



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

C12N 15/113 (2020.02); A61K 31/7125 (2020.02); A61P 25/00 (2020.02); C12N 2310/11 (2020.02); C12N 2310/313 (2020.02); C12N 2310/315 (2020.02); C12N 2310/322 (2020.02); C12N 2310/3233 (2020.02); C12N 2310/3341 (2020.02); C12N 2310/341 (2020.02); C12N 2310/346 (2020.02)

(21)(22) Заявка: 2015117680, 15.10.2013

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
15.10.2013

Дата регистрации:
24.08.2020

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
15.10.2012 US 61/714,132

(43) Дата публикации заявки: 10.12.2016 Бюл. № 34

(45) Опубликовано: 24.08.2020 Бюл. № 24

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: 15.05.2015

(86) Заявка РСТ:
US 2013/065073 (15.10.2013)

(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2014/062691 (24.04.2014)

Адрес для переписки:
119019, Москва, Гоголевский б-р, 11, этаж 3,
"Гоулинг ВЛГ (Интернэшнл) Инк.", Карпенко
Оксана Юрьевна

(72) Автор(ы):

БЕННЕТТ Франк С. (US),
ФРАЙЕР Сьюзан М. (US),
СВЭЙЗИ Эрик Е. (US),
РИГО Франк (US)

(73) Патентообладатель(и):

ИОНИС ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ, ИНК.
(US)

(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: WO 2011135396 A1, 03.11.2011.
US2012149757 A1, 14.06.2012. RENTON A. et al.
"A hexanucleotide repeat expansion in C9ORF72
is the cause of chromosome 9p21-linked ALS-
FTD", NEURON, 2011, v.72, no.2, p.257-268,
doi:10.1016/J.NEURON.2011.09.010. DEJESUS-
HERNANDEZ M. et al. "Expanded GGGGCC
Hexanucleotide Repeat in Noncoding Region of
C9ORF72 Causes (см. прод.)

(54) СОЕДИНЕНИЕ ДЛЯ МОДУЛЯЦИИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА C9ORF72 И ЕГО ПРИМЕНЕНИЕ

(57) Реферат:

Группа изобретений относится к соединениям и способам снижения экспрессии мРНК и/или белка гена C9ORF72, содержащих экспансию гексануклеотидного повтора, у животных с помощью специфических ингибиторов C9ORF72. Такие специфические ингибиторы C9ORF72 включают антисмысловые соединения, содержащие модифицированный олигонуклеотид, состоящий из 16-20 связанных нуклеозидов и имеющий последовательность нуклеотидных

оснований, содержащую по меньшей мере 12 последовательных нуклеотидных оснований, которые на 100% комплементарны части равной длины из нуклеотидных оснований 1446-1479 SEQ ID NO: 2. Модифицированный олигонуклеотид может содержать по меньшей мере одну модификацию, выбранную из модифицированного сахара и модифицированной межнуклеозидной связи. Соединение, конъюгаты и композиции на его основе пригодны для лечения,

предупреждения или облегчения
нейродегенеративного заболевания, связанного
с нуклеиновой кислотой C9ORF72, содержащей

экспансию гексануклеотидного повтора, у
нуждающегося в этом индивида. 8 н. и 47 з.п. ф-
лы, 28 табл., 6 пр.

(56) (продолжение):

Chromosome 9p-Linked FTD and ALS", NEURON, 2011, v.72, no.2, p.245 - 256, doi:10.1016/J.NEURON.2011.09.011.
SIMON-SANCHEZ J. et al. "The clinical and pathological phenotype of C9ORF72 hexanucleotide repeat expansions",
BRAIN: A JOURNAL OF NEUROLOGY, February 2012, v.135, no.Pt 3, p.723-735. EA 4046 B1, 25.12.2003.

R U 2 7 3 0 6 7 7 C 2

R U 2 7 3 0 6 7 7 C 2



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.
C12N 15/113 (2010.01)
A61K 31/7125 (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC

C12N 15/113 (2020.02); *A61K 31/7125* (2020.02); *A61P 25/00* (2020.02); *C12N 2310/11* (2020.02); *C12N 2310/313* (2020.02); *C12N 2310/315* (2020.02); *C12N 2310/322* (2020.02); *C12N 2310/3233* (2020.02); *C12N 2310/3341* (2020.02); *C12N 2310/341* (2020.02); *C12N 2310/346* (2020.02)

(21)(22) Application: **2015117680, 15.10.2013**

(24) Effective date for property rights:
15.10.2013

Registration date:
24.08.2020

Priority:

(30) Convention priority:
15.10.2012 US 61/714,132

(43) Application published: **10.12.2016 Bull. № 34**(45) Date of publication: **24.08.2020 Bull. № 24**(85) Commencement of national phase: **15.05.2015**

(86) PCT application:
US 2013/065073 (15.10.2013)

(87) PCT publication:
WO 2014/062691 (24.04.2014)

Mail address:
**119019, Moskva, Gogolevskij b-r, 11, etazh 3,
"Gouling VLG (Interneshnl) Ink.", Karpenko
Oksana Yurevna**

(72) Inventor(s):

**BENNETT Frank C. (US),
FREIER Susan M. (US),
SWAYZE Eric E. (US),
RIGO Frank (US)**

(73) Proprietor(s):

IONIS PHARMACEUTICALS, INC. (US)

(54) **COMPOUND FOR MODULATION OF C9ORF72 GENE EXPRESSION AND USE THEREOF**

(57) Abstract:

FIELD: medicine; pharmaceuticals.

SUBSTANCE: group of inventions relates to compounds and methods for reducing expression of C9ORF72 gene and/or protein containing hexanucleotide repeat expansion, in animals by means of specific C9ORF72 inhibitors. Such specific inhibitors of C9ORF72 include antisense compounds containing a modified oligonucleotide, consisting of 16–20 bound nucleosides and having a sequence of nucleotide bases containing at least 12 consecutive nucleotide bases, which are 100 % complementary to part of equal length

from nucleotide bases 1446–1479 of SEQ ID NO: 2. Modified oligonucleotide can contain at least one modification selected from modified sugar and modified internucleoside bond.

EFFECT: compound, conjugates and compositions based thereon are suitable for treating, preventing or alleviating a neurodegenerative disease, associated with nucleic acid C9ORF72, containing expansion of hexanucleotide repeat, in the individual in need thereof.

55 cl, 28 tbl, 6 ex

Перечень последовательностей

Настоящая заявка подается вместе с перечнем последовательностей в электронном формате. Перечень последовательностей представлен в виде файла с названием BIOL0211WOSEQ.txt, созданного 14 октября 2013 г., размером 184 Кб. Данные в электронном формате для перечня последовательностей включены в данный документ в полном объеме посредством ссылки.

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

Предложены композиции и способы снижения экспрессии мРНК и белка C9ORF72 у животных. Такие способы пригодны для лечения, предупреждения или облегчения протекания нейродегенеративных заболеваний, включающих амиотрофический латеральный склероз (АЛС), лобно-височную деменцию (ЛВД), синдром кортикобазальной дегенерации (КБД), атипичный синдром паркинсонизма и оливопонтocerebellарную дегенерацию (ОПЦД).

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Амиотрофический латеральный склероз (АЛС) представляет собой нейродегенеративное заболевание, заканчивающееся смертельным исходом, с характерной клинической картиной прогрессирующего паралича, приводящего к смерти от остановки дыхания, как правило, в период от двух до трех лет после появления симптомов (Rowland and Shneider, N. Engl. J. Med., 2001, 344, 1688-1700). АЛС является третьим наиболее распространенным нейродегенеративным заболеванием западного мира (Hirtz et al., Neurology, 2007, 68, 326-337) и в настоящее время для него отсутствуют эффективные способы лечения. Приблизительно 10% случаев в природе являются наследственными, тогда как подавляющее количество пациентов с данным диагностированным заболеванием классифицируются как спорадически заболевшие, поскольку заболевание у них возникает случайным образом в пределах всей популяции (Chio et al., Neurology, 2008, 70, 533-537). На основе клинических, генетических и эпидемиологических данных становится понятно, что АЛС и лобно-височная деменция (ЛВД) представляют собой перекрывающееся пространство общего заболевания, характеризующегося патологическим процессом из-за наличия положительных включений TDP-43 во всей центральной нервной системе (Lillo and Hodges, J. Clin. Neurosci., 2009, 16, 1131-1135; Neumann et al., Science, 2006, 314, 130-133).

К настоящему времени обнаружили несколько генов, являющихся причиной классического наследственного АЛС, например, SOD1, TARDBP, FUS, OPTN и VCP (Johnson et al., Neuron, 2010, 68, 857-864; Kwiatkowski et al., Science, 2009, 323, 1205-1208; Maruyama et al., Nature, 2010, 465, 223-226; Rosen et al., Nature, 1993, 362, 59-62; Sreedharan et al., Science, 2008, 319, 1668-1672; Vance et al., Brain, 2009, 129, 868-876). Проведенный недавно анализ сцепления между генными локусами родственников с многочисленными случаями заболеваний АЛС, ЛВД и АЛС-ЛВД показал, что существует важный локус этого заболевания на коротком плече хромосомы 9 (Boxer et al., J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry, 2011, 82, 196-203; Morita et al., Neurology, 2006, 66, 839-844; Pearson et al. J. Neurol., 2011, 258, 647-655; Vance et al., Brain, 2006, 129, 868-876). Это локус хромосомы 9p21 АЛС-ЛВД расположен в последнем главном аутосомально-доминантном гене, мутация которого вызывает АЛС. Мутация, вызывающая АЛС-ЛВД, представляет собой большую экспансию гексануклеотидного (GGGGCC) повтора в первом интроне гена C9ORF72 (Renton et al., Neuron, 2011, 72, 257-268; DeJesus-Hernandez et al., Neuron, 2011, 72, 245-256). Основной гаплотип, включающий ген C9ORF72, представлен в большинстве случаев мутаций, связанных с этим участком (Renton et al., Neuron, 2011, 72, 257-268). Этот локус на хромосоме 9p21 отвечает почти за половину случаев

наследственного АЛС и почти за одну четверть всех случаев возникновения АЛС в группе из 405 пациентов из Финляндии (Laaksovirta et al, Lancet Neurol., 2010, 9, 978-985).

Основной гаплотип, включающий ген C9ORF72, присутствует в большинстве случаев мутаций, связанных с этим участком.

- 5 В настоящее время не существует эффективных способов терапии для лечения таких нейродегенеративных заболеваний, поэтому целью настоящей заявки является предоставление композиций и способов для лечения таких нейродегенеративных заболеваний.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

- 10 В данном документе представлены композиции и способы модуляции уровней мРНК и белка C9ORF72 в клетках, тканях и в организмах животных. В некоторых вариантах реализации изобретения специфические ингибиторы C9ORF72 модулируют экспрессию мРНК и белка C9ORF72. В некоторых вариантах реализации изобретения специфические ингибиторы C9ORF72 являются нуклеиновыми кислотами, белками или малыми
15 молекулами.

- В некоторых вариантах реализации изобретения модуляция может происходить в клетке или ткани. В некоторых вариантах реализации изобретения эта клетка или ткань находится в организме животного. В некоторых вариантах реализации изобретения это животное является человеком. В некоторых вариантах реализации изобретения
20 снижаются уровни мРНК C9ORF72. В некоторых вариантах реализации изобретения снижаются уровни белка C9ORF72. В некоторых вариантах реализации изобретения преимущественно снижаются уровни определенных вариантов мРНК C9ORF72. В некоторых вариантах реализации изобретения преимущественно снижаемые уровни вариантов мРНК C9ORF72 являются вариантами, содержащими интрон 1. В некоторых
25 вариантах реализации изобретения интрон 1 содержит экспансию гексануклеотидного повтора. В некоторых вариантах реализации изобретения эта экспансия гексануклеотидного повтора связана с заболеванием, ассоциированным с белком C9ORF72. В некоторых вариантах реализации изобретения эта экспансия гексануклеотидного повтора связана с заболеванием, ассоциированным с экспансией
30 гексануклеотидного повтора C9ORF72. В некоторых вариантах реализации изобретения эта экспансия гексануклеотидного повтора содержит по меньшей мере 30 повторов GGGGCC. В некоторых вариантах реализации изобретения эта экспансия гексануклеотидного повтора связана с заболеванием, ассоциированным с фокусами ядер клеток. В некоторых вариантах реализации изобретения композиции и способы,
35 описанные в данном документе, пригодны для снижения уровней мРНК C9ORF72, уровней белка C9ORF72 и уменьшения фокусов ядер клеток. Такое снижение может происходить времязависимым способом или дозозависимым способом.

- Предложены также способы, пригодные для предупреждения, лечения и ослабления протекания заболеваний, нарушений и состояний, ассоциированных с белком C9ORF72.
40 В некоторых вариантах реализации изобретения такие заболевание, нарушения и состояния, ассоциированные с белком C9ORF72, являются нейродегенеративными заболеваниями. В некоторых вариантах реализации изобретения нейродегенеративное заболевание представляет собой амиотрофический латеральный склероз (АЛС), лобно-височную деменцию (ЛВД), синдром кортикобазальной дегенерации (КБД), атипичный
45 синдром паркинсонизма и оливопонтocerebellарную дегенерацию (ОПЦД).

Такие заболевания, нарушения и состояния могут в целом сопровождаться одним или более факторами риска, причинами и исходами заболевания. Определенные факторы риска и причины развития нейродегенеративного заболевания и, в частности, АЛС и

ЛВД, включают генетическую предрасположенность и пожилой возраст.

В некоторых вариантах реализации изобретения способы лечения включают введение индивиду, нуждающемуся в этом, специфического ингибитора C9ORF72. В некоторых вариантах реализации изобретения специфический ингибитор C9ORF72 является нуклеиновой кислотой. В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеиновая кислота является антисмысловым соединением. В некоторых вариантах реализации изобретения антисмысловое соединение является одноцепочечным антисмысловым олигонуклеотидом. В некоторых вариантах реализации изобретения одноцепочечный антисмысловый олигонуклеотид комплементарен нуклеиновой кислоте C9ORF72.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ

Должно быть понятно, что как предыдущее общее описание, так и последующее подробное описание сущности изобретения приведены только в качестве примеров и объяснений и не ограничивают данное изобретение, указанное в формуле. В данном документе использование единственного числа включает множественное, если прямо не указано что-либо другое. В данном документе считается, что использование слова «или» обозначает «и/или», если не указано что-либо другое. Кроме того, в данном документе принимается во внимание, что использование слова «и» обозначает «и/или», если не указано что-либо другое. Более того, использование термина «включающий», а также других форм, таких как «включает» и «включенный», не является ограничивающим. Также такие термины, как «элемент» или «компонент» охватывают как элементы, так и компоненты, содержащие одну составляющую, и элементы и компоненты, содержащие более одной подсоставляющей, если прямо не указано что-либо другое.

Заголовки разделов, использованные в данном документе, применены только с целью упорядочивания текста и не должны истолковываться как ограничивающие описанный объект изобретения. Все документы или части документов, цитируемые в этом описании, включая без ограничения патенты, заявки на патенты, опубликованные заявки на патенты, статьи, книги, исследования, номера доступа к базе данных GENBANK и связанную информацию о последовательностях, которую можно получить из баз данных, таких как Национальный центр биотехнологической информации (NCBI) и других данных, относящихся ко всему описанию данного документа, намеренно включены посредством ссылок для частей обсуждаемого здесь документа, а также в их полном объеме.

Определения

Если конкретные определения не предусмотрены, то данная номенклатура используется в связи с, а также в пределах процедур и методик аналитической химии, синтетической органической химии, медицинской и фармацевтической химии, описанных в данном документе, является хорошо известной и обычно используемой в данной области техники. Для химического синтеза и химического анализа могут быть использованы стандартные методики.

Если не указано иное, то указанные ниже термины имеют следующие значения:

«2'-О-метоксиэтильная группа» (также обозначаемая 2'-МОЕ и 2'-OCH₂CH₂-OCH₃ и МОЕ) относится к О-метоксиэтил-модификации положения 2' фуранозильного кольца. Модифицированный 2'-О-метоксиэтильный сахар является модифицированным сахаром.

«2'-МОЕ нуклеозид» (также обозначаемый 2'-О-метоксиэтилнуклеозидом) обозначает нуклеозид, содержащий 2'-О-метоксиэтильную группу.

«5-метилцитозин» обозначает цитозин, модифицированный метальной группой, присоединенной к положению 5'. 5-метилцитозин является модифицированным

нуклеотидным основанием.

«Около» обозначает нахождение в пределах значения $\pm 7\%$. Например, если утверждается, что «соединение приводит к по меньшей мере около 70% ингибированию C9ORF72», следовательно это подразумевает, что уровни C9ORF72 ингибированы в пределах диапазона от 63 до 77%.

«Совместное введение» относится к совместному введению двух фармацевтических агентов любым способом, при котором фармацевтическое действие обоих агентов проявляется у пациента одновременно. Совместное введение не требует, чтобы оба фармацевтических агента вводились в одной фармацевтической композиции, в одной и той же лекарственной форме или одинаковым путем. Не требуется, чтобы действие обоих фармацевтических агентов проявляло себя в одно и то же время. Эффекты должно быть перекрывающимися только на некоторый период времени и не должны быть одинаковыми по продолжительности.

«Введение» обозначает поступление фармацевтического агента животному и включает, без ограничения, введение медицинским работником или самостоятельное введение.

Термины «облегчение», или «облегчать», или «облегчающий», относятся к уменьшению по меньшей мере одного показателя, признака или симптома заболевания, нарушения или состояния. Тяжесть показателей может определяться путем субъективных или объективных определений, которые известны специалистам в данной области.

«Животное» относится к человеку или животному, не являющемуся человеком, включая, без ограничения: мышей, крыс, кроликов, собак, кошек, свиней и приматов кроме человека, включая без ограничения обезьян и шимпанзе.

«Антитело» относится к молекуле, для которой характерна способность определенным образом специфически взаимодействовать с антигеном, при этом антитело и антиген определяются относительно друг друга. Обозначение «антитело» может относиться к полной молекуле антитела или к его любому фрагменту или к участку, такому, как тяжелая цепь, легкая цепь, Fab-участок или Fc-участок.

«Антисмысловая активность» обозначает любую доступную для обнаружения или измерения активность, которую можно отнести к гибридизации антисмыслового соединения с его нуклеиновой кислотой-мишенью. В некоторых вариантах реализации изобретения антисмысловая активность представляет снижение количества или экспрессии нуклеиновой кислоты-мишени или белка, кодируемого такой нуклеиновой кислотой-мишенью.

«Антисмысловое вещество» обозначает олигомерное соединение, которое способно претерпевать гибридизацию с нуклеиновой кислотой-мишенью с помощью водородных связей. Примеры антисмысловых соединений включают одноцепочечные и двухцепочечные соединения, такие как антисмысловые олигонуклеотиды, миРНК, мшРНК, оцРНК и вещества, действующие на основе захватывания. Антисмысловые механизмы включают, без ограничения, опосредованный РНКазой N антисмысловой механизм; механизмы интерференции РНК (RNAi), которые используют пути RISC и включают, без ограничения, механизмы с участием миРНК, оцРНК и микроРНК; и механизмы на основе захватывания, включающие, без ограничения, однотипно модифицированные олигонуклеотиды. Определенные антисмысловые соединения могут действовать посредством более, чем одного такого механизма и/или посредством дополнительных механизмов.

«Антисмысловое ингибирование» обозначает снижение уровней нуклеиновой кислоты-мишени или уровней белка-мишени в присутствии антисмыслового соединения

комплементарного нуклеиновой кислоте-мишени по сравнению с уровнями нуклеиновой кислоты-мишени или уровнями белка-мишени в отсутствии антисмыслового соединения. Ингибирование может быть обеспечено любыми способами, включая деградацию РНКазой H, такую как с помощью гэнмера, и стерическую блокировку, такую как с помощью однотипно модифицированного олигонуклеотида.

«Антисмысловый олигонуклеотид» обозначает одноцепочечный олигонуклеотид с последовательностью нуклеотидных оснований, которая допускает гибридизацию с соответствующим сегментом нуклеиновой кислоты-мишени.

«Бициклический сахар» обозначает фуранозильное кольцо, модифицированное образованием мостика между двумя атомами. Бициклический сахар является модифицированным сахаром.

«Бициклический нуклеозид» (также называемый BNA - бициклической нуклеиновой кислотой) обозначает нуклеозид, имеющий сахарный фрагмент, содержащий мостиковое соединение двух атомов углерода сахарного кольца, благодаря чему образуется бициклическая кольцевая система. В некоторых вариантах реализации изобретения этот мостик соединяет 4'-углерод и 2'-углерод сахарного кольца.

«Ассоциированное с C9ORF72 заболевание» обозначает любое заболевание, ассоциированное с любой нуклеиновой кислотой C9ORF72 или продуктом ее экспрессии. Такие заболевания могут включать нейродегенеративное заболевание. Такие нейродегенеративные заболевания могут включать АЛС и ЛВД.

«Ассоциированное с экспансией гексануклеотидного повтора C9ORF72 заболевание» обозначает любое заболевание, связанное нуклеиновой кислотой C9ORF72, содержащей экспансию гексануклеотидного повтора. В некоторых вариантах реализации изобретения эта экспансия гексануклеотидного повтора может содержать последовательности GGGGCC, GGGGGG, GGGGGC или GGGGCG, повторяющиеся по меньшей мере 30 раз. Такие заболевания могут включать нейродегенеративное заболевание. Такие нейродегенеративные заболевания могут включать АЛС и ЛВД.

«Нуклеиновая кислота C9ORF72» означает любую нуклеиновую кислоту, кодирующую последовательность C9ORF72. Например, в некоторых вариантах реализации изобретения нуклеиновая кислота C9ORF72 содержит последовательность ДНК, кодирующую C9ORF72, последовательность РНК, транскрибируемую с ДНК, кодирующей C9ORF72 (включая геномную ДНК, содержащую интроны и экзоны), и последовательность мРНК, кодирующую C9ORF72. «мРНК C9ORF72» означает мРНК, кодирующую белок C9ORF72.

«Специфический ингибитор C9ORF72» относится к любому агенту, способному специфически ингибировать экспрессию мРНК C9ORF72 и/или белка C9ORF72 на молекулярном уровне. Например, специфические ингибиторы C9ORF72 включают нуклеиновые кислоты (включая антисмысловые соединения), миРНК, аптамеры, антитела, пептиды, малые молекулы и другие агенты, способные ингибировать экспрессию мРНК C9ORF72 и/или белка C9ORF72. Аналогичным образом в некоторых вариантах реализации изобретения специфические ингибиторы C9ORF72 могут влиять на другие молекулярные процессы в организме животного.

«Кэп-структура», или «концевой кэп-фрагмент», обозначает химические модификации, которые были внедрены в какой-либо из концов антисмыслового соединения.

«сEt», или «стерически затрудненный этил» обозначает бициклический нуклеозид, несущий сахарный фрагмент, содержащий мостиковое соединение 4'-углерода и 2'-углерода, при этом данный мостик имеет формулу: 4'-CH(CH₃)-O-2'.

«Стерически затрудненный этилнуклеозид» (также обозначаемый сEt-нуклеозид)

означает нуклеозид, содержащий бициклический сахарный фрагмент, включающий мостик 4'-CH(CH₃)-O-2'.

«Химически отличающийся участок» относится к участку антисмыслового соединения, который определенным образом химически отличается от другого участка того же антисмыслового соединения. Например, участок, несущий 2'-О-метоксиэтилнуклеозиды, химически отличается от участка, несущего нуклеозиды без 2'-О-метоксиэтил модификаций.

«Химерное антисмысловое соединение» обозначает антисмысловое соединение, которое имеет по меньшей мере два химически отличающихся участка.

«Совместное введение» обозначает введение индивиду двух и более фармацевтических агентов. Эти два или более фармацевтических агентов могут быть представлены в виде одной фармацевтической композиции или могут быть представлены в виде отдельных фармацевтических композиций. Каждый из двух и более фармацевтических агентов могут вводиться посредством одного пути или разными путями введения. Совместное введение охватывает параллельное или последовательное введение.

«Комплементарность» обозначает способность к спариванию между нуклеотидными основаниями первой нуклеиновой кислоты и второй нуклеиновой кислоты.

Термин «последовательные нуклеотидные основания» обозначает нуклеотидные основания, непосредственно соседствующие друг с другом.

«Растворитель» обозначает ингредиент композиции, который не обладает фармакологической активностью, но является фармацевтически необходимым или желательным. В качестве примера, растворитель в композиции для инъекций может быть жидкостью, например, солевой раствор.

«Доза» обозначает установленное количество фармацевтического агента, доставляемого за одно введение или за установленный период времени. В некоторых вариантах реализации изобретения доза может быть введена с одним, двумя или более болюсными введениями, таблетками или инъекциями. Например, в некоторых вариантах реализации изобретения, когда требуется подкожное введение, а нужная доза должна быть в таком объеме, который не может быть легко достигнут посредством одной инъекции, в таком случае могут использоваться две или более инъекций для достижения необходимых доз. В некоторых вариантах реализации изобретения данный фармацевтический агент вводят путем инфузии в течение продолжительного периода времени или непрерывно. Дозы могут быть заданы как количество фармацевтического агента за час, день, неделю или месяц.

«Эффективное количество» обозначает количество фармацевтического агента, достаточное для того, чтобы вызвать требуемый физиологический результат у индивида, нуждающегося в данном фармацевтическом агенте. Эффективное количество может отличаться у индивидов в зависимости от здоровья и физического состояния индивида, требующего лечения, таксономической группы индивидов, требующих лечения, лекарственной формы композиции, оценки медицинского состояния индивида и других сопутствующих факторов.

«Экспрессия» означает преобразование информации гена C9ORF72 в мРНК посредством транскрипции и затем в белок посредством трансляции. Экспрессия может привести к фенотипическому проявлению гена C9ORF72.

«Полная комплементарность», или «100% комплементарность», обозначает, что каждое нуклеотидное основание первой нуклеиновой кислоты имеет комплементарное нуклеотидное основание на второй нуклеиновой кислоте. В некоторых вариантах реализации изобретения первая нуклеиновая кислота является антисмысловым

соединением, а нуклеиновая кислота-мишень является второй нуклеиновой кислотой.

«Гэпмер» обозначает химерное антисмысловое соединение, в котором внутренний участок, содержащий множество нуклеозидов, что обеспечивает расщепление РНКазой Н, расположено между внешними участками, содержащими один или более нуклеозидов, причем эти нуклеозиды, содержащие данный внутренний участок, химически отличаются от нуклеозида или нуклеозидов, содержащихся во внешних участках. Внутренний участок может называться «гэп», а внешние участки могут называться «крылья».

«Уменьшенный гэп» обозначает химерное антисмысловое соединение, содержащее гэп-сегмент из 9 или меньшего количества последовательных 2'-дезоксирибонуклеотидов расположенных между и непосредственно соседствующих с 5'- и 3'-сегментами крыльев, содержащими от 1 до 6 нуклеозидов.

«Расширенный гэп» означает химерное антисмысловое соединение, содержащее гэп-сегмент из 12 или большего количества последовательно 2'-дезоксирибонуклеотидов расположенных между и непосредственно соседствующих с 5'- и 3'-сегментами крыльев, содержащими от 1 до 6 нуклеозидов.

«Экспансия гексануклеотидного повтора» означает наборы из шести оснований (например, GGGGCC, GGGGGG, GGGGCG или GGGGGC), повторяющиеся по меньшей мере дважды. В некоторых вариантах реализации изобретения такая экспансия гексануклеотидного повтора может быть расположено на интроне 1 нуклеиновой кислоты C9ORF72. В некоторых вариантах реализации изобретения патогенная экспансия гексануклеотидного повтора включает по меньшей мере 30 повторов из GGGGCC, GGGGGG, GGGGCG или GGGGGC в нуклеиновой кислоте C9ORF72 и связанное с заболеванием. В некоторых вариантах реализации изобретения эти повторы являются последовательными. В некоторых вариантах реализации изобретения эти повторы прерываются 1 или более нуклеотидными основаниями. В некоторых вариантах реализации изобретения экспансия гексануклеотидного повтора дикого типа включает 23 или меньшее количество повторов из GGGGCC, GGGGGG, GGGGCG или GGGGGC в нуклеиновой кислоте C9ORF72. В некоторых вариантах реализации изобретения эти повторы являются последовательными. В некоторых вариантах реализации изобретения эти повторы прерываются 1 или более количеством нуклеотидными основаниями.

«Гибридизация» обозначает ренатурацию (соединение) молекул комплементарных нуклеиновых кислот. В некоторых вариантах реализации изобретения молекулы комплементарных нуклеиновых кислот включают антисмысловое соединение и нуклеиновую кислоту-мишень.

«Идентификация животного, пораженного ассоциированным с C9ORF72 заболеванием» указывает на идентификацию животного с диагностированным ассоциированным с белком C9ORF72 заболеванием или предрасположенного к развитию ассоциированного с белком C9ORF72 заболевания. Индивиды, предрасположенные к развитию ассоциированного с C9ORF72 заболевания, включают тех, которые обладают одним и более факторами риска для развития ассоциированного с C9ORF72 заболевания, включая обладающих личной или семейной историей или генетической предрасположенностью к одному или большему количеству ассоциированных с C9ORF72 заболеваний. Такая идентификация может выполняться любым способом, включающим оценку истории болезни индивида и стандартные клинические анализы или обследования, такие как генетическое исследование.

«Непосредственно соседствующий» означает, что между непосредственно соседствующими элементами отсутствуют промежуточные элементы.

«Индивид» указывает на человека или животное кроме человека, выбранное для

лечения или оказания терапии.

«Ингибирование C9ORF72» указывает на снижение уровней экспрессии мРНК и/или белка C9ORF72 в присутствии специфического ингибитора C9ORF72, включая антисмысловой олигонуклеотид C9ORF72, по сравнению с уровнями экспрессии мРНК и/или белка C9ORF72 в отсутствии специфического ингибитора C9ORF72, такого как антисмысловой олигонуклеотид C9ORF72.

Термин «межнуклеозидная связь» относится к химической связи между нуклеозидами.

«Связанные нуклеозиды» обозначают соседствующие нуклеозиды, связанные вместе.

Термины «мисмэтч», или «некомплементарное нуклеотидное основание», относятся к случаю, когда нуклеотидное основание первой нуклеиновой кислоты не способно спариваться с соответствующим нуклеотидным основанием второй нуклеиновой кислоты или нуклеиновой кислоты-мишени.

«Модифицированная межнуклеозидная связь» относится к замещению или любому изменению встречающейся в природе межнуклеозидной связи (т.е. фосфодиэфирной межнуклеозидной связи).

«Модифицированное нуклеотидное основание» относится к любому нуклеотидному основанию, отличающемуся от аденина, цитозина, гуанина, тимидина и урацила.

«Немодифицированное нуклеотидное основание» означает пуриновые основания: аденин (A) и гуанин (G), и пиримидиновые основания: тимин (T), цитозин (C) и урацил (U).

«Модифицированный нуклеотид» обозначает нуклеотид, независимо содержащий модифицированный сахарный фрагмент, модифицированную межнуклеозидную связь или модифицированное нуклеотидное основание. «Модифицированный нуклеозид» означает нуклеозид, независимо содержащий модифицированный сахарный фрагмент и модифицированное нуклеотидное основание.

«Модифицированный олигонуклеотид» обозначает олигонуклеотид, содержащий модифицированную межнуклеозидную связь, модифицированный сахар или модифицированное нуклеотидное основание.

Термин «модифицированный сахар» относится к замещению или изменению в природном сахаре.

«Мотив» указывает на набор химически отличающихся участков в антисмысловом соединении.

«Встречающаяся в природе межнуклеозидная связь» обозначает 3' и 5'-фосфодиэфирную связь.

«Природный сахарный фрагмент» обозначает сахар, обнаруженный в ДНК (2'-H) или РНК (2'-ОН).

«Нуклеиновая кислота» относится к молекуле, состоящей из мономерных нуклеотидов. Нуклеиновая кислота включает рибонуклеиновые кислоты (РНК), дезоксирибонуклеиновые кислоты (ДНК), одноцепочечные нуклеиновые кислоты, двухцепочечные нуклеиновые кислоты, малые интерферирующие рибонуклеиновые кислоты (миРНК) и микроРНК (микроРНК).

«Нуклеотидное основание» означает гетероциклический фрагмент, способный спариваться с основанием другой нуклеиновой кислоты.

«Последовательность нуклеотидных оснований» указывает на порядок последовательных нуклеотидных оснований, независимый от любого сахара, связи или модификации нуклеотидных оснований.

«Нуклеозид» обозначает нуклеотидное основание, связанное с сахаром.

«Нуклеозидный миметик» включает такие структуры, которые используются для

замещения сахара или сахара и основания и не обязательно связи в одном или более положений олигомерного соединения, такие, как, например, нуклеозидные миметики, содержащие морфолин, циклогексенил, циклогексил, тетрагидропиранил, бицикло- и трициклосахарные миметики, например, нефуранозные сахарные фрагменты.

- 5 Нуклеотидный миметик включает такие структуры, которые используются для замещения нуклеозида и связи в одном или более положений олигомерного соединения, такие как, например, пептид-нуклеиновые кислоты или морфолины (морфолины связаны с помощью -N(H)-C(=O)-O- или другой нефосфодиэфирной связи). Заместители сахаров перекрываются немного более широким термином нуклеозидного миметика, но
10 подразумевают только указание на замещение сахарного фрагмента (фуранозного кольца). Тетрагидропиранильные кольца, представленные в данном документе, являются иллюстрациями примера заместителя сахара, в котором фуранозная сахарная группа была замещена системой тетрагидропиранильного кольца.

- «Нуклеотид» обозначает нуклеозид, несущий фосфатную группу, ковалентно
15 связанную с сахарной частью данного нуклеозида.

«Олигомерное соединение», или «олигомер», обозначает полимер из связанных субъединиц мономеров, который способен гибридизироваться с по меньшей мере одним участком молекулы нуклеиновой кислоты.

- «Олигонуклеотид» означает полимер из связанных нуклеозидов, каждый из которых
20 может быть модифицированным или немодифицированным независимо друг от друга.

- «Парентеральное введение» обозначает введение с помощью инъекции или инфузии. Парентеральное введение включает подкожное введение, внутривенное введение, внутримышечное введение, внутриартериальное введение, внутрибрюшинное введение или внутричерепное введение, например, интратекальное или
25 интрацеребровентрикулярное введение.

«Пептид» обозначает молекулу, образованную соединением по меньшей мере двух аминокислот амидными связями. Пептид относится к полипептидам и белкам.

- «Фармацевтический агент» обозначает субстанцию или субстанции фармацевтической композиции, которая обеспечивает терапевтическую пользу при введении индивиду. В
30 некоторых вариантах реализации изобретения фармацевтическим агентом является антисмысловой олигонуклеотид, нацеленный на последовательность C9ORF72.

«Фармацевтическая композиция» означает смесь субстанций, пригодных для введения индивиду. Например, фармацевтическая композиция может содержать один или более фармацевтических агентов и стерильный водный раствор.

- «Фармацевтически приемлемое производное» охватывает фармацевтически
35 приемлемые соли, конъюгаты, пролекарства или изомеры соединений, описанных в данном документе.

- Термин «фармацевтически приемлемые соли» охватывает физиологически и фармацевтически приемлемые соли антисмысловых соединений, т.е. соли, сохраняющие
40 требуемую биологическую активность исходного олигонуклеотида и не обладают в дополнение к ней нежелательным токсикологическим действием.

- «Фосфоротиоатная связь» указывает на соединение между нуклеозидами, в котором фосфодиэфирная связь модифицирована замещением одного из немостиковых атомов кислорода атомом серы. Фосфоротиоатная связь (P=S) представляет собой
45 модифицированную межнуклеозидную связь.

«Часть» обозначает определенное количество последовательных (т.е., связанных) нуклеотидных оснований нуклеиновой кислоты. В некоторых вариантах реализации изобретения часть представляет собой определенное количество последовательных

нуклеотидных оснований нуклеиновой кислоты-мишени. В некоторых вариантах реализации изобретения часть представляет собой определенное количество последовательных нуклеотидных оснований антисмыслового соединения.

«Предупреждать», или «предупреждение», относится к замедлению или упреждению проявления или развития заболевания, нарушения или состояния в течение периода времени - от минут до бесконечности. Предупреждение также означает снижение риска развития заболевания, нарушения или состояния.

«Пролекарство» обозначает, что терапевтический агент приготовлен в виде неактивной формы, которая превращается в свою активную форму в организме или в клетках под воздействием эндогенных ферментов или других химических веществ или условий.

Термин «побочные явления» обозначает физиологические реакции, обусловленные лечением, отличные от требуемого действия. В некоторых вариантах реализации изобретения побочные явления включают реакции в месте инъекции, исследуемые нарушения функционирования печени и почек, токсичность для печени и почек, нарушения центральной нервной системы, миопатии и дискомфорт.

«Одноцепочечный олигонуклеотид» указывает на олигонуклеотид, который не гибридизируется с комплементарной цепью.

Термин «способный специфически гибридизироваться» относится к антисмысловому соединению, имеющему достаточную степень комплементарности между антисмысловым олигонуклеотидом и нуклеиновой кислотой-мишенью для индуцирования требуемого действия, при этом проявляя минимальное или отсутствие влияния на нецелевые нуклеиновые кислоты в условиях, требующих достичь специфического связывания, т.е. в физиологических условиях в случае проведения анализов *in vivo* и при терапевтических воздействиях.

«Нацеливание», или «целевой», обозначает процесс конструирования и выбора антисмыслового соединения, которое будет специфически гибридизироваться с нуклеиновой кислотой-мишенью и индуцировать требуемое действие.

Термины «нуклеиновая кислота-мишень», «РНК-мишень» и «транскрипт РНК-мишени» все относятся к нуклеиновым кислотам, способным быть мишенями для антисмысловых соединений.

«Сегмент-мишень» означает последовательность нуклеотидов нуклеиновых кислот-мишеней, на которую нацелено антисмысловое соединение. «Сайт-мишень 5'» относится к самому крайнему нуклеотиду с 5'-конца сегмента-мишени. «Сайт-мишень 3'» относится к самому крайнему нуклеотиду с 3'-конца сегмента-мишени.

«Терапевтически эффективное количество» обозначает количество фармацевтического агента, которое обеспечивает терапевтическую пользу для индивида.

Термин «лечить», или «лечение», относится к введению фармацевтической композиции с целью вызвать изменение или улучшение течения заболевания, нарушения или состояния.

«Немодифицированный нуклеотид» обозначает нуклеотид, который состоит из встречающихся в природе нуклеотидных оснований, сахарных фрагментов и межнуклеозидных связей. В некоторых вариантах реализации изобретения немодифицированный нуклеотид является нуклеотидом РНК (т.е. β -D-рибонуклеозиды) или нуклеотидом ДНК (т.е. β -D-дезоксирибонуклеозиды).

Некоторые варианты реализации изобретения

Некоторые варианты реализации изобретения предлагают способы снижения экспрессии мРНК и белка C9ORF72.

Некоторые варианты реализации изобретения предлагают способы лечения, предупреждения или облегчения заболеваний, нарушений и состояний, ассоциированных с C9ORF72, у индивида, нуждающегося в таком воздействии. Подразумеваются также способы получения лекарственного средства для лечения, предупреждения или

5 облегчения заболевания, нарушения и состояния, ассоциированного с C9ORF72. Ассоциированные с белком C9ORF72 заболевания, нарушения и условия включают нейродегенеративные заболевания. В некоторых вариантах реализации изобретения нейродегенеративное заболевание может быть АЛС или ЛВД. В некоторых вариантах реализации изобретения нейродегенеративное заболевание может быть наследственным

10 или спорадическим.

Некоторые варианты реализации изобретения предлагают применение специфического ингибитора C9ORF72 для лечения, предупреждения или облегчения ассоциированного с белком C9ORF72 заболевания. Некоторые варианты реализации изобретения предлагают применение специфического ингибитора C9ORF72 для лечения,

15 предупреждения или облегчения ассоциированного с экспансией гексануклеотидного повтора C9ORF72 заболевания. В некоторых вариантах реализации изобретения эта экспансия гексануклеотидного повтора может содержать последовательности GGGGCC, GGGGGG, GGGGGC или GGGGCG. В некоторых вариантах реализации изобретения специфические ингибиторы C9ORF72 представляют собой нуклеиновые кислоты

20 (включая антисмысловые соединения), пептиды, антитела, малые молекулы и другие агенты, способные ингибировать экспрессию мРНК C9ORF72 и/или белка C9ORF72.

Описанные в данном документе ингибиторы представляют собой соединения, содержащие одноцепочечные антисмысловые олигонуклеотиды комплементарные нуклеиновой кислоте C9ORF72 или гомологу нуклеиновой кислоты C9ORF72.

25 В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеиновая кислота C9ORF72 является нуклеиновой кислотой C9ORF72 человека.

В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеиновая кислота C9ORF72 содержит экспансию гексануклеотидного повтора.

В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеиновая кислота C9ORF72 не

30 содержит экспансию гексануклеотидного повтора.

В некоторых вариантах реализации изобретения одноцепочечный антисмысловый олигонуклеотид способен специфически гибридизироваться с нуклеиновой кислотой C9ORF72 человека.

В некоторых вариантах реализации изобретения одноцепочечный антисмысловый олигонуклеотид является по меньшей мере на 75%, по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95% или на 100%

35 комплементарным части нуклеиновой кислоты C9ORF72 человека равной длины.

В некоторых вариантах реализации изобретения одноцепочечный антисмысловый олигонуклеотид является комплементарным любому экзону, интрону, 5'-

40 нетранслируемому участку, 3'-нетранслируемому участку, участку повтора, точке сплайсинга, точке сплайсинга экзон: экзон, сайленсеру экзонного сплайсинга (ESS), энхансеру экзонного сплайсинга (ESE), экзону 1a, экзону 1b, экзону 1c, экзону 1d, экзону 1e, экзону 2, экзону 3, экзону 4, экзону 5, экзону 6, экзону 7, экзону 8, экзону 9, экзону 10, экзону 11, интрону 1, интрону 2, интрону 3, интрону 4, интрону 5, интрону 6, интрону

45 7, интрону 8, интрону 9 или интрону 10 нуклеиновой кислоты C9ORF72 человека.

Описанные в данном документе олигонуклеотиды представляют собой соединения, которые содержат одноцепочечный антисмысловый олигонуклеотид, состоящий из 12-30 связанных нуклеозидов и содержащий последовательность нуклеотидных оснований,

включающих по меньшей мере 8, по меньшей мере 9, по меньшей мере 10, по меньшей мере 11, по меньшей мере 12, по меньшей мере 13, по меньшей мере 14, по меньшей мере 15, по меньшей мере 16, по меньшей мере 17, по меньшей мере 18, по меньшей мере 19 или по меньшей мере 20 последовательных нуклеотидных оснований последовательностей SEQ ID NO: 30-369.

В некоторых вариантах реализации изобретения одноцепочечный антисмысловый олигонуклеотид содержит по меньшей мере одну модификацию.

В некоторых вариантах реализации изобретения одноцепочечный антисмысловый олигонуклеотид содержит по меньшей мере одну модифицированную межнуклеозидную связь.

В некоторых вариантах реализации изобретения каждая межнуклеозидная связь одноцепочечного антисмыслового олигонуклеотида является модифицированной межнуклеозидной связью.

В некоторых вариантах реализации изобретения модифицированная межнуклеозидная связь является фосфоротиоатной межнуклеозидной связью.

В некоторых вариантах реализации изобретения одноцепочечный антисмысловый олигонуклеотид содержит по меньшей мере один модифицированный нуклеозид.

В некоторых вариантах реализации изобретения одноцепочечный антисмысловый олигонуклеотид содержит по меньшей мере один модифицированный нуклеозид, несущий модифицированный сахар.

В некоторых вариантах реализации изобретения одноцепочечный антисмысловый олигонуклеотид содержит по меньшей мере один модифицированный нуклеозид, содержащий бициклический сахар.

В некоторых вариантах реализации изобретения бициклический сахар содержит мостик 4'-2', выбранный из: мостика 4'-(CH₂)_n-O-2', где n равно 1 или 2; и 4'-CH₂-O-CH₂-2'.

В некоторых вариантах реализации изобретения бициклический сахар содержит мостик 4'-CH(CH₃)-O-2'.

В некоторых вариантах реализации изобретения по меньшей мере один модифицированный нуклеозид, несущий модифицированный сахар, содержит небикалический 2'-модифицированный сахарный фрагмент.

В некоторых вариантах реализации изобретения 2'-модифицированный сахарный фрагмент содержит 2'-O-метоксиэтильную группу.

В некоторых вариантах реализации изобретения 2'-модифицированный сахарный фрагмент содержит 2'-O-метильную группу.

В некоторых вариантах реализации изобретения по меньшей мере один модифицированный нуклеозид, несущий модифицированный сахар, содержит заместитель сахара.

В некоторых вариантах реализации изобретения заместитель сахара является морфолином.

В некоторых вариантах реализации изобретения заместитель сахара является пептид-нуклеиновой кислотой.

В некоторых вариантах реализации изобретения каждый нуклеозид является модифицированным.

В некоторых вариантах реализации изобретения одноцепочечный антисмысловый олигонуклеотид содержит по меньшей мере одно модифицированное нуклеотидное основание.

В некоторых вариантах реализации изобретения модифицированное нуклеотидное основание является 5'-метилцитозином.

В некоторых вариантах реализации изобретения одноцепочечный антисмысловой олигонуклеотид содержит:

- 5 гэп-сегмент, состоящий из связанных дезоксинуклеозидов;
- сегмент 5'-крыла, состоящий из связанных нуклеозидов;
- сегмент 3'-крыла, состоящий из связанных нуклеозидов;
- при этом данный гэп-сегмент расположен непосредственно соседствующим с или
- расположен между сегментом 5'-крыла и сегментом 3'-крыла, причем каждый нуклеозид
- 10 каждого сегмента крыла содержит модифицированный сахар.

В некоторых вариантах реализации изобретения одноцепочечный антисмысловой олигонуклеотид содержит:

- гэп-сегмент, состоящий из десяти связанных дезоксинуклеозидов;
- сегмент 5'-крыла, состоящий из пяти связанных нуклеозидов;
- 15 сегмент 3'-крыла, состоящий из пяти связанных нуклеозидов;
- при этом данный гэп-сегмент расположен непосредственно соседствующим с или
- расположен между сегментом 5'-крыла и сегментом 3'-крыла, причем каждый нуклеозид
- каждого сегмента крыла содержит 2'-О-метоксиэтильный сахар; и в котором каждая
- межнуклеозидная связь является фосфоротиоатной связью.

- 20 В некоторых вариантах реализации изобретения одноцепочечный антисмысловой олигонуклеотид состоит из 15 связанных нуклеозидов.

В некоторых вариантах реализации изобретения одноцепочечный антисмысловой олигонуклеотид состоит из 16 связанных нуклеозидов.

- 25 В некоторых вариантах реализации изобретения одноцепочечный антисмысловой олигонуклеотид состоит из 17 связанных нуклеозидов.

В некоторых вариантах реализации изобретения одноцепочечный антисмысловой олигонуклеотид состоит из 18 связанных нуклеозидов.

- 30 В некоторых вариантах реализации изобретения одноцепочечный антисмысловой олигонуклеотид состоит из 19 связанных нуклеозидов.

В некоторых вариантах реализации изобретения одноцепочечный антисмысловой олигонуклеотид состоит из 20 связанных нуклеозидов.

В некоторых вариантах реализации изобретения одноцепочечный антисмысловой олигонуклеотид состоит из 21 связанного нуклеозида.

- 35 В некоторых вариантах реализации изобретения одноцепочечный антисмысловой олигонуклеотид состоит из 22 связанных нуклеозидов.

В некоторых вариантах реализации изобретения одноцепочечный антисмысловой олигонуклеотид состоит из 23 связанных нуклеозидов.

В некоторых вариантах реализации изобретения одноцепочечный антисмысловой олигонуклеотид состоит из 24 связанных нуклеозидов.

- 40 В некоторых вариантах реализации изобретения одноцепочечный антисмысловой олигонуклеотид состоит из 25 связанных нуклеозидов.

В настоящем документе описаны применения данного соединения в производстве лекарственного средства для лечения нейродегенеративного заболевания.

- 45 В данном документе предложены способы преимущественного ингибирования экспрессии транскриптов мРНК, содержащих экспансию гексануклеотидного повтора, путем обеспечения контакта клетки с антисмысловым олигонуклеотидом, нацеленным на экзон 1В в обратном направлении считывания.

Антисмысловые соединения

Олигомерные соединения включают, без ограничения: олигонуклеотиды, олигонуклеозиды, аналоги олигонуклеотидов, миметики олигонуклеотидов, антисмысловые соединения, антисмысловые олигонуклеотиды и миРНК. Олигомерное соединение может быть антисмысловым к нуклеиновой кислоте-мишени, что указывает на то, что оно способно претерпевать гибридизацию с нуклеиновой кислотой-мишенью с помощью водородных связей.

В некоторых вариантах реализации изобретения антисмысловое соединение имеет такую последовательность нуклеотидных оснований, которая записана в направлении 5'-3' и содержит обратно комплементарный фрагмент к сегменту-мишени нуклеиновой кислоты-мишени, на которую это соединение нацелено. В некоторых таких вариантах реализации изобретения антисмысловой олигонуклеотид имеет такую последовательность нуклеотидных оснований, которая записана в направлении 5'-3' и содержит обратно комплементарный фрагмент к сегменту-мишени нуклеиновой кислоты-мишени, на которую этот олигонуклеотид нацелен.

В некоторых вариантах реализации изобретения антисмысловое соединение, нацеленное на нуклеиновую кислоту C9ORF72, состоит в длину из 12-30 субъединиц. Другими словами, такие антисмысловые соединения состоят из 12-30 связанных субъединиц. В некоторых вариантах реализации изобретения данное антисмысловое соединение состоит из 8-80, 12-50, 15-30, 18-24, 19-22 или 20 связанных субъединиц. В некоторых вариантах реализации изобретения антисмысловые соединения состоят в длину из 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79 или 80 связанных субъединиц и имеют диапазон длин, определенных любыми двумя из указанных выше значений. В некоторых вариантах реализации изобретения антисмысловое соединение является антисмысловым олигонуклеотидом, а связанные субъединицы представляют собой нуклеозиды.

В некоторых вариантах реализации изобретения антисмысловые олигонуклеотиды, нацеленные на нуклеиновую кислоту C9ORF72, могут быть укороченные или усеченные. Например, может быть удалена одна субъединица с 5'-конца (5'-усечение) или в альтернативном варианте - с 3'-конца (3'-усечение). Укороченное или усеченное антисмысловое соединение, нацеленное на нуклеиновую кислоту C9ORF72, может иметь две субъединицы, удаленные с 5'-конца антисмыслового соединения или в альтернативном варианте иметь две субъединицы, удаленные с 3'-конца. В альтернативном варианте удаленные нуклеозиды могут быть распределены по всему антисмысловому соединению, например, в антисмысловом соединении имеется один удаленный нуклеозид с 5'-конца и один удаленный нуклеозид с 3'-конца.

Когда одна дополнительная субъединица присутствует в удлиненном антисмысловом соединении, то эта дополнительная субъединица может быть расположена на 5'- или 3'-конце антисмыслового соединения. Когда присутствуют две или более субъединиц, то эти добавленные субъединицы могут соседствовать друг с другом, например в антисмысловом соединении, имеющем две субъединицы, добавленные к 5'-концу (5'-добавление) или в альтернативном варианте - к 3'-концу (3'-добавление) данного антисмыслового соединения.

В альтернативном варианте добавленные субъединицы могут быть распределены по всему антисмысловому соединению, например в антисмысловом соединении имеется одна добавленная субъединица к 5'-концу и одна добавленная субъединица к 3'-концу.

Можно увеличить или уменьшить длину антисмыслового соединения, такого как

антисмысловой олигонуклеотид, и/или внедрить некомплементарные основания без исчезновения активности. Так, в статье Woolf et al. (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89: 7305-7309, 1992) наборы антисмысловых олигонуклеотидов длиной 13-25 нуклеотидных оснований исследовали на их способность индуцировать расщепление РНК-мишени в модели с инъектированием ооцитов. Антисмысловые олигонуклеотиды длиной 25 нуклеотидных оснований с 8 или 11 некомплементарными основаниями возле концов этих антисмысловых олигонуклеотидов были способны непосредственно специфически расщеплять мРНК-мишень, хоть и в меньшей степени, чем антисмысловые олигонуклеотиды, которые не содержали некомплементарные основания. Аналогичным образом специфическое расщепление мишени было достигнуто с использованием антисмысловых олигонуклеотидов размером 13 нуклеотидных оснований, включая те, которые несли 1 или 3 некомплементарные основания.

В статье Gautschi et al (J. Natl. Cancer Inst. 93: 463-471, March 2001) продемонстрирована способность олигонуклеотида, имеющего 100% комплементарность к мРНК bcl-2 и несущего 3 некомплементарных основания к мРНК bcl-xL, снижать экспрессию как гена bcl-2, так и bcl-xL в условиях *in vitro* и *in vivo*. Более того, этот олигонуклеотид продемонстрировал сильную противоопухолевую активность *in vivo*.

Авторами Maher и Dolnick (Nuc. Acid. Res. 16: 3341-3358, 1988) проверены наборы tandemных антисмысловых олигонуклеотидов из 14 нуклеотидных оснований и антисмысловых олигонуклеотидов из 28 и 42 нуклеотидных оснований, содержащих последовательность из двух или трех tandemных антисмысловых олигонуклеотидов, соответственно, относительно их способности подавлять трансляцию дегидрофолатредуктазы (DHFR) человека при анализе на ретикулоцитах кролика. Каждый из этих трех антисмысловых олигонуклеотидов размером 14 нуклеотидных оснований сам по себе был способен ингибировать трансляцию, хоть и в более ограниченной степени, чем антисмысловые олигонуклеотиды размером 28 и 42 нуклеотидных оснований.

Мотивы антисмысловых соединений

В некоторых вариантах реализации изобретения антисмысловые соединения, нацеленные на нуклеиновую кислоту C9ORF72, несут химически модифицированные субъединицы, сгруппированные в наборы, или мотивы, для того, чтобы придать антисмысловым соединениям свойства, такие как усиленная ингибирующая активность, повышенная аффинность связывания нуклеиновой кислоты-мишени или устойчивость к деградации нуклеазами *in vivo*.

Химерные антисмысловые соединения, как правило, содержат по меньшей мере один участок, модифицированный так, чтобы придать повышенную устойчивость к деградации нуклеазами, повышенное поглощение клетками, повышенную аффинность связывания нуклеиновой кислоты-мишени и/или повышенную ингибирующую активность. Второй участок химерного антисмыслового соединения произвольно может служить субстратом для клеточной эндонуклеазы - РНКазы H, которая расщепляет нить РНК в дуплексе РНК:ДНК.

Антисмысловые соединения, содержащие гэммер-мотив, считают химерными антисмысловыми соединениями. В гэммере внутренний участок, несущий множество нуклеотидов, которые обеспечивают расщепление РНКазой H, расположен между внешними участками, имеющими множество нуклеотидов, которые химически отличаются от нуклеозидов внутреннего участка. В том случае, если антисмысловой олигонуклеотид несет гэммер-мотив, то гэм-сегмент, как правило, служит в качестве субстрата для расщепления эндонуклеазами, тогда как сегменты-крылья содержат

модифицированные нуклеозиды. В некоторых вариантах реализации изобретения участки гэнмера дифференцируются по типам сахарных фрагментов, каждый из которых содержит отличающийся участок. Типы сахарных фрагментов, которые используются для дифференциации участков гэнмера, в некоторых вариантах реализации могут включать β -D-рибонуклеозиды, β -D-дезоксирибонуклеозиды, 2'-модифицированные нуклеозиды (2'-модифицированные нуклеозиды могут включать среди прочих варианты 2'-МОЕ и 2'-О-CH₃) и модифицированные бициклическим сахаром нуклеозиды (такие модифицированные бициклическим сахаром нуклеозиды могут включать те, которые содержат мостик 4'-(CH₂)_n-О-2', где n=1 или n=2, и 4'-CH₂-О-CH₂-2'). Предпочтительно, чтобы каждый отдельный участок содержал однотипные сахарные фрагменты. Мотив крыло-гэн-крыло часто описывают как «X-Y-Z», где X представляет длину участка 5'-крыла, Y представляет длину гэн-участка, а Z представляет длину участка 3'-крыла. В данном документе считается, что гэнмер, описываемый как «X-Y-Z», содержит в себе такую конфигурацию, что гэн-сегмент расположен непосредственно соседствующим с каждым сегментом 5'-крыла и сегментом 3'-крыла. Таким образом, не существует промежуточных нуклеотидов между сегментом 5'-крыла и гэн-сегментом или гэн-сегментом и сегментом 3'-крыла. Любое из антисмысловых соединений, описанных в данном документе, может содержать гэнмер-мотив. В некоторых вариантах реализации изобретения значения X и Z равны, в других вариантах они разные. В предпочтительном варианте реализации значение Y находится между 8 и 15 нуклеотидами. Значения X, Y или Z могут быть любыми из 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 30 или более нуклеотидов. Поэтому гэнмеры, описанные в данном документе, включают, без ограничения, соотношения, например: 5-10-5, 5-10-4, 4-10-4, 4-10-3, 3-10-3, 2-10-2, 5-9-5, 5-9-4, 4-9-5, 5-8-5, 5-8-4, 4-8-5, 5-7-5, 4-7-5, 5-7-4 или 4-7-4.

В некоторых вариантах реализации изобретения антисмысловое соединение имеет мотив «крыломер» с конфигурацией крыло-гэн или гэн-крыло, т.е. конфигурацию X-Y или Y-Z, как описано выше для конфигурации гэнмера. Таким образом, конфигурации гэнмера, описанные в данном документе, включают, без ограничения, например, соотношения: 5-10, 8-4, 4-12, 12-4, 3-14, 16-2, 18-1, 10-3, 2-10, 1-10, 8-2, 2-13, 5-13, 5-8 или 6-8.

В некоторых вариантах реализации изобретения антисмысловые соединения, нацеленные на нуклеиновую кислоту C9ORF72, содержат мотив гэнмера 5-10-5.

В некоторых вариантах реализации изобретения антисмысловые соединения, нацеленные на нуклеиновую кислоту C9ORF72, содержат мотив гэнмера 5-10-4.

В некоторых вариантах реализации изобретения антисмысловые соединения, нацеленные на нуклеиновую кислоту C9ORF72, содержат мотив гэнмера 4-10-4.

В некоторых вариантах реализации изобретения антисмысловые соединения, нацеленные на нуклеиновую кислоту C9ORF72, содержат мотив гэнмера 4-10-3.

В некоторых вариантах реализации изобретения антисмысловые соединения, нацеленные на нуклеиновую кислоту C9ORF72, содержат мотив гэнмера 5-9-5.

В некоторых вариантах реализации изобретения антисмысловое соединение, нацеленное на нуклеиновую кислоту C9ORF72, имеет мотив с уменьшенным гэнгом. В некоторых вариантах реализации изобретения антисмысловой олигонуклеотид с уменьшенным гэнгом, нацеленный на нуклеиновую кислоту C9ORF72, несет гэн-сегмент из 9, 8, 7 или 6 2'-дезоксирибонуклеотидов, расположенных непосредственно с соседствующими с или между сегментами-крыльями из 5, 4, 3, 2 или 1 химически

модифицированного нуклеозида. В некоторых вариантах реализации изобретения химическая модификация включает бициклический сахар. В некоторых вариантах реализации изобретения бициклический сахар содержит мостик 4'-2', выбранный из: мостика 4'-(CH₂)_n-O-2', где n равен 1 или 2, и 4'-CH₂-O-CH₂-2'. В некоторых вариантах

реализации изобретения бициклический сахар содержит мостик 4'-CH(CH₃)-O-2'. В некоторых вариантах реализации изобретения химическая модификация содержит небициклический 2'-модифицированный сахарный фрагмент. В некоторых вариантах реализации изобретения небициклический 2'-модифицированный сахарный фрагмент содержит 2'-О-метилэтильную группу или 2'-О-метильную группу.

В некоторых вариантах реализации изобретения антисмысловое соединение, нацеленное на нуклеиновую кислоту C9ORF72, модифицировано однотипным способом. В некоторых вариантах реализации изобретения антисмысловое соединение содержит 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 или 25 нуклеозидов. В некоторых вариантах реализации изобретения каждый из нуклеозидов является химически модифицированным. В некоторых вариантах реализации изобретения химическая модификация содержит небициклический 2'-модифицированный сахарный фрагмент. В некоторых вариантах реализации изобретения 2'-модифицированный сахарный фрагмент содержит 2'-О-метоксиэтильную группу. В некоторых вариантах реализации изобретения 2'-модифицированный сахарный фрагмент содержит 2'-О-метильную группу. В некоторых вариантах реализации изобретения однотипно модифицированные антисмысловые соединения могут нацеливаться на C9ORF72 или на ее любую часть, такую как экспансия гексануклеотидного повтора. В некоторых вариантах реализации изобретения, нацеливание однотипно модифицированного антисмыслового соединением на экспансию гексануклеотидного повтора снижает синтез повторов РНК путем блокирования взаимодействия с белками, связывающими РНК. В некоторых вариантах реализации изобретения это приводит к отсутствию токсичной РНК в фокусах ядер, которая вместо этого разрушается.

Нуклеиновые кислоты-мишени, участки-мишени и нуклеотидные последовательности

Нуклеотидные последовательности, которые кодируют белок C9ORF72, включают, без ограничения, следующие: комплементарные последовательности с № доступа в базе данных GENBANK NM 001256054.1 (включена в данный документ как SEQ ID NO: 1), № доступа в базе данных GENBANK NT 008413.18, усеченная от нуклеотидного основания 27535000 до 27565000 (включена в данный документ как SEQ ID NO: 2), № доступа в базе данных GENBANK BQ068108.1 (включена в данный документ как SEQ ID NO: 3), № доступа в базе данных GENBANK NM 018325.3 (включена в данный документ как SEQ ID NO: 4), № доступа в базе данных GENBANK DN993522.1 (включена в данный документ как SEQ ID NO: 5), № доступа в базе данных GENBANK NM 145005.5 (включена в данный документ как SEQ ID NO: 6), № доступа в базе данных GENBANK DB079375.1 (включена в данный документ как SEQ ID NO: 7), № доступа в базе данных GENBANK BU 194591.1 (включена в данный документ как SEQ ID NO: 8), идентификатор последовательности 4141014 A (включена в данный документ как SEQ ID NO: 9) и идентификатор последовательности 4008 73 A (включена в данный документ как SEQ ID NO: 10).

Последовательность, описанная под каждым из SEQ ID NO в Примерах, содержащихся в данном документе, не зависит от любой модификации сахарного фрагмента, межнуклеозидной связи или нуклеотидного основания. Как таковое антисмысловое соединение, определенное SEQ ID NO, независимо может содержать одну или более модификаций сахарного фрагмента, межнуклеозидной связи или

нуклеотидного основания. Антисмысловые соединения, описанные под номером Isis (№ Isis - нумерация компании Isis Pharmaceutical), указывают на комбинацию последовательности нуклеотидных оснований и мотива.

В некоторых вариантах реализации изобретения участок-мишень представляет собой структурно определенный участок нуклеиновой кислоты-мишени. Например, участок-мишень может охватывать 3'-нетранслируемый участок, 5'-нетранслируемый участок, экзон, интрон, соединение экзона/интрона, кодирующий участок, участок инициации трансляции, участок терминации трансляции или другой определенный участок нуклеиновой кислоты. Структурно определенные участки C9ORF72 могут быть получены по номеру доступа из баз данных последовательностей, таких как NCBI, и такая информация внесена в данный документ посредством ссылки. В некоторых вариантах реализации изобретения участок-мишень может охватывать последовательность от сайта-мишени 5' одного сегмента-мишени в пределах участка-мишени до сайта-мишени 3' другого сегмента-мишени в пределах такого же участка-мишени.

Нацеливание включает определение по меньшей мере одного сегмента-мишени, с которым гибридизируется антисмысловое соединение, вследствие чего проявляется требуемое действие. В некоторых вариантах реализации изобретения требуемое действие заключается в снижении уровней мРНК нуклеиновой кислоты-мишени. В некоторых вариантах реализации изобретения требуемое действие заключается в снижении уровней белка, кодируемого нуклеиновой кислотой-мишенью, или фенотипическом изменении, ассоциированным с нуклеиновой кислотой-мишенью.

Участок-мишень может содержать один или более сегментов-мишеней. Множество сегментов-мишеней в пределах участка-мишени могут быть перекрывающимися. В альтернативном варианте они могут быть неперекрывающимися. В некоторых вариантах реализации изобретения сегменты-мишени в пределах участка-мишени разделены не более чем около 300 нуклеотидами. В некоторых вариантах реализации изобретения сегменты-мишеней в пределах участка-мишени разделены количеством нуклеотидов, которое равно, равно около, равно не более чем, равно не более чем около 250, 200, 150, 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20 или 10 нуклеотидам на нуклеиновой кислоте-мишени или является диапазоном, определенным любым из двух предыдущих значений. В некоторых вариантах реализации изобретения сегменты-мишени в пределах участка-мишени разделены не более чем или не более чем около 5 нуклеотидами на нуклеиновой кислоте-мишени. В некоторых вариантах реализации изобретения сегменты-мишени являются последовательными. Подразумеваются участки-мишени, определенные диапазоном, содержащим иницирующую нуклеиновую кислоту, которая является любым из сайтов-мишеней 5' или сайтов-мишеней 3', перечисленных в данном документе.

Подходящие сегменты-мишени могут быть найдены в пределах 5'-нетранслируемого участка, 3'-нетранслируемого участка, интрона, экзона, соединения экзона/интрона. Сегменты-мишени, содержащие иницирующий кодон или терминирующий кодон также являются подходящими в качестве сегментов-мишеней. Подходящий сегмент-мишень может специально исключать обозначенный структурно определенный участок, такой как иницирующий кодон или терминирующий кодон.

Установление подходящих сегментов-мишеней предполагает сравнение последовательности нуклеиновой-кислоты мишени с другими последовательностями всего генома. Например, алгоритм BLAST может использоваться для идентификации участков сходства среди разных нуклеиновых кислот. Это сравнение может предотвратить выбор последовательностей антисмысловых соединений, которые могут

неспецифическим путем гибридизироваться с последовательностями, отличающимися от выбранной нуклеиновой кислоты-мишени (т.е. нецелевыми или нечетко целевыми последовательностями).

5 Существуют вариации активности (например, которые определяют по проценту снижения уровней нуклеиновых кислот-мишеней) антисмысловых соединений в пределах участка-мишени. В некоторых вариантах реализации изобретения снижения уровней мРНК C9ORF72 указывают на ингибирование экспрессии C9ORF72. Уменьшение уровней белка C9ORF72 указывает также на ингибирование экспрессии мРНК-мишени. Уменьшение фокусов в присутствии удлиненной РНК C9ORF72 указывает на
10 ингибирование экспрессии C9ORF72. Дополнительно на ингибирование экспрессии C9ORF72 указывают фенотипические изменения. Например, улучшенная двигательная функция и дыхание могут указывать на ингибирование экспрессии C9ORF72.

Гибридизация

В некоторых вариантах реализации изобретения гибридизация происходит между
15 антисмысловым соединением, описанным в данном документе, и нуклеиновой кислотой C9ORF72. Наиболее распространенный механизм гибридизации вовлекает водородные связи (например, водородные связи по Уотсону-Крику, Хугстину или обращенные связи по Хугстину) между комплементарными нуклеотидными основаниями молекул нуклеиновых кислот.

20 Гибридизация может проходить в различных условиях. Жесткие условия зависят от последовательности и определяются природой и составом молекул нуклеиновых кислот, требующих гибридизации.

Способы определения того, способна ли последовательность специфически гибридизироваться с нуклеиновой кислотой-мишенью, хорошо известны в данной
25 области. В некоторых вариантах реализации изобретения антисмысловые соединения, предложенные в данном документе, способны специфически гибридизироваться с нуклеиновой кислотой C9ORF72.

Комплементарность

Антисмысловое соединение и нуклеиновая кислота-мишень комплементарны друг
30 другу, если достаточное количество нуклеотидных оснований антисмыслового соединения может образовать водородную связь с соответствующими нуклеотидными основаниями нуклеиновой кислоты-мишени так, что будет проявляться требуемое действие (например, антисмысловое ингибирование нуклеиновой кислоты-мишени, такой, как нуклеиновой кислоты C9ORF72).

35 Некомплементарные нуклеотидные основания между антисмысловым соединением и нуклеиновой кислотой C9ORF72 могут быть приемлемыми при условии, что данное антисмысловое соединение остается способным специфически гибридизироваться с нуклеиновой кислотой-мишени. Более того, антисмысловое соединение может гибридизироваться на протяжении одного или более сегментов нуклеиновой кислоты
40 C9ORF72 так, что промежуточные или соседствующие сегменты не вовлекаются в это гибридизационное событие (например, петлевая структура, некомплементарная или шпильковая структура).

В некоторых вариантах реализации изобретения антисмысловые соединения, представленные в данном документе, или их определенная часть, являются или по
45 меньшей мере являются на 70, 80, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% комплементарными нуклеиновой кислоте C9ORF72, сегменту-мишени или их определенной части. Процент комплементарности антисмыслового соединения с нуклеиновой кислотой-мишенью может быть определен с использованием традиционных

способов.

Например, антисмысловое соединение, в котором 18 из 20 нуклеотидных оснований антисмыслового соединения являются комплементарными участку-мишени, и поэтому может специфически гибридизироваться, будет представлять комплементарность на 5 90%. В этом примере оставшиеся некомплемтарные нуклеотидные основания могут быть собраны в кластеры или рассеяны с комплементарными нуклеотидными основаниями и не требуют последовательного расположения друг к другу или к комплементарным нуклеотидным основаниям. Как таковое антисмысловое соединение, которое содержит в длину 18 нуклеотидных оснований, имеющее 4 (четыре) 10 некомплемтарных нуклеотидных оснований, которые фланкированы двумя участками с полной комплементарностью к нуклеиновой кислоте-мишени, может иметь 77,8% общей комплементарности с нуклеиновой кислотой-мишенью, и поэтому должно попадать в пределы объема настоящего изобретения. Процент комплементарности антисмыслового соединения с участком нуклеиновой кислоты-мишени может быть 15 определен традиционным способом с использованием программ BLAST (основные инструменты исследования для локального выравнивания) и программ Power BLAST, известных в данной области (Altschul et al., J. Mol. Biol., 1990, 215,403 410; Zhang and Madden, Genome Res., 1997, 7, 649 656). Процент гомологии, идентичность последовательностей или комплементарность, могут быть определены, например, 20 программой Gap (Wisconsin Sequence Analysis Package, версия 8 для Unix, Genetics Computer Group, University Research Park, Madison Wis.), используя установки по умолчанию, которая применяет алгоритм Смита и Уотермана (Adv. Appl. Math., 1981, 2,482489).

В некоторых вариантах реализации изобретения антисмысловые соединения, представленные в данном документе, или их определенные части, являются полностью 25 комплементарными (т.е. на 100% комплементарными) нуклеиновой кислоте-мишени или ее определенной части. Например, антисмысловое соединение может быть полностью комплементарным нуклеиновой кислоте C9ORF72, или участку-мишени, или сегменту-мишени или ее последовательности-мишени. В данном документе считается, что «полностью комплементарный» обозначает, что каждое нуклеотидное основание 30 антисмыслового соединения способно к точному спариванию оснований с соответствующими нуклеотидными основаниями нуклеиновой кислоты-мишени. Например, антисмысловое соединение размером 20 нуклеотидных оснований является полностью комплементарным последовательности-мишени, которая в длину составляет 400 нуклеотидных оснований, поскольку имеется соответствующая часть из 20 35 нуклеотидных оснований нуклеиновой кислоты-мишени, которая полностью комплементарна данному антисмысловому соединению. Полная комплементарность также может быть использована в сравнении с определенной частью первой и/или второй нуклеиновой кислоте. Например, часть размером 20 нуклеотидных оснований антисмыслового соединения размером 30 нуклеотидных оснований может быть 40 полностью комплементарной последовательности-мишени, которая в длину составляет 400 нуклеотидных оснований. Часть размером 20 нуклеотидных оснований антисмыслового соединения размером 30 нуклеотидных оснований полностью комплементарна последовательности-мишени, если последовательность-мишень имеет соответствующую часть размером 20 нуклеотидных оснований, в которой каждое 45 нуклеотидное основание является комплементарным части размером 20 нуклеотидных оснований этого антисмыслового соединения. В то же время целое антисмысловое соединение размером 30 нуклеотидных оснований может или не может быть полностью комплементарным последовательности-мишени, в зависимости от того, комплементарны

ли также оставшиеся 10 нуклеотидных оснований антисмыслового соединения последовательности-мишени.

Размещение некомплементарного нуклеотидного основания может находиться на 5'-конце или 3'-конце данного антисмыслового соединения. В альтернативном варианте некомплементарное нуклеотидное основание или нуклеотидные основания могут находиться в антисмысловом соединении во внутреннем положении. Когда присутствуют два или более некомплементарных нуклеотидных оснований, они могут быть последовательными (т.е. связанными) или непоследовательными. В одном варианте реализации изобретения некомплементарное нуклеотидное основание расположено на сегменте-крыле гэтмера антисмыслового олигонуклеотида.

В некоторых вариантах реализации изобретения антисмысловые соединения, которые в длину составлены из или составлены из вплоть до 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 нуклеотидных оснований, содержат не более 4, не более 3, не более 2 или не более 1 некомплементарного(ых) нуклеотидного(ых) основания(ий) по сравнению с нуклеиновой кислотой-мишенью, такой, как нуклеиновая кислота C9ORF72, или ее определенной частью.

В некоторых вариантах реализации изобретения антисмысловые соединения, которые в длину составлены из или составлены из вплоть до 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 или 30 нуклеотидных оснований, содержат не более 6, не более 5, не более 4, не более 3, не более 2 или не более 1 некомплементарного(ых) нуклеотидного(ых) основания(ий) по сравнению с нуклеиновой кислотой-мишенью, такой, как нуклеиновая кислота C9ORF72, или ее определенной частью.

Антисмысловые соединения, предложенные в данном документе, также содержат те, которые комплементарны части нуклеиновой кислоты-мишени. В данном документе считается, что «часть» относится к определенному количеству последовательных (т.е. связанных) нуклеотидных оснований в пределах участка или сегмента нуклеиновой кислоты-мишени. «Часть» может также относиться к определенному количеству последовательных нуклеотидных оснований антисмыслового соединения. В некоторых вариантах реализации изобретения антисмысловые соединения являются комплементарными по меньшей мере части сегмента-мишени размером 8 нуклеотидных оснований. В некоторых вариантах реализации изобретения антисмысловые соединения являются комплементарными по меньшей мере части сегмента-мишени размером 9 нуклеотидных оснований. В некоторых вариантах реализации изобретения антисмысловые соединения являются комплементарными по меньшей мере части сегмента-мишени размером 10 нуклеотидных оснований. В некоторых вариантах реализации изобретения антисмысловые соединения являются комплементарными по меньшей мере части сегмента-мишени размером 11 нуклеотидных оснований. В некоторых вариантах реализации изобретения антисмысловые соединения являются комплементарными по меньшей мере части сегмента-мишени размером 12 нуклеотидных оснований. В некоторых вариантах реализации изобретения антисмысловые соединения являются комплементарными по меньшей мере части сегмента-мишени размером 13 нуклеотидных оснований. В некоторых вариантах реализации изобретения антисмысловые соединения являются комплементарными по меньшей мере части сегмента-мишени размером 14 нуклеотидных оснований. В некоторых вариантах реализации изобретения антисмысловые соединения являются комплементарными по меньшей мере части сегмента-мишени размером 15 нуклеотидных оснований. Подразумеваются также антисмысловые соединения, которые комплементарны части из по меньшей мере 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или более нуклеотидных

оснований сегменту-мишени или из диапазона, определенного любыми двумя из этих значений.

Идентичность

Антисмысловые соединения, предложенные в данном документе, также могут иметь определенный процент идентичности с конкретной нуклеотидной последовательностью, SEQ ID NO, или соединением, представленным специальным номером Isis, или его частью. В данном документе считается, что антисмысловое соединение является идентичным последовательности, описанной в данном документе, если оно имеет такую же способность к спариванию нуклеотидных оснований. Например, РНК, которая в описанной последовательности ДНК содержит урацил вместо тимидина, будет считаться идентичной последовательности ДНК, поскольку и урацил и тимидин образуют пару с аденином. Подразумеваются также укороченные и удлиненные версии антисмысловых соединений, описанные в данном документе, а также соединения, имеющие неидентичные основания по сравнению с антисмысловыми соединениями, описанными в данном документе. Неидентичные основания могут соседствовать друг с другом или быть распределенными по всему антисмысловому соединению. Процент идентичности антисмыслового соединения рассчитывают в соответствии с количеством соединений, которые имеют идентичное спаривание оснований по сравнению с последовательностью, с которой оно сопоставляется.

В некоторых вариантах реализации изобретения антисмысловые соединения или их части являются или по меньшей мере на 70, 75, 80, 85, 90, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентичными одному или большему количеству антисмысловых соединений или последовательностям SEQ ID NO, или их частям, описанным в данном документе.

В некоторых вариантах реализации изобретения часть антисмыслового соединения сравнивается с частью равной длины нуклеиновой кислоты-мишени. В некоторых вариантах реализации изобретения часть размером 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 или 25 нуклеотидных оснований сравнивается с частью равной длины нуклеиновой кислоты-мишени.

В некоторых вариантах реализации изобретения часть антисмыслового олигонуклеотида сравнивается с частью равной длины нуклеиновой кислоты-мишени. В некоторых вариантах реализации изобретения часть размером 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 или 25 нуклеотидных оснований сравнивается с частью равной длины нуклеиновой кислоты-мишени.

Модификации

Нуклеозид представляет собой комбинацию основания-сахара. Часть нуклеотидного основания (известного как основание) нуклеозида обычно является фрагментом гетероциклического основания. Нуклеотиды являются нуклеозидами, которые дополнительно содержат фосфатную группу, ковалентно связанную с сахарной частью нуклеозида. Для тех нуклеозидов, которые включают пентофуранозильный сахар, фосфатная группа может быть присоединена к 2', 3' или 5'-гидроксильному фрагменту сахара. Олигонуклеотиды образуются посредством ковалентного связывания соседствующих друг с другом нуклеозидов с образованием линейного полимерного олигонуклеотида. В пределах олигонуклеотидной структуры фосфатные группы обычно считаются образующими межнуклеозидные связи данного олигонуклеотида.

Модификации антисмысловых соединений охватывают замены или изменения межнуклеозидных связей, сахарных фрагментов или нуклеотидных оснований. Модифицированные антисмысловые соединения часто преобладают над природными формами, потому что обладают требуемыми свойствами, такими, как, например,

усиленное поглощение клетками, усиленная аффинность к нуклеиновой кислоте-мишени, повышенная стабильность в присутствии нуклеаз или повышенная ингибиторная активность.

Химически модифицированные нуклеозиды могут применяться и для увеличения аффинности связывания укороченного или усеченного антисмыслового олигонуклеотида с нуклеиновой кислотой-мишенью. Следовательно, сопоставимые результаты часто могут быть получены с более короткими антисмысловыми соединениями, которые несут такие химически модифицированные нуклеозиды.

Модифицированные межнуклеозидные связи

Встречающаяся в природе межнуклеозидная связь РНК и ДНК представляет собой 3' 5' фосфодиэфирную связь. Антисмысловые соединения, содержащие одну или более модифицированных, такие, что не встречаются в природе, межнуклеозидных связей чаще выбираются для антисмысловых соединений, содержащих встречающиеся в природе межнуклеозидные связи, потому что обладают требуемыми свойствами, такими, как, например, усиленное поглощение клетками, усиленная аффинность к нуклеиновым кислотам-мишеням и повышенная стабильность в присутствии нуклеаз.

Олигонуклеотиды, имеющие модифицированные межнуклеозидные связи, включают межнуклеозидные связи, которые сохраняют атом фосфора, а также межнуклеозидные связи, которые не содержат атом фосфора. Межнуклеозидные связи, содержащие типичный фосфор, включают без ограничения, фосфодиэфиры, фосфотриэфиры, метилфосфонаты, фосфорамидат и фосфоротиоаты. Способы получения содержащих фосфор и не содержащих фосфор связей хорошо известны.

В некоторых вариантах реализации изобретения антисмысловые соединения, нацеленные на нуклеиновую кислоту C9ORF72, содержат одну или более модифицированных межнуклеозидных связей. В некоторых вариантах реализации изобретения модифицированные межнуклеозидные связи являются рассеянными по всему антисмысловому соединению. В некоторых вариантах реализации изобретения модифицированные межнуклеозидные связи являются фосфоротиоатными связями. В некоторых вариантах реализации изобретения каждая межнуклеозидная связь антисмыслового соединения является фосфоротиоатной межнуклеозидной связью.

Модифицированные сахарные фрагменты

Антисмысловые соединения выборочно могут содержать один или более нуклеозидов, в которых каждая сахарная группа была модифицирована. Такие модифицированные сахаром нуклеозиды могут придавать антисмысловым соединениям повышенную стабильность к нуклеазам, увеличенную аффинность связывания или некоторые другие полезные биологические свойства. В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеозиды содержат химически модифицированные фрагменты рибофуранозных колец. Примеры химически модифицированных рибофуранозных колец включают, без ограничения, добавление замещающих групп (включая 5'- и 2'-замещающие группы, образование мостиков из негеминальных атомов колец с образованием бициклических нуклеиновых кислот (BNA), замещение атома кислорода рибозильного кольца S, N(R) или C(R₁)(R₂) (R, R₁ и R₂ - независимо друг от друга являются H, C₁-C₁₂ алкильной или защитной группой) или их комбинациями. Примеры химически модифицированных сахаров включают 2'-F-5'-метилзамещенный нуклеозид (см. международную заявку РСТWO 2008/101157, опубликованную 21 августа 2008 г. для других описанных 5', 2'-бисзамещенных нуклеозидов) или замещение атома кислорода рибозильного кольца атомом S с последующим замещением положения 2' (см. опубликованную патентную заявку США US 2005-0130923, опубликованную 16 июня 2005 г.) или в альтернативном

варианте 5'-замещение BNA (см. международную заявку PCTWO 2007/134181, опубликованную 22 ноября 2007 г., в которой LNA (блокированная нуклеиновая кислота) замещена, например, 5'-метильной или 5'-винильной группой).

Примеры нуклеозидов, содержащих модифицированные сахарные фрагменты, включают, без ограничения, нуклеозиды, содержащие 5'-винил, 5'-метил (R или S), 4'-S, 2'-F, 2'-OCH₃, 2'-OCH₂CH₃, 2'-OCH₂CH₂F и 2'-O(CH₂)₂OCH₃ замещающие группы.

Заместитель в положении 2' также может быть выбран из: аллил, amino, азидо, тию, O-аллил, O-C₁-C₁₀ алкил, OCF₃, OCH₂F, O(CH₂)₂SCH₃, O(CH₂)₂-O-N(R_m)(R_n), O-CH₂-C(=O)-N(R_m)(R_n), и O-CH₂-C(=O)-N(R₁)-(CH₂)₂-N(R_m)(R_n), где каждый радикал R₁, R_m и R_n является независимо H или замещенным или незамещенным C₁-C₁₀ алкилом.

В данном документе считается, что термин «бициклический нуклеозид» относится к модифицированному нуклеозиду, содержащему бициклический сахарный фрагмент. Примеры бициклических нуклеозидов включают, без ограничения, нуклеозиды, содержащие мостик между атомами 4' и 2' рибозильного кольца. В некоторых вариантах реализации изобретения антисмысловые соединения, предложенные в данном документе, включают один или более бициклических нуклеозидов, содержащих мостик между атомами 4'-2'.

Примеры таких связанных мостиками 4'-2' бициклических нуклеозидов, включают без ограничения одну из формул: 4'-(CH₂)-O-2' (LNA); 4'-(CH₂)-S-2'; 4'-(CH₂)₂-O-2' (ENA - нуклеиновые кислоты, связанные 4'-этиленовым мостиком); 4'-CH(CH₃)-O-2' и 4'-CH(CH₂OCH₃)-O-2' (и их аналоги, см. патент США 7399845, выданный 15 июля 2008 г.); 4'-C(CH₃)(CH₃)-O-2' (и ее аналоги, см. опубликованную международную заявку WO/2009/006478, опубликованную 8 января 2009 г.); 4'-CH₂-N(OCH₃)-2' (и ее аналоги, см. международную заявку WO/2008/150729, опубликованную 11 декабря 2008 г.); 4'-CH₂-O-N(CH₃)-2' (см. заявку на патент США US 2004-0171570, опубликованную 2 сентября 2004 г.); 4'-CH₂-N(R)-O-2', где R является H, C₁-C₁₂-алкилом или защитной группой (см. патент США 7427672, выданный 23 сентября 2008 г.); 4'-CH₂-C(H)(CH₃)-2' (см. статью Chattopadhyaya et al, J. Org. Chem., 2009, 74, 118-134) и 4'-CH₂-C(=CH₂)-2' (и ее аналоги см. международную заявку WO 2008/154401, опубликованную 8 декабря 2008 г.).

Дополнительные отчеты, касающиеся бициклических нуклеозидов также могут быть найдены в опубликованной литературе (см., например, статьи: Singh et al., Chem. Commun., 1998, 4, 455-456; Koshkin et al, Tetrahedron, 1998, 54, 3607-3630; Wahlestedt et al, Proc. Natl Acad. Sci. U.S.A., 2000, 97, 5633-5638; Kumar et al, Bioorg. Med. Chem. Lett., 1998, 8, 2219-2222; Singh et al, J. Org. Chem., 1998, 63, 10035-10039; Srivastava et al, J. Am. Chem. Soc., 2007, 129(26) 8362-8379; Elayadi et al, Curr. Opin. Invest. Drugs, 2001, 2, 558-561; Braasch et al, Chem. Biol, 2001, 8, 1-7; и Orum et al, Curr. Opin. Mol Ther., 2001, 3, 239-243; патенты США №№ 6268490; 6525191; 6670461; 6770748; 6794499; 7034133; 7053207; 7399845; 7547684 и 7696345; публикации патента США № US 2008-0039618; US 2009-0012281; серии патентов США №№ 60/989574; 61/026995; 61/026998; 61/056564; 61/086231; 61/097787 и 61/099844; опубликованные международные заявки PCT WO 1994/014226; WO 2004/106356; WO 2005/021570; WO 2007/134181; WO 2008/150729; WO 2008/154401 и WO 2009/006478. Каждый из предыдущих бициклических нуклеозидов может быть получен с содержанием одного или более конфигураций стереохимических сахаров, включая, например, α-L-рибофуранозу и β-D-рибофуранозу (см. международную заявку PCT - PCT/DK98/00393, опубликованную 25 марта 1999 г. как заявка WO 99/14226).

В некоторых вариантах реализации изобретения бициклические сахарные фрагменты нуклеозидов BNA включают без ограничений, соединения, содержащие по меньшей мере один мостик между положениями 4' и 2' пентофуранозного сахарного фрагмента, в котором такие мостики независимо содержат 1 или от 2 до 4 связанных групп, независимо выбранных из $-[C(R_a)(R_b)]_n-$, $-C(R_a)=C(R_b)-$, $-C(R_a)=N-$, $-C(=O)-$, $-C(=NR_a)-$, $-C(=S)-$, $-O-$, $-Si(R_a)_2-$, $-S(=O)_x-$ и $-N(R_a)-$;

где

x равен 0, 1 или 2;

n равен 1, 2, 3 или 4;

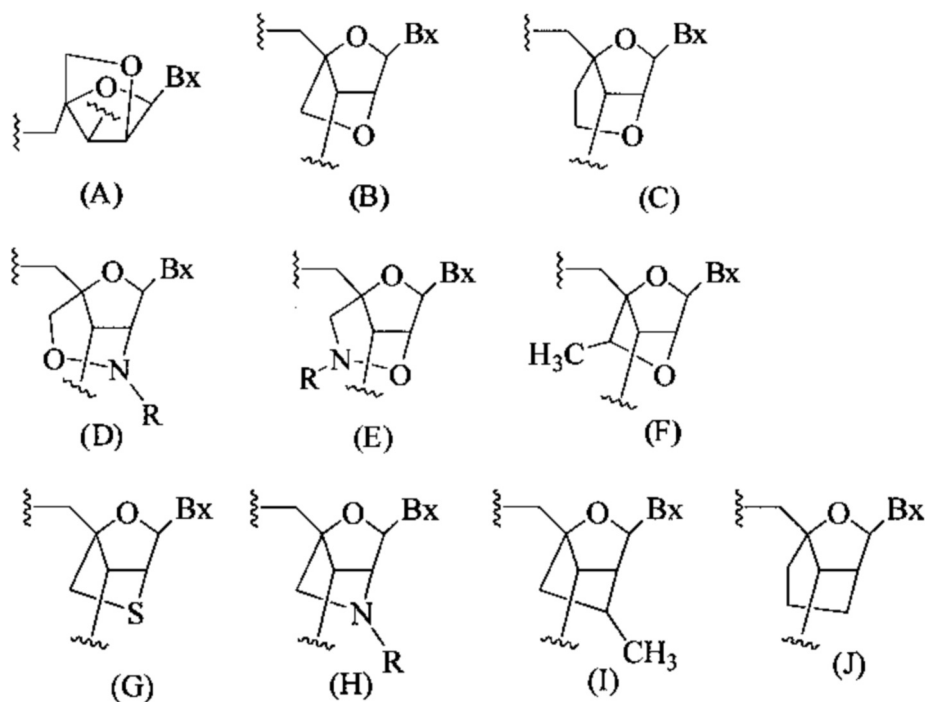
каждый радикал R_a и R_b независимо является H, защитной группой, гидроксилом, C_1 - C_{12} -алкилом, замещенным C_1 - C_{12} -алкилом, C_2 - C_{12} -алкенилом, замещенным C_2 - C_{12} -алкенилом, C_2 - C_{12} -алкинилом, замещенным C_2 - C_{12} -алкинилом, C_5 - C_{20} -арилом, замещенным C_5 - C_{20} -арилом, гетероциклическим радикалом, замещенным гетероциклическим радикалом, гетероарилом, замещенным гетероарилом, C_5 - C_7 -алициклическим радикалом, замещенным C_5 - C_7 -алициклическим радикалом, галогеном, OJ_1 , NJ_1J_2 , SJ_1 , N_3 , $COOJ_1$, ацилом ($C(=O)-H$), замещенным ацилом, CN, сульфонилом ($S(=O)_2-J_1$) или сульфоксилом ($S(=O)-J_1$) и

каждый заместитель J_1 и J_2 независимо является H, C_1 - C_{12} -алкилом, замещенным C_1 - C_{12} -алкилом, C_2 - C_{12} -алкенилом, замещенным C_2 - C_{12} -алкенилом, C_2 - C_{12} -алкинилом, замещенным C_2 - C_{12} -алкинилом, C_5 - C_{20} -арилом, замещенным C_5 - C_{20} -арилом, ацилом ($C(=O)-H$), замещенным ацилом, гетероциклическим радикалом, замещенным гетероциклическим радикалом, C_1 - C_{12} -аминоалкилом, замещенным C_1 - C_{12} -аминоалкилом или защитной группой.

В некоторых вариантах реализации изобретения мостик бициклического сахарного фрагмента является структурой $-[C(R_a)(R_b)]_n-$, $-[C(R_a)(R_b)]_n-O-$, $-C(R_aR_b)-N(R)-O-$ или $-C(R_aR_b)-O-N(R)-$. В некоторых вариантах реализации изобретения этот мостик представляет собой структуры 4'- CH_2 -2', 4'-(CH_2)₂-2', 4'-(CH_2)₃-2', 4'- CH_2 -O-2', 4'-(CH_2)₂-O-2', 4'- CH_2 -O-N(R)-2' и 4'- CH_2 -N(R)-O-2', где каждый R независимо является H, защитной группой или C_1 - C_{12} -алкилом.

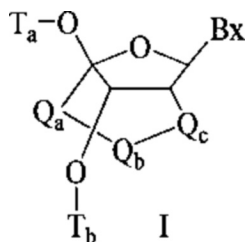
В некоторых вариантах реализации изобретения бициклические нуклеозиды являются дополнительно определенные их изомерной конфигурацией. К примеру, нуклеозид, содержащий 4'-2'-метиленокси мостик, может быть в конфигурации α -L или β -D. Ранее, α -L-метиленокси (4'- CH_2 -O-2') BNA были включены в антисмысловые олигонуклеотиды, которые показали антисмысловую активность (Frieden et al, Nucleic Acids Research, 2003, 21, 6365-6372).

В некоторых вариантах реализации изобретения бициклические нуклеозиды включают, без ограничения, (A) α -L-метиленокси(4'- CH_2 -O-2') BNA, (B) β -D-метиленокси (4'- CH_2 -O-2') BNA, (C) этиленокси(4'-(CH_2)₂-O-2') BNA, (D) аминокси (4'- CH_2 -O-N(R)-2') BNA, (E) оксиамино (4'- CH_2 -N(R)-O-2') BNA и (F) метил(метиленокси) (4'-CH(CH_3)-O-2') BNA, (G) метилентио (4'- CH_2 -S-2') BNA, (H) метиленамино (4'- CH_2 -N(R)-2') BNA, (I) метилкарбоцикло (4'- CH_2 -CH(CH_3)-2') BNA и (J) пропиленкарбоцикло (4'-(CH_2)₃-2') BNA, как изображено ниже.



где Bx является фрагментом основания, а R независимо является H, защитной группой или C₁-C₁₂-алкилом.

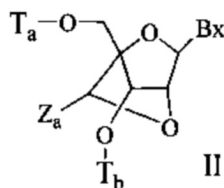
В некоторых вариантах реализации изобретения предложенные бициклические нуклеозиды имеют Формулу I:



где
 Bx является фрагментом гетероциклического основания;
 -Q_a-Q_b-Q_c- представляют структуры -CH₂-N(R_c)-CH₂-, -C(=O)-N(R_c)-CH₂-, -CH₂-O-N(R_c), -CH₂-N(R_c)-O- или -N(R_c)-O-CH₂;

R_c является C₁-C₁₂-алкилом или аминозащитной группой; и
 заместители T_a и T_b являются каждый независимо H, гидроксилзащитной группой, конъюгирующей группой, реакционно-способной фосфорной группой, фосфорным фрагментом или ковалентным соединением с веществом подложки.

В некоторых вариантах реализации изобретения предложенные бициклические нуклеозиды имеют Формулу II:



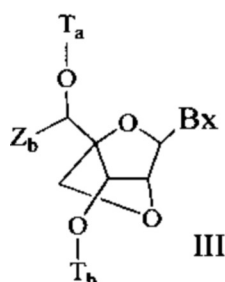
где
 Bx является фрагментом гетероциклического основания;
 T_a и T_b являются каждый независимо H, гидроксилзащитной группой,

конъюгирующей группой, реакционно-способной фосфорной группой, фосфорным фрагментом или ковалентным соединением с веществом подложки.

Z_a является C_1 - C_6 -алкилом, C_2 - C_6 -алкенилом, C_2 - C_6 -алкинилом, замещенным C_1 - C_6 -алкилом, замещенным C_2 - C_6 -алкенилом, замещенным C_2 - C_6 -алкинилом, ацилом, замещенным ацилом, замещенным амидом, тиолом или замещенным тиолом.

В одном варианте реализации изобретения каждая из замещающих групп независимо является моно- или полизамещенной с замещающими группами, независимо выбранными из галоген, оксо, гидроксил, OJ_c , NJ_cJ_d , SJ_c , N_3 , $OC(=X)J_c$ и $NJ_eC(=X)NJ_cJ_d$ групп, где каждый заместитель J_c , J_d и J_e независимо является H , C_1 - C_6 -алкилом или замещенным C_1 - C_6 -алкилом, а X является O или NJ_c .

В некоторых вариантах реализации изобретения предложенные бициклические нуклеозиды имеют Формулу III:



где

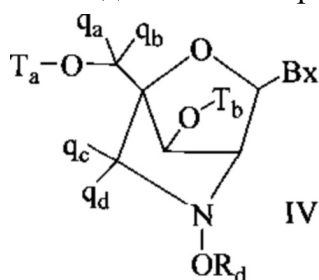
Bx является фрагментом гетероциклического основания;

T_a и T_b являются каждый независимо H , гидроксилзащитной группой,

конъюгирующей группой, реакционно-способной фосфорной группой, фосфорным фрагментом или ковалентным соединением с веществом подложки.

Z_b является C_1 - C_6 -алкилом, C_2 - C_6 -алкенилом, C_2 - C_6 -алкинилом, замещенным C_1 - C_6 -алкилом, замещенным C_2 - C_6 -алкенилом, замещенным C_2 - C_6 -алкинилом или замещенным ацилом ($C(=O)-$).

В некоторых вариантах реализации изобретения предложенные бициклические нуклеозиды имеют Формулу IV:



где

Bx является фрагментом гетероциклического основания;

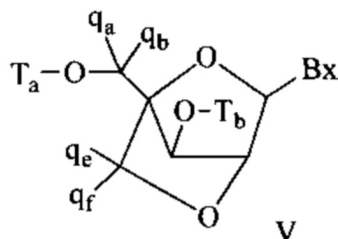
T_a и T_b являются каждый независимо H , гидроксилзащитной группой,

конъюгирующей группой, реакционно-способной фосфорной группой, фосфорным фрагментом или ковалентным соединением с веществом подложки.

R_d является C_1 - C_6 -алкилом, замещенным C_1 - C_6 -алкилом, C_2 - C_6 -алкенилом, замещенным C_2 - C_6 -алкенилом, C_2 - C_6 -алкинилом или замещенным C_2 - C_6 -алкинилом; каждый заместитель q_a , q_b , q_c и q_d является независимо H , галогеном, C_1 - C_6 -алкилом,

замещенным C₁-C₆-алкилом, C₂-C₆-алкенилом, замещенным C₂-C₆-алкенилом, C₂-C₆-алкинилом или замещенным C₂-C₆-алкинилом, C₁-C₆-алкоксилем, замещенным C₁-C₆-алкоксилем, ацилом, замещенным ацилом, C₁-C₆-аминоалкилом или замещенным C₁-C₆-аминоалкилом.

В некоторых вариантах реализации изобретения предложенные бициклические нуклеозиды имеют Формулу V:



где

Bx является фрагментом гетероциклического основания;

T_a и T_b являются каждый независимо H, гидроксилзащитной группой, конъюгирующей группой, реакционно-способной фосфорной группой, фосфорным фрагментом или ковалентным соединением с веществом подложки.

заместители q_a, q_b, q_e и q_f являются каждый независимо водородом, галогеном, C₁-C₁₂-алкилом, замещенным C₂-C₁₂-алкилом, C₂-C₁₂-алкенилом, замещенным C₂-C₁₂-алкенилом, C₂-C₁₂-алкинилом, замещенным C₂-C₁₂-алкинилом, C₁-C₁₂-алкокси, замещенной C₁-C₁₂-алкокси, OJ_j, SJ_j, SOJ_j, SO₂J_j, NJ_jJ_k, N₃, CN, C(=O)OJ_j, C(=O)NJ_jJ_k, C(=O)J_j, O-C(=O)NJ_jJ_k, N(H)C(=NH)NJ_jJ_k, N(H)C(=O)NJ_jJ_k или N(H)C(=S)NJ_jJ_k группами;

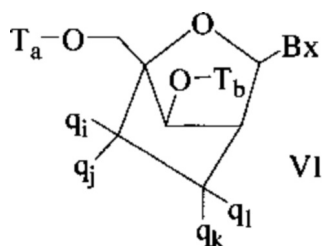
или q_e и q_f вместе являются =C(q_g)(q_h);

q_g и q_h являются каждый независимо H, галогеном, C₁-C₁₂-алкилом или замещенным C₁-C₁₂-алкилом.

Были описаны синтез и получение метиленокси-(4'-CH₂-O-2')-мономеров BNA аденина, цитозина, гуанина, 5-метилцитозина, тимина и урацила, вместе с их олигомеризацией, и свойства распознавания нуклеиновых кислот (Koshkin et al, Tetrahedron, 1998, 54, 3607-3630). BNA и их получение также описаны в заявках WO 98/39352 и WO 99/14226.

Также были получены аналоги метиленокси-(4'-CH₂-O-2') BNA и 2'-тио-BNA (Kumar et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 1998, 8, 2219-2222). Также было описано получение блокированных нуклеозидных аналогов, содержащих олигодезоксирибонуклеотидные дуплексы в качестве субстратов для полимераз нуклеиновых кислот (Wengel et al., WO 99/14226). Более того, в данной области был описан синтез 2'-амино-BNA, нового конформационно ограниченного высокоаффинного олигонуклеотидного аналога (Singh et al, J. Org. Chem., 1998, 63, 10035-10039). В дополнение были получены 2'-амино- и 2'-метиламино-BNA, а ранее сообщили о термической стабильности таких дуплексов с комплементарными цепями РНК и ДНК.

В некоторых вариантах реализации изобретения предложенные бициклические нуклеозиды имеют Формулу VI:



где

Bx является фрагментом гетероциклического основания;

Ta и Tb являются каждый независимо H, гидроксилзащитной группой, конъюгирующей группой, реакционно-способной фосфорной группой, фосфорным фрагментом или ковалентным соединением с веществом подложки.

каждый qi, qj, qk и ql является независимо H, галогеном, C1-C12-алкилом, замещенным C1-C12-алкилом, C2-C12-алкенилом, замещенным C2-C12-алкенилом, C2-C12-алкинилом, замещенным C2-C12-алкинилом, C1-C12-алкоксилем, замещенным C1-C12-алкоксилем, OJj, SJj, SOJj, SO2Jj, NJjJk, N3, CN, C(=O)OJj, C(-O)NJjJk, C(=O)Jj, O-C(=O)NJjJk, N(H)C(=NH)NJjJk, N(H)C(=O)NJjJk или N(H)C(=S)NJjJk группами; и

заместители qi и qj или ql и qk вместе являются C(qg)(qh), где qg и qh являются каждый независимо H, галогеном, C1-C12-алкилом или замещенным C1-C12-алкилом.

Был описан один карбоциклический бициклический нуклеозид, содержащий мостик 4'-(CH2)3-2' и мостик алкенильного аналога 4'-CH=CH-CH2-2' (Freier et al, Nucleic Acids Research, 1997, 25(22), 4429-4443 и Albaek et al, J. Org. Chem., 2006, 71, 7731-7740). Были также описаны синтез и получение карбоциклических бициклических нуклеозидов вместе с их олигомеризацией и биохимическими исследованиями (Srivastava et al, J. Am. Chem. Soc, 2007, 129(26), 8362-8379).

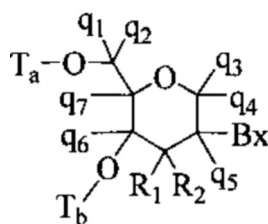
В данном документе считается, что термин «4'-2' бициклический нуклеозид», или «бициклический нуклеозид 4'-2'» относится к бициклическому нуклеозиду, содержащему фуранозное кольцо, включающее мостик, соединяющий два углеродных атома фуранозного кольца, который соединяет углеродный атом 2' с углеродным атомом 4' сахарного кольца.

В данном документе считается, что «моноциклический нуклеозид» относится к нуклеозидам, содержащим модифицированные сахарные фрагменты, которые не являются бициклическими сахарными фрагментами. В некоторых вариантах реализации изобретения сахарный фрагмент или аналог сахарного фрагмента нуклеозида может быть модифицирован или замещен в любом положении.

В данном документе считается, что «2'-модифицированный сахар» указывает на фуранозильный сахар, модифицированный в положении 2'. В некоторых вариантах реализации изобретения такие модификации включают заместители, выбранные из галогенида, включая без ограничения, замещенную и незамещенную алкокси группу, замещенный и незамещенный тиоалкил, замещенный и незамещенный аминоалкил, замещенный и незамещенный алкил, замещенный и незамещенный аллил и замещенный и незамещенный алкинил. В некоторых вариантах реализации изобретения 2'-модификации выбраны из заместителей, включающих без ограничения: O[(CH2)nO]mCH3, O(CH2)nNH2, O(CH2)nCH3, O(CH2)nF, O(CH2)nONH2, OCH2C(=O)N(H)CH3, и O(CH2)nON[(CH2)nCH3]2, где n и m равны от 1 до около 10. Другие 2'-замещающие группы могут также выбираться из: C1-C12-алкила, замещенного алкила, алкенила, алкинила, алкарила,

аралкила, О-алкарила или О-аралкила, SH, SCH₃, OCN, Cl, Br, CN, F, CF₃, OCF₃, SOCH₃, SO₂CH₃, ONO₂, NO₂, N₃, NH₂, гетероциклоалкила, гетероциклоалкарила, аминокламино
 5 группы, полиалкламино группы, замещенного силила, расщепляющей РНК группы, репортерной группы, интеркалятора, улучшающей фармакокинетические свойства группы или улучшающей фармакодинамические свойства группы антисмыслового
 10 соединения и другие заместители, обладающие сходными свойствами. В некоторых вариантах реализации изобретения модифицированные нуклеозиды содержат боковую цепь 2'-МОЕ (Baker et al, J. Biol. Chem., 1997, 272, 11944-12000). Такое замещение 2'-МОЕ было описано как обладающее улучшенной аффинностью связывания по сравнению
 15 с немодифицированными нуклеозидами и другими модифицированными нуклеозидами, такими как 2'-О-метил, О-пропил и О-аминопропил. Было также показано, что олигонуклеотиды, содержащие заместитель 2'-МОЕ, являются антисмысловыми ингибиторами экспрессии генов с перспективными свойствами для использования in vivo (Martin, Helv. Chim. Acta, 1995, 78, 486-504; Altmann et al., Chimia, 1996, 50, 168-176; Altmann et al, Biochem. Soc. Trans., 1996, 24, 630-637 и Altmann et al, Nucleosides Nucleotides, 1997, 76, 917-926).

В данном документе считается, что «модифицированный тетрагидропирановый нуклеозид», или «модифицированный ТГП нуклеозид», обозначает нуклеозид, содержащий шестичленный тетрагидропирановый сахар, замещенный в обычных
 20 нуклеозидах пентофуранозидным остатком (сахарный заменитель). Модифицированный ТГП нуклеозид включает, без ограничения, то, что называется в данной области гекситной нуклеиновой кислотой (HNA), анитной нуклеиновой кислотой (ANA), манитной нуклеиновой кислотой (MNA) (см. статью Leumann, Bioorg. Med. Chem., 2002, 10, 841-854), фтор-HNA (F-HNA) или те соединения, которые имеют Формулу VII:



VII

где независимо каждый указанный по меньшей мере один аналог тетрагидропиранового нуклеозида имеет Формулу VII:

Вх является фрагментом гетероциклического основания;

группы T_a и T_b являются каждая независимо межнуклеозидной связывающей группой, соединяющей аналог тетрагидропиранового нуклеозида с антисмысловым соединением или одна из групп T_a и T_b является межнуклеозидной связывающей группой, соединяющей аналог тетрагидропиранового нуклеозида с антисмысловым соединением,
 40 а другая группа из T_a и T_b является H, гидроксилзащитной группой, группой конъюгирующего связывания или 5'- или 3'-концевой группой;

заместители q₁, q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ и q₇ являются каждый независимо H, C₁-C₆-алкилом, замещенным C₁-C₆-алкилом, C₂-C₆-алкенилом, замещенным C₂-C₆-алкенилом,
 45 C₂-C₆-алкинилом или замещенным C₂-C₆-алкинилом; а каждый из радикалов R₁ и R₂ выбраны из водорода, гидроксила, галогена, замещенной или незамещенной алкокси группы, NJ₁J₂, SJ₁, N₃, OC(=X)J₁, OC(=X)NJ₁J₂, NJ₃C(=X)NJ₁J₂ и CN, где X является O, S

или NJ_1 и каждый заместитель J_1 , J_2 и J_3 является независимо H или C_1 - C_6 -алкилом.

В некоторых вариантах реализации изобретения предлагаются модифицированные ТГП нуклеозиды Формулы VII, в которых заместители q_1 , q_2 , q_3 , q_4 , q_5 , q_6 и q_7 каждый является H. В некоторых вариантах реализации изобретения по меньшей мере один из заместителей q_1 , q_2 , q_3 , q_4 , q_5 , q_6 и q_7 отличается от H. В некоторых вариантах реализации изобретения по меньшей мере один из заместителей q_1 , q_2 , q_3 , q_4 , q_5 , q_6 и q_7 является метилом. В некоторых вариантах реализации изобретения предлагаются ТГП нуклеозиды Формулы VII, в которых один из радикалов R_1 и R_2 является фторогруппой.

В некоторых вариантах реализации изобретения R_1 является фторогруппой, а R_2 является H; R_1 является метокси группой, а R_2 является H, и R_1 является H, а R_2 является метоксиэтокси группой.

В данном документе считается, что термин «2'-модифицированный», или «2'-замещенный», относится к нуклеозиду, содержащему сахар, несущий заместители в положении 2', отличные от H или OH. 2'-модифицированные нуклеозиды включают, без ограничения: бициклические нуклеозиды, в которых мостиковое соединение двух углеродных атомов сахарного кольца соединяет углерод 2' и другой углерод сахарного кольца; и нуклеозиды с немостиковыми 2'-заместителями, такими, как аллил, amino, азидо, тио, O-аллил, O- C_1 - C_{10} -алкил, $-OCF_3$, O- $(CH_2)_2$ -O- CH_3 , 2'-O $(CH_2)_2$ SCH $_3$, O- $(CH_2)_2$ -O-N(R_m)(R_n) или O- CH_2 -C(=O)-N(R_m)(R_n), где каждый радикал R_m и R_n независимо является H или замещенным или незамещенным C_1 - C_{10} -алкилом. 2'-модифицированные нуклеозиды могут дополнительно содержать другие модификации, например, в других положениях данного сахара и/или в данном нуклеотидном основании.

В данном документе считается, что обозначение «2'-F» относится к нуклеозиду, содержащему сахар, несущий фторогруппу в положении 2'.

В данном документе считается, что каждое обозначение «2'-OMe», или «2'-OCH $_3$ », или «2'-O-метил», относится к нуклеозиду, содержащему сахар, несущий -OCH $_3$ группу в положении 2' сахарного кольца.

В данном документе считается, что каждое обозначение «МОЕ», или «2'-МОЕ», или «2'-OCH $_2$ CH $_2$ OCH $_3$ », или «2'-O-метоксиэтил» относится к нуклеозиду, содержащему сахар, несущий -OCH $_2$ CH $_2$ OCH $_3$ группу в положении 2' сахарного кольца.

В данном документе считается, что «олигонуклеотид» относится к соединению, содержащему множество связанных нуклеозидов. В некоторых вариантах реализации изобретения один или более из этого множества нуклеозидов является модифицированным. В некоторых вариантах реализации изобретения олигонуклеотид содержит один и более рибонуклеозидов (РНК) и/или дезоксирибонуклеозидов (ДНК).

В данной области также известны многие другие бицикло- и трициклосохарзаместительные системы колец, которые могут быть использованы для модификации нуклеозидов для введения в антисмысловые соединения (см., например, обзорную статью: Leumann, Bioorg. Med. Chem., 2002, 10, 841-854). Такие системы колец могут претерпевать различные дополнительные замещения для усиления активности.

Способы получения модифицированных сахаров хорошо известны специалистам в данной области.

У нуклеотидов, содержащих модифицированные сахарные фрагменты, фрагменты нуклеотидных оснований (природных, модифицированных или их комбинации) сохраняются для проведения гибридизации с соответствующей нуклеиновой кислотой-

мишенью.

В некоторых вариантах реализации изобретения антисмысловые соединения содержат один или более нуклеозидов, несущих модифицированные сахарные фрагменты. В некоторых вариантах реализации изобретения модифицированный сахарный фрагмент является 2'-МОЕ группой. В некоторых вариантах реализации изобретения модифицированные 2'-МОЕ группой нуклеозиды сгруппированы в гэпмер-мотив. В некоторых вариантах реализации изобретения модифицированный сахарный фрагмент является бициклическим нуклеозидом, содержащим мостиковую группу (4'-CH(CH₃)-O-2'). В некоторых вариантах реализации изобретения модифицированные (4'-CH(CH₃)-O-2') нуклеозиды сгруппированы на протяжении крыльев гэпмер-мотива.

Композиции и способы составления фармацевтических композиций

Антисмысловые олигонуклеотиды могут быть смешаны с фармацевтически приемлемыми действующими или неактивными субстанциями для получения фармацевтических композиций или лекарственных форм. Композиции и способы получения лекарственных форм фармацевтических композиций зависят от ряда критериев, включая, без ограничения, путь введения, степень заболевания и требуемой дозы введения.

Антисмысловое соединение, нацеленное на нуклеиновую кислоту C9ORF72, может использоваться в фармацевтических композициях путем сочетания антисмыслового соединения с подходящим фармацевтически приемлемым растворителем или носителем. Фармацевтически приемлемый растворитель включает фосфатно-солевой буферный раствор (ФСБР). ФСБР представляет собой растворитель, пригодный для применения в композициях, которые требуют парентеральной доставки. Соответственно, в одном варианте реализации изобретения, примененном в способах, описанных в данном документе, используется фармацевтическая композиция, содержащая антисмысловое соединение, нацеленное на нуклеиновую кислоту C9ORF72 и фармацевтически приемлемый растворитель. В некоторых вариантах реализации фармацевтически приемлемый растворитель является ФСБР. В некоторых вариантах реализации изобретения это антисмысловое соединение является антисмысловым олигонуклеотидом.

Фармацевтические композиции, содержащие антисмысловые соединения, охватывают любые фармацевтически приемлемые соли, сложные эфиры или соли таких сложных эфиров или любой другой олигонуклеотид, который при введении животному, включая человека, способен обеспечить (прямо или опосредованно) получение биологически активного метаболита или его остатка. Соответственно, например, данное раскрытие также направлено на фармацевтически приемлемые соли антисмысловых соединений, пролекарства, фармацевтически приемлемые соли таких пролекарств и другие биоэквивалентные вещества. Подходящие фармацевтически приемлемые соли включают, без ограничения, соли натрия и калия.

Пролекарство может включать введение дополнительных нуклеозидов в один или оба конца антисмыслового соединения, которое расщепляется эндогенными нуклеазами организма с образованием активного антисмыслового соединения.

Конъюгированные антисмысловые соединения

Антисмысловые соединения могут быть ковалентно связанными с одним или более фрагментами или конъюгатами, которые усиливают активность, распределение в клетках или потребление клетками получающихся антисмысловых олигонуклеотидов. Типичные конъюгирующие группы включают холестериновые фрагменты и липидные фрагменты. Дополнительные конъюгирующие группы включают углеводы, фосфолипиды, биотин, феназин, фолат, фенантридин, антрахинон, акридин,

флуоресцеины, родамины, кумарины и красители.

Антисмысловые соединения могут быть модифицированы таким образом, чтобы содержать одну и более стабилизирующих групп, которые обычно присоединяются к одному или обоим концам антисмысловых соединений для усиления свойств, таких, как, например, стабильность к нуклеазам, включая кэп-структуры в составе стабилизирующих групп. Эти концевые модификации защищают антисмысловое соединение, несущее концевую нуклеиновую кислоту, от экзонуклеазной дегградации и могут помочь при доставке и/или локализации соединения в клетке. Кэп может быть расположен на 5'-конце (5'-кэп) или на 3'-конце (3'-кэп) или может быть расположен на обоих концах. Кэп-структуры хорошо известны в данной области и включают, например, обращенные дезоксикэпы без азотистых оснований.

Дополнительно 3' и 5'-стабилизирующие группы, которые могут быть использованы на кэпе одного или обоих концов антисмыслового соединения для придания ему стабильности от нуклеаз, включают те, которые описаны в заявке WO 03/004602, опубликованной 16 января 2003 г.

Клеточная культура и обработка антисмысловыми соединениями

Действие антисмысловых соединений на уровень, активность или экспрессию нуклеиновых кислот C9ORF72 может быть протестировано *in vitro* на различных типах клеток. Типы клеток, используемые в таких анализах, могут быть получены у коммерческих поставщиков (например, Американская коллекция типовых культур, Manassus, VA; Zen-Bio, Inc., Research Triangle Park, NC; Clonetics Corporation, Walkersville, MD) и культивированы в соответствии с инструкциями поставщиков с использованием коммерчески доступных реактивов (например, *In vitro* gen Life Technologies, Carlsbad, CA). Показательные типы клеток включают, без ограничения, клетки HepG2, клетки Hep3B и первичные гепатоциты.

Испытание антисмысловых олигонуклеотидов *in vitro*

В данном документе описаны способы для обработки клеток антисмысловыми олигонуклеотидами, которые могут быть надлежащим образом модифицированы для обработки другими антисмысловыми соединениями.

В целом, клетки обрабатывают антисмысловыми олигонуклеотидами, когда клетки достигают в культуре приблизительно 60-80% заселенности.

Один реактив, обычно используемый для введения антисмысловых олигонуклеотидов в культивируемые клетки, включает катионный липидный реактив для трансфекции LIPOFECTIN (Invitrogen, Carlsbad, CA). Антисмысловые олигонуклеотиды смешивают с реактивом LIPOFECTIN в среде OPTI-MEM 1 (Invitrogen, Carlsbad, CA) до достижения требуемой конечной концентрации антисмыслового олигонуклеотида и концентрации LIPOFECTIN, которая обычно лежит в диапазоне 2-12 мкг/мл на 100 нМ антисмыслового олигонуклеотида.

Другой реактив, используемый для введения антисмысловых олигонуклеотидов в культивируемые клетки, включает реактив LIPOFECTAMINE (Invitrogen, Carlsbad, CA). Антисмысловый олигонуклеотид смешивают с реактивом LIPOFECTAMINE в среде с пониженным содержанием сыворотки OPTI-MEM 1 (Invitrogen, Carlsbad, CA) до достижения требуемой концентрации антисмыслового олигонуклеотида и концентрации LIPOFECTAMINE, которая обычно лежит в диапазоне 2-12 мкг/мл на 100 нМ антисмыслового олигонуклеотида.

Другая методика, используемая для введения антисмысловых олигонуклеотидов в культивируемые клетки, включает электропорацию.

Клетки обрабатывают антисмысловыми олигонуклеотидами традиционными

способами. Клетки после обработки антисмысловыми олигонуклеотидами, как правило, выращивают 16-24 часов, в это время измеряют уровни РНК или белка нуклеиновой кислоты-мишени методами, известными в данной области и описанные в данном документе. В общем, когда обработки выполняют в многократных повторях, то данные

5 представляют как средние значения повторных обработок.

Концентрация антисмыслового олигонуклеотида, как правило, варьирует для разных клеточных линий. Методы определения оптимальной концентрации антисмыслового олигонуклеотида для конкретной клеточной линии хорошо известны в данной области. Антисмысловые олигонуклеотиды при трансфекции с помощью реактива

10 LIPOFECTAMINE часто используют в концентрациях в диапазонах от 1 нМ до 300 нМ. Антисмысловые олигонуклеотиды при трансфекции с помощью электропорации используют в более высоких концентрациях в диапазоне от 625 до 20000 нМ.

Выделение РНК

Анализ РНК может выполняться на суммарной клеточной РНК или поли(А)+ мРНК.

15 Методы выделения РНК хорошо известны в данной области. РНК получают, используя методы хорошо известные в данной области, например, с применением реактива TRIZOL (Invitrogen, Carlsbad, CA) в соответствии с рекомендованными протоколами производителя.

Анализ ингибирования уровней или экспрессии мишеней

20 Ингибирование уровней или экспрессии нуклеиновой кислоты C9ORF72 может быть проанализировано разнообразными способами, известными в данной области.

Например, нуклеиновая кислота-мишень можно количественно определить, например, путем Нозерн-блоттинг анализа, конкурентной полимеразной цепной реакции (ПЦР) или количественной ПЦР в режиме реального времени. Анализ РНК может выполняться

25 на суммарной клеточной РНК или поли(А)+ мРНК. Методы выделения РНК хорошо известны в данной области.

Анализ Нозерн-блоттинга также является традиционным в этой области.

Количественная ПЦР в режиме реального времени может быть беспрепятственно выполнена с использованием коммерчески доступной системы для детекции

30 последовательностей ABI PRISM 7600, 7700 или 7900, поставляемой компанией PE-AppliedBiosystems, FosterCity, CA и используемой согласно инструкций производителя.

Анализ уровней РНК-мишеней методом количественной ПЦР в режиме реального времени Количественное определение уровней РНК-мишеней может выполняться методом количественной ПЦР в режиме реального времени, используя систему для

35 детекции последовательностей ABI PRISM 7600, 7700 или 7900 (PE-AppliedBiosystems, FosterCity, CA) согласно инструкций производителя. Методы количественного определения ПЦР в режиме реального времени хорошо известны в данной области.

Перед проведением ПЦР в режиме реального времени выделенную РНК подвергают реакции с обратной транскриптазой (ОТ), которая синтезирует комплементарную ДНК

40 (кДНК), что потом используется в качестве субстрата для амплификации в ПЦР в режиме реального времени. Реакции ПЦР ОТ и ПЦР в режиме реального времени выполняются последовательно в одной и том же лунке с образцом. Реактивы для ПЦР ОТ и ПЦР в режиме реального времени получают в компании Invitrogen (Carlsbad, CA). Реакции ПЦР-ОТ и ПЦР в режиме реального времени проводят методами, хорошо

45 известными специалистам в данной области.

Количества гена (или РНК)-мишени, полученные методом ПЦР в режиме реального времени нормализуют, используя любой уровень экспрессии гена, экспрессия которого является постоянной, такой, как циклофилин А, или путем количественного определения

суммарной РНК, используя краситель RIBOGREEN (Invitrogen, Inc. Carlsbad, CA). Экспрессию циклофилина А количественно определяют ПЦР в режиме реального времени, одновременно проводя анализ с мишенью путем мультиплексирования или анализируя по отдельности. Суммарную РНК количественно определяют, используя реактив для количественного определения РНК RIBOGREEN (Invitrogen, Inc. Eugene, OR). Методы количественного определения РНК с помощью красителя RIBOGREEN изложены в статье Jones, L.J., et al, (Analytical Biochemistry, 1998, 265, 368-374). Для измерения флуоресценции RIBOGREEN используют прибор CYTOFLUOR 4000 (PE Applied Biosystems).

Зонды и праймеры разработаны для гибридизации с нуклеиновой кислотой C9ORF72. Способы для конструирования зондов и праймеров для ПЦР в режиме реального времени хорошо известны в данной области и могут включать применение программного обеспечения, такого, как программное обеспечение PRIM EREXPRESS (Applied Biosystems, Foster City, CA).

Анализ уровней белков

Антисмысловое ингибирование нуклеиновой кислоты C9ORF72 может оцениваться путем измерения уровней белка C9ORF72. Уровни белка C9ORF72 могут быть оценены или количественно определены различными способами, хорошо известными в данной области, такими как иммунопреципитация, Вестерн-блоттинг анализ (иммуноблоттинг), твердофазный иммуноферментный анализ (ELISA), анализы количественного определения белков, анализы активности белков (например, анализы активности каспазы), иммуногистохимические методы, иммуноцитохимические методы или сортировка флуоресцентно-активированных клеток (FACS). Антитела, направленные на мишень, могут быть идентифицированы и получены из различных источников, таких как каталог антител MSRS (Aerie Corporation, Birmingham, MI), или могут быть получены посредством традиционных методов синтеза моноклональных или поликлональных антител, хорошо известных в данной области. Коммерчески доступные антитела пригодны для обнаружения белка C9ORF72 мыши, крысы, обезьяны и человека.

Испытание антисмысловых соединений in vivo

Антисмысловые соединения, например антисмысловые олигонуклеотиды, испытывают на животных для оценки их способности ингибировать экспрессию белка C9ORF72 и вызывать фенотипические изменения, такие как улучшение двигательной функции и дыхания. В некоторых вариантах реализации изобретения двигательную функцию измеряют с помощью теста с вращающимся стержнем, по силе захвата, лазанию по шесту, активности в тесте «открытое поле», в тесте с балансиром, испытанию по отпечатку задней лапы животного. В некоторых вариантах реализации изобретения интенсивность дыхания измеряют плетисмографией всего организма, устойчивостью к заражению и соответствующими измерениями на животном. Испытание может выполняться на здоровых животных или на экспериментальных моделях заболеваний. Для введения животным антисмысловые олигонуклеотиды изготавливают в виде лекарственной формы с фармацевтически приемлемым растворителем, таким как фосфатно-солевой буферный раствор. Введение включает парентеральные пути введения, такие как внутрибрюшинный, внутривенный и подкожный. Расчет дозы антисмысловых олигонуклеотидов и частоты дозирования находятся в пределах квалификации специалистов в данной области и зависит от таких факторов, как путь введения и масса тела животного. В последующем периоде времени после обработки антисмысловыми олигонуклеотидами выделяют РНК из ткани ЦНС или СМЖ и измеряют изменения экспрессии нуклеиновой кислоты C9ORF72.

Нацеливание на C9ORF72

Антисмысловые олигонуклеотиды, описанные в данном документе, могут гибридизироваться с нуклеиновой кислотой C9ORF72 на любой стадии процессинга РНК. Например, описанные в данном документе предложенные антисмысловые олигонуклеотиды являются комплементарными пре-мРНК или зрелой мРНК. Дополнительно, антисмысловые олигонуклеотиды, описанные в данном документе, могут гибридизироваться с любым элементом нуклеиновой кислоты C9ORF72. Например, описанные в данном документе предложенные антисмысловые олигонуклеотиды являются комплементарными экзону, интрону, 5'-нетраслируемому участку, 3'-нетраслируемому участку, участку повтора, экспансии гексануклеотидного повтора, точке сплайсинга, точке сплайсинга экзон-экзон, сайленсеру экзонного сплайсинга (ESS), энхансеру экзонного сплайсинга (ESE), экзону 1a, экзону 1b, экзону 1c, экзону 1d, экзону 1e, экзону 2, экзону 3, экзону 4, экзону 5, экзону 6, экзону 7, экзону 8, экзону 9, экзону 10, экзону 11, интрону 1, интрону 2, интрону 3, интрону 4, интрону 5, интрону 6, интрону 7, интрону 8, интрону 9 или интрону 10 нуклеиновой кислоты C9ORF72.

В некоторых вариантах реализации изобретения антисмысловые олигонуклеотиды, описанные в данном документе, гибридизируются со всеми вариантами C9ORF72. В некоторых вариантах реализации изобретения антисмысловые олигонуклеотиды, описанные в данном документе, гибридизируются с определенными вариантами C9ORF72. В некоторых вариантах реализации изобретения антисмысловые олигонуклеотиды, описанные в данном документе, избирательно гибридизируются с вариантами C9ORF72, содержащими экспансии гексануклеотидного повтора. В некоторых вариантах реализации изобретения такие варианты C9ORF72, содержащие экспансии гексануклеотидного повтора, включают последовательности SEQ ID NO: 1-3 и 6-10. В некоторых вариантах реализации изобретения такая экспансия гексануклеотидного повтора включает по меньшей мере 30 повторов из любых наборов GGGGCC, GGGGGG, GGGGCG или GGGGGC.

В некоторых вариантах реализации изобретения антисмысловые олигонуклеотиды, описанные в данном документе, ингибируют экспрессию всех вариантов C9ORF72. В некоторых вариантах реализации изобретения антисмысловые олигонуклеотиды, описанные в данном документе, ингибируют экспрессию всех вариантов C9ORF72 в равной степени. В некоторых вариантах реализации изобретения антисмысловые олигонуклеотиды, описанные в данном документе, преимущественно ингибируют экспрессию определенных вариантов C9ORF72. В некоторых вариантах реализации изобретения антисмысловые олигонуклеотиды, описанные в данном документе, преимущественно ингибируют экспрессию вариантов C9ORF72, содержащих экспансию гексануклеотидного повтора. В некоторых вариантах реализации изобретения такие варианты C9ORF72, содержащие экспансию гексануклеотидного повтора, включают последовательности SEQ ID NO: 1-3 и 6-10. В некоторых вариантах реализации изобретения такая экспансия гексануклеотидного повтора включает по меньшей мере 30 повторов из любых наборов GGGGCC, GGGGGG, GGGGCG или GGGGGC. В некоторых вариантах реализации изобретения такая экспансия гексануклеотидного повтора образует фокусы в ядрах клеток. В некоторых вариантах реализации изобретения антисмысловые олигонуклеотиды, описанные в данном документе, пригодны для уменьшения фокусов в ядрах клеток. Фокусы ядер клеток могут быть уменьшены по показателю процента клеток с фокусами, а также количества фокусов на клетку.

На основании ранних исследований, направленных на изучение экспансий повторов, невозможно предсказать, смогут ли антисмысловые олигонуклеотиды, нацеленные на последовательность C9ORF72 за пределами экспансии повтора, успешно ингибировать экспрессию C9ORF72 по двум причинам. Первое - экспансия повтора C9ORF72

расположена в интроне и не известно, содержит ли РНК в фокусах только повторы или также и фланкирующую интронную последовательность. Например, в ранних исследованиях миотонической дистрофии 2 типа (ДМ2), которая является заболеванием, вызываемым мутацией экспансии CCTG в интроне 1 гена ZNF9, определили, что большие экспансии при ДМ2 не предотвращают аллельноспецифический сплайсинг пре-мРНК, ядерный экспорт этих транскриптов или установившиеся уровни мРНК. Данное исследование дополнительно продемонстрировало, что рибонуклеотидные ядерные включения, обнаруженные в связи с этим заболеванием, обогащены экспансией CCUG, но не фланкирующими интронными последовательностями. Благодаря этим данным предположили, что последующие молекулярные эффекты при мутации ДМ2 могут быть инициированы накоплением единственного участка повтора CCUG. Поэтому это исследование подразумевает, что нацеливание на единственную экспансию повтора CCUG может привести к облегчению протекания данного заболевания, поскольку нацеливание на фланкирующие последовательности, особенно на следующий в прямом направлении считывания участок этой экспансии повтора, не влияет на образование рибонуклеотидных ядерных включений (Margolis et al. Hum. Mol. Genet., 2006, 15: 1808-1815). Второе - не известно, насколько быстро интрон 1 гена C9ORF72, который содержит данные повторы, отщепляется и накапливается в фокусах. Поэтому невозможно предсказать, приведет ли нацеливание на пре-мРНК к удалению повторов РНК и фокусов.

Особенности C9ORF72

Антисмысловые олигонуклеотиды, описанные в данном документе, могут гибридизироваться с любым вариантом последовательности C9ORF72 в любом состоянии процессинга в пределах любого элемента гена C9ORF72. Например, антисмысловые олигонуклеотиды, описанные в данном документе, могут гибридизироваться с экзоном, интроном, 5'-нетраслируемым участком, 3'-нетраслируемым участком, участком повтора, экспансией гексануклеотидного повтора, точкой сплайсинга, экзоном: точкой сплайсинга экзона, сайленсером экзонного сплайсинга (ESS), энхансером экзонного сплайсинга (ESE), экзоном 1a, экзоном 1b, экзоном 1c, экзоном 1d, экзоном 1e, экзоном 2, экзоном 3, экзоном 4, экзоном 5, экзоном 6, экзоном 7, экзоном 8, экзоном 9, экзоном 10, экзоном 11, интроном 1, интроном 2, интроном 3, интроном 4, интроном 5, интроном 6, интроном 7, интроном 8, интроном 9 или интроном 10. К примеру, антисмысловые олигонуклеотиды могут нацеливаться на любой из экзонов, описанных в табл. 1-5 различных вариантов последовательностей C9ORF72. Антисмысловые олигонуклеотиды, описанные в данном документе, также могут нацеливаться на варианты не описанные ниже, такие, как описанные в базе данных GENBANK. Более того, антисмысловые олигонуклеотиды, описанные в данном документе, также могут нацеливаться на элементы отличные от экзонов, и такие элементы описаны в базе данных GENBANK.

Таблица 1

Функциональные сегменты последовательности NM_001256054.1 (SEQIDNO: 1)

Номер экзона	Сайт инициации мРНК	Сайт терминции мРНК	Сайт инициации по сравнению с SEQIDNO: 2	Сайт терминции по сравнению с SEQIDNO: 2
Экзон 1C	1	158	1137	1294
Экзон 2	159	646	7839	8326
Экзон 3	647	706	9413	9472
Экзон 4	707	802	12527	12622
Экзон 5	803	867	13354	13418
Экзон 6	868	940	14704	14776
Экзон 7	941	1057	16396	16512
Экзон 8	1058	1293	18207	18442
Экзон 9	1294	1351	24296	24353
Экзон 10	1352	1461	26337	26446
Экзон 11	1462	3339	26581	28458

Таблица 2

Функциональные сегменты последовательности NM_018325.3 (SEQIDNO: 4)

Номер экзона	Сайт инициации мРНК	Сайт терминции мРНК	Сайт инициации по сравнению с SEQIDNO: 2	Сайт терминции по сравнению с SEQIDNO: 2
Экзон 1B	1	63	1510	1572
Экзон 2	64	551	7839	8326
Экзон 3	552	611	9413	9472
Экзон 4	612	707	12527	12622
Экзон 5	708	772	13354	13418
Экзон 6	773	845	14704	14776
Экзон 7	846	962	16396	16512
Экзон 8	963	1198	18207	18442
Экзон 9	1199	1256	24296	24353
Экзон 10	1257	1366	26337	26446
Экзон 11	1367	3244	26581	28458

Таблица 3

Функциональные сегменты последовательности NM_145005.5 (SEQIDNO: 6)

Номер экзона	Сайт инициации мРНК	Сайт терминции мРНК	Сайт инициации по сравнению с SEQIDNO: 2	Сайт терминции по сравнению с SEQIDNO: 2
Экзон 1A	1	80	1137	1216
Экзон 2	81	568	7839	8326
Экзон 3	569	628	9413	9472
Экзон 4	629	724	12527	12622
Экзон 5B (экзон 5 в интроне 5)	725	1871	13354	14500

Таблица 4
Функциональные сегменты последовательности DB079375.1 (SEQIDNO: 7)

Номер экзона	Сайт инициации мРНК	Сайт терминации мРНК	Сайт инициации по сравнению с SEQIDNO: 2	Сайт терминации по сравнению с SEQIDNO: 2
Экзон 1E	1	35	1135	1169
Экзон 2	36	524	7839	8326
Экзон 3 (EST заканчивается перед завершением всего экзона)	525	562	9413	9450

Таблица 5
Функциональные сегменты последовательности BU194591.1 (SEQIDNO: 8)

Номер экзона	Сайт инициации мРНК	Сайт терминации мРНК	Сайт инициации по сравнению с SEQIDNO: 2	Сайт терминации по сравнению с SEQIDNO: 2
Экзон 1D	1	36	1241	1279
Экзон 2	37	524	7839	8326
Экзон 3	525	584	9413	9472
Экзон 4	585	680	12527	12622
Экзон 5B (экзон 5 в интроне 5)	681	798	13354	13465

Некоторые показания для применения

В некоторых вариантах реализации изобретения в данном документе предложены способы лечения индивидов, включающие введение одной или более фармацевтических композиций, описанных в данном документе. В некоторых вариантах реализации изобретения индивид страдает нейродегенеративным заболеванием. В некоторых вариантах реализации изобретения у индивида существует риск развития нейродегенеративного заболевания, включая, без ограничения, АЛС или ЛВД. В некоторых вариантах реализации изобретения индивида идентифицировали как страдающего ассоциированным с белком C9ORF72 заболеванием. В некоторых вариантах реализации изобретения индивида идентифицировали как страдающего ассоциированным с экспансией гексануклеотидного повтора C9ORF72 заболеванием. В некоторых вариантах реализации изобретения в данном документе предложены способы для профилактического снижения у индивида экспрессии C9ORF72. Некоторые варианты реализации изобретения включают нуждающегося в лечении индивида путем введения ему терапевтически эффективного количества антисмыслового соединения, нацеленного на нуклеиновую кислоту C9ORF72.

В одном варианте реализации введение терапевтически эффективного количества антисмыслового соединения, нацеленного на нуклеиновую кислоту C9ORF72, сопровождается мониторингом у индивида уровней C9ORF72 для определения ответа индивида на введение данного антисмыслового соединения. Ответ индивида на введение антисмыслового соединения может использоваться врачом для определения количества и длительности терапевтического воздействия.

В некоторых вариантах реализации изобретения введение антисмыслового соединения, нацеленного на нуклеиновую кислоту C9ORF72, приводит к снижению экспрессии C9ORF72 на по меньшей мере 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 или 99%, или на диапазон, определенный любыми двумя из этих значений. В некоторых

вариантах реализации изобретения антисмысловое соединение, нацеленное на нуклеиновую кислоту C9ORF72, приводит к улучшению двигательной функции и дыхания животного. В некоторых вариантах реализации изобретения введение антисмыслового соединения к C9ORF72 улучшает двигательную функцию и дыхание на по меньшей мере 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 или 99%, или на диапазон, определенный любыми двумя из этих значений.

В некоторых вариантах реализации изобретения фармацевтические композиции, содержащие антисмысловое соединение, нацеленное на C9ORF72, используют для получения лекарственного средства для лечения пациента, страдающего или склонного к нейродегенеративному заболеванию, включая АЛС и ЛВД.

Определенные виды комбинированной терапии

В некоторых вариантах реализации изобретения одна или более фармацевтических композиций, описанных в данном документе, совместно вводят с одним или большим количеством других фармацевтических агентов. В некоторых вариантах реализации изобретения такая одна или более других фармацевтических композиций разработаны для лечения того же заболевания, нарушения или состояния, что и одна или более фармацевтических композиций, описанных в данном документе. В некоторых вариантах реализации изобретения такая одна или более других фармацевтических композиций разработаны для лечения разных заболеваний, нарушений или состояний, что и одна или более фармацевтических композиций, описанных в данном документе. В некоторых вариантах реализации изобретения такая одна или более других фармацевтических композиций разработаны для лечения нежелательной побочной реакции одной или более фармацевтических композиций, описанных в данном документе. В некоторых вариантах реализации изобретения одна или более фармацевтических композиций, описанных в данном документе, совместно вводят с другим фармацевтическим агентом для лечения нежелательной реакции, вызванной другим фармацевтическим агентом. В некоторых вариантах реализации изобретения одна или более фармацевтических композиций, описанных в данном документе, совместно вводят с другим фармацевтическим агентом для создания комбинированного действия. В некоторых вариантах реализации изобретения одна или более фармацевтических композиций, описанных в данном документе, совместно вводят с другим фармацевтическим агентом для создания синергического действия.

В некоторых вариантах реализации изобретения одна или более фармацевтических композиций, описанных в данном документе, и один или более других фармацевтических агентов вводятся в одно и то же время. В некоторых вариантах реализации изобретения одна или более фармацевтических композиций, описанных в данном документе, и один или более других фармацевтических агентов вводятся в разное время. В некоторых вариантах реализации изобретения одна или более фармацевтических композиций, описанных в данном документе, и один или более других фармацевтических агентов изготавливают вместе в виде одной лекарственной формы. В некоторых вариантах реализации изобретения одна или более фармацевтических композиций, описанных в данном документе, и один или более других фармацевтических агентов изготавливают по отдельности.

В некоторых вариантах реализации изобретения фармацевтические агенты, которые могут совместно вводиться с фармацевтической композицией, описанной в данном документе, включают препараты Рилузол (Рилутек), Лиоресал (Лиоресал) и Декспраимипексол.

В некоторых вариантах реализации изобретения фармацевтические агенты, которые

могут совместно вводиться со специфическим ингибитором C9ORF72, описанным в данном документе, включая без ограничения дополнительный ингибитор C9ORF72. В некоторых вариантах реализации изобретения данный совместно вводимый фармацевтический агент вводится перед введением фармацевтической композиции, описанной в данном документе. В некоторых вариантах реализации изобретения данный совместно вводимый фармацевтический агент вводится после введения фармацевтической композиции, описанной в данном документе. В некоторых вариантах реализации изобретения данный совместно вводимый фармацевтический агент вводится в то же время, что и фармацевтическая композиция, описанная в данном документе. В некоторых вариантах реализации изобретения доза совместно вводимого фармацевтического агента является такой же, что и доза, которая могла бы вводиться, если совместно вводимый фармацевтический агент вводился бы самостоятельно. В некоторых вариантах реализации изобретения доза совместно вводимого фармацевтического агента является более низкой, чем доза, которая могла бы вводиться, если совместно вводимый фармацевтический агент вводился бы самостоятельно. В некоторых вариантах реализации изобретения доза совместно вводимого фармацевтического агента является более высокой, чем доза, которая могла бы вводиться, если совместно вводимый фармацевтический агент вводился бы самостоятельно.

В некоторых вариантах реализации изобретения совместное введение второго соединения усиливает действие первого соединения так, что совместное введение данных соединений приводит к действию, которое превышает действие вводимого самостоятельно первого соединения. В других вариантах реализации изобретения данное совместное введение приводит к действию, которое является аддитивным в отношении действия соединений, назначаемых самостоятельно. В некоторых вариантах реализации изобретения данное совместное введение приводит к действию, которое является сверхаддитивным в отношении действия соединений, назначаемых самостоятельно. В некоторых вариантах реализации изобретения первое соединение является бессмысленным. В некоторых вариантах реализации изобретения второе соединение является бессмысленным.

ПРИМЕРЫ

Примеры, не ограничивающие раскрытие и данные, включенные посредством ссылки.

В то время как определенные соединения, композиции и способы, описанные в данном документе, были описаны с характеристикой в соответствии с определенными вариантами реализации, следующие примеры только иллюстрируют соединения, описанные в данном документе, и не подразумевают ограничение указанных объектов. Каждая из ссылок, перечисленных в настоящей заявке, включена в данный документ в полном объеме посредством ссылки.

Пример 1. Антисмысловое ингибирование гена C9ORF72 человека в клетках HepG2

Антисмысловые олигонуклеотиды были сконструированы для нацеливания на нуклеиновую кислоту C9ORF72 и их действие было испытано на мРНК C9ORF72 *in vitro*. Данные антисмысловые олигонуклеотиды испытывали в сериях экспериментов, которые обеспечивали сходные культуральные условия. Результаты каждого эксперимента представлены в отдельных таблицах, показанных ниже. Культивированные до плотности 20000 клеток на лунку клетки HepG2 трансфецировали с применением электропорации с помощью антисмыслового олигонуклеотида в концентрации 7000 нМ. По прошествии периода обработки в течение приблизительно 24 часов, РНК выделили из клеток и измерили уровни мРНК C9ORF72 методом количественной ПЦР

в режиме реального времени. Для измерения уровней мРНК использовали набор RTS3750 праймеров-зондов человека (прямая последовательность TGTGACAGTTGGAATGCAGTGA, обозначенная в данном документе как SEQ ID NO: 15; обратная последовательность GCCACTTAAAGCAATCTCTGTCTTG, обозначенная в данном документе как SEQ ID NO: 16; последовательность зонда TCGACTCTTTGCCCCACCGCCA, обозначенная в данном документе как SEQ ID NO: 17). Уровни мРНК C9ORF72 скорректировали в соответствии с суммарным содержанием РНК, измеренным с помощью красителя RIBOGREEN®. Результаты представлены в виде процента ингибирования C9ORF72 по сравнению с необработанными контрольными клетками.

Антисмысловые олигонуклеотиды в табл. 6-10 были сконструированы в виде 5-10-5 МОЕ-гэпмеров. Данные гэпмеры составлены из 20 нуклеозидов в длину, причем центральный гэп-сегмент содержит десять 2'-дезоксирибонуклеотидов и фланкирован сегментами-крыльями как на 5'-конце, так и на 3'-конце, каждый включает сегмент по 5 нуклеозидов. Каждый нуклеозид на сегменте-крыле 5' и каждый нуклеозид на сегменте-крыле 3' несут модификацию МОЕ. Межнуклеозидные связи на всем протяжении каждого гэпмера являются фосфоротиоатными связями. Все цитозиновые остатки на всем протяжении каждого гэпмера являются 5-метилцитозинами. «Сайт инициации» указывает на самый крайний 5'-нуклеозид последовательности гена человека, на который нацелен антисмысловой олигонуклеотид. «Сайт терминации» указывает на самый крайний 3'-нуклеозид последовательности гена человека, на который нацелен антисмысловой олигонуклеотид. Каждый антисмысловой олигонуклеотид, перечисленный в табл. 6-9, нацелен на одну из последовательностей мРНК C9ORF72 человека, обозначенных в данном документе как SEQ ID NO: 1 (№ доступа в базе данных GENBANK NM 001256054.1) или геномную последовательность C9ORF72 человека, обозначенную в данном документе как SEQ ID NO: 2 (комплементарная последовательность № доступа в базе данных GENBANK NT 008413.18, усеченная от нуклеотида 27535000 до 27565000), или обе последовательности. Сокращение «н/д» указывает на то, что данный антисмысловой олигонуклеотид не был нацелен на эту конкретную последовательность гена. Антисмысловые олигонуклеотиды из табл. 10 нацелены на одну из последовательностей SEQ ID NO: 3 (№ доступа в базе данных GENBANK BQ068108.1) или SEQ ID NO: 4 (№ доступа в базе данных GENBANK NM_018325.3).

Как показано в табл. 6-10, некоторые из олигонуклеотидов, нацеленных на SEQ ID NO: 1, проявляют по меньшей мере 50% ингибирование, включая те, которые нацелены на нуклеотидные основания 90-647, 728-1541, 1598-1863, 1935-2146, 2232-2251, 2429-2576, 2632-2743, 2788-2807, 2860-2879, 2949-2968, 3062-3081, 3132-3151 и 3250-3269 SEQ ID NO 1. Они включают последовательности SEQ ID NO: 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 50, 51, 53, 55, 56, 57, 61, 62, 64, 66, 67, 72, 73, 75, 76, 81, 82, 85, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 96, 97, 100, 102, 103, 109, 111, 112, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 130, 131, 132, 133, 137, 139, 140, 141, 145, 146, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 165, 166, 168, 169, 170, 171, 174, 179, 181, 182, 183, 185, 186, 187, 188, 190, 192, 195, 197, 199, 320, 321, 322, 323, 324, 325, 326, 327, 328, 329, 330, 331 и 332. Некоторые из этих олигонуклеотидов проявляют по меньшей мере 70% ингибирование, включая те, которые нацелены на нуклеотидные основания 90-359, 430-479, 550-569, 617-647, 940-959, 1013-1033, 1446-1465, 1687-1706, 1844-1863, 1935-2007 и 2679-2698 SEQ ID NO 1. Они включают последовательности SEQ ID NO: 32, 33, 34, 35, 36, 40, 41, 42, 43, 44, 47, 66, 67, 85, 96, 103, 117, 119, 154, 165, 168, 186, 320, 321, 324, 327, 328 и 331. Некоторые из этих

олигонуклеотидов проявляют по меньшей мере 80% ингибирование, включая те, которые нацелены на нуклеотидные основания 90-265 и 310-329. Они включают последовательности SEQ ID NO: 32, 33, 35, 40, 42 и 321. Некоторые из этих олигонуклеотидов проявляют по меньшей мере 90% ингибирование, включая те, которые нацелены на нуклеотидные основания 190-209 и 310-329 SEQ ID NO 1. Они включают последовательности SEQ ID NO: 40 и 321.

Как показано в табл. 6-20, некоторые из олигонуклеотидов, нацеленных на SEQ ID NO: 2, проявляют по меньшей мере 50% ингибирование, включая те, которые нацелены на нуклеотидные основания 1552-1572, 2187-2238, 2728-2779, 3452-2471, 3752-3771, 5025-5044, 5656-5675, 6200-6219, 7594-7613, 7840-8328, 9415-9434, 12526-12545, 13357-13524, 13642-13661, 13790-14130, 14243-14335, 14699-14777, 15587-15606, 16395-16488, 18233-18373, 24306-24340, 24472-24491, 24565-24676, 26400-26424, 26606-26982, 27054-27265, 27351-27370, 27548-27998, 28068-28087, 28181-28270 и 28369-28388 SEQ ID NO 2. Они включают последовательности SEQ ID NO: 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 50, 51, 53, 55, 56, 57, 64, 67, 72, 73, 75, 76, 81, 82, 85, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 96, 97, 100, 102, 103, 111, 112, 115, 117, 118, 119, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 130, 131, 132, 133, 137, 139, 140, 141, 145, 146, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 165, 166, 168, 169, 170, 171, 174, 179, 181, 182, 183, 185, 186, 187, 188, 190, 192, 195, 197, 199, 205, 206, 208, 211, 212, 224, 226, 230, 231, 250, 251, 252, 256, 300, 301, 304, 306, 307, 310, 320, 321, 322, 323, 324, 325, 326, 327, 328, 329, 330, 331 и 332. Некоторые из этих олигонуклеотидов проявляют по меньшей мере 70% ингибирование, включая те, которые нацелены на нуклеотидные основания 3452-2471, 7840-8159, 8230-8249, 12526-12545, 13642-13661, 14075-14094, 14316-14335, 14758-14777, 16395-16414, 16469, 16488, 24655-24674, 26963, 26982, 27054-27126 и 27798-27817 SEQ ID NO 2. Они включают последовательности SEQ ID NO: 32, 33, 34, 35, 36, 40, 41, 42, 43, 44, 47, 67, 85, 96, 103, 117, 119, 154, 165, 168, 186, 251, 306, 320, 321, 324, 327, 328 и 331. Некоторые из этих олигонуклеотидов проявляют по меньшей мере 80% ингибирование, включая те, которые нацелены на нуклеотидные основания 7848-8023 SEQ ID NO 2. Они включают последовательности SEQ ID NO: 32, 33, 35, 40, 42 и 321. Некоторые из этих олигонуклеотидов проявляют по меньшей мере 90% ингибирование, включая те, которые нацелены на нуклеотидные основания 7870-7889 и 7990-8009 SEQ ID NO 2. Они включают последовательности SEQ ID NO: 40 и 321.

Таблица 6

Целевой сайт инициации SEQIDNO: 1	Целевой сайт инициации SEQIDNO: 2	Последовательность	№ ISIS	% ингибирования	SEQ ID NO
3	1139	AGCGGGACACCGTAGGTTAC	576883	0	30
44	1180	GTGGGCGGAACCTGTCTGCTG	576807	1	31
90	7848	GTCACATTATCCAAATGCTC	576808	85	32
125	7883	GGTGGGCAAAGAGTCGACAT	576809	82	33
155	7913	ATCTCTGTCTTGGCAACAGC	576810	78	34
160	7918	AAGCAATCTCTGTCTTGGCA	576811	81	35
165	7923	ACTTAAAGCAATCTCTGTCT	576812	78	36
170	7928	TTGCCACTTAAAGCAATCTC	576813	67	37
205	7963	CCCAGTAAGCAAAAGTAGCT	576814	66	38
227	7985	ACTCTAGGACCAAGAATATT	576815	11	39
232	7990	GCCTTACTCTAGGACCAAGA	576816	78	40
240	7998	CCAAATGTGCCTTACTCTAG	576817	73	41
246	8004	TGGAGCCCCAAATGTGCCTTA	576818	81	42
254	8012	TCTGTCTTTGGAGCCCAAAT	576819	76	43
275	8033	CCATCACTGAGAAGTACCTG	576820	79	44
281	8039	ATTCTCCATCACTGAGAAG	576821	61	45
288	8046	AAAAGTTATTTCTCCATCAC	576822	57	46
295	8053	TGGCAAGAAAAGTTATTTCT	576823	70	47
302	8060	GTGTGGTTGGCAAGAAAAGT	576824	44	48
313	8071	CTCCATTTAGAGTGTGGTTG	576825	39	49
330	8088	TGCATTTCGAAGGATTTCTC	576826	65	50
338	8096	CCACTCTCTGCATTTCTGAAG	576827	67	51
362	8120	ACAAAAAACTTTACATCTAT	576828	22	52
376	8134	CCTTTTCAGACAAGACAAAA	576829	53	53
401	8159	AAGATTAATGAAACAATAAT	576830	0	54
411	8169	GTTTCCATCAAAGATTAATG	576831	62	55
446	8204	ATTGATAGTCCATATGTGCT	576832	59	56
452	8210	AGTATAATTGATAGTCCATA	571818	57	57
481	8239	GGAGGTAGAACTAAGTTCT	576833	45	58
516	8274	ATGTGTTAATCTATCAACAC	576834	48	59
545	8303	TGCATCCATATTCTTCCTTT	576835	43	60
552	н/д	TTCCTTATGCATCCATATTC	576836	64	61
559	н/д	CTTGTCTTTCCTTATGCATC	576837	57	62
566	н/д	ACATTTTCTTGTCTTTCCTT	576838	43	63
571	9415	TCTGGACATTTTCTTGTCTT	576839	61	64
578	9422	ATAATCTTCTGGACATTTTC	576840	37	65
617	н/д	CTCTGACCCTGATCTTCCAT	576841	79	66
628	12526	TTGGAATAATACTCTGACCC	576842	73	67
663	12561	CAGTTCCATTACAGGAATCA	576843	45	68

697	12595	CTTCAGGAACACTGTGTGAT	576844	20	69
705	12603	ATCTATTTCTTCAGGAACAC	576845	46	70
722	н/д	AGTACTGTATCAGCTATATC	576846	46	71
728	13357	TCATTGAGTACTGTATCAGC	576847	52	72
734	13363	TCATCATCATTGAGTACTGT	576848	67	73
740	13369	CCAATATCATCATCATTGAG	576849	47	74
755	13384	TCATGACAGCTGTCAACCAAT	576850	51	75
761	13390	AAGCCTTCATGACAGCTGTC	576851	52	76
767	13396	AGAAGAAAGCCTTCATGACA	576852	23	77
773	13402	TACTTGAGAAGAAAGCCTTC	576853	24	78
778	13407	ATTCTTACTTGAGAAGAAAG	576854	12	79
782	13411	AAAAATTCCTTACTTGAGAAG	576855	0	80
817	13446	AGATGGTATCTGCTTCATCC	576856	61	81
876	13505	CAATCTAAGTAGACAGTCTG	576857	57	82
911	13540	TTAAGCAACAGTTCAAATAC	576858	40	83
978	13607	CTTTAAATAGCAAATGGAAT	576859	26	84
1013	13642	GCCATGATTTCTTGTCTGGG	576860	79	85
1056	13685	GCTTTAATGAGAAGTAAAC	576861	17	86
1091	13720	TCTACAGTACAACCTTAATAT	576862	39	87
1126	13755	ATAATTTTGTCTACGCCTA	576863	44	88
1161	13790	CACTGCTGGATGGAAAAAGA	576864	65	89
1196	13825	TGGTTTAAGGGCACAACTC	576865	52	90
1231	13860	TTGCCACGGGTACACAGCA	576866	63	91
1268	13897	CAGATGAGGAAATAGGTGTA	576867	62	92
1303	13932	ACACATTAGGTACTATTACT	576868	63	93
1372	14001	TTTTTATGTTCCAGGCACTG	576869	59	94
1407	14036	AATAGGAAATGTTAGCTATG	576870	30	95
1446	14075	GGCACTCAACAAATACTGGC	576871	72	96
1482	14111	TACATGTAAAGCAACTAGTA	576872	55	97
1539	14168	TAAAATTCATGAAAATCTG	576873	0	98
1579	14208	AAGTGAATACTTTATACTTT	576874	0	99
1614	14243	CATCATGAGCCTAAAGGAAA	576875	51	100
1651	14280	GGCTCTTAGGTTAAACACAC	576876	43	101
1673	14302	TGCTTCTGATTCAAGCCATT	576877	65	102
1687	14316	ATACAGGACTAAAGTGCTTC	576878	74	103
1731	14360	CAAATGGGATTTAAAATGAT	576879	0	104
1766	14395	TGACATGTAGAGAGATTAAG	576880	26	105
1801	14430	TTATTGAAATACCATCATTT	576881	34	106
1836	14465	TAGTCAGTATAATATCATTT	576882	18	107

Таблица 7

Целевой сайт инициации SEQIDNO: 1	Целевой сайт инициации SEQIDNO: 2	Последовательность	№ ISIS	% ингибирования	SEQ ID NO
--	--	--------------------	--------	--------------------	--------------

5

10

15

20

25

30

35

40

45

851	н/д	GCATTGAGAAGAAAGCCTTC	571824	25	108
1337	н/д	AAGACCTGATCCAGGAAGGC	571836	53	109
861	н/д	TGAGCTGATGGCATTGAGAA	571981	41	110
890	14726	ACAACGGAACAGCCACAGGT	571983	66	111
1420	26405	TTAGTGTCAAGCCTTTCTG	572007	60	112
75	1211	GACGGCTGACACACCAAGCG	576884	8	113
856	н/д	TGATGGCATTGAGAAGAAAG	576891	6	114
917	14753	TTTACTTTCTCTGCACTGCT	576892	68	115
922	н/д	TCTTATTTACTTTCTCTGCA	576893	63	116
940	16395	GGCATAATGTTCTGACTATC	576894	71	117
979	16434	ATAACCTGGAGCATTCTCTC	576895	65	118
1014	16469	CCCTGACTCATATTTAAATG	576896	70	119
1049	н/д	CCAGTTGAATCCTTTAGCAG	576897	51	120
1084	18233	CATACATGACTTGCCGAAA	576898	66	121
1119	18268	GACATCCACATCTATGTGTG	576899	63	122
1154	18303	TGTTTCATGACAGGGTGGCAT	576900	66	123
1163	18312	TTATAAATATGTTTCATGACA	576901	51	124
1191	18340	CAGCTCGGATCTCATGTATC	576902	52	125
1205	18354	CTCCAGAAGGCTGTCAGCTC	576903	59	126
1238	18387	GTATCCTGAGCCATGTCTTC	576904	33	127
1273	18422	AATCAGGAGTAAAGCTTTTCG	576905	48	128
1283	н/д	AAAATATTCAAATCAGGAGT	576906	23	129
1304	24306	TCTCTGTGTAAGACATCTTG	576907	51	130
1309	24311	GAGTGTCTCTGTGTAAGACA	576908	54	131
1314	24316	CACTAGAGTGTCTCTGTGTA	576909	50	132
1319	24321	GCTTTCACTAGAGTGTCTCT	576910	60	133
1330	24332	GATCCAGGAAGGCTTTCACT	576911	35	134
1373	26358	AAAGTACTTCTGAGAGATAA	576912	38	135
1385	26370	AACTGTGCAAGGAAAGTACT	576913	43	136
1415	26400	GTCAAGGCTTTTCTGTGAAG	576914	65	137
1472	26591	AGAGATTTAAAGGGCTTTT	576915	46	138
1487	26606	ATCTTCAGGTTCCGAAGAGA	576916	53	139
1511	26630	CCCTCTGCTGTAAATCAAG	576917	51	140
1522	26641	TGTTAAGATCGCCCTCTGCT	576918	64	141
1529	26648	ATTATTATGTTAAGATCGCC	576919	46	142
1535	26654	AGAGCCATTATTATGTTAAG	576920	36	143
1571	26690	ATAAAAGAGTGTAGGCCTGG	576921	46	144
1598	26717	ACACTAGTGTAGAAAGGTCT	576922	55	145
1606	26725	GTTCTTGACACTAGTGTAG	576923	62	146
1628	26747	TAAAAAGTCATTAGAACATC	576924	10	147
1644	26763	TATTAAGTTACACATTTAAA	576925	20	148
1679	26798	CTTTACCAGCGATCATGATT	576926	57	149
1725	26844	TTCTGGAGTATGATCCAGGG	576927	64	150
1752	24472	ACTTAACTGCAATTGCTGAG	576928	66	151
	26871				

1765	26884	TGTAGTGTAACCTTACTTAAC	576929	60	152
1802	26921	ATGCACCTGACATCCCCTCA	576930	56	153
1844	26963	CCCAAAAGCATAAATCTAGG	576931	71	154
1876	24596	ATATTTATTATATTGTAAAC	576932	0	155
	26995				
1883	24603	AGCAATAATATTTATTATAT	576933	1	156
	27002				
1887	24607	AGATAGCAATAATATTTATT	576934	0	157
	27006				
1889	24609	AAAGATAGCAATAATATTTA	576935	0	158
	27008				
1892	24612	TTAAAAGATAGCAATAATAT	576936	3	159
	27011				
1896	24616	ATCTTTAAAAGATAGCAATA	576937	14	160
	27015				
1898	24618	ATATCTTTAAAAGATAGCAA	576938	15	161
	27017				
1901	24621	ATTATATCTTTAAAAGATAG	576939	12	162
	27020				
1905	24625	TATTATTATATCTTTAAAAG	576940	6	163
	27024				
1918	27037	CAAGTTTACATCCTATTATT	576941	48	164
1935	24655	AAAACAGTAGTTGTGGTCAA	576942	77	165
	27054				
1937	24657	AAAAAACAGTAGTTGTGGTC	576943	69	166
	27056				
1953	27072	TGAATCATGTATTTCAAAAA	576944	17	167
1988	27107	GCCAACTCAGATTTACCTT	576945	71	168
2036	27155	CTACACACCAAAGAATGCCA	576946	69	169
2071	27190	AGTTTTCAGTTGATTGCAGA	576947	58	170
2127	27246	CATCCTATGTTCAAGCTCAC	576948	51	171
2162	27281	TAAACATCTGCTTGATCAAT	576949	44	172
2197	27316	AATCCACAAAGTAGGATCTA	576950	42	173
2232	27351	ATTAGACATTTCTACAGACT	576951	56	174
2325	27444	CTCAACTACATAGAATATCA	576952	45	175
2371	27490	TTGGCAACAATTAATAAAAC	576953	48	176
2400	27519	TCAAAAATAATGAAAATTAA	576954	0	177
2409	27528	CAATTTGGCTCAAAAATAAT	576955	3	178
2429	27548	GGCACAGGAGGTGCACATTT	576956	60	179

Таблица 8

Целевой сайт инициации SEQIDNO: 1	Целевой сайт инициации SEQIDNO: 2	Последовательность	№ ISIS	% ингибирования	SEQ ID NO
--	--	--------------------	--------	--------------------	--------------

	2451	27570	TAGATTTTCTAAGGAGAAAA	576957	8	180
	2486	27605	ACTGACCAGTGAAATCTGAA	576958	50	181
	2522	27641	GGTAAGACTTAGCAAGAAGA	576959	59	182
	2557	27676	TCTCAGAGTTGCAATGATTG	576960	63	183
5	2597	27716	AGATCTTATTAGTTAGTATA	576961	18	184
	2632	27751	AGTACTCAAGGAACTATTTT	576962	57	185
	2679	27798	GGCAAACAGCAACAACTTCA	576963	71	186
	2724	27843	GCACTTCAGTAAAATTTCTC	576964	69	187
	2788	27907	GGTCCAAACGCATTAAGAAA	576965	58	188
10	2825	27944	GAATTATATTAATCAGTTAT	576966	0	189
	2860	27979	TGTGTTTGTGTAACATAAT	576967	67	190
	2895	28014	ATATTACTTCCAGAATTTTA	576968	19	191
	2949	28068	GGCAGAAGGGCTCTATTACC	576969	59	192
	2992	28111	CATTCGAACATGTCATTTTG	576970	40	193
	3027	28146	CTGATTCATGATGGGAAAGC	576971	34	194
15	3062	28181	GTGGTTGTCTAAACATCAA	576972	58	195
	3097	28216	ATGACTGAGCTACAGTACAA	576973	47	196
	3132	28251	GGGACACTACAAGGTAGTAT	576974	56	197
	3167	28286	TTAAATAAGAATCTACCATG	576975	12	198
	3250	28369	GCTTTAATAACTTATTTAC	576976	54	199
20	3282	28401	AGGAGAAAAGATATATAACA	576977	0	200
	3288	28407	CCATTTAGGAGAAAAGATAT	576978	0	201
	н/д	1343	TTCACCCTCAGCGAGTACTG	576979	0	202
	н/д	1403	AGGCTGCGGTTGTTCCCTC	576980	0	203
	н/д	1800	GCCAGATCCCCATCCCTTGT	576981	11	204
25	н/д	2187	TCACTTCCTTTAAGCAAGTC	576982	52	205
	н/д	2209	AGTGATGCCCAAGTCACAAT	576983	53	206
	н/д	2214	AGTCAAGTGATGCCCAAGTC	576984	47	207
	н/д	2219	CCATCAGTCAAGTGATGCCC	576985	60	208
	н/д	2224	GATTACCATCAGTCAAGTGA	576986	29	209
	н/д	2229	CAACTGATTACCATCAGTCA	576987	42	210
30	н/д	2728	GCAGTTTCCAAGTATTGAG	576988	58	211
	н/д	2760	CGTTCCTTGTTCAGATGTAC	576989	57	212
	н/д	2862	GCCAAACAAAATATTTTATC	576990	22	213
	н/д	2995	TAGGTAGGCTAACCTAGTCC	576991	47	214
	н/д	3196	TCCCAGCCCAAAGAGAAGCA	576992	41	215
35	н/д	3466	GGATCATAGCTCTCGGTAAC	576993	26	216
	н/д	3540	AATCATAAAGCCCTCACTTC	576994	7	217
	н/д	3595	CTGATTGGTATTTAGAAAGG	576995	3	218
	н/д	3705	ATGCAGACATGATTACATTA	576996	48	219
	н/д	4560	TTCATCATTAAGTGAAT	576997	0	220
	н/д	4613	CTTTTAGGTTAAAAAGGTGG	576998	35	221
40	н/д	4986	ATACAGAGCCTGGCAAAACA	576999	30	222
	н/д	5036	TTCTATTTACAGAGCATTAG	577000	29	223
	н/д	5656	GCCTTCACATTAATTCACCA	577001	62	224

н/д	6051	TGTGTTATTGCCCTAAAAA	577002	24	225
н/д	6200	TGTATTCACTATACTATGCC	577003	52	226
н/д	6276	AAGTTATTTAAAGTATAGCA	577004	0	227
н/д	6762	GACATTGAAGTATCAAGACA	577005	34	228
н/д	6965	TGTTAAGTAATCTTAGAAAA	577006	0	229
н/д	7594	GGCATACATTTAGAAATTCA	577007	60	230
н/д	8309	ACCTTATGCATCCATATTCT	577008	59	231
н/д	8784	GAATTCTCTTGGGAACCATT	577009	42	232
н/д	8834	ATATTCAACTACAGGATTTA	577010	13	233
н/д	8884	ATGTGTTCTTTAGATACATC	577011	42	234
н/д	9510	CCTTATACAGATACATGCTG	577012	37	235
н/д	9663	TAGATGCAATTACTATTTTC	577013	34	236
н/д	10742	TGTACTTCCCAAACCTGAAC	577014	24	237
н/д	10845	CTGAAGCTCAACAACACCAA	577015	49	238
н/д	11684	GTCTATAGAATCAAACCTGAA	577016	38	239
н/д	11851	TTGAATCAATACCTAACCTC	577017	23	240
н/д	11991	TGCCTCTTTTAGAAAAGATC	577018	44	241
н/д	12042	ATGGAATCATTGGTTTATCG	577019	43	242
н/д	12069	AAAGCTCACTTTTATTCTTT	577020	37	243
н/д	12333				
н/д	12170	GGTGCCGCCACCATGCCCGG	577021	0	244
н/д	12464	GAGAGAAGCTGGGCAATAAA	577022	2	245
н/д	12514	TCTGACCCTGCACAATAAAG	577023	0	246
н/д	13016	ATAGTGTGTGATTCAAAACG	577024	17	247
н/д	13348	ACTGTATCAGCTATCTAAAA	577025	22	248
н/д	14540	TTATTTGTATAGGAACCTAC	577026	44	249
н/д	14699	TGTGAGCTGATGGCACTGTA	577027	61	250
н/д	14758	CCTTATTTACTTTCTCTGCA	577028	71	251
н/д	15587	GGAATAAGGTCACTAGTTCCG	577029	69	252
н/д	17187	ATTTGCAACAATTTTAAAT	577030	8	253
н/д	21808	ATAAACTACCAATGATATCC	577031	13	254
н/д	24337	TACCTGATCCAGGAAGGCTT	577032	40	255
н/д	24565	TTCCCGAAGCATAAATCTAG	577033	53	256
н/д	25549	TTGAGAAGCATGAAATTCCA	577034	48	257

Таблица 9

Целевой сайт инициации SEQIDNO: 1	Целевой сайт инициации SEQIDNO: 2	Последовательность	№ ISIS	% ингибирования	SEQ ID NO
310	7990	GCCTTACTCTAGGACCAAGA	576816	90	40
75	1211	GACGGCTGACACACCAAGCG	576884	0	113
2	1138	GCGGGACACCGTAGGTTACG	577035	0	258
10	1146	CTTTCCTAGCGGGACACCGT	577036	1	259
18	1154	GCACCTCTCTTTCCTAGCGG	577037	0	260

26	1162	TGTTTGACGCACCTCTCTTT	577038	0	261
34	1170	CTTGTCGCTGTTTGACGCAC	577039	0	262
42	1178	GGGCGGAACCTTGTCGCTGTT	577040	0	263
83	1219	GCAGCAGGGACGGCTGACAC	577041	0	264
95	1231	AGAAGCAACCGGGCAGCAGG	577042	0	265
103	1239	CCCCAAAAGAGAAGCAACCGG	577043	0	266
111	1247	ACCCCGCCCCCAAAAGAGAA	577044	1	267
119	1255	CTTGCTAGACCCCGCCCCCA	577045	0	268
127	1263	CACCTGCTCTTGCTAGACCC	577046	0	269
135	1271	TAAACCCACACCTGCTCTTG	577047	0	270
139	1275	CTCCTAAACCCACACCTGCT	577048	0	271
н/д	1283	ACACACACCTCCTAAACCCA	577049	0	272
н/д	1291	AAACAAAAACACACACCTCC	577050	5	273
н/д	1299	GGTGGGAAAAACAAAAACAC	577051	1	274
н/д	1326	CTGTGAGAGCAAGTAGTGGG	577052	3	275
н/д	1334	AGCGAGTACTGTGAGAGCAA	577053	0	276
н/д	1342	TCACCCTCAGCGAGTACTGT	577054	0	277
н/д	1358	TCAGGTCTTTCTTGTTTAC	577055	0	278
н/д	1366	AATCTTTATCAGGTCTTTTC	577056	16	279
н/д	1374	TTCTGGTTAATCTTTATCAG	577057	22	280
н/д	1382	TTGTTTTCTTCTGGTTAATC	577058	19	281
н/д	1390	TTCCCTCCTTGTTTTCTTCT	577059	28	282
н/д	1398	GCGGTTGTTTCCCTCCTTGT	577060	17	283
н/д	1406	TACAGGCTGCGGTTGTTTCC	577061	28	284
н/д	1414	GAGCTTGCTACAGGCTGCGG	577062	23	285
н/д	1422	GAGTTCCAGAGCTTGCTACA	577063	14	286
н/д	1430	CGACTCCTGAGTTCCAGAGC	577064	0	287
н/д	1446	CCCGGCCCTAGCGCGCGAC	577065	0	288
н/д	1454	GCCCCGGCCCCGGCCCCCTAG	577066	0	289
н/д	1465	ACCACGCCCCGGCCCCGGCC	577067	0	290
н/д	1473	CCGCCCCGACCACGCCCCGG	577068	0	291
н/д	1481	CCCCGGGCCCGCCCCGACCA	577069	0	292
н/д	1495	CGCCCCGGGCCCGCCCCCGG	577070	0	293
н/д	1503	CGCAGCCCCGCCCCGGGCC	577071	0	294
н/д	1511	ACCGCAACCGCAGCCCCGCC	577072	0	295
н/д	1519	GCGCAGGCACCGCAACCGCA	577073	18	296
н/д	1520	GGCGCAGGCACCGCAACCGC	577074	17	297
н/д	1536	CGCCTCCGCCGCCGCGGGCG	577075	32	298
н/д	1544	ACCGCCTGCGCCTCCGCCGC	577076	43	299
н/д	1552	CACTCGCCACCGCCTGCGCC	577077	52	300
н/д	1553	CCACTCGCCACCGCCTGCGC	577078	52	301
н/д	1853	GGTCCCCGGGAAGGAGACAG	577079	41	302
н/д	2453	AACAACCTGGTGCATGGCAAC	577080	42	303
н/д	2753	GTTTCAGATGTACTATCAGC	577081	63	304
н/д	3053	AAGGTGAAGTTCATATCACT	577082	10	305

н/д	3452	GGTAACTTCAAACCTCTTGGG	577083	70	306
н/д	3752	GGTTCATGAGAGGTTTCCCA	577084	53	307
н/д	4052	TACTGAATTGCTTAGTTTTA	577085	25	308
н/д	4425	CTAACAGAATAAGAAAAAAA	577086	0	309
н/д	5025	GAGCATTAGATGAGTGCTTT	577087	52	310
н/д	5325	TGCATTCTAAGCAATGTGT	577088	28	311
н/д	5661	TCTAGGCCCTTCACATTAATT	577089	37	312
н/д	5961	CCTGTCTATGCCTAGGTGAA	577090	19	313
н/д	6261	TAGCACATACAATTATTACA	577091	38	314
н/д	6566	GAGGAGAAGAACATAAACGC	577092	20	315
н/д	6866	TACCACAAGTCTGGAGCCAT	577093	27	316
н/д	7166	GATACTGGATTGTTGAAACT	577094	1	317
н/д	7466	TAGTATGACTGGAGATTTGG	577095	1	318
н/д	7766	ATCAAAACCCCAAATGATTT	577096	13	319
160	7840	ATCCAAATGCTCCGGAGATA	577097	78	320
190	7870	TCGACATCACTGCATTCCAA	577098	95	321
220	7900	CAACAGCTGGAGATGGCGGT	577099	56	322
250	7930	ATTTGCCACTTAAAGCAATC	577100	62	323
340	8020	GTACCTGTTCTGTCTTTGGA	577101	76	324
370	8050	CAAGAAAAGTTATTTCTCCA	577102	65	325
400	8080	GAAGGATTTCTCCATTTAGA	577103	50	326
430	8110	TTACATCTATAGCACCCTC	577104	73	327
460	8140	TCACTCCCTTTTCAGACAAG	577105	73	328
490	8170	AGTTTCCATCAAAGATTAAT	577106	55	329
520	8200	ATAGTCCATATGTGCTGCGA	577107	57	330
550	8230	AACTAAGTTCTGTCTGTGGA	577108	71	331
580	8260	CAACACACACTCTATGAAGT	577109	54	332
610	8290	TTCCTTTCCGGATTATATGT	577110	0	333

Таблица 10

Целевая SEQ ID NO	Целевой сайт инициации	№ ISIS	Последовательность	% ингибирования	SEQ ID NO
3	751	576885	TTTCCATTACAGGAATCACT	63	334
3	807	576886	ATCAGCCTATATCTATTTCC	15	335
3	855	576887	TCAATGACCAGGCGGTCCCC	0	336
3	905	576888	CTTTTATGGAAAAGGAAAA	0	337
3	984	576889	TGTTTCCCCAAAATTTCTG	0	338
4	50	576890	AGATATCCACTCGCCACCGC	42	339

Пример 2. Дозозависимое антисмысловое ингибирование гена C9ORF72 человека в 5 клетках HepG2

Антисмысловые олигонуклеотиды из исследования, описанного выше, проявившие значительное ингибирование мРНК C9ORF72 in vitro, были выбраны и испытаны в различных дозах на клетках HepG2. Данные антисмысловые олигонуклеотиды испытывали в сериях экспериментов, которые обеспечивали сходные культуральные условия. Результаты каждого эксперимента представлены в отдельных таблицах, показанных ниже. Клетки высадили на планшеты в плотности 20000 клеток на лунку и трансфецировали с применением электропорации с помощью концентраций антисмыслового олигонуклеотида 82,3 нМ; 246,9 нМ; 740,7 нМ; 2222,2 нМ; 6666,7 нМ или 20000 нМ. По прошествии периода обработки в течение приблизительно 16 часов РНК выделили из клеток и измерили уровни мРНК C9ORF72 методом количественной

ПЦР в режиме реального времени. Для измерения уровней мРНК использовали набор RTS3750 праймеров-зондов для последовательности C9ORF72 человека. Уровни мРНК C9ORF72 скорректировали в соответствии с суммарным содержанием РНК, измеренным с помощью красителя RIBOGREEN®. Результаты представлены в виде процента ингибирования C9ORF72 по сравнению с необработанными контрольными клетками.

Концентрация полумаксимального ингибирования (IC_{50}) для каждого олигонуклеотида также представлена в табл. 11-13. Как показано, уровни мРНК C9ORF72 были снижены дозозависимым способом в обработанных антисмысловыми олигонуклеотидами клетках.

Таблица 11

№ ISIS	82,3 нМ	246,9 нМ	740,7 нМ	2222,2 нМ	6666,7 нМ	20000,0 нМ	IC_{50} (мкМ)
576816	5	23	49	76	91	96	0,9
576817	8	2	6	29	58	83	4,7
576818	0	22	31	68	87	90	1,4
576819	0	12	44	72	81	86	1,4
576820	18	24	52	78	91	93	0,7
576841	23	19	29	52	75	85	1,6
576842	6	12	13	37	53	83	4,1
576860	9	24	54	70	83	87	1,0
576878	1	9	26	61	77	83	2,0
576931	16	21	24	49	77	83	1,8
576942	6	16	26	57	78	85	1,8

Таблица 12

№ ISIS	82,3 нМ	246,9 нМ	740,7 нМ	2222,2 нМ	6666,7 нМ	20000,0 нМ	IC_{50} (мкМ)
576894	9	30	38	61	75	84	1,3
576896	17	17	28	47	66	76	2,5

576927	3	26	40	60	79	81	1,5
576943	37	37	55	77	84	82	0,4
576945	20	41	56	73	83	84	0,6
576946	8	28	46	69	81	88	1,0
576963	0	0	25	51	63	83	2,9
576964	11	18	37	58	73	77	1,8
576967	19	31	48	68	77	85	0,9
577028	6	19	25	59	79	88	1,6
577029	7	22	44	67	77	85	1,3

Таблица 13

№ ISIS	82,3 нМ	246,9 нМ	740,7 нМ	2222,2 нМ	6666,7 нМ	20000,0 нМ	IC ₅₀ (мкМ)
576960	0	12	28	49	58	78	3,2
576974	25	45	65	70	65	78	0,5
576816	18	36	53	82	91	95	0,6
577097	22	20	31	63	82	94	1,1
577101	16	23	39	62	80	89	1,2
577105	0	4	30	48	78	92	2,0
577104	4	1	16	56	80	92	2,0
577108	0	0	24	52	76	83	2,9
577083	0	0	24	50	73	74	3,0
577078	0	0	10	15	30	75	10,8
577077	0	0	22	22	51	83	5,0

Пример 3. Дозозависимое антисмысловое ингибирование гена C9ORF72 человека в клетках HepG2

Антисмысловые олигонуклеотиды из исследования, описанного выше, проявившие значительное ингибирование мРНК C9ORF72 *in vitro*, были выбраны и испытаны в различных дозах на клетках HepG2. Данные антисмысловые олигонуклеотиды испытывали в сериях экспериментов, которые обеспечивали сходные культуральные условия. Результаты каждого эксперимента представлены в отдельных таблицах, показанных ниже. Клетки высадили на планшеты в плотности 20000 клеток на лунку и трансфецировали с применением электропорации с помощью концентраций антисмыслового олигонуклеотида 246,9 нМ; 740,7 нМ; 2222,2 нМ; 6666,7 нМ или 20000 нМ. По прошествии периода обработки в течение приблизительно 16 часов РНК выделили из клеток и измерили уровни суммарной мРНК C9ORF72, а также уровни мРНК транскрипта экзона 1, методом количественной ПЦР в режиме реального времени. Для измерения уровней суммарной мРНК C9ORF72 использовали набор RTS3750 праймеров-зондов для последовательности C9ORF72 человека.

Для измерения уровня информационного транскрипта экзона 1 использовали набор RTS3905 праймеров-зондов (прямая последовательность GGGTCTAGCAAGAGCAGGTG, обозначенная в данном документе как SEQ ID NO: 18; обратная последовательность GTCTTGGCAACAGCTGGAGAT, обозначенная в данном документе как SEQ ID NO: 19; последовательность зонда TGATGTCGACTCTTTGCCCCACCGC, обозначенная в данном документе как SEQ ID NO: 20). Уровни мРНК C9ORF72 скорректировали в соответствии с суммарным содержанием РНК, измеренным с помощью красителя RIBOGREEN[®]. Результаты представлены в виде процента ингибирования C9ORF72 по сравнению с необработанными контрольными клетками.

Концентрация полумаксимального ингибирования (IC₅₀) для каждого олигонуклеотида также представлена в табл. 14 и 15. Как показано, уровни мРНК C9ORF72 были снижены дозозависимым способом в обработанных антисмысловыми олигонуклеотидами клетках. Сокращение «н.д.» указывает на то, что для этой конкретной дозы данные отсутствуют.

Таблица 14

% ингибирования уровней суммарной мРНК C9ORF72

№ ISIS	246,9 нМ	740,7 нМ	2222,2 нМ	6666,7 нМ	20000,0 нМ	IC ₅₀ (мкМ)
576816	29	53	84	90	92	0,60
576820	20	42	70	87	75	1,19
576860	25	53	72	86	85	0,80
576974	36	49	64	65	68	0,95
577041	3	0	0	0	0	>20,00
577042	0	2	0	3	0	>20,00
577061	0	3	0	4	0	>20,00
577065	7	0	1	6	0	>20,00
577069	3	0	3	0	0	>20,00
577073	7	0	8	11	0	>20,00
577074	0	7	11	15	0	>20,00
577078	0	2	20	65	81	5,22
577083	0	19	55	71	75	3,35
577088	6	11	49	61	74	3,93
577097	3	38	62	78	82	1,94

Таблица 15

% ингибирования уровней мРНК экзона 1 C9ORF72

№ ISIS	246,9 нМ	740,7 нМ	2222,2 нМ	6666,7 нМ	20000,0 нМ	IC ₅₀ (мкМ)
576794	42	67	н.д.	93	87	0,27
576816	45	78	93	н.д.	н.д.	0,26
576820	54	65	92	98	94	<0,247
576860	43	36	71	95	91	0,66
577041	0	0	49	4	31	>20,00
577042	9	15	0	33	12	>20,00
577061	8	36	70	67	76	2,03
577065	20	55	67	82	62	1,06
577069	22	24	61	74	70	2,16
577073	4	62	69	82	81	1,21
577074	8	49	69	85	85	1,29
577078	0	21	59	81	н.д.	1,90
577083	30	43	85	88	92	0,71
577088	38	44	79	87	91	0,61
577097	17	47	52	94	89	1,27

Пример 4. Антисмысловое ингибирование гена C9ORF72 человека в клетках HepG2

Антисмысловые олигонуклеотиды были сконструированы для нацеливания на экспансию гексануклеотидного повтора нуклеиновой кислоты C9ORF72 и их действие было испытано на мРНК C9ORF72 *in vitro*. Данные антисмысловые олигонуклеотиды испытывали в сериях экспериментов, которые обеспечивали сходные культуральные условия. Результаты каждого эксперимента представлены в отдельных таблицах, показанных ниже. Последовательности ISIS 576816 и ISIS 577065 были включены в данные исследования для сравнения. Культивированные до плотности 35000 клеток на лунку фибробласты C9ORF72 трансфецировали с применением электропорации с помощью антисмыслового олигонуклеотида в концентрации 7000 нМ. По прошествии

периода обработки в течение приблизительно 24 часов РНК выделили из клеток и измерили уровни мРНК C9ORF72 методом количественной ПЦР в режиме реального времени. Для измерения уровней мРНК использовали наборы праймеров-зондов человека RTS3750, RTS 3905 или RTS4097 (прямая последовательность

- 5 CAAGCCACCGTCTCACTCAA, обозначенная в данном документе как SEQ ID NO: 24; обратная последовательность GTAGTGCTGTCTACTCCAGAGAGTTACC, обозначенная в данном документе как SEQ ID NO: 25; последовательность зонда CTTGGCTTCCCTC AAAAGACTGGCTAATGT, обозначенная в данном документе как SEQ ID NO: 26). Зонд набора RTS3750 нацелен на экзон 2 транскрипта мРНК, и поэтому измеряет суммарное
- 10 количество транскриптов мРНК. Зонд набора RTS3905 нацелен на экспансию гексануклеотидного повтора, содержащее транскрипт, поэтому измеряет только транскрипты мРНК, которые содержат экспансию гексануклеотидного повтора. Зонд набора RTS4097 нацелен на последовательность гена на сайте 3' экспансии гексануклеотидного повтора. Уровни мРНК скорректировали в соответствии с
- 15 суммарным содержанием РНК, измеренным с помощью красителя RIBOGREEN®. Результаты представлены в виде процента ингибирования C9ORF72 по сравнению с необработанными контрольными клетками. Сокращение «н.д.» указывает на то, что этого конкретного антисмыслового олигонуклеотида отсутствуют данные.

- Антисмысловые олигонуклеотиды в табл.16 были сконструированы в виде
- 20 однотипных МОЕ-олигонуклеотидов или гэммеров 3-10-3 МОЕ, 4-10-3 МОЕ, 4-10-4 МОЕ, 5-10-4 МОЕ или 5-10-5 МОЕ. Однотипные МОЕ-олигонуклеотиды составлены из 20 нуклеозидов в длину, причем каждый нуклеозид содержит группу 2'-МОЕ. Гэммеры 3-10-3 МОЕ составлены из 16 нуклеозидов в длину, причем центральный гэм-сегмент содержит десять 2'-дезоксирибонуклеотидов и фланкирован сегментами-крыльями как
- 25 на 5'-конце, так и на 3'-конце, каждый сегмент включает по три нуклеозида. Гэммеры 4-10-3 МОЕ составлены из 17 нуклеозидов в длину, причем центральный гэм-сегмент содержит десять 2'-дезоксирибонуклеотидов и фланкирован сегментами-крыльями как на 5'-конце, так и на 3'-конце, включающими по четыре или три нуклеозида, соответственно. Гэммеры 4-10-4 МОЕ составлены из 18 нуклеозидов в длину, причем
- 30 центральный гэм-сегмент содержит десять 2'-дезоксирибонуклеотидов и фланкирован сегментами-крыльями как на 5'-конце, так и на 3'-конце, каждый сегмент включает по четыре нуклеозида. Гэммеры 5-10-4 МОЕ составлены из 19 нуклеозидов в длину, причем центральный гэм-сегмент содержит десять 2'-дезоксирибонуклеотидов и фланкирован сегментами-крыльями как на 5'-конце, так и на 3'-конце, включающими по пять или
- 35 четыре нуклеозида, соответственно. Гэммеры 5-10-5 составлены из 20 нуклеозидов в длину, причем центральный гэм-сегмент содержит десять 2'-дезоксирибонуклеотидов и фланкирован сегментами-крыльями как на 5'-конце, так и на 3'-конце, каждый сегмент включает по 5 нуклеозидов. Каждый нуклеозид на сегменте-крыле 5' и каждый нуклеозид на сегменте-крыле 3' содержит группу 2'-МОЕ. Межнуклеозидные связи на всем
- 40 протяжении каждого олигонуклеотида являются фосфоротиоатными связями. Все цитозиновые остатки на всем протяжении каждого олигонуклеотида являются 5-метилцитозинами. «Сайт инициации» указывает на самый крайний 5'-нуклеозид последовательности гена человека, на который нацелен антисмысловый олигонуклеотид. «Сайт терминации» указывает на самый крайний 3'-нуклеозид последовательности гена
- 45 человека, на который нацелен антисмысловый олигонуклеотид. Каждый антисмысловый олигонуклеотид, перечисленный в табл. 16, нацелен на геномную последовательность C9ORF72 человека, обозначенную в данном документе как SEQ ID NO: 2 (комплементарная последовательность в базе данных GENBANK № доступа NT

008413.18, усеченная от нуклеотида 27535000 до 27565000) или SEQ ID NO: 13, которая является удлинённым вариантом гексануклеотидного повтора от интрона 1 гена C9ORF72.

Полученные данные указывают на то, что определенные антисмысловые олигонуклеотиды преимущественно ингибируют уровни транскриптов мРНК C9ORF72, которые содержат данный гексануклеотидный повтор.

Таблица 16

Целевой сайт инициации SEQ ID NO: 2	Целевой сайт инициации SEQ ID NO: 13	Мотив	Последовательность	№ ISIS	% ингибирования (RTS3750)	% ингибирования (RTS3905)	% ингибирования (RTS4097)	SEQ ID NO
1457	1 7 13	Одно-типный МОЕ	CCGGCCCCGGCCCC CGGCCCC	573674	0	34	0	340
1458	2 8 14	Одно-типный МОЕ	CCCGGCCCCGGGCC CCGGCCCC	573675	0	28	0	341
1459	3 9 15	Одно-типный МОЕ	CCCCGGCCCCGGGC CCCCGGCC	573676	0	34	0	342
1460	4 10 16	Одно-типный МОЕ	GCCCCGGCCCCGG CCCCGGC	573677	4	41	0	343
н/д	5 11 17	Одно-типный МОЕ	GGCCCCGGCCCCG GCCCCGG	573678	12	11	6	344
н/д	6 12	Одно-типный МОЕ	CGGCCCCGGCCCC GGCCCCG	573679	0	0	0	345
1457	1 7 13	Одно-типный МОЕ	CGGCCCCGGCCCC GGCCCC	573680	10	6	0	346
1458	2 8 14	Одно-типный МОЕ	CCGGCCCCGGCCCC CGGCCCC	573681	13	23	0	347
1459	3 9 15	Одно-типный МОЕ	CCCGGCCCCGGGCC CCGGCC	573682	2	48	0	348
1460	4 10 16	Одно-типный МОЕ	CCCCGGCCCCGGGC CCCCGGC	573683	0	38	0	349
1461	5 11 17	Одно-типный МОЕ	GCCCCGGCCCCGG CCCCGG	573684	0	0	0	350
н/д	6	Одно-типный МОЕ	GGCCCCGGCCCCG	573685	0	27	0	351

	12	ипный	GCCCCG					
	18	МОЕ						
5	1	Однот	GGCCCCGGCCCCG	573686	0	40	0	352
	7	ипный	GCCCC					
	13	МОЕ						
	19							
	2	Однот	CGGCCCCGGCCCC	573687	0	0	0	353
	8	ипный	GGCCC					
	14	МОЕ						
	3	Однот	CCGGCCCCGGCCC	573688	22	0	0	354
	9	ипный	CGGCC					
	15	МОЕ						
10	4	Однот	CCCGGCCCCGGCC	573689	0	22	0	355
	10	ипный	CCGGC					
	16	МОЕ						
	5	Однот	CCCCGGCCCCGGC	573690	15	43	0	356
	11	ипный	CCCGG					
	17	МОЕ						
15	6	Однот	GCCCCGGCCCCGG	573691	10	16	0	357
	12	ипный	CCCCG					
	18	МОЕ						
	1	Однот	GCCCCGGCCCCGG	573692	6	65	0	358
	7	ипный	CCCC					
	13	МОЕ						
	19							
20	2	Однот	GGCCCCGGCCCCG	573693	9	0	0	359
	8	ипный	GCCC					
	14	МОЕ						
	20							
	3	Однот	CGGCCCCGGCCCC	573694	10	0	0	360
	9	ипный	GGCC					
	15	МОЕ						
25	4	Однот	CCGGCCCCGGCCCC	573695	3	42	0	361
	10	ипный	CGGC					
	16	МОЕ						
	5	Однот	CCCGGCCCCGGCC	573696	0	23	0	362
	11	ипный	CCGG					
	17	МОЕ						
30	6	Однот	CCCCGGCCCCGGC	573697	0	28	0	363
	12	ипный	CCCG					
	18	МОЕ						
	1	Однот	CCCCGGCCCCGGC	573698	1	68	0	364
	7	ипный	CCC					
	13	МОЕ						
	19							
35	2	Однот	GCCCCGGCCCCGG	573699	0	31	0	365
	8	ипный	CCC					
	14	МОЕ						
	20							
	3	Однот	GGCCCCGGCCCCG	573700	7	2	2	366
	9	ипный	GCC					
	15	МОЕ						
	21							
40	4	Однот	CGGCCCCGGCCCC	573701	15	1	8	367
	10	ипный	GGC					
	16	МОЕ						

5	1461	5	Однотипный МОЕ	CCGGCCCCGGCCC CGG	573702	26	0	0	368
		11							
		17							
10	1462	6	Однотипный МОЕ	CCCGGCCCCGGCC CCG	573703	12	52	10	369
		12							
		18							
15	1457	1	5-10-5 МОЕ	CCGGCCCCGGCCCC CGGCCCC	573716	0	93	46	340
		7							
		13							
20	1458	2	5-10-5 МОЕ	CCCGGCCCCGGCC CCGGCCC	573717	0	98	0	341
		8							
		14							
25	1459	3	5-10-5 МОЕ	CCCCGGCCCCGGC CCCCGCC	573718	0	98	2	342
		9							
		15							
30	1460	4	5-10-5 МОЕ	GCCCCGGCCCCGG CCCCGGC	573719	0	68	19	343
		10							
		16							
35	н/д	5	5-10-5 МОЕ	GGCCCCGGCCCCG GCCCCGG	573720	13	90	18	344
		11							
		17							
40	н/д	6	5-10-5 МОЕ	CGGCCCCGGCCCC GGCCCCG	573721	0	98	18	345
		12							
		18							
45	1457	1	5-10-4 МОЕ	CGGCCCCGGCCCC GGCCCC	573722	0	97	0	346
		7							
		13							
50	1458	2	5-10-4 МОЕ	CCGGCCCCGGCCCC CGGCCCC	573723	0	н.д.	8	347
		8							
		14							
55	1459	3	5-10-4 МОЕ	CCCGGCCCCGGCC CCGGCC	573724	0	94	28	348
		9							
		15							
60	1460	4	5-10-4 МОЕ	CCCCGGCCCCGGC CCCCGC	573725	0	94	7	349
		10							
		16							
65	1461	5	5-10-4 МОЕ	GCCCCGGCCCCGG CCCCGG	573726	0	н.д.	28	350
		11							
		17							
70	н/д	6	5-10-4 МОЕ	GGCCCCGGCCCCG GCCCCG	573727	0	98	40	351
		12							
		18							
75	1457	1	4-10-4 МОЕ	GGCCCCGGCCCCG GCCCC	573728	0	97	19	352
		7							
		13							
80	1458	2	4-10-4 МОЕ	CGGCCCCGGCCCC GGCCC	573729	0	н.д.	36	353
		8							
		14							
85	1459	3	4-10-4 МОЕ	CCGGCCCCGGCCCC CGGCC	573730	0	94	24	354
		9							
		15							
90	1460	4	4-10-4 МОЕ	CCCGGCCCCGGCC CCGGC	573731	0	97	13	355
		10							
		16							
95	1461	5	4-10-4 МОЕ	CCCCGGCCCCGGC CCCGG	573732	0	97	1	356
		11							
		17							

		17						
	1462	6	4-10-4	GCCCCGGCCCCGG	573733	0	н.д.	357
		12	MOE	CCCCG				
		18						
5	1457	1	4-10-3	GCCCCGGCCCCGG	573734	0	96	358
		7	MOE	CCCC				
	1463	13						
		19						
	1458	2	4-10-3	GGCCCCGGCCCCG	573735	0	94	359
		8	MOE	GCCC				
		14						
		20						
10	1459	3	4-10-3	CGGCCCCGGCCCC	573736	0	93	360
		9	MOE	GGCC				
		15						
	1460	4	4-10-3	CCGGCCCCGGCCCC	573737	0	96	361
		10	MOE	CGGC				
		16						
15	1461	5	4-10-3	CCCGGCCCCGGCC	573738	0	н.д.	362
		11	MOE	CCGG				
		17						
	1462	6	4-10-3	CCCCGGCCCCGGC	573739	0	н.д.	363
		12	MOE	CCCG				
		18						
	1457	1	3-10-3	CCCCGGCCCCGGC	573740	0	н.д.	364
		7	MOE	CCC				
20	1463	13						
		19						
	1458	2	3-10-3	GCCCCGGCCCCGG	573741	0	95	365
		8	MOE	CCC				
	1464	14						
		20						
25	1459	3	3-10-3	GGCCCCGGCCCCG	573742	23	97	366
		9	MOE	GCC				
		15						
		21						
	1460	4	3-10-3	CGGCCCCGGCCCC	573743	0	96	367
		10	MOE	GGC				
		16						
30	1461	5	3-10-3	CCGGCCCCGGCCCC	573744	0	94	368
		11	MOE	CGG				
		17						
	1462	6	3-10-3	CCCGGCCCCGGCC	573745	0	н.д.	369
		12	MOE	CCG				
		18						
35	7990	н/д	5-10-5	GCCTTACTCTAGG	576816	83	91	40
			MOE	ACCAAGA				
	1446	н/д	5-10-5	CCCGGCCCCTAGC	577065	0	87	288
			MOE	GCGCGAC				

Пример 5. Ингибирование и переносимость при лечении антисмысловыми олигонуклеотидами C9ORF72 грызунов *in vivo*

Для оценки переносимости ингибирования экспрессии C9ORF72 *in vivo* сконструировали и оценили на моделях мышей и крыс антисмысловые олигонуклеотиды, нацеленные на нуклеиновую кислоту C9ORF72 мышевидных грызунов.

Последовательность ISIS 571883 сконструировали в виде гэмпера 5-10-5 MOE, состоящего в длину из 20 нуклеозидов, причем центральный гэм-сегмент содержит десять 2'-дезоксирибонуклеотидов и фланкирован сегментами-крыльями как на 5'-конце, так и на 3'-конце, каждый сегмент включает по пять нуклеозидов. Каждый нуклеозид на сегменте-крыле 5' и каждый нуклеозид на сегменте-крыле 3' несут модификацию MOE. Межнуклеозидные связи представляют собой фосфоротиоатные связи. Все цитозиновые остатки на всем протяжении данного гэмпера являются 5-метилцитозинами.

Последовательность ISIS 571883 имеет целевой сайт инициации из нуклеотида 33704 геномной последовательности C9ORF72 мышевидных грызунов, обозначенную в данном документе как SEQ ID NO: 11 (комплементарная последовательность из базы данных GENBANK № доступа NT_166289.1, усеченная от нуклеотида 3587000 до 3625000).

- 5 Последовательность ISIS 603538 сконструировали в виде гэмпера 5-10-5 МОЕ, состоящего в длину из 20 нуклеотидов, причем центральный гэм-сегмент содержит десять 2'-дезоксирибонуклеотидов и фланкирован сегментами-крыльями как на 5'-конце, так и на 3'-конце, каждый сегмент включает по пять нуклеотидов. Каждый нуклеотид на сегменте-крыле 5' и каждый нуклеотид на сегменте-крыле 3' несут модификацию
- 10 МОЕ. Межнуклеотидные связи представляют собой или фосфоротиоатные связи или фосфатэфирные связи (Gs Ao Co Co Gs Cs Ts Ts Gs As Gs Ts Ts Gs Co Co Ao Cs A, в которых «s» обозначает фосфоротиоатную межнуклеотидную связь, «o» обозначает фосфатэфирную связь, а A, G, C, T - соответствующие нуклеотиды). Все цитозиновые остатки на всем протяжении данного гэмпера являются 5-метилцитозинами.
- 15 Последовательность ISIS 603538 имеет целевой сайт инициации из нуклеотида 2872 последовательности мРНК C9ORF72 крысы, обозначенную в данном документе как SEQ ID NO: 12 (№ доступа в базе данных GENBANK NM_001007702.1).

Эксперимент на мышах 1

- Каждой мыши в группе из 4 мышей линии C57BL/6 инъекционно ввели 50, 100, 300, 500 или 700 мкг последовательности ISIS 571883, введение провели посредством
- 20 интрацеребровентрикулярной болюсной инъекции. Контрольной группе из четырех мышей линии C57/BL6 сходным образом ввели ФСБР. Животным провели анестезию с помощью 3% изофлурана и поместили на стереотаксическую рамку. После стерилизации места хирургического вмешательства каждой мыши инъецировали на
- 25 -0,2 мм фасно от брегмы (Международная анатомическая номенклатура) в глубину на 3 мм дорсовентрально к брегме вышеупомянутые дозы ISIS 571883 с использованием шприца Гамильтона. Полученный разрез был закрыт наложением шва. Мышам дали возможность восстановиться в течение 14 дней, после чего провели эвтаназию животных в соответствии с гуманным протоколом, утвержденным Институциональным комитетом
- 30 по содержанию и использованию животных. Ткани головного и спинного мозга собрали и быстро заморозили в жидком азоте. Перед замораживанием сделали пять поперечных срезов тканей, используя матрицу мозга мыши.

Анализ РНК

- Для анализа экспрессии мРНК C9ORF72 экстрагировали РНК из среза головного
- 35 мозга размером 2-3 мм за местом введения из фронтального кортекса головного мозга и из люмбального среза ткани спинного мозга. Экспрессию мРНК C9ORF72 измерили методом ПЦР в режиме реального времени. Полученные данные представлены в табл. 17. Результаты указывают, что лечение увеличивающимися дозами ISIS 571883 привели к дозозависимому ингибированию экспрессии мРНК C9ORF72.
- 40 Оценивали также индукцию микроглиального маркера AIF-1 путем измерения проявления токсичности на ЦНС. Полученные данные представлены в табл. 18. Результаты указывают, что лечение увеличивающимися дозами ISIS 571883 не привели к статистически значимому увеличению экспрессии мРНК AIF-1. Следовательно, инъекция ISIS 571883 на этой модели была признана переносимой.

Таблица 17**Процент ингибирования экспрессии мРНК C9ORF72 по сравнению с контрольным ФСБР**

Доза (мкг)	Задняя часть головного мозга	Кортекс	Спинной мозг
50	22	8	46
100	22	12	47
300	55	47	67
500	61	56	78
700	65	65	79

Таблица 18**Процент экспрессии мРНК AIF-1 по сравнению с экспрессией, вызванной контрольным ФСБР**

Доза (мкг)	Задняя часть головного мозга	Спинной мозг
50	102	89
100	105	111
300	107	98
500	131	124
700	122	116

Эксперимент на мышах 2

Каждой мышке в группе из 4 мышей линии C57BL/6 инъекционно ввели 500 мкг последовательности ISIS 571883, введение провели посредством интрацеребровентрикулярной (ИЦВ) болюсной инъекции по методике, сходной с описанной выше. Контрольной группе из четырех мышей линии C57/BL6 сходным образом ввели ФСБР. Мышей исследовали в равноудаленные временные точки после ИЦВ введения.

Анализ поведения

Применили два стандартных исследования для оценки двигательного поведения: исследование с вращающимся стержнем и анализ силы сжатия. В случае исследований с вращающимся стержнем измеряли время задержки падения. Полученные данные этих исследований представлены в табл. 19 и 20. Результаты указывают, что не было отмечено статистически значимых изменений двигательного поведения мышей по причине антисмыслового ингибирования последовательностью ISIS 571883 или из-за ИЦВ введения. Следовательно, антисмысловое ингибирование гена C9ORF72 на этой модели было признано переносимым.

Таблица 19**Задержка падения (с) при исследовании с вращающимся стержнем**

Неделя после инъекции	ФСБР	ISIS 571883
0	66	66
4	91	70
8	94	84

Таблица 20
Средняя сила сжатия задней лапы (г) в анализе силы сжатия

Неделя после инъекции	ФСБР	ISIS 571883
0	57	63
1	65	51
2	51	52
3	51	51
4	59	72
5	60	64
6	61	72
7	67	68
8	66	70
9	63	61
10	48	46

Эксперимент на крысах

Каждой крысе в группе из 4 крыс линии Спрег-Дули инъекционно ввели 700, 1000 или 3000 мкг последовательности ISIS 603538, введение провели посредством интратекальной болюсной инъекции. Контрольной группе из четырех крыс линии Спрег-Дули сходным образом ввели ФСБР. Животным провели анестезию с помощью 3% изофлурана и поместили на стереотаксическую рамку. После стерилизации места хирургического вмешательства каждой крысе инъецировали 30 мкл раствора антисмыслового олигонуклеотида (АСО), вводимого через интратекальный катетер длиной 8 см на глубину 2 см в спинномозговой канал с промывкой 50 мкл. Крысам дали возможность восстановиться в течение 4 недель, после чего провели эвтаназию животных в соответствии с гуманным протоколом, утвержденным Институциональным комитетом по содержанию и использованию животных.

Анализ РНК

Для анализа экспрессии мРНК C9ORF72 экстрагировали из среза головного мозга размером 2-3 мм за местом введения из фронтального кортекса головного мозга и из цервикального и люмбального срезов ткани спинного мозга. Экспрессию мРНК C9ORF72 измерили методом ПЦР в режиме реального времени. Полученные данные представлены в табл. 21. Результаты указывают, что лечение увеличивающимися дозами ISIS 603538 привели к дозозависимому ингибированию экспрессии мРНК C9ORF72.

Оценивали также индукцию микроглиального маркера AIF-1 путем измерения проявления токсичности на ЦНС. Полученные данные представлены в табл. 22. Результаты указывают, что лечение увеличивающимися дозами ISIS 603538 не привели к статистически значимому увеличению экспрессии мРНК AIF-1. Следовательно, инъекция ISIS 603538 на этой модели была признана переносимой.

Таблица 21
Процент ингибирования экспрессии мРНК C9ORF72 по сравнению с контрольным ФСБР

Доза (мкг)	Головной мозг (срез 1 мм)	Кортекс	Спинной мозг (люмбальный)	Спинной мозг (цервикальный)
700	21	4	86	74
1000	53	49	88	82
3000	64	62	88	80

Таблица 22

Процент экспрессии мРНК AIF-1 по сравнению с экспрессией, вызванной контрольным ФСБР

Доза (мкг)	Головной мозг (срез 1 мм)	Кортекс	Спинной мозг (люмбальный)	Спинной мозг (цервикальный)
700	97	119	98	89
1000	105	113	122	96
3000	109	141	156	115

Анализ массы тела

Массу тела крыс измерили во временные точки через равноудаленные интервалы. Полученные данные представлены в табл. 23. Результаты указывают, что лечение увеличивающимися дозами ISIS 603538 не привели к каким-либо статистически значимым изменениям массы тела крыс.

Таблица 23

Массы тела крыс (% от исходной массы тела)

	Доза (мкг)	Неделя 1	Неделя 2	Неделя 3	Неделя 4	Неделя 5
ФСБР		100	94	103	105	109
ISIS 603538	700	100	94	98	103	107
	1000	100	95	97	101	103
	3000	100	92	98	102	105

Пример 6. Преимущественное ингибирование экспрессии гена C9ORF72 человека в линиях фибробластов двух пациентов

Две разные клеточные линии пациентов-людей (F09-152 и F09-229) проанализировали с антисмысловыми олигонуклеотидами, которые нацелены на последовательность премРНК C9ORF72 перед экзonom 1B, т.е. антисмысловые олигонуклеотиды нацелены на экспансию гексануклеотидного повтора, содержащего транскрипт, и антисмысловые олигонуклеотиды нацелены в прямом направлении считывания экзона 1. Целевые сайты инициации и терминации и участки-мишени в сравнении с SEQ ID NO: 1 и 2 для каждого олигонуклеотида представлены в табл.24. Последовательности ISIS 577061 и ISIS 577065 нацелены на последовательность C9ORF72 в обратном направлении считывания экзона 1B и непосредственно в обратном направлении гексануклеотидного повтора. Остальные олигонуклеотиды ISIS из табл. 24 нацелены в прямом направлении считывания последовательности C9ORF72 экзона 1B и гексануклеотидного повтора.

Таблица 24

Целевые сайты инициации и терминации олигонуклеотидов ISIS, использованные при исследовании «доза-отклик» на фибробластах пациентов с мутациями C9ORF72

№ ISIS	Целевой сайт инициации SEQIDNO: 1	Целевой сайт инициации SEQIDNO: 2	Участок-мишень
577061	н/д	1406	В обратном направлении экзона 1B
577065	н/д	1446	В обратном направлении экзона 1B
577083	н/д	3452	В прямом направлении экзона 1B
576816	232	7990	Экзон 2
576974	3132	28251	Экзон 11

Клетки высадили на планшеты в плотности 20000 клеток на лунку и трансфицировали

с применением электропорации с помощью концентраций антисмыслового олигонуклеотида 246,9 нМ; 740,7 нМ; 2222,2 нМ; 6666,7 нМ и 20000 нМ. По прошествии периода обработки в течение приблизительно 16 часов РНК выделили из клеток и измерили уровни мРНК C9ORF72 методом количественной ПЦР в режиме реального времени. Использовали два набора праймеров-зондов: (1) набор RTS3750 праймеров-зондов для гена C9ORF72 человека, который измеряет суммарные уровни мРНК, и (2) набор RTS3905, который нацелен на экспансию гексануклеотидного набора, содержащего транскрипт, что измеряет только транскрипты мРНК, которые содержат экспансию гексануклеотидного набора. Уровни мРНК C9ORF72 скорректировали в соответствии с суммарным содержанием РНК, измеренным с помощью красителя RIBOGREEN®. Результаты представлены в виде процента ингибирования C9ORF72 по сравнению с необработанными контрольными клетками.

Как показано в табл. 25, два олигонуклеотида, которые нацелены в обратном направлении считывания экзона 1В и поэтому направлены на транскрипты мРНК, содержащие экспансию гексануклеотидного повтора (ISIS 577061 и ISIS 577065), не ингибируют уровни суммарной мРНК C9ORF72 (при измерении с помощью набора RTS3750), также, как и ISIS 576974, 576816 и 577083, которые нацелены в прямом направлении экзона 1В и поэтому не направлены на транскрипт мРНК, содержащий экспансию гексануклеотидного повтора. Уровни экспрессии транскрипта мРНК C9ORF72, содержащего экспансию гексануклеотидного повтора, являются низкими (около 10% от суммарной экспрессии продуктов гена C9ORF72), поэтому, олигонуклеотиды, нацеленные на транскрипт мРНК, содержащий экспансию гексануклеотидного повтора, несильно ингибируют суммарную мРНК C9ORF72 (при измерении набором RTS3905), как приведено в табл. 25. Таким образом, последовательности ISIS 577061 и ISIS 577065 преимущественно ингибируют экспрессию транскриптов мРНК, содержащих экспансию гексануклеотидного повтора.

Таблица 25
Процент ингибирования суммарной мРНК C9ORF72 в фибробластах пациента F09-152 в анализе «доза-отклик» при измерении с набором RTS3750

№ ISIS	246,9 нМ	740,7 нМ	2222,2 нМ	6666,7 нМ	20000,0 нМ
577061	6	11	0	18	10
577065	10	11	30	29	0
576974	61	69	72	83	83
576816	35	76	82	91	93
577083	28	38	52	75	80

Таблица 26
Процент ингибирования транскриптов мРНК C9ORF72, содержащих экспансию гексануклеотидного повтора, в фибробластах пациента F09-152 в анализе «доза-отклик» при измерении с набором RTS3905

№ ISIS	246,9 нМ	740,7 нМ	2222,2 нМ	6666,7 нМ	20000,0 нМ
577061	4	28	58	81	87
577065	25	54	70	90	94
576974	57	77	81	93	92
576816	37	77	91	97	98
577083	37	53	74	93	94

Таблица 27
Процент ингибирования суммарной мРНК C9ORF72 в фибробластах пациента F09-229
в анализе «доза-отклик» при измерении с набором RTS3750

№ ISIS	246,9 нМ	740,7 нМ	2222,2 нМ	6666,7 нМ	20000,0 нМ
577061	0	0	0	17	7
577065	8	17	17	16	3
576974	43	58	85	85	74
576816	45	70	85	81	89
577083	22	45	56	76	78

Таблица 28
Процент ингибирования транскриптов мРНК C9ORF72, содержащих экспансию
гексануклеотидного повтора, в фибробластах пациента F09-229 в анализе «доза-отклик»
при измерении с набором RTS3905

№ ISIS	246,9 нМ	740,7 нМ	2222,2 нМ	6666,7 нМ	20000,0 нМ
577061	14	36	70	87	89
577065	26	48	92	91	98
576974	63	87	91	92	91
576816	62	81	96	98	100
577083	36	64	82	98	96

ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

<110> Isis Pharmaceuticals, Inc.

<120> КОМПОЗИЦИИ ДЛЯ МОДУЛЯЦИИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА C9ORF72

<130> BIOL0211WO

<140> PCT/US2013/065073

<141> 2013-10-15

<150> 61/714,132

<151> 2012-10-15

<160> 369

<170> Версия PatentIn 3.5

<210> 1

<211> 3339

<212> ДНК

<213> Homo sapiens

<220>

<221> КОДИРУЮЩАЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ

<222> (203)..(1648)

<400> 1

acgtaacctc cgggtgtcccg ctaggaaaga gaggtgctgc aaacagcgac aagttccgcc 60

cacgtaaaag atgacgcttg gtgtgtcagc cgtccctgct gcccggttgc ttctcttttg 120

ggggcggggt ctagcaagag caggtgtggg tttaggagat atctccggag catttgata 180

atgtgacagt tggaatgcag tg atg tgc act ctt tgc cca ccg cca tct cca 232

Met Ser Thr Leu Cys Pro Pro Pro Ser Pro

1

5

10

gct gtt gcc aag aca gag att gct tta agt ggc aaa tca cct tta tta 280

Ala Val Ala Lys Thr Glu Ile Ala Leu Ser Gly Lys Ser Pro Leu Leu

RU 2730677 C2

					15					20				25							
					gca	gct	act	ttt	gct	tac	tgg	gac	aat	att	ctt	ggt	cct	aga	gta	agg	328
					Ala	Ala	Thr	Phe	Ala	Tyr	Trp	Asp	Asn	Ile	Leu	Gly	Pro	Arg	Val	Arg	
								30					35					40			
5					cac	att	tgg	gct	cca	aag	aca	gaa	cag	gta	ctt	ctc	agt	gat	gga	gaa	376
					His	Ile	Trp	Ala	Pro	Lys	Thr	Glu	Gln	Val	Leu	Leu	Ser	Asp	Gly	Glu	
								45					50					55			
					ata	act	ttt	ctt	gcc	aac	cac	act	cta	aat	gga	gaa	atc	ctt	cga	aat	424
					Ile	Thr	Phe	Leu	Ala	Asn	His	Thr	Leu	Asn	Gly	Glu	Ile	Leu	Arg	Asn	
10								60					65					70			
					gca	gag	agt	ggt	gct	ata	gat	gta	aag	ttt	ttt	gtc	ttg	tct	gaa	aag	472
					Ala	Glu	Ser	Gly	Ala	Ile	Asp	Val	Lys	Phe	Phe	Val	Leu	Ser	Glu	Lys	
								75					80					85		90	
					gga	gtg	att	att	gtt	tca	tta	atc	ttt	gat	gga	aac	tgg	aat	ggg	gat	520
15					Gly	Val	Ile	Ile	Val	Ser	Leu	Ile	Phe	Asp	Gly	Asn	Trp	Asn	Gly	Asp	
								95					100					105			
					cgc	agc	aca	tat	gga	cta	tca	att	ata	ctt	cca	cag	aca	gaa	ctt	agt	568
					Arg	Ser	Thr	Tyr	Gly	Leu	Ser	Ile	Ile	Leu	Pro	Gln	Thr	Glu	Leu	Ser	
								110					115					120			
20					ttc	tac	ctc	cca	ctt	cat	aga	gtg	tgt	gtt	gat	aga	tta	aca	cat	ata	616
					Phe	Tyr	Leu	Pro	Leu	His	Arg	Val	Cys	Val	Asp	Arg	Leu	Thr	His	Ile	
								125					130					135			
					atc	cgg	aaa	gga	aga	ata	tgg	atg	cat	aag	gaa	aga	caa	gaa	aat	gtc	664
					Ile	Arg	Lys	Gly	Arg	Ile	Trp	Met	His	Lys	Glu	Arg	Gln	Glu	Asn	Val	
25								140					145					150			
					cag	aag	att	atc	tta	gaa	ggc	aca	gag	aga	atg	gaa	gat	cag	ggt	cag	712
					Gln	Lys	Ile	Ile	Leu	Glu	Gly	Thr	Glu	Arg	Met	Glu	Asp	Gln	Gly	Gln	
								155					160					165		170	
					agt	att	att	cca	atg	ctt	act	gga	gaa	gtg	att	cct	gta	atg	gaa	ctg	760
30					Ser	Ile	Ile	Pro	Met	Leu	Thr	Gly	Glu	Val	Ile	Pro	Val	Met	Glu	Leu	
								175					180					185			
					ctt	tca	tct	atg	aaa	tca	cac	agt	gtt	cct	gaa	gaa	ata	gat	ata	gct	808
					Leu	Ser	Ser	Met	Lys	Ser	His	Ser	Val	Pro	Glu	Glu	Ile	Asp	Ile	Ala	
								190					195					200			
35					gat	aca	gta	ctc	aat	gat	gat	gat	att	ggt	gac	agc	tgt	cat	gaa	ggc	856
					Asp	Thr	Val	Leu	Asn	Asp	Asp	Asp	Ile	Gly	Asp	Ser	Cys	His	Glu	Gly	
								205					210					215			
					ttt	ctt	ctc	aat	gcc	atc	agc	tca	cac	ttg	caa	acc	tgt	ggc	tgt	tcc	904
					Phe	Leu	Leu	Asn	Ala	Ile	Ser	Ser	His	Leu	Gln	Thr	Cys	Gly	Cys	Ser	
40								220					225					230			
					gtt	gta	gta	ggt	agc	agt	gca	gag	aaa	gta	aat	aag	ata	gtc	aga	aca	952
					Val	Val	Val	Gly	Ser	Ser	Ala	Glu	Lys	Val	Asn	Lys	Ile	Val	Arg	Thr	
								235					240					245		250	
					tta	tgc	ctt	ttt	ctg	act	cca	gca	gag	aga	aaa	tgc	tcc	agg	tta	tgt	1000
45					Leu	Cys	Leu	Phe	Leu	Thr	Pro	Ala	Glu	Arg	Lys	Cys	Ser	Arg	Leu	Cys	
								255					260					265			
					gaa	gca	gaa	tca	tca	ttt	aaa	tat	gag	tca	ggg	ctc	ttt	gta	caa	ggc	1048
					Glu	Ala	Glu	Ser	Ser	Phe	Lys	Tyr	Glu	Ser	Gly	Leu	Phe	Val	Gln	Gly	

RU 2730677 C2

	270	275	280	
	ctg cta aag gat tca act gga agc ttt gtg ctg cct ttc cgg caa gtc			1096
	Leu Leu Lys Asp Ser Thr Gly Ser Phe Val Leu Pro Phe Arg Gln Val			
	285	290	295	
5	atg tat gct cca tat ccc acc aca cac ata gat gtg gat gtc aat act			1144
	Met Tyr Ala Pro Tyr Pro Thr Thr His Ile Asp Val Asp Val Asn Thr			
	300	305	310	
	gtg aag cag atg cca ccc tgt cat gaa cat att tat aat cag cgt aga			1192
	Val Lys Gln Met Pro Pro Cys His Glu His Ile Tyr Asn Gln Arg Arg			
10	315	320	325	330
	tac atg aga tcc gag ctg aca gcc ttc tgg aga gcc act tca gaa gaa			1240
	Tyr Met Arg Ser Glu Leu Thr Ala Phe Trp Arg Ala Thr Ser Glu Glu			
	335	340	345	
	gac atg gct cag gat acg atc atc tac act gac gaa agc ttt act cct			1288
15	Asp Met Ala Gln Asp Thr Ile Ile Tyr Thr Asp Glu Ser Phe Thr Pro			
	350	355	360	
	gat ttg aat att ttt caa gat gtc tta cac aga gac act cta gtg aaa			1336
	Asp Leu Asn Ile Phe Gln Asp Val Leu His Arg Asp Thr Leu Val Lys			
	365	370	375	
20	gcc ttc ctg gat cag gtc ttt cag ctg aaa cct ggc tta tct ctc aga			1384
	Ala Phe Leu Asp Gln Val Phe Gln Leu Lys Pro Gly Leu Ser Leu Arg			
	380	385	390	
	agt act ttc ctt gca cag ttt cta ctt gtc ctt cac aga aaa gcc ttg			1432
	Ser Thr Phe Leu Ala Gln Phe Leu Leu Val Leu His Arg Lys Ala Leu			
25	395	400	405	410
	aca cta ata aaa tat ata gaa gac gat acg cag aag gga aaa aag ccc			1480
	Thr Leu Ile Lys Tyr Ile Glu Asp Asp Thr Gln Lys Gly Lys Lys Pro			
	415	420	425	
	ttt aaa tct ctt cgg aac ctg aag ata gac ctt gat tta aca gca gag			1528
30	Phe Lys Ser Leu Arg Asn Leu Lys Ile Asp Leu Asp Leu Thr Ala Glu			
	430	435	440	
	ggc gat ctt aac ata ata atg gct ctg gct gag aaa att aaa cca ggc			1576
	Gly Asp Leu Asn Ile Ile Met Ala Leu Ala Glu Lys Ile Lys Pro Gly			
	445	450	455	
35	cta cac tct ttt atc ttt gga aga cct ttc tac act agt gtg caa gaa			1624
	Leu His Ser Phe Ile Phe Gly Arg Pro Phe Tyr Thr Ser Val Gln Glu			
	460	465	470	
	cga gat gtt cta atg act ttt taa atgtgtaact taataagcct attccatcac			1678
	Arg Asp Val Leu Met Thr Phe			
40	475	480		
	aatcatgatac gctggtaaag tagctcagtg gtgtgggggaa acgttcccct ggatcatact			1738
	ccagaattct gctctcagca attgcagtta agtaagttac actacagttc tcacaagagc			1798
	ctgtgagggg atgtcaggtg catcattaca ttgggtgtct cttttcctag atttatgctt			1858
	ttgggataca gacctatggt tacaatatata taaatattat tgctatcttt taaagatata			1918
45	ataataggat gtaaacttga ccacaactac tgtttttttg aaatacatga ttcatgggtt			1978
	acatgtgtca aggtgaaaatc tgagttggct tttacagata gttgactttc tatcttttgg			2038
	cattcttttg tgtgtagaat tactgttaata cttctgcaat caactgaaaa ctagagcctt			2098
	taaatgattt caattccaca gaaagaaaagt gagcttgaac ataggatgag ctttagaaaag			2158

	aaaattgatc aagcagatgt ttaattggaa ttgattatta gatcctactt tgtggattta	2218
	gtccctggga ttcagtctgt agaaatgtct aatagtcttc tatagtcctt gttcctgggtg	2278
	aaccacagtt aggggtgtttt gtttatttta ttgttcttgc tattgttgat attctatgta	2338
	gttgagctct gtaaaaggaa attgtatttt atgttttagt aattgttgcc aacttttttaa	2398
5	attaattttc attatttttg agccaaattg aaatgtgcac ctctgtgcc tttttctcc	2458
	ttagaaaatc taattacttg gaacaagttc agatttcact ggtcagtcac tttcatcttg	2518
	ttttcttctt gctaagtctt accatgtacc tgctttggca atcattgcaa ctctgagatt	2578
	ataaaatgcc ttagagaata tactaactaa taagatcttt ttttcagaaa cagaaaatag	2638
	ttccttgagt acttccttct tgcatttctg cctatgtttt tgaagttgtt gctgtttgcc	2698
10	tgcaataggc tataaggaat agcaggagaa attttactga agtgctgttt tcctagggtgc	2758
	tactttggca gagctaagtt atcttttgtt ttcttaatgc gtttggacca ttttgctggc	2818
	tataaaataa ctgattaata taattctaac acaatgttga cattgtagtt acacaaacac	2878
	aaataaatat tttattttaa attctggaag taatataaaa gggaaaatat atttataaga	2938
	aagggataaa ggtaatagag cccttctgcc cccacccac caaatttaca caacaaaatg	2998
15	acatgttcga atgtgaaaagg tcataatagc tttcccatca tgaatcagaa agatgtggac	3058
	agcttgatgt tttagacaac cactgaacta gatgactgtt gtactgtagc tcagtcattt	3118
	aaaaaatata taaatactac cttgtagtgt cccatactgt gttttttaca tggtagattc	3178
	ttattttaagt gctaactggg tattttcttt ggctggttta ttgtactgtt atacagaatg	3238
	taagttgtac agtgaaataa gttattaaag catgtgtaaa cattgttata tatcttttct	3298
20	cctaaatgga gaattttgaa taaaatatat ttgaaatttt g	3339
	<210> 2	
	<211> 30001	
	<212> ДНК	
	<213> Homo sapiens	
25	<400> 2	
	caaagaaaag ggggaggttt tgttaaaaaa gagaaatggt acatagtgtc ctttgagaaa	60
	attcattggc actattaagg atctgaggag ctggtgagtt tcaactgggtg agtgatgggtg	120
	gtagataaaa ttagagctgc agcagggtcat tttagcaact attagataaa actgggtctca	180
	ggtcacaacg ggcagttgca gcagctggac ttggagagaa ttacactgtg ggagcagtgt	240
30	catttgtcct aagtgtttt ctacccccta cccccactat tttagttggg tataaaaaga	300
	atgacccaat ttgtatgatc aactttcaca aagcatagaa cagtaggaaa agggctctgtt	360
	tctgcagaag gtgtagacgt tgagagccat tttgtgtatt tattcctccc tttcttctc	420
	ggtgaatgat taaaacgttc tgtgtgattt ttagtgatga aaaagattaa atgctactca	480
	ctgtagtaag tgccatctca cacttgcaga tcaaaaaggca cacagtttaa aaaacctttg	540
35	tttttttaca catctgagtg gtgtaaatgc tactcatctg tagtaagtgg aatctataca	600
	cctgcagacc aaaagacgca aggtttcaaa aatctttgtg ttttttacac atcaaacaga	660
	atggtacgtt tttcaaaaagt taaaaaaaaa caactcatcc acatattgca actagcaaaa	720
	atgacattcc ccagtgtgaa aatcatgctt gagagaattc ttacatgtaa aggcaaaatt	780
	gcgatgactt tgcaggggac cgtgggattc ccgcccgcag tgccggagct gtcccctacc	840
40	agggtttgca gtggagtttt gaatgcactt aacagtgtct tacggtaaaa acaaaatttc	900
	atccaccaat tatgtgttga gcgcccactg cctaccaagc acaaacaaaa ccattcaaaa	960
	ccacgaaatc gtcttcactt tctccagatc cagcagcctc ccctattaag gttcgcacac	1020
	gctattgcgc caacgctcct ccagagcggg tcttaagata aaagaacagg acaagttgcc	1080
	ccgccccatt tcgctagcct cgtgagaaaa cgtcatcgca catagaaaac agacagacgt	1140
45	aacctacggt gtcccgctag gaaagagagg tgcgtcaaac agcgacaagt tccgcccacg	1200
	taaaagatga cgcttggtgt gtcagccgtc cctgctgccc ggttgcttct cttttggggg	1260
	cggggtctag caagagcagg tgtgggttta ggaggtgtgt gtttttgttt ttcccacct	1320
	ctctccccac tacttgctct cacagtactc gctgagggtg aacaagaaaa gacctgataa	1380

	agattaacca	gaagaaaaca	aggagggaaa	caaccgcagc	ctgtagcaag	ctctggaact	1440
	caggagtgcg	gcgctagggg	ccggggccgg	ggccggggcg	tggtcggggc	gggcccgggg	1500
	gcggggccgg	ggcggggctg	cggttgcggt	gcctgcgccc	gcggcggcgg	aggcgaggc	1560
	ggtggcgagt	gggtgagtga	ggaggcggca	tcctggcggg	tggctgtttg	gggttcggct	1620
5	gccgggaaga	ggcgcgggta	gaagcggggg	ctctcctcag	agctcgacgc	atttttactt	1680
	tccctctcat	ttctctgacc	gaagctgggt	gtcgggcttt	cgctcttagc	gactgggtga	1740
	attgcctgca	tccgggcccc	gggcttcccc	gcggcggcgg	cggcggcggc	ggcgaggga	1800
	caagggatgg	ggatctggcc	tcttccttgc	tttcccgccc	tcagtaccgc	agctgtctcc	1860
	ttcccgggga	cccgcctggga	gcgctgccgc	tgcgggctcg	agaaaaggga	gcctcgggta	1920
10	ctgagaggcc	tcgcctgggg	gaaggccgga	gggtgggcgg	cgcgcggtt	ctgcggacca	1980
	agtcgggggt	cgctaggaac	ccgagacggt	ccctgccggc	gaggagatca	tgcgggatga	2040
	gatgggggtg	tggagacgcc	tgcacaattt	cagcccaagc	ttctagagag	tggatgatgac	2100
	ttgcatatga	gggcagcaat	gcaagtcggt	gtgctcccca	ttctgtggga	catgacctgg	2160
	ttgcttcaca	gctccgagat	gacacagact	tgcttaaagg	aagtgactat	tgtgacttgg	2220
15	gcatcacttg	actgatggta	atcagttgtc	taaaagaagt	cacagattac	atgtccgtgt	2280
	gctcattggg	tctatctggc	cgcggtgaac	accaccaggc	tttgtattca	gaaacaggag	2340
	ggaggtcctg	cactttccca	ggagggggtg	ccctttcaga	tgcaatcgag	attgttaggc	2400
	tctgggagag	tagttgcctg	gttggtggcag	ttggtaaatt	tctattcaaa	cagttgccat	2460
	gcaccagttg	ttcacaacaa	gggtacgtaa	tctgtctggc	attacttcta	cttttgtaca	2520
20	aaggatcaaa	aaaaaaaaag	atactgttaa	gatatgattt	ttctcagact	ttgggaaact	2580
	tttaacataa	tctgtgaata	tcacagaaac	aagactatca	tataggggat	attaataacc	2640
	tggagtcaga	atacttgaaa	tacggtgtca	tttgacacgg	gcattgttgt	caccacctct	2700
	gccaaaggct	gccactttag	gaaaaccctg	aatcagttgg	aaactgctac	atgctgatag	2760
	tacatctgaa	acaagaacga	gagtaattac	cacattccag	attgttcact	aagccagcat	2820
25	ttacctgctc	caggaaaaaa	ttacaagcac	cttatgaagt	tgataaaata	ttttgtttgg	2880
	ctatgttggc	actccacaat	ttgctttcag	agaaacaaag	taaaccaagg	aggacttctg	2940
	tttttcaagt	ctgccctcgg	gttctattct	acgttaatta	gatagttccc	aggaggacta	3000
	ggttagccta	cctattgtct	gagaaaactg	gaactgtgag	aaatggccag	atagtgatat	3060
	gaacttcacc	ttccagtcct	ccctgatgtt	gaagattgag	aaagtgttgt	gaactttctg	3120
30	gtactgtaaa	cagttcactg	tccttgaaagt	ggtcctgggc	agctcctgtt	gtggaaagtg	3180
	gacggttttag	gatcctgctt	ctctttgggc	tgggagaaaa	taaacagcat	ggttacaagt	3240
	attgagagcc	aggttgagga	aggtggctta	cacctgtaat	gccagagctt	tgggaggcgg	3300
	aggcaagagg	atcacttgaa	gccaggagtt	caagctcaac	ctgggcaacg	tagaccctgt	3360
	ctctacaaaa	aattaaaaac	ttagccgggc	gtggtgatgt	gcacctgtag	tcctagctac	3420
35	ttgggaggct	gaggcaggag	ggtcatttga	gcccagaggt	ttgaagttac	cgagagctat	3480
	gatcctgcc	gtgcattcca	gcctggatga	caaaacgaga	ccctgtctct	aaaaaacaag	3540
	aagtgagggc	tttatgattg	tagaattttc	actacaatag	cagtggacca	accacctttc	3600
	taaataccaa	tcagggaaga	gatgggtgat	tttttaacag	acgtttaaaag	aaaaagcaaa	3660
	acctcaaaact	tagcactcta	ctaacagttt	tagcagatgt	taattaatgt	aatcatgtct	3720
40	gcatgtatgg	gattattttc	agaaagtgt	ttgggaaacc	tctcatgaac	cctgtgagca	3780
	agccaccgtc	tactcaatt	tgaatccttg	cttccctcaa	aagactggct	aatgttttgt	3840
	aactctctgg	agtagacagc	actacatgta	cgtaagatag	gtacataaac	aactatttgt	3900
	tttgagctga	tttttttcag	ctgcatttgc	atgtatggat	ttttctcacc	aaagacgatg	3960
	acttcaagta	ttagtataat	aattgtacag	ctctcctgat	tatacttctc	tgtgacattt	4020
45	catttcccag	gctatttctt	ttggtaggat	ttaaaactaa	gcaattcagt	atgatctttg	4080
	tccttcattt	tctttcttat	tctttttgtt	tgtttgtttg	tttgtttttt	tcttgaggca	4140
	gagtctctct	ctgtcgccca	ggctggagtg	cagtggcgcc	atctcagctc	attgcaacct	4200
	ctgccacctc	cgggttcaag	agattctcct	gcctcagcct	cccgagtagc	tgggattaca	4260

	ggtgtccacc	accacacccg	gctaattttt	tgtattttta	gtagaggtgg	ggtttcacca	4320
	tggtggccag	gctgggtctt	agctcctgac	ctcagggtgat	ccacctgcct	cggcctacca	4380
	aagagctggg	ataacaggtg	tgaccaccca	tgcccgcccc	atTTTTTTTT	tcttattctg	4440
	ttaggagtga	gagtgttaact	agcagtataa	tagttcaatt	ttcacaacgt	ggtaaaagtt	4500
5	tccctataat	tcaatcagat	tttgtctcag	ggttcagttc	tgtttttagga	aatactttta	4560
	ttttcagttt	aatgatgaaa	tattagagtt	gtaaatattgc	ctttatgatt	atccaccttt	4620
	ttaacctaaa	agaatgaaag	aaaaatatgt	ttgcaatata	atTTTTatgg	tgtatgttaa	4680
	cttaattcat	tatgttggcc	tccagtttgc	tgttgttagt	tatgacagca	gtagtgtcat	4740
	taccattttca	attcagatta	cattcctata	tttgatcatt	gtaaaactgac	tgcttacatt	4800
10	gtattaaaaa	cagtggatat	tttaaagaag	ctgtacggct	tatatctagt	gctgtctctt	4860
	aagactatta	aattgataca	acataatttaa	aagtaaatat	tacctaaatg	aatTTTTgaa	4920
	attacaaata	cacgtgttaa	aactgtcgtt	gtgttcaacc	atTTctgtac	atacttagag	4980
	ttactgtttt	tgccaggctc	tgtatgccta	ctcataatat	gataaaaagca	ctcatcta	5040
	gctctgtaaa	tagaagtcag	tgctttccat	cagactgaac	tctcttgaca	agatgtggat	5100
15	gaaattcttt	aagtaaaatt	gtttactttg	tcatacat	acagatcaaa	tgtagctcc	5160
	caaagcaatc	atatggcaaa	gataggtata	tcatagtttg	cctattagct	gctttgtatt	5220
	gctattatta	taaatagact	tcacagtttt	agacttgctt	aggtgaaatt	gcaattcttt	5280
	ttactttcag	tcttagataa	caagtcttca	attatagtac	aatcacacat	tgcttaggaa	5340
	tgcatcatta	ggcgattttg	tcattatgca	aacatcatag	agtgtactta	cacaaaccta	5400
20	gatagtatag	cctttatgta	cctaggccgt	atggtatagt	ctggtgctcc	taggccacaa	5460
	acctgtacaa	ctgttactgt	actgaatact	atagacagtt	gtaacacagt	ggtaaata	5520
	tatctaaata	tatgcaaaca	gagaaaagg	acagtaaaag	tatggtataa	aagataatgg	5580
	tatacctgtg	taggccactt	accacgaatg	gagcttgac	gactagaagt	tgctctgggt	5640
	gagtcagtga	gtgagtggtg	aattaatgtg	aaggcctaga	acactgtaca	ccactgtaga	5700
25	ctataaacac	agtacgctga	agctacacca	aatttatctt	aacagttttt	cttcaataaa	5760
	aaattataac	tttttaactt	tgtaaaactt	ttaatttttt	aacttttaaa	atacttagct	5820
	tgaaacacaa	atacattgta	tagctataca	aaaatatatt	ttctttgtat	ccttattcta	5880
	gaagcttttt	tctattttct	atTTtaaa	ttttttttta	cttgtagtc	gtttttgtta	5940
	aaaactaaaa	cacacacact	ttcacctagg	catagacagg	attaggatca	tcagtatcac	6000
30	tcccttccac	ctcactgcct	tccacctcca	catcttgctc	cactggaagg	tttttagggg	6060
	caataacaca	catgtagctg	tcacctatga	taacagtgct	ttctgttgaa	tacctcctga	6120
	aggacttgcc	tgaggctgtt	ttacatttaa	cttaaaaaaa	aaaaaagtag	aaggagtgca	6180
	ctctaaaata	acaataaaaag	gcatagtata	gtgaatacat	aaaccagcaa	tgtagtagtt	6240
	tattatcaag	tggtgtacac	tgtaataatt	gtatgtgcta	tactttaaat	aacttgcaaa	6300
35	atagtactaa	gaccttatga	tggttacagt	gtcactaagg	caatagcata	ttttcaggtc	6360
	cattgtaatc	taatgggact	accatcatat	atgcagtcta	ccattgactg	aaacgttaca	6420
	tggcacataa	ctgtatttgc	aagaatgatt	tgttttacat	taatatcaca	taggatgtac	6480
	cttttttagag	tggtatgttt	atgtggatta	agatgtacaa	gttgagcaag	gggaccaaga	6540
	gccctgggtt	ctgtcttgga	tgtagcggtt	tatgttcttc	tcctcatgtc	tgttttctca	6600
40	ttaaattcaa	aggcttgaac	gggccctatt	tagcccttct	gttttctacg	tgttctaaat	6660
	aactaaagct	tttaaatctt	agccatttag	tgtagaactc	tctttgcagt	gatgaaatgc	6720
	tgtattgggt	tcttggttag	catattaaat	atTTttatct	ttgtcttgat	acttcaatgt	6780
	cgtttttaa	atcaggatcg	ggcttcagta	ttctcataac	cagagagttc	actgaggata	6840
	caggactgtt	tgcccatttt	ttgttatggc	tccagacttg	tggtatttcc	atgtcttttt	6900
45	tttttttttt	ttttttgacc	tttttagcgg	tttaaagtat	ttctgttggt	aggtgttgta	6960
	ttacttttct	aagattactt	aacaaaagcac	cacaaaactga	gtggctttta	acaacagcaa	7020
	tttattctct	cacaattcta	gaagctagaa	gtccgaaatc	aaagtgttga	caggggcatg	7080
	atcttcaaga	gagaagactc	tttcttggtc	tcttcttggt	ttctgggtgg	taccagcaat	7140

	cctgagtgtt	cctttcttgc	cttgtagttt	caacaatcca	gtatctgcct	tttgtcttca	7200
	catggctgtc	taccatttgt	ctctgtgtct	ccaaatctct	ctccttataa	acacagcagt	7260
	tattggatta	ggccccactc	taatccagta	tgaccccat	ttaacatgat	tacacttatt	7320
	tctagataag	gtcacattca	cgtaacacca	gggttaggaa	ttgaacatat	ctttttgggg	7380
5	gacacaattc	aaccacacaag	tgctcagtctc	tagctgagcc	tttcccttcc	tgtttttctc	7440
	cttttttagtt	gctatgggtt	agggggccaaa	tctccagtca	tactagaatt	gcacatggac	7500
	tggatatttg	ggaatactgc	gggtctattc	tatgagcttt	agtatgtaac	atttaatatc	7560
	agtgtaaaga	agcccttttt	taagtatttt	ctttgaattt	ctaaatgtat	gccctgaata	7620
	taagtaacaa	gttaccatgt	cttgtaaaat	gatcatatca	acaaacattt	aatgtgcacc	7680
10	tactgtgcta	gttgaatgtc	tttatcctga	taggagataa	caggattcca	catctttgac	7740
	ttaagaggac	aaaccaaata	tgtctaaatc	atttggggtt	ttgatggata	tctttaaatt	7800
	gctgaacctc	atcattgggt	tcatatgtca	ttgttttagat	atctccggag	catttggtata	7860
	atgtgacagt	tggaatgcag	tgatgtcgac	tctttgcccc	ccgccatctc	cagctgttgc	7920
	caagacagag	attgctttta	gtggcaaatc	acctttatta	gcagctactt	ttgcttactg	7980
15	ggacaatatt	cttggtccta	gagtaaggca	catttgggct	ccaaagacag	aacagggtact	8040
	tctcagtgat	ggagaaataa	cttttcttgc	caaccacact	ctaaatggag	aaatccttcg	8100
	aaatgcagag	agtgggtgcta	tagatgtaaa	gttttttgtc	ttgtctgaaa	agggagtgat	8160
	tattgtttca	ttaatctttg	atggaaactg	gaatggggat	cgcagcacat	atggactatc	8220
	aattatactt	ccacagacag	aacttagttt	ctacctccca	cttcatagag	tgtgtgttga	8280
20	tagattaaca	catataatcc	ggaaagggaag	aatatggatg	cataaggtaa	gtgatttttc	8340
	agcttattta	tcatgttaac	ctatctgttg	aaagcttatt	ttctgggtaca	tataaatctt	8400
	atttttttta	ttatatgcag	tgaacatcaa	acaataaatg	ttattttatt	tgcatttacc	8460
	ctattagata	caaatacatc	tggtctgata	cctgtcatct	tcatattaac	tgtggaaggt	8520
	acgaaatggg	agctccacat	tatagatgaa	aagctaaaagc	ttagacaaat	aaagaaactt	8580
25	ttagaccctg	gattcttctt	gggagccttt	gactctaata	ccttttggtt	ccctttcatt	8640
	gcacaattct	gtcttttgct	tactactatg	tgtaagtata	acagttcaaa	gtaatagttt	8700
	cataagctgt	tggatcatgta	gcctttgggtc	tctttaacct	ctttgccaag	ttcccagggt	8760
	cataaaatga	ggaggttgaa	tggaaatggtt	cccaagagaa	ttccttttaa	tcttacagaa	8820
	attattgttt	tcctaaatcc	tgtagtgtgaa	tatataatgc	tatttacatt	tcagtatagt	8880
30	tttgatgtat	ctaaagaaca	cattgaattc	tccttcctgt	gttccagttt	gatactaacc	8940
	tgaaagtcca	ttaagcatta	ccagttttaa	aaggcttttg	cccaatagta	aggaaaaata	9000
	atatctttta	aaagaataat	tttttactat	gtttgcaggc	ttacttcctt	ttttctcaca	9060
	ttatgaaact	cttaaaatca	ggagaatctt	ttaaacaaca	tcataatgtt	taatttgaaa	9120
	agtgcagtc	attcttttcc	tttttgaaac	tatgcagatg	ttacattgac	tgttttctgt	9180
35	gaagtattct	ttttttcact	gcagaataaa	ggttgttttg	attttatttt	gtattgttta	9240
	tgagaacatg	catttggttg	gttaatttcc	tacccttgcc	cccatttttt	ccctaaagta	9300
	gaaagtattt	ttcttggtgaa	ctaaattact	acacaagaac	atgtctattg	aaaaataagc	9360
	aagtatcaaa	atgttggtgg	ttgttttttt	aaataaaatt	tctcttgctc	aggaaagaca	9420
	agaaaatgtc	cagaagatta	tcttagaagg	cacagagaga	atggaagatc	aggatatatg	9480
40	aaattgcata	ctgtcaaatg	tttttctcac	agcatgtatc	tgtataaggt	tgatggctac	9540
	atltgtcaag	gccttggaag	catacgaata	agcctttaat	ggagctttta	tggaggtgta	9600
	cagaataaac	tggaggaaga	tttccatatc	ttaaacccaa	agagttaaatt	cagtaaacaa	9660
	aggaaaatag	taattgcata	tacaaattaa	tatttgctcc	cttttttttt	ctgtttgccc	9720
	agaataaatt	ttggataact	tgttcatagt	aaaaataaaa	aaaattgtct	ctgatagtgt	9780
45	ctttaaggta	ctacttctcg	aacctttccc	tagaagtagc	tgtaacagaa	ggagagcata	9840
	tgtacccctg	aggatatctg	ctgggggtgta	ggcccaggtc	cacacaatat	ttcttctaag	9900
	tcttatgttg	tatcggttaag	actcatgcaa	tttacatttt	attccataac	tatttttagta	9960
	ttaaaatttg	tcagtgatat	ttcttaccct	ctcctctagg	aaaatgtgcc	atgttttatcc	10020

	cttggcctttg	aatgcccctc	aggaacagac	actaagagtt	tgagaagcat	ggttacaagg	10080
	gtgtggccttc	ccctgcggaa	actaagtaca	gactattttca	ctgtaaagca	gagaagttct	10140
	tttgaaggag	aatctccagt	gaagaaaagag	ttcttcactt	ttacttccat	ttcctcttgt	10200
	gggtgaccct	caatgctcct	tgtaaaaactc	caatattttta	aacatggctg	ttttgccttt	10260
5	ctttgcttct	tttttagcatg	aatgagacag	atgatacttt	aaaaaagtaa	ttaaaaaaaa	10320
	aaacttggtga	aaatacatgg	ccataatata	gaacccaata	caatgatctc	ctttacccaa	10380
	ttgttatgtt	tgtacttttg	tagatagctt	tccaattcag	agacagttat	tctgtgtaaa	10440
	gggtctgactt	aacaagaaaa	gatttccctt	tacccaaaaga	atcccagtc	ttatttgctg	10500
	gtcaataagc	aggggtcccca	ggaatggggt	aactttcagc	accctctaac	ccactagtta	10560
10	ttagtagact	aattaagtaa	acttatcgca	agttgaggaa	acttagaacc	aactaaaatt	10620
	ctgctttttac	tgggatttttg	ttttttcaaa	ccagaaacct	ttacttaagt	tgactactat	10680
	taatgaattt	tgggtctctct	tttaagtgtt	cttcttaaaa	atgttatctt	actgctgaga	10740
	agttcaagtt	tgggaagtac	aaggaggaat	agaaacttaa	gagattttct	tttagagcct	10800
	cttctgtatt	tagccctgta	ggattttttt	tttttttttt	ttttttgggtg	ttgttgagct	10860
15	tcagtgaggc	tattcattca	cttatactga	taatgtctga	gatactgtga	atgaaatact	10920
	atgtatgctt	aaacctaaga	ggaaatatatt	tcccaaaaatt	attcttcccg	aaaaggagga	10980
	gttgccctttt	gattgagttc	ttgcaaatct	cacaacgact	ttattttgaa	caatactgtt	11040
	tggggatgat	gcattagttt	gaaacaactt	cagttgtagc	tgtcatctga	taaaattgct	11100
	tcacagggaa	ggaaatttaa	cacggatcta	gtcattattc	ttgttagatt	gaatgtgtga	11160
20	attgtaattg	taaacaggca	tgataattat	tactttaaaa	actaaaaaca	gtgaatagtt	11220
	agttgtggag	gttactaaag	gatgggtttt	ttttaaataa	aactttcagc	attatgcaaa	11280
	tgggcatatg	gcttaggata	aaacttccag	aagtagcatc	acatttaaat	tctcaagcaa	11340
	cttaataata	tggggctctg	aaaaactggt	taaggttact	ccaaaaatgg	ccctgggtct	11400
	gacaaagatt	ctaacttaaa	gatgcttatg	aagactttga	gtaaaatcat	ttcataaaat	11460
25	aagtgaggaa	aaacaactag	tattaaattc	atcttaaaata	atgtatgatt	taaaaaatat	11520
	gttttagctaa	aaatgcatag	tcattttgaca	atttcattta	tatctcaaaa	aatttactta	11580
	accaagttgg	tcacaaaact	gatgagactg	gtggtggtag	tgaataaatg	agggaccatc	11640
	catattttgag	acactttaca	tttgtgatgt	gttatactga	attttcagtt	tgattctata	11700
	gactacaaat	ttcaaaaatta	caatttcaag	atgtaataag	tagtaatatc	ttgaaatagc	11760
30	tctaaaggga	atttttctgt	tttattgatt	cttaaaaatat	atgtgctgat	tttgatttgc	11820
	atttgggtag	attatacttt	tatgagtatg	gagggttaggt	attgattcaa	gttttcctta	11880
	cctattttggt	aaggattttca	aagtcttttt	gtgcttggtt	ttcctcattt	ttaaataatga	11940
	aatatatattga	tgacctttta	caaatttttt	ttatctcaaa	ttttaaagga	gatcttttct	12000
	aaaagaggca	tgatgactta	atcattgcat	gtaacagtaa	acgataaacc	aatgattcca	12060
35	tactctctaa	agaataaaaag	tgagcttttag	ggccgggcat	ggtcagaaat	ttgacaccaa	12120
	cctggccaac	atggcgaaac	cccgctctcta	ctaaaaatac	aaaaatcagc	cgggcatggt	12180
	ggcggcacct	atagtcccag	ctacttgggga	ggatgagaca	ggagagtcac	ttgaacctgg	12240
	gaggagaggt	tgcagtgagc	tgagatcacg	ccattgcact	ccagcctgag	caatgaaagc	12300
	aaaactccat	ctcaaaaaaa	aaaaaagaaa	agaaagaata	aaagtgagct	ttggattgca	12360
40	tataaatcct	ttagacatgt	agtagacttg	tttgatactg	tgtttgaaca	aattacgaag	12420
	tattttcatc	aaagaatgtt	attgtttgat	gttattttta	ttttttattg	cccagcttct	12480
	ctcatattac	gtgattttct	tcacttcatg	tcactttatt	gtgcagggtc	agagtattat	12540
	tccaatgctt	actggagaag	tgattcctgt	aatggaaactg	ctttcatcta	tgaaatcaca	12600
	cagtgttcct	gaagaaatag	atgtaagttt	aaatgagagc	aattatacac	tttatgagtt	12660
45	ttttgggggtt	atagtattat	tatgtatat	attaatatc	taattttaat	agtaaggact	12720
	ttgtcataca	tactattcac	atacagtatt	agccacttta	gcaaataagc	acacacaaaa	12780
	tcttggaattt	tatggcaaaa	cagaggcatt	tttgatcagt	gatgacaaaa	ttaaattcat	12840
	tttgtttatt	tcattacttt	tataattcct	aaaagtggga	ggatcccagc	tcttatagga	12900

	gcaattaata	tttaatgtag	tgtcttttga	aacaaaaactg	tgtgccaaag	tagtaaccat	12960
	taatggaagt	ttacttgtag	tcacaaaattt	agtttcctta	atcatttggt	gaggacgttt	13020
	tgaatcacac	actatgagtg	ttaagagata	ccttttaggaa	actattccttg	ttgttttctg	13080
	attttgtcat	ttagggttagt	ctcctgattc	tgacagctca	gaagaggaag	ttgttcttgt	13140
5	aaaaattggt	taacctgctt	gaccagcttt	cacatttggt	cttctgaagt	ttatggtagt	13200
	gcacagagat	tgttttttgg	ggagtcttga	ttctcggaaa	tgaaggcagt	gtgttatatt	13260
	gaatccagac	ttccgaaaac	ttgtatatata	aaagtgttat	ttcaacacta	tgttacagcc	13320
	agactaat	ttttattttt	tgatgcattt	tagatagctg	atacagtact	caatgatgat	13380
	gatattggtg	acagctgtca	tgaaggcttt	cttctcaagt	aagaattttt	cttttcataa	13440
10	aagctggatg	aagcagatac	catcttatgc	tcacctatga	caagatttgg	aagaaagaaa	13500
	ataacagact	gtctacttag	attgttctag	ggacattacg	tatttgaact	gttgcttaaa	13560
	tttgtgttat	ttttcactca	ttatatattct	atatatat	gggtgttattc	catttgctat	13620
	ttaaagaaac	cgagtttcca	tcccagacaa	gaaatcatgg	ccccttgctt	gattctgggt	13680
	tcttgtttta	cttctcatta	aagctaacag	aatcctttca	tattaagttg	tactgtagat	13740
15	gaacttaagt	tatttaggcg	tagaacaaaa	ttattcatat	ttatactgat	ctttttccat	13800
	ccagcagtg	agtttagtac	ttaagagttt	gtgcccttaa	accagactcc	ctggattaat	13860
	gctgtgtacc	cgtgggcaag	gtgcctgaat	tctctataca	cctatttcct	catctgtaaa	13920
	atggcaataa	tagtaatagt	acctaagtgt	tagggttggt	ataagcattg	agtaagataa	13980
	ataatataaa	gcacttagaa	cagtgcctgg	aacataaaaa	cacttaataa	tagctcatag	14040
20	ctaacatttc	ctattttacat	ttcttctaga	aatagccagt	atttgttgag	tgcttacatg	14100
	ttagtccctt	tactagtgtc	tttacatgta	ttatcttata	ttctgtttta	aagtttcttc	14160
	acagttacag	attttcatga	aattttactt	ttaataaaaag	agaagtaaaa	gtataaagta	14220
	ttcactttta	tgttcacagt	cttttccttt	aggctcatga	tggagtatca	gaggcatgag	14280
	tgtgttttaac	ctaagagcct	taatggcttg	aatcagaagc	actttagtcc	tgtatctggt	14340
25	cagtgtcagc	ctttcataca	tcattttaaa	tcccatttga	ctttaagtaa	gtcacttaat	14400
	ctctctacat	gtcaatttct	tcagctataa	aatgatggta	tttcaataaa	taaatacatt	14460
	aattaaatga	tattatactg	actaattggg	ctgttttaag	gctcaataag	aaaatttctg	14520
	tgaaggtct	ctagaaaatg	taggttccta	tacaaaataa	agataacatt	gtgcttatag	14580
	cttcggtggt	tatcatataa	agctattctg	agttatttga	agagctcacc	tacttttttt	14640
30	tgttttttagt	ttgtttaaatt	gttttatagg	caatgttttt	aatctgtttt	ctttaactta	14700
	cagtgccatc	agctcacact	tgcaaacctg	tggctgttcc	gttgtagtag	gtagcagtg	14760
	agagaaagta	aataaggtag	tttattttat	aatctagcaa	atgatttgac	tctttaagac	14820
	tgatgatata	tcattggattg	tcattttaa	ggtaggttgc	aattaaaatg	atctagtagt	14880
	ataaggaggc	aatgtaatct	catcaaattg	ctaagacacc	ttgtggcaac	agtgaagttg	14940
35	aaataaactg	agtaagaatc	atttatcagt	ttattttgat	agctcgaaa	taccagtgtc	15000
	agtagtgtat	aaatgggttt	gagaatatat	taaaatcaga	tatataaaaa	aaattactct	15060
	tctatttccc	aatgttatct	ttaacaaatc	tgaagatagt	catgtacttt	tggtagtagt	15120
	tccaaagaaa	tgttatattgt	ttattcatct	tgatttcatt	gtcttcgctt	tccttctaaa	15180
	tctgtccctt	ctagggagct	attgggatta	agtggtcatt	gattattata	ctttattcag	15240
40	taatgtttct	gaccctttcc	ttcagtgc	cttgagttaa	ttaaggatta	atgaacagtt	15300
	acatttccaa	gcattagcta	ataaaactaaa	ggattttgca	cttttcttca	ctgaccatta	15360
	gttagaaaga	gttcagagat	aagtatgtgt	atctttcaat	ttcagcaaac	ctaatttttt	15420
	aaaaaaagt	ttacatagga	aatatgttgg	aaatgatact	ttacaaagat	attcataatt	15480
	tttttttgta	atcagctact	ttgtatatatt	acatgagcct	taattttatat	ttctcatata	15540
45	accatttatg	agagcttagt	atacctgtgt	catttatattg	catctacgaa	ctagtacct	15600
	tattccttct	gttacctcaa	acagggtggct	ttccatctgt	gatctccaaa	gccttaggtt	15660
	gcacagagt	actgccgagc	tgctttatga	aggagagaa	gctccatagt	tggagtgttt	15720
	tttttttttt	ttttaaacat	ttttcccatc	ctccatcctc	ttgaggggaga	atagcttacc	15780

	ttttatcttg	ttttaatttg	agaaaagaagt	tgccaccact	ctagggttgaa	aaccactcct	15840
	ttaacataat	aactgtggat	atggttttgaa	tttcaagata	gttacatgcc	tttttatttt	15900
	tcctaataga	gctgtaggtc	aaatattatt	agaatcagat	ttctaaatcc	cacccaatga	15960
	cctgcttatt	ttaaatcaaa	ttcaataatt	aattctcttc	tttttgagg	atctggacat	16020
5	tctttgatat	ttcttacaac	gaatttcatg	tgtagacca	ctaaacagaa	gctataaaag	16080
	ttgcatggtc	aaataagtct	gagaaaagtct	gcagatgata	taattcacct	gaagagtcac	16140
	agtatgtagc	caaagttaa	aggttttgag	atgccataca	gtaaatttac	caagcatttt	16200
	ctaaatttat	ttgaccacag	aatccctatt	ttaagcaaca	actgttacat	cccatggatt	16260
	ccaggtgact	aaagaatact	tatttcttag	gatatgtttt	attgataata	acaattaaaa	16320
10	tttcagatat	ctttcataag	caaatacagt	gtctttttac	ttcatgtttt	aatgctaaaa	16380
	tattttcttt	tatagatagt	cagaacatta	tgcttttttc	tgactccagc	agagagaaaa	16440
	tgctccagg	tatgtgaagc	agaatcatca	tttaaataatg	agtcagggct	ctttgtacaa	16500
	ggcctgctaa	aggatatagt	tctagtattc	acaagtga	ccacttttct	aaaatcattt	16560
	ttgagactct	ttatagacaa	atcttaaata	ttagcattta	atgtatctca	tattgacatg	16620
15	cccagagact	gacttccttt	acacagttct	gcacatagac	tatatgtctt	atggatttat	16680
	agttagtatc	atcagtga	caccatagaa	taccctttgt	gttccagggtg	ggccctgtt	16740
	cctacatgtc	tagcctcagg	actttttttt	ttttaacaca	tgcttaaatac	aggttgcaca	16800
	tcaaaaataa	gatcatttct	ttttaactaa	atagatttga	attttattga	aaaaaaattt	16860
	taaacatctt	taagaagctt	ataggattta	agcaattcct	atgtatgtgt	actaaaatat	16920
20	atatatttct	atatataata	tatattagaa	aaaaattgta	tttttctttt	atttgagtct	16980
	actgtcaagg	agcaaaacag	agaaatgtaa	attagcaatt	atttataata	cttaaagggga	17040
	agaaagtgtg	tcaccttggt	gaatctatta	ttgttatttc	aattatagtc	ccaagacgtg	17100
	aagaaatagc	tttcctaata	gttatgtgat	tgtctcatag	tgactacttt	cttgaggatg	17160
	tagccacggc	aaaatgaaat	aaaaaaattt	aaaaattgtt	gcaaatacaa	gttatattag	17220
25	gcttttgtgc	attttcaata	atgtgctgct	atgaactcag	aatgatagta	tttaaataata	17280
	gaaactagtt	aaaggaaacg	tagtttctat	ttgagttata	catatctgta	aattagaact	17340
	tctcctgtta	aaggcataat	aaagtgccta	atacttttgt	ttcctcagca	ccctctcatt	17400
	taattatata	atttttagttc	tgaaaggggac	ctataaccaga	tgccctagagg	aaatttcaaa	17460
	actatgatct	aatgaaaaaa	tatttaatat	ttctccatgc	aaatacaaat	catatagttt	17520
30	tccagaaaat	acctttgaca	ttatacaaa	atgattatca	cagcattata	atagtaaaaa	17580
	aatggaaata	gcctctttct	tctgttctgt	tcatagcaca	gtgcctcata	cgcagtaggt	17640
	tattattaca	tggttaactgg	ctaccccaac	tgattaggaa	agaagtaaat	ttgttttata	17700
	aaaatacata	ctcattgagg	tgcatagaat	aattaagaaa	ttaaaagaca	cttgtaattt	17760
	tgaatccagt	gaatacccac	tggttaatat	tggtatatct	ctttctagtc	tttttttccc	17820
35	ttttgcatgt	attttcttta	agactcccac	cccactgga	tcctctctgc	atgttctaata	17880
	ctgctttttt	cacagcagat	tctaagcctc	tttgaatatc	aacacaaact	tcaacaactt	17940
	catctataga	tgccaaataa	taaattcatt	tttatttact	taaccacttc	ctttggatgc	18000
	ttaggtcatt	ctgatgtttt	gctattgaaa	ccaatgctat	actgaacact	tctgtcacta	18060
	aaactttgca	cacactcatg	aatagcttct	taggataaat	ttttagagat	ggatttgcta	18120
40	aatcagagac	cattttttta	aattaaaaaa	caattattca	tatcgtttgg	catgtaagac	18180
	agtaaaattt	ccttttattt	tgacaggatt	caactggaag	ctttgtgctg	cctttccggc	18240
	aagtcatgta	tgctccatat	cccaccacac	acatagatgt	ggatgtcaat	actgtgaagc	18300
	agatgccacc	ctgtcatgaa	catattttata	atcagcgtag	atacatgaga	tccgagctga	18360
	cagccttctg	gagagccact	tcagaagaag	acatggctca	ggatacgatc	atctacactg	18420
45	acgaaagctt	tactcctgat	ttgtacgtaa	tgctctgcct	gctggtagctg	tagtcaagca	18480
	atatgaaatt	gtgtctttta	cgaataaaaa	caaaacagaa	gttgcattta	aaaagaaaga	18540
	aatattacca	gcagaattat	gcttgaagaa	acatttaaatc	aagcattttt	ttcttaaatg	18600
	ttcttctttt	tccatacaat	tgtgtttacc	ctaaaatagg	taagattaac	ccttaaagta	18660

	aatattttaac	tattttgttta	ataaatatat	attgagctcc	taggcactgt	tctaggtacc	18720
	gggctttaata	gtggccaacc	agacagcccc	agccccagcc	cctacattgt	gtatagtcta	18780
	ttatgtaaca	gttattgaat	ggacttatta	acaaaaccaa	agaagtaatt	ctaagtcttt	18840
	tttttcttga	catatgaata	taaaatacag	caaaactgtt	aaaatatatt	aatggaacat	18900
5	ttttttactt	tgcattttat	attgttattc	acttcttatt	tttttttaaa	aaaaaaagcc	18960
	tgaacagtaa	attcaaaaag	aaaagtaatg	ataattaatt	gttgagcatg	gacccaactt	19020
	gaaaaaaaaa	atgatgatga	taaatctata	atcctaaaac	cctaagtaaa	cacttaaaaag	19080
	atgttctgaa	atcaggaaaa	gaattatagt	atacttttgt	gtttctcttt	tatcagttga	19140
	aaaaaggcac	agtagctcat	gcctgtaaga	acagagcttt	gggagtgcaa	ggcaggcgga	19200
10	tcacttgagg	ccaggagttc	cagaccagcc	tgggcaacat	agtgaacccc	catctctaca	19260
	aaaaataaaa	aagaattatt	ggaatgtgtt	tctgtgtgcc	tgtaatccta	gctattccga	19320
	aagctgaggc	aggaggatct	tttgagccca	ggagtttgag	gttacaggga	gttatgatgt	19380
	gccagtgtac	tccagcctgg	ggaacaccga	gactctgtct	tatttaaaaa	aaaaaaaaaa	19440
	aaaatgcttg	caataatgcc	tggcacatag	aaggtaacag	taagtgttaa	ctgtaataac	19500
15	ccagggtctaa	gtgtgtaagg	caatagaaaa	attggggcaa	ataagcctga	cctatgtatc	19560
	tacagaatca	gtttgagctt	aggtaacaga	cctgtggagc	accagtaatt	acacagtaag	19620
	tgттаacca	aagcatagaa	taggaatatc	ttgttcaagg	gacccccagc	cttatacatc	19680
	tcaaggtgca	gaaagatgac	ttaatatagg	accatttttt	tcctagtctt	ccagagtttt	19740
	tattggttct	tgagaaaagta	gtaggggaat	gttttagaaa	atgaattggg	ccaactgaaa	19800
20	ttacatgtca	gtaagttttt	atatattggg	aaatttttagt	agacatgtag	aagtttttcta	19860
	attaatctgt	gccttgaaac	attttctttt	ttcctaaaagt	gcttagtatt	ttttccgttt	19920
	tttgattggg	tacttgggag	cttttttgag	gaaatttagt	gaactgcaga	atggggtttgc	19980
	aaccattttg	tatttttggt	ttgtttttta	gaggatgtat	gtgtatttta	acattttctta	20040
	atcattttta	gccagctatg	tttgttttgc	tgatttgaca	aactacagtt	agacagctat	20100
25	tctcattttg	ctgatcatga	caaaataata	tcctgaattt	ttaaattttg	catccagctc	20160
	taaattttct	aaacataaaa	ttgtccaaaa	aatagtattt	tcagccacta	gattgtgtgt	20220
	taagtctatt	gtcacagagt	cattttactt	ttaagtatat	gtttttacat	gttaattatg	20280
	tttgttattt	ttaattttta	cttttttaaa	taattccagt	cactgccaat	acatgaaaaa	20340
	ttggctactg	gaattttttt	tttgactttt	atttttaggt	catgtgtaca	tgtgcagggtg	20400
30	tgттatacag	gtaaattgcg	tgтcatgagg	gtttggtgta	cagggtgattt	cattaccag	20460
	gtaataagca	tagtacccaa	taggtagttt	tttgatcctc	acccttctcc	caccctcaag	20520
	tagggccctg	tgттgctgтt	tccttctttg	tgtccatgta	tactcagtgт	ttagctccca	20580
	cttagaagtg	agaacatgcg	gtagттgггt	ttctgttcct	ggattagttc	acttaggata	20640
	atgacctcta	gctccatctg	gttttttatg	ctgcatagta	ttccatgggtg	tatatgtatc	20700
35	acattttctt	tatccagttc	accattgata	ggcatttagg	ttgattccct	gtctttgtta	20760
	tcатgaatag	tgctgtgatg	aacatacaca	tgcatgtgtc	tttatggtag	aaaaatttgt	20820
	attccttttag	gtacatatag	aataatgggg	ttgctagggt	gaatggtagt	tctattttca	20880
	gttattttgag	aaatcttcaa	actgcttttc	ataatagcta	aactaattta	cagtcccgcc	20940
	agcagtgtat	aagtgttccc	ttttctccac	aaccttgcca	acatctgtga	ttttttgact	21000
40	ttttaataat	agccattcct	agagaattga	tttgcaattc	tctattagtг	atattaagca	21060
	ttttttcata	tgcttttttag	ctgtctgtat	atattcttct	gaaaaatttt	catgtccttt	21120
	gccagttttg	tagtggggtg	ggttggtttt	tgcttgгтаa	ttagttttta	gttccttcca	21180
	gattctgcat	atccctttgt	tggatacatg	gtttgcagat	atttttctcc	cattgtgtag	21240
	gttgгtctttt	actctgttga	tagtttcttt	tgccatgcag	gagctcgгta	ggтcccatтt	21300
45	gtgттtgггt	ttgттgcagt	tgcttttgгc	gtcttcatca	taaaatctgt	gccaggгcct	21360
	atgtccagaa	tggтattttcc	taggттgtct	tccaggгггt	ttacaatttt	agatttttacg	21420
	tttatgtctt	taatccatct	tgagттgatt	tttgтatatg	gcacaaggaa	gggгtccagt	21480
	ttcactccaa	ttcctatggc	tagcaattat	cccagcacca	tttattgaaт	acggagгtct	21540

	ttccccattg	cttgtttttt	gtcaactttg	ttgaagatca	gatggttgta	agtgtgtggc	21600
	tttattttctt	ggctctctat	tctccattgg	tctatgtgtc	tgtttttata	acagtaccct	21660
	gctgttcagg	ttcctatagc	cttttagtat	aaaatcggct	aatgtgatgc	ctccagcttt	21720
	gttcttttttg	cttaggattg	ctttggctat	ttgggctcct	ttttgggtcc	atattaattt	21780
5	taaaacagtt	ttttctgggt	ttgtgaagga	tatcattggg	agtttatagg	aatagcattg	21840
	aatctgtaga	ttgctttggg	cagtatggcc	attttaacaa	tattaattct	tcctatctat	21900
	gaatatggaa	tgtttttcca	tgtgtttgtg	tcatctcttt	atacctgatg	tataaagaaa	21960
	agctgggtatt	attcctactc	aatctgttcc	aaaaaattga	ggaggaggaa	ctcttcctta	22020
	atgaggccag	catcattctg	ataccaaaac	ctggcagaga	cacaacagaa	aaaagaaaac	22080
10	ttcaggccaa	tatccttgat	gaatatagat	gcaaaaatcc	tcaacaaaat	actagcaaac	22140
	caaattccagc	agcacatcaa	aaagctgatc	tactttgatc	aagtaggctt	tatccctggg	22200
	atgcaagggt	ggttcaacat	acacaaatca	ataagtgtga	ttcatcacat	aaacagagct	22260
	aaaaacaaaa	accacaagat	tatctcaata	ggtagagaaa	agggtgtcaa	taaaatttaa	22320
	catcctccat	gttaaaaacc	ttcagtaggt	caggtgtagt	gactcacacc	tgtaatccca	22380
15	gcactttggg	aggccaaggc	gggcatatct	cttaagccca	ggagttcaag	acgagcctag	22440
	gcagcatggt	gaaaccccat	ctctacaaaa	aaaaaaaaaa	aaaaaaatta	gcttggtatg	22500
	gtgacatgca	cctatagtcc	cagctattca	ggaggttgag	gtgggaggat	tgtttgagcc	22560
	cgggaggcag	aggttggcag	cgagctgaga	tcatgccacc	gcactccagc	ctgggcaacg	22620
	gagtggagacc	ctgtctcaaa	aaagaaaaat	cacaaacaat	cctaaacaaa	ctaggcattg	22680
20	aaggaacatg	cctcaaaaaa	ataagaacca	tctatgacag	acccatagcc	aatatcttac	22740
	caaattgggca	aaagctggaa	gtattctcct	tgagaaccgt	aacaagacaa	ggatgtccac	22800
	tctcaccact	cctttttcagc	atagttctgg	aagtcctagc	cagagcaatc	aggaaagaga	22860
	aagaaagaaa	gacattcaga	taggaagaga	agaagtcaaa	ctatttctgt	ttgcaggcag	22920
	tataattctg	tacctagaaa	atctcatagt	ctctgcccag	aaactcctaa	atctgttaaa	22980
25	aatttcagca	aagttttggc	attctctata	ctccaacacc	ttccaaagtg	agagcaaaat	23040
	caagaacaca	gtccccattca	caatagccgc	aaaacgaata	aaatacctag	gaatccagct	23100
	aaccagggag	gtgaaagatc	tctatgagaa	ttacaaaaca	ctgctgaaag	aatcagaga	23160
	tgacacaaac	aaatggaaat	gttctttttt	aacaccttgc	tttatctaata	tcacttatga	23220
	tgaagatact	cattcagtg	aacaggtata	ataagtccac	tcgattaaat	ataagcctta	23280
30	ttctctttcc	agagcccaag	aaggggcact	atcagtgtcc	agtcaataat	gacgaaatgc	23340
	taatatTTTT	ccccttttacg	gtttctttct	tctgtagtgt	ggtacactcg	tttcttaaga	23400
	taaggaaact	tgaactacct	tcctgtttgc	ttctacacat	acccattctc	tttttttgcc	23460
	actctggtca	ggtataggat	gatccctacc	actttcagtt	aaaaactcct	cctcttacta	23520
	aatgttctct	taccctctgg	cctgagtaga	acctagggaa	aatggaagag	aaaaagatga	23580
35	aaggagggtg	gggcctggga	agggaataag	tagtcctgtt	tgtttggtgtg	tttgcttttag	23640
	cacctgctat	atcctagggtg	ctgtgttagg	cacacattat	tttaagtggc	cattatatta	23700
	ctactactca	ctctggtcgt	tgccaaggta	ggtagtactt	tcttgtagatg	ttggttcatg	23760
	ttacttacag	atggtgggct	tggtgaggca	aaccagtggt	ataatcatcg	gagtgtgttc	23820
	tctaattctca	ctcaaatTTT	tcttcacatt	ttttggtttg	ttttggTTTT	tgatggtagt	23880
40	ggcttatttt	tggtgctggg	ttgttttttg	tttttttttg	agatggcaag	aattggtagt	23940
	tttattttatt	aattgcctaa	gggtctctac	ttttttttaa	agatgagagt	agtaaaatag	24000
	attgatagat	acatacatat	ccttactggg	gactgcttat	attctttaga	gaaaaaatta	24060
	catattagcc	tgacaaacac	cagtaaaatg	taaatatatc	cttgagtaaa	taaatgaatg	24120
	tatatTTTTgt	gtctccaaat	atatatatct	atattcttac	aaatgtgttt	atatgtaata	24180
45	tcaattttata	agaacttaaa	atgttggctc	aagtgaggga	ttgtggaagg	tagcattata	24240
	tgGCCatttt	aacatttgaa	cttttttctt	ttcttcattt	tcttcttttc	ttcaggaata	24300
	tttttcaaga	tgtcttacac	agagacactc	tagtgaaagc	cttcctggat	caggtaaagt	24360
	ttgaacttga	gattgtcaga	gtgaatgata	tgacatgttt	tcttttttaa	tatatcctac	24420

	aatgcctggt	ctatatat	atattccc	ggatcatgcc	ccagagttct	gctcagcaat	24480
	tgcagttaag	ttagttacac	tacagttctc	agaagagtct	gtgagggcat	gtcaagtgc	24540
	tcattacatt	ggttgcctct	tgtcctagat	ttatgcttcg	ggaattcaga	cctttgttta	24600
	caatataata	aatattattg	ctatctttta	aagatataat	aataagatat	aaagttgacc	24660
5	acaactactg	ttttttgaaa	catagaattc	ctggttttaca	tgtatcaaag	tgaaatctga	24720
	cttagctttt	acagatatata	tatatata	tatatatcct	gcaatgcttg	tactatata	24780
	gtagtacaag	tatatata	tgtttgtgtg	tgtatatata	tatagtacga	gcataatac	24840
	atattaccag	cattgtagga	tatatatatg	tttatatat	aaaaaaaaag	tataaactta	24900
	aaaccctatt	atgttatgta	gagtatatgt	tatatatgat	atgtaaaata	tataacatat	24960
10	actctatgat	agagtgtaat	atatttttta	tatatatttt	aacattttata	aaatgataga	25020
	attaagaatt	gagtccta	ctgtttttatt	aggtgctttt	tgtagtgtct	ggtcttttcta	25080
	aagtgtctaa	atgatttttc	cttttgactt	attaatgggg	aagagcctgt	atattaacaa	25140
	ttaagagtgc	agcattccat	acgtcaaaca	acaaacattt	taattcaagc	attaacctat	25200
	aacaagtaag	tttttttttt	ttttttgaga	aaggagggtt	gtttatttgc	ctgaaatgac	25260
15	tcaaaaatat	ttttgaaaca	tagtgactt	atttaaataa	catctttatt	gtttcattct	25320
	tttaaaaaat	atctacttaa	ttacacagtt	gaaggaaatc	gtagattata	tggaacttat	25380
	ttcttaatat	attacagttt	gttataataa	cattctgggg	atcaggccag	gaaactgtgt	25440
	catagataaa	gctttgaaat	aatgagatcc	ttatgtttac	tagaaatttt	ggattgagat	25500
	ctatgagggtc	tgtgacatat	tgcgaagttc	aaggaaaatt	cgtaggcctg	gaatttcattg	25560
20	cttctcaagc	tgacataaaa	tccctccac	tctccacctc	atcatatgca	cacattctac	25620
	tcttaccac	ccactccacc	ccctgcaaaa	gtacagggtat	atgaatgtct	caaaaccata	25680
	ggctcatctt	ctaggagctt	caatgttatt	tgaagatttg	ggcagaaaaa	attaagtaat	25740
	acgaaataac	ttatgtatga	gttttaaaaag	tgaagtaa	atggatgtat	tctgaagtag	25800
	aatgcaaaaat	ttgaatgcat	ttttaaagat	aaattagaaa	acttctaaaa	actgtcagat	25860
25	tgtctgggcc	tgggtggctta	tgcctgta	cccagcactt	tgggagtc	aggtgggtg	25920
	atcacaaggt	caggagatcg	agaccatcct	gccaacatgg	tgaaccccg	tctctactaa	25980
	gtatacaaaa	attagctggg	cgtggcagcg	tgtgcctgta	atcccagcta	cctgggaggc	26040
	tgaggcagga	gaatcgcttg	aaccagag	gtgtaggttg	cagtgagtca	agatcgcgcc	26100
	actgcacttt	agcctgggtga	cagagctaga	ctccgtctca	aaaaaaaaaa	aaaatatcag	26160
30	attgttccta	cacctagtgc	ttctatacca	cactcctgtt	agggggcatc	agtggaaatg	26220
	gttaaggaga	tgttttagtgt	gtattgtctg	ccaagcactg	tcaacactgt	catagaaact	26280
	tctgtacgag	tagaatgtga	gcaaatatg	tgttgaaaatg	gttcctctcc	ctgcagggtct	26340
	ttcagctgaa	acctggctta	tctctcagaa	gtactttcct	tgcacagttt	ctacttgtcc	26400
	ttcacagaaa	agccttgaca	ctaataaaa	atatagaaga	cgatacgtga	gtaaaactcc	26460
35	tacacggaag	aaaaaccttt	gtacattgtt	tttttgtttt	gtttcctttg	tacattttct	26520
	atatcataat	ttttgcgctt	cttttttttt	tttttttttt	tttttttcca	ttatttttag	26580
	gcagaaggga	aaaaagccct	ttaaatctct	tgcgaacctg	aagatagacc	ttgatttaac	26640
	agcagagggc	gatcttaaca	taataatggc	tctggctgag	aaaattaaac	caggcctaca	26700
	ctcttttatc	tttggaagac	ctttctacac	tagtgtgcaa	gaacgagatg	ttctaatac	26760
40	tttttaaatg	tgttaactta	taagcctatt	ccatcacaat	catgatcgct	ggtaaagtag	26820
	ctcagtgggtg	tggggaaacg	ttcccctgga	tcatactcca	gaattctgct	ctcagcaatt	26880
	gcagttaagt	aagttacact	acagttctca	caagagcctg	tgaggggatg	tcagggtgcat	26940
	cattacattg	ggtgtctctt	ttcctagatt	tatgcttttg	ggatacagac	ctatgtttac	27000
	aatataataa	atattattgc	tatcttttta	agatataata	ataggatgta	aacttgacca	27060
45	caactactgt	ttttttgaaa	tacatgattc	atggttttaca	tgtgtcaagg	tgaaatctga	27120
	gttggtgttt	acagatagtt	gactttctat	cttttggtcat	tctttggtgt	gtagaattac	27180
	tgtataactt	ctgcaatcaa	ctgaaaacta	gagcctttta	atgatttcaa	ttccacagaa	27240
	agaaagtgag	cttgaacata	ggatgagctt	tagaaagaaa	attgatcaag	cagatgttta	27300

	attggaattg attattagat cctactttgt ggatttagtc cctgggattc agtctgtaga	27360
	aatgtctaata agttctctat agtccttggt cctgggtgaac cacagttagg gtgttttggt	27420
	tattttattg ttcttgctat tgttgatatt ctatgtagtt gagctctgta aaaggaaatt	27480
	gtattttatg ttttagtaat tgttgccaac tttttaaatt aattttcatt atttttgagc	27540
5	caaattgaaa tgtgcacctc ctgtgccttt tttctcctta gaaaatctaa ttacttgga	27600
	caagttcaga tttcactggg cagtcatttt catcttggtt tcttcttgct aagtcttacc	27660
	atgtacctgc tttggcaatc attgcaactc tgagattata aaatgcctta gagaatatac	27720
	taactaataa gatctttttt tcagaaacag aaaatagttc cttgagtact tccttcttg	27780
	atttctgcct atgtttttga agttgttgct gtttgctgc aataggctat aaggaatagc	27840
10	aggagaaatt ttactgaagt gctgttttcc taggtgctac tttggcagag ctaagttatc	27900
	ttttgttttc ttaatgcgtt tggaccattt tgctggctat aaaataactg attaatataa	27960
	ttctaacaca atgttgacat tgtagttaca caaacacaaa taaatatttt atttaaaatt	28020
	ctggaagtaa tataaaaggg aaaatatatt tataagaaag ggataaagggt aatagagccc	28080
	ttctgcccc caccaccaa atttacacaa caaaatgaca tggtcgaatg tgaaaggcca	28140
15	taatagcttt cccatcatga atcagaaaaga tgtggacagc ttgatgtttt agacaaccac	28200
	tgaactagat gactgttgta ctgtagctca gtcatttaaa aaatatataa atactacctt	28260
	gtagtgtccc atactgtgtt ttttacatgg tagattctta ttttaagtgc aactggttat	28320
	tttctttggc tggtttattg tactgttata cagaatgtaa gttgtacagt gaaataagtt	28380
	attaaagcat gtgtaaacad tgttatatat cttttctcct aaatggagaa ttttgaataa	28440
20	aatataatttg aaattttgcc tctttcagtt gttcattcag aaaaaaatac tatgatattt	28500
	gaagactgat cagcttctgt tcagctgaca gtcattgctgg atctaaactt tttttaaat	28560
	taattttgtc ttttcaaaga aaaaatatatt aaagaagctt tataatataa tcttatgtta	28620
	aaaaaacttt ctgcttaact ctctggattt cattttgatt tttcaaatta tatattaata	28680
	tttcaaattgt aaaatactat ttagataaat tgtttttaaa cattcttatt attataatat	28740
25	taatataacc taaactgaag ttattcatcc caggatctta atacatgtat ccaaagtaaa	28800
	aatccaagga atctgaacac tttcatctgc aaagctagga ataggtttga cattttcact	28860
	ccaagaaaaa gttttttttt gaaaatagaa tagttgggat gagaggtttc tttaaaagaa	28920
	gactaactga tcacattact atgattctca aagaagaaac caaaacttca tataatacta	28980
	taaagtaaat ataaaatagt tccttctata gtatatatttct ataattgctac agtttaaaca	29040
30	gatcactctt atataatact attttgattt tgatgtagaa ttgcacaaat tgatatttct	29100
	cctatgatct gcaggggtata gcttaaagta acaaaaacag tcaaccacct ccatttaaca	29160
	cacagtaaca ctatgggact agttttatta cttccatttt acaaatgagg aaactaaagc	29220
	ttaaagatgt gtaatacacc gcccaagggtc acacagctgg taaagggtga tttcatccca	29280
	gacagttaca gtcattgcca tgggcacagc tcctaactta gtaactccat gtaactggta	29340
35	ctcagtgtag ctgaattgaa aggagagtaa ggaagcagggt tttacagggtc tacttgact	29400
	attcagagcc cgagtgtgaa tccctgctgt gctgcttggg gaagtactt aacctatgca	29460
	aggttcattt tgtaaatatt ggaaatggag tgataatacg tacttcacca gaggatttaa	29520
	tgagacctta tacgatcctt agttcagtac ctgactagt cttcataaat gctttttcat	29580
	ccaatctgac aatctccagc ttgtaattgg ggcatttaga acatttaata tgattattgg	29640
40	catggtaggt taaagctgtc atcttgctgt tttctatttg ttctttttgt tttctcctta	29700
	cttttggtt tttttattct actatgtctt ttctattgtc ttattaacta tactctttga	29760
	tttatttttag tgggtgtttt agggttatata ctctttctaa tttaccagtt tataaccagt	29820
	ttatatacta cttgacatat agcttaagaa acttactgtt gttgtctttt tgctgttatg	29880
	gtcttaacgt tttttattct acaaacatta taaactccac actttattgt tttttaattt	29940
45	tacttatata gtcaattatc ttttaaaagat atttaaatat aaacattcaa aacaccccaa	30000
	t	30001
	<210> 3	
	<211> 1031	

<212> ДНК

<213> Homo sapiens

<400> 3

	attccccggga tacgtaacct acggtgtccc gctaggaaaag agaggtgctg caaacagcga	60
5	caagttccgc ccacgtaaaa gatgacgctt ggtgtgtcag ccgtccctgc tgcccgggtg	120
	cttctctttt gggggcgggg tctagcaaga gcaggtgtgg gtttaggaga tatctccgga	180
	gcatttggat aatgtgacag ttggaatgca gtgatgtcga ctctttgccc accgccatct	240
	ccagctgttg ccaagacaga gattgcttta agtggcaaatt cacctttatt agcagctact	300
	tttgcttact gggacaatat tcttggtcct agagtaaggc acatttgggc tccaaagaca	360
10	gaacaggtac ttctcagtga tggagaaaata acttttcttg ccaaccacac tctaaatgga	420
	gaaatccttc gaaatgcaga gagtgggtgct atagatgtaa agttttttgt cttgtctgaa	480
	aagggagtga ttattgtttc attaatcttt gatggaaaact ggaatgggga tcgcagcaca	540
	tatggactat caattatact tccacagaca gaacttagtt tctacctccc acttcataga	600
	gtgtgtgttg atagattaac acatataatc cggaaggaa gaatatggat gcataaggaa	660
15	agacaagaaa aatgtccaga agattatctt agaaggcaca gagagaatgg aagatcaggg	720
	tcagagtatt attccaatgc ttactggaga agtgattcct gtaatggaaa ctgctttcct	780
	ctatgaaatt ccccggggtt cctggaggaa atagatatag gctgatacag ttaccaatg	840
	atggatgaat attgggggac cgcctggtca ttgaaaggct ttcttttctc caggaaagaa	900
	atTTTTTTTcc ttttccataa aaagcttggg aatggaagac aacaattccc attctttttt	960
20	tgcgttccac ccctatgtga caacagaaat ttttggggaa acaacaacga aaaaatttta	1020
	tcccgcgcg a	1031

<210> 4

<211> 3244

<212> ДНК

25 <213> Homo sapiens

<220>

<221> КОДИРУЮЩАЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ

<222> (108)..(1553)

<400> 4

30	gggcggggct gcggttgcgg tgccctgcgcc cgcggcgggcg gaggcgcagg cgggtggcgag	60
	tggatatctc cggagcattt ggataatgtg acagttggaa tgcagtg atg tcg act	116
		Met Ser Thr
		1
35	ctt tgc cca ccg cca tct cca gct gtt gcc aag aca gag att gct tta	164
	Leu Cys Pro Pro Pro Ser Pro Ala Val Ala Lys Thr Glu Ile Ala Leu	
	5 10 15	
	agt ggc aaa tca cct tta tta gca gct act ttt gct tac tgg gac aat	212
	Ser Gly Lys Ser Pro Leu Leu Ala Ala Thr Phe Ala Tyr Trp Asp Asn	
	20 25 30 35	
40	att ctt ggt cct aga gta agg cac att tgg gct cca aag aca gaa cag	260
	Ile Leu Gly Pro Arg Val Arg His Ile Trp Ala Pro Lys Thr Glu Gln	
	40 45 50	
	gta ctt ctc agt gat gga gaa ata act ttt ctt gcc aac cac act cta	308
	Val Leu Leu Ser Asp Gly Glu Ile Thr Phe Leu Ala Asn His Thr Leu	
45	55 60 65	
	aat gga gaa atc ctt cga aat gca gag agt ggt gct ata gat gta aag	356
	Asn Gly Glu Ile Leu Arg Asn Ala Glu Ser Gly Ala Ile Asp Val Lys	
	70 75 80	

RU 2730677 C2

	ttt ttt gtc ttg tct gaa aag gga gtg att att gtt tca tta atc ttt	404
	Phe Phe Val Leu Ser Glu Lys Gly Val Ile Ile Val Ser Leu Ile Phe	
	85 90 95	
	gat gga aac tgg aat ggg gat cgc agc aca tat gga cta tca att ata	452
5	Asp Gly Asn Trp Asn Gly Asp Arg Ser Thr Tyr Gly Leu Ser Ile Ile	
	100 105 110 115	
	ctt cca cag aca gaa ctt agt ttc tac ctc cca ctt cat aga gtg tgt	500
	Leu Pro Gln Thr Glu Leu Ser Phe Tyr Leu Pro Leu His Arg Val Cys	
	120 125 130	
10	gtt gat aga tta aca cat ata atc cgg aaa gga aga ata tgg atg cat	548
	Val Asp Arg Leu Thr His Ile Ile Arg Lys Gly Arg Ile Trp Met His	
	135 140 145	
	aag gaa aga caa gaa aat gtc cag aag att atc tta gaa ggc aca gag	596
	Lys Glu Arg Gln Glu Asn Val Gln Lys Ile Ile Leu Glu Gly Thr Glu	
15	150 155 160	
	aga atg gaa gat cag ggt cag agt att att cca atg ctt act gga gaa	644
	Arg Met Glu Asp Gln Gly Gln Ser Ile Ile Pro Met Leu Thr Gly Glu	
	165 170 175	
	gtg att cct gta atg gaa ctg ctt tca tct atg aaa tca cac agt gtt	692
20	Val Ile Pro Val Met Glu Leu Leu Ser Ser Met Lys Ser His Ser Val	
	180 185 190 195	
	cct gaa gaa ata gat ata gct gat aca gta ctc aat gat gat gat att	740
	Pro Glu Glu Ile Asp Ile Ala Asp Thr Val Leu Asn Asp Asp Asp Ile	
	200 205 210	
25	ggt gac agc tgt cat gaa ggc ttt ctt ctc aat gcc atc agc tca cac	788
	Gly Asp Ser Cys His Glu Gly Phe Leu Leu Asn Ala Ile Ser Ser His	
	215 220 225	
	ttg caa acc tgt ggc tgt tcc gtt gta gta ggt agc agt gca gag aaa	836
	Leu Gln Thr Cys Gly Cys Ser Val Val Val Gly Ser Ser Ala Glu Lys	
30	230 235 240	
	gta aat aag ata gtc aga aca tta tgc ctt ttt ctg act cca gca gag	884
	Val Asn Lys Ile Val Arg Thr Leu Cys Leu Phe Leu Thr Pro Ala Glu	
	245 250 255	
	aga aaa tgc tcc agg tta tgt gaa gca gaa tca tca ttt aaa tat gag	932
35	Arg Lys Cys Ser Arg Leu Cys Glu Ala Glu Ser Ser Phe Lys Tyr Glu	
	260 265 270 275	
	tca ggg ctc ttt gta caa ggc ctg cta aag gat tca act gga agc ttt	980
	Ser Gly Leu Phe Val Gln Gly Leu Leu Lys Asp Ser Thr Gly Ser Phe	
	280 285 290	
40	gtg ctg cct ttc cgg caa gtc atg tat gct cca tat ccc acc aca cac	1028
	Val Leu Pro Phe Arg Gln Val Met Tyr Ala Pro Tyr Pro Thr Thr His	
	295 300 305	
	ata gat gtg gat gtc aat act gtg aag cag atg cca ccc tgt cat gaa	1076
	Ile Asp Val Asp Val Asn Thr Val Lys Gln Met Pro Pro Cys His Glu	
45	310 315 320	
	cat att tat aat cag cgt aga tac atg aga tcc gag ctg aca gcc ttc	1124
	His Ile Tyr Asn Gln Arg Arg Tyr Met Arg Ser Glu Leu Thr Ala Phe	
	325 330 335	

	tgg aga gcc act tca gaa gaa gac atg gct cag gat acg atc atc tac	1172
	Trp Arg Ala Thr Ser Glu Glu Asp Met Ala Gln Asp Thr Ile Ile Tyr	
	340 345 350 355	
	act gac gaa agc ttt act cct gat ttg aat att ttt caa gat gtc tta	1220
5	Thr Asp Glu Ser Phe Thr Pro Asp Leu Asn Ile Phe Gln Asp Val Leu	
	360 365 370	
	cac aga gac act cta gtg aaa gcc ttc ctg gat cag gtc ttt cag ctg	1268
	His Arg Asp Thr Leu Val Lys Ala Phe Leu Asp Gln Val Phe Gln Leu	
	375 380 385	
10	aaa cct ggc tta tct ctc aga agt act ttc ctt gca cag ttt cta ctt	1316
	Lys Pro Gly Leu Ser Leu Arg Ser Thr Phe Leu Ala Gln Phe Leu Leu	
	390 395 400	
	gtc ctt cac aga aaa gcc ttg aca cta ata aaa tat ata gaa gac gat	1364
	Val Leu His Arg Lys Ala Leu Thr Leu Ile Lys Tyr Ile Glu Asp Asp	
15	405 410 415	
	acg cag aag gga aaa aag ccc ttt aaa tct ctt cgg aac ctg aag ata	1412
	Thr Gln Lys Gly Lys Lys Pro Phe Lys Ser Leu Arg Asn Leu Lys Ile	
	420 425 430 435	
	gac ctt gat tta aca gca gag ggc gat ctt aac ata ata atg gct ctg	1460
20	Asp Leu Asp Leu Thr Ala Glu Gly Asp Leu Asn Ile Ile Met Ala Leu	
	440 445 450	
	gct gag aaa att aaa cca ggc cta cac tct ttt atc ttt gga aga cct	1508
	Ala Glu Lys Ile Lys Pro Gly Leu His Ser Phe Ile Phe Gly Arg Pro	
	455 460 465	
25	ttc tac act agt gtg caa gaa cga gat gtt cta atg act ttt taa	1553
	Phe Tyr Thr Ser Val Gln Glu Arg Asp Val Leu Met Thr Phe	
	470 475 480	
	atgtgtaact taataagcct attccatcac aatcatgac gctggtaaag tagctcagtg	1613
	gtgtggggaa acgttcccct ggatcatact ccagaattct gctctcagca attgcagtta	1673
30	agtaagttac actacagttc tcacaagagc ctgtgagggg atgtcaggtg catcattaca	1733
	ttgggtgtct cttttcctag atttatgctt ttgggataca gacctatgtt tacaatataa	1793
	taaatattat tgctatcttt taaagatata ataataggat gtaaaacttga ccacaactac	1853
	tgtttttttg aaatacatga ttcattggtt acatgtgtca aggtgaaatc tgagttggct	1913
	tttacagata gttgactttc tatcttttgg cattcttttg tgtgtagaat tactgtataa	1973
35	cttctgcaat caactgaaaa ctagagcctt taaatgattt caattccaca gaaagaaagt	2033
	gagcttgaac ataggatgag ctttagaaaag aaaattgatc aagcagatgt ttaattggaa	2093
	ttgattatta gatcctactt tgttgatttta gtccctggga ttcagtctgt agaaatgtct	2153
	aatagttctc tatagtcctt gttcctgggtg aaccacagtt aggggtgttt gtttatttta	2213
	ttgttcttgc tattgttgat attctatgta gttgagctct gtaaaaggaa attgtatttt	2273
40	atgttttagt aattgttgcc aacttttttaa attaattttc attatttttg agccaaattg	2333
	aaatgtgcac ctctgtgcc ttttttctcc ttagaaaaatc taattacttg gaacaagttc	2393
	agatttcact ggtcagtcac tttcatcttg ttttcttctt gctaagtctt accatgtacc	2453
	tgctttggca atcattgcaa ctctgagatt ataaaaatgcc ttagagaata tactaactaa	2513
	taagatcttt ttttcagaaa cagaaaaatag ttccttgagt acttccttct tgcatctctg	2573
45	cctatgtttt tgaagttgtt gctgtttgcc tgcaataggc tataaggaat agcaggagaa	2633
	attttactga agtgctgttt tcctaggtgc tactttggca gagctaagtt atcttttgtt	2693
	ttcttaatgc gtttggaacca ttttgctggc tataaaaataa ctgattaata taattctaac	2753
	acaatgttga cattgtagtt acacaaacac aaataaatat tttattttaa attctggaag	2813

	taatataaaa gggaaaatat atttataaga aagggataaa ggtaatagag cccttctgcc	2873
	ccccaccac caaatttaca caacaaaatg acatgttcga atgtgaaagg tcataatagc	2933
	tttcccatca tgaatcagaa agatgtggac agcttgatgt tttagacaac cactgaacta	2993
	gatgactggt gtactgtagc tcagtcattt aaaaaatata taaatactac cttgtagtgt	3053
5	cccatactgt gttttttaca tggtagattc ttattttaagt gctaactggg tattttcttt	3113
	ggctgggttta ttgtactggt atacagaatg taagttgtac agtgaaataa gttattaaag	3173
	catgtgtaaa cattgttata tatcttttct cctaaatgga gaattttgaa taaaatatat	3233
	ttgaaatttt g	3244
	<210> 5	
10	<211> 761	
	<212> ДНК	
	<213> Homo sapiens	
	<220>	
	<221> misc_feature	
15	<222> (693)..(693)	
	<223> n является а, с, г или т	
	<220>	
	<221> misc_feature	
	<222> (722)..(722)	
20	<223> n является а, с, г или т	
	<400> 5	
	cacgaggctt tgatatttct tacaacgaat ttcatgtgta gaccactaa acagaagcta	60
	taaaagttgc atggtcaaat aagtctgaga aagtctgcag atgatataat tcacctgaag	120
	agtcacagta tgtagccaaa tggttaaagg tttgagatgc catacagtaa atttaccag	180
25	cattttctaa atttatttga ccacagaatc cctattttta gcaacaactg ttacatccca	240
	tggattccag gtgactaaag aatacttatt tcttaggata tgttttattg ataataacaa	300
	ttaaaatttc agatatcttt cataagcaaa tcagtggctc ttttacttca tgttttaatg	360
	ctaaaatatt ttcttttata gatagtcaga acattatgcc tttttctgac tccagcagag	420
	agaaaatgct ccagggttatg tgaagcagaa tcatcattta aatatgagtc agggctcttt	480
30	gtacaaggcc tgctaaagga ttcaactgga agctttgtgc tgcctttccg gcaagtcag	540
	tatgctccat atcccaccac acacatagat gtggatgtca atactgtgaa gcagatgcca	600
	ccctgtcatg aacatattta taatcagcgt agatacatga gatccgagct gacagccttc	660
	tggagagcca cttcagaaga agacatggct cangatacga tcatctacac tgacgaaagc	720
	tntactcctg atttgaatat ttttcaagat gtcttacaca g	761
35	<210> 6	
	<211> 1901	
	<212> ДНК	
	<213> Homo sapiens	
	<220>	
40	<221> КОДИРУЮЩАЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ	
	<222> (125)..(793)	
	<400> 6	
	acgtaaccta cgggtgtccc ctaggaaaga gaggtgctgc aaacagcgac aagttccgcc	60
	cacgtaaaaag atgacgcttg atatctccg agcatttggg taatgtgaca gttggaatgc	120
45	agtg atg tcg act ctt tgc cca ccg cca tct cca gct gtt gcc aag aca	169
	Met Ser Thr Leu Cys Pro Pro Pro Ser Pro Ala Val Ala Lys Thr	
	1 5 10 15	
	gag att gct tta agt ggc aaa tca cct tta tta gca gct act ttt gct	217

RU 2730677 C2

	Glu Ile Ala Leu Ser Gly Lys Ser Pro Leu Leu Ala Ala Thr Phe Ala	
	20 25 30	
	tac tgg gac aat att ctt ggt cct aga gta agg cac att tgg gct cca	265
	Tyr Trp Asp Asn Ile Leu Gly Pro Arg Val Arg His Ile Trp Ala Pro	
5	35 40 45	
	aag aca gaa cag gta ctt ctc agt gat gga gaa ata act ttt ctt gcc	313
	Lys Thr Glu Gln Val Leu Leu Ser Asp Gly Glu Ile Thr Phe Leu Ala	
	50 55 60	
	aac cac act cta aat gga gaa atc ctt cga aat gca gag agt ggt gct	361
10	Asn His Thr Leu Asn Gly Glu Ile Leu Arg Asn Ala Glu Ser Gly Ala	
	65 70 75	
	ata gat gta aag ttt ttt gtc ttg tct gaa aag gga gtg att att gtt	409
	Ile Asp Val Lys Phe Phe Val Leu Ser Glu Lys Gly Val Ile Ile Val	
	80 85 90 95	
15	tca tta atc ttt gat gga aac tgg aat ggg gat cgc agc aca tat gga	457
	Ser Leu Ile Phe Asp Gly Asn Trp Asn Gly Asp Arg Ser Thr Tyr Gly	
	100 105 110	
	cta tca att ata ctt cca cag aca gaa ctt agt ttc tac ctc cca ctt	505
	Leu Ser Ile Ile Leu Pro Gln Thr Glu Leu Ser Phe Tyr Leu Pro Leu	
20	115 120 125	
	cat aga gtg tgt gtt gat aga tta aca cat ata atc cgg aaa gga aga	553
	His Arg Val Cys Val Asp Arg Leu Thr His Ile Ile Arg Lys Gly Arg	
	130 135 140	
	ata tgg atg cat aag gaa aga caa gaa aat gtc cag aag att atc tta	601
25	Ile Trp Met His Lys Glu Arg Gln Glu Asn Val Gln Lys Ile Ile Leu	
	145 150 155	
	gaa ggc aca gag aga atg gaa gat cag ggt cag agt att att cca atg	649
	Glu Gly Thr Glu Arg Met Glu Asp Gln Gly Gln Ser Ile Ile Pro Met	
	160 165 170 175	
30	ctt act gga gaa gtg att cct gta atg gaa ctg ctt tca tct atg aaa	697
	Leu Thr Gly Glu Val Ile Pro Val Met Glu Leu Leu Ser Ser Met Lys	
	180 185 190	
	tca cac agt gtt cct gaa gaa ata gat ata gct gat aca gta ctc aat	745
	Ser His Ser Val Pro Glu Glu Ile Asp Ile Ala Asp Thr Val Leu Asn	
35	195 200 205	
	gat gat gat att ggt gac agc tgt cat gaa ggc ttt ctt ctc aag taa	793
	Asp Asp Asp Ile Gly Asp Ser Cys His Glu Gly Phe Leu Leu Lys	
	210 215 220	
	gaatttttct tttcataaaa gctggatgaa gcagatacca tcttatgctc acctatgaca	853
40	agattttggaa gaaagaaaat aacagactgt ctacttagat tggttctaggg acattacgta	913
	tttgaactgt tgcttaaaatt tgtgttatatt ttacttcatt atatttctat atatatttgg	973
	tggtattcca tttgctatatt aaagaaaccg agtttccatc ccagacaaga aatcatggcc	1033
	ccttgcttga ttctggtttc ttgttttact tctcattaaa gctaacagaa tcctttcata	1093
	ttaagttgta ctgtagatga acttaagtta tttaggcgta gaacaaaatt attcatattt	1153
45	atactgatct ttttccatcc agcagtggag tttagtactt aagagtttgt gcccttaaac	1213
	cagactccct ggattaatgc tgtgtacccg tgggcaaggt gcctgaattc tctatacacc	1273
	tatttctca tctgtaaaat ggcaataata gtaatagtac ctaatgtgta gggttgttat	1333
	aagcattgag taagataaat aatataaagc acttagaaca gtgcctggaa cataaaaaca	1393

	cttaataata gctcatagct aacatttcct atttacattt cttctagaaa tagccagtat	1453
	ttgttgagtg cctacatggt agttccttta ctagttgctt tacatgtatt atcttatatt	1513
	ctgttttaaa gtttcttcac agttacagat tttcatgaaa ttttactttt aataaaagag	1573
	aagtaaaagt ataaagtatt cacttttatg ttcacagtct tttccttttag gctcatgatg	1633
5	gagtatcaga ggcatgagtg tgtttaacct aagagcctta atggcttgaa tcagaagcac	1693
	tttagtcctg tatctgttca gtgtcagcct ttcatacatc attttaaatc ccatttgact	1753
	ttaagtaagt cacttaatct ctctacatgt caatttcttc agctataaaa tgatgggtatt	1813
	tcaataaata aatacattaa ttaaatgata ttatactgac taattgggct gttttaaggc	1873
	aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaa	1901
10	<210> 7	
	<211> 562	
	<212> ДНК	
	<213> Homo sapiens	
	<220>	
15	<221> misc_feature	
	<222> (166)..(166)	
	<223> n является а, с, г или t	
	<400> 7	
	agacgtaacc tacggtgtcc cgctaggaaa gagagatatc tccggagcat ttggataatg	60
20	tgacagttgg aatgcagtga tgtcgactct ttgccaccg ccatctccag ctgttgccaa	120
	gacagagatt gctttaagtg gcaaatcacc tttatttagca gctacntttt gcttactggg	180
	acaatattct tggctcctaga gtaaggcaca tttgggctcc aaagacagaa cagg tacttc	240
	tcagtgatgg agaaataact tttcttgcca accacactct aaatggagaa atccttcgaa	300
	atgcagagag tgggtgctata gatgtaaagt tttttgtctt gtctgaaaag ggagtgatta	360
25	ttgtttcatt aatctttgat ggaaactgga atggggatcg cagcacatat ggactatcaa	420
	ttatacttcc acagacagaa cttagtttct acctccact tcatagagtg tgtgttgata	480
	gattaacaca tataatccgg aaaggaagaa tatggatgca taaggaaaga caagaaaatg	540
	tccagaagat tatcttagaa gg	562
	<210> 8	
30	<211> 798	
	<212> ДНК	
	<213> Homo sapiens	
	<220>	
	<221> КОДИРУЮЩАЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ	
35	<222> (81)..(590)	
	<400> 8	
	gggctctctt ttgggggcg ggtctagcaa gagcagatat ctccggagca tttggataat	60
	gtgacagttg gaatgcagtg atg tcg act ctt tgc cca ccg cca tct cca gct	113
	Met Ser Thr Leu Cys Pro Pro Pro Ser Pro Ala	
40	1 5 10	
	ggt gcc aag aca gag att gct tta agt ggc aaa tca cct tta tta gca	161
	Val Ala Lys Thr Glu Ile Ala Leu Ser Gly Lys Ser Pro Leu Leu Ala	
	15 20 25	
	gct act ttt gct tac tgg gac aat att ctt ggt cct aga gta agg cac	209
45	Ala Thr Phe Ala Tyr Trp Asp Asn Ile Leu Gly Pro Arg Val Arg His	
	30 35 40	
	att tgg gct cca aag aca gaa cag gta ctt ctc agt gat gga gaa ata	257
	Ile Trp Ala Pro Lys Thr Glu Gln Val Leu Leu Ser Asp Gly Glu Ile	

	45	50	55	
	act ttt ctt gcc aac cac act cta aat gga gaa atc ctt cga aat gca			305
	Thr Phe Leu Ala Asn His Thr Leu Asn Gly Glu Ile Leu Arg Asn Ala			
	60	65	70	75
5	gag agt ggt gct ata gat gta aag ttt ttt gtc ttg tct gaa aag gga			353
	Glu Ser Gly Ala Ile Asp Val Lys Phe Phe Val Leu Ser Glu Lys Gly			
	80	85	90	
	gtg att att gtt tca tta atc ttt gat gga aac tgg aat ggg gat cgc			401
	Val Ile Ile Val Ser Leu Ile Phe Asp Gly Asn Trp Asn Gly Asp Arg			
10	95	100	105	
	agc aca tat gga cta tca att ata ctt cca cag aca gaa ctt agt ttc			449
	Ser Thr Tyr Gly Leu Ser Ile Ile Leu Pro Gln Thr Glu Leu Ser Phe			
	110	115	120	
	tac ctc cca ctt cat aga gtg tgt gtt gat aga tta aca cat ata atc			497
15	Tyr Leu Pro Leu His Arg Val Cys Val Asp Arg Leu Thr His Ile Ile			
	125	130	135	
	cgg aaa gga aga ata tgg atg cat aag gaa aga caa gaa aat gtc cag			545
	Arg Lys Gly Arg Ile Trp Met His Lys Glu Arg Gln Glu Asn Val Gln			
	140	145	150	155
20	aag att atc tta gaa ggc aca gag aga atg gaa gat cag ggt cag			590
	Lys Ile Ile Leu Glu Gly Thr Glu Arg Met Glu Asp Gln Gly Gln			
	160	165	170	
	agtattattc caatgcttac tggagaagtg attcctgtaa tgggactgct ttcattctatg			650
	aaatcacaca gtgttcctga agaaatagat atagctgata cagtactcca tgatgatgat			710
25	atttggtgac agctgtcatg aaaggctttc ttctcaagta ggaatttttt cttttcataa			770
	aagctgggat gaagccagat tcccatct			798
	<210> 9			
	<211> 169			
	<212> ДНК			
30	<213> Homo sapiens			
	<400> 9			
	aaacagcgac aagttccgcc cacgtaaaaag atgatgcttg gtgtgtcagc cgtccctgct			60
	gcccgggttg tttctcttttg ggggcggggg ctagcaagag cagatatctc cggagcattt			120
	ggataatgtg acagttggaa tgcggtgatg tcgactcttt gccaccgc			169
35	<210> 10			
	<211> 176			
	<212> ДНК			
	<213> Homo sapiens			
	<400> 10			
40	aaaacgtcat cgcacataga aaacagacag acgtaacctt cgggtgtccc ctaggaaaga			60
	gaggtgcgtc aaacagcgac aagttccgcc cacgtaaaaag atgacgcttg atatctccgg			120
	agcatttgga taatgtgaca gttggaatgc agtgatgtcg actctttgcc caccgc			176
	<210> 11			
	<211> 38001			
45	<212> ДНК			
	<213> Mus musculus			
	<400> 11			
	caaacacaca cacacacaca cacacacaca cacacacaca cacacacaca cacacactgg			60

	catatcaagt	ctctgttagg	ctaggcgcat	cctctcccac	tgaggtcaga	caagactgcc	120
	cagctagaag	aacatatccc	acggacaggc	aacagctttt	gggacagcca	cgctccagtt	180
	gtttgggact	cataaaagac	taaactcaca	cctgctacaa	aagtgcaggg	aggcctaggt	240
	ccagcctgtg	tgtgctcttt	gcttagtggt	gtctctgaga	gccctaagga	tcaaagtttg	300
5	ttgactctgt	tggctcttct	gtggagttcc	tatccccttc	gtccccctcc	ccaccctgca	360
	atctttccct	caactcttct	ttaggcctgg	tgggtgggtg	gtgggtggcat	ggaggaggtg	420
	gtggaggggg	tgggggtctt	taatcccgtt	tcttgtgaga	ccgaagcagg	gacgatttcg	480
	gagctctgtg	agtttgaggc	cagcctgggtc	tatagatcta	gttccaggac	agtcagagct	540
	acatagagaa	accctgcccc	gagggggggg	gggcgcgggg	aatgggttaa	gattattgca	600
10	ggacccagct	gatctgtgga	agaggtaacg	ggtgtttatg	tttttcgaaa	ctcattgaac	660
	aatgcacttc	aattgtgctc	acttttagaa	tataaagcca	ccacgcgaaa	agctgcgccc	720
	caacttaaa	gcaatttcca	aggtacttct	gggtccttgc	ggttcagtgg	ctgtctaggt	780
	tcagaaacga	aactggatcc	ccgccccgcc	ccccgcgcc	ccccctcccc	agcgccctga	840
	ggcagtttcg	atttcctatg	gccagccggc	taggcagctt	tttcatcggt	actccttgga	900
15	aagtccccac	ttcgttcatc	tctggcggat	ttgcgggagc	cagggcgctc	atcgatcgcc	960
	tggagccaca	gaatgacagc	ggagcagcgg	cagaatctgc	aagcattcag	agactataatc	1020
	aagaagattc	tggacccccac	ctacatcctc	agctacatga	gttcttggtg	cgaggatggt	1080
	gagtgggtccc	caactggggc	tctcaggctc	tccaccttag	cgaggggaaa	acatcactca	1140
	gatcagaaac	aattgaaggc	tctgcccccc	cccctcccc	gcgctgtcct	taagttaatt	1200
20	tgtgtaaccc	ggtgtatgtg	agactcccag	gccatattag	agtagacagc	atagggattt	1260
	gatggtcagg	aacaaaattc	ctgcaagctg	tagtaacttg	cataaggatg	ccactctttt	1320
	ctttctttca	atgctgggga	aatagtttgt	ttctcttatt	tacaccttct	agactgctgt	1380
	gtgcctccct	ttgtcctgtc	atgagaaaact	gagaaaatcag	aatgcgcccc	cccctcctta	1440
	gattcctgta	cagagcaaaag	agcaaggctt	tgggctcggg	ccaaagggtg	aggtgggggc	1500
25	cgcaggaagc	aagaggactg	actgacacgc	acatttctgt	caaaggatgt	tgctcacagg	1560
	aagtccgtgg	aagaaaactt	tctccagact	ccgtgtgttc	agagttaaac	acagtgtgtc	1620
	atatctagct	ttggggattt	gattggtgga	taatagactc	tttgtaaatt	gcactgggtg	1680
	tttccacctg	agcaaacaga	cctccccacc	tcacccccac	cccaggggag	aaggagaggg	1740
	gcgtttgaag	gggtgaccga	gggcgtgcgg	cagctacttt	tcattttgcc	agttaaagcc	1800
30	tagatgtctt	tcctggcggt	ggacgacggt	ggcaactgca	ggttaattct	gactctcttg	1860
	agttccgaag	cctaacaggc	tatgcagaga	ggagtaaaag	agcactaccc	agggtaccc	1920
	acatcccgtt	tgtgttagag	agaagcagca	aaaaagccct	aatgattggg	ggcggggtct	1980
	gaggagagga	aaccacacca	agaggtttct	taacaccagg	gtcacttgcc	tttcaatcct	2040
	ttaatctgat	cttttagtcat	ttacattagc	atacaaagta	actagtttca	atactgaaac	2100
35	aaagtaacta	gtttgttcag	ccattcctgc	cattgctctt	tgcttcttatt	taattgcctc	2160
	ttctgtggct	cttccacccc	ctttacctgt	ccctctctgg	atgccctccc	ccccaaatgg	2220
	taccccgttc	tgctttctta	taacatgagg	ttcatcacac	tccctccctc	cctccctccc	2280
	ccatttaaa	tatcatcctt	tcctctcagg	gtgcctgttt	tagtttcatg	aatttttaggg	2340
	ttttggtttt	ttgtctgttt	agttatgaga	tttttttaaa	aatgtggatt	atgttgaaat	2400
40	tgtagattgt	tcttggtgct	agaggccttt	ttatagtatt	atttccaccc	atcttgggag	2460
	atctttctga	aatcttccag	tgtcttcaag	aatttttttt	tcccactgcc	ttagaagttt	2520
	gcattgtagc	tatcgttcac	ctctttgggt	agggtttggt	gttatttggt	tgtttgaggc	2580
	tattgtgaat	agaactccct	ccttccccca	tatctttctg	ggccagggtt	ttcttagtat	2640
	gtaagtaagc	tactggtttc	tgtatgttta	tttagaacc	tgctcttggt	ttgacttttt	2700
45	atgagggtctg	agagtttggtg	gtagtctttg	gggggtcttt	ataggattat	ataagaatca	2760
	tttgactcat	tcctttccta	tttgtctaac	ttttgtttgt	ttgtttgttt	gtttttttga	2820
	gacagggttt	ctctgtatag	ccctggcagt	cctggaactc	actttgtaga	ccaggctggc	2880
	ctcgaactca	gaaatctgcc	tgccctctgcc	tcccagagtgc	tgggattaaa	ggcgtgcacc	2940

	accacacccg	gccatcattt	ccaagttaaa	gatttgatct	acattagacg	ccgccacgca	3000
	gaaaaccttg	agacttggtg	gaaaggccaa	aggccattaa	aataaatattt	cttttttctt	3060
	tcttccattc	tttcccttat	tccttccttc	ctttcttttt	gttttctttc	ttttcttttt	3120
	cctttttcct	gagacaggg	ttctctgtat	agccctggca	tcctggaact	cactctgtag	3180
5	accaggctgg	cctcgaactc	agaaatccac	cagcctttgc	ctcccaagtg	ttgggattaa	3240
	aggcattcgc	caccactgcc	caaataatttt	atttatttat	ttattttattt	atttttatat	3300
	atgtgatgag	tacactggaa	attccatcaa	aaagagcagg	tttgactggg	gtcactagat	3360
	ttactattga	tagggatccc	taaaggagag	ctaaggtaaa	gggctctccc	tctcctaggt	3420
	cttctgcata	ccttccttga	gtgttctggg	ccagatctcc	taagctctaa	gaatgtgctg	3480
10	aaaacacact	gggaactggc	tccttccttg	ggaatttgta	ctccctctgc	tgtgggaaac	3540
	ttggatataa	gaggctacag	gaggacagt	agttataccc	caggcacaga	gttagcgtgt	3600
	acattcaaaa	cgcataccat	tttgaaaagta	gcagctgcta	gcatttcctg	tcacctggtc	3660
	aacctggtct	cttttagctgc	cccacccctt	ccacttttct	gctgtgtttc	ttttactctc	3720
	ttagcaaaaa	ttggaatgaa	agaccacaaa	tgtatttgta	attcaaaatg	cttgctgcat	3780
15	cagctatact	cgttactgtt	gccatagggc	gttcattccc	acccaccccc	aacccttag	3840
	tccagcagtt	gcttcagagt	tttgaagaag	aggaggaagc	ctttcttctt	ccatgtgaca	3900
	ccctccactg	cgacttctgc	ttactgtggg	gaacttgagt	ggaggacggg	agtgtgcata	3960
	gatgaaagag	tggaggacgg	gagtgtgcat	agatgaagga	gtggaggacg	ggagtgtgca	4020
	tacatgaagg	agtggaggac	gggagtgtgc	atacatgaag	gagtggagga	cgggagtgtg	4080
20	catacatgaa	ggagtggagg	acgggagtgt	gcatacatga	aggagtggag	gatgggagt	4140
	tgcatacatg	aaggagtgga	ggacgggagt	gtgcatacat	gaaggagtgg	aggacgggag	4200
	tgtgcataca	tgaaggagag	gaggacggga	gtgtgcatag	atgaaggaga	ggaggacggg	4260
	agtgtgcata	gatgaaggag	aggaggacgg	gagtgtgcat	agatgaagga	gaggaggacg	4320
	ggagtgtgca	tagatgaagg	agaggaggac	gggagtgtgc	atagatgaag	gagtggagga	4380
25	cgggagtgtg	catacatgaa	ggagtggagg	acgggagtgt	gcatacatga	aggagtggag	4440
	gacgggagt	tgcatacatg	aaggagtgga	ggacgggagt	gtgcatacat	gaaggagtgg	4500
	aggacgggag	tgtgcataca	tgaaggagag	gaggacggga	gtgtgcatag	atgaaggaga	4560
	ggaggacggg	agtgtgcata	gatgaaggag	aggaggacgg	gagtgtgcat	agatgaagga	4620
	gaggaggacg	ggagtgtgca	tacatgaagg	aaaggaggac	gggagtgtgc	atagatgaag	4680
30	gagtggagga	cgggagtgtg	catacatgaa	ggagtggagg	acgggagtgt	gcatacatga	4740
	aggagtggag	gacgggagt	tgcataatgaa	ggagtggagg	acgggagtgt	gcatacatga	4800
	aggagtggag	gacgggagt	tgcataatgaa	ggagtggagg	acgggagtgt	gcatacatga	4860
	gaaggagagg	aggacgggag	agtgcataga	tgaaggagt	gaggacggga	gtgtgcatac	4920
	atgaaggagt	ggaggacggg	agtgtgcata	catgaaggag	tggaggacgg	gagtgtgcat	4980
35	agatgaagga	gaggaggacg	ggagtgtgca	tagatgaagg	agaggaggac	gggagagtgc	5040
	atagatgaag	gagtggagga	cgggagtgtg	catagatgaa	ggagtggagg	acgagagtgt	5100
	gcatacatga	aggagtggag	gacgggagt	tgcgaggatg	gatgagtggg	gtctgtgccc	5160
	tctcaaagg	cttctgggtc	catgagttgt	tatgactccc	agaccacat	gggaaggtct	5220
	gggtctgttat	cttccagtga	ctagtgtctt	tgcaggctac	tcacttgccc	ttgtctctgt	5280
40	ttgcagagga	ggtgcagtac	attcaggctg	agaagaacaa	caagggccca	atggaagctg	5340
	cctcactctt	cctccagtac	ctgttgaaagc	tgcagtcaga	gggctgggtc	caggcctttt	5400
	tggatgccct	gtacatgca	ggttggttcc	ttcttcttcc	tcacagttca	gagtacttca	5460
	ctctgtgccc	tcagaaggct	gaggggagaa	aagtgactcg	ttctgtgaca	tctgtgtgtg	5520
	gcttctgcct	caggcgggaa	atgtaaagac	tattttgaat	cagataagag	aatggtttat	5580
45	accagaaata	tccaaagcaa	tctacagagt	tgttaactact	aggagaggtg	acaatattag	5640
	tagcatgccg	gtatctttca	agaggagaa	gagtaaataa	atcggtttta	taatgtttac	5700
	agtgtcccat	tatactgcaa	tgaagcgtgt	ggacatgtct	gtaaatagaca	accagctga	5760
	actgtaggca	cgcagcattt	aaatttgaa	atcataaact	ataatagcta	taaagttcca	5820

	catgagtcaa	actaaacata	tagggaagga	aactggatct	tgggcgaccc	tggctgacca	5880
	gtcctgggga	gtaagcttaa	taaactctcc	ctgtctgact	gagatcggtg	tcctgtggtt	5940
	tgtgaggcaa	ttcctggact	ctaacactta	ggcaattaca	tttcttgccc	ctctgccact	6000
	ctagcttatt	cactggtgaa	agaaggagaa	tacttttagtg	ttaccaacaa	tggggggggg	6060
5	ggggcggggg	atgggaaatg	ggaaaaagca	ggcccggccc	agtgtagtaa	gaaagaaaca	6120
	ccaaagaaaag	ccaagggctc	ctgttgcttt	cattgtattg	gagtgtttgt	cagtcggctg	6180
	ggggatgggg	tgggggggtg	ggaagcacac	ctttaatccc	agctctgggg	aggcagaggc	6240
	aggcagatcc	ctgtgagctc	caccagtcac	ggctggcctc	agcaagaact	gtatccatca	6300
	catcctaaca	cagggtgtgt	gaattaacat	ggtactgtta	aagcaaacac	gctgccttcc	6360
10	tcgggtgctg	cgggtccctag	gaagccacac	attggcagca	tgttggcagc	agttgtataa	6420
	aaactaatgc	ttttttttcc	ttttcttttt	aattcggtaa	aagggtttta	atgtcatttg	6480
	ttataaaaact	tggtttcctg	ctatttccag	gattaacaat	tgacttattc	tttctatttc	6540
	ctgctttata	gaccatcatt	ttgatacatt	atctatttgc	atctcagtga	tacatgctta	6600
	tcttaccctt	ttatttcgtt	ttaagaattg	tgtgtgtgtg	tgtgtgtgtg	tgtgtgtgtg	6660
15	tgtgtgtgtg	tgtgtgtgtg	tgtctgagag	tgggcatgca	tttatgagtg	cattgcctag	6720
	aggtcagaca	ttcccctgga	gctggagtta	atggcagttg	tgagggactg	acgtgggtgc	6780
	tgggatctga	ccccagtcac	ctgcaagaac	acgatgaacc	ttacttgcta	agccatctcc	6840
	ccagccctta	gctgttgacg	ttactctcca	ttccaaataa	gccctggcaa	tgaaaacaag	6900
	acttaattca	tatgaataca	tgctgtgcac	ctagattggg	cagatctacc	gctacactac	6960
20	catcttctcc	atctatgaga	ctcccccttt	tttttttctt	tttttctttt	ttgtggtttt	7020
	ggttttttga	gacagggttt	ctctgtatag	ccctggctgt	cctggaactc	actttgtaga	7080
	ccaggctggc	ctcgaactca	gaaatccgcc	tgctcttgcc	tcccaagtgc	tgggaattaa	7140
	ggcgtgcgcc	accaggcggt	ttctccaggc	tgtgtgcttc	tgctccactt	ttcttctctc	7200
	tcctctgtgg	tatcctctcc	ctcttctctc	ttctccttct	ctcttcccac	cttctctctc	7260
25	aacttccctt	tatcagccca	atcaccagct	ctcctttatt	ttactaattg	agggtgggaag	7320
	cagggtttaca	ggaaatcacc	ggagtgtgta	ctcattcctt	gttcgcagcc	actcaatgca	7380
	gaatggaatt	accatcaaata	ataattagcc	ccagggttat	ccacaacact	tacctagcac	7440
	atcaaattgg	ccagcagggg	atcaagagaa	aaggaaactc	aacttctgct	tattttctct	7500
	atctcttatg	tagccccatc	agagaagctg	ttgttttctt	tttgtgggct	ctaactaatt	7560
30	tgaatattat	atttaagatc	tattctctta	agtaaaaaatg	gcacagctaa	ctttaactgt	7620
	aaaattatat	gaggtttact	aggaaaagtc	ttgagttaa	gcaagaaagg	gaattttaaa	7680
	acatttgat	tggaaacataa	gtgctggaac	atctctcttt	gcaagtgagg	tgctttgtgt	7740
	gtacaaccct	aagagtttct	tttttttttt	tttttaattt	atttacttca	tatttcagac	7800
	agatctcatt	tcagggtggt	gtgagccacc	atgtggttgc	tgggatttga	actcaggacc	7860
35	tctggaagag	cagtcagtg	tcctctgcgc	tgagccatct	ctccagcccc	cctaagagtt	7920
	tcataaagga	atagtctgca	ttaataaaat	cagaaaaggc	tcagaatata	aagccaatat	7980
	catcaagtag	gtttccagtt	tatgtattaa	caaataatgc	aaaaaagatt	ttaagcaagc	8040
	gattcctttt	ataacagcac	caagaacaat	aaagttagga	atgccagtgc	tcctaactgc	8100
	tgaaccacct	cagcaatgca	aactttttaca	tcttagcact	aagtccagct	cctaattcgt	8160
40	gaatgtaaga	tgtcattcat	gtccgtgtcc	ctatggttcg	tttcagaagt	ggtttatggt	8220
	cttcgggtca	taggtctttc	ccctgctcag	ctttgcttat	tcctaacttt	atttaaagtt	8280
	ctcactgttg	ttataaaagg	aatcacttgg	ggctggcgag	atggctcagt	gggtaagagc	8340
	accgactgc	tcttccgaag	gtcctgagtt	caaatcccag	caaccacatg	gtggctcaca	8400
	accatccgta	acgagatctg	actccctctt	ctggagtgtc	ggaagacagc	tacagtgtat	8460
45	ttacatataa	taaataaata	aataaaataa	tcttcaaaaa	aattctaaaa	aaatatggaa	8520
	aaaaaaggaa	tcacttagtt	aaaaatctca	ttcctagccg	gttgtgggtg	cacatacctt	8580
	taatcccagc	acttgggtgg	cagaggcagg	cggatttcta	agtttgaggt	ctacaaagtg	8640
	agttccaggt	ctctgaaaac	cacaaaaaaa	aaaaaaaaaa	atagcactgg	ctgctcttcc	8700

	gaaggttctg	agttcaaadc	cctccaacca	catagtggct	cacaaccata	tgtaatggga	8760
	tctgatgccc	tcttctggtg	tgtctgaaga	cagtaacagt	gtacttacat	ataataaata	8820
	aataaatctt	tgggtgggag	tgagcggggc	tggagagaga	aggaaaagta	tctgaagaca	8880
	actacagtgt	acttacatat	aatagataaa	taaatcttta	aaaaaatcaa	taaatgaaag	8940
5	atgccaatat	tacccagagt	tggcacagtg	atacctttca	taatgccaaa	ttttggtggc	9000
	aggattgttt	gtttattaaa	caggaataga	aaaatttact	ctcaaatttg	tatgaaatct	9060
	taaatggtca	aaatattgga	aagagaaact	cacttggaaa	ccttggggga	cttatacttc	9120
	ctggtgtcaa	aacagtacag	aacctccata	aagccagata	attagaccat	tagcccagaa	9180
	gtaaacctctg	aaggatatgg	ccaaaggttc	ttcaacaagg	gtacccatgac	cacccaaaag	9240
10	ggggaaaaaa	aacccagttc	ctttaatatg	aaaatacatt	ggggttaagt	ggtatacata	9300
	tgggaatgag	aggtatcagg	cataatcttg	tgctatgatg	tgaatttgaa	atgttctcat	9360
	cacattcatg	ttttgagtgc	ttggtcccca	gcttgtgggg	ttttaggagg	tagagcctag	9420
	ctagccaaag	taacacgtgt	atacgtttcat	gcatgtgtgc	acacaggtat	gagggtactt	9480
	gtgtgtagcc	cagaggctga	cattcagtgt	cttccttagg	agctctccac	cgtatgtttt	9540
15	tgggaatgga	tctctcatta	gacccagaat	ttaccctctc	gggctcgact	ggctgggatt	9600
	atagggctcat	gctgctacac	ttggcttttt	acatgatagc	tggggacagg	aactcaggtc	9660
	ccagccttgt	gtggtgagca	cttttctact	aagcaccttc	ttggtcctgg	agctattttg	9720
	attgttttag	ttttttgggt	ctataggggg	gagaaaaaaa	aaaaaaccac	attgtcttcc	9780
	cagggccttg	aatgaagtaa	atgaggggtc	gagaggcagg	cacgcctggg	ggatctgtcc	9840
20	aaaaacccca	gagtacggca	ttcttggtatt	cttttagtca	gaagtcattt	tccttctcca	9900
	tttgcccatt	gacttaatct	tttcttgga	tggtgtggaa	ggaaacactt	ttcaagggca	9960
	ggatgtaaga	tttgatattt	ctctgggtct	ctttactgtt	tcctcttgag	aagataaaca	10020
	tgatgaattt	gactaattta	aaagtaaaatt	gagatgacaa	agagatggct	ctgtgattaa	10080
	gagcacttgc	tgatcttgca	gaggacccag	gtttggttcc	tagacttaca	tggtagctca	10140
25	caaccatctg	taacttcagt	tccaggaatc	tgaccctctc	ttctgctctc	caaagatacc	10200
	agacacactc	acgatacaca	gacacatgca	aagtaaaaata	gaaataaata	ttaaaaaaa	10260
	atatattgtg	ggttggtgtt	aaagtgcgtg	aggggcattt	tgaagatttt	attctaaggt	10320
	caaatacaag	gcctcatatc	tgctccttagg	acttgaccct	gaaagataat	gaatttttagg	10380
	agacctaaac	tggtgggtac	caaaaatgag	tattactccc	attttgga	atcatgaata	10440
30	gctgtattag	ttgactttta	ctactgtgag	taaatgcccg	aggaaataaa	aagcagaaaa	10500
	atgagagcca	agaggatctg	tagcttctgc	accctgtcgt	ggtgaggcag	ggcaccatgg	10560
	cgggagcatg	tgggaaaagc	cgcactttct	ggtagacagg	tggcaaaggg	tgccgggcag	10620
	gggccctgga	caagatgcat	tcttcaaagc	acatctccag	tgactcactt	ctcccagaga	10680
	gggtacagt	ctcagttgct	ccttctgtat	gaactcaatg	tgctgccagt	ggtgacgcca	10740
35	ggactcgaag	gatgtgggtca	ccagggtccc	cagggtgtgg	tcacctctaa	agactgtcac	10800
	cagctggtgt	ccaagcctgc	aacctgtcag	cctcatggtc	tggctcccca	gactgtccag	10860
	tgactgaggc	catttgcaga	tggttttcag	ttcccttgcc	actgatttga	acaggattcc	10920
	catgattttg	acttcaaagc	atttttatgt	tggatttgct	taagaaatcc	ccatttctct	10980
	tttctttttc	aggttactgt	ggactttgtg	aagccatcga	aagttgggac	tttcaaaaa	11040
40	ttgaaaagtt	agaggaacac	agattacttt	taagacgttt	agaaccagaa	tttaaggcca	11100
	cagttgatcc	aaatgatata	ctttctgaac	tatccgaatg	tttgattaat	caggaatgtg	11160
	aagaaatcag	acaggtaa	caatgccagg	tactaaat	gaagaaaaat	gcagagacat	11220
	tggaaatgcc	catttttctg	tcttgtttta	ggcccaagga	taattgaaac	ccataaaagc	11280
	tctcatctag	cagatatata	gactagaata	gaatttttaa	agtgaatggg	gtaatttttg	11340
45	tgctagacta	ttagaaaatt	atttaaccta	tttgagttta	aagttgcccc	cttactttta	11400
	aaaaaatagt	ggttttatgca	taatgcaaat	cacaccaa	agtgaacaa	ttaaaaggaa	11460
	aaatatgtca	ggctcttggg	catagataca	tttattacag	tctcgcagtc	acttaactag	11520
	tgatgtgatg	ccaggcagtt	ctctaagcat	ctgtgggggt	ttgtttgttg	ttgtttgttg	11580

	tgtttgtttg	tttgtttttc	atgtctaaaag	taagaaaatt	tatcttttgt	tttttgtttt	11640
	tttgtttttt	tagattttctt	tattttatatt	tattatatgt	gagtacactg	tagctgtctt	11700
	cagacactcc	agaagagggc	gtcagatctt	gttacggatg	gttgtgagcc	actatgtggt	11760
	tgctgggatt	tgaactcagg	accttcggaa	gaacagtcgg	tgctctcaac	ccctgagcca	11820
5	tctctccagc	ccccttttgt	ttttgttttt	gtttttgttt	ttgttttttt	gtttgtttgg	11880
	tttttttgtc	gttggtgttg	tttgtttgtt	ttgttttttc	gagatagggt	ttctctgtgt	11940
	agccctggct	gtcctggaac	tcactctgta	gaccaggctg	gccttgaact	cagaaatccg	12000
	cctgcctctg	cctcccgagt	actgggatta	aaggcatgca	ccaccacgcc	cgacgaaaat	12060
	gtaccttatt	agcactcttt	tagggctaaa	tgagagggtca	tgacaaaaat	gtgtatgtca	12120
10	gcttgatgca	tagcagtcta	tgacacaatgc	atttcagtta	tcattagaaa	gaaaagtcac	12180
	agaacatctg	cttagaaaaag	agacctgctg	ctgtgctggt	aggcatttcc	aaatggctct	12240
	gtgtgccgat	acatccttag	ggtgaatggg	tagcgtctgg	gttaacgctt	ttaccccagg	12300
	attgctcttg	gtcagggata	taaggattca	gaagatgaga	acatttgcct	tggtcatattg	12360
	ataacacatt	ataaaggaca	aaggtgaaga	aaggaatatc	ttaaaagcta	gtgctggaca	12420
15	gggcaaaaag	atgatgctaa	ctaagcccta	ctcaactata	cttcacagtg	atttcaatca	12480
	gataccgctt	ccacaaaagc	ttgccagagg	aaaggctgag	ctgcctgatc	agtgtgctgc	12540
	atttgtctcc	cccagatccg	agacactaaa	gggagaatgg	cagggtgcgga	gaagatggcc	12600
	gaatgtctta	tcagatccga	caaggaaaac	tggccaaagg	tcttgcaact	tgctttggag	12660
	aaagacaaca	gcaagtttag	tgaattgtgg	attgttgata	aagggtgggg	gctccaagaa	12720
20	agaaccctgg	accctgctgc	gctcctccca	gttctcccca	ctttactttc	catcagaggc	12780
	gctgttcact	tcagatacca	aaggctatat	ccctaggata	caagcagtgg	aaagctgaat	12840
	tctgggagga	agggaactac	atggcatgga	attaacccga	ccagggtcaa	gaatctaggg	12900
	aaggcttcca	gccccaat	gttatcagag	aaatagcttg	agaattctag	acctaaaggt	12960
	tcaaactgca	agacttacct	ccctatcaga	gcagaggctg	agtgttgggg	gtgatagcta	13020
25	tggactggtg	ctcttgcccg	gaagccatct	ggactccgac	agagcaagag	taaacgaaga	13080
	ttttctgtgt	ttaagccaac	ctcatttggc	ttccggaaac	tcacttcttg	ctttaaacag	13140
	accttgataa	atacctgagt	ttctagtttc	ctttctcacc	tagatttcct	tagaacataa	13200
	attattccag	aaactctcta	catcgttggt	cagagatgga	atcctgtctc	tttagtgtgc	13260
	tcaggaatga	cgccctgctg	ttattggcgt	gagttccgga	gtggggaggg	gctccggatg	13320
30	caaactgctg	agagccccgg	gttccacact	tggagtgcg	tagttccaga	tgaaactgga	13380
	attcaattgc	caagttgagc	ttcaaactca	gaataatcct	tgagttgtt	ttaagccgtc	13440
	aaagtggggc	tctctagatg	gctcagtgga	taaggttcct	gccactgatc	ctgaagaccc	13500
	aaattcaacg	tccagggcct	acatgataga	accaatcccc	aaacagtgtc	ctcatccctc	13560
	ggcacactca	ctgtgtcgtg	tgtgacacac	acagtaaaca	aatccatttc	aaaaataaat	13620
35	aaaatgttaa	gaaagtgcaa	gaccgtgatt	gtaagagctc	aacggaaatt	tagatgttta	13680
	gtgttagtgt	taggactttt	tgggacttcc	ccaacaaaaa	ccataatcac	attgcgcatg	13740
	cttttaatacc	cagcactcag	gaggcagagg	cagggtggatt	tctgagttcg	aggccagcct	13800
	ggtctacaga	gtgagttcca	ggacagccag	ggctatacag	agaaaccctg	cctcgaccac	13860
	caccccttcc	caaaaaaaaa	aaaaaaaaagat	tctaagctgt	aagctgttat	ttgtgtttat	13920
40	gattgtttgc	ttgcctgttt	atcacaaaag	tttcaaaaag	gctgaaagca	aggctgatga	13980
	ggatgatgga	gcgagggcgt	ccagcatcca	gattttcatt	caggaagagc	cagagtgtca	14040
	gaatctcagt	cagaatcccc	ggcctccttc	aggtaccaag	catcgtttgc	tctcatccat	14100
	gatggtgtcc	cccagcactt	tgatgccctt	tgaaaaaaag	tcttttttaa	ggatgattaa	14160
	gaaaagaaaag	aatttgtggg	gcaataggga	cttcataatt	agaatccctg	ctcctgtctt	14220
45	ccatggcctc	tgcattggcct	tcaaccctcc	ccctcctctc	ccctccctc	cccctccctc	14280
	cagtatgtat	gccttcatct	gtaccgtgtt	cccagaactt	cagtgtccat	gacttctcaa	14340
	agcagccttg	ctctctaaaag	aacacttctg	ctcactaagc	aatggctttg	agaatctggg	14400
	ctgacagctg	gttttcctcg	gctgtttttg	atgatctgtt	cttactttgt	tccaagtggc	14460

	tttgttttga	attaggccat	tcttgctgtc	ctttttcttg	ataaagtttc	cacgattaag	14520
	aaagaattca	tggggctgga	gagatagatg	gttcagcggt	taagagcacc	gactgttctt	14580
	tcagagatcc	cgagttcaat	tcctagcaac	cacatagtga	ctccagcgtc	tgggttaatg	14640
	tttttaccoc	atctgtaatg	ggctctgggtg	tactcttctg	gtgtgtcaga	ggacagcgac	14700
5	aatgtgtata	ttcatatata	ttaaataata	aataaatctt	caaagagaaa	agaaggaagg	14760
	aagaagtaac	agagagagag	agagagagag	agagagagag	agagagagag	agagagagag	14820
	agagaacaca	ctttggccaa	gatcccaaac	ctcaaacagg	ggcattgttg	ctagagtcag	14880
	aactcatgtc	cactgaatgg	cagttgcacc	atgattcctt	gtagcatgaa	cccttcgata	14940
	actttgtccc	ctctatatta	cagaagcgtc	ttctaataat	ttacacagcc	cattgaaacc	15000
10	aagaaattac	caactggagc	ttgccctgcc	tgccaagaaa	gggaaaaata	caataatatg	15060
	tgccccctact	ggtaagtcag	ttgctgtcac	tcacagaact	ctctggcttc	gctttttctt	15120
	ccccctttgg	gggctgtaaa	aggaggagtt	ttccccgtgg	cccatgctgc	ccatgggaga	15180
	gctggtctag	cagcttaagg	aacctggaca	gcgataagga	gggagataag	tgtcttcttt	15240
	agtttgcttt	tggttcttgc	tacctgagtg	cacgttactt	aggaagtagc	ttggcacttt	15300
15	tcagccattg	tttaaaactgt	cattgttagt	gcggaggagg	gattattagt	ttatttgtat	15360
	cccagtggtc	atagagaagc	caaaataagt	accattctgg	aaaaacagct	aacacagggt	15420
	atctgttggg	ttttttttct	tttctttttt	tttctttttt	cttccctact	aaaaggttgt	15480
	ggaaaaacct	ttgtgtcgct	tcttataatg	gaacaccatc	ttaaaaaatt	cccatgtgga	15540
	caaaaaggga	aagtggctct	cttcgctaac	caaatctctg	tctatgagca	gcaggcaact	15600
20	gtgttctcac	gatatattga	aagacttggg	tatgtactac	tacaatcaat	ctaactgctt	15660
	tgatttttgg	tttttgtttt	gtttatgttt	gtatttttaa	ttctagcccc	tttggctggg	15720
	tttgggggct	ttgttgtgtc	tggttttggg	ggctttgttg	tgtctgggtt	tgggggcttt	15780
	gttgtgtctg	gttttggggg	ctttgttgtg	tgttttctga	gacagtgtat	cacgtagcct	15840
	tgagttgtct	ccaacccact	gtgtagctga	ggttggccta	gaagagatga	tcttcttgct	15900
25	tctacaagtg	ctgagattac	agtgtgcact	ggcatgcctg	gctgttctct	gattttcttt	15960
	cttttttttt	tttttaagat	ttattttatt	attatatgta	agtacactgt	agctgtcttc	16020
	agacactcca	gaagagggca	tcagatctca	ttatgggtgg	ttgtgagcca	ccatgtgggt	16080
	gctgggattt	gaacttcgga	ccttcggaag	agcagtcagg	tgctcttacc	cactgagcca	16140
	tctcaccagc	cctctctgat	tttcaaagct	atgattaaag	gaaaatcgcc	atggacttaa	16200
30	cttttagagg	tagttccctt	gtgcaataac	atttttgggt	taactttacc	agaaatgcta	16260
	agccctcatg	tcatgctctg	acagttaatg	aacttgggtg	ccaaatttaa	catgtaggcg	16320
	atacacagg	catccttaat	gatgttatat	ttgattggct	attactcttt	tcaaaatcat	16380
	ttctctctta	atgacttgaa	agaataaata	cactgtgatc	agctataacc	tcttgcattt	16440
	cctgactccc	cggtcttgtg	tcaggcctgt	gagaaaagtc	aagggtactac	ccagttgtac	16500
35	tcttttgggc	ttgggctgac	ttcttttaatt	gctgctctga	cctagacttc	tactttgtct	16560
	ccttgttcat	tcacatcaag	gttgatgata	agggatttct	gtcattcccc	aggtacaaca	16620
	ttgcgagcat	ttctggggca	acatctgata	gcgtctcagt	gcagcacatc	attgaagaca	16680
	atgatatcat	catcctgaca	ccccagattc	ttgtgaacaa	tctcaacaac	ggagccatcc	16740
	cctcgttgtc	tgtcttctact	ctgatgatat	ttgatgagtg	tcataacact	agcaaaaacc	16800
40	accatacaaa	tcagatcatg	ttcagatacc	tagaccacaa	acttggagag	tcacgggacc	16860
	cactgcctca	ggtatttcca	atcttctaag	aagaaccaca	gtttttcaga	gtcccactta	16920
	gttgcctctt	tgtagccaca	tttgagcttg	ccctcctcgg	ggtctcagtc	catcggtaca	16980
	actcagtgg	caatgttgg	tcattcattt	gaccaacagt	tgtcccttgg	tgtccagggg	17040
	agatgccctt	cacaaaaaac	aaaatctagg	ctgcttaagt	ctcttgtatg	agatgacatt	17100
45	gcattttatat	ataatctaca	cactttcctc	ttgcatactt	taaatcttct	ctagattact	17160
	gatattgtac	agtatgatga	aaattttata	taaatagttc	tagtactgta	attttttaggg	17220
	aataaagggtg	ggaaattcat	acatgttttag	tacttatgaa	gttttaaaaa	atattttttga	17280
	tccatgggtg	tatgaattca	cattttatata	acctctggat	ttggagggcc	agctgtataa	17340

	accatgggct	tccatggacc	ttgtgcattg	ttctaggctc	tgggacacca	atacagaaga	17400
	tatagtccctg	gctctcatatc	agttaagttt	gcagggagcc	aggaacatag	tagtcacagc	17460
	ttatcatgag	gtatgctgca	gagacaggta	aagggtgttg	tcagaacata	aggggtaata	17520
	aggcatagaa	atgaagggaa	ctgacagggg	cttgccagggt	agatagcttc	tggtttctag	17580
5	taagaggggtg	ctgtgtgtcc	aggggctcag	ggaaatggaa	gggcctgaca	tgccccagaa	17640
	ccttaaaaact	ctacagtatc	acttgaggggt	agagtgtgaa	gcagggaaca	acagtcaagc	17700
	tgattgttat	gacagatgac	ccagagacac	caggagggca	gagcgtcagt	gggcaagtgg	17760
	atggcttagc	acagggaaca	agcagcagcc	ttctgatgtc	atatgagaag	agtcacttca	17820
	gagtcattct	tacatgtgac	aagaggagta	caaattctcc	ttctgtctat	cataggagag	17880
10	gggggtgcttt	gctgaaagtc	aacgatatag	aaacaggagg	gggctagaga	ggatgaggac	17940
	ggtttgactc	aggcactgat	agatgcaata	aagaatgacg	gtagtgtatc	tatcaggggc	18000
	cccaagaagc	tgtaaaccat	gaattatata	caattctttt	gctccaacaa	taaccttttt	18060
	aggacgtgca	ggttaaagga	catttagtac	aggaccaca	gtttgttatt	ctcgagtatc	18120
	gttgctagga	agcagatttc	ttaccgtcca	gctaattcatt	taggtgaatg	cttactgaag	18180
15	gggtgttatca	tactgaatct	acacagctct	cttgtagacg	actcactgat	tggtgaaggt	18240
	atgtgtccag	gcgcacaaaa	tgcagtgtgat	atgaatgagc	ctggaatgga	ctttttcttc	18300
	ccattgtgat	gttttagtaag	agactggggg	ataaaaaaaaa	cagggtagcc	ctgcctggaa	18360
	aggtttcctc	tctgttctgg	atgacacgct	agatttatct	ccgagctttg	ctccaggggg	18420
	gtctttgtgc	tggagaatgt	cagagagcca	gtggtggggg	gctccttaca	ggtcgttggg	18480
20	ctgactgcct	ccgtcggcgt	tggagatgct	aagaccgcgg	aggaagccat	gcaacatata	18540
	tgtaaactct	gtgccgccct	ggatgcctcc	gtgattgccca	cagtcagaga	caacgttgca	18600
	gaactggaac	aggctcgttta	taagccccag	aaaagtaagt	ggaggtcagc	agcccacacc	18660
	tcgcgacttt	gtaaccttct	gtccccctctg	cgtcagagac	agtggatgaa	gtttgatgct	18720
	gtattttgttt	ggtaaaaagca	tagtggttac	attgcctatc	tttctcccta	gtcaacctct	18780
25	tctccctagc	gacgcatgag	tctcaaaggt	agccagaaaag	ggacaaacat	ccctactctt	18840
	taccagcagc	tgagtgaagg	aggcagtggg	aagattcaag	cattttgaaa	gcctcaatag	18900
	ctagtggcgg	aatcagggtct	ctgtgctccg	ggccctaggc	aggggctatg	tggccatctt	18960
	gttcttgtat	gtatctgatc	attgtagtggt	catgacccga	atcatgacag	ttcaaaaggc	19020
	cagaacatgt	ttttaaaatg	agcttcatta	gaagatgggt	attacttatt	aactacctgt	19080
30	gtaagcaggg	aggtagcgta	gttaccacag	gctggatctt	ggcctgagca	ctcgttctgt	19140
	gagttgacag	caggatcaat	ggcaggggtca	atggcaggat	gagcaatggg	gggggtgggg	19200
	ttgggatggc	acaaccctgg	ttctttctga	gagtcccccg	tggagagtgt	gaagaagggtg	19260
	cctccccacc	cacgcccacc	ccttagcaac	actcaagggt	ttttctacag	tttgagccct	19320
	tggagcttag	tctacttcaa	agtcattttg	tgtcactttc	tccgtctatg	caaaccctct	19380
35	acgagctatt	ctgaggggtgt	gtcccagctc	ctgcgcgcct	tcctttttcc	cttattattc	19440
	atcttgccgg	agcttccccg	gagagaatga	ggtttcctcc	cctctttgag	agatgccttc	19500
	ctggcctgca	cctgcttccc	agggtctctga	tgggcggggt	taggagcaca	cctttgtttc	19560
	ctttaaggag	tgggtggggt	ggggagcagg	gggagggggg	agggagggga	taggggggtt	19620
	ttggagggga	aaccaggaaa	gggaataaca	tttgaaatgt	aaataacgaa	aatatcttta	19680
40	aagaaaagaa	aagaaaagga	aagaaaagaa	gaacctgcct	tctgtgcagc	atagggttagc	19740
	tcttgtcagc	tctctgtcac	tgaacaggga	catgtgacag	gcagttcttt	ttctgccaaa	19800
	agtacacaaa	tgtgaacgat	aagctcaatg	ggggcactct	tgggggctcg	gaggtgcgca	19860
	ggagaatagg	aaatcaggaa	aacggggctg	gagtatggta	tttgccgaaa	ccagaaggct	19920
	gccagacctg	ccacagtaga	ggcaccagga	aagctgactg	agacgctggc	ttagactaga	19980
45	ccaggagaga	cactagaatc	agaagcagtt	ccgaggtcag	aggcttctga	ccgcctgctg	20040
	tgattttgggc	cacgtgagct	tggagcctgt	ggctttaaaag	gacttaccca	ggatggagca	20100
	gcttcgggaa	atggctgcat	aggacctggg	tttccttcag	cttactcaca	tgcttttgac	20160
	cccagtttcc	aggaaaagtgg	catccccggac	ttcgaacacg	tttaaatgca	tcactctctca	20220

	gctgatgaag	gagacagaga	agctagccaa	ggatgtctcc	gaggaacttg	gtaagcctgt	20280
	gccaaagtcc	ggagagagaa	atctcatgtt	tcctgtccct	tccatttaga	ggtactcatg	20340
	gattgctcgt	tagtgtcttc	agttttgggt	gagattatac	tcagaggtgg	actgacttat	20400
	ttattcacac	atattttcttt	ctgtctctgt	atcttcttta	tctcttcatt	cttttttgcc	20460
5	atcatttttt	tctccattcc	tttttaaaaa	gattttat	tatttgatat	gtgtagatgt	20520
	ttttgtctgc	atgtatgtat	gtatatcaca	tgtatcagat	acccgggaac	tggagttaca	20580
	gacagttgtg	agctaccaca	tctgctggga	atcgaaccca	tgtcctctag	aagggtagct	20640
	gggtgcgcata	accactgagg	agccccatt	tctctagctg	tttttaagac	aagggttttt	20700
	tcctctgtgc	cctggttggc	ctgaaacttg	ctatgaagac	aaggctggct	ttgaacttgc	20760
10	aggggtcccc	ttgcttcagc	ttctgagtc	tggggtctct	ggcaagcgcc	accatacctg	20820
	gctcagatat	agactttctt	aatcctaggt	tgtttagga	ccttatagga	gttctttaat	20880
	tctctcttgc	ctttttcttt	ttaaatacaa	aacacatcca	cctggacata	catacctgag	20940
	aaatactgtc	tttaaatcat	cttctaaatt	tcctttcttc	ctttttttcc	cctcttgaga	21000
	tagaatctct	gtgttcagtg	taggctggcc	ttgaactggg	aactctgccc	ctcctcctcc	21060
15	tcctcctcct	cccaagatgt	gcacatcac	tgagctgcc	ttagagtgc	attgtccctt	21120
	ccaagagcag	ttccccagt	gacctaacac	tctctcactg	tcctcagctc	ttgaaagtgt	21180
	caccacctcc	taacctcaca	cactgaggac	caaccagcct	tttgccacat	gagcatccag	21240
	aaggcactta	gacagtagct	aaggcacagc	actgggggag	gagtttgaat	aatgaatcca	21300
	ctatgggtcc	taaagtagta	gggtagcaag	catgctctct	cctctagagt	tttggaact	21360
20	ctctgtaagg	taaagagtaa	agagaccagg	tagtcagtag	atggctcacc	taggaacaag	21420
	ataacatggg	ctgactaaag	tgggtgatgg	acagacggac	aggaatagag	ttgtatgact	21480
	tacttttttg	ttttgttttt	gttttttaaaa	cagtctgtct	gtatagctct	gactgtcctg	21540
	gaactctctt	tgtctggcctc	aaactcacag	agatctgcct	gcctctgcct	ccggaggcat	21600
	tcacacttta	gaatcttttc	ccacctcctc	acattgagta	tctgtcaata	gctgcctcac	21660
25	ttcttctgga	acttgagcgt	ttttcattgt	gaactgggtg	tgggtggcacc	atctctactc	21720
	ccagcagctg	ggagcctgag	tctgaggcca	gcttaggcta	catactgagc	tcctgtcctt	21780
	ggggcggagg	ctgggaagaa	cttgctcactg	tttcttggtg	gtacccgtcc	tgtgttctgt	21840
	tattgcaaat	gtgaggggaag	ccattttaaca	cacaaatgca	tttactttct	ttgaactgta	21900
	ctgtgcttgt	ctcaagaagc	ccaggacaca	aaacaataga	gcaagcatct	ggggtgttct	21960
30	ccacttcgcc	tttccccccc	taccacacac	aatcttcccc	tgagtctgaa	tcgctgtgaa	22020
	tcccacagta	gaaccaagca	gtcaagacat	gcacatgcgc	acacagatgc	ttccgggata	22080
	actgtgtttg	actccgcctt	gtggttggtg	ctgcaagtgc	tgtcttgaga	tcagggtgtt	22140
	gggcttcata	gcaacataga	gcatgctggg	aagggtcctg	gtgctcccat	ttttatataa	22200
	ctgtctccga	tgaagctctt	gagacgtgct	actctaattg	tatcttcatt	ttgaaaggca	22260
35	aagtgtgtcc	ctccttctct	tcctcctcct	ccttcttctc	taccctctct	cttcgttctc	22320
	tgttattttct	gaactacttt	ggctgtcagc	cccttaagcc	tgagagcat	agacaccaca	22380
	gagctagggt	tgaattcttg	cctcaccac	acaatatgag	ctttatgaca	ttgggggtaa	22440
	attagttttc	cttttataga	agatttat	acttaaaaaa	aaattatgtg	catgtgcatg	22500
	tgcgggatgg	tgttggtgcc	tccaggggtc	agaagagggc	gctgaatgcc	ctggaactgg	22560
40	atttacaggt	cgttggaagc	cacccaatgt	gagtgcaggg	aactgaactt	gggtcctcta	22620
	caagggccta	actattgagc	caccacttct	gctccttact	caatctttct	gaatctgttt	22680
	cctctttttt	tttttttaaag	atttatattat	ttattatatg	taagtacact	gtagctaagc	22740
	tatcttcaga	cactccagaa	gagggagtcg	gatcttggtta	cggatgggtg	tgaaccacca	22800
	tgtgggttgc	gggacttgaa	ctcaggacct	ttggaagaac	agtcggtgtt	cttatccact	22860
45	gagccatctc	tccagcctgt	ttcctcttta	aaaaaaaaaa	ttaaataatg	acctcatgaa	22920
	attagaaaaat	ttcaatgcaa	ttatgaagct	tgattttggg	tcatttagta	aatagttatt	22980
	ttacacactc	ctccccccca	ccccccgcgc	acgcacacag	gcacacacac	acacacacac	23040
	acacacacac	acacacacac	acatagctta	agaccagtc	tacttcagga	taaacatctt	23100

	tcttataatg	aataagaaaag	aaaatcagag	gaccggtgct	tgcaaactctt	ttattttatct	23160
	atztatgttc	ttaccctgta	ggaaagcttt	ttcaaattca	aaacagagaa	ttcggcaccc	23220
	agaaatatga	acagtggatt	gtcggcgctc	acaaagcgtg	ctcagtgttt	cagatggcag	23280
	acaaagagga	ggagagcccg	gtctgcaaag	cgctcttcct	gtacacatca	catttgcggg	23340
5	tacattgctg	ctctccaggg	cttatttctca	tcaccgcgcc	tcctgggatc	tgtactgagg	23400
	cagctgagag	aacatcagcg	tctcaagtct	aagagcttag	tgaggaaactt	ttcccgaag	23460
	tcatacctaa	ccttatttgt	tttctgaaac	ttatcatcaa	gtctccaaaa	actggattaa	23520
	aggctcagag	tctatgccac	acctccctcc	agcttgtgac	tggtgaccac	catctaactg	23580
	agctcaaaaa	agtggctcct	gtggccatat	cctgaagctt	tcgtgggtctt	aattttgtta	23640
10	taaagtcata	tattagaatc	tcaggggctc	tggttaacac	agagggaagg	agtaactgta	23700
	agagccctca	gctctgtttg	ctatgctctg	ggaactatct	aaagacttac	tccacacccat	23760
	gggattgtgg	gatctaacgc	ttaatggact	ttcagcatag	gtggtaaggg	ccatcgttat	23820
	gcaaggccca	tgtacacttt	aagtatgact	tggaaattta	ggggaatgtc	aaagctaact	23880
	tgtttttgtt	attgtttctc	aagatatgct	gtttctcctc	tccaagggtg	gagttttata	23940
15	atccaaagtg	aatctacttt	taattttctc	gctgagccaa	aaatagaagc	cagcttttgg	24000
	ttcagagggt	tttattgtag	acctactaag	ggccattcgc	cattaaacct	tcagctgtac	24060
	tgtatgagaa	agattttctg	caaaccagtt	ttgtgctaaa	tacagcgagt	tgaacttgag	24120
	tgtagtgacc	atatgcgacc	tcagaaatgt	attgagaatc	acttttcatt	tcaaacagaa	24180
	atacaacgat	gcactcatca	tcagtgagga	tgcacagatg	acagacgctc	taaattacct	24240
20	caaagccttc	ttccacgatg	tccgagaagc	agcattcgat	gagaccgagc	gagagcttac	24300
	tcggagggtt	gaagggtgag	gagatttctg	aagtcaggag	tccttggggg	ctgggtggctt	24360
	ttgtggcagt	gtgcacatcg	tagttagcat	acgtagccat	catgttgggt	ttaagggtgag	24420
	atgtgtaggg	gctgtgacgg	agcatgacct	tagcatggct	gaaatcccca	gcactaaaaa	24480
	acgaacctat	gctgaaactt	tagagccaac	caaccgacaa	caggagggtt	tggcttcaga	24540
25	gaaatcta	gcctgtggat	ggatctgatg	cttgccccac	ttttcacttg	ggaaaatggg	24600
	aaacagtggg	atgttgaaaag	ggtgcttcct	ctaggtggta	ggtagtgcta	ttctgattaa	24660
	ctcagtaatt	cagaagggtt	aataacaaca	gctcgtgtct	gatgggtgtc	agattgtgct	24720
	gtatgtatgt	ccttccttcc	ttccttcctt	ccttccttcc	ttccttcctt	ccttccttcc	24780
	ttccttcctt	cctccctccc	ttccttcctc	cctccccctt	ttctcttctc	ttctcttctc	24840
30	ttctcttctc	ttctcttctc	ttctcttctc	ttctcttctc	ttctcttctc	ttctcttctc	24900
	cttctcttct	ttctcttctc	ttctcttctc	cttcttctct	cctcttctct	ctccttcttc	24960
	ttcaaaacac	agtctgtata	gccccggctg	tcctgaaaact	cactttgtac	accaggctgg	25020
	cctcgaactc	agaaatctgc	ctgcctctgc	ctcctgagtg	ctgggattaa	aggcgtgtgc	25080
	caccatgccc	agtttgtgca	catatatgtg	catatgttta	ttataaattt	tactgataca	25140
35	ggagatggca	tagcacaaaa	cacacaaata	ataaacacgg	agttcatgtt	ccacagaatg	25200
	cctttggagg	tcttttcagt	acccttgtgt	ccagagccaa	ccagagacag	caattacca	25260
	atatggaggt	ctgaaatgaa	agtcagtttt	atttcctgtt	aatggcagaa	ataagaacaa	25320
	aacgaaacag	cagaagcatt	ttggaagctt	gcttgtttct	cagtgtggg	agcaacattt	25380
	ttctgagcca	gataatagtt	tttcaaacac	gggtgggaca	tttctgcatt	tttacgtgat	25440
40	gcataaacag	tagctaaatt	taatcccat	tataacttta	gcactttaca	aagtctagcc	25500
	agacaataaa	ggatgaagca	agtgtatct	tcatttccat	ggtatgggta	cttctaggat	25560
	caccaatctc	caaccatcac	catgttgctg	aacttgtgta	aaattgagca	gtaacacaca	25620
	ctgacatttc	taccattcat	acactacagg	taagtacaca	ctcaagagcg	tagataatag	25680
	taaactgtaa	taaaatgagt	taggaaatta	ataagcgtgg	ctatttggtta	catttgtttt	25740
45	tagtcattga	gctgcaagca	taaagagttg	aaattttaat	aatagttata	tttaaaacca	25800
	ggtccacaag	tctgaagaac	ttaataactg	accataatct	ggtttgatct	ggttctatct	25860
	agtacaccac	cagtgtgtgt	gtgcgtgtgt	gctcctatgc	atacttatac	attaaaaaaa	25920
	aaaaagatat	cctatgcttc	aatttttaac	ataaaaataac	cttctgacag	ctgggtgggtg	25980

	gtggtggtgc	atgtcttttaa	ttgcagcact	caggaggcag	gggcaggtgg	gtctctgggt	26040
	tcaaggccag	tctggttttac	agagccagtt	ctaggacagc	cagggctaca	cagagaaacc	26100
	ttgtttcaag	acaaaacgaa	acaaaacaac	cacaaataaa	aaatataatct	ttttgatgtt	26160
	tccaaatcag	caggtgtata	taactcttta	actttaatag	taacagtgtg	tttacctcag	26220
5	tttggtagcc	tgggatccat	tgagctgttt	ctcactaagc	agtgttttgg	ttgttggttt	26280
	tttttttttt	tttttttttt	ttttgtattt	agttcatagt	ttcaacactg	attgtccttg	26340
	gaatcttctt	cagagttttt	tttttttttt	ttttttaaag	atttatttat	ttattatttt	26400
	atttaagtac	acttttagctg	acttcagaca	caccagaaga	gggtgtcaga	tctcattacg	26460
	gatgttagtg	agccaccatg	tggttgctgg	gatttgaact	ctggaccttc	ggaagaacag	26520
10	tcggtgctct	taaccactga	gccatctctc	cagccccaga	gttttctaaa	tagaactatg	26580
	agtcaattcc	tatctgtgga	ttgctgtatc	aaagaacatg	tgagttttgt	attgctgcgc	26640
	tgcttttcta	aaggggattc	ctgatgaaac	gagtgtttac	tgctctgatc	tctggtgaac	26700
	agtggaaagg	ttaaccgaaa	tagaaggcca	ctgtttgttc	taaagcttta	acatttgtaa	26760
	gccttttgca	aatgctctc	tatttgacga	aaaactagag	gaattagaaa	aagtttccag	26820
15	ggatcccagc	aatgagaatc	ctaaactaag	agacctctac	ttggtcttac	agaagagta	26880
	ccacttaag	ccagagacca	agaccattct	cttcgtgaag	accagagcac	tcgtggatgt	26940
	aagtgtgtgt	gtttacagat	tagctctagt	ttattgaaaa	ggttgcccgt	tcttcactgc	27000
	cttataatca	agtatccata	catgtgtgga	cctgttctga	tgatttggtc	ttacaccaat	27060
	tgctcattgtt	tgtattgacc	cacagttata	agtcttggtc	ctatagagga	agccctgcat	27120
20	ccttttttaa	aattttaaat	ttccacttcc	agtcactcctg	taggttttga	ttaatgacta	27180
	atgtgtctta	tatacctcac	agttatcttc	atatcatctt	ttaaaaataa	tttactcaga	27240
	ttttaaaaac	cagtttttaa	attgggcaat	gggctggaga	tacagctcaa	tgggtcaaatg	27300
	cttgttcagc	atgcatgact	ttaatcccca	gttctggaaa	aagatagata	tctctctgtt	27360
	tatgtagaat	gccttgagtc	tggccacagc	gcctccctct	gtttatgtag	aatgcctgca	27420
25	ttgtttctgc	tgagtagtag	attaccata	gagccagagg	cagaaaaagt	caagctttat	27480
	tattttatga	gatccgtgga	tcaggatctg	gaaaggactg	gatacttatg	cctcaaggtc	27540
	tcctgaggcc	acagtcagct	cggcactcaa	ggctgacctc	tcggctcctt	ttgcaggttg	27600
	ttggcaggct	tgtgaagatg	agcctccaac	atggcagctg	cccctgccta	cagtgaatg	27660
	agagactgag	gagaagaggg	cctagtagac	agacactgcc	attttataaa	gtccatcttg	27720
30	gacctgatgt	cccaccacat	ctcccatatt	tcagagataa	actacagatt	attttttagaa	27780
	tataggatgt	agaagtcatt	aagggtcgct	tgtcatgtga	tctttgctgt	cttcttttgt	27840
	taatgaatgt	gggtgtttac	catgtgctgt	tcgtgcccac	agagtccagg	aagggggcat	27900
	gacatgccct	ggaactggag	ttaacagaca	gttgtaagtt	gccatgtagg	tgctgggaat	27960
	tgaactcagg	tcctctggaa	gaacaaccag	tgctcttaac	caccgagcca	tctctccagc	28020
35	cccctttgct	gtgtttttatt	agcattttgt	catttttagt	atagaggctc	tgcatacatt	28080
	ttgttagatt	catacctagg	tattaatttt	agtgttgctc	ttccgaaatt	gtactttcaa	28140
	atattttctc	ctgtgggcta	ggaagacatc	tcagtaaagt	gtctaaagta	caggcatcag	28200
	gacctggctt	ccagcaacct	ggtaaaaaag	ccgagtacag	tagagtactc	ttgtaatccc	28260
	agccctgggg	acagagataa	gcacaaccct	aactggcaat	gccaggtcc	cagggagtta	28320
40	ctcattactc	agtcttaggc	agaacgaagg	tgggtggctg	ttaagaaatg	atacctaggg	28380
	ctggtgagat	ggctcagtg	gtaagagcac	ctgactgtc	ttccgaaggt	ccagagttca	28440
	aatcccagca	accacatggt	ggctcacaac	catccgtaac	gagatctgac	tcctctctct	28500
	ggtgtgtctg	aagacagcta	cagtgtactt	acataataa	aataaataaa	tcttttaaaaa	28560
	aaaaaaaaa	aaaaaagaaa	tgatacctga	ggttgacctc	cacatgcatg	tacacacaca	28620
45	cacacacaca	cacatgcgtg	cgtggacata	ctcccctcca	acacagtcag	ccatgtacac	28680
	ctccacacaa	cacacagttc	ttccaattgc	agctgtctgc	tgatatttac	tgtgtaatta	28740
	atttacatgg	attgatcttt	caccttaaa	ccttgctaaa	tttcacttac	tctatgtctg	28800
	aagcttgtct	ttttaatcac	ttaaaatata	tcctacatta	agccataatg	aggcagagtt	28860

	ctatatcact	agcatcaatt	gttgtttggga	atttaggatt	tgccagtctg	aaatccattt	28920
	ttatcttttag	ttgtattctc	tttttgcata	tacatccatt	atatcaaatt	gatgtgaggt	28980
	ttaaagttta	caagtgggtg	ctaactggcc	gttgcttttc	acttttaggc	tctgaagaaa	29040
	tggattgaag	aaaatcctgc	actaaagcttt	ctaaagcctg	gcatactgac	tgggctgagg	29100
5	agaacaaacc	gggcaacagg	tatttatgtc	tattgaatta	gatttagtat	actatgtata	29160
	taaaatgtat	aaacactaca	ttgttttagt	gtttctatca	gtcagagctc	aaccagagaa	29220
	ataaagctac	tagattatgc	atatgtatgt	ggtatatatg	taagtatgta	tgcttatttg	29280
	tttgtttggt	tatttatgta	cttagagata	gggtttctct	gtgtaaccct	tgctctcctg	29340
	gaactcactc	tgtggaccag	gctggccttg	aattcagaaa	tccgcctgcc	tctgcctccc	29400
10	gagtgtctgg	attaaagggtg	tgcgccacca	ctgcctggcc	tatactgtta	ttctttaccc	29460
	agtagatttt	ttttcccat	ctactgcctc	tttaatatgt	ttaaaaaac	agtccaggca	29520
	atcctgaact	ctagctagtg	tggtctaggg	aggaagggtta	tcatttccca	taagaaccct	29580
	atgtggctag	ctctcatcac	agctacgtcc	caagtcatat	ctcacgactg	tatgacctgc	29640
	cctcgctggt	cttcctgcc	gtgtgtgtta	cactaaacaa	gtctccaccc	cttctctctc	29700
15	cgctcctcagg	cattgctctt	gtacttttcc	attgtggaat	ttcccgatct	cataaacata	29760
	gaatggactc	aagtgttgaa	tgtgtgggtt	cgagtctaac	actaccctaa	tgtggctgga	29820
	ttttcaaagt	tctttgccat	ctctccaaca	tgaatccaac	ttgattttca	agctttgcta	29880
	ctgacatata	aatcgagcct	tgaataatat	tttgtgtgct	catccatgca	tgcatggatc	29940
	catggatcca	atcatgtgtc	caaccactca	tccaccctac	cgtgcatgca	tccatctttc	30000
20	cgctcatgcat	ttagacctta	ctcagctcct	gcttctgtga	agaagcagcc	atccctgtca	30060
	tctaacaccc	gagggtgccc	tcccccgcc	acgttcccat	cttacagatc	tcacccact	30120
	tcctccacaa	tggcttctctg	ctcatcatcc	ttatagataa	agatggaatc	tttaagcgct	30180
	atatttctac	ctgctcagcc	ataaccata	attgctgacc	gagtgttgga	tggatgaatg	30240
	aattgggttag	gatgattctg	ctattgttgt	tttctggatg	attctttctt	gttttatagc	30300
25	taacctggga	aaaaagggtg	acttttacia	aaagccacag	gttgcttggt	gtttggacat	30360
	tttcagattc	ccttatctgt	agcattttta	cttcctactt	tgagacacat	gttgtaatgt	30420
	ttatgcctta	ctatcttcat	ctgtcaaagt	gaacaataaa	tagttgtccc	cagctcatag	30480
	gttaacgaga	atggtgaaac	ctgagctttt	tttttttttt	tttttttttt	tgtgaaaatg	30540
	actttggcac	tttttagatg	ttcaaaatta	gtagccagtt	tatgagttag	ttgtacagtg	30600
30	acctctttat	ccaacacagg	aatgacgctc	ccggcacaga	agtgtgtgct	ggaggcattc	30660
	agagccagcg	gagataacaa	tattctgatt	gctacctcgg	tcgctgatga	aggcattgac	30720
	attgctgagt	gcaatctcgt	cattctctat	gagtacgtgg	gcaacgtcat	caagatgatc	30780
	caaaccagag	gtgagagcgg	ctgatgtcat	tcccgccccg	caccgccttt	tctcctttcc	30840
	tcagctgtac	catgtgattg	acagcacagc	tgactctggt	actcgaaatc	taaaagctga	30900
35	ctgccttggt	caggattggg	tgggttatagg	tttaccata	atactccatt	gcaactctcc	30960
	acaatgggtac	tgcaatttta	cccagcgttc	aatggcatag	tcgtgaaaat	atcatatcca	31020
	ctaggccaga	ggcttttgcca	gtcggcaagt	agaccttga	tgggtgtggt	gagtagctct	31080
	ctgtactcca	gagtctggtc	ccacctgaac	cagagtctga	cttcctttcc	ctttcttggt	31140
	tccccaaaga	cagcccccc	attccctttc	cggaataacg	tctctgtgcc	tgtcactcat	31200
40	cagtcacatc	catttttctg	cctcctccac	cgcttactgt	gcggttcagc	cagccagact	31260
	ccgcttcctg	ctcgtccagt	ttctcagata	ctgtcgctct	acatgttagg	tcctatctct	31320
	gtctctgcca	cacacaacct	aattcttcta	cctagaacaa	gcactccttt	aaatgcccac	31380
	taccgtttat	atctgtctct	gcaagagcat	gacaattgca	ttcctttctc	cgcattgcag	31440
	aagggtcagg	tgcgcgtgca	cggtgccact	gctgcgggct	catgccagat	tatctgtaaa	31500
45	ttagtgttgc	tggcagtgca	gagcaatcag	actatgccat	tggagacccc	atgaaaactg	31560
	ccagagatgg	cttatctgtg	tgtgtgagac	actggctaga	acctgcattt	gagtctactc	31620
	ttcgggttcag	cttccttaga	aagtaggatg	cagtgaatca	aagttgaact	cgagaaatac	31680
	tcctcacatc	tctttccagt	aacctcagag	tttgacatta	acacacaaag	aaaacgtttt	31740

	ctgcaggccg	aggaagagca	cgagatagca	agtgcttcct	cctgaccagc	agcgctgacg	31800
	tgattgaaaa	agaaaaggcg	aacatgatca	aggaaaaaat	aatgaatgaa	tccatcttaa	31860
	gactgcagac	atgggatgaa	atgaaatttg	gaaagacggt	aagtctcttt	ttctgtgcta	31920
	ctcttatgga	atctgactag	aaataacaaa	tgaccatggt	tggtcctgag	tgtgtgtgtg	31980
5	tgtgtgtgtg	tggtatgtgt	ttgtggccat	gtgcatttat	ttatctttgt	gtgctagttt	32040
	tggccattca	aataaccttt	ctgttcgcat	gtaggttcac	cgcatacagg	tgaatgaaaa	32100
	actcctcaga	gacagtcagc	acaaaccaca	acctgttcct	gacaaagaaa	acaagaaact	32160
	gctgtgtgga	aagtgcgaag	attttgcgtg	ctacacagct	gacattcgag	tggttgaggt	32220
	gagtggccct	ggtgatttag	caccgggttaa	atcttaccat	cttccggaga	aatgggttga	32280
10	gcaagaacac	tatgttggtg	ggtttcgagt	gttgaccatg	gtcctgtatt	aagaaataaa	32340
	atcctgctag	gtggtggtg	cacacgcctt	taatcccagt	acttgggagg	cagaggcagg	32400
	cggatttctg	agttcgaggc	cagcctgggtc	tacagggtga	gttccaggac	agccagggct	32460
	acacagagaa	accctgtctt	ggaaaaacca	aaaaaaaaaa	aaaaaaaaag	aaataaaaatc	32520
	ctgcttctat	gtgggaacca	gaaaggctga	tgttatttta	gtccaaaaca	gaaaatgggtg	32580
15	cttaacggcg	agaagaggag	gggggtctaa	ttgtagctgc	cccagacagt	caggcaggat	32640
	ggataagggt	tcccgttcca	ctgcacagca	gggtgaatac	tgcttatagt	ttctgattca	32700
	ttacaactct	tacaaagaat	tagacgagag	gaattcatag	cttcagacat	aaagagatga	32760
	aaactgtcca	ggcagaagg	aatgctaatt	actctggcga	gatcattaga	tacttagaaa	32820
	ttatcacact	gcacacccta	agtgaggaca	actgtgtgct	ttgaaagaca	gtctcactca	32880
20	gaccaggctg	gcttcaactt	gagattcttc	tgtgactcag	cctccccagt	gcagggactc	32940
	taggcatgca	ccaccactct	ctccaaagag	atagtttttc	ccagtgcagg	gatagaaaat	33000
	gaaggctctg	ctagatacag	tgttatgtcc	ttggttagtt	ccaggggagg	ggaagggcta	33060
	ggcataaaaa	tctgtcattg	atttcttagt	tttaacaaat	gtgcaactgc	attcaaaatg	33120
	gaactgggct	aaaggcattt	gcaaatcttc	tgaggcatct	ctgtaacttt	actgtatgtc	33180
25	aaagattatg	ccaaagaaat	gttaaggctc	tgatttttgaa	gtgtacatgg	ttctagtata	33240
	aacctgccag	caaatgaatg	gtaaaagtgg	aaaatactat	gaatatgaaa	ttataaagat	33300
	gcttttggtt	tggctacata	caacatgagc	agtgatatct	ttgtcatgac	caatgtgggt	33360
	ccacctttcc	taaaggggaa	aaaaggctaa	tatataaaaa	tgacatattc	tgctagttaa	33420
	ttctctcttc	ctgttttggt	ttctaaactt	ccttattgga	acagagaatg	cttttataat	33480
30	gaaaacaaaa	cacctcattt	taaaaaatat	aacacttgta	ggttagcttt	ctactttttc	33540
	acctcttaaa	cttttttttt	ttttttttga	gacaggatct	ctctctatag	cactgggtat	33600
	cttgaaactc	attatatgga	gattcccttg	tccctgcctc	ccaaacgctg	ggacgtaaag	33660
	gcatgtacca	ttacacaagg	tcttcttaaa	acttttaact	aaggcaaaaa	acctccagag	33720
	acgaatcttg	cagtcacat	tctgtctacc	gatggcgggg	gcagatggct	gtgctagcta	33780
35	ggggaggggg	acagtcctta	ttatgagtga	catccacttt	ctgagctctga	ttcttttagat	33840
	gcagaagggtc	ctttcagctc	caaattcaag	gcttctcctt	cccagtggcc	tggagaacga	33900
	gatgcttggt	ctgcgcttgc	gtctgtagg	tacactcttt	tttttttaat	tggatatttt	33960
	ctttattttac	ataaagaaca	ccttcagttc	ccctacactg	gggcatctaa	gccttcacatg	34020
	gaccaaggac	ctctcttccc	attgatgcat	gacaaggcca	tcctctgcaa	cgcacgcagc	34080
40	tggagccatg	tgtactcctt	tgtggatggc	ttagtcgctg	ggagctcttg	ggggactgggt	34140
	tggttgatat	tgtttttctc	cctgtggggg	tccttcagtt	gtagggtact	ctcttaagtc	34200
	aagtctaagt	ggggtctgtg	gacagcatgg	ctcctgagcc	tgttcacaca	cataccctgt	34260
	gacctctggg	tgtcaccagc	cctgtgcttt	ggtgccttcc	tggcctctgg	tgaacttgaa	34320
	ctttgtatgt	gaactcctct	ttgcttctga	gttggaagc	tgggtttcct	cctttctcag	34380
45	gtgccagacg	cccaggaaat	gggtccta	cggcctgggg	aagactgtct	atatagtttt	34440
	tttttcttcc	aacttgtaaa	ataaatggga	tcccactcat	tcctgacttt	tagctactga	34500
	gtggcttcta	agtcattttc	agaccggtt	ctaacattgt	gcgctccatc	tcttctctct	34560
	agacgtccca	ctacactgtc	cttgagagacg	cttttaagga	gcgctttgtg	tgtgaagccac	34620

	accctaaacc	aaagatctat	gacaatttttg	agaagaaagc	aaagatattc	tgcgccaaac	34680
	agaactgtag	ccacgactgg	ggaattttttg	tgagatacaa	gacgttcgag	attccagtca	34740
	taaaaattga	aagtttcgtc	gtggaagata	ttgtgagcgg	agttcagaac	cggcactcaa	34800
	agtggaagga	ctttcatttt	gaaaggatag	agttcgatcc	tgcagaaatg	tccgtatgac	34860
5	ctcaggcttc	tccgtctcgt	gccgcaggga	gccgtgcctt	aagcatggag	ttgatgagcc	34920
	aatgctttct	tacccaagct	tgcacaatcc	tttcttacac	aagcctgcac	tgtgttgaat	34980
	gccagataac	ctgactggtt	ggtttcaagc	tggtgctgtc	cacacaaagc	acacacgcct	35040
	gaactgcggc	gccgaatagt	ttcttcacca	ataactcata	gcgtagccct	tggccatggt	35100
	ggggaggggg	taaacttgct	ccttttacac	ttttcagaac	tgcccagacg	ggaacgtgca	35160
10	gccactcggg	acaccgagac	gcatgatggc	tggcgtgctg	gaaggggttc	cgttctctgt	35220
	ctgctcgatc	tgctgtaagc	tgcctttgcc	cttaatgaca	gtgcccttaa	gaacagtgac	35280
	ttagtctctt	ttcaggccac	cagactgact	gccagatccc	ttctgtccct	tctgtccctt	35340
	gcaactgattc	ctttccggat	ttgacctgtc	cacctgtgca	ccctctgcag	agtctcctgg	35400
	tttctgtctc	ttccttggtt	tctttgctga	ctcaaatttg	gtagttgcaa	ggttcagtat	35460
15	gcacacatat	atatttaaaa	tgacatataa	tttaaaatgt	aaaagactat	agttgacagc	35520
	tatgcttact	gagatgggat	ttctgttctg	ttcattacta	tacatcttac	ccttgctctc	35580
	atctgttctt	ttaacttggg	ccatttcccg	tctttgaata	gacatctcaa	accctgtctg	35640
	tatgtctgtc	tgtttcccac	ctgtttgaga	cagggtctct	ctgtagacca	gaaactccat	35700
	atgtagacta	tgctggcctt	gaactcacag	atccccctgc	ctctcaagtg	ttgaaattaa	35760
20	aatctttcac	catgcctggc	tctagctatt	ttcaataaag	gctcatgttt	aaagtttgaa	35820
	ctacttccaa	ttcattccct	gacgtggctt	gttgttggtg	tttacttttg	gagacactgt	35880
	tcctctctgt	agccctggct	gtgtagacca	ggctgccctt	ggtcacagag	atctgccagc	35940
	ttctgcctcc	ggagcactga	gattgaaggc	ctgcatcacc	atgcctggct	tgccctttct	36000
	tcttaaacat	tatatattca	aatggcattt	ccgtgtttct	tctcaagggt	tgccagtgtc	36060
25	tcagagagct	tagtttgggg	ttcttcagat	caagagacaa	gtgtctgagc	gctgttactg	36120
	ccaacagagc	aaagtactct	tcagttcagg	gaaggaacag	tgctgggttt	gtaggcagta	36180
	cagtgggttt	aacaccttcc	tagaacttac	ttgtaattca	tcagttgtag	accatcaatg	36240
	gcctaaacca	aactgcagag	atcatctgac	cacataactc	cccttcagg	acatttacat	36300
	ttgaagacta	tcccaagccc	accagagca	cagtgggtta	cccaaactcc	ccagggtcaac	36360
30	cctggagggtc	aacagtatga	catgggatag	cacaccactt	ctcacagatg	cctagagaaa	36420
	ttaccagca	acataactct	ttggggaaaa	aacacctata	gggattaggc	ttttaattga	36480
	tagaatagg	agaaaaaaag	atatgtagta	gttcttgata	gtggttactg	gtaaaattct	36540
	tagtgcaata	aaatgaattt	gccgagagct	gactttcttt	ttttcttgt	ttttttgaga	36600
	cagggtttct	ctgtatagct	ttggctgtcc	tggaatgcac	tctgtagtcc	aggctggcct	36660
35	tcgaactcag	aaatccgcct	tcctctgcct	cccaagtgtt	gggattaaag	gcgtgcgcca	36720
	ccacgcctgg	ctgagagctg	actttcattt	atgtctttta	gtctatgttg	cctttctttg	36780
	ctgctacagt	ttaagaactc	tacagcttgt	ataagatacc	tactggaaat	tatttgagaa	36840
	aaaaaacttg	taaacattac	aataatttaa	ttaattaaaa	atttatgtat	tttatgtata	36900
	tgggtgtttt	tttctgcaag	tctgtgtgca	cattagaaga	gggcattgga	tcctctctat	36960
40	tgttatagtt	ttatgctgct	gctgttggtg	ctgtgtgtgt	gtgtgtgtgt	gtgtgctatg	37020
	aattgaactc	aggacctctg	gaagagcagt	cagtgtctct	aactgctgag	ctatctctcc	37080
	agtcctggca	atgataaatc	agttgaagtg	aaatagtcct	ccccccctt	tttttttttt	37140
	gccaatgggg	aaaagcagac	taaatctgag	accaaataaa	gttttgagtt	gtacactgac	37200
	ttaagccact	gccaagcata	ccctggaatg	gagcaaacc	tgggttacta	agtactgaat	37260
45	gaatacaaca	ggaagggttt	gagagatggg	aaaatgcttg	tctttggact	tccctgatgg	37320
	aagttgcata	tggactctcc	catgagcaca	tcaccagtcc	ccactagagt	cctcacaggt	37380
	tgccatccat	gtgtcctttt	tgaggctgag	atacaacttg	ttctgcaacc	acagaccttg	37440
	ctgttttgtg	gtcagtattg	gtatcatagc	attttcatcc	tgacctggag	ccttcagtca	37500

	aaggcctcat tgtgcagtaa ggacgctgga ctcctgactc ctatacttaa aacagacttg	37560
	gtaatttcaa acaagtcaac cagatgccag tatttctgca tgcattgtctt gtgggatggg	37620
	gttgtgaggt cccctgacag atgcactgag tggccaggga gacttttgta cccttttcca	37680
	ttttaacagc ccacgggtca ctgtgttgct tccatcatat taacatcaac ttgaaccagt	37740
5	ggttcctgaa acacttcagt tcattggacc ttgctaatta gcatcctgta aaaaccacc	37800
	aacaaatata aactagacag gtagaatcca agtgaactgt acactcctgg atcatgccag	37860
	taactgtttt aataatacac cataaaatat aactacgact tcattttaca aatctgtgtt	37920
	taataaacag gtacaggctt gttgggtgcg aactttttaa actcctaata aaaatgccag	37980
	ctatgattat ctttgtttat g	38001
10	<210> 12	
	<211> 3435	
	<212> ДНК	
	<213> Rattus norvegicus	
	<220>	
15	<221> КОДИРУЮЩАЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ	
	<222> (370)..(1815)	
	<400> 12	
	cgtttgtagt gtcagccatc ccaattgcct gttccttctc tgtgggagtg gtgtctagac	60
	agtccaggca gggatatgcta ggcagggtgcg ttttggttgc ctcagatcgc aacttgactc	120
20	cataacggtg accaaagaca aaagaaggaa accagattaa aaagaaccgg acacagaccc	180
	ctgcagaatc tggagcggcc gtggttgggg gcggggctac gacggggcgg actcgggggc	240
	gtgggagggc ggggccgggg cggggcccg agccggctgc ggttgcggtc cctgcgccgg	300
	cggtgaaggc gcagcggcgg cgagtggcta ttgcaagcgt ttggataatg tgagacctgg	360
	gatgcaggg atg tcg act atc tgc ccc cca cca tct cct gct gtt gcc aag	411
25	Met Ser Thr Ile Cys Pro Pro Pro Ser Pro Ala Val Ala Lys	
	1 5 10	
	aca gag att gct tta agt ggt gaa tca ccc ttg ttg gcg gct acc ttt	459
	Thr Glu Ile Ala Leu Ser Gly Glu Ser Pro Leu Leu Ala Ala Thr Phe	
	15 20 25 30	
30	gct tac tgg gat aat att ctt ggt cct aga gta agg cac att tgg gct	507
	Ala Tyr Trp Asp Asn Ile Leu Gly Pro Arg Val Arg His Ile Trp Ala	
	35 40 45	
	cca aag aca gac caa gta ctc ctc agt gat gga gaa atc act ttt ctt	555
	Pro Lys Thr Asp Gln Val Leu Leu Ser Asp Gly Glu Ile Thr Phe Leu	
35	50 55 60	
	gcc aac cac act ctg aat gga gaa att ctt cgg aat gcg gag agt ggg	603
	Ala Asn His Thr Leu Asn Gly Glu Ile Leu Arg Asn Ala Glu Ser Gly	
	65 70 75	
	gca ata gat gta aag ttt ttt gtc tta tct gaa aag ggc gtc att att	651
40	Ala Ile Asp Val Lys Phe Phe Val Leu Ser Glu Lys Gly Val Ile Ile	
	80 85 90	
	gtt tca tta atc ttc gac ggg aac tgg aac gga gat cgg agc act tac	699
	Val Ser Leu Ile Phe Asp Gly Asn Trp Asn Gly Asp Arg Ser Thr Tyr	
	95 100 105 110	
45	gga cta tca att ata ctg ccg cag acg gag ctg agt ttc tac ctc cca	747
	Gly Leu Ser Ile Ile Leu Pro Gln Thr Glu Leu Ser Phe Tyr Leu Pro	
	115 120 125	
	ctg cac aga gtg tgt gtt gac agg cta acg cac atc att cga aaa gga	795

RU 2730677 C2

	Leu	His	Arg	Val	Cys	Val	Asp	Arg	Leu	Thr	His	Ile	Ile	Arg	Lys	Gly	
				130					135					140			
	agg	ata	tgg	atg	cac	aag	gaa	aga	caa	gaa	aat	gtc	cag	aaa	att	gtc	843
	Arg	Ile	Trp	Met	His	Lys	Glu	Arg	Gln	Glu	Asn	Val	Gln	Lys	Ile	Val	
5			145					150					155				
	ttg	gaa	ggc	acc	gag	agg	atg	gaa	gat	cag	ggg	cag	agt	atc	atc	cct	891
	Leu	Glu	Gly	Thr	Glu	Arg	Met	Glu	Asp	Gln	Gly	Gln	Ser	Ile	Ile	Pro	
			160					165					170				
	atg	ctt	act	ggg	gag	gtc	atc	cct	gtg	atg	gag	ctg	ctt	gcg	tct	atg	939
10	Met	Leu	Thr	Gly	Glu	Val	Ile	Pro	Val	Met	Glu	Leu	Leu	Ala	Ser	Met	
							175							180		185	190
	aga	tca	cac	agt	gtt	cct	gaa	gac	ctc	gat	ata	gct	gat	aca	gta	ctc	987
	Arg	Ser	His	Ser	Val	Pro	Glu	Asp	Leu	Asp	Ile	Ala	Asp	Thr	Val	Leu	
					195					200					205		
15	aat	gat	gat	gac	att	ggg	gac	agc	tgt	cat	gaa	ggc	ttt	ctt	ctc	aat	1035
	Asn	Asp	Asp	Asp	Ile	Gly	Asp	Ser	Cys	His	Glu	Gly	Phe	Leu	Leu	Asn	
					210					215					220		
	gcc	atc	agc	tca	cat	ctg	cag	acc	tgc	ggc	tgt	tct	gtg	gtg	gta	ggc	1083
	Ala	Ile	Ser	Ser	His	Leu	Gln	Thr	Cys	Gly	Cys	Ser	Val	Val	Val	Gly	
20					225					230					235		
	agc	agt	gca	gag	aaa	gta	aat	aag	ata	gta	aga	aca	ctg	tgc	ctt	ttt	1131
	Ser	Ser	Ala	Glu	Lys	Val	Asn	Lys	Ile	Val	Arg	Thr	Leu	Cys	Leu	Phe	
					240					245					250		
	ctg	aca	cca	gca	gag	agg	aag	tgc	tcc	agg	ctg	tgt	gaa	gcc	gaa	tcg	1179
25	Leu	Thr	Pro	Ala	Glu	Arg	Lys	Cys	Ser	Arg	Leu	Cys	Glu	Ala	Glu	Ser	
					255					260					265		270
	tcc	ttt	aaa	tac	gaa	tct	gga	ctc	ttt	gta	caa	ggc	ttg	cta	aag	gat	1227
	Ser	Phe	Lys	Tyr	Glu	Ser	Gly	Leu	Phe	Val	Gln	Gly	Leu	Leu	Lys	Asp	
					275					280					285		
30	gcg	act	ggc	agt	ttt	gta	cta	cct	ttc	cgg	caa	gtt	atg	tat	gcc	cct	1275
	Ala	Thr	Gly	Ser	Phe	Val	Leu	Pro	Phe	Arg	Gln	Val	Met	Tyr	Ala	Pro	
					290					295					300		
	tat	ccc	acc	aca	cac	atc	gat	gtg	gat	gtc	aac	act	gtc	aag	cag	atg	1323
	Tyr	Pro	Thr	Thr	His	Ile	Asp	Val	Asp	Val	Asn	Thr	Val	Lys	Gln	Met	
35					305					310					315		
	cca	ccg	tgt	cat	gaa	cat	att	tat	aat	caa	cgc	aga	tac	atg	agg	tca	1371
	Pro	Pro	Cys	His	Glu	His	Ile	Tyr	Asn	Gln	Arg	Arg	Tyr	Met	Arg	Ser	
					320					325					330		
	gag	ctg	aca	gcc	ttc	tgg	agg	gca	act	tca	gaa	gag	gac	atg	gct	cag	1419
40	Glu	Leu	Thr	Ala	Phe	Trp	Arg	Ala	Thr	Ser	Glu	Glu	Asp	Met	Ala	Gln	
					335					340					345		350
	gac	acc	atc	atc	tac	aca	gat	gag	agc	ttc	act	cct	gat	ttg	aat	att	1467
	Asp	Thr	Ile	Ile	Tyr	Thr	Asp	Glu	Ser	Phe	Thr	Pro	Asp	Leu	Asn	Ile	
					355					360					365		
45	ttc	caa	gat	gtc	tta	cac	aga	gac	act	cta	gtg	aaa	gcc	ttt	ctg	gat	1515
	Phe	Gln	Asp	Val	Leu	His	Arg	Asp	Thr	Leu	Val	Lys	Ala	Phe	Leu	Asp	
					370					375					380		
	cag	gtc	ttc	cat	ttg	aag	cct	ggc	ctg	tct	ctc	agg	agt	act	ttc	ctt	1563

	Gln Val Phe His Leu Lys Pro Gly Leu Ser Leu Arg Ser Thr Phe Leu	
	385 390 395	
	gca cag ttc ctc ctc att ctt cac aga aaa gcc ttg aca cta atc aag	1611
	Ala Gln Phe Leu Leu Ile Leu His Arg Lys Ala Leu Thr Leu Ile Lys	
5	400 405 410	
	tac ata gag gat gac acg cag aag ggg aaa aag ccc ttt aag tct ctt	1659
	Tyr Ile Glu Asp Asp Thr Gln Lys Gly Lys Lys Pro Phe Lys Ser Leu	
	415 420 425 430	
	cgg aac ctg aag ata gat ctt gat tta aca gca gag ggc gac ctt aac	1707
10	Arg Asn Leu Lys Ile Asp Leu Asp Leu Thr Ala Glu Gly Asp Leu Asn	
	435 440 445	
	ata ata atg gct cta gct gag aaa att aag cca ggc cta cac tct ttc	1755
	Ile Ile Met Ala Leu Ala Glu Lys Ile Lys Pro Gly Leu His Ser Phe	
	450 455 460	
15	atc ttc ggg aga cct ttc tac act agt gtc caa gaa cgt gat gtt cta	1803
	Ile Phe Gly Arg Pro Phe Tyr Thr Ser Val Gln Glu Arg Asp Val Leu	
	465 470 475	
	atg act ttt taa acatgtgggtt tgctccgtgt gtctcatgac agtcacactt	1855
	Met Thr Phe	
20	480	
	gctgttacag tgtctcagcg ctttggacac atccttcctc cagggtcctg ccgcaggaca	1915
	cgttacacta cacttgtcag tagaggtctg taccagatgt caggtagatc gttgtagtga	1975
	atgtctcttt tcctagacta gatgtaccct cgtagggact tatgtttaca accctcctaa	2035
	gtactagtgc tgtcttgtaa ggatacgaat gaagggatgt aaacttcacc acaactgctg	2095
25	gttggttttg ttgtttttgt tttttgaaac ttataattca tggttttacat gcatcacact	2155
	gaaaccctag ttagcttttt acaggtaagc tgtgagttga ctgcctgtcc ctgtgttctc	2215
	tggcctgtac gatctgtggc gtgtaggac actttttgcaa caactaaaaa ctaaagcact	2275
	ttgtttgcag ttctacagaa agcaacttag tctgtctgca gattcgtttt tgaaagaaga	2335
	catgagaaag cggagtttta ggtgaagtca gttgttggat cttcctttat agacttagtc	2395
30	cttttagatgt ggtctgtata gacatgcca accatcatgc atgggcactg aatatcgtga	2455
	actgtggtat gctttttgtt ggtttattgt acttctgtca aagaaagtgg cattggtttt	2515
	tataattgtt gccaaagttt aagggttaatt ttcattattt ttgagccaaa ttaaaatgtg	2575
	cacctcctgt gcctttccca atcttgga aaataatttc ttggcagaag gtcagatttc	2635
	agggcccagt cactttcgtc tgacttccct ttgcacagtc cgccatgggc ctggcctaga	2695
35	agttcttgta aactatgcca gagagtagat tcgctgataa aatcttcttt gcagagcagg	2755
	agagcttctt gcctctttcc tttcattttct gcctggactt tgggtgttctc cacgttccct	2815
	gcacctaag gacagcagga gaactctgac ccagtgcta tttctctagg tgctattgtg	2875
	gcaaaactcaa gcggtccgtc tctgtccctg taacgttcgt accttgctgg ctgtgaagta	2935
	ctgactggta aagctccgtg ctacagcagt gtaggggtata cacaacaca agtaagtgtt	2995
40	ttattttaaaa ctgtggactt agcataaaaaa gggagactat atttattttt taaaaagg	3055
	ataaaaaatgg aaccctttcc tcacccacca gatttagtca gaaaaaaaca ttctattctg	3115
	aaaggtcaca gtgggttttga catgacacat cagaacaacg cacactgtcc atgatggctt	3175
	atgaactcca agtcactcca tcatggtaaa tgggtagatc cctccttcta gtgtgccaca	3235
	ccattgcttc ccacagtaga atcttattta agtgctaagt gttgtctctg ctggtttact	3295
45	ctgttggtttt agagaatgta agttgtatag tgaataagtt attgaagcat gtgtaaacac	3355
	tggtatacat cttttctcct agatggggaa tttggaataa aataccttta aaattcaaaa	3415
	aaaaaaaaa aaaaaaaaaa	3435
	<210> 13	

	<211>	36	
	<212>	ДНК	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	13	
5	ggggccgggg ccggggccgg ggccggggcc ggggsc		36
	<210>	14	
	<400>	14	
	000		
	<210>	15	
10	<211>	22	
	<212>	ДНК	
	<213>	Искусственная последовательность	
	<220>		
	<223>	Праймер	
15	<400>	15	
	tgtgacagtt ggaatgcagt ga		22
	<210>	16	
	<211>	25	
	<212>	ДНК	
20	<213>	Искусственная последовательность	
	<220>		
	<223>	Праймер	
	<400>	16	
	gccacttaaa gcaatctctg tcttg		25
25	<210>	17	
	<211>	21	
	<212>	ДНК	
	<213>	Искусственная последовательность	
	<220>		
30	<223>	Зонд	
	<400>	17	
	tcgactcttt gccaccggc a		21
	<210>	18	
	<211>	20	
35	<212>	ДНК	
	<213>	Искусственная последовательность	
	<220>		
	<223>	Праймер	
	<400>	18	
40	gggtctagca agagcaggtg		20
	<210>	19	
	<211>	21	
	<212>	ДНК	
	<213>	Искусственная последовательность	
45	<220>		
	<223>	Праймер	
	<400>	19	
	gtcttggcaa cagctggaga t		21

	<210>	20	
	<211>	24	
	<212>	ДНК	
	<213>	Искусственная последовательность	
5	<220>		
	<223>	Зонд	
	<400>	20	
		tgatgtcgac tctttgccca ccgc	24
	<210>	21	
10	<211>	22	
	<212>	ДНК	
	<213>	Искусственная последовательность	
	<220>		
	<223>	Праймер	
15	<400>	21	
		tcctgtaatg gaactgcttt ca	22
	<210>	22	
	<211>	22	
	<212>	ДНК	
20	<213>	Искусственная последовательность	
	<220>		
	<223>	Праймер	
	<400>	22	
		ggtatctgct tcatccagct tt	22
25	<210>	23	
	<211>	16	
	<212>	ДНК	
	<213>	Искусственная последовательность	
	<220>		
30	<223>	Зонд	
	<400>	23	
		ccccggcccc ggcccc	16
	<210>	24	
	<211>	20	
35	<212>	ДНК	
	<213>	Искусственная последовательность	
	<220>		
	<223>	Праймер	
	<400>	24	
40		caagccaccg tctcactcaa	20
	<210>	25	
	<211>	28	
	<212>	ДНК	
	<213>	Искусственная последовательность	
45	<220>		
	<223>	Праймер	
	<400>	25	
		gtagtgctgt ctactccaga gagttacc	28

	<210>	26	
	<211>	28	
	<212>	ДНК	
	<213>	Искусственная последовательность	
5	<220>		
	<223>	Зонд	
	<400>	26	
		gtagtgctgt ctactccaga gagttacc	28
	<210>	27	
10	<400>	27	
		000	
	<210>	28	
	<400>	28	
		000	
15	<210>	29	
	<400>	29	
		000	
	<210>	30	
	<211>	20	
20	<212>	ДНК	
	<213>	Искусственная последовательность	
	<220>		
	<223>	Синтетический нуклеотид	
	<400>	30	
25		agcgggacac cgtagggttac	20
	<210>	31	
	<211>	20	
	<212>	ДНК	
	<213>	Искусственная последовательность	
30	<220>		
	<223>	Синтетический нуклеотид	
	<400>	31	
		gtgggacgaa cttgtcgctg	20
	<210>	32	
35	<211>	20	
	<212>	ДНК	
	<213>	Искусственная последовательность	
	<220>		
	<223>	Синтетический нуклеотид	
40	<400>	32	
		gtcacattat ccaaatgctc	20
	<210>	33	
	<211>	20	
	<212>	ДНК	
45	<213>	Искусственная последовательность	
	<220>		
	<223>	Синтетический нуклеотид	
	<400>	33	

	ggtgggcaaa gagtcgacat	20
	<210> 34	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
5	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 34	
	atctctgtct tggcaacagc	20
10	<210> 35	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
15	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 35	
	aagcaatctc tgtcttggca	20
	<210> 36	
	<211> 20	
20	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 36	
25	acttaaagca atctctgtct	20
	<210> 37	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
30	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 37	
	ttgccactta aagcaatctc	20
	<210> 38	
35	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
40	<400> 38	
	cccagtaagc aaaagtagct	20
	<210> 39	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
45	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 39	

	actctaggac caagaatatt	20
	<210> 40	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
5	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 40	
	gccttactct aggaccaaga	20
10	<210> 41	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
15	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 41	
	ccaaatgtgc cttactctag	20
	<210> 42	
	<211> 20	
20	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 42	
25	tggagcccaa atgtgcctta	20
	<210> 43	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
30	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 43	
	tctgtctttg gagcccaaat	20
	<210> 44	
35	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
40	<400> 44	
	ccatcactga gaagtacctg	20
	<210> 45	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
45	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 45	

	atttctccat cactgagaag	20
	<210> 46	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
5	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 46	
	aaaagttatt tctccatcac	20
10	<210> 47	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
15	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 47	
	tggaagaaga agttatttct	20
	<210> 48	
	<211> 20	
20	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 48	
25	gtgtggttgg caagaaaagt	20
	<210> 49	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
30	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 49	
	ctccatttag agtgtggttg	20
	<210> 50	
35	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
40	<400> 50	
	tgcatttcga aggatttctc	20
	<210> 51	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
45	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 51	

	ccactctctg catttcgaag	20
	<210> 52	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
5	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 52	
	acaaaaaact ttacatctat	20
10	<210> 53	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
15	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 53	
	ccttttcaga caagacaaaa	20
	<210> 54	
	<211> 20	
20	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 54	
25	aagattaatg aaacaataat	20
	<210> 55	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
30	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 55	
	gtttccatca aagattaatg	20
	<210> 56	
35	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
40	<400> 56	
	attgatagtc catatgtgct	20
	<210> 57	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
45	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 57	

	agttataattg atagttccata	20
	<210> 58	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
5	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 58	
	ggaggttagaa actaagttct	20
10	<210> 59	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
15	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 59	
	atgtgttaat ctatcaaac	20
	<210> 60	
	<211> 20	
20	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 60	
25	tgcattccata ttcttccttt	20
	<210> 61	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
30	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 61	
	ttccttatgc atccatattc	20
	<210> 62	
35	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
40	<400> 62	
	cttgtcttttc cttatgcatc	20
	<210> 63	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
45	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 63	

	acatccccctt gtccccctt	20
	<210> 64	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
5	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 64	
	tctggacatt ttcttgtctt	20
10	<210> 65	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
15	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 65	
	ataatcttct ggacatttct	20
	<210> 66	
	<211> 20	
20	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 66	
25	ctctgaccct gatcttccat	20
	<210> 67	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
30	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 67	
	ttggaataat actctgaccc	20
	<210> 68	
35	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
40	<400> 68	
	cagttccatt acaggaatca	20
	<210> 69	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
45	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 69	

	cttcaggaac actgtgtgat	20
	<210> 70	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
5	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 70	
	atctatttct tcaggaacac	20
10	<210> 71	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
15	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 71	
	agtactgtat cagctatatc	20
	<210> 72	
	<211> 20	
20	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 72	
25	tcattgagta ctgtatcagc	20
	<210> 73	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
30	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 73	
	tcatcatcat tgagtactgt	20
	<210> 74	
35	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
40	<400> 74	
	ссаататкат каткаттгг	20
	<210> 75	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
45	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 75	

	tcatgacagc tgtcaccaat	20
	<210> 76	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
5	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 76	
	aagccttcat gacagctgtc	20
10	<210> 77	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
15	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 77	
	agaagaaagc cttcatgaca	20
	<210> 78	
	<211> 20	
20	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 78	
25	tacttgagaa gaaagccttc	20
	<210> 79	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
30	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 79	
	attcttactt gagaagaaag	20
	<210> 80	
35	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
40	<400> 80	
	aaaaattcctt acttgagaag	20
	<210> 81	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
45	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 81	

	agatggtatc tgcttcatcc	20
	<210> 82	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
5	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 82	
	caatctaagt agacagtctg	20
10	<210> 83	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
15	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 83	
	ttaagcaaca gttcaaatac	20
	<210> 84	
	<211> 20	
20	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 84	
25	ctttaaatag caaatggaat	20
	<210> 85	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
30	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 85	
	gccatgattt cttgtctggg	20
	<210> 86	
35	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
40	<400> 86	
	gctttaatga gaagtaaaac	20
	<210> 87	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
45	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 87	

	tctacagtac aacttaatat	20
	<210> 88	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
5	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 88	
	ataattttgt tctacgccta	20
10	<210> 89	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
15	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 89	
	cactgctgga tggaaaaaga	20
	<210> 90	
	<211> 20	
20	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 90	
25	tggtttaagg gcasaaactc	20
	<210> 91	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
30	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 91	
	ttgcccacgg gtacacagca	20
	<210> 92	
35	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
40	<400> 92	
	cagatgagga aataggtgta	20
	<210> 93	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
45	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 93	

	acacattagg tactattact	20
	<210> 94	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
5	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 94	
	tttttatggt ccaggcactg	20
10	<210> 95	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
15	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 95	
	aataggaaat gtttagctatg	20
	<210> 96	
	<211> 20	
20	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 96	
25	ggcactcaac aaatactggc	20
	<210> 97	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
30	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 97	
	tacatgtaaa gcaactagta	20
	<210> 98	
35	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
40	<400> 98	
	taaaatttca tgaaaatctg	20
	<210> 99	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
45	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 99	

	aagtgaatac tttatacttt	20
	<210> 100	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
5	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 100	
	catcatgagc стааaggaaa	20
10	<210> 101	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
15	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 101	
	ggctcttagg ttaaacasac	20
	<210> 102	
	<211> 20	
20	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 102	
25	tgcttctgat tcaagccatt	20
	<210> 103	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
30	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 103	
	atacaggact aaagtgcttc	20
	<210> 104	
35	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
40	<400> 104	
	caaatgggat ttaaaatgat	20
	<210> 105	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
45	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 105	

	tgacatgtag agagattaag	20
	<210> 106	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
5	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 106	
	ttattgaaat accatcattt	20
10	<210> 107	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
15	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 107	
	tagtcagtat aatatcattt	20
	<210> 108	
	<211> 20	
20	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 108	
25	gcattgagaa gaaagccttc	20
	<210> 109	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
30	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 109	
	aagacctgat ccaggaaggc	20
	<210> 110	
35	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
40	<400> 110	
	tgagctgatg gcattgagaa	20
	<210> 111	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
45	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 111	

	асаасггаас агссасagt	20
	<210> 112	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
5	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 112	
	ttagtgtcaa ggcttttctg	20
10	<210> 113	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
15	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 113	
	gacggctgac асассаagcg	20
	<210> 114	
	<211> 20	
20	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 114	
25	tgatggcatt гагаагааag	20
	<210> 115	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
30	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 115	
	tttactttct ctgcactgct	20
	<210> 116	
35	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
40	<400> 116	
	tcttatattac tttctctgca	20
	<210> 117	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
45	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 117	

	ggcataatgt tctgactatc	20
	<210> 118	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
5	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 118	
	ataacctgga gcattttctc	20
10	<210> 119	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
15	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 119	
	ccctgactca tattttaaag	20
	<210> 120	
	<211> 20	
20	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 120	
25	ccagttgaat ccttttagcag	20
	<210> 121	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
30	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 121	
	catacatgac ttgccggaag	20
	<210> 122	
35	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
40	<400> 122	
	gacatccaca tctatgtgtg	20
	<210> 123	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
45	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 123	

	tggtcatgac aggtggcat	20
	<210> 124	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
5	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 124	
	ttataaatat gttcatgaca	20
10	<210> 125	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
15	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 125	
	cagctcgat ctcatgtatc	20
	<210> 126	
	<211> 20	
20	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 126	
25	ctccagaagg ctgtcagctc	20
	<210> 127	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
30	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 127	
	gtatcctgag ccatgtcttc	20
	<210> 128	
35	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
40	<400> 128	
	aatcaggagt aaagctttcg	20
	<210> 129	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
45	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 129	

	aaaatattca aatcaggagt	20
	<210> 130	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
5	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 130	
	tctctgtgta agacatcttg	20
10	<210> 131	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
15	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 131	
	gagtgtctct gtgtaagaca	20
	<210> 132	
	<211> 20	
20	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 132	
25	cactagagtg tctctgtgta	20
	<210> 133	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
30	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 133	
	gcctttcacta gagtgtctct	20
	<210> 134	
35	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
40	<400> 134	
	gatccaggaa ggctttcact	20
	<210> 135	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
45	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 135	

	aaagtacttc tgagagataa	20
	<210> 136	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
5	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 136	
	aactgtgcaa ggaaagtact	20
10	<210> 137	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
15	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 137	
	gtcaaggctt ttctgtgaag	20
	<210> 138	
	<211> 20	
20	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 138	
25	agagatttaa agggcttttt	20
	<210> 139	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
30	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 139	
	atcttcagggt tccgaagaga	20
	<210> 140	
35	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
40	<400> 140	
	ccctctgctg ttaaatsaag	20
	<210> 141	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
45	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 141	

	tggttaagatc gccctctgct	20
	<210> 142	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
5	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 142	
	attattatgt taagatcgcc	20
10	<210> 143	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
15	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 143	
	agagccatta ttatgttaag	20
	<210> 144	
	<211> 20	
20	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 144	
25	ataaaaagagt gtaggcctgg	20
	<210> 145	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
30	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 145	
	acactagtgt agaaaggtct	20
	<210> 146	
35	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
40	<400> 146	
	gttcttgac actagtgtag	20
	<210> 147	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
45	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 147	

	taaaaaagtca ttagaacatc	20
	<210> 148	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
5	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 148	
	tattaagtta cacatttaaa	20
10	<210> 149	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
15	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 149	
	ctttaccagc gatcatgatt	20
	<210> 150	
	<211> 20	
20	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 150	
25	ttctggagta tgatccaggg	20
	<210> 151	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
30	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 151	
	acttaactgc aattgctgag	20
	<210> 152	
35	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
40	<400> 152	
	tgtagtgtaa cttacttaac	20
	<210> 153	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
45	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 153	

	atgcacctga catccccctca	20
	<210> 154	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
5	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 154	
	сссаааагса тааатсгагг	20
10	<210> 155	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
15	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 155	
	атааттатта таттгтааас	20
	<210> 156	
	<211> 20	
20	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 156	
25	агсаатаата тттаттатат	20
	<210> 157	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
30	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 157	
	агатагсаат аататттатт	20
	<210> 158	
35	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
40	<400> 158	
	ааагатагса атаататтта	20
	<210> 159	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
45	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 159	

	ttaaaagata gcaataatat	20
	<210> 160	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
5	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 160	
	atctttaaaa gatagcaata	20
10	<210> 161	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
15	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 161	
	atatctttaa aagatagcaa	20
	<210> 162	
	<211> 20	
20	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 162	
25	attatatctt taaaagatag	20
	<210> 163	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
30	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 163	
	tattattata tctttaaaag	20
	<210> 164	
35	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
40	<400> 164	
	caagtttaca tcctattatt	20
	<210> 165	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
45	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 165	

	aaaacagtag ttgtggtcaa	20
	<210> 166	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
5	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 166	
	aaaaaacagt agttgtggtc	20
10	<210> 167	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
15	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 167	
	tgaatcatgt atttcaaaaa	20
	<210> 168	
	<211> 20	
20	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 168	
25	gccaactcag atttcacctt	20
	<210> 169	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
30	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 169	
	ctacacacca aagaatgcca	20
	<210> 170	
35	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
40	<400> 170	
	agtttttcagt tgattgcaga	20
	<210> 171	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
45	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 171	

	catcctatgt tcaagctcac	20
	<210> 172	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
5	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 172	
	taaacatctg cttgatcaat	20
10	<210> 173	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
15	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 173	
	aatccacaaa gtaggatcta	20
	<210> 174	
	<211> 20	
20	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 174	
25	attagacatt tctacagact	20
	<210> 175	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
30	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 175	
	ctcaactaca tagaatatca	20
	<210> 176	
35	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
40	<400> 176	
	ttggcaaca ttactaaaac	20
	<210> 177	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
45	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 177	

	tcaaaaataa tgaaaattaa	20
	<210> 178	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
5	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 178	
	caatttggct caaaaataat	20
10	<210> 179	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
15	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 179	
	ggcacaggag gtgcacattt	20
	<210> 180	
	<211> 20	
20	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 180	
25	tagattttct aaggagaaaa	20
	<210> 181	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
30	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 181	
	actgaccagt gaaatctgaa	20
	<210> 182	
35	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
40	<400> 182	
	ggtaagactt agсаагаага	20
	<210> 183	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
45	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 183	

	tctcagagtt gcaatgattg	20
	<210> 184	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
5	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 184	
	agatccttatt agttagtata	20
10	<210> 185	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
15	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 185	
	agtactcaag gaactatttt	20
	<210> 186	
	<211> 20	
20	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 186	
25	ggcaaacagc aacaacttca	20
	<210> 187	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
30	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 187	
	gcacttcagt aaaatttctc	20
	<210> 188	
35	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
40	<400> 188	
	ggtccaaacg cattaagaaa	20
	<210> 189	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
45	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 189	

	gaattatatt aatcagttat	20
	<210> 190	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
5	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 190	
	tgtgtttgtg taactacaat	20
10	<210> 191	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
15	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 191	
	atattacttc sagaatttta	20
	<210> 192	
	<211> 20	
20	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 192	
25	ggcagaaggg ctctattacc	20
	<210> 193	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
30	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 193	
	cattcgaaca tgtcattttg	20
	<210> 194	
35	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
40	<400> 194	
	ctgattcatg atgggaaagc	20
	<210> 195	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
45	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 195	

	gtgggtgtcttct aaaacatcaa	20
	<210> 196	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
5	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 196	
	atgactgagc tacagtacaa	20
10	<210> 197	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
15	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 197	
	gggacactac aaggtagtat	20
	<210> 198	
	<211> 20	
20	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 198	
25	ttaaataaga atctaccatg	20
	<210> 199	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
30	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 199	
	gctttaataa cttatttcac	20
	<210> 200	
35	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
40	<400> 200	
	aggagaaaag atatataaca	20
	<210> 201	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
45	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 201	

	ccatttagga gaaaagatat	20
	<210> 202	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
5	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 202	
	ttcacccctca gcgagtactg	20
10	<210> 203	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
15	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 203	
	aggctgcggt tgtttccctc	20
	<210> 204	
	<211> 20	
20	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 204	
25	gccagatccc catcccttgt	20
	<210> 205	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
30	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 205	
	tcacttcctt taagcaagtc	20
	<210> 206	
35	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
40	<400> 206	
	agtgatgccc aagtcacaat	20
	<210> 207	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
45	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 207	

	agtcaagtga tgcccaagtc	20
	<210> 208	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
5	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 208	
	ccatcagtc agtgatgccc	20
10	<210> 209	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
15	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 209	
	gattaccatc agtcaagtga	20
	<210> 210	
	<211> 20	
20	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 210	
25	caactgatta ccatcagtc	20
	<210> 211	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
30	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 211	
	gcagtttcca actgattcag	20
	<210> 212	
35	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
40	<400> 212	
	cgttcttggt tcagatgtac	20
	<210> 213	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
45	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 213	

	gссааасааа atattttatc	20
	<210> 214	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
5	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 214	
	taggtaggct aacctagtcc	20
10	<210> 215	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
15	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 215	
	tсссagссса aagagaagca	20
	<210> 216	
	<211> 20	
20	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 216	
25	ggatcatagc tctcggtaac	20
	<210> 217	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
30	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 217	
	aatcataaag ccctcacttc	20
	<210> 218	
35	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
40	<400> 218	
	ctgattggta tttagaaagg	20
	<210> 219	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
45	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 219	

	atgcagacat gattacatta	20
	<210> 220	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
5	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 220	
	ttcatcatta aactgaaaat	20
10	<210> 221	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
15	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 221	
	cttttaggtt aaaaaggtgg	20
	<210> 222	
	<211> 20	
20	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 222	
25	atacagagcc tggcaaaaca	20
	<210> 223	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
30	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 223	
	ttctatttac agagcattag	20
	<210> 224	
35	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
40	<400> 224	
	gccttcacat taattcacca	20
	<210> 225	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
45	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 225	

	tgtgttattg cccctaаааа	20
	<210> 226	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
5	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 226	
	tgtattcact atactatgcc	20
10	<210> 227	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
15	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 227	
	aagttattta aagtatagca	20
	<210> 228	
	<211> 20	
20	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 228	
25	gacattgaag tatcaagaca	20
	<210> 229	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
30	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 229	
	tgттааgтаа tcttagaaaa	20
	<210> 230	
35	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
40	<400> 230	
	ggcatacatt tagaaattca	20
	<210> 231	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
45	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 231	

	accttatgca tccatattct	20
	<210> 232	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
5	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 232	
	gaattctctt gggaaccatt	20
10	<210> 233	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
15	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 233	
	atattcaact acaggattta	20
	<210> 234	
	<211> 20	
20	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 234	
25	atgtgttctt tagatacatc	20
	<210> 235	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
30	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 235	
	ccttatacag atacatgctg	20
	<210> 236	
35	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
40	<400> 236	
	tagatgcaat tactattttc	20
	<210> 237	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
45	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 237	

	tgtacttccc aaacttgaac	20
	<210> 238	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
5	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 238	
	ctgaagctca acaacассаа	20
10	<210> 239	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
15	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 239	
	gtctatagaa tcaaaactgaa	20
	<210> 240	
	<211> 20	
20	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 240	
25	ttgaatcaat acстаасctc	20
	<210> 241	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
30	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 241	
	tgccctctttt agaaaagatc	20
	<210> 242	
35	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
40	<400> 242	
	atggaatcat tggtttatcg	20
	<210> 243	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
45	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 243	

	aaagctcact tttattcttt	20
	<210> 244	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
5	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 244	
	ggtgccgcca ccatgcccgg	20
10	<210> 245	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
15	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 245	
	gagagaagct gggcaataaa	20
	<210> 246	
	<211> 20	
20	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 246	
25	tctgaccctg cacaataaag	20
	<210> 247	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
30	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 247	
	atagtgtgtg attcaaaacg	20
	<210> 248	
35	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
40	<400> 248	
	actgtatcag ctatctaataa	20
	<210> 249	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
45	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 249	

	ttattttgtat aggaacctac	20
	<210> 250	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
5	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 250	
	tgtgagctga tggcactgta	20
10	<210> 251	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
15	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 251	
	ccattatttac tttctctgca	20
	<210> 252	
	<211> 20	
20	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 252	
25	ggaataagggt cactagtctcg	20
	<210> 253	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
30	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 253	
	atttgcaaca attttttaaat	20
	<210> 254	
35	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
40	<400> 254	
	ataaactacc aatgatatcc	20
	<210> 255	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
45	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 255	

	tacctgatcc aggaaggctt	20
	<210> 256	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
5	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 256	
	ttcccggaagc ataaatctag	20
10	<210> 257	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
15	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 257	
	ttgagaagca tgaaattcca	20
	<210> 258	
	<211> 20	
20	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 258	
25	gcgggacacc gtaggttacg	20
	<210> 259	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
30	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 259	
	ctttcctagc gggacaccgt	20
	<210> 260	
35	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
40	<400> 260	
	gcacctctct ttcctagcgg	20
	<210> 261	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
45	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 261	

	tgtttgacgc acctctcttt	20
	<210> 262	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
5	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 262	
	cttgctcgctg tttgacgcac	20
10	<210> 263	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
15	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 263	
	gggcggaact tgtcgctggt	20
	<210> 264	
	<211> 20	
20	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 264	
25	gcagcagggg cggctgacac	20
	<210> 265	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
30	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 265	
	agaagcaacc gggcagcagg	20
	<210> 266	
35	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
40	<400> 266	
	сссаааааааг аагсаассгг	20
	<210> 267	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
45	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 267	

	асссгсссс саааагагаа	20
	<210> 268	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
5	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 268	
	cttgctagac сссгссссса	20
10	<210> 269	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
15	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 269	
	сacctgctct tgctagaccc	20
	<210> 270	
	<211> 20	
20	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 270	
25	taaaccсаса сctgctcttg	20
	<210> 271	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
30	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 271	
	ctcctaаacc сacacstgct	20
	<210> 272	
35	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
40	<400> 272	
	асасасacst cctaаaccса	20
	<210> 273	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
45	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 273	

	aaacaaaaaac acacacctcc	20
	<210> 274	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
5	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 274	
	ggtgggaaaaa acaaaaacac	20
10	<210> 275	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
15	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 275	
	ctgtgagagc aagtagtggg	20
	<210> 276	
	<211> 20	
20	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 276	
25	agcgagtact gtgagagcaa	20
	<210> 277	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
30	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 277	
	tcaccctcag cgagtactgt	20
	<210> 278	
35	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
40	<400> 278	
	tcaggtcttt tcttgttcac	20
	<210> 279	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
45	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 279	

	aatctttatc aggtcttttc	20
	<210> 280	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
5	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 280	
	ttctgggtaa tctttatcag	20
10	<210> 281	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
15	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 281	
	ttgttttctt ctgggtaatc	20
	<210> 282	
	<211> 20	
20	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 282	
25	ttccctcctt gttttcttct	20
	<210> 283	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
30	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 283	
	gcgggttggtt ccctccttgt	20
	<210> 284	
35	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
40	<400> 284	
	tacaggctgc ggttgtttcc	20
	<210> 285	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
45	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 285	

	gagcttgcta caggctgcgg	20
	<210> 286	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
5	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 286	
	gagttccaga gcttgctaca	20
10	<210> 287	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
15	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 287	
	cgactcctga gttccagagc	20
	<210> 288	
	<211> 20	
20	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 288	
25	cccgccsst agcgcgcgac	20
	<210> 289	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
30	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 289	
	gccccggccc cggccsstag	20
	<210> 290	
35	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
40	<400> 290	
	accacgcccc ggccccggcc	20
	<210> 291	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
45	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 291	

	ссгссссгсас сасгссссгг	20
	<210> 292	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
5	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 292	
	сссггггссс гссссгасса	20
10	<210> 293	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
15	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 293	
	сгссссгггс ссгсссссгг	20
	<210> 294	
	<211> 20	
20	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 294	
25	сгсасгссссг сссггггссс	20
	<210> 295	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
30	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 295	
	ассгсаассг сасгссссгсс	20
	<210> 296	
35	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
40	<400> 296	
	гсгсасгсас сгсаассгса	20
	<210> 297	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
45	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 297	

	ggcgcaaggca cgcсаассgc	20
	<210> 298	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
5	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 298	
	cgccctccgsc gscgcgggscg	20
10	<210> 299	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
15	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 299	
	accgcctgscg cctccgscgc	20
	<210> 300	
	<211> 20	
20	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 300	
25	cactcgccac cgcctgscgc	20
	<210> 301	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
30	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 301	
	ccactcgcca cgcctgscgc	20
	<210> 302	
35	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
40	<400> 302	
	ggtcccccggg aaggaгасаg	20
	<210> 303	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
45	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 303	

	aacaactggg gcatggcaac	20
	<210> 304	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
5	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 304	
	gtttcagatg tactatcagc	20
10	<210> 305	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
15	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 305	
	aaggtgaagt tcatatcact	20
	<210> 306	
	<211> 20	
20	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 306	
25	ggtaacttca aactcttggg	20
	<210> 307	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
30	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 307	
	ggttcatgag aggtttccca	20
	<210> 308	
35	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
40	<400> 308	
	tactgaattg cttagtttta	20
	<210> 309	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
45	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 309	

	стаасагаат аагааааааа	20
	<210> 310	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
5	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 310	
	gagcattaga tgagtgcctt	20
10	<210> 311	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
15	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 311	
	tgcatcccta agcaatgtgt	20
	<210> 312	
	<211> 20	
20	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 312	
25	tctaggcctt cacattaatt	20
	<210> 313	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
30	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 313	
	cctgtctatg cctaggtgaa	20
	<210> 314	
35	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
40	<400> 314	
	tagcacatac aattattaca	20
	<210> 315	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
45	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 315	

	gaggagaaga acataaacgc	20
	<210> 316	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
5	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 316	
	taccacaagt ctggagccat	20
10	<210> 317	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
15	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 317	
	gatactggat tgttgaaact	20
	<210> 318	
	<211> 20	
20	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 318	
25	tagtatgact ggagatttgg	20
	<210> 319	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
30	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 319	
	atcaaaaccc caaatgattt	20
	<210> 320	
35	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
40	<400> 320	
	atccaaatgc tccggagata	20
	<210> 321	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
45	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 321	

	tcgacatcac tgcattccaa	20
	<210> 322	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
5	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 322	
	саасagctgg agatggcggt	20
10	<210> 323	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
15	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 323	
	atttgccact taaagcaatc	20
	<210> 324	
	<211> 20	
20	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 324	
25	gtacctgttc tgtctttgga	20
	<210> 325	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
30	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 325	
	сааgaaaagt tattttctcca	20
	<210> 326	
35	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
40	<400> 326	
	gaaggatttc tccatttaga	20
	<210> 327	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
45	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 327	

	ttacatctat agcaccactc	20
	<210> 328	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
5	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 328	
	tcactccctt ttcagacaag	20
10	<210> 329	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
15	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 329	
	agtttccatc aaagattaat	20
	<210> 330	
	<211> 20	
20	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 330	
25	atagtccata tgtgctgcga	20
	<210> 331	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
30	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 331	
	aactaagttc tgtctgtgga	20
	<210> 332	
35	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
40	<400> 332	
	саасасасас tctatgaagt	20
	<210> 333	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
45	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 333	

	ttcctttccg gattatatgt	20
	<210> 334	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
5	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 334	
	tttccattac aggaatcact	20
10	<210> 335	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
15	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 335	
	atcagcctat atctatattcc	20
	<210> 336	
	<211> 20	
20	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 336	
25	tcaatgacca ggcggtcccc	20
	<210> 337	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
30	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 337	
	ctttttatgg aaaaggaaaa	20
	<210> 338	
35	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
40	<400> 338	
	tgttttcccca aaaatttctg	20
	<210> 339	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
45	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 339	

	agatatccac tcgccaccgc	20
	<210> 340	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
5	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 340	
	ccggcccccgg ccccgccccc	20
10	<210> 341	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
15	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 341	
	ccccggccccc gccccggcccc	20
	<210> 342	
	<211> 20	
20	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 342	
25	ccccggccccc ggcccccggcc	20
	<210> 343	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
30	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 343	
	gccccggcccc cggcccccggc	20
	<210> 344	
35	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
40	<400> 344	
	ggcccccggcc cccggcccccgg	20
	<210> 345	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
45	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 345	

	cgcccccgcc cccgccccg	20
	<210> 346	
	<211> 19	
	<212> ДНК	
5	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 346	
	cgcccccgcc cccgcccc	19
10	<210> 347	
	<211> 19	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
15	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 347	
	ccgccccgg ccccgcccc	19
	<210> 348	
	<211> 19	
20	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 348	
25	cccgccccg gccccggcc	19
	<210> 349	
	<211> 19	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
30	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 349	
	ccccggcccc ggccccggc	19
	<210> 350	
35	<211> 19	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
40	<400> 350	
	gccccggccc cggccccgg	19
	<210> 351	
	<211> 19	
	<212> ДНК	
45	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 351	

	ggcccccggcc ccggcccccg	19
	<210> 352	
	<211> 18	
	<212> ДНК	
5	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 352	
	ggcccccggcc ccggccccc	18
10	<210> 353	
	<211> 18	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
15	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 353	
	cgcccccggc cccggccccc	18
	<210> 354	
	<211> 18	
20	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 354	
25	ccggcccccgg ccccgccccc	18
	<210> 355	
	<211> 18	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
30	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 355	
	cccgcccccg gccccggc	18
	<210> 356	
35	<211> 18	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
40	<400> 356	
	ccccggcccc ggccccgg	18
	<210> 357	
	<211> 18	
	<212> ДНК	
45	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 357	

	gccccggccc cggccccg	18
	<210> 358	
	<211> 17	
	<212> ДНК	
5	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 358	
	gccccggccc cggcccc	17
10	<210> 359	
	<211> 17	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
15	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 359	
	ggccccggcc cggcccc	17
	<210> 360	
	<211> 17	
20	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 360	
25	cggccccggc cccggcc	17
	<210> 361	
	<211> 17	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
30	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 361	
	ccggccccgg ccccgcc	17
	<210> 362	
35	<211> 17	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
40	<400> 362	
	cccgccccg gccccgg	17
	<210> 363	
	<211> 17	
	<212> ДНК	
45	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 363	

	ccccggcccc ggccccg	17
	<210> 364	
	<211> 16	
	<212> ДНК	
5	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 364	
	ccccggcccc ggcccc	16
10	<210> 365	
	<211> 16	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
15	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 365	
	gccccggcccc cggcccc	16
	<210> 366	
	<211> 16	
20	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 366	
25	ggccccggcc ccggcc	16
	<210> 367	
	<211> 16	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
30	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 367	
	cggccccggc cccggc	16
	<210> 368	
35	<211> 16	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
40	<400> 368	
	ccggccccgg ccccg	16
	<210> 369	
	<211> 16	
	<212> ДНК	
45	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетический нуклеотид	
	<400> 369	

(57) Формула изобретения

1. Соединение, содержащее модифицированный олигонуклеотид, состоящий из 16-
20 связанных нуклеозидов и имеющий последовательность нуклеотидных оснований,
содержащую по меньшей мере 12 последовательных нуклеотидных оснований, которые
на 100% комплементарны части равной длины из нуклеотидных оснований 1446-1479
SEQ ID NO: 2, причем модифицированный олигонуклеотид содержит по меньшей мере
одну модификацию, выбранную из модифицированного сахара и модифицированной
межнуклеозидной связи, и причем соединение способно снижать уровень экспрессии
мРНК и/или белка C9ORF72, содержащих экспансию гексануклеотидного повтора.

2. Соединение, содержащее модифицированный олигонуклеотид, состоящий из 16-
20 связанных нуклеозидов и имеющий последовательность нуклеотидных оснований,
содержащую по меньшей мере 12 последовательных нуклеотидных оснований из любой
из SEQ ID NO: 288, 340-343, 346-349, 352, 355-358, 361-367 и 369, причем
модифицированный олигонуклеотид содержит по меньшей мере одну модификацию,
выбранную из модифицированного сахара и модифицированной межнуклеозидной
связи, и причем соединение способно снижать уровень экспрессии мРНК и/или белка
C9ORF72, содержащих экспансию гексануклеотидного повтора.

3. Соединение по п. 2, отличающееся тем, что последовательность нуклеотидных
оснований содержит по меньшей мере 12 последовательных нуклеотидных оснований
из SEQ ID NO: 288.

4. Соединение по любому из пп. 1-3, отличающееся тем, что последовательность
нуклеотидных оснований модифицированного олигонуклеотида по меньшей мере на
90% комплементарна части равной длины SEQ ID NO: 2.

5. Соединение по любому из пп. 1-3, отличающееся тем, что последовательность
нуклеотидных оснований модифицированного олигонуклеотида на 100%
комплементарна части равной длины SEQ ID NO: 2.

6. Соединение по любому из пп. 1-3, отличающееся тем, что модифицированный
олигонуклеотид является одноцепочечным модифицированным олигонуклеотидом.

7. Соединение по п. 6, отличающееся тем, что одноцепочечный модифицированный
олигонуклеотид является гепмером.

8. Соединение по любому из пп. 1-3, отличающееся тем, что по меньшей мере одна
межнуклеозидная связь модифицированного олигонуклеотида является
модифицированной межнуклеозидной связью.

9. Соединение по п. 8, отличающееся тем, что каждая межнуклеозидная связь
модифицированного олигонуклеотида является модифицированной межнуклеозидной
связью.

10. Соединение по п. 8, отличающееся тем, что модифицированная межнуклеозидная
связь является фосфоротриатной межнуклеозидной связью.

11. Соединение по п. 9, отличающееся тем, что модифицированная межнуклеозидная
связь является фосфоротриатной межнуклеозидной связью.

12. Соединение по любому из пп. 1-3, отличающееся тем, что по меньшей мере одно
нуклеотидное основание модифицированного олигонуклеотида является
модифицированным нуклеотидным основанием.

13. Соединение по п. 12, отличающееся тем, что модифицированное нуклеотидное
основание является 5'-метилцитозином.

14. Соединение по любому из пп. 1-3, отличающееся тем, что по меньшей мере один

нуклеозид модифицированного олигонуклеотида содержит модифицированный сахар.

15. Соединение по п. 14, отличающееся тем, что каждый нуклеозид модифицированного олигонуклеотида содержит модифицированный сахар.

16. Соединение по п. 14, отличающееся тем, что модифицированный сахар является бициклическим сахаром.

17. Соединение по п. 16, отличающееся тем, что бициклический сахар содержит химический мостик между положениями 4' и 2' сахара, причем химический мостик независимо выбран из 4'-CH(R)-O-2' и 4'-(CH₂)₂-O-2', где R независимо выбран из H, C₁-C₆-алкила и C₁-C₆-алкокси.

18. Соединение по п. 17, отличающееся тем, что химический мостик представляет собой 4'-CH(R)-O-2', и где R является метилом, H или -CH₂-O-CH₃.

19. Соединение по п. 15, отличающееся тем, что модифицированный сахар является бициклическим сахаром.

20. Соединение по п. 19, отличающееся тем, что бициклический сахар содержит химический мостик между положениями 4' и 2' сахара, причем химический мостик независимо выбран из 4'-CH(R)-O-2' и 4'-(CH₂)₂-O-2', где R независимо выбран из H, C₁-C₆-алкила и C₁-C₆-алкокси.

21. Соединение по п. 20, отличающееся тем, что химический мостик представляет собой 4'-CH(R)-O-2', и где R является метилом, H или -CH₂-O-CH₃.

22. Соединение по п. 14, отличающееся тем, что модифицированный сахар содержит 2'-О-метоксиэтильную группу.

23. Соединение по п. 14, отличающееся тем, что модифицированный сахар содержит 2'-О-метильную группу.

24. Соединение по любому из пп. 1-3, отличающееся тем, что модифицированный олигонуклеотид имеет последовательность нуклеотидных оснований, которая комплементарна участку C9ORF72, отличному от экспансии гексануклеотидного повтора, причем экспансия гексануклеотидного повтора содержит любую из GGGGCC, GGGGGG, GGGGCCG и GGGGGC.

25. Соединение по п. 15, отличающееся тем, что модифицированный сахар содержит 2'-О-метоксиэтильную группу или 2'-О-метильную группу.

26. Соединение по любому из пп. 1-3, отличающееся тем, что по меньшей мере один нуклеозид модифицированного олигонуклеотида содержит заместитель сахара.

27. Соединение по п. 26, отличающееся тем, что заместитель сахара является морфолином или пептид-нуклеиновой кислотой.

28. Конъюгированное антисмысловое соединение, содержащее соединение по любому из пп. 1-3 конъюгированное с любым из холестерина фрагмента, липидного фрагмента, углевода, фосфолипида, биотина, феназина, фолата, фенантридина, антрахинона, акридина, флуоресцеина, родамина, кумарина и красителя, причем соединение способно снижать уровень экспрессии мРНК и/или белка C9ORF72, содержащих экспансию гексануклеотидного повтора.

29. Композиция, содержащая терапевтически эффективное количество соединения по любому из пп. 1-3 и фармацевтически приемлемый растворитель или носитель, причем композиция предназначена для лечения нейродегенеративного заболевания.

30. Композиция по п. 29, отличающаяся тем, что фармацевтически приемлемый растворитель является фосфатно-солевым буферным раствором (ФСБР), и/или модифицированный олигонуклеотид соединения является натриевой солью.

31. Композиция, содержащая терапевтически эффективное количество соединения

по п. 28 и фармацевтически приемлемый растворитель или носитель, причем композиция предназначена для лечения нейродегенеративного заболевания.

32. Композиция по п. 31, отличающаяся тем, что фармацевтически приемлемый растворитель является фосфатно-солевым буферным раствором (ФСБР), и/или модифицированный олигонуклеотид соединения является натриевой солью.

33. Модифицированный олигонуклеотид, состоящий из 16-20 связанных нуклеозидов и имеющий последовательность нуклеотидных оснований, содержащую по меньшей мере 12 последовательных нуклеотидных оснований, которые на 100% комплементарны части равной длины из нуклеотидных оснований 1446-1479 SEQ ID NO: 2, и причем модифицированный олигонуклеотид способен снижать уровень экспрессии мРНК и/или белка C9ORF72, содержащих экспансию гексануклеотидного повтора.

34. Модифицированный олигонуклеотид, состоящий из 16-20 связанных нуклеозидов и имеющий последовательность нуклеотидных оснований, содержащую по меньшей мере 12 последовательных нуклеотидных оснований из любой из SEQ ID NO: 288, 340-343, 346-349, 352, 355-358, 361-367 и 369, и причем модифицированный олигонуклеотид способен снижать уровень экспрессии мРНК и/или белка C9ORF72, содержащих экспансию гексануклеотидного повтора.

35. Модифицированный олигонуклеотид по п. 34, отличающийся тем, что последовательность нуклеотидных оснований содержит по меньшей мере 12 последовательных нуклеотидных оснований из SEQ ID NO: 288.

36. Модифицированный олигонуклеотид по любому из пп. 33-35, отличающийся тем, что последовательность нуклеотидных оснований модифицированного олигонуклеотида по меньшей мере на 90% комплементарна части равной длины SEQ ID NO: 2.

37. Модифицированный олигонуклеотид по любому из пп. 33-35, отличающийся тем, что последовательность нуклеотидных оснований модифицированного олигонуклеотида на 100% комплементарна части равной длины SEQ ID NO: 2.

38. Модифицированный олигонуклеотид по любому из пп. 33-35, отличающийся тем, что по меньшей мере одна межнуклеозидная связь модифицированного олигонуклеотида является модифицированной межнуклеозидной связью.

39. Модифицированный олигонуклеотид по п. 38, отличающийся тем, что каждая межнуклеозидная связь модифицированного олигонуклеотида является модифицированной межнуклеозидной связью.

40. Модифицированный олигонуклеотид по п. 38, отличающийся тем, что модифицированная межнуклеозидная связь является фосфоротиоатной межнуклеозидной связью.

41. Модифицированный олигонуклеотид по п. 39, отличающийся тем, что модифицированная межнуклеозидная связь является фосфоротиоатной межнуклеозидной связью.

42. Модифицированный олигонуклеотид по любому из пп. 33-35, отличающийся тем, что по меньшей мере один нуклеозид модифицированного олигонуклеотида содержит модифицированный сахар.

43. Модифицированный олигонуклеотид по п. 42, отличающийся тем, что каждый нуклеозид модифицированного олигонуклеотида содержит модифицированный сахар.

44. Модифицированный олигонуклеотид по п. 42, отличающийся тем, что модифицированный сахар является бициклическим сахаром.

45. Модифицированный олигонуклеотид по п. 44, отличающийся тем, что бициклический сахар содержит химический мостик между положениями 4' и 2' сахара, причем химический мостик независимо выбран из 4'-CH(R)-O-2' и 4'-(CH₂)₂-O-2', где R

независимо выбран из H, C₁-C₆-алкила и C₁-C₆-алкокси.

46. Модифицированный олигонуклеотид по п. 45, отличающийся тем, что химический мостик представляет собой 4'-CH(R)-O-2', и где R является метилом, H или -CH₂-O-CH₃.

47. Модифицированный олигонуклеотид по п. 43, отличающийся тем, что модифицированный сахар является бициклическим сахаром.

48. Модифицированный олигонуклеотид по п. 47, отличающийся тем, что бициклический сахар содержит химический мостик между положениями 4' и 2' сахара, причем химический мостик независимо выбран из 4'-CH(R)-O-2' и 4'-(CH₂)₂-O-2', где R независимо выбран из H, C₁-C₆-алкила и C₁-C₆-алкокси.

49. Модифицированный олигонуклеотид по п. 48, отличающийся тем, что химический мостик представляет собой 4'-CH(R)-O-2', и где R является метилом, H или -CH₂-O-CH₃.

50. Модифицированный олигонуклеотид по п. 42, отличающийся тем, что модифицированный сахар содержит 2'-О-метоксиэтильную группу.

51. Модифицированный олигонуклеотид по п. 42, отличающийся тем, что модифицированный сахар содержит 2'-О-метильную группу.

52. Модифицированный олигонуклеотид по любому из пп. 33-35, отличающийся тем, что модифицированный олигонуклеотид имеет последовательность нуклеотидных оснований, которая комплементарна участку C9ORF72, отличному от экспансии гексануклеотидного повтора, причем экспансия гексануклеотидного повтора содержит любую из GGGGCC, GGGGGG, GGGGCG и GGGGGC.

53. Модифицированный олигонуклеотид по любому из пп. 33-35, отличающийся тем, что модифицированный олигонуклеотид содержит:

сегмент 5'-крыла, имеющий от 1 до 6 нуклеозидов, и причем каждый нуклеозид 5'-крыла содержит модифицированный сахар;

сегмент 3'-крыла, имеющий от 1 до 6 нуклеозидов, и причем каждый нуклеозид 3'-крыла содержит модифицированный сахар; и

гэп-сегмент, имеющий от 8 до 15 нуклеозидов, и причем каждый нуклеозид гэп-сегмента является дезоксинуклеозидом; при этом данный гэп-сегмент расположен непосредственно соседствующим с и между сегментом 5'-крыла и сегментом 3'-крыла.

54. Композиция, содержащая терапевтически эффективное количество модифицированного олигонуклеотид по любому из пп. 33-35 и фармацевтически приемлемый носитель или растворитель, причем композиция предназначена для лечения нейродегенеративного заболевания.

55. Композиция по п. 54, отличающаяся тем, что фармацевтически приемлемый растворитель является фосфатно-солевым буферным раствором (ФСБР), и/или модифицированный олигонуклеотид соединения является натриевой солью.