcaagt ttggaaaaaa gtaggggtt gggccagcag cgggcacacc 13440

atctccac tgcgcctgcg caagccacgc gcatccgctt tttggaccga cactccagaa 13500
aagtgtgc aaactttcta gcgcgattcc cgcgcctcc tcccgatctg atccaccgcc 13560
taccgcggg gccgggaatt ccgagggcg gagcacggcg cggagatggg aaggggaggaa 13620
gccttcaag ggacccggga gatgggagcg gcttcgcgcc cttaccctc cggacggccc 13680
attaccttct ccgttgctct gataggaaa ctgaggccct gagtcagagg cacacaaggg 13740
gggaaggcca aaagcgcggc cagagacgga gggaaaacaa agaattctga cagccggga 13800
ggggggcgga cacacaggga caaggacaga cccgagtgca gagctgggtc tagtctttgg 13860

gagggggcca gaagactgca aggggaccgg ggggggggc ggcgaggagg actggcgga 13920
ggagggggct ggggaagccc gcgggaggcg gcaaaggagg gaggaacttt ccaaagtgc 13980
caaacatggc tacctcgct gcggagccga gcgcggggcc cgcggctcg gggaggcg 14040
cgccggcgac cgaggagcag gaggaggaag cgccgcagct tctgcagact ctgcaggcag 14100
ccgagggggga ggcggcgccg gccggggcg gagatgcggc ggcggcgccg gactctgggt 14160
ccccgagtgg cccgggtct ccccgggaga ccgtgaccga ggtgccact ggccttcgct 14220
tctcgccccga acaggtggca tgcgtgtcg aggctgtct gcaggccggc cacccggcc 14280

gcttgagccg ctccctggc ggcgtgcccc cggccgagcg cttacgtggc agcgatccgg 14340
tgctgcccgc gcgccccta gtggcccttc agcgggggtga atacgcccggat ctctaccaac 14400
ttctcgagag cccccccttc cccggccccc accacgcctt cctgcaggac ctctacactgc 14460
gcgcgcgcta ccacgaggcc gaggccggcc gtggccgtgc gctggcgct gtggacaaat 14520
accggctgca caagaagttc cctctgcca agaccatctg ggtggcgag gagaccgtct 14580
attgctcaa ggagcgctcg cgagcggcgc tcaaggccctg ctaccggc aaccgctatc 14640

ccacgcctga cgagaagcgc cgcctggcca cgctcaccgg cctctcgctt acacaggta 14700

gcaactggtt caagaaccgg cgacagcgc accgcactgg gaccggcggt ggagcgcctt 14760

gcaaaaggtg agggggaaac cgaccctctt tcctcggtgg ccgctggagt ctgcgcaagt 14820

gacccttcac atccctcttc ggtggcgtcg gcgagtgcac aggctgagcgc tggagagacc 14880

aggcacaccc tgggttctct gggcatcaact gcctcagggg cagaggttgt tccagctact 14940

tctaagctgg gaacgcagtg ccaggaatgg gggggggggc gggggcggga cgggcagtga 15000

<210> 4

<211> 1896

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 4

atgtcagccg aagtgcggct gaggcagctc cagcagctgg tgctggaccc aggcttcctg 60

ggactggagc cctcgctcga ccttctcctg ggctccacc aggagctggg tgcccttcac 120

ctagccagg acaagtatgt ggccgacttc ttgcagtggg tggagccat tgcatcaagg 180

cttaaggagg tccgactgca gagggatgtat tttgagattt tgaagggtat cggcgtggg 240

gcgttcagcg agtagcggt ggtgaagatg aaacagacgg gccaagtgtat tgccatgaag 300

attatgaata agtgggacat gctgaagaga ggcgagggtgt cgtgcttcg ggaagaaagg 360

gatgtattag taaaaggggc cggcgcgtgg atcacacagc tgactttgc cttccaggat 420

gagaactacc tgcacccgtt catgaatac tacgtggcg gggacctgtt aacgcgtgt 480

agcaagttt gggagcggat ccccgccgag atggctcgct tctacctggc cgagattgtc 540

atggccatag actccgtcga cggcgtggc tacgtgcaca gggacatcaa accagataac 600

attctgctgg accgatgtgg gcacattcgc ctggcagact tcggctcctg cctcaaactg 660

cagcctgtatg gaatggtagt gtcgtgggt gctgtggca cccggacta cctgtctct 720

gagattctgc aggcgttgg tggaggccct gggcaggca gctacggcc agatgtgtac 780

tgggtggcac tggcgtgtt cgcctatgtatg atgttctatg ggcagacccc cttctacgcg 840

gactccacag ccgagacata tgccaagatt gtgcactaca gggAACACTT gtcgtgtccg 900

ctggcagaca cagttgtccc cgaggaagct caggacacta ttctgtggct gctgtgtct 960

gctgagataa ggcttaggtcg aggtgggcg ggtgatttcc agaaacatcc tttttttttt 1020

ggccttgcattt gggagggctt ccgagacagt gtacccctt ttacaccaga cttcgagggt 1080

gccacggaca catgaattt cgtatgtggg gaggacggc tcaactgccat ggtgagcggg 1140

ggcggggaga cgctgtcaga catgcaggaa gacatgcccc ttgggtgcg cctgccccttc 1200

gtgggctact cctactgctg catggccttc agagacaatc aggtcccgga ccccacccct 1260
 atggaactag aggccctgca gttgcctgtg tcagacttgc aaggccttga cttgcagccc 1320
 ccagtgccc caccggatca agtggctgaa gaggccgacc tagtggctgt ccctgcccct 1380
 gtggcgtgagg cagagaccac ggtaacgctg cagcagctcc aggaagccct ggaagaagag 1440
 gttctcaccc ggcagagcct gagccgctgag ctggaggcca tccggaccgc caaccagaac 1500
 ttctccagcc aactacagga ggccgagggtc cgaaaccgag acctggaggc gcatgttcgg 1560

cagctacagg aacggatgga gatgctgcag gccccaggag ccgcagccat cacggggtc 1620
 cccagtcggc gggccacgga tccacccctcc catctagatg gccccccggc cgtggctgtg 1680
 ggccagtgcg cgcgtggg gccaggcccc atgcaccggc gtcacccgt gctccctgcc 1740
 aggatcccta ggcctggcct atccgaggcg cgttgcctgc tccgttcgc cgctgcttg 1800
 gctgctgccc ccacactggg ctgcactggg ttggtgccct ataccggcgg tctcaccctca 1860
 gtctgggttt tccgggagc cacccctgc 1896
 ccctga

<210> 5

<211> 771

<212> DNA

<213> Mus musculus

<220>

<221> misc_feature

<222> 89, 238, 506

<223> n = A,T,C or G

<400> 5

cctggccctg tggctgaggc agagaccacg gtaacgctgc agcagctcca ggaagccctg 60
 gaagaagagg ttctcacccg gcagagctng agccgcgagc tggaggccat ccggaccgcc 120
 aaccagaact tctccagcca actacaggag gccgaggatcc gaaaccgaga cctggaggcg 180
 catgttcggc agctacagga acggatggag atgctgcagg ccccaggagc cgccggantc 240
 cctcacctgc ttccagccaa gggggcactg ggtggagatg gggggcatgt tgggtgtgtg 300
 aaccctcggt gcaggggagg agtccaggt ggggcaccgc gccgcgccac tgccttc 360
 ctccatcctc cacactccat acacccctct cttctccctc cagccatcac gggggccca 420

gtccccggc cacggatcca cttccatc tagatggccc cccggcggtg gctgtggcc 480
 agtggccgct ggtggggcca ggacantgtc accggcgatca cctgctgctc cctggccagga 540
 ttccctaggcc tggctatccg aggcgcgttgc ctgctctgt tcggccgtgc tctggctgt 600
 ggcacact gggctgcact gggttgggttgc gctataccgg cggcttcac ccagtctgtt 660

gtttccgtg agcacccttc gcccctgaaa cctaagactt caagccatct ttcatttagg 720
 ccttcttaga aggtcgagcg acaggggagc gacccaaagc gtctctgtgc c 771
 <210> 6
 <211> 434
 <212> DNA
 <213> Mus musculus
 <400> 6
 gagagaccca agggtagtc agggacgggc agacatgcag ctagggtct gggcctgga 60

cagggcagc cagccctgt gacgggaaga ccccgagctc cggccgggg agggccatg 120
 gtgtgcctg cccaacatgt cagccgaagt gcggctgagg cagctccagc agctgggtct 180
 ggacccaggc ttctggac tggagccct gctgaccc 240
 gctgggtgcc ttcacccatg cccaggacaa gtatgtggcc gacttcttgc agtgggtgga 300
 gcccattgca gcaaggctta aggaggtccg actgcagagg gatgatttt 360
 ggtgatcggg cgtggggcgt tcagcgaggt agcggtggta aagatgaaac acacggagtc 420
 tttggcttcg gaca 434
 <210> 7

<211> 2688
 <212> DNA
 <213> Mus musculus
 <400> 7
 ccacgcgtcc gcccacgcgt cggggcaga catgcagcta gggttctgg gcctggacag 60
 gggcagccag gcccgtgac gggaaagaccc cgagctccgg cccggggagg ggccatgg 120
 ttgcctgccc aacatgtcag ccgaagtgcg gctgaggcag ctccagcagc tgggtctgga 180
 cccaggcttc ctggactgg agccctgtcg cgaccccttc ctggcggtcc accaggagct 240
 ggggcctct cacctagccc aggacaagta tgtggccgac ttcttgcagt ggggtggagcc 300
 cattgcagca aggcttaagg aggtccgact gcagagggat gatttgaga ttttgaaggt 360
 gatcgccgt gggcggttca gcgaggtac ggtggtaag atgaaacaga cggccaaatg 420

gtatgccatg aagattatga ataagtggga catgctgaag agaggcgagg tgtcgtgtt 480
 ccggaaagaa agggatgtat tagtgaagg ggaccggcgc tggatcacac agctgcactt 540
 tgcctccag gatgagaact acctgtacct ggtcatggaa tactacgtgg gcggggacct 600
 gctaacgctg ctgagcaagt ttggggagcg gatccccgcc gagatggctc gcttctacct 660
 ggccgagatt gtcgtggcca tagactccgt gcacccggctg ggctacgtgc acagggacat 720

caaaccagat aacattctgc tggaccgatg tggcacatt cgcctggcag acttcggctc 780
 ctgcctcaaa ctgcagcctg atggaatggt gaggtgcgtg gtggctgtgg gcaccccgga 840
 ctacacctct cctgagattc tgcaggccgt tggtgagggg cctggggcag gcagctacgg 900

gccagagtgt gactggtggg cactggcgt gttcacctat gagatgttct atggcagac 960
 ccccttctac gcgactcca cagccgagac atatccaag attgtcact acaggaaaca 1020
 cttgtcgctg ccgctggcag acacagttgt ccccgaggaa gctcaggacc tcattcggtt 1080
 gctgctgtgt cctgctgaga taaggctagg tcgaggtggg gcaggtgatt tccagaaaca 1140
 tccttttttc ttggccttg attgggaggg tctccgagac agtgcaccc ccttacacc 1200
 agacttcgag ggtgccacgg acacatgca tttcgatgtg gtggaggacc ggctcactgc 1260
 catggtgagc gggggcgggg agacgctgtc agacatgcag gaagacatgc cccttgggt 1320
 ggcctgccc ttctggcgt actcctactg ctgcattggcc ttcatggaca atcaggccc 1380

ggacccacc cctatgaaac tagaggccct gcagttgcct gtgtcagact tgcaaggct 1440
 tgacttgcag ccccaagtgt ccccacccgga tcaagtggtt gaagaggctg acctagtggc 1500
 tgtccctgcc cctgtggctg aggcagagac cacgtaacg ctgcagcagc tccaggaagc 1560
 cctggaagaa gaggttctca cccggcagag cctgagccgc gagctggagg ccatccggac 1620
 cgccaaaccag aacttctcca gccaactaca ggaggccgag gtccgaaacc gagacctgga 1680
 ggcgcattt cggcagctac aggaacggat ggagatgtc caggccccag gagccgcaga 1740
 tccctaggcc tggcttatcc gaggcgcgtt gcctgtctt gttcgccgt gctctggctg 1800
 ctgcgcac acggcgtgc actgggttgg tggctatac cggcgcttc accccagtt 1860

gggtttccc gggagccacc ttgccttccct gaaccctaag actccaagcc atctttcatt 1920
 taggccttctt aggaaggctg agcgaccagg gagcgcacca aagcgctctt gtgcctatcg 1980
 cccccccccc ccccccacc gtcgcgtcc acacttctgt gagcctgggt ccccacccag 2040
 ctccgcctt gtatccagg cctgcccactt ggccggccggg gagggaggaa caggctcgt 2100
 gcccagcacc cctggttctt gcagagctgg tagccacccgc tgctgcagca gctggcatt 2160
 cgccgaccc tcttactca gcccgcacgt ggatggcaa actgctcagc tcatccgatt 2220
 tcacttttc actctccctt ccatcagtttta caagccataa gcatgagccccc cctatttcca 2280
 gggacatccc attccatag tggatggatca gcaagaccc tggcagcaca cacggatct 2340

ttggcttcgg acagcctcac tcctgggggt tgctgcaact cttcccggt gtacacgtt 2400
 gcactctaacc aacggagccca cagctgcact ccccccctccc ccaaggcagt gtgggttattt 2460
 attgatcttggatctgact cactgacaga ctccggacc cacgttttag atgcattttag 2520
 actcgacatt cctcggtatttattgtctgt ccccacctac gacccacttcc cccgaccctt 2580

gcgaataaaa tacttctggc ctgccctaaa aaaaaaaaaaaa aaaaaaaaaaaa aaaaaaaaaaaa 2640
aaaaaaaaaaa aaaaaaaaaaaa aaaaaaaaaaaa aaaaaaaaaaaa aaaaaaaaaaaa 2688
<210> 8
<211> 2862
<212> DNA
<213> Mus musculus
<400> 8
gggatagtca gggacgggca gacatgcagc tagggttctg gggcctggac aggggcagcc 60

aggccctgtg acgggaagac cccgagctcc ggcccgaaaa gggccatgg tgttgcctgc 120
ccaacatgtc agccgaagtg cggctgaggc agtccagca gctggtgctg gaccaggct 180
tcctggact ggagcccctg ctgcacccctc tcctggcgt ccaccaggag ctgggtgcct 240
ctcacctagc ccaggacaag tatgtggccg acttcttgcg gtgggtggag cccattgcag 300
caaggcttaa ggaggtccga ctgcagaggg atgatttga gatttgaag gtgatcgggc 360
gtggggcgtt cagcgaggta gcgggtgtga agatgaaaca gacgggccaa gtgtatgcac 420
tgaagattac gaataagtgg gacatgtca agagaggcga ggtgtcgtgc ttccggaaag 480
aaaggatgt attagtgaaa ggggaccggc gctggatcac acagctgcac ttgcctcc 540

aggatgagaa ctacctgtac ctggcatgg aatactacgt gggcgggac ctgctaaccg 600
tgctgagcaa gtttggggag cggatccccg ccgagatggc tcgcttctac ctggccgaga 660
ttgtcatggc catagactcc gtgcaccggc tggctacgt gcacagggac atcaaaccag 720
ataaacattct gctggaccga tgtggcaca ttgcctggc agacttcggc tcctgcctca 780
aactgcagcc tcatggaatg tgaggtcgc tggggctgt gggcaccccg gactacctg 840
ctcctgagat tctgcaggcc gttggggag ggcctgggc aggcagctac gggccagagt 900
gtgactggtg ggcactggc gtgttacact atgagatgtt ctatggcag acccccttct 960
acgcggactc cacagccgag acatatgcca agattgtgca ctacaggaa cacttgtcgc 1020

tgccgctggc agacacagt gtcccgagg aagctcagga cctcattcgt gggctgctgt 1080
gtcctgctga gataaggcta ggtcgaggtg gggcaggtga tttccagaaa catcctttct 1140
tctttggcct tgattgggag ggtctccgag acagtgtacc ccccttaca ccagacttcg 1200
agggtgccac ggacacatgc aatttcgatg tggtgagga ccggctcact gccatggaga 1260
cgctgtcaga catgcagggaa gacatgcccc ttggggtgcg cctgccttc gtgggctact 1320
cctactgctg catggccttc agagacaatc aggtcccgga ccccacccct atggaactag 1380
aggccctgca gttgcctgtc tcagacttgc aagggttga cttgcagccc ccagtgtccc 1440

caccggatca agtggctgaa gaggctgacc tagtggctgt ccctgcccgt gtggctgagg 1500

cagagaccac ggttaacgctg cagcagctcc aggaagccct ggaagaagag gtttcaccc 1560
 ggcagagcct gagccgcgag ctggaggcca tccggaccgc caaccagaac ttctccagcc 1620
 aactacagga gcccggaggtc cgaaaccgag acctggaggc gcatgttcgg cagctacagg 1680
 aacggatgga gatgctgcag gcccaggag ccgcagccat cacggggcgtc cccagtc 1740
 gggccacgga tccaccccttcc catgcttctc gccaaatcct ccccaaggga actccctaga 1800
 ctcccggttctt ggcctcgact agattcccgact gcccgtctc gcccgtctc tgggctccga 1860
 tcgggtcacc tgcgttcttct ctctccagct agatggcccc ccggccgtgg ctgtggcca 1920
 gtgcccgtg gtggggccag gccccatgca ccggccgtcac ctgctgtcc ctggcaggat 1980

cccttaggcct ggcctatccg aggccgcgtt cctgccttgc ttgcgcgtt ctctggctc 2040
 tgccgccaca ctgggctgca ctgggttggt ggcctataacc ggccgtctca ccccaagtctg 2100
 gtgtttcccg ggagccacct tcggcccttg aaccctaaga ctccaagcca tcttcattt 2160
 aggccctcta ggaaggtcga gcgaccagg agcgacccaa agcgctctg tgcccatcgc 2220
 cccccccccc ccccccaccc ctccgctcca cacttctgt agccctggc cccacccagc 2280
 tccgctctg tgatccaggc ctggcacctg gcggccgggg agggaggaac agggctctg 2340
 cccagcaccc ctgggttctg cagagctggt agccaccgct gtcgcagcag ctggcattc 2400
 gccgaccccttgc ttacttcag cccgacgtg gatggcaaa ctgctcagct catccgattt 2460

cacttttca ctctcccagc catcagttac aagccataag catgagcccc ctattccag 2520
 ggacatccca ttcccatagt gatggatcag caagacctt gccagcacac acggagtctt 2580
 tggcttcgga cagccctact cctgggggtt gctgcaactc ctccccgtt tacacgtctg 2640
 cactctaaca acggagccac agctgcactc cccctcccc caaagcagtg tgggtattta 2700
 ttgatcttgtt tatctgactc actgacagac tccggaccc acgttttaga tgcattgaga 2760
 ctcgacattc ctgggttattt attgtctgtc cccacccatcg acctccactc ccgacccttgc 2820
 cgaataaaat acttctggtc tgccctaaaa aaaaaaaaaaa aa 2862

<210

> 9

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Primer

<400> 9

agcctgagcc gggagatg	18
<210> 10	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Primer	
<400> 10	
gcgtagttga ctggcgaagt t	21
<210> 11	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Probe	
<400> 11	
aggccatccg cacggacaac c	21
<210> 12	
<211>	
20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 12	
ctggctgcat gtctgcctgt	20
<210> 13	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 13	
ccaggagaag gtcgagcagg	20
<210> 14	

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 14

tctatggcca tgacaatctc

20

<210> 15

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 15

atgtccctgt gcacgttagcc

20

<210> 16

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 16

atgtgtccgg aagtgcgcctg

20

<210> 17

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 17

ctcaggctct gccgggtgag

20

<210> 18

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 18

ggcactggcc cacagccacg

20

<210> 19

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 19

cctggccgaa agaaagaaat

20

<210> 20

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 20

aaagaaatgg tctgtatcc

20

<210> 21

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 21

aagaaagaaa tggctgtga

20

<210> 22

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 22

ggccgaaga aagaatggt 20

<210> 23

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 23

cctcagcctg gccgaaagaa 20

<210> 24

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 24

gggcctcagc ctggccgaaa 20

<210> 25

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 25

tcaggcctc agcctggccg 20

<210> 26

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 26

ctgcagttg cccatccacg 20

<210> 27

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 27

ggcctgcagt ttgccccatcc 20

<210> 28

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 28

ccaggcctgc agtttgccca 20

<210> 29

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 29

gcctcccaag gcctgcagg 20

<210> 30

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 30

gctgccttcc caggcctgca	20
<210> 31	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 31	
cttgctgcct tcccaggcct	20
<210> 32	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 32	
gccccggcttg ctgccttccc	20
<210> 33	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 33	
acggcccgcc ttgctgcctt	20
<210> 34	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 34	
cggacggccc ggcttgctgc	20
<210> 35	

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 35

acacggacgg cccggcttgc

20

<210> 36

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 36

gatggaacac ggacggcccg

20

<210> 37

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 37

gaggatggaa cacggacggc

20

<210> 38

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 38

gtggaggatg gaacacggac

20

<210> 39

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 39

gcgaaccaac gataggtggg 20

<210> 40

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 40

tttgcgaacc aacgataggt 20

<210> 41

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 41

ttgcactttg cgaaccaacg 20

<210> 42

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 42

gcttgact ttgcgaacca 20

<210> 43

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 43

aaagcttgc acittgcgaa 20

<210> 44

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 44

aagaaagctt tgcactttgc 20

<210> 45

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 45

cacaagaaag ctttgcactt 20

<210> 46

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 46

gtcatgcaca agaaagctt 20

<210> 47

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 47

acgctccca gagcaggcg

20

<210> 48

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 48

gcagagatcg cggcagacgc

20

<210> 49

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 49

caggcagaga tcgcgccaga

20

<210> 50

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 50

aagcaggcag agatcgccgc

20

<210> 51

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 51

ccgagtaagc aggcagagat	20
<210> 52	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 52	
ttcccgagta agcaggcaga	20
<210> 53	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 53	
gcaaatttcc cgagtaagca	20
<210> 54	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 54	
aaagcaaatt tcccgagtaa	20
<210> 55	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 55	
ttggcaaaag caaatttccc	20
<210> 56	

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 56

ggtttggcaa aagcaaattt

20

<210> 57

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 57

gcgggtttgg caaaagcaaa

20

<210> 58

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 58

aaagcgggtt tggcaaaagc

20

<210> 59

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 59

cccgaaaaag cgggtttggc

20

<210> 60

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 60

atccccaaaa aagcgggttt 20

<210> 61

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 61

cgggatcccc gaaaaagcgg 20

<210> 62

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 62

gcgcgggatc cccgaaaaag 20

<210> 63

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 63

gagagcagcg caagtgagga 20

<210> 64

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 64

tccgagagca gcgcaagtga 20

<210> 65

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 65

ggctccgaga gcagcgcaag 20

<210> 66

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 66

aagcggcgag agccggctgg 20

<210> 67

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 67

ccgaagcggg cggagccggc 20

<210> 68

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 68

aaaccgccga agcgggcgga

20

<210> 69

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 69

tccaaaccgc cgaagcggc

20

<210> 70

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 70

atatccaaac cgccgaagcg

20

<210> 71

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 71

taaatatcca aaccgccgaa

20

<210> 72

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 72

caataaatat ccaaaccgcc	20
<210> 73	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 73	
cgaggtcaat aaatatccaa	20
<210> 74	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 74	
ggacgaggc aataaatatc	20
<210> 75	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 75	
ggaggacgag gtcaataat	20
<210> 76	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 76	
gtcgaggac gaggtcaata	20
<210> 77	

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 77

cgagtccgag gacgaggta

20

<210> 78

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 78

tgtcagcgg tccggaggacg

20

<210> 79

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 79

gcctgtcagc gagtcggagg

20

<210> 80

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 80

gttagcctgtc agcgagtccg

20

<210> 81

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 81

cctgttagcct gtcagcgagt 20

<210> 82

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 82

ggtcctgttag cctgtcagcg 20

<210> 83

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 83

aaataccgag gaatgtcggg 20

<210> 84

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 84

aataaaatacc gaggaatgtc 20

<210> 85

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 85

gacaataaat accgaggaat 20

<210> 86

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 86

cggggcccg gagtcgaaga 20

<210> 87

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 87

ccaacggggc cccggagt cg 20

<210> 88

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 88

ttccaacggg gccccggagt 20

<210> 89

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 89

gtcttcaac gggccccgg

20

<210> 90

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 90

cagtttcca acggggcccc

20

<210> 91

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 91

ctcagtttc caacggggcc

20

<210> 92

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 92

gcactcagtc ttccaacggg

20

<210> 93

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 93

ccccgggcac tcagtttcc	20
<210> 94	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 94	
tgccccggc actcagtctt	20
<210> 95	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 95	
cgtccccgg gcactcagtc	20
<210> 96	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 96	
gtgccgtgcc ccgggcactc	20
<210> 97	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 97	
tctgtccgt gccccggca	20
<210> 98	

<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 98	
gcttctgtgc cgtccccgg	20
<210> 99	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 99	
gcggcttctg tgccgtgcc	20
<210> 100	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 100	
gcgcggcttc tgtgccgtgc	20
<210> 101	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 101	
ggcgcggtc tctgtgccgt	20
<210> 102	
<211> 20	

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 102

ggcgtggc gggcttctg

20

<210> 103

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 103

ggcaggcgt gggcgccgt

20

<210> 104

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 104

ctggcaggcg gtggcgccg

20

<210> 105

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 105

aactggcagg cgggtggcgc

20

<210> 106

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 106

gtgaactggc aggccgtggg 20

<210> 107

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 107

ggtttgtgaac tggcaggcgg 20

<210> 108

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 108

gcggttgtga actggcaggc 20

<210> 109

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 109

cgagcggtt gtgaactggc 20

<210> 110

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 110	
cgctcgaggc gtttgtgaac	20
<210> 111	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 111	
cccacgctcg gagcggttgt	20
<210> 112	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 112	
agacccacgc tcggagcggt	20
<210> 113	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 113	
cggagaccca cgctcgaggc	20
<210> 114	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 114	

ggcggagac ccacgctcg	20
<210> 115	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 115	
gctggcgga gaccacgct	20
<210> 116	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 116	
ggagctggc ggagacccac	20
<210> 117	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 117	
ctggagctgg gcggagaccc	20
<210> 118	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 118	
ggactggagc tggcgaga	20
<210> 119	

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 119

caggactgga gctggcgga

20

<210> 120

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 120

atcacaggac tggagctggg

20

<210> 121

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 121

gggcgggccc ggatcacagg

20

<210> 122

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 122

ggggcgggc ccggatcaca

20

<210> 123

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 123

aggcagcacc atggccctc 20

<210> 124

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 124

ggtccaaacac cagctgctgg 20

<210> 125

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 125

cgtatcacctt cagaatctcg 20

<210> 126

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 126

cttggttcatg atcttcatgg 20

<210> 127

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 127

ccccattcac caacacgtcc 20

<210> 128

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 128

gcgtgatcca ccgcgggtcc 20

<210> 129

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 129

gtaatactcc atgaccaggt 20

<210> 130

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 130

gcagtgtcag caggtcccg 20

<210> 131

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 131

caccgagtct atggccatga

20

<210> 132

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 132

acgttagccaa gccggtgac

20

<210> 133

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 133

atgtggccac agcggtccag

20

<210> 134

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 134

cttcgtccac cagcggcaga

20

<210> 135

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 135

gacccttcg tccaccagcg	20
<210> 136	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 136	
cctgctccac cccggccag	20
<210> 137	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 137	
cggaagt cgc ctgctccacc	20
<210> 138	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 138	
cggagaccat cccagt cgag	20
<210> 139	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 139	
tgagggccat gcaggat tag	20
<210> 140	

<211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 140
 ctccagttcc atgggtgtgg 20

<210> 141
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 141
 gcgcttgcac gtgtggctca 20
 <210> 142
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 142
 gccacttcag ctgtttcatc 20
 <210> 143
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 143
 gcctcagcct ctgccgcagg 20

<210> 144
 <211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 144

gcagcgtcac ctggcctca 20

<210> 145

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 145

ggctcaggct ctgccgggtg 20

<210> 146

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 146

ttccgagcct ctgcctcgcg 20

<210> 147

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 147

ggtcccggtt ccgagcctct 20

<210> 148

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 148

atccgctcct gcaactgccg 20

<210> 149

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 149

gcaactccat ccgtcctgc 20

<210> 150

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 150

agggtggatcc gtggccggg 20

<210> 151

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 151

cgcgcttct gtgccgtgcc 20

<210> 152

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 152

ttgctgcctt cccaggcctg

20

<210> 153

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 153

tgctccgac aagtcaga

20

<210> 154

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 154

agaacctgcc cattgctgaa

20

<210> 155

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 155

cactgagggc cagacatatg

20

<210> 156

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 156

ctctagattc agatgcaggt	20
<210> 157	
<211> 15	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Primer	
<400> 157	
cgggccgtcc gtgtt	15
<210> 158	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Primer	
<400> 158	
cttgcactt tgcgaaccaa	20
<210> 159	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Probe	
<400> 159	
catcctccac gcaccccac c	21
<210> 160	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 160	
gcctggcagc ccctgtccag	20
<210> 161	

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 161

ggcctggcag cccctgtcca

20

<210> 162

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 162

gggcctggca gccctgtcc

20

<210> 163

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 163

atggccctc cccggccgg

20

<210> 164

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 164

catggccct cccggccgg

20

<210> 165

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 165

ccatggccc tccccggcc

20

<210> 166

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 166

accatggccc ctccccggc

20

<210> 167

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 167

caccatggcc cctcccccgg

20

<210> 168

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 168

gcaccatggc ccctcccccgg

20

<210> 169

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 169

agcacccatgg cccctcccg 20

<210> 170

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 170

cagcaccatg gccctcccc 20

<210> 171

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 171

gcagcaccat ggccctccc 20

<210> 172

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 172

ggcagcacca tggccctcc 20

<210> 173

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 173

caggcagcac catggccct

20

<210> 174

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 174

acaggcagca ccatggcccc

20

<210> 175

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 175

ggacaggcag caccatggcc

20

<210> 176

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 176

tggacaggca gcaccatggc

20

<210> 177

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 177

ttggacaggc agcaccatgg	20
<210> 178	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 178	
gttggacagg cagcaccatg	20
<210> 179	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 179	
tgtggacag gcagcaccat	20
<210> 180	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 180	
atgtggaca ggcagcacca	20
<210> 181	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 181	
catgtggac aggcagcacca	20
<210> 182	

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 182

acatgttgga caggcagcac

20

<210> 183

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 183

gacatgttgg acaggcagca

20

<210> 184

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 184

tgacatgttg gacaggcagc

20

<210> 185

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 185

ctgacatgtt ggacaggcag

20

<210> 186

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 186

gctgacatgt tggacaggca 20

<210> 187

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 187

ggctgacatg ttggacaggc 20

<210> 188

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 188

cggttgacat gtggacagg 20

<210> 189

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 189

tccgttgaca tggacagg 20

<210> 190

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 190

ctcggtgac atgtggaca 20

<210> 191

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 191

cctcggtga catgtggac 20

<210> 192

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 192

acctcggtg acatgttgga 20

<210> 193

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 193

cacctcggt gacatgttgg 20

<210> 194

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 194

gcacctcgcc tgacatgtt

20

<210> 195

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 195

cgcacacctgg ctgacatgtt

20

<210> 196

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 196

ccgcacacctcg gctgacatgt

20

<210> 197

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 197

gccgcacacctc ggctgacatg

20

<210> 198

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 198

agccgcacct	cggtgacat	20		
<210> 199				
<211> 20				
<212> DNA				
<213> Artificial Sequence				
<220>				
<223> Synthetic oligonucleotide				
<400> 199				
cagccgcacc			tcggctgaca	20
<210> 200				
<211> 20				
<212> DNA				
<213> Artificial Sequence				
<220>				
<223> Synthetic oligonucleotide				
<400> 200				
tcagccgcac			ctcggtgac	20
<210> 201				
<211> 20				
<212> DNA				
<213> Artificial Sequence				
<220>				
<223> Synthetic oligonucleotide				
<400> 201				
ctcagccgca			cctcggtga	20
<210> 202				
<211> 20				
<212> DNA				
<213> Artificial Sequence				
<220>				
<223> Synthetic oligonucleotide				
<400> 202				
cctcagccgc			acctcggtg	20
<210> 203				

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 203

gcctcagccg cacctcggt

20

<210> 204

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 204

ccaacaccag ctgctggagc

20

<210> 205

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 205

tccaaacacca gctgctggag

20

<210> 206

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 206

gtccaaacacc agctgctgga

20

<210> 207

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 207

gggtccaaca ccagctgctg

20

<210> 208

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 208

ggctccagcc ccaggaagcc

20

<210> 209

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 209

gggctccagc cccaggaagc

20

<210> 210

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 210

caggagaagg tcgagcaggg

20

<210> 211

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 211

cccaggagaa ggtcgagcag 20

<210> 212

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 212

gcccaggaga aggtcgagca 20

<210> 213

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 213

cgcccaggag aaggtcgagc 20

<210> 214

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 214

acgcccaggaa gaaggctcgag 20

<210> 215

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 215

tcctggcca gttcgaggc

20

<210> 216

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 216

gtcctggcc agttcgagg

20

<210> 217

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 217

tgtcctggc cagttcgag

20

<210> 218

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 218

ttgtcctgg ccagttcgga

20

<210> 219

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 219

cttgtcctgg gccagttcg	20
<210> 220	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 220	
acttgtcctg ggccagttcg	20
<210> 221	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 221	
tacttgtcct ggccagttc	20
<210> 222	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 222	
gtacttgtcc tggccagtt	20
<210> 223	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 223	
cgtacttgtc ctggccagtt	20
<210> 224	

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 224

actgcaagaa gtccggccacg

20

<210> 225

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 225

ccactgcaag aagtccggcca

20

<210> 226

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 226

cccactgcaa gaagtccggcc

20

<210> 227

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 227

gcccaactgca agaagtccggc

20

<210> 228

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 228

cggccactgc aagaagtcgg

20

<210> 229

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 229

ccggccactg caagaagtcg

20

<210> 230

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 230

tccggccact gcaagaagt

20

<210> 231

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 231

ctccggccac tgcaagaagt

20

<210> 232

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 232

gctccgcca ctgcaagaag 20

<210> 233

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 233

ggctccgccc actgcaagaa 20

<210> 234

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 234

gggctccgcc cactgcaaga 20

<210> 235

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 235

tgggctccgc ccaactgcaag 20

<210> 236

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 236

atgggctcg cccactgcaa 20

<210> 237

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 237

gatgggctcc gcccaactgca 20

<210> 238

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 238

cgatgggctc cggccactgc 20

<210> 239

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 239

acgatggctt ccggccactg 20

<210> 240

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 240

cacgatggc tccggccact	20
<210> 241	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 241	
ccacgatgg ctccggccac	20
<210> 242	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 242	
accacgatgg gctccggcca	20
<210> 243	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 243	
caccacgatg ggctccggcc	20
<210> 244	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 244	
tcaccacgat gggctccggcc	20
<210> 245	

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 245

ctcaccacga tgggctccgc

20

<210> 246

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 246

cctcaccacg atgggctccg

20

<210> 247

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 247

gcctcaccac gatgggctcc

20

<210> 248

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 248

agcctcacca cgatgggctc

20

<210> 249

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 249

aagcctcacc acgatggct 20

<210> 250

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 250

taagcctcac cacgatggc 20

<210> 251

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 251

ttaagcctca ccacgatgg 20

<210> 252

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 252

cttaagcctc accacgatgg 20

<210> 253

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 253

ccttaaggct caccacgatg 20

<210> 254

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 254

tccttaagcc tcaccacgat 20

<210> 255

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 255

ctccttaagc ctcaccacga 20

<210> 256

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 256

cctccttaag cctcaccacg 20

<210> 257

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 257

accccttaa gcctcaccac

20

<210> 258

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 258

gacccctta agcctcacca

20

<210> 259

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 259

ggacccctt aagectcacc

20

<210> 260

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 260

cgggacccctt taaggcctcac

20

<210> 261

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 261

tcggacctcc ttaaggctca	20
<210> 262	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 262	
gtcgaccc tcctaaaggcc	20
<210> 263	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 263	
cagtcggacc tccttaagcc	20
<210> 264	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 264	
gcagtcggac ctcccttaagc	20
<210> 265	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 265	
tgcagtcgga cctcccttaag	20
<210> 266	

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 266

ccttcagaat ctgcgaagtgc

20

<210> 267

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 267

accttcagaa tctcgaagtgc

20

<210> 268

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 268

tcacccatcg aatctcgaa

20

<210> 269

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 269

atcacccatca gaatctcgaa

20

<210> 270

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 270

gatcacccatc agaatctcga

20

<210> 271

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 271

ccgatcaccc tcagaatctc

20

<210> 272

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 272

tccgatcacc ttccagaatct

20

<210> 273

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 273

gtccgatcac ctccagaatc

20

<210> 274

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 274

cgtccgatca ccitcagaat 20

<210> 275

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 275

cccgcttgct tcatcttcac 20

<210> 276

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 276

gccccgtctgc ttcatcttca 20

<210> 277

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 277

ggcccggtctg ctcatcttc 20

<210> 278

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 278

tggcccgct gcttcatctt 20

<210> 279

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 279

ctggcccgtc tgcttcatct 20

<210> 280

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 280

cctggccgt ctgtttcatc 20

<210> 281

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 281

acctggcccg tctgtttcat 20

<210> 282

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 282

cacctggccc	gtctgcttca	20
<210>	283	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220>		
<223>	Synthetic oligonucleotide	
<400>	283	
acacctggcc	cgtctgcttc	20
<210>	284	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220>		
<223>	Synthetic oligonucleotide	
<400>	284	
tacacctggc	ccgtctgctt	20
<210>	285	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220>		
<223>	Synthetic oligonucleotide	
<400>	285	
ttgttcatga	tcttcatggc	20
<210>	286	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220>		
<223>	Synthetic oligonucleotide	
<400>	286	
acttgttcat	gatttcatg	20
<210>	287	

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 287

cactgttca tgatttcat

20

<210> 288

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 288

ccacttgttca atgatttca

20

<210> 289

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 289

cccaacttgttcatgatttca

20

<210> 290

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 290

tcccaacttgttcatgatttca

20

<210> 291

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 291

gtcccaactt ttcatgatct 20

<210> 292

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 292

tgtcccaatt gttcatgatc 20

<210> 293

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 293

atgtcccaact tggcatgat 20

<210> 294

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 294

catgtcccac ttgttcatga 20

<210> 295

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 295

gcatgtccca ctgtttcatg 20

<210> 296

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 296

agcatgtccc acttggcat 20

<210> 297

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 297

cagcatgtcc cacttggca 20

<210> 298

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 298

tcagcatgtc ccacttggtc 20

<210> 299

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 299

ttcagcatgt cccacttgtt 20

<210> 300

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 300

ttcagcatg tcccaactgtt 20

<210> 301

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 301

tcttcagcat gtcccaacttg 20

<210> 302

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 302

cctttcagc atgtcccaact 20

<210> 303

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 303

ccctttcag catgtccac	20
<210> 304	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 304	
ccctttca gcatgtccca	20
<210> 305	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 305	
ccccctttc agcatgtccc	20
<210> 306	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 306	
cgcctttt cagcatgtcc	20
<210> 307	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 307	
tcgcctct tcagcatgtc	20
<210> 308	

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 308

ctcgccctc ttcatgt

20

<210> 309

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 309

cctcgccctc ttcatgt

20

<210> 310

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 310

acctcgcccc tcttcagcat

20

<210> 311

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 311

cacctcgccc ctttcagca

20

<210> 312

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 312

acacctcgcc cctcttcagc

20

<210> 313

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 313

gacacctcgc ccctttcag

20

<210> 314

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 314

gccaggcgga tgtggccaca

20

<210> 315

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 315

accgcacgtt tccatctgcc

20

<210> 316

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 316

gaccgcaccc ttccatctgc 20

<210> 317

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 317

acagcctgca ggatctcg 20

<210> 318

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 318

cacagcctgc aggatctcg 20

<210> 319

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 319

ccacagcctg caggatctcg 20

<210> 320

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 320	
cccacagct gcaggatctc	20
<210> 321	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 321	
gccccacagcc tgcaggatct	20
<210> 322	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 322	
cggccacagc ctgcaggatc	20
<210> 323	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 323	
ccgccccacag cctgcaggat	20
<210> 324	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 324	

accggccaca gcctgcagga	20
<210> 325	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 325	
caccggccac agcctgcagg	20
<210> 326	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 326	
ccaccgcca cagcctgcag	20
<210> 327	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 327	
cccaccggcc acagcctgca	20
<210> 328	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 328	
gcccacccgc cacagcctgc	20
<210> 329	

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 329

ggcccacccgc ccacagcctg

20

<210> 330

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 330

aggccccacc cccacagcct

20

<210> 331

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 331

caggccccacc gccccacagcc

20

<210> 332

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 332

ccaggccccac cggccacagc

20

<210> 333

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 333

cccaggccca ccgccccacag

20

<210> 334

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 334

tcccaggccc accgccccaca

20

<210> 335

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 335

gtcccaggcc caccgccccac

20

<210> 336

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 336

tgtcccaggc ccacccggcca

20

<210> 337

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 337

ctgtccagg cccaccgccc 20

<210> 338

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 338

cctgtccag gcccaccgccc 20

<210> 339

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 339

gcctgtccca ggcccaccgc 20

<210> 340

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 340

tgccctgtccc aggcccaccgc 20

<210> 341

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 341

ctgcctgtcc caggcccacc

20

<210> 342

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 342

gctgcctgtc ccaggcccac

20

<210> 343

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 343

agctgcctgt cccaggccca

20

<210> 344

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 344

tagctgcctg tcccaggccc

20

<210> 345

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 345

gtagctgcct gtcccaggcc	20
<210> 346	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 346	
cgtagctgcc tgtcccaggc	20
<210> 347	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 347	
cgtagctgc ctgtcccagg	20
<210> 348	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 348	
cccgtagctg cctgtcccag	20
<210> 349	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 349	
gccccgtagct gcctgtccca	20
<210> 350	

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 350

ggccgttagc tgccgtcccc

20

<210> 351

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 351

tagaacattt cataggcgaa

20

<210> 352

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 352

tctccgcgt ggaatccgca

20

<210> 353

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 353

gtctccgcgt tggaatccgc

20

<210> 354

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 354

ggtctccgcc gtggaatccg

20

<210> 355

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 355

aggctccgc cgtggaatcc

20

<210> 356

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 356

taggtctccg ccgtggaatc

20

<210> 357

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 357

ttgttagtgga cgatcttgcc

20

<210> 358

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 358

ctttagtgg acgatcttgc 20

<210> 359

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 359

cctttagtg gacgatcttgc 20

<210> 360

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 360

tcctttagt ggacgatctt 20

<210> 361

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 361

tcctttagt tggacgatctt 20

<210> 362

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 362
gctccttcta gtggacgatc

<210> 363
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 363
tgctccttgt agtggacgat

<210> 364
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 364
gtgctccttg tagtggacga

<210> 365
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 365
ggtgctcctt gtatggacg

<210> 366
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 366

agggtgctcct tgttagtgac	20
<210> 367	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 367	
gagggtgctcc ttgttagtgga	20
<210> 368	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 368	
agaggtgctc ctgttagtg	20
<210> 369	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 369	
gagaggtgct cctttagtg	20
<210> 370	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 370	
agagaggtgc tcctttagt	20
<210> 371	

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 371

gagagaggtg ctccctttag

20

<210> 372

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 372

agagagaggt gtccttgta

20

<210> 373

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 373

cagagagagg tgctccttgt

20

<210> 374

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 374

ggcagagaga ggtgctcctt

20

<210> 375

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 375

cggcagagag aggtgctcct 20

<210> 376

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 376

gcggcagaga gaggtgctcc 20

<210> 377

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 377

agcggcagag agaggtgctc 20

<210> 378

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 378

cagggcaga gagaggtgct 20

<210> 379

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 379

ccagcggcag agagaggtgc

20

<210> 380

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 380

ggcccagccg tgtctccgg

20

<210> 381

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 381

cggcccagcc gtgtctccgg

20

<210> 382

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 382

ccggcccagc cgtgtctccg

20

<210> 383

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 383

cccgccccag ccgtgtctcc

20

<210> 384

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 384

ccccggccca gccgtgtctc

20

<210> 385

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 385

accccgcccc agccgtgtct

20

<210> 386

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 386

caccccggcc cagccgtgtc

20

<210> 387

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 387

ccaccccgcc ccagccgtgt	20
<210> 388	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 388	
tccaccccg cccagccgtg	20
<210> 389	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 389	
ctccaccccg gcccagccgt	20
<210> 390	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 390	
gctccaccc ggcccagccg	20
<210> 391	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 391	
tgctccaccc cggcccagcc	20
<210> 392	

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 392

ctgctccacc ccggcccgac

20

<210> 393

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 393

aaggatgtc tccgaaatc

20

<210> 394

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 394

gaaggatgt gtccgaaat

20

<210> 395

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 395

agaaggatgt gtccgaaat

20

<210> 396

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 396

aagaaggat gtgtccgaa

20

<210> 397

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 397

gaagaaggga tgtgtccgga

20

<210> 398

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 398

agaagaagg atgtgtccg

20

<210> 399

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 399

aagaagaagg gatgtgtccg

20

<210> 400

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 400

aaagaagaag ggatgtgtcc 20

<210> 401

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 401

caaagaagaa gggatgtgtc 20

<210> 402

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 402

ccaaagaaga agggatgtgt 20

<210> 403

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 403

ggccaaagaa gaaggatgt 20

<210> 404

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 404

aggccaaaga agaaggatg

20

<210> 405

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 405

gaggccaaag aagaaggat

20

<210> 406

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 406

cgaggccaaa gaagaaggaa

20

<210> 407

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 407

tcgaggccaa agaagaagg

20

<210> 408

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 408

gtcgaggcca aagaagaagg	20
<210> 409	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 409	
agt cgaggcc aaagaagaag	20
<210> 410	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 410	
cagtcgaggc caaagaagaa	20
<210> 411	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 411	
ccagtcgagg ccaaagaaga	20
<210> 412	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 412	
cccagtcgag gccaaagaag	20
<210> 413	

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 413

tcccagt cga gccaaagaa

20

<210> 414

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 414

atcccagt cggccaaaga

20

<210> 415

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 415

catcccagt c gaggccaaag

20

<210> 416

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 416

ccatcccagt c gaggccaaa

20

<210> 417

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 417

accatccag tcgaggccaa 20

<210> 418

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 418

gaccatccca gtcgaggcca 20

<210> 419

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 419

agaccatccc agtcgaggcc 20

<210> 420

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 420

gagaccatcc cagtcgaggc 20

<210> 421

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 421

ggagaccatc ccagtcgagg 20

<210> 422

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 422

ttcgaatcc ggtgtaaagg 20

<210> 423

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 423

cttcgaaatc cggtgtaaag 20

<210> 424

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 424

ccttcgaaat ccgggtgtaaa 20

<210> 425

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 425

accttcgaaa tccgggtgtaa

20

<210> 426

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 426

caccttcgaa atccgggtgtaa

20

<210> 427

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 427

gcaccttcga aatccgggtgtaa

20

<210> 428

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 428

ggcaccttcg aaatccgggtgtaa

20

<210> 429

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 429

tggcaccc gaaatccggt	20
<210> 430	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 430	
gtggcaccc cgaaatccgg	20
<210> 431	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 431	
ggtggcaccc tcgaaatccg	20
<210> 432	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 432	
cgggtggcacc ttcgaaatcc	20
<210> 433	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 433	
tcgggtggcacc ttcgaaatcc	20
<210> 434	

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 434

gtcggtgcca ccttcgaaat

20

<210> 435

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 435

tgtcggtggc accttcgaaa

20

<210> 436

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 436

gtgtcggtgg caccttcgaa

20

<210> 437

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 437

tgtgtcggtg gcacattcga

20

<210> 438

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 438

atgtgtcggt ggcaccccg 20

<210> 439

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 439

catgtgtcgg tggcaccc 20

<210> 440

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 440

gcatgtgtcg gtggcaccc 20

<210> 441

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 441

tgcatgtgtc ggtggcaccc 20

<210> 442

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 442

ttgcattgtt cggtgccacc 20

<210> 443

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 443

gttgcattgt tcggtgccac 20

<210> 444

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 444

agtgcattgtt gtcggtgcca 20

<210> 445

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 445

aagtgcattgtt tgtcggtggc 20

<210> 446

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 446

gaaggttgcat gtgtcggtgg

20

<210> 447

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 447

cgaaggttgca tgtgtcggtg

20

<210> 448

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 448

gtcgaaggtt catgtgtcgg

20

<210> 449

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 449

agt cgaagg tt gcatgtgtcg

20

<210> 450

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 450

aagtgcgaagt	tgcatgtgtc	20
<210> 451		
<211> 20		
<212> DNA		
<213> Artificial Sequence		
<220>		
<223> Synthetic oligonucleotide		
<400> 451		
caagtcgaag	ttgcgtgtgt	20
<210> 452		
<211> 20		
<212> DNA		
<213> Artificial Sequence		
<220>		
<223> Synthetic oligonucleotide		
<400> 452		
ccaagtgcgaa	gttgcatgtg	20
<210> 453		
<211> 20		
<212> DNA		
<213> Artificial Sequence		
<220>		
<223> Synthetic oligonucleotide		
<400> 453		
accaagtgcgaa	gttgcatgtg	20
<210> 454		
<211> 20		
<212> DNA		
<213> Artificial Sequence		
<220>		
<223> Synthetic oligonucleotide		
<400> 454		
caccaaggatcg	aaggatgtgt	20
<210> 455		

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 455

ccaccaagtc gaagttgcat

20

<210> 456

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 456

tccaccaagt cgaagttgca

20

<210> 457

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 457

ctccaccaag tcgaagttgc

20

<210> 458

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 458

cctccaccaa gtgcgaagttg

20

<210> 459

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 459

tcctccacca agtcgaagtt 20

<210> 460

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 460

gtcctccacc aagtgcgaagt 20

<210> 461

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 461

cgtcctccac caagtgcgaag 20

<210> 462

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 462

ccgtcctcca ccaagtgcgaa 20

<210> 463

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 463

cccggtccaccaggatcg 20

<210> 464

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 464

gccccgtccaccaggatcg 20

<210> 465

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 465

agcccggtccaccaggatcg 20

<210> 466

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 466

gagcccggtccaccaggatcg 20

<210> 467

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 467

tgagccgtc ctccaccaag

20

<210> 468

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 468

ggttccgagc ctctgcctcg

20

<210> 469

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 469

cggttccgag cctctgcctc

20

<210> 470

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 470

ccggttccga gcctctgcct

20

<210> 471

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 471

cccggttccg agcctctgcc	20
<210> 472	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 472	
tcgggttcc gagcctctgc	20
<210> 473	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 473	
gtccgggttc cgagcctctg	20
<210> 474	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 474	
aggccccgtt tccgagcctc	20
<210> 475	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 475	
taggtccccgtt ttccgagcct	20
<210> 476	

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 476

ctaggccccg gttccgagcc

20

<210> 477

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 477

tctaggccc gttccgagc

20

<210> 478

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 478

ctcttaggtcc cggttccgag

20

<210> 479

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 479

cctcttaggtc ccggttccga

20

<210> 480

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 480

gcctcttaggt cccgggtccg

20

<210> 481

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 481

catccgctcc tgcaactgcc

20

<210> 482

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 482

ccatccgctc ctgcaactgc

20

<210> 483

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 483

tccatccgt cctgcaactg

20

<210> 484

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 484

ctccatccgc tcctgcaact 20

<210> 485

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 485

actccatccg ctccctgcaac 20

<210> 486

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 486

aactccatcc gctcctgcaa 20

<210> 487

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 487

caactccatc cgctcctgca 20

<210> 488

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 488	
agcaactcca tccgctcctg	20
<210> 489	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 489	
cagcaactcc atccgctcct	20
<210> 490	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 490	
gcagcaactc catccgctcc	20
<210> 491	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 491	
cagctgtggc tccctctgcc	20
<210> 492	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 492	

acagctgtgg ctccctctgc	20
<210> 493	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 493	
gacagctgtg gctccctctg	20
<210> 494	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 494	
tgacagctgt ggccctct	20
<210> 495	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 495	
gtgacagctg tggccctc	20
<210> 496	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 496	
cgtgacagct gtggccct	20
<210> 497	

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 497

ccgtgacagc tgtggctccc

20

<210> 498

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 498

cccgtagacag ctgtggctcc

20

<210> 499

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 499

ccccgtgaca gctgtggctc

20

<210> 500

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 500

cccccggtgac agctgtggct

20

<210> 501

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 501

acccccgtga cagctgtggc 20

<210> 502

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 502

gaccggcgtg acagctgtgg 20

<210> 503

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 503

ggaccccggt gacagctgtg 20

<210> 504

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 504

gggaccccg tgacagctgt 20

<210> 505

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 505

gaaggatggat ccgtggcccg 20

<210> 506

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 506

ggaaggatggat tccgtggccc 20

<210> 507

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 507

gggaaggatggat atccgtggcc 20

<210> 508

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 508

tgggaaggatggat gatccgtggc 20

<210> 509

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 509

atgggaaggt ggatccgtgg

20

<210> 510

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 510

gatgggaagg tggatccgtg

20

<210> 511

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 511

tagatggaa ggtggatccg

20

<210> 512

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 512

ctagatggaa aggtggatcc

20

<210> 513

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 513

tctagatgg aaggtggat	20
<210> 514	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 514	
atctagatgg gaaggtggat	20
<210> 515	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 515	
ccatctagat gggaaagggtg	20
<210> 516	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 516	
gccccatctaga tggaaagggtg	20
<210> 517	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 517	
ggccatctag atggaaagggt	20
<210> 518	

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 518

caccagcggg cactggccca

20

<210> 519

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 519

ccaccagcgg gcactggccc

20

<210> 520

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 520

cccacccagcg ggcactggcc

20

<210> 521

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 521

ccccaccagc gggcactggc

20

<210> 522

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 522

ggccccacca gccccactg

20

<210> 523

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 523

tggccccacc agccggcact

20

<210> 524

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 524

ctggccccac cagcggcac

20

<210> 525

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 525

cctggccca ccagcggca

20

<210> 526

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 526

gcctggccc accagcggc

20

<210> 527

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 527

ggcctggcc ccaccagcgg

20

<210> 528

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 528

aggggcggc ggtgcattgg

20

<210> 529

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 529

cagggtggcgg cgggtgcattgg

20

<210> 530

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 530

gcaggtggcg gcggtgcatg 20

<210> 531

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 531

agcaggtggc ggccgtgcat 20

<210> 532

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 532

cagcaggtgg cggcggtgca 20

<210> 533

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 533

gcagcaggtg gcggcggtgc 20

<210> 534

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 534

agcagcagg	ggcgccgtg	20
<210>	535	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220>		
<223>	Synthetic oligonucleotide	
<400>	535	
gagcagcagg	tggcgccgt	20
<210>	536	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220>		
<223>	Synthetic oligonucleotide	
<400>	536	
ggagcagcag	gtggcgccgg	20
<210>	537	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220>		
<223>	Synthetic oligonucleotide	
<400>	537	
gggagcagca	ggtggcgccg	20
<210>	538	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220>		
<223>	Synthetic oligonucleotide	
<400>	538	
aggaggcagc	aggtggcgcc	20
<210>	539	

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 539

caggaggcag caggtggcgg

20

<210> 540

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 540

gcagggagca gcaggtggcg

20

<210> 541

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 541

ggcagggagc agcaggtggc

20

<210> 542

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 542

tggcagggag cagcaggtgg

20

<210> 543

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 543

ctggcaggga gcagcagggtg

20

<210> 544

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 544

ccctggcagg gagcaggcagg

20

<210> 545

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 545

accctggcag ggagcagcag

20

<210> 546

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 546

gaccctggca gggaggcagca

20

<210> 547

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 547

ggaccctggc agggagcagc 20

<210> 548

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 548

ggccttaggaa ccctggcagg 20

<210> 549

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 549

aggcctaggg accctggcag 20

<210> 550

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 550

ccagccctag ggaccctggc 20

<210> 551

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 551

gccaggccta gggaccctgg

20

<210> 552

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 552

ggccaggcct agggaccctg

20

<210> 553

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 553

aggccaggcc tagggaccct

20

<210> 554

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 554

taggccaggc ctagggaccc

20

<210> 555

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 555

ataggccagg cctaggacc	20
<210> 556	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 556	
gataggccag gcctaggac	20
<210> 557	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 557	
cgataggcca ggcctaggga	20
<210> 558	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 558	
ccgataggcc aggcctagg	20
<210> 559	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 559	
tccgataggc caggcctagg	20
<210> 560	

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 560

ctccgatagg ccaggctag

20

<210> 561

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 561

cctccgatag gccaggccta

20

<210> 562

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 562

gcctccgata ggcaggcct

20

<210> 563

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 563

gcmcctccga taggccaggc

20

<210> 564

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 564

aacaggagca gggaaagcgc

20

<210> 565

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 565

gaacaggagc agggaaagcgc

20

<210> 566

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 566

cgaacaggag caggaaagc

20

<210> 567

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 567

gcgaacagga gcaggaaag

20

<210> 568

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 568

ggcgaacagg agcagggaaa 20

<210> 569

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 569

cggcgaacag gagcagggaa 20

<210> 570

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 570

acggcgaaca ggagcaggga 20

<210> 571

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 571

aacggcgaac aggagcaggg 20

<210> 572

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 572

caacggcgaa caggaggcagg

20

<210> 573

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 573

gggcggcgcc acgagacaga

20

<210> 574

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 574

aggcggcgg cacgagacag

20

<210> 575

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 575

caggcggcgc gcacgagaca

20

<210> 576

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 576

ccagggcggc ggcacgagac	20
<210> 577	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 577	
cccagggcgg cggcacgaga	20
<210> 578	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 578	
gcccagggcg gcggcacgag	20
<210> 579	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 579	
agcccagggc ggccgcacga	20
<210> 580	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 580	
cagcccaggg cggccgcacg	20
<210> 581	

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 581

gcagcccagg gcgccggcac

20

<210> 582

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 582

ctgcggtagt ttggccggcg

20

<210> 583

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 583

actgcggtagt gttggccggc

20

<210> 584

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 584

gactgcggtagt agttggccgg

20

<210> 585

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 585

agactgcggt gagttggccg

20

<210> 586

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 586

cagactgcgg tgagttggcc

20

<210> 587

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 587

ccagactgct gtgagttggc

20

<210> 588

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 588

gccagactgc ggtgagttgg

20

<210> 589

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 589

cgccagactg cggtagttg 20

<210> 590

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 590

aagacagttc taggttcag 20

<210> 591

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 591

gaagacagtt ctagggttca 20

<210> 592

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 592

cgaagacagt tctagggttc 20

<210> 593

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 593

tcgaagacag ttctagggtt 20

<210> 594

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 594

gtcgaagaca gttctagggt 20

<210> 595

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 595

agt cgaagac agttctaggg 20

<210> 596

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 596

gagtcgaaga cagtctagg 20

<210> 597

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 597

ggagt cgaag acagttctag	20
<210> 598	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 598	
cgaggatcgaa gacagttcta	20
<210> 599	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 599	
ccggagt cga agacagttct	20
<210> 600	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 600	
cccgaggatcg aagacagttc	20
<210> 601	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 601	
ccccggaggatc gaagacagtt	20
<210> 602	

<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 602	
gccccggagt cgaagacagt	20
<210> 603	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 603	
ggcccccggag tcgaagacag	20
<210> 604	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 604	
gggccccggga gt cgaagaca	20
<210> 605	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 605	
aggcggtggg cgccggttct	20
<210> 606	
<211> 20	

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 606

caggcgttgg ggcggcttc 20

<210> 607

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 607

gcaggcgttgg ggcggcttc 20

<210> 608

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 608

tggcaggcgg tggcggcggc 20

<210> 609

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 609

actggcaggc ggtggcgcgc 20

<210> 610

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 610

gaactggcag gcggcggcgc 20

<210> 611

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 611

tgaactggca ggcggcggc 20

<210> 612

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 612

tgtgaactgg caggcggtgg 20

<210> 613

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 613

tggagctggg cggagaccca 20

<210> 614

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 614

actggagctg ggcggagacc

20

<210> 615

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 615

gactggagct gggcggagac

20

<210> 616

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 616

aggactggag ctggcggag

20

<210> 617

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 617

acagggactgg agctggcgg

20

<210> 618

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 618

cacaggactg gagctggcgc	20
<210> 619	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 619	
tcacaggact ggagctggcgc	20
<210> 620	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 620	
gcctcagcct ggccgaaaga	20
<210> 621	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 621	
ggcctcagcc tggccgaaag	20
<210> 622	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 622	
tggtgagcc aagccctccc	20
<210> 623	

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 623

gggcaccctc agagcctgaa

20

<210> 624

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 624

accccaactgc aagaagtgg

20

<210> 625

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 625

gccccaggat gggaggatct

20

<210> 626

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 626

cataggacag agaaatgttg

20

<210> 627

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 627

tgctgacatt actctgcccc 20

<210> 628

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 628

taagccatgg ctctgagtca 20

<210> 629

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 629

agagaggcca tgggaggctg 20

<210> 630

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 630

ctggccctcc tggcttgccc 20

<210> 631

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 631

agctgccccca tgctggccct 20

<210> 632

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 632

gccccctggca gctgccccat 20

<210> 633

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 633

ctgtcggtcg cggccctggc 20

<210> 634

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 634

cgccgaacac ctgcctgtcg 20

<210> 635

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 635

cctcccaagtgcctggcacc

20

<210> 636

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 636

gcccctgtct gcaaagctgg

20

<210> 637

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 637

cccaaagttgtccctcctgg

20

<210> 638

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 638

acacccagaa gaacccaaag

20

<210> 639

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 639

ctgaccacaca	cggtctatag	20
<210>	640	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220>		
<223>	Synthetic oligonucleotide	
<400>	640	
tggccccagg	ccctggaaag	20
<210>	641	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220>		
<223>	Synthetic oligonucleotide	
<400>	641	
gacaaggcag	ctggcagaag	20
<210>	642	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220>		
<223>	Synthetic oligonucleotide	
<400>	642	
aagaaaccag	tgaccagtga	20
<210>	643	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220>		
<223>	Synthetic oligonucleotide	
<400>	643	
ctgtgaaatg	ggaggaggag	20
<210>	644	

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 644

gaaggtttt ccagaggctg

20

<210> 645

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 645

ggccaggaga gtcattaggg

20

<210> 646

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 646

ccacaaaagg agtgctcctc

20

<210> 647

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 647

cctttaagg cagcaggaac

20

<210> 648

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 648

ctaggactgt ctgcttccca 20

<210> 649

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 649

gtcattcatc aatttctaag 20

<210> 650

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 650

ggaggagctg cagccggaga 20

<210> 651

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 651

gcacccggag gagctgcagc 20

<210> 652

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 652

gcacgacacc tgcagggcac 20

<210> 653

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 653

agctcaccag gtagttctca 20

<210> 654

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 654

gcttcctctc cccacccct 20

<210> 655

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 655

gcagcacccc caatccatg 20

<210> 656

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 656

gccccctatc cacctgacac

20

<210> 657

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 657

ttccaggtaa gagacccccc

20

<210> 658

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 658

agaataggta ccagacactc

20

<210> 659

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 659

ctccccctga gatgttctgg

20

<210> 660

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 660

ccccagccca gagataacca	20
<210> 661	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 661	
cctgatccat cacggatggc	20
<210> 662	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 662	
tactccatga ccaggtactg	20
<210> 663	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 663	
gctctgacct tccaagaacc	20
<210> 664	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 664	
ctcccttctg tggtccacc	20
<210> 665	

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 665

gtcgggttg atgtccctgc

20

<210> 666

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 666

aggcactgg ctacccgttc

20

<210> 667

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 667

ggccctcct tccaaccact

20

<210> 668

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 668

gcccacccct ctggggccac

20

<210> 669

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 669

aggaggcagag cgaggcttgg 20

<210> 670

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 670

cacctttag tggacgatct 20

<210> 671

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 671

ctacccggcc cccgctcacc 20

<210> 672

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 672

ctaggtaact gctgggtcct 20

<210> 673

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 673

ctcagatgc tccccactcc 20

<210> 674

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 674

aattctctaa ttctctagac 20

<210> 675

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 675

tacctgaggg ccatgcagga 20

<210> 676

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 676

gttccaagac tgatcctgca 20

<210> 677

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 677

aggagggcgg tggcgccgcg

20

<210> 678

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 678

tgacagctgg aaggagaaga

20

<210> 679

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 679

catggaaagg tggatccgtg

20

<210> 680

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 680

ggaggttatac tagggagatc

20

<210> 681

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 681

gaagggacag gtgacccgat	20
<210> 682	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 682	
cgtaccctgg cagggagcag	20
<210> 683	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 683	
ggactcgccc cgcctacgcc	20
<210> 684	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 684	
ctcctggac tcgccccgcc	20
<210> 685	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 685	
gctcctggaa ctgcggccgc	20
<210> 686	

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 686

atggctcct gggactcgcc

20

<210> 687

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 687

gattggctcc tgggactcgc

20

<210> 688

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 688

gcctctgatt ggctcctggg

20

<210> 689

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 689

gcatggcct ctgattggct

20

<210> 690

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 690

caccggcat gggctctga 20

<210> 691

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 691

gccaggccta gggacctgcg 20

<210> 692

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 692

ttcctcccc aaccctgatt 20

<210> 693

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 693

aagttgcag caactttct 20

<210> 694

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 694

gccccctcgga attcccgct 20

<210> 695

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 695

catctcgcc tgcgctccgc 20

<210> 696

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 696

gcagggcccc acattccca 20

<210> 697

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 697

cttctgcacg cctccgtctc 20

<210> 698

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 698

tggcccacag ccacggccgg

20

<210> 699

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 699

ggcctggccc caccagcggg

20

<210> 700

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 700

cctggcaggg agcagcaggt

20

<210> 701

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 701

cagccgcact tcggctgaca

20

<210> 702

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 702

gcctgggtcc agcaccagct	20
<210> 703	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 703	
gtcccaaggaa gcctgggtcc	20
<210> 704	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 704	
cgttagcagg tccccggcca	20
<210> 705	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 705	
gtctatggcc atgacaatct	20
<210> 706	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 706	
gtagcccagc cggtgcacgg	20
<210> 707	

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 707

gggtgccac agccaccagc

20

<210> 708

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 708

tggcccgtag ctgcctgcc

20

<210> 709

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 709

ggaaatcacc tgccccac

20

<210> 710

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 710

ggatgttct ggaaatcacc

20

<210> 711

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 711

gtggcaccct cgaagtctgg 20

<210> 712

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 712

ccccgctcac catggcagtg 20

<210> 713

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 713

ggtccgggac ctgattgtct 20

<210> 714

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 714

gctgcatgtc tgcccgccc 20

<210> 715

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 715

ggccccagaa ccctagctgc 20

<210> 716

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 716

tcacaggccc tggtgc 20

<210> 717

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 717

ggctgacatg ttggcaggc 20

<210> 718

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 718

tgtccaggcc ccagaaccct 20

<210> 719

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 719

ggccaggcct agggatctgc

20

<210> 720

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 720

cgccctggat aggccaggcc

20

<210> 721

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 721

ggcttggagt cttagggttc

20

<210> 722

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 722

tccccggccg ccaggtggca

20

<210> 723

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 723

ggtgctggc acgagccctg	20
<210> 724	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 724	
gcccagctgc tgcatcagcg	20
<210> 725	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 725	
cggtgtgtgc tggcagaggt	20
<210> 726	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 726	
ataaataccg aggaatgtcg	20
<210> 727	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 727	
gggacagaca ataaataccg	20
<210> 728	

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 728

gtgcagccca gtgtggcggc

20

<210> 729

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 729

cctggagaag ttctgggg

20

<210> 730

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 730

ggtagccgat tcggagccca

20

<210> 731

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 731

agctggagat agaaggacaa

20

<210> 732

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 732

gtgagggact cgcctgcggc

20

<210> 733

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 733

gcggctgcgg tgccccagcc

20

<210> 734

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 734

ggccatcta gctggagaga

20

<210> 735

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 735

ccccactgca agaagtccgc

20

<210> 736

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 736

ttgagcctt ttaaggcagc 20

<210> 737

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 737

tgaccaggt a ctgggagcgg 20

<210> 738

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 738

cctggagctg gatcagtccc 20

<210> 739

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 739

acatggaa g tggatccgt 20

<210> 740

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 740

gtgggacata ccctggcagg

20

<210> 741

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 741

gccaggccta gggatctgca

20

<210> 742

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 742

ggaagcacga cacctcgccct

20

<210> 743

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 743

cctaccatt ccatcaggct

20

<210> 744

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 744

cggcagcgac aagtgttccc	20
<210> 745	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 745	
gtctctgaag gccatgcagc	20
<210> 746	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 746	
cagccacttg atccgggtggg	20
<210> 747	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 747	
aggtcgccct cttcagccac	20
<210> 748	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 748	
gttgctgga gaagttctgg	20
<210> 749	

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 749

ccccgtgatg gctgcggctc

20

<210> 750

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 750

aggccaggcc tagggatcct

20

<210> 751

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 751

ggcgcggtgtc cccagcctgg

20

<210> 752

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 752

gtcctggccc caccagcggg

20

<210> 753

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 753

ccaggcctag gaatcctggc 20

<210> 754

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 754

gcccctcgga tagccaggcc 20

<210> 755

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 755

cccagtgtgg cgcagcagcc 20

<210> 756

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 756

gtgtttcatc ttccaccaccc 20

<210> 757

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 757

aggtcagcct cticagccac 20

<210> 758

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 758

ggccatatgg gaaggtggat 20

<210> 759

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 759

ggaggatttg gcgagaagca 20

<210> 760

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 760

cgaagtctgc cccacctcga 20

<210> 761

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 761

gtggcaccct cgaagtctgc

20

<210> 762

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 762

gggtccattg taaggaagct

20

<210> 763

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 763

ggtgccaca gccaccaggg

20

<210> 764

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 764

tccatggcag tgagccggc

20

<210> 765

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 765

gggaccacctt gatccgggtgg	20
<210> 766	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 766	
ggatcagagt tgggaccact	20
<210> 767	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 767	
ccccgtgatg gctgcggttc	20
<210> 768	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 768	
gtgtgtcctc atacccggcc	20
<210> 769	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 769	
gcaccctcga agtctcgacc	20
<210> 770	

<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 770	
gctctgaagg ccatgcagca	20
<210> 771	
<211> 25	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Primer	
<400> 771	
gacatatgcc aagattgtgc actac	25
<210> 772	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Primer	
<400> 772	
cacgaatgag gtcctgagct t	21
<210> 773	
<211> 22	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Probe	
<400> 773	
aacacttgtc gctgccgctg gc	22
<210	
> 774	
<211> 20	

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 774

agcgaggctt cacttggcgc

20

<210> 775

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 775

gggaagcgag gcttcaacttg

20

<210> 776

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 776

gcggtcagcg atcccagggt

20

<210> 777

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 777

gggtgccagc gcggtgatct

20

<210> 778

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 778

tgttacaag aaagtgactg 20

<210> 779

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 779

cgatggcagc aacggaagtt 20

<210> 780

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 780

gtcagtttac gatggcagca 20

<210> 781

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 781

caggctttgc tttcgaaaaaa 20

<210> 782

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 782	
ccatttctt ccacaggct	20
<210> 783	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 783	
atgcttcttc aagtttcca	20
<210> 784	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 784	
cagaatgact ttaatgcttc	20
<210> 785	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Primer	
<400> 785	
ccaccgcaaa tgcttctaga c	21
<210> 786	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Primer	
<400> 786	

cccccccat gagaagattc	20
<210> 787	
<211> 24	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Probe	
<400> 787	
ctccacctcc agcacgcgac ttct	24
<210> 788	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 788	
gcggtcagcg atccagggt	20
<210> 789	
<211> 25	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 789	
agcagcagca gcagcagcag cagca	25
<210> 790	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 790	
agcagcagca gcagcagcag	20
<210> 791	

<211> 15

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 791

gcagcagcag cagca

15

<210> 792

<400> 792

000

<210> 793

<211> 2611

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 793

cgggaaagacc ccgagctccg gcccggggag gggccatggt gttgcctgcc caacatgtca 60

gccgaagtgc ggctgaggca gctccagcag ctggtgctgg acccaggctt cctgggactg 120

gagccccctgc tcgaccttct cctgggcgtc caccaggagc tgggtgcctc tcacctagcc 180

caggacaagt atgtggccga cttcttgcag tgggtggagc ccattgcagc aaggcttaag 240

gaggtccgac tgcagaggga tgattttagg attttgaagg tgcgtggcg tggggcggttc 300

agcgaggtag cggtggtgaa gatgaaacag acgggccaag tgcgtccat gaagattatg 360

aataagtggg acatgctgaa gagaggcag gtgtcgtgct tccggaaaga aaggatgt 420

ttatgtgaaag gggaccggcg ctggatcaca cagctgcact ttgccttcca ggtgagaac 480

tacctgtacc tggcatgga atactacgtg ggcggggacc tgctaacgct gctgagcaag 540

tttggggagc ggtatccccgc cgagatggct cgcttctacc tggccgagat tgtcatggcc 600

atagactccg tgcacccggct gggctacgtg cacagggaca tcaaaccaga taacattctg 660

ctggaccgat gtgggcacat tcgcctggca gacttcggct cctgcctcaa actgcagcct 720

gatggaatgg tgaggtcgct ggtggctgtg ggcaccccg actacctgtc tcctgagatt 780

ctgcaggccg ttggtgagg gcctggggca ggcagctacg ggccagagtg tgactggtg 840

gcactggcg tttcaccta tgagatgttc tatggcaga ccccttcta cgccgactcc 900

acagccgaga catatccaa gattgtgcac tacagggAAC acttgcgt ggcgtggca 960

gacacagttg tccccgagga agctcaggac ctcattcgtg ggctgctgtc tcctgctgag 1020

ataaggctag gtcgaggtgg ggcagacttc gagggtgccca cgacacatg caatttcgat 1080
 gtggtgagg accggctcac tgccatggtg agcgaaaaa gggagacgct gtcagacatg 1140
 caggaagaca tgcccttgg ggtgcgcctg ccctcgatg gctactccta ctgctgcatt 1200
 gccttcagag acaatcaggt cccggaccc acccctatgg aactagaggc cctgcagg 1260
 cctgtgtcag acttgcaagg gcttgacttg cagccccag tgtccccacc ggtcaagt 1320

gctgaagagg ctgacctagt ggctgtccct gcccctgtgg ctgaggcaga gaccacgta 1380
 acgctgcagc agctccagga agccctggaa gaagaggatc tcacccggca gaggcctgagc 1440
 cgcgagctgg aggccatccg gaccgccaac cagaacttct ccagccaaact acaggaggcc 1500
 gaggtccgaa accgagacct ggaggcgcgt gttcggcagc tacaggaacg gatggagatg 1560
 ctgcaggccc caggagccgc agccatcagc ggggtccccca gtccccggc cacggatcca 1620
 ccttccatc tagatggccc cccggccgtg gctgtggcc agtgcgcgt ggtggggcca 1680
 ggccccatgc accggcgta cctgctgctc cctgcagga tccctaggcc tggctatcc 1740
 gagggcgcgtt gcctgctcct gttcgccgtc gctctggctg ctgcggccac actggctgc 1800

actgggttgg tggctatac cggcggtctc accccagttt ggtgtttccc gggagccacc 1860
 ttcggccctt gaaccctaag actccaagcc atcttcatt taggcctcct aggaaggatcg 1920
 agcgaccagg gagcgaccca aagcgatctc gtgcccattcg ccccccccccccccc 1980
 gctccgctcc acacttctgt gaggctgggt ccccaacccag ctccgctcct gtatccagg 2040
 cctggccacctt ggcggccggg gagggaggaa cagggtcgat gcccagcacc cctggcttcc 2100
 gcagagctgg tagccaccgc tgctgcagca gctggcatt cggccaccc ttacttactca 2160
 gccccgacgt ggtatggccaa actgctcagc tcatccgatt tcaacttttc actctcccg 2220
 ccatcagtttta caagccataa gcatgagccc cctatttcca gggacatccc attcccatag 2280

tggatggatca gcaagaccc tggccagcaca cacggatct ttggcttcgg acaggctcac 2340
 tcctgggggt tgctgcaact cttcccccgt gtacacgtct gcactctaacc aacggagcca 2400
 cagctgcact cccccctccc ccaaaaggat gtgggtatattt attgatcttgg ttatctact 2460
 cactgacaga ctccggacc cacgttttag atgcatttag actcgacatt cctcggtatt 2520
 tattgtctgtt ccccacccatc gacccatccact cccgaccctt gcaataaaa tacttctgtt 2580
 ctgcctaaa aaaaaaaaaaaaaaaa aaaaaaaaaaaa a 2611

<210> 794

<211> 988

<212> DNA

<213> Mus musculus

<220>

<221> misc_feature

<222> 531, 942

<223> n = A,T,C or G

<400> 794

gctggaccgg tccggaattc tccggatcg cagccttgtt gggccatatt cgtcatccct 60
 cctggcttct catctgcttt tgtggtccta gctcaagacc tctaattcct ctgctgactt 120
 aaatgccctt ccccaaggg ttttcaggc ctagtggaca agcttggagc cttatctgt 180
 cctggccaaac attgagccaa agctccagct tacccagct tccttacaat ggaccccatt 240
 gcagcaaggc tttaaggaggt ccgactgcag agggatgatt tttagatttt gaagggtgatc 300
 gggcgtgggg ctttcagcga ggtagcggtg gtgaagatga aacagacggg ccaagtgtat 360
 gccatgaaga ttatgaataa gtgggacatg ctgaagagag gcgagggtgtc gtgctccgg 420

gaagaaaaggg atgtattagt gaaaggggac cggcgtgga tcacacagct gcactttgcc 480
 ttccaggatg agaactacct gtacctggtc atggaataact acgtggcgg ngacctgcta 540
 acgctgtga gcaagtttg gggagcggat ccccgccgag atggctcgct tctacctggc 600
 cgagattgtc atggccatag actccgtgca ccggctggc tacgtcaca gggacatcaa 660
 accagataac attctgctgg accgatgtgg gcacattcgc ctggcagact tcggctcctg 720
 gcctcaactg cagcctgatg gaatggtgga gtccctggt ggctgtggc acccccggac 780
 tacctgtctc ctgaaattct gcagggcctt ggtggaggc cctgggaag gcaactacgg 840
 gccaaaagtt ggaagggggg ggcctgggg gggttccct atgaaaagtt ctatgggag 900

gaccccttt aagcgaatc ccaggccgaa aaatatgccc angattggc cctaacaggg 960
 aaaactttc ccctgcccct gggacaat 988

<210> 795

<211> 649

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 795

ggcgtgttcg cctatgagat gttctatggg cagacccct tctacgcgga ctccacagcc 60
 gagacatatg ccaagattgt gcactacagg gaacacttgt cgctgccgct ggcagacaca 120
 gttgtcccg aggaagctca ggacctcatt cgtggctgc tggcctgc tgagataagg 180
 cttagtgcag gtggggcagg tgattccag aaacatcctt tcttcttgg ctttgattgg 240
 gagggtctcc gagacagtgt acccccctt acaccagact tcgagggtgc cacggacaca 300

tgcaatttcg atgtggtgga ggaccggctc actgccatgg agacgctgtc agacatgcag 360
 gaagacatgc cccttgggt gcgcctgcc ttcgtggct actcctactg ctgcattggcc 420
 ttcagagaca atcaggccc ggacccacc cctatgaaac tagaggccct gcagttgcct 480
 gtgtcagact tgcaaggcgt tgacttgcag ccccccagtgt ccccacccga tcaagttgtc 540
 ccaactctga tccccaccga caggctgaag aggctgaccc agtggctgtc cctggccctg 600
 tggctgaggc agagccacgg taacgctgca gcagctccag gaagccctg 649

<210> 796

<211> 527

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 796

atttcgatgt ggtggaggac cggctcactg ccatggtgag cggggggcggg gagacgtgt 60

cagacatgca ggaagacatg ccccttgggg tgccctgcc ctgcgtggc tactcctact 120
 gctgcattggc cttcagagac aatcagggtcc cggacccac ccctatggaa cttagaggccc 180
 tgcgttgcc tttgtcagac ttgcaaggcgt ttgacttgcg gccccagtg tccccaccgg 240
 atcaagtggc tgaagaggct gacctagtgg ctgtccctgc ccctgtggct gaggcagaga 300
 ccacggtaac gctgcagcag ctccaggaag ccctggaaaga agaggttctc accccggcaga 360
 gcctgagccg cgagctggag gccatccggc cggccaaacca gaacttctcc aggaggccga 420
 ggtccgaaac cgagacctgg aggcgcgttg tcggcagcta caggaacggc tggagatgt 480
 gcaggccccca ggaaccgcag ccatcacggg ggtccccagt ccccccgg 527

<210> 797

<211> 567

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 797

atggtgaggc cgctggtgcc tggggcacc cggactacc tgcgtccatg gattctgcag 60
 gcccgttggc gaggccctgg ggcaggcagc tacggccagc agtgtgactg gtggcactg 120
 ggcgtgttcg cctatgagat gttctatggc cagacccct tctacggcga ctccacagcc 180
 gagacatatg ccaagattgt gcaactacagg gaacacttgt cgctgcccgt ggcagacaca 240
 gttgtccccg aggaagctca ggacccatt cgtggcgtgc tgcgtccatg tgagataagg 300
 ctaggtcgag gtggggcagg tgattccag aaacatccct tcttcttgg cttgtattgg 360
 gagggctcc gagacagtgt accccctt acaccagact tcgagggcgtc cacggacaca 420

tgcaatttcg atgtggtgga ggaccggctc actgccatgg tgagcggggg cgggtatga 480
 ggacacacag gtgaccagtc cccaagacag tgagtgaggc ttcaactcttgc cagactaa 540
 aattgaatgt aggggctgg gcttttgc 567

<210> 798

<211> 2474

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 798

ccgggaagaa agggatgtat tagtgaaagg ggaccggcgc tggatcacac agctgcactt 60
 tgccttccag gaigagaact acctgtacctt ggtcatggaa tactacgtgg gcggggacct 120
 gctaacgctg ctgagcaagt ttggggagcg gatccccgc gagatggctc gcttctacct 180
 ggccgagatt gtcatggcca tagactccgt gcacccggctg ggctacgtgc acagggacat 240

caaaccagat aacattctgc tggaccgatg tggcacatt cgcctggcag acttcggctc 300
 ctgcctcaaa ctgcagccctg atggaatggt gaggtcgctg gtggctgtgg gcaccccgga 360
 ctacccgtct cctgagatcc tgcaggccgt tggtgaggc cctggggcag gcagctacgg 420
 gccagagtgt gactgggtgg cactgggcgt gttcgctat gagatgttct atggcagac 480
 ccccttctac gggactcca cagccgagac atatccaag attgtcact acaggaaaca 540
 cttgtcgctg ccgctggcag acacagttt ccccgaggaa gtcaggacc tcattcggtgg 600
 gctgctgtgt cctgctgaga taaggctagg tcgagacttc gagggtgccca cggacacatg 660
 caatttcgat gtggtgagg accggctac tgccatggtg agcggggcgc gggagacgct 720

gtcagacatg caggaagaca tgccccttgg ggtgcgcctg cccttcgtgg gctactctta 780
 ctgctgcatg gccttcagag acaatcaggc cccggacccc acccctatgg aactagaggc 840
 cctgcagtttgc cctgtgtcag acttgcaagg gcttgaacttgc cagccccag tgtccccacc 900
 ggatcaagtgc gctgaagagg ccgacctagt ggctgtccct gcccctgtgg ctgaggcaga 960
 gaccacggta acgtgcagc agtccagga agccctggaa gaagagggttc tcacccggca 1020
 gagcctgagc cgcgagctgg aggcacatccg gaccgccaac cagaacttct ccagccaaact 1080
 acaggaggcc gaggtccgaa accgagacct ggaggcgcattt gttcgccagc tacaggaacg 1140
 gatggagatg ctgcaggccc caggagccgc aggcgagttcc ctcacccgtct tccagccaaag 1200

ggggcactgg gtggagatgg gggcatgtt ggggtgtga accctcgggg caggggagga 1260
 gtccaggctg gggcaccgca gcccgcac tgccttcctc ctcacatctc cacactccat 1320
 acacccctctt cttctcccttgc cagccatcac ggggtcccc agtccccggg ccacggatcc 1380
 acctcccat gcttctcgcc aaatccccc caaggaaact ccctagactc ccgttctggc 1440

ctcgactaga ttccgcact gcctctgcc ctgctgctgg gctcgatcg ggtcacctgt 1500
 cccttctctc tccagctaga tggcccccgg gccgtggctg tggccagtg cccgctggtg 1560
 gggccaggcc ccatgcaccc cggtcacctg ctgctccctg ccaggatccc taggcctggc 1620
 ctatccgagg cgcttgcct gctccgttc gccgctgctc tggctgtgc cgccacactg 1680

ggctgcactg gggtgggtgc ctataccggc ggtctcaccc cagtctggtg tttccggga 1740
 gccacacctcg cccctgaac cctaagactc caagccatct ttcatttagg cctcttagga 1800
 agatcgagcg accaggggagc gacccaaagc gtctctgtgc ccatcgcccc ccccccccc 1860
 cccaccgctc cgctccacac ttctgtgagc ctgggtcccc acccagctcc gtcctgtga 1920
 tccaggcctg ccacctggcg gccggggagg gaggaacagg gtcgtgccc agcacccctg 1980
 gttcctgcag agctggtagc caccgctgct gcagcagctg ggcattcgcc gaccttgcct 2040
 tactcagccc tgacgtggat gggctaactg ctcagctcat ccgatttcac ttttcaactc 2100
 tcccagccat cagttacaag ccataagcat gagcccccta tttccaggga catcccatc 2160

ccatagtgtat ggatcagcaa gacctctgcc agcacacacg gagtctttgg ctggacag 2220
 cctcactcct ggggttgct gcaactcctt cccctgtac acgtctgcac tctaacaacg 2280
 gagccacagc tgcactcccc cctcccaa agcagtgtgg gtatttattg atcttgttat 2340
 ctgactcact gacagactcc gggacccacg ttttagatgc attgagactc gacattcctc 2400
 ggtatttattt gtctgtcccc acctacgacc tccactcccg acccttgcga ataaaatact 2460
 tctggctgc ccta 2474

<210> 799

<211> 2135

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 799

ccggaaagaa agggatgtat tagtgaagg ggaccggcgc tggatcacac agtcacatt 60

tgccttccag gatgagaact acctgtacct ggtcatggaa tactacgtgg gcggggacct 120
 gctaacgctg ctgagcaagt ttggggagcg gatcccccc gagatggctc gcttctacct 180
 ggccgagatt gtcatggcca tagactccgt gcacccggctg ggctacgtgc acagggacat 240
 caaaccagat aacattctgc tggaccgatg tggcacatt cgcctggcag acttcggctc 300
 ctgcctaaa ctgcagccctg atggaatggt gaggtcgctg gtggctgtgg gcacccggaa 360
 ctacctgtct cctgagattc tgcaggccgt tggtgaggc cctggggcag gcagctacgg 420
 gccagagtgt gactggtggg cactggccgt gttcgctat gagatgttct atggcagac 480

ccccttctac gcggactcca cagccgagac atatccaag attgtgcact acaggaaaca 540

cttgcgtcg ccgcgtggcag acacagttgt ccccgaggaa gctcaggacc tcattcgtgg 600
 gctgcgtgtgt cctgcgtgaga taaggctagg tcgaggtggg gcaggtgatt tccagaaaca 660
 tcctttcttc ttggccttg attgggaggg tctccgagac agtgtacccc ccttacacc 720
 agacttcgag ggtgccacgg acacatgaa ttgcgtgtg gtggaggacc ggctcactgc 780
 catggagacg ctgtcagaca tgcaggaaga catgcccctt ggggtgcgc tgcctcgt 840
 gggctactcc tactgctgca tggccttcag agctgaagag gccgacttag tggctgtccc 900
 tgccctgtg gctgaggcag agaccacggt aacgctgcag cagctccagg aagccctgga 960
 agaagaggta ctacccggc agagccctgag ccgcgagctg gaggccatcc ggaccgcca 1020

ccagaacttc tccagccaac tacaggaggc cgaggtccga aaccgagacc tggaggcga 1080
 tggtcggcag ctacaggaac ggatggagat gctgcaggcc ccaggagccg cagccatcac 1140
 ggggtcccc agtccccggg ccacggatcc accttccat atggccccc ggcgcgtggct 1200
 gtggccact gcccgttgtt gggccagcc cccatgcacc gccgtcacct gctgtccct 1260
 gccaggatcc ctaggcctgg cctatccgag gcgcgttgc tgcgttgtt cgccgtgtct 1320
 ctggctgtg cggccacact gggctgcact gggttgggtt cctataccgg cggtctcacc 1380
 ccagtcttgtt gttcccgaa agccacccctt gccccctgaa ccctaagact ccaagccatc 1440
 tttcatttag gcctccttagg aagatcgagc gaccaggag cgacccaaag cgtctctgtg 1500

cccatcgccc cccccccccc ccccacccgt ccgcgtccaca cttctgtgag cctgggtccc 1560
 caccaggctc cgccctgtg atccaggccct gccacccgtgc ggccggggag ggaggaacag 1620
 ggctcgtgcc cagcacccct ggtcctgca gagctggtag ccaccgtgc tgcagcagct 1680
 gggcattcgc cgacccgttgc ttactcagcc ctgacgtgga tgggctact gctcagctca 1740
 tccgatttca cttttcaact ctcccagcca tcagttacaa gccataagca tgagccccc 1800
 atttccaggc acatcccatt cccatagtgaa tggatcagca agacctctgc cagcacacac 1860
 ggagtctttg gctcggaca gcctcactcc tgggggttgc tgcacttcc tccccgtgt 1920
 cacgtctgca ctctaaacaac ggagccacag ctgcactccc ccctccccc aagcagtgtg 1980

ggtattttt gatcttggta tctgactcac tgacagactc cgggacccac gtttttagatg 2040
 cattgagact cgacattccct cggatattat tgtctgtccc cacctacgac ctccactccc 2100

gacccttgcg aataaaatac ttctggctg cccta 2135

<210> 800

<211> 2873

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 800

aggggggctg gaccaagggg tggggagaag gggaggaggc ctggccggc cgagagaga 60
 agtggccaga gaggcccagg ggacagccag ggacaggcag acatgcagcc agggctccag 120
 ggcctggaca gggctgcca ggcctgtga caggaggacc ccgagcccc ggcggggga 180
 gggccatgg tgctgcctgt ccaacatgtc agccgagggtg cgctgaggc ggctccagca 240

gctgggtttg gacccggct tcctgggct ggagccctg ctgcaccc 300
 ccaccaggag ctggcgccct ccgaactggc ccaggacaag tacgtggccg acttcttgca 360
 gtggcgagg cccatcgtag tgaggctaa ggaggccga ctgcagagg acgacttcga 420
 gattctgaag gtgatcgac gcggggcggt cagcgaggta gcggtagtga agatgaagca 480
 gacggccag gtgtatgcca tgaagatcat gaacaagtgg gacatgtga agagggcgaa 540
 ggtgtcgac ttccgtgagg agagggacgt gttggtaat ggggaccggc ggtggatcac 600
 gcagctgcac ttgccttcc aggtgagaa ctacctgtac ctggcatgg agtattacgt 660
 gggcggggac ctgctgacac tgctgagcaa gtttgggag cgattccgg ccgagatggc 720

gcgttctac ctggcgaga ttgtcatggc catagactcg gtgcaccggc ttggctacgt 780
 gcacaggac atcaaaccgg acaacatct gctggaccgc tgtggccaca tccgcctggc 840
 cgacttcggc tcttcctca agtgcgggc agatgaaacg gtgcggcgc tggtggctgt 900
 gggcacccca gactacctgt ccccgagat cctgcaggct gtggcggtg ggcctggac 960
 aggcaactac gggcccgagt gtgactggtg ggcgtgggt gtattcgct atgaaatgtt 1020
 ctatggcgag acgccttct acgcggattc cacggcgag acctatggca agatcgcca 1080
 ctacaaggag cacctcttc tgccgctgtt ggacgaaggg gtccctgagg aggctcgaga 1140
 cttcattcag cggttgctgt gtcccccggaa gacacggctg ggccgggggtg gagcaggcga 1200

cttcggaca catcccttct tctttggct cgactggat ggtctccggg acagcgtgcc 1260
 ccccttaca ccggatttcg aaggtgccac cgacacatgc aacttcgact tggggagga 1320
 cgggctact gccatggaga cactgtcgga cattcgaa ggtgcggcgc taggggtcca 1380
 cctgcctttt gtggctact cctactcctg catggccctc agggacagtg aggtcccagg 1440
 ccccacaccc atgaaactgg aggccgagca gctgctttag ccacacgtgc aagcgcccg 1500
 cctggagccc tcgggttccc cacaggatga aacagctgaa gtggcagttc cagcggtgt 1560
 ccctgcggca gaggctgagg ccgaggtgac gctgcggag ctccaggaag ccctggagga 1620
 ggaggtgtc acccggcaga gcctgagccg ggagatggag gccatccgca cggacaacca 1680

gaacttcgcc agtcaactac gcgaggcaga ggctcgaaac cggacactag aggcacacgt 1740

ccggcagttg caggagcggta tggagttgtc gcagggcagag ggagccacag ctgtcacggg 1800
 ggtccccagt ccccgccca cggatccacc ttcccatatg gccccccggc cgtggctgtg 1860
 ggccagtgcc cgctggtggg gccaggcccc atgcaccgcc gccacctgtc gtcctgcc 1920
 agggtcccta ggcctggcct atcggaggcg ctttccctgc tcctgttcgc cgttgcgtg 1980
 tctcgtgccg ccgcctggg ctgcattggg ttggtgccca acgcccggca actcaccgca 2040
 gtctggcgcc gcccaggagc cgcccgccgt ccctgaaccc tagaactgtc ttgcactccg 2100
 gggccccgtt ggaagactga gtgcccggg cacggcacag aagccgcgcc caccgcctgc 2160

cagttcacaa ccgctccgag cgtgggtctc cgcccgactc cagtcctgtc atccggggcc 2220
 gccccctagc gcccggggag ggagggggccg ggtccgcggc cggcgaacgg ggctcgaagg 2280
 gtcctttag cccggaaatgc tgctgtgtc gctgctgctg ctgctgtgc tgctgtgtc 2340
 gctgctgtc ctgctgtgg ggggatcaca gaccattttt ttcttcggc caggctgagg 2400
 ccctgacgtg gatgggcaaa ctgcaggccct ggaaaggcag caagccggc cgtccgtgtt 2460
 ccatcctcca cgcaccccca cctatcggtt gttcgaaag tgcaaagctt tcttgtcat 2520
 gaccccctgc tctggggagc gtctggcgcc atctctgcct gcttactcgaa gaaatttgc 2580
 tttgccaac ccgttttcc ggggatcccg cgcccccctc ctactgtgc ctgcctcg 2640

agccccagcc ggctccgccc gttcgccgg tttggatatt tattgacctc gtcctccgac 2700
 tcgctgacag gctacaggac ccccaacaac cccaaatccac gtttggatg cactgagacc 2760
 ccgacattcc tcggattttt ttgtctgtcc ccacctagga cccccacccc cgaccctcgc 2820
 gaataaaagg ccctccatct gccccaaaaaa aaaaaaaaaaa aaaaaaaaaaa aaa 2873

<210> 801

<211> 1509

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 801

ccacccgcgc ggacagcgcc aagtgaagcc tcgcttcccc tccgcggcga ccagggcccg 60
 agccgagagt agcagttgtta gctacccgccc cagaaacttag acacaatgtc cgacgaagac 120
 gagaccaccc cgccctgtgtc cgacaatggc tccggcctgg tggaaagccgg cttcgccggg 180

gatgacgccc cttagggccgt gttcccggtcc atcggtggcc gccccgaca ccagggcgtc 240
 atggtcggta tgggtcagaa agattcctac gtgggcgcacg aggctcagag caagagaggt 300
 atcctgaccc tgaagtaccc tatcgagcac ggcacatcatca ccaactggga tgacatggag 360
 aagatctggc accacacccctt ctacaacgcg cttcgctgg ctcccgagga gcacccacc 420
 ctgctcaccg agggcccccctt caatcccaag gccaaccgcg agaagatgac ccagatcatg 480

ttttagacct tcaacgtgcc cgccatgtac gtggccatcc agggcgtgct gtcctctac 540
 gcctccggca ggaccacccg catcgtgctg gactccggcg acggcgtaac ccacaacgtg 600
 cccatattatg aggctacgc gctgccgcac gccatcatgc gcctggacct ggcggccgc 660

gatctcaccg actacctgat gaagatcctc actgagcgtg gctactcctt cgtgaccaca 720
 gctgagcgcg agatcgtcg cgacatcaag gagaagctgt gctacgtgac cctggacttc 780
 gagaacgaga tggcgacggc cgccctctcc tcctccctgg aaaagagcta cgagctgcca 840
 gacgggcagg tcatcaccat cgccaacgag cgcttccgt gcccggagac gctttccag 900
 ccctccctca tcggtatgga gtcggcgccc attcagaga ccacctacaa cagcatcatg 960
 aagtgtgaca tcgacatcg gaaggacgt tatgccaaca acgtcatgtc gggggcacc 1020
 acgatgtacc ctgggatcgc tgaccgcgtg cagaaagaga tcaccgcgt ggcacccagc 1080
 accatgaaga tcaagatcat cgccccgcgc gagcgcacaaat actcggtgtg gatcgccggc 1140

tccatccctgg cctcgctgac caccttccag cagatgtgga tcaccaagca ggagtagc 1200
 gagggccggcc ctccatcgat ccacgcgtt tgcttctaga cacactccac ctccagc 1260
 cgacttctca ggacgacgaa ttttcaat gggggggcggt ctgagctcca gccacccgc 1320
 agtcaatttc ttgttaacaa cttccgttgc tgccatcgta aactgacaca gtgttataa 1380
 cgtgtacata cattaactta ttaccttattt ttgttatttt tcgaaacaaa gcccgtgga 1440
 agaaaaatgga aaacttgaag aagcattaaa gtcattctgt taagctgcgt aaaaaaaaaa 1500
 aaaaaaaaaa 1509

<210

> 802

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 802

gcagcagcag cagcagcag

19

<210> 803

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 803	
gcagcagcag cagcagcag	19
<210> 804	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 804	
agcagcagca gcagcagcag	20
<210> 805	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 805	
gcagcagcag cagcagca	18
<210> 806	
<211> 19	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 806	
agcagcagca gcagcagca	19
<210> 807	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 807	

agcagcagca gcagca

16

<210> 808

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 808

ctcccgacaa gctcca

16

<210> 809

<211> 14

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 809

tcccgacaag ctcc

14

<210> 810

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 810

gcttgacgt gtggct

16

<210> 811

<211> 14

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 811

cttgcacgtg tggc

14

<210> 812	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 812	
ggtttgtgaac tggcag	16
<210> 813	
<211> 14	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 813	
gttgtgaact ggca	14
<210> 814	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 814	
gagcggttgt gaactg	16
<210> 815	
<211> 14	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 815	
agcggttgt aact	14
<210> 816	
<211> 16	

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 816

gctgccttcc caggcc

16

<210> 817

<211> 14

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 817

ctgccttccc aggc

14

<210> 818

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 818

gcactttgcg aaccaa

16

<210> 819

<211> 14

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 819

cactttgcga acca

14

<210> 820

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 820

gaaagcttg cactt

16

<210> 821

<211> 14

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 821

aaagcttgc actt

14

<210> 822

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 822

cggaggacga ggtcaa

16

<210> 823

<211> 14

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 823

ggaggacgag gtca

14

<210> 824

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 824

agcctgtcag cgagt c

16

<210> 825

<211> 14

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 825

gcctgtcagc gagt

14

<210> 826

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 826

tcctgttagcc tgtcag

16

<210> 827

<211> 14

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 827

cctgttagcct gtca

14

<210> 828

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 828

gaagcgaggc ttcact	16
<210> 829	
<211> 14	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 829	
aagcgaggct tcac	14
<210> 830	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 830	
acctgcccggt ctggca	16
<210> 831	
<211> 14	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 831	
cctgccccgtc tggc	14
<210> 832	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 832	
ggtcagcgat cccagg	16

<210> 833

<211> 14

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 833

gtcagcgatc ccag

14

<210> 834

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 834

attttcttcc acaggg

16

<210> 835

<211> 14

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 835

ttttcttcca cagg

14

<210> 836

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 836

gaatgactt aatgct

16

<210> 837

<211> 14

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 837

aatgacttta atgc

14