

Область изобретения

Данное изобретение обеспечивает средства для идентификации соединений, применимых в лечении связанных с ЦНС нарушений, таких как шизофрения, биполярное нарушение, депрессия и другие нарушения сознания, средства для определения предрасположения индивидуумов к указанным нарушениям, а также средства для диагностики нарушений и прогнозирования указанных нарушений. Более конкретно, данное изобретение относится к средствам лечения указанных нарушений с использованием антагонистов оксидазы D-аминокислот (DAO) и D-аспартатоксидазы (DDO).

Предпосылки изобретения

Успехи в технологическом вооружении, доступном фундаментальным и клиническим исследователям, сделали возможными все более усложняющиеся исследования функции головного мозга и нервной системы в здоровом и патологическом состоянии. Получили развитие многочисленные гипотезы как нейробиологические, так и фармакологические, в отношении нейрохимических и генетических механизмов, участвующих в нарушениях центральной нервной системы (ЦНС), в том числе психиатрических нарушениях и нейродегенеративных нарушениях. Однако нарушения ЦНС имеют сложную и слабо понимаемую этиологию, а также симптомы, которые являются перекрывающимися, слабо охарактеризованными и трудными для измерения. В результате этого дальнейшие усилия в отношении развития схем лечения и лекарственных средств должны быть более сложными и сосредоточенными на мультигенных причинах и будут требовать новых анализов для разделения патологических популяций и обеспечения более точной диагностической и прогностической информации о пациентах, страдающих нарушениями ЦНС.

Неврологическая основа нарушений ЦНС

Нейротрансмиттеры служат в качестве транзиттеров сигналов по всему организму. Поэтому заболевания, которые влияют на нейротрансмиссию, могут иметь серьезные последствия. Например, на протяжении более 30 лет ведущей теорией для объяснения биологической основы многих психиатрических нарушений, таких как депрессия, была гипотеза моноаминов. Эта теория предполагает, что депрессия частично обусловлена недостаточностью одного из трех основных биогенных моноаминов, а именно, допамина, норэпинефрина и/или серотонина.

Кроме гипотезы моноаминов, многочисленные данные продемонстрировали важность принятия во внимание функции головного мозга в целом, а не только состояния только нейрональной системы. В этом контексте в настоящее время возросло значение двойных специфических воздействий на центральные аминергические системы, в том числе системы вторичных и третичных мессенджеров.

Эндокринная основа нарушений ЦНС

Кроме того, очевидно, что основные системы моноаминов, а именно, допамин, норэпинефрин и серотонин, не объясняют полностью патофизиологию многих нарушений ЦНС. В частности, ясно, что нарушения ЦНС могут иметь эндокринный компонент; гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая система (НРА), включающая эффекты кортикотропин-высвобождающего фактора и глюкокортикоидов, играет важную роль в патофизиологии нарушения ЦНС.

В гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системе (НРА) гипоталамус находится на вершине иерархии, регулирующей секрецию гормонов. Он продуцирует и высвобождает пептиды (малые цепи аминокислот), которые действуют на гипофиз, на основание головного мозга, стимулируя или ингибируя высвобождение гипофизом различных гормонов в кровь. Эти гормоны, среди которых гормон роста, тиреостимулирующий гормон и адренокортикотропный гормон (АКТГ), регулируют высвобождение других гормонов из желез-мишеней. Кроме функционирования вне нервной системы, эти гормоны, высвобождающиеся в ответ на гормоны гипофиза, действуют по принципу обратной связи на гипофиз и гипоталамус. Они доставляют туда ингибиторные сигналы, которые служат для лимитирования избыточного биосинтеза гормонов.

Нарушения ЦНС

Предполагается, что аномалии нейротрансмиттеров и гормонов участвуют в нарушениях движения (например, в болезни Паркинсона, болезни Гентингтона, заболеваниях двигательных нейронов и т.д.), нарушениях сознания (например, униполярной депрессии, биполярном нарушении, тревожности и т.д.) и заболеваниях, включающих нарушения умственных способностей (например, в болезни Альцгеймера, деменции с тельцами Леви, шизофрении и т.д.). Кроме того, предполагалось, что эти системы участвуют во многих других нарушениях, таких как кома, травма головы, инфаркт головного мозга, эпилепсия, алкоголизм и состояния умственной отсталости метаболического происхождения, в частности, наблюдаемые в детстве.

Нарушения ЦНС могут включать большой диапазон нарушений и соответственно большой диапазон генетических факторов. Примеры нарушений ЦНС включают нейродегенеративные нарушения, психотические нарушения, нарушения сознания, аутизм, лекарственная зависимость и алкоголизм, умственную отсталость и другие психиатрические заболевания, в том числе когнитивные нарушения, тревожность, нарушения питания, нарушения контроля импульсов и личностные нарушения. Нарушения могут быть определены с использованием классификации четвертого издания «Диагностики и статистического руководства психических нарушений» (DSM-IV).

Даже при рассмотрении всего лишь небольшого подраздела нарушений ЦНС из отсутствия адекватного лечения и понимания молекулярной основы психотических нарушений, шизофрении и биполярного нарушения очевидно, что требуются новые мишени для терапевтического вмешательства и улучшенные способы лечения. Как для шизофрении, так и для биполярного нарушения все известные молекулы, используемые для лечения, имеют побочные действия и действуют только на симптомы заболевания. Существует настоятельная необходимость в новых молекулах без связанных с ними побочных действий, направленных на мишени, которые участвуют в причинных механизмах шизофрении и биполярного нарушения. Таким образом, необходимыми и ценными являются средства, позволяющие выявить и охарактеризовать эти мишени.

Агрегация шизофрении и биполярного нарушения в семьях, доказательства, полученные из исследований близнецов и приемных детей, и отсутствие вариации во встречаемости заболеваний по всему миру указывают на то, что шизофрения и биполярное заболевание являются первичными генетическими состояниями, хотя факторы риска окружающей среды могут также участвовать на некотором уровне у качестве необходимых, достаточных или интерактивных причин. Например, шизофрения встречается в 1% всего населения. Но, если дедушка или бабушка страдает шизофренией, риск возникновения этого заболевания увеличивается до 3%; если один родитель страдает шизофренией, то до приблизительно 10%. Если оба родителя страдают шизофренией, этот риск возрастает до приблизительно 40%.

Идентификация гена подверженности шизофрении на хромосоме 13q31-q33

Идентификация генов, участвующих в конкретном признаке, таком как специфическое нарушение центральной нервной системы, например, шизофрении, может проводиться посредством двух основных стратегий, используемых в настоящее время для генетического картирования: анализа сцепления и исследований ассоциаций. Анализ сцепления требует исследования семей со множеством пораженных индивидуумов и применим в настоящее время в обнаружении моно- или олигогенных наследуемых признаков. Напротив, исследования ассоциаций определяют частоту встречаемости маркерных аллелей в неродственных признак-положительных (T+)-индивидуумах в сравнении с признак-отрицательными (T-)-контролями и обычно применяются в обнаружении полигенной наследственности.

Генетическая связь или "сцепление" основывается на анализе, какая из двух соседних последовательностей на хромосоме содержит наименьшие рекомбинации при кроссинговере во время мейоза. Для этого на геноме были точно определены местоположения хромосомных маркеров, подобных микросателлитным маркерам. Анализ генетического сцепления рассчитывает возможности рекомбинаций на гене-мишени с используемыми хромосомными маркерами, в соответствии с генеалогическим деревом, трансмиссией заболевания и трансмиссией маркеров. Так, если конкретный аллель данного маркера передается с заболеванием более часто, чем случайным образом (уровень рекомбинации между 0 и 0,5), можно заключить, что рассматриваемый ген-мишень находится рядом с этим маркером. С использованием этого способа можно было определить местоположение нескольких генов, демонстрирующих генетическое предрасположение семейных раков. Для возможности включения в исследование генетического сцепления семьи, имеющие наследственную форму заболевания, должны удовлетворять критериям "информативности": несколько пораженных заболеванием субъектов (с доступностью их конституциональной ДНК) на поколение и, в наилучшем случае, наличие большого числа sibсов.

Результаты предыдущих исследований сцепления подтвердили гипотезу, что хромосома 13, по-видимому, имеет локус подверженности шизофрении на 13q32 (Blouin J.L. et al., 1998, Nature Genetics, 20:70-73; Lin M.W. et al., 1997, Hum. Genet., 99(3):417-420). Эти наблюдения, предполагающие присутствие локуса шизофрении на локусе хромосомы 13q32, были получены проведением исследований сцепления. Анализ сцепления был успешно применен для картирования простых генетических признаков, которые демонстрируют явную картину менделевского наследования и которые имеют высокую пенетрантность, но этот способ страдает многими недостатками. Прежде всего, анализ сцепления лимитирован его зависимостью от выбора генетической модели, пригодной для каждого исследуемого признака. Кроме того, разрешение, достигаемое с использованием анализа сцепления, является ограниченным, и требуются дополняющие исследования для повышения качества анализа типичных 20 Мб-участков, первоначально идентифицированных этим способом. Кроме того, анализ сцепления является затрудненным при применении к комплексным генетическим признакам, таким как признаки, обусловленные комбинированным действием множественных генов и/или факторов окружающей среды. В таких случаях требуются слишком большие усилия и расходы для набора адекватного числа страдающих заболеванием семей, необходимого для применения анализа сцепления для этих ситуаций.

Наконец, анализ сцепления не может быть применен к исследованию признаков, для которых недоступны большие информативные семьи.

Новый ген шизофрении: g34872 (sbg1)

Недавно вместо использования исследований сцепления был идентифицирован новый относящийся к шизофрении и биполярному нарушению ген, названный геном g34872, расположенный на локусе хромосомы 13q31-q33, с использованием альтернативного способа проведения исследований ассоциаций. Этот альтернативный способ предусматривал генерирование биаллельных маркеров (прежде всего единичных нуклеотидных полиморфизмов (SNP)) в представляющем интерес участке, идентификацию мар-

керов в неравновесном сцеплении с шизофренией и проведение исследований ассоциаций в неродственных популяциях случаев шизофрении и биполярного нарушения и контрольных популяциях.

В результате был сконструирован контиг ВАС, охватывающий геномный участок-кандидат, с использованием 27 общедоступных маркеров меченных последовательностью сайтов (STS-маркеров) (или индексных маркеров), локализованных на хромосоме 13 в участке 13q31-q33, для скрининга эквивалентной 7 геномам запатентованной ВАС-библиотеки. Из этих материалов генерировали новые STS, позволяющие конструирование плотной физической карты участка. Всего 275 STS позволили идентифицировать 255 ВАС, размер которых был определен и которые были картированы с использованием *in situ* хромосомной гибридизации для подтверждения. Новые биаллельные маркеры были получены частичным секвенированием концов вставок из субклонов некоторых из ВАС-вставок, локализованных на участке хромосомы человека 13q31-q33. В первой фазе этого анализа первый набор 34 биаллельных маркеров на 9 различных ВАС вдоль хромосомы локуса-кандидата 13q31-q33 анализировали в случаях шизофрении и контролях, идентифицируя посредством этого субучасток, обнаруживающий ассоциацию с шизофренией. После этого первого анализа дополнительные биаллельные маркеры были получены, как описано выше, для получения карты очень высокой плотности участка-мишени. Был идентифицирован и полностью секвенирован минимальный набор из 35 ВАС, который приводил к нескольким контигам, в том числе контигу более 900 т.п.н., содержащему последовательности участка-мишени.

Эти биаллельные маркеры использовали в исследованиях ассоциаций для повышения качества идентификации конкретного представляющего интерес субучастка, который содержал ген-кандидат шизофрении, g34872. Эти биаллельные маркеры генотипировали в нескольких исследованиях, проводимых в различных популяциях, для подтверждения ассоциации с этим субучастком. Исследования ассоциаций сначала выполняли на пробах двух различных скринингов случаев шизофрении и контролей из франко-канадской популяции, содержащей 139 случаев шизофрении и 141 контроль и 215 случаев шизофрении и 241 контроль соответственно, а также на случаях биполярного заболевания и контролях из аргентинской популяции. Результаты, полученные после нескольких исследований с использованием этой популяции, обнаружили геномный участок приблизительно 150 т.п.н., имеющий значимую ассоциацию с шизофренией. Затем эту ассоциацию подтверждали в отдельных исследованиях с использованием случаев заболеваний и контролей из популяции шизофрении США, а также дополнительных пробах из аргентинской и франкоканадской популяций.

Было обнаружено, что геномный участок 150 т.п.н., ассоциированный с шизофренией, содержит ген-кандидат g34872. Кроме характеристики структуры интрон-экзон гена g34872, был идентифицирован диапазон сплайсинговых вариантов мРНК, в том числе тканеспецифические сплайсинговые варианты мРНК, и было продемонстрировано существование этих мРНК. Затем пептидный фрагмент, полученный из полипептидного продукта g34872, аминокислотная последовательность которого показана в SEQ ID NO: 5, продемонстрировал уменьшение частоты локомоторного перемещения и увеличение двигательной стереотипии при внутрибрюшинной инъекции в мышах. Дополнительное обсуждение идентификации гена g34872 представлено в находящейся в параллельной заявке на патент США с регистрационным номером 09/539333, озаглавленной «Ассоциированные с шизофренией гены, белки и биаллельные маркеры», и параллельной международной патентной заявке с номером РСТ/ВВ 00/00435, обе из них поданы 30 марта 2000 г., и их описания в полном виде включены сюда в качестве ссылки.

Взаимодействующие с g34872 белки и шизофрения

Существует настоятельная потребность в идентификации генов, участвующих в шизофрении и биполярном нарушении. Имеется также потребность в идентификации генов, участвующих в пути g34872, и генов, продукты которых функционально взаимодействуют с продуктами гена g34872. Эти гены могут обеспечить новые точки приложения в лечении шизофрении и биполярного нарушения и позволить дополнительные исследования и характеристику гена g34872 и связанного с ним биологического пути. Знание этих генов и связанных с ними биологических путей, участвующих в шизофрении, позволит исследователям понять этиологию шизофрении и биполярного нарушения и приведет к обнаружению лекарственных средств и медикаментов, которые направлены против причины этих заболеваний. Существует огромная потребность в новых способах для детектирования предрасположения (склонности) к шизофрении и биполярному нарушению, а также для профилактики или борьбы с развитием заболевания. Диагностические средства могли бы также оказаться крайне полезными. Действительно, ранняя идентификация субъектов, имеющих риск развития шизофрении, помогла бы проведению раннего и/или профилактического лечения. Кроме того, точные оценки конечной эффективности лекарственного средства, а также конечной толерантности пациента в отношении этого средства может позволить лечащему врачу повысить соотношение пользы/риска схем лечения шизофрении и биполярного нарушения.

Таким образом, данное изобретение относится к любому гену, кодирующему белки, которые взаимодействуют с полипептидами g34872, называемые здесь партнерами связывания g34872. Авторы изобретения демонстрируют, что оксидаза D-аминокислот входит в группу указанных партнеров связывания g34872. Знание партнера связывания g34872 позволяет разрабатывать лекарственные средства для лечения заболевания ЦНС, опосредуемого генами, выбранными из группы, содержащей g34872, оксидазу D-аминокислот и любые другие партнеры связывания g34872. Кроме того, знание партнеров связывания

g34872 позволяет обнаружить средство для детектирования g34872, партнеров связывания g34872, комплексов g34872-партнеры связывания или взаимодействий между g34872 и его партнерами связывания.

Взаимодействующие с g34872 белки и шизофрения: оксидаза D-аминокислот

Оксидаза D-аминокислот (DAO) была одним из первых описанных ферментов и вторым флавопротеином, обнаруженным в середине 1930-х годов. DAO превращает D-аминокислоты в соответствующие альфа-кетокислоты. Она осуществляет это катализом дегидрирования D-аминокислот до их имино-копий и комплекса восстановленный флавин-продукт. Затем восстановленный флавин (повторно) окисляется O_2 с образованием ФАДокс и H_2O_2 , тогда как иминокислота самопроизвольно гидролизует до кетокислоты и NH_4^+ . Хотя DAO присутствует в большинстве организмов и тканей млекопитающих, ее физиологическая роль в позвоночных животных не ясна. DAO окисляет D-Met, D-Pro, D-Phe, D-Tyr, D-Ile, D-Leu, D-Ala и D-Val. D-Ser, D-Arg, D-His, D-норлейцин и D-Trp окисляются в меньшей степени. D-орнитин, цис-4-гидрокси-D-пролин, D-Thr, D-Trp-метилэфир, N-ацетил-D-Ala и D-Lys окисляются в очень низкой степени. D-Asp, D-Glu и их производные, Gly и все L-аминокислоты не окисляются (или окисляются в недетектируемой степени). D-аспартатоксидаза (DDO) окисляет только D-Asp, D-Glu и их следующие производные: D-Asn, D-Gln, D-Asp-диметилэфир и N-метил-D-Asp.

Нарушения ЦНС являются типом неврологического нарушения. Нарушения ЦНС могут быть индуцированы лекарственным средством; могут быть связаны с генетическим предрасположением, инфекцией или травмой или могут иметь неизвестную этиологию. Нарушения ЦНС включают нервно-психические нарушения, неврологические заболевания и психические болезни; и включают нейродегенеративные заболевания, поведенческие нарушения, когнитивные нарушения и когнитивные аффективные нарушения. Имеются несколько нарушений ЦНС, клинические проявления которых связывают с дисфункцией ЦНС (т.е. нарушения, происходящие из неадекватных уровней высвобождения нейротрансмиттеров, неадекватных свойств рецепторов нейротрансмиттеров и/или неадекватного взаимодействия между нейротрансмиттерами и рецепторами нейротрансмиттеров). Несколько нарушений ЦНС могут быть отнесены к холинергической недостаточности, допаминергической недостаточности, адренергической недостаточности и/или серотонергической недостаточности. Нарушения ЦНС относительно обычной встречаемости включают пресенильную деменцию (раннее проявление болезни Альцгеймера), сенильную деменцию (деменцию типа Альцгеймера), паркинсонизм, в том числе болезнь Паркинсона, хорею Гентингтона, позднюю дискинезию, гиперкинезию, манию, нарушение с дефицитом внимания, тревожность, дизлексию, шизофрению, психоз, биполярное нарушение, депрессию и синдром Туретта.

Нейротрансмиттерные и гормональные отклонения от нормы участвуют в нарушениях движения (например, болезнь Паркинсона, болезнь Гентингтона, заболеваниях двигательных нейронов и т.д.), нарушениях сознания (например, униполярной депрессии, биполярном нарушении, тревожности и т.д.) и нарушениях, включающих умственные способности (например, в болезни Альцгеймера, деменции с тельцами Леви, шизофрении и т.д.). Кроме того, нейротрансмиттерные и гормональные аномалии предположительно участвуют в широком диапазоне нарушений, таких как кома, повреждение головы, инфаркт головного мозга, эпилепсия, алкоголизм и состояния умственной отсталости метаболического происхождения, в частности, наблюдаемые в детстве.

Шизофрения

В развитых странах шизофрения встречается в приблизительно одном проценте взрослого населения в определенное время их жизни. Приблизительно оценено, что в мире имеются 45 миллионов людей с шизофренией, причем более 33 миллионов из них живут в развивающихся странах. Кроме того, шизофрения ответственна за четвертую часть всех расходов, связанных с заболеваниями психики, и на нее приходится одна из трех коек психиатрических больниц. Большинство пациентов с шизофренией никогда не могут работать. Расходы общества в связи с шизофренией являются огромными. В Соединенных Штатах, например, было оценено, что прямая стоимость лечения шизофрении близка к 0,5% валового внутреннего продукта. По приближенной оценке стандартизованные показатели смертности (SMR) для пациентов с шизофренией являются в два-четыре раза более высокими, чем всего населения, и их общая предполагаемая продолжительность жизни на 20% ниже, чем этот показатель для всего населения.

Наиболее частой причиной смерти среди пациентов с шизофренией является суицид (в 10% пациентов), что представляет в 20 раз более высокий риск, чем риск для всего населения. Смерти от сердечных заболеваний и от заболеваний респираторной и пищеварительной системы являются также более частыми среди пациентов с шизофренией.

Шизофрения включает группу психозов с «положительными» или «отрицательными» симптомами. Положительные симптомы состоят из галлюцинаций, бреда и нарушений мышления; отрицательные симптомы включают эмоциональное притупление, отсутствие воли (желаний) и уменьшение двигательной активности.

Был идентифицирован ряд биохимических аномалий и, как следствие, на протяжении последних лет было выдвинуто несколько гипотез, основанных на нейротрансмиттерах; наиболее популярной была «допаминовая гипотеза», один из вариантов которой утверждает, что существует сверхактивность мезолимбических путей допамина на уровне рецептора D_2 . Однако исследователи не смогли найти стойкой связи между различными рецепторами допаминергической системы и шизофренией.

Биполярное нарушение

Биполярные нарушения являются относительно обычными нарушениями, встречающимися в приблизительно 1,3% населения, и сообщалось, что они составляют приблизительно половину нарушений сознания, наблюдаемых в психиатрических клиниках, с тяжелыми и потенциально инвалидизирующими эффектами. Было обнаружено, что биполярные нарушения различаются по типу нарушения в зависимости от пола; например, биполярное нарушение I обнаруживается в равной степени среди мужчин и женщин, тогда как биполярное нарушение II, как сообщалось, является более частым у женщин. Проявления биполярных нарушений обычно наблюдаются в подростковом возрасте (от 13 до 19 лет), и диагноз обычно ставится в возрасте пациента двадцать с небольшим лет. Биполярные нарушения часто встречаются среди пожилых людей, обычно как результат неврологического нарушения или других медицинских состояний. Сообщается, что, кроме тяжелых действий на социальное развитие пациента, совершение суицида среди биполярных пациентов составляют приблизительно 15%.

Биполярные нарушения характеризуются фазами возбуждения и часто депрессии; фазы возбуждения, называемые манией или гипоманией, и депрессивные фазы могут чередоваться или встречаться в различных комбинациях, и могут происходить до различных степеней тяжести и на протяжении варьирующих периодов времени. Поскольку биполярные нарушения могут существовать в различных формах и проявлять различные симптомы, классификация биполярного нарушения была предметом интенсивных исследований, которые привели к определению подтипов биполярного нарушения и расширению общей концепции для включения пациентов, которых считали ранее пациентами, страдающими от разных нарушений. Биполярные нарушения часто имеют общие определенные клинические признаки, симптомы, проводимые способы лечения и нейро-биологические признаки с психотическими болезнями вообще, и, следовательно, представляют трудность для психиатра в установлении точного диагноза. Кроме того, поскольку течение биполярных нарушений и различных нарушений сознания и психотических нарушений может сильно различаться, решающей является как можно более ранняя характеристика этой болезни, для того чтобы предоставить средства для обеспечения возможности справиться с этой болезнью на протяжении продолжительного периода.

Расходы общества на биполярные нарушения являются огромными. Мания, связанная с этим заболеванием, вызывает снижение работоспособности человека и вызывает психоз и часто приводит к госпитализации. Это заболевание является тяжелой нагрузкой, налагаемой на семью и родственников пациента, как с точки зрения прямых и косвенных расходов, так и с точки зрения «клейма», ассоциируемого с этой болезнью, иногда на протяжении поколений. Подобное «клеймо» часто приводит к изоляции и пренебрежению. Кроме того, чем раньше происходит проявление болезни, тем более тяжелыми являются эффекты прерванного образования и социального развития.

Классификация руководства DSM-IV биполярного нарушения различает между четырьмя типами нарушений на основе степени и продолжительности мании или гипомании, а также двумя типами нарушений, которые являются очевидными обычно в связи с медицинскими состояниями или их лечением или при злоупотреблении тем или иным веществом. Мания проявляется по повышенному, экспансивному (несдержанному) или раздражительному поведению, а также по расстройству внимания, импульсивному поведению, увеличенной активности, претенциозности (грандиозности), приподнятому настроению, бегущим мыслям и подавленной речи. Из этих четырех типов биполярного нарушения, характеризующихся конкретной степенью и продолжительностью мании, DSM-IV включает

биполярное нарушение I, включающее пациентов, проявляющих манию в течение по меньшей мере одной недели;

биполярное нарушение II, включающее пациентов, проявляющих гипоманию в течение по меньшей мере 4 дней, характеризующую более мягкими симптомами возбуждения, чем мания, которые ранее не проявляли выраженной мании и ранее страдали от приступов высокой депрессии;

биполярное нарушение, не описанное другим образом (NOS), включающее пациентов, в остальном проявляющих признаки биполярного нарушения II, но не удовлетворяющих 4-дневной продолжительности фазы возбуждения, или пациентов, которые проявляют гипоманию без приступов высокой депрессии; и

циклотимию, включающую пациентов, которые обнаруживают многочисленные маниакальные и депрессивные симптомы, которые не удовлетворяют критериям гипомании или высокой депрессии, но которые проявляются на протяжении более двух лет без бессимптомного интервала, большего, чем два месяца.

Остальные два типа биполярного нарушения, согласно классификации DSM-IV, являются нарушениями, наблюдаемыми при различных медицинских нарушениях и вызываемыми различными медицинскими нарушениями и их лечением, и нарушениями, включающими или связанными со злоупотреблениями химическими веществами. Медицинские нарушения, которые могут индуцировать биполярные нарушения, обычно включают эндокринные нарушения и цереброваскулярные нарушения, а медицинскими способами лечения, вызывающими биполярное нарушение, являются, как известно, лечение глюкокортикоидами и злоупотребление стимуляторами. Нарушение, связанное с применением или злоупот-

реблением химических веществ, называют «индуцируемым веществом нарушением сознания с маниакальными или смешанными признаками».

Диагностика биполярного нарушения может быть очень затруднительной. Одной особенно серьезной проблемой является то, что некоторые пациенты проявляют смешанные состояния, одновременно маниакальные и дисфорические или депрессивные, но не подпадают под классификацию DSM-IV, так как не все требуемые критерии для мании или высокой депрессии удовлетворяются ежедневно в течение по меньшей мере одной недели. Другие трудности включают классификацию пациентов на группы DSM-IV на основе продолжительности фазы, так как пациенты часто «циркулируют» между приступами возбуждения и депрессии с различными скоростями. В частности, сообщалось, что применение антидепрессантов может изменять ход заболевания в худшую сторону вызыванием «быстрой циркуляции». Делает также трудным установление диагноза тот факт, что биполярные пациенты, в частности, те, о которых известно, что они имеют манию стадии III, имеют общие симптомы дезорганизованного мышления и поведения с пациентами биполярного нарушения. Кроме того, психиатры должны различать ажитированную депрессию и смешанную манию; обычно пациенты с высокой депрессией (14 дней или более) проявляют ажитацию (возбуждение), что приводит к подобным биполярным нарушениям признакам. Следующим осложняющим фактором является то, что биполярные пациенты имеют исключительно высокую частоту злоупотребления химическими веществами, в частности, злоупотребления алкоголем. Хотя преобладание мании в пациентах-алкоголиках является низким, хорошо известно, что злоупотребляющие веществами лица могут проявлять симптомы возбуждения. Таким образом, это приводит к трудностям в диагностировании биполярных пациентов в случаях злоупотребления веществами.

Депрессия

Депрессия является серьезной медицинской болезнью, которая поражает 340 миллионов людей во всем мире. В противоположность нормальным эмоциональным переживаниям, таким как печаль, чувство потери или преходящие состояния сознания, клиническая депрессия является стойкой и может в значительной степени влиять на способность индивидуума функционировать. В результате депрессия является главной причиной потери трудоспособности во всем мире с расходами на нее по приближенной оценке, составляющими 53 миллиарда долларов в год только в Соединенных Штатах Америки.

Симптомы депрессии включают подавленное сознание, пониженный интерес или пониженное удовольствие в активной деятельности, изменение аппетита или веса, бессонницу или гиперсомнию, психомоторное возбуждение или психомоторное замедление, усталость или потерю энергии, чувство бесполезности или избыточной вины, тревожность, неспособность сконцентрироваться или действовать решительно и повторяющиеся мысли о смерти или суициде. Диагноз униполярной высокой депрессии (или высокого депрессивного нарушения) ставится, если лицо имеет пять или более из указанных симптомов и ухудшение в обычном функционировании почти каждый день в течение одного и того же двухнедельного периода времени. Проявление депрессии обычно начинается в позднем пубертатном возрасте или раннем взрослом возрасте; однако, недавние доказательства предполагают, что депрессия может встречаться раньше в жизни людей, родившихся в последние тридцать лет.

Всемирная организация здравоохранения прогнозирует, что к 2020 г. депрессия будет самым большим фактором плохого здоровья людей в развивающемся мире и что к тому времени депрессия будет второй наиболее частой причиной смерти и потери трудоспособности. После почти непереносимого страдания, которое она вызывает, большой опасностью при высокой депрессии является суицид. По приблизительной оценке, в пределах пяти лет страдания от высокой депрессии 25% страдающих от нее пытаются убить себя.

Кроме того, депрессия является частым и серьезным осложнением сердечного приступа, инсульта, диабета и рака. Согласно одному недавнему исследованию, охватывающему 13-летний период времени, индивидуумы с высокой депрессией в анамнезе страдали в 4 раза чаще от сердечного приступа в сравнении с людьми, без подобного анамнеза.

Депрессия может быть также признаком в случае 50% пациентов с нарушениями ЦНС, например, болезнью Паркинсона и болезнью Альцгеймера.

Низкие уровни метаболита HVA допамина были обнаружены в CSF (ликворе) в пациентах с депрессией. Кроме того, агонисты допамина производят терапевтическую ответную реакцию при депрессии.

В настоящее время антидепрессанты готовят таким образом, чтобы они были нацелены на многие симптомы депрессии, увеличением концентрации нейротрансмиттера в аминергических синапсах. Разные фармакологические механизмы позволяют разделить антидепрессанты на семь различных классов. Двумя классическими механизмами являются механизмы трициклических антидепрессантов (ТКА) и ингибиторов моноаминоксидазы (МАОI). Наиболее часто прописываемыми агентами являются ингибиторы селективного обратного захвата серотонина (SSRI). Три другие класса антидепрессантов, подобных SSRI, увеличивают серотонергическую нейротрансмиссию, но они имеют также дополнительные действия, а именно, двойное ингибирование обратного захвата серотонина и норэпинефрина; ингибирование антагонизма/обратного захвата серотонина-2 и альфа-антагонизм плюс серотонин-2- и -3-антагонизм.

Селективные в отношении норэпинефрина и дофамина ингибиторы обратного захвата определяют новый класс антидепрессанта, который не имеет прямых действий на систему серотонина.

Для нарушений ЦНС, таких как шизофрения, биполярные нарушения, депрессия и другие нарушения сознания, все известные молекулы, используемые для лечения, имеют побочные действия и действуют только на симптомы заболевания. Существует настоятельная необходимость в новых молекулах без связанных с ними побочных действий, или со сниженными побочными действиями, которые направлены против мишеней, участвующих в причинных механизмах таких нарушений ЦНС. Было бы желательно обеспечить полезный способ профилактики и лечения таких нарушений ЦНС введением соединения-антагониста DAO пациенту, склонному (восприимчивому) к такому нарушению или страдающему от такого нарушения. Альтернативно, было бы желательно обеспечить полезный способ профилактики и лечения таких нарушений ЦНС введением соединения-антагониста DDO пациенту, склонному к такому нарушению или страдающему от такого нарушения.

Для таких нарушений ЦНС, как болезнь Паркинсона, болезнь Альцгеймера и других нейродегенеративных нарушений, имеются ограниченные числа фармацевтических композиций, доступных для лечения, и известные молекулы, используемые для лечения, имеют побочные эффекты и действуют только против симптомов заболевания. Существует настоятельная необходимость в новых молекулах без связанных с ними побочных действий, или со сниженными побочными действиями, которые направлены против мишеней, участвующих в причинных механизмах таких нарушений ЦНС. Было бы желательно обеспечить полезный способ профилактики и лечения таких нарушений ЦНС введением соединения-антагониста DAO пациенту, склонному (восприимчивому) к такому нарушению или страдающему от такого нарушения. Альтернативно, было бы желательно обеспечить полезный способ профилактики и лечения таких нарушений ЦНС введением соединения-антагониста DDO пациенту, склонному к такому нарушению или страдающему от такого нарушения.

Фармацевтические композиции данного изобретения применимы для профилактики и лечения таких нарушений ЦНС.

Лечение

Поскольку в настоящее время не существует способов излечения от таких заболеваний ЦНС, как шизофрения, биполярные нарушения, депрессия и другие нарушения сознания, целью лечения является уменьшение тяжести этих симптомов, если возможно, до точки ремиссии. Вследствие сходства в симптомах, шизофрению, депрессию и биполярное нарушение часто лечат некоторыми одними и теми же лекарственными средствами. Оба заболевания часто лечат антипсихотическими и нейролептическими средствами.

Для шизофрении, например, антипсихотические лекарственные средства являются наиболее обычными и наиболее ценными средствами лечения. Имеются четыре класса антипсихотических лекарственных средств, которые обычно назначают при шизофрении. Первое нейролептическое средство, примером которого является хлорпромазин (торазин), революционизировало лечение шизофренических пациентов посредством уменьшения позитивных (психотических) симптомов и предупреждения их рецидива. Пациенты, получающие хлорпромазин, были способны покидать психиатрические больницы и жить в рамках программы общины или в их собственных домах. Но эти лекарственные средства далеки от идеала. 20-30% пациентов вообще не отвечали на них, а другие имели со временем рецидив. Эти лекарственные средства были названы нейролептиками, так как они производят серьезные неврологические побочные действия, в том числе вызывают ригидность и тремор в руках и ногах, мышечные спазмы, отклоняющиеся от нормы движения тела и акатизию (беспокойные навязчивые движения и суетливость). Эти побочные эффекты настолько беспокоят пациента, что многие пациенты просто отказываются принимать такие лекарственные средства. Кроме того, нейролептики не улучшают так называемые негативные симптомы шизофрении, и побочные действия могут даже обострять эти симптомы. Так, несмотря на явные полезные действия нейролептиков, даже некоторые пациенты, которые имеют хорошую кратковременную реакцию, будут в конце концов иметь ухудшения в общем функционировании.

Эти хорошо известные недостатки в стандартных нейролептиках стимулировали поиск новых способов лечения и привели к новому классу лекарственных средств, названных атипичными нейролептиками. Первый атипичный нейролептик, клозапин, является эффективным для приблизительно одной трети пациентов, которые не давали реакции на стандартные нейролептики. По-видимому, он уменьшает как негативные, так и позитивные симптомы или по меньшей мере обостряет меньше негативные симптомы, чем стандартные нейролептики. Кроме того, он имеет выгодные действия на общее функционирование и может уменьшать шанс суицида у шизофренических пациентов. Он не вызывает существенных неврологических симптомов стандартных нейролептиков или не повышает уровни гормона пролактина в крови, избыток которого может вызвать нарушение менструаций или повышать бесплодие у женщин, импотенцию или увеличение молочной железы у мужчин. Многие пациенты, которые не могут переносить стандартные нейролептики, были способны принимать клозапин. Однако клозапин имеет серьезные недостатки. Он был первоначально удален с рынка, так как он вызывает агранулоцитоз, потенциально летальную неспособность продуцирования лейкоцитов. Агранулоцитоз остается угрозой, которая требует тщательного мониторинга и периодических анализов крови. Клозапин может также вызывать

судорожные припадки и другие беспокоящие побочные эффекты (например, сонливость, пониженное кровяное давление, слюнотечение, ночное недержание мочи и увеличение веса). Таким образом, его обычно применяют только для пациентов, которые не отвечают на другие лекарственные средства.

Исследователи разработали третий класс антипсихотических лекарственных средств, которые имеют достоинства клозапина без его недостатков. Одним из этих лекарственных средств является рисперидон (риспердал). Ранние исследования предполагают, что он является таким же эффективным, что и стандартные нейролептические лекарственные средства в отношении позитивных симптомов и может быть несколько более эффективным в отношении негативных симптомов. Он производит больше неврологических побочных эффектов, чем клозапин, но меньше, чем стандартные нейролептические средства. Однако он повышает уровни пролактина. В настоящее время рисперидон прописывают для большого диапазона психотических пациентов, и многие лечащие врачи, по-видимому, используют его охотнее, чем клозапин, для пациентов, которые не отвечают на стандартные лекарственные средства, поскольку они считают его более безопасным. Другим новым лекарственным средством является оланзапин (ципрекса), который является, по меньшей мере, таким же эффективным, что и стандартные лекарственные средства в отношении позитивных симптомов и более эффективным в отношении негативных симптомов. Он обладает некоторыми неврологическими побочными эффектами в нормальных клинических дозах и он не поднимает в существенной степени уровень пролактина. Хотя он не вызывает большинство существенных побочных действий клозапина, в том числе агранулоцитоз, некоторые пациенты, принимающие оланзапин, могут испытывать седативное действие или иметь головокружение, развивать сухость в полости рта или набирать вес. В редких случаях анализы функции печени становятся временно отклоняющимися от нормы.

Исследования по исходу шизофрении обычно основаны на исследованиях стационарного лечения и не могут быть репрезентативными для популяции пациентов с шизофренией. В крайних случаях исхода, 20% пациентов, по-видимому, восстанавливались полностью после одного эпизода психоза, тогда как у 14-19% пациентов развивался хронический не имеющий ремиссии психоз и они никогда не восстанавливались полностью. В целом клинический исход через пять лет, по-видимому, подчинялся правилу третей: приблизительно 35% пациентов находились в категории плохого исхода; 36% в категории хорошего исхода, а остальные имели средний исход. Прогноз шизофрении, по-видимому не ухудшался после пяти лет.

Каковы бы ни были причины, имеется все больше доказательств, что отсутствие лечения шизофрении в течение продолжительных периодов в раннем течении этого заболевания может негативно влиять на исход болезни. Однако применение лекарственных средств часто откладывается в случае пациентов, испытывающих первый приступ этой болезни. Пациенты не могут понять, что они больны, или они могут бояться искать помощи; члены семьи иногда надеются, что проблема просто исчезнет, и не могут уговорить пациента начать лечение; лечащие врачи могут колебаться при прописывании антипсихотических лекарственных средств, когда диагноз является неопределенным, вследствие возможных побочных действий. Действительно, при первом проявлении заболевания шизофрению трудно отличить от биполярных маниакально-депрессивных нарушений, тяжелой депрессии, связанных с лекарственными средствами нарушений и связанных со стрессом нарушений. Поскольку оптимальные лечения для этих заболеваний различаются, долгосрочный прогноз этого нарушения также различается в начале лечения.

Как для таких нарушений ЦНС, как шизофрения, биполярное нарушение, депрессия, так и для другого нарушения сознания, известные молекулы, используемые для лечения, имеют побочные действия и действуют только на симптомы заболевания. Существует настоятельная необходимость в новых молекулах без связанных с ними побочных действий, или со сниженными побочными действиями, которые направлены против мишеней, участвующих в причинных механизмах таких нарушений ЦНС. Таким образом, инструменты, способствующие обнаружению и характеристике этих мишеней, являются необходимыми и полезными.

Агрегация шизофрении и биполярного нарушения в семьях, доказательства, полученные из исследований близнецов и приемных детей, и отсутствие вариации во встречаемости заболеваний по всему миру указывают на то, что шизофрения и биполярное заболевание являются в первую очередь генетическими заболеваниями, хотя факторы риска окружающей среды могут также участвовать на некотором уровне в качестве необходимых, достаточных или интерактивных причин. Например, шизофрения встречается в 1% всего населения. Но если дедушка или бабушка страдает шизофренией, риск возникновения этого заболевания увеличивается до 3%; если один родитель страдает шизофренией, то до приблизительно 10%. Если оба родителя страдают шизофренией, этот риск возрастает до приблизительно 40%.

Таким образом, существует настоятельная потребность в идентификации генов, участвующих в таких нарушениях ЦНС. Знание этих генов позволит исследователям понять этиологию шизофрении, депрессии, биполярного нарушения и других нарушений сознания и могло бы привести к обнаружению лекарственных средств и медикаментов, которые направлены против причины этих заболеваний, а не против их симптомов.

Существует также огромная потребность в новых способах для детектирования склонности (восприимчивости) к таким нарушениям ЦНС, как шизофрения, депрессия и биполярное нарушение, а также для профилактики или борьбы с развитием заболевания.

Диагностические средства могли бы также оказаться крайне полезными. Действительно, ранняя идентификация субъектов, подверженных риску развития таких нарушений ЦНС, помогла бы проведению раннего и/или профилактического лечения. Кроме того, точные оценки конечной эффективности лекарственного средства, а также конечной толерантности пациента в отношении этого средства может позволить лечащему врачу увеличивать соотношение польза/риск схем лечения нарушений ЦНС, таких как шизофрения, депрессия, биполярное нарушение или другие нарушения сознания.

Сущность изобретения

Данное изобретение основано на идентификации новых полиморфизмов, включающих биаллельные маркеры, расположенные на локусе хромосомы 13q31-q33 человека, идентификации и характеристики новых связанных с шизофренией генов, расположенных на локусе хромосомы 13q31-q33 человека и на идентификации генетических ассоциаций между аллелями биаллельных маркеров, расположенных на локусе хромосомы 13q31-q33 человека, и заболеванием, подтверждаемых и характеризующихся в панели субъектов-людей. Новые полиморфизмы и связанные с шизофренией последовательности генов были поданы в патентной заявке США № 09/539333 и международной патентной заявке № PCT/IB 00/00435, описания которых включены здесь в качестве ссылки в их полном виде.

Нарушения ЦНС, которые могут лечиться в соответствии с данным изобретением, включают пре-сенильную деменцию (раннее появление болезни Альцгеймера), сенильную деменцию (деменцию типа Альцгеймера), паркинсонизм, в том числе болезнь Паркинсона, хорею Гентингтона, позднюю дискинезию, гиперкинезию, манию, нарушение с гиперактивностью и дефицитом внимания (ADHD), нарушение с дефицитом внимания (ADD), нарушения с тревожностью, дислексию, психотические нарушения, шизофрению, биполярное нарушение, высокие депрессивные приступы, маниакальные приступы, гипоманиакальные приступы, депрессию, аутистические нарушения, злоупотребление веществами, избыточную агрессию, нарушения, отличающиеся судорожными сокращениями (тиком), и синдром Туретта. Предпочтительные нарушения данного изобретения включают шизофрению, депрессию и биполярное нарушение. Дополнительные предпочтительные варианты шизофрении и шизофрениформных нарушений включают шизофрению (кататоническую), шизофрению (дезорганизованную), шизофрению (параноидную), шизофрению (недифференцированную), шизофрению (остаточную), шизофрениформное нарушение, кратковременный реактивный психоз, шизо-аффективное нарушение, индуцированное психотическое нарушение, личностное нарушение шизоидного типа, шизоидное личностное нарушение, параноидное личностное нарушение и галлюцинаторное (параноидное) нарушение.

Данное изобретение относится к способам лечения нарушений ЦНС у субъекта, склонного к такому нарушению, и лечения субъекта, страдающего нарушениями ЦНС. В частности, этот способ включает введение пациенту количества антагонистического или ингибиторного соединения DAO или DDO или эффективного в обеспечении некоторой степени обращения или ослабления прогрессирования нарушения ЦНС, обращения или ослабления симптомов нарушения ЦНС и обращения или ослабления рецидива нарушения ЦНС.

Данное изобретение относится также к способам профилактики нарушений ЦНС у субъекта, склонного к такому нарушению, и лечения субъекта, страдающего нарушениями ЦНС. В частности, этот способ включает введение пациенту количества антагониста DAO или DDO, эффективного в обеспечении некоторой степени профилактики прогрессирования нарушения ЦНС (т.е. обеспечения защитных эффектов), симптомов нарушения ЦНС и профилактики рецидива нарушения ЦНС.

Далее данное изобретение относится к геномной последовательности DAO, новым экзонам, обнаруженном в гене DAO, новым полиморфным биаллельным маркерам (SNP), обнаруженным в гене DAO, способам обнаружения лиц, склонных к нарушению ЦНС, новым способам антагонистического действия, ингибирования или уменьшения активности DAO, новым способам агонистического действия, стимуляции, увеличения активности DAO и новой композиции, влияющей на активность DAO. Далее, данное изобретение относится к молекулам нуклеиновых кислот, содержащим геномные последовательности нового гена человека, кодирующего белки g34872 (sbgl), белкам, кодируемым ими, а также антителам к ним, как описано в находящейся в процессе одновременного рассмотрения патентной заявки США № 09/539333 и международной патентной заявки № PCT/IB 00/00435, описания которых включены здесь в качестве ссылки в их полном виде. Данное изобретение относится также к последовательностям кДНК, кодирующим белки g34872, DAO и DDO и их варианты. Частью данного изобретения являются также олигонуклеотидные зонды или праймеры, специфически гибридизующиеся с геномной или кДНК-последовательностью g34872, DAO и DDO, а также способы амплификации и детектирования ДНК с использованием указанных праймеров и зондов.

Следующим объектом данного изобретения является рекомбинантный вектор, содержащий любую из описанных выше последовательностей нуклеиновых кислот, и, в частности, рекомбинантный вектор, содержащий регуляторную последовательность g34872, DDO и DAO, или последовательность, кодирующую белок g34872, DDO и DAO, а также клетки-хозяева и трансгенные животные (не являющиеся

человеком), содержащие указанные последовательности нуклеиновых кислот или рекомбинантные векторы.

Данное изобретение относится также к биаллельным маркерам гена g34872, DAO и DDO и их применению. В изобретение включены зонды и праймеры для применения в генотипировании биаллельных маркеров данного изобретения.

Вариант данного изобретения включает любой полинуклеотид данного изобретения, присоединенный к твердому носителю, причем этот полинуклеотид может содержать последовательность, описанную в данном описании; необязательно указанный полинуклеотид может содержать любой полинуклеотид, описанный в данном описании, состоит из него или по существу состоит из него; необязательно указанное определение может быть выполнено в гибридизационном анализе, секвенирующем анализе, микро-секвенирующем анализе или анализе детектирования ошибочного спаривания на основе фермента; необязательно указанный полинуклеотид может быть прикреплен к твердому носителю, матрице или адресуемой матрице; необязательно указанный полинуклеотид может быть меченым.

Наконец, изобретение относится к анализам скрининга лекарственных средств и способам скрининга веществ для лечения шизофрении, биполярного нарушения или родственного нарушения ЦНС на основе роли нуклеотидов и полинуклеотидов g34872, DAO или DDO в заболевании. Одной целью данного изобретения являются модели шизофрении животных, в том числе мыши, примата, примата не человека, биполярного нарушения или родственного нарушения ЦНС на основе роли g34872, DAO или DDO в заболевании. Данное изобретение относится также к способам скрининга веществ или молекул, которые ингибируют экспрессию g34872, DAO или DDO, а также способам скрининга веществ или молекул, которые взаимодействуют с полипептидом g34872, DAO или DDO или которые модулируют активность полипептида g34872, DAO или DDO.

Как отмечалось выше, определенные аспекты данного изобретения основаны на идентификации генетических ассоциаций между шизофренией и биполярным нарушением и аллелями биаллельных маркеров гена g34872 и гена DAO. Данное изобретение обеспечивает подходящие средства для установления дополнительных генетических ассоциаций между аллелями биаллельных маркеров в локусе g34872 и DAO и либо побочными действиями, либо пользой, происходящими из введения агентов, действующих на нарушения или симптомы ЦНС, такие как шизофрения, депрессия или биполярное нарушение, или симптомы шизофрении и биполярного нарушения, в том числе таких агентов, как хлорпромазин, клозапин, рисперидон, оланзапин, сертиндол, кветиапин и ципразидон.

Данное изобретение обеспечивает подходящие средства для установления дополнительных генетических ассоциаций между аллелями биаллельных маркеров DAO и g34872 и признаком. Обеспечены способы и продукты для молекулярного детектирования генетической склонности у людей к шизофрении и биполярному нарушению. Они могут быть использованы для диагностики, определения стадии заболевания, прогноза и мониторинга данного заболевания, причем эти процессы могут быть дополнительно включены в подходы лечения. Данное изобретение обеспечивает также эффективное построение и оценку подходящих терапевтических решений, в том числе индивидуальных стратегий для оптимизации применения лекарственных средств и скрининга потенциальных новых кандидатов лекарственных средств.

Предпочтительный вариант данного изобретения включает способ лечения нарушения центральной нервной системы у пациента, нуждающегося в этом, причем этот способ включает введение указанному пациенту эффективного количества композиции или соединения, содержащих антагонист или ингибитор DAO или антагонист или ингибитор DDO.

Далее, предпочтительным является способ лечения психоза, причем этот способ включает введение пациенту, страдающему от него, терапевтически эффективного количества композиции или соединения, содержащих антагонист или ингибитор DAO или антагонист или ингибитор DDO.

Далее, предпочтительным является способ лечения шизофрении, причем этот способ включает введение пациенту, страдающему от нее, терапевтически эффективного количества композиции или соединения, содержащих антагонист или ингибитор DAO или антагонист или ингибитор DDO.

Далее, предпочтительным является способ лечения биполярного нарушения, причем этот способ включает введение пациенту, страдающему от него, терапевтически эффективного количества композиции или соединения, содержащих антагонист или ингибитор DAO или антагонист или ингибитор DDO.

Предпочтительный вариант данного изобретения включает способ лечения нарушения центральной нервной системы у пациента, нуждающегося в этом, причем этот способ включает введение указанному пациенту эффективного количества композиции или соединения, содержащих антагонист или ингибитор DAO и антагонист или ингибитор DDO.

Далее, предпочтительным является способ лечения психоза, причем этот способ включает введение пациенту, страдающему от него, терапевтически эффективного количества композиции или соединения, содержащих антагонист или ингибитор DAO и антагонист или ингибитор DDO.

Далее, предпочтительным является способ лечения шизофрении, причем этот способ включает введение пациенту, страдающему от нее, терапевтически эффективного количества композиции или соединения, содержащих антагонист или ингибитор DAO и антагонист или ингибитор DDO.

нения, содержащих по меньшей мере один из следующих компонентов: антагонист или ингибитор DAO, антагонист или ингибитор DDO или композицию или соединение антагониста или ингибитора g34872.

Далее, предпочтительным является способ лечения биполярного нарушения, причем этот способ включает введение пациенту, страдающему от него, терапевтически эффективного количества композиции или соединения, содержащих по меньшей мере один из следующих компонентов: антагонист или ингибитор DAO, антагонист или ингибитор DDO или композицию или соединение антагониста или ингибитора g34872.

Должно быть понятно, что композиции или соединения, известные в данной области как используемые в способах лечения нарушения центральной нервной системы, психоза, шизофренического нарушения или биполярного нарушения в пациенте, нуждающемся в этом, о которых известно, что они неотъемлемо действуют, ингибируя или антагонизируя DAO, DDO или g34872, или предпочтительно исключены из данного изобретения.

Дополнительный предпочтительный вариант данного изобретения относится к способам ингибирования активности DAO. Кроме того, данное изобретение относится к способу лечения шизофрении ингибированием активности DAO.

Далее, предпочтительным является способ лечения шизофрении ингибированием активности DAO с использованием композиции, содержащей кетимин, для ингибирования активности DAO.

Другой предпочтительный вариант относится к способу ингибирования активности DDO. Кроме того, данное изобретение относится к способу лечения шизофрении ингибированием активности DDO. Далее, предпочтительным является способ лечения шизофрении ингибированием активности DDO с использованием композиции, содержащей кетимин, для ингибирования активности DDO.

Другой предпочтительный вариант данного изобретения относится к способам ингибирования взаимодействия между DAO и g34872.

Другой предпочтительный вариант данного изобретения относится к способам ингибирования взаимодействия между g34872 и DDO.

Другой вариант данного изобретения относится к любому полипептидному фрагменту полипептида DAO SEQ ID NO: 7, 8, 9, 10 или 18, который действует антагонистически на взаимодействие между полипептидом DAO и полипептидом g34872 SEQ ID NO: 14, или его фрагментом. Далее, предпочтительным является фрагмент полипептида DAO, содержащий аминокислоты 23-347 SEQ ID NO: 7. Далее, предпочтительным является фрагмент полипептида DAO, содержащий аминокислоты 227-347 SEQ ID NO: 7. Далее, предпочтительным является фрагмент полипептида DAO, содержащий аминокислоты 31-347 SEQ ID NO: 7. Далее, предпочтительным является фрагмент полипептида DAO, содержащий аминокислоты 51-347 SEQ ID NO: 7. Далее, предпочтительным является фрагмент полипептида DAO, содержащий аминокислоты 66-347 SEQ ID NO: 7. Далее, предпочтительным является фрагмент полипептида DAO, содержащий аминокислоты 101-347 SEQ ID NO: 7. Далее, предпочтительным является фрагмент полипептида DAO, содержащий аминокислоты 126-347 SEQ ID NO: 7. Далее, предпочтительным является фрагмент полипептида DAO, содержащий аминокислоты 146-347 SEQ ID NO: 7. Далее, предпочтительным является фрагмент полипептида DAO, содержащий аминокислоты 175-347 SEQ ID NO: 7. Далее, предпочтительным является фрагмент полипептида DAO, содержащий аминокислоты 180-347 SEQ ID NO: 7. Далее, предпочтительным является фрагмент полипептида DAO, содержащий аминокислоты 1-189 SEQ ID NO: 7. Далее, предпочтительным является фрагмент полипептида DAO, содержащий аминокислоты 1-205 SEQ ID NO: 7. Далее, предпочтительным является фрагмент полипептида DAO, содержащий аминокислоты 31-189 SEQ ID NO: 7. Далее, предпочтительным является фрагмент полипептида DAO, содержащий аминокислоты 31-205 SEQ ID NO: 7. Далее, предпочтительным является фрагмент полипептида DAO, содержащий аминокислоты 84-205 SEQ ID NO: 7.

Дополнительный предпочтительный вариант данного изобретения относится к композициям, которые связываются с полипептидом DAO или его фрагментом. Далее, предпочтительными являются композиции, которые связываются с фрагментом полипептида DAO, содержащим аминокислоты 23-347 SEQ ID NO: 7. Далее, предпочтительными являются композиции, которые связываются с фрагментом полипептида DAO, содержащим аминокислоты 227-347 SEQ ID NO: 7. Далее, предпочтительными являются композиции, которые связываются с фрагментом полипептида DAO, содержащим аминокислоты 31-347 SEQ ID NO: 7. Далее, предпочтительными являются композиции, которые связываются с фрагментом полипептида DAO, содержащим аминокислоты 51-347 SEQ ID NO: 7. Далее, предпочтительными являются композиции, которые связываются с фрагментом полипептида DAO, содержащим аминокислоты 66-347 SEQ ID NO: 7. Далее, предпочтительными являются композиции, которые связываются с фрагментом полипептида DAO, содержащим аминокислоты 101-347 SEQ ID NO: 7. Далее, предпочтительными являются композиции, которые связываются с фрагментом полипептида DAO, содержащим аминокислоты 126-347 SEQ ID NO: 7. Далее, предпочтительными являются композиции, которые связываются с фрагментом полипептида DAO, содержащим аминокислоты 146-347 SEQ ID NO: 7. Далее, предпочтительными являются композиции, которые связываются с фрагментом полипептида DAO, содержащим аминокислоты 175-347 SEQ ID NO: 7. Далее, предпочтительными являются композиции, которые связываются с фрагментом полипептида DAO, содержащим аминокислоты 180-347 SEQ ID NO: 7. Далее,

Следующий предпочтительный вариант относится к способу лечения биполярного нарушения, включающему введение пациенту, страдающему от него, терапевтически эффективного количества композиции, содержащей композицию, которая связывается с полипептидом DAO или его фрагментом. Далее, предпочтительным является способ лечения биполярного нарушения, включающий введение пациенту, страдающему от него, терапевтически эффективного количества композиции, содержащей композицию, которая связывается с полипептидом DAO, содержащим аминокислоты 23-347 SEQ ID NO: 7. Далее, предпочтительным является способ лечения биполярного нарушения, включающий введение пациенту, страдающему от него, терапевтически эффективного количества композиции, содержащей ком-

Следующий предпочтительный вариант относится к способу лечения шизофрении, включающему введение пациенту, страдающему от нее, терапевтически эффективного количества композиции, содержащей композицию, которая связывается с полипептидом g34872 SEQ ID NO:14 или его фрагментом. Далее, предпочтительным является способ лечения шизофрении, включающий введение пациенту, страдающему от нее, терапевтически эффективного количества композиции, содержащей композицию, которая связывается с полипептидом g34872, содержащим аминокислоты 65-153 SEQ ID NO: 14, или его фрагментом. Далее, предпочтительным является способ лечения шизофрении, включающий введение пациенту, страдающему от нее, терапевтически эффективного количества композиции, содержащей композицию, которая связывается с полипептидом SEQ ID NO: 16 или его фрагментом.

- 14 -

чества композиции, содержащей композицию, которая связывается с полипептидом SEQ ID NO: 16 или его фрагментом.

Следующий предпочтительный вариант данного изобретения относится к любому полипептидному фрагменту полипептида g34872 SEQ ID NO: 14, который оказывает антагонистическое действие на взаимодействие между указанным полипептидом g34872 или его фрагментом и полипептидом DAO или его фрагментом. Далее, предпочтительным является любой фрагмент g34872, который оказывает антагонистическое действие на увеличение активности DAO полипептидом g34872. Далее, предпочтительным является фрагмент полипептида g34872, содержащий аминокислоты SEQ ID NO: 16.

Следующий предпочтительный вариант данного изобретения относится к композициям, которые оказывают антагонистическое действие на взаимодействие между полипептидом g34872 SEQ ID NO: 14 или его фрагментом и полипептидом DAO SEQ ID NO: 7-10 или 18 или его фрагментом.

Следующий предпочтительный вариант данного изобретения относится к композициям, которые оказывают антагонистическое действие на взаимодействие между полипептидом g34872 SEQ ID NO: 14 или его фрагментом и полипептидом DDO SEQ ID NO: 21 или 22 или его фрагментом.

Другой вариант данного изобретения относится к способам увеличения активности DAO полипептидом g34872 или его фрагментом. Кроме того, данное изобретение относится к способам увеличения активности DDO полипептидом g34872 или его фрагментом.

Следующий вариант данного изобретения относится к способам ингибирования гликозилирования DAO.

Следующий вариант данного изобретения относится к способам усиления мультимеризации DAO.

Следующий вариант данного изобретения относится к способам ингибирования трансляции DAO.

Следующий вариант данного изобретения относится к дифференциальной идентификации вариантов DAO.

Предпочтительный вариант данного изобретения относится к композиции или соединению, которые уменьшают, ингибируют или оказывают антагонистическое действие на активность DAO. Далее, предпочтительно эта композиция или соединение является конкурентным ингибитором или антагонистом активности DAO. Далее, предпочтительно эта композиция или соединение является неконкурентным (noncompetitive) ингибитором или антагонистом активности DAO. Далее, предпочтительно эта композиция или соединение является неконкурентным (uncompetitive) ингибитором или антагонистом активности DAO. Далее, предпочтительно эта композиция или соединение является аллостерическим ингибитором или антагонистом активности DAO. Далее, предпочтительно эта композиция или соединение является обратимо действующим ингибитором или антагонистом активности DAO. Далее, предпочтительно эта композиция или соединение является необратимо действующим ингибитором или антагонистом активности DAO.

Следующий вариант относится к композиции или соединению, которые уменьшают, ингибируют или проявляют антагонистическое действие на активность DDO. Далее, предпочтительно эта композиция или соединение является конкурентным ингибитором или антагонистом активности DDO. Далее, предпочтительно эта композиция или соединение является неконкурентным (noncompetitive) ингибитором или антагонистом активности DDO. Далее, предпочтительно эта композиция или соединение является неконкурентным (uncompetitive) ингибитором или антагонистом активности DDO. Далее, предпочтительно эта композиция или соединение является аллостерическим ингибитором или антагонистом активности DDO. Далее, предпочтительно эта композиция или соединение является обратимо действующим ингибитором или антагонистом активности DDO. Далее, предпочтительно эта композиция или соединение является необратимо действующим ингибитором или антагонистом активности DDO. Далее, предпочтительными являются композиции или соединения, которые уменьшают, ингибируют или проявляют антагонистическое действие на активность DAO и DDO.

Далее, предпочтительным является способ лечения нарушения ЦНС композицией или соединением, которые уменьшают, ингибируют или проявляют антагонистическое действие на активность DAO. Далее, предпочтительным является способ лечения нарушения ЦНС композицией или соединением, которые уменьшают, ингибируют или проявляют антагонистическое действие на активность DDO. Далее, предпочтительным является способ лечения нарушения ЦНС композицией или соединением, которые уменьшают, ингибируют или проявляют антагонистическое действие на активность как DAO, так и DDO. Далее, предпочтительным является способ лечения нарушения ЦНС композицией или соединением, которые уменьшают, ингибируют или проявляют антагонистическое действие на активность либо DAO, либо DDO. Далее, предпочтительным является способ лечения нарушения ЦНС первыми композицией или соединением, которые уменьшают, ингибируют или проявляют антагонистическое действие на активность DAO, в комбинации со второй композицией, которая уменьшает, ингибирует или проявляет антагонистическое действие на активность DDO. Далее, предпочтительным является способ лечения нарушения ЦНС композицией или соединением, которые уменьшают, ингибируют или проявляют антагонистическое действие на DAO, в комбинации с другой композицией. Далее, предпочтительным является способ лечения нарушения ЦНС композицией или соединением, которые уменьшают, ингибируют или проявляют антагонистическое действие на DAO, в комбинации с другой композицией, рутинно исполь-

зуемой в лечении указанного нарушения ЦНС. Далее, предпочтительным является способ лечения нарушения ЦНС композицией или соединением, которые уменьшают, ингибируют или проявляют антагонистическое действие на DAO, в комбинации с другой композицией, не относящейся к лечению указанного нарушения ЦНС. Далее, предпочтительным является способ лечения нарушения ЦНС композицией или соединением, которые уменьшают, ингибируют или проявляют антагонистическое действие на DDO, в комбинации с другой композицией. Далее, предпочтительным является способ лечения нарушения ЦНС композицией или соединением, которые уменьшают, ингибируют или проявляют антагонистическое действие на DDO, в комбинации с другой композицией, рутинно используемой в лечении указанного нарушения ЦНС. Далее, предпочтительным является способ лечения нарушения ЦНС композицией или соединением, которые уменьшают, ингибируют или проявляют антагонистическое действие на DDO, в комбинации с другой композицией, не относящейся к лечению указанного нарушения ЦНС.

Предпочтительные композиции или соединения данного изобретения, которые уменьшают, ингибируют или проявляют антагонистическое действие на активность DAO или DDO, выбраны, но не ограничиваются ими, из перечня, включающего

- i. IRI, 2-оксо-3-пентиноат;
- ii. CMI, аминоксантидин (гуанилгидразин; карбамимидовый гидразид; пимагедин; GER 11; гидразинкарбоксимидамид) или его гидрохлоридную соль (гидрохлорид гуанилгидразина), бикарбонатную соль, нитратную соль, сульфатную (2:1) соль, сульфатную (1:1) соль и гемисульфатную соль.
- iii. FI, бензойную кислоту;
- iv. FI, бензоат натрия;
- v. FI, 2-аминобензоат;
- vi. FI, 3-аминобензоат;
- vii. FI, 4-аминобензоат (п-аминобензоат, ПАВА, витамин Вх, витамин Н1);
- viii. CMI, бис(гуанилгидразон)метилглиоксаля (также известный как метил GAG; митогуазон; 1,1'-((метилэтанндилиден)динитрило)дигуанидин; гидразинкарбоксимидамид, 2,2'-(1-метил-1,2-этанндилиден)бис-; пирувальдегид-бис(аминогидразон); мегаг; митогуазона [INN-Spanish]; гуанидин, 1,1'-((метилэтанндилиден)динитрило)ди-; 1,1'-((метилэтанндилиден)динитрило)дигуанидин);
- ix. CMI, бис(гуанилгидразон)метилглиоксаля, дигидрохлорид;
- x. CMI, бис(гуанилгидразин)фенилглиоксаля (PhGBG);
- xi. CMI, бис(гуанилгидразон)глиоксаля (GBG; гуанидин, 1,1'-(этанндилидендинитрило)ди-(8CI); гидразинкарбоксимидамид, 2,2'-(1,2-этанндилиден)бис-(9CI));
- xii. CMI, индолпропионовая (IPA, 3-(3-индолил)пропановая) кислота;
- xiii. CMI, 3-индолуксусная кислота (гетероауксин, IAA);
- xiv. CMI, натриевая соль индол-3-уксусной кислоты;
- xv. CMI, индол-3-ацетон;
- xvi. CMI, индол-3-ацетамид;
- xvii. CMI, индол-3-ацетил-L-аспарагиновая кислота;
- xviii. CMI, индол-3-ацетил-L-аланин;
- xix. CMI, индол-3-ацетилглицин;
- xx. CMI, аддитивное соединение индол-3-ацетальдегида натрий-бисульфита;
- xxi. CMI, индол-3-карбоновая кислота;
- xxii. CMI, индол-3-пировиноградная кислота (3-(3-индолил)-2-оксопропановая кислота);
- xxiii. FI, салициловая кислота (2-гидроксibenзойная кислота);
- xxiv. FI, натриевая соль салициловой кислоты;
- xxv. FI, калиевая соль салициловой кислоты;
- xxvi. IRI, дансилхлорид (5-(диметиламино)нафталин-1-сульфонилхлорид);
- xxvii. IRI, дансилфторид (5-(диметиламино)нафталин-1-сульфонилфторид);
- xxviii. CMI, дансилглицин;
- xxix. CMI, аланинтетразол;
- xxx. FI, бензоилтетразол;
- xxxi. CMI, тетразол;
- xxxii. CMI, рибофлавин-5'-пирофосфат (RPP, 5-фосфо-альфа-D-рибозилдифосфат, P-Rib-PP, P-RPP);
- xxxiii. IRI, DL-пропаргилглицин (DL-PG, 2-амино-4-пентиновая кислота);
- xxxiv. IRI, L-С-пропаргилглицин;
- xxxv. IRI, N-ацетил-DL-пропаргилглицин;
- xxxvi. FI, (±)-натрий-3-гидроксibuтират;
- xxxvii. FI, гидрохлорид тригонеллина (1-метилпиридиний-3-карбоксилат);
- xxxviii. FI, N-метилникотинат;
- xxxix. FI, метил-6-метилникотинат;
- xl. FI, этил-2-метилникотинат;
- xli. CMI, койевая кислота (2-гидроксиметил-5-гидрокси-гамма-пирон, 5-гидрокси-2-гидроксиметил-4-пиранон);

- xlvi. CMI, производные койевой кислоты, такие как гидрохлорид 6-(пирролидинометил)койевой кислоты, 6-(морфолинометил)койевая кислота, гидрохлорид 6-(диэтиламинометил)койевой кислоты;
- xlvi. IRI, O-(2,4-динитрофенил)гидроксиламин;
- xliv. CMI, 2,4-динитрофенилглицин;
- xliv. CMI, гидрохлорид гидроксиламина;
- xlvi. IRI, метил-п-нитробензолсульфонат (метил-4-нитробензолсульфонат);
- xlvi. FIV, аминоксилы, такие как (AECCK, тиализинкетимин, 2H-1,4-тиазин-5,6-дигидро-3-карбоновая кислота, S-аминоэтил-L-цистеинкетимин, 2H-1,4-тиазин-3-карбоновая кислота, 5,6-дигидро-);
- xlvi. FIV, производные 1,4-тиазина;
- xlvi. CMI, 4-фенил-1,4-сульфоназан (тетрагидро-4-фенил-4H-1,4-тиазин-1-оксид, 4H-1,4-тиазин, тетрагидро-4-фенил-, 1-оксид);
- i. CMI, фенотиазин (тиодифениламин, 10H-фенотиазин, AFI-тиазин, агразин, антиверм, дибензо-1,4-тиазин);
- ii. CMI, 3,4-дигидро-2H-1,4-тиазин-3,5-дикарбоновая кислота (3,4-Dhtca, CAS#86360-62-5);
- iii. CMI, нифуртимокс (нифуртимокс [BAN:INN], 1-((5-нитрофуруриден)амино)-2-метил-тетрагидро-1,4-тиазин-4,4-диоксид, 3-метил-4-(5'-нитрофуруриден)амино-тетрагидро-4H-1,4-тиазин-1,1-диоксид, BAY 2502, 4-((5-нитрофуруриден)амино)-3-метилтиоморфолин-1,1-диоксид, и т.д.);
- iii. FIV, гидрохлорид 3-(1-пирролидинилметил)-4-(5,6-дихлор-1-инданкарбонил)тетрагидро-1,4-тиазина (R 84760; R 84761; тиоморфолин, 4-((5,6-дихлор-2,3-дигидро-1H-инден-1-ил)карбонил)-3-(1-пирролидинилметил)-, моногидрохлорид, (R-R*,S*)));
- liv. FIV, восстановленные формы кетимина;
- lv. CMI, цистатионин;
- lvi. FIII, цистатионинкетимин;
- lvii. FIV, лантионинкетимин;
- lviii. FIV, тиоморфолин-2-карбоновая кислота;
- lix. CMI, тиоморфолин-2,6-дикарбоновая кислота;
- lx. FIV, TMDA (1,4-тиоморфолин-3,5-дикарбоновая кислота);
- lxi. IRI, 1-хлор-1-нитроэтан;
- lxii. FI, антранилат;
- lxiii. FI, этил-2-аминобензоат (этилантранилат);
- lxiv. FI, метил-2-аминобензоат (метилантранилат);
- lxv. FI, пиколинат;
- lxvi. FI, этилпиколинат (2-(этоксикарбонил)пиридин, этил-2-пиридинкарбоксилат);
- lxvii. CMI, гидрохлорид метилового эфира L-лейцина;
- lxviii. CMI, L-лейцин ([S-](+)-лейцин]);
- lxix. IRI, фтординитробензол (1-фтор-2,4-динитробензол, 2,4-DNFB, бензол, 1-фтор-2,4-динитро-, VAN, и т.д.);
- lxx. IRI, динитрохлорбензол (1-хлор-2,4-динитробензол, 1,3-динитро-4-хлорбензол, и т.д.);
- lxxi. IRI, 1,2-циклогександион;
- lxxii. IRI, аллилглицин (D-аллилглицин, 4-пентеновая кислота, 2-амино-);
- lxxiii. CMI, 2-амино-2,4-пентадиеноат;
- lxxiv. CMI, 2-гидрокси-2,4-пентадиеноат;
- lxxv. CMI, 2-амино-4-кето-2-пентеноат;
- lxxvi. FII, 2-гидроксибутират;
- lxxvii. FII, натрий-2-гидроксибутират;
- lxxviii. IRI, N-хлор-D-лейцин;
- lxxix. CMI, N-ацетил-D-лейцин;
- lxxx. CMI, D-Leu (D-2-амино-4-метилпентановая кислота);
- lxxxi. IRI, D-пропаргилглицин; 2-амино-4-пентеновая кислота; D,L-пропаргилглицин; L-2-амино-4-пентеновая кислота;
- lxxxii. CMI, прогестерон (4-прегнен-3,20-дион);
- lxxxiii. CMI, FAD (флавинадениндинуклеотид, 1H-пури-6-амин, флавиндинуклеотид, аденозин-5'-(тригидропирофосфат), 5'-5'-эфир с рибофлавином, и т.д.);
- lxxxiv. CMI, 6-OH-FAD;
- lxxxv. IRI, фенилглиоксаль (2,2-дигидроксиацетофенон);
- lxxxvi. IRI, фенилглиоксальмоногидрат (2,2-дигидроксиацетофенонмоногидрат);
- lxxxvii. FIII, циклотионин (пергидро-1,4-тиазепин-3,5-дикарбоновая кислота, 1,4-гексагидротиазепин-3,5-дикарбоновая кислота, 1,4-тиазепин-3,5-дикарбоновая кислота, гексагидро-);
- lxxxviii. CMI, альфа-альфа'-иминодипропионовая кислота (аланопин; 2,2'-иминодипропионовая кислота; L-аланин, N-(1-карбоксиэтил)-);
- lxxxix. CMI, мезо-диаминаантарная кислота (3-аминоаспарагиновая кислота; диаминаантарная кислота; CAS RN: 921-52-8); мезо-2,3-диаминаантарная кислота (CAS RN: 23220-52-2);

- xc. CMI, тиосемикарбазид (тиокарбамоилгидразид);
- xcі. CMI, тиомочевина (сульфомочевина; тиокарбамид);
- xcіі. CMI, метилтиоурацил (4-(6)-метил-2-тиоурацил, 4-гидрокси-2-меркапто-6-метилпиримидин);
- xcііі. CMI, сульфатиазол (N1-(2-тиазолил)сульфаниламид, 4-амино-N-2-тиазолилбензолсульфон-амид);
- xcіv. CMI, натриевая соль сульфатиазола (натриевая соль 4-амино-N-2-тиазолилбензолсульфонамида);
- xcv. CMI, тиоцианат;
- xcvi. FI, 3-метилбензилтиоцианат;
- xcvii. CMI, метимазол (2-меркапто-1-метилимидазол, 1-метилимидазол-2-тиол);
- xcviii. FII, дикарбоновые гидроксикислоты;
- xcіx. FII, 1,3-ацетондикарбоновая кислота (3-оксоглутаровая кислота);
- c. CMI, D-винная кислота ([(2S,3S)-(-)-винная кислота, неприродная винная кислота]);
- сі. CMI, L-винная кислота ([(2R,3R)-(+)-винная кислота, неприродная винная кислота]);
- cіі. CMI, DL-винная кислота;
- cііі. тартрат калия;
- cіv. FII, D-яблочная кислота; [(R)-(+)-яблочная кислота, (R)-(+)-гидроксиянтарная кислота];
- cv. FII, L-яблочная кислота; [(S)-(-)-яблочная кислота, (S)-(-)-гидроксиянтарная кислота];
- cvі. FII, DL-яблочная кислота (DL-гидроксиянтарная кислота);
- cvіі. FII, альфа-кетокислоты, которые являются аналогами аминокислот аланина, лейцина, фенилаланина, фенилглицина, тирозина, серина, аспартата и т.д., и их соли и производные;
- cvііі. FII, пировиноградная кислота (2-оксопропионовая кислота, альфа-кетопропионовая кислота);
- cіx. FII, пируват натрия;
- cx. FII, метиловый эфир пировиноградной кислоты (метилпируват);
- cxі. FI, фенилпировиноградная кислота;
- cxіі. FII, фенилпируват кальция (пируват кальция);
- cxііі. FI, натриевая соль фенилпировиноградной кислоты (натрийфенилпируват);
- cxіv. FII, 4-гидроксифенилпировиноградная кислота;
- cxv. FII, натрий-альфа-кетонизовалериановая кислота (натриевая соль 3-метил-2-оксомасляной кислоты, натриевая соль 3-метил-2-оксобутановой кислоты, натриевая соль альфа-кетонизовалериановой кислоты; натриевая соль кетовалина);
- cxvi. FI, бензоилмуравьиная кислота (альфа-оксофенилуксусная кислота, фенилглиоксиловая кислота);
- cxvii. FII, 4-метилтио-2-оксопентановая кислота;
- cxviii. FII, 4-метил-2-оксопентановая кислота (4-метил-2-оксовалериановая кислота; альфа-кетоизокапроновая кислота);
- cxіx. FII, 4-метилтио-2-оксипутановая кислота;
- cxх. FII, 2-оксипутановая кислота (гидроксипутират; 2-гидроксимасляная кислота; альфа-гидрокси-н-масляная кислота);
- cxхі. FII, натриевая соль DL-альфа-гидроксимасляной кислоты (натрий(±)-2-гидроксипутират);
- cxхіі. FII, индол-3-пировиноградная кислота (альфа-кето-аналог триптофана);
- cxхііі. продукт реакции между цистеамином и бромпируватом;
- cxхіv. CMI, цистеамин (2-аминоэтантол; 2-меркаптоэтиламин);
- cxхv. CMI, пантетеин;
- cxхvi. CMI, S-аденозилметионин;
- cxхvii. IRI, этилбромпируват;
- cxхviii. IRI, метилбромпируват;
- cxхіx. IRI, бромпируват; и
- cxхх. CMI, 5-3-цистеинилдопамин, где IRI указывает необратимые ингибиторные композиции; CMI указывает конкурентные ингибиторные композиции, не включенные в композиции формулы I-IV; FI указывает композиции формулы I, описанной здесь; FII указывает композиции формулы II, описанной здесь. FIII указывает композиции формулы III, описанной здесь, и FIV указывает композиции формулы IV, описанной здесь. Должно быть понятно, что композиции формул I-IV являются конкурентными, неконкурентными (noncompetitive), неконкурентными (uncompetitive) или аллостерическими ингибиторами DAO или DDO.

Предпочтительные композиции для применения в способах данного изобретения для уменьшения, ингибирования каталитической активности или антагонистического действия на каталитическую активность DAO или DDO *in vitro* или *in vivo* выбраны из приведенного выше перечня композиций "i"- "cxхх", включительно; более предпочтительными являются композиции, выбранные из необратимо действующих ингибиторных композиций, композиций формулы I, композиций формулы II, композиций формулы III и композиций формулы IV; еще более предпочтительными являются композиции, выбранные из композиций формулы I, композиций формулы II, композиций формулы III и композиций формулы IV; наи-

более предпочтительными являются композиции, выбранные из композиций формулы I и формулы IV. Другие предпочтительные композиции для применения в способах данного изобретения для уменьшения, ингибирования каталитической активности или антагонистического действия на каталитическую активность DAO или DDO *in vitro* или *in vivo* выбраны из группы, содержащей бензоат, аминоэтилцистеинкетимин (АЕСК) и их производных.

В следующем предпочтительном варианте предпочтительные композиции или соединения для применения в способах данного изобретения для лечения нарушения ЦНС выбраны из приведенного выше перечня композиций "i"- "сxxx" включительно; более предпочтительными являются композиции, выбранные из необратимо действующих ингибиторных композиций, композиций формулы I, композиций формулы II, композиций формулы III и композиций формулы IV; еще более предпочтительными являются композиции, выбранные из композиций формулы I, композиций формулы II, композиций формулы III и композиций формулы IV; наиболее предпочтительными являются композиции, выбранные из композиций формулы I и формулы IV. Другие предпочтительные композиции для применения в способах данного изобретения для лечения нарушения ЦНС выбраны из группы, содержащей бензоат, аминоэтилцистеинкетимин (АЕСК) и их производные.

Высоко предпочтительные соединения или композиция данного изобретения для уменьшения, ингибирования активности или антагонистического действия на активность DAO или DDO выбраны из приведенного выше перечня, содержащего (но не ограничивающегося ими): аминоэтилцистеинкетимин (АЕСК, тиализинкетимин, 2Н-1,4-тиазин-5,6-дигидро-3-карбоновую кислоту, 3-аминоэтил-L-цистеинкетимин, 2Н-1,4-тиазин-3-карбоновую кислоту, 5,6-дигидро-); аминоэтилцистеин (тиализин); цистеамин; пантетеин; цистатионин и S-аденозилметионин.

Другой предпочтительный вариант данного изобретения относится к соединению или композиции, которые уменьшают, ингибируют или оказывают антагонистическое действие на окисление или деградацию аминокислоты или ее производного. Другой предпочтительный вариант данного изобретения относится к соединению или композиции, которые уменьшают, ингибируют или оказывают антагонистическое действие на окисление или деградацию L-аминокислоты или ее производного. Другой предпочтительный вариант данного изобретения относится к соединению или композиции, которые уменьшают, ингибируют или оказывают антагонистическое действие на окисление или деградацию D-аминокислоты или ее производного. Другой предпочтительный вариант данного изобретения относится к соединению или композиции, которые уменьшают, ингибируют или оказывают антагонистическое действие на окисление или деградацию глицина или его производного. Другой предпочтительный вариант данного изобретения относится к соединению или композиции, которые уменьшают, ингибируют или оказывают антагонистическое действие на окисление или деградацию по меньшей мере одной D-аминокислоты, выбранной из перечня, содержащего: D-Met, D-Pro, D-Phe, D-Tyr, D-Ile, D-Leu, D-Ala, D-Val, D-Ser, D-Arg, D-His, D-норлейцин, D-Trp, D-орнитин, цис-4-гидрокси-D-пролин, D-Thr, D-Trp-метилловый эфир, N-ацетил-D-Ala, D-Lys, D-Asp, D-Glu, D-Asn, D-Gln, D-Asp-диметилловый эфир и N-метил-D-Asp. Далее, предпочтительной является композиция, которая уменьшает, ингибирует или оказывает антагонистическое действие на окисление или деградацию D-серина. Далее, предпочтительной является композиция или соединение, которые уменьшают, ингибируют или оказывают антагонистическое действие на окисление или деградацию D-Ser, N-метил-D-Asp, D-Asp или Gly. Предпочтительные соединения или композиция данного изобретения, которые уменьшают, ингибируют или оказывают антагонистическое действие на окисление или деградацию аминокислоты или ее производного, выбраны из перечня, содержащего (но не ограничивающегося ими) аминоэтилцистеинкетимин (АЕСК, тиализинкетимин, 2Н-1,4-тиазин-5,6-дигидро-3-карбоновую кислоту, 3-аминоэтил-L-цистеинкетимин, 2Н-1,4-тиазин-3-карбоновую кислоту, 5,6-дигидро-); аминоэтилцистеин (тиализин); цистеамин; пантетеин; цистатионин и S-аденозилметионин. Предпочтительные соединения или композиция, которые уменьшают, ингибируют или оказывают антагонистическое действие на окисление или деградацию D-Met, D-Pro, D-Phe, D-Tyr, D-Ile, D-Leu, D-Ala, D-Val, D-Ser, D-Arg, D-His, D-норлейцина, D-Trp, D-орнитина, цис-4-гидрокси-D-пролина, D-Thr, D-Trp-метилового эфира, N-ацетил-D-Ala, D-Lys, D-Asp, D-Glu, D-Asn, D-Gln, D-Asp-диметилового эфира и N-метил-D-Asp или Gly, выбраны из перечня, включающего, но не ограничивающегося ими, аминоэтилцистеинкетимин (АЕСК, тиализинкетимин, 2Н-1,4-тиазин-5,6-дигидро-3-карбоновую кислоту, 3-аминоэтил-L-цистеинкетимин, 2Н-1,4-тиазин-3-карбоновую кислоту, 5,6-дигидро-); аминоэтилцистеин (тиализин); цистеамин; пантетеин; цистатионин и 3-аденозилметионин. Предпочтительные соединения или композиция, которые уменьшают, ингибируют или оказывают антагонистическое действие на окисление или деградацию D-Ser, выбраны из перечня, включающего, но не ограничивающегося ими, аминоэтилцистеинкетимин (АЕСК, тиализинкетимин, 2Н-1,4-тиазин-5,6-дигидро-3-карбоновую кислоту, S-аминоэтил-L-цистеинкетимин, 2Н-1,4-тиазин-3-карбоновую кислоту, 5,6-дигидро-); аминоэтилцистеин (тиализин); цистеамин; пантетеин; цистатионин и 3-аденозилметионин.

Другой вариант данного изобретения относится к композиции, которая уменьшает, ингибирует или оказывает антагонистическое действие на окисление восстановленного флавинадениндинуклеотида (Re-FAD). Другой вариант данного изобретения относится к композиции, которая уменьшает, ингибирует или оказывает антагонистическое действие на восстановление окисленного флавинадениндинуклеотида

(Ox-FAD). Следующий вариант относится к композиции, которая уменьшает, ингибирует или оказывает антагонистическое действие на активность флавокиназы. Следующий вариант относится к композиции, которая уменьшает, ингибирует или оказывает антагонистическое действие на активность FAD-пирофосфорилазы. Следующий вариант относится к композиции, которая связывается с Re-FAD или Ox-FAD или взаимодействует с ними. Следующий вариант относится к композиции, которая связывается с флавокиназой или FAD-пирофосфорилазой или взаимодействует с ними.

Следующий предпочтительный вариант относится к композиции или соединению, которые увеличивают, оказывают агонистическое действие или стимулируют активность цистатионин-бета-синтазы. Предпочтительная композиция, которая увеличивает, оказывает агонистическое действие или стимулирует активность цистатионин-бета-синтазы, содержит S-аденозилметионин или гомоцистеин. Другая предпочтительная композиция, которая увеличивает, оказывает агонистическое действие или стимулирует активность цистатионин-бета-синтазы является пиридоксином или его производным.

Следующий предпочтительный вариант данного изобретения относится к способу скрининга композиции, которая связывается с DAO, DDO, флавокиназой, FAD-пирофосфорилазой, цистатионин-бета-синтазой, оксидазой L-аминокислот или глутаминтрансаминазой, или взаимодействует с ними. Следующий предпочтительный вариант данного изобретения относится к способу скрининга композиции, которая уменьшает, ингибирует или оказывает антагонистическое действие на активность DAO, DDO, Re-FAD, Ox-FAD, флавокиназы, FAD-пирофосфорилазы, оксидазы L-аминокислот или глутаминтрансаминазы. Следующий предпочтительный вариант данного изобретения относится к способу скрининга композиции, которая стимулирует, увеличивает или оказывает агонистическое действие на активность цистатионин-бета-синтазы, оксидазы L-аминокислот или глутаминтрансаминазы.

Таким образом, один аспект обеспечивает способ идентификации молекулы-кандидата для лечения заболевания или для увеличения уровней, или уменьшения деградации аминокислот, включающий: а) контактирование полипептида DAO, DDO, Re-FAD, Ox-FAD, флавокиназы, FAD-пирофосфорилазы, оксидазы L-аминокислот или глутаминтрансаминазы, или его биологически активного фрагмента с тест-соединением; и б) определение, связывается ли указанное соединение селективно с указанным полипептидом; где определение, что указанное соединение селективно связывается с указанным полипептидом, свидетельствует о том, что указанное соединение является молекулой-кандидатом для лечения заболевания или для увеличения уровней или уменьшения деградации аминокислот.

Обеспечен также способ идентификации молекулы-кандидата для лечения заболевания или для увеличения уровней или уменьшения деградации аминокислот, включающий: а) контактирование полипептида DAO, DDO, флавокиназы, FAD-пирофосфорилазы, оксидазы L-аминокислот или глутаминтрансаминазы, или его биологически активного фрагмента с тест-соединением; и б) определение, ингибирует ли указанное соединение селективно активность указанного полипептида; где определение, что указанное соединение селективно ингибирует активность указанного полипептида, свидетельствует о том, что указанное соединение является молекулой-кандидатом для лечения заболевания или для увеличения уровней или уменьшения деградации аминокислот.

Обеспечен также способ идентификации молекулы-кандидата для лечения заболевания или для увеличения уровней или уменьшения деградации аминокислот, включающий: а) получение клетки, содержащей полипептид DAO, DDO, Re-FAD, Ox-FAD, флавокиназы, FAD-пирофосфорилазы, оксидазы L-аминокислот или глутаминтрансаминазы или его биологически активный фрагмент; б) контактирование указанной клетки с тест-соединением; и с) определение, ингибирует ли указанное соединение селективно активность DAO, DDO, флавокиназы, FAD-пирофосфорилазы, оксидазы L-аминокислот или глутаминтрансаминазы; где определение, что указанное соединение селективно ингибирует активность указанного полипептида, свидетельствует о том, что указанное соединение является молекулой-кандидатом для лечения заболевания или для увеличения уровней или уменьшения деградации аминокислот.

Обеспечен также способ идентификации молекулы-кандидата для лечения заболевания или для увеличения уровней или уменьшения деградации аминокислот, включающий: а) контактирование полипептида цистатионин-бета-синтазы, оксидазы L-аминокислот или глутаминтрансаминазы или его биологически активного фрагмента с тест-соединением; и б) определения, увеличивает ли указанное соединение селективно активность указанного полипептида; где определение, что указанное соединение селективно увеличивает активность указанного полипептида свидетельствует о том, что указанное соединение является молекулой-кандидатом для лечения заболевания или для увеличения уровней или уменьшения деградации аминокислот.

Другим вариантом является способ идентификации молекулы-кандидата для лечения заболевания или для увеличения уровней или уменьшения деградации аминокислот, включающий: а) получение клетки, содержащей полипептид цистатионин-бета-синтазы, оксидазы L-аминокислот или глутаминтрансаминазы или его биологически активный фрагмент; б) контактирование указанной клетки с тест-соединением; и с) определение, ингибирует ли указанное соединение селективно активность цистатионин-бета-синтазы, оксидазы L-аминокислот или глутаминтрансаминазы; где определение, что указанное соединение селективно ингибирует активность указанного полипептида, свидетельствует о том, что ука-

занное соединение является молекулой-кандидатом для лечения заболевания или для увеличения уровня или уменьшения деградации аминокислот.

Следующий предпочтительный вариант данного изобретения относится к способу антагонистического воздействия на активность DAO, уменьшения или ингибирования активности DAO *in vitro*. Далее, предпочтительным является способ антагонистического воздействия на активность DAO, уменьшения или ингибирования активности DAO *in vivo*. Далее, предпочтительным является способ антагонистического воздействия на активность DAO, уменьшения или ингибирования активности DAO *in vivo* или *in vitro*, включающий стадию контактирования DAO с композицией, которая уменьшает, ингибирует или оказывает антагонистическое действие на активность DAO. Предпочтительной активностью DAO, которая должна быть ингибирована, является окисление субстрата, предпочтительным субстратом является D-аминокислота, предпочтительной D-аминокислотой является D-Ser, D-Asp или N-метил-D-Asp.

Следующий предпочтительный вариант данного изобретения относится к способу антагонистического воздействия на активность DDO, уменьшения или ингибирования активности DDO *in vitro*. Далее, предпочтительным является способ антагонистического воздействия на активность DDO, уменьшения или ингибирования активности DDO *in vivo*. Далее, предпочтительным является способ антагонистического воздействия на активность DDO, уменьшения или ингибирования активности DDO *in vivo* или *in vitro*, включающий стадию контактирования DDO с композицией, которая уменьшает, ингибирует или оказывает антагонистическое действие на активность DDO. Предпочтительной активностью DDO, которая должна быть ингибирована, является окисление субстрата, предпочтительным субстратом является D-аминокислота, предпочтительной D-аминокислотой является D-Asp, D-Glu, D-Asn, D-Gln; D-Asp-диметиловый эфир или N-метил-D-Asp.

Другой вариант данного изобретения относится к композициям, которые увеличивают уровни по меньшей мере одной D-аминокислоты *in vitro*. Далее, предпочтительными являются композиции, которые увеличивают уровни по меньшей мере одной D-аминокислоты *in vivo*, предпочтительно в тканях млекопитающих, далее, предпочтительно в тканях мышей, крыс, собак, коров, свиней, обезьян, мартышек или людей. Предпочтительными также являются композиции, которые увеличивают уровни по меньшей мере одной D-аминокислоты в тканях центральной нервной системы, предпочтительно головного мозга или спинного мозга. Предпочтительными также являются композиции, которые увеличивают уровни по меньшей мере одной D-аминокислоты в тканях головного мозга, предпочтительно гиппокампе, миндалевидном теле, черном веществе, мозжечке, мозолистом теле, хвостом кольца, коре головного мозга, таламусе или гипофизе.

Другими предпочтительными тканями, в которых композиции данного изобретения увеличивают уровни по меньшей мере одной D-аминокислоты, включают, но не ограничиваются ими, почки, печень, жировую ткань, мышцы и яичко.

Предпочтительный вариант данного изобретения относится к применению полипептида SEQ ID NO: 15 или его фрагмента в способе увеличения активности DAO. Далее, предпочтительным является применение полипептида SEQ ID NO: 15 или его фрагмента в способе увеличения активности DDO. Далее, предпочтительным является применение полипептида SEQ ID NO: 15 или его фрагмента в способе уменьшения активности серинрацемазы.

Предпочтительный вариант данного изобретения относится к применению полипептида SEQ ID NO: 15 или его фрагмента в способе увеличения продуцирования соединений или композиций, которые являются продуктом реакции, использующей DAO в качестве катализатора.

Предпочтительный вариант данного изобретения относится к способу скрининга композиций или соединений, которые связываются с полипептидами g34872 (SEQ ID NO: 15) или полинуклеотидами 34872 (SEQ ID NO: 14) или их фрагментами. Далее, предпочтительным является способ контактирования полипептидов g34872 или их фрагментов с DAO с увеличением посредством этого активности DAO выше фонового уровня. Далее, предпочтительным является способ уменьшения, ингибирования, антагонистического действия на взаимодействие или блокирования взаимодействия DAO и g34872. Далее, предпочтительным является способ лечения нарушения ЦНС блокированием взаимодействия g34872 и DAO. Далее, предпочтительным является способ лечения нарушения ЦНС соединением или композицией, которая уменьшает, блокирует, ингибирует или оказывает антагонистическое действие на взаимодействие между g34872 и DAO.

Предпочтительные полипептиды DAO данного изобретения включают полипептиды SEQ ID NO: 7-10 и 19 и их фрагменты, а также полинуклеотиды, кодирующие их. Предпочтительные полипептиды DDO данного изобретения включают полипептиды SEQ ID NO: 22 и 23 и их фрагменты, а также полинуклеотиды, кодирующие их. Предпочтительные полинуклеотиды DAO данного изобретения включают полипептиды SEQ ID NO: 2-6 и 18 и их фрагменты, а также полипептиды, кодируемые ими. Предпочтительные полинуклеотиды DDO данного изобретения включают полипептиды SEQ ID NO: 20 и 21 и их фрагменты, а также полипептиды, кодируемые ими.

Предпочтительные биаллельные маркеры DAO описаны в SEQ ID NO: 1, а также представлены 47-мерами маркера 24-1443-126 (SEQ ID NO: 24) маркера 24-1457-52 (SEQ ID NO: 26) и маркера 24-1461-256 (SEQ ID NO: 29).

Другой вариант данного изобретения относится к композиции, которая связывается с мультимерным полипептидом, содержащим по меньшей мере один полипептид SEQ ID NO: 7, 8, 9, 10 или 15 или его фрагмент. Далее, предпочтительной является композиция, которая связывается с гомо- или гетеромультимерной формой, содержащей по меньшей мере один мономер полипептида SEQ ID NO: 7 или его фрагмент, но не связывается с мономерным полипептидом SEQ ID NO: 7 или его фрагментом. Другой вариант данного изобретения относится к композиции, которая связывается с гомо- или гетеромультимерной формой, содержащей по меньшей мере один мономер полипептида SEQ ID NO: 8 или его фрагмент, но не связывается с мономерным полипептидом SEQ ID NO: 8 или его фрагментом. Другой вариант данного изобретения относится к композиции, которая связывается с гомо- или гетеромультимерной формой, содержащей по меньшей мере один мономер полипептида SEQ ID NO: 9 или его фрагмент, но не связывается с мономерным полипептидом SEQ ID NO: 9 или его фрагментом. Другой вариант данного изобретения относится к композиции, которая связывается с гомо- или гетеромультимерной формой, содержащей по меньшей мере один мономер полипептида SEQ ID NO: 10 или его фрагмент, но не связывается с мономерным полипептидом SEQ ID NO: 10 или его фрагментом. Другой вариант данного изобретения относится к композиции, которая связывается с гомо- или гетеромультимерной формой, содержащей по меньшей мере один мономер полипептида SEQ ID NO: 15 или его фрагмент, но не связывается с мономерным полипептидом SEQ ID NO: 15 или его фрагментом.

- 22 -

Другой вариант данного изобретения относится к очищенной или выделенной нуклеиновой кислоте, кодирующей полипептид SEQ ID NO: 8. Предпочтительной также является очищенная или выделенная нуклеиновая кислота, кодирующая по меньшей мере 10 последовательных аминокислот полипептида SEQ ID NO: 8. Предпочтительной является также очищенная или выделенная нуклеиновая кислота, кодирующая по меньшей мере 15 последовательных аминокислот полипептида SEQ ID NO: 8.

Другой вариант данного изобретения относится к очищенной или выделенной нуклеиновой кислоте, кодирующей полипептид SEQ ID NO: 9. Предпочтительной также является очищенная или выделенная нуклеиновая кислота, кодирующая по меньшей мере 10 последовательных аминокислот полипептида SEQ ID NO: 9. Предпочтительной является также очищенная или выделенная нуклеиновая кислота, кодирующая по меньшей мере 15 последовательных аминокислот полипептида SEQ ID NO: 9.

Другой вариант данного изобретения относится к очищенной или выделенной нуклеиновой кислоте, кодирующей полипептид SEQ ID NO: 10. Предпочтительной также является очищенная или выделенная нуклеиновая кислота, кодирующая по меньшей мере 10 последовательных аминокислот полипептида SEQ ID NO: 10. Предпочтительной является также очищенная или выделенная нуклеиновая кислота, кодирующая по меньшей мере 15 последовательных аминокислот полипептида SEQ ID NO: 10.

Другой вариант данного изобретения относится к очищенной или выделенной нуклеиновой кислоте, кодирующей полипептид SEQ ID NO: 15. Предпочтительной также является очищенная или выделенная нуклеиновая кислота, кодирующая по меньшей мере 10 последовательных аминокислот полипептида SEQ ID NO: 15. Предпочтительной является также очищенная или выделенная нуклеиновая кислота, кодирующая по меньшей мере 15 последовательных аминокислот полипептида SEQ ID NO: 15.

Другой вариант данного изобретения относится к очищенной или выделенной нуклеиновой кислоте, кодирующей полипептид SEQ ID NO: 17. Предпочтительной также является очищенная или выделенная нуклеиновая кислота, кодирующая по меньшей мере 10 последовательных аминокислот полипептида SEQ ID NO: 17. Предпочтительной является также очищенная или выделенная нуклеиновая кислота, кодирующая по меньшей мере 15 последовательных аминокислот полипептида SEQ ID NO: 17.

Другой вариант данного изобретения относится к очищенной или выделенной нуклеиновой кислоте, кодирующей полипептид SEQ ID NO: 19. Предпочтительной также является очищенная или выделенная нуклеиновая кислота, кодирующая по меньшей мере 10 последовательных аминокислот полипептида SEQ ID NO: 19. Предпочтительной является также очищенная или выделенная нуклеиновая кислота, кодирующая по меньшей мере 15 последовательных аминокислот полипептида SEQ ID NO: 19.

Другой вариант данного изобретения относится к очищенной или выделенной нуклеиновой кислоте, кодирующей полипептид SEQ ID NO: 22. Предпочтительной также является очищенная или выделенная нуклеиновая кислота, кодирующая по меньшей мере 10 последовательных аминокислот полипептида SEQ ID NO: 22. Предпочтительной является также очищенная или выделенная нуклеиновая кислота, кодирующая по меньшей мере 15 последовательных аминокислот полипептида SEQ ID NO: 22.

Другой вариант данного изобретения относится к очищенной или выделенной нуклеиновой кислоте, кодирующей полипептид SEQ ID NO: 23. Предпочтительной также является очищенная или выделенная нуклеиновая кислота, кодирующая по меньшей мере 10 последовательных аминокислот полипептида SEQ ID NO: 23. Предпочтительной является также очищенная или выделенная нуклеиновая кислота, кодирующая по меньшей мере 15 последовательных аминокислот полипептида SEQ ID NO: 23.

Следующий предпочтительный вариант данного изобретения относится к биаллельным маркерам.

Краткое описание чертежей

Фиг. 1 демонстрирует активность экспрессируемых дрожжами рекомбинантных полипептидов g34872 и DAO;

фиг. 2 - активность экспрессируемых бактериями рекомбинантных полипептидов g34872 и DAO;

фиг. 3 - активацию *in vitro* очищенного DAO посредством g34872 с использованием D-серина в качестве субстрата;

фиг. 4 - зависимость от дозы влияние g34872 на активность DAO;

фиг. 5 - кинетику взаимодействия между g34872 и DAO;

фиг. 6 является таблицей, демонстрирующей результаты анализа ассоциаций биаллельного маркера DAO между франкоканадскими случаями шизофрении и контролями.

Краткое описание последовательностей, представленных в списке последовательностей

SEQ ID NO: 1 геномная последовательность DAO;

SEQ ID NO: 2 кДНК DAO;

SEQ ID NO: 3 новая кДНК с экзонами U 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11long;

SEQ ID NO: 4 новая кДНК с экзонами B C Ulong V 2 3 4 5 6 7 9 10 11long;

SEQ ID NO: 5 новая кДНК с экзонами U 2 4 5 6 7 8 9 10 11long;

SEQ ID NO: 6 новая кДНК с экзонами B 2 3 7 8 9 10 11;

SEQ ID NO: 7 полипептид DAO из кДНК SEQ ID NO: 2 и 3;

SEQ ID NO: 8 полипептид DAO из кДНК SEQ ID NO: 4;

SEQ ID NO: 9 полипептид DAO из кДНК SEQ ID NO: 5;

SEQ ID NO: 10 полипептид DAO из кДНК SEQ ID NO: 6;

SEQ ID NO: 11-12 полинуклеотиды, содержащие биаллельные маркеры g34872 99/16105-152 и 99/5919-215;

SEQ ID NO: 13 полинуклеотиды g34872, включающие полиморфизмы;

SEQ ID NO: 14 полипептиды g34872, где аминокислота в положении 10 является тирозином или серином, аминокислота в положении 30 является лизином или аргинином, аминокислота в положении 50 является глутаматом или преждевременной остановкой, аминокислота в положении 60 является аргинином или глицином и аминокислота в положении 115 является аспартатом или аланином;

SEQ ID NO: 15 полинуклеотид, кодирующий полипептид g34872 с SEQ ID NO: 16, используемый в 2-гибридных экспериментах;

SEQ ID NO: 17 полинуклеотид, кодирующий полипептид DAO с SEQ ID NO: 18;

SEQ ID NO: 19 и 20 полинуклеотиды, кодирующие полипептиды DDO с SEQ ID NO: 21 и 22 соответственно; и

SEQ ID NO: 23-26 полинуклеотиды, содержащие биаллельные маркеры DAO 24-1443/126, 24-1457/52, 27-93/181 и 24-1461/256 соответственно, отмечено полиморфное основание в положении 24.

Геномная последовательность и биаллельные маркеры g34872 описаны в SEQ ID NO: 1 в патентной заявке США № 09/539333 и международной патентной заявке № PCT/IB 00/00435, которые включены здесь в качестве ссылки в их полном виде.

Согласно правилам, касающимся списка последовательностей, следующие коды были использованы в списке последовательностей для указания положений биаллельных маркеров в этих последовательностях и идентификации каждого из этих аллелей, присутствующих в полиморфном основании. Код "g" в последовательностях указывает, что одним аллелем полиморфного основания является гуанин, тогда как другим аллелем является аденин. Код "u" в этих последовательностях указывает, что одним аллелем полиморфного основания является тимин, тогда как другим аллелем является цитозин. Код "m" в этих последовательностях указывает, что одним аллелем полиморфного основания является аденин, тогда как другим аллелем является цитозин. Код "k" в этих последовательностях указывает, что одним аллелем полиморфного основания является гуанин, тогда как другим аллелем является тимин. Код "s" в этих последовательностях указывает, что одним аллелем полиморфного основания является гуанин, тогда как другим аллелем является цитозин. Код "w" в этих последовательностях указывает, что одним аллелем полиморфного основания является аденин, тогда как другим аллелем является тимин.

Подробное описание изобретения

Данное изобретение относится к способам профилактики нарушения ЦНС у субъекта, склонного к такому нарушению, и лечения субъекта, страдающего от нарушения ЦНС. В частности, такой способ включает введение пациенту количества соединения-антагониста DAO или DDO, эффективного для обеспечения некоторой степени профилактики или ослабления прогрессирования нарушения ЦНС (т.е. защитных эффектов), ослабления симптомов нарушения ЦНС и ослабления рецидива нарушения ЦНС.

Нарушения ЦНС, которые могут лечиться в соответствии с данным изобретением, включают пре-сенильную деменцию (раннее появление болезни Альцгеймера), сенильную деменцию (деменцию типа Альцгеймера), паркинсонизм, в том числе болезнь Паркинсона, хорею Гентингтона, позднюю дискинезию, гиперкинезию, манию, нарушение с гиперактивностью и дефицитом внимания (ADHD), нарушение с дефицитом внимания (ADD), нарушения с тревожностью, дислексию, психотические нарушения, шизофрению, биполярное нарушение, высокие депрессивные приступы, маниакальные приступы, гипоманиакальные приступы, депрессию, аутистические нарушения, злоупотребление веществами, избыточную агрессию, нарушения, отличающиеся судорожными сокращениями (тиком), и синдром Туретта. Предпочтительные нарушения данного изобретения включают шизофрению и биполярное нарушение. Дополнительные предпочтительные варианты шизофрении и шизофрениформных нарушений включают шизофрению (кататоническую), шизофрению (дезорганизованную), шизофрению (параноидную), шизофрению (недифференцированную), шизофрению (остаточную), шизофрениформное нарушение, кратковременный реактивный психоз, шизо-аффективное нарушение, индуцированное психотическое нарушение, личностное нарушение шизоидного типа, шизоидное личностное нарушение, параноидное личностное нарушение и галлюцинаторное (параноидное) нарушение.

Идентификация генов, участвующих в конкретном признаке, таком как специфическое нарушение центральной нервной системы, например, шизофрения, может проводиться посредством двух основных стратегий, используемых в настоящее время для генетического картирования: анализа сцепления и исследований ассоциаций. Анализ сцепления требует исследования семей со множественным пораженным индивидуумом и применим в настоящее время в обнаружении моно- или олигогенных наследуемых признаков. Напротив, исследования ассоциаций исследуют частоту встречаемости маркерных аллелей в неродственных признак-положительных (Т+)-индивидуумах в сравнении с признак-отрицательными (Т-)-контролями и обычно применяются в обнаружении полигенной наследственности.

В данном изобретении описаны дополнительные биаллельные маркеры, локализованные в гене DAO, ассоциированные с шизофренией. Идентификация этих биаллельных маркеров в ассоциации с шизофренией позволила дальнейшее определение хромосомного участка, в котором подозревают присутствие генетической детерминанты, участвующей в предрасположении к развитию шизофрении, и привела

к идентификации новых генных последовательностей, описанных здесь, которые ассоциированы с предрасположенностью развития шизофрении. Кроме того, биаллельные маркеры в гене g34872, описанном ранее, а также в гене DAO, описанном сейчас, могут быть использованы отдельно или в комбинации для определения индивидуумов, имеющих риск развития нарушения ЦНС. Кроме того, биаллельные маркеры в гене g34872, описанном ранее, а также в гене DAO, описанном сейчас, могут быть использованы отдельно или в комбинации для определения индивидуумов, которые получают пользу от лечения, описанного данным изобретением. Кроме того, эта информация последовательности обеспечивает ресурс для дальнейшей идентификации новых генов и маркеров в этих участках. Кроме того, последовательности, содержащие ассоциированные с шизофренией гены, применимы, например, для выделения других генов в предположительных семействах генов, идентификации гомологов из других видов, лечения заболевания и в качестве зондов и праймеров для диагностических анализов и скрининг-анализов, описанных здесь. Кроме того, идентифицированные полиморфизмы используются в создании анализов для надежного детектирования генетической склонности к шизофрении и биполярному нарушению. Они также используются в построении протоколов скрининга лекарственных средств для обеспечения точной и эффективной оценки терапевтического потенциала и потенциала побочных действий новых или уже существующих лекарственных средств или схем лечения.

Определения

Термин «лечить» или «лечение» означает ослабление, облегчение симптомов, устранение причины симптомов на временной или на постоянной основе или профилактику или замедление появления симптомов упомянутого нарушения или состояния.

Дозой соединения является количество, эффективное для профилактики появления симптомов нарушения или для лечения некоторых симптомов нарушения, от которого страдает пациент. «Эффективное количество», «терапевтически эффективное количество», «терапевтическое количество» или «эффективная доза» означает количество, достаточное для индуцирования желаемых фармакологических или терапевтических эффектов, приводящее в результате к эффективной профилактике или лечению данного нарушения. Профилактика нарушения проявляется в задержке появления симптомов данного нарушения до значимой с медицинской точки зрения степени. Лечение нарушения проявляется уменьшением симптомов, ассоциированных с данным нарушением, или ослаблением рецидива симптомов данного нарушения. Терапевтически эффективное количество соединения данного изобретения может быть легко определено специалистом в данной области введением некоторого количества соединения индивидууму и наблюдением результата. Кроме того, специалисты в данной области, знакомые с идентификацией индивидуумов, имеющих нарушение ЦНС, смогут легко идентифицировать индивидуумов, которые страдают от нарушения ЦНС.

Термины "антагонист" и "ингибитор" считаются синонимами и могут использоваться взаимозаменяемо во всем описании. Соединения-"антагонисты" данного изобретения могут вводиться вместе с типичным или атипичным действующим против нарушения ЦНС лекарственным средством, таким как антипсихотическое лекарственное средство. Типичные антипсихотические средства включают галоперидол, флуфеназин, перфеназин, хлорпромазин, молиндон, пимозид, трифторперазин и тиоридазин, тиадиазол, оксадиазол и другие. Атипичные антипсихотические средства включают клозапин, рисперидон, оланзапин, сертиндол, M100907, ципразидон, сероквел, зотепин, амисулприд, илоперидон, фенелзин и другие. Типичные антидепрессанты и противотревожные средства включают гетероциклические антидепрессанты (ТСА, тетрациклические соединения и т.п.), SSRI, смешанные ингибиторы обратного захвата серотонина и норадрепина, ингибиторы обратного захвата дофамина и MAOI. Антагонисты могут быть использованы для лечения индивидуумов, для которых противопоказаны вышеупомянутые лекарственные средства. Данное изобретение обеспечивает также способ лечения или профилактики шизофрении, биполярного нарушения или других нарушений ЦНС без сопутствующей терапии другими антипсихотическими, антидепрессантными, противотревожными или другими лекарственными средствами пациента, который не отвечает на другие средства. Антипсихотические средства, антидепрессанты, противотревожные средства или другие лекарственные средства могут вводиться в субтерапевтических дозах, т.е. в более низкой дозе, чем доза, которую обычно используют для лечения только вышеуказанными лекарственными средствами. Лекарственные средства, используемые для лечения шизофрении, биполярного нарушения, депрессии и других нарушений ЦНС, которые либо признаются в качестве ингибитора DAO или DDO или которые неотъемлемо действуют в качестве ингибитора DAO или DDO, исключены из определения «антагониста» DAO или DDO и могут быть особо исключены из данного изобретения. Кроме того, любая молекула, соединение или лекарственное средство, описанные здесь, могут быть особо исключены из данного изобретения.

«Алкил» обозначает разветвленную или неразветвленную насыщенную углеводородную цепь, содержащую 1-8 атомов углерода, такую как метил, этил, пропил, изопропил, бутил, изобутил, трет-бутил, н-пентил, н-гексил и т.п., если нет других указаний.

«Алкокси» обозначает группу -OR, где R обозначает алкил, определенный выше. Предпочтительно R обозначает разветвленную или неразветвленную углеводородную цепь, содержащую 1-3 атома углерода.

«Галоген» обозначает фтор, хлор, бром или иод, если нет других указаний.

«Фенил» включает все возможные изомерные фенильные радикалы, необязательно монозамещенные или мультзамещенные заместителями, выбранными из группы, состоящей из алкила, алкокси, гидроксид, галогена и галогеналкила.

Предпочтительные гетероарильные кольца включают пиррол, фуран, тиофен, пиридин, пиримидин, пиридазин, пиазин, триазол, тетразол, пиазол, имидазол, изотиазол, тиазол, изоксазол и оксазол. Предпочтительные кольца «гетероарила, конденсированного с фенилом» включают индол, изоиндол, бензофуран, бензотиофен, хинолин, изохинолин, хиноксалин, хиназолин, бензотриазол, индазол, бензимидазол, бензотиазол, бензизоксазол и бензоксазол. Предполагается, что кольца «гетероарила, конденсированного с фенилом» имеются в виду при применении термина «гетероарильные кольца». Термин «насыщенное или частично ненасыщенное гетероциклоалкильное кольцо» означает насыщенное или частично ненасыщенное (но не ароматическое или полностью насыщенное) гетероцикл, имеющий 5-7 атомов в кольце и содержащий 1-3 гетероатома, выбранных из N, O или S. Предпочтительные насыщенные или частично ненасыщенные гетероциклоалкильные кольца включают пиперидин, пиперазин, морфолин, тетрагидрофуран, тиоморфолин или пирролидин.

Термин «фармацевтически приемлемая соль» относится к солям рассматриваемых соединений, которые обладают желаемой фармакологической активностью и которые не являются ни биологически, ни иным образом нежелательными. Соли могут быть образованы с неорганическими кислотами, такими как ацетат, адипат, альгинат, аспартат, бензоат, бензолсульфонат, бисульфат, бутират, цитрат, камфорат, камфорсульфонат, циклопентанпропионат, диглюконат, додецилсульфат, этансульфонат, фумарат, глюкогептаноат, глицерофосфат, гемисульфат, гептаноат, гексаноат, гидрохлорид, гидробромид, гидроиодид, 2-гидроксиэтансульфонат, лактат, малеат, метансульфонат, 2-нафталинсульфонат, никотинат, оксалат, тиоцианат, тозилат и ундеканат. Основные соли включают соли алюминия, соли щелочных металлов, такие как соли натрия и калия, соли щелочно-земельных металлов, такие как соли кальция и магния, соли с органическими основаниями, такие как соли дициклогексиламина, N-метил-D-глюкамина, и соли с аминокислотами, такими как аргинин, лизин и т.д. Кроме того, основные азотсодержащие группы могут быть кватернизованы такими агентами, как низший алкил-галогениды, такие как метил-, этил-, пропил- и бутилхлорид, -бромиды и -иодиды; диалкилсульфаты, такие как диметил-, диэтил-, дибутил- и диамилсульфаты, длинноцепочечные галогениды, такие как децил-, лаурил-, миристил- и стеарилхлориды, -бромиды и -иодиды, аралкилгалогениды, такие как бензил- и фенетилбромиды и другие. Посредством этого получают растворимые или диспергируемые в воде или масле продукты. Кроме того, фармацевтически и фармакологически приемлемые композиции описаны далее.

Соединения данного изобретения имеют асимметричные центры и, следовательно, могут быть получены в виде смесей стереоизомеров или в виде индивидуальных изомеров. Индивидуальные стереоизомеры могут быть получены с использованием оптически активного исходного материала, разделением рацемической или нерацемической смеси промежуточного продукта на некоторой подходящей стадии синтеза или разделением соединения формулы (I). Понятно, что как индивидуальные стереоизомеры, так и смеси (рацемические и нерацемические) стереоизомеров включены в объем данного изобретения. Соединения данного изобретения имеют по меньшей мере один асимметричный центр и, следовательно, могут быть получены в виде смесей стереоизомеров или в виде индивидуальных R- и S-стереоизомеров. Индивидуальные энантиомеры могут быть получены разделением рацемической или нерацемической смеси промежуточного продукта на некоторой подходящей стадии синтеза. Понятно, что как индивидуальные R- и S-стереоизомеры, так и смеси стереоизомеров включены в объем данного изобретения.

«Изомеры» являются различными соединениями, которые имеют одну и ту же молекулярную формулу.

«Стереоизомеры» являются изомерами, которые отличаются только расположением их атомов в пространстве.

«Энантиомеры» являются парой стереоизомеров, которые являются неналагающимися зеркальными отображениями друг друга.

«Диастереомеры» являются стереоизомерами, которые не являются зеркальными отображениями друг друга. «Рацемическая смесь» означает смесь, содержащую равные части индивидуальных энантиомеров. «Нерацемическая смесь» является смесью, содержащей неравные части индивидуальных энантиомеров или стереоизомеров.

«Замещенные алкилы» включают карбоксиалкилы, такие как ацетил, аминоалкилы, диалкиламиноалкилы, гидроксиалкилы и меркаптоалкилы, алкилсиллил.

Данное изобретение относится к соединениям формул I-VI, включающим, но не ограничивающимся ими, конкретные примеры, представленные здесь. Кроме того, любое из этих соединений может принимать форму фармацевтически приемлемой соли.

Должно быть понятно, что соединения данного изобретения, описанные здесь, могут быть синтезированы специалистом в области органической химии.

Термин «психотическое состояние» в данном контексте означает психологические состояния, которые являются психозами или могут быть ассоциированы с психотическими признаками. Такие состояния

включают, но не ограничиваются ими, психотические нарушения, которые были охарактеризованы в руководстве DSM-IV-R, 4 издании Диагностического и статистического руководства психических нарушений, (1994), в том числе шизофрению и острую манию. Это руководство (DSM-IV-R) было подготовлено Task Force on Nomenclature and Statistics of the American Association, и оно дает ясное описание диагностических категорий. Специалисту в данной области будет понятно, что существуют другие номенклатуры, нозологии и системы классификации для патологических психологических состояний и что эти системы эволюционируют по мере прогрессирования медицинской науки.

Термин «шизофрения» включает или, альтернативно, может быть специфически ограничен ими, шизофрению, шизофрениформное нарушение, шизо-аффективное нарушение, галлюцинаторное нарушение, кратковременное психотическое нарушение, психотическое нарушение, обусловленное общим медицинским состоянием, психотическое нарушение без уточнения диагноза (NOS) или описанное здесь в другом месте. Симптомы этих нарушений в их наибольшей части являются такими, какие определены в 4-м издании Диагностического и статистического руководства психических нарушений (DSM-IV). Разделы DSM-IV, которые относятся к этим нарушениям, включены здесь в качестве ссылки.

Термин «биполярное нарушение» в этом контексте относится к состоянию, охарактеризованному в качестве биполярного нарушения в руководстве DSM-IV-R, 4 издании Диагностического и статистического руководства психических нарушений, (1994) как категория 296.xx. Для дополнительной ясности, авторы изобретения рассматривают лечение биполярного нарушения I и биполярного нарушения II, как описано в DSM-IV-R. Этот термин охватывает также циклотимическое нарушение. Циклотимическим нарушением называют чередование депрессивных симптомов и гипоманиакальных симптомов. Специалисту в данной области будет понятно, что существуют другие номенклатуры, нозологии и системы классификации для патологических психологических состояний и что эти системы эволюционируют по мере прогрессирования медицинской науки.

В данном контексте термин «не отвечающие (нечувствительные)» в отношении высокого депрессивного нарушения означает пациентов, которые не имели адекватной клинической ответной реакции (например, 50% снижения по шкале депрессии Гамильтона (HAM-D) в сравнении с баллом фона пациента после лечения на протяжении одного или более курсов лечения общепринятыми антидепрессантами).

"Высокий депрессивный эпизод (приступ)" определяется как по меньшей мере двухнедельное депрессивное сознание или потеря интереса, которое может сопровождаться другими симптомами депрессии. Эти симптомы должны быть устойчивыми в течение большей части дня (т.е. в течение по меньшей мере двух третей часов бодрствования пациента), почти каждый день (т.е. в течение по меньшей мере десяти из четырнадцати дней) в течение по меньшей мере двух последовательных недель. "Депрессивное сознание" часто описывается пациентом как чувство печали, безнадежности, беспомощности или бесполезности. Пациент может также казаться наблюдателю унылым, например, по выражению лица, позе, голосу и слезливости. У детей и подростков настроение может быть раздражительным. "Потеря интереса" часто описывается пациентом как чувство меньшего интереса к хобби и отсутствие чувства радости в делах, которые ранее считались им приятными.

Высокий депрессивный эпизод может сопровождаться другими симптомами депрессии, в том числе значительной потерей веса при отсутствии диеты или увеличением веса (например, изменением более 5% веса тела за один месяц) или уменьшением или увеличением аппетита; бессонницей или гиперсомнией; психомоторным возбуждением или замедлением; усталостью или потерей энергии; чувствами бесполезности или избыточной или неадекватной вины; пониженной способностью думать или концентрироваться; или нерешительностью; и периодическими мыслями о смерти, периодическим формированием идеи суицида с конкретным планом или без конкретного плана или попыткой суицида.

"Маниакальный эпизод (приступ)" определяется как определенный период, в течение которого наблюдается аномально и стойко повышенное, экспансивное (несдержанное) или раздраженное сознание. Этот период аномального сознания может длиться, по меньшей мере, в течение 1 недели (или меньше, если требуется госпитализация). Это расстройство сознания должно сопровождаться по меньшей мере тремя дополнительными симптомами из перечня, включающего раздутое чувство собственного достоинства (самооценки) или грандиозности, пониженная потребность во сне, напряжение речи, поток идей, отвлечение внимания, повышенное участие в целенаправленных активностях или психомоторное возбуждение и излишнее участие в доставляющих удовольствие активностях с высоким потенциалом тяжелых последствий. Если сознание является раздраженным (скорее, чем повышенным или экспансивным), должны присутствовать по меньшей мере четыре из перечисленных выше симптомов. Это расстройство должно быть достаточно тяжелым, чтобы вызывать заметное нарушение в социальном или профессиональном функционировании, или необходимость госпитализации, или оно характеризуется присутствием психотических признаков.

"Гипоманиакальный эпизод (приступ)" является менее тяжелым, чем маниакальный эпизод. Симптомы гипоманиакального эпизода обычно являются теми же самыми, которые определяют маниакальный эпизод, за исключением того, что бред и галлюцинации не присутствуют, и этот приступ не является достаточно тяжелым, чтобы вызывать заметное ухудшение социального и профессионального функционирования или необходимость госпитализации индивидуума.

Термин "аутистическое нарушение" в этом контексте означает состояние, характеризующееся как Аутистическое нарушение в DSM-IV-R в виде категории 299.xx, в том числе 299.00, 299.80 и 299.10, предпочтительно 299.00.

Термин "нарушение в виде тревожности" включает, но не ограничивается ими, навязчиво-принудительное нарушение, нарушение с тревожностью от психоактивного вещества, нарушение, вызванное посттравматическим стрессом, нарушение с генерализованной тревожностью, нарушение с тревожностью NOS (без уточнения диагноза) и органическое нарушение с тревожностью.

Термин «злоупотребление веществом» в данном контексте означает нежелательную физическую и/или психическую зависимость от лекарственных средств. Этот термин относится к зависимости от вещества, такого как кокаин, психоделические агенты, марихуана, амфетамины, галлюциноген, фенилциклидин, бензодиазепины, спирт и никотин.

Термины «нарушение с дефицитом внимания и гиперактивностью» и "ADHD" в этом контексте означают состояние или нарушение, характеризующиеся стойкой картиной невнимания, гиперактивности, импульсивности или любой их комбинации.

Термин «избыточная агрессия» в этом контексте относится к состоянию, характеризующемуся агрессией, которая является настолько избыточной, что она влияет на ежедневную деятельность индивидуума, взаимоотношения и может угрожать безопасности этого индивидуума, например, в ситуации, в которой рассматривается неистовый суицид. Избыточная агрессия, которая может лечиться с использованием заявленного здесь способа, не зависит от психотического состояния и не связана непосредственно с употреблением лекарственного средства или другого вещества.

«Тик» является внезапным, быстрым периодическим, неритмичным стереотипным моторным движением или издаванием звука, испытываемым как непреодолимый, но подавляемый в течение варьирующихся периодов времени. Обычные простые двигательные тики включают моргание глаз, подергивание шей, пожимание плечами, гримасы лица и покашливание. Обычные простые голосовые тики включают прочищение глотки, «похрюкивание», чихание, всхрипывание и лай. Обычные комплексные двигательные тики включают лицевые гримасы, поведения, связанные с наведением гигиены, подсакивания, трогания, притоптывание и нюхание объекта. Обычные комплексные голосовые тики включают повторение слов или фраз из контекста, копролалию (употребление неприемлемых в обществе слов, часто непристойных), палиланию (повторение своих собственных звуков или слов) и эхолалию (повторение последнего услышанного звука, слова или фразы). Термин «нарушение с тиком» в данном контексте означает нарушения, связанные с тиком, обнаруживающие один или более из двигательных тиков и один или более из голосовых тиков, и голосовые тики. Примеры включают временное нарушение с тиком, нарушение Туретта, хроническое нарушение с голосовым тиком и нарушение с тиком без уточнения диагноза (NOS), как описано DSM-IV-R.

Термины «содержащий», «состоящий из» или «состоящий по существу из» имеют ясное значение, и каждый термин может быть заменен любым другим здесь для изменения объема данного изобретения.

Взаимозаменяемо применяемые здесь термины «олигонуклеотиды» и «полинуклеотиды» включают РНК, ДНК или гибридные последовательности РНК/ДНК из более чем одного нуклеотида либо в одноцепочечной, либо в двухцепочечной форме. Термин «нуклеотидный» в данном контексте используется в виде имени прилагательного для описания молекул, содержащих РНК, ДНК или гибридные последовательности РНК/ДНК любой длины в одноцепочечной или двухцепочечной форме. Термин «нуклеотид» используется здесь также в виде имени существительного для обозначения отдельных нуклеотидов или множеств нуклеотидов и обозначает молекулу или индивидуальное звено в большей молекуле нуклеиновой кислоты, содержащее пурин или пиримидин, рибозную или дезоксирибозную сахарную часть и фосфатную группу, или фосфодиэфирную связь в случае нуклеотидов в олигонуклеотиде или полинуклеотиде. Хотя термин «нуклеотид» используется здесь также для схватывания «модифицированных нуклеотидов», которые содержат по меньшей мере одну модификацию (а) альтернативной связывающей группы, (b) аналогичной формы пурина, (c) аналогичной формы пиримидина или (d) аналогичного сахара, примеры аналогичных связывающих групп, пуринов, пиримидинов и аналогичного сахара см., например, в РСТ-публикации № WO 95/04064, описание которой включено здесь в качестве ссылки. Однако полинуклеотиды данного изобретения предпочтительно содержат более 50% обычных дезоксирибонуклеотидов и наиболее предпочтительно более 90% общепринятых дезоксирибонуклеотидов. Полинуклеотидные последовательности данного изобретения могут быть получены любым известным способом, в том числе синтетическими, рекомбинантными способами, получением *ex vivo* или их комбинацией, а также с использованием любого из способов очистки, известных в данной области.

Термин "очищенный" в данном контексте используется для описания полинуклеотида или полинуклеотидного вектора данного изобретения, который был отделен от других соединений, в том числе, но не только, других нуклеиновых кислот, углеводов, липидов и белков (например, ферментов, используемых в синтезе полинуклеотида), или для отделения ковалентно замкнутых полинуклеотидов от линейных полинуклеотидов. Полинуклеотид является, по существу, чистым, если по меньшей мере приблизительно 50%, предпочтительно приблизительно 60-75% пробы обладают единственной полинуклеотидной последовательностью и конформацией (линейной по сравнению с ковалентно замкнутой). По

существу чистый полинуклеотид обычно содержит приблизительно 50%, предпочтительно 60-90% веса на вес пробы нуклеиновой кислоты, более обычно приблизительно 95% и предпочтительно имеет чистоту приблизительно 99%. Чистота или гомогенность полинуклеотида может быть показана рядом средств, хорошо известных в данной области, например электрофорезом пробы в агарозном или полиакриламидном геле с последующей визуализацией единственной полосы полинуклеотида при окрашивании геля. Для определенных целей более высокое разрешение может быть обеспечено с использованием ВЭЖХ или других средств, хорошо известных в данной области. Полипептид является, по существу, чистым, если по меньшей мере приблизительно 50%, предпочтительно 60-75% пробы обнаруживает единую полипептидную последовательность. По существу чистый полипептид содержит обычно приблизительно 50%, предпочтительно 60-90% веса на вес пробы белка, более обычно приблизительно 95% и предпочтительно имеет чистоту приблизительно 99%. Чистота или гомогенность полипептида может быть показана рядом средств, хорошо известных в данной области, например, электрофорезом пробы в полиакриламидном геле с последующей визуализацией единственной полосы полипептида при окрашивании геля. Для определенных целей более высокое разрешение может быть обеспечено с использованием ВЭЖХ или других средств, хорошо известных в данной области. Термин "очищенный" может также использоваться здесь для описания химической композиции данного изобретения, которая была отделена от других соединений.

Термин "выделенный" означает, что материал должен быть удален из его первоначального окружения (например, природного окружения, если он является природно встречающимся). Например, природно встречающийся полинуклеотид или полипептид в живом животном не является выделенным, но тот же самый полинуклеотид или ДНК или полипептид, отделенный от некоторых или от всех сосуществующих материалов в природной системе, является выделенным. Такой полинуклеотид мог бы быть частью вектора и/или такой полинуклеотид или полипептид мог бы быть частью композиции и все же быть выделенным, так как вектор или композиция не является частью его природного окружения.

Термин "праймер" обозначает специфическую олигонуклеотидную последовательность, которая является комплементарной нуклеотидной последовательности-мишени и используется для гибридизации с последовательностью нуклеиновой кислоты-мишени. Праймер служит в качестве сайта инициации для полимеризации нуклеотидов, катализируемой ДНК-полимеразой, РНК-полимеразой или обратной транскриптазой.

Термин "зонд" обозначает определенный сегмент нуклеиновой кислоты (или сегмент аналога нуклеотида, например полинуклеотида, определенного здесь), который может быть использован для идентификации специфической полинуклеотидной последовательности, присутствующей в пробе, причем указанный сегмент нуклеиновой кислоты содержит нуклеотидную последовательность, комплементарную специфической полинуклеотидной последовательности, которая должна быть идентифицирована.

Термины "признак" и "фенотип" используются здесь взаимозаменяемо и относятся к любому клинически отличимому, детектируемому или измеряемому иным образом свойству организма, такому как, например, симптомы заболевания или склонность к заболеванию. Обычно термины "признак" или "фенотип" в данном контексте обозначают симптомы шизофрении или биполярного нарушения или склонность к шизофрении или биполярному нарушению; или они относятся к реакции индивидуума на средство, действующее на шизофрению или биполярное нарушение; или они относятся к симптомам или к склонности к побочным эффектам в ответ на средство, действующее на шизофрению или биполярное нарушение.

Термин "аллель" в этом контексте относится к вариантам нуклеотидной последовательности. Биаллельный полиморфизм имеет две формы. Обычно первый идентифицированный аллель обозначают как первоначальный аллель, тогда как другие аллели обозначают как альтернативные аллели. Диплоидные организмы могут быть гомозиготными или гетерозиготными в отношении аллельной формы.

Термин "индекс гетерозиготности" используется здесь для обозначения встречаемости индивидуумов в популяции, которые являются гетерозиготными по конкретному аллелю. В биаллельной системе индекс гетерозиготности в среднем равен $2P_a(1-P_a)$, где P_a обозначает встречаемость наименее часто встречающегося аллеля. Для применения в генетических исследованиях генетический маркер должен иметь адекватный уровень гетерозиготности, чтобы обеспечить возможность разумной вероятности того, что случайно выбранный индивидуум будет гетерозиготным.

Термин "генотип" в данном контексте обозначает идентичность аллелей, присутствующих в индивидууме или пробе. В контексте данного изобретения генотипом предпочтительно называют описание аллелей биаллельных маркеров, присутствующих в индивидууме или пробе. Термин "генотипирование" пробы или индивидуума в отношении биаллельного маркера обозначает определение специфического аллеля или специфического нуклеотида (нуклеотидов), несомых индивидуумом в биаллельном маркере.

Термин "мутация" в этом контексте относится к различию в последовательности ДНК между различными геномами или индивидуумами или среди различных геномов и индивидуумов, которое имеет частоту ниже 1%.

Термин "гаплотип" относится к комбинации аллелей, присутствующих в индивидууме или пробе на единственной хромосоме. В контексте данного изобретения гаплотипом предпочтительно называют

комбинацию аллелей биаллельных маркеров, обнаруживаемых в конкретном индивидууме, которая может быть связана с фенотипом.

Термин "полиморфизм" в этом контексте относится к встречаемости двух или более альтернативных геномных последовательностей или аллелей между различными геномами или индивидуумами или среди различных геномов или индивидуумов. "Полиморфный" относится к состоянию, в котором два или более вариантов специфической геномной последовательности могут быть обнаружены в популяции. "Полиморфный сайт" является локусом, в котором происходит вариация. Полиморфизм может включать замену, делецию или инсерцию одного или более нуклеотидов. Единичный нуклеотидный полиморфизм является изменением единственной пары оснований. Обычно единственный нуклеотидный полиморфизм является заменой одного нуклеотида другим нуклеотидом в полиморфном сайте. Делеция единичного нуклеотида или инсерция единичного нуклеотида также дает единичные нуклеотидные полиморфизмы. В контексте данного изобретения "единичный нуклеотидный полиморфизм" предпочтительно относится к замене единичного нуклеотида. Обычно между различными геномами или между различными индивидуумами этот полиморфный сайт может быть занят двумя различными нуклеотидами.

Термин "биаллельный полиморфизм" и "биаллельный маркер" используются здесь взаимозаменяемо и относятся к полиморфизму, имеющему два аллеля при довольно высокой частоте в популяции, предпочтительно единичный нуклеотидный полиморфизм. "Аллель биаллельного маркера" относится к нуклеотидным вариантам, присутствующим в сайте биаллельного маркера. Было валидизировано, что обычно частота менее частого аллеля биаллельных маркеров данного изобретения составляет более 1%, предпочтительно частота больше 10%, более предпочтительно частота равна по меньшей мере 20% (т.е. индекс гетерозиготности равен по меньшей мере 0,32), более предпочтительно частота равна по меньшей мере 30% (т.е. индекс гетерозиготности равен по меньшей мере 0,42). Биаллельный маркер, в котором частота менее частого аллеля равна 30% или более, называют "биаллельным маркером высокого качества". Все способы исследования генотипирования, гаплотипирования, ассоциаций и взаимодействий данного изобретения могут быть необязательно выполнены только с биаллельными маркерами высокого качества.

Местоположение нуклеотидов в полинуклеотиде в отношении центра полинуклеотида описаны здесь следующим образом. Когда полинуклеотид имеет нечетное число нуклеотидов, нуклеотид на одинаковом расстоянии от 3'- и 5'-концов этого полинуклеотида считают находящимся "в центре" полинуклеотида, и любой нуклеотид, непосредственно соседний относительно нуклеотида в центре, или сам нуклеотид в центре считаются находящимися в "пределах 1 нуклеотида от центра". При нечетном числе нуклеотидов в полинуклеотиде любое из пяти положений нуклеотидов в середине этого полинуклеотида должно рассматриваться как находящееся в пределах 2 нуклеотидов от центра, и т.д. Когда полинуклеотид имеет четное число нуклеотидов, в центре этого полинуклеотида будет связь, а не нуклеотид. Таким образом, любой из двух центральных нуклеотидов мог бы считаться как находящийся "в пределах 1 нуклеотида от центра" и любой из четырех нуклеотидов в середине этого полинуклеотида мог бы рассматриваться как находящийся "в пределах 2 нуклеотидов от центра" и т.д. Для полиморфизмов, которые включают замену, инсерцию или делецию 1 или более нуклеотидов, полиморфизм, аллель или биаллельный маркер находится "в центре" полинуклеотида, если различие между расстоянием от замещенного, инсертированного или делетированного полинуклеотидов этого полиморфизма до 3'-конца этого полинуклеотида и расстоянием от замещенного, инсертированного или делетированного полинуклеотидов этого полиморфизма до 5'-конца этого полинуклеотида равно нулю или одному нуклеотиду. Если это различие равно 0-3, то считается, что этот полиморфизм находится "в пределах 1 нуклеотида от центра". Если это различие равно 0-5, то считается, что этот полиморфизм находится "в пределах 2 нуклеотидов от центра". Если это различие равно 0-7, то считается, что этот полиморфизм находится «в пределах 3 нуклеотидов от центра» и т.д. Для полиморфизмов, которые включают замену, инсерцию или делецию 1 или более нуклеотидов, полиморфизм, аллель или биаллельный маркер находится "в центре" полинуклеотида, если различие между расстоянием от замещенного, инсертированного или делегированного полинуклеотидов этого полиморфизма до 3'-конца этого полинуклеотида и расстоянием от замещенного, инсертированного или делетированного полинуклеотидов этого полиморфизма до 5'-конца этого полинуклеотида равно нулю или одному нуклеотиду. Если это различие равно 0-3, то считается, что этот полиморфизм находится "в пределах 1 нуклеотида от центра". Если это различие равно 0-5, то считается, что этот полиморфизм находится "в пределах 2 нуклеотидов от центра". Если это различие равно 0-7, то считается, что этот полиморфизм находится "в пределах 3 нуклеотидов от центра" и т.д.

Термин "выше" используется здесь для местоположения, которое находится в направлении 5'-конца полинуклеотида от конкретной указанной точки.

Термины "спаренные основания" и "спаренные по Уотсону и Крику основания" используются здесь взаимозаменяемо и относятся к нуклеотидам, которые могут быть связаны водородными связями друг с другом благодаря идентичности их последовательностей таким же образом, как они связаны в двухспиральной ДНК, где остатки тимина и урацила связаны с остатками аденина двумя водородными связями, а остатки цитозина и гуанина связаны тремя водородными связями (см. Stryer, L., Biochemistry, 4th edition, 1995).

Термины «комплементарность» или «ее комплемент» используются здесь в отношении последовательностей полинуклеотидов, которые способны к образованию спаривания оснований по Уотсону и Крику с другим указанным полинуклеотидом вдоль всего этого комплементарного участка. Этот термин применим к парам полинуклеотидов на основании только их последовательностей, а не на основании какого-либо набора условий, при котором эти два полинуклеотида могли бы в действительности связываться.

Термин «ген DAO» в этом контексте включает геномную последовательность, последовательности мРНК и кДНК, кодирующие любые белки оксидазы D-аминокислот данного изобретения, в том числе нетранслируемые регуляторные участки геномной ДНК.

Термин «ген g34872» в этом контексте включает геномную последовательность, последовательности мРНК и кДНК, кодирующие любой белок g34872, в том числе нетранслируемые регуляторные участки геномной ДНК.

Термины «ген DDO» в этом контексте включает геномную последовательность, последовательности мРНК и кДНК, кодирующие любой белок оксидазы D-аспартата, в том числе нетранслируемые регуляторные участки геномной ДНК.

В применении здесь термин "13q31-q33-связанный биаллельный маркер" относится к набору биаллельных маркеров, находящемуся в участке хромосомы 13q31-q33 человека. Термин 13q31-q33-связанный биаллельный маркер включает все биаллельные маркеры, описанные в таб. 6b патентной заявки США 09/539333 и международной патентной заявки РСТ/IB 00/00435, описания которых включены в качестве ссылки в их полном виде, и любой из биаллельных маркеров в неравновесном сцеплении с ними, а также любые биаллельные маркеры, описанные в табл. 6c (в тех же самых патентной заявке США 09/539333 и международной патентной заявке РСТ/IB 00/00435), и любые биаллельные маркеры в неравновесном сцеплении с ними. Предпочтительные аллели 13q31-q33-связанных биаллельных маркеров хромосомы человека данного изобретения включают каждый из аллелей, описанных в табл. 6b (в тех же самых патентной заявке США 09/539333 и международной патентной заявке РСТ/IB 00/00435), индивидуально или в группах, состоящих из всех возможных комбинаций перечисленных аллелей.

В применении здесь термин «участок D-связанного биаллельного маркера» относится к набору биаллельных маркеров в неравновесном сцеплении с субучастком участка 13q31-q33 хромосомы человека, называемым здесь участком D. Термин участок D-связанного биаллельного маркера охватывает биаллельные маркеры A1-A242, A249-A251, A257-A263, A269-A270, A278, A285-A299, A303-A307, A324, A330, A334-A335, A346-A357 и A361-A489, описанные в табл. 6b, и любые биаллельные маркеры в ситуации неравновесия сцепления с маркерами A1-A242, A249-A251, A257-A263, A269-A270, A278, A285-A299, A303-A307, A324, A330, A334-A335, A346-A347 и A361-A489, патентной заявки США 09/539333 и международной патентной заявки РСТ/IB 00/00435, включенными здесь в качестве ссылки в их полном виде.

В применении здесь термин «sbg1-связанный биаллельный маркер» относится к набору биаллельных маркеров в неравновесном сцеплении с геном sbg1 или нуклеотидной последовательностью sbg1. Термин sbg1-связанный биаллельный маркер включает биаллельные маркеры A85-A219, описанные в табл. 6b, и любые биаллельные маркеры в неравновесном сцеплении с ними, патентной заявки США 09/539333 и международной патентной, заявки РСТ/IB 00/00435, включенными здесь в качестве ссылки в их полном виде.

В применении здесь термин «g34665-связанный биаллельный маркер» относится к набору биаллельных маркеров в неравновесном сцеплении с геном g34665 или нуклеотидной последовательностью sbg1. Термин g34665-связанный биаллельный маркер включает биаллельные маркеры A230-A236, описанные в табл. 6b, и любые биаллельные маркеры в неравновесном сцеплении с ними.

Термин «полипептид» относится к полимеру аминокислот независимо от длины этого полимера; так, пептиды, олигопептиды и белки включены в определение полипептида. Этот термин также не указывает или не исключает пост-экспрессионные модификации полипептидов, например полипептиды, которые включают ковалентное присоединение гликозильных групп, ацетильных групп, фосфатных групп, липидных групп и т.п., ясно охватываются термином "полипептид". В это определение включены также полипептиды, которые содержат один или более аналогов аминокислот (в том числе, например, не встречающиеся в природе аминокислоты, аминокислоты, которые встречаются только в природе в неродственных биологических системах, модифицированные аминокислоты систем млекопитающих и т.д.), полипептиды с замененными связями, а также другие модификации, известные в данной области, как природно встречающиеся, так и не встречающиеся в природе.

В применении здесь термин "животное не человек" относится к любому позвоночному животному, не являющемуся человеком, птицам и более часто млекопитающим, предпочтительно приматам, сельскохозяйственным животным, таким как свиньи, козы, овцы, ослы и лошади, кроликам или грызунам, более предпочтительно крысам и мышам. В применении здесь, термин "животное" относится к любому позвоночному животному, предпочтительно млекопитающему. Ясно, что как термин "животное", так и термин "млекопитающее" включает субъектов-людей, если за ним не следует термин "не человек".

В применении здесь термин "антитело" относится к полипептиду или группе полипептидов, которые состоят по меньшей мере из одного связывающего домена, где антигенсвязывающий домен образуется из укладки вариабельных доменов молекулы с образованием трехмерных связывающих структур с формой внутренней поверхности и распределением заряда, комплементарными признакам антигенной детерминанты антигена, что делает возможной иммунологическую реакцию с антигеном. Антитела включают рекомбинантные белки, содержащие связывающие домены, а также фрагменты, в том числе фрагменты Fab, Fab', F(ab)₂ и F(ab')₂.

В применении здесь "антигенная детерминанта" является частью молекулы антигена, в данном случае sbg1-полипептида, которая определяет специфичность реакции антиген-антитело. Термин "эпитоп" относится к антигенной детерминанте полипептида. "Эпитоп" может содержать всего лишь 3 аминокислоты в пространственной конформации, которая является уникальной для этого эпитопа. Обычно эпитоп содержит по меньшей мере 6 таких аминокислот и более часто по меньшей мере 8-10 таких аминокислот. Способы определения аминокислот, которые образуют эпитоп, включают рентгеновскую кристаллографию, 2-мерный ядерный магнитный резонанс и картирование эпитопа, например Pepscan-способ, описанный Geysen et al. 1984; РСТ-публикация № WO 84/03564 и РСТ-публикация № WO 94/03506.

Полное описание «Варианты и фрагменты», «Идентичность между нуклеиновыми кислотами или полипептидами», «Условия жесткости гибридизации», «Конструкции ДНК, которые позволяют управлять временной и пространственной экспрессией последовательностей нуклеиновых кислот sbg1 в рекомбинантных клетках-хозяевах и трансгенных животных» изложено подробно в параллельной патентной заявке США с регистрационным номером 09/539333, озаглавленной «Ассоциированные с шизофренией гены, белки и биаллельные маркеры», и параллельной патентной заявкой № РСТ/IB 00/00435, обе поданы 30 марта 2000 г., и их описания включены здесь в качестве ссылки в их полном виде.

Геномные последовательности полинуклеотидов g34872 и DAO

Особенно предпочтительные нуклеиновые кислоты g34872 данного изобретения включают выделенные, очищенные или рекомбинантные полинуклеотиды, содержащие, состоящие по существу или состоящие из непрерывного участка по меньшей мере из 12, 15, 18, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 500 или 1000 нуклеотидов нуклеотидных положений 213818-243685 SEQ ID NO: 1 патентной заявки США с номером 09/539333 или их комплементов (патентной заявки США 09/539333 и международной заявки РСТ/IB 00/00435, описания которых включены здесь в качестве ссылки в их полном виде).

Полинуклеотиды DAO данного изобретения описаны в SEQ ID NO: 1 данного изобретения. Особенно предпочтительные нуклеиновые кислоты данного изобретения включают выделенные, очищенные или рекомбинантные полинуклеотиды, содержащие, состоящие по существу или состоящие из непрерывного участка по меньшей мере из 12, 15, 18, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 500 или 1000 нуклеотидов нуклеотидных положений 6000-86600 SEQ ID NO: 1. Нуклеиновые кислоты данного изобретения охватывают нуклеиновую кислоту DAO любого происхождения, в том числе нуклеиновые кислоты DAO примата, примата не человека, млекопитающего и человека.

Следующие предпочтительные нуклеиновые кислоты данного изобретения включают выделенные, очищенные или рекомбинантные полинуклеотиды, содержащие непрерывный участок по меньшей мере из 12, 15, 18, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 500 или 1000 нуклеотидов SEQ ID NO: 1, или их комплементы, где указанный непрерывный участок содержит связанный с DAO биаллельный маркер. Необязательно, указанный биаллельный маркер выбран из группы, содержащей 24-1443/126, 24-1457/52 или 24-1461/256. Предпочтительно указанным биаллельным маркером является 24-1461/256.

Следует отметить, что фрагменты нуклеиновых кислот любого размера и любой последовательности могут быть также включены в полинуклеотиды, описанные в этом разделе.

Таким образом, данное изобретение описывает очищенные, выделенные или рекомбинантные полинуклеотиды, содержащие нуклеотидную последовательность, выбранную из группы, состоящей из экзона гена DAO (SEQ ID NO: 1), или последовательность, комплементарную этой последовательности. Предпочтительными являются очищенные, выделенные или рекомбинантные полинуклеотиды, содержащие по меньшей мере один экзон гена DAO или комплементарную ему последовательность, или их фрагмент или вариант. В данное изобретение включены также очищенные, выделенные или рекомбинантные нуклеиновые кислоты, содержащие комбинацию по меньшей мере двух экзонов гена DAO, выбранных из группы, состоящей из экзонов Z, A, B, C, Ulong, U, V, Z, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 и 11 long, где эти полинуклеотиды размещены в этой нуклеиновой кислоте в том же самом относительном порядке, что и в SEQ ID NO: 1.

Особенно предпочтительные нуклеиновые кислоты данного изобретения включают выделенные, очищенные или рекомбинантные полинуклеотиды, содержащие непрерывный участок по меньшей мере из 12, 15, 18, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 90, 100 или 200 нуклеотидов SEQ ID NO: 1, или их комплементы.

Другим объектом данного изобретения является очищенная, выделенная или рекомбинантная нуклеиновая кислота, которая гибридизуется с нуклеотидной последовательностью DAO SEQ ID NO: 1, или

комплементарной ей последовательностью, или ее вариантом, в жестких условиях гибридизации, как описано выше.

Данное изобретение описывает также очищенные, выделенные или рекомбинантные полинуклеотиды, содержащие нуклеотидную последовательность, выбранную из группы, состоящей из интронов гена DAO (SEQ ID NO: 1), или комплементарную ей последовательность.

В других вариантах осуществления данное изобретение включает ген DAO, а также геномные последовательности DAO, состоящие из последовательности, состоящие по существу из последовательности или содержащие последовательность положений нуклеотидов SEQ ID NO: 1, последовательность, комплементарную ей, а также их фрагменты и варианты.

Данное изобретение включает также очищенный, выделенный или рекомбинантный полинуклеотид, содержащий нуклеотидную последовательность DAO, имеющую по меньшей мере 70, 75, 80, 85, 90 или 95% идентичность нуклеотидов с SEQ ID NO: 1, или комплементарную ей последовательность, или ее фрагмент.

Эти нуклеиновые кислоты, а также их фрагменты и варианты, могут быть использованы в качестве олигонуклеотидных праймеров или зондов для обнаружения присутствия копии гена, содержащего последовательность нуклеиновой кислоты g34872, DAO или DDO, в тест-пробе, или альтернативно для амплификации нуклеотидной последовательности-мишени в последовательности нуклеиновой кислоты g34782, DAO или DDO или смежном участке.

Дополнительные предпочтительные нуклеиновые кислоты данного изобретения включают выделенные, очищенные или рекомбинантные полинуклеотиды DAO, содержащие непрерывный участок по меньшей мере из 12, 15, 18, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 90, 100 или 200 нуклеотидов SEQ ID NO: 1, или их комплементы, где указанный непрерывный участок содержит по меньшей мере один биаллельный маркер. Необязательно, указанный непрерывный участок содержит связанный с DAO-биаллельный маркер. Следует отметить, что фрагменты нуклеиновых кислот любого размера и любой последовательности могут быть также включены в полинуклеотиды, описанные в этом разделе. В указанном биаллельном маркере может присутствовать либо первоначальный, либо альтернативный аллель.

Следующие нуклеиновые кислоты данного изобретения включают выделенные, очищенные или рекомбинантные полинуклеотиды, содержащие непрерывный участок по меньшей мере из 12, 15, 18, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200 или 500 нуклеотидов, до такой степени, что указанный участок соответствует диапазону положений нуклеотидов SEQ ID NO: 1, где указанный участок содержит по меньшей мере 1, 2, 3, 5 или 10 из следующих положений нуклеотидов SEQ ID NO: 1: 215820-215941, 216661-217009, 230409-290721, 231272-231411, 234202-234321, 240528-240567, 240528-240827 и 240528-240996, или их комплементы, а также полинуклеотиды, обладающие по меньшей мере 70, 75, 80, 85, 90 или 95% идентичностью нуклеотидов с указанным участком, и полинуклеотиды, способные гибридизоваться с указанным участком.

Данное изобретение включает также очищенную или выделенную нуклеиновую кислоту, кодирующую белок DAO, имеющий аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 7-10, или его пептидный фрагмент, или вариант.

Хотя этот раздел озаглавлен "Геномные последовательности sbg1", следует отметить, что фрагменты нуклеиновых кислот любого размера и любой последовательности могут также содержаться в полинуклеотидах, описанных в этом разделе, фланкирующие геномные последовательности sbg1 на любой стороне или между двумя или более такими геномными последовательностями.

Последовательности кДНК DAO

Было показано, что экспрессия гена DAO приводит к образованию нескольких разновидностей мРНК. Несколько последовательностей кДНК, соответствующих этим мРНК, изображены в SEQ ID NO: 2-6. Данное изобретение включает очищенную, выделенную или рекомбинантную нуклеиновую кислоту, содержащую нуклеотидную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2-6, комплементарных им последовательностей, их сплайсинговых вариантов, а также аллельных вариантов и их фрагментов. Кроме того, предпочтительные полинуклеотиды данного изобретения включают очищенные, выделенные или рекомбинантные кДНК DAO, состоящие из нуклеотидной последовательности, состоящие, по существу, из нуклеотидной последовательности или содержащие нуклеотидную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2-6. Особенно предпочтительные нуклеиновые кислоты данного изобретения включают выделенные, очищенные или рекомбинантные полинуклеотиды, содержащие непрерывный участок по меньшей мере из 8, 12, 15, 18, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 60, 70, 75, 80, 100, 200 или 500 нуклеотидов, до такой степени, что длина указанного непрерывного участка согласуется с длиной SEQ ID NO: 2-6, или их комплементам.

Следует отметить, что фрагменты нуклеиновых кислот любого размера и любой последовательности могут также содержаться в полинуклеотидах, описанных в этом разделе.

Данное изобретение относится также к очищенной или выделенной нуклеиновой кислоте, содержащей полинуклеотид, обладающий по меньшей мере 70, 80, 85, 90 или 95% идентичностью нуклеотидов с полинуклеотидом, выбранным из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2-6, благоприятно 99% идентичностью нуклеотидов, предпочтительно 99,5% идентичностью нуклеотидов и наиболее предпочти-

тельно 99,8% идентичностью нуклеотидов с полинуклеотидом, выбранным из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2-6, или к последовательности, комплементарной ей, или ее биологически активному фрагменту.

Другим объектом данного изобретения являются очищенные, выделенные или рекомбинантные нуклеиновые кислоты, содержащие полинуклеотид, который гибридизуется, в жестких условиях гибридизации, определенных здесь, с полинуклеотидом, выбранным из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2-6, или последовательностью, комплементарной ей, или ее вариантом, или ее биологически активным фрагментом. Эти кДНК-формы DAO SEQ ID NO: 2-6 дополнительно описаны в списке последовательностей.

Праймеры, используемые для выделения конкретных кДНК DAO или для генотипирования, представлены в SEQ ID NO: 1. Биаллельные маркеры для DAO и их праймеры генотипирования представлены в SEQ ID NO: 1, 24, 26 и 29. Полинуклеотиды g34872 представлены в SEQ ID NO: 14 и 16. Биаллельный маркер g34872 99-16105-152 представлен в SEQ ID NO: 12, а биаллельный маркер g34872 99-5919-215 представлен в SEQ ID NO: 13 и в них описаны праймеры для их получения. кДНК g34872 представлена в SEQ ID NO: 14, а полинуклеотиды, используемые в 2-гибридных экспериментах, представлены в SEQ ID NO: 16.

Авторы данного изобретения идентифицировали также новые экзоны и вариации в кДНК-последовательности, полученной из разных тканей, и они представлены в виде экзонов 11 long, Z, A, B, C и UL в SEQ ID NO: 1 и в полинуклеотидах SEQ ID NO: 2-6. Новые формы полипептидов DAO представлены в SEQ ID NO: 8-10.

Эти варианты представляют редкие и новые формы DAO, которые используются предпочтительно для скрининга композиций для использования в способах лечения нарушений ЦНС.

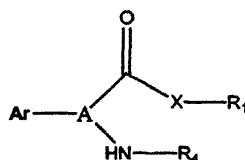
Следует отметить, что фрагменты нуклеиновых кислот любого размера и любой последовательности могут также содержаться в полинуклеотидах, описанных в этом разделе, фланкируя геномные последовательности g34872, DAO и DDO на любой стороне или между двумя или большим числом таких геномных последовательностей.

Антагонисты DAO и DDO

Термин «антагонист» в применении здесь относится к ингибированию ферментативной реакции, посредством которой DAO или DDO превращает D-аминокислоту-субстрат в соответствующую альфа-кетокислоту. Антагонисты могут быть конкретизированы как конкурентные, неконкурентные (non-competitive), неконкурентные (uncompetitive), аллостерические или необратимо действующие ингибиторы ферментативной активности DAO или DDO. Термин «активность» или «ферментативная активность» DAO или DDO относится к указанной выше ферментативной реакции. Антагонисты могут быть конкретизированы по степени ингибирования активности DAO или DDO. Предпочтительные антагонисты уменьшают активность DAO или DDO по меньшей мере на 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 или 95%. Ингибиторное действие может быть также выражено в виде константы ингибирования или величин K_i (M). Предпочтительные антагонисты имеют K_i (M) с численной величиной менее, чем 5×10^{-2} , 1×10^{-2} , 5×10^{-3} , 1×10^{-3} , 5×10^{-4} , 1×10^{-4} , 5×10^{-5} , 1×10^{-6} , 5×10^{-7} , 1×10^{-7} . Следует отметить, что существует обратное соотношение между численной величиной K_i (M) и ингибирующим действием, т.е. когда величина K_i (M) уменьшается, ингибирующее действие увеличивается. Антагонисты могут быть также конкретизированы по их специфичности в отношении DAO или DDO. Таким образом, в данное изобретение включены антагонисты, которые ингибируют активность DDO или DAO, но не ингибируют другие флавопротеины человека (п-гидроксibenзоатгидроксилазу, холестеролоксидазу и глюкозооксидазу) или имеют численную величину K_i (M) для других флавопротеинов человека, большую чем 1×10^{-2} , 5×10^{-2} . Из этого определения должно быть понятно, что общие термины "антагонист" и "ингибитор" могут быть использованы взаимозаменяемо для обозначения любой композиции, которая ингибирует активность DAO или DDO, как определено выше. Кроме того, специфические типы антагонистов или ингибиторов могут быть указаны независимо, как описано в данном описании, например, конкурентный ингибитор.

К настоящему времени были исследованы более 200 ингибиторов DAO и DDO. Антагонисты DAO и DDO могут быть выбраны из композиций, представленных выше, или других антагонистов, известных в данной области, или получены с использованием способов, описанных здесь или известных в данной области. Альтернативно, антагонисты DAO и DDO могут быть куплены у коммерческих фирм-поставщиков. Неограничивающий перечень соединений, применимых в соответствии с данным изобретением, приведен в табл. 1. Антагонисты DAO и DDO включают дополнительно семейства композиций, выбранных из групп, состоящих из композиций конкурентных ингибиторов, композиций необратимо действующих ингибиторов, композиций формулы I, формулы II, формулы III, формулы IV, формулы V и формулы VI, и их подгрупп, представленных здесь. Другие предпочтительные репрезентативные композиции формул I-VI и их подгрупп включают, но не ограничиваются ими, подробно описанные здесь.

Композиции формулы I или их фармацевтически приемлемые соли представлены структурой, содержащей



где а) А обозначает алкил, такой как метил, этил, пропил или бутил; алкил с разветвленной цепью, такой как изобутил, изопропил, изопентил, или циклоалкил, такой как циклопропил, циклопентил или циклогексил. Такие группы могут быть сами замещены С₁-С₆алкилом, галогеном, гидроксилом или амином;

б) Х обозначает О или N;

с) Аг обозначает ароматическое моно-, би- или трициклическое конденсированное гетероциклическое кольцо, где кольцо является незамещенным или замещено в 1-5 положениях водородом, галогеном, гидроксилом, -CN, COR₂, -CONR₂R₃, -S(O)_nR₂, -OPO(OR₂)OR₃, -PO(OR₃)R₃, -OC(O)NR₂R₃, -COOR₂, -CONR₂R₃, -SO₃H, -NR₂R₃, -NR₂COR₃, -NR₃COOR₃, -SO₂NR₂R₃, -N(R₂)SO₂R₃, -NR₂CONR₂R₂, -SO₂NHCOR₂, -CONHSO₂R₂, SO₂NHCN, -OR₁, С₁-С₆алкилом или алкенилом с прямой или разветвленной цепью или С₁-С₆алкилом или алкенилом с прямой или разветвленной цепью, который замещен одним или более из галогена, гидроксидов, амина, карбокси, карбоксамида, нитрила, нитро, алкокси, трифторметила, серы, сульфоната, фосфоната, фосфата, Аг¹, N₃ или их комбинации, и где гетероциклическое кольцо содержит 1-6 гетероатомов, выбранных из группы, состоящей из О, N, S и их комбинации;

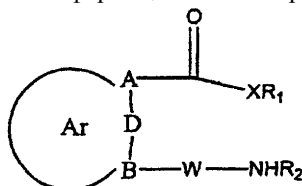
д) R₄ обозначает H, алкил, Аг¹, О, замещенный алкил;

е) R₁ обозначает (С₁-С₆)алкил, Аг¹, (С₁-С₄)алкоксикарбонилметил, замещенный алкил;

ф) каждый из R₂ и R₃ независимо обозначает водород, С₁-С₆алкил или алкенил с прямой или разветвленной цепью или С₁-С₆алкил или алкенил с прямой или разветвленной цепью, который замещен одним или более из галогена, гидроксидов, амина, карбокси, карбоксамида, нитрила, нитро, алкокси, трифторметила, серы, сульфоната, фосфоната, фосфата, Аг¹ или N₃; и

г) Аг¹ обозначает моно-, би- или трициклическое, карбо- или гетероциклическое кольцо, где кольцо является незамещенным или замещено в 1-3 положениях галогеном, гидроксидом, нитро, трифторметилом, С₁-С₆алкилом или алкенилом с прямой или разветвленной цепью, С₁-С₄алкокси, С₁-С₄алкенилокси, фенокси, бензилокси, амина или их комбинацией; где размеры каждого кольца соответствуют 3-7 членам и где гетероциклическое кольцо содержит 1-6 гетероатомов, выбранных из группы, состоящей из О, N, S или их комбинации.

Далее, предпочтительными композициями формулы I или их фармацевтически приемлемыми солями являются композиции формулы Ia или их фармацевтически приемлемые соли, содержащие структуру



где а) А и В состоят из С или N и D может содержать 0-2 члена, состоящих из С или N;

б) W обозначает С₁-С₄алкил, такой как (CH₂)_n, алкил с разветвленной цепью;

с) n равно 0-4. Кроме того, когда n=0, предполагается, что -NHR₂ ковалентно связан с В;

д) Х обозначает О или N;

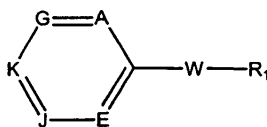
е) R₂ обозначает H, алкил, Аг¹ или О-замещенный алкил;

ф) R₁ обозначает (С₁-С₆)алкил, Аг¹, (С₁-С₄)алкоксикарбонилметил или замещенный алкил;

г) Аг обозначает ароматическое моно-, би- или трициклическое конденсированное гетероциклическое кольцо, где кольцо является незамещенным или замещено в 1-6 положениях галогеном, гидроксидом, нитро, трифторметилом, С₁-С₆алкилом или алкенилом с прямой или разветвленной цепью, С₁-С₄алкокси, С₁-С₄алкенилокси, фенокси, бензилокси, амина, С₃-С₆циклоалкилом или их комбинацией; где размеры каждого кольца соответствуют 5-6 членам и где гетероциклическое кольцо содержит 1-6 гетероатомов, выбранных из группы, состоящей из О, N, S и их комбинации; и

h) Аг¹ обозначает моно-, би- или трициклическое, карбо- или гетероциклическое кольцо, где кольцо является незамещенным или замещено в 1-3 положениях галогеном, гидроксидом, нитро, трифторметилом, С₁-С₆алкилом или алкенилом с прямой или разветвленной цепью, С₁-С₄алкокси, С₁-С₄алкенилокси, фенокси, бензилокси, амина или их комбинацией; где размеры каждого кольца соответствуют 3-7 членам и где гетероциклическое кольцо содержит 1-6 гетероатомов, выбранных из группы, состоящей из О, N, S или их комбинации.

Далее, предпочтительными композициями формулы I или их фармацевтически приемлемыми солями являются композиции формулы Ib или их фармацевтически приемлемые соли, содержащие структуру



где а) А, G, K, J, Е являются членами шестичленного карбо- или гетероциклического ароматического кольца, где гетероциклическое кольцо содержит 1-6 гетероатомов, выбранных из группы, состоящей из С, N и их комбинации;

б) каждый из А, G, K, J, Е может быть независимо незамещенным или замещен водородом, галогеном, гидроксильной группой, -CN, COR₂, -CONR₂R₃, -S(O)_nR₂, -OPO(OR₂)OR₃, -PO(OR₃)R₃, -OC(O)NR₂R₃, -COOR₂, -CONR₂R₃, -SO₃H, -NR₂R₃, -NR₂COR₃, -NR₃COOR₃, -SO₂NR₂R₃, -N(R₂)SO₂R₃, -NR₂CONR₂R₂, -SO₂NHCOR₂, -CONHSO₂R₂, SO₂NHCN, -OR₁, C₁-C₆алкилом или алкенилом с прямой или разветвленной цепью или C₁-C₆алкилом или алкенилом с прямой или разветвленной цепью, который замещен одним или более из галогена, гидроксильной группы, амино, карбокси, карбоксамида, нитрила, нитро, алкокси, трифторметила, серы, сульфоната, фосфоната, фосфата, Ag¹ или N₃;

с) R₁ обозначает -CN, COR₂, -CONR₂R₃, -S(O)_nR₂, -OPO(OR₂)OR₃, -PO(OR₃)R₃, -OC(O)NR₂R₃, -COOR₂, -CONR₂R₃, -SO₃H, -NR₂R₃, -NR₂COR₃, -NR₃COOR₃, -SO₂NR₂R₃, -N(R₂)SO₂R₃, -NR₂CONR₂R₂, -SO₂NHCOR₂, -CONHSO₂R₂, SO₂NHCN, SCN, COCO₂H, C₁-C₆алкил или алкенил с прямой или разветвленной цепью или C₁-C₆алкил или алкенил с прямой или разветвленной цепью, который замещен одним или более из галогена, гидроксильной группы, амино, карбокси, карбоксамида, нитрила, нитро, алкокси, трифторметила, серы, сульфоната, фосфоната, фосфата, Ag¹ или N₃;

д) W обозначает N, (CH₂)_x или -NCH₂;

е) x=0-4;

ф) n=0-2;

г) R₂ и R₃, каждый независимо, обозначают водород, C₁-C₆алкил или алкенил с прямой или разветвленной цепью или C₁-C₆алкил или алкенил с прямой или разветвленной цепью, который замещен одним или более из галогена, гидроксильной группы, амино, карбокси, карбоксамида, нитрила, нитро, алкокси, трифторметила, серы, сульфоната, фосфоната, фосфата, Ag¹ или N₃; и

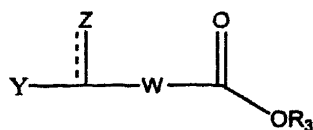
h) Ag¹ обозначает моно-, би- или трициклическое, карбо- или гетероциклическое кольцо, где кольцо является незамещенным или замещено в 1-3 положениях галогеном, гидроксильной группой, нитро, трифторметилом, C₁-C₆алкилом или алкенилом с прямой или разветвленной цепью, C₁-C₄алкокси, C₁-C₄алкенилокси, фенокси, бензилокси, амино или их комбинацией; где размеры каждого кольца соответствуют 5-6 членам; и где гетероциклическое кольцо содержит 1-6 гетероатомов, выбранных из группы, состоящей из O, N, S или их комбинации.

Конкретные примеры композиций формул I, Ia и Ib или их фармацевтически приемлемых солей включают, но не ограничиваются ими, соединения списка:

- а) бензойная кислота;
- б) 2-аминобензоат;
- с) 3-аминобензоат;
- д) 4-аминобензоат;
- е) салициловая кислота;
- ф) N-метилникотинат;
- г) метил-6-метилникотинат;
- h) этил-2-метилникотинат;
- и) анранилат;
- j) этил-2-анранилат;
- к) метил-2-аминобензоат;
- l) пиколинат;
- м) этил-2-пиридинкарбоксилат;
- н) 3-метилбензилтиоцианат;
- о) фенилпировиноградная кислота;
- р) фенилглиоксиловая кислота;
- q) 1-метилпиридиний-3-карбоксилат;
- г) бефлосатон; (5R)-5-(метоксиметил)-3-[4-[(3R)-4,4,4-трифтор-3-гидроксипропаноил]фенил]-2-оксазодиинон;
- с) бупропион; 1-(3-хлорфенил)-2-[(1,1-диметилэтил)амино]-1-пропанол;
- т) котинин; 1-метил-5-(3-пиридинил)-2-пирролидинон;
- у) дулоксетин; (γS)-N-метил-γ-(1-нафталинилокси)-2-тиофенпропанамин;
- в) фенпентадиол; 2-(4-хлорфенил)-4-метил-2,4-пентандиол;
- w) флувоксамин; O-(2-аминоэтил)оксим (E)-5-метокси-1-[4-(трифторметил)фенил]-1-пентанона;
- х) ипроклозид; 2-(1-метилэтил)гидразид 4-(хлорфенокси)уксусной кислоты;
- у) ипрониазид; 2-(1-метилэтил)гидразид 4-пиридинкарбоновой кислоты;

- z) левофациоперан; ацетат α -фенил-2-пиперидинметанола;
 aa) ролипрам; 4-[3-(циклопентилокси)-4-метоксифенил]-2-пирролидинон;
 bb) транилципромин; (1R,2S)-rel-2-фенилциклопропанамин и
 cc) милнаципрам; (1R,2S)-rel-2-(аминометил)-N,N-диэтил-1-фенилциклопропанкарбоксамид.

Композиции формулы II или их фармацевтически приемлемые соли представлены структурой, содержащей



где а) W обозначает $(CH_2)_n$;

б) $n=0-5$;

с) Z обозначает O или гидроксил;

д) Y обозначает H, Ar^1 , $R_4(CH_2)_x$, $R_1S(CH_2)_x$, $R_1SO(CH_2)_x$, $R_1SO_2(CH_2)_x$, $R_1SO_3(CH_2)_x$, $HNR_1SO_2(CH_2)_x$, $R_1R_2N(CH_2)_x$, $R_1O(CH_2)_x$, CF_3 или OH;

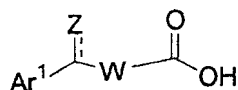
е) $x=0-6$;

ф) R_1 , R_2 и R_3 , каждый независимо, обозначают водород, C_1 - C_6 алкил с прямой или разветвленной цепью или C_1 - C_6 алкил с прямой или разветвленной цепью, замещенный одним или более из галогена, гидроксила, амино, карбокси, карбоксамида, нитрила, нитро, алкокси, трифторметила, серы, сульфоната, фосфоната, фосфата или Ar^1 ;

г) R_4 обозначает галоген, CN, N_3 , C_1 - C_6 алкил с прямой или разветвленной цепью или C_1 - C_6 алкил с прямой или разветвленной цепью, замещенный одним или более из галогена, гидроксила, нитро, алкокси, трифторметила, сульфоната, фосфоната, фосфата, Ar^1 , $-COR_1$, $-COOR_1$, $-CONR_1R_2$, CN, $-NR_1$, $-NR_1R_2$, $-SR_1$, $-SO_2NHCN$ или N_3 ; и

h) Ar^1 обозначает моно-, би- или трициклическое, карбо- или гетероциклическое кольцо, где кольцо является незамещенным или замещено в 1-3 положениях галогеном, гидроксилом, нитро, трифторметилом, C_1 - C_6 алкилом или алкенилом с прямой или разветвленной цепью, C_1 - C_4 алкокси, C_1 - C_4 алкенилокси, фенокси, бензилокси, амино или их комбинацией; где размеры каждого кольца соответствуют 5-6 членам и где гетероциклическое кольцо содержит 1-6 гетероатомов, выбранных из группы, состоящей из O, N, S или их комбинации.

Далее, предпочтительными композициями формулы II или их фармацевтически приемлемыми солями являются композиции формулы IIa или их фармацевтически приемлемые соли, содержащие структуру



где а) Y обозначает Ar^1 ;

б) Z обозначает карбонил или гидроксил;

с) W обозначает $(CH_2)_n$, где $(n=0, 1 \text{ или } 2)$ и $R_3=H$; и

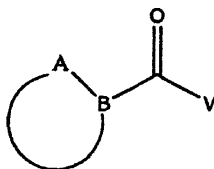
д) Ar^1 обозначает моно-, би- или трициклическое, карбо- или гетероциклическое кольцо, где кольцо является незамещенным или замещено в 1-3 положениях галогеном, гидроксилом, нитро, трифторметилом, C_1 - C_6 алкилом или алкенилом с прямой или разветвленной цепью, C_1 - C_4 алкокси, C_1 - C_4 алкенилокси, фенокси, бензилокси, амино или их комбинацией; где размеры каждого кольца соответствуют 5-6 членам и где гетероциклическое кольцо содержит 1-6 гетероатомов, выбранных из группы, состоящей из O, N, S или их комбинации.

Конкретные примеры формул II и IIa или их фармацевтически приемлемых солей включают, но не ограничиваются ими, соединения списка:

- а) 2-оксопропионовая кислота;
- б) 5-гуанидино-2-оксопентановая кислота;
- с) 2-оксосукциновая кислота;
- д) 2-оксоянтарная кислота;
- е) 3-меркапто-2-оксопропионовая кислота;
- ф) 3-(1H-имидазол-4-ил)-2-оксопропионовая кислота;
- г) 3-метил-2-оксопентановая кислота;
- h) оксоуксусная кислота;
- и) 4-карбамоил-2-оксомасляная кислота;
- j) 2-оксопентандиовая кислота;
- к) 4-метил-2-оксопентановая кислота;
- l) 6-амино-2-оксогексановая кислота;
- м) 4-метилсульфанил-2-оксомасляная кислота;
- н) 2-оксо-3-фенилпропионовая кислота;

- о) 3-гидрокси-2-оксопропионовая кислота;
- р) 3-гидрокси-2-оксомасляная кислота;
- q) 3-(1H-индол-3-ил)-2-оксопропионовая кислота;
- г) 3-(4-гидроксифенил)-2-оксопропионовая кислота;
- с) 3-метил-2-оксомасляная кислота;
- т) 2-гидроксимасляная кислота;
- у) 3-гидроксимасляная кислота и
- в) 3-оксоглутаровая кислота.

Композиции формулы III или их фармацевтически приемлемые соли представлены структурой, содержащей



где а) А и В, взятые вместе, образуют 5-8-членное насыщенное или частично ненасыщенное гетероциклическое кольцо, содержащее по меньшей мере один дополнительный гетероатом О, S, SO, SO₂, NH или NR₁ в любой химически стабильной степени окисления;

б) V обозначает О, OR₁, NR₂, NR₁R₂, CHR₁R₂, CH₂R₃, CHR₃R₄ или CH₂N₃;

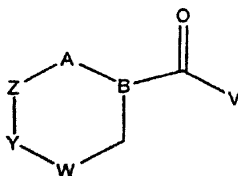
с) R₁ и R₂ независимо обозначают водород, C₁-C₆алкил с прямой или разветвленной цепью или C₁-C₆алкил с прямой или разветвленной цепью, замещенный одним или более из галогена, гидроксила, амина, карбокси, карбоксиамида, нитро, алкокси, трифторметила, серы, сульфоната, фосфоната или Ar¹;

д) R₃ и R₄ обозначают, каждый, галоген, C₁-C₆алкил с прямой или разветвленной цепью или C₁-C₆алкил с прямой или разветвленной цепью, замещенный одним или более из гидроксила, амина, карбокси, карбоксиамида, нитро, алкокси, трифторметила, серы, сульфоната, фосфоната, Ar¹, -OC(O)R₁, -COOR₁, -CONR₁R₂, CN, -NR₁, -NR₁R₂, -SR₁, -SO₂NHCN или N₃; и

е) Ar¹ обозначает моно-, би- или трициклическое, карбо- или гетероциклическое кольцо, где кольцо является незамещенным или замещено в 1-3 положениях галогеном, гидроксильной группой, нитро, трифторметилом, C₁-C₆алкилом или алкенилом с прямой или разветвленной цепью, C₁-C₄алкокси, C₁-C₄алкенилокси, феноксильной группой, бензилокси, амина или их комбинацией; где размеры каждого кольца соответствуют 5-6 членам; и где гетероциклическое кольцо содержит 1-6 гетероатомов, выбранных из группы, состоящей из О, N, S или их комбинации.

Конкретные примеры композиций формулы III включают, но не ограничиваются ими, цистатионинкетимин и циклотимин.

Далее, предпочтительными композициями формулы III или их фармацевтически приемлемыми солями являются композиции формулы IV или их фармацевтически приемлемые соли, представленные структурой, содержащей



где а) W-Y-Z-A-B включают шестичленное насыщенное или частично насыщенное карбоциклическое или гетероциклическое кольцо, где гетероциклическое кольцо содержит гетероатомы (гетероатом), выбранные из группы, состоящей из О, N, S и любой их комбинации;

б) В обозначает С, СН или N;

с) А, W, Y, Z обозначают, каждый независимо, CH₂, CHR₃, CR₃R₄, О, S, SO, SO₂, NH, NR₁, NR₁R₂ или C=O;

д) V обозначает О, OR₁, NR₂, NR₁R₂, CHR₁R₂, CH₂R₃, CHR₃R₃ или CH₂N₃;

е) R₁ и R₂ обозначают независимо водород, C₁-C₆алкил с прямой или разветвленной цепью или C₁-C₆алкил с прямой или разветвленной цепью, замещенный одним или более из галогена, гидроксила, амина, карбокси, карбоксиамида, нитрила, нитро, алкокси, трифторметила, серы, сульфоната, фосфоната, фосфата или Ar¹;

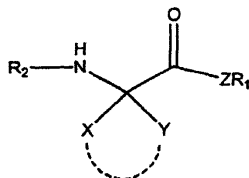
ф) R₃ и R₄ обозначают, каждый независимо, галоген, -OC(O)R₁, -COOR₁, -CONR₁R₂, CN, -NR₁, -NR₁R₂, -SR₁, -SO₂NHCN или N₃, C₁-C₆алкил с прямой или разветвленной цепью или C₁-C₆алкил с прямой или разветвленной цепью, замещенный одним или более из галогена, гидроксила, нитро, алкокси, трифторметила, сульфоната, фосфоната, Ar¹, -OC(O)R₁, -COOR₁, -CONR₁R₂, CN, -NR₁, -NR₁R₂, -SR₁, -SO₂NHCN или N₃; и

г) Ar¹ обозначает моно-, би- или трициклическое, карбо- или гетероциклическое кольцо, где кольцо является незамещенным или замещено в 1-3 положениях галогеном, гидроксильной группой, нитро, трифтормети-

лом, C_1 - C_6 алкилом или алкенилом с прямой или разветвленной цепью, C_1 - C_4 алкокси, C_1 - C_4 алкенилокси, фенокси, бензилокси, amino или их комбинацией; где размеры каждого кольца соответствуют 5-6 членам и где гетероциклическое кольцо содержит 1-6 гетероатомов, выбранных из группы, состоящей из O, N, S или их комбинации.

Конкретные примеры композиций формулы IV или их фармацевтически приемлемых солей включают, но не ограничиваются ими, аминоэтилцистеинкетимин (2H-1,4-тиазин-5,6-дигидро-3-карбоновую кислоту), тиоморфолин-2-карбоновую кислоту, лантионинкетимин и 1,4-тиоморфолин-3,5-дикарбоновую кислоту.

Композиции формулы V или их фармацевтически приемлемые соли представлены структурой, содержащей



где а) Z обозначает O или NH;

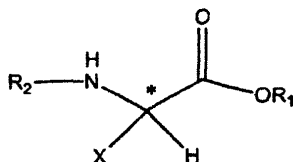
б) R_1 обозначает (C_1-C_6) алкил, Ar^1 или (C_1-C_4) алкоксикарбонилметил;

с) X, Y, каждый независимо, обозначают H, Ar^1 , (C_1-C_6) алкил (который может быть прерван или замещен гетероатомами, такими как N, P, O, S или Si, причем эти гетероатомы могут быть сами замещены один раз или несколько раз (C_1-C_3) алкилом), (C_2-C_6) алкенил, (C_1-C_6) галогеналкил или галоген; когда X и Y, каждый, обозначают углерод, они могут быть ковалентно соединены с образованием насыщенного или частично ненасыщенного карбоциклического соединения из 3-8 членов, состоящих независимо из C, N, O и S, где, кроме того, члены кольца могут быть сами незамещенными или замещены галогеном, гидроксильной группой, карбокси, нитро, трифторметилом, C_1 - C_6 алкилом или алкенилом с прямой или разветвленной цепью, C_1 - C_4 алкокси, C_1 - C_4 алкенилокси, фенокси, бензилокси, amino, замещенным алкилом, Ar^1 или их комбинацией;

д) R_2 обозначает H, алкил, Ar^1 или O-замещенный алкил; и

е) Ar^1 обозначает моно-, би- или трициклическое, карбо- или гетероциклическое кольцо, где кольцо является незамещенным или замещено в 1-3 положениях галогеном, гидроксильной группой, нитро, трифторметилом, C_1 - C_6 алкилом или алкенилом с прямой или разветвленной цепью, C_1 - C_4 алкокси, C_1 - C_4 алкенилокси, фенокси, бензилокси, amino или их комбинацией; где размеры каждого кольца соответствуют 3-7 членам и где гетероциклическое кольцо содержит 1-6 гетероатомов, выбранных из группы, состоящей из O, N, S или их комбинации.

Далее, предпочтительными композициями формулы V или их фармацевтически приемлемыми солями являются композиции формулы Va или их фармацевтически приемлемые соли, содержащие структуру



где а) * = асимметричный центр и

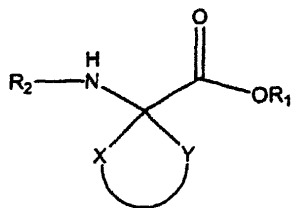
б) R_1 обозначает (C_1-C_6) алкил, Ar^1 , (C_1-C_4) алкоксикарбонилметил;

с) X обозначает H, (C_1-C_6) алкил (который может быть прерван или замещен гетероатомами, такими как N, P, O, S или Si, причем эти гетероатомы могут быть сами замещены (C_1-C_3) алкилом один раз или несколько раз), (C_2-C_6) алкенил, (C_1-C_6) галогеналкил, галоген или Ar^1 ;

д) R_2 обозначает H, алкил, Ar^1 или O-замещенный алкил;

е) Ar^1 обозначает моно-, би- или трициклическое, карбо- или гетероциклическое кольцо, где кольцо является незамещенным или замещено в 1-3 положениях галогеном, гидроксильной группой, нитро, трифторметилом, C_1 - C_6 алкилом или алкенилом с прямой или разветвленной цепью, C_1 - C_4 алкокси, C_1 - C_4 алкенилокси, фенокси, бензилокси, amino или их комбинацией; где размеры каждого кольца соответствуют 3-7 членам и где гетероциклическое кольцо содержит 1-6 гетероатомов, выбранных из группы, состоящей из O, N, S или их комбинации.

Далее, предпочтительными композициями формулы V или их фармацевтически приемлемыми солями являются композиции формулы Vb или их фармацевтически приемлемые соли, содержащие структуру



где а) X и Y, каждый, обозначают углерод;

б) X и Y соединены насыщенным или частично насыщенным кольцом из 3-8 атомов углерода, и такое кольцо само может быть замещено в 1-5 положениях галогеном, гидроксилом, карбокси, амино, нитро, циано, трифторметилом, C₁-C₆алкилом или алкенилом с прямой или разветвленной цепью, C₁-C₄алкокси, C₁-C₄алкенилокси или замещенными алкильными группами;

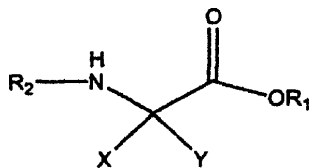
с) R₁ обозначает (C₁-C₆)алкил, Ar¹ или (C₁-C₄)алкоксикарбонилметил;

д) R₂ обозначает H, алкил, Ar¹ или O-замещенный алкил;

е) Ar¹ обозначает моно-, би- или трициклическое, карбо- или гетероциклическое кольцо, где кольцо является незамещенным или замещено в 1-3 положениях галогеном, гидроксилом, нитро, трифторметилом, C₁-C₆алкилом или алкенилом с прямой или разветвленной цепью, C₁-C₄алкокси, C₁-C₄алкенилокси, фенокси, бензилокси, amino или их комбинацией; где размеры каждого кольца соответствуют 3-7 членам; и где гетероциклическое кольцо содержит 1-6 гетероатомов, выбранных из группы, состоящей из O, N, S или их комбинации.

Дополнительные предпочтительные композиции формулы Vb включают кольца, соединяющие X и Y, которые содержат 3-6 членов.

Далее, предпочтительными композициями формулы V или их фармацевтически приемлемыми солями являются композиции формулы Vc или их фармацевтически приемлемые соли, содержащие структуру

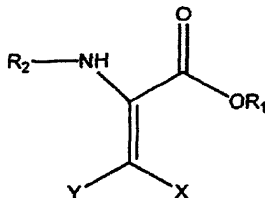


где а) X, Y независимо обозначают H, Ar¹, (C₁-C₆)алкил (который может быть прерван или замещен гетероатомами, такими как N, P, O, S или Si, причем эти гетероатомы могут быть сами замещены (C₁-C₃)алкилом один раз или несколько раз), (C₂-C₆)алкенил, (C₁-C₆)галогеналкил или галоген, например нафтил или фенил;

б) R₂ обозначает H, алкил, Ar¹ или O-замещенный алкил;

с) Ar¹ обозначает моно-, би- или трициклическое, карбо- или гетероциклическое кольцо, где кольцо является незамещенным или замещено в 1-3 положениях галогеном, гидроксилом, нитро, трифторметилом, C₁-C₆алкилом или алкенилом с прямой или разветвленной цепью, C₁-C₄алкокси, C₁-C₄алкенилокси, фенокси, бензилокси, amino или их комбинацией; где размеры каждого кольца соответствуют 3-7 членам и где гетероциклическое кольцо содержит 1-6 гетероатомов, выбранных из группы, состоящей из O, N, S или их комбинации.

Композиции формулы VI или их фармацевтически приемлемые соли представлены структурой, содержащей



где а) R₁ обозначает (C₁-C₆)алкил, Ar¹ или (C₁-C₄)алкоксикарбонилметил;

б) R₂ обозначает H, алкил, Ar¹ или O-замещенный алкил;

с) Y обозначает H, Ar¹, (C₁-C₆)алкил (который может быть прерван или замещен гетероатомами, такими как N, P, O, S или Si, причем эти гетероатомы могут быть сами замещены (C₁-C₃)алкилом один раз или несколько раз), (C₂-C₆)алкенил, (C₁-C₆)галогеналкил или галоген;

д) X обозначает алкил или фенил.

В дополнительных предпочтительных композициях формулы VI Y обозначает Ar¹. В других предпочтительных композициях формулы VI Y обозначает фенил, нафтил, 3-формилиндолил, имидазол или пиразол.

Дополнительные соединения данного изобретения включают, но не ограничиваются ими (необратимо действующие или суицидные ингибиторы) 2-оксопентиноат, дансилхлорид, дансилфторид, пропар-

гилглицин, N-ацетилпропаргилглицин, O-(2,4-динитрофенил)гидроксиламин, 1-хлор-2-нитроэтан, 1,2-циклогександион, аллилглицин, N-хлор-D-лейцин, фенилглиоксаль, этилбромпируват, метилбромпируват и бромпируват. Дополнительные соединения включают, но не ограничиваются ими, бис(гуанидгидразон) метилглиоксаль, гидразинкарбоксимидамид, пирувальдегид-бис(амидиногидразон), 3-(3-индоллилпропановую кислоту, 3-индолуксусную кислоту, индол-3-ацетон, индол-3-ацетамид, индол-3-ацетил-L-аспарагиновую кислоту, индол-3-ацетил-L-аланин, индол-3-ацетилглицин, индол-3-карбоновую кислоту, индол-3-пировиноградную кислоту, дансилглицин, аланитетразол, тетразол, рибофлавин-5'-пирофосфат, 5-гидрокси-2-гидроксиметил-4-пиранон, гидрохлорид гидроксиламина, тетрагидро-4-фенил-4Н-1,4-тиазин-1-оксид, фенотиазин, 3,4-дигидро-2Н-1,4-тиазин-3,5-дикарбоновую кислоту, нифуртимокс (1-((5-нитрофурфуриден)амино)-2-метилтетрагидро-1,4-тиазин-4,4-диоксид), 2-амино-2,4-пентадиеноат, 2-амино-4-кето-2-пентеноат, N-ацетил-D-лейцин, D-Leu (D-2-амино-4-метилпентановую кислоту), прогестерон (4-прегнен-3,20-дион), FAD (флавинадениндинуклеотид), 6-OH-FAD (флавинадениндинуклеотид), N-(1-карбоксизтил)-L-аланин, 3-аминоаспарагиновую кислоту, тиокарбамоилгидразид, 5-3-цистеинилдопамин, фосфатидилсерин, 4-гидрокси-2-меркапто-6-метилпиримидин, 4-амино-N-2-тиазолилбензолсульфонамид, тиоцианат, 2-меркапто-1-метилимидазол, винную кислоту, 2-амино-этантол, S-аденозилметионин и тиомочевину.

Соединения неограничительного списка антагонистов, приведенные здесь или в табл. 1, могут быть изменены или дериватизованы с использованием способов, известных в данной области, для получения одного или более из следующих соединений: а) пролекарства; б) соединения с более высокой ферментативной активностью, с) соединения с большей специфичностью в отношении DAO или DDO; d) соединения с меньшей токсичностью или е) соединения, не имеющие нежелательных побочных действий. Способы измерения активности DAO или DDO хорошо известны в данной области, и измерения активности могут выполняться с использованием способов, описанных здесь или описанных в цитируемых здесь ссылках. Все цитированные ниже ссылки для примеров антагонистов DAO или DDO, включены здесь в качестве ссылок в их полном виде.

Примеры антагонистов DAO или DDO:

- a) 2-оксопентиноат; (Biochemistry 1999 May 4; 38(18):5822-8);
- b) аминогуанидин; (J. Neurochem 1998 Mar; 70(3):1323-6);
- c) бензоат (бензойная кислота) и его соли (например, бензоат натрия); (Neurosci Lett 1996 Nov 8; 218(3):145-8);
- d) о-, м- и п-аминобензоат (J. Biochem. (Tokyo) 1976 Nov, 80(5): 1101-1108);
- e) бис(гуанилгидразон) метилглиоксаль (MGBG); бис(гуанилгидразон) фенилглиоксаль (PhGBG); бис(гуанилгидразон) глиоксаль (GBG); (Anticancer Drug Des 1996 Oct; 11(7):493-508);
- f) альфа-кетокислоты, которые являются аналогами аминокислот аланина, валина, лейцина, фенилаланина, фенилглицина, тирозина, триптофана; серина, аспартата и т.д. (например, пировиноградная кислота, альфа-кетоизовалериановая кислота, 4-метилтио-2-оксопентановая кислота, 4-метилтио-2-оксипентановая кислота, фенилпировиноградная кислота, индол-3-пировиноградная кислота, бензоилмуравьиная кислота, 4-гидроксифенилпировиноградная кислота и их соли и производные), индолпропионовая кислота, 3-индолуксусная кислота, салициловая кислота и их соли и производные (Enzyme Microb Technol 1996 Apr; 18 (5):379-82);
- g) дансилхлорид; (FEBS Lett 1995 Apr 24; 363(3):307-10);
- h) аланитетразол и бензоилтетразол; (Res Commun Chem Pathol Pharmacol 1994 Feb; 83(2):209-22);
- i) рибофлавин-5'-пирофосфат (RPP); (Anal Biochem 1992 May 1; 202(2):348-55);
- j) D-пропаргилглицин (D-PG); (J Biochem (Tokyo) 1991 Jan; 109(1):171-7);
- k) D,L-β-гидроксипентановая кислота; (J Histochem Cytochem 1991 Jan; 39(1):81-6);
- l) тригонеллин, т.е. N-метилникотинат; (J Biochem (Tokyo) 1990 May; 107(5):726-31);
- m) койевая кислота и ее соли (J Biol Chem 1989 Feb 15; 264(5):2509-17);
- n) O-(2,4-динитрофенил)гидроксиламин; (Biochemistry 1987 Mar 24; 26(6):1717-22);
- o) бензоат; (D'Silva, C., Williams, C.H., Jr., and Massey, V. (1986) Biochemistry 25, 5602-5608);
- p) метил-п-нитробензолсульфонат; (J Biol Chem 1984 May 10; 259(9):5585-90);
- q) аминоксипропионкетимин (2Н-1,4-тиазин-5,6-дигидро-3-карбоновая кислота); производные 1,4-тиазина, восстановленные формы кетимина (тиоморфолин-2-карбоновая кислота и тиоморфолин-2,6-дикарбоновая кислота); (Biochim Biophys Acta 1983 Oct 17; 748(1):40-7);
- r) продукт реакции между цистеамином и бромпируватом; (J Appl Biochem 1983 Aug-Oct; 5 (4-5):320-9);
- s) 1-хлор-1-нитроэтан; (J Biol Chem 1983 Jan 25; 258(2):1136-41);
- t) бензоат; антранилат; пиколонат; L-лейцин; (J Biol Chem 1982 Sep 10; 257(17):9958-62);
- u) фтординитробензол; (Nishino, T., Massey, V., and Williams, C.H., Jr. (1980) J Biol Chem 255, 3610-3616);
- v) 1,2-циклогександион; (Eur J Biochem 1981 Oct; 119(3):553-7);
- w) аллилглицин; 2-амино-2,4-пентадиеноат; 2-гидрокси-2,4-пентадиеноат; (Biochemistry 1978 Dec 26; 17(26):5620-6);

- х) 2-амино-4-кето-2-пентеноат; (Biochemistry 1978 Dec 26; 17(26):5613-9);
- у) D,L-2-гидроксибутират; (J Cell Biol 1978 Apr; 77(1):59-71);
- z) п-аминобензоат; (J Biochem (Tokyo) 1976 Nov; 80(5):1073-83);
- aa) N-хлор-D-лейцин; (J Biol Chem 1976 Oct 10; 251(19):6150-3);
- bb) D-пропаргилглицин; (Biochemistry 1976 Jul 13; 15(14):3070-6);
- cc) D-2-амино-4-пентеновая кислота (D-пропаргилглицин); (J Biochem (Tokyo) 1975 Jul; 78(1):57-63);
- dd) прогестерон (Biochem Biophys Acta 1978 Jan 12; 522 (1):43-8);
- ee) свободные жирные кислоты с длинной цепью, средней цепью и короткой цепью (Biochem Int 1990 Dec; 22(5):837-42);
- ff) 6-OH-FAD (Biochim Biophys Acta 1999 Apr 12; 1431(1):212-22);
- gg) фенилглиоксаль, L-тарtrat (Eur J Biochem 1992 Apr 1; 205(1):127-32);
- hh) циклотионин, TMDA, α - α' -иминодипропионовая кислота (Physiol Chem Phys Med NMR 1986; 18(1):71-4);
- ii) ингибиторы, описанные в J Histochem Cytochem 1990 Sep; 38(9):1377-81;
- jj) мезо-диаминоянтарная кислота (Eur J Biochem 1981 Jul; 117(3):635-8);
- kk) тиосемикарбазид, тиомочевина, метилтиоурацил, сульфатиазол, тиоцианат и метимазол (Endocrinol Exp 1976; 10(4):243-51);
- ll) дикарбоновые гидроксикислоты (Enzymologia 1967 Dec 31; 33(6):325-30);
- mm) яблочная и винная кислоты (Boll Soc Ital Biol Sper 1966 Oct 31; 42(20):1455-7).

Должно быть понятно, что антагонисты DAO и DDO данного изобретения включают перечисленные выше соединения и упоминаемые по всему описанию соединения, а также соли и производные этих соединений.

Способы скрининга соединений, модулирующих экспрессию и/или активность DAO или DDO

Способы, которые могут быть использованы для тестирования антагонистических соединений на их способность ингибировать или уменьшать активность полипептида DAO или DDO или ингибировать или уменьшать экспрессию продукта гена DAO или DDO (мРНК или полипептида), хорошо известны в данной области. Подходящие полипептиды DAO и DDO, применимые для способов скрининга, включают как рекомбинантные полипептиды DAO и DDO, так и полипептиды DAO и DDO, очищенные из ткани (например, из почек свиньи). Предпочтительными полипептидами DAO и DDO и полинуклеотидами, применимыми для получения указанных полипептидов, являются последовательности DAO и DDO человека фиг. 1 и 2. Предпочтительными антагонистами данного изобретения являются антагонисты полипептидов фиг. 1 и 2. Другие предпочтительные антагонисты данного изобретения ингибируют окислительное дезаминирование D-аминокислот. Другие предпочтительные антагонисты данного изобретения ингибируют окислительное дезаминирование D-серина или D-аспартата. Анализы, описанные здесь и известные в данной области для измерения ферментативной активности DAO и DDO, могут выполняться либо *in vitro*, либо *in vivo*.

Антагонисты данного изобретения включают природно встречающиеся и синтетические соединения и малые молекулы. Антагонисты данного изобретения могут либо блокировать связывание DAO или DDO с их кофактором, FAD или субстратом, либо блокировать ферментативную активность, например окислительное дезаминирование D-аминокислот. Может ли какой-либо антагонист-кандидат данного изобретения усиливать или ингибировать активность DAO или DDO, определяют с использованием хорошо известных в данной области способов для измерения активности DAO или DDO. Один способ скрининга включает контактирование пробы, содержащей полипептид DAO или DDO, с тест-соединением и анализ активности DAO или DDO в присутствии субстрата. Уровень активности DAO или DDO сравнивают с пробой, которая не содержит тест-соединения, в результате чего уменьшенный уровень активности DAO или DDO над стандартом свидетельствует о том, что соединение-кандидат является антагонистом DAO или DDO. Активность DAO или DDO может быть измерена в виде активности выделенного или очищенного фермента или в биологической пробе, содержащей клетки или ткань, экспрессирующие DAO или DDO.

Альтернативно, специалист в данной области может идентифицировать соединения, которые ингибируют экспрессию продукта гена DAO или DDO (мРНК или полипептида). Клетки, экспрессирующие DAO или DDO (например, клетки печени, почек или головного мозга), инкубируют в присутствии и в отсутствие тест-соединения. Измерением уровня экспрессии продукта гена DAO или DDO в присутствии и в отсутствие тест-соединения или уровня активности DAO или DDO в присутствии и в отсутствие тест-соединения, могут быть идентифицированы соединения, которые подавляют экспрессию продукта гена DAO или DDO. Альтернативно, конструкции, содержащие регуляторную последовательность DAO или DDO, функционально связанную с репортерным геном (например, люциферазой, хлорамфениколацетилтрансферазой, LacZ, зеленым флуоресцентным полипептидом, бета-галактозидазой и т.д.), могут быть введены в клетки, и может детектироваться действие тест-соединений на экспрессию репортерного гена. Клетки, пригодные для применения в данных анализах, включают, но не ограничиваются ими, клетки, имеющие то же самое происхождение, что и ткани и клеточные линии, о которых известно, что в них

экспрессируется этот полипептид (например, почек, печени и головного мозга). Количественное определение экспрессии полипептида DAO или DDO может выполняться либо на уровне мРНК (с использованием, например, нозерн-блотов, ОТ-ПЦР, предпочтительно количественной ОТ-ПЦР с праймерами и зондами, специфическими для представляющих интерес DAO или DDO), либо на уровне полипептидов (измерением ферментативной активности DAO или DDO или с использованием поликлональных или моноклональных антител в иммуноанализах, таких как анализы ELISA или RIA, вестерн-блоттинг, иммунохимические способы).

В других аспектах анализ является анализом на основе клеток, в котором клетку, которая экспрессирует белок DAO или DDO или его биологически активную часть, контактируют с тест-соединением и определяют способность тест-соединения ингибировать, активировать или увеличивать активность DAO или DDO. Определение способности тест-соединения ингибировать, активировать или увеличивать активность DAO или DDO может выполняться мониторингом биологической активности белка DAO или DDO или его биологически активной части. Предпочтительно мониторингу подвергают окисление аминокислот. Клетка может быть, например, клеткой, происходящей из млекопитающего, клеткой бактериального происхождения или дрожжевого происхождения. Например, в некоторых вариантах эта клетка может быть клеткой млекопитающего, бактериальной клеткой или клеткой дрожжей.

Тест-соединения данного изобретения могут быть получены с использованием любого из многочисленных подходов в способах с применением комбинаторных библиотек, известных в данной области, в том числе: биологических библиотек; пространственно адресуемых параллельных библиотек твердой фазы или фазы раствора; способов с использованием синтетических библиотек, требующих деконвуляции; способа с библиотекой по принципу "одна гранула-одно соединение" и способов синтетических библиотек, использующих отбор с применением аффинной хроматографии. Подход с использованием биологической библиотеки используют с пептидными библиотеками, тогда как остальные четыре подхода применимы к пептидным, непептидным олигомерным библиотекам или библиотекам малых молекул соединений (Lam K.S. (1997) *Anticancer Drug Des.* 12:145, описание которой включено здесь в виде полной ссылки).

Примеры способов синтеза молекулярных библиотек могут быть найдены в данной области, например, в: DeWitt et al. (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 90:6909; Erb et al. (1994) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91:11422; Zuckermann et al. (1994), *J. Med. Chem.* 37:2678; Cho et al. (1993) *Science* 261:1303; Carrell et al. (1994) *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 33:2059; Carrell et al. (1994) *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 33:2061; и в Gallop et al. (1994) *J. Med. Chem.* 37:1233, описания которых включены здесь в качестве ссылок в их полном виде.

Библиотеки соединений могут быть представлены в растворе (например, Houghten (1992) *Biotechniques* 13:412-421) или на гранулах (Lam (1991) *Nature* 354:82-84), чипах (Fodor (1993) *Nature* 364:555-556), бактериях (Ladner U.S. Pat. № 5223409), спорах (Ladner U.S. Pat. № '409), плазидах (Cull et al. (1992) *Proc Natl Acad Sci USA* 89:1865-1869) или на фаре (Scott and Smith (1990) *Science* 249:386-390); Devin (1990) *Science* 249:404-406); (Cwirla et al. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 87: 6378-6382); (Felicci (1991) *J. Mol. Biol.* 222:301-310); (Ladner выше), описания которых включены здесь в качестве полных ссылок.

Определение способности тест-соединения ингибировать активность DAO или DDO может также выполняться, например, связыванием белка DAO или DDO или его биологически активной части с радиоактивным изотопом или ферментативной меткой, так что связывание белка DAO или DDO или его биологически активной части с его родственной молекулой-мишенью можно определить детектированием меченого белка DAO или DDO или его меченой биологически активной части в комплексе. Предпочтительно «молекулой-мишенью» DAO или DDO является молекула, с которой белок DAO или DDO связывается или взаимодействует в природе, так что достигается опосредуемая DAO или DDO функция. В одном примере молекулой-мишенью DAO является полипептид g34872. Например, соединения (например, белок DAO или DDO или его биологически активная часть) могут быть помечены ^{125}I , ^{35}S , ^{14}C или ^3H , прямо или опосредованно, и этот радиоактивный изотоп может быть детектирован прямым счетом радиоактивного излучения или сцинтилляционным счетом. Альтернативно, соединения могут быть помечены ферментативно, например, пероксидазой хрена, щелочной фосфатазой или люциферазой, и ферментная метка может быть детектирована определением превращения подходящего субстрата в продукт. Меченую молекулу помещают в контакт с его родственной молекулой и измеряют степень образования комплекса. Например, степень образования комплекса может быть измерена по иммунопреципитации комплекса или проведением гель-электрофореза.

В объем данного изобретения включено также определение способности соединения (например, белка DAO или DDO или его биологически активной части) взаимодействовать с его родственной молекулой-мишенью без мечения любого из взаимодействующих веществ. Например, может использоваться микрофизиометр для детектирования взаимодействия соединения с его родственной молекулой-мишенью без мечения соединения или молекулы-мишени. McConnel, H.M. et al. (1992) *Science* 257:1906-1912, описание которой включено здесь в качестве ссылки в полном виде. Микрофизиометр, такой как цитосенсор, является аналитическим инструментом, который измеряет скорость, с которой клетка подкисляет ее окружение, с использованием свето-адресуемого потенциометрического датчика (LAPS). Из-

менения в скорости подкисления могут быть использованы в качестве индикатора взаимодействия между соединением и рецептором.

В предпочтительном варианте анализ включает контактирование клетки, которая экспрессирует белок DAO или DDO или его биологически активную часть или которая отвечает на белок DAO или DDO или его биологически активную часть, с молекулой-мишенью с образованием смеси для анализа, контактирование смеси для анализа с тест-соединением и определение способности тест-соединения ингибировать или увеличивать активность белка DAO или DDO или его биологически активной части, причем определение способности тест-соединения ингибировать или увеличивать активность белка DAO или DDO или его биологически активной части включает определение способности тест-соединения ингибировать или увеличивать биологическую активность экспрессирующей DAO или DDO клетки (например, определение способности тест-соединения ингибировать или увеличивать трансдукцию, взаимодействия белков, связывание субстрата).

В другом варианте анализ является анализом на основе клеток, включающим контактирование клетки, экспрессирующей молекулу-мишень DAO или DDO (т.е. молекулу, с которой взаимодействует DAO или DDO), с тест-соединением и определение способности этого тест-соединения модулировать (например, стимулировать или ингибировать соответственно) активность молекулы-мишени DAO или DDO. Определение способности тест-соединения модулировать активность молекулы-мишени DAO или DDO может выполняться, например, определением способности белка DAO или DDO связываться или взаимодействовать с молекулой-мишенью DAO или DDO.

Определение способности белка DAO или DDO связываться или взаимодействовать с молекулой-мишенью DAO или DDO может выполняться одним из способов, описанных выше, для определения прямого связывания. В предпочтительном варианте определение способности белка DAO или DDO связываться или взаимодействовать с молекулой-мишенью DAO или DDO может выполняться определением активности молекулы-мишени. Например, активность молекулы-мишени может быть определена контактированием молекулы-мишени с белком DAO или DDO или его фрагментом и измерением индукции клеточного вторичного мессенджера мишени (т.е. внутриклеточного Ca^{2+} , диацилглицерина, IP3 и т.д.), детектированием каталитической/ферментативной активности подходящего субстрата мишени, детектированием индукции репортерного гена (содержащего отвечающий на мишень регуляторный элемент, функционально связанный с нуклеиновой кислотой, кодирующей детектируемый маркер, например люциферазу) или детектированием регулируемой мишенью клеточной реакции, например трансдукции сигнала или белок-белкового взаимодействия.

В других предпочтительных вариантах анализ данного изобретения является бесклеточным анализом, в котором белок DAO или DDO или его биологически активную часть контактируют с тест-соединением и определяют способность тест-соединения связываться с белком DAO или DDO или его биологически активной частью. Связывание тест-соединения с этим белком может быть определено прямо или опосредованно, как описано выше. В предпочтительном варианте этот анализ включает контактирование белка DAO или DDO или его биологически активной части с известным соединением, которое связывает DAO или DDO (например, молекулой-мишенью DAO или DDO) с образованием смеси для анализа, контактирование этой смеси для анализа с тест-соединением и определение способности тест-соединения взаимодействовать с белком DAO или DDO, причем определение способности тест-соединения взаимодействовать с белком DAO или DDO включает определение способности тест-соединения преимущественно связываться с DAO или DDO или его биологически активной частью в сравнении с указанным известным соединением.

В другом варианте этот анализ является бесклеточным анализом, в котором белок DAO или DDO или его биологически активную часть контактируют с тест-соединением и определяют способность тест-соединения модулировать (например, ингибировать активность DAO или DDO или активировать активность DAO или DDO) активность этого белка или его биологически активной части. Определение способности тест-соединения модулировать активность белка может выполняться, например, определением способности этого белка связываться с молекулой-мишенью согласно одному из способов, описанных выше, для определения прямого связывания. Это может быть также выполнено, например, с использованием такого способа, как анализ биомолекулярного взаимодействия (BIA) в реальном времени. Sjlander, S. and Urbaniczky, C. (1991) *Anal. Chem.* 63:2338-2345 и Szabo et al. (1995) *Curr. Opin. Struct. Biol.* 5:699-705, описания которых включены здесь в качестве ссылок в их полном виде. В применении здесь «BIA» является способом для исследования биоспецифических взаимодействий в реальном времени без меченых взаимодействующих соединений (например, BIAcore). Изменения в оптическом феномене поверхностного плазменного резонанса (SPR) могут быть использованы в качестве указания на реакции в реальном времени между биологическими молекулами.

В альтернативном варианте определение способности тест-соединения модулировать активность белка DAO или DDO может выполняться определением способности белка DAO или DDO дополнительно модулировать активность стоящего ниже по ходу процесса эффектора молекулы-мишени DAO или DDO. Например, может быть определена активность эффекторной молекулы на подходящей мишени или может быть определено связывание этого эффектора с подходящей мишенью, как описано ранее.

Еще в одном варианте бесклеточный анализ включает контактирование белка DAO или DDO или его биологически активной части с известным соединением, которое связывает белок DAO или DDO, с образованием смеси для анализа, контактирование этой смеси для анализа с тест-соединением и определение способности тест-соединения взаимодействовать с белком DAO или DDO, причем определение способности тест-соединения взаимодействовать с белком DAO или DDO включает определение способности белка DAO или DDO преимущественно связываться с молекулой-мишенью DAO или DDO или модулировать активность молекулы-мишени DAO или DDO.

Бесклеточные анализы данного изобретения доступны для использования как растворимых, так и/или мембраносвязанных форм выделенных белков (например, белков DAO или DDO или их биологически активных частей или молекул, с которыми связываются мишени DAO или DDO). В случае бесклеточных анализов, в которых используют мембраносвязанную форму выделенного белка, может быть желательным использовать солибилизирующий агент, так что мембраносвязанная форма выделенного белка поддерживается в растворе. Примеры таких солибилизирующих агентов включают неионогенные поверхностно-активные вещества, такие как н-октилглюкозид, н-додецилглюкозид, н-додецилмальтозид, октаноил-N-метилглюкамид, деканоил-N-метилглюкамид, Тритон™ X-100, Тритон™ X-114, Тезит™, изотридециполи(простой эфир этиленгликоля)n, 3-(3-холамидопропил)диметиламмоний-1-пропансульфонат (CHAPS), 3-(3-холамидопропил)диметиламмоний-2-гидрокси-1-пропансульфонат (CHAPSO) или N-додецил-N,N-диметил-3-аммоний-1-пропансульфонат.

В более чем одном варианте приведенных выше способов анализа данного изобретения может быть желательной иммобилизация либо белка DAO или DDO, либо молекулы-мишени для облегчения отделения комплексных форм от некомплексных форм одного или обоих этих белков, а также для приспособления к автоматизации этого анализа. Связывание тест-соединения с белком DAO или DDO или взаимодействие белка DAO или DDO с молекулой-мишенью в присутствии и в отсутствие соединения-кандидата может выполняться в любом сосуде, пригодном для содержания этих реагирующих веществ. Примеры подобных сосудов включают микротитрационные планшеты, тест-пробирки и микроцентрифужные пробирки. В одном варианте может быть использован слитый белок, который присоединяет домен, позволяющий одному или обоим белкам быть связанными с матриксом. Например, слитые белки глутатион-S-трансфераза/DAO или DDO или слитые белки глутатион-3-трансфераза/мишень могут быть адсорбированы на гранулах из глутатионсефарозы (Sigma Chemical, St. Louis, MO) или на дериватизованных глутатионом микротитрационных планшетах, которые затем объединяют с тест-соединением, или тест-соединением и либо неадсорбированным белком-мишенью, либо белком DAO или DDO, и смесь инкубируют при условиях, способствующих образованию комплекса (например, при физиологических условиях в отношении соли и pH). После инкубации гранулы или микротитрационный планшет промывают для удаления любых несвязанных компонентов, матрикс иммобилизуют в случае гранул, комплекс определяют прямо или опосредованно, например, как описано выше. Альтернативно, комплексы могут быть диссоциированы из матрикса, и уровень связывания или активности DAO или DDO может быть определен с использованием стандартных способов.

Другие способы для иммобилизации белков на матриксах могут быть также использованы в анализах скрининга данного изобретения. Например, либо белок DAO или DDO, либо молекула-мишень DAO или DDO могут быть иммобилизованы с использованием конъюгации биотина и стрептавидина. Биотинилированные белок или молекула-мишень DAO или DDO могут быть получены из биотин-NHS (N-гидроксисукцинимид) с использованием способов, хорошо известных в данной области (например, с использованием набора для биотинилирования, Pierce Chemicals, Rockford, Ill.), и иммобилизованы в лунках покрытых стрептавидином 96-луночных планшетов (Pierce Chemical). Альтернативно, антитела, реактивные с белком DAO или DDO или молекулами-мишенями, но не влияющие на связывание белка DAO или DDO с их молекулой-мишенью, могут быть дериватизованы с лунками планшета, и несвязанные мишень или белок DAO или DDO улавливаются в этих лунках посредством конъюгации с антителами. Способы детектирования таких комплексов, кроме описанных выше для GST-иммобилизованных комплексов, включают иммунодетектирование комплексов с использованием антител, реактивных с белком DAO или DDO или молекулой-мишенью, а также с использованием связанных с ферментом анализов, которые основаны на детектировании ферментативной активности, связанной с белком DAO или DDO или молекулой-мишенью.

Еще в одном аспекте данного изобретения эти белки могут быть использованы в качестве «белков-приманок» в двухгибридном анализе или трехгибридном анализе (см., например, U.S. Pat. № 5283317; Zervos et al. (1993) Cell 72:223-232; Madura et al. (1993) J. Biol. Chem. 268:12046-12054; Bartel et al. (1993) Biotechniques 14:920-924; Iwabuchi et al. (1993) Oncogene 8:1693-1696; and Brent WO 94/10300, описания которых включены здесь в качестве ссылок в их полном виде) для идентификации других белков, которые связываются или взаимодействуют с белками DAO или DDO, и/или участвуют в активности белков DAO или DDO.

Двухгибридная система основана на модулярной природе большинства факторов транскрипции, которые состоят из разделяемых ДНК-связывающего домена и активационного домена. Вкратце, этот анализ использует две различные конструкции ДНК. В одной конструкции ген, который кодирует белок

DAO или DDO или его фрагмент, слит с геном, кодирующим ДНК-связывающий домен известного фактора транскрипции (например, GAL-4). В другой конструкции последовательность ДНК из библиотеки ДНК-последовательностей, которая кодирует неидентифицированный белок («жертва» или «проба»), слита с геном, который кодирует активационный домен известного фактора транскрипции. Если эти белки-«приманки» и белки-«жертвы» способны взаимодействовать *in vivo* с образованием DAO- или DDO-зависимого комплекса, ДНК-связывающий домен и активационный домен фактора транскрипции приводятся в тесную близость. Эта близость обеспечивает возможность транскрипции репортерного гена (например, LacZ), который функционально связан с регуляторным сайтом транскрипции, чувствительным к этому фактору транскрипции. Экспрессия репортерного гена может детектироваться, и колонии клеток, содержащие функциональный фактор транскрипции, могут быть выделены и использованы для получения клонированного гена, который кодирует белок, взаимодействующий с белком DAO или DDO.

Данное изобретение относится далее к новым агентам, идентифицируемым вышеописанными анализами скрининга, и способам получения таких агентов с использованием этих анализов. Таким образом, в одном варианте данное изобретение включает соединение или агент, получаемые при помощи способа, включающего стадии любого из вышеупомянутых анализов скрининга (например, анализов на основе клеток или бесклеточных анализов). Например, в одном варианте данное изобретение включает соединение или агент, получаемые при помощи способа, включающего контактирование клетки, которая экспрессирует молекулу-мишень DAO или DDO, с тест-соединением, и определение способности этого тест-соединения связываться с молекулой-мишенью DAO или DDO или модулировать активность молекулы-мишени DAO или DDO. В другом варианте данное изобретение включает соединение или агент, получаемые при помощи способа, включающего контактирование клетки, которая экспрессирует молекулу-мишень DAO или DDO, с белком DAO или DDO или его биологически активной частью с образованием смеси для анализа, контактирование этой смеси для анализа с тест-соединением и определение способности этого тест-соединения взаимодействовать с молекулой-мишенью DAO или DDO или модулировать активность молекулы-мишени DAO или DDO. В другом варианте данное изобретение включает соединение или агент, получаемые при помощи способа, включающего контактирование белка DAO или DDO или его биологически активной части с тест-соединением и определение способности тест-соединения связываться с белком DAO или DDO или его биологически активной частью или ингибировать активность белка DAO или DDO или его биологически активной части. Еще в одном варианте данное изобретение включает соединение или агент, получаемые при помощи способа, включающего контактирование белка DAO или DDO или его биологически активной части с известным соединением, которое связывает белок DAO или DDO, с образованием смеси для анализа, контактирование этой смеси для анализа с тест-соединением и определение способности тест-соединения взаимодействовать с белком DAO или DDO или модулировать активность белка DAO или DDO.

Соединения-антагонисты, которые ингибируют активность DAO или DDO или ингибируют экспрессию продукта гена DAO или DDO, могут быть также идентифицированы с использованием скринингов *in vivo*. В этих анализах тест-соединение вводят (например, IV, IP, IM, перорально или другим способом) животному, например, в различных уровнях доз. Действие этого тест-соединения на активность DAO или DDO или экспрессию продукта гена определяют сравнением уровней активности DAO или DDO или экспрессии продукта гена, соответственно, в тканях тест-животных и контрольных животных, которые экспрессируют DAO или DDO. Подходящие тест-животные включают, но не ограничиваются ими, грызунов (например, мышей и крыс) и приматов. Гуманизированные животные, не являющиеся человеком, такие как гуманизированные мыши, могут быть также использованы в качестве тест-животных, т.е. животные, в которых эндогенный полипептид удаляют (нокаутом гена) и добавляют обратно гомологичный полипептид человека стандартными трансгенными подходами. Такие животные экспрессируют только человеческую форму полипептида.

Анализы *in vivo* включают также модели животных с нарушениями ЦНС. Эти модели включают, но не ограничиваются ими, поведение обусловленного избегания в модели крыс; модель постукивания лапкой песчанок; модель рвоты хорьков; индуцированную разлучением модель с применением голоса; оценку поведенческой активности мышей и крыс в мониторах для всестороннего цифрового сканирования активности животных; блокаду стимулируемой амфетамином локомоции в модели крыс; ингибирование предварительным импульсом (PPI) акустического испуга в модели крыс; модель ингибирования индуцированного апоморфином поведения вскарабкивания и модель DOI-индуцированных судорожных подергиваний головы и почесываний, описанные здесь и известные в данной области.

Другие антагонисты данного изобретения включают антисмысловые средства тройной спирали для ингибирования экспрессии продукта гена DAO или DDO. В антисмысловых подходах последовательности нуклеиновых кислот, комплементарные мРНК или геномной последовательности DAO или DDO, гибридизуют внутриклеточно с мРНК или геномной ДНК DAO или DDO, блокируя тем самым экспрессию полипептида DAO или DDO, кодируемого этой мРНК. Антисмысловые молекулы нуклеиновых кислот для применения в терапии DAO или DDO могут быть последовательностями ДНК или РНК. Предпочтительные способы, использующие антисмысловой полинуклеотид в соответствии с данным изобретением, описаны в работе Sczakiel et al. (1995), описание которой включено здесь в качестве ссылки в

полном виде. Другими предпочтительными антисмысловыми полинуклеотидами согласно данному изобретению являются последовательности, комплементарные либо последовательности мРНК DAO или DDO, содержащей кодон инициации трансляции ATG, либо последовательности DAO или DDO.

Предпочтительно антисмысловые полинуклеотиды содержат последовательности, комплементарные кодону инициации трансляции (ATG) DAO или DDO или геномной ДНК, содержащей донорный и акцепторный сайты сплайсинга. Предпочтительно также антисмысловые полинуклеотиды данного изобретения имеют 3'-сигнал полиаденилирования, который был заменен саморасщепляющей рибозимной последовательностью, так что транскрипты РНК-полимеразы II продуцируются без поли(А) на их 3'-концах, причем эти антисмысловые полинуклеотиды неспособны экспортироваться из ядра, как описано в работе Liu et al. (1994), описание которой включено здесь в качестве ссылки в полном виде. Антисмысловые полинуклеотиды DAO или DDO могут содержать также, в рибозимной кассете, гистоновую структуру стебель-петля для стабилизации отщепляемых транскриптов против 3'-5'-экзонуклеотической деградации, такую как структура, описанная в работе Eckner et al. (1991), описание которой включено здесь в качестве ссылки в полном виде.

Антисмысловые нуклеиновые кислоты должны иметь длину и температуру плавления, достаточные для возможности образования внутриклеточного дуплекса, имеющего достаточную стабильность для ингибирования экспрессии мРНК DAO или DDO в этом дуплексе.

Стратегии для конструирования антисмысловых нуклеиновых кислот, пригодных для применения в терапии DAO или DDO, описаны в работах Green et al. (1986) и Izant and Weintraub (1984), описания которых включены здесь в качестве ссылки в полном виде.

В некоторых стратегиях антисмысловые молекулы получают обращением ориентации кодирующего участка DAO или DDO относительно промотора, так чтобы транскрибировать противоположную цепь относительно цепи, которая в норме транскрибируется в клетке. Другой подход включает транскрипцию антисмысловых молекул нуклеиновых кислот DAO или DDO *in vivo* функциональным связыванием ДНК, содержащей антисмысловую последовательность, с промотором в подходящем экспрессирующем векторе.

Альтернативно олигонуклеотиды, которые являются комплементарными цепи, обычно транскрибируемой в клетке, могут быть синтезированы *in vitro*. Таким образом, антисмысловые нуклеиновые кислоты являются комплементарными соответствующей мРНК и способны гибридизоваться с мРНК с образованием дуплекса. Антисмысловые последовательности могут также содержать модифицированные сахар-фосфатные скелеты для увеличения стабильности и придания меньшей чувствительности к активности РНКаз. Примеры модификаций, пригодных для применения в антисмысловых стратегиях, включают 2'-О-метил-РНК-олигонуклеотиды и полипептиднуклеиновые кислоты (ПНК). Дополнительные примеры описаны в работе Rossi et al. (1991), описание которой включено здесь в качестве ссылки в полном виде.

Могут использоваться разнообразные типы антисмысловых олигонуклеотидов, комплементарных последовательности кДНК или геномной ДНК DAO или DDO. Например, могут использоваться стабильные и полустабильные антисмысловые олигонуклеотиды, описанные в международной заявке № PCT WO 94/23026, включенной здесь в качестве ссылки. В этих молекулах 3'-конец или как 3'-, так и 5'-конец соединены внутримолекулярной водородной связью между комплементарными парами оснований. Эти молекулы в лучшей степени способны переносить воздействия экзонуклеаз и проявляют увеличенную стабильность в сравнении с обычными антисмысловыми олигонуклеотидами.

Еще в одном способе использования антисмысловой технологии для ингибирования экспрессии полипептида DAO или DDO используют ковалентно-сшитые антисмысловые олигонуклеотиды, описанные в международной заявке № PCT WO 96/31523, включенной здесь в качестве ссылки. Эти двухцепочечные и одноцепочечные олигонуклеотиды содержат одну или более, соответственно меж- или интра-олигонуклеотидных поперечных связей, где эта связь состоит из амидной связи между первичной аминогруппой одной цепи и карбоксильной группой другой цепи или той же самой цепи соответственно, причем первичная аминогруппа является непосредственно замещаемой в положении 2' моносахаридного кольца нуклеотида цепи, а карбоксильная группа находится на алифатической спейсерной группе, замещаемой на нуклеотиде или аналоге нуклеотида другой цепи или той же самой цепи соответственно.

Могут быть также использованы антисмысловые олигодезоксинуклеотиды и олигонуклеотиды, описанные в международной заявке № WO 92/18522, включенной здесь в качестве ссылки. Эти молекулы являются стабильными к деградации и содержат по меньшей мере одну регулируемую транскрипцию последовательности узнавания, которая связывается с контрольными полипептидами, и являются эффективными в качестве ловушек для них. Эти молекулы могут содержать структуры «шпильки», структуры «гантели», структуры «модифицированной гантели», «сшитые» структуры-ловушки и структуры «петли».

Далее, могут быть использованы циклические двухцепочечные олигонуклеотиды, описанные в европейской патентной заявке № 0572287 A2, включенной здесь в качестве ссылки. Эти лигированные олигонуклеотидные «гантели» содержат сайт связывания фактора транскрипции и ингибируют экспрессию DAO или DDO под контролем этого фактора транскрипции секвестрацией этого фактора.

Альтернативой является также применение замкнутых антисмысловых олигонуклеотидов, описанных в международной заявке № WO 92/19732, включенной здесь в качестве ссылки. Поскольку эти молекулы не имеют свободных концов, они являются более устойчивыми к деградации экзонуклеазами, чем обычные олигонуклеотиды. Эти олигонуклеотиды могут быть многофункциональными, взаимодействуя с несколькими участками, которые не являются смежными с мРНК-мишенью.

Подходящий уровень антисмысловых нуклеиновых кислот, необходимых для ингибирования экспрессии DAO или DDO, может быть определен с использованием анализа экспрессии *in vitro*. Антисмысловая молекула может быть введена в клетки диффузией, инъекцией, инфицированием или трансфекцией с использованием известных в данной области процедур. Например, антисмысловые нуклеиновые кислоты могут быть введены в тело в виде свободного или "голого" олигонуклеотида, олигонуклеотида, инкапсулированного в липиде, олигонуклеотидной последовательности, инкапсулированной вирусным полипептидом, или в виде олигонуклеотида, функционально связанного с промотором, содержащимся в экспрессирующем векторе. Экспрессирующий вектор может быть любым из множества экспрессирующих векторов, известных в данной области, в том числе ретровирусных или вирусных векторов, векторов, способных к внехромосомной репликации или интегрирующихся векторов. Эти векторы могут быть ДНК- или РНК-векторами.

Антисмысловые молекулы вводят на образцы клеток в ряде различных концентраций предпочтительно между 1×10^{-10} - 1×10^{-4} М. После идентификации минимальной концентрации, которая может адекватно регулировать экспрессию DAO или DDO, эту оптимизированную дозу переводят в дозу, пригодную для применения *in vivo*. Например, ингибирующая концентрация в культуре 1×10^{-7} М переводится в дозы приблизительно 0,6 мг/кг веса тела. Уровни олигонуклеотида, приближающиеся к 100 мг/кг веса тела или более высокие, могут быть возможными после тестирования токсичности этого олигонуклеотида в лабораторных животных. Предлагается также удаление клеток из позвоночного животного, обработка их антисмысловым олигонуклеотидом и повторное введение в позвоночное животное.

В предпочтительном приложении данного изобретения полипептид, кодируемый DAO или DDO, сначала идентифицируют или сначала измеряют его ферментативную активность, так что эффективность антисмыслового ингибирования может быть подвергнута мониторингу с использованием способов, которые включают, но не ограничиваются ими, тесты с использованием антител, такие как RIA и ELISA, функциональные анализы или радиоактивное мечение и анализы для измерения активности DAO или DDO.

Альтернатива антисмысловой технологии, которая используется в соответствии с данным изобретением для ингибирования экспрессии продукта гена DAO или DDO, включает применение рибозимов, которые будут связываться с последовательностью-мишенью DAO или DDO через их комплементарный полинуклеотидный хвост и которые будут расщеплять соответствующую РНК DAO или DDO гидролизом сайта-мишени рибозима (а именно, рибозимов «в виде головки молотка»). Вкратце, упрощенный цикл рибозима в виде головки молотка включает (1) последовательность-специфическое связывание с РНК-мишенью DAO или DDO через комплементарные антисмысловые последовательности; (2) сайт-специфический гидролиз расщепляемого мотива цепи-мишени DAO или DDO; и (3) высвобождение продуктов расщепления, которое вызывает появление другого каталитического цикла. Конструирование и получение рибозимов в виде головки молотка хорошо известно в данной области и описано более полно в Haseloff and Gerlach, *Nature* 20334:585-591 (1988). Действительно, выгодным является применение длинноцепочечного антисмыслового полинуклеотида (длиной по меньшей мере 30 оснований) или рибозимов с длинными антисмысловыми плечами. Предпочтительной системой доставки антисмыслового рибозима является ковалентное связывание этих антисмысловых рибозимов с липофильными группами или использование липосом в качестве удобного вектора. Предпочтительные антисмысловые рибозимы в соответствии с данным изобретением получают, как описано Rossi et al. (1991) и Sczakiel et al. (1995), причем конкретные процедуры, на которые даются ссылки в указанных статьях, включены здесь в качестве ссылки.

Геномная ДНК DAO или DDO может быть также использована для ингибирования экспрессии DAO или DDO на основе внутриклеточного образования тройной спирали. Олигонуклеотиды с тройной спиралью применяют для ингибирования транскрипции из генома. Они особенно применимы для исследования изменений активности DAO или DDO в клетках. кДНК или геномная ДНК или фрагменты этих последовательностей могут быть использованы для ингибирования экспрессии DAO или DDO в индивидуумах, имеющих нарушение ЦНС, ассоциированное с экспрессией конкретных DAO или DDO. Подобным образом, часть геномной ДНК DAO или DDO может быть использована для исследования эффекта ингибирования транскрипции DAO или DDO в клетке. Традиционно, последовательности гомопуринов считаются наиболее применимыми для стратегий с тройной спиралью. Однако последовательности гомопиримидинов могут быть также использованы для ингибирования экспрессии DAO или DDO. Такие гомопиримидиновые олигонуклеотиды связываются с большой бороздкой в последовательностях гомопуринов:гомопиримидинов.

Для проведения стратегий терапии DAO или DDO с использованием подхода с тройной спиралью последовательности геномной ДНК DAO или DDO сначала сканируют для идентификации 10-20-мерных гомопиримидиновых или гомопуриновых участков, которые могли бы быть использованы в стратегиях тройной спирали для ингибирования экспрессии DAO или DDO. После идентификации гомопиримидиновых или гомопуриновых участков-кандидатов их эффективность в ингибировании экспрессии DAO или DDO оценивают введением варьирующихся количеств олигонуклеотидов, содержащих эти кандидатные последовательности, в клетки культуры ткани, которые экспрессируют DAO или DDO. Обработанные клетки подвергают мониторингу на измененную ферментативную активность DAO или DDO или уменьшенную экспрессию DAO или DDO, как описано выше.

Олигонуклеотиды, которые являются эффективными в ингибировании экспрессии DAO или DDO в клетках культуры ткани, могут быть затем введены *in vivo* с использованием способов и в дозе, рассчитанной на основе результатов *in vitro*, описанных для антисмысловых полинуклеотидов.

В некоторых вариантах природные (бета) аномеры олигонуклеотидных звеньев могут быть заменены альфа-аномерами для придания олигонуклеотиду большей устойчивости к нуклеазам. Далее, интеркалирующий агент, например бромид этидия или т.п., может быть присоединен к 3'-концу альфа-олигонуклеотида для стабилизации тройной спирали. В отношении информации относительно олигонуклеотидов, пригодных для образования тройной спирали, см. статью Griffin et al. (Science 245:967-71, 1989), включенную здесь в качестве ссылки.

Фармацевтически и физиологически приемлемые композиции и их введение

Соединения и композиции для применения в данном изобретении могут быть получены с использованием легкодоступных исходных материалов и применением обычных синтетических методологий, хорошо известных специалистам в данной области. Альтернативно, соединения, применимые в практике данного изобретения, могут быть приобретены из коммерческих источников, таких как Sigma Chemical Company (St. Louis, MO).

Относительная активность, эффективность и специфичность антагониста DAO или DDO может быть определена при помощи фармакологического исследования на животных в соответствии со способом Nyberg et al. [Psychopharmacology 119, 345-348 (1995)], описанным здесь, или известным в данной области способом. Этот тест обеспечивает приближенную оценку относительной активности, эффективности и посредством измерения специфичности приближенную оценку терапевтического индекса. Другие исследования на животных, которые могут быть использованы, включают, но не ограничиваются ими, исследования, включающие обусловленное избегание, индуцированное апоморфином вскарабкивание, блокаду индуцированного 5-гидрокситриптофаном подергивания головы и другие модели животных, описанные здесь или известные в данной области. Хотя дифференцированный метаболизм среди популяций пациентов может быть определен с использованием клинического исследования на людях, менее дорогостоящие и менее трудоемкие заменяющие способы обеспечены способами Kerr et al. [Biochem. Pharmacol. 47, 1969-1979 (1994)] и Karam et al. [Drug Metab. Dispos. 24, 1081-1087 (1996)]. Подобным образом, потенциал в отношении межлекарственных взаимодействий может быть оценен клинически в соответствии со способами Leach et al. [Epilepsia 37, 1100-1106 (1996)] или *in vitro* в соответствии со способами Kerr et al. [выше] и Turner and Renton [Can. J. Physiol. Pharmacol. 67, 582-586 (1989)]. Кроме того, относительная активность, эффективность и специфичность антагониста DAO или DDO может быть испытана с использованием различных анализов *in vitro*.

Эффективная доза может варьироваться в зависимости от таких факторов, как состояние пациента, тяжесть симптомов нарушения и способ введения фармацевтической композиции. Для пациентов-людей эффективная доза типичных соединений обычно требует введения этих соединений в количестве по меньшей мере приблизительно 1, часто по меньшей мере приблизительно 10 и часто по меньшей мере приблизительно 25 мг в сутки для одного пациента. Для пациентов-людей эффективная доза типичных соединений требует введения соединения в количестве, которое обычно не превышает приблизительно 500, часто не превышает приблизительно 400 и часто не превышает приблизительно 300 мг в сутки на одного пациента. Кроме того, введение этой эффективной дозы является таким, что концентрация соединения в плазме пациента обычно не превышает 500 нг/мл и часто не превышает 100 нг/мл.

Соединения и композиции данного изобретения могут вводиться пациенту в уровнях доз в диапазоне приблизительно 0,1 - 1000 мг в день. Для обычного взрослого человека, имеющего вес тела приблизительно 70 кг, приближенно определено, что достаточной является доза в диапазоне приблизительно 0,01-100 мг на вес тела в день. Однако конкретная используемая доза может варьироваться. Например, доза может зависеть от ряда факторов, в том числе от потребностей пациента, тяжести подлежащего лечению состояния и фармакологической активности используемого соединения. Определение оптимальных доз для конкретного пациента хорошо известно специалистам в данной области. Количество активного ингредиента, которое может комбинироваться с веществами-носителями для получения единой дозированной формы, будет меняться в зависимости от проходящего лечения хозяина и конкретного способа введения. Однако должно быть понятно, что конкретный уровень доз для каждого конкретного пациента будет зависеть от множества факторов, в том числе от активности конкретного используемого соединения, возраста, веса тела, общего здоровья, пола, диеты, времени введения, способа введения и скорости

экскреции, комбинации лекарственных средств и тяжести конкретного заболевания, в отношении которого проводится терапия.

В некоторых вариантах в практике данного изобретения могут использоваться различные комбинации антагонистов DAO или DDO. Так, композиции, содержащие более одного антагониста DAO, могут быть использованы в терапевтических методологиях в соответствии с данным изобретением. Альтернативно, композиции, содержащие более одного антагониста DDO, могут быть использованы в описанных методологиях. Еще в одном варианте в методологиях лечения, описанных здесь, могут быть использованы по меньшей мере один антагонист DAO и по меньшей мере один антагонист DDO.

Предпочтительные соединения, применимые в соответствии со способом данного изобретения, способны проходить через гематоэнцефалический барьер пациента. В результате этого, такие соединения способны входить в центральную нервную систему пациента. Величины $\log P$ типичных соединений, применимых в проведении данного изобретения, обычно больше 0, часто больше чем приблизительно 1, и часто больше чем приблизительно 1,5. Величины $\log P$ таких типичных соединений обычно меньше приблизительно 4, часто меньше чем приблизительно 3,5 и часто меньше чем приблизительно 3. Величины $\log P$ обеспечивают меру способности соединения проходить через диффузионный барьер, такой как биологическая мембрана. См., Hansch et al., J. Med. Chem., Vol. 11, p. 1 (1968). Альтернативно, композиции данного изобретения могут проходить гематоэнцефалический барьер с помощью композиций и способов, известных в данной области для прохода гематоэнцефалического барьера (см., например, патенты США с номерами 5686416; 5994392, включенные здесь в качестве ссылки в полном виде), или могут инъекцироваться непосредственно в головной мозг. Подходящие зоны для инъекции включают кору головного мозга, мозжечок, средний мозг, ствол мозга, гипоталамус, спинной мозг и желудочковую ткань и зоны ПНС, в том числе сонный (каротидный) гломус и мозговое вещество надпочечников. Композиции могут вводиться в виде болюса или посредством применения других способов, таких как осмотический насос.

Соединения данного изобретения могут вводиться пациенту отдельно или в виде части композиции, которая содержит другие соединения, такие как эксципиенты, разбавители и носители, все из которых хорошо известны в данной области. Композиции могут вводиться людям и животным перорально, ректально, парентерально (внутривенно, внутримышечно или подкожно), интрацистернально, интравагинально, внутривентриально, внутривентриально, местно (порошки, мази или капли) или в виде буккального или назального спрея, или ингаляцией.

Композиции, пригодные для парентеральной инъекции, могут содержать физиологически приемлемые водные или неводные растворы, дисперсии, суспензии или эмульсии и стерильные порошки для превращения в стерильные растворы для инъекций или дисперсии. Примеры подходящих водных и неводных носителей, разбавителей, растворителей или носителей включают воду, этанол, полиолы (пропиленгликоль, полиэтиленгликоль, глицерин и т.п.), их подходящие смеси, растительные масла (такие как оливковое масло) и инъекционные органические эфиры, такие как этилолеат. Должная текучесть может поддерживаться, например, применением оболочек, такой как лецитин, посредством поддержания требуемого размера частиц в случае дисперсий и применением поверхностно-активных веществ.

Эти композиции могут также содержать адъюванты, такие как консервирующие, увлажняющие, эмульгирующие и улучшающие распределение агенты. Предупреждение действия микроорганизмов может обеспечиваться различными антибактериальными и противогрибковыми агентами, например, парабенами, хлорбутанолом, фенолом, сорбиновой кислотой и т.п. Может быть также желательным включение изотонических агентов, например, сахаров, хлорида натрия и т.п. Пролонгированная абсорбция инъекционной фармацевтической формы может быть обеспечена использованием агентов, задерживающих абсорбцию, например моностеарата алюминия и желатина.

Твердые дозированные формы для перорального введения включают капсулы, таблетки, пилюли, порошки и гранулы. В таких твердых дозированных формах активное соединение смешивают по меньшей мере с одним из общепринятых инертных эксципиентов (или носителей), таких как цитрат натрия или дикальцийфосфат, или

- (a) наполнителями или разбавителями, например крахмалами, лактозой, сахарозой, глюкозой, маннитом и кремниевой кислотой;
- (b) связывающими веществами, например карбоксиметилцеллюлозой, альгинатами, желатином, поливинилпирролидоном, сахарозой и аравийской камедью;
- (c) влагоудерживающими агентами, например глицерином;
- (d) дезинтегрирующими агентами, например агар-агаром, карбонатом кальция, картофельным крахмалом или крахмалом тапиоки (маниока), альгиновой кислотой, некоторыми комплексными силикатами и карбонатом натрия;
- (e) замедлителями растворения, например парафином;
- (f) ускорителями абсорбции, например соединениями четвертичного аммония;
- (g) увлажняющими агентами, например цетиловым спиртом и моностеаратом глицерина;
- (h) адсорбентами, например каолином и бентонитом; и

(i) смазывающими агентами, например тальком, стеаратом кальция, стеаратом магния, твердыми полиэтиленгликолями, лаурилсульфатом натрия или их смесями. В случае капсул, таблеток и пилюль эти дозированные формы могут также содержать буферные агенты.

Твердые композиции подобного типа могут быть также использованы в качестве наполнителей в мягких и твердых заполняемых желатиновых капсулах с использованием таких эксципиентов, как лактоза или молочный сахар, а также высокомолекулярных полиэтиленгликолей и т.п. Закрытые дозированные формы, такие как таблетки, драже, капсулы, пилюли и гранулы, могут быть приготовлены с покрытиями и оболочками, такими как энтеросолубильные покрытия и другие хорошо известные в данной области покрытия. Они могут содержать опалесцирующие (замутняющие) агенты и могут быть также такими композициями, которые высвобождают активное соединение или соединения в определенной части пищеварительного тракта замедленным образом.

Примерами заливочных композиций, которые могут быть использованы, являются полимерные вещества и воски. Активные соединения могут быть также в микроинкапсулированной форме, если это необходимо, с одним или более вышеупомянутыми эксципиентами.

Жидкие дозированные формы для перорального введения включают фармацевтически приемлемые эмульсии, растворы, суспензии, сиропы и эликсиры. Кроме активных соединений, жидкие дозированные формы могут содержать инертные разбавители, обычно используемые в данной области, такие как вода или другие растворители, солюбилизующие агенты и эмульгаторы, такие как, например, этиловый спирт, изопропиловый спирт, этилкарбонат, этилацетат, бензиловый спирт, бензилбензоат, пропиленгликоль, 1,3-бутиленгликоль, диметилформамид, масла, в частности, хлопковое масло, арахисовое масло, масло зародышей кукурузы, оливковое масло, касторовое масло и кунжутное масло, глицерин, тетрагидрофуруриловый спирт, полиэтиленгликоли и эфиры жирных кислот сорбитана или смеси этих веществ, и т.п. Кроме таких инертных разбавителей, эта композиция может также включать адъюванты, такие как увлажняющие агенты, эмульгирующие и суспендирующие агенты, подслащивающие и ароматизирующие агенты.

Суспензии, кроме активных соединений, могут содержать суспендирующие агенты, такие как, например, этоксилированные изостеариловые спирты, сложные эфиры полиоксиэтиленсорбитола и сорбитана, микрокристаллическая целлюлоза, метагидроксид алюминия, бентонит, агар-агар и трагакант или смеси этих веществ и т.п.

Композиции для ректальных введений являются предпочтительно суппозиториями, которые могут быть приготовлены смешиванием соединений данного изобретения с подходящими нераздражающими эксципиентами или носителями, такими как масло какао, полиэтиленгликоль или воск для суппозитория, которые являются твердыми при обычных температурах, но жидкими при температуре тела, и, следовательно, разлагаются в прямой кишке или вагинальной полости и высвобождают активный компонент.

Дозированные формы для локального (местного) введения соединения данного изобретения включают мази, порошки, спреи и ингаляционные формы. Активный компонент смешивают в стерильных условиях с физиологически приемлемым носителем и любыми консервантом, буферами или пропеллентами по мере необходимости. Глазные формы, мази для глаз, порошки и растворы также рассматриваются как входящие в объем данного изобретения.

Кроме того, соединения данного изобретения могут существовать в несольватированной, а также сольватированной формах с фармацевтически приемлемыми растворителями, такими как вода, этанол и т.п. Обычно сольватированные формы считаются эквивалентными несольватированным формам для целей данного изобретения.

Модели животных

Поведение обусловленного избегания у крыс.

Модель обусловленного избегания является стандартным поведенческим тестом, прогнозирующим антипсихотическую активность. Одним из основных фармакологических свойств используемых в настоящее время клинических антипсихотических лекарственных средств в животных является их способность блокировать реакцию обусловленного избегания. См., например, Cook, L. and Davidson, A.B.: Behavioral pharmacology: Animal models involving aversive control of behavior. In Psychopharmacology, A Generation of Progress, ed. by, M.A. Lipton, A. Dimascio and K. Killam, pp. 563-567, Raven Press, New York, 1978; Davidson, A.B. and Weidley, E. Differential Effects of Neuroleptic and other Psychotropic Agents on Acquisition of Avoidance in Rats, 18 Life Sci. 1279-1284 (1976), включенные здесь в качестве ссылки в их полном виде. Существует высокая корреляция между их активностью и эффективностью в тесте обусловленного избегания и их клинической активностью и эффективностями в качестве антипсихотических лекарственных средств. См., например, статью Creese, I., Burt, D.R. and Snyder, S.H.: Dopamine receptor binding predicts clinical and pharmacological properties of antischizophrenic drugs. Science (Washington D.C.) 192:481-483, 1976, включенную здесь в качестве ссылки в полном виде.

В тесте обусловленного избегания животные обучаются реагировать во время условного стимула для избегания предоставления слабого (электрического) шока. Реакция во время условного стимула называется реакцией избегания, реакция во время шока называется реакцией бегства, отсутствием реакции называют ситуацию, когда животное не может реагировать ни во время условного стимула, ни во время

предоставления шока и является указанием на двигательное нарушение. Животные быстро обучаются избегать 99% этого времени. Антипсихотические лекарственные средства уменьшают процент реакций избегания без влияния на способность этого животного реагировать, так как эти животные действительно проявляют реакции бегства. Процент отсутствий реакций считается мерой двигательного нарушения.

Крысы должны нажать рукоятку в экспериментальной камере, для того чтобы избежать шока или убежать от шока (в виде электрического шока, которому подвергают лапы). Каждый экспериментальный сеанс состоит из 50 испытаний. Во время каждого испытания камеру освещают и предоставляют тон в течение максимально 10 с. Ответная реакция во время этого тона немедленно прекращает тон и освещение в камере, завершая испытание. В отсутствие ответной реакции во время только тона предоставляют тон+шок для лап (2,0 мА) в течение максимально 10 с. Ответная реакция во время шока немедленно прекращает шок, тон и освещение в камере, завершая испытание.

Для скрининга лекарственных средств подходящую дозу, например 3,0 мг/кг, вводят подходящим образом, например i.p. или s.c., в течение подходящего времени, 30 мин, перед началом экспериментального сеанса. Обрабатываемая группа может получать только одну дозу антагониста DAO или DDO или альтернативно может обрабатываться ежедневно (например, sid, bid или tid, т.е. 1 раз в день, 2 раза в день или 3 раза в день) в течение по меньшей мере 1 дня, 3 дней, 1 недели, 2 недель, 1 месяца или 2 месяцев, перед экспериментом. Лекарственное средство считается активным, если оно уменьшает % реакции избегания до по меньшей мере 50% без появления более чем 50% отсутствий избеганий. Для активных лекарственных средств затем строят кривую доза-ответ.

Постукивание лапками у песчанок.

Самцов или самок когтистых монгольских песчанок (35-70 г) анестезируют ингаляцией смеси изофуран/кислород для обеспечения возможности обнажения яремной вены для введения тест-соединений или контрольных соединений или носителя в инъекционном объеме 5 мл/кг i.v. Альтернативно, тест-соединения могут вводиться перорально или подкожным или внутривенным путями. Обработанная группа может получать только одну дозу тест-соединения или может обрабатываться ежедневно (например, sid, bid или tid, т.е. 1 раз в день, 2 раза в день или 3 раза в день) в течение по меньшей мере 1 дня, 3 дней, 1 недели, 2 недель, 1 месяца или 2 месяцев перед тестом. Затем делают надрез на коже в средней линии кожи головы для обнажения черепа. Анксиогенный агент (например, пентагастрин) и/или контрольный агент (солевой раствор, антагонист DAO или DDO, D-Ser, D-Asp, и т.д.) инфузируют непосредственно в желудочки мозга (например, 3 пмоль в 5.м.л i.c.v., в зависимости от тест-вещества) посредством вертикального вставления иглы калибра 27 G с манжетой до глубины 4,5 мм ниже брегмы. Надрез кожи головы закрывают и животному дают прийти в нормальное состояние после анестезии в прозрачной камере для наблюдения из перспекса (25 см×20 см×20 см). Продолжительность и/или интенсивность постукивания задней лапкой регистрируют после этого непрерывно в течение приблизительно 5 мин. Альтернативно, при помощи сходного способа количественного определения может быть исследована способность тест-соединений ингибировать постукивание лапками, провоцируемое вызывающей отвращение стимуляцией, такой как шок, прикладываемый к лапкам, или одиночное содержание. Предпочтительные антагонисты данного изобретения способны ингибировать индуцированное постукивание лапками у песчанок.

Рвота хорьков.

По отдельности содержащиеся самцы хорьков (1,0-2,5 кг) получали пероральные дозы кормлением через желудочный зонд тест-соединением или контрольными соединениями или носителем. Спустя 10 мин их кормили приблизительно 100 г консервированного кошачьего корма. Обрабатываемая группа может получать только одну дозу тест-соединения или может обрабатываться ежедневно (например, sid, bid или tid, т.е. 1 раз в день, 2 раза в день или 3 раза в день) в течение по меньшей мере 1 дня, 3 дней, 1 недели, 2 недель, 1 месяца или 2 месяцев перед экспериментом. При 60 мин после перорального введения дозы вводят цисплатин (10 мг/кг) i.v. через катетер яремной вены, вставленный при коротком периоде анестезии галотаном. Затем катетер удаляют, яремную вену лигируют и разрез на коже закрывают. Хорьки быстро возвращаются в нормальное состояние после анестезии и являются подвижными в пределах 10-20 мин. Животных наблюдают непрерывно во время восстановления от анестезии и в течение 4 ч после инъекции цисплатина, после чего животных убивают гуманным способом. Число позывов на рвоту и рвоты, наблюдаемые во время 4 ч после введения цисплатина, регистрируются обученными наблюдателями.

Индукционное разлучение применение голоса.

Самцов и самок морских свинок содержат в семейных группах с их матками и однопометными членами семей на протяжении этого исследования. Эксперименты начинают после отлучения от маток, когда детеныши имеют возраст 2 недели. Перед вступлением в эксперимент детенышей подвергают скринингу для гарантии, что после отлучения от маток воспроизводимо индуцируется сильная голосовая реакция. Детенышей помещают индивидуально в клетки для наблюдений (55 см×39 см×19 см) в помещение, физически отделенное от «домашней» клетки, на 15 мин и регистрируют продолжительность применения голоса в течение этого фонового периода. Для исследований с введением лекарственных

средств используют только тех животных, которые издают голос дольше, чем 5 мин (приблизительно 50% доступных детенышей не смогли достичь этого критерия). Обрабатываемая группа может получать только одну дозу тест-соединения или может обрабатываться ежедневно (например, sid, bid или tid, т.е. 1 раз в день, 2 раза в день или 3 раза в день) в течение по меньшей мере 1 дня, 3 дней, 1 недели, 2 недель, 1 месяца или 2 месяцев перед экспериментом. В дни испытаний каждый детеныш получает пероральную дозу или s.c. или i.p. инъекцию тест-соединения или носителя и затем немедленно возвращается в домашнюю клетку с его матерью и сибсами на 30-60 мин (или до 4 ч после пероральной дозы в зависимости от пероральной фармакокинетики тест-соединения) перед социальной изоляцией в течение 15 мин, как описано выше. Продолжительность применения голоса в дни обработки лекарственным средством выражают в виде процента от величины фона предобработки для каждого животного. Тех же самых субъектов повторно испытывают один раз в неделю в течение до 6 недель. 6-8 животных получают каждое тест-соединение при каждой тестируемой дозе. Предпочтительные антагонисты данного изобретения являются эффективными в ослаблении индуцируемых разлучением применений голоса детенышами морских свинок, как показано здесь далее.

Оценка поведенческой активности мышей и крыс в мониторах для всестороннего цифрового сканирования активности животных

Целью этого теста является оценка соединений на эффекты, подобные антипсихотическим эффектам центральной нервной системы (ЦНС), и различные другие поведенческие эффекты, обычно связанные с активностью ЦНС. Этот тест способен определять действия лекарственных средств на многие аспекты локомоторной активности у грызунов, в том числе горизонтальной активности (прерывания луча), общее проходимое расстояние (в сантиметрах), число движений, время движений (в секундах), время отдыха (в секундах), вертикальную активность (прерывания лучей), число вертикальных движений, время вертикальных движений (в секундах), число стереотипий, число стереотипных эпизодов, время стереотипии (в секундах), время на границе и время в центре (в секундах), число перемещений по окружности по часовой стрелке и против часовой стрелки и время (в секундах), проводимое в каждом углу монитора активности. Однако обычно действия лекарственных средств на поведение оценивали с использованием общего проходимого расстояния (в сантиметрах) как наиболее точной меры локомоторной активности.

Для этих исследований используют самцов мышей-альбиносов CD-1 весом 20-40 г (Charles River Laboratories) или самцов крыс Sprague-Dawley весом 150-300 г (Harlan Laboratories). Обрабатываемая группа может получать только одну дозу тест-соединения или может обрабатываться ежедневно (например, sid, bid или tid, т.е. 1 раз в день, 2 раза в день или 3 раза в день) в течение по меньшей мере 1 дня, 3 дней, 1 недели, 2 недель, 1 месяца или 2 месяцев перед экспериментом.

Монитор для всестороннего цифрового сканирования активности животных состоит из кабины 16"×16"×12" из плексигласа, замкнутой внутри 2 наборов из 16 датчиков инфракрасных лучей, расположенных на расстоянии 1 дюйма от всех четырех сторон дна этой кабины. Над нижними датчиками фотолучей расположены дополнительные датчики фотолучей, которые измеряют вертикальную активность. Прерывание любого луча должно генерировать вспышку индикатора LED, расположенного в центре малого окна с мониторами. Перед началом эксперимента обычно выполняют диагностический тест каждого из 24 мониторов, в котором все фотолучи проверяют на любое прерывание. Каждый монитор активности может быть разделен на четыре 8-дюймовых квадранта с использованием вставки из плексигласа, которая подогнана к внутреннему пространству кабины из плексигласа, из которых 2 квадранта (передний левый и задний правый) могут быть использованы для испытания активности. Обычно это разделенное размещение используют для исследований активности мыши (2 мыши на разделенный монитор), в противоположность исследованиям на крысах (1 крыса на неразделенный монитор). До 999 выборок данных могут брать в течение продолжительности времени 999 мин. Обычно 6 выборок данных 10-минутной продолжительности каждая берутся для мышей (1-часовое испытание) или 6 выборок данных 5-минутной продолжительности каждая для крыс (30-минутное испытание).

После помещения животного в камеру для исследования активности камеры индивидуально активируют для начала сбора данных. Уровни активности подвергают мониторингу с выключенным верхним освещением, так как стимуляция темнотой имеет тенденцию давать меньшую изменчивость в этих данных. Следующие типы данных (с краткими определениями) собирают во время каждого эксперимента.

Переменная 1. Горизонтальная активность - общее число прерываний лучей, которое имеет место в горизонтальном датчике.

Переменная 2. Общее проходимое расстояние (в см) - более точный индикатор активности перемещений, так как оно учитывает любое перемещение по диагонали.

Переменная 3. Число перемещений - число отдельных перемещений, разделенных по меньшей мере 1 с.

Переменная 4. Время перемещений (с) - величина времени способности перемещаться.

Переменная 5. Время отдыха (с) - разность между временем выборок данных и временем, потраченным на перемещения.

Переменная 6. Вертикальная активность - общее число прерываний лучей, которое имело место в вертикальном датчике, когда животное поднимается (вертикально).

Переменная 7. Число вертикальных движений - каждый раз животное поднимается на задние лапки и прерывает вертикальный датчик (разделенных по меньшей мере 1 с).

Переменные 8, 9, 10 и 11. Время, проведенное в углах (левом и правом переднем, левом и правом заднем) - время, потраченное в тесной близости к двум смежным стенкам клетки.

Переменная 12. Вертикальное время (с) - время, потраченное на прерывание вертикальных лучей во время поднимания на задние лапки.

Переменная 13. Число стереотипий - число прерываний лучей, которые имеют место во время периода повторяемого прерывания (стереотипии) одного и того же луча (или ряда лучей).

Переменная 14. Число стереотипий - число периодов, когда монитор наблюдает стереотипное поведение, разделенных по меньшей мере 1 с.

Переменная 15. Время стереотипии (с) - общее количество времени, в течение которого проявляется стереотипное поведение.

Переменная 16. Число перемещений по окружности по часовой стрелке - число раз, когда животное перемещается по окружности с диаметром по меньшей мере 2" (не улавливаются более компактные вращательные движения).

Переменная 17. Число перемещений по окружности против часовой стрелки - число раз, когда животное перемещается по окружности с диаметром по меньшей мере 2".

Переменная 18. Время на границе (с) - время, проведенное животным в тесной близости (в пределах 1 см) со стенками клетки из плексигласа.

Переменная 19. Время в центре - время, проведенное животным вдали от стенок клетки.

Данные могут выражаться либо в виде действительных счетов, времени (в секундах), пройденных сантиметров или в виде процентного ингибирования активности относительно обработанных носителем контрольных животных, тестируемых одновременно. Значимые изменения активности (т.е. проходимых сантиметров), относительно контролей, определяют с использованием t-критерия или дисперсионного анализа и многогранного критерия Ньюмана-Кейла. Стимуляция уровней активности указывается отрицательными величинами. Дозу, которая, как ожидается, могла бы уменьшать уровни активности на 50% (ED_{50}) и границы доверительного интервала 95% (CL) около этой величины определяют регрессионным анализом с использованием по меньшей мере трех точек данных, которые попадают на линейную часть кривой доза-ответ.

Блокада стимулируемой амфетамином локомоции в крысах

Процедура блокады стимулируемой амфетамином локомоции является модификацией протокола локомоторной активности в мониторах для всестороннего цифрового сканирования активности, описанного выше. Процедура блокады стимулируемой амфетамином локомоции использует стимулятор центральной нервной системы d-амфетамин для оценки антипсихотической активности допаминергических агентов.

Для этих исследований использовали самцов крыс Sprague-Dawley (Harlan Labs). Обрабатываемая группа может получать только одну дозу тест-соединения или может обрабатываться ежедневно (например, sid, bid или tid, т.е. 1 раз в день, 2 раза в день или 3 раза в день) в течение по меньшей мере 1 дня, 3 дней, 1 недели, 2 недель, 1 месяца или 2 месяцев перед экспериментом. Для IP-исследований амфетамин вводят за 20 мин перед лекарственным средством, после чего проводят 30-минутный тест локомоторной активности. Для исследования с пероральным введением лекарственное средство вводят за 30 мин перед тестом, тогда как амфетамин предоставляют за 15 мин перед тестом, что дает время для пероральной абсорбции. Локомоторную активность (в сантиметрах, пройденных за 30 мин теста) измеряют в открытых камерах 16"×16". Амфетамин обычно дает 2-3-кратное увеличение в локомоции над контролями с введением солевого раствора. Эффекты лекарственных средств сообщаются в виде процента обращения стимулируемой амфетамином локомоции. Значимые изменения в стимулируемой амфетамином локомоции, относительно обработанных амфетамином контролей, определяют при помощи t-критерия. Доза, которая могла бы обращать стимулируемую амфетамином локомоцию на 50% (ED_{50}) и границы доверительного интервала 95% определяют регрессионным анализом.

Протокол для ингибирования предварительным импульсом модели акустического испуга в крысах

Ингибирование предварительным импульсом (PPI) акустического испуга является формой сенсорно-моторного различения, которое имеет место, когда слабый стимул предшествует сильно пугающему стимулу, приводя к снижению амплитуды реакции испуга. Шизофренические пациенты обнаруживают пониженное ингибирование предварительным импульсом акустического испуга в сравнении с контрольными субъектами, что согласуется с потерей сенсорно-моторного различения. Таким образом, модель животного, использующая этот феномен, является очень полезной в исследовании известных и потенциальных антипсихотических агентов. У крыс, например, PPI может быть заблокировано прямыми агонистами дофамина (DA), такими как апоморфин, или непрямым агонистом DA амфетамином, и этот эффект может быть снижен антагонистами дофамина, такими как галоперидол.

Самцов крыс Sprague-Dawley из Harlan Labs (180-280 г) содержат в виде групп из пяти крыс на клетку и поддерживают при цикле 12 ч света/темноты со свободным доступом к пищевым гранулам и воде. Обрабатываемая группа может получать только одну дозу тест-соединения или может обрабатываться ежедневно (например, sid, bid или tid, т.е. 1 раз в день, 2 раза в день или 3 раза в день) в течение по меньшей мере 1 дня, 3 дней, 1 недели, 2 недель, 1 месяца или 2 месяцев перед экспериментом.

Использовали камеры для испуга (SR-LAB, San Diego Instruments), состоящие из цилиндра из плексигласа, установленные на раме из плексигласа в вентилируемом ослабляющем звук корпусе. Акустические стимулы предоставляют через громкоговоритель, расположенный над крысами. Под рамой из плексигласа смонтировано пьезоэлектрическое устройство, которое детектирует и передает движение, имеющее место внутри цилиндра во время 100 мс после возникновения стимула испуга. Средние ответные реакции во время регистрирующего окна 100 мс (100×1 мс считываний) регистрируются комплектом микрокомпьютера и интерфейса (San Diego Instruments). Каждую из камер калибруют относительно другой камеры для гарантии согласующихся уровней работы громкоговорителя на протяжении широкого диапазона децибел (67-125 дБ). Уровни звука оценивают децибелметром (например, Radio Shack). Каждый стабилитр (который вмещает пьезоэлектрическое устройство) приспособлен для продуцирования равной чувствительности ответной реакции на константно вибрирующий калибратор.

Животные, обрабатываемые тест-соединением, могут получать только одну дозу тест-соединения или могут обрабатываться ежедневно (например, sid, bid или tid, т.е. 1 раз в день, 2 раза в день или 3 раза в день) в течение по меньшей мере 1 дня, 3 дней, 1 недели, 2 недель, 1 месяца или 2 месяцев, перед экспериментом. Перед этим экспериментом каждое животное предобрабатывают солевым раствором, тест-соединением или контрольным соединением (например, апоморфином, галоперидолом, клозапином и т.д.).

Каждый сеанс испытаний начинается 5-минутным периодом акклиматизации к испытанию, белым шумом 70 дБ. Сеанс испытания длится в целом 30 мин; проводят несколько последовательных тестов для получения адекватного числа крыс на группу обработки. Первое и последнее испытания являются испытаниями только с импульсами 120 дБ, предоставляемыми с интервалами 7-23 с, и во время этих периодов времени крысы быстро адаптируются (привыкают) к взрывам шума. Эти данные не включают в расчет PPI. Срединные испытания состоят из испытаний с импульсами только 120 дБ и испытаний каждого из следующих пяти типов испытаний в псевдослучайном порядке: (1) нет стимула, (2) предварительный импульс 72 дБ 100 мс перед импульсом испуга 120 дБ, (3) предварительный импульс 74 дБ 100 мс перед импульсом испуга 120 дБ, (4) предварительный импульс 78 дБ 100 мс перед импульсом испуга 120 дБ, (5) предварительный импульс 86 дБ 100 мс перед импульсом испуга 120 дБ. Предварительные импульсы (2, 4, 8 и 16 дБ над фоновым шумом 70 дБ) имеют продолжительность 20 мс, тогда как стимулы испуга имели продолжительность 40 мс. Когда предварительный импульс спарен с импульсом 120 дБ, явное акустическое различие не может детектироваться ухом человека в сравнении только с импульсом 120 дБ. Ингибирование предварительным импульсом рефлекса акустического испуга выражают в виде процентного ингибирования амплитуды испуга 120 дБ, когда предварительный импульс 2-16 дБ (над фоном) предшествует вызывающему испуг стимулу.

Ингибирование индуцированного апоморфином поведения карабкания

В фармакологических исследованиях на животных антипсихотическая активность тест-соединений может испытываться по ингибированию индуцированного апоморфином поведения карабкания (P. Protais et al.: "Psychopharmacology", 50, 1-6, 1976). Использовали самцов Швейцарских мышей весом 22-24 г. Животные, обрабатываемые тест-соединением, могут получать только одну дозу тест-соединения или могут обрабатываться ежедневно (например, sid, bid или tid, т.е. 1 раз в день, 2 раза в день или 3 раза в день) в течение по меньшей мере 1 дня, 3 дней, 1 недели, 2 недель, 1 месяца или 2 месяцев перед экспериментом. Животным вводят перорально тестируемые лекарственные средства или 0,25% агар при времени 0. Спустя 60 мин инъецируют подкожно апоморфин в дозе 1 мг/кг и спустя еще 70 мин оценивают поведение животного. Выполняют две дополнительные оценки с интервалами 10 мин. Для оценки поведения каждое животное помещают на дно небольшой вертикально расположенной коробки (11×7,5×4,5 см). Стенки этой коробки изготовлены из прозрачного метакрилата, за исключением одной из боковых поверхностей (шириной 7,5 см), которая является проволочной сеткой с отверстиями 3 мм. Положение животного оценивают в баллах в течение 2 мин в соответствии со следующими критериями: 0=четыре лапки на полу; 1=три лапки на полу; 2=две лапки на полу; 3=одна лапка на полу и 4=четыре лапки держатся за проволочную сетку. Если животные сохраняют несколько положений в пределах 2 мин наблюдения, регистрируют секунды, проведенные в каждом положении. Наконец, рассчитывают средний балл. В этих экспериментальных условиях рассчитывают величины эффективной дозы 50% (ED₅₀).

Ингибирование DOI-индуцированных подергиваний головы и почесываний

Антипсихотическая активность тест-соединений может также испытываться тестом ингибирования индуцированных 1-(2,5-диметокси-4-иодфенил)-2-аминопропаном (DOI) подергиваний головы и почесываний (M. Oka et al.: "J. Pharm. Exp. Ther.", 264(1), 158-165, 1993). Использовали самцов мышей N.M.R.I, весом 22-26 г. После взвешивания животных, их раздельно помещают в прозрачные клетки за 2 ч до экс-

перимента. Животные, обрабатываемые тест-соединением, могут получать только одну дозу тест-соединения или могут обрабатываться ежедневно (например, *sid*, *bid* или *tid*, т.е. 1 раз в день, 2 раза в день или 3 раза в день) в течение по меньшей мере 1 дня, 3 дней, 1 недели, 2 недель, 1 месяца или 2 месяцев перед экспериментом. Тест-соединение предоставляют перорально (p.o.) при времени 0. При времени 60 мин вводят DOI в дозе 3 мг/кг i.p., растворенный в солевом растворе. Оценивают число подергиваний головы и почесываний, а также присутствие или отсутствие попыток бегства. Рассчитывали величины эффективной дозы 50% (ED₅₀), получаемые в вышеописанных экспериментальных условиях.

Клинические испытания на людях

Активность антагониста DAO или DDO для лечения или ослабления шизофрении, биполярного нарушения или другого нарушения ЦНС данного изобретения может быть продемонстрирована клиническими испытаниями на людях. Например, исследование может быть спланировано в виде двойного слепого, параллельного, контролируемого плацебо многоцентрового испытания. Субъектов делят случайным образом на четыре группы, плацебо и три увеличивающиеся дозы трижды в день тест-соединения, например, 25, 50 и 75 мг. Эти дозы вводят описанным здесь образом или известным практикующему врачу образом, например, перорально с пищей. Субъектов наблюдают во время четырех визитов к врачу для получения фоновых измерений. Дополнительные визиты, например 5-33 визита, служат в качестве фазы лечения для данного исследования.

Во время этих визитов субъекты наблюдаются в отношении признаков психотического поведения или биполярного поведения, таких как возбуждение, колебания сознания, тремор, делирий, уход от общения и способность концентрации внимания. Группы обработки сравнивают по числу и проценту субъектов, которые когда-либо имели данный симптом во время двойной слепой части данного изобретения (визиты 5-33) при тяжести, которая была худшей, чем тяжесть во время фоновых визитов (визитов 1-4).

DAO, DDO и их биаллельные маркеры в способах генетической диагностики

Геномные последовательности и кДНК-последовательности DAO или DDO и биаллельные маркеры данного изобретения могут также использоваться для развития диагностических тестов, способных идентифицировать индивидуумы, которые экспрессируют детектируемый признак как результат специфического генотипа, или индивидуумов, генотип которых помещает их в ситуацию риска развития детектируемого признака в последующем времени. Признак, анализируемый с использованием данной диагностики, может быть использован для диагностики любого детектируемого признака, в том числе предрасположенности к шизофрении или биполярному нарушению, возраста проявления детектируемых симптомов, благоприятной реакции на лечение против шизофрении или биполярного нарушения или побочных эффектов, связанных с лечением против шизофрении или биполярного нарушения. Такая диагностика может быть полезной в мониторинге, прогнозировании и/или профилактической и лечебной терапии шизофрении или биполярного нарушения.

Диагностические способы данного изобретения могут использовать различные методологии для определения, имеет ли испытуемый субъект генотип, связанный с увеличенным риском развития детектируемого признака, или страдает ли данный индивидуум от детектируемого признака в результате конкретной мутации, в том числе способы, которые делают возможным анализ хромосом индивидуума для гаплотипирования, такие как исследования семьи, единый анализ ДНК спермы или способ соматических гибридов.

Эти диагностические способы касаются детектирования специфических аллелей, присутствующих в генах DAO или DDO человека, предпочтительно в экзоне или кодирующей последовательности DAO или DDO. Более конкретно, данное изобретение относится к детектированию нуклеиновой кислоты, содержащей по меньшей мере одну из нуклеотидных последовательностей SEQ ID NO: 1-6 или ее фрагмент, или комплементарную ей последовательность, включающие полиморфное основание.

Эти способы включают получение пробы нуклеиновой кислоты из индивидуума и определение, содержит ли эта проба нуклеиновой кислоты по меньшей мере один аллель или по меньшей мере один биаллельный маркерный гаплотип, указывающий на риск развития признака или указывающий, что индивидуум экспрессирует признак в результате наличия конкретного связанного с DAO или DDO человека полиморфизма или мутации (обуславливающего признак аллеля).

Предпочтительно в таких диагностических способах, пробу нуклеиновой кислоты получают из индивидуума и эту пробу генотируют с использованием способов, хорошо известных в данной области, или, как описано, например, в РСТ/ВВ 00/00435, включенной здесь в качестве ссылки. Эта диагностика может быть основана на единственном биаллельном маркере или на группе биаллельных маркеров.

В каждом из этих способов получают пробу нуклеиновой кислоты из тест-субъекта и определяют распределение биаллельных маркеров одного или более биаллельных маркеров данного изобретения. В одном варианте на этой пробе нуклеиновой кислоты проводят ПЦР-амплификацию для амплификации участков, в которых были идентифицированы полиморфизмы, ассоциированные с детектируемым фенотипом. Продукты амплификации секвенируют для определения, имеет ли данный индивидуум один или более полиморфизмов DAO или DDO человека, ассоциированных с детектируемым фенотипом. Альтернативно, пробу нуклеиновой кислоты подвергают реакциям секвенирования для определения, имеет ли данный индивидуум один или более DAO или DDO-связанных полиморфизмов, ассоциированных с

детектируемым фенотипом, происходящих из мутации или полиморфизма в геномной последовательности DAO или DDO. В другом варианте пробу нуклеиновой кислоты контактируют с одним или несколькими аллель-специфическими олигонуклеотидными зондами, которые специфически гибридизуются с одним или более DAO или DDO-связанными аллелями человека, ассоциированными с детектируемым фенотипом. В другом варианте эту пробу нуклеиновой кислоты контактируют со вторым олигонуклеотидом, способным к образованию продукта амплификации при использовании с аллель-специфическим олигонуклеотидом в реакции амплификации. Присутствие продукта амплификации в реакции амплификации указывает на то, что данный индивидуум имеет один или более DAO или DDO-связанных аллелей, ассоциированных с детектируемым фенотипом. В предпочтительном варианте детектируемым признаком является шизофрения или биполярное нарушение. Диагностические наборы содержат любой из полинуклеотидов данного изобретения.

Эти диагностические способы являются крайне ценными, так как они могут быть, в определенных обстоятельствах, использованы для инициации превентивных способов лечения или для обеспечения возможности индивидууму, несущему показательный фенотип, предвидеть предупредительные признаки, такие как малые симптомы.

Диагностика, которая анализирует и прогнозирует ответную реакцию на лекарственное средство или побочные эффекты в ответ на лекарственное средство, может быть использована для определения, должен ли индивидуум лечиться конкретным лекарственным средством. Например, если диагностика указывает на вероятность того, что индивидуум будет давать положительную ответную реакцию на лечение конкретным лекарственным средством, это лекарственное средство может вводиться данному индивидууму. Напротив, если диагностика указывает на то, что индивидуум будет, вероятно, отвечать отрицательно на лечение конкретным лекарственным средством, может быть предписан другой курс лечения. Отрицательная реакция может быть определена либо как отсутствие эффективной реакции, либо как присутствие токсичных побочных эффектов.

Другим применением маркеров данного изобретения являются клинические испытания лекарственных средств. Один или более маркеров, указывающих на реакцию на агент, действующий против шизофрении, или на побочные эффекты в ответ на агент, действующий против шизофрении, могут быть идентифицированы с использованием описанных выше способов. После этого потенциальные участники в клинических испытаниях такого агента могут быть подвергнуты скринингу для идентификации индивидуумов, наиболее вероятно отвечающих благоприятным образом на данное лекарственное средство, и исключения индивидуумов, которые, вероятно, будут испытывать побочные действия. Таким путем эффективность медикаментозного лечения может измеряться в индивидуумах, которые положительно отвечают на данное лекарственное средство, без снижения результатов измерений в результате включения индивидуумов, которые вряд ли будут отвечать положительно в данном исследовании, и без риска нежелательных проблем в отношении безопасности.

DAO и DDO в профилактике и лечении заболевания

В значительной степени вследствие риска суицида, очень важным является обнаружение склонности к шизофрении, биполярному нарушению, а также другому психиатрическому заболеванию у индивидуумов. Поэтому данное изобретение относится к способу лечения шизофрении или биполярного нарушения или родственного заболевания, включающему следующие стадии:

выбор индивидуума, ДНК которого содержит аллели DAO- или DDO-связанного биаллельного маркера или группу DAO- или DDO-связанных маркеров, ассоциированных с шизофренией или биполярным нарушением;

- наблюдение указанного индивидуума в отношении появления (и необязательно развития) симптомов, связанных с шизофренией или биполярным нарушением; и

- назначение лечения, направленного против шизофрении или биполярного нарушения или против их симптомов, указанному индивидууму на подходящей стадии заболевания.

Другой вариант данного изобретения включает способ лечения шизофрении или биполярного нарушения, включающий следующие стадии:

- выбор индивидуума, ДНК которого содержит аллели DAO- или DDO-связанного биаллельного маркера или группу DAO- или DDO-связанных маркеров, ассоциированных с шизофренией или биполярным нарушением;

- назначение профилактического лечения шизофрении или биполярного нарушения указанному индивидууму.

В следующем варианте данное изобретение относится к способу лечения шизофрении или биполярного нарушения, включающему следующие стадии:

- выбор индивидуума, ДНК которого содержит аллели DAO- или DDO-связанного биаллельного маркера или группу DAO- или DDO-связанных маркеров, ассоциированных с шизофренией или биполярным нарушением;

- назначение профилактического лечения шизофрении или биполярного нарушения указанному индивидууму;

- наблюдение указанного индивидуума в отношении появления и развития симптомов шизофрении или биполярного нарушения; и необязательно

- назначение лечения, направленного против шизофрении или биполярного нарушения или против их симптомов, указанному индивидууму на подходящей стадии этого заболевания.

Для применения в определении курса лечения индивидуума, страдающего от заболевания, данное изобретение относится также к способу лечения шизофрении или биполярного нарушения, включающему следующие стадии:

- выбор индивидуума, страдающего шизофренией или биполярным нарушением, ДНК которого содержит аллели DAO- или DDO-связанного биаллельного маркера или группу DAO- или DDO-связанных маркеров, ассоциированных с тяжестью шизофрении или биполярного нарушения или их симптомов; и

- назначение лечения, направленного против шизофрении или биполярного нарушения или их симптомов, указанному индивидууму.

Данное изобретение относится также к способу лечения шизофрении или биполярного нарушения в выбранной популяции индивидуумов. Этот способ включает

- выбор индивидуума, страдающего шизофренией или биполярным нарушением, ДНК которого содержит аллели DAO- или DDO-связанного биаллельного маркера или группу DAO- или DDO-связанных маркеров, ассоциированных с положительной реакцией на лечение эффективным количеством лекарственного средства, воздействующего на шизофрению или биполярное нарушение или их симптомы;

- и/или ДНК которого не содержит аллели DAO- или DDO-связанного биаллельного маркера или группу DAO- или DDO-связанных маркеров, ассоциированных с отрицательной реакцией на лечение указанным лекарственным средством; и

- введение при подходящих интервалах эффективного количества указанного лекарственного средства указанному выбранному индивидууму.

В контексте данного изобретения "положительная реакция" на лекарственное средство может быть определена как включающая уменьшение симптомов, связанных с данным заболеванием. В контексте данного изобретения "отрицательная реакция" на лекарственное средство может быть определена как включающая отсутствие положительной реакции на это лекарственное средство, которая не приводит к уменьшению симптома или которая приводит к побочному эффекту, наблюдаемому после введения этого лекарственного средства.

Данное изобретение относится также к способу определения, будет ли субъект отвечать положительно на лечение лекарственным средством. Этот способ включает идентификацию первой популяции индивидуумов, которые отвечают положительно на указанное лекарственное средство, и второй популяции индивидуумов, которые отвечают отрицательно на указанное лекарственное средство. Один или более биаллельных маркеров идентифицируют в первой популяции, которые ассоциированы с положительной реакцией на указанное лекарственное средство, или один или более биаллельных маркеров идентифицируют во второй популяции, которые связаны с отрицательной реакцией на указанное лекарственное средство. Эти биаллельные маркеры могут быть идентифицированы с использованием описанных здесь способов.

Затем получают пробу ДНК из испытуемого субъекта. Эту пробу ДНК анализируют для определения, содержит ли она аллели одного или более биаллельных маркеров, ассоциированных с положительной реакцией на лечение этим лекарственным средством, и/или аллели одного или более биаллельных маркеров, ассоциированных с отрицательной реакцией на лечение этим лекарственным средством.

В некоторых вариантах медикамент может вводиться субъекту в клиническом испытании, если проба ДНК содержит аллели одного или более биаллельных маркеров, ассоциированных с положительной реакцией на лечение этим медикаментом и/или если проба ДНК не содержит аллелей одного или более биаллельных маркеров, ассоциированных с отрицательной реакцией на лечение этим лекарственным средством. В предпочтительных вариантах этот медикамент является лекарственным средством, воздействующим на шизофрению или биполярное нарушение.

С использованием способа данного изобретения может проводиться оценка эффективности лекарственного средства в популяции индивидуумов, имеющих вероятность благоприятной ответной реакции на это лекарственное средство.

Другим аспектом данного изобретения является способ использования медикамента, включающий получение пробы ДНК из субъекта, определение, содержит ли проба ДНК аллели одного или более биаллельных маркеров, ассоциированных с положительной реакцией на лекарственное средство, и/или содержит ли проба ДНК аллели одного или более биаллельных маркеров, ассоциированных с отрицательной реакцией на лекарственное средство, и введение лекарственного средства субъекту, если проба ДНК содержит аллели одного или более биаллельных маркеров, ассоциированных с положительной реакцией на лекарственное средство, и/или если проба ДНК не содержит аллелей одного или более биаллельных маркеров, ассоциированных с отрицательной реакцией на лекарственное средство.

Данное изобретение относится также к способу клинического испытания лекарственного средства, предпочтительно лекарственного средства, воздействующего на шизофрению и биполярное нарушение или их симптомы. Этот способ включает следующие стадии:

введение лекарственного средства, предпочтительно лекарственного средства, предположительно воздействующего на шизофрению или биполярное нарушение или их симптомы, гетерогенной популяции индивидуумов;

идентификацию первой популяции индивидуумов, которые отвечают положительно на указанное лекарственное средство, и второй популяции индивидуумов, которые отвечают отрицательно на указанное лекарственное средство;

идентификацию биаллельных маркеров в указанной первой популяции, которые ассоциированы с положительной реакцией на указанное лекарственное средство;

отбор индивидуумов, ДНК которых содержит биаллельные маркеры, ассоциированные с положительной реакцией на указанное лекарственное средство; и

введение указанного лекарственного средства указанным индивидуумам.

В любом из этих способов профилактики, диагностики и лечения шизофрении и биполярного нарушения включены способы использования лекарственного средства, клинического испытания лекарственного средства, определения, будет ли субъект отвечать положительно на лечение лекарственным средством.

Предполагается, что такие способы являются чрезвычайно полезными для увеличения соотношения польза/риск в результате введения лекарственных средств, которые могут вызывать нежелательные побочные эффекты и/или быть неэффективными для части популяции пациентов, которым их обычно вводят.

После диагностики индивидуума как страдающего шизофренией или биполярным нарушением проводят тесты отбора для определения, содержит ли ДНК этого индивидуума аллели биаллельного маркера или группы биаллельных маркеров, ассоциированных с положительной реакцией на лечение или с отрицательной реакцией на лечение, которая может включать либо побочные эффекты, либо отсутствие ответа.

Отбор пациента для лечения с использованием способа данного изобретения может проводиться с использованием описанных выше способов детектирования. Индивидуумы, которые должны быть отобраны, предпочтительно являются индивидуумами, ДНК которых не содержит аллели биаллельного маркера или группы биаллельных маркеров, ассоциированных с отрицательной реакцией на лечение. Знание генетической предрасположенности индивидуума к отсутствию ответа или побочным эффектам на конкретные лекарственные средства позволяет врачу направить лечение в направлении подходящих лекарственных средств против шизофрении или биполярного нарушения или их симптомов.

После определения генетической предрасположенности пациента, врач может выбрать подходящее лечение, в отношении которого не было известно об отрицательной реакции, побочных эффектов или было известно только о несущественной степени для этого пациента.

Биаллельные маркеры данного изобретения продемонстрировали ассоциацию с шизофренией и биполярными нарушениями. Однако данное изобретение включает также любой из способов профилактики, диагностики, прогнозирования и лечения, описанных здесь, с использованием биаллельных маркеров в способах профилактики, диагностики, контроля и лечения родственных заболеваний, в частности, связанных с ЦНС нарушений.

Примеры

Конструирование плазмид для экспрессии белков в бактериях и в дрожжах

Экспрессию рекомбинантных белков без метки проводили с вектором pET11a (Stratagen). Кодировующие последовательности с подходящими сайтами (NdeI в 5' и HindIII в 3') получали при помощи ПЦР (TaqPlusPrecision System, Stratagen) с праймерами, соответствующими рамкам ORF. Полученные продукты ПЦР очищали (Qiaquick PCR, Qiagen), расщепляли NdeI и HindIII, очищали в геле (Microspin, PolyLabo) и лигировали в вектор, открываемый теми же самыми ферментами. Эти конструкции переносили в бактериального хозяина DH10B (Gibco BRL), плазмидную ДНК экстрагировали и секвенировали для отбора правильно кодирующих последовательностей.

Плазмиды для экспрессии DAAO и g34872 человека в дрожжах конструировали с использованием челночного вектора pESC-LEU (Stratagen).

Экспрессия и очистка рекомбинантного белка g34872 без метки

Затем плазмиды трансфицировали в бактериального хозяина BL21(DE3) CodonPlus RIL (Stratagen), бактериям давали расти в 0,8 л LB-среды до получения A_{600} 0,7. Экспрессию слитых белков индуцировали добавлением 1 мМ изопропил-1-тио-D-галактопиранозидом и далее культивировали в течение 3 ч. Бактериальные осадки получали и немедленно замораживали (-80°C), затем оттаивали в водяной бане при 30°C ; добавляли AEBSF при 2 мМ. Бактериальные клетки суспендировали в 25 мл агента для экстракции BugBuster (Novagen), дополненного смесью ингибиторов протеаз (SetIII, Calbiochem) и 10 мМ ЭДТА. Суспензию инкубировали 30 мин при комнатной температуре, затем добавляли бензоназу (Novagen) и инкубирование продолжали в течение 15 мин. Лизат центрифугировали при $10000\times g$ при 4°C в течение 30 мин. Бактериальные белки фракционировали из супернатанта осаждением солью. Белковый осадок, соответствующий 35-55% насыщения сульфата аммония, растворяли в 2 мл 50 мМ Трис-HCl-буфера pH 8/50 мМ NaCl с 10 мМ ДТТ, раствор осветляли центрифугированием и наносили на колонку Ultragel

AcA44 (Pharmacia) (1,6×65 см), уравновешенную 20 мМ ТрисCl-буфером pH 8/50 мМ NaCl. Элюированные белки анализировали электрофорезом, фракции, содержащие белок MN2R, объединяли и концентрировали ультрафильтрацией (отсечение 10K, Biomax-15, Sigma). Затем белки наносили на колонку DEAE-Macrorep (Bio-Rad) (1×2 см), уравновешенную 20 мМ ТрисCl pH 8, и элюировали линейным градиентом соли (от 0 до 1 М NaCl, 20 колоночных объемов). Фракции, содержащие белок MN2R, объединяли, концентрировали ультрафильтрацией (отсечение 10K) и наносили на колонку Superdex 75 (Pharmacia) (1×27 см), уравновешенную 20 мМ ТрисCl-буфером pH 8. Фракции из единственного большого пика объединяли, концентрировали до 5 мг/мл и хранили при 4°C. Выход электрофоретически гомогенного белка был обычно 5 мг на литр бактериальной культуры. Денатурирующий электрофорез белков в 10% закаленных гелях NuPAGE проводили в соответствии с рекомендациями изготовителя (NuPAGE Novagen), использовали буфер для электрофореза MES/SDS. Маркеры молекулярных масс See-Blue были из Invitrogen. Белки визуализировали после окрашивания коллоидным раствором Кумасси бриллиантового синего (Sigma).

Очистка природной DAAO из почек свиньи

Неочищенный препарат DAAO из почек свиньи получали из Sigma. Белки растворяли в 50 мМ ТрисCl pH 8 (1 г в 10 мл); раствор осветляли центрифугированием и наносили на среднюю колонку Sephadex G-50 (2,6×40 см), уравновешенную 10 мМ ТрисCl pH 8/100 мМ NaCl. Затем обессоленные белки концентрировали в 3 раза ультрафильтрацией (отсечение 30K, Biomax-15, Sigma), уравнивали 10 мМ ТрисCl pH 8/100 мМ NaCl/1 мМ ДТТ/10 мМ АТФ и наносили на колонку DEAE-Sepharose (1,6×7 см) в том же самом буфере без АТФ. Колонку промывали двумя колоночными объемами 10 мМ ТрисCl pH 8/100 мМ NaCl, затем одним объемом 10 мМ ТрисCl pH 8/125 мМ NaCl и затем белки элюировали 10 мМ ТрисCl pH 8/150 NaCl-буфером. Фракции анализировали на активность фермента DAAO, объединяли и концентрировали ультрафильтрацией. Затем белки наносили на колонку Ultragel AcA44 (1,6×65 см), уравновешенную 10 мМ ТрисCl pH 8/100 мМ NaCl/1 мМ ДТТ, и элюировали тем же самым буфером. Фракции, содержащие электрофоретически чистый фермент DAAO, концентрировали ультрафильтрацией и хранили при 4°C.

Экспрессия и очистка рекомбинантного фермента DAAO человека

Плазмиду трансфицировали в бактериального хозяина BL21(DE3) CodonPlus RIL (Stratagen), бактериям давали расти в 3 л LB-среды до получения A_{600} 0,7. Экспрессию слитых белков индуцировали добавлением 1 мМ изопропил-1-тио-D-галактопиранозидом и далее культивировали в течение 5 ч. Бактериальные осадки экстрагировали агентом для экстракции BugBuster (Novagen) в присутствии 2 мМ AEBSF, обычно использовали бензоазу. Лизат доводили до pH 8 50 мМ ТрисCl и центрифугировали при 10000xg при 4°C в течение 20 мин. Белки осаждали из экстракта сульфатом аммония (из 30-50% насыщения), собирали центрифугированием при 10000xg при 4°C в течение 60 мин и растворяли в 50 мМ ТрисCl pH 8 (10 мл); раствор осветляли центрифугированием и наносили на колонку Sephadex G-75 (2,6×40 см), уравновешенную 10 мМ ТрисCl pH 8/100 мМ NaCl. Следующие стадии очистки были почти идентичными стадиям, описанным для DAAO почек свиньи. Единственным исключением была элюция белка из DEAE-смоли: ее проводили 10 мМ ТрисCl pH 8/300 NaCl-буфером. Выход очищенного электрофоретически гомогенного белка DAAO был 0,7 мг на литр бактериальной культуры.

Экспрессия и экстракция белков g34872 и DAAO человека в дрожжах *S. cerevisiae*

Штаммы дрожжей *S. cerevisiae* YPH499 и FY1679-18B выращивали на YPD-обогащенной среде. Плазмиды трансфицировали в клетки дрожжей стандартным способом с ацетатом лития; трансформанты отбирали на синтетической среде YNG, выращивали при 30°C в 1 л синтетической среды без лейцина с 2% рафинозой в качестве источника углерода до плотности культуры 1 единица A_{600} /мл. Клетки собирали центрифугированием при 20°C, среду заменяли YNGal (с 2% D-галактозой) и инкубирование продолжали в течение 20 ч. Клетки осаждали, промывали ледяной водой, ресуспендировали в 20 мМ ТрисCl-буфере pH 8/2 мМ AEBSF и встряхивали на вортексе 8 раз в течение 1 мин со стеклянными гранулами (Sigma) для экстракции белков. Лизат центрифугировали при 10000xg при 4°C в течение 30 мин, супернатант (S1) собирали и хранили при 4°C. Осадок ресуспендировали в 20 мМ ТрисCl-буфере pH 8/2 мг/мл сапонина/0,3% саркозила и встряхивали на вортексе 3 раза в течение 1 мин. Экстракт осадков осветляли центрифугированием (S2) и сразу же замораживали при -20°C. Концентрацию белка определяли с использованием реагента Бредфорда (Bio-Rad), экспрессию подтверждали процедурой Вестерн-блоттинга с кроличьей сывороткой против g34872-his6 (разведение 1/5000) и детектированием активности фермента DAAO с D-серином в качестве субстрата.

Детектирование ферментативной активности DAAO

Смесь для анализа обычно состояла из D-серина (Aldrich) 200 мМ, FAD (Sigma) при 0,1 мМ, натрий-фосфатного буфера pH 8 при 75 мМ, пероксидазы хрена (Sigma) 1 Е/мл. Смесь насыщали воздухом непосредственно перед использованием. К смеси добавляли о-дианизидин (Sigma). В типичном анализе 5 мкл фермента (DAAO и смесей) добавляли к 25 мкл смеси для анализа, инкубирование останавливали 50 мкл 20% H_2SO_4 . Активность наблюдали в виде оптической плотности окисленного пероксидазой о-

дианизидина при 540 нм. Реакции, содержащие высокие концентрации белка, центрифугировали 15 мин при 14000 об./мин перед измерением оптической плотности.

Проводили контрольные эксперименты для установления, что белок g34872 не влияет на активность фермента пероксидазы. Анализ пероксидазы выполняли в условиях, идентичных условиям для определения DAAO; в качестве субстрата использовали пероксид водорода (Gibco), и не было подтверждено действие g34872 на активность HRP.

Пример 1.

Клетки дрожжей трансформировали плазмидами, сконструированными в экспрессирующем векторе pESC-Leu. Одна плазида может экспрессировать hDAAO, вторая плазида - меченый по С-концу g34872, третья является вектором без вставки (контролем). После индукции экспрессии (2% галактозой в среде) эти клетки инкубировали в течение 24 ч, затем получали экстракты и их комбинировали следующим образом: разные объемы экстракта DAAO смешивали либо с g34872-cHis6, либо с экстрактами векторов. Те же самые объемы экстрактов DAAO смешивали также с БСА (наружный контроль). После 30-минутной прединкубации комбинированные экстракты использовали для измерения активности DAAO. Все экстракты дрожжей и раствор БСА имели одну и ту же концентрацию общего белка. Активность DAAO определяли D-серином при 37°C. См. фиг. 1 в отношении демонстрации того, что g34872 активирует DAO.

Пример 2.

Очищенный рекомбинантный DAAO человека добавляли в экстракт *E. coli*, содержащий экспрессируемый g34872, и в раствор БСА. Концентрации DAAO были 0,5 и 0,3 мг/мл. Концентрации общего белка бактериального экстракта и раствора БСА были 12 мг/мл. После 30-минутной инкубации смеси использовали для измерения активности DAAO при 37°C. В качестве субстрата использовали D-серин (фиг. 2).

Пример 3. Активация *in vitro* очищенного DAAO в присутствии белка g34872: эффект активации зависит от концентрации g34872.

Очищенные DAAO и g34872 смешивали и инкубировали в течение 50 мин перед анализом активности при температуре окружающей среды. Концентрация общего белка была одинаковой во всех смесях. В качестве субстрата для DAAO использовали D-серин, pH реакции была 8,0. Использовали следующие белки: концентрации очищенного DAAO свиньи в смесях были всегда равны 50 нг/мкл, концентрации очищенного рекомбинантного g34872 в смесях были от 0 до 450 нг/мкл, концентрации бычьего сывороточного альбумина (БСА) в смесях были 0-450 нг/мкл. Диапазон концентраций белка g34872 считали физиологическим в соответствии с данными для белков просветов аппарата Гольджи. См. фиг. 3.

Пример 4. Оценка ограничений концентраций g34872, необходимых для активации DAAO *in vitro*.

DAAO почек свиньи смешивали с g34872 в ЗФР и инкубировали 50 мин при 20°C. Концентрация DAAO была 50 нг/мкл во всех смесях. Ферментативную активность DAAO измеряли при 20°C с 200 мМ D-серином, pH была 8,0. DAAO почек свиньи смешивали с g34872 в ЗФР и инкубировали 1 ч при 20°C. Концентрация DAAO была 50 нг/мкл во всех смесях. Ферментативную активность DAAO измеряли при 20°C с 200 мМ D-серином, pH был 8,0. См. фиг. 4.

Пример 5. Кинетика DAAO в присутствии белка g34872: белок g34872 является аллостерическим активатором DAAO.

DAAO почек свиньи смешивали с g34872 в ЗФР и инкубировали 30 мин при 20°C. Концентрация DAAO была 200 нг/мкл и концентрация g34872 была 2 мкг/мл в смеси белков. Контрольная смесь (без g34872) состояла из 200 нг/мкл DAAO и 2 мкг/мкл БСА. Ферментативную активность DAAO измеряли при 20°C с 200 мМ D-серином, используемые концентрации субстрата были от 0 до 100 мМ, компоненты этой смеси и pH были стандартными.

$V_{\max}$, наблюдаемая для смеси g34872 и DAAO, соответствует $K_m=4$ мМ, $V_{\max}$, наблюдаемая для смеси DAAO и БСА, соответствует $K_m=4$ мМ. Этот результат показывает отсутствие изменений в аффинности DAAO в отношении его субстрата (D-серина) и предполагает, что g34872 взаимодействует с DAAO в сайте другом, чем активный центр фермента. См. фиг. 5.

Пример 6. Биаллельные маркеры изобретения.

Валидизированные полиморфизмы (встречающиеся при частоте >5% в общей популяции) были обнаружены в гене DAO (SEQ ID NO: 1). Эти полиморфизмы, называемые также биаллельными маркерами, представлены последовательностями SEQ ID NO: 23-26 и номерами 24/1443-126, 24/1456-52, 27/93-181 и 24/1461-256 соответственно, где полиморфное основание расположено в положении 24. Полинуклеотиды, содержащие ампликоны и микросеквенирующие праймеры для детектирования каждого биаллельного маркера DAO данного изобретения, описаны в SEQ ID NO: 1. Как показано на фиг. 6, было определено, что маркер 27-93/181 (SEQ ID NO: 25) и маркер 24-1461/256 (SEQ ID NO: 26) являются значительно ассоциированными с шизофренией с $p=0,0066$ и $0,0111$ соответственно. Маркеры данного изобретения могут быть дополнительно использованы для определения, имеет ли индивидуум риск развития шизофрении, как показано на фиг. 6, а также других родственных нарушений ЦНС, предпочтительно депрессии и биполярного нарушения.

Пример 7. Синтезы соединений или композиций данного изобретения.

Получение соединений.

Композиции и соединения антагонистов DAO и DDO данного изобретения могут быть получены различными способами, которые хорошо известны специалистам в данной области. Общие схемы включают, но не ограничиваются ими, схемы, описанные ранее.

Получение соединений формул I, Ia, Ib.

Огромное число соединений формул I, Ia, Ib являются коммерчески доступными или легко синтезируемыми с использованием способов, известных специалисту в данной области, из коммерчески доступных соединений. Конкретно, заместители могут вводиться в ароматические кольца, такие как фенил, нафтил или замещенный нафтил или фенил, реакциями электрофильного замещения, такими как алкилирование Фриделя-Крафтса, ацилирования и нитрование в концентрированной азотной кислоте. Превращение ароматических групп в металлоорганические соли, такие как реагенты Гриньяра, или введение заместителей через арилдиазониевые соединения являются обычными способами модификации ароматического кольца. Примеры таких манипуляций и другие относящиеся к данному вопросу превращения обсуждаются в стандартных руководствах, таких как March, *Advanced Organic Chemistry* (Wiley), Carey and Sundberg, *Advanced Organic Chemistry* (Vol. 2) и Keeting, *Heterocyclic Chemistry* (во всех 17 томах).

Получение соединений формулы II.

Соединения формулы II являются коммерчески доступными или легко синтезируемыми специалистами в данной области с использованием известных синтетических способов.

Получение соединений формулы IV, замещенных в положении Z.

Понятно, что для манипуляции R_1 специалист в данной области может выбрать получение R_1 до, после или одновременно с получением гетероциклического кольца. Для соединений, в которых А является азотом, предпочтительным способом получения такого соединения является

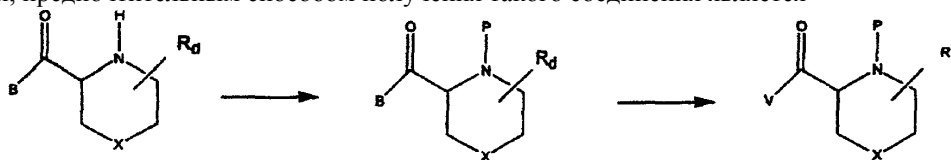


Схема 4а

Если R_d обозначает дериватизованную группу или может манипулироваться или замещаться, такие соединения известны и могут быть получены известными способами. (P) является защитной группой, такой как арил, а (B) является подходящей блокирующей группой. Для ясности, группы в положении (Y) формулы IV не показаны.

Понятно, что для получения и усложнения гетероциклического кольца специалист в данной области может выбрать получение R_1 до, после или одновременно с получением гетероциклического кольца. Для ясности, заместители при Z и Y не показаны. Для соединений, в которых X является азотом, показан предпочтительный способ манипулирования R_2 . В приведенных ниже схемах L обозначает любую приемлемую уходящую группу, а В обозначает блокирующую группу, аналогичную описанной выше. Вос является примером предпочтительной и признаваемой в данной области блокирующей группой. Специалисту в данной области понятно, что выбор блокирующей группы находится в рамках квалификации специалиста, работающего в области органической химии.

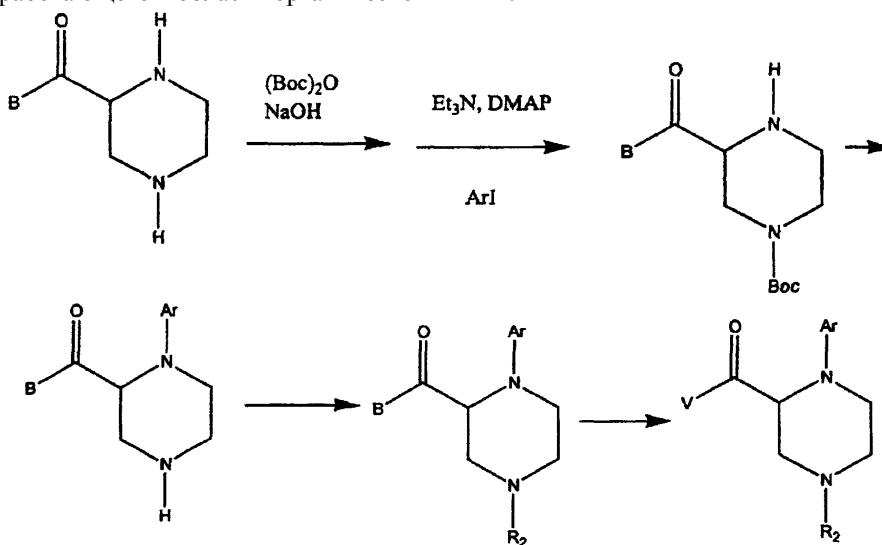


Схема 4b

Показаны предпочтительные способы образования кольца для соединений, содержащих серу в гетероциклическом кольце. Понятно, что для получения и усложнения гетероциклического кольца специалист может выбрать получение R₁ до, после или одновременно с получением гетероциклического кольца. Для ясности, заместители при Z и Y не показаны.

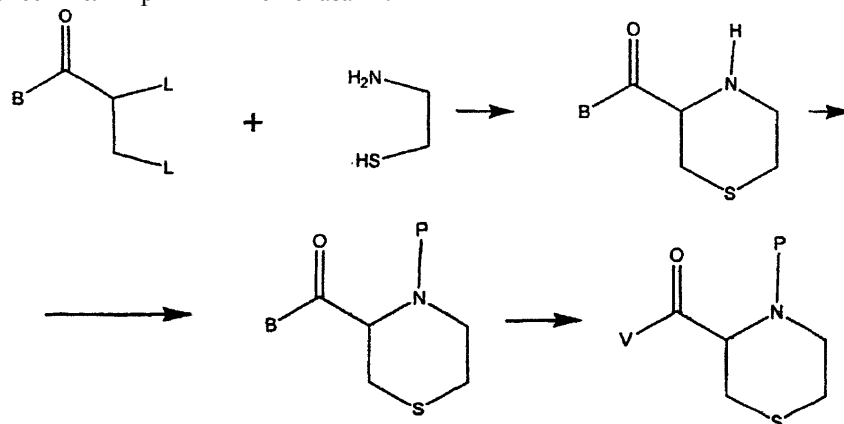


Схема 4с

Когда X является серой, дальнейшее усложнение гетероциклического кольца может выполняться после образования этого кольца. Например, окисление атома серы кольца может приводить к образованию соответствующих сульфоксидов и сульфонов, как показано.

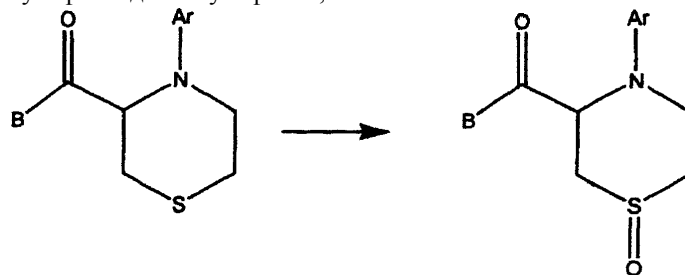


Схема 4d

Показаны предпочтительные способы образования кольца для соединений, содержащих кислород в гетероциклическом кольце. Бифункциональная часть молекулы, например, галогенгидрокси-часть, взаимодействует с азиридином ниже. Галоген служит в качестве уходящей группы, используемой в реакциях замыкания кольца. При образовании кольца усложнение данного изобретения происходит, как описано выше.

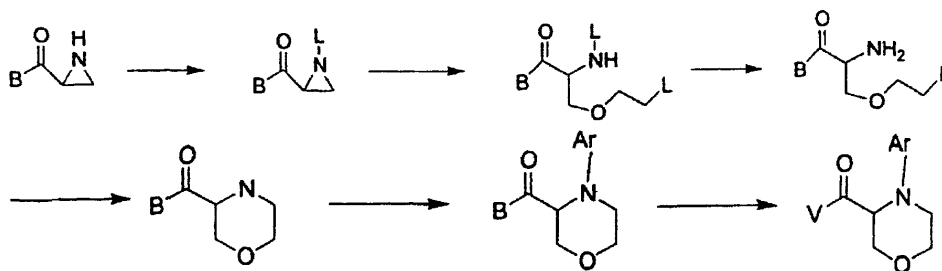


Схема 4е

Другая приемлемая стратегия образования гетероциклического кольца данного изобретения, имеющего в качестве E серу, азот или кислород, включает следующую схему. Она показывает предпочтительный путь получения также соединений, в которых A является азотом, а A-B является ненасыщенной.

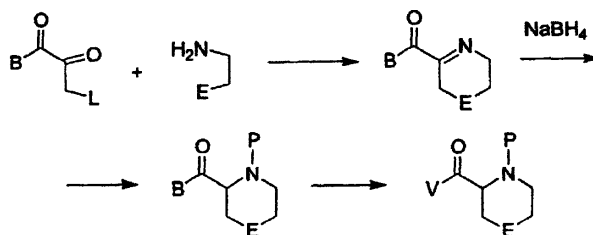


Схема 4f

Получение других предпочтительных соединений формулы IV и формулы III.

Конечно, специалисту в данной области будет понятно, что схема I может быть применена к заместителю при (Y) для всех описанных групп. Когда Z является кеталем или тиокеталем, соединения данного изобретения могут быть получены из соединения, имеющего карбонил в кольце. Такие соединения получают известным способом, и многие такие соединения являются известными или коммерчески доступными. Таким образом, специалисту в данной области будет понятно, что гидроксид, амин, имино, алкокси или другая группа может манипулироваться с превращением в карбонильное соединение.

Специалисту в данной области будет также понятно, что приведенные выше синтетические пути для соединений формулы IV могут применяться к соединениям формулы III, в которых размер кольца является 7- и 8-членным. Символы B, L, P и V имеют описанные выше значения. Следующий пример является примерным, но не ограничительным.

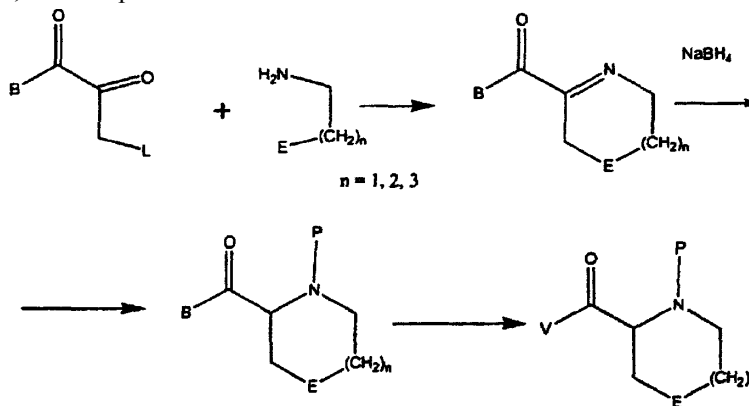


Схема 4g

Синтез соединений формулы Va.

Соединения формулы Va могут быть синтезированы различными способами. Наилучшим известным путем, который может быть использован для различных аминокислот, является синтез Штреккера. В этом способе подходящий альдегид обрабатывают аммиаком и HCN, так что образуется альфа-аминонитрил, который затем подвергают реакции гидролиза.

Другой приемлемой стратегией синтеза соединений формулы Va является синтез согласно следующей схеме:

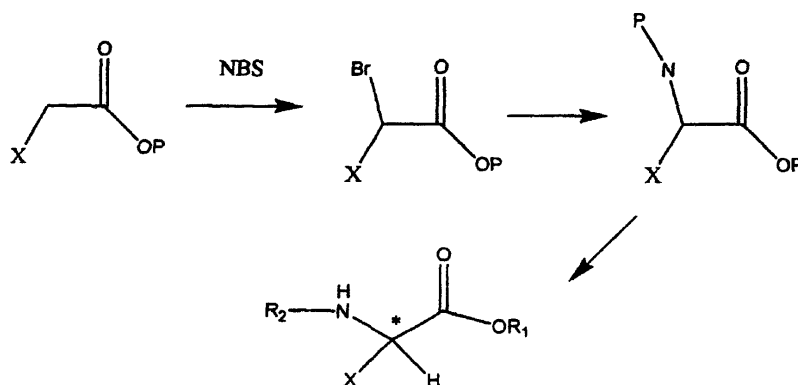


Схема 5a

в которой P является защитной группой, такой как третичный бутил, которая может быть такой же, что и R₁. X является группой, описанной выше. Это защищенное соединение бромруют с использованием галогенирующего реагента, такого как PBr₃, NBS или CBr₄, с последующим вытеснением галогена с использованием NH₃ или защищенного производного амина, такого как фталимид калия. Включение R₁ и R₂ может быть легко выполнено специалистом.

Синтез соединений формулы Vb, в которых X и Y содержат циклопропановое кольцо.

Среди различных путей для конструирования α-аминокислот, широко используется 1,3-диполярное циклоприсоединение диазоалканов с производными α,β-дегидроаминокислот. Таким образом, приведенная ниже схема демонстрирует, что заместители R₃ дегидроаминокислот, которые предпочтительно являются алкилом или Ar¹, могут быть защищены в виде иминоэфиров, где Ar¹ имеет описанное выше значение. Специалисту в данной области будет понятно, что такие соединения могут взаимодействовать с диазозамещенными соединениями, которые являются предпочтительно алкилом или Ar¹, с образованием полученного защищенного производного циклопропана. Реакция таких соединений с основными спиртовыми растворами, такими как раствор метоксида натрия, с последующим кислотным гидролизом может

обеспечить соответствующие R_3 -, R_4 -замещенные циклопропанаминокислоты. Дополнительная дериватизация R_1 и R_2 может быть легко выполнена известными способами.

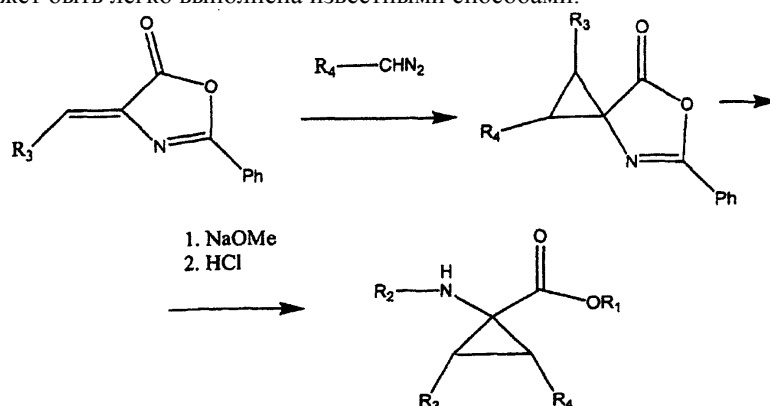


Схема 5b

Синтез соединений формулы Vb, в которых X и Y содержат кольца из 5-8-членов.

Замещенные карбоциклические или содержащие гетероатомы кольца из предпочтительно 5, 6, 7, 8 членов могут быть превращены в производные аминокислот, соответствующие соединениям, представленным в формуле Vb. Одним из нескольких хорошо установившихся путей является превращение содержащего циклический кетон соединения в соответствующее производное аминокислоты. Такие циклические кетосоединения широко описаны в литературе и могут легко синтезироваться специалистом. Исходные соединения могут быть защищенными или незащищенными. Присоединение триметилсилилцианида к иминному производному исходного кетона приводит к образованию продуктов присоединения цианогруппы. Гидролиз и восстановительное расщепление этого защищенного амина приводит к образованию аминокислоты. Дополнительная дериватизация R_1 и R_2 может быть легко выполнена известными способами.

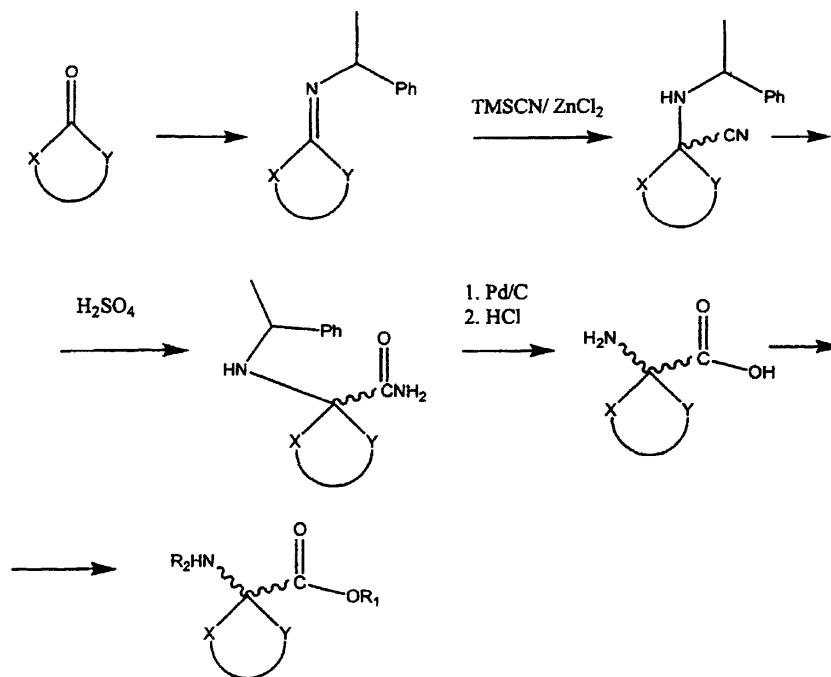


Схема 5с

Синтез соединений формулы Vc.

Соединения формулы Vc могут быть синтезированы из производных сульфенимина соединений, замещенных R_3 , где R_3 предпочтительно представляет алкил или арил. Имеются несколько путей для получения замещенных сульфениминов, которые могут быть легко синтезированы специалистом.

Присоединение R_4 в форме металлорганического реагента, такого как алкилмагнибромид, с последующей обработкой трифторуксусной кислотой обеспечивает соответствующую дизамещенную аминокислоту, которая может быть дополнительно дериватизована при R_1 и R_2 известными способами.

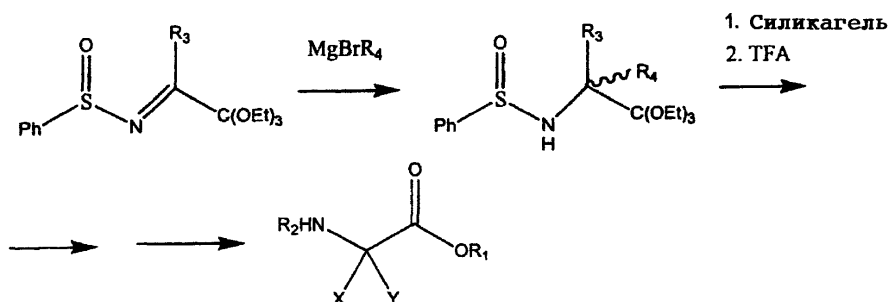


Схема 5d

Синтез соединений формулы VI

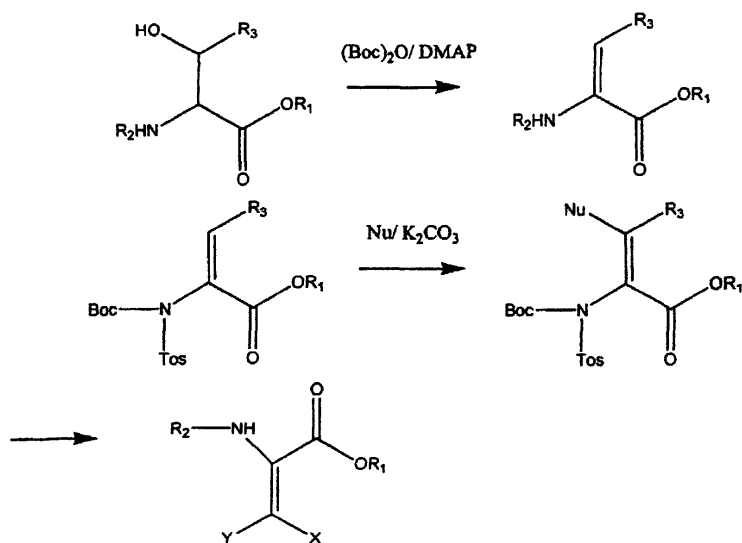


Схема 6

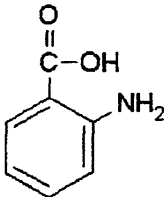
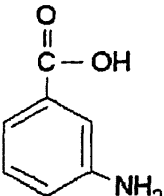
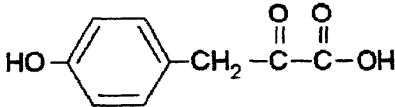
Моно- или дизамещенные дегидроаминопроизводные могут быть синтезированы из замещенного аминоспирта. Такие аминоспирты легко синтезируются специалистом в данной области способами, сходными с процедурами, описанными ранее. Дегидратация монозамещенного аминоспирта с использованием $(\text{Boc})_2\text{O}/\text{DMAP}$ приводит к образованию дегидроаминопроизводного. Присоединение нуклеофилов (Nu) в присутствии основания дает дизамещенное дегидроаминопроизводное.

Эти стадии могут варьироваться для увеличения выхода желаемого продукта. Специалисту будет понятно, что разумный выбор реагентов, растворителей и температур является важным компонентом для успешного синтеза. Хотя определение оптимальных условий и т.д. является рутинной, должно быть понятно, что можно получить множество соединений сходным образом с использованием в качестве руководства приведенных выше схем.

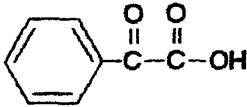
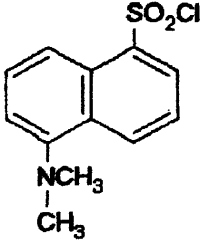
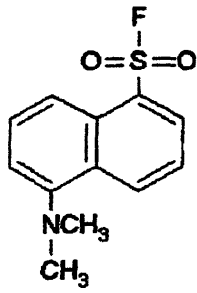
Предполагается, что специалист в области органической химии сможет легко проводить стандартные манипуляции с органическими соединениями без дополнительных пояснений; т.е. проведение таких манипуляций находится вполне в рамках практики специалиста в данной области. Эти манипуляции включают, но не ограничиваются ими, восстановление карбонильных соединений до их соответствующих спиртов, окисления гидроксидов и т.п., ацилирования, ароматические замещения, как электрофильные, так и нуклеофильные, этерификации (образования простых эфиров), этерификации (образования сложных эфиров) и омыления и т.п. Примеры этих манипуляций обсуждаются в стандартных руководствах, таких как March, *Advanced Organic Chemistry* (Wiley), Carey and Sundberg, *Advanced Organic Chemistry* (Vol. 2) и Keeting, *Heterocyclic Chemistry* (все 17 томов).

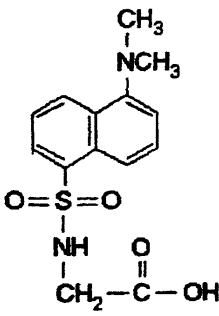
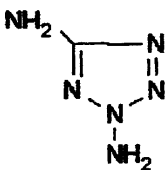
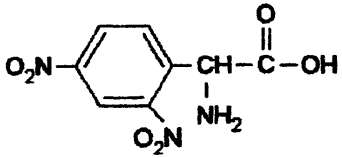
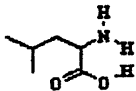
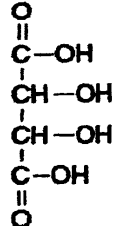
Специалисту в данной области будет понятно, что определенные реакции лучше всего проводить, когда функциональная группа в молекуле замаскирована или защищена, что позволяет избежать нежелательных побочных реакций и/или увеличения выхода таких реакций. Эти реакции можно найти в литературе, и они находятся в рамках квалификации специалиста. Примеры многих из этих манипуляций могут быть найдены в T. Greene, *Protecting Groups in Organic Synthesis*. Конечно, аминокислоты, используемые в качестве исходных материалов, с реакционноспособными боковыми цепями предпочтительно блокируют для предотвращения нежелательных побочных реакций.

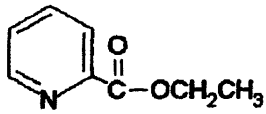
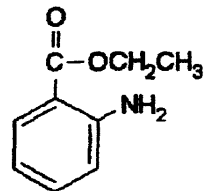
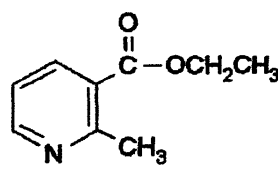
Таблица 1

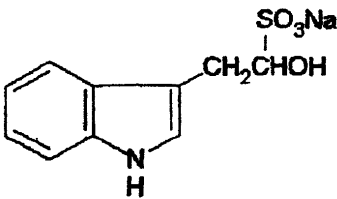
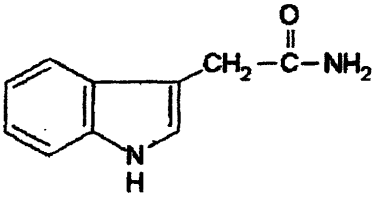
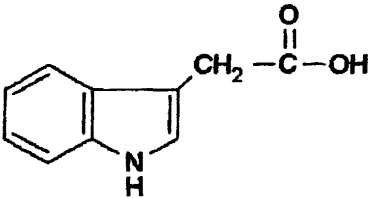
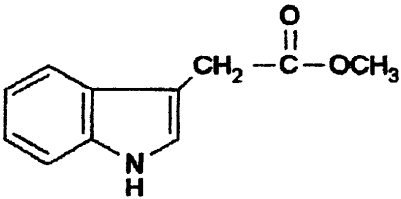
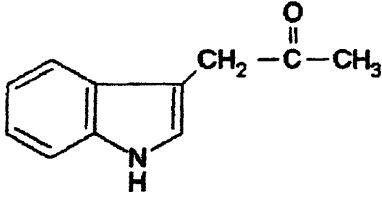
Название	Структура
2-аминобензоат	
2-гидроксибутират	$\text{CH}_3 \text{ CH}_2 \overset{\text{OH}}{\underset{ }{\text{CH}}} - \overset{\text{O}}{\parallel} \text{C} - \text{ONa}$
2-гидроксибутират	$\text{CH}_3 \text{ CH}_2 \overset{\text{OH}}{\underset{ }{\text{CH}}} - \overset{\text{O}}{\parallel} \text{C} - \text{ONa}$
3-аминобензоат	
3-гидроксибутират	$\text{CH}_3 \overset{\text{OH}}{\underset{ }{\text{CH}}} \text{CH}_2 - \overset{\text{O}}{\parallel} \text{C} - \text{ONa}$
4-гидроксифенилпируват	
Дикарбоксилат ацетона	$\text{HO} - \overset{\text{O}}{\parallel} \text{C} - \text{CH}_2 - \overset{\text{O}}{\parallel} \text{C} - \text{CH}_2 - \overset{\text{O}}{\parallel} \text{C} - \text{OH}$

Название	Структура
Бикарбонат аминогуанидина	$\begin{array}{c} \text{NH} \\ \\ \text{H}_2\text{NNH}-\text{C}-\text{NH}_2 \end{array} \cdot \text{H}_2\text{CO}_3$
Аминогуанидин-HCl	$\begin{array}{c} \text{NH} \\ \\ \text{H}_2\text{NNH}-\text{C}-\text{NH}_2 \end{array} \cdot \text{HCl}$
Гемисульфат аминогуанидина	$\begin{array}{c} \text{NH} \\ \\ \text{H}_2\text{NNH}-\text{C}-\text{NH}_2 \end{array} \cdot \frac{1}{2}\text{H}_2\text{SO}_4$
Нитрат аминогуанидина	$\begin{array}{c} \text{NH} \\ \\ \text{H}_2\text{NNH}-\text{C}-\text{NH}_2 \end{array} \cdot \text{HNO}_3$
Сульфат аминогуанидина	$\begin{array}{c} \text{NH} \\ \\ \text{NH}_2\text{NH}-\text{C}-\text{NH}_2 \end{array} \cdot \text{H}_2\text{SO}_4$ $\cdot \text{H}_2\text{O}$
Соль меди бензойной кислоты	$\left[\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{C}-\text{O}^- \\ \\ \text{C}_6\text{H}_5 \end{array} \right]_2 \text{Cu}^{2+} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
Бензойная кислота	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{C}_6\text{H}_5 \end{array}$

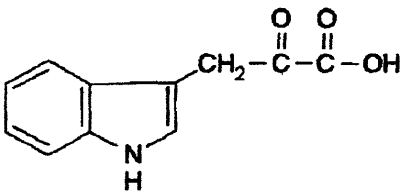
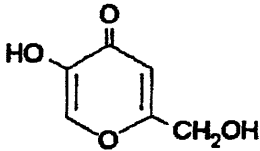
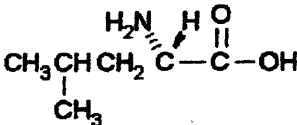
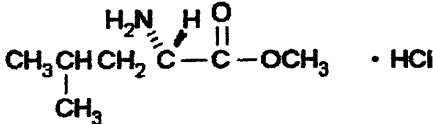
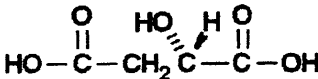
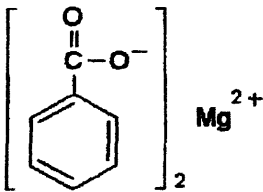
Название	Структура
Бензоилмуравьиная кислота	 <chem>O=C(O)c1ccccc1</chem>
Цистеамин	$\text{H}_2\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{SH}$
Дансилхлорид	 <chem>CCN(C)c1cccc2c(S(=O)(=O)Cl)cccc12</chem>
Дансилфторид	 <chem>CCN(C)c1cccc2c(S(=O)(=O)F)cccc12</chem>

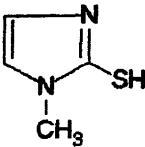
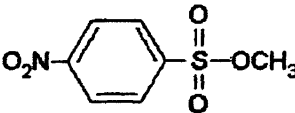
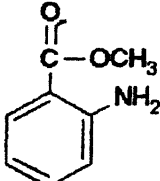
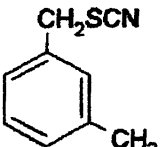
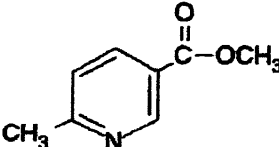
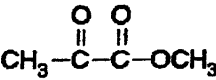
Название	Структура
Дансилглицин	 <chem>CN(C)c1ccc2cc(ccc2c1)S(=O)(=O)NCC(=O)O</chem>
Диаминотетразол	 <chem>Nc1nn[nH]n1N</chem>
Динитрофенилглицин	 <chem>O=[N+]([O-])c1cccc(c1)C(N)C(=O)O</chem>
D-лейцин	 <chem>CC(C)C[C@H](C(=O)O)N</chem>
DL-тарtrat	 <chem>O=C(O)[C@H](O)[C@@H](O)C(=O)O</chem>

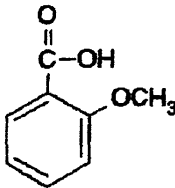
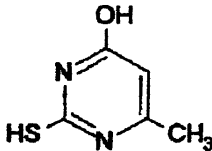
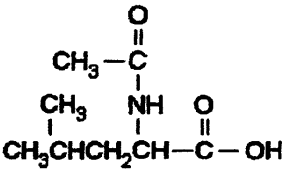
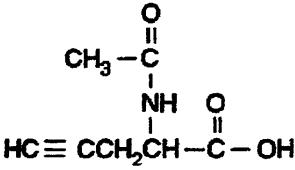
Название	Структура
D-яблочная кислота	$\begin{array}{c} \text{O} \quad \text{HO} \quad \text{H} \quad \text{O} \\ \parallel \quad \diagdown \quad \diagup \quad \parallel \\ \text{HO}-\text{C}-\text{CH}_2-\text{C}-\text{C}-\text{OH} \end{array}$
D-tartрат	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}-\text{OH} \\ \\ \text{C}-\text{OH} \\ \parallel \\ \text{O} \end{array}$
Этил-2-пиколинат	
Этилантиранилат	
Этилбромпируват	$\text{BrCH}_2-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{OCH}_2\text{CH}_3$
Этилметилникотинат	
Гидроксиламин-HCl	$\text{H}_2\text{NOH} \cdot \text{HCl}$

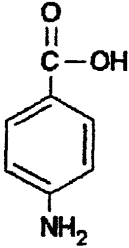
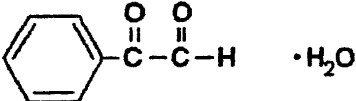
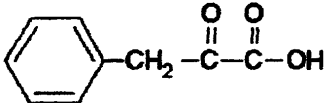
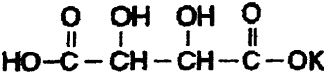
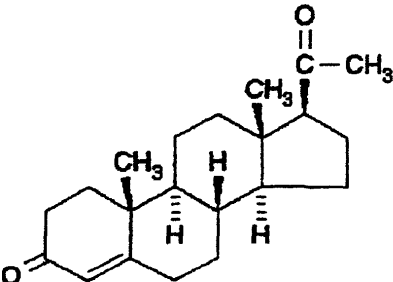
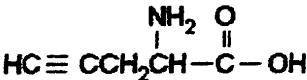
Название	Структура
Индоп-3-ацетальдегид- бисульфит натрия	 <chem>CC1=CC=C2C(=C1)C(=CN2)CC(O)S(=O)(=O)[Na]</chem>
Индоп-3-ацетамид	 <chem>CC1=CC=C2C(=C1)C(=CN2)CC(=O)N</chem>
Индоп-3-ацетат	 <chem>CC1=CC=C2C(=C1)C(=CN2)CC(=O)O</chem>
Метилловый эфир индоп-3-уксусной кислоты	 <chem>CC1=CC=C2C(=C1)C(=CN2)CC(=O)OC</chem>
Индоп-3-ацетон	 <chem>CC1=CC=C2C(=C1)C(=CN2)CC(=O)C</chem>

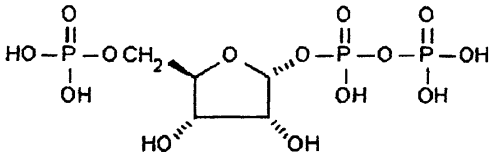
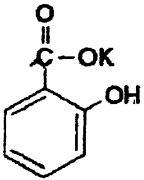
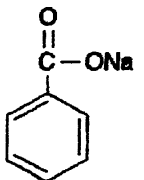
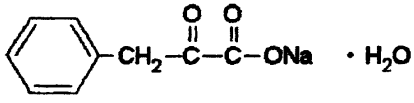
Название	Структура
Индол-3-ацетилаланин	<chem>CC(NC(=O)C1=CC=C2C(=C1)C=CNC2)c3ccccc3C(=O)O</chem>
Индол-3-ацетил-Asp	<chem>OC(=O)CC(NC(=O)C1=CC=C2C(=C1)C=CNC2)c3ccccc3C(=O)O</chem>
Индол-3-карбоксилат	<chem>OC(=O)c1ccc2c(c1)c[nH]2</chem>
Индол-3-пропионат	<chem>OC(=O)CCc1ccc2c(c1)c[nH]2</chem>

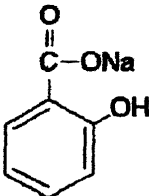
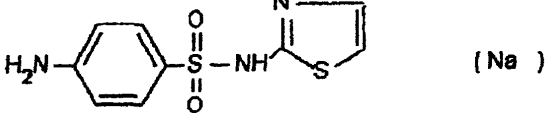
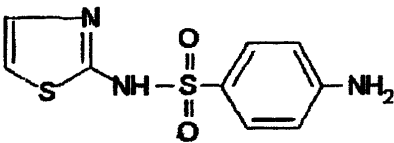
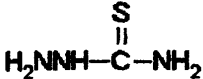
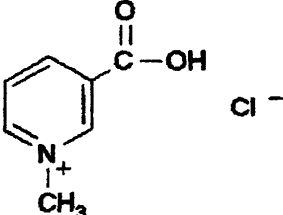
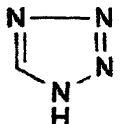
Название	Структура
Индол-3-пируват	
Койевая кислота	
L-лейцин	
Метилвый эфир L-лейцина-HCl	
L-яблочная кислота	
Бензоат магния	

Название	Структура
Метимазол	
Метил-4-нитробензолсульфонат	
Метилантранилат	
Метилбензилтиоцианат	
Метилметилникотинат	
Метилпируват	

Название	Структура
Метилсалицилат	
Метилурацил	
MGAG diHCl	$\text{H}_2\text{N}-\overset{\text{NH}}{\underset{\parallel}{\text{C}}}-\text{NH}-\text{N}=\overset{\text{CH}_3}{\text{C}}-\text{CH}=\text{N}-\text{NH}-\overset{\text{NH}}{\underset{\parallel}{\text{C}}}-\text{NH}_2 \quad \cdot 2\text{HCl}$ $\cdot x\text{H}_2\text{O}$
N-ацетил-D-лейцин	
N-ацетил-D-L-пропаргил-глицин	
Нитроэтан	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{NO}_2$

Название	Структура
п-аминобензоат	
Моногидрат фенилглиоксала	
Фенилпируват	
Тартрат калия	
Прогестерон	
Пропаргилглицин	

Название	Структура
Пируват	$\text{CH}_3-\overset{\overset{\text{O}}{\parallel}}{\text{C}}-\overset{\overset{\text{O}}{\parallel}}{\text{C}}-\text{OH}$
RPP	
Салицилат	
Бензоат натрия	
Альфа-кетоизовалерат натрия	$\text{CH}_3-\overset{\overset{\text{CH}_3}{\mid}}{\text{CH}}-\overset{\overset{\text{O}}{\parallel}}{\text{C}}-\overset{\overset{\text{O}}{\parallel}}{\text{C}}-\text{ONa}$
Фенилпируват натрия	
Пируват натрия	$\text{CH}_3-\overset{\overset{\text{O}}{\parallel}}{\text{C}}-\overset{\overset{\text{O}}{\parallel}}{\text{C}}-\text{ONa}$

Название	Структура
Салицилат натрия	
Натрий-сульфатиазол	
Сульфатиазол	
Тиосемикарбазид	
Тиомочевина	
Тригонеллин	
Незамещенный тетразол	

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

- Способ идентификации молекулы-кандидата для лечения нарушения ЦНС, включающий:
 - а) контактирование полипептида оксидазы D-аминокислот (DAO) или D-аспаратоксидазы (DDO) или его биологически активного фрагмента с тест-соединением;
 - б) определение, (i) связывается ли указанное соединение с указанным полипептидом, или (ii) ингибирует активность указанного полипептида; и
 - с) если указанное соединение связывается с указанным полипептидом или ингибирует указанный полипептид, введение указанного соединения животной модели шизофрении, депрессии или биполярного нарушения,
 где определение, что указанное соединение ослабляет характерный признак нарушения ЦНС в указанной животной модели, свидетельствует о том, что указанное соединение является молекулой-кандидатом для лечения нарушения ЦНС.
- Способ по п.1, отличающийся тем, что указанное соединение селективно связывается с указанным полипептидом.
- Способ по п.1, отличающийся тем, что указанное соединение селективно ингибирует активность указанного полипептида.

4. Способ по любому из пп.1-3, отличающийся тем, что указанное соединение способно ингибировать окисление или деградацию D-аминокислоты, выбранной из группы, состоящей из D-Met, D-Pro, D-Phe, D-Tyr, D-Ile, D-Leu, D-Ala, D-Val, D-Ser, D-Arg, D-His, D-норлейцина, D-Trp, D-орнитина, цис-4-гидрокси-D-пролина, D-Thr, D-Trp-метилового эфира, N-ацетил-D-Ala, D-Lys, D-Asp, D-Glu, D-Asn, D-Gln, D-Asp-диметилового эфира и N-метил-D-Asp.

5. Способ по п.4, отличающийся тем, что указанное соединение способно ингибировать окисление или деградацию D-серина.

6. Способ идентификации молекулы-кандидата для лечения шизофрении, депрессии или биполярного нарушения, включающий:

а) контактирование полипептида DAO или DDO или его биологически активного фрагмента с тест-соединением;

б) определение, ингибирует ли селективно указанное соединение активность указанного полипептида;

где определение, что указанное соединение селективно ингибирует активность указанного полипептида, свидетельствует о том, что указанное соединение является молекулой-кандидатом для лечения шизофрении, депрессии или биполярного нарушения.

7. Способ идентификации молекулы-кандидата для лечения шизофрении, депрессии или биполярного нарушения, включающий:

а) контактирование полипептида DAO или DDO или его биологически активного фрагмента с тест-соединением;

б) определение, связывает ли селективно указанное соединение указанный полипептид;

где определение, что указанное соединение селективно связывает указанный полипептид, свидетельствует о том, что указанное соединение является молекулой-кандидатом для лечения шизофрении, депрессии или биполярного нарушения.

8. Выделенная или очищенная нуклеиновая кислота, кодирующая полипептид DAO, выбранная из группы, состоящей из

(i) молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующей полипептид, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 8-10; и

(ii) молекулы нуклеиновой кислоты, содержащей последовательность нуклеиновой кислоты, выбранную из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 1 и 3-6, или последовательность, комплементарную ей.

9. Очищенный или выделенный полипептид DAO, выбранный из группы, состоящей из

а) полипептида, содержащего аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 8-10.

б) полипептид, кодируемый молекулой нуклеиновой кислоты, содержащей последовательность нуклеиновой кислоты, выбранную из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 1 и 3-6.

10. Способ скрининга антагониста полипептида DAO, включающий:

а) контактирование тест-соединения с любым из полипептидов DAO по п.9;

б) определение уровня активности DAO и

с) сравнение указанной активности с активностью контрольной пробы, которая не содержит тест-соединения, при этом пониженный уровень активности DAO в сравнении с контрольной пробой свидетельствует о том, что тест-соединение является антагонистом DAO.

11. Способ скрининга соединений, ингибирующих экспрессию мРНК DAO или полипептида DAO, включающий:

а) инкубирование клеток, экспрессирующих любой из полипептидов DAO по п.9 в присутствии и в отсутствии тест-соединения; и

б) определение уровня мРНК DAO или полипептида DAO в клетках.

12. Способ детектирования ассоциации с шизофренией, депрессией или биполярным нарушением, включающий определение идентичности нуклеотида в DAO-связанном биаллельном маркере или его комплемента в биологической пробе.

13. Способ по п.12, отличающийся тем, что указанная биологическая проба получена из одного субъекта.

14. Способ по п.13, отличающийся тем, что указанная биологическая проба получена из многих субъектов.

15. Способ по п.12, дополнительно включающий амплификацию части указанной последовательности, содержащей биаллельный маркер, перед указанной стадией определения.

16. Способ по п.15, отличающийся тем, что указанную амплификацию проводят при помощи ПЦР.

17. Способ по п.12, отличающийся тем, что указанное определение выполняют с использованием гибридизационного анализа, секвенирования, микросеквенирования или ферментативного анализа детектирования ошибочного спаривания.

18. Способ оценки частоты аллеля биаллельного маркера в популяции, включающий:

а) генотипирование индивидуумов из указанной популяции в отношении указанного биаллельного маркера в соответствии со способом по п.12 и

б) определение пропорционального представления указанного биаллельного маркера в указанной популяции.

19. Способ детектирования ассоциации между генотипом и признаком, включающий стадии:

а) определения частоты встречаемости по меньшей мере одного биаллельного маркера в признак-положительной популяции в соответствии со способом по п.18;

б) определения частоты встречаемости по меньшей мере одного биаллельного маркера в контрольной популяции в соответствии со способом по п.18 и

с) определения, существует ли статистически значимая ассоциация между указанным генотипом и указанным признаком.

20. Способ определения, имеется ли у индивидуума риск развития шизофрении, депрессии или биполярного нарушения, включающий:

а) генотипирование по меньшей мере одного биаллельного маркера способом по п.12 и

б) коррелирование результата стадии а) с риском развития шизофрении, депрессии или биполярного нарушения.

21. Способ по любому из пп.12-20, отличающийся тем, что указанный биаллельный маркер выбран из группы маркеров, представленных в SEQ ID NO: 1, 24, 26 и 29, и их комплементов.

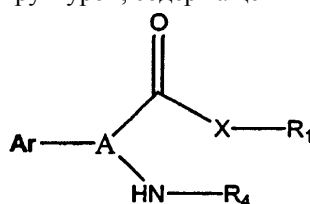
22. Способ диагностики, обнаружения предрасположенности или склонности к шизофрении, депрессии или биполярному нарушению у субъекта, включающий:

(а) получение пробы нуклеиновой кислоты от указанного субъекта и

(б) определение идентичности нуклеотида в DAO-связанном полиморфизме или его комплемента в указанной биологической пробе.

23. Способ по любому из пп.1-7, отличающийся тем, что указанное тест-соединение выбрано из группы, состоящей из

1) соединения, представленного структурой, содержащей



или его фармацевтически приемлемой соли, где

а) А обозначает алкил, такой как метил, этил, пропил или бутил; алкил с разветвленной цепью, такой как изобутил, изопропил, изопентил, или циклоалкил, такой как циклопропил, циклопентил или циклогексил; такие группы могут быть сами замещены C₁-C₆алкилом, галогеном, гидроксилем или амином;

б) X обозначает O или N;

с) Ar обозначает ароматическое моно-, би- или трициклическое конденсированное гетероциклическое кольцо, где кольцо является незамещенным или замещено в 1-5 положениях водородом, галогеном, гидроксилем, -CN, COR₂, -CONR₂R₃, -S(O)_nR₂, -OPO(OR₂)OR₃, -PO(OR₃)R₃, -OC(O)NR₂R₃, -COOR₂, -CONR₂R₃, -SO₃H, -NR₂R₃, -NR₂COR₃, -NR₃COOR₃, -SO₂NR₂R₃, -N(R₂)SO₂R₃, -NR₂CONR₂R₂, -SO₂NHCOR₂, -CONHSO₂R₂, SO₂NHCN, -OR₁, C₁-C₆алкилом или алкенилом с прямой или разветвленной цепью или C₁-C₆алкилом или алкенилом с прямой или разветвленной цепью, который замещен одним или более из галогена, гидроксила, амина, карбокси, карбоксамида, нитрила, нитро, алкокси, трифторметила, серы, сульфоната, фосфоната, фосфата, Ar¹, N₃ или их комбинации, и где гетероциклическое кольцо содержит 1-6 гетероатомов, выбранных из группы, состоящей из O, N, S и их комбинации;

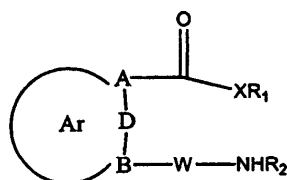
д) R₄ обозначает H, алкил, Ar¹, O, замещенный алкил;

е) R₁ обозначает (C₁-C₆)алкил, Ar¹, (C₁-C₄)алкоксикарбонилметил, замещенный алкил;

ф) R₂ и R₃, каждый независимо, обозначают водород, C₁-C₆алкил или алкенил с прямой или разветвленной цепью или C₁-C₆алкил или алкенил с прямой или разветвленной цепью, который замещен одним или более из галогена, гидроксила, амина, карбокси, карбоксамида, нитрила, нитро, алкокси, трифторметила, серы, сульфоната, фосфоната, фосфата, Ar¹ или N₃; и

г) Ar¹ обозначает моно-, би- или трициклическое, карбо- или гетероциклическое кольцо, где кольцо является незамещенным или замещено в 1-3 положениях галогеном, гидроксилем, нитро, трифторметилом, C₁-C₆алкилом или алкенилом с прямой или разветвленной цепью, C₁-C₄алкокси, C₁-C₄алкенилокси, фенокси, бензилокси, амина или их комбинацией; где размеры каждого кольца соответствуют 3-7 членам и где гетероциклическое кольцо содержит 1-6 гетероатомов, выбранных из группы, состоящей из O, N, S или их комбинации;

2) соединения, представленного структурой, содержащей



где а) А и В состоят из С или N и D может содержать 0-2 члена, состоящих из С или N;

б) W обозначает C_1 - C_4 алкил, такой как $(CH_2)_n$, алкил с разветвленной цепью;

с) n равно 0-4, кроме того, когда n=0, предполагается, что $-NHR_2$ ковалентно связан с В;

д) X обозначает О или N;

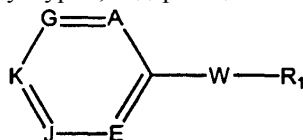
е) R_2 обозначает H, алкил, Ar^1 или О-замещенный алкил;

ф) R_1 обозначает (C_1-C_6) алкил, Ar^1 , (C_1-C_4) алкоксикарбонилметил или замещенный алкил;

г) Ar обозначает ароматическое моно-, би- или трициклическое конденсированное гетероциклическое кольцо, где кольцо является незамещенным или замещено в 1-6 положениях галогеном, гидроксильной группой, нитро, трифторметилом, C_1 - C_6 алкилом или алкенилом с прямой или разветвленной цепью, C_1 - C_4 алкокси, C_1 - C_4 алкенилокси, фенокси, бензилокси, амино, C_3 - C_6 -циклоалкилом или их комбинацией; где размеры каждого кольца соответствуют 5-6 членам и где гетероциклическое кольцо содержит 1-6 гетероатомов, выбранных из группы, состоящей из О, N, S и их комбинации; и

г) Ar^1 обозначает моно-, би- или трициклическое, карбо- или гетероциклическое кольцо, где кольцо является незамещенным или замещено в 1-3 положениях галогеном, гидроксильной группой, нитро, трифторметилом, C_1 - C_6 алкилом или алкенилом с прямой или разветвленной цепью, C_1 - C_4 алкокси, C_1 - C_4 алкенилокси, фенокси, бензилокси, амино или их комбинацией; где размеры каждого кольца соответствуют 3-7 членам и где гетероциклическое кольцо содержит 1-6 гетероатомов, выбранных из группы, состоящей из О, N, S или их комбинации; и

3) соединение, представленное структурой, содержащей



где а) А, G, K, J, Е являются членами шестичленного карбо- или гетероциклического ароматического кольца, где гетероциклическое кольцо содержит 1-6 гетероатомов, выбранных из группы, состоящей из С, N и их комбинации;

б) каждый из А, G, K, J, Е может быть независимо незамещенным или замещен водородом, галогеном, гидроксильной группой, $-CN$, COR_2 , $-CONR_2R_3$, $-S(O)_nR_2$, $-OPO(OR_2)OR_3$, $-PO(OR_3)R_3$, $-OC(O)NR_2R_3$, $-COOR_2$, $-CONR_2R_3$, $-SO_3H$, $-NR_2R_3$, $-NR_2COR_3$, $-NR_3COOR_3$, $-SO_2NR_2R_3$, $-N(R_2)SO_2R_3$, $-NR_2CONR_2R_2$, $-SO_2NHCOR_2$, $-CONHSO_2R_2$, SO_2NHCN , $-OR_1$, C_1 - C_6 алкилом или алкенилом с прямой или разветвленной цепью или C_1 - C_6 алкилом или алкенилом с прямой или разветвленной цепью, который замещен одним или более из галогена, гидроксильной группы, амино, карбокси, карбоксамида, нитрила, нитро, алкокси, трифторметила, серы, сульфоната, фосфоната, фосфата, Ar^1 или N_3 ;

с) R_1 обозначает $-CN$, COR_2 , $-CONR_2R_3$, $-S(O)_nR_2$, $-OPO(OR_2)OR_3$, $-PO(OR_3)R_3$, $-OC(O)NR_2R_3$, $-COOR_2$, $-CONR_2R_3$, $-SO_3H$, $-NR_2R_3$, $-NR_2COR_3$, $-NR_3COOR_3$, $-SO_2NR_2R_3$, $-N(R_2)SO_2R_3$, $-NR_2CONR_2R_2$, $-SO_2NHCOR_2$, $-CONHSO_2R_2$, SO_2NHCN , SCN , $COCO_2H$, C_1 - C_6 алкил или алкенил с прямой или разветвленной цепью или C_1 - C_6 алкил или алкенил с прямой или разветвленной цепью, который замещен одним или более из галогена, гидроксильной группы, амино, карбокси, карбоксамида, нитрила, нитро, алкокси, трифторметила, серы, сульфоната, фосфоната, фосфата, Ar^1 или N_3 ;

д) W обозначает N, $(CH_2)_x$ или $-NCH_2$;

е) $x=0-4$;

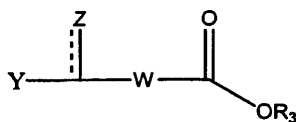
ф) $n=0-2$;

г) R_2 и R_3 , каждый независимо, обозначают водород, C_1 - C_6 алкил или алкенил с прямой или разветвленной цепью или C_1 - C_6 алкил или алкенил с прямой или разветвленной цепью, который замещен одним или более из галогена, гидроксильной группы, амино, карбокси, карбоксамида, нитрила, нитро, алкокси, трифторметила, серы, сульфоната, фосфоната, фосфата, Ar^1 или N_3 ; и

г) Ar^1 обозначает моно-, би- или трициклическое, карбо- или гетероциклическое кольцо, где кольцо является незамещенным или замещено в 1-3 положениях галогеном, гидроксильной группой, нитро, трифторметилом, C_1 - C_6 алкилом или алкенилом с прямой или разветвленной цепью, C_1 - C_4 алкокси, C_1 - C_4 алкенилокси, фенокси, бензилокси, амино или их комбинацией; где размеры каждого кольца соответствуют 5-6 членам и где гетероциклическое кольцо содержит 1-6 гетероатомов, выбранных из группы, состоящей из О, N, S или их комбинации.

24. Способ по любому из пп.1-7, отличающийся тем, что указанное тест-соединение выбрано из группы, состоящей из

1) соединения, представленного структурой, содержащей



где а) W обозначает $(CH_2)_n$;

б) $n=0-5$;

с) Z обозначает O или гидроксил;

д) Y обозначает H, Ar^1 , $R_4(CH_2)_x$, $R_1S(CH_2)_x$, $R_1SO(CH_2)_x$, $R_1SO_2(CH_2)_x$, $R_1SO_3(CH_2)_x$, $HNR_1SO_2(CH_2)_x$, $R_1R_2N(CH_2)_x$, $R_1O(CH_2)_x$, CF_3 или OH;

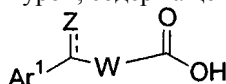
е) $x=0-6$;

ф) R_1 , R_2 и R_3 , каждый независимо, обозначают водород, C_1 - C_6 алкил с прямой или разветвленной цепью или C_1 - C_6 алкил с прямой или разветвленной цепью, замещенный одним или более из галогена, гидроксила, amino, карбокси, карбоксамида, нитрила, нитро, алкокси, трифторметила, серы, сульфоната, фосфоната, фосфата или Ar^1 ;

г) R_4 обозначает галоген, CN, N_3 , C_1 - C_6 алкил с прямой или разветвленной цепью или C_1 - C_6 алкил с прямой или разветвленной цепью, замещенный одним или более из галогена, гидроксила, нитро, алкокси, трифторметила, сульфоната, фосфоната, фосфата, Ar^1 , $-COR_1$, $-COOR_1$, $-CONR_1R_2$, CN, $-NR_1$, $-NR_1R_2$, $-SR_1$, $-SO_2NHCN$ или N_3 ; и

х) Ar^1 обозначает моно-, би- или трициклическое, карбо- или гетероциклическое кольцо, где кольцо является незамещенным или замещено в 1-3 положениях галогеном, гидроксилом, нитро, трифторметилом, C_1 - C_6 алкилом или алкенилом с прямой или разветвленной цепью, C_1 - C_4 алкокси, C_1 - C_4 алкенилокси, фенокси, бензилокси, amino или их комбинацией; где размеры каждого кольца соответствуют 5-6 членам и где гетероциклическое кольцо содержит 1-6 гетероатомов, выбранных из группы, состоящей из O, N, S или их комбинации; и

2) соединения, представленного структурой, содержащей



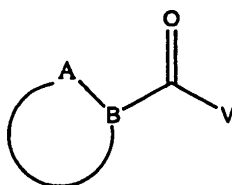
где а) Y обозначает Ar^1 ;

б) Z обозначает карбонил или гидроксил;

с) W обозначает $(CH_2)_n$ (где $n=0, 1$ или 2) и $R_3=H$ и

д) Ar^1 обозначает моно-, би- или трициклическое, карбо- или гетероциклическое кольцо, где кольцо является незамещенным или замещено в 1-3 положениях галогеном, гидроксилом, нитро, трифторметилом, C_1 - C_6 алкилом или алкенилом с прямой или разветвленной цепью, C_1 - C_4 алкокси, C_1 - C_4 алкенилокси, фенокси, бензилокси, amino или их комбинацией; где размеры каждого кольца соответствуют 5-6 членам и где гетероциклическое кольцо содержит 1-6 гетероатомов, выбранных из группы, состоящей из O, N, S или их комбинации.

25. Способ по любому из пп.1-7, отличающийся тем, что указанное тест-соединение представлено структурой, содержащей



где а) A и B, взятые вместе, образуют 5-8-членное насыщенное или частично ненасыщенное гетероциклическое кольцо, содержащее по меньшей мере один дополнительный гетероатом O, S, SO, SO_2 , NH или NR_1 в любой химически стабильной степени окисления;

б) V обозначает O, OR_1 , NR_2 , NR_1R_2 , CHR_1R_2 , CH_2R_3 , CHR_3R_4 или CH_2N_3 ;

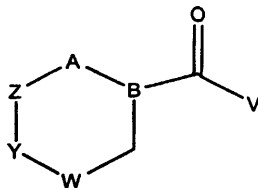
с) R_1 и R_2 независимо обозначают водород, C_1 - C_6 алкил с прямой или разветвленной цепью или C_1 - C_6 алкил с прямой или разветвленной цепью, замещенный одним или более из галогена, гидроксила, amino, карбокси, карбоксамида, нитро, алкокси, трифторметила, серы, сульфоната, фосфоната или Ar^1 ;

д) R_3 и R_4 обозначают, каждый, галоген, C_1 - C_6 алкил с прямой или разветвленной цепью или C_1 - C_6 алкил с прямой или разветвленной цепью, замещенный одним или более из гидроксила, amino, карбокси, карбоксамида, нитро, алкокси, трифторметила, серы, сульфоната, фосфоната, Ar^1 , $-OC(O)R_1$, $-COOR_1$, $-CONR_1R_2$, CN, NR_1 , $-NR_1R_2$, $-SR_1$, $-SO_2NHCN$ или N_3 ; и

е) Ar^1 обозначает моно-, би- или трициклическое, карбо- или гетероциклическое кольцо, где кольцо является незамещенным или замещено в 1-3 положениях галогеном, гидроксилом, нитро, трифторметилом, C_1 - C_6 алкилом или алкенилом с прямой или разветвленной цепью, C_1 - C_4 алкокси, C_1 - C_4 алкенилокси, фенокси, бензилокси, amino или их комбинацией; где размеры каждого кольца соответствуют 5-6 членам и где гетероциклическое кольцо содержит 1-6 гетероатомов, выбранных из группы, состоящей из O, N, S или их комбинации.

26. Способ по п.25, отличающийся тем, что указанное соединение является цистатионинкетимином или циклотионином.

27. Способ по любому из пп.1-7, отличающийся тем, что указанное тест-соединение представлено структурой, содержащей



где а) W-Y-Z-A-B представляют шестичленное насыщенное или частично ненасыщенное карбоциклическое или гетероциклическое кольцо, где гетероциклическое кольцо содержит гетероатом (гетероатомы), выбранный из группы, состоящей из O, N, S и любой их комбинации;

б) В обозначает C, CH или N;

с) A, W, Y, Z обозначают, каждый независимо, CH₂, CHR₃, CR₃R₄, O, S, SO, SO₂, NH, NR₁, NR₁R₂ или C=O;

д) V обозначает O, OR₁, NR₂, NR₁R₂, CHR₁R₂, CH₂R₃, CHR₃R₃ или CH₂N₃;

е) R₁ и R₂ обозначают, независимо, водород, C₁-C₆алкил с прямой или разветвленной цепью или C₁-C₆алкил с прямой или разветвленной цепью, замещенный одним или более из галогена, гидроксила, амина, карбокси, карбоксамида, нитрила, нитро, алкокси, трифторметила, серы, сульфоната, фосфоната, фосфата или Ag¹;

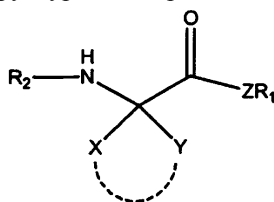
ф) R₃ и R₄ обозначают, каждый независимо, галоген, -OC(O)R₁, -COOR₁, -CONR₁R₂, CN, -NR₁, -NR₁R₂, -SR₁, -SO₂NHCN или N₃, C₁-C₆алкил с прямой или разветвленной цепью или C₁-C₆алкил с прямой или разветвленной цепью, замещенный одним или более из галогена, гидроксила, нитро, алкокси, трифторметила, серы, сульфоната, фосфоната, Ag¹, -OC(O)R₁, -COOR₁, -CONR₁R₂, CN, -NR₁, -NR₁R₂, -SR₁, -SO₂NHCN или N₃; и

г) Ag¹ обозначает моно-, би- или трициклическое карбо- или гетероциклическое кольцо, где кольцо является незамещенным или замещено в 1-3 положениях галогеном, гидроксидом, нитро, трифторметилом, C₁-C₆алкилом или алкенилом с прямой или разветвленной цепью, C₁-C₄алкокси, C₁-C₄алкенилокси, фенокси, бензилокси, амина или их комбинацией; где размеры каждого кольца соответствуют 5-6 членам и где гетероциклическое кольцо содержит 1-6 гетероатомов, выбранных из группы, состоящей из O, N, S или их комбинации.

28. Способ по п.27, отличающийся тем, что указанное соединение выбрано из группы, состоящей из аминокислоты (2H-1,4-тиазин-5,6-дигидро-3-карбоновой кислоты), тиоморфолин-2-карбоновой кислоты, лантионинкетимины и 1,4-тиоморфолин-3,5-дикарбоновой кислоты.

29. Способ по любому из пп.1-7, отличающийся тем, что указанное тест-соединение выбрано из группы, состоящей из

1) соединения, представленного структурой, содержащей



где а) Z обозначает O или NH;

б) R₁ обозначает (C₁-C₆)алкил, Ag¹ или (C₁-C₄)алкоксикарбонилметил;

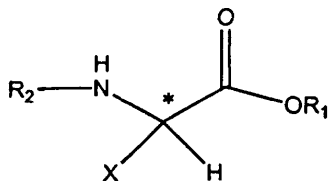
с) X, Y, каждый независимо, обозначают H, Ag¹, (C₁-C₆)алкил (который может быть прерван или замещен гетероатомами, такими как N, P, O, S или Si, причем эти гетероатомы могут быть сами замещены один раз или несколько раз (C₁-C₃)алкилом), (C₂-C₆)алкенил, (C₁-C₆)галогеналкил или галоген; при том, что когда X и Y каждый обозначают углерод, они могут быть ковалентно соединены с образованием насыщенного или частично ненасыщенного карбоциклического соединения из 3-8 членов, состоящих независимо из C, N, O и S, где дополнительно члены кольца могут быть сами незамещенными или замещены галогеном, гидроксидом, карбокси, нитро, трифторметилом, C₁-C₆алкилом или алкенилом с прямой или разветвленной цепью, C₁-C₄алкокси, C₁-C₄алкенилокси, фенокси, бензилокси, амина, замещенным алкилом, Ag¹ или их комбинацией;

д) R₂ обозначает H, алкил, Ag¹ или O-замещенный алкил; и

е) Ag¹ обозначает моно-, би- или трициклическое, карбо- или гетероциклическое кольцо, где кольцо является незамещенным или замещено в 1-3 положениях галогеном, гидроксидом, нитро, трифторметилом, C₁-C₆алкилом или алкенилом с прямой или разветвленной цепью, C₁-C₄алкокси, C₁-C₄алкенилокси, фенокси, бензилокси, амина или их комбинацией; где размеры каждого кольца соответствуют 3-7 членам

и где гетероциклическое кольцо содержит 1-6 гетероатомов, выбранных из группы, состоящей из O, N, S или их комбинации;

2) соединения, представленного структурой, содержащей



где а) * = асимметричный центр и

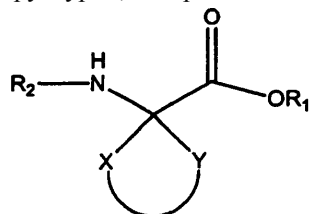
б) R₁ обозначает (C₁-C₆)алкил, Ar¹, (C₁-C₄)алкоксикарбонилметил;

с) X обозначает H, (C₁-C₆)алкил (который может быть прерван или замещен гетероатомами, такими как N, P, O, S или Si, причем эти гетероатомы могут быть сами замещены (C₁-C₃)алкилом один раз или несколько раз), (C₂-C₆)алкенил, (C₁-C₆)галогеналкил, галоген или Ar¹;

д) R₂ обозначает H, алкил, Ar¹ или O-замещенный алкил;

е) Ar¹ обозначает моно-, би- или трициклическое, карбо- или гетероциклическое кольцо, где кольцо является незамещенным или замещено в 1-3 положениях галогеном, гидроксилом, нитро, трифторметилом, C₁-C₆алкилом или алкенилом с прямой или разветвленной цепью, C₁-C₄алкокси, C₁-C₄алкенилокси, фенокси, бензилокси, amino или их комбинацией; где размеры каждого кольца соответствуют 3-7 членам и где гетероциклическое кольцо содержит 1-6 гетероатомов, выбранных из группы, состоящей из O, N, S или их комбинации;

3) соединения, представленного структурой, содержащей



где а) X и Y каждый обозначают углерод;

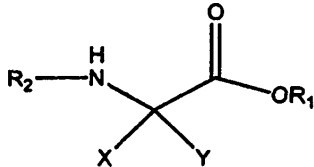
б) X и Y соединены насыщенным или частично насыщенным кольцом из 3-8 атомов углерода, и такое кольцо само может быть замещено в 1-5 положениях галогеном, гидроксилом, карбокси, amino, нитро, циано, трифторметилом, C₁-C₆алкилом или алкенилом с прямой или разветвленной цепью, C₁-C₄алкокси, C₁-C₄алкенилокси или замещенными алкильными группами;

с) R₁ обозначает (C₁-C₆)алкил, Ar¹ или (C₁-C₄)алкоксикарбонилметил;

д) R₂ обозначает H, алкил, Ar¹ или O-замещенный алкил и

е) Ar¹ обозначает моно-, би- или трициклическое, карбо- или гетероциклическое кольцо, где кольцо является незамещенным или замещено в 1-3 положениях галогеном, гидроксилом, нитро, трифторметилом, C₁-C₆алкилом или алкенилом с прямой или разветвленной цепью, C₁-C₄алкокси, C₁-C₄алкенилокси, фенокси, бензилокси, amino или их комбинацией; где размеры каждого кольца соответствуют 3-7 членам и где гетероциклическое кольцо содержит 1-6 гетероатомов, выбранных из группы, состоящей из O, N, S или их комбинации;

4) соединения, представленного структурой, содержащей

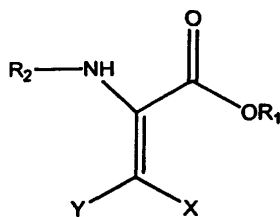


где а) X, Y независимо обозначают H, Ar¹, (C₁-C₆)алкил (который может быть прерван или замещен гетероатомами, такими как N, P, O, S или Si, причем гетероатомы могут быть сами замещены (C₁-C₃)алкилом один раз или несколько раз), (C₂-C₆)алкенил, (C₁-C₆)галогеналкил или галоген, например нафтил или фенил;

б) R₂ обозначает H, алкил, Ar¹ или O-замещенный алкил;

с) Ar¹ обозначает моно-, би- или трициклическое, карбо- или гетероциклическое кольцо, где кольцо является незамещенным или замещено в 1-3 положениях галогеном, гидроксилом, нитро, трифторметилом, C₁-C₆алкилом или алкенилом с прямой или разветвленной цепью, C₁-C₄алкокси, C₁-C₄алкенилокси, фенокси, бензилокси, amino или их комбинацией; где размеры каждого кольца соответствуют 3-7 членам и где гетероциклическое кольцо содержит 1-6 гетероатомов, выбранных из группы, состоящей из O, N, S или их комбинации.

30. Способ по любому из пп.1-7, отличающийся тем, что указанное тест-соединение представлено структурой, содержащей



где а) R₁ обозначает (C₁-C₆)алкил, Ar¹ или (C₁-C₄)алкоксикарбонилметил;

б) R₂ обозначает H, алкил, Ar¹ или O-замещенный алкил;

с) Y обозначает H, Ar¹, (C₁-C₆)алкил (который может быть прерван или замещен гетероатомами, такими как N, P, O, S или Si, причем эти гетероатомы могут быть сами замещены (C₁-C₃)алкилом один раз или несколько раз), (C₂-C₆)алкенил, (C₁-C₆)галогеналкил или галоген;

д) X обозначает алкил или фенил.

31. Применение соединения, способного ингибировать превращение D-аминокислоты в соответствующую α-кетокислоту, выбранного из группы, состоящей из бензоата, аминоэтилцистеинкетимина, аминоэтилцистеина (тиализина); цистеамина; пантетеина; цистатионина и S-аденозилметионина и их производных, для производства лекарственного средства для лечения шизофрении и биполярного нарушения.

32. Применение соединения, способного ингибировать превращение D-аминокислоты в соответствующую α-кетокислоту, выбранного из группы, состоящей из соединений, используемых в способах по пп.23-30, для производства лекарственного средства для лечения шизофрении и биполярного нарушения.

33. Применение по п.31 или 32, отличающееся тем, что указанное соединение способно ингибировать окисление или деградацию D-серина.

34. Применение по п.33, отличающееся тем, что указанное соединение ингибирует активность полипептида DAO или DDO.

35. Способ лечения психоза, шизофрении, биполярного нарушения, депрессии или нарушения сознания у пациента, нуждающегося в таком лечении, включающий введение указанному пациенту эффективного количества композиции или соединения, содержащих антагонист или ингибитор DAO, или антагонист или ингибитор DDO.

36. Способ по п.35, в котором антагонист или ингибитор выбран из группы, состоящей из соединений, которые используются в способах по пп.23-30.

Список последовательностей

<110> GENSET
 <120> Лечение нарушений центральной нервной системы с использованием антагонистов оксидазы D-аминокислот и D-аспартатоксидазы
 <130> 101.W01
 <150> 60/261,883
 <151> 2001-01-16
 <150> 60/305,445
 <151> 2001-07-13
 <150> 60/
 <151> 2001-10-22
 <150> 60/333,881
 <151> 2001-11-19
 <160> 26
 <170> Patent.pm
 <210> 1
 <211> 86592
 <212> ДНК
 <213> Homo sapiens
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> 38388..40388
 <223> 5'-регуляторный участок
 <220>
 <221> ЭКЗОН
 <222> 40389..40670
 <223> ЭКЗОН Z
 <220>
 <221> ЭКЗОН
 <222> 42666..42778
 <223> ЭКЗОН A
 <220>
 <221> ЭКЗОН
 <222> 43416..43519
 <223> ЭКЗОН B
 <220>
 <221> ЭКЗОН
 <222> 61159..61402
 <223> ЭКЗОН C
 <220>
 <221> ЭКЗОН
 <222> 64050..64711
 <223> ЭКЗОН Ulong
 <220>
 <221> ЭКЗОН
 <222> 64578..64711
 <223> ЭКЗОН U

<220>
 <221> ЭКЗОН
 <222> 68126..68261
 <223> ЭКЗОН V

<220>
 <221> ЭКЗОН
 <222> 69488..69690
 <223> ЭКЗОН 2

<220>
 <221> ЭКЗОН
 <222> 71942..72056
 <223> ЭКЗОН 3

<220>
 <221> ЭКЗОН
 <222> 73962..74038
 <223> ЭКЗОН 4

<220>
 <221> ЭКЗОН
 <222> 74701..74766
 <223> ЭКЗОН 5

<220>
 <221> ЭКЗОН
 <222> 77478..77532
 <223> ЭКЗОН 6

<220>
 <221> ЭКЗОН
 <222> 78762..78866
 <223> ЭКЗОН 7

<220>
 <221> ЭКЗОН
 <222> 81507..81589
 <223> ЭКЗОН 8

<220>
 <221> ЭКЗОН
 <222> 83181..83298
 <223> ЭКЗОН 9

<220>
 <221> ЭКЗОН
 <222> 83879..83977
 <223> ЭКЗОН 10

<220>
 <221> ЭКЗОН
 <222> 84906..85423
 <223> ЭКЗОН 11

<220>
 <221> ЭКЗОН
 <222> 84906..85541
 <223> ЭКЗОН 11long

<220>
 <221> misc_feature

```

<222> 85542..86592
<223> 3'-регуляторный участок

<220>
<221> аллель
<222> 6199
<223> 24-1443-126 : полиморфное основание С или Т

<220>
<221> аллель
<222> 44814
<223> 24-1457-52 : полиморфное основание А или С

<220>
<221> аллель
<222> 72600
<223> 27-93-181 : полиморфное основание А или G

<220>
<221> аллель
<222> 84046
<223> 24-1461-256 : полиморфное основание А или G

<220>
<221> primer_bind
<222> 6074..6094
<223> 24-1443.pu

<220>
<221> primer_bind
<222> 6559..6579
<223> 24-1443.rp комплемент

<220>
<221> primer_bind
<222> 44763..44782
<223> 24-1457.pu

<220>
<221> primer_bind
<222> 45257..45277
<223> 24-1457.rp комплемент

<220>
<221> primer_bind
<222> 72359..72378
<223> 27-93.rp

<220>
<221> primer_bind
<222> 72763..72780
<223> 27-93.pu комплемент

<220>
<221> primer_bind
<222> 83791..83811
<223> 24-1461.pu

<220>
<221> primer_bind
<222> 84307..84324
<223> 24-1461.rp комплемент

```

```

<220>
<221> primer_bind
<222> 6180..6198
<223> 24-1443-126.mis

<220>
<221> primer_bind
<222> 6200..6218
<223> 24-1443-126.mis КОМПЛЕМЕНТ

<220>
<221> primer_bind
<222> 44795..44813
<223> 24-1457-52.mis

<220>
<221> primer_bind
<222> 44815..44833
<223> 24-1457-52.mis КОМПЛЕМЕНТ

<220>
<221> primer_bind
<222> 72581..72599
<223> 27-93-181.mis

<220>
<221> primer_bind
<222> 72601..72619
<223> 27-93-181.mis КОМПЛЕМЕНТ

<220>
<221> primer_bind
<222> 84027..84045
<223> 24-1461-256.mis

<220>
<221> primer_bind
<222> 84047..84065
<223> 24-1461-256.mis КОМПЛЕМЕНТ

<220>
<221> misc_binding
<222> 6187..6211
<223> 24-1443-126. зонд

<220>
<221> misc_binding
<222> 44802..44826
<223> 24-1457-52. зонд

<220>
<221> misc_binding
<222> 72588..72612
<223> 27-93-181. зонд

<220>
<221> misc_binding
<222> 84034..84058
<223> 24-1461-256. зонд

<400> 1
attattggaa caggccacac ttgcgagga agtccctgcc tcagaaagat tcagaaaagc 60
tagacagtca ctggaagaac aattacaacc gcaagacggt caaacactaa acaccgctat 120

```

gcctcagaac	cgtacagata	atggccaaat	agatggggct	ctgggcattt	ctgagagcac	180
ctgcctggtg	gcaccccatc	ctaattggacc	atgccctcca	gtctccaagt	ggctcttcag	240
agctcacatc	cgaacacctc	ctatgctaca	ggttcttcta	gccccagggt	cccaaccacc	300
ccaaggccac	agaggccagc	cccaactcca	tcttctacat	gtgtcacagg	aaactttctc	360
atagtgtctat	ttattatgta	ctgcggggggt	ggggggccatg	tcataaaaaga	aatgtctctc	420
cttttttatt	catctccttc	taacaagcat	caaatgtctca	gtcgctagca	tgtgacttac	480
agaagctctc	atgggaacaa	gacaagacca	tactgttacc	gtgacactca	cggcctccct	540
gactggtttc	tgtgttgat	tctgcctcaa	atgtctctca	aatgcacctt	gctgctccgc	600
ctccacccta	gagctcgct	gactgcccac	ttgcccgta	agagtcggct	taggcttcac	660
tcctgccaga	aaggctcctgc	cagggtgctct	caacagtcac	cccctcctgt	ggcttcacaa	720
aaccccagca	cctctcggtc	actctctccc	tcctatctgg	ttgtgactgt	cttccatgct	780
cacttagaag	ctctctgagg	ccaagaactg	tgtgtactgt	tgcttctttg	tttacctggg	840
cctagcccat	tgctcctac	acaggagaat	gcaataaaat	catatgctta	atgaatgagt	900
cgatgaatga	atgatgaata	aagggaatct	aatctagttt	taacaaatcc	aggttttgca	960
atgatctcac	aggcattcat	ttatcttgtg	atgtcagggg	agtgactcca	ccctcatttc	1020
acacgcatct	tggggtcaat	gctctaactt	acttggcctc	cagttagtgg	gaaattacaa	1080
gctacacttc	aagcctctga	ctaggacctg	ccatgaagta	cttgggaatc	agtggagtat	1140
cactgtgggg	tgagggtgtct	gaggcgaggc	ccaccaatct	ccatacttct	ccccggggcc	1200
ctctgctgta	gagggtctcc	ctgcttcctt	tggcagactc	tggtttggcc	ttctgggttc	1260
ggcggttggtg	tcacctcctt	caggaagcat	ttctgggtaa	ggtgccccac	tcctatagcag	1320
ctggtgtaaa	acctctctaa	gcaaacagca	taactttctg	tcctctcaat	tgactctgag	1380
ttctgagagc	acagcctgga	gctggcacgg	tgctggcac	agagagctga	aatggcacac	1440
cctagtgttc	ccagtggctc	gactccccag	gctctccatc	aggacgcagc	cctctcccac	1500
ctctgatggg	tatgggacca	tggaatgctt	tgctccagcag	caactcttgc	ctccctcaca	1560
gaagggaaca	cctagcccat	cagactcacc	tttcttact	ggaaaagtcc	actcccagca	1620
agatattctc	ctcgggtgtcc	tggcgcccgc	tgtgttacac	caccaccatg	taccggaccc	1680
ggtccgcccc	ggcgctctcc	aggcgactg	ctctgaaacag	ggcagacatg	ctctcactaa	1740
cttgcccttg	gaggtggtgc	ctccctccca	tctccaatgc	aagatcaaca	ctttcagtgt	1800
tctacctttc	cctctgggag	ttaaaaatga	agagaaaatt	cttggctggg	catggtgggt	1860
caggcctgta	atcccagcac	tttgggaggc	caaggtaggc	agatcacttg	aggtcaggag	1920
ttcgagacca	gcctggccaa	catggcaaaa	ccccatctct	tactaaaaat	acaaaaatta	1980
gctgggcatg	gtggcggtgc	cctgtaatcc	cagctactca	ggggactgag	gcacgagaat	2040
ctcttgaaac	cgggaagcgg	aggttgcatg	gagctgagat	catgccacca	catgccagcc	2100
agagcgacag	agtgagattc	tgtctcaaac	aacaacaaca	caacaaaaca	caaagcggaa	2160
gttcttgaca	gcaggaacca	ggcctcgttt	ctctctgtag	caccagggac	ggcgctggc	2220
tcagaggaat	cacccaaaat	gcaagaaatc	agtgaacaca	tgaaatccaa	agaaagtctg	2280
tatttagctt	atttaactgc	cgtggagacc	tgtttcatcc	ctcctcccgc	ccctctgggg	2340
aactgaggag	tcaacctggc	tttggcttta	gtgcacaatt	tgagaatttg	ttgtaacctt	2400
aaagcttttc	cccttatcat	tcacgaatgg	tccccacca	ggtttcacia	ttaaaaatta	2460
aaacttgctg	gctgggcacg	gtggcttaca	ctcataactc	caggactttg	ggaggcagag	2520
gcaggagaat	catctgaggc	caggagtcca	agaccagcct	gggcaaaata	gcaagacccc	2580
atatccacaa	aattttttta	aaaataaggc	aggggtggtac	acacttgtag	tcccagctat	2640
ccaggagggt	gagggtgggaa	gattgcttga	accaggaggt	ttgaggctgt	agtgagctaa	2700
gatcatgcc	ctgcactcca	gcctgggcaa	cagagcaaga	ccctcatctc	acaaaaatta	2760
aaaaaaaaatt	ttttaacttg	acattctcac	tgcttcttac	cagcttgatt	ctgtcttcgc	2820
aacgcagaag	gttgatcatc	acctgaagat	gttgaggcag	atcacctggt	ggaccaataa	2880
agaaagcttt	aaaagggtctc	ttacctactc	tctaggaaaa	aaaacctctg	aaaggctgac	2940
tttgagggtc	tggaaaaaaga	ttgagaagtt	aaaatttgtc	tacctacacc	acaggagaat	3000
caccacaaaa	acttcaagtc	tgaattttctc	ttacaccact	ctgaatactg	tgcgacgtgg	3060
atgggtgaca	tggagctttac	tgtcatgttg	ttaaaagttg	ctcttatttc	ctgaaatata	3120
tacagtatag	gtttccaaat	acaaaatgtg	aaaaatacacg	gcaagcctag	agaaaaatgt	3180
tatttcattc	aagccaatgt	tactcggcag	gttgggggtgc	ctagaaacga	cagctgtggc	3240
tggaaagtaag	gcatttgcta	agagttaatc	attagagaaa	aaggacagag	catcacgttt	3300
cctcttcaaa	caacttcttc	ttctatacacg	agctctgcac	tgtcacccag	gctggagtgc	3360
agtggtagca	tctcagctca	ctgcaacctc	cgcctcctgg	attcaacaga	ttcttctgct	3420
tcagcctcct	aagtagctgg	gattacaggt	gcccataccc	agacccggct	aatttttgta	3480
tttatagtag	agatggagtt	tcaccatggt	ggccaggctg	gtctcgaact	cctgacctca	3540
agtgatctgc	acgcctcagc	ctcccaaagt	gctgggatta	caggcataag	ctaccccacc	3600
caggccccac	ttcaaaacttc	tgcattttctc	actggaggca	gacattattt	ccataaccgg	3660
ggggggcgggg	ggaatgtttt	aagtgactct	acagatagca	gctgtatgct	ggttgcccg	3720
agaaataatt	tgaatagaaa	ccaatctgtc	attttctctt	ttcttgctaa	aaattatgta	3780
ctcttttttc	ttcactatgt	aaaaacaggca	gtaaccaggg	acggcttctg	aacttctctg	3840
agctgcccc	gggttcagga	ggtgttctctg	gagtgcagt	aggaaagtct	cttactggcc	3900

atgagtctcg	cgcgaagcag	agaccctgtc	agaagaagcg	cacactttca	cggaggggaa	3960
agttgtaagg	gaggtgcata	attagtaagt	agcaggtgtg	actccaaggt	tgcttttttt	4020
ctctagctta	cacatTTTTc	tttatatctg	caaggatttc	tttctgaaga	aaggggtcatc	4080
tgtagagatg	ctaatatcag	cctggtgtgg	tggtcacac	ctgtaatccc	agtgttttgg	4140
gaggccgagg	caggagactc	acttgaggcc	aggcattcaa	gaccagtctg	ggcaacatgg	4200
caagacccca	tctctacaga	aaagtaaaaa	attagctggg	ctttctgggt	cacatctgta	4260
gtcccagcta	cttgggaggc	caaggcagga	ggatcgctgg	agcccaggag	tttgagatca	4320
ccctgggcaa	cacgataaga	ccctgtctct	acaaaggaaa	aaaaattact	ctatacatca	4380
caattacaac	cccaaaagga	tcaataatgc	ttacacactc	aaatgctcca	aaaggaaaca	4440
ttgtgtttgt	tccttttgca	aaagcatctt	tttcatttta	agggagaagg	acagatgatg	4500
tccaaattgc	acttcctgtc	tcagagagga	attgggtcat	tagaaatttg	tgctcttagc	4560
caggagggta	gatctcatgt	taagcgttct	ttctttttct	ttttttttca	atagagacag	4620
ggttttgcca	tggtgccag	gctggtctcg	aactcctgga	ctcaaatgat	cctctcacct	4680
cagcctccca	aagtgtggg	attataggca	tgagccacca	aaccaggcc	aattaagcat	4740
tctttccaca	ataagtaaaa	tttaaaaaag	aaaagaacca	tgccctctct	atctgtcctc	4800
tccagttata	caattccaca	gtgtataaca	ccctgtgttg	accctgcttc	ctatgatgag	4860
cgatttgagg	ataagggttc	acattaaaga	aagccataga	cctccccagc	cccttctctc	4920
acccgtcatg	tcaccaatgc	aacacaacga	caacgaccat	gagctggttc	ttcacctgcc	4980
tgggccctcc	caccatctac	ccgagtcaca	gaactgcatt	ggggaaagca	aaaacaaacc	5040
cctgtctgat	aaatgcctaa	atgaaaggga	cattttccac	acagataaac	ttctttcagt	5100
gggtattggt	gctgagatat	ggaactgctg	acagacagaa	atccaaaccc	cagtctgaca	5160
ttccacacaca	aaaaaatcag	agaatataag	ccctagaaag	ggctctaaat	tgactggact	5220
ggctgaaaca	aactgaacta	cttttccaag	gacagaatta	accctcaatt	gtactcagct	5280
ctgcacagtg	gttactgggg	ggcctctggg	acattcagga	gacttgatgg	taattctagg	5340
gaaaaaaaagg	aactaacgta	agtctagtct	gcgtctgtcc	caaggtcatt	tacagaccaa	5400
ctgtggacag	ctggcgggccc	ctctgccttc	cgacctcatc	gtccactcca	gacctcaggg	5460
cacaagagtc	agccagctgg	tggcttgcat	cctacccttc	tagtctttgg	attagaggaa	5520
ggaggtatct	gacacttagt	gagcagagct	tgagcatttg	ctttgtcata	tgtgttacaa	5580
ttaaaacatg	aacaacagct	acattttctaa	gagggcagaa	taattagcaa	atccaagaac	5640
gaagaatctg	gctgagtatg	gcacctcaaa	cctataatcc	caatgctttg	agaggctgag	5700
gtggggagat	ggcttgaggc	caggagtggg	agaccagcct	gagcaacata	gtgagtgaga	5760
cctcatctac	acacacacac	acacacacac	acacaactag	ctgggtgtgg	tgacacgcac	5820
ctatggtccc	agctactcag	gaagctaagg	ctggacaatc	acttgagccc	aggaggtcga	5880
ggctgcagtg	agctatgatc	aggccactgc	acgccagcct	gggcaagaga	atgagatccg	5940
tctctaaaaa	aacttttcat	ataattaa	aaaaaaaaag	aatgaagggt	ctgtttatag	6000
ctgtattgta	ctagaagtca	tcgtaataac	aatgatagtt	acccatatat	atatacagca	6060
cctactacag	gtaggtatgt	tacacgcata	actctaatt	tccatattgt	tccatattgt	6120
agtatttgat	gcccatgtga	aagactagga	aactgaggct	tagaagtcga	cctgttacgg	6180
cttagtaagt	tggagaacya	ggatcagaag	acaggctctgc	ctggcttcaa	aacaaatact	6240
atttccacaa	accacactgc	ctccttgtac	aggacagtta	ttttctttgc	ttaaaacaga	6300
cctaaatatt	atcaacatca	gtatgtgaaa	atactgactg	agccttgggt	tttgctataa	6360
attgcatggg	gtagaattct	aacctgagca	ctcagatcta	aatgaagct	gaatgacttg	6420
agggttaaaca	aacaaaatgt	tcacaagaaa	actggccaca	atagctgggt	ggtttcacct	6480
gctgtgttc	tgaagggtaa	aggccttctc	agctcacaga	cattcaatta	tgactgcct	6540
ctccaagaaa	tgccctgaga	tgctgtccac	ctacgacaaa	gatccactta	catgcaagca	6600
ctttttctct	tttctttctt	tttgagatag	ggctcctttc	ttttgtcacc	caggctggag	6660
tgcaagtggc	caatcgtggc	tcactgagca	acacagttag	caacatagtg	agacctcatt	6720
tacatacaca	cccacaaaaa	actagctggc	tgtggtgaca	catcagcctc	gacctcctgg	6780
gctcaagcaa	tcctcccacc	tcagccccc	accttgctgg	gattacaggc	atgcgccacc	6840
acgccagct	aatttttgta	ttttttgca	agatagggtt	tcactgtgtt	gttcgggtta	6900
gtctggaact	cctgggttca	agcgagatct	gccacccttg	gcctcccaa	tcctggaatt	6960
acaggcaaga	gccaccgtgc	ctggccataa	tggtgttttg	ttgttattgt	ttttaagaaa	7020
cagagtctct	ctctgtcacc	caggctggag	tgcaagtggc	tgatcctagc	ttgctgcagc	7080
ctcaaaactcc	tgggtcaag	cgatcctccc	aactcagcct	cccaaagcac	tgggattaca	7140
gggtgtgagat	accatgcagg	gccacgcaag	catttcttga	attcctcttt	ctaactgcct	7200
tcagctctga	gtcaagtctc	ctaagaaaac	cagtcttact	acttagtagg	cacttcttat	7260
ttaaactcag	tttgatcttc	accctattac	ttctgtctac	ttcctaaaaa	caaactatta	7320
cagaatcaag	acttctact	acagtgtcta	tctcagagtt	ggagccaaag	gcccttcaag	7380
aaattctcca	aatgagtgtt	tttcaaatgc	ttggagaaat	ccatcccaag	attaggtata	7440
cagcactcca	gatggttatt	ttcaagtggg	cgacactctg	ctataattca	ttttgggtgca	7500
tttggttaaaa	agtcaggctg	taacttacag	cctgcaatta	actgataaac	tacagagagg	7560
aaatctttgc	atcccagcag	gatgctgctg	accttactcc	tgacgcagac	agacatgaca	7620
taaaagggtt	gaaaatgtgc	gtgggtctgct	caagagagag	catctgagcc	tctgcctgca	7680

ctgggtcactg	caaaccgcg	tccactatgt	ctaaggcctt	caaactcagc	aacatcacca	7740
acaatggaag	tttcctctgc	tgtccagaaa	agaagctcca	atgtaagagt	atcaacttag	7800
agccctcacc	tgcattgctg	tgggggtgct	gaagactccg	ctggucttga	gggctgcttc	7860
cctgttgtaa	gaagagggct	gcgcctttca	ccatgaaaaa	gctctcactt	aagctgggaa	7920
ggataaagacc	agagcacagt	tagaccggaa	ttcagacagg	aaaatggaca	aagaattact	7980
gcaggggaaa	aagcttttagc	gtggacaaat	ggcatgtaaa	atgcaaatag	gatgaaactg	8040
cttttataat	aattccacgt	agtacttttc	tcaaaccctg	cttttgctaa	aagcttgctg	8100
ctggagaatt	ttcgtgacaa	aataatgctt	ctgtgacaa	acccaaagtt	ctacataggc	8160
tctccagggc	ccctttctgc	agaatactgg	acagggatct	caactgtcata	taacattttc	8220
ttctttcttt	tttttttgag	acgcagtttc	actctgtcat	ccaggctgga	gtacagtggg	8280
gtgatctcaa	ctcactgcaa	cctctgcctc	ctgggttcaa	gcgattctca	tgtctcagcc	8340
tccccagaag	ctgagattac	aggcatgtgc	caccatggcc	agctaattat	tgtattatta	8400
gtagagacat	ggtttttaco	tgttggtccag	gctggtctca	aactcctgac	ctccagcaat	8460
ctgcctgctt	aggcctcctg	gagtgtgtgt	attacaggcg	tgaccacgcc	cagccataac	8520
attttctaag	aaaagagaac	aactccctga	ttaggagagg	gcagtctact	ttgtgaattc	8580
tcatgctctt	gctgttgatc	tctgcttcta	actctctggc	ttttaacaac	tccattgttt	8640
cttggtgact	tcccttgatg	gaatacaagg	atgaaattac	actttcacta	gttgtttgca	8700
ttttaagaaa	agtggggagg	ggccgggtgg	ctcaagcctg	taatcccagc	attttgggag	8760
gccaaaggcag	tggatcactt	gaggtcagg	gttcgagacc	agtctggcca	acatggtgaa	8820
accctgtctc	tactaaaaat	gcaaaaatta	gccaggcgtg	gtggcacatg	cctgtaatcc	8880
cagctactca	gaaggctgag	gcacaagaat	cgcttacttg	agccccaggg	acggaggttg	8940
gagtgcagca	agatcgacc	acgcaccact	gcactccagc	ctgggcgaca	gagcaagact	9000
gtgtctcaaa	aaaaaaaaaa	gaaagaaaga	aagaaagaaa	aaagtgggtg	gatactgact	9060
tgtgatttaa	cttagtcaag	gttgcctgt	ccactattct	tgaggaaaac	ctcaagttgg	9120
cccaatgaat	ttctcagcag	aatgaatctt	tggcctttgt	tattttagct	agcaataaca	9180
tttataacta	cctataactt	taaaaattac	aattaaaaaa	tgtttatttg	ggaggctggg	9240
gtggaaggat	catttgagcc	caggagtctg	agaccagcct	gggcaacgtt	gtgagacccc	9300
gtcgtacatc	aaaagttttt	atttttaatt	tcactttcat	gacttggcta	tcaagctctg	9360
cttttgcaaa	aattaagaca	taagaaaaga	atgcttcagc	tatgaattac	tatcaattgt	9420
tcaaaaatac	catcaactct	caaaattatg	cataaaaatac	accaaataa	ttaacaacgg	9480
ctttgcggga	ggtgggggag	gaggaggaat	agattatctt	ctagtatttt	ccaaatgttc	9540
tatatttaac	atatattaac	cttttaaaaca	tctacttttg	tttgattctc	aaaaataatat	9600
aaaacactac	tatataat	aaaaagaaca	ttctaactct	aataatttca	taaaaggagg	9660
tcacagtcca	aattgtaggc	aactataaaa	atttcgctct	tgaacaacca	atgaacatat	9720
acatgatttg	aaggaaaaat	ccctaagaaa	aagcagctct	ctaattaaaag	agaaccttga	9780
aattaagtaa	atcaattcct	gacagaaaga	cgaagatgtt	ttctgtaata	caagaaagca	9840
agatcacctt	tgccccagac	atctaattgt	agtagttaa	cgttcgaatt	ctggaataaa	9900
aaactcagca	aagtctaaag	tatgactctg	ggtgccaaaga	aaatgccaca	ggaactagca	9960
tttccaatca	gcagctcctg	agatcaggaa	gactgttatg	ttctatgata	taaagtccac	10020
aataaaatct	gttagttttt	ctggtttaaat	gctcatgcta	aaaaatagtga	ctgctcaaat	10080
attaatgaag	aagacttagt	tttgcccttct	tgttcagctc	tctgaattcc	aggcaattgg	10140
ttttcgatat	cttgtgacac	caatacttga	catctaacag	cattttgtcc	actactgcag	10200
atgcactgcc	gagtcatcct	ttccaccctc	tcacaggcat	atatttgtgc	tgcaagggtc	10260
aagtgttgag	gagctcagga	ttataaataa	cgaagaaac	gagaagcagc	ctttctttgc	10320
tgtctcacc	tcactcatag	gaagtaaaaa	gctcttttagc	atccatctgg	ccgatctcat	10380
ttcacaggct	gcagaatcac	ctaacccttt	ccacctgcaa	agcttgtcac	tctctccttc	10440
cttagaatct	cacagctgag	tatgttttca	gaactgttct	tagacacaga	tcatttacta	10500
tttattctca	tcaaaatctg	aaacagctat	gcgagagggt	ccaaactcat	gaaacctaaa	10560
acaaccatca	gttcacgaa	gcagctggga	aaatcttttc	gagacaacat	caactgcttt	10620
tgttcatgag	attaaaaaaa	aaaaattcat	actgaccaga	aaccceaagca	cgctggaaac	10680
agccaacct	taacgatgac	ctttgccttg	gaaacctga	gcaaaaattc	cccttggttt	10740
cccttatatt	tcctttggaa	aaaaaaagga	actatgcaac	agactaggct	ggtttcactc	10800
tgtgatcact	tacaaggcca	gctgttcctc	ctccatgttc	ctacactgat	aagaatcagg	10860
gactcctgct	ctacgcatga	agtcaggatg	gcattgattg	gggcccctgga	acactctgcc	10920
tctgttcccc	cacgacaatc	aagtaacagg	catttactgt	aaaaagcaag	actggaagct	10980
gcaggggaagc	ccaagtagca	gcgcattatc	ccgaagctgt	gagatcacc	tgctctctgc	11040
aaatacagtc	aggagataca	gccagaggaa	accgcacgac	atgactctcc	gggtgggggg	11100
tgggggtggga	ggcgcagag	catggtcagt	cacaggattt	atgaaaacaa	gatgcagaaa	11160
gtctctgtga	ccgggcttcc	tggcttctct	tctgagctca	ctctggggccc	agagcctcat	11220
gcgcctctctg	cgtggctgac	ctgaatactg	tatctgacga	ctgcagcttc	tgatgcccag	11280
aggcacaggc	tcccgaattca	tcagaccctc	aaagtgtccc	actggggaag	tccatgaaga	11340
aatccacatt	ggtgatggca	cgctcacttt	accagggtgtc	tggggccagg	aagcccaaac	11400
ccacaagcca	tccatcccag	ccaccagaa	gtcactcttc	tcacaaaaga	tctgagtgtc	11460

ctaaaaggag	tgactaaagt	tacaaaagg	cagacgcaga	cagacaaaac	ggaaatgtct	11520
tcctccaccg	ctgtaagaaa	aatcttgatg	agggataaaa	aaaaaaaaag	ccgctgccct	11580
ctctaccgcg	caactggaat	gtttttatct	ccaccacaca	gatctgttct	cggacactga	11640
ttactgccat	tcgggaagct	tcataagatt	aaagtttctc	caaagcattg	aagacagaca	11700
aaaaacctca	atcaatgctc	ctcaaaaaac	cccaggcccc	caaaatataa	acagccagtg	11760
tcattccagaa	accaagccat	ggcaggaaac	cagtaatcag	gggtggtcata	cgtactaatt	11820
tgagctggaa	acctctggac	agcagaagca	gtgggttggc	tgaagggaaga	tgacagaagtc	11880
ggtaaaataa	aagagggttcg	tggtctgcagt	gtccacatct	ctaacgctcc	ctacaactgc	11940
cctccgagct	ctggccatct	gtccctatg	gagatcagga	aaagccagga	ggctgccgag	12000
tgcttccacg	agggctgggg	agccaactcc	tcctcagagt	cctaccgaa	aagcaaatgg	12060
ctcttgtgga	actcttgtct	tcctctgata	ttttggctga	aaaaggccct	tgtcccagca	12120
catctctgatg	aaagagggcc	attcagcaaa	acagctgagg	ttcctctaatt	cactgcactc	12180
ctacgggctt	ttctgttaggc	cggagaaaca	agcaccgggg	tgtgcattcg	acattgtgag	12240
ggcaaaacaac	tgcccccaag	gaaccaaccc	caagcaacaa	gacccccctc	cgattcaaat	12300
caacattctg	aaggatgact	ctttctttca	aatcagcatc	catttaccaca	acggtgacgg	12360
tgacgtgggc	agctgccgca	gttagttatt	ctgcgtactc	aaagcacggg	tacatcctga	12420
aaattcttca	gtcatgctaa	cagctatctg	aggggacacg	ccaggtagag	gggaccacat	12480
gcacacctat	gaggagctct	gggatacgca	cgggtgcccaa	ggcaggtcag	gctgcaaagg	12540
tcctaaaggt	tgagggtgtg	atcccaaac	ctccaggcac	aagccagcca	agagctgtgt	12600
tttttagcgtt	tctttcagtg	agagaaataa	gttcaggatg	tgaataacca	tgacgcagga	12660
gagaatggaa	taagtaccct	aagaaaagggg	ctcggctagg	gtttacaaga	gggaaggagg	12720
agcattttac	tggtgacttc	tggaacaatt	cctgaaggaa	gcagcactga	gtaggggctt	12780
ctcttccctc	ggctcacaa	tgaccaagcg	atcctcccta	cggattaaat	gaaacacaca	12840
ttaccatgat	tctggttttg	caggtgagga	aacccagct	tgcttaggag	cacatctctc	12900
tacaagatgg	ggctggactc	acatctatct	gccccacgcc	cacctgctta	accctgttta	12960
agcagctgtt	ctactcatcc	agaatgaaaa	tcagagccat	tatgctgcgg	tcacatccgc	13020
tcattgctgc	ccagggtgct	aatggcaaa	ccactaaggc	actgagaagt	cagaatgtgg	13080
atcacatctt	ccgtctctct	tcccagtggt	tgaatgcata	atgctggtga	aagagagaga	13140
aggaaccatt	caagcaaa	gaactccagg	aagacgagac	tgtgccgggg	ttcttccatc	13200
tgcccaagta	gaaatcagaa	gggcaggggg	cccacagcct	tatcctaccc	accactgccg	13260
tcattagtgg	gggacaggac	acatcctttg	gcccttctgc	actgcataga	ggctaaggag	13320
ttctgtaaac	cacacagcca	cgctgaccaa	gaagtgcgtt	tcaaggtaag	tttctcatca	13380
acaggactat	tattttactga	ggatctccca	tgtggccaag	gctgtaggag	gtacttagct	13440
acgccacgtc	attgaactct	ggcagttctg	cagggttaagg	tattttctcc	atatgacaaa	13500
cgaaggagc	ccgtcaacaa	ttccaaaata	gaatcaccag	ggatagcatg	gacaacgccc	13560
atggtgactg	ccgcgcttta	aggtttaaga	aaagtaaaaa	ctgggggtga	tgactcattc	13620
ctgtaatccc	agcacttttg	gaggctgaga	tgggtggatc	atttgagggtc	aggagtctga	13680
gactagctgc	gtcaacatgg	caaaaacctg	tctctactaa	aaatacaaaa	attagccagg	13740
tggtggtggtg	catgcctgta	atcccagcta	ctcaggaggc	tgaggcagag	aatcacttga	13800
acccaggagg	cggaggttgc	agtgaagcaa	gatgcacca	ctgtactcca	gcctgggcga	13860
caaagtggaga	cactgtcttg	ggcagggggc	gtgggggaaca	aaagtaaaaa	caatgggtctg	13920
ggaattcata	tttctgggtt	ccaattttaca	ttctaccata	tatactctga	ttaaccctta	13980
gaattaaacc	ctagaattcc	ttacagggtt	ctgttcattc	atccaaacag	gcaaaacttt	14040
gcagagcatg	gagcacaggg	taagccaagc	cagcccaagc	tctgataagg	gcaaagacag	14100
ccatcctctt	taagggaatg	gtatatgtgc	tggtgatctg	ggtgtctgcc	ctgctgcata	14160
gaaacagcat	ttcttgaaga	acaaaaatag	taggtataga	aacatcacag	tatgggaatat	14220
ccaaacaccc	ctgaattcca	actctgggtca	tacattgaaa	caacctatca	aaactcctaaa	14280
acacattcat	gcccagggtcc	agcctcagca	gagtcctaatt	cggaaaggctc	gtgatgagtc	14340
ctgggcatct	acttttttaa	aaagttccag	ggagctgggc	atggttagctc	atgcctgtaa	14400
tcacagcact	ttgggagggtc	aaagtgggag	aatcagttga	ccctggaggt	tcaagattaa	14460
cctgggcaac	gtaacaagat	cccatctcta	caaaaaata	aaaataaaat	tagctaggct	14520
tggtggtgtg	tgctctgagt	cccagctgct	caggaggctg	aggtggggaga	atcacttgag	14580
cctgggtgag	tcaagggtac	agtgaagctgt	gaccacacca	ctgcactcca	acctgggaga	14640
cagatcttgt	ctccagaaag	ttccaggggg	tgtctctgat	gcacagccaa	gttttaaaaa	14700
cctcagaatc	aaataacatc	atggccaggc	atgggtggctc	acgcctgtaa	tcctgggcact	14760
ttgggaggcc	aagggtgggtg	gatcacttga	ggtcaggagt	tcaagaccag	cctggaaaac	14820
atggtgaaac	ccagtcttta	ctaaaaatag	aaaaattagc	tgagcgtggg	gacgcacact	14880
tgtagtccca	gcttcttggg	aagctgaggc	acgagaatca	cttgtaacct	ggagggtcgag	14940
gctgcactga	gtggagattg	tgatcctgga	gtccccactg	cactccagcc	tgatgagag	15000
tgagatgtgc	tcaaaaaaca	acacacaaac	agaagacaca	gagaaaaacag	gagaaaaacag	15060
tcttctccat	gggcttcata	aagatacctc	tcacataggt	acacgtcgat	gttttctgct	15120
ggtaaaagg	aacaccaaca	aaaaggcatg	gtgctctcag	aagggtgggtg	atgtgattag	15180
gtgcaataaa	gggagggtcat	gctagggtca	aaaacaaaat	aatactctct	ttggaagcag	15240

taaaacagat	gctagtcttc	tactacacac	tttcagagac	ctgaatgttc	ttctggccct	15300
ctaagggaga	cgctgcatca	tgacaatacg	aaatgatgac	agtgaaagca	aaaacagatc	15360
agacctgtgc	tgtgtgaaac	agacatgggg	tctcgctatg	ttgcccaggc	tggtctccaa	15420
ctcctgagct	caagcgattg	ttccgccttg	gcctcccaaa	gtgctggggg	gacagctgtg	15480
agccaccgag	accaacctca	gatcagacct	ttgācaaaact	ctgctgtgga	caaagcattc	15540
tggtgaatgt	caactcatct	gatcttcaca	aaaccgtgtg	gaagaccaga	caggcattat	15600
tacactaatt	tatgcctaag	gaaacaggga	gttaaatagt	acaaatttag	gattttctgat	15660
gctgtatctc	gaaaaaaaag	tagagaatat	gagcctgaag	aagaggccct	gtaaaggggtc	15720
ccagattgat	gggacaggct	gagacaaaag	gaatcacttt	tccctggata	gaactaacc	15780
tcaatggtac	cccactctgc	atggtgatta	ctgaggggac	tgtcaattgt	ccagcgaact	15840
tgatggtaat	tctaggagaa	aaaggaaacta	atgtaatgct	gtcagcatag	aaagatgggt	15900
gccaacgagc	attccaaaaa	ggaggctctg	tttaattcgg	ttcgatcaac	aagtatttgc	15960
tgagtgtcta	ttgtgtccgg	tcagtgtctaa	ggcctgagaa	tttagaagtg	aaacagacc	16020
ggtttccacc	catgccacag	accactccac	acctgggtctg	gagtgcact	ggagggccag	16080
gcaggcacag	gacagtaact	tcgatataag	gcagcaagtt	ccacgggtgga	aggaggtgga	16140
aggtgcagat	gcacgtacac	acaggggttc	agggaggccct	ccctggaaga	aatgaagcct	16200
gcgaggccct	gaaggatcag	taaacagaga	ggcataagg	gcaggagagt	aagatgatta	16260
tgctacatgt	accttattgt	gaacccaggga	ggatttggcc	tctgtcataa	aaggccccc	16320
tggtgggttca	taaacctcaa	tttacaatt	gtgctttata	tatcagttcc	ttataagttt	16380
ggtagcgta	aattgggttc	ttagaacttg	atcatccctg	agtgaactca	caaattcaag	16440
tttcagaatg	tgcaaaccta	agaaacaaac	ctcatgcttg	tggttgagac	atcgactgt	16500
caacatcaca	aattctcagc	acctgaatgc	ctggtatact	atcaacatat	attgttttaa	16560
atatgtaaat	aatagctttc	tagttataga	gagtttgtcc	ctacattttt	ccacttaatt	16620
tttacaatcc	cattcccctg	atgaaacaac	ccagcctgg	gcaacatggc	aaaatctctg	16680
ctctacaaaa	aatacaaaaa	ttagctgggt	gtggtggcgt	gcacctgcag	ttccgggtat	16740
ttgggaggct	gaagtgggag	aatcacttga	gcccgggagg	cagagggtgc	agtgagccaa	16800
gattgtaccg	ctgcactcca	gcctgggaga	cagaggggaga	ctctgtccca	cccacccccg	16860
cctcccaaaa	gaaaagaaaa	gaaagaaaag	aaaatgaaac	caccaagact	gggagaagat	16920
aaatgacttg	tctgtggtca	tctggctaag	aagaggtaga	atggggctga	aaaagttcgg	16980
tgctcttctt	gaagaatcca	taggtcagaa	agcagacca	tctgacctgc	agcaatagca	17040
gcaacgtgga	aagctaata	actgacctca	aaaccactct	cagtgaggct	ctggatggat	17100
tcagaacccc	aggcctagca	aagtgaagtt	gataaagatg	taaaggagat	cgaaaattca	17160
ccatttgagg	agagattagc	taaagactgc	aggctggatg	gaaaattctt	tccatgggtc	17220
ttccacagggt	tcttccctca	tttggaaactc	gtgtttaaaa	gtcacaaga	ccctgagttg	17280
ggccaaggte	tcgttcttct	tactgtggg	ccttgacgtg	caacatggca	gggcctcgtt	17340
ccaaatgtca	ctcttcagag	cttaagaaaa	caagtaactt	tagggacaca	cctgtcaacc	17400
ggagctccca	aattgtaccc	ccctaaacac	ataatgctga	gcatagaaaa	attccagctc	17460
tgagagcgt	tatacttagg	gaaagggttc	acagacaagg	aatgctggca	gggtctatta	17520
caaatatctt	tgctgtgga	acatgtattg	tttggctaga	aggcgtaggc	ttctctcaga	17580
gagaaggaat	gtccaaaagt	atcttcagaca	gtaagagaca	ttctctgagc	cagctacaca	17640
gctctccttc	aaaccaacgg	gtagcggcaa	gcagctgaac	tgaccagcga	gctcgcaaaa	17700
gcaagctttt	tttttttttt	ctccctaaat	aagacagcaa	gtgatgtgtc	ttggcttggt	17760
ttagcaaat	ttaagatagt	tcctgatga	ccccagagc	cctcaggccc	catggaagct	17820
ggagctaatt	catcttcttc	caagcatcat	ctgctctacc	aggatcttaag	ccccctcacg	17880
agggcagaag	gtataaaggc	tgactgtgct	gggaaatgct	atggcagcaa	agacagccaa	17940
acacgccaga	aataacaggc	acatgaagga	aatgtttctg	agacagctca	aaaattccga	18000
gaagagatta	ttccgactgt	cccagggtct	cagccctgtc	tatggtatgc	agccccatac	18060
cacagtcatt	tgctaccgag	tcctaaactt	ctcagaggcc	cctcctttca	ggctctctcag	18120
gcaccaccca	gttctggccc	tcctcacccc	cgtgagccag	gcgacatcca	agcagcccca	18180
cgggtgcacc	ggctctgtgc	tgcatctctc	gaatgtccct	gaaggccagg	gctgttgtat	18240
tctctaccca	ctctctgtct	agtatgggag	ccactggcca	gatgtgttga	ctgaacactt	18300
aagatgcagt	aagtgtgacc	aagaaaactg	gtttgtcatt	ttatttcatt	ttagttaatt	18360
taaattttaag	tttaatttagc	tacatgaggg	tatcagctgt	ggtataggac	agcagagctc	18420
cggagctttt	tggcctgggtg	agaagaatca	ggacaagcgc	ctccctggcc	tctcgccac	18480
tctgcacagc	cgctaaccat	tgctctcatg	acattctttc	ccagccccag	aacttttagc	18540
catgtgacat	catctattga	ttagagtcca	aacttcttgt	gctaactctc	tatgggttgc	18600
cacaatttagc	cattgtatgt	cgtaaaccta	aatttcttcc	atctgctatg	tcttgacctt	18660
aggggcttag	aatatagtta	gaaaacagta	tttcagaata	aaaaaccatt	cttgtattac	18720
ctctcgcaat	attccccctg	ttctccatgc	ttcgcaattct	ctgttctatc	cccagctata	18780
gcactgtccc	cataaagcct	actgtgggtc	tcggctcatg	gtgtccttcc	tcccatctgc	18840
ctcccagcgt	catgctgtgc	ttccagtgtt	tatgccttct	ccaggaagct	ttctcttggt	18900
gccctcgctg	tgagctatag	ctcctccctt	tcaacatctt	ctagcacctc	ctcttactgt	18960
gcagggtgagg	acactgaggc	ttaagggtta	agtcacttgc	tcaaggtcac	atacagtcgg	19020

tccctctgtat	ccgcggggttc	ctcatcagtg	gattcaacca	actacagaca	gaaaatacag	19080
tatttgaggg	atgctgaact	ctttgaatta	gtgggttctg	cgggtgctta	agcatccatg	19140
gattttgtta	tccctggcaa	aggcgggggt	cctgaaacca	atcccccttg	atactgaagg	19200
aaagaccacc	cttagtgata	ggaacctagg	aacccaagtt	ccctcatttc	caaatcggtg	19260
tccctgaccc	acttatttac	taactagtgg	tgaagccatc	tccctgccag	tatattttaa	19320
cttcacaatg	ggatgtgagg	gccaggatgc	acatgctttt	taaatctccc	tctgtgcttg	19380
acatacagta	gattgaaagt	aagtgtcgtg	agatacactg	gccaaagctg	gctcttctct	19440
gaagtacagta	ttccaggagt	aactcacctc	ggtcactctc	gtgccctggg	cacactgggc	19500
actccccaca	cacagggtga	acctggcaaa	taagactcac	agcatcatgc	cacgtgcgag	19560
ttaaagccac	ctggagggtca	ggtcagggtc	tcctgacaac	tgagtgcctc	aaataacaca	19620
acagcagcta	agttccccac	atcaccttga	gtgtctggag	agctaggcct	atgacttttc	19680
tgtctcagga	tccctctcag	tgcccagaaa	acagtggaca	tcaataaatg	taacaccaat	19740
aacatcttcg	ttgagcgtca	tgctaagcac	atcagggtatg	ttaactcatt	tattccccag	19800
tgtccatctc	tcagtgtttt	atacatcagg	gaactgaggc	tcaattagcc	gagcgtgggtg	19860
tcgtgtcctc	gtaatcccag	ctattgggag	gcacaagaat	cactcgaacc	caggagatgg	19920
aggttgcagt	gagccgagat	tgtgccacag	cactgcaaca	gagtaagact	ccgtcttaaa	19980
aaaaacaaaa	aacagaaaac	aaaacaaaca	aacactgagg	ctcagggagg	ttaagtccac	20040
tgcccaagtt	catgagacca	aggagccggg	aagcaggaag	gggaaggcag	gagtgttaact	20100
ctgaaacctc	tgctcttagg	cactggcttt	cagctgaact	gatacctctg	gaaaacagtc	20160
tcaaaaaagt	ccacttctcc	tcccaacaat	tcagacctaa	aaaccatttg	gcgggggaagg	20220
gcagggcaag	cttctgagtt	ggggaggggg	tgtgggatcc	caagctgagg	tgtctgttgg	20280
caagcagggt	gcaaagggca	tctgtgcagg	gagggggctg	caagggagac	agagactgct	20340
cacaggcaag	gaatgaata	ttaaaccatta	atgttaatat	taatatttat	aattaatata	20400
tttatgatata	atagcatata	tacatattat	attaattaat	tataactata	ttaataataat	20460
taattataac	tatattaata	taatcaatta	taactatatt	aatataatcg	attataacta	20520
tattaatata	atcgattata	actatattaa	tataatcgat	tataactata	ttaataataat	20580
cgttatattt	taataataata	taatcgatta	tattaatatt	aatataatcg	attatattaa	20640
tattaatata	atcaatatta	acaaatatat	actatataat	ataaataata	cctaagttta	20700
tataatatgc	ataatgttaa	tatttattaa	tatttcaggg	acaatgggag	tcatgaatat	20760
ggagagacaa	aactagaatg	aaccccaagg	tgctgcatca	gaatggaagg	taccagtctg	20820
aactcatagt	tttcaacctc	ttgaaataaa	tatagatgca	cgtgtgtgtg	tatgcacgta	20880
catacaaatg	ttccctaatt	ctgcccattg	agaggccgtg	ggtagcaac	accccaacac	20940
caataagcag	acctagcttg	gctcctaaat	ttcattttcc	actaaaagga	accagagccc	21000
cttgataaaa	ggactgattc	cacagggtgg	tagggagcat	ctgttgccag	aaagcaagaa	21060
agcacttaaa	gaatgatgtg	gacatgtcaa	agggacacag	aagccagcct	ggatgagatc	21120
ccactggccc	taactgtcca	caaggacaat	ttgagcaagg	atgtcaacaa	tttaagagca	21180
gattataaac	cactgaataa	aacagaaaaa	tacaaagaat	tgaaacggac	attgatggca	21240
gacaggatat	taacataaatt	ttaaagtatc	tctccaagga	atgcttctga	atgatgaagg	21300
ggaaaagaat	aactgtacag	tggaaaagcc	tggtaaaacc	caccttagtg	accaaagtga	21360
atgtcaccat	agtgggacaa	aaggaaatca	agtgccacct	tatgggattc	aacgaggacg	21420
cagcatccct	tgggtgatgt	tccagccaaa	tacacgtgcc	cgggtggaatc	acacaagaac	21480
atcagacaca	ctcacactga	gggacactct	gcaaactgac	agtactgggc	acaaacatgt	21540
ccaggtcatg	gtcgaccgca	gtggctcatg	cctgtaatcc	cagcattttg	ggaggctgag	21600
gtgggcggat	cacttgaggt	caggggttcg	agaccagcct	ggccaacatg	gcaacaccct	21660
attctctact	aaaaatacaa	aaattagccg	agcgtgggtg	agcatgcccg	taatcccagc	21720
tacttggggc	gctaaggcac	aagaatcgct	tgaacccggg	aggtggaggt	tgcagcgagc	21780
tgagatatca	ccgctgcact	ccagcttggg	cgacagagtg	agtttccaac	tcaaaaaata	21840
aaaaaataaa	ataaaatcca	ggccacaaga	gtcaaagaaa	gactgaggaa	ggttccagac	21900
tgcaggagag	ccaagagaca	ggataactag	atgcaatggg	cagtcctgaa	ttggatcttt	21960
tgttatgaag	gacaacgctg	ggacatatgg	tgactcttga	atgggggttag	aggactagac	22020
gggtgggaatg	catcagagtc	agtgtcccgc	gtggatggct	gtgttgcggt	tctgtgggag	22080
aatgccctgg	tctgtattcc	aagggtaatg	gagtagcagg	ttgacaaatt	actttcaaat	22140
ggttcaaaaa	agaaagtctc	tttactgtga	cttgcaattc	ttatgtaagc	tggaaattat	22200
ctcaaaatta	acgagaattt	tttatcgacg	tagtatttta	catattttatg	gaaaacatgt	22260
aagtattttg	tacatgcata	aactgtgtaa	tgaccaagtc	agagtatctg	gggtatccat	22320
gaccttgagt	attaatcatt	tgtatgtgtt	gggagcatta	caagttttcg	agttaccaat	22380
tttttttttt	ttcccttgag	acagggtctt	actctgtcgc	ccaggctgga	gtgcagtggg	22440
acgaccacgg	ctcacgcagc	acagcctcca	cctcccaggc	tcaagcgatc	cttccacctc	22500
aaccacccaa	gtagctggga	ctacagggtg	gtgctgccac	ccccagctaa	tttttttaatt	22560
ttttttaga	gacagggctc	cactatgctg	ccagggctgg	tactgaactc	ctaggctcaa	22620
gagatcctcc	cacctcggtc	tcccaaagtg	ctgggatcat	aggcatgagc	caccataccc	22680
agccaaattt	tttaaagtta	tttttttaaat	ctccacttaa	ttcgattttg	gtaaaacacg	22740
acctgtaatt	tttctttatc	ggtaggtaat	aaaagcttca	gatgatttta	ctgatcactg	22800

gtatgggcat	atttcavgac	tttgcctttt	catctcttgc	atagttttac	cctcaccaag	22860
caagaccttc	cctgcctcag	cactgtttgc	cctcttctgc	ttttccagaa	cagaagtggc	22920
cctgtttcgt	gcccagagca	gaagagaacg	atgaagagct	ctgctctccc	aggtcttctt	22980
ggctctgtgtg	tgtccagggt	ttgagggcct	ctcacataca	cggctctgga	ccacgtaaga	23040
tctaattttta	gcatttttct	gctcggagac	cacaatgttt	ggaacagcag	gggctgacct	23100
gcccgtgcag	gcctcctatt	gtgaagggca	cgcgaagcca	ggataccgca	gccctgcagg	23160
atgtgactca	gcatcctgtc	tcagtgtctg	ggcggccagc	agctcttgga	ccaagtgtct	23220
ctgctgacct	cacctcttaa	gaccacaaat	acccagggtg	attgggtggg	taggcatgca	23280
gcatcagctc	tccctgttaa	gacaacttgc	ttgtccatcc	attatgctgg	gcttcttctg	23340
gaacaccaca	ggatatctatc	aggaagagtt	cttccgagga	actgatctgc	tggatttttc	23400
aggacacca	gaatcaagag	attgggtctt	tttctctctt	tgctttgact	accaggaaac	23460
tcaaagtccag	atctgtggcc	aaattcttgt	aaccatacca	atgctatgtc	atgtattaca	23520
tgtacaaacc	ttccccctac	ttcatcttat	tttcttctgc	tttcttctgc	tcccgatctt	23580
ctcactaatg	ttacattcta	ttgttctcta	tgaatgttgt	aagggtgttc	aaatcctttt	23640
tggagggcac	tactgtagat	acaacacaca	ttacccctga	gggataagga	ctctttttga	23700
ctccacacag	aatccctggc	atttggcaaa	gaacccatat	ttaggcacta	aatacacatg	23760
ggctgaatgg	aaaaagccaa	tagctaagta	aaaaccacct	ccattaccat	attgtttcac	23820
aagaggttct	tttcccttcc	atctcatgag	gtggggcctg	gtcaggagtc	cccagggcct	23880
gggaattagg	ttccttaggg	agccttcttg	ctgtaggggc	agccaacagg	tcagtggcct	23940
tgaactccaga	cctaaagagc	cactcctaga	ctcccagctg	caacagacac	agcgtggcac	24000
gggtgggcct	ggccactggg	gaagtgacaa	gtgatttcca	gatgctgcag	ccagcctggc	24060
tctttccaga	ccacactgaa	ggccccctcc	tgtgggaatt	ctgatggggc	ccagatttgg	24120
ggaaacacgc	ctcagaggact	cttggcaagt	gcgtgcccag	cctggatccag	gaatgacttc	24180
tgtgggcaca	gggagagacc	aggcatttcc	taacacagga	ccttgaacag	ccttctctga	24240
aacaaagtct	ttctaaaaat	agcttcaaaa	gtaaccattc	aagaaaaaaa	agaaaaaaa	24300
aactgtaaaa	gtaaaggcac	tcaagaatga	tatttcccag	ataaaaagcct	ggcacagggt	24360
tcagagggaac	ttgcaggaaa	acagggtcaag	gctgggtttt	tcctcttagg	tgtcacttgg	24420
ttaacattgg	tctttggagg	ggaacaagtg	cggcaggaag	ggctggcact	gaaaatgatg	24480
gccactgggt	ataggccagg	gccagacact	gtacacagaa	caagactctc	tggaggcctc	24540
aggagggccc	tgaaggagg	aaggcagggt	gtggggccag	ggtcagacat	gcaagtggag	24600
taagtggcaa	ggccgatgcc	ccatccagaa	gccccgctct	gaccacacgc	aggctctccc	24660
ggcatgtcct	catttatgcg	gcagtctctt	gtatctcact	gcaattctgc	cccacactg	24720
caggctggcc	agcgtggctt	cctcataagc	acatcacccct	gcatcccgac	actgactaca	24780
cccacaaagc	aggagcccc	gcacccctca	gcccactcgc	tcagttcgct	ttgaaaatgg	24840
ctcctctcgg	gggctgggcg	cagtggctca	tgccgttaat	cccagcactt	tgggaggccg	24900
aggtgggttg	attgcttctg	gtcaggaatt	caagaccagc	ctggccaaca	tggtgaaacc	24960
ccatctctac	taaaaataca	aaaaattcgc	caggcatggg	ggtacaagcc	tatagtccta	25020
gttaccacaag	aggctgaggc	aggagaatca	cttgaaccca	ggaggcagag	gttgcagtta	25080
gccgagatcg	tgccactgca	ctctagcctg	ggtagcggag	caagactgtc	tcaaaaaaaa	25140
gaaaaaaaaa	aagtaaaatg	ctcctctgga	ttttgattaa	tcctattttg	attaattcctg	25200
gtttctcatt	ttcagccttc	cttgaagcag	catgacccat	ctggatgtcc	tcctcatctc	25260
aggaattttc	taataagctg	tctaaatcca	gagatccgac	cacagaacaa	tgaatgccaa	25320
agatgagttc	taaagatgcg	agtactttct	ttctaaccgg	acgctgcttt	gtgtatggct	25380
ctgctcctgg	gggcagacgc	ggcaggctaa	gccctgcgga	ggaggagggtg	agtcacagca	25440
gagggtcact	tcctctcagt	agcccggtcg	gttttctcca	ctgcagggtc	agaccatagc	25500
cctgacccag	ctagaccccc	ataagcgcat	gaccttgctc	tcaccgtggg	aataaaactc	25560
gtgatagtca	gttacaaata	cacagcaaat	gatgagcagc	acaatataaa	cacagatcta	25620
gattgggtgg	tctgaggact	cattcttaaa	tttggaggcc	atcacctaata	cttgtctttt	25680
cactttacat	agcaggagac	agggaccagg	agaagtgaag	aggcgttgcc	ttaggttgca	25740
cagcagatga	cgcctctcaa	gatggaccct	aggttgctctg	actccgtctc	acagctttgc	25800
cccatttatc	atgaagatga	acgctggtaa	cactgctacc	tacgagctga	gcttgacgc	25860
acattcctgg	tgtgtacatg	catgctgca	cgctcacgca	atgtgctaag	tgacagggaa	25920
ggagaccaga	gccctgaggc	gttcttttga	agtctaagta	ctggtgtttc	gaaagttaa	25980
tgaacacctac	tagactctga	gcaaaattcg	ttttacgtta	accttaatat	aaagttaaat	26040
taagtctctga	cagaattaac	tcttcacgtc	tctgtcctca	tttgtcccca	ttctagaatg	26100
agttttctaa	ttaaaaaaa	tatatagggc	cgggtgcagt	ggctcacgcc	tgtaatccca	26160
gcactttggg	aggccgaggc	gagtgatca	cctgagggtca	ggagtccgag	accaacctgg	26220
ccaacatggg	gaaaccccg	ctctactaaa	aatacgaaaa	attagctagg	ggtgggtggc	26280
catgctgtga	atcccagcta	ctcgggaggc	tgaggcagga	gaatcactgg	aacctgggag	26340
gcagaggttg	cagtgagcca	agatcgtgcc	actgcactcc	agcctgggtga	cagagcaagt	26400
actcccatcc	ccccccacaa	aaaaaaagta	tatatgtgtg	tgtgtgtata	tatatatata	26460
tagctaggca	cagtgggtca	tgccctggaat	cccagcactt	tgggaggccg	atgtgggcag	26520
atcacttgag	tccaggaggt	caagatcagc	ctgggcaaca	cagtgcagacc	ctgtctctac	26580

caaaaataca	aggtggtgtg	cacctgtggt	cccagctact	tgggaggtctg	aggtgggagg	26640
accaattgag	cccaggagggt	cggggctgca	gtgagctgta	atcatgccac	tgtactccag	26700
tctgggcaac	agagcaagac	tctgtctcaa	aaagaagaaa	agagagagag	agggaaaaaa	26760
aattgaaggc	aaattctgat	tttcaaatca	aacgttccaa	caaactgcag	aaataaaacc	26820
cgagttaaac	caaaaggaac	agccaaacag	cacaatgacc	ccaatgttta	aatatgcccc	26880
aatgttttaa	agtgggagtc	aatgggaggc	cactacctac	aaggccacag	gggttagggc	26940
aggactcagg	tccttgaatc	acagcagcct	gcattcaaac	cctggctcag	gcctcccacc	27000
agcctcgtgg	aactgggttc	ctaaaatgag	gagagtcctt	actttgcagg	cttgtgacaa	27060
caagatgaca	gcaagtgcaa	aagttccaa	cccagagcct	gcagcctgca	gaagctggcc	27120
tcattaccac	ccggatgttc	tccgggctgc	agcacatgaa	ggggatacgt	gacaatccct	27180
gctttaagta	cagctcaggg	agttgacggg	acctgcccac	gcacatagtg	atggccgctaa	27240
tggctcacca	ggaagaatgg	actgcaaagc	ctgggtcttc	tgataaaactc	cattctgtct	27300
cccagtggtg	gttctgatgc	atagggagga	ggaaaagaca	gtgcttggat	tttgggggtga	27360
agagcacagg	ttttggagtc	aatgagacat	ggagtatgag	ggtctcagct	ctaccgttta	27420
ctactaaata	aaaacaggcc	actgacctct	ctgggggttta	gtcttctcct	ccagggaaatg	27480
ggaattcaaa	tgtccttaca	gggttttcac	aaagattaac	tgaataaatg	cacacaaggc	27540
aatcacagag	tggagtatgg	gtgctccctt	ttctctcctc	catccctgct	ttattttttc	27600
gcctgggcac	ttaccaacac	acgattattg	cgcttggtta	ttttattttac	tgtcttgtct	27660
cctcaacaga	atgtcagctt	ccagagcagg	aatttttatt	ttgtttgttg	ctatattccc	27720
agccctaaa	acagggtctg	gcacacagta	ggagctcaaa	aaatatttgt	tgaatgaata	27780
gctcacaa	agacagatga	ggacagaggg	gtcttgagac	tgatctaaca	gcaccgatat	27840
tactaaactg	caacggaggc	aacggtgagg	agaatttctc	tgtcctttgt	ttcctgaaa	27900
tccaagacca	cttttagttg	ctcaacagga	aacaatactc	aacttaaaag	accttagggg	27960
cctatccagg	gcaaaactgg	cactgtgagg	caggaggtca	ggcagccctg	tccctagggg	28020
ggctcacggg	ctagtgggca	gggcccagct	cttcatatgt	gctcagaggg	gccccgtgct	28080
tggtttaata	ctctgttggg	gccatcttga	aattcttaat	aatgtttgtt	gttgttgttt	28140
gtttgttggg	ttgagacaga	gtctcactct	gtcgcccagg	gtggaatgca	gtgggtgtgat	28200
ctcagctcac	tgtaacctcc	acctcccggg	ttccagtgat	tctcctgcct	cagcctccca	28260
agtagctggg	attacaggca	cgcgccacca	tactcggcta	atttttgtat	ttttagcaga	28320
gacagggttg	caccatgttg	ccaggatggg	tctcaaaactc	ctgacctcaa	gtgatccgcc	28380
cgctcggccc	tcccaaagtg	ctaggattac	aggcgtgagc	cactgagccc	agcctcttaa	28440
taatgttttt	aaaaggggct	ctcccatgtt	cattttgcac	tgggcttcac	aaattacgca	28500
gccagtcctg	cattacagga	aatattttctg	tacctaaagta	catatactac	aaagcaagta	28560
ccaaacacca	aggaaacact	aaggagagaa	aaacgcctgt	gagaagaaaa	aggaaagcac	28620
gaatcattcc	caacagaagc	tgttaccatg	aagggaagta	gggcaggggc	atttgttgaa	28680
tgtctactat	gggagaaggg	gttcgcatca	tgagcacatt	taattctgac	aaccacccta	28740
caagctgtgtg	actatactgg	ccatttgaaa	ctgaagcctg	cccagagatca	tataatagcc	28800
taggaggtga	caaaggacag	acacaggagc	caaaccatg	cccatccctc	cctaagtcca	28860
aaatcataga	aaaaaaaaaa	taagaatcaa	catgggcggg	tattttttaag	gccagcatgt	28920
tcaaggtggg	ggcaaatacca	agagacacta	agcctcagag	catgaacaag	catgtgggtg	28980
ctgagtgagg	gggaccagtg	tttaccaggg	tgatgtcaga	ctctgcaagg	ctcgctcccc	29040
gtgtttctgg	tctcttccca	tgagcaccag	gcacccctta	ccatccccca	actaggcaca	29100
tctgtacaac	tgaattgaa	cctactgtgt	tacatgtgtt	ctatgttaga	ctgggggcat	29160
ccctagaaca	cacacagatt	gactggtggg	cagaattctg	ctaggtgcat	gcacccgagt	29220
gagcctttct	ctttgaatgt	gggagggacc	agagaacaag	atgggagagc	tgttccctta	29280
attaggctgt	gctgcacatt	aaaggcggta	agacagtcac	tccagtgata	acaatctgtc	29340
ataagaccct	acagaagcag	actctcctgt	tggccttgaa	gaagcaagca	ccacgaattc	29400
tccacagctg	caagaaaatg	aattcaggcc	aggcgtgggt	gctcacgcct	gtaatcccag	29460
cactttggga	ggctgaggcg	ggtggatcac	ctgaagtcag	gagtttgaga	ccagcctgac	29520
caatacggtg	aaaccccatc	tctactaaaa	atacaaaaat	ttgcagggta	cacctacagt	29580
cccagctact	cgggaggctg	agacaggaca	aaaatttgca	gggtacacct	acagtcccag	29640
ctactcggga	ggctgagaca	ggacaaaaat	ttgcagggtta	cacctacagt	cccagctact	29700
cgggaggctg	agacaggaga	attacttgaa	cccaggaggc	agaggctgca	gtgagccgag	29760
atcgaccac	tgactccag	cctgggcaac	agagcagaaa	aaaaaaaaaa	aaagtaaaaa	29820
aaaaaagaaa	atgaattcag	ccaagaacca	cgtgagctta	aaagaggacc	ctgggggtcca	29880
gacaagacct	cagccccggc	cagcaagcct	tgtgagttcc	cgaacagaga	accagcttat	29940
accgtgtcca	gattcctgac	ccatggaagc	tgtgagataa	taaacatggc	ctgggtgcgg	30000
tggctggcca	ggcatgatgg	ctcatgcctg	taatcccagc	actttgggag	gccaaggcgg	30060
gcagatcacc	tgagttcagg	tgctcgagac	caacctgccc	gacatgatga	aacctgtgct	30120
ctactaaaaa	tacaaaattg	gccagggtgtg	gtggtatgcg	cctgtaatcc	cagatacttg	30180
ggaggctgag	gcaggagaat	cgcttgaacc	cgggaggcgg	aggttgcagc	gagctgagat	30240
tgcgccattg	cactctagcc	tgagcaacgt	gagcgaaact	ccatttcaa	tttaaacaaa	30300
ataaacatat	attgtttaac	tgtaagttta	gtggttaactt	gtcatgcagc	aggcaatgac	30360

tgatacagta	acctatycac	acatccatct	ccagtacgga	cacagaactt	ggatgcacgg	30420
ggtgcatgac	acctcttggc	aggacttaac	tggacagaca	agcaacaaag	acaataaagc	30480
ccaggctaag	atggactgcc	aagggcaggg	aggaacccca	gagtgtggac	aggtgcaaaa	30540
gtaggggtgt	tcaatgaaga	ggggaagcat	ggcttgcagg	gcaatgacat	gccaaccccc	30600
atccactctg	acactgtagg	ggagggggtg	aaggcaaaac	cacacttcaa	aaggctgtag	30660
ggagaatggg	gtccctgggg	gacttccaag	tggagaccaa	aaggggaagg	gagtgcggag	30720
agaaaggcag	aggagtcagg	gagttcacag	tttaccactg	aaaccaaata	aaacagaaga	30780
gacaaaatcc	tgcagctcgc	tctggcccaa	acctttgcta	gggcaggcaa	tcacaaatga	30840
gcaaattata	ataattctaa	tgaccacgtt	cccgcatttg	acttggaat	gctggattaa	30900
aaaaaaaaaa	cttcaactct	gatccacacc	ctggggacaa	tattatctcc	ccagtgtcct	30960
acctagccca	caactactta	tgtctcatgc	cagactgagc	cagctcccgg	gatggcaagg	31020
gagccaggag	ctgctgccag	cagggccatc	tgtccaccaa	ttcccacagt	ctgaacggca	31080
cagcttccaa	agagggacta	cgagcggcca	gcagcagcct	gcacatgcag	aaggcagggg	31140
agagcgaggg	aaatggatct	atactgtctt	gctgcaatca	tctgcatgct	gggtgtgaga	31200
tgatcagttc	ttgagacact	tcccagaagg	ccttcagaaa	tactgtctga	gttacaacac	31260
tgttctctcc	aagtctgtat	tcttatttgc	atcttatagg	aatgtagccg	ggtaaggagg	31320
gaaggctgct	tcaagtcaaa	gggcatccat	ggtgggcggc	ctctcaggcc	tggaccagc	31380
acctgcagga	gtcggccctt	ttaattctcc	tctgccgtga	actaacactg	cacatcagca	31440
atactttgtg	aagaccgagc	acagcaacca	agcccactgt	ggacctgatt	ctaggcaagg	31500
aacttttttt	ttttttgaga	cagggctctt	ctgtcaccca	ggatggagtg	cagcggcaca	31560
atctcagctc	actgcagtct	cgacctcctg	ggttcaagtg	attctcctac	ctcaacctac	31620
ttgagttagt	gggactacag	gcgtgcgcca	cctatgccag	ctaatttttc	tatttttttt	31680
gcggagatgg	gggtcttcca	tgttgtgtag	gctggtctca	aactacgggg	ctcaaaccaa	31740
tccactcacc	ttggcttccc	aaagtattgg	gattacaggc	gtgagccact	ggggctggcc	31800
tagacaagga	acatcacaca	actactccac	aaccctgaaa	ggtcacagt	tcatccctgt	31860
tttatagggt	gaacaattga	gaccacacaga	gctgtaagaa	cacacaaagg	taaagggaact	31920
cagccaccag	cacaggagcc	agatgccaaa	cttaggtctg	cctgactcag	aacccccact	31980
ccttccctct	acacctggct	gtttctccta	catgtctgga	atttactgca	gggtcaaagg	32040
ttcatccatt	taaaactgtt	acttttatca	acttaattat	tttgagacag	agctctcgct	32100
tgttgcccag	gctggagtgc	agtgcgcaa	actcggtcca	ctgcaacctc	ccgggttcaa	32160
acaattctcc	tgctcagcc	tcccagtag	ctgggattac	aggagcgcac	caccaggccg	32220
gctgattttt	gtatttttag	tagaaagggg	gtttcaccat	gttggccagg	ctggtctcga	32280
actccggagc	tccagtgtat	cgtcccgcct	tggccttcca	aagtgtctgg	attagagatg	32340
tgagccaccg	tgcccagcca	tttaactgt	ttaaatgcta	cacaaaggca	gagaaatgag	32400
gccgtcacta	agggatttga	gagcagttag	ggatacaaca	agggcacaca	gacctgcatt	32460
gtaaggcggg	tgtggcacct	gtcacagata	gggatgccag	gggctccctg	ctttctctga	32520
agagagggaa	atcacaaata	tctggggcag	gcgcactttt	agctggcat	gaggactaca	32580
gccaggtgaa	aaggaactgg	cctaggggaac	gtgtgtgacg	ggggagcagg	gagttagtccc	32640
aatggactgg	aaaaggcaca	tgcgagaggg	gaggggtgaa	aggccaccaa	cgccggtgac	32700
gctggagctc	agaaaagact	ccgaggacca	gaagggaagaa	gcatcaaggg	accaggggggt	32760
gatctgccaa	ggtagagagg	atgggtctga	ggtgttccct	tgtgacggga	cagaagagat	32820
gtgaggacct	gaagaggcgc	caccagggaa	cttgagaaaa	agaaggcagg	tggctcggaa	32880
gacccgatcc	atgtgaccct	gcaatttatt	ggatatggat	gaatcagagc	tgactttttc	32940
gatgacccaa	aagatgaaac	tattaattaa	ggctagacgg	aggggagaaa	agagagagaa	33000
ataccctgct	acctccagtt	tttctcccta	cagcacctcc	tagagatgag	gtgatggcag	33060
ctcaccttca	ggatccattg	gaaacaaaga	gaaatctctc	cctaattctc	ctgaccccaa	33120
acagaaagca	accaactatt	ccataatttt	cttctctagg	agagattcag	agagaagagg	33180
cctgaaaatg	caaattaaca	cacggatgtg	aatgagtttc	agtcaaagct	taaaccagga	33240
cacaactttt	cttgtgtagc	gaggaaggct	aggaggcagg	atggtgtcct	gtgcctaaaa	33300
aggtgagtgt	gacgtcaagg	tggctgaaga	ggggtttaaa	agggcaccta	gggggacaa	33360
cccagagccc	agcatcccac	cctaaatgag	aacacaggtc	tccaactcca	gcccagggtc	33420
tccctgtcgt	cacaatgggt	ttgggtctga	gctgacagt	gcacggaagg	actctcgtg	33480
gtggtcagaa	tgacccaaca	tcccaggagg	cactgccac	cagttggcat	gagtctctgg	33540
tgttgccctt	ggcgtgtctg	ctaattccac	ccagtggact	taggcatgct	ccctcacctg	33600
tatgtccaag	acagctaatt	caacagtact	actaacctgg	tcccagaaa	ggcggcagag	33660
taggatcaac	ttggcattag	aggtctcgct	tcaaatacag	gatttcccaa	ttccaatctt	33720
gggcctcagc	caccaaccgg	gaaaaccccc	ctccaagggc	tgttttgaga	atatggaaa	33780
ctgccaaagc	tttattttcc	atccctttgt	aaggtcccc	gcagctccca	actagaagag	33840
aaagggaact	tttattagca	agaaaagggc	caggtgcagt	gactgtcatc	acgcctgtaa	33900
tcccagcact	ttgggaggct	gaggtgggag	gatcacttaa	gccccagagt	ttgagaccag	33960
cctcaacaac	acagtgtgat	ctcatctctt	caaaacacat	ttaaaaaat	tagccaggtg	34020
tggtggcgca	cgcctgtagt	cccagctact	tgggaggctg	aggtgggaag	atagcttggc	34080
cccaggagtt	caaggctgca	gtgagctatg	atcacaccat	tgcactccgg	cctggacaac	34140

aaagaccctg	tctctaaaaa	ataaaaaata	aaagttttta	ttttaaaaaa	ggttaaatac	34200
taatgagaaa	gggtccacata	caaattttca	tgctactgct	atttataagt	tcttattaac	34260
tgaaaacact	atgctataag	ctattaaagg	taactaaaaa	ataaaaaatag	ctctttgccc	34320
caagagacgt	ctaagtgaca	gagctcagta	ctcactcatc	aacaacagcc	ctgagagaga	34380
caagagatgg	aagagattcc	aaccccaaga	aagggctgga	ggggagccag	gggaggaggc	34440
atgggggagg	ggacctccaa	gagggagcta	ggggagggca	gatggggagg	agagcctaga	34500
agggagctgg	gggaggggaa	catgggggag	gggagcatgg	gggaggggag	ctccaagggg	34560
gagcatgggg	gaggggagat	ggggagggga	gctctaggag	ggagctgggg	gaggggagat	34620
ggggagggga	gctccaggaa	ggagctgggg	gaggggagca	ttggggaggg	gagatggggg	34680
aggggagctc	caagagttag	ctgggggagg	ggagatgggg	aggggagctc	caggagggag	34740
ctgggggagg	ggagatgggg	aggggagctc	caggagggag	ctgggggaaa	agggcttggg	34800
gagggtagct	caatgacggg	acgtggggat	ggggagctaa	ggaggagatc	tgggagaggg	34860
gagcttgggg	aggggagatg	ggggagggga	gatgggggag	gaaagctggg	gaaggggagc	34920
tgggagaggg	aagcttgggg	agaggatcta	gggaggggag	ctgggggtgg	ggagatgggg	34980
aggagaaatg	ggagaggagc	ttggggaggg	ggatctaggg	aggaaatctg	gggcaaggga	35040
gctgagggga	gggaacttgg	ggaggggatt	tagggagggg	agctggggga	aggggagctc	35100
agagagggga	cttcaggggag	gggagatggg	agaggggatt	ggggagggat	ggttagggat	35160
gggatctagg	gaggggattt	gggggagggg	agcttggggg	ggggatctgg	gggaggggag	35220
tggggaagag	agatggggag	tcgggggagg	ggaacctgga	gggagggatc	tggggaaggg	35280
gattttgggg	aggagaacag	gtggagagag	gagctgggtg	ggagggcag	tgggggcagg	35340
catctggggg	agatttgggg	ggaagggaag	ctgggcgccc	acaggagccg	ctgtgagggt	35400
ggcaagcccc	tctttcagtt	cctcctcgac	agtcagttct	cagacttcca	ctcccacttc	35460
ccctgcttcc	ccccagacag	tctgatctgc	aactcggccc	atgactgccc	ccattgggaa	35520
tccagctgct	tctagcctgg	gaacctgac	gtgggccttg	acctgaccaa	tcaaaaaccc	35580
cagggtgatg	gagcaaatgt	gtcctgtatc	ttgagcataa	cattaaaagt	gaggaccag	35640
cagaagtccc	ccagcgagga	cccagaaata	aggaatctct	ttgattcttg	caggctagtg	35700
tttccctacc	cacataatct	ttagaaatca	tgtgtgccgt	aataaaagt	agtatttccc	35760
ctcccttcac	tcaagcacac	agaaacatcg	gagaaaagct	gagcatattt	ctaccagttc	35820
tgcattatgag	tttgaccaga	acacctgct	gtcggtaatg	aatgggtgac	cccaatttct	35880
gaacacatat	ttccttttcc	aattaatttt	ccttcccttc	atgagataaa	acagactatt	35940
ttttttttaa	gaacaatatt	cctgaaaatt	tatttacttt	ttttaaaact	atgaggtcag	36000
agtttaagac	tggctccttg	gtatgaagga	atacatgata	ttaataatac	aaagggctga	36060
atcttccata	aatcaacaaa	acacccaaac	aaaggcagaa	cttaattttt	ggcaaaagaa	36120
aaacaaaaat	gtttttgggt	tccattagt	atacatcag	ctgaggactg	ccattctgga	36180
atctttttaa	tgaagcagac	ttaaagattt	tataagcac	aattaaagca	ccctgaattg	36240
ataccttttag	ggggttgagt	atctgtttca	aatcagcaaa	gtgcttaccg	caaaagggaac	36300
accttaccac	aagcaagatg	aaaaagtgag	ggcagagtg	catgattatt	actttttttt	36360
ttaagcagaa	gaatagtctg	caagaaaata	cataaaaatg	ctcaagttag	gccgggcaca	36420
gtagctcatg	actgtaatcc	cagtacttca	ggaggccaag	caggaagatg	tcttgaggcc	36480
aggagtccaa	gaccagcctg	ggcaacacag	caagaccttg	tctctattag	aaaataataa	36540
gttaccaaaa	aatgtctcaa	attggtaatg	aaggggtgga	gaataatggc	aattattttc	36600
cttctttttc	aagcggtata	taatattatt	aaagtggcta	gacatatgta	tggattttta	36660
agcacttcag	ttttatgtgt	tttaggtata	atttctaaag	cactaaaaaa	ttggcatatt	36720
cttttttttt	tttttttaag	acggagtttt	gctctgtcgc	caggctggag	tgcagtggcg	36780
caatcttggc	tcactctgcc	tcccgggttc	aagcgatttc	cccgcctcag	cccccaagt	36840
agctggggact	acaagcacac	actaccacgc	ccggttaatt	ttttctgttt	ttttagtata	36900
gacaggggtt	caccatgttg	gccaggatgg	tctcgatctc	ctgaccttgt	gatccacccg	36960
cctcagcctc	ccaaagtgtc	ggaattacag	gcgtgaccca	ccgcacccag	cccaaatgtg	37020
gcatattctt	tttgaacgtt	ttccctttgg	gagaggaaca	agagcattcc	ttacctgctt	37080
gggagaaaga	cttaggaaca	agaattgaaa	gtctgtctac	ctgaggttta	attttcgatc	37140
ttcttctgtg	ccagcctcca	actacagaga	aagaaagaga	atatcacacc	acaggcacca	37200
ctgtcaaac	gcctcggggc	gcagtctcac	attttctacc	ccggtactgg	aaaaagataa	37260
agatatccag	gaaacctagc	tacttctaaa	cagccgtgcc	ctttcctcac	caatcccggt	37320
ctgtcccttg	gagtcatttc	cgtgggggaa	ttttcagggt	tccaaatgtt	gaccacattt	37380
cctgccgcag	tccaggggat	ggagtcctgt	tagctcaaca	tttcttatct	ggtgtgtgta	37440
cccagcacgg	tcttttagcc	ctcagccctc	aactttccga	ggtgtgtctg	gaccttatcc	37500
tgtttttctc	ttttaagggg	agggggtcat	gtttaaagag	aatccacttc	ctccgcagag	37560
ccaggcaata	acagctgagt	gatgaacacc	attttcaaaa	aaccaaccca	ggcaagactt	37620
gcacagtggg	aggtggccag	gaatcaggcc	gtctgtttgt	gggtcttgaa	agctcttgat	37680
ggttctcgaa	aagacttaaa	catttgatac	gaaacatcct	aggctatcgg	tttatttata	37740
taaatgcaag	aaagagatat	ttaatatttt	ctgaaatcta	aaaggccacg	agtttgggct	37800
ccagaagtac	ctatgactta	tttttatttt	ttttctttca	gagagcaaac	tgaaaataag	37860
aaggaaacac	atacacaccc	cccaaacaac	tccgcaccgc	tgggacttgg	catgtttttt	37920

atgttgcaca	gagggcgcca	ttgaatggga	aagagaaacc	tggaaagctg	tgatggctgg	37980
gagagatgca	gggctgatcg	aggacagaaa	tgaggcagga	gccaaagggc	aaggaaaaag	38040
gggtccagaga	taatgtaggg	aggggcctgg	gcagcaaggg	acacccacca	ggaggtggca	38100
acttcaacca	agaatgagta	caccagcccc	gcgcagtggc	tcacacctgg	aatcccagca	38160
ctgcaggagg	ccgaggtggg	cggatcacct	gaggtcagga	gttcgagacc	agcctagcca	38220
acaaggtgac	acgctgtctc	tactaaaaat	acaaaaatta	gpcaggcacg	gtgacatgta	38280
cctgtaatcc	cagctacctg	ggaggtgag	gcaggagaat	cacttgaacc	caggaggcgg	38340
aggttgcagt	gagccgagat	tgcaccactg	cactccagcc	tggtgaaaga	gcaatacttc	38400
gtttcaaaaa	aaaaaaaaaa	gcgtacacca	gagggcctgg	gagtcacctac	atcatattaa	38460
gatgaagtac	atacaagatt	ctgcagaggc	acctacccca	cactgaagga	gaagtggaaa	38520
gagcagggaa	ggcttcaatg	accacaaaac	aagtcacaag	agcaacaaat	tgacaaagag	38580
tatgttgggg	tctaaccacg	tggttctcaa	tgcggagcaa	gttctctcaa	caggagacat	38640
tggaagatgt	ctggaggcat	ttttctggag	gtcactactg	gcacctagtg	ggtagaggac	38700
aggatcccac	aacacacagg	atggtccccc	oacaagagag	aatgttctgg	tcccaagtat	38760
caacagtggg	ttgagaaact	ctggtccaat	ccaaaaaagt	gcctggagat	ctgcccatga	38820
aaattagtca	ctttgaatgt	ttctcagaaa	taacaatgtt	atgatccatt	cctgaaaatt	38880
attgatttat	ctattcttgt	gctctgcctg	ttcacacaaa	ggaactgaga	taagattcac	38940
aggaaaatga	ataatcaaag	actgggaaaa	aaagaaaatt	aaagaaaatt	aaaaagagaa	39000
agagagcctt	aggactgagg	gctgtgatcc	cccgtttccc	acgccggcag	caggcctggc	39060
tgtgtcagga	aagcactgcc	ctaagtgtct	gactcattat	gaagttgcaa	tttgaagagt	39120
gatgacgtga	cttgggggta	cggacttcac	aatcatttaa	ctctcggtca	ctctctgagg	39180
ttctcagatg	aaaggccatc	tcaggtcagt	tattccaggg	aaactacatc	tgccaaggaa	39240
cacatgaaag	aggtaatcca	gtccttttag	atgagccagg	gcccacacac	aggaagcac	39300
tcaagcgagg	gcgggaccag	gcagaaccgg	ctgggcctag	gtctcctgac	cccatacaca	39360
cttgctgtct	ccatcccacc	ttgcttctca	cctcaacaca	tctgaacgag	ggccttgctc	39420
tcgggaaaca	tcccagcgca	ttcaaagcca	agcaatgaat	gctgcagctt	tgctatgac	39480
aaataaaagc	tgccctgagtt	ttactttatg	tttatcaggg	tcattggcac	ttggtaaaaa	39540
taatgcttta	tataataatt	gaaaatgtat	ctagtagaca	caacacaaat	gtccaacaaa	39600
atgtggtaca	tccatataat	ggagtattat	acagccatga	aaaggaatga	agtactgcca	39660
catgctacaa	tatgcatgaa	ctttgaaaac	gtgatgtgta	gtcaaagaag	ccagacacaa	39720
aaggccacac	aggggtgtgat	tccatttata	taaaatgtcc	agaataagca	aatccataga	39780
tacagaaagt	agattagtgg	ttgcctaagg	ttagggagaa	tggggcaggg	ggaggctgca	39840
gggtagggct	aacgggtaca	gggttcctat	tttggggagg	atgaaaatgt	tctggaatta	39900
gatgggtgtg	gttgccacaat	ctcatgtata	tactaaaaac	cactgaattg	tacactttaa	39960
aatggcaaat	ttatggtatg	taactaaaaa	ataataagac	cttaaaatgc	gtaagacaag	40020
aacagattag	gttgcaagta	actctaggaa	cattgggttt	tgaatcagaa	atctgggctg	40080
acaggttcag	cctgaagcca	acctctcccc	ttacctcaca	taaacttttg	tgatgagaac	40140
ctgagattaa	gtgcataaat	tgccagacag	cagtgaccgg	aacagaaaac	agccccctct	40200
cgctgtggga	aggaaaggcg	ctcctgcaac	ctaacttctc	agtagcaggc	tattgatcgc	40260
cagtgttttt	ttgcctctaa	tcagcgtgta	gagggggatt	actagaacct	tctgtgtata	40320
gataactcat	gaatggcctc	tccctcccaa	ggagggggct	gtgaagggtc	aacttccag	40380
ccactctgaa	aatgtccctg	ccaatcccag	caaaacaagg	ctgaagaact	accctaccag	40440
gagacagggc	tgtcaagcca	aatgcaaaaa	ttattctctt	gtctctctca	gacacacaaa	40500
cctccccctg	gttatcagtc	aacttcccc	actccctccc	acaaagaaag	gggctgaaga	40560
gcccagatgc	tggtgcgga	acttcctggg	cctgggaccg	cagggccgct	cctccagttt	40620
tctctaaaca	cagctaaggg	tctgcaggcg	gacactcagc	cttggttatag	gtaagagttt	40680
agaccagagg	ccttgacggg	ttcttcaaga	gatgggtggc	aagattgcgc	gaccagaggg	40740
tcactcctgc	agctacagag	ggctgacctg	ctcagaggcc	caaggcccca	gcctaggaca	40800
agccaggcca	accctgcagg	ctaagagggc	aacagtgcct	tcaatcaacc	ccagaggaaa	40860
aagtggccag	gcaaacggac	ctgggcccaca	cacagaccca	caaaaacgcg	cacagtgccca	40920
ggacacgcaa	cccagggaatg	cacctatgca	atcacccaga	atgggtcaca	gccacacaga	40980
aagatagatg	gcataaaaca	cacaggcctg	agtgatgtta	cagaaaggaa	aagccagatc	41040
aaggctgcac	cacacagacg	gaaacacagc	cagacagagc	ccacagcacg	ctcgggtacc	41100
gtcacacagt	gacacgggca	cgcctacaga	cagaactcca	gaggcggcag	gcgggggaaac	41160
aatctcacac	gtttgtaggg	gcactcccag	atgcctgtct	cacgctggca	cagtccccgg	41220
tacggcaggt	cagcaacagt	cacatctcac	atcgcacagc	caggcataca	ggcaaagggc	41280
ctagaactac	cccggccaca	ggtctcagaa	ccagcggctc	acgcagtcac	ccaatcaagg	41340
gtcccagttg	cacatccagt	cacccttgga	ccctggtcac	actgcagagt	cactcacaaa	41400
tgggagttcc	gacagacgca	cagtcctccc	cagacagagg	tcaacccaag	atgggggtca	41460
cacctgaatat	cacagtcccc	acacaatcac	agggtcacat	ctgcacacac	agtccttgca	41520
cagtcaccc	taggggtcac	aacgcacaca	gtctccgcct	aacaggggtc	acccaagat	41580
gggggttaacc	ccctgatgtg	ggtcacagcg	cacacacagt	atcctgcaga	cactcccaga	41640
ggggctcgac	tgcatacaca	gtccctgcaa	agtcgcccc	cgataggggt	cacaccgcac	41700

acaaagtccc	cgcacagctc	cccaagacag	gggtcacatcg	cacacagttcc	tcgcacggtc	41760
accccgggtcc	gggtgcccgg	ctctgttctt	acggcggggc	cccaggaggc	ccgcgcagcc	41820
gccccctgc	cccgacgcg	cggccccagc	tcggcgggcc	tcggcgcggc	gtccggcggc	41880
ccaggccggg	cgcggcgagc	ccgggggtca	cctcgctgtt	gctggccgag	gaggaggcgg	41940
cgttgggcgt	gggcgagcgc	tgacgggtca	ccaggggccat	ggctgcggcg	cgggtgcgagg	42000
gcgccacaga	cgtctcgagc	tagagccgcc	accgccaccg	ccgcccgggc	cgggcccggg	42060
gcctcctgga	gcccgcgcgc	ggcggccggg	ccgagccggg	ccgggcccgc	ccctccccct	42120
cggcgctcgcc	accgcccccg	ccccagctc	ccgctctccg	cggccggcgc	cgcaggccctc	42180
agtgcgcgga	gtgggcgggg	aagcgggcag	ggcgggacga	ggaggcgcg	gtgcgcgggg	42240
gccccgagg	ctgcccagg	cctcggtgg	tcgatcacgt	ccctcgcgcg	cccgcacac	42300
gcgccccgc	ccgcgcgcgc	cgtatcagg	cctgggactc	gggggcgcgc	gcgcgcgcgc	42360
gagcccgtag	gccccagggg	ccctgcccgc	tgctctgcct	ggggaactg	aggcccggcg	42420
accgtgcaga	caggactgta	cagcgaccag	gaaataaaag	acgtcctggg	gccgggcgcg	42480
gtgggtcacg	cctgtaatcc	cagcactttg	ggaggctgag	gcgggcggat	tacgagggtca	42540
agagatcgag	accatcctgg	ccaacatgg	gaaaccccg	ctctactaaa	aagacaaaaa	42600
ttagctgggc	acctgtgtgc	gtgcacgtac	tcccgactac	tcgggaggct	gaggcaagag	42660
aatcgcttga	atctgggagg	cggagggtgc	aatgagctga	gatcgcgcca	ctgcactcca	42720
gcctgggcga	cagagcgaga	ctcggtctca	aaaaaacaaa	aaacaaaaaa	caaaaacagt	42780
aagcaaaata	gattcgctcg	atcttgacga	ggtaatacaa	gttattaggc	acgtttttaa	42840
aaaagtattt	tgctaattct	tttcaatgaa	ttctttctgg	gtgtttctgaa	acccagccaa	42900
ctccttggag	gtcagggaag	gcttcccaga	agagctttat	tctgaggctt	gggcttgagc	42960
ataagcagga	ttaacagggt	aaagaacaga	gagacagctc	tccaagcagg	ggggatcagc	43020
gtgccctgaa	gcagggaagaa	gtttgtcaac	cggaggccag	cactcaggga	aggggaagagg	43080
ggaggaatgg	ctggagtctc	catcctctct	ggaaagatcg	ctccggctgc	tgctgtggatg	43140
agggaccacg	ggcgagagg	ctgagggaga	ccaggggagg	ggctgctgct	gttgtcccgg	43200
ggagagggtta	ccagttatgg	ggatggagag	gggaacatgg	aataagatac	caagaaggca	43260
attctggctt	gacttagtag	taggaaactt	ttcttttagc	caaaatctca	tctcccggct	43320
cccccccca	actctgcac	gttgccacaag	cactcgcaaa	cgcagtggtc	ccagcctggc	43380
ccgcagctta	gcaaatttgt	cttactgccc	aacaggaaac	ccacgcagcc	tcctggattc	43440
ttccccgtcc	ctccctctgt	cctggggctg	tgacctctc	catgttatcc	acagggctct	43500
agcacgattc	atctcaaagg	tgattctagt	ggggggcact	gtagcttcta	cggagcggtt	43560
ctaagagggg	atttgtggga	atgtttgtgg	ttgtcttgct	gatggagggg	gagagctctc	43620
ggcatttaga	gtgcaagagc	cttggatgct	aatgtctctc	caatgcactg	gacagctctc	43680
ccaacaagaa	ttgtccatt	cccacaaaat	gtttcctggg	tgaaaaaccc	atcttatagta	43740
atttgaagcc	agaacctaac	tccatttcat	gcacaaacac	tagtcttctc	tccttctctc	43800
cttcttctc	tccttctctc	ctgccttctc	tccttctctc	ctctcttctc	ctcacttttt	43860
ttctgaaaca	gggtctcact	cccgtcaccc	aggctgaagt	gcaatgtcac	aatcatagct	43920
cactgcagcc	tccatctccc	aggctcaaat	catcctcctg	cttcagttct	ctgagtacaa	43980
cgggtacaca	ccaccacacc	cagctccttt	aaaaaaaag	tttaactatg	ttgccaggc	44040
aatctctctg	cttcgcctt	ccaaagtgtc	gggattacag	acagaagcca	ccatggctag	44100
cctggatttt	tttactgaat	tttcagaaag	gtgactatgt	tgaaaccttg	tctctcctaa	44160
aaatacaaaa	aattagccag	gcatgggtgg	gggcacctat	aatctcagct	actcaggagg	44220
ctgaggcagg	agaatcactt	gaacccggga	ggcagagggt	gcagcaatct	gagatcggtc	44280
cactgcactc	cagcctgtgt	gacacagcaa	gacagagaga	aagagagaag	ggaaggagg	44340
ggaggggagg	ggagaggagg	ggagaggagg	ggagaggagg	ggaggggagg	ggaggggagg	44400
ggagaggagg	ggaggggagg	ggaggggagg	ggaggggagg	ggaggggagg	ggaggggagg	44460
ggaggggagg	ggaggggagg	ggaggggagg	ggaggggagg	ggaggggagg	ggaggggagg	44520
gaagggaaaa	tacactttgt	tttgcttgag	agttttgtca	agagttgttc	atccatcctt	44580
agggaaaagg	aggtaatgga	tggcaacgcc	tctgtctaata	ttagagcatc	ccacacaagg	44640
tgcccacaac	tgtagctgca	ctctaggtag	acagacagtc	ataggtagct	aaatgtcaaa	44700
tataagggaa	aattgtggac	aaaattcagt	tgagtagaga	atattttatt	tctcaaatcc	44760
aagcacattg	attattggca	ggcccatgct	tctgagatgc	ccctgtgtcc	tctmagggag	44820
tagtggctga	gcatttccac	attgtaatgc	atgttgtttc	attatgattt	atttttcttt	44880
tatgtctctc	ttacattagt	tttcaaattt	gagagtttga	gaatcccctg	gagaaaatac	44940
agattgctag	acccacacct	ccagagtttc	gaattcacaa	ggtttgctgt	agggtgggaa	45000
aatttgcacg	tctaacaat	tcacaggcaa	tgctgatgct	tctgtctggg	gacgacagtc	45060
tgagaactac	tgctataca	aatgcaatgg	cctcttcacc	aagaaattcc	tacctagatc	45120
tgatcctggg	acccgtccgt	ggcccccaat	cctaattccc	ctgctctggc	cggcctgctt	45180
ttcactcac	cccaactttt	ttggaggcag	tctccacccc	ttctcacttc	ctcttagagc	45240
tgagagccct	tttcttcccc	acaactaact	cttgctagaa	atcacctcca	aaaagctttc	45300
cctgcccctt	aagcagtggt	atttccagga	tctcgtagcc	ctcacccctac	ccttaaaccac	45360
acagcaagtg	tcagtctgct	ttatcataat	gggtccatct	ctctgtcttg	tcccattacc	45420
gtagagccag	gaacgggtccc	taagaaaagc	ctcagggaatc	aggctgggac	cagcgtgagg	45480

gtgcaaaatg	taagaggggtg	cccccaaaaa	ctcaatgatt	aagataaata	gtattttaat	45540
gcaatatattt	agaaaaatcaa	aattaatgcc	aaatccatga	tgaataaaat	atttttaaaa	45600
tttgcttttt	tttttttttt	ttaattgaga	cagagtcttg	ctctgttgcc	cagggtggag	45660
tgcagtgtgg	cacaatctct	gcctcttggg	ttcaagcagt	tctcctgcct	cagcctcccg	45720
agtagctggg	attacagacc	cccaccacca	tgaccggcta	atttttgtat	ttttagtaga	45780
gatgggggtt	caccatgttg	gccaggctgg	tctcaaattc	ctgaaatcag	tgatctgcct	45840
gcctcggcct	cccaaaatgc	tgggattaca	gggtgtgagcc	actgcacctg	gtcaaaatat	45900
ttacaaaaat	tttttaagag	ccaaggtctc	attctgtcac	ccaggactgg	gtgtagtgg	45960
gcaatcctag	ctcacttcag	ccttgaaactc	tgggctcaag	ccatcctcct	gcctctgcct	46020
ccggagtacc	tgagactaca	gggtgtacacc	accacgcctg	gctgacttta	tttttgccag	46080
aaactgggtg	ttgctatggt	gccagggtg	gtttcaaaact	cctggaggga	ctcaatcccc	46140
cgaaccttggc	ctcccaaaagc	tttgggatta	ccggcatgag	ccaccacacc	tggccaaagt	46200
atcaaatattt	taagtaaaat	tggcatcagt	attgtgtcac	tgattcttcc	acttacttca	46260
gacttcagtg	tagctcagca	aagcactttt	attgatcctg	tctttatttg	attccttttac	46320
aactttggcc	attctaaagc	cctttgtgaa	aatggcctgt	ggttcagctg	ggcatgggtg	46380
cgtgcacctg	taatccagc	tactcgggag	ctgtgtggcag	gagaatcgcc	tgaaaccagg	46440
agggtggagg	tgcatgtggg	tgagatcggtg	gcacttttga	cactctgtct	caaaaaaaa	46500
aaaaaaaaaa	aaaaaggaag	cctgtcggct	tgactccagt	agcctctgat	gggggtggagt	46560
ggacaagggg	aagtgaagc	tcccaggcct	cagtcagggc	aggtcccaag	aagcctcgag	46620
catggaggag	gggaacaatc	cagtagaggc	agctctgaag	ttttctccca	tgcattagag	46680
ccctttccaa	tcagtatcat	gatttttcat	catataatag	tttatttaat	catctttgac	46740
ctcctccttg	tagtcccagc	tcacttttgt	aactaataaa	aaacagttag	ttattgagct	46800
atttctcttc	tgctaaggca	caatgcaaag	tgctttgtga	gtgtgtgggg	gacattgattt	46860
attaacatgt	gactgtcccc	ccacttatac	tccaagatca	cctcctccag	gaagccttcc	46920
ttgccccgtg	gctgggttag	gcaccccttc	tctgtgctoc	tacagccctt	gtgcattagt	46980
gacaatggca	ttgtggatct	gccctaggcc	catttctggg	ttgggacact	ttaggtagat	47040
tcattcttgt	caccctgtga	ttctcatttc	atgggtgagg	aaattgatgc	acagagtgg	47100
taaggcactg	gccccaggtt	atgtaactaa	ggagtgggtga	acctgggtca	ccccgtttt	47160
tctgctttag	aactcaggca	aagacagggt	cttcaggac	agcctcagaa	agtgttgggtg	47220
caaatagggt	tgggtgcaaaa	gtaattgctg	tttttgtcat	tttttttttt	tttaattgggtg	47280
caaaagtaat	tgcggttttg	tcattaatga	ccaactatta	taagtaatag	ttcccttttt	47340
tttttttttt	gagatggaat	cttgtctctgt	tgcccaggct	ggagtgcagt	ggcttgatct	47400
tggctctctg	caaactccgc	ttcctgggtt	caagtgatcc	tcctgcctca	gcctcccaag	47460
tagctgggat	tcaggtggcc	cacccccatg	cccagctaat	ttttgtattt	ttagtagaaa	47520
cggggtttca	ccatgttggc	caggctggtc	ccgaactcct	gacctcaagt	gatccacca	47580
cctcggcctc	cccaaagtgc	tgggattaca	gggtgtgagcc	actgcacctg	gccagtagtt	47640
tgctgtttaa	agcaaaataac	ttgtaatttc	tccttaatta	ttcattccaa	aatgatattc	47700
agaggtaata	aagctctgat	aggctgaata	atggcctgca	aagatgtcca	tattccaaat	47760
ccctagaatc	cctgcctatg	ttaccttgca	tgctaagagg	gttttacaga	tgtgattaaa	47820
ctcaggatgt	ctagatgggg	aaattttcct	ggagagggtc	caagagggtc	taatgtaatc	47880
acaagggtcc	ttataagagg	gaggtgagaa	gggcagagtc	agtagtaaga	gatgtgacaa	47940
cggaaactgag	ggattagagt	gaaggaagag	gccacaatcc	aaggaatgca	ggcagttgct	48000
aaaagtggaa	aaacacccaaa	aatgaatttc	tcctttcaga	gcctccagaa	agaatgggagc	48060
cctgctgata	tctttttcct	ttcttttttg	agttagggtc	ttgctcacag	agctgtcacc	48120
caggctggag	tgcagtggca	tcacatagc	tcacagcagc	ctcgacctcc	agggctcaag	48180
ggattctccc	acctcagcct	cctgagtagc	tgcgactaca	gacacacacc	actatgcccg	48240
gttgactttt	tttaattatt	attatacttt	aagttctggg	gtacatgtgc	agaatgtgca	48300
ggcttggttac	ataggtatac	acgtgccatg	gtgggttgct	gcacccatca	acctgtcatc	48360
tgcattagat	atttctccta	atgttatccc	tcccctggcc	caccaccccc	tgactggccc	48420
cgggtgtgtga	tgttccccat	gcccggttga	tttttaaggg	ttttgtttgt	ttgtttgttt	48480
tttttagagac	gagggtctca	gctgggtgca	gtgggtcatg	cctgtaattc	cagcactttg	48540
ggaggtaagg	cgggcagatt	gcttcagccc	aggagttaa	gaccagcctg	ggcaacatgg	48600
cgaaacccaaa	aaatgcaaaa	aattaactgg	gcatgggtggc	acatgcctga	ggctgagggtg	48660
ggagtatcgt	ctgagcctgg	gagatcaagg	ctgcagttag	ccatgatcat	gccactgtgc	48720
tccagcctgg	ttgatgggg	gagaccctgt	gtctaaaaaa	taaaagaaat	gaaggtcctt	48780
ctgtgtttcc	taggctgttc	ttgaactcct	aggctcaagc	aatcctcctg	cctcagccac	48840
cccagttgct	tggattacag	gcacaagcca	ccatgtccaa	tcctggcaac	gtcttgattt	48900
tagacttctg	atctctacaa	ttgcaagaga	ataaatttat	gttgttttta	gccacgaaat	48960
ctctgggaat	ttgttacagc	agccatacga	aatgaatata	aaactcaacc	tccatttggg	49020
ctttaaaaaa	catatcatta	taatgccatt	acccagtata	ttccagggtgc	ttcccaagcg	49080
ttgtgtcatt	ttctcattca	ctcaactcat	ccaataaact	atgtttgttg	ctctcctggg	49140
cactagtcta	ggaatctggg	ttccatcagt	gaacaaaatg	gaatcactgc	ccttgaagag	49200
cattcaatca	agtgggaaat	atagtaaaaa	tatatatata	tgcaaatatg	tttaaaatca	49260

tatgtggttaa	atatatfgca	tttaaatgaa	ttaatagggc	gggcacgggtg	gctcatgcct	49320
gtaatcccag	cactttggga	ggccgagggc	agtggatcac	ttgaggccag	gagttcgaga	49380
ccagcctggc	caacatggcg	aaaccccgtc	tctactaaaa	gtacaaaaat	tagccagttg	49440
tgggtgggtgg	tgccctgtaat	cccaggtact	cgggagggtg	aggcacaaaa	atcgcttgaa	49500
ctgaggggggt	gcggaggggtg	cagtgagccg	agatcatgcc	actgcactcc	agcctgggtg	49560
acagagtggg	actgtctcaa	aataataata	ataataatta	attaaatgaa	ttaatatggg	49620
taagggtcct	tagaacaaga	taggcactga	tatgtgtcaa	ataaatgaaa	tatgatgtcc	49680
aatcatgaaa	aagcttgga	gaaaaacaaa	gcaggctaag	ggcagagtaa	tggaggaggc	49740
cacttagaca	aatggtcagg	gaagcttctg	ggtgaggtga	tatttgagca	gaggaatcac	49800
catgacagca	ccaccagggg	ggtgtagaaa	ccctggggtc	tgccctgggtc	attcaaactg	49860
gcctcccac	taaggaactg	tgaggtactt	tttctgagac	ccattttctt	tctgtctgtg	49920
tcacccaggc	tggagcgcag	tggcgcgatc	tcggctcact	gcaacctcct	ccccccaggc	49980
tcaaagtgat	ctcccacctc	agcctcctga	agtgactagga	ttacagggtgt	gtggccacct	50040
accaggtctaa	tttttgtatt	tttagtagag	tcggcggttc	accatgttgg	ccaggccagg	50100
ctgccacctt	ggcttctctac	agtgtcggga	ttacagggtgt	gagccttcag	accagccga	50160
gacccactgt	ctttctctgt	aaaattgata	tgaaagtgat	agtgtcggc	cgggcatagt	50220
ggctcacgcc	tgtaatccca	gcactttggg	aggccaagggt	gggcagataa	cctgaggtca	50280
ggagttcaag	accagcctgt	ccaagacgggt	gaaacctgt	ctctactgaa	aatacaaaaa	50340
ttagccagggt	gtgggtgggtg	gtgcctataa	tctcagctac	tcaggagggt	gaggcaggag	50400
aatcgcttg	accaggaag	cagaggttac	agtgagtcca	ggtcccgcca	cttcactcca	50460
gcctggacaa	caaagcaaga	ctccatctca	aaaaaaaaaa	aaaaaaagaaa	agaaaagaaa	50520
agaaagtgggt	agtgtcgacc	tcagagcttg	gttgtgtcaa	ttgaacagca	tactatgcag	50580
gaaaggcaga	gcgtgctgtc	ctatttacta	atagtaccta	aggtattggg	ttgaattgtg	50640
tccccacaaa	attcactagt	ccctgtgaat	gggaccttat	ttggaaatga	ggtctttgca	50700
gctgatcaag	ttaagatgag	gtcattaggg	cggggcccta	ttcgcatatg	actgtgtccg	50760
tatgaaaagg	gggaaatttg	ctgggcgcgg	tagctcatgc	ctataatccc	agcactttgg	50820
gagaccaagg	cgggtggatc	acctgaggtc	aggagttcga	gaccagcctg	acaaacatgg	50880
agaaaccttg	tctctattac	aaatacaaaa	ttaggcaggc	gtgggtgggtg	atgtctgtaa	50940
tcccagctac	ttcggagggt	gaggcaggag	aatcacttga	acccgggggg	tggagggttg	51000
agtgaactga	gattgcccga	ttgcactcca	gcctgggcaa	caagagcgaa	actgcatctc	51060
aaaaataaaa	caaacaaaca	aataaataaa	taaataataa	aaggggaaat	ttggaccag	51120
agccaagggg	aaaatgcttc	ctgaaggttg	tagttgtgct	gccacaagcc	aaagagcacc	51180
cgagatgggt	agcaaaccac	cagagctagg	agtgaagaag	gaggagcaga	tttgcgtggc	51240
cttctgaaga	aaccagcaac	tcgatttcaa	agttccaggc	tccagaactg	agagaatcaa	51300
tgctgtgggt	ttaagcctcc	cagtttgtgg	cactttgtta	cagcagccac	aggaaaggaa	51360
cgcatctaac	atgatcattt	catcagctgc	agaaaatgag	gctcagagca	aggctagggt	51420
ttgaaccag	gccaactaga	ccccagacca	catacatggg	ttgttggcct	ttctagcctg	51480
ggaggtgaca	gtttggatgt	tccactatct	gcagggaacg	gtgttcagag	gactcaaagc	51540
ttctgccacc	tgggcccagg	tgtccagtgt	tagatatgga	agtcagggtat	ctggggcttc	51600
tgacaaagca	tctctctggg	tgggtcaata	ggcaccagca	gccaggcagt	tgagggatct	51660
ctgcccctgt	gcggagtggg	ctgaagcctc	ccttctctca	cccatccctt	catttaacct	51720
gcttgccaga	tcaaggtgtt	ccctggcctc	tgccaggggt	gtattcacct	gaatttgcct	51780
tttattcact	atgatcacia	gcaacacact	gacccttgct	gggcctcaga	atctcaactc	51840
ttggtgggggt	gcgggtggccc	atgctggtaa	tcccagcact	gggaggccaa	ggtgggtgaa	51900
tcacttgagg	ccacgagtta	gagaccagcc	tggccaacat	ggcaaaaacc	tgtctctact	51960
aaaaatacaa	aaattagcca	ggcatggtgg	catgcacctg	tagtcccagc	tactcaggag	52020
gctgatgcac	agaatcact	tgaatccagg	agatggaggt	tgcaatgagc	caagatcaca	52080
ccactgcact	ccagcctggg	tgacggagtg	agactctgtc	tcaaaaaaca	aacaaaagaa	52140
tctcaactct	taatatggaa	tgattaatgt	cctataagaa	agcattgggt	agatcaattg	52200
ggtatatgca	tgtgatatcc	ctcctagata	gctctcagtg	gtcctcatct	cctgatattc	52260
atgccctgtg	gagtctcttc	acacaataca	tagaactgac	ctgtgtaacc	actaggatat	52320
cacagatact	acagcatgtg	gcttctgagg	ctaggggtca	taaaagacac	tgaagctgct	52380
gtcttgctgt	ctcttgatt	tctcattctg	ggggaatcca	gctaccatgt	catggggaca	52440
tttaggacat	ttaagcagcc	aaagagagag	ggccgcatgg	caagaaactg	aggtctcctg	52500
ccaatgacca	gcactaacct	attgtcatgt	gaatgcacca	ccttgaaaat	ggatcctcca	52560
gccccagtc	ggcctttatt	tatttattta	cttatttaatt	gagaccgggt	ctcattctgt	52620
ctcccaggct	ggagtacagt	ggcaccatct	tggctcgctg	taacctctgc	ctcctgggtt	52680
caagcgattc	tattcttcca	gcctcccag	tagctgggat	tacaggcggtg	cgctaccatg	52740
cccagctagt	ttttttgtat	ttttagtaga	gacagggttt	cgccatgttg	cccaggctgg	52800
tctcaaactc	ctggcctcca	gtgatctgcc	tatctcggac	ccccaaagtg	ctgagattac	52860
aggcaagagc	cattgtgcca	ggcccccat	tcacgccttc	agatgagatc	acagccatgg	52920
ccaacatctg	gagtgcaccc	tcatgagaca	ctctgagcca	gagctgcccc	gctgagctgc	52980
ttccagattc	caggcccaaa	gaaaatgtat	gagataataa	atgtttattg	ttttaagctg	53040

ctaaatttta	aggtaacttg	ttatgcagca	atagataact	tttatatgct	gccataaaaa	53100
tattataaaa	ccatgcacta	gtacagaaag	atTTTTataa	aatattaagt	ggaagaaaaa	53160
aaaagcaggc	acccaaacag	cgtaggacag	tagaccccat	ttttgaaaga	aaaatgtgaa	53220
gagttaaaaa	actctaccaa	aaggggaaaa	aaaagagggc	atcaatggag	agatggagaa	53280
gctttgtttt	tggatgggaa	gaatcagtat	ggtagagtta	acaacctctc	gaaattaaat	53340
taaatggaaa	tgctattgaa	atcccaactt	gattcttttg	agtgtaggga	tctttacaac	53400
agataactgg	acaagctaac	atTTattggg	tatatatgtg	cgTTgcatca	cgTgacagtc	53460
actgtttcat	cttaattcca	ccataggaga	aagtccctct	ttatttaatt	tttctgagag	53520
taaagtactg	ctattacctg	ttcccccttc	cattttactt	aggaggtttc	aagaggggac	53580
ttgtctgaga	tcctggaaac	cgTggaggTg	agatgacatc	aagcatgttt	gatatttaca	53640
tgTgtgccct	tgggcctcct	gccacatggc	ctccccactg	tgccctggtt	tccctaaagta	53700
ccagcccaag	gacacatgga	taggaaaggT	ggagctgggg	caccagccca	gtctgcctga	53760
ctccagagtc	cctggtctta	atcactaaac	cacTccagaa	aagtaaccgt	gggagaagag	53820
acctgcaaac	taggaaaaag	aagattaaag	ggaaggaatc	tgTtctgcta	gatattaaaa	53880
catatgacaa	agctgtagaa	attaaaaacag	aatggggccg	ggtgcagcag	cttatgcctg	53940
taatcccgag	actttgggag	gccaaaggTg	gtggatcacc	tgaggTcagg	agTtctagat	54000
cagtgtgacc	aatatggtaa	aacctgtctc	ctactaaaag	tataaaaatt	agctgggcat	54060
agtgtgtgtg	acctgtagtc	ccagctactc	tgcaggctga	gccaggagaa	ttacttgaa	54120
ctgggaggca	gaggTtgag	tgagccaagc	tcacactact	acactccagc	ctgggctaca	54180
gagcgagact	ccagtTcaaa	aaaaaaaaaa	aagaaagaaa	aaaaaagaag	aagaaaaaaa	54240
aaaaccgggc	gcagtggctc	atgcctgtaa	tcccagcact	ttgggaggcc	gaggTgggtg	54300
gatcacctga	ggtcaggaat	tcaagaccag	cctggccaac	atggTgaaac	cctgtctcta	54360
ctaaaaacac	aaaatcagca	gggtgtggTg	ctgcatgcgt	ataatccag	ctacttgga	54420
gactgaggca	agagaatccc	ttgaacctgg	aaggcagagg	ttgcagtga	ccaagactgc	54480
gccactgcac	tccagcctgg	gcaacaagag	caaaattcca	tctcaaaaac	aaaacaaaac	54540
aaaaacaaaa	acaaaaacaa	acatagaatg	ggtgtctggc	tagaaagcca	caaacagatg	54600
aatggagcac	aacattaagt	ccaggaataa	actcaaacac	acaggaaagt	ctggTgaacg	54660
ataataggag	gtaggTatct	gtgaagcgTg	gagTaaagag	gagTtactca	accaacagtt	54720
ctgtctccac	tggctagcaa	gTaaatgcgg	atccctaccc	cactgctagt	ctccaaaatt	54780
aatTccaact	agTcagTta	aatgtTtaaa	aaacctTcaa	aagTtgccag	gcattgTggc	54840
tcacgcctgt	aatcccagca	ctttgggagg	ccgaggcggg	tggatcacct	gaggTcagga	54900
gttctagatc	agtgtgacca	atatagcaaa	accccacctc	tactaaaaac	acaaaaatta	54960
gctgggcatg	gtcgaggggc	cctatcgTcc	cagctactca	ggaggctgag	ccaggagatt	55020
tactagaacc	caggaggcag	aggTtgcagt	gggccaagat	cacaccaccc	acactccagc	55080
ctgggcaaca	gagtggagact	cgTtctcaga	aaaaaaaaaa	aaaaaaacct	tcaaaagtta	55140
tagaaagtct	gtgtgagtaa	tttttaatat	gaagcaaggg	agagagatga	agcagggttt	55200
ctaaacatga	ctatagccat	ataaaagtat	gttataaagc	tgggcgtggt	ggctcagccc	55260
tgtaatccca	gcactttggg	aggctgaggc	gggtggatca	cctgaggTca	ggagTttgag	55320
accagcctga	ccaacatgga	gaaaccccgT	ctctactaaa	aatacaaaaa	ctagctgggt	55380
atggtggcgc	atgtctgtaa	tcccagctcc	tcaggaggct	gaggcaggag	aattgtctga	55440
agtcgggagg	tggaggTtgc	agtgaagcca	gatcgaccca	ttgcactcca	gcctgggcaa	55500
caagagcgaa	actccgactc	aaaaaaaaaa	aatgttataa	aaccacacac	cactataaag	55560
aaatgataat	gcaaaaatca	taaaggacga	aaaaaaaag	gaaatagatt	taactacaaa	55620
aaagtTTTTg	TTTTgtttt	gttttttttag	agTtagagTc	ttgttctttt	tcccaggctg	55680
gtacaatcat	agctcactgc	cacctTgaac	tcttgggctc	aagcaatcct	cctgcctctg	55740
aaactgcgtt	Tgcaaaaatt	ataactgaga	aaacgatgac	agTgaaagag	atctgaccta	55800
actgactcca	tcttgtctct	aacctccaag	ctgtccgtgt	tcatTcctgg	gtgtaggcca	55860
aactaacttt	gggaggaatt	tagTttatag	tttaactttg	tcaaagTtta	actaagatgt	55920
taatagccca	ttttccaaaa	caaaccctt	tctgcctgg	ggactagact	gcctttgag	55980
gactaacaaa	ttattatagc	taccagatta	gaaattatgg	tttaggagTc	atgcagctga	56040
agcctacaag	attctgaatc	tcccaaattg	ctcctggaga	taacatcacc	attgtaaaaac	56100
ctaagatcag	Tgcttgacat	atTTtgaga	cctcgactc	gatggatcag	ctggcactac	56160
ccaaatggat	aaacaggctc	atctgatctg	TgTccccac	ccagaaactg	accagcata	56220
agaggaccgc	ttcaactcct	ataactttgt	ctccaacctg	aacaatcaac	actcccctac	56280
tttctgacc	ccatccacc	aaattaccct	taaaaacctt	agccaggcgc	agTggctcat	56340
gcctgtaatc	ccagcacttt	gggaggctaa	ggcaggcgga	tcacctgagg	tcagggttcg	56400
agaccaacca	Tggccaacat	agtgaacccc	catctctact	aaaaatacaa	aattagccag	56460
gtgtggtagt	gtgcgcctgt	aatcccagct	actcaggagg	ctgaggcagg	agaatcgct	56520
gaacccggga	cacagaggTg	gcagtgaGCC	aagatcactc	cactgcactc	cagcctgtat	56580
gacaagagca	aaactcggtc	tcaaaaacaa	aacaaaacaa	aaaaccacaa	gaaaaaaacc	56640
ctgaaccatg	atcctaaact	ctttcactat	TgcagTtccc	ctgacttgat	acattggctc	56700
Tgtctaggca	gcgggcaagg	ataccgcat	gggcagTtgc	acctcagcct	cctgagtagc	56760
Tgggattaca	aatgcaagcc	acagctaaaa	aaattttcaa	acctttgtag	gacagacaaa	56820

ttggggaaaa	catttgcaac	aaagggatga	tacacataca	tataaagagt	tctttcaagg	56880
ctgggcacag	tggctcacgc	ctgtaatccc	agcacttttg	gaggccgagg	caggcagatc	56940
acgagggtcag	gagttcaaga	ccagcctggc	caatatggtg	aaaccccatc	tgtactaaaa	57000
atacaaaaaat	tagccgggtg	tgggtggcatg	cgctgtaat	cccagttact	caggaggctg	57060
aggcagggaga	attgcttgaa	cccgggaagc	agagattgca	gtgagccgag	atcgaccac	57120
tgcactccag	cctgggtgac	agagtggagc	tccatctcaa	aaaaaaaaaa	aaaaaaaaag	57180
agttattttca	aattaataag	aaaaataacc	aacacaattc	aatagaaaaa	tggggaaaaa	57240
agaataggca	ctttacaaag	aaataaatac	aaagcccagt	ggacatgaaa	ctttgccatc	57300
tccttagcag	ggcttgagg	aagatgggga	gaagggaagga	tgcaaaat	aaaggaggctg	57360
tcactctcag	ggccatgtaa	gtacaaagt	ggcatatgag	ggtaagtgcc	tccttaaatg	57420
tgtaaattgc	tagagccctg	ctggatggca	gtctggcaaa	atggatcaat	attttaaatg	57480
tacaaaccct	ggcacaaatga	ttccattttt	aggaactgac	cttatggaaa	cgatcaggca	57540
agtgtgccaa	gaaacacatc	taggatgttt	ttaatgtcga	caaattagaa	atgacaggta	57600
aattcaaccc	tacggactga	ctttaaaaat	tgttacatct	ggctgggcat	ggtggctcac	57660
gcctgtaatc	ccagcatttt	gggagaccaa	catgggagga	tcgcttgagc	ccaggagttc	57720
aagaccagtc	tgggcaacat	agggagaccc	cgctgctaca	aaaaaaaaaa	aaagtaaaaa	57780
ttagccagg	tgggtggtgca	tgctgtagt	cttaactact	caggaggctg	aggagggagg	57840
atcaacttgag	ccctagagg	caagactaca	gtgaactgtg	attgcgccac	tgtactccag	57900
cctgggcaat	agagtggagc	cctgtctcaa	aaaagaaaaa	aaaatgttac	atccagggtac	57960
attggcatcc	tgtgtaaaaa	ggatgccatc	ctgtagtccc	agctgcttgg	gaggctgagg	58020
caggagaatc	gtttgagccc	aggaattcga	ggcttcagtg	agctatgttc	acaccactgc	58080
acttcagcct	aggcaacaga	gcaagacttt	gtcaataaat	taaaagaaaa	ataaaaagta	58140
cgctactggt	ctatagtgtg	cgtggaaaga	ggctcagggt	atgccatatt	ggtacaagt	58200
aacagaggaa	ccaacatatg	tcacatgata	ctatttttgc	cacctgcccg	tgtttatggt	58260
cacatttggga	aatatattgcc	caaagtaatg	gtccctattt	cctgggtggtg	ggattaattg	58320
caggggattc	ttactttctt	ctttatgcct	gctgcataaa	tacttgaaat	ccttaaatatc	58380
tgtttaatac	ttgaaaaagt	gattaaagct	aattttgtct	gagaaagaga	gtgggagtta	58440
acctgttatt	ctgtaacttc	ctggccccac	cagggttgac	tcctgcagag	cattctccag	58500
gtaaatgttt	tggccctggc	ctgactgtat	ttcagaacta	ccaggagggtc	gttttgttta	58560
tcaaccaccc	agtgggggtca	aaaagaccct	taacttctac	aattccagcc	aaataaacag	58620
aagttgcttt	cgaaagtcta	gggcctccca	ttactaggat	cagtgaagttt	aggacttcag	58680
ggtagtggaa	agggccttgg	tcccacagag	ctgtctcagg	gcacttaaat	ttccctaagt	58740
gtaaaatgga	cagcttcaac	cgtatcagtg	ttctccacct	ttctcttttc	ttttcttttg	58800
agacagggtc	ttgctctgtt	acccaggctg	gagtgcgaatg	gcaagatctc	agctcagtg	58860
cgctcaacc	acccaggcta	atcaatcctt	ctacctcagc	ctcccaagta	actgggacta	58920
caggcctgtg	ccaccatgct	tggctaaatt	ttgttagaga	tggggtttca	tcattgttgc	58980
caggctggta	tcaaacgcct	gggctcaaga	gatcctcctg	ccccagcctc	tcaaagtgtc	59040
gcgattacag	gcgtgagcca	ctgtgcctgg	ctttttctta	aactcactct	cctttttaat	59100
aaagataaaa	ttcttacacc	cttcctagtg	ggtacctttc	tccttattcc	aatagccgag	59160
aagatactgt	ggaactttac	tttctgtaga	ttatatcacg	aaaacaatag	ttgtcccca	59220
agctcatttt	ccaaaattaa	ataataattc	taagtatgct	tgtttgtaca	cagtacagga	59280
ctttctgaag	ccacaggcca	cctccagctc	tggctactga	tgcctgggg	ccttctctgg	59340
ctctcaatta	aaagctatag	tgtagtgact	gagtacccca	gttctgggac	acaacctggg	59400
tgagggtcgc	caggtaaaat	acagggcgtt	ctgggggagg	tggcccacgc	ctgtaatcct	59460
agcactttgg	gaggccaaag	tgggaggatc	aggagttcaa	gaccagcctg	gccaacatgg	59520
caaacaatgt	ctatactaaa	aataaaaaaa	ttagcctggt	gcagtggcac	atgcctataa	59580
tggcagctac	ttgggaggct	gaggcacaa	aatcacttga	accaggggagg	cggagtttgc	59640
agtgagccaa	gaccacgcca	ctgcactcca	gcctgggcaa	cagagcgaga	ccctatctca	59700
aaaaaaaaaa	aaatatagat	acacacacac	acacacacac	acacacacac	acacacacac	59760
acacacacat	atggtgtcct	ggaatctatt	tcctagatct	ggcaacccta	acctagtcca	59820
catttggggc	tctgtctcca	ggcagtggtg	ctataagcac	agtctgtctt	tccttttttc	59880
tttgtctcac	cctctttctt	cttctttctt	tcttccctcc	ttgcctgcct	gctttctctt	59940
tctttcattt	ttctctctcc	cttctctccc	ctccactccc	tcctcttctt	ttcctttatt	60000
ccttacttcc	tctctctctt	tctctctctc	tttcttccct	aattgtgtca	agtgcataca	60060
tcttaatttt	aaatatgcag	cttgatgaat	ttttacatat	gcataaaactc	ctgcaaccac	60120
taccagatt	aaggagcacg	tttccagcat	cccaggaaat	tttctcatgc	ctcttgctgg	60180
tcagtatctc	ccccagaggt	aaccactctt	ctcacagcct	gttattgtca	attaattttg	60240
tatgttcttg	aatttcataa	aagtggaa	atgcaatatg	agctcttaag	tgtctggctg	60300
cttcttctta	acctaataac	tgagattcat	tcagggtgct	atatataaca	gtattttccc	60360
ttttctattg	tgtataatat	tccattgtgt	gaattttttt	ttggaggggg	gagttttgtt	60420
tcctgaaaac	accacaattt	gtttatccat	cctctgtctc	atagatattt	ggttgtttcc	60480
agtttgggg	gtaaattcaa	aataaaatcc	taagggtcca	ctaaatgaac	acccttcttg	60540
gcaaaggga	cccagaaaaa	actttaaaaa	ctttgtttcc	agccatgatg	agacaggagg	60600

tcaggcacac	cacattacac	tccttctcct	ccttttgtgg	tttagatata	agaaaagatc	60660
agcatcaatg	ctaaaaataga	gggctgagta	tggtgactca	cacctgtaat	cccagtcccc	60720
tgggagactg	aggaaggcag	atcacttgag	gccagaagtt	cgagaccagc	ctgggcaaca	60780
tggtgaaact	ctgtctctac	aaaataaaat	aaaataaaat	aaaataaatta	gccaggcacg	60840
gtgggtgcgtg	tcctgtggtc	ccagctactg	gggagggtga	ggtgagagga	tcgcttgagc	60900
ccaggaagca	gagggtgcag	tgagtcatga	tccttccact	gcactccagc	atgggtaata	60960
gagtgagact	ctgtctcaaa	aaaaaaaaaa	aaagagagag	agattataag	actgacagaa	61020
cagacttttt	gtggcaataa	gataccaaat	tataaacaca	gcctaaggcc	atgtcaggca	61080
aggggttaagt	cagggtgccc	tactcttaag	gaataaacta	tgttctaat	atgttacaag	61140
atttttcttt	ttctctagca	gcgaacaag	cactggcctc	agaagaagca	atattaaaac	61200
agttacaact	catctagcac	acagacaccc	aactgacacc	ctgttcctcc	agtcataaca	61260
acaactacag	ctttgattga	acaagagact	gagtttggtg	actttctcct	aataaaaaaga	61320
tcactgacta	tggactgctt	ctgggtgggt	taagaaaccg	caacctcatg	tgcctgcatt	61380
tcctgaaaag	acattttgat	gtgtagggtt	taattgtaat	acattgattg	attgattgat	61440
caattgattg	attgagatag	ggtcttactc	tggtgcccag	gctggagtg	agtggcacga	61500
tcacaactca	ctgcaacctc	tgctcctgg	gctcaagcaa	tcctcccacc	tcagcctccc	61560
aagtagctgg	gactacaggt	gcacgcaact	gggccggct	actttttgta	ttttttgtag	61620
agacaggggt	ttcgccatgt	tgcccaagct	ggtctcaaac	tcctgggctc	aagcgatcca	61680
cccaccttgg	actccaaaag	tgctagtatt	ataggcatga	gccaccatgg	ctggccta	61740
tgtaatacat	ttaaatgtta	agtctccacc	ccaaagtga	catgggttgt	atgttacatg	61800
cacatttgtt	catacacatg	tggtggggcc	accttcataa	atattcatag	cttctcctgt	61860
aacctgctgg	atatacatt	cagccaaccc	cttcagcaca	aagctcctaa	cccaacccct	61920
cctccttcaa	agtggccgct	tcctgttctt	gtaggaggca	tacttcccag	gccatggact	61980
gggtcaccttg	tggtgtataa	ccccttataa	gaaataagat	ttcttctcct	ctctgaattt	62040
acacatttgt	gatttttttt	tttttttttt	ttagttaaca	ggggctatga	acattcttac	62100
agaagccttt	tgattgatgt	gtgttttcat	ttatcttggg	tatatatata	ggcgtgggca	62160
tgatagatat	taggatagcc	atctttaact	tcagtggatg	ctggagcaag	tttctgaatt	62220
tcaactctga	agtggggatg	ataataacag	cacctgcctt	acagggctgt	ttcgagattc	62280
aaagagaaaa	tctgggtaag	gcagggtgcg	gtggctcacg	cctataatcc	caccactttg	62340
ggaggccaag	gtgggagat	cacctgaggt	caggagttca	agaccagcct	ggccaacatg	62400
gtgaaaccct	gtctctacta	aaaatagaaa	aacaatgagc	cagggtgaggt	ggtatgtgcc	62460
tgtaaaccca	gccactcggg	agtctgaggc	aggagaattg	cttgaatctg	ggaggcagat	62520
ggttgagatga	ggttgagatg	caccactgca	ctccagcctg	ggcgacagag	tgagactctg	62580
tctcagaaaa	aaataaaaaa	gaaaaaaaga	aaatccaggt	atttagaatt	ggtacaccgc	62640
aatttacaaa	acgtaaaatt	ttgtgtgat	ggcgtgggg	agcatgaaga	tattggacta	62700
acttttatga	atgttcaagt	gctcccatga	tgaattaaac	acacaggga	ctttataagg	62760
gccatatgtt	atataagtga	tacatgacta	ttgtattaaa	attcaaaacta	gttagatata	62820
aagtaaaaaag	tgggtttcac	cctatccatt	ttttattatt	gaagaaaaaa	aaatatgtca	62880
tagcgtgggtg	gcttatgcct	gtaatcccaa	cccttgggga	ggctgggggtg	ggatgattgc	62940
ttgaggccag	gagtttgaga	ccagcttggg	caaaatagca	agaccctgtc	tttacaaaaa	63000
gtaagttaatt	tgttggtg	ttatggcatg	catctgtagt	cctggctagg	ctgaagcaga	63060
aggattgctt	gagcgcagga	gttcaaggcg	ccactgcact	ctggcctggg	tgacagagtg	63120
agatcctctc	tctctctctc	tctctttttt	tttttttttt	ttttgttttt	tgagactggg	63180
tctcactctg	tcaccacaggc	tagagtgcag	tggcttgatc	ttggttcact	gcaagctccg	63240
cctcccagtt	caagtgattt	tcttgccctca	gcctcccag	tagctgagat	tacggacatg	63300
tgccaccacg	gcccgtta	ttttgtattt	ttagttaga	tagggtttca	ccaacatgtt	63360
agccaggctg	gtctcaaacg	cctaaccctca	agtgatccat	ccacctcggc	ctcccaaagt	63420
gctgcgatta	caggcaagag	ccactgcgcc	tggcctgacc	ctgtctgtta	tcttttcttt	63480
ttcttttttt	ttgttttctt	tttttttttt	agacagagta	tcgctctgta	gcccaggctg	63540
gagtggtgcag	tggtgcatc	ttggctcact	gctacctcca	cccaccaggt	tcaagcaatt	63600
ctcctgcctc	agcctcctgt	gtagccagga	ttacaggcac	acccaccac	tcctggctga	63660
ttttttgtaa	tttagtaga	gacggggtt	cgccagtgtg	gccaggctgg	tctcgactc	63720
ctgagctcag	gttatccacc	caccatggcc	tcgcaaatg	tcagaattac	aggtgtgagg	63780
cactgtgccc	agccgacctt	cttttaaaaa	aggaaaaaat	actatgcagt	gagtattttg	63840
catgcatttt	cttatttcat	cttcgtcttt	ttatttgatg	atactaaagg	cagggtgttag	63900
aggctggatt	gctaaagctg	acccaaagaa	tgccctccctc	agggctgggt	ggctccctctc	63960
tctcaggcct	cagtcttccc	atctgtacag	tgagggtgct	gcagatctct	gggctctaaa	64020
aatcacagct	ccatgtttat	ccctggcaga	ggaagggcct	ggagtctgtc	tgcttgctgc	64080
tctgggatac	gggagcaaa	agccacgcat	cctcatggcc	cacacaggcg	tcacctccag	64140
tctctccttg	gcctcatctc	cccagcgtcc	tggaaatggca	tcgggctggc	ccaggagacc	64200
cctgtcctgt	gcctctcctt	tcccctcagg	ggctgccagg	ctgaccaccc	ccaccgcagg	64260
ccaggcctac	agtgcctcat	ggaacgtcct	gaccctcccc	cagggtggca	gcagggaagaa	64320
ggaagaaagg	ggatcctctc	cagctggcca	gagagacaga	ccttcttctg	ctcatcaacc	64380

ctccaagaat	gcctgcncctc	cctccttccc	ccaaggcctg	tccacagggg	cttgagatca	64440
gccagaaaag	tcaggcaact	tttcagggac	tgggagcgag	gtctcccggc	cgggcctggg	64500
tccagctctc	gtgggcagtg	cagtgccgag	ccccaccctt	caagccgtgc	cctgtccata	64560
gctccagact	ttgaccctgc	actccagtcc	gggctggcgg	acagagggct	ggaaaacaaga	64620
cgctccagaa	tcaggagctt	ccccctagga	aatagcatcc	tgtgtccccg	cactgcagtt	64680
gtctgggtctc	tccagcagtt	tggtaacttc	ggtgagtgcc	agatgcacct	ttgagctggg	64740
gacagggggt	gggagagggg	agaggcaaa	gatttcatgt	cctcccaatg	tcaaaagacag	64800
ggctcaacat	tacagcctaa	ggcaggtgac	aggaaggag	agatccagcc	tctcaaacat	64860
ccagcagaga	gaccataggt	aagtgatttt	tccctcccca	agcctcagtt	tcttcacctg	64920
gaacatgggg	atcataaact	ccctcttaca	gcgtgagctc	gagtgttaaa	agaggtggtg	64980
catgtaaagt	gcttagagca	gatctaggca	catgcaagt	actcaaattg	tagttattat	65040
tatttttggg	gggggagttg	gtaggctggg	tctcaaactt	ttatagcttc	tgttccattt	65100
caaggataaa	ctctgcaa	aacttcatga	gaagtagccg	tgtggtgcaa	ccagggagaa	65160
ctaattatgt	tatttcaa	gcctcatctc	tggcttactg	attttttttt	ttaaaaagaa	65220
gtctttcata	ttctttgcta	tgggcacata	gcaatcaaag	gcatcagctg	tctcagattg	65280
ccttctaggg	gacaaaggag	gtcctaggca	gataaatgca	agactgaaa	acaagcagaa	65340
agcatcaagt	ggcaactgca	tgccaactgc	ctaaatattt	ttttggagca	gtgcagaaag	65400
cgccgataga	actgggtcta	ggtccgaatg	ctgtcccata	ctgactgcgt	aaccttgggt	65460
gggtgacttc	tcctccctaa	acctcagtc	cagcctccag	aatgagggcg	gtaaccttcc	65520
ctacttccta	gagcagttga	gaggattgag	aggattatgt	cggtagctgca	tctacaggtg	65580
tctggcaagt	ggcagagacc	aaaatacatt	ggttcccttc	ctgctccaca	cttacacaga	65640
cattctaagt	acacacacac	acacacacac	acacacacac	acacacacac	atataataat	65700
cccagctgtt	tgcattctct	gggatacata	ctccaagctt	gctgggttga	agtaatgatg	65760
taaaacagag	gagaacggca	acactaataa	aaacatcagc	aacaacacga	aaatgtccaa	65820
ccgaataact	gagctgggtg	cgtttaagtc	caaaagctca	ttacctacac	gcatgaatga	65880
ttttacctaa	ggctggatct	gccacatctg	acaatctgtc	tctggcttgt	catgaggacc	65940
tcatgcattt	attttgtatt	ttaaaacaca	cacacacaca	cacacacaca	cacacacacg	66000
ttgctataat	cagtgtcaac	tttgactcat	atcttgaatt	tttttaaaaa	aagataattg	66060
acttaggact	cacacttttt	tcctctttaa	tttttttttt	tttttttttt	ttgacagagt	66120
ttcactcttg	tcacctgggc	tggagtgcga	tggcatgatt	tctgcccact	gcaatctcca	66180
cctcccaggt	tcaagggtat	ctcctgcctc	ggcctcccga	gtagctggaa	tttcaggcgt	66240
gcaccaccat	gccaagctaa	tttttttgta	ttttttaga	gacaggggtt	caccatattg	66300
gccaggctgg	tcttgaactc	ccgacctcaa	gtgatctgcc	agcctcgacc	tcccaaagtg	66360
ctggaattaa	agacgtgagc	cactgtgccc	ggcctttttg	attttccatt	ctattcctac	66420
caacactcta	aaaattccta	caggcatttt	attttatttt	attttatctt	attttatatt	66480
atattttatg	tttgaaatgc	aggactctga	agcttcagct	gttcctattt	accggcttga	66540
ttctcagatt	tttcaaacca	tgtgatttac	tggcaagcat	ggcatttaag	cacctaggct	66600
tatgagtcag	gctggcctgg	gctctgcctc	tcaccacctg	ggtgtccagg	agctgatatt	66660
ccagttagga	gacaataagg	caaggagctt	tgtcagctct	cataaaaagt	tatagatgag	66720
gtcgggcatg	gtggctcacg	cctgtaatcc	tgcactttg	agagtctgag	gccagcaaat	66780
cacctgaggt	gagaagtgtg	agaccagcct	ggccaacatg	gtgaaacctt	gtctctacta	66840
aaaatacaaa	aattagccag	gcatgttggt	gcatgcctgt	aatcccagct	actcaggagg	66900
ctgaggcagg	agaatcacct	gaacccggga	ggcagagctc	gcagtgagcc	aagattgtac	66960
cattgcactc	cagcctgggc	gacaagagtg	aaaattcctg	ctcgaaaaaa	taaagtattat	67020
agatgaggaa	actgagggtc	gattaggatt	aaccaactca	tcctgggttg	cctgggactc	67080
tgatgcactg	acttttagtc	tgaaagtctg	catcctggga	ggaccctcag	ccttgggcaa	67140
gctggggagg	ttggtcaccc	tactcagtc	aagttgagca	acttgcctag	ggttacatgg	67200
ctgggtgtgtg	cccaagtcag	gctgcgaacc	tgggtctgtc	tgactctcag	cctggggccat	67260
actgtctctt	agattcttca	tggagaatta	ggaaaaatac	agaaagccct	ttattcctct	67320
gccttctcat	tgttaacata	taaaaatggg	caagcgggcg	ggtgcagtg	cacacacctg	67380
aaagcccagc	gctttgggag	gctgaggggg	gaggattgct	tgagcctagg	aattggagggt	67440
ggcagtgagc	tatgattgtg	ccactgcact	ccagcctggg	tgacagagtg	agaccttgct	67500
tcttaaaaaa	aagaaaaaga	gtgggtcagct	ctccggaaat	tatgcagaca	gtcaaaaagc	67560
ccagagaggg	gaattaaact	agccaaggctc	gcacagcaag	gcagaagtga	agccagggtct	67620
gactctgcct	ttctcttctc	ctcttttttt	ttttgaggca	gaatttcgct	ctgttgccca	67680
gactggaatg	cagtgggtgcg	aactcgactc	gctgcaacct	ctgctgcccc	ggttcaagcg	67740
attctcctgc	ctcagcctcc	cgagtagctg	ggattacagg	cgcttgcac	cgcgcttggc	67800
taatttttgt	agttttcagt	agagatgggg	tttcaccatc	ttggccagac	tgggtcttgaa	67860
gtcctgacct	cgtgatccac	ccgcctcggc	ctcccagggt	attgggatta	caggcgtaag	67920
ccactgcagc	tggctctccc	tctctccttt	tgttctctgca	atgtctttgt	tctatgtgat	67980
ttttcaaaa	gctaggagac	aggaaggagg	ctgctgtgtg	ttgagggcct	actctgtgcc	68040
aggcgtggta	ccaagaactt	ttgctaaact	tcttatttaa	tccttaaaa	gaccctgtga	68100
gattgggatt	aaccttggtt	tgcagatgaa	gagcttgtgt	ctccagaggc	aaagtatggg	68160

ggaagagggga	agagagaaga	ccaaggggtcc	ctgagaggggg	ctgtcaccta	agccccagta	68220
tccaagctcg	ggctcgaagc	tggagggaga	attgcctaga	ggaacgatac	ctttctgttt	68280
gttggttcta	tctccaactt	ggcttctgaa	acccccacag	agtcagttc	ttgtgggctg	68340
gagccgtttt	ccctccctta	taaaactagg	ccatattaag	aatgtcccgc	tgccagggc	68400
cacaggcccc	agttgccagg	agctgaggtc	tgccggaggga	gagttgtgag	tgaagaggag	68460
ggaaagtga	atthggctct	tctgggcaca	aataattctc	ttgttctgcc	tcagcaggag	68520
cctgcagaat	atthccctgc	tggtggggct	taagtagctt	caaggttaaa	agctggtagg	68580
ccttctaacc	ttctcagggc	ccaatcagcc	ctgtgcccc	aggcaggtgg	agttctgtgc	68640
tggagacca	agttctgagg	ccagacactg	cgtctgtcat	ggtcatagct	gcatttgcta	68700
gctgccagcc	tggcacatgg	taggtgtgca	ttaagcgtgt	gttgagttta	ctcaaattga	68760
aattaagtca	cagctgtacc	atthaactgg	ctgtgtgact	tcaggtaagt	cacatcacct	68820
ctctgaacca	cagtttcctc	ctctgtaaga	cgggactgat	aacagcagcc	cctacctcat	68880
gagagtgttg	ggagacttgg	atgaatggat	gcttgtgaag	cacttagtgc	cggggccagc	68940
tggctcacag	taggtgtctc	acaaatgtca	gtatattact	tcttttgcat	caggcagctt	69000
gttaaatattg	ttacgttttg	catcttgttc	aatttcccat	ocatcccctc	aagcataggt	69060
tattagaggt	tgaagcatct	tgccccaaagt	taacggccag	taggtggcag	agctgagtc	69120
tgaagccaga	gccccatgca	ctaaccaccg	gcctaccag	cctacagttg	gtcgtgccct	69180
ctgctgggtc	ttttctattc	ccagcccaga	aactgggtgt	ctggggagcg	tccccagaga	69240
aagtgtcatc	attcaccagc	cgtgtgactg	tggccaagtc	tcgggtcactt	ctccatacct	69300
cagtgtttcc	atthgcaaaa	cgggaacaat	gatattcctt	cctcctaggg	gtcatcggga	69360
aggtcaata	taaaaagggc	ttggtgggtg	ctggcacctt	ctaagccttc	agtggatgg	69420
ggcaatggcg	ctaaggatga	tggagatgat	ggtgatgatg	gtgtgcctca	acccttccct	69480
ccccagggc	gctgcaatgc	gtgtgggtgg	gattggagca	ggagtatcgc	ggctgtccac	69540
cgcctctctg	atccatgagc	gtaccactc	agtcctgcag	ccactggaca	taaaagtcta	69600
cgcggaccgc	ttcaccacc	tcaccaccac	cgcgtggct	gccggcctct	ggcagcccta	69660
cctttctgac	cccaacaacc	cacaggaggc	gtgagtgagg	gtcacatagg	gtagcctggg	69720
gtgcccattg	acctaagtct	gcagagggag	tcagggttcc	catcaccaag	agcaagcccc	69780
ttgtggaagc	tactgatcta	gcataaaaata	aagaaaatgc	caggcgtggt	ggttcacgcc	69840
tttaatccta	gcactttggg	aggtcgaggt	gggaggatca	cttgaggcca	ggagtccag	69900
atcagcctg	gcaacgtgg	gaaaccccat	ctctaccaaa	aatacaaaaa	attagccggg	69960
catggctggc	cacacctgta	atcccagcta	ctcgggaggc	tgaggcagga	aaaccatttg	70020
agcctaggag	gtgaagggtg	cagtgaagctg	agattccgcc	actgcactcg	tgacagagtg	70080
agactctgtt	tcaaaaagaa	aaaaataaag	aaaagattca	taaatattaa	gccccttgct	70140
ctgtgccaga	tactaggagg	ctttgtctcg	tcttccctaa	actgggtgcc	tgtcaatacc	70200
acatgattgg	tgaatctgga	aaacttcttc	tgttttaatt	tatacatttt	tatttatatt	70260
ttgagattgt	gtttcactct	tgctgccag	actggagtgc	aatggcgtga	tcctggctca	70320
ctgcattcct	ggcctccag	gttcaagcga	ttctctgcc	tcagcttccc	aagtattggg	70380
gattacaggc	atctgccacc	acgcctggct	aatttttgta	tttttagtag	agatggagtt	70440
tcattgtggc	cagactggtc	tcgaactcct	gacctcaagt	gatctgcccc	ccttgacctc	70500
ccaaagtgtc	gggattacag	gcattgagcca	tcattgcctg	ccaaatttta	tctttttaaa	70560
tagagatagg	gtctcactat	gttgcccggg	ctggctctga	actcctgggc	tcaagtgatc	70620
tgccctcctt	ggcctcccaa	aagtgtgga	attacaggca	tgagccatca	tgccctggca	70680
aattttatct	ttttaaatag	agatagggtc	tcactatgtt	gcccggtgtg	gtccttgaa	70740
cctggggtca	agtgtctctg	cctcctggc	ctcccaaagt	gctgggatta	cagggtgtgag	70800
cccttgcaac	cagtgaatc	tagaaaactt	ctaagtgggt	gaacatctaa	gtgggtggat	70860
ggatgcacag	atthtatcaa	taaatgtcaa	aggtcattat	ggtagtttag	aaactgccag	70920
atgggttcagc	aatggaaca	cccaatgaat	agcagctcaa	acagattaaa	aaaaaatttt	70980
taagaggcat	cctgtcacc	aggctgaagt	gcagtacat	gatcatagct	cattgcagcc	71040
ttgacctcct	ggctcaagt	gatcctccca	cctcagcctc	ccaagttagc	aggacacaca	71100
tgcatgctat	catgcctgga	taattttctt	tattttttgt	agagccaggg	tcttctatg	71160
ttaccaggc	ttgtctcaa	ctcctgacct	caagtgacct	tcctgctca	gcctcctgaa	71220
gagctgggat	tataggcatg	agccactgca	cccagccaga	atthtaattc	acacagctgt	71280
aaaaaaccaa	tgattctgat	cagtgggcag	tgattcgggg	cccaggctcc	ttccatctaa	71340
tggctctgcc	gtttttccac	gtgcttttga	ggtcacctca	atgtcacct	tcacatgggc	71400
tggtagctgc	agaaggatca	tgaggacca	cagtgacaga	gtcttttagag	tccttgggc	71460
agaaacaagt	cacacagtca	catttagctg	cagagggtc	taggaaatgt	aggtgagctg	71520
tgtgcccagg	gggaggagga	aaagtgtgag	gagcggcaag	tcgatgtctg	ccaccagtgt	71580
ttacaaggag	gggtgtctgc	agccagactg	aacagtgtgg	ctcataatcc	ccaaagccag	71640
gtcaaggact	tactgaaac	tcattcagcca	tgtaatccca	tgctggaggt	gcactccata	71700
tggttatgat	ggggcatcct	tcattccctc	tcttctttat	tctattaatg	gggaaatatt	71760
ggaaaattta	ggaggagaa	gacccaaggc	atthggggag	ttgcaggagt	gaacgtgggt	71820
gatttctggg	ttttggacac	accccaagct	cctgatcatg	ccacagcccc	atggcagctg	71880
acctaaggtt	ttttgcccag	ctcagggcag	tgggtgatcg	aactcttcat	gaccttcca	71940

gggactggag	ccaacagacc	tttgactatc	tccctgagcca	tgtccattct	cccaacgctg	72000
aaaacctggg	cctgttccta	atctcgggct	acaacctctt	ccatgaagcc	attccgggtg	72060
gtgaacagtt	cttgaccatg	agggatgagc	accaggggct	ggggtagtga	gggtgggtgc	72120
agcagagcct	taatcacaga	tgagggcggg	gtgctttgag	tctcgtaggc	aacagactcc	72180
tggtttcaaa	acagggtttg	tttaaattct	atTTTTgtct	tgaaaattat	ttttgtttta	72240
cattttgctg	ttaaattggc	agaggacaaa	gaatcttctg	atgcccaggg	gaaactagcc	72300
tttgattagc	atggctaaaa	tacaaacatg	ttctgcagt	acgggcactt	ggtgctgaag	72360
ccaaaagggt	tcaagtggcc	ctgaaggctc	caaggctttt	tatcaagaag	gaataaaata	72420
ctcatcaaa	caaaaactgc	caaagcattt	attatgtgcc	aggccagtc	ctaactaatt	72480
tacagctagc	gactaattta	attctcttta	taaccgggag	gtaagggtg	tccttatcct	72540
cacttaataa	atgagaaaa	ggagggtcca	agaaatggag	taacttgccc	aaggccacar	72600
agctcgccag	tggcagagct	gggatttgaa	cccaggccat	ctgtgactcc	atgggtgtcca	72660
gtgtgctaac	aggaacagca	cagccctggg	acgggttggc	caggctcctt	ggagagggtg	72720
gtctggcgct	gtgcccagag	ccccgtgcca	gctctcaagg	ttcattcaac	ctttggcact	72780
gtgctaagg	ctttatccac	attatctgtt	acctttcatg	ggaccaagag	tatttttttt	72840
tttttgagac	aggggtctac	tgtattggcc	aggctggagt	gcattggcat	gatctcggt	72900
cactgcaacc	tctgcttctt	gggttcaagc	cattctcctg	tctcagcctc	ctgagtaatt	72960
gggattacag	gtgcgcacta	ccacgcctgg	ctaatttttg	tatttttaag	agatgggggt	73020
tcactatgac	ggcggggtg	gtctcgaa	cttgacctca	agtgatctgc	ctgcttggc	73080
ctcccaagt	gctgggatta	caggcgtgaa	ccactgcacc	cggccaagag	tgattattaa	73140
ctccatgata	cagacaagga	aactgagtct	cagagaattc	aagtagcaag	tgatgaggct	73200
gggggtctctg	acactatgct	ctgctgtctg	acactatgct	ctgttgcttt	ctctcatccc	73260
cggggactct	cactgtttct	gctttctctc	ccctatttct	gacttttccc	ctataactca	73320
ccctcggtct	tactcttacc	cttaccataa	atagggggtta	agaacatgaa	ctctgggaact	73380
aagctgtatg	ggttaaaatc	tcaacaccac	catttattag	ctgtgtaatc	ttagacaagt	73440
tatttaatct	ttctaagcct	caattgggtc	atctgtaaac	tggggaaaga	atagcatcca	73500
ccccaatggc	ttcttgtgaa	gattaaatgg	accagtataa	gaaaatgctt	ggaacagtgc	73560
cttaatgca	cttagcatta	cataagtctc	tgtcattatc	atTTTTtttt	ttttttgaga	73620
tgaatgtctg	ctctgtggcc	caggctggag	tgcagcggca	caatttcggc	ttactgcaac	73680
ctccagctcc	cagattcaag	caattctcct	gcctcaatct	cctgagtatc	taggattaca	73740
ggcatgcacc	accatatctt	gctaattttt	gtattattat	ttagtataaa	cagggtttca	73800
ccatgttggc	cagactggtc	tggagctcct	gacctcagg	gatccaccca	tctcagcttc	73860
ccaaagtgtg	gggattacag	gtgtgagcca	cctcgccctg	cccattatca	ttattattga	73920
cttccatccc	acccagtgcc	ccctttgtcc	ttcctcttca	ggacccttcc	tgggaaggaca	73980
cagttctggg	atttcggga	ctgaccccca	gagagctgga	tatgttccca	gattacgggt	74040
gagtttattg	tcacaggcaa	aggggactgg	ggcctgacga	gttagcagac	ctgtccagaa	74100
ggcagcagag	ggttagaggca	ccagatttcc	tgtcctaccc	aggccctgg	accctggtct	74160
cctggtcctt	ggtccagctc	cttcagagag	gctaccact	caaacctggc	cttgggctgg	74220
gaaggtagg	ggtatgaaat	cacagatctc	aagccagaa	gctccatata	accatattgt	74280
tttgtagatg	aagatactga	gtttcagaga	ggctaagtga	cttcctaagg	tcacacagcc	74340
aagtggccaa	actgggatc	caaccagtct	gtatgacccc	acacccctcc	tttcttttct	74400
ctacagcctg	atgcctctct	ggtcttctcc	tcacccaccc	ccacaccaca	cctgaatccc	74460
ctctacgaat	gcacattcaa	tctccacttg	cattttccaa	tgtcagatat	ggccttttct	74520
gtagaataaa	ttttccttgc	attgagctca	aaaccacgtc	cccccttgaa	cttcacgtag	74580
tggctcctgg	actacccttt	gggcccacag	aacaacattg	ctcccacctc	catttccag	74640
ccttcaataa	tagctctgat	ttttaccttt	atttccacct	tttgcttact	gtgactctag	74700
ctatggctgg	ttccacacaa	gcctaattct	ggagggaag	aactatctac	agtggctgac	74760
tgaagggtga	gattttaagc	ttcactttga	gggaggtaac	tcccagagac	caagttgtag	74820
tgaagatgg	ttcgtgggct	tccctcagca	tggactaac	cccagggttg	aagaataccc	74880
ttaggcctgg	tgtgggagct	atccttgggt	ctgatcaccc	ctgggcacag	aggcaatgga	74940
tcctgagcct	agctgagcat	cagaaccacc	tgggcagctg	tttacacatg	atgtccatta	75000
acaacctctt	tcaaatccct	aatgtttgtg	taatagtgtt	agatgtattc	ttttaagggt	75060
tccagatata	tttacatcat	ctgcaaaaaca	taagctgcct	tttattttta	tctcctctc	75120
tctttttttt	tcttctctaa	ctgctttggc	caatacctct	agaacaatgt	tactcataca	75180
gatgatagtg	gatgtctttg	acttgttctt	catgttaata	ggaatcttgc	agtgttctaa	75240
attagcaaac	actcacttga	gagatacatt	ggtatttata	ttcacatata	ttcatattaa	75300
gggagattcc	ataccttttt	tgtgtgtgtg	agatggagtc	tcgctctgtc	accaggtctg	75360
gagtgcagtg	gtgcgatctt	ggctcactgc	aagctctgcc	tcctgggttc	atgtcattct	75420
cctgctctag	cctcctgagt	agctgcgact	cagggtgcct	gccaccacca	cacctggcta	75480
attttttgta	tttttagtag	agatgggttt	tcaccatgtt	agccaggatg	gtctcaatct	75540
cctgacctcg	taatctgccc	gcctcggcct	cccaaaatgc	tgggattaca	ggtgtcagcc	75600
accacgcccc	gcctgattcc	atacattttt	tatatattac	tgttttttaa	agatttttag	75660
gccaggcatg	gtggttcata	cctgtaatcc	tagcactttg	agaggccgag	gtgggcagat	75720

cacttgagcc	caggagctca	agaccagcct	gggcaacatg	gcaaaaccct	gtctctacag	75780
aaaaattcaa	aaatcagcca	ggtataatgg	tgcattgcctg	tagtcacagc	tacttaggag	75840
gctgaggtgg	gaggatggct	ttatcccggg	aaggagaggc	tgcatgagc	tgtgatcatg	75900
ccactgcact	ccagcctggg	gggacagggc	gagaccctgt	ctcaaaaaaa	aaaaaaaaga	75960
ttaaaaaat	atggaatata	tagtggcttt	tatcagatga	cctcagaaga	ttttttttaa	76020
atgtagattt	taggaaccca	ctctatacct	gctgaattag	aacttctggg	ataaggttca	76080
taaatttgct	ttttttcatt	tttttgagac	aaaaatcttac	tttgtcacc	aggctggagt	76140
gggatgtagt	ggtatgaaca	caactcacag	cagcctcaac	ttcctgggct	caaatgatcc	76200
tcccacctca	gccttcaaag	tagctgggac	cacatgcatg	tgccacaatg	cctatctaata	76260
tttttaatat	ttttgtagag	atagggtctc	actatgttgc	ccaggctggg	ctcaaacccc	76320
tgggctcaag	caatcttcct	gcctcagcct	cccaaagtgc	tgggattaca	ggcgtgagca	76380
aacaggccta	gcaaaaaatt	gcattttaag	aagcttccctg	gcgattctaa	ttatcagcca	76440
tgtttgggaa	tcattgtact	aagacatggc	tatttctcct	aacctgggga	cacatgaccc	76500
ttgtccagtc	ttttccagga	aaaacatgcc	ctcaagatgt	ttttctatct	tgaggaaatg	76560
atggaaatga	gatagtcca	agggtatgct	tcaccttctt	tttggcttat	ttcctgttct	76620
ttggatgttt	ctagtgtatt	tcttcttttc	ttcttttttt	tttttttttt	tttgagacag	76680
agtcttgctc	tgtcaccag	gctggagtgc	agtggcgcaa	tctcggtcca	ctgcaagctc	76740
cgctcctggg	gttcatgcct	ttctcctgcc	tcagcctccc	gagtagcttg	gaatacaggc	76800
gcctgccacc	acgtctggct	aatttttttt	ttgtattgtt	agtagagacg	gggtttccac	76860
gtgttagcca	ggatggtctc	aatctcctga	cctcgtgatc	cgccacacct	ggcctcccaa	76920
agtactggga	tttacaggcg	gagccaccgc	gctcgtctgt	ttctagtgtg	tttctaatac	76980
tgtatagatg	ttttcctatg	ggatgtttta	aaggaggggtg	gatgtctca	gccacacctc	77040
ctctcatgct	ccggcttctg	acaaagggga	atttggcact	ggtacaactc	tccccttctc	77100
tactctgaat	ctcattgcct	ttgctgttac	aaagcaatgt	ggtggtcata	ggaagtgtctg	77160
ggggctaaga	ggcctggggt	tgagttccaa	ctccatcatt	gactcactct	atggccttca	77220
gcaaggccct	tccccactc	catctgccc	acaaggggct	tggaccatct	ctggtttctc	77280
aaaggagatt	ttgtggacca	ccagtcagct	aggtgtctcat	gagctgattt	gatgacacag	77340
ccatcttctc	aagcagcatc	ctgtgcaact	aacgtccgca	gaaggttgtt	tggggaaagg	77400
tccctgtgcc	acccttcttg	gtgggatggg	ggcagatagc	tgaatactgg	gctttttgat	77460
gtgtttgatc	atcccagggt	aactgagagg	ggagtgaagt	tcttccagcg	gaaagtggag	77520
tcttttgagg	agggtgagtg	cagggtgat	gcggtggatg	gggcagggaa	gaagtaggga	77580
ggcctctgct	tcttgtctgt	gagtcggggg	ctcccttctc	aggctcctag	ggtccccaca	77640
ggcctgcctc	agcacccttg	cccagaagc	ctcaggtat	tctgaaggga	ggaagtctct	77700
gccttcatgt	tggtagtggg	aacaaaggaa	cactgggatc	atggtggcca	ttaggagctg	77760
atttatatct	gagactcaat	gagttttggg	tctagagagc	tggccgcatt	ttctcagtg	77820
cagctgcact	ccaaggtcag	aacttgggtg	cttccatagc	ctaccgacat	ctgtgttggg	77880
ctttctgcaa	agtccaggcc	ctcagctgac	tcacctctaa	agaagcacca	ccaccaataa	77940
taatgacacc	aaaagccacc	atctccaggc	accagcaaaa	agagctttac	tgtatggctt	78000
catccaatcc	cagcatctaa	aacctgctt	ggcacaaagg	aggcgctccg	tacatgtagc	78060
tactagtgtc	atgtcatgaa	gactaacctg	ctctgggtcag	gccctgatgg	acaccgaaga	78120
tacatggctg	acccaatgca	gtcctcattc	tcagtcattc	actcaggaac	aatagtagcg	78180
tcttgcaatg	tgtgtgtccc	ttaacttact	cgtgggtgaga	gtcactgggg	ctgggttggg	78240
gagcttaggg	gctcacgatg	cgtgcttgag	atgagatcat	ctcatctgta	gacagagctg	78300
gggttccaac	gtgtcttctg	caaatgtctt	ggcagagtag	aaggcaagag	aataaagttt	78360
aaaggaggtca	gaaggagaaa	gagaactctc	tctgcttctc	ttctgacttc	ttttgggagg	78420
ttccagggaag	atttccccc	tccaaagaac	tgtttttacaa	ccacttttat	attcagagtt	78480
gtgcaggagc	ctcataacag	cctatgaaca	gccatgggca	gcctcatttt	acaggggcag	78540
ctgagaatta	aggaggtaac	cagacatttt	caaggctcaca	cgctcagataa	atggcagtat	78600
gaaaatttga	agccaggccc	ctctgattcc	tcattgagac	ctctccccc	tgttcacag	78660
ggagtagaca	gattgagggt	agaagaaagg	ggaagagaga	acaggggata	ccagggtctt	78720
ccccaccttt	catccccac	tacctgttg	gttgctacca	ggtggcaaga	gaaggcgag	78780
acgtgattgt	caactgcact	ggggatggg	ctggggcgct	acaacgagac	cccctgctgc	78840
agccaggccg	ggggcagatc	atgaagggtga	gtgtgagggt	gagacccta	ccttttgta	78900
ataggaagat	cattctgcat	gcttatttca	tcctcaga	tcattggacaa	atcaggaaca	78960
tctgttagag	gaacccccg	gactgcaggg	aattgacatg	taaaaaaaac	aaacctgtcc	79020
cacccccatt	gctctctttc	aggatttctt	cttgatcgtg	aagcatgcat	gtatgcgctt	79080
gtacctatgt	gggagcagca	tatgcctgta	ttgcaataaa	aatagcaaac	attagagtgt	79140
ttaccaagcg	cgagatacag	tcctaagcac	tttattgtgt	ttattattat	tattaattat	79200
taattgtgtt	attattatta	tcattgttat	tattattttt	gagacagggt	atcactccat	79260
tgccagggtt	agagtgcagt	atcttgatca	tggctcactg	tagccttgac	ctccaggct	79320
cccaccttag	ctactgagt	agctgagact	acaagcgcat	gccaccacca	tgtctagcca	79380
atttttttat	ttttttaga	gaaaggattt	caccatattg	ctcaggctgg	tctcaaacctc	79440
ctgggctcaa	gtgatcccc	caccttggcc	tgtcaaagtg	ctgggattac	aggcgtgagc	79500

caccacgctc	agcctattgt	gttaattaat	ttagtgatgg	ccacagccct	tcgagctggg	79560
tactaccata	tcgttattgt	catcttacag	atgaagaaat	tgaggcacag	aggagttaa	79620
taacaggcac	aagttcacac	ggtagtacgc	agtgcaattg	ggattggaat	ccaggcaacc	79680
tggtcttaaga	gcctgtgcgt	gcaagcattg	ttccatgcct	cctcttgctg	tgtgtgtgca	79740
tatgagggta	tgtgtgtgtg	catgtatgtg	tgtgtgtgta	tgtaagggta	tgtgtgcata	79800
tgtgtgtgtg	catgtgtgag	gggtgtgtgtg	catgtgtgag	gggtgtgtgtg	catgtgtgtg	79860
aggggtgtgtg	catatgtgat	gggtgtgtgca	catatgtgag	gggtgtgtgtg	catgtgtgtg	79920
aggggtgtgtg	catatgtgtg	atgggtgtgtg	tgacacgtatg	tgggggtgat	tgtgcata	79980
tgtgaggggtg	tatgtgcata	tgtgtgagtg	tgtgcgtgca	tgacacacat	gtgaggggtg	80040
tgtgtgtgtg	catgtgtgtg	aagggtgtgtg	cgcatgtgag	agtgtatgta	cgtgtgtgat	80100
gggtgtgtgtg	tgtgagggta	tgtatgcata	tgtgtgaggg	tatgtgtgtg	catgtgtgtg	80160
aggggtgtgtg	catgtatgta	aggggtgtgtg	tacatgcata	tgtgtgaggg	gtatatgtgt	80220
ggatgcata	gaggggtgtg	gtgtgcata	gtgtgaggg	gtgtgtctga	gggtgtgtgt	80280
gtgcata	acctgtgag	gttcata	gtgcaggtgt	gtgtgtctct	gtgtgtgagg	80340
gtgcgtgtgt	gtgttcctaa	tgtgggctga	tgggtgtaac	aaccaaata	gtgactgaag	80400
cataagctc	aaatcatcga	ggtttatgga	gccagcttga	gggcgcaccc	aggaaaaacg	80460
cgagtcacag	atgcacctgt	gactcctttt	tccaaagagg	ttctcaggag	atttagctct	80520
tatacatctt	ctttaaaaaa	aaaaaagtga	gagaaggggtg	tagcagcgag	agaatgattg	80580
catacttgtg	aaactttagt	tagtgccag	taaatctaca	ttttacataa	gatgaaggtt	80640
tgggcccaggc	gtgggtgactc	acacctgtaa	tcccagcact	ttgggaggct	gaggcagggtg	80700
gatcacgagg	tcaggagttc	gagaccagcc	tggccaacgt	gggtgaaaccc	catctctact	80760
aaaaatacaa	aaaattagct	gggtgtgggtg	gcgggtgcct	gtaatccag	ctactcggga	80820
gggtgacgca	gggaatcgc	ttgaaccccg	gaggcagagg	ctgcagtga	ccgagactac	80880
accactgcac	tccagcctgg	caacagagcg	aggctgtctc	aaaaaaaaaa	aaaaaaaaaa	80940
aaattgaagg	tttgaaggaa	aaaggaatgg	aggaagttct	gtatctggga	agataagctt	81000
gtcattgatg	ttatcagtg	ggagctctgt	gaaagggctg	gtttctgctt	acccttagg	81060
gaagaaagcc	taactttgg	caggtcattg	agggagggga	tataatgaga	cgtgtcggac	81120
ctcccttccc	ccgcagctg	tgaactcagc	tcaaaggttt	ctctggggct	cctggggcca	81180
agaggggggtc	tgttcagtcg	gttggggact	tagaatttta	tttttatttc	tcatgttat	81240
gcattttacat	gtgtgtactg	gtgctttctt	tccgacatgt	gggtgaggag	aaacaatgct	81300
tcaggggagca	gggggtggctg	ccaattaggg	cagctcttcc	tgcaagaggc	aagcagtcag	81360
gtgcagactt	gggcatag	gtcatgagag	gtcttataag	gaatcagcct	ggccactctt	81420
gtcaggacat	ctggccacag	aggggagcaa	gggcagccac	attgactcac	ctccgtgat	81480
gagactttcc	tgcctgaat	caacaggtgg	acgcccttg	gatgaagcac	ttcattctca	81540
cccatgaccc	agagagaggc	atctacaatt	ccccctacat	catccaggg	taaaattgga	81600
ctgttctcgg	gcagaagagt	gggtcccttc	atgccctctt	catgaccctg	ctgcctcccc	81660
caagctcctt	actccctgca	gttgttccct	ttcaatgttt	ttatgtactt	agctattttt	81720
tattattatt	ttttgagaca	gagtttcaat	cttattgccc	aggctggagt	gtaatgggtg	81780
gatcttggct	cactgcaacc	tctgcccctc	aggttcaagc	aattatcctg	cctcagcctc	81840
ccaagttagct	gagattacag	gtgcccacca	ccacatccag	ctaatttttt	gtatttttag	81900
tagagacagg	gtttcaccat	gttggccagg	ctggtcttga	actcctgact	cagggtgatcc	81960
acctaccctt	gcctcccaaa	gtgctgggat	tacaggcggtg	agccacccgtg	cctggccccc	82020
tttcaatgtt	tttagtgagt	ttgagctact	gaatccctgg	gaaggcagac	tcagcctcga	82080
ctgaggtcta	ccgtgaacat	tcttttggat	gacaatagt	gtgatgctgg	agacaaaggc	82140
agtggatgta	atgtgggtgac	actaaaagt	gtatgtaggt	ggctcacgcc	tgtaatccca	82200
gcactttgctg	aggccaatgt	gggaggattt	cttgagccca	ggagttcaag	accagcttgg	82260
gcaacatggc	aagaccccg	ctctacaaaa	atacaaaaaat	tagccgggcg	tgatgggtga	82320
tgcctatgg	cccagctatt	cgagaggctg	agatgggagg	attgcttgaa	cctgggagg	82380
tgaggatgca	gtgagccatg	ttcacaccac	tgtactccag	cttgggccac	agagcgagac	82440
cccattctcaa	aaaaaaaaaa	aagtgggtgtg	aatggcaata	atgggagtg	gaatggggaat	82500
gggtgattggg	gctgatgggtg	atgataatgt	taacgggtgga	gatgacaatg	tactgaaac	82560
cagtgggtgg	gttcatggga	tgacaatatt	gttgatagcg	gaatgggtgg	attagggata	82620
atattgtatt	gatgggggaag	acagcggtca	tgggggtgg	gattagcgta	agagttgtag	82680
agtgggtgat	ttatggagg	tggctgtgtg	ctgatgagga	gatcaatgtt	gatgaaggtg	82740
tgattgggag	tggggatgg	agctgggtgt	gatggaaatg	acactatcaa	tgatgttaat	82800
actgtagcag	agctgacagt	ctcaaaggca	atgttaataa	catggttgca	ccaacatgt	82860
tatctcaatg	gcgatgttac	tgggtgtcgtg	gagatgacaa	tatcaatggc	aatgttagtg	82920
gtgggtgtga	aatgatgaat	gcagttgggtg	gtgatgacct	attaatgata	gtagcaaaaga	82980
caatgttgtt	gatggagatg	acaacattga	tgggaagtg	gatggaagag	ttcgttgttg	83040
gtgttgatgg	tgatgacagt	ggcaattgag	gtagtgtgtg	tgggtgtgtt	agcagaggtg	83100
acaagggtga	tggtaatgac	ctttattcat	ctcagagcct	tcattttcct	tcatccttga	83160
ccctcctcat	ttgtatctag	gacccagaca	gttactcttg	gaggcatctt	ccagttggga	83220
aactggagtg	aactaaacaa	tatccaggac	cacaacacca	tttgggaagg	ctgctgcaga	83280

ctggagccca	cactgaaggt	aaggtaggga	ggagtagcag	tgccctaac	caaggtcgtg	83340
ggagcttggt	aatgaggaca	cttcaggacg	ggaagatgcc	accgctggga	taactgggca	83400
aattaattcc	agcaagggat	gtggaacata	acagaatttg	ataatgtaca	gggaagttct	83460
tgctatgggc	taatgaatcc	tgcttgcca	tggtgagag	cccttggtt	tcacatttgt	83520
ctgctgagtg	tgatgacagt	agtgatggg	atgaggatga	gttggtactg	atggtaggga	83580
aaatgctgag	aatggtaata	gtgatgggga	taaggtggg	acagttgtta	aaattatggg	83640
ggtagctgat	ggtaggggta	gtggttgatg	atggaattgg	tggaaaagg	gaagcagtaa	83700
tggtaatgat	gttggttagct	gataaagatg	gtgttggtgg	tagtggtgat	tgataaagat	83760
gactgtgatt	atatttagtg	tggtgggtgat	gagattctaa	aagctaactc	cctactacct	83820
aaaaatggca	gcaggaaaaa	aaaatccaga	aatgagtgat	cagcactttt	ctttccagaa	83880
tgcaagaatt	attgggtgac	gaactggctt	ccggccagta	cgccccaga	ttcggctaga	83940
aagagaacag	cttcgactg	gaccttcaaa	cacagaggta	tgctcccatg	gcaaggaaag	84000
taatgccctc	ttccactcct	cagatggctc	tggtattttc	agggarcagt	catgtctgat	84060
ctcaagttcc	acacaggctc	catagcaggc	aggggacagt	gtggctaata	tcccctcctc	84120
tataaatggg	gaaactgagg	ctcaatgatg	gttaaggacc	tgctcaaggt	tacatagagg	84180
ggcagtggtg	atgttaatgg	aggtgggtgct	aagtccatta	atgttgataa	tggtgtgact	84240
gggagtgggg	atggtagctg	gtgctgatgg	aaatgacact	atcaagtatg	ttagtaccac	84300
agcagagggtg	acgatctcaa	aggcagtggt	aacatggctg	cactaactgt	ctcattggca	84360
atattaatcg	tgtaggcagag	atgacagtat	caatggcagt	gttaatgatg	gtggtgaaat	84420
ggtagaatggg	gttggttttc	ttaaagtctgt	ggtcaaataa	caggaaaatg	tgtacttact	84480
ggatgtgtac	ttcgtgtcag	acacagcagc	aagtccatta	catgaatgac	cttattaaat	84540
ctcctctgga	gctctttggg	atagggacag	ttctccctat	gcttcggatg	aggaaactgg	84600
ggtagaattaa	gagggtgaagt	cacttgccca	agtcagacca	ctggtggaag	gcagggtctg	84660
gatgtgattt	gaatttgact	ccaaggctat	ttccagatat	tcattttgtg	gctgccccat	84720
catctcttgc	aactgttcca	gggggtcccc	accattccac	cccgggtgca	agagaagctc	84780
aggtggcatc	tggttttggc	caggactcct	ctgagtcctc	ctgagtcctc	cagggcagaa	84840
gagcttcac	tattctttcc	actgtccctc	tcggacctgg	ccaccttctc	tcttgctctc	84900
cctaggtcat	ccacaactat	ggccatggag	gctacgggct	caccatccac	tggggatgtg	84960
ccctggaggc	agccaagctc	tttgggagaa	tcctggaaga	aaagaaattg	tcagaatgc	85020
caccatccca	cctctgaaga	ctccagtgc	tgctgcctcc	ccccacaaga	actcccttct	85080
ccccatcagc	aatgaatcaa	tggtgtcctt	cataagccat	tgcttctccc	tcactttctt	85140
cctcaaagaa	gcattgaggtg	agagaaaagc	acaaagtcag	tgcttgga	aggggttcagc	85200
ccaacatggg	gcccctctca	tcactgaaat	ccctctacct	tctctgggtc	tggtattata	85260
aagaacagct	gaggctgtca	ttccatgagt	cttcagaaga	aaggacagct	cagaaaatca	85320
aagaggccaa	ctgcccagag	ccacagaaaa	tggaggataa	ttgaggctaa	gtaacctgat	85380
tacaagttgt	actaacatat	taaaggttct	gaaaagtcct	gcagcaaaga	caactatctg	85440
atgtttgttt	acccagtgtc	tgctaaacct	atctggctat	ggaactcttt	tgcccagagc	85500
acccatgaat	gcatgacac	aaatctgaga	aaatgctgga	acagattttg	ttgtatctgt	85560
tggttttgtt	gtaggagggt	atacatataa	ctgggggtgtg	gagggggcag	agagggtgag	85620
cactgaacta	gtaacacatg	gtgtttgttc	cacatctaga	attccaaatg	gcatcagcta	85680
ttcaccgagt	ggccccatga	gcaccacgta	acctttgagg	agggggccact	ggagggatca	85740
tcccacaagg	aacccttcca	tagagaactg	ttttagtcca	ttttctgttg	cttataacag	85800
aatatctgaa	actggagatt	tttttttttt	ttttttgaga	caggatctca	ctctgtcacc	85860
caggctgggtg	tgtagtggtg	tgattttggc	tcactgcaac	ctccgcctcc	caggctcaaa	85920
tgatcctccc	tcctcagcca	cccagtagtc	tgggactaca	ggcgcttgct	accatgccca	85980
gctaattttg	tgtgtgtgtg	tgtgtgtgtg	tgtgttttgt	agagagtgtt	ttgtagagac	86040
tggttttggt	catgtttgtc	aggctggcgt	tgaactcctg	ggatcaagtg	atcctcctgc	86100
ctcagcctcc	aaagtgggtg	gattataggc	ataagccacc	acgcctggcg	gaaactgtgg	86160
aattaataga	gaaaaggaat	ttattttatta	ccgttataga	gtctgagaag	tccaaggttg	86220
aggggcccaca	tctgggtgaga	gccttctctc	tggtgggtgc	agagggtggg	actctctgca	86280
gagtcaccagg	gaggcttagg	gcatcacgtg	gtgagggggc	tgattgtgct	aatgtgctag	86340
ctcagctctg	tcccttgtct	tagaaaagcca	ccattttcct	tcccagatg	acccattaat	86400
ccattaacct	aataacccat	taattgataa	atggattaat	ccatttatga	gagcagcgt	86460
cttaggatcc	aatcacctct	taaaggcgcc	acctctccag	accaccacta	aggtgggtgga	86520
ctaaggacta	agtctcaacg	tgagttttgg	caggagcgtt	taagcaatag	caagaactaa	86580
actcaccaag	ca					86592

<210> 2

<211> 1573

<212> ДНК

<213> Homo sapiens

<220>

<221> 5'UTR

<222> 1..143

<220>

<221> Кодирующая последовательность

<222> 144..1187

<220>

<221> 3'UTR

<222> 1188..1573

<220>

<221> polyA_сигнал

<222> 1549..1554

<400> 2

```

tgcactccag tccgggctgg cggacagagg gctggaaaca agacgctcca gaatcaggag      60
cttccctca ggaaatagca tcctgtgtcc cgcactgca gttgtctggt ctctccagca      120
gtttgtact tccggctgct gca atg cgt gtg gtg att gga gca gga gtc      173
               Met Arg Val Val Val Ile Gly Ala Gly Val
                1             5             10
atc ggg ctg tcc acc gcc ctc tgc atc cat gag cgc tac cac tca gtc      221
Ile Gly Leu Ser Thr Ala Leu Cys Ile His Glu Arg Tyr His Ser Val
                15             20             25
ctg cag cca ctg gac ata aag gtc tac gcg gac cgc ttc acc cca ctc      269
Leu Gln Pro Leu Asp Ile Lys Val Tyr Ala Asp Arg Phe Thr Pro Leu
                30             35             40
acc acc acc gac gtg gct gcc ggc ctc tgg cag ccc tac ctt tct gac      317
Thr Thr Thr Asp Val Ala Ala Gly Leu Trp Gln Pro Tyr Leu Ser Asp
                45             50             55
ccc aac aac cca cag gag gcg gac tgg agc caa cag acc ttt gac tat      365
Pro Asn Asn Pro Gln Glu Ala Asp Trp Ser Gln Gln Thr Phe Asp Tyr
                60             65             70
ctc ctg agc cat gtc cat tct ccc aac gct gaa aac ctg ggc ctg ttc      413
Leu Leu Ser His Val His Ser Pro Asn Ala Glu Asn Leu Gly Leu Phe
                75             80             85
cta atc tcg ggc tac aac ctc ttc cat gaa gcc att ccg gac cct tcc      461
Leu Ile Ser Gly Tyr Asn Leu Phe His Glu Ala Ile Pro Asp Pro Ser
                95             100            105
tgg aag gac aca gtt ctg gga ttt cgg aag ctg acc ccc aga gag ctg      509
Trp Lys Asp Thr Val Leu Gly Phe Arg Lys Leu Thr Pro Arg Glu Leu
                110            115            120
gat atg ttc cca gat tac ggc tat ggc tgg ttc cac aca agc cta att      557
Asp Met Phe Pro Asp Tyr Gly Tyr Gly Trp Phe His Thr Ser Leu Ile
                125            130            135
ctg gag gga aag aac tat cta cag tgg ctg act gaa agg tta act gag      605
Leu Glu Gly Lys Asn Tyr Leu Gln Trp Leu Thr Glu Arg Leu Thr Glu
                140            145            150
agg gga gtg aag ttc ttc cag cgg aaa gtg gag tct ttt gag gag gtg      653
Arg Gly Val Lys Phe Phe Gln Arg Lys Val Glu Ser Phe Glu Glu Val
                155            160            165
gca aga gaa ggc gca gac gtg att gtc aac tgc act ggg gta tgg gct      701
Ala Arg Glu Gly Ala Asp Val Ile Val Asn Cys Thr Gly Val Trp Ala
                175            180            185
ggg gcg cta caa cga gac ccc ctg ctg cag cca ggc cgg ggg cag atc      749
Gly Ala Leu Gln Arg Asp Pro Leu Leu Gln Pro Gly Arg Gly Gln Ile
                190            195            200
atg aag gtg gac gcc cct tgg atg aag cac ttc att ctc acc cat gac      797
Met Lys Val Asp Ala Pro Trp Met Lys His Phe Ile Leu Thr His Asp
                205            210            215
cca gag aga ggc atc tac aat tcc ccg tac atc atc cca ggg acc cag      845
Pro Glu Arg Gly Ile Tyr Asn Ser Pro Tyr Ile Ile Pro Gly Thr Gln
                220            225            230

```

```

aca gtt act ctt gga ggc atc ttc cag ttg gga aac tgg agt gaa cta      893
Thr Val Thr Leu Gly Gly Ile Phe Gln Leu Gly Asn Trp Ser Glu Leu
235                240                245                250
aac aat atc cag gac cac aac acc att tgg gaa ggc tgc tgc aga ctg      941
Asn Asn Ile Gln Asp His Asn Thr Ile Trp Glu Gly Cys Cys Arg Leu
255                260                265
gag ccc aca ctg aag aat gca aga att att ggt gaa cga act ggc ttc      989
Glu Pro Thr Leu Lys Asn Ala Arg Ile Ile Gly Glu Arg Thr Gly Phe
270                275                280
cgg cca gta cgc ccc cag att cgg cta gaa aga gaa cag ctt cgc act      1037
Arg Pro Val Arg Pro Gln Ile Arg Leu Glu Arg Glu Gln Leu Arg Thr
285                290                295
gga cct tca aac aca gag gtc atc cac aac tat ggc cat gga ggc tac      1085
Gly Pro Ser Asn Thr Glu Val Ile His Asn Tyr Gly His Gly Gly Tyr
300                305                310
ggg ctc acc atc cac tgg gga tgt gcc ctg gag gca gcc aag ctc ttt      1133
Gly Leu Thr Ile His Trp Gly Cys Ala Leu Glu Ala Ala Lys Leu Phe
315                320                325                330
ggg aga atc ctg gaa gaa aag aaa ttg tcc aga atg cca cca tcc cac      1181
Gly Arg Ile Leu Glu Lys Lys Leu Ser Arg Met Pro Pro Ser His
335                340                345
ctc tga agactccagt gactgctgcc tccccccaca agaactccct tctccctca      1237
Leu *
gccaatgaat caatgtgctc cttcataagc cattgcttct cctcacttc tttcctcaaa      1297
gaagcatgag gtgagagaaa gccacaaagt cagtgcctgg agaagggttc ageccaacat      1357
ggggcccctc tcatcactga aatccctcta ccttctctgg gtctggcatt ataaagaaca      1417
gctgaggctg tcattccatg agtcttcaga agaaaggaca gctcagaaaa tcaaagaggc      1477
caactgcccc gagccacaga aaatggagga taattgaggc taagtaacct gattacaagt      1537
tgtactaaca tattaaggt tctgaaaagt cctgca                                1573

<210> 3
<211> 1691
<212> ДНК
<213> Homo sapiens

<220>
<221> 5'UTR
<222> 1..143

<220>
<221> Кодировущая последовательность
<222> 144..1187

<220>
<221> 3'UTR
<222> 1188..1691

<400> 3
tgcactccag tccgggctgg cggacagagg gctggaaaca agacgctcca gaatcaggag      60
cttccccctca ggaaatagca tcctgtgtcc ccgcactgca gttgtctggg ctctccagca      120
gtttggtact tccggctgct gca atg cgt gtg gtg gtg att gga gca gga gtc      173
Met Arg Val Val Val Ile Gly Ala Gly Val
1 5 10
atc ggg ctg tcc acc gcc ctc tgc atc cat gag cgc tac cac tca gtc      221
Ile Gly Leu Ser Thr Ala Leu Cys Ile His Glu Arg Tyr His Ser Val
15 20 25
ctg cag cca ctg gac ata aag gtc tac gcg gac cgc ttc acc cca ctc      269
Leu Gln Pro Leu Asp Ile Lys Val Tyr Ala Asp Arg Phe Thr Pro Leu
30 35 40
acc acc acc gac gtg gct gcc ggc ctc tgg cag ccc tac ctt tct gac      317
Thr Thr Thr Asp Val Ala Ala Gly Leu Trp Gln Pro Tyr Leu Ser Asp
45 50 55
ccc aac aac cca cag gag gcg gac tgg agc caa cag acc ttt gac tat      365

```

Pro	Asn	Asn	Pro	Gln	Glu	Ala	Asp	Trp	Ser	Gln	Gln	Thr	Phe	Asp	Tyr		
60						65				70							
ctc	ctg	agc	cat	gtc	cat	tct	ccc	aac	gct	gaa	aac	ctg	ggc	ctg	ttc	413	
Leu	Leu	Ser	His	Val	His	Ser	Pro	Asn	Ala	Glu	Asn	Leu	Gly	Leu	Phe		
75					80					85					90		
cta	atc	tcg	ggc	tac	aac	ctc	ttc	cat	gaa	gcc	att	ccg	gac	cct	tcc	461	
Leu	Ile	Ser	Gly	Tyr	Asn	Leu	Phe	His	Glu	Ala	Ile	Pro	Asp	Pro	Ser		
			95						100					105			
tgg	aag	gac	aca	gtt	ctg	gga	ttt	cgg	aag	ctg	acc	ccc	aga	gag	ctg	509	
Trp	Lys	Asp	Thr	Val	Leu	Gly	Phe	Arg	Lys	Leu	Thr	Pro	Arg	Glu	Leu		
			110					115					120				
gat	atg	ttc	cca	gat	tac	ggc	tat	ggc	tgg	ttc	cac	aca	agc	cta	att	557	
Asp	Met	Phe	Pro	Asp	Tyr	Gly	Tyr	Gly	Trp	Phe	His	Thr	Ser	Leu	Ile		
		125					130					135					
ctg	gag	gga	aag	aac	tat	cta	cag	tgg	ctg	act	gaa	agg	tta	act	gag	605	
Leu	Glu	Gly	Lys	Asn	Tyr	Leu	Gln	Trp	Leu	Thr	Glu	Arg	Leu	Thr	Glu		
	140					145				150							
agg	gga	gtg	aag	ttc	ttc	cag	cgg	aaa	gtg	gag	tct	ttt	gag	gag	gtg	653	
Arg	Gly	Val	Lys	Phe	Phe	Gln	Arg	Lys	Val	Glu	Ser	Phe	Glu	Glu	Val		
155				160						165					170		
gca	aga	gaa	ggc	gca	gac	gtg	att	gtc	aac	tgc	act	ggg	gta	tgg	gct	701	
Ala	Arg	Glu	Gly	Ala	Asp	Val	Ile	Val	Asn	Cys	Thr	Gly	Val	Trp	Ala		
			175					180					185				
ggg	gcg	cta	caa	cga	gac	ccc	ctg	ctg	cag	cca	ggc	cgg	ggg	cag	atc	749	
Gly	Ala	Leu	Gln	Arg	Asp	Pro	Leu	Leu	Gln	Pro	Gly	Arg	Gly	Gln	Ile		
		190					195						200				
atg	aag	gtg	gac	gcc	cct	tgg	atg	aag	cac	ttc	att	ctc	acc	cat	gac	797	
Met	Lys	Val	Asp	Ala	Pro	Trp	Met	Lys	His	Phe	Ile	Leu	Thr	His	Asp		
		205					210					215					
cca	gag	aga	ggc	atc	tac	aat	tcc	ccg	tac	atc	atc	cca	ggg	acc	cag	845	
Pro	Glu	Arg	Gly	Ile	Tyr	Asn	Ser	Pro	Tyr	Ile	Ile	Pro	Gly	Thr	Gln		
	220					225					230						
aca	gtt	act	ctt	gga	ggc	atc	ttc	cag	ttg	gga	aac	tgg	agt	gaa	cta	893	
Thr	Val	Thr	Leu	Gly	Gly	Ile	Phe	Gln	Leu	Gly	Asn	Trp	Ser	Glu	Leu		
235				240						245					250		
aac	aat	atc	cag	gac	cac	aac	acc	att	tgg	gaa	ggc	tgc	tgc	aga	ctg	941	
Asn	Asn	Ile	Gln	Asp	His	Asn	Thr	Ile	Trp	Glu	Gly	Cys	Cys	Arg	Leu		
			255					260						265			
gag	ccc	aca	ctg	aag	aat	gca	aga	att	att	ggt	gaa	cga	act	ggc	ttc	989	
Glu	Pro	Thr	Leu	Lys	Asn	Ala	Arg	Ile	Ile	Gly	Glu	Arg	Thr	Gly	Phe		
		270						275					280				
cgg	cca	gta	cgc	ccc	cag	att	cgg	cta	gaa	aga	gaa	cag	ctt	cgc	act	1037	
Arg	Pro	Val	Arg	Pro	Gln	Ile	Arg	Leu	Glu	Arg	Glu	Gln	Leu	Arg	Thr		
		285				290						295					
gga	cct	tca	aac	aca	gag	gtc	atc	cac	aac	tat	ggc	cat	gga	ggc	tac	1085	
Gly	Pro	Ser	Asn	Thr	Glu	Val	Ile	His	Asn	Tyr	Gly	His	Gly	Gly	Tyr		
	300					305					310						
ggg	ctc	acc	atc	cac	tgg	gga	tgt	gcc	ctg	gag	gca	gcc	aag	ctc	ttt	1133	
Gly	Leu	Thr	Ile	His	Trp	Gly	Cys	Ala	Leu	Glu	Ala	Ala	Lys	Leu	Phe		
315				320						325				330			
ggg	aga	atc	ctg	gaa	gaa	aag	aaa	ttg	tcc	aga	atg	cca	cca	tcc	cac	1181	
Gly	Arg	Ile	Leu	Glu	Glu	Lys	Lys	Leu	Ser	Arg	Met	Pro	Pro	Ser	His		
			335					340				345					
ctc	tga	agactccagt	gactgctgcc	ccccccaca	agaactccct	tctccctca										1237	
Leu	*																
gccaatgaat	caatgtgctc	cttcataaagc	cattgcttct	ccctcacttc	tttcctcaaa											1297	
gaagcatgag	gtgagagaaa	gccacaaagt	cagtgcctgg	agaagggttc	agcccaacat											1357	
ggggccctc	tcactactga	aatccctcta	ccttctctgg	gtctggcatt	ataaagaaca											1417	
gctgaggctg	tcattccatg	agtcttcaga	agaaaggaca	gctcagaaaa	tcaaaggaggc											1477	
caactgcca	gagccacaga	aaatggagga	taattgaggc	taagtaacct	gattacaagt											1537	
tgtactaaca	tattaaagg	tctgaaaagt	cctgcagcaa	agacaactat	ctgatgttgt											1597	
ttaaccag	gcttgctaaa	cctatctggc	tatggaactc	ttttgcccag	agcaccatg											1657	
aatgccatga	cacaaatctg	agaaaatgct	ggaa													1691	

<210> 4
 <211> 2620
 <212> ДНК
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> 5'UTR
 <222> 1..1155

<220>
 <221> Кодировочная последовательность
 <222> 1156..1818

<220>
 <221> 3'UTR
 <222> 1819..2620

<400> 4
 gaaacccacg cagcctcctg gattcttccc cgtccctccc tctgtcctgg ggctgtgacc 60
 tcctccatgt tattcacagg gtctcagcac gattcatctc aaagcagcga aacaagcact 120
 ggcttcagaa gaagcaatat taaaacagtt acaactcatc tagcgcacag acacccaact 180
 gacaccctgt tcctccagtc ataacaacaa ctacagcttt gattgaacaa gagactgagt 240
 ttggtaactt tctcctaata aaaagatcac tgactatgga ctgcttctgg tggggttacg 300
 aaaccgcaac ctcatgtgcc tgcatttctt gaaaagacat tttgatgtag gaagggcctg 360
 gagtccctgt gcttgctgtc ctgggatacg ggagcaaaga gccacgcac ctcattggccc 420
 acacaggcgt cacctccagt ctctccttgg cctcatctcc ccagcgtcct ggaatggcat 480
 cgggctggcc cagggagccc ctgtcctgtg cctctccttt cccctcaggg gctgccaggc 540
 tgaccacccc caccgcaggc caggcctaca gtgccccatg gaacgtcctg accctccccc 600
 aggggtggcag caggaagaag gaagaaaggg gatcctctcc agctggccag agagacagac 660
 cttcttgtgc tcatcaaccc tccaagaatg cctgcctccc ctctctcccc caaggcctgt 720
 ccacaggggc ttgagatcag ccagaaaagt caggcaactt ttcagggaact gggagcgagg 780
 tctcccggcc gggcctgggt ccagtctctg tgggcagtgc agtgccgagc cccacccctc 840
 aagccgtgcc ctgtccatag ctccagactt tgaccctgca ctccagtcgg ggctggcgga 900
 cagagggctg gaaacaagac gctccagaat caggagcttc cctcaggaa atagcatcct 960
 gtgtccccgc actgcagttg tctggctctt ccagcagttt ggtacttccg atgaagagct 1020
 tgtgtctcca gaggcaaatg atgggggaag aggggaagaga gaagaccaag ggtccctgag 1080
 aggggctgtc ccctaagccc cagtatccaa gctcgggctc gaagctggaa ggagaattgc 1140
 ctagaggctg ctgca atg cgt gtg gtg gtg att gga gca gga gtc atc ggg 1191
 Met Arg Val Val Val Ile Gly Ala Gly Val Ile Gly
 1 5 10
 ctg tcc acc gcc ctc tgc atc cat gag cgc tac cac tca gtc ctg cag 1239
 Leu Ser Thr Ala Leu Cys Ile His Glu Arg Tyr His Ser Val Leu Gln
 15 20 25
 cca ctg gac ata aag gtc tac gcg gac cgc ttc acc cca ctc acc acc 1287
 Pro Leu Asp Ile Lys Val Tyr Ala Asp Arg Phe Thr Pro Leu Thr Thr
 30 35 40
 acc gac gtg gct gcc ggc ctc tgg cag ccc tac ctt tct gac ccc aac 1335
 Thr Asp Val Ala Ala Gly Leu Trp Gln Pro Tyr Leu Ser Asp Pro Asn
 45 50 55 60
 aac cca cag gag gcg gac tgg agc caa cag acc ttt gac tat ctc ctg 1383
 Asn Pro Gln Glu Ala Asp Trp Ser Gln Gln Thr Phe Asp Tyr Leu Leu
 65 70 75
 agc cat gtc cat tct ccc aac gct gaa aac ctg ggc ctg ttc cta atc 1431
 Ser His Val His Ser Pro Asn Ala Glu Asn Leu Gly Leu Phe Leu Ile
 80 85 90
 tcg ggc tac aac ctc ttc cat gaa gcc att ccg gac cct tcc tgg aag 1479
 Ser Gly Tyr Asn Leu Phe His Glu Ala Ile Pro Asp Pro Ser Trp Lys
 95 100 105
 gac aca gtt ctg gga ttt cgg aag ctg acc ccc aga gag ctg gat atg 1527
 Asp Thr Val Leu Gly Phe Arg Lys Leu Thr Pro Arg Glu Leu Asp Met
 110 115 120
 ttc cca gat tac ggc tat ggc tgg ttc cac aca agc cta att ctg gag 1575

```

Phe Pro Asp Tyr Gly Tyr Gly Trp Phe His Thr Ser Leu Ile Leu Glu
125          130          135          140
gga aag aac tat cta cag tgg ctg act gaa agg tta act gag agg gga 1623
Gly Lys Asn Tyr Leu Gln Trp Leu Thr Glu Arg Leu Thr Glu Arg Gly
          145          150          155
gtg aag ttc ttc cag cgg aaa gtg gag tct ttt gag gag gtg gca aga 1671
Val Lys Phe Phe Gln Arg Lys Val Glu Ser Phe Glu Glu Val Ala Arg
          160          165          170
gaa ggc gca gac gtg att gtc aac tgc act ggg gta tgg gct ggg gcg 1719
Glu Gly Ala Asp Val Ile Val Asn Cys Thr Gly Val Trp Ala Gly Ala
          175          180          185
cta caa cga gac ccc ctg ctg cag cca ggc cgg ggg cag atc atg aag 1767
Leu Gln Arg Asp Pro Leu Leu Gln Pro Gly Arg Gly Gln Ile Met Lys
          190          195          200
gac cca gac agt tac tct tgg agg cat ctt cca gtt ggg aaa ctg gag 1815
Asp Pro Asp Ser Tyr Trp Arg His Leu Pro Val Gly Lys Leu Glu
205          210          215          220
tga actaaacaat atccaggacc acaacacccat ttgggaaggc tgctgcagac 1868
*
tggaagccac actgaagaat gcaagaatta ttggtgaacg aactggcttc cggccagtac 1928
gccccagat tcggctagaa agagaacagc ttgcactgg accttcaaac acagaggtca 1988
tccacaacta tggccatgga ggctacgggc tcaccatcca ctggggatgt gccctggagg 2048
cagccaagct ctttgggaga atcctggaag aaaagaaatt gtccagaatg ccaccatccc 2108
acctctgaag actccagtga ctgctgcctc cccccacaag aactcccttc tcccctcagc 2168
caatgaatca atgtgctcct tcataagcca ttgcttctcc ctcaacttct tccctcaaaga 2228
agcatgaggt gagagaaagc cacaaagtca gtgcctggag aagggttcag cccaacatgg 2288
ggcccccttc atcactgaaa tccctctacc ttctctgggt ctggcattat aaagaacagc 2348
tgaggctgtc attccatgag tcttcagaag aaaggacagc tcagaaaatc aaagaggcca 2408
actgcccaga gccacagaaa atggaggata attgaggcta agtaacctga ttacaagttg 2468
tactaacata ttaaagggttc tgaaaagtcc tgcagcaaag acaactatct gatgttgttt 2528
aaccagtgct ttgctaaacc tatctggcta tggaactctt ttgcccagag caccatgaa 2588
tgccatgaca caaatctgag aaaatgctgg aa 2620

<210> 5
<211> 1576
<212> ДНК
<213> Homo sapiens

<220>
<221> 5'UTR
<222> 1..143

<220>
<221> Кодированная последовательность
<222> 144..380

<220>
<221> 3'UTR
<222> 381..1576

<400> 5
tgactccag tccgggctgg cggacagagg gctggaaca agacgctcca gaatcaggag 60
cttccccca ggaatagca tcctgtgtcc ccgactgca gttgtctggt ctctccagca 120
gtttggtact tccggctgct gca atg cgt gtg gtg att gga gca gga gtc 173
Met Arg Val Val Val Ile Gly Ala Gly Val
1 5 10
atc ggg ctg tcc acc gcc ctc tgc atc cat gag cgc tac cac tca gtc 221
Ile Gly Leu Ser Thr Ala Leu Cys Ile His Glu Arg Tyr His Ser Val
15 20 25
ctg cag cca ctg gac ata aag gtc tac gcg gac cgc ttc acc cca ctc 269
Leu Gln Pro Leu Asp Ile Lys Val Tyr Ala Asp Arg Phe Thr Pro Leu
30 35 40
acc acc acc gac gtg gct gcc ggc ctc tgg cag ccc tac ctt tct gac 317

```

```

Thr Thr Thr Asp Val Ala Ala Gly Leu Trp Gln Pro Tyr Leu Ser Asp
      45              50              55
ccc aac aac cca cag gag gcg acc ctt cct gga agg aca cag ttc tgg      365
Pro Asn Asn Pro Gln Glu Ala Thr Leu Pro Gly Arg Thr Gln Phe Trp
      60              65              70
gat ttc gga agc tga cccccagaga gctggatatg ttcccagatt acggctatgg      420
Asp Phe Gly Ser *
75
ctggttccac acaagcctaa ttctggaggg aaagaactat ctacagtggc tgactgaaag      480
gttaactgag aggggagtga agttcttcca gcggaagtga gagtcttttg aggaggtggc      540
aagagaaggc gcagacgtga ttgtcaactg cactggggta tgggctgggg cgctacaacg      600
agacccctg 'ctgcagccag gccgggggca gatcatgaag gtggacggcc cttggatgaa      660
gcacttcatt ctcacccatg acccagagag aggcattctac aattccccgt acatcatccc      720
agggacccag acagttactc ttggaggcat cttccagttg ggaaactgga gtgaactaaa      780
caatatccag gaccacaaca ccatttgga aggtgctgc agactggagc ccactgaa      840
gaatgaaga attattggtg aacgaactgg cttccggcca gtacgcccc agattcggct      900
agaaagagaa cagcttcgca ctggaccttc aaacacagag gtcattccca actatggcca      960
tggaggctac gggctacca tccactgggg atgtgccctg gaggcagcca agctctttgg      1020
gagaatcctg gaagaaaaga aattgtccag aatgccacca tcccacctct gaagactcca      1080
gtgactgctg cttcccccca caagaactcc cttctcccc cagccaatga atcaatgtgc      1140
tccttcataa gccattgctt ctccctcact tctttcctca aagaagcatg aggtgagaga      1200
aagccacaaa gtcaagtgcct ggagaagggt tcagcccaac atggggcccc tctcatcact      1260
gaaatccctc taccttctct ggggtctggca ttataaagaa cagctgaggc tgtcattcca      1320
tgagtcttca gaagaaagga cagctcagaa aatcaaagag gccaaactgcc cagagccaca      1380
gaaaatggag gataattgag gctaagtaac ctgattacaa gttgtactaa catattaaag      1440
gttctgaaaa gtcctgcagc aaagacaact atctgatgtt gtttaaccca gtgcttgcta      1500
aacctatctg gctatggaac tcttttgccc agagcaccca tgaatgccat gacacaaatc      1560
tgagaaaatg ctgggaa
1576

<210> 6
<211> 1345
<212> ДНК
<213> Homo sapiens

<220>
<221> 5'UTR
<222> 1..113

<220>
<221> Кодированная последовательность
<222> 114..959

<220>
<221> 3'UTR
<222> 960..1345

<220>
<221> polyA_ сигнал
<222> 1321..1326

<400> 6
gaaaccacag cagcctcctg gattcttccc cgtccctccc tctgtcctgg ggctgtgacc      60
tcctccatgt tattcacagg gtctcagcac gattcatctc aaaggctgct gca atg      116
Met
1
cgt gtg gtg gtg att gga gca gga gtc atc ggg ctg tcc acc gcc ctc      164
Arg Val Val Val Ile Gly Ala Gly Val Ile Gly Leu Ser Thr Ala Leu
5 10 15
tgc atc cat gag cgc tac cac tca gtc ctg cag cca ctg gac ata aag      212
Cys Ile His Glu Arg Tyr His Ser Val Leu Gln Pro Leu Asp Ile Lys
20 25 30
gtc tac gcg gac cgc ttc acc cca ctc acc acc acc gac gtg gct gcc      260
Val Tyr Ala Asp Arg Phe Thr Pro Leu Thr Thr Thr Asp Val Ala Ala

```

```

      35              40              45
ggc ctc tgg cag ccc tac ctt tct gac ccc aac aac cca cag gag gcg      308
Gly Leu Trp Gln Pro Tyr Leu Ser Asp Pro Asn Asn Pro Gln Glu Ala
50              55              60              65
gac tgg agc caa cag acc ttt gac tat ctc ctg agc cat gtc cat tct      356
Asp Trp Ser Gln Gln Thr Phe Asp Tyr Leu Leu Ser His Val His Ser
70              75              80
ccc aac gct gaa aac ctg ggc ctg ttc cta atc tcg ggc tac aac ctc      404
Pro Asn Ala Glu Asn Leu Gly Leu Phe Leu Ile Ser Gly Tyr Asn Leu
85              90              95
ttc cat gaa gcc att ccg gtg gca aga gaa ggc gca gac gtg att gtc      452
Phe His Glu Ala Ile Pro Val Ala Arg Glu Gly Ala Asp Val Ile Val
100             105             110
aac tgc act ggg gta tgg gct ggg gcg cta caa cga gac ccc ctg ctg      500
Asn Cys Thr Gly Val Trp Ala Gly Ala Leu Gln Arg Asp Pro Leu Leu
115             120             125
cag cca ggc cgg ggg cag atc atg aag gtg gac gcc cct tgg atg aag      548
Gln Pro Gly Arg Gly Gln Ile Met Lys Val Asp Ala Pro Trp Met Lys
130             135             140             145
cac ttc att ctc acc cat gac cca gag aga ggc atc tac aat tcc ccg      596
His Phe Ile Leu Thr His Asp Pro Glu Arg Gly Ile Tyr Asn Ser Pro
150             155             160
tac atc atc cca ggg acc cag aca gtt act ctt gga ggc atc ttc cag      644
Tyr Ile Ile Pro Gly Thr Gln Thr Val Thr Leu Gly Gly Ile Phe Gln
165             170             175
ttg gga aac tgg agt gaa cta aac aat atc cag gac cac aac acc att      692
Leu Gly Asn Trp Ser Glu Leu Asn Ile Gln Asp His Asn Thr Ile
180             185             190
tgg gaa ggc tgc tgc aga ctg gag ccc aca ctg aag aat gca aga att      740
Trp Glu Gly Cys Cys Arg Leu Glu Pro Thr Leu Lys Asn Ala Arg Ile
195             200             205
att ggt gaa cga act ggc ttc cgg cca gta cgc ccc cag att cgg cta      788
Ile Gly Glu Arg Thr Gly Phe Arg Pro Val Arg Pro Gln Ile Arg Leu
210             215             220             225
gaa aga gaa cag ctt cgc act gga cct tca aac aca gag gtc atc cac      836
Glu Arg Glu Gln Leu Arg Thr Gly Pro Ser Asn Thr Glu Val Ile His
230             235             240
aac tat ggc cat gga ggc tac ggg ctc acc atc cac tgg gga tgt gcc      884
Asn Tyr Gly His Gly Gly Tyr Gly Leu Thr Ile His Trp Gly Cys Ala
245             250             255
ctg gag gca gcc aag ctc ttt ggg aga atc ctg gaa gaa aag aaa ttg      932
Leu Glu Ala Ala Lys Leu Phe Gly Arg Ile Leu Glu Glu Lys Lys Leu
260             265             270
tcc aga atg cca cca tcc cac ctc tga agactccagt gactgctgcc      979
Ser Arg Met Pro Pro Ser His Leu *
275             280
tccccccaca agaactccct tctccctca gccaatgaat caatgtgctc cttcataagc      1039
cattgcttct ccctcacttc tttcctcaaa gaagcatgag gtgagagaaa gccacaaagt      1099
cagtgcctgg agaagggttc agcccaacat ggggcccttc tcatcactga aatccctcta      1159
ccttctctgg gtctggcatt ataaagaaca gctgaggctg tcattccatg agtcttcaga      1219
agaaaggaca gctcagaaaa tcaaagaggc caactgccca gagccacaga aaatggagga      1279
taattgaggc taagtaacct gattacaagt tgtactaaca tattaaggt tctgaaaagt      1339
cctgca                                     1345

```

<210> 7

<211> 347

<212> Белок

<213> Homo sapiens

<400> 7

```

Met Arg Val Val Val Ile Gly Ala Gly Val Ile Gly Leu Ser Thr Ala
1              5              10              15
Leu Cys Ile His Glu Arg Tyr His Ser Val Leu Gln Pro Leu Asp Ile

```

	20		25		30
Lys Val Tyr	Ala Asp Arg Phe Thr	Pro Leu Thr Thr	Thr Asp Val Ala		
35	40	45			
Ala Gly Leu	Trp Gln Pro Tyr Leu	Ser Asp Pro Asn Asn	Pro Gln Glu		
50	55	60			
Ala Asp Trp	Ser Gln Gln Thr Phe	Asp Tyr Leu Leu	Ser His Val His		
65	70	75	80		
Ser Pro Asn	Ala Glu Asn Leu Gly	Leu Phe Leu Ile	Ser Gly Tyr Asn		
85	90	95			
Leu Phe His	Glu Ala Ile Pro Asp	Pro Ser Trp Lys	Asp Thr Val Leu		
100	105	110			
Gly Phe Arg	Lys Leu Thr Pro Arg	Glu Leu Asp Met	Phe Pro Asp Tyr		
115	120	125			
Gly Tyr Gly	Trp Phe His Thr	Ser Leu Ile Leu	Glu Gly Lys Asn Tyr		
130	135	140			
Leu Gln Trp	Leu Thr Glu Arg	Leu Thr Glu Arg	Gly Val Lys Phe Phe		
145	150	155	160		
Gln Arg Lys	Val Glu Ser Phe	Glu Glu Val Ala	Arg Glu Gly Ala Asp		
165	170	175			
Val Ile Val	Asn Cys Thr Gly	Val Trp Ala Gly	Ala Leu Gln Arg Asp		
180	185	190			
Pro Leu Leu	Gln Pro Gly Arg	Gly Gln Ile Met	Lys Val Asp Ala Pro		
195	200	205			
Trp Met Lys	His Phe Ile Leu	Thr His Asp Pro	Glu Arg Gly Ile Tyr		
210	215	220			
Asn Ser Pro	Tyr Ile Ile Pro	Gly Thr Gln Thr	Val Thr Leu Gly Gly		
225	230	235	240		
Ile Phe Gln	Leu Gly Asn Trp	Ser Glu Leu Asn	Asn Ile Gln Asp His		
245	250	255			
Asn Thr Ile	Trp Glu Gly Cys	Cys Arg Leu Glu	Pro Thr Leu Lys Asn		
260	265	270			
Ala Arg Ile	Ile Gly Glu Arg	Thr Gly Phe Arg	Pro Val Arg Pro Gln		
275	280	285			
Ile Arg Leu	Glu Arg Glu Gln	Leu Arg Thr Gly	Pro Ser Asn Thr Glu		
290	295	300			
Val Ile His	Asn Tyr Gly His	Gly Gly Tyr Gly	Leu Thr Ile His Trp		
305	310	315	320		
Gly Cys Ala	Leu Glu Ala Ala	Lys Leu Phe Gly	Arg Ile Leu Glu Glu		
325	330	335			
Lys Lys Leu	Ser Arg Met Pro	Pro Ser His Leu			
340	345				

<210> 8

<211> 220

<212> Белок

<213> Homo sapiens

<400> 8

Met Arg Val	Val Val Ile Gly	Ala Gly Val	Ile Gly Leu	Ser Thr Ala
1	5	10	15	
Leu Cys Ile	His Glu Arg Tyr	His Ser Val	Leu Gln Pro	Leu Asp Ile
20	25	30		
Lys Val Tyr	Ala Asp Arg Phe	Thr Pro Leu	Thr Thr Thr	Asp Val Ala
35	40	45		
Ala Gly Leu	Trp Gln Pro Tyr	Leu Ser Asp	Pro Asn Asn	Pro Gln Glu
50	55	60		
Ala Asp Trp	Ser Gln Gln Thr	Phe Asp Tyr	Leu Leu Ser	His Val His
65	70	75	80	
Ser Pro Asn	Ala Glu Asn Leu	Gly Leu Phe	Leu Ile Ser	Gly Tyr Asn
85	90	95		
Leu Phe His	Glu Ala Ile Pro	Asp Pro Ser	Trp Lys Asp	Thr Val Leu
100	105	110		
Gly Phe Arg	Lys Leu Thr Pro	Arg Glu Leu	Asp Met Phe	Pro Asp Tyr

<400> 10																
Met	Arg	Val	Val	Val	Ile	Gly	Ala	Gly	Val	Ile	Gly	Leu	Ser	Thr	Ala	
1				5					10					15		
Leu	Cys	Ile	His	Glu	Arg	Tyr	His	Ser	Val	Leu	Gln	Pro	Leu	Asp	Ile	
			20					25						30		
Lys	Val	Tyr	Ala	Asp	Arg	Phe	Thr	Pro	Leu	Thr	Thr	Thr	Asp	Val	Ala	
		35					40					45				
Ala	Gly	Leu	Trp	Gln	Pro	Tyr	Leu	Ser	Asp	Pro	Asn	Asn	Pro	Gln	Glu	
	50					55					60					
Ala	Asp	Trp	Ser	Gln	Gln	Thr	Phe	Asp	Tyr	Leu	Leu	Ser	His	Val	His	
65					70					75					80	
Ser	Pro	Asn	Ala	Glu	Asn	Leu	Gly	Leu	Phe	Leu	Ile	Ser	Gly	Tyr	Asn	
				85					90					95		
Leu	Phe	His	Glu	Ala	Ile	Pro	Val	Ala	Arg	Glu	Gly	Ala	Asp	Val	Ile	
			100					105						110		
Val	Asn	Cys	Thr	Gly	Val	Trp	Ala	Gly	Ala	Leu	Gln	Arg	Asp	Pro	Leu	
		115					120					125				
Leu	Gln	Pro	Gly	Arg	Gly	Gln	Ile	Met	Lys	Val	Asp	Ala	Pro	Trp	Met	
		130				135					140					
Lys	His	Phe	Ile	Leu	Thr	His	Asp	Pro	Glu	Arg	Gly	Ile	Tyr	Asn	Ser	
145					150					155				160		
Pro	Tyr	Ile	Ile	Pro	Gly	Thr	Gln	Thr	Val	Thr	Leu	Gly	Gly	Ile	Phe	
				165					170					175		
Gln	Leu	Gly	Asn	Trp	Ser	Glu	Leu	Asn	Asn	Ile	Gln	Asp	His	Asn	Thr	
			180					185					190			
Ile	Trp	Glu	Gly	Cys	Cys	Arg	Leu	Glu	Pro	Thr	Leu	Lys	Asn	Ala	Arg	
		195					200					205				

```

Ile Ile Gly Glu Arg Thr Gly Phe Arg Pro Val Arg Pro Gln Ile Arg
    210                      215                      220
Leu Glu Arg Glu Gln Leu Arg Thr Gly Pro Ser Asn Thr Glu Val Ile
225                      230                      235                      240
His Asn Tyr Gly His Gly Gly Tyr Gly Leu Thr Ile His Trp Gly Cys
    245                      250                      255
Ala Leu Glu Ala Ala Lys Leu Phe Gly Arg Ile Leu Glu Glu Lys Lys
    260                      265                      270
Leu Ser Arg Met Pro Pro Ser His Leu
    275                      280

```

```

<210> 11
<211> 456
<212> ДНК
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<221> аллель
<222> 152
<223> 99-16105-152 : полиморфное основание А или G

```

```

<220>
<221> misc_binding
<222> 140..164
<223> 99-16105-152. зонд

```

```

<220>
<221> primer_bind
<222> 133..151
<223> 99-16105-152.mis

```

```

<220>
<221> primer_bind
<222> 153..171
<223> 99-16105-152.mis КОМПЛЕМЕНТ

```

```

<220>
<221> primer_bind
<222> 1..19
<223> 99-16105.pu

```

```

<220>
<221> primer_bind
<222> 437..456
<223> 99-16105.xp КОМПЛЕМЕНТ

```

```

<400> 11
cgctttgttg tattctttgt tatttatcca ttttgccaaa ttatctgcaa gtagaaatat      60
cgaaataaga agctcttttag caatttactt tggatattgg ttttcttttg aaggacagtt      120
attaaatag cttgtaggat tactcatttt crtttttctt ctttttaa ataaagcaat      180
gtcatcactt tttccctgt attatatttc tcctcaataa ttgatatgct acattaaagg      240
aacacaaaaat ggtcttaatt atgcaataat gatcaaggca aagagtgttt cctgggaact      300
aatggttgcc tgagaggagg tgatggcttg aggtccagct gggtattaag ccgcaggaaa      360
tgctgcaggc caagatttgt attatttctc tgagatgaaa atgaacccaa aaaaaggcaa      420
aatgggtttt tctccactaa tgggtaaaat gaactc                                456

```

```

<210> 12
<211> 463
<212> ДНК
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<221> аллель

```

```

<222> 215
<223> 99-5919-215 : полиморфное основание А или G

<220>
<221> misc_binding
<222> 203..227
<223> 99-5919-215. зонд

<220>
<221> primer_bind
<222> 196..214
<223> 99-5919-215.mis

<220>
<221> primer_bind
<222> 216..234
<223> 99-5919-215.mis КОМПЛЕМЕНТ

<220>
<221> primer_bind
<222> 11..29
<223> 99-5919.pu

<220>
<221> primer_bind
<222> 445..465
<223> 99-5919.rp КОМПЛЕМЕНТ

<400> 12
tttctcttga ctacagcaat gcagatttca attctgccat tgaattccca gacatattcg      60
tcatccccc tttcatcccc caccaccctg ccattttctt cgtgttaact tgttttcctg      120
actcacagaa atcacctttt cctgtatata tttttaggat gtcagacttt attctaataga      180
tttctcctag ttgcccccca aaattgtatt ctacrgtgtg attttaaagc tgaattttca      240
agatgatatt tcatatctat attttcacaa gcttttcttc tatgaatggt attgtcagct      300
gtcagggtgt gagatggtac ttgatactac attctttcca agctgttgcc tgaatcggtt      360
taagacaaaag tcattactag gctgtaaaact gttgctctgc aaaattgagc agcacgtatt      420
taaccactca tacttcttag ctctccaaca ctttgagtcx ata                          463

<210> 13
<211> 742
<212> ДНК
<213> Homo sapiens

<220>
<221> 5'UTR
<222> 1..46

<220>
<221> Кодированная последовательность
<222> 47..508

<220>
<221> 3'UTR
<222> 509..742

<220>
<221> polyA_сигнал
<222> 718..723

<220>
<221> аллель
<222> 21
<223> 8-135-112 : полиморфное основание С или Т

```

<220>
 <221> аллель
 <222> 75
 <223> 8-135-166 : полиморфное основание А или С

<220>
 <221> аллель
 <222> 135
 <223> 99-16038-118 : полиморфное основание А или G

<220>
 <221> аллель
 <222> 194
 <223> 8-137-152 : полиморфное основание G или Т

<220>
 <221> аллель
 <222> 224
 <223> 8-137-182 : полиморфное основание А или G

<220>
 <221> аллель
 <222> 390
 <223> 8-130-220 : полиморфное основание А или С

<220>
 <221> аллель
 <222> 406
 <223> 8-130-236 : полиморфное основание А или G

<220>
 <221> аллель
 <222> 578
 <223> 8-131-199 : полиморфное основание А или С

<220>
 <221> аллель
 <222> 641
 <223> 8-132-97 : полиморфное основание С или Т

<220>
 <221> аллель
 <222> 708
 <223> 8-132-164 : полиморфное основание С или Т

<220>
 <221> аллель
 <222> 723
 <223> 8-132-179 : полиморфное основание А или Т

<400> 13	
tcacatctctgc ttcacaatgc ygatgattta gctgggagga cccaaa atg ctg gaa	55
	Met Leu Glu
	1
aag ctg atg ggt gct gat tmt ctc cag ctt ttc aga tcc aga tat aca	103
Lys Leu Met Gly Ala Asp Xaa Leu Gln Leu Phe Arg Ser Arg Tyr Thr	
5 10 15	
ttg ggt aaa atc tac ttc ata ggt ttt caa arg agc att ctt ctg agc	151
Leu Gly Lys Ile Tyr Phe Ile Gly Phe Gln Xaa Ser Ile Leu Leu Ser	
20 25 30 35	
aaa tct gaa aac tct cta aac tct att gca aag gag aca gaa kaa gga	199
Lys Ser Glu Asn Ser Leu Asn Ser Ile Ala Lys Glu Thr Glu Xaa Gly	

```

          40          45          50
aga gag acg gta aca agg aaa gaa rga tgg aag aga agg cat gag gac      247
Arg Glu Thr Val Thr Arg Lys Glu Xaa Trp Lys Arg Arg His Glu Asp
          55          60          65
ggc tat ttg gaa atg gca cag agg cat tta cag aga tca tta tgt cct      295
Gly Tyr Leu Glu Met Ala Gln Arg His Leu Gln Arg Ser Leu Cys Pro
          70          75          80
tgg gtc tct tac ctt cct cag ccc tat gca gag ctt gaa gaa gta agc      343
Trp Val Ser Tyr Leu Pro Gln Pro Tyr Ala Glu Leu Glu Glu Val Ser
          85          90          95
agc cat gtt gga aaa gtc ttc atg gca aga aac tat gag ttc ctt gmc      391
Ser His Val Gly Lys Val Phe Met Ala Arg Asn Tyr Glu Phe Leu Xaa
100          105          110          115
tat gag gcc tct aar gac cgc agg cag cct cta gaa cga atg tgg acc      439
Tyr Glu Ala Ser Lys Asp Arg Arg Gln Pro Leu Glu Arg Met Trp Thr
          120          125          130
tgc aac tac aac cag caa aaa gac cag tca tgc aac cac aag gaa ata      467
Cys Asn Tyr Asn Gln Gln Lys Asp Gln Ser Cys Asn His Lys Glu Ile
          135          140          145
act tct acc aaa gct gaa tga gtgtggaagc agattcttcc cagccaatcc      538
Thr Ser Thr Lys Ala Glu *
          150
ttctgatgac aatgtagtct ggccaacatc ttacttggam tctgacggac tctgtgtctg      598
ggacccagct gataacacgt ggtgatggga ttgtatttgc aaytctctgg tcagtaagtg      658
ataaaatgcc atttctatgc acccacctgg cctgtgtgac tgggagaaty tctcttttta      718
ttaawtgtgc ttcaagtttt aaca      742

```

<210> 14

<211> 153

<212> Белок

<213> Homo sapiens

<400> 14

```

Met Leu Glu Lys Leu Met Gly Ala Asp Xaa Leu Gln Leu Phe Arg Ser
1          5          10          15
Arg Tyr Thr Leu Gly Lys Ile Tyr Phe Ile Gly Phe Gln Xaa Ser Ile
          20          25          30
Leu Leu Ser Lys Ser Glu Asn Ser Leu Asn Ser Ile Ala Lys Glu Thr
          35          40          45
Glu Xaa Gly Arg Glu Thr Val Thr Arg Lys Glu Xaa Trp Lys Arg Arg
          50          55          60
His Glu Asp Gly Tyr Leu Glu Met Ala Gln Arg His Leu Gln Arg Ser
65          70          75          80
Leu Cys Pro Trp Val Ser Tyr Leu Pro Gln Pro Tyr Ala Glu Leu Glu
          85          90          95
Glu Val Ser Ser His Val Gly Lys Val Phe Met Ala Arg Asn Tyr Glu
          100          105          110
Phe Leu Xaa Tyr Glu Ala Ser Lys Asp Arg Arg Gln Pro Leu Glu Arg
          115          120          125
Met Trp Thr Cys Asn Tyr Asn Gln Gln Lys Asp Gln Ser Cys Asn His
          130          135          140
Lys Glu Ile Thr Ser Thr Lys Ala Glu
          145          150

```

<210> 15

<211> 476

<212> ДНК

<213> Homo sapiens

<400> 15

```

cat gag gac ggc tat ttg gaa atg gca cag agg cat tta cag aga tca      48
His Glu Asp Gly Tyr Leu Glu Met Ala Gln Arg His Leu Gln Arg Ser
1          5          10          15

```

```

tta tgt cct tgg gtc tct tac ctt cct cag ccc tat gca gag ctt gaa      96
Leu Cys Pro Trp Val Ser Tyr Leu Pro Gln Pro Tyr Ala Glu Leu Glu
                20                25                30
gaa gta agc agc cat gtt gga aaa gtc ttc atg gca aga aac tat gag      144
Glu Val Ser Ser His Val Gly Lys Val Phe Met Ala Arg Asn Tyr Glu
                35                40                45
ttc ctt gcc tat gag gcc tct aag gac cgc agg cag cct cta gaa cga      192
Phe Leu Ala Tyr Glu Ala Ser Lys Asp Arg Arg Gln Pro Leu Glu Arg
                50                55                60
atg tgg acc tgc aac tac aac cag caa aaa gac cag tca tgc aac cac      240
Met Trp Thr Cys Asn Tyr Asn Gln Gln Lys Asp Gln Ser Cys Asn His
                65                70                75                80
aag gaa ata act tct acc aaa gct gaa tga gtttggaagc agattcttcc      290
Lys Glu Ile Thr Ser Thr Lys Ala Glu *
                85                90
cagccaatcc ttctgatgac aatgtagtct ggccaacatc ttacttgagac tctgacggac      350
tctgtgtctg ggaccagct gataacacgt ggtgatggga ttgtatttgc aactctctgg      410
tcagtaagtg ataaaatgcc atttctatgc acccacctgg cctgtgtgac tgggagaatc      470
tctctt                                     476

```

<210> 16

<211> 89

<212> Белок

<213> Homo sapiens

<400> 16

```

His Glu Asp Gly Tyr Leu Glu Met Ala Gln Arg His Leu Gln Arg Ser
1                    5                    10                    15
Leu Cys Pro Trp Val Ser Tyr Leu Pro Gln Pro Tyr Ala Glu Leu Glu
                20                25                30
Glu Val Ser Ser His Val Gly Lys Val Phe Met Ala Arg Asn Tyr Glu
                35                40                45
Phe Leu Ala Tyr Glu Ala Ser Lys Asp Arg Arg Gln Pro Leu Glu Arg
                50                55                60
Met Trp Thr Cys Asn Tyr Asn Gln Gln Lys Asp Gln Ser Cys Asn His
                65                70                75                80
Lys Glu Ile Thr Ser Thr Lys Ala Glu
                85

```

<210> 17

<211> 1633

<212> ДНК

<213> Homo sapiens

<400> 17

```

ttgggggtcca ttgcaaccgc aggcgagact agagttccca agcgagaagg gaagaggcag      60
tgggtgcacg tggaaggcgc acagagggct ggaaacaaga cgctccagaa tcaggagctt      120
cccctcagga aatagcatcc tgtgtccccg cactgcagtt gtctggtctc tccagcagtt      180
tgggtacttcc ggctgctgca atg cgt gtg gtg gtg att gga gca gga gtc atc      233
                1                5                10
Met Arg Val Val Val Ile Gly Ala Gly Val Ile
ggg ctg tcc acc gcc ctc tgc atc cat gag cgc tac cac tca gtc ctg      281
Gly Leu Ser Thr Ala Leu Cys Ile His Glu Arg Tyr His Ser Val Leu
                15                20                25
cag cca ctg cac ata aag gtc tac gcg gac cgc ttc acc cca ctc acc      329
Gln Pro Leu His Ile Lys Val Tyr Ala Asp Arg Phe Thr Pro Leu Thr
                30                35                40
acc acc gac gtg gct gcc gcc ctc tgg cag ccc tac ctt tct gac ccc      377
Thr Thr Asp Val Ala Ala Gly Leu Trp Gln Pro Tyr Leu Ser Asp Pro
                45                50                55
aac aac cca cag gag gcg gac tgg agc caa cag acc ttt gac tat ctc      425
Asn Asn Pro Gln Glu Ala Asp Trp Ser Gln Gln Thr Phe Asp Tyr Leu
                60                65                70                75

```

```

ctg agc cat gtc cat tct ccc aac gct gaa aac ctg ggc ctg ttc cta 473
Leu Ser His Val His Ser Pro Asn Ala Glu Asn Leu Gly Leu Phe Leu
80 85 90
atc tcg ggc tac aac ctc ttc cat gaa gcc att ccg gac cct tcc tgg 521
Ile Ser Gly Tyr Asn Leu Phe His Glu Ala Ile Pro Asp Pro Ser Trp
95 100 105
aag gac aca gtt ctg gga ttt cgg aag ctg acc ccc aga gag ctg gat 569
Lys Asp Thr Val Leu Gly Phe Arg Lys Leu Thr Pro Arg Glu Leu Asp
110 115 120
atg ttc cca gat tac ggc tat ggc tgg ttc cac aca agc cta att ctg 617
Met Phe Pro Asp Tyr Gly Tyr Gly Trp Phe His Thr Ser Leu Ile Leu
125 130 135
gag gga aag aac tat cta cag tgg ctg act gaa agg tta act gag agg 665
Glu Gly Lys Asn Tyr Leu Gln Trp Leu Thr Glu Arg Leu Thr Glu Arg
140 145 150 155
gga gtg aag ttc ttc cag cgg aaa gtg gag tct ttt gag gag gtg gca 713
Gly Val Lys Phe Phe Gln Arg Lys Val Glu Ser Phe Glu Glu Val Ala
160 165 170
aga gaa ggc gca gac gtg att gtc aac tgc act ggg gta tgg gct ggg 761
Arg Glu Gly Ala Asp Val Ile Val Asn Cys Thr Gly Val Trp Ala Gly
175 180 185
gcg cta caa cga gac ccc ctg ctg cag cca ggc cgg ggg cag atc atg 809
Ala Leu Gln Arg Asp Pro Leu Leu Gln Pro Gly Arg Gly Gln Ile Met
190 195 200
aag gtg gac gcc cct tgg atg aag cac ttc att ctc acc cat gac cca 857
Lys Val Asp Ala Pro Trp Met Lys His Phe Ile Leu Thr His Asp Pro
205 210 215
gag aga ggc atc tac aat tcc ccg tac atc atc cca ggg acc cag aca 905
Glu Arg Gly Ile Tyr Asn Ser Pro Tyr Ile Ile Pro Gly Thr Gln Thr
220 225 230 235
gtt act ctt gga ggc atc ttc cag ttg gga aac tgg agt gaa cta aac 953
Val Thr Leu Gly Gly Ile Phe Gln Leu Gly Asn Trp Ser Glu Leu Asn
240 245 250
aat atc cag gac cac aac acc att tgg gaa ggc tgc tgc aga ctg gag 1001
Asn Ile Gln Asp His Asn Thr Ile Trp Glu Gly Cys Cys Arg Leu Glu
255 260 265
ccc aca ctg aag aat gca aga att ggt gaa gca act ggc ttc cgg 1049
Pro Thr Leu Lys Asn Ala Arg Ile Ile Gly Glu Ala Thr Gly Phe Arg
270 275 280
cca gta cgc ccc cag att cgg cta gaa aga gaa cag ctt cgc act gga 1097
Pro Val Arg Pro Gln Ile Arg Leu Glu Arg Glu Gln Leu Arg Thr Gly
285 290 295
cct tca aac aca gag gtc atc cac aac tat ggc cat gga ggc tac ggg 1145
Pro Ser Asn Thr Glu Val Ile His Asn Tyr Gly His Gly Gly Tyr Gly
300 305 310 315
ctc acc atc cac tgg gga tgt gcc ctg gag gca gcc aag ctc ttt ggg 1193
Leu Thr Ile His Trp Gly Cys Ala Leu Glu Ala Ala Lys Leu Phe Gly
320 325 330
aga atc ctg gaa gaa aag aaa ttg tcc aga atg cca cca tcc cac ctc 1241
Arg Ile Leu Glu Glu Lys Lys Leu Ser Arg Met Pro Pro Ser His Leu
335 340 345
tga agactccagt gactgctgcc tccccccaca agaactccct tctccctca 1294
*
gccaatgaat caatgtgctc cttcataagc cattgcttct ccctcacttc tttcctcaaa 1354
gaagcatgag gtgagagaaa gccacraagt cagtgcctgg agaaggggtc agcccaacat 1414
ggggccctc tcatcactga aatccctcta ccttctctgg gtctggcatt ataaagaaca 1474
gctgaggctg tcattccatg agtcttcaga agaaaggaca gctcagaaag tcaaaggaggc 1534
caactgcca gagccacaga aaatggagga taattgaggc taagtaacct gattacaagt 1594
tgtactaaca tattaaagg tctgaaaagt cctgcaaaa 1633

```

<210> 18
<211> 347
<212> Белок

<213> Homo sapiens

<400> 18

```

Met Arg Val Val Val Ile Gly Ala Gly Val Ile Gly Leu Ser Thr Ala
1          5          10          15
Leu Cys Ile His Glu Arg Tyr His Ser Val Leu Gln Pro Leu Asp Ile
          20          25          30
Lys Val Tyr Ala Asp Arg Phe Thr Pro Leu Thr Thr Thr Asp Val Ala
          35          40          45
Ala Gly Leu Trp Gln Pro Tyr Leu Ser Asp Pro Asn Asn Pro Gln Glu
          50          55          60
Ala Asp Trp Ser Gln Gln Thr Phe Asp Tyr Leu Leu Ser His Val His
65          70          75          80
Ser Pro Asn Ala Glu Asn Leu Gly Leu Phe Leu Ile Ser Gly Tyr Asn
          85          90          95
Leu Phe His Glu Ala Ile Pro Asp Pro Ser Trp Lys Asp Thr Val Leu
          100          105          110
Gly Phe Arg Lys Leu Thr Pro Arg Glu Leu Asp Met Phe Pro Asp Tyr
          115          120          125
Gly Tyr Gly Trp Phe His Thr Ser Leu Ile Leu Glu Gly Lys Asn Tyr
          130          135          140
Leu Gln Trp Leu Thr Glu Arg Leu Thr Glu Arg Val Lys Phe Phe
145          150          155          160
Gln Arg Lys Val Glu Ser Phe Glu Glu Val Ala Arg Glu Gly Ala Asp
          165          170          175
Val Ile Val Asn Cys Thr Gly Val Trp Ala Gly Ala Leu Gln Arg Asp
          180          185          190
Pro Leu Leu Gln Pro Gly Arg Gly Gln Ile Met Lys Val Asp Ala Pro
          195          200          205
Trp Met Lys His Phe Ile Leu Thr His Asp Pro Glu Arg Gly Ile Tyr
          210          215          220
Asn Ser Pro Tyr Ile Ile Pro Gly Thr Gln Thr Val Thr Leu Gly Gly
225          230          235          240
Ile Phe Gln Leu Gly Asn Trp Ser Glu Leu Asn Asn Ile Gln Asp His
          245          250          255
Asn Thr Ile Trp Glu Gly Cys Cys Arg Leu Glu Pro Thr Leu Lys Asn
          260          265          270
Ala Arg Ile Ile Gly Glu Ala Thr Gly Phe Arg Pro Val Arg Pro Gln
          275          280          285
Ile Arg Leu Glu Arg Glu Gln Leu Arg Thr Gly Pro Ser Asn Thr Glu
          290          295          300
Val Ile His Asn Tyr Gly His Gly Gly Tyr Gly Leu Thr Ile His Trp
305          310          315          320
Gly Cys Ala Leu Glu Ala Ala Lys Leu Phe Gly Arg Ile Leu Glu Glu
          325          330          335
Lys Lys Leu Ser Arg Met Pro Pro Ser His Leu
          340          345

```

<210> 19

<211> 1200

<212> ДНК

<213> Homo sapiens

<400> 19

```

atg gac aca gca cgg att gca gtt gtc ggg gca ggt gtg gtg ggg ctc      48
Met Asp Thr Ala Arg Ile Ala Val Val Gly Ala Gly Val Val Gly Leu
1          5          10          15
tcc acg gct gtg tgc atc tcc aaa ctg gtg ccc cga tgc tcc gtt acc      96
Ser Thr Ala Val Cys Ile Ser Lys Leu Val Pro Arg Cys Ser Val Thr
          20          25          30
atc att tca gac aag ttt act cca gat acc acc agt gat gtg gca gcc      144
Ile Ile Ser Asp Lys Phe Thr Pro Asp Thr Thr Ser Asp Val Ala Ala
          35          40          45

```

```

gga atg ctt att cct cac act tat cca gat aca ccc att cac acg cag      192
Gly Met Leu Ile Pro His Thr Tyr Pro Asp Thr Pro Ile His Thr Gln
50      55      60
aag cag tgg ttc aga gaa acc ttt aat cac ctc ttt gca att gcc aat      240
Lys Gln Trp Phe Arg Glu Thr Phe Asn His Leu Phe Ala Ile Ala Asn
65      70      75      80
tct gca gaa gct gga gat gct ggt gtt cat ttg gta tca ggt tgg cag      288
Ser Ala Glu Ala Gly Asp Ala Gly Val His Leu Val Ser Gly Trp Gln
85      90      95
ata ttt cag agc act ccg act gaa gaa gtg cca ttc tgg gct gac gtg      336
Ile Phe Gln Ser Thr Pro Thr Glu Glu Val Pro Phe Trp Ala Asp Val
100      105      110
gtt ctg gga ttt cga aag atg act gag gct gag ctg aag aaa ttc ccc      384
Val Leu Gly Phe Arg Lys Met Thr Glu Ala Glu Leu Lys Lys Phe Pro
115      120      125
cag tat gtg ttt ggt cag gct ttt aca acc ctg aaa tgt gaa tgc cct      432
Gln Tyr Val Phe Gly Gln Ala Phe Thr Thr Leu Lys Cys Glu Cys Pro
130      135      140
gcc tac ctc ccg tgg ttg gag aaa agg ata aag gga agt gga ggc tgg      480
Ala Tyr Leu Pro Trp Leu Glu Lys Arg Ile Lys Gly Ser Gly Gly Trp
145      150      155      160
aca ctc act ccg cga ata gaa gac ctg tgg gaa ctt cat ccg tcc ttt      528
Thr Leu Thr Arg Arg Ile Glu Asp Leu Trp Glu Leu His Pro Ser Phe
165      170      175
gac atc gtg gtc aac tgt tca ggc ctt gga agc aga cag ctt gca gga      576
Asp Ile Val Val Asn Cys Ser Gly Leu Gly Ser Arg Gln Leu Ala Gly
180      185      190
gac tca aag att ttc cct gta agg ggc caa gtc ctc caa gtt cag gct      624
Asp Ser Lys Ile Phe Pro Val Arg Gly Gln Val Leu Gln Val Gln Ala
195      200      205
ccc tgg gtg gag cat ttt atc cga gat ggc agt ggg ctg aca tat att      672
Pro Trp Val Glu His Phe Ile Arg Asp Gly Ser Gly Leu Thr Tyr Ile
210      215      220
tat cct ggt aca tcc cat gta acc cta ggt gga act agg caa aaa ggg      720
Tyr Pro Gly Thr Ser His Val Thr Leu Gly Gly Thr Arg Gln Lys Gly
225      230      235      240
gac tgg aat ctg tcc ccg gat gca gaa aat agc aga gag att ctt tcc      768
Asp Trp Asn Leu Ser Pro Asp Ala Glu Asn Ser Arg Glu Ile Leu Ser
245      250      255
cga tgc tgt gct ctg gag ccc tcc ctc cac gga gcc tgc aac atc agg      816
Arg Cys Cys Ala Leu Glu Pro Ser Leu His Gly Ala Cys Asn Ile Arg
260      265      270
gag aag gtg ggc ttg agg ccc tac agg cca ggc gtg cga ctg cag aca      864
Glu Lys Val Gly Leu Arg Pro Tyr Arg Pro Gly Val Arg Leu Gln Thr
275      280      285
gag ctc ctt gcg cga gat gga cag agg ctg cct gta gtc cac cac tat      912
Glu Leu Leu Ala Arg Asp Gly Gln Arg Leu Pro Val Val His His Tyr
290      295      300
ggc cat ggg agt ggg ggc atc tca gtg cac tgg ggc act gct ctg gag      960
Gly His Gly Ser Gly Gly Ile Ser Val His Trp Gly Thr Ala Leu Glu
305      310      315      320
gcc gcc agg ctg gtg agc gag tgt gtc cat gcc ctc agg acc ccc att      1008
Ala Ala Arg Leu Val Ser Glu Cys Val His Ala Leu Arg Thr Pro Ile
325      330      335
ccc aag tca aac ctg tag atgacataaa atgacagcaa agagactgag      1056
Pro Lys Ser Asn Leu *
340
agactgttga tcaaagcaca gaacagggttc aaataacttt tccactgcat gaaagttaa      1116
ttagacattt ctttgttttc aacattagaa gtgggtgtaac atgtaagctg agcacggtag      1176
catgcctata gtcccagcta cttg      1200

```

<210> 20

<211> 2056

<212> ДНК

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc_feature

<222> 1025

<223> n=a, g, c или i

<400> 20

```

atg gac aca gca cgg att gca gtt gtc ggg gca ggt gtg gtg ggg ctc      48
Met Asp Thr Ala Arg Ile Ala Val Val Gly Ala Gly Val Val Gly Leu
1      5      10      15
tcc acg gct gtg tgc atc tcc aaa ctg gtg ccc cga tgc tcc gtt acc      96
Ser Thr Ala Val Cys Ile Ser Lys Leu Val Pro Arg Cys Ser Val Thr
20      25      30
atc att tca gac aag ttt act cca gat acc acc agt gat gtg gca gcc      144
Ile Ile Ser Asp Lys Phe Thr Pro Asp Thr Thr Ser Asp Val Ala Ala
35      40      45
gga atg ctt att cct cac act tat cca gat aca ccc att cac acg cag      192
Gly Met Leu Ile Pro His Thr Tyr Pro Asp Thr Pro Ile His Thr Gln
50      55      60
aag cag tgg ttc aga gaa acc ttt aat cac ctc ttt gca att gcc aat      240
Lys Gln Trp Phe Arg Glu Thr Phe Asn His Leu Phe Ala Ile Ala Asn
65      70      75      80
tct gca gaa gct gga gat gct ggt gtt cat ttg gta tca ggg ata aag      288
Ser Ala Glu Ala Gly Asp Ala Gly Val His Leu Val Ser Gly Ile Lys
85      90      95
gga agt gga ggc tgg aca ctc act cgg cga ata gaa gac ctg tgg gaa      336
Gly Ser Gly Gly Trp Thr Leu Thr Arg Arg Ile Glu Asp Leu Trp Glu
100      105      110
ctt cat ccg tcc ttt gac atc gtg gtc aac tgt tca ggc ctt gga agc      384
Leu His Pro Ser Phe Asp Ile Val Val Asn Cys Ser Gly Leu Gly Ser
115      120      125
aga cag ctt gca gga gac tca aag att ttc cct gta agg ggc caa gtc      432
Arg Gln Leu Ala Gly Asp Ser Lys Ile Phe Pro Val Arg Gly Gln Val
130      135      140
ctc caa gtt cag gct ccc tgg gtg gag cat ttt atc cga gat ggc agt      480
Leu Gln Val Gln Ala Pro Trp Val Glu His Phe Ile Arg Asp Gly Ser
145      150      155      160
ggg ctg aca tat att tat cct ggt aca tcc cat gta acc cta ggt gga      528
Gly Leu Thr Tyr Ile Tyr Pro Gly Thr Ser His Val Thr Leu Gly Gly
165      170      175
act agg caa aaa ggg gac tgg aat ctg tcc ccg gat gca gaa aat agc      576
Thr Arg Gln Lys Gly Asp Trp Asn Leu Ser Pro Asp Ala Glu Asn Ser
180      185      190
aga gag att ctt tcc cga tgc tgt gct ctg gag ccc tcc ctc cac gga      624
Arg Glu Ile Leu Ser Arg Cys Cys Ala Leu Glu Pro Ser Leu His Gly
195      200      205
gcc tgc aac atc agg gag aag gtg ggc ttg agg ccc tac agg cca ggc      672
Ala Cys Asn Ile Arg Glu Lys Val Gly Leu Arg Pro Tyr Arg Pro Gly
210      215      220
gtg cga ctg cag aca gag ctc ctt gcg cga gat gga cag agg ctg cct      720
Val Arg Leu Gln Thr Glu Leu Leu Ala Arg Asp Gly Gln Arg Leu Pro
225      230      235      240
gta gtc cac cac tat ggc cat ggg agt ggg ggc atc tca gtg cac tgg      768
Val Val His His Tyr Gly His Gly Ser Gly Gly Ile Ser Val His Trp
245      250      255
ggc act gct ctg gag gcc gcc agg ctg gtg agc gag tgt gtc cat gcc      816
Gly Thr Ala Leu Glu Ala Ala Arg Leu Val Ser Glu Cys Val His Ala
260      265      270
ctc agg acc ccc att ccc aag tca aac ctg tag atgacataaaa atgacagcaa      869
Leu Arg Thr Pro Ile Pro Lys Ser Asn Leu *
275      280

```

```

agagactgag agactgttga tcaaagcaca gaacaggttc aaataacttt tccactgcat 929
gaaagttttaa ttagacattt ctttgttttc aacattagaa gtggtgtaac atgtaagctg 989
agcacggtag catgcctata gtcccagcta cttg

```

```

<210> 21
<211> 341
<212> Бѐлок
<213> Homo sapiens

```

```

<400> 21
Met Asp Thr Ala Arg Ile Ala Val Val Gly Ala Gly Val Val Gly Leu
1      5      10      15
Ser Thr Ala Val Cys Ile Ser Lys Leu Val Pro Arg Cys Ser Val Thr
      20      25      30
Ile Ile Ser Asp Lys Phe Thr Pro Asp Thr Thr Ser Asp Val Ala Ala
      35      40      45
Gly Met Leu Ile Pro His Thr Tyr Pro Asp Thr Pro Ile His Thr Gln
      50      55      60
Lys Gln Trp Phe Arg Glu Thr Phe Asn His Leu Phe Ala Ile Ala Asn
      65      70      75      80
Ser Ala Glu Ala Gly Asp Ala Gly Val His Leu Val Ser Gly Trp Gln
      85      90      95
Ile Phe Gln Ser Thr Pro Thr Glu Glu Val Pro Phe Trp Ala Asp Val
      100      105      110
Val Leu Gly Phe Arg Lys Met Thr Glu Ala Glu Leu Lys Lys Phe Pro
      115      120      125
Gln Tyr Val Phe Gly Gln Ala Phe Thr Thr Leu Lys Cys Glu Cys Pro
      130      135      140
Ala Tyr Leu Pro Trp Leu Glu Lys Arg Ile Lys Gly Ser Gly Gly Trp
      145      150      155      160
Thr Leu Thr Arg Arg Ile Glu Asp Leu Trp Glu Leu His Pro Ser Phe
      165      170      175
Asp Ile Val Val Asn Cys Ser Gly Leu Gly Ser Arg Gln Leu Ala Gly
      180      185      190
Asp Ser Lys Ile Phe Pro Val Arg Gly Gln Val Leu Gln Val Gln Ala
      195      200      205
Pro Trp Val Glu His Phe Ile Arg Asp Gly Ser Gly Leu Thr Tyr Ile
      210      215      220
Tyr Pro Gly Thr Ser His Val Thr Leu Gly Gly Thr Arg Gln Lys Gly
      225      230      235      240
Asp Trp Asn Leu Ser Pro Asp Ala Glu Asn Ser Arg Glu Ile Leu Ser
      245      250      255
Arg Cys Cys Ala Leu Glu Pro Ser Leu His Gly Ala Cys Asn Ile Arg
      260      265      270
Glu Lys Val Gly Leu Arg Pro Tyr Arg Pro Gly Val Arg Leu Gln Thr
      275      280      285

Glu Leu Leu Ala Arg Asp Gly Gln Arg Leu Pro Val Val His His Tyr
      290      295      300
Gly His Gly Ser Gly Gly Ile Ser Val His Trp Gly Thr Ala Leu Glu
      305      310      315      320
Ala Ala Arg Leu Val Ser Glu Cys Val His Ala Leu Arg Thr Pro Ile
      325      330      335
Pro Lys Ser Asn Leu
      340

```

```

<210> 22
<211> 282
<212> Бѐлок
<213> Homo sapiens

```

<400> 22

```

Met Asp Thr Ala Arg Ile Ala Val Val Gly Ala Gly Val Val Gly Leu
1      5      10      15
Ser Thr Ala Val Cys Ile Ser Lys Leu Val Pro Arg Cys Ser Val Thr
20      25      30
Ile Ile Ser Asp Lys Phe Thr Pro Asp Thr Thr Ser Asp Val Ala Ala
35      40      45
Gly Met Leu Ile Pro His Thr Tyr Pro Asp Thr Pro Ile His Thr Gln
50      55      60
Lys Gln Trp Phe Arg Glu Thr Phe Asn His Leu Phe Ala Ile Ala Asn
65      70      75      80
Ser Ala Glu Ala Gly Asp Ala Gly Val His Leu Val Ser Gly Ile Lys
85      90      95
Gly Ser Gly Gly Trp Thr Leu Thr Arg Arg Ile Glu Asp Leu Trp Glu
100     105     110
Leu His Pro Ser Phe Asp Ile Val Val Asn Cys Ser Gly Leu Gly Ser
115     120     125
Arg Gln Leu Ala Gly Asp Ser Lys Ile Phe Pro Val Arg Gly Gln Val
130     135     140
Leu Gln Val Gln Ala Pro Trp Val Glu His Phe Ile Arg Asp Gly Ser
145     150     155     160
Gly Leu Thr Tyr Ile Tyr Pro Gly Thr Ser His Val Thr Leu Gly Gly
165     170     175
Thr Arg Gln Lys Gly Asp Trp Asn Leu Ser Pro Asp Ala Glu Asn Ser
180     185     190
Arg Glu Ile Leu Ser Arg Cys Cys Ala Leu Glu Pro Ser Leu His Gly
195     200     205
Ala Cys Asn Ile Arg Glu Lys Val Gly Leu Arg Pro Tyr Arg Pro Gly
210     215     220
Val Arg Leu Gln Thr Glu Leu Leu Ala Arg Asp Gly Gln Arg Leu Pro
225     230     235     240
Val Val His His Tyr Gly His Gly Ser Gly Gly Ile Ser Val His Trp
245     250     255
Gly Thr Ala Leu Glu Ala Ala Arg Leu Val Ser Glu Cys Val His Ala
260     265     270
Leu Arg Thr Pro Ile Pro Lys Ser Asn Leu
275     280

```

<210> 23

<211> 47

<212> ДНК

<213> Синтетическая последовательность

<220>

<223> олигонуклеотид 24-1443-126

<400> 23

tacggcttag taagttggag aacyaggatc agaagacagg tctgcct

47

<220>

<221> аллель

<222> 24

<223> полиморфное основание С или Т

<210> 24

<211> 47

<212> ДНК

<213> Синтетическая последовательность

<220>

<223> олигонуклеотид 24-1457-52

<220>
 <221> аллель
 <222> 24
 <223> полиморфное основание С или А

<400> 24
 tctgagatgc ccctgtgtcc tctmagggag tagtggtga gcatttc

<210> 25
 <211> 47
 <212> ДНК
 <213> Синтетическая последовательность

<220>
 <223> олигонуклеотид 27-93-181

<220>
 <221> аллель
 <222> 24
 <223> полиморфное основание С или Т

<400> 25
 cccagctctg ccactggcga gctytgtggc cttgggcaag ttactcc

47

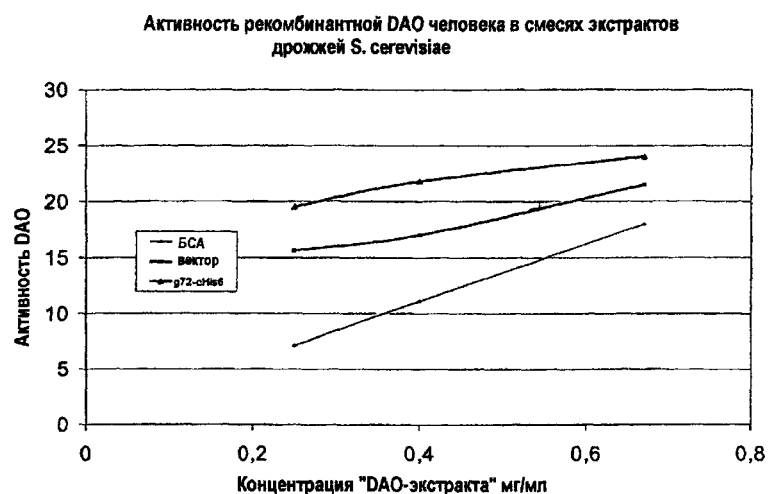
<210> 26
 <211> 47
 <212> ДНК
 <213> Синтетическая последовательность

<220>
 <223> олигонуклеотид 24-1461-256

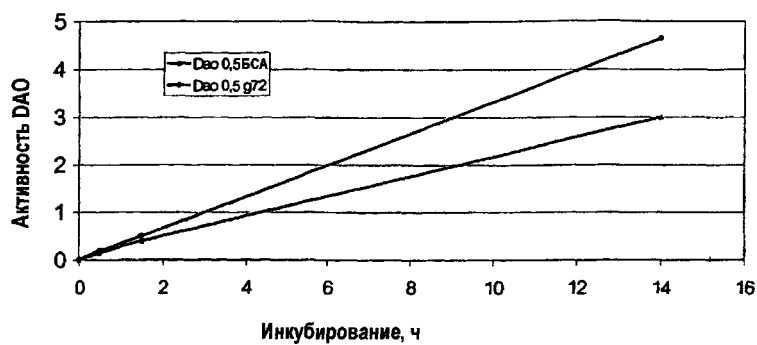
<220>
 <221> аллель
 <222> 24
 <223> полиморфное основание А или G

<400> 26
 gatggctctg gcattttcag ggarcagtca tgtctgatct caagttc

47

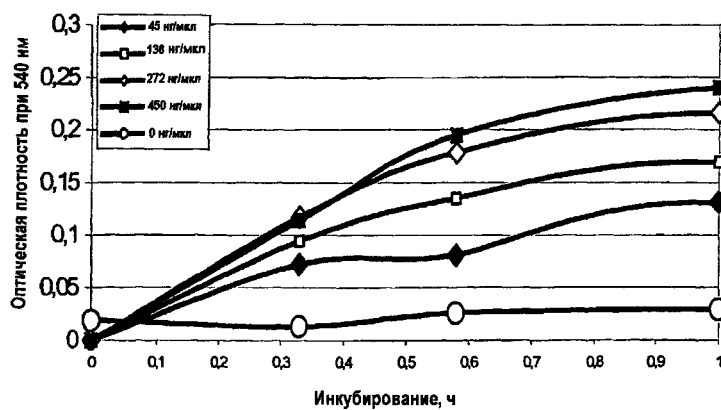


Фиг. 1

Активность DAO человека в присутствии экстракта g72 *E. coli*

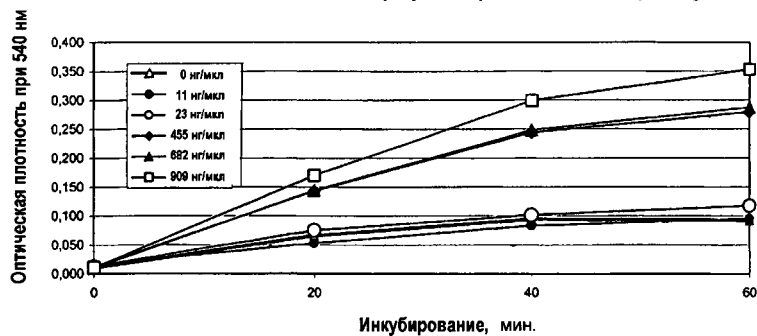
Фиг. 2

Активность DAO в присутствии различных концентраций g72



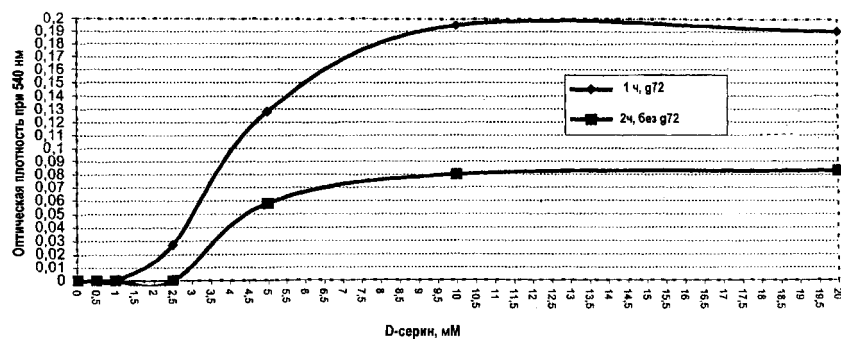
Фиг. 3

Активность DAO в присутствии различных концентраций g72



Фиг. 4

Кинетика DAO



Фиг. 5

Результаты ассоциации DAAO - проба PJ 27 Algene (213 случаев, 241 контроль)

Mks	Местоположение	Положение п	Аллельный тест				Генотипический тест	
			Выбранный аллель	Разл. алл. частоты	Хи-квад-рат	Величина p	Хи-квад-рат	Величина p
24-1443/126	5'-гена	132905	T	0,004	0,0171	8,96E-01	0,0206	9,90E-01
24-1457/52	интрон В	94290	C	0,029	0,6981	4,03E-01	1,0478	5,92E-01
27-93/181	интрон 3	65365	T	0,079	7,3783	6,60E-03	8,9084	1,16E-02
24-1461/256	интрон 10	55058	G	0,077	6,4495	1,11E-02	6,5728	3,74E-02
(*) : точный тест								

Фиг. 6



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2/6