	(19) 대한민국특허청(KR) (12) 공개특허공보(A)	(11) 공개번호 10-2018-0105730 (43) 공개일자 2018년09월28일
<p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.) A61K 31/7088 (2006.01) A61K 48/00 (2006.01) A61P 21/00 (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류 A61K 31/7088 (2013.01) A61K 48/00 (2013.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2018-7026597(분할)</p> <p>(22) 출원일자(국제) 2011년07월19일 심사청구일자 없음</p> <p>(62) 원출원 특허 10-2013-7003953 원출원일자(국제) 2011년07월19일 심사청구일자 2016년07월19일</p> <p>(85) 번역문제출일자 2018년09월13일</p> <p>(86) 국제출원번호 PCT/US2011/044555</p> <p>(87) 국제공개번호 WO 2012/012443 국제공개일자 2012년01월26일</p> <p>(30) 우선권주장 61/365,762 2010년07월19일 미국(US) (뒷면에 계속)</p>		<p>(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</p> <p>(72) 발명자 베네트, 씨., 프란크 미국 92008 캘리포니아주 칼스바드 루더포드 로드 1896 프리에르, 수잔, 엠. 미국 92008 캘리포니아주 칼스바드 루더포드 로드 1896 (뒷면에 계속)</p> <p>(74) 대리인 양영준, 김영</p>

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, 스폴라이소페시를 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

손톤, 찰스, 에이.

미국 14618 뉴욕주 로체스터 팔머스톤 로드 48

윌러, 투르만

미국 14623 뉴욕주 로체스터 돈카스터 로드 135

첸, 쉐, 에이치.

미국 01760 메사추세츠주 나틱 제니슨 서클 10

리거, 앤드류

미국 02118 메사추세츠주 보스턴 에이피티. 4 메사추세츠 예비뉴 565

웬트워스, 브루스, 엠.

미국 01532 메사추세츠주 노스보로 릿지 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 뉴클레오타이드 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, 스플라이스오패시(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.

배경 기술

[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 DMPK에서의 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 I에서, 이러한 수는 현저히 확장되고, 이는, 예를 들어, 50개 내지 3,500개 초과인 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 평균 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 향상시키고, 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; W02008/036406).

[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, 지연시키거나, 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, 스플라이스오페이스를 감소시키는 방법을 제공한다. CUGexp DMPK 전사물은 이의 핵에서의 보다 긴 체류 시간으로 인해 핵 리보뉴클레아제를 통한 안티센스 닥다운(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 W02008/036406호에 기재된 CAG-반복부 ASO와 같은 핵 리보뉴클레아제를 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 동통, 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, 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, 지연시키거나, 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 안 된다. 특히, 특허 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 특허, 출원, 공개된 출원 및 다른 출원, 미국 국립생물정보센터(NCBI)와 같은 데이터베이스를 통해 입수가 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'-O-메톡시에틸"(또한, 2'-MOE 및 2'-O(CH₂)₂-OCH₃)은 푸라노실 고리의 2' 위치의 O-메톡시-에틸 변형을 의미한다. 2'-O-메톡시에틸 변형된 당은 변형된 당이다.
- [0024] "2'-O-메톡시에틸 뉴클레오타이드"는 2'-O-메톡시에틸 변형된 당 모이어티를 포함하는 뉴클레오타이드를 의미한다.
- [0025] "5-메틸사이토신"은 위치 5에 부착된 메틸기로 변형된 사이토신을 의미한다. 5-메틸사이토신은 변형된 핵염기이다.
- [0026] "약"은 값의 $\pm 7\%$ 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 증감도는 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'-O-메톡시에틸 뉴클레오타이드를 갖는 영역은 2'-O-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 초과인 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] "회색제"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 핵산의 두번째 핵염기 서열 내에 상보적인 핵염기를 갖는 것을 의미한다. 특정 구체예에서, 첫번째 핵산은 안티센스 화합물이고, 표적 핵산은 두번째 핵산이다.
- [0054] "갭머"는 RNase H 절단을 지지하는 다수의 뉴클레오타이드를 갖는 내부 영역이 하나 이상의 뉴클레오타이드를 갖는 외부 영역 사이에 위치되는 키메라 안티센스 화합물을 의미하며, 상기 내부 영역을 포함하는 뉴클레오타이드는 외부 영역을 포함하는 뉴클레오타이드 또는 뉴클레오타이드들과 화학적으로 별개이다. 내부 영역은 "갭 세그먼트"로 언급될 수 있고, 외부 영역은 "윙 세그먼트"로 언급될 수 있다.
- [0055] "갭-확장된"은 1 내지 6개의 뉴클레오타이드를 갖는 5' 및 3' 윙 세그먼트 사이에 위치되고, 이에 바로 인접한 12개 이상의 연속적 2'-데옥시리보뉴클레오타이드의 갭 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 의학적력(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] "뉴클레오타이드간 결합"은 뉴클레오타이드 사이의 화학적 결합을 의미한다.
- [0061] "결합된 뉴클레오타이드"는 뉴클레오타이드간 결합에 의해 함께 결합되거나 연결되는 인접한 뉴클레오타이드를

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 뉴클레오타이드간 결합"은 자연 발생 뉴클레오타이드간 결합(즉, 포스포다이에스터 뉴클레오타이드간 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 피리미딘 염기 티민(T), 사이토신(C) 및 유라실(U)을 의미한다.
- [0065] "변형된 뉴클레오타이드"는 변형된 당 모이어티, 변형된 뉴클레오타이드간 결합 또는 변형된 핵염기를 독립적으로 갖는 뉴클레오타이드를 의미한다. "변형된 뉴클레오타이드"는 변형된 당 모이어티 또는 변형된 핵염기를 독립적으로 갖는 뉴클레오타이드를 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 리보뉴클레아제"는 핵에서 발견된 리보뉴클레아제를 의미한다. 핵 리보뉴클레아제는 RNase H1 및 RNase H2를 포함하는 RNase H, 이중 가닥의 RNase drosha 및 다른 이중 가닥의 RNase를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.
- [0071] "자연 발생 뉴클레오타이드간 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] "뉴클레오타이드"는 당에 결합된 핵염기를 의미한다.
- [0077] "뉴클레오타이드 모방체(mimetic)"는, 예를 들어, 모르폴리노, 사이클로헥세닐, 사이클로헥실, 테트라하이드로피라닐, 바이사이클로 또는 트라이사이클로 당 모방체, 예를 들어, 비 푸라노스 당 유닛을 갖는 뉴클레오타이드 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 뉴클레오타이드의 당 부분에 공유적으로 결합된 포스페이트 기를 갖는 뉴클레오타이드를 의미한다.
- [0079] "뉴클레오타이드 모방체"는, 예를 들어, 펩티드 핵산 또는 모르폴리노(모르폴리노는 -N(H)-C(=O)-O- 또는 다른 비-포스포다이에스터 결합에 의해 연결됨)와 같은 올리고머 화합물의 하나 이상의 위치의 뉴클레오타이드 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 뉴클레오타이드의 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 비해 CUGexp DMPK 대립유전자로부터의 RNA 전사물의 선택적 감소를 의미한다.
- [0089] "예방하다"는 수분 내지 무기탄의 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, 신장 기능 이상, 간 독성, 신장 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] "스플라이소오페시"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 전사물이 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, 스플라이스오패시를 감소시키는 방법을 제공하며, 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드는 동물에서 CUGexp DMPK RNA를 선택적으로 감소시키거나, 근육긴장증을 감소시키거나, 스플라이스오패시를 감소시킨다.
- [0108] 특정 구체예는 병원성 전사물의 절단을 유도함으로써 RNA 우세를 중화시키는 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 투여하는 방법을 제공한다.
- [0109] 특정 구체예는 *Serca1*의 스플라이스오패시를 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 스플라이스오패시를 감소시키는 방법을 제공한다. 특정 구체예에서, 본원에 제공된 방법은 엑손 5 봉입을 야기시킨다. 특정 구체예에서, 교정 스플라이싱은 앞정강근, 장딴지근 및 대퇴사두근에서 발생한다.
- [0111] 특정 구체예는 *Clcn1*의 스플라이스오패시를 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 스플라이스오패시를 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, 스플라이스오패시를 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 리보뉴클레아제 또는 핵 리보뉴클레아제를 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 리보뉴클레아제 또는 핵 리보뉴클레아제를 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 스플라이스오패시를 감소시킬 필요가 있는 피검체의 스플라이스오패시를 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 리보뉴클레아제 또는 핵 리보뉴클레아제를 활성화시킴으로써 스플라이스오패시를 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, 스플라이스오패시는 MBNL 의존성 스플라이스오패시이다.
- [0119] 특정 구체예에서, 상기 방법의 변형된 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 키메라 안티센스 올리고뉴클레오타이드이다. 특정 구체예에서, 상기 방법의 변형된 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 겹머이다.
- [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 리보뉴클레아제는 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 유전자는 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'-O-메톡시에틸, 또는 n이 1 또는 2인 4'-(CH₂)_n-O-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 데옥시뉴클레오타이드로 구성되는 겹 세그먼트; b) 결합된 뉴클레오타이드로 구성되는 5' 윙 세그먼트; 및 c) 결합된 뉴클레오타이드로 구성되는 3' 윙 세그먼트를 포함한다. 겹 세그먼트는 5' 윙 세그먼트와 3' 윙 세그먼트 사이에 위치되고, 각각의 윙 세그먼트의 각각의 뉴클레오타이드는 변형된 당을 포함한다.
- [0140] 특정 구체예에서, 변형된 올리고뉴클레오타이드는 a) 10개의 결합된 데옥시뉴클레오타이드로 구성되는 겹 세그먼트; b) 5개의 결합된 뉴클레오타이드로 구성되는 5' 윙 세그먼트; 및 c) 5개의 결합된 뉴클레오타이드로 구성되는 3' 윙 세그먼트를 포함한다. 겹 세그먼트는 5' 윙 세그먼트와 3' 윙 세그먼트 사이에 위치되고, 각각의 윙 세그먼트의 각각의 뉴클레오타이드는 2'-O-메톡시에틸 당을 포함하고, 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드의 각각의 뉴클레오타이드간 결합은 포스포로티오에이트 결합이고, 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드 중 각각의 사이토신은 5'-메틸사이토신이다.
- [0141] 특정 구체예에서, 변형된 올리고뉴클레오타이드는 20개의 결합된 뉴클레오타이드로 구성된다.
- [0142] 특정 구체예는 10개의 결합된 데옥시뉴클레오타이드, 5개의 결합된 뉴클레오타이드로 구성되는 5' 윙 세그먼트 및 5개의 결합된 뉴클레오타이드로 구성되는 3' 윙 세그먼트로 구성되는 겹 세그먼트를 갖는 변형된 올리고뉴클레오타이드를 포함하는 화합물을 동물에게 투여하는 것을 포함하는 동물에서 CUGexp DMPK RNA를 선택적으로 감소시키거나, 근육긴장증을 감소시키거나, 스플라이스오패시를 감소시키는 방법을 제공한다. 겹 세그먼트는 5' 윙 세그먼트와 3' 윙 세그먼트 사이에 위치되고, 각각의 윙 세그먼트의 각각의 뉴클레오타이드는 2'-O-메톡시에틸 당을 포함하고, 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드의 각각의 뉴클레오타이드간 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, 스플라이스오패시를 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 동통, 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, 스플라이스오패시를 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 동통, 과다수면, 근육 소모, 연하곤란, 호흡기능부전, 불규칙한 심박동, 심장 근육 손

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 구체예는 병원성 전사물의 절단을 유도함으로써 RNA 우세를 중화시키는데 사용하기 위한 본원에 기재된 바와 같은 화합물 또는 조성물을 제공한다. 특정 구체예는 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 구체예는 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 구체예는 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 구체예는 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 19개 또는 이 초과연속적 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 구체예는 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 초과연속적 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'-O-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 테옥시뉴클레오사이드로 구성되는 겹 세그먼트;

- [0162] 결합된 뉴클레오사이드로 구성되는 5' 텡 세그먼트; 및
- [0163] 결합된 뉴클레오사이드로 구성되는 3' 텡 세그먼트를 포함하며,
- [0164] 상기 겹 세그먼트는 5' 텡 세그먼트와 3' 텡 세그먼트 사이에 위치되고, 각각의 텡 세그먼트의 각각의 뉴클레오사이드는 변형된 당을 포함한다.
- [0165] 특정 구체예에서, 변형된 올리고뉴클레오타이드는
- [0166] 10개의 결합된 데옥시뉴클레오사이드로 구성되는 겹 세그먼트;
- [0167] 5개의 결합된 뉴클레오사이드로 구성되는 5' 텡 세그먼트; 및
- [0168] 5개의 결합된 뉴클레오사이드로 구성되는 3' 텡 세그먼트를 포함하며,
- [0169] 상기 겹 세그먼트는 5' 텡 세그먼트와 3' 텡 세그먼트 사이에 위치되고, 각각의 텡 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[Woolf et 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 미스매치를 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 탠덤(tandem)의 14개의 핵염기 안티센스 올리고뉴클레오타이드, 및 2 또는 3개의 탠덤 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 뉴클레아제에 의한 분해에 대한 내성과 같은 특성을 안티센스 화합물에 부여하는, 패턴 또는 모티프로 배열된 화학적으로 변형된 서브유닛을 갖는다.

[0184] 키메라 안티센스 화합물은 통상적으로 뉴클레아제 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 듀플렉스(duplex)의 RNA 가닥을 절단하는 세포 엔도뉴클레아제 RNase H에 대한 기질로 임의로 작용할 수 있다.

[0185] 잭머 모티프를 갖는 안티센스 화합물이 키메라 안티센스 화합물로 간주된다. 잭머에서, RNaseH 절단을 지지하는 다수의 뉴클레오타이드를 갖는 내부 영역은 내부 영역의 뉴클레오사이드와 화학적으로 다른 다수의 뉴클레오타이드를 갖는 외부 영역 사이에 위치된다. 잭머 모티프를 갖는 안티센스 올리고뉴클레오타이드의 경우, 잭 세그먼트는 일반적으로 엔도뉴클레아제 절단에 대한 기질로 작용하는 한편, 윙 세그먼트는 변형된 뉴클레오사이드를 포함한다. 특정 구체예에서, 잭머의 영역은 각각의 별개의 영역을 포함하는 당 모이어티(moiety)의 유형에 의해 구별된다. 잭머의 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'-O-CH₃를 포함할 수 있음), 및 바이사이클릭 당 변형된 뉴클레오사이드(이러한 바이사이클릭 당 변형된 뉴클레오사이드는 4'-(CH₂)_n-O-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-잭-윙 모티프는 종종 "X-Y-Z"로 기재되며, 여기서 "X"는 5' 윙 영역의 길이이고, "Y"는 잭 영역의 길이이고, "Z"는 3' 윙 영역의 길이이다. 본원에서 사용되는 바와 같은, "X-Y-Z"로 기재되는 잭머는, 잭 세그먼트가 5' 윙 세그먼트 및 3' 윙 세그먼트 각각에 바로 인접하여 위치되도록 하는 형태를 갖는다. 따라서, 5' 윙 세그먼트와 잭 세그먼트 사이, 또는 잭 세그먼트와 3' 윙 세그먼트 사이에 개재되는 뉴클레오타이드가 존재하지 않는다. 본원에 기재된 안티센스 화합물 중 임의의 안티센스 화합물은 잭머 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 초과 뉴클레오타이드 중 임의의 뉴클레오타이드일 수 있다. 따라서, 잭머는, 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-갭 또는 갭-윙 형태, 즉, 갭머 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 갭머 모티프를 갖는다.

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

[0189] 특정 구체예에서, 상기 갭머 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.

[0190] 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 등록번호에 의해 취득될 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 부위까지의 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 스플라이스오패시 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 디폴트 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 의미한다. 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 겹머 안티센스 올리고뉴클레오타이드의 링 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 초과 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. 펜토피라노실 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 첨가, 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, O-알릴, O-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 화합물은 브릿지가 4'-(CH₂)-O-2'(LNA); 4'-(CH₂)-S-2'; 4'-(CH₂)₂-O-2'(ENA); 4'-CH(CH₃)-O-2' 및 4'-CH(CH₂OCH₃)-O-2'(및 이의 유사체, 2008년 7월 15일에 발행된 미국 특허 제7,399,845호 참조); 4'-C(CH₃)(CH₃)-O-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-O-N(CH₃)-2'(2004년 9월 2일에 공개된 공개 미국 특허 출원 US2004-0171570호 참조); R이 H, C₁-C₁₂ 알킬 또는 보호기인 4'-CH₂-N(R)-O-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, 31, 6365-6372; Elayadi *et al.*, *Curr. Opin. Invest. Drugs*, 2001, 2, 558-561; Braasch *et al.*, *Chem. Biol.*, 2001, 8, 1-7; Orum *et al.*, *Curr. Opin. 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 펜토프라노스 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 헤테로사이클 라디칼, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, C₅-C₇ 알리사이클릭 라디칼, 치환된 C₅-C₇ 알리사이클릭 라디칼, 할로젠, OJ₁, NJ₁J₂, SJ₁, N₃, COOJ₁, 아실 (C(=O)-H), 치환된 아실, CN, 설폰일(S(=O)₂-J₁) 또는 설폭실(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, 헤테로사이클 라디칼, 치환된 헤테로사이클 라디칼, C₁-C₁₂ 아미노알킬, 치환된 C₁-C₁₂ 아미노알킬 또는 보호기이다.

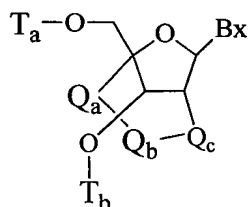
[0229] 특정 구체예에서, 바이사이클릭 당 모이어티의 브릿지는 -[C(R_a)(R_b)]_n-, -[C(R_a)(R_b)]_n-O-, -C(R_aR_b)-N(R)-O- 또는 -C(R_aR_b)-O-N(R)-이다. 특정 구체예에서, 브릿지는 4'-CH₂-2', 4'-(CH₂)₂-2', 4'-(CH₂)₃-2', 4'-CH₂-O-2', 4'-(CH₂)₂-O-2', 4'-CH₂-O-N(R)-2' 및 4'-CH₂-N(R)-O-2'-이고, 상기 식에서 각각의 R은 독립적으로 H, 보호기 또는 C₁-C₁₂ 알킬이다.

[0230] 특정 구체예에서, 바이사이클릭 뉴클레오사이드는 이성질체 형태에 의해 추가로 규정된다. 예를 들어, 4'-(CH₂)-O-2' 브릿지를 포함하는 뉴클레오사이드는 α-L 형태 또는 β-D 형태로 존재할 수 있다. 이전에, α-L-메틸렌옥시 (4'-CH₂-O-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,

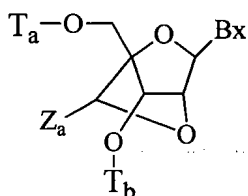
[0235] Bx는 헤테로사이클릭 염기 모이어티이고;

[0236] -Qa-Qb-Qc-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-CH₂이고;

[0237] R_c는 C₁-C₁₂ 알킬 또는 아미노 보호기이고;

[0238] Ta 및 Tb는 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,

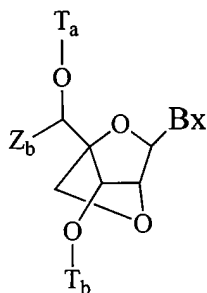
[0242] Bx는 헤테로사이클릭 염기 모이어티이고;

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

[0244] Za는 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_cC(=X)NJ_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]

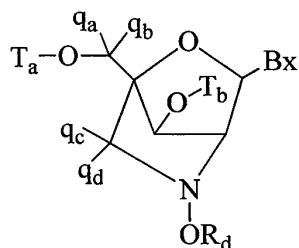
[0248] 상기 식에서,

[0249] Bx는 헤테로사이클릭 염기 모이어티이고;

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

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

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



[0253]

[0254] 상기 식에서,

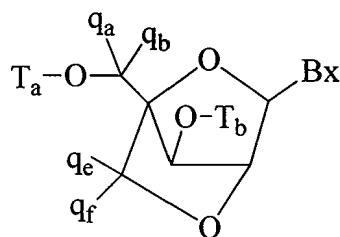
[0255] Bx는 헤테로사이클릭 염기 모이어티이고;

[0256] T_a 및 T_b는 각각 독립적으로 H, 하이드록실 보호기, 컨쥬게이트 기, 반응성 인 기, 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 알키닐 또는 치환된 C₂-C₆ 알키닐 이고;

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

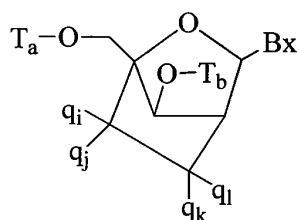
[0259] 특정 구체예에서, 바이사이클릭 뉴클레오사이드는 하기 화학식을 갖는다:



[0260]

[0261] 상기 식에서,

- [0262] Bx는 헤테로사이클릭 염기 모이어티이고;
- [0263] T_a 및 T_b는 각각 독립적으로 H, 하이드록실 보호기, 컨쥬게이트 기, 반응성 인 기, 인 모이어티 또는 지지체 매질에 대한 공유적 부착이고;
- [0264] q_a, q_b, q_c 및 q_f는 각각 독립적으로 수소, 할로젠, C₁-C₁₂ 알킬, 치환된 C₁-C₁₂ 알킬, C₂-C₁₂ 알케닐, 치환된 C₂-C₁₂ 알케닐, C₂-C₁₂ 알키닐, 치환된 C₂-C₁₂ 알키닐, C₁-C₁₂ 알콕시, 치환된 C₁-C₁₂ 알콕시, OJ_j, SJ_j, SOJ_j, SO₂J_j, NJ_jJ_k, N₃, 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_k이거나;
- [0265] q_e 및 q_f는 함께 =C(q_g)(q_h)이고;
- [0266] q_g 및 q_h는 각각 독립적으로 H, 할로젠, C₁-C₁₂ 알킬 또는 치환된 C₁-C₁₂ 알킬이다.
- [0267] 올리고머화, 및 핵산 인지 특성과 함께 4'-CH₂-O-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'-CH₂-O-2' 및 4'-CH₂-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:

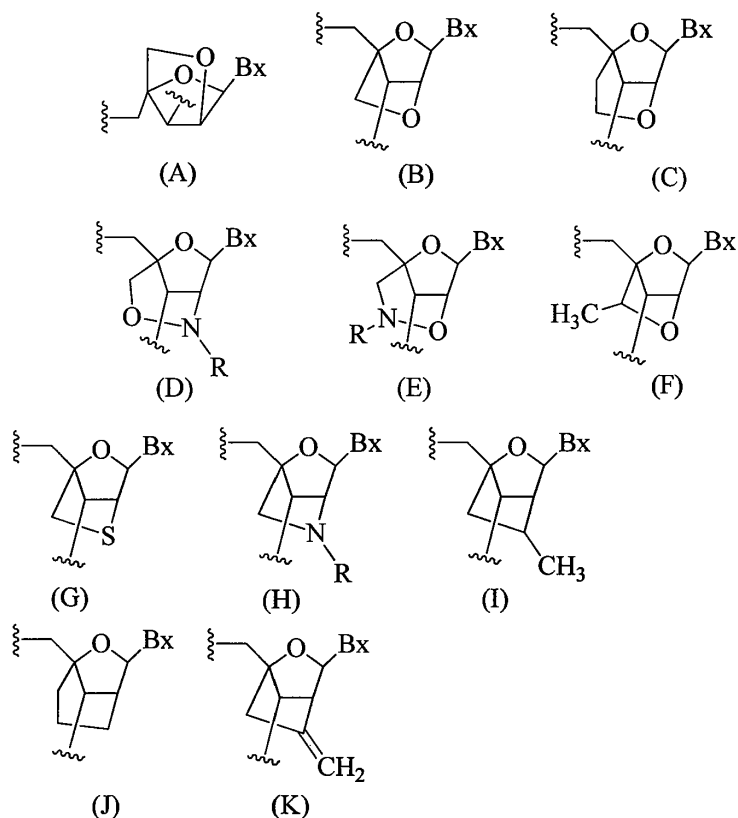


- [0270]
- [0271] 상기 식에서,
- [0272] Bx는 헤테로사이클릭 염기 모이어티이고;
- [0273] T_a 및 T_b는 각각 독립적으로 H, 하이드록실 보호기, 컨쥬게이트 기, 반응성 인 기, 인 모이어티 또는 지지체 매질에 대한 공유적 부착이고;
- [0274] 각각의 q_i, q_j, q_k 및 q_l은 독립적으로 H, 할로젠, C₁-C₁₂ 알킬, 치환된 C₁-C₁₂ 알킬, C₂-C₁₂ 알케닐, 치환된 C₂-C₁₂ 알케닐, C₂-C₁₂ 알키닐, 치환된 C₂-C₁₂ 알키닐, C₁-C₁₂ 알콕실, 치환된 C₁-C₁₂ 알콕실, OJ_j, SJ_j, SOJ_j, SO₂J_j, NJ_jJ_k, N₃, 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_k이고;
- [0275] q_i 및 q_j 또는 q_l 및 q_k는 함께 =C(q_g)(q_h)이고, 여기서 q_g 및 q_h는 각각 독립적으로 H, 할로젠, C₁-C₁₂ 알킬 또는 치환된 C₁-C₁₂ 알킬이다.
- [0276] 4'-(CH₂)₃-2' 브릿지 및 알케닐 유사체 브릿지 4'-CH=CH-CH₂-2'를 갖는 하나의 카보사이클릭 바이사이클릭 뉴클레오사이드가 기재되었다(Frier 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'-CH₂-O-2') BNA, (B) β -D-메틸렌옥시 (4'-CH₂-O-2') BNA, (C) 에틸렌옥시 (4'-(CH₂)₂-O-2') BNA, (D) 아미노옥시 (4'-CH₂-O-N(R)-2') BNA, (E) 옥시아미노 (4'-CH₂-N(R)-O-2') BNA, (F) 메틸(메틸렌옥시) (4'-CH(CH₃)-O-2') BNA (구속 에틸(constrained ethyl) 또는 cEt로도 언급됨), (G) 메틸렌-티오 (4'-CH₂-S-2') BNA, (H) 메틸렌-아미노 (4'-CH₂-N(R)-2') BNA, (I) 메틸 카보사이클릭 (4'-CH₂-CH(CH₃)-2') BNA, (J) 프로필렌 카보사이클릭 (4'-(CH₂)₃-2') BNA 및 (K) 비닐 BNA를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.



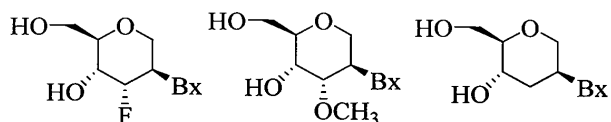
[0278]

[0279]

상기 식에서, Bx는 염기 모이어티이고, R은 독립적으로 H, 보호기, C₁-C₆ 알킬 또는 C₁-C₆ 알콕시이다.

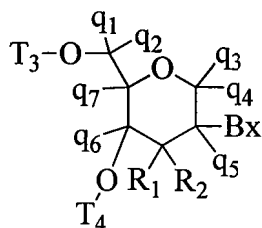
[0280]

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 테트라하이드로피라닐 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 올리고머 화합물에 테트라하이드로피란 뉴클레오사이드 유사체를 연결시키는 뉴클레오사이드간 결합기이거나, T₃ 및 T₄ 중 하나는 올리고머 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;

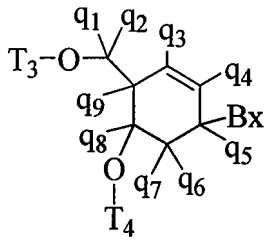
[0287] q₁, q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ 및 q₇는 각각 독립적으로 H, C₁-C₆ 알킬, 치환된 C₁-C₆ 알킬, C₂-C₆ 알케닐, 치환된 C₂-C₆ 알케닐, C₂-C₆ 알키닐 또는 치환된 C₂-C₆ 알키닐이고;

[0288] R₁ 및 R₂ 중 하나는 수소이고, 나머지는 할로젠, 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 q₇는 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 헥시톨 헥산(HNA), 알트리톨 헥산(ANA) 및 만니톨 헥산(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 펜토포라노실 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]
- [0293] 상기 식에서,
- [0294] Bx는 헤테로사이클릭 염기 모이어티이고;
- [0295] T₃ 및 T₄는 각각 독립적으로 안티센스 화합물에 사이클로헥세닐 뉴클레오사이드 유사체를 연결시키는 뉴클레오사이드간 결합기이거나, T₃ 및 T₄ 중 하나는 안티센스 화합물에 테트라하이드로피란 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.
- [0296] 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.
- [0297] 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.
- [0298] 변형된 당 모이어티를 갖는 뉴클레오타이드에서, 핵염기 모이어티(자연, 변형 또는 이의 조합물)가 적절한 핵산 표적과의 하이브리드화를 위해 유지된다.
- [0299] 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 갭머 모티프 내에 배열된다.
- [0300] 변형된 핵염기
- [0301] 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).
- [0302] 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 알킬 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-테아자구아닌 및 7-테아자아데닌 및 3-테아자구아닌 및 3-테아자아데닌을 포함한다.

[0303] 헤테로사이클릭 염기 모이어티는 또한 퓨린 또는 피리미딘 염기가 다른 헤테로사이클, 예를 들어, 7-테아자-아데닌, 7-테아자구아노신, 2-아미노피리딘 및 2-피리돈으로 대체된 것을 포함할 수 있다. 안티센스 화합물의 결합 친화성을 증가시키는데 특히 유용한 핵염기는 5-치환된 피리미딘, 6-아자피리미딘 및 N-2, N-6 및 O-6 치환된 퓨린, 예를 들어, 2-아미노프로필아데닌, 5-프로피닐유라실 및 5-프로피닐사이토신을 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.

[0305] *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, 안티센스 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 상기에스터의 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 뉴클레아제에 의해 절단되어 활성 안티센스 화합물을 형성시키는 안티센스 화합물의 한 말단 또는 양 말단에 추가 뉴클레오사이드의 통합을 포함할 수 있다.

[0310] *컨쥬게이션된 안티센스 화합물*

[0311] 안티센스 화합물은 발생하는 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, 플레이트, 페난트리딘, 안트라퀴논, 아크리딘, 플루오레세인, 로다민, 쿠마린, 및 염료를 포함한다.

[0312] 안티센스 화합물은 또한, 예를 들어, 뉴클레아제 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 엑소뉴클레아제 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 테옥시 어베이지(abasic) 캡을 포함한다. 추가로, 뉴클레아제 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.

[0313] *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 시험 업체(예를 들어, American Type Culture Collection, 버지니아주의 머내서스시에 소재; Zen-Bio, Inc., 노스캐롤라이나주의 리서치 트라이앵글 파크에 소재; Clonetics Corporation, 매릴랜드주의 위커스빌시에 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 억제 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 칼스배드시에 소재)으로부터 취득된다. RT, 실시간 PCR 반응은 당업자에게 널리 공지된 방법에 의해 수행된다.
- [0331] 실시간 PCR에 의해 취득되는 유전자(또는 RNA) 표적 양은 발현이 일정한 유전자, 예를 들어, 사이클로필린 A(cyclophilin A)의 발현 수준을 이용하거나, RIBOGREEN(등록상표)(Invitrogen, Inc. 캘리포니아주의 칼스배드시에 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 억제제는 DMPK 단백질 수준을 측정함으로써 평가될 수 있다. DMPK의 단백질 수준은 당 분야에 널리 공지된 다양한 방식, 예를 들어, 면역침전, 웨스턴 블롯(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 버밍엄시에 소재)와 같은 다양한 소스로부터 확인되고 취득될 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 골격 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 올리고뉴클레오타이드를 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 동통, 과다수면, 근육소모, 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 올리고뉴클레오타이드를 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.

[0359] 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.

[0362] 실시예

[0363] 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.

[0365] 실시예 1: 인간 골격근 세포(hSKMC)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. 웰 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 AGCCTGAGCCGGGAGATG, 서열번호 9로 본원에 표시됨; 역방향 서열 GCGTAGTTGACTGGCGAAGTT, 서열번호 10으로 본원에 표시됨; 프로브 서열 AGGCCATCCGCACGGACAACCX, 서열번호 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 갭머이고, 여기서 갭 세그먼트는 10개의 2'-데옥시뉴클레오타이드를 포함하고, 각각의 윙 세그먼트는 5개의 2'-MOE 뉴클레오타이드를 포함한다. 각각의 갭머 전체에 걸친 뉴클레오타이드간 결합은 포스포로티오에이트(P=S) 결합이다. 각각의 갭머 전체에 걸친 모든 사이토신 잔기는 5-메틸사이토신이다. '표적 시작 부위'는 안티센스 올리고뉴클레오타이드가 표적으로 하는 가장 5'의 뉴클레오타이드를 나타낸다. '표적 정지 부위'는 안티센스 올리고뉴클레오타이드가 표적으로 하는 가장 3'의 뉴클레오타이드를 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 트랜스크립션된 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 갭머에 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	CCAGGAGAAGGTCGAGCAGG	57	13
737	756	299493	TCTATGGCCATGACAATCTC	57	14
773	792	299494	ATGTCCCTGTGCACGTAGCC	77	15
1194	1213	299501	ATGTGTCCGGAAGTCGCCTG	50	16
1628	1647	299511	CTCAGGCTCTGCCGGGTGAG	70	17
1855	1874	299517	GGCACTGGCCACAGCCACG	78	18
2379	2398	299526	CCTGGCCGAAAGAAAGAAAT	31	19
2367	2386	444380	AAAGAAATGGTCTGTGATCC	56	20
2370	2389	444381	AAGAAAGAAATGGTCTGTGA	77	21
2376	2395	444382	GGCCGAAAGAAAGAAATGGT	61	22
2385	2404	444383	CCTCAGCCTGGCCGAAAGAA	57	23
2388	2407	444384	GGGCCTCAGCCTGGCCGAAA	65	24
2391	2410	444385	TCAGGGCCTCAGCCTGGCCG	61	25
2411	2430	444386	CTGCAGTTTGCCCATCCACG	68	26
2414	2433	444387	GGCCTGCAGTTTGCCCATCC	77	27
2417	2436	444388	CCAGGCCTGCAGTTTGCCCA	54	28
2423	2442	444389	GCCTTCCCAGGCCTGCAGTT	77	29
2426	2445	444390	GCTGCCTTCCCAGGCCTGCA	83	30
2429	2448	444391	CTTGCTGCCTTCCCAGGCCT	69	31
2435	2454	444392	GCCCGGCTTGCTGCCTTCCC	82	32
2438	2457	444393	ACGGCCCGGCTTGCTGCCTT	78	33
2441	2460	444394	CGGACGGCCCGGCTTGCTGC	57	34
2444	2463	444395	ACACGGACGGCCCGGCTTGC	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	TTTGCGAACCAACGATAGGT	86	40
2490	2509	444401	TTGCACTTTGCGAACCAACG	89	41
2493	2512	444402	GCTTTGCACTTTGCGAACCA	89	42
2496	2515	444403	AAAGCTTTGCACTTTGCGAA	83	43
2499	2518	444404	AAGAAAGCTTTGCACTTTGC	91	44
2502	2521	444405	CACAAGAAAGCTTTGCACTT	70	45
2508	2527	444406	GTCATGCACAAGAAAGCTTT	34	46
2527	2546	444407	ACGCTCCCCAGAGCAGGGCG	39	47
2543	2562	444408	GCAGAGATCGCGCCAGACGC	85	48

[0370]

2546	2565	444409	CAGGCAGAGATCGCGCCAGA	65	49
2549	2568	444410	AAGCAGGCAGAGATCGCGCC	84	50
2555	2574	444411	CCGAGTAAGCAGGCAGAGAT	58	51
2558	2577	444412	TTCCCGAGTAAGCAGGCAGA	70	52
2564	2583	444413	GCAAATTTCCCGAGTAAGCA	62	53
2567	2586	444414	AAAGCAAATTTCCCGAGTAA	53	54
2573	2592	444415	TTGGCAAAAGCAAATTTCCC	64	55
2576	2595	444416	GGTTTGGCAAAAGCAAATTT	23	56
2579	2598	444417	GCGGGTTTGGCAAAAGCAAA	70	57
2582	2601	444418	AAAGCGGGTTTGGCAAAAGC	43	58
2588	2607	444419	CCCGAAAAAGCGGGTTTGGC	71	59
2591	2610	444420	ATCCCCGAAAAAGCGGGTTT	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	ATATCCAAACCGCCGAAGCG	31	70
2667	2686	444431	TAAATATCCAAACCGCCGAA	42	71
2670	2689	444432	CAATAAATATCCAAACCGCC	53	72
2676	2695	444433	CGAGGTCAATAAATATCCAA	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	AAATACCGAGGAATGTCGGG	82	83
2767	2786	444444	AATAAATACCGAGGAATGTC	66	84
2770	2789	444445	GACAATAAATACCGAGGAAT	67	85
2093	2112	445546	CGGGGCCCGGAGTCGAAGA	0	86
2097	2116	445547	CCAACGGGGCCCGGAGTCG	38	87
2099	2118	445548	TTCCAACGGGGCCCGGAGT	22	88
2102	2121	445549	GTCTTCCAACGGGGCCCGG	50	89
2104	2123	445550	CAGTCTTCCAACGGGGCCCC	27	90
2106	2125	445551	CTCAGTCTTCCAACGGGGCC	57	91

[0371]

2109	2128	445552	GCACTCAGTCTTCCAACGGG	69	92
2115	2134	445553	CCCCGGGCACTCAGTCTTCC	76	93
2117	2136	445554	TGCCCCGGGCACTCAGTCTT	59	94
2119	2138	445555	CGTGCCCCGGGCACTCAGTC	61	95
2123	2142	445556	GTGCCGTGCCCCGGGCACTC	26	96
2126	2145	445557	TCTGTGCCGTGCCCCGGGCA	50	97
2129	2148	445558	GCTTCTGTGCCGTGCCCCGG	57	98
2132	2151	445559	GCGGCTTCTGTGCCGTGCC	27	99
2134	2153	445560	GCGCGGCTTCTGTGCCGTGC	0	100
2136	2155	445561	GGGCGCGGCTTCTGTGCCGT	8	101
2142	2161	445562	GGCGGTGGGCGCGGCTTCTG	62	102
2146	2165	445563	GGCAGGCGGTGGGCGCGGCT	49	103
2148	2167	445564	CTGGCAGGCGGTGGGCGCGG	51	104
2150	2169	445565	AACTGGCAGGCGGTGGGCGC	38	105
2153	2172	445566	GTGAAGTGGCAGGCGGTGGG	64	106
2157	2176	445567	GGTTGTGAAGTGGCAGGCGG	66	107
2159	2178	445568	GCGGTTGTGAAGTGGCAGGC	85	108
2163	2182	445569	CGGAGCGGTTGTGAAGTGGC	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	GCTGGGCGGAGACCCACGCT	11	115
2186	2205	445576	GGAGCTGGGCGGAGACCCAC	42	116
2188	2207	445577	CTGGAGCTGGGCGGAGACCC	17	117
2191	2210	445578	GGACTGGAGCTGGGCGGAGA	53	118
2193	2212	445579	CAGGACTGGAGCTGGGCGGA	46	119
2197	2216	445580	ATCACAGGACTGGAGCTGGG	66	120
2209	2228	445581	GGGCGGGCCCGGATCACAGG	85	121
2211	2230	445582	GGGGGCGGGCCCGGATCACA	96	122
179	198	445583	AGGCAGCACCATGGCCCTC	88	123
235	254	445584	GGTCCAACACCAGCTGCTGG	84	124
418	437	445585	CGATCACCTTCAGAACTCTCG	11	125
498	517	445586	CTGTTCATGATCTTCATGG	0	126
565	584	445587	CCCCATTACCAACACGTCC	83	127
583	602	445588	GCGTGATCCACCGCCGTCC	59	128
639	658	445589	GTAATACTCCATGACCAGGT	86	129
664	683	445590	GCAGTGTACGAGGTCCCCG	83	130
744	763	445591	CACCGAGTCTATGGCCATGA	60	131
761	780	445592	ACGTAGCCAAGCCGGTGCAC	68	132
812	831	445593	ATGTGGCCACAGCGGTCCAG	56	133
1099	1118	445594	CTTCGTCCACCAGCGGCAGA	32	134

[0372]

1104	1123	445595	GACCCCTTCGTCCACCAGCG	83	135
1178	1197	445596	CCTGCTCCACCCCGGCCAG	82	136
1187	1206	445597	CGGAAGTCGCCTGCTCCACC	81	137
1229	1248	445598	CGGAGACCATCCCAGTCGAG	67	138
1402	1421	445599	TGAGGGCCATGCAGGAGTAG	26	139
1443	1462	445600	CTCCAGTTCCATGGGTGTGG	80	140
1477	1496	445601	GCGCTTGACAGTGTGGCTCA	94	141
1526	1545	445602	GCCACTTCAGCTGTTTCATC	54	142
1562	1581	445603	GCCTCAGCCTCTGCCGAGG	71	143
1576	1595	445604	GCAGCGTCACCTCGGCCTCA	31	144
1630	1649	445605	GGCTCAGGCTCTGCCGGGTG	86	145
1700	1719	445606	TTCCGAGCCTCTGCCTCGCG	73	146
1708	1727	445607	GGTCCCGGTTCCGAGCCTCT	76	147
1742	1761	445608	ATCCGCTCCTGCAACTGCCG	93	148
1750	1769	445609	GCAACTCCATCCGCTCCTGC	60	149
1812	1831	445610	AGGTGGATCCGTGGCCCGGG	48	150
2133	2152	445611	CGCGGCTTCTGTGCCGTGCC	24	151
2428	2447	445612	TTGCTGCCTTCCAGGCCTG	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	AGAACCTGCCCCATTGCTGAA	68	154
2381	2400	299535	CACTGAGGGCCAGACATATG	68	155
3289	3308	299544	CTCTAGATTTCAGATGCAGGT	88	156

[0375]

[0376] 표 1 및 표 2로부터의 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 또한 상기 기재된 것과 유사한 조건을 갖는 검정으로 시험하였고, mRNA 수준을 인간 프라이머 프로브RTS3162(정방향 서열 CGGGCCGTCCGTGTT, 서열번호 157로 본원에 표시됨; 역방향 서열 CTTGCACTTTGCGAACCA, 서열번호 158로 본원에 표시됨; 프로브 서열 CATCCTCCACGCACCCACCX, 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 옆에 제시되고, 이는 다음과 같다: b = 2'-O-N-[2-(디메틸아미노)에틸]아세트아미도 리보스; d = 2'-데옥시리보스; e = 2'-O-메톡시에틸 리보스; f = 2'-알파-플루오로-2'-데옥시리보스; g = 2'-O-2[2-(2-메톡시에톡시)에톡시]에틸 리보스; h = 3'-플루오로-HNA; k = (S)-cEt; l = LNA(잠금 핵산); n = 2'-O-(N-메틸아세트아미드) 리보스; o = 2'-O-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} C _{pg} A _{pg} G _{pg} C _{pg} A _{pg} G _{pg} C _{pg} A _{pg} G _{pg}	카복시-아미드 말단캡을 갖는 PNA 및 아미노산 코어 단위	혼합	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 _e	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 _e	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} 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} G _{es} mC _{es} A _e	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-플루로 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'-플루로로 -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- 디메틸아미노옥시메틸 (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- 메톡시메톡시)에틸]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]아세트아미도 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]

[0386] 실시예 3: 인간 골격근 세포에서의 인간 DMPK의 용량 의존성 안티센스 억제

[0387]

hSKMC에서 DMPK의 시험관내 억제를 나타내는 여러 안티센스 올리고뉴클레오타이드(실시예 1 참조)를 다양한 용량으로 시험하였다. 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 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

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]

[0392] 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]

[0396] 실시예 4: 인간 골격근 세포에서의 인간 DMPK의 용량 의존적 안티센스 억제

[0397] hSKMC에서 DMPK의 시험관내 억제를 나타내는 여러 안티센스 올리고뉴클레오타이드(실시예 3 참조)를 다양한 용량으로 시험하였다. 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 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

[0400]

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

[0401]

[0402] 실시예 5: 인간 골격근 세포에서의 인간 DMPK의 용량 의존적 안티센스 억제

[0403]

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 갭머는 2-10-2 MOE 또는 3-10-3 MOE 갭머이다. 2-10-2 MOE 갭머는 14개의 뉴클레오타이드 길이이고, 여기서 갭 세그먼트는 10개의 2'-데옥시뉴클레오타이드를 포함하고, 각각의 윙 세그먼트는 2개의 2'-MOE 뉴클레오타이드를 포함한다. 3-10-3 MOE 갭머는 16개의 뉴클레오타이드 길이이고, 여기서 갭 세그먼트는 10개의 2'-데옥시뉴클레오타이드를 포함하고, 각각의 윙 세그먼트는 3개의 2'-MOE 뉴클레오타이드를 포함한다. 각각의 갭머 전체에 걸친 뉴클레오타이드간 결합은 포스포로티오에이트 (P=S) 결합이다. 각각의 갭머 전체에 걸친 모든 사이토신 잔기는 5-메틸사이토신이다. '표적 시작 부위'는 안티센스 올리고뉴클레오타이드가 표적으로 하는 가장 5'의 뉴클레오타이드를 나타낸다. '표적 정지 부위'는 안티센스 올리고뉴클레오타이드가 표적으로 하는 가장 3'의 뉴클레오타이드를 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.

[0404]

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 전사물 수준을 상기 기재된 프라이머 프로브 세트 RTS3162를 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 비해 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	GCTTGACGTGTGGCT	3-10-3	2	10935	32	58	77	85	75	1.94	810
468780	CTTGACGTGTGGC	2-10-2	2	10936	22	17	43	66	77	6.23	811
468793	GGTTGTGAAGTGGCAG	3-10-3	2	13224	69	77	93	96	96	<1.25	812
468778	GTTGTGAAGTGGCA	2-10-2	2	13225	60	69	89	95	97	<1.25	813
468794	GAGCGTTGTGAAGT	3-10-3	2	13228	21	32	61	70	86	4.27	814
468779	AGCGTTGTGAAGT	2-10-2	2	13229	40	45	72	91	97	2.20	815
468796	GCTGCCCTCCAGGCC	3-10-3	2	13493	73	79	91	96	95	<1.25	816
468781	CTGCCCTCCAGGC	2-10-2	2	13494	36	53	66	86	90	2.28	817
468788	GCACTTTGCGAACCA	3-10-3	2	13555	55	80	84	94	96	<1.25	818
468773	CACTTTGCGAACCA	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	GGAGGACGAGGTCA	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	TCCTGTAGCCTGTCAG	3-10-3	2	13771	38	57	73	85	93	1.91	826
468777	CCTGTAGCCTGTC	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	AAGCGAGGCTTCAC	2-10-2	801	23	25	22	5	17	0	>20.00	829
468784	ACGTGCCGTCTGGCA	3-10-3	801	836	15	25	32	18	25	>20.00	830
468769	CCTGCCGTCTGGC	2-10-2	801	837	32	11	11	20	32	>20.00	831
468782	GTGACGATCCCAGG	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	TTTTCTTCCACAGG	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 (μ M)
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]

[0410] 실시예 6: DM1 섬유모세포 세포에서의 인간 근육긴장성 이영양증-단백질 키나제(DMPK)를 표적으로 하는 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 이용한 용량 반응 연구

[0411] 큰 CUG 반복부를 갖는 DMPK mRNA의 돌연변이 형태는 완전히 전사되고 아테닐중합체형성되나, 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.

[0412] 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 초과 범위일 수 있다(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). 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 전사물 수준을 상기 기재된 프라이머 프로브 세트 RTS3164를 이용한 정량 실시간 PCR에 의해 측정하였다. DMPK RNA 전사물 수준을 RIBOGREEN(등록상표)에 의해 측정되는 바와 같은 전체 RNA 함량에 대해 표준화시켰다. 결과는 처리되지 않은 대조군 세포에 비해 DMPK의 억제 퍼센트로서 표 10에 제시된다.

[0413] 유사한 조건을 갖는 검정을 또한 DMPK 전사물의 3'-말단을 표적으로 하는 상기 기재된 프라이머 프로브 세트 RTS3162로 수행하였다. 결과는 처리되지 않은 대조군 세포에 비해 DMPK의 억제 퍼센트로 표 11에 제시된다.

[0414] 시험된 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 상기 특정된 조건하에서 DMPK mRNA 수준의 용량 의존적 억제를 나타내었다.

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

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

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

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.

표 12 및 표 13의 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 5'-10-5 갭이며, 여기서 갭 세그먼트는 10개의 2'-테옥시 뉴클레오타이드를 포함하고, 각각의 윙 세그먼트는 5개의 2'-MOE 뉴클레오타이드를 포함한다. 각각의 갭 전체에 걸친 뉴클레오타이드간 결합은 포스포로티오에이트(P=S) 결합이다. 각각의 갭 전체에 걸친 모든 사이토신 잔기는 5-메틸사이토신이다. '표적 시작 부위'는 안티센스 올리고뉴클레오타이드가 인간 유전체 유전자 서열 내에서 표적으로 하는 가장 5'의 뉴클레오타이드를 나타낸다. '표적 정지 부위'는 안티센스 올리고뉴클레오타이드가 인간 유전체 서열 내에서 표적으로 하는 가장 3'의 뉴클레오타이드를 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.

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	ATGGCCCTCCCCGGGCCGG	41	163
170	189	502373	CATGGCCCTCCCCGGGCCG	29	164
171	190	502374	CCATGGCCCTCCCCGGGCC	34	165
172	191	502375	ACCATGGCCCTCCCCGGGC	60	166
173	192	502376	CACCATGGCCCTCCCCGGG	68	167
174	193	502377	GCACCATGGCCCTCCCCGG	75	168
175	194	502378	AGCACCATGGCCCTCCCCG	65	169
176	195	502379	CAGCACCATGGCCCTCCCC	63	170
177	196	502380	GCAGCACCATGGCCCTCCC	73	171
178	197	502381	GGCAGCACCATGGCCCTCC	80	172
180	199	502382	CAGGCAGCACCATGGCCCT	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	CATGTTGGACAGGCAGCACC	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	GCCCAGGAGAAGGTCGAGCA	85	212
280	299	451363	CGCCCAGGAGAAGGTCGAGC	84	213
281	300	502422	ACGCCAGGAGAAGGTCGAG	67	214
317	336	502423	TCCTGGGCCAGTTCGGAGGC	58	215
318	337	502424	GTCCTGGGCCAGTTCGGAGG	71	216
319	338	502425	TGTCCTGGGCCAGTTCGGAG	69	217
320	339	502426	TTGTCCTGGGCCAGTTCGGA	71	218
321	340	502427	CTTGTCCTGGGCCAGTTCGG	66	219
322	341	502428	ACTTGTCCTGGGCCAGTTCG	59	220
323	342	502429	TACTTGTCCTGGGCCAGTTC	75	221
324	343	502430	GTACTTGTCCTGGGCCAGTT	78	222

[0425]

325	344	502431	CGTACTTGTCTGGGCCAGT	74	223
343	362	502432	ACTGCAAGAAGTCGGCCACG	73	224
345	364	502433	CCACTGCAAGAAGTCGGCCA	65	225
346	365	451364	CCCACTGCAAGAAGTCGGCC	32	226
347	366	502434	GCCCACTGCAAGAAGTCGGC	70	227
348	367	502435	CGCCCACTGCAAGAAGTCGG	61	228
349	368	502436	CCGCCCACTGCAAGAAGTCG	54	229
350	369	502437	TCCGCCCACTGCAAGAAGTC	40	230
351	370	502438	CTCCGCCCACTGCAAGAAGT	33	231
352	371	502439	GCTCCGCCCACTGCAAGAAG	23	232
353	372	502440	GGCTCCGCCCACTGCAAGAA	23	233
354	373	502441	GGGCTCCGCCCACTGCAAGA	17	234
355	374	502442	TGGGCTCCGCCCACTGCAAG	22	235
356	375	502443	ATGGGCTCCGCCCACTGCAA	14	236
357	376	502444	GATGGGCTCCGCCCACTGCA	43	237
358	377	502445	CGATGGGCTCCGCCCACTGC	37	238
359	378	502446	ACGATGGGCTCCGCCCACTG	0	239
360	379	502447	CACGATGGGCTCCGCCCACT	59	240
361	380	502448	CCACGATGGGCTCCGCCCAC	69	241
362	381	502449	ACCACGATGGGCTCCGCCCA	63	242
363	382	502450	CACCACGATGGGCTCCGCC	73	243
364	383	502451	TCACCACGATGGGCTCCGCC	77	244
365	384	502452	CTCACCACGATGGGCTCCGC	66	245
366	385	502453	CCTCACCACGATGGGCTCCG	81	246
367	386	502454	GCCTCACCACGATGGGCTCC	77	247
368	387	502455	AGCCTCACCACGATGGGCTC	63	248
369	388	502456	AAGCCTCACCACGATGGGCT	70	249
370	389	502457	TAAGCCTCACCACGATGGGC	78	250
371	390	502458	TTAAGCCTCACCACGATGGG	76	251
372	391	502459	CTTAAGCCTCACCACGATGG	78	252
373	392	502460	CCTTAAGCCTCACCACGATG	68	253
374	393	502461	TCCTTAAGCCTCACCACGAT	67	254
375	394	502462	CTCCTTAAGCCTCACCACGA	84	255
376	395	502463	CCTCCTTAAGCCTCACCACG	76	256

[0426]

377	396	502464	ACCTCCTTAAGCCTCACCAC	64	257
378	397	502465	GACCTCCTTAAGCCTCACCA	72	258
379	398	502466	GGACCTCCTTAAGCCTCACC	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	CCCGTCTGCTTCATCTCAC	67	275
468	487	502483	GCCCGTCTGCTTCATCTCA	76	276
469	488	502484	GGCCCGTCTGCTTCATCTC	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	CACCTGGCCCGTCTGCTTCA	80	282
475	494	502490	ACACCTGGCCCGTCTGCTTC	71	283
476	495	502491	TACACCTGGCCCGTCTGCTT	74	284
497	516	502492	TTGTTTCATGATCTTCATGGC	56	285
499	518	502493	ACTTGTTTCATGATCTTCATG	23	286
500	519	502494	CACTTGTTTCATGATCTTCAT	43	287
501	520	502495	CCACTTGTTTCATGATCTTCA	43	288
502	521	502496	CCCACTTGTTTCATGATCTTC	47	289
503	522	502497	TCCCACTTGTTTCATGATCTT	34	290

[0427]

504	523	502498	GTCCCACTTGTTTCATGATCT	34	291
505	524	502499	TGTCCCACTTGTTTCATGATC	27	292
506	525	502500	ATGTCCCACTTGTTTCATGAT	23	293
507	526	502501	CATGTCCCACTTGTTTCATGA	51	294
508	527	502502	GCATGTCCCACTTGTTTCATG	20	295
509	528	502503	AGCATGTCCCACTTGTTTCAT	52	296
510	529	502504	CAGCATGTCCCACTTGTTTCA	72	297
511	530	502505	TCAGCATGTCCCACTTGTTTC	70	298
512	531	502506	TTCAGCATGTCCCACTTGTTT	53	299
513	532	502507	CTTCAGCATGTCCCACTTGTT	52	300
514	533	502508	TCTTCAGCATGTCCCACTTGT	45	301
516	535	502509	CCTCTTCAGCATGTCCCACT	68	302
517	536	502510	CCCTCTTCAGCATGTCCCACT	68	303
518	537	502511	CCCCTCTTCAGCATGTCCCA	79	304
519	538	502512	GCCCCCTCTTCAGCATGTCCC	85	305
520	539	502513	CGCCCCCTCTTCAGCATGTCC	84	306
521	540	502514	TCGCCCCCTCTTCAGCATGTC	80	307
522	541	502515	CTCGCCCCCTCTTCAGCATGT	82	308
523	542	502516	CCTCGCCCCCTCTTCAGCATG	78	309
524	543	502517	ACCTCGCCCCCTCTTCAGCAT	73	310
525	544	502518	CACCTCGCCCCCTCTTCAGCA	76	311
526	545	502519	ACACCTCGCCCCCTCTTCAGC	79	312
527	546	502520	GACACCTCGCCCCCTCTTCAG	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	GCCCACAGCCTGCAGGATCT	91	321
928	947	502529	CGCCCACAGCCTGCAGGATC	90	322
929	948	502530	CCGCCACAGCCTGCAGGAT	82	323
930	949	502531	ACCGCCCACAGCCTGCAGGA	83	324

[0428]

931	950	502532	CACCGCCACAGCCTGCAGG	85	325
932	951	502533	CCACCGCCACAGCCTGCAG	84	326
933	952	502534	CCCACCGCCACAGCCTGCA	80	327
934	953	502535	GCCACCGCCACAGCCTGC	90	328
935	954	502536	GGCCACCGCCACAGCCTG	94	329
936	955	502537	AGGCCACCGCCACAGCCT	88	330
937	956	502538	CAGGCCACCGCCACAGCC	91	331
938	957	502539	CCAGGCCACCGCCACAGC	73	332
939	958	502540	CCCAGGCCACCGCCACAG	86	333
940	959	502541	TCCAGGCCACCGCCACA	88	334
941	960	502542	GTCCAGGCCACCGCCAC	84	335
942	961	502543	TGTCCAGGCCACCGCCA	85	336
943	962	502544	CTGTCCAGGCCACCGCC	65	337
944	963	502545	CCTGTCCAGGCCACCGCC	81	338
945	964	502546	GCCTGTCCAGGCCACCGC	90	339
946	965	502547	TGCCTGTCCAGGCCACCG	85	340
947	966	502548	CTGCCTGTCCAGGCCACC	89	341
948	967	502549	GCTGCCTGTCCAGGCCAC	91	342
949	968	502550	AGCTGCCTGTCCAGGCCA	94	343
950	969	502551	TAGCTGCCTGTCCAGGCC	92	344
951	970	502552	GTAGCTGCCTGTCCAGGCC	88	345
952	971	502553	CGTAGCTGCCTGTCCAGGC	85	346
953	972	502554	CCGTAGCTGCCTGTCCAGG	83	347
954	973	502555	CCCGTAGCTGCCTGTCCAG	64	348
955	974	502556	GCCCGTAGCTGCCTGTCCA	83	349
956	975	502557	GGCCCGTAGCTGCCTGTCCC	89	350
1004	1023	502558	TAGAACATTTCATAGGCGAA	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	TTGTAGTGGACGATCTTGCC	68	357
1068	1087	502565	CTTGTAGTGGACGATCTTGC	70	358

[0429]

1069	1088	502566	CCTTGTAGTGGACGATCTTG	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	GAGGTGCTCCTTGTAGTGGA	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	AGAGAGAGGTGCTCCTTGTA	63	372
1083	1102	502580	CAGAGAGAGGTGCTCCTTGT	77	373
1085	1104	502581	GGCAGAGAGAGGTGCTCCTT	70	374
1086	1105	502582	CGGCAGAGAGAGGTGCTCCT	80	375
1087	1106	502583	GCGGCAGAGAGAGGTGCTCC	62	376
1088	1107	502584	AGCGGCAGAGAGAGGTGCTC	44	377
1089	1108	502585	CAGCGGCAGAGAGAGGTGCT	78	378
1090	1109	502586	CCAGCGGCAGAGAGAGGTGC	71	379
1165	1184	502587	GGCCCAGCCGTGTCTCCGGG	77	380
1166	1185	502588	CGGCCAGCCGTGTCTCCGG	69	381
1167	1186	502589	CCGGCCAGCCGTGTCTCCG	70	382
1168	1187	502590	CCCGGCCAGCCGTGTCTCC	75	383
1169	1188	502591	CCCCGGCCAGCCGTGTCTC	77	384
1170	1189	502592	ACCCCGGCCAGCCGTGTCT	73	385
1171	1190	502593	CACCCGGGCCAGCCGTGTC	84	386
1172	1191	502594	CCACCCGGGCCAGCCGTGT	78	387
1173	1192	502595	TCCACCCGGGCCAGCCGTG	71	388
1174	1193	502596	CTCCACCCGGGCCAGCCGT	81	389
1175	1194	502597	GCTCCACCCGGGCCAGCCG	86	390
1176	1195	502598	TGCTCCACCCGGGCCAGCC	83	391
1177	1196	502599	CTGCTCCACCCGGGCCAGC	88	392

[0430]

1199	1218	502600	AAGGGATGTGTCCGGAAGTC	60	393
1200	1219	502601	GAAGGGATGTGTCCGGAAGT	58	394
1201	1220	502602	AGAAGGGATGTGTCCGGAAG	63	395
1202	1221	502603	AAGAAGGGATGTGTCCGGAA	62	396
1203	1222	502604	GAAGAAGGGATGTGTCCGGA	61	397
1204	1223	502605	AGAAGAAGGGATGTGTCCGG	62	398
1205	1224	502606	AAGAAGAAGGGATGTGTCCG	56	399
1206	1225	502607	AAAGAAGAAGGGATGTGTCC	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	CGAGGCCAAAGAAGAAGGGA	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	TTCGAAATCCGGTGTAAGG	84	422
1264	1283	502630	CTTCGAAATCCGGTGTAAG	57	423
1265	1284	502631	CCTTCGAAATCCGGTGTAAG	64	424
1266	1285	502632	ACCTTCGAAATCCGGTGTAAG	73	425
1267	1286	502633	CACCTTCGAAATCCGGTGTA	77	426

[0431]

1268	1287	502634	GCACCTTCGAAATCCGGTGT	59	427
1269	1288	502635	GGCACCTTCGAAATCCGGTG	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	CGAAGTTGCATGTGTCGGTG	85	447
1290	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	CCAAGTCGAAGTTGCATGTG	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	GTCTCCACCAAGTCGAAGT	80	460

[0432]

1303	1322	502668	CGTCCTCCACCAAGTCGAAG	76	461
1304	1323	502669	CCGTCCTCCACCAAGTCGAA	78	462
1305	1324	502670	CCCGTCCTCCACCAAGTCGA	83	463
1306	1325	502671	GCCCGTCCTCCACCAAGTCG	76	464
1307	1326	502672	AGCCCGTCCTCCACCAAGTC	72	465
1308	1327	502673	GAGCCCGTCCTCCACCAAGT	71	466
1309	1328	502674	TGAGCCCGTCCTCCACCAAG	60	467
1702	1721	502675	GGTTCGAGCCTCTGCCTCG	44	468
1703	1722	502676	CGGTTCGAGCCTCTGCCTC	74	469
1704	1723	502677	CCGGTTCGAGCCTCTGCCT	72	470
1705	1724	502678	CCCGGTTCGAGCCTCTGCC	73	471
1706	1725	502679	TCCCGGTTCGAGCCTCTGC	84	472
1707	1726	502680	GTCCCGGTTCGAGCCTCTG	66	473
1709	1728	502681	AGGTCCCGGTTCGAGCCTC	82	474
1710	1729	502682	TAGGTCCCGGTTCGAGCCT	83	475
1711	1730	502683	CTAGGTCCCGGTTCGAGCC	81	476
1712	1731	502684	TCTAGGTCCCGGTTCGAGC	74	477
1713	1732	502685	CTCTAGGTCCCGGTTCGAG	78	478
1714	1733	502686	CCTCTAGGTCCCGGTTCGA	75	479
1715	1734	502687	GCCTCTAGGTCCCGGTTCG	80	480
1743	1762	502688	CATCCGCTCCTGCAACTGCC	89	481
1744	1763	502689	CCATCCGCTCCTGCAACTGC	81	482
1745	1764	502690	TCCATCCGCTCCTGCAACTG	71	483
1746	1765	502691	CTCCATCCGCTCCTGCAACT	75	484
1747	1766	502692	ACTCCATCCGCTCCTGCAAC	64	485
1748	1767	502693	AACTCCATCCGCTCCTGCAA	52	486
1749	1768	502694	CAACTCCATCCGCTCCTGCA	45	487
1751	1770	502695	AGCAACTCCATCCGCTCCTG	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	GAAGGTGGATCCGTGGCCCC	73	505
1815	1834	502713	GGAAGGTGGATCCGTGGCCC	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	CCCACCAGCGGGCACTGGCC	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	AGGGAGCAGCAGGTGGCGGC	62	538
1903	1922	502745	CAGGGAGCAGCAGGTGGCGG	56	539
1904	1923	502746	GCAGGGAGCAGCAGGTGGCG	58	540
1905	1924	502747	GGCAGGGAGCAGCAGGTGGC	65	541
1906	1925	502748	TGGCAGGGAGCAGCAGGTGG	47	542
1907	1926	502749	CTGGCAGGGAGCAGCAGGTG	41	543
1909	1928	451432	CCCTGGCAGGGAGCAGCAGG	53	544
1910	1929	502750	ACCCTGGCAGGGAGCAGCAG	52	545
1911	1930	502751	GACCCTGGCAGGGAGCAGCA	77	546
1912	1931	502752	GGACCCTGGCAGGGAGCAGC	0	547
1919	1938	502753	GGCCTAGGGACCCTGGCAGG	39	548
1920	1939	502754	AGGCCTAGGGACCCTGGCAG	35	549
1922	1941	502755	CCAGGCCTAGGGACCCTGGC	44	550
1923	1942	502756	GCCAGGCCTAGGGACCCTGG	60	551
1924	1943	502757	GGCCAGGCCTAGGGACCCTG	58	552
1925	1944	502758	AGGCCAGGCCTAGGGACCCT	57	553
1926	1945	502759	TAGGCCAGGCCTAGGGACCC	52	554
1927	1946	502760	ATAGGCCAGGCCTAGGGACC	51	555
1928	1947	502761	GATAGGCCAGGCCTAGGGAC	41	556
1929	1948	502762	CGATAGGCCAGGCCTAGGGA	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	GCGAACAGGAGCAGGGAAAAG	47	567
1956	1975	502773	GGCGAACAGGAGCAGGGAAA	61	568
1957	1976	502774	CGGCGAACAGGAGCAGGGAA	74	569
1958	1977	502775	ACGGCGAACAGGAGCAGGGA	60	570
1959	1978	502776	AACGGCGAACAGGAGCAGGG	86	571
1960	1979	502777	CAACGGCGAACAGGAGCAGG	84	572
1981	2000	502778	GGGCGGCGGCACGAGACAGA	80	573
1982	2001	502779	AGGGCGGCGGCACGAGACAG	76	574
1983	2002	502780	CAGGGCGGCGGCACGAGACA	58	575
1984	2003	502781	CCAGGGCGGCGGCACGAGAC	80	576
1985	2004	502782	CCCAGGGCGGCGGCACGAGA	59	577
1986	2005	502783	GCCCAGGGCGGCGGCACGAG	68	578
1987	2006	502784	AGCCCAGGGCGGCGGCACGA	75	579
1988	2007	502785	CAGCCCAGGGCGGCGGCACG	76	580
1989	2008	502786	GCAGCCCAGGGCGGCGGCAC	70	581
2026	2045	502787	CTGCGGTGAGTTGGCCGGCG	68	582
2027	2046	502788	ACTGCGGTGAGTTGGCCGGC	67	583
2028	2047	502789	GACTGCGGTGAGTTGGCCGG	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	AAGACAGTTCTAGGGTTCAG	87	590
2078	2097	502796	GAAGACAGTTCTAGGGTTCA	78	591
2079	2098	502797	CGAAGACAGTTCTAGGGTTC	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	CCCGGAGTCGAAGACAGTTC	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	AGGCGGTGGGCGCGGCTTCT	73	605
2144	2163	502811	CAGGCGGTGGGCGCGGCTTC	57	606
2145	2164	502812	GCAGGCGGTGGGCGCGGCTT	69	607
2147	2166	502813	TGGCAGGCGGTGGGCGCGGC	73	608
2149	2168	502814	ACTGGCAGGCGGTGGGCGCG	56	609
2151	2170	502815	GAAGTGGCAGGCGGTGGGCG	71	610
2152	2171	502816	TGAAGTGGCAGGCGGTGGGC	80	611
2154	2173	502817	TGTGAAGTGGCAGGCGGTGG	85	612
2187	2206	502818	TGGAGCTGGGCGGAGACCCA	55	613
2189	2208	502819	ACTGGAGCTGGGCGGAGACC	53	614
2190	2209	502820	GACTGGAGCTGGGCGGAGAC	55	615
2192	2211	502821	AGGACTGGAGCTGGGCGGAG	76	616
2194	2213	502822	ACAGGACTGGAGCTGGGCGG	77	617
2195	2214	502823	CACAGGACTGGAGCTGGGCG	74	618
2196	2215	502824	TCACAGGACTGGAGCTGGGC	90	619
2386	2405	502825	GCCTCAGCCTGGCCGAAAGA	80	620
2387	2406	502826	GGCCTCAGCCTGGCCGAAAG	72	621
2490	2509	444401	TTGCACTTTGCGAACCACG	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	GGGCACCCTCAGAGCCTGAA	82	623

[0439]

1197	1216	502369	GCCTGGCAGCCCCCTGTCCAG	16	160
1198	1217	502370	GGCCTGGCAGCCCCCTGTCCA	58	161
1199	1218	502371	GGGCCTGGCAGCCCCCTGTCC	62	162
1242	1261	502372	ATGGCCCCCTCCCCGGGCCGG	41	163
1243	1262	502373	CATGGCCCCCTCCCCGGGCCG	29	164
1244	1263	502374	CCATGGCCCCCTCCCCGGGCC	34	165
1245	1264	502375	ACCATGGCCCCCTCCCCGGGC	60	166
1246	1265	502376	CACCATGGCCCCCTCCCCGGG	68	167
1247	1266	502377	GCACCATGGCCCCCTCCCCGG	75	168
1248	1267	502378	AGCACCATGGCCCCCTCCCCG	65	169
1249	1268	502379	CAGCACCATGGCCCCCTCCCC	63	170
1250	1269	502380	GCAGCACCATGGCCCCCTCCC	73	171
1251	1270	502381	GGCAGCACCATGGCCCCCTCC	80	172
1253	1272	502382	CAGGCAGCACCATGGCCCCCT	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	GTTGGACAGGCAGCACCATG	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	GCACCTCGGCTGACATGTTG	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	GGCTCAGCCCCAGGAAGCC	46	208
1331	1350	502418	GGGCTCAGCCCCAGGAAGC	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	TCCTGGGCCAGTTCGGAGGC	58	215
1391	1410	502424	GTCCTGGGCCAGTTCGGAGG	71	216
1392	1411	502425	TGTCCTGGGCCAGTTCGGAG	69	217
1393	1412	502426	TTGTCCTGGGCCAGTTCGGA	71	218
1394	1413	502427	CTTGTCCTGGGCCAGTTCGG	66	219
1395	1414	502428	ACTTGTCTGGGCCAGTTTCG	59	220
1396	1415	502429	TACTTGTCTGGGCCAGTTTC	75	221
1397	1416	502430	GTACTTGTCTGGGCCAGTT	78	222
1398	1417	502431	CGTACTTGTCTGGGCCAGT	74	223
1416	1435	502432	ACTGCAAGAAGTCGGCCACG	73	224
1418	1437	502433	CCACTGCAAGAAGTCGGCCA	65	225
1419	1438	451364	CCCACTGCAAGAAGTCGGCC	32	226
1421	1440	502985	ACCCCACTGCAAGAAGTCGG	60	624

[0441]

1551	1570	502986	GCCCCAGGATGGGAGGATCT	58	625
1597	1616	502987	CATAGGACAGAGAAATGTTG	70	626
1630	1649	502988	TGCTGACCTTACTCTGCCCC	86	627
1666	1685	502989	TAAGCCATGGCTCTGAGTCA	51	628
1712	1731	502990	AGAGAGGCCATGGGAGGCTG	42	629
1841	1860	502991	CTGGCCCTCCTGGCTTGCCC	72	630
1853	1872	502992	AGCTGCCCCATGTGGCCCT	76	631
1862	1881	502993	GCCCCTGGCAGCTGCCCCAT	70	632
1873	1892	502994	CTGTGCGCTGCGCCCTGGC	78	633
1887	1906	502995	CGCCGAACACCTGCCTGTCG	68	634
1931	1950	502996	CCTCCCAGTGCCTGGGCACC	52	635
1981	2000	502998	GCGCCTGTCTGCAAAGCTGG	84	636
2025	2044	502999	CCCAAAGTTGTCCCTCCTGG	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	CTGTGAAATGGGAGGAGGAG	0	643
2578	2597	503006	GAAGGTTTTTCCAGAGGCTG	88	644
2615	2634	503007	GGCCAGGAGAGTCATTAGGG	84	645
2710	2729	503008	CCACAAAAGGAGTGCTCCTC	79	646
2789	2808	503009	CCTTTTAAGGCAGCAGGAAC	78	647
3629	3648	503010	CTAGGACTGTCTGCTTCCCA	88	648
3761	3780	502452	CTCACCACGATGGGCTCCGC	66	245
3762	3781	502453	CCTCACCACGATGGGCTCCG	81	246
3763	3782	502454	GCCTCACCACGATGGGCTCC	77	247
3764	3783	502455	AGCCTCACCACGATGGGCTC	63	248
3765	3784	502456	AAGCCTCACCACGATGGGCT	70	249
3766	3785	502457	TAAGCCTCACCACGATGGGC	78	250
3767	3786	502458	TTAAGCCTCACCACGATGGG	76	251
3768	3787	502459	CTTAAGCCTCACCACGATGG	78	252
3769	3788	502460	CCTTAAGCCTCACCACGATG	68	253
3770	3789	502461	TCCTTAAGCCTCACCACGAT	67	254

[0442]

3771	3790	502462	CTCCTTAAGCCTCACCACGA	84	255
3772	3791	502463	CCTCCTTAAGCCTCACCACG	76	256
3773	3792	502464	ACCTCCTTAAGCCTCACCAC	64	257
3774	3793	502465	GACCTCCTTAAGCCTCACCA	72	258
3775	3794	502466	GGACCTCCTTAAGCCTCACC	69	259
3776	3795	502467	CGGACCTCCTTAAGCCTCAC	81	260
3777	3796	502468	TCGGACCTCCTTAAGCCTCA	78	261
3778	3797	502469	GTCGGACCTCCTTAAGCCTC	57	262
3780	3799	502470	CAGTCGGACCTCCTTAAGCC	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	GTCATTCATCAATTTCTAAG	44	649
4118	4137	502482	CCCGTCTGCTTCATCTTAC	67	275
4119	4138	502483	GCCCGTCTGCTTCATCTCA	76	276
4120	4139	502484	GGCCCGTCTGCTTCATCTC	57	277
4121	4140	502485	TGGCCCGTCTGCTTCATCTT	64	278
4122	4141	502486	CTGGCCCGTCTGCTTCATCT	64	279
4123	4142	502487	CCTGGCCCGTCTGCTTCATC	73	280
4124	4143	502488	ACCTGGCCCGTCTGCTTCAT	64	281
4125	4144	502489	CACCTGGCCCGTCTGCTTCA	80	282
4126	4145	502490	ACACCTGGCCCGTCTGCTTC	71	283
4127	4146	502491	TACACCTGGCCCGTCTGCTT	74	284
4148	4167	502492	TTGTTTCATGATCTTCATGGC	56	285
4150	4169	502493	ACTTGTTCATGATCTTCATG	23	286
4151	4170	502494	CACTTGTTCATGATCTTCAT	43	287

[0443]

4152	4171	502495	CCACTTGTTTCATGATCTTCA	43	288
4153	4172	502496	CCCACCTTGTTTCATGATCTTC	47	289
4154	4173	502497	TCCCACCTTGTTTCATGATCTT	34	290
4155	4174	502498	GTCCCACCTTGTTTCATGATCT	34	291
4156	4175	502499	TGTCCCACCTTGTTTCATGATC	27	292
4157	4176	502500	ATGTCCCACCTTGTTTCATGAT	23	293
4158	4177	502501	CATGTCCCACCTTGTTTCATGA	51	294
4159	4178	502502	GCATGTCCCACCTTGTTTCATG	20	295
4160	4179	502503	AGCATGTCCCACCTTGTTTCAT	52	296
4161	4180	502504	CAGCATGTCCCACCTTGTTTCA	72	297
4162	4181	502505	TCAGCATGTCCCACCTTGTTTC	70	298
4163	4182	502506	TTCAGCATGTCCCACCTTGTTT	53	299
4164	4183	502507	CTTCAGCATGTCCCACCTTGTT	52	300
4165	4184	502508	TCTTCAGCATGTCCCACCTTGT	45	301
4167	4186	502509	CCTCTTCAGCATGTCCCACCT	68	302
4168	4187	502510	CCCTCTTCAGCATGTCCCAC	68	303
4169	4188	502511	CCCCTCTTCAGCATGTCCCA	79	304
4170	4189	502512	GCCCCCTCTTCAGCATGTCCC	85	305
4171	4190	502513	CGCCCCCTCTTCAGCATGTCC	84	306
4172	4191	502514	TCGCCCCCTCTTCAGCATGTC	80	307
4173	4192	502515	CTCGCCCCCTCTTCAGCATGT	82	308
4174	4193	502516	CCTCGCCCCCTCTTCAGCATG	78	309
4175	4194	502517	ACCTCGCCCCCTCTTCAGCAT	73	310
4176	4195	502518	CACCTCGCCCCCTCTTCAGCA	76	311
4239	4258	503012	GGAGGAGCTGCAGCCGGAGA	7	650
4245	4264	503013	GCACCCGGAGGAGCTGCAGC	0	651
4261	4280	503014	GCACGACACCTGCAGGGCAC	23	652
4355	4374	503015	AGCTCACCAGGTAGTTCTCA	49	653
4427	4446	503016	GCTTCCTCTCCCACTCCT	65	654
4447	4466	503017	GCAGCACCCCAATCCTAGA	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	CCCCAGCCCAGAGATAACCA	74	660
4927	4946	503023	CCTGATCCATCACGGATGGC	69	661
4987	5006	503024	TACTCCATGACCAGGTACTG	81	662
5185	5204	503025	GCTCTGACCTTCCAAGAACC	56	663
5354	5373	503026	CTCCCTTCTGTGGTCCCACC	0	664
5407	5426	503027	GTCGGGTTTGATGTCCCTGC	75	665
5445	5464	502521	GCCAGGCGGATGTGGCCACA	57	314
5500	5519	503028	AGGGCACTGGCTCACCGTTC	45	666
5681	5700	503029	GGGCCCTCCTTCCAACCACT	28	667
5708	5727	503030	GCCCACCCCTCTGGGCCCAC	45	668
5728	5747	503031	AGGAGCAGAGCGAGGCTTGG	38	669
5800	5819	502524	ACAGCCTGCAGGATCTCGGG	86	317
5801	5820	502525	CACAGCCTGCAGGATCTCGG	81	318
5802	5821	502526	CCACAGCCTGCAGGATCTCG	83	319
5803	5822	502527	CCCACAGCCTGCAGGATCTC	84	320
5804	5823	502528	GCCCACAGCCTGCAGGATCT	91	321
5805	5824	502529	CGCCCACAGCCTGCAGGATC	90	322
5806	5825	502530	CCGCCACAGCCTGCAGGAT	82	323
5807	5826	502531	ACCGCCCACAGCCTGCAGGA	83	324
5808	5827	502532	CACCGCCCACAGCCTGCAGG	85	325
5809	5828	502533	CCACCGCCCACAGCCTGCAG	84	326
5810	5829	502534	CCCACCGCCCACAGCCTGCA	80	327
5811	5830	502535	GCCCACCGCCCACAGCCTGC	90	328
5812	5831	502536	GGCCCACCGCCCACAGCCTG	94	329
5813	5832	502537	AGGCCACCGCCCACAGCCT	88	330
5814	5833	502538	CAGGCCACCGCCCACAGCC	91	331
5815	5834	502539	CCAGGCCACCGCCCACAGC	73	332
5816	5835	502540	CCCAGGCCACCGCCCACAG	86	333
5817	5836	502541	TCCCAGGCCACCGCCCACA	88	334
5818	5837	502542	GTCCCAGGCCACCGCCCAC	84	335
5819	5838	502543	TGTCCCAGGCCACCGCCCA	85	336
5820	5839	502544	CTGTCCCAGGCCACCGCCC	65	337
5821	5840	502545	CCTGTCCCAGGCCACCGCC	81	338
5822	5841	502546	GCCTGTCCCAGGCCACCGC	90	339

[0445]

5823	5842	502547	TGCCTGTCCCAGGCCACCG	85	340
5824	5843	502548	CTGCCTGTCCCAGGCCACC	89	341
5825	5844	502549	GCTGCCTGTCCCAGGCCAC	91	342
5826	5845	502550	AGCTGCCTGTCCCAGGCCA	94	343
5827	5846	502551	TAGCTGCCTGTCCCAGGCC	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	GCCCGTAGCTGCCTGTCCCA	83	349
5833	5852	502557	GGCCCGTAGCTGCCTGTCCC	89	350
5881	5900	502558	TAGAACATTTTCATAGGCGAA	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	CTTGTAGTGGACGATCTTGC	70	358
5946	5965	502566	CCTTGTAGTGGACGATCTTG	61	359
5948	5967	503032	CACCTTGTAGTGGACGATCT	62	670
6039	6058	502582	CGGCAGAGAGAGGTGCTCCT	80	375
6040	6059	502583	GCGGCAGAGAGAGGTGCTCC	62	376
6041	6060	502584	AGCGGCAGAGAGAGGTGCTC	44	377
6042	6061	502585	CAGCGGCAGAGAGAGGTGCT	78	378
6043	6062	502586	CCAGCGGCAGAGAGAGGTGC	71	379
6118	6137	502587	GGCCCAGCCGTGTCTCCGGG	77	380
6119	6138	502588	CGGCCAGCCGTGTCTCCGG	69	381
6120	6139	502589	CCGGCCAGCCGTGTCTCCG	70	382
6121	6140	502590	CCCGGCCAGCCGTGTCTCC	75	383
6122	6141	502591	CCCCGGCCAGCCGTGTCTC	77	384
6123	6142	502592	ACCCCGGCCAGCCGTGTCT	73	385
6124	6143	502593	CACCCCGGCCAGCCGTGTC	84	386
6125	6144	502594	CCACCCGGGCCAGCCGTGT	78	387

[0446]

6126	6145	502595	TCCACCCCGGCCAGCCGTG	71	388
6127	6146	502596	CTCCACCCCGGCCAGCCGT	81	389
6128	6147	502597	GCTCCACCCCGGCCAGCCG	86	390
6129	6148	502598	TGCTCCACCCCGGCCAGCC	83	391
6130	6149	502599	CTGCTCCACCCCGGCCAGC	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	AGAAGAAGGGATGTGTCCGG	62	398
6158	6177	502606	AAGAAGAAGGGATGTGTCCG	56	399
6159	6178	502607	AAAGAAGAAGGGATGTGTCC	58	400
6160	6179	502608	CAAAGAAGAAGGGATGTGTCT	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	CGAGGCCAAAGAAGAAGGGA	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	TCCAGTCGAGGCCAAAGAA	66	413
6174	6193	502621	ATCCAGTCGAGGCCAAAGA	75	414
6175	6194	502622	CATCCAGTCGAGGCCAAAG	70	415
6176	6195	502623	CCATCCAGTCGAGGCCAAA	81	416
6177	6196	502624	ACCATCCAGTCGAGGCCAA	82	417
6178	6197	502625	GACCATCCAGTCGAGGCCA	88	418
6179	6198	502626	AGACCATCCAGTCGAGGCC	79	419
6180	6199	502627	GAGACCATCCAGTCGAGGC	82	420
6181	6200	502628	GGAGACCATCCAGTCGAGG	60	421

[0447]

6216	6235	502629	TTCGAAATCCGGTGTAAGG	84	422
6217	6236	502630	CTTCGAAATCCGGTGTAAG	57	423
6218	6237	502631	CCTTCGAAATCCGGTGTAAG	64	424
6219	6238	502632	ACCTTCGAAATCCGGTGTA	73	425
6220	6239	502633	CACCTTCGAAATCCGGTGTA	77	426
6221	6240	502634	GCACCTTCGAAATCCGGTGT	59	427
6222	6241	502635	GGCACCTTCGAAATCCGGTG	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	GTGTGGTGGCACCTTCGAA	88	436
6231	6250	502644	TGTGTGGTGGCACCTTCGA	87	437
6232	6251	502645	ATGTGTGGTGGCACCTTCG	88	438
6233	6252	502646	CATGTGTGGTGGCACCTTC	88	439
6234	6253	502647	GCATGTGTGGTGGCACCTT	91	440
6235	6254	502648	TGCATGTGTGGTGGCACCT	87	441
6236	6255	502649	TTGCATGTGTGGTGGCAC	86	442
6237	6256	502650	GTTGCATGTGTGGTGGCAC	83	443
6238	6257	502651	AGTTGCATGTGTGGTGGCA	81	444
6239	6258	502652	AAGTTGCATGTGTGGTGGC	79	445
6240	6259	502653	GAAGTTGCATGTGTGGTGG	58	446
6241	6260	502654	CGAAGTTGCATGTGTGGTG	85	447
6243	6262	502655	GTCGAAGTTGCATGTGTGG	77	448
6244	6263	502656	AGTCGAAGTTGCATGTGTGC	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	GTCTCCACCAAGTCGAAGT	80	460
6256	6275	502668	CGTCCTCCACCAAGTCGAAG	76	461
6257	6276	502669	CCGTCTCCACCAAGTCGAA	78	462
6258	6277	502670	CCCCTCTCCACCAAGTCGA	83	463
6259	6278	502671	GCCCGTCCTCCACCAAGTCG	76	464
6260	6279	502672	AGCCCGTCCTCCACCAAGTC	72	465
6261	6280	502673	GAGCCCGTCCTCCACCAAGT	71	466
6262	6281	502674	TGAGCCCGTCCTCCACCAAG	60	467
6289	6308	503033	CTACCCCGCCCCGCTCACC	60	671
6445	6464	503034	CTAGGTCACTGCTGGGTCCT	86	672
6596	6615	503035	CTCAGATAGCTCCCCACTCC	55	673
6794	6813	503036	AATTCTCTAATTCTCTAGAC	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	CCGGTTCCGAGCCTCTGCCT	72	470
11978	11997	502678	CCCGGTTCCGAGCCTCTGCC	73	471
11979	11998	502679	TCCCGGTTCCGAGCCTCTGC	84	472
11980	11999	502680	GTCCCGGTTCCGAGCCTCTG	66	473
11982	12001	502681	AGGTCCCGGTTCCGAGCCTC	82	474
11983	12002	502682	TAGGTCCCGGTTCCGAGCCT	83	475
11984	12003	502683	CTAGGTCCCGGTTCCGAGCC	81	476
11985	12004	502684	TCTAGGTCCCGGTTCCGAGC	74	477
11986	12005	502685	CTCTAGGTCCCGGTTCCGAG	78	478
11987	12006	502686	CCTCTAGGTCCCGGTTCCGA	75	479
11988	12007	502687	GCCTCTAGGTCCCGGTTCCG	80	480
12016	12035	502688	CATCCGCTCCTGCAACTGCC	89	481
12017	12036	502689	CCATCCGCTCCTGCAACTGC	81	482
12018	12037	502690	TCCATCCGCTCCTGCAACTG	71	483

[0449]

12019	12038	502691	CTCCATCCGCTCCTGCAACT	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	AGGAGGGCGGTGGCGCGGCG	0	677
12221	12240	503040	TGACAGCTGGAAGGAGAAGA	41	678
12258	12277	502712	GAAGGTGGATCCGTGGCCCCG	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	CACCAGCGGGCACTGGCCCA	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	GGGCCCTGGCCCCACCAGCGG	66	527
12625	12644	502734	AGGTGGCGGCGGTGCATGGG	31	528
12626	12645	502735	CAGGTGGCGGCGGTGCATGG	23	529
12627	12646	502736	GCAGGTGGCGGCGGTGCATG	57	530
12628	12647	502737	AGCAGGTGGCGGCGGTGCAT	54	531
12629	12648	502738	CAGCAGGTGGCGGCGGTGCA	61	532
12630	12649	502739	GCAGCAGGTGGCGGCGGTGC	57	533
12631	12650	502740	AGCAGCAGGTGGCGGCGGTG	36	534

[0450]

12632	12651	502741	GAGCAGCAGGTGGCGGCGGT	53	535
12633	12652	502742	GGAGCAGCAGGTGGCGGCGG	39	536
12634	12653	502743	GGGAGCAGCAGGTGGCGGCG	36	537
12635	12654	502744	AGGGAGCAGCAGGTGGCGGC	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	ACCCTGGCAGGGAGCAGCAG	52	545
12646	12665	503043	CGTACCCTGGCAGGGAGCAG	59	682
12918	12937	502977	GGACTCGCCCCGCCTACGCC	71	683
12924	12943	502978	CTCCTGGGACTCGCCCCGCC	67	684
12925	12944	503044	GCTCCTGGGACTCGCCCCGC	66	685
12929	12948	503045	ATTGGCTCCTGGGACTCGCC	77	686
12930	12949	502979	GATTGGCTCCTGGGACTCGC	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	AACAGGAGCAGGGAAGCGC	83	564
13016	13035	502770	GAACAGGAGCAGGGAAGCG	70	565
13017	13036	502771	CGAACAGGAGCAGGGAAGC	43	566
13018	13037	502772	GCGAACAGGAGCAGGGAAG	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	GGGCGGCGGCACGAGACAGA	80	573
13045	13064	502779	AGGGCGGCGGCACGAGACAG	76	574
13046	13065	502780	CAGGGCGGCGGCACGAGACA	58	575
13047	13066	502781	CCAGGGCGGCGGCACGAGAC	80	576
13048	13067	502782	CCCAGGGCGGCGGCACGAGA	59	577
13049	13068	502783	GCCCAGGGCGGCGGCACGAG	68	578
13050	13069	502784	AGCCCAGGGCGGCGGCACGA	75	579
13051	13070	502785	CAGCCCAGGGCGGCGGCACG	76	580
13052	13071	502786	GCAGCCCAGGGCGGCGGCAC	70	581
13089	13108	502787	CTGCGGTGAGTTGGCCGGCG	68	582
13090	13109	502788	ACTGCGGTGAGTTGGCCGGC	67	583
13091	13110	502789	GACTGCGGTGAGTTGGCCGG	58	584
13092	13111	502790	AGACTGCGGTGAGTTGGCCG	71	585
13093	13112	502791	CAGACTGCGGTGAGTTGGCC	70	586
13094	13113	502792	CCAGACTGCGGTGAGTTGGC	79	587
13095	13114	502793	GCCAGACTGCGGTGAGTTGG	76	588
13096	13115	502794	CGCCAGACTGCGGTGAGTTG	66	589
13140	13159	502795	AAGACAGTTCTAGGGTTCAG	87	590
13141	13160	502796	GAAGACAGTTCTAGGGTTCA	78	591
13142	13161	502797	CGAAGACAGTTCTAGGGTTC	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	CCCGGAGTCGAAGACAGTTC	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	GCAGGCGGTGGGCGCGGCTT	69	607
13210	13229	502813	TGGCAGGCGGTGGGCGCGGC	73	608
13212	13231	502814	ACTGGCAGGCGGTGGGCGCG	56	609
13214	13233	502815	GAACTGGCAGGCGGTGGGCG	71	610
13215	13234	502816	TGAACTGGCAGGCGGTGGGC	80	611
13217	13236	502817	TGTGAACTGGCAGGCGGTGG	85	612
13250	13269	502818	TGGAGCTGGGCGGAGACCCA	55	613
13252	13271	502819	ACTGGAGCTGGGCGGAGACC	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	TCACAGGACTGGAGCTGGGC	90	619
13449	13468	502825	GCCTCAGCCTGGCCGAAAGA	80	620
13450	13469	502826	GGCCTCAGCCTGGCCGAAAG	72	621
13553	13572	444401	TTGCACTTTGCGAACCAACG	97	41
14037	14056	503047	TTCTCCCCCAACCCTGATT	34	692
14255	14274	503048	AAGTTTGCAGCAACTTTTCT	0	693
14325	14344	503049	GCCCCTCGGAATTCCCGGCT	0	694
14343	14362	503050	CATCTCGCCTGCGCTCCGC	39	695
14361	14380	503051	GCAGGCCCCACATTCCCCA	0	696
14392	14411	503052	CTTCTGCACGCCTCCGTCTC	30	697

[0453]

[0454]

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 비해 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 윙 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 올리고 뉴클레오타이드가 뮤린 유전자 서열 내에서 표적으로 하는 가장 3'의 뉴클레오사이드를 나타낸다. 표 12에 나열된 모든 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 서열번호 3(뉴클레오타이드 16666001로부터 16681000까지 트렁케이션된 유전자는 등록번호 NT_039413.7)을 표적으로 한다. 표 13에 나열된 모든 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 서열번호 4(유전자는 등록번호 NM_032418.1)를 표적으로 한다. 표 14의 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 서열번호 5(유전자는 등록번호 AI007148.1), 서열번호 6(유전자는 등록번호 AI304033.1), 서열번호 7(유전자는 등록번호 BC024150.1), 서열번호 8(유전자는 등록번호 BC056615.1), 서열번호 793(유전자는 등록번호 BC075715.1), 서열번호 794(유전자는 등록번호 BU519245.1), 서열번호 795(유전자는 등록번호 CB247909.1), 서열번호 796(유전자는 등록번호 CX208906.1), 서열번호 797(유전자는 등록번호 CX732022.1), 서열번호 798(유전자는 등록번호 S60315.1) 또는 서열번호 799(유전자는 등록번호 S60316.1)를 표적으로 한다. 또한, 서열번호 800(유전자는 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 올리고뉴클레오타이드가 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	TGGCCACAGCCACGCCGG	47	698	1850	1869	0
11927	11946	299520	GGCTGGCCCCACCAGCGG	58	699	1873	1892	0
11962	11981	299521	CCTGGCAGGAGCAGCAGGT	44	700	1908	1927	0
3345	3364	451360	CAGCCGCACTTCGGCTGACA	29	701	207	226	1
3378	3397	451361	GCCTGGGTCCAGCACCAGCT	67	702	240	259	2
3388	3407	451362	GTCCAGGAAGCCTGGGTCC	62	703	250	269	2
3418	3437	451363	CGCCAGGAGAAGGTCGAGC	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	GTCTATGGCCATGACAATCT	61	705	738	757	0
6363	6382	451368	GTAGCCAGCCGGTGCACGG	54	706	759	778	2
6851	6870	451370	GGGTGCCACAGCCACCAGC	72	707	889	908	0
6919	6938	451371	TGGCCGTAGCTGCCTGCC	80	708	957	976	2
7448	7467	451373	GGAAATCACCTGCCCCACCT	80	709	n/a	n/a	n/a
7458	7477	451374	GGATGTTTCTGGAAATCACC	84	710	n/a	n/a	n/a
7533	7552	451375	GTGGCACCCTCGAAGTCTGG	77	711	1271	1290	3
7589	7608	451376	CCCCGCTCACCATGGCAGTG	31	712	n/a	n/a	n/a
10278	10297	451378	GGTCCGGGACCTGATTGTCT	85	713	n/a	n/a	n/a
3229	3248	451385	GCTGCATGTCTGCCCGTCCC	74	714	90	109	1
3244	3263	451386	GGCCCCAGAACCTAGCTGC	73	715	n/a	n/a	n/a
3270	3289	451387	TCACAGGGCTGGCTGCCCC	62	716	131	150	1
3333	3352	451388	GGCTGACATGTTGGGCAGGC	60	717	195	214	1
3250	3269	451389	TGTCCAGGCCCAAGAACCT	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	GGCTGGAGTCTTAGGGTTC	85	721	n/a	n/a	n/a
12623	12642	451394	TCCCCGGCCGCGCAGGTGGCA	43	722	2224	2243	3
12651	12670	451395	GGTGTGGGCACGAGCCCTG	62	723	n/a	n/a	n/a
12698	12717	451396	GCCCAGCTGCTGCAGCAGCG	66	724	n/a	n/a	n/a

[0460]

12876	12895	451397	CCGTGTGTGCTGGCAGAGGT	76	725	n/a	n/a	n/a
13084	13103	451398	ATAAATACCGAGGAATGTCG	77	726	2766	2785	0
13094	13113	451399	GGGACAGACAATAAATACCG	80	727	2776	2795	0
12362	12381	451405	GTGCAGCCAGTGTGGCGGC	69	728	1991	2010	3
11175	11194	451415	CCTGGAGAAGTTCTGGTTGG	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	AGCTGGAGAGAGAAGGGACA	37	731	n/a	n/a	n/a
11379	11398	451422	GTGAGGGACTCGCTGCAGC	36	732	n/a	n/a	n/a
11479	11498	451423	GCGGTGCGGTGCCCCAGCC	50	733	n/a	n/a	n/a
11883	11902	451424	GGGCCATCTAGCTGGAGAGA	45	734	n/a	n/a	n/a
3485	3504	451427	CCCCACTCAAGAAGTCGGC	57	735	347	366	1
4621	4640	451428	TTGAGCCCTTTAAGGCAGC	43	736	n/a	n/a	n/a
6232	6251	451429	TGACCAGTACTGGGAGCGG	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	GTGGGACATACCTGGCAGG	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

억제

뮤린 표적 시작 부위	뮤린 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	CCTCACCATTCCATCAGGCT	81	743	n/a	n/a	n/a
881	900	451372	CGGCAGCGACAAGTGTCC	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	AGGTCGGCCTCTTCAGCCAC	74	747	n/a	n/a	n/a
1494	1513	451381	GTTGGCTGGAGAAGTTCTGG	39	748	1678	1697	2
1598	1617	451382	CCCCGTGATGGCTGCGGCTC	54	749	1782	1801	3
1644	1663	451383	GGCCATCTAGATGGGAAGGT	21	517	1828	1847	0
1741	1760	451384	AGGCCAGGCTAGGGATCCT	39	750	1925	1944	1

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

뮤린 표적 시작 부위	뮤린 표적 정지 부위	뮤린 표적 SEQ ID NO	ISIS No	서열	% 억제	서열 번호	인간 표적 시작 부위	인간 표적 정지 부위	미스매치
324	343	5	451410	GGCGCGGTGCCCCAGCCTGG	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	GTGTTTCATCTTCACCACCG	80	756	462	481	3
1475	1494	7	451390	AGGTCAGCCTCTTCAGCCAC	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	GGAGGATTTGGCGAGAAGCA	48	759	n/a	n/a	n/a
1032	1051	793	451403	CGAAGTCTGCCCCACCTCGA	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	GGTGCCACAGCCACCAGGG	82	763	888	907	1
322	341	795	451406	TCCATGGCAGTGAGCCGTC	55	764	1319	1338	1
523	542	795	451407	GGGACCACTTGATCCGGTGG	63	765	n/a	n/a	n/a
534	553	795	451408	GGATCAGAGTTGGGACCACT	0	766	n/a	n/a	n/a
492	511	796	451416	CCCCGTGATGGCTGCGGTTC	49	767	n/a	n/a	n/a
469	488	797	451409	GTGTGTCCTCATACCCGCC	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

실시예 9: 마우스 일차 간세포에서의 뮤린 DMPK의 용량 의존적 안티센스 억제

마우스 일차 간세포에서의 DMPK의 시험관내 억제를 나타내는 여러 안티센스 올리고뉴클레오타이드(실시예 8 참조)를 다양한 용량으로 시험하였다. 세포를 웰 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 전사물 수준을 프라이머 프로브 세트 RTS3181 (정방향 서열 GACATATGCCAAGATTGTGCACTAC, 서열번호 771로 본원에 표시됨; 역방향 서열 CACGAATGAGGTCTGAGCTT, 서열번호 772로 본원에 표시됨; 프로브 서열 AACACTGTGCTGCGCTGGCXX, 서열번호 773으로 본원에 표시됨)를 이용한 정량 실시간 PCR에 의해 측정하였다. DMPK 전사물 수준을 RIBOGREEN(등록상표)에 의해 측정되는 바와 같은 전체 RNA 함량에 대해 표준화시켰다. 결과는 미처리된 대조군 세포에 비한 DMPK의 억제 퍼센트로 표 17에 제시된다.

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

[0472] 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. 웰당 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 비해 알파1 액틴의 억제 퍼센트로 제시된다.

[0473] 표 18의 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 5-10-5 겹머이고, 여기서 겹 세그먼트는 10개의 2'-데옥시뉴클레오타이드를 포함하고, 각각의 웅 세그먼트는 5개의 2'-MOE 뉴클레오타이드를 포함한다. 각각의 겹머 전체에 걸친 뉴클레오타이드간 결합은 포스포로티오에이트(P=S) 결합이다. 각각의 겹머 전체에 걸친 모든 사이토신 잔기는 5-메틸사이토신이다. '표적 시작 부위'는 안티센스 올리고뉴클레오타이드가 표적으로 하는 가장 5'의 뉴클레오타이드를 나타낸다. '표적 정지 부위'는 안티센스 올리고뉴클레오타이드가 표적으로 하는 가장 3'의 뉴클레오타이드를 나타낸다. 표 18에 나열된 모든 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 서열번호 801(유전자은행 등록번호 NM_001100.3)을 표적으로 한다.

[0474] 시험된 안티센스 올리고뉴클레오타이드 서열은 상기 특정된 조건하에서의 알파1 액틴 mRNA 수준의 용량 의존적 억제를 나타내었다.

[0475] 표 18: 서열번호 801을 표적으로 하는 5-10-5 겹머에 의한 HepG2 세포에서의 인간 알파1 액틴 RNA 전사물의 억제

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

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

[0478] 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 전사물 수준을 프라이머 프로브 세트 RTS3154(정방향 CCACCGCAAATGCTTCTAGAC, 서열번호 785로 본원에 표시됨; 역방향 CCCCCCATGAGAAGATTC, 서열번호 786으로 본원에 표시됨; 프로브 서열 CTCACCTCCAGCAGCGACTTCTX, 서열번호 787로 본원에 표시됨)를 이용하여 정량 실시간 PCR에 의해 측정하였다. 알파1 액틴 RNA 전사물 수준을 RIBOGREEN(등록상표)에 의해 측정되는 바와 같은 전체 RNA 함량에 따라 표준화시켰다. 결과는 처리되지 않은 대조군 세포에 비해 알파1 액틴의 억제 퍼센트로 표 19에 제시된다.

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

[0480] 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]

[0482] 실시예 12: 트랜스제닉 마우스에서의 근내 투여에 의한 인간 알파1 액틴의 생체내 안티센스 억제

[0483] 근육긴장성 이영양증의 치료를 위한 안티센스 억제제의 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 전사물은 골격근 내의 핵 초점으로 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 개선이 DMPK 전사물의 안티센스 억제에 의한 인간 환자에서의 유사한 증상의 개선을 예측하는 것이 예상되었다.

[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 전사물을 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 멸균시켰다. 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 전사물 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 멸균시켰다. 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 445236을 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 445236을 이용한 처리는 모든 투여량에서 인간 알파1 액틴 RNA 전사물 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 콕테일을 복막내 이용하여 마취시켰다. 좌측 및 우측 대퇴사두근, 좌측 및 우측 장딴지근 근육, 좌측 및 우측 앞정강근 근육 및 요추 척추열 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.

[0508] 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 억제체의 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 전사물 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 시츄 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 행구었다. 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'-O-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 2,2,2-트라이브로모에탄올을 복막내 이용하여 마취시켰다. 좌측 및 우측 대퇴사두근, 좌측 및 우측 장딴지근 근육, 좌측 및 우측 앞정강근 근육 및 요추 척추열 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 24에 제시되고, 이는 ISIS 445236 및 ISIS 445238로 처리된 마우스에서의 근육긴장증의 유의한 감소를 나타내었다.

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

대안적 스플라이싱의 교정

Serca1 스플라이싱, *m-Titin* 스플라이싱, CIC-1 클로라이드 채널 유전자(*Clcn1*) 스플라이싱 및 *Zasp* 스플라이싱을 조절하는 스플라이싱 인자 MBNL1은 확장된 CUG 초점 내에 격리된다. MBNL1 격리는 상기 유전자 각각에서 이상조절된 스플라이싱을 촉발시킨다. 스플라이싱에 대한 인간 알파1 액틴의 안티센스 억제 효과의 영향을 평가하기 위해, 전체 RNA를 실시예 13에 기재된 바와 같이 앞정강근, 장딴지근 및 대퇴사두근 근육으로부터 정제시키고, RT-PCR을 수행하였다. *Serca1*, *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.

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.

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 스킵핑(skipping) 및 *m-Titin* 유전자의 대안적 스플라이싱의 정상화를 발생시켰다.

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 스킵핑(skipping) 및 *Clcn1* 유전자의 대안적 스플라이싱의 정상화를 발생시켰다.

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 스킵핑(skipping) 및 *Zasp* 유전자의 대안적 스플라이싱의 정상화를 발생시켰다.

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 MBNL1 격리를 교정함으로써, 정상적인 스플라이싱이 발생하도록 한다.

실시예 15: 트랜스제닉 마우스에서의 인간 알파1 액틴의 생체내 안티센스 억제

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

처리

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.

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 전사물 발현을 감소시켰다. 결과는 PBS 대조군에 비해 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 척추열 근육에 대한 근전도검사를 30 개이지 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 척추열 근육	3.00	0.50	2.00

[0552]

[0553] 대안적 스플라이싱의 교정

[0554] Serca1의 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 엑손 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 엑손 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 전사물 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] Serca1의 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. 1주일 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 결리를 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'-GCGGTCAGCGATCCCAGGGT-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 주 당 2회로 25 mg/kg의 용량으로 ISIS 190401을 피하 주사로 투여하였다. 대조군에 2주 동안 주 당 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 전사물 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]

[0583] 근전도검사에 의한 근육긴장증의 평가

[0584] 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.

[0585] 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

[0586]

[0587] 대안적 스플라이싱의 교정

[0588] Serca1의 대안적 스플라이싱에 대한 ISIS 190401의 효과를 평가하기 위해, 앞정강근 장딴지근 및 대퇴사두근 근육으로부터 정제된 전체 RNA를 실시예 13에 기재된 것과 유사한 절차로 분석하였다.

[0589] 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.

[0590] 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 격 리를 교정함으로써, 정상적인 스플라이싱이 발생하도록 한다.

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

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

[0593] 처리

[0594] HSA^{LR} 마우스에 4주 동안 주 당 2회로 25 mg/kg의 용량으로 ISIS 445236을 피하 주사로 투여하였다. 대조군에 2주 동안 주 당 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 분리시켰다. 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]

[0600] 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 개이지 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]

[0604] 실시예 19: 트랜스제닉 마우스에서의 근내 투여에 의한 CUG 반복부를 갖는 mRNA의 안티센스 억제제의 생체내 효과

[0605] HSA^{LR} 마우스에서의 근육긴장증에 대한 다수의 CUG 반복부를 함유하는 mRNA 전사물의 안티센스 억제제의 효과를 평가하였다. CUG 반복부를 표적으로 하며, 다양한 길이를 갖는 3개의 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 마우스에서 근육긴장증을 억제하는데 있어서의 이의 효과를 검정하였다. ISIS 444745(AGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCA(서열번호 789)는 포스포로티오에이트 백본을 갖는 25개 뉴클레오타이드 길이의 균일한 2'-O-메톡시에틸 올리고뉴클레오타이드이다. ISIS 444746(AGCAGCAGCAGCAGCAGCAG(서열번호 790)는 포스포로티오에이트 백본을 갖는 20개

뉴클레오타이드 길이의 균일한 2'-O-메톡시에틸 올리고뉴클레오타이드이다. ISIS 444749(GCAGCAGCAGCAGCA(서열 번호 791)는 포스포로티오에이트 백본을 갖는 15개 뉴클레오타이드 길이의 균일한 2'-O-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 444749를 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 멸균시켰다. 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 444746을 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 척추열 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.

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

실시예 21: 트랜스제닉 마우스에서의 피하 투여에 의한 CUG 반복부를 갖는 mRNA의 안티센스 억제제의 생체내 효과

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

처리

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.

근전도검사에 의한 근육긴장증의 평가

좌측 및 우측 대퇴사두근, 좌측 및 우측 장딴지근 근육, 좌측 및 우측 앞정강근 근육 및 요추 척추열 근육에 대한 근전도검사를 30 개이지 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.

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

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 척추열 근육	3.00	3.00	3.00	3.00	0.00

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

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.

처리

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 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. 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.

[0636] 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

[0637]

[0638] 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]

[0640] 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 희생시키고, 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.

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

근전도검사에 의한 근육긴장증의 평가

좌측 및 우측 대퇴사두근, 좌측 및 우측 장딴지근 근육, 좌측 및 우측 앞정강근 근육 및 요추 척추열 근육에 대한 근전도검사를 30 개이지 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.

실시예 24: 트랜스제닉 마우스에서의 인간 DMPK의 생체내 안티센스 억제

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.

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

처리

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.

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.

DMPK RNA의 억제

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.

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

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

근전도검사에 의한 근육긴장증의 평가

좌측 및 우측 대퇴사두근, 좌측 및 우측 장딴지근 근육, 좌측 및 우측 앞정강근 근육 및 요추 척추열 근육에 대한 근전도검사를 30 개이지 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.

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

hDMPK-표적화 ASO를 이용하여, 가자미근에서의 444401 및 299471 표적 Nickdown을 SXL 마우스에서 측정하였다. SXL 마우스는 전체 DMPK 유전자 및 프로모터에 대해 트랜스제닉이고, DMPK 유전자의 3'UTR에 1000개의 CUG 반복 부 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 ISIS 444401 또는 ISIS 299471을 이용한 처리가 mut-hDMPK mRNA 수준을 유의하게 감소시켰으나, 내인성 마우스 Dmpk mRNA 수준에는 사소하게 영향을 미친 것을 나타내었다.

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

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

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

처리

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.

알파1 액틴 RNA의 억제

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.

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

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

근육 유형	% 억제
대퇴사두근	74
장딴지근	81
앞정강근	75

[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 개이지 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.

[0679] 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 주당 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 하이브리드화시켰다. 이미지 데이터를 BeadStudio 소프트웨어(Illumina)를 이용하여 정량하였다. 신호 강도를 분위수 표준화시켰다. 표준화 전에 2 미만의 임의의 값을 피하기 위해 열-특이적 오프셋(Row-specific 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) 억다운을 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.

[0694] 표 42: HSA^{LR} 트랜스제닉 마우스와 야생형 마우스의 확인된 93개의 전사물의 비교

전사물	배수- 변화 HSALR- 염수 대 WT	t 시험 HSALR- 염수 대 WT	배수- 변화 HSALR- 190104 대 HSALR- 염수	t 시험 HASLR 190401 대 HSALR- 염수	배수- 변화 HSALR- 190401 대 WT	t 시험 HSALR- 190401 대 WT	배수- 변화 HSALR- 445236 대 HSALR- 염수	t 시험 HSALR- 445236 대 HSALR- 염수	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
TASIR1	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
D030028016RIK	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

[0696]

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
MID1P1	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]

서열 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> BIOL0134W0

<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 ctcggccggc cgcagagaga 60
 agtggccaga gaggccagg ggacagccag ggacaggcag acatgcagcc agggctccag 120
 ggccctggaca ggggctgcca ggccctgtga caggaggacc ccgagccccc ggcccgggga 180
 ggggccatgg tgctgcctgt ccaacatgtc agccgagggt cggtctgagg ggctccagca 240
 gctggtgttg gaccgggct tcttggggct ggagcccttg ctcgaccttc tcttgggcgt 300
 ccaccaggag ctgggcgcct ccgaactggc ccaggacaag tacgtggccg acttcttgca 360

gtgggaggag cccatcgtgg tgaggcttaa ggaggtccga ctgcagaggg acgacttcga 420
 gattctgaag gtgatcggac gcggggcggt cagcgaggta gcggtagtga agatgaagca 480
 gacgggccag gtgtatgcca tgaagatcat gaacaagtgg gacatgctga agaggggcga 540
 ggtgtcgtgc ttccgtgagg agaggacgt gttggtgaat ggggaccggc ggtggatcac 600
 gcagctgcac ttgccttcc aggatgagaa ctacctgtac ctggtcatgg agtattacgt 660
 gggcggggac ctgctgacac tgctgagcaa gtttggggag cggattccgg ccgagatggc 720
 gcgcttctac ctggcggaga ttgtcatggc catagactcg gtgcaccggc ttggctacgt 780
 gcacagggac atcaaaccg acaacatcct gctggaccgc tgtggccaca tccgcctggc 840

cgacttcggc tcttgctca agctgcgggc agatggaacg gtgcggctgc tgggtgctgt 900
 gggcacccca gactacctgt ccccagagat cctgcaggct gtggcggtg ggcctgggac 960
 aggcagctac gggcccaggt gtgactggtg ggcgctgggt gtattcgct atgaaatgtt 1020
 ctatggcgag acgcccttct acgcggattc cacggcggag acctatggca agatcgtcca 1080

ctacaaggag cacctctctc tgccgctggt ggacgaaggg gtcctgagg aggctcgaga 1140
 cttcattcag cggttgctgt gtccccgga gacacggctg ggccggggtg gaggaggcga 1200
 ctcccgaca catcccttct tctttggcct cgactgggat ggtctccggg acagcgtgcc 1260
 cccctttaca ccggaattcg aagggtccac cgacacatgc aatttcgact tggtaggagga 1320

ggggtcact gccatggaga cactgtcgga cattcgga ggtgcgccgc taggggtcca 1380
 cctgcctttt gtgggtact cctactcctg catggccctc agggacagtg aggtccagg 1440
 cccacaccc atggaactgg aggccgagca gctgcttgag ccacacgtgc aagcgcccag 1500
 cctggagccc tcggtgtccc cacaggatga aacagctgaa gtggcagttc cagcggtgt 1560
 ccctgcggca gaggtgagg ccgaggtgac gctgcgggag ctccaggaag ccctggagga 1620
 ggaggtgctc acccggcaga gcctgagccg ggagatggag gccatccgca cggacaacca 1680
 gaactcgcc agtcaactac gcgaggcaga ggctcggaac cgggacctag aggcacacgt 1740
 ccggcagttg caggagcga tggagtgtc gcaggcagag ggagccacag ctgtcacggg 1800

ggtccccagt ccccgggcca cggatccacc ttccatcta gatggcccc cggccgtggc 1860
 tgtggccag tgcccgctgg tggggccagg ccccatgcac cgccgccacc tgctgtccc 1920
 tgccagggtc ctaggcctg gcctatcgga ggcgtttcc ctgctcctgt tcgccgttgt 1980
 tctgtctcgt gccgcgccc tgggtgcat tgggttggtg gccacgccg gccaaactac 2040
 cgcagctgg cgccgccag gaggcgccc cgctccctga accctagaac tgtcttcgac 2100
 tccggggccc cgttggaaga ctgagtgcc ggggcacggc acagaagccg cgccaccgc 2160
 ctgccagttc acaaccgtc cgagcgtggg tctccgcca gctccagtcc tgtgatccg 2220
 gcccccccc tagcgccgg ggagggagg gcccgtccg cggccggcga acggggctcg 2280

aagggtcctt gtagccgga atgtgtgtc tgctgtgtc gctgtgtc ctgtgtgtc 2340
 tgctgtgtc gctgtgtc ctgggggat cacagacat tttttttt cggccaggt 2400
 gaggccctga cgtggatgg caaactgcag gcctgggaag gcagcaagcc ggccgtccg 2460
 tgttccatcc tccagcacc cccacctatc gttggttcgc aaagtcaaa gctttcttgt 2520
 gcatgacgcc ctgtcttgg gagcgtctg cgcatctct gcctgcttac tcgggaaatt 2580
 tgcttttgcc aaaccgctt ttccgggat cccgcgccc cctctcact tgcgtgtc 2640
 tcggagcccc agccggtcc gcccgcttc gcggtttgga tatttattga cctcgtctc 2700
 cgactcgtg acaggctaca ggaccccaa caaccat ccacgtttg gatgcactga 2760

gaccccgaca ttctcggtt tttattgtc gtccccact aggacccca ccccgacc 2820
 tcgcaataa aaggccctc atctgcccc aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaa 2877

<210> 2

<211> 14411

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 2

```

ctccagccc agcgctccc acccttttc atagcaggaa aagccggagc ccaggaggagg 60
aacggacctg cgagtcacac aactgggtgac ccacaccagc ggctggagca ggacctctt 120
ggggagaaga gcatcctgcc cgcagccagg gccctcatc aaagtcctcg gtgtttttta 180
aattatcaga actgcccagg accacgtttc ccaggccctg ccagctggg actcctcgtt 240
ccttgctcc tagttttca ggctggccc tctcaaggcc caggcacccc aggccggtt 300

gaggccccga ctccactct ggagaaccgt ccacctgga aagaagagct cagattctc 360
ttggctctcg gagccgagg gagtgtgtct tccgcgcca cctccaccc ccgaaatgt 420
ttctgtttct aatcccagcc tgggcaggaa tgtggctccc cggccagggg ccaaggagct 480
atgttgggt ctgtttgcc caggaggggc ttggctccac cactttctc cccagcctt 540
tgggcagcag gtcacctgt ttcaggctct gaggtgccc cctcctgtc ctgtctcac 600
caccccttc ccactcctg ggaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaagct ggtataaagc 660
agagagcctg agggctaaat ttaactgtc gagtcggaat ccatctctga gtcaccaag 720
aagctgcct ggctccgt ccccttcca ggctcaacc ctttctccc acccagccc 780

aacccccagc ctcaccccc tagccccag ttctggagct tgcgggagc aagggggtg 840
ttgtacttg gtcactcagc ctcaattggc cctgtttcag caatgggcag gttcttctt 900
aaattcatca cacctgtggc ttctctgtg ctctacctt ttattgggt gacagtgtga 960
cagctgagat ttcctatga tccccctac tctagactg aagggttctg aaggccctg 1020
gaaggaggga gcttgggggg ctggcttgt aggggttaag gctgggagc gggaggggg 1080
ctggaccaag ggttggggag aaggggagga ggcctcgcc gccgcagag agaagtggc 1140
agagaggccc aggggacagc caggacagg cagacatga gccagggtc cagggcctg 1200
acaggggctg ccaggccctg tgacaggagg acccgagcc cccggcccgg ggaggggcca 1260

tggtgctgcc tgcacaacat gtcagccag gtgcggctga ggcggctcca gcagctggt 1320
ttggaccgg gtttctggg gctggagccc ctgctgacc ttctcctgg cgtccaccag 1380
gagctggcg cctccgaact ggcccaggac aagtacgtg ccgacttct gcagtgggt 1440
gagtgcctac cctcggggct cctgcagat gggtgggggt ggggcaggag acaggtctg 1500
gcacagaggc ctggctgtg ggggggagg atggcaggat gggcatggg agatctccc 1560
atcctggggc tcagagtgtg gacctgggc ctgggcaac atttctctg cctatgccac 1620
cactctggag gggcagagta aggtcagcag aggctagggt ggctgtgact cagagccatg 1680

```

gcttaggagt cacagcaggc taggctgcca acagcctccc atggcctctc tgcaccccg 1740

ctcagggtca gggtcagggt catgctggga gctccctctc ctaggacct cccccaaaa 1800

gtgggctcta tggccctctc ccctggtttc ctgtggcctg gggcaagcca ggagggccag 1860

catggggcag ctgccagggg cgcagccgac aggcagggtgt tcggcgccag cctctccagc 1920

tgccccaaaca ggtgccaggg cactgggagg gcggtgactc acgcggggccc tgtgggagaa 1980

ccagctttgc agacaggcgc caccagtgcc cctcctctg cgatccagga gggacaactt 2040

tgggtttctc tgggtgtgtc tcttctttt gtaggttctg caccacccc cacccccagc 2100

cccaaagtct cggttctat gagccgtgtg ggtcagccac cattcccgc acccgggtc 2160

cctgcgtcct ttagttctc tggccaggg cctccaacct tccagctgc ccacaaaacc 2220

ccttcttgca agggctttcc agggcctggg gccagggtg gaaggaggat gcttccgctt 2280

ctgccagctg cttgtgtgc ccactctc cccaagccca ggactcgggc tcaactgtca 2340

ctggtttctt tcatccag caccctgcc cttggccct catagtctg gccctcagt 2400

actggtgttt ggtttttggc ctgtgtgtaa caaactgtgt gtgacactg tttcctgttt 2460

ctccgcttc cctgtctc tttgtgtcc atctctttt gaccaggcc tggttccttt 2520

ccctctctc ccatctac agatgggaag gtggaggcca agaaggcca ggccattcag 2580

cctctggaaa aacctctc caacctcca cagccctaa tgactctct ggctccctt 2640

tagtagagga tgaagtggg ttggcagggt aaactgagac cgggtgggt aggggtctgg 2700

cgctcccgagg aggagcactc cttttgtggc ccgagctgca tctcgcgcc cctccctgc 2760

caggcctggg gcgggggagg gggccagggt tctgtctgcc ttaaaagggc tcaatgtctt 2820

ggctctctc tccctcccc gtcctcagcc ctggctgggt cgtccctgct ggccactct 2880

cccgaaccc cccgaaccc ctctctttc tccagaaccc actgtctct cctctccct 2940

ccctcccat accatccct ctctccatc tgcctccact tctccaccc cggggagtc 3000

aggcctccct gtccccacag tccctgagcc acaagcctc acccagctg gtccccacc 3060

caggctgccc agtttaacat tctagtcac aggccttga cttctgagag gcctgattgt 3120

catctgtaaa taagggttag gactaaagca ctctctctgg aggcctgaga gatgggtgg 3180

accggagcac ttgagctgg gatagtgtac catgtacct ttgtctcct gtctgttcc 3240

tccccacg cccaatcca gggttttcca aagtgtggt caagaaccac ctgcatctga 3300

atctagaggt aciggaata accccacgtc tgggcccgtta cccaggacat tctacatgag 3360

aacgtggggg tggggccctg gctgcacctg aactgtcacc tggagtcagg gtggaagggtg 3420

gaagaactgg gtcttatttc ctctccct tgttctttag ggtctgtct tctgcagact 3480

ccgttaccac accctaacca tctgcacac cttggagcc ctctgggcca atgcctgtc 3540

ccgcaaaggg ctctcaggc atctcacctc tatgggaggg catTTTTTggc cccagaacc 3600
ttacacggtg tttatgtggg gaagcccctg ggaagcagac agtcctaggg tgaagctgag 3660

aggcagagag aaggggagac agacagaggg tggggctttc ccccttgtct ccagtgccct 3720
ttctggtgac cctcggttct tttccccac ccccccca gcggagcca tcgtggtgag 3780
gcttaaggag gtccgactgc agagggacga ctctgagatt ctgaagtgat tcggacgcgg 3840
ggcgttcagc gaggttaagc gaaccgggcg ggagcctgac ttgactcgtg gtgggcgggg 3900
cataggggtt ggggcggggc cttagaaatt gatgaatgac cgagccttag aacctagggc 3960
tgggctggag gcggggcttg ggaccaatgg gcgtggtgtg gcaggtgggg cggggccacg 4020
gctgggtgca gaagcgggtg gagttgggtc tgggcgagcc cttttgtttt cccgccgtct 4080
ccactctgtc tcaactatctc gacctcaggt agcggtagtg aagatgaagc agacgggcca 4140

ggtgtatgcc atgaagatca tgaacaagtg ggacatgctg aagaggggcg aggtgagggg 4200
ctgggcggac gtggggggct ttgaggatcc gcgccccgtc tccggctgca gctcctccgg 4260
gtgccctgca ggtgtcgtgc ttccgtgagg agagggacgt gttggtgaat ggggaccggc 4320
ggtggatcac gcagctgcac ttgccttcc aggatgagaa ctacctggtg agctccgggc 4380
cggggtgact aggaagaggg acaagagccc gtgctgtcac tggacgagga ggtggggaga 4440
ggaagctcta ggattggggg tgctccccgg aaacgtctgt gggaaagtct gtgtgcggtg 4500
agagggtgtg tcaggtggat gaggggcctt ccctatctga gacggggatg gtgtccttca 4560
ctgcccgttt ctggggtgat ctgggggact cttataaaga tgtctctgtt gcgggggggtc 4620

tcttacctgg aatgggatag gtcttcagga attctaacgg ggccactgcc tagggaagga 4680
gtgtctggga cctattctct gggtgttggg tggcctctgg gttctcttcc ccagaacatc 4740
tcagggggag tgaatctgcc cagtgcacac ccaggaaagt tttttgtttt gtgttttttt 4800
ttgaggggcg ggggcggggg ccgcaggtgg tctctgattt ggcccggcag atctctatgg 4860
ttatctctgg gctggggctg caggctctct cccaaggatg ggggtgtctt gggaggggtt 4920
gtcccagcca tccgtgatgg atcagggcct caggggacta ccaaccaccc atgacgaacc 4980
ccttctcagt acctggtcat ggagtattac gtgggcgggg acctgctgac actgctgagc 5040
aagtttgggg agcggattcc ggccgagatg gcgcgcttct acctggcgga gattgtcatg 5100

gccatagact cggatgcacc gcttggctac gtgcacaggt ggggtgcagca tggccgaggg 5160
gatagcaagc ttgttccttg gccgggttct tggaaggtca gagcccagag agggcagggc 5220
ctggagaggg accttcttgg ttggggccca ccggggggtg cctgggagta ggggtcagaa 5280
ctgtagaagc cctacagggg cggaacccga ggaagtgggg tcccaggtgg cactgcccg 5340
aggggcggag cctgggtggga ccacagaagg gaggttcatt tatccaccc ttctcttttc 5400

ctccgtgcag ggacatcaaa cccgacaaca tctgtctgga ccgtgtggc cacatccgc 5460
 tggccgactt cggtctttgc ctcaagctgc gggcagatgg aacggtgagc cagtgccttg 5520
 gccacagagc aactggggct gctgatgagg gatggaaggc acagagtgtg ggagcgggac 5580

tggatttga ggggaaaaga ggtggtgtga cccaggctta agtgtgcatc tgtgtggcgg 5640
 agtattagac caggcagagg gaggggctaa gcatttgggg agtggttga aggagggccc 5700
 agagctggtg ggcccagagg ggtgggcca agcctcgtc tgctcctttt ggtccaggtg 5760
 cggctcgttg tggctgtggg caccacagac tacctgtccc ccgagatcct gcaggctgtg 5820
 ggcggtgggc ctgggacagg cagctacggg ccgagtggtg actggtgggc gctgggtgta 5880
 ttcgcctatg aaatgttcta tgggcagacg cctttctacg cggattccac ggccgagacc 5940
 tatggcaaga tcgtccacta caaggtgagc acggccgcag ggagacctgg cctctcccgg 6000
 taggcgtcc caggctatcg cctcctctcc ctctgagcag gagcacctct ctctgccgt 6060

ggtggacgaa ggggtccctg aggaggtcag agacttcatt cagcggttgc tgtgtcccc 6120
 ggagacacgg ctgggccggg gtggagcagg cgacttccgg acacatccct tcttctttgg 6180
 cctcgactgg gatggtctcc gggacagcgt gcccccttt acaccggatt tcgaaggtgc 6240
 caccgacaca tgcaacttcg acttgggtga ggacgggctc actgccatgg tgagcggggg 6300
 cggggtaggt acctgtggcc cctgtctggc tgcgggaacc tccccatgct cctccataa 6360
 agttggagta aggacagtgc ctacctctg ggttcctgaa tcactcattc cccagagcac 6420
 ctgctctgtg cccatctact actgaggacc cagcagtac ctagacttac agtccagtgg 6480
 gggaacacag agcagtcttc agacagtaag gccccagagt gatcagggt gagacaatgg 6540

agtcagggg gtgggggact cctgactcag caaggaaggt cctggagggc tttctggagt 6600
 ggggagctat ctgagctgag acttggaggg atgagaagca ggagaggact cctcctccct 6660
 taggcgtct ctcttcaccg tgtaacaagc tgtcatggca tgcttgctcg gctctgggtg 6720
 ccttttctg gaacaatact ggggatccag cacggaccag atgagctctg gtccctgccc 6780
 tcatccagtt gcagtctaga gaattagaga attatggaga gtgtggcagg tgccctgaag 6840
 ggaagcaaca ggatacaaga aaaaatgatg gggccaggca cggtggtca cgcctgtaac 6900
 cccagcaatt tggcaggccg aagtgggtgg attgcttgag cccaggagtt cgagaccagc 6960
 ctgggcaatg tggtagagacc cccgtctcta caaaaatgtt ttaaaaattg gttgggcgtg 7020

gtggcgcag cctgtatact cagctactag ggtggccgac gtgggcttga gcccaggagg 7080
 tcaaggctgc agtgagctgt gattgtgcca ctgcactcca gcctgggcaa cggagagaga 7140
 ctctgtctca aaaataagat aaactgaaat taaaaaatag gctgggctgg ccgggcgtgg 7200
 tggctcacgc ctgtaatctc agcactttgg gaggccgagg cgggtggatc acgaggtcag 7260

gagatcgaga ccatcttggc taacacggtg aaaccccatc tctcctaaaa atacaaaaaa 7320
 ttagccaggc gtggtggcgg gcgcctgtag tcccagctac tcaggaggct gaggcaggag 7380
 aatggcgtga acccgggagg cagagtttgc agtgagccga gatcgtgcc a ctgcactcca 7440
 gcctgggcga cagagcgaga ctctgtctca gaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaatagg 7500

 ctggaccgcg gccgggcgct gtggctcatg cctgtaatcc cagcactttg ggagtccaag 7560
 gccggtgggt catgagatca ggagttttga gactaggctg gccaacacgg tgaaaccccg 7620
 tctctactaa aaatacaaga aaattagctg ggtgtggtct cgggtgcctg taattccagt 7680
 tactggggaa gctgaggcag gagaattgct tgaacctggg aggcagagtt tgcagtgagc 7740
 caagatcatg cactacact ccagctcggg tgacagagt agactctgtc tcaaaaaaa 7800
 aaaaaaaaa aagggttggg caaggtggtt cagcctgta atcccagaac tttgggaggc 7860
 tgaggcaggc agatcactgg aagtcaggag ttcaagacca gcctggccaa catggtgaaa 7920
 ccctgtgtct actaaaaata caaaatttag ccaggcttgg tggcgtatgc ctgtaatgcc 7980

 agctactcag gaggtgagg caggagaatc gcttgattga acctgggagg cagagtttgc 8040
 agtgggctgg ggttgtgcc ctgcactcta ggctgggaga cagcaagact ccatctaaaa 8100
 aaaaaaaca gaactgggtt gggcacagt gcttatattt gtaatcccag cactttggga 8160
 ggctgaggtt ggaggactgc ttgagcccag agtttgggac tacaacagct gaggtaggcg 8220
 gatcacttga ggtcagaaga tggagaccag cctggccagc gtggcgaaac cccgtctcta 8280
 ccaaaaatat aaaaaattag ccaggcgtgg tagagggcgc ctgtaatctc agctactcag 8340
 gacgtgagg caggagaatc gcctgaacct gggaggcgga ggttgagtg agctgagatt 8400
 gcaccactgc actccagcct gggtaacaga gcgagactcc gtatcaaaga aaaagaaaa 8460

 agaaaaaatg ctggaggggc cactttagat aagccctgag ttggggctgg tttgggggga 8520
 acatgtaagc caagatcaaa aagcagtgag gggcccgccc tgacgactgc tgctcacatc 8580
 tgtgtgtctt gcgcaggaga cactgtcgga cattcgggaa ggtgcgccc taggggtcca 8640
 cctgcctttt gtgggtact cctactcctg catggccctc aggttaagcac tgcctggac 8700
 ggctccagg ggccacagg ctgcttgagc ttctgggtc ctgctccttg gcagccaatg 8760
 gatttgagg atcagtcttg gaaccttact gttttggcc caaagactcc taagaggcca 8820
 gatttgagg accttaaat ttcatatcta tgtactcaa aatgttagat tgaattttaa 8880
 aacctcagag tcacagactg ggcttcccag aatctttaa ccattaactt ttacgtctgt 8940

 agtacacaga gccacaggac ttcagaactt ggaaaaatg aagtttagac ttttacaatc 9000
 agttgtaaaa gaatgcaat tctttgaatc agccatataa caataaggcc atttaaaagt 9060
 attaattag gcgggccggt gtggctcacg cctgtaatcc tagcactttg ggaggccaag 9120

gcaggtggat catgaggta ggagatcgag accatcctgg ctaacacggt gaaaccccgt 9180
 ctctactaaa aatacaaaaa aattagccgg gcatggtggc gggcgcttgc ggtcccagct 9240
 acttgggagg cgaggcagga gaatggcatg aacccgggag gcgagacttg cagttagccg 9300
 agatcatgcc actgcactcc agcctgggag acagagcaag actccgtctc aaaaaaaaaa 9360
 aaaaaaagt atttatttag gccgggtgtg gtggctcacg cctgtaattc cagtgccttg 9420

ggaggatgag gtgggtggat cacctgaggt caggagtgc agaccagcct gaccaacgtg 9480
 gagaaacctc atcttacta aaaaacaaaa ttagccaggc gtggtggcat atacctgtaa 9540
 tcccagctac tcaggaggct gaggcaggag aatcagaacc caggaggggg aggttgttgt 9600
 gagctgagat cgtgccattg cattccagcc tgggcaacaa gagtgaact tcattcaaaa 9660
 aaaaaaaaaa aaaaagtact aatttacagg ctgggcatgg tggctcacgc ttggaatccc 9720
 agcactttgg gaggtgaag tggacggatt gcttcagccc aggagttaa gaccagcctg 9780
 agcaacataa tgagacctg tctctacaaa aaattgaaaa aatcgtgcca ggcattgtgg 9840
 tctgtcctg cagtcctagc tactcaggag tctgaagtag gagaatcact tgagcctgga 9900

gtttgaggct tcagttagcc atgatagatt ccagcctagg caacaaagtg agacctggtc 9960
 tcaacaaaag tattaattac acaataatg cattgcttat cacaagtaa ttagaaaata 10020
 cagataagga aaaggaagtt gatattctgt gagctcacca gatggcagtg gtccctggct 10080
 cacacgtgta ctgacacatg tttaaatagt ggagaacagg tgttttttg gttgttttt 10140
 ttccccttc tcatgtact ttgtctaaga gaacagttgg ttttctagtc agcttttatt 10200
 actggacaac attacacata ctatacctta tcattaatga actccagctt gattctgaac 10260
 cgctgcgggg cctgaacggt gggtcaggat tgaacccatc ctctattaga acccaggcgc 10320

atgtccagga tagctaggct ctgagccgtg tttccacagg agggactgct gggttggagg 10380
 ggacagccac ttcatacccc agggaggagc tgtcccttc ccacagctga gtgggtgtg 10440
 ctgacctcaa gttgccatct tgggttcca tggcagctt taggaccaca tctgtggagg 10500
 tggccagagc caagcagctt ccccatcagg tggcctccc tgtcctgagg cctgagaag 10560
 aggggtctgc agcggtcaca tgtcaaggga ggagatgagc tgaccctaga acatgggggt 10620
 ctggacccca agtccctgca gaaggttttag aaagagcagc tcccaggggc ccaaggccag 10680
 gagaggggca gggcttttcc taagcagagg aggggtctatt ggcctacgtg ggactctgtt 10740

ctcttcgctc tgctgtccc ctctctcaaa tcaggaggct ttggaagcag ctgcccctac 10800
 ccacaggcca gaagtctgg ttctccacca gagaatcagc attctgtctc cctccccact 10860
 cctctctct ctccccagg acagtgaggt cccaggcccc acacccatgg aactggaggc 10920
 cgagcagctg cttagaccac acgtgcaagc gccagcctg gagcctcgg tgtccccaca 10980

ggatgaaaca gtaagttggt ggaggggagg gggtccgtca gggacaattg ggagagaaaa 11040
 ggtgagggtt tccccgggtg cgtgcactgt agagccctct agggacttcc tgaacagaag 11100
 cagacagaaa ccacggagag acgaggttac ttcagacatg ggacggtctc tgtagttaca 11160

gtggggcatt aagtaagggt gtgtgtgttg ctggggatct gagaagtcga tctttgagct 11220
 gagcgtggt gaaggagaaa caagccatgg aaggaaaggt gccaagtgtt caggcgagag 11280
 cctccagggc aaaggccttg ggcaggtggg aatcctgatt tgttcctgaa aggtagtatt 11340
 gctgaatcat tctgagaag gctggagagg ccagcaggaa aaaaaacca gcaaggcctt 11400
 ttgtcgtgag ggcattaggg agctggaggg attttgagca gcagaggac ataggttgtg 11460
 ttagtgtttg agcaccagcc ctctggtccc tgtgtagatt tagaggacca gactcaggga 11520
 tggggctgag ggaggtaggg aaggaggagg gcttggatca ttgcaggagc tatggggatt 11580

ccagaaatgt tgaggggacg gaggagtagg ggataaaca ggattcctag cctggaacca 11640
 gtgccaagt cctgagtctt ccaggagcca caggcagcct taagcctggt ccccatcac 11700
 aggtgaagt ggcagttcca gcggtgtcc ctgcggcaga ggctgaggcc gaggtgacgc 11760
 tgcgggagct ccaggaagcc ctggaggagg aggtgctcac ccggcagagc ctgagccggg 11820
 agatggaggc catccgcacg gacaaccaga acttcgccag gtcgggatcg gggccggggc 11880
 cggggccggg atgcgggccg gtggcaacc ttggcatccc ctctcgtccg gcccgagcgg 11940
 actaccgtc cttacctccc cacagtcaac tacgcgagge agaggctcgg aaccgggacc 12000

tagaggcaca cgtccggcag ttgcaggagc ggatggagtt gctgcaggca gaggagacca 12060
 caggtgagtc cctcatgtgt ccccttcccc ggaggaccgg gaggaggtgg gccgtctgct 12120
 ccgcggggcg tgiatagaca cctggaggag ggaagggacc cacgtgggg cacgccgcgc 12180
 caccgccctc cttgccctt ccacgcgcc tatgcctctt tcttctctt ccagctgtca 12240
 cgggggtccc cagtccccgg gccacggatc caccttccca tgtaagacce ctctcttcc 12300
 cctgcctcag acctgctgcc cattctgcag atccccccc tggctcctgg tctccccgtc 12360
 cagatatagg gtcacccta cgtctttgcg acttttagagg gcagaagccc tttattcagc 12420

cccagatctc cctccgttca ggcctcacca gattccctcc gggatctccc tagataacct 12480
 ccccaacctc gattccctc gctgtctctc gccccaccgc tgagggtggt gctgggctcc 12540
 gatcggttca cctgtccctt ctctctccag ctatagtgcc ccccgccgt ggctgtgggc 12600
 cagtccccgc tgggtggggc agggcccatg caccgccgcc acctgctgct ccctgccagg 12660
 gtacgtccgg ctgccaccgc cccctccgc cgtcgcgcc cgcgtccac ccgcccttg 12720
 ccaccgctt agctgcgat ttgcggggct gggccacagg caggaggcg gatcttcggg 12780

cagccaatca acacaggccg ctaggaagca gccaatgacg agttcggacg ggattcgagg 12840

ctgtcgagtg gactaacaac agctgtaggc tgttggggcg ggggcggggc gcagggaaga 12900

gtgcggggccc acctatgggc gtaggcgggg cgagtcccag gagccaatca gagggccatg 12960

ccgggtgttg acctcgccct ctccccgcag gtccctaggc ctggcctatc ggaggcgctt 13020

tcctgtctcc tgttcgccgt tgttctgtct cgtgccgcg ccctgggctg cattgggttg 13080

gtggcccacg cgggccaact caccgcagtc tggcgccgcc caggagccgc ccgcgtccc 13140

tgaacctag aactgtcttc gactccgggg ccccgttgga agactgagt cccggggcac 13200

ggcacagaag ccgcgccac cgctgccag ttcacaaccg ctccgagcgt ggggtctccg 13260

ccagctccag tctgtgac cgggcccgc ccctagcggc cggggaggga ggggccgggt 13320

ccgcggccgg cgaacggggc tcgaagggtc ctgttagccg ggaatgctgc tgctgtgct 13380

gtgtgtgctg ctgtgtgctg tgctgtgctg gtgtgtgctg ctgtggggg gatcacagac 13440

catttctttc tticggccag gctgaggccc tgacgtggat gggcaaatg caggcctggg 13500

aaggcagcaa gccgggccgt ccgtgttcca tctccacgc accccacct atcgttggtt 13560

cgaaagtgc aaagctttct tgtgcatgac gccctgtctt ggggagcgtc tggcgcgatc 13620

tctgcctgct tactcgggaa atttgtttt gccaaaccg ctttttcggg gatcccgcgc 13680

ccccctctc acttgcgtg ctctcggagc ccagccggc tccgccgct tcggcggttt 13740

ggatatattat tgacctgctc ctccgactcg ctgacaggct acaggacccc caacaacccc 13800

aatccagtt ttggatgcac tgagaccccg acattcctcg gtattattg tctgtccca 13860

cctaggaccc ccaccccga ccctcgcgaa taaaaggccc tccatctgcc caaagctctg 13920

gactccacag tgcgcggt ttgcgttggt ggccggaggc tccgcagcgg gccaatccgg 13980

aggcgtgtgg aggcggccga aggtctggga ggagctagcg ggatgcgaag cggccgaatc 14040

agggttgggg gaggaagaac cacggggcgg ggccttggcg tccggccaat aggaggcgga 14100

gcggggccacc cggaggcacc gccccgcgc agctgtggcc cagctgtgcc accgagcgtc 14160

gagaagaggg ggctgggctg gcagcgcgcg cgccatcct ccttccactg cgctgcga 14220

cgccacgcgc atccgtcctt gggacgcaag ctcgagaaaa gttgtgcaa actttctagc 14280

ccgttccccg cccctctcc cggccagacc cccccccct gcggagccgg gaattccgag 14340

gggcggagcg caggccgaga tggggaatgt gggggcctgc agaggaccct ggagacggag 14400

gcgtgcagaa g 14411

<210> 3

<211> 15000

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 3

cagtgtcccc actgccaag gctggctcca tcacgtaccg ctttggctca gctggccagg 60

acacacagtt ctgcctgtgg gacctcacag aagatgtgct ctccctcat ccgtctctgg 120

cccgtaccgg cacccttcgg ggcacacctg gtgccacccc accagcttct ggtagtcttc 180

gggccggaga gacaggtgca ggccccctgc cccgctccct gtctcgttcc aacagtctcc 240

cacaccagc tgggtgtggc aaggctgttg ggcctagtgc atcgatggag cctggcatac 300

cattcagcat tggccgcttt gccacactga cctgcagga gcggcgggac cggggagctg 360

agaaggaaca caaacgtac catagcctgg gaaacatcag ccgcggtggc agtgggggca 420

atagcagcaa tgacaagctc agtggctctg cccccgaag ccgattggac ccagctaagg 480

tgttgggac ggcactgtgc cctcgatcc atgaggtgcc actgctggag cctctcgtgt 540

gcaagaagat tgctcaggaa cgcctgaccg tgctactgtt cctggaggat tgtatcatca 600

ctgcctgcca agagggcctc atctgcacct gggcccgcc aggcaaggcg gtgagtccgc 660

acctgccaa gcgtgaggg gcaccagttc tgcctacc ggatgccagt tatccgtcag 720

cagaaaggtc aggtatagga gacagaatgg ggggaaccac agctaacgtc tttagacct 780

ctgttgccc atatggctca tccttagtac ttcacactca aggcagaacc tgtgtttata 840

ggaaatctga agttagatg gtgaaacttt attcaggtct agggatgtga ttgagctggg 900

ggccacttc tggcctgcct cttagacact gtttctgagc cagctgctga aggcctggat 960

gggaattagc cagggtccag gcctgcaact cctcttctg ctgtgtgtgc ctggtcattg 1020

ggtctcacag atgggctgtg cagtggctgt gctcttagtt ggtgaggtgc aggcctgtca 1080

cctggtcagg cttagcatg tggctcaggt gtctaggacc ctactctgcc ctgagtcctt 1140

cagtcccttg ctttgaagg ctagagteca gaagccttag aacgtcaggc agttgcagag 1200

ccactgccag gctagtaggg ctgcgggagt tgactgagtt ctacagaca cccctctgtc 1260

tcctagttc acagacgagg agaccgaggc ccaggcaggg caagcaagtt ggcccaggtc 1320

accagcaag tcagttgtag aggtaggaca acccctgaag ctgcaagtgg acccagttt 1380

ctttctctc cactgtctc ccctgtatgc ccaggacacc tggggccaca ttactgtgga 1440

agtgtactc tgggtcagtg gagacggcg agctgtttgt tcctagctag gacagcagct 1500

ttaggcctgg ggggcagatc ccagctgggg cagcagctcc aaggcctttg ggtggctcct 1560

tctccgggtt ctggcagaag cccaggtgct gtctaacca ctttctcct cttgttctcc 1620

ccaggcctc tctcccaac caggcagctc cccagtggc actgtgtgt gaaatgtgga 1680

tgtccatgt tccggcctc ctagcataa cctccccgc tgacctcaag aatcactgta 1740

ttaacaagac taatcatgat ggaaggactg ctccaagccc cacgtgcac acatactggg 1800
 ggtcccttag gtggcccgat ccatggggat gtagtgtcct gtgtggcctt ggccctgtcc 1860
 tccacccact gccaagtaca atgacctgtt ctctgaaaca tcagtgttaa ccatatccct 1920
 gtcccagcat gtgactgttc actcctggga gagacttagc ccacagtacc cctgggtgag 1980

agggcagggc aggggccatc cccactcctg cccaaactcc accccttgct atggtctgtg 2040
 attttgaaag tgtaaatta tggaagccct gagggccctc cttgttcccc tggacctctt 2100
 atttatacta aagtccttgt ttgcacagtg tttctgttcc ctggggcagg gtagggtagg 2160
 ggttgacagta cttggcctcc aagctgtgct ctgaccaaag gaagcccaat cttagctgtt 2220
 tccccatccc tagccccgag cagagagccc tctgaaagat gagtctcgac ccccaaagtc 2280
 aagaggctga gatggccttc ctactaggtc cttggagatg tttgaaactt gttttaaaca 2340
 ccaggactat ccaagcatgc tctccttggg gagaggagga tgctggaatt gactgcactc 2400
 cctgcctcct ctgaacatgc ctttcagtc tgctgccctt ggccattta tgactggcca 2460

tctagtcca gctggaggtc atgatttctt ccccagagaa ctggccaccc tagaaagaag 2520
 ctaacttgte gcttgcttg ctgtccaggc agtccgccc tcaacccta aaatgtttct 2580
 gtctctaate ctagcccagg caggaatgtg gctgccccgg cctgtggcca aggagctatt 2640
 ttggggttct cttttgctta aggagggcct ggatccacca cttgcctccc ccaggctggg 2700
 gccagcaggt cacccttggc cctggcggct gagcaaaact tctcctgac ttcctttac 2760
 ctctgccaa aaaatggggg ggcgggtaac acagcaggca caggggctaa atttaactgt 2820
 cccaaagtgc gaatccattg ctgagtcacg aagaagctgc ccctggcctt tgccccccc 2880
 actacccct caccctgt tgcccaggca tcagccctt ccccaacc ctcccagtc 2940

tgagtctata gactggctct cctgggcact gacacctccc acctgtaact cctgtgtc 3000
 tctttatggg tgggtagagt caatgggggg gggcaaccct ggagtattac tctgtccct 3060
 gacattgggc tctgaagagt tttgaggggc cctggaagaa gggagttagg gtgttggtc 3120
 aggaggggtt aaaaactggg aggcgggagg ggggctgggc caagggttg agaaaagagg 3180
 aggagcctt aagcatagaa ctggccagag agaccaagg gatagtcagg gacgggcaga 3240
 catgcagcta gggttctggg gcctggacag ggcagccag gccctgtgac gggaagacc 3300
 cgagctccg cccggggagg ggccatggtg ttgcctgcc aacatgtcag ccgaagtgcg 3360
 gctgaggcag ctccagcagc tgggtctgga ccaggttc ctgggactgg agccctgt 3420

cgaccttctc ctgggcgtcc accaggagct ggtgcctct cacctagccc aggacaagta 3480
 tgtggccgac ttcttcagtg ggggtgagta tggataggaa gcctggggtt ggggtgcaagg 3540
 cagaggtggg tctacagggc aagaatgggc tatggagggg caggagggcc tggaaagggc 3600

tttttgaag ggagccaagc agagctcatg acctgacccc aagctcccct ggtgaggcac 3660
cagggtcagt gaggccacct atgactcagc cagtgcaggc tggggtgggc atagcctcct 3720
gctatctcag caccacact aggacctggc agctttctct tttaggaccc ttggctcctc 3780
aaactggctt catagccctc cccagtttcc cagagtgtgg ggagggacag cgtggggcag 3840
ctgccagggt gtggcccata ggcagggtgt tggcgtctgc ctcccagct gccctgacag 3900

gtgtccagga gctatgaggg cactgtgact cacagaggcc ctgggggaga accagcccgg 3960
cagacaggcg ccaccgagca ccttttctgt tcccaaatt aagaggaagg aacaacttca 4020
gcttctgagt gtgcccacc ctagactct gatccgccc agcctttgtg ggccagattg 4080
gtcatccctc ctggcttctc atctgctttt gtggttctag ctcaagacct ctaattcctc 4140
tgctgacttaaatgcccttc cccagaggtc ttctcaggcc tagtggacaa gcttggagcc 4200
ttatctgctc ctgcccaca ttgagccaaa gctccagctt accccagctt cttacaagt 4260
aacgacctgt ttgttctc tgtgcctatt attaagggtc caggcttga ttcttggctg 4320
tctgcccag gtgtgaccc tagtgattc tcccctctc ccccgtttca cagatggaaa 4380

ggttgaggcc atcggttaga ctgctaagcc tgtgaaagac ttttctctct ctccagtctt 4440
tagtgtctcc ctcaaccttt cttttgaagg atggggtttg ggctggcagg gtaaaactgag 4500
aactggggtg ggggcagggg gtctgacct ctgggaagga gcagtccttt tgtggcctga 4560
gcagatcct gtgggcccct cccctgccag gctgggagg gggagggggc ctgggttccc 4620
gctgccttaa aagggtcaa cgccttggct ctctctct cccaccccc cagccttggc 4680
cctagctgta ttttccccg ctgcccact tcccaaacc ctttctctc tgtgaccca 4740
tctccccgt tcccacag tccctctcc atccttact cccggcctta gaacttccct 4800
aaggagatc tgacctcct ctgcccacc cgcacccca gtcgccagcc tcagacctag 4860

ctgctctccc ctctggetga accaccctag cacaggacct tataacctgg agctttggtt 4920
ataagaagac tctcttcac cttttgaaa ccaagaaagc cttccaaca gtgtccagga 4980
tgctggaggg cagtgcacct ccccacttc ttctctgtgc tggctgtgct gacacagctc 5040
cagttcgagg ttgtggcccg agacattaag tgagagcccc gggtagacctg acttagcacc 5100
ctgatcatca catgggagt aaagcctga tgcgccagct tctccactg cctcccttc 5160
tgccctgcaa cctgtggaa acaggcagtt ctgggtccca caaacatcac agaggttttg 5220
aaagcagaat cctaaagccg atttaagggg cagaaggaag gaggtataa agtactacc 5280
cttaccgcta gtgttctgat gacccttgg tcttcttccc ccacccccgc ccagtggagc 5340

ccattgcagc aaggcttaag gaggtccgac tgcagaggga tgattttgag attttgaagg 5400
tgatcgggcg tggggcgctc agcgagggtga gtcttcagtg gccgggaat ggaactttac 5460

ttgatgtggg tggggcataa cagctggggc agagccttaa aaattgatga atgagcttga 5520
 atttaaggct ggaggggtgg gggcgagct tgtggtcagt gggcggtgtg cacgtgaggg 5580
 cggggctaag gttgggtgga gataaggggtg gagtccgtgc tgggtgagcc ttgctggttt 5640
 tccctgccac ctcttgctgt catctcggtt ccgtatttag gtagcgggtg tgaagatgaa 5700
 acagacgggc caagtgtatg ccatgaagat tatgaataag tgggacatgc tgaagagagg 5760
 cgaggtgagg gccagggatt agggcagcgc cctcatctct ccaactcacc tcctgtagct 5820

tctctctac ctacaggtg tcgtgcttcc gggaagaaag ggatgtatta gtgaaagggg 5880
 accggcgtg gatcacacag ctgcactttg ccttcagga tgagaactac ctggtaaagt 5940
 ccgggttcag gtgactagga aagagtgaca gttacatgc cccaagtcaa gaaggctgga 6000
 gaaggagaa gctgctgtag atcggggggg tgggggtggg ggggacacac acaggggatg 6060
 ggggacgggg gtaggattgt gtctcaagta taggagagac cttccttgag acaggagtga 6120
 tatctggttt ggccctttgga tggggcgctc tctcactgtg cgggggtcct ctgtgcttgg 6180
 gaacggggtg tctttgggag tcttgggggc taccaaacc ctgtgacaca cccgtccca 6240
 gtacctggtc atggaatact acgtgggcgg ggacctgcta acgtgctga gcaagtttgg 6300

ggagcggatc cccgccgaga tggctcgctt ctacctggcc gagattgtca tggccataga 6360
 ctccgtgcac cggctgggt acgtgcacag gtgggcgtgg cggggccctt ggagggttag 6420
 cagaatttgt gtgggaagga agggctacctg aaggtcagat cccattgggg acagaatcgg 6480
 ggtctagaat tgtagaatcc tgggtgggt ggaagtggat cgagctgacg ggccctaaga 6540
 gggaaggttt tcaagaaagc acactttccc tcttctctct atgcacaggg acatcaaacc 6600
 agataacatt ctgctggacc gatgtgggca cattcgctg gcagacttcg gtcctgcct 6660
 caaactgcag cctgatgaa tggtaagaag agcctggcga aactctctc attggtgaag 6720
 gaccgatta gggggcgggg ctgggttag gagcaggagg ggagcttgg ctgggatgtc 6780

ctgcgcacca tatttgaca gtcaaggga aggttttaag cattcaggtc tgattggcac 6840
 aggtgaggtc gctggtggt gtgggcaccc cggactacct gtctcctgag attctgcagg 6900
 ccgttgggtg agggcctggg gcaggcagct acgggccaga gtgtgactgg tgggcactgg 6960
 gcgtgttcgc ctatgagatg ttctatgggc agacccctt ctacgcggac tccacagccg 7020
 agacatatgc caagattgtg cactacaggg tagcacaag caccatgcag gggggctgac 7080
 ttagtggctt gtgtccccag actgtctttt ttaaaagata tttatttata tgtgtgtgtt 7140
 ttctgtgtat gtatatctgt gcactgagta ggtgtgcgaa ggtcagagg catgggatcc 7200
 cctggaactg gagtacaga ctattgtgtg ctgcatgct gagtgtggg aaacagaacc 7260

ttgatcactc tgcaagagca gccagtgcac tgaaacgaca gagccagctc tgcagcccag 7320

ggctaactgt tgccttttctt tctaaatagg aacacttgct gctgccgctg gcagacacag 7380
 ttgtccccga ggaagctcag gacctcattc gtgggctgct gtgtcctgct gagataaggc 7440
 taggtcgagg tggggcagggt gatttcacaga aacatccttt cttctttggc cttgattggg 7500
 agggctctccg agacagtgtg ccccccttta caccagactt cgagggtgcc acggacacat 7560
 gcaatttcga tgtggtggag gaccggctca ctgccatggt gagcgggggc ggggtacgta 7620
 cctgcagttc ctgatccgtt gaggggactt ccttagcctc ttccataaaa ttgggggtgat 7680
 tggccagggtg tgggtgtgca tacctttaat cgtagaactt cataggcaga ggcaggtggc 7740

tctctggtaa atcaaggcca tcttggtcta catagtact tctaggccag tcaggagtga 7800
 gatccctccct tgaaaaataa aaaagggggt gttgaccttc ctgggtccca aattattatc 7860
 ctagagcact gctatgtatc cactcaggta tgaggacaca caggtagcca gtcccaaaga 7920
 cagttagtga ggcctcactc ttggcagtag taaaattgat tgtagggggc tgggctcttg 7980
 acccagcctg gaaagtgtg gagggcttcc tggaggagga gactagctga gcccagaagg 8040
 atgcaggaga tcctttctcg ggtgagtgtc ctgagcattt taacaagctc taggccctgc 8100
 agagagaagt ctggtgtggg cagagcccca atagaaagca acaagataga agagaaaatg 8160
 gtggagtttg ttagtggggg cagttatgcc gtgaacatag aggggcgaag ggccatctcg 8220

gataactgct agccacaaga gccctgtctg tcttcttagg agacgtgtc agacatgcag 8280
 gaagacatgc ccttgggggt gcgcctgcc ttctgtgggt actcctactg ctgcatggcc 8340
 ttccaggtgag cagactgcc ccctgtggg gcctgtgtgc agggccacca cagccactca 8400
 attgaaggct cagtcttcaa accaagtatt cctaggagct gtctaagtta ggctttctgc 8460
 tgctgcgatg aaccctgact aaaagcaagc tggggaggaa aaggcttctc gggcttacgt 8520
 ttccacatgg gagcccatca ctgaaggaag ccaggacagg aactcacgc ggggcaggaa 8580
 cgtggagctg atgcagagc aatggagggg agctgcttac tgacttgatc cttatgtctt 8640
 cctcagcctg ttctcttgta gagcccagga ccaccaggcc agtgagggtt cactcacaa 8700

tgggctgagc tctcatctat gatcactagt tatgaaaatg cccgatagc ttgcctgcag 8760
 cttcagtttt tgaggcactt tccttccttc ctctctctt tccttccttc ctctctctt 8820
 ttctttcttt ctctctctt ttctttcttt ctctctctt ttctttcttt ctctctctt 8880
 tagtctttta gagacagggt cttctctatg agctctggct gtcttggat tcattctgta 8940
 gaccaggctg gtcttattta tttattttat gtatgtgagt ccactatcac tgtcctcaga 9000
 cacaccagaa gagggcatca gatccatta cagatggctg tgagccacca tgtggttgc 9060
 gggaattgaa ctcaggacct ctggaagagc agccagtgt cctgcctgt agaggcattt 9120
 tcttcatgaa ggctgtctcc tctctgatga cttgatgact ctactgtgt gtgtcaagt 9180

gacataagac taggaaagca gctacacatg cactttgttt atttttgttt tgctttttga 9240
gactgggtct ctccatctca tagctctggc catcctgcct ggtgacattc cagtccagtt 9300
gtataaccta agaatctgag actcagcctt gcagaatcct gctattaacg ggtctaggac 9360
actccataga atccaggatc ttagaaaaac aaacctgaag tgtgacagtt tattttaaga 9420
acacaattgg agcacataac aataatacaa cttttcagtt ttaaaaagtt ttctgtcttg 9480
ttttttgagg caggagctcc ttaatatagt ctaagccgcc ctgagagtgct tgtgattgat 9540
gggcatgtac caccatgcct agtcaataaa gccttttaaa agcatccgtt atgctggctg 9600
tgggtgccaca aacctgtaat ccagcactt agaaggtaga ggcaagatta tcagaaattc 9660

aaggccatcc tgggctatac agtaatctaa ggctagcctg gtctacaaga gactctgtct 9720
aaagaaacaa aagataaata gcaccacta ttgctaggca atataaccct ataaccacac 9780
cattgaggag gctgaggctg gagcatcact gcaaatttga ggccaggatg gtcaacaaat 9840
aagtccaga gctggcatag aggaactctg tctcaacaat aaagagaact tatctagcat 9900
ttatgagggt aaataaaaat ttaccattgc cacaaaaat gtaaatgaag agactgcttt 9960
taggagtga ctgggaagca gggaacactt agaggatgct cactcacaca ggtatccacc 10020
atcaggcatg cctcaggcct gcacaggga ggacaacttg tttcatgatt tgcaagcagc 10080

atcccatgct ccttagagcg ggttgggcc agccaccct ctgtggagtt atcgctcagc 10140
caggcagcaa ggcagccaag gtgctgaggc cctggcagtc tgcctcttc tctgctctga 10200
acctccttta gcttagcct aggagcctgg cctggtgccc acaggctagg gagtccctag 10260
cctcttctc ttctcagaga caatcaggtc ccggacccca cccctatgga actagaggcc 10320
ctgcagtgc ctgtgtcaga cttgcaaggg ctgacttgc agccccagt gtccccaccg 10380
gatcaagtgg tgagtagact gagagtgagg caaagcttcc tgggtgggtg tacctgcagt 10440
gccaaactgcc aggtgttaa ttacagtagga cactgtcccc aactggccca actgcacatc 10500

ctgtagttag gaggcacagg cagaaaaatc ccaaattcaa ggcttgctcc cgttatgtaa 10560
tgagatcctg tcttgagta aaaaacaaag aagagaacta gggatagctc agaggtagat 10620
gtctctctgg catgggggtg gggtcagaaa gcaacaccaa ccggggcctg ggaggaggag 10680
actgccaacc acctggagga gtctggggta gacttgggtg acaaagtta gaggccatca 10740
ggtgggatgc tggtttctta aaagccacag ataggtgggt agcattggaa agaggagtgg 10800
ggggttgtag aaagtacaa gacacaaact ggggaggcct aagggtaaag ccagggttgt 10860
ctgaagcact gtggagctgg gaggaacacg ctaaacttct gacttcagcc cttcagttcc 10920

cctgttgact acactgtccc cagggaccca gggatgggga gaggtggacg ggggagggaa 10980
gtacgggact gatccagctc caggccccaa ctctgatccc caccgacagg ctgaagaggc 11040

tgacctagtg gctgtccctg cccctgtggc tgaggcagag accacggtaa cgctgcagca 11100
gctccaggaa gccctggaag aagaggttct caccggcag agcctgagcc gcgagctgga 11160
ggccatccgg accgccaacc agaacttctc caggtcaggg tcacagtgtc ggggtgaggg 11220
gagaggagag cagcaaccct cgcagtctcc tcaccgatag gtcggctcac tcccctatct 11280
ttcccagcca actacaggag gccgaggtcc gaaaccgaga cctggaggcg catgttcggc 11340

agctacagga acggatggag atgtctcagg ccccaggagc cgcaggcgag tccctcacct 11400
gcttccagcc aagggggcac tgggtggaga tggggggcat gttgggtgtg tgaaccctcg 11460
gggcagggga ggagtccagg ctggggcacc gcagccgcgc cactgccttt ctctccatc 11520
ctccacactc catacacctc tctcttctcc ttccagccat cacgggggtc cccagtcccc 11580
gggccacgga tccaccttcc catgtaagac cctctctcc cctccccgat ccccatctta 11640
gatatgtac ccacagccct tctcccgctc acgttttagg tccattctcc ttgggggttc 11700
cagaagaaag ctgcccttca ctcatccatt cagcatgcac tatctaccag ctctccctcg 11760

tttcaggctt ctgcctaat cctccccaag ggaactccct atactccgt tctggcctcg 11820
actagattcc cgactgcct ctgccctgc tgtgggctc cgatcgggtc acctgtccct 11880
tctctctcca gctagatggc cccccggcg tggctgtggg ccagtgcccg ctggtggggc 11940
caggccccat gcaccgctt cactgtctgc tccctgccag ggtatgtccc acgtccgcc 12000
accacgggct tctgcctagc tctgccact gactgtcacc actgttctgt gtgcctctgt 12060
ggagctcgcc ccaccgagg gagggggggg attcgggcgg ccaatcaaca caggctgtctg 12120
ctaagtagcc aatgacgagt tccaacagga gctctttctt gcgagcagac caactttagc 12180

tgcgggctgt ggggaccaga gatgcgtca gaggccatc tatgggtata ggctgggcgg 12240
ctcccaggag ccagtgggcc cctgtagcct agtctaate caaccttctc tctgcagat 12300
ccctaggcct ggctatccg aggcgcgttg cctgtctctg ttcccgctg ctctggctgc 12360
tgccgccaca ctgggctgca ctgggttggg ggctataacc ggcggtctca cccagtctg 12420
gtgtttcccg ggagccacct tcgccccctg aaccttaaga ctccaagca tctttcattt 12480
aggctccta ggaaggtcga gcgaccagg agcgaccaa agcgtctctg tgcccatcgc 12540
gcccccccc cccccacc gctccgctcc acatttctgt gagcctgggt cccacccag 12600

ctccgtctct gtgatccagg cctgccacct ggcgccggg gagggaggaa cagggtctgt 12660
gcccagcacc cctggttctt gcagagctgg tagccaccgc tgctgcagca gctgggcatt 12720
cgccgacctt gctttactca gcccgcagc ggatgggcaa actgtctcagc tcatccgatt 12780
tcactttttc actctccag ccatcagtta caagccataa gcatgagccc cctatttcca 12840
gggacatccc attccatag tgatggatca gcaagacctc tgccagcaca cacggagtct 12900

ttggcttcgg acagccctcac tcctgggggt tgcgtcaact ccttccccgt gtacacgtct 12960
gcactctaac aacggagcca cagctgcact cccccctccc ccaaagcagt gtgggtatatt 13020

attgatcttg ttatctgact cactgacaga ctccgggacc cacgttttag atgcattgag 13080
actcgacatt cctcggtatt tattgtctgt cccacactac gacctccact cccgaccctt 13140
gcgaataaaa tactttctgggt ctgccctaaa tcccgcgcaa tatctctgtt gtggaaagga 13200
aacgccccg caggccaatg gagagtccaa tagagacaac caatggcttg agtgggagct 13260
agaggggagg caaagcgcac gaatcaggtt gaagggtggg gcttaggcat ccagccagta 13320
ggagagaagc aacaagccac cagagacacc accgcccccc accctcccc ccagctgtga 13380
cccagctgtg ccactcaagt ttggaaaaaa gtaggggggtt gggccagcag cgggcacacc 13440

atcttccac tgcgcctgcg caagccacgc gcatccgctt tttggaccga cactccagaa 13500
aagtgtctgc aaactttcta gcgcgattcc ccgccccctc tcccagctag atccaccgcc 13560
taccgcggg gccgggaatt ccgaggggcg gagcacggcg cggagatggg aaggaggagg 13620
gcccttcaag ggacccggga gatgggagcg gcttcgcgcc cttaaccctc cggacggccc 13680
attaccttct ccgttgtctt gatagggaaa ctgaggccct gagtacagagg cacacaaggg 13740
gggaaggcca aaagcgcgcc cagagacgga gggaanaaaa agaactcctga cagcccggga 13800
ggggggcgga cacacaggga caagacaga cccgagtga gagctgggtc tagtcttttg 13860

gagggggcca gaagactgca aggggaccgg gggggggggc ggcgaggagg actgggcgga 13920
ggagggggct gggaagccc gcgggaggcg gcaaaggagg gaggaacttt ccaaagtgc 13980
caaacatggc tacctcgctt gcggagccga gcgcggggcc cgcggctcgg ggggaggcgg 14040
cggcggcgac cgaggagcag gaggaggaag cgcgccagct tctgcagact ctgcaggcag 14100
ccgaggggga ggcgcgcgcg gccggggcg gagatgcggc ggcgcgcgcg gactctgggt 14160
ccccgagtgg cccggggtct cccggggaga ccgtgaccga ggtgcccact ggccttcgct 14220
tctcgcccga acaggtggca tgcgtgtgcg aggcgtgct gcaggcgggc cagcccgcc 14280

gcttgagccg ctctctgggc gcgtgcgcc cggccgagcg cctacgtggc agcgatccgg 14340
tgctgcgcgc gcgggcccta gtggccttcc agcggggtga atacccgag ctctaccaac 14400
ttctcgagag ccgcccttc cccgccgcc accacgcctt cctgcaggac ctctacctgc 14460
gcgcgcgcta ccacaggcc gagcggggcc gtggccgtgc gctgggcgct gtggacaaat 14520
accggctgcg caagaagttc cctctgccca agaccatctg ggatggcgag gagaccgtct 14580
attgcttcaa ggagcgctcg cgagcggcg tcaaggcctg ctaccgcggc aaccgtatc 14640

ccacgcctga cgagaagcgc cgcctggcca cgctcaccgg cctctcgctt acacaggtca 14700

gcaactggtt caagaaccgg cgacagcgcg accgcaactgg gaccggcggg ggagcgcctt 14760

gcaaaaggtg aggggggaac cgacctcctt tcctcggtgg ccgctggagt ctgcgcaagt 14820

gaccttcac atccctcttc ggtggcgtcg gcgagtgcag aggcctgagcg tggagagacc 14880

aggcacacc tgggttctct gggcatcact 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 tgctggacc aggccttcctg 60

ggactggagc cctgctcga cttctcctg ggcgtccacc aggagctggg tgcctctcac 120

ctagcccagg acaagtatgt ggccgacttc ttgcagtggg tggagcccat tgcagcaagg 180

cttaaggagg tccgactgca gagggatgat tttagatatt tgaaggatgat cgggcgtggg 240

gcgttcagcg aggtagcggg ggtgaagatg aaacagacgg gccaaagtga tgccatgaag 300

attatgaata agtgggacat gctgaagaga ggcgaggtgt cgtgcttccg ggaagaaagg 360

gatgtattag tgaagggga ccggcgtgg atcacacagc tgcactttgc cttccaggat 420

gagaactacc tgtacctggt catggaatac tacgtgggcg gggacctgct aacgtgctg 480

agcaagtttg gggagcggat ccccgccgag atggctcgct tctacctggc cgagattgtc 540

atggccatag actccgtgca ccggctgggc tacgtgcaca gggacatcaa accagataac 600

attctgctgg accgatgtgg gcacattcgc ctggcagact tcggtcctg cctcaaactg 660

cagcctgatg gaatggtgag gtcgctggtg gctgtgggca ccccggaacta cctgtctcct 720

gagattctgc aggccgttgg tggagggcct ggggcaggca gctacgggcc agagtgtgac 780

tggtggggcac tgggcgtgtt cgcctatgag atgttctatg ggcagacccc cttctacgag 840

gactccacag ccgagacata tgccaagatt gtgcactaca gggaacactt gtcgctgccg 900

ctggcagaca cagttgtccc cgaggaagct caggacctca ttcgtgggct gctgtgtcct 960

gctgagataa ggctaggtcg aggtggggca ggtgatttcc agaaacatcc tttcttcttt 1020

ggccttgatt gggaggggtct ccgagacagt gtacccccct ttacaccaga cttcgagggt 1080

gccacggaca catgcaattt cgatgtggtg gaggaccggc tcaactgcat ggtgagcggg 1140

ggcggggaga cgctgtcaga catgcaggaa gacatgcccc ttggggtgag cctgcccttc 1200

gtgggctact cctactgtcg catggccttc agagacaatc aggtcccga cccacccct 1260
atggaactag aggccctgca gttgcctgtg tcagacttgc aagggttga cttgcagccc 1320
ccagtgtccc caccgatca agtggtgaa gaggccgacc tagtggtgt cctgcccc 1380
gtggctgagg cagagaccac ggtaacgtcg cagcagctcc aggaagccct ggaagaagag 1440
gtttcacccc ggcagagcct gagccgcgag ctggaggcca tccggaccgc caaccagaac 1500
ttctccagcc aactacagga ggccgaggtc cgaaacgag acctggaggc gcatgttcgg 1560

cagctacagg aacggatgga gatgtctcag gccccaggag ccgcagccat cacgggggtc 1620
cccagtcctc gggccacgga tccaccttc catctagatg gccccccgc cgtggctgtg 1680
ggccagtgcc cgtgggtggg gccaggcccc atgcaccgcc gtcacctgct gtcctctgcc 1740
aggatcccta ggcttgccct atccgaggcg cgttcctgc tctgttcgc cgtgctctg 1800
gctgctgcc ccacactggg ctgcactggg ttggtggcct ataccggcg tctcaccca 1860
gtctggtgtt tcccgggagc caccttcgcc cctga 1896

<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

cctgccccgt tggtgagcg agagaccacg gtaacgtgc agcagctcca ggaagccctg 60
gaagaagagg ttctcacccg gcagagctng agccgcgagc tggaggccat ccggaccgcc 120
aaccagaact tctccagcca actacaggag gccgaggtcc gaaaccgaga cctggaggcg 180
catgttcggc agctacagga acggatggag atgtctcagg ccccaggagc cgccggantc 240
cctcacctgc ttccagccaa gggggcactg ggtggagatg gggggcatgt tgggtgtgtg 300
aacctctggg gcaggggagg agtccaggct ggggcaccgc gccgcgccac tgcctttctc 360
ctccatctc cacactccat acacctctct cttctcttc cagccatcac ggggggtcca 420

gtccccgggc cacggatcca ccttccatc tagatggccc cccggcggtg gctgtgggcc 480
agtgtccgct ggtggggcca ggacantgtc accgccgtca cctgtgtctc cctgccagga 540
ttcttaggcc tggctatccg aggcgcgttg ctgctcctgt tcgccgtgc tctggctgct 600
gcgccacact gggtctgact ggggttggtg gctataccgg cggctcttac ccagtctggt 660

gtttccctg agcaccttc gccctgaaa cctaagactt caagccatct ttcatttagg 720
ccttctagga aggtcgagcg acaggggagc gacccaaagc gtctctgtgc c 771

<210> 6

<211> 434

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 6

gagagaccca aggggtagtc agggacgggc agacatgcag ctagggttct ggggcctgga 60

caggggcagc caggccctgt gacgggaaga ccccgagctc cgccccgggg aggggccatg 120
gtgttgctg cccaacatgt cagccgaagt gcggctgagg cagctccagc agctgggtgct 180
ggaccaggc ttcctgggac tggagcccct gctcgacctt ctctgggagc tccaccagga 240
gttgggtgcc ttcacctag cccaggacaa gtatgtggcc gacttcttgc agtgggtgga 300
gcccattgca gcaaggctta aggaggtccg actgcagagg gatgattttg agattttgaa 360
ggtgatcggg cgtggggcgt tcagcgaggt agcgggtgtg aagatgaaac acacggagtc 420
tttggcttcg gaca 434

<210> 7

<211> 2688

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 7

ccacgcgtcc gccacgcgt ccggggcaga catgcagcta gggttctggg gcctggacag 60
gggcagccag gccctgtgac gggaagacc cagctccgg cccggggagg ggccatggtg 120
ttgcctgccc aacatgtcag ccgaagtgcg gctgaggcag ctccagcagc tgggtgctgga 180
cccaggcttc ctgggactgg agccccgtct cgaccttctc ctgggcgtcc accaggagct 240
gggtgcctct cacctagccc aggacaagta tgtggccgac ttcttgagc ggggtggagcc 300
cattgcagca aggcctaagg aggtccgact gcagagggat gattttgaga ttttgaaggt 360
gatcgggcgt ggggcgttca gcgaggtagc ggtggtgaag atgaaacaga cgggccaagt 420

glatgcatg aagattatga ataagtggga catgctgaag agaggcgagg tgtcgtgctt 480
ccgggaagaa agggatgtat tagtgaaagg ggaccggcgc tggatcacac agctgcactt 540
tgcttccag gatgagaact acctgtacct ggtcatggaa tactacgtgg gcggggacct 600
gctaacgctg ctgagcaagt ttggggagcg gatccccgcc gagatggctc gcttctacct 660
ggccgagatt gtcattggca tagactccgt gcaccggctg ggctacgtgc acaggacat 720

caaaccagat aacattctgc tggaccgatg tgggcacatt cgcttggcag acttcggctc 780
 ctgcctcaaa ctgcagcctg atggaatggt gaggtcgtg gtggctgtgg gcaccccgga 840
 ctacctgtct cctgagattc tgcaggccgt tggtagggg cctggggcag gcagctacgg 900

 gccagagtgt gactggtggg cactgggcgt gttcacctat gagatgttct atgggcagac 960
 ccccttctac ggggactcca cagccgagac atatgccaag attgtgact acaggaaca 1020
 ctgtcgtg ccgtggcag acacagtgt ccccgaggaa gctcaggacc tcattcgtgg 1080
 gctgctgtgt cctgctgaga taaggctagg tcgaggtggg gcaggtgatt tccagaaaca 1140
 tcctttcttc tttggccttg attgggaggg tctccgagac agtgtacccc cctttacacc 1200
 agacttcgag ggtgccacgg acacatgcaa tttcgatgtg gtggaggacc ggctcactgc 1260
 catggtgagc gggggcgggg agacgtgtc agacatgcag gaagacatgc ccttgggggt 1320
 gcgctgccc ttcgtgggt actcctactg ctgcatggcc ttcagagaca atcaggtccc 1380

 ggacccacc cctatggaac tagaggccct gcagttgcct gtgtcagact tgcaagggt 1440
 tgacttcag cccccagtgt cccaccgga tcaagtggct gaagaggctg acctagtggc 1500
 tgtccctgcc cctgtggctg aggcagagac caccgtaacg ctgcagcagc tccaggaagc 1560
 cctggaagaa gaggtttctc cccggcagag cctgagccgc gagctggagg ccatccggac 1620
 cgccaaccag aactttctca gccaaactaca ggaggccgag gtccgaaacc gagacctgga 1680
 ggcgcatgtt cggcagctac aggaacggat ggagatgctg caggccccag gagccgcaga 1740
 tccctaggcc tggcctatcc gaggcgcgtt gcctgtcct gttcgcgct gctctggctg 1800
 ctgccgccac actgggctgc actgggttgg tggcctatac cggcggtctc acccagttct 1860

 ggtgtttccc gggagccacc ttcgccccct gaaccctaag actccaagcc atctttcatt 1920
 taggcctcct aggaaggtcg agcgaccagg gagcgacca aagcgtctct gtgcccatcg 1980
 ccccccccc cccccacc gctccgctcc acatttctgt gagcctgggt cccacccag 2040
 ctccgctcct gtgatccagg cctgccacct ggcgccggg gagggaggaa cagggtcgt 2100
 gcccagcacc cctggttctc gcagagctgg tagccaccgc tgtcgagca gctgggcatt 2160
 cgccgacatt gctttactca gcccgcagt ggatgggcaa actgtcagc tcatecgatt 2220
 tcacttttc acttcccag ccatcagtt caagcataa gcatgagccc cctatttcca 2280
 gggacatccc attcccatag tgatggatca gcaagacctc tgccagcaca cacggagtct 2340

 ttggttcgg acagcctcac tcctgggggt tgctgcaact cttccccgt gtacagttct 2400
 gcactctaac aacggagcca cagctgact cccccctcc ccaaagcagt gtgggtattt 2460
 attgatctt ttatctgact cactgacaga ctccgggacc cacgttttag atgcattgag 2520
 actcgacatt cctcggtatt tattgtctgt cccacctac gacctcact cccgacctt 2580

gccaataaaa tacttctggt ctgccctaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2640
 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2688
 <210> 8
 <211> 2862
 <212> DNA
 <213> Mus musculus
 <400> 8
 gggatagtca gggacgggca gacatgcagc tagggttctg gggcctggac aggggcagcc 60

 aggcctgtg acgggaagac cccgagctcc ggcccgggga ggggccatgg tgttgctgc 120
 ccaacatgtc agccgaagtg cggctgaggc agctccagca gctggtgctg gaccaggct 180
 tcctgggact ggagccctg ctgcaccttc tcctgggcgt ccaccaggag ctgggtgcct 240
 ctacactagc ccaggacaag tatgtggccg acttcttgca gtgggtggag ccattgcag 300
 caaggcttaa ggaggtccga ctgcagaggg atgattttga gatittgaag gtgatcgggc 360
 gtggggcggt cagcgaggtg gcgggtggtga agatgaaaca gacgggcca gtgtatgcca 420
 tgaagattac gaataagtgg gacatgctga agagaggcga ggtgtcgtgc ttccgggaag 480
 aaagggatgt attagtgaag ggggaccggc gctggatcac acagctgcac ttgccttcc 540

 aggatgagaa ctacctgtac ctggcatgga aatactacgt gggcggggac ctgctaacgc 600
 tgctgagcaa gtttggggag cggatccccg ccgagatggc tcgcttctac ctggccgaga 660
 ttgtcatggc catagactcc gtgcaccggc tgggtacgt gcacaggac atcaaaccag 720
 ataacattct gctggaccga tgtgggcaca ttgcctggc agacttcggc tcctgcctca 780
 aactgcagcc tgatggaatg gtgaggtcgc ttgtggctgt gggcaccgc gactacctgt 840
 ctctgagat tctgcaggcc gttgtgggag ggcctggggc aggcagctac gggccagagt 900
 gtgactgggt ggactgggc gtgttcacct atgagatgt ctatgggcag accccttct 960
 acgggactc cacagccgag acatatgcca agattgtgca ctacaggaa cacttgcgc 1020

 tgccgtggc agacacagtt gtccccgagg aagctcagga cctattcgt gggctgctgt 1080
 gtcctgctga gataaggcta ggtcgagggt gggcaggtga ttccagaaa catccttct 1140
 tctttggcct tgattgggag ggtctccgag acagtgtacc cccctttaca ccagacttcg 1200
 aggggtccac ggacacatgc aatttcgatg ttgtggagga ccggctcact gccatggaga 1260
 cgctgtcaga catgcaggaa gacatgcccc ttgggtgctg cctgcccttc gtgggtact 1320
 cctactgctg catggccttc agagacaatc aggtcccggg cccaccct atggaactag 1380
 aggcctgca gttgcctgtg tcagacttc aagggttga cttgcagccc ccagtgtccc 1440

caccggatca agtggctgaa gaggctgacc tagtggctgt ccctgccct gtggctgagg 1500

cagagaccac ggtaacgtg cagcagctcc aggaagccct ggaagaagag gttctcacc 1560

ggcagagcct gagccgcgag ctggaggcca tccggaccgc caaccagaac ttctccagcc 1620

aactacagga ggccgaggtc cgaaaccgag acctggaggc gcatgttcgg cagctacagg 1680

aacggatgga gatgctgcag gccccaggag ccgcagccat cacgggggtc cccagtcccc 1740

gggccacgga tccaccttc catgtttctc gccaaatcct cccaaggga actccctaga 1800

ctcccgttct ggctcagct agattccgc actgcctctc gccctgctgc tgggctccga 1860

tcgggtcacc tgtccctct ctctccagct agatggcccc ccggccgtgg ctgtgggcca 1920

gtgcccgctg gtggggccag gcccattgca ccgccgtcac ctgtctctcc ctgccaggat 1980

ccctaggcct ggcctatccg aggcgcgttg cctgtctctg ttcgccgctg ctctggctgc 2040

tgccgccaca ctgggtgca ctgggttggg ggccataacc ggccgtctca cccagtctg 2100

gtgtttcccg ggagccacct tcgccccctg aaccctaaga ctccaagcca tctttcattt 2160

aggcctccta ggaaggtcga gcgaccaggg agcgacccaa agcgtctctg tgcccatcgc 2220

ccccccccc ccccccaccg ctccgtctca cactttctgt agcctgggtc cccaccagc 2280

tccgtctctg tgatccaggc ctgccacctg gcggccgggg agggaggaac agggctcgtg 2340

cccagacccc ctggttcctg cagagctggt agccaccgct gctgcagcag ctgggcattc 2400

gccgaccttg ctttactcag ccccgacgtg gatgggcaaa ctgtcagct catccgattt 2460

cactttttca ctctccagc catcagttac aagccataag catgagcccc ctatttcag 2520

ggacatccca ttcccatagt gatggatcag caagacctct gccagcacac acggagtctt 2580

tggcttcgga cagcctcact cctgggggtt gctgcaactc cttccccgtg tacacgtctg 2640

cacttaaca acggagccac agctgcactc cccctcccc caaagcagtg tgggtattta 2700

ttgatcttgt tatctgactc actgacagac tccgggaccc acgtttttaga tgcattgaga 2760

ctcgacattc ctcggtattt attgtctgtc cccacctacg acctccactc ccgacccttg 2820

cgaataaaat acttctgggtc tgcctaaaa aaaaaaaaa 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 gcacgtagcc 20

<210> 16
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 16
 atgtgtccgg aagtcgcctg 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
 ggcaactggcc 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 tctgtgatcc 20

 <210> 21
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 21
 aagaaagaaa tggctctgtga 20
 <210> 22
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 22
 ggccgaaaga aagaaatggt 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
 tcagggcctc agcctggccg 20
 <210> 26
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide

<400> 26	
ctgcagtttg cccatccacg	20
<210> 27	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 27	
ggcctgcagt ttgccatcc	20
<210> 28	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 28	
ccaggcctgc agtttgcca	20
<210> 29	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 29	
gccttcccag gcctgcagtt	20
<210> 30	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 30	

gtgccttcc 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	
gcccggcttg ctgccttccc	20
<210> 33	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 33	
acggcccggc 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
 gctttgcact ttgcgaacca 20
 <210> 43
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 43
 aaagctttgc actttgcgaa 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 agaaagcttt 20
 <210> 47
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide

<400> 47	
acgctcccca gagcagggcg	20
<210> 48	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 48	
gcagagatcg cgccagacgc	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 agatcgcgcc	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
 ggtttgcaa 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
 atccccgaaa 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
 aagcgggcgg agccggtgg 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 cgaagcgggc	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	
cgaggatcaat aaatatccaa	20
<210> 74	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 74	
ggacgaggtc aataaatatc	20
<210> 75	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 75	
ggaggacgag gtcaataaat	20
<210> 76	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 76	
gtcggaggac gaggtcaata	20
<210> 77	

<211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 77
 cgagtcggag gacgaggtca 20

 <210> 78
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 78
 tgtcagcgag tcggaggacg 20

 <210> 79
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 79
 gcctgtcagc ggtcggagg 20

 <210> 80
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 80
 gtagcctgtc agcgagtcgg 20

 <210> 81
 <211> 20

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 81
 cctgtagcct gtcagcgagt 20
 <210> 82
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 82
 ggtcctgtag 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
 aataaatacc 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 cccggagtcg 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
gtcttccaac gggggcccgg 20

<210> 90
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic oligonucleotide
<400> 90
cagtcttcca acggggcccc 20
<210> 91
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic oligonucleotide
<400> 91
ctcagtcttc 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 tcagtcttcc	20
<210> 94	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 94	
tgccccgggc actcagtctt	20
<210> 95	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 95	
cgtgccccgg 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	
tctgtgccgt gccccgggca	20
<210> 98	

<211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 98
 gcttctgtgc cgtgccccgg 20

<210> 99
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 99
 gcggcttctg tgccgtgccc 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
 gggcgcggt tctgtgccgt 20

<210> 102
 <211> 20

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 102
 ggcggtgggc gcggcttctg 20
 <210> 103
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 103
 ggcaggcggg gggcgcggt 20
 <210> 104
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 104
 ctggcaggcg gtggcgcgcg 20

 <210> 105
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 105
 aactggcagg cggtggcgcg 20
 <210> 106
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 106
 gtgaactggc aggcggtggg 20
 <210> 107
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 107
 ggttgtgaac 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
 cggagcgggt gtgaactggc 20
 <210> 110
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide

<400> 110	
cgctcggagc ggttgtgaac	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 tcggagcggc	20
<210> 113	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 113	
cggagaccca cgctcggagc	20
<210> 114	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 114	

gggcggagac ccacgctcgg	20
<210> 115	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 115	
gctgggcgga gaccacgct	20
<210> 116	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 116	
ggagctgggc ggagaccac	20
<210> 117	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 117	
ctggagctgg gcggagacc	20
<210> 118	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 118	
ggactggagc tgggcggaga	20
<210> 119	

<211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 119
 caggactgga gctgggcgga 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
 gggggcgggc ccggatcaca 20

<210> 123
 <211> 20

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 123
 aggcagcacc atggcccctc 20
 <210> 124
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 124
 ggtccaacac cagctgctgg 20
 <210> 125
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 125
 cgatcacctt cagaatctcg 20
 <210> 126
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 126
 cttgttcacg atcttcacgg 20
 <210> 127
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 127
 ccccatcac caacacgtcc 20
 <210> 128
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 128
 gcgtgatcca ccgccgtcc 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 caggtccccg 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	
acgtagccaa gccggtgcac	20
<210> 133	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 133	
atgtggccac agcgggtccag	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	

gaccccttcg tccaccagcg	20
<210> 136	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 136	
cctgctccac ccggcccag	20
<210> 137	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 137	
cggaagtcgc ctgctccacc	20
<210> 138	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 138	
cggagaccat ccagtcgag	20
<210> 139	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 139	
tgagggccat gcaggagtag	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
 gcgcttgac 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 ctcggcctca 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
 ggtcccgggtt 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 ccgctcctgc 20
 <210> 150
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 150
 aggtggatcc gtggcccggg 20
 <210> 151
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 151
 cgcggttct 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
 tgctcccgac aagctccaga 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	
ctttgcactt tgccaaccaa	20
<210> 159	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Probe	
<400> 159	
catcctccac gcacccccac 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
 ggccctggcag 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
 atggcccctc cccgggccgg 20

<210> 164
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 164
 catggcccct ccccgccg 20

<210> 165
 <211> 20

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 165
 ccatggcccc tccccgggcc 20
 <210> 166
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 166
 accatggccc ctccccgggc 20
 <210> 167
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 167
 caccatggcc cctccccggg 20
 <210> 168
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 168
 gcaccatggc ccctccccgg 20
 <210> 169
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 169
 agcaccatgg cccctccccg 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 ggccctcccc 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	
gttgacagc cagcaccatg	20
<210> 179	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 179	
tgttgacag gcagcaccat	20
<210> 180	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 180	
atgttgaca ggcagacca	20
<210> 181	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 181	
catgttgac aggagcacc	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
 cggctgacat gttggacagg 20

 <210> 189
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 189
 tcggctgaca tgttgacag 20
 <210> 190
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 190
 ctcggctgac atgttggaca 20
 <210> 191
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 191
 cctcggctga catgttggac 20
 <210> 192
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 192
 acctcggctg acatgttggga 20
 <210> 193
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 193
 cacctcggct gacatgttgg 20
 <210> 194
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide

<400> 194	
gcacctcggc tgacatgttg	20
<210> 195	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 195	
cgcacctcgg ctgacatgtt	20
<210> 196	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 196	
ccgcacctcg gctgacatgt	20
<210> 197	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 197	
gccgcacctc ggctgacatg	20
<210> 198	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 198	

agccgcacct cggctgacat	20
<210> 199	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 199	
cagccgcacc tcggtgaca	20
<210> 200	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 200	
tcagccgcac ctcggctgac	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 cacctcggct 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
 tccaacacca gctgctggag 20

<210> 206
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 206
 gtccaacacc 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
 gccccaggaga 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
 acgcccagga gaaggtcgag 20
 <210> 215
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide

<400> 215	
tcctgggcca gttcggaggc	20
<210> 216	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 216	
gtcctgggcc agttcggagg	20
<210> 217	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 217	
tgtcctgggc cagttcggag	20
<210> 218	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 218	
ttgtcctggg ccagttcgga	20
<210> 219	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 219	

cttgctcctgg gccagttcgg	20
<210> 220	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 220	
acttgctcctg ggccagttcg	20
<210> 221	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 221	
tacttgctcct gggccagttc	20
<210> 222	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 222	
gtacttgctc tgggccagtt	20
<210> 223	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 223	
cgtacttgctc ctgggccagt	20
<210> 224	

<211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 224
 actgcaagaa gtcggccacg 20

<210> 225
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 225
 ccactgcaag aagtcggcca 20

<210> 226
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 226
 cccactgcaa gaagtcggcc 20

<210> 227
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 227
 gcccactgca agaagtcggc 20

<210> 228
 <211> 20

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 228
 cgcccactgc aagaagtcgg 20
 <210> 229
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 229
 ccgcccactg caagaagtcg 20
 <210> 230
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 230
 tccgcccact gcaagaagtc 20

 <210> 231
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 231
 ctccgcccac 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
 ggctccgcc 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 ccactgcaag 20
 <210> 236
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide

<400> 236	
atgggctccg cccactgcaa	20
<210> 237	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 237	
gatgggctcc gcccactgca	20
<210> 238	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 238	
cgatgggctc cgcccactgc	20
<210> 239	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 239	
acgatgggct ccgcccactg	20
<210> 240	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 240	

cacgatgggc tccgccact	20
<210> 241	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 241	
ccacgatggg ctccgccac	20
<210> 242	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 242	
accacgatgg gctccgcca	20
<210> 243	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 243	
caccacgatg ggctccgcc	20
<210> 244	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 244	
tcaccacgat gggtccgcc	20
<210> 245	

<211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 245
 ctcaccacga tgggctcgc 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 acgatgggct 20
 <210> 250
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 250
 taagcctcac cacgatgggc 20
 <210> 251
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 251
 ttaagcctca ccacgatggg 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
 ccttaagcct 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	
acctccttaa gcctcaccac	20
<210> 258	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 258	
gacctcctta agcctcacca	20
<210> 259	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 259	
ggacctcctt aagcctcacc	20
<210> 260	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 260	
cggacctcct taagcctcac	20
<210> 261	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 261	

tcggacctcc ttaagcctca	20
<210> 262	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 262	
gtcggacctc cttaagcctc	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 ctccttaagc	20
<210> 265	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 265	
tgcagtcgga cctccttaag	20
<210> 266	

<211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 266
 ccttcagaat ctccaagtcg 20

<210> 267
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 267
 accttcagaa tctcgaagtc 20

<210> 268
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 268
 tcaccttcag aatctcgaag 20

<210> 269
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 269
 atcacattca gaatctcgaa 20

<210> 270
 <211> 20

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 270
 gatcaccttc agaatctcga 20
 <210> 271
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 271
 ccgatcacct tcagaatctc 20
 <210> 272
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 272
 tccgatcacc ttcagaatct 20
 <210> 273
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 273
 gtccgatcac cttcagaatc 20
 <210> 274
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 274
 cgtccgatca ccttcagaat 20
 <210> 275
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 275
 cccgtctgct tcattctcac 20
 <210> 276
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 276
 gcccgctctgc ttcattctca 20
 <210> 277
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 277
 ggcccgctctg cttattcttc 20
 <210> 278
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide

<400> 278	
tggcccgctct gcttcatctt	20
<210> 279	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 279	
ctggcccgctc tgcttcatct	20
<210> 280	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 280	
cctggcccgct ctgcttcatc	20
<210> 281	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 281	
acctggcccg tctgcttcat	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 gatcttcatg	20
<210> 287	

<211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 287
 cacttggtca tgatcttcat 20

<210> 288
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 288
 ccacttggtc atgatcttca 20

<210> 289
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 289
 cccacttggt catgatcttc 20

<210> 290
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 290
 tcccacttgt tcatgatctt 20

<210> 291
 <211> 20

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 291
 gtcccaacttg ttcataatct 20
 <210> 292
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 292
 tgtcccaactt gttcataatc 20
 <210> 293
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 293
 atgtcccaact tgttcataat 20
 <210> 294
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 294
 catgtcccaac ttgttcataa 20
 <210> 295
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 295
 gcatgtccca cttgttcatg 20
 <210> 296
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 296
 agcatgtccc acttgttcat 20
 <210> 297
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 297
 cagcatgtcc cacttggtca 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	
cttcagcatg tcccacttgt	20
<210> 301	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 301	
tcttcagcat gtcccacttg	20
<210> 302	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 302	
cctcttcagc atgtcccact	20
<210> 303	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 303	

ccctcttcag catgtccac	20
<210> 304	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 304	
cccctcttca gcatgtccca	20
<210> 305	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 305	
gcccctcttc agcatgtccc	20
<210> 306	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 306	
cgcccctctt cagcatgtcc	20
<210> 307	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 307	
tcgcccctct tcagcatgtc	20
<210> 308	

<211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 308
 ctcgcccctc ttcagcatgt 20

<210> 309
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 309
 cctcgcccct cttcagcatg 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
 cacctgcccc ctcttcagca 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 ccctcttcag 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
 accgcaccgt tccatctgcc 20
 <210> 316
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 316
 gaccgcaccg ttccatctgc 20
 <210> 317
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 317
 acagcctgca ggatctcggg 20
 <210> 318
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 318
 cacagcctgc aggatctcgg 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	
cccacagcct gcaggatctc	20
<210> 321	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 321	
gcccacagcc tgcaggatct	20
<210> 322	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 322	
cgcccacagc ctgcaggatc	20
<210> 323	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 323	
ccgcccacag cctgcaggat	20
<210> 324	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 324	

accgcccaca gcctgcagga	20
<210> 325	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 325	
caccgcccac agcctgcagg	20
<210> 326	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 326	
ccaccgccc cagcctgcag	20
<210> 327	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 327	
cccaccgccc acagcctgca	20
<210> 328	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 328	
gcccaccgcc cacagcctgc	20
<210> 329	

<211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 329
 ggcccaccgc ccacagcctg 20

<210> 330
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 330
 aggccccaccg cccacagcct 20

<210> 331
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 331
 caggccccacc gccacagcc 20

<210> 332
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 332
 ccaggcccac cgcccacagc 20

<210> 333
 <211> 20

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 333
 cccaggccca ccgcccacag 20
 <210> 334
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 334
 tcccaggccc accgcccaca 20
 <210> 335
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 335
 gtcccaggcc caccgccac 20

 <210> 336
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 336
 tgtcccaggc ccaccgcca 20
 <210> 337
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 337
 ctgtcccagg cccaccgccc 20
 <210> 338
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 338
 cctgtcccag gccaccgccc 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
 tgctgtccc aggcccaccg 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	
ccgtagctgc 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	
gcccgtagct gcctgtccca	20
<210> 350	

<211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 350
 ggcccgtagc tgcctgtccc 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
 tctccgccgt ggaatccgcg 20

<210> 353
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 353
 gtctccgccg 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
 aggtctccgc 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
 ttgtagtgga cgatcttgcc 20
 <210> 358
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 358
 cttgtagtgg acgatcttgc 20
 <210> 359
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 359
 ccttgtagtg gacgatcttg 20
 <210> 360
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 360
 tccttgtagt ggacgatctt 20
 <210> 361
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 361
 ctccctgtag tggacgatct 20
 <210> 362
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide

<400> 362	
gctccttgta gtggacgac	20
<210> 363	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 363	
tgctccttgt agtggacgat	20
<210> 364	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 364	
gtgctccttg tagtggacga	20
<210> 365	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 365	
ggtgctcctt gtagtggacg	20
<210> 366	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 366	

aggtgctcct ttagtggac	20
<210> 367	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 367	
gaggtgctcc ttgtagtgga	20
<210> 368	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 368	
agaggtgctc cttgtagtgg	20
<210> 369	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 369	
gagaggtgct cttgtagtg	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 ctcctttag 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 gagtgctcc 20
 <210> 377
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 377
 agcggcagag agagtgctc 20

 <210> 378
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 378
 cagcggcaga gagagtgct 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 tgtctccggg 20
 <210> 381
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 381
 cgcccagcc 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	
cccggcccag 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	
accccggccc 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	

ccaccccggc ccagccgtgt	20
<210> 388	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 388	
tccaccccg ccagccgtg	20
<210> 389	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 389	
ctccaccccg gccagccgt	20
<210> 390	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 390	
gctccacccc 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 ccggcccagc 20

<210> 393
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 393
 aagggatgtg tccggaagtc 20

<210> 394
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 394
 gaagggatgt gtccggaagt 20

<210> 395
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 395
 agaagggatg tgtccggaag 20

<210> 396
 <211> 20

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 396
 aagaagggat 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
 agaagaaggg atgtgtccgg 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 agaagggatg	20
<210> 405	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 405	
gaggccaaag aagaagggat	20
<210> 406	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 406	
cgaggccaaa gaagaaggga	20
<210> 407	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 407	
tcgaggccaa agaagaaggg	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	
agtcgaggcc 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
 tcccagtcga ggccaaagaa 20

<210> 414
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 414
 atcccagtcg aggccaaaga 20

<210> 415
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 415
 catcccagtc gaggcmaaag 20

<210> 416
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 416
 ccatcccagt cgaggccaaa 20

<210> 417
 <211> 20

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 417
 accatcccag 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
 ttcgaaatcc ggtgtaaagg 20
 <210> 423
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 423
 cttcgaaatc cgggtgtaaag 20
 <210> 424
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 424
 ccttcgaaat ccggtgtaaa 20
 <210> 425
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide

<400> 425	
accttcgaaa tccggtgtaa	20
<210> 426	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 426	
caccttcgaa atccggtgta	20
<210> 427	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 427	
gcaccttcga aatccggtgt	20
<210> 428	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 428	
ggcaccttcg aaatccggtg	20
<210> 429	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 429	

tggcaccttc gaaatccgt	20
<210> 430	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 430	
gtggcacctt cgaaatccgg	20
<210> 431	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 431	
ggtggcacct 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	
tcggtggcac cttcgaaatc	20
<210> 434	

<211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 434
 gtcggtggca 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 gcaccttcga 20

<210> 438
 <211> 20

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 438
 atgtgtcggg ggcaccttcg 20
 <210> 439
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 439
 catgtgtcgg tggcaccttc 20
 <210> 440
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 440
 gcatgtgtcg gtggcacctt 20

 <210> 441
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 441
 tgcattgtgc ggtggcacct 20
 <210> 442
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 442
 ttgcatgtgt cgggtggcacc 20
 <210> 443
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 443
 gttgcatgtg tcggtggcac 20
 <210> 444
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 444
 agttgcatgt gtcggtggca 20
 <210> 445
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 445
 aagttgcatg tgcggtggc 20
 <210> 446
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide

<400> 446	
gaagttgcat gtgtcgggtg	20
<210> 447	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 447	
cgaagttgca tgtgtcgggtg	20
<210> 448	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 448	
gtcgaagttg catgtgtcgg	20
<210> 449	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 449	
agtcgaagtt gcatgtgtcg	20
<210> 450	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 450	

aagtcgaagt tgcattgtgc	20
<210> 451	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 451	
caagtcgaag ttgcattgtg	20
<210> 452	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 452	
ccaagtcgaa gttgcattgtg	20
<210> 453	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 453	
accaagtcga agttgcattgt	20
<210> 454	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 454	
caccaagtcg aagttgcattg	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 gtcgaagttg 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
 gtctccacc aagtcgaagt 20
 <210> 461
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 461
 cgtcctccac caagtcgaag 20
 <210> 462
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 462
 ccgtcctcca ccaagtcgaa 20
 <210> 463
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 463
 cccgtcctcc accaagtcga 20
 <210> 464
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 464
 gcccgctctc caccaagtcg 20
 <210> 465
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 465
 agcccgctct ccaccaagtc 20
 <210> 466
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 466
 gagcccgtec tccaccaagt 20
 <210> 467
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide

<400> 467

tgagcccgtc 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

cccgggtccg agcctctgcc	20
<210> 472	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 472	
tcccgggtcc gagcctctgc	20
<210> 473	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 473	
gtcccgggtc cgagcctctg	20
<210> 474	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 474	
aggtcccgggt tccgagcctc	20
<210> 475	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 475	
taggtcccgg ttccgagcct	20
<210> 476	

<211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 476
 ctaggtcccg gttccgagcc 20

<210> 477
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 477
 tctaggtccc ggttccgagc 20

<210> 478
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 478
 ctctaggtcc cggttccgag 20

<210> 479
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 479
 cctctaggtc ccggttccga 20

<210> 480
 <211> 20

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 480
 gcctctaggt cccggttcg 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
 tccatccgct 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 ctctgcaac 20
 <210> 486
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 486
 aactccatcc gctctgcaa 20
 <210> 487
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 487
 caactccatc cgctctgca 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 ggctccctct	20
<210> 495	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 495	
gtgacagctg tggctccctc	20
<210> 496	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 496	
cgtgacagct gtggctccct	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
 cccgtgacag ctgtggctcc 20

<210> 499
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 499
 ccccgtagaca gctgtggctc 20

<210> 500
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 500
 ccccgtagac agctgtggct 20

<210> 501
 <211> 20

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 501
 acccccgta cagctgtggc 20
 <210> 502
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 502
 gaccccgta acagctgtgg 20
 <210> 503
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 503
 ggaccccgta gacagctgtg 20
 <210> 504
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 504
 gggaccccgta tgacagctgt 20
 <210> 505
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 505
 gaaggtggat ccgtggcccg 20
 <210> 506
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 506
 ggaaggtgga tccgtggccc 20
 <210> 507
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 507
 gggaaggtgg atccgtggcc 20
 <210> 508
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 508
 tgggaaggtg 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	
tagatgggaa ggtggatccg	20
<210> 512	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 512	
ctagatggga aggtggatcc	20
<210> 513	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 513	

tctagatggg aaggtggatc	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 gggaaggtgg	20
<210> 516	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 516	
gccatctaga tgggaaggtg	20
<210> 517	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 517	
ggccatctag atgggaaggt	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
 cccaccagcg 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 gcgggcactg 20
 <210> 523
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 523
 tggccccacc agcgggcact 20
 <210> 524
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 524
 ctggccccac cagcgggcac 20
 <210> 525
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 525
 cctggcccca ccagcgggca 20
 <210> 526
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 526
 gcctggcccc accagcgggc 20
 <210> 527
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 527
 gggcctggcc ccaccagcgg 20
 <210> 528
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 528
 aggtggcggc ggtgcatggg 20
 <210> 529
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 529
 caggtggcgg cggatcatgg 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 ggcggtgcat	20
<210> 532	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 532	
cagcaggtgg cggcgggtgca	20
<210> 533	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 533	
gcagcaggtg gcggcgggtgc	20
<210> 534	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 534	

agcagcaggt ggcggcggtg	20
<210> 535	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 535	
gagcagcagg tggcggcggt	20
<210> 536	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 536	
ggagcagcag gtggcggcgg	20
<210> 537	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 537	
gggagcagca ggtggcggcg	20
<210> 538	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 538	
agggagcagc aggtggcggc	20
<210> 539	

<211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 539
 cagggagcag 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 gcagcaggtg 20
 <210> 544
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 544
 ccctggcagg gagcagcagg 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 gggagcagca 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
 ggcctaggga 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
 ccaggcctag 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 cctagggacc	20
<210> 556	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 556	
gataggccag gcctagggac	20
<210> 557	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 557	
cgataggcca ggcctagga	20
<210> 558	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 558	
ccgataggcc aggcctaggg	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 ccaggcctag 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 ggccaggcct 20

<210> 563
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 563
 gcgcctccga 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 agggaaagcg 20
 <210> 566
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 566
 cgaacaggag cagggaaagc 20
 <210> 567
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 567
 gcgaacagga gcagggaaag 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 caggagcagg	20
<210> 573	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 573	
gggcggcggc acgagacaga	20
<210> 574	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 574	
agggcggcgg cacgagacag	20
<210> 575	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 575	
cagggcggcg 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 gcggcacga	20
<210> 580	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 580	
cagcccaggg cggcggcacg	20
<210> 581	

<211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 581
 gcagcccagg gcggcggcac 20

<210> 582
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 582
 ctgcggtgag ttggccggcg 20

<210> 583
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 583
 actgcggtga gttggccggc 20

<210> 584
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 584
 gactgcggtg 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
 ccagactgcg 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 cggtaggttg 20
 <210> 590
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 590
 aagacagttc tagggttcag 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

agtcgaagac agttctaggg

20

<210> 596

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 596

gagtcgaaga cagttctagg

20

<210> 597

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 597

ggagtcgaag acagttctag	20
<210> 598	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 598	
cggagtcgaa gacagttcta	20
<210> 599	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 599	
ccggagtcga agacagttct	20
<210> 600	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 600	
cccggagtcg aagacagttc	20
<210> 601	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 601	
ccccggagtc 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
 ggccccggag tcgaagacag 20

<210> 604
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 604
 gggccccgga gtcgaagaca 20

<210> 605
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 605
 aggcggtggg cgcggcttct 20

<210> 606
 <211> 20

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 606
 caggcgggtgg gcgcggcttc 20
 <210> 607
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 607
 gcaggcgggtg ggcgcggtt 20
 <210> 608
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 608
 tggcaggcgg tgggcgcggc 20
 <210> 609
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 609
 actggcaggc ggtgggcgcg 20
 <210> 610
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 610
 gaactggcag gcggtgggcg 20
 <210> 611
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 611
 tgaactggca gcggtgggc 20
 <210> 612
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 612
 tgtgaactgg caggcgggtgg 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 ggcggagac	20
<210> 616	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 616	
aggactggag ctgggcggag	20
<210> 617	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 617	
acaggactgg agctgggcgg	20
<210> 618	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 618	

cacaggactg gagctgggcg	20
<210> 619	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 619	
tcacaggact ggagctgggc	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	
tggtggagcc aagccctccc	20
<210> 623	

<211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 623
 gggcacctc agagcctgaa 20

<210> 624
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 624
 accccactgc aagaagtcgg 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
 tgctgacctt 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
 gccctggca gctgcccacat 20
 <210> 633
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 633
 ctgtcggctg cgcccctggc 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	
cctcccagtg cctgggcacc	20
<210> 636	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 636	
gcgcctgtct gcaaagctgg	20
<210> 637	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 637	
cccaaagttg tcctcctgg	20
<210> 638	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 638	
acaccagaa gaacccaaag	20
<210> 639	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 639	

ctgacccaca cggctcatag	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
 gaaggttttt 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 agtgctctc 20

<210> 647
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 647
 ccttttaagg 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 cccacctcct 20
 <210> 655
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 655
 gcagcacccc caatcctaga 20
 <210> 656
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide

<400> 656	
gccccctcatc cacctgacac	20
<210> 657	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 657	
ttccaggtaa gagaccccc	20
<210> 658	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 658	
agaataggtc 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 cacgcatggc	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 tgggccacc	20
<210> 665	

<211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 665
 gtcgggtttg atgtccctgc 20

<210> 666
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 666
 agggcactgg ctcaccgttc 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
 gcccaccct ctgggccac 20

<210> 669
 <211> 20

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 669
 aggagcagag cgaggcttgg 20
 <210> 670
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 670
 caccttgtag tggacgatct 20
 <210> 671
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 671
 ctaccccgcc cccgctcacc 20
 <210> 672
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 672
 ctaggtcact gctgggtcct 20
 <210> 673
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 673
 ctcagatagc 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 tggcgcggcg	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	
catgggaagg tggatccgtg	20
<210> 680	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 680	
ggaggttatc tagggagatc	20
<210> 681	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 681	

gaagggacag gtagccgat	20
<210> 682	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 682	
cgtaccctgg caggagcag	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	
ctcctgggac tcgccccgcc	20
<210> 685	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 685	
gctcctggga ctgccccgc	20
<210> 686	

<211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 686
 attggctcct 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
 gcatgggcct ctgattggct 20

<210> 690
 <211> 20

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 690
 caccggcat ggcctctga 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
 ttctcccc aacctgatt 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 attcccggct 20
 <210> 695
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 695
 catctcggcc tgcgctccgc 20
 <210> 696
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 696
 gcaggccccc acattcccca 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	
gtcccaggaa gcctgggtcc	20
<210> 704	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 704	
cgtttagcagg tccccgccca	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 cgggtgcacgg	20
<210> 707	

<211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 707
 gggtgcccac agccaccagc 20

<210> 708
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 708
 tggcccgtag ctgcctgccc 20

<210> 709
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 709
 ggaaatcacc tgccccacct 20

<210> 710
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 710
 ggatgtttct 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 tgcccgtccc 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

tcacagggcc tggctgcccc 20

<210> 717

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 717

ggctgacatg ttgggcaggc 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	
cgcctcggat aggccaggcc	20
<210> 721	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 721	
ggcttggagt ctagggttc	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	

ggtgctgggc acgagccctg	20
<210> 724	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 724	
gcccagctgc tgcagcagcg	20
<210> 725	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 725	
ccgtgtgtgc 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 ttctggttgg 20

<210> 730
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 730
 ggtgaccgca tcggagccca 20

<210> 731
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 731
 agctggagag agaagggaca 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
 gggccatcta gctggagaga 20
 <210> 735
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 735
 cccactgca agaagtcggc 20
 <210> 736
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 736	
ttgagccctt ttaaggcagc	20
<210> 737	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 737	
tgaccaggta ctgggagcgg	20
<210> 738	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 738	
cctggagctg gatcagtcgc	20
<210> 739	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 739	
acatgggaag gtggatccgt	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 cacctcgct	20
<210> 743	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 743	
cctcaccatt 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 atccggtggg	20
<210> 747	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 747	
aggtcggcct cttcagccac	20
<210> 748	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 748	
gttggtgga gaagttctgg	20
<210> 749	

<211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 749
 ccccgatgatg 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
 ggcgcggtgc cccagcctgg 20

 <210> 752
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 752
 gtcttggecc 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
 gcgcctcgga 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 ttcaccaccg 20
 <210> 757
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 757
 aggtcagcct cttcagccac 20
 <210> 758
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 758
 ggccatatgg gaagtgat 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 cccacctga 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	
ggtgcccaca gccaccaggg	20
<210> 764	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 764	
tccatggcag tgagccggtc	20
<210> 765	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 765	

gggaccactt gatccggtgg	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 ataccccgcc	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
 aacacttgct 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 gcttcacttg 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

tgttacaaag 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

cagggtttg tttcgaaaaa 20

<210> 782

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 782	
ccattttctt ccacagggt	20
<210> 783	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 783	
atgcttcttc aagttttcca	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	

ccccccatt 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 atcccagggt	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

cggaagacc ccgagctccg gcccgaggag ggccatggt gttgcctgcc caacatgtca 60
gccgaagtgc ggctgaggca gctccagcag ctggtgctgg acccaggctt cctgggactg 120
gagccctgc tcgaccttct cctgggcgtc caccaggagc tgggtgcctc tcacctagcc 180
caggacaagt atgtggccga cttcttgtag tgggtggagc ccattgcagc aaggcttaag 240
gaggtccgac tgcagaggga tgattttgag attttgaagg tgatcgggag tggggcgctc 300
agcgaggtag cggtggtgaa gatgaaacag acgggccaag tgtatgcat gaagattatg 360

aataagtggg acatgctgaa gagaggcag gtgtcgtgct tccgggaaga aagggatgta 420
ttagtgaaag gggaccggcg ctggatcaca cagctgcact ttgccttcca ggatgagaac 480
tacctgtacc tggcatgga atactacgtg ggcggggacc tgctaacgct gctgagcaag 540
tttggggagc ggatccccgc cgagatggct cgcttctacc tggccgagat tgtcatggcc 600
atagactccg tgcaccggct gggctacgtg cacagggaca tcaaaccaga taacattctg 660
ctggaccgat gtgggcacat tcgcctggca gacttcggct cctgcctcaa actgcagcct 720
gatggaatgg tgaggtcgct ggtggctgtg ggcaccccg actacctgtc tcctgagatt 780
ctgcaggccg ttggtggagg gcctggggca ggcagctacg ggccagagtg tgactggtgg 840

gcactgggag tggtcaccta tgagatgttc tatgggcaga ccccttcta cgcggactcc 900
acagccgaga catatgcaa gattgtgcac tacagggaac actgtcgtc gccgctggca 960
gacacagttg tccccgagga agctcaggac ctattcgtg ggctgctgtg tcctgctgag 1020

ataaggctag gtcgaggtgg ggcagacttc gaggggtgcca cggacacatg caatttcgat 1080
 gtgggtggagg accggctcac tgccatggtg agcgggggcg gggagacgct gtcagacatg 1140
 caggaagaca tgcccttgg ggtgcgcctg ccttcgtgg gctactccta ctgctgcatg 1200
 gccttcagag acaatcaggt cccggacccc acccctatgg aactagaggc cctgcagttg 1260
 cctgtgtcag acttgcaagg gcttgacttg cagccccag tgtccccacc ggatcaagtg 1320

gctgaagagg ctgacctagt ggctgtccct gcccctgtgg ctgaggcaga gaccacgta 1380
 acgtgcagc agctccagga agccctggaa gaagaggttc tcaccggca gacctgagc 1440
 cgcgagctgg aggccatccg gaccccaac cagaacttct ccagccaact acaggaggcc 1500
 gaggtccgaa accgagacct ggaggcgcat gttcggcagc tacaggaacg gatggagatg 1560
 ctgcaggccc caggagccgc agccatcacg ggggtcccca gtccccggc cacgcatcca 1620
 ctttccatc tagatggccc cccggccgtg gctgtgggccc agtggccgtt ggtggggcca 1680
 ggccccatgc accgcccga cctgctgctc cctgccagga tccctaggcc tggcctatcc 1740
 gaggcgcgtt gcctgtcctt gttcccgct gctctggctg ctgccccac actgggctgc 1800

actgggttgg tggcctatac cggcggtctc acccagttct ggtgtttccc gggagccacc 1860
 ttgccccct gaaccctaag actccaagcc atctttcatt taggcctcct aggaaggtcg 1920
 agcgaccagg gagcgaccca aagcgtctct gtgcccacg ccccccccc cccccccacc 1980
 gtccgctcc acatttctgt gagcctgggt cccacccag ctccgctcct gtgatccagg 2040
 cctgccacct ggcggccggg gagggaggaa cagggtcgt gccagcacc cctggttcct 2100
 gcagagctgg tagccaccgc tgctgcagca gctgggcatt cgccgacctt gctttactca 2160
 gccccgacgt ggatgggcaa actgtcagc tcacccgatt tcacttttc acttcccag 2220
 ccatcagtta caagccataa gcatgagccc cctatttcca gggacatccc attcccatag 2280

tgatggatca gcaagacctc tgccagcaca caggagttct ttggtttcgg acagctcac 2340
 tcctgggggt tgctgcaact ctttccccgt gtacacgtct gactcctaac aacggagcca 2400
 cagctgcaact cccccctcc ccaagcagt gtgggtatct attgatcttg ttatctgact 2460
 cactgacaga ctccgggacc cagtttttag atgcattgag actcgacatt cctcggtatt 2520
 tattgtctgt cccacctac gacctccact cccgaccctt gcgaataaaa tacttctggt 2580
 ctgcctaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 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 tccggatcgc cagcctttgt gggccatatt cgtcatccct 60
cctggcttct catctgcttt tgtggtccta gctcaagacc tctaattcct ctgctgactt 120
aaatgccctt cccagaggtt cttctcaggc ctagtggaca agcttggagc cttatctgct 180
cctgcccac attgagccaa agctccagct tacccagct tccttacaat ggacccatt 240
gcagcaaggc ttaaggaggt ccgactgcag agggatgatt ttgagatttt gaaggatgc 300
gggcgtgggg cggtcagcga ggtagcgggt gtgaagatga aacagacggg ccaagtgtat 360
gccatgaaga ttatgaataa gtgggacatg ctgaagagag gcgaggtgtc gtgcttccgg 420

gaagaaaggg atgtattagt gaaaggggac cggcgtgga tcacacagct gcactttgcc 480
ttccaggatg agaactacct gtacctgttc atggaatact acgtgggcgg ngacctgcta 540
acgtctgtga gcaagttttg gggagcggat cccgcgcgag atggctcgtt tctacctggc 600
cgagattgtc atggccatag actccgtgca ccggctgggc tacgtgcaca gggacatcaa 660
accagataac attctgtctg accgatgtgg gcacattcgc ctggcagact tcggctcctg 720
gcctcaactg cagcctgatg gaatggtgga gtccccctgt ggctgtgggc acccccgga 780
tacctgtctc ctgaaattct gcagggcctt ggtgggaggc cctggggaag gcaactacgg 840
gccaaaagt t ggaagggggg ggcctggggg gggttccct atgaaaagt ctatggggag 900

gaccccttt aagcgaatc ccagccgaa aaatatgcc angattgggc ctaacaggg 960
aaaactttt cctgcccct gggacaat 988

<210> 795

<211> 649

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 795

ggcgtgttc cctatgatg gttctatggg cagacccct tctacgcgga ctccacagc 60
gagacatat ccaagattgt gcactacagg gaacattgt cgctgccgt ggcagacaca 120
gttgtcccc aggaagctca ggacctcatt cgtgggctgc tgtgtcctgc tgagataagg 180
ctaggtcgag gtggggcagg tgatttcag aaacatcctt tcttctttgg ccttgattgg 240
gagggtctcc gagacagtgt acccccttt acaccagact tcgagggtgc cacggacaca 300

tgcaatttcg atgtggtgga ggaccggctc actgccatgg agacgctgtc agacatgcag 360
 gaagacatgc ccttgggggt gcgcctgccc ttctgtgggt actcctactg ctgcatggcc 420
 tttagagaca atcaggtccc ggacccacc cctatggaac tagaggccct gcagttgcct 480
 gtgtcagact tgcaagggtg tgacttgag cccccagtgt cccaccgga tcaagtgtgc 540
 ccaactctga tccccaccga caggtgaag aggtgacct agtggtgtc cctgcccctg 600
 tggctgaggg agagccacgg taacgtgca gcagctccag gaagccctg 649

<210> 796

<211> 527

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 796

atttcgatgt ggtggaggac cggctcactg ccatggtgag cgggggcggg gagacgtgt 60

 cagacatgca ggaagacatg ccccttgggg tgcgcctgcc cttctgtggc tactcctact 120
 gctgcatggc cttcagagac aatcaggtcc cggacccac ccctatggaa ctagaggccc 180
 tgcagttgcc tgtgtcagac ttgcaagggt ttgacttgca gccccagtg tccccaccgg 240
 atcaagtggc tgaagaggct gacctagtgg ctgtccctgc ccctgtggct gaggcagaga 300
 ccacggtaac gctgcagcag ctccaggaag ccctggaaga agaggttctc acccggcaga 360
 gcctgagccg cgagctggag gccatccgga ccgccaacca gaacttctcc aggaggccga 420
 ggtccgaaac cgagacctgg aggcgcatgt tcggcagcta caggaacgga tggagatgct 480
 gcaggcccca ggaaccgcag ccatcacggg ggtccccagt cccccgg 527

<210> 797

<211> 567

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 797

atggtgaggt cgctggtggc tgtgggcacc ccggactacc tgtctcctga gattctgcag 60
 gccgttgggt gagggcctgg ggcaggcagc tacgggccag agtgtgactg gtgggcactg 120
 ggctgttctg cctatgagat gttctatggg cagacccct tctacgcgga ctccacagcc 180
 gagacatatg ccaagattgt gcactacagg gaacacttgt cgctgccgtt ggcagacaca 240
 gttgtcccc aggaagctca ggacctcatt cgtgggtgtc tgtgtcctgc tgagataagg 300
 ctaggtcgag gtggggcagg tgatttccag aaacatcctt tcttctttgg ctttgattgg 360
 gaggtgtctc gagacagtgt acccccttt acaccagact tcgagggtgc cacggacaca 420

tgcaatttcg atgtgggtga ggaccggctc actgccatgg tgagcggggg cggggtatga 480
ggacacacag gtgaccagtc cccaagacag tgagttaggc ttcactcttg gcagtactaa 540
aattgaatgt agggggctgg gctcttg 567

<210> 798

<211> 2474

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 798

ccgggaagaa agggatgtat tagtgaaagg ggaccggcgc tggatcacac agctgcactt 60
tgccittcag gatgagaact acctgtacct ggatcatgga tactacgtgg gcggggacct 120
gctaacgctg ctgagcaagt ttggggagcg gatccccgcc gagatggctc gctttctacct 180
ggccgagatt gtcatggcca tagactccgt gcaccggctg ggctacgtgc acagggacat 240

caaaccagat aacattctgc tggaccgatg tgggcacatt cgcctggcag acttcggctc 300
ctgcctcaaa ctgcagcctg atggaatggt gaggtcgctg gtggctgtgg gcaccccgga 360
ctacctgtct cctgagattc tgcaggccgt tggtagggg cctggggcag gcagctacgg 420
gccagagtgt gactggtagg cactgggcgt gttcgctat gagatgttct atgggcagac 480
ccccctctac gcggactcca cagccgagac atatgccaag attgtgact acagggaaca 540
cttgtcgctg ccgtggcag acacagttgt ccccgaggaa gctcaggacc tcattcgtgg 600
gtgtgtgtgt cctgtgaga taaggctagg tcgagacttc gaggtgcca cggacacatg 660
caatttcgat gtgtaggagg accggctcac tgccatgggtg agcggggggcg gggagacgct 720

gtcagacatg caggaagaca tgccccttgg ggtgcgcctg ccttcgtgg gctactccta 780
ctgtgcatg gccttcagag acaatcaggt cccggacccc acccctatgg aactagaggc 840
cctgcagtgt cctgtgtcag acttgcaagg gcttgacttg cagccccag tgtccccacc 900
ggatcaagt gctgaagagg ccgacctagt ggctgtcct gccctgttg ctgaggcaga 960
gaccacgta acgtgcagc agctccagga agccctggaa gaagaggttc tcaccggca 1020
gagcctgagc cgcgagctgg aggccatccg gaccgccaac cagaacttct ccagccaact 1080
acaggaggcc gaggtccgaa accgagacct ggaggcgcgt gttcggcagc tacaggaacg 1140
gatggagatg ctgcaggccc caggagccgc aggcgagtc ctcacctgct tccagccaag 1200

ggggcactgg gtggagatgg ggggcatgtt ggtgtgtga accctcgggg caggggagga 1260
gtccaggctg gggcaccgca gccgcgccac tgcctttctc ctccatctc cacactccat 1320
acacctctct ctctctctc cagccatcac ggggggtccc agtccccggg ccacggatcc 1380
accttccat gcttctcgcc aaatctccc caagggaact ccctagactc ccgttctggc 1440

ctcgactaga ttccccgact gcctctcgcc ctgctgctgg gctccgatcg ggtcacctgt 1500
 ccttctcttc tccagctaga tggcccccg gccgtggctg tgggccagtg cccgctgggtg 1560
 gggccaggcc ccatgcaccg ccgtcacctg ctgctccctg ccaggatccc taggcctggc 1620
 ctatccgagg cgcgttgctt gctcctgttc gccgctgctc tggctgctgc cgccacactg 1680

ggctgcactg ggttgggtggc ctataccggc ggtctcacc cagtctggtg tttcccgga 1740
 gccaccttcg cccctgaac cctaagactc caagccatct ttcatttagg cctcctagga 1800
 agatcgagcg accagggagc gacccaaagc gtctctgtgc ccatcgcccc ccccccccc 1860
 cccaccgtc cgtccacac ttctgtgagc ctgggtcccc acccagctcc gctcctgtga 1920
 tccaggcctg ccacctggcg gccggggagg gaggaacagg gctcgtgccc agcacccctg 1980
 gttcctgcag agctggtagc caccgtgct gcagcagctg ggcatcgcc gaccttgctt 2040
 tactcagccc tgacgtggat gggctaactg ctcagctcat ccgatttcac tttttcactc 2100
 tcccagccat cagttacaag ccataagcat gagcccccta tttccaggga catcccatc 2160

ccatagtgat ggatcagcaa gacctctgcc agcacacacg gagtctttgg cttcggacag 2220
 cctcactcct gggggttgct gcaactcctt cccgtgtac acgtctgcac tetaacaacg 2280
 gagccacagc tgactcccc cctccccaa agcagtgtgg gtatttatg atcttgttat 2340
 ctgactcact gacagactcc gggaccacg ttttagatgc attgagactc gacattcctc 2400
 ggtatttatt gtctgtcccc acctacgacc tccactcccg acccttgcca ataaaatact 2460
 tctggtctgc ccta 2474

<210> 799

<211> 2135

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 799

ccgggaagaa agggatgtat tagtgaaagg ggaccggcgc tggatcacac agctgcactt 60

tgcttccag gatgagaact acctgtacct ggtcatggaa tactacgtgg gcggggacct 120
 gctaacgctg ctgagcaagt ttggggagcg gatccccgc gagatggctc gcttctacct 180
 ggccgagatt gtcatggcca tagactccgt gcaccggctg ggctacgtgc acagggacat 240
 caaaccagat aacattctgc tggaccgatg tgggcacatt cgcctggcag acttcggctc 300
 ctgcctcaaa ctgcagcctg atggaatggt gaggtcgtg gtggctgtgg gcaccccgga 360
 ctacctgtct cctgagattc tgcaggccgt tggtagggg cctggggcag gcagctacgg 420
 gccagagtgt gactggtggg cactgggcgt gttcgctat gagatgttct atgggcagac 480

ccccttctac gcggactcca cagccgagac atatgccaag attgtgact acaggaaca 540

 ctgtcgtg ccgtggcag acacagtgt ccccgaggaa gtcaggacc tcattcgtg 600
 gctgctgtgt cctgctgaga taaggctagg tcgaggtagg gcaggtagt tccagaaaca 660
 tcctttcttc ttggccttg attgggaggg tctccgagac agtgtacccc cttttacacc 720
 agacttcgag ggtgccacg acacatgcaa ttctgatgtg gtggaggacc ggctcactgc 780
 catggagacg ctgtcagaca tgcaggaaga catgccctt ggggtgcgcc tgcccttcgt 840
 gggctactcc tactgctgca tggccttcag agctgaagag gccgacctag tggctgtccc 900
 tgccctgtg gctgaggcag agaccacgt aacgtgcag cagctccagg aagccctgga 960
 agaagagggt ctcacccggc agagcctgag ccgagagctg gaggccatcc ggaccgcaa 1020

 ccagaacttc tccagccaac tacaggaggc cgaggccga aaccgagacc tggaggcgca 1080
 tgttcggcag ctacaggaac ggatggagat gctgcaggcc ccaggagccg cagccatcac 1140
 ggggggtccc agtccccggg ccacggatcc accttccat atggcccccc ggccgtggct 1200
 gtgggccagt gcccgctggt gggggccaggc ccatgcacc gccgtacct gctgtccct 1260
 gccaggatcc ctaggctgg cctatccgag gcgcttgcc tgcctctgtt cgccgtgct 1320
 ctggctgctg ccgccacct gggctgcact gggttggtgg cctataccgg cggcttcacc 1380
 ccagtctggt gtttccggg agccaccttc gccccctgaa ccctaagact ccaagccatc 1440
 ttcatcttag gctcctagg aagatcgagc gaccaggag cgacccaaag cgtctctgtg 1500

 cccatgccc cccccccc cccaccgt ccgtccaca cttctgtgag cctgggtccc 1560
 caccagctc cgtcctgtg atccaggct gccacctggc ggccggggag ggaggaacag 1620
 ggctcgtgcc cagcacccct ggttctgca gagctgtag ccaccgtgc tgcagcagct 1680
 gggcattcgc cgaccttct ttactcagcc ctgactgga tgggctaact gctcagctca 1740
 tccgatttca ctttttact ctcccagcca tcagttacaa gccataagca tgagccccc 1800
 atttccagg acatccatt cccatagtga tggatcagca agacctctgc cagcacacac 1860
 ggagtctttg gtttcggaca gctcactcc tgggggttgc tgcaactcct tccccgtga 1920
 cagctctgca cttaacaac ggagccacag ctgcactccc cctccccca aagcagtgtg 1980

 ggtatttatt gatcttgta tctgactcac tgacagactc cgggaccac gtttttagatg 2040
 cattgagact cgacattctt cggtatttat tgtctgtccc cacctacgac ctccactccc 2100
 gaccttgcg aataaaatc ttctggtctg cccta 2135

<210> 800

<211> 2873

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 800

```

aggggggctg gaccaagggg tggggagaag gggaggaggc ctcggccggc cgcagagaga 60
agtggccaga gagggccagg ggacagccag ggacaggcag acatgcagcc agggctccag 120
ggcctggaca ggggctgcca ggccctgtga caggaggacc ccgagcccc ggcccgggga 180
ggggccatgg tgctgctgt ccaacatgtc agccgagggt cggtgaggc ggctccagca 240

gctggtgttg gacccgggct tcctggggct ggagccctg ctcgacctc tcctgggct 300
ccaccaggag ctgggcgctt ccgaactggc ccaggacaag tacgtggccg acttcttgca 360
gtggcgaggag cccatcgtgg tgaggcttaa ggaggtccga ctgcagaggg acgacttcga 420
gattctgaag gtgatcgac gcggggcggt cagcgaggta gcggtagtga agatgaagca 480
gacgggccag gtgtatgcca tgaagatcat gaacaagtgg gacatgctga agaggggcga 540
ggtgtcgtgc ttccgtgagg agaggacgt gttggtgaat ggggaccggc ggtggatcac 600
gcagctgcac ttgccttcc aggatgagaa ctacctgtac ctggcatgg agtattacgt 660
gggcggggac ctgtgacac tgctgagcaa gttggggag cggattccgg ccgagatggc 720

gcgcttctac ctggcggaga ttgtcatggc catagactcg gtgcaccggc ttggctacgt 780
gcacagggac atcaaaccg acaacatcct gctggaccgc tgtggccaca tccgcctggc 840
cgacttcggc tcttgccca agctcgggc agatggaacg gtgcggtcgc tgggtgctgt 900
gggcacccca gactacctgt ccccgagat cctgcaggct gtggcggtg ggctgggac 960
aggcagctac gggcccaggt gtgactggtg ggcgtgggt gtattgcct atgaaatgtt 1020
ctatgggcag acgcccctc acgcggattc cacggcggag acctatggca agatcgtcca 1080
ctacaaggag cacctctctc tgccgtggt ggacgaagg gtcctgagg aggtcgaga 1140
cttattcag cgttgctgt gtccccgga gacacggctg ggccggggtg gagcaggcga 1200

cttccggaca catcccttct tctttggcct cgactgggat ggtctccggg acagcgtgcc 1260
cccccttaca ccgatttcg aaggtgccac cgacacatgc aattcgact tggtaggga 1320
cgggctcact gccatggaga cactgtcgga cattcgggaa ggtgcgccgc taggggtcca 1380
cctgcctttt gtgggtact cctactcctg catggccctc agggacagt aggtcccagg 1440
ccccacacc atggaactgg aggcggagca gctgcttgag ccacacgtgc aagcggccag 1500
cctggagccc tcggtgtccc cacaggatga aacagctgaa gtggcagttc cagcggtgt 1560
ccctgcggca gaggtgagg ccgaggtgac gctgcgggag ctccaggaag ccctggagga 1620
ggaggtgctc acccggcaga gcctgagccg ggagatggag gccatccga cggacaacca 1680

gaacttcgcc agtcaactac gcgaggcaga ggctcggaac cgggacctag aggcacacgt 1740

```


ccggcagttg caggagcgga tggagttgct gcaggcagag ggagccacag ctgtcacggg 1800
 gggtccctagt ccccgggcca cggatccacc ttcccatatg gcccccggc cgtggctgtg 1860
 ggccagtgcc cgttggtggg gccaggcccc atgcaccgcc gccacctgct gtcacctgcc 1920
 aggggtcccta ggcttggcct atcggaggcg ctttccctgc tctgtttcgc cgttgtttctg 1980
 tctcgtgccg ccgcccctggg ctgcattggg ttggtggccc acgccggcca actcaccgca 2040
 gtctggcgcc gccaggagc cgcccgcgt cctgaaccc tagaactgtc ttcgactcgg 2100
 gggccccgtt ggaagactga gtgcccgggg cacggcacag aagccgcgcc caccgcctgc 2160

cagttcaca cgcctccgag cgtgggtctc cgcccagctc cagtctgtg atccggggcc 2220
 gccccctagc ggccggggag ggaggggccg ggtccgcggc cggcgaacgg ggctcgaagg 2280
 gtctttagtag ccgggaatgc tgctgtgct gctgtgtctg ctgtgtctgc tgctgtgct 2340
 gctgtgtctg ctgtgtcgg ggggatcaca gaccatttct ttttttcggc caggctgagg 2400
 ccctgacgtg gatgggcaaa ctgcaggcct gggaaggcag caagccgggc cgtccgtgtt 2460
 ccacctcca cgcaccccca cctatcgttg gtctgcaaag tgcaaagctt tcttgtcat 2520
 gacgcccctgc tctggggagc gtctggcgcg atctctgcct gcttactcgg gaaatttgc 2580
 ttgccaac ccgtttttc ggggatcccg cgccccctc ctacttgcg ctgctctcgg 2640

agccccagcc ggctccgccc gcttcggcgg ttggatatt tattgacctc gtctccgac 2700
 tcgtgacag gctacaggac cccaacaac ccaatccac gttttgatg cactgagacc 2760
 ccgacattcc tcggtattta ttgtctgtcc ccacctagga cccccaccc cgacctcgc 2820
 gaataaaagg ccttccatct gcccacaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaa 2873

<210> 801

<211> 1509

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 801

ccaccgcagc ggacagcgcc aagtgaagcc tcgtttcccc tccgcggcga ccaggggccc 60
 agccgagagt agcagttgta gctacccgcc cagaaactag acacaatgtg cgacgaagac 120
 gagaccaccg cctcgtgtg cgacaatggc tccggcctgg tgaaagccgg cttcgccggg 180

gatgacgccc ctagggcctg gttcccgctc atcgtgggcc gccccgaca ccagggcgtc 240
 atggtcggta tgggtcagaa agattcctac gtgggcgacg aggctcagag caagagaggt 300
 atctgaccc tgaagtacc tatcgagcac ggcacatca ccaactggga tgacatggag 360
 aagatctggc accacacett ctacaacgag cttcgcgtgg ctcccagga gcacccacc 420
 ctgctcaccg agggccccct caatccaag gccaacgcg agaagatgac ccagatcatg 480

tttagacct tcaacgtgcc cgccatgtac gtggccatcc aggccgtgct gtccctctac 540
 gcctccggca ggaccaccgg catcgtgctg gactccggcg acggcgctac ccacaacgtg 600
 cccatttatg agggctacgc gctgccgcac gccatcatgc gcctggacct ggcgggcccgc 660

 gatctcaccg actacctgat gaagatcctc actgagcgtg gctactcctt cgtgaccaca 720
 gctgagcgcg agatcgtgcg cgacatcaag gagaagctgt gctacgtggc cctggacttc 780
 gagaacgaga tggcgacggc cgctcctcc tcctccctgg aaaagagcta cgagctgcca 840
 gacgggcagg tcatcacat cggaacgag cgcttcgct gcccgagac gctcttcag 900
 cctccttca tcggtatgga gtcggcgggc attcacgaga ccacctaca cagcatcatg 960
 aagtgtgaca tcgacatcag gaaggacctg tatgccaaca acgtcatgtc ggggggcacc 1020
 acgatgtacc ctgggatcgc tgaccgcatg cagaaagaga tcaccgcgt ggacccagc 1080
 accatgaaga tcaagatcat cgccccgccg gacgcaaat actcgggtgt gatcggcggc 1140

 tccatcctgg cctcgtgtc cacttccag cagatgtgga tcaccaagca ggagtacgac 1200
 gaggccggcc cttccatcgt ccaccgaaa tgcttctaga cacactccac ctccagcacg 1260
 cgacttctca ggacgacgaa ttttctcaat gggggggcgg ctgagctcca gccacccgc 1320
 agtcactttc ttgttaaaa cttccgttgc tgccatcgta aactgacaca gtgtttataa 1380
 cgtgtacata cattaactta ttacctatt ttgtttttt tcgaacaaa gccctgtgga 1440
 agaaaatgga 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	
gcttgacagt gtggct	16
<210> 811	
<211> 14	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 811	
cttgacagtg tggc	14

<210> 812	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 812	
ggttgtgaac 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	
agcggttgtg 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

gaaagctttg cacttt 16

<210> 821

<211> 14

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 821

aaagctttgc 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 cgagtc 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
 tcctgtagcc tgtcag 16
 <210> 827
 <211> 14
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic oligonucleotide
 <400> 827
 cctgtagcct 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	
acctgcccgt ctggca	16
<210> 831	
<211> 14	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 831	
cctgcccgtc 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	
gaatgacttt aatgct	16
<210> 837	
<211> 14	

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic oligonucleotide

<400> 837

aatgacttta atgc

14