

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2025-512709

(P2025-512709A)

(43)公表日 令和7年4月22日(2025.4.22)

(51)国際特許分類	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 15/113 (2010.01)	C 1 2 N 15/113 1 3 0 Z	4 C 0 8 4
C 1 2 N 15/864 (2006.01)	C 1 2 N 15/864 1 0 0 Z	4 C 0 8 6
C 1 2 N 15/867 (2006.01)	C 1 2 N 15/867 Z Z N A	4 C 0 8 7
A 6 1 K 31/7088 (2006.01)	A 6 1 K 31/7088	
A 6 1 K 35/76 (2015.01)	A 6 1 K 35/76	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全69頁) 最終頁に続く		

(21)出願番号	特願2024-553306(P2024-553306)	(71)出願人	501315876
(86)(22)出願日	令和5年3月7日(2023.3.7)		ユニバーシティ オブ コネチカット
(85)翻訳文提出日	令和6年10月28日(2024.10.28)		アメリカ合衆国 コネチカット 0 6 0 3
(86)国際出願番号	PCT/US2023/014679		2, ファーミントン, ファーミントン
(87)国際公開番号	WO2023/172534		アベニュー 4 0 0
(87)国際公開日	令和5年9月14日(2023.9.14)	(71)出願人	516365758
(31)優先権主張番号	63/317,154		オービッド・セラピューティクス・イン
(32)優先日	令和4年3月7日(2022.3.7)		コーポレイテッド
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		O v i d T h e r a p e u t i c s I
			n c .
(81)指定国・地域	AP(BW,CV,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV	(74)代理人	100129791
	最終頁に続く		弁理士 川本 真由美
			最終頁に続く

(54)【発明の名称】 アンジェルマン症候群における父方由来UBE3A遺伝子発現を回復させるためのUBE3A-ATSを標的とするshRNA

(57)【要約】

本明細書は、ショートヘアピンRNAのウイルスベクター送達を用いて、アンジェルマン症候群におけるUBE3Aの父方由来遺伝対立遺伝子からの発現を活性化するための組成物および方法を提供する。本明細書は、ショートヘアピンRNAのウイルスベクター送達を用いて、アンジェルマン症候群におけるUBE3A-ATSの発現を減少または除去するための組成物および方法を提供する。

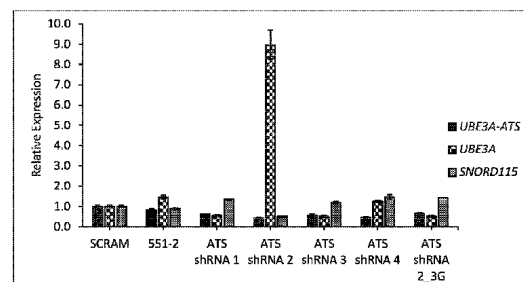


FIG. 4

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

【化 1】

5'-GATATCACCTTACAGAAATTACTCGAGTAATTTCTGTAAGGTGATATC-3'

(配列番号 2) を含むポリヌクレオチド配列。

【請求項 2】

請求項 1 に記載のポリヌクレオチド配列を含む発現ベクター。

【請求項 3】

プロモーターをさらに含む、請求項 2 に記載の発現ベクター。

【請求項 4】

プロモーターがニューロン特異的プロモーターである、請求項 3 に記載の発現ベクター。

【請求項 5】

ニューロン特異的プロモーターが、ニューロン特異的エノラーゼ (NSE)、シナプシン I (Syn)、または Ca^{2+} /CaM 活性化プロテインキナーゼ II α (CaMKII α) である、請求項 4 に記載の発現ベクター。

【請求項 6】

プロモーターが、U6 プロモーターまたは H1 プロモーターである、請求項 3 に記載の発現ベクター。

【請求項 7】

発現ベクターが、アデノ随伴ウイルス (AAV) ベクターまたはレンチウイルスベクターである、請求項 2 に記載の発現ベクター。

【請求項 8】

発現ベクターが、AAV1、AAV2、AAV3、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9 または AAV10 である、請求項 7 に記載の発現ベクター。

【請求項 9】

請求項 1 に記載のポリヌクレオチド配列および薬学的に許容される担体を含む、医薬組成物。

【請求項 10】

ポリヌクレオチド配列が発現ベクター内に含まれる、請求項 9 に記載の医薬組成物。

【請求項 11】

発現ベクターが AAV ベクターまたはレンチウイルスベクターである、請求項 10 に記載の医薬組成物。

【請求項 12】

配列番号 3 ~ 489 のいずれかによってコードされる RNA と少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 % または 100 % 相補的なヌクレオチド配列を含む shRNA をコードするポリヌクレオチド。

【請求項 13】

ポリヌクレオチドが配列番号 2 である、請求項 12 に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 14】

shRNA が、父方由来 UBE3A の発現の活性化または発現の増加を引き起こす、請求項 12 に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 15】

shRNA が、父方由来 UBE3A-ATS の発現の減少を引き起こす、請求項 12 に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 16】

請求項 12 に記載のポリヌクレオチドおよびプロモーターを含む、発現ベクター。

【請求項 17】

10

20

30

40

50

プロモーターがニューロン特異的プロモーターである、請求項 14 に記載の発現ベクター。

【請求項 18】

ニューロン特異的プロモーターが、ニューロン特異的エノラーゼ (NSE)、シナプシン I (Syn)、または Ca^{2+} / CaM 活性化プロテインキナーゼ II α (CaMKII α) である、請求項 17 に記載の発現ベクター。

【請求項 19】

プロモーターが U6 プロモーターまたは H1 プロモーターである、請求項 16 に記載の発現ベクター。

【請求項 20】

発現ベクターがアデノ随伴ウイルス (AAV) ベクターまたはレンチウイルスベクターである、請求項 16 に記載の発現ベクター。

【請求項 21】

発現ベクターが AAV1、AAV2、AAV3、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9 または AAV10 である、請求項 20 に記載の発現ベクター。

【請求項 22】

ポリヌクレオチドが DNA ポリヌクレオチドである、請求項 16 に記載の発現ベクター。

【請求項 23】

請求項 12 に記載のポリヌクレオチド配列および薬学的に許容される担体を含む、医薬組成物。

【請求項 24】

ポリヌクレオチド配列が発現ベクター内に含まれる、請求項 23 に記載の医薬組成物。

【請求項 25】

発現ベクターが AAV ベクターまたはレンチウイルスベクターである、請求項 24 に記載の医薬組成物。

【請求項 26】

アンジェルマン症候群を処置する方法であって、それを必要とする患者に請求項 1 に記載のポリヌクレオチドを投与することを含む、方法。

【請求項 27】

ポリヌクレオチドが、父方由来 UBE3A-ATS の発現の減少を引き起こす shRNA をコードする、請求項 26 に記載のアンジェルマン症候群の処置方法。

【請求項 28】

ポリヌクレオチドが、父方由来 UBE3A 遺伝子の発現の活性化または発現の増加を引き起こす shRNA をコードする、請求項 26 に記載のアンジェルマン症候群の処置方法。

【請求項 29】

請求項 12 に記載のポリヌクレオチドを、それを必要とする患者に投与することを含む、アンジェルマン症候群の処置方法。

【請求項 30】

ポリヌクレオチドが、父方由来 UBE3A-ATS の発現の減少を引き起こす shRNA をコードする、請求項 29 に記載のアンジェルマン症候群の処置方法。

【請求項 31】

ポリヌクレオチドが、父方由来 UBE3A 遺伝子の発現の活性化または発現の増加を引き起こす shRNA をコードする、請求項 29 に記載のアンジェルマン症候群の処置方法。

【請求項 32】

shRNA をコードする配列番号 2 を含むポリヌクレオチドであって、該 shRNA が、父方由来 UBE3A のサイレンシングを阻害できる、ポリヌクレオチド。

【請求項 33】

配列番号 1 によりコードされる RNA アンチセンス転写産物による父方由来 UBE3A 遺伝子のサイレンシングを阻害する方法であって、それを必要とする患者に、配列番号 1 によりコードされる RNA アンチセンス転写産物を切断するのに有効な量の shRNA をコードする請求項 1 に記載のポリヌクレオチドを投与することを含む、方法。

【請求項 3 4】

ポリヌクレオチドが発現ベクター内に含まれる、請求項 3 3 に記載の方法。

【請求項 3 5】

発現ベクターが AAV ベクターまたはレンチウイルスベクターである、請求項 3 4 に記載の方法。

【請求項 3 6】

ポリヌクレオチドが患者の脳に投与される、請求項 3 3 に記載の方法。

【請求項 3 7】

ポリヌクレオチドが患者のニューロンに投与される、請求項 3 3 に記載の方法。

【請求項 3 8】

shRNA が、配列番号 1 の配列を含むポリヌクレオチドの転写を減少または終結させる、請求項 3 3 に記載の方法。

【請求項 3 9】

shRNA が、配列番号 1 によりコードされる RNA アンチセンス転写物のレベルを減少させる、請求項 3 3 に記載の方法。

【請求項 4 0】

配列番号 1 によりコードされる RNA アンチセンス転写物による父方由来 UBE3A 遺伝子のサイレンシングを阻害する方法であって、それを必要とする患者に、配列番号 1 によりコードされる RNA アンチセンス転写物を切断するのに有効な量の shRNA をコードする請求項 1 2 に記載のポリヌクレオチドを投与することを含む、方法。

【請求項 4 1】

ポリヌクレオチドが発現ベクター内に含まれる、請求項 4 0 に記載の方法。

【請求項 4 2】

発現ベクターが AAV ベクターまたはレンチウイルスベクターである、請求項 4 1 に記載の方法。

【請求項 4 3】

ポリヌクレオチドが患者の脳に投与される、請求項 4 0 に記載の方法。

【請求項 4 4】

ポリヌクレオチドが患者のニューロンに投与される、請求項 4 0 に記載の方法。

【請求項 4 5】

shRNA が、配列番号 1 の配列を含むポリヌクレオチドの転写を減少または終結させる、請求項 4 0 に記載の方法。

【請求項 4 6】

shRNA が、配列番号 1 によりコードされる RNA アンチセンス転写物のレベルを減少させる、請求項 4 0 に記載の方法。

【請求項 4 7】

アンジェルマン症候群を処置するのに用いるための、父方由来 UBE3A を活性化するのに用いるための、または配列番号 1 によってコードされる RNA アンチセンス転写物による父方由来 UBE3A 遺伝子のサイレンシングを阻害するのに用いるための、請求項 1 に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 4 8】

アンジェルマン症候群を処置するために用いるための、父方由来 UBE3A を活性化するために用いるための、または配列番号 1 によってコードされる RNA アンチセンス転写物による父方由来 UBE3A 遺伝子のサイレンシングを阻害するのに用いるための、請求項 1 2 に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 4 9】

10

20

30

40

50

配列番号 1 によりコードされる RNA アンチセンス転写物による、父方由来の UBE3A の活性化、または父方由来の UBE3A 遺伝子のサイレンシングの阻害のための、アンジェルマン症候群の処置のための医薬の製造における、請求項 1 に記載のポリヌクレオチドの使用。

【請求項 50】

配列番号 1 によりコードされる RNA アンチセンス転写物による、父方由来 UBE3A の活性化、または父方由来 UBE3A 遺伝子のサイレンシングの阻害のための、アンジェルマン症候群の処置のための医薬の製造における、請求項 12 に記載のポリヌクレオチドの使用。

【請求項 51】

配列番号 2 の一部によりコードされる shRNA であって、配列番号 2 の一部が、太字のヌクレオチドにより定義される第 1 のセグメントであって、該第 1 のセグメントのいずれかの末端において 1 ヌクレオチド、2 ヌクレオチド、3 ヌクレオチドまたは 4 ヌクレオチド短縮された第 1 のセグメントと、イタリック体のヌクレオチドにより定義される第 2 のセグメントであって、該イタリック体のヌクレオチドのいずれかの末端において 1 ヌクレオチド、2 ヌクレオチドまたは 3 ヌクレオチド短縮された第 2 のセグメントとを規定する、shRNA。

【請求項 52】

前記 shRNA が、配列番号 494、配列番号 495、配列番号 496、配列番号 497、配列番号 498、配列番号 499、配列番号 500 または配列番号 501 によってコードされる、請求項 51 に記載の shRNA。

【請求項 53】

【化 2】

5'-GATATCACCTTACAGAAATTAnnnnnnnnTAATTTCTGTAAGGTGATATC-3'

(配列番号 506) を含むポリヌクレオチド配列であって、ここで、nnnnnnnn は、CTCGAG (配列番号 490)、TCAAGAG (配列番号 491)、TTCG (配列番号 492) または GAAGCTTG (配列番号 493) であり得る、ポリヌクレオチド配列。

【請求項 54】

第 1 の部分、第 2 の部分および第 3 の部分を含むポリヌクレオチド配列であって、第 1 の部分は配列番号 3 ~ 489 のいずれかを含み、第 2 の部分は配列番号 490、491、492 または 493 のいずれかを含み、そして第 3 の部分は、配列番号 3 ~ 489 のヌクレオチド配列に相補的なヌクレオチド配列をそれぞれ含む、ポリヌクレオチド配列。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本出願は、2022 年 3 月 7 日に提出された米国仮出願第 63 / 317,154 号に対する利益および優先権を主張するものであり、その内容全体が引用により本明細書に包含される。

【0002】

政府支援の通知

本発明は、米国国立衛生研究所から授与された助成金番号 1R01HD094953 の政府支援を受けて行われた。米国政府は本発明に対して一定の権利を有する。

【0003】

技術分野

本開示は、ショートヘアピン RNA を用いて、アンジェルマン症候群を有する対象において UBE3A の父方由来対立遺伝子からの発現を活性化するための組成物および方法に

10

20

30

40

50

関する。

【0004】

配列表の引用

本明細書に記載された配列に対応する配列表が提出される。

【背景技術】

【0005】

背景

アンジェルマン症候群（AS）は神経発達障害であり、15,000人に1人の割合で発症する。ASを有する個体は、発達の遅れ、重度の認知障害、失調性歩行、頻繁な発作、注意力の欠如、発語の欠如、および特徴的な楽しげな態度を有する。AS患者由来の人工多能性幹細胞（iPSC）由来の神経細胞は、脱分極した静止膜電位、活動電位の発達遅延、自発的シナプス活性の低下を示す。Fink, J. J., T. M. Robinson, N. D. Germain, C. L. Sirois, K. A. Bolduc, A. J. Ward, F. Rigo, S. J. Chamberlain and E. S. Levine (2017). “Disrupted neuronal maturation in Angelman syndrome-derived induced pluripotent stem cells.” *Nat Commun* 8: 15038。ASは比較的多くの患者集団に影響を及ぼしており、3,000人以上の患者を登録するレジストリが設立され、毎年約250人の患者が新たにASと診断されている。ASを有する個体は生涯にわたるケアが必要である。

10

【0006】

ASは、E3ユビキチンリガーゼをコードする遺伝子UBE3Aの母方コピーの機能喪失によって引き起こされる。この機能喪失変異は、母方対立遺伝子のいかなる遺伝子変異によっても起こり得る。UBE3Aは神経細胞では母方の対立遺伝子からのみ発現される。すべてのASを有する個体は、UBE3Aアンチセンス転写産物（UBE3A-ATS）と呼ばれる長いノンコーディングRNAによって、エピジェネティックにニューロンにおいてシスでサイレンシングされた正常な父方由来UBE3A対立遺伝子を有する（Rougeulle, et al., 1997, *Nat Genet* 17, 14-15; Chamberlain and Brannan, 2001, *Genomics*, 73, 316-322）。父方由来対立遺伝子を再活性化すると、ASマウスモデルにおいてUBE3Aタンパク質の発現が回復し、行動障害が緩和されることが示されている。ヒトでUBE3Aの発現が回復すれば、特に乳幼児で回復すれば、疾患の改善が期待される。

20

30

【発明の概要】

【0007】

概要

本明細書に提供されるのは、父方由来UBE3Aのサイレンシングを阻害し、父方由来UBE3Aの天然制御エレメントからの発現を可能にすることにより、欠損した母方由来UBE3Aを置換または増強する、アンジェルマン症候群の新規治療法である。ニューロンにおけるUBE3Aの発現増加は、UBE3A-ATSの転写を終結させることによって達成される。天然制御エレメントが発現を制御しているため、UBE3Aの過剰発現は阻止されている。本アプローチは、1回の処置でASの症状を改善し、複数回の処置の必要性をなくすることができる。

40

【0008】

本明細書に提供されるのは、以下を含むポリヌクレオチド配列である：

【化1】

5'-GATATCACCTTACAGAAATTACTCGAGTAATTTCTGTAAGGTGATATC-3'

（配列番号2）。配列番号2を含む発現ベクターを提供する。一態様では、発現ベクターはアデノ随伴ウイルス（AAV）ベクターまたはレンチウイルスベクターである。上記を含む医薬組成物を提供する。

【0009】

50

本明細書に提供されるのは、配列番号 3～489 のいずれかによってコードされる RNA と少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、または 100 % 相補的なヌクレオチド配列を含む shRNA をコードするポリヌクレオチドである。一態様では、ポリヌクレオチドは配列番号 2 である。一態様において、該 shRNA は、父方由来 UBE3A の発現の活性化、または発現の増加を引き起こす。一態様において、該 shRNA は、父方由来 UBE3A-ATS の発現の減少を引き起こす。該 shRNA を含む発現ベクターが提供される。一態様では、発現ベクターはアデノ随伴ウイルス (AAV) ベクターまたはレンチウイルスベクターである。上記を含む医薬組成物が提供される。

【0010】

本明細書に提供されるのは、配列番号 2 のポリヌクレオチドをそれを必要とする患者に投与することを含む、アンジェルマン症候群を処置する方法である。一態様において、配列番号 2 のポリヌクレオチドは、父方由来 UBE3A-ATS の発現の減少を引き起こす shRNA をコードする。一態様において、配列番号 2 のポリヌクレオチドは、父方由来 UBE3A 遺伝子の発現の活性化または発現の増加を引き起こす shRNA をコードする。

10

【0011】

本明細書に提供されるのは、配列番号 3～489 のいずれかによってコードされる RNA と少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、または 100 % 相補的なヌクレオチド配列を含む shRNA をコードするポリヌクレオチドを、それを必要とする患者に投与することを含む、アンジェルマン症候群を処置する方法である。一態様では、ポリヌクレオチドは配列番号 2 である。一態様において、shRNA は、父方由来 UBE3A の発現の活性化、または発現の増加を引き起こす。一態様において、shRNA は、父方由来 UBE3A-ATS の発現の減少を引き起こす。

20

【0012】

一態様において、配列番号 2 は、父方由来 UBE3A のサイレンシングを阻害できる shRNA をコードする。一態様において、配列番号 2 は発現ベクター内に含まれる。一態様では、発現ベクターはアデノ随伴ウイルス (AAV) ベクターまたはレンチウイルスベクターである。一態様において、配列番号 1 によりコードされる RNA アンチセンス転写産物による父方由来 UBE3A 遺伝子のサイレンシングを阻害する方法であって、配列番号 1 によりコードされる RNA アンチセンス転写産物を切断するのに有効な量の配列番号 2 を、それを必要とする患者に投与することを含む方法を提供する。

30

【0013】

一態様において、配列番号 1 によりコードされる RNA アンチセンス転写産物による父方由来 UBE3A 遺伝子のサイレンシングを阻害する方法であって、配列番号 1 によりコードされる RNA b アンチセンス転写産物を切断するのに有効な、配列番号 3～489 のいずれかによりコードされる RNA と少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、または 100 % 相補的なヌクレオチド配列を含む shRNA の量を、それを必要とする患者に投与することを含む方法を提供する。

【0014】

一態様において、本明細書で提供される shRNA は、配列番号 2 の一部、例えば、太字のヌクレオチドを有する部分によってコードされ、これは前記太字のヌクレオチドのいずれかの末端で 1 ヌクレオチド、2 ヌクレオチド、3 ヌクレオチドまたは 4 ヌクレオチド短縮されている。同様に、一態様において、本明細書で提供される shRNA は、配列番号 2 の一部、例えば、イタリック体のヌクレオチドを有し、イタリック体のヌクレオチドのいずれかの末端で 1 ヌクレオチド、2 ヌクレオチドまたは 3 ヌクレオチド短縮されたものを含み得る。

40

【0015】

一態様では、ポリヌクレオチド配列は、以下に示される：

50

【化 2】

5'-GATATCACCTTACAGAAATTAnnnnnnnnTAATTTCTGTAAGGTGATATC-3'

(配列番号 506) であり、ここで、nnnnnnnnは、CTCGAG (配列番号 490)、TCAAGAG (配列番号 491)、TTCG (配列番号 492) または GAAGCTTG (配列番号 493) であり得る。

【0016】

一態様において、第 1 の部分、第 2 の部分および第 3 の部分を含むポリヌクレオチド配列が提供され、第 1 の部分は、配列番号 3 ~ 489 のいずれかを含み、第 2 の部分は、配列番号 490、491、492 または 493 のいずれかを含み、そして第 3 の部分は、配列番号 3 ~ 489 のヌクレオチド配列に相補的なそれぞれのヌクレオチド配列を含む。

【図面の簡単な説明】

【0017】

【図 1】図 1 はアンジェルマン症候群の染色体変異を示す。

【図 2】図 2 は、父方由来 UBE3A 遺伝子の図を示す。

【図 3】図 3 は、shRNA 標的のゲノム上の位置を示す (実線の吹き出し)。インプリンティングされた SNHG14 / UBE3A 遺伝子座を含む 15q11-q13 領域の USC Genome Browser 表示 (破線の吹き出し)。UBE3A-ATS 領域 (ATS-shRNA2) および SNORD115 snRNA クラスター内の shRNA 標的の位置。

【図 4】図 4 は、SNHG14 標的化 shRNA (551-2、ATS shRNA1-4、ATS shRNA2-3G) または非標的化対照 shRNA (SCRAM) で処理した後の、アンジェルマン症候群 iPSC 由来ニューロンの qRT-PCR 解析を示す棒グラフである。2つの shRNA、551-2 および ATS shRNA2 は、UBE3A-ATS をノックダウンし、父方由来 UBE3A を活性化させた。

【図 5】図 5 は、SNHG14 標的化 shRNA (ATS shRNA2)、非標的化対照 shRNA (SCRAM)、または未処置 (UTC) のいずれかで処理した後の、アンジェルマン症候群 iPSC 由来ニューロンの qRT-PCR 解析を示す棒グラフである。ATS shRNA2 は UBE3A-ATS をノックダウンし、父方由来 UBE3A を活性化させた。

【発明を実施するための形態】

【0018】

詳細な説明

UBE3A は E3 ユビキチンリガーゼをコードする遺伝子である。UBE3A のゲノム座標は hg19 chr15:25,582,381-25,684,175 である。UBE3A には 3 つの正常なアイソフォームがある: アイソフォーム 1 (受託番号 X98032)、アイソフォーム 2 (受託番号 X98031)、アイソフォーム 3 (受託番号 X98033)。神経細胞 (ニューロン) では、UBE3A は母方対立遺伝子からのみ発現される。父方由来 UBE3A 対立遺伝子は、配列番号 1 によってコードされる長鎖非コード RNA UBE3A アンチセンス転写産物 (UBE3A-ATS) によってエピジェネティックにサイレンシングされる。UBE3A-ATS のゲノム座標は、プラス鎖の hg19 chr15:25,223,730-25,664,609 である。以下のゲノム座標が特に注目される: hg19 chr15:25,522,751-25,591,391 (プラス鎖)。

【0019】

UBE3A-ATS / Ube3a-ATS (ヒト / マウス) は、UBE3A 遺伝子座の SNHG14 (SNORNA HOST GENE 14) と呼ばれる大きな転写産物の一部として転写されるアンチセンス DNA 鎖である。ヒト UBE3A-ATS は SNHG14 の一部として、中枢神経系 (CNS) において父方由来対立遺伝子からのみ発現されている。転写産物は約 600 kb 長で、SNRPN から始まり、UBE3A の大部分を通して伸長され

ている。SNHG14 (Small Nucleolar RNA Host Gene 14) は、非コーディングRNAをコードし、lncRNAクラスに属する。SNHG14はブラダー・ウィリー臨界領域内に位置し、SNRPN (small nuclear ribonucleoprotein polypeptide N) 遺伝子のいくつかのプロモーターのうちの1つで開始する長いスプライシングされた母系インプリンティングRNAを産生する。この転写産物は、SNORD116およびSNORD115という2つのC/Dボックス小核小体RNAクラスターの宿主RNAとして機能している。Runte et al, 2001, Hum Mol Genet 10, 2687-2700を参照のこと。このRNAはユビキチンタンパク質リガーゼE3A (UBE3A) 遺伝子に伸長し、脳におけるUBE3Aのインプリンティング発現を制御していると考えられている。SNRPNのプロモーターはブラダー・ウィリー症候群インプリンティング・センター (PWS-IC) であり、PWS-ICの約35 kb上流にはアンジェルマン症候群インプリンティング・センター (AS-IC) がある。この2つの領域がSNHG14転写産物全体の発現を制御していると考えられている。

10

【0020】

SNURF/SNRPNは2つのタンパク質をコードする転写産物、SNURFおよびSNRPNをコードするバイシストロン遺伝子である。SNURFタンパク質およびSNRPNタンパク質は両方とも細胞核に局在する。SNRPNは小核リボ核タンパク質であり、SNURFの機能は不明である。SNRPN/SNURFで始まる転写産物はSNHG14転写産物もコードしている。SNHG14のイントロン内には、いくつかのC/DボックスsnRNAの配列がある。ボックスC/D低分子核小体RNA (SNORD) は、低分子ノンコーディングRNAのよく定義されたファミリーであり、アンチセンスベースの機序によって制御機能を発揮する。ほとんどのC/DボックスsnRNAは、非RNAメチル化において機能している。

20

【0021】

多くのオーファンsnRNAは、ヒトの15q11q13および14q32にある2つの大きなインプリンティング染色体ドメインから生成される。例えば、図3を参照のこと。上記のように、インプリンティングされたヒト15q11q13領域 (ブラダー・ウィリー症候群 (PWS) /アンジェルマン症候群 (AS) 遺伝子座またはSNURF-SNRPNドメインとしても知られている) には、いくつかの父系発現タンパク質コード遺伝子、ならびに2つの主要な反復DNAアレイとして組織化された多数の父系発現神経特異的snRNA遺伝子が含まれている：それぞれ29個および47個の関連遺伝子コピーからなるSNORD116およびSNORD115クラスターである。

30

【0022】

SNORD115は低分子核小体RNA (snRNA) をコードしており、15番染色体上に他の類似するsnRNA数十個とクラスター形成されている。これらの遺伝子は、ほとんどがSNHG14転写産物のイントロン内に存在し、父系インプリンティングを受け、PWS/AS領域に由来する。

【0023】

本明細書に記載の組成物および方法は、UBE3A-ATSを標的として、父方由来UBE3A対立遺伝子を不活性化することが記載されている。本明細書に記載のショートヘアピンRNA (shRNA) によるUBE3A-ATSの効果的な阻害は、UBE3A-ATS発現レベルの低下およびそれに伴う父方由来UBE3A対立遺伝子の発現レベルの上昇をもたらす。

40

【0024】

一態様において、本明細書に記載の組成物および方法は、ASの処置または予防に関する。このような処置または予防が必要な患者は、ASを有するか、またはASを発症するリスクがある。本明細書で用いる用語“それを必要とする患者”とは、ヒトを含む、これらの処置または予防方法を必要とする何れかの哺乳動物が含まれる。対象は男性でも女性でもよい。特定の局面において、本明細書で提供される方法および組成物によって処置された、ASを有する、それを必要とする患者は、不安、学習、バランス、運動機能、および

50

／または発作の改善を示し得るか、または本方法は、神経細胞の静止膜電位を約 -70 mV に戻し得、活動電位発達遅延を改善し得、自発的シナプス活性を増加させ得、レオベース、活動電位特性（例えば形状）、膜電流、シナプス電位、および／またはイオンチャンネルコンダクタンスに関連する神経細胞の表現型におけるさらなる変化を改善し得る。

【0025】

一態様において、ポリヌクレオチドは、UBE3A-ATS配列（配列番号1）の発現低下をもたらすショートヘアピンRNA（shRNA）をコードする第1のヌクレオチド配列を含む。例えば、本明細書に記載のshRNAの一部は、配列番号1によってコードされるRNA配列またはその中に含まれる配列に相補的であり得る。一態様において、本明細書に記載のshRNAは、第1のヌクレオチド配列によってコードされるRNAポリヌクレオチドである。第1のヌクレオチド配列を包含するポリヌクレオチドは、培養およびその後のウイルス粒子の産生のための適切なベクター（例えば、プラスミド）へのクローニングに適したDNAポリヌクレオチドであってもよい。その結果、ウイルス粒子は、感染に適した形でヌクレオチドコード配列を有するDNAポリヌクレオチドを含み得る。従って、第1のヌクレオチド配列は、ウイルス粒子産生用のプラスミドにクローン化されたDNA配列であってもよく、ウイルス粒子に封入されたDNA配列であってもよい。レトロウイルスはRNAポリヌクレオチドの形でヌクレオチドコード配列を運ぶため、レトロウイルス粒子（例えば、レンチウイルス）は、対応するRNA配列として第1のヌクレオチド配列を含むRNAポリヌクレオチドを含む。

10

【0026】

本明細書で開示するのは、UBE3A-ATSを切断してUBE3A-ATSの発現を減少させ、その結果ニューロンにおけるUBE3Aの父方由来遺伝コピーを活性化する新規のshRNAである。これにより、アンジェルマン症候群で欠損している細胞型にUBE3A遺伝子産物が供給される。LNCAATのゲノム配列には、約60 kbの潜在的な探索スペースがあり、潜在的なshRNA標的が見つかる可能性がある。しかし、予測されたすべての配列が実際にUBE3A-ATSを減少させ、UBE3Aを回復させるわけではない。したがって、本明細書のある実施例で示したように、どの配列が機能するか、あるいは機能しないかを予測することは困難である。例えば、図4を参照のこと。

20

【0027】

第1のヌクレオチド配列はshRNAをコードする。例えば、第1のヌクレオチド配列は、配列番号2であり得る。

30

【化3】

(5'-GATATCACCTTACAGAAATTACTCGAGTAATTTCTGTAAGGTGATATC-3')

第1のヌクレオチド配列はまた、配列番号2中の太字のヌクレオチドが配列番号4～489のいずれかで置換され、配列番号2中のイタリック体のヌクレオチドが配列番号4～489中のヌクレオチドと相補的なヌクレオチドで置換された、修飾された配列番号2であってもよい。本明細書で用いる“標的”とは、UBE3A-ATSの大きなゲノム配列内のヌクレオチド配列から転写されたヌクレオチド配列など、水素結合を介してヌクレオチド配列にハイブリダイゼーションを受けることができる作動性RNAポリヌクレオチドを意味する。UBE3A-ATSの大きなゲノム配列を有するヌクレオチド配列から転写されたヌクレオチド配列への作動的RNAポリヌクレオチドのハイブリダイゼーションは、作動的RNAポリヌクレオチドの不存在下でのUBE3A-ATSの発現レベルと比較して、作動的RNAポリヌクレオチドの存在下でのUBE3A-ATSの発現レベルのより大きな低下をもたらし得る。一態様において、作動性RNAポリヌクレオチドは、UBE3A-ATSの大きなゲノム配列内にコードされるRNA配列に相補的なshRNAのヌクレオチド配列を包含する。例えば、shRNAは、配列番号3および配列番号4～489によってコードされるRNA配列に相補的なヌクレオチド配列を含む。従って、作動性RNAポリヌクレオチドとは、shRNAが標的生物に同化され、機能的状態にプロセシ

40

50

グされた後の s h R N A の作動性部分を意味する。

【 0 0 2 8 】

“ 発現の減少 ” とは、U B E 3 A - A T S の発現または活性の減少または遮断を意味し、必ずしも発現または活性の完全な消失を示すものではない。標的の発現を低下させる機序には、作動性 R N A ポリヌクレオチドと、より大きなゲノム U B E 3 A - A T S 配列（配列番号 1）内の配列または配列から転写された標的配列または配列とのハイブリダイゼーションが含まれ、ハイブリダイゼーションの結果または効果は、標的分解または標的占有であり、それに付随して、例えば転写またはスプライシングを含む細胞機構が停止する。

【 0 0 2 9 】

特定の理論に拘束されることを望むことなく、本明細書における s h R N A は、以下のことによって、父方由来 U B E 3 A のサイレンシングを阻害し得る：（１）配列番号 1 によりコードされる R N A 転写物を切断する；（２）配列番号 1 によりコードされる R N A 転写物の定常状態レベル（すなわち、ホメオスタシスにおけるベースラインレベル）を低下させる；および、（３）配列番号 1 の転写を終結させる。例えば、配列番号 1 によってコードされる R N A 転写物の定常状態のレベルの切断および減少は、R N A 誘導サイレンシング複合体（R I S C）が関与する機構を介して起こり得る。s h R N A は R I S C を利用していてもよい。s h R N A のゲノム物質を有するベクターが宿主ゲノムに組み込まれると、s h R N A ゲノム物質は宿主内で p r i - マイクロ R N A に転写される。p r i - マイクロ R N A は D r o s h a のようなリボヌクレアーゼによってプレ-s h R N A にプロセッシングされ、核から輸送される。プレ-s h R N A は、D i c e r のようなエンドリボヌクレアーゼによって処理され、低分子干渉 R N A（s i R N A）を形成する。s i R N A は R I S C に負荷され、センス鎖は分解され、アンチセンス鎖は R I S C を m R N A の相補配列に導くガイドとして働く。R I S C は、塩基配列が完全な相補性の場合には m R N A を切断し、不完全な相補性の場合には m R N A の翻訳を抑制する。したがって、第 1 の核酸配列によってコードされる s h R N A は、U B E 3 A - A T S R N A の定常状態レベルを低下させることによって、父方由来 U B E 3 A の発現を増加させる。

【 0 0 3 0 】

本明細書において、用語“核酸”とは、単量体ヌクレオチドからなる分子を意味する。核酸の例としては、リボ核酸（R N A）、デオキシリボ核酸（D N A）、一本鎖核酸、二本鎖核酸、低分子干渉リボ核酸（s i R N A）、ショートヘアピン R N A（s h R N A）などがある。“ヌクレオチド”とは、ヌクレオシドの糖部分に共有結合したリン酸基を有するヌクレオシドを意味する。“オリゴヌクレオチド”または“ポリヌクレオチド”とは、ヌクレオチドが連結したポリマーを意味し、それぞれのヌクレオチドは修飾されていても修飾されていなくてもよく、互いに独立している。

【 0 0 3 1 】

本明細書で用いる“ショートヘアピン”には、前駆体マイクロ R N A（p r e - m i R N A）を形成する従来のステムループ s h R N A が含まれる。“s h R N A”には、マイクロ R N A を組み込んだ s h R N A（m i R N A ベースの s h R N A）も含まれ、m i R N A 二重鎖のガイド鎖およびパッセンジャー鎖は、既存の（または天然）m i R N A に組み込まれるか、改変または合成（設計）された m i R N A に組み込まれる。転写されると、従来の s h R N A（すなわち、m i R - 4 5 1 s h R N A 模倣体ではない）は、一次 m i R N A（p r i - m i R N A）、あるいは天然の p r i - m i R N A に非常によく似た構造を形成する。p r i - m i R N A はその後、D r o s h a およびその補酵素によって p r e - s h R N A に処理される。したがって、用語“s h R N A”とは、p r i - m i R N A（s h R N A - m i r）分子および p r e - s h R N A 分子を含む。

【 0 0 3 2 】

“ステムループ構造”とは、二本鎖または二重鎖を形成することが知られている、または予測されているヌクレオチドの領域（ステム部分）を含み、片側が主に一本鎖ヌクレオチドの領域（ループ部分）によって連結されている二次構造を有する核酸を意味する。ループ部分が少なくとも 4 ヌクレオチド長、6 ヌクレオチド長（例えば、配列番号 2 の下線

配列)、8ヌクレオチド長、またはそれ以上であることは当技術分野で知られている。本明細書で用いる用語“ヘアピン”構造および“フォールドバック”構造とは、ステムループ構造を意味するのに用いられる。このような構造は当該技術分野でよく知られており、この用語は当該技術分野における既知の意味と一貫して用いられる。例えば、CTCGAG (配列番号490)、TCAAGAG (配列番号491)、TTCTG (配列番号492)、およびGAAGCTTG (配列番号493)は好適なステムループ構造である。当技術分野で知られているように、二次構造は正確な塩基対を必要としない。したがって、ステムは1つ以上の塩基のミスマッチまたはバルジを含み得る。あるいは、塩基対は完全なもの、すなわちミスマッチを含まないものでもよい。一態様では、ポリヌクレオチド配列は以下のように提供される:

10

【化4】

5'-GATATCACCTTACAGAAATTAnnnnnnnnTAATTTCTGTAAGGTGATATC-3'

(配列番号506)であり、ここで、nnnnnnnnは、CTCGAG (配列番号490)、TCAAGAG (配列番号491)、TTCTG (配列番号492)またはGAAGCTTG (配列番号493)であり得る。一態様において、第1の部分、第2の部分および第3の部分を含むポリヌクレオチド配列が提供され、第1の部分は、配列番号3~489のいずれかを含み、第2の部分は、配列番号490、491、492または493のいずれかを含み;そして、第3の部分は、配列番号3~489のヌクレオチド配列に相補的なそれぞれのヌクレオチド配列を含む。

20

【0033】

一態様において、shRNAは、これに限定されないが、インビボでの安定性が向上したshRNAを含む修飾shRNAを含み得る。修飾shRNAには、核酸塩基、糖または骨格に付加、欠失および/または置換を有する分子を含むヌクレオチド類縁体を含む分子;架橋された分子;または、その他の化学的に修飾された分子が含まれる。修飾されたヌクレオチド(複数可)は、shRNA分子の一部であってもよいし、shRNA分子全体であってもよい。例えば、shRNA分子は、その5'末端、3'末端、またはその両方の領域、および/またはガイド鎖、パッセンジャー鎖、またはその両方の鎖内、および/または5'末端、3'末端、またはその両方にオーバーハングするヌクレオチド内の領域で修飾され得るか、あるいは修飾された核酸を含み得る。(Crooke、米国特許第6,107,094号および同第5,898,031号;Elmen et al., 米国公開公報第2008/0249039号および同第2007/0191294号;Manoharan et al., 米国公開公報第2008/0213891号、MacLachlan et al., 米国公開公報第2007/0135372号;および、Rana、米国公開公報第2005/0020521号を参照のこと。これらの内容全体は引用により本明細書中に包含させる)。

30

【0034】

本明細書におけるshRNAは、全ゲノムUBE3A-ATS配列(配列番号1)内から転写されたRNAヌクレオチド配列に相補的なヌクレオチド配列を含み、UBE3A-ATSによる父方由来UBE3Aのサイレンシングを阻害する。一態様において、shRNAは、配列番号4~489によってコードされるRNA配列に相補的なヌクレオチド配列を含む。一態様において、shRNAは、配列番号3(5'-GATATCACCTTACAGAAATT-3'、UBE3A-ATS人工/合成標的)によってコードされるRNA配列に相補的なヌクレオチド配列を含む。一態様において、shRNAは配列番号2のヌクレオチド配列によってコードされる。一態様において、shRNAに含まれ、UBE3A-ATS遺伝子から転写されたRNAヌクレオチド配列に相補的なヌクレオチド配列は、17~21ヌクレオチド長である。相補的なヌクレオチドは連続していてもよいし、相補的ではないヌクレオチドが間に入っているてもよい。一態様において、相補的なヌクレオチド配列は、配列番号2の太字の配列で示されるように、長さが21ヌクレオチドである。shRNAは、17ヌクレオチド、18ヌクレオチド、19ヌクレオチド、20

40

50

ヌクレオチドまたは21ヌクレオチドが配列番号3または4～489のヌクレオチドと相補的であるヌクレオチド配列を含み得る。17個、18個、19個、20個または21個の相補的ヌクレオチドは連続していてもよいし、相補的ではないヌクレオチドが間に入っているともよい。ループを含むshRNAの全長は40～50ヌクレオチド長、例えば44～48ヌクレオチド長、例えば48ヌクレオチド長であり得る。

【0035】

配列が標的核酸に特異的にハイブリダイズ可能かどうかを決定する方法は、当技術分野でよく知られている。一態様において、本明細書で提供されるshRNAポリヌクレオチドは、UBE3A-ATS（配列番号1）から転写されるRNA配列と特異的にハイブリダイズ可能な核酸配列を含む。

【0036】

shRNAは、RNA標的配列に相補的な17～21個の連結されたヌクレオチドの領域を含むRNAポリヌクレオチドを含んでいてもよく、ここで、RNAポリヌクレオチド領域は、UBE3A-ATS RNA核酸配列の等しい長さの領域に対して、その全長にわたって少なくとも85%相補的である。一態様において、RNAポリヌクレオチド領域は、UBE3A-ATS RNA核酸配列の等しい長さの領域に対して、その全長にわたって少なくとも90%、少なくとも95%、または100%相補的である。

【0037】

shRNAは、配列番号3または配列番号4～489のいずれかによってコードされるRNA配列に少なくとも85%相補的であり、それと等しい長さのヌクレオチド配列を含み得る。shRNAは、配列番号3または配列番号4～489のいずれかによってコードされるRNA配列に少なくとも90%相補的であり、それと等しい長さのヌクレオチド配列を含み得る。shRNAは、配列番号3または配列番号4～489のいずれかによってコードされるRNA配列に少なくとも95%相補的であり、それと等しい長さのヌクレオチドを含み得る。shRNAまたはマイクロRNAは、配列番号3または配列番号4～489のいずれかによってコードされるRNA配列に100%相補的であり、それと等しい長さのヌクレオチド配列を含み得る。

【0038】

一態様において、shRNAは一本鎖RNAポリヌクレオチドである。一態様では、RNAポリヌクレオチドは修飾RNAポリヌクレオチドである。相補性パーセントとは、本明細書中、アデニンとチミン、アデニンとウラシル（RNA）、グアニンとシトシンの間の塩基対を意味するために、従来の意味で用いられる。

【0039】

shRNAとUBE3A-ATSヌクレオチド配列との間の非相補的核酸塩基は、shRNAがUBE3A-ATSヌクレオチド配列に特異的にハイブリダイズできることを維持する限り、許容され得る。さらに、shRNAは、UBE3A-ATSヌクレオチド配列の1以上のセグメント上でハイブリダイズしてもよく、その際、介在または隣接するセグメントはハイブリダイゼーション事象に関与しない（例えば、ループ構造、ミスマッチ構造またはヘアピン構造）。

【0040】

一態様において、本明細書で提供されるshRNA、またはその特定部分は、UBE3A-ATS RNAヌクレオチド配列、UBE3A-ATS領域、UBE3A-ATSセグメント、またはそれらの特定部分に対して、少なくとも、70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%相補的である。UBE3A-ATSヌクレオチド配列に対するshRNAの相補性パーセントは、常套的な方法を用いて決定できる。

【0041】

例えば、20塩基中18塩基がUBE3A-ATS領域と相補的であり、従って特異的にハイブリダイズし得、90%の相補性を示し得る。この例では、残りの非相補的核酸塩

10

20

30

40

50

基は、相補的核酸塩基とクラスター化または点在していてもよく、互いにまたは相補的核酸塩基と連続している必要はない。このように、標的ヌクレオチド配列と完全に相補的な2つの領域に隣接する4つの非相補的な核酸塩基を有する18塩基長のshRNAは、標的ヌクレオチド配列と77.8%の全体的な相補性を有し得、従って本明細書に記載される発明の範囲内に包含される。UBE3A-A-T-Sヌクレオチド配列の領域とshRNAの相補性のパーセントは、BLASTプログラム（基本的なローカル・アライメント検索ツール）および当技術分野で公知のPowerBLASTプログラム（Altschul et al., J. Mol. Biol., 1990, 215, 403-410; Zhang and Madden, Genome Res., 1997, 7, 649-656）を用いて常套的に決定できる。パーセント相同性、配列同一性または相補性は、例えば、Smith and Waterman (Adv. Appl. Math., 1981, 2, 482-489) のアルゴリズムを使用する、デフォルト設定を用いる、Gapプログラム（Wisconsin Sequence Analysis Package, Version 8 for Unix, Genetics Computer Group, University Research Park, Madison Wis）により決定できる。

10

【0042】

一態様において、本明細書で提供されるshRNA、またはその特定部分は、UBE3A-A-T-Sヌクレオチド配列、またはその配列番号1の転写産物の特定部分に完全に相補的（すなわち、100%相補的）である。例えば、shRNAは、UBE3A-A-T-Sヌクレオチド配列、またはその領域、またはセグメントもしくは配列に完全に相補的であり得る。本明細書で用いる“完全に相補的”とは、shRNAの各核酸塩基が、UBE3A-A-T-Sヌクレオチド配列から転写された対応するRNA核酸塩基と正確に塩基対形成できることを意味する。

20

【0043】

一態様において、本明細書で提供されるshRNAは、配列番号2の一部、例えば、太字のヌクレオチドを有し、太字のヌクレオチドのいずれかの末端で1ヌクレオチド、2ヌクレオチド、3ヌクレオチドまたは4ヌクレオチド短縮されたものを含み得る。同様に、一態様において、本明細書で提供されるshRNAは、配列番号2の一部、例えば、イタリック体のヌクレオチドを有し、イタリック体のヌクレオチドのいずれかの末端で1ヌクレオチド、2ヌクレオチドまたは3ヌクレオチド短縮されたものを含み得る。例えば、以下である。

30

【化5】

5'-ATATCACCTTACAGAAATTACTCGAGTAATTTCTGTAAGGTGATAT-3' (配列番号 494)

5'-TATCACCTTACAGAAATTACTCGAGTAATTTCTGTAAGGTGATA-3' (配列番号 495)

5'-ATCACCTTACAGAAATTACTCGAGTAATTTCTGTAAGGTGAT-3' (配列番号 496)

5'-TCACCTTACAGAAATTACTCGAGTAATTTCTGTAAGGTGA-3' (配列番号 497)

5'-GATATCACCTTACAGAAATTCCTCGAGAAATTTCTGTAAGGTGATATC-3' (配列番号 498)

40

5'-GATATCACCTTACAGAAATCTCGAGATTTCTGTAAGGTGATATC-3' (配列番号 499)

5'-GATATCACCTTACAGAACTCGAGTCTGTAAGGTGATATC-3' (配列番号 500)

5'-GATATCACCTTACAGACTCGAGTCTGTAAGGTGATATC-3' (配列番号 501)

【0044】

同様に、shRNAの有効濃度または用量は、UBE3A-A-T-Sによる父方由来UBE3Aのサイレンシングを、少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくと

50

も 90%、または少なくとも 100% 阻害できる。

【0045】

s h R N A の有効濃度または用量は、U B E 3 A - A T S の転写を少なくとも 20%、少なくとも 30%、少なくとも 40%、少なくとも 50%、少なくとも 60%、少なくとも 70%、少なくとも 80%、少なくとも 90%、または少なくとも 100% 停止させることができる。

【0046】

s h R N A の有効濃度または用量は、U B E 3 A - A T S の定常状態レベルを少なくとも 20%、少なくとも 30%、少なくとも 40%、少なくとも 50%、少なくとも 60%、少なくとも 70%、少なくとも 80%、少なくとも 90%、または少なくとも 100% 低下させることができる。

10

【0047】

s h R N A の有効濃度または用量は、U B E 3 A - A T S を切断し、それを少なくとも 20%、少なくとも 30%、少なくとも 40%、少なくとも 50%、少なくとも 60%、少なくとも 70%、少なくとも 80%、少なくとも 90%、または少なくとも 100% 減少させる。

【0048】

s h R N A の有効濃度または用量は、U B E 3 A - A T S の発現を少なくとも 20%、少なくとも 30%、少なくとも 40%、少なくとも 50%、少なくとも 60%、少なくとも 70%、少なくとも 80%、少なくとも 90%、または少なくとも 100% 減少させ、父方由来 U B E 3 A の発現を少なくとも 20%、少なくとも 30%、少なくとも 40%、少なくとも 50%、少なくとも 60%、少なくとも 70%、少なくとも 80%、少なくとも 90%、または少なくとも 100% 誘導できる。

20

【0049】

本明細書で用いる用語“U B E 3 A - A T S”および“U b e 3 A - A T S”とは、特定の種またはオルソログを意味する綴りを大文字にすることなく、互換的に用い得る。“U B E 3 A”および“U b e 3 A”は、特定の生物種またはオルソログを意味する綴りを大文字にすることなく、互換的に用い得る。さらに、“U B E 3 A”、“U B E 3 A（イタリック体）”、“U b e 3 A”および“U b e 3 A（イタリック体）”は、特にこれに反する記載がない限り、核酸またはタンパク質を意味するイタリック体なしで互換的に用いられる。

30

【0050】

ウイルスベクター

“ベクター”とは、プラスミド、ファージまたはコスミドなどのレプリコンであり、その中に DNA セグメントまたは RNA セグメントが挿入されてよく、挿入されたセグメントの複製をもたらすものである。一般に、ベクターは適切な制御エレメントと結合すると複製が可能になる。適切なベクター骨格としては、例えば、プラスミド、ウイルスゲノムを含むプラスミド、ウイルスまたは人工染色体など、当技術分野で常套的に用いられるものが含まれる。用語“ベクター”には、クローニングベクターおよび発現ベクターならびにウイルスベクターおよび挿入ベクターが含まれる。

【0051】

当業者には明らかなように、用語“ウイルスベクター”とは、一般的には、核酸配列の細胞への移入および／または核酸配列の細胞のゲノムへの組み込みに介在するウイルス粒子への核酸分子の移入を促進するウイルス核酸エレメントを含む核酸分子（例えば、移入プラスミド）を意味するのに広く用いられている。

40

【0052】

ウイルスベクターは、主にウイルスに由来する構造的および／または機能的遺伝子エレメントを含む。ウイルスベクターは、毒性がなく、免疫原性がなく、製造が容易で、かつ DNA または RNA を保護し、標的細胞に効率よく送達することが望まれる。本明細書に記載の組成物および方法によれば、ウイルスベクターは、本明細書に記載の 1 以上の s h R N A をコードする DNA を含み得る。一態様では、ウイルスベクターはレンチウイルス

50

ベクターまたはアデノ随伴ウイルス（AAV）ベクターである。

【0053】

本明細書で用いる用語“レンチウイルス”とは、複合型レトロウイルスの一群（または属）を意味する。例示的なレンチウイルスとしては、これらに限定されないが、以下が含まれる：HIV（ヒト免疫不全ウイルス；HIV1型、HIV2型を含む）；ヒズマエジウイルス（VMV）ウイルス；カプリン関節炎－脳炎ウイルス（CAEV）；ウマ伝染性貧血ウイルス（EIAV）；ネコ免疫不全ウイルス（FIV）；ウシ免疫不全ウイルス（BIV）；および、類人猿免疫不全ウイルス（SIV）。本明細書で用いる用語“レンチウイルス”はレンチウイルス粒子を含む。レンチウイルスは分裂している細胞および後成細胞に導入される。

10

【0054】

用語“レンチウイルスベクター”とは、主にレンチウイルスに由来する長鎖末端反復（LTR）を含む構造的および機能的遺伝要素、またはその一部を含むウイルスベクター（例えば、ウイルスプラスミド）を意味する。レンチウイルスベクターは、核酸配列（例えば、コーディング配列）の逆転写、複製、組み込みおよび／またはパッケージングのためのレトロウイルス、例えば、レンチウイルス配列を有するハイブリッドベクター（例えば、トランスファープラスミドの形態）である。用語“レトロウイルスベクター”とは、主にレトロウイルスに由来する構造的および機能的遺伝子エレメント、またはその一部を含むウイルスベクター（例えば、転移プラスミド）を意味する。

【0055】

アデノウイルスベクターは、生きている対象に直接投与できるように設計されている。レトロウイルスベクターとは異なり、アデノウイルスベクターのゲノムのほとんどは宿主細胞の染色体に組み込まれない。その代わり、アデノウイルスベクターを用いて細胞に導入された遺伝子は、染色体外エレメント（エピソーム）として核内に維持され、長期間持続する。アデノウイルスベクターは、気道上皮細胞、内皮細胞、肝細胞、および様々な腫瘍など、インビボの多くの様々な組織で分裂している細胞および分裂していない細胞を形質導入し得る（Trapnell, Advanced Drug Delivery, Reviews, 12 (1993) 185-199）。

20

【0056】

用語“アデノ随伴ウイルス”（AAV）とは、ヒトおよび他の霊長動物に感染する小型の ssDNA ウイルスを意味し、疾患を引き起こすことは知られておらず、非常に軽度の免疫反応を起こすのみである。本明細書で用いる用語“AAV”とはAAV粒子を含むことを意味する。AAVは分裂している細胞にも分裂していない細胞にも感染し、そのゲノムを宿主細胞のゲノムに組み込むことができる。これらの特徴から、AAVは遺伝子治療用ウイルスベクターの候補として魅力的であるが、ベクターのクローニング能力は比較的限られている。一態様では、用いられるベクターはアデノ随伴ウイルス（すなわち、AAVベクター）由来である。天然のAAV血清型は30種以上ある。AAVカプシドには多くの天然変異体が存在するため、特定の種類の標的細胞に特異的に適した特性を有するAAVを同定し、使用できる。AAVウイルスは、従来の分子生物学的手法によって設計でき、shRNA DNA配列の細胞特異的な送達、免疫原性の最小化、安定性および粒子寿命の調整、効率的な分解、核への正確な送達などのために、これらの粒子を最適化することが可能である。

30

40

【0057】

“発現ベクター”とは、制御領域を含むベクターのことである。Novagen (Madison, Wis.)、Clontech (Palo Alto, Calif.)、Stratagene (La Jolla, Calif.) および Invitrogen/Life Technologies (Carlsbad, Calif.) などから多数のベクターおよび発現系が市販されている。発現ベクターは、特定のウイルスに由来するウイルス発現ベクターであってもよい。

【0058】

本明細書で提供されるベクターはまた、例えば、複製起点、足場付着領域（SAR）、

50

および／またはマーカーを含み得る。マーカー遺伝子は、宿主細胞に選択可能な表現型を与えることができる。例えば、マーカーは殺生物剤耐性、例えば抗生物質（例えば、カナマイシン、G 4 1 8、ブレオマイシン、ハイグロマイシン）に対する耐性を付与できる。発現ベクターは、発現されたポリペプチドの操作または検出（例えば、精製または局在化）を容易にするように設計されたタグ配列を含み得る。緑色蛍光タンパク質（G F P）、グルタチオン S-トランスフェラーゼ（G S T）、ポリヒスチジン、c-myc、ヘマグルチニン、F I a g（商標）タグなどのタグ配列（Kodak, New Haven, Conn.）配列は通常、コードされたポリペプチドとの融合体として発現される。このようなタグは、カルボキシル末端またはアミノ末端など、ポリペプチド内のどこにでも挿入され得る。

【0059】

10

さらなる発現ベクターは、例えば、染色体、非染色体および合成DNA配列のセグメントもまた含み得る。適切なベクターとしては、pLK0.1 puroの誘導体、SV40および、RP4のようなプラスミド；ファージDNA、例えば、ファージ1の多数の誘導体、例えば、NM989および他のファージDNA、例えば、M13および糸状一本鎖ファージDNA、真核細胞で有用なベクター、例えば昆虫または哺乳動物細胞で有用なベクター、プラスミドおよびファージDNAの組み合わせに由来するベクター、例えばファージDNAまたは他の発現制御配列を採用するように改変されたプラスミドなどである。

【0060】

ベクターは調節領域も含み得る。用語“制御領域”とは、転写または翻訳の開始および速度、ならびに転写産物または翻訳産物の安定性および／または移動性に影響を及ぼすヌクレオチド配列を意味する。制御領域には、限定されるものではないが、プロモーター配列、エンハンサー配列、応答エレメント、タンパク質認識部位、誘導性エレメント、タンパク質結合配列、5'および3'非翻訳領域（UTR）、転写開始部位、終結配列、ポリ阿德ニル化配列、核局在化シグナル、およびイントロンが含まれる。

20

【0061】

本明細書で用いる用語“操作可能に連結された”とは、核酸中の調節領域と転写されるべき配列との位置関係を意味し、そのような配列の転写または翻訳に影響を及ぼすように位置することを意味する。例えば、コード配列をプロモーターの制御下に置くために、ポリペプチドの翻訳リーディングフレームの翻訳開始部位は、一般的にはプロモーターの1～約50ヌクレオチド下流に配置される。しかしながら、プロモーターは、翻訳開始部位の約5,000ヌクレオチド上流、または転写開始部位の約2,000ヌクレオチド上流に位置し得る。プロモーターは通常、少なくともコア（基本）プロモーターを含む。プロモーターはまた、エンハンサー配列、上流エレメントまたは上流活性化領域（UAR）などの少なくとも1つの制御エレメントを含み得る。含まれるプロモーターの選択は、効率、選択可能性、誘導性、所望の発現レベル、および細胞または組織優先的発現を含むがこれらに限定されない幾つかの要因に依存して変わる。コーディング配列の発現の調節は、コーディング配列に対してプロモーターおよび他の調節領域を適切に選択し、配置することによって達成できる。

30

【0062】

ベクターはまた、遺伝子導入および／または遺伝子発現をさらに調節する、あるいは標的細胞に有益な特性を与える他の構成成分または機能性を含み得る。以下により詳細に記載および図示するように、このような他の成分には、例えば、細胞への結合または標的化に影響を及ぼす成分（細胞タイプまたは組織特異的結合に介在する成分を含む）；細胞によるベクター核酸の取り込みに影響を及ぼす成分；取り込み後の細胞内でのポリヌクレオチドの局在化に影響を及ぼす成分（核局在に介在する薬剤など）；および、ポリヌクレオチドの発現に影響を及ぼす成分が含まれる。このような成分はまた、ベクターによって送達された核酸を取り込み、発現している細胞を検出または選択するために使用できる検出可能なマーカーおよび／または選択可能なマーカーなどのマーカーも含み得る。このような成分は、ベクターの天然の特徴として提供することもできるし（結合および取り込みに介在する成分または機能性を有する特定のウイルスベクターの使用など）、ベクターを改

40

50

変してこのような機能性を提供することもできる。他のベクターとしては、Chenら、*BioTechniques*, 34: 167-171 (2003)に記載されているものが挙げられる。このような多くのベクターは当技術分野で知られており、一般に入手可能である。

【0063】

“組換えウイルスベクター”とは、1以上の異種遺伝子産物または配列を含むウイルスベクターを意味する。多くのウイルスベクターはパッケージングに伴うサイズの制約があるため、異種遺伝子産物または配列は、通常、ウイルスゲノムの1以上の部分を置換することによって導入される。このようなウイルスは複製欠損型になる可能性があり、ウイルスの複製およびカプセル化の間に（例えば、複製および／またはカプセル化に必要な遺伝子産物を担持するヘルパーウイルスまたはパッケージング細胞株を用いて）欠失した機能を

10

【0064】

一態様では、本明細書で用いられるウイルスベクターは、例えば、細胞あたり少なくとも 10^5 個のウイルスゲノムの濃度で用いられ得る。

【0065】

適切なプロモーターの選択は容易に達成できる。適切なプロモーターの例には、RNAポリメラーゼIIまたはIIIプロモーターが含まれる。例えば、候補shRNA配列は、RNAポリメラーゼIIIプロモーターU6またはH1、あるいはニューロン特異的エノラーゼ(NSE)、シナプシンI(Syn)、または Ca^{2+} /CaM活性化プロテインキナーゼII α (CaMKII α)を含むニューロン特異的RNAポリメラーゼIIIプロモーターの制御下で発現させることができる。

20

【0066】

遺伝子発現のために用いられ得る他の適切なプロモーターとしては、763塩基対のサイトメガロウイルス(CMV)プロモーター、ラウス肉腫ウイルス(RSV)(Davis, et al., *Hum Gene Ther* 4:151(1993))、SV40初期プロモーター領域、ヘルペスチミジンキナーゼプロモーター、メタロチオネイン(MMT)遺伝子の制御配列、PGK(ホスホグリセロールキナーゼ)プロモーター、アルカリホスファターゼプロモーター；および、動物の転写制御領域、これは組織特異性を示し、トランスジェニック動物に利用されている；ミエリン塩基性タンパク質遺伝子制御領域、これは脳のオリゴデンドロサイト細胞で活性を示す；ならびに、性腺刺激ホルモン放出ホルモン遺伝子制御領域、これは視床下部で活性を示す、が挙げられるが、これらに限定されない。ある種のタンパク質は、天然プロモーターを用いて発現され得る。エンハンサー、あるいはtat遺伝子またはtarエレメントのような高レベルの発現をもたらす系など、発現を増強し得る他のエレメントを含めることもできる。次に、アセンブリまたはカセットをベクター、例えば、pLK0.1、pUC19、pUC118、pBR322などの既知のプラスミドベクターに挿入できる。Sambrook, et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, (1989)を参照のこと。プラスミドベクターは、アンピシリン耐性のための β -ラクタマーゼ遺伝子のような選択可能なマーカーを含み得るが、ただし、そのマーカーポリペプチドが処理される生物の代謝に悪影響を及ぼさないことが条件である。カセットはまた、WO 95/22618に記載されるシステムのような合

30

40

【0067】

shRNAのコーディング配列は、Sambrookら(*Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, N.Y. (1989))、Coffinら(*Retrovirus*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, N.Y. (1997))および“*RNA Viruses: A Practical Approach*”(Alan J. Cann, Ed., Oxford University Press, (2000))に記載されている。一態様において、shRNA DNA配列は、制限エンドヌクレアーゼによって切断されるプラスミドおよび／またはベクター上の配列と相補的な隣接配列を5'末端および3'末端に含む。当技術分野でよく知られているように、隣接配列はプラスミドおよび／またはベクターの制限消化中に用いられる制限エン

50

ドヌクレアーゼによって変わる。したがって、当業者であれば、s h R N A D N A 配列の5'末端および3'末端の隣接配列を適宜選択できる。一態様において、標的部位は、Gateway、PCR infusion、Cre-lox P、およびCreatorを含む、当技術分野で現在知られている核酸融合および交換技術によってベクターにクローニングされ得る。

【0068】

一態様において、発現ベクターは、プロモーターおよび本明細書に記載のs h R N A をコードする第1のヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドを含む。一態様において、プロモーターおよび第1のヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドは、作動可能に連結されている。一態様では、プロモーターはU6プロモーターである。一態様において、発現ベクターに含まれる第1のヌクレオチド配列は、配列番号2であり得る。一態様において、発現ベクターに含まれる第1のヌクレオチド配列はまた、配列番号2の太字のヌクレオチドが配列番号4～489のいずれかによって置換され、配列番号2のイタリック体のヌクレオチドが配列番号4～489のヌクレオチドと相補的なヌクレオチドによって置換された、改変された配列番号2であり得る。一態様において、発現ベクターに含まれる第1のヌクレオチド配列は、配列番号490～497のいずれかであり得る。一態様において、発現ベクター中の第1のヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドは、DNAポリヌクレオチドである。一態様において、発現ベクターの第1のヌクレオチド配列はDNAヌクレオチド配列である。発現ベクターの第1のヌクレオチド配列によってコードされるs h R N A は、本明細書に開示されるバリエーションのいずれかに記載されるようなものであってもよい。

【0069】

後述するように、組換えウイルスベクターは、組換えウイルス粒子のパッケージングに必要なエレメントとともに、パッケージング細胞または細胞株にトランスフェクトされる。トランスフェクトされた細胞上清から回収された組換えウイルス粒子は、s h R N A を発現させるために標的細胞または生物に感染させるために用いられる。形質導入された細胞または生物は、一過性発現のために用いられるか、または安定的発現のために選択される。

【0070】

ウイルス／ウイルス粒子

ウイルス粒子は、UBE3A-ATS RNAを標的とするs h R N A のコーディングヌクレオチド配列を送達するために用いられる。本明細書では、ウイルスおよびウイルス粒子という用語は互換的に用いられる。ウイルス粒子は通常、核酸に加えて様々なウイルス成分、時には宿主細胞成分も含み得る。核酸配列は、s h R N A 核酸配列をそれを必要とする患者の標的細胞に送達できるウイルス粒子中にパッケージ化できる。

【0071】

ウイルス粒子は、(a)ウイルス発現ベクターを適当な細胞株に導入し；(b)ウイルス粒子の産生を可能にするような適当な条件下で細胞株を培養し；(c)産生されたウイルス粒子を回収し；そして、(d)要すれば、回収された感染性ウイルス粒子を精製すること、によって産生できる。

【0072】

本明細書における1以上のs h R N A をコードするヌクレオチド配列を含む発現ベクターは、当業者が容易に利用できる周知の技術を用いて、増殖または発現のために適切な細胞株に導入できる。これらには、細胞の核への微量のDNAのマイクロインジェクション(Capechi et al, 1980, Cell 22, 479-488)、CaPO₄介在トランスフェクション(Chen and Okayama, 1987, Mol. Cell Biol. 7, 2745-2752)、DEAE-デキストラン秋剤トランスフェクション、エレクトロポレーション(Chu et al., 1987, Nucleic Acid Res. 15, 1311-1326)、リポフェクション／リポソーム融合(Feigner et al., 1987, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84, 7413-7417)、パーティクル・ガン法(Yang et al., 1990, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87, 9568-9572)、遺伝子銃、トランスダクション、感染(例えば、感染性のウイルス粒子)、および

Sambrookら (Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 2001)に見いだされるような他の技術が含まれるが、これらに限定されない。

【0073】

一態様では、発現ベクターに欠陥がある場合、感染性粒子は、相補性細胞株で、あるいは非機能性ウイルス遺伝子をトランス供給するヘルパーウイルスの使用によって、産生できる。例えば、アデノウイルスベクターの相補化に適した細胞株としては、293細胞 (Graham et al., 1997, J. Gen. Virol. 36, 59-72) ならびにE1機能を補完するために通常用いられるPER-C6細胞 (Fallaux et al., 1998, Human Gene Ther. 9, 1909-1917) が挙げられる。他の細胞株は、二重欠損アデノウイルスベクターを補完するように操作されている (Yeh et al., 1996, J. Virol. 70, 559-565; Krougliak and Graham, 1995, Human Gene Ther. 6, 1575-1586; Wang et al., 1995, Gene Ther. 2, 775-783; Lusky et al., 1998, J. Virol. 72, 2022-2033; WO 94/28152 および WO 97/04119)。感染性ウイルス粒子は、培養上清から回収できるが、溶解後の細胞からも回収でき、要すれば標準的な技術 (クロマトグラフィー、例えば WO 96/27677、WO 98/00524、WO 98/22588、WO 98/26048、WO 00/40702、EP 1016700 および WO 00/50573 に記載されているような塩化セシウム勾配での超遠心分離) に従ってさらに精製される。

【0074】

一態様において、本明細書で提供されるのは、本明細書に記載の核酸分子、ベクター、または感染性ウイルス粒子を含む宿主細胞である。用語“宿主細胞”とは、組織、器官、または単離された細胞における特定の組織に関する限定なしに、広く理解されるべきである。このような細胞は、固有のタイプの細胞であっても、異なるタイプの細胞群であってもよく、培養細胞株、初代細胞および増殖細胞を包含する。

【0075】

したがって、宿主細胞には、原核細胞、酵母のような下等真核細胞、昆虫細胞のような他の真核細胞、植物細胞、脊椎動物のような高等真核細胞、そして特別な好ましくは、哺乳動物 (例えば、ヒトまたは非ヒト) 細胞が含まれる。適切な哺乳動物細胞としては、造血細胞 (万能細胞、幹細胞、白血球、リンパ球、単球、マクロファージ、APC、樹状細胞、非ヒト細胞など)、肺細胞、気管細胞、肝細胞、上皮細胞、内皮細胞、筋肉細胞 (例えば、骨格筋、心筋または平滑筋) あるいは線維芽細胞が挙げられるが、これらに限定されない。例えば、宿主細胞としては、大腸菌、バチルス菌、リステリア菌、サッカロミセス菌、BHK (ベビーハムスター腎臓) 細胞、MDCK細胞 (マディン・ダービー犬腎臓細胞株)、CRFK細胞 (クランデル猫腎臓細胞株)、CV-1細胞 (アフリカサル腎臓細胞株)、COS (例えば、COS-7) 細胞、チャイニーズハムスター卵巣 (CHO) 細胞、マウスNIH/3T3細胞、HeLa細胞、およびVero細胞を挙げることができる。宿主細胞はまた、上記で引用したような、本明細書で利用可能な複製欠損ベクター (例えば、欠損アデノウイルスベクター) の少なくとも1つの欠損機能を相補できる相補細胞も包含する。

【0076】

一態様では、宿主細胞はカプセル化され得る。細胞カプセル化技術は、以前にも記載されている (Tresco et al., 1992, ASAJO J. 38, 17-23; Aebischer et al., 1996, Human Gene Ther. 7, 851-860)。例えば、トランスフェクトまたは感染した真核宿主細胞を、微多孔膜を形成する化合物でカプセル化し、さらに前記カプセル化細胞をインビボに移植できる。目的の細胞を含むカプセルは、移植細胞と宿主細胞との接触を防ぎながら、カプセル内部と外部との間のタンパク質と栄養素の自由な通過を可能にするのに適切な分子量カットオフを有する中空微多孔膜 (例えば、Akzo Nobel Faser AG, Wuppertal, Germany; Deglonら, 1996, Human Gene Ther. 7, 2135-2146) を用いて調製され得る。

【0077】

本明細書での使用に適したウイルス粒子には、AAV粒子およびレンチウイルス粒子が含まれる。AAV粒子は、本明細書でshRNAのコーディング配列をゲノムDNAの形で運ぶ。一方、レンチウイルス粒子はレトロウイルスのクラスに属し、本明細書ではshRNAのコーディング配列をRNAの形で運ぶ。

【0078】

UBE3A-ATS RNAを標的とするshRNAをコードするDNA（レンチウイルス粒子の場合はRNA）を含むAAV粒子、人工AAV粒子、自己相補性AAV粒子、レンチウイルス粒子などの組換え操作されたウイルス粒子を標的細胞に送達して、UBE3A-ATSによるUBE3Aのサイレンシングを阻害できる。AAVの使用は、比較的毒性がなく、効率的な遺伝子導入が可能で、特定の目的に合わせて簡単に最適化できるため、DNAの一般的な導入方法となっている。一態様では、選択されたAAV血清型は、天然の神経刺激性を有する。一態様では、AAV血清型はAAV9またはAAV10である。

10

【0079】

好適な組換えAAVは、本明細書で定義するAAV血清型キャプシドタンパク質またはそのフラグメントをコードするヌクレオチド配列；機能的なrep遺伝子；最小の、AAV逆転末端反復（ITR）およびコーディングヌクレオチド配列からなるミニ遺伝子；および、ミニ遺伝子のAAVキャプシドタンパク質へのパッケージングを可能にする十分なヘルパー機能を含む宿主細胞を培養することによって生成できる。AAVミニ遺伝子をAAVキャプシドにパッケージングするために宿主細胞で培養するのに必要な構成要素は、宿主細胞にトランスで提供できる。あるいは、必要な構成要素（例えば、ミニ遺伝子、rep配列、キャップ配列、および／またはヘルパー機能）のいずれか1以上を、当業者に公知の方法を用いて必要な構成要素の1以上を含むように操作された安定な宿主細胞によって提供することもできる。

20

【0080】

特に記載しない限り、AAV逆転末端反復（ITR）、および本明細書に記載の他の選択されたAAV成分は、AAV1、AAV2、AAV3、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10、AAVRec3、または他の既知および未知のAAV血清型を含むがこれらに限定されない、何れかのAAV血清型の中から容易に選択できる。これらのITRまたは他のAAV成分は、AAV血清型から当業者に利用可能な技術を用いて容易に単離できる。このようなAAVは、学術的、商業的、または公的な情報源（例えば、American Type Culture Collection, Manassas, Va.）から単離または入手できる。あるいは、AAV配列は、文献または、例えばGenBank、PubMedなどのデータベースで入手可能なような公開配列を参照して、合成または他の適切な手段によって得ることができる。

30

【0081】

本明細書中、rAAVを産生するのに必要なミニ遺伝子、rep配列、cap配列、およびヘルパー機能は、そこに担持された配列をトランスファーする何れかの遺伝子エレメントの形でパッケージング宿主細胞に送達できる。選択された遺伝子エレメントは、何れかの適切な方法で送達できる。本明細書の態様を構築するために用いられる方法は、核酸操作の当業者には公知であり、遺伝子工学、組換え工学および合成技術を含む。例えば、Sambrook et al, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, N.Y.を参照のこと。同様に、rAAVビリオンを生成する方法は周知であり、適切な方法を選択することは制限されない。例えば、K. Fisher et al, 1993 J. Viral., 70:520-532 および米国特許第5,478,745号などを参照のこと。本明細書におけるすべての文献は、引用により本明細書に包含される。

40

【0082】

これらおよびその他の一般的なベクターおよび調節エレメントの選択は常套的に行われ

50

ており、そのような配列は数多く入手可能である。例えば、Sambrookら、およびそこで引用された文献、例えば、3. 18 – 3. 26 頁および 16. 17 – 16. 27 頁ならびに Ausubel et al., Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, New York, 1989 を参照のこと。もちろん、すべてのベクターおよび発現制御配列が、本明細書中のすべての導入遺伝子を発現するために同じように機能するわけではない。しかしながら、当業者であれば、これらの、および他の発現制御配列の中から選択できる。

【0083】

医薬組成物および治療的処置

s h R N A の所望のコーディング配列を含むウイルスは、投与に適した何れかの手段によって、必要な患者またはヒトに投与するために製剤され得る。このような製剤には、薬学的および／または生理学的に許容されるピークルまたは担体、特に脳への投与に適したもの、例えば頭蓋下注射または脊髄注射によるものの使用が含まれる。さらに、本明細書では 1 以上の s h R N A を併用治療で投与できる。併用治療では、異なる s h R N A を同時に、別個に、順次、および何れかの順序で投与できる。

【0084】

本明細書における医薬組成物は、ヒトまたは動物への注射による送達に適切な担体および／または希釈剤を含む。このような担体および／または希釈剤は、用いられる投与量および濃度において、一般的に無毒でなければならない。単位投与量または複数投与量のいずれかの形態で経口投与するため、あるいは連続点滴または定期的注入により直接注入するための組成物を製剤するために通常用いられるものから選択できる。一態様では、等張性、低張性または弱高張性で、糖類、多価アルコールおよび等張生理食塩水などで提供されるような、比較的低いイオン強度を有する。代表的な例としては、滅菌水、生理的食塩水（例えば、塩化ナトリウム）、静菌水、リンゲル液、グルコース溶液またはサッカロース溶液、ハンクス溶液、および他の生理学的にバランスのとれた塩類水溶液が挙げられる（例えば、Remington: The Science and Practice of Pharmacy, A. Gennaro, Lippincott, Williams & Wilkins の最新版を参照のこと）。組成物の pH は、ヒトまたは動物への使用に適切であるように、適切に調整され、緩衝化されており、例えば、生理的またはわずかに塩基性の pH である（約 pH 8 から約 pH 9 の間、特に pH 8.5 が好ましい）。適切な緩衝液には、リン酸緩衝液（例えば、PBS）、重炭酸緩衝液および／またはトリス緩衝液が含まれる。一態様では、例えば、組成物は、1 M サッカロース、150 mM NaCl、1 mM MgCl₂、54 mg / l Tween 80、10 mM トリス pH 8.5 で製剤される。一態様では、例えば、組成物は 10 mg / ml マンニトール、1 mg / ml HSA、20 mM トリス、pH 7.2、150 mM NaCl で製剤される。これらの組成物は -70 °C で少なくとも 6 ヶ月間安定である。

【0085】

本明細書における医薬組成物は、種々の形態、例えば、固形（例えば、粉末、凍結乾燥形態）、または液体（例えば、水溶液）であってもよい。固形組成物の場合、調製方法としては、例えば、真空乾燥および凍結乾燥があり、これにより、あらかじめ無菌濾過した溶液から、活性剤および何れかのさらなる所望の成分の粉末が得られる。このような溶液は、必要であれば、滅菌アンプルに保存し、滅菌水を加えて再構成し、すぐに注射できるようにすることもできる。

【0086】

ネブライザー製剤またはエアロゾル化製剤も適している。適切な推進剤、例えば二酸化炭素のような気体、またはネブライザーを含む加圧容器またはディスペンサーから、処置される個体の鼻咽頭に組成物の液滴、スプレー、または乾燥粉末形態を投与することを含む、鼻腔内投与の方法は当該技術分野で周知である（例えば、WO 95 / 11664 を参照のこと）。経口投与用の胃耐性カプセルおよび顆粒、直腸または膣投与用の坐剤などの腸溶性製剤も適している。非経腸投与の場合、組成物は粘膜の孔径を大きくする吸収促進剤を含み得る。このような吸収促進剤には、デオキシコール酸ナトリウム、グリココー

ル酸ナトリウム、ジメチル-β-シクロデキストリン、ラウロイル-1-リゾホスファチジルコリン、その他粘膜のリン脂質ドメインと構造的に類似した物質が含まれる。

【0087】

組成物はまた、例えば、製剤のpH、浸透圧、粘度、透明度、色、無菌性、安定性、溶解速度、ヒトまたは動物の生体内への放出または吸収の調節または維持など、望ましい薬学的または薬力学的特性を提供するための他の薬学的に許容される賦形剤を含み得る。例えば、ポリエチレングリコールのようなポリマーは、溶解性、安定性、半減期およびその他の薬学的に有利な特性などの望ましい特性を得るために使用できる (Davis et al., 1978, Enzyme Eng. 4, 169-173; Burnham et al., 1994, Am. J. Hosp. Pharm. 51, 210-218)。安定化成分の代表例としては、ポリソルベート80、L-アルギニン、ポリビニルピロリドン、トレハロース、およびそれらの組み合わせが挙げられる。プラスミドベースの組成物に特に適した他の安定化成分としては、ヒアルロニダーゼ (WO 98/53853に記載されているように、宿主細胞の細胞外マトリックスを不安定化すると考えられている)、クロロキン、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、グリセロール、エタノール、1-メチル-2-ピロリドンまたはその誘導体などのプロトン性化合物、ジメチルスルホキシド (DMSO)、ジエチルスルホキシド、ジ-n-プロピルスルホキシド、ジメチルスルホン、スルホラン、ジメチルホルムアミド、ジメチルアセトアミド、テトラメチル尿素などの非プロトン性化合物、アセトニトリル (EP 890 362を参照)、アクチンG (WO 99/56784)などのヌクレアーゼ阻害剤、マグネシウム (Mg^{2+}) (EP 998 945)およびリチウム (Li^{+}) (WO 01/47563)などのカチオン塩、およびそれらの何れかの誘導体が挙げられる。本明細書における組成物中のカチオン性塩の量は、好ましくは約0.1mMから約100mM、さらに好ましくは約0.1mMから約10mMの範囲である。粘度向上剤には、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ソルビトール、デキストランなどが含まれる。組成物はまた、特定の臓器の血液バリアまたは膜を通過する浸透または輸送を促進するために、当技術分野で知られている物質を含み得る (例えば、トランスフェリン受容体に対する抗体; Friden et al., 1993, Science 259, 373-377)。動脈細胞への投与を容易にするために、ポリリジンおよびラクトースのゲル複合体 (Midoux et al., 1993, Nucleic Acid Res. 21, 871-878) またはポロキサマー407 (Pastore, 1994, Circulation 90, 1-517)を使用できる。

10

20

30

【0088】

ウイルス粒子および医薬組成物は、治療上有効な量を患者に投与できる。本明細書で用いる用語“治療上有効な量”とは、所望の生物学的効果を実現するのに十分な量を意味する。例えば、アンジェルマン症候群を処置するための治療上有効な量は、本明細書に記載されるアンジェルマン症候群の1以上の症状 (例えば、発達遅延、重度の認知障害、失調性歩行、頻繁な発作、短い注意力、欠語、および特徴的な楽しげな態度)を改善するのに十分な量である。さらに、AS iPSC由来のニューロンは、静止膜電位の脱分極、活動電位の発達遅延、自発的シナプス活性の低下を示す。したがって、ASを処置するための治療上有効な量は、神経細胞の静止膜電位を約-70mVに戻し、活動電位発現遅延を改善し、自発シナプス活性を増加させ、あるいはレオベース、活動電位特性 (例えば、形状)、膜電流、シナプス電位、イオンチャネル伝導性などに関する神経細胞の表現型のさらなる変化を改善し得る。

40

【0089】

適切な投与量は、特定の活性薬剤の薬力学的特性、宿主生物の年齢、健康状態および体重; 処置すべき状態、症状の性質および程度、同時処置の種類、処置の頻度、予防または治療の必要性、および/または所望の効果などの既知の要因によって変化し得る。投与量もまた、選択された特定の投与経路によって計算される。処置のための適切な投与量を決定するために必要な計算をさらに細かくすることは、関連する状況に照らして、担当医が行うことができる。一般的な指針として、ウイルス粒子に基づく組成物は、例えば、細胞あたり少なくとも 10^5 個のウイルスゲノムを投与する形で製剤できる。力価は、常套技

50

術で測定できる。ベクタープラスミドに基づく組成物は、 $1\text{ }\mu\text{g}$ から 100 mg の間、例えば $10\text{ }\mu\text{g}$ から 10 mg の間、例えば $100\text{ }\mu\text{g}$ から 1 mg の間の用量の形で製剤できる。投与は、単回投与でもよいし、一定の時間間隔において1回または数回繰り返して投与してもよい。

【0090】

本明細書における医薬組成物は、ガラス製またはプラスチック製のアンプル、使い捨て注射シリンジまたは複数回投与バイアルに封入できる。すべての場合において、組成物は無菌であるべきであり、容易に注射できる程度に流動性があるべきである。製造および保管の条件下で安定し、細菌および真菌などの微生物の汚染作用に対して保存されていなければならない。無菌注射液は、活性剤（例えば、感染性粒子）を必要量、上記に列挙した成分の1つまたは組み合わせで組み入れ、次いで濾過滅菌することにより調製できる。

10

【0091】

本明細書におけるウイルス粒子および医薬組成物は、静脈内、動脈内、皮下、腹腔内または筋肉内注射または点滴、髄腔内または頭蓋内、例えば脳内または脳室内投与を含む非経腸経路によって投与できる。一態様において、ウイルス粒子または医薬組成物は、脳内または脳室内に投与される。一態様において、本明細書におけるウイルス粒子または医薬組成物は、皮内投与される。

【0092】

一態様において、上記のウイルス粒子および医薬組成物は、それを必要とする患者またはヒトの脳内または脊髄内への頭蓋下注射によって対象に投与される。一態様において、脳への頭蓋下投与の使用は、グリアおよびニューロンを含む脳細胞に、本明細書に記載のコード化ヌクレオチド配列を直接投与する結果となる。本明細書で用いる用語“ニューロン”とは、脳の機能に含まれる、または関連する細胞を意味する。この用語は、単極性、双極性、多極性および擬似単極性を含む、いずれか1つのタイプのニューロンを意味し得る。

20

【実施例】

【0093】

s h RNA ベクターの作製およびレンチウイルスの調製

s h RNA をコードするオリゴヌクレオチドを、U6プロモーター（Addgene プラスミド # 8453）によって低分子 RNA を発現させる p L K O . 1 - p u r o ベクターにクローニングした。具体的には、s h RNA を生成するためのポリヌクレオチドは、標的とする特定の 21 ヌクレオチド配列およびその逆相補体を包含し、C T C G A G のループ配列で分けられ、プラスミドベクターにクローニングするために C C G G の 5' 隣接配列および T T T T T G の 3' 隣接配列が付加されていた。s h RNA をコードする以下のオリゴヌクレオチドならびにスクランブル s h RNA 対照を用いた：

30

40

50

【化 6】

551 shRNA 2 (“551-2”) (配列番号 502):

(5'- TGCTCTTCITTTCTACTTTATTCTCGAGAAATAAAGTAGAAAGAAGAGCA -3');

ATS-shRNA1 (配列番号 503):

(5'- CTCAATCCAATAACCTAATTTCTCGAGAAATTAGGTTATTGGATTGAG -3');

ATS-shRNA2 (配列番号 2):

(5'-GATATCACCTTACAGAAATTACTCGAGTAATTTCTGTAAGGTGATATC -3');

ATS-shRNA3 (配列番号 504):

(5'- TTAGTCACATCCCACAAATTTCTCGAGAAATTTGTGGGATGTGACTAA -3');

ATS-shRNA4 (配列番号 505):

(5'- TCCTAGGTCATAATGATAATTCTCGAGAAATTATCATTATGACCTAGGA -3')

10

20

クローニングはサンガー配列決定によって検証された。第 2 世代のレンチウイルスパッケージングプラスミド (p s P A X 2、Addgene プラスミド # 1 2 2 6 0 ; p M D 2 . G、Addgene プラスミド # 1 2 2 5 9) を用いて、H E K 2 9 3 T 細胞でクローニングした s h R N A からレンチウイルス粒子を作製し、Lent I - X Concentrator K I t (タカラ) を用いて濃縮した。レンチウイルスの力価は、5' L T R を検出する q P C R キット (Applied Biological Materials) を用いて推定した。

30

【0094】

幹細胞の培養および神経分化

アンジェルマン症候群 (A S) 人工多能性幹細胞 (i P S C) およびヒト胚性幹細胞 (h E S C) は、m T e S R - p l u s 培地 (Stem Cell Technologies) 中、マトリゲルコート基質 (Corning) 上でフィーダーフリー条件下で維持した。i P S C / h E S C は、37℃、5% C O₂ の加湿型インキュベーターで培養した。細胞を毎日フィードし、4~5 日毎に 0.5 mM E D T A を用いて継代した。グルタミン酸作動性ニューロンは、ヒトニューロジェニン 2 (N G N 2) 導入遺伝子のドキシサイクリン誘導性発現により、i P S C / h E S C から作製した (Fernandopulle et al., 2018, Curr Protoc Cell Biol. 79(1): e51)。簡単に説明すると、ドキシサイクリンで誘導可能な N G N 2 コンストラクトを、一対の A A V S 1 ターゲティング T A L E N S を用いて A S i P S C / h E S C のセーフハーバー A A V S 1 遺伝子座に安定的に組み込み、その後クローン細胞株を得た。これらの i P S C / h E S C を、D M E M / F 1 2、N 2 サプリメント、非必須アミノ酸 (N E A A)、L-グルタミン (すべて Gibco 製品)、および 2 μg / mL のドキシサイクリンからなる神経誘導培地で 3 日間培養することにより、神経細胞の誘導を行った。その後、D M E M / F 1 2、ニューロベース培地、B 2 7 サプリメント、ペニシリン / ストレプトマイシン (すべて Gibco 製品)、B D N F (10 ng / mL)、G D N F (10 ng / mL)、N T - 3 (10 ng / mL)、ラミニン (1 μg / mL) からなる皮質ニューロン培地で、神経細胞を終末成熟させるために播種した。ヒト i P S C / E S C 由来の N G N 2 誘導ニューロン (誘導後 7~10 日) を、M O I 1 0

40

50

でレンチウイルス粒子を導入した。

【0095】

定量的RT-PCR (qRT-PCR) 分析

ウイルス導入7日後にRNA単離およびqRT-PCRのためにニューロンを回収した。RNA-STAT60 (AMS Biotechnology) を用いて、製造元のプロトコルに従ってiPSC由来ニューロンから全RNAを単離した。cDNAは、High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Life Technologies) を用いて作製した。遺伝子発現解析は少なくともトリプリケートで行った。qPCRアッセイはすべてTaqMan Gene Expression Assays (Life Technologies社製) を用いた。各遺伝子のCt値は、ハウスキーピング遺伝子GAPDHに対して正規化した。相対発現を、キャリブレーションサンプルに対する $2^{-\Delta\Delta Ct}$ として定量した。

10

【0096】

データ概要および結果

AS iPSC由来のニューロンをレンチウイルス粒子で形質導入し、SNHG14ロング・ノンコーディングRNAを標的とする選択されたshRNA配列を発現させた。qRT-PCRを用いて、非標的対照shRNA (SCRAM) で処理したニューロンに対する、SNHG14-shRNAで処理したニューロンにおける、SNORD115宿主遺伝子であるUBE3A-ATSおよびUBE3Aの発現を測定した。図4および5は、SNHG14標的化shRNA (551-2、ATS shRNA1-4、ATS shRNA2_3G) または非標的化対照shRNA (SCRAM) で処理したAS iPSC由来ニューロンのqRT-PCR解析を示す。UBE3A-ATS、UBE3A、SNORD115の発現はハウスキーピング遺伝子GAPDHに対して正規化し、発現はSCRAM-shRNA処理ニューロンに対する相対値で示した。エラーバーは平均値の標準誤差、n=3生物学的複製。図4および5に示されるように、選択したSNHG14 shRNAは、SCRAM対照と比較して、UBE3A-ATS (55%~60%減少) およびSNORD115 (45%~50%減少) のRNAレベルを効果的に減少させた。SNHG14転写レベルのこの減少は、UBE3A RNAの口バストな増加 (SCRAM対照の5~9倍の増加) と関連していた。ATS shRNA-1、ATS shRNA-3およびATS shRNA-4は、UBE3A-ATSおよびSNORD115のRNAレベルを低下させ、UBE3Aの発現を増加させると予測されたが、そのような効果はなかった。

20

30

【0097】

上記の詳細な説明および添付の実施例は単なる例示であり、添付の特許請求の範囲およびその均等物によってのみ定義される本明細書に記載される主題の範囲に対する限定と見なされるものではないことが理解される。開示された態様に対する様々な変更および修正は、当業者には明らかであろう。このような変更および修正は、化学構造、置換基、誘導体、中間体、合成、組成物、製剤、または使用方法に関するものに限定されることなく、その精神および範囲から逸脱することなく行うことができる。

【0098】

40

50

配列

SEQ ID NO: 1

ヒト UBE3A-ATS ゲノム配列

TGAGATGACCTAAACAACTGTGGAGAATCATTGATATATTTCCCTTTTTTCACTGTTCAIGTTGG
GTGAAAATAATCTTGTAGTGAAATTCACATGTTCTAAATATTGTTTTTTTACATCTTTATCTGG
CACATTCATAACATAGATGTTTCTATACATATTAGTACTGTAATCATACCATATATTATTCTGT
TACCCCACTTACTCCTTAAACTTTTAGTTAATTAAAGAGTTTTTATAAAGTCCCCCAATAGATT
TTTTTTTTTTTGAGACATAGTCTCACTCTGTTGCCCAGGCTGGAGTGCAGTGGCGTGATTTTGGC
TCACTGCAACCTCCCCATCCTGGGTTCAAGCAATTCTCCTGCCTCAGCCTGCCAAGTAGCTGGG
ATTACAGGTGCCTGCCACCACGCCCCGACTAATTTTTGTATTTTCAGTAGTGACAGGGTTTCACC
ATCTTGGCCAGGCTGGTCTTGAACCTCTGACCTCGTGATCCACCCGCCTTGGCCTCTCAGAGTG
CTAGGATTACAGGCTTGAGCCACTGCACCCGGCCAGATTTTAATCTAATTTTATTAGAACAATT
CAGTCATATGTTTTTTTCATGCTATGTATATGAGAGTTCCATTATTCAGATACTAAACAAATGTC
TACTGTACATTTACTGTTCTCACTGATGATGCATTAGATAACCATGCACAAAATAAGCCTGGCT
GTGGAAACGCITATTTGTTGGGAGGGTGCTTGTTTGGATCGATGATGAGAATAATTGTCTGAGG
ATGCTGAGGGACTCATTCAGATGTCAATCTGAGGTCCAGATGTGCGGCCCTCCAATAGGACAA
ATAAGACTCTCAGAGCCTGGCTCTATTTGGGGATCCCTCAGTGACAACATAGTACCCCTGTGAG
CGTGCCCTTTTCTATCTCTTCGAAGAGGGCAGTGGCATCCCTGCTTATGAGTCAGTGTGCACTTT
AGTGTGCCCTAGTGACCCAAGACTTGCTTTAATTGTAGATAGATACTTACATATAGGAAATATTT
CTTAAGTAACAAATGAAAACTTTAGAAGATTGAATTAAGGGTCAAGCAACTGTGATATGTCTG
AAAATCTCATTAGTGTTGTGCTGAAAGAAGGAAATATGGCATGCCTCTATTAAATAATGACAGT
GGAACCAAGTTTATTGCTTTGTTATTTTTACTGTGGAGTATTTTCTAAGATTATTTTGCTTTT

10

20

30

40

50

TTTTTCTTTCATGTTTTGCTGAGATAGAAGGCCTGGAATCTGATCCTCCACTTCAGAGAACAGG
GGTGAGTAGCTAAGCCATTATCTTTTGAAATTCATATGTCATGTGCTCTTTGCTAGGTCTTTAG
GTCGTTTTGTACATCTTTTCAGAAGCTTATTGGAGGACATTTTCATGATATGTCCTTTTCCTCA
TTGAGACCCCTCACCATGTCACCTACACTATTGAATCCTTATCATTTCTCTTTTAAATTTAACTC
TCTTTTGCTTTTATGGAAAATGTAGAATTTAAGAGAATTTTTGGCAATTTTCATATTGGATCAA
AATGTATTGTAGTGAAATCCAGGTGTGCCAAAATATTAACAGATTTTCCCCATCTGTTTAATTA
TTGGGGTTTCAGAATAGAGACTCCATGGTTCATAATATCTTTGTGGTCATACTACATTATATTT
CTGCTTCTAATTTAATTATTAAATATTGACTTGAATTAGTCTTTTCCTCATTGTTGCAACAAGG
TAAGTTATATAGGAAATTTTCTTCTCTTGATGGCATGTCTGAGATAATCATAGATATAAGACAC
CTGGCTGGTTTCTAGAATGCATGTAATTTTTTATTTCTTGATCTGTGTGTTGAGTACTTGCTGTG
ATTGCATCATGCAAATACATTGAGCTTTACAATTTTAGTGTATGCACCTTTCTACATGTATATT
ATTCTTCGATAGAAAGTAAAAAAACTTATCGAACTAGTCAAAATATTGGTTAATACATAAAAA
AAGTCTCAAGTAGATTGTGTATTACATGGTGCTTGTGATTGATGCCCTCATAATAGATCAAGT
GGGTTCTCTCTTTAGCACAGGGCTTTTAGCAAATCATGTCATGAGTAGTTACTCAAGTATTTT
TATTTTAACACATTTATATTTTTTCTATGTATATTCTTAAATTCTCTTATACTTTTFTCTCTGT
TATAAAAACATGCTGAACAATCTCAAGTCTTAAGGATTGCAGTATTGTCCCCACATATTCATGT
ATTTTGGTACTCAATTCTTTTATACTTTCTTTGACAGATCACCTGAACTGGCACATGTCTCTTGT
TTTGAGAGAGGGGAATTAATGTGATACCTTCATGCTTTTCTATTCTATGTGCTACATAAFTGAA
TATACAAGCAAATATAGTTGTTAAGATTTAGTGTGATTATTTCTACACCACATGCAAAGAAGTT
TCTCATAGATCTTAATAGAGGGCCACATGCATTGTACAGTTTAGAATTTGGGGAAATATTGATG
AAGTTGGGTAAAGTATAAAGCCAAAAGTCAGAACAGTGAACCTCCTTGCTTAAGGATTTCCTTGG
AGATTACTTACTCAATACACAACCTGATAAATTTAAGTGCTTTTACCTTTTGAGTTCTCGACAT
ACTAAAGCTAAAATGTGTTTCAACTTTTAATCCTGCTTCCCTGATTTTCCCTTTTTAGTCTGA
GATCAAAGAGTTTCAGCCATAAATTACTGCCAAGAGTAATCACTTCATTTAAGAAAGCTTAAC
AATATAGAAGAATATAAAATTTATTTATGACAGATGTATTTTAACTTTTCCCCATGCTTTCCA
GAGGAAATATGTTTAAATCATCTGCCCTATATTAGGGGAAAACTTTCTATGCTAATACAAGTATC
TATCAATCCATTTATCTTTCTATATAAGATGTATTGATCATAACCAATTAACCTTTACTGTAAAT
GAGCTTTAGATTTGACATTTTGGTAGTAATATATGTTGTACAATCTCCTGAGGTCTTATAGGTC
TTGAGGTCTCTATGTCAAAAACCTATAGATGTGCCAGTGTCTCAGTGAATGTGAAGGACACCAC
ATTTTCCCTTAGCCATTTCTTGTTTTTCAGAATAATGGTTATCAACATTTTGTACTGCAAGATAC
CATACATTTATAATCGGAATATGCCAGTTTTTATGCACTCATGCCCTCTGTTTCTGTAGAGCATT
CCCAGAATGAGTAATGCTTGAAAATTAGGTCCATGTGATTTCTTTAATGAGTTATAGTCAAATC
ATGAAATATTCAGGTTACCATTATTTTCAAGTAATGTATTAGAATGTCAAGGTAAAGTTATCTACA
TTGTATATATACACACAACATAGATATAATTTATACAACATCTATATTTATACAACAGATATAT
ATTTATGTATATATTTATACAACATAAAATATATTTTATTATTTAAACATAAAATATATTTTAT
TATTTAATATAGATTCCTTAAGTGATAAATATGTTTAAATATTATTAATAATAGGTTAATAATAGGTT
ATAGTTAGTACAGTGAAAATTGGCAGCCCTTTTACAAAACATATGCCATAACTATAGCATTTAT
CACTGACAGTCATACCAGGATAGTCTTTTATTTCCAATCACTTAAATATTCCTAATTGCAAAAG
AAATTTGAAGACTAAAATTCAGAAGTTTTGAAAGAGCCATTGCCTGGGTAAACTATACAGGTTT
CAGTTTTATTTATAATAATTATGAGGCCAGGCGCAGTGGCTCACACCTGTAATCCCAACACTTT
GGGAGGCCGAGGCGGGTGGATCACGAGGTCAGGAGATCGAGACCATCCTGGCTAACACGGTGAA
ACCCCATCTCTACTAAAAATACAAAAAATTAGCCGGGCGTGGTGGCGGGCGCCTGTAGTCCAG
CTACTCGGGAGGCTGAGGCAGGAGAATGGCGTGAACCTGGTAGGCGGAGCTTGCAAGTGAGCCGA
GATCGCGCCACTGCCCTCCAGCCTGGGAGACAGTGGGAGACTCCGTCTCAAAAAAAAAAATATAT

10

20

30

40

50

40

AAACCTTGTCTACACAAAAAGTACAAAAATTAGCTGGGTGTGGTGTTCACACTTGTAGTCCCA
GTCACCTGGGAGGCTGAGGCGAGAGGATCACCTTGAGCCCAGGAGGTTGAGGCTGCAGTGAGCCA
TGTTTGTACCACTGCCCTCCAGCCTGGGTGACAAAAGTAAGACCCTATGTAAAAAAAAAAAAATG
TATGCCAACATTTTTCAATAACTTAAATGAAATGGAAAAATTCCTTGAAAGACACGAACCTACAA
AAACTCAGTGAACAAGTAAATAACCTGAATAGCCCTGTATCAAGTAAATTGAATTTGTAGTTAA
AAGCCTTCCAACAGAGAAAACTTCAGGTACCTATAGCTTCATATGAAATGAAAAAAAAAATACC
AATCCTCTACAAGATTCCAGAACATTTAAAAGAAGGGAATATTTCCCAACTTATTCATTGGA
CAGCAATACCCAGGTAAGAAAAAGAGACACAGAAATTTAAAAGAAGAATATACATTATTCCTT
AGGAACATAAATGCAAAGAAATCTAATCAAAATTTTGGCAAATGAAATGTAGAAATACTTTATG
ACCAAGTGAGAGTTACCCAAAGAATTTAAGGTTGGTTTTATATGTAAAGATCAACCAATATAGG
AAAATCACTTCTGGAAAGTCAGAGTAAGAACTCCAAAAATCTACTCTCCATAAAACCAATAA
CAGCCTTGATAGAAATAGTTGAAATTAATTTCCAAAACCTTTGGAAATTAACCAAAGGCTTACA
AAATTCCAGAGAACATTAATTCAAGAAAAATGGCTGAATCAGTAAGAACAGCCAGCTTTGTGGC
ATTTTAATATGACCCCTTCCCATGCTTTTCTCCCTAGTGCTGAGATAGTCTTAAAAATTAGCAG
GATAGCAACCCTGGAGAAGAAAGGTTTGGAAATTTCCCAAAAAGTTCCATCCCCATAGAATTA
TCACTATTTGACCTCTAAAGCCCAATCTATAGGATTTATATTCATTTGGACTGACTCAGAGCTC
ACTCAGTAAGGAAATCTCAATTTCAAGGTATTGGTCAAAAAGAATCCATGGCAATTGTTGACTA
TCACAACTGCCTGAAGTCTTGGTAACAGTTGGGATAAACAAGAAGCTGATCAAAAACGAAAAC
TAAAATCTTGGGAATGAGATATCTACAGGATGCTTCAAAAAGCTTTGATACATTCCTGTTTATC
TAGAAAGCTACATGCAGGCTGGGTGCAGTGGCTCACACCTGTAATCCCAGCACTTTGGGAGGCC
GAGGCGTGCGGATCATGAGGTGAGGAGTTTGGGCCAGCCTGACCAACATGGTCTCTACTAAAA
ACACAAAAATTAGCCAGGCGTGGTGGCGTGCTGTATCCTAGCTACTCAGGAGGCTGAGAC
AGGAGAATCGCTTGAACCCGGGAGGCGGAGGTTGTCAGTGAGCCAAGATTTGTGCCACTGCACTCC
AGCCTGGGCGACAGAGCAAGGCTCTGTCTCAAAAAAAAAAAAAAAAAAGCCACATGCATGTAA
TTGTTTACCTCTGGCTTTCTTTTATGCTCTGGGCAAGCTAAGGAAGAGTTGTGAACTACCTAA
GTGCTGAATGGGAACCATAACACACACACACACACACACACACACACAGCACCTTAGTAA
AGGGTGAGAGGCATGTTAGTTAGAAGCATTAAAGGAAATCTCTTTCTAGTCATTATCTGTGCAC
TAACCTAACTGAGCAGAGACTTCAGTATCCACATACTACAGGGCATATAAACTTTACAGAATTA
GTCCAGGAAAAATCATATCTAAAAAAAAAAAAAAAAAGCAGTAACAAAAATAAACTCTGGGAAAGGGG
AGAATATGATTTAAAGAGTTGCCACATTATACATAATATGTCTAGTGTTCAACAAAAAATTACG
AGACATGCAAAGAAATAGAAAAATATGGCACAAAGAGGATAAGATGAAGTCAGTGAACTATCC
TCGAGGAAGACCAGATGTTGGTCTTACTAGACACAGACATTGAACCAGCTATTAATAAATACGTA
CACAGAACTAAGAAAAACATGTCAAAAGGCTTAAAGAAAGGTATAAAAAATAGTGTCTTACCAA
TATAGACTACCAATAAAGAGATAGAAATTATAAGAAAAGACAACATGAAAAATATAAAGCAAA
AAAATTAGACAATTGAAACAAGAGGGCCTCTATTCGCAGATTTGAGCAGGCAGAAGAAAGAATC
AGTGAACCTGAAGATATGTCAACTGAGATTATCCAGTCTGAGCAACAAAGGTGGGAAAAAATGA
AGAAAACTGAGCAACAAAGAACTGTAGAACAGCATCTCTCATACCAATGGATACATAAACTGGA
GCCCTAGAAGGATGAAAAAGGAGAAAGGAAAGAAACTTCCCAAATTTAAGAAAAACATTAAT
TTATATACCCGAGATGACCAATAAAATCCAAATTAAGATAATCTCAAAGAGACCAACACCTATAC
ACATCATAGTCAGCGTGTCAAAAGACAAACATAAGGAGAGAATTCTTGAAGATAGTAAGAAAA
AATTATTCATAACATACACACCATCCTCAATAAGTCTGACAATTGACTTCTCACTGTAAACCAT
GCAGGCTAAAAAGGCAATGTACATAACCAAAGTGATGAAATAAAACCTTCAACCAATCATTCT
AGATCCAACAAAACCTATTGTTCAAAAAGAAGAAATGAAGACATTCCTAAACAAAATCTCAGAGA
AATGTTCTCTATAAGACTTGTCTAATAGAAATGCTAAAGGAACTCCTTCGGTCTGAAATAGAA

10

20

30

40

50

AGGCACTGGAGAGTAAATCAAATCCACGAGAAGAAATAAAGAGAACCAGTATAAGTAACTACAT
GTGTAAGTTTAAAACAAAGTATAAAATTTATTTTGTGTTGTAACATTTGTCTTTTCCATTTTGATT
TAAAATATAATCTCAATTATAAACTTGTGTTGATGGTATTATATAAAGATGTAATTTTGGGTTA
TAGCACCAAAATGGCAGAATAGGAATTTTCTGTAGGTGTTTCCCACATAAGTATCAATTTTGAC
AACCATCCATGGGCAAGAGTACCTTGTGGGAGTTTCAAGAGTTTACACTTTTACCTG
AGAGGAGTAAAGAAATCTAAGAATAGATTTCATTGGAAAGGGTATAAACAGTTTCACTTTTACCTG
CATCACCAACCCCCAAAAGTGGCACAGCTCAGTAACAAGAGCCCATTATTTCTTCCACAGAGGA
AAAGGAGAGTATAATAAGTAAGTGTCCAGTTTCTCAAGACATACAGGCCCTGCCAAGAGATC
CACTTTATTTTTCATCTCACCCAGAATATTGAGGTGATCAGCAAGGTGGAGTGGTTGGGAGAGGG
TAAAAGCAGGAAAGAGAGATGGGGAATCAAACAGCAGCCCATACTTGGAACTGCCATAGATCCT
ACCAGTTACTTTCATGGACTCCATCAGGAACCCACCTATAAGCCACAGGGGATGCATCCCTCCCA
TCTTGCCAACAAAACCCGAATGCTCCAAATGCCTCACCCACTCTTTGGCTGGCTCCCAAGTGC
GCTCCTGTGAAAAGCGAGTGAGTATCTCTGCAGATGGCTTGCAAGCACATGTTGACAGCTGGCT
CCACTCTGTAGAACTGGAAGAAAGCTCACATACATGAGAATTTTCAAGGACACTACCCCTAAAAAAA
AAAATGAGACTTCAGCACCTGGCCTGGCTTTATGCAACCTAGAGAAGGTGATATGATTTGGCTC
TGTGTCCCCACGTAAATCTCATGTCAAATTGTAATCCCCACGTGTTGGACAAGGGACTTGGTGG
GAGGTGATTGAATCATGCGGGTGGACTTCCCTCTTGCTGTTCTTGTGATAGAGTTGTTATGAGA
TCCAGTTATTTGAAAGTATGTAGCATGTCCCCCTTCACTCTCTTGCACTCCTGCTCCACCTTGG
TAAGACTTGCTTGCTACCCCTTTGCCTTCTGCCATGATTGTAAGTTTCTTGAGGCCTCCAGCT
ATGCTTCCCTGTATGGCCTGCAGAACTGAACTGTGAGCCAATTAAACCTCTTTTCTTCATAAAT
ATCCAGTCTTAGGTAGTTCTTTATAGCAGTGTGAGAATGGACTAATGCAGAAGGCATACAACCT
TTAGAATTTGCCCCCTTGAGGGAACAAGATGTGTGAAGCAGGTTTCATCCATAGAAAATGTCTGA
GAGAACCTCAAATCCCTAACCTGACTAACTGATGAAAGTGTTCCTCTCCTAAGGCCAGTCAGT
AAAGACCAGAGGGGGTGACTGTTTCTTTAAATGCAAAGGCAGCAGCACAATAATTCAAGAAAACA
TGAAAAATCAAGAAAACATGACACCACCAGAAGAACACAATCATTTTCCAATAACCAACTCCCC
AAAAATGGAGATTTACAAATTGGTTTATAATGAATTCAGAACAATTATGTTAAGGAAGCTCAGC
AAACTAAAAGGAACACCAATAGACTACTCTGTGAAGTCAGGCAAAACAATTTCATGAACAAAATA
GAAATTCAAAAAGAGAAAAATTTATCTTAAAAGAAAACCCAGAAGTTATGGAGCTAAAGAAATAC
AATGCATGAAATGAAGGAGCGTATCAACAGCAAAGTTGATCAAGCATAAGAAAAAAAAAATCTG
TGAAACTGAAGACTGGCTATTTGAAATTATTCATCAGAGGATTAAGAAAAAGAAATGAAAAGA
AATAAAGAAAGCCTACAGGATGTATAAACACCATCAAGAGAACTAATATAAGGATTATTGGAG
TCATAAAGGAGAAGAGAGAAAAAGGGTAGAAAACTTATTTAAGAAATAATGGCTGAAAACCTCTCC
AAATCTAGGAAAAGATATGAGCATCCAGGTATATGAAGCTCAAAGATCCCCGTACAGGATACAT
TCCAAAAAGACTTCACCAAAACACATGATAATCAAACGTGCAAAAGCAAAATCAAGACGATGAA
TAAACCACCAATCACTAAGAGGGGAGACAGGATTCTTATGTTGTCAATTATTATTACATATAATT
TCAGTAAATGTTATTGGAAAATTTATAATGTTTTAAAAAAGAAATTTGAAAGCACCGAAAGAA
AAGAGACTCATCATACAGGGAAACCCTTTTAAGGCATTCAAGAGATTTCTCAGTAGAAACCTT
ACAAAATAGGAGAGAGTGGGATGAACCTATACAAGTGCTGCAAGGAAAAAATGCCAACCAACGC
TTTACCTGGCAAATCTGTTCCCTCAGAAATGAAGGAGAGAGAAGAACTTTCTTAGACAAACAAAA
GCTGAGGCAGTTTCATCACCACTAGACCTGCCTTACAAGACATACTAAGGGGAGTTCTTCAAGCT
GAAATGATATGGCAATAGTTAGTAATATGAAATGATAAACCTCACTGGTAAAGGAAAGTACATA
GTCAAATTTAGAACACTTTGATACTATAATGATGGTGTATAAAATAATTTTACTGTGCTATGAAG
GTTAAAAAGACAAAAGTATTAACAAAAAACCCATAGCTGCAATAGCTTGTCAATGCATACTACAGT
ATAAAAAAGATGTAAATTAGAACATTAACAAACATAGCATGCAAGGGTAGGGAAGTAAAGTGTAG

10

20

30

40

50

TTTTCATATGTAATCAAATTTAATTTGTTATCAGCTTAAAATAAAATTGTTATACCTATGTTTTA
TGTAAGTGTCATGGTAACTATAAAGGAAAAACCTCTAGTAGATACACAAAAGAAAAAGAGAAAG
GAATCAAAACATAACACTACAGAAAATTATCAAATTACAAAGGAAGACAGCAAGGGAGGAACAA
AGTAAAAAGAGCAAGAAAAAATTTAACATAATGAAAACAGTAAGTCCTTACGTGTCAATAATTA
CTTTAAATGTAAATGGATTAAATTATCCAAACAAAAAACAGACTGGACAAATGGATTTTAGAA
ACAACAACAACAACAACACCGCACACACACACACACACACAAACCACCCAGCCCCAACTAT
GTGCTGCCCTACAAGAGATTTACTTCCACTTTAAGGACACATAACAGGCTGAAATTTAAAAGAACAG
AAAAAGATATTTGCATGCAGATAGAAACCAGAAGAGAGGAGAGGCATCTATACTTACAGCATACA
GAAAAGATTTTAAAGTTAAAAACTATATCAAAAGGCTAAGAAGGTCAAAATGGTGAAGCAGTTAA
TTGTTCAAGAAGACATAAAAAATTGTAAATATTTATACACCCAATATTGAAGCACCTAAATATAT
AAGGCCAAATATTAATACATATAAAAGGAGAAATATACAGCAATACAGTAATAGTAGTGAACCTC
AGTGCCCTCCCTTTCAAAAATGGATAATCCAGACATAAAATCAATAAGGAAACATTTAACTTAAA
CTTCACTTTAGACCAAATGGATCTAACAGACATTATACTGAACATTTTCATCCAACAGTGGTAGA
ATTACATTTCTTCTCAAGCACACATGGAACATTTCTCCAGGATAGATTATATGTTAGCTCACAAA
ATAATATTACAAAATTTAATAAAGCTGAAATATCAATTATTTTGCACCACAATAGTATAACACT
AGAAATCAATAACAAGATGGAACTGGAAATTTACAAATATATAGCATTAACATATTCCTGAAC
AACCAATGGGTCAAAGAAAAAAATCAAAATAATTTTGTGACAGCAAAGTAGAAACACAACATAC
CAAAACATACAGGACACAGCAAAAGCAGTTCTATGAGGTAAGCTTATATTGATAAACACATTTA
AAAAAGATTTTTAAATAAACAACATTACACCTCAAGGAACACAAGGAAGAAAAAAAACAAGC
CCCATGTTATCAAAGGGAAGGAACCTAACAAAGATCAGACAGAAATAAATGAAACATAGACTAGA
AAAACAATAGAGACTATTAATAAACTTAGAGTTAGTTTTTTTAAAAAATAAAATCAACAAACCT
TTAGCTAGACTAAAAAAGAGAAGACTCAAATAAAATAAAAAATGAAAGAGGAGACATTACAAC
TGATACCACAGACATACAAATTAAGAGAAAACCTATATGCCAACATATTAGTTAACTTGCAATGG
GTAAATCCCTAGAAACATACAACCTACAAAAACTGAATCATGAAGAAATGGAAGATCTGAACAG
ATCAATAATGAATAAGGGAATTGAATCAATATTTCAAAAATCTCACAAAAAGAAAAGCTCAGGAT
CAGATGGCTTCACTGGTGAAGACTGCCAACCATTTAAAAAAATTAATACCACTCTTTATTAAGC
TCTTCCAAAAAATTGAAGAGGAGAAAAACACTTTCAAATTCATTATAAGAGGGCCAGTTTTACCT
TGATATCAAAGATTTAAAAAGAACACTTTGAGAAAGGAAAATTACAGGCCAAAACCCCTTGATAA
ATATAGATGCAAAAATGCTCAGCAAAATACCTAGCAAAACCTAATTCAGCAACACATTATAATGGC
ATACATCATGACCAAGTGAGATTCATGCCCTCGGATGCAGGATAGTTCAATATAATCAAATCAAC
AAATGTTACACTACTTTAACAGAATGAAGGATAAAAAATCATATGATCATCTCGATGGTTGAACT
AGTTTACAGTCCCACCAACAGTGTA AAAATGTTCCCTATTTCTCCACATCCTCTGCAGCACCTGT
TGTTTCCTAACTTTTTACAGATCACCATTCTAACTGGTGTGAGATGGTATCTTATTGTGGTTTTT
GATTTGCATTTCTCTGATGGCCAGTGATGGTGAGCATTTTTCAGTGTCTGTTGGCTGCATAAA
TGTCTTCTTTTGAGACGTGTCTGTTCATATCCTTCACCTACTTTTTTGATGGGGTTGTTTGT
TTTCTTGTAATTTGTTTGAGTTCTTTGTAGATTCTGGATATTAGCCCTTTGTCAGATGAGTAG
ATTGCAAAAATTTTCTCCCATTTCTGTAGGTTGTCTGTTCACTCTGATGGTAGTTTCTTTTGCTG
TGCAGAAGCTCTTTAGTTTTAATTAGACCCCATTTGTCAATTTTGTCTTTTGTGGCATTTGCTTT
TGGTGTTTTAGACATGAAGACAGTGTGGTGATTCCCTCAAGGATCTAGAACTAGAAATACCATTT
GACCCAGCCATCCTGTTACTGGGTATATACCCAGAGGATTATAAATCACGCTGCTATAAGCCAT
AAAAAATGATGAGTTCATGTCTTTGTAGGGACATGGATGAAGCTGGAAACCATCATTCTCAGC
AAACTATCACAAGGACAAAAAACCAACACCGCATGTTCTCACTCATAGGTGGGAATTGAACAA
TGAGAACACATGGACCCAGGAAGGGGAACATCACACACTGGGGATGGTTGTGGGGTGGGGGGAG
GGGAGAGGGATAGCATTAGGAGATATACCTAATGCTAAATGACGAGTTAATGGGTGCAGCACAC

10

20

30

40

50

CAACACGGGCACATGTGCACATATGTAACAAACCTGCACGTTGTGCACATGTACCCTAAACCTTA
AAGTATAATTAAAAAAATAATGCTGCTATAAAGACACGTGCACACGTATGTTTCATTGCGGCAC
TATTCACAATAGCAAAGACTTGGAACCAACCCAAATGTCCATCAATGATAGACTGGATTAAAGAA
AATGTGGCACATATACACCATGGAATACTATGCAGCCATAAAAAAGATGAGTTCATGTCCTTTG
TAGGGACATGGATGAAGCTGGAACCATCATTTCTCAGCAAACCTATCACAAGGACAAAAAACCAA
ACACTGCATGTTCTCACTCATAGGTGGGAATTGAACAATGAGAACACTTGGACACAGGAAGGGG
AACATCACACACTGGGGCCTGTCGTGGGGTCAGGGTAGGGGGAGGGATAGCATTAGGAGATATA
CCTAATGTAAATGACGAGTTAATGGGTGCAGCACACCAACACAGCACATGTGTGCACATGTACC
CTAGAACTTAAAGTATAATAAAAAATAAATCATATCATCATCTCAGTAGATTTAGAAAAGCATT
TAACAATATTCAACATCCTTTTCAGAACTAAAACTCTCAATAAATCAGGTATAGAAAGAATGTG
CCTCAACACTATAAAAGCCACATATGACAAACCTGGAGGTAATATACTCAATGGTGAAAAGTAA
AAAGCTTTGACTCTAAGATCAGAAACCAAAACAAGGATGTCCATTCTCACCCTTATATTTAACA
TAGTAGTTGAAATTCTAGCTAGAGCAATTAGGCAAGAAAAAGGCCACCCAAGTTGGAAAGAATG
AAGTTAAATTTGCTCTGTAGATGACATGATCTTATATATAGAAAACACTAAAGACTCCACCAAA
ATGCTGTTTTAATTAGAGCTTAAAAAAATAATTCATAAAGTTGCAGGATACAAAATCAGTATA
CAAAAATCAGTTGCATTTCTAAACACCAAAAACAAGTTATCCAAAAAATTAAGAAAACAATCCT
ATTTGTGATATCATCAAAAATAAAAATACTAAAGAATACCAAAGAACTGAAAATAAATGGAAA
TAAATGGAAAGATAGCCCATGTTTCATGGATTAGATGAATTAATACTGTTAAAATGTTTCATACTA
CCCAAAGCAACCTACAGATTAAGTGCAATTCCTACTAAAATTCCAATGACATTTTTTCACAGAAA
TAGAAAACACACTCCTAAAGTTTGCATGGAACCGCAAAGACTCAAAATAGATGAAGCAATTTTG
AGCAAGAACAGTAAAGCTGGAGACATCACACTACCTAACTTCAAAATTTTATTAATCAAAACAG
CATGACATAAAAACAGACAGAAAAGACCAATGGAACAGAATAGAGAGCCCAGAAATAAACTCAC
GTTTATAGAGTCAACTAATATTCAACGAAGGTGCCAAGAGTACACAATGGGGAAAGTATAGTCT
CTACAATAAACAGCACTGGGAAGACAATATCCAAATGCAAAGAATGAAATTACACCCTTATCT
TATACCATACACACAAATCAAATCAAAATTGATAAAGACTTAAATATAAGACCTGAAACCATAC
AATCTTTAGGCAAAAACCTCATTGACATTTGGTCTTGGCAATGATTTTTTTGATATGACACCAGAA
GCACAGGCAACAAAAGCAAACTTAAACAAGTGGGACCCTAACAACTAAAAAGTTTCTGCACAG
CAAAGGAAACAATCAATCATCAGAATTAAAAGGCAATTTATGAAATGGGAGAAAATGTTTGCAA
ACCACATATCTGATAAAGGGTTAATATCCAAAAATATATAAGGAATGCATAAAATTCATAGAA
ATAAACAAACAAATAATCCAATTTTAAAAATGGGTGAAGAACCTGAATAGACATTTTTTCAAAGA
AGACTTACAGATAGGCAACAGGCATATGAAAAATGCTTGACATCACTAATAATCAGGGAAATG
CAAATCAAAGCTCCAGTGAAATACCACCTCCAACCTATTAGGATGGCTATTATCAAAAACCTCAAA
AGAAAAACAAGCTGGGGGAATGTAGAGAAAAGGGAAAAGAAGATCCTTATACACTGTTGGTGTGA
ATTTAAACTGGAATAGCCCTTATGGAAAACAGCATGGAGGTTCTCAAAAAATTAAAAATAGAA
CTACTATATGATCCAGCAATTTCACTATTGAGTATATATCCAAATGAATTAAATCACTGTCTT
GAAGAGGTATTTGCACACTCATATTTATTTTCAGCATTATTCACAATAGCCAAGACATGGAATCA
ACCTAAGTGTTTCATCAGTAGATGATTAGATAAAGAGAACGTGGTATATAGACACAGTGGAATCT
ATTTAGTGTTCAAAAAGAAGGAAATCCAACCTTTTAAATCCTTTAAAAAGTTAACTCATAAAA
ACAGAGAGGAGAATGGCGGTTTCCAGGAACTGGAGGGTGGGAGAATGGGGAGATGTTGGTCAAA
AGGTACAACTTTTCAGTTATAAAATGAATAAGTTCTAGAGATCTAGTGTACAACAGCATTACTA
TAGTTAATAATAATATTTTTTATACTTGAAATTTGCTAAGAGTAAATATCAATATTCTCAATAC
ACACAAAACAGAACTATCTGAAGGCACTGATATGTTAATTATCTTCATTATAGTAATCATTTCA
CAATGTATAATGAATATCAAAACAATAGTGTACATCTTAAATATATACAGTTTTTGATTTGTTAA
TCATACATCAATGAAGCTAGAAAAAATGTTGTAATTTTTTAAAAACAATAGTAATATAAATTAGGG

10

20

30

40

50

GTGAAGGAATTGACCTATGTTGGAGAAAAGTTTTTGTAACTATTTAAATTAATTGGTATCCAT
TCAAGCTAGATTATTTTTTAATTGTTAATTTAATTGTAATACTAAGGCAACCACTAAAAAGCCT
TTAAAAAATATAGCACTTGAGGCTGGGCATGGTGGCCCTCAATTATATATATAATATATATAA
AATATATATTATATATATAGTAGATGAACAACAATGGGATTTAAATGGTACACTAGAAAATATC
TGTTTAAACAAAAAGAAAGCAATAGTGGAGAAATATAAGAACAAAACCATGTAAGATTTATAGAA
AATGAATAGCAAATTGGTTGACCTAAACCCCTATCTTATAATTATATTAAAGATAAATGAAATAA
ATACTACATCAAAAAGGCAGAGATTATCAGAATAGAGAAGAAAAATCCAAACCATAATTCAACCT
TATGTTATCTGTATTTAGAATATTTAGAGTCAAGACACAAATAGATAGAGTTCATTTGGGCGT
GAAAATATTTACCATGCAAAATGTAATTAAAATAGAGCTAGAGCAGCAATACTAATATCTGACA
AAATATACTTTAAACAAAAATTGTTGCTAAAGACAAAAAAGAACATTTTATAATAAGACACAACA
ATTATAAACATATACACCAAACAATAGAGCCCAAAATATACAAAGCAAAAACTGCTAGAATTGA
AGAAAAGATAGAAAAATCAATGATTACAGTTGGAGGTGTCAATACCAAACCTTTCAGTAATACACA
GAACAACAAGTCAAAAGCAAAAAGGAAATAAAAAACTACACATTATCATACAACACCTTAATAC
GATATCCAACAATAGCAGAATACACATTATTCTGAAGTGCACATGGAATATTCTTCAGGATGAC
ACATATTAGGCTGTAAAACATATCTTAATAATTTAAAGAATTGAAATAATACAGCACATATTC
TCTGACTGCAAAATATTTAAACCAATTACAGAAGAAAATGTGGGAAATTCACAATGATATGGAGA
TTTAAAAATACCTTCAAAGTAACCAATGAATCAAAGAACAATCACAAGAGAAATTAGAAAATAT
TTTAGATGAATAAACTGAAGAAACAACATACCAAAATTTTGTGGTTGTAGCTAAAGCAGTGCT
TCAAGGGAAATGTATAACAGTATATCCCTAAATTTTAAAAAATCTCAATCCAATAACCTAATT
TTTCACCTTAAGAAATGAGAGTGAAAGAGCAGACTTAACCCAAAGTAAACAGAAGGAAGAAATA
ATAAAGATTAGCATGGAGATAAGTAGTGAATAAATAACAATAGAGAAAATTAATAAACTTGAA
AGTTGCTTCTTCTGATATATCAGTAAAATTGACGTATTATTAGTTTGACCGAGAAAGAACAAAA
GAGAGAAGATTCAAGTTACTAGACATAAATGAAAGTATAGATATCACCTTACAGAAATTAAGAG
AATTCTAACAGAATATTGTGAAAAAGTGAATGTCAAAAAATTAAATTATATGAGATACACAAAT
CCCTCTAAAGGCACAACTACCACAGCTGGTGTAAAAACATGAATACACCATTTACAGTTAAAA
AGACTGAATAGATAAAAATTTTAAGAAGAAATTGAGTAAGTAATTTAATTTCAAACATAATC
CCAAGACCAGATGTTTTTCAATTGGTGAATTCTACCAAACCTTTAAAAGGATTAATATCTATTTTTC
ATACACTCTTTCCAGAAAATAGAAAAGGAGGGAACACTCTATAACTCACTGTATGAGGTCCGTA
TTACCCCTTATATCAAGACCAAAACATCATAAGAAAAGAAGACTAAAGACTTATGGTTTCTGCTCT
GATATGTTTGGAAAGTCATCACTACTATTGTGCACAAGGAAAAATCTGAACAACTAAAGTCAACG
ATTTCTTAACTAACCATAGAATTGAGGTAACGGGCGAAAACTGGAGATGTAGGCAAATACAAA
AAAAATCACAGTTTATCAGGAGCAGAACTGCTGAAACCAGCAACTCGTATGAACATGTTAAGT
GGTAATTGACAAATTTCTGGAGATTGAATGTGGACTGGATTGAGAGTTAGGAACTCCTAAGTGC
CCAGTTTTTGATGACCCACACACTTTTGTAACCTAGACTTCCAAGAGCCCCAGCAAGTTTCTT
ACAGTGAAGACTGCAGAAAAATCCCTGATGCTTCAGATAGGAGGAAGGGAAAAGCAACTATTT
TGAAATAAGCCCAGGGGACAAGTAGTTATTTCTAAACACTCTCAGAGCATTTCCTTTCACACGG
CAGGGGGCTCCCTGCAAGGGAAGCTACTTTGCCTGAGCCTTGTCTGATGTAGGAGAAAAGGAAT
TGGATGGCTCAAGCTCCATCTAGCCTTTCTGATTTATATAAGGGAAGCAAAAAATAGGTTAAGA
AACTCTTCTGAAAGTCACAACTCAGATTTATTTTATATTTATTTATTTATTTATTTTGTAG
ACGGAGTCTCGCTCTGTTGCCAGGCTGGAGTGCAGTGGCGCGATCTCGGCTCACTGCAAGCTC
CACCTCCCGGGTTACGCCATTCTTCTGCCTCAGCCTCCTGAGTAGCTGGGACTACAGGGCGCCC
AGCTAATTTTTTGTATTTTTTAGTAGAGACGGGGTTTTACCACGTTAGCCAGGATGGTCTCGATC
TCCTGACCTCGTGATCCACCTGCCTCTGCCTCCCAAAGTGCTGGGATTACAGGCGTGAGCCACC
GCACCTGGCCTCACAACCTCAGATTTAACCATAAGATTATAGAACACTTCTCCTCCCAAACAGA

10

20

30

40

50

GATATAGATCAATGGAACAGAACAGAGCCCTCAGAAATAACGCCGCATATCTACAACCTATCTGA
TCTTTGACAAACCCGAGAAAAACAAGCAATGGGGAAAGGATTCCCTATTTAATAAATGGTGCTG
GGAAAACTGGCTAGCCATATGTAAAAAGCTGAAACTGGATCCCTTCCTTACACCTTACACAAAA
ATTAATTCAGATGGATTAAAGACTTAAACGTTAGGCCTAAAACCATAAAAACCCTAGAAGAAA
ACCTAGGCATTACCATTTCAGGACATAGGCATGGGCAAGGACTTCATGTCTAAAACACCAAAAGC
AATGGCAACAAAAGACAAAATTGACAAACGGGATCTCATTAAACTAAAGAGCTTCTGCACAGCA
AAAGAACTACCATCAGAGTGAACAGGCAACCTACAAAATTTTCACAACTACTCATCTGACAA
AGGGCTAATATCCAGAATCTACAATGAACTCAGACAAAATTTACAAGAAAAAACAACAACCTC
ATCAAAAAGTGGGCAAAGGATATAAGCAGACACTTCTCAAAAGAAGACATTTATGCAGCCAACA
GACACATGAAAAAATGCTCATCATCACTGGCCGTCAGAGAAATGCAATCAAAACCACAATGAG
ATACCATCTCACACCAGTTAGAATGGCGATCATTAAAAAGTCAGGAAACAACAGGTGCTGGAGA
GGATGTGGAGAAATAGGAACACTTTTACACTGTTGGTGGGACTGTAACTAGTTCAACCATTGT
GGAAGTCAGTGTGGCGATTCCCTCAGGGATCTAGAACTAGAAATACCATTTGACCCAGCCATCCC
ATTGCTATATATATATATATATACCCAAAGGACTATAAATCATGCTGCTATAAAGACATATGCA
CAGGTATGTTTATTGCAGCACTATTCACAATAGCAAAGACTTGGAACCAACCCAAATGTCCAAC
AATGATAGACTGGATTAAAGAAAATGTGGCACATATACACCATGGAATACTATGCAGCCATAAAA
AAGATGAGTTCATGTCTTTTGTAGGGACATGGATGAAATTGGAAATCATCATTCTCAGTAACT
ATCGCAAGGACAAAAAACCAAACTGCATGTTCTCACTCATAGATGGGAATTGAACAATGAGA
ACACATGGACACAGGAAGGGGAACATCACACTCTGGGGACTGTTGTGGGGTCGGGGGAGGGGGG
AGGGATAGCATTAGGAGATATACCTAATGGTAAATGACGAGTTAATGGGTGTAGCACACCAGCA
TGGCACATGTATACATATGTAAACAACTGCACATTGTGCACATGTACCCTAAAACCTTAAAGTA
TAATAATAATAAAAAAAGGCTACCTAAAAAAGAAACACTTCTCCTCCCAACACCATA
TCACCACATCAACCAGGACTCCAGTGTAAATAGCAGTGAATTCTAACTGAAAGAGGTGAAAGACA
CTGATTGTATTTAAGAAAGATCTTCTAAGGAAATCCAAAAATAGTAGGGGAGATCAAAACAAAG
ATACTAGAGGAAATTGAATATGTGACACCTATAGCTACAAAAAATTAACATAACATAGCCCT
AACCATATAAACATAAAACCTCACACAAAGACCTATTATCTGAGATTCTGTTGCCTGATACATT
GCGTTTTATTTCAATAAAAAAATTAGAGGGTATGTTAAAAAGCAGGAAAAGTTAGTCTAAAGAG
ACAAATTGAGCCTCAGAAGTAGGCTCAGATATGGCAGAGATTTGGCAATTATACCTAGAGTTTA
ATATAAATGATTAAATATAAATAGTGTCTAACAGAAAAAGGCAACATGCAAGAACGGATGGGTA
ATGTGATCAGCAAGAAGGAACTCTAAGAAAGAAGTCAAAGGAAATGCTAGGAATAAAAACCT
ACAAGAAATAAAGAATGCCTGTGATGGGTTCCTCAGTAGACTGGACAAGGTCAAAGAATCAGTG
GATTTGAAAATATGTCAACAAAACTGCCCACTGAAATACAAAAGAAAAATAGAATTTTAAAA
ACGTAACACAATCTCCAAAACAGTGGGACAATTACAAAAGATGTAATGTGCCTAATGCAAATGA
CAGTAGGAGTATAAAGGGAGAAAGGAATAGAAAATCTGAAGTAATAATGGCAGAGAGTTTCCA
AAATTAATGCTAAACCACAGATACAGCAAGCCCAGAGAACAAAGGAGGAAATTTAGTAAAGC
GTCTGCAACCAAGTATGTCAATTCAGACTGACAAAACCAAAGGTGAAGAGAAAATATTGAAAG
AAGACAAAGAGGAAAATAAATATCAAGAAAATACATACGAAATACATCATACATACATAAGAAA
TACATCAGACCATAACAAGCAAGAAGAGAATGGAGTGAAATGTTTAAAAATGTTGAAAAAAAACCT
ATCAATTTGCAATTCTGTATCCAGTGAGATTATCTTTCAAAGTGAAGAGGGAAATGGCAGAGA
AGTCATCTCCAAGACCTATGGTTTCCCTTCACAGAAACACTGAAAAATATGAACAAAAGTGGTC
AGAATTAACTTTCTAAGAATTCTATAAAATGGTAAAATGTTTACACCAGTAAAGCAAATGCTGA
ATTGAGAAGGCAACTTAAAAAGGTGAAGAAAACCTTCGTATTATTTTATGTGTCTCTGCCCCAC
GTCTTCCCTACCTTAGTCTTGAAGATGGCAGCCACATTTCTACTGTGGGGCTCTGGTTTCTG
TTTCTTGGTTCAAGAGGGAGAATAACAGACCTTACTTTTAGTCATTATTATTTCTCTTCTG

10

20

30

40

50

ATTCCTTGGGTTTATTTTGTCTCTCTTTCTACTTTATTGAAATGAGAACTAAGATTATGATTT
GAGACATTTTTCTAATGTAAGCATTTAGTGCTATAAATTTCCATCTCAACACTGCTTTAGTCAC
ATCCACAAAATTTTTATATGTTGTAATTTCACTTTCAATTTAGTTCTATTTTTAAATTTTTCTT
TTTATACTTCCTCTGACTCACAGATTACTTAGAATTGTGTTGTTGAGTTTTCAAGGATATTGTA
GATTTTCCTGTTTCTCTGTTGTCTAATAGTTCTGTTCCATTTTGTACAGATAGCTCACGCTGTA
TGATTTCAATTTTTTAAAAAATTGTGCTTTGTTTTATGGCCCAGATATGGTCTGTGCTGTGAAT
ATTCCATGTTAATTATAAAGTATGCCTGTTATATTATTATATATATAATATATATAATTATAA
AGCATGCCCGTTTTGTATTGTTAGCAGAGTATTCTAGAAATGTCAATGAGATCTTGTGTTGA
TGGTGCTTTTTGAGTTCTATATCTTTGCTAATTTTTTTTTTTTTTTGCTTAGTAGCTATATGAGAT
TCTGAGAGAGGAAATTGAAGTCTCCAACCATAATTGTGGATTGTCTATTTCTCCTATCAGTTC
TATCAGTTTGTGCATCACATATTTGAGGCTCTGTTGTTTGGTGCATACACAAGTGGAAATCATTG
TGCCCTCTTGGTGGCTTATTTTATGATTATATAGTGCCCTATCTTTGTGGTATTTTTATTGTCTC
TTAAATCTACTTTGTGTTATATTATATACCCATTCTTTTTTAAAAAAATTGTTTGGGTGATA
CATCTTTTCCATTCTTTTAAATCTCAGCCTATCTGTGCCATTGAATTTGAAGTGAGTTTTCATAT
AGAGAACATATTATTGAATCATCATTTTAAAAATTCCTTTTGCCAATCTTTTTTATACTGAGGT
AAAAATTGACATAAAATTTATCATTTTAAAGTGTACAATACAGTGGCATTGGTAATACACATGT
TATGCAACGTTAACTCTACCTGGCTCCTAAATGTTTTTCATCATCCCCAAAAGGAACTTCATAC
TCATTAAGCAGTTAATTCCTTCTCTCGGCCACTGGCATCCGCAAACCTACTTTTCTGT
CTCTATGAATTTACCTATTATGGATATTTGTATAAATTGAATTATACAATAAGTGACCTTTAT
GTTTGGCTTCGTTTCGCTTCGCATACTATTTTTCGATATTCAACCATGTTGTAGTATGTATCAGT
TTTATTGAATAACTCAATTTCTTTTTGTTGTATAGCTAAAAGTTGATTCCTAGGTCATAATGAT
AATTCATATGTTTAGTTTATTGAATAGCTGCCAAAGTTTTTCCACAGTGGCTCTGTCAATTTAAA
ATCCCACTAGCAATGGATGAGAGTTCCAATATCTCCACATCCTTACCAATATTGTTATTTTATA
TTTTTATAATTATAATTTTCTAGTGAATACGCAATGGTATCTCATTGTGTTTTTGGTTTGCCT
TTCCCTAATGACTAATGATGTTGAGCATCTTACAATGTACTTGTTAACTATTTGTGTTCTTTAG
AGAAATGTCTATTCAAGTGCTTGTCCATTTTAAAAATCGAGTTGTCTTGTTGACTTATGAGTT
CTTTAATACAGTAAACGCTTATCAGATATGATTTATAAGTATTTTAAACCATCTGAAGGTCAC
CTTTTCACTTTTGTGGTAGACCATTATGCACAAAGGTTTTAATTTTGATAAATCCAATTTATCC
GCTTTTGTGTTGTTGTTTTGTTGTTGCTGCTTTTGCAAAACCTAGTGTCAATGAGGTTTCTCATTT
ATCTTTGGAGAATTTTATAGTTTGGGTCTATACATGTAGATTATTGATCTAATTTCCATTAAATT
TGTGTGTATGCTACGAGGTAGGGGTCCAAATTCAATTTTTGTCATTGAATTGAAAATTCATATTT
TCAGTTTCAAATTTCAACTGCATATTCACTTGTGTCAGCACAAATTTGTTGAAGAGATCATTCCTT
TACCACAGGGAATGATCTGGGACCTTGTCAAAAATCAATTGATCATAGATGTATGGGATTATT
TCAGACTTTAGATCTTGTTCATGAATATGCCTATTTTTATGCCAGCACTGCAGTATTTTCATT
ACTGTAGCTTTATCATAAATTTTGAAATCAGGAAGTATGTATCCTCCAAGTGTGATTTTCATTT
GCTAGAGTGTTTTGACTATTTGGGGTCTTTGCAATTCCATATGAATTTCAGAATTGGCTTTTCA
TTTTAAAAAATGGTAGTTGAGATTTTCATAGGAATTATATTGAATCTACAGATCACTTTGGGTA
GTATTGCCATCTTAACAATATTGTATTCCAATCCATAAACACGGATGTATTGCCATTCATATCT
TTTTTCTTTTCTTTTCGGCAACATTTAGTATATGACACTTGTAACCTCCTTGGTTAAATTTATAC
CTAAGCATTTTATCCTTTCTGATGCTGTTTAAATGGAATTATTTTATTAATTTCTCTTTTAGAT
GGCTTGTGTCAGGTGTATAGAAATAGAACTGATTATTGTGCTTTTATTGAATTATCTGAACTT
TGCTGCATTTATTAACCTCTAGTAGGTTTTTTTTTCTTTTAAAGTTGTCTATATATCTTGCTCTG
TGAATAGATAATTTTACTTCTTGATCTCCAATATGGATGCCTTTCTTTCTTTTCTTAACCTAAT
TGCTGTAGCTAGAATTTTCAGTATAATGTATGATAGAAGTTGTTCACAACTATCCTTGCTCTCT

10

20

30

40

50

TTCTGATCCTAGGGGTATAGCTTTCAGTCTTTCACCATTAAGCACAAATGTTAGCTGTGGGGTTT
TCTTAGATGCCATTTAATAATTAAGGAAGTGCTCTGCTATTTCTAATTGGTTGAGTATTTTA
TTATAAAATGGTGTTAGATTTTATGACTTTATGTACTGCATAATTGAGATTATCATGTGGTCTT
TTCATTCCGATTAATGTGGTATATTTTATGATTTTTCATATGTTGATCCACCTTTATATTCTTGGG
GCAAATCCCAGTGTGTACACGGGTTTTTTAGGGTCTCCTAATTTTCTTCATTCTTTTTCTTTTC
TCTCCCTGAGACTGAATAACGTTAACTGACCTATCTTCAAGTTTACTATTTTTCTTCTGCTGT
TCAAATCTGCTTGAACCTATAGAGTGAATTTTTCATTTTACTTATTGAACCTTTTCAGCTCCAAA
ATTTCTCTTTGGCTACTTTGTATAATATCTATCTCTCTATAGATATTCTCTATTTGGAAAGACA
TTTTCTCTCTGGTTTTCTTTACTTATTTGTATTTTTTAAAGTCTTTAAGCATATTTGAGACAGT
TGATTTAAGTATTTGTGTACTAAGTCCATTGCCTAAGCTTTTGCATAGAGATTTTATATTAATT
TCTTTTTTTTTCTGTGAACAGGTCCTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTAGAAAAGT
GACATTTTGAGTAGTATAAACGTGGCTATTTTAGAAAATAATTTTCTCCTCCCTCCTTAGGTTTTGT
TTCCACTTGTGTCATGTTGCTGTTGTTTGTCTCATTAGTGACTTTTCTAAAGTATTTTGAAAAGT
CTGTGTTCTTGATCATGTGGGTCCATTGAATTCGTATTCTGTTAATTTCATAGTCAGCTAGTG
TTCTGAAAGTTCCTTAAAGTGCATAGAGCCAATAAAAGAAAAAGAAAAGAAACACAGAAAAAGA
AAAGAGGAAAAAAGGAGGGAAAGAGATTTAAAAAAATAATGTCGGTTGGGCATGGTGGCTCATG
CCTGTAATCCCAGCACTTTTGGGAGGCCGAGGCAGGCAAAATCACTTAAGGTTGACCATCCTGGC
CAACACGGAGAAACCTTGTCTCTACTGAAAATATAAAATTAGCCGGGCATGGTGGCACATGCCT
GTAATCCCAGCTACTCGGGAGGCTGAGAGGTAGGAGAATCACTTGAACCTCGGGAGGTGGAGGTT
GCAGTGAACCTGAGATCACACCACTGCCTCCAGCCTGGGCAACAAGAATGAAACTCCATCTCAA
AAAAAATAATAATAATAATGCCCTTGGCGATTTGCTCTGTGTTTGGGCCCTCATTCAATGCCCT
AGTCAGGCCATTTACAACCTCTCTCTTAACCTTTCACTACCTGCTTGTGTACTGACTGAAGGCCAC
CTATAGGTGAAAGCTTAACATCATCTCAGATCTTTTTGGACCATGAATCCTACCCTGGGTATGC
ACATGATCTTCTTAATTTCCCAGTAGATGCAAGAGTTTTAGTGTTTTTAAAGTCTTTATTCCT
CATCTATCTTCTTTCTGACCTTTTTCAGTCTGCTTATTGTTTCATCTGAACTGACATCCTTGC
CCCAAGCGGCTGTGGCAAAAACCTTTTACCTTTAAATGCTTTCACCACAAGCCACTTGGGAAGCT
GCCCCAGACCTGGGACTGCTCTGACCCTGATGAAACAAAGACAAGACCTTGTACAGCCAGGCAG
CCATAAGACAAGTCCATACCCAAACCACAGTTCTTTCAGAATAAGGTCTATATTGGATTCTCTG
GCCCTAGTAACCAGCATGAGTCTGGGCTTGCCATCTTCATGGCCACTTGTCTTAGTTTGCTAGG
GCTGCCATAACAAAATATGAGAGACTGAGTGGCTTAAACAAGAGAAATTTATTTTTTCACAATT
CTGAAGACCAGAAGTCCATTACTCTGAAATCTCTCTCCTTGGCTTGAGATACTGCCTTCTTGC
CGTGTCCTCACACAGCCTTTTCTCTGTGTACACATCCCTGGTGTTTTTTAAGCCTGTCCAAATT
TTCTGTTCTTCTGAGGACACCAATCAGATTGGATTAGOGACCACCCATATGATCATTTTACCTT
AAGTACCTCTTCAAAGGTATCAGAGTAGTATATTTGCTACAGTTGATGAACCTGCATACAACAT
CATCACTTGAGGTCTGCAGTTTACATTAGAGTTTATCCTTAGTGTTATATATTCTAGGGTTTGT
TTTGTTTTGAGACAGAACAGAGTCTTGCTGTGTTACCCAGGCTGGAGCGCAGTGGTACAATCTC
ATTGCTACCTCTGCTTCCCAGATTCAAGCAATTCTCATACCTCAGCCTCCTAAGTAGCTGGAAC
TACAGGCGCACACCACCATGCCAGCTAATTTTCGTATTTTATGTTGAGATGGGGTTTACCCAT
GTTGGCCAGGCAGGTCTTGAACCTCCTTGCCCTCAAGTGATCTGCCCAGCCTCAGCCTCCCCAGTG
TTGGGATAACAGGCATGAGTCACCATGCCTGGCCTTATTCTATGGGTTTTGAAATGTATAATGA
CATGTATCCATCGTTGTAGTATTAGATAGAATAGCTTCATTACCCTAAAAGTCTTCTTGCAC
GGGTTGAGTTTTTAAAGCTCTTGTATTATTTTATGACAGTTCCTTATTAGATATATCTTTGCA
AGTATTTTTATCAGTCTGTGGTTATCTTGTCTTTTACAGAGCAGTAATTTTTAATTTAATAAA
ATCCAATTTGTCAATTACTTATCTCATATGACTCTGGTGTACATCTAAAATGTTACCACCATA

10

20

30

40

50

CTCAAGGTCACCTAGGTTTTCTCTAGGAATTTTATGGTTTTGCATTTTACATTTGGTGTATGAC
CCATTTGAAGTTAATTTTTGTGAGGTTGTAAGGTCGTGCCTAGATTCATTTTTTTTTTTTTTG
GCATGTTACTTCAGTATTCATAAGAAACATTGTTCTGTAATCTTCTTTCTTATAGTATCTTAGT
CTTGCTTTAGTTTTTGGGCAATGCTGGCCTCACTGAATAAATTCAAAGTGTTCCCTCCTCTTCA
ATTATTTGGAAAAGTTTGAGAAAGACTATTGTTAACTGTTTTCTAAATTTTGGTGGAATTTAC
CAGTGAACCAACTGGTCCTAGGCTTTTCTCCAGTAGGTGGTTTTGATTATGCTTTCAATCTCTT
TACAAGTTACACATCTATACAGACTTTTATAATTCAGTCTTGGTAGGTTGTGCGTATTTAGGAA
TCTGACCACTTCATCTAAGTTATCCAATTAGTTGGCATGCAATTATTCGTAGTTCTCTGAATAA
TCATTTTATTTCCACAAAATTGGTAATATCCCAGTTTCCATTTTTTATTTTCATTGAATCTTCT
TTTTTCTTAGCTAATCTAGCTAAATGTTTGCCAATTTTGTGATCTTTTGGGAAGAACCAACTTT
TGATTTATTAATTTTCTCTACTCTTTTTCTGTTCTTTATATTATTTATTTCCACACTAATCTTT
ACTATTTTCTTCCCTTCTGTTGGCCTTTAATTTTTTTTTTTTTTAATTTTAAAGGTGTAAATTTAGG
TTGAGAAATTTTTAAATGAAAGCATTTAGAGCTATAAATTTTCTTCTGGTGTTCCTTTCACT
ACCTGCCATAAATTTGATATGTTGAGTTTTTGTGTTGCTTGGAGTATTTCTAATTTGTCTTC
TAATTTCTTCCCTTGACCTATTGGTTATTTAAATGTATTTAATTTTGCATATTGTGGATTTCCC
AGTTTTCTTCTGTTATTGATTTCTAGTTTTATTCATTGTGATCACAGAAGATATTTTGTATA
ATCGCAGTCTATTAACATTTATTAAGTCTTGTTGGCCTAACAGAGGATCTATGTTGGAGAATGTT
CCAAGTGCAATTGAGAATACTATTCTGGTGCTATTAGGTGAAGTATTCTCTATATGTCTGTTAA
GTCCAATTCATCTATAGTGTGACGTTTCCCTGTTCCCTACTGATTTTCTGACTTATTATTCTAT
CCATTATTAAAAGTGGAGTGGTAAAGTCTCTATTATTGTAGAAGTCTCTGTTTTTCAAGTCTAT
CAATATCTGTTTCATATATTTTGGAGCTCTGTTTGTGTCATATGTGTTTACAATTGTTATATCT
TCTTGGCAAATTGACCAGTTTCATCAACATAAAATATAATTCTTATTGTCTTCTAACAGTTTAT
TTTTCTTTTACATAAAGCCTATTTTATCTGATCTTAGATTCCCTCACACTCCACCCAGCAGC
CTTTTGGTTACATTTACATAATATATCTTTTCCATCCTTTTCAATTTCAACCTGTTTGTGTCTTT
AGATCTAAAGTGAATGTCTTACAGACAGCATAAGCTATGTCATTAAAAAAATCCATTCTGCTTA
TCTCTGCCTTTTGACTGGGGAGTTTAAATCCATTTGCATTTAAAGTAATCACTGATCATTAATA
CTTTTCAGTATTTTGTGTTTATGTATGTCTTATAACTCTTTTGTCTTTCATTTTCTTCAATAT
TGCCCTTTGTGTTTAGCTTATCTTTTTGTGTCCACACTTTGATCCCCTTCTCATTTCTTTTTTATA
TTTTCTTTGTGTTTACCAGGAGGACAATGTATCAACTTTTAAAGTTATTACAATTTTATTTTTT
TAAATCTCTCCCATTCGGGGATTTTAGGAAGGTTAAATAATAATGTAAATGAGATACCTAGAAC
AATATAAGCATTGAGGAATTATTAACCAATTCCTTCCCTCCACCTCCACCTCTTTCTCT
GTGAGATTATAGAAAAGATGACAAAAAGGATGTTTTCTGAGCCCTTAATTGTTGAGAATGATC
TTTGAGAAAAAGAAAAAATGAAAGCACTAGGAATGTACAACAGCCTGGAAGTATAATTAAGT
GTAAATTAAATAGATAAAAGTTATAAGCAGAGGAAAGTATAGTAGAACTCAGTATTTAAAGAG
AATCAATGTGAAAATTATATAAATTTATGTAAAATAAACTACCAGACAAATCTGATATCCTTA
GGATTTTTCTTTCTTTTCATGTGATTTCTAATTGCTACATATGACACTAAACCATTGATCTGAGC
TGTAAGAGAACTGGAATTTGTTCTGTTATCTTTTGTAAAGATTTCTAGAACATTTTGGCCCTCAG
ACTTAAATGCCAACGTATTTCTCACTTATTGTTTACTGCTTTTGGATTTACATATGATTTGATT
CTTTCTTATCTCTTATCCTTACAATGTAATTCAACTGATGCCAATTTAAGTTCAATTGCGTAC
AAAACTCTACTCCTATGCAGCTCGCCCCATCTAATTTACATTATTGATGTGCGAAATTCAT
CTTTGTACATAGTTTACATATTAACATGGATTTATACATTTTTATGTATTTGGTTTTTAAATCC
TGTAGAAAATAAAAAGTCAACACACCAATATTAATAATAACTGGTTTTATATTTGTCCATGT
GCTTACCTTTATCAGTGTCTTTACATCTTTATACGGGTTTGAGTTACTGTCTTGTGTCTTTTA
GTTCCAACCTAAAGAACTCCCTTTAGCATTTTTATAGGGCAGGTCTAGTGGTAATGAACTCTCT

10

20

30

40

50

GAGTTTTTATTTAGGGATGTCTTAATTTCTAGCTCCTGTTTGAAGTAAATTTTCTGGATATAC
AATTCCTCTGTTGATTGATTTTTGTTTCATTTTCCCTTCAGCTCTTTTAAATACATTATCCCACTT
TCTTCTGCCTTCCAAGGTTTCTATTAACAAAATTCAGCTTATAATCTTATTAAAGATCTCATGT
ACATGAGTGGCTTCTCTCTTGCTGTTTTCAAGATTCTGTGACTTTGGTTTTCTGATAGTTTTAAAT
ATAATGTGTCTTATTGTGGGTCTCTTTGGATTATCCTAGAGTTTCTTGGTCTTCTTACGTTGG
TATATCCATGTATTTCAAGACATTTGAGTAGTTTTCAGCCATTATTTCTTCAAACAATCTCTCC
TCTTTGGGGACTTCCATTTTACCTATAATTGTTCTTTTGATGGTGTGGCACCAGTCCCTTAGAC
TTTGTTCACTTTTTTCCAGTCTTTTATTTCTGCTTCTCAGACTCAACAGCTTCAAGTGTCTGT
ATTCAAGTCTGCTGACTCTTTCTTCTCCAGCTCAAATCTGCTSTTGGATCCCCCTTGTA
TTTTTAATTCCATTTTAGTGTTTTTCAAGTTAAGTATTTTTATTAGGTTCCTTTTTATAATTTCT
TTTTTGTGATATTTCTCATTTTTATTACACATAATTTGTCTGATTTCCATTAGTTTTTTCTTTG
TTTTCTTTAGCTCTTTGAAAATATTTAAGACATTTTAAAAGTCTTTATCCAAGTTCAATTTCT
ATGGTTCTGTAGAGATAATTTCTGCCAGTTTATGTTCTTCTTTTCCATGGGCCATGTTTTCTG
TTTCTTTGTATACTTTCTAATTTTTGGTTGAAAACCTGAGCATTTGAAAATAGAGCCAACCTTCC
CAGTTTCTGCAGAGAGTCTTTATGCCACAGTATTCGTTCACTGATTAACTGGGTATATCTAAGC
TTAGGGAGCAGCTGAGTCAAAAGTTTAAGGTCTTCTCAGGTCTTTTCTGAGTATACATGTTTTCC
TATGCCTGTGTGAAATGTTCTCAATTTCCCTATATAAACAGCTACTTCTTCTTTTTTTTTTTT
TTTGAGATGGAGTCTCGCTCTGTCACCCAGGCTGGAGTGCAGTCATCTCAGCTCACTGCATCCT
CCACCTCCCAGGTTCAAACAATTCTCCTATACAGGTGTGTGCCACCACGTCTGGCCAATTTTTG
TATTTTTTAGTAGAGACAGGGTTTCGCCGTGTTGGCCAGGCTGGTCTCAATCTCCTGACCTCAGG
AGGATTACAGGCTTGAGCCACAGTGTCCAGCCTAAACAGCTACTTTTGAATGCTTTAATTTCT
GAATAGTCTCAACCCAGTTTTTCTTGGAGTCTTAGGTGGTCCATTGTATGCTCTCCACCCATAG
TTGCTTGCCCCAGGCATCTGTGGGTCTGTGGTACCCTGCAGCTTTCACCACCTGTAGCTGCCA
CCTTTCCCTATCTGAGATCCAGGTTAGGTGAGAGAGATCATTCTTTCACGCAGTCCCATGACAG
GTTGGAACATTTCAAATAAGGTCTGTTCTGCTCCTCTGGTTGAAGGGAGAAAATTGGGAACCGG
TTTCCCACCTTCTACAAACCAAGATCTCATGTTGCCACGGGAGTGGCAGGGCAAGTGCAAGTGA
AAATGCCATACAATTTTCTACCATTTTGAACGCGGGTTTTTCTTCAATGGTCAATTTGCTTGGTT
GCTGTAGGCCTTTCACTGTTTTTCCAGAGCTCCCATAGATTACTTTAGCCAGTTTTTTTGTCTTT
TCCTGATGCTTCCCTGGCAGAGTAAGGGTTGGAACCTTCCACCATTTTGCTGATTCATAACTCTG
TAGTCAGTTTTTAAATATATTGATACTTGAGTTTGTTTTATGGCCCAGAATATGGTCTTGGTAAA
TGTTTCACATATACTCAGAAAGAATGTGTATCTGATGTTGTTACATGGGCTGTTCTATAAATG
TTACTTAAGGTGGTTAATAATGTTGCTCAAGTCTTCTATATTCTTGCTGATTTCTTTTATTTA
TTTATTTTATTTTTTTTATTATACTTTTAAGTTCTAGGGTACATGTGCACAACATGCAGGTTTG
TTATATATGTATACATGTGCCATGTTGGTGTGCTGCATCCATTAACCTCATCATTTACATTAGGT
ATATCTCCTAATGCTGTCCCTCCCTGCTCCCCCACCCTCATGACAGGCCCCAGTGTGTGATGTT
CCCCTTTCTCTGTGTCCTAAGCGTTCTCATTGTTCAATTTCCACCTATGAGTGAGAACTTGCGGTG
TTTGTTTTTTTGTCTTGTGATAGTTTGCTGAGAATGATGGTTTCCAGCTTCATCCATGTCCCT
ACAAAGGACGTGAACTCATCCTTTTTTATGACTGCATAGTATTCCATGGTGTATATGTGCTACA
TTTTCTTAATCCAGTCTATCATTGATGGACATTTGGGTTGGTTCCAAGTCTTGCTATTGTGAA
CAGTGCTGCAATGAACATACGTGTGCATGTGTCTTTATAGCAGCATGATTTATAATCCTTTGAG
TATATACTCAGTAATGGGATGGGTGGGTCAAATGGTATTTCTAGTTCTAGATCTTGAGGAATCA
CCACACTGTCTCCACAATGGTTGAACTAGTTTACAGTCCCACCAACAGTGTAAGGTGTTTCT
ATTTCTTACATCCTCTCCAGCACCTGTTGTTTCTGACTTTTTTAATGATCGCCATTCTAACTG
GTGTGAGATGGGATCTCATTGTGGTTTTGATCTGCATTTTTCTGATGGCCAGTGATGATGAGCA

10

20

30

40

50

TTTTTTCATGTGTCFTTTGGCTGCATAAATGTCTTCTTTTGAGAAAGTGTCTGTTTCATATCCTTTG
CCCACCTTTTTTGATGGGGTTGTTTTGTTCTTGTATATTTGTTTGAGTTCTTTGTAGATTCTGGAT
ATTAGCCCTTTGTGATGAGGAGATTGCAAAAATTTCTCCCATTTCTGTAGGTTGGCTGTTCA
CTCTGATGGTAGTTTCTTTTGCTGTGCAGAAGCTCTTTAGTTTAAATGAGACCCCATTTGTCAAT
TTTGGCTTTTGTTGCCATTGCTTTTGGTGTTTTAGACATGAAGTCTCGCCCATGCTATGTCC
TGAATGGTATTGCCTAGGTTTCTTCTAGGGTTTTTATGGTTTTAGGTCTAACATTTAAGTCT
TTAATCCATCTTGAATTAATTTTGTATAAGGTGTAAGGAAGGGATCCAGTTTCAGCTTTTAC
ATATGGCTAGCCAGTTTTCCAGCACCATTATTAATAAGGCAATCCTTTCCCATTTCTTGT
TTTGTGTCAGGTTTGTCAAAGATCAGATGGTTGTAGATGTGTGGTATTATTTCTGAGGGCTCTGTT
CTGTTCCATTGGTTTTATATCTGTTTTGGTACCAGTACCATGCTGTTTTGGTTACTGTAGCCTCG
TAGTATAGTTTGAAGTCAGGTAGTATGATGCCTCCAGATTTGTCTTTTGGCTTAGGATTGTCT
TGGCAATACAGGCTCTTTTTTGGTTCCATATGAATTTTAAAGTAGTTTTTCCAAATCTGTGAA
GGAAGTCATTGGTAACTTAATGGGGATGGCATTGAATCTATAAATTACCTTGGGCAGTATGGCC
ATTTTCACGATACTGATTCTTCTATCCATGAGCAGGAATGTTCTTCCATTTGTTTGTGTCTCT
CTTCTATTTTCGTTGAGCAGTGGTTTGTATTTCTGCTTGAAGAGGTCCCTTCACGTCCCTTGTAA
TTGGATTCCTAGGTATTTTGTCTCTTTGACGCAACTGTGAATGGGAGTTCACATCATGATTTGG
CTCTCTGTTAGTCTGTTACTGGTGTATAAGAATGCTTGTGATTTTGCACATTGATTTTGTATC
CTGAGACTTTGCTGAAGTTGCTTATCAGCTTAAGGAGATTTTGGGCTGAGACGATGGGGTTTTTC
TAAATATACAATCATGTCTGCAAAACAGGGACAATTTGACTTCCTCTTTTCCCTAATTGAATA
CCCTTTATTTCTTTCTCCTGCCTGATTGCCCTGGCCAGAACTTCCAACACTATGTTGAATAGGA
GCGGTGAGAGAGGGCATTCTCTGCTTGTGCCAGTTTTCAAAGGGAATGCTTCCAGTTTTTGCCC
ATTCAGTATGACATTGGCTGTGGCTTTGTGCATAAATAGCTCTTATTTATTTTGTAGATATGTCCCA
TCAATACCTAATTTATTGAGAGTTTTTAGCATGAAGGGCTGCTGAATTTTGTGCAAGGCCTTTT
CTGCATCTATTGAGATAAACATATGGTTTTTGTCTTTGGTTCTGTTTATATGATGGATTATGTT
TATTGATTTGTGTATGTTGAACCAGCCTTGCAACCCAGGGATGAAGCCCACTTGATCATGGTGG
ATAAGCTTTTTGATGTGCTGCTGGATTGAGTTTGGCAGTATTTTACTGAGGATTTTTGCATCAA
TGTTTCATCAGGGAAATTGGTCTAAAATCTCTTTTTTTTGTGTGTCTCTGCCAGGCTTTGGTAT
CAGGATGATGCTGECCTCATAAAATGAGTTAGGGAGGATTCTCTCTTTTTCTATTTACTGTAC
ATTTATTTCCACCAGTGAATAAAACAGGTGTATCAATAAAATCTGTTCCCTCAGGTTTTGCTTCA
GGTATTTTGAGGTCTGTTATCAGGTGCATAAACAAGATTGTTATGTCCTATTCTTAAATTAAT
CTCCTTATAATTATGAAGTTAATTTTTTTTTTCTTGAGATGCAGTTTGGCTCTGTGCGCCAGGC
TGGAGTGCAGTGGCACAATCTCGGCTCAGTGCAACCTCTGCCTCCTGGGTTCAAGCATTTCTTT
GCCTCAGCCTCCCGAGTAGCTGGGGTTACAGGTACCTGCCACCACGCCCGGCTAATTTTTTTGT
ATTTTTAGTAGAGATGGGGTTTACCATCTTGGCCAAGCTGGTCTTGAACCTCCTGAACCTCTTGA
TCCACCCACCTTGGCCTCCCAAGGTGCTGGGATTACAGGTGTGAGCCACTGCGCCTGGACCTGG
CCCGAAGTAACTTCTTTACCCTTGCTAATGATCTTTGCTCTGAAGCATGCTTTGCTGGTATTA
ATATAGTCATTCTTTCTTTCTTTGATTGATGTTTGCAGGGTATATCTGTTTCCATTCTTTTACT
TTTAACTATTGTCTTTATATTTAAAGTGCATTTCTTGTAAAGTATAATTGGTTTTCTTAAATCC
AATTATCTGCCTTTTAAATGTCATTTTATATGATTTGCATAAATATGATTATTATTACAGCTA
AATTGAAATCTGTCTCTTGTCTATTTGGTTTTCTATTTATCCCATTTTTTCCCTCTTTTTTTG
CTTTCTTTGAGATTGAACATTGTATTAGTTTTCTAGGGTTGCTGTAAGAAAGTGACATAAAGTG
GATGGCTTAAACAACAGAAATTTATTGTTTTAGTTTTGGAGGCTAGTCATCTGAAACCAAGGTG
TCATCAGGGCCGTATTCTCTCTGAAACCTGTAGGGAAGAATTCTTCTCCTGCCTGTTCTAGCTTC
TAGCATTTTCCAGCAATTCTTGGCATTCCTTTGCTTGTAGATGATCCCTCCAATCTCTGCCTC

10

20

30

40

50

TATCATAACATAGCCATCTTCTCCCTTTATCTGTCTATTCTTCTCATCTTATAAGAACATTAAT
TACTGAATTGGGGCCCAGCATAGATTAGGCCAATCTCATCTTGAATAGGTTACATCTGCCAAA
GATTCTTCTTCCAAATAAGATCACTTTTACAGCTTTTACAGGTAAGTACTGAGAGTTAGAACCCTCAAT
ATATCCTTTGGTGGGGACCGACCTCTTACCCATAAAAAGTATTTTATATGATTCCATTTTATCT
CCTTTTATAGGTTATTAACACTACAATTTTTTTTTCTTTTTTTTGGAGATGGAGTTTGTCTCTGTAG
CCCAGGCTGGAGCGCGATTTTGGCTCACTGAAACCTCTGCCTCCCGGGTTCAAGTGATTGTCCT
GCCTCAGCCTCCTGAGTAGCTGGGATTACAGGCATGTGCCACCGTGCCTGGCCAATTTTTGTAT
TTTTAGTAGAAACAGGGTTTACCATGTTGGCTAGGGTGGGTCTCAAATTCCTGACCTTAGGTG
ATCCACCCACCTCGGCCTCCCAAAGTGCTGGGATTACAGGCGAGAGCCACCACGCTGGCTTTA
TAATTTTTTTTTAATTCAGTGGATGTTTTAGGGTTTATAGTATACATCTTTATCACAGTCTAGC
TCCAAGTGATATATCCCTTTATGTATAGTACATGACCCTTACAGTAGTGCATTTCCATTTTTCC
TCTCTGGCATTTAGGCTATTGCACACACATACACTCAATTCATCCCTTTGTGTAGATCCGTATT
TCCAGCTGCTATCTTTTGTCTCTGTCTGAAATATATGTATGATTTCTTTTATGACTATTTTGAG
AAATTTGGTTATGTGCATTTGTCTATTTTCTTATGTACTTTTAGCTCATCAATCTTAAGTCTG
TGAGTTTATAGTTTTTTAAAAACAAATTTGAAATTAATTTGGCTATTATTTCTCAAATATTTTTT
TCTGCCGCCCCGCTTTCCCTTTCCTTAGGGATCTCTGATTTCCACCTATATTACTCTGATTGA
AGTTGTTCCACGTCTCTTTTGAATCTCTGAAATCTTTTATCATTTGGATAATCTGTATTT
GTACATCTTCAAGTACATTAATATTTTCTTTTGCAATGTTAATCTGCTGTTAATCCCATGTAG
TGGATTCTTCATCTCAGGTATTGCTGTTTTAATCTCTAGAAATTCATTGAAGTCTTACTTGAT
GAAAAAGGCAGATAAAAAACAAATGTTGGCAAAGATATGGAGAAATCAGAATCTGCACACACTGA
TGATGGGAATGTAAATGGTCAAGGCAATTTGGAAAGCAGTCTGGCAGTTTCTCAAAAGGCTAA
ACGTAGTTCCCATATGACAGCAATCATTCATCTAGGTATATACTCCAGAGAAATAAAAAACATAT
CCACACCAGAACTTGAACATTAATTTTCATAGCAACATTATTCCTAGGGGTTTAAAAATTTTTTA
CATTATTTTTATTTAAAAATAGAGACAGGGTCTCACTACGTTGCATAGGCTGGTCTGGAACCTCT
GGAATTAAGCATTCCTCCTGCCTTTGTCTGTTTTCTCCACTGGAAAAGAATAAACTTTGTAC
ACTTGACTAACAACCTCCCGATTCCCTCCTTTACCAACATGCCCCACAGCCTCTAGTAACCTTAC
TCTCTACTTTTCATGAATTCAACTTTTTTAAGATTCCACATATAAGTGAGATCATACAATATTTG
TCTTCTGTGCCTGGCTTATTTCTCTTAGCATAATGTCTCCAGATTTCATACATGTTGTCTTAA
ATGACAGGATTTACCTTCCTTTAAAGGCTGACTAGTACTTCATTTGTGTATATGTATCACATTTT
CTTTATCCACTTATCTGTTGATGGGCACCTTAAATTTGTTTCAATGTCTTGGCTACTGTAAGTAAT
GCTTCAATAAACATGGGAATGAAGATATCCCTTCAACATATTGATTTCTGTTCTTTTGGATAAT
ACTCAGAAGTGAGATTACTGGATCATATGGTGTCTATTTTTTTTTCAGAAACCTCCATACTGTT
TTTCATAGCGGCTGTACTAATTTACATTCACCTAACAATGCATGAGTTCACTTTTCTGGACAT
CCTCCCCAACACTTGTTATCTTTCATCTTTTTCATAAAAGCCATTATATAATAGGTGTGAAGTG
ACATCTCACTGTGGTTTTGATTTGCATTACTCTAATAATTAGTGTGAGCATTTTTTTTTTTTCA
TGTACCGAATGTCTTTTGAGAAAGGTCTCTTCATTCCTTTGCCATTTTAAAAATCAGGTGGTTT
TCTTGCTCTTGAGTTGTTTGAGTTCCTTATGTATTTTAGATATTTACCCATTTCCAGATATATC
ATTTATATTTTTTCCATTCCTTTGAGTTCCCTCTTCACTGTGTTGTTTCCATTGCTGTGCAGGT
CTTTTATTTTGTATGCCACCCCATTTGTCTATTTTTTGCATGCTTTTGCAGTCATATCCAAAAA
ATCATTCCCAAGACCAATGCTGTGGAGATTTCCCCCTATGTTTTCTTCAGTAGGTGTACAGTTT
TAGGTCTTATATGTTAAGTTTTAAATCTATTTTTTTTATATGGTGTAAATAAGGGTCTAATTTAA
TTCTTTTGCATGTGGATATCCAGTTTTCCTAACACCATTTATTGAAGACCCTGTCTTTTATAC
TTTTCAGTATGCAGATCTTTTACCTCCTTAAATTTACACCTCAGTATTTAATATTTGTTGCTAT
TATGAGATTTTCATAATTTCTTTTCAGATAGCTCATTAAATAGTAGATGGAAACACTACTGATT

10

20

30

40

50

TCTGTAAGATGATTTTGTATTACGGAACTTACTGAGTTTGTGTATCAGTTCTACCAGGTTTTA
GTTTTGTTCTGGTGGAGACATTACAGTTTTTGTATATGGTTATGTCATCAGTAATTACAGATG
ATTTAACCTATTCTTTCTATTAGGATGCCTTTTTTCTTTCTTTGTCCAAGTCTCTGGT
TAGGACTTCTAGTACTATGTCAAAAAGTGATGAGGGTCGTACATGGCCTCCATACCTAATCTGT
TGAGAGTTTTTACCATGAAACCAGGTTGAATTTTGTCAAATGCTTTTTCTGCATCCATTGAGAT
GATCATATGATTTGATTTACACCCTCCATTTTGTATATGTGGTATATCACACTTTTTGATGTGCA
TATGTTGAACCACCTTGCATCCTAAGGATAAATCCCACTTCATCATGGTGAATCATTCTTTGT
ATTCGTGAATCCAGTTTGTCTAATATATTGTTGAGGATTTTTGCATCCATGTTTCATCAGGGATAT
TACTTTGTAAGTTTCTGTCTTAAAGTGTCTTTCTCTGGCTTTAATAACAGTGTAACTACCC
TTGTA AAAATGAATTTAGAAGTATTCCCTCTGCTTCATTGTTTTGGAAAAGTTTGAGAATTTTTA
TTAGTTCTTTAAATGTCTGGTAAAATTCAGTAGTGAAGCTGCCTAATCCTGGGCTTTCTTTGG
TGGGATACTTTTTATTACTGGCTCAATCTCTTTCTTTGTTATTGGCTTATTCAGATTTGTTTCT
TCATGATTCACTCTTTGTAGGTTGTATATGTCTAGGAATTTATTCAATTTCTTTAGGTCATCCAA
TTTTGATGGTGCATAACTTCATAGTAGTTTCTTATAATCCTTTGTATTTTGGTGATATCAGTAGT
AAATGTCTCTCTTTCAITTCGTATCTATTGAGTACTCTTTTTTTCTCCTAGTCTAGGTAAG
AATTTGTTGATTTTATCTTTCAAAAAAAAAAAAAACCAACTCTTAGCAACTCTTAGTTTTGTTT
ATTTTTTCCAGTCTTTATTTCAACTGTGATCTTTGTTACTTACTTCTTTATGCTAACTTTCCGG
GCTTAGTCTGTTCTTTCTTAGTTCCCTTAGGTGAAAAGTGAGATTGTGATCCTTCTTCTTTAT
TGGCGTAGGTTTGTATCGCTATAAATTTCCATTAGGACTGATTTTGTGTCATCACATAAGTTTT
GTTTCCATTTTCATTTGTCTCAAGGTAATTTTTTATTACTTTTTGACTTCTTCTGTGAAGTAT
TAGTTGTTTGGGAGCATATTGTTTAAATTTCCACATATTGCTGTATTTTCCACCAGAATTGATTC
TTGTTCTTGATTTCTAGTTTTCACGCCATTGTAATCAGAAAAGGGAATTTGATATGATTTCTGTCC
ACTTAAACTTAAGATTAGTTTTGTGGACTAACATATATCCTGGAGAATGTTCCATGGGCATTTG
AGAACAAAATGTATTTTGTCTGCTTCTGGATGGAATGTTTCATATATGCTGTAAAGTCCGTTT
GTCTAAAGTGTAATTGAAATCCATTGTTTCTTTATTGATTTTCTGTCTAGGTGATCAATCTGCC
CATGGTGAAAAGTAGAGTATTGAGGTCCCGTATTATAGTATTGCAGCCTATCTCCCTCTTCACA
TCATTTAAAAATTGCTTTATGTATTTAGGTGGGTCAATGTTGGGTGCATATACTTTTACAATTG
TTATGTCTTCTTGGTGAATTAATCCCTTTATCATTATATAACAAACTTCTTTCTTTTTATAGTA
TTGACTTAAAGTCTATTTTGTCTGATAGAAGTATAGCTACCCCTGCTCTCAATTTCCATTTATA
TAGAATATCTTTTTCCATCCCTTCACCTTTCAGTCTATGTGTATGTTTAGTAGAAAAGTGAATCT
CTTGCCGGGCGCAGTGGCTCACTCCTGTAATCCCAGCACTTTGGGAGGCCAAGGCGGCGGGATC
ACCAGAGGTTGGGAGTTAGAGACCAGCCTGACCAACATGGAGAAAACCTGTCTCTATTAAAAAT
ACAAAATTAGCCAGGCGTGGTTGTGGGCCCTTGTAATCCCAGCTACTCGAGAGGCTGAGGCAGG
AGAATTGCTTAAACCCGGGAGGTGGAGGTTGCGGTGAGCTGAGATCATGCCATTGCACTCCAGC
CTTGACAATAGCAAACTCCGTCTCAAAAAAGAAAAAGAAAAAGAAAAAAGTGAGTCTCTT
ATAGGCAGTATGTGGTTGTGACTTAAAAAAAAAAAAAAAAATCCATTCTGTCAATCTATGTCTTTT
TGTTGGAGAATCTAATCCGTTTACATTCAAGGTAACATTGGTAAGAACTGCTAGTGTCAATTT
TGTAATTTGTTTTCTGATTGTTTTGTAGGTCCCTTGTTTTCTTTTTTCCCTATTGCTACCTTCCT
TTGTGGTTTGGTGGTTTTCTGTGGTGGTGTGCTTTGAATCCTTTCTTTTATAGTATATGCGATT
ACCATTGTATTTGCTGTAAGGCTAACTTAAAACATTTTATCCTTAGGCTACTTTAAGCGATAAA
AACTTGCTTTAGTTGCATACAAAACTCTACGCTTTTACAACCCCCCGCCTTTCTGTGATTTT
GATGTCAAAGTTTACACTTTTTTAAATTTGTATCTCTTATTGTAGCTACAGTTACAATTACTTC
TTGTAGCTACAACCTATTGTAGCTACAGTTGTTTTTAATAGTTTCATCTTTTAAACCTCCTAAT
AGGAATAACATTGCTTTACCTGCCACCTTTACAATACTAGAGAATTCTGACTATGAATTACTTA

10

20

30

40

50

TACCATTTAGTFTTTTACTTTTATGTTTCTCATTAACTAGCAGTCTTTTATTTAAGCCTAAAGA
ACTCCCTTTTAGTAATTCAGTAGAGCAGGCCTAGTAGTGACAACTCCCTTAGGCATTGTTTA
TCTGGAAAAGTGTTTATTTCTCCCTTTGCCAAGTAAAGTATTCTTAATTAACAGCTTTGTTTCC
TTCAGCACTTTGAATATACCATCCCACTCTCTACTGGCCTGTAAGGCTTTTGCTGATAAAGCCA
CTGAATCTGTATTGGGGCTACCTTGAATGTGATGTTTCTTATCTTTGCTGCTTTCAGTATTCTT
TGTCTTTGATTTTGTATAACTTGGTTGTGATGTGTCTTGGTGAACCTTTAGGTTGAATCTGAT
CGGTGACCTCAGCTTCCCTGTTCCCTGAATTTTGTCTCTTTTCTCAGATTTGGGAATTTTTCAGC
TATTACTTCCCTTAAATATGCTTTCTAGGCCTTTTCTTTCTTTTCTCCTTAAGGACCTCCTATT
ATGCAAAAAGTTAGCTAGCTTGATGTGTCTGTAAATTCCTTATAGGCATTCTTTTGTGTTTTGTT
TCTCATTGGATAATTTCAAATGTCTTACCTTTGAGCTCATTGATTCTTCTGCTTGATCAAGTCT
GCTGTTGAAGCGTTCTACTTAGATTTTCAGTTCAGTTACTGTATTCTTTATCTTTAGAATTTCT
ATTGTTTTTGTATATTTGTTAAACTTCTCATTCTGTTTCAGATGTTGTTTTCCAAATTTCAAT
TTTCTATCCATATTTTCTTGTACTTTGTTGAACCTAAGAGGATTAGTCTAAATTTATTTGTCATT
TCACAGGTCTCCATTTCTTCTGAGTCTGTTACTGGAGCTTTCATATCCAATGTACACCAGAAAC
TTTGCTAATTCACAGTAAATGTTAGAAATGGGTTTTTATTGATAAAATCAGTGGCTTGCTAAT
TAGTATGTTAGAAGCTGGCTTGCAATTGGTGAAGTTGAGGGTATTCGATATACGTATCCCGGCTA
AAATACTTCTAAAGAACCCTCTCCAGCTTTGCAAGAATAGAGTATAGGAATCTGAGGAGGCCTTT
AACATGGCCCTCAGAAAGGACACACAGGGCTTGACCTCTAAACATATAAACATATACAGAAACG
AGGTCAGAACATGTTTTGACTGATGCCAGTAGTAACACAGCAGAGCCTATTGCTGGTCACTGTT
ACCAATACCTTGTGTAATAAACCTTTCATTTAAATGAGAGGTTGTAAGCCCCGAAAAAGCAAA
GGGCTTACAGTACCTCTTGCTGAACACTCCTGTGTGTGCTTTCTAAGAAATGCTTTTAAATA
ATGCCTGTGGCACAATTTGATTTGACACTGGCTCTCTTTATAAGCTGCTATCAAGGTTGTGGGG
AATAGCTAACTCTTACCCACTTTCCCTGACAAATAGGAACCCGTAGTTACCTACCAAAAGTATG
TAAAAGCTATATCCGACCCAAAGGCCAGTTAGGTCAAAACACCTTGAAAGGAGCTCAGTTTAAAG
GAAATCAGTGGTGTACAGTGGCCCACTAGCGTGTAAAAGTTTTCATAGTTTGACTATCGGATG
TGCTTAGTTTCACAGCTGAGTCTTACCTTGTGATACTTTTAGAGCAAAAGTCAAATCAAAGATG
ATTTAAAAAACATTTCAAAGATTCTAAAGAATAAATGCCTCCTCAGGAAGTCTTCTGGAGTT
CTGCCCCACTTCCCTTAGGTGGCTCTTTACTGTGCCATCTCATAGCCTGTCTCCTTCCACTTGG
TGTATTGCAGAGTAAAGCTCACTGTTTACAGGGGTGGTAGAAAGTGTGGTCCCTTTCCAGACTC
CTTTTTCCCTTCCCTCTTCTCATTTTTCAGAAGATGTGTTTGATAATAAACGAAACAAAATGACT
AACACATTGAGCTGAGCTACATAAGCAGATGTCAGTTTGACGTGAAGAGTTTAAAAGATCTATG
CATTATCTGGGGACTCCTCCCCAGACCTGAAGGATCAGGTGCTGCCTTCTATGCCACCTGTGC
AGACAGCAAAAGAGGAAAACCATACCCACGTTCAAGTATGAACAAAGGGGACATTTGAACTCTGT
GTGGACCCCTCATTTGAAGGGTGTCTTCTCCTGCTGCATCCACAAAGAGCACTCCTTAGCCT
TGCCTTTTGTGAGTTCTCTCTCCAATAAGGCTTGAGCAGAGACAACCCAGTGCAGTTCAGAGAG
ACTGAAGTCTGGTGTTCAGGTCTGAGTCTAGCTCTAGCTCTCTGTGTAACCTTTGGGATGTCC
CAAAGTAACCTTTTCACTAATTTGATAGGTGTTAACTTGAATTTTGGATACAGGTGACTCTTAGCC
CATCCCCCTCTCTGTGCTTCAGATATGTCATCACTTGGGCCATATGACCTCTGGACACCTTTCCCT
ACTTTCCACAATTTTCAAGCAGCAGAGCAGACTGGAGCTCCTGCTGCCTCTGAGCTTCAGTGAA
TTATCACTCGTTGGAGGGAAGCTTCAAGCATTTTGTATCTTTCAAGAGCAAACACAGTGTCTG
TCAGCAAGAATATGTAGCAGATGCTAGTGAACAGCAGTGATTAGGGTTGAATGCTGGATTTAAA
TATGGAGCTTAGGCTGTGAAGGAAGCCTGAAGAACCCTAGAGCCCCATGAAGCTGCCCTCTGTGA
GATCTGACACCATTTCCCACTGATGAGCCATGGGTCTAATGGGTAGCACTGATTCCACATACAG
TATGTGAGTGCAATACAGTGAAAGCAAAGAGAATAAATGATGGCTAACATGATGTTCCAAACT

10

20

30

40

50

TTAAACAGGAGAAAAACACACAATTCCATTATGTATAAGAACCCACACAGAGATCAGGAGAATA
ACCTCATTGGAGAATGAATGACCTGTGTGGGGAATTTAGGGTAGAGTTGAGATTGAAAAAATGG
GCCGAAGTCAGGTGGCCAAGGGCCTTAATACCTTGTATACAAGATGTGTAGTCAAGGAAGACCA
TGCCTTACTTATGCATCAATTCCCTTGGGCCTACAAAGAGCTGCCTAGCCTGGGACTGTTGTAG
AGAAAAGCTACAGTGTTCGAATGACACAGGGACTCCTCCATGTATGTATGAGTGGCCAGCTGGC
TCTGTAATAAATCTTATTTTTATTTATTAACTTTTCTTGCGCATTGGCTTGATGCATCAGTTGG
AAGTCAGAGGCCAAACGAAGTGAACACTGAGCCAAAGGAAGTTCTCAGCCTTTAGGGAGGCAGA
ATTCACTTTTAAACACAATAAAACAAATGAACTCACATTATACAGGAGAGAGTCAGAAGATCCCAG
TGGCTGGTGTTCATCGGGCCATATTTGCCCGAAGTGCCTATTCTTATAGGAACCCACTCCCAGG
GTTGATGGGCTACATCCTTAGGAGGCTTTATGCCTATGTTCTCCTGACCACTGGCTCCTCCAGG
GCTGGCCTTTTTTAGTCTCTCTGTAGAGGTTCTGTAGCTGGTTGGATATAGGCTTTTCACAGAA
GGGTCACTGCCTTGGGTCTGGTTACAGGACTGTTAATCTTGCTTTGTTAAGAGTAATGTTATTT
CCCCATTTCCAAATTTCTCCAGGGAGATGGAATGTCAAAGATAGTATGACTGTAGCACCTAAATC
CTGGGTTCAGAAAGCAGAGAAGAGAATACTGAAGCTGTAGAAAAGGCCTATTAGTCCATGTCA
GAGATTAACCTGGATGCGAGGACCATTTCTGGGATGGTGTATACAGAACTGGAGAAGCTGGATAGG
GAGTCAGAAACAAAGAGCTGAAGATGATGCCTTTGAAGTTTCCAACGTGGATAACTAGGTCAAC
AGAATATTACTCAAGAAAGTATTAACATAGGATTGAGATGCAGTCAGTAGTAATGGAATTGAAA
TTTCAAAGTATATACCTCATGGATCTCAGGGGGTGTGAGCTGATCACCTGGGCTAACACTCCT
ATGACCCTGGGGAAAATCAAATGACCTGGTACTGTAGCCATGGTAGGGGTGTATCACCTTAAT
CCAACCTGGGACAGTGTCTGTTTGATATTCTCTGGAACCTGGTGCAGACCCACATTTTGCTGGGT
TTCACCACAACCAAGGCTTTTTTGATTTCTTTTCTTTTAAACATCAGTACATCACTGCAAAGTT
AATCCTCATATAATAGGAGATGAAACTAATTGCTTATAAAAAACAAGATTTTTACAACACTAAAA
TTGTTCAAGCATATGGGCATATTTATAGTTGCAGGCAGTGTTCAGATGCAGACTGTTCTTGGC
TGCAGTGGTTGTTTACAGGCAGCATCTGTTCTGATTAAATATTTGATGATTATCCCCGAATGTT
TTAAAGCATAGTACTGGGCTCTGCTGACTGTACAACAACTGGCATTTTTGACCTATAGGGCAC
TGGGCTAGGAGATACAGTTCTGAGGGAAGTGAAAGATAGTTAACAACCTGCACAACCTGACCTTT
ATTAGTTGCAATAAAGCAATCCAACCACCCCAACCCACTGTGATGGCTTTCTACTATTTAAGGT
TGGTGGTGTCAAAGAGACACCCCTCCTGTACAGTGTGCAGTGAATCAACATCATTTCCACAAAAC
CTCCTTCTGTCACAAAGGAATTATCATACTTTGTTACGAAGTAAAAATTTTCTGTATCAGTCAC
AGGAGTTCAACCAGTTAAGATACTGTTAGTTGAAGACTTCTGGGGTGACTTAATGAAATAGCTCA
GCCATCTGGTTTTAAAAACTGGATTCTTCTATCCCTCCACACAGCTGTCCATGCACCTGCATCAT
CTCAAGGCTGGTCTCCCTGGTGGTAGAAAGGCTGACAGTAAAAACTGGAGCCACATGATTCCTT
GCTTAGGCAGTGTCTTCTTACTCTCACATGAGAGCAGGCATGTTCTTTCCCTAGGCTCACAG
TAAACACTCTGTCAAATCTCACAGGCCCAAAGTGCTTTTGGTTATCCCCATTCCAAGCCAATCT
GTGGCATGGAAGATAGCATTACCTGACTGCCTTAGACTAATATACCTACTCCACTTCTGGGGC
TGGGAATAATTTTGAGGTCAACCATCCAACTGCATGACAGCCATTCCATGGAAGAGGTATGGC
CTAAATCTTTGGGGCAACCTGAATTCATGAAAACCTCTCTTAGATTTATGTAACATTTTTTAGAA
TTCACTTCTGTATCATTTAATTTTACTAATAAAAAATACCACCTTTACCCTAAATGTCAGCCAAG
CGTAAGGCTCCGTTGGGACAGAAGGAACCTATCAAAGCTTTGTGTTTTTATACATTAGCAGCATT
TGACAAAGAAATAACTCTGAAGGAAGGAGAATAACCAGGCAGACTCTAGATGCATGGAAAAGAA
GTCTTTGAGAAGGCTTCGCAGGCTGAAGGAAAGGGCAGGACTACTTCAGGAATACAACGTTTAA
GTAAAAGAGGTTGGGGTCTGTTGATCTTGAGGAGAGATGAGGATGGACTGGAAAATAGGAGTGA
GATATAGTAGGAGAGGAAAGGATATGGATGATGTATATACTGTATGGGTAACCATCAGTCGACC
CTAAGAAGATAATAGTTGTTAAATGGTTAGCTATTTAATGAAAGAAACCTGAACAAGTAATAAT

10

20

30

40

50

CTTGAGTTGCAAAGTGGCTGGAGTCAACACAGACTAAATTTCTGGTAGAACAAATCCAGCAG
CTTATGTGAAGGTTACCATGTCTGAAGCTGGATAGAAAAGGTCTAACTTCCAACCAAAGTCACA
GTTCTTGAGCTCGGTACACAGAGACAGACTGCTAACAGCTGATGTGTCTCAGCGAGAGTGTCC
TCATTTATATCCTCGTTCTCTTCTGCCTCCTTTTTTTGTTTTAAACTTTTGGGAAGTCTCATCA
TTCAATACAGTTCTAATATATCACAAATAACAGAGGCGGCCCAATTTCTACAAATTGACTAATTC
TATCCCTGAAAAGTTCATACAAATAAACTATACAAAGCATCATTTTCAACCATCCTATAGAAAA
ATTTCCCTATTAAATTTTAACTCTAAATCCTCTATCTCTGTAAATAACCTTACTAAAACTTCC
CCATCACTGCCTGCCAGGGAGATCAAAAGAAAACCAATTTAAGAAACCTCCAACACCTGTACCT
GACTGAAAAGCAAACATACAGACCTTTTCAGTCTGCCCCCTACTATTAGCTCCTATCACAGAGA
CATGGTGGATGTCCCCTTGGGAAGCGGATAGCTCTTAGGTGGAAGCTAGGCCTGCAATAAGCAG
GCCAGGAAACATGTCTCCAGGCCCCATACTCTTGGCAGAAGCACTTGGCCACCAGACAGCATG
TCCTGTCAACCTACAGAGTTCTTAAAAACAAACACTGGGACCCAGAATAGTACCCTGTGGTCAT
AGTGCCACAGTTCACTAAGCACCTTCACAGGTCTTTGACAGAACACTGACTGCCAGGTCACCT
GGTGGGCAGAGAAATGGAAGATTCCCAGGCCCACTAGCATCTCAGGGAAGAACCACAAGCAGA
GCAACTTTTCAGAGCTGGTCCGCCAGCGTTGGCACCCAGGGAAGCAAGTGCTATTCCATATTTGG
AGAGAACATAAACTCAAGGAAACAGAGAAGTCTTACTCAATACCGTTCTCAACTGAAAACAAG
AGAAGTTGCAAAAAAGAAACCCAGTTTTCTGGAGTCCATGGAGAAATATGAAGCCAATGCTCGG
CTAACAGAGCAGAAAGCCTTTTATAAATAATGCCAGTCAAAGCTCAAAGGTCAGAGCTGATGC
ATGCCGGATTGTTCTGACAATTTCTTAGGTTTCTAGGCAACAAGGAGCTGGTCAAACAGCTCAC
CTCCAAGGACATACTTTATAATACCACCCTGGTAGACGAGAGCGAGGCAGCAGTGAAGGCAATA
GTCAAGAACAGGAGAGGGAGGTAAAGAACAAGATGCTCTTCAGACAGTCTGGACAAAGACAGTC
CCTACCCAGCTCTCAGGAGTTGCCTCCTTAAGAAGGTGGAGGCCCAGGCAGCTCCAGGGTGAC
CCTAAAGACAGACTCCAAGGAAAAGGGTGTGAGGGCAATGGTGAATATAAGGAGGTCCCCTTTC
AGTAGGCAGAGCAAGTCAGTTCAGGTCTTATTTTTAGAGTCTCTGAACAGTGAAGAGAAGCTTT
CTGTGGACAGCATTCCACCACCATGGGAGGGGAAAGGTGCCATGAGAGACTTCTCCAGTGGGGC
ATACAAGCATTGTGCAGTGATCCCCAAGATCCAGCCACTGGCAGGAAATCGAAAGGCAAGCTTC
TTAAATACATAGTATATGGAGACAGAAGTGTGGAGCACTCCCAAATGAAAGGCCAAGACCCAG
GAACAACCTCCACAACCTGGAGTATATACAAATGAACCCAGCCCTGCTGACTCAGATCCACACC
ATCCTAAAGCAGGGGTTTCTCATGAATGAAAGGCCTAAGTATTTGGTGGAGAGAATGAGAAGTC
TCCCCTGCCCACACATTTTTTCTTCAGAGATTTCTTTTCCAAGAGCCCCTTGAATAAAGGAAG
GGAGGGAGCACTGAATGCCCCAGAAATCAGAATGCATGGTGGGGAAGACGACAGGAAATAGTT
CTCAAAGAGATCAGAAAATAAATTGGAAGCAATTTTCATTACCACAAAGAACAGACATTTTTTCT
AAGGCACCCCTCCCCTTTCCACCCAATTGTCATTCAGCAACTACTGAATACTTACCAATGAAAA
ACGTTACCCCTGACCTCAAGGCTGCTCCTGAGCTCTGGTAGAAAATGCTTTCCTTGTCTATAAA
ACATGGCAAGCAAGGCAGGATTTAACAGTAAGGGCACAGTAGCACTGCAAGCCTTCAAATGGAA
ACCTGGAGACAAGCAGTGAGAACAGGAAGCAAAAGCAGGGCAGGTGAAGCTAGGACCAGGGCAT
CTGGAACCTTCCACACAGGTTGGATCTCCATGCCAGACAACAGTTTTTCAAGGAAAAATATCTAA
GAGGAACATGACTTTGGGAAACTTTTTGGCAGTACTGCTTACTGTATACTAGAGAGTAAAAGAA
TTTGGGGAACATTACCAATTTGCTTCTTCAGGGGCTTGGGTAGGGAACGTGAACAGGAACCTG
GCTCTAATTTCTGAACCTTTTTTATCAGTAAAAACAATCCAACAAACGAAAGCTAGTCAGTGAGA
GAAGTGGGAGGGTCTGCCCTCCTTCCCTGAGTCAAGCCTTCTGGGGGGACCTCCTGACATTTAA
TTAAGCAAAGACAACGCCCACTGAAGGAAGCTGACCTGAAAGTGACACGCTACTGTGAAATGAG
CATGAAGTGGGAGCTTGTTACATATATGAAATGCCAGCGATCCTGAGCAAAGCGCTTCAGAGC
TTGAGACCTAAGTCTTCTCATCTATATACTGAGGGCTGGACAAGATGATCTGTCAAGCCATTTT

10

20

30

40

50

TATCCCTAATCCACCAAAATCCAATGCTTTAGTTTATTGTACAAAAGCAGGTATCGAATGGCT
ATCCTGTCAGTGCCTCCAATCAACATTCAGACTTTTTCCCTGAGGCAATATAAGATAACAGTTAA
CATGTTTTTATCAATTAGGTGGTCATGAGATAAATATATATGGAAGTGGTAGTTTTTCACTTA
AATGCATATAATAATGGTACAGCTCTCTTTGAATAGTATTTGTTTATTTCTTAAATATTTAAGT
TCCTAAAGACGGTAAGAATAACCCAAGGAAGTGAAATCAATGTCACAAAAGCACATGGCTAAATA
ACTGCAGGTTTGCAGTGCCATGTGTGAGATCAGATGACAGAAGGGAGAACTACCTTTAGGCAGA
GGCTTCATGTCCCTGGAGTGGCCATGTGCTGTTCTACATGACTACTTCCACTTCGGTTATG
TAGAAGCTATTTAAAGCACACAGATGTTTGTGATGAGAAAAAGCCACCCTTAATTGAATAATG
GAAATTATAAGCATGATTTGAGGGTGGGGGTGGAGGTGGGAGTAGAGATGGGTAGAAAAGGAGTG
CAATGGAAACAAAGGAGCCTTCATAAAATTCAAGTCACTTCTTAGGATAACGTGATTGATTTAC
TCACCACCTTCTTAGGAACATAAAGCAAACAAGTGGGTTTTCTTTTACTGCTTTTCTGAAATG
AGCTACACTCAAGAAAGCAGCACGGGGGTGTGCTGTCCCTGCACAGTGGCAGGAGAGTATGAG
GAGCAGGTGAATGCCACAACAGCTCCATCCAAGATCATTTTTTACATGCAGGAACCATTCCTTAT
ACTACCTTTTACTGGTAATTTCTGTAGAAATCTGGAAGTCTGGTTGACACCTTCTGTACAGTG
TGCAGTGAATCAACATCATTTCCCTTGGACTTTGCAATCACGGTGGCATTCATACATTCATTCA
ACAAGTATGTATGTACAGGACAGTGGAGTAAAGAAAACAGATAGTTCTTACTCTCACGAGGCTT
AAAATTTTCAAGGAGGAACTAGGCAGTCATGAAGTAAACATAAAAAACACAGATTGTAATAGGCAC
TAGAGAATAATGAAGACTTTGGGGAACACAATTTAAATTGGAAAAATATCTCAGTTCCTGTTAAC
ACATGTTGAAGGGGAATAGCATTTTCTTCCATTGGGGCCCAAGTGTATATTTACCAOCCAGTTGTG
ATGAGCTGGGATCCTCCTGCTCAATCTCAGCTTGAAGCACTTGGAGGTTATCTGCCTGCTGTGG
GTGATTATTTTGGAGCAAGGTACTTCATTTGCCTCAAGAAACAGATTTGATACCCTACTGTGC
CCTTTTGGAACAGAGAAGTAGGCAAGACCCCAAGTGTGAGGCAGAGTGATGGCATCTTTAGGGAC
ATAATTGATGATGTAAGTATGATGATTTTGGAGTTTATACATTTCCAAAGTTTCAAAATATTT
TCACTTGGTTGATTTATCTTTATGGTATGACACTACGTAGATATATGCCCTTCTTAAAAGTTA
CAGTAAGAGGCTGGGAGCGGTGGCTCACGCCATATAATCCCAGCACTTTGGAAGGCCGAGGTGGG
CAGATCATGAGGTGAGGAGATTGAGACCATTCTGGCTAACACGGTGAAACTCCGTCTCTACTAA
AAATACAAAAAAATTAGCCGGGCGTGGTGGCGGGCGCCTGTAGTCCCAGCTACTCAGGAAGCTG
AGGCAGGAGAATGGCGTGAACCCGGGAGGCGGAGCTTGCAGTGAGCTGAGATTCCGCCACTGCA
CTCCAGCCAGGGCAATGAGCGAGACTCCGTCTCAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAGTTA
CAGTGAGAGTTGACATTGAGAAAAGGGAGGCCAGCCAGGGTTATGCAAAGACACAGTAGGGAG
GAGGATGGGAAGTTTCTGAGACACCCCAAGTAACTGCATGGGTCCACAAAGCACATGTACAGTCT
GCTCTATGCACTGCAGGTACAGCCACGAATAAGACAAAGTCTCTGCCCTCATGGAGCTTGGTGT
CTGTCTACTGGAGCAGACAAAAACAAACCTGCTTTTTCTCATTTGCCCTCTACTGTGGGTTCCGT
GTATAACTCTCAAATGCTAGCATTTCCATGCATTCATCCTTGTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCT
TTCCAGGAGAATTTTCTAGCCACAGGTTGAGCTATGGTCTATGTGCTGGAGTCATACATTTTT
ATCTTCTGTGTACGTTTTTCTCTAGACCCATATTTTTAATTGCCTTAGGACAGCTCTCCCTGGA
TATCCCTCAGACACAACTAAAACATCATTTCAATTGTACTATTAATAATTTCCCTTCAAAATCC
ACTCCTCTTCTCTATAGACCTAACAGCAACACTGTCCGTCCAGCTCTCAAAACCTGAAATGTGG
GAGTTGTCTTTGACTCTTATCTTTCCCATGCATGAGCACTGAATCAATCAGAGTCCCTAGCATG
TCTTGGACTGTGGCCTCCCTTCTATCTTCAGATTATCTGCCTTTTTTAGAATTATGGCAATAACT
TAACTGCAAAGACCACATGTGCACCTTGTGCTCTTTAGTTTGTAAATAAATATAAAATGAAAAGT
GATTATGTCTTTGCTTAACGTCTGCAAAATAAAAGTCCAAAGTCTTGGTATGGTCTATAAGGC
CCTCATTATCTGACCTGCCTGCCTTCCCAATCTCATCTTAATCCCTTACAGCCTGACACTCAGA

10

20

30

40

50

CATACTAGACTTTCCACCTAACTCACTCACATACACCTATCCTGTATGTCAAGATTGGGCTTGA
CCTTCATCACCTACCTATCTGCAGTATTTTTGGATCTGAATTCTCTGCCACATTGTACTTTCA
CATACTTCTTTTACCCTTAGTGGTTGTACTTATGCCTGGTCTAACTAGATTGTCTCCCTGTAA
CAGACTTCTTGATTCAACAAAGCAGCTCTGAATCAGCCTGAAACCTATGGCACACTGCAAAATG
GCAAAACATTCAATAGGTATTTGCCCAGTAAATGTTAATGAAAGGAAAAAATTCAAACTTCAGT
TGGAATAGGATTAGAGACAAGTTAAAAAAAAGTTTCCCATAGAAATCTTCCTCATCGTAAATAT
CATCATCCTAAATGTCCCGAGTCTTTCCATGGGTCTAATTTACCAAATCATGAAGACTCTCTTT
CTCACTGTGTATGTGTAGTGGGAGAGGCAGAGACAGAACGGTTTTTTTTTTTTTTTGGCAAGTCT
GCTCTCTGGATTCTTTTTTCTGGGGATGAAATCTCAGGCTATGTAGCTTTTCTGGTCCCTTTTT
GGTAATCAACAAATCATCAGTTTCTCTAGGTATTAAAAAGCCTACACTTTTGAAACACCAAGAG
GCCAAACTCTCTCTTAATTGAAAACATAATTCTGCCTCTTACTGAGGTCTTTGGGTGGGAAGCT
TAAAGACAGCAGTGTGGGGCAATTGGTTTTCTTTTCTCCCTCCACCTCTTTCCCATTCAA
GAGCTGTTGCTGCCCTTTCTGGAGGGGAGGGAATTAGAAAAAAGATCCTGCCTTACCCAGTCA
CTGTTAATTATTACTTTGAGCCAGGGTGGGGAATGACTTTCTTTCTGGAATACACCTGCTGG
AAACCACAGCTGAGATTCTCTAAGCTGGCAGCTTCCAACCTCTCCTCCCTCAACAGCTTCAACA
TTATATGGCACTCAGCTGCAGGGTGCCTGGCTCCAGGCCGGCAGTCCATTTGTGCAGGGTAGTT
TTCAAGATGGCTCATAGCCCATCTCTTTCAGTGACCAGCGTGGCCTATGGGAAACATACATCTT
GACTCCATTATTGGTAGGAGTACTCTTTAGTTAACTGCCACAGGCCAGTTTCAAGACAGTCTTAC
CCTGAGAGCCTTTTTCAGAGTCAGGTACCATCCCTGTGTCCCCCAGCATCTGAAGATCACAGGTG
AAGGTCTCCAAGTAGTTCACTTAAAAAATACCTCAGTAGGTTTAAGAACAGGGAAAGCTCCCAA
TTCATTCTGTCAAGGATGACTCTCATCCCCAACTGGACAGATATATAATATGAAAACCTACA
GACCAATATTTCCTTATGAATATAGATGCAAAACATTCTAAACAAAATACTAGCAAACCAAATCCA
GCAGCATAGAACAAGGTTTATGTAGCATGGACAACCTGAGATTATCCAGGAATGCAAAGTTAAT
TCAATATACAAAAGTCCATTAATACACATATTAATAAAGGACAAAACAACATGAAAATCTTGA
TACAGAAGAAGCATTTAACAAAACCCACAGCCCTCCTTTTTTTTTTTTTTGATTAAAAAACACT
CAGTAACTAGGTTTAATAAAAAGAAATTTCTCTCACTTGAAGCAAACCCACAGCTAGCTAACATC
ATACTCAATGGTGAAAGACTGAATGCTTTCCCTTAAAAATCAGGAACAAGAAAAAGATGTCTGC
TCTTGTCACTTCTATCCAATATTGTACTGGAGGTGTAGCCAGCACACTAAGGCAAGAAAAATGA
AATAATAGGAATCTAGACTGGAAAGGAAGAAGTAAAAGTATTTCTGTTACAGATGCATGATCT
CATATGCAAAAAATACTAAGTGACAAAAAAGAATTTTAGAAAAGCTACAATATACAAAATCAA
TATACAAAAATTAATTTTATTTCTAACACCAGTGATGAATACAAAAATAAAAAATTAGAAAATAA
TCATATAATTAAAGTGGCATCAGTAAAATACTTAGAAAAAATTAAGACGTCAAGACTTGCAC
ACTGAAATCTCTAAACATCACTGAAATAAAGACCTAAGCAAATGCAAAGACATCCACAGTCA
TGGAACAGAAAACCTAACACCATTAAAAATAGCAGTTATTTCTCAAATTTATCTACCAATTCAC
TAAATCCCTATCAAGATCCAGCTGTTTGCAGGAATTGACACAATGATCATATAAAAAATTCAT
ATGCAATGCAAGGGACCCAAAACAGACAAAATGATTTTGGGGAAAAAAAAAAAAAAAAATGGAGG
ACTTGCACATCCCAAATCTAACTTACTACCAAGCTACAGCCATCAAGACAGTGCAGGTGCTGGT
ATAACGACAGACATATAGGGCAATGGAGTAAGACTGAGAATCCAGAAAGTCTTATATTTATGGT
CAACTGTTCTTTGACAAGGGTACCAGGACCATTTCATGGGGAAATAATAGTCTTTTCAACAACCTG
GTGCTTGGGCAGATGGATATACAGATACCAATGCACTTATGCAAAAAATGGATGAAATAGGAAA
CTTCACTACATTCTACTGCATGCTCGGTCAATTTTCAATCATTTAGGTGGCAACACTGACAAGAT
AACAGAAAGATGGAGGTAATAACATGTGAAAGGCAAAATGGTTTGTTTTTTTTTTTAAAAATGA
CAGTCTCTATCATGAATTTACTTACACTCCAGGCAAAGGTTATTAGAAGAAAAAAGATGTAAG
AAAATTCCTTAACTGAAATGTGGAAAGAGTATCAAGAGGAGACCCTAAGACACTCTGTAAGAAT

10

20

30

40

50

CCCAGTGA CTCTCACTGTTCAACTAAGAAATGTACCCCATTTATGCTGTGCTACCCACGGAAGCA
TTGGAGGCAC TTTGGGGGTTGATGAAGTCTTCATGGATGAGGTACTTTAAATATCTGGTCATGA
AGAGTATTTGAGAAATATGACAAAGTGAAGATGCTGGGTAGGAATGCAGCGAGGAAAGTGTGTAA
CACAAGGCCAAATTGGAAAGGTCAGTGAGGGGGCAATCTGTGGAGGCACTGAATGCAGAGGATA
TTAAAATTAGCAAGATAGTGTCTAGCACAAATGAAAAGGATTGGAAGAGGGAGATGAGAGTCAG
GGAGTGAAATTAGGCAGCTGCTAAGAATGTCCGGGTGAGTCAGAGGATCAGGACCTGTAAGGGC
AGTATAAAGAAGGAAGGAATGATGGGAGAGGTTTAGGGGGAAAGAAGTGACAACCTGTGACAAT
TGAGGAATGAGAGATTTTGATGATTGGGGTGAAGGTTACATTTCTTAAAAAGAAACAAAGAATG
GTCGGTCGATAGAGATGCAAGATGAAGAATTTTCTTTTAGGACTACTGACTATGAGGTAACAA
AGAAATCCCAGAGACAGAGGTCTGAGCAAAAGATATGGGATTGGGGAAGAATCTTTGGGAGTGA
CTGAGGTTGACTAGAGGGAACTGGGCAAGAACAGGTAAGGACTTTAAGCAGAATTGGAGGAGTA
TCCATCTAAAATCTGGGTAAACTGGGATGGAAAAACAAGTAGCCAGAGAAGCAACAGCCCCAAGC
TAGGGTGTGTCAAGGTTATAGATGTTACTGATTTTGGCAATGAGGAGATTATAAGGATCCTTG
AAGACTGTACTTTCCGGTGAACCTACCATGCATTAGTAGCCTTTACAGTGATATCTACCCACA
CCTGCATCAAAATCTTGCAGTGCCATTATAAATGCCAACCCACTAACGGGGAGGGGAGAAAA
GACTTGGGACTCTGTACTTGTAAAACCTCTACCCCTCCCAGGCAATTCTTTACACACTAACAC
TGTTGAGGTAAAAGGAGACAAAGTGAGGGAGCAAATGGAAGGTGTGTTTTTGGATTATACAGTGG
CTCATGGAAGGGTGGGAGGGGTACAGATGGCCCTTAGACACTGGCGGAAAGTCAGAGAAAAAA
ATTACAGTAAGCAGGTAAAGGGATCAAGACTACACAGGGACTAGTCTTGGGACGACATTTCTTC
CTCTGACAGTTTGTATGGAATTCCTTGAGAAAAATTCCTCGAAGGGGCCTGAAATCTCAGAATGG
TCATGTTTTTAATGGGAATAGGGAGTGATGCTGCCCCATTACAACCATCTGTTCTAACAGAATG
TCTGTACCGAGGAGGGATGAGTAACATCGGCAAGTTCTGTTCTGAAGCCTTTTTCAAGTTTCTTT
TTGATATGTATCTATCTATCTATCATCTCCCTATACAAGCAAGCATCCCCAAAAGTAGTTGTCT
CAGGAAACCAGGGTTAGGATGACCAGCTCATTTGCTGGAGCTGCCAAGGTCCAGAAAAGTTTGG
CTGCAGGCTGTTTTATGTTTATGTATGTTTGAAATGTTCTATAATAATAAAAGGTTAAAAAA
GTTTACATTTATTTGGAAAACAGTTACTTTAGTTTATGGTTCCTTTTTTTCCCTCCAGAGCTT
CCTGGAGATTGAGGTCTAATTCAAAGAAAACCAAAATATATAATAGAGTACCTGGGCAAAAAAA
GTACTTTTATAACATAACATTTGGGGTAGAGGAAGTATCCACTGTAGTCAAAATGTCTATGTTT
TGCTCTTCCTTATTGTTGAGGGACATTCCATTAAATAGTAATGAAAAGGCAGCAAAAAGTAAGAG
GAGTGACAACATGCCCCGCATAATTAAGCAAGCTAGAGCAGCTATTCTGTGCAACCGACGATTT
TTTTTCTCTAAAATTTTAAAGGGTAGGTTTCTTCTGACTCTGTTAAAAGTCTACTTGATGTGAAC
AACTCTATATCTGATAACCTATTTCAATTACCACTTTAAAACCTTGTCTATATGGATACGTTATTA
CAATTGTAGAACTTTAATAAATACCATAATAATAAACTTGAGAACTGAAGAGCACACATTTCT
TCACGAATTTATTATATAAAACGCCCTCAGAGTATTTAATTTCTCCTCACTTTAATTACACATT
AAGAAGCACAGTGGATGAGAAGCCTTTAAGATGACTACAGTTGCACGAAGGTCCCTTTCATCAA
GGTAGCGTATGTACCCTAACAGTGTCTAAAGGCTGGCCCAGAAAAACCCCATGTTACCTTATC
ACAATATGGAAAGCATTGTTCTTTTTTCCACTAAATTAATTTATGGTGAAAAGTGCCACAGTT
TTATTTAGCATTATGGTACATAACAAACAGTTCTGTCTCAATTATGAAAAAAATTAATTAATAA
AATCCTGAAAGACATCCTTTTTTCTCCCCCAATGATTTGAAAGCTGCATTTTTTCTGCCAATTT
CAACAAACAAATCATCAGGTTGATCTACAGTAATCAGTTAAAACAATCAGTCAATCAATCAAT
CAATCACCAAGGCACAAGCTCAGCACATTAGCTATAGCTTGTAGCAAAAGGATATATCAATGTC
TCACCTTAGTTAAAAATACATAATCCTTTTTATTTTATAATGCAATAAAAGAAATTAACAACATC
ACATACACAGAAGACTAGGAAAGGGGAAACTACTTACTTCTGGAAATCAGTAATGTAAACCTAC
TTGTACTTTTCCATAGTACATGAAAGTAACGTTTAAACATGTTTTGAATTAATTAATTAATTTA

10

20

30

40

50

ATCTGTGGGGCTATACAATGTAATTCTTAGGAGTAATAGTTTCATTCAATTCAGGTCAGCTTA
CTGTATGATTAAGTAACACAAGGCACAGTAGCCATCTTTTTCAATTATGTTGCAACACTGATCAC
GTGCCTCGATAAAATGGCTGATTCAACAAGATGATGGCAACACGAAGGGGAGACTTTGGATTGT
CTATTTAAAATCTAGGTAATAAGTAAGTAATTAATAAAAACTCTATCTTAAGTGCACCTTTCACA
TGCTTTTTGTTTATAATAAACAAACAACAACTTCCTAACTTTGTTGCAATAGGCTTGACTACC
ATTTCAATTTGGCCAAATGCACTTTCCCCAGTAAACTTAAAAACAACAACGAGAACAACAAGAACA
AAAATCCCTGTCTTTTCATATACTAAGAAAGAGGATTGGCTACTGAAACAGTTCATTGCAAGAC
ACATGAAGACGACATACTGTGGCATGAGTTGTTTTTGTGTTTTAATTTGTTGTGCTGTTACTAAA
GTTCTGAGGGCTGCAGTTAAAAACATTTCCAATTTCTCCCTTCCTTCCATCTTTCTTTATTGATTG
ATTCTCAAGATTTTGCACAGAAAACCTCTTTGGGGGCTAGAACAGCAGTAATTGCATCACACTGT
TTTCAAGACTTCAAGTTTCAAAAGCAAATCATTAAAAAAAATACAGTTCCTGATTTGAGTTAGA
TACAGGGACAAAAAGTAGCACATACTTGAAGGTTACGTGGTCTACAAATGGTGGCAATATTTT
CCTTGGGAGAGTAGTTCTGTTGGTATATATTTTTTAAATACTCAAAAGGCTCAACCTCAAGCAG
TAATAAACACAAGCAAAAGTGATTTAACCCTTAAATAAATATTCAGAAAAACCTCTCTGTACA
TACAAGTGAAAGAATATGTAACACTTTACGCAAAAAAATAATATATAATAATAAAGGATTT
GTTCATATATGTAGCTGAAATCTGCTGTTCCAGCCCACATGTCCCCAATAAAGAAGGGAGGCAC
AGACATAGGTGACTACTGTGGTTGACTATCTTACAGCCTTTTTGTACTGGGACACTATCACCAC
CAAAAATTTATCCCTCGTTATATTTTTTAAAATTTTTTAAATTTTTTCTTTTTTTTTCTTCCTT
TTTTTGTGTTTTATTTGTTTTGTTTTGTTTTACAGCATGCCAAATCCTTTGGCATACTGTGATGG
CCTTCAACAATCTCTCTTTAAGTTTTTCTTTGCTTGAGTATTCGGGAAGTAAAAGCACATTAAA
GCAAGTATGAGATGTAGGTAACCTAAATAGAGAAAAGGGGAAAAAAACAGGAAACTGTAAGTC
ATGGGAAATACACTTAGAATTAATGCTCCTATTTTTTAGATTGTATATAGTTGAGACGGTCTGC
AATGCAAACATACATTAATGCAAATCATAAATTTTTGTTGTGTAACCTACCAAGTTGCCTTTA
TCCTATAAATTACTCAAAGCTAGTGACGATGATAAGATACTGTATCCATTGAGTTTTTACTACA
TAACAGATACCATTTTAGGTACTGAATTCCTTACAGTTCATTTAACCTAAATCTTCCACAACAAA
ACCACAGAGAGGACATCAGTAAATGCACTTTAGAGGTTAGGTCAGTGAAGTCAAGTAACTTC
CTCTAAGGTGGAGAAAATACTCAAACCTGTTTTACAAGACTGCAAAGTGTGTGCTCTTAAATGC
TTATTAGAAACACTGCTGGCAATATGACTAAGAAAATGATTTGATAACAGGATTCTAGCACAAAT
CAAAATGATAATCTTCCGAGCCTCAATGTAACCATTCTAAATAGATGATCATGTTATATGGCTTT
CAATTAACAAGCTGGGAATCAAAAAAGTAAATGAATCACACTAATTTGATTCCAAACCAATGTG
AGCCCCATAATAATTTTTAACTAGGGCAATTTCTTAAAAGTTTCCTCACACAATGACAGCAAAG
TATTTTCTCAATTGTCTAATATGATTTGGGGATTTGTATATAAAATCACGAATGTGCTCAGAAA
CTATAAAGACAGTTCATATGTATGTGACGAGGAATGCAAGGTTTTCGGTAGGTATACAGTCACA
AGTTAATAAATTACCTACCTTTCTGTGTCTGGGCCATTTTTGGCTATAATCATCTTTAATTTTCC
TAGTCCCTCCACAGGTGCTCTGTCTGTGCCCCGTTGTAAACTGCAAGAAGAGTCTTTTCTGTTC
TCTGTAAATGAATGAACGATTTCCCAGAATCCCTAATGAGAAAAAATACAATACTGGTTTCAG
TTTGGCATTCATTATGACTGGTACTAACATAAGCTTATGATTTGCATTAAAACCTATATTAAGAG
ACAACCTTGGAAAGTTAATTATCAGGATAGTATCACTTCTGGTGATTTAAAAATTTCCAAGCAAAT
TTATCCTGAACAGCTCTGAATACGTAAAAATTTAGATTAGATTACAATATAGTAAATATATTAGT
ACTACAATAGTAAAAAATTGAGAAAACCCAAGTGTGTAGTAACAGGAAGTGACTATTTAAACTA
TGGTATAATCACATTATGCAGTCAGTAATGAGCAAAAGACAAAATCCTATGAATTGAAAAAGAC
TGAAATGAATATTTGGAAAAATTAACCTCCAGGTGCCTTTGGGTATATATTTTATTTATCCTTTC
TCCTTTATTCTCCTGGTCTACTCATCCTTTAACTCAACTTTGGGAGGAAAAAGTGATACAGATT
AAGGACAAAAGAAAAAAGACCCCTGCCCAACCAACTGGCCCCAATGCAAACAACCTACATA

10

20

30

40

50

CCTAATAGCAGTAATACAAAAGTTCAATTTTTATATGAACTAGAACTCTTTAAACAAGTAATAT
GTGCTGTGTATGGAGGAGGAGAATTATTTCTGACATTTCTGCCACCTGCAGTTATTTTAAGAGAA
TGATTTATCCTGTGGCATTCTCTAAAATCTATGTAATAAAAGCTATGTTTTAATGACACTTATGT
TAGTTTGAGTTCTAAAAAACGAAATACAAGCTCATAAAGTGCAATCTTGAAGTTTATTTGAATA
ATCAGGCATCTATAAAACATATATACACTAGTTCATAGCTAAATAAATTTTTTTTTTTTTGAGA
CAGAGTCTTGCTCTGTGCTCAGGCTGGAGTGCAGTGGCGCGATCTCGGCTCATTGCAAGCTCC
GCCTCCTGGGTTTCGCGCCATTGTCTGCTCAGCCTCCCAAGTGGCTGGGACTATAGGTGCCTG
CCACCACGCCCTGGCTAATTTTCTGTACGTTTAAAGTAGAGGCAGGATTTACCCATGTTAGCCAGG
ATGGGTCTCGATCTCCTGACCTCGTGATCCGCCACCTTGGCCTCCCAAAGTGCTGGGATTGCA
GGCATGAGCCACCGCGCCTGGCCTATAGCTAAATAATGTTAAGATTAAAAAATTAAAAA
TTAAAAGTATTTTTAGTTGCTTATATAATATAAAATGCATTTTAATAGTTATTTAGAAAGTTCT
TTCCAGAGCCAGGTGTGGTGGCTCATGCCTGTAATCCCAGCACTTTGGGAGGCTGAGGCCAGTG
GATCACCTGAGGTGAGGGGTTCAAGATCAGCCTGACCAACGTGGTGAAACCCTGTCTCTACTAA
AATACAAAATTAGCCGGGCGTGGTGGCAGATGCCTGTAATCTCAGCTACTTGGGAGGCCAAGG
CAGAAGAATTGCTTGAACATGGGAGGCGGAGGCTGCAATGAGCTGAGATCACACCATTGCCTC
TAGCCTGGGAAACATTTTGAACCATCTCAAAAAAAAAAAAAAAAAATTCATCTCAAAAAAAAA
AAAAAAAAATTCCAGAATGTTAGCAGAGAACATCACACATCCCAAACAGTAATTACAATTTTCT
ACCTTTTGATATTCTAATATCCCAACATACTATTTTTATTACCAAATGCTGGCATTTTTGGTG
CTGCAACACCATTATCTGAAATAACTTAAAAGTTTTATTAGAATTCTTGGCTTTCTCCAATCT
CTTGCCACTTCCCTTCCCTGCCCTTTACAAATCCACCAGTCAGCAAGAGAAAAACAAAAAGAA
ACACACAACAACAGAAAACCTGGACATGAACTTGCAGGAGCATCTCTCAGGTAAGGAGGAGAGG
AATCGGACCCACAGTTCATGATACTCCTTTTGGGGAGGCTGACAAGAGAAAAACAAGTCTGCTGTA
GCACAGAACCCCTCCAACATAGCAGAAAAGCTGCCCTGCAGTGGGTGGTAATAAAGCCTCCTCAC
ACTGCAGGAGGGCTCTGAAGCTTAACTGAACCAGCTACACCTAAGGAGGTAGACCAAAGAGCAC
CACCAGAAGAACAGAGACAGACCCCTGCAGGAAGTGGCAGATCAGCAGTGGTCACAATGACCAGTC
TGGCTATATTATTACGGAGCTGTTTCTTTGGACTTTTAAACGAAACCTTTAAAAATTTTATACA
ATGAAAACAGGGAACAAAATGCATCTCTATTCTATAAGTGTTATGTGTGTACATTAAACATTT
TGAATTAAACAAGAATGCATATATTTAGAAAGCTGAAGAAAACACGAAGAAGCTTCCAGGTTTC
CACATAAAAGTGGTGGCTGTATCGATCACATCCTACTCACATCTCTAAAAATCTACCCGGATCA
AAAAGGGGAAAATAAAAAAAAAAACCTATGACTTAGGTCTAGAGTAAACTAGGAGACAGAACAA
TAACTCCAAATACCAAAGAGTGGGGAAATGAGCAGGGTCCAGCAGGAGCTACATCGAAGAGT
GGCTTGTGCGGAATCATACTGATTAGGGATCACCCAAGGCCAGACCCACCCCTCCACCACCT
GCCCCTCAACAGAGCACTACTGAGTGTAGGTTAGAGCACTGGCAACAGGGTGGTTAAAGGAAGG
ACTACAGAAAAGTACTTGGGTCCAGCAATGGCAGGCTCAGGAAGGCACCATGCATGAAAGGAAG
GGGGTACCTTCAAAGCAGAAAGTGTCCCTTAAGCGGCTGTAAAGGGGTGGAAGCAGCTAATGA
AAAAGAGTCTTCATTAAAGCTACATGGAGCTGAAAAATCAGAAAGTGGTGATTCTGCCCTTACTA
AAGCAACAGAAAGAGGGATCCCTTCAACCAAGACCCCTAAAGCCACACAATTCCTCCCTGCTCCA
CCATGAGGTCCTAGTAATAACAGGTCCAGAAAAAGTAACATCTGTTATAGAAACATAAACAAGA
AAAACAGAATTGGAAGTCTAAATAAAGTTATTATGGGAAGAGTCTGGCGAATGAGAAGCAAAA
CTTTCCGGTAGACAAAAGTAGACCAGAAAAATTCACTCATAAACAATGGGAAACTAGTAACACC
ACATTCACACACAAAAGGAGAATGCAGCAGCAGACAAGACAGACCACCAGTGATGAGAAATACA
AATTCAGAAAGAAATGAGCACATCTTAAATAAAAAATAAGAATACTAAAAAATACTGAAGAAATA
TGCAAGGTAACCTTTGGAATAAAGGCTAATTTTATTATAAGGTGACCAAAGAAGAAGCAGTATG
ACTAAAATTTCTACTGAGGACAGACTCTAGAAAATTAAAAAACAAAGAAAATGAATAAAATAAA

10

20

30

40

50

CATAACTAAAGAAATGCATATCAAAGCATAATAACGAAAAAGATTAATAGCTAACTACATAAAC
ATAAAACCTTTTCATTTGGCAAAAAATCCTATAAGCAAGGTTAAAAGACAAATGACAAACTGGG
AAAAAATATTTGCGAATTTACCAGCGTTAAAGGACTAATCTCCTTAACATATAAAGTTTCTAAA
AGTGAAGAAAACGACCAGCTGAGCAGCAAAATGAGCAAAAGACTATATAAACTATAAACAGCT
CTACAAGAAAAAATGTCCATTATCATTCATAATTGAGGTAAGCTCAAAAATTGTAACATAGTA
AAATACCATTTCTCAATTGGCAAATAAGTAAACATCCACATTTAACAACACATTCTGTTTGGAA
AGTTTAAAGAAAAGAGATACTGTTGTAAACTGCTGGTGGGAATGCAAAATGTTATTTTCTGTG
AAGGAGGATTTGGCAGTATCTAGCAAAATTACACATGCATCTACCATTGATGCAACAATCCCA
CTTCTAACAATTTATCTTAATGATACTTTACATATGTACGGAATAATGCATGAACATTAAGAGG
ATTCAGTGTGACATTAGTACTAACAGCAAAAGGTTAAAAATAACCTCGATGCCCATAAATATTG
ATAAGCTATGCTGCATCCACACAAAGGAGCAGTATTCAGTCATACAAAACAAAATGGAAAACAC
CTCTGCAATAATGTGGGATGATTCTCAGGATACACTAGGAAGATTATTTTCTAGTTCTGTCTCT
CTGATAAGGCCTACAAGCAGTAACGTTCAAAAGCAAAGGCCATACTTTGCATCTAAAATCTGAC
TTCTAAATGCCATTCTCCAACAATTTATTGGAAAAATAACTTATTCCAGGCCTGAGAATGAATG
TTCGAGATTAGTTAGAAATCTCAAAATCTAATAGGGTCAATTTTAAAAGCACACGATAGCTAAGC
AATTTGAATATCATTTAGAGTAATGACTGTGAAACGTATTAAATACAAAACATTCAATTAGTTC
GTAATATTCAAAAAGGCAGCAAAAACCAACCAAAAAACAAAATTAAATTGTCACTATTAAAATT
ATTACATTAACCTCTACTCTAAAAACCTTAAATCTATTTTATCATGCCTTTTCTGTAGAACTG
TTTTTCAAGGTAATCAAATGGCACCCCAATGATGAGAAAAAAGAATGCCAGGTATATATGTAGGA
CAAGCAGATGGAAATTTTTTTTTCCCCAAACAGCCATTTTGCATCCCCAATGAGATAACAGATT
AAGGTAATGATACTGATAAATACGAAAATCAGGTGAAGGGCAGGTAGCAGGTTCTGGAAAGATG
ATGATGGCAACGACATAGTTATTATTATTATTATTTTTTGTGTTTATTCCTCCCAACCTCCCT
ACAAAACAGCAAACTGAATGAGAAAACCAAAGACCCAGAGACATTATCTACAACAAAACCATG
AACCATTGCATATAATTGGACAGAAAACAAAGCTCTGACAACCTACAAGACTGGTTAGTAAGGAAG
CAGATGCAAGGTAACCTGACTGGGTTTCTGACAGCCCTGAGAACACTGCCAACCCACTGGAAAGC
ACAGGCCAATCTGAAAACAGGGCTTAAAGTTTTTAAAAGTTCTACAGGATCTAATTTGCAGATG
ATTACAAAGGGATCATGATGTAGTAAGCTCTGGGCCCTTAAAACACCCGAATACCAAACCCCA
CCAGAAACAAACCTTGTACCGAGGAAAACTTCTGGGAATAACTTCCGAATGGACCAGGTCACT
AATAAAAACCAAAAAAAGTTCAAATATATGTGTGGGATAGAGGAGTAAAGAAGGCAGTTTCAG
AAAGCACAAGGGCATATTTTTGACCATTTTACAAAACACAGACTTCTCCTCGTCCCTAAAAAG
CGAAAAAAGTTATCCTGGCCCATCTCTCCCTCGTCCAAGTATGAGAACTCATTTCCTCACAC
ACACACACACACACACAAATAAAATAAATAACAGAACAGAGTGAAACAGTGTAATTATTAGAG
AAAAAGTATGTGCATATACATGAGAATGGTGTCCCTACAGAAAATCAAAGTACATGAAACAATA
TGCAAAATAAAACATGAAAACCTGTAAACAAATTTCAAACCTGAGCTAAAAAGAATTTAAAAAATAA
CAAATCATTAGAAATGGGAAATTTCTGAATGAGGGTAACCTGAAAAAAGGAAGACATGACACAA
CTAAGGAGTAATTAGAAATGCAAGGAAAAAATCCCATCAAATACAAAGAACTAAAACTAAAC
TAGAAGAAACATAAAGGTGAATAAAACAGAACAAATAATACCAGAACCTGAAGGCAGAAGAAAA
TCTTAAATCAAAAAGAAACAAACCCATGCTTGAGACTCTCCTTGCTGGTCCAGAGCCACAGTG
CTGCTGTGTACTGGCAGGAGGAATTCTGCTATAATTGGTCCTGGCAGTGTTACCTTTCTGCA
AGTGTTCACAGCCCAGGGACACAATGTGGTCAGGAGCACTGCCAGGAACACCAGCAAGGGGGA
GCCTGCCACAACAGGCACAAGGCTCAGGAAGCACTCTCCAGCCCACGAAAATCTAGTGGGGGTC
CTCTTCCCTCACCCAAACACACTCTGCGCAGCT

10

20

30

40

50

SEQ ID NO: 2

shRNA 人工/合成配列

5' -GATATCACCTTACAGAAATTACTCGAGTAATTTCTGTAAGGTGATATC -3'

SEQ ID NO: 3

UBE3A-ATS 人工/合成標的配列

5' -GATATCACCTTACAGAAATTA -3'

SEQ ID NOs: 4-489

UBE3A-ATS 人工/合成配列

4. CTGAAGTGCACATGGAATATT
 5. TCTTCAGGATGACACATATTA
 6. CACAATGATATGGAGATTTAA
 7. CTCAATCCAATAACCTAATTT
 8. GTAAACAGAAGGAAGAAATAA
 9. AGGTCCGTATTACCCCTTATAT
 10. CATCTAGCCTTTCTGATTTAT
 11. ATCTAGCCTTTCTGATTTATA
 12. TCTAGCCTTTCTGATTTATAT
 13. CTAGCCTTTCTGATTTATATA
 14. AGTCACAACCTCAGATTTATTT
 15. GGCCTCACAACTCAGATTTAA
 16. GAAACAGAGCCCTCAGAAATAA
 17. GGAAAGGATTCCCTATTTAAT
 18. GAAAGGATTCCCTATTTAATA
 19. GACAAACGGGATCTCATTAAA
 20. CATCTGACAAAGGGCTAATAT
 21. ACAATGAACCTCAGACAAATTT
 22. CAATGAACCTCAGACAAATTTA
 23. GTTAGAATGGCGATCATTAAA
 24. CAGCCATCCCATTGCTATATA
 25. AGCCATCCCATTGCTATATATA
 26. GCCATCCCATTGCTATATATA
 27. CCATCCCATTGCTATATATATA
 28. CATCCCATTGCTATATATATA
 29. ATATACCCAAAGGACTATAAAA
 30. TATACCCAAAGGACTATAAAT
 31. ATATGCACAGGTATGTTTATT
 32. GAAAGACACTGATTGTATTTA
 33. ACATAGCCCTAACCATATAAAA
 34. CCTCACACAAAGACCTATTTAT
 35. TGGCAGAGATTGGCAATTAT
 36. GGCAGAGATTGGCAATTATA
 37. AGAACAACAAGGAGGAAATTT
 38. GAACAACAAGGAGGAAATTTA
 39. GAATGGAGTGAAATGTTTAAA
 40. TCTGATTTCTTTGGGTTTATT
 41. CTGATTTCTTTGGGTTTATTT
 42. TGCTCTTCTTTCTACTTTATT
 43. GTAAGCATTTAGTGCTATAAAA
 44. TTAGTCACATCCCACAAATTT
 45. ATGGTCTGTGCTGTGAATATT

10

20

30

40

50

46. TTGAAGTCTCCAACCATAATT
47. CAGTTTGTGCATCACATATTT
48. TGCCCTCTTGGTGGCTTATTT
49. TCCTAGGTCTAATGATAATT
50. CTCCACATCCTTACCAATATT
51. CGCTTATCAGATATGATTTAT
52. GGTCTATACATGTAGATTATT
53. TCATAGATGTATGGGATTATT
54. CATAGATGTATGGGATTATTT
55. CTTGTAACTCCTTGGTTAAAT
56. TTGTAACTCCTTGGTTAAATT
57. TGTAACCTCCTTGGTTAAATTT
58. GTAACTCCTTGGTTAAATTTA
59. TCCTTTCTGATGCTGTTTAAA
60. CCTTTCTGATGCTGTTTAAAT
61. CTGAAACTTTGCTGCATTTAT
62. TGAAACTTTGCTGCATTTATT
63. GAAACTTTGCTGCATTTATTA
64. TTGCTCTGTGAATAGATAATT
65. TGCTCTGTGAATAGATAATTT
66. ATATGTTGATCCACCTTTATA
67. TATGTTGATCCACCTTTATAT
68. ATGTTGATCCACCTTTATATT
69. TCTTTGGCTACTTTGTATAAT
70. CTTTGGCTACTTTGTATAATA
71. TAAGTGCCATAGAGCCAATAAA
72. ATGCACATGATCTTCTTAATT
73. TGCACATGATCTTCTTAATTT
74. TGGCTTAAACAAGAGAAATTT
75. GGCTTAAACAAGAGAAATTTA
76. AGGTATCAGAGTAGTATATTT
77. TTAAAGAGTTGCCACATTATA
78. GTTGCCACATTATACATAATA
79. AGACATTGAACCAGCTATTAA
80. GACATTGAACCAGCTATTAAA
81. AGGGTTAAAGAAAGGTATAAA
82. ATACCCGAGATGACCAATAAA
83. CAAATCCACGAGAAGAAATAA
84. ACTTGTGTTGATGGTATTATA
85. CTTGTGTTGATGGTATTATAT
86. ATTCATTGGAAAGGGTATAAA
87. CAGTAACAAGAGCCCATTATT
88. AGTAACAAGAGCCCATTATTT
89. GCCCAAGAGATCCACTTTATT
90. CCCAAGAGATCCACTTTATTT
91. TTTCATCTCACCCAGAATATT
92. TGTATGAGATCCACTTATTT
93. ACTGAACTGTGAGCCAATTAA
94. CTGAACTGTGAGCCAATTAAA
95. AGTCTTAGGTAGTTCTTTATA
96. CAAAGGCAGCAGCACAATAAT
97. AGACTGGCTATTTGAAATTAT
98. GACTGGCTATTTGAAATTATT
99. CACCATCAAGAGAACTAATAT

10

20

30

40

50

100. ACCATCAAGAGAACTAATATA
101. CCATCAAGAGAACTAATATAA
102. GGAAAGTACATAGTCAAATTT
103. CAATGCATACTACAGTATAAA
104. AGTCCTTACGTGTCAATAATT
105. GTCCTTACGTGTCAATAATTA
106. GACACATACAGGCTGAAATTA
107. ACACATACAGGCTGAAATTAA
108. CACATACAGGCTGAAATTAAA
109. CAATATTGAAGCACCTAAATA
110. ATGGATCTAACAGACATTATA
111. CATTCTCCAGGATAGATTATA
112. ATTCTCCAGGATAGATTATAT
113. CAAGATGGAACTGGAAATTT
114. TTCTATGAGGTAAGCTTATAT
115. TCTATGAGGTAAGCTTATATT
116. ACAAAGATCAGACAGAAATAA
117. CAAAGATCAGACAGAAATAAA
118. ATACCACAGACATACAAATTA
119. TGAAGACTGCCAACCATTAA
120. GAAGACTGCCAACCATTAAAA
121. CTAATTCAGCAACACATTATA
122. GATGCAGGATAGTTCAATATA
123. ATGCAGGATAGTTCAATATAA
124. TGCAGGATAGTTCAATATAAT
125. GTGTCTGTTGGCTGCATAAAT
126. CTTGTAGATTCTGGATATTA
127. GCAGAAGCTCTTTAGTTTAAT
128. CAGAAGCTCTTTAGTTTAATT
129. CATCCTGTTACTGGGTATATA
130. GTATATACCCAGAGGATTATA
131. TATATACCCAGAGGATTATAA
132. ATATACCCAGAGGATTATAAA
133. TATACCCAGAGGATTATAAAT
134. CCTAGAACTTAAAGTATAAT
135. TGACAAACCTGGAGGTAATAT
136. GACAAACCTGGAGGTAATATA
137. GTCCATTCTCACCACCTATAT
138. TCCATTCTCACCACCTATATT
139. CCATTCTCACCACCTATATTT
140. CATTCTCACCACCTATATTTA
141. GTAGATGACATGATCTTATAT
142. GAATAGAGAGCCCAGAAATAA
143. ATGCTTGACATCACTAATAAT
144. TACACTGTTGGTGTGAATTTA
145. ACACTGTTGGTGTGAATTTAA
146. CACTGTTGGTGTGAATTTAAA
147. GGTATTTGCACACTCATATTT
148. GTATTTGCACACTCATATTTA
149. ATAAAGAGAACGTGGTATATA
150. AGACACAGTGGAATCTATTTA
151. GGTACAAACCTTCAGTTATAA
152. GAAGGCACTGATATGTTAATT
153. AGGCACTGATATGTTAATTAT

10

20

30

40

50

154. ATCCATTCAAGCTAGATTATT
155. TCCATTCAAGCTAGATTATTT
156. GGCATGGTGGCCCTCAATTAT
157. GCATGGTGGCCCTCAATTATA
158. CATGGTGGCCCTCAATTATAT
159. ATGGTGGCCCTCAATTATATA
160. TGGTGGCCCTCAATTATATAT
161. GGTGGCCCTCAATTATATATA
162. GTGGCCCTCAATTATATATAT
163. TGGCCCTCAATTATATATATA
164. GGCCCTCAATTATATATATAA
165. ATGAACAACAATGGGATTTAA
166. TGAACAACAATGGGATTTAAA
167. GAACAACAATGGGATTTAAAT
168. AGCAATAGTGGAGAAATATAA
169. GACCTAAACCCTATCTTATAA
170. ACCTAAACCCTATCTTATAAT
171. CCTAAACCCTATCTTATAATT
172. CTAGAGCAGCAATACTAATAT
173. GTGTAGCTATGACTGATATTT
174. TGTAGCTATGACTGATATTTA
175. GTAGCTATGACTGATATTTAT
176. TAGTCTTTGCTTGCTTATTTA
177. AGTCTTTGCTTGCTTATTTAT
178. GTCTTTGCTTGCTTATTTATT
179. CTGTGTTTAGTGTCTTATTT
180. CTACCCTGGATAGGGAATATA
181. TTCTATTGCAACAGGATAAAT
182. TCTATTGCAACAGGATAAATA
183. CTATTGCAACAGGATAAATAA
184. ACTGGTGAACTCCTCAATTAT
185. TCAAGGAGGAAACAGATTATA
186. CAAGGAGGAAACAGATTATAA
187. AGGAGGAAACAGATTATAAAT
188. TGCCTGTATGATAAGAAATTA
189. GCCTGTATGATAAGAAATTAT
190. GAACCAATCTTGTGCTTTATT
191. GCATTCTCTGATCTGATTTAT
192. CATTCTCTGATCTGATTTATT
193. AGAGGCTTAAAGGAGATTATT
194. TTGTTCAAGGATTCCTTATTA
195. TGTTCAGGATTCCTTATTAT
196. GTTCAAGGATTCCTTATTATT
197. TGTGGAGAATCATTGATATAT
198. GTGGAGAATCATTGATATATT
199. GTATATGAGAGTTCCATTATT
200. TGGCTGTGGAACGCTTATTT
201. TGGATCGATGATGAGAATAAT
202. GGATCGATGATGAGAATAATT
203. GCCCTCCAATAGGACAAATAA
204. TGACCCAAGACTTGCTTTAAT
205. GACCCAAGACTTGCTTTAATT
206. TGTGCTGAAAGAAGGAAATAT
207. ATATGGCATGCCTCTATTTAA

10

20

30

40

50

208. TATGGCATGCCTCTATTAAAT
209. ATGGCATGCCTCTATTAAATA
210. TGGCATGCCTCTATTAAATAA
211. GGCATGCCTCTATTAAATAAT
212. GACAGTGAACCAAGTTTATT
213. GAGACTCCATGGTTCATAATA
214. AGACTCCATGGTTCATAATAT
215. TTGTGGTCATACTACATTATA
216. TGTGGTCATACTACATTATAT
217. GTGGTCATACTACATTATATT
218. TTGCAACAAGGTAAGTTATAT
219. TGCAACAAGGTAAGTTATATA
220. TTGATTGATGCCCTCATAATA
221. TGAAGTTGGGTAAAGTATAAA
222. GTCAATACACAACGTGATAAAT
223. CAAAGAGTTTTCAGCCATAAAT
224. CATGCTTTCCAGAGGAAATAT
225. TCCAGAGGAAATATGTTTAAT
226. TTTAATCATCTGCCCTATATT
227. TTAATCATCTGCCCTATATTA
228. TGCAAGATACCATACATTTAT
229. GCAAGATACCATACATTTATA
230. GGTCCATGTGATTTCTTTAAT
231. TGCCATAACTATAGCATTAT
232. GGATACCATCCACACTATAAA
233. TGTGTTTCCTTCCAGATAAAT
234. GTGTTTCCTTCCAGATAAATTT
235. GTGTGCTGAAAGGGCTATAAA
236. TTGAACCAACCACCTATAAA
237. TAAACGTTGTATGGCTTATTT
238. ATCCCTGTGTACACAATATTT
239. ATGTGTGGTAAATCCATTATT
240. TGTGTGGTAAATCCATTATTT
241. ATGAGCATTTGGCAGTAATAT
242. TGAGCATTTGGCAGTAATATT
243. GAGCATTTGGCAGTAATATTA
244. AGCATTTGGCAGTAATATAT
245. GCATTTGGCAGTAATATTTAT
246. GAGACTCTGCTGAAGTTTATA
247. AGACTCTGCTGAAGTTTATAA
248. CAGTTATAGAAGTGCTAATTT
249. TATGATGACCTCCTGAATTAT
250. GGGTCTGGTGTTCATTTATT
251. GGTCTGGTGTTCATTTATTT
252. GGGTCTCATTATAGTTAATAT
253. TAACAGCATGTCAGGTAATAA
254. GCAGAGCCCTATTCCTTTAAA
255. CTCCTAAATGTTTGGAATTT
256. TTAGCATTTCTGACCTATTTA
257. TAGCATTTCTGACCTATTTAT
258. AGCATTTCTGACCTATTTATT
259. ACAGGATATAGGGAATAATTT
260. CAGGATATAGGGAATAATTTA
261. TAGCACTGAAATGCCTATATT

10

20

30

40

50

262. AGCACTGAAATGCCTATATTA
263. GAGCAGAAATCAATGAAATAT
264. ACTTGTAACCAGACCAATTTA
265. CTTGTAACCAGACCAATTTAA
266. ACTCAGTGAACAAGTAAATAA
267. TAGCCCTGTATCAAGTAAATT
268. ACAAGATTCCAGAACATTTAA
269. CAAGATTCCAGAACATTTAAA
270. GAGAGTTACCCAAAGAATTTA
271. AGAGTTACCCAAAGAATTTAA
272. AGAAGAAAGGTTTGGAAATTT
273. AGCCCAATCTATAGGATTTAT
274. GCCCAATCTATAGGATTTATA
275. CCCAATCTATAGGATTTATAT
276. AGTTCATCGTTAGTGTATAT
277. GTTCATCGTTAGTGTATATA
278. ACCACCATGCCAGCTAATTT
279. ATGACCCATTTGAAGTTAATT
280. TGACCCATTTGAAGTTAATTT
281. ATGCTGGCCTCACTGAATAAA
282. TGCTGGCCTCACTGAATAAAT
283. GCTGGCCTCACTGAATAAATT
284. TGTTCCCTCCTCTTCAATTAT
285. GTTCCCTCCTCTTCAATTATT
286. TTCCCTCCTCTTCAATTATTT
287. TTGGTAGGTTGTGCGTATTTA
288. ATTAGTTGGCATGCAATTATT
289. ATTCTGTAGTTCTCTGAATAAT
290. TTCCTTCTGTTGGCCTTTAAT
291. TCCTTCTGTTGGCCTTTAATT
292. CCTTCTGTTGGCCTTTAATTT
293. GAAAGCATTTAGAGCTATAAA
294. CTTTCACTACCTGCCATAAAT
295. TTTCACTACCTGCCATAAATT
296. TTCCTACCTGCCATAAATTT
297. TCCTTGACCTATTGGTTATTT
298. CCTTGACCTATTGGTTATTTA
299. CTTGACCTATTGGTTATTTAA
300. TTGTGATCACAGAAGATATTT
301. TGTATAATCGCAGTCTATTAA
302. TCGCAGTCTATTAACATTTAT
303. CGCAGTCTATTAACATTTATT
304. GAGTGGTAAAGTCTCTATTAT
305. AGTGGTAAAGTCTCTATTATT
306. AGCATAAGCTATGTCATTAAA
307. CTCTTCATTTCTTCAATATT
308. TGAGATACCTAGAACAATATA
309. GAGATACCTAGAACAATATAA
310. CTCTTTCTCTGTGAGATTATA
311. ACAACAGCCTGGAAGTATAAT
312. CAACAGCCTGGAAGTATAATT
313. ACAGCCTGGAAGTATAATTAA
314. ATTCAAAGTATGCCAATTTA
315. TTCAAAGTATGCCAATTTAA

10

20

30

40

50

316. AGTCAACACACCAATATTAAA
317. AGCTCCTGTTTGAAGTAAATT
318. GCTCCTGTTTGAAGTAAATTT
319. GCCTTCCAAGGTTTCTATTAA
320. TGTGGGTCTCTTTGCGATTTAT
321. TATGGTTCTGTAGAGATATTT
322. TGTCTCAATTTCCCTATATA
323. GTTCTCAATTTCCCTATATAA
324. AGGTTGGAACATTTCAAATAA
325. TTACATGGGCTGTTCTATAAA
326. TACATGGGCTGTTCTATAAAT
327. TGTACTTAAGGTGGTTAATA
328. GTTACTTAAGGTGGTTAATAA
329. GTTGCTCAAGTCTTCTATATT
330. CAACATGCAGGTTTGTATAT
331. ACATGCAGGTTTGTATATAT
332. ACGTGTGCATGFGTCTTTATA
333. CTTTATAGCAGCATGATTTAT
334. TGTGTCTTTGGCTGCATAAAT
335. CTTTGTAGATTCTGGATATTA
336. GCAGAAGCTCTTTAGTTTAAAT
337. TTTCCCAGCACCATTATTAA
338. TTCCCAGCACCATTATTAAA
339. TCCCAGCACCATTATTAAAT
340. CCCAGCACCATTATTAAATA
341. GTTGTAGATGTGTGGTATTAT
342. TTGTAGATGTGTGGTATTATT
343. TGTAGATGTGTGGTATTATTT
344. GTTCTGTTCCATTGGTTTATA
345. TTCTGTTCCATTGGTTTATAT
346. GGATGGCATTGAACTATAAA
347. GATGGCATTGAACTATAAAT
348. CCTAATTGAATACCCTTTATT
349. GGCTGTGGGTTTGTATATAAT
350. GCTGTGGGTTTGTATATAAT
351. TGTCCCATCAATACCTAATTT
352. GTCCCATCAATACCTAATTTA
353. TCCCATCAATACCTAATTTAT
354. CCCATCAATACCTAATTTATT
355. TTGTCTTTGGTTCTGTTTATA
356. TGTCTTTGGTTCTGTTTATAT
357. AGCATGCTTTGCTGGTATTAA
358. GCATGCTTTGCTGGTATTAAAT
359. CATGCTTTGCTGGTATTAAATA
360. ATGCTTTGCTGGTATTAAATAT
361. TGCTTTGCTGGTATTAAATATA
362. GAGAGTTAGAACCCTCAATATA
363. AGAGTTAGAACCCTCAATATAT
364. CCACCACGCCTGGCTTTATAA
365. CACCACGCCTGGCTTTATAAT
366. ACCACGCCTGGCTTTATAAAT
367. CCACGCCTGGCTTTATAAATTT
368. GTCTAGCTCCAAGTGATATAT
369. TTTGCTTCTGTCTGAAATATA

10

20

30

40

50

370. TTGCTTCTGTCTGAAATATAT
371. TCTTAAGTCTGTGAGTTTATA
372. TCTCTGATTGCCACCTATATT
373. CTCTGATTGCCACCTATATTA
374. GTATATACTCCAGAGAAATAA
375. CACCAGAACTTGAACATTAAT
376. ACCAGAACTTGAACATTAATT
377. CCAGAACTTGAACATTAATTT
378. GTCTGGAACCTCTGGAATTAA
379. CTTTCTGTGCCTGGCTTATTT
380. CAGGATTTACCTTCCTTTAAA
381. TCTGTTGATGGGCACTTAAAT
382. CTGTTGATGGGCACTTAAATT
383. TCATAGCGGCTGTACTAATTT
384. CATAGCGGCTGTACTAATTTA
385. TTTACCCATTTCCAGATATAT
386. GTGTAAATAAGGGTCTAATTT
387. TGGTTATGTCATCAGTAATTA
388. CCTTGCATCCTAAGGATAAAT
389. GTGAATCCAGTTTGCTAATAT
390. TGAATCCAGTTTGCTAATATA
391. GAATCCAGTTTGCTAATATAT
392. CCATGTTTCATCAGGGATATTA
393. GTGTCTTTCTCTGGCTTTAAT
394. TGTCTTTCTCTGGCTTTAATA
395. GTCTTTCTCTGGCTTTAATAA
396. TTGTGATCCTTCTTCTTTATT
397. GTAGGTTTGTATCGCTATAAAA
398. TAGGTTTGTATCGCTATAAAAT
399. AGGTTTGTATCGCTATAAAAT
400. GGTTTGTATCGCTATAAAATTT
401. TCATTTGTCTCAAGGTAATTT
402. TTTGGGAGCATATTGTTTAAT
403. TTGGGAGCATATTGTTTAATTT
404. TGGGAGCATATTGTTTAATTTT
405. TGGATGGAATGTTTCATATAT
406. AGTATTGAGGTCCCGTATTAT
407. GTATTGAGGTCCCGTATTATA
408. CTCCCTCTTCACATCATTTAA
409. TCCCTCTTCACATCATTTAAA
410. TATGTCTTCTTGGTGAATTA
411. ATGTCTTCTTGGTGAATTAAT
412. CTGCTCTCAATTTCCATTTAT
413. TGCTCTCAATTTCCATTTATA
414. GCTCTCAATTTCCATTTATAT
415. TCCTTCAGCACTTTGAATATA
416. TCAGCTATTACTTCCTTAAAT
417. CAGCTATTACTTCCTTAAATA
418. TCCTTAAGGACCTCCTATTAT
419. GCTTGACCTCTAAACATATAA
420. CTTGACCTCTAAACATATAAA
421. ACCAATACCTTGTGTAATAAA
422. TTGACACTGGCTCTCTTTATA
423. TGACACTGGCTCTCTTTATAA

10

20

30

40

50

424. CAGAAGATGTGTTTGATAATA
425. GTTTGACGTGAAGAGTTTAAA
426. CTCTGAGCTTCAGTGAATTAT
427. AGGGTTGAATGCTGGATTAA
428. GGGTTGAATGCTGGATTAAA
429. GGTTGAATGCTGGATTAAAT
430. GTTGAATGCTGGATTAAATA
431. AGTGAAAGCAAAGAGAATAAA
432. CATGATGTTCCAAACTTTAAA
433. AGGTGGCCAAGGGCCTTAATA
434. GCCCAGCTGGCTCTGTAATAA
435. CCCAGCTGGCTCTGTAATAAA
436. CCAGCTGGCTCTGTAATAAAT
437. TGGTGTTCATCGGGCCATATTT
438. TAACTAGGTCAACAGAAATAT
439. GCAAAGTTAATCCTCATATAA
440. GCAGCATCTGTTCTGATTAAA
441. CAGCATCTGTTCTGATTAAAT
442. AGCATCTGTTCTGATTAAATA
443. GCATCTGTTCTGATTAAATAT
444. CTGCACAACTGACCCTTTATT
445. TGCACAACTGACCCTTTATTA
446. TGATGGCTTTCCTACTATTTA
447. GATGGCTTTCCTACTATTTAA
448. AGCTCAGCCATCTGGTTTAAA
449. CTGACTGCCCTTAGACTAATAT
450. TGACTGCCCTTAGACTAATATA
451. CAGCATTTGACAAAGAAATAA
452. AGGATATGGATGATGTATATA
453. GTCGACCCCTAAGAAGATAATA
454. AGAAACCTGAACAAGTAATAA
455. GAAACCTGAACAAGTAATAAT
456. AGTCACACAACAGACTAAATTT
457. GTCACACAACAGACTAAATTT
458. AGCGAGAGTGTCTTCATTTAT
459. GCGAGAGTGTCTTCATTTATA
460. CGAGAGTGTCTTCATTTATAT
461. ATCCTCTATCTCTGTTAATAA
462. AGCAAGTGCTATTCCATATTT
463. CTGGAGTCCATGGAGAAATAT
464. CCTCCAAGGACATACTTTATA
465. CTCCAAGGACATACTTTATAA
466. TCCAAGGACATACTTTATAAT
467. CCAAGGACATACTTTATAATA
468. GTGAGGGCAATGGTGAATATA
469. TGAGGGCAATGGTGAATATAA
470. CGAAAGGCAAGCTTCTTAAAT
471. GAAAGGCAAGCTTCTTAAATA
472. GGCAAGCAAGGCAGGATTTAA
473. ACAGGAACCTGGCTCTAATTT
474. GGGACCTCCTGACATTTAATT
475. GGACCTCCTGACATTTAATTA
476. GACCTCCTGACATTTAATTAA
477. GTGGGAGCTTGTACATATAT

10

20

30

40

50

478. CTAAGTCTTCTCATCTATATA
479. TTAGGTGGTCATGAGATAAAAT
480. TAGGTGGTCATGAGATAAATA
481. AGGTGGTCATGAGATAAAATAT
482. GGTGGTCATGAGATAAAATATA
483. GTGGTCATGAGATAAAATATAT
484. CACAAAGCACATGGCTAAATA
485. ACAAAGCACATGGCTAAATAA
486. CGGTTATCTAGAAGCTATTTA
487. GGTATGTAGAAGCTATTTAA
488. AGCCACCCTTAATTGAATAAT
489. ACTACCCTTTACTGGTAATTT

10

SEQ ID NO: 490

ステムループ 人工/合成配列

CTCGAG

SEQ ID NO: 491

ステムループ 人工/合成配列

TCAAGAG

SEQ ID NO: 492

ステムループ 人工/合成配列

TTCG

20

SEQ ID NO: 493

ステムループ 人工/合成配列

GAAGCTTG

SEQ ID NO: 494

shRNA 人工/合成配列

5' -ATATCACCTTACAGAAATTACTCGAGTAATTTCTGTAAGGTGATAT -3'

SEQ ID NO: 495

shRNA 人工/合成配列

5' -TATCACCTTACAGAAATTACTCGAGTAATTTCTGTAAGGTGATA -3'

30

SEQ ID NO: 496

shRNA 人工/合成配列

5' -ATCACCTTACAGAAATTACTCGAGTAATTTCTGTAAGGTGAT -3'

SEQ ID NO: 497

shRNA 人工/合成配列

5' -TCACCTTACAGAAATTACTCGAGTAATTTCTGTAAGGTGA -3'

SEQ ID NO: 498

shRNA 人工/合成配列

5' -GATATCACCTTACAGAAATTCTCGAGTAATTTCTGTAAGGTGATATC -3'

40

SEQ ID NO: 499

shRNA 人工/合成配列

5' -GATATCACCTTACAGAAATCTCGAGATTTCTGTAAGGTGATATC -3'

SEQ ID NO: 500

shRNA 人工/合成配列

5' -GATATCACCTTACAGAACTCGAGTTCTGTAAGGTGATATC -3'

SEQ ID NO: 501

shRNA 人工/合成配列

5' -GATATCACCTTACAGACTCGAGTCTGTAAGGTGATATC -3'

10

SEQ ID NO: 502

shRNA 人工/合成配列

5' - TGCTCTTCTTTCTACTTTATTCTCGAGAATAAAGTAGAAAGAAGAGCA -3'

SEQ ID NO: 503

shRNA 人工/合成配列

5' - CTCAATCCAATAACCTAATTCTCGAGAAATTAGGTATTGGATTGAG -3'

SEQ ID NO: 504

shRNA 人工/合成配列

5' - TTAGTCACATCCCACAAATTCTCGAGAAATTGTGGGATGTGACTAA -3'

20

SEQ ID NO: 505

shRNA 人工/合成配列

5' - TCCTAGGTCATAATGATAATTCTCGAGAAATTATCATTATGACCTAGGA -3'

SEQ ID NO: 506

shRNA 人工/合成配列

5' -GATATCACCTTACAGAAATTAnnnnnnnnnFAATTTCTGTAAGGTGATATC -3' ,

配列中、nnnnnnnn は、CTCGAG (SEQ ID NO: 490), TCAAGAG (SEQ ID NO: 491), TTCG (SEQ ID NO: 492) または GAAGCTTG (SEQ ID NO: 493)であり得る。

30

40

50

【図面】
【図 1】

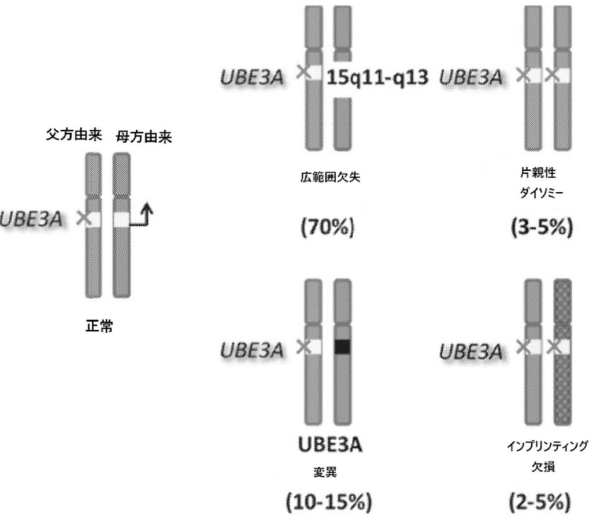


FIG. 1

【図 2】

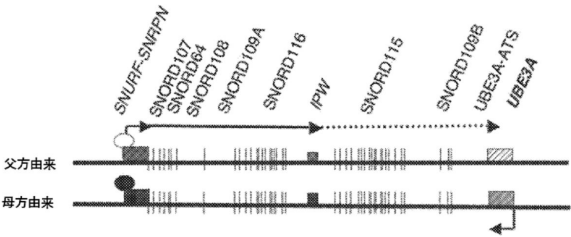


FIG. 2

【図 3】

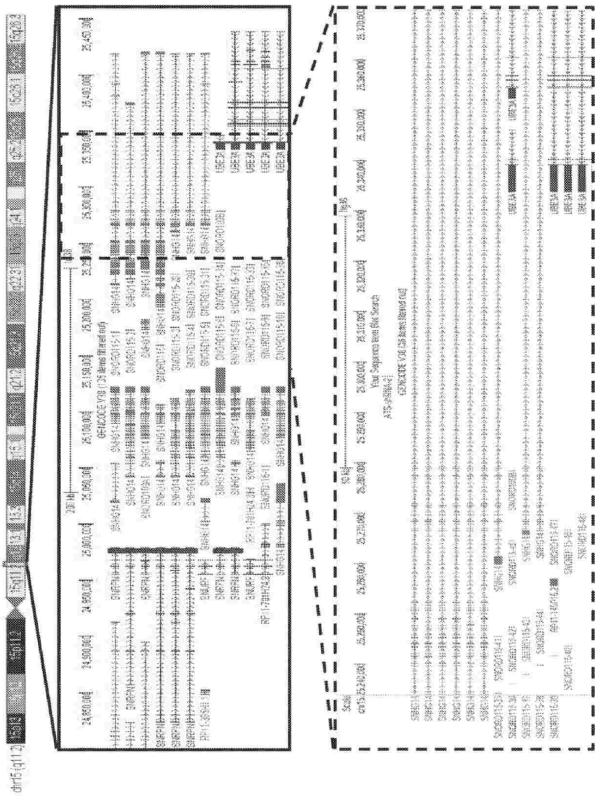


FIG. 3

【図 4】

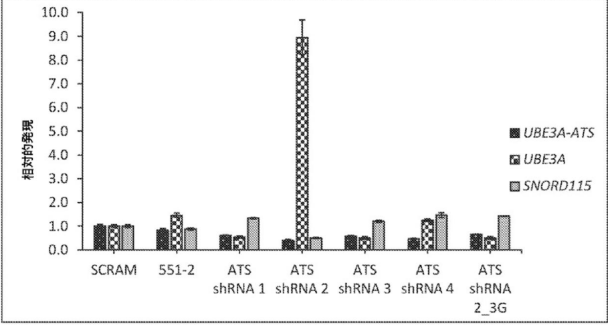


FIG. 4

10

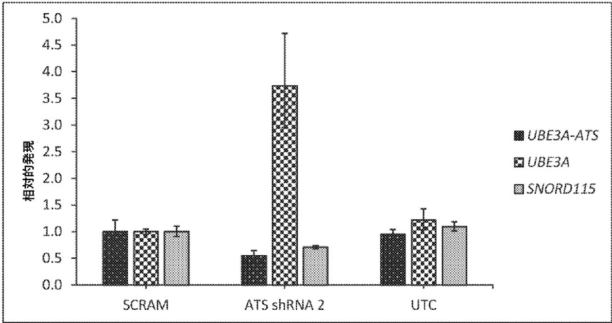
20

30

40

50

【図 5】



10

FIG. 5

【配列表】

2025512709000001.xml

20

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2023/014679

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC(8) - INV. - C12N 15/113 (2023.01)

ADD. - A61K 31/713; C07H 21/02; C12N 15/11 (2023.01)

CPC - INV. - C12N 15/113; C07H 21/02; A61K 31/713 (2023.05)

ADD. - C12N 2310/14 (2023.05)

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
See Search History document

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
See Search History document

Electronic database consulted during the international search (name of database and, where practicable, search terms used)
See Search History document

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2021/222109 A1 (BIOGEN MA INC.) 04 November 2021 (04.11.2021) entire document	1, 2, 7-15, 23-32
A	US 2014/0130204 A1 (BOUKHAROV . et al.) 08 May 2014 (08.05.2014) entire document	1, 2, 7-15, 23-32
A	US 2018/0258424 A1 (CODA BIOTHERAPEUTICS INC.) 13 September 2018 (13.09.2018) entire document	1, 2, 7-15, 23-32

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"D" document cited by the applicant in the international application
earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

31 July 2023

Date of mailing of the international search report

AUG 22 2023

Name and mailing address of the ISA/

Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents
P.O. Box 1450, Alexandria, VA 22313-1450
Facsimile No. 571-273-8300

Authorized officer

Taina Matos

Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2022)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2023/014679

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
- a. ☐ forming part of the international application as filed.
- b. ☒ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13ter.1(a)),
☒ accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.
2. ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.
3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2023/014679

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:
See extra sheet(s).

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
1, 2, 7-15, 23-32

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2023/014679

Continued from Box No. III Observations where unity of invention is lacking

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be examined, the appropriate additional examination fees need to be paid.

Group I+: claims 1-54 are drawn to shRNAs and methods of using the same.

The first invention of Group I+ is restricted to a polynucleotide sequence selected to be SEQ ID NO:2, and methods comprising the same. It is believed that claims 1, 2, 7-15, and 23-32 read on this first named invention and thus these claims will be searched without fee to the extent that they read on SEQ ID NO:2.

Applicant is invited to elect additional polynucleotides and their respective, corresponding, SEQ ID NOs to be searched in a specific combination by paying additional fee for each set of election. An exemplary election would be a polynucleotide sequence selected to be SEQ ID NO:494, and methods comprising the same. Additional polynucleotides and their respective, corresponding, SEQ ID NOs will be searched upon the payment of additional fees. Applicants must specify the claims that read on any additional elected inventions. Applicants must further indicate, if applicable, the claims which read on the first named invention if different than what was indicated above for this group. Failure to clearly identify how any paid additional invention fees are to be applied to the "+" group(s) will result in only the first claimed invention to be searched/examined.

The inventions listed in Groups I+ do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1, because under PCT Rule 13.2 they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons:

The Groups I+ formulas do not share a significant structural element responsible for modulating UBE3A, requiring the selection of alternative shRNAs where "A polynucleotide encoding a shRNA comprising a nucleotide sequence that is at least 85%, at least 90%, at least 95%, or 100% complementary to a RNA encoded by any of SEQ ID NOs: 3-489."

Additionally, even if Groups I+ were considered to share the technical features of a polynucleotide encoding a shRNA comprising a nucleotide sequence; an expression vector; a method of inhibiting the silencing of a paternal UBE3A gene by an RNA antisense transcript; a polynucleotide sequence comprising a first portion, a second portion and a third portion. However, these shared technical features do not represent a contribution over the prior art.

Specifically, US 2018/0258424 A1 to Coda Biotherapeutics Inc. discloses a polynucleotide sequence (present provides polynucleotides, Para. [0012]); an expression vector (vector, Para. [0012]); a polynucleotide encoding a shRNA comprising a nucleotide sequence (the inhibitory RNA is a miRNA or a mishRNA, Para. [0087]); a method of inhibiting the silencing of a paternal UBE3A gene by an RNA antisense transcript (the invention, a method for treating, controlling, managing or preventing one or more symptoms or other effects in a subject of a disease or condition set forth in Table 3 below comprises administering to the subject an effective amount of a composition, polynucleotide, or vector contemplated herein, Para. [0445]; UBE3A, Para. [0446]; Table 3; short polynucleotide sequence that mediates a process of sequence-specific post-transcriptional gene silencing, translational inhibition, Para. [0248]); a polynucleotide sequence comprising a first portion, a second portion and a third portion (a first expression cassette that comprises at least one regulatory element for inducible expression and at least one regulatory element for transient expression and a polynucleotide encoding a CRISPR-Cas endonuclease; a second expression cassette that comprises one or more RNA polymerase III promoters each operably linked to a polynucleotide encoding one or more guide RNAs; and a third expression cassette, Para. [0020]).

The inventions listed in Groups I+ therefore lack unity under Rule 13 because they do not share a same or corresponding special technical features.

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

テーマコード (参考)

A 6 1 K 48/00 (2006.01)**A 6 1 K 48/00****A 6 1 P 25/00 (2006.01)****A 6 1 P 25/00**

,MC,ME,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CV,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IQ,IR,IS,IT,JM,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

(特許庁注：以下のものは登録商標)

1. T W E E N

(74)代理人 100106518

弁理士 松谷 道子

(74)代理人 100138911

弁理士 櫻井 陽子

(72)発明者 チェンバレン，ストーミー

アメリカ合衆国 0 6 4 7 8 コネチカット州オックスフォード、ペリー・レイン 1 8

(72)発明者 ジャーメイン，ノエル

アメリカ合衆国 0 6 7 9 5 コネチカット州ウォータータウン、ベイビュー・サークル 2 3 2

(72)発明者 ペリノ，ピーター

アメリカ合衆国 0 6 0 3 3 コネチカット州グラストンベリー、フラナガン・ドライブ 2 1 1 4

F ターム (参考) 4C084 AA13 MA70 NA13 NA14 ZA02

4C086 AA01 AA02 MA01 MA04 MA70 NA13 NA14 ZA02

4C087 AA01 AA02 BC83 CA12 MA70 NA13 NA14 ZA02