



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 111254145 A

(43)申请公布日 2020.06.09

(21)申请号 202010078376.X

(22)申请日 2014.03.14

(30)优先权数据

61/785,177 2013.03.14 US

61/943,931 2014.02.24 US

(62)分案原申请数据

201480014009.6 2014.03.14

(71)申请人 IONIS制药公司

地址 美国加利福尼亚州

(72)发明人 F·里戈 C·F·贝内特

(74)专利代理机构 北京市君合律师事务所

11517

代理人 赵昊 牡丹

(51)Int.Cl.

C12N 15/113(2010.01)

权利要求书1页 说明书65页

序列表109页 附图1页

(54)发明名称

用于调节TAU表达的组合物和方法

(57)摘要

公开了用于使用Tau反义化合物调节动物中Tau mRNA的剪接的方法。本文还公开了用于使用Tau反义化合物降低动物中Tau mRNA和蛋白的表达的方法。所述化合物和方法适用于治疗、预防或改善有此需要的个体内的神经变性疾病。可使用Tau反义寡核苷酸的施用来治疗、预防和改善的神经变性疾病的实例包括阿尔茨海默氏病、额颞痴呆(FTD)、FTDP-17、进行性核上性麻痹、慢性创伤性脑病、癫痫和Dravet综合征。

1. 一种包含修饰寡核苷酸的化合物,所述修饰寡核苷酸是由8至30个连接核苷组成且具有包含含有至少8个连续核碱基的互补区域的核碱基序列,所述互补区域与Tau转录物的等长度靶区域互补。

用于调节TAU表达的组合物和方法

[0001] 本申请是申请号为201480014009.6、申请日为2014年3月14日、发明名称为“用于调节TAU表达的组合物和方法”的中国发明专利申请的分案申请,原申请为国际申请号为PCT/US2014/029752的国家阶段申请,该国际申请分别要求申请日为2013年3月14日、申请号为61/785,177,和申请日为2014年2月24日、申请号为61/943,931的美国申请的优先权。

[0002] 序列表

[0003] 本申请连同序列表一起以电子格式提交。序列表是提供为2014年3月14日建立的大小为约208KB的题为BIOL0220W0SEQ_ST25.txt的文档。电子格式的序列表中的信息以引用的方式整体并入本文。

[0004] 背景

[0005] 1. 领域

[0006] 本文公开了涉及反义化合物生物化学、分子生物学和药物的领域的组合物和方法。本文描述的实施方案涉及用于通过抑制细胞和/或动物中的Tau表达或调节Tau剪接来治疗、预防或改善神经变性疾病的化合物、组合物和方法,所述神经变性疾病包括Tau蛋白病、阿尔茨海默氏病、额颞痴呆(FTD)、FTDP-17、进行性核上性麻痹(PSP)、慢性创伤性脑病(CTE)、皮质基底节变性(CBD)、癫痫和Dravet综合征。

[0007] 2. 描述

[0008] Tau的主要功能是结合并稳定微管,微管是涉及有丝分裂、胞质分裂和囊泡转运的细胞骨架的重要结构组分。Tau存在于多种组织中,但在神经元的轴突中特别丰富。在人体内,存在通过外显子2、3和10的可变剪接所产生的六种Tau同工型。蛋白质N端处外显子2和3的剪接导致零个、一个或两个29氨基酸酸性结构域的保留并且分别称作0N、1N或2N Tau。这些结构域对Tau功能的影响不完全明了,但可能在与质膜的相互作用方面起到作用。在C端的外显子10的保留导致由外显子10编码的微管结合结构域的保留。因为在Tau中的别处存在3个微管结合结构域,所以这个Tau同工型(包括有外显子10)被称为4R Tau,其中‘R’是指微管结合结构域的重复的数目。没有外显子10的Tau称为3R Tau。因为更多的微管结合结构域(4R相比于3R)增加了与微管的结合,所以4R Tau可能显著增加微管结合和组装。3R/4R Tau之比是受发育调节的,其中胎儿组织只表达3R Tau,而成年人体组织表达大约相等水平的3R/4R Tau。偏离3R/4R Tau的正常比率是神经变性FTD Tau蛋白病的特征。尚不清楚如何改变成人动物中晚期阶段的3R/4R Tau比率将影响Tau蛋白病。

[0009] 丝氨酸-苏氨酸定向的磷酸化调节Tau的微管结合能力。高度磷酸化促进Tau从微管脱离。对Tau的其它翻译后修饰已经得到描述,然而这些修饰的意义尚不清楚。Tau的磷酸化也是受发育调节的,其中胎儿组织中的磷酸化更高,而成人中的磷酸化要低很多。神经变性病症的一个特征是Tau磷酸化的异常增加。

[0010] 微管网络涉及细胞内的许多重要过程,包括保持细胞形态和操作转运机器所需要的结构完整性。因为Tau与微管的结合使微管稳定,所以Tau可能是这些过程中的一些过程的关键介体,并且神经变性疾病中正常Tau的破坏可能破坏这些关键细胞过程中的一些过程。

[0011] 对于Tau可能在神经变性综合征中具有重要性的一个早期指示是认识到Tau是阿尔茨海默氏病中神经纤维包涵体的关键组分。事实上,神经纤维包涵体是高度磷酸化的Tau蛋白的聚集体。神经纤维包涵体与含有β淀粉样蛋白的斑块一道是阿尔茨海默氏病的标志并且与认知损伤显著相关。AD中95%的Tau积累发生于神经元过程中并且被称作神经炎性营养不良。这种与微管结合的蛋白变得与微管脱离并形成蛋白积累的过程以及这与神经元毒性的关系尚未充分了解。

[0012] 神经元Tau包涵体不仅是阿尔茨海默氏病的而且是额颞痴呆(FTD)亚群、PSP和CBD的病理特征。Tau与神经变性之间的联系因为发现Tau基因的突变导致FTD亚群而得到支持。这些遗传学数据也已经突出了Tau的3R:4R比率的重要性。许多引起FTD的Tau突变导致Tau剪接的变化,这种变化导致外显子10的优先保留并因此导致增加的4R Tau。总体Tau水平是正常的。是Tau同工型变化还是氨基酸变化还是两者都引起神经变性仍不可知。最近数据表明PSP也与增加的4R:3R Tau比率相关联并且因此可适用于类似的剪接策略。

[0013] 为了帮助理解Tau比率对神经变性的影响,使用包括Tau启动子和外显子10的侧翼内含子序列的小基因生成了基于一种剪接Tau突变(N279K)的小鼠模型。和在人体内一样,这些小鼠展现了与表达WT Tau的转基因动物相比有所增加的4R Tau水平,并且发展出行为和运动异常以及大脑和脊髓中聚集Tau的积累。

[0014] 蛋白“Tau”已经与大脑的多种疾病相关联,这些疾病包括阿尔茨海默氏病、额颞痴呆、进行性核上性麻痹、皮质基底节变性、拳击员痴呆、与染色体连锁的帕金森综合征、Lytico-Bodig病、缠结主导的痴呆、神经节神经胶质瘤、神经节细胞瘤、脑膜血管瘤病、亚急性硬化性全脑炎、铅毒性脑病、结节性硬化症、哈-斯二氏病、皮克氏病、嗜银颗粒性疾病、皮质基底变性或额颞叶变性以及其它。Tau相关病症如AD是老年人痴呆的最常见原因。AD影响全世界估计1500万人和40%的85岁以上的人口。AD以两个病例标志为特征: Tau神经纤维包涵体(NFT)和β淀粉样蛋白(Aβ)斑块。

[0015] 在中风发作病症中,大脑的电活动被周期性地扰动,导致一定程度的临时脑功能障碍。正常的大脑功能需要有序的、有组织的、协调的电脉冲放电。电脉冲使大脑能够与脊髓、神经和肌肉以及其自身内部进行通信。当大脑的电活动受到破坏时可导致中风发作。存在两种基本中风发作类型: 癫痫性的和非癫痫性的。癫痫性中风发作没有明显原因或触发且重复发生。非癫痫性中风发作是受刺激大脑的病症或其它病状触发或驱使。某些精神病症可引起被称为精神性非癫痫性中风发作的中风发作症状。

[0016] 已知阿尔茨海默氏病(AD)是迟发型中风发作的临床危险因素。多种AD小鼠模型概括了这种增加的中风发作敏感性。在过去5年内,已经在小鼠tau敲除(tau^{-/-})环境中研究了许多这样的AD模型。在这些淀粉样蛋白沉积的tau敲除动物系中,增加的中风发作敏感性得到改善。此外,有趣的是,单独的tau^{-/-}表现出了针对化学诱导的中风发作的保护性。

[0017] 抗惊厥药代表了中风发作的常用治疗方案。然而,抗惊厥药在具有中风发作病症的较大比例人群中是无效的并且对于这些个体,手术是唯一选项。鉴于缺乏可用于中风发作病症和神经变性疾病的治疗,本发明实施方案的某些方法提供用于通过抑制动物中的Tau表达或调节Tau剪接来治疗、预防或改善中风发作病症和神经变性疾病的方法。

[0018] 概述

[0019] 本文提供了用于调节细胞、组织和动物中的Tau mRNA紧接的方法。本文还提供了

用于调节细胞、组织和动物中的Tau mRNA的表达产物的方法。

[0020] 在某些实施方案中,可在细胞或组织中进行调节。在某些实施方案中,细胞或组织处于动物体内。在某些实施方案中,动物为人。在某些实施方案中,Tau mRNA水平降低。在某些实施方案中,Tau蛋白水平降低。在某些实施方案中,调节了Tau mRNA的剪接。在某些实施方案中,调节了Tau mRNA的表达产物。在某些实施方案中,促进了Tau外显子10的排除。在某些实施方案中,降低了Tau RNA或蛋白的4R同工型的表达。在某些实施方案中,增加了Tau RNA或蛋白的3R同工型的表达。在某些实施方案中,降低了Tau RNA或蛋白的4R同工型的表达并且增加了Tau RNA或蛋白的3R同工型的表达。在某些实施方案中,减少了高度磷酸化的Tau。所述降低和调节可以时间依赖性方式或以剂量依赖性方式出现。

[0021] 若干实施方案涉及降低或减少tau相关病症的一种或多种症状的方法。在某些实施方案中,症状为中风发作。在某些实施方案中,tau相关病症或神经变性病症为阿尔茨海默氏病、额颞痴呆、进行性核上性麻痹、皮质基底节变性、拳击员痴呆、与染色体连锁的帕金森综合征、Lytico-Bodig病、缠结主导的痴呆、神经节神经胶质瘤、神经节细胞瘤、脑膜血管瘤病、亚急性硬化性全脑炎、铅毒性脑病、结节性硬化症、哈-斯二氏病、皮克氏病、嗜银颗粒性疾病、皮质基底变性或额颞叶变性。某些实施方案涉及一种减少具有高4R:3R tau同工型比率的受试者中的中风发作的方法。在某些实施方案中,所述方法包括向受试者施用反义药剂,其中所述药剂减少tau的表达或降低受试者的中枢神经系统中的4R:3R tau比率。

[0022] 还提供适用于预防、治疗和改善与Tau相关的疾病、病症和病状的方法。在某些实施方案中,所述与Tau相关的疾病、病症和病状是神经变性疾病。在某些实施方案中,神经变性疾病是阿尔茨海默氏病、额颞痴呆(FTD)、FTDP-17、进行性核上性麻痹、慢性创伤性脑病、癫痫或Dravet综合征中的任一种。在某些实施方案中,神经变性疾病的一种或多种症状被改善、预防或延迟(进展减慢)。在某些实施方案中,所述症状时记忆丧失、焦虑或运动功能丧失。在某些实施方案中,神经变性功能得到改善。在某些实施方案中,减少了神经纤维包涵体。

[0023] 所述疾病、病症及病状可共同具有一个或多个风险因素、成因或结果。发展神经变性疾病的某些风险因素和成因包括遗传素质和年龄。

[0024] 在某些实施方案中,治疗方法包括向有需要的个体施用Tau反义化合物。反义化合物可抑制Tau的表达或调解Tau的剪接。在某些实施方案中,反义化合物是单链反义寡核苷酸。在某些实施方案中,单链反义寡核苷酸是与Tau核酸互补的。

[0025] 在某些实施方案中,本发明提供了包含寡核苷酸的化合物。在某些实施方案中,所述寡核苷酸与Tau转录物互补。在某些所述实施方案中,寡核苷酸与包含外显子10的Tau转录物的靶区域互补。在某些所述实施方案中,寡核苷酸与包含邻近外显子10的内含子的Tau转录物的靶区域互补。在某些所述实施方案中,寡核苷酸与包含邻近外显子10且位于外显子10下游的内含子的Tau转录物的靶区域互补。在某些所述实施方案中,寡核苷酸与包含邻近外显子10且位于外显子10上游的内含子的Tau转录物的靶区域互补。在某些实施方案中,Tau转录物包含外显子10的外显子剪接沉默子。在某些实施方案中,寡核苷酸抑制外显子10的保留。在某些实施方案中,寡核苷酸促进外显子10的跳跃。在某些所述实施方案中,增加了3R Tau mRNA。在某些所述实施方案中,减少了具有外显子10mRNA的Tau mRNA。在某些实施方案中,减少了Tau蛋白的4R同工型。在某些实施方案中,增加了Tau蛋白的3R同工型。

[0026] 在某些实施方案中,包括但不限于以上编号的实施方案中的任一种,Tau转录物是在人体内。在某些实施方案中,包括但不限于以上列出的实施方案中的任一种,Tau转录物是在小鼠体内。

[0027] 本公开提供以下非限制性编号的实施方案:

[0028] 实施方案1.一种包含修饰寡核苷酸的化合物,所述修饰寡核苷酸是由8至30个连接核苷组成且具有包含含有至少8个连续核碱基的互补区域的核碱基序列,所述互补区域与Tau转录物的等长度靶区域互补。

[0029] 实施方案2.如实施方案1所述的化合物,其中所述修饰寡核苷酸的所述互补区域与所述靶区域100%互补。

[0030] 实施方案3.如实施方案1或2所述的化合物,其中所述修饰寡核苷酸的所述核碱基序列的所述互补区域包含至少10个连续核碱基。

[0031] 实施方案4.如实施方案1或2所述的化合物,其中所述修饰寡核苷酸的所述核碱基序列的所述互补区域包含至少15个连续核碱基。

[0032] 实施方案5.如实施方案1或2所述的化合物,其中所述修饰寡核苷酸的所述核碱基序列的所述互补区域包含至少18个连续核碱基。

[0033] 实施方案6.如实施方案1-5中任一项所述的化合物,其中所述修饰寡核苷酸的所述核碱基序列,如在所述寡核苷酸的整个长度上所测量的,与所述Tau转录物的等长度区域为至少80%互补。

[0034] 实施方案7.如实施方案1-5中任一项所述的化合物,其中所述修饰寡核苷酸的所述核碱基序列,如在所述寡核苷酸的整个长度上所测量的,与所述Tau转录物的等长度区域为至少90%互补。

[0035] 实施方案8.如实施方案1-5中任一项所述的化合物,其中所述修饰寡核苷酸的所述核碱基序列,如在所述寡核苷酸的整个长度上所测量的,与所述Tau转录物的等长度区域为100%互补。

[0036] 实施方案9.如实施方案1-8中任一项所述的化合物,其中所述靶区域是在所述Tau转录物的外显子10之内。

[0037] 实施方案10.如实施方案1-8中任一项所述的化合物,其中所述靶区域是在所述Tau转录物的内含子9之内。

[0038] 实施方案11.如实施方案1-8中任一项所述的化合物,其中所述靶区域是在所述Tau转录物的内含子10之内。

[0039] 实施方案12.如实施方案1-8中任一项所述的化合物,其中所述靶区域包含一部分内含子9和一部分外显子10。

[0040] 实施方案13.如实施方案1-8中任一项所述的化合物,其中所述靶区域包含一部分外显子10和一部分内含子10。

[0041] 实施方案14.如实施方案1-8中任一项所述的化合物,其中所述靶区域包含一部分外显子10和在外显子10的5'末端的内含子的一部分。

[0042] 实施方案15.如实施方案1-8中任一项所述的化合物,其中所述靶区域包含一部分外显子10和在外显子10的3'末端的内含子的一部分。

[0043] 实施方案16.如实施方案1-15中任一项所述的化合物,其中所述靶区域是在SEQ

ID NO.:1的核碱基121708和核碱基122044之内。

[0044] 实施方案17.如实施方案1-9中任一项所述的化合物,其中所述靶区域是在SEQ ID NO.:1的核碱基121796和核碱基122044之内。

[0045] 实施方案18.如实施方案1-9中任一项所述的化合物,其中所述靶区域是在SEQ ID NO.:1的核碱基121796和核碱基121885之内。

[0046] 实施方案19.如实施方案1-9中任一项所述的化合物,其中所述靶区域是在SEQ ID NO.:1的核碱基121873和核碱基121898之内。

[0047] 实施方案20.如实施方案1-9中任一项所述的化合物,其中所述靶区域是在SEQ ID NO.:1的核碱基121869和核碱基121943之内。

[0048] 实施方案21.如实施方案1-9中任一项所述的化合物,其中所述靶区域是在SEQ ID NO.:1的核碱基122020和核碱基122044之内。

[0049] 实施方案22.如实施方案1-9中任一项所述的化合物,其中所述靶区域是在SEQ ID NO.:1的核碱基121881和核碱基121898之内。

[0050] 实施方案23.如实施方案1-9中任一项所述的化合物,其中所述靶区域是在SEQ ID NO.:1的核碱基121880和核碱基121897之内。

[0051] 实施方案24.如实施方案1-9中任一项所述的化合物,其中所述靶区域是在SEQ ID NO.:1的核碱基121879和核碱基121896之内。

[0052] 实施方案25.如实施方案1-9中任一项所述的化合物,其中所述靶区域是在SEQ ID NO.:1的核碱基121878和核碱基121895之内。

[0053] 实施方案26.如实施方案1-9中任一项所述的化合物,其中所述靶区域是在SEQ ID NO.:1的核碱基121877和核碱基121894之内。

[0054] 实施方案27.如实施方案1-9中任一项所述的化合物,其中所述靶区域是在SEQ ID NO.:1的核碱基121876和核碱基121893之内。

[0055] 实施方案28.如实施方案1-9中任一项所述的化合物,其中所述靶区域是在SEQ ID NO.:1的核碱基121875和核碱基121892之内。

[0056] 实施方案29.如实施方案1-9中任一项所述的化合物,其中所述靶区域是在SEQ ID NO.:1的核碱基121874和核碱基121891之内。

[0057] 实施方案30.如实施方案1-9中任一项所述的化合物,其中所述靶区域是在SEQ ID NO.:1的核碱基121873和核碱基121890之内。

[0058] 实施方案31.如实施方案1-15中任一项所述的化合物,其中所述修饰寡核苷酸的所述核碱基序列包含SEQ ID NO:8-200中的任一个的核碱基序列。

[0059] 实施方案32.如实施方案1-15中任一项所述的化合物,其中所述修饰寡核苷酸的所述核碱基序列由SEQ ID NO:8-200中的任一个的核碱基序列组成。

[0060] 实施方案33.如实施方案1-15中任一项所述的化合物,其中所述修饰寡核苷酸的所述核碱基序列包含SEQ ID NO:33、34、147、148、149、150、151、152或153中的任一个的核碱基序列。

[0061] 实施方案34.如实施方案1-15中任一项所述的化合物,其中所述修饰寡核苷酸的所述核碱基序列由SEQ ID NO:33、34、147、148、149、150、151、152或153中的任一个的核碱基序列组成。

[0062] 实施方案35.如实施方案1-15中任一项所述的化合物,其中所述修饰寡核苷酸的所述核碱基序列包含SEQ ID NO:31、33、34、35、36、37、45、72、79、82、83、97、106、107、112、113、130、140、141、142、143、144、145、146、147、148、149、150、151、152、153、154、157、158、160或200中的任一个的核碱基序列。

[0063] 实施方案36.如实施方案1-15中任一项所述的化合物,其中所述修饰寡核苷酸的所述核碱基序列由SEQ ID NO:31、33、34、35、36、37、45、72、79、82、83、97、106、107、112、113、130、140、141、142、143、144、145、146、147、148、149、150、151、152、153、154、157、158、160或200中的任一个的核碱基序列组成。

[0064] 实施方案37.如实施方案1-36中任一项所述的化合物,其中修饰寡核苷酸包含至少一个修饰核苷。

[0065] 实施方案38.如实施方案37所述的化合物,其中至少一个修饰核苷包含修饰的糖部分。

[0066] 实施方案39.如实施方案37所述的化合物,其中至少一个修饰的糖部分为2'-取代的糖部分。

[0067] 实施方案40.如实施方案39所述的化合物,其中至少一个2'-取代的糖部分的2'-取代基选自:2'-OMe、2'-F和2'-MOE。

[0068] 实施方案41.如实施方案39所述的化合物,其中至少一个2'-取代的糖部分的2'-取代基为2'-MOE。

[0069] 实施方案42.如实施方案37-38中任一项所述的化合物,其中至少一个修饰的糖部分为双环糖部分。

[0070] 实施方案43.如实施方案42所述的化合物,其中至少一个双环糖部分为LNA或cEt。

[0071] 实施方案44.如实施方案37-43中任一项所述的化合物,其中至少一个糖部分为糖替代物。

[0072] 实施方案45.如实施方案44所述的化合物,其中至少一个糖替代物为吗啉代。

[0073] 实施方案46.如实施方案44所述的化合物,其中至少一个糖替代物为修饰吗啉代。

[0074] 实施方案47.如实施方案1-46中任一项所述的化合物,其中所述修饰寡核苷酸包含至少5个修饰核苷,所述修饰核苷各自独立地包含修饰的糖部分。

[0075] 实施方案48.如实施方案47所述的化合物,其中所述修饰寡核苷酸包含至少10个修饰核苷,所述修饰核苷各自独立地包含修饰的糖部分。

[0076] 实施方案49.如实施方案47所述的化合物,其中所述修饰寡核苷酸包含至少15个修饰核苷,所述修饰核苷各自独立地包含修饰的糖部分。

[0077] 实施方案50.如实施方案47所述的化合物,其中所述修饰寡核苷酸的每个核苷为修饰核苷并且各自独立地包含修饰的糖部分,其中每个修饰核苷的所述修饰的糖部分各自彼此相同。

[0078] 实施方案51.如实施方案47所述的化合物,其中所述修饰寡核苷酸的每个核苷为修饰核苷,所述修饰核苷各自独立地包含修饰的糖部分。

[0079] 实施方案52.如实施方案1-51中任一项所述的化合物,其中所述修饰寡核苷酸包含至少两个修饰核苷,所述修饰核苷包含彼此相同的修饰的糖部分。

[0080] 实施方案53.如实施方案1-52中任一项所述的化合物,其中所述修饰寡核苷酸包

含至少两个修饰核苷,所述修饰核苷包含彼此不同的修饰的糖部分。

[0081] 实施方案54.如实施方案1-53中任一项所述的化合物,其中所述修饰寡核苷酸包含含有至少5个连续修饰核苷的修饰区域。

[0082] 实施方案55.如实施方案54所述的化合物,其中所述修饰寡核苷酸包含含有至少10个连续修饰核苷的修饰区域。

[0083] 实施方案56.如实施方案54所述的化合物,其中所述修饰寡核苷酸包含含有至少15个连续修饰核苷的修饰区域。

[0084] 实施方案57.如实施方案54所述的化合物,其中所述修饰寡核苷酸包含含有至少18个连续修饰核苷的修饰区域。

[0085] 实施方案58.如实施方案54所述的化合物,其中所述修饰寡核苷酸包含含有至少20个连续修饰核苷的修饰区域。

[0086] 实施方案59.如实施方案53-58中任一项所述的化合物,其中所述修饰区域的每个修饰核苷具有修饰的糖部分,所述修饰的糖部分独立地选自:2'-F、2'-OMe、2'-MOE、cEt、LNA、吗啉代和修饰吗啉代。

[0087] 实施方案60.如实施方案54-59中任一项所述的化合物,其中所述修饰区域的所述修饰核苷各自包含彼此相同的修饰。

[0088] 实施方案61.如实施方案60所述的化合物,其中所述修饰区域的所述修饰核苷各自包含相同的2'-取代的糖部分。

[0089] 实施方案62.如实施方案61所述的化合物,其中所述修饰核苷区域的所述修饰核苷的所述2'-取代的糖部分选自2'-F、2'-OMe和2'-MOE。

[0090] 实施方案63.如实施方案61所述的化合物,其中所述修饰核苷区域的所述修饰核苷的所述2'-取代的糖部分为2'-MOE。

[0091] 实施方案64.如实施方案59所述的化合物,其中所述修饰核苷区域的所述修饰核苷各自包含相同的双环糖部分。

[0092] 实施方案65.如实施方案64所述的化合物,其中所述修饰核苷区域的所述修饰核苷的所述双环糖部分选自LNA和cEt。

[0093] 实施方案66.如实施方案59所述的化合物,其中所述修饰核苷区域的所述修饰核苷各自包含糖替代物。

[0094] 实施方案67.如实施方案66所述的化合物,其中所述修饰核苷区域的所述修饰核苷的所述糖替代物为吗啉代。

[0095] 实施方案68.如实施方案66所述的化合物,其中所述修饰核苷区域的所述修饰核苷的所述糖替代物为修饰吗啉代。

[0096] 实施方案69.如实施方案1-68中任一项所述的化合物,其中所述修饰核苷酸包含不超过4个连续的天然存在核苷。

[0097] 实施方案70.如实施方案1-68中任一项所述的化合物,其中所述修饰寡核苷酸的每个核苷均为修饰核苷。

[0098] 实施方案71.如实施方案70所述的化合物,其中每个修饰核苷包含修饰的糖部分。

[0099] 实施方案72.如实施方案71所述的化合物,其中所述修饰寡核苷酸的所述修饰核苷包含彼此相同的修饰。

- [0100] 实施方案73.如实施方案72所述的化合物,其中所述修饰寡核苷酸的所述修饰核苷各自包含相同的2'-取代的糖部分。
- [0101] 实施方案74.如实施方案73所述的化合物,其中所述修饰寡核苷酸的所述2'-取代的糖部分选自2'-F、2'-OMe和2'-MOE。
- [0102] 实施方案75.如实施方案74所述的化合物,其中所述修饰寡核苷酸的所述2'-取代的糖部分为2'-MOE。
- [0103] 实施方案76.如实施方案72所述的化合物,其中所述修饰寡核苷酸的所述修饰核苷各自包含相同的双环糖部分。
- [0104] 实施方案77.如实施方案76所述的化合物,其中所述修饰寡核苷酸的所述双环糖部分选自LNA和cEt。
- [0105] 实施方案78.如实施方案72所述的化合物,其中所述修饰寡核苷酸的所述修饰核苷各自包含糖替代物。
- [0106] 实施方案79.如实施方案78所述的化合物,其中所述修饰寡核苷酸的所述糖替代物为吗啉代。
- [0107] 实施方案80.如实施方案78所述的化合物,其中所述修饰寡核苷酸的所述糖替代物为修饰吗啉代。
- [0108] 实施方案81.如实施方案1至36中任一项所述的化合物,其中所述修饰寡核苷酸具有A-B₂-A-B₂-A-B₂-A-B₂-A-B₂-A-B₂-A₂基序,其中每个A包含双环糖部分,并且其中每个B选自2'-取代的糖部分和未修饰的2'-脱氧糖部分。
- [0109] 实施方案82.如实施方案81所述的化合物,其中每个A为cEt糖部分。
- [0110] 实施方案83.如实施方案81所述的化合物,其中每个A为LNA糖部分。
- [0111] 实施方案84.如实施方案81至83中任一项所述的化合物,其中每个B为未修饰的2'-脱氧糖部分。
- [0112] 实施方案85.如实施方案81至83中任一项所述的化合物,其中每个B为2'-MOE糖部分。
- [0113] 实施方案86.如实施方案1-85中任一项所述的化合物,其中所述修饰寡核苷酸包含至少一个修饰的核苷间键联。
- [0114] 实施方案87.如实施方案86所述的化合物,其中每个核苷间键联为修饰的核苷间键联。
- [0115] 实施方案88.如实施方案86或87所述的化合物,其包含至少一个硫代磷酸酯核苷间键联。
- [0116] 实施方案89.如实施方案1-85中任一项所述的化合物,其中每个核苷间键联为修饰的核苷间键联并且其中每个核苷间键联包含相同的修饰。
- [0117] 实施方案90.如实施方案89所述的化合物,其中每个核苷间键联是硫代磷酸酯核苷间键联。
- [0118] 实施方案91.如实施方案86所述的化合物,其中所述修饰寡核苷酸包含至少4个磷酸二酯核苷间键联。
- [0119] 实施方案92.如实施方案86所述的化合物,其中所述修饰寡核苷酸包含至少5个磷酸二酯核苷间键联。

- [0120] 实施方案93.如实施方案86所述的化合物,其中所述修饰寡核苷酸包含至少6个磷酸二酯核苷间键联。
- [0121] 实施方案94.如实施方案86所述的化合物,其中所述修饰寡核苷酸包含至少7个磷酸二酯核苷间键联。
- [0122] 实施方案95.如实施方案91至94中任一项所述的化合物,其中每个剩余的核苷间键联为磷酸二酯核苷间键联。
- [0123] 实施方案96.如实施方案1-85中任一项所述的化合物,其中所述化合物具有NsNsNoNsNoNsNoNsNoNsNoNsNoNsNoNsN核苷间键联基序,其中每个N代表核苷,每个S代表硫代磷酸酯核苷间键联,并且每个O代表磷酸二酯核苷间键联。
- [0124] 实施方案97.如实施方案1-85中任一项所述的化合物,其中所述化合物具有NsNoNoNsNsNsNsNsNsNsNoNoNsNsN核苷间键联基序,其中每个N代表核苷,每个S代表硫代磷酸酯核苷间键联,并且每个O代表磷酸二酯核苷间键联。
- [0125] 实施方案98.如实施方案1-97中任一项所述的化合物,其包含至少一个缀合物。
- [0126] 实施方案99.如实施方案1-98中任一项所述的化合物,其由所述修饰寡核苷酸组成。
- [0127] 实施方案100.如实施方案1-99中任一项所述的化合物,其中所述化合物调节所述Tau转录物的剪接。
- [0128] 实施方案101.如实施方案1-99中任一项所述的化合物,其中所述化合物降低所述4R Tau同工型的表达。
- [0129] 实施方案102.如实施方案1-99中任一项所述的化合物,其中所述化合物降低包含外显子10的Tau mRNA的表达。
- [0130] 实施方案103.如实施方案1-99中任一项所述的化合物,其中所述化合物降低包含由外显子10mRNA编码的氨基酸的Tau蛋白的表达。
- [0131] 实施方案104.如实施方案1-8或30-103中任一项所述的化合物,其具有包含SEQ ID NO.8-200中所列出的序列中的任一个的核碱基序列。
- [0132] 实施方案105.如实施方案1-8或30-103中任一项所述的化合物,其具有包含SEQ ID NO.33、34、147、148、149、150、151、152或153中所列出的序列中的任一个的核碱基序列。
- [0133] 实施方案106.如实施方案1-8或30-103中任一项所述的化合物,其具有由SEQ ID NO.8-200中所列出的序列中的任一个组成的核碱基序列。
- [0134] 实施方案107.如实施方案1-8或30-103中任一项所述的化合物,其具有由SEQ ID NO.33、34、147、148、149、150、151、152或153中所列出的序列中的任一个组成的核碱基序列。
- [0135] 实施方案108.一种双链化合物,其包含如实施方案1-107中任一项所述的化合物。
- [0136] 实施方案109.一种化合物,其由ISIS 670011组成。
- [0137] 实施方案110.一种化合物,其由ISIS 670012组成。
- [0138] 实施方案111.一种化合物,其由ISIS 670013组成。
- [0139] 实施方案112.一种化合物,其由ISIS 670014组成。
- [0140] 实施方案113.一种化合物,其由ISIS 670015组成。
- [0141] 实施方案114.一种化合物,其由ISIS 670016组成。

- [0142] 实施方案115.一种化合物,其由ISIS 670017组成。
- [0143] 实施方案116.一种化合物,其由ISIS 670018组成。
- [0144] 实施方案117.一种化合物,其由ISIS 670019组成。
- [0145] 实施方案118.一种化合物,其由ISIS 670020组成。
- [0146] 实施方案119.一种化合物,其由ISIS 670021组成。
- [0147] 实施方案120.一种化合物,其由ISIS 670022组成。
- [0148] 实施方案121.一种化合物,其由ISIS 670023组成。
- [0149] 实施方案122.一种化合物,其由ISIS 670024组成。
- [0150] 实施方案123.一种化合物,其由ISIS 670025组成。
- [0151] 实施方案124.一种化合物,其由ISIS 670026组成。
- [0152] 实施方案125.一种化合物,其由ISIS 670027组成。
- [0153] 实施方案126.一种化合物,其由ISIS 670028组成。
- [0154] 实施方案127.一种化合物,其由ISIS 678329组成。
- [0155] 实施方案128.一种化合物,其由ISIS 678330组成。
- [0156] 实施方案129.一种化合物,其由ISIS 678331组成。
- [0157] 实施方案130.一种化合物,其由ISIS 678332组成。
- [0158] 实施方案131.一种化合物,其由ISIS 678333组成。
- [0159] 实施方案132.一种化合物,其由ISIS 678334组成。
- [0160] 实施方案133.一种化合物,其由ISIS 693840组成。
- [0161] 实施方案134.一种化合物,其由ISIS 693841组成。
- [0162] 实施方案135.一种化合物,其由ISIS 693842组成。
- [0163] 实施方案136.一种化合物,其由ISIS 693843组成。
- [0164] 实施方案137.一种化合物,其由ISIS 693844组成。
- [0165] 实施方案138.一种化合物,其由ISIS 693845组成。
- [0166] 实施方案139.一种化合物,其由ISIS 693846组成。
- [0167] 实施方案140.一种化合物,其由ISIS 693847组成。
- [0168] 实施方案141.一种化合物,其由ISIS 693848组成。
- [0169] 实施方案142.一种化合物,其由ISIS 693849组成。
- [0170] 实施方案143.一种化合物,其由ISIS 549577组成。
- [0171] 实施方案144.一种化合物,其由ISIS 549580组成。
- [0172] 实施方案145.一种化合物,其由ISIS 549581组成。
- [0173] 实施方案146.一种化合物,其由ISIS 549582组成。
- [0174] 实施方案147.一种化合物,其由ISIS 549583组成。
- [0175] 实施方案148.一种化合物,其由ISIS 549584组成。
- [0176] 实施方案149.一种化合物,其由ISIS 549585组成。
- [0177] 实施方案150.一种化合物,其由ISIS 549586组成。
- [0178] 实施方案151.一种化合物,其由ISIS 617341组成。
- [0179] 实施方案152.一种化合物,其由ISIS 617351组成。
- [0180] 实施方案153.一种化合物,其由ISIS 617352组成。

- [0181] 实施方案154.一种化合物,其由ISIS 617353组成。
- [0182] 实施方案155.一种化合物,其由ISIS 617358组成。
- [0183] 实施方案156.一种化合物,其由ISIS 617360组成。
- [0184] 实施方案157.一种化合物,其由ISIS 617361组成。
- [0185] 实施方案158.一种化合物,其由ISIS 617362组成。
- [0186] 实施方案159.一种调节细胞中的Tau转录物的剪接的方法,其包括使所述细胞与如实施方案1-158中任一项所述的化合物接触。
- [0187] 实施方案160.如实施方案158所述的方法,其中所述细胞在体外。
- [0188] 实施方案161.如实施方案158所述的方法,其中所述细胞在动物中。
- [0189] 实施方案162.一种调节细胞中的Tau蛋白的表达的方法,其包括使所述细胞与如实施方案1-158中任一项所述的化合物接触。
- [0190] 实施方案163.如实施方案162所述的方法,其中使Tau蛋白的4R同工型的表达减少。
- [0191] 实施方案164.如实施方案162所述的方法,其中使Tau蛋白的3R同工型的表达增加。
- [0192] 实施方案165.如实施方案162至164中任一项所述的方法,其中所述细胞在体外。
- [0193] 实施方案166.如实施方案162至164中任一项所述的方法,其中所述细胞在动物中。
- [0194] 实施方案167.一种减少或改善与tau相关病症相关联的一种或多种症状的方法,其包括使细胞与如实施方案1-158中任一项所述的化合物接触。
- [0195] 实施方案168.如实施方案167所述的方法,其中所述症状为中风发作。
- [0196] 实施方案169.如实施方案167-168中任一项所述的方法,其中所述细胞在动物中。
- [0197] 实施方案170.一种药物组合物,其包含如实施方案1-158中任一项所述的化合物和药学上可接受的载体或稀释剂。
- [0198] 实施方案171.如实施方案170所述的药物组合物,其中所述药学上可接受的载体或稀释剂是无菌盐水。
- [0199] 实施方案172.一种方法,其包括向动物施用如实施方案170或171所述的药物组合物。
- [0200] 实施方案173.如实施方案172所述的方法,其中所述施用是通过注射。
- [0201] 实施方案174.如实施方案172或173所述的方法,其中所述施用是全身性的。
- [0202] 实施方案175.如实施方案172或173所述的方法,其中所述施用是向CNS施用。
- [0203] 实施方案176.如实施方案172-175中任一项所述的方法,其中所述动物具有与一种或多种tau相关病症相关联的一种或多种症状。
- [0204] 实施方案177.如实施方案176所述的方法,其中所述施用导致与一种或多种tau相关病症相关联的一种或多种症状的改善。
- [0205] 实施方案178.如实施方案172-175中任一项所述的方法,其中所述动物具有与阿尔茨海默氏病相关联的一种或多种症状。
- [0206] 实施方案179.如实施方案178所述的方法,其中所述施用导致与阿尔茨海默氏病相关联的一种或多种症状的改善。

- [0207] 实施方案180.如实施方案172-179中任一项所述的方法,其中所述动物为小鼠。
- [0208] 实施方案181.如实施方案172-179中任一项所述的方法,其中所述动物为人。
- [0209] 实施方案182.如实施方案1至158中任一项所述的化合物或实施方案170-171所述的组合物的用途,其用于制备用于治疗tau相关病症的药物。
- [0210] 实施方案183.如实施方案1至158中任一项所述的化合物或实施方案170-171所述的组合物的用途,其用于制备用于改善与tau相关病症相关联的一种或多种症状的药物。
- [0211] 实施方案184.如实施方案1-183中任一项所述的化合物、组合物或方法,其中所述核碱基序列不由SEQ ID NO.:45、66、68、69或200中所列出的核碱基序列组成。
- [0212] 实施方案185.如实施方案1-183中任一项所述的化合物、组合物或方法,其中所述核碱基序列不由核碱基序列CCAGCTTCTTATTAATTATC或TAAGATCCAGCTTCTTATTA组成。
- [0213] 实施方案186.如实施方案1-183中任一项所述的化合物、组合物或方法,其中所述靶区域不在SEQ ID NO.:1的核碱基121828和核碱基121847之内。
- [0214] 实施方案187.如实施方案1-183中任一项所述的化合物、组合物或方法,其中所述靶区域不在SEQ ID NO.:1的核碱基121834和核碱基121853之内。
- [0215] 实施方案188.如实施方案1-183中任一项所述的化合物、组合物或方法,其中所述靶区域不在SEQ ID NO.:1的核碱基121840和核碱基121859之内。
- [0216] 实施方案189.如实施方案1-183中任一项所述的化合物、组合物或方法,其中所述靶区域不在SEQ ID NO.:1的核碱基121924和核碱基121941之内。
- [0217] 实施方案190.如实施方案1-183中任一项所述的化合物、组合物或方法,其中所述靶区域不在SEQ ID NO.:1的核碱基121012和核碱基121029之内。
- [0218] 实施方案191.如实施方案1-183中任一项所述的化合物、组合物或方法,其中所述靶区域不在SEQ ID NO.:1的核碱基121020和核碱基121037之内。
- [0219] 实施方案192.如实施方案1-183中任一项所述的化合物、组合物或方法,其中所述靶区域不在SEQ ID NO.:1的核碱基121024和核碱基121041之内。

[0220] 附图简述

[0221] 图1示出Tau同工型的图形表示。同工型可在微管蛋白结合结构域的数目(位于蛋白的C-端半部中的三个或四个重复)方面彼此不同并且分别被称为3R或4R Tau同工型。它们也可在蛋白的N-端部分处是否存在一个或两个29氨基酸长的高度酸性插入物(突出结构域)方面有所不同。在突出结构域与微管结合结构域之间存在碱性富脯氨酸区。

[0222] 详述

[0223] 除非提供确切的定义,否则结合本文所描述的分析化学、合成有机化学和医药化学所使用的命名法和这些化学领域的工序和技术为本领域熟知和常用的那些。标准技术可用于化学合成和化学分析。某些此类技术和程序可见于“Carbohydrate Modifications in Antisense Research”,Sangvi和Cook编,美国化学学会,Washington D.C.,1994;“Remington’s Pharmaceutical Sciences”,Mack Publishing Co.,Easton,Pa.,第21版,2005;和“Antisense Drug Technology,Principles,Strategies,and Applications”,Stanley T.Crooke编,CRC Press,Boca Raton,Florida;和Sambrook等,“Molecular Cloning,A laboratory Manual,”第2版,Cold Spring Harbor Laboratory Press,1989,所述文献出于任何目的而以引用方式并入本文。如果允许,本公开通篇提及的所有专利、申

请、已公布的申请和其它出版物以及其它数据以引用的方式整体并入本文。

[0224] 除非另外指出,否则以下术语具有以下含义:

[0225] 如本文所使用,“核苷”意指包含核碱基部分和糖部分的化合物。核苷包括但不限于天然存在的核苷(如在DNA和RNA中发现的)和修饰核苷。核苷可连接至磷酸部分。

[0226] 如本文所使用,“化学修饰”意指当与天然存在的对应物相比时化合物的化学差异。就寡核苷酸而言,化学修饰不包括仅在核碱基序列上的差异。寡核苷酸的化学修饰包括核苷修饰(包括糖部分修饰和核碱基修饰)和核苷间键联修饰。

[0227] 如本文所使用,“呋喃糖基”意指包含5元环的结构,所述5元环包含四个碳原子和一个氧原子。

[0228] 如本文所使用,“天然存在的糖部分”意指如在天然存在的RNA中发现的呋喃核糖基或如在天然存在的DNA中发现的脱氧呋喃核糖基。

[0229] 如本文所使用,“糖部分”意指核苷的天然存在的糖部分或修饰的糖部分。

[0230] 如本文所使用,“修饰糖部分”意指取代的糖部分、双环或三环糖部分或糖替代物。

[0231] 如本文所使用,“取代的糖部分”意指包含不同于天然存在的糖部分的至少一个取代基基团的呋喃糖基。取代的糖部分包括但不限于在2'-位、3'-位、5'-位和/或4'-位上包含取代基的呋喃糖基。

[0232] 如本文所使用,“2'-取代的糖部分”意指在2'-位上包含除H或OH之外的取代基的呋喃糖基。除非另外指出,否则2'-取代的糖部分不是双环糖部分(即,2'-取代的糖部分的2'-取代基与呋喃糖基环的另一个原子不形成桥联)。

[0233] 如本文所使用,“MOE”意指 $-OCH_2CH_2OCH_3$ 。

[0234] 如本文所使用,“双环糖部分”意指包含4至7元环的修饰的糖部分(包括但不限于呋喃糖基),所述糖部分包含连接4至7元环的两个原子以形成第二个环,从而产生双环结构的桥联。在某些实施方案中,4至7元环为糖环。在某些实施方案中,4至7元环为呋喃糖基。在某些所述实施方案中,桥联连接了呋喃糖基的2'-碳和4'-碳。

[0235] 如本文所使用,术语“糖替代物”意指不包含呋喃糖基并且能够替代核苷的天然存在的糖部分以使得所产生的核苷能够(1)结合到寡核苷酸中和(2)与互补核苷杂交的一种结构。所述结构包括如下环:所述环包含与呋喃糖基(例如,4元环、6元环或7元环)不同的原子数;用非氧原子(例如,碳、硫或氮)替代呋喃糖基的氧;或原子数和氧替代均有所变化。所述结构还可包含对应于对于取代的糖部分所描述的那些取代的取代(例如,任选包含另外取代基的6元碳环双环糖替代物)。糖替代物还包括更复杂的糖代替物(例如,肽核酸的非环系统)。糖替代物包括但不限于吗啉代、修饰吗啉代、环己烯基和环己六醇。

[0236] 如本文所使用,“核苷酸”意指还包含磷酸酯连接基团的核苷。如本文所使用,“连接核苷”可或可不通过磷酸酯键联连接并且因此包括但不限于“连接的核苷酸”。如本文所使用,“连接核苷”为以连续顺序连接的核苷(即,在那些连接的核苷之间不存在另外的核苷)。

[0237] 如本文所使用,“核碱基”意指可连接至糖部分以形成能够掺入到寡核苷酸中的核苷的原子基团,并且其中原子基团能够与另一个寡核苷酸或核酸的互补的天然存在的核碱基键合。核碱基可为天然存在的或可为修饰的。

[0238] 如本文所使用,“杂环碱基”或“杂环核碱基”意指包含杂环结构的核碱基。

[0239] 如本文所使用,术语“未修饰的核碱基”或“天然存在的核碱基”意指RNA或DNA的天然存在的杂环核碱基:嘌呤碱基腺嘌呤(A)和鸟嘌呤(G);以及嘧啶碱基胸腺嘧啶(T)、胞嘧啶(C)(包括5-甲基C)和尿嘧啶(U)。

[0240] 如本文所使用,“修饰核碱基”意指并非天然存在的核碱基的任何核碱基。

[0241] 如本文所使用,“修饰核苷”意指与天然存在的RNA或DNA核苷相比包含至少一个化学修饰的核苷。修饰核苷包含修饰的糖部分和/或修饰的核碱基。

[0242] 如本文所使用,“双环核苷”或“BNA”意指包含双环糖部分的核苷。

[0243] 如本文所使用,“约束的乙基核苷”或“cEt”意指包含双环糖部分的核苷,所述双环糖部分包含4'-CH(CH₃)-O-2'桥联。

[0244] 如本文所使用,“锁核酸核苷”或“LNA”意指包含双环糖部分的核苷,所述双环糖部分包含4'-CH₂-O-2'桥联。

[0245] 如本文所使用,“2'-取代的核苷”意指在2'-位上包含除H或OH之外的取代基的核苷。除非另外指出,否则2'-取代的核苷不是双环核苷。

[0246] 如本文所使用,“2'-脱氧核苷”意指包含如在天然存在的脱氧核糖核苷(DNA)中所发现的2'-H呋喃糖基糖部分的核苷。在某些实施方案中,2'-脱氧核苷可包含修饰的核碱基或可包含RNA核碱基(例如,尿嘧啶)。

[0247] 如本文所使用,“寡核苷酸”意指包含多个连接核苷的化合物。在某些实施方案中,寡核苷酸包含一个或多个未修饰的核糖核苷(RNA)和/或未修饰的脱氧核糖核苷(DNA)和/或一个或多个修饰核苷。

[0248] 如本文所使用,“寡核苷”意指其中没有核苷间键联含有磷原子的寡核苷酸。如本文所使用,寡核苷酸包含寡核苷。

[0249] 如本文所使用,“修饰寡核苷酸”意指包含至少一个修饰核苷和/或至少一个修饰的核苷间键联的寡核苷酸。

[0250] 如本文所使用,“核苷间键联”意指寡核苷酸中相邻核苷之间的共价键联。

[0251] 如本文所使用,“天然存在的核苷间键联”意指3'至5'磷酸二酯键联。

[0252] 如本文所使用,“修饰的核苷间键联”意指除了天然存在的核苷间键联之外的任何核苷间键联。

[0253] 如本文所使用,“低聚化合物”意指包含两个或更多个子结构的聚合结构。在某些实施方案中,低聚化合物包含寡核苷酸。在某些实施方案中,低聚化合物包含一个或多个缀合物基团和/或端基。在某些实施方案中,低聚化合物由寡核苷酸组成。

[0254] 如本文所使用,“端基”意指连接至寡核苷酸的3'末端或5'末端中的任一或两者的一个或多个原子。在某些实施方案中,端基为缀合物基团。在某些实施方案中,端基包含一个或多个端基核苷。

[0255] 如本文所使用,“缀合物”意指结合至寡核苷酸或低聚化合物的原子或原子基团。通常,缀合物基团改变它们所连接至的化合物的一种或多种性质,包括但不限于药效学、药物代谢动力学、结合、吸收、细胞分布、细胞摄取、电荷和/或清除性质。

[0256] 如本文所使用,“缀合物连接基团”意指用于将缀合物连接至寡核苷酸或低聚化合物的原子或原子基团。

[0257] 如本文所使用,“反义化合物”意指包含寡核苷酸或由寡核苷酸组成的化合物,所

述寡核苷酸的至少一部分与其能够杂交的靶核酸互补,从而导致至少一种反义活性。

[0258] 如本文所使用,“反义活性”意指可归因于反义化合物与其靶核酸的杂交的任何可检测和/或可测量的变化。

[0259] 如本文所使用,“检测”或“测量”意指用于进行检测或测量的测试或测定。所述检测和/或测量可能得到零值。因此,如果用于检测或测量的测试得到没有活性(活性为零)的发现,尽管如此,也已经进行了检测或测量活性的步骤。

[0260] 如本文所使用,“可检测和/或可测量的活性”意指不为零的在统计学上显著的活性。

[0261] 如本文所使用,“基本上未变化”意指具体地相对于变化更多的另一个参数,具体参数几乎没有或没有变化。在某些实施方案中,当参数变化小于5%时,所述参数基本上未变化。在某些实施方案中,如果参数变化小于两倍而另一个参数变化至少十倍,则所述参数基本上未变化。例如,在某些实施方案中,反义活性为靶核酸的量的变化。在某些所述实施方案中,如果非靶核酸的量比靶核酸的量变化的小得多,那么所述非靶核酸的量基本上未变化,但变化不必为零。

[0262] 如本文所使用,“表达”意指基因最终产生蛋白质的过程。表达包括但不限于转录、转录后修饰(例如,剪接、聚腺苷酸化、添加5' -帽)以及翻译。

[0263] 如本文所使用,“靶核酸”意指反义化合物所杂交的核酸分子。

[0264] 如本文所使用,“mRNA”意指编码蛋白的RNA分子。

[0265] 如本文所使用,“前体mRNA”意指未完全加工成mRNA的RNA转录物。前体RNA包括一个或多个内含子。

[0266] 如本文所使用,“转录物”意指由DNA转录而来的RNA分子。转录物包括但不限于mRNA、前体mRNA和部分加工RNA。

[0267] 如本文所使用,“Tau转录物”意指由Tau基因转录而来的转录物。在某些实施方案中,Tau转录物由从核苷酸9240000至9381000截短的GENBANK登录号NT_010783.15 (SEQ ID NO:1) 或其变体代表。

[0268] 如本文所使用,“Tau基因”意指编码Tau蛋白和任何Tau蛋白同工型的基因。在某些实施方案中,Tau蛋白同工型包括3R同工型和4R同工型。

[0269] 如本文所使用,“3R”意指不包括外显子10的Tau转录物。

[0270] 如本文所使用,“3R Tau同工型”意指不包括由外显子10编码的氨基酸的Tau蛋白同工型。

[0271] 如本文所使用,“4R”意指包括外显子10的Tau转录物。

[0272] 如本文所使用,“4R Tau同工型”意指包括由外显子10编码的氨基酸的Tau蛋白同工型。

[0273] 如本文所使用,“Tau相关疾病”意指与Tau相关联的任何神经性或神经变性疾病。Tau相关病症的非限制性实例包括阿尔茨海默氏病、进行性核上性麻痹、拳击员痴呆、额颞痴呆、与染色体连锁的帕金森综合征、Lytic-Bodig病、缠结主导的痴呆、神经节神经胶质瘤、神经节细胞瘤、脑膜血管瘤病、亚急性硬化性全脑炎、铅毒性脑病、结节性硬化症、哈-斯二氏病、皮克氏病、皮质基底节变性、嗜银颗粒性疾病、核上性麻痹、皮质基底节变性、额颞痴呆或额颞叶变性。

[0274] 如本文所使用,“Tau蛋白病”意指以大脑中Tau蛋白的堆积为特征的病症。

[0275] 如本文所使用,“Tau特异性抑制剂”包括但不限于靶向于Tau的“反义化合物”。

[0276] 如本文所使用,“靶向”或“靶向于”意指反义化合物与特定靶核酸分子或靶核酸分子的特定区域的结合。如果反义化合物与靶核酸足够互补以允许在生理条件下杂交,那么反义化合物靶向靶核酸。

[0277] 如本文所使用,在提到核碱基时的“核碱基互补性”或“互补性”意指能够与另一个核碱基碱基配对的核碱基。例如,在DNA中,腺嘌呤(A)与胸腺嘧啶(T)互补。例如,在RNA中,腺嘌呤(A)与尿嘧啶(U)互补。在某些实施方案中,互补核碱基意指能够与其靶核酸的核碱基碱基配对的反义化合物的核碱基。例如,如果反义化合物的某个位置上的核碱基能够与靶核酸的某个位置上的核碱基氢键合,那么寡核苷酸与靶核酸之间的氢键合的位置被认为在所述核碱基对上互补的。包含某些修饰的核碱基可维持与对应核碱基配对的能力,并且因此仍能够具有核碱基互补性。

[0278] 如本文所使用,关于核碱基的“非互补性”意指彼此不形成氢键的核碱基对。

[0279] 如本文所使用,关于低聚化合物(例如,连接核苷、寡核苷酸或核酸)的“互补性”意指所述低聚化合物或其区域与另一个低聚化合物或其区域在严格条件下通过核碱基互补性杂交的能力。互补的低聚化合物不必需在每个核苷上均具有核碱基互补性。相反,容忍一些错配。在某些实施方案中,互补的低聚化合物或区域在70%的核碱基上互补(70%互补)。在某些实施方案中,互补的低聚化合物或区域80%互补。在某些实施方案中,互补的低聚化合物或区域90%互补。在某些实施方案中,互补的低聚化合物或区域95%互补。在某些实施方案中,互补的低聚化合物或区域100%互补。

[0280] 如本文所使用,“杂交”意指互补低聚化合物(例如,反义化合物及其靶核酸)的配对。虽然不限于具体机制,但配对的最常见机制涉及氢键合,所述氢键合可为互补核碱基之间的Watson-Crick、Hoogsteen或反向Hoogsteen氢键合。

[0281] 如本文所使用,“特异性杂交”意指低聚化合物与一个核酸位点杂交比它与另一个核酸位点杂交具有更大亲和力的能力。在某些实施方案中,反义寡核苷酸与多于一个靶位点特异性杂交。

[0282] 如本文所使用,“互补百分比”意指与靶核酸的等长部分互补的低聚化合物的核碱基的百分数。通过将靶核酸中的对应位置上的核碱基互补的低聚化合物的核碱基数除以低聚化合物的总长度来计算互补百分比。

[0283] 如本文所使用,“同一性百分比”意指与第二核酸中的对应位置上的核碱基相同类型(不依赖于化学修饰)的第一核酸中的核碱基数除以第一核酸中的核碱基总数。

[0284] 如本文所使用,“调节”意指当与调节前的分子、功能或活性的量或质量相比时分子、功能或活性的量或质量的变化。例如,调节包括基因表达的变化,增加(刺激或诱导)或减少(抑制或降低)。作为另一个实例,表达的调节可包括前体mRNA加工的剪接位点选择的变化,从而导致与不存在调节情况下的量相比的具体剪接变体的绝对或相对量的变化。

[0285] 如本文所使用,“基序”意指低聚化合物或其区域中的化学修饰的模式(pattern)。可通过低聚化合物的某些核苷和/或某些连接基团上的修饰来定义基序。

[0286] 如本文所使用,“核苷基序”意指低聚化合物或其区域中的核苷修饰的模式。这样的低聚化合物的键联可为修饰或未修饰的。除非另外指出,否则本文中仅描述核苷的基序

意图为核苷基序。因此,在所述情况下,键联不受限制。

[0287] 如本文所使用,“糖基序”意指低聚化合物或其区域中的糖修饰的模式。

[0288] 如本文所使用,“键联基序”意指低聚化合物或其区域中的键联修饰的模式。这样的低聚化合物的核苷可为修饰或未修饰的。除非另外指出,否则本文中仅描述键联的基序意图为键联基序。因此,在所述情况下,核苷不受限制。

[0289] 如本文所使用,“核碱基修饰基序”意指沿着寡核苷酸的核碱基的修饰的模式。除非另外指出,否则核碱基修饰基序不依赖于核碱基序列。

[0290] 如本文所使用,“序列基序”意指沿着寡核苷酸或其部分布置的核碱基的模式。除非另外指出,否则序列基序不依赖于化学修饰并且因此可具有化学修饰的任何组合,包括没有化学修饰。

[0291] 如本文所使用,关于核苷或一种“类型”的核苷的“修饰类型”意指核苷的化学修饰并且包括修饰和未修饰的核苷。因此,除非另外指出,否则“具有第一类型的修饰的核苷”可为未修饰的核苷。

[0292] 如本文所使用,“不同修饰的”意指彼此不同的化学修饰或化学取代基,包括不存在修饰。因此,例如,MOE核苷和未修饰的DNA核苷为“不同修饰的”,即使DNA核苷为未修饰的。同样,DNA和RNA为“不同修饰的”,即使这两者均为天然存在的未修饰的核苷。相同但包含不同核碱基的核苷不为不同修饰的。例如,包含2'-OMe修饰的糖和未修饰的腺嘌呤核碱基的核苷和包含2'-OMe修饰的糖和未修饰的胸腺嘧啶核碱基的核苷不为不同修饰的。

[0293] 如本文所使用,“相同类型的修饰”是指彼此相同的修饰,包括不存在修饰。因此,例如,两个未修饰的DNA核苷具有“相同类型的修饰”,即使DNA核苷为未修饰的。具有相同类型修饰的所述核苷可包含不同的核碱基。

[0294] 如本文所使用,“药学上可接受的载体或稀释剂”意指适合用于向动物施用的任何物质。在某些实施方案中,药学上可接受的载体或稀释剂为无菌盐水。在某些实施方案中,所述无菌盐水为药用级盐水。

[0295] 如本文所使用,“取代基(substituent)”和“取代基(substituent group)”意指替代指定母体化合物的原子或基团的原子或基团。例如,修饰核苷的取代基为不同于在天然存在的核苷中发现的原子或基团的任何原子或基团(例如,修饰的2'-取代基为在核苷的2'-位上的除H或OH之外的任何原子或基团)。取代基可为保护或未保护的。在某些实施方案中,本发明的化合物在母体化合物的一个位置上或多于一个位置上具有取代基。取代基还可进一步被其它取代基取代并且可直接连接或通过连接基团如烷基或烃基连接至母体化合物。

[0296] 同样,如本文所使用,关于化学官能团的“取代基”意指不同于通常存在于指定官能团中的原子或原子基团的原子或原子基团。在某些实施方案中,取代基替代官能团的氢原子(例如,在某些实施方案中,取代的甲基的取代基为替代未取代的甲基的一个氢原子的除氢之外的原子或基团)。除非另外指出,否则适合用作取代基的基团包括但不限于卤素、羟基、烷基、烯基、炔基、酰基(-C(O)R_{aa})、羧基(-C(O)O-R_{aa})、脂族基团、脂环基、烷氧基、取代的氧基(-OR_{aa})、芳基、芳烷基、杂环基、杂芳基、杂芳基烷基、氨基(-N(R_{bb})(R_{cc}))、亚氨基(=NR_{bb})、酰胺基(-C(O)N(R_{bb})(R_{cc})或-N(R_{bb})C(O)R_{aa})、叠氮基(-N₃)、硝基(-NO₂)、氰基(-CN)、脲基(carbamido)(-OC(O)N(R_{bb})(R_{cc})或-N(R_{bb})C(O)OR_{aa})、脲基(ureido)(-N(R_{bb})C(O)

$N(R_{bb})(R_{cc})$ 、硫脲基 ($-N(R_{bb})C(S)N(R_{bb})(R_{cc})$)、胍基 ($-N(R_{bb})C(=NR_{bb})N(R_{bb})(R_{cc})$)、脒基 ($-C(=NR_{bb})N(R_{bb})(R_{cc})$ 或 $-N(R_{bb})C(=NR_{bb})(R_{aa})$)、巯基 ($-SR_{bb}$)、亚硫酰基 ($-S(O)R_{bb}$)、磺酰基 ($-S(O)_2R_{bb}$) 以及氨基磺酰基 ($-S(O)_2N(R_{bb})(R_{cc})$ 或 $-N(R_{bb})S(O)_2R_{bb}$)。其中每个 R_{aa} 、 R_{bb} 和 R_{cc} 独立地为 H、任选连接的化学官能团或另外的具有优选列表的取代基,所述列表包括但不限于烷基、烯基、炔基、脂肪族、烷氧基、酰基、芳基、芳烷基、杂芳基、脂环族、杂环和杂芳基烷基。本文描述的化合物内的所选取代基以一定递归度存在。

[0297] 如本文所使用,如本文所使用的“烷基”意指含有最多至二十四个碳原子的饱和和直链或支链烃基。烷基的实例包括但不限于甲基、乙基、丙基、丁基、异丙基、正己基、辛基、癸基、十二烷基等。烷基通常包括 1 至约 24 个碳原子,更通常地 1 至约 12 个碳原子 (C_1 - C_{12} 烷基),其中 1 至约 6 个碳原子更优选。

[0298] 如本文所使用,“烯基”意指含有最多至二十四个碳原子并且具有至少一个碳-碳双键的直链或支链链烃基。烯基的实例包括但不限于乙烯基、丙烯基、丁烯基、1-甲基-2-丁烯-1-基、二烯如 1,3-丁二烯等。烯基通常包括 2 至约 24 个碳原子,更通常地 2 至约 12 个碳原子,其中 2 至约 6 个碳原子更优选。如本文所使用的烯基可任选地包括一个或多个另外的取代基。

[0299] 如本文所使用,“炔基”意指含有最多至二十四个碳原子并且具有至少一个碳-碳三键的直链或支链烃基。炔基的实例包括但不限于乙炔基、1-丙炔基、1-丁炔基等。炔基通常包括 2 至约 24 个碳原子,更通常地 2 至约 12 个碳原子,其中 2 至约 6 个碳原子更优选。如本文所使用的炔基可任选地包括一个或多个另外的取代基。

[0300] 如本文所使用,“酰基”意指通过从有机酸中去除羟基形成的基团并且具有通式 $-C(O)-X$,其中 X 通常为脂肪族、脂环族或芳香族。实例包括脂肪族羰基、芳香族羰基、脂肪族磺酰基、芳香族亚硫酰基、脂肪族亚硫酰基、芳香族磷酸酯、脂肪族磷酸酯等。如本文所使用的酰基可任选地包括另外的取代基。

[0301] 如本文所使用,“脂环族”意指其中环为脂肪族的环系统。环系统可包含一个或多个环,其中至少一个环为脂肪族。优选的脂环族包括其中具有约 5 至约 9 个碳原子的环。如本文所使用的脂环族可任选地包括另外的取代基。

[0302] 如本文所使用,“脂肪族”意指含有最多至二十四个碳原子的直链或支链烃基,其中任何两个碳原子之间的饱和度为单键、双键或三键。脂肪族基团优选含有 1 至约 24 个碳原子,更通常地 1 至约 12 个碳原子,其中 1 至约 6 个碳原子更优选。脂肪族基团的直链或支链可被一个或多个杂原子中断,所述杂原子包括氮、氧、硫和磷。被杂原子中断的所述脂肪族基团包括但不限于聚烷氧基,如聚亚烷基二醇、聚胺和聚亚胺。如本文所使用的脂肪族基团可任选地包括另外的取代基。

[0303] 如本文所使用,“烷氧基”意指在烷基与氧原子之间形成的基团,其中氧原子用来将烷氧基连接至母体分子。烷氧基的实例包括但不限于甲氧基、乙氧基、丙氧基、异丙氧基、正丁氧基、仲丁氧基、叔丁氧基、正戊氧基、新戊氧基、正己氧基等。如本文所使用的烷氧基可任选地包括另外的取代基。

[0304] 如本文所使用,“氨基烷基”意指氨基取代的 C_1 - C_{12} 烷基。基团的烷基部分与母体分子形成共价键。氨基可位于任何位置并且氨基烷基可在烷基和/或氨基部分上被另外的取代基取代。

[0305] 如本文所使用,“芳烷基”和“芳基烷基”意指共价连接至C₁-C₁₂烷基的芳香族基团。所得到的芳烷基(或芳基烷基)的烷基部分与母体分子形成共价键。实例包括但不限于苯甲基、苯乙基等。如本文所使用的芳烷基可任选地包括连接至烷基、芳基或形成基团的这两个基团的另外的取代基。

[0306] 如本文所使用,“芳基”和“芳香族”意指具有一个或多个芳环的单环或多环碳环系统基团。芳基的实例包括但不限于苯基、萘基、四氢萘基、茛满基、茛基等。优选的芳环系统在一个或多个环中具有约5至约20个碳原子。如本文所使用的芳基可任选地包括另外的取代基。

[0307] 如本文所使用,“卤代基”和“卤素”意指选自氟、氯、溴和碘的原子。

[0308] 如本文所使用,“杂芳基”和“杂芳香族”意指包含单环或多环芳环、环系统或稠环系统的基团,其中至少一个环为芳香族的并且包括一个或多个杂原子。杂芳基还意图包括稠环系统,所述稠环系统包括其中一个或多个稠环不含有杂原子的系统。杂芳基通常包括一个选自硫、氮或氧的环原子。杂芳基的实例包括但不限于吡啶基、吡嗪基、嘧啶基、吡咯基、吡唑基、咪唑基、噻唑基、噁唑基、异噁唑基、噻二唑基、噁二唑基、噻吩基、呋喃基、喹啉基、异喹啉基、苯并咪唑基、苯并噁唑基、喹喔啉基等。杂芳基可直接或通过连接部分如脂肪族基团或杂原子连接至母体分子。如本文所使用的杂芳基可任选地包括另外的取代基。

[0309] 低聚化合物

[0310] 在某些实施方案中,本发明提供了低聚化合物。在某些实施方案中,所述低聚化合物包含任选地包含一个或多个缀合物和/或端基的寡核苷酸。在某些实施方案中,低聚化合物由寡核苷酸组成。在某些实施方案中,寡核苷酸包含一个或多个化学修饰。所述化学修饰包括对一个或多个核苷的修饰(包括对糖部分和/或核碱基的修饰)和/或对一个或多个核苷间键联的修饰。

[0311] 某些糖部分

[0312] 在某些实施方案中,本发明的低聚化合物包含一个或多个修饰核苷,所述修饰核苷包含修饰的糖部分。相对于仅包含含有天然存在的糖部分的核苷的低聚化合物,包含一个或多个糖修饰的核苷的所述低聚化合物可具有希望的性质,如增强的核酸酶稳定性或增大的与靶核酸的结合亲和力。在某些实施方案中,修饰的糖部分为取代的糖部分。在某些实施方案中,修饰的糖部分为双环或三环糖部分。在某些实施方案中,修饰的糖部分为糖替代物。所述糖替代物可包含对应于取代的糖部分的那些取代的一个或多个取代。

[0313] 在某些实施方案中,修饰的糖部分为包含一个或多个取代基的取代的糖部分,包括但不限于在2'位和/或5'位上的取代基。适于2'-位的糖取代基的实例包括但不限于:2'-F、2'-OCH₃(“OMe”或“O-甲基”)和2'-O(CH₂)₂OCH₃(“MOE”)。在某些实施方案中,2'位上的糖取代基选自烯丙基、氨基、叠氨基、硫代基、O-烯丙基、O-C₁-C₁₀烷基、O-C₁-C₁₀取代的烷基;O-C₁-C₁₀烷氧基;O-C₁-C₁₀取代的烷氧基、OCF₃、O(CH₂)₂SCH₃、O(CH₂)₂-O-N(R_m)(R_n)和O-CH₂-C(=O)-N(R_m)(R_n),其中每个R_m和R_n独立地为H或取代或未取代的C₁-C₁₀烷基。5'-位上的糖取代基的实例包括但不限于:5'-甲基(R或S);5'-乙烯基和5'-甲氧基。在某些实施方案中,取代的糖包含多于一个非桥联糖取代基,例如,2'-F-5'-甲基糖部分(对于另外的5',2'-双取代的糖部分和核苷,参见,例如,PCT国际申请WO 2008/101157)。

[0314] 包含2'-取代的糖部分的核苷称为2'-取代的核苷。在某些实施方案中,2'-取代的

核苷包含选自以下的2'-取代基:卤代基、烯丙基、氨基、叠氮基、O-C₁-C₁₀烷氧基、O-C₁-C₁₀取代的烷氧基、SH、CN、OCN、CF₃、OCF₃、O-烷基、S-烷基或N(R_m)-烷基;O-烯基、S-烯基或N(R_m)-烯基;O-炔基、S-炔基或N(R_m)-炔基;O-亚烷基-O-烷基、炔基、烷芳基、芳烷基、O-烷芳基、O-芳烷基、O(CH₂)₂SCH₃、O-(CH₂)₂-O-N(R_m)(R_n)或O-CH₂-C(=O)-N(R_m)(R_n),其中每个R_m和R_n独立地为H、氨基保护基或取代或未取代的C₁-C₁₀烷基。这些2'-取代基可被独立地选自以下的一个或多个取代基进一步取代:羟基、氨基、烷氧基、羧基、苯甲基、苯基、硝基(NO₂)、巯基、硫代烷氧基(S-烷基)、卤素、烷基、芳基、烯基以及炔基。

[0315] 在某些实施方案中,2'-取代的核苷包含选自以下的2'-取代基:F、NH₂、N₃、OCF₃、O-CH₃、O(CH₂)₃NH₂、CH₂-CH=CH₂、O-CH₂-CH=CH₂、OCH₂CH₂OCH₃、O(CH₂)₂SCH₃、O-(CH₂)₂-O-N(R_m)(R_n)、O(CH₂)₂O(CH₂)₂N(CH₃)₂以及N-取代的乙酰胺(O-CH₂-C(=O)-N(R_m)(R_n),其中每个R_m和R_n独立地为H、氨基保护基或取代或未取代的C₁-C₁₀烷基。

[0316] 在某些实施方案中,2'-取代的核苷包含糖部分,所述糖部分包含选自以下的2'-取代基:F、OCF₃、O-CH₃、OCH₂CH₂OCH₃、O(CH₂)₂SCH₃、O-(CH₂)₂-O-N(CH₃)₂、-O(CH₂)₂O(CH₂)₂N(CH₃)₂以及O-CH₂-C(=O)-N(H)CH₃。

[0317] 在某些实施方案中,2'-取代的核苷包含糖部分,所述糖部分包含选自以下的2'-取代基:F、O-CH₃和OCH₂CH₂OCH₃。

[0318] 某些修饰的糖部分包含桥联糖取代基,所述桥联糖取代基形成第二个环,从而产生双环糖部分。在某些所述实施方案中,双环糖部分在4'呋喃糖环原子与2'呋喃糖环原子之间包含桥联。所述4'至2'糖取代基的实例包括但不限于:-[C(R_a)(R_b)]_n-、-[C(R_a)(R_b)]_n-O-、-C(R_aR_b)-N(R)-O-或-C(R_aR_b)-O-N(R)-;4'-CH₂-2'、4'-(CH₂)₂-2'、4'-(CH₂)₃-2'、4'-(CH₂)₀-2'(LNA);4'-(CH₂)-S-2';4'-(CH₂)₂-O-2'(ENA);4'-CH(CH₃)-O-2'(cEt)和4'-CH(CH₂OCH₃)-O-2'及其类似物(参见,例如,2008年7月15日授权的美国专利7,399,845);4'-C(CH₃)(CH₃)-O-2'及其类似物(参见,例如,2009年1月8日公布的WO2009/006478);4'-CH₂-N(OCH₃)-2'及其类似物(参见,例如,2008年12月11日公布的WO2008/150729);4'-CH₂-O-N(CH₃)-2'(参见,例如,2004年9月2日公布的US2004/0171570);4'-CH₂-O-N(R)-2'以及4'-CH₂-N(R)-O-2',其中每个R独立地为H、保护基或C₁-C₁₂烷基;4'-CH₂-N(R)-O-2',其中R为H、C₁-C₁₂烷基或保护基(参见,2008年9月23日授权的美国专利7,427,672);4'-CH₂-C(H)(CH₃)-2'(参见,例如,Chattopadhyaya等,J.Org.Chem.,2009,74,118-134);以及4'-CH₂-C(=CH₂)-2'及其类似物(参见,2008年12月8日公布的已公布的PCT国际申请WO 2008/154401)。

[0319] 在某些实施方案中,所述4'至2'桥联独立地包含1至4个连接的基团,所述基团独立地选自以下:-[C(R_a)(R_b)]_n-、-C(R_a)=C(R_b)-、-C(R_a)=N-、-C(=NR_a)-、-C(=O)-、-C(=S)-、-O-、-Si(R_a)₂-、-S(=O)_x-以及-N(R_a)-;

[0320] 其中:

[0321] x为0、1或2;

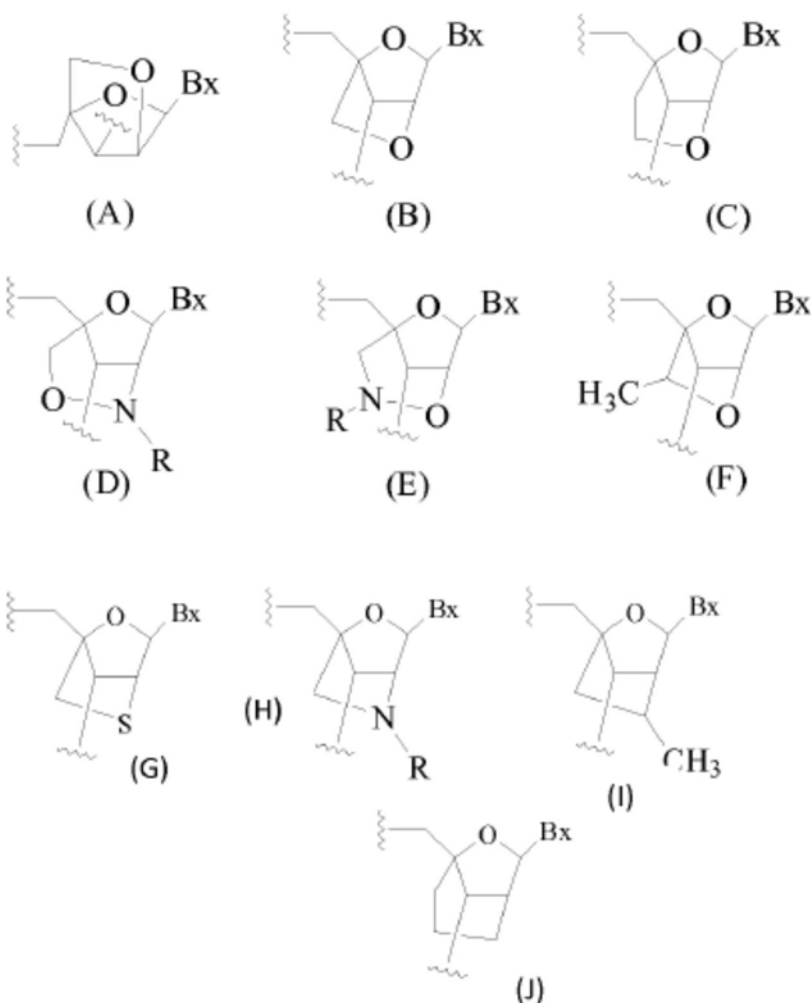
[0322] n为1、2、3或4;

[0323] 每个R_a和R_b独立地为H、保护基、羟基、C₁-C₁₂烷基、取代的C₁-C₁₂烷基、C₂-C₁₂烯基、取代的C₂-C₁₂烯基、C₂-C₁₂炔基、取代的C₂-C₁₂炔基、C₅-C₂₀芳基、取代的C₅-C₂₀芳基、杂环基、取代的杂环基、杂芳基、取代的杂芳基、C₅-C₇脂环基、取代的C₅-C₇脂环基、卤素、OJ₁、NJ₁J₂、SJ₁、N₃、COOJ₁、酰基(C(=O)-H)、取代的酰基、CN、磺酰基(S(=O)₂-J₁)或亚磺酰基(S(=O)-J₁);

并且

[0324] 每个 J_1 和 J_2 独立地为H、 C_1 - C_{12} 烷基、取代的 C_1 - C_{12} 烷基、 C_2 - C_{12} 烯基、取代的 C_2 - C_{12} 烯基、 C_2 - C_{12} 炔基、取代的 C_2 - C_{12} 炔基、 C_5 - C_{20} 芳基、取代的 C_5 - C_{20} 芳基、酰基(C(=O)-H)、取代的酰基、杂环基、取代的杂环基、 C_1 - C_{12} 氨基烷基、取代的 C_1 - C_{12} 氨基烷基或保护基。

[0325] 包含双环糖部分的核苷称为双环核苷或BNA。双环核苷包括但不限于如下所描绘的(A) α -L-亚甲基氧基(4'- CH_2 -O-2') BNA、(B) β -D-亚甲基氧基(4'- CH_2 -O-2') BNA(也称为锁核酸或LNA)、(C) 亚乙基氧基(4'-(CH_2)₂-O-2') BNA、(D) 氨基氧基(4'- CH_2 -O-N(R)-2') BNA、(E) 氧氨基(4'- CH_2 -N(R)-O-2') BNA、(F) 甲基(亚甲基氧基)(4'- CH (CH_3)-O-2') BNA(也称为约束乙基或cEt)、(G) 亚甲基-硫代基(4'- CH_2 -S-2') BNA、(H) 亚甲基-氨基(4'- CH_2 -N(R)-2') BNA、(I) 甲基碳环(4'- CH_2 -CH(CH_3)-2') BNA,以及(J) 丙烯碳环(4'- $(CH_2)_3$ -2') BNA。



[0326]

[0327] 其中Bx为核碱基部分并且R独立地为H、保护基或 C_1 - C_{12} 烷基。

[0328] 另外的双环糖部分为本领域中已知的,例如:Singh等,Chem. Commun., 1998, 4, 455-456; Koshkin等, Tetrahedron, 1998, 54, 3607-3630; Wahlestedt等, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 2000, 97, 5633-5638; Kumar等, Bioorg. Med. Chem. Lett., 1998, 8, 2219-2222; Singh等, J. Org. Chem., 1998, 63, 10035-10039; Srivastava等, J. Am. Chem. Soc., 129 (26) 8362-8379 (2007年7月4日); Elayadi等, Curr. Opin. Inven. Drugs, 2001, 2, 558-561; Braasch等, Chem. Biol., 2001, 8, 1-7; Orum等, Curr. Opin. Mol. Ther., 2001, 3, 239-243; 美国专利号7,053,207、6,268,490、6,770,

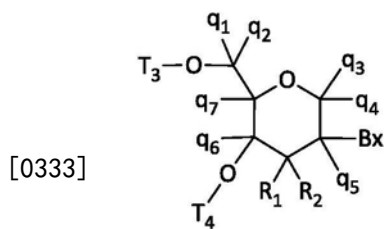
748,6,794,499,7,034,133,6,525,191,6,670,461和7,399,845;WO 2004/106356、WO 1994/14226、WO 2005/021570和WO 2007/134181;美国专利公布号US2004/0171570、US2007/0287831和US2008/0039618;美国专利序列号12/129,154、60/989,574、61/026,995、61/026,998、61/056,564、61/086,231、61/097,787和61/099,844;以及PCT国际申请号PCT/US2008/064591、PCT/US2008/066154和PCT/US2008/068922。

[0329] 在某些实施方案中,双环糖部分和掺入所述双环糖部分的核苷通过异构构型进一步定义。例如,包含4'-2'亚甲基-氧基桥联的核苷可呈 α -L构型或呈 β -D构型。先前,已将 α -L-亚甲基氧基(4'-CH₂-O-2')双环核苷掺入到显示反义活性的反义寡核苷酸中(Frieden等,Nucleic Acids Research,2003,21,6365-6372)。

[0330] 在某些实施方案中,取代的糖部分包含一个或多个非桥联糖取代基和一个或多个桥联糖取代基(例如,5'-取代的糖和4'-2'桥联的糖)。(参见,11/22/07公布的PCT国际申请WO 2007/134181,其中LNA被例如5'-甲基或5'-乙烯基取代)。

[0331] 在某些实施方案中,修饰的糖部分为糖替代物。在某些所述实施方案中,天然存在的糖的氧原子被例如硫、碳或氮原子取代。在某些所述实施方案中,所述修饰的糖部分还包含如上所述的桥联取代基和/或非桥联取代基。例如,某些糖替代物包含4'-硫原子和2'-位(参见,例如,2005年6月16日公布的已公布的美国专利申请US2005/0130923)和/或5'位上的取代。通过另外举例的方式,具有4'-2'桥联的碳环双环核苷已有所描述(参见,例如,Freier等,Nucleic Acids Research,1997,25(22),4429-4443和Albaek等,J.Org.Chem.,2006,71,7731-7740)。

[0332] 在某些实施方案中,糖替代物包含具有除了5个原子以外的环。例如,在某些实施方案中,糖替代物包含六元四氢吡喃。所述四氢吡喃可被进一步修饰或取代。包含所述修饰的四氢吡喃的核苷包括但不限于己糖醇核酸(HNA)、anitol核酸(ANA)、甘露醇核酸(MNA)(参见Leumann,CJ.Bioorg.&Med.Chem.(2002)10:841-854)、氟代HNA(F-HNA)以及具有式VII的那些化合物:



VII

[0334] 其中独立地对于所述至少一种式VII的四氢吡喃核苷类似物中的每一个:

[0335] Bx为核碱基部分;

[0336] T₃和T₄各自独立地为将四氢吡喃核苷类似物连接至反义化合物的核苷间连接基团或T₃和T₄中的一个为将四氢吡喃核苷类似物连接至反义化合物的核苷间连接基团并且T₃和T₄中的另一个为H、羟基保护基、连接的缀合物基团或5'或3'-端基;

[0337] q₁、q₂、q₃、q₄、q₅、q₆和q₇各自独立地为H、C₁-C₆烷基、取代的C₁-C₆烷基、C₂-C₆烯基、取代的C₂-C₆烯基、C₂-C₆炔基或取代的C₂-C₆炔基;并且

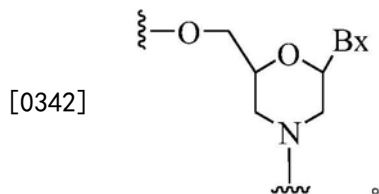
[0338] R₁和R₂中的每一个独立地选自以下:氢、卤素、取代或未取代的烷氧基、NJ₁J₂、SJ₁、

N_3 、 $OC(=X)J_1$ 、 $OC(=X)NJ_1J_2$ 、 $NJ_3C(=X)NJ_1J_2$ 以及 CN ，其中 X 为 O 、 S 或 NJ_1 ，并且每个 J_1 、 J_2 和 J_3 独立地为 H 或 C_1 - C_6 烷基。

[0339] 在某些实施方案中，提供式VII的修饰THP核苷，其中 q_1 、 q_2 、 q_3 、 q_4 、 q_5 、 q_6 和 q_7 各自为 H 。在某些实施方案中， q_1 、 q_2 、 q_3 、 q_4 、 q_5 、 q_6 和 q_7 中的至少一个不是 H 。在某些实施方案中， q_1 、 q_2 、 q_3 、 q_4 、 q_5 、 q_6 和 q_7 中的至少一个为甲基。在某些实施方案中，提供了式VIII的THP核苷，其中 R_1 和 R_2 中的一个为 F 。在某些实施方案中， R_1 为氟代基并且 R_2 为 H ， R_1 为甲氧基并且 R_2 为 H ，并且 R_1 为甲氧基乙氧基并且 R_2 为 H 。

[0340] 许多可用来修饰核苷的其它双环和三环糖和糖替代物环系统也为本领域中已知的(参见，例如，综述文章：Leumann, J.C, Bioorganic&Medicinal Chemistry, 2002, 10, 841-854)。

[0341] 在某些实施方案中，糖替代物包含具有多于5个原子和多于一个杂原子的环。例如，包含吗啉代糖部分的核苷及其在低聚化合物中的用途已被报道(参见例如：Braasch等，Biochemistry, 2002, 41, 4503-4510；和美国专利5,698,685；5,166,315；5,185,444和5,034,506)。如在此所使用，术语“吗啉代”意指具有以下结构的糖替代物：



[0343] 在某些实施方案中，可例如通过添加或改变来自以上吗啉代结构的各种取代基来修饰吗啉代。所述糖替代物在本文中称为“修饰的吗啉代”。

[0344] 还提供了修饰的组合，不限于如2'-F-5'-甲基取代的核苷(对于其它公开的5', 2'-双取代核苷，参见8/21/08公布的PCT国际申请W0 2008/101157)和用S替代核糖基环氧原子以及在2'-位上的进一步取代(参见2005年6月16日公布的已公布的美国专利申请US2005-0130923)或替代地双环核酸的5'-取代(参见11/22/07公布的PCT国际申请W0 2007/134181，其中4'-CH₂-O-2'双环核苷在5'位上被5'-甲基或5'-乙烯基进一步取代)。碳环双环核苷的合成和制备连同其低聚和生物化学研究也已有所描述(参见，例如，Srivastava等，J. Am. Chem. Soc. 2007, 129 (26), 8362-8379)。

[0345] 某些核碱基

[0346] 在某些实施方案中，本发明的核苷包含一个或多个未修饰核碱基。在某些实施方案中，本发明的核苷包含一个或多个修饰核碱基。

[0347] 在某些实施方案中，修饰核碱基选自以下：通用碱基、疏水碱基、混杂碱基、尺寸膨胀碱基以及如本文所定义的氟化碱基。5-取代的嘧啶、6-氮杂嘧啶和N-2、N-6和O-6取代的嘌呤，包括2-氨基丙基腺嘌呤、5-丙炔基尿嘧啶；5-丙炔基胞嘧啶；5-羟甲基胞嘧啶、黄嘌呤、次黄嘌呤、2-氨基腺嘌呤、腺嘌呤和鸟嘌呤的6-甲基和其它烷基衍生物、腺嘌呤和鸟嘌呤的2-丙基和其它烷基衍生物、2-硫代尿嘧啶、2-硫代胸腺嘧啶和2-硫代胞嘧啶、5-卤代尿嘧啶和胞嘧啶、5-丙炔基(-C≡C-CH₃)尿嘧啶和胞嘧啶以及嘧啶碱基的其它炔基衍生物、6-偶氮尿嘧啶、胞嘧啶和胸腺嘧啶、5-尿嘧啶(假尿嘧啶)、4-硫代尿嘧啶、8-卤代基、8-氨基、8-巯基、8-硫代烷基、8-羟基和其它8-取代的腺嘌呤和鸟嘌呤、5-卤代基具体地为5-溴、5-三氟甲基和其它5-取代的尿嘧啶和胞嘧啶、7-甲基鸟嘌呤和7-甲基腺嘌呤、2-F-腺嘌呤、2-

氨基-腺嘌呤、8-氮杂鸟嘌呤和8-氮杂腺嘌呤、7-脱氮鸟嘌呤和7-脱氮腺嘌呤、3-脱氮鸟嘌呤和3-脱氮腺嘌呤、通用碱基、疏水碱基、混杂碱基、尺寸膨胀碱基以及如本文所定义的氟化碱基。另外的修饰核碱基包括三环嘧啶如吩噻嗪胞嘧啶([5,4-b][1,4]苯并噻-2(3H)-酮)、吩噻嗪胞嘧啶(1H-嘧啶并[5,4-b][1,4]苯并噻-2(3H)-酮);G-夹如取代的吩噻嗪胞嘧啶(例如9-(2-氨基乙氧基)-H-嘧啶并[5,4-b][1,4]苯并噻-2(3H)-酮)、咪唑胞嘧啶(2H-嘧啶并[4,5-b]咪唑-2-酮)、吡啶并咪唑胞嘧啶(H-吡啶并[3',2':4,5]吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-酮)。修饰核碱基还可包括其中嘌呤或嘧啶碱基被其它杂环例如7-脱氮-腺嘌呤、7-脱氮鸟嘌呤、2-氨基吡啶和2-吡啶酮替代的那些。另外的核碱基包括公开于美国专利号3,687,808中的那些、公开于The Concise Encyclopedia Of Polymer Science And Engineering,Kroschwitz,J.I.编著,John Wiley&Sons,1990,858-859中的那些;由Englisch等,Angewandte Chemie,国际版,1991,30,613公开的那些;以及由Sanghvi,Y.S.,第15章,Antisense Research and Applications,Crooke,S.T.和Lebleu,B.编著,CRC Press,1993,273-288公开的那些。

[0348] 教导某些上述修饰核碱基以及其它修饰核碱基的制备的代表性美国专利包括但不限于U.S.3,687,808;4,845,205;5,130,302;5,134,066;5,175,273;5,367,066;5,432,272;5,457,187;5,459,255;5,484,908;5,502,177;5,525,711;5,552,540;5,587,469;5,594,121;5,596,091;5,614,617;5,645,985;5,681,941;5,750,692;5,763,588;5,830,653和6,005,096,某些所述美国专利与本申请共有,并且所述美国专利中的每一个均以引用的方式整体并入本文。

[0349] 某些核苷间键联

[0350] 在某些实施方案中,本发明提供了包含连接核苷的低聚化合物。在所述实施方案中,核苷可使用任何核苷间键联连接在一起。通过磷原子的存在或不存在来定义两大类核苷间连接基团。代表性含磷核苷间键联包括但不限于磷酸二酯(P=O)、磷酸三酯、甲基磷酸酯、氨基磷酸酯以及硫代磷酸酯(P=S)。代表性的不含磷的核苷间连接基团包括但不限于亚甲基甲基亚氨基(-CH₂-N(CH₃)-O-CH₂-)、硫二酯(-O-C(O)-S-)、氨基甲硫羧酸酯(-O-C(O)(NH)-S-);硅氧烷(-O-Si(H)₂-O-);以及N,N'-二甲基胍(-CH₂-N(CH₃)-N(CH₃)-)。与天然磷酸二酯键联相比,修饰的键联可用来改变(通常为增加)低聚化合物的核酸酶抗性。在某些实施方案中,具有手性原子的核苷间键联可制备为外消旋混合物或制备为单独的对映异构体。代表性手性键联包括但不限于烷基磷酸酯和硫代磷酸酯。制备含磷和不含磷核苷间键联的方法是本领域技术人员熟知的。

[0351] 本文描述的寡核苷酸含有一个或多个不对称中心并且因此产生对映异构体、非对映异构体和可根据绝对立体化学定义为(R)或(S)、 α 或 β 如对于糖端基异构体或定义为(D)或(L)如对于氨基酸等的其它立体异构构型。在本文提供的反义化合物中包括所有所述可能的异构体以及其外消旋形式和光学纯形式。

[0352] 中性核苷间键联包括但不限于磷酸三酯、甲基磷酸酯、MMI(3'-CH₂-N(CH₃)-O-5')、酰胺-3(3'-CH₂-C(=O)-N(H)-5')、酰胺-4(3'-CH₂-N(H)-C(=O)-5')、甲乙缩醛(3'-O-CH₂-O-5')以及硫代甲乙缩醛(3'-S-CH₂-O-5')。另外的中性核苷间键联包括包含硅氧烷(二烷基硅氧烷)、羧酸酯、羧酰胺、硫化物、磺酸酯以及酰胺的非离子键联(参见例如:Carbohydrate Modifications in Antisense Research;Y.S.Sanghvi和P.D.Cook编著,

ACS座谈会系列580;第3和4章,40-65)。另外的中性核苷间键联包括包含混合的N、O、S和CH₂组成部分的非离子键联。

[0353] 某些基序

[0354] 在某些实施方案中,本发明提供了包含寡核苷酸的低聚化合物。在某些实施方案中,所述寡核苷酸包含一个或多个化学修饰。在某些实施方案中,化学修饰的寡核苷酸包含一个或多个修饰核苷。在某些实施方案中,化学修饰的寡核苷酸包含含有修饰的糖的一个或多个修饰核苷。在某些实施方案中,化学修饰的寡核苷酸包含含有一个或多个修饰的核碱基的一个或多个修饰核苷。在某些实施方案中,化学修饰的寡核苷酸包含一个或多个修饰的核苷间键联。在某些实施方案中,化学修饰(糖修饰、核碱基修饰和/或键联修饰)限定模式或基序。在某些实施方案中,糖部分、核苷间键联和核碱基的化学修饰的模式各自彼此独立。因此,可通过其糖修饰基序、核苷间键联基序和/或核碱基修饰基序来描述寡核苷酸(如本文所使用,核碱基修饰基序描述对核碱基的化学修饰,而与核碱基的序列无关)。

[0355] 某些糖基序

[0356] 在某些实施方案中,寡核苷酸包含以限定的模式或糖修饰基序沿着寡核苷酸或其区域布置的一种或多种类型的修饰的糖部分和/或天然存在的糖部分。所述基序可包括本文讨论的任何糖修饰和/或其它已知的糖修饰。

[0357] 在某些实施方案中,寡核苷酸包含具有缺口聚物糖修饰基序的区域或由所述区域组成,所述缺口聚物糖修饰基序包含两个外部区域或“翼”以及内部区域或“缺口”。缺口聚物基序的三个区域(5'-翼、缺口和3'-翼)形成连续的核苷序列,其中每个翼的核苷的至少一些糖部分不同于缺口的核苷的至少一些糖部分。确切来说,每个翼的核苷的至少最接近缺口的糖部分(5'-翼的最3'核苷和3'-翼的最5'核苷)不同于邻近缺口核苷的糖部分,从而限定了翼与缺口之间的边界。在某些实施方案中,缺口内的糖部分彼此相同。在某些实施方案中,缺口包括一个或多个核苷,所述核苷具有不同于缺口的一个或多个其它核苷的糖部分的糖部分。在某些实施方案中,两翼的糖修饰基序彼此相同(对称的缺口聚物)。在某些实施方案中,5'-翼的糖修饰基序不同于3'-翼的糖修饰基序(不对称的缺口聚物)。在某些实施方案中,寡核苷酸包含翼中的2'-MOE修饰核苷和缺口中的2'-F修饰核苷。

[0358] 在某些实施方案中,寡核苷酸是完全修饰的。在某些所述实施方案中,寡核苷酸是统一修饰的。在某些实施方案中,寡核苷酸是统一的2'-MOE。在某些实施方案中,寡核苷酸是统一的2'-F。在某些实施方案中,寡核苷酸是统一的吗啉代。在某些实施方案中,寡核苷酸是统一的BNA。在某些实施方案中,寡核苷酸是统一的LNA。在某些实施方案中,寡核苷酸是统一的cEt。

[0359] 在某些实施方案中,寡核苷酸包含统一修饰区域和未修饰或不同修饰的其它核苷。在某些实施方案中,统一修饰区域为至少5、10、15或20个核苷的长度。在某些实施方案中,统一区域为2'-MOE区域。在某些实施方案中,统一区域为2'-F区域。在某些实施方案中,统一区域为吗啉代区域。在某些实施方案中,统一区域为BNA区域。在某些实施方案中,统一区域为LNA区域。在某些实施方案中,统一区域为cEt区域。

[0360] 在某些实施方案中,寡核苷酸不包含多于4个连续的未修饰2'-脱氧核苷。在某些实施方案中,包含多于4个连续的2'-脱氧核苷的反义寡核苷酸活化RNase H,从而导致靶RNA裂解。在某些实施方案中,所述裂解通过不具有多于4个连续的2'-脱氧核苷而得以避

免,例如在期望剪接的改变并且期望靶RNA不裂解的情况下。

[0361] 某些核苷间键联基序

[0362] 在某些实施方案中,寡核苷酸包含以限定的模式或修饰的核苷间键联基序沿着寡核苷酸或其区域布置的修饰的核苷间键联。在某些实施方案中,核苷间键联以有缺口的基序布置,如上文对于糖修饰基序所描述。在所述实施方案中,两个翼区的每一个中的核苷间键联不同于缺口区中的核苷间键联。在某些实施方案中,翼中的核苷间键联为磷酸二酯并且缺口中的核苷间键联为硫代磷酸酯。糖修饰基序被独立地选择,使得具有有缺口的核苷间键联基序的所述寡核苷酸可以具有或可不具有有缺口的糖修饰基序并且如果它具有有缺口的糖基序,那么翼和缺口长度可以相同或可不同。

[0363] 在某些实施方案中,寡核苷酸包含具有交替的核苷间键联基序的区域。在某些实施方案中,本发明的寡核苷酸包含具有统一修饰的核苷间键联的区域。在某些所述实施方案中,寡核苷酸包含通过硫代磷酸酯核苷间键联统一连接的区域。在某些实施方案中,寡核苷酸通过硫代磷酸酯统一连接。在某些实施方案中,寡核苷酸的每个核苷间键联选自磷酸二酯和硫代磷酸酯。在某些实施方案中,寡核苷酸的每个核苷间键联选自磷酸二酯和硫代磷酸酯并且至少一个核苷间键联为硫代磷酸酯。

[0364] 在某些实施方案中,寡核苷酸包含至少6个硫代磷酸酯核苷间键联。在某些实施方案中,寡核苷酸包含至少8个硫代磷酸酯核苷间键联。在某些实施方案中,寡核苷酸包含至少10个硫代磷酸酯核苷间键联。在某些实施方案中,寡核苷酸包含至少一个具有至少6个连续的硫代磷酸酯核苷间键联的嵌段。在某些实施方案中,寡核苷酸包含至少一个具有至少8个连续的硫代磷酸酯核苷间键联的嵌段。在某些实施方案中,寡核苷酸包含至少一个具有至少10个连续的硫代磷酸酯核苷间键联的嵌段。在某些实施方案中,寡核苷酸至少包含具有至少一种12个连续的硫代磷酸酯核苷间键联的嵌段。在某些所述实施方案中,至少一个所述嵌段位于寡核苷酸的3'末端。在某些所述实施方案中,至少一个所述嵌段位于寡核苷酸的3'末端的3个核苷内。

[0365] 在某些实施方案中,向CNS递送化合物和组合物,包括修饰寡核苷酸。在某些实施方案中,通过脑室内施用或脑室内团注施用向CNS递送化合物和组合物,包括修饰寡核苷酸。在某些实施方案中,一种或多种修饰寡核苷酸可表现出针对核酸靶标的高效力和高选择性,但是当通过脑室内施用被递送到CNS中时可能具有一定程度的急性毒性。在某些实施方案中,向修饰寡核苷酸的核苷间键联引入一个或多个修饰改善或降低了与通过脑室内施用进行CNS递送相关联的急性毒性。在某些实施方案中,向修饰寡核苷酸引入一个或多个磷酸二酯核苷间键联改善或降低了与通过脑室内施用进行CNS递送相关联的急性毒性。

[0366] 在某些实施方案中,低聚化合物具有选自下表的核苷间键联基序,其中每个“N”代表核苷,每个下标“s”代表硫代磷酸酯核苷间键联,并且每个下标“o”代表磷酸二酯核苷间键联:

[0367] 核苷间键联基序

[0368]	NsNsNoNsNoNsNoNsNoNsNoNsNoNsNoNsNoNsNsN
	NsNoNoNoNsNsNsNsNsNsNsNsNoNoNoNsNsN

[0369] 在某些实施方案中,于修饰寡核苷酸中包括3、4、5、6、7、8或9个磷酸二酯核苷间键联改善或降低了与通过脑室内施用进行CNS递送相关联的急性毒性。

[0370] 某些核碱基修饰基序

[0371] 在某些实施方案中,寡核苷酸包含对以限定的模式或核碱基修饰基序沿着寡核苷酸或其区域布置的核碱基的化学修饰。在某些所述实施方案中,核碱基修饰以有缺口的基序布置。在某些实施方案中,核碱基修饰以交替基序布置。在某些实施方案中,每个核碱基均为修饰的。在某些实施方案中,没有一个核碱基为化学修饰的。

[0372] 在某些实施方案中,寡核苷酸包含修饰核碱基的嵌段。在某些所述实施方案中,嵌段处于寡核苷酸的3'-末端。在某些实施方案中,嵌段在寡核苷酸的3'-末端的3个核苷酸内。在某些所述实施方案中,嵌段处于寡核苷酸的5'-末端。在某些实施方案中,嵌段在寡核苷酸的3'-末端的5个核苷酸内。

[0373] 在某些实施方案中,核碱基修饰随寡核苷酸的具体位置上的天然碱基变化。例如,在某些实施方案中,寡核苷酸中的每个嘌呤或每个嘧啶均为修饰的。在某些实施方案中,每个腺嘌呤均为修饰的。在某些实施方案中,每个鸟嘌呤均为修饰的。在某些实施方案中,每个胸腺嘧啶均为修饰的。在某些实施方案中,每个胞嘧啶均为修饰的。在某些实施方案中,每个尿嘧啶均为修饰的。

[0374] 在某些实施方案中,寡核苷酸中的一些、所有或没有一个胞嘧啶部分为5-甲基胞嘧啶部分。在本文中,5-甲基胞嘧啶不为“修饰核碱基”。因此,除非另外指出,否则未修饰的核碱基包括具有5-甲基的胞嘧啶残基和缺乏5甲基的那些胞嘧啶残基。在某些实施方案中,指定了所有或一些胞嘧啶核碱基的甲基化状态。

[0375] 某些总长度

[0376] 在某些实施方案中,本发明提供了包括具有各种长度范围中的任何一个的寡核苷酸的低聚化合物。在某些实施方案中,本发明提供由X至Y个连接核苷组成的低聚化合物或寡核苷酸,其中X表示范围内的最小核苷数并且Y表示范围内的最大核苷数。在某些所述实施方案中,X和Y各自独立地选自: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和50;前提是 $X \leq Y$ 。例如,在某些实施方案中,本发明提供包含由以下组成的寡核苷酸的低聚化合物:8至9、8至10、8至11、8至12、8至13、8至14、8至15、8至16、8至17、8至18、8至19、8至20、8至21、8至22、8至23、8至24、8至25、8至26、8至27、8至28、8至29、8至30、9至10、9至11、9至12、9至13、9至14、9至15、9至16、9至17、9至18、9至19、9至20、9至21、9至22、9至23、9至24、9至25、9至26、9至27、9至28、9至29、9至30、10至11、10至12、10至13、10至14、10至15、10至16、10至17、10至18、10至19、10至20、10至21、10至22、10至23、10至24、10至25、10至26、10至27、10至28、10至29、10至30、11至12、11至13、11至14、11至15、11至16、11至17、11至18、11至19、11至20、11至21、11至22、11至23、11至24、11至25、11至26、11至27、11至28、11至29、11至30、12至13、12至14、12至15、12至16、12至17、12至18、12至19、12至20、12至21、12至22、12至23、12至24、12至25、12至26、12至27、12至28、12至29、12至30、13至14、13至15、13至16、13至17、13至18、13至19、13至20、13至21、13至22、13至23、13至24、13至25、13至26、13至27、13至28、13至29、13至30、14至15、14至16、14至17、14至18、14至19、14至20、14至21、14至22、14至23、14至24、14至25、14至26、14至27、14至28、14至29、14至30、15至16、15至17、15至18、15至19、15至20、15至21、15至22、15至23、15至24、15至25、15至26、15至27、15至28、15至29、15至30、16至17、16至18、16至19、16至20、16至21、16至22、16至23、16至24、16至25、16至26、16至

27、16至28、16至29、16至30、17至18、17至19、17至20、17至21、17至22、17至23、17至24、17至25、17至26、17至27、17至28、17至29、17至30、18至19、18至20、18至21、18至22、18至23、18至24、18至25、18至26、18至27、18至28、18至29、18至30、19至20、19至21、19至22、19至23、19至24、19至25、19至26、19至29、19至28、19至29、19至30、20至21、20至22、20至23、20至24、20至25、20至26、20至27、20至28、20至29、20至30、21至22、21至23、21至24、21至25、21至26、21至27、21至28、21至29、21至30、22至23、22至24、22至25、22至26、22至27、22至28、22至29、22至30、23至24、23至25、23至26、23至27、23至28、23至29、23至30、24至25、24至26、24至27、24至28、24至29、24至30、25至26、25至27、25至28、25至29、25至30、26至27、26至28、26至29、26至30、27至28、27至29、27至30、28至29、28至30或29至30个连接核苷。在低聚化合物或寡核苷酸的核苷数限制至一定范围或具体数字的实施方案中，低聚化合物或寡核苷酸仍然还可包含另外的其它取代基。例如，包含8-30个核苷的寡核苷酸不包括具有31个核苷的寡核苷酸，但是，除非另外指出，否则这样的寡核苷酸还可包含例如一个或多个缀合物、端基或其它取代基。在某些实施方案中，缺口聚物寡核苷酸具有以上长度中的任一个。

[0377] 本领域的技术人员将理解对于某些基序而言，某些长度可能是不可能的。例如，具有由四个核苷酸组成的5'-翼区、由至少六个核苷酸组成的缺口和由三个核苷酸组成的3'-翼区的缺口聚物不能具有少于13个核苷酸的总长。因此，将理解长度下限为13并且“10-20”中10的限制在该实施方案中没有影响。

[0378] 另外，在通过总长度范围和通过具有指定长度的区域来描述寡核苷酸时并且在区域的指定长度的总和小于总长度范围的上限时，寡核苷酸可具有超出指定区域的那些核苷的另外的核苷，前提是核苷的总数不超过总长度范围的上限。例如，由20-25个连接核苷组成且所述连接核苷包含由5个连接核苷组成的5'-翼、由5个连接核苷组成的3'-翼和由10个连接核苷组成的中央缺口(5+5+10=20)的寡核苷酸可具有不属于5'-翼、3'-翼和缺口的至多5个核苷(在达到25的总长限制之前)。所述另外的核苷可以是5'-翼的5'和/或3'-翼的3'。

[0379] 某些寡核苷酸

[0380] 在某些实施方案中，本发明的寡核苷酸通过其糖基序、核苷间键联基序、核碱基修饰基序和总长度来表征。在某些实施方案中，所述参数各自彼此独立。因此，具有缺口聚物糖基序的寡核苷酸的每个核苷间键联均可作为修饰或未修饰的并且可或不遵循糖修饰的缺口聚物修饰模式。因此，糖-缺口聚物的翼区内的核苷间键联可为彼此相同或不同的，并且可与缺口区的核苷间键联相同或不同。同样，所述糖-缺口聚物寡核苷酸可包含一个或多个独立于糖修饰的缺口聚物模式的修饰核碱基。本文中如果寡核苷酸或低聚化合物的描述没有提及一个或多个参数，那么所述参数不受限制。因此，仅被描述为具有缺口聚物糖基序而没有进一步描述的低聚化合物可具有任何长度、核苷间键联基序和核碱基修饰基序。除非另外指出，否则所有化学修饰与核碱基序列无关。

[0381] 某些缀合物基团

[0382] 在某些实施方案中，通过连接一个或多个缀合物基团来修饰低聚化合物。通常，缀合物基团改变所连接的低聚化合物的一种或多种性质，包括但不限于药效学、药物代谢动力学、稳定性、结合、吸收、细胞分布、细胞摄取、电荷和清除率。缀合物基团在化学领域中按常规使用并且直接地或通过任选的缀合物连接部分或缀合物连接基团连接至母体化合物，

诸如低聚化合物如寡核苷酸。缀合物基团包括但不限于嵌入剂、报道分子、聚胺、聚酰胺、聚乙二醇、硫醚、聚醚、胆固醇、硫代胆固醇、胆酸部分、叶酸、脂质、磷脂、生物素、吩嗪、菲啶、葱醌、金刚烷、吡啶、荧光素、若丹明、香豆素和染料。某些缀合物基团先前已经得到描述,例如:胆固醇部分(Letsinger等,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,1989,86,6553-6556)、胆酸(Manoharan等,Bioorg.Med.Chem.Let.,1994,4,1053-1060)、硫醚例如己基-S-三苯甲基硫醇(Manoharan等,Ann.N.Y.Acad.Sci.,1992,660,306-309;Manoharan等,Bioorg.Med.Chem.Let.,1993,3,2765-2770)、硫代胆固醇(Oberhauser等,Nucl.Acids Res.,1992,20,533-538)、脂肪族链例如十二烷二醇或十一烷基残基(Saison-Behmoaras等,EMBO J.,1991,10,1111-1118;Kabanov等,FEBS Lett.,1990,259,327-330;Svinarchuk等,Biochimie,1993,75,49-54)、磷脂例如二-十六烷基-rac-甘油或三乙基-铵1,2-二-0-十六烷基-rac-甘油-3-H-磷酸酯(Manoharan等,Tetrahedron Lett.,1995,36,3651-3654;Shea等,Nucl.Acids Res.,1990,18,3777-3783)、聚胺或聚乙二醇链(Manoharan等,Nucleosides&Nucleotides,1995,14,969-973)或金刚烷乙酸(Manoharan等,Tetrahedron Lett.,1995,36,3651-3654)、棕榈基部分(Mishra等,Biochim.Biophys.Acta,1995,1264,229-237),或十八胺或己基氨基-羰基-氧胆固醇部分(Crooke等,J.Pharmacol.Exp.Ther.,1996,277,923-937)。

[0383] 在某些实施方案中,缀合物基团包含活性药物,例如阿司匹林(aspirin)、华法林(warfarin)、苯基丁氮酮(phenylbutazone)、布洛芬(ibuprofen)、舒洛芬(suprofen)、芬布芬(fenbufen)、酮洛芬(ketoprofen)、(S)-(+) -普拉洛芬((S)-(+) -pranoprofen)、卡洛芬(carprofen)、丹酰基肌氨酸(dansylsarcosine)、2,3,5-三碘苯甲酸、氟灭酸(flufenamic acid)、亚叶酸(folinic acid)、苯并噻二嗪、氯噻嗪、二氮杂卓、吲哚美辛(indomethicin)、巴比妥酸盐(barbiturate)、头孢菌素(cephalosporin)、磺胺药、抗糖尿病剂、抗菌剂或抗生素。

[0384] 在某些实施方案中,缀合物基团直接连接至低聚化合物中的寡核苷酸。在某些实施方案中,缀合物基团通过缀合物连接基团连接至寡核苷酸。在某些所述实施方案中,缀合物连接基团,包括但不限于双官能连接部分诸如本领域中已知的那些,适用于本文提供的化合物。缀合物连接基团适用于将缀合物基团诸如化学稳定基团、官能团、报道基团和其它基团连接到母体化合物例如像低聚化合物中的选择性位点。通常,双官能连接部分包括具有两种官能团的烃基部分。选择官能团中的一个结合到目标母体分子或化合物,而选择另一个基本上结合任何选择的基团,诸如化学官能团或缀合物基团。在一些实施方案中,缀合物接头包含重复单元诸如乙二醇或氨基酸单元的链结构或低聚物。在双官能连接部分中常规使用的官能团的实例包括但不限于用于与亲核基团反应的亲电子试剂和用于与亲电子基团反应的亲核试剂。在一些实施方案中,双官能连接部分包括氨基、羟基、羧酸、硫醇、不饱和键(例如双键或三键)等。

[0385] 缀合物连接部分的一些非限制性实例包括吡咯烷、8-氨基-3,6-二氧杂辛酸(ADO)、4-(N-马来酰亚胺基甲基)环己烷-1-羧酸琥珀酰亚胺酯(SMCC)和6-氨基己酸(AHEX或AHA)。其它连接基团包括但不限于取代的C₁-C₁₀烷基、取代或未取代的C₂-C₁₀烯基或取代或未取代的C₂-C₁₀炔基,其中优选取代基的非限制性列表包括羟基、氨基、烷氧基、羧基、苄基、苯基、硝基、硫醇、硫代烷氧基、卤素、烷基、芳基、烯基和炔基。

[0386] 缀合物基团可连接至寡核苷酸的任一端或两端(末端缀合物基团)和/或任何内部位置。

[0387] 在某些实施方案中,缀合物基团处于低聚化合物的寡核苷酸的3'-末端。在某些实施方案中,缀合物基团靠近3'-末端。在某些实施方案中,缀合物连接在低聚化合物的3'末端处,但位于一个或多个端基核苷之前。在某些实施方案中,缀合物基团安排在端基内。

[0388] 在某些实施方案中,本发明提供了低聚化合物。在某些实施方案中,低聚化合物包含寡核苷酸。在某些实施方案中,低聚化合物包含寡核苷酸和一个或多个缀合物和/或端基。所述缀合物和/或端基可添加至具有上述任何化学基序的寡核苷酸。因此,例如,包含具有交替核苷的区域的寡核苷酸的低聚化合物可包含端基。

[0389] 反义化合物

[0390] 在某些实施方案中,本发明的低聚化合物为反义化合物。所述反义化合物能够与靶核酸杂交,产生至少一种反义活性。在某些实施方案中,反义化合物与一种或多种靶核酸特异性杂交。在某些实施方案中,特异性杂交的反义化合物具有核碱基序列,所述核碱基序列包含与靶核酸具有足够互补性以允许杂交和产生反义活性并且与任何非靶标具有不足的互补性以便在希望特异性杂交的条件下(例如,在用于体内或治疗用途的生理条件下,和在体外测定的情况下进行测定的条件下)避免与非靶核酸序列的非特异性杂交的区域。

[0391] 在某些实施方案中,本发明提供了包含寡核苷酸的反义化合物,所述寡核苷酸在寡核苷酸的整个长度上与靶核酸完全互补。在某些实施方案中,寡核苷酸与靶核酸99%互补。在某些实施方案中,寡核苷酸与靶核酸95%互补。在某些实施方案中,所述寡核苷酸与靶核酸90%互补。

[0392] 在某些实施方案中,所述寡核苷酸与靶核酸85%互补。在某些实施方案中,所述寡核苷酸与靶核酸80%互补。在某些实施方案中,反义化合物包含与靶核酸完全互补并且在寡核苷酸的整个长度上与靶核酸至少80%互补的区域。在某些所述实施方案中,具有完全互补性的区域的长度为6至14个核碱基。

[0393] 在某些实施方案中,反义化合物和反义寡核苷酸包含单链化合物。在某些实施方案中,反义化合物和反义寡核苷酸包含双链化合物。

[0394] 某些修饰寡核苷酸

[0395] 在某些实施方案中,修饰寡核苷酸具有SEQ ID NO.31的序列。在某些实施方案中,修饰寡核苷酸具有SEQ ID NO.33的序列。在某些实施方案中,修饰寡核苷酸具有SEQ ID NO.34的序列。在某些实施方案中,修饰寡核苷酸具有SEQ ID NO.35的序列。在某些实施方案中,修饰寡核苷酸具有SEQ ID NO.36的序列。在某些实施方案中,修饰寡核苷酸具有SEQ ID NO.37的序列。在某些实施方案中,修饰寡核苷酸具有SEQ ID NO.45的序列。

[0396] 在某些实施方案中,修饰寡核苷酸具有SEQ ID NO.72的序列。在某些实施方案中,修饰寡核苷酸具有SEQ ID NO.79的序列。在某些实施方案中,修饰寡核苷酸具有SEQ ID NO.82的序列。在某些实施方案中,修饰寡核苷酸具有SEQ ID NO.83的序列。在某些实施方案中,修饰寡核苷酸具有SEQ ID NO.97的序列。在某些实施方案中,修饰寡核苷酸具有SEQ ID NO.106的序列。在某些实施方案中,修饰寡核苷酸具有SEQ ID NO.107的序列。在某些实施方案中,修饰寡核苷酸具有SEQ ID NO.112的序列。在某些实施方案中,修饰寡核苷酸具有SEQ ID NO.113的序列。在某些实施方案中,修饰寡核苷酸具有SEQ ID NO.130的序列。在

某些实施方案中,修饰寡核苷酸具有SEQ ID NO.140的序列。

[0397] 在某些实施方案中,修饰寡核苷酸具有SEQ ID NO.141的序列。在某些实施方案中,修饰寡核苷酸具有SEQ ID NO.142的序列。在某些实施方案中,修饰寡核苷酸具有SEQ ID NO.143的序列。在某些实施方案中,修饰寡核苷酸具有SEQ ID NO.144的序列。在某些实施方案中,修饰寡核苷酸具有SEQ ID NO.145的序列。在某些实施方案中,修饰寡核苷酸具有SEQ ID NO.146的序列。在某些实施方案中,修饰寡核苷酸具有SEQ ID NO.147的序列。在某些实施方案中,修饰寡核苷酸具有SEQ ID NO.148的序列。在某些实施方案中,修饰寡核苷酸具有SEQ ID NO.149的序列。

[0398] 在某些实施方案中,修饰寡核苷酸具有SEQ ID NO.150的序列。在某些实施方案中,修饰寡核苷酸具有SEQ ID NO.151的序列。在某些实施方案中,修饰寡核苷酸具有SEQ ID NO.152的序列。在某些实施方案中,修饰寡核苷酸具有SEQ ID NO.153的序列。在某些实施方案中,修饰寡核苷酸具有SEQ ID NO.157的序列。在某些实施方案中,修饰寡核苷酸具有SEQ ID NO.158的序列。在某些实施方案中,修饰寡核苷酸具有SEQ ID NO.160的序列。在某些实施方案中,修饰寡核苷酸具有SEQ ID NO.200的序列。

[0399] 与神经变性病相关联的某些途经和机制

[0400] 在某些实施方案中,神经变性综合征或病症可以是与Tau相关联的任何神经变性综合征或病症。与Tau相关联的神经变性病症的非限制性实例包括阿尔茨海默氏病、进行性核上性麻痹、拳击员痴呆、额颞痴呆、与染色体连锁的帕金森综合征、Lytico-Bodig病、缠结主导的痴呆、神经节神经胶质瘤、神经节细胞瘤、脑膜血管瘤病、亚急性硬化性全脑炎、铅毒性脑病、结节性硬化症、哈-斯二氏病、皮克氏病、皮质基底节变性、嗜银颗粒性疾病、核上性麻痹、皮质基底节变性、额颞痴呆或额颞叶变性。在一些实施方案中,本发明的方法包括修饰额颞痴呆(FTD)。在其它实施方案中,本发明的方法包括修饰阿尔茨海默氏病(AD)。在其它实施方案中,本发明的方法包括修饰进行性核上性麻痹。在其它实施方案中,本发明的方法包括修饰皮质基底节变性。

[0401] 在某些实施方案中,本文描述了通过改变核酸编码Tau的剪接来修饰神经变性综合征的组合物和方法。Tau是存在于多种组织中的蛋白,但在神经元的轴突中特别丰富。Tau的主要功能是结合并稳定微管,微管是涉及有丝分裂、胞质分裂和囊泡转运的细胞骨架的重要结构组分。在人体内,存在通过外显子2、3和10的可变剪接所产生的六种Tau同工型。蛋白质N端处外显子2和3的剪接导致零个、一个或两个29氨基酸酸性结构域的保留并且分别称作0N、1N或2N Tau。在C端的外显子10的保留导致由外显子10编码的微管结合结构域的保留。因为在Tau中的别处存在3个微管结合结构域,所以这个Tau同工型(包括有外显子10)被称为4R Tau,其中R是指微管结合结构域的重复的数目。(图1)。没有外显子10的Tau称为3R Tau。在健康受试者中,3R:4R Tau之比是受发育调节的,其中胎儿组织几乎只表达3R Tau,而成年人体组织表达大约相等水平的3R/4R Tau。偏离3R/4R Tau的正常比率是神经变性综合征诸如FTD Tau蛋白病的特征。

[0402] 在某些实施方案中,受试者的中枢神经系统中的4R:3R Tau比率可以是正常的、低的或高的。如本文所使用,中枢神经系统中的“正常4R:3R Tau比率”表示与来自相同物种和大约相同年龄且未遭受神经变性疾病的受试者的中枢神经系统中的4R:3R Tau比率基本相同的中枢神经系统中的4R:3R Tau比率。在某些实施方案中,某些反义寡核苷酸组合物和/

或方法减少受试者的中枢神经系统中的正常4R:3R Tau比率。在某些实施方案中,某些反义寡核苷酸组合物和/或方法减少受试者的中枢神经系统中的低4R:3R Tau比率。

[0403] 在某些实施方案中,某些反义寡核苷酸组合物和/或方法减少受试者的中枢神经系统中的高4R:3R Tau比率。在某些实施方案中,某些反义寡核苷酸组合物和/或方法减少受试者中因核酸编码Tau的剪接缺陷造成的高4R:3R Tau比率。受试者中的核酸编码Tau的剪接缺陷可例如由改变核酸编码Tau的剪接且导致高4R:3R Tau比率的基因突变造成。突变可以是产生新的反常的剪接元件的取代突变或缺失突变。可改变核酸编码Tau的剪接且导致高4R:3R Tau比率的基因突变的非限制性实例可包括N279K、P301S、280、L284L、N296H、N296N、296N、P301S、G303V、E10+11、E10+12、E10+13、E+10+14和E10+16以及E10+19。

[0404] 在某些实施方案中,反义寡核苷酸的施用通过改变核酸编码Tau的剪接来减少受试者的中枢神经系统中的4R:3R Tau比率。

[0405] 在某些实施方案中,增加Tau转录物的外显子10的排除抑制了一种或多种tau相关病症。在某些实施方案中,tau相关病症可以是以下中的任一种:阿尔茨海默氏病、额颞痴呆(FTD)、FTDP-17、进行性核上性麻痹(PSP)、慢性创伤性脑病(CTE)、皮质基底节变性(CBD)、癫痫、Dravet综合征、拳击员痴呆、与染色体连锁的帕金森综合征、Lytico-Bodig病、缠结主导的痴呆、神经节神经胶质瘤、神经节细胞瘤、脑膜血管瘤病、亚急性硬化性全脑炎、铅毒性脑病、结节性硬化症、哈-斯二氏病、皮克氏病、嗜银颗粒性疾病、核上性麻痹、皮质基底变性或额颞叶变性。

[0406] 某些靶核酸和机制

[0407] 在某些实施方案中,反义化合物包含或由包含与靶核酸互补的区域的寡核苷酸组成。在某些实施方案中,靶核酸为内源性RNA分子。在某些实施方案中,靶核酸为前体mRNA。在某些实施方案中,靶核酸为tau转录物。在某些实施方案中,靶RNA为Tau前体mRNA。

[0408] 在某些实施方案中,反义化合物与Tau前体mRNA的区域互补。在某些实施方案中,反义化合物在包含编码4R同工型的外显子的Tau前体mRNA的区域内互补。在某些实施方案中,反义化合物与包含内含子-外显子剪接点的Tau前体mRNA的区域互补。在某些实施方案中,反义化合物与包含邻近外显子10的内含子-外显子剪接点的Tau前体mRNA的区域互补。在某些实施方案中,反义化合物与包含位于内含子9与外显子10之间的内含子-外显子剪接点的Tau前体mRNA的区域互补。在某些实施方案中,反义化合物与包含位于外显子10与内含子10之间的内含子-外显子剪接点的Tau前体mRNA的区域互补。在某些实施方案中,反义化合物在由外显子10组成的Tau前体mRNA的区域内互补。

[0409] 在某些实施方案中,反义化合物在包含外显子10内的外显子剪接沉默子的Tau前体mRNA的区域内互补。在某些实施方案中,反义化合物在包含外显子10内的外显子剪接增强子的Tau前体mRNA的区域内互补。

[0410] 在某些实施方案中,一种反义化合物包含修饰寡核苷酸,所述修饰寡核苷酸是由8至30个连接核苷组成且具有包含含有至少8个连续核碱基的互补区域的核碱基序列,所述互补区域与Tau转录物的等长度靶区域互补。

[0411] 在某些实施方案中,靶区域在SEQ ID NO.:1的核碱基121708和核碱基122044之内。在某些实施方案中,靶区域在SEQ ID NO.:1的核碱基121796和核碱基122044之内。在某些实施方案中,靶区域在SEQ ID NO.:1的核碱基121796和核碱基121885之内。在某些实施

方案中,靶区域在SEQ ID NO.:1的核碱基121873和核碱基121898之内。在某些实施方案中,靶区域在SEQ ID NO.:1的核碱基121869和核碱基121943之内。在某些实施方案中,靶区域在SEQ ID NO.:1的核碱基122020和核碱基122044之内。在某些实施方案中,靶区域在SEQ ID NO.:1的核碱基121881和核碱基121898之内。在某些实施方案中,靶区域在SEQ ID NO.:1的核碱基121880和核碱基121897之内。在某些实施方案中,靶区域在SEQ ID NO.:1的核碱基121879和核碱基121896之内。

[0412] 在某些实施方案中,靶区域在SEQ ID NO.:1的核碱基121878和核碱基121895之内。在某些实施方案中,靶区域在SEQ ID NO.:1的核碱基121877和核碱基121894之内。在某些实施方案中,靶区域在SEQ ID NO.:1的核碱基121876和核碱基121893之内。在某些实施方案中,靶区域在SEQ ID NO.:1的核碱基121875和核碱基121892之内。在某些实施方案中,靶区域在SEQ ID NO.:1的核碱基121874和核碱基121891之内。在某些实施方案中,靶区域在SEQ ID NO.:1的核碱基121873和核碱基121890之内。

[0413] 在某些实施方案中,反义寡核苷酸调节前体mRNA的剪接。在某些实施方案中,反义寡核苷酸调节Tau前体mRNA的剪接。在某些实施方案中,反义寡核苷酸增加Tau 3R mRNA的量。在某些实施方案中,反义寡核苷酸增加Tau mRNA中外显子10的排除。在某些实施方案中,反义寡核苷酸减少Tau mRNA中外显子10的保留。在某些实施方案中,反义寡核苷酸增加3R Tau mRNA的量。在某些实施方案中,反义寡核苷酸减少4R Tau mRNA的量。

[0414] 在某些实施方案中,期望改变Tau前体mRNA的剪接以排除外显子10。通过改变Tau前体mRNA的剪接来排除外显子10,3R Tau的表达将增加并且4R Tau的表达将减少。在某些实施方案中,期望改变Tau前体mRNA的剪接以减少4R Tau的表达。

[0415] 在某些实施方案中,反义寡核苷酸减少Tau 3R mRNA的量。在某些实施方案中,反义寡核苷酸减少Tau mRNA中外显子10的排除。在某些实施方案中,反义寡核苷酸增加Tau mRNA中外显子10的保留。在某些实施方案中,反义寡核苷酸减少3R Tau mRNA的量。在某些实施方案中,反义寡核苷酸增加4R Tau mRNA的量。在某些实施方案中,期望改变Tau前体mRNA的剪接来包括外显子10,例如以便产生小鼠或动物模型中的表型效应。

[0416] 某些药物组合物

[0417] 在某些实施方案中,本发明提供了包含一种或多种反义化合物的药物组合物。在某些实施方案中,所述药物组合物包含合适的药学上可接受的稀释剂或载体。在某些实施方案中,药物组合物包含无菌盐水溶液和一种或多种反义化合物。在某些实施方案中,所述药物组合物由无菌盐水溶液和一种或多种反义化合物组成。在某些实施方案中,无菌盐水为药用级盐水。在某些实施方案中,药物组合物包含一种或多种反义化合物和无菌水。在某些实施方案中,药物组合物由一种或多种反义化合物和无菌水组成。在某些实施方案中,无菌盐水为药用级水。在某些实施方案中,药物组合物包含一种或多种反义化合物和磷酸盐缓冲盐水(PBS)。在某些实施方案中,药物组合物由一种或多种反义化合物和无菌磷酸盐缓冲盐水(PBS)组成。在某些实施方案中,无菌盐水为药用级PBS。

[0418] 在某些实施方案中,反义化合物可与药学上可接受的活性物质和/或惰性物质混合用于制备药物组合物或制剂。组合物和用于配制药物组合物的方法取决于许多标准,包括但不限于施用途径、疾病的程度或待施用的剂量。

[0419] 包含反义化合物的药物组合物涵盖任何药学上可接受的盐、酯或所述酯的盐。在

某些实施方案中,包含反义化合物的药物组合物包含一种或多种寡核苷酸,当向动物(包括人)施用,所述一种或多种寡核苷酸能够(直接地或间接地)提供生物活性代谢物或其残余物。因此,例如,本公开还涉及反义化合物的药学上可接受的盐、前药、所述前药的药学上可接受的盐以及其它生物等效物。合适的药学上可接受的盐包括但不限于钠盐和钾盐。

[0420] 前药可包括在低聚化合物的一端或两端上并入可由体内内源性核酸酶裂解而形成活性反义低聚化合物的额外核苷。

[0421] 脂质部分已用于各种方法中的核酸疗法中。在某些所述方法中,将核酸引入到由阳离子脂质和中性脂质的混合物制成的预先形成的脂质体或脂质复合物中。在某些方法中,在不存在中性脂质的情况下形成具有单阳离子脂质或聚阳离子脂质的DNA复合物。在某些实施方案中,对脂质部分进行选择,以增加药剂至具体细胞或组织的分布。在某些实施方案中,对脂质部分进行选择,以增加药剂至脂肪组织的分布。在某些实施方案中,对脂质部分进行选择,以增加药剂至肌肉组织的分布。

[0422] 在某些实施方案中,本文提供的药物组合物包含一种或多种修饰寡核苷酸和一种或多种赋形剂。在某些所述实施方案中,赋形剂选自水、盐溶液、醇、聚乙二醇、明胶、乳糖、淀粉酶、硬脂酸镁、滑石、硅酸、粘性石蜡、羟甲基纤维素以及聚乙烯吡咯烷酮。

[0423] 在某些实施方案中,本文提供的药物组合物包含递送系统。递送系统的实例包括但不限于脂质体和乳剂。某些递送系统有用于制备某些药物组合物,所述药物组合物包括包含疏水化合物的那些。在某些实施方案中,使用了某些有机溶剂如二甲亚砜。

[0424] 在某些实施方案中,本文提供的药物组合物包含一种或多种经设计用来将一种或多种本发明药剂递送到特定组织或细胞类型的组织特异性递送分子。例如,在某些实施方案中,药物组合物包括涂覆有组织特异性抗体的脂质体。

[0425] 在某些实施方案中,本文提供的药物组合物包含共溶剂系统。某些所述共溶剂系统包含例如苯甲醇、非极性表面活性剂、水可混溶的有机聚合物以及水相。在某些实施方案中,所述共溶剂系统用于疏水化合物。所述共溶剂系统的非限制性实例为VPD共溶剂系统,其为包含3%w/v苯甲醇、8%w/v非极性表面活性剂聚山梨酯80TM和65%w/v聚乙二醇300的无水乙醇溶液。所述共溶剂系统的比例可在不显著改变其溶解度和毒性特征的情况下明显改变。此外,共溶剂组分的身份可改变;例如,可使用其它表面活性剂替代聚山梨酯80TM;可改变聚乙二醇的分数大小;其它生物相容的聚合物可替代聚乙二醇,例如聚乙烯吡咯烷酮;并且其它糖或多糖可取代右旋糖。

[0426] 在某些实施方案中,本文提供的药物组合物被制备用于经口施用。在某些实施方案中,药物组合物被制备用于经颊施用。

[0427] 在某些实施方案中,药物组合物被制备用于通过注射(例如,静脉内、皮下、肌肉内等)施用。在某些所述实施方案中,药物组合物包含载体并且配制在水溶液中,如水或生理上相容的缓冲液如汉克斯溶液、林格氏溶液或生理盐水缓冲液。在某些实施方案中,包括其它成分(例如,帮助溶解或充当防腐剂的成分)。在某些实施方案中,使用适当的液体载体、悬浮剂等制备可注射悬浮液。某些注射用药物组合物以单位剂型呈现,例如在安瓿中或在多剂量容器中。某些注射用药物组合物为油性或水性媒介物中的悬浮液、溶液或乳液,并且可含有配制剂,如悬浮剂、稳定剂和/或分散剂。某些适用于注射用药物组合物的溶剂包括但不限于亲脂溶剂和脂肪油(如芝麻油)、合成脂肪酸酯(如油酸乙酯或甘油三酯)以及脂质

体。水性注射悬浮液可含有增加悬浮液粘度的物质，如羧甲基纤维素钠、山梨醇或右旋糖酐。任选地，所述悬浮液还可含有合适的稳定剂或增加药剂溶解度的试剂，以允许制备高度浓缩的溶液。

[0428] 在某些实施方案中，制备药物组合物用于透粘膜施用。在某些所述实施方案中，在配制中使用适用于待渗透的屏障的渗透剂。所述渗透剂通常为本领域中已知的。

[0429] 在某些实施方案中，本文提供的药物组合物包含治疗有效量的寡核苷酸。在某些实施方案中，治疗有效量足以预防、减轻或改善疾病的症状或延长正在治疗的受试者的存活。确定治疗有效量完全在本领域技术人员的能力范围内。

[0430] 在某些实施方案中，本文提供的一种或多种修饰寡核苷酸被配制成前药。在某些实施方案中，当体内施用时，前药化学转化为寡核苷酸的生物学、药学或治疗学上更具活性的形式。在某些实施方案中，前药为有用的，因为它们比对应的活性形式更容易施用。例如，在某些情况下，前药可比对应的活性形式生物利用度更高（例如，通过经口施用）。在某些情况下，与对应的活性形式相比，前药可具有改进的溶解度。在某些实施方案中，前药比对应的活性形式水溶性更小。在某些情况下，所述前药具有优越的跨越细胞膜传输的能力，其中水溶性不利于迁移性。在某些实施方案中，前药为酯。在某些所述实施方案中，当施用时酯被代谢水解为羧酸。在某些情况下，含有羧酸的化合物为对应的活性形式。在某些实施方案中，前药包含结合至酸基团的短肽（聚氨基酸）。在某些所述实施方案中，当施用时肽裂解以形成对应的活性形式。

[0431] 在某些实施方案中，本发明提供了用于减少细胞中靶核酸的量或活性的组合物和方法。在某些实施方案中，细胞在动物中。在某些实施方案中，动物为哺乳动物。在某些实施方案中，动物为啮齿动物。在某些实施方案中，动物为灵长类动物。在某些实施方案中，动物为非人灵长类动物。在某些实施方案中，动物为人。

[0432] 在某些实施方案中，本发明提供了向动物施用包含本发明的低聚化合物的药物组合物的方法。合适的施用途径包括但不限于经口、直肠、透粘膜、肠、肠内、局部、栓剂、通过吸入、鞘内、脑室内、腹膜内、鼻内、眼内、瘤内以及肠胃外（例如，静脉内、肌肉内、髓内和皮下）。在某些实施方案中，施用鞘内药物（pharmaceutical intrathecal）以实现局部暴露而非全身暴露。例如，可将药物组合物直接注射在希望作用的区域中（例如，到眼部、耳部中）。

[0433] 在某些实施方案中，向具有至少一种Tau相关病症的动物施用药物组合物。在某些实施方案中，所述施用导致4R同工型表达减少。在某些实施方案中，向具有与Tau相关病症相关联的至少一种症状的动物施用药物组合物。在某些实施方案中，所述施用导致至少一种症状的改善。在某些实施方案中，药物组合物向动物的施用导致动物细胞中4R mRNA的减少。在某些实施方案中，所述施用导致3R mRNA的增加。在某些实施方案中，所述施用导致4R蛋白的减少和3R蛋白的增加。在某些实施方案中，3R蛋白相对于4R蛋白是优选的。在某些实施方案中，某些反义寡核苷酸的施用延迟了一种或多种Tau相关病症的发作。在某些实施方案中，某些反义寡核苷酸的施用预防或减少了中风发作。在某些实施方案中，某些反义寡核苷酸的施用致使CNS中4R蛋白的量减少。在某些实施方案中，某些反义寡核苷酸的施用挽救了细胞表型。

[0434] 非限制性公开并且以引用的方式并入

[0435] 虽然已根据某些实施方案具体描述了本文所述的某些化合物、组合物和方法，但

以下实施例仅用以说明本文所述的化合物并且不意图限制所述化合物。本申请中引用的每个参考文献、GenBank登录号和类似物均以引用的方式整体并入本文。

[0436] 虽然在要求时随附本文件的序列列表将每个序列鉴定为“RNA”或“DNA”，但实际上，那些序列可用任何化学修饰组合来修饰。本领域技术人员将容易了解，在某些情况下，这种命名为“RNA”或“DNA”来描述修饰寡核苷酸是任意的。例如，包含含有2' -OH糖部分和胸腺嘧啶碱基的核苷的寡核苷酸可被描述为具有修饰的糖(对于DNA的天然2' -H为2' -OH)的DNA或具有修饰碱基(对于RNA的天然尿嘧啶为胸腺嘧啶(甲基化尿嘧啶))的RNA。

[0437] 因此，本文提供的核酸序列(包括但不限于序列列表中的那些)意图涵盖含有任何组合的天然或修饰RNA和/或DNA的核酸，包括但不限于具有修饰核碱基的所述核酸。通过进一步举例，并且没有限制地，具有核碱基序列“ATCGATCG”的低聚化合物包括具有此类核碱基序列(不论经修饰或未经修饰)的任何低聚化合物，其包括(但不限于)此类包含RNA碱基的化合物，诸如那些具有序列“AUCGAUCG”的化合物和那些具有一些DNA碱基和一些RNA碱基的化合物，诸如“AUCGATCG”，以及具有其它修饰或天然存在碱基的低聚化合物，诸如“AT^mC GAUCG”，其中^mC表示在5位置处包含甲基的胞嘧啶碱基。

[0438] 本文还提供了以下实施方案：

[0439] 实施方案1.一种包含修饰寡核苷酸的化合物，所述修饰寡核苷酸是由8至30个连接核苷组成且具有包含含有至少8个连续核碱基的互补区域的核碱基序列，所述互补区域与Tau转录物的等长度靶区域互补。

[0440] 实施方案2.如实施方案1所述的化合物，其中所述修饰寡核苷酸的所述互补区域与所述靶区域100%互补。

[0441] 实施方案3.如实施方案1或2所述的化合物，其中所述修饰寡核苷酸的所述核碱基序列的所述互补区域包含至少10个连续核碱基。

[0442] 实施方案4.如实施方案1或2所述的化合物，其中所述修饰寡核苷酸的所述核碱基序列的所述互补区域包含至少15个连续核碱基。

[0443] 实施方案5.如实施方案1或2所述的化合物，其中所述修饰寡核苷酸的所述核碱基序列的所述互补区域包含至少18个连续核碱基。

[0444] 实施方案6.如实施方案1-5中任一项所述的化合物，其中所述修饰寡核苷酸的所述核碱基序列，如在所述寡核苷酸的整个长度上所测量的，与所述Tau转录物的等长度区域为至少80%互补。

[0445] 实施方案7.如实施方案1-5中任一项所述的化合物，其中所述修饰寡核苷酸的所述核碱基序列，如在所述寡核苷酸的整个长度上所测量的，与所述Tau转录物的等长度区域为至少90%互补。

[0446] 实施方案8.如实施方案1-5中任一项所述的化合物，其中所述修饰寡核苷酸的所述核碱基序列，如在所述寡核苷酸的整个长度上所测量的，与所述Tau转录物的等长度区域为100%互补。

[0447] 实施方案9.如实施方案1-8中任一项所述的化合物，其中所述靶区域是在所述Tau转录物的外显子10之内。

[0448] 实施方案10.如实施方案1-8中任一项所述的化合物，其中所述靶区域是在所述Tau转录物的内含子9之内。

- [0449] 实施方案11.如实施方案1-8中任一项所述的化合物,其中所述靶区域是在所述Tau转录物的内含子10之内。
- [0450] 实施方案12.如实施方案1-8中任一项所述的化合物,其中所述靶区域包含一部分内含子9和一部分外显子10。
- [0451] 实施方案13.如实施方案1-8中任一项所述的化合物,其中所述靶区域包含一部分外显子10和一部分内含子10。
- [0452] 实施方案14.如实施方案1-8中任一项所述的化合物,其中所述靶区域包含一部分外显子10和在外显子10的5'末端的内含子的一部分。
- [0453] 实施方案15.如实施方案1-8中任一项所述的化合物,其中所述靶区域包含一部分外显子10和在外显子10的3'末端的内含子的一部分。
- [0454] 实施方案16.如实施方案1-15中任一项所述的化合物,其中所述靶区域是在SEQ ID NO.:1的核碱基121708和核碱基122044之内。
- [0455] 实施方案17.如实施方案1-9中任一项所述的化合物,其中所述靶区域是在SEQ ID NO.:1的核碱基121796和核碱基122044之内。
- [0456] 实施方案18.如实施方案1-9中任一项所述的化合物,其中所述靶区域是在SEQ ID NO.:1的核碱基121796和核碱基121885之内。
- [0457] 实施方案19.如实施方案1-9中任一项所述的化合物,其中所述靶区域是在SEQ ID NO.:1的核碱基121873和核碱基121898之内。
- [0458] 实施方案20.如实施方案1-9中任一项所述的化合物,其中所述靶区域是在SEQ ID NO.:1的核碱基121869和核碱基121943之内。
- [0459] 实施方案21.如实施方案1-9中任一项所述的化合物,其中所述靶区域是在SEQ ID NO.:1的核碱基122020和核碱基122044之内。
- [0460] 实施方案22.如实施方案1-9中任一项所述的化合物,其中所述靶区域是在SEQ ID NO.:1的核碱基121881和核碱基121898之内。
- [0461] 实施方案23.如实施方案1-9中任一项所述的化合物,其中所述靶区域是在SEQ ID NO.:1的核碱基121880和核碱基121897之内。
- [0462] 实施方案24.如实施方案1-9中任一项所述的化合物,其中所述靶区域是在SEQ ID NO.:1的核碱基121879和核碱基121896之内。
- [0463] 实施方案25.如实施方案1-9中任一项所述的化合物,其中所述靶区域是在SEQ ID NO.:1的核碱基121878和核碱基121895之内。
- [0464] 实施方案26.如实施方案1-9中任一项所述的化合物,其中所述靶区域是在SEQ ID NO.:1的核碱基121877和核碱基121894之内。
- [0465] 实施方案27.如实施方案1-9中任一项所述的化合物,其中所述靶区域是在SEQ ID NO.:1的核碱基121876和核碱基121893之内。
- [0466] 实施方案28.如实施方案1-9中任一项所述的化合物,其中所述靶区域是在SEQ ID NO.:1的核碱基121875和核碱基121892之内。
- [0467] 实施方案29.如实施方案1-9中任一项所述的化合物,其中所述靶区域是在SEQ ID NO.:1的核碱基121874和核碱基121891之内。
- [0468] 实施方案30.如实施方案1-9中任一项所述的化合物,其中所述靶区域是在SEQ ID

NO.:1的核碱基121873和核碱基121890之内。

[0469] 实施方案31.如实施方案1-15中任一项所述的化合物,其中所述修饰寡核苷酸的所述核碱基序列包含SEQ ID NO:8-200中的任一个的核碱基序列。

[0470] 实施方案32.如实施方案1-15中任一项所述的化合物,其中所述修饰寡核苷酸的所述核碱基序列由SEQ ID NO:8-200中的任一个的核碱基序列组成。

[0471] 实施方案33.如实施方案1-15中任一项所述的化合物,其中所述修饰寡核苷酸的所述核碱基序列包含SEQ ID NO:33、34、147、148、149、150、151、152或153中的任一个的核碱基序列。

[0472] 实施方案34.如实施方案1-15中任一项所述的化合物,其中所述修饰寡核苷酸的所述核碱基序列由SEQ ID NO:33、34、147、148、149、150、151、152或153中的任一个的核碱基序列组成。

[0473] 实施方案35.如实施方案1-15中任一项所述的化合物,其中所述修饰寡核苷酸的所述核碱基序列包含SEQ ID NO:31、33、34、35、36、37、45、72、79、82、83、97、106、107、112、113、130、140、141、142、143、144、145、146、147、148、149、150、151、152、153、154、157、158、160或200中的任一个的核碱基序列。

[0474] 实施方案36.如实施方案1-15中任一项所述的化合物,其中所述修饰寡核苷酸的所述核碱基序列由SEQ ID NO:31、33、34、35、36、37、45、72、79、82、83、97、106、107、112、113、130、140、141、142、143、144、145、146、147、148、149、150、151、152、153、154、157、158、160或200中的任一个的核碱基序列组成。

[0475] 实施方案37.如实施方案1-36中任一项所述的化合物,其中所述修饰寡核苷酸包含至少一个修饰核苷。

[0476] 实施方案38.如实施方案37所述的化合物,其中至少一个修饰核苷包含修饰的糖部分。

[0477] 实施方案39.如实施方案37所述的化合物,其中至少一个修饰的糖部分为2'-取代的糖部分。

[0478] 实施方案40.如实施方案39所述的化合物,其中至少一个2'-取代的糖部分的2'-取代基选自:2'-OMe、2'-F和2'-MOE。

[0479] 实施方案41.如实施方案39所述的化合物,其中至少一个2'-取代的糖部分的2'-取代基为2'-MOE。

[0480] 实施方案42.如实施方案37-38中任一项所述的化合物,其中至少一个修饰的糖部分为双环糖部分。

[0481] 实施方案43.如实施方案42所述的化合物,其中至少一个双环糖部分为LNA或cEt。

[0482] 实施方案44.如实施方案37-43中任一项所述的化合物,其中至少一个糖部分为糖替代物。

[0483] 实施方案45.如实施方案44所述的化合物,其中至少一个糖替代物为吗啉代。

[0484] 实施方案46.如实施方案44所述的化合物,其中至少一个糖替代物为修饰吗啉代。

[0485] 实施方案47.如实施方案1-46中任一项所述的化合物,其中所述修饰寡核苷酸包含至少5个修饰核苷,所述修饰核苷各自独立地包含修饰的糖部分。

[0486] 实施方案48.如实施方案47所述的化合物,其中所述修饰寡核苷酸包含至少10个

修饰核苷,所述修饰核苷各自独立地包含修饰的糖部分。

[0487] 实施方案49.如实施方案47所述的化合物,其中所述修饰寡核苷酸包含至少15个修饰核苷,所述修饰核苷各自独立地包含修饰的糖部分。

[0488] 实施方案50.如实施方案47所述的化合物,其中所述修饰寡核苷酸的每个核苷为修饰核苷并且各自独立地包含修饰的糖部分,其中每个修饰核苷的所述修饰的糖部分各自彼此相同。

[0489] 实施方案51.如实施方案47所述的化合物,其中所述修饰寡核苷酸的每个核苷为修饰核苷,所述修饰核苷各自独立地包含修饰的糖部分。

[0490] 实施方案52.如实施方案1-51中任一项所述的化合物,其中所述修饰寡核苷酸包含至少两个修饰核苷,所述修饰核苷包含彼此相同的修饰的糖部分。

[0491] 实施方案53.如实施方案1-52中任一项所述的化合物,其中所述修饰寡核苷酸包含至少两个修饰核苷,所述修饰核苷包含彼此不同的修饰的糖部分。

[0492] 实施方案54.如实施方案1-53中任一项所述的化合物,其中所述修饰寡核苷酸包含含有至少5个连续修饰核苷的修饰区域。

[0493] 实施方案55.如实施方案54所述的化合物,其中所述修饰寡核苷酸包含含有至少10个连续修饰核苷的修饰区域。

[0494] 实施方案56.如实施方案54所述的化合物,其中所述修饰寡核苷酸包含含有至少15个连续修饰核苷的修饰区域。

[0495] 实施方案57.如实施方案54所述的化合物,其中所述修饰寡核苷酸包含含有至少18个连续修饰核苷的修饰区域。

[0496] 实施方案58.如实施方案54所述的化合物,其中所述修饰寡核苷酸包含含有至少20个连续修饰核苷的修饰区域。

[0497] 实施方案59.如实施方案53-58中任一项所述的化合物,其中所述修饰区域的每个修饰核苷具有修饰的糖部分,所述修饰的糖部分独立地选自:2'-F、2'-OMe、2'-MOE、cEt、LNA、吗啉代和修饰吗啉代。

[0498] 实施方案60.如实施方案54-59中任一项所述的化合物,其中所述修饰区域的所述修饰核苷各自包含彼此相同的修饰。

[0499] 实施方案61.如实施方案60所述的化合物,其中所述修饰区域的所述修饰核苷各自包含相同的2'-取代的糖部分。

[0500] 实施方案62.如实施方案61所述的化合物,其中所述修饰核苷区域的所述修饰核苷的所述2'-取代的糖部分选自2'-F、2'-OMe和2'-MOE。

[0501] 实施方案63.如实施方案61所述的化合物,其中所述修饰核苷区域的所述修饰核苷的所述2'-取代的糖部分为2'-MOE。

[0502] 实施方案64.如实施方案59所述的化合物,其中所述修饰核苷区域的所述修饰核苷各自包含相同的双环糖部分。

[0503] 实施方案65.如实施方案64所述的化合物,其中所述修饰核苷区域的所述修饰核苷的所述双环糖部分选自LNA和cEt。

[0504] 实施方案66.如实施方案59所述的化合物,其中所述修饰核苷区域的所述修饰核苷各自包含糖替代物。

- [0505] 实施方案67.如实施方案66所述的化合物,其中所述修饰核苷区域的所述修饰核苷的所述糖替代物为吗啉代。
- [0506] 实施方案68.如实施方案66所述的化合物,其中所述修饰核苷区域的所述修饰核苷的所述糖替代物为修饰吗啉代。
- [0507] 实施方案69.如实施方案1-68中任一项所述的化合物,其中所述修饰核苷酸包含不超过4个连续的天然存在核苷。
- [0508] 实施方案70.如实施方案1-68中任一项所述的化合物,其中所述修饰寡核苷酸的每个核苷均为修饰核苷。
- [0509] 实施方案71.如实施方案70所述的化合物,其中每个修饰核苷包含修饰的糖部分。
- [0510] 实施方案72.如实施方案71所述的化合物,其中所述修饰寡核苷酸的所述修饰核苷包含彼此相同的修饰。
- [0511] 实施方案73.如实施方案72所述的化合物,其中所述修饰寡核苷酸的所述修饰核苷各自包含相同的2'-取代的糖部分。
- [0512] 实施方案74.如实施方案73所述的化合物,其中所述修饰寡核苷酸的所述2'-取代的糖部分选自2'-F、2'-OMe和2'-MOE。
- [0513] 实施方案75.如实施方案74所述的化合物,其中所述修饰寡核苷酸的所述2'-取代的糖部分为2'-MOE。
- [0514] 实施方案76.如实施方案72所述的化合物,其中所述修饰寡核苷酸的所述修饰核苷各自包含相同的双环糖部分。
- [0515] 实施方案77.如实施方案76所述的化合物,其中所述修饰寡核苷酸的所述双环糖部分选自LNA和cEt。
- [0516] 实施方案78.如实施方案72所述的化合物,其中所述修饰寡核苷酸的所述修饰核苷各自包含糖替代物。
- [0517] 实施方案79.如实施方案78所述的化合物,其中所述修饰寡核苷酸的所述糖替代物为吗啉代。
- [0518] 实施方案80.如实施方案78所述的化合物,其中所述修饰寡核苷酸的所述糖替代物为修饰吗啉代。
- [0519] 实施方案81.如实施方案1至36中任一项所述的化合物,其中所述修饰寡核苷酸具有A-B2-A-B2-A-B2-A-B2-A-B2-A-B2-A2基序,其中每个A包含双环糖部分,并且其中每个B选自2'-取代的糖部分和未修饰的2'-脱氧糖部分。
- [0520] 实施方案82.如实施方案81所述的化合物,其中每个A为cEt糖部分。
- [0521] 实施方案83.如实施方案81所述的化合物,其中每个A为LNA糖部分。
- [0522] 实施方案84.如实施方案81至83中任一项所述的化合物,其中每个B为未修饰的2'-脱氧糖部分。
- [0523] 实施方案85.如实施方案81至83中任一项所述的化合物,其中每个B为2'-MOE糖部分。
- [0524] 实施方案86.如实施方案1-85中任一项所述的化合物,其中所述修饰寡核苷酸包含至少一个修饰的核苷间键联。
- [0525] 实施方案87.如实施方案86所述的化合物,其中每个核苷间键联为修饰的核苷间

键联。

[0526] 实施方案88.如实施方案86或87所述的化合物,其包含至少一个硫代磷酸酯核苷间键联。

[0527] 实施方案89.如实施方案1-85中任一项所述的化合物,其中每个核苷间键联为修饰的核苷间键联并且其中每个核苷间键联包含相同的修饰。

[0528] 实施方案90.如实施方案89所述的化合物,其中每个核苷间键联是硫代磷酸酯核苷间键联。

[0529] 实施方案91.如实施方案86所述的化合物,其中所述修饰寡核苷酸包含4个磷酸二酯核苷间键联。

[0530] 实施方案92.如实施方案86所述的化合物,其中所述修饰寡核苷酸包含5个磷酸二酯核苷间键联。

[0531] 实施方案93.如实施方案86所述的化合物,其中所述修饰寡核苷酸包含6个磷酸二酯核苷间键联。

[0532] 实施方案94.如实施方案86所述的化合物,其中所述修饰寡核苷酸包含7个磷酸二酯核苷间键联。

[0533] 实施方案95.如实施方案91至94中任一项所述的化合物,其中每个剩余的核苷间键联为磷酸二酯核苷间键联。

[0534] 实施方案96.如实施方案1-85中任一项所述的化合物,其中所述化合物具有NSNS NONSNONSNSNONSNONSNSNONSNONSNSNONSNONSNSN核苷间键联基序,其中每个N代表核苷,每个S代表硫代磷酸酯核苷间键联,并且每个O代表磷酸二酯核苷间键联。

[0535] 实施方案97.如实施方案1-85中任一项所述的化合物,其中所述化合物具有NSNO NONONSNSNSNSNSNSNSNONONONSNSN核苷间键联基序,其中每个N代表核苷,每个S代表硫代磷酸酯核苷间键联,并且每个O代表磷酸二酯核苷间键联。

[0536] 实施方案98.如实施方案1-97中任一项所述的化合物,其包含至少一个缀合物。

[0537] 实施方案99.如实施方案1-98中任一项所述的化合物,其由所述修饰寡核苷酸组成。

[0538] 实施方案100.如实施方案1-99中任一项所述的化合物,其中所述化合物调节所述Tau转录物的剪接。

[0539] 实施方案101.如实施方案1-99中任一项所述的化合物,其中所述化合物降低所述4R Tau同工型的表达。

[0540] 实施方案102.如实施方案1-99中任一项所述的化合物,其中所述化合物降低包含外显子10的Tau mRNA的表达。

[0541] 实施方案103.如实施方案1-99中任一项所述的化合物,其中所述化合物降低包含由外显子10mRNA编码的氨基酸的Tau蛋白的表达。

[0542] 实施方案104.如实施方案1-8或30-103中任一项所述的化合物,其具有包含SEQ ID NO.8-200中所列出的序列中的任一个的核碱基序列。

[0543] 实施方案105.如实施方案1-8或30-103中任一项所述的化合物,其具有包含SEQ ID NO.33、34、147、148、149、150、151、152或153中所列出的序列中的任一个的核碱基序列。

[0544] 实施方案106.如实施方案1-8或30-103中任一项所述的化合物,其具有由SEQ ID

NO.8-200中所列出的序列中的任一个组成的核碱基序列。

[0545] 实施方案107.如实施方案1-8或30-103中任一项所述的化合物,其具有由SEQ ID NO.33、34、147、148、149、150、151、152或153中所列出的序列中的任一个组成的核碱基序列。

[0546] 实施方案108.一种双链化合物,其包含如实施方案1-107中任一项所述的化合物。

[0547] 实施方案109.一种化合物,其由ISIS 670011组成。

[0548] 实施方案110.一种化合物,其由ISIS 670012组成。

[0549] 实施方案111.一种化合物,其由ISIS 670013组成。

[0550] 实施方案112.一种化合物,其由ISIS 670014组成。

[0551] 实施方案113.一种化合物,其由ISIS 670015组成。

[0552] 实施方案114.一种化合物,其由ISIS 670016组成。

[0553] 实施方案115.一种化合物,其由ISIS 670017组成。

[0554] 实施方案116.一种化合物,其由ISIS 670018组成。

[0555] 实施方案117.一种化合物,其由ISIS 670019组成。

[0556] 实施方案118.一种化合物,其由ISIS 670020组成。

[0557] 实施方案119.一种化合物,其由ISIS 670021组成。

[0558] 实施方案120.一种化合物,其由ISIS 670022组成。

[0559] 实施方案121.一种化合物,其由ISIS 670023组成。

[0560] 实施方案122.一种化合物,其由ISIS 670024组成。

[0561] 实施方案123.一种化合物,其由ISIS 670025组成。

[0562] 实施方案124.一种化合物,其由ISIS 670026组成。

[0563] 实施方案125.一种化合物,其由ISIS 670027组成。

[0564] 实施方案126.一种化合物,其由ISIS 670028组成。

[0565] 实施方案127.一种化合物,其由ISIS 678329组成。

[0566] 实施方案128.一种化合物,其由ISIS 678330组成。

[0567] 实施方案129.一种化合物,其由ISIS 678331组成。

[0568] 实施方案130.一种化合物,其由ISIS 678332组成。

[0569] 实施方案131.一种化合物,其由ISIS 678333组成。

[0570] 实施方案132.一种化合物,其由ISIS 678334组成。

[0571] 实施方案133.一种化合物,其由ISIS 693840组成。

[0572] 实施方案134.一种化合物,其由ISIS 693841组成。

[0573] 实施方案135.一种化合物,其由ISIS 693842组成。

[0574] 实施方案136.一种化合物,其由ISIS 693843组成。

[0575] 实施方案137.一种化合物,其由ISIS 693844组成。

[0576] 实施方案138.一种化合物,其由ISIS 693845组成。

[0577] 实施方案139.一种化合物,其由ISIS 693846组成。

[0578] 实施方案140.一种化合物,其由ISIS 693847组成。

[0579] 实施方案141.一种化合物,其由ISIS 693848组成。

[0580] 实施方案142.一种化合物,其由ISIS 693849组成。

- [0581] 实施方案143.一种化合物,其由ISIS 549577组成。
- [0582] 实施方案144.一种化合物,其由ISIS 549580组成。
- [0583] 实施方案145.一种化合物,其由ISIS 549581组成。
- [0584] 实施方案146.一种化合物,其由ISIS 549582组成。
- [0585] 实施方案147.一种化合物,其由ISIS 549583组成。
- [0586] 实施方案148.一种化合物,其由ISIS 549584组成。
- [0587] 实施方案149.一种化合物,其由ISIS 549585组成。
- [0588] 实施方案150.一种化合物,其由ISIS 549586组成。
- [0589] 实施方案151.一种化合物,其由ISIS 617341组成。
- [0590] 实施方案152.一种化合物,其由ISIS 617351组成。
- [0591] 实施方案153.一种化合物,其由ISIS 617352组成。
- [0592] 实施方案154.一种化合物,其由ISIS 617353组成。
- [0593] 实施方案155.一种化合物,其由ISIS 617358组成。
- [0594] 实施方案156.一种化合物,其由ISIS 617360组成。
- [0595] 实施方案157.一种化合物,其由ISIS 617361组成。
- [0596] 实施方案158.一种化合物,其由ISIS 617362组成。
- [0597] 实施方案159.一种调节细胞中的Tau转录物的剪接的方法,其包括使所述细胞与如实施方案1-158中任一项所述的化合物接触。
- [0598] 实施方案160.如实施方案158所述的方法,其中所述细胞在体外。
- [0599] 实施方案161.如实施方案158所述的方法,其中所述细胞在动物中。
- [0600] 实施方案162.一种调节细胞中的Tau蛋白的表达的方法,其包括使所述细胞与如实施方案1-158中任一项所述的化合物接触。
- [0601] 实施方案163.如实施方案162所述的方法,其中使Tau蛋白的4R同工型的表达减少。
- [0602] 实施方案164.如实施方案162所述的方法,其中使Tau蛋白的3R同工型的表达增加。
- [0603] 实施方案165.如实施方案162至164中任一项所述的方法,其中所述细胞在体外。
- [0604] 实施方案166.如实施方案162至164中任一项所述的方法,其中所述细胞在动物中。
- [0605] 实施方案167.一种减少或改善与tau相关病症相关联的一种或多种症状的方法,其包括使细胞与如实施方案1-158中任一项所述的化合物接触。
- [0606] 实施方案168.如实施方案167所述的方法,其中所述症状为中风发作。
- [0607] 实施方案169.如实施方案167-168中任一项所述的方法,其中所述细胞在动物中。
- [0608] 实施方案170.一种药物组合物,其包含如实施方案1-158中任一项所述的化合物和药学上可接受的载体或稀释剂。
- [0609] 实施方案171.如实施方案170所述的药物组合物,其中所述药学上可接受的载体或稀释剂为无菌盐水。
- [0610] 实施方案172.一种方法,其包括向动物施用如实施方案170或171所述的药物组合物。

- [0611] 实施方案173.如实施方案172所述的方法,其中通过注射进行所述施用。
- [0612] 实施方案174.如实施方案172或173所述的方法,其中所述施用是全身性的。
- [0613] 实施方案175.如实施方案172或173所述的方法,其中所述施用是向CNS施用。
- [0614] 实施方案176.如实施方案172-175中任一项所述的方法,其中所述动物具有与一种或多种tau相关病症相关联的一种或多种症状。
- [0615] 实施方案177.如实施方案176所述的方法,其中所述施用导致与一种或多种tau相关病症相关联的一种或多种症状的改善。
- [0616] 实施方案178.如实施方案172-175中任一项所述的方法,其中所述动物具有与阿尔茨海默氏病相关联的一种或多种症状。
- [0617] 实施方案179.如实施方案178所述的方法,其中所述施用导致与阿尔茨海默氏病相关联的一种或多种症状的改善。
- [0618] 实施方案180.如实施方案172-179中任一项所述的方法,其中所述动物为小鼠。
- [0619] 实施方案181.如实施方案172-179中任一项所述的方法,其中所述动物为人。
- [0620] 实施方案182.如实施方案1至158中任一项所述的化合物或实施方案170-171所述的组合物的用途,其用于制备用于治疗tau相关病症的药物。
- [0621] 实施方案183.如实施方案1至158中任一项所述的化合物或实施方案170-171所述的组合物的用途,其用于制备用于改善与tau相关病症相关联的一种或多种症状的药物。
- [0622] 实施方案184.如实施方案1-183中任一项所述的化合物、组合物或方法,其中所述核碱基序列不由SEQ ID NO.:45、66、68、69或200中所列出的核碱基序列组成。
- [0623] 实施方案185.如实施方案1-183中任一项所述的化合物、组合物或方法,其中所述核碱基序列不由核碱基序列CCAGCTTCTTATTAATTATC或TAAGATCCAGCTTCTTATTA组成。
- [0624] 实施方案186.如实施方案1-183中任一项所述的化合物、组合物或方法,其中所述靶区域不在SEQ ID NO.:1的核碱基121828和核碱基121847之内。
- [0625] 实施方案187.如实施方案1-183中任一项所述的化合物、组合物或方法,其中所述靶区域不在SEQ ID NO.:1的核碱基121834和核碱基121853之内。
- [0626] 实施方案188.如实施方案1-183中任一项所述的化合物、组合物或方法,其中所述靶区域不在SEQ ID NO.:1的核碱基121840和核碱基121859之内。
- [0627] 实施方案189.如实施方案1-183中任一项所述的化合物、组合物或方法,其中所述靶区域不在SEQ ID NO.:1的核碱基121924和核碱基121941之内。
- [0628] 实施方案190.如实施方案1-183中任一项所述的化合物、组合物或方法,其中所述靶区域不在SEQ ID NO.:1的核碱基121012和核碱基121029之内。
- [0629] 实施方案191.如实施方案1-183中任一项所述的化合物、组合物或方法,其中所述靶区域不在SEQ ID NO.:1的核碱基121020和核碱基121037之内。
- [0630] 实施方案192.如实施方案1-183中任一项所述的化合物、组合物或方法,其中所述靶区域不在SEQ ID NO.:1的核碱基121024和核碱基121041之内。

实施例

- [0631] 非限制性公开且以引用方式并入
- [0632] 虽然已根据某些实施方案具体描述了本文所述的某些化合物、组合物和方法,但

以下实施例仅用以说明本文所述的化合物并且不意图限制所述化合物。本申请中所述的各参考文献以引用的方式整体并入本文。

[0633] 实施例1:统一2'-MOE修饰寡核苷酸对人Tau外显子10的作用

[0634] 设计一系列修饰寡核苷酸来靶向人Tau的外显子10并针对其体外减少外显子10保留的作用进行筛选。这些修饰寡核苷酸是通过使4个核苷酸跨靶位点向上游或下游转移(即,微步移)来设计的。存在18个核苷的长度,其中每个核苷都具有2'-MOE修饰。整个修饰寡核苷酸当中的每个核苷间键联为硫代磷酸酯核苷间键联(P=S)。整个修饰寡核苷酸当中的所有胞嘧啶残基为5-甲基胞嘧啶。

[0635] “起始位点”表示修饰寡核苷酸所靶向的最5'核苷。“终止位点”表示修饰寡核苷酸所靶向的最3'核苷。下表中列出的每个修饰寡核苷酸都靶向于SEQ ID NO:1(从核苷酸9240000至9381000截短的GENBANK登录号NT_010783.15)。

[0636] 使用Lipofectamine2000®,以5nM浓度的修饰寡核苷酸转染A172细胞。在约24小时的处理期后,自细胞分离RNA且通过定量实时PCR测量含有外显子10的Tau转录物的mRNA水平。使用人引物探针集9_10或10_11测量mRNA水平。根据如由RIBOGREEN®所测量的总RNA含量调整Tau外显子10mRNA水平。结果呈现为相对于未处理的对照物水平的Tau外显子10mRNA表达百分比且表示为“%UTC”。

[0637] 人引物探针集9_10(正向序列:CACTGAGAACCTGAAGCAC C,本文指定为SEQ ID NO:2;反向序列:GGACTGGACGTTGCT AAGATC,本文指定为SEQ ID NO:3;探针序列:TTAATTATCTG CACCTTCCCGCCTCC,本文指定为SEQ ID NO:4)。

[0638] 人引物探针集10_11(正向序列:GGATAATATCAAACACGTCCCG,本文指定为SEQ ID NO:5;反向序列:TGCCTAATGAGCCACACTTG,本文指定为SEQ ID NO:6;探针序列:GTCTACAAACCAGTTGACCTGAGC,本文指定为SEQ ID NO:7)。

[0639] 如表1和2中所示,ISIS 549583、549584、549585、549586、549595、549571、549566、549570、549587、549568、549617、549567、549576、549577、549580和549581显示出与未处理的对照物相比减少70%或更多的人Tau外显子10保留。

[0640] 表1

[0641] 使用引物探针集9_10得到的统一2'-MOE修饰寡核苷酸对人Tau外显子10的作用

[0642]

ISIS NO	序列	% UTC	SEQ ID NO: 1 起始位点	SEQ ID NO: 1 终止位点	SEQ ID NO
549543	CCCGCCTACTTGCTCGCA	130	121708	121725	8
549544	TGGACCCGCCTACTTGCT	119	121712	121729	9
549545	ACCCTGGACCCGCCTACT	106	121716	121733	10
549546	CATGCGCCACCCTGGACC	84	121724	121741	11
549547	GTGACATGCGCCACCCTG	78	121728	121745	12
549548	ATGAGTGACATGCGCCAC	63	121732	121749	13
549549	TTCGATGAGTGACATGCG	70.0	121736	121753	14
549550	CACTTTCGATGAGTGACA	69	121740	121757	15
549551	CCTCCACTTTCGATGAGT	103	121744	121761	16
549552	GACGCCTCCACTTTCGAT	148	121748	121765	17
549553	CAAGGACGCCTCCACTTT	116	121752	121769	18
549554	CTCGCAAGGACGCCTCCA	80	121756	121773	19
549555	CTTGCTCGCAAGGACGCC	102	121760	121777	20
549556	CCTGCTTGCTCGCAAGGA	109	121764	121781	21
549557	CCCGCCTGCTTGCTCGCA	100	121768	121785	22
549558	TGGACCCGCCTGCTTGCT	111	121772	121789	23
549559	ACCCTGGACCCGCCTGCT	108	121776	121793	24
549560	CGCCACCCTGGACCCGCC	88	121720	121737	25
			121780	121797	
549561	GACACGCCACCCTGGACC	83	121784	121801	26
549562	GAGTGACACGCCACCCTG	77	121788	121805	27
549563	GGATGAGTGACACGCCAC	58	121792	121809	28
549564	AAAAGGATGAGTGACACG	49	121796	121813	29
549565	AGAAAAAAGGATGAGTGA	35	121800	121817	30
549566	AGCCAGAAAAAAGGATGA	21	121804	121821	31
549567	TGGTAGCCAGAAAAAAGG	32	121808	121825	32
549583	TTATCCTTTGAGCCACAC	11	121876	121893	33
549584	GATATTATCCTTTGAGCC	11	121880	121897	34
549585	GTTTGATATTATCCTTTG	13	121884	121901	35
549586	ACGTGTTTGATATTATCC	17	121888	121905	36
549587	CGGGACGTGTTTGATATT	24	121892	121909	37

	549588	CTCCCGGGACGTGTTTGA	52	121896	121913	38
	549589	CCGCCTCCCGGGACGTGT	57	121900	121917	39
	549590	ACTGCCGCCTCCCGGGAC	84	121904	121921	40
	549591	TCACACTGCCGCCTCCCG	48	121908	121925	41
	549592	GTACTCACACTGCCGCCT	30	121912	121929	42
	549593	GAAGGTACTCACACTGCC	35	121916	121933	43
	549594	GTGTGAAGGTACTCACAC	63	121920	121937	44
	549595	GGACGTGTGAAGGTACTC	20	121924	121941	45
	549596	CATGGGACGTGTGAAGGT	125	121928	121945	46
	549597	GGCGCATGGGACGTGTGA	216	121932	121949	47
	549598	GCACGGCGCATGGGACGT	242	121936	121953	48
	549599	CACAGCACGGCGCATGGG	158	121940	121957	49
	549600	AAGCCACAGCACGGCGCA	162	121944	121961	50
	549601	ATTCAAGCCACAGCACGG	175	121948	121965	51
	549602	AATAATTCAAGCCACAGC	164	121952	121969	52
[0643]	549603	TCCTAATAATTCAAGCCA	200	121956	121973	53
	549604	CACTTCCTAATAATTCAA	133	121960	121977	54
	549605	ACACCACTTCCTAATAAT	113	121964	121981	55
	549606	ACTCACACCACTTCCTAA	136	121968	121985	56
	549608	GTGTACGCACTCACACCA	80.6	121976	121993	57
	549609	GCAAGTGTACGCACTCAC	49.9	121980	121997	58
	549610	TCTCGCAAGTGTACGCAC	86.5	121984	122001	59
	549611	AGTGTCTCGCAAGTGTAC	62.4	121988	122005	60
	549612	ATGCAGTGTCTCGCAAGT	46.4	121992	122009	61
	549613	TTCTATGCAGTGTCTCGC	46.6	121996	122013	62
	549614	TTTATTCTATGCAGTGTC	33.2	122000	122017	63
	549615	AGGATTTATTCTATGCAG	34.3	122004	122021	64
	549616	AAGAAGGATTTATTCTAT	46.5	122008	122025	65
	549617	GCCCAAGAAGGATTTATT	29.6	122012	122029	66
	549618	GAGAGCCCAAGAAGGATT	38.6	122016	122033	67
	549619	TCCTGAGAGCCCAAGAAG	36.9	122020	122037	68
	549620	CAGATCCTGAGAGCCCAA	38.3	122024	122041	69

[0644] 表2

[0645] 使用引物探针集10_11得到的统一2'-MOE修饰寡核苷酸对人Tau外显子10的作用

ISIS No.	序列	% UTC	SEQ ID NO: 1 起始位点	SEQ ID NO: 1 终止位点	错配	SEQ ID No.
549543	CCCGCCTACTTGCTCGCA	128	121708	121725	0	8
			121768	121785	1	
549544	TGGACCCGCCTACTTGCT	117	121712	121729	0	9
			121772	121789	1	

[0647]

549545	ACCCTGGACCCGCCTACT	98	121716	121733	0	10
			121776	121793	1	
549546	CATGCGCCACCCTGGACC	78	121724	121741	0	11
549547	GTGACATGCGCCACCCTG	75	121728	121745	0	12
549548	ATGAGTGACATGCGCCAC	63	121732	121749	0	13
549549	TTCGATGAGTGACATGCG	74	121736	121753	0	14
549550	CACTTTCGATGAGTGACA	76	121740	121757	0	15
549551	CCTCCACTTTCGATGAGT	107	121744	121761	0	16
549552	GACGCCTCCACTTTCGAT	137	121748	121765	0	17
549553	CAAGGACGCCTCCACTTT	108	121692	121709	1	18
			121752	121769	0	
549554	CTCGCAAGGACGCCTCCA	71	121696	121713	1	19
			121756	121773	0	
549555	CTTGCTCGCAAGGACGCC	108	121700	121717	1	20
			121760	121777	0	
549556	CCTGCTTGCTCGCAAGGA	106	121704	121721	1	21
			121764	121781	0	
549557	CCCGCCTGCTTGCTCGCA	93	121708	121725	1	22
			121768	121785	0	
549558	TGGACCCGCCTGCTTGCT	111	121712	121729	1	23
			121772	121789	0	
549559	ACCCTGGACCCGCCTGCT	100	121716	121733	1	24
			121776	121793	0	
549560	CGCCACCCTGGACCCGCC	89	121720	121737	0	25
			121780	121797	0	
549561	GACACGCCACCCTGGACC	80	121784	121801	0	26
549562	GAGTGACACGCCACCCTG	81	121788	121805	0	27
549563	GGATGAGTGACACGCCAC	54	121792	121809	0	28
549564	AAAAGGATGAGTGACACG	45	121796	121813	0	29
549565	AGAAAAAAGGATGAGTGA	34	121800	121817	0	30
549566	AGCCAGAAAAAAGGATGA	19	121804	121821	0	31
549567	TGGTAGCCAGAAAAAAGG	31	121808	121825	0	32
549568	CCTTTGGTAGCCAGAAAA	23	121812	121829	0	70
549569	TGCACCTTTGGTAGCCAG	53	121816	121833	0	71
549570	TAATTATCTGCACCTTTG	26	121824	121841	0	72
549571	TTCTTAATTATCTGCACC	21	121828	121845	1	73
549572	CTTCTTCTTAATTATCTG	30	121832	121849	1	74
549573	CCAGCTTCTTCTTAATTA	34	121836	121853	1	75
549574	AGATCCAGCTTCTTCTTA	43	121840	121857	1	76

549575	GCTAAGATCCAGCTTCTT	25	121844	121861	0	77
549576	CGTTGCTAAGATCCAGCT	18	121848	121865	0	78
549577	TGGACGTTGCTAAGATCC	16	121852	121869	0	79
549578	GGACTGGACGTTGCTAAG	44	121856	121873	0	80
549579	ACTTGGACTGGACGTTGC	36	121860	121877	0	81
549580	CCACACTTGGACTGGACG	19	121864	121881	0	82
549581	TGAGCCACACTTGGACTG	16	121868	121885	0	83
549595	GGACGTGTGAAGGTAATC	20	121924	121941	0	45
549596	CATGGGACGTGTGAAGGT	128	121928	121945	0	46
549597	GGCGCATGGGACGTGTGA	199	121932	121949	0	47
549598	GCACGGCGCATGGGACGT	199	121936	121953	0	48
549599	CACAGCACGGCGCATGGG	149	121940	121957	0	49
549600	AAGCCACAGCACGGCGCA	156	121944	121961	0	50
549601	ATTCAAGCCACAGCACGG	166	121948	121965	0	51
549602	AATAATTCAAGCCACAGC	159	121952	121969	0	52
[0648] 549603	TCCTAATAATTCAAGCCA	179	121956	121973	0	53
549604	CACTTCCTAATAATTCAA	123	121960	121977	0	54
549605	ACACCACTTCCTAATAAT	113	121964	121981	0	55
549606	ACTCACCACTTCCTAA	119	121968	121985	0	56
549608	GTGTACGCACTCACACCA	77.2	121976	121993	0	57
549609	GCAAGTGTACGCACTCAC	53.0	121980	121997	0	58
549610	TCTCGCAAGTGTACGCAC	87.4	121984	122001	0	59
549611	AGTGTCTCGCAAGTGTAC	69.2	121988	122005	0	60
549612	ATGCAGTGTCTCGCAAGT	43.3	121992	122009	0	61
549613	TTCTATGCAGTGTCTCGC	41.4	121996	122013	0	62
549614	TTTATTCTATGCAGTGTC	29.2	122000	122017	0	63
549615	AGGATTTATTCTATGCAG	30.9	122004	122021	0	64
549616	AAGAAGGATTTATTCTAT	45.8	122008	122025	0	65
549617	GCCCAAGAAGGATTTATT	31.8	122012	122029	0	66
549618	GAGAGCCCAAGAAGGATT	41.8	122016	122033	0	67
549619	TCCTGAGAGCCCAAGAAG	41.7	122020	122037	0	68
549620	CAGATCCTGAGAGCCCAA	35.6	122024	122041	0	69

[0649] 实施例2:统一2'-MOE修饰寡核苷酸对人Tau外显子10的作用

[0650] 设计一系列修饰寡核苷酸来靶向人Tau的外显子10并针对其体外减少外显子10保留的作用进行筛选。这些修饰寡核苷酸是通过使1个核苷酸跨靶位点向上游或下游转移(即,微步移)来设计的。存在18个核苷的长度,其中每个核苷都具有2'-MOE修饰。整个修饰寡核苷酸中的每个核苷间键联为硫代磷酸酯核苷间键联(P=S)。整个修饰寡核苷酸当中的所有胞嘧啶残基为5-甲基胞嘧啶。

[0651] “起始位点”表示修饰寡核苷酸所靶向的最5'核苷。“终止位点”表示修饰寡核苷酸所靶向的最3'核苷。下表中列出的每个修饰寡核苷酸都靶向于SEQ ID NO:1(从核苷酸

9240000至9381000截短的GENBANK登录号NT_010783.15)。

[0652] 使用Lipofectamine2000®,以5nM浓度的修饰寡核苷酸转染A172细胞。在约24小时的处理期后,自细胞分离RNA且通过定量实时PCR测量含有外显子10的Tau转录物的mRNA水平。使用人Tau引物探针集10_11或9_10R5测量mRNA水平。根据如由RIBOGREEN®所测量的总RNA含量调整Tau外显子10mRNA水平。结果呈现为相对于未处理的对照物水平的Tau外显子10mRNA表达百分比且表示为“%UTC”。

[0653] 人引物探针集10_11(正向序列:GGATAATATCAAACACGTCCCG,本文指定为SEQ ID NO:5;反向序列:TGCCTAATGAGCCACACTTG,本文指定为SEQ ID NO:6;探针序列:GTCTACAAACCAGTTGACCTGAGC,本文指定为SEQ ID NO:7)。

[0654] 人Tau引物探针集9_10R5(正向序列:CACTGAGAACCTGAAGCACC,本文指定为SEQ ID NO:2;反向序列:GGACGTTGCTAAGATCCAGCT,本文指定为SEQ ID NO:3;探针序列:TTAATTATCTGCACCTTCCCGCCTCC,本文指定为SEQ ID NO:4)。

[0655] 表3

[0656] 使用人Tau引物探针集10_11得到的统一2'-MOE修饰寡核苷酸对人Tau外显子10的作用

[0657]

ISIS NO	序列	% UTC	SEQ ID NO: 1 起始位点	SEQ ID NO: 1 终止位点	SEQ ID NO
549564	AAAAGGATGAGTGACACG	43	121796	121813	29
617296	AAAAAGGATGAGTGACAC	38	121797	121814	84
617297	AAAAAAGGATGAGTGACA	40	121798	121815	85
617298	GAAAAAAGGATGAGTGAC	39	121799	121816	86
549565	AGAAAAAAGGATGAGTGA	45	121800	121817	30
617299	CAGAAAAAAGGATGAGTG	39	121801	121818	87
617300	CCAGAAAAAAGGATGAGT	34	121802	121819	88
617301	GCCAGAAAAAAGGATGAG	34	121803	121820	89
549566	AGCCAGAAAAAAGGATGA	21	121804	121821	31
617302	TAGCCAGAAAAAAGGATG	26	121805	121822	90
617303	GTAGCCAGAAAAAAGGAT	27	121806	121823	91
617304	GGTAGCCAGAAAAAAGGA	32	121807	121824	92
549567	TGGTAGCCAGAAAAAAGG	39	121808	121825	32
617305	TTGGTAGCCAGAAAAAAG	34	121809	121826	93
617306	TTTGGTAGCCAGAAAAA	49	121810	121827	94
617307	CTTTGGTAGCCAGAAAA	37	121811	121828	95
549568	CCTTTGGTAGCCAGAAAA	27	121812	121829	70
617308	ACCTTTGGTAGCCAGAAA	31	121813	121830	96
617309	CACCTTTGGTAGCCAGAA	23	121814	121831	97
617310	GCACCTTTGGTAGCCAGA	59	121815	121832	98
549569	TGCACCTTTGGTAGCCAG	59	121816	121833	71
617311	CTGCACCTTTGGTAGCCA	59	121817	121834	99
617312	TCTGCACCTTTGGTAGCC	58	121818	121835	100
617313	ATCTGCACCTTTGGTAGC	53	121819	121836	101
415866	TATCTGCACCTTTGGTAG	41	121820	121837	102
617314	TTATCTGCACCTTTGGTA	36	121821	121838	103
617315	ATTATCTGCACCTTTGGT	31	121822	121839	104
617316	AATTATCTGCACCTTTGG	38	121823	121840	105
549570	TAATTATCTGCACCTTTG	21	121824	121841	72
617317	TTAATTATCTGCACCTTT	23	121825	121842	106
617318	ATTAATTATCTGCACCTT	25	121826	121843	107
617319	TATTAATTATCTGCACCT	27	121827	121844	108
617320	TTATTAATTATCTGCACC	27	121828	121845	109
617321	CTTATTAATTATCTGCAC	26	121829	121846	110
617322	TCTTATTAATTATCTGCA	25	121830	121847	111
617323	TTCTTATTAATTATCTGC	25	121831	121848	112
617324	CTTCTTATTAATTATCTG	25	121832	121849	113
617325	GCTTCTTATTAATTATCT	26	121833	121850	114
617326	AGCTTCTTATTAATTATC	32	121834	121851	115

[0658]

617327	CAGCTTCTTATTAATTAT	31	121835	121852	116
617328	CCAGCTTCTTATTAATTA	29	121836	121853	117
617329	TCCAGCTTCTTATTAATT	35	121837	121854	118
617330	ATCCAGCTTCTTATTAAT	29	121838	121855	119
617331	GATCCAGCTTCTTATTAA	33	121839	121856	120
617332	AGATCCAGCTTCTTATTA	33	121840	121857	121
617333	AAGATCCAGCTTCTTATT	37	121841	121858	122
617334	TAAGATCCAGCTTCTTAT	42	121842	121859	123
617335	CTAAGATCCAGCTTCTTA	34	121843	121860	124
549575	GCTAAGATCCAGCTTCTT	29	121844	121861	77
617336	TGCTAAGATCCAGCTTCT	42	121845	121862	125
617337	TTGCTAAGATCCAGCTTC	36	121846	121863	126
617338	GTTGCTAAGATCCAGCTT	35	121847	121864	127
549576	CGTTGCTAAGATCCAGCT	26	121848	121865	78
617339	ACGTTGCTAAGATCCAGC	25	121849	121866	128
617340	GACGTTGCTAAGATCCAG	30	121850	121867	129
617341	GGACGTTGCTAAGATCCA	24	121851	121868	130
549577	TGGACGTTGCTAAGATCC	25	121852	121869	79
617342	CTGGACGTTGCTAAGATC	27	121853	121870	131
617343	ACTGGACGTTGCTAAGAT	29	121854	121871	132
617344	GACTGGACGTTGCTAAGA	34	121855	121872	133
549578	GGACTGGACGTTGCTAAG	40	121856	121873	80
617345	TGGACTGGACGTTGCTAA	51	121857	121874	134
617346	TTGGACTGGACGTTGCTA	43	121858	121875	135
617347	CTTGGACTGGACGTTGCT	38	121859	121876	136
549579	ACTTGGACTGGACGTTGC	34	121860	121877	81
617348	CACTTGGACTGGACGTTG	39	121861	121878	137
617349	ACACTTGGACTGGACGTT	30	121862	121879	138
617350	CACACTTGGACTGGACGT	32	121863	121880	139
549580	CCACACTTGGACTGGACG	27	121864	121881	82
617351	GCCACACTTGGACTGGAC	23	121865	121882	140
617352	AGCCACACTTGGACTGGA	23	121866	121883	141
617353	GAGCCACACTTGGACTGG	26	121867	121884	142
549581	TGAGCCACACTTGGACTG	24	121868	121885	83

[0659] 表4

[0660] 使用人Tau引物探针集9_10R5得到的统一2'-MOE修饰寡核苷酸对人Tau外显子10的作用

[0661]

ISIS NO	序列	% UTC	SEQ ID NO: 1 起始位点	SEQ ID NO: 1 终止位点	SEQ ID NO
617354	TTGAGCCACACTTGGACT	21	121869	121886	143
617355	TTTGGAGCCACACTTGGAC	22	121870	121887	144

[0662]

617356	CTTTGAGCCACACTTGGA	16	121871	121888	145
549582	CCTTTGAGCCACACTTGG	14	121872	121889	146
617357	TCCTTTGAGCCACACTTG	17	121873	121890	147
617358	ATCCTTTGAGCCACACTT	17	121874	121891	148
617359	TATCCTTTGAGCCACACT	19	121875	121892	149
549583	TTATCCTTTGAGCCACAC	20	121876	121893	33
617360	ATTATCCTTTGAGCCACA	21	121877	121894	150
617361	TATTATCCTTTGAGCCAC	15	121878	121895	151
617362	ATATTATCCTTTGAGCCA	16	121879	121896	152
549584	GATATTATCCTTTGAGCC	17	121880	121897	34
565989	TGATATTATCCTTTGAGC	17	121881	121898	153
565990	TTGATATTATCCTTTGAG	20	121882	121899	154
565991	TTTGATATTATCCTTTGA	28	121883	121900	155
549585	GTTTGATATTATCCTTTG	22	121884	121901	35
617363	TGTTTGATATTATCCTTT	25	121885	121902	156
617364	GTGTTTGATATTATCCTT	22	121886	121903	157
617365	CGTGTGTTGATATTATCCT	20	121887	121904	158
549586	ACGTGTGTTGATATTATCC	21	121888	121905	36
617366	GACGTGTGTTGATATTATC	24	121889	121906	159
617367	GGACGTGTGTTGATATTAT	16	121890	121907	160
617368	GGGACGTGTGTTGATATTA	33	121891	121908	161
549587	CGGGACGTGTGTTGATATT	20	121892	121909	37
617369	CCGGGACGTGTGTTGATAT	25	121893	121910	162
617370	CCCGGGACGTGTGTTGATA	43	121894	121911	163
617371	TCCCGGGACGTGTGTTGAT	52	121895	121912	164
549588	CTCCCGGGACGTGTGTTGA	53	121896	121913	38
549590	ACTGCCGCCTCCCGGGAC	48	121904	121921	40
617372	CACTGCCGCCTCCCGGGA	71	121905	121922	165
617373	ACACTGCCGCCTCCCGGG	60	121906	121923	166
617374	CACACTGCCGCCTCCCGG	40	121907	121924	167
549591	TCACACTGCCGCCTCCCG	47	121908	121925	41
617375	CTCACACTGCCGCCTCCC	33	121909	121926	168
617376	ACTCACACTGCCGCCTCC	34	121910	121927	169
617377	TACTCACACTGCCGCCTC	34	121911	121928	170
549592	GTACTIONCACACTGCCGCCT	31	121912	121929	42
617378	GGTACTCACACTGCCGCC	29	121913	121930	171
617379	AGGTACTCACACTGCCGC	34	121914	121931	172
617380	AAGGTACTCACACTGCCG	43	121915	121932	173
549593	GAAGGTACTCACACTGCC	33	121916	121933	43
617381	TGAAGGTACTCACACTGC	28	121917	121934	174
617382	GTGAAGGTACTCACACTG	41	121918	121935	175
617383	TGTGAAGGTACTCACACT	43	121919	121936	176
549594	GTGTGAAGGTACTCACAC	68	121920	121937	44
617384	CGTGTGAAGGTACTCACA	35	121921	121938	177
617385	ACGTGTGAAGGTACTCAC	34	121922	121939	178
617386	GACGTGTGAAGGTACTCA	29	121923	121940	179

	549595	GGACGTGTGAAGGTACTC	26	121924	121941	45
	617387	GGGACGTGTGAAGGTACT	36	121925	121942	180
	617388	TGGGACGTGTGAAGGTAC	36	121926	121943	181
	617389	ATGGGACGTGTGAAGGTA	94	121927	121944	182
	549596	CATGGGACGTGTGAAGGT	141	121928	121945	46
	617390	GCATGGGACGTGTGAAGG	297	121929	121946	183
	510184	CGCATGGGACGTGTGAAG	295	121930	121947	184
	617391	GCGCATGGGACGTGTGAA	274	121931	121948	185
	549597	GGCGCATGGGACGTGTGA	284	121932	121949	47
	510185	CGGCGCATGGGACGTGTG	276	121933	121950	186
	617392	ACGGCGCATGGGACGTGT	304	121934	121951	187
	510186	CACGGCGCATGGGACGTG	268	121935	121952	188
[0663]	549598	GCACGGCGCATGGGACGT	305	121936	121953	48
	617393	AGCACGGCGCATGGGACG	237	121937	121954	189
	510187	CAGCACGGCGCATGGGAC	144	121938	121955	190
	617394	ACAGCACGGCGCATGGGA	170	121939	121956	191
	549599	CACAGCACGGCGCATGGG	183	121940	121957	49
	549619	TCCTGAGAGCCCAAGAAG	42	122020	122037	68
	617395	ATCCTGAGAGCCCAAGAA	38	122021	122038	192
	617396	GATCCTGAGAGCCCAAGA	44	122022	122039	193
	617397	AGATCCTGAGAGCCCAAG	35	122023	122040	194
	549620	CAGATCCTGAGAGCCCAA	35	122024	122041	69
	617398	CCAGATCCTGAGAGCCCA	39	122025	122042	195
	617399	GCCAGATCCTGAGAGCCC	47	122026	122043	196
	617400	AGCCAGATCCTGAGAGCC	38	122027	122044	197

[0664] 实施例3:统一2'-MOE修饰寡核苷酸对人Tau外显子10的抑制作用

[0665] 选择来自表3和4的若干修饰寡核苷酸并进一步评价它们体外抑制人Tau外显子10表达的作用。研究中包括了ISIS 549595用于比较。

[0666] “起始位点”表示修饰寡核苷酸所靶向的最5'核苷。“终止位点”表示修饰寡核苷酸所靶向的最3'核苷。下表中列出的每个修饰寡核苷酸都靶向于SEQ ID NO:1 (从核苷酸9240000至9381000截短的GENBANK登录号NT_010783.15)。

[0667] 使用Lipofectamine2000®,以0、0.1、0.3、1、3、10或30nM浓度的下表中规定的修饰寡核苷酸转染A172细胞。在约24小时的处理期后,自细胞分离RNA且通过定量实时PCR测量含有外显子10的Tau转录物的mRNA水平。除了ISIS 549581之外,使用人Tau引物探针集9_10R5测量mRNA水平。这种寡核苷酸使用人Tau引物探针集10_11。根据如由RIBOGREEN®所测量的总RNA含量调整人Tau外显子10mRNA水平。

[0668] 每种寡核苷酸的半最大抑制浓度(IC₅₀)呈现在下表中并且计算如下:将使用的寡核苷酸浓度对每种浓度下达到的人Tau外显子10mRNA表达的抑制百分比绘图,并记录与对照物相比达到人Tau外显子10mRNA表达的50%抑制时寡核苷酸的浓度。结果在下面呈现。

[0669] 表5

[0670] 统一2'-MOE修饰寡核苷酸对人Tau外显子10表达的抑制作用

ISIS NO	序列	IC ₅₀ (nM)	SEQ ID NO: 1 起始位点	SEQ ID NO: 1 终止位点	SEQ ID NO
549581	TGAGCCACACTTGGACTG	1.20	121868	121885	83
617354	TTGAGCCACACTTGGACT	1.39	121869	121886	143
617355	TTTGAGCCACACTTGGAC	1.08	121870	121887	144
617356	CTTTGAGCCACACTTGGGA	0.74	121871	121888	145
549582	CCTTTGAGCCACACTTGG	0.49	121872	121889	146
617357	TCCTTTGAGCCACACTTG	0.64	121873	121890	147
617358	ATCCTTTGAGCCACACTT	0.44	121874	121891	148
617359	TATCCTTTGAGCCACACT	0.54	121875	121892	149
549583	TTATCCTTTGAGCCACAC	0.37	121876	121893	33
617360	ATTATCCTTTGAGCCACA	0.39	121877	121894	150
617361	TATTATCCTTTGAGCCAC	0.38	121878	121895	151
549595	GGACGTGTGAAGGTACTC	0.97	121924	121941	45

[0672] 实施例4:统一2'-MOE修饰寡核苷酸对人Tau外显子10的抑制作用

[0673] 选择来自4的若干修饰寡核苷酸并进一步评价它们体外抑制人Tau外显子10表达的作用。研究中包括了ISIS 549595用于比较。

[0674] “起始位点”表示修饰寡核苷酸所靶向的最5'核苷。“终止位点”表示修饰寡核苷酸所靶向的最3'核苷。下表中列出的每个修饰寡核苷酸都靶向于SEQ ID NO:1(从核苷酸9240000至9381000截短的GENBANK登录号NT_010783.15)。

[0675] 使用Lipofectamine2000®,以0、0.1、0.3、1、3、10或30nM浓度的下表中规定的修饰寡核苷酸转染A172细胞。在约24小时的处理期后,自细胞分离RNA且通过定量实时PCR测量含有外显子10的Tau转录物的mRNA水平。使用人Tau引物探针集9_10R5测量mRNA水平。根据如由RIBOGREEN®所测量的总RNA含量调整人Tau外显子10mRNA水平。

[0676] 以与实施例3中所说明类似的方式计算每种寡核苷酸的IC₅₀并且在下面呈现结果。

[0677] 表6

[0678] 统一2'-MOE修饰寡核苷酸对人Tau外显子10表达的抑制作用

ISIS NO	序列	IC ₅₀ (nM)	SEQ ID NO: 1 起始位点	SEQ ID NO: 1 终止位点	SEQ ID NO
617362	ATATTATCCTTTGAGCCA	0.27	121879	121896	152
549584	GATATTATCCTTTGAGCC	0.40	121880	121897	34
565989	TGATATTATCCTTTGAGC	0.58	121881	121898	153
565990	TTGATATTATCCTTTGAG	1.23	121882	121899	154
549585	GTTTGATATTATCCTTTG	0.71	121884	121901	35
617364	GTGTTTGATATTATCCTT	0.61	121886	121903	157
617365	CGTGTTTGATATTATCCT	0.74	121887	121904	158
549586	ACGTGTTTGATATTATCC	0.93	121888	121905	36
617367	GGACGTGTTTGATATTAT	0.64	121890	121907	160
549587	CGGGACGTGTTTGATATT	0.97	121892	121909	37
549620	CAGATCCTGAGAGCCCAA	3.46	122024	122041	69
549595	GGACGTGTGAAGGTACTC	1.25	121924	121941	45

[0680] 实施例5:统一2'-MOE修饰寡核苷酸对人Tau外显子10的抑制作用

[0681] 选择来自表3和4的若干修饰寡核苷酸并进一步评价它们体外抑制人Tau外显子10表达的作用。研究中包括了ISIS 549595用于比较。

[0682] “起始位点”表示修饰寡核苷酸所靶向的最5'核苷。“终止位点”表示修饰寡核苷酸所靶向的最3'核苷。下表中列出的每个修饰寡核苷酸都靶向于SEQ ID NO:1(从核苷酸9240000至9381000截短的GENBANK登录号NT_010783.15)。

[0683] 使用Lipofectamine2000®,以0、0.1、0.3、1、3、10或30nM浓度的下表中规定的修饰寡核苷酸转染A172细胞。在约24小时的处理期后,自细胞分离RNA且通过定量实时PCR测量含有外显子10的Tau转录物的mRNA水平。除了ISIS 549595之外,使用人Tau引物探针集10_11测量mRNA水平。这种寡核苷酸使用人Tau引物探针集9_10R5。根据如由RIBOGREEN®所测量的总RNA含量调整人Tau外显子10mRNA水平。

[0684] 以与实施例3中所说明类似的方式计算每种寡核苷酸的IC₅₀并且在下面呈现结果。

[0685] 表7

[0686] 统一2'-MOE修饰寡核苷酸对人Tau外显子10表达的抑制作用

ISIS NO	序列	IC ₅₀ (nM)	SEQ ID NO: 1 起始位点	SEQ ID NO: 1 终止位点	SEQ ID NO
549566	AGCCAGAAAAAAGGATGA	1.00	121804	121821	31
617309	CACCTTTGGTAGCCAGAA	1.11	121814	121831	97
[0687] 549570	TAATTATCTGCACCTTTG	1.39	121824	121841	72
617317	TTAATTATCTGCACCTTT	1.26	121825	121842	106
617318	ATTAATTATCTGCACCTT	1.21	121826	121843	107
617323	TTCTTATTAATTATCTGC	0.96	121831	121848	112
617324	CTTCTTATTAATTATCTG	1.06	121832	121849	113
617341	GGACGTTGCTAAGATCCA	0.82	121851	121868	130
549577	TGGACGTTGCTAAGATCC	0.87	121852	121869	79
617351	GCCACACTTGGACTGGAC	0.91	121865	121882	140
[0688] 617352	AGCCACACTTGGACTGGA	0.79	121866	121883	141
549595	GGACGTGTGAAGGTACTC	0.73	121924	121941	45

[0689] 实施例6:统一2'-MOE修饰寡核苷酸对人Tau外显子10的抑制作用

[0690] 选择来自表1和4的若干修饰寡核苷酸并进一步评价它们体外抑制人Tau外显子10表达的作用。研究中包括了ISIS 617782、617781和415833用于比较。

[0691] “起始位点”表示修饰寡核苷酸所靶向的最5'核苷。“终止位点”表示修饰寡核苷酸所靶向的最3'核苷。下表中列出的每个修饰寡核苷酸都靶向于SEQ ID NO:1(从核苷酸9240000至9381000截短的GENBANK登录号NT_010783.15)。

[0692] ISIS 617782为21核苷的长度,其中每个核苷都具有2'-OCH₃修饰并且表示为下标“m”。整个修饰寡核苷酸中的每个核苷间键联为硫代磷酸酯核苷间键联(P=S)。

[0693] ISIS 617781为18核苷的长度,其中每个核苷都具有2'-OCH₃修饰并且表示为下标“m”。整个修饰寡核苷酸中的每个核苷间键联为硫代磷酸酯核苷间键联(P=S)。

[0694] ISIS 415833为20个核苷的长度,其中每个核苷都具有2'-MOE修饰。整个修饰寡核苷酸中的每个核苷间键联为硫代磷酸酯核苷间键联(P=S)。整个修饰寡核苷酸当中的所有胞嘧啶残基为5-甲基胞嘧啶。“

[0695] 使用Lipofectamine2000®,以0、0.1、0.3、1、3、10或30nM浓度的下表中规定的修饰寡核苷酸转染A172细胞。在约24小时的处理期后,自细胞分离RNA且通过定量实时PCR测量含有外显子10的Tau转录物的mRNA水平。除了ISIS 617781和415883之外,使用人Tau引物探针集9_10R5测量mRNA水平。这两种寡核苷酸使用人Tau引物探针集10_11。根据如由RIBOGREEN®所测量的总RNA含量调整人Tau外显子10mRNA水平。

[0696] 以与实施例3中所说明类似的方式计算每种寡核苷酸的IC₅₀并且在下面呈现结果。

[0697] 表8

[0698] 统一2'-MOE修饰寡核苷酸对人Tau外显子10表达的抑制作用

ISIS NO	序列	IC ₅₀ (nM)	SEQ ID NO: 1 起始位点	SEQ ID NO: 1 终止位点	SEQ ID NO
617357	TCCTTTGAGCCACACTTG	0.48	121873	121890	147
617358	ATCCTTTGAGCCCACTT	0.34	121874	121891	148
617359	TATCCTTTGAGCCCACT	0.41	121875	121892	149
549583	TTATCCTTTGAGCCACAC	0.27	121876	121893	33
[0699] 617360	ATTATCCTTTGAGCCACA	0.33	121877	121894	150
617361	TATTATCCTTTGAGCCAC	0.24	121878	121895	151
617362	ATATTATCCTTTGAGCCA	0.27	121879	121896	152
549584	GATATTATCCTTTGAGCC	0.19	121880	121897	34
565989	TGATATTATCCTTTGAGC	0.39	121881	121898	153
617782	U _m G _m A _m A _m G _m G _m U _m A _m C _m U _m C _m A _m C _m A _m C _m U _m G _m C _m C _m G _m C _m	4.33	121914	121934	198
617781	U _m A _m U _m C _m U _m G _m C _m A _m C _m C _m U _m U _m U _m G _m G _m U _m A _m G _m	20.25	121820	121837	199
415883	TCTTATTAATTATCTGCACC	0.65	121828	121847	200

[0700] 实施例7:靶向人Tau的外显子10的修饰寡核苷酸

[0701] 设计一系列修饰寡核苷酸来靶向人Tau的外显子10。“起始位点”表示修饰寡核苷酸所靶向的最5'核苷。“终止位点”表示修饰寡核苷酸所靶向的最3'核苷。下表中列出的每个修饰寡核苷酸都靶向于SEQ ID NO:1(从核苷酸9240000至9381000截短的GENBANK登录号NT_010783.15)。

[0702] 在下表中,“^mC”表示5-甲基胞嘧啶,下标“e”表示2'-O-甲氧基乙基,下标“f”表示2'-脱氧氟基,下标“d”表示2'-脱氧,下标“p”表示肽核酸单体,下标“s”表示硫代磷酸酯核苷间键联,下标“o”表示磷酸二酯核苷间键联,“P-”表示在5'末端处的O形接头(PNA Bio, Thousand Oaks, CA),“-N”表示3'-末端羧基酰胺。

[0703] 表9

[0704] 靶向人Tau的修饰寡核苷酸

[0705]

ISIS NO	序列	SEQ ID NO: 1 起始位点	SEQ ID NO: 1 终止位点	SEQ ID NO
549607	$A_{es}^m C_{es} G_{es}^m C_{es} A_{es}^m C_{es} T_{es}^m C_{es} A_{es}^m C_{es} A_{es}^m C_{es}^m C_{es}$ $A_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es}^m C_e$	121972	121989	201
565985	$^m C_{es} G_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} A_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es} G_{es}^m C_{es} T_{es}^m C_{es} G_{es}$ $^m C_{es} A_{es} A_{es} G_e$	121706	121723	202
565986	$G_{es} A_{es}^m C_{es}^m C_{es}^m C_{es} G_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} A_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es} G_{es}$ $^m C_{es} T_{es}^m C_{es} G_e$	121710	121727	203
565987	$G_{es} A_{es}^m C_{es}^m C_{es}^m C_{es} G_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es} G_{es}$ $^m C_{es} T_{es}^m C_{es} G_e$	121770	121787	204
565988	$^m C_{es}^m C_{es} T_{es} G_{es} G_{es} A_{es}^m C_{es}^m C_{es}^m C_{es} G_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es}$ $G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es} G_e$	121774	121791	205
566007	$^m C_{es} G_{es} C_{fs} C_{fs} U_{fs} A_{fs} C_{fs} U_{fs} U_{fs} G_{fs} C_{fs} U_{fs} C_{fs} G_{fs} C_{fs} A_{fs}$ $A_{es} G_e$	121706	121723	206
566012	$^m C_{es}^m C_{es} U_{fs} G_{fs} G_{fs} A_{fs} C_{fs} C_{fs} C_{fs} G_{fs} C_{fs} C_{fs} U_{fs} G_{fs} C_{fs} U_{fs} T_{es} G_e$	121774	121791	207
566013	$T_{es} G_{es} A_{fs} U_{fs} A_{fs} U_{fs} U_{fs} A_{fs} U_{fs} C_{fs} C_{fs} U_{fs} U_{fs} U_{fs} G_{fs} A_{fs} G_{es}$ $^m C_e$	121881	121898	208
566014	$T_{es} T_{es} G_{fs} A_{fs} U_{fs} A_{fs} U_{fs} U_{fs} A_{fs} U_{fs} C_{fs} C_{fs} U_{fs} U_{fs} U_{fs} G_{fs} A_{es}$ G_e	121882	121899	209
566015	$T_{es} T_{es} U_{fs} G_{fs} A_{fs} U_{fs} A_{fs} U_{fs} U_{fs} A_{fs} U_{fs} C_{fs} C_{fs} U_{fs}$ $U_{fs} U_{fs} G_{es} A_e$	121883	121900	210
566016	$^m C_{es} A_{es} C_{fs} U_{fs} U_{fs} C_{fs} C_{fs} U_{fs} A_{fs} A_{fs} U_{fs} A_{fs} A_{fs} U_{fs}$ $U_{fs} C_{fs} A_{es} A_e$	121960	121977	211
566017	$A_{es}^m C_{es} A_{fs} C_{fs} C_{fs} A_{fs} C_{fs} U_{fs} U_{fs} C_{fs} C_{fs} U_{fs} A_{fs} A_{fs}$ $U_{fs} A_{fs} A_{es} T_e$	121964	121981	212
566018	$A_{es}^m C_{es} U_{fs} C_{fs} A_{fs} C_{fs} A_{fs} C_{fs} C_{fs} A_{fs} C_{fs} U_{fs} U_{fs} C_{fs}$ $C_{fs} U_{fs} A_{es} A_e$	121968	121985	213
568409	$^m C_{es}^m C_{es} C_{fs} G_{fs} C_{fs} C_{fs} U_{fs} A_{fs} C_{fs} U_{fs} U_{fs} G_{fs} C_{fs}$ $U_{fs} C_{fs} G_{fs}^m C_{es} A_e$	121708	121725	214
568410	$G_{es} A_{es} C_{fs} C_{fs} C_{fs} G_{fs} C_{fs} C_{fs} U_{fs} A_{fs} C_{fs} U_{fs} U_{fs} G_{fs}$ $C_{fs} U_{fs}^m C_{es} G_e$	121710	121727	215
568411	$G_{es} A_{es} C_{fs} C_{fs} C_{fs} G_{fs} C_{fs} C_{fs} U_{fs} G_{fs} C_{fs} U_{fs} U_{fs} G_{fs}$ $C_{fs} U_{fs}^m C_{es} G_e$	121770	121787	216

[0706]

5684 12	$T_{es} G_{es} G_{fs} A_{fs} C_{fs} C_{fs} C_{fs} G_{fs} C_{fs} C_{fs} U_{fs} G_{fs} C_{fs} U_{fs}$ $U_{fs} G_{fs} {}^mC_{es} T_e$	1217 72	1217 89	217
6244 64	$U_{ms} C_{ms} U_{ms} U_{ms} A_{ms} U_{ms} U_{ms} A_{ms} A_{ms} U_{ms} U_{ms} A_{ms}$ $U_{ms} C_{ms} U_{ms} G_{ms} C_{ms} A_{ms} C_{ms} C_m$	1218 28	1218 47	218
6244 65	$T_{ks} {}^mC_{ds} T_{ds} T_{ks} A_{ds} T_{ds} T_{ks} A_{ds} A_{ds} T_{ks} T_{ds} A_{ds} T_{ks}$ ${}^mC_{ds} T_{ds} G_{ks} {}^mC_{ds} A_{ds} {}^mC_{ks} {}^mC_k$	1218 28	1218 47	200
6244 66	$T_{ks} {}^mC_{es} T_{es} T_{ks} A_{es} T_{es} T_{ks} A_{es} A_{es} T_{ks} T_{es} A_{es} T_{ks}$ ${}^mC_{es} T_{es} G_{ks} {}^mC_{es} A_{es} {}^mC_{ks} {}^mC_k$	1218 28	1218 47	200
6244 67	$T_{ks} {}^mC_{es} T_{es} T_{ko} A_{es} T_{es} T_{ko} A_{es} A_{es} T_{ko} T_{es} A_{es} T_{ko}$ ${}^mC_{es} T_{es} G_{ko} {}^mC_{es} A_{es} {}^mC_{ks} {}^mC_k$	1218 28	1218 47	200
6244 68	$T_{ks} {}^mC_{ds} T_{ds} T_{ko} A_{ds} T_{ds} T_{ko} A_{ds} A_{ds} T_{ko} T_{ds} A_{ds} T_{ko}$ ${}^mC_{ds} T_{ds} G_{ko} {}^mC_{ds} A_{ds} {}^mC_{ks} {}^mC_k$	1218 28	1218 47	200
6268 81	$P-T_p C_p T_p T_p A_p T_p T_p A_p A_p T_p T_p A_p T_p C_p T_p G_p$ $C_p A_p C_p C_p-N$	1218 28	1218 47	200
6700 11	$G_{es} G_{es} A_{eo} {}^mC_{es} G_{eo} T_{es} T_{eo} G_{es} {}^mC_{eo} T_{es} A_{eo} A_{es} G_{eo}$ $A_{es} T_{eo} {}^mC_{es} {}^mC_{es} A_e$	1218 51	1218 68	130
6700 12	${}^mC_{es} {}^mC_{es} T_{eo} T_{es} T_{eo} G_{es} A_{eo} G_{es} {}^mC_{eo} {}^mC_{es} A_{eo} {}^mC_{es}$ $A_{eo} {}^mC_{es} T_{eo} T_{es} G_{es} G_e$	1218 72	1218 89	146
6700 13	$A_{es} T_{es} {}^mC_{eo} {}^mC_{es} T_{eo} T_{es} T_{eo} G_{es} A_{eo} G_{es} {}^mC_{eo} {}^mC_{es}$ $A_{eo} {}^mC_{es} A_{eo} {}^mC_{es} T_{es} T_e$	1218 74	1218 91	148
6700 14	$T_{es} T_{es} A_{eo} T_{es} {}^mC_{eo} {}^mC_{es} T_{eo} T_{es} T_{eo} G_{es} A_{eo} G_{es}$ ${}^mC_{eo} {}^mC_{es} A_{eo} {}^mC_{es} A_{es} {}^mC_e$	1218 76	1218 93	33
6700 15	$A_{es} T_{es} T_{eo} A_{es} T_{eo} {}^mC_{es} {}^mC_{eo} T_{es} T_{eo} T_{es} G_{eo} A_{es} G_{eo}$ ${}^mC_{es} {}^mC_{eo} A_{es} {}^mC_{es} A_e$	1218 77	1218 94	150
6700 16	$T_{es} A_{es} T_{eo} T_{es} A_{eo} T_{es} {}^mC_{eo} {}^mC_{es} T_{eo} T_{es} T_{eo} G_{es} A_{eo}$ $G_{es} {}^mC_{eo} {}^mC_{es} A_{es} {}^mC_e$	1218 78	1218 95	151
6700 17	$A_{es} T_{es} A_{eo} T_{es} T_{eo} A_{es} T_{eo} {}^mC_{es} {}^mC_{eo} T_{es} T_{eo} T_{es} G_{eo}$ $A_{es} G_{eo} {}^mC_{es} {}^mC_{es} A_e$	1218 79	1218 96	152
6700 18	$G_{es} A_{es} T_{eo} A_{es} T_{eo} T_{es} A_{eo} T_{es} {}^mC_{eo} {}^mC_{es} T_{eo} T_{es} T_{eo}$ $G_{es} A_{eo} G_{es} {}^mC_{es} {}^mC_e$	1218 80	1218 97	34
6700 19	$G_{es} T_{es} T_{eo} T_{es} G_{eo} A_{es} T_{eo} A_{es} T_{eo} T_{es} A_{eo} T_{es} {}^mC_{eo}$ ${}^mC_{es} T_{eo} T_{es} T_{es} G_e$	1218 84	1219 01	35
6700 20	$G_{es} G_{eo} A_{eo} {}^mC_{eo} G_{es} T_{es} T_{es} G_{es} {}^mC_{es} T_{es} A_{es} A_{es} G_{eo}$ $A_{eo} T_{eo} {}^mC_{es} {}^mC_{es} A_e$	1218 51	1218 68	130
6700 21	${}^mC_{es} {}^mC_{eo} T_{eo} T_{eo} T_{es} G_{es} A_{es} G_{es} {}^mC_{es} {}^mC_{es} A_{es} {}^mC_{es}$ $A_{eo} {}^mC_{eo} T_{eo} T_{es} G_{es} G_e$	1218 72	1218 89	146
6700 22	$A_{es} T_{eo} {}^mC_{eo} {}^mC_{eo} T_{es} T_{es} T_{es} G_{es} A_{es} G_{es} {}^mC_{es} {}^mC_{es}$ $A_{eo} {}^mC_{eo} A_{eo} {}^mC_{es} T_{es} T_e$	1218 74	1218 91	148
6700 23	$T_{es} T_{eo} A_{eo} T_{eo} {}^mC_{es} {}^mC_{es} T_{es} T_{es} T_{es} G_{es} A_{es} G_{es} {}^mC_{eo}$ ${}^mC_{eo} A_{eo} {}^mC_{es} A_{es} {}^mC_e$	1218 76	1218 93	33
6700 24	$A_{es} T_{eo} T_{eo} A_{eo} T_{es} {}^mC_{es} {}^mC_{es} T_{es} T_{es} T_{es} G_{es} A_{es} G_{eo}$ ${}^mC_{eo} {}^mC_{eo} A_{es} {}^mC_{es} A_e$	1218 77	1218 94	150
6700 25	$T_{es} A_{eo} T_{eo} T_{eo} A_{es} T_{es} {}^mC_{es} {}^mC_{es} T_{es} T_{es} T_{es} G_{es} A_{eo}$ $G_{eo} {}^mC_{eo} {}^mC_{es} A_{es} {}^mC_e$	1218 78	1218 95	151
6700 26	$A_{es} T_{eo} A_{eo} T_{eo} T_{es} A_{es} T_{es} {}^mC_{es} {}^mC_{es} T_{es} T_{es} T_{es} G_{eo}$ $A_{eo} G_{eo} {}^mC_{es} {}^mC_{es} A_e$	1218 79	1218 96	152
6700 27	$G_{es} A_{eo} T_{eo} A_{eo} T_{es} T_{es} A_{es} T_{es} {}^mC_{es} {}^mC_{es} T_{es} T_{es} T_{eo}$ $G_{eo} A_{eo} G_{es} {}^mC_{es} {}^mC_e$	1218 80	1218 97	34

[0707]

6700 28	G _{es} T _{eo} T _{eo} T _{eo} G _{es} A _{es} T _{es} A _{es} T _{es} T _{es} A _{es} T _{es} ^m C _{eo} ^m C _{eo} T _{eo} T _{es} T _{es} G _e	1218 84	1219 01	35
6783 29	G _{es} ^m C _{es} ^m C _{eo} A _{es} ^m C _{eo} A _{es} ^m C _{eo} T _{es} T _{eo} G _{es} G _{eo} A _{es} ^m C _{eo} T _{es} G _{eo} G _{es} A _{es} ^m C _e	1218 65	1218 82	140
6783 30	A _{es} G _{es} ^m C _{eo} ^m C _{es} A _{eo} ^m C _{es} A _{eo} ^m C _{es} T _{eo} T _{es} G _{eo} G _{es} A _{eo} ^m C _{es} T _{eo} G _{es} G _{es} A _e	1218 66	1218 83	141
6783 31	T _{es} G _{es} A _{eo} G _{es} ^m C _{eo} ^m C _{es} A _{eo} ^m C _{es} A _{eo} ^m C _{es} T _{eo} T _{es} G _{eo} G _{es} A _{eo} ^m C _{es} T _{es} G _e	1218 68	1218 85	83
6783 32	G _{es} ^m C _{eo} ^m C _{eo} A _{eo} ^m C _{es} A _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} G _{es} G _{es} A _{es} ^m C _{eo} T _{eo} G _{eo} G _{es} A _{es} ^m C _e	1218 65	1218 82	140
6783 33	A _{es} G _{eo} ^m C _{eo} ^m C _{eo} A _{es} ^m C _{es} A _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} G _{es} G _{es} A _{eo} ^m C _{eo} T _{eo} G _{es} G _{es} A _e	1218 66	1218 83	141
6783 34	T _{es} G _{eo} A _{eo} G _{eo} ^m C _{es} ^m C _{es} A _{es} ^m C _{es} A _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} G _{eo} G _{eo} A _{eo} ^m C _{es} T _{es} G _e	1218 68	1218 85	83
6938 40	T _{es} G _{es} G _{eo} A _{es} ^m C _{eo} G _{es} T _{eo} T _{es} G _{eo} ^m C _{es} T _{eo} A _{es} A _{eo} G _{es} A _{eo} T _{es} ^m C _{es} ^m C _e	1218 52	1218 69	79
6938 41	^m C _{es} ^m C _{es} A _{eo} ^m C _{es} A _{eo} ^m C _{es} T _{eo} T _{es} G _{eo} G _{es} A _{eo} ^m C _{es} T _{eo} G _{es} G _{eo} A _{es} ^m C _{es} G _e	1218 64	1218 81	82
6938 42	A _{es} ^m C _{es} G _{eo} T _{es} G _{eo} T _{es} T _{eo} T _{es} G _{eo} A _{es} T _{eo} A _{es} T _{eo} T _{es} A _{eo} T _{es} ^m C _{es} ^m C _e	1218 88	1219 05	36
6938 43	G _{es} G _{es} A _{eo} ^m C _{es} G _{eo} T _{es} G _{eo} T _{es} G _{eo} A _{es} A _{eo} G _{es} G _{eo} T _{es} A _{eo} ^m C _{es} T _{es} ^m C _e	1219 24	1219 41	45
6938 44	G _{es} A _{es} G _{eo} ^m C _{es} ^m C _{eo} A _{es} ^m C _{eo} A _{es} ^m C _{eo} T _{es} T _{eo} G _{es} G _{eo} A _{es} ^m C _{eo} T _{es} G _{es} G _e	1218 67	1218 84	142
6938 45	T _{es} G _{eo} G _{eo} A _{eo} ^m C _{es} G _{es} T _{es} T _{es} G _{es} ^m C _{es} T _{es} A _{es} A _{eo} G _{eo} A _{eo} T _{es} ^m C _{es} ^m C _e	1218 52	1218 69	79
6938 46	^m C _{es} ^m C _{eo} A _{eo} ^m C _{eo} A _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} G _{es} G _{es} A _{es} ^m C _{es} T _{eo} G _{eo} G _{eo} A _{es} ^m C _{es} G _e	1218 64	1218 81	82
6938 47	A _{es} ^m C _{eo} G _{eo} T _{eo} G _{es} T _{es} T _{es} T _{es} G _{es} A _{es} T _{es} A _{es} T _{eo} T _{eo} A _{eo} T _{es} ^m C _{es} ^m C _e	1218 88	1219 05	36
6938 48	G _{es} G _{eo} A _{eo} ^m C _{eo} G _{es} T _{es} G _{es} T _{es} G _{es} A _{es} A _{es} G _{es} G _{eo} T _{eo} A _{eo} ^m C _{es} T _{es} ^m C _e	1219 24	1219 41	45
6938 49	G _{es} A _{eo} G _{eo} ^m C _{eo} ^m C _{es} A _{es} ^m C _{es} A _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} G _{es} G _{eo} A _{eo} ^m C _{eo} T _{es} G _{es} G _e	1218 67	1218 84	142

[0708] 实施例8:靶向人Tau外显子10的寡核苷酸的体内分析

[0709] 将Sprague Dawley大鼠针对表11中呈现的实验分成每组3只大鼠的组,而针对表12中呈现的实验分成每组2或4只大鼠的组。对每个大鼠组中的每只大鼠施用单一3mg鞘内(IT)剂量的选自表3、4或9的寡核苷酸。在注射后3小时至8周的不同时间点,对每只大鼠评价身体的7个不同部位的活动。7个身体部位为:(1)大鼠尾部;(2)大鼠后位姿;(3)大鼠后肢;(4)大鼠后爪;(5)大鼠前爪;(6)大鼠前位姿;和(7)大鼠头部。对于7个不同身体部位的每个部位,如果这个身体部位是活动的,那么为每只大鼠给出0的分项分数,如果这个身体部位是瘫痪的,那么给出1的分项分数。在评价了7个身体部位中的每个部位之后,对每只大鼠的分项分数求和,然后对每个组求平均。例如,如果在3mg IT剂量3小时之后大鼠的尾部、头部和所有其它被评价的身体部位是活动的,那么它将得到0的求和分数。如果在3mg IT剂量3小时后另一只大鼠的尾部是不活动的,但所有其它被评价的身体部位是活动的,那么它将得到1的分数。盐水处理的大鼠通常得到0的分数。在范围顶端的分数将表明有毒性。结果

在表11和12中呈现为每个治疗组的平均分数。

[0710] 表11

[0711] 3mg IT团注体内研究

ISIS No.	注射 3 小时后的 分数	注射 2 周后的分 数	注射 8 周后的分 数	SEQ ID NO.
670020	1.0	2.7	2.7	130
670011	2.3	2.3	2.3	130
617341	3.0	0.0	0.0	130
678329	2.3	0.0	0.0	140
678332	3.0	0.0	1.3	140
617351	7.0	0.0	4.0	140
678330	2.7	2.3	3.0	141
678333	2.7	2.3	2.3	141
617352	7.0	0.0	2.0	141
678331	3.0	0.0	0.0	83
678334	4.3	2.3	2.3	83
549581	7.0	0.0	0.3	83
670012	2.7	0.0	0.0	146
670021	3.0	0.0	1.0	146
549582	4.3	0.0	0.0	146
670013	0.3	2.3	2.3	148
670022	2.0	2.3	3.0	148
617358	3.7	0.0	1.3	148
670014	0.0	0.0	0.0	33
670023	2.0	1.0	0.3	33
549583	2.3	0.0	0.0	33
670015	1.0	2.0	0.7	150
670024	1.0	0.7	0.0	150
617360	5.3	0.0	1.0	150
670025	0.3	5.3	5.3	151

[0712]

670016	2.3	1.3	1.7	151
617361	3.0	0.0	0.3	151
670017	0.0	1.7	1.3	152
670026	1.0	3.7	3.3	152
617362	4.7	3.7	2.7	152
670018	0.3	0.3	0.3	34
670027	1.0	0.7	0.7	34
549584	5.0	2.7	3.7	34
670028	2.0	0.0	0.0	35
670019	3.0	0.0	0.0	35
549585	4.7	5.3	7.0	35

[0713]

[0714] 表12

[0715] 3mg IT团注体内研究

ISIS No.	治疗组的大鼠数目	注射 3 小时后的分数	SEQ ID NO.
549577	4	3.3	79
693840	4	1.8	79
693845	4	0.0	79
549580	4	7.0	82
693841	4	1.8	82
693846	4	2.5	82
[0716] 617353	4	7.0	142
693844	2	3.5	142
693849	4	5.0	142
549582	4	4.3	146
549586	4	5.0	36
693847	2	1.0	36
549595	4	6.5	45
693843	2	2.0	45
693848	2	7.0	45

[0717] 实施例9:靶向人Tau外显子10的修饰寡核苷酸的体内抑制作用

[0718] B6.Cg-Mapttm1 (EGFP) K1t Tg (MAPT) 8cPdav/J小鼠 (The Jackson Laboratory) 表达人Tau的3R和4R同工型。在这个小鼠模型中评估选自表3、4和8的寡核苷酸对4R同工型转移到3R同工型的作用。

[0719] 通过脑室内 (ICV) 团注对每组四只B6.Cg-Mapttm1 (EGFP) K1t Tg (MAPT) 8cPdav/J小鼠 (3-4月大) 的组施用500 μ g寡核苷酸。每组四只小鼠的对照组用PBS进行类似处理。所述剂量两周以后,处死动物并从大脑皮层、海马和/或脊髓提取RNA。通过qRT-PCR分析4R同工型和总人Tau的mRNA表达。使用引物探针集hTau 9_10接合序列 (正向序列5' -CACTGAGAACCTGAAGCACC-3', SEQ ID NO:219;反向序列5' -GTTGCTAAGATCCAGCTTCTT-3', SEQ ID NO:220;探针序列5' -TTAATTATCTGCACCTCCCGCCTCC-3', SEQ ID NO:221) 或引物探针集hTau 10_11接合序列 (正向序列5' -AATATCAAACACGTCCCGGGAG-3', SEQ ID NO:222;反向序列5' -TGCCCTAATGAGCCACACTTG-3', SEQ ID NO:223;探针序列5' -GTCTACAAACCAGTTGACCTGAGC-3', SEQ ID NO:224) 分析4R同工型。使用引物探针集RTS3104 (正向序列5' -AAGATTGGGTCCCTGGACAAT-3', SEQ ID NO:225;反向序列5' -AGCTTGTGGTTTCAATCTTTTTATT-3', SEQ ID NO:226;探针序列5' -CACCCACGTCCTGGCGGA-3', SEQ ID NO:227) 分析总Tau。将4R同工型与总Tau mRNA水平的比率标准化为小鼠GAPDH水平,所述小鼠GAPDH水平是使用引物探针集mGapdh_LTS00102 (正向序列5' -GGCAAATTCAACGGCACAGT-3', SEQ ID NO:228;反向序列5' -GGGTCTCGCTCCTGGAAGAT-3', SEQ ID NO:229;探针序列5' -AAGGCCGAGAATGGGAAGCTTGTCATC-3', SEQ ID NO:230) 分析的。结果在表13-15中呈现为每个治疗组经标准化为GAPDH水平的4R同工型与总Tau mRNA的平均比率除以PBS组的平均比率。“ND”指示无数据。

[0720] 还通过执行RT-PCT评估了炎症,以确定皮层、海马和/或脊髓中AIF1的表达水平。在所有样品标准化为GADPH之后,将每个治疗组的平均AIF1值除以PBS对照组的平均AIF1值。结果呈现于表13-15中。

[0721] 表13

[0722] 修饰寡核苷酸对转基因小鼠中Tau外显子10跳跃的作用

ISIS NO.	4R 皮层	4R 海马	4R 脊髓	AIF1 皮层	AIF1 海马	AIF1 脊髓	SEQ ID NO.
415883	0.50	0.46	0.56	1.35	1.27	1.44	200
549566	0.54	0.54	0.66	1.09	1.13	1.46	31
[0723] 549570	0.58	0.60	0.64	1.17	1.16	1.39	72
549577	0.25	0.30	0.38	2.92	3.27	4.39	79
549581	0.25	ND	ND	1.04	1.07	1.40	83
549582	0.07	0.10	0.12	0.89	0.95	1.15	146
549583	0.25	0.26	0.25	0.97	0.94	1.09	33
617309	0.36	0.36	0.51	1.06	1.06	1.09	97

[0724] 表14

[0725] 修饰寡核苷酸对转基因小鼠中Tau外显子10跳跃的作用

ISIS NO.	4R 皮层	4R 海马	4R 脊髓	AIF1 脊髓	SEQ ID NO.
549582	0.21	0.21	0.23	0.97	146
549584	0.32	0.28	0.28	1.12	34
549585	0.30	0.27	0.30	1.05	35
565989	0.36	0.32	0.36	1.03	153
565990	0.50	0.46	0.53	0.97	154
617341	0.25	0.28	0.28	1.16	130
617351	0.13	0.18	0.14	1.01	140
[0726] 617352	0.09	0.13	0.09	1.06	141
617354	0.31	ND	ND	1.21	143
617355	0.43	0.50	0.37	1.18	144
617356	0.30	0.40	0.49	0.98	145
617357	0.33	0.33	0.27	1.31	147
617358	0.27	0.27	0.34	1.12	148
617359	0.32	0.32	0.37	0.95	149
617360	0.21	0.19	0.29	1.19	150
617361	0.26	0.21	0.37	1.04	151
617362	0.26	0.27	0.34	0.90	152
617364	0.39	0.33	0.43	1.09	157

[0727] 表15

[0728] 修饰寡核苷酸对转基因小鼠中Tau外显子10跳跃的作用

ISIS NO.	4R 皮层	4R 海马	4R 脊髓	AIF1 皮层	AIF1 脊髓	SEQ ID NO.
[0729] 549582	0.26	0.34	0.29	0.74	1.03	146

[0730]	549586	0.25	0.43	0.38	0.97	0.98	36
	549587	0.39	0.47	0.46	0.96	1.17	37
	549595	0.27	0.39	0.39	0.84	0.92	45
	617317	0.62	0.83	0.53	0.88	1.05	106
	617318	0.57	0.69	0.49	0.94	1.06	107
	617323	0.60	0.82	0.49	0.92	1.10	112
	617324	0.72	0.88	0.49	0.70	1.03	113
	617365	0.31	0.42	0.27	0.79	0.87	158
	617367	0.39	0.46	0.35	0.90	1.29	160

[0731] 实施例10:混合主链寡核苷酸对人Tau外显子10跳跃的体内作用

[0732] 通过ICV团注对每组四只B6.Cg-Mapt^{tm1 (EGFP) K1t Tg (MAPT) 8cPdav/J}小鼠(见实施例9)的组施用125 μ g选自表3、4或9的寡核苷酸或PBS。所述剂量两周以后,处死动物,并且从大脑皮层和/或海马提取RNA并如实施例9中所述加以分析。结果在表16和17中呈现为对于每个治疗组经标准化为PBS的4R同工型与总Tau mRNA的平均比率。

[0733] 通过执行RT-PCT来测试异体移植炎症因子(AIF1)的表达作为炎症的量度,以确定AIF1在皮层和脊髓中的表达水平。在所有样品标准化为GADPH之后,将每个治疗组的平均AIF1值除以PBS对照组的平均AIF1值。结果呈现于表16和17中。

[0734] 表16

[0735] 修饰寡核苷酸对转基因小鼠中Tau外显子10跳跃的作用

	ISIS NO.	4R 皮层	AIF1 皮层	AIF1 脊髓	SEQ ID NO.
[0736]	549582	0.42	1.0	0.9	146
	549583	0.71	0.9	1.2	33
	617341	0.64	1.0	0.9	130
	617361	0.63	1.1	1.1	151
	670011	0.78	1.0	1.0	130
	670012	0.47	0.9	1.1	146
	670013	0.63	1.0	0.9	148
	670014	0.90	0.9	1.0	33

[0737]	670015	0.70	0.9	0.9	150
	670018	0.75	1.0	1.0	34
	670019	0.58	1.1	1.0	35
	670020	0.67	0.9	0.9	130
	670023	0.87	1.0	1.0	33
	670024	0.60	1.0	1.1	150
	670025	0.72	1.1	0.9	151
	670027	0.79	1.0	0.9	34
	670028	0.66	1.1	1.0	35
	678329	0.13	1.0	1.0	140
	678330	0.51	0.9	0.9	141
	678331	1.12	0.9	1.0	83
	678332	0.27	0.9	1.0	140
	678333	0.56	0.9	0.9	141
	678334	1.10	0.9	1.2	83

[0738] 表17

[0739] 修饰寡核苷酸对转基因小鼠中Tau外显子10跳跃的作用

	ISIS No.	4R 皮层	AIF1 皮层	AIF1 脊髓	SEQ ID NO.
[0740]	549577	0.56	1.4	1.6	79
	549580	0.52	0.9	1.2	82
	549582	0.27	0.9	1.0	146
	549586	0.90	1.1	1.3	36
	549595	0.90	1.0	1.4	45
	617353	1.35	1.0	1.3	142
	693840	0.80	0.9	1.2	79
	693841	0.91	1.1	1.1	82
	693842	1.20	1.0	0.8	36
	693843	1.31	1.0	1.6	45
	693844	2.22	1.1	1.6	142
	693845	0.86	1.0	1.4	79
	693846	0.84	1.0	1.4	82
	693847	0.89	1.0	1.8	36
	693848	0.76	0.9	1.9	45
	693849	2.08	0.8	1.8	142

序列表

<110> IONIS制药公司
 <120> 用于调节TAU表达的组合物和方法
 <130> BIOL0220W0
 <150> 61/785,177
 <151> 2013-03-14
 <150> 61/943,931
 <151> 2014-02-24
 <160> 232
 <170> PatentIn版本3.5
 <210> 1
 <211> 141001
 <212> DNA
 <213> 智人
 <400> 1

```

aatttataaa ggaaaaaggt ttaattgact cacagttcag catgtctggg gaagtgttag 60
gaaacttaca atcatggcag aagagaaagc aaaccatcct ttctcacatg gtgacaggaa 120
gagcaaagcg gggtaaagccc cttacaaaac caccagatct catgagaact cactatcacg 180
agaacaccat ggaggttaact gccccatga ttcaattacc tcccaccagg tccctccac 240
gacatgtggg gattatgcca actccaactc aagatgagat ttgggtgggg acacagccaa 300
accatatcag aagcttaacc ttctttggag catgattatt cagttgaacc taagttcagt 360
agtcaccagcag ttatgctgtc ttcagctact atttccata tgtttctcaa acatctgata 420
tatcacactg gctagtgcac tttcttccac cagcatacca tctcaattta ccactttaac 480
aattggactg ccactttgtg tcagggacta tctgtgctcc aactactaca agtgataagg 540
tcctcactga cagccaggga gcaagtgatc cagctctaaa actcacctta tcatctgctt 600
tcctagacca ctctaacia ccaactattc tgggttgagt tctccaagag gcagagagtt 660
caggatacag aatgttgttt tgTTTTgtt gttgttgctg ttgttgtttg tgtgtgtgtt 720
tgggcttttt tgagacggag tctcactctg ttgccaggt agaagtgcag tggcatgatc 780
tcagctccct gcaacctcca cctctgggt ttaagtgatt ccctgcctc cacctcctga 840
gtagctggga ctacaagtgt gcgccaccac accagctaa tttttgtgtt tttagtagaa 900
atggggTTTT accatgttgg ctaggctgct cccaaactcc tgacctccag tgatccacct 960
acctctgcct cccaaaagtgc tgggattaca ggcgtgagcc accacacca gcccagaatg 1020
tttattagaa tgcacaatta ataccagagg cagtggggaa ggaaggactg agcagaggag 1080
gaagttgagt tgtgattcaa cccaacaact gcctggctgg catggggagc tctggagtta 1140
aatagggccca tcagacttcc ccagtgtggg gccaatga ctgggtcttt atacccccac 1200
ctctgtcagt cactcaacgt ggtctcctg caacaagtg actcttgag cagagacaat 1260
ccctgaaggg acagagggt gaagcctgtc tgccaacagc actcccagtg gctggaacia 1320
gtccttccct atagggggaat ctgggcggca cacctccatc tccatgtcca tcacatacga 1380
  
```

tatacacagac atttaaatat ttgataact gtacataaga gtttccttta taatcttata 1440
gatcttattt tatgcatttg aaaatattct tctgagacag ggcttttatc atattgccat 1500
agggtgccac gatataaaaa aggttaaata ctctctgatt cagaagtatc caatgatgac 1560
ttctctctca tgcatttaat tgaaaatctg gtttttctcc ttctctgcta gttctctacc 1620
tctctcccca cctcccacat catagcctat tcacatatgt ctgaatctca tgatagacaa 1680
gttcaggttc ttttcccagg ttctttttac cacatcccc cacccccaca taaaagtat 1740
atatggcaca gcctaggttc cacccaaatc ctttctctc ttcttctg gcccacaact 1800
ctcctacata cattggtata cttgcgctt agggatggcc atgtgactaa gttctaacag 1860
tggaacatga tcagatgcca cttccagcct ctaagacagc cagtgtgtt cctccataag 1920
ctccttctct tctcccaac tggagactct aatgatgac cctgcctcaa gcaagcaaac 1980
aacaagtccc tcaggggtgg tgtaggctgc aatggaagg agcttgagtc ccaaaccttc 2040
cacggagaag gctggetacc aacctggatc actacceca gactgctcga agagttggtt 2100
tgaaccattg tgttttgggg tctatttatt acaacagttt agcttgcttt gtgaatagat 2160
ttagtggcag agcctccaaa ttctatagat acattgatct cagtctaac cgcacttga 2220
acaccattaa ataaaggaat tgcaaaccca gagaaggtaa tgaatttgtc taaggtcata 2280
caagatggct aggatcagga cccaactctc cagttttctt tcttctctgc tattctgcct 2340
tctgtgatcc tacataagt ggcatgattg tataacatat gcggccatga gatttctctt 2400
tcagcaagag aaaggacag gaagaaagag agggaatgca ttttcttggc ctgaattagt 2460
gtgagccatt agttacctac attgactaaa ttatctggaa tgaacattca actctacatc 2520
acatatagtt aaaatgacag atctgcttaa gattgtttct agcatacgtt atttcaattt 2580
aggcaaatgt gaccattcag tgtgagggga ccatactgtc attaggtccc tgtcagttct 2640
caattatact gttatcttag agggggaaaa atgtgaaatt tgaatgtaga cgagtgttga 2700
tttgactgct acagtttatt ttacgtatag aaataaaata atgtgtagca aaagcattat 2760
taciaaagatg ataatgaaat aactagtatt tataatagta taatagtata gtatttataa 2820
tagtatgata gtttaatgac tatttgtcag atgttgtgta agaaacttta tacacacaca 2880
cacacacacc tcatttaatt cctgtatcaa tcaggataca ggacgctgtg gtaacaactc 2940
ctcaaatctc ggtggcttgc acaacaaatg cttatttctt tttttttttt gaccaagaat 3000
cttgctctgt aacaggctgg agtgcaatgg tgcaatctcg gctcactgca gcctctgcct 3060
cctgggttca agcgattctc ctgcctcagt ctctcgagta gctgggaaca caggcacgag 3120
ccaccacatc tggctaattt ttgtgatttt agtagagatg ggatttcacc atgttgcctca 3180
ggctggcctt gaactcctga cctcaagcga tccaccacc tcagcctccc aaagtgcctg 3240
gattacaggc atgagccact gcgccagcc ccaaatgttt atttcttgct catgtgacat 3300
gtacttcctc gagtttttcc ttctgagat ctaagctgaa ggaacagctc tctggagcca 3360
cgccattctg gtggcgghaaa ggaagagtaa aagtggtaga accttgcaat gctcttgaag 3420
cgcctatttg gaatgtctac atcatgtaaa tggtaatgga caagtatgta taatccccac 3480
accaaaaaaaa ggggacacta ttggggacaa taaccacatt tcaatgctgc aagacggata 3540
ttgactgcac ccccttccca ctttcagaaa gaagaagagt aattttgctg aactccttct 3600
agagactgga aatgtccctt ccagttgggg tgattagga aggccttggt aaaatttgag 3660
ctagagtttg aaggtaggt agactactgg tgggtgaaga aagaacaagg acctttag 3720

gcaaaggaaa acctcagaat tacagaggtg gaaaaagagt tctagtcaag ccacttcagc 3780
tggctacaga gtaggtggga aagaaaatgg gaggacaagg gctcagatga tggggggttg 3840
gggcattggg gggacacttg aaagctaaac taaggggttg aacttaattt aggaggcagt 3900
tagaagcttt tacatatatt tgagcaagag agtgacataa ttaaaatgat ctgggccagg 3960
tgtgggtggc cacacctgta atcccagcac tttgggaggc tgaggagctt gggtcacctg 4020
aggtcaggag atcgagacca gcctggccaa catggtgaaa tcccgtccta ctaaaaatac 4080
aaaaattagc cgggagtggt ggcatatgcc tgtaatccca gtagctggga ggctgagaca 4140
ggaaaatcgc ttgaacccgg gaaacagggt gcagtgagcc gagatcgtgc cactgcactc 4200
cagcctgggc aacagagcga gactccatct caaaaaaaca aaacaaacac acacaaaaaa 4260
ccaaaaataa ataaataaaa tgatcacttc tgaatactga tctaactagg ggttgcaggg 4320
tgggctgata tagggagaaa ctggagagca aggagatcac taaggtccct acatgtccag 4380
aaccaagata gaggtcttga actaggatgg tggcagttag aacaacaaca acaaaaagtc 4440
aattccaggc tgagtgcagt ggctcatgcc tgtaatccca acgctttggg aggctgaggt 4500
gggagttaga aagcagcctg ggcaaacctg caagacctc tctctaaaaa aaaaaaaaaa 4560
aaaaagttag ccaggtgtgg tggtgcccac ctgtagtccc agcaactcag aaggctgagg 4620
tgggaagatt gcttgagccc caggagtcca agcttgccgt gagctacgat tgtgccactg 4680
cactccagcc tgagcaagac cttgtctcca aaaaaagtc aattccactg acttttctaa 4740
ggtgtacacc atcaaggggc agtccatct ccaggccatt ggctcatgag acattctgta 4800
gtcagaaggc tagggcagat tgctttgagc aagccccat ggtggttctc actcctactt 4860
ctttgggtat atgcccctct gtttaaaaat aaagttaata tgcatttaa aaaaaaagg 4920
agaaaaaggt cagttccaga aactgtgtga ataaagcatt ttacttgctt tttctattaa 4980
tctataacat atgttgattt tttaaaaaga atataagagc tatgcaaatt ggagcttcaa 5040
gacaacttcc catctcccta ggaggagatg gctgcctaa acccccctac atagaaatca 5100
tcccactgct tgggcttaa cttgatgttg gggaaatgaa aatccaagc taaggccgaa 5160
gcctggggcc tgggcgacca gcagaatgag gaccactggt cagtttcagg ctgaggtgag 5220
tcttccaggg gacaatctct agctggccct taacattca gacttcaagc tctatttaca 5280
gcataaaggt gtttcaaaag acgtgataca aataactgca aatgctctgc gatgtgttaa 5340
gcaactgttg aaattcgtct aatttaagat tttttttct gacgtaacgg ttagattcac 5400
gtttcttttt ttttaagtac agttctactg tattgtaact gagttagctt gctttaagcc 5460
gatttggtta ggaaaggatt caccttggtc agtaacaaaa aaggtgggaa aaaagcaagg 5520
agaaaggaag cagcctgggg gaaagagacc ttagccaggg gggcggtttc gggactacga 5580
agggtcgggg cggacggact cgagggccgg ccacgtggaa ggccgctcag gacttctgta 5640
ggagaggaca ccgccccagg ctgactgaaa gtaaagggca gcggaccag cggcggagcc 5700
actggccttg ccccgacccc gcatggcccc aaggaggaca cccacccccg caacgacaca 5760
aagactccaa ctacaggagg tggagaaagc gcgtgcgcca cggaacgcgc gtgcgcgctg 5820
cggtcagcgc cgcggcctga ggcgtagcgg gagggggacc gcgaaagggc agcgcgagga 5880
ggaacgagcc gggagacgcc ggacggccga gcggcagggc gctcgcgcgc gccactagt 5940
ggccggagga gaaggctccc gcggaggccg cgtgccccgc cccctcccct ggggaggctc 6000
gcgttcccgc tgctcgcgcc tgcgccgcc gccggcctca ggaacgcgcc ctcttcgccg 6060

gcgcgcgccc tcgcagtcac cgccaccac cagctccggc accaacagca gcgccgctgc 6120
 caccgcccac cttctgccgc cgccaccaca gccacettct cctcctccgc tgtcctctcc 6180
 cgtcctcgcc tctgtcgact atcaggtaag cgccgcggct ccgaaatctg cctcgccgtc 6240
 cgctctgtg caccctgcg ccgccgcccc tcgccctccc tctccgcaga ctggggcttc 6300
 gtgcgccggg catcggtcgg gccaccgca gggcccctcc ctgcctcccc tgctcggggg 6360
 ctggggccag gccggcctgg aaagggacct gagcaaggga tgcacgcacg cgtgagtgcg 6420
 cgcggtgtgtg tgtgctggag ggtcttcacc accagattcg cgcagacccc aggtggaggc 6480
 tgtgccggca ggggtggggcg cggcggcggt gacttggggg agggggctgc cttcactct 6540
 cgactgcagc cttttgccgc aatgggcgtg tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg 6600
 tgtgtgtgtg gaggggtccg ataacgacc ccgaaaccga atctgaaatc cgctgtccct 6660
 gccgctgttc gccatcagct ctaagaaaga cgtggatcgg gttctagaaa agatgactcc 6720
 ctgcacgccc ctccctgcac ctcccagca gtgattccga caggccttc actgcccctg 6780
 attttaggcg ggggcccggc cctcccctt ttctctcttc agaaaccctg aggggacatt 6840
 tgggggctgg gagaaatcga ggagatgggg aggggtccac gcgctgtcac tttagttgcc 6900
 cttccccctg cgcacgctg gcacagagac gcgagcagc ccgtgcctga gaacagtgcg 6960
 cggatcccac tgtgcacgct cgcaaaggca gggttcacct ggccctggcga tgtggacgga 7020
 ctggcgggcc gctgggtccc gttcgcgggc acgcacagcc gcagccacgc acggatgggc 7080
 gcggggctgc aggtgcatct cggggcggat ttcttttca gcgctcggag cgcagggcgc 7140
 ccggcgtgtg cgctccctgc cggaggcgcg gggctggcgc gcagggctcg cccctcactg 7200
 cggcagtggg tgtggaccct ggtgggcgag gaagggggag gataggctgt gcctcctccc 7260
 actcccgccc ccagcccc ttttttccc cctcggaac cgaggtgcca tcttttttcg 7320
 gcgtgtcacg tctttacggt gccatgcaa accgggtggc cgggcttcat aggacagggc 7380
 ggggcctggc attaaaggga gggggacaat cagcgtgaa atcttggcgt tttgctgctg 7440
 cgggcgtgag cactgggggc gttcggccag caccttcttc gggggctctt tgctttgtct 7500
 gtagaggtta cgtgatctgc gctcccagcc ctggtttctg gcttttattc tgagggtgtt 7560
 cagtcaacct cccccctacg cccatgcgcc tctctttctt ttttcgctcc tcatttccga 7620
 gccattgtt ggatctcgag gcttgcggg ttgatgaac tcgagtcaac cccccgacc 7680
 ccggcacgca tggaacgggc gtgaccgcgc gcagcctcgt ctggagtct gccggcggc 7740
 ggaagcttct gaagggatgg gattcgagtc tccgtgcgc ctgcgggagg cggcagaggg 7800
 atctcgcccc tccctacacc ccaagtgtcc tgagggccac gccacaccag gttgccagc 7860
 gagggacgct ggctaccat ccggggatgg gtggggagcc ctggcggggc ctctccggct 7920
 ttacgccctg ttgcttcgcc tggccggaga atgtgaggaa ggggcataag gttactggtg 7980
 cttcggccac acccatcttt ctgagccac tggactgggc gcagaggggg gattgccatg 8040
 gaaaccacag gtgtccggag aggggatctt ggggctggcc tcacccttc cctgcggaga 8100
 ttggggacc cgggtaggg ggagccgcgc ccagtcggcc tcttgaggga cacgggagga 8160
 agccccgaac ccccgccct gaggetgttt ctgattggcc cctggaggcc gcagacacgc 8220
 agataggcgg ccctgggtgt attttatta atattatgtc cgtactgatt aatattattt 8280
 atcttaaata aatttcacc gtgtccaagt tcaccgcgc cccaaaaccg agtctggggc 8340
 ggcaggggga actcctggcc aacgaatcca tgccctgccc tctgtgatg aacctgtac 8400

gcacggtttt ctggttaatt ctatcgctga aaactggtgc gggggcgca cttctgagac 8460
ggaagagcat ctaggagctg aatcctccac gcgggtcgcc caggttgatc tgaatttctg 8520
gggaatggct tggctgcccg cccgggacca ggccgaccct ccttgacggt ggcgtagagg 8580
gctggagcct gggfactgcg aggctcctcg catggctggg cccgccgca ggggttgag 8640
agcggctcag ggatcgattc aagcatcgtc tctcctcct cgccccaga cagagctggg 8700
cgcggggttc ccctccaga tggagcgagg gtctcgggt ggccccgaa aaggggagcc 8760
cgcgccacg gctacgtatt gccatctcgc gagcagagat gtcacctcct gcctttggag 8820
gaaagggagc ccggtgggga tgagcgcatt tagcccaatg ctgggaacaa agcgcactcc 8880
gcgcttctgc gatttcgctc cttttgaaa tgtgttgcg ctttggtggg gccgctgagg 8940
tggcaaggc cggggcgct gttaatggag gaacctcagg gggacggtcc ttcgtaggaa 9000
actctatcct ggctctgcgc gcgctttaag gaaatggctt cctccagga cctcgagga 9060
tgcagctttt gcgcgatga cgggtgggtg ctgaaccagc cgggtgcct ctggaaatgt 9120
ctgggcacgg atcctggggc catcgacgac tctccccat tcccagcagg cgggagctct 9180
tacattccga gcgagtgacc cctctcacc tctggcgctc acacacctgt aactccaaac 9240
ctcgtctca gaatggtcca ggctggaagg gatgatgggg gctccgacag cgactgccta 9300
gctcaccct ctgctgctc aggetccagg ctgagcagga ccaatttgag ttctatctga 9360
tccccctcg ccccttaact gacctcct acaggagaca gggaaatgtc tttctaccg 9420
cggttgattc tggggtgca tttgtgtt tgtgatggt gcttatattt actgtataag 9480
cattgtattt actgtataag cattgtatta taattactgt ataagctgct tatatttact 9540
gtataagcat ctccaaatc tcctctacg taaacaaatt aatggataaa cagataagt 9600
tatccccgc cccaccct gctacgagg tccggagtga ctcttgaagc tcatattc 9660
cttgccaag tttgcttct taacagatgt ttatatagca ataacctggc ttggctcttg 9720
ggttcacct tggacgattt ggggaaggg cttgttggt ttgctgggt ttgatgagt 9780
gacagtccat gactgttct gctggaagg cgtgactttt aagtgtttc taatatcagg 9840
cattgctcct ccgacaggaa caaagaaat ggatactgc cataaattgt tagaaaactt 9900
agaatcgctt tgattgagga aaggtagat ttattccgt tggaaaagt gcctttcta 9960
ttaaactgct ccttgacc tcctgctt ggaggtcgt gccagcctgg agatgggata 10020
agattgtgg tttccttct ctttttaac atctgttgt acagtccatt tgttgaaaat 10080
ttaaagaaac tgtttatt cacttccct cagcattat gtgtgtggt tcagtagctc 10140
tgtggctata tgtacgaaca cgtgttatt ttccaattgg acatgtgata attttccaa 10200
tggacctgct cttctattga tgtatttatt tagcatctc cttactcct ccttgaaaaa 10260
gaatcactca aaaacaaata aaaacagcc taggggcta atacagtgt agacatacaa 10320
gaggtattcg gtccatacca aatggattt atccatgaag gataaatggg gaaatacagt 10380
gggaagcagg tgggaaact cgtttgact tgcctttcc tccaccacca ctttctcat 10440
caccgtgtc agagacccc aaagcccc cactccca gaaacacccc cctggccact 10500
cctaactgct catgcccagg agttaggtc ttccactagt gacatggagc tggcgtttgg 10560
ggggcacctc agcaggtgac gggaagagaa gacccagcc tcaccagctg ggctgcagca 10620
gggagaggag tcctcatgtt ccagcaggga ctctcagct ttttctgta aaacctggt 10680
tctcaactgg gggccactga gatgtctaga gagatgttt tgttttca actcggggag 10740

ggtgctactg acatcttgtg ggtagaggcc aggaatgctg ttaaacaatcc tacaaggaag 10800
gcacaggaca gtctcctaca tcaaaatatg acccagtcce aatgtcacca ctgctggggt 10860
tgacactggc actgctatct taattacatt cattgagtgt cttttaggag gccctattct 10920
aagtgcttgc taagattatc tcatttaatc ctcaacaac ttccgctatg tagcaggtgc 10980
tgttattatc tccgtgatgg ggaaactgaa gcacagagag ggtagtaac ttgctaaagg 11040
tcacagagcc agtgggtggg ggagctgggt gcctgacact agttccctcc cctctcagcc 11100
acatgtgggt ttacttggcc attgtggact agtctgggaa cccagatatg atctataaca 11160
ttgacccagt agaataattga ttccaaaacc actgtctcac aatgaattt ttacaagagt 11220
ctgtaatcgg agcatgaccc agaataaggt tagggagatg tggagttaa gctctcaatt 11280
tcttatctgg ccccgacaca gagagcaagg catttcaact tacattgggt ctctgtttat 11340
aaaacaaaga gcaaatatct cttcctaagg tcttaaacc tcttcecca atccagggtt 11400
tctggactgc tctgccatat gacggggcag ctggtttgat tgaccaggg aaggctggaa 11460
atcaagactg ggggatcaag acgtagattc agtgtggcca aggtcaagtc tctgaggttt 11520
agggacatca gatccccagc ttaggttctg tacctcggca aggtgaaagc gttggcgccc 11580
actgatgagg cctgctctga gattgtgggt gtgggttgag ttgggtgggc ataggcaagt 11640
cctcttghaa gaatcttttg gcaaagatgg gcctgggagg cttttctcac ttctggggc 11700
ccaggctttg caataagtat tccattatac tgtggtacct tggggctacc tgagaatcct 11760
ctgtctcgcc cctgttgcc tgcmaaagag tttgctgtcc aagaattcct ttctgtctc 11820
caggtgccat gctcctgcca cctctgccag gttccctgcc tgcccagatg gctcccaact 11880
gagtgtgagg aggaatttga gacaggtttt gagctttctg gtttctccag ttaggaaact 11940
ttctgtaagc atgcagatag aatgggcttc agcaaaatac aaactcgaac aacttccatg 12000
tatagtcct taattttctt tgctttttc atatttcac aggctccatg ctgagcccaa 12060
tcagggacc gatagaaatc caaacacat gtcagcagat cccaagaaa tgcattttgt 12120
gccaaggcta ttcaaggaag gtttgggagc agctcaaggg cagacactgt taccctcccc 12180
caggtcccca gtgcagggca gtgttctgca tgtggaggca gtttggccta atggttaagg 12240
aggtaggctc tgatcgggccc tcttgggccc aaatcccagc tccctgctca ctgtgagacc 12300
taagccatat tgttagctg cttggagagt ttttgtcat ccacaactg gagtatgatg 12360
gtacctgtct cacgggttgc catggggttc acacaagcta acccggtact cactagggcc 12420
aagcacatag taactgctca gtaaatggca tcateggcgg tgcctgtgg atgagtgctt 12480
gtgattggct gaatgaccag aggggtctaa agatcctggt gatggaatca gttgtacaga 12540
taaattgtta cactgagtag ggatcaagat aggaaaagtc ggcaactacc cagctcccct 12600
gcacaaaact gggcagaagt ggatcctctg aaaattgcac acacctatgt taaatgtac 12660
acacagaact cttgccacag gcaagcggag atttgtcacc tgctgtccct gcctcatctt 12720
cttctgaaa tccactccat gccaggaata aactgcatgc tctccaccag cccaaactga 12780
cctgccttcc cgccagccat cccgggcagg gtgacctggc ttagtacatc gggttcagag 12840
atctttccag ttactcgtt gaataaaaag tgagggtgta tcgagaaagt aatggcagtc 12900
agggaaggcg aaggaggtaa agaagagatt ttacaaatga agtaattcaa cagagtgctg 12960
acattggtaa actggcaaac agatttcagg gtggttggtt gagagtagag tagaaaagga 13020
ttaaataaag caaacttgtg gtgtactgaa tcttaggaat tccatgtatc caataagtat 13080

agtcatttat gaattaataa attcggccta agaagccttc ttatcgctta aatcaagact 13140
aagtaacaat atatcagttt taaaaagtca ttatatcaga aatcattta aatgatacac 13200
atagatttcc aagattttac ttaaccgaa actatataaa tgtgaatttg ttcacccatc 13260
ttttgacaca gggctcaggt cttctcttgg tgtctggatc agccagttga aatttcttgt 13320
ctgttttgcc tatgccacat taataatgca ctgtctgggt cctccgattt cagtttggat 13380
tttgggttta cattgtggag tcacttgaat gcagaatcct tcagggattt tacttttttt 13440
tttttttttc atggctctta ccatcccatt tgatagtaaa tattactcac ctttatgaag 13500
tctttccaaa acattcaact aaattttctt aaaatcattg aatgatttga agagcttatt 13560
cctcagcact ttactccat cagcttgca cttatttttt aatctttttt tgagacggag 13620
tctcgtctta tcgcccagge ttaagtgcaa tggcgcgatc ttggctcact gcgacctcca 13680
cctcctgggt tcaagcaatt ccgcctcagc ctccgcgcta gccgggacta caggtacaca 13740
ccataatgct cggttgattt ttgtattttt gtagggatgg ggtatcgcca tgttggccag 13800
gctggtcccg aacttctgac ccaagtgate caccacctc ggcttcccaa agtgcctggga 13860
ttacaggtgt gagccaccgc gcccggccag cttgcacctt atttaggata tgtgattatt 13920
atagcaagtc tgggtgacat acaagatfff gaatgggcac agatgacctt tagtaagtgc 13980
ttggctgtga taagaggcag tcctgactgc agatcaggct gtgtggacc cagccttgca 14040
tgtttacaga ctttcatgct ttattcttac agggatcag aagaacacct actggggaaa 14100
cttataaatt agtaaaaggt gggcattctc cccgccatc ttctgtctgt ctgccaggac 14160
tagcacagca ctttgaagtc attcacatag aatcccaact taagaggta aaatcctcct 14220
caacagactg aaaataagtt taaattccct ttgctatatt aactcccctg aggaaagagt 14280
cttagatcaa tgtccaacac taaaacagt tttaaatcag caagtgagaa ttaaatctga 14340
agcaattgat aataatgttt cattcattcc tctcctttgg ccccgccac cctactgcta 14400
aatccaggca tcaaagagaa gagggacata attatcteta gtcccagctg ctggttttcc 14460
ttccagccta tggcccagtt ttctgtttta ctgagaaggc tggatgatgtt atcttgggat 14520
ctaagtctgc agtttcacca caaaaagtcc agggatgcac tttcatgctt gtgtcctcct 14580
ccctgggata gcaaggatat tagaagacc ctggctctgt aattgcttgt catgtgctct 14640
acagacgcca cagaatgcc aagaacgaagt gctgggaagg acaaattcat ggaaccgtgg 14700
gacggtgctc ctccccagc gtaaaggaca gctcctcctc ctgaattgga gccagcgttc 14760
taaactcatgt gtcaacagag ttgtcctgga tcggatccag ttctgccatt gatttgcagg 14820
tcatttcagt ggtacctgtt tccagttgtt ctttaattgaa cagtggcacc aaactattgt 14880
cttgcctcat cccctccca tggcctgtcc cccaaaaga gacttcttgg gtaattaatc 14940
agggcaacat caggcagtct gggcgcggtg gctcacgct gtaatcccag cactttggga 15000
ggccgaggcg ggcagatcat gaggttagga gattgagacc atcctggctt tgtgaaacc 15060
cgtctctact aaaaatacaa aaaattagc gggcgtggtg gcgggcgct gtagtcccag 15120
ctactcgaga ggctgaggca ggggaatggc gtgaaccgg gaggtggagg ttgcagtgag 15180
ccgagatcgc accactgcac tctagcctgg gcgacagagc tagacttctt ctcaaaaaa 15240
aaaaaaaaa ggaatctctt tggttttata tatatftttt ttatatatat aatatatatt 15300
aaaatataat atatatattt atataatata atatataaat atattatata ttatatattt 15360
tatatatatt atattatata tattatata tatatattta tatatttata tattatata 15420

atttatatat tatatatatta tatatattat atatttatat ataatatata ttatatatta 15480
 tatattatat attatatatt atatatttat atatattata tattatatat attatatatt 15540
 atatatttat atattatata tttatatata ttatatatta tatattatat atttatatat 15600
 tatatatatta tatattatat atatttatat atattatata ttatatatta tatatgtata 15660
 tattatatat gttatatatt atatatattt atatatataa tatattgtat atattatata 15720
 tctaatatat tatatatatt atatatatta tatattataa tatatattat atattatata 15780
 ttatatatat ttttatatat ataatatgta taatatataa tatatataaa aacatatata 15840
 atatatatta tatattatat atatattata tatattatat atattaaata tttttatat 15900
 atattatata tatatacaca tatatatata taaatgaggc caggctcggg ggctcacact 15960
 tgtaatccca gcaactgtggg aggatcactt gaagccagga gtctgagact agcctgggca 16020
 acaaaacaag atcctgtctc tacaanaagga aactgtaaaa attagctggg catgatggca 16080
 tgtgtctgta gccctageta cttgggaggc cgaagcagga ggatcgcttg agcccaggag 16140
 ttcaaggcta cagttageta tgattgtccc atagcactcc agcctgggta acacagcaag 16200
 gccctgtctc taaacttttt ttttttaatt ctatttatat ttacatgtat ttaaatgtga 16260
 atattcacta cctatttggt gcatgcctgc attttttata ctgggcttgc caaaaaccg 16320
 aacagctttc tactttgaca atgtatcaga atttaaatca gcaatatggt aataagccaa 16380
 gcaaaggtta tatatgcaaa taaaactggt gtctataacc tctgtttaca ctggggcaca 16440
 gcaaaagtca tgggttagtc gcatgtgaac ctgtcccttt catagctgct cattgccagg 16500
 aaacatcagg aatagccatt tggaaagatc atcagccctc ccaccatccg ttttctgtct 16560
 tgtcttttcc ctatgagcag gggaaattcc acgctggccc caatccccag tgcagcggct 16620
 cagcctctgc ctctgctgct ggtcccatg aggccagctt agaaacggag gattttgcag 16680
 aacatcccta aatccgcttg aataatgaag tgatcattca taaactcacc tgaaccttat 16740
 taaaacctat ttaatatattt tcctggataa tcctataggg ataactgcc tcctgggctt 16800
 ctctccaccg ggttcagttc tcctttagt ggtgaagttc ctcccttctt agcatctcaa 16860
 ctgtgcctga gaaaaggcca gtggcggctg cactctgttc cctgtggagt gttataaag 16920
 actgaataaa ttgaaataaa tccctttcaa tgtcattaag tgctataaat aatcatgaac 16980
 caatgttcga tggctgatga gaaatgcaag aaaaaatttt taatcagtag gattcataag 17040
 ttgacaatct gggccaagtt aaaaaaata aaaataaaaa gacttttaa aagatcttat 17100
 cgtttgttac cagtaagact gaattccaga agcaagctac tcctcattt gtgggccct 17160
 gttatcactg gctgcttagg gttgccaagc cctgaattca tttgtcaact aagagatttt 17220
 tggccaagat taagatttcc catgcctcca tatttccatc tgagaaatgg agattatact 17280
 gtcttcccc tcagaatgga tgataatgtg gtctctcttc tgttcgcata gtcatagaac 17340
 tgaataaaaa caacttaaga gaattccttt gagcttctca gaagtgtgc agggctgggg 17400
 gatgcctccc aggagccgca gtcaggtgct gatctgaagt ctttggtggg ctgactttag 17460
 cctgacctga aatagtatag ctgctgccac ctggctccct tagcgtcagt cagacggtgc 17520
 agctggttcc taggggtgag ggctgagcca gcagggtccg tgcccaggag ggatgcatgg 17580
 gtggccacag cccagcctgc actgatcttg tctgtccct tctttggaag gaaggagccc 17640
 caaacagggt tgcaagacag tgggtggggg tgcttgagc atgacctca gtgatttcca 17700
 gccctgcca gtgctgactt ctctggggaa gggctgggac ttccttctgg gctcaagtca 17760

cgacccttgg atggaatttc ctgggagctt ttctgttttt tctggagttt tcagtttttt 17820
 cctaaccaga cagggacttg gtacagaatc tcatattcta attatgccta ggagcagcct 17880
 ctccccacca ctcacagtgt ttagcatgtg acaggaatcg attaaggcat gagtgattaa 17940
 attaaagcca ggcatgact tggatgggtg aatattctga catctgtttg gtgtcaaagg 18000
 cacggggcag gcgcttaat tgaactgctt gcacctggca tttgaattga gccagagcgg 18060
 ggctaaagtc agtttgcctt caccctgtaa atggagggtt tctccggagc gtggatgggtg 18120
 ggaggatattt cagggtgtat gcataacccc caccctgaca atggcccatc tcttctccag 18180
 cgtggccagg tttgagtgcc agtctgggtt gtccagtggc cccatagcct tgcgttttag 18240
 taaaaatgctg cccccattac cacctgggtt gtgcaactcg gtcactggaa tttgcatctt 18300
 tccagtcccc aatgtggcaa gccatggagc cttaaactct tctccctcca catcctggaa 18360
 cagaccgcc agtttcttcc aggcattgcc tcagtttgc cctctgtttc cagtcacact 18420
 ctcaccagcg ataaaaatgat tttagacctt atcatctcac cctcggatcc ttatggaaac 18480
 aataatgagt tgttccctgt ttcaattcca aaattcatal ccaatccgtt ttgcatgcca 18540
 ttgccaaatt cctcccagag caaccccgtc acctgcctg gccctctcca agtgtgggtc 18600
 tgccatgggc atcgctgct aagccaagct ggctcagcgc tgctgcccg ggtccccaca 18660
 ccttggtca cctccctgcc cagtccgcc tctgccagc ctgccctgtg gctccttcat 18720
 agatgccgtg ctctttctgc cccttgetca cccatggcag ccttgcccct ctctccctgc 18780
 cccaccccct atttaaattg acctgacctt cctcagtgtc catcttcccc gaagctttcc 18840
 ccagccttgg cactcaaggt ccagaggcta cgcgtttcct ctcacctgtg gcagcgcctg 18900
 gctccccagt gcctcacagt ttcttcttg cccccgttc ctgtgtagga ctcactgtcc 18960
 cacaggttgc acgtcctgtg agggcaagga ctgtgtetta tgtgactttc cttctccagt 19020
 cacagagctg ggcacataga tagtcaaaa cctctttat taacacagtt ggatgttgag 19080
 aaatcaaaca ggccaatgct aaatgagctc tcttattta aatcaagtca gttctccacc 19140
 tcctagcact cagttccagt actctatata catggaaata ataaaaaca catttctttt 19200
 gaaacattct ataatcgttc ctttgccta cttcagacca acttaacgca ctccccattg 19260
 gtccaaatga gttttgctat acgaagatgc tgataataat agcagcagtg gattattctg 19320
 ctaaaacat tgctcgtta atcctcagtc ccgaggtggg gattattatc ctcattttgc 19380
 agagaagcaa actgagactc agagatttca cagctgggga gggagccagc tcatccctct 19440
 gtccaggccc aagctctctc ccgcttgcct tctgcctct gcaacctcag agcatcccc 19500
 atctggttct actgcctgtg ctagtctgtc aggagccaaa agacacgtct ttagtgctaa 19560
 ggactggaga agccatgccc tccagcctct gtgaatgggt catatgtaac atgagcctgg 19620
 agaaaattatt tgaaaccaaa ggcaagctc taaaccaggc tgctgcttca tggcgccggt 19680
 gacggcagaa ccaaatttag tgctgtgggc aggtccacac ttatcaaata gagaagctca 19740
 tttttcttcc ggctcacatc aagcatgaaa aatgttcaca catacccc acacacacat 19800
 gctttccgga ggggtccatg tggttagagg ctggaagatg tggatgagag gagcctggca 19860
 ggtaagccca gggaagatga cattcagctt cccagacagc atctacaggg agaaatttaa 19920
 ttaaaagtgg ggcggttcc ctgagcaagg cagacaaagt cagccctcta ctgttaagaa 19980
 aaagggtcac agtgagaggg gaggtgagga gactgagtct gtattttcta gtctgttggg 20040
 ctacactacc tgatccccct tctcaaaaa tccactttac tttccccatg tctacacaa 20100

tgtggttcac actctgggac caggaaaagg gggagtgatg gggaacagag aaggaggag 20160
 ctcacacagc tgaggctggg gttatgcata tcgaattact tagaatttgc aacctcagc 20220
 ggtactttca tggcgttgaa atacacttcc cacagccacc ctccctctaa ctaaaagcaa 20280
 gagtcatttc tcagttctgg tcttgcctcc cacgttctcc tccacattta agaaaatcca 20340
 ccagctacaa agtgaagata ccatatgtga tatcccacc tagtttctgt tttatcaggg 20400
 tttggagcag gtggagcagg cagagggatc atttcagcct ataaattgta ttaagggtga 20460
 gtactgagtc attcttcaag aaaagtttta gaagcatcca aaactgaagg gtggagccac 20520
 ctggagacag tatcatcagt cctggccccg agcatggcct gcataggccc ccatggatcc 20580
 cagcgggagc tgcagagtgc gggcaccttg gcacacagcc ctgagtgcaa aattaggagc 20640
 tgggcagagg gcactctctc gtcgccattg ggcagcccag ggcacactgg tcatagcctt 20700
 agaccacgaa caccctgtgc ccgggggaca gatgcaacca gtgtgccttg ggctgcccac 20760
 tggcaacaga gagatcgaca cctggacccc atgtcacggg gactccacta ctaaggctcc 20820
 taagactgcc accttccagt gggataagcc ctgcctecta ctgggcccac aatgtgcaga 20880
 gaacacttgg gactacctgg ctttctggat acacaaatat tgatccaatc tggactaatt 20940
 agaaggtcag tcccaataac aaatcgaagt cagctgggcg tgatggctca ctctataat 21000
 ccagcactt tgggaggctg aggtgggcag atcatttgaa gccagaagt caagaccagc 21060
 ctgggcaaca tagcaaaacc ctgtctctac taaaaataca aataattagg ctgggtgtgg 21120
 tggctcatgc ctgtaatccc aacagtttgg gaggtgagg caggtgttca cctgaggtca 21180
 ggagtttgag accagcctgg ccaacagggt gaaaccccg gtctactaaa aacataaaaa 21240
 ttagccaagc atgatggcat gtgcctataa tcctggctac tagggaggct gagacaggag 21300
 agaatcgctt gaatccagga ggtggttgca gtgagctgag atggtgccac tgcactccag 21360
 cctggttgac agagcaagac tctgtctcaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aagccatgcc 21420
 tggtgagca ctacgtgtaa tctcagctat ttgggaggct gaggcacgag aatcacttga 21480
 acctgggagg cagtggttgc agtgagctga gatcgcgcca ctgcactcca gcctgggcga 21540
 cagagtgagt gagactccat ttcaaaaaa taataaatct gagtcacttt aatattgtta 21600
 tttggatgtc aacctctagg tgtttgagac aggagagtga tatgggggca ctggaacac 21660
 acaggcacgg ggtgtcctca cacttgggta gcccacacga tgtgatttca ggtgtctggg 21720
 aggtcccccc actccccaaa ttactaacia gtggatagta ctttacagtt tatatgatct 21780
 catttgattc ttaacatgag cctgtgagtg aaaaattcct tcccctctc tacagattag 21840
 gacgttgaga ttcaggaggg ttcagaggga ttcagggaag tcaagtggca cctggagtcc 21900
 cgtggctaata ttgaggccgg taggggattc gaaccagga tttgtgcttc ttatgcctgg 21960
 gcttctgctc cctggggcat ggtcttcccc ctactttcc cattcactgc tttagcctag 22020
 gggtcctacc ctttattaaa ctgccagtgc ctactgctt ttctccccca aagacaaaa 22080
 aaaagtgtt ttgcttttgt tttgttttcc atgggcagag acctggaatt tcagcttgag 22140
 aatttgtgcc atatgataaa taaatcaaca gatggctttt tccttaaaaa aaaaaaaaa 22200
 aaaaactaag atgtatttgc agtgaggcat aatttgtacc aaaaagtgct caccacactg 22260
 tagtcatggg ggcaggaggc agccgcgggt gaagggagaa atcttggagt ccaggcagcc 22320
 cccttctggg ctgaactggg gagctggggg tgctgccagc cctgccaggt tctcctagga 22380
 ggcggcagct catatggctg tgggaggagg cagagggagc ctcatatgca cccacatttc 22440

cagggatcta gaagacagaa ggaggaaaac caccatcatg ttaaagcaga cagttaggta 22500
acacatcctg taatacaagt tattttttcc acatctaaag gctaaaaata gttgtagaa 22560
tttaaagata attggtaaatt gagtttctat ctttctagtt tcacatcaaa tggaaatcatg 22620
ctgccttcac atcactagtg cccgttattt gtgtttaatt tccacaatgt tgtctaattc 22680
cactcttttg gcttccccag ggatccagcc tcctcactc gccatcgca gggagatgct 22740
ttattcatct ttgtgtcttc tgtgccgggc atagcgcag gcacagaata agcactcagt 22800
aattgattca cgagtgaata aatggatgag tgggtgagtt caatattgac taaaaaac 22860
ctaaggccac actggtgagt ggctgcgct gtagtcccag ctgctgggga atctgaggca 22920
ggaggatctc ttgagcccag gagtttgaac ctagcctggg cgatatagcg agaactgtc 22980
tcaaatgaca aaaacagggc caggtgcagt ggctcagcc tggaaatcca gcacttagg 23040
aggccaagat gggaggatca cttgaggcca ggagtccag accagcctgg gcaacatagg 23100
gagaccctgt ctctacaaaa aattttttaa aaattagctg ggcatggcgg tgtgcgcttg 23160
tagtcccagc tactcaggag gctgaggcag gaggatcact tgagcccagg aaattgaggc 23220
tgcagcgagc catgatggca ccaactgcact gcagcctggg cgtcagaacg agacctgctc 23280
tcaaaaaaac aaacaaacaa caaaaaaaaaa ggctttctta aagagacttg agaacagaa 23340
ggggaacaga tacataactt atatatttat ttgttcatct ttccaccttc ctggagggtg 23400
gaggggaaca ggtctgtatt tggagttttg aatgctaaaa gtgggaatac atgtactgtt 23460
tgccatgatc tgttcaaaaag ttaagccaaa tgccttagat tctcctgaaa actggaatgc 23520
cactgtaaac tataagcccc acttcaaaga taaaagatct tgatgaacag ggctgggtct 23580
gtggactggg cctctcccca ccacacaagg aagggtgggtg ccagttgaag gaaaatcact 23640
taaactcctg ctgtctccta ataaggtgtg gtcccagta gggctgtcag aattagcaaa 23700
ttaaacaca gggcatctgt gaaaattaga atttcagata acaacaata attggcatag 23760
gctgcataat gtccctcaaa gatatcaggt ctaaatctcc agaactgta aatgtgatct 23820
tatttggaac aggggtcttt gtagatgtgg ttaaattaag gattttgaga tggggggatt 23880
atcctgtatt atctaggtag gtccctaaatg cagtcacact catccttgta agaggaagga 23940
agagagagat ggaaaacaca gaagagaaga caatgtgggtg atggaggcag agattggagt 24000
gaggtggcca caagccaagg actgctggca gctaccagca gccagaaaag tccaggaacc 24060
aattctctct tggagctcca gagggagtgt ggccctgctg acaccttagc ttcaacctag 24120
tgatcctgat tttggacttt ggccttcaga agtgtgaggg aatgaatatac tgttgtttta 24180
agccaccaag tttatggtca tttctacag cagccacagg aatcaaaaac agtaagtatg 24240
tcccatgcaa tgtttgtgac acacacaaa aatattactt gttgttcacc tgaattcaa 24300
atttaactgg gtctcctgta ttttatttgg ccaacctagt tcccaggccc aaagaaagag 24360
gcttttgaaa tttgcaagaa agctggttgg agctgtcaga aagtggactt tgtaaacaca 24420
gtaccaccga accaatttga actgtactac ctctagacaa aagagagggc agtcagacag 24480
ttgttcgtga tttcttcttt caacagtcat ttgagcactt actacaaaac agaagctatg 24540
tgtaagggtg gaggcgtag ctgttaatca ggacctccag gctaagtttc tgtattagtc 24600
cgttttcacg ctgctgataa agacataccc gagactgggg aatttcaaaa agaaagaggt 24660
ttaattggac ttacagttcc aagtggctgg ggaagcctca caatcatggc agaaggcaag 24720
gaggagcaag ccacatctta catggatggc agcagacaga caggagaga gagcttgtgc 24780

aggggaactc ctctttttaa aaccatcaga tctcgtaga cttattcact atcaagagaa 24840
cagcacagaa aagacctgcc cccatgattc agttacttcc caccagatcc ctcccacaac 24900
atgtgggaat tcaagatgag atttggtacc atatcagtta ccaacccttc cagataaatc 24960
acgtgaaata tcgccattaa cagagtgagc tcaggtaggt cttcagtgca tttctgatac 25020
ctgaaccttc cctgggaatt tcacagacca tcaggctctc caccctttga tagcaggata 25080
gcagggccca ggttctgcag gaggagatgt taccacaggc ctgaaaggga gggaggggca 25140
gatgctacag gaagatgctg gctctggatt cgctggagga gctttcaagg gaagtagata 25200
cacactgtct ccatcatttc atgtccatca cactctaaaa tgctttggac aagaagcaaa 25260
tgttaaagac aaatgtggcc cttttctctg tacaaagagg gctgctcca tgccaggcta 25320
ttggcactgg tgggcatgag gcttctctgc tgccctggcc ggggggttct ctactcacc 25380
attggctctc tgacacctgg agagaccacc acccttgggc tttcatgatg ctacagaat 25440
ccacactgtt ggagctttaa ggagcctgga tcaactggaa caggcaggga gtactaggac 25500
agcccagcat tgccccaaaa tatccaggcc tgataaaaga gaaaaacagg tagctcacag 25560
gaaaaggata aaaaaaggag gagggattta acatgaaaag gtgcttgatc tccctcataa 25620
taaaaagact gctgattcca tccaggcaag tgacagaaaa aaaaaatta atttaaaaag 25680
actgctgata aaaccacagc gagacactgc tgctcaggga tctgagggtg tgggcagcca 25740
ggctgccacg catcatgggt cggagaggaa gaccacacc ctggagcaga gggcggctga 25800
tctgtcagat gccctttgac agcacctcag cttccaagaa ttaacccttt ctatgtgagc 25860
agaggcatcc atggggggac aactggtga atcatctgtt atgtagaagt ctgaaaaca 25920
tcaggatgga actggtgaaa taagtgtggc ctctgacgga atggagcggc ccgtctgcac 25980
tgctgcgggt gccctcaga tcctgtgggt cagtgagaaa agcagtgagg aacaaggcag 26040
gtactgtgta ctgtcctctg cgtgcaagga aggccagcgc atgcaacaga gtccacacag 26100
acatagccta actctggaag gaagaatgag aatgcagttt cagtggtagc ctctggtggg 26160
gagaaactgg gtgaaggag atgtcatttc catttcteta ctattaattt tgtattacca 26220
tgcttaaagt ttacttttta cttttttttt tttttttgag acagggtctc tctctgttgc 26280
ccaggcagga gtgcagtggc acaatcatgg ttactgacag cctgaacctc ccaggctcaa 26340
gcaatcctcc cacctcagcc tctgagtag ctgggactat aggcacgcat accaccgtgc 26400
ccagctatct tttttaatca agatggagtt tttctatgtt gccaggctg gtctcaagct 26460
cctggactca agcaatcctc ctgectcagc ctccaaagg gctgagatta aaacgtgagt 26520
caccctgcc agccaattgc ttttaaaaa agattaaatg catgtatacg ctacggcatc 26580
agcacacttg gaaaggatga aaatatccgg aagaagggtt ctttaaaaag gctcctcaag 26640
tgatgctggc aggcattgac aatgtcctg gtcacaaaag ctctgatctg gcctaaccct 26700
gtcatgttag agactggagt gcgtgtgtgt gcgcgcaaag tgtgggggga tgggggtgag 26760
tgtgtgtggc gtgtaagcat gactgtgtat gtgtgtggc tgggggtgtg tgctgtgtga 26820
gcgtgtgtga gtctgtgtgt gtagtgtgtg tgtgaagtat gtggtgtgta tgtgtgacgt 26880
gaggtgtgtg tgggtgtgta gttgtgtatg gtgtgtgcat gagcatgtgt gtgggcatgt 26940
gatgtgtgtg tgggtgtgaa gcatgtgtga gtgtgtatgt ttgagcatgt gtggtgtgtt 27000
gtgatatgtg tgtggtgtgt gagcatgtgt gtgtgatgtg tctgtgtgtg gtgtgtgtga 27060
gcatgtgtgt tgtgtgtgtg gtgcatgtgt gtggcgtgtg agcgtgtgtg tgcattgtgt 27120

ctgtgagcat gtgtgagtgt gtgtgtgttc agcatatata aggcatgtaa ctgaacacag 27180
 cactttagag ggctctcctg gagtcagagg gggtaggtag gaggagaagg gaggtgggct 27240
 agtgtgctga agtatctact ccttgtcata gtctgtgaca acccagacta gcccatgagc 27300
 caccctgttc cctgcatttc caatgagacc tcggtggaca tgttccctga ggtgaggctg 27360
 actgatgtca tttgacgac ttgatgccaa atccttttat atcaaaaaca accagaacac 27420
 tctcttttct cttagtgtt tcaccagat gaccacattt catcctcca gccactctgg 27480
 gccagggtggc actgctggtt taaaaggag gtctcccctg gagtaacttc cgtgggagg 27540
 ttcacaccct gccacagtc ctgtcccagt cagcccacca tgggtgtctc cggttcctcc 27600
 agaattcccg cttttcagct catcccaca ttcccggagg gactgagagc gcagccccag 27660
 ggccctgctc tttgggggccc gtctctacac ccagagaagc agcaaggcat tcctaggttt 27720
 ctctttcaga tgcagaactt cagtgttcag agatgttccc actggctctg agagggtctca 27780
 gttcagcttt aatgactgag ctgttgctg tgctctgag agggcgggtg gccagcgtg 27840
 gctgactgca gttttcctga cgtggagccc gagcctgccc cgctgtttat taattaagga 27900
 tcaactctgt tgcagaacct tgaactcccc agaactgtga ggtgggagaa ccccgagagg 27960
 ccacctggcc ccaactcccc cctgtgccc aaacccctc tctgccttc tgacagtca 28020
 cccaactccc agtgatcccc atcaaccatc tgacaagggg actgagaggg aagagaaagg 28080
 agggggccaa agaggaagg aaactgtcg ggaacagccc ccaaatgtgt gacagccttc 28140
 agtggagttg cccactttcc cttttctct cctgcagga cctcccttct cccagtcct 28200
 cccaacttc tgaggttaca ttgagaaaag tctgcagaga ggtgccagca tcacaaggtg 28260
 ttaaggacca cgagtttggc attttaacag atgccagagc cacttgagaa atgtggtaac 28320
 taagcccaga gaggtacagt taacctcccc agagtcaac agcaggttca tggcaaagct 28380
 ggactagcac aggtgtcctt cccctgcaga tcccctctg tgccccacat cacctcctc 28440
 cagtgtctgg gccacctgga gatgggccc cagactcacc cggccagagg tgccatctca 28500
 tgggagagg ctggccagga agcatcgata tttgagatcc caagaaatga agacttgccc 28560
 tgtcagatga cagacttcgg tcatgggaa acgtgatctg ttttacacat gcgtcccctc 28620
 agcagcagct ttccagaaca ttcccactt cttctgtagt gagaagaact ctttccctgc 28680
 agcctcctgc ccaactcctc cttcagtgc tttgctcag tgtctttgat aaaccattct 28740
 gctttgcaga gtgcgagctc tgccctgcag gttcgcac tgccctgtgct gagtaacaa 28800
 cgtaaggctc gagtggctcg tcacctctca taagagctag gttgtctca tgctgatgac 28860
 taggacttgc cctcaaggag aaaaataaat caaaacaaa gcaaaaacag caaacatgca 28920
 tctcttaaag aaggctctga gtccaggtaa atttcttcc actgaagcag ccaggctgaa 28980
 ttcgaattat ctttgcctt gcttaaaaac taatgcaat tttcctagag aatatccact 29040
 aattcctgga gggggcatgg gcattctga tgccatgag aggaccattt gctcttccct 29100
 cagtatgcta aataacagaa gcgacatttg ttgctggaaa gtatcagtga agttaataag 29160
 gtttttcttg cccagggtga gggaacagtt cccaatgaca aatgctgtat gggaaggggc 29220
 tgtagaactg ccagccctt tgggtccatc gtaaagtga ctctgtggat cctggaggat 29280
 tccagcgtct tttttttt ttctttttt ttaagacaga gccttgctgt caccaggt 29340
 ggagtgcagt ggcacgatct cagttcact caacctccgc ctcccgggtt caagcattc 29400
 tcatgtctcg gcctcccag cagcaagact acaggtgcgc accaccatgc ccgactaatt 29460

ttgtattat tagtagagac gggggtttca ctctgttggc caggctggtc tcaaactcct 29520
 gacctcaggt gatccaccg cctcagcctc ccaaagtgt gggattacag gcatgagcca 29580
 ccatgcccag ccagcatctt tcatttttct gtctgctttg gccctttcct ctctcactgt 29640
 cttccttttc catttccaaa gtcagtccat ctactatta gcacaaaaac tgctagagcg 29700
 cttgtcattg gtcatctctc cctgcacctg gctggctgtt tcttgccac tgaagcgttt 29760
 cccccagctg ttgctttaat cattttattg ttattatgcc ttacttaaga aatggatatg 29820
 agatgcattt acctgtctct tcctgccact ctgcagagcc agtaagatgt ggtggaaagg 29880
 gcccaggctt tggaggagg ctggctgggg ttggatcttg gctgccccct actagctgtg 29940
 tgaccttggg taagtagctg gacctctctg agcctggttc ggaatcatag cacctctctt 30000
 tcagggtgc tgtaaggaat agcagtggtg tgtataaagc agagcgcaca gccagcaact 30060
 ggcccctagc cacactgtct agcacctact gtgataagct gccattgtgg tgtgtgaagc 30120
 aaaggggaaa catgcctgct gtagtgagct tctgttaggg caggtttag aaccagaggt 30180
 gggttccaag gttacaaagg gactcttagt gtattagtct gttctcacat tactataaag 30240
 acctacctga gactggatca tttataaaga aaagaggttt aattggctca cattggctgg 30300
 gtgcggtggc tcacgcctgt aatcccagca ttttgggagg ccaaggccgg cggatcactt 30360
 gaggtcagga atttgagacc agcctggcca acatggtgaa accctgtctc ttctaaaata 30420
 aaatacaaaa attagctggc catggtggtg tgcgcctgga atcccagcta ctcaggaggc 30480
 tgaggtgga gaattgcttg agcccgggag gtggaggttg cagttagcca agatcgcctc 30540
 actgcactct agcctgggca gcagactgag actctgtctc aataaaaaaa aaaaaaaga 30600
 aaagaaaaag aattgcaaga aataaattat tgtttatgag ctatatggtc tgtgttacct 30660
 tgttgtggga ctgggagtct tggcgtctcc ctgacctgc ctggttgcgc agcaccgctc 30720
 agccctgcct gctccctacc tgctccctc cgccctctcc tgctccacc gggcccctgg 30780
 tgctctctct agagacagtc ctctgggac cgattgtgtt ctacttaca cgaggcatcc 30840
 aggactacag ataaccagag gaaggggagc ccccccgcc tgccctctc cctggcatcc 30900
 tcacgctgca gaggtcagag cctcatcca gcccttacc tgccctact ctgtggagaa 30960
 ccgtggtcag ttcgccaggc cggatccacg aacggccttg tgaagatgg tgagctcaca 31020
 cccagagctg gctccgatga cctgtctcc ttacatgtt tctacctcc cctccctacc 31080
 ttccccact gctgggcgca gtagggaggc agatgaggtt taaagctcag aagggttaa 31140
 acgggttggg gcgcagtggc tcatgctgtt aatcccggca ctttgggagg ccaaggcaga 31200
 ggatcacttg agcccaggag ttcgagacca acctgagcaa catagtgaga ccgctctctt 31260
 acaaaaaata aaataaataa aattagcttt gcagggtggc atgcacctgc agtccctgct 31320
 actcagaagg ctgaggtggg aggatcgctt gtgccagga gtttgaggct gcagttagct 31380
 atgctggcac cacagcactc cagcctgagt aacagaatga gatcctgtct caaaacaac 31440
 aaacaacaa acaaaaagaag gcttaaaggg ggctccaggt gggcttggca gcacaaagct 31500
 atgaagtct atcttagaca caagttctgt tactgggctt ttgcaggctg gcctgggtac 31560
 ctggctgcca tagacagga acctccaga tgagctgcag gcgtggagca caggagccag 31620
 ggtgctcttc ctgggctctg tccacaggca gaacgtacac agtctttgta cacgtccggc 31680
 ggctctggtg cctatttttg tttgtgtttt tcttttgttt ggggggatgg atttggtttc 31740
 ccccagagcc tctgtcctcc tgtcacctgg ctggtgctcg gcaatgttga ccagctgcct 31800

ggctggagtt ggcagtggct aaggctgtga cagctaacat gttcctgagt cctctcattt 31860
cttcaccata atgccctgtt gagtttgag atactgtctc tgtttttatc tcccggggaa 31920
actgaggctc agagtggcta ggccaccttc ccatgggtccc tcagctcatg aggccacac 31980
agggcattgc ggtggccttc tcctcagcct tgaccctccg gccccagcat tgctgcctca 32040
aggggtctcc tctgctgagc cgtgcacctt ctgcctggca gctccaactc tgtggctgtg 32100
ttcagtggct cagcactgcc ccttgacct cctggcctt ctgcggatgc cagactggag 32160
cactctgaca aggtctgggg tggttgatg ggtcctgtga cctctataca cctcccagtg 32220
cctgggaatc ctgcagatac accctcetta gccgtcccta accatagagg acatttctga 32280
ggtccccgag agagtggggc accctgcag gatccaactg ctgggcccag gaaggatagc 32340
agcagcatga ggggttccat tagccacaaa ctcacggcat ggaacctca cccacctgc 32400
ccctcatctg ctgtttagca cctggcacgc cgtgtatact tactgattat tacattttaa 32460
tggtcaaat tagtggtgaaa cgtatgcatc tttgcacaat tgttgtagc catgatgaac 32520
aagtcattaa tagtaaagaa taaatgtgaa agtgagaaaa atctgactgc caaagttttt 32580
actccttct tccctcccca gactttttaa tgaaagtta gggataatcc cttagtgtgc 32640
ctgctagtag gacttgcaat taaaagaatt gggccaagaa cacttctacg cttctccttt 32700
taggtttggg tgtaaattcg gggatattct cactgatgaa agcctggtgc agggcagacc 32760
gtgggaagct ttcatttccg gaatggacca tcaacatccc ttggagaaga attctcttct 32820
ccagaccag acctggtgct ctggcaccca ttgggcaagt gggctcctaga agacaaacct 32880
ggtcagagcc tggaggctgc ttagcattcc ccacgcat tagcagctc gagagctcag 32940
gaagccgag cccctcctg cctcaccagc ctggatcagg acagcatccc ctggaagaca 33000
cacagggcct ggctctgat taccagcct ggagggaaag ctcaatcgag catcatgtca 33060
cccgtgccc ccatgcaggg tggcactggt gagacccca agccaatgat accacctcac 33120
aggagtgcag gccattgtg gccagatcat cttgactttt caagataaat cagaaatcgt 33180
atttccatga gatatcccta tttgcaagt atggtgacta aattagaagt ttttgaatat 33240
tgtaacatgt tcgtaggctg tttgtctggt ttaaactcta tctggaggaa ttcaagctag 33300
acttcaggaa taacttctg aggcaaggat tttgagacct tagggaaaga aggacgtctt 33360
gggggtattc tgactgttgt cctcctggaa gggaagaaca gagaactaga agactgccct 33420
tagcgaagtt caaagcacct aagcccggga cctcagcaa gtgttcttga gtcacagatt 33480
ctccctgagg cgctcttctc tggtccata gaatggtgaa ttctgtaact cggtagtctt 33540
gctttttttt tttctccat caccaggct ggagtgcagt gaagctggag tgccgtggag 33600
cgatcactgc aacctctgct tcccaggctc aagcaattct cttctctcag cctcccaagt 33660
agctgggatt acaagcatgc agcaccacac ctggctaatt tttgtgtttt taatagagac 33720
ggcccgaagt gctaggatta caggcatgag ccaccgccc cagccataac tctgtgactc 33780
ttgttacaaa ggcttataat tttgtctttt gagggtggtt ttggtttgat gctgttggt 33840
tgccatcttt taactagga tgttttatca aatgcccag ccaaagtgtc caaacaatt 33900
atacctaaa gtttgaat gctgtgcaact tctaattcaa tgctgttgt gccaggcact 33960
gggctgctga ggaactgagt cccgtccctg caggctagct agagaacaca cacacacaca 34020
cacacacaca cacacacaga gtggtcttac aagtcagttt tatattctac ctatatgcaa 34080
taaaggattt attatgttga ggtgccttga tataaaaatt tttcttaaag gagaggatgc 34140

ctaaaacagg cattacctga aacctcctct ctccagcatt gttgtcttc tgtcatgact 34200
cagggttttc actgagaatg ggatggaaat gtggtctaaa gataggcca atgttgggac 34260
tggatcccct ctgggaagtc agaccaggct agggcaggtc cttgaagcca tcaggaaaag 34320
cctctggagc cagaaacaaa acaaaaaaaaa aatggtgtta actaaactca gtctcaaate 34380
ctgaatagga ctcaagtcaa gcaaaataat taaaggagtt agcaaagggc aagtcaagaga 34440
gaccgagcaa caccaatgtc ttccgggagc cctgtggcga gtgacagagc ctggactctg 34500
gagtagaact catcttgtgt cttcttctgc cactcgttag ctgggtgacc ttgagccaag 34560
ccccttaacc tcttggacc tatgttctta tctctaagta ggggctggta atatcttccc 34620
ctttgaggaa tgccctctaa ggggtgttgt gaagattcgg taaggtggca ggggtaggac 34680
tcctggccag aacacaggcac ataataaatg ctaagtctct cttctctctc acctgctgga 34740
tgctgtagat actaaggatt tcgatgtgaa tgagacaaaa ccctgcctt ccaggagcct 34800
ttgagaatca gagaactaga cccatttcca gaacaagggg atgcagggtc tggataaagt 34860
tttggggatc aatagagcag agggctccca gaggatccca tagggttgac tcttaactca 34920
agggcatgag acaacccccca ggaagggcac cctggaaggg gtccggctgt ccctgattta 34980
cttgtgggca ctgggggaat gcccggagcc atccagcctt cagggtctctg tgtgattctg 35040
ggttcctccc ataaaagata atcagattct ttcacgttaa tgtctttctc cacctcattg 35100
cacatcatgc agctattcat tgactcagca agtatcagct ttgcatgca ccttggccta 35160
cccactttag cttttagtaa tagctccctt cttgaataat acaaccagtg gggaaacaga 35220
acctaaactct tacctctggg aggcttattt gctttgagaa catatgtcct gcagttttgt 35280
tcatatggca gtgaagtttc gtgcacacac tctagagcca ggcagcctgg gttcaaagcg 35340
cagctctgcc aggtcctaac tgcatgaatt tgggcaagtc gctcaacctc tccatgcctg 35400
agtttctca tctgtaagat tggagcaatg gtaataactg ctttttaggg ttgagaagag 35460
aattaaatga ataaagatgg gtaaagtgtc tagagtggag ctttgcaagt agtaagtgtc 35520
atgtaagtgt tcgatttaa atgaaagacc cttaaataca ttctttgttc atttcacaag 35580
cccttcattt cacaacctta cattcaca ccaagctctg tctcccctgg aatccagcca 35640
taactctgct cacaagtgtg agacaggccc cagcagagct gcacgaagag gagagaaggc 35700
agccccccag actcccaacc cctgtccaa gatggcaaaa ccagaacaca gcctctgtac 35760
caccocagca ggtattcaga atctgcaatc tccaaagccc acttcaattg taaatgtaga 35820
gccacgtgcg ctttaagtca cctgtcactc tggaggetct tttgctcagt tctcaccat 35880
tagcagggat gacaggaggt gcaggagtgc ggtcgactcc cagatattgg agagcgtgg 35940
gctagctgcc cattctcccg gctcactc ctctttgctg tccagccatc acttgctctt 36000
tgaaggcaaa caaaacagaa aacagtcca aaagtatggg aagaaagcca gcttctcccc 36060
tggggtgcct gtgatgcat gccaccctc cctgaccag cagccctgt ggaccctcag 36120
ggccccaaag cccatttcc atcacatgag tacaccatg tgtgtccata gccgccatc 36180
tcagtcaata aggtgctcc tgcccacttg gaatagtggg gacaaccagg agtggcttat 36240
gggaactatc ccaatggcct gacagcatgt ccgctgcaaa ccgctgaggt aggacactgc 36300
cctcatgtct agctgatcag caagaggcgc agttgcttcc ttaggtaaca ttgctgctgt 36360
gtcctggcca ttgctggggg gtggcactta atctacacca gaattttccc tctgtatct 36420
tccaagctgc ttggatctg gtgctgaatt aggttgact ttgtcttgtg gggaaggag 36480

gactatagac cctcaacgta agcaatggtc agactattct aagaaaactc gccgaattaa 36540
agcatgaggt aaatttagtt ctgacttctg tccacccac tgccactgtc cccttttatac 36600
ccatgatccc ttgcttttct tttcctcctc tctccctatc tcttgtgttt gacgcatgat 36660
aggaattcag aaatataatgt ttgtggattt gtttattcac gtagcaaacc atttcttgag 36720
tgcctaccat gggccaggta gaatgggctg ccccgggctg cagtggtttc ttcagcccct 36780
ctccagggtt tacactgtgc aagacggttt gtgatgggtc ctcccatcga ggaccacact 36840
cttcttttctc tgtgcccctt ggtcctcagt ctctgacccc acttcaaagg cagcattcac 36900
tcagggaagc tcccatacaa tgctagtcag agtaaaagtt tggacaaatt gccaggaagc 36960
agcttgtcag tatgcataaa cagcctttaa aatattacta ctctttgacc cagaatttca 37020
cttctaggaa tctgtcctaa ggaagtagtc acatgcaaaa gatttatgta ccaagatggt 37080
catcaaagtg ttgttttata acaggaagtc tcagaagctg gataaatatc caacctctgg 37140
aaatggttag atagaatagt atgtagccat tagaaaatta tgtctatggg gtttaaaatg 37200
tcatgggaaa acaacttctga cataaaagag catgagaact gtatatttag cataatctta 37260
actatgtttt agaatgcaca ggaaaaaaat gtacaaacat attcatagtg atgtctctgg 37320
tggtaggatt atgatcagta agtacttctg tctcttcata ttttctgta tttgataata 37380
catgcatatg ttgtttttaa aataagaaaa attttaagtt taaaattgga gctgaaaagt 37440
gttttttaggt caggcgaggt ggctcacacc tgtaatagca ccactttggg aggctgaggc 37500
agtcagatca cttgagccca ggagtctgag accagcctgg ccaacatggt gaaaccccat 37560
ctctactaaa aataaaaaaa ttagccatgt gtggtggcac acatctgtaa tcccagctac 37620
ttgggaggct gaggcatgag aattgcttga acccaggagg tggaggttgc agtgagccaa 37680
gatcgtgcca ctgcactcta gtctgggcaa cagagtaaga ctctatgtca aagaaaaaaa 37740
aaaaagaaaa gcctttttaa acagtagcag acataactat ataatcctta ctaagctgtc 37800
ggtcaaatTT ttatttatat atttatttta ttcatTTatt atTTtttagac agggTctcac 37860
tctgttgccc aggctggagt acagtggcgt gatcatggct ctcttcaaac ttgacctccc 37920
gggctcaagt gatcctccca tcttagcctc ccaagtagat gggaccacag gtgcatacca 37980
ccacacctgg ctaatttttt ttatttttta ttttagaga tgggttttac tatgttgccc 38040
aggctagtct caaactcctg ggtcaagct atcctccac ctcggcctcc cgaagtgctg 38100
gggttaccag catgagccac tgtaccagc cctcaaatTT ttaaaaatct ataagagaca 38160
ttattggaca attagagaaa ttcacatatg gacttataat agtatcagag tgtgtggtgt 38220
gatggttctg gagggaatgg actttttctt tggagacagg cttttctatg cccaccctt 38280
tatcttgcta acttatcctc atccaggTtC cagcagaaac attacttccc ccaggaaatt 38340
tcttaagggt gcagtatcat gatgtctgca gcaattctc aatagctca ggaaaaaagt 38400
acgtgtgtgg tatgagtgtg tgtatgtatg tgtgtatata tatacacata tatacacata 38460
tatatacata tatgtgtata tatatacata tatgtgtata tatatacaca cacatacaca 38520
tatatataca cacacacata catacatgta tttttatata attatatatg cagagagtgc 38580
aaatgttgcc aagttaaaga ttggtgagtc taggtgaagg gaatatggta tttattgtat 38640
tatttTgtgca acttttctta agtttgaaaa ttttcaaac aaaaaattgg aggaagaagg 38700
catgccagtc taccceaagc cctccattgg aatgctgaaa atctaaacaa tgtgatttgg 38760
caatttcatt tcttttctgt tgtgggccag tagtccttag atgttgggga aggggtagt 38820

cgctgagggtg tggttgactt aggatggaag aagcagaagt caagactccc aggggtcaaag 38880
 tggtttgctc tgctgacca agtgtgggag gccagagtc agcgtttcag gtgtgctaata 38940
 tcagcatggg tctattcacg gccaaagtcc accctgggca cctctctggc agcaatcttg 39000
 ggtgactcta ctaaggccag gcctccatga ccctatgtct ggatcccata tctccacctc 39060
 tcccactgtc tcaggaacgg tgcttagctt tttcttttc ctctcctgtc ttctttgcca 39120
 gcatgtagaa agtttaaata attcccctct ttacaacaaa acaaaacata cccccttcag 39180
 tcaaccacc tagctctctt ctcttttcc cagccagatt tttttaaag catcctaggc 39240
 caggcgcggg gactcacgcc tgtaattcca gcactttggg aggccaaagg ggggtgatca 39300
 caaggtcagg agatcgagac catcctggct aacatgggta aaccccatct ctactaaaa 39360
 taaaaaaaa tagccgggag tgggtggcagg tgctgtagt cccagctact cgggaggctg 39420
 aggcaggaga atggcgtgaa cctggtaggc ggaggttga gtgagccgag atggcgccac 39480
 tgcaactccag cctgggtgac agagtgagac tccgtctcag gaaaaaaaa aaaaaaaaa 39540
 aaaaaagcat cctcagcact ttggcaactc catctctcc caacatgtcc ctgttactgg 39600
 aatccagcca ggactcagcc ccgatcttc tactctaacc agttgtctca gttacaagg 39660
 acaggtttat gctgcagtga caaacaagat cccaaattct tgtggcttca cacatctggc 39720
 accacctcat ctccagcct taggagtcac ctttagttc cttgaaaact ctttacagtt 39780
 ttctgttggg gccttgcac atactattcc cctggaatgt tctttctat ccctccctt 39840
 tcaccttgct aacttgtgcc catccttcag gtctcagcag aacatcact tccttgggga 39900
 agttttctcc aacaccaca ctacacaggt gtccatcta cactcctatg actttgtggg 39960
 acttgtctca ctcatcttc cactgcctc cccacaaggc acctgcaca gggcaaggac 40020
 cgtaccactg tacctatgtc actcattgct gtggtcacct gcactctggc tgcctacctt 40080
 aactacacat tagaatcacc tgaggagctt ttaaagccac aatgcaagac tccaccctag 40140
 gccaatggga tccaaatccc tggggtaggg ccagacatca gtggagtat atatacatat 40200
 atatatattg tttgtttgtt tgtttgttt ttgagacaga gttttgtct gtcaccagg 40260
 ctggagtgca gtggcgcgat cttggctcac tgcaagctcc gcctctcggg ttcacacat 40320
 tctcctgcct cagcctcctg agtggctgga actacaagt ctcgccacca cgcccagcta 40380
 atttttttgt gtttttagta gagatggggg ttaccgtgt tagccaggat ggtctcgatc 40440
 tctgacctc atgatctgcc tgcctcatca gcctcccaga gtgctgggat tacaggcatg 40500
 agccactgca cccggccatc agtggatata ttttaaagc actgcagaga attctgttg 40560
 atcagcttga gaaccactga tctgcttgt gttcacatt taaaactttt ttttaatgaa 40620
 taaataaacc ccaaaaaatt aatctccta agcctccta gaagatagga tggtaaggat 40680
 attttcttag gtaaaaaat gtttaattca tatttcatga aatttcatgt ttcatctca 40740
 tcaagctctg tcatacacct tacatggggc aagcccagtg cctgggcagg gtgtaattat 40800
 actcattaca caggcaagga aaagtcacat taggtgatgg agcacaata ggcagttaat 40860
 ggtttcaggg ctagttagga tatgtttgtc tttcaattgc aagtaataga agcccaaaga 40920
 aattggttat ttatataata taattgattg gtcccaaat ttgaaaaatt caggaataga 40980
 cccagcttag gtacagctgg atccagtcac tcaacaatg tcacaaaga ccttttgaca 41040
 ggaatgtatc ctgtgttgac tctactttgc tctgagtagt ctttcccag gtgatgataa 41100
 aatgggtcat catcgccagg cttgtgtcct gtttagtagg aatatacaag aagagctcag 41160

taa atgctgg ccc caccact aagcaaaaac aaaacttttg ttgttgttat tgttgtttta 41220
aataacagct tagaccttc ttctttcctt gttattctct ttcattctgta atccagtttt 41280
ctacttctga agtatagaat gttctgatga tttattcttc attaccaca acttgccat 41340
gtttatttaa aaatgccagg attgcctggc cgttggtgc tgtaacctt tgtttgctgt 41400
tagtggatcc ctgaagtca ggctcccagg ggagcagata atgggtatcc agttcctgca 41460
atatccacc cctggcaagc caagttcctt cctgggtaag gttttgccta cctgcattcc 41520
tagggaagt tctgggcctg accaccaagc cagctctgag aagggtgca taagccccac 41580
catgctttgg ctctgtcct atagaatatt ttatgttgtt actgaaaact aaaggaagat 41640
gggtgcggtg gctcatgcct gtaatcccag cactttggga ggccaagaca gattgatcac 41700
tcgatgccag gattcaaga ccagcctggc caacatggtg aaacctgtc tctacaaaa 41760
caaaaacaaa caaaaattag cgggtatgg tggcatgcac ctgtggtacc agctactcaa 41820
gaggctgagg cacaagaatc tcttgaacct gggaggtaga gttgacgtg agccgagatc 41880
gcactactgc attccagcct gggtagacaga gcaagattct gtctccaaa aaaaaaaaa 41940
aaagaaaagg aaagctaaag gagagagact aaaatgatat caggttctg gagaacaaac 42000
agacatgatt ttgcttcatg gcaggacagc cggaagaagt gggattatat cctcacatta 42060
caaataagaa aactgagact cagaatggtt aagtcacttg tcccaggcca cacagccagt 42120
aaattacaga aacagaattt gaaccctaat cttccagctc caaagcttgt gttcttttca 42180
ctacctctg ctttaatttt taatttctaa gattagacc ttcattctatc catgacacct 42240
gcctgtcatc ccctgaaaa aggtgaacgc cgttcagaaa tttttctagc ctgagctcac 42300
tcccagttca cttatttttg ctttgtcatg gctgcccagt cccacttgt agaccaggaa 42360
taggtcatgg ctgcggggac tacacgtgt cgctgctgca agggccggcc tctgtttccg 42420
gggctgagtg ggggcccagac ctgccaggag caccatctc tgtgggtcct gcctggatgt 42480
cacatcccgg cccaagaag tcaactgcaa ccttcgtatt attgagctc acatcctaga 42540
atttgctgtc actgtggctg ctgcatgaag ttgtcctgag agaaacgggc attgtcatta 42600
acagggaaat tgatggtctg ggggaaaagt catcctcatt ctcttgaga tctatgggtg 42660
attgagactg gctgatgtt aaggggttc tcagccatcg tgtgcatgt tatggaacag 42720
tggtgtagcc agccatttga caccagcgc tgaccttgt ttaacaacct cacctatata 42780
tgacaaaatg attgtcagaa ataatcgtt aatgaaatga ctgtaataat ggccagaaaa 42840
gaaacgcaga tagtaaaatg tttctcttgt tgaactctgt acatataatt gcaccaggat 42900
ttttttcaaa taaaaagtaa atattatact acaaaaagg gaaaaagcac aagcatttat 42960
taa atagctt tctatatctt tctgagttt gatccttga ttgcagactg atgtaatatt 43020
ttatgtaaat cattgcttgg ttactaagt aactttaaga aaagtgagac gtctgcagaa 43080
gttgcccata atttagcagc tactgtattg taccattgat gtacggctt attttcttga 43140
ttaattattt aaacaatata attcacaatt ttaaaataat aaatttccac ttaaaatggt 43200
atttaaactc agcaaaatat atcatctatg agtaaaattt gtatttacca agcaaaaata 43260
ttacagtttg tggttccat gctgtctcac tgttttaaat tttaaataca aaaactcca 43320
gtaggctggg tgtggtggt cacacctgta atcccagtac tttgggaggc tgaggcaggc 43380
atatcgcttg agttcaggag ttcaagattt gcctgggcaa catagtgaga tctgtctct 43440
actgaaaaca attagctggg tgtggtggca catgcctgcg gtcccagcta ctcaggaggc 43500

tgagatagga ggatcacttg aaccctgggg gacagaggtt gcagtgaggc aagattgcac 43560
 cactgcactc cagcctgggt gacagattga gaccctgtct caaaaaaaga aaaaaaaaaa 43620
 agaaacacaa aaactccagg tggtcgcaca gaatgacagg actgaagtaa cttagctcca 43680
 atttctgtct tcataatcac tgtcctacca ttgtctgtgc ttagaatcta cttgcttaat 43740
 gcaggaacat gtgttctcac agagatggaa aatgcaaatg gcgccagaag caagctggaa 43800
 attctgaacc attaagaatt tactctctgc caggcacggt ggctcacgcc tgtaatccca 43860
 ggactttggg aggctgaggc aggcagatca tctgaggta ggagttcaag accagcctgg 43920
 ccaacatggt gaaacttcat ctctacaaaa atacaaaaat tagccaggca tgatgggtggg 43980
 tgccctgtaat cccagctact cgggaggctg aggcaggaga atcgcttgca cctgagaggt 44040
 ggaggttgca gtgagccgag atctatctgc accattgcac ttcagcctgg gagacagagt 44100
 aagactccat ctcaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaagaactt actctcaaaa taaatacgtg 44160
 tggctgactc cacatatggt agggccaact gtataactag aagttctcca aataacttct 44220
 gtggagaaaa aaaagtatt taaaggtaa cttttttaa gtgctaacta gaaccttact 44280
 aacactgaga tcgcaccaat tgtttataac ttagacaggg ccgggtgcag tggctcatgc 44340
 ctataatccc aacactttgg gaggccgagg caggtggatc acttgatgtc aggagtctga 44400
 gaccagccta accaacaatga tgaaaccca tctctactaa aaatacaaaa attagccagg 44460
 cacggtggta cacgctgta atcccagcta ctggggaggg tgaggcagga gaatctcttg 44520
 aaccaggag gcggagattg cagtgggcca agatcgcacc attgcactct agccccagca 44580
 acaagagtga aactctgttt caaacaaca acaaaaaaaaa aaaacctctt ggaccaggaa 44640
 aatatttttt aaggaggag tattttatca ctggcattgt ttaggattgc aggcacatga 44700
 tgctaatgaa aagcagacta actattagtt ggttttatta ctgtttttga actctctctc 44760
 tccttttttt ttttttttga gacagagtct ctctctctgt caccaggct ggaatgcagt 44820
 gactgcagtc tcagctcact acatcctctg cctcctcagt tcaagtgatt ctctgtcctc 44880
 agcctcccga gtagctggga ttacagggca ccacaccagg ctaagttttt gtatttttag 44940
 tagaggcagg gtttcacat gttgccagg ctggtctcaa actcctggcc tcaagcgatc 45000
 tgcccatctt gacctccaa agtgttggga ttacaggcgt gagccaccgt gcctagccct 45060
 gtttttgaac tctctagaga cagtccagcc cttattact tgtcctgagg cagctgctcc 45120
 cttcacctgg cccccgcat tgtgttccgg accctgtcc tgggtgtgct aaagaatatc 45180
 tctgtcgatc ctttggggac tggggaaact gaggcccagt gccacgcgat gccatttgtt 45240
 caggaagat taggtcatct gctaggtccc cagtcacttg accttcttcc cagacaggaa 45300
 gaagctgctc tgggtctctc agtgctccac gtgtctttgc acattgaaat gttttctgat 45360
 tttttttttt ttttttget gttacattta cttttaaaaa ataacaagca ataaaatggt 45420
 acatttgaga aggttgaat gagaattgat ttgagttaa ttctagcaga tttttcttag 45480
 aagaatgata tcatcatctc cagctacctg caattgatct actctgaatt aagaaagaga 45540
 cttccatttg ttgtttatat tttgcaactt tgatgtgttt ctttaatta tggctatggg 45600
 ccagggtgag gagctcacac ctgtaatccc agcaccttg gactctgagg agggaggatc 45660
 actggaggcc aggagttaa gacctcgtct gtacagtaa ttttaaaaat tagccaggca 45720
 tggtagcatt cacctgtagt cttagctact tgggaggctg agatgggagg attgcttgag 45780
 ccagaacttt gaggctacag tgagttattt tcacgccact gccctctagc ctggctgaca 45840

gagcaagacc tgcctcaaaa aaataagtaa aaaataaatt aaatttcaat cattagcagt 45900
cattaggata tttaaataca gtatgttgaa tcaaagttac gcatgtgtgt attttttttt 45960
ccagagagtt gtttatcatg tgggttttaa ttttaactta aaaaaatgtt ggctggacag 46020
ttgccccaaat ggtatcatca gccatttggg tgagaacgta tgcctctcgg gctcctctgt 46080
cactggagtt ttgctagctg acagccactg gctagttaga gactgcagtc agcacagatg 46140
caggcgtgga ctgctgcacg taacatgctc aatgcaaagc catcacttct taaaaattct 46200
gaaccctgct gtctgagatg gtggtgcagc ggatagaact ctgctctaag aggcagtagc 46260
taattccatg tcttctttgc ccttgactag ctgagtgact ttgcacatgg ggcttgccctc 46320
tctgttgccct tctctgcaaa gtggaatcat ctttctctg ctagacagaa ggtggaccct 46380
ggacctatgg cctttttgag tttccccccc gcttcttaga aggacctctg atcctactga 46440
gtttaataacc cacggggtta taattgggaa aagcaaagga agcgcttctg tttaggtaat 46500
tatatgcatg tttttgtctt tttctggctg gaaagatctc caagccactg ggaaggtccg 46560
tggtaccaca gggtagccct ctctggggag ggctgtctata tccaagagcc cctcatgaga 46620
atttgaaaaat cgaccatggt agggcctgct gacttttgac agctaattgt gtgctgagaa 46680
ttgtccctcc aaagatgctt ttccattccc tcgggagagt ctgggcagcc cctactgggg 46740
gctgggatgc tggtcttccc ctccagctcc accccaactg ctctcttccc tctcccctc 46800
cccagccccc taatttctct cacaaggctt tgttctgcag caacctttcc taatgcagtc 46860
ctggcctctt cgcagcttca ttacataacc ttccgtggac tcttgggtcca aggatcacc 46920
cagaaagcca gtcagaggta ggcacgcagc tggggtccat ttacttacct tccccaccc 46980
ctcggaaactc agaggtggg caggaatttg gactccaaga attaacagct ccaccacat 47040
caccagagcc aaaactcagg atgcatgtgc ttcatctgct gcttatttcc agctgagagc 47100
cagtgggtgcc atggttccct agggagccgg tcccctgatg ccggctcctg gccccaaatc 47160
tctctgatcc gggctcttcc agaatgtctt gtctccacca tcgccttga ccaatggtgt 47220
ccctttgcct ggtaatgtcc ctttgccctg atgatggccc tgcactcct ctcttttagca 47280
cagaggaggc tgtttcatcc cttcaagcct gccctcctt caagtcttag ctcaagttca 47340
ccttctccgc agagccttct ccaatcttct tgactacgct tctctcagc tccagcaacc 47400
tctgtctctg gcaactgatt cttacttagc taagagaatc acagacactt ggggctcagg 47460
acaatctgct ttctctcttc ttacctatgg ctttgactg tgtgtacctc tttgtctcca 47520
ctcccaaacc caacccccag agggcagaga gcatgttgct tgcctcttg ctccagatga 47580
agccatgctg gtggtagatc ggcagagttc cataactgt gttgaccgag ggtcacttt 47640
gctctgaaat taccctgtg tcttcagta tttgcacaga tagcttctg gccagaccga 47700
atatatccaa gggcatggcc cacctctgct cctgtttcca ggtccctggg gggggttagt 47760
tcatgccttc ctcataatct gcccaactggc ctggctctca aggtcttccc aactgctcag 47820
ccagagttga gaaaatgggt cgtccatccc tgtttgtgct gttctctct tctggccca 47880
ctctcctgcc cacaggtatc caggggctgc ctgtagcatt agaggacata catgcacatg 47940
cgtgggcatg ggacactcac gtagcctcca agcacagcat caataatgca ttctgtgctt 48000
tatagcatgg aaagctgctc taaactttat tacacagtgg acatgtctga agcagctccc 48060
aaatccacc ctgagtgtgt tggaaattggc aagcctatca cttgggagtc tagttttttt 48120
gttcgttaat aatagatgct tctgtggcc ccagcttggc aattttgatt taaagtgatc 48180

ttaactgaag agactaatgg acgggtctga atttgtgcct ttttaagcaca aagtattgct 48240
cttaattaac tggattctat cctttgagca ggcagaggcc ttcccccaag ggcgtcatta 48300
acgatccaca tctggacatc ttccaaagcc ttcttctggt tcaggccaac cgcaggtgtg 48360
ttcctgaaca cccaggaggc tatgagagcc acatatgcct cccaataca cacagtgtgc 48420
atgcccaggg acatagagca gtgtgcaaag tcccattcca tctctctcca cctgggagag 48480
gatggctctt ctgtctgatt catggctcaa agtggtaaag gagctcccca ctccccgtcc 48540
cacgcctact cagagtctgc aaatatgtat gcgatatgag agctcgtcag ttagctgtct 48600
tcagtgtggc gcacatttga ggagtctgac tcccctccag cacaggccaa tgtgactgc 48660
tctcctatct ttgtaccccc actgttgcaac tgtgcagagg ttggagccat agaagtacca 48720
gagctgtgaa aggagaggcc cctctcacc tctgcctgg tctccatccc cactttctct 48780
aggaagctag taggtgctga caggggagag aagggagggg aggggtccag aaacagtggc 48840
tcatgcctgc aatcctagca ctttgggagg ctgaggcagg aggatcattt gaggtcagga 48900
gtttgagacc agcctgggca atgtagcaag accctatctc tacaanaaga aaaaatgtaa 48960
ttagctgggt gtggtggtgg gcacctgtag tcttagctac ttgggaggat gaggtgggag 49020
gattgcttga gcccagaggt ttgaggttac agtaagctgt gattgcacca ctgactcca 49080
gcctgggcaa cagagctgag accctatctc aaaaaaaga aaaaaaaaag aaaggagaga 49140
gagagaaaaga aaagaaaaga aaaaaaaaaa agaagggaag ggaaagccca gaagagtgtg 49200
gggagaggag gcggccgtca ttctggggcc ctgagtgtgc acaaccagat aacacatgct 49260
ctgtgggctt ttgtaccatt ttgcttgagc ataaagaaag gaaggctgcc cctaaataga 49320
aagcactctg gaggcaaaca aatctgactc caatcctggc cctgccactt tcccagctga 49380
ggacttagac aagcacccta gcctcttggg cattctcaga gccatctgct gcaagtgggt 49440
gctgccatac ccaccttact gggcaggctt gggggaccaa ggggtggtaaa tggctcagtc 49500
tttcatgatg cggccacaca gcaggtgcgc catccaggtc ctttctttc ctccctttcc 49560
cccaaatcaa gttgtcatta aagtactagt ccacattaat gaaatcaact gtattaattt 49620
tctatttgct gctataataa atcatcagaa atttagtggc ttaaaccaac acaaatgtat 49680
taccttacag ttctggaggc cagaagccct ccataggtgt cactgggctg aaatcaaggt 49740
tttggcaagg ttgcggtcct ttctggaggg tccaggggag aatccatttt ctcccttttt 49800
ccagcttcta aaggtttcat gcattcctt gctcatgatc ttctatagct atagtcagaa 49860
aaattttcca tcaatcatct tcaaagccag caatggcagg atgagtcctc acatcacctt 49920
gctctgacac cagttctctg cctccctctt ccacatgtea ggaccctcat gattactttg 49980
ggctcactct gataatctgg gatgatctct ctatttttaga gtcagctgac tgggaacctt 50040
aattccatct acaaccccaa ttctctttt ccattgtacag tgacatattc acaggttctg 50100
gggattagga cgagcctgtc tctgaaaggc tactttacat gaaaattcat ttttttaatt 50160
aagatTTTTT tttctcttg agacaaggtc tcaactctatg gttcaggctg gagtgcagtg 50220
gtatgatcac agctcactgc agcctcgacg tctctgggct caggtgatcc tcccacctca 50280
gcttccctag tagctggaac tacaggggtg agccccatg cccagctaat tttttttttt 50340
tttttttttt gagacagagt ctcaactcagt caccaggtc ggtgtgcagt ggtgcaatct 50400
cagctcacag caacctccgc ctctggggtt caagtgatcc ttgtgctca gcctcccaag 50460
gagctgggac tacaggtgtg caccaccacg cccgactaat ttttgtattt ttagtaaaga 50520

tggggtttca	ccatgttggc	caggctggtc	tcaaactcct	gatctcaagt	gatccaccaa	50580
cctcagcctc	tcaaagtgct	gggattacag	gtgtaagcca	acatgcccgg	ccccagctaa	50640
tttttaaata	tttttttgt	agagatgggg	ttttaccatt	ttgtctaggc	tggtcttgaa	50700
ctcctgggct	caagcaaacc	tcccaccttg	gtctcccaaa	gtgctgggat	tacagcatga	50760
gccactgcac	tcggccttaa	gagaagattt	aataattaat	actttacaac	aagatctgga	50820
agaggtggga	tgagtaacta	aatgaggata	caagtaacc	gggtcatatt	tgctaatacc	50880
cttggtcaca	ttgaacttga	tatcttatca	gattttccta	atcagctcct	ttagcagcag	50940
tgttgcagca	tcttatctca	ttttgtttt	tgttttttg	cctagcaca	gcctgtaaat	51000
cactggattg	agggttttag	atgtttgttg	tcctttggat	gcttcttata	aatccatatt	51060
tcatggctcc	ctggaaaagt	ctatgcaaat	gataagctgc	aaggatggaa	aggaaattgc	51120
agtgtcctg	aattgtaaat	gggcttttac	gaggaggttt	ctaattactc	gctctttctc	51180
ttgaactgag	gagttgaagt	gtaggtggca	gatccataac	agataatcat	gtgtgtgatg	51240
tgacttcagc	ctgagcgtcg	aggaccaagt	cacagagcag	gaacagccac	tctccagtgt	51300
ccttggggct	acgtctgagg	agaacctggg	atttcatata	tgacctgcac	tggtctgggg	51360
gctctcttga	cgtaacgtgt	tcctctgag	catgttacag	attctgacat	tcttatgttc	51420
cttctgtgga	gagacatgta	cttagtgacc	taactcactt	tagcatattt	ttgctcatcg	51480
tttgtgtagc	ttaaaggaat	cagataatta	ccccctccc	actactttcg	gaagcacaaa	51540
tgcaatgccc	tagaattgta	ctggggactc	aaaaagaaaa	gagagtagta	aaatctatta	51600
aaggggacaa	agacagccta	tatactacaa	gctttctatt	tttatggcag	agaatgccat	51660
tttctaagta	aacagagaac	tgcatattgac	ctgcaatatac	aatgcatgg	atgtgatgct	51720
ttggaaagca	actgttttct	gcgttaatct	gggtgtcttc	cgtgaaatgt	cctcctgcct	51780
ttggcttaaa	cactagcttt	gtctacagcc	attccatcct	gaacctgccc	aatcttgtct	51840
gaatcctggg	ttcaccactg	acaagctgtg	tgtccttggg	caagttactt	cacctgtctg	51900
tgcttcagag	tcctcatctg	tgagttgggg	aatctggaca	gaatctacc	catagggcgt	51960
agtgaggatg	tgttgaatta	tccaagtgg	ctacacagag	taagcactca	aatgatgtca	52020
tcgttgtcat	gattgctgtt	accagagcct	agagttcatt	ctgatactcg	agtctgtggc	52080
ccatccagcc	caggtaagga	atagttggag	gagttgggca	tgttcagctt	gaagaggaga	52140
cgacagggga	tatgggatag	ttgaatctgt	gaagggcccc	ctgggatgaa	gaactggcat	52200
gttctgtgtg	gctccagggc	actgagcagg	accatttgc	caaagtctca	gggacacagt	52260
ttctagctat	agacagaaaa	attttctgtc	actcagagga	tgaaaataga	atgagcccc	52320
ttaagaggta	atgagctccc	tgtcattgga	aggattccag	aagagctagg	taaccacttt	52380
agggtctatc	aaggggcttt	tttctttaa	gtcctttcca	aaagcttctg	agattgcata	52440
aacaatagga	agccatcttg	gtgctttaac	acaaactctc	cccagtgatg	agggttgagc	52500
caaagccaga	ttggcaagca	gagaggagac	ttgtgtacaa	ggagttctc	gagtcaattg	52560
ctttttcctt	gttctagcca	gccagagggc	tctgttggga	aaacaggaga	ccggagaggc	52620
tgaggcctga	ccaaaccagc	ttctgcaggc	cagctgggag	gccacaactc	ctacctacgg	52680
gaaaactgaa	gggcatctct	attttttagat	tagcaaaaga	aaataaattt	aagtttgagt	52740
ctcctttgca	acttttaaaa	gacatcttta	ttgagatgat	cattcacatt	ctataaaatt	52800
ccccacttt	gagttacaat	tcagtggttt	tagtcttct	tgatgatttt	gatggtcttt	52860

tcttaaggct cttggaagac ccagaagcct ctacagacaca ggtgggtgtg gagggcgtag 52920
cacagaggca gacttctcat ttcttgggtc tcccctttaa tgactctcag agaccctcc 52980
ttccccctgc ccttggcttc taccacagggt gtgtagagtt ttgccatttt ccaagcagaa 53040
cttcatttcc tcttctgtgt ctacactctt tgtgcttctt tcttgccagc tttttctcct 53100
ttgcccggccc ttcttctctt ccttccctcc ctccccctt cctccttcc ctctttccct 53160
ccttcccccc ttccaccctt cccccctcc ccccttccct ccttccctcc ttcttctctg 53220
cctgccttcc ttcttctctt ccttccctcc ttcttctctt ccttccctcc ttcttggat 53280
gtgactaatt tctgtttcag gacataaatg ttgtccaggc tgttctttgg tctttctgtt 53340
ggataatgga catttggcat tgagagaggc tgctttttct gaaatcatgt tcttggggcc 53400
cagaacctag gtgtgtgctt ctgactttgt tttcttctg atccaaattc tgatatgtcc 53460
atttaaattg atctagacc acagggcact gtgggacaga tctcagtggt aacatgactc 53520
tgtaacgaga gcattttgtt ttgtcaaat gagaacatat tattgcctt catctgattg 53580
taaacataat acatgtttat aaaacagtat aatgagacaa aatgtagac actaataagg 53640
gaaaatctcc ctaattgtat ttctcttcc agagaaagcc cctgttgggc atatatactc 53700
tagtttgttt atttgtttga ctacacatat atgtattctt ttcttatgta taaaattct 53760
gaacatgcac atttctgcaa ctactgtttt cacttgatga tgcatggacc tctctagagt 53820
gtacgtttct tcttcttcc aaagcagttg gcttcgccc gggtgcacca ggacacggtt 53880
ttggctctgt ccccagggtg tcacgggacc aggggatgat ctacaggggt ctgccatctg 53940
ccctgcctgg ccggaggctg catcgagagg gccaaagggc accacgtgtc gtgggtactg 54000
tcaaacaaga gccttcagag ccttccacag tctttctttt gcttcccagc attgcttccc 54060
cgctgggtgga ctctgaatct agaactagct ccaggcgcct ctccaaattc agacgggagc 54120
tggggcacta ttataatgca aatctaggca aagccctccc aataccagga tccagaatgg 54180
gggtggggccc tttgccctga aaagctgttt agtttgaaaa tacaacagg agacagaaaa 54240
gtttggctaa attaatggat aaagttttaa cgatggtaac catagtaggg ttcatcgaca 54300
gccagcgatg gttctgaaca cttgacatgt attactcacc ctaatccccca cattttacag 54360
acaatgcaaa ggaggctctg ggaggttgag tgacttgccc caaagtcgca cagctcctaa 54420
gtgaaggatt cggagtggac tccaggcagc ctggtctgac tccctgcact gcgctgtgct 54480
tatctctggc cccaatgccg ccatgcagaa gtgtctgggg gcactttgtc tctgtcagac 54540
agaattcgga gatgtgatg cttgcctgg tatggcactt ctcttttttt gagacagaat 54600
ctcactctgt caccctggct ggagtgcagt ggcatgatct cagctcactg caacctccgc 54660
ctcccagggt caagcaattc ttgtgctca gcttcccag tagctgggat tatagatgtg 54720
caccatcgtg cctagctaaa tttttgtact tttagtaaag atgttgtttt gctgtgttgg 54780
ccaagctgat ctcgaaactt tggcctcaag tgatctgctt acctcagcct cccaaagtgc 54840
tgggattaca ggcatgagcc accatgctg gcagtgtggc acttcttacg tgtgttcagc 54900
ggacactgtt tatcttctgt cctccaaga cgggtctgag ctccagtcgt tcattactgg 54960
cagacaactg ctgatttcca acagaattgc cactctctt tcccctgca ctttcagagt 55020
gtgacctcag actcaaaaa tagaagtga aacatcttaa aaactatcac cttttcttcc 55080
taatcctct ctccccctc tgtcttctt gttgtccca tctaatgaac tatcatggca 55140
aaaagagccc atttctggct atttctgtg gcctttcaaa ctcccaccta cccactgct 55200

cctgggtgca ttacccgaaa gctgagactt cagtgcagaa agtgccaggc cctctgtccc 55260
cccagatcgc cttccttgtc ttccctgtgc ttgcctgtca catttgtgtg gttccagcgc 55320
tggaaggaat gaggaacaga ttctctgggt ctcttttga agtttacctt cgctccacca 55380
cttctgagac cttcccggaa gttgcccctt gtttctctcc tctccagggc tgccccagag 55440
ctgcctctca cctcttctg ctgtcacccc accaccatca gggcagaagt tgggacaaaag 55500
cctctcctac tggctcctgc ttttctcct taggtccagc ctctcttct ccatcttcag 55560
gagtctcctt ctccactcac acgtcatgac ttcagcacct cgcacatgac cagaatatga 55620
ctgcttggtc aagtgccacc tttctcatgc attttttct agtgacaatc acagccacc 55680
tgtggggcag gagtgtcatc atccccatgt ttcaaatgaa gaattgcagt tcagagaggg 55740
caagtgactg gccagcctc aacagctagc cagtggacc caccagggt tctgactcca 55800
gtccgggttc ctttccacc caaatccatg gagggagctg agccgagaac aggtgtcctt 55860
caggaagacg tgaagccaaa gctccacct ccaactcag gggcccagg agtccaggca 55920
cccatccact cacaaggtg gatatggtgc attccaggag aggggttggg ggcgagtggc 55980
ctctctgtgt acccgtgggg atagatgcgc aagtggcatc gccacatcgt gactcctggc 56040
ttcatgggtg agctccaggt ccaacgagaa gccaacgagg gggcccttca agctcagctt 56100
tgggcccggg tcgggttaca gggtagagcg ggcctccca gccctgcca tgaggccaag 56160
gcagtgcac gttcgcagcg tacattcaga aaccaaagcc taggagctgg ttatcattcc 56220
ggtttacagc tgatggaaga gcaggtgctt ccgagaacct acagtgtctt ttggccagtg 56280
accaagggt gcctctgaga ggctcgcag caccggagg tgctgtgag gcaacgcctt 56340
gactgtaaga aggaccattc atcctcagag agtggccgtg atgctgtgc gacagtccca 56400
ccatccctc cgactctcac tccaacaga ctccactg taaagtgaa ctctccagca 56460
aatcacctc cgccagactc tctctcact ctctctgggt ccactagagg ttctcagcc 56520
tctctttgcc ttggttttcc cagctgtaa atggagcaa gagggcctat gtaccacaa 56580
agggtgtggt ggagcgactc ctctacatt agggcctcga gtggggctt atgattggtt 56640
ggtggaggtc tccaaacca ccagtgcca ccgaaggctg agactgcaga tgcaatgcca 56700
cagggtctct tctcagcct gggcagctga acatcatgtg taaaacggg ataataagat 56760
aataacagcc cttgcacct atgtggctgt gaggattaa caagataat gtgtaacagt 56820
gcctggctat agaaatattt actcttgta ttaaggaag aatatgtgtg gctaaaaagg 56880
gatcgaagat gtaaaaagcca atccctccc ctctagcata ttaagggtt atgttgagtt 56940
ggtttgtgga ccatttctg cctgttagag ctggaaggta gggacccct ctcaacagcg 57000
atgctacaaa ttatacccat tggaggtaa ccaaagaca aagcttattg gctggacatg 57060
gtggtcaca cctgtaatc tagcactttg ggaggccaag gcaggcgat cacttgagat 57120
caggagtctg agaccagcct ggccaacatg gtgaaaccc atccctacta aaaatacaaa 57180
aattagctgg gcgtgggtgt gcacacctgt aatccagct actcaggagg ctgaggcagg 57240
agaatcacta gaaccagga ggtgaagggt gcagtgacc gagatgcac cactgtactc 57300
aaaccgaggc aacagaggga gacgcaatc caaaaaaaaa gaaaaaaga caaagcttgt 57360
taataccagc atattgttaa gggaataaag taggctgcag aacaactggt gtaatatggt 57420
gccatgtagg gaaaattaca tgtgtgcata ggagagggt ctgcaagggt gtgccctaag 57480
atgttagagt ggttccttg ctttctctt ttataattt gtatttgact ttaataaag 57540

gaccataaat cacttttata aaatacattc tctccagccc ctactactcc tttaaagaat 57600
aagagtgggt tgcccaagaa agacagtttt ttttgcctctg gttttcttga ttctgacatc 57660
agaggaaact gcttctcatc cacttggggc tctgggttca ggggattcat ttcaggcaga 57720
ttaaagtggg gaccaggggc attcgtggac acagggaggg acaggagcac catcagtttg 57780
tctcacacaa ccactgtcat cctcactgaa ggctgttgcc tgatcaaaaa cagtattggg 57840
ccaggcacgg tggctcacac ctgtaatacc accactttgg gaggctgagg tgagtggatc 57900
acttgaggtc aggagtcca gatcaacctg gccaacatgg tgaaaccttg tctctactaa 57960
aagttcaaaa attagccagg cgtgggtggg gctgttagtc ccagctactt gggaggctga 58020
ggcaggagaa ttgcttgaac ccgagaggta gaggttcag tgagccgaga tggcaccacc 58080
acactccagc ctgggcgacc gagggggact ctgtcttaaa aaaaaaaaaa aaaaatata 58140
atatatatat atatatatgt caaaaatggg gtagttttta gatctatagt agttctaaaa 58200
acaaaggcca tccaagcatg acagatttac aagcactatt ggctattcca gtagttaca 58260
tgaggagag aagcttttag ttaaaacaaa caaacaacac acaaacca gaaaccttag 58320
gtcaaaacca aaattgtcct ctgagacaca atctgggaat tttctcatga cagtgggcat 58380
tagccaactg acatcagcag caaccatccg tgtgcacaca gtggcaccac ctctcccaa 58440
aaagcagcct tcatctatgc cctcatacaa tcgttgatta ttctctttgg attgaggccc 58500
ggaattattt aagtttcttc ttgccagcat gagtctttcc tttctgtatg ctcttatct 58560
tctctcttta atttggcagt tctgcttga atctgggtct tcattagta gtagttcaat 58620
ttggttccag aacattctgt ggtgtgatgc aatgtacca gagctcacac ttcagagctc 58680
ttcaagggcc agtcttactg agcacctccc agtggctgcc tgtgtgctgg gcgccacttg 58740
tggtgggcag gagagaggag gggacacaaa aggagacaca gctccttctt agaagctcaa 58800
agttggggac cagctgccac agaagagtat gtttagcatc tgagacacca agatccagcg 58860
tcacaagggt gtttattaag cctctctatc tctttctttt tctttttttt ttttttttct 58920
ctcaggcagt ctactctgt caccaggct ggagtgcagt ggcatgatct cggctcactg 58980
catgcaacca ccacctccc ggtttaagca attctctgc ctgacctcc ccagtagctg 59040
ggattacagg tgcccaccac cacaccagc taatttttgt gtttttagta gagacagggt 59100
ttcaccatgt tggctcaggct ggtctcgaac tctgacctc agatgattca cccacctcgg 59160
cctcccagtg tgctgggatt acaggtgtga gccaccgcgc ctggccttgc tgttgattca 59220
tctatagtat gtttgacttg atgacctca gttaccttag acagaggttc tcatctaagc 59280
tccaactttc catttcttt gtctctgtct tccccctaa cccctccaca tttctctcaa 59340
aatcacccca cttctaaaaa atactgttta ttttctttt aaatttcaa ttatctatac 59400
tcattgaaat aaatcaaaa agcatggaat aagcgaaaaa aatggatccc acccttcccc 59460
actcccatc cctagggcta accatagtta accatttaat gactaggttt tttgttgtt 59520
gttatTTTTT atttatttat tttgagacag agtcttactc tgtcaccag gctggagtgc 59580
agtgggtgta tctcggetca ctgcaacctc tgctccag gttcaagcat tctctgct 59640
ctgctcctg agtagctggg attacagtg cctgccacca cacctggcta atttttgtac 59700
TTTTGGTAGA gacagggttt ctcaatgta gccaggctgg tctcgaactc ctggcctcaa 59760
gtgatctgcc caccttgcc ttccaaaata ctgggattaa ggtatgagcc accgcacca 59820
gccctcctgg gctcttttcc tttagttgca ctgctcccc gctcctggag tagagggatt 59880

tccgagagac tgtgggctcc agccttcacc taggcccagg actaggatgc ctgccctaac 59940
 atttatcttt ataccttaaa gcaaaacagc tggaccataa gcattcaaga acaaaactgtg 60000
 aataaggaga aagtctctcc aggaaacaag agctttagtt ctgttgggcc agcccttata 60060
 ttccttagct gttaccagtc actgcttgat ttaatctcgg ctatcacttg gcctgacagg 60120
 tctgctgctg gtgccaggat gtctggggtt tgaagcctgg ctccattaca tacttctctgt 60180
 gtgaccttgg gcaacttact caacctgtct gttcctcagt ttccccagct gtattatgtc 60240
 agcataatag tttgttgtgt gaattaaatg aggtaataac tggaaatgct tcaaacatgg 60300
 ttcctatcat gagaaatcct gctttccgcc taaatgtgct ggaaaattcc tggtggtgca 60360
 gaacaggaga ccagagcaaa ggaaagacag ggtgcagaag ccaaaaatta ccttgagaaa 60420
 caaagcgcac gtaaggtta tttttggatt ctaggtttat ctctgcttgg tcttcagtta 60480
 cctgcaagag atccatttag gggatTTTTT tttgtTTTTT acgatagctt tattgagata 60540
 taattcatat gccataaaaag tcaactTTTTT aaaatgtttc cggatatattc acaaggctgt 60600
 gcagccttcc ctgtccttga ttccagtctg agtttttaac tgaagggata aggaggacca 60660
 cgctttcccc agaccagaac cgcgggccag ggggcgattc tgctgagtca ccgcgggcgc 60720
 ctgggtgcgcg gcggcggagc ccgggacctt ccttggtctc cccctagcga gggccgcagc 60780
 gcagcctgag acaccgccg gggccgctcc acggccgtcg gatttagact ggaagctcgg 60840
 tccaggtccc cagcttgatg cgcccgcggt gtaggagacc agcccgactc gggcttcccc 60900
 tgagcccctg gactcttgac tccagcaggg cctgggtaat gaacgtcagc tcccctttcc 60960
 caaaggggtt gctctgttgg gaaggcacc ctttgataca gtagcataga gatgggtttt 61020
 agcatcaaaa tatcagaatt caagccttgc tctctgctta ctactgtgtg gaccctaaaa 61080
 aggtttctga acgtctctga gcttcagttt cctcatcatt ccttctcagc gggtggttgt 61140
 gagcattaca gagatcctct ctgtgaagcc cctgtgagt gctcatcctg agggtgaaa 61200
 taaacatggt attaataatc caaaactggc aagggtggt gactggtccc cctcccttgc 61260
 ccaaggagct ttctagaacc tgagttatca ttaccaaact gtactgcctt gagtaagaaa 61320
 gttagaagga atgggaagga tgggtggcagg tggaggaagg cggattggtc atcacctcct 61380
 tgcagcaaga aacagcccca gatcgtggga aacctacaga cctgctagac agactaggag 61440
 caaaagctgg ggctttaaga atccccaggg aggttctcct gagagagtag ccagttggat 61500
 tttgtaagca gagatttgtt tggggaggag gtgacaacgt aggagcaga ggggcaaagc 61560
 tgtcgggaat cctgccttga gggcagggat gtgtgttggg gggagttggg tcaactgggc 61620
 tcggtggcct tgggcaagtt tctacctctc aggtccttta cccacctagg gtcgccatcc 61680
 tgcccacctc acaggttaca gtgagcctgg atgcaactgt atgggcaggt gccagggaaa 61740
 atggcagaca tgttccaaac agcacgcagc attccccagt gatgccagg gtcaccttgg 61800
 aggtgggcga gatgcctggg gtttctctgc caccacaaa cacctcaggg gacagccaaa 61860
 gctgtccctt caggtaagct gcacagaaga tgtgaactct gctgcaaga ctctattctt 61920
 tgggagcaaa agggaccag ggtctcacct gcacatcct gtccctgagg gcctaggggt 61980
 tcttgagggc cccagccttg gcaaaatgag gaagaaggtg aaggttgtct gggcccctgc 62040
 caggctcctt cctcggccac gcactcccct tctgcacac acacccttct cctccacc 62100
 catctccatt gttgtcagaa aagtcacaat aaaaaggtcc atattgtcta gttcccatac 62160
 ttttaatttt taaaatttta tttatttatt tatttatgta ttttttgaga cagagtctta 62220

acccaggctg gagttcagtg gcatgatcta ggctcactgc aacctctccc tcctgggttc 62280
 aagtgattct catgcctcag cctcccagat agctgagatt acagatatgt gccactatgc 62340
 ccagctaatt tttgtatfff tagtagagac ggggtttcac catgttggcc aggctggtct 62400
 cgaactcctg gcctcaagtg atctgcctgc ctgagcctcc ggaagtgctg ggatttcagg 62460
 tgtgagccac cgcactcggc tccacacttt tcacttatta aaagactgtg gtgtccatca 62520
 atggatgaat gaataaacca atgtggacta tcctcccat tacccaagga atgaagcacg 62580
 gagccgtgcc aagatctgga ttcacagtga aagaagccag tcacaaaag ccacgtgctg 62640
 tgtgacttcc cttatacгаа atatccгаа gagatacct catggtgaca gaaagtagat 62700
 gagcagctgg ggactggcga aggggagaag ggggagcagc tgtctatgag gtccagcctt 62760
 tcttctgggt ttggtgagaa tgttttgaa ctagatagag gtgatagttg tacaacattg 62820
 tgaatgtact aaatgccact gaatcattca ttttaaatcg ttctttacgt tgcattgaatt 62880
 ttaagtcaat caaaaacagt tgtttgaaa gagaaaagcc tatgggtagc ggcagcagtg 62940
 attggattta tgattcgatt ccatggetca tcctccctt gcctcaccct ctcgcccctc 63000
 gacgtcttct tcttttactc tgaactgtta tctttgttct catctctctc tctctctctc 63060
 aacctgcag aacttttcc ctttctttgt ctgccccac cctccagatt tccgtgtctc 63120
 cagtgtctcc ctacgaggca tgaattgaga ctgggagggt gtgattctga agaaggcacc 63180
 aacagtgact cagctagccc cttccccac cccgcccc gggcctcaat ttagctaaaa 63240
 aaccacaggg acggactcag gaggcaatac cttccaagg gtcctaaaa aatgtcccat 63300
 tttagtgtcc aggtttcact caactttagt gcctccccta aaatgtgttc cttacctccc 63360
 acccactgc atctaagtca ctgcctgaga aaacaggatt gaggaagga gaaaggaaga 63420
 gagagagaga ggaggagaga gagagagagg gaggaaggct gatggattta gaaaagaaga 63480
 aaacaagtgg tctgaggaaa acagccttgg tgtgtttatt ttctgtctg tgtatcgctt 63540
 ctcgcccttt tggctaagat caagtgtatt ttctgtctg tgtgtctcgc ttagattaca 63600
 gggatctgtg ggtgatgaca cgtctggtcc aggctgcgta gtcacctca ggcattgctt 63660
 attgatgtgt tttcaattc actatctttg catgggagtc ccaggccaag aggcacagct 63720
 gcgccatttg tctgttggtt tagatatcct ttatccagtt cttccagaga aatcatcctg 63780
 ccttctgga ggagggtggc agcaggggtc agagatggga gggaaaggaa ggagccaggt 63840
 ccttggttag gatgccaggg tcccctgcct ctacctggc ctgggctgga ggcctcctgc 63900
 tgtcctgtca ctgatcacta ccccgccca gcctcctgag ttagaagaca caggctaaag 63960
 tagagtattt cttcattgaa aaaccatac aaaataaagg ttcataaaaa ataaaaattt 64020
 agactgggtg ctgtggctca cacctgtgat cccagcactt tgggaggcca aggcaggtgg 64080
 atcgcttgag ccctgggggt catgaccagc ctgggcaaca tagtgaaacc ccatctctac 64140
 aaaaaataca aaaaattagc caggcatggt ggtgcatacc tgttgtccca gcttctcagc 64200
 ctatggacc acatagaata caatgtcagc ataagaagg agccctgggg tcaccaaag 64260
 gtttgggagg caaagaacct gaaggttgag agaagtggct tggttacca gctgttgat 64320
 gtgagacctg gccactgctt cttccatacc ctgacctgc acctgacat ctcaagtaa 64380
 aagttggggg atgttttatg gtccaggatg aaggaaggc agtgagggc agcggagcat 64440
 cactttgcat ttctgtctgc ctcttactgg ctgtgtgacc tggggcaggt aacttccag 64500
 actcctggga atcataacac ctatgatgat gatgatgatg atgatgatga tgacacctac 64560

ctcaaggatt gccctgaagg gtcacagaga tgcctgcaag gcacctgcat ggagcaagcg 64620
 ccccttctct ggcaaggct gggtagcac tacctgctgc caggccctgg ggctatggca 64680
 ctgcgtgacc ctgcaagtcc tacctggcga agctgtcgtt cttgtgctca gtcagtgttg 64740
 gttgtaagac tgagaagagt cacttcattt tgctctccag ggacatcttt ctgggtccta 64800
 ttttctgcct atgtcaagta ggcctcaag gatgctcctg aaaatgggct tgtctttctt 64860
 aacatggcag gtaggtccca aagcattagc atggggcagc tgacctagcc cagccaatgc 64920
 agtgcagtga ctcttgcaac cgagtctaat cagaaggctc atgaacctac gagcatttc 64980
 tgtcccagga tcagggtgga ggctgagcct cctgcttag agattcttcc catgcattcc 65040
 acttttttcc ccaaaaagaaa atattgacc ttgagaggca cacagtttat ttattttgca 65100
 tagtaaatag tagcctgtat ttaaggatg agttgatttc tgcacagcc cctgtaggtc 65160
 atcagccttc tattggtgca tctgactctc tctagcctg cagggatggt ggagggggag 65220
 gggaaggagg gatctttatt ggaaaccagg acagtgagac tcattgcctt gtcactctgt 65280
 ctgtggtgct gaatgaggca gcccaacaga gaaatacct gagcgagcat cccagcctc 65340
 caaacacgtg gcgcattgcc ctgagtcctg ggaatgacct ttgattctcc tgctctgac 65400
 ttggaacca tggaaacct tagaagcagc tgaggaaaac ccaacatgaa aagcagaact 65460
 ccacactgag aatataggag gtgatcggaa catacaatga ttcttgctaa gaccgattca 65520
 cagtttttct ttttttctga tcgaagaaat actggagaag cctaaagaag gactctaaaa 65580
 actctggcac gtgggcaaaa actgtccttg agctaagaat gattttcaca tttttaagtg 65640
 gttgaaaaat gaaataaaat aagatgatgt tttgtgacac atgaaagcta tgggaaattc 65700
 aaattctaata atctataaat agtgttttat cagaacacag tcactgctcat ttatttatgc 65760
 tcgatggctg ctttcccgt acaattacgt tgagcagtta caacagagac cacgtggccc 65820
 acaaagcctt acaatattta ctatctggcc ctttcagaa aaaaatgtgc cgactcttga 65880
 cctaacctc agcaatttgg gaggccgagg caggcggatc gcttgagctc tggagtctat 65940
 gaccagcctg ggcaacatag taagactcca tctctacaaa aaatacaaaa cattagccag 66000
 gcatggtggt gcacacctgt ggtcctagcc actcgggaga ctgaggtggg aggatcgctt 66060
 gagcccagga agtcgaggct gcagtgagct gtgatggcac cactgcacct cagcctgggc 66120
 gacagagcaa gacctgtct ccaataaat aaataatgca aagtaaaata aataaaacca 66180
 tataaaaagg aatcaattta aaattataat gaaagctggc cgggcatggt ggctcacgcc 66240
 tgtaatccca gcactttggg aggtgaggt gggtagatca cgaggccagg agatcgagac 66300
 catcttggtt aacacggtga aaccccgtct ctactaaaaa tacaataaaa aaattagccg 66360
 ggcacagtgg cgggcgctg tagtcccagc tactcgggag gctgaggcag gagaatgtct 66420
 tgaacccggg aggtggagct tgcagtgagc cgagatcgtg cacttgagcag tccagcctgg 66480
 gcgaaagagc gagactccgt ctcaaaaaca aaaacaaaa caaaaacaaa aaaaaattat 66540
 aatgaaagcc aaggggcata gtagaacaaa tttctagag ctattaagt caaatgagtc 66600
 accagttagt aaaacgcagt cacggggaag agagggcagg attctttgaa gcagcggctc 66660
 tcctaaaaac aaccaccct tgtccagctg ctttccctcc tgagggtgtt ccttttgact 66720
 gtgtgacccc catcccctat ttccaaccg tccaagccca cctctagcat aatacgagct 66780
 tttaatccct ctcccgtacc ccaaccgat tttgaagccc agtctagtat tttctcaaat 66840
 acacttcttg gctccattcc ttcctttcca tcacctctgc cttttcactg catgcttggga 66900

ccactgcagt cagctcccta tgaacagttg ctctctacce atccaatcgg ccccgctgc 66960
 tgctgcaaaa ttcaccgagg gcacctctgt ggtgctgcct gtggacaaag tccaagccag 67020
 ccacctcacc cacctacagg tgagtgggga gcagccagcg tgtccagtgg tttaccccat 67080
 cgccacagac ttggtgatgt gtcgatgtgc agagaagggg tgttggcagc cacaacacaa 67140
 gcaacccccgc cccatgtgag atctaagatg ggcgtgctgg gagccacctc tgagaatcca 67200
 acagaaggca gaggggagaa cggtcacac ggcacaaaca ctcttcctt ttttttttt 67260
 ctttttcctt tttgaaagga gtctcactct attgccagg caggagtgca gtggtgcaat 67320
 ctgagctcac tgcaacctcc gcctcctagg ttcaagcga tctccagcct cagcttccca 67380
 agtagctggg attacaghta cactccacca tgcccggcta atttttgtgt ttttagtaga 67440
 gacggggttt ccctatgttg gccaggctgg tcttgagctc ctgacctcag gtgatctgcc 67500
 tgccctggcc tcccaaagt ctgggattac aggtgtgagc catggggcct agcctcctc 67560
 catttaaagt tatgcctaat ttgccattg agaacggctg agacgattt taagtggcca 67620
 ggtgtactt agagttagt ctcagtacca ggcccagtc aagcctggct ggccagatgg 67680
 tgcccttgac ctgctctgtc tctgtgcaaa ggaatgagct gaaggatggg ggtgcagtgt 67740
 gtgggcagtg ggctggggct ggcaggactc agtgactaag ggaagagaac tttctcact 67800
 accagcctgt ctttccaggg caccgcgggg ggctttggga cttggtgatg aacacagcac 67860
 agagagctgt ccagcatgcg ggtccctggc ttctcacact tcccaggctc cttcagaggc 67920
 tctctccaaa gggagctgct ctctctagaa cccatgaatt tggaatatag gcaaccactg 67980
 cattggggac cactgacctc aaacatagag accagagcaa atggggctca tcacgtgaaa 68040
 ctcatctgga actctagcag gttcttttat atatatatat atatatatat atatatatat 68100
 atatatatat atatatatat tttttattat tatactttaa gttctagggt acatgtgcac 68160
 aacatgcagg tttgttacat atgtatacat gtgccatggt ggtgtgctgc accattaat 68220
 tcatcattta cattaggtat atctcctaat gtatccctc cccactcccc ccaccccaca 68280
 acaggcccca gtgtgtgatg ttccccttcc tgtgtccaag tgttctcatt gttcaattcc 68340
 cacctacgag tgagaacatg ctgtgtttgg tttttttgtc cttgcgatag tttgctgaga 68400
 atgatggttt ccagcttcat ccatgtccct acaaaggaca tgaactcatc attttttatg 68460
 gctgcatagt attccatggt gtatatgtgc cacattttct taatccagtc tatcattggt 68520
 ggacatttgg gttggttcca agtctttgct attgtgaata gtgccgcaat aaacatacgt 68580
 gtgcatgtgt ctttataaca gcatgattta tattccttgg gttatatacc cagtaatgag 68640
 atggctgggt caaatggtat ttctagttct agatccctga ggaatcgcca cactgtcttc 68700
 cacaatgggt gaactagttt acagtctac caacagtgta aaagtgttcc tatttctcca 68760
 catcctctcc agcagctggt gtttctgac tttttaatga tcgccattct aactggtgtg 68820
 agatgttata tcatggtggt tttgatttgc atttctctga tggccagtga tgatgagcat 68880
 tttttcacgt gtctgttggc gaactctagc agcttctttt cacaagttca tggagagagg 68940
 tttcccactg agggaaatcac atctgtctga tcaaaagagg cttgggaaat ggctctctg 69000
 ttcatccct gaaaacctct gatggaacca ctgccactgt ggcagcccca gcaactggc 69060
 cccagccatg attggtgccc cagccacatc tctgctgtga gccccagagc cctggttaat 69120
 taatcatcca cgtgttgatg gggagaggcc cattcaciaa agcgacataa agcccaggga 69180
 gacgtggccg tggcaagaag ggtgtgggac tacattccgc cccaactga gagattcaga 69240

aaccagaaaa aaatggaaaa acatactgtg ctcttgggtg ggaaaactaa atatcatgaa 69300
gggagcaatt tttatagttt tggcctataa tacaattcca gccgaaatcc cagtggaaact 69360
ttgagaattt gcaggaaaaa aaaaaatgtc taaagtacat ctggaagaca aacttacaag 69420
aaggtcaaat aattttgaaa aagaaaatga tatctaagcc cacctagaga ataagacttg 69480
agatccaaaag ctaaatacagg aggctctagc aaaattgaca gataagcagg acagagtgca 69540
tggtgcattc acctggggaa gagggcagat tggtctacaa ataggcctgg gtccactgac 69600
tttagctggt atatttgggg agaaactttt caacctcact ccatcttaa cctaaaaata 69660
ttccagatga attaataaat ataaaaaatt agaccactaa aatgtagaa gaaaatggat 69720
gatctttcta taccatagag caatggaata aatcaciaag gaaaacagat ttgactatat 69780
aaaacttaaa ccctgccccat caaaaacct cagaaacca aataaaaggc aaccaactgg 69840
agaagatagt tgccacaaat atgatcaagg gttaatgtta ttcataaatt aagagccccac 69900
acaagtcatc agaataagca ctgagacctg aacagacaag caaaaagaat gagagtgggt 69960
cggcgcgggc gctcatgcct gtaatcccag cactttggaa ggctgaagca ggcggatcac 70020
ttgatcccag gaggttccaac accagcctga gcaacatggt gaaacctgc ctctacaaaa 70080
gtcataaata ttagccgggt gtgatggcac acgctgtag tcccagctac tcaggaggct 70140
gaggtgggtg gatcacttga gcccgggagg tagagtctgc agtgagccaa gatcacaccg 70200
ctgcactcca gctggagcaa cagagtgaga ccctgactta aaagaaaaa aaaaaaaaag 70260
aggagaaaaa tgctgatctc actagtaatt aaaacatcag gccaggcgca gtggctcaca 70320
cctttaatcc cagcactctg ggaggctgag gcaggcagat cacttgagat caggagtctt 70380
agaccagctt ggccaacatg gtgaaatccc gtctctacaa aaaatacaaa aattcgccaa 70440
gcgtgggtggc acatgcctgt gatcccagct actcgggagg ctgagacagg agaattgctt 70500
gaacacggga ggcagagggt gcagtaagct gagatcgtac cattccagtc cagcctgggc 70560
tacagagcga gactctgtcc cagaaaaaat taaaacatca catatttaa caactctagg 70620
atatcattta aaaaaacatt aatagactgt ttttagagc acttttaggt tcacagttaa 70680
actgagtgga aggtacagag acttcccgtg tgttccctgc cctccacgta cagcctcccc 70740
cactgccaac gtctgcacc agagtgttac acttgttaca accaatgaat cctcattaac 70800
atatcattat cacccaagtt catagtttac attagtaaaa catcatctt catctataag 70860
cacaaaaatt ttttggcatt tatttaggtg tatgattaac tcagtgttga caagactcac 70920
acttcatacc cacttgcaact gcatctgaga agcaattggt gtctacagcc gctacacct 70980
caacaagccc gatcttgttt gaaaagcaat tggtgatgct tctcaaaatt ctatggacaa 71040
agtcagccgg gcatggtggc tcatgctgt aatccctaaa ctttgggagg ccgaggcagg 71100
cagatcacct gaggtctggt gaaacctgt ctctactaaa aatgcaaaaa ttaccaggc 71160
atggtggctg gggcctgtaa tcccagctac tcgggaggct gaggcaggag aatcgcttga 71220
agcaaggagg cggaggtttc agtgagccaa gattgcacca ctgcactcca gcctgggtga 71280
caagagttaa actccatcta aaaaaaaaa attatggaca aagtttttca aaaagatatt 71340
taatgcaact ttatttgtaa tattggaaca tctgaggcca tttcagtgt aactattagg 71400
ggatgggttag gaaaatatgg tacatatgtg gaaaggaaca tttggtagtt agtgcccctg 71460
atgtttacaa aggttttag tgaccaacaa atgctcatgc tataatctta tgtgaaaaa 71520
gcaagtagca taattgcaac tatattttta atgcatagaa taaaaggcta gaaggaaata 71580

tcacagatcc ttgacataca ttcccaaacc tttgtaaate cgcggattca tgaaaacaga 71640
 cacatttgca caagtgcctg atcttttctg ttatacattc attagaagtc aagccctggt 71700
 gccacaaagt atctgccttt tcaaatgtga tcagaatggt ctcttttgct tcaaggccat 71760
 ttttcacgaa gcagtggcat ttttgcctct tcatcagagt caccgtgtgc cctggaggac 71820
 tgagaacagc agagccgttt taggatggga cagggcagcc aggaggattg ggctcactcc 71880
 ctactgagtg cctcactccc gtacagcccc catagaggaa gaggggttca aatttattcc 71940
 tcagccagat ggcatgtgcc gcctgtcctg gaatttcaca tcacttatga tggacaaaa 72000
 ttccaaaagc tgaatccatg attgtcaaag tctggatagg caggatgtca acagtaatcg 72060
 tttctgggca gagggatgat tttctcttcc catcttgctt tgtataaata cattttctat 72120
 aataaggttg tattactttt ctcatcaaga aatagcaaag tactgtttta ctcaaaatat 72180
 gaatagagcc aggcattggt gcagcttatg cctgtaatec caacactttg agaggcggat 72240
 atgggaggat cactttagcc caggagtttg agaccagcct gggcaacata gtgagacccc 72300
 cgtccccact cccccaaaaga aaaccacaa agcatttate ctggattatt cacaggggcc 72360
 aaaaaaaaaa aaaaaaatc aggcctccta tagccatgag ctacgaatat gaaaatatgc 72420
 aaatgtgtaa gaaaagccag cacatccgat ttttactttt actttcacac ctctgtccac 72480
 catgttccaa gagaagaaac ttggtcattg aaaggaatag atcaaatcca aagaacaaaa 72540
 ccaactgtgct cattaactt cttagtgttc acaaagcttt agctgcaggt tgaatggggc 72600
 aaccgcaatt ggctggctca cctgggctgc agggagcaga gatcgcgaca ctgcactcca 72660
 gcctgggcaa caaagcgaga ctctatctca aaaaaaaaaa agttcataaa ttcaaagtta 72720
 tgaattattt ttaaaataat aataatttac aataaagatg aggacaaagt gtgagtaaat 72780
 ggtggtttct atccagctct gttgagctga agtggcatct ccttgcctgg gcttttgggg 72840
 aagaaggggtg tgtgttgctc ttcagatccc aagcctcatg cccctactgg gccctgtggg 72900
 gtgcttctca gccaccagc agagccaccg ttggaacaca cacgtggggg acctggtggg 72960
 tgccgggtgtg gtgaatgggg gccacagcct gactccagga agccagcaaa ctcgagctg 73020
 gaggagttag gacaccccc atgagtcaag agttggtttt gctgccagtt gacatctgat 73080
 tgaacctctc cttcacttct ccgtgcctca ctttccttac cagacaggct ctgctgatgc 73140
 tgtccctctc ctgttcagtc gtgccctcac cgttaaagag aaagagcaaa ctgctgggca 73200
 gcagcattga tttttttaat gaagtggaaa gagagctggg aataacaagt cgggccacc 73260
 tcacctgcct cacctggtgg gtttatttgt tttgtttttt ttttttgtt ttgagacaga 73320
 gtttcaccct gtcaccagc ctggagtgcg gtggtgtaat ctgagctcac tgcaacctcc 73380
 acctgccagg ttcaattgat tctctgctc cagcctcccc agtagctggg attacaggca 73440
 cctgccacat gcctggctaa ttattgtatt tttagtagag atggggtttt acctggttg 73500
 ccaggctggt ctcgatcccc tgacctcagg tgatecacc acctcggcct cccaaagtgc 73560
 tgagatcaca ggctgagcc accatgcctg gccgtcact ggtggtgttg aatatgaact 73620
 gctgcgggtg ttgtaaatta agcaagcaga tagatgtaa taacgcttg gcaggaatat 73680
 ggagcacggg atgaggatgg gcggccaact gttagagagg gtagcaggga ggctgagatc 73740
 tgctgccaat gaactgggag gagagctcc tctctctctt caccctcact ctgccccca 73800
 acactcctca gaacttatcc tctctctctt tttcccagc tgaactttga accaggatgg 73860
 ctgagccccg ccaggagtcc gaagtgatgg aagatcacgc tgggacgtac gggttggggg 73920

acaggaaaga tcaggggggc tacacatgc accaagacca agagggtgac acggacgctg 73980
 gcctgaaagg ttagtgaca gccatgcaca gcaggccag atcactgcaa gccaaagggt 74040
 ggcggaaca gtttgcattc agaattgcaa agaaatttta aatacattat tgtcttagac 74100
 tgtcagtaaa gtaaagcctc attaatttga gtgggccaag ataactcaag cagttagata 74160
 atggccagac acggtggctc acgcctgtaa tcccagcact ttggaaggcc caggcaggag 74220
 gatcccttga ggccaggaat ttgagaccgg cctgggcaac atagcaagac cccgtctcta 74280
 aaataattta aaaattagcc aggtgttggt gtgcatgtct atagtcctag ctactcagga 74340
 tgctgaggca gaaggatcac ttgagcccag gaggttcaagg ttgagtaag ctgtgattat 74400
 aaaactgcac tccagcctga gcaacagagc aagaccctgt caaaaaaaaa agaaaagaaa 74460
 aaagaaagaa agaaatttac cttgagttac ccacatgagt gaatgtaggg acagagattt 74520
 tagggcctta acaatctctc aaatacaggg tactttttga ggcattagcc acacctgtta 74580
 gcttataaat cagtggattt gattagcatg taaaatatgt gactttaaac attgcttttt 74640
 atctcttact tagatcagge ctgagtgccc tctcttttagc aagagttggt tagccctggg 74700
 attcttactg tagccacatt aataaacaac atcgacttct aacatttcta taataccatc 74760
 ttttgccaa attgacttgc cctcttctc tctctttcca aatgaaatgt gtttcatttc 74820
 actgtcagac cacatggttg gggacccac agagcacaca gccctcctc tgccttccca 74880
 tgctggccct tcacccactg ctggagtgcc aggttggtcc aagggttga ccaagttgtc 74940
 tgaggttgtc tcaaggttg tcgaggctgt ctccgcgctg gttgtgcta caaggagccc 75000
 ttctttccat ggggtgtgct ggcatgagt gctcacagca acagcccaca gtgcagcccg 75060
 agggcaggat ggactcagtc cctgcctcca taccatttc taaggaggca aatggcaaa 75120
 cactctactt ttctcttita atgctaaaaa taagaaaaca ccttgagcc cagggtatgg 75180
 gtagtgcagc gaagccgttg agttgtgagg tgggaagtga cctctgctgg atatgtctat 75240
 tcaggaagat tgctggagtg ggtgggtct ctgggaggtc ccctgagtgt gggaagctgg 75300
 gaccaccagc tttctcgac agggagtggc catcccagct tggagaggtt ccaggactgg 75360
 ttgggaggca cgttcagat ttctatctgt tgaatcagcg aagatattgg attatgagga 75420
 atttggaat taggaaagt ggtgcaggtg gttgggggt aggtgaagga agacatgggc 75480
 gtattggggg agcaggggct gctcagaggt gttccagaag ctctgggtga ggaggtgaga 75540
 gggaccgggg aatgcagctc ggcccagcct cctgcctga ggtcagccat cacgtggtga 75600
 tggcaagatg gaaatgtgct ttctgactgc tccagccagt gctgccagat tcagctcccc 75660
 agggagggca cctgagagge tccaagccag gagatctgtt ttctcctttg tttgttttt 75720
 ttttgttttg tttgtttta ttatacttta agttctaggg tacatgtgca caacgtgcag 75780
 gtttgttaca tatgtataca tgtgccatgt tgggtgtgctg caccatcaa cttgtcattt 75840
 acattaggtat tatctcctaa tgetatecct cccccctcc cccaccctt gttttctct 75900
 ttgaatcctt cttagagcc gggcgcggtg gctcacgct gtaatcccag cactttggga 75960
 ggctgcggca ggaggattgc ttgagcccag gaggttccaga ccagcctggg caacatagtg 76020
 agacctgctc tctacagata ataattttta aaattatccg ggcatagtgg catgcacct 76080
 tagtcccagc tactcaagag gcagaggcag gaggatcact tgagcccagg aggcggaggt 76140
 tgccgtgagc caagatccca cactgcact ccagcctggg cgacagagac cccatgtca 76200
 aataataata ataataaata aatccttctc agtcccttc tcaactgtgtc ccctccact 76260

gaatttttcc acctcctctc ccacttcccc cactcecgct ttcctctctc ttctctcccc 76320
actccatctt tttctttctc tgctgtttct cgteccctcc tctcttccat cccacaacac 76380
tgccctaccct gtccctgccc caccctgggtg ctgaggatgt gtgaagtgag ggggtgtagc 76440
ccccaaagacc tcaaccccga aggttagcct gttgaaacca ctttctccca gctgcccccc 76500
tggcagttgg tgctgctggg ggaaactggg attggggggc agattttgcc tcttttcctg 76560
acaaagagag atgaagagtt ctctcaccag gtgcctggga ctgggggtgtg ggtgtcccag 76620
cctatcccag cgcatctgtt ctgcatcatg attaatagtg ctgctttcag ccgggcgcgg 76680
tggctcacac ctgtaatccc agcactttgg gaggctaagg tgggcagatc acaaggtcag 76740
gagttcgaga ccagcctggc caacatgggtg aaacctcgtc tctactaaaa atacaaaaat 76800
taaccagggtg tgggtggtggg tgccctgtagt cccagctact tgggaggctg aggcaggaga 76860
atcacttgaa tctgggaagc agaggttgca gtgagccaag atcgtgccac tgcactccag 76920
cctgggtgac agagtgagac tccgtcctaa aaaaaagga gttttgctct gtcgcccagg 76980
ctggagtgtg gtggcgccat ctcggtcac cgcaacctgc gctcccggg tgcaagcgtat 77040
tctcctgcct cagcctccca agtagctagg attacaggcg cctaccacca cgctggcca 77100
gttcttgtat ttttagaaga gacggggttt caccctgttg gccaggctcg tctgggactc 77160
ctgacctcag gtaatccgcc cacctcagcc tcccaaagtg ctgggattgc aggcatgagc 77220
caccgtgccc agtcaactcc ttctcaaaaa aaaaaaata gtgctgcttt ctctttcaag 77280
tgtcctgatt tgggtgatag taaatgccac tctacttata agggatctac ctcagaatgc 77340
taattgggac attttttagt cactctactg ttggcagcag gtgatgtcga caacagcccc 77400
tgagggtgga tgacgtccgc ttcacagatg acaaaggagc ctcatgtcga gaccgtgggc 77460
tgccagagca ggtccatggc tgcagcccca catggacat atttcccct tgcactctt 77520
tccaccaagc tcccttgaa cttcagttat taagctctct tgggtggaat ccaagttaga 77580
atcacaacat gtgcctcata tggattgtgc cagtgaaaaa tgacattcta ttagaggca 77640
gggcagcctg gcttagagtc agtttaaaat atgtattatg ctgcaacaaa tgtaccatga 77700
tctgttaaga tgttcacaac aagggaactg gatgtgggggt aactgtctg tactaacttc 77760
acaagttttc tgtaaatcta aaactgttcc aaaataaca gttcgtttaa aattaactcc 77820
aggagaccag gtacggtagc taatgcctat aatcccagca cttcggaagg ctgaggcagg 77880
tggattgctt gagcccagga gtttgagaca agcctgggca acatggtgaa atcctgtctc 77940
taaaaaaaaaat cacaaaaatt agccagggtg gttggcgcat tctgtagtc ccagctactt 78000
gcggggctga ggtgggagaa tcatctgagc ccaggagttt gaggctgcag tgagctgtga 78060
ttgtaccact gcactccaac ctgggcaaca gagcaagacc ctgtctcaa aaacaaaaat 78120
gaaataaagt ccaggaaaga agtaggtttt accactctta ttttctgaag agaaaactaa 78180
atttaaatgtg taaagtgagg acaagttcac caagttagt tttgagttgc ctaaaatag 78240
tttgctaaaa ctattcaaag ctttcacata aaacatgatc agaagttcta tgccaaaaca 78300
tatgtgtgtg tatatatata tgcactatat aactgtata taaaaatgca aaatctaat 78360
tgccaacctt ttagaaattg ctctgaaagg aaagcatttc aagataattt gcttacccea 78420
agaatatact ttccaagaaa gcaagtaata ctttaaggtg tcataatcct catcaaatta 78480
attcttgcta ctgaaagctt acaaggagct gttttgatgt cgggtgtgac aggtttgact 78540
tggcagaagg tgcacttta ctaacaacat ttttaataag tgacagaaga caagaaacta 78600

cacgttaa at gccagaacaa agagtgtcta agtggatgct aagagttgaa atatggctgg 78660
atacctgccc aagagagctg aaaagtagat gaaagttggt tacctataaa ctagtgcacc 78720
ctaatgaatt aaaagggtgt gatgagttaa cttgttatgc cttccagata agacatgcaa 78780
atggggcttc ttctccttc actacttcca agggatttaa caaggagacc aatgcaa atg 78840
ataaggactg tagggctcaa gctggggaca gattggggaa agggggacca tcatgccc at 78900
atagatgtcc ctgtgccctg gcagtcaagg ctgctgaaaa ataacaaaac ccagaagtct 78960
gcgtgatgct gcctctccat ttgtccaaag cttcttgcg gcagtttgca ggcttttgca 79020
aaagctccag gaccaaggag ctatgttcat gctggaagct tgttcaggat tagctgttct 79080
ttgtgggatg ggtgcagcca gggccagggtg tccagggaca gtgttttaac aaagggc atg 79140
agggtgtctga tctcacagtg gaactccact tgctttttt tcactttctc attctgtctc 79200
atgcacagaa ccagcccat cctgaaactg actetaaatt actcccgcc cagggtggagt 79260
gcctttctcg gaggttcaaca gagccttct gtcgccaag ggacaactcc actgaatgcc 79320
caagccacac ccaaaaaccta acaagtaaaa accaaattct gtgctcccc atcctgggcc 79380
attcctgggt tctctactgc tgttggtgat accaccatca gcttgctcat catgaccctg 79440
gccagttcct cccacaaccc tccacagcac ccagggacct cacctccatt ccatccgaca 79500
cagatctcct caccacaaac cttggttttg caacagcagc catgagacct ttacaccctc 79560
cgcccttcat cctgtcccc actgaggccc cagagccatt ccttaaagca gcgcgccaca 79620
aactataacc cacaagccaa ttctggtacc cagcctgttt tgcacagcca gtgaactgac 79680
aatgatcttt tcatacagcc agaaaaacaa acaaaaacaa aaaacaacaa aaaaaaaccc 79740
caccattctg agcatgtgac ttccatgttc aagatgtctc atgttcagaa aggcccctgg 79800
aaaaggagga aggggagctg ggacaaaagg gagaccctct cagctgagct cctccc atcc 79860
agacattttc ctggacttcc tatccaatga cttcccttag cttcttatca gccaccctg 79920
tctgcccagg aggctggaag atgtggcctt ttaactgggc acagctctgt cctctatcat 79980
atcagggctc tgttccaag gagggtagag aga atggaca ccaggtggac cctcagcagt 80040
ctgtgccaca gagggagtgt ttgcaatttc cagactaaaa gtccc atgt gcttgacggg 80100
gtatgtgact acaacgtgat gcttgacttt tctcatatg accagagcca ctttgtccat 80160
ctggtacaat gtcagctatc tgctaggggc cctccaggat tcccag tcaa ttccat atct 80220
gcatcaccac cattggcact aaataaaata aaatactcaa gttcctgctg gtgagcatga 80280
gcagtgtac actgggccct tcaaccaagg tgacatgata atgactgaaa ata atcactg 80340
ccacttattg gggacgtctc atctgccagg catggtacaa agtgctttaa ata agcattc 80400
aacaatttca tgctgacaga agcctgtga gccagtgag ctactactat gccattata 80460
caggggagaa aactgaggca gagagaggtt aggtaatteg ctcagcctca cacaacca at 80520
agggtgtgga gccaggattt gggccccatc tgctgactc tctagaggct ctatcttcca 80580
gtcttccaga gttgagtcta agccatgaat aggacaatta gacagcagag gaaacc atct 80640
cagccaccat gtgcatgaag agtaaggaat ttctgtcata cagaggggag tgaattcact 80700
gagctgagag ctgaggaacc attgatctga tggctgagac accactggga agactggaga 80760
ggcttttctg ggcatgcagt gccaggcaca ggaggagctg agggaagatg acta agaggt 80820
actggcaaaag aattcagaaa ttctgatgga agctttacat gttaccatca catccatcca 80880
tctatccacc catccatcca cccatatctt cctccctcca cccaatcatg catacatcca 80940

gtcatctata caccacccac ccacccatcc atccatccat ccatcccttc atccatccca 81000
tcatccatcc aattatacat acatccaatc atatatctgt acataatcca ttcttccctc 81060
ggttcatcca tccatccatt catccatcca tccacccatc ccttccctca tccttccctat 81120
catccatcca atcatatatac tgtacataat ccattcttcc ctcggttcat ccatccatcc 81180
attcatccat ccatccaccc atccccttct tcatccttcc tatcatccat ccaatcatac 81240
atatatccaa tcatacatct gcacatcacc agctcatcca tctatccatt tatccatcca 81300
tccttccctc catccatcat tcatccatca tacatacatc taaccataca tctctacatc 81360
attcattctt ccatcgattc atccaattat ccatcattcc ttctccatc catcccatta 81420
tccatttgat catacatata tcatctatac atcatccatt catccatcca tccatccatc 81480
cacccatatac ttcatccaat caatcataca tacatcgaat catctacaca tcacccatcc 81540
atccatccat ccattcatct atccacccat ccatccatcc atccatccat tcatctatcc 81600
accatccat ccatccatcc atccatccat ccatgtaacc atccagtcat atatccaatt 81660
acacatccat ccagttatac attcatacat gcactaate attcaattat acatacacac 81720
atccatataa ttctacatcc aattatacct ccatccaatt acacattcat acaccacct 81780
aataaattat taattcatat atccatccat ataattatac atcaattata catccatcta 81840
atcattcagt aattcaccca ccatccagtc atctatccaa taatacattc atccaatcat 81900
ccatccatcc atccacccat tcatccatcc atccgtccgt ccacccatca tggatgagc 81960
catgatttac cacgatggtc ccctgtggac agcccaggtg gggcagaact gaagggaagc 82020
ccagggtgc cccataaac atttgcctcc tttacatgga tgagaactag atccacatgt 82080
ataaatcctc atgatttgaa ggtgctttta ccaacattca ctcatgggat tctcccagga 82140
gctctaggag gaggcagta gagttgaggt catctcacgc attttacaga tgaggaaacg 82200
gaggccctga gaggcagtc caaggccacc tgaccagaaa gaagtggaac tgggacttga 82260
accagccat ctgtcccctt ggtcccctgc tctctagcct gtaactcctg ctctctgggtg 82320
gggcatctcc aggaggacc tatcggctgg ccatgggctt gccctggagt cttttgctct 82380
gtgtggccat ctttctccc tcaggagagt gtgtgctccc agagcacagg ctgtatcttc 82440
tgagcatttt gtcccctccc agtacctagc actcagctct gtatacattg ggctctcaag 82500
aattctcaac ctccagagt gtaaggcctt gacctgctca gccctggata ctgcatgatg 82560
cattgataag cccataaaat aaccaggca gattgactcc cagtggccaa agtgccacag 82620
ggaagggaca attcagccct tctaggagga ggaggagta gttttctcat ttctattaag 82680
gcaacaaaag ctgccttact aaggacattc ttggtggagg gcgtgactgt caaccactgt 82740
gatcatttgg gcctctcttg ccaggtctc ccattctgaa aggacagttt tattgtaggt 82800
acacatggct gccatttcaa atgtaactca cagcttgtec atcagtcctt ggaggtcttt 82860
ctatgaaagg agcttgggtg cgtccaaaca ccaccaatg tccacttaga agtaagcacc 82920
gtgtctgccc tgagctgact ctttttcaa ggaaggggtt ggatcgctga gtgtttttcc 82980
agggtgtctac ttgttgtaa ttaatagcaa tgacaaagca gaagttcat gcgtagctcg 83040
gctttctggg atttctgccc cgttgaccaa tggaagataa acctttgctt caggtggcac 83100
cactagctgg ttaagaggca ctttctcctt tcaccagga gcaaagcac atcacctgtg 83160
tcctcatctg atggccctgg tgtggggcac agtcgtgttg gcaggaggg aggtgggggtt 83220
gggtcccctt gtgggtttgt tgcgaggccg tgttccagct gtttccacag ggagcgattt 83280

tcagctccac aggacactgc tccccagttc ctctgagaa caaaagggg cgctggggag 83340
 aggccaccgt tctgagggt cactgtatgt gttccagaat ctcccctgca gacccccact 83400
 gaggacggat ctgaggaacc gggctctgaa acctctgatg ctaagagcac tccaacagcg 83460
 gaaggtgggc cccccttcag acgccccctc catgcctcca gcctgtgctt agccgtgctt 83520
 tgagcctccc tcttggtgc atctgctgct ccccctggct gagagatgtg ctactcctt 83580
 cggtgctttg caggacagcg tggggggagc tgagccttgc gtcgatgcct tgcttgctgg 83640
 tgctgagtgt gggcaccttc atcccgtgtg tgctctggag gcagccacc ttggacagtc 83700
 ccgcgcacag ctccacaaaag ccccgtcca tacgattgtc ctcccacacc cccttcaaaa 83760
 gccccctcct ctctctttct tcaggggcca gtaggtccca gagcagccat ttggctgagg 83820
 gaaggggcag gtcagtggac atctgatctt ggttttagtat cttcatttt gggggctctg 83880
 ggtgtggcct gggcctctgg actttggcca cgggtttgt tccagccctt ctctaacct 83940
 gtcctttcca gacactcggc atctaggtta ttagcacctc gcatactttc tgacatgctc 84000
 ctcagtcctg attttgacca tcttctctg ctcccctct gtgtcagtca agactgcatt 84060
 tggctgtaag aaacagaaac cccaactaac tgtggcattt acatgaagag gtttactttt 84120
 ctacataat cagatgtcta gacttgcca gcacctcaag ggtcattgat gctctcctgt 84180
 ctttattttc tgtcatcttt agtggttga ttgttgcctc atggttaca agtggtgctgct 84240
 gcacttccag gcatcacatc tgcccttgaa gcaggaacaa gttgcaaagt aaagtggcca 84300
 aaagggccct gaaactaaat gtgtcccctt aggaaagcag gagttttctt gcaagtggca 84360
 atcttctgct tatgtctcat tggccagagc tgggtcttac ggccaccct tgctgcgagc 84420
 aaggctggga cattgagcat tttgccgtcc aacctctta gcagaataaa ccaaggggga 84480
 agaacgttaa tagtggcttt tgagtacta gttggcagta tctgcccctc tatctttcca 84540
 tctccccat ggagtttcaa gttcctttc tcagtacttc ttcaggctct gcacgttcat 84600
 ttggatcttg tgtcttgggg tgaaaaactg gcccaagtgt ctcccgaagc atccacctt 84660
 ggattaattt ggaaaatggc tgtcaagtgc ccgctcttg cttggtataa tgctacagct 84720
 ttagaggacg cagcaggcat gggccttgcc gctgaggttc ttagcctcat gagaatatcc 84780
 agatcagatt ctcttggtc cttcttagag ccagtgatgc aagacacttc ctgctcatct 84840
 tgtcgggacg gttttacaag ttgctgcca tctgagaaa gtctacaaa cgatgccaga 84900
 cctcatgcca gcttccaag ccttactct cagtgtctcc tcaacaggat tctggaagaa 84960
 tctcccaaac aagtcgcaat gccctctgga cctgtgcag gcatgagact caagagcatt 85020
 ggctcccacc cctggtggag ggaacactgc tggggctggg atcttgctg gttgctccgc 85080
 ctgcacccaa gacaaccata attaaaatgt cttcattga acttgaaag cttcaaagc 85140
 tgacaactcc ttatgtgtac ccggaaagc ctgggagtgt gccaggcat tgctcgggag 85200
 ggacgctgat ttggaagcat ttacctgat agagactgac agcagctcct ggtagccgag 85260
 ctttccctcc tgctctgct gtgaaggtg accatcca cagtcaatg cctgactctg 85320
 gacaggagcg gacctattha ttgcatgca agggactctg cacttttgaa ttgtgggtca 85380
 tgggcttggg tttaggggtt agagctggga gaagtcttg aagtcaccta gagatgacac 85440
 tgccattht cagatgagga aaccgtcca tcaaatgga ccaaggactt gcccgaagcc 85500
 tcacagcaaa accataggcc ccgcactaa cccagagtc cctgtgctgt cttaggatc 85560
 atatagttgt aagcaatcat ctggttttca gtatttctc ttttaaatg cctggggcca 85620

tgcccagcag tctgtttcac tgcagcgttt acacagggtt gccgggcttt cctggtggat 85680
 gagctgggcg gttcatgagc cagaaccact cagcagcatg tcagtgtgct tcctggggag 85740
 ctggtagcag gggctccggg ccctacttca gggctgcttt ctggcatatg gctgatcccc 85800
 tcctcactcc tcctccctgc attgtcctctg cgcaagaagc aaaggtgagg ggctgggtat 85860
 ggctcgtcct ggccccctta aggtggatct cggtggtttc tagatgtgac agcaccctta 85920
 gtggatgagg gagctcccgg caagcaggct gccgcgcagc cccacacgga gatcccagaa 85980
 ggaaccacag gtgagggtaa gccccagaga cccccaggca gtcaaggccc tgctgggtgc 86040
 cccagctgac ctgtgacaga agtgaggag ctttgcgtgt ttatcctcct gtggggcagg 86100
 aacatgggtg gattctggct cctgggaatc ttgggttggt agtagctcga tgccttggtg 86160
 ctcagttacc tcctggctg cctgccagcc tctcagagca tttaggcct tctggacttc 86220
 tagatgtccc tcattctgcc tcagtcagcg cgtcagttcc agagacttct ctgcagggtt 86280
 ttctggggca ggtggtggca gaccctgccc ttcttgacac ctgaggtcag tccaccctcc 86340
 tgctcagact gcccagcaca gggtcacctc ccaaggggtg gacccaaga tcacctgagc 86400
 gcacagaggg tgcagatgac tggaccacac cttttggtga tcttaatgag gtggtcccag 86460
 aggagctcag acatgcaatc tagcatccag ttctgggact ctgtctcctt ttcaaagcta 86520
 ttcatgtaga acaggcatga cgagaatgcc ttgtcaacat gggatgatggg gaatcaatca 86580
 gacagggcgc cgggctcaag gctgcagtca cccaagagtg gctcagcca ccaggcccta 86640
 ggaaacgcct gcacagcctg gagctcctgg agtcatttcc ttcatgtctt cttcactgca 86700
 cttacgtaaa gatgccagcc attggtttgg tgatttgagg ggtgcccagt tgcccacaaa 86760
 gaaatgcaga agaggcctag ccaggatttc accagcagtg gagagtagag aagatgtggc 86820
 cagaaaagag tttcctttcc ctctaaaga tggactccc tgcagctact ggggaagcct 86880
 gcagcattct ctagggctct gtgtgttgag agcagcccca ccctggcccc ttctgagtgc 86940
 atttctgctt tgtgacttga tccgtgaagt ccctgagat gggcagaggg gatgtcctcg 87000
 aagctggggc agagcctcat ccttgaacgt gaaggacgtt tgaagactgt ggcattgatca 87060
 caggatgaga tcacagggaa cttgagtttc tctcctctc tcccttcaca gttatttcac 87120
 tgagggaaat ccctcccctg ccagaaatga aaactctagc caactcttga cttttccatc 87180
 actccaaagt agttgaaagt acattagtct ccacagtggc aaaacagtgt gcaaaagcta 87240
 aataattaga acagccagtc ccatgtgaca gtcaaagctt ctaactccat tcaaagttgc 87300
 agccattccc ctcgagggtt ggcagggagg ggaggggtaa gagaaacagg aaggttctta 87360
 ctgagttggt cctgggttga gctgcgtcac actcctgca gaggtttcaa ggagactctc 87420
 tctctctctg tctccatggg gaccttattt gaattcttct actcttacc cagcctgcca 87480
 tctccagcta tcctcccctg aagagccctt ctgctgcctt ggattctggt ggccatgtca 87540
 tctcctcggc cccgtgggag tctgaagatc tggtgcagc ctcacctctg aggtcctgct 87600
 agttgccacc tcttaaacad gatctgagc tcccatgcac tctgacctgt gccacatgg 87660
 ggcccacggg aaacacgctg gcaagcaaac tgtgggtgtg cagacggttc tcagggtgc 87720
 agcacctgtc ctttgcctg cccccaaagc aagccagcc catcttccat cctctagtgt 87780
 tccttggtgg ggccctgacc acagtccacc aggtccctaa ccagagggga cacacaccag 87840
 gtgtcctcaa tgtattgctt tgaacagtt gtgctgggac tgtgatggg ggtggccatg 87900
 tagccacccc caccacccc aagccactct ctccaaggaa atcctcctaa agatcccttt 87960

acatcctcca tgtgggtggg aggttctaga gttgggtgca tgtgtcttca gctactgaca 88020
 atgcagacct tagttggcac ctgcctctgg cctatcctgt ttgctgttct tggcgctcca 88080
 gtgaaactcc ccatgggcca tccagttggg gtgcagtgtg gccacccctc tgcagttcc 88140
 tgccttgctg gagagcacag ggccctcctg gctcttgtaa aacctcccc atggtacaga 88200
 gaggccagca gtgatgtgag gccaacctc cctccatggt gttcccaagc agctcccttt 88260
 ctgggggtcaa ggggtggcaa agacagtgca gcgtccaatt tctgactcaa gccgggcctg 88320
 gctatcgcag ctctgcactg tgtgtgacag caaggcaact caccagtgct cgtggcagtg 88380
 accgtgtccg aggaagcctc ctacacctc ctgtctcaag gactctggca tttagctgga 88440
 cttgctgtag ctctgagcct ttctgccatt gccatcact tctcagaaac tcaggccgaa 88500
 tctgactca gagttgtgcc caggcagttg agccaacct tgctcagcga tattgtcaca 88560
 tgacaaggca ctgtcaccac tgggcatcgt gggtagcga gtgtcggctg gatggaccgc 88620
 gagggtgtct gtgtcatgct agtgctagt atgggagccc cgtgagccca ttgcccgc 88680
 tccatgccc tcagcagctg cctggggaca gccaatggcc tgggtgttcc tgaggctacc 88740
 acatggcttc caggaaactc gagaacctt ctctccctg cctacactct tcacacaggc 88800
 ctgtgctggc cagcgggtgg gatccggcat tctatctta ggtgcagaga gtgactgact 88860
 cattgcaggc ctgggagata agactgatgg cccagccagc aagatgtatg gatttctcag 88920
 aggcagtggc ctctgtcatt gtctcagga aatgctggtg attctggtgg cctgaggtca 88980
 atgcatgtca acgtggccaa cttgccttat aaactttttt tctggacaat tgcgtgact 89040
 gtctgtaac agtgcctgt tgtttatgat gcagaaatag gtgtttttaa agcctattga 89100
 ttttggtact attaatgtgg tcaggaactt tctcagtctt tcttgtttgg ggtgagctgt 89160
 ggcttcctaa acaggaacct aagacacccc caaaagctgc tcaccagcac tgccagcctc 89220
 cctcttacca agtagcacc gttcaggaca ttctgcgaaa ggcatttgcc cagaagttgg 89280
 gaggaaggaa atgtaacatt ttggggcacc taccatatgc caggcaccag gctaaacgtg 89340
 ttcacacaaa ttctcttact aacctcacc atccttctac aagacaaact agtatcttca 89400
 tcttgggggt caagatgagg aaatggaggc tcagagaggt tgaatgaatg ccggtgcctg 89460
 gatatgaacc ccatctgcct gactccgcaa cccaggcaaa gtctttcctt gaacttccca 89520
 gcagccactg cttagacaca gcctccaca ccatggctca gcagcaaat gcttctctga 89580
 cctcactcag cctgtgtgtc cttgttgagt gaggcattca ggaccctggt cccaaagtgg 89640
 agaaagtctt tctactagg tcatagctac acctgcatgt ggggtgctgt cttttgttt 89700
 agtgaacttt tatcaccagc atctcagca atgacattg cagagaagcc agagctgagg 89760
 caccttggtt ttcttgggat gtgactttcc tgaatgttta agggaaaatg cccgaaggta 89820
 cagagagctt ggtttctagt aaacaataac tgtcttgctt ttacccctc tcatgtgctg 89880
 acacatacac cagctgaaga agcaggcatt ggagacacc ccagcctgga agacgaagct 89940
 gctggtcacg tgaccaagc tcagtgaact ggaattgctt gccatgactt ggggggttggg 90000
 gggagggaca tgggggtggc tctgccctga aaagatcatt tggacctgag ctctaattca 90060
 caagtccagg agattttagg gagttggtt ttatcaaagg ttggctactc agatatagaa 90120
 agagccctag tggtttttt ctaataccat ttctgggtaa ttcttaaggc atttagtgtt 90180
 ctgaaagatg ctagcctgt ccagcctggg agttgagaat gaatgtctaa cagaaactct 90240
 aggccgggcc tgggtgctca cgcctctaat cccagcacta tgggagacc aggtgggcag 90300

atcacctgag gtcaggagtt tgagaccagc ctggccaaca tgtgaaatcc tgtctcacta 90360
caaataaaaa aattagccgg gtgtggtggt aggtgcctat aatcccagct actcaggagg 90420
ctgaggcagg acaatcgctc gaaccaggga ggtggacggt gcagtgagcc gagatcgcat 90480
cattgcactc cagcctgggc aacaaaagca aaactccgct tcaaaaaaaaa aaaagaaact 90540
caaatatgtg tgacaggcga ttctcactgc aggctgcctt gtggctgatc caggagcaag 90600
gccttaacca tgtcatcccc aagcgattgc ttgtaaactt tcttctgtgc agccttcaac 90660
ccttattatg attttcttct caggaaccaa actgctgtat tcaagaaagg cagctttgtg 90720
taatcattta tcataaatat ctaagaaaa atcctagaga ttccataatt taggaaatgg 90780
gagacctatg gtactgatat aatgtgggct gggcttgttt tctgtcattt gctagataaa 90840
tgaacttgag agcctactgt aaaatgtgga agcttctaga ttgcagaagg gctggaaaga 90900
cactgttctt ttctcccag tgatgggatc tgtccagtat ttagagctgc ctctgaggcc 90960
atctgattct aggagactct gctcgttga ggatattttg aggcctaact acacattcct 91020
gccccagag aggtcacagc ctatagcagg ctgatgttct tcatgtcaca tggcacagaa 91080
aggcacattt tcgttctcag gctaacaaag agcttcaaaa actattagaa gggacagtgg 91140
ctataagaga agaacctcag tcaatgtgtg aaattaacta ggaacctggc tctgtttct 91200
tttaggtcat gtttttcagc ttaggtaaaa ctagaggctt tgataaagca tgacctctag 91260
aaatcattgc ttttcataaa tggaagtggg tttgagtttt ttctactgat tgttagtgca 91320
ggtgatgtct acatgcccc agaacatatt ccatgcaaca aaaaaagccc aggtcacctg 91380
ctttgctggg aacttgactt ttgtgctcac tgaattttaa gctttctgac agcagcctgg 91440
aatcatggag ggataaagta cctattagta agatggaaaa aggtgtttca ggttgagct 91500
gcagtctgtt gagagtaagc tatgggaagg cctgtatacg aggggtggac ttttcttctg 91560
taagtgtcca gagaccaggc ctctgaaga gggcatgggg gcttaactta cctggactac 91620
tgtgtttaca atactcattt atcttgaact cctcctaacc cctgagaatt gctacattta 91680
gtatttgctg agtacttctt agcatcctag ggaatcaata gaacattctc ccaaccaggc 91740
tgggtgctgg ggctcatgct tgtaatcca gcactttggg aggccaaggt aggcagatcc 91800
cttgaggcca ggagtgcaag actagcctgg ctgacatggt gaaaccccgt ctttactaaa 91860
aatacaaaaag ttagccaggc atggtggtac acacctgtaa tcccagctac atgggaggag 91920
taggaggcag gagaattgct tgaacctggg aggtggaggt tgctgtgagc cgagatcatg 91980
ccactgcact ccagcctggg cgacagagtg agtgagactc tgtttaaaaa aaaaaaaaaa 92040
aagaacattc tcctaacctg gcttcttctt ccaggggtgt aattaatcat gtcagtttcc 92100
tcattgatac acacacacac aactacaat cctgtatcca ttacttttca aggtacattt 92160
actatttacg tttgggttc ttgtctcttt tttaatagtg tttcttaaag tcttgatta 92220
tatcagagta cagtaacatc ccagtcaaga gcactctagt aagctctagg aggaaagcga 92280
cttccggaag gcagtggaga cctgtctgtg tggggcagca taggggcagc cctgcctct 92340
ggtcagttct ggcgctcagg ctcaagggtt cctctgggct gttcttcca gagactgaca 92400
aagggtccc ataaggcacc tgcagagcct gtgagaagct gaagtcaatg ttttctgac 92460
accagttgat ctgtgcagga tccattgatt taaccacctg ctgtgtggca tgcactgtgg 92520
tcgatgccag gaacaggaat tggaggggcc catgagcatg gccagtatca caggctggag 92580
gtgctgctgc gctctgaccg ggctcttgg ggatgagccc atgtcaacca ccttgcctcc 92640

gatggggtcg ggcccacagg ttacctttgt gtgtccatga ccacaccttc ctccccgacc 92700
tcatccaaat ctctttcttt tccaagcccc tgaatccttc agggctgcag gttttgttta 92760
aagcagagct ggtgagttgc ataggttgtt gcattgggac tagatggggt gttcaaagag 92820
ttgggagtta aaaaacataa agggatatta ttaggagaac caaggagtgt aattctcctg 92880
ttcttaatat gcggccagggt taatgaatgt cacgtgaatg aaccagaaaa aaatgaagtg 92940
tgcccttgat cagctggggtt ggtgtgcagc aagctgtgtg accaggggac agcagtggtc 93000
ctgagggccg tcaactgtctg ccgtgcagag cccttcctcc cacgggggccc tacctcacct 93060
gtgccaagggt cttgtctgtg gtcagtgacc tggatagatc tgaatggggc ttctttttcg 93120
aggagtctta tggcaggctc ctcaagtaaag actccattct tgatgatcac acattttgga 93180
ttttccaaat ctgtcagaga atgggcttga ggcgggggtt gtgggcacta gtttactgg 93240
tttcatttac caaaaagggtg agcagaagtc aagtatgggt gctcatcctt gtaatccag 93300
aggcaagaga attgcttgag cccaggagt cagaccagc ctgagcaaca taaggagacc 93360
ccgtctccac aaaaatgaaa aataacattt tagtcagacg tgggtggcatg catctgtggt 93420
cccagctgct tgggagggtg agatgggagg gttgtttgag ccctggagt aaagttgcaa 93480
tgagctgtga ttgcaccact gcactctagc ctgggtgaca gaacgagacc ctgtctcaaa 93540
aaaaaaaaaa aagaaagaaa gaaaggaaaa aaaaaactca tgcctgtaat cccagcactt 93600
tggggaccgg ggtgggcaga tcacgaggtc aggagatcaa gactatcctg gccaacatgg 93660
tgaaaccccg tttctactaa aaatacaaaa attagccagg tgtggtggca cgtgcctgta 93720
atcccagtta ctcgggaggc tgaggcagga gaatcgttg aaccaggag tcagaggttg 93780
cagtgagctg agatcgtgcc actgtactcc agcctgggag acagagtgag actctgtctc 93840
aaaccaaaaa aaaggggtgg gggcgggggg caggagaaca gtgagaggta gggagaggaa 93900
aggggattct cgctacacc aaaccagata ccatctagag gctagaatct ttgggaggct 93960
caaattccct agaaagcagg agaagcttct gtagccctcc cgctttcca gtagattaag 94020
cccagggcgg ctccagatgt gtgacatgct ctgtgccc aa cagagccca tcataggcag 94080
aggaataaca cccacaccag aagggccctc ggaggtcacc acgtccaaga accctcttta 94140
cagatgagga aactgaggcc cagagagggg agagccacct agcgagctgg tggcggctag 94200
accaggagag ctgtcattcc aagcaagcaa aggcaacgag acgagcccag agctgtgctc 94260
ccatctcttt gttagggggc ctgggatgcc ctctcagtgt cattttgtcc aggatgatgc 94320
tccctctctt aagcgattaa tgcgccctt ctaacctttt gctatcgtg cctcttcaaa 94380
ccagaggagt tgagagtcc gggccggcag aggaaggcgc ctgaaaggcc cctggccaat 94440
gagattagcg cccacgtcca gctggacc tgcggagagg cctctggggt ctctgggccc 94500
tgctccgggg agaaagagcc agaagctccc gtcccgtga ccgcgagcct tctcagcac 94560
cgtcccgttt gccagcgc tctccaaca ggagccctc aggagccctc cctggagtgg 94620
ggacaaaaaag gcggggactg ggccgagaag ggtccggcct ttccgaagcc cgcaccact 94680
gcgtatctcc acacagagcc tgaaagtggg aaggtgtgtec aggaaggctt cctccgagag 94740
ccaggcccc caggtctgag ccaccagctc atgtccgca tgctggggc tccctctctg 94800
cctgagggcc ccagagagc cacacgcaa cctcgggga caggacctga ggacacagag 94860
ggcggccgcc acgcccctga gctgtcaag caccagctc taggagacct gcaccaggag 94920
gggcccgcgc tgaagggggc agggggcaaa gagaggccgg ggagcaagga ggaggtggat 94980

gaagaccgcg acgtcgatga gtcctcccc caagactccc ctccctccaa ggcctcccca 95040
gcccaagatg ggcggcctcc ccagacagcc gccagagaag ccaccagcat cccaggcttc 95100
ccagcggagg gtgccatccc cctccctgtg gatttctct ccaaagtffc cacagagatc 95160
ccagcctcag agcccgacgg gccagtgta gggcgggcca aagggcagga tgccccctg 95220
gagttcacgt ttcacgtgga aatcacaccc aacgtgcaga aggagcaggc gcaactcggag 95280
gagcatttgg gaagggctgc atttccaggg gccctggag aggggcccaga ggcccggggc 95340
ccctctttgg gagaggacac aaaagaggct gaccttccag agccctctga aaagcagcct 95400
gctgctgctc cgcgggggaa gcccgtcagc cgggtccctc aactcaaagg tctgtgtctt 95460
gagcttcttc gtccttccc tggggacctc ccaggcctcc caggctcggg gcaactgccac 95520
tgagcttcca ggctcccga ctctgctgc ttctgacgtt cctaggacgc cactaaatcg 95580
acacctgggt gcagctgctc cactccctcg gctctctccc gtgctcaggc tgtggcccga 95640
cgcgcccctc acgcttgcgc gccactctgc atgtcaccag ccccccgct ccgtgctacc 95700
caccttgttt gactctctgg ccaacttgatt tgtccacaac ggcccatcag cccacaggag 95760
gtttgggtggg tgccttccac cgacaggatg acgggtgccc tcatggtgtc tagaactctc 95820
caaccctccc atgtaggcat aagcagcccc actttgcaga tgaggaaacg gaggctcaga 95880
gaagtacagt aacttgccga aggccaatga gtagtaagt acagagccag gtttgggatc 95940
caggtaggtt gtctctgaaa gacacgctg tctgcatcc cacaacgct cccaggaggt 96000
gctggagtggt ggacgcctaa cacagagatg tgcagggcac acacagcagg tgacacacac 96060
agcatccaga ggtggcccag agtcatgct gtgcctttgg cccagtgcgc tgccccacc 96120
cactctgcct tgtggcagga agacaaggag cagacacaag atctccctgg tccacatgcc 96180
accacctccc tctgcagagg acaaggggat cctcatgctg gcattggagg gggttgagca 96240
gggcccacct tgagccctca ggagcacgac cacagcagcc ctgcaggag ggattggtgg 96300
gaggagagtc ccaagtatca gggagaggag agttggtgtc ccacaggaga cctcagagcc 96360
acaaggcgag cttgttcata aatttgggac ccttagcatt tcacagttat ttgcagagcc 96420
cagaaatgga tgttactgaa gctcacagtt gcaagcatct gttaaatfff tattagatff 96480
tacttttagg gaaaactttg aatgctata aagaagcctg tgtttaaaag ttaagacaga 96540
ggctgggggc gatggctcac gcctgtaatc tcagcacttt gggaggccaa ggcaggtgga 96600
tcatttgagg ttaggagttc gagaccagcc tggccaacat ggtgagacc tgtctctact 96660
aaaattacaa aaaattagct gggcgtggtg gcgggcacct gtagtcccag ctactgggga 96720
ggctgaagca ggataagtgc ttgaaccag gaggcagagg ttacagtgag ccaagatcac 96780
accactgtac cctaagcctg ggcgacagag tgagactctg tctcaaaaaa taaaataaaa 96840
taaagttaag agagaaaaaa atatatccta tctctttgt taaattccaa aacagtaggg 96900
gacaaataac tgacttgaca ggttactaca atatttctg aatgatggt ttcttgaata 96960
ctggcctact agaggttcat aggtgtgttt ggattaaaaa agagttccat ggcccagtga 97020
ctgggggaaa aaaataaaaag actaaagtaa gttaaacagg cttttctgct gcaggacttg 97080
tcagagcctt taatgtacta atggccattg tgaccctctg agaaggtcac agagtgggtt 97140
tcccaaactt acttgattct acctgctaac atttctgga ggaagtttg gaaatgccga 97200
tttagcagat tctttgttg tgccgtgat ggtgctggtt gatgtgggca aaacaaagaa 97260
cacgtgagtc agatccgctt ggggctctta ctaaagtga ggttcccagg tgccacttta 97320

ggcttacaga cccagttgtg gggtaagcct gggagtcttt tagcaggtga ttctgccaca 97380
tagtatagtt ggaaaacctc tgggcatact cattgctggt ccctctagaa atccaggtga 97440
caatagccaa tgagaagctc caagagacc agttgtccat ggggtagagg gaatgtgata 97500
ttgaaaccaa agaagaaaat ctatgatcag ttttcagcag tgactgtcaa gagaaggaga 97560
agggtgagtt agcgcctgat ctggctgaca ggtcagcggg ttggtttcac caaggagtgt 97620
gatgaaggct gatgttgtct gtgggaatgt atgatggtaa ctggtttgta gctaatttgg 97680
ggaagcagtg agaattcgtg ccctttgaag accagtaagt ggcaagaaac ccaccaggcc 97740
tggtcagagg ctgggctggg cttggctcgt ctcagagcag ctggggctgg tggccaaagc 97800
caccattagt gaggggcagg ccctgggggt acaaccagca actaggggac aaagacaacc 97860
ctgccagcct ctctattct ggaggcgtgt gaccagaaat ggagatgggt tggtcagcat 97920
aagatggcca ggaagtgga aatcaggact gctggcaatc tagccacatg ggcaggggag 97980
ccgggtggtt ccaggcagtt tccaaggcca agagggtgag caggcacctc acagggaatc 98040
agggccaagc ctggctgcag tgtggagaca atgacccac ccccatcctt ggatcttgca 98100
ggaggctggg tctcactga gctaccaaca tccatggccc tgaggctttt aaaacacca 98160
tccatggagt ggggctggtc ccagtgggggt gaggctgacc ctggcagaaa cagggcagga 98220
gcctgtgggt tagggagact gcaccttct tagatagcct ccatgccatc atgtccccgt 98280
gacagtttct gctgcgtccc ctctgcatgg tcccaccctc ggccagcctg ctgccccctc 98340
ttgccagggt gcgctaatca gtgacccag tgtgctgtgt tgatactaac aatgcgaggc 98400
ctagcagatt caagggaaaa gagaaccaac tgggtttcca ccagaccaa ctaaacaac 98460
atggacctat cccagagaaa tccagcttca ccacagctgg ctttctgtga acagtgaaaa 98520
tggagtgtga caagcattct tattttatat tttatcagct cgcagtgtca gtaaaagcaa 98580
agacgggact ggaagcgatg acaaaaaagc caaggtaagc tgacgatgcc acggagctct 98640
gcagctggtc aagtttacag agaagctgtg ctttatgtct gattcattct catatataat 98700
gtggggagta tttgtcacta aagtacagct gtcatttaa gtgctttgta ttttggggca 98760
ggctttttaa aagtccagca tttattagtt ttgatactta ccccaggaa gagcagttgg 98820
caggttcatg aagtcatgct cctaattcca gctttcttag tgtactttca gtgagaccct 98880
gacagtaaat gaaggtgtgt ttgaaaacca aaccaggac agtaaatgaa ggtgtgtttg 98940
aaaaccagcc ctaggacagt aatgaagcc atcttctcac tgcataaact gcaccagat 99000
cttcgcccac cttctcagt atttcactc accattgtt tactgtctca atgactgggg 99060
aaatgtctgg ggaatgctc ccgtaattgc acagtggcgt ttttctgga aaatcccacc 99120
atggctctag ataagaccta tttttctta aggtatctaa aatttccagc ataaattctg 99180
tctgaaacac ctgaatttta atcagtaact gagcccggag ggcacttcca gttgccacat 99240
agctctgagc attcagtggg gtgttgaggg ctgctcccgg aagtgcctgc agagtcaggg 99300
ctccccagcc tcatctagtg aggcagtgga agggcctgtg gggatttggga gagctggcct 99360
gggtctctga agtgatagtg acagctgctt gtcaatcacg gtgcacattt agtctggggg 99420
gcagggggca gggaatacca gcctcatgca tgcatgcatt ctttgttcc ttccttcatt 99480
cattcattca gtacacatgg gtacaacatc cctgcctgg agttgccag agtctagga 99540
ggggaaagat ctattaccct gggcctcggc cagctgggga gtgctgctgg tggagagggg 99600
ccgtgtgcag cgagggaagg aggagtcgtc aatacccca ccccagcttt gctttcttgt 99660

catcagcccc agggccccag cctgtgtccc tcctctccca ttgctacttc atctcctggg 99720
tcctccttac caagcctgac cacacagagg gccttggccg cttccatggg gaattggaaa 99780
gcaataagat agcatcccct agaagcccag tgaagtctgg gacaggacc tttctctgagc 99840
tctgacttgc tcttgaaaac acttcgaggc ttagcctccc cactttgttt cccgagagtg 99900
tgacctgttc ccctccaaac accccttct cctccagggc catgcccacc cgtcaaaatc 99960
ccccacgggc aggacgaact gtgggtgtca gtcaccatct atcctgcatc ctggttccag 100020
ggcccccccc agccccgcct ccatagggac aggctgagc acaccctcc ctggctgctt 100080
cctcttgtgg aatgggttca aaagtaagca gtgttgttta cactgacaaa ctgaaaaaaa 100140
aagaaaaaga gataacattg gaggcttggc acagtggctc atgcctgtaa tcccagcact 100200
ttgggaggct aaggtgggag gatgtcccca gccaagagt tctagaccag cctgggcaac 100260
atagcaagac cccatctcaa aaaaaaatt taattggcca ggcagaggtg ggaggatcac 100320
ttgaacccaa aggttggagg ctgcagtgag ccgtgatggc accactgcac tccagccagg 100380
gcaacagagg gagaccctgt ctctaaaaca aacaacaaa caaacacaa aaagagttaa 100440
cattggccag attaggattc accagatagt gttaatatta gtttgatttg agactttaat 100500
cagaaagcac atgtgtgggt ggggtgggtg taacctaat caggtagaat ctttccaact 100560
tggggggggc acactcctga ttgtagccat atgagtctgt cagtgtggtg gaagaggcca 100620
tgggttaatg ggcaggtaaa aaagcacctt gcctggaatt gagtagaaag taaggccctt 100680
cagaccccg t gacacacttg gggacatttt cttgagtaac atcctaagat tcatgtacct 100740
tgatgatctc catcaactta ctcatgtgaa gcaccttaa accagtcgtc tccaaattca 100800
ggggcacagt aacatccaac aggctggaga aagaacgtac tagaacttcc attccttttt 100860
catgtcctct tctaaaagct ttgtcagggc caggcgcggt ggctcacgcc tgtaatccca 100920
gcactttggg aggccgagac ggggtgatca cgaggtcagg agatcgagac catcctggct 100980
aacacagtga aacccatct ctactaaaa taaaaaaa cgagccgggc gtggtggtgg 101040
gcgctgtag tcccagctac tcgggaggct gaggcaggag aatggcgtga acccaggagg 101100
cagagcttgc agtgagccga gattgcacca ctgcagtcca gcctgggca cagagcgaga 101160
ctccgtctca aaaaagaaaa agaaaaagaa aaagaactgt gattggggag gacggtcact 101220
ttcctgttct tactgatcag aaggatatt aagggtacct gattcaaca gcctggagat 101280
cactgctttc aaccattacc tgccttattt attttagtt actgtccttt tttcagtttg 101340
tttccctcct ccatgtgctg acttttattt tgattttatt tatgtttatg ttttaagacat 101400
ccacacgttc ctctgctaaa acctgaaaa ataggccttg ccttagcccc aaacacccca 101460
ctcctggtag ctgagacct ctgatccaac cctccagccc tgctgtgtgc ccagagccac 101520
cttctctcc taaatacgtc tcttctgtca ctteccgaac tggcagttct ggagcaaagg 101580
agatgaaact caaggttaagg aaaccacct tgaaaagaac caggctgctc tgctgtggtt 101640
tgcaaatgtg gggtttgttt atttgtttt tagcctcaa gaccttctt caaatgagtt 101700
ctggcataga agcaccgtgt aaaatagtta gaattctggg caaagggaa aagagagctg 101760
ggggccatcc ctctcagcac cccacagget ctcatagcag cagctcctaa gacacctggt 101820
gggaccttgg tttcgaaatc gctactctaa ggctgggcac ggtggctcac acctgtaatc 101880
ccagctcttt aggaggccga ggagggtgga tcacctgaga tcaggagttc gagaccagcc 101940
tggtacaat ggcaaaacc tgtctctact aaaaatacaa aaattagccg ggcgtggtgg 102000

tatgcgtggg ggtaatcgca gctactcggg aggctgaggc acaaggattg cttgaacccc 102060
agaggcagag gttgtagtta gctccagctt gggcgacaga gcaagaccct gtcgcaaaaa 102120
ttgtttaaaa aacaaaccca aaattgctac tctcattggg ttcctttgcc cattcctgat 102180
tttggcaaga gaaatgcttc cagattgccc tgatctgggt aggacagcat cacgccatag 102240
caacactgcc ccgtgagctc actgccccct caactagctt gtggtccttg gttaatgtca 102300
gtttcttttt tgagtttgtg ttatgtctaa gggtcactct ctgggtaacg gaaccaggg 102360
actgccctag tccctagact gtgcatgcc cgactctgcc agctttgtca gtgatgctgg 102420
tgctcgcctc ctcgggtgct cgcttggctt gagcacacc aaggagtctt tgaggcctta 102480
gggttggttg cgagagaatg aaagaacacg acctagctct ctttagcatc cttggtcagg 102540
ttcaacactg cccccagggg cctctgggtg agccaaccac catcagccaa ataatccat 102600
aattagagtc agaaaaatgga tgtctgcata tgtgtagtgc actaatgtcc tgccgatgat 102660
tgacatggag tggagagtga cctgatcatt gctgtgagct ctgctggcct tggcacaact 102720
catgctgata actaatgcac acagttctc tgggaggaaa tgtctcagg gaacttggag 102780
tttgggtggg gatgtgggtt tgtgtgccc gcaagcctt gtggtttag cagacactag 102840
tggcacttag gaggcaaagg gtcaccccag tcttagccac gttttgagtc aaggtggcgg 102900
agtggggctg gtgttgactc ttggtggcag taacttttc caatggtgaa aaaccctct 102960
atcatgtttc atttacaggg ggctgatggt aaaacgaaga tcgccacacc gcggggagca 103020
gcccctccag gccagaaggg ccaggccaac gccaccagga ttccagcaa aacccgccc 103080
gctccaaaga caccaccag ctctggtgaa aagaacgttc tcttgaatct tagaggaagc 103140
tgaagctctc agaggtacag ccttcatttt aggaggcctt aggccactga gaatgaataa 103200
ccctggcag ctggtcagca gcttgagtt tactaagcac tggagtcttc attgccttct 103260
cagtcctttt gatttctgag gcaaatgtt aatccctacc ttttttttt ttttctttt 103320
gagacagagt ttcgctttt ttatccaggc cggagtgcag tgggtgatc tcagctcact 103380
gcatcctcca cctcccagg tcaagcgatt ctctacctc agcctcccta gtagctggga 103440
ttacaggcac ctgccactat gccgggctaa tttttgtat ttttagtaga gacagggttt 103500
caccatgttg gccaggctgg tctcgaacgc ctgacctcag gtgatccacc tgcctcggcc 103560
tcccaaagtg ctgggattac aggcatgagc caccactccc agcctgaatc ctacttttt 103620
atcaatgaag aaattgaggc tgattctgca gcatgataaa aaaaaataca gaaaaaggaa 103680
aaaaaagaaa gaaatcgagc ctctgagagt ttgcttgact gactctaacc agctcatttt 103740
aaaccgagg aaaaatgcagt cacatgacta ctaagtggca gctctcggag cctctctggc 103800
cccaagtcca gggtccata gaggcagccc cagcatggca tgttttcagt ccccaaatga 103860
gactctggag acaaatgtct ctggagacag agcagcagcc tggataagtc acaatgggtg 103920
acgtcactca gggctcaacc cctgggcagc ttaacttgcct agggacgtta ggagtctgct 103980
gcaaaacctg aggtcttag ctgagcagtc acaggctggg cccgttgccc tgggctcctg 104040
tgagtaaaac ccagtcaatt ttgagtacc agtaaggcat ccattgagtt attttgcagc 104100
caggagtgct attaagaaca gtcgcggtg ggcgtggtg ctcatgctg taatcccagc 104160
actttgggag gccaaagggtg gcggatcacc tgaggtcagg agttcgagac cagcttggcc 104220
aacatggcaa aacccgctct ctaataaaaa taaaaataa ttagctgggc gtggtggcgg 104280
gcgcctgtaa tcccagcttc tcaggagggt gaggaaggag aatcacttga acccaggagg 104340

cagaggttgc agtgagctga gatcgacca ttgcactcca gcctggatga caaaagtgag 104400
attccttctc aaaaaaaaaa aaaaaaaaaac agtcgtcctc tttggggatt agggacagcc 104460
tgctgcctg cccgagcact tctctcttcc attgccccag tgaagtattc caggcccctg 104520
ggtttagact ctgcaccatg taggggtgtc tgacctgcac ttgctccttg gtggcacggg 104580
cagcctatgg cacttgctgc gggctgtgac caaagcctgg cctggatctt ggatcttggg 104640
gactctgctt ctccctggcc tgaggagct gccagagcc tgcccaccac ctgctgcgtg 104700
tctttgcggg ggcatcttc gcacacatgc cgtgcagtgg cacccccaag gatggccatt 104760
cactaaggcc cattgttttt gtcttttgc ttcgtgtttt ctggcctggg gtttttctca 104820
tatacatgtg atccagggat aattcccaga attttgacag gattttaagt agcgtttgga 104880
tcctgctgtt ttttttctac ttaacatcgg gccagttgac tcacactctg ttttttggtg 104940
ttgttttttt gagacggagt ctcaactgtg caccaggt gaagtgcagt ggcacaatct 105000
tggcactactg caacctctgc ttcccaatt caagcagttt tctgctca gctcctgag 105060
tagctgggac tacaggcaca ggccaccag cctgctaatt tttgtattt ttagtaaaga 105120
cagggtttca ccattttggc cagcctagtc tcgaactcct gacctcaagt gatccgcca 105180
cctcggcctc ccaaagtgtc gggattacag gggactcaca ctttgtaaca acctgaaaca 105240
acgtgatgca tttcccttg ggtcttacct gctcttcggg ggctgcctgc aggtggagag 105300
accctcccc ttgggcccct cgacctgtt tcagaatggg gccctgctg gccagctgt 105360
gggtgcctgc cacgtgaagg actcattaag gccctgttta agcctgatga taataaggct 105420
ttcgtggatt tttctcttta agcactaag caagtccaga gaagaccacc ccctgcaggg 105480
cccagatctg agagaggtag tcgggagcct acttcgctgg gagcagctc cttttgcgtg 105540
tgtggccatt cactggcttg tgtttctaga gccgggagga ccctttctg caatgcaggg 105600
ttcacacagg gttcgcagcc tgaagatgga gcagtccgaa ttctcttccc tgtgcagttt 105660
gcgagctgt gttgtctga tgggcttct aatcctgtgt gctctcctg acttcaggga 105720
caatggcatt acaggcatga gccaccatgc ctggctgtct ccctatgttt cagatgaaga 105780
cataggctta aggaggtag gtgacttgcc cagcaccact ctgtaaataa gagcatgaa 105840
aagtatttgg agccaccacc accaagcca ctggtcacc tgggtctctg aagtcaggga 105900
ggcaggagga tgggaggtct gaggaggcag agaggctgag cctggaggcc ctggaggccg 105960
aggccccatc tgttgttcc ttatgtgaa aataagaggc ttcgtttgtc ctattgccac 106020
agagcgtact acttcaggaa catccaagac atggaaatcc gcagggcacg gtggctcacg 106080
tctataatcc cggcactttg ggaggttag gtgggagaat cgcttgaggc cagaagttca 106140
agaccagcct gagcaacata gtcagacccc gtctctataa aaaacattat ttttaaaaaa 106200
gacatggaag tcaaattcta aaaactggtg ctggctgggt gcggtggctc atgcctataa 106260
tcccagcact ttgggaggcc gaggcgggtg gatcacctga ggtcaggagt tcaagaccag 106320
cctggccaac atggtaaaac ctctactaaa gaaatcttta ctgaaaatac aaaaatccag 106380
tctctactaa aataagtctc tactaaaaat acaaaaatta gccaggcgtg gtgctgcaca 106440
cctgtaatat cagctactcg ggaggtgag gcaggagact cgcttgatcc catgcagcgg 106500
aggttgcagt gagccgagat cacgccattg cactccagcc tgggcatcag aataagactc 106560
cgtctcaaaa aaaaaaccac aaaaaaaca aacaacaaca aaagaaaact agtgcttatt 106620
cgtcactggc caagctgccc attggctaca tgggtgcttc aaagagctgc ctttctccag 106680

gtctggccag caggtatgtg ttacagcaaa tgcctggggc agcggcaggg gcattgctgc 106740
gggaagcttc tggacttgca ggaaagctaa gttctcagac tgcaggggag ctaagcacac 106800
ctcggcacag ggtgaggcct gcggttctca gacttcagtc tttgtggagc ttgagaaaaa 106860
tgaggctttg caggtcccac ccctagagat tctgctctat cactcttga aggggatcga 106920
gaaatttgca ttttgcaact cccactttcc tccttgaaag ctccggagat tctgacgcag 106980
ggttccgtgg gccacacttt ggaaaataca gacctatgag atagaatacc agactgttga 107040
agtgtaacgg gggcctggga agtgcaagta cagaagcaag tttgagggta aaggacaccc 107100
agaggaggga gggacagcat ctgcatggag aggagaagag accccccagc agcttccagg 107160
gtgttggaag ggtgcgctag taactgctat gcatggcagg tggggaactg tacgtcaggg 107220
cacagcagca tgaagcggta tggtctgtgt ggacagctag ggacaggcag gcgtggagca 107280
ggcatcctgt tctgaaggcc aaatcccaca gaggagccag ggtgctggca ggagccctga 107340
actagccgaa cagctgaaca gctgaacatt cacctgtgg ggaaagggtc agaagcgtcc 107400
aggcttgagg gcacagctgg gtctcgtcac tgcacaccc ttatttagga taaaggccct 107460
gaagaattgt attagaggtt ggcaaagcat atctaccacc tctggagcc acgctggccg 107520
cagggattat aattatttcc attttcaaat taaggcctct gagctcagag aggggaagtt 107580
acttgtctga ggccacacag cttgttggag cccatctctt gacccaaaga ctgtggagcc 107640
gagttggcca cctctctggg agcgggtatt ggatggtggt tgatggtttt ccattgcttt 107700
cctgggaaag ggggtgtctt gtccctaagc aaaaaggcag ggaggaagag atgcttcccc 107760
agggcagccg tctgctgtag ctgcgcttcc aacctggctt ccacctgcct aaccagtg 107820
tgagcctggg aatggacca cgggacaggc agccccagc gccttttctg accccacca 107880
ctcagctcct ggcttcaact ccttccttcc ttcccaggtg aacctcaaaa atcaggggat 107940
cgcagcggct acagcagccc cggctccca ggcaactccc gcagccgctc ccgcacccc 108000
tcccttcaa cccacccac ccgggagccc aagaaggtgg cagtggctcc tactccacc 108060
aagtcgccgt cttccgcaa gagccgctg cagacagccc ccgtgccc atgcccagctg 108120
aagaatgtca agtccaagat cggctccact gagaacctga agcaccagcc gggaggcggg 108180
aaggtgagag tggctggctg cgcgtggagg tgtggggggc tgcgctgga ggggtagggc 108240
tgtgcctgga agggtagggc tgcgctgga ggtgcgctg tgagcgtgga gtcgtgggac 108300
tgtgcatgga ggtgtggggc tccccgacc tgagcacc cgcataacac ccagctccc 108360
tctggaccct cttcaaggaa gttcagttt ttattgggt ctccactaca ctgtgagtgc 108420
cctcctcagg cgagagaacg ttctggctt tctcttggcc cttcagcccc gttaaatcgg 108480
acagagatgg cagggtgtg tctccacggc cggagctct catagtcagg gcaccacag 108540
cggttccca cctgccttct gggcagaata cactgccacc cataggtcag catctccact 108600
cgtgggcat ctgcttaggt tgggttctc tggattctgg ggagattggg ggttctgttt 108660
tgatcagctg attcttctgg gagcaagtgg gtgctcgcga gctctccagc ttctaaagg 108720
tgagagaagca cagacttcgg gggcctggcc tggatccct tccccattcc tgtccctgtg 108780
cccctgtct ggggtgcgta gggctgacat acaaagcacc acagtgaaag aacagcagta 108840
tgcctcctca ctagccaggt gtgggcgggt gggtttctc caaggctct ctgtggccgt 108900
gggtagccac ctctgtcctg caccgctgca gtcttccctc tgtgtgtgct cctggtagct 108960
ctgcgcatgc tcatcttctt ataagaacac catggcagct gggcgtagt gctcacgcct 109020

ataatcccag cactttggga ggctgaggca ggcagatcac gaggtcagga gttcgagacc 109080
 aacctgacca acagggtgaa acctcgtctc tactaaaaat acaaaaatac ctgggcgtgg 109140
 tgggtggtgcg cgcctataat cccagctact caggaggctg aggcaggaga atcgccttgaa 109200
 cccaggaggc agaggttgca gtgagccgag atagtgccac tgcaactccag tttgagcaac 109260
 agagcgagac tctgtctcaa aacaaaataa aacaaacca aaaaaccac catggcttag 109320
 ggcccagcct gatgacctca tttttcactt agtcacctct ctaaaggccc tgtctccaaa 109380
 tagagtcaaca ttctaaggta cgggggtggt ggggaggggg gttagggtt caacatgtga 109440
 atttgcgggg accacaattc agcccaggac cccgctccc ccaccagca ctggggagct 109500
 ggggaagggt gaagaggagg ctgggggtga gaaggaccac agctcactct gaggctgcag 109560
 atgtgctggg cttctgggc actgggcctc ggggagctag ggggctttct ggaaccctgg 109620
 gcctgcgtgt cagcttgctt cccccacgca ggcgctctcc acaccattga agttcttatt 109680
 acttgggtct gagcctgggg catttggaag gaggttgccc accagtgcac atgggcacct 109740
 tgctcaaac cctgccacct cccccacc aggatcccc ctgccccga acaagcttgt 109800
 gagtgcagtg tcacatccca tcgggatgga aatggacggt cgggttaaaa gggacgcatg 109860
 tgtagaccct gcctctgtgc atcaggcctc ttttgagagt ccctgcgtgc caggcgtgctc 109920
 acagaggtgg agaagactcg gctgtgcccc agagcacctc ctctcatcga ggaaaggaca 109980
 gacagtggct cccctgtggc tgtggggaca agggcagagc tccttggaac acaggaggga 110040
 gggaaaggaag agaacatctc agaatctccc tctgatggc aaacgatccg ggttaaatta 110100
 aggtccggcc ttttctgtct caggcatgtg gagctttagt tggaagaggc tctctggacc 110160
 ctcatccacc acagtggcct ggttagagac cttggggaaa taactcacag gtgaccagg 110220
 gcctctgtcc tgtaccgag ctgagggaaa ctgtctgctg cttccactgg ggacaatgctg 110280
 ctccctcgtc tccagacttt ccagtcctca ttcggttctc gaaagtcgcc tccagaagcc 110340
 ccatcttggg accaccgtga ctttcattct ccagggtgcc tggccttggg gctgcccagg 110400
 accccagagg ggccctcact ggcccttctt gccttttctc ccattgccc cccatgcacc 110460
 cccatcctgc tccagcacc agactgccat ccaggatctc ctcaagtcac ataacaagca 110520
 gcaccacaaa ggtgctccct tccccctagc ctgaatctgc tgctccccgt ctggggttcc 110580
 ccgcccattgc acctctgggg gccctgggt tctgccatac cctgccctgt gtccatggt 110640
 ggggaatgct cttctctctt tatctcttcc cttcccttaa atccaagttc agttgccatc 110700
 tcctccagga agtcttctg gattcccctc tetcttetta aagcccctgt aaactctgac 110760
 cacactgagc atgtgtctgc tgctccctag tctgggcat gagtgagggt ggaggccaag 110820
 tctcatgcat ttttgcagcc cccacaagac tgtgcaggtg gccggccctc attgaatgctg 110880
 gggtaattt aactcagcct ctgtgtgagt ggatgattca ggttgccaga gacagaacct 110940
 tcagcttagc atgggaagta gcttccctgt tgacctgag ttcactctgag gttggcttgg 111000
 aaggtgtggg caccatttgg cccagttctt acagctctga agagagcagc aggaatgggg 111060
 ctgagcaggg aagacaactt tccattgaag gccctttca gggccagAAC tgtccctccc 111120
 accctgcagc tgccctgctt ctgcccattga ggggtgagag tcaggcgacc tcatgccaag 111180
 tgtagaaagg ggcagatggg agccccaggt tatgacgtca ccatgctggg tggaggcagc 111240
 acgtccaaat ctactaaagg gttaaaggag aaagggtgac ttgacttttc ttgagatatt 111300
 ttgggggacg aagtgtggaa aagtggcaga ggacacagtc acagcctccc ttaaatgcca 111360

ggaaagccta gaaaaattgt ctgaaactaa acctcagcca taacaaagac caacacatga 111420
atctccagga aaaaagaaaa agaaaaatgt catacagggt ccatgcacaa gagcctttaa 111480
aatgacccgc tgaagggtgt caggcctcct cctcctggac tggcctgaag gctccacgag 111540
cttttgctga gaccttggg tccctgtggc ctcatgtagt acccagtatg cagtaagtgc 111600
tcaataaatg tttggctaca aaagaggcaa agctggcgga gtctgaagaa tccctcaacc 111660
gtgccggaac agatgctaac accaaaggga aaagagcagg agccaagtca cgtttgggaa 111720
cctgcagagg ctgaaaactg ccgcagattg ctgcaaatca ttgggggaaa aacggaaaac 111780
gtctgttttc cccttgtgc ttttctctgt tttcttctt gtgcttttct ctgttttcag 111840
gatttgctac agtgaacata gattgctttg gggcccaaa tggaaattatt ttgaaaggaa 111900
aatgcagata atcaggtggc cgcaactggg caccagctgg gtaggggtag agattgcagg 111960
caaggaggag gagctgggtg ggggtgccagg caggaagagc ccgtaggcc cgccgatctt 112020
gtgggagtcg tgggtggcag tgttccctec agactgtaa agggagcacc tggcggaag 112080
agggaattct tttaaacatc attccagtgc ccgagctec tggacctgtt gtcacttga 112140
gggtggcctc ccctgggtga ctctagtgtg cagcctggct gagactcagt ggccctgggt 112200
tcttactgct gacacctacc ctcaacctca accactgagg cctcctgtgc acctgatcc 112260
agtggctcat ttccacttt cagtcccagc tctatcccta tttgcagttt ccaagtgcct 112320
ggctctcagt cagctcagac ccagccaggc cagcccctgg tccccacatc ccctttgcca 112380
agctcatccc cgccctgttt ggccctgcggg agtgggagtg tgtccagaca cagagacaaa 112440
ggaccagctt ttaaacatt ttgttggggc caggtgtggt ggctcacacc taatcccaac 112500
acctggggag gccaaaggcag aaggatcact tgagtccagg agttcaagac cagcctgggc 112560
aacatagga gaccctgtct ctacaatttt tttttaatt agctggcct gttggcactc 112620
tctgtagtt ccagctactc tagaggctga ggtgggagga ctgcttgagc ctgggaggtc 112680
agggctgcaa tgagccatgt tcacaccact gaacgccagc ctgggcgaga ccctgtatca 112740
aaaaagtaaa gtaaaatgaa tcctgtacgt tatattaagg tgcccaaat tgtacttaga 112800
aggatttcat agttttaaat acttttgta ttaaaaaat taaatgactg cagcatataa 112860
attaggttct taatggaggg gaaaaagagt acaagaaaag aaataagaat ctagaacaaa 112920
agataagagc agaaataaac cagaaaacac aacctgcac tcctaactta aaaaaaaaa 112980
tgaagaaaac acaaccagta aaacaacata taacagcatt aagagctggc tctggctgg 113040
gcgcggtggc gcatgcctgt aatcccaaca ctttgggagg ccgatgctgg aggatcactt 113100
gagaccagga gttcaaggtt gcagtgagct atgatcatac cactacacc tagcctgggc 113160
aacacagtga gactgagact ctattaataa aaaaatgctg gttccttct tatttcattc 113220
ctttattcat tcattcagac aacatttatg gggcacttct gagcaccagg ctctgtgcta 113280
agagcttttg ccccgagggt ccagccagg ggacaggggc aggtgagcag agaaacaggg 113340
ccagtacag cagcaggagg aatgtaggat ggagagcttg gccaggcaag gacatgcagg 113400
gggagcagcc tgcacaagtc agcaagccag agaagacagg cagacccttg tttgggacct 113460
gttcagtggc ctttgaagag acagcccca cccggagtgc tgggtgcagg agctgaagga 113520
ggatagtgga aactgcaac gtggagctct tcagagcaa agcaaaataa acaactggag 113580
gcagctgggg cagcagaggg tgtgtgttca gactaagggt gtgtgaagct tgagcgtag 113640
gagagttcac actggcagaa gagaggttg ggcagctgca agcctctgga catgccccga 113700

caggacagag ggtggtggac ggtggccctg aagagaggct cagttcagct ggcagtggcc 113760
gtgggagtgc tgaagcaggc aggctgtcgg catctgctgg ggacggtaa gcaggggtga 113820
gggcccagcc tcagcagccc ttcttggggg gtcgctggga aacatagagg agaactgaag 113880
aagcagggag tcccagggtc catgcagggc gagagagaag ttgctcatgt ggggcccagg 113940
ctgcaggatc aggagaactg gggaccctgt gactgccagc ggggagaagg ggggtgtcag 114000
gatcatgccc agggaagggc ccaggggccc aagcatgggg gggcctggtt ggctctgaga 114060
agatggagct aaagtcactt tctcggagga tgtccaggcc aatagttggg atgtgaagac 114120
gtgaagcagc acagagcctg gaagcccagg atggacagaa acctacctga gcagtggggc 114180
tttгааagcc ttggggcggg ggggtcaata ttcaagatgg ccacaagatg gcaatagaat 114240
gctgtaactt tcttggttct gggccgcagc ctgggtggct gcttccttcc ctgtgtgtat 114300
tgatttgttt ctcttttttg agacagagtc ttgctgggtt gccaggctg gagtgcagtg 114360
gtgcgatcat agctcaactg agccttgaag tectgagctc aagagatcct tccacctcag 114420
cctcctgagt agttgggacc acaggettgc accacagtgc ccaactaatt tcttatattt 114480
ttttagagaga tggggtttca ctgtgtcgcc caggatggtc ttgaactcct gggctcaagt 114540
gatcctcctg cctcagcctc gcaaattgct gggattacag gtgtgagcca ccatgcccga 114600
ccttctcttt ttaagggcgt gtgtgtgtgt gtgtgtgtgt gggcgcactc tcgtcttcac 114660
cttccccag ccttgetctg tctctacca gtcacctctg cccatctctc cgatctgttt 114720
ctctctcctt ttaccctctt ttctccctc ctacacacc actgaccatt atagagaact 114780
gagtattcta aaaatacatt ttatttattt attttgagac agagtctcac tctgtcacc 114840
aggctggagt gcagtggtg aatctcggct cactgcaacc tccgcctccc aggttgaagc 114900
aactctcctg cctcagcctc cctagtagct gggattacaa gcacacacca ccatgcctag 114960
caaattttta tatttttagt agaggagggg tgcaccatg tttgccaagc tggctctcaa 115020
ctcctggcct caggatgatc gcctacctg gtctcccaa gtgctgggat tacaggtgtg 115080
agccaccacg cctgccctta aaaatacatt atatttaata gcaaagcccc agttgtcact 115140
ttaaaaagca tctatgtaga acatttatgt ggaataaata cagtgaattt gtacgtggaa 115200
tcgtttgcct ctctcaatc agggccaggg atgcaggtga gcttgggctg agatgtcaga 115260
ccccacagta agtggggggc agagccaggc tgggaccctc ctctaggaca gctctgtaac 115320
tctgagacc tccaggcatc ttttctgta cctcagtct tctgaaaaat ctgtgtgaat 115380
caaatcattt taaaggagct tgggttcac actgtttaa ggacagtga aataattctg 115440
aaggtgactc taccctgta tttgatctct tctttggcca gctgacttaa caggacatag 115500
acaggttttc ctgtgtcagt tctaagctg atcacttgg acttgaagag gaggcttgtg 115560
tggcatcca gtgccacc cgggttaaac tcccagcaga gtattgact gggcttctg 115620
agcctggatga ggcaaagcac agcacagcga gcaccaggca gtgctggaga caggccaagt 115680
ctgggcccagc ctgggagcca actgtgaggc acggacgggg ctgtggggct gtggggctgc 115740
aggcttgggg ccagggaggg agggctgggc tctttggaac agccttgaga gaactgaacc 115800
caaacaaaac cagatcaagg tctagtgaga gcttagggct gctttgggtg ctccaggaaa 115860
ttgattaaac caagtggaca cacacccca gccccctc accacagcct ctcttcagg 115920
gtcaaacctc gaccacagac atttctccc tgactaggag ttccctggat caaattggg 115980
agcttgcaac acatcgttct ctcccttgat ggtttttgtc agtgtctatc cagagctgaa 116040

gtgtaatata tatgttactg tagctgagaa attaaatttc aggattctga tttcataatg 116100
acaaccattc ctcttttctc tcccttctgt aaatctaaga ttctataaac ggtgttgact 116160
taatgtgaca attggcagta gttcaggctc gctttgtaaa tacccttggtg tctattgtaa 116220
aatctcacia aggcttggtg ccttttttgt ggggttagaa caagaaaaag ccacatggaa 116280
aaaaaatttc ttttttggtt ttttggttgc ttgttttttt gagacagagt ttcactctgt 116340
cgcccaggct ggagtgcagt ggtgcgatct ccgcccactg caagctccac ctcccgggtt 116400
catgctattc tcctgtctca gcctcccaag tagctgggac tgcaggtgcc cgccaccaca 116460
cctggctaata ttttttgat ttttagtaga gacgggggtt caccgtgta gccaggatgg 116520
tctcaatctc ctgacctcgt catctgctc cctcgccctc ccaaagtgtg gagattacag 116580
gcgtgagcca ccgtgcccgg ccagaaaaaa acatttctaa gtatgtggca gatactgaat 116640
tattgcttaa tgcctttga ttcatttgtt taatttcttt aatggattag tacagaaaac 116700
aaagttctct tccttgaaaa actggtaagt tttctttgtc agataaggag agttaataa 116760
cccatgacat ttcccttttt gcctcggett ccaggaagct caaagttaa tgtaatgatc 116820
actcttgtaa ttatcagtgt tgatgccctt cccttcttct aatgttactc tttacatttt 116880
cctgctttat tattgtgtgt gttttctaat tctaagctgt tcccactcct ttctgaaagc 116940
aggcaaatct tctaagcctt atccactgaa aagttatgaa taaaaaatga tcgtcaagcc 117000
tacagggtgct gaggctactc cagaggctga ggccagagga ccacttgagc ccaggaattt 117060
gagacctggg ctgggcagca tagcaagact ctatctccat taaaactatt tttttttatt 117120
taaaaaataa tccgcaaaga aggagtttat gtgggattcc ttaaaatcgg aggggtggcat 117180
gaattgattc aaagacttgt gcagagggcg acagtactc cttgagaagc agtgtgagaa 117240
agcctgtccc acctcctcc gcagctccag cctgggctga ggcactgtca cagtgtctcc 117300
ttgctggcag gagagaattt caacattcac caaaaagtag tattgttttt attaggttta 117360
tgaggctgta gccttgagga cagcccagga caactttggt gtcacataga tagcctgtgg 117420
ctacaaactc tgagatctag attcttctgt ggctgcttct gacctgagaa agttgcggaa 117480
cctcagcgag cctcacatgg cctccttgtc ctaacgtgg ggacggtggg caagaaaggt 117540
gatgtggcac tagagattta tccatctcta aaggaggagt ggattgtaca ttgaaacacc 117600
agagaaggaa ttacaaagga agaatttgag tatctaaaaa tgtaggtcag gcgctcctgt 117660
gttgattgca gggctattca caatagccaa gatttggag caaccaagt gtccatcaac 117720
agacaaatgg ataaagaaaa tgtgtgcat atacacaatg gaatactatt cagccatgaa 117780
aaagaatgag aatctgtcat ttgaaacaac atggatggaa ctggaggaca ttatgttaag 117840
tgaataaagc cagacagaag gacagactc acatgttctc acacatttgt gggagctaaa 117900
aattaaaactc atggagatag agagtagaag gatggttacc agaggctgag gagggtggag 117960
gggagcaggg agaaagtagg gatggttaat gggtaaaaa acgtagttag catgcataga 118020
tctagtattg gatagcacag cagggtgacg acagccaaca gtaatttata gtacatttaa 118080
aaacaactaa aagagtgtaa ttggactggc taacatggtg aaacccgctc tctactaaaa 118140
atacaaaaat tagctgggca tgggtgctca cgctgtaat ccagcactt tgggaggccg 118200
aggcgggccc atcacagggt caggagatcg agaccatcct agctaactg gtgaaacccc 118260
gtctctacta caaatacaaa aaaaagaaaa aattagccgg gcatggtggt gggcgctgt 118320
agtcccagct actcgggagg ctgaggcagg agaatggcgt gaaccggga ggcggagctt 118380

gcagtgagcc gagatcgcgc cactgcactc cagcctgggc gacaaggcaa gattctatct 118440
caaaaaata aaaataaaat aaaataaaat aataaaataa aataaaataa aataaaataa 118500
ataaaataaa ataaaatgta taattggaat gttataaca caagaaatga taaatgcttg 118560
aggatgata tagcccatc accgtgatgt gattattgca caatgtatgt ctgtatctaa 118620
atatctcatg taccacaca gtatatacac ctactatgta cccatataaa tttaaaatta 118680
aaaaattata aaacaaaaat aaataagtaa attaaaatgt aggctggaca ccgtggttca 118740
cgctgtaat cccagtgcct tgtgaggctg aggtgagaga atcacttgag ccaggagtt 118800
tgagaccggc ctgggtgaca tagcgagacc ccatcatcac aaagaatfff taaaaattag 118860
ctgggcgtgg tagcacatac cggtagtcc agctacttg gagaccgagg caggaggatt 118920
gcttgagccc aggagttaa ggctgcagtg agctacgat gcgccactgc attccagcct 118980
gggtgacaga gtgagagctt gtctctatff taaaataat aaaaagaata aataaaaata 119040
aattaaaatg taaatatgtg catgttagaa aaaatacacc catcagcaa aagggggtaa 119100
aggagcatt tcagtcataa ttggagagat gcagaataag ccagcaatgc agtttctfff 119160
atfffgtca aaaaaataa gcaaaacaat gttgtaaaca cccagtgcct gcagcaatgt 119220
ggtagaggctg gctctctcac cagggtcac agggaaaact catgcaacc ttttagaaag 119280
ccatgtggag agttgtaccg agaggtffta gaatffttat aactffgacc cagaaattct 119340
attctaggac tctgtffat gaaaataacc catcatatgg aaaaagctcc tttcagaaag 119400
aggttcatgg gaggctgfff gtatfffff tttctffgca tcaaatccag ctctgcagg 119460
actgfffgtt ttattgaagt acaaagtgga atcaatacaa atgfftgata gcaggggaac 119520
aatattcaca aaatggaatg ggacatagta ttaacatag tgcttctgat gaccgtagac 119580
catagacaat gcttaggata tgatatcact tctffftgff tffftffgtat tffgagacga 119640
agtctcattc tctcaccag gctggagffc agtggcgcca tctcagctca ctgcaacctc 119700
catctcccg gttcaagcta tctctctcc tcaacctccc gagtagctgg gttgctgacc 119760
accatgcctg gctaactfff gtatfffftag tacagacggg gttcaccac gttggccagg 119820
ctgctcttga actcctgacg tcagggtatc caccagcctt gacctccaa agtgctagga 119880
ttacaggagc cactgtacc agcctaggat atgatatcac ttcttagagc aagatacaaa 119940
attgcatgtg cacaataatt ctaccaagta taggtataca ggggtagffa tatataaatg 120000
agacttcaag gaaatacaac aaaatgcaat cgtgattgtg ttagggtggt aagaaaacgg 120060
ttfftgctff gatgagctct gttffftaa atcgtffat tffctaaata aaatacatag 120120
tctffftgaag gaacataaaa gattatgaag aaatgagffa gatattgatt cctattgaag 120180
attcagacaa gtaaaatffa ggggaaaaaa aacgggatga accagaagtc aggctggagt 120240
tccaaccca gatccgacag cccaggctga tggggctcc agggcagtg tttccacca 120300
gcattctcaa aagagccact gaggtctcag tgccatfftc aagatffcg aagcggcctg 120360
ggcacggctg gtccttcact gggatcacca cttggcaatt atffacacct gagacgaata 120420
aaaaccagag tgctgagatt acaggcatgg tggcttacgc ttgtaatcgg ctttgggaag 120480
ccgaggtggg ctgattgctt gagcccagga gtttcaaact atcctggaca acatagcatg 120540
acctgctctc tacaaaaaat acaaaaaatt tgccaggtgt ggtggcatgt gctgtggtc 120600
ccagctactt gggaggctga agtaggagaa tccctgagc cctgggaagt cgaggctgca 120660
ctgagccgtg atggtgtcac tgcactccag cctgggtgac aaagtgagac cctatctcac 120720

aaagaaaaaa aacaaaacaa aaaacccaaa gcacactggt tccactgttt ccagagtcc 120780
tgagaggaaa ggtcaccggg tgaggaagac gttctcactg atctggcaga gaaaatgtcc 120840
agtttttcca actccctaaa ccatggtttt ctatttcata gttcttaggc aaattggtaa 120900
aaatcatttc tcatcaaac gctgatattt tcacacctcc ctgggtgtctg cagaaagaac 120960
cttccagaaa tgcagtcgtg ggagacccat ccaggccacc cctgcttatg gaagagctga 121020
gaaaaagccc cacgggagca tttgctcagc ttccgttacg cacctagtgg cattgtgggt 121080
gggagagggc tgggtgggtg atggaaggag aaggcacagc ccccccttg agggacagag 121140
ccctcgtaca gaaggacac cccacattg tcttccccac aaagcggcct gtgtcctgcc 121200
tacggggtca gggcttctca aacctggctg tgtgtcagaa tcaccagggg aacttttcaa 121260
aactagagag actgaagcca gactcctaga ttctaattct aggtcagggc taggggctga 121320
gattgtaaaa atccacaggt gattctgatg cccggcaggc ttgagaacag ccgcagggag 121380
ttctctggga atgtgccggt gggctctagc aggtgtgagt ggagatgccg gggaacttcc 121440
tattactcac tcgtcagtg ggccgaacac attttctact tgacctcagg ctgggtgaacg 121500
ctccccctg gggttcaggc ctacagatgc catcctttg tgaagtgagg acctgcaatc 121560
ccagcttcgt aaagcccgt ggaatcact cacacttctg ggatgcctc agagcagccc 121620
tctatccctt cagctcccc ggatgtgac tcaacctccc gtcactccc agactgcctc 121680
tgccaagtcc gaaagtggag gcatccttg gagcaagtag gcgggtccag ggtggcgcag 121740
gtcactcatc gaaagtggag gcgtccttg gagcaagcag gcgggtccag ggtggcgtgt 121800
cactcatcct ttttctggc taccaaaggt gcagataatt aataagaagc tggatcttag 121860
caacgtccag tccaagtgtg gctcaaagga taatatcaa cacgtcccgg gaggcggcag 121920
tgtgagtacc ttcacagtc ccatgcgcc tgctgtggct tgaattatta ggaagtgggtg 121980
tgagtgcgta cacttgcgag aactgcata gaataaatcc ttcttgggct ctgagatct 122040
ggctgcgacc tctgggtgaa ttagccccg ctccccacac tccccacac ggtccactgt 122100
tcccagaagc cccttctca tattctagga gggggtgtcc cagcatttct ggtccccca 122160
gcctgcgcag gctgtgtgga cagaataggc agatgacgg accctctctc cggaccctgc 122220
ctgggaagct gagaataacc atcaaagtct cttccactc atgccagcc ctgtccccag 122280
gagccccata gcccattgga agttgggctg aagtggtgg cacctgagac tgggctgccg 122340
cctctcccc cgacacctg gcaggtgac gttgagtgg tccactgtgg acaggtgacc 122400
cgtttgttct gatgagcga caccaaggtc ttactgtcct gctcagctgc tgctctaca 122460
cgttcaaggc aggagccgat tctaagcct ccagcttatg cttagcctgc gccaccctct 122520
ggcagagact ccagatgcaa agagccaaac caaagtgcga caggtccctc tgcccagcgt 122580
tgagggtgg cagagaaatg ctgcttttg cctttttaga tttggctgcc tcttgccagg 122640
agtgggtgct cgtgcctgta attccagcac tttgggagac taaggcggga ggttcgcttg 122700
agcccaggag ttcaagacca gctgggcaa caatgagacc cctgtgtcta caaaaagaat 122760
taaaattagc caggtgtggt ggcacgcacc ttagtccca gctacttggg aggctgaggt 122820
gggaggattg cctgagtcg ggagcggaa gttgcaagga gccatgatc gccactgca 122880
cttcaacctg ggcaacagag tgagactttg tctcaaaaa caatcatata ataatttta 122940
aataaataga tttggcttcc tctaaatgtc cccggggact ccgtgcatct tctgtggagt 123000
gtctccgtga gattcgggac tcagatcctc aagtgcaact gaccaccgcg ataagctgag 123060

gcttcatcat cccctggccg gtctatgtcg actgggcacc cgaggctcct ctcccaccag 123120
ctctcttggg cagctgaaag caaactgtta acaccctggg gagctggacg tatgagaccc 123180
ttgggggtggg aggcgttgat ttttgagagc aatcacctgg ccctggctgg cagtaccggg 123240
acactgctgt ggctccgggg tgggctgtct ccagaaaatg cctggcctga ggcagccacc 123300
cgcatccagc ccagagggtt tattcttgca atgtgctgct gcttcctgcc ctgagcacct 123360
ggatcccggc ttctgccctg aggccccctg agtcccacag gtagcaagcg cttgccctgc 123420
ggctgctgca tggggctaac taacgcttcc tcaccagtgt ctgctaagtg tctcctctgt 123480
ctcccacgcc ctgctctcct gtccccccag tttgtctgct gtgaggggac agaagaggtg 123540
tgtgccgccc ccaccctgc ccgggcccctt gttcctggga ttgctgtttt cagctgtttg 123600
agctttgatc ctggttctct ggcttctca aagtgagctc ggccagagga ggaaggccat 123660
gtgctttctg gttgaagtca agtctgggtc cctgggtggag gctgtgctgc tgaggcggag 123720
ctggggagag agtgcacacg ggetgctggtg ccaaccctc tgggtagctg atgccc aaag 123780
acgctgcagt gcccaggaca tctgggacct cctggggcc cgcccgtgtg tcccgcgctg 123840
tgttcatctg cgggctagcc tgtgaccgc gctgtgctcg tctgcgggct agcctgtgtc 123900
ccgcgctctg cttgtctgcg gtctagcctg tgacctggca gagagccacc agatgtcccg 123960
ggctgagcac tgccctctga gcaccttac aggaagcct tctcctggtg agaagagatg 124020
ccagcccctg gcatctgggg gcaactggatc cctggcctga gccctagcct ctcccagcc 124080
tgggggcccc ttcccagcag gctggccctg ctcttctct acctgggacc cttctgcctc 124140
ctggctggac cctggaagct ctgcagggcc tgctgtcccc ctccctgccc tccaggtatc 124200
ctgaccaccg gccctggctc ccaactgcat ccaactctct ctttctggc cgttccctgg 124260
tcctgtccc agccccctc cccctctcac gagttacctc acccaggcca gaggaagag 124320
ggaaggaggc cctggtcata ccagcacgtc ctcccacctc cctcggccct ggtccacccc 124380
ctcagtgtcg gcctcagagc acagctctct ccaagccagg ccgcgcgcca tccatcctcc 124440
ctgtcccca acgtccttgc cacagatcat gtccgcctg acacacatgg gtctcagcca 124500
tctctgcccc agttaactcc ccatacataa agagcacatg ccagctgaca caaaataat 124560
tcgggatggg tccagtttag acctaagtgg aaggagaaac caccacctgc cctgcacctt 124620
gttttttggg gaccttgata aaccatctc agccatgaag ccagctgtct cccaggaagc 124680
tccagggcgg tgcttcctcg ggagctgact gataggtggg aggtggctgc ccccttgac 124740
cctcaggtga cccacacaaa ggccactgct ggaggccctg gggactccag gaatgtcaat 124800
cagtgaacctg cccccaggc cccacacagc catggctgca tagaggcctg cctccaaggg 124860
acctgtctgt ctgccactgt ggagtcccta cagcgtgccc cccacagggg agctggttct 124920
ttgactgaga tcagctggca gctcagggtc atcattccca gagggagcgg tgccctggag 124980
gccacaggcc tcctcatgtg tgtctgcgtc cgctcgagct tactgagaca ctaaactctgt 125040
tggtttctgc tgtgccacct acccaccctg ttggtgttgc tttgttctc ttgctaaaga 125100
caggaatgtc caggacactg agtgtgcagg tgctgctgg ttctcacgtc cgagctgctg 125160
aactccgctg ggtcctgctt actgatggtc tttgctctag tgctttccag ggtccgtgga 125220
agcttttctt ggaataaagc ccacgcatcg accctcacag cgcctcccct ctttgaggcc 125280
cagcagatac cccactcctg ctttccagc aagatthttc agatgctgtg catactcatc 125340
atattgatca ctttttctt catgcctgat tgtgatctgt caatttcatg tcaggaaagg 125400

gagtgcatt ttacactta agcgtttgct gagcaaatgt ctgggtcttg cacaatgaca 125460
atgggtccct gtttttccca gaggtctttt tgttctgcag ggattgaaga cactccagtc 125520
ccacagtccc cagctcccct ggggcagggt tggcagaatt tcgacaacac atttttccac 125580
cctgactagg atgtgctcct catggcagct gggaaccact gtccaataag ggcctgggct 125640
tacacagctg cttctcattg agttacacc ttaataaaat aatcccattt tctcttttt 125700
gtctctctgt cttcctctct ctctgccttt cctcttctct ctctctctct ctcatctcca 125760
ggtgcaaata gtctacaaac cagttgacct gagcaagggt acctccaagt gtggctcatt 125820
aggcaacatc catcataaac caggtagccc tgtggaagggt gagggttggg acgggagggt 125880
gcagggggtg gaggagtcct ggtgaggctg gaactgctcc agacttcaga aggggctgga 125940
aaggatatth taggtagacc tacatcaagg aaagtgttga gtgtgaaact tgcgggagcc 126000
caggaggcgt ggtggtctca gctcgtctct gccaggcca tgctgcccga gacaaggatga 126060
ggcgggagtg aagtgaaata aggcaggcac agaaagaaag cacatattct cggccgggcg 126120
ctgtggctca cgctgtaat tccagcaact tgggaggcca aggtgggtgg atcatgaggt 126180
caggagattg agaccatcct ggtaacaca gtgaaacccc gtctctacta aaaatacaaa 126240
aaattagccg ggctggtgg tgggcgctg tagtcccagc tactccggag gctgaggcag 126300
gaaaatggcg tgaaccggga aggcgagct tgcagtgagc ggagtgagca gagatcgcg 126360
cactgcactc cagcctgggc gacagagcga gactccgtct caaaaaaaaa aagcacatgt 126420
tctcgttct ttgtgggatc caggagatag agaatagaag gatggttacc agaggctggg 126480
aagggtagtg aggggatggt ggggggatgg tcaatgggta caaaaaaat agaataagac 126540
ctagtatttg atagtgaac aggtgacta tagtcaataa taatttaatt gtacatttaa 126600
aaataactaa aagatagccg ggtgcagtgg cttacgtctg taatcccagt actttgggag 126660
gctgagggtg gcgtttgaga ccagcctggc caacatggtg aaacccatc tctactaaaa 126720
atacaaaaat tagccaggca tgggtggcgg cgctgtaat cccagctact cgggaggctg 126780
aggcaggaga atcacttga cctgggaggc agaggttga gtgagccgag atcttgccac 126840
tgcactccag cctgggtgac agtgaactc cgtctcaaaa ataaaaataa aaatacagct 126900
gggcacggtg gctcacgcct gtaatcccag cactttggga ggccgaggcg agcggatcac 126960
aaggtcagga gatatagacc atcctggcta acacggtgaa acccggtctc tactaaaaat 127020
acaaaaaatt agccaggcgt ggtggcagggt gcctatagtc ccagctactc acaaggctga 127080
ggcaggagaa tggcatgaac ctgggaggcg gagcttgcag tgagccgaga ttgtgccact 127140
gcactccagc ctgggcgaga gagtgagact ccgtctcaaa acaaaaacaa aaacaaaaac 127200
aaaaacaaac acacaacaaa aacctaaaag aatataaatg gattgtttgt aacacaaagg 127260
acaaatgtht gaggggatgg ataccatt ttccatgatg tgattattat acattgtgtg 127320
tctgtatcaa aacatctcat gagccccata aatatataca ctaactatg taccacaaa 127380
aattaaaaaa atatattht taaggtgaag agggaggcga gatgctggcc ttaaccctta 127440
accgthtct ctccctgcaa gctgtccaca gggcctctca gactcgaggt tcagctatat 127500
ggatgcatga gcttgggtccc cagccaacat gggagacact tcaccatcgg cagcagctac 127560
agcacaggaa ccctgggtca ctgcatgtc ccctctgtga ctttgtthta acagaaaatg 127620
atgctctggg ccgctgtgg tggcccacac ctataatccc agcaccttg gagcggggg 127680
tgggcagatt gcctgaggtc aggagttgga gatcagcctg gccgacatgg cgaaacccca 127740

tgtctactaa aaatacaaaa actagccagg catggtggca catgcctgta atcccagcta 127800
 cttgggaggc tgaagcagga gaatcacttg aaccaggag gcagaggctg agtgagccaa 127860
 gatcgtgcca atgcactcca gcttgggtga gggagtgaga ctccgtctca aaaaaaaaaa 127920
 aaaagaaaga aaaagaaaag aaagtgatcc tactggaacc atgcttactc ccctccccac 127980
 ctcacactgt gtagaaatta gtgctgtcgg ccaggcgcgg tggctcatgc ctgtaatcgc 128040
 agcactttgg gaggccaagg caggcggatc acgaggctag gagatcaaga ccatcctggc 128100
 taacacagtg aaacctgtc tctactaaaa atacaaaaaa ttagccgggc atggtggcag 128160
 gcacctgtag tccaactac ttgggaggct gaggcaggag aatggcatga acctgggagg 128220
 cggagcttgc agtgagccaa gatcgcgcca ctgcatacca gcctaggtga cagagtgaga 128280
 ctcagcaaaa aaagaaagaa agaaagaaag aatcagtgc tgtctatact tctttctgca 128340
 gtgatggaaa tattctgtat ctgtgctgtc cagtatagta gccactagct acatgtggca 128400
 cttgaaacat ggctgttaca gttgaggaag agtggctgcc atatcggacg acacagctat 128460
 agattctgtc accccacccc gagagtccag agcggggact tctgccttag gccctattca 128520
 gggctgattt ttacttgaac ccttactgtg ggaagagaag gccatgagaa gttcagtcta 128580
 gaatgtgact ccttattttc tggetccett ggacactttg tgggatttag tctccctgtg 128640
 gaaagtattc cacaagtggg gccaccacc cagctgtgag agcagctggg agctgctttt 128700
 gtcacttttc cctggaaaag cctgtgggct gtctcttctt catgccttgt ccatgcttg 128760
 ggcatgggtg caagcgtcag gagggagaaa gggctcttat ttatttattt agagaggac 128820
 ccttcttctg ttcccaggct ggagtgcagt ggtgcgatct cggctcactg caacctccgc 128880
 ctctggggtt caagtgattc tctgcctca gcctcctgag tagctgagat tacaggcaca 128940
 tgccaacatg cctggctaatt tttttttttt tttttttttt tttttttttg agatggagtt 129000
 gtactctcat tgcccaggct ggaatgtaat ggcacaatct cggctcactg caacctccac 129060
 ctctgggatt caagcaattc tctgtctca gcttcccaag tagctgggat tacaggtgcc 129120
 cgccaccatg ctcaactaat ttttgtattt ttttttttagt agagacgagg tttcaccatg 129180
 ttggctcagac tggctctcaa ctctgacct caggtgatcc acctgcctcg gcctcccaaa 129240
 gtgctaggat tacaggcatg agccaccacg cccggcctga aagggttctt atttagtgtg 129300
 cattttgaca ttcaatttaa ttccaaggct ttgtggggct atggtttaca ggatgttgat 129360
 atagaaaaga cttcacttaa tgggccgggc gcagtggctc atgcctgtaa tcccagcact 129420
 ttgggaggcc gaggcaggca gatcaggagg tcaggagatt gagaccatcc tggctaacac 129480
 agtgaaaacc catctctact gaaaatacaa aaaattagct gggcgtggtg gcaggcacct 129540
 gtagtcccag ccactcggtt ggctgaggca ggagaatggc atgaaccggg gaggcggagc 129600
 ttgcagtgag cagagaccat gccactgcac tccagcctgg gcgacagagc aagactctgt 129660
 ctcaagaaaa aaaaaaaaaa aacagacttt acttactgga agccaacca tgtatattta 129720
 gagtaatttt tcttgggctg agctgtcatt tacttttga gtatctcaag aagaagagtt 129780
 tacagtgtaa atatttgatg cacactttga ttatatagat gaagcaact attttcaaga 129840
 gctttgcaag gacttacttg tatccaaaca ccattctaaa ggagtcttac ctacttctaa 129900
 aggctggctc ctacttggaa ccacttgctt ggccctggtt caagtctgc tgcaaacctg 129960
 gaagtctgt cattgtcttc ttccctccag agcagtggca cccaatctaa tttttgctgt 130020
 gccccagcag cccctggcac ttgcccctgt agactgcaga cctcatgtaa tgtatgttaa 130080

gtccacagaa ccacagaaga tgatggcaag atgctcttgt gtgtgttgtg ttctaggagg 130140
 tggccagggtg gaagtaaaat ctgagaagct tgacttcaag gacagagtcc agtcgaagat 130200
 tgggtccctg gacaatatca cccacgtccc tggcggagga aataaaaagg taaagggggt 130260
 aggggtgggtt ggatgctgcc cttgggtata tgggcattaa tcaagttgag tggacaaagg 130320
 ctgggtccagt tcccagagga ggaaaacaga ggcttctgtg ttgactggct ggatgtgggc 130380
 cctcagcagc atccagtggg tctccactgc ctgtctcaat cacctggagc tttagcacgt 130440
 ttcacacctg ggccccaacc tggagaggct gaccaatggg tctcaggggc agctcggttg 130500
 ctggagtttt tgtttttatt tatttttatg tatttaaggc agggctctctg tattagtcca 130560
 ttctcacact gctaataaag acatacccaa gactgggtaa ttataaagg aaagaggttt 130620
 aatggactca cagttccaca tggctgggga ggctcaaaa tcatggcgga aggcaaagga 130680
 gaagcaaagg catttcttac atggcgacag gcaagagagc gtgtgcaggg gaactcccat 130740
 ttataaaacc atcagacctc atgagattta ttcactatca tgagaacagc atgggaaaga 130800
 cccgccccca tgattcagtt acctcccact gggteccctc catgacacat ggaattatgg 130860
 gagctacaat tcaagatgag atttgggtgg ggacacagcc aaaccatatac agtctccctc 130920
 tgtcatccag gctggagtgc actggcatga tctcggetca ctgcagcctc tacctccctg 130980
 ggtcagggtga tcttcccacc tcagcctccc aggtagctgg aactacaggt acctgccact 131040
 atgcctggct aaatatthtgg tatttctctgt ggagacgagg ttttgccacg ttgccaggc 131100
 tggctctgaa ctctgaggt caagcaatat gccacctcg gcctccaag gtgctgggat 131160
 tacagggtgtg agccacagtg ctcgccctaa gtactgcag tttttaaagc tcccagggtga 131220
 ttcttcagtg cagtcaaaaag tgagaactgg ctgggtgcgg tggctcatgc ctgtaatccc 131280
 agcaccttgg gaggcgaagg tgggcagatg gcttgaggtc aggagttcaa gaccagcctg 131340
 gccaacatgg taaaaccca tcttactaa aaatacaaaa gttagctggg tgtggtggtg 131400
 cgtgcctgta atcccagcta cttgggaggc tgaggcatga gaattgcttg aaccaggggg 131460
 acagagggtg tagtgagccg agatcgtgcc actgcactcc agcctgggca acagagttag 131520
 attccatctc acaaaaaaaaa aaaaaaaaaagc gagaaccact gtcctaggcc ctgatgtttg 131580
 caggcaacta aaaaaggaag tggacatccc cagtcagctg tggcgcacca agaacaagtc 131640
 atgggaacat aacctaattht tctaaatggg ttactaggca cttagagcaa aacaatgatg 131700
 ccgaaatcct gatttcagca aagcctctgc ctgcctgtct tggaaagtatc cacatgaggc 131760
 tgctggggcc ttggtgtccc cagcagtttc tagtctctag gtcttgctgt ggggtgtctgt 131820
 gcagtgaggg tgtgtgtggc gctgggtgag ctctgtctag gcctggcaca ggatgcggtc 131880
 tggtagctgc tgcttctctt ctgcagaagc gcagccaagc accctctggg gtttcaggcc 131940
 cacaccagc ctgaagttct gggagtggct cactttccaa cttcagggt ctcccagcag 132000
 ctgactgggg agtgggtggag ggaaaaggga ttgtattagt ccgttttcac gccgctgatg 132060
 aagacatacc cgatactggg cagtctaaaa gatagaggtc tgatggactc acagttccac 132120
 gtgactgggg aggctgaca atcatggtgg aaggtgaaag gcttgtctca cacggtggca 132180
 gacaagagaa aagagcttgt gcaggggaac tcccctttat aaaaccatca gatctcggga 132240
 gacttattca ctatcatgag aacagcacgg gaaagacct cctctatgat tcaattacct 132300
 cccaccaggc cctcccaca acatgtagga attgtgggaa ctacaattca agatgacatt 132360
 tgggtgggga cacagccaaa ccatatcagg gcgtcccaga aagggtatag ggtctgagac 132420

ccaagtcagc atgagaaagt atgcttctca tgggtggccca gttgggtgga agtggcagcc 132480
gggccgtctt tccaccaggc cactcaagta gcagctgaga gaccctgcc ctggccagtc 132540
cccgccctcc cctcttgcca ctgcctctgg ttctgaacag atgggcaccc tcatcttgta 132600
tttgtgatta atgtctaaca atgtagtttt gtgagaaggg tttgctgata cagccttgct 132660
gcagatgctg cgaactgtgg cctggggcag accttacctc cagacacgcc ctgaggcagg 132720
ggagggcact ggcccgtagc tggccgagag ctctcgggtt gcgcgacagg gatacttttc 132780
agcggctggg tcgctatcca aagtgagaaa acgaggaggg accaggaggc tgtccgcctc 132840
aagagatgtg ggggccaggt ccagttatct ggggaagcag taagcttctc tgctgtttct 132900
aaccaccaggc ctcccctggt ctaaggcagg gcctcccagc ctcggggcac tttaaagata 132960
tctgggcctg gcccacatcc cacagtctga ctgagtgggt ctggataggg cctgagcatt 133020
ggtgatttcc tgggtgaaaag gaggccctc acagtctctg gaagcttctc tgtgttagga 133080
aaagctctgg gcttgactct gctttgaaag tcaagatccg caaatctctc cagcctcagt 133140
ttctccttca gcaagatgaa atggaaatgc tgtacctag tcccggggtg gttgtgagac 133200
ccaaaaaaga caatgttctg gaaggttctt ggtgcgttgc agtctctctaa gaacctgagt 133260
tagagccacg ctgagtctca gcttcttggc tcttctgtt tcaaactcgt ccatgtgata 133320
gctcaggaag ggtaggcagg gcctgcccc ctactcagaa aacaccatcc tggctctggg 133380
gatccccgca gcattagtcc cctgttttcc cagtgtattg agaaaaattg ctaacaagca 133440
gtggggcaca ccaccagcct cctgggttcc tttcagtttg gggatttttg gacattccca 133500
ggaatgtctt aaaaaaact tcaaaaaaca ttaacataaa tatttttatc aaagcctgta 133560
ttaaatggtc tttcaagaaa atacagtaac aggtcaggca tgggtgctca tgctgtaac 133620
cccagcactt tgggaggcca aggcaggcag atcacctgaa atcaggagt caagaccaac 133680
ctggccaaca cagccaaatc ccatctctac aaaaaataca aaaattagct ggggtgtggtg 133740
gcacacacct gtagtcccag ctacttggga ggccgaggca ggagaattgc ttgatcccg 133800
aggcggagggt tgcagtgagc tgagatcgtg ccaactgcact ccagcgtggg tgacaaggtg 133860
aatctttgtc tcaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aagataaaat acagtataca gtaatagaga 133920
acaatccttt tttcaaagta gtgaccccaa atgaacaaaa tatgcatcta gcttaaatgc 133980
gaacctgggt ttctctacgc ccattcaagc cctgcaata ggggcccttc accccgcac 134040
catggactcc taaaattata tggaaaatgg ctgtgtgtga gtgtggatgg acatgtgcac 134100
acatattttt ggctttacca gatgctcaa gagcctagga ccaaaaagg gctgagaatg 134160
accgtgtcgg ccaactcagg gtcactcagga attgctgtgc actgctcact tctccagtga 134220
acactttctg cttctgtgtt tctggtatc ctttgggact cctggctagg tcatgtgttt 134280
ctctactttc aaaagggtt cagccaggca cgatggcatg agcctgtagt cccagttgct 134340
ctggaggtta aggtgggaag attgcttgag ccaggaatt tgaggccagc ctgggcaagt 134400
agataggtag atgattgata gatagataga tagataaata gatggataga taagtcgcta 134460
gacagtcatc catccacca tccacacata aaaaggcctt tgtcatgtca tgttttgtgg 134520
cccacctgcc agtgttgecc acagttgctg cccctccaaa ctcatcagtc actggcaaac 134580
aggaggaatg tgtggetcat gtctgggcat cagtggctgt gggagacatc cttgatcttc 134640
tccagcttct ccttccacat tttcctttgc aatctggcaa tatctattaa aataaaatgt 134700
gcatgccttt tgacctaaaga gcttcacttc taggaccac ttacacgtgt gtgacatgat 134760

gttcatacgg gtttatttat ctgaggttgt tcatacacac cattgcctgt aatcactaaa 134820
 ggccgggagca gcctacacat ccatccacag aggagtagat gccttttggg acatccgtgg 134880
 cgacggaata ctaagcagcc tgtgtatcta tacactcaca cgtgtttggt tatgtgtgga 134940
 atatctctgg agggtacaca agaaacttaa aatgatcact gtctctgggg aggggtacctg 135000
 ggtgcctggg aggcaggtca gggaaggagt gggcacaggt attaccaatt ggaagacaat 135060
 aaaaacaaca gtcctggcc aggcgcagt gctcacgcct gtaatggcag cactctgaga 135120
 ggctgaggcg ggcagattgc ttgcgtccag gagttcaaga ccagcctggg caacatagca 135180
 aaaccccgtt tctattaata atacaaaaa ttagccaggt gtggtggcat gcacctgtaa 135240
 tcccagctac tcgggaggt gaggtgggag aatcacctga gcctgggagg tcaaggctgc 135300
 agtgaggatga gattgtgcca ccgactcta gctgggca tagagcaaga ccctgtctca 135360
 aaaacaaaca aaaaacagtc cctggcactc tgggccaggc ctggcagggc agttggcagg 135420
 gctggtcttt ctctggcact tcattctacc ctccctcct tctcttctt gcagattgaa 135480
 acccacaagc tgaccttccg cgagaacgcc aaagccaaga cagaccaggg ggcggagatc 135540
 gtgtacaagt cgccagtggg gtctggggac acgtctccac ggcatctcag caatgtctcc 135600
 tccaccggca gcatcgacat ggtagactcg ccccagctcg ccacgctagc tgacgaggtg 135660
 tctgcctccc tggccaagca gggtttgtga tcaggccct ggggcggtca ataattgtgg 135720
 agaggagaga atgagagagt gtggaaaaa aaagaataat gaccggccc ccgccctctg 135780
 cccccagctg ctctcgcag ttcggttaat tggttaatca cttaacctgc ttttgtcact 135840
 cggctttggc tcgggacttc aaaatcagtg atgggagtaa gagcaaattt catctttcca 135900
 aattgatggg tgggctagta ataaaatatt taaaaaaaa cattcaaaa catggccaca 135960
 tccaacattt cctcaggcaa ttccttttga ttctttttt tccccctcc atgtagaaga 136020
 gggagaagga gaggctctga aagctgcttc tgggggattt caaggactg ggggtgcca 136080
 ccacctctgg ccctgttgtg ggggtgtcac agaggcagtg gcagcaaaa aggatttgaa 136140
 acttggtgtg ttcgtggagc cacaggcaga cgatgtcaac cttgtgtgag tgtgacgggg 136200
 gttgggggtg ggcgggaggc cacgggggag gccgaggcag gggctgggca gaggggagag 136260
 gaagcacaag aagtgggagt gggagaggaa gccacgtgct ggagagtaga catccccctc 136320
 cttgccgctg ggagagcaa ggcctatgcc acctgcagcg tctgagcggc cgcctgtcct 136380
 tgggtggccg ggggtggggc ctgctgtggg tcagtgtgcc accctctgca gggcagcctg 136440
 tgggagaagg gacagcgggt aaaaagagaa ggcaagctgg caggagggtg gcacttctgt 136500
 gatgacctcc ttagaaaaga ctgacctga tgtcttgaga gcgctggcct ctctctcct 136560
 ccctgcaggg tagggggcct gagttgagg gcttccctct gctccacaga aaccctgttt 136620
 tattgagttc tgaagtttg aactgctgcc atgattttg cacttttga gacctgggac 136680
 tttagggcta accagttctc tttgtaagga cttgtgctc ttgggagacg tccaccggtt 136740
 tccaagcctg ggccactggc atctctggag tgtgtggggg tctgggaggc aggtcccag 136800
 ccccctgtcc tccccaggc cactgcagtc acccgtctg ccccgtgtg ctgttgtctg 136860
 ccgtgagagc ccaatcactg cctatacccc tcatacacg tcacaatgtc ccgaattccc 136920
 agcctacca ccccttctca gtaatgacc tggttggtg caggaggtac ctactccata 136980
 ctgagggtga aattaaggga aggcaaagtc caggcacaag agtgggacc cagcctctca 137040
 ctctcagttc cactcatcca actgggacc tcaccacgaa tctcatgatc tgattcggtt 137100

ccctgtctcc tcctcccgtc acagatgtga gccagggcac tgctcagctg tgaccctagg 137160
tgtttctgcc ttgttgacat ggagagagcc ctttcccctg agaaggcctg gcccttctct 137220
gtgctgagcc cacagcagca ggctgggtgt cttggttgtc agtgggtggca ccaggatgga 137280
agggcaaggc acccagggca ggcccacagt cccgctgtcc cccacttgca ccctagcttg 137340
tagctgccaa cctcccagac agcccagccc gctgctcagc tccacatgca tagtatcagc 137400
cctccacacc cgacaaaagg gaacacacc cttggaaat ggttcttttc ccccagtccc 137460
agctggaagc catgctgtct gttctgctgg agcagctgaa catatacata gatgttgccc 137520
tgccctcccc atctgcaccc tgttgagttg tagttggatt tgtctgttta tgcttgatt 137580
caccagagtg actatgatag tgaaaagaaa aaaaaaaaaa aaaaaggacg catgtatctt 137640
gaaatgcttg taaagaggtt tctaaccac cctcacgagg tgtctctcac cccacactg 137700
ggactcgtgt ggctgtgtg gtgccacct gctggggcct cccaagttt gaaaggcttt 137760
cctcagcacc tgggacccaa cagagaccag cttctagcag ctaaggaggc cgttcagctg 137820
tgacgaaggc ctgaagcaca ggattaggac tgaagcgatg atgtcccctt ccctacttcc 137880
ccttggggct ccctgtgtca gggcacagac taggtcttgt ggctggctctg gcttgccggc 137940
cgaggatggt tctctctggt catagcccga agtctcatgg cagtcccaa ggaggcttac 138000
aactcctgca tcacaagaaa aaggaagcca ctgccagctg ggggatctg cagctcccag 138060
aagctccgtg agcctcagcc acccctcaga ctgggttctt ctccaagctc gccctctgga 138120
ggggcagcgc agcctcccac caaggccct gcgaccacag cagggattgg gatgaattgc 138180
ctgtcctgga tctgctctag aggcccaagc tgctgcctg aggaaggatg acttgacaag 138240
tcaggagaca ctgttccaa agccttgacc agagcacctc agcccgtga ccttgcaaa 138300
actccatctg ctgccatgag aaaaggaag ccgctttgc aaaacattgc tgcctaaaga 138360
aactcagcag cctcaggccc aattctgcca cttctggttt gggtacagt aaaggcaacc 138420
ctgagggact tggcagtaga aatccagggc ctcccctggg gctggcagct tcgtgtgcag 138480
ctagagcttt acctgaaagg aagtctctgg gccagaact ctccaccaag agcctccctg 138540
ccgttcgctg agtcccagca attctcctaa gttgaaggga tctgagaagg agaaggaaat 138600
gtggggtaga tttgggtggt gttagagata tgccccctc attactgcca acagtttcgg 138660
ctgcaatttct tcacgcacct cggttctct tctgaagtt cttgtgccct gctcttcagc 138720
accatgggcc ttcttatacg gaaggctctg ggatctccc cttgtggggc aggctcttg 138780
ggccagccta agatcatggt ttaggtgat cagtctggc agataaattg aaaaggcacg 138840
ctggcttgat atcttaaatg aggacaatc cccagggtt gggcactcct ccctcccct 138900
cacttctccc acctgcagag ccagtgtct tgggtgggt agataggata tactgtatgc 138960
cgctccttc aagetgctga ctcaatttat caatagtcc atttaaattg acttcagtgg 139020
tgagactgta tcctgtttgc tattgcttgt tgtctatgg ggggagggg gaggaatgtg 139080
taagatagtt aacatgggca aaggagatc ttgggtgca gcaactaac tgcctcgtaa 139140
cccttttcat gattcaacc acatttgcta gagggagga gcagccacgg agtttagaggc 139200
ccttgggggt tctcttttc actgacagc tttcccagc agctggctag ttcattccct 139260
cccagccag gtgcaggcgt aggaatatg acatctggtt gctttggcct gctgccctct 139320
ttcaggggtc ctaagcccac aatcatgct ccctaagacc ttggcatcct tccctctaa 139380
ccgttggcac ctctgtgcca cctctcacac tggctccaga cacacagcct gtgcttttg 139440

agctgagatc actcgttca ccctcctcat ctttgttctc caagtaaagc cacgaggtcg 139500
 gggcgagggc agaggtgac acctgcgtgt cccatctaca gacctgcagc ttcataaac 139560
 ttctgatttc tcttcagctt tgaagggt taccctgggc actggcctag agcctcacct 139620
 cctaatagac ttagcccat gagtttgcca tgttgagcag gactatttct ggcacttgca 139680
 agtcccatga tttcttcggt aattctgagg gtggggggag ggacatgaaa tcatcttagc 139740
 ttagctttct gtctgtgaat gtctatata tagtattgtgt gttttaacaa atgatttaca 139800
 ctgactgttg ctgtaaaagt gaatttgaa ataaagtat tactctgatt aaataaggtc 139860
 tccattcatg gattccaagg acaagaaagt catatagaat gtctatttt taagttcttt 139920
 cccacgcacc cttagataat ttagctcaga acaggaaatg atagtattaa taaaagctgg 139980
 acatcaggat taacagctct ctctggggcc ctgaaggatg gagttctcag acttgctcat 140040
 ttgcagttgc tctttgtga tgetggcaa ccatctagt ccattcaaa gggcaataca 140100
 aagccttggt gctgacctca cgatgcagca ctgagttgc aagaccgca ccagtgtatg 140160
 caaacctgag aaggttgggg atgaggatat gggatcttc atccctggaa atttagtcca 140220
 gaggcctggg gctggagcag aacaccaagc caatcagctt aatgaatggc ttagattcct 140280
 gctaggtttg cagagctgcc ttctttcett tggtaacctt ttatagattg aggagtattt 140340
 ctgctaaacc aagataggga taaccagata gcacttcat agcaatgcca caaaggaaaa 140400
 caaaaacaaa acagtaatcc atcatattat tccttagtaa ctatgccaag gtcatgatac 140460
 tgaatcctta gattgtttca aaatactact tttctttgct cttctgatg tgtttgccac 140520
 cgcaggcaga tgtttaagta aaacagattt taactgcagc taaaaagca gcaacaggcc 140580
 agcaaaagag aagtgtatc tcagagagca tggctttcag agccacaaga gacagcctca 140640
 ctggctgttt cagcttgact gccatgcaa gaagagagca gagggagaac cagccccacc 140700
 cacttattca tctgtacaa aaaaaagca cctaccagcc taggctacat agtgagacac 140760
 tatctccaca aaaaaccac gaaaactagc tgggtatggt ggcacatgcc tacagtccca 140820
 gctactggta aggctgtggt gggaggatct cttgaggcca ggaaggagat ccaggctgca 140880
 gtgagccaag attgcaccac tgcactccag tctggacaat cgagcaagat cccatctcaa 140940
 acaataaaaa aaaaaagcgt gtaacctcct cagaagaaag atgttataat ctcaggcagc 141000
 a 141001

<210> 2

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 2

cactgagaac ctgaagcacc

20

<210> 3

<211> 21

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>	
<223> 引物	
<400> 3	
ggactggacg ttgctaagat c	21
<210> 4	
<211> 26	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> Probe	
<400> 4	
ttaattatct gcacettecc gectec	26
<210> 5	
<211> 22	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 5	
ggataatatc aaacacgtcc cg	22
<210> 6	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 6	
tgccaatga gccacacttg	20
<210> 7	
<211> 24	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> Probe	
<400> 7	
gtctacaaac cagttgacct gage	24
<210> 8	
<211> 18	
<212> DNA	

<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 8	
cccgccctact tgctcgca	18
<210> 9	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 9	
tggacccgcc tacttget	18
<210> 10	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 10	
accctggacc cgcctact	18
<210> 11	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 11	
catgcgccac cctggacc	18
<210> 12	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 12	
gtgacatgcg ccaccctg	18
<210> 13	
<211> 18	

<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 13	
atgagtgaca tgcgccac	18
<210> 14	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 14	
ttcgatgagt gacatgcg	18
<210> 15	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 15	
cactttcgat gaggagaca	18
<210> 16	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 16	
cctccacttt cgatgagt	18
<210> 17	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 17	
gagcctcca ctttcgat	18
<210> 18	

<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 18	
caaggacgcc tccacttt	18
<210> 19	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 19	
ctcgcaagga cgctcca	18
<210> 20	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 20	
cttgctcgca aggacgcc	18
<210> 21	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 21	
cctgcttgct cgcaagga	18
<210> 22	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 22	
cccgcctgct tgctcgca	18

<210> 23	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 23	
tggacccgcc tgcttgct	18
<210> 24	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 24	
accctggacc cgcctgct	18
<210> 25	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 25	
cgccaccctg gacccgcc	18
<210> 26	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 26	
gacacgccac cctggacc	18
<210> 27	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 27	

gagtgacacg ccaccctg	18
<210> 28	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 28	
ggatgagtga cacgccac	18
<210> 29	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 29	
aaaaggatga gtgacacg	18
<210> 30	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 30	
agaaaaaagg atgagtga	18
<210> 31	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 31	
agccagaaaa aaggatga	18
<210> 32	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	

<400> 32	
tggtagccag aaaaaagg	18
<210> 33	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 33	
ttatcctttg agccacac	18
<210> 34	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 34	
gatattatcc tttgagcc	18
<210> 35	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 35	
gtttgatatt atcctttg	18
<210> 36	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 36	
acgtgtttga tattatcc	18
<210> 37	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	

<223> 合成寡核苷酸	
<400> 37	
cgggacgtgt ttgatatt	18
<210> 38	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 38	
ctcccgggac gtgtttga	18
<210> 39	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 39	
ccgcctcccg ggacgtgt	18
<210> 40	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 40	
actgccgcct cccgggac	18
<210> 41	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 41	
tcacactgcc gcctcccg	18
<210> 42	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	

<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 42	
gtactcacac tgccgcct	18
<210> 43	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 43	
gaaggtaactc acaactgcc	18
<210> 44	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 44	
gtgtgaaggt actcacac	18
<210> 45	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 45	
ggacgtgtga aggtactc	18
<210> 46	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 46	
catgggacgt gtgaaggt	18
<210> 47	
<211> 18	
<212> DNA	

<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 47	
ggcgcgatggg acgtgtga	18
<210> 48	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 48	
gcacggcgca tgggacgt	18
<210> 49	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 49	
cacagcacgg cgcgatggg	18
<210> 50	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 50	
aagccacagc acggcgca	18
<210> 51	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 51	
attcaagcca cagcacgg	18
<210> 52	
<211> 18	

<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 52	
aataattcaa gccacagc	18
<210> 53	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 53	
tcctaataat tcaagcca	18
<210> 54	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 54	
cacttcctaa taattcaa	18
<210> 55	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 55	
acaccacttc ctaataat	18
<210> 56	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 56	
actcacacca cttcctaa	18
<210> 57	

<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 57	
gtgtacgcac tcacacca	18
<210> 58	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 58	
gcaagtgtac gcactcac	18
<210> 59	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 59	
tctcgcaagt gtacgcac	18
<210> 60	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 60	
agtgtctcgc aagtgtac	18
<210> 61	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 61	
atgcagtgtc tcgcaagt	18

<210> 62	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 62	
ttctatgcag tgtctcgc	18
<210> 63	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 63	
tttattctat gcagtgtc	18
<210> 64	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 64	
aggatttatt ctatgcag	18
<210> 65	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 65	
aagaaggatt tattctat	18
<210> 66	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 66	

gccaagaag gatttatt	18
<210> 67	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 67	
gagagcccaa gaaggatt	18
<210> 68	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 68	
tcctgagagc ccaagaag	18
<210> 69	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 69	
cagatcctga gagcccaa	18
<210> 70	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 70	
cctttggtag ccagaaaa	18
<210> 71	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	

<400> 71	
tgcacctttg gtagccag	18
<210> 72	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 72	
taattatctg cacctttg	18
<210> 73	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 73	
ttcttaatta tctgcacc	18
<210> 74	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 74	
cttcttctta attatctg	18
<210> 75	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 75	
ccagcttctt cttaatta	18
<210> 76	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	

<223> 合成寡核苷酸	
<400> 76	
agatccagct tcttctta	18
<210> 77	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 77	
gctaagatcc agcttctt	18
<210> 78	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 78	
cgttgctaag atccagct	18
<210> 79	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 79	
tggacgttgc taagatcc	18
<210> 80	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 80	
ggactggacg ttgctaag	18
<210> 81	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	

<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 81	
acttggactg gacgttgc	18
<210> 82	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 82	
ccacacttgg actggacg	18
<210> 83	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 83	
tgagccacac ttggactg	18
<210> 84	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 84	
aaaaaggatg agtgacac	18
<210> 85	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 85	
aaaaaaggat gagtgaca	18
<210> 86	
<211> 18	
<212> DNA	

<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 86	
gaaaaaagga tgagtgac	18
<210> 87	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 87	
cagaaaaaag gatgagtg	18
<210> 88	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 88	
ccagaaaaaa ggatgagt	18
<210> 89	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 89	
gccagaaaaa aggatgag	18
<210> 90	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 90	
tagccagaaa aaaggatg	18
<210> 91	
<211> 18	

<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 91	
gtagccagaa aaaaggat	18
<210> 92	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 92	
gtagccaga aaaaagga	18
<210> 93	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 93	
ttgtagcca gaaaaaag	18
<210> 94	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 94	
tttggtagcc agaaaaaa	18
<210> 95	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 95	
ctttgtagc cagaaaaa	18
<210> 96	

<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 96	
acctttggta gccagaaa	18
<210> 97	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 97	
cacctttggt agccagaa	18
<210> 98	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 98	
gcacctttgg tagccaga	18
<210> 99	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 99	
ctgcaccttt gtagcca	18
<210> 100	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 100	
tctgcacctt tgtagcc	18

<210> 101	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 101	
atctgcacct ttggtagc	18
<210> 102	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 102	
tatctgcacc tttggtag	18
<210> 103	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 103	
ttatctgcac ctttggta	18
<210> 104	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 104	
attatctgca cctttggt	18
<210> 105	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 105	

aattatctgc acctttgg	18
<210> 106	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 106	
ttaattatct gcaccttt	18
<210> 107	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 107	
attaattatc tgcacctt	18
<210> 108	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 108	
tattaattat ctgcacct	18
<210> 109	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 109	
ttattaatta tctgcacc	18
<210> 110	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	

<400> 110	
cttattaatt atctgcac	18
<210> 111	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 111	
tcttattaat tatctgca	18
<210> 112	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 112	
ttcttattaa ttatctgc	18
<210> 113	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 113	
cttcttatta attatctg	18
<210> 114	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 114	
gcttcttatt aattatct	18
<210> 115	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	

<223> 合成寡核苷酸	
<400> 115	
agcttcttat taattatc	18
<210> 116	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 116	
cagcttctta ttaattat	18
<210> 117	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 117	
ccagcttctt attaatta	18
<210> 118	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 118	
tccagcttct tattaatt	18
<210> 119	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 119	
atccagcttc ttattaat	18
<210> 120	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	

<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 120	
gatccagctt cttattaa	18
<210> 121	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 121	
agatccagct tcttatta	18
<210> 122	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 122	
aagatccagc ttcttatt	18
<210> 123	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 123	
taagatccag cttcttat	18
<210> 124	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 124	
ctaagatcca gcttctta	18
<210> 125	
<211> 18	
<212> DNA	

<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 125	
tgctaagatc cagcttct	18
<210> 126	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 126	
ttgctaagat ccagcttc	18
<210> 127	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 127	
gttgctaaga tccagctt	18
<210> 128	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 128	
acgttgctaa gatccagc	18
<210> 129	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 129	
gacgttgcta agatccag	18
<210> 130	
<211> 18	

<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 130	
ggacgttgct aagatcca	18
<210> 131	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 131	
ctggacgttg ctaagatc	18
<210> 132	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 132	
actggacggtt gctaagat	18
<210> 133	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 133	
gactggacgt tgctaaga	18
<210> 134	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 134	
tggactggac gttgctaa	18
<210> 135	

<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 135	
ttggactgga cgttgcta	18
<210> 136	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 136	
cttggactgg acgttgct	18
<210> 137	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 137	
cacttggact ggacgttg	18
<210> 138	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 138	
acacttggac tggacgtt	18
<210> 139	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 139	
cacacttgga ctggacgt	18

<210> 140	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 140	
gccacacttg gactggac	18
<210> 141	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 141	
agccacactt ggactgga	18
<210> 142	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 142	
gagccacact tggactgg	18
<210> 143	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 143	
ttgagccaca cttggact	18
<210> 144	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 144	

tttgagccac acttgac	18
<210> 145	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 145	
ctttgagcca cacttgga	18
<210> 146	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 146	
cctttgagcc acacttgg	18
<210> 147	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 147	
tcctttgagc cacacttg	18
<210> 148	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 148	
atcctttgag ccacactt	18
<210> 149	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	

<400> 149	
tatcctttga gccacact	18
<210> 150	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 150	
attatccttt gagccaca	18
<210> 151	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 151	
tattatcctt tgagccac	18
<210> 152	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 152	
atattatcct ttgagcca	18
<210> 153	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 153	
tgatattatc ctttgagc	18
<210> 154	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	

<223> 合成寡核苷酸	
<400> 154	
ttgatattat cctttgag	18
<210> 155	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 155	
tttgatatta tcctttga	18
<210> 156	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 156	
tgtttgatat tatccttt	18
<210> 157	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 157	
gtgtttgata ttatcctt	18
<210> 158	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 158	
cgtgtttgat attatcct	18
<210> 159	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	

<220>		
<223> 合成寡核苷酸		
<400> 159		
gacgtgtttg atattatc		18
<210> 160		
<211> 18		
<212> DNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成寡核苷酸		
<400> 160		
ggacgtgttt gatattat		18
<210> 161		
<211> 18		
<212> DNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成寡核苷酸		
<400> 161		
gggacgtggt tgatatta		18
<210> 162		
<211> 18		
<212> DNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成寡核苷酸		
<400> 162		
ccgggacgtg tttgatat		18
<210> 163		
<211> 18		
<212> DNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成寡核苷酸		
<400> 163		
cccgggacgt gtttgata		18
<210> 164		
<211> 18		
<212> DNA		

<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 164	
tcccgggacg tgtttgat	18
<210> 165	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 165	
cactgccgcc tcccggga	18
<210> 166	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 166	
acactgccgc ctcccggg	18
<210> 167	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 167	
cacactgccg cctcccgg	18
<210> 168	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 168	
ctcacactgc cgctccc	18
<210> 169	
<211> 18	

<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 169	
actcacactg ccgcctcc	18
<210> 170	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 170	
tactcacact gccgcctc	18
<210> 171	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 171	
ggtactcaca ctgccgcc	18
<210> 172	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 172	
aggtactcac actgccgc	18
<210> 173	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 173	
aaggtactca cactgccg	18
<210> 174	

<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 174	
tgaaggtact cacactgc	18
<210> 175	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 175	
gtgaaggtag tcacactg	18
<210> 176	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 176	
tgtgaaggta ctcacact	18
<210> 177	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 177	
cgtgtgaagg tactcaca	18
<210> 178	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 178	
acgtgtgaag gtactcac	18

<210> 179	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 179	
gacgtgtgaa ggtactca	18
<210> 180	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 180	
gggacgtgtg aaggtact	18
<210> 181	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 181	
tgggacgtgt gaaggtac	18
<210> 182	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 182	
atgggacgtg tgaaggta	18
<210> 183	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 183	

gcatgggacg tgtgaagg	18
<210> 184	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 184	
cgcatgggac gtgtgaag	18
<210> 185	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 185	
gcgcatggga cgtgtgaa	18
<210> 186	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 186	
cggcgcatgg gacgtgtg	18
<210> 187	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 187	
acggcgcatg ggacgtgt	18
<210> 188	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	

<400> 188	
cacggcgcat gggacgtg	18
<210> 189	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 189	
agcacggcgc atgggacg	18
<210> 190	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 190	
cagcacggcg catgggac	18
<210> 191	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 191	
acagcacggc gcatggga	18
<210> 192	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 192	
atcctgagag cccaagaa	18
<210> 193	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	

<223> 合成寡核苷酸	
<400> 193	
gatcctgaga gcccaaga	18
<210> 194	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 194	
agatcctgag agcccaag	18
<210> 195	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 195	
ccagatcctg agagccca	18
<210> 196	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 196	
gccagatcct gagagccc	18
<210> 197	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 197	
agccagatcc tgagagcc	18
<210> 198	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 人工序列	

<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 198	
ugaagguacu cacacugccg c	21
<210> 199	
<211> 18	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 199	
uaucugcacc uuugguag	18
<210> 200	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 200	
tcttattaat tatctgcacc	20
<210> 201	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 201	
acgcactcac accacttc	18
<210> 202	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 202	
cgctacttg ctcgcaag	18
<210> 203	
<211> 18	
<212> DNA	

<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 203	
gacccgccta cttgctcg	18
<210> 204	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 204	
gacccgcctg cttgctcg	18
<210> 205	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 205	
cctggacccg cctgcttg	18
<210> 206	
<211> 18	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 206	
cgccuacuug cucgcaag	18
<210> 207	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<220>	
<221> misc_feature	
<222> (17) .. (17)	
<223> 这些位置上的碱基为DNA	

<400> 207	
ccuggacccg ccugcutg	18
<210> 208	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<220>	
<221> misc_feature	
<222> (1) .. (1)	
<223> 这些位置上的碱基为DNA	
<400> 208	
tgauauuauc cuuugagc	18
<210> 209	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<220>	
<221> misc_feature	
<222> (1) .. (2)	
<223> 这些位置上的碱基为DNA	
<400> 209	
ttgauauuau ccuuugag	18
<210> 210	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<220>	
<221> misc_feature	
<222> (1) .. (2)	
<223> 这些位置上的碱基为DNA	
<400> 210	
ttugauauua uccuuuga	18
<210> 211	

<211> 18	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 211	
cacuuccuaa uaauucaaa	18
<210> 212	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<220>	
<221> misc_feature	
<222> (18) .. (18)	
<223> 这些位置上的碱基为DNA	
<400> 212	
acaccacuuc cuaauaat	18
<210> 213	
<211> 18	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 213	
acucacacca cuuccuaa	18
<210> 214	
<211> 18	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 214	
cccgccuacu ugcucgca	18
<210> 215	
<211> 18	
<212> RNA	
<213> 人工序列	

<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 215	
gacccgccua cuugcucg	18
<210> 216	
<211> 18	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 216	
gacccgccug cuugcucg	18
<210> 217	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<220>	
<221> misc_feature	
<222> (1) .. (1)	
<223> 这些位置上的碱基为DNA	
<220>	
<221> misc_feature	
<222> (18) .. (18)	
<223> 这些位置上的碱基为DNA	
<400> 217	
tggacccgcc ugcugct	18
<210> 218	
<211> 20	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 218	
ucuuauuaau uaucgcacc	20
<210> 219	
<211> 20	
<212> DNA	

<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 219	
cactgagaac ctgaagcacc	20
<210> 220	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 220	
gttgctaaga tccagcttct t	21
<210> 221	
<211> 26	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> Probe	
<400> 221	
ttaattatct gcaccttccc gcctcc	26
<210> 222	
<211> 22	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 222	
aatatcaaac acgtcccggg ag	22
<210> 223	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 223	
tgcctaata ga gccacacttg	20
<210> 224	
<211> 24	

<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> Probe	
<400> 224	
gtctacaaac cagttgacct gage	24
<210> 225	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 225	
aagattgggt ccctggacaa t	21
<210> 226	
<211> 26	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 226	
agcttgtggg tttcaatctt tttatt	26
<210> 227	
<211> 19	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> Probe	
<400> 227	
cacccacgtc cctggcgga	19
<210> 228	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 228	
ggcaaattca acggcacagt	20
<210> 229	

<211> 20	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 229	
gggtctcgct cctggaagat	20
<210> 230	
<211> 27	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> Probe	
<400> 230	
aaggccgaga atgggaagct tgtcatc	27
<210> 231	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 231	
ccagcttctt attaattatc	20
<210> 232	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成寡核苷酸	
<400> 232	
taagatccag cttcttatta	20

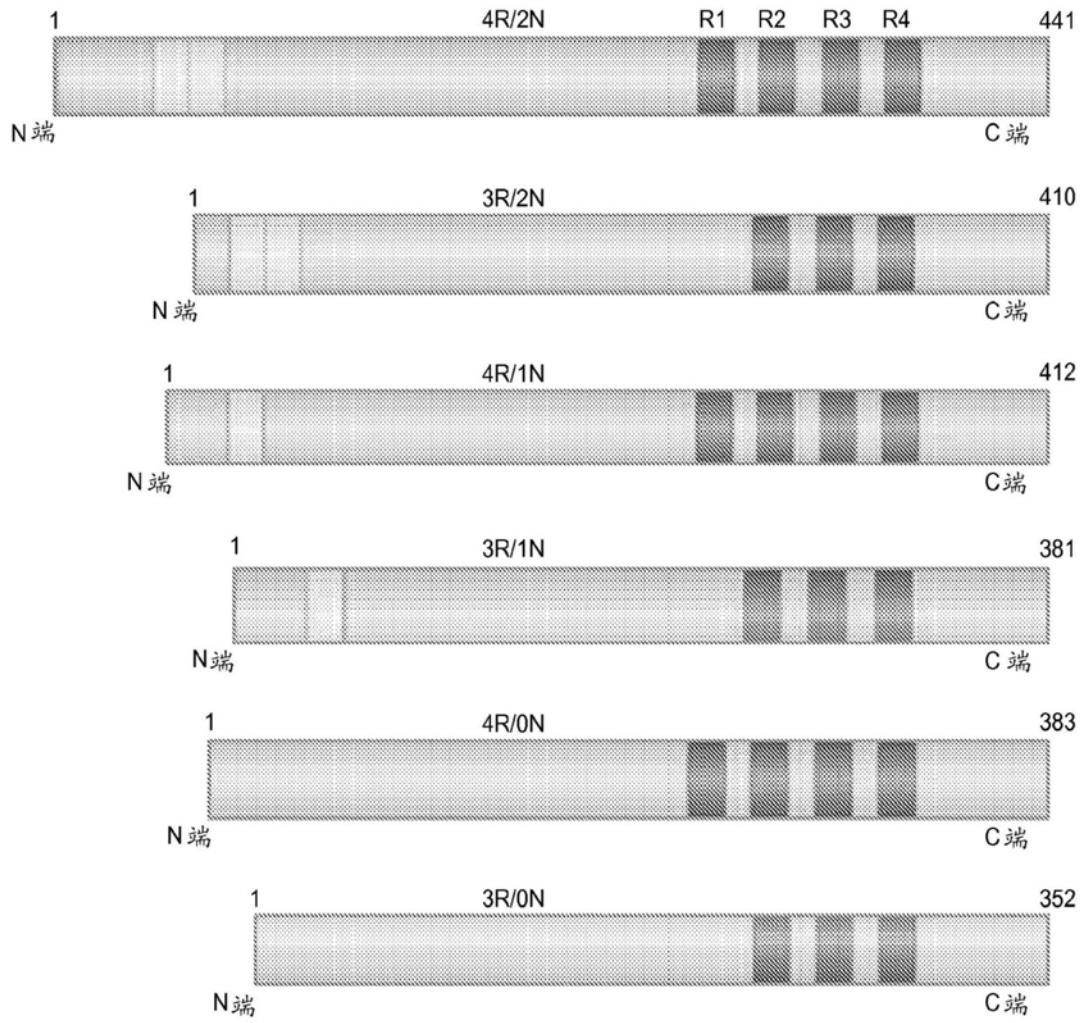


图1