



## (12)发明专利



(10)授权公告号 CN 104968783 B

(45)授权公告日 2019.12.10

(21)申请号 201380053819.8

(22)申请日 2013.10.15

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 104968783 A

(43)申请公布日 2015.10.07

(30)优先权数据

61/714,132 2012.10.15 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2015.04.15

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2013/065073 2013.10.15

(87)PCT国际申请的公布数据

W02014/062691 EN 2014.04.24

(73)专利权人 IONIS制药公司

地址 美国加利福尼亚州

(72)发明人 F·C·贝内特 S·M·弗赖尔

E·E·斯韦兹 F·里戈

(74)专利代理机构 北京市万慧达律师事务所

11111

代理人 李春晖 代峰

(51)Int.Cl.

C12N 15/11(2006.01)

C12P 19/34(2006.01)

(56)对比文件

W0 2011/135396 A1,2011.11.03,

simon-sanchez javier et al.the

clinical and pathological pathological

phenotype of c9orf72 hexanucleotide

repeat expansions.《A Journal of

neurology》.2012,第135卷(第Pt3期),723-735.

donnelly christopher j.et

al.development of c9orf72 ALS biomarkers

and therapeutics.《annals of neurology》

.2012,第72卷(第16增刊期),S67-S68.

审查员 靳春鹏

权利要求书3页 说明书53页

序列表129页

### (54)发明名称

用于调节C9ORF72表达的组合物

### (57)摘要

本文公开了用C9ORF72特异性抑制剂减少动物体内C9ORF72mRNA和蛋白质的表达的组合物和方法。所述方法可用于治疗、预防或改善有需要的个体的神经退化性疾病。所述C9ORF72特异性抑制剂包括反义化合物。可以通过施用C9ORF72特异性抑制剂进行治疗、预防及改善的神经退化性疾病的实例包括肌萎缩侧索硬化(ALS)、额颞叶痴呆(FTD)、皮质基底变性综合征(CBD)、非典型性帕金森样综合征及橄榄体脑桥小脑退化(OPCD)。

1. 一种化合物,其包含由20至24个相连的核苷组成的修饰的寡核苷酸,且所述修饰的寡核苷酸包括与SEQ ID NO:2的核碱基14753-14772 100%互补的至少20个连续的核碱基的核碱基序列。

2. 如权利要求1所述的化合物,其中所述寡核苷酸由20个相连的核苷组成。

3. 如权利要求1所述的化合物,其中所述修饰的寡核苷酸是单链寡核苷酸。

4. 如权利要求3所述的化合物,其中所述修饰的单链寡核苷酸是间隙聚体。

5. 如权利要求1所述的化合物,其中所述修饰的寡核苷酸的至少一个核苷间键是修饰的核苷间键。

6. 如权利要求5所述的化合物,其中所述修饰的寡核苷酸的每个核苷间键都是修饰的核苷间键。

7. 如权利要求5所述的化合物,其中所述修饰的核苷间键是硫代磷酸酯核苷间键。

8. 如权利要求5所述的化合物,其中所述修饰的寡核苷酸的至少一个核苷间键是硫代磷酸酯核苷间键。

9. 如权利要求1所述的化合物,其中所述修饰的寡核苷酸的至少一个核碱基是修饰的核碱基。

10. 如权利要求9所述的化合物,其中所述修饰的核碱基是5'-甲基胞嘧啶。

11. 如权利要求1所述的化合物,其中所述修饰的寡核苷酸的至少一个核苷包含修饰的糖。

12. 如权利要求11所述的化合物,其中所述修饰的寡核苷酸的每个核苷包含修饰的糖。

13. 如权利要求11所述的化合物,其中所述修饰的糖是双环糖。

14. 如权利要求13所述的化合物,其中所述双环糖在所述糖的4' 和2' 位间包含化学桥,其中所述化学桥选自4'-CH(R)-O-2' 和4'-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-O-2', 其中R独立的是H、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基或C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷氧基。

15. 如权利要求14所述的化合物,其中所述化学桥是4'-CH(R)-O-2' 且其中R是甲基。

16. 如权利要求14所述的化合物,其中所述化学桥是4'-CH(R)-O-2' 且其中R是H。

17. 如权利要求14所述的化合物,其中所述化学桥是4'-CH(R)-O-2' 且其中R是-CH<sub>2</sub>-O-CH<sub>3</sub>。

18. 如权利要求11所述的化合物,其中所述修饰的糖包含2'-O-甲氧基乙基或2'-O-甲基基团。

19. 如权利要求1所述的化合物,其中所述修饰的寡核苷酸的至少一个核苷含糖替代物。

20. 如权利要求19所述的化合物,其中所述糖替代物是吗啉代或肽核酸。

21. 一种缀合的反义化合物,其包含如权利要求1-20中任一项所述的化合物。

22. 如权利要求1-20中任一项所述的化合物,其由所述修饰的寡核苷酸组成。

23. 一种组合物,其包含如权利要求1-20和22中任一项所述的化合物和药学上可接受的载体或稀释剂。

24. 如权利要求23所述的组合物,其中所述药学上可接受的载体是磷酸盐缓冲生理盐水。

25. 一种组合物,其包含如权利要求21所述的缀合的反义化合物和药学上可接受的载

体或稀释剂。

26. 如权利要求25所述的组合物,其中所述药学上可接受的载体是磷酸盐缓冲生理盐水。

27. 如权利要求23所述的组合物,其中所述化合物的修饰的寡核苷酸是盐。

28. 如权利要求27所述的组合物,其中所述盐是钠盐。

29. 如权利要求25所述的组合物,其中所述化合物的修饰的寡核苷酸是盐。

30. 如权利要求29所述的组合物,其中所述盐是钠盐。

31. 一种修饰的寡核苷酸,其由20至24个相连的核苷组成且具有包括SEQ ID NO:115或251的序列的至少20个连续的核碱基的核碱基序列。

32. 如权利要求31所述的修饰的寡核苷酸,其中所述修饰的寡核苷酸是单链寡核苷酸。

33. 如权利要求32所述的修饰的寡核苷酸,其中所述单链寡核苷酸是间隙聚体。

34. 如权利要求31所述的修饰的寡核苷酸,其中所述修饰的寡核苷酸的至少一个核苷间键是修饰的核苷间键。

35. 如权利要求34所述的修饰的寡核苷酸,其中所述修饰的寡核苷酸的每个核苷间键是修饰的核苷间键。

36. 如权利要求34所述的修饰的寡核苷酸,其中所述修饰的核苷间键是硫代磷酸酯核苷间键。

37. 如权利要求34所述的修饰的寡核苷酸,其中所述修饰的寡核苷酸的至少一个核苷间键是硫代磷酸酯核苷间键。

38. 如权利要求31所述的修饰的寡核苷酸,其中所述修饰的寡核苷酸的至少一个核碱基是修饰的核碱基。

39. 如权利要求38所述的修饰的寡核苷酸,其中所述修饰的核碱基是5-甲基胞嘧啶。

40. 如权利要求31所述的修饰的寡核苷酸,其中所述修饰的寡核苷酸的至少一个核苷包含修饰的糖。

41. 如权利要求40所述的修饰的寡核苷酸,其中所述修饰的寡核苷酸的每个核苷包含修饰的糖。

42. 如权利要求40所述的修饰的寡核苷酸,其中所述修饰的糖是双环糖。

43. 如权利要求42所述的修饰的寡核苷酸,其中所述双环糖在所述糖的4' 和2' 位间包含化学桥,其中所述化学桥选自4' -CH(R) -O-2' 和4' -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-O-2', 其中R独立的是H、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基或C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷氧基。

44. 如权利要求43所述的修饰的寡核苷酸,其中所述化学桥是4' -CH(R) -O-2' 且其中R是甲基。

45. 如权利要求43所述的修饰的寡核苷酸,其中所述化学桥是4' -CH(R) -O-2' 且其中R是H。

46. 如权利要求43所述的修饰的寡核苷酸,其中所述化学桥是4' -CH(R) -O-2' 且其中R是-CH<sub>2</sub>-O-CH<sub>3</sub>。

47. 如权利要求40所述的修饰的寡核苷酸,其中所述修饰的糖包含2' -O-甲氧基乙基或2' -O-甲基基团。

48. 如权利要求31所述的修饰的寡核苷酸,其中所述修饰的寡核苷酸的至少一个核苷

含糖替代物。

49. 如权利要求48所述的修饰的寡核苷酸,其中所述糖替代物是吗啉代或肽核酸。

50. 一种组合物,其包含如权利要求31-49中任一项所述的修饰的寡核苷酸和药学上可接受的载体或稀释剂。

51. 如权利要求50所述的组合物,其中所述药学上可接受的载体是磷酸盐缓冲生理盐水。

52. 如权利要求50所述的组合物,其中所述化合物的修饰的寡核苷酸是盐。

53. 如权利要求52所述的组合物,其中所述盐是钠盐。



## 用于调节C9ORF72表达的组合物

### [0001] 序列表

[0002] 本申请是与电子格式的序列表一起提交。序列表是以题为BIOL0211W0SEQ.txt的文件提供,该文件于2013年10月14日创建,大小是184Kb。该电子格式的序列表中的信息是通过引用的方式整体并入本文中。

### [0003] 领域

[0004] 本发明提供了用于减少动物体内C9ORF72mRNA和蛋白质的表达的组合物和方法。这些方法可用于治疗、预防或改善神经退化性疾病,包括肌萎缩侧索硬化(ALS)、额颞叶痴呆(FTD)、皮质基底变性综合征(CBD)、非典型性帕金森样综合征及橄榄体脑桥小脑退化(OPCD)。

### [0005] 背景

[0006] 肌萎缩侧索硬化(ALS)是一种致死性神经退化性疾病,临床特征是进行性麻痹,从而因呼吸衰竭而导致死亡,此典型地在症状发作的两年到三年内发生(Rowland和Shneider,N.Engl.J.Med.,2001,344,1688-1700)。ALS是西方国家第三大最常见的神经退化性疾病(Hirtz等人,Neurology,2007,68,326-337),并且目前尚无有效的疗法。约10%的病例本质上是家族性的,而大多数诊断患有该疾病的患者被归类为散发的,因为他们看来是在群体中随机发生的(Chio等人,Neurology,2008,70,533-537)。基于临床、遗传和流行病学数据,人们逐渐认识到,ALS和额颞叶痴呆(FTD代表了疾病的重叠连续过程,在病理学上以整个中枢神经系统中TDP-43阳性包涵体的存在为特征(Lillo和Hodges,J.Clin.Neurosci.,2009,16,1131-1135;Neumann等人,Science,2006,314,130-133)。

[0007] 截至目前,已经发现多个基因会引起典型家族性ALS,例如,SOD1、TARDBP、FUS、OPTN及VCP(Johnson等人,Neuron,2010,68,857-864;Kwiatkowski等人,Science,2009,323,1205-1208;Maruyama等人,Nature,2010,465,223-226;Rosen等人,Nature,1993,362,59-62;Sreedharan等人,Science,2008,319,1668-1672;Vance等人,Brain,2009,129,868-876)。近来,针对涉及多例ALS、FTD及ALS-FTD的家族的连锁分析表明,在第9号染色体的短臂上存在一个重要的疾病基因座(Boxer等人,J.Neurol.Neurosurg.Psychiatry,2011,82,196-203;Morita等人,Neurology,2006,66,839-844;Pearson等人,J.Nerol.,2011,258,647-655;Vance等人,Brain,2006,129,868-876)。染色体9p21ALS-FTD基因座位于突变会引起ALS的最主要常染色体显性基因中。引起ALS-FTD的突变是在C9ORF72基因的第一个内含子中的一个较长的六核苷酸(GGGGCC)重复扩增中(Renton等人,Neuron,2011,72,257-268;DeJesus-Hernandez等人,Neuron,2011,72,245-256)。在大多数与这一区域相关的病例中都存在涵盖C9ORF72基因的祖先单倍型(founder haplotype)(Renton等人,Neuron,2011,72,257-268)。在一组405位芬兰患者中,在染色体9p21上的这一基因座引起近半数的家族性ALS并且在所有ALS病例中占近四分之一(Laaksovirta等人,Lancet Neurol.,2010,9,978-985)。

[0008] 在与该区域相关的大多数病例中都存在涵盖C9ORF72基因的祖先单倍型。

[0009] 目前尚无治疗此类神经退化性疾病的有效疗法。因此,目的是提供用于治疗此类

神经退化性疾病的组合物和方法。

[0010] 概述

[0011] 本文提供了用于调节细胞、组织及动物中C9ORF72mRNA和蛋白质含量的组合物和方法。在某些实施方案中，C9ORF72特异性抑制剂调节C9ORF72mRNA和蛋白质的表达。在某些实施方案中，C9ORF72特异性抑制剂是核酸、蛋白质或小分子。

[0012] 在某些实施方案中，调节可以在细胞或组织中发生。在某些实施方案中，所述细胞或组织是在动物体内。在一些实施例中，所述动物是人类。在某些实施方案中，C9ORF72mRNA的含量降低。在某些实施方案中，C9ORF72蛋白质的含量降低。在某些实施方案中，优先减少某些C9ORF72mRNA变体。在某些实施方案中，优先减少的C9ORF72mRNA变体是含内含子1的变体。在某些实施方案中，内含子1含有六核苷酸重复扩增。在某些实施方案中，六核苷酸重复扩增与C9ORF72相关疾病有关。在某些实施方案中，六核苷酸重复扩增与C9ORF72六核苷酸重复扩增相关疾病有关。在某些实施方案中，六核苷酸重复扩增包含至少30个GGGGCC重复序列。在某些实施方案中，六核苷酸重复扩增与核灶相关。在某些实施方案中，本文所描述的组合物和方法可用于减少C9ORF72mRNA含量、C9ORF72蛋白质含量及核灶。此类减少可以按时间依赖性方式或按剂量依赖性方式发生。

[0013] 还提供了可用于预防、治疗及改善C9ORF72相关疾病、病症及疾患的方法。在某些实施方案中，此类C9ORF72相关疾病、病症及疾患是神经退化性疾病。在某些实施方案中，神经退化性疾病是肌萎缩侧索硬化(ALS)、额颞叶痴呆(FTD)、皮质基底变性综合征(CBD)、非典型性帕金森样综合征及橄榄体脑桥小脑退化(OPCD)。

[0014] 此类疾病、病症及疾患可以共有一种或多种风险因素、成因或结果。有关神经退化性疾病，特别是ALS和FTD发展的某些风险因素和成因包括遗传倾向性和高龄。

[0015] 在某些实施方案中，治疗方法包括向有需要的个体施用C9ORF72特异性抑制剂。在某些实施方案中，C9ORF72特异性抑制剂是核酸。在某些实施例中，该核酸是一种反义化合物。在某些实施方案中，该反义化合物是单链反义寡核苷酸。在某些实施方案中，该单链反义寡核苷酸与C9ORF72核酸互补。

[0016] 详述

[0017] 应了解，前述总述和以下详细说明都仅是示例性和解释性的，并且不是对所要求保护的发明的限制。在本文中，除非另作具体规定，否则单数形式的使用包括复数形式。除非另作规定，否则如本文所使用，使用“或”意指“和/或”。另外，除非另作规定，否则如本文所使用，使用“和”意指“和/或”。此外，使用术语“包括(including)”以及其它形式，如“包括(includes)”和“包括(included)”并非限制性的。另外，除非另作具体规定，否则术语诸如“成分”或“组分”涵盖了包含一个单元的成分和组分以及包含超过一个亚单元的成分和组分。

[0018] 本文使用的任何章节标题都只是出于组织的目的，而不应解释为限制所描述的主题内容。本公开中引用的所有文献或文献的部分，包括但不限于，专利、专利申请、公布的专利申请、文章、书籍、论文以及GENBANK登录号和通过数据库(诸如美国国家生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information, NCBI))获得的相关序列信息及在本文的整个公开内容中所提到的其它数据都通过引用本文所论述的文献部分以及其全文清楚地并入本文中。

[0019] 定义

[0020] 除非提供具体定义,否则结合本文中所描述的分析化学、合成有机化学以及医学化学和药物化学的程序和技术使用的命名法及是本领域中众所周知并且常用的那些。化学合成和化学分析可以使用标准技术。

[0021] 除非另作指示,否则以下术语具有以下含义:

[0022] “2’-O-甲氧基乙基”(又称2’-MOE和2’-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-OCH<sub>3</sub>及MOE)是指呋喃糖基环2’位的O-甲氧基-乙基修饰。2’-O-甲氧基乙基修饰的糖是一种修饰的糖。

[0023] “2’-MOE核苷”(又称2’-O-甲氧基乙基核苷)意指包含2’-O-甲氧基乙基的核苷。

[0024] “5-甲基胞嘧啶”意指通过在5’位附接甲基进行修饰的胞嘧啶。5-甲基胞嘧啶是修饰的核碱基。

[0025] “约”意指在值的±7%范围内。举例来说,如果规定“化合物实现了对C90RF72至少约70%的抑制”,则暗示C90RF72含量被抑制在63%与77%的范围内。

[0026] “伴随施用”是指以任何方式共施用两种药剂,其中两种药剂的药理学作用同时在患者体内表现。伴随施用不需要以单一药物组合物、以相同剂型或通过相同施用途径施用两种药剂。两种药剂的作用本身无需同时表现。这些作用只需要重叠一段时间并且无需延伸相同时间。

[0027] “施用”意指将药剂提供给动物,并且包括但不限于,由医学专业人员施用及自行施用。

[0028] “改善(Amelioration/ameliorate/ameliorating)”是指疾病、病症或疾患的至少一种指标、病征或症状的减轻。指标的严重性可以通过本领域技术人员已知的主观或客观措施测定。

[0029] “动物”是指人类或非人类动物,包括但不限于,小鼠、大鼠、兔、狗、猫、猪,及非人类灵长类动物,包括但不限于,猴和黑猩猩。

[0030] “抗体”是指以通过某种方式与抗原特异性反应为特征的一种分子,其中抗体和抗原各自相对于彼此定义。抗体可以指完整抗体分子或者其任何片段或区域,诸如重链、轻链、Fab区及Fc区。

[0031] “反义活性”意指可归于反义化合物与其靶核酸的杂交的任何可检测或可测量的活性。在某些实施方案中,反义活性是靶核酸或由此类靶核酸编码的蛋白质的量或表达的减少。

[0032] “反义化合物”意指能够通过氢键合与靶核酸杂交的寡聚化合物。反义化合物的实例包括单链和双链化合物,诸如反义寡核苷酸、siRNA、shRNA、ssRNA及基于占位的化合物。反义机制包括但不限于,RNA酶H介导的反义;RNAi机制,这些机制利用了RISC通路并且包括但不限于,siRNA、ssRNA及微小RNA机制;以及基于占位的机制,包括但不限于,均一修饰的寡核苷酸。某些反义化合物可以通过超过一种此类机制和/或通过另外的机制起作用。

[0033] “反义抑制”意指相较于在反义化合物不存在下的靶核酸含量或靶蛋白含量,在与靶核酸互补的反义化合物存在下靶核酸的含量或靶蛋白的含量降低。抑制可以是包括RNA酶H降解(诸如用间隙聚体(gapmer))以及空间阻碍(诸如用均一修饰的寡核苷酸)在内的任何手段。

[0034] “反义寡核苷酸”意指具有容许与靶核酸的相应区段杂交的核碱基序列的单链寡

核苷酸。

[0035] “双环糖”意指通过两个原子桥接进行修饰的呋喃糖基环。双环糖是一种修饰的糖。

[0036] “双环核苷” (又称BNA) 意指糖部分包含连接糖环两个碳原子, 从而形成双环系统的桥的核苷。在某些实施方案中, 该桥连接了糖环的4' -碳和2' -碳。

[0037] “C90RF72相关疾病”意指与任何C90RF72核酸或其表达产物相关的任何疾病。此类疾病可以包括神经退化性疾病。此类神经退化性疾病可以包括ALS和FTD。

[0038] “C90RF72六核苷酸重复扩增相关疾病”意指与含有六核苷酸重复扩增的C90RF72核酸相关的任何疾病。在某些实施方案中, 六核苷酸重复扩增可以包含重复至少30次的GGGGCC、GGGGGG、GGGGGC或GGGGCG。此类疾病可以包括神经退化性疾病。此类神经退化性疾病可以包括ALS和FTD。

[0039] “C90RF72核酸”意指编码C90RF72的任何核酸。举例来说, 在某些实施方案中, C90RF72核酸包括编码C90RF72的DNA序列、由编码C90RF72的DNA (包括了含内含子和外显子的基因组DNA) 转录的RNA序列, 以及编码C90RF72的mRNA序列。“C90RF72mRNA”意指编码C90RF72蛋白质的mRNA。

[0040] “C90RF72特异性抑制剂”是指能够在分子水平上特异性抑制C90RF72mRNA和/或C90RF72蛋白质的表达的任何试剂。举例来说, C90RF72特异性抑制剂包括核酸 (包括反义化合物)、siRNA、适体、抗体、肽、小分子, 及能够抑制C90RF72mRNA和/或C90RF72蛋白质的表达的其它试剂。类似地, 在某些实施方案中, C90RF72特异性抑制剂可能影响动物体内的其它分子过程。

[0041] “帽结构”或“末端帽部分”意指已经在反义化合物任一末端处掺入的化学修饰。

[0042] “cEt”或“约束的乙基 (constrained ethyl)”意指具有包含连接4' -碳和2' -碳的桥的糖部分的双环核苷, 其中该桥具有式: 4' -CH(CH<sub>3</sub>)-O-2' 。

[0043] “约束的乙基核苷” (又称cEt核苷) 意指包括了含4' -CH(CH<sub>3</sub>)-O-2' 桥的双环糖部分的核苷。

[0044] “化学上不同的区域”是指反义化合物中以某种方式在化学上不同于同一反义化合物的另一区域的区域。举例来说, 具有2' -O-甲氧基乙基核苷的区域在化学上不同于具有不含2' -O-甲氧基乙基修饰的核苷的区域。

[0045] “嵌合反义化合物”意指具有至少两个化学上不同的区域的反义化合物。

[0046] “共施用”意指向个体施用两种或更多种药剂。这两种或更多种药剂可以是在单一药物组合物中, 或者可以在分开的药物组合物中。这两种或更多种药剂的每一种可以通过相同或不同的施用途径施用。共施用涵盖并行或依序施用。

[0047] “互补性”意指第一核酸和第二核酸的核碱基之间配对的能力。

[0048] “连续核碱基”意指彼此直接相邻的核碱基。

[0049] “稀释剂”意指组合物中缺乏药理学活性, 但是药学上必要或需要的成分。举例来说, 注射用组合物中的稀释剂可以是一种液体, 例如生理盐水溶液。

[0050] “剂量”意指通过单次施用或以指定时间段提供的药剂的指定量。在某些实施方案中, 剂量可以通过一次、两次或更多次大剂量、片剂或注射剂施用。举例来说, 在希望皮下施用的某些实施方案中, 希望的剂量需要不易于通过单次注射供应的体积, 因此, 可以使用两

次或更多次注射来达到希望的剂量。在某些实施方案中,药剂是通过输注,经一段较长时间或连续施用的。剂量可以规定为每小时、每天、每周或每个月的药剂量。

[0051] “有效量”意指足以在需要药剂的个体中实现希望的生理结果的药剂量。有效量可以取决于有待治疗的个体的健康和生理状况、有待治疗的个体的分类群、组合物的配方、个体的医学疾患的评估以及其它相关因素而在个体间变化。

[0052] “表达”意指信息从C90RF72基因经由转录而转化成mRNA,然后经由翻译而转化成蛋白质。表达可以引起C90RF72基因的表型表现。

[0053] “完全互补”或“100%互补”意指第一核酸的每个核碱基都在第二核酸中具有互补核碱基。在某些实施方案中,第一核酸是反义化合物并且靶核酸是第二核酸。

[0054] “间隙聚体”意指具有多个支持RNA酶H裂解的核苷的内部区域位于具有一个或多个核苷的外部区域之间的嵌合反义化合物,其中构成该内部区域的核苷在化学上不同于构成这些外部区域的一个或多个核苷。内部区域可以称为“间隙”,并且外部区域可以称为“翼”。

[0055] “间隙变窄”意指9个或更少连续2'-脱氧核糖核苷的间隙区段位于具有1到6个核苷的5'翼区段与3'翼区段之间并且与其直接相邻的嵌合反义化合物。

[0056] “间隙变宽”意指12个或更多连续2'-脱氧核糖核苷的间隙区段位于具有1到6个核苷的5'翼区段与3'翼区段之间并且与其直接相邻的嵌合反义化合物。

[0057] “六核苷酸重复扩增”意指重复至少两次的一系列六个碱基(例如GGGGCC、GGGGGG、GGGGCG或GGGGGC)。在某些实施方案中,六核苷酸重复扩增可以位于C90RF72核酸的内含子1中。在某些实施方案中,致病性六核苷酸重复扩增包括C90RF72核酸中至少重复30次的GGGGCC、GGGGGG、GGGGCG或GGGGGC并且与疾病相关。在某些实施方案中,这些重复序列是连续的。在某些实施方案中,这些重复序列间杂1个或多个核碱基。在某些实施方案中,野生型六核苷酸重复扩增包括C90RF72核酸中GGGGCC、GGGGGG、GGGGCG或GGGGGC的23次或更少重复。在某些实施方案中,这些重复序列是连续的。在某些实施方案中,这些重复序列间杂1个或多个核碱基。

[0058] “杂交”意指互补核酸分子的退火。在某些实施方案中,互补核酸分子包括反义化合物与靶核酸。

[0059] “鉴别患有C90RF72相关疾病的动物”意指鉴别已经诊断患有C90RF72相关疾病或易于发展C90RF72相关疾病的动物。于发展C90RF72相关疾病的个体包括了具有发展C90RF72相关疾病的一个或多个风险因素的那些个体,包括具有一种或多种C90RF72相关疾病的个人或家族史或者遗传倾向的那些个体。此类鉴别可以通过任何方法实现,所述方法包括评价个体的医疗史和标准临床测试或评估,诸如遗传测试。

[0060] “直接相邻”意指在直接相邻的元件之间没有插入元件。

[0061] “个体”意指选择用于治疗或疗法的人类或非人类动物。

[0062] “抑制C90RF72”意指相较于在C90RF72特异性抑制剂(诸如C90RF72反义寡核苷酸)不存在下C90RF72mRNA的表达和/或蛋白质含量,在C90RF72特异性抑制剂(包括C90RF72反义寡核苷酸)存在下C90RF72mRNA的表达和/或蛋白质含量降低。

[0063] “核苷间键”是指核苷之间的化学键。

[0064] “相连的核苷”意指键结在一起的相邻核苷。

[0065] “错配”或“不互补核碱基”是指第一核酸的核碱基不能与第二核酸或靶核酸的相应核碱基配对的情形。

[0066] “修饰的核苷间键”是指相对于天然存在的核苷间键(即,磷酸二酯核苷间键)的取代或任何变化。

[0067] “修饰的核碱基”是指除腺嘌呤、胞嘧啶、鸟嘌呤、胸苷或尿嘧啶外的任何核碱基。“未修饰的核碱基”意指嘌呤碱基腺嘌呤(A)和鸟嘌呤(G),以及嘧啶碱基胸腺嘧啶(T)、胞嘧啶(C)和尿嘧啶(U)。

[0068] “修饰的核苷酸”意指独立地具有修饰的糖部分、修饰的核苷间键或修饰的核碱基的核苷酸。“修饰的核苷”意指独立地具有修饰的糖部分或修饰的核碱基的核苷。

[0069] “修饰的寡核苷酸”意指包含修饰的核苷间键、修饰的糖或修饰的核碱基的寡核苷酸。

[0070] “修饰的糖”是指相对于天然糖的取代或改变。

[0071] “基序”意指反义化合物中化学上不同的区域的形式。

[0072] “天然存在的核苷间键”意指3'到5'磷酸二酯键。

[0073] “天然糖部分”意指DNA(2'-H)或RNA(2'-OH)中所见的糖。

[0074] “核酸”是指由单体核苷酸构成的分子。核酸包括核糖核酸(RNA)、脱氧核糖核酸(DNA)、单链核酸、双链核酸、小干扰核糖核酸(siRNA)及微小RNA(miRNA)。

[0075] “核碱基”意指能够与另一核酸的碱基配对的杂环部分。

[0076] “核碱基序列”意指任何与糖、键或核碱基修饰无关的连续核碱基的次序。

[0077] “核苷”意指与糖相连的核碱基。

[0078] “核苷模拟物”包括用于替代糖或糖和碱基并且未必替代在寡聚化合物的一个或多个位置处的键的那些结构,诸如例如具有吗啉代、环己烯基、环己基、四氢吡喃基、双环糖模拟物或三环糖模拟物(例如非呋喃糖的糖单元)的核苷模拟物。核苷酸模拟物包括用于替代核苷以及在寡聚化合物的一个或多个位置处的键的那些结构,诸如例如肽核酸或吗啉代(由-N(H)-C(=O)-O-连接的吗啉代或其它非磷酸二酯键)。糖替代物与略微更宽的术语核苷模拟物重叠,但只是意在指明糖单元(呋喃糖环)的替代。本文提供的四氢吡喃环是对糖替代物的一个实例的说明,其中呋喃糖基已经被四氢吡喃基环系统替代。

[0079] “核苷酸”意指磷酸酯基共价连接到核苷的糖部分的核苷。

[0080] “寡聚化合物”或“寡聚物”意指由相连的单体亚单元形成的一种聚合物,该聚合物能够与核酸分子的至少一个区域杂交。

[0081] “寡核苷酸”意指相连的核苷的一种聚合物,这些核苷中的每一个可以彼此独立地修饰或未修饰。

[0082] “肠胃外施用”意指通过注射或输注施用。肠胃外施用包括皮下施用、静脉内施用、肌肉内施用、动脉内施用、腹膜内施用或颅内施用,例如鞘内或脑室内施用。

[0083] “肽”意指通过用酰胺键连接至少两个氨基酸所形成的分子。肽是指多肽和蛋白质。

[0084] “药剂”意指当施用给个体时,药物组合物中提供治疗益处的一种或多种物质。举例来说,在某些实施方案中,靶向C90RF72的反义寡核苷酸是药剂。

[0085] “药物组合物”意指适合施用给个体的物质的混合物。举例来说,药物组合物可以

包含一种或多种药剂及无菌水溶液。

[0086] “药学上可接受的衍生物”涵盖本文所描述的化合物的药学上可接受的盐、缀合物 (conjugate)、前药或异构体。

[0087] “药学上可接受的盐”意指反义化合物的生理学上和药学上可接受的盐,即,保留母体寡核苷酸的希望的生物活性并且不会赋予其非所希望的毒理作用的盐。

[0088] “硫代磷酸酯键”意指通过用硫原子替代一个非桥接氧原子来修饰磷酸二酯键的核苷之间的键。硫代磷酸酯键 (P=S) 是修饰的核苷间键。

[0089] “部分”意指核酸中指定数量的连续 (即,相连) 核碱基。在某些实施方案中,部分是靶核酸中指定数量的连续核碱基。在某些实施方案中,部分是反义化合物中指定数量的连续核碱基。

[0090] “预防 (Prevent/preventing)”是指延迟或阻止疾病、病症或疾患的发作或发展一段从数分钟到无限长的时间。预防还指降低疾病、病症或疾患发生的风险。

[0091] “前药”意指以无活性形式制备并且通过内源酶或其它化学品或条件的作用而在身体或其细胞内转化成活性形式的治疗剂。

[0092] “副作用”意指可归于治疗的除希望的作用外的生理反应。在某些实施方案中,副作用包括注射部位反应、肝功能测试异常、肾功能异常、肝毒性、肾毒性、中枢神经系统异常、肌病及不适。

[0093] “单链寡核苷酸”意指未与互补链杂交的寡核苷酸。

[0094] “可特异性杂交”是指反义化合物在反义寡核苷酸与靶核酸之间具有足够的互补性程度以诱导希望的作用,同时在希望特异性结合的条件下,即,在生理条件 (在体内测定和治疗性治疗的情况下) 下对非靶核酸展现极少作用或不展现作用。

[0095] “靶向 (Targeting, targeted)”意指反义化合物的设计和选择将与靶核酸特异性杂交并且诱导希望的作用的过程。

[0096] “靶核酸”、“靶RNA”及“靶RNA转录物”都是指能够被反义化合物靶向的核酸。

[0097] “靶区段”意指靶核酸中被反义化合物靶向的核苷酸序列。“5' 靶位点”是指靶区段中5' 最末端核苷酸。“3' 靶位点”是指靶区段中3' 最末端核苷酸。

[0098] “治疗有效量”意指向个体提供治疗益处的药剂的量。

[0099] “治疗/处理 (Treat/treating)”是指施用药物组合物以实现疾病、病症或疾患的改变或改良。

[0100] “未修饰的核苷酸”意指由天然存在的核碱基、糖部分及核苷间键构成的核苷酸。在某些实施方案中,未修饰的核苷酸是RNA核苷酸 (即,  $\beta$ -D-核糖核苷) 或DNA核苷酸 (即,  $\beta$ -D-脱氧核糖核苷)。

[0101] 某些实施方案

[0102] 某些实施方案提供了用于减少C90RF72mRNA和蛋白质表达的方法。

[0103] 某些实施方案提供了用于治疗、预防或改善有需要的个体的C90RF72相关疾病、病症及疾患的方法。还涵盖用于制备供治疗、预防或改善C90RF72相关疾病、病症或疾患用的药物的方法。C90RF72相关疾病、病症及疾患包括神经退化性疾病。在某些实施方案中,神经退化性疾病可以是ALS或FTD。在某些实施方案中,神经退化性疾病可以是家族性或偶发性的。

[0104] 某些实施方案提供了C90RF72特异性抑制剂在治疗、预防或改善C90RF72相关疾病中的用途。某些实施方案提供了C90RF72特异性抑制剂在治疗、预防或改善C90RF72六核苷酸重复扩增相关疾病中的用途。在某些实施方案中，六核苷酸重复扩增可以包含GGGGCC、GGGGGG、GGGGGC或GGGGCG。在某些实施方案中，C90RF72特异性抑制剂是核酸(包括反义化合物)、肽、抗体、小分子，及其它能够抑制C90RF72mRNA和/或C90RF72蛋白质表达的试剂。

[0105] 本文描述了包含与C90RF72核酸或C90RF72同系物核酸互补的单链反义寡核苷酸的化合物。

[0106] 在某些实施方案中，C90RF72核酸是人C90RF72核酸。

[0107] 在某些实施方案中，C90RF72核酸含有六核苷酸重复扩增。

[0108] 在某些实施方案中，C90RF72核酸不含六核苷酸重复扩增。

[0109] 在某些实施方案中，单链反义寡核苷酸与人C90RF72核酸可特异性杂交。

[0110] 在某些实施方案中，单链反义寡核苷酸与人C90RF72核酸的相等长度部分至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%或100%互补。

[0111] 在某些实施方案中，单链反义寡核苷酸与人C90RF72核酸中的以下任一种互补：外显子、内含子、5' UTR、3' UTR、重复序列区、剪接点、外显子：外显子剪接点、外显子剪接沉默子(ESS)、外显子剪接增强子(ESE)、外显子1a、外显子1b、外显子1c、外显子1d、外显子1e、外显子2、外显子3、外显子4、外显子5、外显子6、外显子7、外显子8、外显子9、外显子10、外显子11、内含子1、内含子2、内含子3、内含子4、内含子5、内含子6、内含子7、内含子8、内含子9或内含子10。

[0112] 本文描述了包含单链反义寡核苷酸的化合物，所述单链反义寡核苷酸由12到30个相连的核苷组成并且包含核碱基序列，所述核碱基序列包含SEQ ID NO:30-369的至少8个、至少9个、至少10个、至少11个、至少12个、至少13个、至少14个、至少15个、至少16个、至少17个、至少18个、至少19个或至少20个连续核碱基。

[0113] 在某些实施方案中，单链反义寡核苷酸包含至少一个修饰。

[0114] 在某些实施方案中，单链反义寡核苷酸包含至少一个修饰的核苷间键。

[0115] 在某些实施方案中，单链反义寡核苷酸的每个核苷间键是修饰的核苷间键。

[0116] 在某些实施方案中，修饰的核苷间键是硫代磷酸酯核苷间键。

[0117] 在某些实施方案中，单链反义寡核苷酸包含至少一个修饰的核苷。

[0118] 在某些实施方案中，单链反义寡核苷酸包含至少一个具有修饰的糖的修饰的核苷。

[0119] 在某些实施方案中，单链反义寡核苷酸包含至少一个包含双环糖的修饰的核苷。

[0120] 在某些实施方案中，双环糖包含4'至2'桥，其选自：4'-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-O-2'桥，其中n是1或2；及4'-CH<sub>2</sub>-O-CH<sub>2</sub>-2'。

[0121] 在某些实施方案中，双环糖包含4'-CH(CH<sub>3</sub>)-O-2'桥。

[0122] 在某些实施方案中，至少一个具有修饰的糖的修饰的核苷包含非双环的2'-修饰的糖部分。

[0123] 在某些实施方案中，2'-修饰的糖部分包含2'-O-甲氧基乙基。

[0124] 在某些实施方案中，2'-修饰的糖部分包含2'-O-甲基。

[0125] 在某些实施方案中，至少一个具有修饰的糖的修饰的核苷含糖替代物。



- [0126] 在某些实施方案中,糖替代物是吗啉代。
- [0127] 在某些实施方案中,糖替代物是肽核酸
- [0128] 在某些实施方案中,每个核苷被修饰。
- [0129] 在某些实施方案中,单链反义寡核苷酸包含至少一个修饰的核碱基
- [0130] 在某些实施方案中,修饰的核碱基是5'-甲基胞嘧啶。
- [0131] 在某些实施方案中,单链反义寡核苷酸包含:
- [0132] 由相连的脱氧核苷组成的间隙区段;
- [0133] 由相连的核苷组成的5'翼区段;
- [0134] 由相连的核苷组成的3'翼区段;
- [0135] 其中间隙区段的位置与5'翼区段和3'翼区段直接相邻并且在所述5'翼区段与所述3'翼区段之间,并且其中每个翼区段的每个核苷包含修饰的糖。
- [0136] 在某些实施方案中,单链反义寡核苷酸包含:
- [0137] 由十个相连的脱氧核苷组成的间隙区段;
- [0138] 由五个相连的核苷组成的5'翼区段;
- [0139] 由五个相连的核苷组成的3'翼区段;
- [0140] 其中间隙区段与5'翼区段和3'翼区段直接相邻并且在5'翼区段与3'翼区段之间,其中每个翼区段的每个核苷包含2'-O-甲氧基乙基糖;并且其中每个核苷间键是硫代磷酸酯键。
- [0141] 在某些实施方案中,单链反义寡核苷酸由15个相连的核苷组成。
- [0142] 在某些实施方案中,单链反义寡核苷酸由16个相连的核苷组成。
- [0143] 在某些实施方案中,单链反义寡核苷酸由17个相连的核苷组成。
- [0144] 在某些实施方案中,单链反义寡核苷酸由18个相连的核苷组成。
- [0145] 在某些实施方案中,单链反义寡核苷酸由19个相连的核苷组成。
- [0146] 在某些实施方案中,单链反义寡核苷酸由20个相连的核苷组成。
- [0147] 在某些实施方案中,单链反义寡核苷酸由21个相连的核苷组成。
- [0148] 在某些实施方案中,单链反义寡核苷酸由22个相连的核苷组成。
- [0149] 在某些实施方案中,单链反义寡核苷酸由23个相连的核苷组成。
- [0150] 在某些实施方案中,单链反义寡核苷酸由24个相连的核苷组成。
- [0151] 在某些实施方案中,单链反义寡核苷酸由25个相连的核苷组成。
- [0152] 本文描述了化合物用于生产用于治疗神经退化性疾病的药剂的用途。
- [0153] 本文提供了通过使细胞与靶向外显子1B上游的反义寡核苷酸接触而优先抑制含六核苷酸重复扩增的mRNA转录物的表达的方法。
- [0154] 反义化合物
- [0155] 寡聚化合物包括但不限于,寡核苷酸、寡核苷、寡核苷酸类似物、寡核苷酸模拟物、反义化合物、反义寡核苷酸及siRNA。寡聚化合物对于靶核酸来说可以是“反义”的,意指它能够通过氢键合与靶核酸进行杂交。
- [0156] 在某些实施方案中,反义化合物具有一种核碱基序列,当以5'到3'方向书写时,该核碱基序列包含靶核酸中靶向该核碱基序列的靶区段的反向补体。在某些此类实施方案中,反义寡核苷酸具有一种核碱基序列,当以5'到3'方向书写时,该核碱基序列包含靶核酸

中靶向该核碱基序列的靶区段的反向补体。

[0157] 在某些实施方案中,靶向C90RF72核酸的反义化合物是12到30个亚单元长。换句话说,此类反义化合物是12到30个相连的亚单元。在某些实施方案中,反义化合物是8到80个、12到50个、15到30个、18到24个、19到22个或20个相连的亚单元。在某些实施方案中,反义化合物是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或80个相连的亚单元长,或由上述值中任何两个所界定的范围。在一些实施方案中,反义化合物是反义寡核苷酸,并且相连的亚单元是核苷。

[0158] 在某些实施方案中,靶向C90RF72核酸的反义寡核苷酸可以缩短或截短。举例来说,单一亚单元可以缺失5'端(5'截短)或者可替代地缺失3'端(3'截短)。靶向C90RF72核酸的缩短或截短的反义化合物可以使反义化合物的两个亚单元从5'端缺失,或者可替代地可以使两个亚单元从3'端缺失。可替代地,缺失的核苷可以分散于整个反义化合物中,例如在一个核苷从5'端缺失和一个核苷从3'端缺失的反义化合物中。

[0159] 当在延长的反义化合物中存在单一另外的亚单元时,该另外的亚单元可以位于反义化合物的5'端或3'端。当存在两个或更多个另外的亚单元时,添加的亚单元可以彼此相邻,例如在两个亚单元添加到反义化合物的5'端(5'添加)或者可替代的3'端(3'添加)的反义化合物中。可替代地,添加的亚单元可以分散于整个反义化合物中,例如在一个亚单元添加到5'端并且一个亚单元添加到3'端的反义化合物中。

[0160] 有可能增加或减小反义化合物(诸如反义寡核苷酸)的长度,和/或在不消除活性情况下引入错配碱基。举例来说,在Woolf等人(Proc.Natl.Acad.Sci.USA 89:7305-7309, 1992)中,在卵母细胞注射模型中测试了一系列13-25个核碱基长度的反义寡核苷酸诱导靶RNA裂解的能力。在反义寡核苷酸末端附近具有8或11个错配碱基的25个核碱基长的反义寡核苷酸能够引导靶mRNA的特异性裂解,不过裂解程度比不含错配的反义寡核苷酸低。类似地,使用13个核碱基的反义寡核苷酸(包括具有1或3个错配的那些)也实现了靶特异性裂解。

[0161] Gautschi等人(J.Natl.Cancer Inst.93:463-471,2001年3月)证实,与bcl-2mRNA具有100%互补性并且与bcl-xL mRNA具有3个错配的寡核苷酸能够在体外和体内降低bcl-2和bcl-xL的表达。此外,这一寡核苷酸在体内展示出有效的抗肿瘤活性。

[0162] Maher和Dolnick(Nuc.Acid.Res.16:3341-3358,1988)在兔网织红细胞测定中分别测试了一系列串联14个核碱基反义寡核苷酸,以及组成两条或三条串联反义寡核苷酸序列的28个和42个核碱基反义寡核苷酸停滞人DHFR翻译的能力。这三种各具有14个核碱基的反义寡核苷酸各自能够抑制翻译,不过抑制水平比28或42个核碱基反义寡核苷酸更适度。

[0163] 反义化合物基序

[0164] 在某些实施方案中,靶向C90RF72核酸的反义化合物具有按一定模式或基序排列的化学修饰的亚单元,由此赋予反义化合物诸如增强的抑制活性、对靶核酸增加的结合亲和力和/或对体内核酸酶降解的耐受性等特性。

[0165] 嵌合反义化合物典型地含有至少一个修饰的区域,以赋予对核酸酶降解增加的耐受性、增加的细胞吸收、对靶核酸增加的结合亲和力和/或增加的抑制活性。嵌合反义化合

物的第二区域可以任选地用作细胞核酸内切酶RNA酶H的底物,该酶裂解RNA:DNA双链体中的RNA链。

[0166] 具有间隙聚体基序的反义化合物被认为是嵌合反义化合物。在间隙聚体中,具有支持RNaseH裂解的多个核苷酸的内部区域位于具有在化学上不同于内部区域核苷的多个核苷酸的外部区域之间。在具有间隙聚体基序的反义寡核苷酸的情况下,间隙区段一般用作核酸内切酶裂解的底物,而翼区段包含修饰的核苷。在某些实施方案中,间隙聚体的这些区域是通过构成每一不同区域的糖部分的类型进行区分。在一些实施方案中,用于区别间隙聚体各区域的糖部分的类型可包括 $\beta$ -D-核糖核苷、 $\beta$ -D-脱氧核糖核苷、2'-修饰的核苷(此类2'-修饰的核苷可以包括2'-MOE和2'-O-CH<sub>3</sub>等)以及双环糖修饰的核苷(此类双环糖修饰的核苷可以包括具有4'-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-O-2'桥(其中n=1或n=2)和4'-CH<sub>2</sub>-O-CH<sub>2</sub>-2'的那些)。优选地,每个不同的区域包含均一的糖部分。翼-间隙-翼基序常常被描述为“X-Y-Z”,其中“X”表示5'翼区的长度,“Y”表示间隙区的长度,并且“Z”表示3'翼区的长度。如本文中所使用,描述为“X-Y-Z”的间隙聚体的构型使得间隙区段与5'翼区段和3'翼区段中的每一个直接相邻。因此,在5'翼区段与间隙区段之间,或在间隙区段与3'翼区段之间不存在插入核苷酸。本文所描述的反义化合物中任一种都可以具有间隙聚体基序。在一些实施方案中,X与Z相同,在其它实施方案中,其不同。在一个优选的实施方案中,Y介于8与15个核苷酸之间。X、Y或Z可以是1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、25、30或更多个核苷酸中任一种。因此,本文所描述的间隙聚体包括但不限于,例如5-10-5、5-10-4、4-10-4、4-10-3、3-10-3、2-10-2、5-9-5、5-9-4、4-9-5、5-8-5、5-8-4、4-8-5、5-7-5、4-7-5、5-7-4或4-7-4。

[0167] 在某些实施方案中,反义化合物具有“翼聚体(wingmer)”基序,该基序具有翼-间隙或间隙-翼构型,即,如以上关于间隙聚体构型所描述的X-Y或Y-Z构型。因此,本文所描述的翼聚体构型包括但不限于,例如5-10、8-4、4-12、12-4、3-14、16-2、18-1、10-3、2-10、1-10、8-2、2-13、5-13、5-8或6-8。

[0168] 在某些实施方案中,靶向C90RF72核酸的反义化合物具有5-10-5间隙聚体基序。

[0169] 在某些实施方案中,靶向C90RF72核酸的反义化合物具有5-10-4间隙聚体基序。

[0170] 在某些实施方案中,靶向C90RF72核酸的反义化合物具有4-10-4间隙聚体基序。

[0171] 在某些实施方案中,靶向C90RF72核酸的反义化合物具有4-10-3间隙聚体基序。

[0172] 在某些实施方案中,靶向C90RF72核酸的反义化合物具有5-9-5间隙聚体基序。

[0173] 在某些实施方案中,靶向C90RF72核酸的反义化合物具有间隙变窄的基序。在某些实施方案中,靶向C90RF72核酸的间隙变窄的反义寡核苷酸具有9、8、7或6个2'-脱氧核苷酸的间隙区段,该间隙区段与5、4、3、2或1个化学修饰的核苷的翼区段直接相邻并且位于这些翼区段之间。在某些实施方案中,化学修饰包含双环糖。在某些实施方案中,双环糖包含4'至2'桥,其选自:4'-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-O-2'桥,其中n是1或2;及4'-CH<sub>2</sub>-O-CH<sub>2</sub>-2'。在某些实施方案中,双环糖包含4'-CH(CH<sub>3</sub>)-O-2'桥。在某些实施方案中,化学修饰包括非双环的2'-修饰的糖部分。在某些实施方案中,非双环的2'-修饰的糖部分包含2'-O-甲基乙基或2'-O-甲基。

[0174] 在某些实施方案中,靶向C90RF72核酸的反义化合物是均一修饰的。在某些实施方案中,反义化合物包含12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25个核苷。在某些实施方案中,每个核苷被化学修饰。在某些实施方案中,化学修饰包含非双环的2'-修饰的糖

部分。在某些实施方案中,2'-修饰的糖部分包含2'-O-甲氧基乙基。在某些实施方案中,2'-修饰的糖部分包含2'-O-甲基。在某些实施方案中,均一修饰的反义化合物可以靶向C90RF72,或其任何部分,诸如六核苷酸重复扩增。在某些实施方案中,用均一修饰的反义化合物靶向六核苷酸重复扩增通过阻断与RNA结合蛋白的相互作用来减少重复RNA。在某些实施方案中,这使得有毒RNA不存在于灶点中而是被降解。

[0175] 靶核酸、靶区及核苷酸序列

[0176] 编码C90RF72的核苷酸序列包括但不限于,以下各序列的补体:GENBANK登录号NM\_001256054.1 (作为SEQ ID NO:1并入本文中)、截短核碱基27535000到27565000的GENBANK登录号NT\_008413.18 (作为SEQ ID NO:2并入本文中)、GENBANK登录号BQ068108.1 (作为SEQ ID NO:3并入本文中)、GENBANK登录号NM\_018325.3 (作为SEQ ID NO:4并入本文中)、GENBANK登录号DN993522.1 (作为SEQ ID NO:5并入本文中)、GENBANK登录号NM\_145005.5 (作为SEQ ID NO:6并入本文中)、GENBANK登录号DB079375.1 (作为SEQ ID NO:7并入本文中)、GENBANK登录号BU194591.1 (作为SEQ ID NO:8并入本文中)、序列标识符4141\_014\_A (作为SEQ ID NO:9并入本文中)及序列标识符4008\_73\_A (作为SEQ ID NO:10并入本文中)。

[0177] 应了解,本文所含实施例中的每一SEQ ID NO中所陈述的序列都与糖部分、核苷间键或核碱基的任何修饰无关。因此,通过SEQ ID NO定义的反义化合物可以独立地包含糖部分、核苷间键或核碱基的一种或多种修饰。由Isis编号(Isis No)描述的反义化合物指示核碱基序列和基序的组合。

[0178] 在某些实施方案中,靶区是靶核酸中结构确定的区域。举例来说,靶区可以涵盖3' UTR、5' UTR、外显子、内含子、外显子/内含子接点、编码区、翻译起始区、翻译终止区或其它确定的核酸区域。C90RF72的结构确定的区域可以通过诸如NCBI的序列数据库中的登录号获得,并且此类信息是通过引用的方式并入本文中。在某些实施方案中,靶区可以涵盖从靶区内一个靶区段的5'靶位点到相同靶区内另一个靶区段的3'靶位点的序列。

[0179] 靶向包括确定与反义化合物杂交以便发生所希望的作用的至少一个靶区段。在某些实施方案中,所希望的作用是mRNA靶核酸水平降低。在某些实施方案中,所希望的作用是由靶核酸编码的蛋白质水平降低或与靶核酸相关的表型变化。

[0180] 靶区可以含有一个或多个靶区段。一个靶区内的多个靶区段可以重叠。可替代地,它们可以不重叠。在某些实施方案中,一个靶区内的靶区段是通过不超过约300个核苷酸隔开的。在某些实施方案中,一个靶区内的靶区段是通过靶核酸上的多个核苷酸隔开的,这些核苷酸是、是约、不超过、不超过约250、200、150、100、90、80、70、60、50、40、30、20或10个核苷酸,或由前述值中任何两个界定的范围。在某些实施方案中,一个靶区内的靶区段是通过靶核酸上的不超过或不超过约5个核苷酸隔开的。在某些实施方案中,靶区段是连续的。涵盖由具有起始核酸的范围界定的靶区,该起始核酸是本文所列的5'靶位点或3'靶位点中的任一个。

[0181] 适合的靶区段可以见于5' UTR、编码区、3' UTR、内含子、外显子或外显子/内含子接点内。含有起始密码子或终止密码子的靶区段也是适合的靶区段。适合的靶区段可以特定地排除某一结构确定的区域,诸如起始密码子或终止密码子。

[0182] 适合靶区段的确定可以包括将靶核酸的序列与整个基因组内的其它序列相比较。举例来说,可以使用BLAST算法来鉴别不同核酸间具有相似性的区域。这一比较可以防止选

出能以非特异性方式与除所选靶核酸外的序列(即,非靶序列或脱靶序列)杂交的反义化合物序列。

[0183] 反义化合物在靶区内的活性可能存在变化(例如,如通过靶核酸含量的降低百分比确定)。在某些实施方案中,C90RF72mRNA含量降低指示了C90RF72表达的抑制。C90RF72蛋白质含量降低也指示靶mRNA表达的抑制。扩增的C90RF72RNA灶的存在减少指示了C90RF72表达的抑制。另外,表型变化指示了C90RF72表达的抑制。举例来说,运动功能和呼吸作用改良可以指示C90RF72表达的抑制。

[0184] 杂交

[0185] 在一些实施方案中,杂交是在本文所公开的反义化合物与C90RF72核酸之间发生的。最常见的杂交机制涉及核酸分子的互补核碱基之间的氢键合(例如,Watson-Crick、Hoogsteen或反向Hoogsteen氢键结)。

[0186] 杂交可以在不同条件下发生。严格条件是序列依赖性的并且由有待杂交的核酸分子的性质和组成决定。

[0187] 确定序列是否可与靶核酸特异性杂交的方法是本领域中众所周知的。在某些实施方案中,本文提供的反义化合物与C90RF72可特异性杂交。

[0188] 互补性

[0189] 当反义化合物中足够数量的核碱基可以与靶核酸中的相应核碱基形成氢键时,反义化合物和靶核酸彼此互补,由此将发生所希望的作用(例如,靶核酸,诸如C90RF72核酸的反义抑制)。

[0190] 反义化合物与C90RF72核酸之间的不互补核碱基可以是容许的,只要该反义化合物保持能够与靶核酸特异性杂交。此外,反义化合物可以在C90RF72核酸的一个或多个区段内进行杂交,因此在杂交事件中不涉及插入区段或相邻区段(例如,环结构、错配或发夹结构)。

[0191] 在某些实施方案中,本文提供的反义化合物,或其指定部分与C90RF72核酸、靶区、靶区段或其指定部分是或是至少70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%互补。反义化合物与靶核酸的互补性百分比可以使用常规方法测定。

[0192] 举例来说,反义化合物中的20个核碱基中有18个与靶区互补并因此将与其特异性杂交的反义化合物将表示90%互补性。在这一实例中,其余的不互补核碱基可以群集或散布于互补核碱基中,而无需彼此邻接或与互补核碱基邻接。因此,有4(四)个不互补核碱基并且这些核碱基侧接两个与靶核酸完全互补的区域的18个核碱基长的反义化合物将与靶核酸具有77.8%的总体互补性,并因此将落入本发明的范围内。反义化合物与靶核酸区域的互补性百分比可以常规地使用本领域中已知的BLAST程序(基本局部比对搜索工具)和PowerBLAST程序测定(Altschul等人,J.Mol.Biol.,1990,215,403410;Zhang和Madden,Genome Res.,1997,7,649656)。同源性、序列同一性或互补性百分比可以通过例如Gap程序(Wisconsin序列分析包,第8版,Unix,Genetics Computer Group,University Research Park,Madison Wis.),使用默认设置测定,该程序使用了Smith和Waterman算法(Adv.Appl.Math.,1981,2,482489)。

[0193] 在某些实施方案中,本文提供的反义化合物或其指定部分与靶核酸或其指定部分

完全互补(即,100%互补)。举例来说,反义化合物可以与C90RF72核酸,或其靶区、或靶区段或靶序列完全互补。如本文所使用,“完全互补”意指反义化合物的每个核碱基都能够与靶核酸的相应核碱基精确碱基配对。举例来说,20个核碱基的反义化合物与400个核碱基长的靶序列完全互补,只要靶核酸中存在与反义化合物完全互补的相应20个核碱基部分即可。完全互补还可以关于第一核酸和/或第二核酸的指定部分使用。举例来说,30个核碱基反义化合物中的20个核碱基的部分可以与400个核碱基长的靶序列“完全互补”。如果靶序列具有相应的20个核碱基的部分,其中每个核碱基都与反义化合物的该20个核碱基的部分互补,则该30个核碱基的寡核苷酸中的20个核碱基部分与靶序列完全互补。同时,整个30个核碱基反义化合物根据反义化合物的其余10个核碱基是否也与靶序列互补而可以与或可以不与靶序列完全互补。

[0194] 不互补核碱基的位置可以在反义化合物的5'端或3'端处。可替代地,一个或多个不互补的核碱基可以在反义化合物的内部位置。当存在两个或更多个不互补核碱基时,它们可以是连续(即,相连)或不连续的。在一个实施方案中,不互补的核碱基是位于间隙聚体反义寡核苷酸的翼区段中。

[0195] 在某些实施方案中,长度是或多达12、13、14、15、16、17、18、19或20个核碱基的反义化合物包含不超过4个、不超过3个、不超过2个或不超过1个相对于靶核酸(诸如C90RF72核酸)或其指定部分不互补的核碱基。

[0196] 在某些实施方案中,长度是或多达12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30个核碱基的反义化合物包含不超过6个、不超过5个、不超过4个、不超过3个、不超过2个或不超过1个相对于靶核酸(诸如C90RF72核酸)或其指定部分不互补的核碱基。

[0197] 本文提供的反义化合物还包括与一部分靶核酸互补的那些化合物。如本文所使用,“部分”是指靶核酸的一个区域或区段内的指定数量的连续(即,相连)核碱基。“部分”还可以指反义化合物中指定数量的连续核碱基。在某些实施方案中,反义化合物与靶区段中至少8个核碱基的部分互补。在某些实施方案中,反义化合物与靶区段中至少9个核碱基的部分互补。在某些实施方案中,反义化合物与靶区段中至少10个核碱基的部分互补。在某些实施方案中,反义化合物与靶区段中至少11个核碱基的部分互补。在某些实施方案中,反义化合物与靶区段中至少12个核碱基的部分互补。在某些实施方案中,反义化合物与靶区段中至少13个核碱基的部分互补。在某些实施方案中,反义化合物与靶区段中至少14个核碱基的部分互补。在某些实施方案中,反义化合物与靶区段中至少15个核碱基的部分互补。还涵盖与靶区段中至少9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个核碱基部分或由这些值中任何两个所界定的范围互补的反义化合物。

[0198] 同一性

[0199] 本文提供的反义化合物还可以与特定核苷酸序列、SEQ ID NO或由特定Isis编号表示的化合物,或其部分具有确定的同一性百分比。如本文所使用,如果反义化合物具有相同的核碱基配对能力,则该反义化合物与本文所公开的序列相同。举例来说,在所公开的DNA序列中含有尿嘧啶代替胸腺嘧啶的RNA将被认为与该DNA序列相同,因为尿嘧啶和胸腺嘧啶都与腺嘌呤配对。也涵盖缩短和延长型的本文所描述的反义化合物以及具有与本文提供的反义化合物不相同的碱基的化合物。不相同碱基可以彼此相邻或分散于整个反义化合

物中。反义化合物的同一性百分比是根据与它所比较的序列具有相同碱基配对的碱基的数量计算。

[0200] 在某些实施方案中,反义化合物或其部分与本文所公开的一种或多种反义化合物或SEQ ID NO,或其部分至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%相同。

[0201] 在某些实施方案中,将反义化合物的一部分与靶核酸中的相等长度的部分相比较。在某些实施方案中,将8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25个核碱基的部分与靶核酸中相等长度的部分相比较。

[0202] 在某些实施方案中,将反义寡核苷酸的一部分与靶核酸中的相等长度的部分相比较。在某些实施方案中,将8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25个核碱基部分与靶核酸中相等长度部分相比较。

[0203] 修饰

[0204] 核苷是碱基-糖组合。核苷的核碱基(又称为碱基)部分通常是杂环碱基部分。核苷酸是另外包括与核苷的糖部分共价连接的磷酸酯基的核苷。对于包括呋喃戊糖基糖的那些核苷,磷酸酯基可以连接到该糖的2'、3'或5'羟基部分。寡核苷酸是通过相邻核苷彼此共价连接形成线性聚合的寡核苷酸来形成。在寡核苷酸结构内,常认为磷酸酯基形成寡核苷酸的核苷间键。

[0205] 反义化合物的修饰涵盖核苷间键、糖部分或核碱基的取代或改变。修饰的反义化合物因为具有希望的特性通常优于天然形式,这些特性诸如例如增强的细胞吸收、对核酸靶增强的亲和力、在核酸酶存在下增加的稳定性,或增加的抑制活性。

[0206] 化学修饰的核苷还可以用于增加缩短或截短的反义寡核苷酸对其靶核酸的结合亲和力。因此,用具有此类化学修饰的核苷的较短反义化合物通常可以获得相当的结果。

[0207] 修饰的核苷间键

[0208] RNA和DNA的天然存在的核苷间键是3'到5'磷酸二酯键。相对于具有天然存在的核苷间键的反义化合物,通常选择具有一个或多个修饰(即,非天然存在)的核苷间键的反义化合物,因为其具有希望的特性,诸如例如增强的细胞吸收、对靶核酸增强的亲和力及在核酸酶存在下增加的稳定性。

[0209] 具有修饰的核苷间键的寡核苷酸包括了保留磷原子的核苷间键以及不具有磷原子的核苷间键。代表性含磷核苷间键包括但不限于,磷酸二酯、磷酸三酯、甲基膦酸酯、氨基磷酸酯及硫代磷酸酯。制备含磷和不含磷键的方法是众所周知的。

[0210] 在某些实施方案中,靶向C90RF72核酸的反义化合物包含一个或多个修饰的核苷间键。在某些实施方案中,修饰的核苷间键散布于整个反义化合物内。在某些实施方案中,修饰的核苷间键是硫代磷酸酯键。在某些实施方案中,反义化合物中的每个核苷间键都是硫代磷酸酯核苷间键。

[0211] 修饰的糖部分

[0212] 反义化合物可以任选含有一个或多个其中糖基已经被修饰的核苷。此类糖修饰的核苷可以赋予反义化合物增强的核酸酶稳定性、增加的结合亲和力或一些其它的有益生物特性。在某些实施方案中,核苷包含化学修饰的呋喃核糖环部分。化学修饰的呋喃核糖环的实例包括但不限于,添加取代基(包括5'和2'取代基);桥接非偕位环原子以形成双环核酸

(BNA) ;用S、N(R)或C(R<sub>1</sub>)(R<sub>2</sub>)(R、R<sub>1</sub>及R<sub>2</sub>各自独立地是H、C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷基或保护基)置换核糖基环氧原子;及其组合。化学修饰的糖的实例包括2'-F-5'-甲基取代的核苷(有关其它公开的5',2'-双取代的核苷,参见2008年8月21日公开的PCT国际申请W0 2008/101157);或用S置换核糖基环氧原子,其中在2'-位具有进一步取代(参见公开的美国专利申请US2005-0130923,于2005年6月16日公开);或者可替代地BNA的5'-取代(参见2007年11月22日公开的PCT国际申请W0 2007/134181,其中LNA被例如5'-甲基或5'-乙烯基取代)。

[0213] 具有修饰的糖部分的核苷的实例包括但不限于,包含5'-乙烯基、5'-甲基(R或S')、4'-S、2'-F、2'-OCH<sub>3</sub>、2'-OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、2'-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>F及2'-O(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>取代基的核苷。2'位处的取代基也可以选自烯丙基、氨基、叠氮基、硫基、O-烯丙基、O-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷基、OCF<sub>3</sub>、OCH<sub>2</sub>F、O(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>SCH<sub>3</sub>、O(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-O-N(R<sub>m</sub>)(R<sub>n</sub>)、O-CH<sub>2</sub>-C(=O)-N(R<sub>m</sub>)(R<sub>n</sub>)及O-CH<sub>2</sub>-C(=O)-N(R<sub>1</sub>)-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-N(R<sub>m</sub>)(R<sub>n</sub>),其中每个R<sub>1</sub>、R<sub>m</sub>及R<sub>n</sub>独立地是H,或取代或未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷基。

[0214] 如本文所使用,“双环核苷”是指包含双环糖部分的修饰的核苷。双环核苷的实例包括但不限于,在4'与2'核糖基环原子之间包含桥的核苷。在某些实施方案中,本文提供的反义化合物包括一个或多个包含4'到2'桥的双环核苷。此类4'到2'桥连的双环核苷的实例包括但不限于,下式之一:4'-(CH<sub>2</sub>)-O-2'(LNA);4'-(CH<sub>2</sub>)-S-2';4'-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-O-2'(ENA);4'-CH(CH<sub>3</sub>)-O-2'及4'-CH(CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>)-O-2'(及其类似物,参见2008年7月15日颁布的美国专利7,399,845);4'-C(CH<sub>3</sub>)(CH<sub>3</sub>)-O-2'(及其类似物,参见公开的国际申请W0/2009/006478,2009年1月8日公开);4'-CH<sub>2</sub>-N(OCH<sub>3</sub>)-2'(及其类似物,参见公开的国际申请W0/2008/150729,2008年12月11日公开);4'-CH<sub>2</sub>-O-N(CH<sub>3</sub>)-2'(参见公开的美国专利申请US2004-0171570,2004年9月2日公开);4'-CH<sub>2</sub>-N(R)-O-2',其中R是H、C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷基或保护基(参见美国专利7,427,672,2008年9月23日颁布);4'-CH<sub>2</sub>-C(H)(CH<sub>3</sub>)-2'(参见Chattopadhyaya等人,J.Org.Chem.,2009,74,118-134);以及4'-CH<sub>2</sub>-C(=CH<sub>2</sub>)-2'(及其类似物,参见公开的国际申请W0 2008/154401,2008年12月8日公开)。

[0215] 有关双环核苷的其它报导也可以见于公开的文献中(参见例如:Singh等人,Chem.Commun.,1998,4,455-456;Koshkin等人,Tetrahedron,1998,54,3607-3630;Wahlestedt等人,Proc.Natl.Acad.Sci.US.A.,2000,97,5633-5638;Kumar等人,Bioorg.Med.Chem.Lett.,1998,8,2219-2222;Singh等人,J.Org.Chem.,1998,63,10035-10039;Srivastava等人,J.Am.Chem.Soc.,2007,129(26)8362-8379;Elayadi等人,Curr.Opinion Invest.Drugs,2001,2,558-561;Braasch等人,Chem.Biol.,2001,8,1-7;及Orum等人,Curr.Opinion Mol.Ther,2001,3,239-243;美国专利No.6,268,490、6,525,191、6,670,461、6,770,748、6,794,499、7,034,133、7,053,207、7,399,845、7,547,684以及7,696,345;美国专利公开No.US2008-0039618、US2009-0012281;美国专利序列No.60/989,574、61/026,995、61/026,998、61/056,564、61/086,231、61/097,787以及61/099,844;公开的PCT国际申请W0 1994/014226、W0 2004/106356、W0 2005/021570、W0 2007/134181、W02008/150729、W0 2008/154401以及W0 2009/006478)。可以将前述双环核苷的每一个制备为具有一种或多种立体化学糖构型,包括例如α-L-呋喃核糖和β-D-呋喃核糖(参见PCT国际申请PCT/DK98/00393,1999年3月25日以W0 99/14226公开)。

[0216] 在某些实施方案中,BNA核苷的双环糖部分包括但不限于,在呋喃戊糖基糖部分的4'位与2'位之间具有至少一个桥的化合物,其中此类桥独立地包含1个或2到4个相连的基



团,这些基团独立地选自 $-[C(R_a)(R_b)]_n-$ 、 $-C(R_a)=C(R_b)-$ 、 $-C(R_a)=N-$ 、 $-C(=O)-$ 、 $-C(=NR_a)-$ 、 $-C(=S)-$ 、 $-O-$ 、 $-Si(R_a)_2-$ 、 $-S(=O)_x-$ 及 $-N(R_a)-$ ;

[0217] 其中:

[0218]  $x$ 是0、1或2;

[0219]  $n$ 是1、2、3或4;

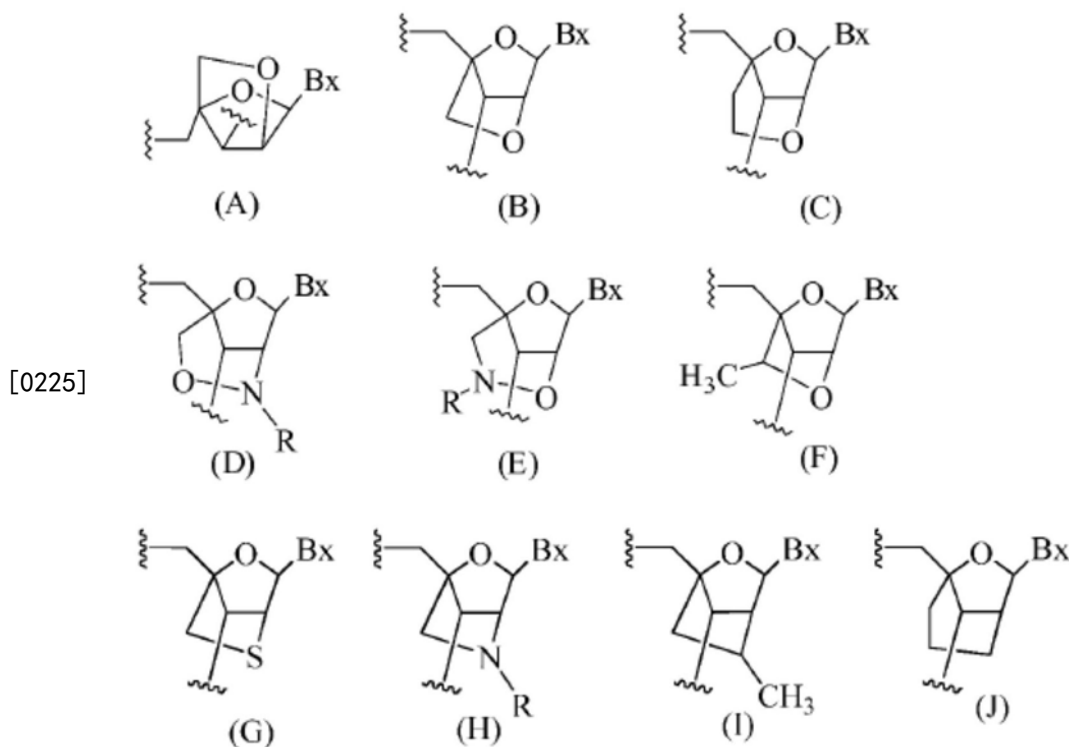
[0220] 每个 $R_a$ 和 $R_b$ 独立地是H、保护基、羟基、 $C_1$ - $C_{12}$ 烷基、取代的 $C_1$ - $C_{12}$ 烷基、 $C_2$ - $C_{12}$ 烯基、取代的 $C_2$ - $C_{12}$ 烯基、 $C_2$ - $C_{12}$ 炔基、取代的 $C_2$ - $C_{12}$ 炔基、 $C_5$ - $C_{20}$ 芳基、取代的 $C_5$ - $C_{20}$ 芳基、杂环基、取代的杂环基、杂芳基、取代的杂芳基、 $C_5$ - $C_7$ 脂环基、取代的 $C_5$ - $C_7$ 脂环基、卤素、 $OJ_1$ 、 $NJ_1J_2$ 、 $SJ_1$ 、 $N_3$ 、 $COOJ_1$ 、酰基( $C(=O)-H$ )、取代的酰基、CN、磺酰基( $S(=O)_2-J_1$ )或亚砷基( $S(=O)-J_1$ );并且

[0221] 每个 $J_1$ 和 $J_2$ 独立地是H、 $C_1$ - $C_{12}$ 烷基、取代的 $C_1$ - $C_{12}$ 烷基、 $C_2$ - $C_{12}$ 烯基、取代的 $C_2$ - $C_{12}$ 烯基、 $C_2$ - $C_{12}$ 炔基、取代的 $C_2$ - $C_{12}$ 炔基、 $C_5$ - $C_{20}$ 芳基、取代的 $C_5$ - $C_{20}$ 芳基、酰基( $C(=O)-H$ )、取代的酰基、杂环基、取代的杂环基、 $C_1$ - $C_{12}$ 氨基烷基、取代的 $C_1$ - $C_{12}$ 氨基烷基或保护基。

[0222] 在某些实施方案中,双环糖部分的桥是 $-[C(R_a)(R_b)]_n-$ 、 $-[C(R_a)(R_b)]_n-O-$ 、 $-C(R_aR_b)-N(R)-O-$ 或 $-C(R_aR_b)-O-N(R)-$ 。在某些实施方案中,该桥是 $4'-CH_2-2'$ 、 $4'-(CH_2)_2-2'$ 、 $4'-(CH_2)_3-2'$ 、 $4'-CH_2-O-2'$ 、 $4'-(CH_2)_2-O-2'$ 、 $4'-CH_2-O-N(R)-2'$ 及 $4'-CH_2-N(R)-O-2'$ ,其中每个 $R$ 独立地是H、保护基或 $C_1$ - $C_{12}$ 烷基。

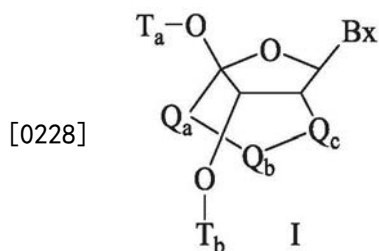
[0223] 在某些实施方案中,双环核苷另外由异构体构型定义。举例来说,包含 $4'-2'$ 亚甲基氧基桥的核苷可以呈 $\alpha$ -L构型或呈 $\beta$ -D构型。先前已经将 $\alpha$ -L-亚甲基氧基( $4'-CH_2-O-2'$ )BNA掺入显示出反义活性的反义寡核苷酸中(Frieden等人,Nucleic Acids Research, 2003,21,6365-6372)。

[0224] 在某些实施方案中,双环核苷包括但不限于,如以下所描绘的(A)  $\alpha$ -L-亚甲基氧基( $4'-CH_2-O-2'$ )BNA、(B)  $\beta$ -D-亚甲基氧基( $4'-CH_2-O-2'$ )BNA、(C) 亚乙基氧基( $4'-(CH_2)_2-O-2'$ )BNA、(D) 氨基氧基( $4'-CH_2-O-N(R)-2'$ )BNA、(E) 氧基氨基( $4'-CH_2-N(R)-O-2'$ )BNA,以及(F) 甲基(亚甲基氧基)( $4'-CH(CH_3)-O-2'$ )BNA、(G) 亚甲基-硫基( $4'-CH_2-S-2'$ )BNA、(H) 亚甲基-氨基( $4'-CH_2-N(R)-2'$ )BNA、(I) 甲基碳环( $4'-CH_2-CH(CH_3)-2'$ )BNA,及(J) 亚丙基碳环( $4'-(CH_2)_3-2'$ )BNA。



[0226] 其中Bx是碱基部分,并且R独立地是H、保护基或C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷基。

[0227] 在某些实施方案中,提供了具有式I的双环核苷:



[0229] 其中:

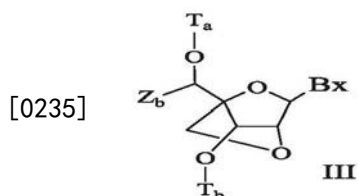
[0230] Bx是杂环碱基部分;

[0231] -Q<sub>a</sub>-Q<sub>b</sub>-Q<sub>c</sub>-是-CH<sub>2</sub>-N(R<sub>c</sub>)-CH<sub>2</sub>-, -C(=O)-N(R<sub>c</sub>)-CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>-O-N(R<sub>c</sub>)-, -CH<sub>2</sub>-N(R<sub>c</sub>)-O-或-N(R<sub>c</sub>)-O-CH<sub>2</sub>;

[0232] R<sub>c</sub>是C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷基或氨基保护基;并且

[0233] T<sub>a</sub>和T<sub>b</sub>各自独立地是H、羟基保护基、缀合基团、反应性磷基、磷部分或与载体介质的共价连接。

[0234] 在某些实施方案中,提供了具有式II的双环核苷:



[0236] 其中:

[0237] Bx是杂环碱基部分;

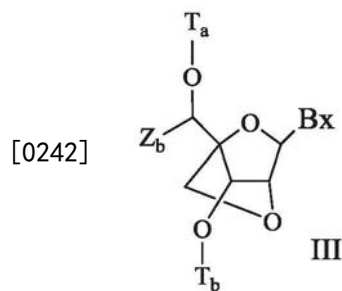
[0238] T<sub>a</sub>和T<sub>b</sub>各自独立地是H、羟基保护基、缀合基团、反应性磷基、磷部分或与载体介质的共价连接。

的共价连接；

[0239]  $Z_a$ 是 $C_1$ - $C_6$ 烷基、 $C_2$ - $C_6$ 烯基、 $C_2$ - $C_6$ 炔基、取代的 $C_1$ - $C_6$ 烷基、取代的 $C_2$ - $C_6$ 烯基、取代的 $C_2$ - $C_6$ 炔基、酰基、取代的酰基、取代的酰胺、硫醇或取代的硫代。

[0240] 在一个实施方案中，取代的基团的每个独立地被取代基单取代或多取代，这些取代基独立地选自卤素、氧代、羟基、 $OJ_c$ 、 $NJ_cJ_d$ 、 $SJ_c$ 、 $N_3$ 、 $OC(=X)J_c$ 及 $NJ_eC(=X)NJ_cJ_d$ ，其中每个 $J_c$ 、 $J_d$ 及 $J_e$ 独立地是H、 $C_1$ - $C_6$ 烷基或取代的 $C_1$ - $C_6$ 烷基，并且X是O或 $NJ_c$ 。

[0241] 在某些实施方案中，提供了具有式III的双环核苷：



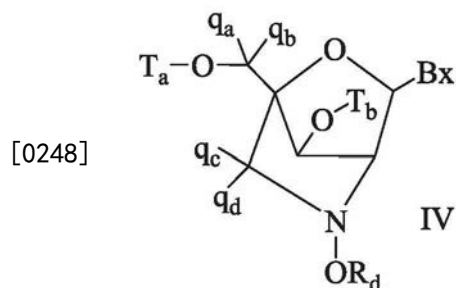
[0243] 其中：

[0244] Bx是杂环碱基部分；

[0245]  $T_a$ 和 $T_b$ 各自独立地是H、羟基保护基、缀合基团、反应性磷基、磷部分或与载体介质的共价连接；

[0246]  $Z_b$ 是 $C_1$ - $C_6$ 烷基、 $C_2$ - $C_6$ 烯基、 $C_2$ - $C_6$ 炔基、取代的 $C_1$ - $C_6$ 烷基、取代的 $C_2$ - $C_6$ 烯基、取代的 $C_2$ - $C_6$ 炔基或取代的酰基( $C(=O)-$ )。

[0247] 在某些实施方案中，提供了具有式IV的双环核苷：



[0249] 其中：

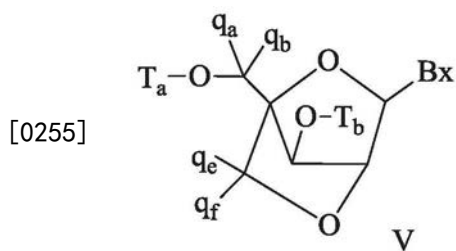
[0250] Bx是杂环碱基部分；

[0251]  $T_a$ 和 $T_b$ 各自独立地是H、羟基保护基、缀合基团、反应性磷基、磷部分或与载体介质的共价连接；

[0252]  $R_d$ 是 $C_1$ - $C_6$ 烷基、取代的 $C_1$ - $C_6$ 烷基、 $C_2$ - $C_6$ 烯基、取代的 $C_2$ - $C_6$ 烯基、 $C_2$ - $C_6$ 炔基或取代的 $C_2$ - $C_6$ 炔基；

[0253] 每个 $q_a$ 、 $q_b$ 、 $q_c$ 及 $q_d$ 独立地是H、卤素、 $C_1$ - $C_6$ 烷基、取代的 $C_1$ - $C_6$ 烷基、 $C_2$ - $C_6$ 烯基、取代的 $C_2$ - $C_6$ 烯基、 $C_2$ - $C_6$ 炔基或取代的 $C_2$ - $C_6$ 炔基、 $C_1$ - $C_6$ 烷氧基、取代的 $C_1$ - $C_6$ 烷氧基、酰基、取代的酰基、 $C_1$ - $C_6$ 氨基烷基或取代的 $C_1$ - $C_6$ 氨基烷基。

[0254] 在某些实施方案中，提供了具有式V的双环核苷：



[0256] 其中：

[0257] Bx是杂环碱基部分；

[0258] Ta和Tb各自独立地是H、羟基保护基、缀合基团、反应性磷基、磷部分或与载体介质的共价连接；

[0259] qa、qb、qe及qf各自独立地是氢、卤素、C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷基、取代的C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷基、C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>烯基、取代的C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>烯基、C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>炔基、取代的C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>炔基、C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷氧基、取代的C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷氧基、OJ<sub>j</sub>、SJ<sub>j</sub>、SOJ<sub>j</sub>、SO<sub>2</sub>J<sub>j</sub>、NJ<sub>j</sub>J<sub>k</sub>、N<sub>3</sub>、CN、C(=O)OJ<sub>j</sub>、C(=O)NJ<sub>j</sub>J<sub>k</sub>、C(=O)J<sub>j</sub>、O-C(=O)NJ<sub>j</sub>J<sub>k</sub>、N(H)C(=NH)NJ<sub>j</sub>J<sub>k</sub>、N(H)C(=O)NJ<sub>j</sub>J<sub>k</sub>或N(H)C(=S)NJ<sub>j</sub>J<sub>k</sub>；

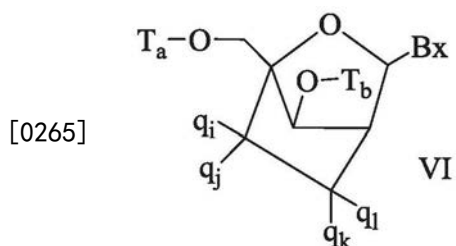
[0260] 或qe和qf一起是=C(qg)(qh)；

[0261] qg和qh各自独立地是H、卤素、C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷基或取代的C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷基。

[0262] 亚甲基氧基(4'-CH<sub>2</sub>-O-2')BNA单体腺嘌呤、胞嘧啶、鸟嘌呤、5-甲基-胞嘧啶、胸腺嘌呤及尿嘧啶的合成和制备，以及其寡聚反应和核酸识别特性已经得到描述(Koshkin等人, Tetrahedron, 1998, 54, 3607-3630)。BNA和其制备也描述于WO 98/39352和WO 99/14226中。

[0263] 也已经制备出亚甲基氧基(4'-CH<sub>2</sub>-O-2')BNA的类似物和2'-硫代BNA(Kumar等人, Bioorg. Med. Chem. Lett., 1998, 8, 2219-2222)。包含寡聚脱氧核糖核苷酸双链体作为核酸聚合酶的底物的锁核苷类似物的制备也已经得到描述(Wengel等人, WO 99/14226)。另外，本领域中已经描述了2'-氨基-BNA(一种新颖的构象限制性高亲和力寡核苷酸类似物)的合成(Singh等人, J. Org. Chem., 1998, 63, 10035-10039)。此外，已经制备出2'-氨基-BNA和2'-甲基氨基-BNA并且先前已经报导其与互补RNA和DNA链的双链体的热稳定性。

[0264] 在某些实施方案中，提供了具有式VI的双环核苷：



[0266] 其中：

[0267] Bx是杂环碱基部分；

[0268] Ta和Tb各自独立地是H、羟基保护基、缀合基团、反应性磷基、磷部分或与载体介质的共价连接；

[0269] 每个qi、qj、qk及ql独立地是H、卤素、C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷基、取代的C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷基、C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>烯基、取代的C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>烯基、C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>炔基、取代的C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>炔基、C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷氧基、取代的C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷氧基、OJ<sub>j</sub>、SJ<sub>j</sub>、SOJ<sub>j</sub>、SO<sub>2</sub>J<sub>j</sub>、NJ<sub>j</sub>J<sub>k</sub>、N<sub>3</sub>、CN、C(=O)OJ<sub>j</sub>、C(=O)NJ<sub>j</sub>J<sub>k</sub>、C(=O)J<sub>j</sub>、O-C(=O)NJ<sub>j</sub>J<sub>k</sub>、N(H)C(=NH)NJ<sub>j</sub>J<sub>k</sub>、N(H)C(=O)NJ<sub>j</sub>J<sub>k</sub>或N(H)C(=S)NJ<sub>j</sub>J<sub>k</sub>；

$\text{NJ}_j\text{J}_k$ 、 $\text{N}(\text{H})\text{C}(=\text{O})\text{NJ}_j\text{J}_k$ 或 $\text{N}(\text{H})\text{C}(=\text{S})\text{NJ}_j\text{J}_k$ ;并且

[0270]  $q_i$ 和 $q_j$ 或 $q_1$ 和 $q_k$ 同时是 $=\text{C}(q_g)(q_h)$ ,其中 $q_g$ 和 $q_h$ 各自独立地是H、卤素、 $\text{C}_1$ - $\text{C}_{12}$ 烷基或取代的 $\text{C}_1$ - $\text{C}_{12}$ 烷基。

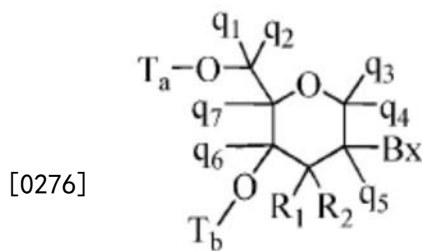
[0271] 具有4'- $(\text{CH}_2)_3$ -2'桥和烯基类似物桥4'- $\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2$ -2'的一种碳环双环核苷已经得到描述(Freier等人,Nucleic Acids Research,1997,25(22),4429-4443;及Albaek等人,J.Org.Chem.,2006,71,7731-7740)。碳环双环核苷的合成和制备以及其寡聚反应和生物化学研究也已经得到描述(Srivastava等人,J.Am.Chem.Soc.,2007,129(26),8362-8379)。

[0272] 如本文所使用,“4'-2'双环核苷”或“4'到2'双环核苷”是指包含呋喃糖环并且包含连接呋喃糖环的两个碳原子的桥的一种双环核苷,该桥连接了该糖环的2'碳原子和4'碳原子。

[0273] 如本文所使用,“单环核苷”是指包含修饰的糖部分并且这些糖部分不是双环糖部分的核苷。在某些实施方案中,核苷的糖部分或糖部分类似物可以在任何位置进行修饰或取代。

[0274] 如本文所使用,“2'-修饰的糖”意指在2'位进行修饰的呋喃糖基糖。在某些实施方案中,此类修饰包括了选自以下各项的取代:卤代物,包括但不限于,取代和未取代的烷氧基、取代和未取代的硫烷基、取代和未取代的氨基烷基、取代和未取代的烷基、取代和未取代的烯丙基,以及取代和未取代的炔基。在某些实施方案中,2'修饰选自包括但不限于以下各物的取代基: $0[(\text{CH}_2)_n\text{O}]_m\text{CH}_3$ 、 $0(\text{CH}_2)_n\text{NH}_2$ 、 $0(\text{CH}_2)_n\text{CH}_3$ 、 $0(\text{CH}_2)_n\text{F}$ 、 $0(\text{CH}_2)_n\text{ONH}_2$ 、 $0\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})\text{N}(\text{H})\text{CH}_3$ 及 $0(\text{CH}_2)_n\text{ON}[(\text{CH}_2)_n\text{CH}_3]_2$ ,其中n和m是1到约10。其它2'-取代基也可以选自: $\text{C}_1$ - $\text{C}_{12}$ 烷基、取代的烷基、烯基、炔基、烷芳基、芳烷基、0-烷芳基或0-芳烷基、SH、SCH<sub>3</sub>、OCN、Cl、Br、CN、F、CF<sub>3</sub>、OCF<sub>3</sub>、SOCH<sub>3</sub>、SO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、ONO<sub>2</sub>、NO<sub>2</sub>、N<sub>3</sub>、NH<sub>2</sub>、杂环烷基、杂环烷芳基、氨基烷基氨基、聚烷基氨基、取代的甲硅烷基、RNA裂解基团、报告基团(reporter group)、嵌入剂(intercalator)、用于改良药物动力学特性的基团,或用于改良反义化合物的药效学特性的基团,以及具有类似特性的其它取代基。在某些实施方案中,修饰的核苷包含2'-MOE侧链(Baker等人,J.Biol.Chem.,1997,272,11944-12000)。此类2'-MOE取代已经被描述为具有相较于未修饰的核苷和其它修饰的核苷(诸如2'-O-甲基、O-丙基及O-氨基丙基)有所改良的结合亲和力。也已经显示,具有2'-MOE取代基的寡核苷酸是基因表达的反义抑制剂,对于体内使用具有颇具前景的特征(Martin,Helv.Chim.Acta,1995,78,486-504;Altmann等人,Chimia,1996,50,168-176;Altmann等人,Biochem.Soc.Trans.,1996,24,630-637;以及Altmann等人,Nucleosides Nucleotides,1997,16,917-926)。

[0275] 如本文所使用,“修饰的四氢吡喃核苷”或“修饰的THP核苷”意指正常核苷中的呋喃戊糖基残基被六元四氢吡喃“糖”(一种糖替代物)取代的核苷。修饰的THP核苷包括但不限于,本领域中称为己糖醇核酸(HNA)、安尼妥核酸(anitol nucleic acid,ANA)、甘露醇核酸(MAN)(参见Leumann,Bioorg.Med.Chem.,2002,10,841-854)、氟代HNA(F-HNA)或具有式VII的那些化合物:



## VII

[0277] 其中式VII的所述至少一种四氢吡喃核苷类似物各自独立地：

[0278] Bx是杂环碱基部分；

[0279] Ta和Tb各自独立地是将四氢吡喃核苷类似物连接到反义化合物的核苷间连接基团，或Ta和Tb之一是将四氢吡喃核苷类似物连接到反义化合物的核苷间连接基团并且Ta和Tb中另一个是H、羟基保护基、连接的缀合基团或者5'末端或3'末端基团；

[0280] q1、q2、q3、q4、q5、q6及q7各自独立地是H、C1-C6烷基、取代的C1-C6烷基、C2-C6烯基、取代的C2-C6烯基、C2-C6炔基或取代的C2-C6炔基；并且R1和R2的每一个选自氢、羟基、卤素、取代的或未取代的烷氧基、NJ1J2、SJ1、N3、OC(=X)J1、OC(=X)NJ1J2、NJ3C(=X)NJ1J2以及CN，其中X是O、S或NJ1，并且每个J1、J2及J3独立地是H或C1-C6烷基。

[0281] 在某些实施方案中，提供了式VII的修饰的THP核苷，其中q1、q2、q3、q4、q5、q6及q7各自是H。在某些实施方案中，q1、q2、q3、q4、q5、q6及q7中至少一个不是H。在某些实施方案中，q1、q2、q3、q4、q5、q6及q7中至少一个是甲基。在某些实施方案中，提供了式VII的THP核苷，其中R1和R2之一是氟。在某些实施方案中，R1是氟并且R2是H；R1是甲氧基并且R2是H；以及R1是H并且R2是甲氧基乙氧基。

[0282] 如本文所使用，“2'-修饰的”或“2'-取代的”是指含糖的核苷，所述糖在2'位包含除H或OH外的取代基。2'-修饰的核苷包括但不限于，连接糖环两个碳原子的桥连接了该糖环的2'碳和另一个碳的双环核苷；以及具有非桥接的2'取代基的核苷，所述取代基诸如烯丙基、氨基、叠氮基、硫代、O-烯丙基、O-C1-C10烷基、-OCF3、O-(CH2)2-O-CH3、2'-O(CH2)2SCH3、O-(CH2)2-O-N(Rm)(Rn)或O-CH2-C(=O)-N(Rm)(Rn)，其中每个Rm和Rn独立地是H，或取代或未取代的C1-C10烷基。2'-修饰的核苷可以另外例如在糖的其它位置和/或在核碱基处包含其它修饰。

[0283] 如本文所使用，“2'-F”是指含糖的核苷，其在2'位包含氟基。

[0284] 如本文所使用，“2'-OMe”或“2'-OCH3”或“2'-O-甲基”各自是指含糖的核苷，其在糖环的2'位包含-OCH3基团。

[0285] 如本文所使用，“MOE”或“2'-MOE”或“2'-OCH2CH2OCH3”或“2'-O-甲氧基乙基”各自是指含糖的核苷，其在糖环的2'位包含-OCH2CH2OCH3基团。

[0286] 如本文所使用，“寡核苷酸”是指包含多个相连的核苷的化合物。在某些实施方案中，该多个核苷中的一个或多个被修饰。在某些实施方案中，寡核苷酸包含一个或多个核糖核苷(RNA)和/或脱氧核糖核苷(DNA)。

[0287] 本领域中也已知可以用于修饰用于掺入反义化合物中的核苷的许多其它双环和三环糖替代物环系统(参见例如评述文章：Leumann, Bioorg. Med. Chem., 2002, 10, 841-

854)。

[0288] 此类环系统可以经历各种另外的取代以增强活性。

[0289] 用于制备修饰的糖的方法是本领域技术人员众所周知的。

[0290] 在具有修饰的糖部分的核苷酸中,核碱基部分(天然核碱基部分、修饰的核碱基部分或其组合)保持与适当核酸靶杂交。

[0291] 在某些实施方案中,反义化合物包含一个或多个具有修饰的糖部分的核苷。在某些实施方案中,修饰的糖部分是2'-MOE。在某些实施方案中,2'-MOE修饰的核苷是以间隙聚体基序排列。在某些实施方案中,修饰的糖部分是具有(4'-CH(CH<sub>3</sub>)-O-2')桥接基团的双环核苷。在某些实施方案中,(4'-CH(CH<sub>3</sub>)-O-2')修饰的核苷排列在整个间隙聚体基序的翼中。

[0292] 用于配制药物流合物的组合物和方法

[0293] 可以将反义寡核苷酸与药学上可接受活性物质或惰性物质混合以制备药物组合物或制剂。用于配制药物流合物的组合物和方法取决于多个标准,包括但不限于,施用途径、疾病程度或待施用的剂量。

[0294] 可以通过将靶向C90RF72核酸的反义化合物与适合的药学上可接受的稀释剂或载剂组合,以药物组合物形式利用该反义化合物。药学上可接受的稀释剂包括磷酸盐缓冲生理盐水(PBS)。PBS是适用于肠胃外递送的组合物的一种稀释剂。因此,在一个实施方案中,本文所描述的方法中使用的是包含了靶向C90RF72核酸的反义化合物和药学上可接受的稀释剂的药物组合物。在某些实施方案中,药学上可接受的稀释剂是PBS。在某些实施方案中,反义化合物是反义寡核苷酸。

[0295] 包含反义化合物的药物组合物涵盖了在施用给动物(包括人类)时能够提供(直接或间接)其生物活性代谢物或残基的任何药学上可接受的盐、酯或此类酯的盐,或任何其它寡核苷酸。因此,例如,本公开还涉及反义化合物的药学上可接受的盐、前药、此类前药的药学上可接受的盐,及其它生物等效物。适合的药学上可接受的盐包括但不限于,钠盐和钾盐。

[0296] 前药可以包括在反义化合物的一端或两端掺入在体内被内源核酸酶裂解形成活性反义化合物的另外的核苷。

[0297] 缀合的反义化合物

[0298] 反义化合物可以共价连接到增强所得反义寡核苷酸的活性、细胞分布或细胞吸收的一个或多个部分或缀合物。典型的缀合基团包括胆固醇部分和脂质部分。另外的缀合基团包括碳水化合物、磷脂、生物素、吩嗪、叶酸、菲啉、葱醌、吡啶、荧光素、若丹明、香豆素及染料。

[0299] 反义化合物还可以被修饰成具有一个或多个稳定基团,这些稳定基团一般附接到反义化合物的一个或两个末端以增强诸如例如核酸酶稳定性等特性。稳定基团中包括帽结构。这些末端修饰保护具有末端核酸的反义化合物免于被核酸外切酶降解,并且能帮助在细胞内进行递送和/或定位。所述帽可以存在于5'末端(5'-帽)或3'末端(3'-帽),或者可以存在于两个末端上。帽结构是本领域中众所周知的并且包括例如倒置的脱氧脱碱基帽。可以用于对反义化合物的一端或两端戴帽以赋予核酸酶稳定性的其它3'-稳定基团和5'-稳定基团包括2003年1月16日公开的WO 03/004602中所公开的那些。

[0300] 细胞培养和反义化合物处理

[0301] 反义化合物对C90RF72核酸的含量、活性或表达的影响可以在体外于多种细胞类型中进行测试。用于此类分析的细胞类型可得自商业供应商(例如American Type Culture Collection, Manassus, VA; Zen-Bio, Inc., Research Triangle Park, NC; Clonetics Corporation, Walkersville, MD) 并且将其根据供应商的说明书, 使用可商购获得的试剂(例如Invitrogen Life Technologies, Carlsbad, CA) 培养。说明性细胞类型包括但不限于, HepG2细胞、Hep3B细胞及原代肝细胞。

[0302] 反义寡核苷酸的体外测试

[0303] 本文描述了用反义寡核苷酸处理细胞的方法, 该方法可以适当修改以用其它反义化合物进行处理。

[0304] 一般来说, 当细胞在培养中达到约60%-80%汇合时, 用反义寡核苷酸处理细胞。

[0305] 常用于将反义寡核苷酸引入培养的细胞中的一种试剂包括阳离子脂质转染试剂LIPOFECTIN (Invitrogen, Carlsbad, CA)。将反义寡核苷酸与LIPOFECTIN在OPTI-MEM 1 (Invitrogen, Carlsbad, CA) 中混合以达到反义寡核苷酸的希望的最终浓度以及LIPOFECTIN浓度(典型地在每100nM反义寡核苷酸2到12ug/mL范围内)。

[0306] 用于将反义寡核苷酸引入培养的细胞中的另一种试剂包括LIPOFECTAMINE (Invitrogen, Carlsbad, CA)。将反义寡核苷酸与LIPOFECTAMINE在OPTI-MEM1低血清培养基 (Invitrogen, Carlsbad, CA) 中混合以达到反义寡核苷酸的希望的浓度以及LIPOFECTAMINE浓度(典型地在每100nM反义寡核苷酸2到12ug/mL范围内)。

[0307] 用于将反义寡核苷酸引入培养的细胞中的另一种技术包括电穿孔。

[0308] 用反义寡核苷酸, 通过常规方法处理细胞。典型地在反义寡核苷酸处理之后16-24小时采集细胞, 此时通过本领域中已知以及本文中描述的方法测量靶核酸的RNA或蛋白质含量。一般来说, 当以一式多份进行处理时, 呈现的数据是重复处理的平均值。

[0309] 所用反义寡核苷酸的浓度随细胞系而变化。确定特定细胞系的最佳反义寡核苷酸浓度的方法是本领域中众所周知的。当用LIPOFECTAMINE转染时, 所用反义寡核苷酸的浓度典型地在1nM到300nM范围内。当使用电穿孔进行转染时, 所用反义寡核苷酸的浓度较高, 在625nM到20,000nM范围内。

[0310] RNA分离

[0311] 可以对总细胞RNA或多聚(A)+mRNA进行RNA分析。RNA分离方法是本领域众所周知的。RNA是使用本领域中众所周知的方法, 例如使用TRIZOL试剂 (Invitrogen, Carlsbad, CA), 根据制造商推荐的方案制备。

[0312] 靶含量或表达抑制的分析

[0313] 可以通过本领域中已知的多种方式测定C90RF72核酸的含量或表达的抑制。举例来说, 可以通过例如RNA印迹分析、竞争性聚合酶链反应(PCR) 或定量实时PCR来对靶核酸含量进行定量。可以对总细胞RNA或多聚(A)+mRNA进行RNA分析。分离RNA的方法是本领域众所周知的。RNA印迹分析也是本领域中的常规分析。定量实时PCR可以便利地使用可从PE-Applied Biosystems (Foster City, CA) 商购获得的ABI PRISM 7600、7700或7900序列检测系统实现, 并且根据制造商的说明书使用。

[0314] 靶RNA含量的定量实时PCR分析



[0315] 可以根据制造商的说明书,使用ABI PRISM 7600、7700或7900序列检测系统(PE-Applied Biosystems,Foster City,CA)通过定量实时PCR实现靶RNA含量的定量。定量实时PCR的方法是本领域中众所周知的。

[0316] 在实时PCR之前,使分离的RNA进行逆转录酶(RT)反应,产生互补DNA(cDNA),然后将其用作实时PCR扩增的底物。RT和实时PCR反应是在相同样品孔中依序进行的。RT和实时PCR试剂是从Invitrogen(Carlsbad,CA)获得的。RT实时PCR反应是通过本领域技术人员众所周知的方法进行的。

[0317] 使用表达恒定的基因(诸如亲环蛋白A(cyclophilinA))的表达水平,或通过使用RIBOGREEN(Invitrogen,Inc.Carlsbad,CA)对总RNA定量,对由实时PCR获得的基因(或RNA)靶的数量进行归一化。亲环蛋白A的表达是通过实时PCR、通过与靶同时执行、多路分析或分开定量的。总RNA是使用RIBOGREEN RNA定量试剂(Invitrogen,Inc.Eugene,OR)定量的。Jones,L.J.等人(*Analytical Biochemistry*,1998,265,368-374)中传授了通过RIBOGREEN进行的RNA定量方法。使用CYTOFLUOR 4000仪器(PE Applied Biosystems)来测量RIBOGREEN荧光。

[0318] 探针和引物被设计成与C90RF72核酸杂交。用于设计实时PCR探针和引物的方法是本领域中众所周知的,并且可以包括使用诸如PRIMER EXPRESS软件(Applied Biosystems,Foster City,CA)的软件。

[0319] 蛋白质含量的分析

[0320] C90RF72核酸的反义抑制可以通过测量C90RF72蛋白质含量来评估。可以通过本领域中众所周知的多种方式对C90RF72的蛋白质含量进行评价或定量,诸如免疫沉淀法、蛋白质印迹分析(免疫印迹法)、酶联免疫吸附剂测定(ELISA)、定量蛋白质测定、蛋白质活性测定(例如胰蛋白酶活性测定)、免疫组织化学分析、免疫细胞化学分析或荧光活化的细胞分选术(FACS)。针对靶的抗体可以从诸如MSRS抗体目录(Aerie Corporation,Birmingham,MI)的多种来源鉴别并获得,或者可以经由本领域中众所周知的常规单克隆或多克隆抗体产生方法制备。用于检测小鼠、大鼠、猴及人C90RF72的抗体是可商购获得的。

[0321] 反义化合物的体内测试

[0322] 在动物体内测试反义化合物,例如反义寡核苷酸,以评估其抑制C90RF72表达并产生表型变化(诸如运动功能和呼吸作用改良)的能力。在某些实施方案中,运动功能是通过在动物中进行转棒(rotarod)、握力、爬杆、开放领域表现、平衡木、后爪足印测试来测量。在某些实施方案中,呼吸作用是通过在动物中进行全身体积描记法、创伤阻力(invasive resistance)及顺应性测量来测量的。测试可以在正常动物中或在实验疾病模型中进行。对于施用给动物,在药学上可接受的稀释剂(诸如磷酸盐缓冲盐水)中配制反义寡核苷酸。施用包括肠胃外施用途,诸如腹膜内、静脉内及皮下施用。反义寡核苷酸剂量和给药频率的计算是在本领域技术人员的能力范围内,并且取决于如施用途及动物体重的因素。在用反义寡核苷酸治疗一段时间之后,从CNS组织或CSF中分离出RNA,并测量C90RF72核酸表达的变化。

[0323] 靶向C90RF72

[0324] 本文所描述的反义寡核苷酸可以在RNA加工的任何阶段中与C90RF72核酸杂交。举例来说,本文描述了与前体mRNA或成熟mRNA互补的反义寡核苷酸。另外地,本文所描述的反

义寡核苷酸可以与C90RF72核酸的任何成分杂交。举例来说,本文描述了与C90RF72核酸中的外显子、内含子、5' UTR、3' UTR、重复序列区、六核苷酸重复扩增、剪接点、外显子:外显子剪接点、外显子剪接沉默子(ESS)、外显子剪接增强子(ESE)、外显子1a、外显子1b、外显子1c、外显子1d、外显子1e、外显子2、外显子3、外显子4、外显子5、外显子6、外显子7、外显子8、外显子9、外显子10、外显子11、内含子1、内含子2、内含子3、内含子4、内含子5、内含子6、内含子7、内含子8、内含子9或内含子10互补的反义寡核苷酸。

[0325] 在某些实施方案中,本文所描述的反义寡核苷酸与C90RF72的所有变体杂交。在某些实施方案中,本文所描述的反义寡核苷酸与C90RF72的某些变体选择性杂交。在某些实施方案中,本文所描述的反义寡核苷酸与含有六核苷酸重复扩增的C90RF72变体选择性杂交。在某些实施方案中,此类含有六核苷酸重复扩增的C90RF72变体包括SEQ ID NO:1-3及6-10。在某些实施方案中,此类六核苷酸重复扩增包含GGGGCC、GGGGGG、GGGGGC或GGGGCG中任一种的至少30次重复。

[0326] 在某些实施方案中,本文所描述的反义寡核苷酸抑制C90RF72的所有变体的表达。在某些实施方案中,本文所描述的反义寡核苷酸同等地抑制C90RF72的所有变体的表达。在某些实施方案中,本文所描述的反义寡核苷酸优先抑制C90RF72的某些变体的表达。在某些实施方案中,本文所描述的反义寡核苷酸优先抑制含有六核苷酸重复扩增的C90RF72变体的表达。在某些实施方案中,此类含有六核苷酸重复扩增的C90RF72变体包括SEQ ID NO:1-3及6-10。在某些实施方案中,此类六核苷酸重复扩增包含GGGGCC、GGGGGG、GGGGGC或GGGGCG中任一种的至少30次重复。在某些实施方案中,六核苷酸重复扩增形成核灶。在某些实施方案中,本文所描述的反义寡核苷酸可用于减少核灶。就具有核灶的细胞百分比以及每个细胞中核灶的数量来说,可以减少核灶。

[0327] 基于早先针对重复扩增的研究,出于两个原因,不太可能预测在六核苷酸重复扩增之外靶向C90RF72的反义寡核苷酸是否会成功地C90RF72的表达。第一,C90RF72重复扩增是位于内含子中并且不了解核灶中的RNA是否仅含这些重复序列,还是另外含有侧接的内含子序列。举例来说,早先关于2型肌强直性营养不良(DM2;该疾病是由ZNF9基因内含子1中的CCTG扩增突变引起)的研究确定了较大的DM2扩增不能防止等位基因特异性前体mRNA剪接、转录物的核输出,或稳态mRNA或蛋白质含量。该研究进一步证实,所发现的与该疾病有关的核糖核包涵体富集CCUG扩增,但不含侧接的内含子序列。这些数据表明,DM2突变的下游分子效应可以仅由CCUG重复区域的积累触发。因此,这一研究暗示,仅靶向CCUG重复扩增将引起疾病的改善,因为靶向侧接序列,尤其是该重复扩增的下游区域,将不会影响核糖核包涵体的形成(Margolis等人,Hum.Mol.Genet.,2006,15:1808-1815)。第二,尚不了解含有这些重复序列的C90RF72内含子1在核灶中切除和积累有多快。因此,不太可能预测靶向前体mRNA是否会引起重复RNA和核灶的消除。

[0328] C90RF72特征

[0329] 本文所描述的反义寡核苷酸可以在任何加工阶段,在C90RF72基因的任何成分内与任何C90RF72变体杂交。举例来说,本文描述的反义寡核苷酸可以与外显子、内含子、5' UTR、3' UTR、重复序列区、六核苷酸重复扩增、剪接点、外显子:外显子剪接点、外显子剪接沉默子(ESS)、外显子剪接增强子(ESE)、外显子1a、外显子1b、外显子1c、外显子1d、外显子1e、外显子2、外显子3、外显子4、外显子5、外显子6、外显子7、外显子8、外显子9、外显子10、外显

子11、内含子1、内含子2、内含子3、内含子4、内含子5、内含子6、内含子7、内含子8、内含子9或内含子10杂交。举例来说,反义寡核苷酸可以靶向下表1-5中关于以下描述的各种C9ORF72变体所表征的任何外显子。本文所描述的反义寡核苷酸还可以靶向下表中未表征的变体并且这些变体表征于GENBANK中。此外,本文所描述的反义寡核苷酸还可以靶向除外显子外的成分并且这些成分表征于GENBANK中。

[0330] 表1

[0331] NM\_001256054.1 (SEQ ID NO:1) 的功能区段

外显子编号	mRNA 起始位点	mRNA 终止位点	关于 SEQ ID NO: 2 的起始位点	关于 SEQ ID NO: 2 的终止位点
外显子 1C	1	158	1137	1294
外显子 2	159	646	7839	8326
外显子 3	647	706	9413	9472
外显子 4	707	802	12527	12622
外显子 5	803	867	13354	13418
外显子 6	868	940	14704	14776
外显子 7	941	1057	16396	16512
外显子 8	1058	1293	18207	18442
外显子 9	1294	1351	24296	24353
外显子 10	1352	1461	26337	26446
外显子 11	1462	3339	26581	28458

[0333] 表2

[0334] NM\_018325.3 (SEQ ID NO:4) 的功能区段

外显子编号	mRNA 起始位点	mRNA 终止位点	关于 SEQ ID NO: 2 的起始位点	关于 SEQ ID NO: 2 的终止位点
外显子 1B	1	63	1510	1572
外显子 2	64	551	7839	8326
外显子 3	552	611	9413	9472
外显子 4	612	707	12527	12622
外显子 5	708	772	13354	13418
外显子 6	773	845	14704	14776
外显子 7	846	962	16396	16512
外显子 8	963	1198	18207	18442
外显子 9	1199	1256	24296	24353
外显子 10	1257	1366	26337	26446

[0336]

外显子 11	1367	3244	26581	28458
--------	------	------	-------	-------

[0337] 表3

[0338] NM\_145005.5 (SEQ ID NO:6)的功能区段

[0339]

外显子编号	mRNA 起始位 点	mRNA 终止位 点	关于 SEQ ID NO: 2 的起始位 点	关于 SEQ ID NO: 2 的终止位 点
外显子 1A	1	80	1137	1216
外显子 2	81	568	7839	8326
外显子 3	569	628	9413	9472
外显子 4	629	724	12527	12622
外显子 5B(外显子 5 在内含子 5 中)	725	1871	13354	14500

[0340] 表4

[0341] DB079375.1 (SEQ ID NO:7)的功能区段

[0342]

外显子编号	mRNA 起始位 点	mRNA 终止位 点	关于 SEQ ID NO: 2 的起 始位点	关于 SEQ ID NO: 2 的 终止位 点
外显子 1E	1	35	1135	1169
外显子 2	36	524	7839	8326
外显子 3(在完整外显子 末端之前的 EST 末端)	525	562	9413	9450

[0343] 表5

[0344] BU194591.1 (SEQ ID NO:8)的功能区段

[0345]

外显子编号	mRNA 起始 位点	mRNA 终止 位点	关于 SEQ ID NO: 2	关于 SEQ ID NO: 2
-------	------------------	------------------	--------------------------	--------------------------

[0346]			的起始位点	的终止位点
	外显子 1D	1	36	1241
	外显子 2	37	524	7839
	外显子 3	525	584	9413
	外显子 4	585	680	12527
	外显子 5B (外显子 5 在内含子 5 中)	681	798	13354
				1279
				8326
				9472
				12622
				13465

[0347] 某些适应症

[0348] 在某些实施方案中,本文提供了治疗个体的方法,所述方法包括施用一种或多种本文所描述的药物组合物。在某些实施方案中,个体患有神经退化性疾病。在某些实施方案中,个体有发展神经退化性疾病(包括但不限于,ALS或FTD)的风险。在某些实施方案中,个体已经鉴别为患有C9ORF72相关疾病。在某些实施方案中,个体已经鉴别为患有C9ORF72六核苷酸重复扩增相关疾病。在某些实施方案中,本文提供了用于预防性减少个体中C9ORF72表达的方法。某些实施方案包括通过向个体施用治疗有效量的靶向C9ORF72核酸的反义化合物来靶向有需要的个体。

[0349] 在一个实施方案中,施用治疗有效量的靶向C9ORF72核酸的反义化合物是通过监测个体中的C9ORF72含量以确定个体对反义化合物施用的反应来确定的。个体对反义化合物施用的反应可以由医师用于确定治疗干预的量和持续时间。

[0350] 在某些实施方案中,靶向C9ORF72核酸的反义化合物的施用使C9ORF72表达减少至少15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或99%,或由这些值中任何两个界定的范围。在某些实施方案中,靶向C9ORF72核酸的反义化合物的施用使动物的运动功能和呼吸作用改良。在某些实施方案中,C9ORF72反义化合物的施用使运动功能和呼吸作用改良至少15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或99%,或由这些值中任何两个界定的范围。

[0351] 在某些实施方案中,使用了包含靶向C9ORF72的反义化合物的药物组合物来制备供治疗患有或易患神经退化性疾病(包括ALS和FTD)的患者用的药物。

[0352] 某些组合法

[0353] 在某些实施方案中,将本文所描述的一种或多种药物组合物与一种或多种其它药剂共施用。在某些实施方案中,这一种或多种其它药剂被设计用于治疗与本文所描述的一种或多种药物组合物所治疗的相同的疾病、病症或疾患。在某些实施方案中,这一种或多种其它药剂被设计用于治疗与本文所描述的该一种或多种的药物组合物所治疗的不同的疾病、病症或疾患。在某些实施方案中,这一种或多种其它药剂被设计用于治疗本文所描述的一种或多种药物组合物的不希望的副作用。在某些实施方案中,将本文所描述的一种或多种药物组合物与另一种药剂共施用以治疗所述其它药剂的不希望的作用。在某些实施方案中,将本文所描述的一种或多种药物组合物与另一种其它药剂共施用以产生组合作用。在

某些实施方案中,将本文所描述的一种或多种药物组合物与另一种其它药剂共施用以产生协同作用。

[0354] 在某些实施方案中,本文所描述的一种或多种药物组合物与一种或多种其它药剂是同时施用的。在某些实施方案中,本文所描述的一种或多种药物组合物与一种或多种其它药剂是在不同时间施用的。在某些实施方案中,本文所描述的一种或多种药物组合物与一种或多种其它药剂一起制备成单一制剂。在某些实施方案中,本文所描述的一种或多种药物组合物与一种或多种其它药剂是分开制备的。

[0355] 在某些实施方案中,可以与本文所描述的药物组合物共施用的药剂包括利鲁唑(Riluzole)(力如太(Rilutek))、力奥来素(Lioresal)及Dexpramipexole。

[0356] 在某些实施方案中,可以与本文所描述的C90RF72特异性抑制剂共施用的药剂包括但不限于,另外的C90RF72抑制剂。在某些实施方案中,共施用的药剂是在施用本文所描述的药物组合物之前施用。在某些实施方案中,共施用的药剂是在施用本文所描述的药物组合物之后施用。在某些实施方案中,共施用的药剂是与本文所描述的药物组合物同时施用。在某些实施方案中,共施用的药剂的剂量与单独施用该共施用的药剂时将施用的剂量相同。在某些实施方案中,共施用的药剂的剂量低于单独施用该共施用的药剂时将施用的剂量。在某些实施方案中,共施用的药剂的剂量高于单独施用该共施用的药剂时将施用的剂量。

[0357] 在某些实施方案中,第二化合物的共施用使第一化合物的作用增强,由此这些化合物的共施用引起的作用比仅施用第一化合物的作用强。在其它实施方案中,共施用引起的作用是这些化合物在单独施用时的作用的加和。在某些实施方案中,共施用引起的作用是这些化合物在单独施用时的作用的超加和。在某些实施方案中,第一化合物是反义化合物。在某些实施方案中,第二化合物是反义化合物。

## 实施例

[0358] 非限制性公开内容以及通过引用并入

[0359] 尽管已经根据某些实施方案具体地描述了本文所描述的某些化合物、组合物和方法,但以下实施例仅用于说明本文所描述的化合物并且不打算限制这些化合物。本申请中陈述的每一参考文献都通过引用的方式整体并入本文中。

[0360] 实施例1:HepG2细胞中人C90RF72的反义抑制

[0361] 设计出靶向C90RF72核酸的反义寡核苷酸并且在体外测试其对C90RF72mRNA的影响。在一系列具有类似培养条件的实验中测试这些反义寡核苷酸。每一实验的结果呈现于以下所示各表中。使用电穿孔法,用7,000nM的反义寡核苷酸转染按每孔20,000个细胞的密度培养的HepG2细胞。在处理约24小时时间之后,从细胞中分离出RNA,并通过定量实时PCR测量C90RF72mRNA含量。使用人引物探针集RTS3750(正向序列TGTGACAGTTGGAATGCAGTGA,在本文中指定为SEQ ID NO:15;反向序列GCCACTTAAAGCAATCTCTGTCTTG,在本文中指定为SEQ ID NO:16;探针序列TCGACTCTTTGCCCCACGCCA,在本文中指定为SEQ ID NO:17)测量mRNA含量。根据通过RIBOGREEN®测量的总RNA含量,调整C90RF72mRNA含量。结果是相对于未处理的对照细胞以C90RF72的抑制百分比呈现。

[0362] 表6-10中的反义寡核苷酸被指定为5-10-5MOE间隙聚体。间隙聚体是20个核苷长,

其中中心间隙区段包含十个2'-脱氧核苷,并且在5'端上和3'端上侧接各自包含五个核苷的翼区段。5'翼区段中的每个核苷以及3'翼区段中的每个核苷都具有MOE修饰。在每个间隙聚体中的核苷间键都是硫代磷酸酯键。每个间隙聚体中的所有胞嘧啶残基都是5-甲基胞嘧啶。“起始位点”指示人基因序列中反义寡核苷酸靶向的5'-最末端核苷。“终止位点”指示人基因序列中反义寡核苷酸靶向的3'-最末端核苷。表6-9中所列的每个反义寡核苷酸都靶向人C90RF72mRNA序列(在本文中指定为SEQ ID NO:1;GENBANK登录号NM\_001256054.1)或人C90RF72基因组序列(在本文中指定为SEQ ID NO:2;截短了核苷27535000到27565000的GENBANK登录号NT\_008413.18的补体)或两者。‘n/a’指示反义寡核苷酸不靶向所述特定基因序列。表10的反义寡核苷酸靶向SEQ ID NO:3 (GENBANK登录号BQ068108.1)或SEQ ID NO:4 (GENBANK登录号NM\_018325.3)。

[0363] 如下表6-10中所示,靶向SEQ ID NO:1的若干寡核苷酸,包括靶向SEQ ID NO:1中核碱基90-647、728-1541、1598-1863、1935-2146、2232-2251、2429-2576、2632-2743、2788-2807、2860-2879、2949-2968、3062-3081、3132-3151及3250-3269的那些寡核苷酸,展现至少50%的抑制作用。这些包括SEQ ID NO:32、33、34、35、36、37、38、40、41、42、43、44、45、46、47、50、51、53、55、56、57、61、62、64、66、67、72、73、75、76、81、82、85、89、90、91、92、93、94、96、97、100、102、103、109、111、112、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、130、131、132、133、137、139、140、141、145、146、149、150、151、152、153、154、165、166、168、169、170、171、174、179、181、182、183、185、186、187、188、190、192、195、197、199、320、321、322、323、324、325、326、327、328、329、330、331及332。若干寡核苷酸,包括靶向SEQ ID NO 1中核碱基90-359、430-479、550-569、617-647、940-959、1013-1033、1446-1465、1687-1706、1844-1863、1935-2007及2679-2698的那些寡核苷酸,展现至少70%的抑制作用。这些包括SEQ ID NO:32、33、34、35、36、40、41、42、43、44、47、66、67、85、96、103、117、119、154、165、168、186、320、321、324、327、328及331。若干寡核苷酸,包括靶向核碱基90-265和310-329的那些寡核苷酸,展现至少80%的抑制作用。这些包括SEQ ID NO:32、33、35、40、42及321。若干寡核苷酸,包括靶向SEQ ID NO 1中核碱基190-209和310-329的那些寡核苷酸,展现至少90%的抑制作用。这些包括SEQ ID NO:40和321。

[0364] 如下表6-20中所示,靶向SEQ ID NO:2的若干寡核苷酸,包括靶向SEQ ID NO 2中核碱基1552-1572、2187-2238、2728-2779、3452-3471、3752-3771、5025-5044、5656-5675、6200-6219、7594-7613、7840-8328、9415-9434、12526-12545、13357-13524、13642-13661、13790-14130、14243-14335、14699-14777、15587-15606、16395-16488、18233-18373、24306-24340、24472-24491、24565-24676、26400-26424、26606-26982、27054-27265、27351-27370、27548-27998、28068-28087、28181-28270及28369-28388的那些寡核苷酸,展现至少50%的抑制作用。这些包括SEQ ID NO:32、33、34、35、36、37、38、40、41、42、43、44、45、46、47、50、51、53、55、56、57、64、67、72、73、75、76、81、82、85、89、90、91、92、93、94、96、97、100、102、103、111、112、115、117、118、119、121、122、123、124、125、126、130、131、132、133、137、139、140、141、145、146、149、150、151、152、153、154、165、166、168、169、170、171、174、179、181、182、183、185、186、187、188、190、192、195、197、199、205、206、208、211、212、224、226、230、231、250、251、252、256、300、301、304、306、307、310、320、321、322、323、324、325、326、327、328、329、330、331及332。若干寡核苷酸,包括靶向SEQ ID NO 2中核碱基



3452-3471、7840-8159、8230-8249、12526-12545、13642-13661、14075-14094、14316-14335、14758-14777、16395-16414、16469-16488、24655-24674、26963-26982、27054-27126及27798-27817的那些寡核苷酸,展现至少70%的抑制作用。这些包括SEQ ID NO:32、33、34、35、36、40、41、42、43、44、47、67、85、96、103、117、119、154、165、168、186、251、306、320、321、324、327、328及331。若干寡核苷酸,包括靶向SEQ ID NO 2中核碱基7848-8023的那些寡核苷酸,展现至少80%的抑制作用。这些包括SEQ ID NO:32、33、35、40、42及321。若干寡核苷酸,包括靶向SEQ ID NO 2中核碱基7870-7889和7990-8009的那些寡核苷酸,展现至少90%的抑制作用。这些包括SEQ ID NO:40和321。

[0365] 表6

[0366]

SEQ ID NO: 1的 靶起始 位点	SEQ ID NO: 2的 靶起始 位点	序列	ISIS编号	抑制%	SEQ ID NO
3	1139	AGCGGGACACCGTAGGTTAC	576883	0	30
44	1180	GTGGGCGGAACCTGTGCTG	576807	1	31
90	7848	GTCACATTATCCAAATGCTC	576808	85	32
125	7883	GGTGGGCAAAGAGTCGACAT	576809	82	33
155	7913	ATCTCTGTCTTGGCAACAGC	576810	78	34
160	7918	AAGCAATCTCTGTCTTGGCA	576811	81	35
165	7923	ACTTAAAGCAATCTCTGTCT	576812	78	36
170	7928	TTGCCACTTAAAGCAATCTC	576813	67	37
205	7963	CCCAGTAAGCAAAAGTAGCT	576814	66	38
227	7985	ACTCTAGGACCAAGAATATT	576815	11	39
232	7990	GCCTTACTCTAGGACCAAGA	576816	78	40
240	7998	CCAAATGTGCCTTACTCTAG	576817	73	41
246	8004	TGGAGCCCAAATGTGCCTTA	576818	81	42
254	8012	TCTGTCTTTGGAGCCCAAAT	576819	76	43
275	8033	CCATCACTGAGAAGTACCTG	576820	79	44



[0367]

281	8039	ATTCTCCATCACTGAGAAG	576821	61	45
288	8046	AAAAGTTATTTCTCCATCAC	576822	57	46
295	8053	TGGCAAGAAAAGTTATTTCT	576823	70	47
302	8060	GTGTGGTTGGCAAGAAAAGT	576824	44	48
313	8071	CTCCATTAGAGTGTGGTTG	576825	39	49
330	8088	TGCATTTCTGAAGGATTTCTC	576826	65	50
338	8096	CCACTCTCTGCATTTCTGAAG	576827	67	51
362	8120	ACAAAAAACTTTACATCTAT	576828	22	52
376	8134	CCTTTTCAGACAAGACAAAA	576829	53	53
401	8159	AAGATTAATGAAACAATAAT	576830	0	54
411	8169	GTTTCCATCAAAGATTAATG	576831	62	55
446	8204	ATTGATAGTCCATATGTGCT	576832	59	56
452	8210	AGTATAATTGATAGTCCATA	571818	57	57
481	8239	GGAGGTAGAACTAAGTTCT	576833	45	58
516	8274	ATGTGTTAATCTATCAACAC	576834	48	59
545	8303	TGCATCCATATTCTTCCTTT	576835	43	60
552	n/a	TTCCTTATGCATCCATATTC	576836	64	61
559	n/a	CTTGCTTTCTTATGCATC	576837	57	62
566	n/a	ACATTTTCTTGCTTTTCCTT	576838	43	63
571	9415	TCTGGACATTTTCTTGCTT	576839	61	64
578	9422	ATAATCTTCTGGACATTTTC	576840	37	65
617	n/a	CTCTGACCCTGATCTTCCAT	576841	79	66
628	12526	TTGGAATAATACTCTGACCC	576842	73	67
663	12561	CAGTTCCATTACAGGAATCA	576843	45	68
697	12595	CTTCAGGAACACTGTGTGAT	576844	20	69
705	12603	ATCTATTTCTTCAGGAACAC	576845	46	70
722	n/a	AGTACTGTATCAGCTATATC	576846	46	71
728	13357	TCATTGAGTACTGTATCAGC	576847	52	72
734	13363	TCATCATCATTGAGTACTGT	576848	67	73
740	13369	CCAATATCATCATCATTGAG	576849	47	74
755	13384	TCATGACAGCTGTCACCAAT	576850	51	75
761	13390	AAGCCTTCATGACAGCTGTC	576851	52	76
767	13396	AGAAGAAAGCCTTCATGACA	576852	23	77
773	13402	TACTTGAGAAGAAAGCCTTC	576853	24	78
778	13407	ATTCTTACTTGAGAAGAAAG	576854	12	79
782	13411	AAAAATTCTTACTTGAGAAG	576855	0	80
817	13446	AGATGGTATCTGCTTCATCC	576856	61	81
876	13505	CAATCTAAGTAGACAGTCTG	576857	57	82
911	13540	TTAAGCAACAGTTCAAATAC	576858	40	83
978	13607	CTTTAAATAGCAAATGGAAT	576859	26	84
1013	13642	GCCATGATTTCTTGCTGCGG	576860	79	85
1056	13685	GCTTTAATGAGAAGTAAAC	576861	17	86
1091	13720	TCTACAGTACAACCTTAATAT	576862	39	87
1126	13755	ATAATTTTGTTCTACGCCTA	576863	44	88
1161	13790	CACTGCTGGATGGAAAAAGA	576864	65	89

[0368]

1196	13825	TGGTTTAAGGGCACAACTC	576865	52	90
1231	13860	TTGCCACGGGTACACAGCA	576866	63	91
1268	13897	CAGATGAGGAAATAGGTGTA	576867	62	92
1303	13932	ACACATTAGGTACTATTACT	576868	63	93
1372	14001	TTTTATGTTCCAGGCACTG	576869	59	94
1407	14036	AATAGGAAATGTTAGCTATG	576870	30	95
1446	14075	GGCACTCAACAAATACTGGC	576871	72	96
1482	14111	TACATGTAAAGCAACTAGTA	576872	55	97
1539	14168	TAAAATTTTCATGAAAATCTG	576873	0	98
1579	14208	AAGTGAATACTTTATACTTT	576874	0	99
1614	14243	CATCATGAGCCTAAAGGAAA	576875	51	100
1651	14280	GGCTCTTAGGTTAAACACAC	576876	43	101
1673	14302	TGCTTCTGATTCAAGCCATT	576877	65	102
1687	14316	ATACAGGACTAAAGTGCTTC	576878	74	103
1731	14360	CAAATGGGATTTAAAATGAT	576879	0	104
1766	14395	TGACATGTAGAGAGATTAAG	576880	26	105
1801	14430	TTATTGAAATACCATCATTT	576881	34	106
1836	14465	TAGTCAGTATAATATCATTT	576882	18	107

[0369] 表7

[0370]

SEQ ID NO: 1的 靶起始 位点	SEQ ID NO: 2的 靶起始 位点	序列	ISIS编号	抑制%	SEQ ID NO
851	n/a	GCATTGAGAAGAAAGCCTTC	571824	25	108
1337	n/a	AAGACCTGATCCAGGAAGGC	571836	53	109
861	n/a	TGAGCTGATGGCATTGAGAA	571981	41	110
890	14726	ACAACGGAACAGCCACAGGT	571983	66	111
1420	26405	TTAGTGTCAAGGCTTTTCTG	572007	60	112
75	1211	GACGGCTGACACACCAAGCG	576884	8	113
856	n/a	TGATGGCATTGAGAAGAAAG	576891	6	114
917	14753	TTTACTTTCTCTGCACTGCT	576892	68	115
922	n/a	TCTTATTTACTTTCTCTGCA	576893	63	116
940	16395	GGCATAATGTTCTGACTATC	576894	71	117
979	16434	ATAACCTGGAGCATTTTCTC	576895	65	118
1014	16469	CCCTGACTCATATTTAAATG	576896	70	119
1049	n/a	CCAGTTGAATCCTTTAGCAG	576897	51	120
1084	18233	CATACATGACTTGCCGGAAG	576898	66	121
1119	18268	GACATCCACATCTATGTGTG	576899	63	122
1154	18303	TGTTTCATGACAGGGTGGCAT	576900	66	123
1163	18312	TTATAAATATGTTTCATGACA	576901	51	124
1191	18340	CAGCTCGGATCTCATGTATC	576902	52	125
1205	18354	CTCCAGAAGGCTGTCAGCTC	576903	59	126
1238	18387	GTATCCTGAGCCATGTCTTC	576904	33	127
1273	18422	AATCAGGAGTAAAGCTTTCG	576905	48	128

[0371]

1283	n/a	AAAATATTCAAATCAGGAGT	576906	23	129
1304	24306	TCTCTGTGTAAGACATCTTG	576907	51	130
1309	24311	GAGTGTCTCTGTGTAAGACA	576908	54	131
1314	24316	CACTAGAGTGTCTCTGTGTA	576909	50	132
1319	24321	GCTTTCCTAGAGTGTCTCT	576910	60	133
1330	24332	GATCCAGGAAGGCTTTCCT	576911	35	134
1373	26358	AAAGTACTTCTGAGAGATAA	576912	38	135
1385	26370	AACTGTGCAAGGAAAGTACT	576913	43	136
1415	26400	GTCAAGGCTTTTCTGTGAAG	576914	65	137
1472	26591	AGAGATTTAAAGGGCTTTTT	576915	46	138
1487	26606	ATCTTCAGGTTCCGAAGAGA	576916	53	139
1511	26630	CCCTCTGCTGTAAATCAAG	576917	51	140
1522	26641	TGTTAAGATCGCCCTCTGCT	576918	64	141
1529	26648	ATTATTATGTAAAGATCGCC	576919	46	142
1535	26654	AGAGCCATTATTATGTAAAG	576920	36	143
1571	26690	ATAAAAGAGTGTAGGCCTGG	576921	46	144
1598	26717	ACACTAGTGTAGAAAGGTCT	576922	55	145
1606	26725	GTTCTTGCACACTAGTGTAG	576923	62	146
1628	26747	TAAAAAGTCATTAGAACATC	576924	10	147
1644	26763	TATTAAGTTACACATTTAAA	576925	20	148
1679	26798	CTTTACCAGCGATCATGATT	576926	57	149
1725	26844	TTCTGGAGTATGATCCAGGG	576927	64	150
1752	24472	ACTTAACTGCAATTGCTGAG	576928	66	151
	26871				
1765	26884	TGTAGTGTAAGTACTTAAC	576929	60	152
1802	26921	ATGCACCTGACATCCCCTCA	576930	56	153
1844	26963	CCCAAAAGCATAAATCTAGG	576931	71	154
1876	24596	ATATTTATTATATTGTAAAC	576932	0	155
	26995				
1883	24603	AGCAATAATATTTATTATAT	576933	1	156
	27002				
1887	24607	AGATAGCAATAATATTTATT	576934	0	157
	27006				
1889	24609	AAAGATAGCAATAATATTTA	576935	0	158
	27008				
1892	24612	TTAAAAGATAGCAATAATAT	576936	3	159
	27011				
1896	24616	ATCTTTAAAAGATAGCAATA	576937	14	160
	27015				
1898	24618	ATATCTTTAAAAGATAGCAA	576938	15	161
	27017				
1901	24621	ATTATATCTTTAAAAGATAG	576939	12	162
	27020				
1905	24625	TATTATTATATCTTTAAAAG	576940	6	163
	27024				

[0372]

1918	27037	CAAGTTTACATCCTATTATT	576941	48	164
1935	24655	AAAACAGTAGTTGTGGTCAA	576942	77	165
	27054				
1937	24657	AAAAAACAGTAGTTGTGGTC	576943	69	166
	27056				
1953	27072	TGAATCATGTATTTCAAAAA	576944	17	167
1988	27107	GCCAACTCAGATTTACCTT	576945	71	168
2036	27155	CTACACACCAAAGAATGCCA	576946	69	169
2071	27190	AGTTTTTCAGTTGATTGCAGA	576947	58	170
2127	27246	CATCCTATGTTCAAGCTCAC	576948	51	171
2162	27281	TAAACATCTGCTTGATCAAT	576949	44	172
2197	27316	AATCCACAAAGTAGGATCTA	576950	42	173
2232	27351	ATTAGACATTTCTACAGACT	576951	56	174
2325	27444	CTCAACTACATAGAATATCA	576952	45	175
2371	27490	TTGGCAACAATTACTAAAAC	576953	48	176
2400	27519	TCAAAAATAATGAAAATTAA	576954	0	177
2409	27528	CAATTTGGCTCAAAAATAAT	576955	3	178
2429	27548	GGCACAGGAGGTGCACATT	576956	60	179

[0373] 表8

[0374]

SEQ ID NO: 1的 靶起始 位点	SEQ ID NO: 2的 靶起始 位点	序列	ISIS编号	抑制%	SEQ ID NO
2451	27570	TAGATTTTCTAAGGAGAAAA	576957	8	180
2486	27605	ACTGACCAGTGAAATCTGAA	576958	50	181
2522	27641	GGTAAGACTTAGCAAGAAGA	576959	59	182
2557	27676	TCTCAGAGTTGCAATGATTG	576960	63	183
2597	27716	AGATCTTATTAGTTAGTATA	576961	18	184
2632	27751	AGTACTCAAGGAAGTATTTT	576962	57	185
2679	27798	GGCAAACAGCAACAAGTTCA	576963	71	186
2724	27843	GCACTTCAGTAAAATTTCTC	576964	69	187
2788	27907	GGTCCAAACGCATTAAGAAA	576965	58	188
2825	27944	GAATTATATTAATCAGTTAT	576966	0	189
2860	27979	TGTGTTTGTGTAAGTACAAT	576967	67	190
2895	28014	ATATTACTTCCAGAATTTTA	576968	19	191
2949	28068	GGCAGAAGGGCTCTATTACC	576969	59	192
2992	28111	CATTCGAACATGTCATTTTG	576970	40	193
3027	28146	CTGATTCATGATGGGAAAGC	576971	34	194
3062	28181	GTGGTTGTCTAAAACATCAA	576972	58	195
3097	28216	ATGACTGAGCTACAGTACAA	576973	47	196
3132	28251	GGGACACTACAAGGTAGTAT	576974	56	197
3167	28286	TTAAATAAGAATCTACCATG	576975	12	198
3250	28369	GCTTTAATAACTTATTTTAC	576976	54	199
3282	28401	AGGAGAAAAGATATATAACA	576977	0	200



[0375]

3288	28407	CCATTTAGGAGAAAAGATAT	576978	0	201
n/a	1343	TTCACCCTCAGCGAGTACTG	576979	0	202
n/a	1403	AGGCTGCGGTTGTTTCCCTC	576980	0	203
n/a	1800	GCCAGATCCCCATCCCTTGT	576981	11	204
n/a	2187	TCACTTCCTTTAAGCAAGTC	576982	52	205
n/a	2209	AGTGATGCCCAAGTCACAAT	576983	53	206
n/a	2214	AGTCAAGTGATGCCCAAGTC	576984	47	207
n/a	2219	CCATCAGTCAAGTGATGCCC	576985	60	208
n/a	2224	GATTACCATCAGTCAAGTGA	576986	29	209
n/a	2229	CAACTGATTACCATCAGTCA	576987	42	210
n/a	2728	GCAGTTTCCAAGTATTGAG	576988	58	211
n/a	2760	CGTTCTTGTTTCAGATGTAC	576989	57	212
n/a	2862	GCCAAACAAAATATTTTATC	576990	22	213
n/a	2995	TAGGTAGGCTAACCTAGTCC	576991	47	214
n/a	3196	TCCCAGCCCAAAGAGAAGCA	576992	41	215
n/a	3466	GGATCATAGCTCTCGGTAAC	576993	26	216
n/a	3540	AATCATAAAGCCCTCACTTC	576994	7	217
n/a	3595	CTGATTGGTATTTAGAAAGG	576995	3	218
n/a	3705	ATGCAGACATGATTACATTA	576996	48	219
n/a	4560	TTCATCATTAAGTGAAGTAA	576997	0	220
n/a	4613	CTTTTAGGTTAAAAAGGTGG	576998	35	221
n/a	4986	ATACAGAGCCTGGCAAAACA	576999	30	222
n/a	5036	TTCTATTTACAGAGCATTAG	577000	29	223
n/a	5656	GCCTTCACATTAATTCACCA	577001	62	224
n/a	6051	TGTGTTATTGCCCTAAAAA	577002	24	225
n/a	6200	TGTATTCACTATACTATGCC	577003	52	226
n/a	6276	AAGTTATTTAAAGTATAGCA	577004	0	227
n/a	6762	GACATTGAAGTATCAAGACA	577005	34	228
n/a	6965	TGTTAAGTAATCTTAGAAAA	577006	0	229
n/a	7594	GGCATACATTTAGAAATTCA	577007	60	230
n/a	8309	ACCTTATGCATCCATATTCT	577008	59	231
n/a	8784	GAATTCTCTTGGAACCAT	577009	42	232
n/a	8834	ATATTCAACTACAGGATTTA	577010	13	233
n/a	8884	ATGTGTTCTTTAGATACATC	577011	42	234
n/a	9510	CCTTATACAGATACATGCTG	577012	37	235
n/a	9663	TAGATGCAATTACTATTTTC	577013	34	236
n/a	10742	TGTACTTCCCAAACCTGAAC	577014	24	237
n/a	10845	CTGAAGCTCAACAACACCAA	577015	49	238
n/a	11684	GTCTATAGAATCAAACCTGAA	577016	38	239
n/a	11851	TTGAATCAATACCTAACCTC	577017	23	240
n/a	11991	TGCCTCTTTTAGAAAAGATC	577018	44	241
n/a	12042	ATGGAATCATTGGTTTATCG	577019	43	242
n/a	12069	AAAGCTCACTTTTATTCTTT	577020	37	243
n/a	12333				
n/a	12170	GGTGCCGCCACCATGCCCGG	577021	0	244

[0376]

n/a	12464	GAGAGAAGCTGGGCAATAAA	577022	2	245
n/a	12514	TCTGACCCTGCACAATAAAG	577023	0	246
n/a	13016	ATAGTGTGTGATTCAAAACG	577024	17	247
n/a	13348	ACTGTATCAGCTATCTAAAA	577025	22	248
n/a	14540	TTATTTGTATAGGAACCTAC	577026	44	249
n/a	14699	TGTGAGCTGATGGCACTGTA	577027	61	250
n/a	14758	CCTTATTTACTTTCTCTGCA	577028	71	251
n/a	15587	GGAATAAGGTCAGTTCG	577029	69	252
n/a	17187	ATTTGCAACAATTTTTAAAT	577030	8	253
n/a	21808	ATAAACTACCAATGATATCC	577031	13	254
n/a	24337	TACCTGATCCAGGAAGGCTT	577032	40	255
n/a	24565	TTCCCGAAGCATAAATCTAG	577033	53	256
n/a	25549	TTGAGAAGCATGAAATTCCA	577034	48	257

[0377] 表9

[0378]

SEQ ID NO: 1的 靶起始 位点	SEQ ID NO: 2的 靶起始 位点	序列	ISIS编号	抑制%	SEQ ID NO
310	7990	GCCTTACTCTAGGACCAAGA	576816	90	40
75	1211	GACGGCTGACACACCAAGCG	576884	0	113
2	1138	GCGGGACACCGTAGGTTACG	577035	0	258
10	1146	CTTTCCTAGCGGGACACCGT	577036	1	259
18	1154	GCACCTCTCTTTCCTAGCGG	577037	0	260
26	1162	TGTTTGACGCACCTCTCTTT	577038	0	261
34	1170	CTTGTCGCTGTTTGACGCAC	577039	0	262
42	1178	GGGCGGAACCTTGTCGCTGTT	577040	0	263
83	1219	GCAGCAGGGACGGCTGACAC	577041	0	264
95	1231	AGAAGCAACCGGGCAGCAGG	577042	0	265
103	1239	CCCAAAAGAGAAGCAACCGG	577043	0	266
111	1247	ACCCCGCCCCCAAAAGAGAA	577044	1	267
119	1255	CTTGCTAGACCCCGCCCCCA	577045	0	268
127	1263	CACCTGCTCTTGCTAGACCC	577046	0	269
135	1271	TAAACCCACACCTGCTCTTG	577047	0	270
139	1275	CTCCTAAACCCACACCTGCT	577048	0	271
n/a	1283	ACACACACCTCCTAAACCCA	577049	0	272
n/a	1291	AAACAAAACACACACCTCC	577050	5	273
n/a	1299	GGTGGGAAAAACAAAACAC	577051	1	274
n/a	1326	CTGTGAGAGCAAGTAGTGGG	577052	3	275
n/a	1334	AGCGAGTACTGTGAGAGCAA	577053	0	276
n/a	1342	TCACCTCAGCGAGTACTGT	577054	0	277
n/a	1358	TCAGGTCTTTCTTGTTTAC	577055	0	278
n/a	1366	AATCTTTATCAGGTCTTTTC	577056	16	279
n/a	1374	TTCTGGTTAATCTTTATCAG	577057	22	280
n/a	1382	TTGTTTTCTTCTGGTTAATC	577058	19	281

[0379]

n/a	1390	TTCCCTCCTTGTTTCTTCT	577059	28	282
n/a	1398	GCGGTTGTTTCCCTCCTTGT	577060	17	283
n/a	1406	TACAGGCTGCGGTTGTTTCC	577061	28	284
n/a	1414	GAGCTTGCTACAGGCTGCGG	577062	23	285
n/a	1422	GAGTTCCAGAGCTTGCTACA	577063	14	286
n/a	1430	CGACTCCTGAGTTCCAGAGC	577064	0	287
n/a	1446	CCCGGCCCTAGCGCGCGAC	577065	0	288
n/a	1454	GCCCCGGCCCCGGCCCCCTAG	577066	0	289
n/a	1465	ACCACGCCCCGGCCCCGGCC	577067	0	290
n/a	1473	CCGCCCCGACCACGCCCCGG	577068	0	291
n/a	1481	CCCCGGGCCCGCCCCGACCA	577069	0	292
n/a	1495	CGCCCCGGGCCCGCCCCGG	577070	0	293
n/a	1503	CGCAGCCCCGCCCCGGGCC	577071	0	294
n/a	1511	ACCGCAACCGCAGCCCCGCC	577072	0	295
n/a	1519	GCGCAGGCACCGCAACCGCA	577073	18	296
n/a	1520	GGCGCAGGCACCGCAACCGC	577074	17	297
n/a	1536	CGCCTCCGCCCGCCGCGGGCG	577075	32	298
n/a	1544	ACCGCCTGCGCCTCCGCCGC	577076	43	299
n/a	1552	CACTCGCCACCGCCTGCGCC	577077	52	300
n/a	1553	CCACTCGCCACCGCCTGCGC	577078	52	301
n/a	1853	GGTCCCCGGAAGGAGACAG	577079	41	302
n/a	2453	AACAACCTGGTGCATGGCAAC	577080	42	303
n/a	2753	GTTTCAGATGTACTATCAGC	577081	63	304
n/a	3053	AAGGTGAAGTTCATATCACT	577082	10	305
n/a	3452	GGTAACTTCAAACCTTTGGG	577083	70	306
n/a	3752	GGTTCATGAGAGGTTTCCCA	577084	53	307
n/a	4052	TACTGAATTGCTTAGTTTTA	577085	25	308
n/a	4425	CTAACAGAATAAGAAAAAA	577086	0	309
n/a	5025	GAGCATTAGATGAGTGCTTT	577087	52	310
n/a	5325	TGCATTCCCTAAGCAATGTGT	577088	28	311
n/a	5661	TCTAGGCCTTACATTAATT	577089	37	312
n/a	5961	CCTGTCTATGCCTAGGTGAA	577090	19	313
n/a	6261	TAGCACATACAATTATTACA	577091	38	314
n/a	6566	GAGGAGAAGAACATAAACGC	577092	20	315
n/a	6866	TACCACAAGTCTGGAGCCAT	577093	27	316
n/a	7166	GATACTGGATTGTTGAAACT	577094	1	317
n/a	7466	TAGTATGACTGGAGATTTGG	577095	1	318
n/a	7766	ATCAAAACCCCAAATGATTT	577096	13	319
160	7840	ATCCAAATGCTCCGAGATA	577097	78	320
190	7870	TCGACATCACTGCATTCCAA	577098	95	321
220	7900	CAACAGCTGGAGATGGCGGT	577099	56	322
250	7930	ATTTGCCACTTAAAGCAATC	577100	62	323
340	8020	GTACCTGTTCTGTCTTTGGA	577101	76	324
370	8050	CAAGAAAAGTTATTTCTCCA	577102	65	325
400	8080	GAAGGATTTCTCCATTTAGA	577103	50	326

[0380]

430	8110	TTACATCTATAGCACCCTC	577104	73	327
460	8140	TCACTCCCTTTTCAGACAAG	577105	73	328
490	8170	AGTTTCCATCAAAGATTAAT	577106	55	329
520	8200	ATAGTCCATATGTGCTGCGA	577107	57	330
550	8230	AACTAAGTTCTGTCTGTGGA	577108	71	331
580	8260	CAACACACACTCTATGAAGT	577109	54	332
610	8290	TTCCTTTCCGGATTATATGT	577110	0	333

[0381] 表10

[0382]

靶 SEQ ID NO	靶起始 位点	ISIS 编号	序列	抑制%	SEQ ID NO
3	751	576885	TTTCCATTACAGGAATCACT	63	334
3	807	576886	ATCAGCCTATATCTATTTCC	15	335
3	855	576887	TCAATGACCAGGCGGTCCCC	0	336
3	905	576888	CTTTTTATGGAAAAGGAAAA	0	337
3	984	576889	TGTTTCCCCAAAAATTTCTG	0	338
4	50	576890	AGATATCCACTCGCCACCGC	42	339

[0383] 实施例2:HepG2细胞中人C90RF72的剂量依赖性反义抑制

[0384] 在HepG2细胞中选出以上描述的研究中在体外展现显著C90RF72mRNA抑制的反义寡核苷酸并以各种剂量进行测试。在一系列具有类似培养条件的实验中测试这些反义寡核苷酸。每一实验的结果呈现于以下所示各表中。将细胞以每孔20,000个细胞的密度涂布,并使用电穿孔法,用82.3nM、246.9nM、740.7nM、2,222.2nM、6,666.7nM或20,000nM浓度的反义寡核苷酸转染。在处理约16小时时间之后,从细胞中分离出RNA,并通过定量实时PCR测量C90RF72mRNA含量。使用人C90RF72引物探针集RTS3750测量mRNA含量。根据通过RIBOGREEN®测量的总RNA含量,调整C90RF72mRNA含量。结果是相对于未处理的对照细胞以C90RF72抑制百分比呈现。

[0385] 表11-13中还呈现了每种寡核苷酸的半数最大抑制浓度(IC<sub>50</sub>)。如所说明的,反义寡核苷酸处理的细胞中C90RF72mRNA含量以剂量依赖性方式降低。

[0386] 表11

[0387]

ISIS编号	82.3 nM	246.9 nM	740.7 nM	2222.2 nM	6666.7 nM	20000.0 nM	IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)
576816	5	23	49	76	91	96	0.9
576817	8	2	6	29	58	83	4.7
576818	0	22	31	68	87	90	1.4
576819	0	12	44	72	81	86	1.4
576820	18	24	52	78	91	93	0.7
576841	23	19	29	52	75	85	1.6
576842	6	12	13	37	53	83	4.1
576860	9	24	54	70	83	87	1.0
576878	1	9	26	61	77	83	2.0
576931	16	21	24	49	77	83	1.8
576942	6	16	26	57	78	85	1.8



[0388] 表12

ISIS编号	82.3 nM	246.9 nM	740.7 nM	2222.2 nM	6666.7 nM	20000.0 nM	IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)
576894	9	30	38	61	75	84	1.3
576896	17	17	28	47	66	76	2.5
576927	3	26	40	60	79	81	1.5
576943	37	37	55	77	84	82	0.4
576945	20	41	56	73	83	84	0.6
576946	8	28	46	69	81	88	1.0
576963	0	0	25	51	63	83	2.9
576964	11	18	37	58	73	77	1.8
576967	19	31	48	68	77	85	0.9
577028	6	19	25	59	79	88	1.6
577029	7	22	44	67	77	85	1.3

[0390] 表13

ISIS编号	82.3 nM	246.9 nM	740.7 nM	2222.2 nM	6666.7 nM	20000.0 nM	IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)
576960	0	12	28	49	58	78	3.2
576974	25	45	65	70	65	78	0.5
576816	18	36	53	82	91	95	0.6
577097	22	20	31	63	82	94	1.1
577101	16	23	39	62	80	89	1.2
577105	0	4	30	48	78	92	2.0
577104	4	1	16	56	80	92	2.0
577108	0	0	24	52	76	83	2.9
577083	0	0	24	50	73	74	3.0
577078	0	0	10	15	30	75	10.8
577077	0	0	22	22	51	83	5.0

[0392] 实施例3:HepG2细胞中人C90RF72的剂量依赖性反义抑制

[0393] 在HepG2细胞中选出以上描述的研究中在体外展现显著C90RF72mRNA抑制的反义寡核苷酸并以各种剂量进行测试。在一系列具有类似培养条件的实验中测试这些反义寡核苷酸。每一实验的结果呈现于以下所示各表中。将细胞以每孔20,000个细胞的密度涂布,并使用电穿孔法,用246.9nM、740.7nM、2,222.2nM、6,666.7nM或20,000nM浓度的反义寡核苷酸转染。在处理约16小时时间之后,从细胞中分离出RNA,并通过定量实时PCR测量C90RF72总mRNA含量以及外显子1转录物的mRNA含量。使用人C90RF72引物探针集RTS3750测量总C90RF72mRNA含量。使用引物探针集RTS3905(正向引物GGGTCTAGCAAGAGCAGGTG,在本文中指定为SEQ ID NO:18;反向序列GTCTTGGAACAGCTGGAGAT,在本文中指定为SEQ ID NO:19;探针序列TGATGTCGACTCTTTGCCCA CCGC,在本文中指定为SEQ ID NO:20)测量外显子1信使转录物。根据通过RIBOGREEN®测量的总RNA含量,调整C90RF72mRNA含量。结果是相对于未处理的对照细胞以C90RF72抑制百分比呈现。

[0394] 表14和15中还呈现了每种寡核苷酸的半数最大抑制浓度(IC<sub>50</sub>)。如所说明的,反义寡核苷酸处理的细胞中C90RF72mRNA含量以剂量依赖性方式降低。‘n.d.’指示没有关于所述特定剂量的数据。

[0395] 表14

[0396] 总C9ORF72mRNA含量的抑制%

ISIS编号	246.9 nM	740.7 nM	2222.2 nM	6666.7 nM	20000.0 nM	IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)
576816	29	53	84	90	92	0.60
576820	20	42	70	87	75	1.19
576860	25	53	72	86	85	0.80
576974	36	49	64	65	68	0.95
577041	3	0	0	0	0	>20.00
577042	0	2	0	3	0	>20.00
577061	0	3	0	4	0	>20.00
577065	7	0	1	6	0	>20.00
577069	3	0	3	0	0	>20.00
577073	7	0	8	11	0	>20.00
577074	0	7	11	15	0	>20.00
577078	0	2	20	65	81	5.22
577083	0	19	55	71	75	3.35
577088	6	11	49	61	74	3.93
577097	3	38	62	78	82	1.94

[0398] 表15

[0399] C9ORF72外显子1mRNA含量的抑制%

ISIS编号	246.9 nM	740.7 nM	2222.2 nM	6666.7 nM	20000.0 nM	IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)
576794	42	67	n.d.	93	87	0.27
576816	45	78	93	n.d.	n.d.	0.26
576820	54	65	92	98	94	<0.247
576860	43	36	71	95	91	0.66
577041	0	0	49	4	31	>20.00
577042	9	15	0	33	12	>20.00
577061	8	36	70	67	76	2.03
577065	20	55	67	82	62	1.06
577069	22	24	61	74	70	2.16
577073	4	62	69	82	81	1.21
577074	8	49	69	85	85	1.29
577078	0	21	59	81	n.d.	1.90
577083	30	43	85	88	92	0.71
577088	38	44	79	87	91	0.61
577097	17	47	52	94	89	1.27

[0401] 实施例4:HepG2细胞中人C9ORF72的反义抑制

[0402] 设计出靶向C9ORF72核酸的六核苷酸重复扩增的反义寡核苷酸并且在体外测试其对C9ORF72mRNA的影响。在一系列具有类似培养条件的实验中测试这些反义寡核苷酸。每一实验的结果呈现于以下所示各表中。这些比较检验中包括了ISIS 576816和ISIS 577065。使用电穿孔法,用7,000nM的反义寡核苷酸转染按每孔35,000个细胞的密度培养的C9ORF72

成纤维细胞。在处理约24小时时间之后,从细胞中分离出RNA,并通过定量实时PCR测量C9ORF72mRNA含量。使用人引物探针集RTS3750、RTS 3905或RTS4097(正向序列CAAGCCACCGTCTCACTCAA,在本文中指定为SEQ ID NO:24;反向引物GTAGTGCTGTCTACTCCAGAGAGTTACC,在本文中指定为SEQ ID NO:25;探针序列CTTGGCTTCCCTCAAAAGACTGGCTAATGT,在本文中指定为SEQ ID NO:26)测量mRNA含量。RTS3750靶向mRNA转录物的外显子2,并因此测量总mRNA转录物。RTS3905靶向含有六核苷酸重复扩增的转录物,并因此仅测量含有该六核苷酸重复扩增的mRNA转录物。RTS4097靶向在六核苷酸重复扩增3'位点处的基因序列。根据通过RIBOGREEN®测量的总RNA含量,调整mRNA含量。结果是相对于未处理的对照细胞以C9ORF72抑制百分比呈现。‘n.d.’指示没有关于所述特定反义寡核苷酸的数据。

[0403] 表16中的反义寡核苷酸被设计为均一的MOE寡核苷酸,或3-10-3MOE、4-10-3MOE、4-10-4MOE、5-10-4MOE或5-10-5MOE间隙聚体。均一的MOE寡核苷酸是20个核苷长,其中每个核苷包含2'-MOE基团。3-10-3MOE间隙聚体是16个核苷长,其中中心间隙区段包含十个2'-脱氧核苷,并且在5'端上和3'端上侧接各自包含三个核苷的翼区段。4-10-3间隙聚体是17个核苷长,其中中心间隙区段包含十个2'-脱氧核苷,并且在5'端上和3'端上侧接分别包含四个核苷和三个核苷的翼区段。4-10-4间隙聚体是18个核苷长,其中中心间隙区段包含十个2'-脱氧核苷,并且在5'端上和3'端上侧接各自包含四个核苷的翼区段。5-10-4间隙聚体是19个核苷长,其中中心间隙区段包含十个2'-脱氧核苷,并且在5'端上和3'端上侧接分别包含五个核苷和四个核苷的翼区段。5-10-5间隙聚体是20个核苷长,其中中心间隙区段包含十个2'-脱氧核苷,并且在5'端上和3'端上侧接各自包含五个核苷的翼区段。5'翼区段中的每个核苷以及3'翼区段中的每个核苷都包含2'-MOE基团。在每个寡核苷酸中的核苷间键都是硫代磷酸酯键。每个寡核苷酸中的所有胞嘧啶残基都是5-甲基胞嘧啶。“起始位点”指示人基因序列中反义寡核苷酸靶向的5'-最末端核苷。“终止位点”指示人基因序列中反义寡核苷酸靶向的3'-最末端核苷。表16中所列的每个反义寡核苷酸都靶向人C9ORF72基因组序列(在本文中指定为SEQ ID NO:2;截短核苷27535000到27565000的GENBANK登录号NT\_008413.18的补体)或SEQ ID NO:13(C9ORF72基因内含子1中六核苷酸重复的扩增型)。

[0404] 数据指示,某些反义寡核苷酸优先抑制含有六核苷酸重复的C9ORF72mRNA转录物的含量。

[0405] 表16

[0406]

SEQ ID NO: 2 上的 靶起始 位点	SEQ ID NO: 13 上的 靶起始 位点	基序	序列	ISIS 编号	抑制% (RTS3750)	抑制% (RTS3905)	抑制% (RTS4097)	SEQ ID NO
1457	1	均一 MOE	CCGGCCCCGGCCC CGGCCCC	573674	0	34	0	340
	7							
	13							
1458	2	均一 MOE	CCCGGCCCCGGCC CCGGCCC	573675	0	28	0	341
	8							
	14							
1459	3	均一 MOE	CCCCGGCCCCGGC CCCGGCC	573676	0	34	0	342
	9							
	15							
1460	4	均一 MOE	GCCCCGGCCCCGG CCCCGGC	573677	4	41	0	343
	10							
	16							
n/a	5	均一 MOE	GGCCCCGGCCCCG GCCCCGG	573678	12	11	6	344
	11							
	17							
n/a	6	均一 MOE	CGGCCCCGGCCCC GGCCCCG	573679	0	0	0	345
	12							
1457	1	均一 MOE	CGGCCCCGGCCCC GGCCCC	573680	10	6	0	346
	7							
	13							

[0407]

1458	2	均一 MOE	CCGGCCCCGGCCC CGGCC	573681	13	23	0	347
	8							
	14							
1459	3	均一 MOE	CCCGGCCCCGGCC CCGGCC	573682	2	48	0	348
	9							
	15							
1460	4	均一 MOE	CCCCGGCCCCGGC CCCGGC	573683	0	38	0	349
	10							
	16							
1461	5	均一 MOE	GCCCCGGCCCCGG CCCCGG	573684	0	0	0	350
	11							
	17							
n/a	6	均一 MOE	GGCCCCGGCCCCG GCCCCG	573685	0	27	0	351
	12							
	18							
1457	1	均一 MOE	GGCCCCGGCCCCG GCCCC	573686	0	40	0	352
	7							
	13							
1458	2	均一 MOE	CGGCCCCGGCCCC GGCCC	573687	0	0	0	353
	8							
	14							
1459	3	均一 MOE	CCGGCCCCGGCCC CGGCC	573688	22	0	0	354
	9							
	15							
1460	4	均一 MOE	CCCGGCCCCGGCC CCGGC	573689	0	22	0	355
	10							
	16							
1461	5	均一 MOE	CCCCGGCCCCGGC CCCGG	573690	15	43	0	356
	11							
	17							
1462	6	均一 MOE	GCCCCGGCCCCGG CCCCG	573691	10	16	0	357
	12							
	18							
1457	1	均一 MOE	GCCCCGGCCCCGG CCCC	573692	6	65	0	358
	7							
	13							
1463	19							
1458	2	均一 MOE	GGCCCCGGCCCCG GCCC	573693	9	0	0	359
	8							
	14							
1459	3	均一 MOE	CGGCCCCGGCCCC GGCC	573694	10	0	0	360
	9							
	15							
1460	4	均一 MOE	CCGGCCCCGGCCC CGGC	573695	3	42	0	361
	10							
	16							
1461	5	均一 MOE	CCCCGGCCCCGGC CCGG	573696	0	23	0	362
	11							
	17							
1462	6	均一 MOE	CCCCGGCCCCGGC CCCCG	573697	0	28	0	363
	12							
	18							
1457	1	均一 MOE	CCCCGGCCCCGGC CCC	573698	1	68	0	364
	7							

[0408]

1463	13							
	19							
1458	2	均一 MOE	GCCCCGGCCCCG CCC	573699	0	31	0	365
	8							
1464	14							
	20							
1459	3	均一 MOE	GGCCCCGGCCCCG GCC	573700	7	2	2	366
	9							
	15							
	21							
1460	4	均一 MOE	CGGCCCCGGCCCC GGC	573701	15	1	8	367
	10							
	16							
1461	5	均一 MOE	CCGGCCCCGGCCCC CGG	573702	26	0	0	368
	11							
	17							
1462	6	均一 MOE	CCCGGCCCCGGCC CCG	573703	12	52	10	369
	12							
	18							
1457	1	5-10-5 MOE	CCGGCCCCGGCCCC CGGCCCC	573716	0	93	46	340
	7							
	13							
1458	2	5-10-5 MOE	CCCGGCCCCGGCC CCGGCCC	573717	0	98	0	341
	8							
	14							
1459	3	5-10-5 MOE	CCCGGCCCCGGCC CCCGGCC	573718	0	98	2	342
	9							
	15							
1460	4	5-10-5 MOE	GCCCCGGCCCCGG CCCCGGC	573719	0	68	19	343
	10							
	16							
n/a	5	5-10-5 MOE	GGCCCCGGCCCCG GCCCCGG	573720	13	90	18	344
	11							
	17							
n/a	6	5-10-5 MOE	CGGCCCCGGCCCC GGCCCCG	573721	0	98	18	345
	12							
1457	1	5-10-4 MOE	CGGCCCCGGCCCC GGCCCC	573722	0	97	0	346
	7							
	13							
1458	2	5-10-4 MOE	CCGGCCCCGGCCCC CGGCCCC	573723	0	n.d.	8	347
	8							
	14							
1459	3	5-10-4 MOE	CCCGGCCCCGGCC CCGGCC	573724	0	94	28	348
	9							
	15							
1460	4	5-10-4 MOE	CCCGGCCCCGGCC CCCGGC	573725	0	94	7	349
	10							
	16							
1461	5	5-10-4 MOE	GCCCCGGCCCCGG CCCCGG	573726	0	n.d.	28	350
	11							
	17							
n/a	6	5-10-4 MOE	GGCCCCGGCCCCG GCCCCG	573727	0	98	40	351
	12							
	18							
1457	1	4-10-4 MOE	GGCCCCGGCCCCG GCCCC	573728	0	97	19	352
	7							

[0409]

	13							
	19							
1458	2	4-10-4	CGGCCCCGGCCCC	573729	0	n.d.	36	353
	8	MOE	GGCCC					
	14							
1459	3	4-10-4	CCGGCCCCGGCCCC	573730	0	94	24	354
	9	MOE	CGGCC					
	15							
1460	4	4-10-4	CCCGGCCCCGGCC	573731	0	97	13	355
	10	MOE	CCGGC					
	16							
1461	5	4-10-4	CCCCGGCCCCGGC	573732	0	97	1	356
	11	MOE	CCCGG					
	17							
1462	6	4-10-4	GCCCCGGCCCCGG	573733	0	n.d.	0	357
	12	MOE	CCCCG					
	18							
1457	1	4-10-3	GCCCCGGCCCCGG	573734	0	96	0	358
	7	MOE	CCCC					
1463	13							
	19							
1458	2	4-10-3	GGCCCCGGCCCCG	573735	0	94	21	359
	8	MOE	GCCC					
	14							
	20							
1459	3	4-10-3	CGGCCCCGGCCCC	573736	0	93	43	360
	9	MOE	GGCC					
	15							
1460	4	4-10-3	CCGGCCCCGGCCCC	573737	0	96	19	361
	10	MOE	CGGC					
	16							
1461	5	4-10-3	CCCGGCCCCGGCC	573738	0	n.d.	24	362
	11	MOE	CCGG					
	17							
1462	6	4-10-3	CCCCGGCCCCGGC	573739	0	n.d.	34	363
	12	MOE	CCCCG					
	18							
1457	1	3-10-3	CCCCGGCCCCGGC	573740	0	n.d.	4	364
	7	MOE	CCC					
1463	13							
	19							
1458	2	3-10-3	GCCCCGGCCCCGG	573741	0	95	6	365
	8	MOE	CCC					
1464	14							
	20							
1459	3	3-10-3	GGCCCCGGCCCCG	573742	23	97	49	366
	9	MOE	GCC					
	15							
	21							
1460	4	3-10-3	CGGCCCCGGCCCC	573743	0	96	0	367
	10	MOE	GGC					
	16							
1461	5	3-10-3	CCGGCCCCGGCCCC	573744	0	94	34	368
	11	MOE	CGG					
	17							
1462	6	3-10-3	CCCGGCCCCGGCC	573745	0	n.d.	8	369

[0410]

	12	MOE	CCG					
	18							
7990	n/a	5-10-5	GCCTTACTCTAGG	576816	83	91	29	40
		MOE	ACCAAGA					
1446	n/a	5-10-5	CCCGGCCCTAGC	577065	0	87	34	288
		MOE	GCGCGAC					

[0411] 实施例5:用C90RF72反义寡核苷酸处理的体内啮齿类动物抑制作用和耐受性

[0412] 为了评估在体内对C90RF72表达抑制的耐受性,设计出靶向鼠科动物C90RF72核酸的反义寡核苷酸并在小鼠和大鼠模型中进行评估。

[0413] ISIS 571883被设计为5-10-5MOE间隙聚体,20个核苷长,其中中心间隙区段包含十个2'-脱氧核苷,并且在5'端上和3'端上侧接各自包含五个核苷的翼区段。5'翼区段中的

每个核苷以及3'翼区段中的每个核苷都具有MOE修饰。核苷间键是硫代磷酸酯键。整个间隙聚体中的所有胞嘧啶残基都是5-甲基胞嘧啶。ISIS 571883在鼠科动物C9ORF72基因组序列上具有起始位点核苷33704,在本文中指定为SEQ ID NO:11(截短核苷3587000到3625000的GENBANK登录号NT\_166289.1的补体)。

[0414] ISIS 603538被设计为5-10-5MOE间隙聚体,20个核苷长,其中中心间隙区段包含十个2'-脱氧核苷,并且在5'端上和3'端上侧接各自包含五个核苷的翼区段。5'翼区段中的每个核苷以及3'翼区段中的每个核苷都具有MOE修饰。核苷间键是硫代磷酸酯键或磷酸酯键(Gs Ao Co Co Gs Cs Ts Ts Gs As Gs Ts Ts Ts Gs Co Co Ao Cs A;其中's'表示硫代磷酸酯核苷间键;'o'表示磷酸酯键;且A、G、C、T表示相关核苷)。整个间隙聚体中的所有胞嘧啶残基都是5-甲基胞嘧啶。ISIS 603538在大鼠C9ORF72mRNA序列上具有靶起始位点核苷2872,其在本文中指定为SEQ ID NO:12(GENBANK登录号NM\_001007702.1)。

#### [0415] 小鼠实验1

[0416] 经脑室内大剂量注射分别向一组4只C57BL/6小鼠各自注射50μg、100μg、300μg、500μg或700μg的ISIS 571883。对照组的四只C57/BL6小鼠类似地用PBS进行处理。用3%异氟烷使动物麻醉,并将其放入立体定位架中。在对手术部位灭菌之后,使用Hamilton注射器,在前囟前后-0.2mm及颅骨平面向下距前囟3mm处向每只小鼠注射以上提到的剂量的ISIS 571883。用缝合线闭合切口。使小鼠恢复14天,之后根据实验动物管理和使用委员会(Institutional Animal Care and Use Committee)推荐的人道方案对动物实施安乐死。采集脑组织和脊髓组织并在液氮中速冻。在冷冻前,使用小鼠脑切片模具将脑组织横向切割成五个切片。

#### [0417] RNA分析

[0418] 从注射部位后部的2-3mm脑切片、额皮质及腰椎脊髓组织切片提取RNA以分析C9ORF72mRNA的表达。通过RT-PCR测量C9ORF72mRNA的表达。数据示于表17中。结果指示,用递增剂量的ISIS 571883处理引起C9ORF72mRNA表达的剂量依赖性抑制。

[0419] 还评估微神经胶质细胞标记物AIF-1的诱导作为CNS毒性的量度。数据示于表18中。结果指示,用递增剂量的ISIS 571883处理不会引起AIF-1mRNA表达的显著增加。因此,认为在此模型中注射ISIS 571883是可耐受的。

#### [0420] 表17

[0421] 相较于PBS对照组C9ORF72mRNA表达的抑制百分比

[0422]

剂量(μg)	后脑	皮质	脊髓
50	22	8	46
100	22	12	47
300	55	47	67
500	61	56	78
700	65	65	79

#### [0423] 表18

[0424] 相较于PBS对照组AIF-1mRNA表达的百分比



[0425]	剂量 (μg)	后脑	脊髓
	50	102	89
	100	105	111
[0426]	300	107	98
	500	131	124
	700	122	116

[0427] 小鼠实验2

[0428] 以与以上所描述程序类似的程序,经脑室内大剂量注射分别向一组4只C57BL/6小鼠注射500μg的ISIS 571883。对照组的四只C57/BL6小鼠类似地用PBS进行处理。ICV施用之后,在有规律的时间点测试小鼠。

[0429] 行为分析

[0430] 采用了评估运动行为的两项标准测定:转棒测定和握力测定。在转棒测定的情况下,测量掉落的等待时间(latency)。这些测定的数据呈现于表19和表20中。结果指示,由于ISIS 571883的反义抑制或由于ICV注射,小鼠的运动行为无显著改变。因此,认为在此模型中C90RF72的反义抑制是可耐受的。

[0431] 表19

[0432] 在转棒测定中掉落的等待时间(秒)

[0433]	注射后的周数	PBS	ISIS 571883
	0	66	66
	4	91	70
	8	94	84

[0434] 表20

[0435] 在握力测定中的平均后肢握力(g)

[0436]	注射后的周数	PBS	ISIS 571883
	0	57	63
	1	65	51
[0437]	2	51	52
	3	51	51
	4	59	72
	5	60	64
	6	61	72
	7	67	68
	8	66	70
	9	63	61
	10	48	46

## [0438] 大鼠实验

[0439] 经鞘内大剂量注射分别向一组4只Sprague-Dawley大鼠注射700 $\mu$ g、1,000 $\mu$ g或3,000 $\mu$ g的ISIS 603538。对照组的四只Sprague-Dawley大鼠类似地用PBS进行处理。用3%异氟烷使动物麻醉,并将其放入立体定位架中。对手术部位灭菌之后,在50 $\mu$ L冲洗液下经由伸入椎管中2cm的8cm鞘内导管向每只大鼠注射30 $\mu$ L的ASO溶液。使大鼠恢复4周,之后根据实验动物管理和使用委员会推荐的人道方案对动物实施安乐死。

## [0440] RNA分析

[0441] 从注射部位后部的2-3mm脑切片、脑额皮质以及脊髓组织的颈椎和腰椎切片提取RNA以分析C9ORF72mRNA的表达。通过RT-PCR测量C9ORF72mRNA的表达。数据示于表21中。结果指示,用递增剂量的ISIS 603538治疗引起C9ORF72mRNA表达的剂量依赖性抑制。

[0442] 还评估微神经胶质细胞标记物AIF-1的诱导作为CNS毒性的量度。数据示于表22中。结果指示,用递增剂量的ISIS 603538处理不会引起AIF-1mRNA表达的显著增加。因此,认为在此模型中注射ISIS 603538是可耐受的。

## [0443] 表21

[0444] 相较于PBS对照组C9ORF72mRNA表达的抑制百分比

	剂量 ( $\mu$ g)	脑 (1 mm 切片)	皮质	脊髓 (腰 椎)	脊髓 (颈 椎)
[0445]	700	21	4	86	74
	1000	53	49	88	82
	3000	64	62	88	80

## [0446] 表22

[0447] 相较于PBS对照组AIF-1mRNA表达的表达百分比

	剂量 ( $\mu$ g)	脑 (1 mm 切片)	皮质	脊髓 (腰 椎)	脊髓 (颈 椎)
[0448]	700	97	119	98	89
	1000	105	113	122	96
	3000	109	141	156	115

## [0449] 体重分析

[0450] 以有规律的时间点间隔测量大鼠的体重。数据示于表23中。结果指示,用递增剂量的ISIS 603538处理不会引起大鼠体重的任何显著变化。

## [0451] 表23

[0452] 大鼠的体重(%初始体重)

	剂量 (μg)	第 1 周	第 2 周	第 3 周	第 4 周	第 5 周
[0453]	PBS	100	94	103	105	109
	ISIS 603538	700	100	94	98	103
		1000	100	95	97	101
		3000	100	92	98	102

[0454] 实施例6:在两个患者成纤维细胞系中人C90RF72表达的优先抑制

[0455] 用靶向外显子1B之前的C90RF72前体mRNA序列的反义寡核苷酸,即,靶向含六核苷酸重复扩增的转录物的反义寡核苷酸及靶向外显子1下游的反义寡核苷酸分析来自人类患者的两个不同的成纤维细胞细胞系 (F09-152和F09-229)。表24中就SEQ ID NO:1和2提供了每个寡核苷酸的靶起始位点和终止位点以及靶区。ISIS 577061和ISIS 577065靶向在外显子1B上游并且刚好在六核苷酸重复的上游的C90RF72。表24中的其余ISIS寡核苷酸靶向在外显子1B下游的C90RF72及六核苷酸重复。

[0456] 表24

[0457] 用于C90RF72患者成纤维细胞的剂量反应测定中的ISIS寡核苷酸的靶起始位点和终止位点

[0458]

ISIS 编号	SEQ ID NO: 1 的靶起始位点	SEQ ID NO: 2 的靶起始位点	靶区
577061	n/a	1406	外显子 1B 的上游
577065	n/a	1446	外显子 1B 的上游
577083	n/a	3452	外显子 1B 的下游
576816	232	7990	外显子 2
576974	3132	28251	外显子 11

[0459] 将细胞以每孔20,000个细胞的密度涂布,并使用电穿孔法,用246.9nM、740.7nM、2,222.2nM、6,666.7nM及20,000.0nM浓度的反义寡核苷酸转染。在处理约16小时时间之后,从细胞中分离出RNA,并通过定量实时PCR测量C90RF72mRNA含量。使用两个引物探针集:(1)人C90RF72引物探针集RTS3750,用于测量总mRNA含量;及(2)RTS3905,用于靶向含六核苷酸重复扩增的转录物,仅测量含有六核苷酸重复扩增的mRNA转录物。根据通过RIBOGREEN®测量的总RNA含量,调整C90RF72mRNA含量。结果是相对于未处理的对照细胞以C90RF72抑制百分比呈现。

[0460] 如下表25中所说明,靶向外显子1B上游并因此靶向含有六核苷酸重复扩增的mRNA转录物的两个寡核苷酸 (ISIS 577061和ISIS577065),以及靶向外显子1B下游并因此不靶

向含有六核苷酸重复扩增的mRNA转录物的ISIS 576974、ISIS 576816及ISIS 577083不抑制C90RF72的总mRNA含量(如通过RTS3750测量)。如下表25所示,含有六核苷酸重复扩增的C90RF72mRNA转录物的表达水平较低(占总C90RF72表达产物约10%),因此,靶向含有六核苷酸重复扩增的mRNA转录物的寡核苷酸不能有力地抑制总C90RF72mRNA(如通过RTS3905测量)。因此,ISIS 577061和ISIS 577065优先抑制含有六核苷酸重复扩增的mRNA转录物的表达。

[0461] 表25

[0462] 如用RTS3750测量的在剂量反应测定中F09-152患者成纤维细胞中C90RF72总mRNA的抑制百分比

ISIS 编号	246.9 nM	740.7 nM	2222.2 nM	6666.7 nM	20000.0 nM
577061	6	11	0	18	10
577065	10	11	30	29	0
576974	61	69	72	83	83
576816	35	76	82	91	93
577083	28	38	52	75	80

[0464] 表26

[0465] 如用RTS3905测量的在剂量反应测定中F09-152患者成纤维细胞中含六核苷酸重复扩增的C90RF72mRNA转录物的抑制百分比

ISIS 编号	246.9 nM	740.7 nM	2222.2 nM	6666.7 nM	20000.0 nM
577061	4	28	58	81	87
577065	25	54	70	90	94
576974	57	77	81	93	92
576816	37	77	91	97	98
577083	37	53	74	93	94

[0467] 表27

[0468] 如用RTS3750测量的在剂量反应测定中F09-229患者成纤维细胞中C90RF72总mRNA的抑制百分比

ISIS 编号	246.9 nM	740.7 nM	2222.2 nM	6666.7 nM	20000.0 nM
577061	0	0	0	17	7
577065	8	17	17	16	3
576974	43	58	85	85	74
576816	45	70	85	81	89
577083	22	45	56	76	78

[0470] 表28

[0471] 如用RTS3905测量的在剂量反应测定中F09-229患者成纤维细胞中含六核苷酸重复扩增的C9ORF72mRNA转录物的抑制百分比

[0472]

ISIS 编号	246.9 nM	740.7 nM	2222.2 nM	6666.7 nM	20000.0 nM
577061	14	36	70	87	89
577065	26	48	92	91	98
576974	63	87	91	92	91
576816	62	81	96	98	100
577083	36	64	82	98	96

[0001]

## 序列表

&lt;110&gt; ISIS 制药公司

&lt;120&gt; 用于调节C90RF72表达的组合物

&lt;130&gt; BIOL0211W0

&lt;140&gt; PCT/US2013/065073

&lt;141&gt; 2013-10-15

&lt;150&gt; 61/714, 132

&lt;151&gt; 2012-10-15

&lt;160&gt; 369

&lt;170&gt; PatentIn 3.5版

&lt;210&gt; 1

&lt;211&gt; 3339

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 智人

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (203).. (1648)

&lt;400&gt; 1

acgtaaccta cgggtgtcccg ctaggaaaga gaggtgcgtc aaacagcgac aagttccgcc 60

cacgtaaaag atgacgcttg gtgtgtcagc cgccccgtgct gcccggttgc ttctcttttg 120

ggggcgggggt ctagcaagag caggtgtggg tttaggagat atctccggag catttgata 180

atgtgacagt tggaatgcag tg atg tcg act ctt tgc cca ccg cca tct cca 232  
Met Ser Thr Leu Cys Pro Pro Pro Ser Pro  
1 5 10gct gtt gcc aag aca gag att gct tta agt ggc aaa tca cct tta tta 280  
Ala Val Ala Lys Thr Glu Ile Ala Leu Ser Gly Lys Ser Pro Leu Leu  
15 20 25gca gct act ttt gct tac tgg gac aat att ctt ggt cct aga gta agg 328  
Ala Ala Thr Phe Ala Tyr Trp Asp Asn Ile Leu Gly Pro Arg Val Arg  
30 35 40cac att tgg gct cca aag aca gaa cag gta ctt ctc agt gat gga gaa 376  
His Ile Trp Ala Pro Lys Thr Glu Gln Val Leu Leu Ser Asp Gly Glu  
45 50 55ata act ttt ctt gcc aac cac act cta aat gga gaa atc ctt cga aat 424  
Ile Thr Phe Leu Ala Asn His Thr Leu Asn Gly Glu Ile Leu Arg Asn  
60 65 70gca gag agt ggt gct ata gat gta aag ttt ttt gtc ttg tct gaa aag 472  
Ala Glu Ser Gly Ala Ile Asp Val Lys Phe Phe Val Leu Ser Glu Lys  
75 80 85 90

[0002]

gga gtg att att gtt tca tta atc ttt gat gga aac tgg aat ggg gat Gly Val Ile Ile Val Ser Leu Ile Phe Asp Gly Asn Trp Asn Gly Asp 95 100 105	520
cgc agc aca tat gga cta tca att ata ctt cca cag aca gaa ctt agt Arg Ser Thr Tyr Gly Leu Ser Ile Ile Leu Pro Gln Thr Glu Leu Ser 110 115 120	568
ttc tac ctc cca ctt cat aga gtg tgt gtt gat aga tta aca cat ata Phe Tyr Leu Pro Leu His Arg Val Cys Val Asp Arg Leu Thr His Ile 125 130 135	616
atc cgg aaa gga aga ata tgg atg cat aag gaa aga caa gaa aat gtc Ile Arg Lys Gly Arg Ile Trp Met His Lys Glu Arg Gln Glu Asn Val 140 145 150	664
cag aag att atc tta gaa ggc aca gag aga atg gaa gat cag ggt cag Gln Lys Ile Ile Leu Glu Gly Thr Glu Arg Met Glu Asp Gln Gly Gln 155 160 165 170	712
agt att att cca atg ctt act gga gaa gtg att cct gta atg gaa ctg Ser Ile Ile Pro Met Leu Thr Gly Glu Val Ile Pro Val Met Glu Leu 175 180 185	760
ctt tca tct atg aaa tca cac agt gtt cct gaa gaa ata gat ata gct Leu Ser Ser Met Lys Ser His Ser Val Pro Glu Glu Ile Asp Ile Ala 190 195 200	808
gat aca gta ctc aat gat gat gat att ggt gac agc tgt cat gaa ggc Asp Thr Val Leu Asn Asp Asp Asp Ile Gly Asp Ser Cys His Glu Gly 205 210 215	856
ttt ctt ctc aat gcc atc agc tca cac ttg caa acc tgt ggc tgt tcc Phe Leu Leu Asn Ala Ile Ser Ser His Leu Gln Thr Cys Gly Cys Ser 220 225 230	904
gtt gta gta ggt agc agt gca gag aaa gta aat aag ata gtc aga aca Val Val Val Gly Ser Ser Ala Glu Lys Val Asn Lys Ile Val Arg Thr 235 240 245 250	952
tta tgc ctt ttt ctg act cca gca gag aga aaa tgc tcc agg tta tgt Leu Cys Leu Phe Leu Thr Pro Ala Glu Arg Lys Cys Ser Arg Leu Cys 255 260 265	1000
gaa gca gaa tca tca ttt aaa tat gag tca ggg ctc ttt gta caa ggc Glu Ala Glu Ser Ser Phe Lys Tyr Glu Ser Gly Leu Phe Val Gln Gly 270 275 280	1048
ctg cta aag gat tca act gga agc ttt gtg ctg cct ttc cgg caa gtc Leu Leu Lys Asp Ser Thr Gly Ser Phe Val Leu Pro Phe Arg Gln Val 285 290 295	1096
atg tat gct cca tat ccc acc aca cac ata gat gtg gat gtc aat act Met Tyr Ala Pro Tyr Pro Thr Thr His Ile Asp Val Asp Val Asn Thr 300 305 310	1144
gtg aag cag atg cca ccc tgt cat gaa cat att tat aat cag cgt aga	1192

[0003]

Val 315	Lys	Gln	Met	Pro	Pro 320	Cys	His	Glu	His	Ile 325	Tyr	Asn	Gln	Arg	Arg 330	
tac	atg	aga	tcc	gag	ctg	aca	gcc	ttc	tgg	aga	gcc	act	tca	gaa	gaa	1240
Tyr	Met	Arg	Ser	Glu 335	Leu	Thr	Ala	Phe	Trp	Arg 340	Ala	Thr	Ser	Glu 345	Glu	
gac	atg	gct	cag	gat	acg	atc	atc	tac	act	gac	gaa	agc	ttt	act	cct	1288
Asp	Met	Ala	Gln 350	Asp	Thr	Ile	Ile	Tyr 355	Thr	Asp	Glu	Ser	Phe 360	Thr	Pro	
gat	ttg	aat	att	ttt	caa	gat	gtc	tta	cac	aga	gac	act	cta	gtg	aaa	1336
Asp	Leu	Asn 365	Ile	Phe	Gln	Asp	Val 370	Leu	His	Arg	Asp	Thr 375	Leu	Val	Lys	
gcc	ttc	ctg	gat	cag	gtc	ttt	cag	ctg	aaa	cct	ggc	tta	tct	ctc	aga	1384
Ala	Phe	Leu	Asp	Gln	Val	Phe 385	Gln	Leu	Lys	Pro	Gly 390	Leu	Ser	Leu	Arg	
agt	act	ttc	ctt	gca	cag	ttt	cta	ctt	gtc	ctt	cac	aga	aaa	gcc	ttg	1432
Ser	Thr	Phe	Leu	Ala	Gln 400	Phe	Leu	Leu	Val	Leu 405	His	Arg	Lys	Ala	Leu 410	
aca	cta	ata	aaa	tat	ata	gaa	gac	gat	acg	cag	aag	gga	aaa	aag	ccc	1480
Thr	Leu	Ile	Lys	Tyr 415	Ile	Glu	Asp	Asp	Thr 420	Gln	Lys	Gly	Lys	Lys	Pro 425	
ttt	aaa	tct	ctt	cgg	aac	ctg	aag	ata	gac	ctt	gat	tta	aca	gca	gag	1528
Phe	Lys	Ser	Leu 430	Arg	Asn	Leu	Lys	Ile 435	Asp	Leu	Asp	Leu	Thr 440	Ala	Glu	
ggc	gat	ctt	aac	ata	ata	atg	gct	ctg	gct	gag	aaa	att	aaa	cca	ggc	1576
Gly	Asp	Leu 445	Asn	Ile	Ile	Met	Ala 450	Leu	Ala	Glu	Lys	Ile 455	Lys	Pro	Gly	
cta	cac	tct	ttt	atc	ttt	gga	aga	cct	ttc	tac	act	agt	gtg	caa	gaa	1624
Leu	His	Ser	Phe	Ile	Phe 465	Gly	Arg	Pro	Phe	Tyr	Thr 470	Ser	Val	Gln	Glu	
cga	gat	gtt	cta	atg	act	ttt	taa	atgtgtaact	taataagcct	attccatcac						1678
Arg	Asp	Val	Leu	Met	Thr	Phe										
475					480											
aatcatgatc	gctggtaaag	tagctcagtg	gtgtggggaa	acgttcccct	ggatcatact											1738
ccagaattct	gctctcagca	attgcagtta	agtaagttac	actacagttc	tcacaagagc											1798
ctgtgagggg	atgtcaggtg	catcattaca	ttgggtgtct	cttttcctag	atttatgctt											1858
ttgggataca	gacctatgtt	tacaatataa	taaatattat	tgctatcttt	taaagatata											1918
ataataggat	gtaaacttga	ccacaactac	tgtttttttg	aaatacatga	ttcatggttt											1978
acatgtgtca	aggtgaaatc	tgagttggct	tttacagata	gttgactttc	tatcttttgg											2038
cattcttttg	tgtgtagaat	tactgtaata	cttctgcaat	caactgaaaa	ctagagcctt											2098
taaatgattt	caattccaca	gaaagaaagt	gagcttgaac	ataggatgag	ctttagaaag											2158



[0004]

```

aaaattgatac aagcagatgt ttaattggaa ttgattatta gatcctactt tgttgattta      2218
gtccctggga ttcagtctgt agaaatgtct aatagttctc tatagtcctt gttcctgggtg      2278
aaccacagtt aggggtgtttt gtttatttta ttgttcttgc tattgttgat attctatgta      2338
gttgagctct gttaaaggaa attgtatttt atgttttagt aattgttgcc aactttttaa      2398
attaattttc attatttttg agccaaattg aaatgtgcac ctccctgtgcc ttttttctcc      2458
ttagaaaatc taattacttg gaacaagttc agatttcact ggtcagtcac tttcatcttg      2518
ttttcttctt gctaagtctt accatgtacc tgctttggca atcattgcaa ctctgagatt      2578
ataaaatgcc ttagagaata tactaactaa taagatcttt ttttcagaaa cagaaaatag      2638
ttccttgagt acttccttct tgcatttctg cctatgtttt tgaagttggt gctgtttgcc      2698
tgcaataggc tataaggaat agcaggagaa attttactga agtgctgttt tcctaggtgc      2758
tactttggca gagctaagtt atcttttgtt ttcttaatgc gtttggaacca ttttgctggc      2818
tataaaataa ctgattaata taattctaac acaatgttga cattgtagtt acacaaacac      2878
aaataaatat tttattttaa attctggaag taatataaaa gggaaaatat atttataaga      2938
aagggataaa ggtaatagag cccttctgcc cccacccac caaatttaca caacaaaatg      2998
acatgttcga atgtgaaagg tcataatagc tttcccatca tgaatcagaa agatgtggac      3058
agcttgatgt tttagacaac cactgaacta gatgactgtt gtactgtagc tcagtcattt      3118
aaaaaatata taaatactac cttgtagtgt ccatactgt gttttttaca tggtagattc      3178
ttatttaagt gctaactggg tattttcttt ggctggttta ttgtactgtt atacagaatg      3238
taagttgtac agtgaaataa gttattaaag catgtgtaaa cattgttata tatcttttct      3298
cctaaatgga gaattttgaa taaaatatat ttgaaatttt g      3339

```

<210> 2  
 <211> 30001  
 <212> DNA  
 <213> 智人

```

<400> 2
caaagaaaag ggggagggtt tgtaaaaaa gagaaatgtt acatagtgt ctttgagaaa      60
attcattggc actattaagg atctgaggag ctggtgagtt tcaactgggt agtgatgggt      120
gtagataaaa ttagagctgc agcaggtcat ttagcaact attagataaa actggtctca      180
ggtcacaacg ggcagttgca gcagctggac ttggagagaa ttacactgtg ggagcagtgt      240
catttgtcct aagtgttttt ctacccccta cccccactat tttagttggg tataaaaaga      300

```

[0005]

atgacceaat ttgtatgata aactttcaca aagcatagaa cagtaggaaa agggctctgtt	360
tctgcagaag gtgtagacgt tgagagccat tttgtgtatt tattcctccc tttcttcttc	420
ggatgaatgat taaaacgttc tgtgtgattt ttagtgatga aaaagattaa atgctactca	480
ctgtagtaag tgccatctca cacttgcaga tcaaaaggca cacagtttaa aaaacctttg	540
tttttttaca catctgagtgt gtgtaaatgc tactcatctg tagtaagtgg aatctataca	600
cctgcagacc aaaagacgca aggtttcaaa aatctttgtg ttttttacac atcaaacaga	660
atggtacgtt tttcaaaagt taaaaaaaa caactcatcc acatattgca actagcaaaa	720
atgacattcc ccagtgtgaa aatcatgctt gagagaattc ttacatgtaa aggcaaaatt	780
gcgatgactt tgcaggggac cgtgggattc ccgcccgcag tgccggagct gtcccctacc	840
agggttttgc gtggagtttt gaatgcactt aacagtgtct tacggtaaaa acaaaatttc	900
atccaccaat tatgtgttga gcgcccactg cctaccaagc acaaacaaaa ccattcaaaa	960
ccacgaaatc gtcttcactt tctccagatc cagcagcctc ccctattaag gttcgcacac	1020
gctattgcgc caacgtcct ccagagcggg tcttaagata aaagaacagg acaagttgcc	1080
ccgccccatt tcgctagcct cgtgagaaaa cgtcatcgca catagaaaac agacagacgt	1140
aacctacggt gtcccgttag gaaagagagg tgcgtcaaac agcgacaagt tccgcccacg	1200
taaaagatga cgcttggtgt gtcagccgtc cctgctgccc ggttgcttct cttttggggg	1260
cggggtctag caagagcagg tgtgggttta ggaggtgtgt gttttgttt tttccaccct	1320
ctctccccac tacttgcctt cacagtactc gctgagggtg aacaagaaaa gacctgataa	1380
agattaacca gaagaaaaa aggagggaaa caaccgcagc ctgtagcaag ctctggaact	1440
caggagtgc gcgctagggg ccggggccgg ggccggggcg tggtcggggc gggcccgggg	1500
gcgggcccgg ggccgggctg cggttgcggt gcctgcgcc gcggcggcgg aggcgcaggc	1560
ggtggcgagt gggtagtgta ggaggcggca tcttggcggg tggctgtttg gggttcggct	1620
gccgggaaga ggcgcgggta gaagcggggg ctctctcag agctcgacgc atttttactt	1680
tccctctcat ttctctgacc gaagctgggt gtcgggcttt cgctctagc gactggtgga	1740
attgcctgca tccgggcccc gggttccccg gcggcggcgg cggcggcggc ggcgcaggga	1800
caagggatgg ggatctggcc tcttcttgc tttcccgccc tcagtaccgc agctgtctcc	1860
ttcccgggga ccgctggga gcgtgcgc tgccggctcg agaaaaggga gcctcgggta	1920
ctgagaggcc tcgcctgggg gaaggccgga gggtagggcg cgcgcggctt ctgcggacca	1980
agtcgggggt cgctaggaac ccgagacggt ccctgccggc gaggagatca tgcgggatga	2040

[0006]

gatgggggtg tggagacgcc tgcacaattt cagcccaagc ttctagagag tggatgatgac	2100
ttgcatatga gggcagcaat gcaagtcggt gtgctcccca ttctgtggga catgacctgg	2160
ttgcttcaca gctccgagat gacacagact tgcttaaagg aagtgactat tgtgacttgg	2220
gcatacattg actgatggta atcagttgtc taaagaagtg cacagattac atgtccgtgt	2280
gctcattggg tctatctggc cgcgttgaac accaccaggc ttgtatttca gaaacaggag	2340
ggaggtcctg cactttccca ggaggggtgg ccctttcaga tgcaatcgag attgttaggc	2400
tctgggagag tagttgcctg gttgtggcag ttggtaaatt tctattcaaa cagttgccat	2460
gcaccagttg ttcacaacaa gggtacgtaa tctgtctggc attacttcta cttttgtaca	2520
aaggatcaaa aaaaaaaaaag atactgttaa gatatgattt ttctcagact ttgggaaact	2580
tttaacataa tctgtgaata tcacagaaac aagactatca tataggggat attaataacc	2640
tggagtcaga atacttgaat tacgggtgtc tttgacacgg gcattgttgt caccacctct	2700
gccaaaggct gccactttag gaaaaccctg aatcagttgg aaactgctac atgctgatag	2760
tacatctgaa acaagaacga gagtaattac cacattccag attgttact aagccagcat	2820
ttacctgctc caggaaaaaa ttacaagcac cttatgaagt tgataaaata ttttgtttgg	2880
ctatgttggc actccacaat ttgctttcag agaaacaaag taaaccaagg aggacttctg	2940
tttttcaagt ctgccctcgg gttctattct acgttaatta gatagtccc aggaggacta	3000
ggttagccta cctattgtct gagaaacttg gaactgtgag aaatggccag atagtgatat	3060
gaacttcacc ttccagtctt ccctgatgtt gaagattgag aaagtgttgt gaactttctg	3120
gtactgtaaa cagttcactg tccttgaagt ggtcctgggc agtcctgtt gtggaaagtg	3180
gacggtttag gatcctgctt ctctttgggc tgggagaaaa taaacagcat ggttacaagt	3240
attgagagcc aggttggaga aggtggctta cacctgtaat gccagagctt tgggaggcgg	3300
aggcaagagg atcacttgaa gccaggagtt caagctcaac ctgggcaacg tagaccctgt	3360
ctctacaaaa aattaaaaac ttagccgggc gtggtgatgt gcacctgtag tctagctac	3420
ttgggaggct gaggcaggag ggtcatttga gccaagagt ttgaagttac cgagagctat	3480
gacctgcca gtgcattcca gcctggatga caaacgaga ccctgtctct aaaaaacaag	3540
aagtgagggc tttatgattg tagaattttc actacaatag cagtggacca accaccttc	3600
taaataccaa tcagggaaga gatggttgat tttttaacag acgtttaag aaaaagcaaa	3660
acctcaaact tagcactcta ctaacagttt tagcagatgt taattaatgt aatcatgtct	3720
gcattgtatg gattatttcc agaaagtgtt ttgggaaacc tctcatgaac cctgtgagca	3780

[0007]

agccaccgtc tcactcaatt tgaatcttgg cttccctcaa aagactggct aatgtttgg	3840
aactctctgg agtagacagc actacatgta cgtaagatag gtacataaac aactattgg	3900
tttagactga tttttttcag ctgcatttgc atgtatggat tttctcacc aaagacgatg	3960
acttcaagta ttagtaaaat aattgtacag ctctcctgat tatacttctc tgtgacattt	4020
catttcccag gctatttctt ttggtaggat ttaaaactaa gcaattcagt atgatctttg	4080
tccttcattt tctttcttat tctttttgtt tgtttgttt tttgttttt tcttgaggca	4140
gagtctctct ctgtcgccca ggctggagtg cagtggcgcc atctcagctc attgcaacct	4200
ctgccacctc cgggttcaag agattctcct gcctcagcct cccgagtagc tgggattaca	4260
ggtgtccacc accacacccg gctaattttt tgtattttta gtagaggtgg ggtttcacca	4320
tgttggccag gctggtcttg agctcctgac ctcaggtgat ccacctgcct cggcctacca	4380
aagagctggg ataacaggtg tgaccaccca tgcccggccc atttttttt tcttattctg	4440
ttaggagtga gagtgtact agcagtataa tagttcaatt ttcacaacgt ggtaaaagtt	4500
tcctataat tcaatcagat ttgtctccag ggttcagttc tgtttttagga aatactttta	4560
ttttcagttt aatgatgaaa tattagagtt gtaatattgc ctttatgatt atccaccttt	4620
ttaacctaaa agaatgaaag aaaaatatgt ttgcaatata attttatggg tgtatgttaa	4680
cttaattcat tatgttggcc tccagtttgc tgttgttagt tatgacagca gtagtgtcat	4740
taccatttca attcagatta cattcctata ttgatcatt gtaaaactgac tgcttacatt	4800
gtattaaaaa cagtggatat tttaaagaag ctgtacggct tatacttagt gctgtctctt	4860
aagactatta aattgataca acatatttaa aagtaaatat tacctaaatg aatttttgaa	4920
attacaaata cacgtgttaa aactgtcggt gtgttcaacc atttctgtac atacttagag	4980
ttaactgttt tgccaggctc tgtatgccta ctcataatat gataaaagca ctcatcta	5040
gctctgtaaa tagaagtcag tgctttccat cagactgaac tctcttgaca agatgtggat	5100
gaaattcttt aagtaaaatt gtttactttg tcatacattt acagatcaaa tgttagctcc	5160
caaagcaatc atatggcaaa gataggtata tcatagtttg cctattagct gctttgtatt	5220
gctattatta taaatagact tcacagtttt agacttgctt aggtgaaatt gcaattcttt	5280
ttactttcag tcttagataa caagtcttca attatagtag aatcacacat tgcttaggaa	5340
tgcatcatta ggcgattttg tcattatgca aacatcatag agtgtactta cacaaacct	5400
gatagtatag cctttatgta cctaggccgt atggtatagt ctgttgcctc taggccacaa	5460
acctgtacaa ctgttactgt actgaatact atagacagtt gtaacacagt ggtaaatatt	5520

[0008]

tatctaaata tatgcaaaca gagaaaaggt acagtaaaag tatggtataa aagataatgg	5580
tatacctgtg taggccactt accacgaatg gagcttgcag gactagaagt tgctctgggt	5640
gagtcagtga gtgagtgggt aattaatgtg aaggcctaga aactgtaca ccactgtaga	5700
ctataaacac agtacgtga agctacacca aatttatctt aacagttttt cttcaataaa	5760
aaattataac tttttaactt tgtaaacctt ttaatttttt aactttttaa atacttagct	5820
tgaaacacaa atacattgta tagctataca aaaatatatt tcttttgtat ccttattcta	5880
gaagcttttt tctattttct attttaaat ttttttttta cttgttagtc gtttttggtta	5940
aaaactaaaa cacacacact ttcacctagg catagacagg attaggatca tcagtatcac	6000
tcccttccac ctcactgcct tccacctcca catcttgctc cactggaagg tttttagggg	6060
caataacaca catgtagctg tcacctatga taacagtgtc ttctgttgaa tacctcctga	6120
aggacttgcc tgaggctgtt ttacatttaa cttaaaaaaa aaaaaagtag aaggagtgca	6180
ctctaaaata acaataaaaag gcatagtata gtgaatacat aaaccagcaa tgtagtagtt	6240
tattatcaag tgttgtagac tgtaataatt gtatgtgcta tactttaaat aacttgcaaa	6300
atagtactaa gaccttatga tggttacagt gtcactaagg caatagcata ttttcaggtc	6360
cattgtaatc taatgggact accatcatat atgcagtcta ccatgactg aaacgttaca	6420
tggcacataa ctgtatttgc aagaatgatt tgttttacat taatatcaca taggatgtac	6480
ctttttagag tggatatgtt atgtggatta agatgtacaa gttgagcaag gggaccaaga	6540
gccctgggtt ctgtcttgga tgtgagcgtt tatgttcttc tctcatgtc tgttttctca	6600
ttaaattcaa aggcttgaac ggccctatt tagcccttct gttttctacg tgttctaaat	6660
aactaaagct tttaaattct agccatttag tgtagaactc tctttgcagt gatgaaatgc	6720
tgtattgggt tcttggctag catattaaat atttttatct ttgtcttgat acttcaatgt	6780
cgttttaaac atcaggatcg ggcttcagta ttctcataac cagagagttc actgaggata	6840
caggactgtt tgcccatttt ttgttatggc tccagacttg tggtatttcc atgtcttttt	6900
tttttttttt ttttttgacc ttttagcggc tttaaagtat ttctgttggt aggtgttgta	6960
ttacttttct aagattactt aacaaagcac cacaaactga gtggctttta acaacagcaa	7020
ttatttctct cacaattcta gaagctagaa gtccgaaatc aaagtgttga caggggcatg	7080
atcttcaaga gagaagactc tttccttgcc tcttcttgge ttctgggtgt taccagcaat	7140
cctgagtgtt ctttcttgc cttgtagttt caacaatcca gtatctgect tttgtcttca	7200
catggctgtc taccatttgt ctctgtgtct ccaaattctct ctccttataa acacagcagt	7260

[0009]

tattggatta ggccccactc taatccagta tgaccccat ttaacatgat tacacttatt	7320
tctagataag gtcacattca cgtacaccaa gggttaggaa ttgaacatat ctttttgggg	7380
gacacaattc aaccacaag tgtcagtctc tagctgagcc ttcccttcc tgtttttctc	7440
cttttttagtt gctatgggtt aggggccaaa tctccagtca tactagaatt gcacatggac	7500
tggatatttg ggaatactgc gggctctattc tatgagcttt agtatgtaac atttaatatc	7560
agtgtaaaga agcccttttt taagttatct ctttgaattt ctaaattgtat gccctgaata	7620
taagtaacaa gttaccatgt cttgtaaaaat gatcatatca acaaacattt aatgtgcacc	7680
tactgtgcta gttgaatgtc tttatcctga taggagataa caggattcca catctttgac	7740
ttaagaggac aaaccaaata tgtctaaatc atttgggggtt ttgatggata tcttttaaatt	7800
gctgaaccta atcattgggt tcatatgtca ttgttttagat atctccggag catttgata	7860
atgtgacagt tggaatgcag tgatgtcgac tctttgccca ccgccatctc cagctgttgc	7920
caagacagag attgctttta gtggcaaatac acctttatta gcagctactt ttgcttactg	7980
ggacaatatt cttggtccta gagtaaggca catttgggct ccaaagacag aacaggtact	8040
tctcagtgat ggagaaataa cttttcttgc caaccacact ctaaattggag aaatccttcg	8100
aatgcagag agtggtgcta tagatgtaaa gttttttgtc ttgtctgaaa agggagtgat	8160
tattgtttca ttaatctttg atggaaactg gaatggggat cgcagcacat atggactatc	8220
aattatactt ccacagacag aacttagttt ctacctccca cttcatagag tgtgtgttga	8280
tagattaaca catataatcc ggaaaggaag aatatggatg cataaggtaa gtgatttttc	8340
agcttattaa tcatgttaac ctatctgttg aaagcttatt ttctggtaca tataaatctt	8400
atTTTTTTTaa ttatatgcag tgaacatcaa acaataaatg ttattttatt tgcatttacc	8460
ctattagata caaatacatc tggctctgata cctgtcatct tcatattaac tgtggaaggt	8520
acgaaatggt agctccacat tatagatgaa aagctaaagc ttagacaaat aaagaaactt	8580
ttagaccctg gattcttctt gggagccttt gactctaata ccttttgttt ccctttcatt	8640
gcacaattct gtcttttgct tactactatg tgtaagtata acagttcaaa gtaatagttt	8700
cataagctgt tggctcatgta gcctttggtc tctttaacct ctttgccaag ttcccaggtt	8760
cataaaatga ggaggttgaa tggaatgggt cccaagagaa ttccctttta tcttacagaa	8820
attattgttt tcttaaactc tgtagttgaa tatataatgc tatttacatt tcagtatagt	8880
tttgatgtat ctaaagaaca cattgaattc tcttctctgt gttccagttt gatactaacc	8940
tgaaagtcca ttaagcatta ccagttttta aaggcttttg cccaatagta aggaaaaata	9000

[0010]

atatctttta aaagaataat tttttactat gtttgcaggc ttacttccctt ttttctcaca	9060
ttatgaaact cttaaaatca ggagaatctt ttaaacaaca tcataatggt taatttgaaa	9120
agtgcagtc attcttttcc tttttgaaac tatgcagatg ttacattgac tgttttctgt	9180
gaagttaatct ttttttccact gcagaataaa ggttggtttg attttatattt gtattgttta	9240
tgagaacatg catttggttg gtttaatttcc taccctgccc cccatttttt ccctaaagta	9300
gaaagtattt ttcttggtga ctaaattact acacaagaac atgtctattg aaaaataagc	9360
aagtatcaaa atgttggtgg ttgttttttt aaataaattt tctcttgctc aggaaagaca	9420
agaaaatgtc cagaagatta tcttagaagg cacagagaga atggaagatc aggtatatgc	9480
aaattgcata ctgtcaaatg tttttctcac agcatgtatc tgtataaggt tgatggctac	9540
atttgtaag gccttggtga catacgaata agcctttaat ggagctttta tggaggtgta	9600
cagaataaac tggaggaaga ttcccatatc ttaaacccaa agagttaaat cagtaaacaa	9660
aggaaaatag taattgcac tacaattaa tatttgctcc cttttttttt ctgtttgccc	9720
agaataaatt ttggataact tgttcatagt aaaaataaaa aaaattgtct ctgatatgtt	9780
ctttaaggta ctacttctcg aacctttccc tagaagtagc tgtaacagaa ggagagcata	9840
tgtaccctg aggtatctgt ctggggtgta ggcccaggtc cacacaatat ttcttctaag	9900
tcttatgttg tatcggttaag actcatgcaa ttacatttt attccataac tattttagta	9960
ttaaaatttg tcagtgtat ttcttaccct ctctctagg aaaatgtgcc atgtttatcc	10020
cttggttttg aatgcccctc aggaacagac actaagagtt tgagaagcat gggttacaagg	10080
gtgtggcttc ccctgcggaa actaagtaca gactatttca ctgtaaagca gagaagttct	10140
tttgaaggag aatctccagt gaagaaagag ttcttcactt ttacttccat ttctcttgt	10200
gggtgaccct caatgctcct tgtaaaactc caatatatta aacatggctg ttttgccttt	10260
ctttgcttct ttttagcatg aatgagacag atgatacttt aaaaaagtaa ttaaaaaaaaa	10320
aaacttgtga aaatacatgg ccataataca gaaccaata caatgatctc ctttaccaaa	10380
ttgttatgtt tgtacttttg tagatagctt tccaattcag agacagttat tctgtgtaaa	10440
ggtctgactt aacaagaaaa gatttccctt tacccaaaga atcccagtc ttatttgctg	10500
gtcaataagc aggttcccca ggaatggggg aactttcagc accctctaac ccactagtta	10560
ttagtagact aattaagtaa acttatcgca agttgaggaa acttagaacc aactaaaatt	10620
ctgcttttac tgggattttg ttttttcaaa ccagaaacct ttacttaagt tgactactat	10680
taatgaattt tggctctctt ttttaagtgt cttcttaaaa atgttatctt actgctgaga	10740

[0011]

agttcaagtt tgggaagtac aaggaggaat agaaacttaa gagatTTTTct tttagagcct	10800
cttctgtatt tagccctgta ggatTTTTTT tttttttttt ttttttggtg ttgttgagct	10860
tcagtgagge tattcattca cttatactga taatgtctga gatactgtga atgaaatact	10920
atgtatgctt aaacctaaga ggaaatatTT tcccaaaatt attcttcccg aaaaggagga	10980
gttgcctttt gattgagttc ttgcaaactc cacaacgact ttatTTtgaa caatactgtt	11040
tggggatgat gcattagttt gaaacaactt cagttgtagc tgtcatctga taaaattgct	11100
tcacagggaa ggaaatttaa cacggatcta gtcattattc ttgttagatt gaatgtgtga	11160
attgtaattg taaacaggca tgataattat tactttaaaa actaaaaaca gtgaatagtt	11220
agttgtggag gttactaaag gatggTTTT ttttaaataa aactttcagc attatgcaaa	11280
tgggcatatg gcttaggata aaacttccag aagtagcatc acatttaaatt tctcaagcaa	11340
cttaataata tggggctctg aaaaactggt taaggttact ccaaaaatgg ccctgggtct	11400
gacaaagatt ctaacttaaa gatgcttatg aagactttga gtaaaatcat ttcataaaat	11460
aagtgaggaa aaacaactag tattaaattc atcttaaata atgtatgatt taaaaaatat	11520
gtttagctaa aaatgcatag tcatttgaca atttcattta tatctcaaaa aatttactta	11580
accaagttgg tcacaaaact gatgagactg gtggtggtag tgaataaatg agggaccatc	11640
catatttgag acactttaca tttgtgatgt gttatactga attttcagtt tgattctata	11700
gactacaaat ttcaaaatta caatttcaag atgtaataag tagtaatatc ttgaaatagc	11760
tctaaaggga atttttctgt tttattgatt cttaaaatat atgtgctgat tttgatttgc	11820
atttgggtag attatacttt tatgagtatg gaggttaggt attgattcaa gttttcctta	11880
cctatttggt aaggatttca aagtcTTTT gtgcttggtt ttcctcattt ttaaatatga	11940
aatatatatga tgacctttaa caaatTTTT ttatctcaaa ttttaaagga gatcttttct	12000
aaaagaggca tgatgactta atcattgcat gtaacagtaa acgataaacc aatgattcca	12060
tactctctaa agaataaaaag tgagcttttag ggccgggcat ggtcagaaat ttgacaccaa	12120
cctggccaac atggcgaaac cccgtctcta ctaaaaatac aaaaatcagc cgggcatggt	12180
ggcggcacct atagtcccag ctacttgga ggatgagaca ggagagtcac ttgaacctgg	12240
gaggagaggt tgcagtgagc tgagatcacg ccattgcact ccagcctgag caatgaaagc	12300
aaaactccat ctcaaaaaaa aaaaaagaaa agaaagaata aaagtgagct ttggattgca	12360
tataaatcct ttagacatgt agtagacttg tttgatactg tgtttgaaca aattacgaag	12420
tattttcatc aaagaatgtt attgtttgat gttattttta ttttttattg cccagcttct	12480



[0012]

ctcatattac gtgattttct tcacttcatg tcactttatt gtgcagggtc agagtattat	12540
tccaatgctt actggagaag tgattcctgt aatggaactg ctttcatcta tgaaatcaca	12600
cagtgttccet gaagaaatag atgtaagttt aaatgagagc aattatacac tttatgagtt	12660
ttttgggggtt atagtattat tatgtatatt attaatattc taattttaat agtaaggact	12720
ttgtcataca tactattcac atacagtatt agccacttta gcaaataagc acacacaaaa	12780
tcctggattt tatggcaaaa cagaggcatt ttgatcagt gatgacaaaa ttaaattcat	12840
tttgtttatt tcattacttt tataattcct aaaagtggga ggatcccagc tcttatagga	12900
gcaattaata tttaatgtag tgtcttttga aacaaaactg tgtgccaaag tagtaaccat	12960
taatggaagt ttactttag tagcacaattt agtttcccta atcatttggt gaggacgttt	13020
tgaatcacac actatgagtg ttaagagata cttttaggaa actattcttg ttgttttctg	13080
atthtgtcat ttaggttagt ctctgattc tgacagctca gaagaggaag ttgttcttgt	13140
aaaaattgtt taacctgctt gaccagcttt cacatttggt cttctgaagt ttatggtagt	13200
gcacagagat tgttttttgg ggagtcttga ttctcgaaa tgaaggcagt gtgttatatt	13260
gaatccagac ttccgaaaac ttgtatatta aaagtgttat ttcaacacta tgttacagcc	13320
agactaattt ttttattttt tgatgcattt tagatagctg atacagtact caatgatgat	13380
gatattggtg acagctgtca tgaaggcttt cttctcaagt aagaattttt cttttcataa	13440
aagctggatg aagcagatac catcttatgc tcacctatga caagatttgg aagaaagaaa	13500
ataacagact gtctacttag attgttctag ggacattacg tatttgaact gttgcttaaa	13560
tttgtgttat ttttactca ttatatttct atatatattt ggtgttattc catttgctat	13620
ttaaagaaac cgagtttcca tcccagacaa gaaatcatgg ccccttgctt gattctggtt	13680
tcttgtttta cttctcatta aagctaacag aatcctttca tattaagttg tactgtagat	13740
gaacttaagt tatttaggcg tagaacaaaa ttattcatat ttatactgat ctttttccat	13800
ccagcagtgg agtttagtac ttaagagttt gtgcccttaa accagactcc ctggattaat	13860
gctgtgtacc cgtgggcaag gtgcctgaat tctctataca cctatttccct catctgtaaa	13920
atggcaataa tagtaatagt acctaatgtg tagggttggt ataagcattg agtaagataa	13980
ataatataaa gcacttagaa cagtgcctgg aacataaaaa cacttaataa tagctcatag	14040
ctaacatttc ctatttacat ttcttctaga aatagccagt atttggtgag tgcctacatg	14100
ttagtccctt tactagttgc ttacatgta ttatcttata ttctgtttta aagtttcttc	14160
acagttacag attttcatga aattttactt ttaataaaaag agaagtaaaa gtataaagta	14220

[0013]

ttcacttttta	tggtcacagt	cttttccttt	aggctcatga	tggagtatca	gaggcatgag	14280
tgtgttttaac	ctaagagcct	taatggcttg	aatcagaagc	acttttagtcc	tgtatctggt	14340
cagtgtcagc	ctttcataca	tcatittaaa	tcccatttga	ctttaagtaa	gtcacttaat	14400
ctctctacat	gtcaatttct	tcagctataa	aatgatggta	tttcaataaa	taaatacatt	14460
aattaaatga	tattatactg	actaattggg	ctgttttaag	gctcaataag	aaaatttctg	14520
tgaaaggctc	ctagaaaatg	taggttccta	tacaaataaa	agataacatt	gtgcttatag	14580
cttcgggtgtt	tatcatataa	agctattctg	agttatttga	agagctcacc	tacttttttt	14640
tgttttttagt	ttgttaaatt	gttttatagg	caatgttttt	aatctgtttt	ctttaactta	14700
cagtgccatc	agctcacact	tgcaaacctg	tggctgttcc	gttgtagtag	gtagcagtgc	14760
agagaaagta	aataaggtag	tttattttat	aatctagcaa	atgatttgac	tctttaagac	14820
tgatgatata	tcatggattg	tcatittaat	ggtagggtgc	aattaaaatg	atctagtagt	14880
ataaggaggc	aatgtaatct	catcaaattg	ctaagacacc	ttgtggcaac	agtgagtttg	14940
aaataaactg	agtaagaatc	atttatcagt	ttattttgat	agctcggaaa	taccagtgtc	15000
agtagtgtat	aatgggtttt	gagaatatat	taaaatcaga	tatataaaaa	aaattactct	15060
tctatttccc	aatgttatct	ttaacaaatc	tgaagatagt	catgtacttt	tggtagtagt	15120
tccaaagaaa	tgttatttgt	ttattcatct	tgatttcatt	gtcttcgctt	tccttctaaa	15180
tctgtccctt	ctagggagct	attgggatta	agtggtcatt	gattattata	ctttattcag	15240
taatgtttct	gaccctttcc	ttcagtgtca	cttgagttaa	ttaaggatta	atgaacagtt	15300
acatttccaa	gcattagcta	ataaactaaa	ggattttgca	cttttcttca	ctgaccatta	15360
gtagaaaga	gttcagagat	aagtatgtgt	atctttcaat	ttcagcaaac	ctaatttttt	15420
aaaaaaagtt	ttacatagga	aatatgttgg	aatgatact	ttacaaagat	attcataatt	15480
tttttttgta	atcagctact	ttgtatattt	acatgagcct	taattttatat	ttctcatata	15540
accatttatg	agagcttagt	atacctgtgt	catttatattg	catctacgaa	ctagtgcact	15600
tattccttct	gttacctcaa	acaggtggct	ttccatctgt	gatctccaaa	gccttagggt	15660
gcacagagtg	actgccgagc	tgccttatga	aggagaaaag	gctccatagt	tggagtgttt	15720
tttttttttt	ttttaaacat	ttttcccatc	ctccatcctc	ttgagggaga	atagcttacc	15780
ttttatcttg	ttttaatttg	agaaagaagt	tgccaccact	ctaggttgaa	aaccactcct	15840
ttaacataat	aactgtggat	atggtttgaa	tttcaagata	gttacatgcc	tttttatattt	15900
tcctaataga	gctgtaggtc	aaatattatt	agaatcagat	ttctaaatcc	caccaatga	15960

[0014]

cctgcttatt ttaaatacaa ttcaataatt aattctcttc tttttggagg atctggacat	16020
tctttgatat ttcttacaac gaatttcatg tgtagacca ctaaacagaa gctataaaag	16080
ttgcatggtc aaataagtct gagaaagtct gcagatgata taattcacct gaagagtcac	16140
agtatgtagc caaatgttaa aggttttgag atgccataca gtaaatttac caagcatttt	16200
ctaaatttat ttgaccacag aatccctatt ttaagcaaca actgttacat cccatggatt	16260
ccaggtgact aaagaatact tatttcttag gatatgtttt attgataata acaattaaaa	16320
tttcagatat ctttcataag caaatcagtg gtctttttac ttcatgtttt aatgctaaaa	16380
tattttcttt tatagatagt cagaacatta tgccttttct tgactccagc agagagaaaa	16440
tgctccaggt tatgtgaagc agaatcatca tttaaatatg agtcagggt ctttgtacaa	16500
ggcctgctaa aggtatagtt tctagttatc acaagtgaac ccacttttct aaaatcattt	16560
ttgagactct ttatagacaa atcttaaata ttagcattta atgtatctca tattgacatg	16620
cccagagact gacttccctt acacagttct gcacatagac tatatgtctt atggatttat	16680
agttagtatc atcagtgaac caccatagaa taccctttgt gttccaggtg ggtccctgtt	16740
cctacatgtc tagcctcagg actttttttt ttttaacaca tgcttaaate aggttgacaa	16800
tcaaaaataa gatcatttct ttttaactaa atagatttga attttattga aaaaaattt	16860
taaacatctt taagaagctt ataggattta agcaattcct atgtatgtgt actaaaatat	16920
atatatttct atatataata tatattagaa aaaaattgta tttttctttt atttgagtct	16980
actgtcaagg agcaaaacag agaaatgtaa attagcaatt atttataata cttaaaggga	17040
agaaagttgt tcaccttggt gaatctatta ttgttatttc aattatagtc ccaagacgtg	17100
aagaaatagc tttcctaag gttatgtgat tgtctcatag tgactacttt cttgaggatg	17160
tagccacggc aaaatgaaat aaaaaaattt aaaaattggt gcaaatacaa gttatattag	17220
gcttttgtgc attttcaata atgtgctgct atgaactcag aatgatagta tttaaatata	17280
gaaactagtt aaaggaaacg tagtttctat ttgagttata catatctgta aattagaact	17340
tctcctgtta aaggcataat aaagtgccta atacttttgt ttcctcagca ccctctcatt	17400
taattatata attttagttc tgaaaggac ctataccaga tgcctagagg aaatttcaaa	17460
actatgatct aatgaaaaaa tatttaatat ttctccatgc aaatacaaat catatagttt	17520
tccagaaaat acctttgaca ttatacaaag atgattatca cagcattata atagtaaaaa	17580
aatggaaata gcctctttct tctgttctgt tcatagcaca gtgcctcata cgcagtaggt	17640
tattattaca tggttaactgg ctacccaac tgattaggaa agaagtaaat ttgttttata	17700

[0015]

aaaatacata ctcattgagg tgcataagaat aattaagaaa ttaaaagaca cttgtaattt	17760
tgaatccagt gaatacccac tgttaatat tggatatct ctttctagtc tttttttccc	17820
ttttgcatgt attttcttta agactcccac cccactgga tcatctctgc atgttctaata	17880
ctgctttttt cacagcagat tctaagcctc tttgaatatc aacacaaact tcaacaactt	17940
catctataga tgccaaataa taaattcatt tttatttact taaccacttc ctttgatgc	18000
ttaggtcatt ctgatgtttt gctattgaaa ccaatgctat actgaacact tctgtcacta	18060
aaactttgca cacactcatg aatagcttct taggataaat ttttagagat ggatttgcta	18120
aatcagagac ctttttttaa aattaataaa caattattca tatcgtttg catgtaagac	18180
agtaaatttt ctttttattt tgacaggatt caactggaag ctttgtgctg cttttccggc	18240
aagtcatgta tgctccatat cccaccacac acatagatgt ggatgtcaat actgtgaagc	18300
agatgccacc ctgtcatgaa catatttata atcagcgtag atacatgaga tccgagctga	18360
cagccttctg gagagccact tcagaagaag acatggctca ggatacgatc atctacactg	18420
acgaaagctt tactcctgat ttgtacgtaa tgctctgcct gctggtactg tagtcaagca	18480
atatgaaatt gtgtctttta cgaataaaaa caaaacagaa gttgcattta aaaagaaaga	18540
aatattacca gcagaattat gcttgaagaa acatttaatc aagcattttt ttcttaaatg	18600
ttcttctttt tccatacaat tgtgtttacc ctaaaatagg taagattaac ccttaaagta	18660
aatatttaac tttttgttta ataaatatat attgagctcc taggcactgt tctaggtacc	18720
gggcttaata gtggccaacc agacagcccc agccccagcc cctacattgt gtatagtcta	18780
ttatgtaaca gttattgaat ggacttatta acaaaaccaa agaagtaatt ctaagtcttt	18840
tttttcttga catatgaata taaaatacag caaaactgtt aaaatatatt aatggaacat	18900
ttttttactt tgcattttat attgttattc acttcttatt tttttttaaa aaaaaagcc	18960
tgaacagtaa attcaaaagg aaaagtaatg ataattaatt gttgagcatg gaccaactt	19020
gaaaaaaaa atgatgatga taaatctata atcctaaaac cctaagtaaa cacttaaaag	19080
atgttctgaa atcaggaaaa gaattatagt atacttttgt gtttctcttt tatcagttga	19140
aaaaaggcac agtagctcat gcctgtaaga acagagcttt gggagtgcaa ggcaggcgga	19200
tcacttgagg ccaggagttc cagaccagcc tgggcaacat agtgaaaccc catctctaca	19260
aaaaataaaa aagaattatt ggaatgtgtt tctgtgtgcc tgtaatccta gctattccga	19320
aagctgaggc aggaggatct tttgagccca ggagtttgag gttacaggga gttatgatgt	19380
gccagtgtac tccagcctgg ggaacaccga gactctgtct tatttaaaaa aaaaaaaaaa	19440

[0016]

aaaatgcttg caataatgcc tggcacatag aaghtaacag taagtgttaa ctgtaataac	19500
ccaggtctaa gtgtgtaagg caatagaaaa attggggcaa ataagcctga cctatgtatc	19560
tacagaatca gtttgagctt aghtaacaga cctgtggagc accagtaatt acacagtaag	19620
tghtaaccaa aagcatagaa taggaatatc ttgttcaagg gacccccagc cttatacatc	19680
tcaaggtgca gaaagatgac ttaatatagg acccattttt tcctagtctt ccagagtttt	19740
tattggttct tgagaaagta gtaggggaat gttttagaaa atgaattggc ccaactgaaa	19800
ttacatgtca gtaagttttt atatattggc aaatttttagt agacatgtag aagttttcta	19860
attaatctgt gccttgaaac attttctttt ttcttaaagt gcttagtatt ttttccgttt	19920
tttgattggc tacttgggag cttttttgag gaaatttagt gaactgcaga atgggtttgc	19980
aaccatttgg tatttttggt ttgtttttta gaggatgtat gtgtatttta acatttctta	20040
atcattttta gccagctatg ttgtttttgc tgatttgaca aactacagtt agacagctat	20100
tctcattttg ctgatcatga caaaataata tcctgaattt ttaaattttg catccagctc	20160
taaattttct aaacataaaa ttgtccaaaa aatagtattt tcagccacta gattgtgtgt	20220
taagtctatt gtcacagagt cattttactt ttaagtatat gtttttacat gtttaattatg	20280
tttgttattt ttaattttta ctttttaaaa taattccagt cactgccaat acatgaaaaa	20340
ttggctactg gaattttttt ttgactttt attttaggtt catgtgtaca tgtgcaggtg	20400
tgttatacag gtaaattgcg tgcattgagg gtttggtgta caggtgattt cattaccag	20460
gtaataagca tagtacccaa taggtagttt ttgatcttc acccttctcc caccctcaag	20520
taggccctgg tgttgctgtt tccttctttg tgtccatgta tactcagtgt ttagctccca	20580
cttagaagtg agaacatgcg gtagttgggt ttctgttctt ggattagttc acttaggata	20640
atgacctcta gctccatctg gtttttatgg ctgcatagta ttccatggtg tatatgtatc	20700
acattttctt tatccagtct accattgata ggcatttagg ttgattccct gtctttgtta	20760
tcatgaatag tgctgtgatg aacatacaca tgcattgttc ttatggtag aaaaatttgt	20820
attccttttag gtacatatag aataatgggg ttgctagggt gaatggtagt tctattttca	20880
gttatttgag aaatcttcaa actgcttttc ataatagcta aactaattta cagtcccgcc	20940
agcagtgtat aagtgttccc ttttctccac aaccttgcca acatctgtga ttttttgact	21000
ttttaataat agccattcct agagaattga ttgcaattc tctattagtg atattaagca	21060
ttttttcata tgcttttttag ctgtctgtat atattcttct gaaaaatttt catgtccttt	21120
gcccagtttg tagtggggtg ggttggtttt tgcttggtta ttagttttta gttccttcca	21180

[0017]

gattctgcat atccctttgt tggatacatg gtttgcagat atttttctcc cattgtgtag	21240
gttgtctttt actctgttga tagtttcttt tgccatgcag gagctcgta ggtcccattt	21300
gtgtttgttt ttgttgcagt tgcttttgge gtcttcatca taaaatctgt gccagggcct	21360
atgtccagaa tggatattcc taggttgtct tccagggttt ttacaatttt agattttacg	21420
tttatgtctt taatccatct tgagttgatt tttgtatatg gcacaaggaa ggggtccagt	21480
ttcactccaa ttcctatggc tagcaattat cccagcacca tttattgaat acggagtcct	21540
ttccccattg cttgtttttt gtcaactttg ttgaagatca gatggttgta agtgtgtggc	21600
tttatttctt ggctctctat tctccattgg tctatgtgtc tgtttttata acagtaccct	21660
gctgttcagg ttcctatagc cttttagtat aaaatcggt aatgtgatgc ctccagcttt	21720
gttctttttg cttaggattg ctttggctat ttgggtcct ttttgggtcc atattaattt	21780
taaaacagtt ttttctggtt ttgtgaagga tatcattggt agtttatagg aatagcattg	21840
aatctgtaga ttgctttggg cagtatggcc attttaacaa tattaattct tcctatctat	21900
gaatatggaa tgtttttcca tgtgtttgtg tcatctcttt atacctgatg tataaagaaa	21960
agctggtatt attcctactc aatctgttcc aaaaaattga ggaggaggaa ctcttccta	22020
atgaggccag catcattctg ataccaaaac ctggcagaga cacaacagaa aaaagaaaac	22080
ttcaggccaa tatccttgat gaatatagat gcaaaaatcc tcaacaaaat actagcaaac	22140
caaatccagc agcacatcaa aaagctgac tactttgatc aagtaggctt tatccctggg	22200
atgcaagggt ggttcaacat acacaaatca ataagtgtga ttcatcacat aaacagagct	22260
aaaaacaaaa accacaagat tatctcaata ggtagagaaa aggttgtcaa taaaatttaa	22320
catectccat gttaaaaacc ttcagtaggt caggtgtagt gactcacacc tgtaatcca	22380
gcactttggg aggccaaggc gggcatatct cttaaagccca ggagttcaag acgagcctag	22440
gcagcatggt gaaaccccat ctctacaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaatta gcttggtatg	22500
gtgacatgca cctatagtcc cagctattca ggaggttgag gtgggaggat tgtttgagcc	22560
cgggaggcag aggttggcag cgagctgaga tcatgccacc gcactccagc ctgggcaacg	22620
gagtgaagacc ctgtctcaaa aaagaaaaat cacaaacaat cctaaacaaa ctaggcattg	22680
aaggaacatg cctcaaaaaa ataagaacca tctatgacag acccatagcc aatatcttac	22740
caaatgggca aaagctggaa gtattctcct tgagaaccgt aacaagacaa ggatgtccac	22800
tctcaccact ctttttcagc atagttctgg aagtcctagc cagagcaatc aggaaagaga	22860
aagaaagaaa gacattcaga taggaagaga agaagtcaaa ctatttctgt ttgcaggcag	22920

[0018]

tataattctg tacctagaaa atctcatagt ctctgccag aaactcctaa atctgttaaa	22980
aatttcagca aagttttggc attctctata ctccaacacc ttccaaagtg agagcaaaat	23040
caagaacaca gtccattca caatagecgc aaaacgaata aaatacctag gaatccagct	23100
aaccaggag gtgaaagatc tctatgagaa ttacaaaaca ctgctgaaag aaatcagaga	23160
tgacacaaac aatggaaat gttctttttt aacaccttgc tttatctaata tcacttatga	23220
tgaagatact cattcagtgg aacaggtata ataagtccac tcgattaaat ataagcctta	23280
ttctctttcc agagcccaag aaggggcact atcagtgcc agtcaataat gacgaaatgc	23340
taataatttt cccctttacg gtttctttct tctgtagtgt ggtacactcg tttcttaaga	23400
taaggaaact tgaactacct tctgttttgc ttctacacat acccattctc tttttttgcc	23460
actctggtca ggtataggat gatccctacc actttcagtt aaaaactcct cctcttacta	23520
aatgttctct taccctctgg cctgagtaga acctagggaa aatggaagag aaaaagatga	23580
aaggagggtg gggcctggga agggaaataag tagtcctgtt tgtttgtgtg tttgctttag	23640
cacctgctat atcctaggtg ctgtgttagg cacacattat ttaagtggc cattatatta	23700
ctactactca ctctggtcgt tgccaaggta ggtagtactt tcttgatag ttggttcag	23760
ttacttacag atggtgggct tgttgaggca aaccagtggt ataatcatcg gagtgtgttc	23820
tctaattcca ctcaaatttt tcttcacatt ttttggttg ttttggtttt tgatggtagt	23880
ggcttatttt tgttgctggt ttgttttttg ttttttttg agatggcaag aattggtagt	23940
tttatatttt aattgcctaa gggctctctac ttttttttaa agatgagagt agtaaaatag	24000
attgatagat acatacatc cttactggg gactgcttat attctttaga gaaaaaatta	24060
catattagcc tgacaaacac cagtaaaatg taaatatatc cttgagtaaa taaatgaatg	24120
tatatattgt gtctccaaat atatatatct atattcttac aaatgtgttt atatgtaata	24180
tcaatttata agaacttaaa atgttggtc aagtgaggga ttgtggaagg tagcattata	24240
tggecatttc aacatttgaa cttttttctt ttcttcattt tcttcttttc ttcaggaata	24300
tttttcaaga tgtcttacac agagacactc tagtgaaagc cttcctggat caggtaaatg	24360
ttgaacttga gattgtcaga gtgaatgata tgacatgttt tcttttttaa tatatcctac	24420
aatgcctgtt ctatatattt atattcccct ggatcatgcc ccagagttct gctcagcaat	24480
tgcagttaag ttagttacac tacagttctc agaagagtct gtgagggcac gtcaagtgca	24540
tcattacatt gggtgcctct tgcctagat ttatgcttcg ggaattcaga cctttgttta	24600
caatataata aatattattg ctatctttta aagatataat aataagatat aaagttgacc	24660

[0019]

acaactactg ttttttgaag catagaattc ctggtttaca tgtatcaaag tgaaatctga	24720
cttagctttt acagatataa tatatacata tatatacctt gcaatgcttg tactatatat	24780
gtagtacaag tatatatata tgtttgtgtg tgtatatata tatagtacga gcatatatac	24840
atattaccag cattgtagga tatatatatg tttatatatt aaaaaaaagt tataaactta	24900
aaaccctatt atgttatgta gagtatatgt tatatatgat atgtaaaata tataacatat	24960
actctatgat agagtgtaat atatTTTTTA tatatatTTT aacatttata aaatgataga	25020
attaagaatt gagtcctaatt ctgttttatt aggtgctttt tgtagtgtct ggtcttttcta	25080
aagtgtctaa atgatttttc cttttgactt attaattgggg aagagcctgt atattaacaa	25140
ttaagagtgc agcattccat acgtcaaaca acaaacattt taattcaage attaacctat	25200
aacaagtaag tttttttttt ttttttgaga aaggagggtt gtttatttgc ctgaaatgac	25260
tcaaaaatat ttttgaaaca tagtgtactt atttaaataa catctttatt gtttcattct	25320
tttaaaaaat atctacttaa ttacacagtt gaaggaaatc gtagattata tggaacttat	25380
ttcttaatat attacagttt gttataataa cattctgggg atcaggccag gaaactgtgt	25440
catagataaa gctttgaaat aatgagatcc ttatgtttac tagaaatttt ggattgagat	25500
ctatgaggtc tgtgacatat tgcgaagttc aaggaaaatt cgtaggcctg gaatttcatg	25560
cttctcaage tgacataaaa tccctccac tctccacctc atcatatgca cacattctac	25620
tcctaccac ccactccacc cctgcaaaa gtacaggtat atgaatgtct caaaaccata	25680
ggctcatctt ctaggagctt caatgttatt tgaagatttg ggcagaaaaa attaagtaat	25740
acgaaataac ttatgtatga gttttaaaag tgaagtaaac atggatgtat tctgaagtag	25800
aatgcaaaat ttgaatgcat ttttaaagat aaattagaaa acttctaaaa actgtcagat	25860
tgtctgggcc tgggtggctta tgccgttaat cccagcactt tgggagtcag aggtgggtgg	25920
atcacaaggt caggagatcg agaccatcct gccaacatgg tgaaaccccg tctctactaa	25980
gtatacaaaa attagctggg cgtggcagcg tgtgcctgta atcccagcta cctgggaggc	26040
tgaggcagga gaatcgcttg aaccaggag gtgtaggttg cagtgagtca agatcgcgcc	26100
actgcacttt agcctgggtga cagagctaga ctccgtctca aaaaaaaaaa aaaatatcag	26160
attgttccta cacctagtgc ttctatacca cactcctgtt agggggcatc agtggaaatg	26220
gttaaggaga tgttttagtgt gtattgtctg ccaagcactg tcaacactgt catagaaact	26280
tctgtacgag tagaatgtga gcaaattatg tgttgaaatg gttcctctcc ctgcaggtct	26340
ttcagctgaa acctggctta tctctcagaa gtactttcct tgcacagttt ctacttgtcc	26400



[0020]

ttcacagaaa agccttgaca ctaataaaat atatagaaga cgatacgtga gtaaaactcc	26460
tacacggaag aaaaaccttt gtacattgtt tttttgtttt gtttcctttg tacattttct	26520
atatcataat ttttgcgtt cttttttttt tttttttttt tttttttcca ttatttttag	26580
gcagaaggga aaaaagccct ttaaattctt tcggaacctg aagatagacc ttgatttaac	26640
agcagagggc gatcttaaca taataatggc tctggctgag aaaattaaac caggcctaca	26700
ctctttttatc tttggaagac ctttctacac tagtgtgcaa gaacgagatg ttctaataac	26760
tttttaaagt tgtaacttaa taagcctatt ccatcacaat catgatcgct ggtaaagtag	26820
ctcagtgggtg tggggaaacg ttcccttga tcatactcca gaattctgct ctcagcaatt	26880
gcagtttaagt aagttacact acagttctca caagagcctg tgaggggatg tcaggtgcat	26940
cattacattg ggtgtctctt ttcctagatt tatgcttttg ggatacagac ctatgtttac	27000
aatataataa atattattgc tatcttttaa agatataata ataggatgta aacttgacca	27060
caactactgt ttttttgaat tacatgattc atggttttaca tgtgtcaagg tgaaatctga	27120
gttggttttt acagatagtt gactttctat cttttggcat tctttgggtg gtagaattac	27180
tgtaataactt ctgcaatcaa ctgaaaacta gagcctttta atgatttcaa ttccacagaa	27240
agaaagttag cttgaacata ggatgagctt tagaaagaaa attgatcaag cagatgttta	27300
attggaattg attattagat cctactttgt ggatttagtc cctgggattc agtctgtaga	27360
aatgtctaat agttctctat agtccttgtt cctgggtgaac cacagttagg gtgttttgtt	27420
tattttattg ttcttgctat tgttgatatt ctatgtagtt gagctctgta aaaggaaatt	27480
gtattttatg ttttagtaat tgttgccaac tttttaaatt aattttcatt atttttgagc	27540
caaattgaaa tgtgcacctc ctgtgccttt tttctcctta gaaaatctaa ttacttgga	27600
caagttcaga tttcactggc cagtcatttt catcttggtt tcttcttgct aagtcttacc	27660
atgtacctgc tttggcaatc attgcaactc tgagattata aaatgcctta gagaatatac	27720
taactaataa gatctttttt tcagaaacag aaaatagttc cttgagtact tccttcttgc	27780
atttctgcct atgtttttga agttgttgct gtttgccctg aataggctat aaggaatagc	27840
aggagaaatt ttactgaagt gctgttttcc taggtgctac tttggcagag ctaagttatc	27900
ttttgttttc ttaatgcgtt tggaccattt tgctggctat aaaataactg attaatataa	27960
ttctaacaca atgttgacat ttagtttaca caaacacaaa taaatatatt attttaaatt	28020
ctggaagtaa tataaaaggg aaaatatatt tataagaaag ggataaaggc aatagagccc	28080
ttctgcccc caccaccaa atttacacaa caaatgaca tgttcgaatg tgaaaggtca	28140

[0021]

taatagcttt cccatcatga atcagaaaga tgtggacagc ttgatgtttt agacaaccac	28200
tgaactagat gactgttgta ctgtagctca gtcatttaaa aaatatataa atactacctt	28260
gtagtgtecc atactgtgtt ttttcatgg tagattctta tttaatgtct aactggttat	28320
tttctttggc tggttttattg tactgttata cagaatgtaa gttgtacagt gaaataagtt	28380
attaaagcat gtgtaaacat tgttatatat cttttctcct aaatggagaa ttttgaataa	28440
aatatatattg aaattttgcc tctttcagtt gttcattcag aaaaaaatac tatgatattt	28500
gaagactgat cagcttctgt tcagctgaca gtcatgctgg atctaaactt tttttaaaat	28560
taattttgtc ttttcaaaga aaaaatatat aaagaagctt tataatataa tcttatgtta	28620
aaaaaacttt ctgcttaact ctctggattt cattttgatt tttcaaatta tatattaata	28680
tttcaaatgt aaaatactat ttagataaat tgttttttaa cattcttatt attataatat	28740
taatataacc taaactgaag ttattcatcc caggtatcta atacatgtat ccaaagtaaa	28800
aatccaagga atctgaacac ttcatctgc aaagctagga ataggtttga cattttcact	28860
ccaagaaaaa gttttttttt gaaaatagaa tagttgggat gagaggtttc tttaaaagaa	28920
gactaactga tcacattact atgattctca aagaagaaac caaaacttca tataatacta	28980
taaagtaaat ataaaatagt tccttctata gtatatttct ataatgctac agtttaaaca	29040
gatcactctt atataatact attttgattt tgatgtagaa ttgcacaaat tgatatttct	29100
cctatgatct gcagggtata gcttaaagta acaaaaacag tcaaccacct ccatttaaca	29160
cacagtaaca ctatgggact agttttatta ctccatttt acaaatgagg aaactaaagc	29220
ttaaagatgt gtaatacacc gcccaaggtc acacagctgg taaagggtga tttcatccca	29280
gacagttaca gtcattgcca tgggcacagc tcctaactta gtaactccat gtaactggtg	29340
ctcagtgtag ctgaattgaa aggagagtaa ggaagcaggt tttacaggtc tacttgact	29400
attcagagcc cgagtgtgaa tccctgctgt gctgcttggg gaagttactt aacctatgca	29460
aggttcattt tgtaaatatt ggaaatggag tgataatacg tacttcacca gaggatttaa	29520
tgagacctta tacgatcctt agttcagtag ctgactagtg cttcataaat gctttttcat	29580
ccaatctgac aatctccagc ttgtaattgg ggcatttaga acatttaata tgattattgg	29640
catggtaggt taaagctgtc atcttgctgt tttctatttg ttctttttgt tttctcctta	29700
cttttggtatt tttttattct actatgtctt ttctattgtc ttattaacta tactctttga	29760
tttattttag tggttgtttt agggttatac ctctttctaa tttaccagtt tataaccagt	29820
ttatatacta cttgacatat agcttaagaa acttactgtt gttgtctttt tgctgttatg	29880

[0022]

gtcttaacgt ttttatttct acaaacatta taaactccac actttattgt tttttaattt	29940
tacttataca gtcaattatc ttttaaagat atttaaatat aaacattcaa aacaccccaa	30000
t	30001

<210> 3  
 <211> 1031  
 <212> DNA  
 <213> 智人

<400> 3 attccccgga tacgtaacct acggtgtccc gctaggaaag agaggtgcgt caaacagcga	60
caagttccgc ccacgtaaaa gatgacgctt ggtgtgtcag ccgtccctgc tgcccgttg	120
cttctctttt gggggcgggg tctagcaaga gcaggtgtgg gtttaggaga tatctccgga	180
gcatttgat aatgtgacag ttggaatgca gtgatgtcga ctctttgcc accgccatct	240
ccagctgttg ccaagacaga gattgcttta agtggcaaat cacctttatt agcagctact	300
tttgcttact gggacaatat tcttggtcct agagtaaggc acatttgggc tccaaagaca	360
gaacaggtac ttctcagtga tggagaaata acttttcttg ccaaccacac tctaaatgga	420
gaaatccttc gaaatgcaga gagtgtgtct atagatgtaa agttttttgt cttgtctgaa	480
aaggagtgga ttattgtttc attaatcttt gatggaaact ggaatgggga tcgcagcaca	540
tatggactat caattatact tccacagaca gaacttagtt tctacctccc acttcataga	600
gtgtgtgttg atagattaac acatataatc cggaaggaa gaatatggat gcataaggaa	660
agacaagaaa aatgtccaga agattatctt agaaggcaca gagagaatgg aagatcaggg	720
tcagagtatt attccaatgc ttactggaga agtgattcct gtaatggaaa ctgctttcct	780
ctatgaaatt cccccgggtt cctggaggaa atagatatag gctgatacag ttaccaatg	840
atggatgaat attgggggac cgcttgtca ttgaaagct ttcttttctc caggaaagaa	900
atttttttcc tttccataa aaagcttggg aatggaagac aacaattccc attctttttt	960
tgcgttccac ccctatgtga caacagaaat ttttggggaa acaacaacga aaaaatttta	1020
tcccgcgcgc a	1031

<210> 4  
 <211> 3244  
 <212> DNA  
 <213> 智人

<220>  
 <221> CDS

[0023]

&lt;222&gt; (108).. (1553)

&lt;400&gt; 4

gggcggggct gcggttgcgg tgcctgcgcc cgcggcggcg gaggcgcagg cgggtggcgag	60
tggatatctc cggagcattt ggataatgtg acagttggaa tgcagtg atg tgc act	116
Met Ser Thr	
1	
ctt tgc cca ccg cca tct cca gct gtt gcc aag aca gag att gct tta	164
Leu Cys Pro Pro Pro Ser Pro Ala Val Ala Lys Thr Glu Ile Ala Leu	
5 10 15	
agt ggc aaa tca cct tta tta gca gct act ttt gct tac tgg gac aat	212
Ser Gly Lys Ser Pro Leu Leu Ala Ala Thr Phe Ala Tyr Trp Asp Asn	
20 25 30 35	
att ctt ggt cct aga gta agg cac att tgg gct cca aag aca gaa cag	260
Ile Leu Gly Pro Arg Val Arg His Ile Trp Ala Pro Lys Thr Glu Gln	
40 45 50	
gta ctt ctc agt gat gga gaa ata act ttt ctt gcc aac cac act cta	308
Val Leu Leu Ser Asp Gly Glu Ile Thr Phe Leu Ala Asn His Thr Leu	
55 60 65	
aat gga gaa atc ctt cga aat gca gag agt ggt gct ata gat gta aag	356
Asn Gly Glu Ile Leu Arg Asn Ala Glu Ser Gly Ala Ile Asp Val Lys	
70 75 80	
ttt ttt gtc ttg tct gaa aag gga gtg att att gtt tca tta atc ttt	404
Phe Phe Val Leu Ser Glu Lys Gly Val Ile Ile Val Ser Leu Ile Phe	
85 90 95	
gat gga aac tgg aat ggg gat cgc agc aca tat gga cta tca att ata	452
Asp Gly Asn Trp Asn Gly Asp Arg Ser Thr Tyr Gly Leu Ser Ile Ile	
100 105 110 115	
ctt cca cag aca gaa ctt agt ttc tac ctc cca ctt cat aga gtg tgt	500
Leu Pro Gln Thr Glu Leu Ser Phe Tyr Leu Pro Leu His Arg Val Cys	
120 125 130	
gtt gat aga tta aca cat ata atc cgg aaa gga aga ata tgg atg cat	548
Val Asp Arg Leu Thr His Ile Ile Arg Lys Gly Arg Ile Trp Met His	
135 140 145	
aag gaa aga caa gaa aat gtc cag aag att atc tta gaa ggc aca gag	596
Lys Glu Arg Gln Glu Asn Val Gln Lys Ile Ile Leu Glu Gly Thr Glu	
150 155 160	
aga atg gaa gat cag ggt cag agt att att cca atg ctt act gga gaa	644
Arg Met Glu Asp Gln Gly Gln Ser Ile Ile Pro Met Leu Thr Gly Glu	
165 170 175	
gtg att cct gta atg gaa ctg ctt tca tct atg aaa tca cac agt gtt	692
Val Ile Pro Val Met Glu Leu Leu Ser Ser Met Lys Ser His Ser Val	
180 185 190 195	
cct gaa gaa ata gat ata gct gat aca gta ctc aat gat gat gat att	740

[0024]

Pro	Glu	Glu	Ile	Asp	Ile	Ala	Asp	Thr	Val	Leu	Asn	Asp	Asp	Asp	Ile	
				200					205					210		
ggt	gac	agc	tgt	cat	gaa	ggc	ttt	ctt	ctc	aat	gcc	atc	agc	tca	cac	788
Gly	Asp	Ser	Cys	His	Glu	Gly	Phe	Leu	Leu	Asn	Ala	Ile	Ser	Ser	His	
			215					220					225			
ttg	caa	acc	tgt	ggc	tgt	tcc	gtt	gta	gta	ggg	agc	agt	gca	gag	aaa	836
Leu	Gln	Thr	Cys	Gly	Cys	Ser	Val	Val	Val	Gly	Ser	Ser	Ala	Glu	Lys	
		230					235					240				
gta	aat	aag	ata	gtc	aga	aca	tta	tgc	ctt	ttt	ctg	act	cca	gca	gag	884
Val	Asn	Lys	Ile	Val	Arg	Thr	Leu	Cys	Leu	Phe	Leu	Thr	Pro	Ala	Glu	
	245					250					255					
aga	aaa	tgc	tcc	agg	tta	tgt	gaa	gca	gaa	tca	tca	ttt	aaa	tat	gag	932
Arg	Lys	Cys	Ser	Arg	Leu	Cys	Glu	Ala	Glu	Ser	Ser	Phe	Lys	Tyr	Glu	
260					265					270					275	
tca	ggg	ctc	ttt	gta	caa	ggc	ctg	cta	aag	gat	tca	act	gga	agc	ttt	980
Ser	Gly	Leu	Phe	Val	Gln	Gly	Leu	Leu	Lys	Asp	Ser	Thr	Gly	Ser	Phe	
				280					285				290			
gtg	ctg	cct	ttc	cgg	caa	gtc	atg	tat	gct	cca	tat	ccc	acc	aca	cac	1028
Val	Leu	Pro	Phe	Arg	Gln	Val	Met	Tyr	Ala	Pro	Tyr	Pro	Thr	Thr	His	
			295					300					305			
ata	gat	gtg	gat	gtc	aat	act	gtg	aag	cag	atg	cca	ccc	tgt	cat	gaa	1076
Ile	Asp	Val	Asp	Val	Asn	Thr	Val	Lys	Gln	Met	Pro	Pro	Cys	His	Glu	
		310					315					320				
cat	att	tat	aat	cag	cgt	aga	tac	atg	aga	tcc	gag	ctg	aca	gcc	ttc	1124
His	Ile	Tyr	Asn	Gln	Arg	Arg	Tyr	Met	Arg	Ser	Glu	Leu	Thr	Ala	Phe	
	325					330				335						
tgg	aga	gcc	act	tca	gaa	gaa	gac	atg	gct	cag	gat	acg	atc	atc	tac	1172
Trp	Arg	Ala	Thr	Ser	Glu	Glu	Asp	Met	Ala	Gln	Asp	Thr	Ile	Ile	Tyr	
340					345				350						355	
act	gac	gaa	agc	ttt	act	cct	gat	ttg	aat	att	ttt	caa	gat	gtc	tta	1220
Thr	Asp	Glu	Ser	Phe	Thr	Pro	Asp	Leu	Asn	Ile	Phe	Gln	Asp	Val	Leu	
				360					365					370		
cac	aga	gac	act	cta	gtg	aaa	gcc	ttc	ctg	gat	cag	gtc	ttt	cag	ctg	1268
His	Arg	Asp	Thr	Leu	Val	Lys	Ala	Phe	Leu	Asp	Gln	Val	Phe	Gln	Leu	
			375					380					385			
aaa	cct	ggc	tta	tct	ctc	aga	agt	act	ttc	ctt	gca	cag	ttt	cta	ctt	1316
Lys	Pro	Gly	Leu	Ser	Leu	Arg	Ser	Thr	Phe	Leu	Ala	Gln	Phe	Leu	Leu	
		390					395					400				
gtc	ctt	cac	aga	aaa	gcc	ttg	aca	cta	ata	aaa	tat	ata	gaa	gac	gat	1364
Val	Leu	His	Arg	Lys	Ala	Leu	Thr	Leu	Ile	Lys	Tyr	Ile	Glu	Asp	Asp	
	405					410					415					
acg	cag	aag	gga	aaa	aag	ccc	ttt	aaa	tct	ctt	cgg	aac	ctg	aag	ata	1412
Thr	Gln	Lys	Gly	Lys	Lys	Pro	Phe	Lys	Ser	Leu	Arg	Asn	Leu	Lys	Ile	
420					425					430					435	

[0025]

gac ctt gat tta aca gca gag ggc gat ctt aac ata ata atg gct ctg Asp Leu Asp Leu Thr Ala Glu Gly Asp Leu Asn Ile Ile Met Ala Leu 440 445 450	1460
gct gag aaa att aaa cca ggc cta cac tct ttt atc ttt gga aga cct Ala Glu Lys Ile Lys Pro Gly Leu His Ser Phe Ile Phe Gly Arg Pro 455 460 465	1508
ttc tac act agt gtg caa gaa cga gat gtt cta atg act ttt taa Phe Tyr Thr Ser Val Gln Glu Arg Asp Val Leu Met Thr Phe 470 475 480	1553
atgtgtaact taataagcct attccatcac aatcatgac gctggtaaag tagctcagtg	1613
gtgtggggaa acgttcccct ggatcatact ccagaattct gctctcagca attgcagtta	1673
agtaagttac actacagttc tcacaagagc ctgtgagggg atgtcaggtg catcattaca	1733
ttgggtgtct cttttcctag atttatgctt ttgggataca gacctatgtt tacaatataa	1793
taaatattat tgctatcttt taaagatata ataataggat gtaaacttga ccacaactac	1853
tgtttttttg aaatacatga ttcatggttt acatgtgtca aggtgaaatc tgagttggct	1913
tttacagata gttgactttc tatcttttgg cattctttgg tgtgtagaat tactgtaata	1973
cttctgcaat caactgaaaa ctagagcctt taaatgattt caattccaca gaaagaaagt	2033
gagcttgaac ataggatgag ctttagaaaag aaaattgac aagcagatgt ttaattggaa	2093
ttgattatta gatcctactt tgtggattta gtccctggga ttcagtctgt agaaatgtct	2153
aatagtcttc tatagtcctt gttcctgggtg aaccacagtt aggggtgttt gtttatttta	2213
ttgttcttgc tattgttgat attctatgta gttgagctct gtaaaaggaa attgtatttt	2273
atgttttagt aattgttgcc aactttttta attaatcttc attatttttg agccaaattg	2333
aaatgtgcac ctctgtgcc tttttctctc ttagaaaatc taattacttg gaacaagttc	2393
agatttcaact ggtcagtcac ttcatcttg tttcttctt gctaagtctt accatgtacc	2453
tgctttggca atcattgcaa ctctgagatt ataaaatgcc ttagagaata tactaactaa	2513
taagatcttt ttttcagaaa cagaaaatag ttcccttgagt acttccctct tgcatttctg	2573
cctatgtttt tgaagttgtt gctgtttgcc tgcaataggc tataaggaat agcaggagaa	2633
attttactga agtgctgttt tcctaggtgc tacttttgca gagctaagtt atcttttggt	2693
ttcttaatgc gtttgaccca ttttgctggc tataaaataa ctgattaata taattctaac	2753
acaatgttga cattgtagtt acacaaacac aaataaatat tttattttaaa attctggaag	2813
taatataaaa gggaaaatat atttataaga aagggataaa ggtaatagag cccttctgcc	2873
ccccccac caaatttaca caacaaaatg acatgttcga atgtgaaagg tcataatage	2933

[0026]

tttcccatca tgaatcagaa agatgtggac agcttgatgt tttagacaac cactgaacta	2993
gatgactggt gtactgtagc tcagtcattt aaaaaatata taaatactac cttgtagtgt	3053
cccatactgt gttttttaca tggtagattc ttatttaagt gctaactggt tattttcttt	3113
ggctggttta ttgtactggt atacagaatg taagttgtac agtgaaataa gttattaaag	3173
catgtgtaaa cattgttata tatcttttct cctaaatgga gaattttgaa taaaatatat	3233
ttgaaatttt g	3244

<210> 5  
 <211> 761  
 <212> DNA  
 <213> 智人

<220>  
 <221> misc 特征  
 <222> (693).. (693)  
 <223> n是a、c、g或t  
 <220>  
 <221> misc 特征  
 <222> (722).. (722)  
 <223> n是a、c、g或t

<400> 5	
cacgaggctt tgatatttct tacaacgaat ttcatgtgta gaccactaa acagaagcta	60
taaaagttgc atggtcaaatt aagtctgaga aagtctgcag atgatataat tcacctgaag	120
agtcacagta tgtagccaaa tgttaaaggt tttagatgc catacagtaa atttaccag	180
cattttctaa atttatttga ccacagaatc cctattttta gcaacaactg ttacatccca	240
tggattccag gtgactaaag aatacttatt tcttaggata tgttttattg ataataacaa	300
ttaaaatttc agatatcttt cataagcaaa tcagtgtgtc ttttacttca tgttttaatg	360
ctaaaatatt ttcttttata gatagtcaga acattatgcc ttttctgac tccagcagag	420
agaaaatgct ccaggttatg tgaagcagaa tcatcattta aatatgagtc agggctcttt	480
gtacaaggcc tgctaaagga ttcaactgga agctttgtgc tgcctttccg gcaagtcag	540
tatgtccat atcccaccac acacatagat gtggatgtca atactgtgaa gcagatgcca	600
ccctgtcatg aacatattta taatcagcgt agatacatga gatccgagct gacagccttc	660
tggagagcca cttcagaaga agacatggct cangatacga tcatctacac tgacgaaagc	720
tntactcctg atttgaatat ttttcaagat gtcttacaca g	761

<210> 6

[0027]

<211> 1901  
 <212> DNA  
 <213> 智人

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (125).. (793)

<400> 6  
 acgtaaccta cgggtgtcccg ctaggaaaga gaggtgctgc aaacagcgac aagttccgcc 60  
 cacgtaaaag atgacgcttg atatctccgg agcatttgga taatgtgaca gttggaatgc 120  
 agtg atg tgc act ctt tgc cca ccg cca tct cca gct gtt gcc aag aca 169  
 Met Ser Thr Leu Cys Pro Pro Pro Ser Pro Ala Val Ala Lys Thr  
 1 5 10 15  
 gag att gct tta agt ggc aaa tca cct tta tta gca gct act ttt gct 217  
 Glu Ile Ala Leu Ser Gly Lys Ser Pro Leu Leu Ala Ala Thr Phe Ala  
 20 25 30  
 tac tgg gac aat att ctt ggt cct aga gta agg cac att tgg gct cca 265  
 Tyr Trp Asp Asn Ile Leu Gly Pro Arg Val Arg His Ile Trp Ala Pro  
 35 40 45  
 aag aca gaa cag gta ctt ctc agt gat gga gaa ata act ttt ctt gcc 313  
 Lys Thr Glu Gln Val Leu Leu Ser Asp Gly Glu Ile Thr Phe Leu Ala  
 50 55 60  
 aac cac act cta aat gga gaa atc ctt cga aat gca gag agt ggt gct 361  
 Asn His Thr Leu Asn Gly Glu Ile Leu Arg Asn Ala Glu Ser Gly Ala  
 65 70 75  
 ata gat gta aag ttt ttt gtc ttg tct gaa aag gga gtg att att gtt 409  
 Ile Asp Val Lys Phe Phe Val Leu Ser Glu Lys Gly Val Ile Ile Val  
 80 85 90 95  
 tca tta atc ttt gat gga aac tgg aat ggg gat cgc agc aca tat gga 457  
 Ser Leu Ile Phe Asp Gly Asn Trp Asn Gly Asp Arg Ser Thr Tyr Gly  
 100 105 110  
 cta tca att ata ctt cca cag aca gaa ctt agt ttc tac ctc cca ctt 505  
 Leu Ser Ile Ile Leu Pro Gln Thr Glu Leu Ser Phe Tyr Leu Pro Leu  
 115 120 125  
 cat aga gtg tgt gtt gat aga tta aca cat ata atc cgg aaa gga aga 553  
 His Arg Val Cys Val Asp Arg Leu Thr His Ile Ile Arg Lys Gly Arg  
 130 135 140  
 ata tgg atg cat aag gaa aga caa gaa aat gtc cag aag att atc tta 601  
 Ile Trp Met His Lys Glu Arg Gln Glu Asn Val Gln Lys Ile Ile Leu  
 145 150 155  
 gaa ggc aca gag aga atg gaa gat cag ggt cag agt att att cca atg 649  
 Glu Gly Thr Glu Arg Met Glu Asp Gln Gly Gln Ser Ile Ile Pro Met  
 160 165 170 175



[0028]

ctt act gga gaa gtg att cct gta atg gaa ctg ctt tca tct atg aaa	697
Leu Thr Gly Glu Val Ile Pro Val Met Glu Leu Leu Ser Ser Met Lys	
180 185 190	
tca cac agt gtt cct gaa gaa ata gat ata gct gat aca gta ctc aat	745
Ser His Ser Val Pro Glu Glu Ile Asp Ile Ala Asp Thr Val Leu Asn	
195 200 205	
gat gat gat att ggt gac agc tgt cat gaa ggc ttt ctt ctc aag taa	793
Asp Asp Asp Ile Gly Asp Ser Cys His Glu Gly Phe Leu Leu Lys	
210 215 220	
gaatTTTTct tttcataaaa gctggatgaa gcagatacca tcttatgtct acctatgaca	853
agatttggaa gaaagaaaat aacagactgt ctacttagat tgttctaggg acattacgta	913
tttgaactgt tgcttaaatt tgtgttattt ttcactcatt atatttctat atatttttg	973
tgttattcca tttgctattt aaagaaaccg agtttccatc ccagacaaga aatcatggcc	1033
ccttgcttga ttctggttct ttgttttact tctcattaaa gctaacagaa tcctttcata	1093
ttaagttgta ctgtagatga acttaagtta tttaggcgta gaacaaaatt attcatattt	1153
atactgatct ttttccatcc agcagtggag tttagtactt aagagtttgt gcccttaaac	1213
cagactccct ggattaatgc tgtgtaccgc tgggcaaggt gcctgaattc tctatacacc	1273
tatttctca tctgtaaaat ggcaataata gtaatagtac ctaatgtgta gggttgttat	1333
aagcattgag taagataaat aatataaagc acttagaaca gtgcctggaa cataaaaaca	1393
cttaataata gctcatagct aacatttcct atttacattt cttctagaaa tagccagtat	1453
ttgttgagtg cctacatgtt agttccctta ctagttgctt tacatgtatt atcttatatt	1513
ctgttttaaa gtttcttcac agttacagat tttcatgaaa ttttactttt aataaaagag	1573
aagtaaaagt ataaagtatt cacttttatg ttcacagtct tttcctttag gctcatgatg	1633
gagtatcaga ggcatgagtg tgtttaacct aagagcctta atggcttgaa tcagaagcac	1693
tttagtctg tatctgttca gtgtcagcct ttcatacatc attttaaate ccatttgact	1753
ttaagtaagt cacttaactct ctctacatgt caatttcttc agctataaaa tgatgggtatt	1813
tcaataaata aatacattaa ttaaatgata ttatactgac taattgggct gttttaaggc	1873
aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaa	1901

<210> 7  
 <211> 562  
 <212> DNA  
 <213> 智人

<220>

[0029]

&lt;221&gt; misc\_特征

&lt;222&gt; (166)..(166)

&lt;223&gt; n是a、c、g或t

&lt;400&gt; 7

agacgtaacc tacggtgtcc cgctaggaaa gagagatata tccggagcat ttggataatg	60
tgacagttgg aatgcagtga tgtcgactct ttgccaccg ccattctccag ctgttgccaa	120
gacagagatt gctttaagtg gcaaatcacc ttatttagca gctacntttt gcttactggg	180
acaatattct tggtcctaga gtaaggcaca tttaggctcc aaagacagaa caggtacttc	240
tcagtgatgg agaaataact ttctttgcca accacactct aaatggagaa atccttcgaa	300
atgcagagag tgggtctata gatgtaaagt tttttgtctt gtctgaaaag ggagtgatta	360
ttgtttcatt aatctttgat ggaaactgga atggggatcg cagcacatat ggactatcaa	420
ttatacttcc acagacagaa cttagtttct acctccact tcatagagtg tgtgttgata	480
gattaacaca tataatccgg aaaggaagaa tatggatgca taaggaaaga caagaaaatg	540
tccagaagat tatcttagaa gg	562

&lt;210&gt; 8

&lt;211&gt; 798

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 智人

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (81)..(590)

&lt;400&gt; 8

gggctctctt ttgggggcgg ggtctagcaa gagcagatat ctccggagca ttgataat	60
gtgacagttg gaatgcagtg atg tgc act ctt tgc cca ccg cca tct cca gct	113
Met Ser Thr Leu Cys Pro Pro Pro Ser Pro Ala	
1 5 10	
ggt gcc aag aca gag att gct tta agt ggc aaa tca cct tta tta gca	161
Val Ala Lys Thr Glu Ile Ala Leu Ser Gly Lys Ser Pro Leu Leu Ala	
15 20 25	
gct act ttt gct tac tgg gac aat att ctt ggt cct aga gta agg cac	209
Ala Thr Phe Ala Tyr Trp Asp Asn Ile Leu Gly Pro Arg Val Arg His	
30 35 40	
att tgg gct cca aag aca gaa cag gta ctt ctc agt gat gga gaa ata	257
Ile Trp Ala Pro Lys Thr Glu Gln Val Leu Leu Ser Asp Gly Glu Ile	
45 50 55	
act ttt ctt gcc aac cac act cta aat gga gaa atc ctt cga aat gca	305
Thr Phe Leu Ala Asn His Thr Leu Asn Gly Glu Ile Leu Arg Asn Ala	
60 65 70 75	

[0030]

gag agt ggt gct ata gat gta aag ttt ttt gtc ttg tct gaa aag gga 353  
 Glu Ser Gly Ala Ile Asp Val Lys Phe Phe Val Leu Ser Glu Lys Gly  
                     80                    85                    90

gtg att att gtt tca tta atc ttt gat gga aac tgg aat ggg gat cgc 401  
 Val Ile Ile Val Ser Leu Ile Phe Asp Gly Asn Trp Asn Gly Asp Arg  
                     95                    100                    105

agc aca tat gga cta tca att ata ctt cca cag aca gaa ctt agt ttc 449  
 Ser Thr Tyr Gly Leu Ser Ile Ile Leu Pro Gln Thr Glu Leu Ser Phe  
                     110                    115                    120

tac ctc cca ctt cat aga gtg tgt gtt gat aga tta aca cat ata atc 497  
 Tyr Leu Pro Leu His Arg Val Cys Val Asp Arg Leu Thr His Ile Ile  
                     125                    130                    135

cgg aaa gga aga ata tgg atg cat aag gaa aga caa gaa aat gtc cag 545  
 Arg Lys Gly Arg Ile Trp Met His Lys Glu Arg Gln Glu Asn Val Gln  
                     140                    145                    150                    155

aag att atc tta gaa ggc aca gag aga atg gaa gat cag ggt cag 590  
 Lys Ile Ile Leu Glu Gly Thr Glu Arg Met Glu Asp Gln Gly Gln  
                     160                    165                    170

agtattattc caatgcttac tggagaagtg attcctgtaa tgggactgct ttcattctatg 650

aaatcacaca gtgttcctga agaaatagat atagctgata cagtactcca tgatgatgat 710

atttggtgac agctgtcatg aaaggctttc ttctcaagta ggaatttttt cttttcataa 770

aagctgggat gaagccagat tcccatct 798

<210> 9  
 <211> 169  
 <212> DNA  
 <213> 智人

<400> 9  
 aaacagcgac aagttccgcc cacgtaaaag atgatgcttg gtgtgtcagc cgtcacctgct 60  
 gcccggttgc ttctcttttg ggggcggggt ctagcaagag cagatatctc cggagcattt 120  
 ggataatgtg acagttggaa tgcggtgatg tcgactcttt gccaccgc 169

<210> 10  
 <211> 176  
 <212> DNA  
 <213> 智人

<400> 10  
 aaaacgtcat cgcacataga aaacagacag acgtaaccta cgggtgtcccg ctaggaaaga 60  
 gaggtgcgtc aaacagcgac aagttccgcc cacgtaaaag atgacgcttg atatctccgg 120  
 agcatttgga taatgtgaca gttggaatgc agtgatgtcg actctttgcc caccgc 176

[0031]

<210> 11  
 <211> 38001  
 <212> DNA  
 <213> 小家鼠

&lt;400&gt; 11

caaacacaca cacacacaca cacacacaca cacacacaca cacacacaca cacacactgg	60
catatcaagt ctctgttagg ctaggcgcac cctctccac tgaggtcaga caagactgcc	120
cagctagaag aacatatccc acggacaggc aacagctttt gggacagcca cgctccagtt	180
gtttgggact cataaaagac taaactcaca cctgctacaa aagtgcaggg aggcctaggt	240
ccagcctgtg tgtgctcttt gcttagtggt gtctctgaga gccctaagga tcaaagtttg	300
ttgactctgt tggctcttct gtggagtcc tatecccttc gteccctcc ccacctgca	360
atctttccct caactcttct ttaggcctgg tgggtggtgt gtggtggcat ggaggaggtg	420
gtggaggggg tgggggtctt taatcccgt tcttgtgaga ccgaagcagg gacgatttcg	480
gagctctgtg agtttgaggc cagcctggtc tatagatcta gttccaggac agtcagagct	540
acatagagaa accctgcccc gagggggggg gggcgcgggg aatggttaaa gattattgca	600
ggaccagct gatctgtgga agaggtaacg ggtgtttatg ttttcgaaa ctcatgaac	660
aatgcacttc aattgtgcgc actttagaaa tataaagcca ccacgcgaaa agctgcgccc	720
caacttaaag gcaatttcca aggtacttct gggctccttc ggttcagtgg ctgtctaggt	780
tcagaaacga aactggatcc ccgccccgc ccccgcccc cccctcccc agcgccctga	840
ggcagtttcg atttctatg gccagccggc taggcagctt tttcatcggg actccttga	900
aagtcctcac ttcgttcac tctggcgat ttgcgggagc cagggcgctc atcgatcgcc	960
tggagccaca gaatgacagc ggagcagcgg cagaatctgc aagcattcag agactatata	1020
aagaagattc tggacccac ctacatctc agctacatga gtctctggct cgaggatggt	1080
gagtgggtccc caactggggc tctcaggtc tccaccttag cgaggggaaa acatcactca	1140
gatcagaaac aattgaaggc tctgcccccc cccctcccc gcgtgtcct taagttaatt	1200
tgtgtaaccc ggtgtatgtg agactccag gccatattag agtagacagc atagggattt	1260
gatggtcagg aacaaaattc ctgcaagctg tagtaacttg cataaggatg ccactctttt	1320
ctttctttca atgctgggga aatagtttgt ttctcttatt tacaccttct agactgctgt	1380
gtgcctccct ttgtcctgtc atgagaaact gagaaatcag aatgcgccc cccctcctta	1440
gattcctgta cagagcaaag agcaaggctt tgggctcggg ccaaaggtgg aggtgggggc	1500

[0032]

cgcaggaagc aagaggactg actgacacgc acatttctgt caaaggatgt tgctcacagg	1560
aagtccgtgg aagaaaactt tctccagact ccggtgtgttc agagttaaac acagttgttc	1620
atatctagct ttggggattt gattggtgga taatagactc ttgttaaatt gcactgggtg	1680
tttccacctg agcaaacaga cctccccacc tcacccccac cccagggag aaggagagg	1740
gcgtttgaag ggggtgaccga gggcgtgcgg cagctacttt tcattttgcc agttaaagcc	1800
tagatgtctt tcctggcggt ggacgacggt ggcaactgca ggttaattct gactctcttg	1860
agttccgaag cctaacaggc tatgcagaga ggagtaaaag agcactaccc agggctaccc	1920
acatcccgtt tgtgttagag agaagcagca aaaaagccct aatgattggg ggcggggctt	1980
gaggagagga aaccaccca agaggtttct taacaccagg gtcacttgcc ttccaatcct	2040
ttaatctgat ctttagtcat ttacattagc atacaaagta actagtttca atactgaaac	2100
aaagtaacta gtttgttcag ccattcctgc cattgctctt tgttcttatt taattgcctc	2160
ttctgtggct cttccacccc ctttacctgt ccctctctgg atgccctccc ccccaaattg	2220
taccccgttc tgctttctta taacatgagg ttcatcacac tccctccctc cctccctccc	2280
ccatttaaag tatcatcctt tcctctcagg gtgcctgttt tagtttcatg aattttaggg	2340
ttttggtttt ttgtctgttt agttatgaga tttttttaa aatgtggatt atgttgaatt	2400
tgtagattgt tcttgggtgt agaggccttt ttatagtatt atttccaccc atcttgggag	2460
atctttctga aatcttccag tgtcttcaag aatttttttt tccactgcc ttagaagttt	2520
gcattgtage tatcgttcac ctctttgggt agggtttgtt gttatttgtt tgtttgaggc	2580
tattgtgaat agaactccct ccttccccca tatctttctg ggccagggtg ttcttagtat	2640
gtaagtaagc tactggtttc tgtatgttta tttagaaccc tgccctcttg ttgacttttt	2700
atgagggtg agagtttgt gtagtctttg gggggtcttt ataggattat ataagaatca	2760
tttgactcat tcctttccta ttgtctaac tttgtttgt ttgtttgtt gttttttga	2820
gacagggttt ctctgtatag ccttggcagt cctggaactc actttgtaga ccaggctggc	2880
ctcgaactca gaaatctgcc tgccctgcc tcccgagtgc tgggattaaa ggcgtgcacc	2940
accacaccg gccatcattt ccaagttaa gatttgatct acattagacg ccgccacgca	3000
gaaaaccttg agacttggtg gaaaggccaa aggccattaa aataaatttt ctttttctt	3060
tcttccattc tttctttat tccttcttc ctttctttt gtttcttctc ttttctttt	3120
ccttttctc gagacagggt ttctctgtat agccctggca tcctggaact cactctgtag	3180
accaggctgg cctcgaactc agaaatccac cagcctttgc ctccaagtg ttgggattaa	3240

[0033]

aggcattcgc caccactgcc caaatatattt atttatttat ttatttatatt atttttatat	3300
atgtgatgag tacactggaa attccatcaa aaagagcagg tttgactggg gtcactagat	3360
ttactattga tagggatccc taaaggagag ctaaggtaaa gggctctccc tctcctaggt	3420
cttctgcata ccttccttga gtgttctggg ccagatctcc taagctctaa gaatgtgctg	3480
aaaacacact gggaactggc tccctccttg ggaatttgta ctccctctgc tgtgggaaac	3540
ttggatataa gaggctacag gaggacagtg agttataccc caggcacaga gttagcgtgt	3600
acattcaaaa cgcataccat ttigaaagta gcagctgcta gcatttcctg tcacctggtc	3660
aacctggtct ctttagctgc cccacccctt ccacttttct gctgtgttct ttttactctc	3720
ttagcaaaaa ttggaatgaa agaccacaaa tgtatttgta attcaaaatg cttgctgcat	3780
cagctatact cgttactgtt gccatagggc gttcatcccc acccaccccc aacccttag	3840
tccagcagtt gcttcagagt ttgaagaag aggaggaagc ctttcttctt ccatgtgaca	3900
ccctccactg cgacttctgc ttactgtggg gaacttgagt ggaggacggg agtgtgcata	3960
gatgaaagag tggaggacgg gagtgtgcat agatgaagga gtggaggacg ggagtgtgca	4020
tacatgaagg agtggaggac gggagtgtgc atacatgaag gagtggagga cgggagtgtg	4080
catacatgaa ggagtggagg acgggagtgt gcatacatga aggagtggag gatgggagtg	4140
tgcatacatg aaggagtgga ggacgggagt gtgcatacat gaaggagtgg aggacgggag	4200
tgtgcataca tgaaggagag gaggacggga gtgtgcatag atgaaggaga ggaggacggg	4260
agtgtgcata gatgaaggag aggaggacgg gagtgtgcat agatgaagga gaggaggacg	4320
ggagtgtgca tagatgaagg agaggaggac gggagtgtgc atagatgaag gagtggagga	4380
cgggagtgtg catacatgaa ggagtggagg acgggagtgt gcatacatga aggagtggag	4440
gacgggagtg tgcatacatg aaggagtgga ggacgggagt gtgcatacat gaaggagtgg	4500
aggacgggag tgtgcataca tgaaggagag gaggacggga gtgtgcatag atgaaggaga	4560
ggaggacggg agtgtgcata gatgaaggag aggaggacgg gagtgtgcat agatgaagga	4620
gaggaggacg ggagtgtgca tacatgaagg aaaggaggac gggagtgtgc atagatgaag	4680
gagtggagga cgggagtgtg catacatgaa ggagtggagg acgggagtgt gcatacatga	4740
aggagtggag gacgggagtg tgcatatgaa ggagtggagg acgggagtgt gcatacatga	4800
aggagtggag gacgggagtg tgcatagatg aaggagagga ggacgggagt gtgcatagat	4860
gaaggagagg aggacgggag agtgcataga tgaaggagtg gaggacggga gtgtgcatac	4920
atgaaggagt ggaggacggg agtgtgcata catgaaggag tggaggacgg gagtgtgcat	4980

[0034]

agatgaagga gaggaggacg ggagtgtgca tagatgaagg agaggaggac gggagagtgc	5040
atagatgaag gagtggagga cgggagtgtg catagatgaa ggagtggagg acgagagtgt	5100
gcatacatga aggagtggag gacgggagtg tgcgaggatg gatgagtgga gtctgctgcc	5160
tctcaaaggt cttctggttc catgagttgt tatgactccc agaccacat gggaaggtct	5220
ggtctgttat cttccagtga ctagtgcttc tgcaggctac tcacttgccc ttgcttctgt	5280
ttgcagagga ggtgcagtac attcaggctg agaagaacaa caagggccca atggaagctg	5340
cctcactctt cctccagtac ctgttgaagc tgcagtcaga gggctggttc caggcctttt	5400
tggatgccct gtacatgca ggttggttcc ttcttcttcc tcacagtcca gactacttca	5460
ctctgctgcc tcagaaggct gaggggagaa aagtgactcg ttctgtgaca tctgtgtgtg	5520
gcttctgcct caggcgggaa atgtaaagac tattttgaat cagataagag aatggtttat	5580
accagaaata tccaaagcaa tctacagagt tgtaactact aggagaggtg acaatattag	5640
tagcatgccg gtatctttca agaggagaa gagtaataa atcggtttta taatgtttac	5700
agtgtccat tatactgcaa tgaagcgtgt ggacatgtct gtaaagaca acccagctga	5760
actgtaggca cgcagcattt aaatttgaat atcataaact ataatagcta taaagttcca	5820
catgagtcaa actaaacata tagggaagga aactggatct tgggcgaccc tggctgacca	5880
gtcctgggga gtaagcttaa taaactctcc ctgtctgact gagatcggtg tcctgtggtt	5940
tgtgaggcaa ttcttggaact ctaacactta ggcaattaca tttcttgccc ctctgccact	6000
ctagcttatt cactggtgaa agaaggagaa tacttttagtg ttaccaacaa tggggggggg	6060
ggggcggggg atgggaaatg ggaaaaagca ggcccggccc agtgtagtaa gaaagaaaca	6120
ccaaagaaag ccaagggtc ctgttgcttt cattgtattg gagtgtttgt cagtcggctg	6180
ggggatgggg tggggggtgg ggaagcacac ctttaatccc agctctgggg aggcagaggc	6240
aggcagatcc ctgtgagctc caccagtcac ggctggcctc agcaagaact gtatccatca	6300
catectaaca caggtgtgtt gaattaacat ggtactgtta aagcaaacac gctgccttcc	6360
tcgggtgctg cggtccttag gaagccacac attggcagca tgttggcagc agttgtataa	6420
aaactaatgc ttttttttcc ttttcttttt aattcggtaa aagggtttta atgtcatttg	6480
ttataaaact tggtttcttg ctatttccag gattaacaat tgacttattc tttctatttc	6540
ctgctttata gaccatcatt ttgatacatt atctatttgc atctcagtga tacatgctta	6600
tcttaccctt ttatttcgtt ttaagaattg tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg	6660
tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg tgtctgagag tgggcatgca tttatgagtg cattgcctag	6720

[0035]

aggtcagaca ttccctgga gctggagtta atggcagttg tgagggactg acgtgggtgc	6780
tgggatctga cccagtcctc ctgcaagaac acgatgaacc ttacttgcta agccatctcc	6840
ccagccctta gctgttgag ttactctcca ttccaaataa gccctggcaa tgaaaacaag	6900
acttaattca tatgaataca tgctgtgcac ctagattggg cagatctacc gctacactac	6960
catcttctcc atctatgaga ctcccccttt ttttttcttt tttttctttt ttgtggtttt	7020
ggttttttga gacagggttt ctctgtatag ccctggctgt cctggaactc actttgtaga	7080
ccaggctggc ctgcaactca gaaatccgcc tgcctctgcc tcccaagtgc tgggaattaa	7140
ggcgtgcgcc accaggcggt ttctccagge tgtgtgcttc tgctccactt ttcttctctc	7200
tcctctgtgg tatectctcc ctcttctctt ttctcttctt ctcttccac ctctctctcc	7260
aacttccctt tatcagccca atcaccagct ctcttttatt ttactaattg aggtgggaag	7320
caggtttaca ggaaatcacc ggagtgtga ctatttctt gtctgcagcc actcaatgca	7380
gaatggaatt accatcaaata ataattagcc ccagggttat ccacaacact tacctagcac	7440
atcaaattggc ccagcagggg atcaagagaa aaggaaactc aacttctgct tattttctc	7500
atctcttatg tagcccatc agagaagctg ttgttttctt ttgtgggct ctaactaatt	7560
tgaatattat atttaagatc tattctctta agtaaaaatg gcacagctaa ctttaactgt	7620
aaaattatat gaggtttact aggaaaagtc ttgagtttaa gcaagaaagg gaattttaaa	7680
acatttgtat tggaacataa gtgttggaac atctctcttt gcaagtgagg tgctttgtgt	7740
gtacaacctt aagagtttct tttttttttt tttttaattt atttacttca tatttcagac	7800
agatctcatt tcaggtggtt gtgagccacc atgtggttgc tgggatttga actcaggacc	7860
tctggaagag cagtcagtgc tcctctgcgc tgagccatct ctccagcccc cctaagagtt	7920
tcataaagga atagtctgca ttaataaatt cagaaaaggc tcagaatata aagccaatat	7980
catcaagtag gtttccagtt tatgtattaa caaataatgc aaaaaagatt ttaagcaagc	8040
gattcctttt ataacagcac caagaacaat aaagtttaga atgccagtgc tectaactgc	8100
tgaaccacct cagcaatgca aacttttaca tcttagcact aagtcagct cctaattcgt	8160
gaatgtaaga tgctattcat gtccgtgtcc ctatggttcg ttccagaagt ggtttatggt	8220
cttcgggtca taggtctttc ccctgctcag ctttgcttat tcctaacttt atttaaagtt	8280
ctcactgttg ttataaaagg aatcacttgg ggctggcgag atggctcagt gggtaagagc	8340
accgactgc tcttccgaag gtctgagtt caaatcccag caaccacatg gtggctcaca	8400
accatccgta acgagatctg actcctcttt ctggagtgtc ggaagacagc tacagtgtat	8460



[0036]

ttacatatataa taaataaata aataaataaa tcttcaaaaa aattctaaaa aaatatggaa	8520
aaaaaaggaa tcacttagtt aaaaatctca ttcctagccg gttgtggtgg cacatacctt	8580
taatcccagc acttgggtgg cagaggcagg cggatttcta agtttgaggt ctacaaagt	8640
agttccaggt ctctgaaaac cacaaaaaaa aaaaaaaaaa atagcactgg ctgctcttcc	8700
gaaggttctg agttcaaata cctccaacca catagtggct cacaaccata tgtaatggga	8760
tctgatgccc tcttctggtg tgtctgaaga cagtaacagt gtacttacat ataataaata	8820
aataaatctt tgggtgggag tgagcggggc tggagagaga aggaaaagta tctgaagaca	8880
actacagtgt acttacatat aatagataaa taaatcttta aaaaaatcaa taaatgaaag	8940
atgccaatat taccagagt tggcacagtg atacctttca taatgccaaa ttttggtggc	9000
aggattgttt gtttattaaa caggaataga aaaatttact ctcaaatttg tatgaaatct	9060
taaatggtca aaatattgga aagagaaact cacttggaac ccttggggga cttatacttc	9120
ctggtgtcaa aacagtacag aacctccata aagccagata attagacat tagcccagaa	9180
gtaaactctg aaggatatgg ccaaagggtc ttcaacaagg gtacatgac caccctaaag	9240
ggggaaaaaa aaccagtc ctttaatatg aaaatacatt ggggtaagt ggtatacata	9300
tgggaatgag aggtatcagg cataatcttg tgctatgat tgaatttgaa atgttctcat	9360
cacattcatg ttttgagtgc ttggtcccca gcttgtgggg ttttaggagg tagagcctag	9420
ctagccaaag taacacgtgt atacgttcat gcatgtgtgc acacaggtat gaggggtactt	9480
gtgtgtagcc cagaggctga cattcagtgt ctctcttagg agctctccac cgtatgtttt	9540
tgggaatgga tctctcatta gaccagaat ttaccctctc gggctcgact ggctgggatt	9600
atagggtcat gctgctacac ttggcttttt acatgatagc tggggacagg aactcaggtc	9660
ccagccttgt gtggtgagca cttttctact aagcaccttc ttggtcctgg agctattttg	9720
attgttttag ttttttgggt ctataggggg gagaaaaaaa aaaaaaccac attgtcttcc	9780
cagggccttg aatgaagtaa atgagggtct gagaggcagg cacgcctggg ggatctgtcc	9840
aaaaaccca gagtacggca ttcttggtt cttttagtca gaagtcattt tccttctcca	9900
tttgeccatt gacttaatct tttcttgga tggtgtggaa ggaaacactt ttcaagggca	9960
ggatgtaaga tttgtatttc ctctggtctt ctttactgtt tcctcttgag aagataaaca	10020
tgatgaattt gactaattta aaagtaaatt gagatgacaa agagatggct ctgtgattaa	10080
gagcacttgc tgatcttgca gaggaccag gtttggttcc tagacttaca tggtagctca	10140
caaccatctg taacttcagt tccaggaatc tgaccctctc ttctgctctc caaagatacc	10200

[0037]

agacacactc acgatacaca gacacatgca aagtaaaata gaaataaata ttaaaaaaaaa	10260
atatattgtg gggtgtgtgt aaagtgcgtg aggggcattt tgaagatttt attctaaggt	10320
caaatacaag gcctcatatc tgtccttagg acttgaccct gaaagataat gaatttttagg	10380
agacctaaac tgttgggtac caaaaatgag tattactccc attttggaaa atcatgaata	10440
gctgtattag ttgactttaa ctactgtgag taaatgccc aggaaataaa aagcagaaaa	10500
atgagagcca agaggatctg tagcttctgc acccgtgcgt ggtgaggcag ggcaccatgg	10560
cgggagcatg tgggaaaagc cgcactttct ggtagacagg tggcaaaggg tgccgggcag	10620
gggccctgga caagatgcat tcttcaaagc acatctccag tgactcactt ctcccagaga	10680
gggtacagtt ctcatgttct ctttctgtat gaactcaatg tgctgccagt ggtgacgcca	10740
ggactcgaag gatgtggtca ccaggteccg cagggtgtgg tcacctctaa agactgtcac	10800
cagctgggtg ccaagcctgc aacctgtcag cctcatggtc tggtcctcca gactgtccag	10860
tgactgaggc catttgcaga tggttttcag ttcccttgcc actgatttga acaggattcc	10920
catgattttg acttcaaagc atttttatgt tggatttgc taaagaaatcc ccatttctct	10980
tttctttttc aggttactgt ggactttgtg aagccatcga aagttgggac tttcaaaaaa	11040
ttgaaaagtt agaggaacac agattacttt taagacgttt agaaccagaa ttttaaggcca	11100
cagttgatcc aaatgatatc ctttctgaac tatccgaatg tttgattaat caggaatgtg	11160
aagaaatcag acaggtaaac caatgccagg tactaaattt gaagaaaaat gcagagacat	11220
tggaaatgcc catttttctg tcttgtttta ggcccaagga taattgaaac ccataaaagc	11280
tctcatctag cagatataat gactagaata gaatttttaa agtgaatggg gtaatttttg	11340
tgctagacta ttagaaaatt atttaacctt ttgacagtta aagttgcccc cttactttaa	11400
aaaaaatagt ggtttatgca taatgcaaac cacaccaaac agtgcaacaa ttaaaaggaa	11460
aaatatgtca ggctcttggg catagataca ttattacag tctcgcagtc acttaactag	11520
tgatgtgatg ccaggcagtt ctctaagcat ctgtgggggt tttgttggtg ttgttggtgt	11580
tgtttggttg tttgttttct atgtctaaag taagaaaatt tatcttttgt tttttgtttt	11640
tttgtttttt tagatttctt tattttattt tattatatgt gactacactg tagctgtctt	11700
cagacactcc agaagagggc gtcagatctt gttacggatg gttgtgagcc actatgtggt	11760
tgtctgggatt tgaactcagg accttcggaa gaacagtcgg tgctctcaac ccctgagcca	11820
tctctccagc ccccttttgt ttttgttttt gttttgtttt ttgttttttt gtttgtttgg	11880
ttttttgtgc gttgttggtg tttgtttgtt ttgttttttc gagatagggt ttctctgtgt	11940

[0038]

agccctggct gtcctggaac tcactctgta gaccaggctg gccttgaact cagaaatccg	12000
cctgcctctg cctcccgagt actgggatta aaggcatgca ccaccacgcc cgacgaaaat	12060
gtaccttatt agcactcttt tagggctaaa tgagaggtea tgcacaaaat gtgtatgtca	12120
gcttgatgca tagcagtcta tgcacaatgc atttcagtta tcattagaaa gaaaagtcac	12180
agaacatctg cttagaaaag agacctgctg ctgtgctgtt aggcatctcc aaatggctct	12240
gtgtgccgat acatccttag ggtgaatggt tagcgtctgg gttaacgctt ttaccccagg	12300
attgctcttg gtcagggata taaggattca gaagatgaga acatttgcct tggcatattg	12360
ataacacatt ataaaggaca aaggatgaaga aaggaatata ttaaaagcta gtgctggaca	12420
gggcaaaaag atgatgctaa ctaagcccta ctcaactata cttcacagtg atttcaatca	12480
gataccgctt ccacaaaagc ttgccagagg aaaggctgag ctgcctgac agtgtgctgc	12540
atttgtctcc cccagatccg agacactaaa gggagaatgg cagggtgcgga gaagatggcc	12600
gaatgtctta tcagatccga caaggaaaac tggccaaagg tcttgcaact tgctttggag	12660
aaagacaaca gcaagtttag tgaattgtgg attgttgata aagggtgggt gctccaagaa	12720
agaaccctgg accctgctgc gctcctccca gttctccca ctttactttc catcagagge	12780
gctgttact tcagatacca aaggctatat ccttaggata caagcagtgg aaagctgaat	12840
tctgggagga agggaactac atggcatgga attaacccga ccaggatcaa gaatctaggg	12900
aaggcttcca gccccaattt gttatcagag aaatagcttg agaattctag acctaaaggt	12960
tcaaaactgca agacttacct ccctatcaga gcagaggctg agtgttgggg gtgatagcta	13020
tggactgggt ctcttgcccg gaagccatct ggactccgac agagcaagag taaacgaaga	13080
ttttctgtgt ttaagccaac ctcatctggc ttccgaaac tcacttcttg ctttaaacag	13140
accttgataa atacctgagt ttctagtctt ctttctcacc tagatttct tagaacataa	13200
attattccag aaactctcta catcgttggc cagagatgga atcctgtctc tttagtgtgc	13260
tcaggaatga cgccttgctg ttattggcgt gagttccgga gtggggaggg gctccgatg	13320
caaactgctg agagccccgg gtccacact tggagtcgag tagttccaga tgaaactgga	13380
attcaattgc caagttgagc ttcaaaactca gaataatcct tgcagttgtt ttaagccgtc	13440
aaagtggggc tctctagatg gctcagtgga taaggttcct gccactgac ctgaagaccc	13500
aaattcaacg tccagggcct acatgataga accaatcccc aaacagtgtc ctcatccctc	13560
ggcacactca ctgtgtcgtg tgtgacacac acagtaaaca aatccatttc aaaaataaat	13620
aaaatgttaa gaaagtgcaa gaccgtgatt gtaagagctc aacggaaatt tagatgttta	13680

[0039]

gtgttagtgt taggactttt tgggacttcc ccaacaaaaa ccataatcac attgcgcatg	13740
cttttaaatcc cagcactcag gaggcagagg caggtggatt tctgagttcg aggccagcct	13800
ggtctacaga gtgagttcca ggacagccag ggctatacag agaaaccctg cctcgaccac	13860
caccccccttc caaaaaaaaa aaaaaaagat tctaagctgt aagctgttat ttgtgtttat	13920
gattgtttgc ttgcctgttt atcacaaagg tttcaaaagg gctgaaagca aggctgatga	13980
ggatgatgga gcggaggcgt ccagcatcca gattttcatt caggaagagc cagagtgtca	14040
gaatctcagt cagaatcccg ggccctcctc aggtaccaag catcgtttgc tctcatccat	14100
gatggtgtcc ccagcactt tgatgccctt tgaaaaaaag tctttttaaa ggatgattaa	14160
gaaaagaaag aatttgtggg gcaataggga cttcataatt agaatccctg ctcctgtctt	14220
ccatggcctc tgcatggcct tcaaccctcc cctcctctc cctcccccct cccctccctc	14280
cagtatgtat gccttcatct gtaccgtgtt ccagaaactt cagtgtccat gacttctcaa	14340
agcagccttg ctctctaaag aacacttctg ctactaagc aatggctttg agaatctggg	14400
ctgacagctg gttttcctcg gctgtttttg atgatctgtt cttactttgt tccaagtggc	14460
tttgttttga attaggccat tcttgcctgc ctttttcttg ataaagtctc cacgattaag	14520
aaagaattca tggggctgga gagatagatg gttcagcgtt taagagcacc gactgttctt	14580
tcagagatcc cgagttcaat tcctagcaac cacatagtga ctccagcgtc tgggttaatg	14640
tttttaccct atctgtaatg ggctctgggt tactcttctg gtgtgtcaga ggacagcgac	14700
aatgtgtata ttcatataca ttaaataata aataaatctt caaagagaaa agaaggaagg	14760
aagaagtaac agagagagag agagagagag agagagagag agagagagag agagagagag	14820
agagaacaca ctttggccaa gatcccaaac ctcaaacagg ggcatgtttg ctagagtcag	14880
aactcatgtc cactgaatgg cagttgcacc atgattcctt gtagcatgaa cccttcgata	14940
actttgtccc ctctatatta cagaagegtc ttctaataat ttacacagcc cattgaaacc	15000
aagaaattac caactggagc ttgccctgcc tgccaagaaa gggaaaaata caataatatg	15060
tgcccctact ggtaagtcag ttgctgtcac tcacagaact ctctggtctc gctttttctt	15120
ccccctttgg gggctgtaaa aggaggagtt ttccccgtgg cccatgctgc ccatgggaga	15180
gctggtctag cagcttaagg aacctggaca gcgataagga gggagataag tgtcttcttt	15240
agtttgcctt tggttcttgc tacctgagtg cacgttactt aggaagtagc ttggcacttt	15300
tcagccattg tttaaactgt cattgttagt gcggaggagg gattattagt ttatttgtat	15360
cccagtggtc atagagaagc caaaataagt accattcttg aaaaacagct aacacaggtt	15420

[0040]

atctgttgggt ttttttttct tttctttttt tttctttttt ctccctact aaaaggttgt	15480
ggaaaaacct ttgtgtcgct tcttatatgt gaacaccatc ttaaaaaatt cccatgtgga	15540
caaaaaggga aagtgtctt cttegetaac caaatcctg tctatgagca gcaggcaact	15600
gtgttctcac gatattttga aagacttggg tatgtactac tacaatcaat ctaactgctt	15660
tgatttttgg tttttgtttt gtttatgttt gtattttaaa ttctagcccc tttggctggt	15720
tttgggggct ttgttgtgtc tggttttggg ggctttgttg tgtctggttt tgggggcttt	15780
gttgtgtctg gttttggggg ctttgttttg tgttttctga gacagtgtat cacgtagcct	15840
tgagtgtctt ccaaccact gtgtagctga ggttggccta gaagagatga tcttcttgct	15900
tctacaagtg ctgagattac agtgtgcact ggcattgcctg gctgttctct gattttcttt	15960
cttttttttt tttttaagat ttattttatt attatatgta agtacactgt agctgtcttc	16020
agacactcca gaagagggca tcagatctca ttatgggtgg ttgtgagcca ccatgtggtt	16080
gctgggattt gaacttcgga ccttcggaag agcagtcagg tgctcttacc cactgagcca	16140
tctcaccage cctctctgat ttcaaagct atgattaaag gaaaatcgcc atggacttaa	16200
cttttagagg tagttccttt gtgcaataac atttttggtt taactttacc agaaatgcta	16260
agccctcatg tcatgctctg acagttaatg aacttgggtg ccaaatttaa catgtaggcg	16320
atacacaggt catccttaat gatgttatac ttgattggct attactcttt tcaaaatcat	16380
ttctctctta atgacttgaa agaataaata cactgtgatc agctataacc tcttgcatth	16440
cctgactccc cggttttggt tcaggcctgt gagaaagttc aaggtactac ccagttgtac	16500
tcttttgggc ttgggctgac ttctttaatt gctgctctga cctagacttc tactttgtct	16560
ccttgttcat tcacatcaag gttgatgata agggatttct gtcattcccc aggtacaaca	16620
ttgcgagcat ttctggggca acatctgata gcgtctcagt gcagcacatc attgaagaca	16680
atgatatacat catcctgaca cccagattc ttgtgaacaa tctcaacaac ggagccatcc	16740
cctcgttgte tgtcttcact ctgatgatat ttgatgagtg tcataacact agcaaaaacc	16800
accatacaa tcagatcatg ttcagatacc tagaccacaa acttggagag tcacgggacc	16860
cactgcctca ggtatttcca atcttctaag aagaaccaca gtttttcaga gtccactta	16920
gttgctcttt tgtagccaca tttagcttg cctcctcgg ggtctcagtc catcggtaca	16980
actcagtgggt caatgttgggt tcatcattt gaccaacagt tgtcccttgg tgtccagggt	17040
agatgccctt cacaaaaaac aaaatctagg ctgcttaagt ctcttgatg agatgacatt	17100
gcatttatat ataactaca cactttctc ttgcatactt taaatcttct ctgattact	17160

[0041]

gatatgtac agtatgatga aaatattata taaatagttc tagtactgta attttttaggg	17220
aataaaggtg ggaaattcat acatgttttag tacttatgaa gttttaaaaa atatttttga	17280
tccatgggtg tatgaattca catttatata acctctggat ttggagggcc agctgtataa	17340
accatgggct tccatggacc ttgtgcattg ttctaggctc tgggacacca atacagaaga	17400
tatagtcctg gctctcatalc agttaagttt gcaggagacc aggaacatag tagtcacagc	17460
ttatcatgag gtatgctgca gagacaggta aagggtgttg tcagaacata aggggtaata	17520
aggcatagaa atgaaggga ctgacagggg cttgccaggt agatagcttc tggtttctag	17580
taagagggtg ctgtgtgtcc aggggctcag ggaaatggaa gggcctgaca tgccccagaa	17640
ccttaaaact ctacagtatc acttgagggt agagtgtgaa gcagggaaca acagtcaagc	17700
tgattgttat gacagatgac ccagagacac caggagggca gagcgtcagt gggcaagtgg	17760
atggcttagc acagggaaca agcagcagcc ttctgatgtc atatgagaag agtcacttca	17820
gagtcattct tacatgtgac aagaggagta caaattctcc ttctgtctat cataggagag	17880
gggggtgcttt gctgaaagtc aacgatatag aaacaggagg gggctagaga ggatgaggac	17940
ggtttgactc aggcactgat agatgcaata aagaatgacg gtagtgtatc tatcaggggc	18000
cccaagaagc tgtaaaccat gaattatata caattctttt gctccaacaa taaccttttt	18060
aggacgtgca ggttaaagga cathtagtac aggaccaca gtttgttatt ctcgagtatc	18120
gttgctagga agcagatttc ttaccgtcca gctaattcatt taggtgaatg cttactgaag	18180
ggtgttatca tactgaatct acacagctct cttgtacacg actcactgat tgttgaaggt	18240
atttgtccag gcgcacaaaa tgcattgtgat atgaatgagc ctggaatgga ctttttcttc	18300
ccattgtgat gtttagtaag agactggggg ataaaaaaaa cagggtagcc ctgcctggaa	18360
aggtttcctc tctgttcttg atgacacgct agatttattt ccgagctttg ctccaggggg	18420
gtctttgtgc tggagaatgt cagagagcca gtgggtgggt gctccttaca ggtcgttggg	18480
ctgactgcct ccgtcggcgt tggagatgct aagaccgcgg aggaagccat gcaacatatc	18540
tgtaaactct gtgccgccct ggatgcctcc gtgattgcca cagtcagaga caacgttgca	18600
gaactggaac aggtcgttta taagccccag aaaagtaagt ggaggtcagc agcccacacc	18660
tcgcgacttt gtaaccttct gtcccccttg cgtcagagac agtggatgaa gtttgatgct	18720
gtatttgttt ggtaaaagca tagtggttac attgcctatc tttctcccta gtcaacctct	18780
tctccctagc gacgcatgag tctcaaaggt agccagaaag ggacaaacat ccctactctt	18840
taccagcagc tgagtgaagg aggcagtggg aagattcaag cattttgaaa gcctcaatag	18900

[0042]

ctagtggcgg aatcaggtct ctgtgctccg ggccctaggc aggggctatg tggccatctt	18960
gttcttgtat gtatctgac attgtagtgg catgacccga atcatgacag ttcaaaaggc	19020
cagaacatgt ttttaaaatg agcttcatta gaagatgggtt attacttatt aactacctgt	19080
gtaagcaggg aggtaccgta gttaccacag gctggatctt ggcctgagca ctcgttctgt	19140
gagttgacag caggatcaat ggcagggtca atggcaggat gagcaatggg ggggtggggg	19200
ttgggatggc acaaccctgg ttctttctga gagtccccg tggagagtgt gaagaagggtg	19260
cctccccacc cacgcccacc ccttagcaac actcaagggt ttttctacag tttgagccct	19320
tggagcttag tctacttcaa agtcattttg tgtcacttcc tccgtctatg caaacctctt	19380
acgagctatt ctgagggtgt gtcccagctc ctgcgcgcct tcctttttcc cttattatct	19440
atcttgccgc agcttccccg gagagaatga ggtttcctcc cctctttgag agatgccttc	19500
ctggcctgca cctgcttccc agggctctga tgggcgggtt taggagcaca cctttgtttc	19560
ctttaaggag tgggtgggtt ggggagcagg gggagggggg agggagggga taggggggtt	19620
ttggagggga aaccaggaaa gggaataaca ttgaaatgt aaataacgaa aatatcttta	19680
aagaaaagaa aagaaaagga aagaaagaaa gaacctgcct tctgtgcagc atagggtagc	19740
tcttgtcagc tctctgtcac tgaaacagga catgtgacag gcagttcttt ttctgccaaa	19800
agtacacaaa tgtgaacgat aagctcaatg ggggcactct tgggggctcg gaggtgcgca	19860
ggagaatagg aaatcaggaa aacggggctg gagtatggta ttgcccgaac ccagaaggct	19920
gccagacctg ccacagtaga ggcaccagga aagctgactg agacgctggc ttagactaga	19980
ccaggagaga cactagaatc agaagcagtt ccgaggtcag aggccttctga ccgcctgctg	20040
tgatttgggc cacgtgagct tggagcctgt ggctttaaag gacttaccca ggatggagca	20100
gcttcgggaa atggctgcat aggacctggg ttcccttcag cttactcaca tgcctttgac	20160
cccagtttcc aggaaagtgg catccccgac ttccaacacg tttaaagtga tcattctctca	20220
gctgatgaag gagacagaga agctagccaa ggatgtctcc gaggaacttg gtaagcctgt	20280
gccaaagcct ggagagagaa atctcatgtt tcctgtccct tccatttaga ggtactcatg	20340
gattgctcgt tagtgtcttc agttttgggt gagattatac tcagaggtgg actgacttat	20400
ttattcacac atatttcttt ctgtctctgt atcttcttta tctcttcatt cttttttgcc	20460
atcatttttt tctccattcc tttttaaaaa gatttatatt tatttgatat gtgtagatgt	20520
ttttgtctgc atgtatgtat gtatatcaca tgtatcagat acccggaac tggagttaca	20580
gacagttgtg agctaccaca tctgctggga atcgaaccca tgcctctag aagggtagct	20640

[0043]

ggtgcgcata accactgagg agccccatt tctctagctg tttttaagac aaggtttttt	20700
tccctgtgtc cctggttggc ctgaaacttg ctatgaagac aaggctggct ttgaacttgc	20760
aggggtcccc ttgcttcagc ttctgagtc tgggggtctct ggcaagcgcc accataacctg	20820
gctcagatat agactttctt aatcctaggt tgttttaggaa ccttatagga gttctttaat	20880
tctctcttgc ctttttcttt ttaaatacaa aacacatcca cctggacata cataacctgag	20940
aaatactgtc tttaaactcat cttctaaatt tcctttcttc ctttttttcc cctcttgaga	21000
tagaatctct gtgttcagtg taggctggcc ttgaactggg aactctgccc ctccctctcc	21060
tcctcctcct cccaagatgt gcatcatcac tgagctgcc ttagagtgc attgtccctt	21120
ccaagagcag ttccccagt gacctaacac tctctcactg tcctcagctc ttgaaagtgt	21180
caccacctcc taacctcaca cactgaggac caaccagcct ttgccacat gagcatccag	21240
aaggcactta gacagtagct aaggcacagc actgggggag gagtttgaat aatgaatcca	21300
ctatgggtcc taaagtagta gggtagcaag catgctctct cctctagagt ttggaact	21360
ctctgtaagg taaagagtaa agagaccagg tagtcagtac atggctcacc taggaacaag	21420
ataacatggt ctgactaaag tgggtgatgg acagacggac aggaatagag ttgtatgact	21480
tacttttttg ttttgtttt gtttttaaaa cagtctgtct gtatagctct gactgtcctg	21540
gaactctctt tgctggcctc aaactcacag agatctgcct gcctctgcct ccggaggcat	21600
tcacacttta gaatcttttc ccacctctc acattgagta tctgtcaata gctgcctcac	21660
ttcttctgga acttggacgt ttttcattgt gaactgggtg tgggtggcacc atctctactc	21720
ccagcagctg ggagcctgag tctgaggcca gcttaggcta catactgagc tcctgtcctt	21780
ggggcggagg ctgggaagaa cttgtcactg tttcttgttg gtaccctgc tgtgttctgt	21840
tattgcaaat gtgaggggaag ccatttaaca cacaatgca ttctacttct ttgaactgta	21900
ctgtgcttgt ctcaagaagc ccaggacaca aaacaataga gcaagcatct ggggctgttc	21960
ccacttcgcc tttccccccc taccacacc aatcttcccc tgagtctgaa tcgtctgtaa	22020
tcccacagta gaaccaagca gtcaagacat gcacatgcgc acacagatgc ttccgggata	22080
actgtgtttg actccgcctt gtggttgggt ctgcaagtgc tgctctgaga tcaggtgttt	22140
gggcttcata gcaacataga gcatgctggg aagggtcctg gtgctcccat ttttatataa	22200
ctgtctccga tgaagctctt gagacgtgct actctaattg tatcttcatt ttgaaaggca	22260
aagtgtgtcc ctcttctct tcctcctct ctttcttct taccctctt cttegttctc	22320
tgttatttct gaactacttt ggctgtcagc cccttaagcc tgcagagcat agacaccaca	22380



[0044]

gagctaggct tgaattcttg cctcaccac acaatatgag ctttatgaca ttgggggtaa	22440
attagttttc cttttataga agatttattt acttaaaaaa aaattatgtg catgtgcatg	22500
tgcgggatgg tgttgttgcc tccaggggtc agaagagggc gctgaatgcc ctggaactgg	22560
atttacaggt cgttggaagc cacccaatgt gagtgcaggg aactgaactt gggtcctcta	22620
caagggccta actattgagc caccacttct gctccttact caatctttct gaatctgttt	22680
cctctttttt ttttttaaag atttatttat ttattatatg taagtacact gtagctaagc	22740
tatcttcaga cactccagaa gagggagtcg gatcttgta cggtatggtt tgaaccacca	22800
tgtggttgct gggacttgaa ctcaggacct ttggaagaac agtcggtgtt cttatccact	22860
gagccatctc tccagcctgt ttctcttta aaaaaaaaaa ttaaataatg acctcatgaa	22920
attagaaaat ttcaatgcaa ttatgaagct tgattttggg tcatttagta aatagttatt	22980
ttacacactc ctcccccca cccccgcgc acgcacacag gcacacacac acacacacac	23040
acacacacac acacacacac acatagctta agaccagtc tacttcagga taaacatctt	23100
tcttataatg aataagaaag aaaatcagag gaccggtgct tgcaaactct ttatttatct	23160
atttatgttc ttaccctgta ggaaagcttt ttcaaattca aaacagagaa ttcggcaccc	23220
agaaatatga acagtggatt gtcggcgctc acaaagcgtg ctcagtgttt cagatggcag	23280
acaaagagga ggagagccgg gtctgcaaag cgctcttct gtacacatca catttgcggg	23340
tacattgctg ctctccaggg cttattctca tcaccgcgc tcctgggatc tgtactgagg	23400
cagctgagag aacatcagcg tctcaagtct aagagcttag tgaggaactt ttcccgaaag	23460
tcatactaa ccttatttgt tttctgaaac ttatcatcaa gtctccaaa acttgattaa	23520
aggctcagag tctatgccac acctccctcc agcttgtgac tggtgaccac catctaactg	23580
agctcaaaaa agtggctcct gtggccatat cctgaagctt tcgtggtctt aattttgtta	23640
taaagtcata tattagaatc tcaggggtc tggttaacac agagggaagg agtaactgta	23700
agagccctca gctctgtttg ctatgctctg ggaactattt aaagacttac tccacacat	23760
gggattgtgg gatctaacgc ttaatggact ttcagcatag gtggaaggg ccatcgttat	23820
gcaaggccca tgtacacttt aagtatgact tggaatttaa ggggaatgtc aaagctaact	23880
tgcttttggt attgtttctc aagatatgct gtttctctc tcccaagggt gagttttata	23940
atccaaagtg aatctacttt taattttcta gctgagccaa aaatagaagc cagcttttgg	24000
ttcagagggt tttattgtag accactaag ggccattcgc cattaaacc tcagctgtac	24060
tgtatgagaa agattttctg caaaccagtt ttgtgctaaa tacagcgagt tgaacttgag	24120

[0045]

tgtagtgacc atatgcgacc tcagaaatgt attgagaatc acttttcatt tcaaacagaa	24180
atacaacgat gcactcatca tcagtgagga tgcacagatg acagacgctc taaattacct	24240
caaagccttc ttccacgatg tccgagaagc agcattcgat gagaccgagc gagagcttac	24300
tcggagggtt gaaggtgagg gagatttctg aagtcaggag tccctggggt ctggtggctt	24360
ttgtggcagt gtgcacatcg tagttagcat acgtagccat catgttgggt ttaaggtgag	24420
atttgtaggg gctgtgacgg agcatgacct tagcatggct gaaatcccca gcactaaaaa	24480
acgaacctat gctgaaactt tagagccaac caaccgacaa caggagggtt tggcttcaga	24540
gaaatctaata gcctgtggat ggatctgatg cttgccccac ttttcacttg ggaaaatggg	24600
aaacagtggg atttggaag ggtgcttctt ctaggtggta ggtagtgcta ttctgattaa	24660
ctcagtaatt cagaaggtt aataacaaca gctcgtgtct gatggtgtca agattgtgct	24720
gtatgtatgt ccttcttcc ttcttctt ccttcttcc ttcttctt ccttcttcc	24780
ttcttctt ccttcttcc tcttcttcc ccttcttcc ttcttctt ttcttctt	24840
ttcttctt ttcttctt ttcttctt ttcttctt ttcttctt ttcttctt	24900
cttcttctt tcttcttct tcatcttctt ctttcttctt ccttcttctt ccttcttctt	24960
ttcaaacac agtctgtata gccccggctg tctgaaact cactttgtac accaggctgg	25020
cctegaactc agaaatctgc ctgcctctgc ctctgagtg ctgggattaa aggcgtgtgc	25080
caccatgccc agtttgtgca catatatgtg catatgttta ttataaattt tactgataca	25140
ggagatggca tagcacaaaa cacacaaata ataacacgg agttcatgtt ccacagaatg	25200
cctttggagg tcttttcagt acccttgtgt ccagagccaa ccagagacag caattacca	25260
atatggagtt ctgaaatgaa agtcagtttt atttctgtt aatggcagaa ataagaacaa	25320
aacgaaacag cagaagcatt ttggaagctt gcttgtttct cagtgatggg agcaacattt	25380
ttctgagcca gataatagtt tttcaaacac gggtagggaca ttcttgcatt ttacgtgat	25440
gcataaacag tagctaaatt taatccccat tatatactta gcactttaca aagtctagcc	25500
agacaataaa ggatgaagca agtgctatct tcatttccat ggtatgggta cttctaggat	25560
caccaatctc caaccatcac catgttgctg aacttgtgta aaattgagca gtaacacaca	25620
ctgacatttc taccattcat acactacagg taagtacaca ctcaagagcg tagataatag	25680
taaactgtaa taaaatgagt taggaaatta ataagcgtgg ctatttgtta catttgtttt	25740
tagtcattga gctgcaagca taaagagttg aaattttaat aatagttata tttaaaacca	25800
ggtccacaag tctgaagaac ttaataactg accataatct ggtttgatct ggttctatct	25860

[0046]

agtacaccac cagtgtgtgt gtgcgtgtgt gtcctatgc atacttatac attaaaaaaa	25920
aaaaagatat cctatgcttc aatttttaac ataaaataac cttctgacag ctgggtggtg	25980
gtgggtggtgc atgtctttta ttgcagcact caggaggcag gggcagggtg gtctctgggt	26040
tcaaggccag tctggtttac agagccagtt ctaggacagc cagggtaca cagagaaacc	26100
ttgtttcaag acaaaacgaa acaaaacaac caaaaataa aaatatatct ttttgatgtt	26160
tccaaatcag cagggtgtata taactcttta actttaatag taacagtgtg tttacctcag	26220
tttggtagcc tgggatccat tgagctgttt ctactaagc agtgttttgg ttgttggttt	26280
tttttttttt tttttttttt ttttgtattt agttcatagt ttcaaacctg attgtccttg	26340
gaatcttctt cagagttttt tttttttttt ttttttaag atttatattat ttattatatt	26400
atttaagtac acttttagctg acttcagaca caccagaaga ggggtgcaga tctcattacg	26460
gatgttagtg agccaccatg tggttgctgg gatttgaact ctggaccttc ggaagaacag	26520
tcggtgctct taaccactga gccatctctc cagccccaga gttttctaaa tagaactatg	26580
agtcaattcc tatctgtgga ttgctgtatc aaagaacatg tgagttttgt attgctgcgc	26640
tgcttttcta aaggggattc ctgatgaaac gagtgtttac tgctctgac tctggtgaac	26700
agtggaaagg ttaaccgaaa tagaaggcca ctgtttgttc taaagcttta acatttgtaa	26760
gccttttgca aaatgctctc tatttgcaga aaaactagag gaattagaaa aagtttccag	26820
ggatcccagc aatgagaatc ctaaactaag agacctctac ttggtcttac aagaagagta	26880
ccacttaag ccagagacca agaccattct ctctgtgaag accagagcac tcgtggatgt	26940
aagtgtgtgt gtttacagat tagctctagt ttattgaaaa ggttgcccg tcttactgc	27000
cttataatca agtatccata catgtgtgga cctgttctga tgatttggtc ttacaccaat	27060
tgatattgtt tgtattgacc cacagttata agtcttggtc ctatagagga agccctgcat	27120
cctttttaaa aattttaaatt ttccacttcc agtcatectg taggttttga ttaatgacta	27180
atgtgtctta tatactcac agttatcttc atatcatctt ttaaaaataa ttactcaga	27240
ttttaaaaac cagtttttaa attgggcaat gggctggaga tacagctcaa tgggtcaaatg	27300
cttggtcagc atgcatgact ttaatcccca gttctggaaa aagatagata tctctctgtt	27360
tatgtagaat gccttgagtc tggccacagc gcctccctct gtttatgtag aatgcctgca	27420
ttgtttctgc tgagtagtag attaccata gagccagagg cagaaaaagt caagctttat	27480
tattttatga gatccgtgga tcaggatctg gaaaggactg gatacttatg cctcaaggtc	27540
tcctgaggcc acagtcagct cggcactcaa ggctgacctc tcggtcctt ttgcaggtt	27600

[0047]

ttggcaggct tgtgaagatg agcctccaac atggcagctg cccctgccta cagtgagatg	27660
agagactgag gagaagaggg cctagtagac agacactgcc attttataaa gtccatcttg	27720
gacctgatgt cccaccacat ctcccatatt tcagagataa actacagatt atttttagaa	27780
tataggatgt agaagtcatt aagggtcgct tgtcatgtga tctttgctgt cttcttttgt	27840
taatgaatgt ggggtgtttac catgtgcgtg tcgtgcccac agagtccagg aagggggcat	27900
gacatgccct ggaactggag ttaacagaca gttgtaagtt gccatgtagg tgctgggaat	27960
tgaactcagg tcctctggaa gaacaaccag tgctcttaac caccgagcca tctctccagc	28020
cccctttgct gtgtttttatt agcattttgt catttttagt atagaggtec tgcatacatt	28080
ttgttagatt catacctagg tattaatttt agtgttgtca ttccgaaatt gtactttcaa	28140
atattttctca ctgtgggcta ggaagacatc tcagtaaagt gtctaaagta caggcatcag	28200
gacctggcct ccagcaacct ggtaaaaaag ccgagtacag tagagtactc ttgtaatccc	28260
agccctgggg acagagataa gcacaaccct aactggcaat gcccaggtec caggagatta	28320
ctcattactc agtcttaggc agaacgaagg tgggtggctg ttaagaaatg atacctaggg	28380
ctggtgagat ggctcagtgg gtaagagcac ctgactgctc ttccgaaggt ccagagttca	28440
aateccagca accacatggg ggctcacaac catccgtaac gagatctgac tccctcttct	28500
gggtgtgtctg aagacagcta cagtgtactt acatataata aataaataaa tctttaaaaa	28560
aaaaaaaaaa aaaaaagaaa tgatacctga ggttgacctc cacatgcatg tacacacaca	28620
cacacacaca cacatgcgtg cgtggacata ctcccctcca acacagtcag ccatgtacac	28680
ctccacacaa cacacagttc ttccaattgc agctgtctgc tgatatattac tgtgtaatta	28740
atttacatgg attgatcttt caccttaaag ctttgctaaa ttacacttac tctatgtctg	28800
aagcttgtct ttttaatcac ttaaaatata tcctacatta agccataatg aggcagagtt	28860
ctatatcact agcatcaatt gttgtttgga atttaggatt tgccagtctg aaatccattt	28920
ttatcttttag ttgtattctc tttttgcata tacatccatt atatcaaatt gatgtgaggt	28980
ttaaagttta caagtgggtg ctaactggcc gttgcttttc acttttaggc tctgaagaaa	29040
tggattgaag aaaatcctgc actaagcttt ctaaagcctg gcatactgac tgggcgtggc	29100
agaacaaacc gggcaacagg tatttatgtc tattgaatta gatttagtat actatgtata	29160
taaaatgtat aaacactaca ttgttttagt gtttctatca gtcagagctc aaccagagaa	29220
ataaagctac tagattatgc atatgtatgt ggtatatatg taagtatgta tgcttatttg	29280
tttgtttgtt tatttatgta cttagagata gggtttctct gtgtaaccct tgctctcctg	29340

[0048]

gaactcactc tgtggaccag gctggccttg aattcagaaa tccgcctgcc tctgcctccc	29400
gagtgcctggg attaaagggtg tgcgccacca ctgcctggcc tatactgtta ttctttaccc	29460
agtagatttt ttttccccat ctactgcctc tttaatagtt ttaaaaaaac agtccaggca	29520
atcctgaact ctagctagtg tggctctaggg aggaagggtta tcatttccca taagaaccct	29580
atgtggctag ctctcatcac agctacgtcc caagtcatat ctcacgactg tatgacctgc	29640
cctcgctgtt ctctctgcca gtgttggtta cactaaacaa gtctccaccc cttctctctc	29700
cgctctcagg cattgctctt gtacttttcc attgtggaat ttcccgatct cataaacata	29760
gaatggactc aagtgttgaa tgtgtggttt cgagtctaac actaccctaa tgtggctgga	29820
ttttcaaagt tctttgccat ctctccaaca tgaatccaac ttgattttca agctttgcta	29880
ctgacatata aatcgagcct tgaataatat tttgtgtgct catccatgca tgcattgata	29940
catggatcca atcatgtgtc caaccactca tccaccatc cgtgcatgca tccatctttc	30000
cgtcatgcat ttagacctta ctacagctct gcttctgtga agaagcagcc atccctgtca	30060
tctaacaccc gaggtgcccc tcccccgcc acgttcccat cttacagatc tcaccccaact	30120
tcctccacaa tggtttcctg ctcatcatcc ttatagataa agatggaatc ttttaagctc	30180
atattttctac ctgctcagcc ataaccata attgctgacc gagtgttgga tggatgaatg	30240
aatttggttag gatgattctg ctattgttgt tttctggatg attctttctt gttttatagc	30300
taacctggga aaaaagggtg actttttacaa aaagccacag gttgcttggt gtttgacat	30360
tttcagattc ccttatctgt agcattttta ctctctactt tgagacacat gttgtaatgt	30420
ttatgcctta ctatcttcat ctgtcaaagt gaacaataaa tagttgtccc cagctcatag	30480
gttaacgaga atggtgaaac ctgagctttt tttttttttt tttttttttt tgtgaaaatg	30540
actttggcac ttttagatgg ttcaaaatta gtagccagtt tatgagtgag ttgtacagtg	30600
acctctttat ccaacacagg aatgacgtc ccggcacaga agtgtgtgct ggaggcattc	30660
agagccagcg gagataacaa tattctgatt gctacctcgg tcgctgatga aggcattgac	30720
attgctgagt gcaatctcgt cattctctat gactacgtgg gcaacgtcat caagatgatc	30780
caaaccagag gtgagagcgg ctgatgtcat tcccccccg caccgccttt tctcctttcc	30840
tcagctgtac catgtgattg acagcacagc tgactctggt actcgaaatc taaaagctga	30900
ctgccttggt caggattggg tggttatagg ttaccata atactccatt gcaactctcc	30960
acaatggtac tgcaatttta cccagcgttc aatggcatag tcgtgaaaat atcatatcca	31020
ctaggccaga ggctttgcca gtcggcaagt agacctttga tgggtgtggt gagtagctct	31080

[0049]

ctgtactcca gagtctggtc ccacctgaac cagagtctga cttcctttcc ctttcttggt	31140
tccccaagaa cagccccac attccctttc cggaataacg tctctgtgcc tgtcactcat	31200
cagtcacatc catttttcgt cctcctccac cgcttactgt gcggttcage cagccagact	31260
ccgcttcctg ctctgtccagt ttctcagata ctgtcgtctt acatgttagg tcctatctct	31320
gtctctgcca cacacaacct aattcttcta cctagaacaa gcactccttt aaatgcccac	31380
taccgtttat atctgtctct gcaagagcat gacaattgca ttcctttctc cgcatgagc	31440
aagggtcagg tgcgcgtgca cgggtgccact gctgcgggct catgccagat tatctgtaaa	31500
ttagtgttgc tggcagtgca gagcaatcag actatgccat tggagacccc atgaaaactg	31560
ccagagatgg cttatctgtg tgctgagcac actggctaga acctgcattt gagtctactc	31620
ttcggttcag cttccctaga aagtaggatg cagtgaatca aagttgaact cgagaaatac	31680
tcctcacatc tctttccagt aacctcagag ttgacatta acacacaaag aaaacgtttt	31740
ctgcaggccg aggaagagca cgagatagca agtgcttcct cctgaccage agcgctgacg	31800
tgattgaaaa agaaaaggcg aacatgatca aggaaaaaat aatgaatgaa tccatcttaa	31860
gactgcagac atgggatgaa atgaaatttg gaaagacggt aagtctcttt ttctgtgcta	31920
ctcttatgga atctgactag aaataacaaa tgacctgggt tggctctgag tgtgtgtgtg	31980
tgtgtgtgtg tggatatgtt ttgtggccat gtgcatttat ttatctttgt gtgctagttt	32040
tggccattca aataaccttt ctgttcgcat gtaggttcac cgcatacagg tgaatgaaaa	32100
actcctcaga gacagtcagc acaaaccaca acctgttcct gacaaagaaa acaagaaact	32160
gctgtgtgga aagtgaaga attttgcgtg ctacacagct gacattcgag tggttgaggt	32220
gagtggccct ggtgatttag caccggttaa atcttaccat cttccggaga aatggttgta	32280
gcaagaacac tatgttgtgg ggtttcgagt gttgacctg gtcctgtatt aagaaataaa	32340
atcctgctag gtggtggtgg cacacgcctt taatcccagt acttgggagg cagaggcagg	32400
cggattttctg agttcgaggc cagcctggtc tacagggtga gttccaggac agccagggct	32460
acacagagaa accctgtctt ggaaaaacca aaaaaaaaaa aaaaaaaaag aaataaaatc	32520
ctgcttctat gtgggaacca gaaaggctga tgttatttaa gtccaaaaca gaaaatggtg	32580
cttaacggcg agaagaggag gggggctctaa ttgtagctgc cccagacagt caggcaggat	32640
ggataagggt tcccgttcca ctgcacagca ggggtgaatac tgcttatagt ttctgattca	32700
ttacaactct tacaagaat tagacgagag gaattcatag cttcagacat aaagagatga	32760
aaactgtcca ggcagaaggg aatgctaatt actctggcga gatcattaga tacttagaaa	32820

[0050]

ttatcacact gcacacccta agtgaggaca actgtgtgct ttgaaagaca gtctcactca	32880
gaccaggctg gcttcaactt gagattcttc tgtgactcag cctccccagt gcagggactc	32940
taggcatgca ccaccactct ctccaaagag atagtttttc ccagtgcagg gatagaaaat	33000
gaaggctctg ctagatacag tgttatgtcc ttggttagtt ccaggaggga ggaagggcta	33060
ggcataaaaa tctgtcattg atttcttagt tttaacaaat gtgcaactgc attcaaaatg	33120
gaactgggct aaaggcattt gcaaactctt tgaggcatct ctgtaacttt actgtatgtc	33180
aaagattatg ccaaagaaat gttaaggctc tgattttgaa gtgtacatgg ttctagtata	33240
aacctgccag caaatgaatg gtaaagtggg aaaatactat gaatatgaaa ttataaagat	33300
gcttttgttt tggtacata caacatgagc agtgatatct ttgtcatgac caatgtgggt	33360
ccacctttcc taaaggggaa aaaaggctaa tatataaaaa tgacatatcc tgctagttaa	33420
ttctctcttc ctgttttggt ttctaaactt ccttattgga acagagaatg cttttataat	33480
gaaaacaaaa cacctcattt taaaaaatat aacacttgta ggtagcttt ctactttttc	33540
accccttaaa cttttttttt ttttttttga gacaggatct ctctctatag cactgggtat	33600
cttgaaactc atttatgga gattcccttg tccctgcctc ccaaacgctg ggacgtaaag	33660
gcatgtacca ttacacaagg tcttcttaaa acttttaact aaggcaaaaa acctccagag	33720
acgaatcttg cagtcacat tccctgtacc gatggcgggg gcagatggct gtgctagcta	33780
ggggaggggt acagtcccta ttatgagtga catccacttt ctgagtctga ttcttttagat	33840
gcagaaggct ctttcagctc caaattcaag gcttctcctt cccagtggcc tggagaacga	33900
gatgcttggt ctgccttggt gtctgtaggg tacactcttt tttttttaat tggatatttt	33960
ctttatttac ataaagaaca ccttcagttc ccctacactg gggcatctaa gccttcatag	34020
gaccaaggac ctctcttccc attgatgcat gacaaggcca tcctctgcaa cgcacgcagc	34080
tggagccatg tgtactcctt tgtggatggc ttagtcgctg ggagctcttg ggggactgggt	34140
tggttgatat tgtttttctc cctgtgggggt tccttcagtt gtaggttact ctcttaagtc	34200
aagtctaagt ggggtctgtg gacagcatgg ctctgagcc tgttcacaca cataacctgt	34260
gacctctggg tgtcaccagc cctgtgcttt ggtgccttcc tggcctctgg tgaacttgaa	34320
ctttgtatgt gaactcctct ttgcttctga gttggaaagc tgggtttcct ctttctcag	34380
gtgccagacg cccaggaaat gggtcctaata cggcctgggg aagactgtct ataatgtttt	34440
ttttcttcc aacttgtaaa ataatggga tccactcat tcctgacttt tagctactga	34500
gtggcttcta agtcattttc agaccggttt ctaacattgt gcgtccatc tcttctcct	34560

[0051]

agacgtccca ctacactgtc cttggagacg cttttaagga gcgctttgtg tgtaagccac	34620
accctaaacc aaagatctat gacaattttg agaagaaagc aaagatattc tgcgccaaac	34680
agaactgtag ccacgactgg ggaatttttg tgagatacaa gacgttcgag attccagtca	34740
taaaaattga aagtttcgtc gtggaagata ttgtgagcgg agttcagaac cggcactcaa	34800
agtggaagga ctttcatttt gaaaggatac agttcgatcc tgcagaaatg tccgtatgac	34860
ctcaggcttc tccgtctcgt gccgcaggga gccgtgcctt aagcatggag ttgatgagcc	34920
aatgctttct tacccaagct tgcacaatcc tttcttacac aagcctgcac tgtgttgaat	34980
gccagataac ctgactgggt ggtttcaagc tgggtgctgtc cacacaaagc acacacgcct	35040
gaactgcggc gccgaatagt ttcttcacca ataactcata gcgtagccct tggccatggt	35100
ggggaggggt taaacttgct ctttttacac ttttcagaac tgcccgcag ggaacgtgca	35160
gccactcggc acaccgagac gcatgatggc tggcgtgctg gaagggttcc cgttctctgt	35220
ctgctcgatc tgctgtaagc tgcctttgcc cttaatgaca gtgcccttaa gaacagtgc	35280
ttagttcttt ttcaggccac cagactgact gccagatccc ttctgtccct tctgtccctt	35340
gcactgattc ctttccgat ttgaccctgc caccctgtca ccctctgcag agtctcctgg	35400
tttctgtctc ttccttgggt tctttgctga ctcaaattg gtagttgcaa ggttcagtat	35460
gcacacatat atatttaaaa tgacatataa tttaaaatgt aaaagactat agttgacagc	35520
tatgcttact gagatgggtat ttctgttctg ttcatctacta tacatcttac ctttgcctc	35580
atctgttctt ttaacttggg ccatttcccg tctttgaata gacatctcaa accctgtctg	35640
tatgtctgtc tgtttccac ctgtttgaga cagggtctct ctgtagacca gaaactccat	35700
atgtagacta tgctggcctt gaactcacag atccccctgc ctctcaagtg ttgaaattaa	35760
aatctttcac catgcctggc tctagctatt ttcaataaag gctcatgttt aaagtttgaa	35820
ctacttccaa ttcattccct gacgtggctt gttgttgttg tttacttttg gagacactgt	35880
tcctctctgt agccctggct gtgtagacca ggctgccctt ggtcacagag atctgccagc	35940
ttctgcctcc ggagcactga gattgaaggc ctgcatcacc atgcctggct tgccctttct	36000
tcttaaacat tataattca aatggcattt ccgtgtttct tctcaagggtg tgccagtgtc	36060
tcagagagct tagtttgggg ttcttcagat caagagacaa gtgtctgagc gctgttactg	36120
ccaacagagc aaagtactct tcagttcagg gaaggaacag tgctggtttt gtaggcagta	36180
cagtggtttt aacaccttcc tagaacttac ttgtaattca tcagttgtag accatcaatg	36240
gcctaaacca aactgcagag atcatctgac cacataactc cccttccagg acatttacat	36300



[0052]

ttgaagacta tcccaagccc acccagagca cagtgggtta cccaaactcc ccaggtcaac	36360
cctggaggtc aacagtatga catgggatag cacaccactt ctcacagatg cctagagaaa	36420
ttaccacgca acataactct ttggggaaaa aacacctata gggattagge ttttaattga	36480
tagaataggt agaaaaaaag atatgtagta gttcttgata gtggttactg gtaaaattct	36540
tagtgcaata aatgaattt gccgagagct gactttcttt tttttcttgt ttttttgaga	36600
cagggtttct ctgtatagct ttggctgtcc tggaatgcac tctgtagtcc aggctggcct	36660
tcgaactcag aaatccgcct tcctctgcct cccaagtgtt gggattaaag gcgtgcgcca	36720
ccacgcctgg ctgagagctg actttcatth atgtctthta gtctatgttg cctttctttg	36780
ctgctacagt ttaagaactc tacagcttgt ataagatacc tactggaaat tatttgagaa	36840
aaaaaacttg taaacattac aataatttaa ttaattaaaa atttatgtat tttatgtata	36900
tgggtgtttt tttctgcaag tctgtgtgca cattagaaga gggcattgga tcctctctat	36960
tgttatagtt ttatgctgct gctgttgttg ctgtgtgtgt gtgtgtgtgt gtgtgctatg	37020
aattgaactc aggacctctg gaagagcagt cagtgtcttt aactgctgag ctatctctcc	37080
agtcctggca atgataaatc agttgaagtg aaatagtcct cccccccctt tttttttttt	37140
gccaatgggg aaaagcagac taaatctgag accaaatgaa gttttgagtt gtacactgac	37200
ttaagccact gccaagcata ccctggaatg gagcaaacc tgggttacta agtactgaat	37260
gaatacaaca ggaaggtttt gagagatggg aaaatgcttg tctttggact tccctgatgg	37320
aagttgcate tggactctcc catgagcaca tcaccagtcc ccactagagt cctcacaggt	37380
tgccatccat gtgtcctttt tgaggctgag atacaacttg ttctgcaacc acagacctg	37440
ctgttttgtg gtcagtattg gtatcatagc attttcatcc tgacctggag ccttcagtca	37500
aaggcctcat tgtgcagtaa ggacgctgga ctctgactc ctatacttaa aacagacttg	37560
gtaatttcaa acaagtcaac cagatgccag tatttctgca tgcattgtct gtgggatgg	37620
gttgtgaggt cccctgacag atgcactgag tggccaggga gacttttgta cctttttcca	37680
ttttaacagc ccacgggtca ctgtgttgct tccatcatat taacatcaac ttgaaccagt	37740
ggttcctgaa acacttcagt tcattggacc ttgctaatta gcacctgtgta aaaaccacc	37800
aacaaatata aactagacag gtagaatcca agtgaactgt acactcctgg atcatgccag	37860
taactgtttt aataatacac cataaaatat aactacgact tcattttaca aatctgtgtt	37920
taataaacag gtacaggett gttgggtgcg aactttttaa actcctaata aaaatgccag	37980
ctatgattat ctttgtttat g	38001

[0053]

<210> 12  
 <211> 3435  
 <212> DNA  
 <213> 褐家鼠

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (370)..(1815)

<400> 12  
 cgttttagt gtcagccatc ccaattgcct gttccttctc tgtgggagtg gtgtctagac 60  
 agtccaggca gggatatgcta ggcagggtgcg ttttggttgc ctcagatcgc aacttgactc 120  
 cataacggtg accaaagaca aaagaaggaa accagattaa aaagaaccgg acacagaccc 180  
 ctgcagaatc tggagcggcc gtggttgggg gcggggctac gacggggcgg actcgggggc 240  
 gtgggagggc ggggccgggg cggggcccgg agccggctgc ggttgcggtc cctgcgccgg 300  
 cgggtgaaggc gcagcggcgg cgagtggcta ttgcaagcgt ttggataatg tgagacctgg 360  
 gatgcaggg atg tgc act atc tgc ccc cca cca tct cct gct gtt gcc aag 411  
 Met Ser Thr Ile Cys Pro Pro Pro Ser Pro Ala Val Ala Lys  
 1 5 10  
 aca gag att gct tta agt ggt gaa tca ccc ttg ttg gcg gct acc ttt 459  
 Thr Glu Ile Ala Leu Ser Gly Glu Ser Pro Leu Leu Ala Ala Thr Phe  
 15 20 25 30  
 gct tac tgg gat aat att ctt ggt cct aga gta agg cac att tgg gct 507  
 Ala Tyr Trp Asp Asn Ile Leu Gly Pro Arg Val Arg His Ile Trp Ala  
 35 40 45  
 cca aag aca gac caa gta ctc ctc agt gat gga gaa atc act ttt ctt 555  
 Pro Lys Thr Asp Gln Val Leu Leu Ser Asp Gly Glu Ile Thr Phe Leu  
 50 55 60  
 gcc aac cac act ctg aat gga gaa att ctt cgg aat gcg gag agt ggg 603  
 Ala Asn His Thr Leu Asn Gly Glu Ile Leu Arg Asn Ala Glu Ser Gly  
 65 70 75  
 gca ata gat gta aag ttt ttt gtc tta tct gaa aag ggc gtc att att 651  
 Ala Ile Asp Val Lys Phe Phe Val Leu Ser Glu Lys Gly Val Ile Ile  
 80 85 90  
 gtt tca tta atc ttc gac ggg aac tgg aac gga gat cgg agc act tac 699  
 Val Ser Leu Ile Phe Asp Gly Asn Trp Asn Gly Asp Arg Ser Thr Tyr  
 95 100 105 110  
 gga cta tca att ata ctg ccg cag acg gag ctg agt ttc tac ctc cca 747  
 Gly Leu Ser Ile Ile Leu Pro Gln Thr Glu Leu Ser Phe Tyr Leu Pro  
 115 120 125  
 ctg cac aga gtg tgt gtt gac agg cta acg cac atc att cga aaa gga 795  
 Leu His Arg Val Cys Val Asp Arg Leu Thr His Ile Ile Arg Lys Gly

[0054]

130	135	140	
agg ata tgg atg cac aag gaa aga caa gaa aat gtc cag aaa att gtc Arg Ile Trp Met His Lys Glu Arg Gln Glu Asn Val Gln Lys Ile Val 145 150 155			843
ttg gaa ggc acc gag agg atg gaa gat cag ggt cag agt atc atc cct Leu Glu Gly Thr Glu Arg Met Glu Asp Gln Gly Gln Ser Ile Ile Pro 160 165 170			891
atg ctt act ggg gag gtc atc cct gtg atg gag ctg ctt gcg tct atg Met Leu Thr Gly Glu Val Ile Pro Val Met Glu Leu Leu Ala Ser Met 175 180 185 190			939
aga tca cac agt gtt cct gaa gac ctc gat ata gct gat aca gta ctc Arg Ser His Ser Val Pro Glu Asp Leu Asp Ile Ala Asp Thr Val Leu 195 200 205			987
aat gat gat gac att ggt gac agc tgt cat gaa ggc ttt ctt ctc aat Asn Asp Asp Asp Ile Gly Asp Ser Cys His Glu Gly Phe Leu Leu Asn 210 215 220			1035
gcc atc agc tca cat ctg cag acc tgc ggc tgt tct gtg gtg gta ggc Ala Ile Ser Ser His Leu Gln Thr Cys Gly Cys Ser Val Val Val Gly 225 230 235			1083
agc agt gca gag aaa gta aat aag ata gta aga aca ctg tgc ctt ttt Ser Ser Ala Glu Lys Val Asn Lys Ile Val Arg Thr Leu Cys Leu Phe 240 245 250			1131
ctg aca cca gca gag agg aag tgc tcc agg ctg tgt gaa gcc gaa tcg Leu Thr Pro Ala Glu Arg Lys Cys Ser Arg Leu Cys Glu Ala Glu Ser 255 260 265 270			1179
tcc ttt aaa tac gaa tct gga ctc ttt gta caa ggc ttg cta aag gat Ser Phe Lys Tyr Glu Ser Gly Leu Phe Val Gln Gly Leu Leu Lys Asp 275 280 285			1227
gcg act ggc agt ttt gta cta cct ttc cgg caa gtt atg tat gcc cct Ala Thr Gly Ser Phe Val Leu Pro Phe Arg Gln Val Met Tyr Ala Pro 290 295 300			1275
tat ccc acc aca cac atc gat gtg gat gtc aac act gtc aag cag atg Tyr Pro Thr Thr His Ile Asp Val Asp Val Asn Thr Val Lys Gln Met 305 310 315			1323
cca ccg tgt cat gaa cat att tat aat caa cgc aga tac atg agg tca Pro Pro Cys His Glu His Ile Tyr Asn Gln Arg Arg Tyr Met Arg Ser 320 325 330			1371
gag ctg aca gcc ttc tgg agg gca act tca gaa gag gac atg gct cag Glu Leu Thr Ala Phe Trp Arg Ala Thr Ser Glu Glu Asp Met Ala Gln 335 340 345 350			1419
gac acc atc atc tac aca gat gag agc ttc act cct gat ttg aat att Asp Thr Ile Ile Tyr Thr Asp Glu Ser Phe Thr Pro Asp Leu Asn Ile 355 360 365			1467

[0055]

ttc caa gat gtc tta cac aga gac act cta gtg aaa gcc ttt ctg gat Phe Gln Asp Val Leu His Arg Asp Thr Leu Val Lys Ala Phe Leu Asp 370 375 380	1515
cag gtc ttc cat ttg aag cct ggc ctg tct ctc agg agt act ttc ctt Gln Val Phe His Leu Lys Pro Gly Leu Ser Leu Arg Ser Thr Phe Leu 385 390 395	1563
gca cag ttc ctc ctc att ctt cac aga aaa gcc ttg aca cta atc aag Ala Gln Phe Leu Leu Ile Leu His Arg Lys Ala Leu Thr Leu Ile Lys 400 405 410	1611
tac ata gag gat gac acg cag aag ggg aaa aag ccc ttt aag tct ctt Tyr Ile Glu Asp Asp Thr Gln Lys Gly Lys Lys Pro Phe Lys Ser Leu 415 420 425 430	1659
cgg aac ctg aag ata gat ctt gat tta aca gca gag ggc gac ctt aac Arg Asn Leu Lys Ile Asp Leu Asp Leu Thr Ala Glu Gly Asp Leu Asn 435 440 445	1707
ata ata atg gct cta gct gag aaa att aag cca ggc cta cac tct ttc Ile Ile Met Ala Leu Ala Glu Lys Ile Lys Pro Gly Leu His Ser Phe 450 455 460	1755
atc ttc ggg aga cct ttc tac act agt gtc caa gaa cgt gat gtt cta Ile Phe Gly Arg Pro Phe Tyr Thr Ser Val Gln Glu Arg Asp Val Leu 465 470 475	1803
atg act ttt taa acatgtgggt tgctccgtgt gtctcatgac agtcacactt Met Thr Phe 480	1855
gctgttacag tgtctcagcg ctttggacac atccttctc cagggtcctg ccgcaggaca	1915
cgttacacta cacttgtcag tagaggtctg taccagatgt caggtagatc gttgtagtga	1975
atgtctcttt tcttagacta gatgtaccct cgtagggact tatgtttaca accctcctaa	2035
gtactagtgc tgtcttgtaa ggatacgaat gaagggatgt aaacttcacc acaactgctg	2095
gttggttttg ttgtttttgt tttttgaaac ttataattca tggtttacat gcatcacact	2155
gaaaccctag ttagcttttt acaggtgaagc tgtgagttga ctgcctgtcc ctgtgttctc	2215
tggcctgtac gatctgtggc gtgtaggac acttttgcaa caactaaaaa ctaaagcact	2275
ttgtttgcag ttctacagaa agcaacttag tctgtctgca gattcgtttt tgaaagaaga	2335
catgagaaag cggagtttta ggtgaagtca gttgttggat cttcctttat agacttagtc	2395
ctttagatgt ggtctgtata gacatgccca accatcatgc atgggcactg aatatcgtga	2455
actgtggat gctttttgtt ggtttattgt acttctgtca aagaaagtg catttggttt	2515
tataattgtt gccaaagttt aaggttaatt ttcatattt ttgagccaaa ttaaaatgtg	2575
cacctctgt gcctttccca atcttgaaa atataatttc ttggcagaag gtcagatttc	2635

[0056]

agggccccagt cactttcgtc tgacttcctt ttgcacagtc cgccatgggc ctggcttaga	2695
agttcttgta aactatgcca gagagtacat tcgctgataa aatcttcttt gcagagcagg	2755
agagcttctt gcctctttcc tticatttct gcctggactt tgggtgttct cactttccct	2815
gcctcctaag gacagcagga gaactctgac ccagtgcta tttctctagg tgctattgtg	2875
gcaaaactcaa gcggtccgtc tctgtccctg taacgttcgt accttgctgg ctgtgaagta	2935
ctgactggta aagtcctgtg ctacagcagt gtagggata cacaacaca agtaagtgtt	2995
ttatttaaaa ctgtggactt agcataaaaa gggagactat atttattttt tacaaaagg	3055
ataaaaatgg aaccttttcc tcaccacca gatttagtca gaaaaaaca ttctattctg	3115
aaaggtcaca gtggttttga catgacacat cagaacaacg cacactgtcc atgatggctt	3175
atgaactcca agtcactcca tcatggtaaa tgggtagatc cctccttcta gtgtgccaca	3235
ccattgcttc ccacagtaga atcttattta agtgctaagt gttgtctctg ctggtttact	3295
ctgttgtttt agagaatgta agttgtatag tgaataagtt attgaagcat gtgtaaacac	3355
tgttatacat cttttctcct agatggggaa tttggaataa aataccttta aaattcaaaa	3415
aaaaaaaaa aaaaaaaaaa	3435

<210> 13  
 <211> 36  
 <212> DNA  
 <213> 智人

<400> 13	
ggggccgggg ccggggccgg ggccggggcc ggggcc	36

&lt;210&gt; 14

<400> 14  
 000

<210> 15  
 <211> 22  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 引物

<400> 15	
tgtgacagtt ggaatgcagt ga	22

<210> 16  
 <211> 25  
 <212> DNA

[0057]

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 引物

&lt;400&gt; 16

gccacttaaa gcaatctctg tcttg

25

&lt;210&gt; 17

&lt;211&gt; 21

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 探针

&lt;400&gt; 17

tcgactcttt gccacccgcc a

21

&lt;210&gt; 18

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 引物

&lt;400&gt; 18

gggtctagca agagcaggtg

20

&lt;210&gt; 19

&lt;211&gt; 21

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 引物

&lt;400&gt; 19

gtcttggcaa cagctggaga t

21

&lt;210&gt; 20

&lt;211&gt; 24

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 探针

&lt;400&gt; 20

tgatgtcgac tctttgccca ccgc

24

&lt;210&gt; 21

[0058]

<211> 22  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 引物

<400> 21  
tcctgtaatg gaactgcttt ca 22

<210> 22  
<211> 22  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 引物

<400> 22  
ggtatctgct tcatccagct tt 22

<210> 23  
<211> 16  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 探针

<400> 23  
ccccggcccc ggcccc 16

<210> 24  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 引物

<400> 24  
caagccaccg tctcactcaa 20

<210> 25  
<211> 28  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 引物

<400> 25  
gtagtgctgt ctactccaga gagttacc 28

[0059]

<210> 26  
<211> 28  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 探针

<400> 26  
gtagtgctgt ctactccaga gagttacc

28

<210> 27

<400> 27  
000

<210> 28

<400> 28  
000

<210> 29

<400> 29  
000

<210> 30  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 30  
agcgggacac cgtaggttac

20

<210> 31  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 31  
gtgggcggaa cttgtcgctg

20

<210> 32  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>



[0060]

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 32

gtcacattat ccaaattgctc

20

&lt;210&gt; 33

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 33

ggtgggcaaa gattcgacat

20

&lt;210&gt; 34

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 34

atctctgtct tggcaacagc

20

&lt;210&gt; 35

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 35

aagcaatctc tgtcttggca

20

&lt;210&gt; 36

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 36

acttaaagca atctctgtct

20

&lt;210&gt; 37

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

[0061]

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 37

ttgccactta aagcaatctc

20

&lt;210&gt; 38

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 38

cccagtaagc aaaagtagct

20

&lt;210&gt; 39

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 39

actctaggac caagaatatt

20

&lt;210&gt; 40

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 40

gccttactct aggaccaaga

20

&lt;210&gt; 41

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 41

ccaaatgtgc cttactctag

20

&lt;210&gt; 42

&lt;211&gt; 20

## [0062]

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 42

tggagcccaa atgtgcctta

20

&lt;210&gt; 43

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 43

tctgtctttg gagcccaa

20

&lt;210&gt; 44

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 44

ccatcactga gaagtacctg

20

&lt;210&gt; 45

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 45

atttctccat cactgagaag

20

&lt;210&gt; 46

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 46

aaaagttatt tctccatcac

20

## [0063]

<210> 47  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 47  
tggcaagaaa agttatttct 20

<210> 48  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 48  
gtgtggttg caagaaaagt 20

<210> 49  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 49  
ctccatttag agtgtggttg 20

<210> 50  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 50  
tgcatttcga aggatttctc 20

<210> 51  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 51  
ccactctctg catttcgaag 20

[0064]

<210> 52  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 52  
acaaaaaact ttacatctat 20

<210> 53  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 53  
ccttttcaga caagacaaaa 20

<210> 54  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 54  
aagattaatg aaacaataat 20

<210> 55  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 55  
gtttccatca aagattaatg 20

<210> 56  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

[0065]

<400> 56  
attgatagtc catatgtgct 20

<210> 57  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 57  
agtataattg atagtccata 20

<210> 58  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 58  
ggaggtagaa actaagttct 20

<210> 59  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 59  
atgtgttaat ctatcaacac 20

<210> 60  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 60  
tgcattcata ttcttccttt 20

<210> 61  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>

[0066]

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

<400> 61  
ttccttatgc atccatattc 20

<210> 62  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 62  
cttgtctttc cttatgcatc 20

<210> 63  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 63  
acattttctt gtctttcctt 20

<210> 64  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 64  
tctggacatt ttcttgtctt 20

<210> 65  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 65  
ataatcttct ggacattttc 20

<210> 66  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

[0067]

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 66

ctctgaccct gatcttccat

20

&lt;210&gt; 67

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 67

ttggaataat actctgaccc

20

&lt;210&gt; 68

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 68

cagttccatt acaggaatca

20

&lt;210&gt; 69

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 69

cttcaggaac actgtgtgat

20

&lt;210&gt; 70

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 70

atctatttct tcaggaacac

20

&lt;210&gt; 71

&lt;211&gt; 20



[0068]

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 71

agtactgtat cagctatatc

20

&lt;210&gt; 72

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 72

tcattgagta ctgtatcagc

20

&lt;210&gt; 73

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 73

tcatcatcat tgagtactgt

20

&lt;210&gt; 74

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 74

ccaatatcat catcattgag

20

&lt;210&gt; 75

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 75

tcatgacagc tgtcaccaat

20

[0069]

<210> 76  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 76  
aagccttcat gacagctgtc 20

<210> 77  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 77  
agaagaaagc cttcatgaca 20

<210> 78  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 78  
tacttgagaa gaaagccttc 20

<210> 79  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 79  
attcttactt gagaagaaag 20

<210> 80  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 80  
aaaaattctt acttgagaag 20

[0070]

<210> 81  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 81  
agatggtatc tgcttcatcc 20

<210> 82  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 82  
caatctaagt agacagtctg 20

<210> 83  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 83  
ttaagcaaca gttcaaatac 20

<210> 84  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 84  
ctttaaatag caaatggaat 20

<210> 85  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

[0071]

<400> 85  
gccatgattt cttgtctggg 20

<210> 86  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 86  
gctttaatga gaagtaaac 20

<210> 87  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 87  
tctacgtac aacttaatat 20

<210> 88  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 88  
ataattttgt tctacgccta 20

<210> 89  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 89  
cactgctgga tggaaaaaga 20

<210> 90  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>

[0072]

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 90

tggtttaagg gcacaaactc

20

&lt;210&gt; 91

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 91

ttgcccacgg gtacacagca

20

&lt;210&gt; 92

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 92

cagatgagga aataggtgta

20

&lt;210&gt; 93

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 93

acacattagg tactattact

20

&lt;210&gt; 94

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 94

tttttatgtt ccaggcactg

20

&lt;210&gt; 95

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

[0073]

<220>

<223> 合成寡核苷酸

<400> 95

aataggaaat gttagctatg

20

<210> 96

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成寡核苷酸

<400> 96

ggcactcaac aaatactggc

20

<210> 97

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成寡核苷酸

<400> 97

tacatgtaaa gcaactagta

20

<210> 98

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成寡核苷酸

<400> 98

taaaatttca tgaaaatctg

20

<210> 99

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成寡核苷酸

<400> 99

aagtgaatac tttatacttt

20

<210> 100

<211> 20

[0074]

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 100

catcatgagc ctaaaggaaa

20

&lt;210&gt; 101

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 101

ggctcttagg ttaaacacac

20

&lt;210&gt; 102

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 102

tgcttctgat tcaagccatt

20

&lt;210&gt; 103

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 103

atacaggact aaagtgttc

20

&lt;210&gt; 104

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 104

caaattgggat ttaaatgat

20

## [0075]

<210> 105  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 105  
tgacatgtag agagattaag 20

<210> 106  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 106  
ttattgaaat accatcattt 20

<210> 107  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 107  
tagtcagtat aatatcattt 20

<210> 108  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 108  
gcattgagaa gaaagccttc 20

<210> 109  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 109  
aagacctgat ccaggaaggc 20



[0076]

<210> 110  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 110  
tgagctgatg gcattgagaa 20

<210> 111  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 111  
acaacggaac agccacaggt 20

<210> 112  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 112  
ttagtgtcaa ggcttttctg 20

<210> 113  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 113  
gacggctgac acaccaagcg 20

<210> 114  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

[0077]

<400> 114  
tgatggcatt gagaagaaag 20

<210> 115  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 115  
tttactttct ctgcactgct 20

<210> 116  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 116  
tcttattttac tttctctgca 20

<210> 117  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 117  
ggcataatgt tctgactatc 20

<210> 118  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 118  
ataacctgga gcattttctc 20

<210> 119  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>

[0078]

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 119

ccctgactca tattttaaag

20

&lt;210&gt; 120

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 120

ccagttgaat ccttagcag

20

&lt;210&gt; 121

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 121

catacatgac ttgccgaaa

20

&lt;210&gt; 122

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 122

gacatccaca tctatgtgtg

20

&lt;210&gt; 123

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 123

tggtcatgac aggtggcat

20

&lt;210&gt; 124

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

[0079]

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 124

ttataaatat gttcatgaca

20

&lt;210&gt; 125

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 125

cagctcggat ctcattgtatc

20

&lt;210&gt; 126

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 126

ctccagaagg ctgtcagctc

20

&lt;210&gt; 127

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 127

gtatcctgag ccatgtcttc

20

&lt;210&gt; 128

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 128

aatcaggagt aaagctttcg

20

&lt;210&gt; 129

&lt;211&gt; 20

## [0080]

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 129

aaaatattca aatcaggagt

20

&lt;210&gt; 130

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 130

tctctgtgta agacatcttg

20

&lt;210&gt; 131

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 131

gagtgtctct gtgtaagaca

20

&lt;210&gt; 132

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 132

cactagagtg tctctgtgta

20

&lt;210&gt; 133

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 133

gctttcacta gagtgtctct

20

## [0081]

<210> 134  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 134  
gatccaggaa ggctttcact 20

<210> 135  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 135  
aaagtacttc tgagagataa 20

<210> 136  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 136  
aactgtgcaa ggaaagtact 20

<210> 137  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 137  
gtcaaggctt ttctgtgaag 20

<210> 138  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 138  
agagatttaa aggctttttt 20

[0082]

<210> 139  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 139  
atcttcaggt tccgaagaga 20

<210> 140  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 140  
ccctctgctg ttaaatacaag 20

<210> 141  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 141  
tgttaagatc gccctctgct 20

<210> 142  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 142  
attattatgt taagatcgcc 20

<210> 143  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

## [0083]

<400> 143  
agagccatta ttatgttaag 20

<210> 144  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 144  
ataaaagagt gtaggcctgg 20

<210> 145  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 145  
acactagtgt agaaaggtct 20

<210> 146  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 146  
gttcttgac actagtgtag 20

<210> 147  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 147  
taaaaagtca ttagaacatc 20

<210> 148  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>



[0084]

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 148

tattaagtta cacatttaaa

20

&lt;210&gt; 149

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 149

ctttaccagc gatcatgatt

20

&lt;210&gt; 150

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 150

ttctggagta tgatccaggg

20

&lt;210&gt; 151

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 151

acttaactgc aattgctgag

20

&lt;210&gt; 152

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 152

tgtagtgtaa cttacttaac

20

&lt;210&gt; 153

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

[0085]

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 153

atgcacctga catccctca

20

&lt;210&gt; 154

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 154

cccaaaagca taaatctagg

20

&lt;210&gt; 155

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 155

atatttatta tattgtaaac

20

&lt;210&gt; 156

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 156

agcaataata tttattatat

20

&lt;210&gt; 157

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 157

agatagcaat aatatttatt

20

&lt;210&gt; 158

&lt;211&gt; 20

## [0086]

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 158

aaagatagca ataatattta

20

&lt;210&gt; 159

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 159

ttaaaagata gcaataatat

20

&lt;210&gt; 160

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 160

atctttaaaa gatagcaata

20

&lt;210&gt; 161

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 161

atatctttaa aagatagcaa

20

&lt;210&gt; 162

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 162

attatatctt taaaagatag

20

[0087]

<210> 163  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 163  
tattattata tctttaaaag 20

<210> 164  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 164  
caagtttaca tcctattatt 20

<210> 165  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 165  
aaaacagtag ttgtgggtcaa 20

<210> 166  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 166  
aaaaaacagt agttgtggtc 20

<210> 167  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 167  
tgaatcatgt atttcaaaaa 20

[0088]

<210> 168  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 168  
gcccaactcag atttcacctt 20

<210> 169  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 169  
ctacacacca aagaatgcca 20

<210> 170  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 170  
agttttcagt tgattgcaga 20

<210> 171  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 171  
catcctatgt tcaagctcac 20

<210> 172  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

[0089]

<400> 172  
taaacatctg cttgatcaat 20

<210> 173  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 173  
aatccacaaa gtaggatcta 20

<210> 174  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 174  
attagacatt tctacagact 20

<210> 175  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 175  
ctcaactaca tagaatatca 20

<210> 176  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 176  
ttggcaacaa ttactaaaac 20

<210> 177  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>

[0090]

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 177

tcaaaaataa tgaaaattaa

20

&lt;210&gt; 178

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 178

caatttggt caaaaataat

20

&lt;210&gt; 179

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 179

ggcacaggag gtgcacattt

20

&lt;210&gt; 180

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 180

tagattttct aaggagaaaa

20

&lt;210&gt; 181

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 181

actgaccagt gaaatctgaa

20

&lt;210&gt; 182

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

[0091]

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 182

ggtaagactt agcaagaaga

20

&lt;210&gt; 183

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 183

tctcagagtt gcaatgattg

20

&lt;210&gt; 184

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 184

agatcttatt agttagtata

20

&lt;210&gt; 185

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 185

agtactcaag gaactathtt

20

&lt;210&gt; 186

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 186

ggcaaacagc aacaacttca

20

&lt;210&gt; 187

&lt;211&gt; 20



[0092]

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 187

gcacttcagt aaaatttctc

20

&lt;210&gt; 188

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 188

ggtccaaacg cattaagaaa

20

&lt;210&gt; 189

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 189

gaattatatt aatcagttat

20

&lt;210&gt; 190

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 190

tgtgtttgtg taactacaat

20

&lt;210&gt; 191

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 191

atattacttc cagaatttta

20

## [0093]

<210> 192  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 192  
ggcagaaggg ctctattacc 20

<210> 193  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 193  
cattcgaaca tgtcattttg 20

<210> 194  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 194  
ctgattcatg atgggaaagc 20

<210> 195  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 195  
gtggttgtct aaaacatcaa 20

<210> 196  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 196  
atgactgagc tacagtacaa 20

## [0094]

<210> 197  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 197  
gggacactac aaggtagtat 20

<210> 198  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 198  
ttaaataaga atctaccatg 20

<210> 199  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 199  
gctttaataa cttatttcac 20

<210> 200  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 200  
aggagaaaag atatataaca 20

<210> 201  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

[0095]

<400> 201  
ccatttagga gaaaagatat 20

<210> 202  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 202  
ttcacctca gcgagtactg 20

<210> 203  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 203  
aggctgcggt tgtttccctc 20

<210> 204  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 204  
gccagatccc catcccttgt 20

<210> 205  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 205  
tcacttcctt taagcaagtc 20

<210> 206  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>

[0096]

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 206

agtgatgccc aagtcacaat

20

&lt;210&gt; 207

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 207

agtcaagtga tgcccaagtc

20

&lt;210&gt; 208

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 208

ccatcagtca agtgatgccc

20

&lt;210&gt; 209

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 209

gattaccatc agtcaagtga

20

&lt;210&gt; 210

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 210

caactgatta ccatcagtca

20

&lt;210&gt; 211

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

[0097]

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 211

gcagtttcca actgattcag

20

&lt;210&gt; 212

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 212

cgttcttggtt tcagatgtac

20

&lt;210&gt; 213

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 213

gccaaacaaa atatatttatc

20

&lt;210&gt; 214

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 214

taggtaggct aacctagtcc

20

&lt;210&gt; 215

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 215

tcccagccca aagagaagca

20

&lt;210&gt; 216

&lt;211&gt; 20

## [0098]

<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 216  
ggatcatagc tctcgtaac 20

<210> 217  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 217  
aatcataaag ccctcacttc 20

<210> 218  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 218  
ctgattggta tttagaaagg 20

<210> 219  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 219  
atgcagacat gattacatta 20

<210> 220  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 220  
ttcatcatta aactgaaaat 20

## [0099]

<210> 221  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 221  
cttttaggtt aaaaaggtgg 20

<210> 222  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 222  
atacagagcc tggcaaaaca 20

<210> 223  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 223  
ttctatttac agagcattag 20

<210> 224  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 224  
gccttcacat taattcacca 20

<210> 225  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 225  
tgtgttattg cccctaataaa 20



## [0100]

<210> 226  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 226  
tgtattcact atactatgcc 20

<210> 227  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 227  
aagttattta aagtatagca 20

<210> 228  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 228  
gacattgaag tatcaagaca 20

<210> 229  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 229  
tgttaagtaa tcttagaaaa 20

<210> 230  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

## [0101]

<400> 230  
ggcatacatt tagaaattca 20

<210> 231  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 231  
accttatgca tccatattct 20

<210> 232  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 232  
gaattctctt gggaaccatt 20

<210> 233  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 233  
atattcaact acaggattta 20

<210> 234  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 234  
atgtgttctt tagatacatc 20

<210> 235  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>

## [0102]

<223> 合成寡核苷酸

<400> 235

ccttatacag atacatgctg

20

<210> 236

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成寡核苷酸

<400> 236

tagatgcaat tactattttc

20

<210> 237

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成寡核苷酸

<400> 237

tgtacttccc aaacttgaac

20

<210> 238

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成寡核苷酸

<400> 238

ctgaagctca acaacaccaa

20

<210> 239

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成寡核苷酸

<400> 239

gtctatagaa tcaaactgaa

20

<210> 240

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工序列

[0103]

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 240

ttgaatcaat acctaacctc

20

&lt;210&gt; 241

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 241

tgcctctttt agaaaagatc

20

&lt;210&gt; 242

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 242

atggaatcat tggtttatcg

20

&lt;210&gt; 243

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 243

aaagctcact tttattcttt

20

&lt;210&gt; 244

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 244

ggtgccgcca ccatgcccg

20

&lt;210&gt; 245

&lt;211&gt; 20

## [0104]

<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 245  
gagagaagct gggcaataaa 20

<210> 246  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 246  
tctgaccctg cacaataaag 20

<210> 247  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 247  
atagtgtgtg attcaaaacg 20

<210> 248  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 248  
actgtatcag ctatctaaaa 20

<210> 249  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 249  
ttatttgtat aggaacctac 20

## [0105]

<210> 250  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 250  
tgtgagctga tggcactgta 20

<210> 251  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 251  
ccttatttac tttctctgca 20

<210> 252  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 252  
ggaataaggt cactagttcg 20

<210> 253  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 253  
atttgcaaca atttttaaatt 20

<210> 254  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 254  
ataaactacc aatgatattcc 20

## [0106]

<210> 255  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 255  
tacctgatcc aggaaggctt 20

<210> 256  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 256  
ttcccgaagc ataaatctag 20

<210> 257  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 257  
ttgagaagca tgaaattcca 20

<210> 258  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 258  
gcgggacacc gtaggttacg 20

<210> 259  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

[0107]

<400> 259  
ctttcctagc gggacaccgt 20

<210> 260  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 260  
gcacctctct ttcctagcgg 20

<210> 261  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 261  
tgtttgacgc acctctcttt 20

<210> 262  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 262  
cttgctgctg ttgacgcac 20

<210> 263  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 263  
gggcggaact tgcgctggt 20

<210> 264  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>



[0108]

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 264

gcagcaggga cggctgacac

20

&lt;210&gt; 265

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 265

agaagcaacc gggcagcagg

20

&lt;210&gt; 266

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 266

cccaaaagag aagcaaccgg

20

&lt;210&gt; 267

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 267

accccgcccc caaaagagaa

20

&lt;210&gt; 268

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 268

cttgctagac cccgccccca

20

&lt;210&gt; 269

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

## [0109]

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 269

cacctgctct tgctagaccc

20

&lt;210&gt; 270

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 270

taaaccacac cctgctcttg

20

&lt;210&gt; 271

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 271

ctcctaaacc cacacctgct

20

&lt;210&gt; 272

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 272

acacacacct cctaaaccca

20

&lt;210&gt; 273

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 273

aaacaaaaac acacacctcc

20

&lt;210&gt; 274

&lt;211&gt; 20

## [0110]

<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 274  
ggtgggaaaa acaaaaacac 20

<210> 275  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 275  
ctgtgagagc aagtagtggg 20

<210> 276  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 276  
agcgagtact gtgagagcaa 20

<210> 277  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 277  
tcaccctcag cgagtactgt 20

<210> 278  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 278  
tcaggtcttt tcttgttcac 20

[0111]

<210> 279  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 279  
aatctttatc aggtcttttc 20

<210> 280  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 280  
ttctggttaa tctttatcag 20

<210> 281  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 281  
ttgttttctt ctggttaatc 20

<210> 282  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 282  
ttccctcctt gttttcttct 20

<210> 283  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 283  
gcggttggtt ccctccttgt 20

## [0112]

<210> 284  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 284  
tacaggctgc ggttgtttcc 20

<210> 285  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 285  
gagcttgcta caggctgcgg 20

<210> 286  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 286  
gagttccaga gcttgctaca 20

<210> 287  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 287  
cgactcctga gttccagagc 20

<210> 288  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

## [0113]

<400> 288  
cccggcccct agcgcgcgac 20

<210> 289  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 289  
gccccggccc cggcccctag 20

<210> 290  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 290  
accacgcccc ggccccggcc 20

<210> 291  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 291  
ccgccccgac cagccccgg 20

<210> 292  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 292  
ccccgggccc gccccgacca 20

<210> 293  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>

[0114]

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 293

cgccccgggc ccgccccggg

20

&lt;210&gt; 294

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 294

cgcagccccg ccccgggccc

20

&lt;210&gt; 295

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 295

accgcaaccg cagccccgcc

20

&lt;210&gt; 296

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 296

gcgcaggcac cgcaaccgca

20

&lt;210&gt; 297

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 297

ggcgcaggca ccgcaaccgc

20

&lt;210&gt; 298

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

[0115]

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 298

cgccctccgcc gccgcgggcg

20

&lt;210&gt; 299

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 299

accgcctgcg cctccgccgc

20

&lt;210&gt; 300

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 300

cactcgccac cgcctgcgcc

20

&lt;210&gt; 301

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 301

ccactcgcca ccgcctgcgc

20

&lt;210&gt; 302

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 302

ggtccccggg aaggagacag

20

&lt;210&gt; 303

&lt;211&gt; 20



## [0116]

<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 303  
aacaactggg gcatggcaac 20

<210> 304  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 304  
gtttcagatg tactatcagc 20

<210> 305  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 305  
aaggtgaagt tcatatcact 20

<210> 306  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 306  
ggtaacttca aactcttggg 20

<210> 307  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 307  
ggttcatgag aggtttccca 20

[0117]

<210> 308  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 308  
tactgaattg cttagtttta 20

<210> 309  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 309  
ctaacagaat aagaaaaaaa 20

<210> 310  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 310  
gagcattaga tgagtgtttt 20

<210> 311  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 311  
tgcattccta agcaatgtgt 20

<210> 312  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 312  
tctaggcctt cacattaatt 20

## [0118]

<210> 313  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 313  
cctgtctatg cctaggtgaa 20

<210> 314  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 314  
tagcacatac aattattaca 20

<210> 315  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 315  
gaggagaaga acataaacgc 20

<210> 316  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 316  
taccacaagt ctggagccat 20

<210> 317  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

[0119]

<400> 317  
gatactggat tgttgaaact 20

<210> 318  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 318  
tagtatgact ggagatttgg 20

<210> 319  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 319  
atcaaaaccc caaatgatit 20

<210> 320  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 320  
atccaaatgc tccggagata 20

<210> 321  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 321  
tcgacatcac tgcattccaa 20

<210> 322  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>

[0120]

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 322

caacagctgg agatggcggt

20

&lt;210&gt; 323

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 323

atttgccact taaagcaatc

20

&lt;210&gt; 324

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 324

gtacctgttc tgtctttgga

20

&lt;210&gt; 325

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 325

caagaaaagt tatttctcca

20

&lt;210&gt; 326

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 326

gaaggatttc tccatttaga

20

&lt;210&gt; 327

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

[0121]

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 327

ttacatctat agcaccactc

20

&lt;210&gt; 328

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 328

tcactccctt ttcagacaag

20

&lt;210&gt; 329

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 329

agtttccatc aaagattaat

20

&lt;210&gt; 330

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 330

atagtcata tgtgctgcga

20

&lt;210&gt; 331

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 331

aactaagttc tgtctgtgga

20

&lt;210&gt; 332

&lt;211&gt; 20

[0122]

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 332

caacacacac tctatgaagt

20

&lt;210&gt; 333

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 333

ttcctttccg gattatatgt

20

&lt;210&gt; 334

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 334

tttccattac aggaatcact

20

&lt;210&gt; 335

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 335

atcagcctat atctatttcc

20

&lt;210&gt; 336

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 336

tcaatgacca ggcggtcccc

20

## [0123]

<210> 337  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 337  
ctttttatgg aaaaggaaaa 20

<210> 338  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 338  
tgtttcccca aaaatttctg 20

<210> 339  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 339  
agatatecac tcgccaccgc 20

<210> 340  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 340  
ccggccccgg ccccgcccc 20

<210> 341  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 341  
cccgccccg gccccgcccc 20



## [0124]

<210> 342  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 342  
ccccggcccc ggccccggcc 20

<210> 343  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 343  
gccccggccc cggccccggc 20

<210> 344  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 344  
ggccccggcc ccggccccgg 20

<210> 345  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 345  
cggccccggc cccggccccg 20

<210> 346  
<211> 19  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

[0125]

<400> 346  
cgggcccggc cccggcccc 19

<210> 347  
<211> 19  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 347  
ccggccccgg ccccggccc 19

<210> 348  
<211> 19  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 348  
cccggccccg gccccggcc 19

<210> 349  
<211> 19  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 349  
ccccggcccc ggccccggc 19

<210> 350  
<211> 19  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 350  
gccccggccc cggccccgg 19

<210> 351  
<211> 19  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>

[0126]

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 351

ggccccggcc ccggccccg

19

&lt;210&gt; 352

&lt;211&gt; 18

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 352

ggccccggcc ccggcccc

18

&lt;210&gt; 353

&lt;211&gt; 18

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 353

cggccccggc cccggccc

18

&lt;210&gt; 354

&lt;211&gt; 18

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 354

ccggccccgg ccccggcc

18

&lt;210&gt; 355

&lt;211&gt; 18

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 355

cccggccccg gccccggc

18

&lt;210&gt; 356

&lt;211&gt; 18

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

[0127]

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 356

ccccggcccc ggccccgg

18

&lt;210&gt; 357

&lt;211&gt; 18

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 357

gccccggccc cggccccg

18

&lt;210&gt; 358

&lt;211&gt; 17

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 358

gccccggccc cggcccc

17

&lt;210&gt; 359

&lt;211&gt; 17

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 359

ggccccggcc ccggccc

17

&lt;210&gt; 360

&lt;211&gt; 17

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 360

cggccccggc cccggcc

17

&lt;210&gt; 361

&lt;211&gt; 17

[0128]

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 361

ccggccccgg ccccggc

17

&lt;210&gt; 362

&lt;211&gt; 17

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 362

cccggccccg gccccgg

17

&lt;210&gt; 363

&lt;211&gt; 17

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 363

ccccggcccc ggccccg

17

&lt;210&gt; 364

&lt;211&gt; 16

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 364

ccccggcccc ggcccc

16

&lt;210&gt; 365

&lt;211&gt; 16

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成寡核苷酸

&lt;400&gt; 365

gccccggccc cggccc

16

[0129]

<210> 366  
<211> 16  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 366  
ggccccggcc ccggcc 16

<210> 367  
<211> 16  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 367  
cggccccggc cccggc 16

<210> 368  
<211> 16  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 368  
ccggccccgg ccccg 16

<210> 369  
<211> 16  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成寡核苷酸

<400> 369  
cccggccccg gccccg 16