



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2022년02월21일

(11) 등록번호 10-2366078

(24) 등록일자 2022년02월17일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.) <i>C12N 15/113</i> (2010.01) <i>A61K 31/7088</i> (2006.01) <i>A61K 47/48</i> (2006.01) (52) CPC특허분류 <i>C12N 15/1137</i> (2013.01) <i>A61K 31/7088</i> (2013.01) (21) 출원번호 10-2016-7032651 (22) 출원일자(국제) 2015년05월01일 심사청구일자 2020년04월29일 (85) 번역문제출일자 2016년11월23일 (65) 공개번호 10-2016-0147891 (43) 공개일자 2016년12월23일 (86) 국제출원번호 PCT/US2015/028765 (87) 국제공개번호 WO 2015/168532 국제공개일자 2015년11월05일 (30) 우선권주장 61/987,478 2014년05월01일 미국(US) (뒷면에 계속) (56) 선행기술조사문헌 W02013003808 A1 W02013033230 A1 EP02751270 A1	(73) 특허권자 아이오니스 파마수티컬즈, 인코포레이티드 미합중국 캘리포니아주 92010 칼스바드 2855 가젤 코트 (72) 발명자 프라카쉬, 타즈하 피. 미국 92010 캘리포니아주 칼즈배드 가젤 코트 2855 세쓰, 페넛 피. 미국 92010 캘리포니아주 칼즈배드 가젤 코트 2855 (뒷면에 계속) (74) 대리인 양영준, 오관균, 김영, 여호섭, 정혜인

전체 청구항 수 : 총 32 항

심사관 : 문동현

(54) 발명의 명칭 **PKK 발현을 조절하는 조성물 및 방법**

(57) 요약

PKK mRNA 및 단백질 발현을 감소시키기 위한 안티센스 화합물 및 방법이 본원에 개시된다. 상기 방법, 화합물, 및 조성물은 PKK 연관된 질환, 장애, 및 병태를 치료, 예방 또는 개선하는데 유용하다.

(52) CPC특허분류

A61K 47/555 (2017.08)
C12N 2310/11 (2013.01)
C12N 2310/315 (2013.01)
C12N 2310/321 (2013.01)
C12N 2310/3341 (2013.01)
C12N 2310/341 (2013.01)
C12N 2310/346 (2013.01)
C12N 2310/351 (2013.01)
C12N 2310/3525 (2013.01)

(72) 발명자

스웨이즈, 에릭 이.

미국 92010 캘리포니아주 칼즈배드 가젤 코트 2855

프레이어, 수잔 엠.

미국 92010 캘리포니아주 칼즈배드 가젤 코트 2855

부이, 후인-호아

미국 92010 캘리포니아주 칼즈배드 가젤 코트 2855

(30) 우선권주장

62/058,629 2014년10월01일 미국(US)

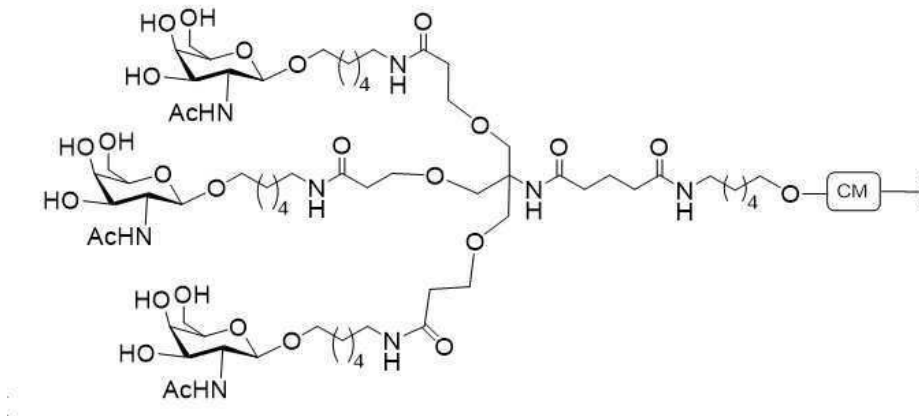
62/088,459 2014년12월05일 미국(US)

명세서

청구범위

청구항 1

하기 화학식: GalNAc3-7_{a-o}, Tes Ges mCeo Aeo Aes Gds Tds mCds Tds mCds Tds Tds Gds Gds mCds Aeo Aeo Aes mCes Ae (서열번호: 570)에 따른 변형된 올리고뉴클레오타이드 및 콘주게이트 기를 포함하는 화합물로, 여기서, A는 아데닌 핵염기이고, mC는 5-메틸시토신 핵염기이며, G는 구아닌 핵염기이고, T는 티민 핵염기이며, e는 2'-O(CH₂)₂OCH₃ 푸라노실 당 모이어티이고, d는 2'-데옥시푸라노실 당 모이어티이며, o는 포스포디에스테르 뉴클레오시드간 연결이고, s는 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결이며, GalNAc3-7_{a-o}는 하기 화학 구조:



이고, 여기서, 절단가능 모이어티(CM)는 5'-P(OH)(=O)-O-3'인, 화합물.

청구항 2

제1항에 있어서, 콘주게이트 기가 변형된 올리고뉴클레오타이드의 5' 말단 뉴클레오시드의 5'-하이드록실 그룹의 5'-산소 원자에서 부착되는 것인 화합물.

청구항 3

제1항에 있어서, 변형된 올리고뉴클레오타이드 및 콘주게이트 기로 이루어진 화합물.

청구항 4

제2항에 있어서, 변형된 올리고뉴클레오타이드 및 콘주게이트 기로 이루어진 화합물.

청구항 5

제1항에 있어서, 변형된 올리고뉴클레오타이드가 나트륨 염인 화합물.

청구항 6

제2항에 있어서, 변형된 올리고뉴클레오타이드가 나트륨 염인 화합물.

청구항 7

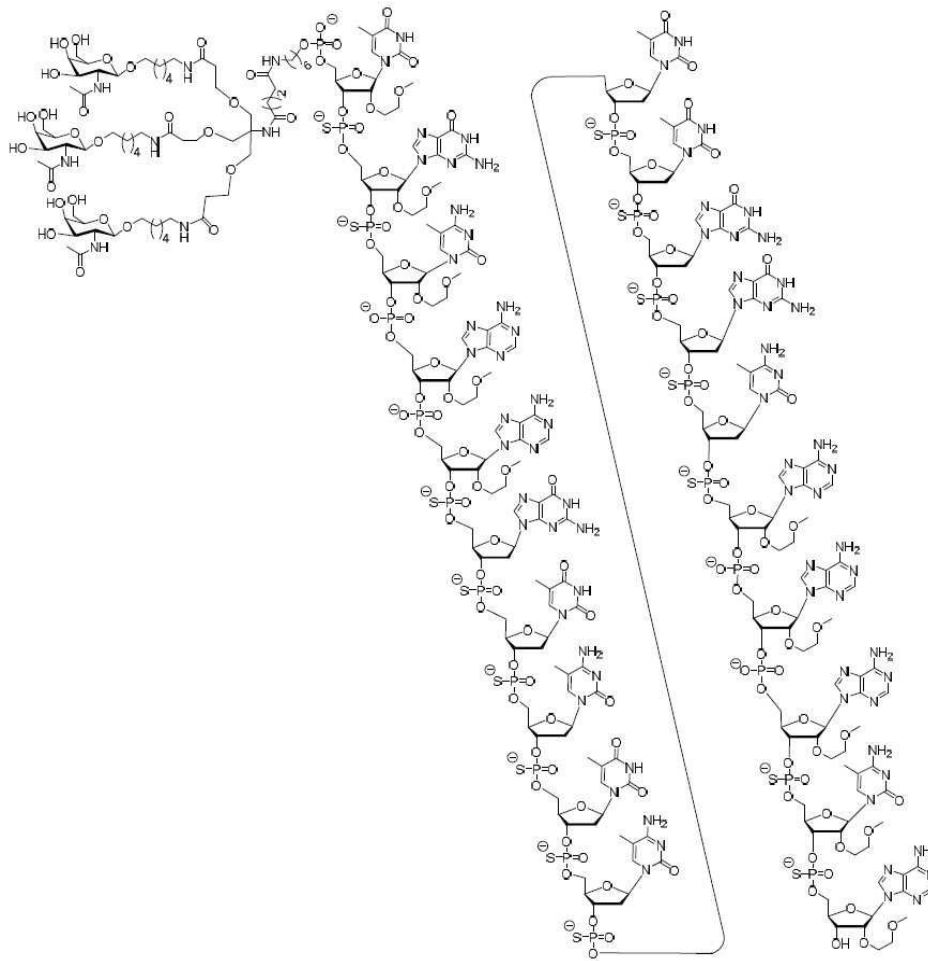
제3항에 있어서, 변형된 올리고뉴클레오타이드가 나트륨 염인 화합물.

청구항 8

제4항에 있어서, 변형된 올리고뉴클레오타이드가 나트륨 염인 화합물.

청구항 9

화합물의 음이온 형태가 하기 화학 구조를 갖는 것인 화합물.



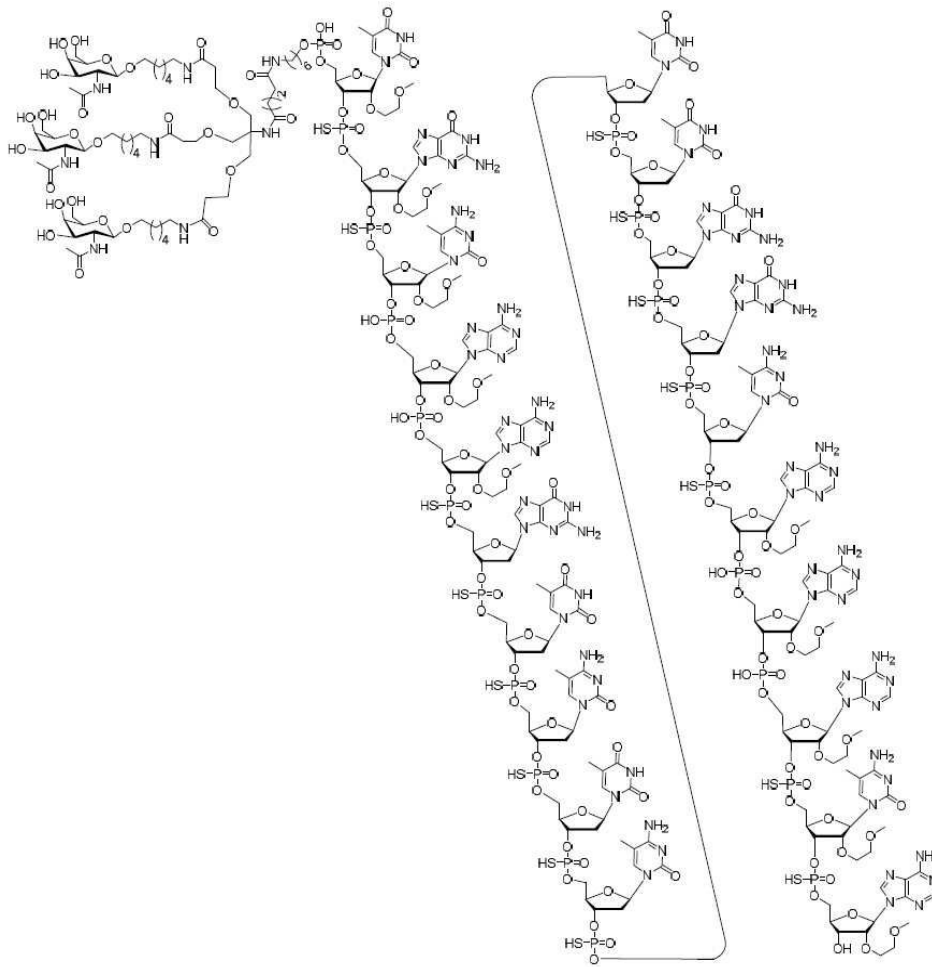
(서열번호: 570)

청구항 10

제9항에 있어서, 화합물이 염이고, 상기 염의 양이온이 나트륨인 화합물.

청구항 11

하기 화학 구조에 따른 화합물 또는 그의 염.



(서열번호: 570)

청구항 12

제11항에 있어서, 나트륨 염 또는 칼륨 염인 화합물.

청구항 13

부종, 종창, 혈전증, 색전증, 혈전색전증, 및 경색으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 PKK와 연관된 질환, 장애 또는 병태를 예방, 치료 또는 개선하는데 사용하기 위한 제1항 내지 제12항 중 어느 한 항의 화합물을 포함하는 약제학적 조성물.

청구항 14

제13항에 있어서, PKK와 연관된 질환, 장애 또는 병태가 부종인 약제학적 조성물.

청구항 15

제14항에 있어서, 부종이 황반 부종인 약제학적 조성물.

청구항 16

제14항에 있어서, 부종이 눈의 부종인 약제학적 조성물.

청구항 17

제14항에 있어서, 부종이 뇌 부종인 약제학적 조성물.

청구항 18

제14항에 있어서, 부종이 혈관부종인 약제학적 조성물.

청구항 19

제18항에 있어서, 혈관부종이 유전성 혈관부종(HAE)인 약제학적 조성물.

청구항 20

제18항에 있어서, 혈관부종이 눈꺼풀의 혈관부종인 약제학적 조성물.

청구항 21

제13항에 있어서, PKK와 연관된 질환, 장애 또는 병태가 종창인 약제학적 조성물.

청구항 22

제13항에 있어서, PKK와 연관된 질환, 장애 또는 병태가 혈전증인 약제학적 조성물.

청구항 23

제22항에 있어서, 혈전증이 심부정맥혈전증인 약제학적 조성물.

청구항 24

제13항에 있어서, PKK와 연관된 질환, 장애 또는 병태가 색전증인 약제학적 조성물.

청구항 25

제24항에 있어서, 색전증이 폐색전증인 약제학적 조성물.

청구항 26

제13항에 있어서, PKK와 연관된 질환, 장애 또는 병태가 혈전색전증인 약제학적 조성물.

청구항 27

제13항에 있어서, PKK와 연관된 질환, 장애 또는 병태가 경색인 약제학적 조성물.

청구항 28

제27항에 있어서, 경색이 심근경색증 또는 뇌졸중인 약제학적 조성물.

청구항 29

염증성 질환, 장애 또는 병태를 예방, 치료 또는 개선하는데 사용하기 위한 제1항 내지 제12항 중 어느 한 항의 화합물을 포함하는 약제학적 조성물.

청구항 30

제13항에 있어서, 약제학적으로 허용가능한 담체 또는 희석제 중 적어도 하나를 포함하는 약제학적 조성물.

청구항 31

제30항에 있어서, 약제학적으로 허용가능한 희석제가 인산염 완충 식염수(PBS)인 약제학적 조성물.

청구항 32

제31항에 있어서, 본질적으로 상기 화합물 및 PBS로 이루어진 약제학적 조성물.

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

청구항 45

삭제

청구항 46

삭제

청구항 47

삭제

청구항 48

삭제

청구항 49

삭제

청구항 50

삭제

청구항 51

삭제

청구항 52

삭제

청구항 53

삭제

청구항 54

삭제

청구항 55

삭제

청구항 56

삭제

청구항 57

삭제

청구항 58

삭제

청구항 59

삭제

청구항 60

삭제

청구항 61

삭제

청구항 62

삭제

청구항 63

삭제

청구항 64

삭제

청구항 65

삭제

청구항 66

삭제

청구항 67

삭제

청구항 68

삭제

청구항 69

삭제

청구항 70

삭제

청구항 71

삭제

청구항 72

삭제

청구항 73

삭제

청구항 74

삭제

청구항 75

삭제

청구항 76

삭제

청구항 77

삭제

청구항 78

삭제

청구항 79

삭제

청구항 80

삭제

청구항 81

삭제

청구항 82

삭제

청구항 83

삭제

청구항 84

삭제

청구항 85

삭제

청구항 86

삭제

청구항 87

삭제

청구항 88

삭제

청구항 89

삭제

청구항 90

삭제

청구항 91

삭제

청구항 92

삭제

청구항 93

삭제

청구항 94

삭제

청구항 95

삭제

청구항 96

삭제

청구항 97

삭제

청구항 98

삭제

청구항 99

삭제

청구항 100

삭제

청구항 101

삭제

청구항 102

삭제

청구항 103

삭제

청구항 104

삭제

청구항 105

삭제

청구항 106

삭제

청구항 107

삭제

청구항 108

삭제

청구항 109

삭제

청구항 110

삭제

청구항 111

삭제

청구항 112

삭제

청구항 113

삭제

청구항 114

삭제

청구항 115

삭제

청구항 116

삭제

청구항 117

삭제

청구항 118

삭제

청구항 119

삭제

청구항 120

삭제

청구항 121

삭제

청구항 122

삭제

청구항 123

삭제

청구항 124

삭제

청구항 125

삭제

청구항 126

삭제

청구항 127

삭제

청구항 128

삭제

청구항 129

삭제

청구항 130

삭제

청구항 131

삭제

청구항 132

삭제

청구항 133

삭제

청구항 134

삭제

청구항 135

삭제

청구항 136

삭제

청구항 137

삭제

청구항 138

삭제

청구항 139

삭제

청구항 140

삭제

청구항 141

삭제

청구항 142

삭제

청구항 143

삭제

청구항 144

삭제

청구항 145

삭제

청구항 146

삭제

청구항 147

삭제

청구항 148

삭제

청구항 149

삭제

청구항 150

삭제

청구항 151

삭제

청구항 152

삭제

청구항 153

삭제

청구항 154

삭제

청구항 155

삭제

청구항 156

삭제

청구항 157

삭제

청구항 158

삭제

청구항 159

삭제

청구항 160

삭제

청구항 161

삭제

청구항 162

삭제

청구항 163

삭제

청구항 164

삭제

청구항 165

삭제

청구항 166

삭제

청구항 167

삭제

청구항 168

삭제

청구항 169

삭제

청구항 170

삭제

청구항 171

삭제

청구항 172

삭제

청구항 173

삭제

청구항 174

삭제

청구항 175

삭제

청구항 176

삭제

청구항 177

삭제

청구항 178

삭제

청구항 179

삭제

청구항 180

삭제

청구항 181

삭제

청구항 182

삭제

청구항 183

삭제

청구항 184

삭제

청구항 185

삭제

청구항 186

삭제

청구항 187

삭제

청구항 188

삭제

청구항 189

삭제

청구항 190

삭제

청구항 191

삭제

청구항 192

삭제

청구항 193

삭제

청구항 194

삭제

청구항 195

삭제

청구항 196

삭제

청구항 197

삭제

청구항 198

삭제

청구항 199

삭제

청구항 200

삭제

청구항 201

삭제

청구항 202

삭제

청구항 203

삭제

청구항 204

삭제

청구항 205

삭제

청구항 206

삭제

청구항 207

삭제

청구항 208

삭제

청구항 209

삭제

청구항 210

삭제

청구항 211

삭제

청구항 212

삭제

청구항 213

삭제

청구항 214

삭제

청구항 215

삭제

청구항 216

삭제

청구항 217

삭제

청구항 218

삭제

청구항 219

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 서열 목록

[0002] 서열 목록 본원은 전자 형태의 서열목록과 함께 출원되었다. 서열목록은 그 크기가 636 KB인 파일명 BIOL0252W0SEQ_ST25.txt (2015년 4월 27일 월요일에 만들어짐)로서 제공되어 있다. 서열목록의 전자 형태의 정보는 본원에 그 전체가 참고로 편입되어 있다.

[0003] 분야

[0004] 동물에서 인간 혈장 프리칼리크레인 (PKK) mRNA 및 단백질의 발현을 억제하기 위한 화합물, 조성물, 및 방법이 본원에서 제공된다. 본 발명에서는 염증성 및 혈전색전성 병태를 치료, 예방 또는 개선하는데 유용한, 그러한 조성물 및 방법이 제공된다.

배경 기술

[0005] 혈장 프리칼리크레인 (PKK)은, KLKB1 유전자로부터 암호화된 혈장 칼리크레인 (PK)의 전구체이다. PKK는 혈액 응고, 섬유소용해, 키닌 생성, 및 염증의 표면-의존성 활성화에 참여하는 당단백질이다. PKK는 내부 Arg-Ile 펩티드 결합의 절단에 의한 인자 XIIa에 의하여 PK로 전환된다. PK는 키닌노겐으로부터 키닌을 방출시키고, 또한 플라스미노겐으로부터 플라스민을 생성한다. PK는 키닌-칼리크레인 경로의 구성원이며, 이는 염증, 혈압 제어, 응고 및 고통에서 역할을 하는 몇몇의 단백질로 구성되어 있다.

[0006] 요약

[0007] PKK mRNA 및 단백질의 발현을 조절하기 위한 화합물, 조성물 및 방법이 본원에서 제공된다. 특정 구현예에서,

PKK mRNA 및 단백질의 발현을 조절하기 위한 화합물은 안티센스 화합물이다. 특정 구현예에서, 안티센스 화합물은 안티센스 올리고뉴클레오타이드이다.

[0008] 특정 구현예에서, 조절은 세포 또는 조직에서 발생할 수 있다. 특정 구현예에서, 상기 세포 또는 조직은 동물 내의 것이다. 특정 구현예에서, 동물은 인간이다. 특정 구현예에서, PKK mRNA 수준은 감소된다. 특정 구현예에서, PKK 단백질 수준은 감소된다. 그러한 감소는 시간-의존적 방식 또는 용량-의존적 방식으로 발생할 수 있다.

[0009] 본 발명에서는 PKK와 연관된 질환, 장애, 및 병태를 예방, 치료, 및 지연하는데 유용한 화합물, 조성물, 및 방법이 제공된다. 특정 구현예에서, 그러한 PKK 연관된 질환, 장애, 및 병태는 염증성 질환이다. 특정 구현예에서, 상기 염증성 질환은 급성 또는 만성 염증성 질환일 수 있다. 특정 구현예에서, 그러한 염증성 질환은 유전성 혈관부종(HAE), 부종, 혈관부종, 종창, 눈꺼풀의 혈관부종, 눈의 부종, 황반 부종, 및 뇌 부종을 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 그러한 PKK 연관된 질환, 장애, 및 병태는 혈전색전성 질환이다. 특정 구현예에서, 그러한 혈전색전성 질환은 혈전증, 색전증, 혈전색전증, 심부정맥혈전증, 폐색전증, 심근경색증, 뇌졸중, 및 경색을 포함할 수 있다.

[0010] 그러한 질환, 장애, 및 병태는 하나 이상의 위험인자, 원인 또는 결과를 공통적으로 가질 수 있다.

[0011] 염증성 질환의 발병에 대한 특정 위험 인자 및 원인은 염증성 질환에 대한 유전적 소인 및 환경적 인자를 포함한다. 특정 구현예에서, 대상체는 변이된 보체 1 에스테라아제 억제제 (C1-INH) 유전자 또는 변이된 인자 12 유전자를 갖는다. 특정 구현예에서, 대상체는 안지오텐신-전환 효소 억제제 (ACE 억제제) 또는 안지오텐신 II 수용체 차단제 (ARB)를 투여받았거나 투여 중이다. 특정 구현예에서, 대상체는 혈관부종을 야기하는 알레르기 반응을 보인 것이 있다. 특정 구현예에서, 대상체는 유형 I HAE를 갖는다. 특정 구현예에서, 대상체는 유형 II HAE를 갖는다. 특정 구현예에서, 대상체는 유형 III HAE를 갖는다.

[0012] 염증성 질환의 발병과 연관된 특정 결과는 하기를 포함한다: 사지 (즉, 손, 발, 다리), 장 (복부), 안면부, 생식기, 후두 (즉, 성낭)을 포함하는 다양한 신체 부위에서의 부종/종창; 혈관투과성; 혈관 유출, 일반화된 염증; 복부 통증; 팽만; 구토; 설사; 피부 가려움증; 호흡기 (천식성) 반응; 비염; 아나필락시스; 기관지수축; 저혈압; 코마; 및 사망.

[0013] 혈전색전성 질환의 발병에 대한 특정 위험 인자 및 원인은 혈전색전성 질환, 부동성, 수술 (특히 정형외과적 수술), 악성종양, 임신, 노령, 구강 피임제의 사용, 심방 세동, 과거 혈전색전성 병태, 만성 염증성 질환 및 유전성 또는 후천성 예비혈전성 응고 장애에 대한 유전적 소인을 포함한다. 혈전색전성 병태의 발병과 연관된 특정 결과는 환부 혈관을 통한 감소된 혈류, 조직 괴사 및 사망을 포함한다.

[0014] 특정 구현예에서, 치료 방법은 PKK 안티센스 화합물을 이를 필요로 하는 개체에게 투여하는 단계를 포함한다. 특정 구현예에서, 치료 방법은 PKK 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 이를 필요로 하는 개체에게 투여하는 단계를 포함한다.

도면의 간단한 설명

[0015] 도 1은 실시예 124에 기술된 혈액 샘플로부터의 HMWK 웨스턴 블랏 정량화이다.

도 2은 실시예 127에 기술된 혈액 샘플로부터의 HMWK 웨스턴 블랏 정량화이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0016] 전술된 일반적인 설명 및 하기 상세한 설명 모두는 단지 예시적이고 설명적인 것이며, 청구될 때 본 발명을 제한하지 않음이 이해되어야 한다. 본원에서, 단수의 사용은 달리 구체적으로 언급되지 않으면 복수를 포함한다. 본원에서 사용된 바와 같이, "또는"의 사용은 달리 언급되지 않으면 "및/또는"을 의미한다. 더욱이, 용어 "포함하는" 뿐만 아니라 다른 형태, 예컨대 "포함한다" 및 "포함된"의 사용은 제한적인 것이 아니다. 또한, 용어들 예컨대 "요소" 또는 "성분"은, 달리 구체적으로 언급되지 않으면 하나의 단위를 포함하는 요소 및 성분 둘 모두 및 1 초과와 하부단위를 포함하는 요소 및 성분을 포함한다.

[0017] 달리 구체적인 정의가 제공되지 않으면, 본원에서 기재된 분석 화학, 합성 유기 화학, 및 약효 및 약제학적 화학과 관련하여 사용된 명명법 및 그것들의 절차 및 기술은 잘 알려져 있고 당해기술에서 통상적으로 사용된 것들이다. 표준 기술 화학적 합성, 및 화학적 분석을 위해 사용될 수 있다. 특정 그와 같은 기술 및 절차는 예를 들면 하기에서 발견될 수 있다: "Carbohydrate Modifications in Antisense Research" Edited by Sangvi and

Cook, American Chemical Society, Washington D.C., 1994; "Remington's Pharmaceutical Sciences," Mack Publishing Co., Easton, Pa., 21st edition, 2005; 및 "Antisense Drug Technology, Principles, Strategies, and Applications" Edited by Stanley T. Crooke, CRC Press, Boca Raton, Florida; and Sambrook et al., "Molecular Cloning, A laboratory Manual," 2nd Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989 (이들은 임의의 목적을 위해 참고로 본원에 편입되어 있음). 허용되는 경우, 본 개시내용에서 명세서에서 언급된 모든 특허들, 적용, 공개 출원 및 다른 공보 및 다른 데이터는 그 전체가 참고로 본원에 편입되어 있다.

[0018] 본원에 사용된 섹션 제목은 단지 조직상의 목적을 위한 것이며 기재된 요지를 제한하는 것으로 해석되어서는 안 된다. 특허, 특허 출원, 기사, 서적 및 논문을 포함하지만 이들로 제한되는 것은 아닌, 본 출원에 인용된, 모든 문서 또는 문서들의 부분은, 임의의 목적을 위하여 이들의 전문이 참고로 명백하게 편입된다.

[0019] 정의

[0020] 구체적인 정의가 제공되지 않는 한, 본 명세서에 기술된 분석 화학, 합성 유기 화학, 및 의학 및 약제학적 화학과 관련하여 이용된 명명법, 및 그의 절차 및 기술은 본 기술분야에서 잘 알려지고 통상적으로 사용되는 것들이다. 표준 기술 화학적 합성, 및 화학적 분석을 위해 사용될 수 있다. 허용되는 경우에, 모든 특허, 특허출원, 공개된 특허출원 및 다른 저널 출판물을 포함하여 (단, 이들로 제한되지는 않는다) 본 출원에서 인용된 모든 문서, 또는 문서의 일부분, 유전자은행 (GENBANK) 수탁 번호 및 국립 바이오테크놀로지 정보 센터(National Center for Biotechnology Information; NCBI) 및 본 명세서에서 전체적으로 언급된 다른 데이터와 같은 데이터베이스를 통해 수득될 수 있는 관련된 서열 정보는 온전하게 뿐만 아니라 여기에서 거론된 문서의 일부분에 대한 참고로 포함된다.

[0021] 달리 지적되지 않으면, 하기 용어들은 하기 의미를 갖는다:

[0022] "2'-O-메톡시에틸" (또한 2'-MOE 및 2'-OCH₂CH₂-OCH₃ 및 MOE)은 푸로실 환의 2' 위치의 O-메톡시에틸 변형을 나타낸다. 2'-O-메톡시에틸 변형된 당은 변형된 당이다.

[0023] "2'-O-메톡시에틸 변형된 뉴클레오시드" (또한 2'-MOE 뉴클레오시드)는 2'-MOE-메톡시에틸 변형된 당 모이어티를 포함하는 뉴클레오시드를 의미한다.

[0024] 본원에서 사용된 바와 같이, "2'-치환된 뉴클레오시드"는 H 또는 OH 이외의 푸라노스 환의 2' 위치에서 치환체를 포함하는 뉴클레오시드를 의미한다. 특정 구현예에서, 2' 치환된 뉴클레오시드는 이환식 당 변형을 갖는 뉴클레오시드를 포함한다.

[0025] "2'-데옥시뉴클레오시드"는 뉴클레오시드의 당 부분의 2' 위치에 수소를 갖는 뉴클레오시드를 의미한다.

[0026] "3' 표적 부위"는 특정한 안티센스 화합물의 3'-모스트 (most) 뉴클레오티드에 대해서 상보적인 표적 핵산의 뉴클레오티드를 나타낸다.

[0027] "5' 표적 부위"는 특정한 안티센스 화합물의 5'-모스트 (most) 뉴클레오티드에 대해서 상보적인 표적 핵산의 뉴클레오티드를 나타낸다.

[0028] "5-메틸시토신"은 5 위치에 부착된 메틸 기에 의해서 변형된 시토신을 의미한다. 5-메틸시토신은 변형된 핵염기이다.

[0029] "약"은 값의 $\pm 7\%$ 범위 내를 의미한다. 예를 들어, "화합물은 PKK 억제의 적어도 약 70%만큼 영향을 미칠 수 있다"라고 언급된 경우에, 이것은 PKK 수준이 63%-77% 범위 내로 억제될 수 있음을 시사한다.

[0030] "수반하여 투여된다"는 둘 다의 약물학적 효과가 환자에게서 동시에 나타나도록 하는 임의의 방식으로의 두 가지 약제학적 제제의 공동-투여를 나타낸다. 수반되는 투여는 두 가지 약제학적 제제를 단일 약제학적 조성물로, 단일 투약형으로, 또는 동일한 투여 경로에 의해서 투여할 것을 필요로 하지 않는다. 두 가지 약제학적 제제의 효과는 그들 자체가 동시에 나타날 필요는 없다. 효과는 일정 기간 동안 단지 중첩될 필요는 있고 동일한 시(공)간에 걸칠 필요는 없다.

[0031] "투여하는"은 약제학적 제제를 동물에게 제공하는 것을 의미하며, 의료 전문가에 의한 투여 및 자가-투여를 포함하지만 이들로 제한되지는 않는다.

[0032] 본원에서 사용된 바와 같이, "알킬"은, 최대 24 개의 탄소 원자를 함유하는 포화된 곧은 또는 분지된 탄화수소

라디칼을 의미한다. 알킬 기의 예는 비제한적으로, 하기를 포함한다: 메틸, 에틸, 프로필, 부틸, 이소프로필, n-헥실, 옥틸, 데실, 도데실 등. 알킬그룹은 전형적으로 1 내지 약 24 개의 탄소 원자, 더욱 전형적으로 1 내지 약 12의 탄소 원자 (C_1 - C_{12} 알킬)를 포함하고, 1 내지 약 6 개의 탄소 원자가 더 바람직하다.

[0033] 본원에서 사용된 바와 같이, "알케닐"은, 최대 24 개의 탄소 원자를 함유하고 적어도 하나의 탄소-탄소 이중 결합을 갖는, 곧은 또는 분지된 탄화수소 사슬 라디칼을 의미한다. 알케닐 그룹의 예는 비제한적으로, 하기를 포함한다: 에테닐, 프로페닐, 부테닐, 1-메틸-2-부텐-1-일, 디엔 예컨대 1,3-부타디엔 등. 알케닐 그룹은 전형적으로 2 내지 약 24 개의 탄소 원자, 더욱 전형적으로 2 내지 약 12의 탄소 원자를 포함하고 2 내지 약 6 개의 탄소 원자가 더 바람직하다. 알케닐 그룹은, 본원에서 사용된 바와 같이, 1 이상의 추가 치환기 그룹을 임의로 포함할 수 있다.

[0034] 본원에서 사용된 바와 같이, "알키닐"은, 최대 24 개의 탄소 원자를 함유하고 적어도 하나의 탄소-탄소 삼중 결합을 갖는 곧은 또는 분지된 탄화수소 라디칼을 의미한다. 알키닐 그룹의 예는, 비제한적으로, 하기를 포함한다: 에티닐, 1-프로피닐, 1-부티닐, 등. 알키닐 그룹은 전형적으로 2 내지 약 24 개의 탄소 원자, 더욱 전형적으로 2 내지 약 12의 탄소 원자를 포함하고 2 내지 약 6 개의 탄소 원자가 더 바람직하다. 알키닐 그룹은, 본원에서 사용된 바와 같이, 1 이상의 추가 치환기 그룹을 임의로 포함할 수 있다.

[0035] 본원에서 사용된 바와 같이, "아실"은, 유기산으로부터 하이드록실 그룹의 제거에 의해 형성될 라디칼을 의미하고 일반식 $-C(O)-X$ (여기서 X 은 전형적으로 지방족, 지환족 또는 방향족임)을 갖는다. 예들은 지방족 카보닐, 방향족 카보닐, 지방족 설퍼닐, 방향족 설퍼닐, 지방족 설퍼닐, 방향족 포스페이트, 지방족 포스페이트 등을 포함한다. 아실 그룹은, 본원에서 사용된 바와 같이, 임의로 추가 치환기 그룹을 포함할 수 있다.

[0036] 본원에서 사용된 바와 같이, "지환족"은 환형 환계를 의미하고, 상기 환은 지방족이다. 환계는 1 이상의 환을 포함할 수 있고, 여기서 적어도 하나의 환은 지방족이다. 바람직한 지환족은 환 중 약 5 내지 약 9 개의 탄소 원자를 갖는 환을 포함한다. 지환족은, 본원에서 사용된 바와 같이, 임의로 추가 치환기 그룹을 포함할 수 있다.

[0037] 본원에서 사용된 바와 같이, "지방족"은 최대 24 개의 탄소 원자를 함유하는 곧은 또는 분지된 탄화수소 라디칼을 의미하고, 상기 임의의 2 개의 탄소 원자 사이의 포화는 단일, 이중 또는 삼중결합이다. 지방족 그룹은 바람직하게는 1 내지 약 24 개의 탄소 원자, 더욱 전형적으로 1 내지 약 12의 탄소 원자를 함유하고, 1 내지 약 6 개의 탄소 원자가 더 바람직하다. 지방족 그룹의 곧은 또는 분지된 사슬은 질소, 산소, 황 및 인을 포함하는 1 이상의 헤테로원자로 방해될 수 있다. 헤테로원자에 의해 방해된 그와 같은 지방족 그룹은 비제한적으로, 폴리알콕시, 예컨대 폴리알킬렌 글리콜, 폴리아민, 및 폴리이민을 포함한다. 지방족 그룹은, 본원에서 사용된 바와 같이, 임의로 추가 치환기 그룹을 포함할 수 있다.

[0038] 본원에서 사용된 바와 같이, "알콕시"는 알킬 기와 산소 원자 사이에 형성된 라디칼을 의미하고, 상기 산소 원자는 알콕시 기를 모 분자에 부착하도록 사용된다. 알콕시 기의 예는 비제한적으로, 하기를 포함한다: 메톡시, 에톡시, 프로톡시, 이소프로톡시, n-부톡시, sec-부톡시, tert-부톡시, n-펜톡시, 네오펜톡시, n-헥소시 등. 알콕시 그룹은, 본원에서 사용된 바와 같이, 임의로 추가 치환기 그룹을 포함할 수 있다.

[0039] 본원에서 사용된 바와 같이, "아미노알킬"은 아미노 치환된 C_1 - C_{12} 알킬 라디칼을 의미한다. 라디칼의 알킬부는 모 분자와 공유 결합을 형성한다. 아미노 그룹은 임의의 위치에 있을 수 있고 아미노알킬 그룹은 알킬 및/또는 아미노 부분에서 추가 치환기 그룹으로 치환될 수 있다.

[0040] 본원에서 사용된 바와 같이, "아랄킬" 및 "아릴알킬"은 C_1 - C_{12} 알킬 라디칼에 공유 결합된 방향족 그룹을 의미한다. 수득한 아랄킬 (또는 아릴알킬) 그룹의 알킬 라디칼 부는 모 분자와 공유 결합을 형성한다. 예는 제한 없이, 벤질, 페네틸 등을 포함한다. 아랄킬 그룹은, 본원에서 사용된 바와 같이, 알킬, 아릴, 또는 라디칼 그룹을 형성하는 둘 모두 그룹에 부착된 추가 치환기 그룹을 임의로 포함한다.

[0041] 본원에서 사용된 바와 같이, "아릴" 및 "방향족"은 1 이상의 방향족 환을 갖는, 단환 또는 다환식 탄소환식 환계 라디칼을 의미한다. 아릴 기의 예는 비제한적으로, 하기를 포함한다: 페닐, 나프틸, 테트라하이드로나프틸, 인다닐, 이데닐 등. 바람직한 아릴 환계는 1 이상의 환 중 약 5 내지 약 20 개의 탄소 원자를 갖는다. 아릴 그룹은, 본원에서 사용된 바와 같이, 임의로 추가 치환기 그룹을 포함할 수 있다.

[0042] "개선"은 병태 또는 질환의 중증도의 적어도 하나의 지표를 감경, 완화, 정지, 또는 반전시키는 것을 의미한다. 지표의 중증도는 본 기술분야에서 숙련된 전문가에게 공지되어 있는 주관적 또는 객관적 척도에 의해

서 결정될 수 있다.

- [0043] "동물"은 마우스, 래트, 토끼, 개, 고양이, 돼지, 및 원숭이 및 침팬지를 포함한 (단, 이들로 제한되지는 않는다) 비-인간 영장류를 포함하는 (단, 이들로 제한되지는 않는다) 인간 또는 비-인간 동물을 나타낸다.
- [0044] "안티센스 활성"은 안티센스 화합물의 그의 표적 핵산에 대한 혼성화에 기인할 수 있는 임의의 검출 가능하거나 측정 가능한 활성을 의미한다. 특정 구현예에서, 안티센스 활성은 표적 핵산 또는 이러한 표적 핵산에 의해서 암호화된 단백질의 양 또는 발현의 감소이다. "안티센스 화합물"은 수소 결합을 통해서 표적 핵산에 대한 혼성화를 겪을 수 있는 올리고머 화합물을 의미한다. 안티센스 화합물의 예시는 단일 가닥 및 이중 가닥 화합물, 예컨대 안티센스 올리고뉴클레오타이드, siRNA, shRNA, ssRNA, 및 점유도-기반 화합물을 포함한다.
- [0045] "안티센스 화합물"은 수소 결합을 통해서 표적 핵산에 대한 혼성화를 겪을 수 있는 올리고머 화합물을 의미한다. 안티센스 화합물의 예시는 단일 가닥 및 이중 가닥 화합물, 예컨대 안티센스 올리고뉴클레오타이드, siRNA, shRNA, ssRNA, 및 점유도-기반 화합물을 포함한다.
- [0046] "안티센스 억제"는 안티센스 화합물의 부재 하에서의 표적 핵산 수준 또는 표적 단백질 수준에 비해, 표적 핵산에 대해 상보적인 안티센스 화합물의 존재 하에서의 표적 핵산 수준 또는 표적 단백질 수준의 감소를 의미한다. "안티센스 기전"은 표적 핵산을 갖는 화합물의 혼성화를 포함하는 모든 기전이며, 여기서 상기 혼성화의 결과 또는 효과는 예를 들어 전사 또는 스플라이싱을 포함하는 세포 기작의 수반된 스톨링(stalling)을 갖는 표적 저하 또는 표적 점유이다.
- [0047] "안티센스 기전"은 표적 핵산을 갖는 화합물의 혼성화를 포함하는 모든 기전이며, 여기서 상기 혼성화의 결과 또는 효과는 예를 들어 전사 또는 스플라이싱을 포함하는 세포 기작의 수반된 스톨링(stalling)을 갖는 표적 저하 또는 표적 점유이다.
- [0048] "안티센스 올리고뉴클레오타이드"는 표적 핵산의 상응하는 분절에 대한 혼성화를 허용하는 핵염기 서열을 갖는 단일-가닥 올리고뉴클레오타이드를 의미한다. "염기 상보성"은 표적 핵산 (즉, 혼성화)에서의 상응하는 핵염기를 갖는 안티센스 올리고뉴클레오타이드의 핵염기의 정확한 염기 짝짓기에 대한 능력을 지칭하며, 이는 상응하는 핵염기 사이의 왓슨-크릭, 후그스텐 또는 역방향 후그스텐 수소 결합을 지칭한다.
- [0049] "염기 상보성"은 표적 핵산 (즉, 혼성화)에서의 상응하는 핵염기를 갖는 안티센스 올리고뉴클레오타이드의 핵염기의 정확한 염기 짝짓기에 대한 능력을 지칭하며, 이는 상응하는 핵염기 사이의 왓슨-크릭, 후그스텐 또는 역방향 후그스텐 수소 결합을 지칭한다.
- [0050] "이환식 당"은 두 개의 원자의 가교화 (bridging)에 의해서 변형된 푸로실 환을 의미한다. 이환식 당은 변형된 당이다.
- [0051] "이환식 핵산" (또는 BNA)는 당 환의 두 개의 탄소 원자를 결합하는 가교를 포함하는 당 모이어티를 갖고, 이로써 이환식 환계를 형성하는 뉴클레오시드를 의미한다. 특정 구현예에서, 상기 가교는 당 환의 4'-탄소 및 2' 탄소를 연결한다.
- [0052] "캡 (cap) 구조" 또는 "말단 캡 모이어티"는 안티센스 화합물의 임의의 하나의 말단에 포함된 화학적 변형을 의미한다.
- [0053] "탄수화물"은 자연 발생 탄수화물, 변형된 탄수화물, 또는 탄수화물 유도체를 의미한다.
- [0054] 본원에서 사용된 바와 같이, "탄수화물 클러스터"는 스캐폴드 또는 링커 그룹에 부착된 1 이상의 탄수화물 잔기를 갖는 화합물을 의미한다. 예를 들면 하기 (참고: Maier et al., "Synthesis of Antisense Oligonucleotides Conjugated to a Multivalent Carbohydrate Cluster for Cellular Targeting," *Bioconjugate Chemistry*, 2003, (14): 18-29, 이것은 그 전체가 참고로 본원에 편입되어 있음, 또는 Rensen et al., "Design and Synthesis of Novel N-Acetylgalactosamine-Terminated Glycolipids for Targeting of Lipoproteins to the Hepatic Asialoglycoprotein Receptor," *J. Med. Chem.* 2004, (47): 5798-5808 (탄수화물 콘주게이트 클러스터의 예시로)).
- [0055] "탄수화물 유도체"는 탄수화물을 개시 물질 또는 중간체로서 사용하여 합성될 수 있는 임의의 화합물을 의미한다.
- [0056] "cEt" 또는 "제한된 에틸"은 4'-탄소 및 2' 탄소를 연결하는 가교를 포함하는 당 모이어티를 갖는 이환식 뉴클

레오시드를 의미하며, 이때 상기 가교는 하기 화학식을 갖는다: $4' - \text{CH}(\text{CH}_3) - \text{O} - 2'$.

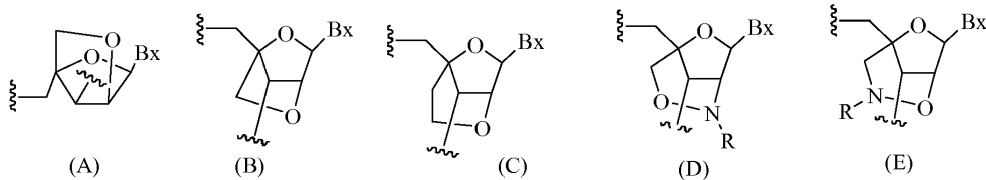
- [0057] "cEt 변형된 뉴클레오시드" (또한 "제한된 에틸 뉴클레오시드")는 $4' - \text{CH}(\text{CH}_3) - \text{O} - 2'$ 가교를 포함하는 이환식 당 모이어티를 포함하는 뉴클레오시드를 의미한다.
- [0058] "화학적으로 구분되는 영역"은 특정 점에서 동일한 안티센스 화합물의 또 다른 영역과 화학적으로 상이한 안티센스 화합물의 영역을 나타낸다. 예를 들어, $2' - \text{O} - \text{메톡시에틸}$ 뉴클레오시드를 갖는 영역은 $2' - \text{O} - \text{메톡시에틸}$ 변형이 없는 뉴클레오시드를 갖는 영역과 화학적으로 구분된다.
- [0059] "화학적 변형"은 자연 발생 대응물과 비교할 때 화합물에서 화학적 차이를 의미한다. 올리고뉴클레오티드의 화학적 변형은 뉴클레오시드 변형 (당 모이어티 변형 및 핵염기 변형 포함) 및 뉴클레오시드간 연결 변형을 포함한다. 올리고뉴클레오티드에 관하여, 화학적 변형은 핵염기 서열에서 단지 차이를 포함하지 않는다.
- [0060] "키메라 안티센스 화합물"은 적어도 두 개의 화학적으로 구분되는 영역을 갖고, 각 위치는 다수의 하부단위를 갖는 안티센스 화합물을 의미한다.
- [0061] "절단가능 결합"은 분열될 수 있는 임의의 화학 결합을 의미한다. 특정 구현예에서, 절단가능 결합은 하기 중으로부터 선택된다: 아미드, 폴리아미드, 에스테르, 에테르, 포스포디에스테르의 에스테르 하나 또는 둘 모두, 포스페이트 에스테르, 카바메이트, 디-설파이드, 또는 펩티드.
- [0062] "절단가능 모이어티"는 생리적 조건 하에서 분열될 수 있는 결합 또는 그룹을 의미한다. 특정 구현예에서, 절단가능 모이어티는 세포 또는 아-세포성 구획, 예컨대 용해소체 내에서 절단된다. 특정 구현예에서, 절단가능 모이어티는 내인성 효소, 예컨대 뉴클레아제에 의해 절단된다. 특정 구현예에서, 절단가능 모이어티는 1, 2, 3, 4, 또는 그 초과 4 개의 절단가능 결합을 갖는 원자의 그룹을 포함한다.
- [0063] "공동-투여"는 개체에게 두 개 이상의 약제학적 제제를 투여하는 것을 의미한다. 두 개 또는 그 이상의 약제학적 제제는 단일 약제학적 조성물 내에 존재할 수 있거나, 별개의 약제학적 조성물 내에 존재할 수 있다. 두 개 또는 그 이상의 약제학적 제제 각각은 동일하거나 상이한 투여 경로를 통해서 투여될 수 있다. 공동-투여는 병행 또는 순차적 투여를 포함한다.
- [0064] "상보성"은 제1 핵산과 제2 핵산의 핵염기 사이의 짝짓기 능력을 의미한다.
- [0065] 본 명세서 전체에서, "포함하다" 또는 이것의 변형인 "포함하는" 등의 용어는 언급된 요소, 정수 또는 단계, 또는 요소들, 정수들 또는 단계들의 집합들을 포함한다는 뜻이나, 그 밖의 다른 요소, 정수, 또는 단계, 또는 요소들, 정수들 또는 단계들의 집합들이 배제된다는 뜻이 아님이 이해될 것이다.
- [0066] "콘주게이트" 또는 "콘주게이트 그룹"은 올리고뉴클레오티드 또는 올리고머 화합물에 결합된 원자 또는 원자의 그룹을 의미한다. 일반적으로, 콘주게이트 그룹은 약동학적, 약력학적, 결합, 흡수, 세포성 분포, 세포성 흡수, 전하 및/또는 청소능 특성을 비제한적으로 포함하는, 부착된 화합물의 1 이상의 특성을 변형시킨다.
- [0067] 콘주게이트 그룹의 문맥 중 "콘주게이트 링커" 또는 "링커"는 임의의 원자 또는 원자의 그룹을 포함하고 (1) 올리고뉴클레오티드를 콘주게이트 그룹의 또 하나의 부분 또는 (2) 콘주게이트 그룹의 2 이상의 부분에 공유 결합하는 콘주게이트 그룹의 부분을 의미한다.
- [0068] 콘주게이트 그룹은 올리고머 화합물 예컨대 안티센스 올리고뉴클레오티드에 대한 공유 결합을 형성하는 결합을 제공하는 라디칼로서 본원에서 보여진다. 특정 구현예에서, 올리고머 화합물 상의 부착점은 올리고머 화합물의 $3'$ 말단 뉴클레오시드의 $3'$ -하이드록실 그룹의 $3'$ -산소 원자이다. 특정 구현예에서 올리고머 화합물 상의 부착점은 올리고머 화합물의 $5'$ 말단 뉴클레오시드의 $5'$ -하이드록실 그룹의 $5'$ -산소 원자이다. 특정 구현예에서, 올리고머 화합물에 대한 부착을 형성하는 결합은 절단가능 결합이다. 특정 그와 같은 구현예에서, 그와 같은 절단가능 결합은 절단가능 모이어티의 모두 또는 일부를 구성한다.
- [0069] 특정 구현예에서, 콘주게이트 그룹은 절단가능 모이어티 (예를 들면, 절단가능 결합 또는 절단가능 뉴클레오시드) 및 탄수화물 클러스터 부분, 예컨대 GalNAc 클러스터 부분을 포함한다. 그와 같은 탄수화물 클러스터 부분은 하기를 포함한다: 표적 모이어티, 및 임의로, 콘주게이트 링커. 특정 구현예에서, 탄수화물 클러스터 부분은 리간드의 수 및 동일성에 의해 확인된다. 예를 들면, 특정 구현예에서, 탄수화물 클러스터 부분은 3 개의 GalNAc 그룹을 포함하고 "GalNAc₃"로 칭한다. 특정 구현예에서, 탄수화물 클러스터 부분은 4 개의 GalNAc 그룹을 포함하고 "GalNAc₄"로 칭한다. (구체적인 연결기, 분지화 및 콘주게이트 링커 그룹을 갖는) 구체적인 탄수

화물 클러스터 부분은 본원에서 기재되어 있고, 로마 숫자 그 다음 하첨자 "a"로 지정된다. 따라서 "GalNac3-1_a"는 3 개의 GalNac 그룹을 갖는 콘주게이트 그룹 및 구체적으로 확인된 연결기, 분지화 및 연결 그룹의 구체적인 탄수화물 클러스터 부분을 의미한다. 그와 같은 탄수화물 클러스터 단편은 절단가능 모이어티, 예컨대 절단가능 결합 또는 절단가능 뉴클레오시드를 통해 올리고머 화합물에 부착된다.

- [0070] "콘주게이트 화합물"은 임의의 원자, 원자의 그룹, 또는 콘주게이트 그룹으로서 사용하기에 적당한 연결된 원자의 그룹을 의미한다. 특정 구현예에서, 콘주게이트 화합물은 약동학적, 약력학적, 결합, 흡수, 세포성 분포, 세포성 흡수, 전하 및/또는 청소능 특성을 비제한적으로 포함하는 1 이상의 특성을 보유하거나 부여할 수 있다.
- [0071] "인접 핵염기"는 서로에 대해 바로 인접한 핵염기를 의미한다.
- [0072] "설계" 또는 "~를 위하여 설계된"은 선택된 핵산 분자와 특히 혼성화하는 올리고머 화합물을 창조하는 과정을 지칭한다.
- [0073] "회석제"는 약물학적 활성을 결여하고 있지만, 약제학적으로 필요하거나 바람직한 조성물 내의 성분을 의미한다. 예를 들어, 주사용 약물 내의 회석제는 액체, 예를 들어, 식염수일 수 있다.
- [0074] "용량"은 단일 투여에서, 또는 명시된 기간 동안에 제공된 약제학적 제제의 명시된 양을 의미한다. 특정 구현예에서, 용량은 하나, 둘 또는 그 이상의 볼러스(boluses), 정제, 또는 주사제로 투여될 수 있다. 예를 들어, 피하 투여를 원하는 특정 구현예에서, 원하는 용량은 단일 주사에 의해서 쉽게 수용되지 않는 용적을 필요로 하며, 따라서 두 개 또는 그 이상의 주사제를 사용하여 원하는 용량을 달성할 수 있다. 특정 구현예에서, 약제는 장시간에 걸쳐 또는 연속적으로 주입에 의해 투여된다. 용량은 시간, 일, 주, 또는 개월 당 약제학적 제제의 양으로 언급될 수 있다.
- [0075] "다운스트림(downstream)"은 핵산의 3' 말단 또는 C-말단으로의 상대적인 방향을 지칭한다.
- [0076] 병태를 치료 또는 예방의, 또는 이의 활성을 조절하는 맥락에서 "효과적인 양"은 그러한 조절, 치료, 또는 예방을 필요로 하는 대상체에 약제학적 제제의 그와 같은 양을, 그러한 병태의 치료 또는 예방 또는 개선을 위하여, 또는 그러한 병태의 효과 조절에 대해 효과적인, 단일 투여 또는 일련의 것 중 부분으로 투여하는 것을 의미한다. 유효량은 치료될 개체의 건강 및 신체 조건, 치료될 개체의 분류군, 조성물의 제형, 개체의 의학적 상태의 평가, 및 그 밖의 다른 관련된 인자에 따라 개체들 사이에서 달라질 수 있다.
- [0077] "효능"은 원하는 효과를 생성하는 능력을 의미한다.
- [0078] "발현"은 유전자 암호화된 정보가 세포 내에서 존재 및 작동하는 구조로 전환되는 모든 기능을 포함한다. 그러한 구조는 비제한적으로 전사 및 번역의 생성물을 포함한다.
- [0079] "완전히 상보적" 또는 "100% 상보적"은 제1 핵산의 핵염기 서열의 각각의 핵염기가 제2 핵산의 제2 핵염기 서열 내에 상보적인 핵염기를 갖는 것을 의미한다. 특정 구현예에서, 제1 핵산은 안티센스 화합물이고, 표적 핵산은 제2 핵산이다.
- [0080] "갭머(gapmer)"는 RNase H 분해를 지지하는 다수의 뉴클레오시드를 갖는 내부 영역이 하나 이상의 뉴클레오시드를 갖는 외부 영역들 사이에 배치된 키메라 안티센스 화합물을 의미하며, 여기에서 내부 영역을 구성하는 뉴클레오시드는 외부 영역을 구성하는 뉴클레오시드 또는 뉴클레오시드들과 화학적으로 구분된다. 내부 영역은 "갭"으로 지칭될 수 있으며, 외부 영역은 "윙(wing)"으로 지칭될 수 있다.
- [0081] "할로" 및 "할로젠"은, 불소, 염소, 브롬 및 요오드로부터 선택된 원자를 의미한다.
- [0082] "헤테로아릴," 및 "헤테로방향족"은, 단환식 또는 다환식 방향족 환, 환계 또는 융합 환계를 포함하는 라디칼을 의미하고, 여기서 환 중 적어도 하나는 방향족이고 1 이상의 헤테로원자를 포함한다. 헤테로아릴은 또한, 융합 환 중 1 이상이 헤테로원자를 함유하지 않는 시스템을 포함하는 융합 환계를 포함하는 것을 의미한다. 헤테로아릴 그룹은 전형적으로, 황, 질소 또는 산소로부터 선택된 하나 이상의 환 원자를 포함한다. 헤테로아릴 기의 예는 비제한적으로, 하기를 포함한다: 피리디닐, 피라지닐, 피리미디닐, 피롤릴, 피라졸릴, 이미다졸릴, 티아졸릴, 옥사졸릴, 이속사졸릴, 티아디아졸릴, 옥사디아졸릴, 티오펜릴, 푸라닐, 퀴놀리닐, 이소퀴놀리닐, 벤즈이미다졸릴, 벤조옥사졸릴, 퀴녹살리닐 등. 헤테로아릴 라디칼은 연결 모이어티 예컨대 지방족 그룹 또는 헤테로 원자를 통해 모 분자에 부착될 수 있다. 헤테로아릴 그룹은, 본원에서 사용된 바와 같이, 임의로 추가 치환기 그룹을 포함할 수 있다.
- [0083] "혼성화"는 상보적 핵산 분자의 어닐링(annealing)을 의미한다. 특정 구현예에서, 상보적 핵산 분자는 비제한

적으로 안티센스 화합물 및 표적 핵산을 포함한다. 특정 구현예에서, 상보적 핵산 분자는 비제한적으로 안티센스 올리고뉴클레오타이드 및 핵산 표적을 포함한다.

- [0084] "염증성 질환을 갖는 동물을 동정하는 것"은 염증성 질환을 갖는 것으로 진단되었거나 염증성 질환을 발병할 소인이 있는 동물을 동정하는 것을 의미한다. 염증성 질환을 발병할 소인이 있는 개체는 하나 이상의 염증성 질환에 개인 또는 가족력, 또는 유전적 소인을 갖는 환경적 요인을 포함하는 염증성 질환의 발병에 대한 하나 이상의 위험 인자를 갖는 개체를 포함한다. 그러한 동정은 개체의 병력 및 표준 임상 시험 또는 평가, 예컨대 유전자 시험을 평가하는 단계를 포함하는 임의의 방법에 의하여 수반될 수 있다.
- [0085] "PKK 연관된 질환을 갖는 동물을 동정하는 것"은 PKK 연관된 질환으로 진단되었거나 PKK 연관된 질환을 발병할 소인이 있는 동물을 동정하는 것을 의미한다. PKK 연관된 질환을 발병할 소인이 있는 개체는 하나 이상의 PKK 연관된 질환에 개인 또는 가족력, 또는 유전적 소인을 포함하는 PKK 연관된 질환의 발병에 대한 하나 이상의 위험 인자를 갖는 개체를 포함한다. 그러한 동정은 개체의 병력 및 표준 임상 시험 또는 평가, 예컨대 유전자 시험을 평가하는 단계를 포함하는 임의의 방법에 의하여 수반될 수 있다.
- [0086] "혈전색전성 질환을 갖는 동물을 동정하는 것"은 혈전색전성 질환으로 진단되었거나 혈전색전성 질환을 발병할 소인이 있는 동물을 동정하는 것을 의미한다. 혈전색전성 질환을 발병하는 소인을 가진 개체는 개인 또는 가족력, 또는 혈전색전성 질환, 부동성, 수술 (특히 정형외과적 수술), 악성종양, 임신, 노령, 구강 피임제의 사용, 심방 세동, 과거 혈전색전성 병태, 만성 염증성 질환 및 유전성 또는 후천성 예비혈전성 응고 장애 중 하나 이상의 유전적 소인을 포함하는 혈전색전성 질환 발병에 대한 하나 이상의 위험 인자를 갖는 개체들을 포함한다. 그러한 동정은 개체의 병력 및 표준 임상 시험 또는 평가, 예컨대 유전자 시험을 평가하는 단계를 포함하는 임의의 방법에 의하여 수반될 수 있다.
- [0087] "바로 인접한"은 바로 인접한 요소들 사이에 개입성 요소가 없는 것을 의미한다. "개체" 는 치료 또는 치료법을 위해서 선택된 인간 또는 비-인간 동물을 의미한다.
- [0088] "개체" 는 치료 또는 치료법을 위해서 선택된 인간 또는 비-인간 동물을 의미한다.
- [0089] "PKK 억제"는 PKK mRNA 및/또는 단백질의 발현 수준을 감소시키는 것을 의미한다. 특정 구현예에서, PKK mRNA 및/또는 단백질 수준은, PKK 안티센스 화합물, 예컨대 안티센스 올리고뉴클레오타이드의 부재 하에서 PKK mRNA 및/또는 단백질 수준의 발현과 비교하여, PKK를 표적화하는 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 포함하는 PKK 표적화하는 안티센스 화합물의 존재 하에서 억제된다.
- [0090] "발현 또는 활성을 억제하는"은 발현 또는 활성의 감소 또는 차단을 나타내며, 반드시 발현 또는 활성의 전체 제거를 나타내지는 않는다.
- [0091] "뉴클레오시드간 연결"은 뉴클레오시드들 사이의 화학적 결합을 나타낸다.
- [0092] "뉴클레오시드간 중성 연결 그룹"은 2 개의 뉴클레오시드를 직접적으로 연결하는 중성 연결 그룹을 의미한다.
- [0093] "뉴클레오시드간 인 연결 그룹"은 2 개의 뉴클레오시드를 직접적으로 연결하는 인 연결 그룹을 의미한다.
- [0094] "연결 모티프"는 올리고뉴클레오타이드 또는 그것의 영역에서 연결 변형의 패턴을 의미한다. 그와 같은 올리고뉴클레오타이드의 뉴클레오시드는 변형 또는 비변형될 수 있다. 달리 지적되지 않으면, 연결을 단지 기재하는 본원의 모티프는 연결 모티프인 것으로 의도된다. 따라서, 그와 같은 경우에, 뉴클레오시드는 제한되지 않는다.
- [0095] "연결된 뉴클레오시드"는 뉴클레오시드간 연결에 의하여 함께 연결된 인접한 뉴클레오시드를 의미한다.
- [0096] "잠금 핵산" 또는 "LNA" 또는 "LNA 뉴클레오시드"는 뉴클레오시드 당 단위의 4' 및 2' 위치 사이의 두 개의 탄소 원자를 연결하여, 이로써 이환식 당을 형성하는, 가교를 갖는 핵산 모노머를 의미한다. 이환식 당의 예시는, 비제한적으로, 하기와 같이 A) α -L-메틸렌옥시 (4'-CH₂-O-2') LNA, (B) β -D-메틸렌옥시 (4' -CH₂-O-2') LNA, (C) 에틸렌옥시 (4' -(CH₂)₂-O-2') LNA, (D) 아미노옥시 (4' -CH₂-O-N(R)-2') LNA 및 (E) 옥시아미노 (4' -CH₂-N(R)-O-2') LNA를 포함한다.



[0097]

[0098]

본원에서 사용된 바와 같이, LNA 화합물은, 비제한적으로, 당의 4' 및 2' 위치 사이의 적어도 하나의 가교를 갖는 화합물을 포함하고, 여기서 상기 가교 중 각각은 독립적으로, $-[C(R_1)(R_2)]_n-$, $-C(R_1)=C(R_2)-$, $-C(R_1)=N-$, $-C(=NR_1)-$, $-C(=O)-$, $-C(=S)-$, $-O-$, $-Si(R_1)_2-$, $-S(=O)_x-$ 및 $-N(R_1)-$ 부터 독립적으로 선택된 1 또는 2 내지 4개의 연결기를 포함하고; 여기서 x는 0, 1, 또는 2이고; n은 1, 2, 3, 또는 4이고; 각각의 R_1 및 R_2 는, 독립적으로, H, 보호기, 하이드록실, C_1-C_{12} 알킬, 치환된 C_1-C_{12} 알킬, C_2-C_{12} 알케닐, 치환된 C_2-C_{12} 알케닐, C_2-C_{12} 알킬닐, 치환된 C_2-C_{12} 알킬닐, C_5-C_{20} 아릴, 치환된 C_5-C_{20} 아릴, 헤테로환 라디칼, 치환된 헤테로환 라디칼, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, C_5-C_7 지환식 라디칼, 치환된 C_5-C_7 지환식 라디칼, 할로젠, OJ_1 , NJ_1J_2 , SJ_1 , N_3 , $COOJ_1$, 아실 ($C(=O)-H$), 치환된 아실, CN, 설포닐 ($S(=O)_2-J_1$), 또는 설폭실 ($S(=O)-J_1$)이고; 그리고 각각의 J_1 및 J_2 는, 독립적으로, H, C_1-C_{12} 알킬, 치환된 C_1-C_{12} 알킬, C_2-C_{12} 알케닐, 치환된 C_2-C_{12} 알케닐, C_2-C_{12} 알킬닐, 치환된 C_2-C_{12} 알킬닐, C_5-C_{20} 아릴, 치환된 C_5-C_{20} 아릴, 아실 ($C(=O)-H$), 치환된 아실, 헤테로환 라디칼, 치환된 헤테로환 라디칼, C_1-C_{12} 아미노알킬, 치환된 C_1-C_{12} 아미노알킬 또는 보호기이다.

[0099]

LNA 정의 내에 포괄된 4' - 2' 가교기의 예시는, 다음 화학식 중 하나를 포함하지만 이들로 제한되는 것은 아니다: $-[C(R_1)(R_2)]_n-$, $-[C(R_1)(R_2)]_n-O-$, $-C(R_1R_2)-N(R_1)-O-$ 또는 $-C(R_1R_2)-O-N(R_1)-$. 더욱이, LNA의 정의 내에서 포괄된 다른 가교 그룹은 4'-CH₂-2', 4'-(CH₂)₂-2', 4'-(CH₂)₃-2', 4'-CH₂-O-2', 4'-(CH₂)₂-O-2', 4'-CH₂-O-N(R₁)-2' 및 4'-CH₂-N(R₁)-O-2'- 가교이고, 이때 R_1 및 R_2 각각은 독립적으로, H, 보호기, 또는 C_1-C_{12} 알킬이다.

[0100]

또한 본 발명에 따른 LNA의 정의 내에 포함된 것은 리보실 당 환의 2'-히드록실 기가 당 환의 4' 탄소 원자와 연결되어, 이로써 이환식 당 모이어티를 형성하는 메틸렌옥시 (4'-CH₂-O-2') 가교를 형성하는 LNA이다. 상기 가교는 또한 2' 산소 원자 및 4' 탄소 원자를 연결하는 메틸렌 (-CH₂-) 기일 수 있으며, 이에 대해 용어 메틸렌옥시 (4'-CH₂-O-2') LNA가 사용된다. 더욱이, 이러한 위치에서 에틸렌 가교 그룹을 갖는 이환식 당 모이어티의 경우에서, 용어 에틸렌옥시 (4'-CH₂CH₂-O-2') LNA가 사용된다. α-L- 메틸렌옥시 (4'-CH₂-O-2'), 메틸렌옥시 (4'-CH₂-O-2') LNA의 이성질체는 또한 본원에 사용된 바와 같이 LNA의 정의 내에 포괄된다.

[0101]

"미스매치 (mismatch)" 또는 "비-상보적 핵염기"는 제1 핵산의 핵염기가 제2 또는 표적 핵산의 상응하는 핵염기와 짝짓기 할 수 없는 경우를 나타낸다.

[0102]

"변형된 뉴클레오타이드간 연결"은 천연적으로 발생하는 뉴클레오타이드간 결합 (즉, 포스포디에스테르 뉴클레오타이드간 결합)으로부터의 치환 또는 임의의 변화를 나타낸다.

[0103]

"변형된 핵염기"는 아데닌, 시토신, 구아닌, 티미딘 (또한 5-메틸우라실로 알려짐), 또는 우라실이 아닌 임의의 핵염기를 나타낸다. "비변형된 핵염기"는 퓨린 염기인 아데닌 (A) 및 구아닌 (G), 및 피리미딘 염기인 티민 (T), 시토신 (C), 및 우라실 (U)을 의미한다.

[0104]

"변형된 뉴클레오타이드"는 독립적으로, 변형된 당 모이어티 또는 변형된 핵염기를 갖는 뉴클레오타이드를 의미한다.

[0105]

"변형된 뉴클레오타이드"는 독립적으로, 변형된 당 모이어티, 변형된 뉴클레오타이드간 연결, 또는 변형된 핵염기를 갖는 뉴클레오타이드를 의미한다.

[0106]

"변형된 올리고뉴클레오타이드"는 적어도 하나의 뉴클레오타이드간 연결, 변형된 당, 및/또는 변형된 핵염기를 포함하는 올리고뉴클레오타이드를 의미한다.

[0107]

"변형된 당"은 천연 당 모이어티로부터의 치환 또는 임의의 변화를 나타낸다.

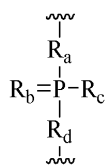
[0108]

용어 "단환 또는 다환식 환계"는 단환 또는 다환식 라디칼 환계로부터 선택된 모든 환계를 포함하는 것을 의미

하고, 상기 환은 융합 또는 연결되고, 지방족, 지환족, 아릴, 헤테로아릴, 아랄킬, 아릴알킬, 헤테로환, 헤테로아릴, 헤테로방향족 및 헤테로아릴알킬로부터 개별적으로 선택된 단일 및 혼합된 환계를 포함하는 것을 의미한다. 그와 같은 단환식 및 다환식 환형 구조는, 각각이 동일한 수준의 포화를 갖거나, 각각이, 독립적으로, 완전 포화된, 부분적으로 포화된 또는 완전 불포화된을 포함하는 가변 포화도를 갖는 환을 함유할 수 있다. 각각의 환은 C, N, O 및 S로부터 선택된 환 원자를 포함하여 헤테로환 뿐만 아니라 혼합된 모티프 예컨대 벤즈이미다졸에서 존재할 수 있는 C 환 원자만을 포함하는 환을 얻을 수 있고, 여기서 하나의 환은 유일한 탄소 환 원자를 가지며 융합 환은 2 개의 질소 원자를 갖는다. 단환 또는 다환식 환계는 치환기 그룹 예컨대 환 중의 하나에 부착된 2개의 =O 그룹을 갖는 프탈이미드로 추가로 치환될 수 있다. 단환 또는 다환식 환계는 다양한 전략을 사용하여 예컨대 직접적으로 환 원자를 통해 모 분자에 부착될 수 있고, 다중 환 원자를 통해, 치환기 그룹을 통해 또는 이작용성 연결 모이어티를 통해 융합될 수 있다.

- [0109] "모노머"는 올리고머의 단일 단위를 의미한다. 모노머는 비제한적으로 천연 발생하거나, 변형된 뉴클레오타이드 및 뉴클레오타이드를 포함한다.
- [0110] "모티프"는 안티센스 화합물 내에서 비변형 및 변형된 뉴클레오타이드의 패턴을 의미한다.
- [0111] "천연 당 모이어티"는 DNA (2'-H) 또는 RNA (2'-OH)에서 발견되는 당 모이어티를 의미한다.
- [0112] "천연적으로 발생하는 뉴클레오타이드간 연결"은 3' 내지 5' 포스포디에스테르 연결을 의미한다.
- [0113] "중성 연결 그룹"은 충전되지 않은 연결 그룹을 의미한다. 중성 연결 그룹은 비제한적으로 하기를 포함한다: 포스포트리에스테르, 메틸포스포네이트, MMI ($-\text{CH}_2-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{O}-$), 아마이드-3 ($-\text{CH}_2-\text{C}(=\text{O})-\text{N}(\text{H})-$), 아마이드-4 ($-\text{CH}_2-\text{N}(\text{H})-\text{C}(=\text{O})-$), 로프아세탈 ($-\text{O}-\text{CH}_2-\text{O}-$), 및 티오포로프아세탈 ($-\text{S}-\text{CH}_2-\text{O}-$). 추가의 중성 연결 그룹은 실록산 (디알킬실록산), 카복실레이트 에스테르, 카복사마이드, 설파이드, 설포네이트 에스테르 및 아마이드를 포함하는 비이온성 연결을 포함한다 (참고 예를 들면: Carbohydrate Modifications in Antisense Research; Y.S. Sanghvi and P.D. Cook Eds. ACS Symposium Series 580; Chapters 3 and 4, (pp. 40-65)). 추가의 중성 연결 그룹은 혼합된 N, O, S 및 CH_2 성분 부분을 포함하는 비이온성 연결을 포함한다.
- [0114] "비-상보적 핵염기"는 다른 하나와 수소 결합을 형성하거나 달리 혼성화를 지지하지 않는 핵염기 쌍을 지칭한다.
- [0115] "비-뉴클레오타이드간 중성 연결 그룹"은 2 개의 뉴클레오타이드를 직접적으로 연결하지 않는 중성 연결 그룹을 의미한다. 특정 구현예에서, 비-뉴클레오타이드간 중성 연결 그룹은 뉴클레오타이드를 뉴클레오타이드 이외의 그룹에 연결한다. 특정 구현예에서, 비-뉴클레오타이드간 중성 연결 그룹은 2 개의 그룹을 연결하고, 이것 중 특정 것도 뉴클레오타이드가 아니다.
- [0116] "비-뉴클레오타이드간 인 연결 그룹"은 2 개의 뉴클레오타이드를 직접적으로 연결하지 않는 인 연결 그룹을 의미한다. 특정 구현예에서, 비-뉴클레오타이드간 인 연결 그룹은 뉴클레오타이드를 뉴클레오타이드 이외의 그룹에 연결한다. 특정 구현예에서, 비-뉴클레오타이드간 인 연결 그룹은 2 개의 그룹을 연결하고, 이것 중 특정 것도 뉴클레오타이드가 아니다.
- [0117] "핵산"은 모노머 뉴클레오타이드로 구성된 분자를 지칭한다. 핵산에는 비제한적으로, 리보핵산 (RNA), 데옥시리보핵산 (DNA), 단일-가닥 핵산, 이중-가닥 핵산, 소형 개입성 리보핵산 (siRNA), 및 마이크로RNA (miRNA)가 포함된다.
- [0118] "핵염기"는 또 다른 핵산의 염기와 짝짓기 할 수 있는 헤테로환 모이어티를 의미한다.
- [0119] "핵염기 상보성"은, 또 하나의 핵염기와 염기 짝짓기할 수 있는 핵염기를 지칭한다. 예를 들면, DNA에서, 아데닌 (A)은 티민 (T)에 대해 상보적이다. 예를 들면, RNA에서, 아데닌 (A)은 우라실 (U)에 대해 상보적이다. 특정 구현예에서, 상보적 핵염기는 그것의 표적 핵산의 핵염기와 염기 짝짓기할 수 있는 안티센스 화합물의 핵염기를 지칭한다. 예를 들면, 안티센스 화합물의 특정 위치에 있는 핵염기가 표적 핵산의 특정 위치에서 핵염기와 수소 결합할 수 있다면, 이때 올리고뉴클레오타이드와 표적 핵산 사이의 수소 결합의 위치는 핵염기쌍에서 상보적인 것으로 간주된다.
- [0120] "핵염기 변형 모티프"는 올리고뉴클레오타이드에 따른 핵염기에 대한 변형의 패턴을 의미한다. 달리 지적되지 않으면, 핵염기 변형 모티프는 핵염기 서열에 독립적이다.

- [0121] "핵염기 서열"은 임의의 당, 연결 및/또는 핵염기 변형에 독립적인 인접 핵염기의 순서를 의미한다.
- [0122] "뉴클레오시드"는 당에 연결된 핵염기를 의미한다.
- [0123] "뉴클레오시드 모방체"는 당 또는 당 및 염기, 및 만드시는 아니지만 예를 들어, 모폴리노, 사이클로헥세닐, 사이클로헥실, 테트라하이드로피라닐, 바이사이클로 또는 트리스াই클로 당 모방체, 예를 들어, 비-푸라노스 당 단위를 갖는 뉴클레오시드 모방체와 같은 올리고머 화합물의 하나 또는 그 이상의 위치에서의 연결을 대체시키기 위해서 사용된 이들 구조를 포함한다. 뉴클레오티드 모방체는 뉴클레오시드 및 하나 이상의 위치에서의 연결을, 예를 들어, 펩티드 핵산 또는 모폴리노 ($-N(H)-C(=O)-O-$ 또는 다른 비-포스포디에스테르 연결에 의해서 연결된 모폴리노)와 같은 올리고머 화합물로 대체하기 위하여 사용된 이들 구조를 포함한다. "당 대용물"은 조금 더 넓은 용어 "뉴클레오시드 모방체"와 중복되나, 오직 당 단위 (푸라노스 환)의 대체를 지시하도록 의도된다. 본원에 제공된 테트라하이드로피라닐 환은 당 대용물의 예로 예시되고, 이때 푸라노스 당 그룹은 테트라하이드로피라닐 환계로 대체되었다. "모방체"는 당, 핵염기, 및/또는 뉴클레오시드간 연결을 대신하는 그룹을 지칭한다. 일반적으로, 모방체는 당 또는 당-뉴클레오시드간 연결 조합에서 사용되고, 핵염기는 선택된 표적으로의 혼성화를 위하여 유지된다.
- [0124] "뉴클레오시드 모티프"는 올리고뉴클레오티드 또는 그것의 영역에서 뉴클레오시드 변형의 패턴을 의미한다. 그와 같은 올리고뉴클레오티드의 연결은 변형 또는 비변형될 수 있다. 달리 지적되지 않으면, 뉴클레오시드를 단지 기재하는 본원의 모티프는 뉴클레오시드 모티프인 것으로 의도된다. 따라서, 그와 같은 경우에, 연결은 제한되지 않는다.
- [0125] "뉴클레오티드"는 뉴클레오시드의 당 부분에 공유적으로 연결된 인산기를 갖는 뉴클레오시드를 의미한다.
- [0126] "오프-타겟 효과"는 의도된 표적 핵산 이외의 유전자의 RNA 또는 단백질 발현 조절과 연관된 원하지 않거나 유해한 생물학적 효과를 지칭한다.
- [0127] "올리고머 화합물" 또는 "올리고머"는 적어도 하나의 핵산 분자의 영역에 혼성화할 수 있는, 연결된 모노머 하부단위의 중합체를 의미한다.
- [0128] "올리고뉴클레오티드"는 각각 서로 독립적으로 변형되거나 비변형될 수 있는 연결된 뉴클레오시드의 중합체를 의미한다.
- [0129] "비경구 투여"는 주사 (예컨대 볼러스 주사) 또는 주입을 통한 투여를 의미한다. 비경구 투여에는 피하 투여, 정맥내 투여, 근육내 투여, 동맥내 투여, 복강내 투여, 또는 두개내 투여, 예를 들어, 척추강내 또는 뇌실내 투여가 포함된다.
- [0130] "펩티드"는 아미드 결합에 의해 적어도 두 개의 아미노산을 연결시킴으로써 형성된 분자를 의미한다. 제한 없이, 본원에서 사용된 바와 같이, 펩티드는 폴리펩티드 및 단백질을 지칭한다.
- [0131] "약제학적 제제"는 개체에게 투여하였을 때 치료학적 이점을 제공하는 물질을 의미한다. 예를 들어, 특정 구현예에서, PKK에 표적화된 안티센스 올리고뉴클레오티드가 약제학적 제제이다.
- [0132] "약제학적 조성물"은 개체에게 투여하는데 적합한 물질의 혼합물을 의미한다. 예를 들어, 약제학적 조성물은 안티센스 올리고뉴클레오티드 및 멸균 수용액을 포함할 수 있다.
- [0133] "약제학적으로 허용가능한 유도체"는 본 명세서에 기술된 화합물의 약제학적으로 허용가능한 염, 콘주게이트, 프로드럭 (prodrug) 또는 이성질체를 포괄한다.
- [0134] "약제학적으로 허용가능한 염"은 안티센스 화합물의 생리적으로 및 약제학적으로 허용가능한 염, 즉, 모 올리고뉴클레오티드의 원하는 생물학적 활성을 유지하며, 원치 않는 독물학적 효과를 그에 부여하지 않는 염을 의미한다.
- [0135] "포스포로티오에이트 연결"은 포스포디에스테르 결합이 비-가교화 산소 원자들 중의 하나를 황 원자로 대체시킴으로써 변형된 뉴클레오시드들 사이의 연결을 의미한다. 포스포로티오에이트 연결은 변형된 뉴클레오시드간 연결이다.
- [0136] "인 연결 그룹"은 인 원자를 포함하는 연결 그룹을 의미한다. 인 연결 그룹은 하기 식을 갖는 그룹을 비제한적으로 포함한다:



[0137]

[0138]

상기 식 중에서,

[0139]

R_a 및 R_d 각각은, 독립적으로, O, S, CH_2 , NH, 또는 NJ_1 이고 여기서 J_1 은 C_1-C_6 알킬 또는 치환된 C_1-C_6 알킬이고;

[0140]

R_b 는 O 또는 S이고;

[0141]

R_c 은 OH, SH, C_1-C_6 알킬, 치환된 C_1-C_6 알킬, C_1-C_6 알콕시, 치환된 C_1-C_6 알콕시, 아미노 또는 치환된 아미노이고; 그리고

[0142]

J_1 은 R_b 는 O 또는 S이다.

[0143]

인 연결 그룹은 비제한적으로, 하기를 포함한다: 포스포디에스테르, 포스포로티오에이트, 포스포로디티오에이트, 포스포네이트, 포스포르아미데이트, 포스포로티오아미데이트, 티오알킬포스포네이트, 포스포트리에스테르, 티오노알킬포스포트리에스테르 및 보라노포스페이트.

[0144]

"PKK"는 인간 혈장 프리칼리크레인을 포함하는 포유류 혈장 프리칼리크레인을 의미한다. 혈장 프리칼리크레인 (PKK)은, KLKB1 유전자로부터 암호화된 혈장 칼리크레인 (PK)의 전구체이다.

[0145]

"PKK 연관된 질환"은 임의의 PKK 핵산 또는 이의 발현 생성물과 연관된 임의의 질환을 의미한다. 그러한 질환은 염증성 질환 또는 혈전색전성 질환을 포함할 수 있다. 그러한 질환은 유전성 혈관부종 (HAE)을 포함할 수 있다.

[0146]

"PKK mRNA"는 PKK를 암호화하는 임의의 DNA 서열의 메신저 RNA 생성물을 의미한다.

[0147]

"PKK 핵산"은 PKK를 암호화하는 임의의 핵산을 의미한다. 예를 들어, 특정 구현예에서, PKK 핵산은 PKK를 암호화한 DNA 서열, PKK를 암호화한 DNA (인트론 및 엑손을 포함하는 게놈 DNA를 포함)로부터 전사된 RNA 서열, 및 PKK를 암호화한 mRNA 서열을 포함한다. "PKK mRNA"는 PKK 단백질을 암호화한 mRNA를 의미한다.

[0148]

"PKK 단백질"은 PKK 핵산의 폴리펩티드 발현 생성물을 의미한다.

[0149]

"부분"은 핵산의 인접 (즉, 연결된) 핵염기의 규정된 수를 의미한다. 특정 구현예에서, 구분은 표적 핵산의 인접 핵염기의 규정된 수이다. 특정 구현예에서, 부분은 안티센스 화합물의 인접 핵염기의 규정된 수를 의미한다.

[0150]

"예방하다"는 질환, 장애 또는 상태의 시작 또는 발생을 몇 분으로부터 무한대까지의 기간 동안 지연시키거나 지연에 방지하는 것을 나타낸다.

[0151]

"프로드럭"은 내인성 효소 또는 다른 화합물질 또는 조건의 작용에 의해 신체 또는 그의 세포 내에서 활성 형태 (즉, 약물)로 전환되는 불활성 형태로 제조된 치료제를 의미한다.

[0152]

"예방학적 유효량"은 예방학적 또는 방지적 이점을 동물에게 제공하는 약제학적 제제의 양을 의미한다.

[0153]

"보호기"는 당해 분야의 숙련자에게 알려진 임의의 화합물 또는 보호기를 의미한다. 보호기의 비-제한적인 예는 하기에서 발견될 수 있다: "Protective Groups in Organic Chemistry", T. W. Greene, P. G. M. Wuts, ISBN 0-471-62301-6, John Wiley & Sons, Inc, New York" (이의 전문이 본원에 참조로 인용됨).

[0154]

"영역"은 적어도 하나의 식별가능한 구조, 기능 또는 특성을 갖는 표적 핵산의 부분으로서 정의된다.

[0155]

"리보뉴클레오티드"는 뉴클레오티드의 당 부분의 2' 위치에 히드록시를 갖는 뉴클레오티드를 의미한다. 리보뉴클레오티드는 다양한 치환체 중의 임의의 것에 의해서나 변형될 수 있다.

[0156]

"RISC 기반 안티센스 화합물"은 안티센스 화합물을 의미하고, 여기서 안티센스 화합물의 안티센스 활성의 적어도 일부는 RNA 유도된 사일런싱 복합체 (RISC)가 그 원인이다.

[0157]

"RNase H 기반 안티센스 화합물"이란, 안티센스 화합물을 의미하고, 여기서 안티센스 화합물의 안티센스 활성의 적어도 일부는 표적 핵산에 대한 안티센스 화합물의 혼성화 및 RNase H에 의한 표적 핵산의 차후의 절단이 그 원인이다.

- [0158] "염"은 안티센스 화합물의 생리적으로 및 약제학적으로 허용가능한 염, 즉, 모 올리고뉴클레오타이드의 원하는 생물학적 활성을 유지하며, 원치 않는 독물학적 효과를 그에 부여하지 않는 염을 의미한다.
- [0159] "분절"은 표적 핵산 내의 더 작거나 아-부분의 영역으로서 정의된다.
- [0160] "별개의 영역"은 올리고뉴클레오타이드의 부분을 의미하고, 상기 화학적 변형 또는 임의의 인접하는 구분의 화학적 변형의 모티프는 별개의 영역이 서로 구별되도록 하는 적어도 하나의 차이를 포함한다.
- [0161] "서열 모티프"는 올리고뉴클레오타이드 또는 그것의 부분을 따라 배열된 핵염기의 패턴을 의미한다. 달리 지적되지 않으면, 서열 모티프는 화학적 변형에 독립적이고 따라서 화학적 변형을 포함하지 않으면서 화학적 변형의 임의의 조합을 가질 수 있다.
- [0162] "부작용"은 원하는 효과 이외에 치료에 기인하는 생리적 반응을 의미한다. 특정 구현예에서, 부작용은 비제한적으로 주사 부위 반응, 간 기능 시험 이상, 신장 기능 이상, 간 독성, 신장 독성, 중추신경계 이상, 근병증, 및 권태감을 포함한다.
- [0163] "단일-가닥 올리고뉴클레오타이드"는 상보적 가닥에 혼성화되지 않은 올리고뉴클레오타이드를 의미한다.
- [0164] 본원에서 사용된 바와 같이, "부위"는 표적 핵산 내의 특별한 핵염기 위치로 정의된다.
- [0165] "특이적으로 혼성화할 수 있는" 또는 "특이적으로 혼성화하는"은 특이적 결합이 바람직한 조건 하에서, 즉 생체 내 검정 및 치료학적 치료의 경우에 생리적 조건 하에서, 비-표적 핵산에 대해서는 최소의 효과를 나타내거나 효과를 나타내지 않으면서, 안티센스 올리고뉴클레오타이드 및 표적 핵산 사이에서 원하는 효과를 유도하기에 충분한 정도의 상보성을 갖는 안티센스 화합물을 지칭한다.
- [0166] "엄격한 혼성화 조건" 또는 "엄격한 조건"은 올리고머 화합물이 이의 표적 서열에 혼성화하나, 다른 서열의 최소 수로 혼성화할 것인 조건을 의미한다.
- [0167] "대상체"는 치료 또는 치료법을 위해서 선택된 인간 또는 비-인간 동물을 의미한다.
- [0168] "치환기" 및 "치환기 그룹"은, 명명된 모 화합물의 원자 또는 그룹을 대체하는 원자 또는 그룹을 의미한다. 예를 들면 변형된 뉴클레오시드의 치환그룹은 자연 발생 뉴클레오시드에서 발견된 원자 또는 그룹과 상이한 임의의 원자 또는 그룹이다 (예를 들면, 변형된 2'-치환그룹은 H 또는 OH 이외의 뉴클레오시드의 2'-위치에 있는 임의의 원자 또는 그룹이다). 치환기 그룹은 보호 또는 비보호될 수 있다. 특정 구현예에서, 본 개시내용의 화합물은 모 화합물의 하나 또는 하나 초과와 위치에서 치환기를 갖는다. 치환그룹은 또한, 다른 치환기 그룹으로 추가로 치환될 수 있고 직접적으로 또는 연결 그룹 예컨대 알킬 또는 하이드로카르빌 그룹을 통해 모 화합물에 부착될 수 있다.
- [0169] 마찬가지로, 본원에서 사용된 바와 같이, 화학적 관능 그룹에 관한 "치환기"는 명명된 관능 그룹에 통상적으로 존재하는 원자 또는 원자의 그룹과 상이한 원자 또는 원자의 그룹을 의미한다. 특정 구현예에서, 치환그룹은 관능 그룹의 수소 원자를 대체한다 (예를 들면, 특정 구현예에서, 치환된 메틸 그룹의 치환그룹은 비치환된 메틸 그룹의 수소 원자 중의 하나는 대체하는 수소 이외의 원자 또는 그룹이다). 달리 지적되지 않으면, 치환기로서 잘 받아들이는 그룹은 비제한적으로, 하기를 포함한다: 할로젠, 하이드록실, 알킬, 알케닐, 알킬닐, 아실 (-C(O)-R_{aa}), 카복실 (-C(O)O-R_{aa}), 지방족 그룹, 지환족 그룹, 알콕시, 치환된 옥시 (-O-R_{aa}), 아릴, 아랄킬, 헤테로사이클릭 라디칼, 헤테로아릴, 헤테로아릴알킬, 아미노 (-N(R_{bb})-(R_{cc})), 이미노(=NR_{bb}), 아미도 (-C(O)N-(R_{bb})(R_{cc}) 또는 -N(R_{bb})C(O)R_{aa}), 아지도 (-N₃), 니트로 (-NO₂), 시아노 (-CN), 카바미도 (-OC(O)N(R_{bb})(R_{cc}) 또는 -N(R_{bb})C(O)-OR_{aa}), 우레이도 (-N(R_{bb})C(O)-N(R_{bb})(R_{cc})), 티오우레이도 (-N(R_{bb})C(S)N(R_{bb})-(R_{cc})), 구아니디닐 (-N(R_{bb})-C(=NR_{bb})-N(R_{bb})(R_{cc})), 아미디닐 (-C(=NR_{bb})-N(R_{bb})(R_{cc}) 또는 -N(R_{bb})C(=NR_{bb})(R_{aa})), 티올 (-SR_{bb}), 설피닐 (-S(O)R_{bb}), 설포닐 (-S(O)₂R_{bb}) 및 설포아미디 (-S(O)₂N(R_{bb})(R_{cc}) 또는 -N(R_{bb})-S-(O)₂R_{bb}). 여기서 각각의 R_{aa}, R_{bb} 및 R_{cc}는, 독립적으로, H, 임의로 연결된 화학적 관능 그룹 또는 추가 치환기 그룹이고, 바람직한 목록은 비제한적으로, 알킬, 알케닐, 알킬닐, 지방족, 알콕시, 아실, 아릴, 아랄킬, 헤테로아릴, 지환족, 헤테로사이클릭 및 헤테로아릴알킬을 포함한다. 본원에서 기재된 화합물 내의 선택된 치환그룹은 반복되는 정도로 존재한다.
- [0170] "치환된 당 모이어티"는 자연 발생 당 모이어티가 아닌 푸라노실을 의미한다. 치환된 당 모이어티는 2'-위치, 3'-위치, 5'-위치 및/또는 4'-위치에서 치환기를 포함하는 푸라노실을 비제한적으로 포함한다. 특정 치환된 당

모이어티는 이환식 당 모이어티이다.

- [0171] "당 모이어티"는 뉴클레오시드의 자연 발생 당 모이어티 또는 변형된 당 모이어티를 의미한다.
- [0172] "당 모티프"는 올리고뉴클레오타이드 또는 그것의 영역에서 당 변형의 패턴을 의미한다.
- [0173] "당 대용물"은 푸라노실을 포함하지 않고 뉴클레오시드의 자연 발생 당 모이어티를 대체할 수 있는 구조를 의미하고, 이로써 수득한 뉴클레오시드 하부단위는 함께 연결될 수 있고/거나 다른 뉴클레오시드에 연결되어 상보적 올리고머 화합물을 혼성화할 수 있는 올리고머 화합물을 형성할 수 있다. 그와 같은 구조는 푸라노실보다 상이한 원자를 포함하는 환 (예를 들면, 4, 6, 또는 7-원 환); 비-산소 원자 (예를 들면, 탄소, 황, 또는 질소)에 의한 푸라노실의 산소의 대체; 또는 원자의 수의 변화 및 산소의 대체 둘 모두를 포함한다. 그와 같은 구조는 치환된 당 모이어티를 대신하는 것 (예를 들면, 추가의 치환기를 임의로 포함하는 6-원 탄소환식 이환식 당 대용물)에 상응하는 치환을 또한 포함할 수 있다. 당 대용물은 또한 더 많은 복합 당 대체물질 (예를 들면, 펩티드 핵산의 비-환계)를 포함한다. 당 대용물은 비제한적으로 모폴리노, 사이클로핵세닐 및 사이클로핵시톨을 포함한다.
- [0174] "표적"은 이의 조절을 원하는 단백질을 지칭한다.
- [0175] "표적 유전자"는 표적을 암호화하는 유전자를 지칭한다.
- [0176] "표적화" 또는 "표적화된"은 표적 핵산에 특이적으로 혼성화하여 원하는 효과를 유도할 것인, 안티센스 화합물의 설계 및 선택의 과정을 의미한다.
- [0177] "표적 핵산", "표적 RNA", "표적 RNA 전사체" 및 "핵산 전사체"는 모두 안티센스 화합물에 의해서 표적화될 수 있는 핵산을 나타낸다.
- [0178] "표적 영역"은 하나 이상의 활성 안티센스 화합물이 표적화된 표적 핵산 영역의 부분을 의미한다.
- [0179] "표적 분절"은 안티센스 화합물이 표적화되는 표적 핵산의 뉴클레오타이드의 서열을 의미한다. "5' 표적 부위"는 표적 분절의 5'-최말단 뉴클레오타이드를 의미한다. "3' 표적 부위"는 표적 분절의 3'-최말단 뉴클레오타이드를 의미한다.
- [0180] "말단기"는 올리고뉴클레오타이드의 3' 말단 또는 5' 말단 중 하나 또는 둘 모두에 부착된 1 이상의 원자를 의미한다. 특정 구현예에서 말단그룹은 콘주게이트 그룹이다. 특정 구현예에서, 말단그룹은 1 이상의 말단기 뉴클레오시드를 포함한다.
- [0181] "말단 뉴클레오시드간 연결"은 올리고뉴클레오타이드 또는 그것의 규정된 영역의 마지막 2 개의 뉴클레오시드의 사이의 연결을 의미한다.
- [0182] "치료학적 유효량"은 개체에게 치료학적 이점을 제공하는 약제학적 제제의 양을 의미한다.
- [0183] "치료하다" 또는 "치료하는" 또는 "치료"는 질환 또는 병태의 개선을 달성하기 위해서 조성물을 투여하는 것을 지칭한다.
- [0184] "유형"의 뉴클레오시드 또는 뉴클레오시드에 관한 "변형의 유형"은 뉴클레오시드의 화학적 변형을 의미하고 변형된 및 비변형된 뉴클레오시드를 포함한다. 따라서, 달리 지적되지 않으면, "제 1 형의 변형을 갖는 뉴클레오시드"는 비변형된 뉴클레오시드일 수 있다.
- [0185] "비변형된 핵염기"는 퓨린 염기인 아데닌 (A) 및 구아닌 (G), 및 피리미딘 염기인 티민 (T), 시토신 (C), 및 우라실 (U)을 의미한다.
- [0186] "비변형 뉴클레오타이드"는 천연적으로 발생하는 핵염기, 당 모이어티, 및 뉴클레오시드간 연결로 구성된 뉴클레오타이드를 의미한다. 특정 구현예에서, 비변형 뉴클레오타이드는 RNA 뉴클레오타이드 (즉, β -D-리보뉴클레오시드) 또는 DNA 뉴클레오타이드 (즉, β -D-데옥시리보뉴클레오시드)이다.
- [0187] "업스트림(upstream)"은 핵산의 5' 말단 또는 N-말단으로의 상대적인 방향을 지칭한다.
- [0188] "윌 분절"은 예컨대 개선된 억제 활성, 표적 핵산에 대한 증가된 결합 친화도, 또는 생체내 뉴클라아제에 의한 저하에 대한 내성과 같은 올리고뉴클레오타이드 특성을 부여하기 위하여 변형된 다수의 뉴클레오시드를 의미한다.
- [0189] 특정 구현예

- [0190] 특정 구현예는 인간 혈장 프리칼리크레인 (PKK) mRNA 및 단백질의 발현을 감소시키기 위한 화합물, 조성물, 및 방법을 제공한다. 특정 구현예는 PKK mRNA 및 단백질 수준을 억제시키기 위한 화합물, 조성물, 및 방법을 제공한다.
- [0191] 특정 구현예는 혈장 프리칼리크레인 (PKK) 핵산에 표적화된 안티센스 화합물을 제공한다. 특정 구현예에서, PKK는 하기에 제시된 서열을 갖는다: 유전자은행 수탁 번호 NM_000892.3 (서열번호: 1과 같이 본원에 포함), 유전자은행 수탁 번호 DC412984.1 (서열번호: 2와 같이 본원에 포함), 유전자은행 수탁 번호 CN265612.1 (서열번호: 3과 같이 본원에 포함), 유전자은행 수탁 번호 AK297672.1 (서열번호: 4와 같이 본원에 포함), 유전자은행 수탁 번호 DC413312.1 (서열번호: 5와 같이 본원에 포함), 유전자은행 수탁 번호 AV688858.2 (서열번호: 6과 같이 본원에 포함), 유전자은행 수탁 번호 CD652077.1 (서열번호: 7과 같이 본원에 포함), 유전자은행 수탁 번호 BC143911.1 (서열번호: 8과 같이 본원에 포함), 유전자은행 수탁 번호 CB162532.1 (서열번호: 9와 같이 본원에 포함), 핵염기 111693001 내지 111730000로부터 절단된 유전자 은행 수탁 번호 NT_016354.19 (본원에서 서열번호: 10과 같이 포함), 유전자은행 수탁 번호 NM_008455.2 (서열번호: 11과 같이 본원에 포함), 유전자은행 수탁 번호 BB598673.1 (서열번호: 12와 같이 본원에 포함), 핵염기 6114001 내지 6144000로부터 절단된 유전자 은행 수탁 번호 NT_039460.7 (본원에서 서열 번호: 13과 같이 포함), 유전자은행 수탁 번호 NM_012725.2 (서열번호: 14와 같이 본원에 포함), 핵염기 10952001 내지 10982000로부터 절단된 유전자 은행 수탁 번호 NW_047473.1 (본원에서 서열 번호: 15와 같이 포함), 유전자은행 수탁 번호 XM_002804276.1 (서열번호: 17과 같이 본원에 포함), 및 핵염기 2358000 내지 2391000로부터 절단된 유전자 은행 수탁 번호 NW_001118167.1 (본원에서 서열 번호: 18과 같이 포함).
- [0192] 특정 구현예는 변형된 올리고뉴클레오타이드 및 콘주게이트 그룹을 포함하는 화합물을 제공하고, 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드는 12 내지 30 개의 연결된 뉴클레오타이드로 이루어지고 서열번호: 30-2226의 임의의 핵염기 서열 중 임의의 것의 적어도 8, 적어도 9, 적어도 10, 적어도 11, 적어도 12, 적어도 13, 적어도 14, 적어도 15, 적어도 16, 적어도 17, 적어도 18, 적어도 19, 또는 적어도 20 개의 인접 핵염기를 포함하는 핵염기 서열을 갖는다.
- [0193] 특정 구현예는 변형된 올리고뉴클레오타이드 및 콘주게이트 그룹을 포함하는 화합물을 제공하고, 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드는 12 내지 30 개의 연결된 뉴클레오타이드로 이루어지고 서열번호: 570의 임의의 핵염기 서열의 적어도 8, 적어도 9, 적어도 10, 적어도 11, 적어도 12, 적어도 13, 적어도 14, 적어도 15, 적어도 16, 적어도 17, 적어도 18, 적어도 19, 또는 적어도 20 개의 인접 핵염기를 포함하는 핵염기 서열을 갖는다.
- [0194] 특정 구현예는 변형된 올리고뉴클레오타이드 및 콘주게이트 그룹을 포함하는 화합물을 제공하고, 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드는 12 내지 30 개의 연결된 뉴클레오타이드로 이루어지고 서열번호: 705의 임의의 핵염기 서열의 적어도 8, 적어도 9, 적어도 10, 적어도 11, 적어도 12, 적어도 13, 적어도 14, 적어도 15, 적어도 16, 적어도 17, 적어도 18, 적어도 19, 또는 적어도 20 개의 인접 핵염기를 포함하는 핵염기 서열을 갖는다.
- [0195] 특정 구현예는 변형된 올리고뉴클레오타이드 및 콘주게이트 그룹을 포함하는 화합물을 제공하고, 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드는 12 내지 30 개의 연결된 뉴클레오타이드로 이루어지고 서열번호: 1666의 임의의 핵염기 서열의 적어도 8, 적어도 9, 적어도 10, 적어도 11, 적어도 12, 적어도 13, 적어도 14, 적어도 15, 또는 적어도 16 개의 인접 핵염기를 포함하는 핵염기 서열을 갖는다.
- [0196] 특정 구현예는 변형된 올리고뉴클레오타이드 및 콘주게이트 그룹을 포함하는 화합물을 제공하고, 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드는 20개의 연결된 뉴클레오타이드로 이루어지고 서열번호: 570의 핵염기 서열을 갖는다.
- [0197] 특정 구현예는 변형된 올리고뉴클레오타이드 및 콘주게이트 그룹을 포함하는 화합물을 제공하고, 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드는 20개의 연결된 뉴클레오타이드로 이루어지고 서열번호: 705의 핵염기 서열을 갖는다.
- [0198] 특정 구현예는 변형된 올리고뉴클레오타이드 및 콘주게이트 그룹을 포함하는 화합물을 제공하고, 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드는 16개의 연결된 뉴클레오타이드로 이루어지고 서열번호: 1666의 핵염기 서열을 갖는다.
- [0199] 특정 구현예는 변형된 올리고뉴클레오타이드 및 콘주게이트 그룹을 포함하는 화합물을 제공하고, 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드는 12 내지 30 개의 연결된 뉴클레오타이드로 이루어지고 하기 서열번호의 임의의 핵염기 서열 중 임의의 것의 적어도 8, 적어도 9, 적어도 10, 적어도 11, 적어도 12, 적어도 13, 적어도 14, 적어도 15, 또는 적어도 16 개의 인접 핵염기를 포함하는 핵염기 서열을 갖는다: 62, 72, 103, 213, 312, 334-339, 344, 345, 346, 348, 349, 351, 369, 373, 381, 382, 383, 385, 387-391, 399, 411, 412, 414, 416, 444, 446-449, 452, 453, 454, 459, 460, 462-472, 473, 476, 477, 479, 480, 481, 484, 489-495, 497, 500, 504, 506, 522,

526, 535, 558, 559, 560, 564, 566, 568-571, 573, 576, 577, 578, 587, 595, 597-604, 607, 608, 610, 613, 615, 618, 619, 622, 623, 624, 633, 635, 636, 638, 639, 640, 642, 643, 645, 652, 655-658, 660, 661, 670, 674-679, 684, 685, 698, 704, 705, 707, 708, 713, 716, 717, 728, 734, 736, 767, 768, 776, 797, 798, 800, 802, 810, 815, 876, 880, 882, 883, 886, 891, 901-905, 908-911, 922, 923, 924, 931, 942, 950-957, 972, 974, 978, 979, 980, 987-991, 1005, 1017-1021, 1025, 1026, 1029, 1030, 1032, 1034, 1035, 1037, 1040, 1041, 1045, 1046, 1051, 1054, 1059, 1060, 1061, 1064, 1065, 1066, 1075, 1076, 1087, 1089, 1111, 1114, 1116, 1117, 1125, 1133, 1153, 1169, 1177, 1181, 1182, 1187, 1196, 1200, 1214, 1222, 1267, 1276, 1277, 1285, 1286, 1289, 1290, 1291, 1303, 1367, 1389, 1393, 1398-1401, 1406, 1407, 1408, 1411, 1419-1422, 1426, 1430, 1431, 1432, 1434-1437, 1439, 1440, 1443, 1444, 1451, 1452, 1471, 1516, 1527, 1535, 1537, 1538, 1539, 1540, 1541, 1563, 1564, 1567, 1568, 1616, 1617, 1623, 1629, 1664, 1665, 1666, 1679, 1687, 1734, 1804, 1876, 1886, 1915, 2008, 2018, 2100, 2101, 2115, 및 2116. 특정 구현예에서, 변형된 올리고뉴클레오타이드는 적어도 80% PKK mRNA 억제를 달성한다.

[0200] 특정 구현예는 변형된 올리고뉴클레오타이드 및 콘주게이트 그룹을 포함하는 화합물을 제공하고, 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드는 12 내지 30 개의 연결된 뉴클레오타이드로 이루어지고 하기 서열번호의 임의의 핵염기 서열 중 임의의 것의 적어도 8, 적어도 9, 적어도 10, 적어도 11, 적어도 12, 적어도 13, 적어도 14, 적어도 15, 또는 적어도 16 개의 인접 핵염기를 포함하는 핵염기 서열을 갖는다: 62, 72, 103, 213, 334-339, 344, 346, 348, 349, 351, 381, 382, 383, 385, 389, 390, 391, 446, 448, 452, 453, 454, 466-473, 476, 481, 484, 491, 492, 494, 495, 497, 504, 526, 558, 559, 566, 568-571, 576, 578, 587, 595, 597, 598, 600-604, 607, 610, 613, 618, 619, 624, 635, 638, 639, 645, 652, 656, 657, 658, 660, 674, 675, 676, 684, 698, 704, 705, 707, 713, 716, 768, 876, 880, 901-905, 908-911, 922, 923, 924, 931, 942, 951, 954-957, 972, 974, 978, 979, 987, 988, 990, 1005, 1019, 1020, 1021, 1025, 1032, 1037, 1040, 1041, 1045, 1054, 1059, 1060, 1061, 1064, 1065, 1066, 1075, 1111, 1116, 1117, 1125, 1133, 1153, 1169, 1177, 1200, 1222, 1267, 1285, 1290, 1291, 1303, 1367, 1398, 1399, 1401, 1406, 1408, 1411, 1419, 1420, 1421, 1426, 1430, 1431, 1432, 1434-1437, 1440, 1443, 1444, 1451, 1537-1540, 1563, 1616, 1679, 1687, 1804, 2008, 2101, 2115, 및 2116. 특정 구현예에서, 변형된 올리고뉴클레오타이드는 적어도 85%의 PKK mRNA 억제를 달성한다.

[0201] 특정 구현예는 변형된 올리고뉴클레오타이드 및 콘주게이트 그룹을 포함하는 화합물을 제공하고, 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드는 12 내지 30 개의 연결된 뉴클레오타이드로 이루어지고 하기 서열번호의 임의의 핵염기 서열 중 임의의 것의 적어도 8, 적어도 9, 적어도 10, 적어도 11, 적어도 12, 적어도 13, 적어도 14, 적어도 15, 또는 적어도 16 개의 인접 핵염기를 포함하는 핵염기 서열을 갖는다: 334, 346, 351, 382, 390, 391, 446, 448, 452, 453, 468, 469, 470, 471, 472, 476, 481, 491, 495, 504, 558, 566, 568, 570, 571, 578, 587, 597, 598, 600, 604, 613, 635, 638, 645, 656, 658, 660, 674, 675, 684, 704, 705, 880, 901-905, 909, 922, 931, 951, 954, 956, 990, 1005, 1020, 1032, 1037, 1040, 1041, 1045, 1054, 1075, 1111, 1125, 1133, 1153, 1200, 1267, 1291, 1303, 1398, 1399, 1401, 1406, 1420, 1426, 1430, 1431, 1434, 1435, 1436, 1440, 1443, 1451, 1537-1540, 2115, 및 2116. 특정 구현예에서, 변형된 올리고뉴클레오타이드는 적어도 90% PKK mRNA 억제를 달성한다.

[0202] 특정 구현예는 변형된 올리고뉴클레오타이드 및 콘주게이트 그룹을 포함하는 화합물을 제공하고, 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드는 12 내지 30 개의 연결된 뉴클레오타이드로 이루어지고 하기 서열번호의 임의의 핵염기 서열 중 임의의 것의 적어도 8, 적어도 9, 적어도 10, 적어도 11, 적어도 12, 적어도 13, 적어도 14, 적어도 15, 또는 적어도 16 개의 인접 핵염기를 포함하는 핵염기 서열을 갖는다: 334, 391, 448, 468, 469, 568, 570, 598, 635, 658, 674, 684, 705, 901, 903, 904, 922, 990, 1267, 1291, 1420, 1430, 1431, 1434, 1435, 1436, 1537, 1538, 및 1540. 특정 구현예에서, 변형된 올리고뉴클레오타이드는 적어도 95% PKK mRNA 억제를 달성한다.

[0203] 특정 구현예는 변형된 올리고뉴클레오타이드 및 콘주게이트 그룹을 포함하는 화합물을 제공하고, 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드는 12 내지 30 개의 연결된 뉴클레오타이드로 이루어지고 하기 서열번호의 임의의 핵염기 서열 중 임의의 것의 적어도 8, 적어도 9, 적어도 10, 적어도 11, 적어도 12, 적어도 13, 적어도 14, 적어도 15, 또는 적어도 16 개의 인접 핵염기를 포함하는 핵염기 서열을 갖는다: 334, 338, 346, 349, 382, 383, 390, 448, 452, 453, 454, 495, 526, 559, 570, 587, 598, 635, 660, 705, 901, 903, 904, 908, 923, 931, 955, 974, 988, 990, 1020, 1039, 1040, 1111, 1117, 1267, 1291, 1349, 1352, 1367, 1389, 1393, 1399, 1401, 1408, 1411, 1426, 1499, 1516, 1535, 1544, 1548, 1563, 1564, 1568, 1569, 1598, 1616, 1617, 1623, 1624, 1643, 1661, 1665, 1666, 1673, 1679, 1695, 1720, 1804, 1817, 1876, 1881, 1886, 1940, 1947, 2008, 2018, 2019,

2031, 2044, 2100, 2101, 2115, 및 2116. 특정 구현예에서, 변형된 올리고뉴클레오타이드는 0.4 이하의 IC_{50} (μ M)를 달성한다.

[0204] 특정 구현예는 변형된 올리고뉴클레오타이드 및 콘주게이트 그룹을 포함하는 화합물을 제공하고, 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드는 12 내지 30 개의 연결된 뉴클레오타이드로 이루어지고 하기 서열번호의 임의의 핵염기 서열 중 임의의 것의 적어도 8, 적어도 9, 적어도 10, 적어도 11, 적어도 12, 적어도 13, 적어도 14, 적어도 15, 또는 적어도 16 개의 인접 핵염기를 포함하는 핵염기 서열을 갖는다: 334, 346, 349, 382, 453, 454, 495, 526, 570, 587, 598, 635, 660, 901, 903, 904, 931, 955, 990, 1020, 1111, 1267, 1349, 1352, 1367, 1389, 1399, 1408, 1411, 1426, 1516, 1535, 1544, 1548, 1563, 1564, 1568, 1569, 1598, 1616, 1617, 1623, 1643, 1661, 1665, 1666, 1673, 1695, 1804, 1876, 1881, 2019, 2044, 2100, 2101, 2115, 및 2116. 특정 구현예에서, 변형된 올리고뉴클레오타이드는 0.3 이하의 IC_{50} (μ M)를 달성한다.

[0205] 특정 구현예는 변형된 올리고뉴클레오타이드 및 콘주게이트 그룹을 포함하는 화합물을 제공하고, 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드는 12 내지 30 개의 연결된 뉴클레오타이드로 이루어지고 하기 서열번호의 임의의 핵염기 서열 중 임의의 것의 적어도 8, 적어도 9, 적어도 10, 적어도 11, 적어도 12, 적어도 13, 적어도 14, 적어도 15, 또는 적어도 16 개의 인접 핵염기를 포함하는 핵염기 서열을 갖는다: 334, 346, 382, 453, 495, 526, 570, 587, 598, 635, 901, 904, 931, 955, 1020, 1111, 1349, 1352, 1389, 1426, 1516, 1535, 1544, 1548, 1564, 1569, 1598, 1616, 1617, 1665, 1666, 1804, 1876, 1881, 2019, 2044, 2101, 및 2116. 특정 구현예에서, 변형된 올리고뉴클레오타이드는 0.2 이하의 IC_{50} (μ M)를 달성한다.

[0206] 특정 구현예는 변형된 올리고뉴클레오타이드 및 콘주게이트 그룹을 포함하는 화합물을 제공하고, 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드는 12 내지 30 개의 연결된 뉴클레오타이드로 이루어지고 하기 서열번호의 임의의 핵염기 서열 중 임의의 것의 적어도 8, 적어도 9, 적어도 10, 적어도 11, 적어도 12, 적어도 13, 적어도 14, 적어도 15, 또는 적어도 16 개의 인접 핵염기를 포함하는 핵염기 서열을 갖는다: 334, 495, 587, 598, 635, 1349, 1352, 1389, 1516, 1544, 1548, 1569, 1598, 1617, 1665, 1666, 1804, 1881, 및 2019. 특정 구현예에서, 변형된 올리고뉴클레오타이드는 0.2 미만의 IC_{50} (μ M)를 달성한다.

[0207] 특정 구현예는 변형된 올리고뉴클레오타이드 및 콘주게이트 그룹을 포함하는 화합물을 제공하고, 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드는 12 내지 30 개의 연결된 뉴클레오타이드로 이루어지고, 서열 번호: 10의 핵염기 27427-27466와 동등한 길이 부분에 상보적인 적어도 8개, 적어도 9개, 적어도 10개, 적어도 11개, 적어도 12개, 적어도 13개, 적어도 14개, 적어도 15개, 적어도 16개, 적어도 17개, 적어도 18개, 적어도 19개, 또는 적어도 20개의 인접 핵염기를 포함하는 핵염기 서열을 포함한다.

[0208] 특정 구현예는 변형된 올리고뉴클레오타이드 및 콘주게이트 그룹을 포함하는 화합물을 제공하고, 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드는 12 내지 30 개의 연결된 뉴클레오타이드로 이루어지고, 서열 번호: 10의 핵염기 33183-33242와 동등한 길이 부분에 상보적인 적어도 8개, 적어도 9개, 적어도 10개, 적어도 11개, 적어도 12개, 적어도 13개, 적어도 14개, 적어도 15개, 적어도 16개, 적어도 17개, 적어도 18개, 적어도 19개, 또는 적어도 20개의 인접 핵염기를 포함하는 핵염기 서열을 포함한다.

[0209] 특정 구현예는 변형된 올리고뉴클레오타이드 및 콘주게이트 그룹을 포함하는 화합물을 제공하고, 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드는 12 내지 30 개의 연결된 뉴클레오타이드로 이루어지고, 서열 번호: 10의 핵염기 30570-30610와 동등한 길이 부분에 상보적인 적어도 8개, 적어도 9개, 적어도 10개, 적어도 11개, 적어도 12개, 적어도 13개, 적어도 14개, 적어도 15개, 적어도 16개, 적어도 17개, 적어도 18개, 적어도 19개, 또는 적어도 20개의 인접 핵염기를 포함하는 핵염기 서열을 포함한다.

[0210] 특정 구현예는 변형된 올리고뉴클레오타이드 및 콘주게이트 그룹을 포함하는 화합물을 제공하고, 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드는 12 내지 30 개의 연결된 뉴클레오타이드로 이루어지고, 서열 번호: 10의 핵염기 27427-27520와 동등한 길이 부분에 상보적인 적어도 8개, 적어도 9개, 적어도 10개, 적어도 11개, 적어도 12개, 적어도 13개, 적어도 14개, 적어도 15개, 적어도 16개, 적어도 17개, 적어도 18개, 적어도 19개, 또는 적어도 20개의 인접 핵염기를 포함하는 핵염기 서열을 포함한다.

[0211] 특정 구현예는 변형된 올리고뉴클레오타이드 및 콘주게이트 그룹을 포함하는 화합물을 제공하고, 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드는 12 내지 30 개의 연결된 뉴클레오타이드로 이루어지고, 서열 번호: 10의 핵염기 33085-33247와 동등한 길이 부분에 상보적인 적어도 8개, 적어도 9개, 적어도 10개, 적어도 11개, 적어도 12개, 적어도

도 13개, 적어도 14개, 적어도 15개, 적어도 16개, 적어도 17개, 적어도 18개, 적어도 19개, 또는 적어도 20개의 인접 핵염기를 포함하는 핵염기 서열을 포함한다.

[0212] 특정 구현예는 변형된 올리고뉴클레오타이드 및 콘주게이트 그룹을 포함하는 화합물을 제공하고, 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드는 12 내지 30 개의 연결된 뉴클레오타이드로 이루어지고, 서열 번호: 10의 핵염기 30475-30639와 동등한 길이 부분에 상보적인 적어도 8개, 적어도 9개, 적어도 10개, 적어도 11개, 적어도 12개, 적어도 13개, 적어도 14개, 적어도 15개, 적어도 16개, 적어도 17개, 적어도 18개, 적어도 19개, 또는 적어도 20개의 인접 핵염기를 포함하는 핵염기 서열을 포함한다.

[0213] 특정 구현예는 변형된 올리고뉴클레오타이드 및 콘주게이트 그룹을 포함하는 화합물을 제공하고, 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드는 12 내지 30 개의 연결된 뉴클레오타이드로 이루어지고, 서열 번호: 10의 핵염기 27362-27524와 동등한 길이 부분에 상보적인 적어도 8개, 적어도 9개, 적어도 10개, 적어도 11개, 적어도 12개, 적어도 13개, 적어도 14개, 적어도 15개, 적어도 16개, 적어도 17개, 적어도 18개, 적어도 19개, 또는 적어도 20개의 인접 핵염기를 포함하는 핵염기 서열을 포함한다.

[0214] 특정 구현예는 변형된 올리고뉴클레오타이드 및 콘주게이트 그룹을 포함하는 화합물을 제공하고, 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드는 12 내지 30 개의 연결된 뉴클레오타이드로 이루어지고, 서열 번호: 10의 핵염기 33101-33240와 동등한 길이 부분에 상보적인 적어도 8개, 적어도 9개, 적어도 10개, 적어도 11개, 적어도 12개, 적어도 13개, 적어도 14개, 적어도 15개, 적어도 16개, 적어도 17개, 적어도 18개, 적어도 19개, 또는 적어도 20개의 인접 핵염기를 포함하는 핵염기 서열을 포함한다.

[0215] 특정 구현예는 변형된 올리고뉴클레오타이드 및 콘주게이트 그룹을 포함하는 화합물을 제공하고, 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드는 12 내지 30 개의 연결된 뉴클레오타이드로 이루어지고, 서열 번호: 10의 핵염기 30463-30638와 동등한 길이 부분에 상보적인 적어도 8개, 적어도 9개, 적어도 10개, 적어도 11개, 적어도 12개, 적어도 13개, 적어도 14개, 적어도 15개, 적어도 16개, 적어도 17개, 적어도 18개, 적어도 19개, 또는 적어도 20개의 인접 핵염기를 포함하는 핵염기 서열을 포함한다.

[0216] 특정 구현예는 변형된 올리고뉴클레오타이드 및 콘주게이트 그룹을 포함하는 화합물을 제공하고, 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드는 12 내지 30 개의 연결된 뉴클레오타이드로 이루어지고, PKK 핵산의 엑손 9, 엑손 12, 또는 엑손 14와 동등한 길이 부분에 상보적인 적어도 8개, 적어도 9개, 적어도 10개, 적어도 11개, 적어도 12개, 적어도 13개, 적어도 14개, 적어도 15개, 적어도 16개, 적어도 17개, 적어도 18개, 적어도 19개, 또는 적어도 20개의 인접 핵염기를 포함하는 핵염기 서열을 포함한다.

[0217] 특정 구현예에서, 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드의 핵염기 서열은 서열 번호: 10에 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 상보적이다.

[0218] 특정 구현예에서, 화합물은 단일가닥 변형된 올리고뉴클레오타이드로 이루어진다.

[0219] 특정 구현예에서, 변형된 올리고뉴클레오타이드의 적어도 하나의 뉴클레오타이드간 연결은 변형된 뉴클레오타이드간 연결이다.

[0220] 특정 구현예에서, 변형된 올리고뉴클레오타이드의 적어도 하나의 뉴클레오타이드간 연결은 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결이다.

[0221] 특정 구현예에서, 변형된 올리고뉴클레오타이드는 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 또는 7개의 포스포디에스테르 뉴클레오타이드간 연결을 포함한다.

[0222] 특정 구현예에서, 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드의 각각의 뉴클레오타이드간 연결은 포스포디에스테르 뉴클레오타이드간 연결 및 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결로부터 선택된다.

[0223] 특정 구현예에서, 변형된 올리고뉴클레오타이드의 각각의 뉴클레오타이드간 연결은 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결이다.

[0224] 특정 구현예에서, 상기 변형된 올리고뉴클레오타이드의 적어도 하나의 뉴클레오타이드는 변형된 핵염기를 포함한다.

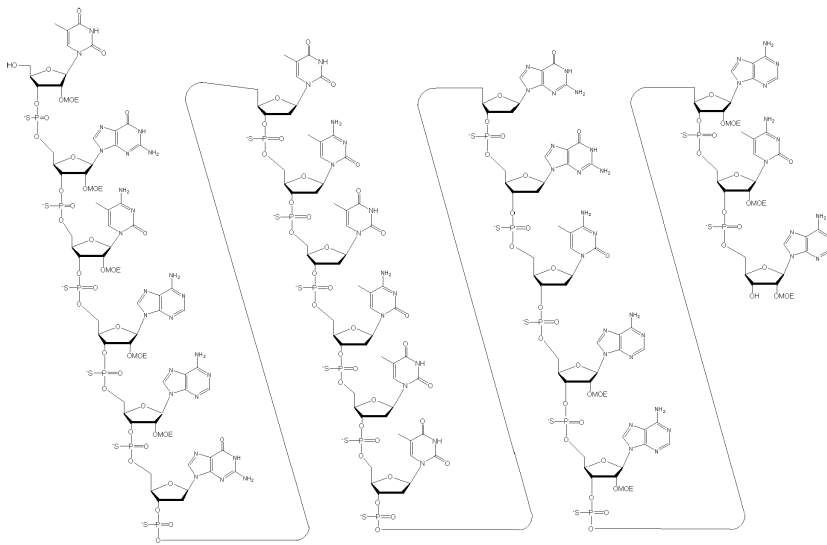
[0225] 특정 구현예에서, 변형된 핵염기는 5-메틸시토신이다.

- [0226] 특정 구현예에서, 변형된 올리고뉴클레오타이드는 적어도 하나의 변형된 당을 포함한다.
- [0227] 특정 구현예에서, 변형된 당은 2' 변형된 당, BNA, 또는 THP이다.
- [0228] 특정 구현예에서, 변형된 당은 2'-O-메톡시에틸, 2'-O-메틸, 제한된 에틸, LNA, 또는 3'-플루오로-HNA 중 임의의 것이다.
- [0229] 특정 구현예에서, 화합물은 적어도 하나의 2'-O-메톡시에틸 뉴클레오타이드, 2'-O-메틸 뉴클레오타이드, 제한된 에틸 뉴클레오타이드, LNA 뉴클레오타이드, 또는 3'-플루오로-HNA 뉴클레오타이드를 포함한다.
- [0230] 특정 구현예에서, 변형된 올리고뉴클레오타이드는:
- [0231] 10개의 연결된 데옥시뉴클레오타이드로 이루어진 갭 분절;
- [0232] 5개의 연결된 뉴클레오타이드로 이루어진 5' 윙 분절; 및
- [0233] 5개의 연결된 뉴클레오타이드로 이루어진 3' 윙 분절을 포함하고;
- [0234] 여기서 상기 갭 분절은 상기 5' 윙 분절과 상기 3' 윙 분절 사이에 배치되고, 그리고 각각의 윙 분절의 각 뉴클레오타이드는 변형된 당을 포함한다.
- [0235] 특정 구현예에서, 변형된 올리고뉴클레오타이드는 20 개의 연결된 뉴클레오타이드로 이루어진다.
- [0236] 특정 구현예에서, 변형된 올리고뉴클레오타이드는 19 개의 연결된 뉴클레오타이드로 이루어진다.
- [0237] 특정 구현예에서, 변형된 올리고뉴클레오타이드는 18 개의 연결된 뉴클레오타이드로 이루어진다.
- [0238] 특정 구현예는 하기 화학식에 따른 변형된 올리고뉴클레오타이드 및 콘주게이트 그룹으로 구성된, 화합물을 제공한다: Tes Ges mCes Aes Aes Gds Tds mCds Tds mCds Tds Tds Gds Gds mCds Aes Aes Aes mCes Ae; 여기서
- [0239] A는 아데닌이고,
- [0240] mC는 5-메틸시토신이며,
- [0241] G는 구아닌이고,
- [0242] T는 티민이며,
- [0243] e는 2'-O-메톡시에틸 변형된 뉴클레오타이드이고,
- [0244] d는 2'-데옥시뉴클레오타이드이며,
- [0245] s는 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결이다.
- [0246] 특정 구현예는 하기 화학식에 따른 콘주게이트 그룹 및 변형된 올리고뉴클레오타이드로 구성된 화합물을 제공한다: mCes mCes mCes mCes mCes Tds Tds mCds Tds Tds Tds Ads Tds Ads Gds mCes mCes Aes Ges mCe;
- [0247] A는 아데닌이고,
- [0248] mC는 5-메틸시토신이며,
- [0249] G는 구아닌이고,
- [0250] T는 티민이며,
- [0251] e는 2'-O-메톡시에틸 변형된 뉴클레오타이드이고,
- [0252] d는 2'-데옥시뉴클레오타이드이며,
- [0253] s는 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결이다.
- [0254] 특정 구현예는 하기 화학식에 따른 콘주게이트 그룹 및 변형된 올리고뉴클레오타이드로 구성된 화합물을 제공한다: mCes Ges Aks Tds Ads Tds mCds Ads Tds Gds Ads Tds Tds mCks mCks mCe;
- [0255] A는 아데닌이고,
- [0256] mC는 5-메틸시토신이며,

- [0257] G는 구아닌이고,
 [0258] T는 티민이며,
 [0259] e는 2'-O-메톡시에틸 변형된 뉴클레오시드이고,
 [0260] K는 cEt 변형된 뉴클레오시드이고,
 [0261] d는 2'-데옥시뉴클레오시드이며,
 [0262] s는 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결이다.

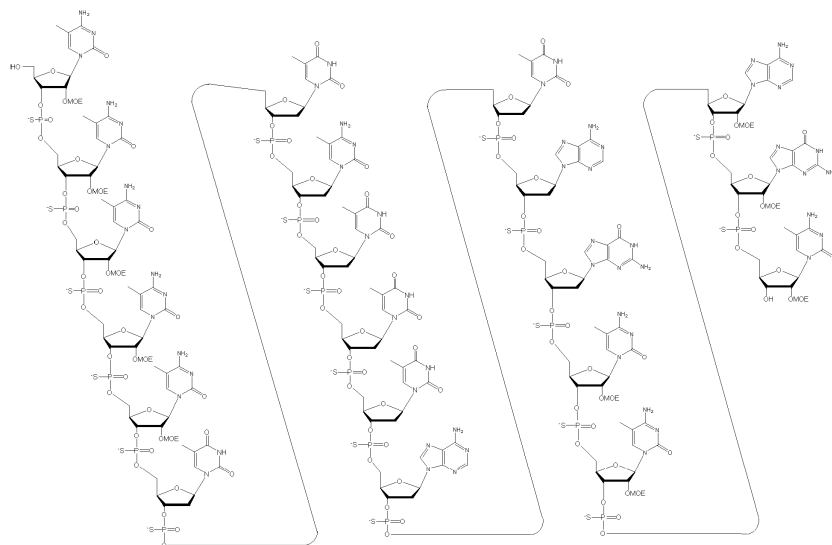
[0263] 특정 구현예에서, 콘주게이트 그룹은 변형된 올리고뉴클레오타이드의 5' 말단에서 변형된 올리고뉴클레오타이드에 연결된다. 특정 구현예에서, 콘주게이트 그룹은 변형된 올리고뉴클레오타이드의 3' 말단에서 변형된 올리고뉴클레오타이드에 연결된다. 특정 구현예에서, 콘주게이트 그룹은 적어도 1개의 *N*-아세틸갈락토사민 (GalNAc), 적어도 2개의 *N*-아세틸갈락토사민 (GalNAcs), 또는 적어도 3개의 *N*-아세틸갈락토사민 (GalNAcs)를 포함한다.

[0264] 특정 구현예는 하기 화학식에 따른 화합물을 제공한다:



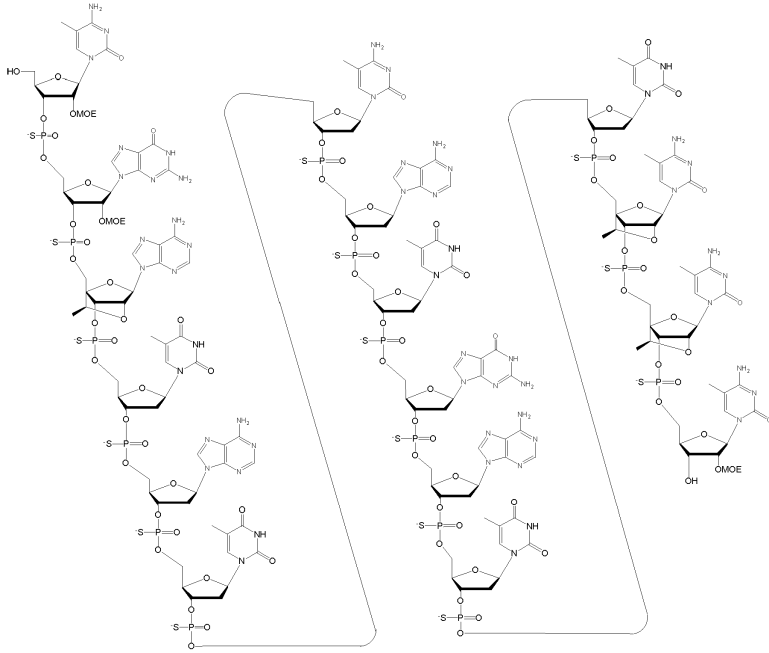
[0265]

[0266] 특정 구현예는 하기 화학식에 따른 화합물을 제공한다:



[0267]

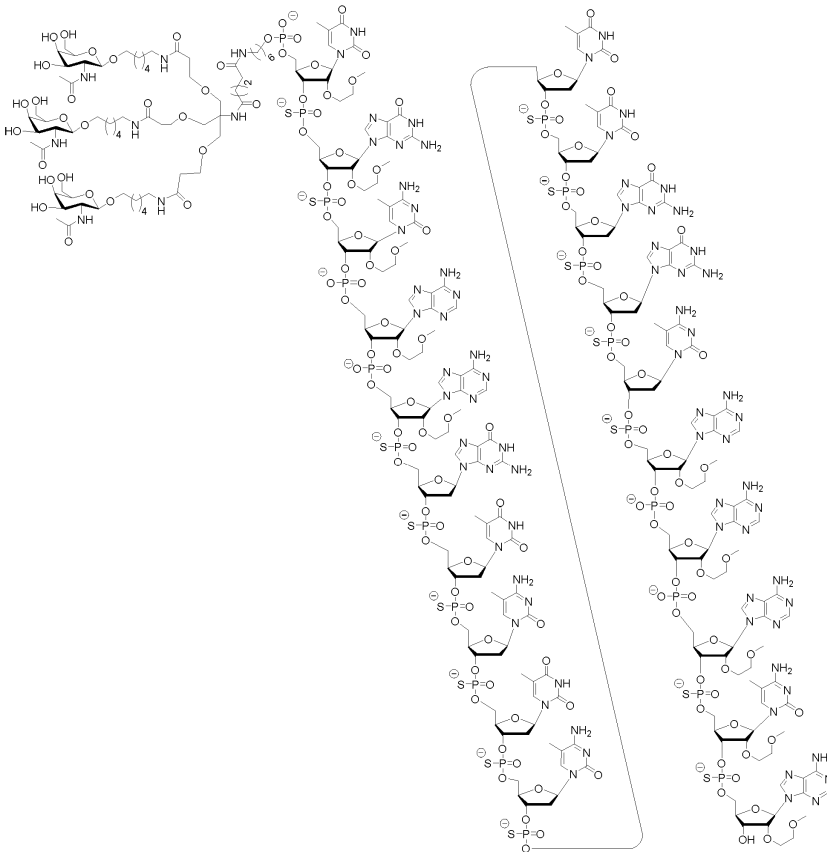
[0268] 특정 구현예는 하기 화학식에 따른 화합물을 제공한다:



[0269]

[0270] 특정 구현예에서, 본 화합물은 본원에서 기술된 임의의 올리고뉴클레오타이드 및 콘주게이트 그룹을 포함하거나 이로 구성된다. 특정 구현예에서, 화합물은, 하기를 포함하거나 이로 이루어질 수 있다: 12 내지 30 개의 연결된 뉴클레오타이드로 이루어지고, 서열 번호: 30-2226의 핵염기 서열 중 임의의 것의 적어도 8개, 적어도 9개, 적어도 10개, 적어도 11개, 적어도 12개, 적어도 13개, 적어도 14개, 적어도 15개, 적어도 16개, 적어도 17개, 적어도 18개, 적어도 19개, 또는 적어도 20개의 인접 핵염기를 포함하는 핵염기 서열을 갖는 변형된 올리고뉴클레오타이드 및 콘주게이트 그룹.

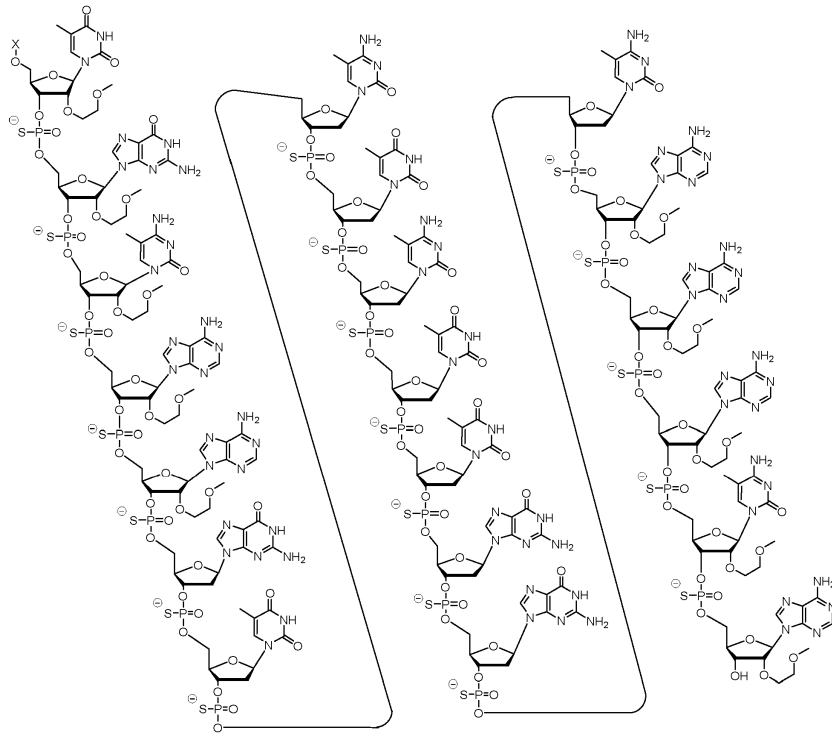
[0271] 특정 구현예에서, 아래 화학 구조를 갖는 화합물은 5'-X를 갖는 ISIS 721744을 포함하거나 그것으로 이루어진다, 여기서 X는 본원에 기재된 바와 같은 GalNAc를 포함하는 콘주게이트 그룹이다:



[0272]

[0273]

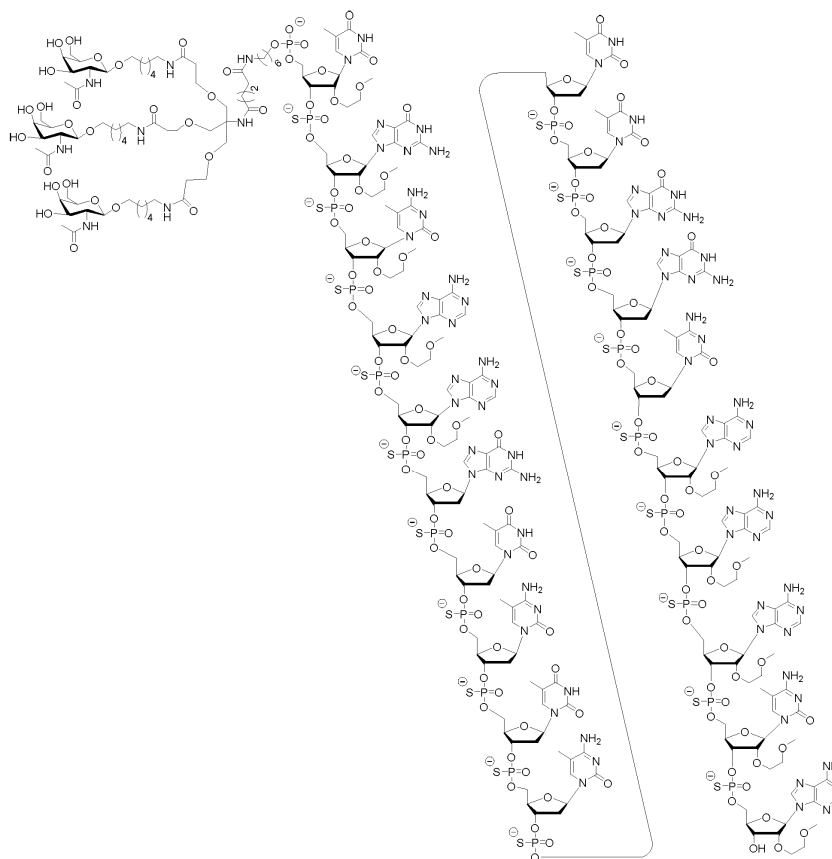
특정 구현예에서, 아래 화학 구조를 갖는 화합물은 5'-X를 갖는 ISIS 546254을 포함하거나 그것으로 이루어진다, 여기서 X는 본원에 기재된 바와 같은 GalNAc를 포함하는 콘주게이트 그룹이다:



[0274]

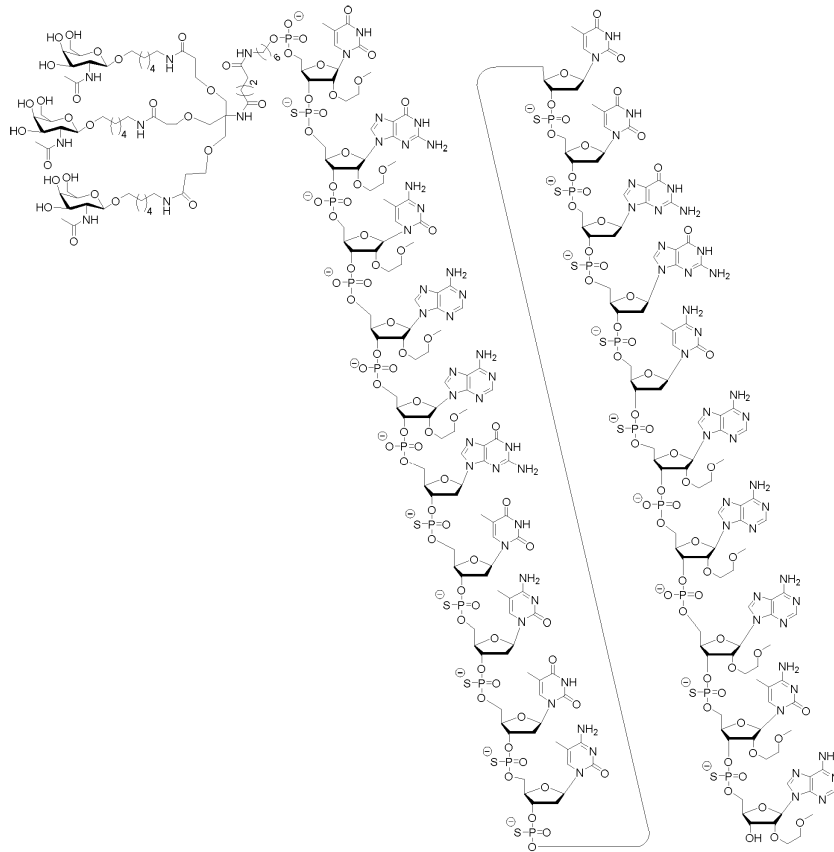
[0275]

특정 구현예는 하기 화학식을 포함하거나 이로 구성된 화합물을 제공한다:

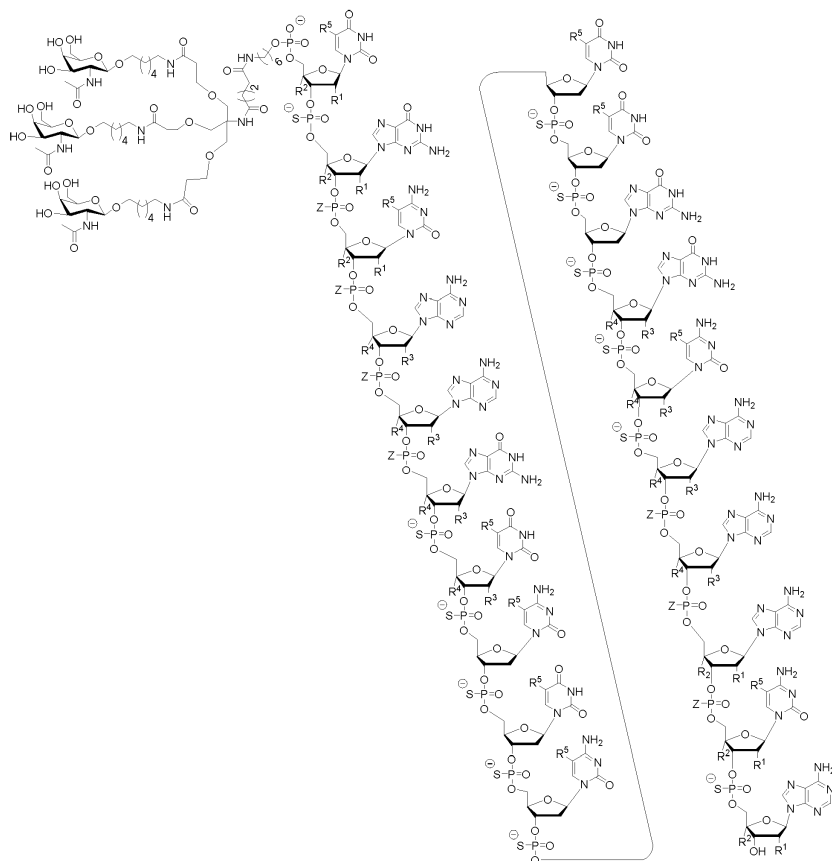


[0276]

[0277] 특정 구현에는 하기 화학식을 포함하거나 이로 구성된 화합물을 제공한다:



[0278]
[0279] 특정 구현에는 하기 화학식을 포함하거나 이로 구성된 화합물을 제공한다:



[0280]

- [0281] 여기서 R^1 은 $-OCH_2CH_2OCH_3$ (MOE)이고 R^2 는 H이거나; 또는 R^1 및 R^2 는 함께 가교를 형성하고, 여기서 R^1 은 $-O-$ 이고 R^2 는 $-CH_2-$, $-CH(CH_3)-$, 또는 $-CH_2CH_2-$ 이고, 그리고 R^1 및 R^2 는 직접적으로 연결되고, 이로써 수득한 가교는 하기로부터 선택되고: $-O-CH_2-$, $-O-CH(CH_3)-$, 및 $-O-CH_2CH_2-$;
- [0282] 그리고 동일한 환 상의 R^3 및 R^4 의 각각의 쌍에 대해, 독립적으로 각각의 환에 대해: 둘 중 하나의 R^3 은 H 및 $-OCH_2CH_2OCH_3$ 로부터 선택되고 R^4 는 H이거나; 또는 R^3 및 R^4 는 함께 가교를 형성하고, 여기서 R^3 은 $-O-$ 이고, 그리고 R^4 는 CH_2- , $-CH(CH_3)-$, 또는 $-CH_2CH_2-$ 이고 R^3 및 R^4 는 직접적으로 연결되고, 이로써 수득한 가교는 하기로부터 선택되고: $-O-CH_2-$, $-O-CH(CH_3)-$, 및 $-O-CH_2CH_2-$;
- [0283] 그리고 R^5 는 H 및 $-CH_3$ 로부터 선택되고;
- [0284] 그리고 Z는 S^- 및 O^- 로부터 선택된다.
- [0285] 특정 구현예는 선행 청구항 중 어느 한 항의 화합물 또는 이의 염 및 약제학적으로 허용가능한 담체 또는 희석제 중 적어도 하나를 포함하는 조성물을 제공한다.
- [0286] 특정 구현예는 동물에게 선행 청구항 중 어느 한 항의 화합물 또는 조성물을 투여하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다.
- [0287] 특정 구현예에서, 동물은 인간이다
- [0288] 특정 구현예에서, 상기 화합물의 투여는 PKK 연관된 질환 또는 장애 또는 병태를 예방, 치료, 또는 개선한다.
- [0289] 특정 구현예에서, PKK 연관된 질환 또는 장애 또는 병태는 유전성 혈관부종(HAE), 부종, 혈관부종, 종창, 눈꺼풀의 혈관부종, 눈의 부종, 황반 부종, 및 뇌 부종, 혈전증, 색전증, 혈전색전증, 심부정맥혈전증, 폐색전증, 심근경색증, 뇌졸중, 또는 경색이다.
- [0290] 특정 구현예는 염증성 질환 또는 혈전색전성 질환을 치료하기 위한 약제의 제조를 위한 선행 청구항 중 어느 한 항의 화합물 또는 조성물의 용도를 제공한다.
- [0291] *안티센스 화합물*
- [0292] 올리고머 화합물은, 비제한적으로, 올리고뉴클레오타이드, 올리고뉴클레오타이드, 올리고뉴클레오타이드 유사체, 올리고뉴클레오타이드 모방체, 안티센스 화합물, 안티센스 올리고뉴클레오타이드, 및 siRNA를 포함한다. 올리고머 화합물은 표적 핵산에 대한 "안티센스"일 수 있고, 이것은 수소 결합을 통해 표적 핵산에 대한 혼성화를 경험할 수 있다는 것을 의미한다.
- [0293] 특정 구현예에서, 안티센스 화합물은, 5'에서 3' 방향으로 쓰여질 때, 그것이 표적화된 표적 핵산의 표적 분절의 역보체를 포함하는 핵염기 서열을 갖는다. 그와 같은 특정 구현예에서, 안티센스 올리고뉴클레오타이드는, 5'에서 3' 방향으로 쓰여질 때, 그것이 표적화된 표적 핵산의 표적 분절의 역보체를 포함하는 핵염기 서열을 갖는다.
- [0294] 특정 구현예에서, PKK 핵산에 표적화된 안티센스 화합물은 그 길이가 12 내지 30 개의 하부단위이다. 특정 구현예에서, PKK 핵산에 표적화된 안티센스 화합물은 그 길이가 12 내지 25 개의 하부단위이다. 특정 구현예에서, PKK 핵산에 표적화된 안티센스 화합물은 그 길이가 12 내지 22 개의 하부단위이다. 특정 구현예에서, PKK 핵산에 표적화된 안티센스 화합물은 그 길이가 14 내지 20 개의 하부단위이다. 특정 구현예에서, PKK 핵산에 표적화된 안티센스 화합물은 그 길이가 15 내지 25 개의 하부단위이다. 특정 구현예에서, PKK 핵산에 표적화된 안티센스 화합물은 그 길이가 18 내지 22 개의 하부단위이다. 특정 구현예에서, PKK 핵산에 표적화된 안티센스 화합물은 그 길이가 19 내지 21 개의 하부단위이다. 특정 구현예에서, 안티센스 화합물은 길이가 8 내지 80개, 12 내지 50개, 13 내지 30개, 13 내지 50개, 14 내지 30개, 14 내지 50개, 15 내지 30개, 15 내지 50개, 16 내지 30개, 16 내지 50개, 17 내지 30개, 17 내지 50개, 18 내지 30개, 18 내지 50개, 19 내지 30개, 19 내지 50개, 또는 20 내지 30개 연결된 하부 단위이다.
- [0295] 특정 구현예에서, PKK 핵산에 표적화된 안티센스 화합물은 그 길이가 12개의 하부단위이다. 특정 구현예에서,

PKK 핵산에 표적화된 안티센스 화합물은 그 길이가 13개의 하부단위이다. 특정 구현예에서, PKK 핵산에 표적화된 안티센스 화합물은 그 길이가 14개의 하부단위이다. 특정 구현예에서, PKK 핵산에 표적화된 안티센스 화합물은 그 길이가 15개의 하부단위이다. 특정 구현예에서, PKK 핵산에 표적화된 안티센스 화합물은 그 길이가 16개의 하부단위이다. 특정 구현예에서, PKK 핵산에 표적화된 안티센스 화합물은 그 길이가 17개의 하부단위이다. 특정 구현예에서, PKK 핵산에 표적화된 안티센스 화합물은 그 길이가 18개의 하부단위이다. 특정 구현예에서, PKK 핵산에 표적화된 안티센스 화합물은 그 길이가 19개의 하부단위이다. 특정 구현예에서, PKK 핵산에 표적화된 안티센스 화합물은 그 길이가 20개의 하부단위이다. 특정 구현예에서, PKK 핵산에 표적화된 안티센스 화합물은 그 길이가 21개의 하부단위이다. 특정 구현예에서, PKK 핵산에 표적화된 안티센스 화합물은 그 길이가 22개의 하부단위이다. 특정 구현예에서, PKK 핵산에 표적화된 안티센스 화합물은 그 길이가 23개의 하부단위이다. 특정 구현예에서, PKK 핵산에 표적화된 안티센스 화합물은 그 길이가 24개의 하부단위이다. 특정 구현예에서, PKK 핵산에 표적화된 안티센스 화합물은 그 길이가 25개의 하부단위이다. 특정 구현예에서, PKK 핵산에 표적화된 안티센스 화합물은 그 길이가 26개의 하부단위이다. 특정 구현예에서, PKK 핵산에 표적화된 안티센스 화합물은 그 길이가 27개의 하부단위이다. 특정 구현예에서, PKK 핵산에 표적화된 안티센스 화합물은 그 길이가 28개의 하부단위이다. 특정 구현예에서, PKK 핵산에 표적화된 안티센스 화합물은 그 길이가 29개의 하부단위이다. 특정 구현예에서, PKK 핵산에 표적화된 안티센스 화합물은 그 길이가 30개의 하부단위이다. 특정 구현예에서, PKK 핵산에 표적화된 안티센스 화합물은 그 길이가 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 또는 80개 연결된 하부단위 또는 상기 값 중 임의의 2개에 의하여 정의된 범위 내이다. 특정 구현예에서, 안티센스 화합물은 안티센스 올리고뉴클레오타이드이고, 상기 연결된 하부단위는 뉴클레오시드이다.

[0296] 특정 구현예에서, PKK 핵산에 표적화된 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 단축되거나 절단될 수 있다. 예를 들어, 단일 하부단위는 5' 말단 (5' 절단), 또는 대안적으로 3' 말단 (3' 절단)로부터 결실될 수 있다. PKK 핵산에 표적화된 단축된 또는 절단된 안티센스 화합물은 상기 안티센스 화합물의 5' 말단으로부터 결실된 2 개의 하부단위를 가질 수 있고, 또는 대안적으로 이의 3' 말단으로부터 결실된 2개의 하부단위를 가질 수 있다. 대안적으로, 결실된 뉴클레오시드는, 예를 들면, 5' 말단으로부터 결실된 하나의 뉴클레오시드 및 3' 말단으로부터 결실된 하나의 뉴클레오시드를 갖는 안티센스 화합물에서 변형된 올리고뉴클레오타이드를 통해 분산될 수 있다.

[0297] 단일 부가적 하부 단위가 늘어난 안티센스 화합물에서 존재할 때, 부가적 하부 단위는 안티센스 화합물의 5' 또는 3' 말단에서 위치할 수 있다. 2 개 이상의 부가적 하부단위가 존재할 때, 부가된 하부단위는, 예를 들면, 안티센스 화합물의 5' 말단 (5' 부가), 또는 대안적으로 3' 말단 (3' 부가)에 부가된 2개의 하부 단위를 갖는 안티센스 화합물에서 서로 인접할 수 있다. 대안적으로, 부가된 뉴클레오시드는, 예를 들면, 5' 말단에 부가된 하나의 뉴클레오시드 및 3' 말단에 부가된 하나의 하부단위를 갖는 올리고뉴클레오타이드에서 안티센스 화합물을 통해 분산될 수 있다.

[0298] 안티센스 화합물, 예컨대 안티센스 올리고뉴클레오타이드의 길이를 증가 또는 감소시키고/시키거나 활성을 제거하지 않으면서 미스매치 염기를 도입할 수 있다. 예를 들어, 다음을 참고하며: 예를 들면, Woolf et al. (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:7305-7309, 1992)에서, 길이가 13-25 핵염기인 일련의 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 그것의 능력에 대해 시험되어 난모세포 주입 모델에서 표적 RNA의 절단을 유도했다. 안티센스 올리고뉴클레오타이드의 말단 근처의 8 또는 11 미스매치 염기를 가지며 그 길이가 25개 핵염기인 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 미스매치를 함유하지 않는 안티센스 올리고뉴클레오타이드보다 더 적을지라도 표적 mRNA의 직접적인 특이적 절단이 가능했다. 마찬가지로, 표적 특이적 절단은 1 또는 3 미스매치를 갖는 것을 포함하는 13개 핵염기 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 사용하여 달성되었다.

[0299] Gautschi 등 (J.Natl. Cancer Inst. 93:463-471, March 2001)는 bcl-2 및 bcl-xL 둘 다의 시험관내 및 생체내 발현을 감소시키기 위해 bcl-2 mRNA에 대해 100% 상보성을 가지며 bcl-xL mRNA에 대한 3 개의 미스매치를 갖는 올리고뉴클레오타이드의 능력을 실증했다. 더욱이, 이러한 올리고뉴클레오타이드는 생체내 강력한 항-종양 활성을 실증했다.

[0300] Maher 및 Dolnick (Nuc. Acid. Res. 16:3341-3358, 1988)는 토끼 망상적혈구 검정에서 인간 DHFR의 번역을 저지하는 그것의 능력에 대한, 각각의 탠덤 안티센스 올리고뉴클레오타이드의 2개 또는 3개 서열로 구성된, 일련의 탠덤 14 핵염기 안티센스 올리고뉴클레오타이드 및, 28 및 42 핵염기 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 시험했다. 각각의 3 개의 14 핵염기 안티센스 올리고뉴클레오타이드 단독은 28 또는 42 핵염기 안티센스 올리고뉴클레오타이드보

다 더 보통의 수준일지라도 번역을 억제할 수 있었다.

[0301] *안티센스 화합물 모티프*

[0302] 특정 구현예에서, PKK 핵산에 표적화된 안티센스 화합물은 안티센스 화합물 특성 예컨대 증대된 억제 활성, 증가된 표적 핵산에 대한 결합 친화도, 또는 *생체내* 뉴클레아제에 의한 분해에 대한 내성을 부여하기 위해 패턴, 또는 모티프에서 배열된 화학적으로 변형된 하부단위를 갖는다.

[0303] 키메라 안티센스 화합물은 전형적으로 뉴클레아제 분해에 대한 증가된 내성, 증가된 세포 흡수, 표적 핵산의 증가된 결합 친화도, 및/또는 증가된 억제 활성을 부여하기 위해 변형된 적어도 하나의 영역을 함유한다. 키메라 안티센스 화합물의 제 2 영역은 RNA:DNA 듀플렉스의 RNA 가닥을 절단하는 세포 엔도뉴클레아제 RNase H의 기질로서 임의로 쓰일 수 있다.

[0304] 갭머 모티프를 갖는 안티센스 화합물은 키메라 안티센스 화합물로 간주된다. 갭머에서 RNaseH 절단을 지지하는 복수의 뉴클레오타이드를 갖는 내부 영역은 내부 영역의 뉴클레오타이드로부터 화학적으로 뚜렷한 복수의 뉴클레오타이드를 갖는 외부 영역 사이에 배치된다. 갭머 모티프를 갖는 안티센스 올리고뉴클레오타이드의 경우에, 갭 분절은 일반적으로 엔도뉴클레아제 절단의 기질로서 쓰이지만, 윙 분절은 변형된 뉴클레오타이드를 포함한다. 특정 구현예에서, 갭머의 영역은 각각의 뚜렷한 영역을 포함하는 당 모이어티의 유형에 의해 분화된다. 갭머의 영역을 분화시키기 위해 사용된 당 모이어티의 유형은 일부 구현예에서 하기를 포함할 수 있다: β -D-리보뉴클레오타이드, β -D-데옥시리보뉴클레오타이드, 2'-변형된 뉴클레오타이드 (그와 같은 2'-변형된 뉴클레오타이드는 기타 중에서 2'-MOE 및 2'-O-CH₃를 포함할 수 있다), 및 이환식 당 변형된 뉴클레오타이드 (그와 같은 이환식 당 변형된 뉴클레오타이드는 4'-(CH₂)_n-O-2' 가교 (여기서 n=1 또는 n=2 및 4'-CH₂-O-CH₂-2')을 갖는 것을 포함할 수 있다). 특정 구현예에서, 윙은, 예를 들면 2'-MOE를 포함하는 몇 개의 변형된 당 모이어티를 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 윙은 몇 개의 변형된 및 비변형된 당 모이어티를 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 윙은 2'-MOE 뉴클레오타이드, 및 2'-데옥시뉴클레오타이드의 다양한 조합을 포함할 수 있다.

[0305] 각각의 뚜렷한 영역은 균일한 당 모이어티, 변이체, 또는 교차 당 모이어티를 포함할 수 있다. 윙-갭-윙 모티프는 "X-Y-Z"로서 빈번히 기재되고, 여기서 "X"는 5'-윙의 길이를 나타내고, "Y"는 갭의 길이를 나타내고, "Z"는 3'-윙의 길이를 나타낸다. "X" 및 "Z"는 균일한, 변이체, 또는 교차 당 모이어티를 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, "X" 및 "Y"는 하나 이상의 2'-데옥시뉴클레오타이드를 포함할 수 있다. "Y"는 2'-데옥시뉴클레오타이드를 포함할 수 있다. 본원에서 사용된 바와 같이, "X-Y-Z"로서 기재된 갭머는, 갭이 각각의 5'-윙 및 3' 윙에 바로 인접하여 배치되는 정도의 배치를 갖는다. 따라서, 개재(intervening) 뉴클레오타이드는 5'-윙 및 갭, 또는 갭 및 3'-윙 사이에 존재하지 않는다. 본원에 기재된 안티센스 화합물의 임의의 것은 갭머 모티프를 가질 수 있다. 특정 구현예에서, "X" 및 "Z"는 동일하고, 다른 구현예에서 y는 상이하다.

[0306] 특정 구현예에서, 본원에 제공된 갭머는 예를 들어 5-10-5의 모티프를 갖는 20량체(20-mers)를 포함한다.

[0307] *표적 핵산, 표적 영역 및 뉴클레오타이드 서열*

[0308] 인간 혈장 프리칼리크레인 (PKK)을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열은 비제한적으로 하기를 포함한다: 유전자은행 수탁 번호 NM_000892.3 (서열번호: 1과 같이 본원에 포함), 유전자은행 수탁 번호 DC412984.1 (서열번호: 2와 같이 본원에 포함), 유전자은행 수탁 번호 CN265612.1 (서열번호: 3과 같이 본원에 포함), 유전자은행 수탁 번호 AK297672.1 (서열번호: 4와 같이 본원에 포함), 유전자은행 수탁 번호 DC413312.1 (서열번호: 5와 같이 본원에 포함), 유전자은행 수탁 번호 AV688858.2 (서열번호: 6과 같이 본원에 포함), 유전자은행 수탁 번호 CD652077.1 (서열번호: 7과 같이 본원에 포함), 유전자은행 수탁 번호 BC143911.1 (서열번호: 8과 같이 본원에 포함), 유전자은행 수탁 번호 CB162532.1 (서열번호: 9와 같이 본원에 포함), 핵염기 111693001 내지 111730000로부터 절단된 유전자 은행 수탁 번호 NT_016354.19 (본원에서 서열 번호: 10과 같이 포함), 유전자은행 수탁 번호 NM_008455.2 (서열번호: 11과 같이 본원에 포함), 유전자은행 수탁 번호 BB598673.1 (서열번호: 12와 같이 본원에 포함), 핵염기 6114001 내지 6144000로부터 절단된 유전자 은행 수탁 번호 NT_039460.7 (본원에서 서열 번호: 13과 같이 포함), 유전자은행 수탁 번호 NM_012725.2 (서열번호: 14와 같이 본원에 포함), 핵염기 10952001 내지 10982000로부터 절단된 유전자 은행 수탁 번호 NW_047473.1 (본원에서 서열 번호: 15와 같이 포함), 유전자은행 수탁 번호 XM_002804276.1 (서열번호: 17과 같이 본원에 포함), 및 핵염기 2358000 내지 2391000로부터 절단된 유전자 은행 수탁 번호 NW_001118167.1 (본원에서 서열 번호: 18과 같이 포함).

[0309] 본원에 함유된 실시예에서 각각의 서열 번호로 제시된 서열은 당 모이어티, 뉴클레오타이드간 연결, 또는 핵염기

에 대한 임의의 변형에 독립적인 것으로 이해된다. 그것으로서, 서열 번호에 의해 규정된 안티센스 화합물은 당 모이어티, 뉴클레오타이드간 연결, 또는 핵염기에 대한 하나 이상의 변형을 독립적으로 포함할 수 있다. ISIS 번호 (Isis No)에 의해 기재된 안티센스 화합물은 핵염기 서열 및 모티프의 조합을 나타낸다.

[0310] 특정 구현예에서, 표적 영역은 표적 핵산의 구조적으로 규정된 영역이다. 예를 들면, 표적 영역은 3' UTR, 5' UTR, 엑손, 인트론, 엑손/인트론 접합, 암호화 영역, 번역 개시 영역, 번역 종료 영역, 또는 다른 규정된 핵산 영역을 포함할 수 있다. PKK의 구조적으로 규정된 영역은 서열 데이터베이스 예컨대 NCBI로부터의 승인 번호에 의해 획득될 수 있고 그와 같은 정보는 본원에 참고로 포함되어 있다. 특정 구현예에서, 표적 영역은 표적 영역 내의 하나의 표적 분절의 5' 표적 부위로부터 표적 영역 내의 또 하나의 표적 분절의 3' 표적 부위로의 서열을 포함할 수 있다.

[0311] 표적화는 안티센스 화합물이 혼성화하는 적어도 하나의 표적 분절의 결정을 포함하고, 이로써 원하는 효과가 발생한다. 특정 구현예에서, 원하는 효과는 mRNA 표적 핵산 수준의 감소이다. 특정 구현예에서, 원하는 효과는 표적 핵산 또는 표적 핵산과 연관된 표현형 변화에 의해 암호화된 단백질의 수준의 감소이다.

[0312] 표적 영역은 하나 이상의 표적 분절을 함유할 수 있다. 표적 영역 내의 다중 표적 분절은 중복될 수 있다. 대안적으로, 이들은 비-중첩성일 수 있다. 특정 구현예에서, 표적 영역 내의 표적 분절은 약 300개 이하의 뉴클레오타이드에 의해 분리된다. 특정 구현예에서, 표적 영역 내의 표적 분절은 표적 핵산 상의 약 250, 200, 150, 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 또는 10 또는 그 이하의 뉴클레오타이드이고, 이전의 값의 임의의 2개에 의해 규정된 범위인 수많은 뉴클레오타이드에 의해 분리된다. 특정 구현예에서, 표적 영역 내의 표적 분절은 표적 핵산 상의 약 5개 이하의 뉴클레오타이드에 의해 분리된다. 특정 구현예에서, 표적 분절은 인접한다. 본원에서 열거된 5' 표적 부위 또는 3' 표적 부위의 임의의 것인 개시 핵산을 갖는 범위에 의해 규정된 표적 영역이 고려된다.

[0313] 적당한 표적 분절은 5' UTR, 암호화 영역, 3' UTR, 인트론, 엑손, 또는 엑손/인트론 접합 내에서 발견될 수 있다. 개시 코돈 또는 정지 코돈을 함유하는 표적 분절은 또한 적당한 표적 분절이다. 적당한 표적 분절은 특정의 구조적으로 규정된 영역 예컨대 개시 코돈 또는 정지 코돈을 명시적으로 제외할 수 있다.

[0314] 적당한 표적 분절의 결정은 게놈 도처의 다른 서열에 대한 표적 핵산의 서열의 비교를 포함할 수 있다. 예를 들면, BLAST 알고리즘은 상이한 핵산 중에서 유사성의 영역을 확인하기 위해 사용될 수 있다. 이러한 비교는 선택된 표적 핵산 이외의 서열 (즉, 비-표적 또는 오프-타겟(off-target) 서열)과 비특이적 방식으로 혼성화할 수 있는 안티센스 화합물의 서열의 선택을 방지할 수 있다.

[0315] 활성 표적 영역 내의 안티센스 화합물의 활성의 변화 (예를 들면, 표적 핵산 수준의 퍼센트 감소에 의해 규정된 바와 같이) 가 있을 수 있다. 특정 구현예에서, PKK mRNA 수준의 감소는 타우 발현의 억제를 가리킨다. PKK 단백질의 수준 감소는 또한 표적 mRNA 발현의 억제를 가리킨다. 게다가, 표현형 변화는 PKK 발현의 억제를 가리킨다. 예를 들어, 감소되거나 예방된 염증은 PKK 발현의 억제를 나타낼 수 있다. 또 다른 예시에서, 감소되거나 예방된 부종/종창은 PKK 발현의 억제를 나타낼 수 있다. 또 다른 예시에서, 감소되거나 예방된 혈관투과성은 PKK 발현의 억제를 나타낼 수 있다. 또 다른 예시에서, 감소되거나 예방된 혈관 유출은 PKK 발현의 억제를 나타낼 수 있다. 특정 구현예에서, 혈관투과성은 염료, 예컨대 에반스 블루(Evans Blue) 정량화에 의하여 측정된다.

[0316] 혼성화

[0317] 일부 구현예에서, 혼성화는 본원에 개시된 안티센스 화합물 및 표적 핵산 사이에서 발생한다. 혼성화의 가장 일반적인 기전은 핵산 분자의 상보적 핵염기 사이의 수소 결합 (예를 들면, 왓슨-크릭(Watson-Crick), 후그스텐(Hoogsteen) 또는 역전된 후그스텐(Hoogsteen) 수소 결합)을 수반한다.

[0318] 혼성화는 가변 조건 하에서 발생할 수 있다. 엄격한 조건은 서열-의존적이고 혼성화될 핵산 분자의 성질 및 조성에 의해 결정된다.

[0319] 서열이 표적 핵산과 특이적으로 혼성화할 수 있는 지를 측정하는 방법은 당해기술에 공지되어 있다. 특정 구현예에서, 본원에서 제공된 안티센스 화합물은 표적 핵산과 특이적으로 혼성화할 수 있다.

[0320] 상보성

[0321] 안티센스 화합물 및 표적 핵산은, 표적 핵산의 상응하는 핵염기와 수소결합할 수 있을 때 서로 상보적이고, 이로써 원하는 효과가 발생할 것이다 (예를 들면, 표적 핵산, 예컨대 PKK 핵산의 안티센스 억제).

[0322] 안티센스 화합물 및 PKK 핵산 사이에서의 비-상보적 핵염기는, 상기 안티센스 화합물이 표적 핵산에 특이적으로

혼성화 가능하도록 남아있는 경우 용인될 수 있다. 더욱이, 안티센스 화합물은 PKK 핵산의 하나 이상의 분절 상에서 혼성될 수 있고 이로써 개재 또는 인접한 분절은 혼성화 사건 (예를 들면, 루프 구조, 미스매치 또는 헤어핀 구조)에 관여되지 않는다.

[0323] 특정 구현예에서, 본원에서 제공된 안티센스 화합물, 또는 명시된 그의 부분은 PKK 핵산, 표적 영역, 표적 분절, 또는 명시된 그의 부분에 대해 적어도, 70%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 상보적이다. 표적 핵산을 갖는 안티센스 화합물의 퍼센트 상보성은 일상적인 방법을 사용하여 결정될 수 있다.

[0324] 예를 들면, 20개 안티센스 화합물의 핵염기 중 18개는 표적 영역에 대해 상보적이고 따라서 특이적으로 혼성화하는, 안티센스 화합물은 90 퍼센트 상보성을 나타낼 것이다. 이러한 예시에서, 잔류 비-상보적 핵염기는 무리를 이루거나 상보적 핵염기와 함께 사이에 배치될 수 있고, 서로 또는 상보적 핵염기에 인접할 필요가 없다. 그것으로서, 표적 핵산에 완전한 상보성을 갖는 2 개의 영역에 의해 플랭킹된 4 개의 비-상보적 핵염기를 갖는 길이가 18개의 핵염기인 안티센스 화합물은 표적 핵산에 77.8% 전체 상보성을 가질 것이며, 따라서 본 발명의 범위 내에 있을 것이다. 표적 핵산의 영역을 갖는 안티센스 화합물의 퍼센트 상보성은 당해기술에서 공지된 BLAST 프로그램 (기본적 국소 정렬 연구 도구) 및 PowerBLAST 프로그램을 사용하여 일상적으로 결정될 수 있다 (Altschul *et al.*, *J. Mol. Biol.*, 1990, 215, 403 410; Zhang and Madden, *Genome Res.*, 1997, 7, 649 656). 퍼센트 상동성, 서열 동일성 또는 상보성은 Smith 및 Waterman (*Adv. Appl. Math.*, 1981, 2, 482 489)의 알고리즘을 사용하는 디폴트 세팅을 사용하여, 예를 들면, 갭(Gap) 프로그램(Wisconsin Sequence Analysis Package, Version 8 for Unix, Genetics Computer Group, University Research Park, Madison Wis.)에 의해 측정될 수 있다.

[0325] 특정 구현예에서, 본원에서 제공된 안티센스 화합물, 또는 이의 명시된 부분은 표적 핵산, 또는 명시된 이의 부분에 대해 완전 상보적 (즉, 100% 상보적)이다. 예를 들면, 안티센스 화합물은 혈장 프리칼리크레인 핵산, 또는 이의 표적 영역, 또는 표적 분절 또는 표적 서열에 대해 완전히 상보적일 수 있다. 본원에서 사용된 바와 같이, "완전히 상보적"은, 안티센스 화합물의 각각의 핵염기가 표적 핵산의 상응하는 핵염기와 정확한 염기 짝짓기를 할 수 있다는 것을 의미한다. 예를 들면, 20 핵염기 안티센스 화합물은, 안티센스 화합물에 대해 완전 상보적인 표적 핵산의 상응하는 20 핵염기 부분이 있는 한, 400 핵염기 길이인 표적 서열에 대해 완전 상보적이다. 완전 상보성은 제 1 및/또는 제 2 핵산의 명시된 부분을 참조하여 또한 사용될 수 있다. 예를 들면, 30 핵염기 안티센스 화합물의 20 핵염기 부분은 400개 핵염기 길이인 표적 서열에 대해 "완전히 상보적"일 수 있다. 30 핵염기 올리고뉴클레오타이드의 20 핵염기 부분은, 표적 서열이 상응하는 20 핵염기 부분을 갖고, 이때 각각의 핵염기가 안티센스 화합물의 20 핵염기 부분에 대해 상보적이라면, 표적 서열에 대해 완전히 상보적이다. 동시에, 전체 30 핵염기 안티센스 화합물은, 안티센스 화합물의 잔류 10개 핵염기가 표적 서열에 대해 또한 상보적인지에 따라 표적 서열에 대해 또한 완전히 상보적이거나 그렇지 않을 수 있다.

[0326] 비-상보적 핵염기의 위치는 안티센스 화합물의 5' 말단 또는 3' 말단에 있을 수 있다. 대안적으로, 비-상보적 핵염기 또는 핵염기들은 안티센스 화합물의 내부 위치에 있을 수 있다. 두개 이상의 비-상보적 핵염기가 존재할 때, 이들은 인접하거나(즉, 연결되거나), 또는 비-인접할 수 있다. 일 구현예에서, 비-상보적 핵염기는 갭머 안티센스 올리고뉴클레오타이드의 wing 분절에 위치한다.

[0327] 특정 구현예에서, 길이가 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20개이거나, 또는 최대로 상기 길이인 안티센스 화합물은 표적 핵산, 또는 명시된 이의 부분에 대해 4 이하, 3 이하, 2 이하, 또는 1 이하의 비-상보적 핵염기(들)을 포함한다.

[0328] 특정 구현예에서, 길이가 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 또는 30개 핵염기이거나, 또는 최대로 상기 길이의 핵염기인 안티센스 화합물은 표적 핵산, 또는 명시된 이의 부분에 대해 6 이하, 5 이하, 4 이하, 3 이하, 2 이하, 또는 1 이하의 비-상보적 핵염기(들)을 포함한다.

[0329] 제공된 안티센스 화합물은 또한 표적 핵산의 부분에 대해 상보적인 것을 포함한다. 본원에서 사용된 바와 같이, "부분"은 표적 핵산의 영역 또는 분절 내의 규정된 수의 인접한 (즉, 연결된) 핵염기를 의미한다. "부분"은 또한 규정된 수의 안티센스 화합물의 인접한 핵염기를 의미할 수 있다. 특정 구현예에서, 안티센스 화합물은 표적 분절의 적어도 8 핵염기 부분에 대해 상보적이다. 특정 구현예에서, 안티센스 화합물은 표적 분절의 적어도 9 핵염기 부분에 대해 상보적이다. 특정 구현예에서, 안티센스 화합물은 표적 분절의 적어도 10 핵염기 부분에 대해 상보적이다. 특정 구현예에서, 안티센스 화합물은 표적 분절의 적어도 11 핵염기 부분에 대해 상보적이다. 특정 구현예에서, 안티센스 화합물은 표적 분절의 적어도 12 핵염기 부분에 대해 상보적이다. 특정 구현예에서,

안티센스 화합물은 표적 분질의 적어도 13 핵염기 부분에 대해 상보적이다. 특정 구현예에서, 안티센스 화합물은 표적 분질의 적어도 14 핵염기 부분에 대해 상보적이다. 특정 구현예에서, 안티센스 화합물은 표적 분질의 적어도 15 핵염기 부분에 대해 상보적이다. 표적 분질의 적어도 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 또는 그 초과, 또는 이들 값의 임의의 2 개에 의해 규정된 범위의 핵염기 부분에 대해 상보적인 안티센스 화합물이 또한 고려된다.

[0330] 동일성

[0331] 본원에서 제공된 안티센스 화합물은 특정한 뉴클레오타이드 서열, 서열 번호, 또는 특정 ISIS 번호로 나타내는 화합물, 또는 이의 부분에 대한 규정된 퍼센트 동일성을 또한 가질 수 있다. 본원에서 사용된 바와 같이, 안티센스 화합물은, 동일한 핵염기 짝짓기 능력을 갖는다면, 본원에 개시된 서열과 동일하다. 예를 들면, 우라실 및 티미딘 둘 다 아데닌과 쌍을 이루므로, 개시된 DNA 서열에서 티미딘 대신에 우라실을 함유하는 RNA가 DNA 서열과 동일한 것으로 간주된다. 본원에 기재된 안티센스 화합물 뿐만 아니라 본원에서 제공된 안티센스 화합물에 대해 비-동일한 염기를 갖는 화합물의 단축된 및 늘어난 버전이 또한 고려된다. 비-동일한 염그룹은 안티센스 화합물에 도처에서 분산되거나 서로 인접할 수 있다. 안티센스 화합물의 퍼센트 동일성은 비교되는 서열에 대해 동일한 염기 짝짓기를 갖는 염기의 수에 따라 산출된다.

[0332] 특정 구현예에서, 안티센스 화합물, 또는 이의 부분은, 본원에 개시된 안티센스 화합물 또는 서열 번호, 또는 이의 부분의 하나 이상과 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 동일하다.

[0333] 특정 구현예에서, 안티센스 화합물의 부분은 표적 핵산 부분과 동등한 길이 부분으로 비교된다. 특정 구현예에서, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 또는 25 핵염기 부분은 표적 핵산 부분과 동등한 길이 부분과 비교된다.

[0334] 특정 구현예에서, 안티센스 올리고뉴클레오타이드의 부분은 표적 핵산 부분과 동등한 길이 부분과 비교된다. 특정 구현예에서, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 또는 25 핵염기 부분은 표적 핵산 부분과 동등한 길이 부분과 비교된다.

[0335] 변형

[0336] 뉴클레오타이드는 염기-당 조합이다. 뉴클레오타이드의 핵염기 (또한 염기로서 공지됨) 부분은 보통 헤테로환 염기 모이어티이다. 뉴클레오타이드는 뉴클레오타이드의 당 부분에 공유 연결된 인산기를 추가로 포함하는 뉴클레오타이드이다. 펜토프라노실 당을 포함하는 뉴클레오타이드에 대해, 인산그룹은 당의 2', 3' 또는 5' 히드록실 모이어티에 연결될 수 있다. 올리고뉴클레오타이드는 서로에 대한 인접한 뉴클레오타이드의 공유연결을 통해 형성되어, 선형 폴리머 올리고뉴클레오타이드를 형성한다. 올리고뉴클레오타이드 구조 내에, 인산그룹은 통상적으로 올리고뉴클레오타이드의 뉴클레오타이드간 연결을 형성하는 것으로 간주된다.

[0337] 안티센스 화합물에 대한 변형은 뉴클레오타이드간 연결, 당 모이어티, 또는 핵염기에 대한 치환 또는 변화를 포함한다. 변형된 안티센스 화합물은 바람직한 특성 예컨대, 예를 들면, 증대된 세포 흡수, 핵산 표적에 대한 증대된 친화도, 뉴클레아제의 존재에서의 증가된 안정성, 또는 증가된 억제 활성 때문에 천연 형태와 비교하여 종종 바람직하다.

[0338] 화학적으로 변형된 뉴클레오타이드는 그것의 표적 핵산에 대해, 단축된 또는 절단된 안티센스 올리고뉴클레오타이드의 결합 친화도를 증가시키기 위해 또한 이용될 수 있다. 결과적으로, 비교할만한 결과는 그와 같은 화학적으로 변형된 뉴클레오타이드를 갖는 더 짧은 안티센스 화합물로 종종 수득될 수 있다.

[0339] 변형된 뉴클레오타이드간 연결

[0340] RNA 및 DNA의 "천연적으로 발생하는 뉴클레오타이드간 연결"은 3' 내지 5' 포스포디에스테르 연결을 의미한다. 하나 이상의 변형된, 즉 비-천연 발생, 뉴클레오타이드간 연결을 갖는 안티센스 화합물은 바람직한 특성 예컨대, 예를 들면, 증대된 세포 흡수, 표적 핵산에 대한 증대된 친화도, 및 뉴클레아제의 존재에서 증가된 안정성 때문에 천연 발생 뉴클레오타이드간 연결을 갖는 안티센스 화합물과 비교하여 종종 선택된다.

[0341] 변형된 뉴클레오타이드간 연결을 갖는 올리고뉴클레오타이드는 인 원자를 보유하는 뉴클레오타이드간 연결 뿐만 아니라 인 원자를 갖지 않는 뉴클레오타이드간 연결을 포함한다. 대표적인 인을 함유하는 뉴클레오타이드간 연결은, 비제한적으로, 포스포디에스테르, 포스포트리에스테르, 메틸포스포네이트, 포스포아미데이트, 및 포스포티오

에이트를 포함한다. 인-함유 및 비-인-함유 연결의 제조 방법은 공지되어 있다.

[0342] 특정 구현예에서, 혈장 프리칼리크레인 핵산에 표적화된 안티센스 화합물은 하나 이상의 변형된 뉴클레오시드간 연결을 포함한다. 특정 구현예에서, 변형된 뉴클레오시드간 연결은 포스포로티오에이트 연결이다. 특정 구현예에서, 안티센스 화합물의 각각의 뉴클레오시드간 연결은 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결이다.

[0343] 특정 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 규정된 패턴 또는 변형된 뉴클레오시드간 연결 모티프에서 올리고뉴클레오티드 또는 그것의 영역을 따라 배열된 변형된 뉴클레오시드간 연결을 포함한다. 특정 구현예에서, 뉴클레오시드간 연결은 갭핑된 모티프에서 배열되어 있다. 그러한 구현예에서, 2개 윙 영역 중 각각에서 뉴클레오시드간 연결은 갭 영역에서의 뉴클레오시드간 연결과 상이하다. 그러한 구현예에서, 윙 영역 중에서 뉴클레오시드간 연결은 포스포디에스테르이고, 갭에서의 뉴클레오시드간 연결은 포스포로티오에이트이다. 뉴클레오시드 모티프는 독립적으로 선택되며, 따라서 갭핑된 뉴클레오시드간 연결을 갖는 그러한 올리고뉴클레오티드는 갭핑된 뉴클레오시드를 가지지 않을 수 있고, 만약 그것이 갭핑된 뉴클레오시드를 갖지 않는다면, 윙 및 갭 길이는 동일하거나 동일하지 않을 수 있다.

[0344] 특정 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 교대 뉴클레오시드간 연결 모티프를 갖는 영역을 포함한다. 특정 구현예에서, 본 발명의 올리고뉴클레오티드는 균일하게 변형된 뉴클레오시드간 연결의 영역을 포함한다. 특정 그와 같은 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결에 의해 균일하게 연결된 영역을 포함한다. 특정 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 포스포로티오에이트에 의해 균일하게 연결된다. 특정 구현예에서, 올리고뉴클레오티드의 각각의 뉴클레오시드간 연결은 포스포디에스테르 및 포스포로티오에이트로부터 선택된다. 특정 구현예에서, 올리고뉴클레오티드의 각각의 뉴클레오시드간 연결은 포스포디에스테르 및 포스포로티오에이트로부터 선택되고 적어도 하나의 뉴클레오시드간 연결은 포스포로티오에이트이다.

[0345] 특정 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 적어도 6 개의 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 포함한다. 특정 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 적어도 8 개의 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 포함한다. 특정 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 적어도 10 개의 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 포함한다. 특정 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 적어도 6개의 연속적인 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결의 적어도 하나의 블록을 포함한다. 특정 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 적어도 8개의 연속적인 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결의 적어도 하나의 블록을 포함한다. 특정 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 적어도 10개의 연속적인 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결의 적어도 하나의 블록을 포함한다. 특정 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 적어도 하나의 12개의 연속적인 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결의 적어도 하나의 블록을 포함한다. 특정 그와 같은 구현예에서, 적어도 하나의 그와 같은 블록은 올리고뉴클레오티드의 3' 말단에 위치한다. 특정 그와 같은 구현예에서, 적어도 하나의 그와 같은 블록은 올리고뉴클레오티드의 3' 말단의 3개의 뉴클레오시드 내에 위치한다.

[0346] 특정 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 1 이상의 메틸포스포네이트 연결을 포함한다. 특정 구현예에서, 갭머 뉴클레오시드 모티프를 갖는 올리고뉴클레오티드는 1 또는 2의 메틸포스포네이트 연결을 제외한 모든 포스포로티오에이트 연결을 포함하는 연결 모티프를 포함한다. 특정 구현예에서, 하나의 메틸포스포네이트 연결은 갭머 뉴클레오시드 모티프를 갖는 올리고뉴클레오티드의 중앙 갭 내에 있다.

[0347] 특정 구현예에서, 뉴클레아제 내성을 유지하기 위하여 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결 및 포스포디에스테르 뉴클레오시드간 연결의 수를 배열하는 것이 바람직하다. 특정 구현예에서, 뉴클레아제 내성을 유지하기 위하여 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결의 수 및 위치와 포스포디에스테르 뉴클레오시드간 연결의 수 및 위치를 배열하는 것이 바람직하다. 특정 구현예에서, 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결의 수는 감소할 수 있고, 포스포디에스테르 뉴클레오시드간 연결의 수는 증가할 수 있다. 특정 구현예에서, 여전히 뉴클레아제 내성을 유지하는 동안, 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결의 수는 감소할 수 있고, 포스포디에스테르 뉴클레오시드간 연결의 수는 증가할 수 있다. 특정 구현예에서, 뉴클레아제 내성을 유지하는 동안 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결의 수를 감소시키는 것이 바람직하다. 특정 구현예에서, 뉴클레아제 내성을 유지하기 위하여 포스포디에스테르 뉴클레오시드간 연결의 수를 증가시키는 것이 바람직하다.

[0348] 변형된 당 모이어티

[0349] 안티센스 화합물은 임의로 하나 이상의 뉴클레오시드를 함유할 수 있으며, 여기서 당 그룹은 변형되었던 것이다. 그와 같은 당 변형된 뉴클레오시드는 안티센스 화합물에 대한 증대된 뉴클레아제 안정성, 증가된 결합 친화도, 또는 일부 다른 유익한 생물학적 특성을 부여할 수 있다. 특정 구현예에서, 뉴클레오시드는 화학적으로

변형된 리보푸라노스 환 모이어티를 포함한다. 화학적으로 변형된 리보푸라노스 환의 예는 비제한적으로 하기를 포함한다: 치환체 그룹의 부가 (5' 및 2' 치환체 그룹, 이환식 핵산 (BNA)를 형성하기 위한 비-제미널(geminal) 환 원자의 가교, 리보실 환 산소 원자의 S, N(R), 또는 C(R₁)(R₂)의 교체 포함) (R, R₁ 및 R₂ 각각은 독립적으로 H, C₁-C₁₂ 알킬 또는 보호기로부터 선택된다) 및 이들의 조합. 화학적으로 변형된 당의 예시는 하기를 포함한다: 2'-F-5'-메틸 치환된 뉴클레오타이드 (참고, PCT 국제 출원 WO 2008/101157, 다른 개시된 5', 2'-비스 치환된 뉴클레오타이드에 대해 8/21/08에 공개됨), 또는 2'-위치에서 추가 치환에 의해 S에 의한 리보실 환 산소 원자의 교체 (참고, 공개된 미국 특허 출원 US2005/0130923, 2005년 6월 16일에 공개됨), 또는 대안적으로, BNA의 5'-치환 (참고, PCT 국제 출원 WO 2007/134181, 11/22/07에 공개됨, LNA는, 예를 들면, 5'-메틸 또는 5'-비닐 그룹으로 치환됨).

[0350] 변형된 당 모이어티를 갖는 뉴클레오타이드의 예는 5'-비닐, 5'-메틸 (R 또는 S), 4'-S, 2'-F, 2'-OCH₃, 2' -OCH₂CH₃, 2' -OCH₂CH₂F 및 2'-O(CH₂)₂OCH₃ 치환체 그룹을 포함하는 뉴클레오타이드를 비제한적으로 포함한다. 2' 위치에서의 치환체는 알릴, 아미노, 아지도, 티오, 0-알릴, 0-C₁-C₁₀ 알킬, OCF₃, OCH₂F, O(CH₂)₂SCH₃, O(CH₂)₂-O-N(R_m)(R_n), 0-CH₂-C(=O)-N(R_m)(R_n), 및 0-CH₂-C(=O)-N(R₁)-(CH₂)₂-N(R_m)(R_n)로부터 선택될 수 있고, 여기서 각각의 R₁, R_m 및 R_n은 독립적으로, H 또는 치환된 또는 비치환된 C₁-C₁₀ 알킬이다.

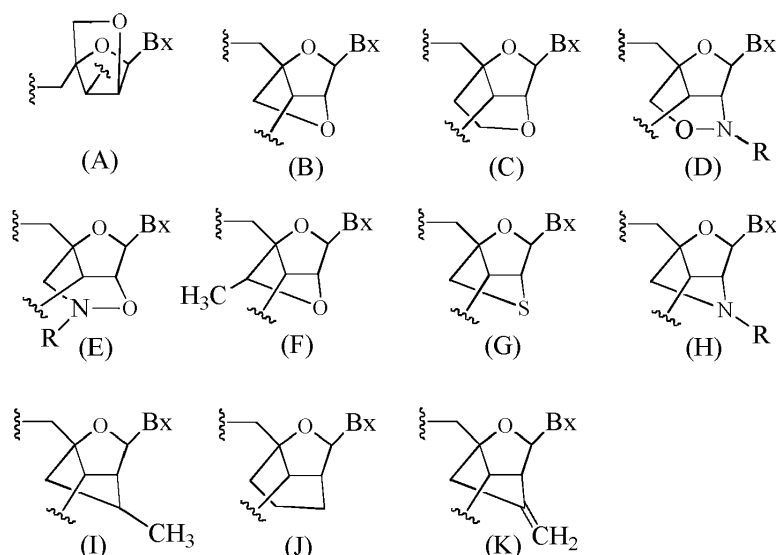
[0351] 본원에서 사용된 바와 같이, "이환식 뉴클레오타이드"는 이환식 당 모이어티를 포함하는 변형된 뉴클레오타이드를 의미한다. 이환식 뉴클레오타이드의 예는 4' 및 2' 리보실 환 원자 사이의 가교를 포함하는 뉴클레오타이드를 비제한적으로 포함한다. 특정 구현예에서, 본원에서 제공된 안티센스 화합물은 4' 내지 2' 가교를 포함하는 하나 이상의 이환식 뉴클레오타이드를 포함한다. 그와 같은 4' 내지 2' 이환식 뉴클레오타이드의 하기 식 중의 하나를 비제한적으로 포함한다: 4'-(CH₂)-O-2' (LNA); 4'-(CH₂)-S-2'; 4'-(CH₂)₂-O-2' (ENA); 4'-CH(CH₃)-O-2' (또한 제한된 에틸 또는 cEt로 지칭됨) 및 4'-C-H(CH₂OCH₃)-O-2' (및 이의 유사체, 참고: 미국 특허 7,399,845, 2008년 7월 15일 발행됨); 4'-C(CH₃)(CH₃)-O-2' (및 이의 유사체, 참고: 국제 출원 공보 WO/2009/006478, 2009년 1월 8일 공보됨); 4'-CH₂-N(OCH₃)-2' (및 이의 유사체, 참고: 국제 출원 공보 WO/2008/150729, 2008년 12월 11일 공보됨); 4'-CH₂-O-N(CH₃)-2' (참고: 국제 출원 공보 US2004-0171570, 2004년 9월 23일 공보됨); 4'-CH₂-N(R)-O-2', 여기서 R은 H, C₁-C₁₂ 알킬, 또는 보호기 (참고: 미국 특허 7,427,672, 2008년 9월 23일 발행됨); 4'-CH₂-C(H)(CH₃)-2' (참고: Zhou *et al.*, *J. Org. Chem.*, 2009, 74, 118-134); 및 4'-CH₂-C(=CH₂)-2' (및 이의 유사체, 참고: 국제 출원 공보 WO 2008/154401, 2008년 12월 8일 공보됨)이다.

[0352] 이환식 뉴클레오타이드와 관련된 추가적인 보고는 다음 출판 문헌에서 발견될 수 있다 (예를 들어, 참고: Singh *et al.*, *Chem. Commun.*, 1998, 4, 455-456; Koshkin *et al.*, *Tetrahedron*, 1998, 54, 3607-3630; Wahlestedt *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 2000, 97, 5633-5638; Kumar *et al.*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 1998, 8, 2219-2222; Singh *et al.*, *J. Org. Chem.*, 1998, 63, 10035-10039; Srivastava *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, 2007, 129(26) 8362-8379; Elayadi *et al.*, *Curr. Opinion Invest. Drugs*, 2001, 2, 558-561; Braasch *et al.*, *Chem. Biol.*, 2001, 8, 1-7; 및 Orum *et al.*, *Curr. Opinion Mol. Ther.*, 2001, 3, 239-243; 미국 특허 번호 6,268,490; 6,525,191; 6,670,461; 6,770,748; 6,794,499; 7,034,133; 7,053,207; 7,399,845; 7,547,684; 및 7,696,345; 미국 특허 공보 번호 US2008-0039618; US2009-0012281; 미국 특허 시리즈 번호 61/026,995 및 61/097,787; 공보된 PCT 국제 출원 WO 1999/014226; WO 2004/106356; WO 2005/021570; WO 2007/134181; WO 2008/150729; WO 2008/154401; WO 2009/006478; WO 2010/036698; WO 2011/017521; WO 2009/067647; WO 2009/100320. 각각의 상기 이환식 뉴클레오타이드는 예를 들면 α-L-리보푸라노스 및 β-D-리보푸라노스를 포함하는 하나 이상의 입체화학적 당 배치를 갖도록 제조될 수 있다 (참고 PCT 국제 출원 PCT/DK98/00393, WO 99/14226로서 1999년 3월 25일 공개).

[0353] 특정 구현예에서, BNA 뉴클레오타이드의 이환식 당 모이어티는, 비제한적으로, 펜토폴라노실 당 모이어티의 4' 및 2' 위치 사이의 적어도 하나의 가교를 갖는 화합물을 포함하고, 여기서 상기 가교는 독립적으로, [C(R_a)(R_b)]_n-, -C(R_a)=C(R_b)-, -C(R_a)=N-, -C(=O)-, -C(=NR_a)-, -C(=S)-, -O-, -Si(R_a)₂-, -S(=O)_x-, 및 -N(R_a)-로부터 독립적으로 선택된 1 또는 2 내지 4개의 연결기를 포함하며;

[0354] 상기 식 중에서,

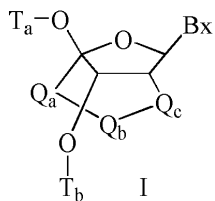
- [0355] x 는 0, 1, 또는 2이고;
- [0356] n 은 1, 2, 3, 또는 4이고;
- [0357] 각각의 R_a 및 R_b 는, 독립적으로, H, 보호기, 하이드록실, C_1 - C_{12} 알킬, 치환된 C_1 - C_{12} 알킬, C_2 - C_{12} 알케닐, 치환된 C_2 - C_{12} 알케닐, C_2 - C_{12} 알키닐, 치환된 C_2 - C_{12} 알키닐, C_5 - C_{20} 아릴, 치환된 C_5 - C_{20} 아릴, 헤테로사이클 라디칼, 치환된 헤테로사이클 라디칼, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, C_5 - C_7 지환족 라디칼, 치환된 C_5 - C_7 지환족 라디칼, 할로젠, OJ_1 , NJ_1J_2 , SJ_1 , N_3 , $COOJ_1$, 아실 ($C(=O)$ -H), 치환된 아실, CN, 설포닐 ($S(=O)_2$ - J_1), 또는 설폭실 ($S(=O)$ - J_1)이고;
- [0358] 그리고 J_1 및 J_2 각각은 독립적으로, H, C_1 - C_{12} 알킬, 치환된 C_1 - C_{12} 알킬, C_2 - C_{12} 알케닐, 치환된 C_2 - C_{12} 알케닐, C_2 - C_{12} 알키닐, 치환된 C_2 - C_{12} 알키닐, C_5 - C_{20} 아릴, 치환된 C_5 - C_{20} 아릴, 아실 ($C(=O)$ -H), 치환된 아실, 헤테로환 라디칼, 치환된 헤테로환 라디칼, C_1 - C_{12} 아미노알킬, 치환된 C_1 - C_{12} 아미노알킬 또는 보호기이다.
- [0359] 특정 구현예에서, 이환식 당 모이어티의 가교는, $-[C(Ra)(Rb)]_n-$, $-[C(Ra)(Rb)]_nO-$, $-C(RaRb)-N(R)-O-$ 또는 $-C(RaRb)-O-N(R)-$ 이다. 특정 구현예에서, 가교는 $4'-CH_2-2'$, $4'-(CH_2)_2-2'$, $4'-(CH_2)_3-2'$, $4'-CH_2-O-2'$, $4'-(CH_2)_2-O-2'$, $4'-CH_2-O-N(R)-2'$ 및 $4'-CH_2-N(R)-O-2'$ 이고, 이때 각각의 R은 독립적으로, H, 보호기, 또는 C_1 - C_{12} 알킬이다.
- [0360] 특정 구현예에서, 이환식 뉴클레오시드는 이성질체 배치에 의하여 추가로 정의된다. 예를 들면, $4'-2'$ 메틸렌옥시 가교를 포함하는 뉴클레오시드는, α -L 배치 또는 β -D 배치로 존재한다. 이전에, α -L-메틸렌옥시 ($4'-CH_2-O-2'$) BNA'는 안티센스 활성을 보여준 안티센스 올리고뉴클레오타이드에 통합되었다 (Frieden *et al.*, *Nucleic Acids Research*, 2003, 21, 6365-6372).
- [0361] 특정 구현예에서, 이환식 뉴클레오시드는, 비제한적으로, (A) α -L-메틸렌옥시 ($4'-CH_2-O-2'$) BNA, (B) β -D-메틸렌옥시 ($4'-CH_2-O-2'$) BNA, (C) 에틸렌옥시 ($4'-(CH_2)_2-O-2'$) BNA, (D) 아미노옥시 ($4'-CH_2-O-N(R)-2'$) BNA, (E) 옥시아미노 ($4'-CH_2-N(R)-O-2'$) BNA, 및 (F) 메틸(메틸렌옥시) ($4'-CH(CH_3)-O-2'$) BNA, (G) 메틸렌-티오 ($4'-CH_2-S-2'$) BNA, (H) 메틸렌-아미노 ($4'-CH_2-N(R)-2'$) BNA, (I) 메틸 탄소환식 ($4'-CH_2-CH(CH_3)-2'$) BNA, (J) 프로필렌 탄소환식 ($4'-(CH_2)_3-2'$) BNA 및 (K) 비닐 BNA를, 이하에서 묘사된 바와 같이 포함한다:



[0362]

[0363] 여기서 Bx는 염기 모이어티이고 R은, 독립적으로, H, 보호기 또는 C_1 - C_{12} 알킬 또는 C_1 - C_{12} 알콕시이다.

[0364] 특정 구현예에서, 이환식 뉴클레오시드는 하기 화학식 I을 갖는다:



[0365]

[0366] 상기 식 중에서,

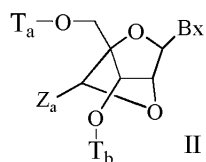
[0367] Bx는 헤테로환 염기 모이어티이다.

[0368] $-Q_a-Q_b-Q_c-$ 는 $-CH_2-N(R_c)-CH_2-$, $-C(=O)-N(R_c)-CH_2-$, $-CH_2-O-N(R_c)-$, $-CH_2-N(R_c)-O-$ 또는 $-N(R_c)-O-CH_2$ 이고;

[0369] R_c 는 C_1-C_{12} 알킬 또는 아미노 보호기이고; 그리고

[0370] T_a 및 T_b 각각은, 독립적으로 H, 하이드록실 보호기, 콘주게이트 그룹, 반응성 인 그룹, 인 모이어티, 또는 지지 매질에 대한 공유 부착(covalent attachment)이고;

[0371] 특정 구현예에서, 이환식 뉴클레오시드는 하기 화학식 II를 갖는다:



[0372]

[0373] 상기 식 중에서,

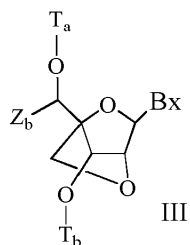
[0374] Bx는 헤테로환 염기 모이어티이다.

[0375] T_a 및 T_b 각각은, 독립적으로 H, 하이드록실 보호기, 콘주게이트 그룹, 반응성 인 그룹, 인 모이어티, 또는 지지 매질에 대한 공유 부착(covalent attachment)이고;

[0376] Z_a 는 C_1-C_6 알킬, C_2-C_6 알케닐, C_2-C_6 알키닐, 치환된 C_1-C_6 알킬, 치환된 C_2-C_6 알케닐, 치환된 C_2-C_6 알키닐, 아실, 치환된 아실, 치환된 아미드, 티올, 또는 치환된 티오이다.

[0377] 일 구현예에서, 각각의 치환된 그룹은, 독립적으로, 할로젠, 옥소, 하이드록실, OJ_c , NJ_cJ_d , SJ_c , N_3 , $OC(=X)J_c$, 및 $NJ_cC(=X)NJ_cJ_d$ 로부터 독립적으로 선택된 치환체 그룹으로 단일 또는 다중 치환되고, 여기서 각각의 J_c , J_d 및 J_e 는, 독립적으로, H, C_1-C_6 알킬, 또는 치환된 C_1-C_6 알킬이고 X는 O 또는 NJ_c 이다.

[0378] 특정 구현예에서, 이환식 뉴클레오시드는 하기 화학식 III을 갖는다:



[0379]

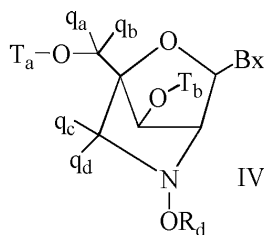
[0380] 상기 식 중에서,

[0381] Bx는 헤테로환 염기 모이어티이다.

[0382] T_a 및 T_b 각각은, 독립적으로 H, 하이드록실 보호기, 콘주게이트 그룹, 반응성 인 그룹, 인 모이어티, 또는 지지 매질에 대한 공유 부착(covalent attachment)이고;

[0383] Z_b 는 C_1-C_6 알킬, C_2-C_6 알케닐, C_2-C_6 알키닐, 치환된 C_1-C_6 알킬, 치환된 C_2-C_6 알케닐, 치환된 C_2-C_6 알키닐, 또는 치환된 아실($C(=O)-$)이다.

[0384] 특정 구현예에서, 이환식 뉴클레오시드는 하기 화학식 IV를 갖는다:



[0385]

[0386] 상기 식 중에서,

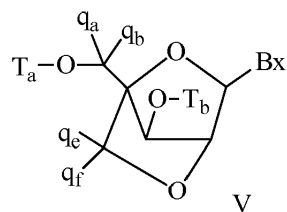
[0387] Bx는 헤테로환 염기 모이어티이다.

[0388] T_a 및 T_b 각각은, 독립적으로 H, 하이드록실 보호기, 콘주게이트 그룹, 반응성 인 그룹, 인 모이어티, 또는 지지 매질에 대한 공유 부착(covalent attachment)이고;

[0389] R_d 는 C_1-C_6 알킬, 치환된 C_1-C_6 알킬, C_2-C_6 알케닐, 치환된 C_2-C_6 알케닐, C_2-C_6 알키닐, 또는 치환된 C_2-C_6 알키닐이고;

[0390] 각각의 q_a , q_b , q_c 및 q_d 는 독립적으로, H, 할로젠, C_1-C_6 알킬, 치환된 C_1-C_6 알킬, C_2-C_6 알케닐, 치환된 C_2-C_6 알케닐, C_2-C_6 알키닐 또는 치환된 C_2-C_6 알키닐, C_1-C_6 알콕실, 치환된 C_1-C_6 알콕실, 아실, 치환된 아실, C_1-C_6 아미노알킬 또는 치환된 C_1-C_6 아미노알킬이다;

[0391] 특정 구현예에서, 이환식 뉴클레오시드는 하기 화학식 V를 갖는다:



[0392]

[0393] 상기 식 중에서,

[0394] Bx는 헤테로환 염기 모이어티이다.

[0395] T_a 및 T_b 각각은, 독립적으로 H, 하이드록실 보호기, 콘주게이트 그룹, 반응성 인 그룹, 인 모이어티, 또는 지지 매질에 대한 공유 부착(covalent attachment)이고;

[0396] q_a , q_b , q_c 및 q_f 각각은, 독립적으로, 수소, 할로젠, C_1-C_{12} 알킬, 치환된 C_1-C_{12} 알킬, C_2-C_{12} 알케닐, 치환된 C_2-C_{12} 알케닐, C_2-C_{12} 알키닐, 치환된 C_2-C_{12} 알키닐, C_1-C_{12} 알콕시, 치환된 C_1-C_{12} 알콕시, OJ_j , SJ_j , SOJ_j , SO_2J_j , NJ_jJ_k , N_3 , CN , $C(=O)OJ_j$, $C(=O)NJ_jJ_k$, $C(=O)J_j$, $O-C(=O)-NJ_jJ_k$, $N(H)C(=NH)NJ_jJ_k$, $N(H)C(=O)-NJ_jJ_k$ 또는 $N(H)C(=S)NJ_jJ_k$ 이고;

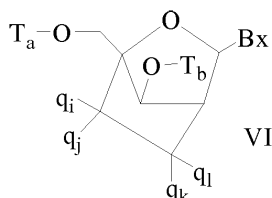
[0397] 또는 q_c 및 q_f 는 함께 $=C(q_g)(q_h)$ 이고;

[0398] q_g 및 q_h 각각은, 독립적으로, H, 할로젠, C_1-C_{12} 알킬, 또는 치환된 C_1-C_{12} 알킬이다.

[0399] 메틸렌옥시 (4'- CH_2-O-2') BNA 모노머 아데닌, 시토신, 구아닌, 5-메틸-시토신, 티민, 및 우라실의 합성 및 제조는, 그것의 올리고머화, 및 핵산 인식 특성과 함께 기재되었다 (참고: Koshkin *et al.*, *Tetrahedron*, 1998, 54, 3607-3630). BNA 및 이의 제조는 WO 98/39352 및 WO 99/14226에 또한 설명되어 있었다.

[0400] 메틸렌옥시 (4'-CH₂-O-2') BNA, 및 2'-티오-BNAs의 유사체가 또한 제조되었다 (참고: Kumar *et al.*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 1998, 8, 2219-2222). 올리고데옥시리보뉴클레오타이드 듀플렉스를 핵산 폴리머라제의 기질로서 포함하는 락킹된(locked) 뉴클레오시드 유사체의 제조가 또한 기재되었다 (참고, Wengel *et al.*, WO 99/14226). 더욱이, 2'-아미노-BNA, 신규 형태적으로 제한된 고-친화도 올리고뉴클레오타이드 유사체의 합성은 당 해기술에 기재되었다 (참고: Singh *et al.*, *J. Org. Chem.*, 1998, 63, 10035-10039). 또한, 2'-아미노- 및 2'-메틸아미노-BNA'가 제조되었고 상보적 RNA 및 DNA 가닥을 갖는 그것의 듀플렉스의 열 안정성은 이전에 보고되었다.

[0401] 특정 구현예에서, 이환식 뉴클레오시드는 하기 화학식 VI을 갖는다:



[0402]

[0403] 상기 식 중에서,

[0404] Bx는 헤테로환 염기 모이어티이다.

[0405] Ta 및 Tb 각각은, 독립적으로 H, 하이드록실 보호기, 콘주게이트 그룹, 반응성 인 그룹, 인 모이어티, 또는 지지 매질에 대한 공유 부착(covalent attachment)이고;

[0406] qi, qj, qk 및 ql 각각은, 독립적으로, 수소, 할로젠, C₁-C₁₂ 알킬, 치환된 C₁-C₁₂ 알킬, C₂-C₁₂ 알케닐, 치환된 C₂-C₁₂ 알케닐, C₂-C₁₂ 알키닐, 치환된 C₂-C₁₂ 알키닐, C₁-C₁₂ 알콕실, 치환된 C₁-C₁₂ 알콕실, OJ_j, SJ_j, SOJ_j, SO₂J_j, NJ_jJ_k, N₃, CN, C(=O)OJ_j, C(=O)NJ_jJ_k, C(=O)J_j, O-C(=O)-NJ_jJ_k, N(H)C(=NH)NJ_jJ_k, N(H)C(=O)-NJ_jJ_k 또는 N(H)C(=S)NJ_jJ_k이고; 그리고

[0407] qi 및 qj 또는 ql 및 qk는 함께 =C(q_g)(q_h)이고, 여기서 q_g 및 q_h은 각각 독립적으로 H, 할로젠, C₁-C₁₂ 알킬 또는 치환된 C₁-C₁₂ 알킬이다.

[0408] 4'-(CH₂)₃-2' 가교를 갖는 하나의 탄소환식 이환식 뉴클레오시드 및 알케닐 유사체, 가교 4'-CH=CH-CH₂-2'가 기재되었다 (참고: Freier *et al.*, *Nucleic Acids Research*, 1997, 25(22), 4429-4443 및 Albaek *et al.*, *J. Org. Chem.*, 2006, 71, 7731-7740). 탄소환식 이환식 뉴클레오시드의 합성 및 제조는 그것의 올리고머화 및 생 화학적 연구와 함께 또한 기재되었다 (참고: Srivastava *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, 2007, 129(26), 8362-8379).

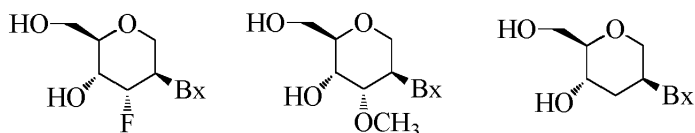
[0409] 본원에서 사용된 바와 같이, "4'-2' 이환식 뉴클레오시드" 또는 "4' 내지 2' 이환식 뉴클레오시드"는 당 환의 2' 탄소 원자 및 4' 탄소 원자를 연결하는 가교를 포함하는 푸라노스 환을 포함하는 이환식 뉴클레오시드를 의미한다.

[0410] 본원에서 사용된 바와 같이, "단환식 뉴클레오시드"는 이환식 당 모이어티가 아닌 변형된 당 모이어티를 포함하는 뉴클레오시드를 의미한다. 특정 구현예에서, 뉴클레오시드의 당 모이어티, 또는 당 모이어티 유사체는 임의의 위치에서 변형 또는 치환될 수 있다.

[0411] 본원에서 사용된 바와 같이, "2'-변형된 당"은 2' 위치에서 변형된 푸라노실 당을 의미한다. 특정 구현예에서, 2' 변형은 하기를 비제한적으로 포함하는 치환체로부터 선택된다: 치환된 및 비치환된 알콕시, 치환된 및 비치환된 티오알킬, 치환된 및 비치환된 아미노 알킬, 치환된 및 비치환된 알킬, 치환된 및 비치환된 알릴, 및 치환된 및 비치환된 알키닐을 비제한적으로 포함하는 할라이드. 특정 구현예에서, 2' 변형은 하기를 비제한적으로 포함하는 치환체로부터 선택된다: O[(CH₂)_nO]_mCH₃, O(CH₂)_nNH₂, O(CH₂)_nCH₃, O(CH₂)_nF, O(CH₂)_nONH₂, OCH₂C(=O)N(H)CH₃, 및 O(CH₂)_nON[(CH₂)_nCH₃]₂, 여기서 n 및 m은 1 내지 약 10이다. 다른 2'- 치환체 그룹은 하기로부터 또한 선택될 수 있다: C₁-C₁₂ 알킬; 치환된 알킬; 알케닐; 알키닐; 알카릴; 아랄킬; O-알카릴 또는 O-아랄

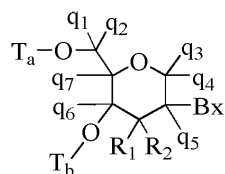
킬; SH, SCH₃, OCN, Cl, Br, CN, F, CF₃, OCF₃, SOCH₃, SO₂CH₃, ONO₂, NO₂, N₃, NH₂; 헤테로사이클로알킬; 헤테로 사이클로알카릴; 아미노알킬아미노; 폴리알킬아미노; 치환된 실릴; RNA 절단 그룹; 리포터 그룹; 삽입제; 약력 학적 특성을 개선하는 그룹; 및 안티센스 화합물의 약동학적 특성을 개선하는 그룹, 및 유사한 특성을 갖는 다 른 치환체. 특정 구현예에서, 변형된 뉴클레오시드는 2'-MOE 측쇄를 포함한다 (참고: Baker *et al.*, *J. Biol. Chem.*, 1997, 272, 11944-12000). 그와 같은 2'-MOE 치환은 비변형된 뉴클레오시드 및 다른 변형된 뉴클레오시 드, 예컨대 2'-O-메틸, O-프로필, 및 O-아미노프로필과 비교하여 개선된 결합 친화도를 갖는 것으로 기재되었 다. 2'-MOE 치환체를 갖는 올리고뉴클레오티드는 또한 *생체내* 사용을 위해 유망한 특징을 갖는 유전자 발현의 안티센스 억제제인 것으로 보여졌다 (참고, Martin, *Helv. Chim. Acta*, 1995, 78, 486-504; Altmann *et al.*, *Chimia*, 1996, 50, 168-176; Altmann *et al.*, *Biochem. Soc. Trans.*, 1996, 24, 630-637; 및 Altmann *et al.*, *Nucleosides Nucleotides*, 1997, 16, 917-926).

[0412] 본원에서 사용된 바와 같이, "변형된 테트라하이드로피란 뉴클레오시드" 또는 "변형된 THP 뉴클레오시드"는 노 말 뉴클레오시드 (당 대용물)에서 펜토피라노실 잔기를 대체하기 위해 치환된 6-원 테트라하이드로피란 "당"을 갖는 뉴클레오시드를 의미한다. 변형된 THP 뉴클레오시드는, 비제한적으로, 헥시톨 핵산 (HNA), 아니톨 핵산 (ANA), 만니톨 핵산 (MNA)로서 당해분에서 불리는 것들 (참고 Leumann, *Bioorg. Med. Chem.*, 2002, 10, 841-1954) 또는 플루오로 HNA (F-HNA) (하기 예시된 바와 같이 테트로하이드로피란 환계를 갖는다).



[0413]

[0414] 특정 구현예에서, 당 대용물은 하기 화학식 VII으로부터 선택된다:



VII

[0415] 여기서 독립적으로 식 VII의 각각의 상기 적어도 하나의 테트라하이드로피란 뉴클레오시드 유사체에 대해:

[0416] Bx는 헤테로환 염기 모이어티이다.

[0417]

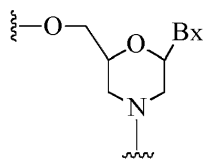
[0418] T_a 및 T_b 각각은, 독립적으로, 테트라하이드로피란 뉴클레오시드 유사체를 안티센스 화합물에 결합시키는 뉴클레 오시드간 연결기이거나 T_a 및 T_b 중 하나는 테트라하이드로피란 뉴클레오시드 유사체를 안티센스 화합물에 결 합시키는 뉴클레오시드간 연결기이고, T_a 및 T_b 중 다른 것은 H, 히드록실 보호 그룹, 결합된 콘주게이트 그룹, 또 는 5' 또는 3'-말단기이고;

[0419] q₁, q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ 및 q₇는 각각 독립적으로, H, C₁-C₆ 알킬, 치환된 C₁-C₆ 알킬, C₂-C₆ 알케닐, 치환된 C₂-C₆ 알케닐, C₂-C₆ 알키닐 또는 치환된 C₂-C₆ 알키닐이고; 그리고 각각의 R₁ 및 R₂는 수소, 하이드록실, 할로젠, 치환 된 또는 비치환된 알콕시, NJ₁J₂, SJ₁, N₃, OC(=X)J₁, OC(=X)NJ₁J₂, NJ₃C(=X)NJ₁J₂ 및 CN으로부터 선택되고, 여기 서 X는 O, S 또는 NJ₁이고, 그리고 각각의 J₁, J₂ 및 J₃는 독립적으로, H 또는 C₁-C₆ 알킬이다.

[0420] 특정 구현예에서, 화학식 VII의 변형된 THP 뉴클레오시드가 제공되며, 여기서 q₁, q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ 및 q₇는 각 각 H이다. 특정 구현예에서, q₁, q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ 및 q₇ 중 적어도 하나는 H 이외의 것이다. 특정 구현예에서, q₁, q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ 및 q₇ 중 적어도 하나는 메틸이다. 특정 구현예에서, 식 VII의 THP 뉴클레오시드가 제공되 고, 여기서 R₁ 및 R₂ 중 하나는 플루오로이다. 특정 구현예에서, R₁은 플루오로이고 R₂는 H이고, R₁은 메톡시이 고 R₂는 H이고, R₁은 메톡시에톡시이고 R₂는 H이다.

[0421] 특정 구현예에서, 당 대용물은 5개 초과와 원자를 갖고 1개 초과와 헤테로원자를 갖는 환을 포함한다. 예를 들

어, 모폴리노 변형된 당 모이어티를 포함하는 뉴클레오시드 및 올리고머 화합물에서의 그들의 용도가 보고되었다 (예를 들어 참고: Braasch *et al.*, *Biochemistry*, 2002, 41, 4503-4510; 및 미국 특허 5,698,685; 5,166,315; 5,185,444; 및 5,034,506). 본원에서 사용된 바와 같이, "모폴리노"는 하기 구조를 갖는 당 대용물을 의미한다:



[0422]

[0423]

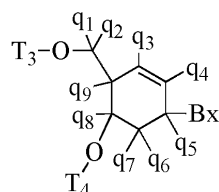
특정 구현예에서, 모폴리노는, 상기 모폴리노 구조로부터의 다양한 치환기 그룹을 부가하거나 변형시킴으로써 변형될 수 있다. 그와 같은 당 대용물은 본원에서 "변형된 모폴리노"라 칭한다.

[0424]

하기와 같은 변형의 조합이 또한 비제한적으로 제공된다: 2'-F-5'-메틸 치환된 뉴클레오시드 (참고 다른 개시된 5', 2'-비스 치환된 뉴클레오시드에 대해 8/21/08에 공개된 PCT 국제 출원 WO 2008/101157) 및 2'-위치에서의 리보실 환 산소 원자 대신에 S에 의한 대체 및 추가 치환 (참고 2005년 6월 16일에 공개된 미국 특허 출원 US2005-0130923) 또는 대안적으로 이환식 핵산의 5'-치환 (참고 11/22/07에 공개된 PCT 국제 출원 WO 2007/134181, 여기서 4'-CH₂-O-2' 이환식 뉴클레오시드는 5' 위치에서 5'-메틸 또는 5'-비닐기로 추가로 치환된다). 탄소환 이환식 뉴클레오시드의 합성 및 제조는 그것의 올리고머화 및 생화학적 연구와 함께 또한 기재되었다 (참고, 예를 들면, Srivastava *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* 2007, 129(26), 8362-8379).

[0425]

특정 구현예에서, 안티센스 화합물은 천연 유래 뉴클레오시드에서 펜토퓨라노실 잔기 대신에 6-원 사이클로헥센닐을 가지는 뉴클레오시드인 하나 이상의 변형 사이클로헥센닐 뉴클레오시드를 포함한다. 변형된 사이클로헥센닐 뉴클레오시드는 당업계에서 다음에 기술된 것들을 비제한적으로 포함한다(예를 들어 일반적으로 보유된, 다음 참고: 공개된 PCT 출원 WO 2010/036696 (2010년 4월 10일 발표), Robeyns *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, 2008, 130(6), 1979-1984; Horváth *et al.*, *Tetrahedron Letters*, 2007, 48, 3621-3623; Nauwelaerts *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, 2007, 129(30), 9340-9348; Gu *et al.*, *Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids*, 2005, 24(5-7), 993-998; Nauwelaerts *et al.*, *Nucleic Acids Research*, 2005, 33(8), 2452-2463; Robeyns *et al.*, *Acta Crystallographica, Section F: Structural Biology and Crystallization Communications*, 2005, F61(6), 585-586; Gu *et al.*, *Tetrahedron*, 2004, 60(9), 2111-2123; Gu *et al.*, *Oligonucleotides*, 2003, 13(6), 479-489; Wang *et al.*, *J. Org. Chem.*, 2003, 68, 4499-4505; Verbeure *et al.*, *Nucleic Acids Research*, 2001, 29(24), 4941-4947; Wang *et al.*, *J. Org. Chem.*, 2001, 66, 8478-82; Wang *et al.*, *Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids*, 2001, 20(4-7), 785-788; Wang *et al.*, *J. Am. Chem.*, 2000, 122, 8595-8602; 공개 PCT 출원, WO 06/047842; 및 공개 PCT 출원 WO 01/049687; 각각의 내용은 본원에 그 전체가 참고로 편입되어 있다). 특정 변형 사이클로헥센닐 뉴클레오시드는 하기 화학식 X를 가진다.



X

[0426]

[0427]

여기서 화학식 X의 상기 적어도 하나의 사이클로헥센닐 뉴클레오시드 유사체 각각에 대하여, 독립적으로:

[0428]

Bx는 헤테로환 염기 모이어티이다.

[0429]

T₃ 및 T₄ 각각은, 독립적으로, 사이클로헥센닐 뉴클레오시드 유사체를 T₃ 및 T₄의 안티센스 화합물에 연결시키는 뉴클레오시드간 연결기이거나 이들 중 하나는 테트라하이드로피란 뉴클레오시드 유사체를 안티센스 화합물에 연결시키는 뉴클레오시드간 연결기이고, 그리고 T₃ 및 T₄ 중 다른 것은 H, 히드록실 보호기, 연결된 콘주게이트 그룹, 또는 5' 또는 3'-말단기이고; 그리고

[0430]

q₁, q₂, q₃, q₄, q₅, q₆, q₇, q₈ 및 q₉는 각각, 독립적으로, H, C₁-C₆ 알킬, 치환된 C₁-C₆ 알킬, C₂-C₆ 알케닐, 치환

된 C₂-C₆ 알케닐, C₂-C₆ 알킬닐, 치환된 C₂-C₆ 알킬닐 또는 다른 당 치환체 그룹이다.

- [0431] 본원에서 사용된 바와 같이, "2'-변형된" 또는 "2'-치환된"은 H 또는 OH 이외의 2' 위치에서 치환체를 포함하는 당을 포함하는 뉴클레오시드를 의미한다. 2'-변형된 뉴클레오시드는, 비제한적으로, 이환식 뉴클레오시드를 포함하고, 여기서 당 환의 2 개의 탄소 원자를 연결하는 가교는 당 환의 2' 탄소 및 다른 탄소; 그리고 뉴클레오시드를 비-가교 2' 치환체, 예컨대 알릴, 아미노, 아지도, 티오, 0-알릴, 0-C₁-C₁₀ 알킬, -OCF₃, 0-(CH₂)₂-O-CH₃, 2'-O(CH₂)₂SCH₃, 0-(CH₂)₂-O-N(R_m)(R_n), 또는 0-CH₂-C(=O)-N(R_m)(R_n)와 연결하고, 여기서 각각의 R_m 및 R_n는, 독립적으로, H 또는 치환된 또는 비치환된 C₁-C₁₀ 알킬이다. 2'-변형된 뉴클레오시드는 예를 들면, 당의 다른 위치에서 및/또는 핵염기에서 다른 변형을 추가로 포함할 수 있다.
- [0432] 본원에서 사용된 바와 같이, "2'-F"는 당 환의 2' 위치에서 플루오로 기를 포함하는 당을 포함하는 뉴클레오시드를 의미한다.
- [0433] 본원에서 사용된 바와 같이, "2'-OMe" 또는 "2'-OCH₃" 또는 "2'-O-메틸" 각각은 당 환의 2' 위치에서 -OCH₃ 기를 포함하는 당을 포함하는 뉴클레오시드를 지칭한다.
- [0434] 본원에서 사용된 바와 같이, "MOE" 또는 "2'-MOE" 또는 "2'-OCH₂CH₂OCH₃" 또는 "2'-O-메톡시에틸" 각각은 당 환의 2' 위치에서 -OCH₂CH₂OCH₃ 기를 포함하는 당을 포함하는 뉴클레오시드를 지칭한다.
- [0435] 본 명세서에서 이용되는 바와 같이, "올리고뉴클레오티드"는 복수의 연결된 뉴클레오시드를 포함하는 화합물을 지칭한다. 소정의 실시형태에 있어서, 복수의 뉴클레오시드 중 하나 이상이 변형된다. 특정 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 하나 이상의 리보뉴클레오시드(RNA) 및/또는 데옥시리보뉴클레오시드(DNA)를 포함한다.
- [0436] 많은 다른 바이사이클로 및 트리사이클로 당 대용물 환계는 또한 당해기술에 공지되어 있고 안티센스 화합물에 통합시키기 위한 뉴클레오시드를 변형하기 위해 사용될 수 있다 (참고, 예를 들면, 검토 논문: Leumann, *Bioorg. Med. Chem.*, 2002, 10, 841-1954). 그와 같은 환계는 활성을 향상시키기 위해 다양한 부가적 치환을 경험할 수 있다.
- [0437] 변형된 당류의 제조 방법은 당해분야의 숙련자에게 잘 공지되어 있다. 이러한 변형 당의 제조를 교시하는 일부 대표적인 미국 특허는, 제한 없이, 미국 특허 제4,981,957호; 제5,118,800호; 제5,319,080호; 제5,359,044호; 제5,393,878호; 제5,446,137호; 제5,466,786호; 제5,514,785호; 제5,519,134호; 제5,567,811호; 제5,576,427호; 제5,591,722호; 제5,597,909호; 제5,610,300호; 제5,627,053호; 제5,639,873호; 제5,646,265호; 제5,670,633호; 제5,700,920호; 제5,792,847호 및 제6,600,032호 및 2005년 6월 2일에 출원되고 2005년 12월 22일에 WO 2005/121371로서 공개된 국제 출원 PCT/US 2005/019219를 포함하고, 이들 중 특정된 것은 본 출원과 공동으로 소유되며, 이들 각각은 그 전체가 본 명세서에 참고로 편입된다.
- [0438] 변형된 당 모이어티를 갖는 뉴클레오티드에서, 핵염기 모이어티 (천연, 변형된, 또는 이들의 조합)은 적절한 핵산 표적과의 혼성화를 위해 유지된다.
- [0439] 특정 구현예에서, 안티센스 화합물은 하나 이상의 변형된 당 모이어티를 갖는 뉴클레오시드를 포함한다. 특정 구현예에서, 변형된 당 모이어티는 2'-MOE이다. 특정 구현예에서, 2'-MOE 변형된 뉴클레오시드는 갭머 모티프에서 배열된다. 특정 구현예에서, 상기 변형된 당 모이어티는 (4' -CH(CH₃)-O-2') 가교기를 갖는 이환식 뉴클레오시드이다. 특정 구현예에서, 상기 (4' -CH(CH₃)-O-2') 변형된 뉴클레오시드는 갭머 모티프의 윙에 걸쳐 배열된다.
- [0440] *콘주게이트된 안티센스 화합물*
- [0441] 특정 구현예에서, 본 개시내용은 콘주게이트된 안티센스 화합물을 제공한다. 특정 구현예에서, 본 개시내용은 핵산 전사체에 상보적인 안티센스 올리고뉴클레오티드를 포함하는 콘주게이트된 안티센스 화합물을 제공한다. 특정 구현예에서, 본 개시내용은 세포를 핵산 전사체에 상보적인 안티센스 올리고뉴클레오티드를 포함하는 콘주게이트된 안티센스 화합물과 접촉시키는 방법을 제공한다. 특정 구현예에서, 본 개시내용은 세포를 안티센스 올리고뉴클레오티드를 포함하는 콘주게이트된 안티센스 화합물과 접촉시키고 세포에서 핵산 전사체의 양 또는 활성을 감소시키는 방법을 제공한다.
- [0442] 아시알로당단백질 수용체 (ASGP-R)가 이전에 기재되었다. 예를 들어, 참고: Park et al., PNAS vol. 102, No.

47, pp 17125-17129 (2005). 그와 같은 수용체들은 간 세포, 특히 간세포(hepatocyte) 상에서 발현된다. 게다가, 3개의 N-아세틸갈락토사민 (GalNAc) 리간드들의 클러스터를 포함하는 화합물은 ASGP-R에 결합하여, 세포 내로 상기 화합물의 흡수를 야기할 수 있는 것으로 나타났다. 예를 들면, 문헌[Khorev et al., Bioorganic and Medicinal Chemistry, 16, 9, pp 5216-5231 (May 2008)]을 참조한다. 따라서, 그와 같은 GalNAc 클러스터를 포함하는 콘주게이트들은 간 세포, 특이적으로 간세포 내로 특정 화합물의 흡수를 촉진하는데 사용되어 왔다. 예를 들면 특정 GalNAc-함유 콘주게이트들은 생체내에서 간 세포에서 듀플렉스 siRNA 화합물의 활성을 증가시키는 것으로 나타났다. 그와 같은 경우에, GalNAc-함유 콘주게이트는 전형적으로 siRNA 듀플렉스의 센스 가닥에 부착된다. 센스 가닥은 안티센스 가닥이 결국 표적 핵산과 혼성화되기 전에 버려지므로, 상기 콘주게이트는 활성을 방해할 염려가 거의 없다. 전형적으로, 상기 콘주게이트는 siRNA의 센스 가닥의 3' 말단에 부착된다. 예를 들면, U.S. 특허 제8,106,022호를 참고한다. 본원에서 기재된 특정 콘주게이트 그룹은 더 활성이고/거나 이전에 기재된 콘주게이트 그룹보다 합성하기 더 쉽다.

[0443] 본 발명의 특정 구현예에서, 콘주게이트는 비제한적으로 RNase H 기반 안티센스 화합물 및 전-mRNA의 표적 핵산의 스플라이싱을 변경하는 안티센스 화합물을 포함하는, 단일가닥 안티센스 화합물에 부착된다. 그와 같은 구현예에서, 콘주게이트는 이점 (세포 내로의 개선된 흡수)을 제공하기에 충분히 긴 안티센스 화합물에 계속 부착되어 있어야 하지만, 이후에 절단되거나, 또는 표적 핵산에 대한 혼성화 및 스플라이싱 또는 스플라이스 조절과 연관된 RNase H 또는 효소와의 상호작용과 같은, 활성에 필요한 차후 단계를 방해하지 않을 수 있다. 특성들의 이러한 균형이 siRNA 화합물에서보다 단일가닥 안티센스 화합물의 설정에서 더 중요하며, 상기 콘주게이트는 센스 가닥에 간편하게 부착될 수 있다. 콘주게이트가 결합된 동일한 안티센스 화합물과 비교하여 생체내에서 간 세포에서 개선된 효능을 갖는 콘주게이트된 단일가닥 안티센스 화합물이 본원에 개시된다. 이들 화합물에 대해 특성들의 요구되는 균형을 고려할 때, 그와 같은 개선된 효능은 놀랍다.

[0444] 특정 구현예에서, 본원의 콘주게이트 그룹은 절단가능 모이어티를 포함한다. 언급한 바와 같이, 기전에 의해 염매이지 않으면서, 콘주게이트가 흡수 증진을 제공하기 위해 충분히 긴 화합물 상에 유지되어야 하는 것이 논리적이지만, 이후에, 상기 콘주게이트의 일부분 또는 이상적으로는 모두가 절단되어 그것의 가장 활성 형태의 모 화합물 (예를 들면, 안티센스 화합물)을 방출하는 것이 바람직하다. 특정 구현예에서, 절단가능 모이어티는 절단가능 뉴클레오시드이다. 그와 같은 구현예는하나 이상의 절단가능 결합, 예컨대 포스포디에스테르 연결을 통한 뉴클레오시드를 통해 상기 콘주게이트 (클러스터)의 나머지를 안티센스 올리고뉴클레오티드에 부착시킴으로써 세포에서 내인성 뉴클레아제의 이점을 이용한다. 특정 구현예에서, 클러스터는 포스포디에스테르 연결을 통해 절단가능 뉴클레오시드에 결합된다. 특정 구현예에서, 절단가능 뉴클레오시드는 포스포디에스테르 연결에 의해 안티센스 올리고뉴클레오티드 (안티센스 화합물)에 부착된다. 특정 구현예에서, 콘주게이트 그룹은 2 또는 3 개의 절단가능 뉴클레오시드를 포함할 수 있다. 그와 같은 구현예에서, 그와 같은 절단가능 뉴클레오시드는 서로 연결되고/거나, 안티센스 화합물에 연결되고/거나 절단가능 결합 (예컨대 포스포디에스테르 연결)을 통해 클러스터에 연결된다. 본원의 특정 콘주게이트는 절단가능 뉴클레오시드를 포함하지 않으며 대신에 절단가능 결합을 포함한다. 올리고뉴클레오티드로부터의 콘주게이트의 충분한 절단은 세포에서 절단에 취약한 적어도 하나의 결합 (절단가능 결합)에 의해 제공되는 것으로 나타난다.

[0445] 특정 구현예에서, 콘주게이트된 안티센스 화합물은 프로드럭이다. 그와 같은 프로드럭은 동물에게 투여되고 결국 더 많은 활성 형태로 대사작용된다. 예를 들면, 콘주게이트된 안티센스 화합물은 콘주게이트의 모두 또는 일부를 제거하기 위해 절단되어 콘주게이트의 모두 또는 일부가 결합된 안티센스 화합물의 활성 (또는 더 많은 활성) 형태를 야기한다.

[0446] 특정 구현예에서, 콘주게이트는 올리고뉴클레오티드의 5' 말단에서 부착된다. 특정 그와 같은 5'-콘주게이트는 3' 말단에서 부착된 유사한 콘주게이트 그룹을 갖는 대응물보다 더 효율적으로 절단된다. 특정 구현예에서, 개선된 활성은 개선된 절단과 관련될 수 있다. 특정 구현예에서, 5' 말단에 콘주게이트를 포함하는 올리고뉴클레오티드는 3' 말단에 콘주게이트를 포함하는 올리고뉴클레오티드보다 더 큰 효능을 갖는다 (예를 들면, 실시예 56, 81, 83, 및 84 참고). 게다가, 5'-부착은 보다 간단한 올리고뉴클레오티드 합성을 허용한다. 전형적으로, 올리고뉴클레오티드는 3'에서 5' 방향으로 고체 지지체 상에서 합성된다. 3'-콘주게이트된 올리고뉴클레오티드를 제조하기 위해, 전형적으로 전-콘주게이트된 3' 뉴클레오시드를고체 지지체에 부착시킨 다음 종래와 같이 올리고뉴클레오티드를 만든다. 그러나, 상기 콘주게이트된 뉴클레오시드를 고체 지지체에 부착하는 것은 합성에 문제가 된다. 게다가, 상기 접근법을 이용시, 이후 콘주게이트가 올리고뉴클레오티드의 합성 내내 존재하고 이후 단계 동안 분해될 수 있거나 사용될 수 있는 반응 및 시약의 종류를 제한할 수 있다. 5'-콘주게이트된 올리고뉴클레오티드에 대해 본원에 기재된 구조 및 기술을 이용하여, 당업자는 표준 자동화된 기술을 이용하여 올리

고뉴클레오티드를 합성하고 올리고뉴클레오티드가 고체 지지체로부터 절단된 후 최종 (5'-최말단) 뉴클레오시드를 갖는 콘주게이트를 도입할 수 있다.

[0447] 본 기술분야 및 본 개시내용에 비추어, 숙련가는 본원에서 임의의 콘주게이트 및 콘주게이트된 올리고뉴클레오티드를 쉽게 제조할 수 있다. 게다가, 본원에 개시된 특정 그와 같은 콘주게이트 및 콘주게이트된 올리고뉴클레오티드의 합성은 더 쉽고/쉽거나 단계를 거의 필요로 하지 않으며, 따라서 이전에 개시된 콘주게이트보다 덜 비싸, 제조시 이점을 제공한다. 예를 들면, 특정 콘주게이트 그룹의 합성은 더 적은 합성 단계로 구성되어, 이전에 기재된 콘주게이트 그룹과 비교하여 증가된 수율을 야기한다. 실시예 46에서의 GalNAc3-10 및 실시예 48에서의 GalNAc3-7과 같은 콘주게이트 그룹들은 더 많은 화학적 중간체들의 조립을 요구하는 U.S. 제8,106,022호 또는 U.S. 제7,262,177호에 기술된 것과 같은 이전에 기재된 콘주게이트보다 훨씬 더 단순하다. 따라서, 본원에 기재된 이들 및 다른 콘주게이트들은 단일가닥 올리고뉴클레오티드 및 이중-가닥 올리고뉴클레오티드 중 임의의 가닥 (예를 들면, siRNA)을 포함하는, 임의의 올리고뉴클레오티드를 이용하기 위해 이전에 기재된 화합물보다 이점을 갖는다.

[0448] 유사하게, 단지 1 또는 2개의 GalNAc 리간드를 갖는 콘주게이트 그룹들이 본원에서 개시된다. 나타난 바와 같이, 그러한 콘주게이트 그룹들은 안티센스 화합물의 활성을 개선한다. 그러한 화합물들은 3개의 GalNAc 리간드를 포함하는 콘주게이트보다 제조하기 훨씬 더 쉽다. 1 또는 2개의 GalNAc 리간드를 포함하는 콘주게이트 그룹들은 단일가닥 올리고뉴클레오티드 및 이중-가닥 올리고뉴클레오티드 중 임의의 하나 (예를 들면, siRNA)를 포함하는, 임의의 안티센스 화합물에 부착될 수 있다.

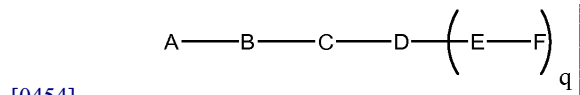
[0449] 특정 구현예에서, 본원의 콘주게이트들은 내성의 특정 측정값을 실질적으로 변화시키지 않는다. 예를 들면, 콘주게이트된 안티센스 화합물들은 비콘주게이트된 모 화합물보다 더 면역원성이 아닌 것으로 본원에 나타나 있다. 효능이 개선되므로, 내성이 동일하게 유지되는 (또는 사실상 내성이 효능 증가와 비교하여 단지 약간 악화되긴 하지만) 구현예는 치료요법에 대해 개선된 특성을 갖는다.

[0450] 특정 구현예에서, 콘주게이션은 콘주게이션 부재시 덜 매력적인 결과를 갖는 방식으로 안티센스 화합물을 변경시키는 것을 허용한다. 예를 들면, 특정 구현예에서, 완전히 포스포로티오에이트 안티센스 화합물의 하나 이상의 포스포로티오에이트 연결을 포스포디에스테르 연결로 대체하는 것은 내성의 일부 측정에서 개선을 야기한다. 예를 들면, 특정 예에서, 하나 이상의 포스포디에스테르를 갖는 그와 같은 안티센스 화합물은 각각의 연결이 포스포로티오에이트인 동일한 화합물보다 덜 면역원성이다. 그러나, 특정 예에서, 실시예 26에서 나타난 바와 같이, 하나 이상의 포스포로티오에이트 연결의 포스포디에스테르 연결로의 동일한 대체는 또한 감소된 세포성 흡수 및/또는 효능의 손실을 야기한다. 특정 구현예에서, 본원에서 기재된 콘주게이트된 안티센스 화합물은 콘주게이트된 완전한-포스포로티오에이트 대응물과 비교하여 흡수 및 효능에서 손실이 거의 없거나 전혀 없이 연결에서 그와 같은 변화를 견딘다. 사실상, 특정 구현예에서, 예를 들면, 실시예 44, 57, 59, 및 86에서, 콘주게이트 및 적어도 하나의 포스포디에스테르 뉴클레오시드 간 연결을 포함하는 올리고뉴클레오티드들은 실제로 또한 동일한 콘주게이트를 포함하는 완전한 포스포로티오에이트 대응물과 비교하여도 생체내에서 증가된 효능을 나타낸다. 게다가, 콘주게이션은 흡수/효능에서 실질적인 증가를 야기하므로, 상기 실질적인 증가에서의 작은 손실은 개선된 내성을 달성하기 위해 허용될 수 있다. 따라서, 특정 구현예에서, 콘주게이트된 안티센스 화합물은 적어도 하나의 포스포디에스테르 연결을 포함한다.

[0451] 특정 구현예에서, 본원의 안티센스 화합물의 콘주게이션은 간세포에서 증가된 전달, 흡수 및 활성을 야기한다. 따라서, 더 많은 화합물은 간 조직에 전달된다. 그러나, 특정 구현예에서, 상기 그러한 증가된 전달은 단독으로 활성의 전체 증가를 설명하지 못한다. 특정 그와 같은 구현예에서, 더 많은 화합물은 간세포에 들어간다. 특정 구현예에서, 심지어 증가된 간세포 흡수도 활성의 전체 증가를 설명하지 못한다. 그와 같은 구현예에서, 콘주게이트된 화합물의 생산적인 흡수는 증가된다. 예를 들면, 실시예 102에 나타난 바와 같이, GalNAc-함유 콘주게이트의 특정 구현예는 비-실질 세포에 비해 간세포에서 안티센스 올리고뉴클레오티드의 강화를 증가시킨다. 이러한 강화는 간세포에서 발현된 유전자를 표적으로 하는 올리고뉴클레오티드에 대해 유익하다.

[0452] 특정 구현예에서, 본원의 콘주게이트된 안티센스 화합물은 감소된 신장 노출을 야기한다. 예를 들면, 실시예 20에 나타난 바와 같이, GalNAc-함유 콘주게이트의 특정 구현예를 포함하는 안티센스 올리고뉴클레오티드의 농도는 GalNAc-함유 콘주게이트가 없는 안티센스 올리고뉴클레오티드보다 신장에서 더 낮다. 이것은 몇 개의 유익한 치료적 연루성을 갖는다. 신장에서의 활성이 추구되지 않는 치료적 징후에 대해, 신장의 노출은 상응하는 이점 없이 신장 독성을 위태롭게 한다. 게다가, 신장의 고농도는 전형적으로 화합물의 소변으로 손실을 야기하고, 이로써 더 빠른 청소능을 얻는다. 따라서 비-신장 표적에 대해, 신장 축적은 바람직하지 않다.

[0453] 특정 구현예에서, 본 개시내용은 하기 식으로 나타낸 콘주게이트된 안티센스 화합물을 제공한다:



[0455] 여기서,

[0456] A는 안티센스 올리고뉴클레오타이드이고;

[0457] B는 절단가능 모이어티이고

[0458] C는 콘주게이트 링커이고

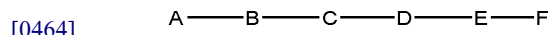
[0459] D는 분지화 그룹이고

[0460] 각각의 E는 연결기이고;

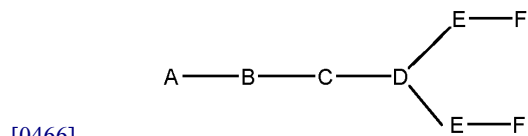
[0461] 각각의 F는 리간드이고; 그리고

[0462] q는 정수 1 내지 5이다.

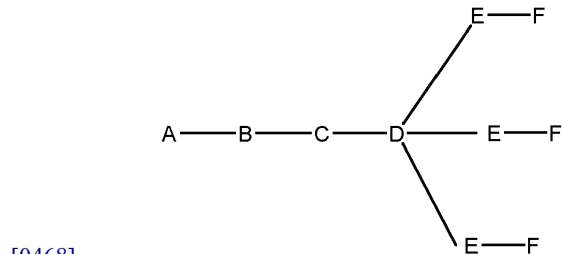
[0463] 본원의 상기 도표 및 유사한 도표에서, 분지화 그룹 "D"는 "q"에 의해 명시되는 바와 같이 (E-F) 그룹의 수를 수용하기 위해 필요한 만큼 여러 번 분기된다. 따라서, q = 1인 경우, 식은 하기와 같다:



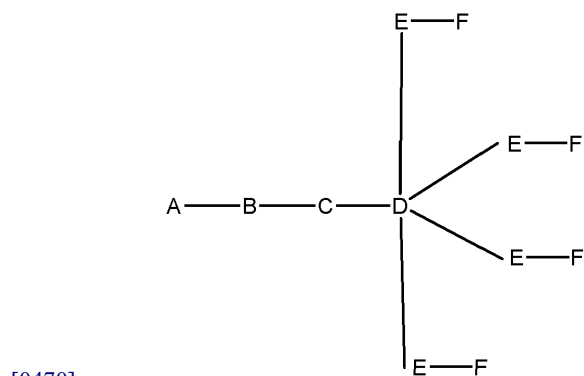
[0465] q = 2인 경우, 식은 하기와 같다:



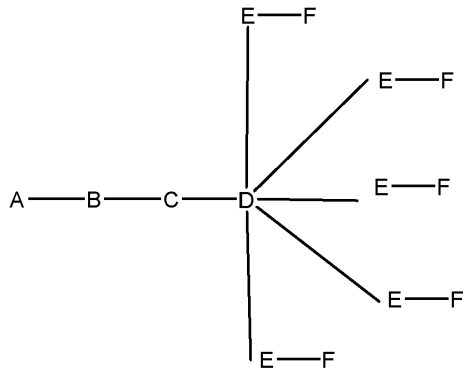
[0467] q = 3인 경우, 식은 하기와 같다:



[0469] q = 4인 경우, 식은 하기와 같다:

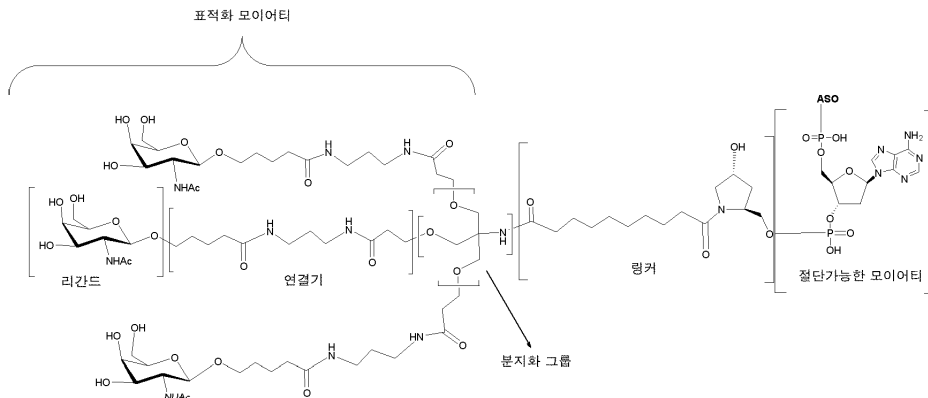


[0471] $q = 5$ 인 경우, 식은 하기와 같다:



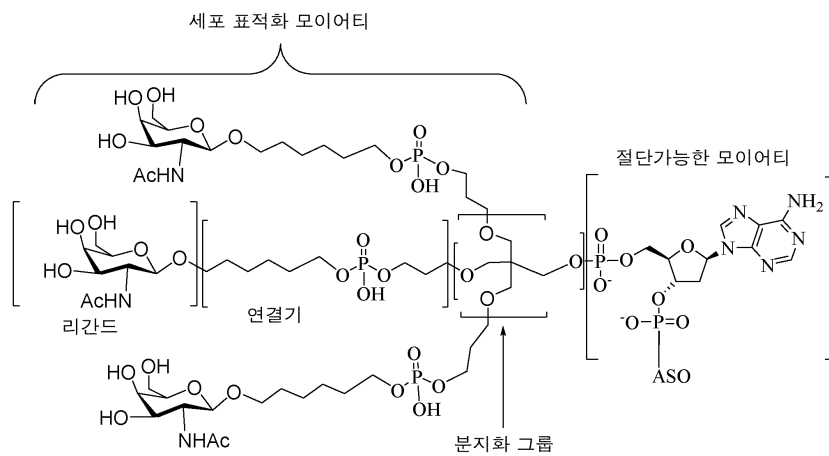
[0472]

[0473] 특정 구현예에서, 콘주게이트된 안티센스 화합물은 하기 구조를 갖는 것으로 제공된다:



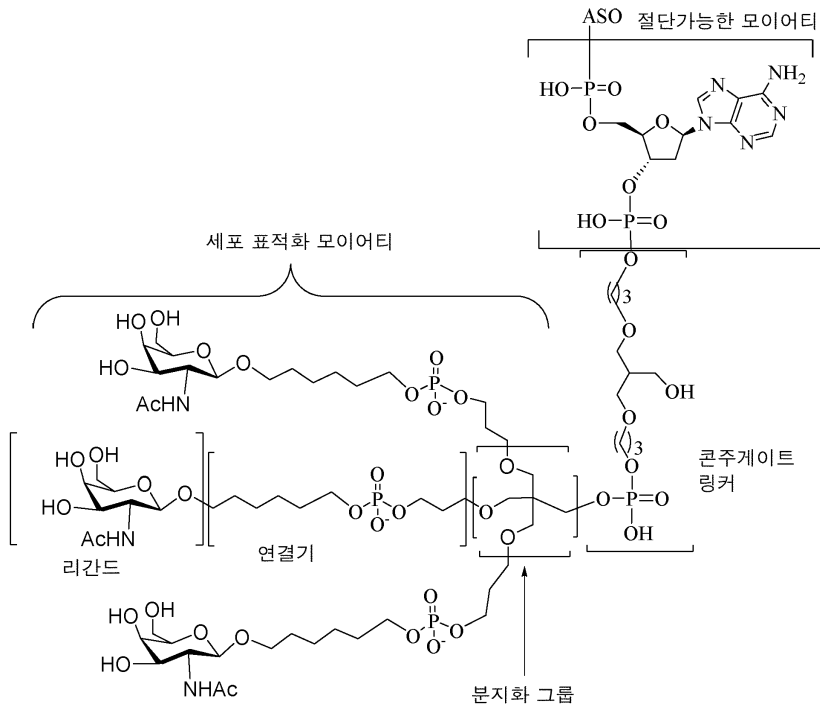
[0474]

[0475] 특정 구현예에서, 콘주게이트된 안티센스 화합물은 하기 구조를 갖는 것으로 제공된다:

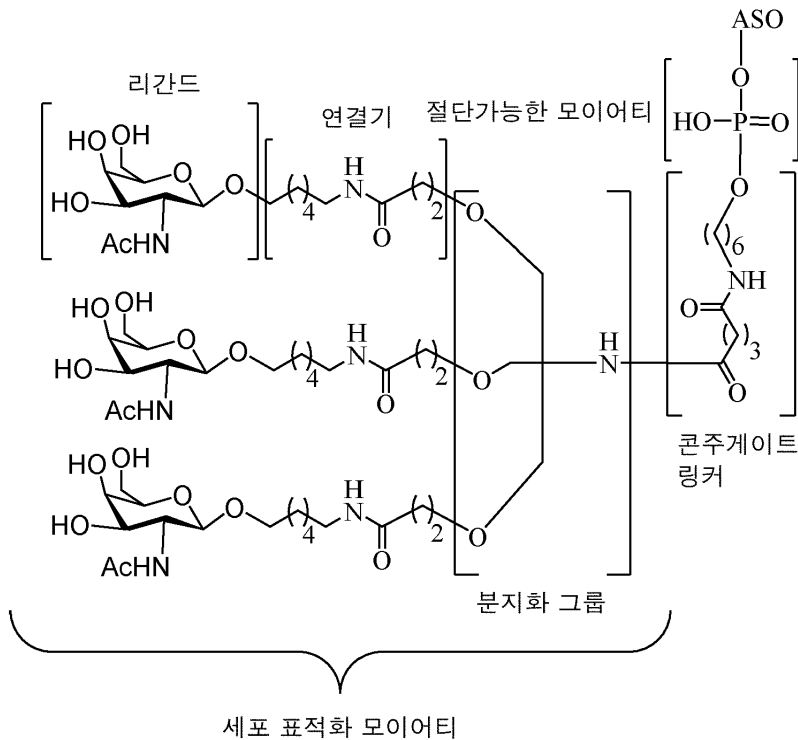


[0476]

[0477] 특정 구현예에서, 콘주게이트된 안티센스 화합물은 하기 구조를 갖는 것으로 제공된다:



특정 구현예에서, 콘주게이트된 안티센스 화합물은 하기 구조를 갖는 것으로 제공된다:



특정한 변수의 1 초과 (예를 들면, 1 초과 "m" 또는 "n")를 갖는 구현예에서, 달리 지적되지 않으면, 각각의 그와 같은 특정한 변수는 독립적으로 선택된다. 따라서, 1 초과 n을 갖는 구조에 대해, 각각의 n은 선택된 독립적으로 선택되고, 이로써, 서로 동일하거나 그렇지 않을 수 있다.

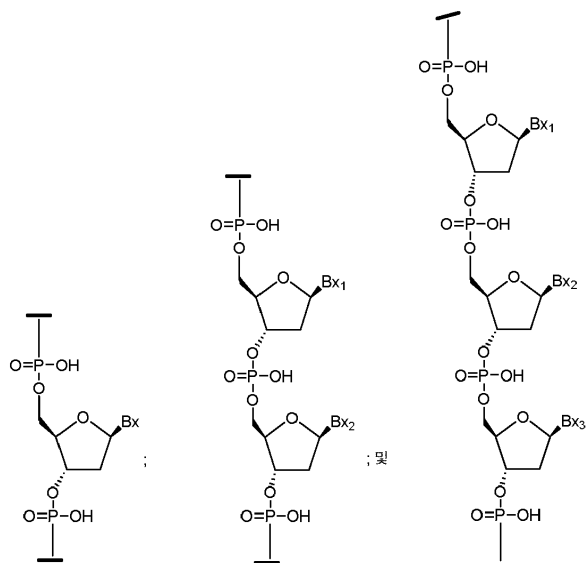
i. 특정 절단가능 모이어티

특정 구현예에서, 절단가능 모이어티는 절단가능 결합이다. 특정 구현예에서, 절단가능 모이어티는 절단가능 결합을 포함한다. 특정 구현예에서, 콘주게이트 그룹은 절단가능 모이어티를 포함한다. 특정 그와 같은 구현예에서, 절단가능 모이어티는 안티센스 올리고뉴클레오타이드에 부착된다. 특정 그와 같은 구현예에서, 절단가능 모이어티는 세포-표적화 모이어티에 직접적으로 부착된다. 특정 그와 같은 구현예에서, 절단가능 모이어티는 콘주게

이트 링커에 부착된다. 특정 구현예에서, 절단가능 모이어티는 포스페이이트 또는 포스포디에스테르를 포함한다. 특정 구현예에서, 절단가능 모이어티는 절단가능 뉴클레오시드 또는 뉴클레오시드 유사체이다. 특정 구현예에서, 뉴클레오시드 또는 뉴클레오시드 유사체는 퓨린, 치환된 퓨린, 피리미딘 또는 치환된 피리미딘로부터 선택된 임의로 보호된 헤테로환 염기를 포함한다. 특정 구현예에서, 절단가능 모이어티는 우라실, 티민, 시토신, 4-N-벤조일시토신, 5-메틸시토신, 4-N-벤조일-5-메틸시토신, 아데닌, 6-N-벤조일아데닌, 구아닌 및 2-N-이소부틸릴구아닌로부터 선택된 임의로 보호된 헤테로환 염기를 포함하는 뉴클레오시드이다. 특정 구현예에서, 절단가능 모이어티는 포스포디에스테르 연결에 의해 안티센스 올리고뉴클레오티드의 3' 위치에 부착되고 포스포디에스테르 또는 포스포로티오에이트 연결에 의해 링커에 부착된 2'-데옥시 뉴클레오시드이다. 특정 구현예에서, 절단가능 모이어티는 포스포디에스테르 연결에 의해 안티센스 올리고뉴클레오티드의 3' 위치에 부착되고 포스포디에스테르 또는 포스포로티오에이트 연결에 의해 링커에 부착된 2'-데옥시 아데노신이다. 특정 구현예에서, 절단가능 모이어티는 포스포디에스테르 연결에 의해 안티센스 올리고뉴클레오티드의 3' 위치에 부착되고 포스포디에스테르 또는 포스포로티오에이트 연결에 의해 링커에 부착된 2'-데옥시 아데노신이다.

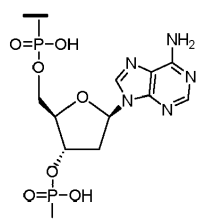
[0484] 특정 구현예에서, 절단가능 모이어티는 안티센스 올리고뉴클레오티드의 3' 위치에 부착된다. 특정 구현예에서, 절단가능 모이어티는 안티센스 올리고뉴클레오티드의 5' 위치에 부착된다. 특정 구현예에서, 절단가능 모이어티는 안티센스 올리고뉴클레오티드의 2' 위치에 부착된다. 특정 구현예에서, 절단가능 모이어티는 포스포디에스테르 연결에 의해 안티센스 올리고뉴클레오티드에 부착된다. 특정 구현예에서, 절단가능 모이어티는 포스포디에스테르 또는 포스포로티오에이트 연결에 의해 링커에 부착된다. 특정 구현예에서, 절단가능 모이어티는 포스포디에스테르 연결에 의해 링커에 부착된다. 특정 구현예에서, 콘주게이트 그룹은 절단가능 모이어티를 포함하지 않는다.

[0485] 특정 구현예에서, 절단가능 모이어티는, 표적화된 세포에 의해 내면화된 직후에 복합물이 동물에게 투여된 후에 절단된다. 세포 내에서 절단가능 모이어티는 절단되고 그렇게 함으로써 활성 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 방출한다. 이론에 의해 제한되지를 바라지 않지만 절단가능 모이어티가 세포 내의 1 이상의 뉴클레아제에 의해 절단되는 것으로 믿는다. 특정 구현예에서, 1 이상의 뉴클레아제는 절단가능 모이어티와 링커 사이의 포스포디에스테르 연결을 절단한다. 특정 구현예에서, 절단가능 모이어티는 하기 중으로부터 선택된 구조를 갖는다:



[0486]

[0487] 여기서 각각의 Bx , Bx_1 , Bx_2 , 및 Bx_3 은 독립적으로 헤테로환 염기 모이어티이다. 특정 구현예에서, 절단가능 모이어티는 하기 중으로부터 선택된 구조를 갖는다:



[0488]

[0489] i. 특정 링커

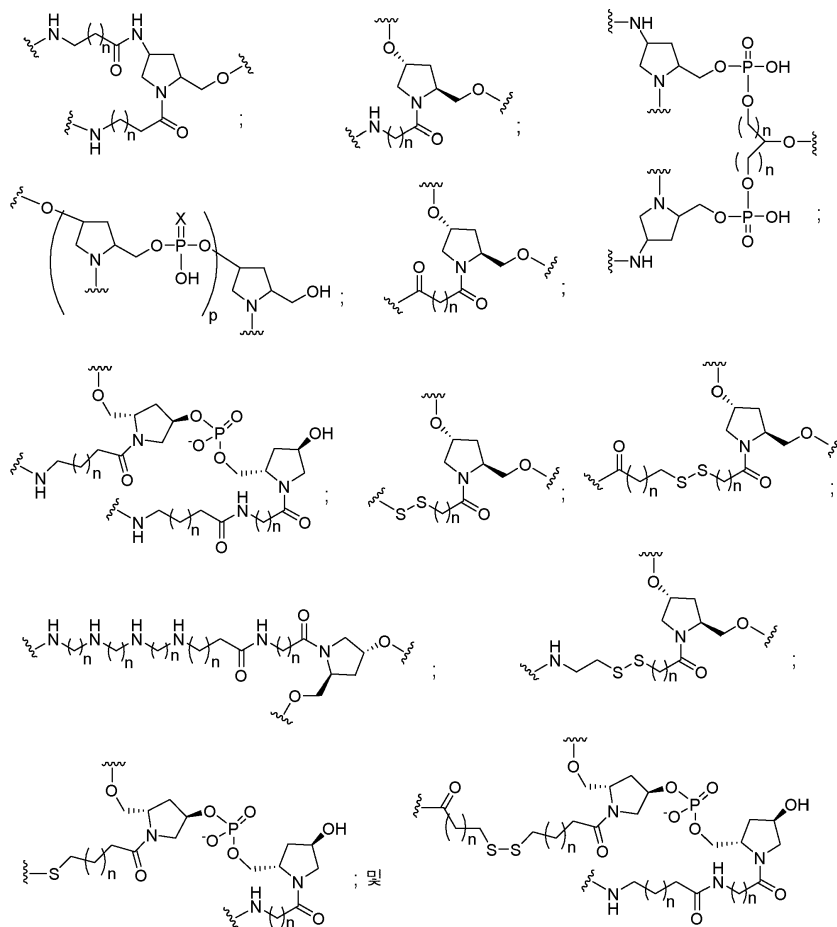
[0490] 특정 구현예에서, 콘주게이트 그룹은 링커를 포함한다. 특정 그와 같은 구현예에서, 링커는 절단가능 모이어티에 공유결합된다. 특정 그와 같은 구현예에서, 링커는 안티센스 올리고뉴클레오타이드에 공유결합된다. 특정 구현예에서, 링커는 세포-표적화 모이어티에 공유결합된다. 특정 구현예에서, 링커는 추가로, 고형 지지체에 대한 공유 결합을 포함한다. 특정 구현예에서, 링커는 추가로, 단백질 결합 모이어티에 대한 공유 결합을 포함한다. 특정 구현예에서, 링커는 추가로, 고형 지지체에 대한 공유결합을 포함하고, 추가로, 단백질 결합 모이어티에 대한 공유 결합을 포함한다. 특정 구현예에서, 링커는 연결된 리간드의 부착을 위한 다중 위치를 포함한다. 특정 구현예에서, 링커는 연결된 리간드의 부착을 위한 다중 위치를 포함하고 분지화 그룹에 부착되지 않는다. 특정 구현예에서, 링커는 추가로, 1 이상의 절단가능 결합을 포함한다. 특정 구현예에서, 콘주게이트 그룹은 링커를 포함하지 않는다.

[0491] 특정 구현예에서, 링커는 알킬, 아마이드, 디설파이드, 폴리에틸렌 글리콜, 에테르, 티오에테르 (-S-) 및 하이드록실아미노 (-O-N(H)-) 군으로부터 선택된 그룹을 포함하는 적어도 하나의 선형 그룹을 포함한다. 특정 구현예에서, 선형 그룹은 알킬, 아마이드 및 에테르 군으로부터 선택된 그룹을 포함한다. 특정 구현예에서, 선형 그룹은 적어도 하나의 인 연결 그룹을 포함한다. 특정 구현예에서, 선형 그룹은 적어도 하나의 포스포디에스테르 그룹을 포함한다. 특정 구현예에서, 선형 그룹은 적어도 하나의 중성 연결 그룹을 포함한다. 특정 구현예에서, 선형 그룹은 세포-표적화 모이어티 및 절단가능 모이어티에 공유결합된다. 특정 구현예에서, 선형 그룹은 세포-표적화 모이어티 및 안티센스 올리고뉴클레오타이드에 공유결합된다. 특정 구현예에서, 선형 그룹은 세포-표적화 모이어티, 절단가능 모이어티 및 고형 지지체에 공유결합된다. 특정 구현예에서, 선형 그룹은 세포-표적화 모이어티, 절단가능 모이어티, 고형 지지체 및 단백질 결합 모이어티에 공유결합된다. 특정 구현예에서, 선형 그룹은 1 이상의 절단가능 결합을 포함한다.

[0492] 특정 구현예에서, 링커는 스캐폴드 그룹에 공유결합된 선형 그룹을 포함한다. 특정 구현예에서, 스캐폴드는 알킬, 아마이드, 디설파이드, 폴리에틸렌 글리콜, 에테르, 티오에테르 및 하이드록실아미노 군으로부터 선택된 그룹을 포함하는 분지된 지방족 그룹을 포함한다. 특정 구현예에서, 스캐폴드는 알킬, 아마이드 및 에테르 군으로부터 선택된 그룹을 포함하는 분지된 지방족 그룹을 포함한다. 특정 구현예에서, 스캐폴드는 적어도 하나의 단환 또는 다환식 환계를 포함한다. 특정 구현예에서, 스캐폴드는 적어도 2 개의 단환 또는 다환식 환계를 포함한다. 특정 구현예에서, 선형 그룹은 스캐폴드 그룹에 공유결합되고 스캐폴드 그룹은 절단가능 모이어티 및 링커에 공유결합된다. 특정 구현예에서, 선형 그룹은 스캐폴드 그룹에 공유결합되고 스캐폴드 그룹은 절단가능 모이어티, 링커 및 고형 지지체에 공유결합된다. 특정 구현예에서, 선형 그룹은 스캐폴드 그룹에 공유결합되고 스캐폴드 그룹은 절단가능 모이어티, 링커 및 단백질 결합 모이어티에 공유결합된다. 특정 구현예에서, 선형 그룹은 스캐폴드 그룹에 공유결합되고, 스캐폴드 그룹은 절단가능 모이어티, 링커, 단백질 결합 모이어티 및 고형 지지체에 공유결합된다. 특정 구현예에서, 스캐폴드 그룹은 1 이상의 절단가능 결합을 포함한다.

[0493] 특정 구현예에서, 링커는 단백질 결합 모이어티를 포함한다. 특정 구현예에서, 단백질 결합 모이어티는 하기를 비제한적으로 포함하는 지질이다: 콜레스테롤, 콜산, 아다만탄 아세트산, 1-피렌 부티르산, 디하이드로테스토스테론, 1,3-비스-0(헥사데실)글리세롤, 제라닐옥시헥실 그룹, 헥사데실글리세롤, 용뇌, 멘톨, 1,3-프로판디올, 헵타데실 그룹, 팔미트산, 미리스산, 03-(올레오일)리토콜산, 03-(올레오일)콜렌산, 디메톡시트리틸, 또는 펜옥사진), 비타민 (예를 들면, 폴레이트, 비타민 A, 비타민 E, 바이오틴, 피리독살), 펩티드, 탄수화물 (예를 들면, 모노사카라이드, 디사카라이드, 트리스카라이드, 테트라사카라이드, 올리고당, 다당류), 엔도솜분해적 구성 성분, 스테로이드 (예를 들면, 우바올, 헤시게닌, 디오스게닌), 테르펜 (예를 들면, 트리테르펜, 예를 들면, 사르사사포게닌, 프리델린, 에피프리에델라놀 유도된 리토콜산), 또는 양이온성 지질. 특정 구현예에서, 단백질 결합 모이어티는 C16 내지 C22 장쇄 포화된 또는 불포화된 지방산, 콜레스테롤, 콜산, 비타민 E, 아다만탄 또는 1-펜타플루오로프로필이다.

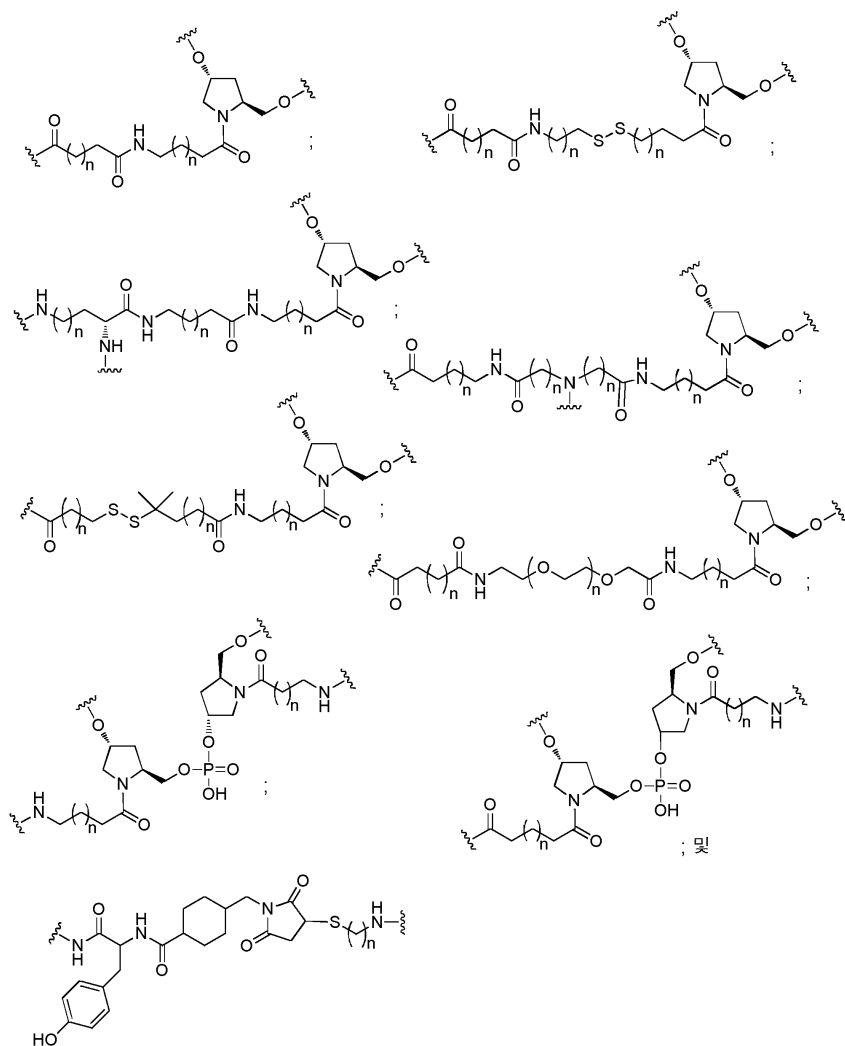
[0494] 특정 구현예에서, 링커는 하기 중으로부터 선택된 구조를 갖는다:



[0495]

[0496] 여기서 각각의 n 은, 독립적으로, 1 내지 20이고; 그리고 p 는 1 내지 6이다.

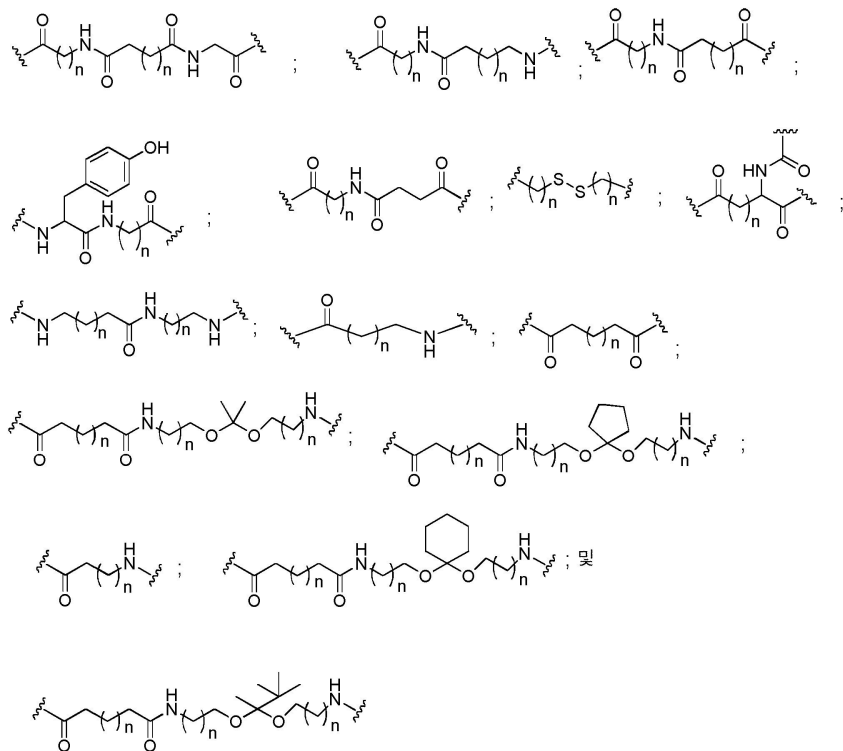
[0497] 특정 구현예에서, 링커는 하기 중으로부터 선택된 구조를 갖는다:



[0498]

[0499] 상기 식 중에서, 각각의 n 은, 독립적으로, 1 내지 20이다.

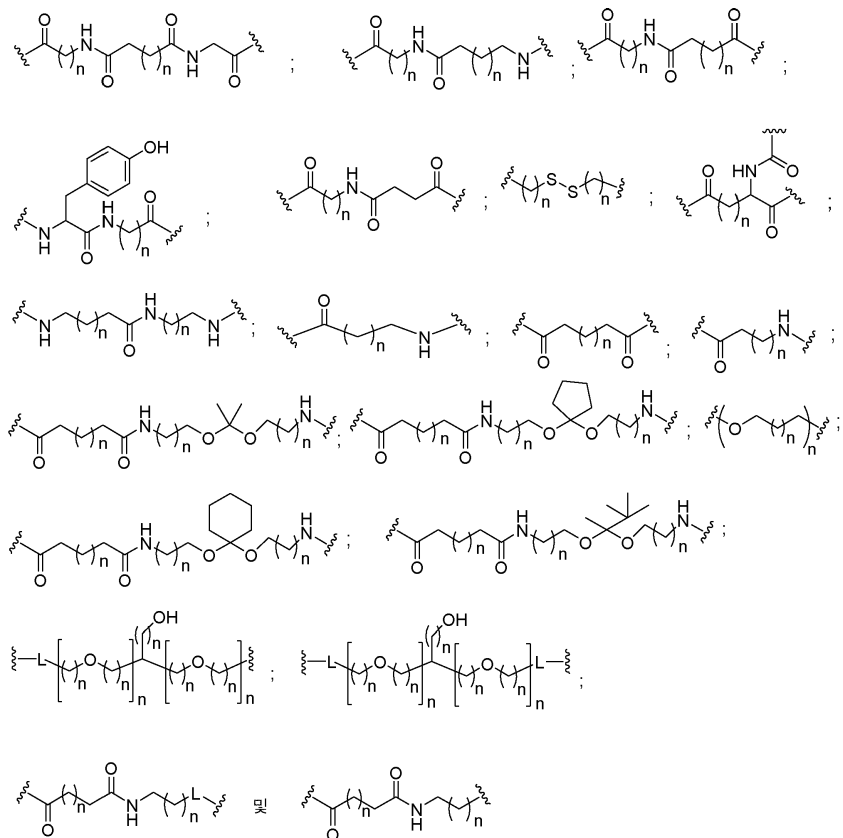
[0500] 특정 구현예에서, 링커는 하기 중으로부터 선택된 구조를 갖는다:



[0501]

[0502] 상기 식 중에서, n은 1 내지 20이다.

[0503] 특정 구현예에서, 링커는 하기 중으로부터 선택된 구조를 갖는다:

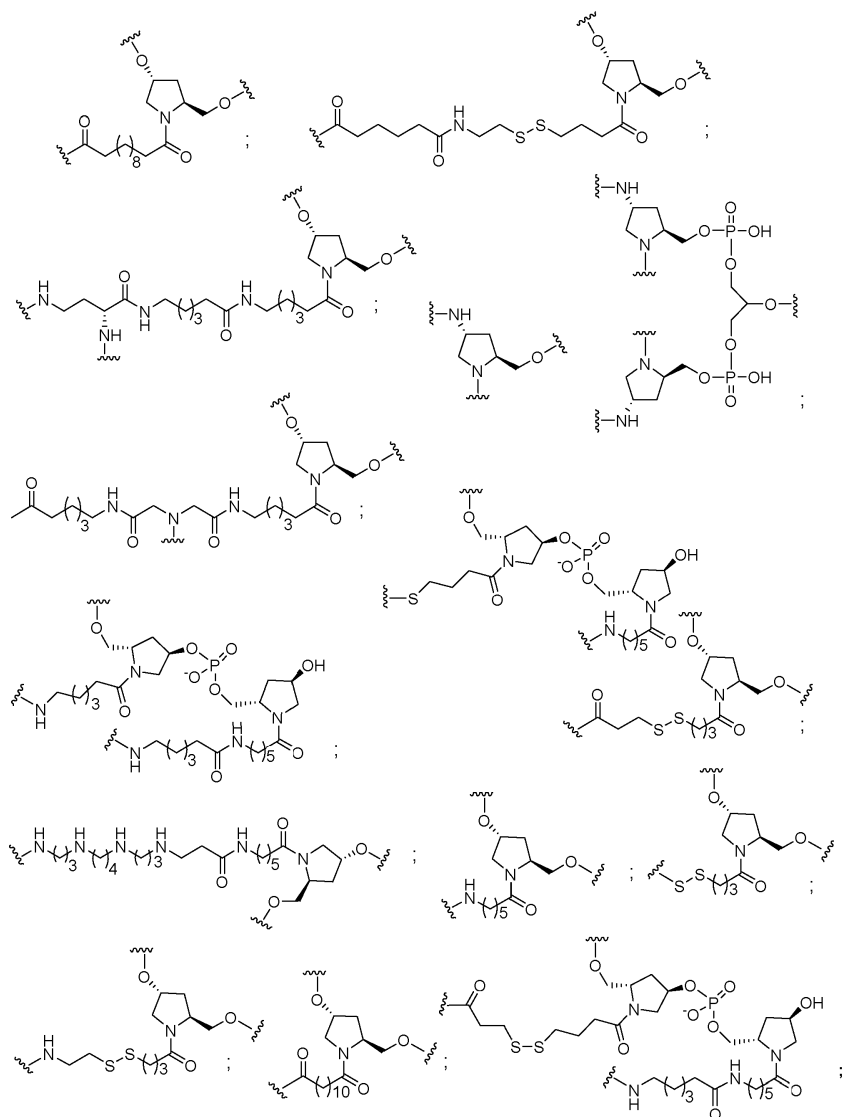


[0504]

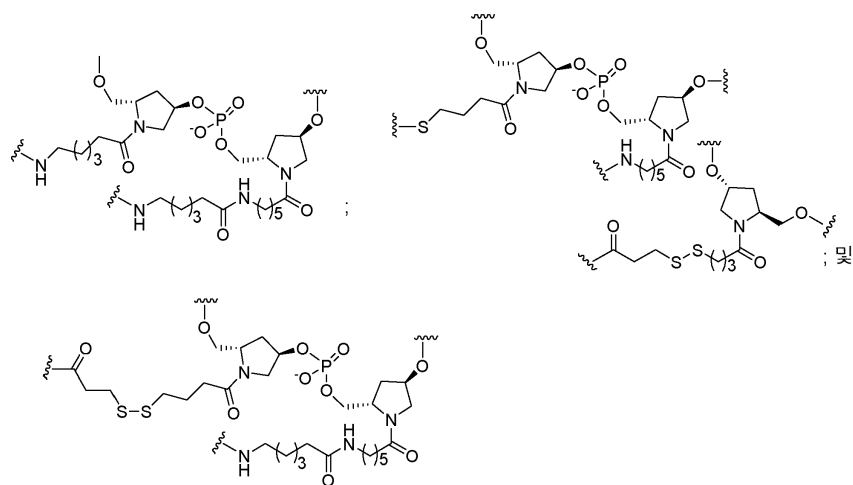
[0505] 상기 식 중에서, 각각의 L은, 독립적으로, 인 연결 그룹 또는 중성 연결 그룹이고; 그리고

[0506] 각각의 n 은, 독립적으로, 1 내지 20이다.

[0507] 특정 구현예에서, 링커는 하기 중으로부터 선택된 구조를 갖는다:

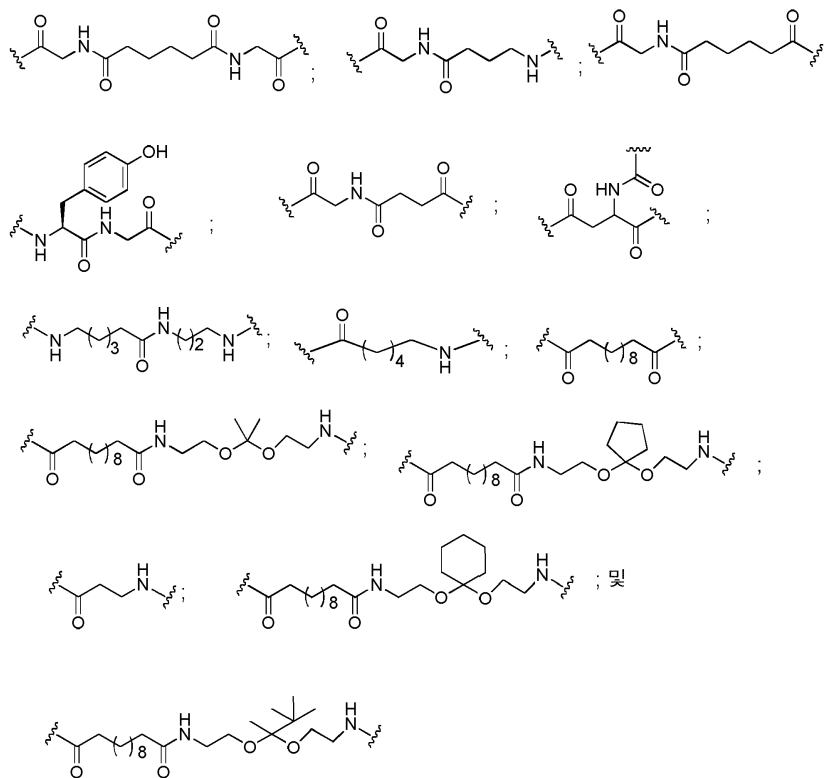


[0508]



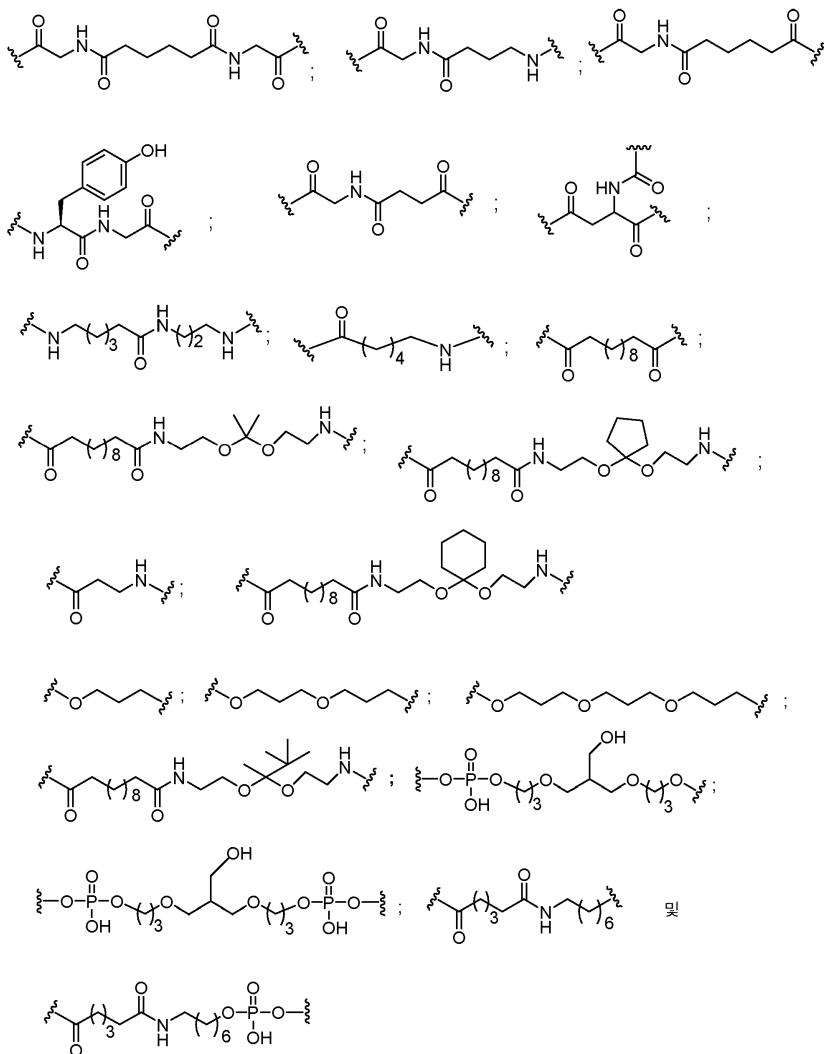
[0510] 특정 구현예에서, 링커는 하기 중으로부터 선택된 구조를 갖는다:

[0510] 특정 구현예에서, 링커는 하기 중으로부터 선택된 구조를 갖는다:



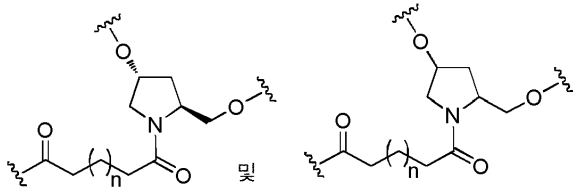
[0511]

[0512] 특정 구현예에서, 링커는 하기 중으로부터 선택된 구조를 갖는다:



[0513]

[0514] 특정 구현예에서, 링커는 하기 중으로부터 선택된 구조를 갖는다:



[0515]

[0516] 상기 식 중에서, n은 1 내지 20이다.

[0517] 특정 구현예에서, 링커는 하기 중으로부터 선택된 구조를 갖는다:

[0518]

[0519] 특정 구현예에서, 링커는 하기 중으로부터 선택된 구조를 갖는다:

[0520]

[0521] 특정 구현예에서, 링커는 하기 중으로부터 선택된 구조를 갖는다:

[0522]

[0523] 특정 구현예에서, 콘주게이트 링커는 하기 구조를 갖는다:

[0524]

[0525] 특정 구현예에서, 콘주게이트 링커는 하기 구조를 갖는다:

[0526]

[0527] 특정 구현예에서, 링커는 하기 중으로부터 선택된 구조를 갖는다:

[0528]

[0529] 특정 구현예에서, 링커는 하기 중으로부터 선택된 구조를 갖는다:

[0530]

[0531] 여기서 각각의 n은 독립적으로, 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 또는 7이다.

[0532] i. 특정 세포-표적화 모이어티

[0533]

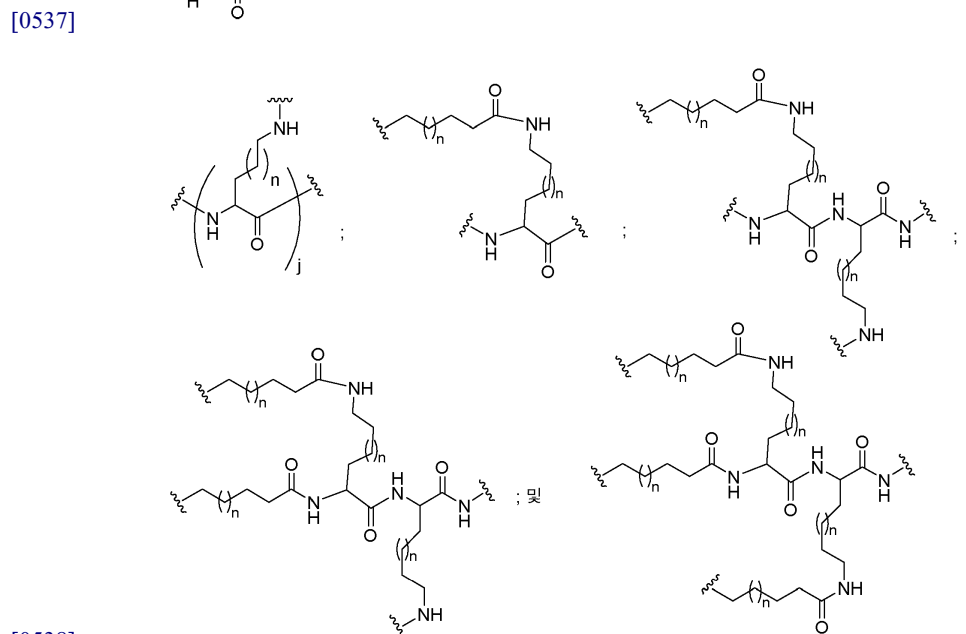
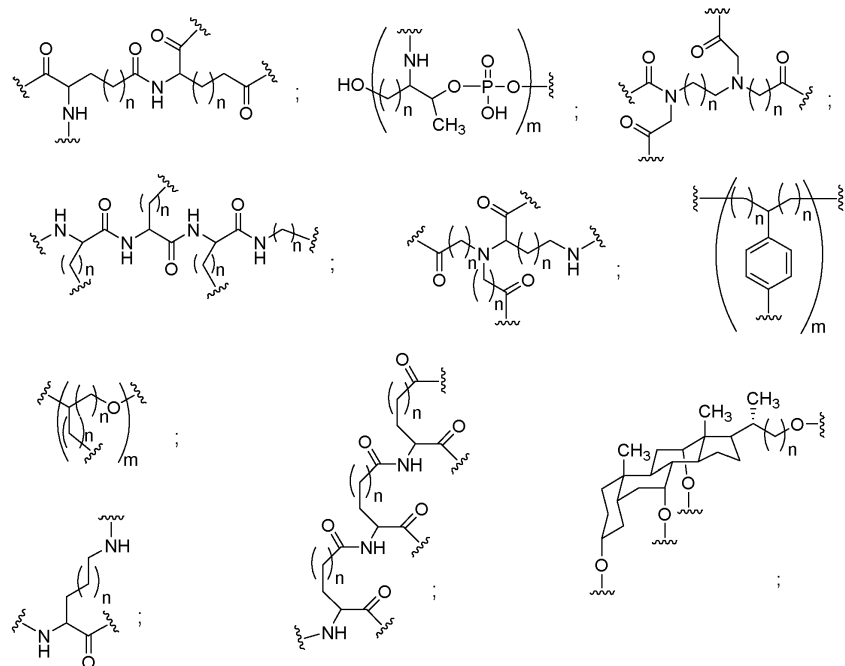
특정 구현예에서, 콘주게이트 그룹은 세포-표적화 모이어티를 포함한다. 특정 그와 같은 세포-표적화 모이어티는 안티센스 화합물의 세포성 흡수를 증가시킨다. 특정 구현예에서, 세포-표적화 모이어티는 분지화 그룹, 1 이상의 연결기, 및 1 이상의 리간드를 포함한다. 특정 구현예에서, 세포-표적화 모이어티는 분지화 그룹, 1 이상

의 연결기, 1 이상의 리간드 및 1 이상의 절단가능 결합을 포함한다.

[0534] **1. 특정 분지화 그룹**

[0535] 특정 구현예에서, 콘주게이트 그룹은 분지화 그룹 및 적어도 2 개의 연결된 리간드를 포함하는 표적 모이어티를 포함한다. 특정 구현예에서, 분지화 그룹은 콘주게이트 링커를 첨부한다. 특정 구현예에서, 분지화 그룹은 절단가능 모이어티를 첨부한다. 특정 구현예에서, 분지화 그룹은 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 첨부한다. 특정 구현예에서, 분지화 그룹은 링커 및 각각의 연결된 리간드에 공유결합된다. 특정 구현예에서, 분지화 그룹은 알킬, 아마이드, 디설파이드, 폴리에틸렌 글리콜, 에테르, 티오에테르 및 하이드록실아미노 군으로부터 선택된 그룹을 포함하는 분지된 지방족 그룹을 포함한다. 특정 구현예에서, 분지화 그룹은 알킬, 아마이드 및 에테르 군으로부터 선택된 그룹을 포함한다. 특정 구현예에서, 분지화 그룹은 알킬 및 에테르 군으로부터 선택된 그룹을 포함한다. 특정 구현예에서, 분지화 그룹은 단환 또는 다환식 환계를 포함한다. 특정 구현예에서, 분지화 그룹은 1 이상의 절단가능 결합을 포함한다. 특정 구현예에서, 콘주게이트 그룹은 분지화 그룹을 포함하지 않는다.

[0536] 특정 구현예에서, 분지화 그룹은 하기 중으로부터 선택된 구조를 갖는다:



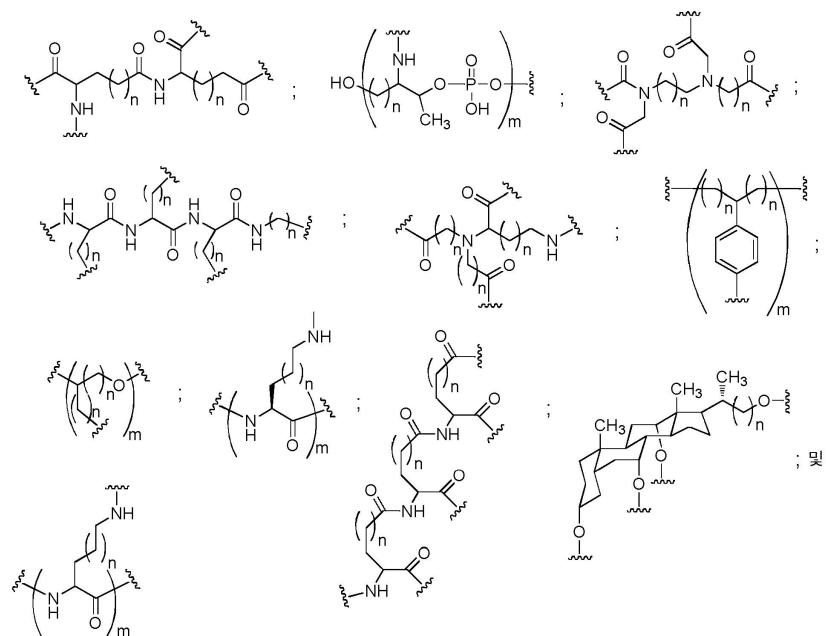
[0538]

[0539] 상기 식 중에서, 각각의 n은, 독립적으로, 1 내지 20이다.

[0540] j는 1 내지 3이고; 그리고

[0541] m 은 2 내지 6이다.

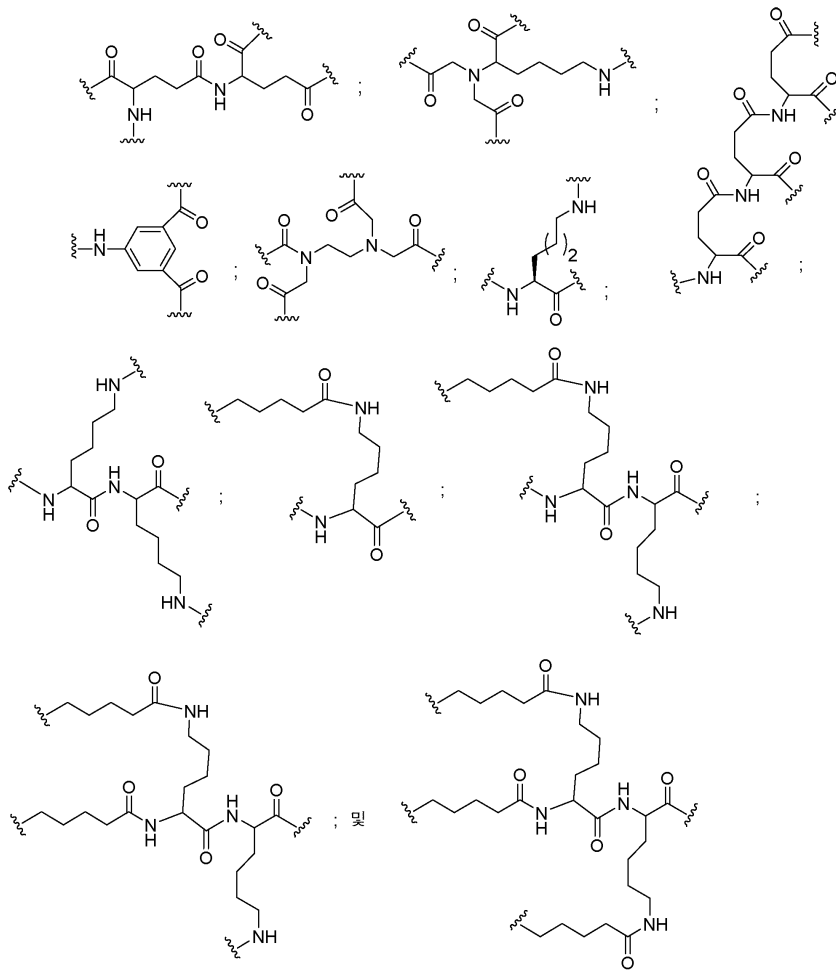
[0542] 특정 구현예에서, 분지화 그룹은 하기 중으로부터 선택된 구조를 갖는다:



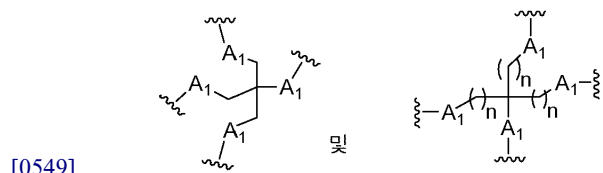
[0544] 상기 식 중에서, 각각의 n 은, 독립적으로, 1 내지 20이고; 그리고

[0545] m 은 2 내지 6이다.

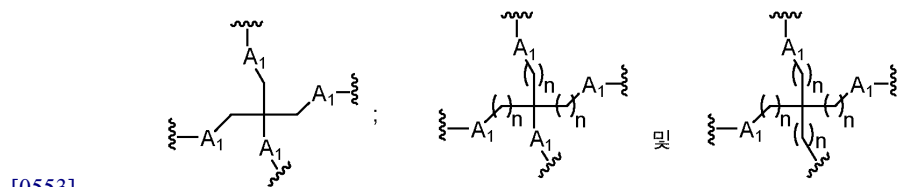
[0546] 특정 구현예에서, 분지화 그룹은 하기 중으로부터 선택된 구조를 갖는다:



- [0547]
- [0548] 특정 구현예에서, 분지화 그룹은 하기 중으로부터 선택된 구조를 갖는다:

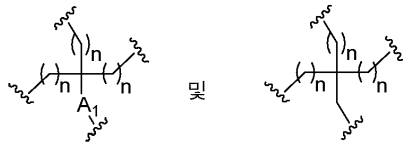


- [0550] 상기 식 중에서, 각각의 A₁은 독립적으로, O, S, C=O 또는 NH이고; 그리고
- [0551] 각각의 n은, 독립적으로, 1 내지 20이다.
- [0552] 특정 구현예에서, 분지화 그룹은 하기 중으로부터 선택된 구조를 갖는다:



- [0554] 상기 식 중에서, 각각의 A₁은 독립적으로, O, S, C=O 또는 NH이고; 그리고
- [0555] 각각의 n은, 독립적으로, 1 내지 20이다.

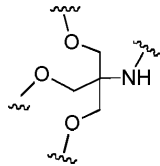
[0556] 특정 구현예에서, 분지화 그룹은 하기 중으로부터 선택된 구조를 갖는다:



[0557]

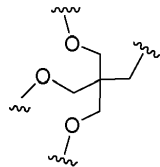
[0558] 여기서 A_1 은 O, S, C=O 또는 NH이고; 그리고

[0559] 각각의 n 은, 독립적으로, 1 내지 20이다.



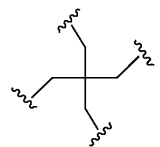
[0560]

[0561] 특정 구현예에서, 분지화 그룹은 하기 중으로부터 선택된 구조를 갖는다:



[0562]

[0563] 특정 구현예에서, 분지화 그룹은 하기 중으로부터 선택된 구조를 갖는다:



[0564]

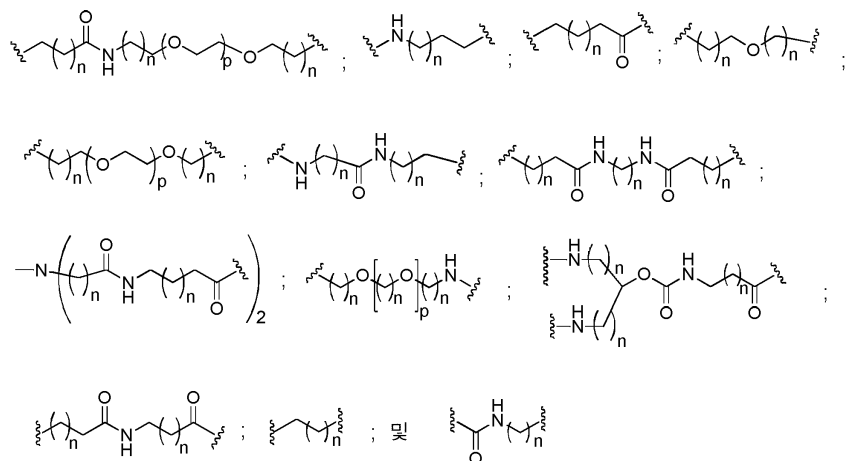
[0565] 2. 특정 연결기

[0566] 특정 구현예에서, 콘주게이트 그룹은 분지화 그룹에 공유결합된 1 이상의 연결기를 포함한다. 특정 구현예에서, 콘주게이트 그룹은 연결 그룹에 공유결합된 1 이상의 연결기를 포함한다. 특정 구현예에서, 각각의 연결기는 임의의 조합으로 알킬, 에테르, 티오에테르, 디설파이드, 아마이드 및 폴리에틸렌 글리콜 군으로부터 선택된 1 이상의 그룹을 포함하는 선형 지방족 그룹이다. 특정 구현예에서, 각각의 연결기는 임의의 조합으로 알킬, 치환된 알킬, 에테르, 티오에테르, 디설파이드, 아마이드, 포스포디에스테르 및 폴리에틸렌 글리콜 군으로부터 선택된 1 이상의 그룹을 포함하는 선형 지방족 그룹이다. 특정 구현예에서, 각각의 연결기는 임의의 조합으로 알킬, 에테르 및 아마이드 군으로부터 선택된 1 이상의 그룹을 포함하는 선형 지방족 그룹이다. 특정 구현예에서, 각각의 연결기는 임의의 조합으로 알킬, 치환된 알킬, 포스포디에스테르, 에테르 및 아마이드 군으로부터 선택된 1 이상의 그룹을 포함하는 선형 지방족 그룹이다. 특정 구현예에서, 각각의 연결기는 임의의 조합으로 알킬 및 포스포디에스테르로부터 선택된 1 이상의 그룹을 포함하는 선형 지방족 그룹이다. 특정 구현예에서, 각각의 연결기는 적어도 하나의 인 연결 그룹 또는 중성 연결 그룹을 포함한다.

[0567] 특정 구현예에서, 연결기는 1 이상의 절단가능 결합을 포함한다. 특정 구현예에서, 연결기는 아마이드 또는 에테르 그룹을 통해 분지화 그룹에 부착된다. 특정 구현예에서, 연결기는 포스포디에스테르 그룹을 통해 분지화 그룹에 부착된다. 특정 구현예에서, 연결기는 인 연결 그룹 또는 중성 연결 그룹을 통해 분지화 그룹에 부착된다. 특정 구현예에서, 연결기는 에테르 그룹을 통해 분지화 그룹에 부착된다. 특정 구현예에서, 연결기는 아마이드 또는 에테르 그룹을 통해 리간드에 부착된다. 특정 구현예에서, 연결기는 에테르 그룹을 통해 리간드에 부착된다. 특정 구현예에서, 연결기는 아마이드 또는 에테르 그룹을 통해 리간드에 부착된다. 특정 구현예에서, 연결기는 에테르 그룹을 통해 리간드에 부착된다.

[0568] 특정 구현예에서, 각각의 연결기는 리간드와 분지화 그룹 사이에 약 8 내지 약 20 개의 원자의 사슬 길이를 포함한다. 특정 구현예에서, 각각의 연결기 그룹은 리간드와 분지화 그룹 사이에 약 10 내지 약 18 개의 원자의 사슬 길이를 포함한다. 특정 구현예에서, 각각의 연결기 그룹은 약 13 개의 원자의 사슬 길이를 포함한다.

[0569] 특정 구현예에서, 연결기는 하기 중으로부터 선택된 구조를 갖는다:

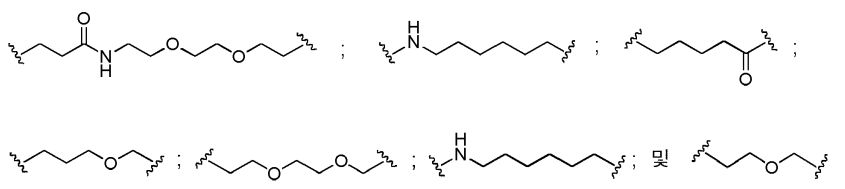


[0570]

[0571] 상기 식 중에서, 각각의 n 은, 독립적으로, 1 내지 20이고; 그리고

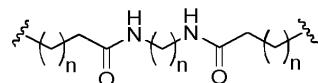
[0572] 각각의 p 는 1 내지 약 6이다.

[0573] 특정 구현예에서, 연결기는 하기 중으로부터 선택된 구조를 갖는다:



[0574]

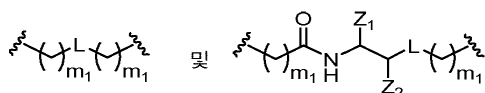
[0575] 특정 구현예에서, 연결기는 하기 중으로부터 선택된 구조를 갖는다:



[0576]

[0577] 상기 식 중에서, 각각의 n 은, 독립적으로, 1 내지 20이다.

[0578] 특정 구현예에서, 연결기는 하기 중으로부터 선택된 구조를 갖는다:



[0579]

[0580] 상기 식 중에서, L 은 인 연결 그룹 또는 중성 연결 그룹이고;

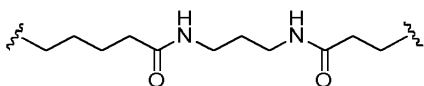
[0581] Z_1 는 C(=O)O-R_2 이고;

[0582] Z_2 는 H, $\text{C}_1\text{-C}_6$ 알킬 또는 치환된 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 알키(alky)이고;

[0583] R_2 는 H, $\text{C}_1\text{-C}_6$ 알킬 또는 치환된 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 알키(alky)이고; 그리고

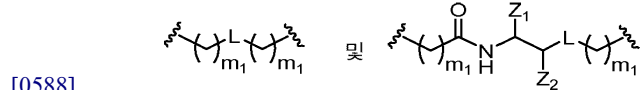
[0584] 각각의 m_1 은, 독립적으로, 0 내지 20이고, 여기서 적어도 하나의 m_1 은 각각의 연결기에 대해 0 초과이다.

[0585] 특정 구현예에서, 연결기는 하기 중으로부터 선택된 구조를 갖는다:



[0586]

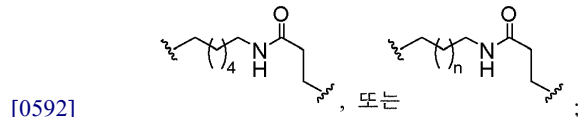
[0587] 특정 구현예에서, 연결기는 하기 중으로부터 선택된 구조를 갖는다:



[0589] 여기서 Z_2 는 H 또는 CH_3 이고; 그리고

[0590] 각각의 m_1 은, 독립적으로, 0 내지 20이고, 여기서 적어도 하나의 m_1 은 각각의 연결기에 대해 0 초과이다.

[0591] 특정 구현예에서, 연결기는 하기 중으로부터 선택된 구조를 갖는다:



[0593] 여기서 각각의 n은 독립적으로, 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 또는 7이다.

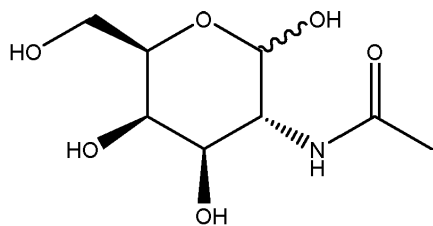
[0594] 특정 구현예에서, 연결기는 인 연결 그룹을 포함한다. 특정 구현예에서, 연결기는 임의의 아미드 결합을 포함하지 않는다. 특정 구현예에서, 연결기는 인 연결 그룹을 포함하고 임의의 아미드 결합을 포함하지 않는다.

[0595] 3. 특정 리간드

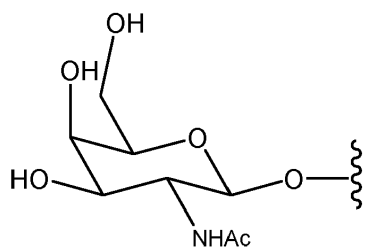
[0596] 특정 구현예에서, 본 개시내용은 리간드를 제공하고, 여기서 각각의 리간드는 연결기에 공유결합된다. 특정 구현예에서, 표적 세포 상의 적어도 하나의 유형의 수용체에 대한 친화성을 갖는 각각의 리간드가 선택된다. 특정 구현예에서, 포유동물 간 세포의 표면 상의 적어도 하나의 유형의 수용체에 대한 친화성을 갖는 리간드가 선택된다. 특정 구현예에서, 간 아시알로당단백질 수용체 (ASGP-R)에 대해 친화성을 갖는 리간드가 선택된다. 특정 구현예에서, 각각의 리간드는 탄수화물이다. 특정 구현예에서, 각각의 리간드는, 갈락토오스, N-아세틸 갈락토오스아민, 만노스, 글루코오스, 글루코사민 및 푸코스로부터 독립적으로 선택된다. 특정 구현예에서, 각각의 리간드는 N-아세틸 갈락토오스아민 (GalNAc)이다. 특정 구현예에서, 표적 모이어티는 2 내지 6 개의 리간드를 포함한다. 특정 구현예에서, 표적 모이어티는 3 개의 리간드를 포함한다. 특정 구현예에서, 표적 모이어티는 3 N-아세틸 갈락토오스아민 리간드를 포함한다.

[0597] 특정 구현예에서, 리간드는 탄수화물, 탄수화물 유도체, 변형된 탄수화물, 다가 탄수화물 클러스터, 다당류, 변형된 다당류, 또는 다당류 유도체이다. 특정 구현예에서, 리간드는 아미노 당 또는 티오 당이다. 예를 들면, 아미노 당은 당해기술에서 공지된 임의의 수의 화합물, 예를 들면 글루코사민, 시알산, α -D-갈락토사민, N-아세틸갈락토사민, 2-아세트아미도-2-데옥시-D-갈락토팜피라노스 (GalNAc), 2-아미노-3-O-[(R)-1-카복시에틸]-2-데옥시- β -D-글루코피라노스 (β -류람산), 2-데옥시-2-메틸아미노-L-글루코피라노스, 4,6-디데옥시-4-포름아미도-2,3-디-O-메틸-D-만노피라노스, 2-데옥시-2-설포아미노-D-글루코피라노스 및 N-설포-D-글루코사민, 및 N-글리콜로일- α -뉴라민산으로부터 선택될 수 있다. 예를 들면, 티오 당류는 5-티오- β -D-글루코피라노스, 메틸 2,3,4-트리-O-아세틸-1-티오-6-O-트리틸- α -D-글루코피라노사이드, 4-티오- β -D-갈락토팜피라노스, 및 에틸 3,4,6,7-테트라-O-아세틸-2-데옥시-1,5-디티오- α -D-글루코-헵토팜피라노사이드로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.

[0598] 특정 구현예에서, "GalNAc" 또는 "Gal-NAc"는 N-아세틸 갈락토사민으로서 문헌에서 통상적으로 칭해지는 2-(아세틸아미노)-2-데옥시-D-갈락토팜피라노스를 의미한다. 특정 구현예에서, "N-아세틸 갈락토사민"는 2-(아세틸아미노)-2-데옥시-D-갈락토팜피라노스를 의미한다. 특정 구현예에서, "GalNAc" 또는 "Gal-NAc"는 2-(아세틸아미노)-2-데옥시-D-갈락토팜피라노스를 의미한다. 특정 구현예에서, "GalNAc" 또는 "Gal-NAc"는 2-(아세틸아미노)-2-데옥시-D-갈락토팜피라노스를 지칭하고, 이는 하기 β -유형: 2-(아세틸아미노)-2-데옥시- β -D-갈락토팜피라노스 및 하기 α -유형: 2-(아세틸아미노)-2-데옥시- β -D-갈락토팜피라노스 둘 다를 포함한다. 특정 구현예에서, β -유형: 2-(아세틸아미노)-2-데옥시- β -D-갈락토팜피라노스 및 α -유형: 2-(아세틸아미노)-2-데옥시- β -D-갈락토팜피라노스는 상호교환적으로 사용될 수 있다. 따라서, 하나의 형태가 묘사된 구조에서, 이들 구조는 다른 형태를 또한 포함하는 것으로 의도된다. 예를 들면, α -형: 2-(아세틸아미노)-2-데옥시-D-갈락토팜피라노스의 구조가 보여지는 경우, 이러한 구조는 다른 형태를 또한 포함하는 것으로 의도된다. 특정 구현예에서, 특정 바람직한 구현예에서, β -형 2-(아세틸아미노)-2-데옥시-D-갈락토팜피라노스는 바람직한 구현예이다.



2-(아세틸아미노)-2-데옥시-D-갈락토피라노스

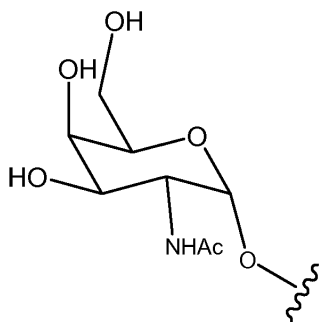


2-(아세틸아미노)-2-데옥시-β-D-갈락토피라노스

[0599]

[0600]

특정 구현예에서 1 이상의 리간드는 하기 중으로부터 선택된 구조를 갖는다:

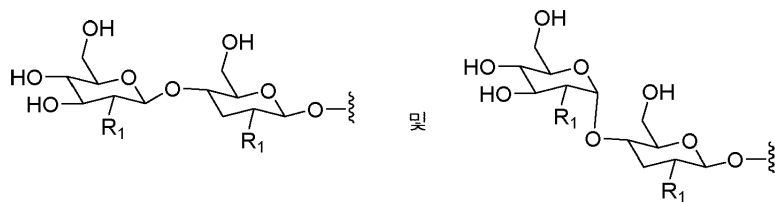


2-(아세틸아미노)-2-데옥시-α-D-갈락토피라노스

[0601]

[0602]

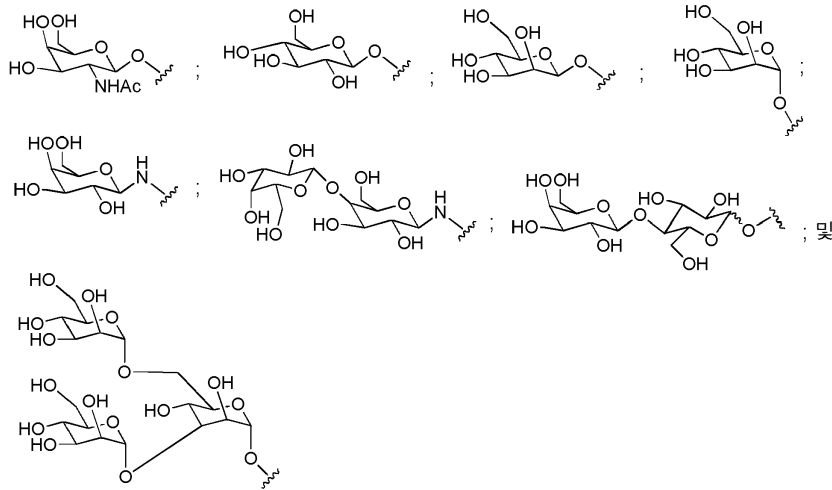
상기 식 중에서, 각각의 R₁은 OH 및 NHC(=O)OH로부터 선택된다.



[0603]

[0604]

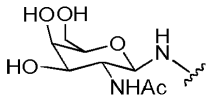
특정 구현예에서 1 이상의 리간드는 하기 중으로부터 선택된 구조를 갖는다:



[0605]

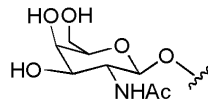
[0606] 특정 구현예에서 1 이상의 리간드는 하기 중으로부터 선택된 구조를 갖는다:

[0607]



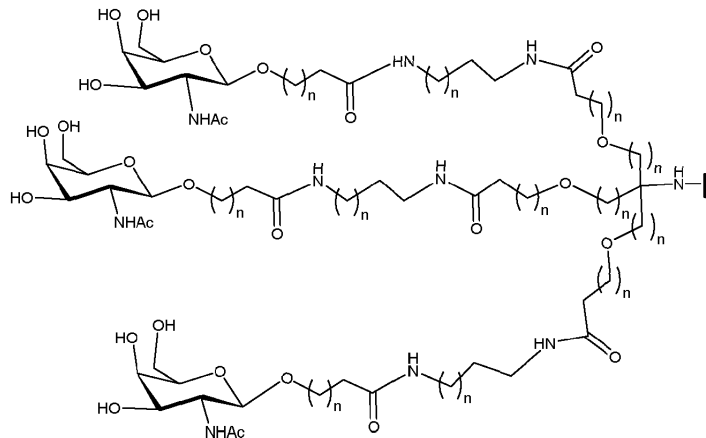
[0608] 특정 구현예에서 1 이상의 리간드는 하기 중으로부터 선택된 구조를 갖는다:

[0609]



i. 특정 콘주게이트

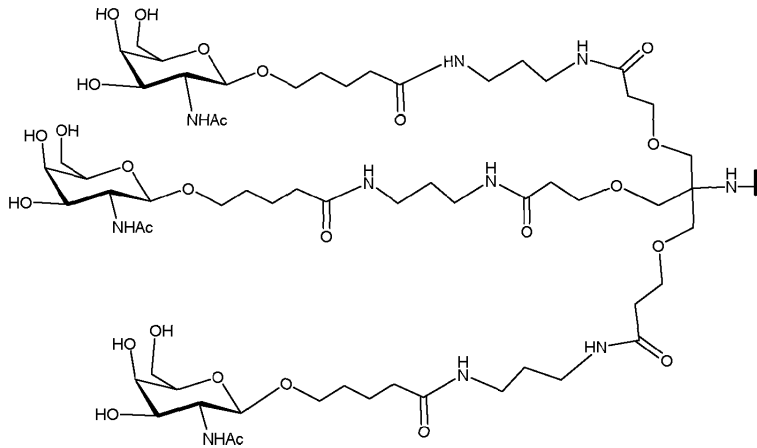
[0611] 특정 구현예에서, 콘주게이트 그룹은 상기의 구조적 특징을 포함한다. 특정 그와 같은 구현예에서, 콘주게이트 그룹은 하기 구조를 갖는다:



[0612]

[0613] 상기 식 중에서, 각각의 n은, 독립적으로, 1 내지 20이다.

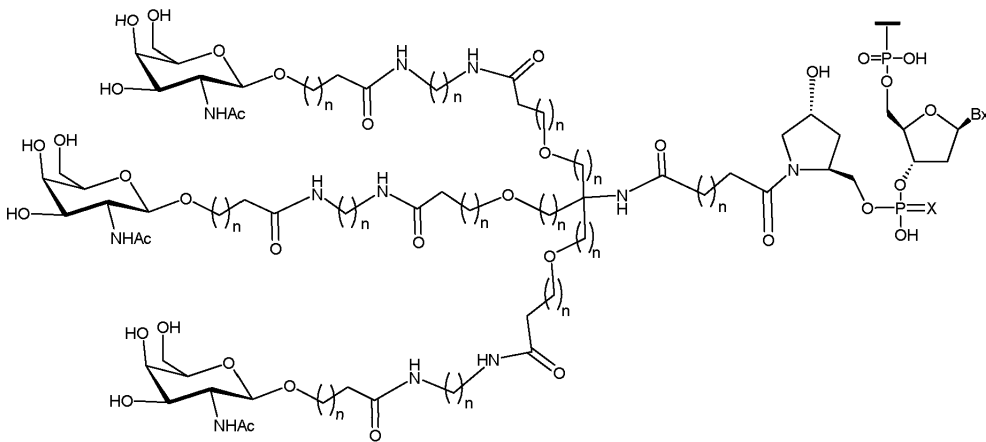
[0614] 특정 그와 같은 구현예에서, 콘주게이트 그룹은 하기 구조를 갖는다:



[0615]

[0616]

특정 그와 같은 구현예에서, 콘주게이트 그룹은 하기 구조를 갖는다:



[0617]

[0618]

상기 식 중에서, 각각의 n 은, 독립적으로, 1 내지 20이다.

[0619]

Z 는 H 또는 연결된 고형 지지체이고;

[0620]

Q 는 안티센스 화합물이고;

[0621]

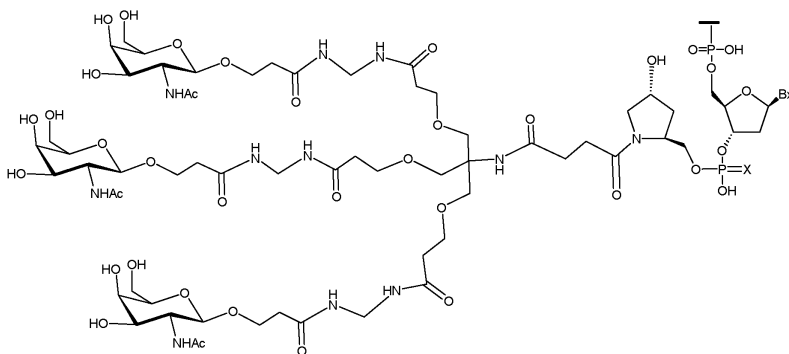
X 는 O 또는 S이고; 그리고

[0622]

Bx 는 헤테로환 염기 모이어티이다.

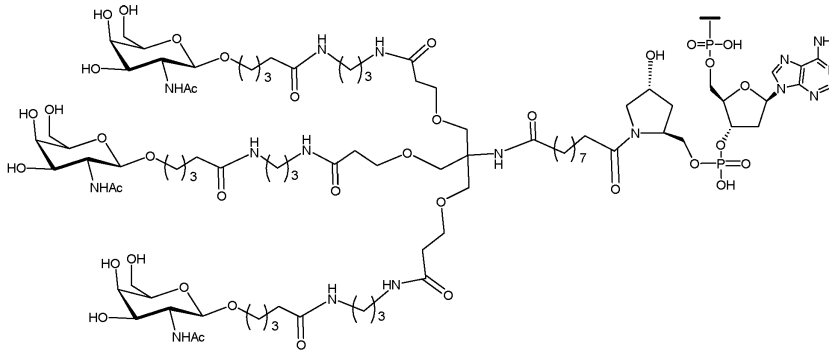
[0623]

특정 그와 같은 구현예에서, 콘주게이트 그룹은 하기 구조를 갖는다:



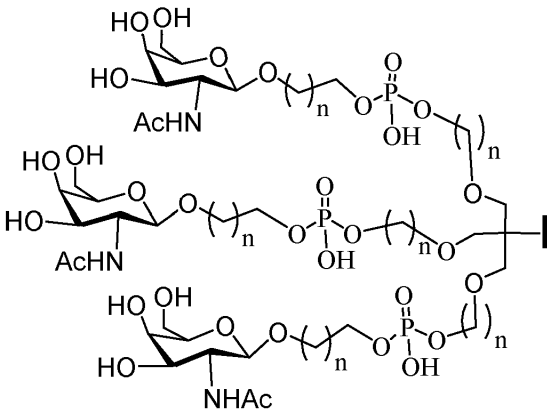
[0624]

[0625] 특정 그와 같은 구현예에서, 콘주게이트 그룹은 하기 구조를 갖는다:



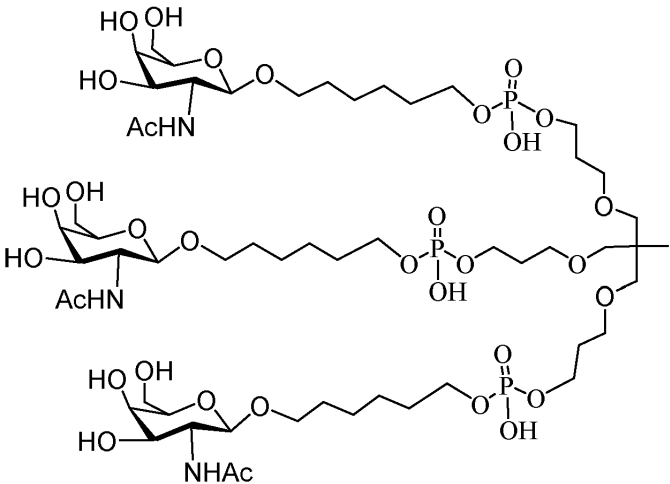
[0626]

[0627] 특정 그와 같은 구현예에서, 콘주게이트 그룹은 하기 구조를 갖는다:



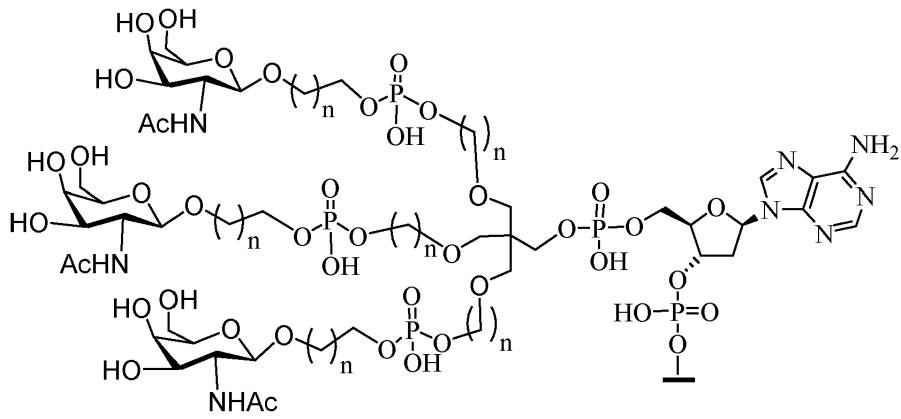
[0628]

[0629] 특정 그와 같은 구현예에서, 콘주게이트 그룹은 하기 구조를 갖는다:



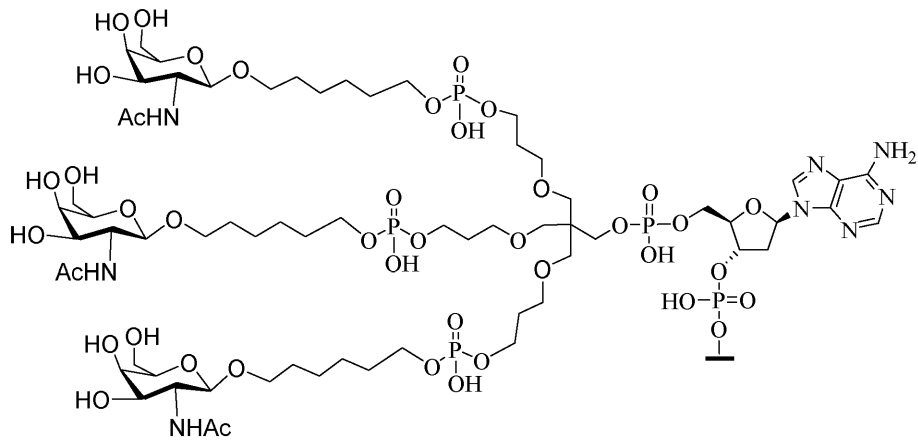
[0630]

[0631] 특정 그와 같은 구현예에서, 콘주게이트 그룹은 하기 구조를 갖는다:



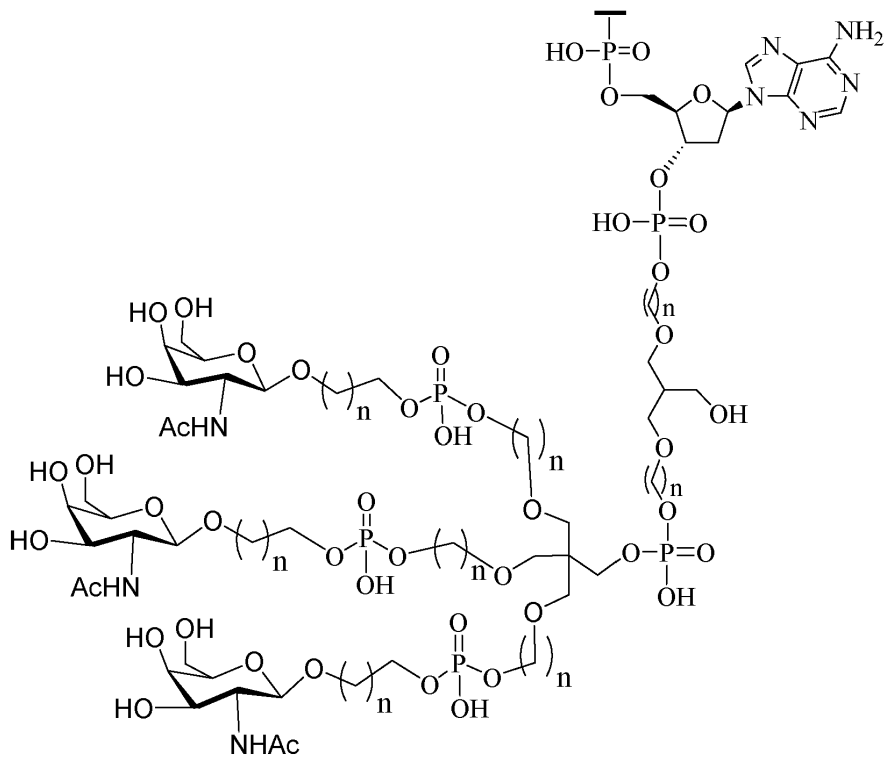
[0632]

[0633] 특정 그와 같은 구현예에서, 콘주게이트 그룹은 하기 구조를 갖는다:



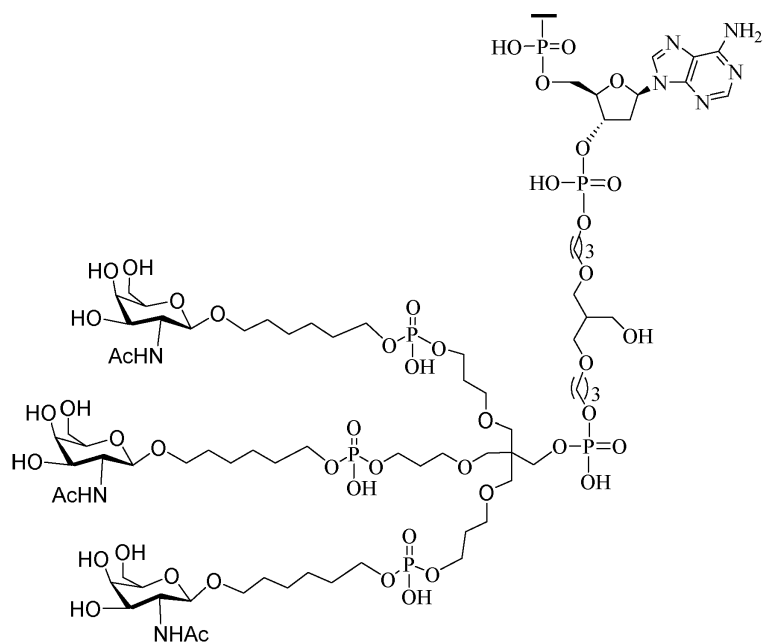
[0634]

[0635] 특정 그와 같은 구현예에서, 콘주게이트 그룹은 하기 구조를 갖는다:



[0636]

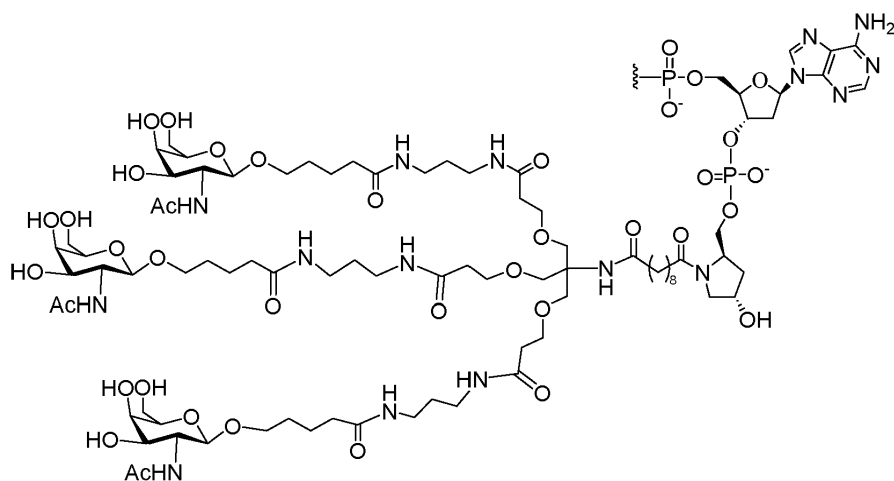
[0637] 특정 그와 같은 구현예에서, 콘주게이트 그룹은 하기 구조를 갖는다:



[0638]

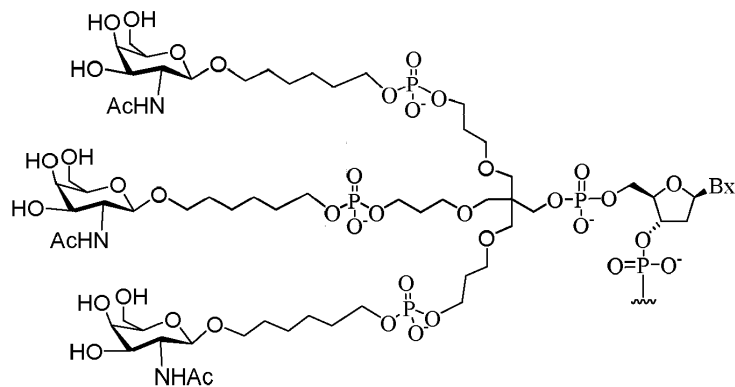
[0639] 특정 구현예에서, 콘주게이트는 피롤리딘을 포함하지 않는다.

[0640] 특정 그와 같은 구현예에서, 콘주게이트 그룹은 하기 구조를 갖는다:



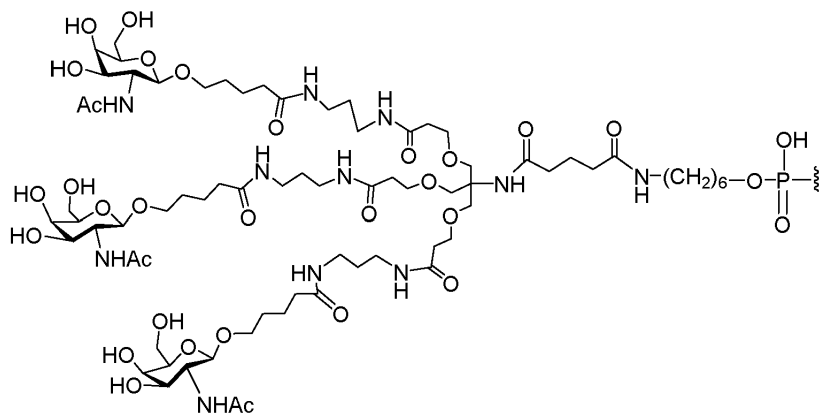
[0641]

[0642] 특정 그와 같은 구현예에서, 콘주게이트 그룹은 하기 구조를 갖는다:



[0643]

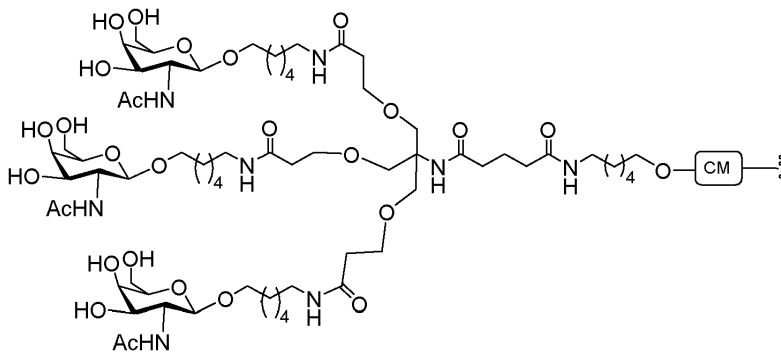
[0644] 특정 그와 같은 구현예에서, 콘주게이트 그룹은 하기 구조를 갖는다:



[0645]

[0646]

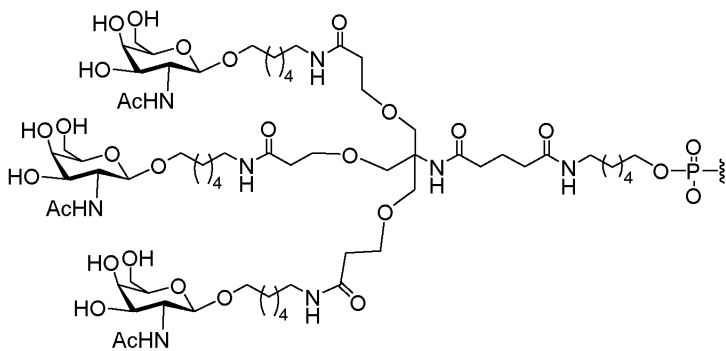
특정 그와 같은 구현예에서, 콘주게이트 그룹은 하기 구조를 갖는다:



[0647]

[0648]

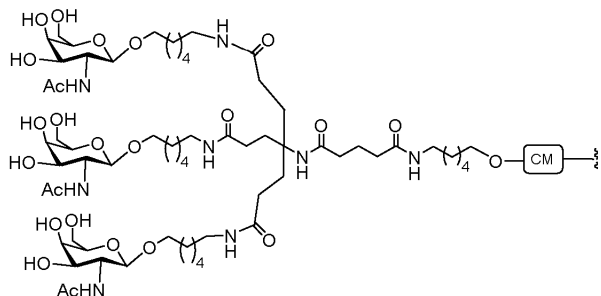
특정 그와 같은 구현예에서, 콘주게이트 그룹은 하기 구조를 갖는다:



[0649]

[0650]

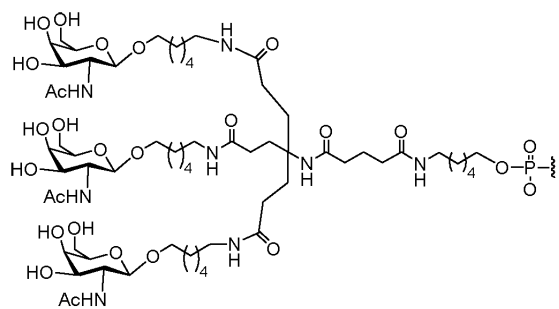
특정 그와 같은 구현예에서, 콘주게이트 그룹은 하기 구조를 갖는다:



[0651]

[0652]

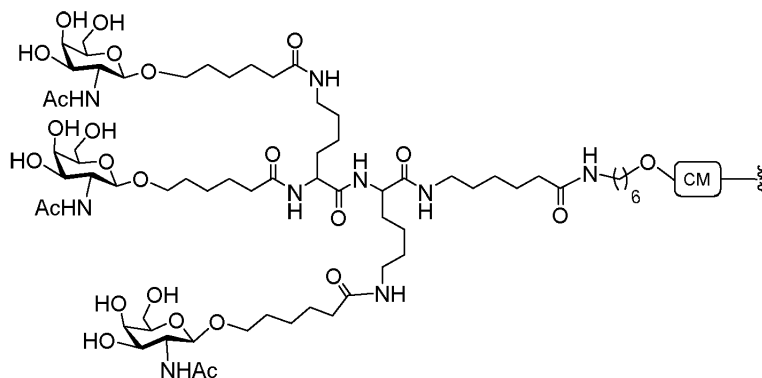
특정 그와 같은 구현예에서, 콘주게이트 그룹은 하기 구조를 갖는다:



[0653]

[0654]

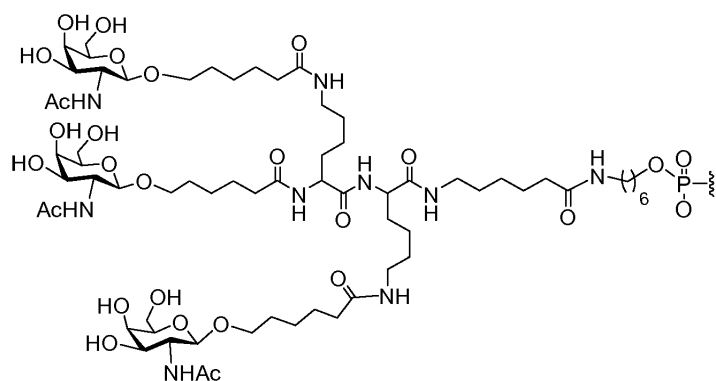
특정 그와 같은 구현예에서, 콘주게이트 그룹은 하기 구조를 갖는다:



[0655]

[0656]

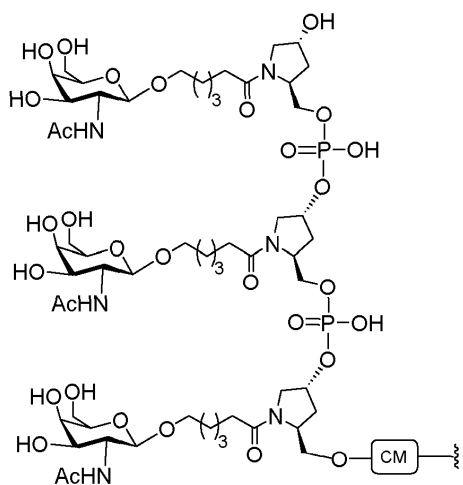
특정 그와 같은 구현예에서, 콘주게이트 그룹은 하기 구조를 갖는다:



[0657]

[0658]

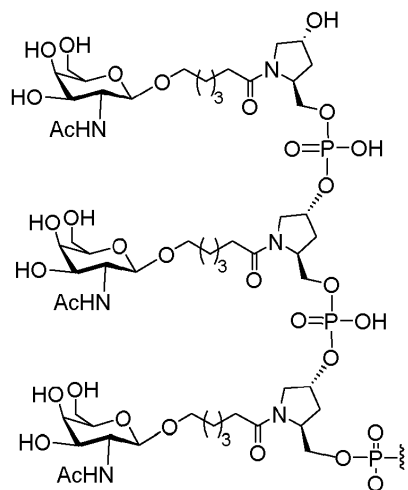
특정 그와 같은 구현예에서, 콘주게이트 그룹은 하기 구조를 갖는다:



[0659]

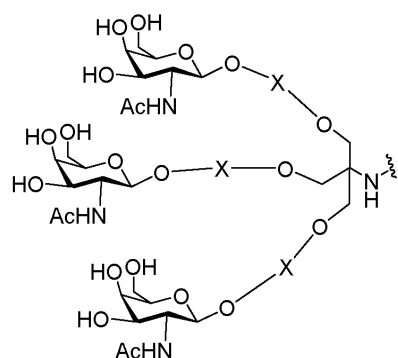
[0660]

특정 그와 같은 구현예에서, 콘주게이트 그룹은 하기 구조를 갖는다:



[0661]

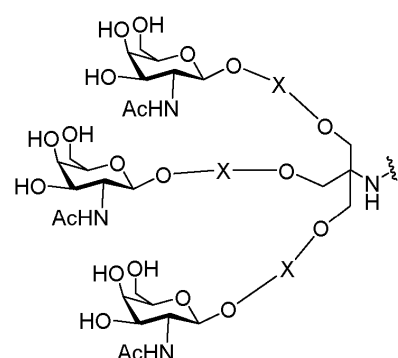
[0662] 특정 구현예에서, 콘주게이트 그룹의 세포-표적화 모이어티는 하기 구조를 갖는다:



[0663]

[0664] 여기서 X는 6 내지 11 개의 연속하여 결합된 원자의 치환된 또는 비치환된 연결기이다.

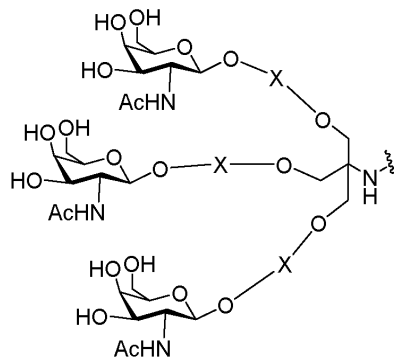
[0665] 특정 구현예에서, 콘주게이트 그룹의 세포-표적화 모이어티는 하기 구조를 갖는다:



[0666]

[0667] 여기서 X는 10 개의 연속하여 결합된 원자의 치환된 또는 비치환된 연결기이다.

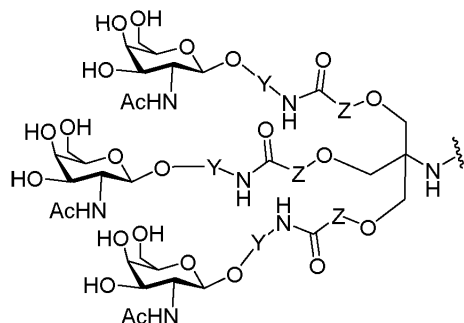
[0668] 특정 구현예에서, 콘주게이트 그룹의 세포-표적화 모이어티는 하기 구조를 갖는다:



[0669]

[0670] 여기서 X는 4 내지 11 개의 연속하여 결합된 원자의 치환된 또는 비치환된 연결기이고 상기 연결기는 정확하게 하나의 아마이드 결합을 포함한다.

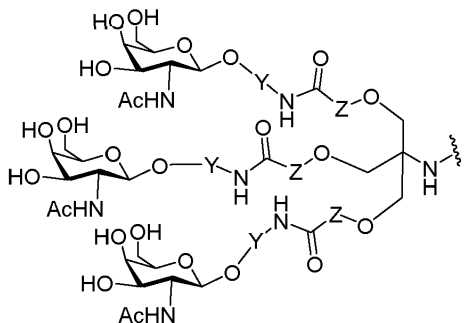
[0671] 특정 구현예에서, 콘주게이트 그룹의 세포-표적화 모이어티는 하기 구조를 갖는다:



[0672]

[0673] 여기서 Y 및 Z는 C_1-C_{12} 치환된 또는 비치환된 알킬, 알케닐, 또는 알키닐 그룹, 또는 에테르, 케톤, 아마이드, 에스테르, 카바메이트, 아민, 피페리딘, 포스페이트, 포스포디에스테르, 포스포로티오에이트, 트리아졸, 피롤리딘, 디설파이드, 또는 티오에테르를 포함하는 군으로부터 독립적으로 선택된다.

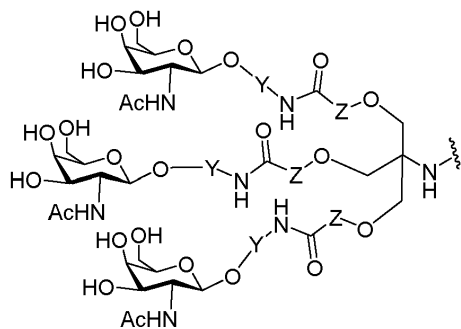
[0674] 특정 그와 같은 구현예에서, 콘주게이트 그룹의 세포-표적화 모이어티는 하기 구조를 갖는다:



[0675]

[0676] 여기서 Y 및 Z는 C_1-C_{12} 치환된 또는 비치환된 알킬 기, 또는 정확하게 하나의 에테르 또는 정확하게 2 개의 에테르, 아마이드, 아민, 피페리딘, 포스페이트, 포스포디에스테르, 또는 포스포로티오에이트를 포함하는 군으로부터 독립적으로 선택된다.

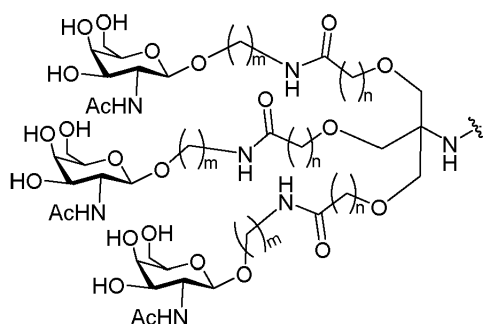
[0677] 특정 그와 같은 구현예에서, 콘주게이트 그룹의 세포-표적화 모이어티는 하기 구조를 갖는다:



[0678]

[0679] 여기서 Y 및 Z는 C₁-C₁₂ 치환된 또는 비치환된 알킬 군으로부터 독립적으로 선택된다.

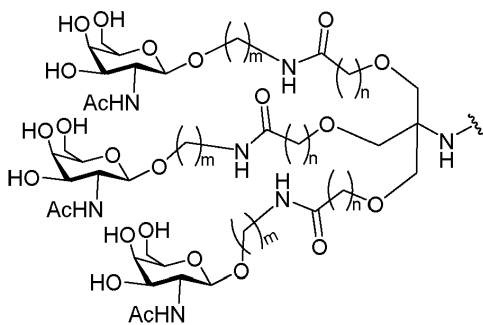
[0680] 특정 그와 같은 구현예에서, 콘주게이트 그룹의 세포-표적화 모이어티는 하기 구조를 갖는다:



[0681]

[0682] 여기서 m 및 n은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 및 12로부터 독립적으로 선택된다.

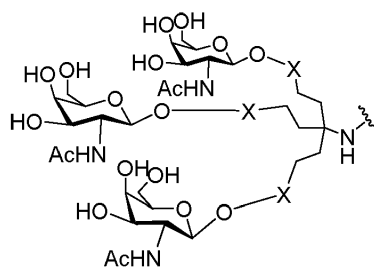
[0683] 특정 그와 같은 구현예에서, 콘주게이트 그룹의 세포-표적화 모이어티는 하기 구조를 갖는다:



[0684]

[0685] 여기서 m은 4, 5, 6, 7, 또는 8이고, n은 1, 2, 3, 또는 4이다.

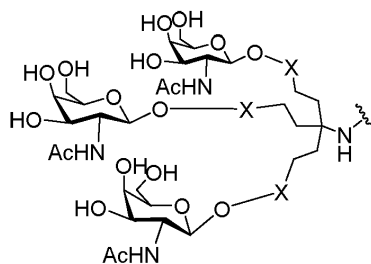
[0686] 특정 구현예에서, 콘주게이트 그룹의 세포-표적화 모이어티는 하기 구조를 갖는다:



[0687]

[0688] 여기서 X는 4 내지 13 개의 연속하여 결합된 원자의 치환된 또는 비치환된 연결기이고, 여기서 X는 에테르 그룹을 포함하지 않는다.

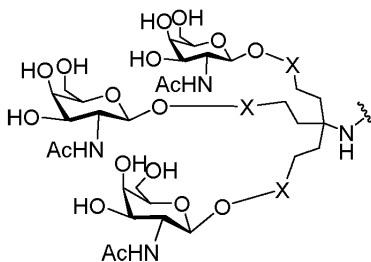
[0689] 특정 구현예에서, 콘주게이트 그룹의 세포-표적화 모이어티는 하기 구조를 갖는다:



[0690]

[0691] 여기서 X는 8 개의 연속하여 결합된 원자의 치환된 또는 비치환된 연결기이고, 여기서 X는 에테르 그룹을 포함하지 않는다.

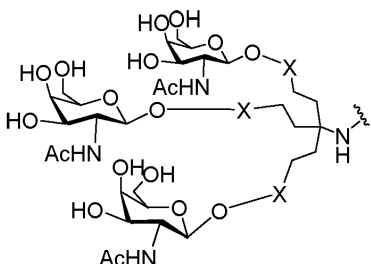
[0692] 특정 구현예에서, 콘주게이트 그룹의 세포-표적화 모이어티는 하기 구조를 갖는다:



[0693]

[0694] 여기서 X는 4 내지 13 개의 연속하여 결합된 원자의 치환된 또는 비치환된 연결기이고, 상기 연결기는 정확하게 하나의 아미드 결합을 포함하고, 여기서 X는 에테르 그룹을 포함하지 않는다.

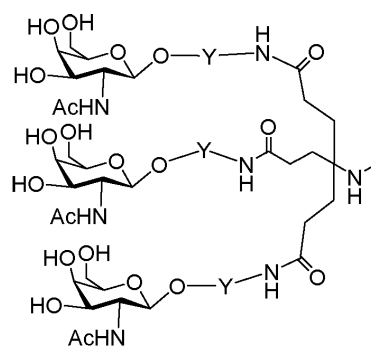
[0695] 특정 구현예에서, 콘주게이트 그룹의 세포-표적화 모이어티는 하기 구조를 갖는다:



[0696]

[0697] 여기서 X는 4 내지 13 개의 연속하여 결합된 원자의 치환된 또는 비치환된 연결기이고, 상기 연결기는 아미드 결합 및 치환된 또는 비치환된 C₂-C₁₁ 알킬 기로 구성된다.

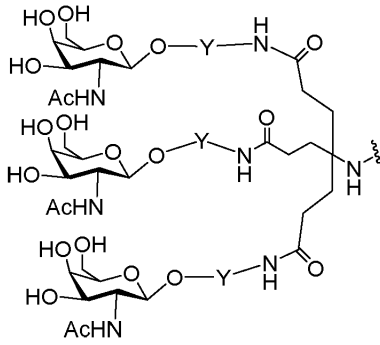
[0698] 특정 구현예에서, 콘주게이트 그룹의 세포-표적화 모이어티는 하기 구조를 갖는다:



[0699]

[0700] 여기서 Y는 C₁-C₁₂ 치환된 또는 비치환된 알킬, 알케닐, 또는 알키닐 그룹, 또는 에테르, 케톤, 아미드, 에스테르, 카바메이트, 아민, 피페리딘, 포스페이트, 포스포디에스테르, 포스포로티오에이트, 트리아졸, 피롤리딘, 디설파이드, 또는 티오에테르를 포함하는 군으로부터 선택된다.

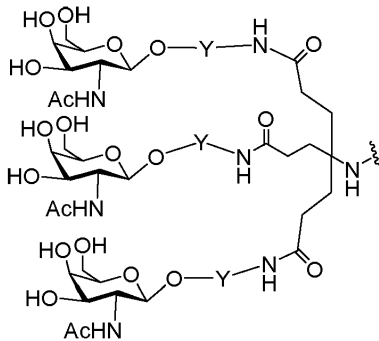
[0701] 특정 그와 같은 구현예에서, 콘주게이트 그룹의 세포-표적화 모이어티는 하기 구조를 갖는다:



[0702]

[0703] 여기서 Y는 C₁-C₁₂ 치환된 또는 비치환된 알킬 기, 또는 에테르, 아민, 피페리딘, 포스페이트, 포스포디에스테르, 또는 포스포로티오에이트를 포함하는 군으로부터 선택된다.

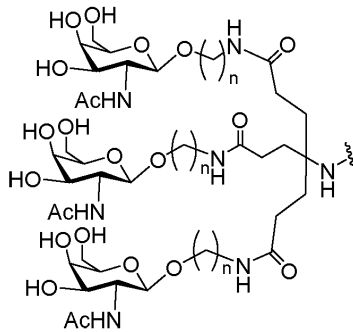
[0704] 특정 그와 같은 구현예에서, 콘주게이트 그룹의 세포-표적화 모이어티는 하기 구조를 갖는다:



[0705]

[0706] 여기서 Y는 C₁-C₁₂ 치환된 또는 비치환된 알킬 군으로부터 선택된다.

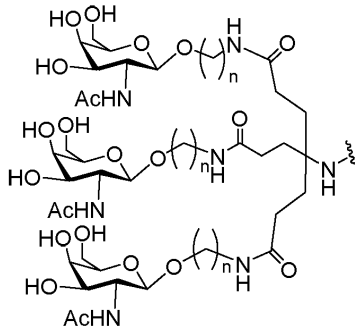
[0707] 특정 그와 같은 구현예에서, 콘주게이트 그룹의 세포-표적화 모이어티는 하기 구조를 갖는다:



[0708]

[0709] 여기서 n은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 또는 12이다.

[0710] 특정 그와 같은 구현예에서, 콘주게이트 그룹의 세포-표적화 모이어티는 하기 구조를 갖는다:

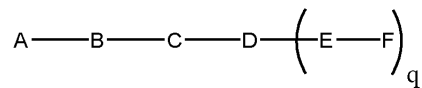


[0711]

[0712] 여기서 n은 4, 5, 6, 7, 또는 8이다.

[0713] **a. 특정 콘주게이트된 안티센스 화합물**

[0714] 특정 구현예에서, 콘주게이트는 뉴클레오시드의 2', 3', 또는 5' 위치에서 안티센스 올리고뉴클레오티드의 뉴클레오시드에 결합된다. 특정 구현예에서, 콘주게이트된 안티센스 화합물은 하기 구조를 갖는다:



[0715]

[0716] 여기서,

[0717] A는 안티센스 올리고뉴클레오티드이고;

[0718] B는 절단가능 모이어티이고

[0719] C는 콘주게이트 링커이고

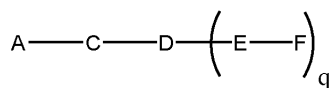
[0720] D는 분지화 그룹이고

[0721] 각각의 E는 연결기이고;

[0722] 각각의 F는 리간드이고; 그리고

[0723] q는 정수 1 내지 5이다.

[0724] 특정 구현예에서, 콘주게이트된 안티센스 화합물은 하기 구조를 갖는다:



[0725]

[0726] 여기서,

[0727] A는 안티센스 올리고뉴클레오티드이고;

[0728] C는 콘주게이트 링커이고

[0729] D는 분지화 그룹이고

[0730] 각각의 E는 연결기이고;

[0731] 각각의 F는 리간드이고; 그리고

[0732] q는 정수 1 내지 5이다.

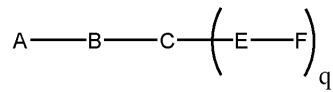
[0733] 특정 그와 같은 구현예에서, 콘주게이트 링커는 적어도 하나의 절단가능 결합을 포함한다.

[0734] 특정 그와 같은 구현예에서, 분지화 그룹은 적어도 하나의 절단가능 결합을 포함한다.

[0735] 특정 구현예에서 각각의 연결기는 적어도 하나의 절단가능 결합을 포함한다.

[0736] 특정 구현예에서, 콘주게이트는 뉴클레오타이드의 2', 3', 또는 5' 위치에서 안티센스 올리고뉴클레오타이드의 뉴클레오타이드에 결합된다.

[0737] 특정 구현예에서, 콘주게이트된 안티센스 화합물은 하기 구조를 갖는다:



[0738]

여기서,

A는 안티센스 올리고뉴클레오타이드이고;

B는 절단가능 모이어티이고

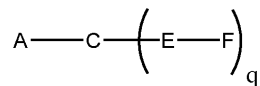
C는 콘주게이트 링커이고

각각의 E는 연결기이고;

각각의 F는 리간드이고; 그리고

q는 정수 1 내지 5이다.

[0746] 특정 구현예에서, 콘주게이트는 뉴클레오타이드의 2', 3', 또는 5' 위치에서 안티센스 올리고뉴클레오타이드의 뉴클레오타이드에 결합된다. 특정 구현예에서, 콘주게이트된 안티센스 화합물은 하기 구조를 갖는다:



[0747]

여기서,

A는 안티센스 올리고뉴클레오타이드이고;

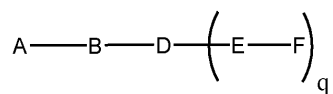
C는 콘주게이트 링커이고

각각의 E는 연결기이고;

각각의 F는 리간드이고; 그리고

q는 정수 1 내지 5이다.

[0754] 특정 구현예에서, 콘주게이트된 안티센스 화합물은 하기 구조를 갖는다:



[0755]

여기서,

A는 안티센스 올리고뉴클레오타이드이고;

B는 절단가능 모이어티이고

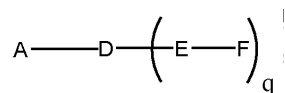
D는 분지화 그룹이고

각각의 E는 연결기이고;

각각의 F는 리간드이고; 그리고

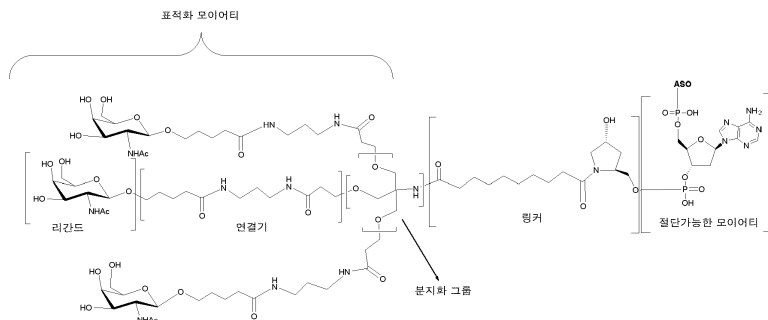
q는 정수 1 내지 5이다.

[0763] 특정 구현예에서, 콘주게이트된 안티센스 화합물은 하기 구조를 갖는다:

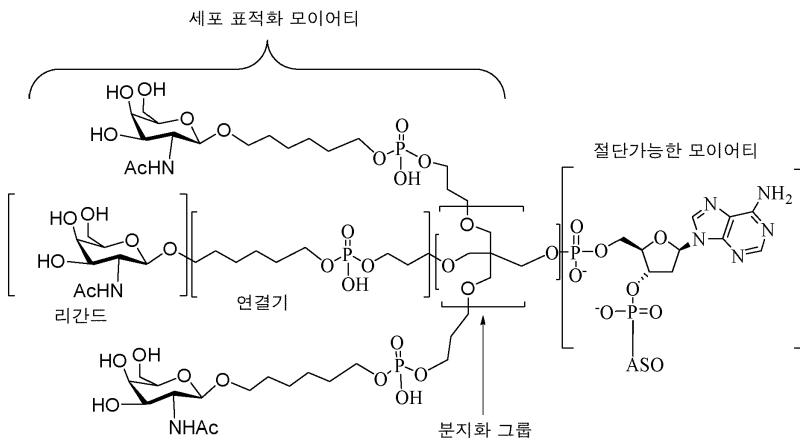


[0764]

- [0765] 여기서,
- [0766] A는 안티센스 올리고뉴클레오타이드이고;
- [0767] D는 분지화 그룹이고
- [0768] 각각의 E는 연결기이고;
- [0769] 각각의 F는 리간드이고; 그리고
- [0770] q는 정수 1 내지 5이다.
- [0771] 특정 그와 같은 구현예에서, 콘주게이트 링커는 적어도 하나의 절단가능 결합을 포함한다.
- [0772] 특정 구현예에서 각각의 연결기는 적어도 하나의 절단가능 결합을 포함한다.
- [0773] 특정 구현예에서, 콘주게이트된 안티센스 화합물은 하기 중으로부터 선택된 구조를 갖는다:

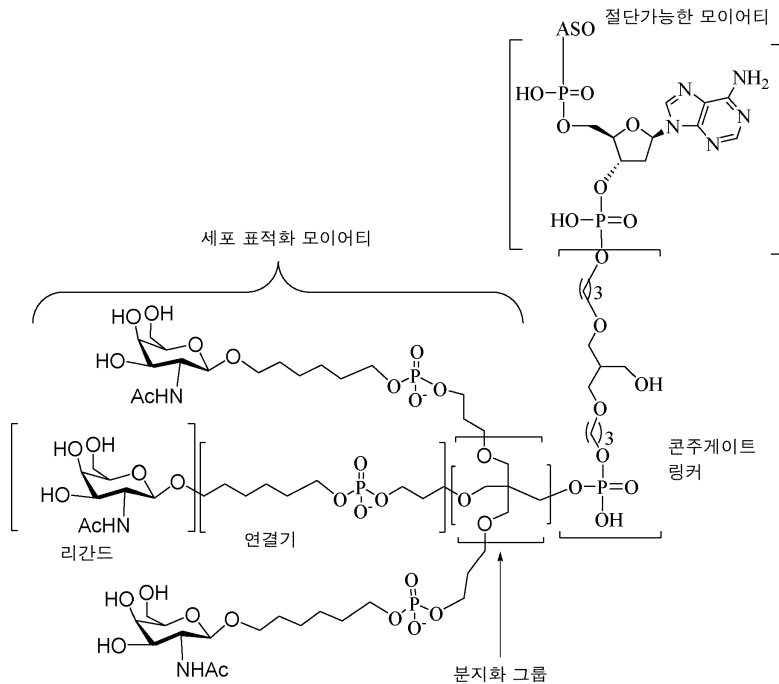


- [0774]
- [0775] 특정 구현예에서, 콘주게이트된 안티센스 화합물은 하기 중으로부터 선택된 구조를 갖는다:



[0776]

[0777] 특정 구현예에서, 콘주게이트된 안티센스 화합물은 하기 중으로부터 선택된 구조를 갖는다:



[0778]

[0779] 상기 언급된 콘주게이트, 콘주게이트된 안티센스 화합물, 연결기, 링커, 분지화 그룹, 리간드, 절단가능 모이어티 뿐만 아니라 다른 변형 중 특정 것의 제조를 교시하는 대표적인 미국 특허들, 미국 특허 출원 공보, 및 국제 특허 출원 공보는 비제한적으로, 하기를 포함한다: US 5,994,517, US 6,300,319, US 6,660,720, US 6,906,182, US 7,262,177, US 7,491,805, US 8,106,022, US 7,723,509, US 2006/0148740, US 2011/0123520, WO 2013/033230 및 WO 2012/037254, 이들 각각은 그 전체가 참고로 본원에 편입되어 있다.

[0780]

상기 언급된 콘주게이트, 콘주게이트된 안티센스 화합물, 연결기, 링커, 분지화 그룹, 리간드, 절단가능 모이어티 뿐만 아니라 다른 변형의 특정 것의 제조를 교시하는 대표적인 공보는 비제한적으로, 하기를 포함한다: BIESSEN et al., "The Cholesterol Derivative of a Triantennary Galactoside with High Affinity for the Hepatic Asialoglycoprotein Receptor: a Potent Cholesterol Lowering Agent" *J. Med. Chem.* (1995) 38:1846-1852, BIESSEN et al., "Synthesis of Cluster Galactosides with High Affinity for the Hepatic Asialoglycoprotein Receptor" *J. Med. Chem.* (1995) 38:1538-1546, LEE et al., "New and more efficient multivalent glyco-ligands for asialoglycoprotein receptor of mammalian hepatocytes" *Bioorganic & Medicinal Chemistry* (2011) 19:2494-2500, RENSEN et al., "Determination of the Upper Size Limit for Uptake and Processing of Ligands by the Asialoglycoprotein Receptor on Hepatocytes in Vitro and in Vivo" *J. Biol. Chem.* (2001) 276(40):37577-37584, RENSEN et al., "Design and Synthesis of Novel N-Acetylgalactosamine-Terminated Glycolipids for Targeting of Lipoproteins to the Hepatic Asialoglycoprotein Receptor" *J. Med. Chem.* (2004) 47:5798-5808, SLIEDREGT et al., "Design and Synthesis of Novel Amphiphilic Dendritic Galactosides for Selective Targeting of Liposomes to the Hepatic Asialoglycoprotein Receptor" *J. Med. Chem.* (1999) 42:609-618, 및 Valentijn et al., "Solid-phase synthesis of lysine-based cluster galactosides with high affinity for the Asialoglycoprotein Receptor" *Tetrahedron*, 1997, 53(2), 759-770, (이들 각각은 본원에 그 전문이 참조로 편입됨).

[0781]

특정 구현예에서, 콘주게이트된 안티센스 화합물은 RNase H 기반 올리고뉴클레오타이드 (예컨대 캡머) 또는 스플라이스 조절 올리고뉴클레오타이드 (예컨대 완전 변형된 올리고뉴클레오타이드) 및 적어도 1, 2, 또는 3개의 GalNAc 그룹을 포함하는 임의의 콘주게이트 그룹을 포함한다. 특정 구현예에서 접합된 안티센스 화합물은 하기 참조 중 임의의 것에서 발견된 임의의 콘주게이트 그룹을 포함한다: Lee, *Carbohydr Res*, 1978, 67, 509-514; Connolly et al., *J Biol Chem*, 1982, 257, 939-945; Pavia et al., *Int J Pep Protein Res*, 1983, 22, 539-548; Lee et al., *Biochem*, 1984, 23, 4255-4261; Lee et al., *Glycoconjugate J*, 1987, 4, 317-328; Toyokuni et al., *Tetrahedron Lett*, 1990, 31, 2673-2676; Biessen et al., *J Med Chem*, 1995, 38, 1538-1546; Valentijn et al., *Tetrahedron*, 1997, 53, 759-770; Kim et al., *Tetrahedron Lett*, 1997, 38, 3487-

3490; Lee et al., *Bioconjug Chem*, 1997, 8, 762-765; Kato et al., *Glycobiol*, 2001, 11, 821-829; Rensen et al., *J Biol Chem*, 2001, 276, 37577-37584; Lee et al., *Methods Enzymol*, 2003, 362, 38-43; Westerlind et al., *Glycoconj J*, 2004, 21, 227-241; Lee et al., *Bioorg Med Chem Lett*, 2006, 16(19), 5132-5135; Maierhofer et al., *Bioorg Med Chem*, 2007, 15, 7661-7676; Khorev et al., *Bioorg Med Chem*, 2008, 16, 5216-5231; Lee et al., *Bioorg Med Chem*, 2011, 19, 2494-2500; Kornilova et al., *Analyt Biochem*, 2012, 425, 43-46; Pujol et al., *Angew Chemie Int Ed Engl*, 2012, 51, 7445-7448; Biessen et al., *J Med Chem*, 1995, 38, 1846-1852; Sliedregt et al., *J Med Chem*, 1999, 42, 609-618; Rensen et al., *J Med Chem*, 2004, 47, 5798-5808; Rensen et al., *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2006, 26, 169-175; van Rossenberg et al., *Gene Ther*, 2004, 11, 457-464; Sato et al., *J Am Chem Soc*, 2004, 126, 14013-14022; Lee et al., *J Org Chem*, 2012, 77, 7564-7571; Biessen et al., *FASEB J*, 2000, 14, 1784-1792; Rajur et al., *Bioconjug Chem*, 1997, 8, 935-940; Duff et al., *Methods Enzymol*, 2000, 313, 297-321; Maier et al., *Bioconjug Chem*, 2003, 14, 18-29; Jayaprakash et al., *Org Lett*, 2010, 12, 5410-5413; Manoharan, *Antisense Nucleic Acid Drug Dev*, 2002, 12, 103-128; Merwin et al., *Bioconjug Chem*, 1994, 5, 612-620; Tomiya et al., *Bioorg Med Chem*, 2013, 21, 5275-5281; 국제 출원 WO1998/013381; WO2011/038356; WO1997/046098; WO2008/098788; WO2004/101619; WO2012/037254; WO2011/120053; WO2011/100131; WO2011/163121; WO2012/177947; WO2013/033230; WO2013/075035; WO2012/083185; WO2012/083046; WO2009/082607; WO2009/134487; WO2010/144740; WO2010/148013; WO1997/020563; WO2010/088537; WO2002/043771; WO2010/129709; WO2012/068187; WO2009/126933; WO2004/024757; WO2010/054406; WO2012/089352; WO2012/089602; WO2013/166121; WO2013/165816; 미국 특허 4,751,219; 8,552,163; 6,908,903; 7,262,177; 5,994,517; 6,300,319; 8,106,022; 7,491,805; 7,491,805; 7,582,744; 8,137,695; 6,383,812; 6,525,031; 6,660,720; 7,723,509; 8,541,548; 8,344,125; 8,313,772; 8,349,308; 8,450,467; 8,501,930; 8,158,601; 7,262,177; 6,906,182; 6,620,916; 8,435,491; 8,404,862; 7,851,615; 공보된 미국 특허 국제 출원 US2011/0097264; US2011/0097265; US2013/0004427; US2005/0164235; US2006/0148740; US2008/0281044; US2010/0240730; US2003/0119724; US2006/0183886; US2008/0206869; US2011/0269814; US2009/0286973; US2011/0207799; US2012/0136042; US2012/0165393; US2008/0281041; US2009/0203135; US2012/0035115; US2012/0095075; US2012/0101148; US2012/0128760; US2012/0157509; US2012/0230938; US2013/0109817; US2013/0121954; US2013/0178512; US2013/0236968; US2011/0123520; US2003/0077829; US2008/0108801; 및 US2009/0203132 (이들 각각은 본원에 그 전문이 참조로 편입됨).

[0782] 세포 배양물 및 안티센스 화합물 치료

[0783] PKC 핵산의 수준, 활성 또는 발현에 대한 안티센스 화합물의 효과는 다양한 세포 유형에서 시험관내에서 시험될 수 있다. 그와 같은 분석을 위해 사용된 세포 유형은 상업적 판매인 (예를 들면 American Type Culture Collection, Manassus, VA; Zen-Bio, Inc., Research Triangle Park, NC; Clonetics Corporation, Walkersville, MD)으로부터 이용가능하고 세포는 상업적으로 이용가능한 시약을 사용하여 판매인의 지침에 따라 배양된다 (예를 들면 Life Technologies, Carlsbad, CA). 예시적인 세포 유형은, 비제한적으로, HepaRG™ T 세포 및 마우스 일차 간세포를 포함한다.

[0784] 안티센스 올리고뉴클레오타이드의 시험관내 시험

[0785] 다른 안티센스 화합물에 의한 치료를 위해 적절하게 변형될 수 있는 안티센스 올리고뉴클레오타이드에 의한 세포의 치료 방법이 본원에 기재되어 있다.

[0786] 일반적으로, 세포는, 세포가 배양물에서 대략 60-80% 밀집도에 도달할 때 안티센스 올리고뉴클레오타이드로 처리된다.

[0787] 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 배양 세포에 도입하기 위해 통상적으로 사용된 하나의 시약은 양이온성 지질형 질감염 시약 LIPOFECTIN (Life Technologies, Carlsbad, CA)을 포함한다. 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 안티센스 올리고뉴클레오타이드의 원하는 최종 농도 및 2 내지 12 ug/mL / 100 nM 안티센스 올리고뉴클레오타이드 범위인 LIPOFECTIN 농도를 달성하기 위해 OPTI-MEM 1 (Invitrogen, Carlsbad, CA) 중에서 LIPOFECTIN와 혼합될 수 있다.

[0788] 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 배양 세포에 도입하기 위해 사용된 또 하나의 시약은 LIPOFECTAMINE (Life Technologies, Carlsbad, CA)을 포함한다. 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 안티센스 올리고뉴클레오타이드의 원하는 농도 및 2 내지 12 ug/mL / 100 nM 안티센스 올리고뉴클레오타이드 범위인 LIPOFECTAMINE 농도를 달성하기 위

해 OPTI-MEM 1 감소된 혈청 배지 (Life Technologies, Carlsbad, CA)에서 LIPOFECTAMINE와 혼합된다.

[0789] 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 배양 세포에 도입하기 위해 사용된 또 하나의 기술은 전기천공을 포함한다.

[0790] 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 배양 세포에 도입하기 위해 사용된 또 하나의 기술은 세포에 의한 올리고뉴클레오타이드의 자유 흡수를 포함한다.

[0791] 세포는 일상적인 방법에 의해 안티센스 올리고뉴클레오타이드로 치료된다. 세포는 전형적으로 안티센스 올리고뉴클레오타이드 처리 16-24 시간 후에 수확되고, 그 시간에 표적 핵산의 RNA 또는 단백질 수준은 당해분야에서 공지되고 본원에 기재된 방법으로 측정된다. 일반적으로, 치료가 다중 복제물에서 수행될 때, 데이터는 복제물 치료의 평균으로서 제공된다.

[0792] 사용된 안티센스 올리고뉴클레오타이드의 농도는 세포주에서 세포주로 변한다. 특정한 세포주에 대한 최적의 안티센스 올리고뉴클레오타이드 농도를 측정하는 방법은 당해기술에 공지되어 있다. 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 LIPOFECTAMINE으로 형질감염될 때 1 nM 내지 300 nM 범위의 농도에서 전형적으로 사용된다. 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 전기천공을 사용하여 형질감염될 때 625 내지 20,000 nM 범위의 농도에서 사용된다.

[0793] RNA 단리

[0794] RNA 분석은 총 세포 RNA 또는 폴리(A)+ mRNA에 대해 수행될 수 있다. RNA 단리의 방법은 당해기술에 공지되어 있다. RNA는 제조자의 추천된 프로토콜에 따라 당해기술에서 공지된 방법, 예를 들면, TRIZOL 시약 (Life Technologies, Carlsbad, CA)을 사용하여 제조된다.

[0795] 표적 수준 또는 발현의 억제 분석

[0796] PKK 핵산의 수준 또는 발현의 억제는 당해기술에서 공지된 다양한 방식으로 검정될 수 있다. 예를 들면, 표적 핵산 수준은, 예를 들면, 노던 블랏 분석, 경쟁적 폴리머라제 연쇄 반응 (PCR), 또는 정량적 실시간 PCR에 의해 정량화될 수 있다. RNA 분석은 총 세포 RNA 또는 폴리(A)+ mRNA에 대해 수행될 수 있다. RNA 단리의 방법은 당해기술에 공지되어 있다. 노던 블랏 분석은 당해기술에서 또한 일상적이다. 정량적 실시간 PCR은 상업적으로 이용가능한 ABI PRISM 7600, 7700, 또는 7900 서열 검출 시스템 (PE-Applied Biosystems, Foster City, CA로부터 이용가능)을 사용하여 편리하게 달성될 수 있고 제조자의 지침에 따라 사용된다.

[0797] 표적 RNA 수준의 정량적 실시간 PCR 분석

[0798] 표적 RNA 수준의 정량화는 제조자의 지침에 따라 ABI PRISM 7600, 7700, 또는 7900 서열 검출 시스템 (PE-Applied Biosystems, Foster City, CA)을 사용하여 정량적 실시간 PCR에 의해 달성될 수 있다. 정량적 실시간 PCR의 방법은 당해기술에 공지되어 있다.

[0799] 실시간 PCR 전에, 단리된 RNA에 대해 역전사효소 (RT) 반응이 수행되고, 이 반응은 상보적 DNA (cDNA)을 생산하고 그 다음 실시간 PCR 증폭에 대한 기질로서 사용된다. RT 및 실시간 PCR 반응은 동일 샘플 웰에서 순차적으로 수행된다. RT 및 실시간 PCR 시약은 Invitrogen (Carlsbad, CA)로부터 취득될 수 있다. RT, 실시간-PCR 반응은 당해분야의 숙련가에게 공지된 방법에 의해 수행된다.

[0800] 실시간 PCR에 의해 취득된 유전자 (또는 RNA) 표적 양은, 발현이 일정한 유전자, 예컨대 시클로필린 A의 발현 수준을 사용하거나, RIBOGREEN (Invitrogen, Inc. Carlsbad, CA)을 사용하여 총 RNA를 정량화하여 정규화된다. 시클로필린 A 발현은 실시간 PCR에 의해, 표적과 동시에, 다중화, 또는 별도로 시행하여 정량화된다. 총 RNA는 RIBOGREEN RNA 정량화 시약 (Invitrogen, Inc. Eugene, OR)을 사용하여 정량화된다. RIBOGREEN에 의한 RNA 정량화의 방법은 하기에서 교시된다: Jones, L.J., 등, (Analytical Biochemistry, 1998, 265, 368-374). CYTOFLUOR 4000 기기 (PE Applied Biosystems)는 RIBOGREEN 형광을 측정하기위해 사용된다.

[0801] 프로브 및 프라이머는 PKK 핵산에 대한 혼성화를 위해 설계된다. 실시간 PCR 프로브 및 프라이머를 설계하는 방법은 당해기술에 공지되어 있고 소프트웨어 예컨대 PRIMER EXPRESS 소프트웨어 (Applied Biosystems, Foster City, CA)의 사용을 포함할 수 있다.

[0802] 단백질 수준 분석

[0803] PKK 핵산의 안티센스 억제는 PKK 단백질 수준을 측정하여 평가될 수 있다. PKK의 단백질 수준은 당해기술에 공지된 다양한 방식, 예컨대 면역침전, 웨스턴 블랏 분석 (면역블로팅), 효소-연결 면역흡착 검정 (ELISA), 정량적 단백질 검정, 단백질 활성 검정 (예를 들면, 카스파제 활성 검정), 면역조직화학, 면역세포화학 또는 형광-

활성화된 세포 분류 (FACS)으로 평가 또는 정량화될 수 있다. 표적에 대해 지향된 항체는 다양한 공급원, 예컨대 항체의 MSRS 카탈로그 (Aerie Corporation, Birmingham, MI)으로부터 동정 및 수득될 수 있고, 또는 당해 기술에 잘 공지된 종래의 단클론성 또는 다클론성 항체 생성 방법을 통해 제조될 수 있다.

[0804] *안티센스 화합물의 생체내 시험*

[0805] 안티센스 화합물, 예를 들면, 안티센스 올리고뉴클레오타이드는, PKK의 발현을 억제하고 표현형 변화를 생성하기 위해 그것의 능력을 평가하기 위해 동물에서 시험된다.

[0806] 특정 구현예에서, 그러한 표현형 변화는 예컨대 감소된 염증, 부종/종창, 혈관투과성, 및 혈관 유출과 같은 염증성 질환과 관련된 것들을 포함한다. 특정 구현예에서, 염증은 동물에서의 부종, 온도, 고통, 조직의 색, 및 복부 기능의 증가 또는 감소를 측정함으로써 측정된다.

[0807] 특정 구현예에서, 그러한 표현형 변화는 예컨대 연장된 aPTT, 정상 PT와 조합한 연장된 aPTT 시간, 혈소판 인자 4 (PF-4)의 감소된 양, 및 혈전 형성에 대한 감소된 혈전 형성 또는 증가된 시간과 같은 혈전색전성 질환과 관련된 것들을 포함한다.

[0808] 시험은 정상동물, 또는 실험 질환 모델에서 수행될 수 있다. 동물에의 투여에 대해, 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 약제학적으로 허용가능한 희석제, 예컨대 포스페이트-완충 식염수에서 제형된다. 본 발명의 화합물에 대한 투여 경로는, 복강내, 정맥내, 근육내, 및 피하내와 같은 비경구 투여 경로를 포함한다. 안티센스 올리고뉴클레오타이드 투여 및 투여 빈도의 산출은 당업자의 능력 내에 있으며, 투여 경로 및 동물 체중과 같은 인자에 따라 달라진다. 안티센스 올리고뉴클레오타이드에 의한 치료 기간 다음에, RNA는 간 조직으로부터 단리되고 PKK 핵산 발현의 변화가 측정된다.

[0809] *특정 징후*

[0810] 특정 구현예에서, 본원에 기재된 바와 같은 하나 이상의 약제학적 조성물을 투여하는 것을 포함하는 개체의 치료 방법이 제공된다.

[0811] 특정 구현예에서, 개체는 염증성 질환을 갖는다. 특정 구현예에서, 개체는 유전성 혈관부종(HAE), 부종, 혈관부종, 종창, 눈꺼풀의 혈관부종, 눈의 부종, 황반 부종, 및 뇌 부종을 비제한적으로 포함하는 염증성 병태를 발병할 위험이 있다. 이는 염증, 예를 들어 염증성 병태에 대한 유전적 소인, 환경적 인자, 및 특정 약제, 예를 들어 ACE 억제제 및 ARB에 대한 노출의 위험을 야기하는 후천적 문제, 질환, 또는 장애를 갖는 개체를 포함한다. 특정 구현예에서, 개체는 항-염증 요법이 필요한 것으로 식별되었다. 그러한 개체의 예시는 비제한적으로, 보체 1 에스테라아제 억제제 (즉, C1-INH) 또는 인자 12에 대한 유전자 코드의 변이를 갖는 것들을 포함한다. 특정 구현예에서, 비정상 코드는 C1-INH (즉, 유형 I HAE)의 결핍, 기존 C1-INH을 정상 기능 불능 (유형 II HAE), 또는 과기능성 인자 12 (즉, 유형 III HAE)를 야기할 수 있다.

[0812] 특정 구현예에서, 개체는 혈전색전성 질환을 갖는다. 특정 구현예에서, 개체는 비제한적으로 경색, 혈전증, 색전증, 심부정맥혈전증, 폐색전증과 같은 혈전색전증, 심근경색증, 및 뇌졸중을 포함하는 혈액 응고 장애에 대한 위험에 처해있다. 이는 혈전증의 위험, 예를 들어 수술, 압, 부동성, 패혈증, 죽상동맥경화증, 심방 세동을 야기하는 후천적 문제, 질환, 또는 장애를 갖는 개체들 뿐만 아니라 예를 들어 항인지질항체증후군 및 상염색체 우성 병태, 인자 V 레이든(Leiden)과 같은 유전적 소인을 갖는 개체들을 포함한다. 특정 구현예에서, 개체는 항-응고 요법이 필요한 것으로 식별되었다. 그와 같은 개체의 예는 비제한적으로, 주요 정형외과 수술을 겪은 개체 (예를 들어 둔부/무릎 치환술 또는 둔부 골절 수술) 및 만성 치료를 필요로 하는 환자, 예를 들어 뇌졸중 전 단계의 심방 세동으로 고통받고 있는 개체를 포함한다.

[0813] 특정 구현예에서, 본 발명은 개체에서 PKK 발현을 예방적으로 감소시키는 방법을 제공한다. 특정 구현예는 PKK 핵산에 표적화된 안티센스 화합물의 치료학적 유효량을 개체에 투여함으로써 이를 필요로 하는 개체를 치료하는 것을 포함한다.

[0814] 일 구현예에서, PKK 핵산에 표적화된 안티센스 화합물의 치료학적 유효량의 투여는 개체의 혈청에서 PKK 수준을 모니터링하여 안티센스 화합물 투여에 대한 개체의 반응을 측정하는 것을 수반한다. 안티센스 화합물 투여에 대한 개체의 반응은 치료적 처치의 양 및 기간을 결정하는 의료진에 의하여 사용될 수 있다.

[0815] 특정 구현예에서, PKK 핵산에 표적화된 안티센스 화합물의 투여는 적어도 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 또는 99%

만큼 또는 상기 값 중 임의의 2개에 의하여 정의된 범위 내로 PKK 발현의 감소를 초래한다. 특정 구현예에서, PKK에 대해 표적화된 안티센스 화합물을 포함하는 억제학적 조성물은 염증성 질환 또는 혈전색전성 질환을 앓고 있거나 그것에 민감한 환자를 치료하기 위한 약제의 제조를 위해 사용된다.

특정 조성물

1. ISIS 546254

특정 구현예에서, ISIS 546254는 5-10-5 MOE 캡머로 특징화되고, 이는 TGCAAGTCTCTTGCAAACA (서열 번호: 570로서 본원에서 포함)의 서열 (5'로부터 3'으로)을 갖고, 여기서 각 뉴클레오타이드간 연결은 포스포로티오에이트 연결이고, 각 시토신은 5-메틸시토신이고, 그리고 뉴클레오타이드 1-5 및 16-20은 2'-O-메톡시에틸 변형된 뉴클레오타이드이며, 그리고 각 뉴클레오타이드 6-15는 2'-데옥시뉴클레오타이드이다.

특정 구현예에서, ISIS 546254은 하기 화학 표기로 기재될 수 있다: Tes Ges mCes Aes Aes Gds Tds mCds Tds mCds Tds Tds Gds Gds mCds Aes Aes Aes mCes Ae; 여기서

A는 아데닌이고,

mC는 5-메틸시토신이며,

G는 구아닌이고,

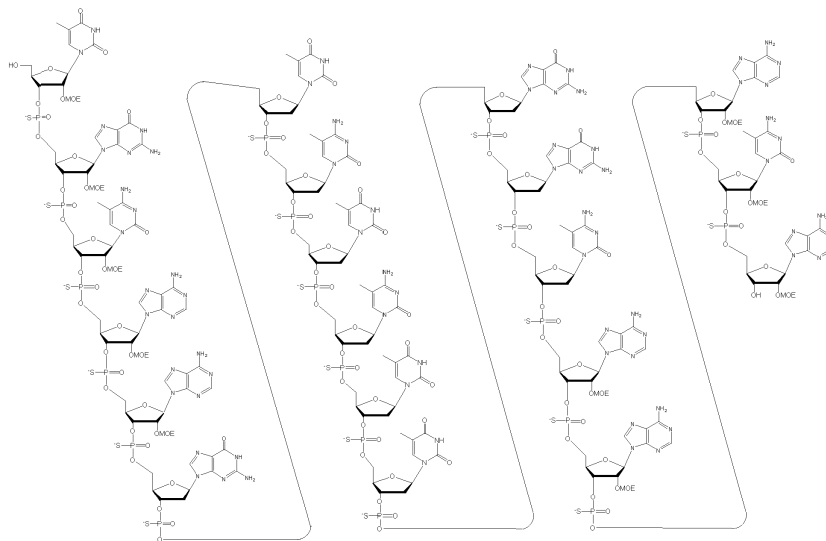
T는 티민이며,

e는 2'-O-메톡시에틸 변형된 뉴클레오타이드이고,

d는 2'-데옥시뉴클레오타이드이며,

s는 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결이다.

특정 구현예에서, ISIS 546254은 하기 화학 구조로 기재될 수 있다:



구조 1. ISIS 546254

특정 구현예에서, 실시예 2 (본원의 하기)에 제공된 바와 같이, ISIS 546254는, 24시간의 처리 기간 후, 인간 프라이머 프로브 세트 RTS3454를 사용하여 정량적 실시간 PCR에 의하여 측정되고 RIBOGREEN[®]에 측정된 바와 같이 총 RNA 함량에 따라 조정된 바와 같이, 5,000 nM 안티센스 올리고뉴클레오타이드로의 전기천공을 사용하여 형질감염될 때, 배양된 HepaRG[™] 세포 (웰 당 20,000 세포의 농도) 내의 인간 PKK mRNA의 95%의 억제를 달성하였다.

특정 구현예에서, 실시예 5 (본원의 하기표 34 및 41 참고)에 제공된 바와 같이, ISIS 546254는, 16시간의 처리 기간 후, 인간 프라이머 프로브 세트 RTS3454를 사용하여 정량적 실시간 PCR에 의하여 측정되고 RIBOGREEN[®]에 측정된 바와 같이 총 RNA 함량에 따라 조정된 바와 같이, 전기천공을 사용하여 형질감염될 때, 배양된 HepaRG[™]

세포 (웰 당 20,000 세포의 농도) 내의 4 포인트 용량 반응 곡선 (0.19 μ M, 0.56 μ M, 1.67 μ M, 및 5.0 μ M)에서의 0.2 μ M 및 0.3 μ M의 IC₅₀를 달성하였다.

[0832] 특정 구현예에서, 실시예 7 (본원의 하기)에 제공된 바와 같이, ISIS 546254는, ISIS 546254로 2.5 mg/kg/주, 5.0 mg/kg/주, 10 mg/kg/주 또는 20 mg/kg/주로 3주간 일주일에 2회 피하로 주사될 때, 인간 PKK 유전자 서열을 갖는 형질전환 마우스에서 인간 PKK mRNA 억제를 31%, 55%, 84%, 및 83%, 그리고 인간 PKK 단백질 억제를 0%, 36%, 51%, 및 76% 달성하였다.

[0833] 특정 구현예에서, 실시예 8 (본원의 하기)에 제공된 바와 같이, ISIS 546254는 PKK mRNA 및 단백질 발현을 억제하는데 효과적이고, 영양류에서 내성이 있다.

[0834] 2. ISIS 546343

[0835] 특정 구현예에서, ISIS 546343는 5-10-5 MOE 캡머로 특징화되고, 이는 CCCCTTCTTTATAGCCAGC (서열 번호: 705로서 본원에서 포함)의 서열 (5'로부터 3'으로)을 갖고, 여기서 각 뉴클레오타이드간 연결은 포스포로티오에이트 연결이고, 각 시토신은 5-메틸시토신이고, 그리고 뉴클레오타이드 1-5 및 16-20은 2'-O-메톡시에틸 변형된 뉴클레오타이드이며, 그리고 각 뉴클레오타이드 6-15는 2'-데옥시뉴클레오타이드이다.

[0836] 특정 구현예에서, ISIS 546343는 다음 화학 표기: mCes mCes mCes mCes mCes Tds Tds mCds Tds Tds Tds Ads Tds Ads Gds mCes mCes Aes Ges mCe로 기재되며;

[0837] A는 아데닌이고,

[0838] mC는 5-메틸시토신이며,

[0839] G는 구아닌이고,

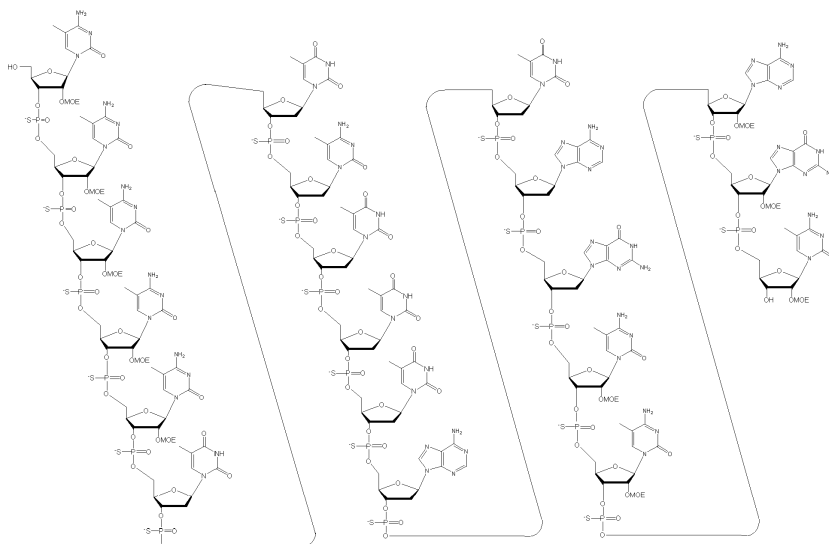
[0840] T는 티민이며,

[0841] e는 2'-O-메톡시에틸 변형된 뉴클레오타이드이고,

[0842] d는 2'-데옥시뉴클레오타이드이며,

[0843] s는 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결이다.

[0844] 특정 구현예에서, ISIS 546343은 하기 화학 구조로 기재될 수 있다:



[0845]

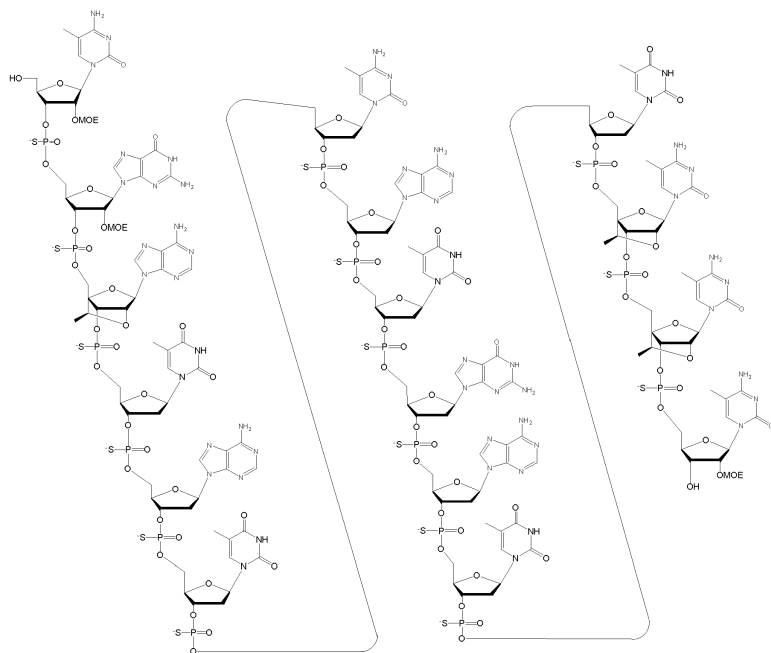
[0846] 구조 2. ISIS 546343

[0847] 특정 구현예에서, 실시예 2 (본원의 하기 표 9 및 10 참고)에 제공된 바와 같이, ISIS 546343은, 24시간의 처리 기간 후, 인간 프라이머 프로브 세트 RTS3454를 사용하여 정량적 실시간 PCR에 의하여 측정되고 RIBOGREEN[®]에 측정된 바와 같이 총 RNA 함량에 따라 조정된 바와 같이, 5,000 nM 안티센스 올리고뉴클레오타이드로의 전기천공을 사용하여 형질감염될 때, 배양된 HepaRG[™] 세포 (웰 당 20,000 세포의 농도) 내의 인간 PKK mRNA의 97% 및

91%의 억제를 달성하였다.

- [0848] 특정 구현예에서, 실시예 5 (본원의 하기 표 34 및 41 참고)에 2회 제공된 바와 같이, ISIS 546343는, 16시간의 처리 기간 후, 인간 프라이머 프로브 세트 RTS3454를 사용하여 정량적 실시간 PCR에 의하여 측정되고 RIBOGREEN[®]에 측정된 바와 같이 총 RNA 함량에 따라 조정된 바와 같이, 전기천공을 사용하여 형질감염될 때, 배양된 HepaRG[™] 세포 (웰 당 20,000 세포의 농도) 내의 4 포인트 용량 반응 곡선 (0.19 μ M, 0.56 μ M, 1.67 μ M, 및 5.0 μ M)에서의 0.4 μ M의 IC₅₀를 달성하였다.
- [0849] 특정 구현예에서, 실시예 7 (본원의 하기)에 제공된 바와 같이, ISIS 546343은, ISIS 546343으로 2.5 mg/kg/주, 5.0 mg/kg/주, 10 mg/kg/주 또는 20 mg/kg/주로 3주간 일주일에 2회 피하로 주사될 때, 인간 PKK 유전자 서열을 갖는 형질전환 마우스에서 인간 PKK mRNA 억제를 46%, 66%, 및 86%, 그리고 인간 PKK 단백질 억제를 0%, 38%, 및 79% 달성하였다.
- [0850] 특정 구현예에서, 실시예 8 (본원의 하기)에 제공된 바와 같이, ISIS 546343은 PKK mRNA 및 단백질 발현을 억제하는데 효과적이고, 영장류에서 내성이 있다.
- [0851] 3. ISIS 548048
- [0852] 특정 구현예에서, ISIS 548048는 변형된 안티센스 올리고뉴클레오타이드로 특징화되고, 이는 CGATATCATGATTCCC (서열 번호: 1666으로서 본원에서 포함)의 핵염기 서열 (5'로부터 3'으로)을 갖고, 이는 16개의 2'-데옥시뉴클레오타이드, 2'-O-메톡시에틸 변형된 뉴클레오타이드 및 cEt 변형된 뉴클레오타이드로 이루어지고, 뉴클레오타이드 1, 2, 및 16 각각은 2'-O-메톡시에틸 변형된 뉴클레오타이드이며, 여기서 뉴클레오타이드 3, 14, 및 15 각각은 cEt 변형된 뉴클레오타이드이고, 뉴클레오타이드 4-13 각각은 2'-데옥시뉴클레오타이드이고, 각각의 뉴클레오타이드간 연결은 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결이고, 그리고 각 시토신은 5-메틸시토신이다.
- [0853] 특정 구현예에서, ISIS 548048는 다음 화학 표기: mCes Ges Aks Tds Ads Tds mCds Ads Tds Gds Ads Tds Tds mCks mCks mCe로 기재되며;
- [0854] A는 아데닌이고,
- [0855] mC는 5-메틸시토신이며,
- [0856] G는 구아닌이고,
- [0857] T는 티민이며,
- [0858] e는 2'-O-메톡시에틸 변형된 뉴클레오타이드이고,
- [0859] K는 cEt 변형된 뉴클레오타이드이고,
- [0860] d는 2'-데옥시뉴클레오타이드이며,
- [0861] s는 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결이다.

[0862] 특정 구현예에서, ISIS 548048은 하기 화학 구조로 기재될 수 있다:



[0863]

[0864] 구조 3. ISIS 548048

[0865] 특정 구현예에서, 실시예 3 (본원의 하기)에 제공된 바와 같이, ISIS 548048은, 24시간의 처리 기간 후, 인간 프라이머 프로브 세트 RTS3454를 사용하여 정량적 실시간 PCR에 의하여 측정되고 RIBOGREEN®에 측정된 바와 같이 총 RNA 함량에 따라 조정된 바와 같이, 1,000 nM 안티센스 올리고뉴클레오타이드로의 전기천공을 사용하여 형질감염될 때, 배양된 HepaRG™ 세포 (웰 당 20,000 세포의 농도) 내의 mRNA의 84%의 억제를 달성하였다.

[0866] 특정 구현예에서, 실시예 6 (본원의 하기 참고)에 제공된 바와 같이, ISIS 548048은, 16시간의 처리 기간 후, 인간 프라이머 프로브 세트 RTS3454를 사용하여 정량적 실시간 PCR에 의하여 측정되고 RIBOGREEN®에 측정된 바와 같이 총 RNA 함량에 따라 조정된 바와 같이, 전기천공을 사용하여 형질감염될 때, 배양된 HepaRG™ 세포 (웰 당 20,000 세포의 농도) 내의 4 포인트 용량 반응 곡선 (0.11 μ M, 0.33 μ M, 1.00 μ M, 및 3.00 μ M)에서의 0.1 μ M의 IC₅₀를 달성하였다.

[0867] 특정 구현예에서, 실시예 7 (본원의 하기)에 제공된 바와 같이, ISIS 548048은, ISIS 548048로 2.5 mg/kg/주, 5.0 mg/kg/주, 10 mg/kg/주 또는 20 mg/kg/주로 3주간 일주일에 2회 피하로 주사될 때, 인간 PKK 유전자 서열을 갖는 형질전환 마우스에서 인간 PKK mRNA 억제를 7%, 77%, 72% 및 80%, 그리고 인간 PKK 단백질 억제를 23%, 70%, 89%, 및 98% 달성하였다.

[0868] 특정 구현예에서, 실시예 8 (본원의 하기)에 제공된 바와 같이, ISIS 548048은 PKK mRNA 및 단백질 발현을 억제하는데 효과적이고, 영양류에서 내성이 있다.

[0869] 4. ISIS 721744

[0870] 특정 구현예에서, ISIS 721744는 5-10-5 MOE 캡머로 특징화되고, 이는 TGCAAGTCTCTTGCAAACA (서열 번호: 570로서 본원에서 포함)의 서열 (5'로부터 3'으로)을 갖고, 여기서 뉴클레오타이드 3 내지 4, 4 내지 5, 16 내지 17, 및 17 내지 18 사이의 뉴클레오타이드간 연결은 포스포디에스테르 연결이고, 뉴클레오타이드 1 내지 2, 2 내지 3, 5 내지 6, 6 내지 7, 7 내지 8, 8 내지 9, 9 내지 10, 10 내지 11, 11 내지 12, 12 내지 13, 13 내지 14, 14 내지 15, 15 내지 16, 18 내지 19, 및 19 내지 20 사이의 뉴클레오타이드간 연결은 포스포로티오에이트 연결이고, 각 시토신은 5' -메틸시토신이고, 뉴클레오타이드 1-5 및 16-20의 각각은 2' -O-메톡시에틸 변형된 뉴클레오타이드이고, 그리고 뉴클레오타이드 6-15 각각은 2' -데옥시뉴클레오타이드이다.

[0871] 특정 구현예에서, ISIS 721744는 하기 화학 표기로 기재될 수 있다: GalNAc3-7_{a-o}, Tes Ges mCeo Aeo Aes Gds Tds mCds Tds mCds Tds Tds Gds Gds mCds Aeo Aeo Aes mCes Ae; 여기서,

[0872] A는 아데닌이고,

[0873] mC는 5-메틸시토신이며,

[0874] G는 구아닌이고,

[0875] T는 티민이며,

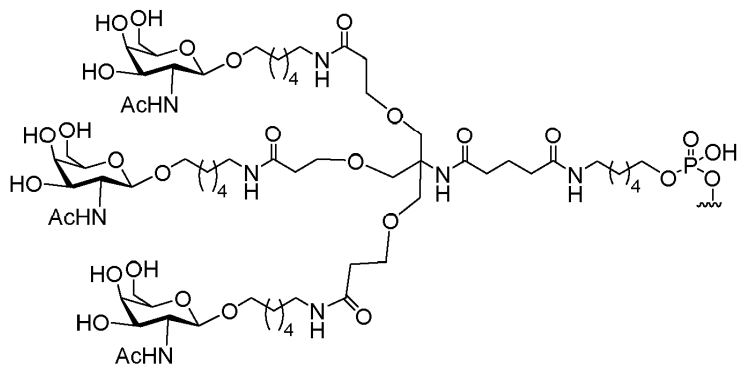
[0876] e는 2'-O-메톡시에틸 변형된 뉴클레오시드이고,

[0877] d는 2'-데옥시뉴클레오시드이며,

[0878] 0는 포스포디에스테르 뉴클레오시드간 연결이고, 그리고

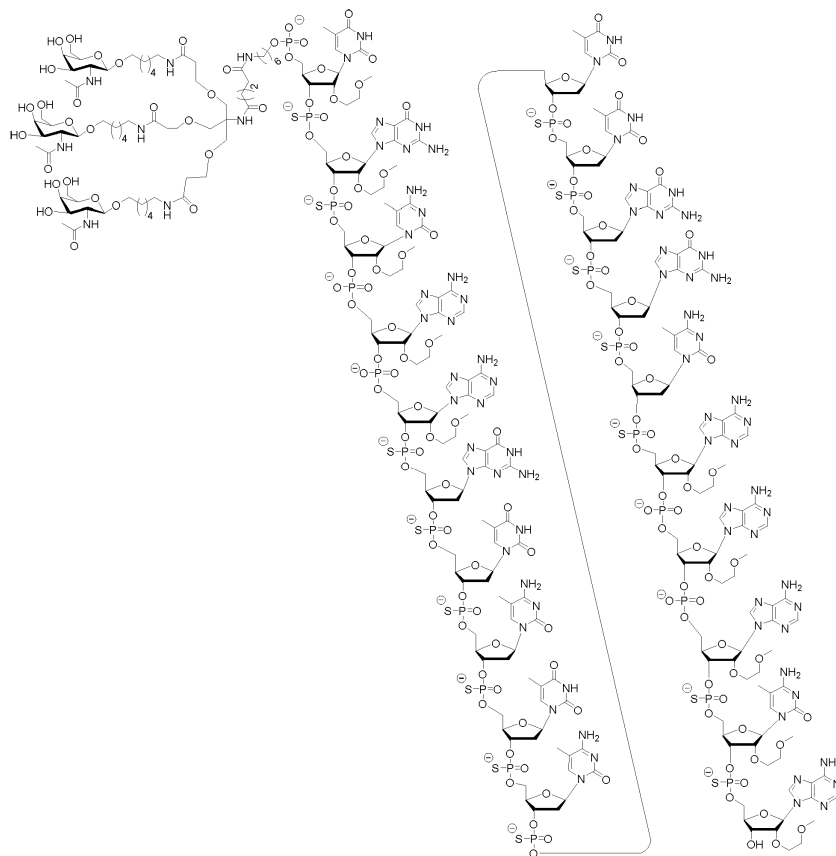
[0879] s는 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결이다.

[0880] GalNAc3-7_{a-o}' =



[0881] AcHN

[0882] 특정 구현예에서, ISIS 721744은 하기 화학 구조로 기재될 수 있다:



[0884] 특정 빈발 영역

[0885] 1. 서열 번호: 10의 핵염기 27427-27466

[0886] 특정 구현예에서, 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 서열 번호: 10의 표적 핵염기 27427-27466을 표적화하도록 설계된다 (핵염기 111693001 내지 111730000로부터 절단된 유전자 은행 수탁 번호 NT_016354.19). 특정 구현예에서, 서열 번호: 10의 핵염기 27427-27466는 빈발 영역이다. 특정 구현예에서, 서열 번호: 10의 핵염기 27427-27466는 안티센스 올리고뉴클레오타이드에 의하여 표적화된다. 특정 구현예에서, 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20개 핵염기 길이이다. 특정 구현예에서, 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 겹머이다. 특정 구현예에서, 겹머는 5-10-5 MOE 겹머, 4-9-4 MOE 겹머, 4-10-4 MOE 겹머, 4-10-3 MOE 겹머, 3-10-4 MOE 겹머, 또는 3-10-3 MOE 겹머이다. 특정 구현예에서, 겹머는 5-10-5 MOE 및 cEt 겹머, 4-9-4 MOE 및 cEt 겹머, 4-10-4 MOE 및 cEt 겹머, 4-10-3 MOE 및 cEt 겹머, 3-10-4 MOE 및 cEt 겹머, 또는 3-10-3 MOE 및 cEt 겹머이다. 특정 구현예에서, 안티센스 올리고뉴클레오타이드의 각각의 뉴클레오시드는 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결에 의하여 연결된다.

[0887] 특정 구현예에서, 서열 번호: 10의 핵염기 27427-27466는 하기 ISIS 번호에 의하여 표적화된다: 530993, 530994, 530995, 546251, 546252, 546253, 546254, 546255, 546256, 547410, 547411, 547978, 547979, 547980, 및 547981.

[0888] 특정 구현예에서, 서열 번호: 10의 핵염기 27427-27466는 하기 서열 번호에 의하여 표적화된다: 94, 95, 96, 566, 567, 568, 569, 570, 571, 572, 573, 1597, 1598, 1599, 및 1600.

[0889] 특정 구현예에서, 서열 번호: 10의 핵염기 27427-27466을 표적화하는 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 적어도 30%, 적어도 31%, 적어도 32%, 적어도 33%, 적어도 34%, 적어도 35%, 적어도 36%, 적어도 37%, 적어도 38%, 적어도 39%, 적어도 40%, 적어도 41%, 적어도 42%, 적어도 43%, 적어도 44%, 적어도 45%, 적어도 46%, 적어도 47%, 적어도 48%, 적어도 49%, 적어도 50%, 적어도 51%, 적어도 52%, 적어도 53%, 적어도 54%, 적어도 55%, 적어도 56%, 적어도 57%, 적어도 58%, 적어도 59%, 적어도 60%, 적어도 61%, 적어도 62%, 적어도 63%, 적어도 64%, 적어도 65%, 적어도 66%, 적어도 67%, 적어도 68%, 적어도 69%, 적어도 70%, 적어도 71%, 적어도 72%, 적어도 73%, 적어도 74%, 적어도 75%, 적어도 76%, 적어도 77%, 적어도 78%, 적어도 79%, 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 시험관 내 및 생체내 PKK 및/또는 단백질 수준의 감소를 달성한다.

[0890] 2. 서열 번호: 10의 핵염기 33183-33242

[0891] 특정 구현예에서, 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 서열 번호: 10의 표적 핵염기 33183-33242를 표적화하도록 설계된다 (핵염기 111693001 내지 111730000로부터 절단된 유전자 은행 수탁 번호 NT_016354.19). 특정 구현예에서, 서열 번호: 10의 핵염기 33183-33242는 빈발 영역이다. 특정 구현예에서, 서열 번호: 10의 핵염기 33183-33242는 안티센스 올리고뉴클레오타이드에 의하여 표적화된다. 특정 구현예에서, 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20개 핵염기 길이이다. 특정 구현예에서, 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 겹머이다. 특정 구현예에서, 겹머는 5-10-5 MOE 겹머, 4-9-4 MOE 겹머, 4-10-4 MOE 겹머, 4-10-3 MOE 겹머, 3-10-4 MOE 겹머, 또는 3-10-3 MOE 겹머이다. 특정 구현예에서, 겹머는 5-10-5 MOE 및 cEt 겹머, 4-9-4 MOE 및 cEt 겹머, 4-10-4 MOE 및 cEt 겹머, 4-10-3 MOE 및 cEt 겹머, 3-10-4 MOE 및 cEt 겹머, 또는 3-10-3 MOE 및 cEt 겹머이다. 특정 구현예에서, 안티센스 올리고뉴클레오타이드의 각각의 뉴클레오시드는 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결에 의하여 연결된다.

[0892] 특정 구현예에서, 서열 번호: 10의 핵염기 33183-33242는 하기 ISIS 번호에 의하여 표적화된다: 531052, 531053, 531054, 531055, 531056, 531057, 531158, 546343, 546345, 547480, 547481, 547482, 및 547483.

[0893] 특정 구현예에서, 서열 번호: 10의 핵염기 33183-33242는 하기 서열 번호에 의하여 표적화된다: 155, 156, 157, 158, 159, 160, 261, 702, 703, 704, 705, 706, 및 707.

[0894] 특정 구현예에서, 서열 번호: 10의 핵염기 33183-33242를 표적화하는 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 적어도 30%, 적어도 31%, 적어도 32%, 적어도 33%, 적어도 34%, 적어도 35%, 적어도 36%, 적어도 37%, 적어도 38%, 적어도 39%, 적어도 40%, 적어도 41%, 적어도 42%, 적어도 43%, 적어도 44%, 적어도 45%, 적어도 46%, 적어도 47%, 적어도 48%, 적어도 49%, 적어도 50%, 적어도 51%, 적어도 52%, 적어도 53%, 적어도 54%, 적어도 55%, 적어도 56%, 적어도 57%, 적어도 58%, 적어도 59%, 적어도 60%, 적어도 61%, 적어도 62%, 적어도 63%, 적어도 64%, 적어도 65%, 적어도 66%, 적어도 67%, 적어도 68%, 적어도 69%, 적어도 70%, 적어도 71%, 적어도 72%, 적

어도 73%, 적어도 74%, 적어도 75%, 적어도 76%, 적어도 77%, 적어도 78%, 적어도 79%, 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 시험관 내 및 생체내 PKK mRNA 및/또는 단백질 수준의 감소를 달성한다.

[0895] 3. 서열 번호: 10의 핵염기 30570-30610

[0896] 특정 구현예에서, 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 서열 번호: 10의 표적 핵염기 30570-30610를 표적화하도록 설계된다 (핵염기 111693001 내지 111730000로부터 절단된 유전자 은행 수탁 번호 NT_016354.19). 특정 구현예에서, 서열 번호: 10의 핵염기 30570-30610는 빈발 영역이다. 특정 구현예에서, 서열 번호: 10의 핵염기 30570-30610는 안티센스 올리고뉴클레오타이드에 의하여 표적화된다. 특정 구현예에서, 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20개 핵염기 길이이다. 특정 구현예에서, 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 겹머이다. 특정 구현예에서, 겹머는 5-10-5 MOE 겹머, 4-9-4 MOE 겹머, 4-10-4 MOE 겹머, 4-10-3 MOE 겹머, 3-10-4 MOE 겹머, 또는 3-10-3 MOE 겹머이다. 특정 구현예에서, 겹머는 5-10-5 MOE 및 cEt 겹머, 4-9-4 MOE 및 cEt 겹머, 4-10-4 MOE 및 cEt 겹머, 4-10-3 MOE 및 cEt 겹머, 3-10-4 MOE 및 cEt 겹머, 또는 3-10-3 MOE 및 cEt 겹머이다. 특정 구현예에서, 안티센스 올리고뉴클레오타이드의 각각의 뉴클레오타이드는 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결에 의하여 연결된다.

[0897] 특정 구현예에서, 서열 번호: 10의 핵염기 30570-30610는 하기 ISIS 번호에 의하여 표적화된다: 531026, 546309, 546310, 546311, 546313, 547453, 547454, 547455, 547456, 547457, 547458, 548046, 548047, 548048, 548049, 및 548050.

[0898] 특정 구현예에서, 서열 번호: 10의 핵염기 30570-30610는 하기 서열 번호에 의하여 표적화된다: 129, 652, 653, 654, 655, 656, 657, 658, 659, 660, 661, 1664, 1665, 1666, 1667, 및 1668.

[0899] 특정 구현예에서, 서열 번호: 10의 핵염기 30570-30610를 표적화하는 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 적어도 30%, 적어도 31%, 적어도 32%, 적어도 33%, 적어도 34%, 적어도 35%, 적어도 36%, 적어도 37%, 적어도 38%, 적어도 39%, 적어도 40%, 적어도 41%, 적어도 42%, 적어도 43%, 적어도 44%, 적어도 45%, 적어도 46%, 적어도 47%, 적어도 48%, 적어도 49%, 적어도 50%, 적어도 51%, 적어도 52%, 적어도 53%, 적어도 54%, 적어도 55%, 적어도 56%, 적어도 57%, 적어도 58%, 적어도 59%, 적어도 60%, 적어도 61%, 적어도 62%, 적어도 63%, 적어도 64%, 적어도 65%, 적어도 66%, 적어도 67%, 적어도 68%, 적어도 69%, 적어도 70%, 적어도 71%, 적어도 72%, 적어도 73%, 적어도 74%, 적어도 75%, 적어도 76%, 적어도 77%, 적어도 78%, 적어도 79%, 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 시험관 내 및 생체내 PKK mRNA 및/또는 단백질 수준의 감소를 달성한다.

[0900] 4. 서열 번호: 10의 핵염기 27427-27520

[0901] 특정 구현예에서, 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 서열 번호: 10의 표적 핵염기 27427-27520를 표적화하도록 설계된다 (핵염기 111693001 내지 111730000로부터 절단된 유전자 은행 수탁 번호 NT_016354.19). 특정 구현예에서, 서열 번호: 10의 핵염기 27427-27520는 빈발 영역이다. 특정 구현예에서, 서열 번호: 10의 핵염기 27427-27520는 안티센스 올리고뉴클레오타이드에 의하여 표적화된다. 특정 구현예에서, 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20개 핵염기 길이이다. 특정 구현예에서, 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 겹머이다. 특정 구현예에서, 겹머는 5-10-5 MOE 겹머, 4-9-4 MOE 겹머, 4-10-4 MOE 겹머, 4-10-3 MOE 겹머, 3-10-4 MOE 겹머, 또는 3-10-3 MOE 겹머이다. 특정 구현예에서, 겹머는 5-10-5 MOE 및 cEt 겹머, 4-9-4 MOE 및 cEt 겹머, 4-10-4 MOE 및 cEt 겹머, 4-10-3 MOE 및 cEt 겹머, 3-10-4 MOE 및 cEt 겹머, 또는 3-10-3 MOE 및 cEt 겹머이다. 특정 구현예에서, 안티센스 올리고뉴클레오타이드의 각각의 뉴클레오타이드는 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결에 의하여 연결된다.

[0902] 특정 구현예에서, 서열 번호: 10의 핵염기 27427-27520는 하기 ISIS 번호에 의하여 표적화된다: 530993-530999, 546251-546256, 546258-546260, 546263, 546265-546268, 547410-547417, 및 547978-547992.

[0903] 특정 구현예에서, 서열 번호: 10의 핵염기 27427-27520는 하기 서열 번호에 의하여 표적화된다: 94-100, 566-587, 및 1597-1611.

[0904] 특정 구현예에서, 서열 번호: 10의 핵염기 27427-27520를 표적화하는 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 적어도 30%, 적어도 31%, 적어도 32%, 적어도 33%, 적어도 34%, 적어도 35%, 적어도 36%, 적어도 37%, 적어도 38%, 적

어도 39%, 적어도 40%, 적어도 41%, 적어도 42%, 적어도 43%, 적어도 44%, 적어도 45%, 적어도 46%, 적어도 47%, 적어도 48%, 적어도 49%, 적어도 50%, 적어도 51%, 적어도 52%, 적어도 53%, 적어도 54%, 적어도 55%, 적어도 56%, 적어도 57%, 적어도 58%, 적어도 59%, 적어도 60%, 적어도 61%, 적어도 62%, 적어도 63%, 적어도 64%, 적어도 65%, 적어도 66%, 적어도 67%, 적어도 68%, 적어도 69%, 적어도 70%, 적어도 71%, 적어도 72%, 적어도 73%, 적어도 74%, 적어도 75%, 적어도 76%, 적어도 77%, 적어도 78%, 적어도 79%, 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 시험관 내 및 생체내 PKK 및/또는 단백질 수준의 감소를 달성한다.

[0905] 5. 서열 번호: 10의 핵염기 33085-33247

[0906] 특정 구현예에서, 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 서열 번호: 10의 표적 핵염기 33085-33247를 표적화하도록 설계된다 (핵염기 111693001 내지 111730000로부터 절단된 유전자 은행 수탁 번호 NT_016354.19). 특정 구현예에서, 서열 번호: 10의 핵염기 33085-33247는 빈발 영역이다. 특정 구현예에서, 서열 번호: 10의 핵염기 33085-33247는 안티센스 올리고뉴클레오타이드에 의하여 표적화된다. 특정 구현예에서, 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20개 핵염기 길이이다. 특정 구현예에서, 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 겹머이다. 특정 구현예에서, 겹머는 5-10-5 MOE 겹머, 4-9-4 MOE 겹머, 4-10-4 MOE 겹머, 4-10-3 MOE 겹머, 3-10-4 MOE 겹머, 또는 3-10-3 MOE 겹머이다. 특정 구현예에서, 겹머는 5-10-5 MOE 및 cEt 겹머, 4-9-4 MOE 및 cEt 겹머, 4-10-4 MOE 및 cEt 겹머, 4-10-3 MOE 및 cEt 겹머, 3-10-4 MOE 및 cEt 겹머, 또는 3-10-3 MOE 및 cEt 겹머이다. 특정 구현예에서, 안티센스 올리고뉴클레오타이드의 각각의 뉴클레오타이드는 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결에 의하여 연결된다.

[0907] 특정 구현예에서, 서열 번호: 10의 핵염기 33085-33247는 하기 ISIS 번호에 의하여 표적화된다: 531041-531158, 546336, 546339, 546340, 546343, 546345, 547474-547483, 547778, 548077-548082, 및 548677-548678.

[0908] 특정 구현예에서, 서열 번호: 10의 핵염기 33085-33247는 하기 서열 번호에 의하여 표적화된다: 144-160, 261, 693-707, 1256, 1320-1325, 2214, 및 2215.

[0909] 특정 구현예에서, 특정 구현예에서, 서열 번호: 10의 핵염기 33085-33247를 표적화하는 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 적어도 30%, 적어도 31%, 적어도 32%, 적어도 33%, 적어도 34%, 적어도 35%, 적어도 36%, 적어도 37%, 적어도 38%, 적어도 39%, 적어도 40%, 적어도 41%, 적어도 42%, 적어도 43%, 적어도 44%, 적어도 45%, 적어도 46%, 적어도 47%, 적어도 48%, 적어도 49%, 적어도 50%, 적어도 51%, 적어도 52%, 적어도 53%, 적어도 54%, 적어도 55%, 적어도 56%, 적어도 57%, 적어도 58%, 적어도 59%, 적어도 60%, 적어도 61%, 적어도 62%, 적어도 63%, 적어도 64%, 적어도 65%, 적어도 66%, 적어도 67%, 적어도 68%, 적어도 69%, 적어도 70%, 적어도 71%, 적어도 72%, 적어도 73%, 적어도 74%, 적어도 75%, 적어도 76%, 적어도 77%, 적어도 78%, 적어도 79%, 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 시험관 내 및 생체내 PKK 및/또는 단백질 수준의 감소를 달성한다.

[0910] 6. 서열 번호: 10의 핵염기 30475-30639

[0911] 특정 구현예에서, 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 서열 번호: 10의 표적 핵염기 30475-30639를 표적화하도록 설계된다 (핵염기 111693001 내지 111730000로부터 절단된 유전자 은행 수탁 번호 NT_016354.19). 특정 구현예에서, 서열 번호: 10의 핵염기 30475-30639는 빈발 영역이다. 특정 구현예에서, 서열 번호: 10의 핵염기 30475-30639는 안티센스 올리고뉴클레오타이드에 의하여 표적화된다. 특정 구현예에서, 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20개 핵염기 길이이다. 특정 구현예에서, 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 겹머이다. 특정 구현예에서, 겹머는 5-10-5 MOE 겹머, 4-9-4 MOE 겹머, 4-10-4 MOE 겹머, 4-10-3 MOE 겹머, 3-10-4 MOE 겹머, 또는 3-10-3 MOE 겹머이다. 특정 구현예에서, 겹머는 5-10-5 MOE 및 cEt 겹머, 4-9-4 MOE 및 cEt 겹머, 4-10-4 MOE 및 cEt 겹머, 4-10-3 MOE 및 cEt 겹머, 3-10-4 MOE 및 cEt 겹머, 또는 3-10-3 MOE 및 cEt 겹머이다. 특정 구현예에서, 안티센스 올리고뉴클레오타이드의 각각의 뉴클레오타이드는 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결에 의하여 연결된다.

[0912] 특정 구현예에서, 서열 번호: 10의 핵염기 30475-30639는 하기 ISIS 번호에 의하여 표적화된다: 531021-531029, 531146, 546297, 546299-546304, 546306-546311, 546313, 546316-546319, 547444-547462, 548031,

548032, 및 548034-548056.

- [0913] 특정 구현예에서, 서열 번호: 10의 핵염기 30475-30639는 하기 서열 번호에 의하여 표적화된다: 124-132, 249, 633-669, 및 1650-1674.
- [0914] 특정 구현예에서, 서열 번호: 10의 핵염기 30475-30639를 표적화하는 안티센스 올리고뉴클레오타드는 적어도 30%, 적어도 31%, 적어도 32%, 적어도 33%, 적어도 34%, 적어도 35%, 적어도 36%, 적어도 37%, 적어도 38%, 적어도 39%, 적어도 40%, 적어도 41%, 적어도 42%, 적어도 43%, 적어도 44%, 적어도 45%, 적어도 46%, 적어도 47%, 적어도 48%, 적어도 49%, 적어도 50%, 적어도 51%, 적어도 52%, 적어도 53%, 적어도 54%, 적어도 55%, 적어도 56%, 적어도 57%, 적어도 58%, 적어도 59%, 적어도 60%, 적어도 61%, 적어도 62%, 적어도 63%, 적어도 64%, 적어도 65%, 적어도 66%, 적어도 67%, 적어도 68%, 적어도 69%, 적어도 70%, 적어도 71%, 적어도 72%, 적어도 73%, 적어도 74%, 적어도 75%, 적어도 76%, 적어도 77%, 적어도 78%, 적어도 79%, 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 시험관 내 및 생체내 PKK 및/또는 단백질 수준의 감소를 달성한다.
- [0915] 7. 서열 번호: 10의 핵염기 27362-27524
- [0916] 특정 구현예에서, 안티센스 올리고뉴클레오타드는 서열 번호: 10의 표적 핵염기 27362-27524를 표적화하도록 설계된다 (핵염기 111693001 내지 111730000로부터 절단된 유전자 은행 수탁 번호 NT_016354.19). 특정 구현예에서, 핵염기 27362-27524는 (핵염기 111693001 내지 111730000로부터 절단된 유전자 은행 수탁 번호 NT_016354.19) PKK의 엑손 9에 상응한다. 특정 구현예에서, 서열 번호: 10의 핵염기 27362-27524는 빈발 영역이다. 특정 구현예에서, 서열 번호: 10의 핵염기 27362-27524는 안티센스 올리고뉴클레오타드에 의하여 표적화된다. 특정 구현예에서, 안티센스 올리고뉴클레오타드는 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20개 핵염기 길이이다. 특정 구현예에서, 안티센스 올리고뉴클레오타드는 겹머이다. 특정 구현예에서, 겹머는 5-10-5 MOE 겹머, 4-9-4 MOE 겹머, 4-10-4 MOE 겹머, 4-10-3 MOE 겹머, 3-10-4 MOE 겹머, 또는 3-10-3 MOE 겹머이다. 특정 구현예에서, 겹머는 5-10-5 MOE 및 cEt 겹머, 4-9-4 MOE 및 cEt 겹머, 4-10-4 MOE 및 cEt 겹머, 4-10-3 MOE 및 cEt 겹머, 3-10-4 MOE 및 cEt 겹머, 또는 3-10-3 MOE 및 cEt 겹머이다. 특정 구현예에서, 안티센스 올리고뉴클레오타드의 각각의 뉴클레오타드는 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결에 의하여 연결된다.
- [0917] 특정 구현예에서, 서열 번호: 10의 핵염기 27361-27524는 하기 ISIS 번호에 의하여 표적화된다: 530985-530999, 546244, 546247-546256, 546258-546260, 546263, 546265-546268, 547403-547417, 547723, 547968-547970, 및 547972-547992.
- [0918] 특정 구현예에서, 서열 번호: 10의 핵염기 27361-27524는 하기 서열 번호에 의하여 표적화된다: 86-100, 554-587, 1217, 및 1588-1611.
- [0919] 특정 구현예에서, 서열 번호: 10의 핵염기 27362-27524를 표적화하는 안티센스 올리고뉴클레오타드는 적어도 30%, 적어도 31%, 적어도 32%, 적어도 33%, 적어도 34%, 적어도 35%, 적어도 36%, 적어도 37%, 적어도 38%, 적어도 39%, 적어도 40%, 적어도 41%, 적어도 42%, 적어도 43%, 적어도 44%, 적어도 45%, 적어도 46%, 적어도 47%, 적어도 48%, 적어도 49%, 적어도 50%, 적어도 51%, 적어도 52%, 적어도 53%, 적어도 54%, 적어도 55%, 적어도 56%, 적어도 57%, 적어도 58%, 적어도 59%, 적어도 60%, 적어도 61%, 적어도 62%, 적어도 63%, 적어도 64%, 적어도 65%, 적어도 66%, 적어도 67%, 적어도 68%, 적어도 69%, 적어도 70%, 적어도 71%, 적어도 72%, 적어도 73%, 적어도 74%, 적어도 75%, 적어도 76%, 적어도 77%, 적어도 78%, 적어도 79%, 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 시험관 내 및 생체내 PKK 및/또는 단백질 수준의 감소를 달성한다.
- [0920] 8. 서열 번호: 10의 핵염기 33101-33240
- [0921] 특정 구현예에서, 안티센스 올리고뉴클레오타드는 서열 번호: 10의 표적 핵염기 33101-33240를 표적화하도록 설계된다 (핵염기 111693001 내지 111730000로부터 절단된 유전자 은행 수탁 번호 NT_016354.19). 특정 구현예에서, 핵염기 33101-33240는 (핵염기 111693001 내지 111730000로부터 절단된 유전자 은행 수탁 번호 NT_016354.19) PKK의 엑손 14에 상응한다. 특정 구현예에서, 서열 번호: 10의 핵염기 33101-33240는 빈발 영역이다. 특정 구현예에서, 서열 번호: 10의 핵염기 33101-33240는 안티센스 올리고뉴클레오타드에 의하여 표적화된다. 특정 구현예에서, 안티센스 올리고뉴클레오타드는 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20개 핵염기 길이이다. 특정

구현예에서, 안티센스 올리고뉴클레오티드는 겹머이다. 특정 구현예에서, 겹머는 5-10-5 MOE 겹머, 4-9-4 MOE 겹머, 4-10-4 MOE 겹머, 4-10-3 MOE 겹머, 3-10-4 MOE 겹머, 또는 3-10-3 MOE 겹머이다. 특정 구현예에서, 겹머는 5-10-5 MOE 및 cEt 겹머, 4-9-4 MOE 및 cEt 겹머, 4-10-4 MOE 및 cEt 겹머, 4-10-3 MOE 및 cEt 겹머, 3-10-4 MOE 및 cEt 겹머, 또는 3-10-3 MOE 및 cEt 겹머이다. 특정 구현예에서, 안티센스 올리고뉴클레오티드의 각각의 뉴클레오타이드는 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결에 의하여 연결된다.

[0922] 특정 구현예에서, 서열 번호: 10의 핵염기 33101-33240는 하기 ISIS 번호에 의하여 표적화된다: 531041-531158, 546336, 546339, 546340, 546343, 546345, 547474-547483, 548077-548082, 및 548678-548678.

[0923] 특정 구현예에서, 서열 번호: 10의 핵염기 33101-33240는 하기 서열 번호에 의하여 표적화된다: 144-160, 261, 693-707, 1320-1325, 및 2215.

[0924] 특정 구현예에서, 서열 번호: 10의 핵염기 33101-33240를 표적화하는 안티센스 올리고뉴클레오티드는 적어도 30%, 적어도 31%, 적어도 32%, 적어도 33%, 적어도 34%, 적어도 35%, 적어도 36%, 적어도 37%, 적어도 38%, 적어도 39%, 적어도 40%, 적어도 41%, 적어도 42%, 적어도 43%, 적어도 44%, 적어도 45%, 적어도 46%, 적어도 47%, 적어도 48%, 적어도 49%, 적어도 50%, 적어도 51%, 적어도 52%, 적어도 53%, 적어도 54%, 적어도 55%, 적어도 56%, 적어도 57%, 적어도 58%, 적어도 59%, 적어도 60%, 적어도 61%, 적어도 62%, 적어도 63%, 적어도 64%, 적어도 65%, 적어도 66%, 적어도 67%, 적어도 68%, 적어도 69%, 적어도 70%, 적어도 71%, 적어도 72%, 적어도 73%, 적어도 74%, 적어도 75%, 적어도 76%, 적어도 77%, 적어도 78%, 적어도 79%, 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 시험관 내 및 생체내 PKK 및/또는 단백질 수준의 감소를 달성한다.

[0925] 9. 서열 번호: 10의 핵염기 30463-30638

[0926] 특정 구현예에서, 안티센스 올리고뉴클레오티드는 서열 번호: 10의 표적 핵염기 30463-30638를 표적화하도록 설계된다 (핵염기 111693001 내지 111730000로부터 절단된 유전자 은행 수탁 번호 NT_016354.19). 특정 구현예에서, 핵염기 30463-30638는 (핵염기 111693001 내지 111730000로부터 절단된 유전자 은행 수탁 번호 NT_016354.19) PKK의 엑손 12에 상응한다. 특정 구현예에서, 서열 번호: 10의 핵염기 30463-30638는 빈발 영역이다. 특정 구현예에서, 서열 번호: 10의 핵염기 30463-30638는 안티센스 올리고뉴클레오티드에 의하여 표적화된다. 특정 구현예에서, 안티센스 올리고뉴클레오티드는 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20개 핵염기 길이이다. 특정 구현예에서, 안티센스 올리고뉴클레오티드는 겹머이다. 특정 구현예에서, 겹머는 5-10-5 MOE 겹머, 4-9-4 MOE 겹머, 4-10-4 MOE 겹머, 4-10-3 MOE 겹머, 3-10-4 MOE 겹머, 또는 3-10-3 MOE 겹머이다. 특정 구현예에서, 겹머는 5-10-5 MOE 및 cEt 겹머, 4-9-4 MOE 및 cEt 겹머, 4-10-4 MOE 및 cEt 겹머, 4-10-3 MOE 및 cEt 겹머, 3-10-4 MOE 및 cEt 겹머, 또는 3-10-3 MOE 및 cEt 겹머이다. 특정 구현예에서, 안티센스 올리고뉴클레오티드의 각각의 뉴클레오타이드는 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결에 의하여 연결된다.

[0927] 특정 구현예에서, 서열 번호: 10의 핵염기 30463-30638는 하기 ISIS 번호에 의하여 표적화된다: 531021-531029, 531146, 546297, 546299-546304, 546306-546311, 546313, 546316-546319, 547444-547462, 548031, 548032, 및 548034-548056.

[0928] 특정 구현예에서, 서열 번호: 10의 핵염기 30463-30638는 하기 서열 번호에 의하여 표적화된다: 124-132, 249, 633-669, 및 1650-1674.

[0929] 특정 구현예에서, 서열 번호: 10의 핵염기 30463-30638를 표적화하는 안티센스 올리고뉴클레오티드는 적어도 30%, 적어도 31%, 적어도 32%, 적어도 33%, 적어도 34%, 적어도 35%, 적어도 36%, 적어도 37%, 적어도 38%, 적어도 39%, 적어도 40%, 적어도 41%, 적어도 42%, 적어도 43%, 적어도 44%, 적어도 45%, 적어도 46%, 적어도 47%, 적어도 48%, 적어도 49%, 적어도 50%, 적어도 51%, 적어도 52%, 적어도 53%, 적어도 54%, 적어도 55%, 적어도 56%, 적어도 57%, 적어도 58%, 적어도 59%, 적어도 60%, 적어도 61%, 적어도 62%, 적어도 63%, 적어도 64%, 적어도 65%, 적어도 66%, 적어도 67%, 적어도 68%, 적어도 69%, 적어도 70%, 적어도 71%, 적어도 72%, 적어도 73%, 적어도 74%, 적어도 75%, 적어도 76%, 적어도 77%, 적어도 78%, 적어도 79%, 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 시험관 내 및 생체내 PKK 및/또는 단백질 수준의 감소를 달성한다.

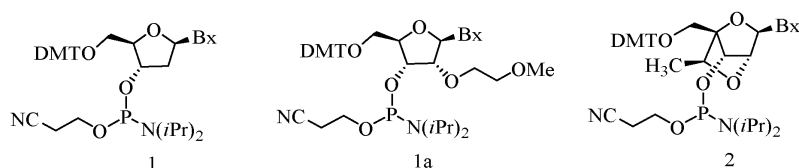
[0930] 실시예

[0931] 비-제한된 개시내용 및 참고에 의한 혼입

[0932] 본원에서 기재된 특정 화합물, 조성물 및 방법이 특정 구현예에 따라 구체적으로 기재되었지만, 하기 실시예는 본원에서 기재된 화합물을 단지 설명하기 위해 쓰이고 그것을 제한하는 것으로 의도되지 않는다. 본원에 인용된 참고 문헌 각각은, 이의 전문이 참고로 본원에 혼입되어 있다.

[0933] 하기 실시예는 본 개시내용의 특정 구현예를 설명하고 제한하지는 않는다. 게다가, 특정 구현예가 제공되는 경우, 본 발명자들 특정 구현예의 포괄적인 적용을 고려했다. 예를 들면, 특정한 모티프를 갖는 올리고뉴클레오타이드의 개시내용은 동일한 또는 유사한 모티프를 갖는 추가의 올리고뉴클레오타이드에 대한 합리적인 지지를 제공한다. 그리고, 예를 들면, 특정한 고-친화성 변형이 특정한 위치에서 나타나는 경우, 동일한 위치에서의 다른 고-친화성 변형은, 달리 지적되지 않으면 적당한 것으로 고려된다.

[0934] 실시예 1: 포스포아미다이트, 화합물 1, 1a, 및 2의 제조를 위한 일반 방법

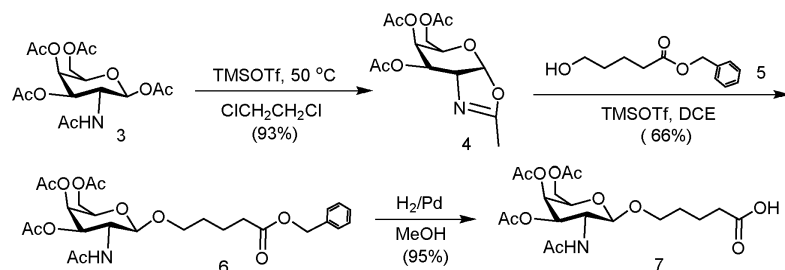


[0935]

[0936] Bx는 헤테로환 염기이다;

[0937] 화합물 1, 1a, 및 2를 본 명세서에 기술된 바와 같이 본 분야에서 잘 알려진 절차에 따라 제조하였다 (참고: Seth et al., Bioorg. Med. Chem., 2011, 21(4), 1122-1125, J. Org. Chem., 2010, 75(5), 1569-1581, Nucleic Acids Symposium Series, 2008, 52(1), 553-554); 및 또한 참고: 공보된 PCT 국제 출원 (WO 2011/115818, WO 2010/077578, WO2010/036698, WO2009/143369, WO 2009/006478, 및 WO 2007/090071), 및 미국 특허 7,569,686).

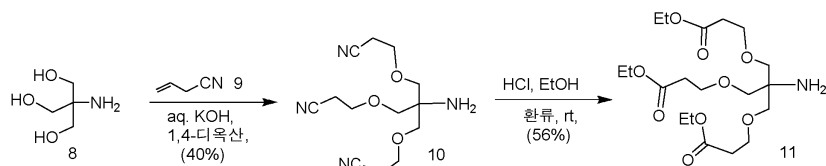
[0938] 실시예 2: 화합물 7의 제조



[0939]

[0940] 화합물 3 (2-아세트아미도-1,3,4,6-테트라-O-아세틸-2-데옥시-β-D-갈락토피라노스 또는 갈락토사민 펜타아세테이트)는 시판되고 있다. 화합물 5는 공개된 절차에 따라 제조되었다 (Weber et al., J. Med. Chem., 1991, 34, 2692).

[0941] 실시예 3: 화합물 11의 제조

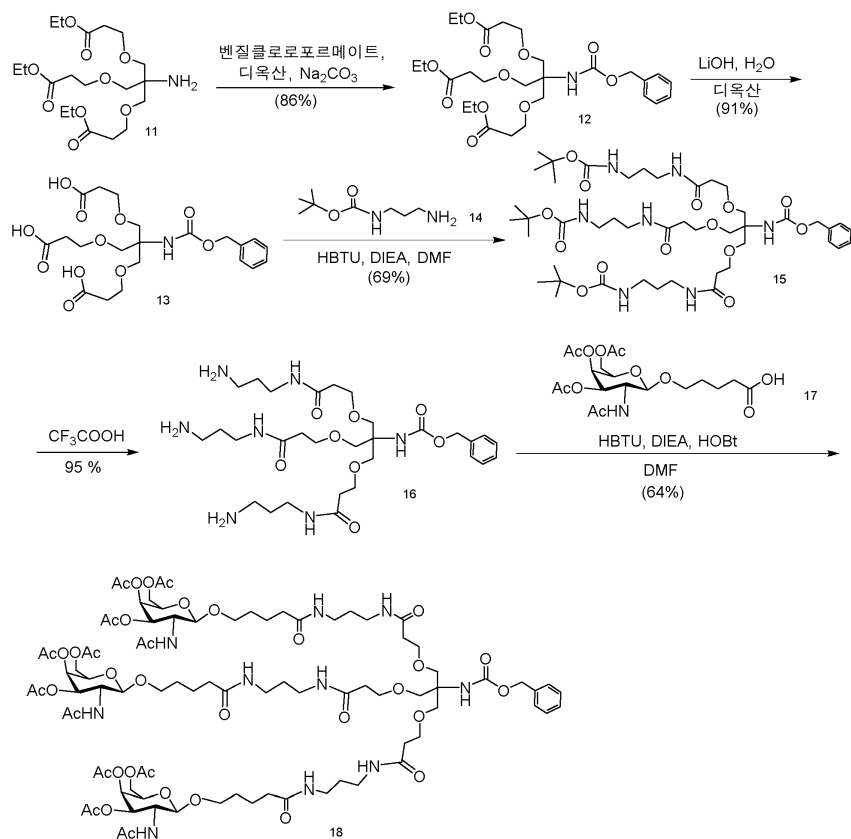


[0942]

[0943] 화합물 8 및 9는 시판되고 있다.

[0944]

실시예 4: 화합물 18의 제조



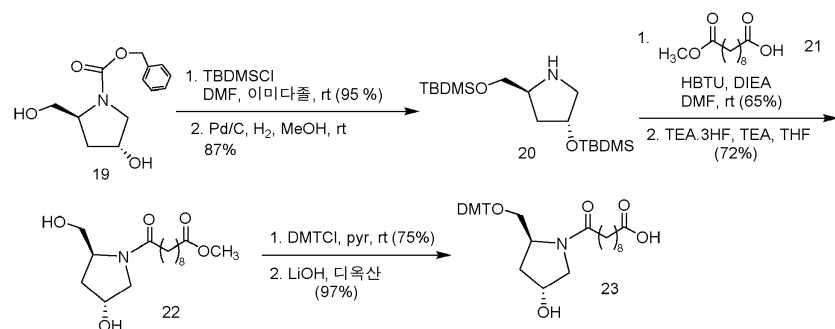
[0945]

[0946]

화합물 11은 실시예 3에서 실증된 절차에 따라 제조되었다. 화합물 14는 시판되고 있다. 화합물 17은 하기에 의해 보고된 유사한 절차를 사용하여 제조되었다: Rensen *et al.*, *J. Med. Chem.*, 2004, 47, 5798-5808.

[0947]

실시예 5: 화합물 23의 제조

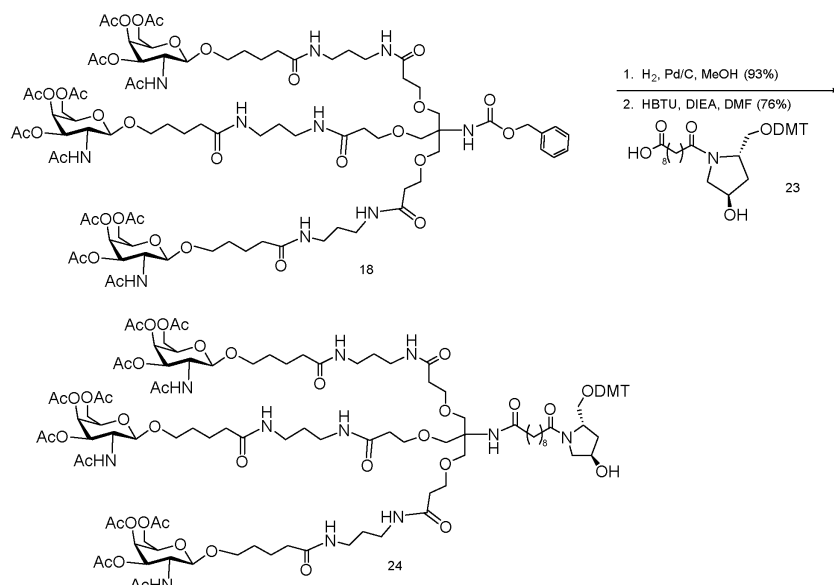


[0948]

[0949]

화합물 19 및 21는 시판되고 있다.

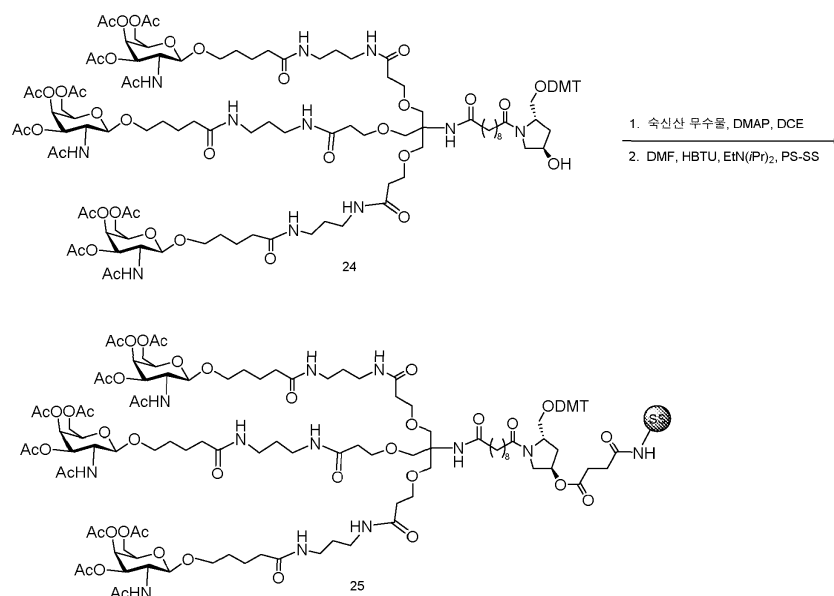
[0950] 실시예 6: 화합물 24의 제조



[0951]

[0952] 화합물 18 및 23는 실시예 4 및 5에서 실증된 절차에 따라 제조되었다.

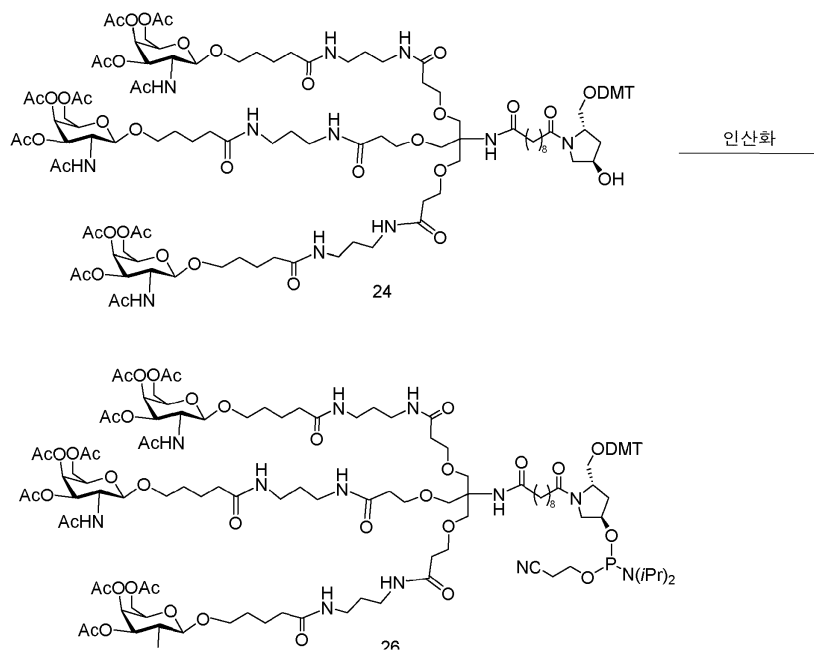
[0953] 실시예 7: 화합물 25의 제조



[0954]

[0955] 화합물 24는 실시예 6에서 실증된 절차에 따라 제조되었다.

[0956] 실시예 8: 화합물 26의 제조

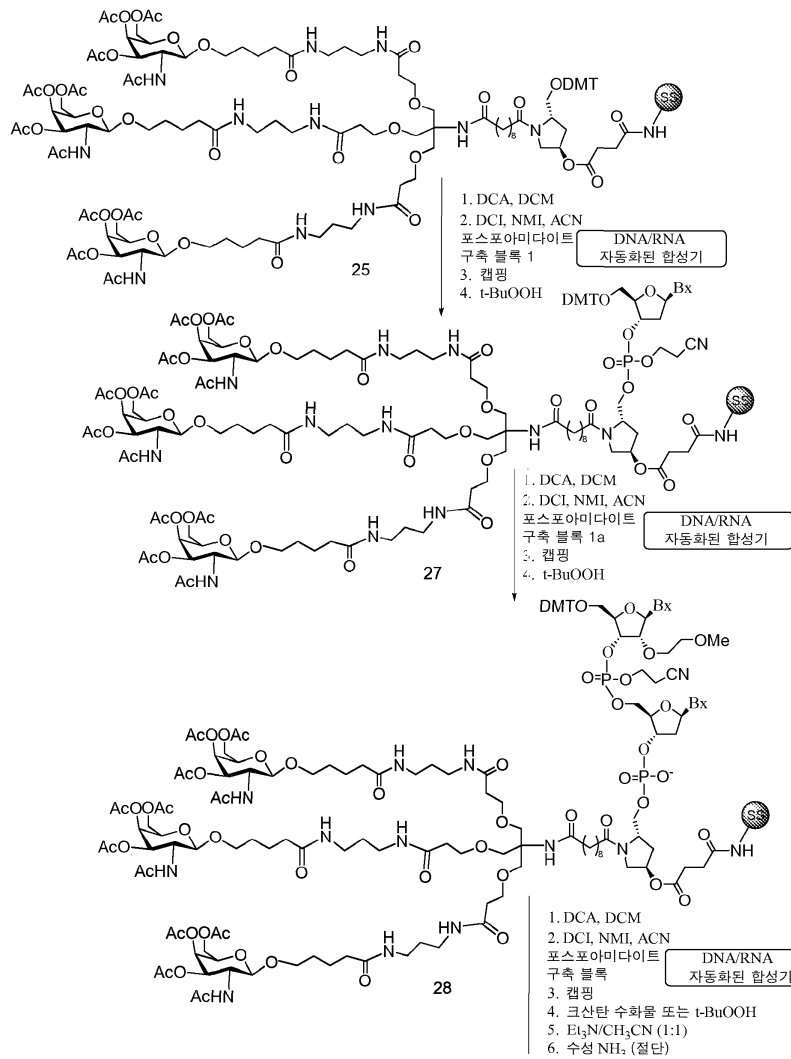


[0957]

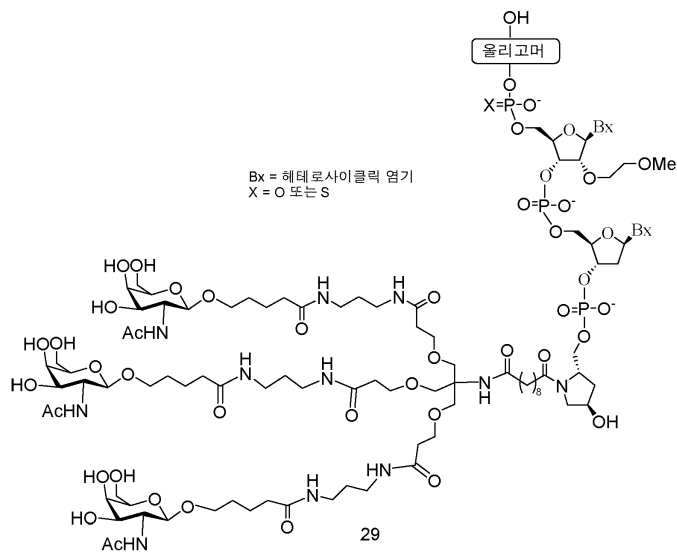
[0958] 화합물 24은 실시예 6에서 실증된 절차에 따라 제조된다.

[0959]

실시예 9: GalNAc3-1를 3' 말단에서 포함하는 콘주게이트된 ASO의 일반적인 제조, 화합물 29

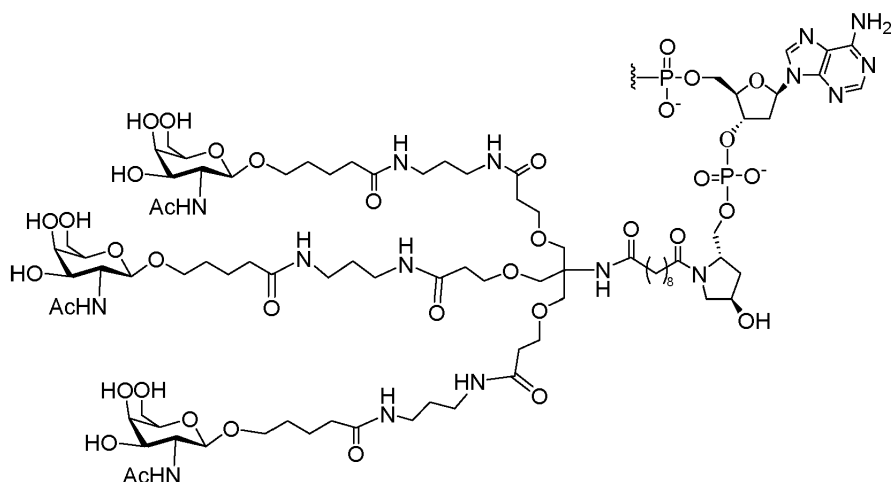


[0960]



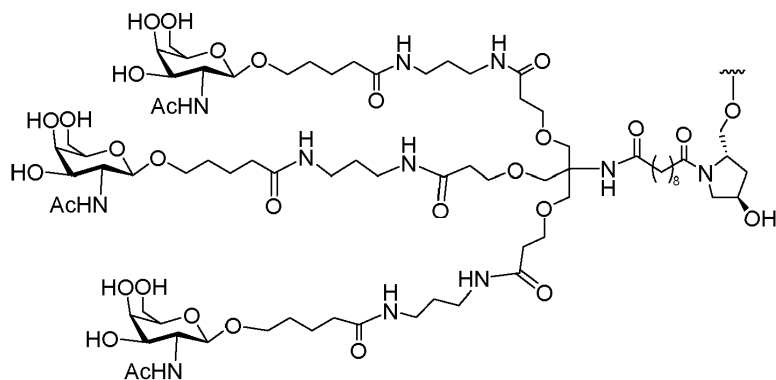
[0961]

[0962] 상기 보호된 $\text{GalNAc}_3\text{-1}$ 는 하기 구조를 갖는다:



[0963]

[0964] 콘주게이트 그룹 $\text{GalNAc}_3\text{-1}$ 의 GalNAc_3 클러스터 부분 ($\text{GalNAc}_3\text{-1}_a$)은 임의의 절단가능 모이어티와 조합되어 다양한 콘주게이트 그룹을 제공할 수 있다. 여기서 $\text{GalNAc}_3\text{-1}_a$ 는 하기 화학식을 갖는다:

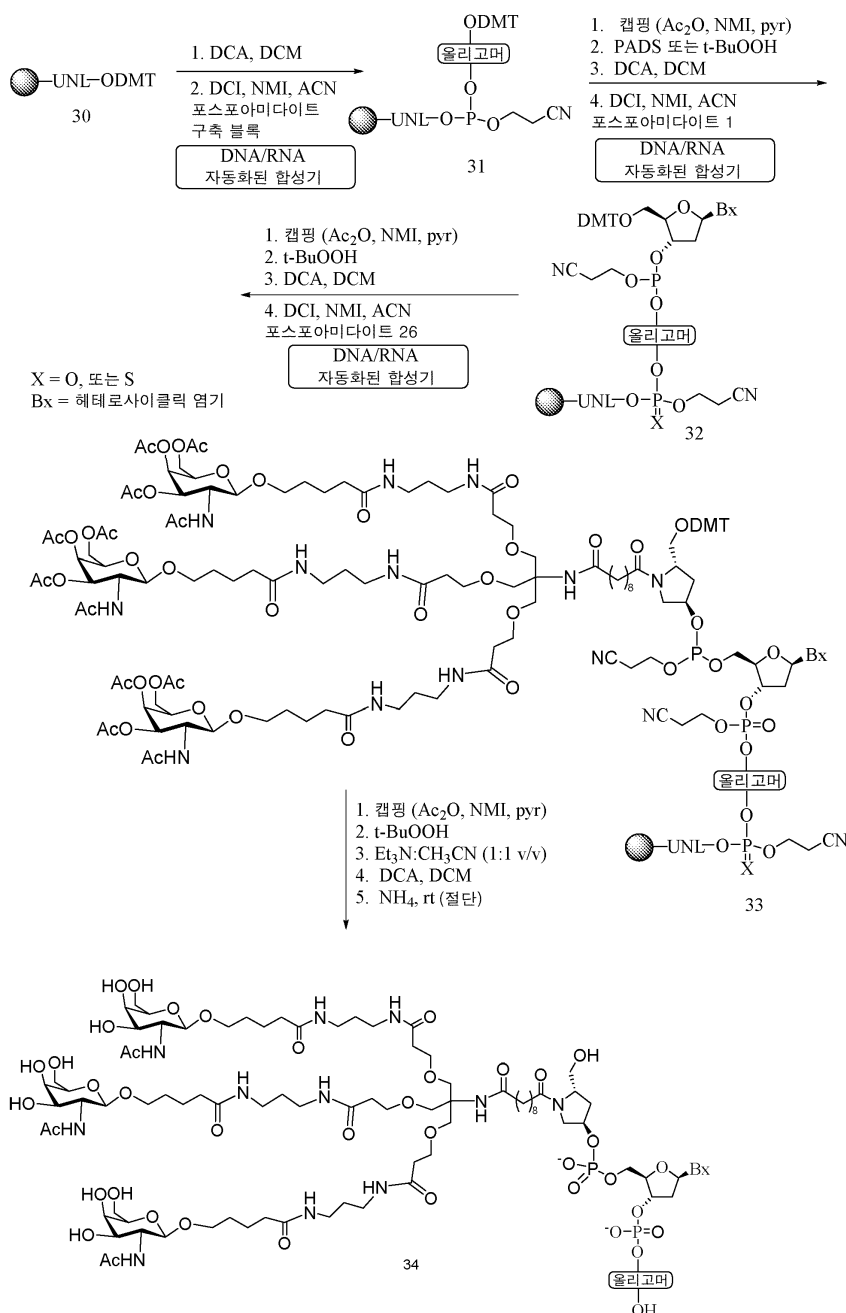


[0965]

[0966] 고품 지지체 결합된 보호된 $\text{GalNAc}_3\text{-1}$, 화합물 25는 실시예 7에서 실증된 절차에 따라 제조되었다. $\text{GalNAc}_3\text{-1}$ 을 3' 말단에서 포함하는 올리고머 화합물 29는 자동화된 DNA/RNA 합성에서 표준 절차를 사용하여 제조되었다 (참고: Dupouy *et al.*, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2006, 45, 3623-3627). 포스포르아미다이트 빌딩 블록, 화합물 1 및 1a는 실시예 1에서 실증된 절차에 따라 제조되었다. 실증된 포스포르아미다이트는 대표적인, 다른 포스포르아미다이트 빌딩 블록이 사용되어 소정의 순서 및 조성을 갖는 올리고 화합물을 제조할 수 있는 것처럼 한정으로서 의도되지 않는다는 것을 의미한다. 고품 지지체에 부가된 포스포르아미다이트의 순서 및 양은 조정되어 본원에서 기재된 겹쳐진 올리고머 화합물을 제조할 수 있다. 그와 같은 겹쳐진 올리고머 화합물은 임의의 주어진 표적에 의해 지시되는 바와 같이 소정의 조성물 및 염기 서열을 가질 수 있다.

[0967]

실시예 10: GalNAc₃-1를 5' 말단에서 포함하는 콘주게이트된 ASO의 일반적인 제조, 화합물 34



[0968]

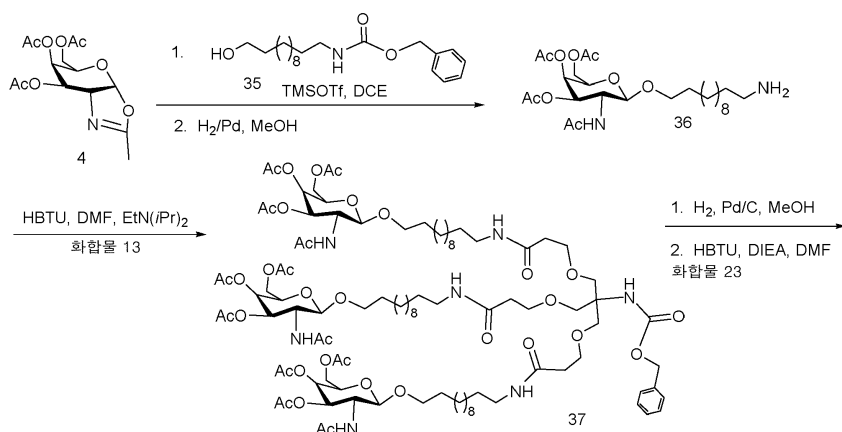
[0969]

[0970]

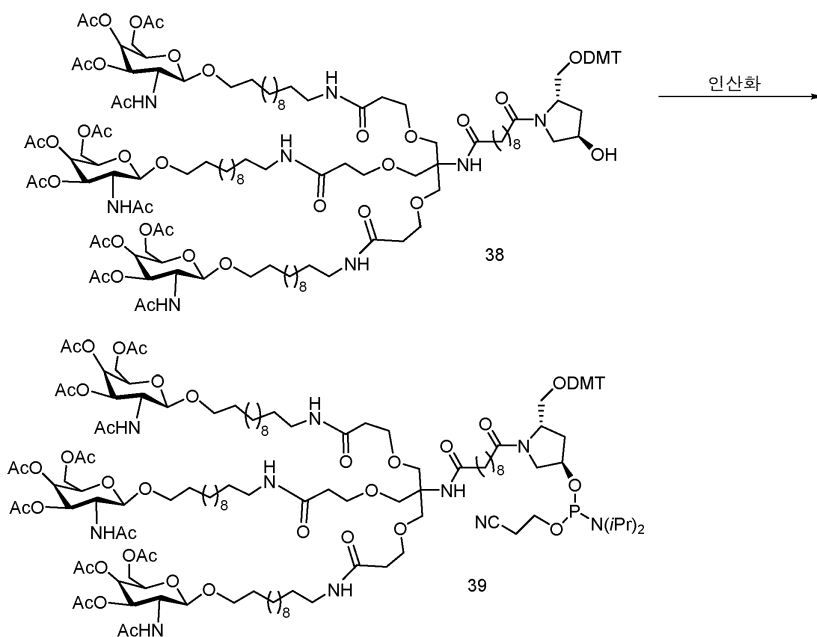
UnylinkerTM 30는 시판되고 있다. GalNAc₃-1을 5' 말단에서 포함하는 올리고머 화합물 34는 자동화된 DNA/RNA 합성에서 표준 절차를 사용하여 제조되었다 (참고: Dupouy *et al.*, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2006, 45, 3623-3627). 포스포아미다이트 빌딩 블록, 화합물 1 및 1a는 실시예 1에서 실증된 절차에 따라 제조되었다. 실증된 포스포아미다이트는 대표적이고, 다른 포스포아미다이트 빌딩 블록이 사용되어 소정의 순서 및 조성을 갖는 올리고 화합물을 제조할 수 있는 것처럼 한정으로서 의도되지 않는다는 것을 의미한다. 고정 지지체에 부가된 포스포아미다이트의 순서 및 양은 조정되어 본원에서 기재된 캡핑된 올리고머 화합물을 제조할 수 있다. 그와 같은 캡핑된 올리고머 화합물은 임의의 주어진 표적에 의해 지시되는 바와 같이 소정의 조성물 및 염기 서열을 가질 수 있다.

[0971]

실시예 11: 화합물 39의 제조



[0972]

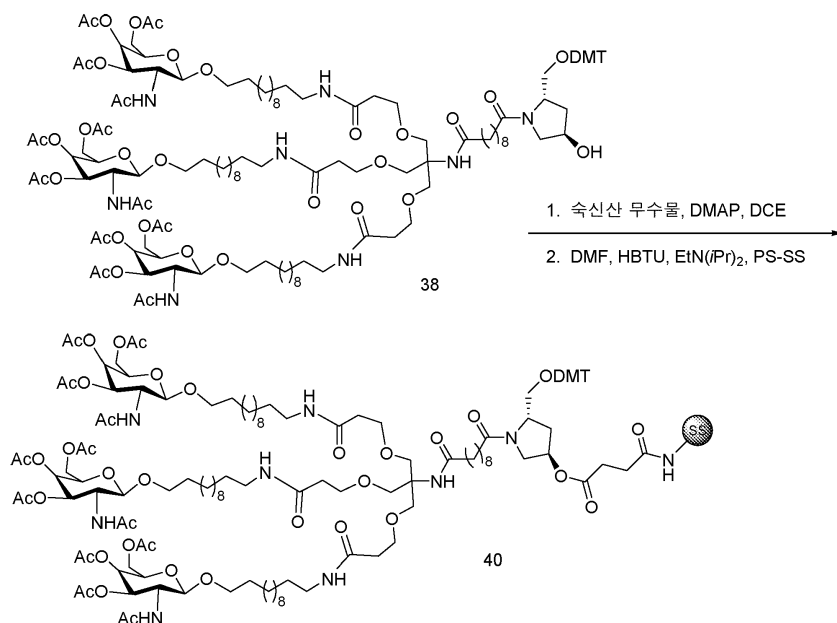


[0973]

[0974]

화합물 4, 13 및 23는 실시예 2, 4, 및 5에서 실증된 절차에 따라 제조되었다. 화합물 35는 하기에서 공지된 유사한 절차를 사용하여 제조된다: Rouchaud *et al.*, *Eur. J. Org. Chem.*, 2011, 12, 2346-2353.

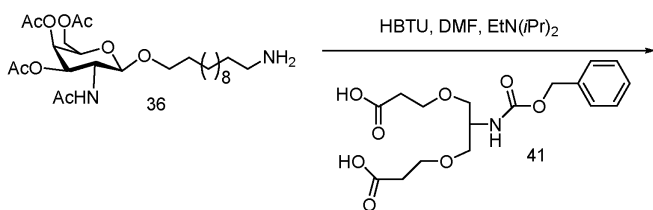
[0975] 실시예 12: 화합물 40의 제조



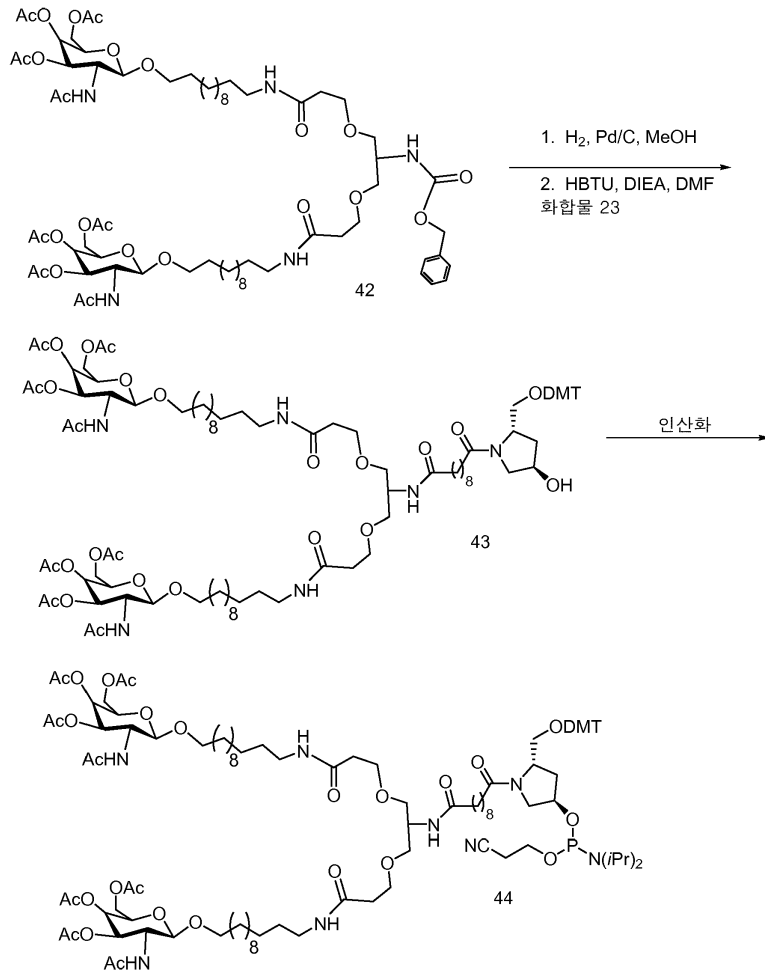
[0976]

[0977] 화합물 38은 실시예 11에서 실증된 절차에 따라 제조된다.

[0978] 실시예 13: 화합물 44의 제조



[0979]



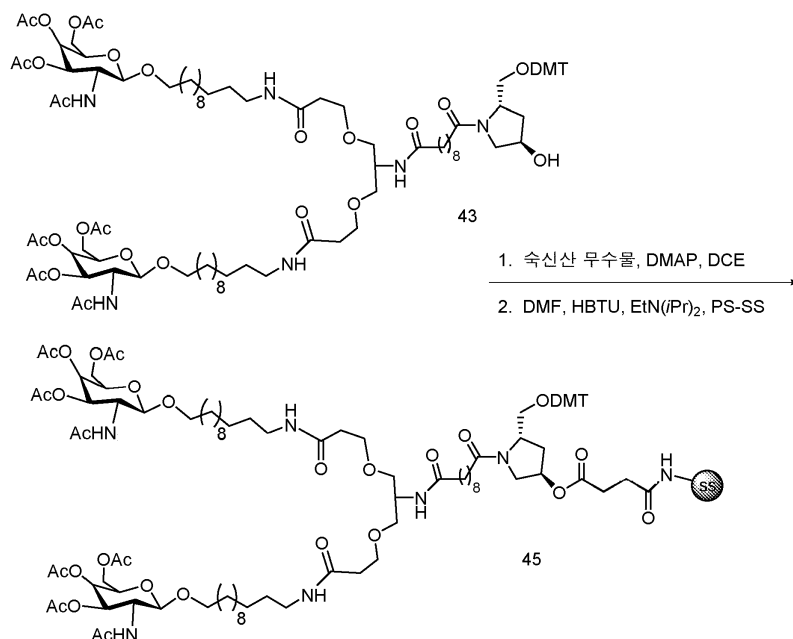
[0980]

[0981]

화합물 23 및 36은 실시예 5 및 11에서 실증된 절차에 따라 제조된다. 화합물 41는 하기에서 공지된 유사한 절차를 사용하여 제조된다: WO 2009082607.

[0982]

실시예 14: 화합물 45의 제조

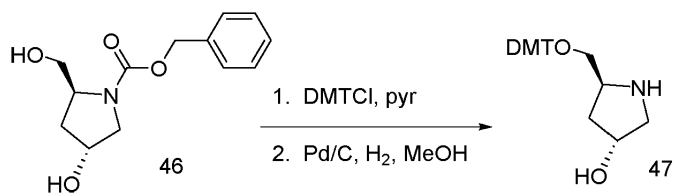


[0983]

[0984]

화합물 43은 실시예 13에서 실증된 절차에 따라 제조된다.

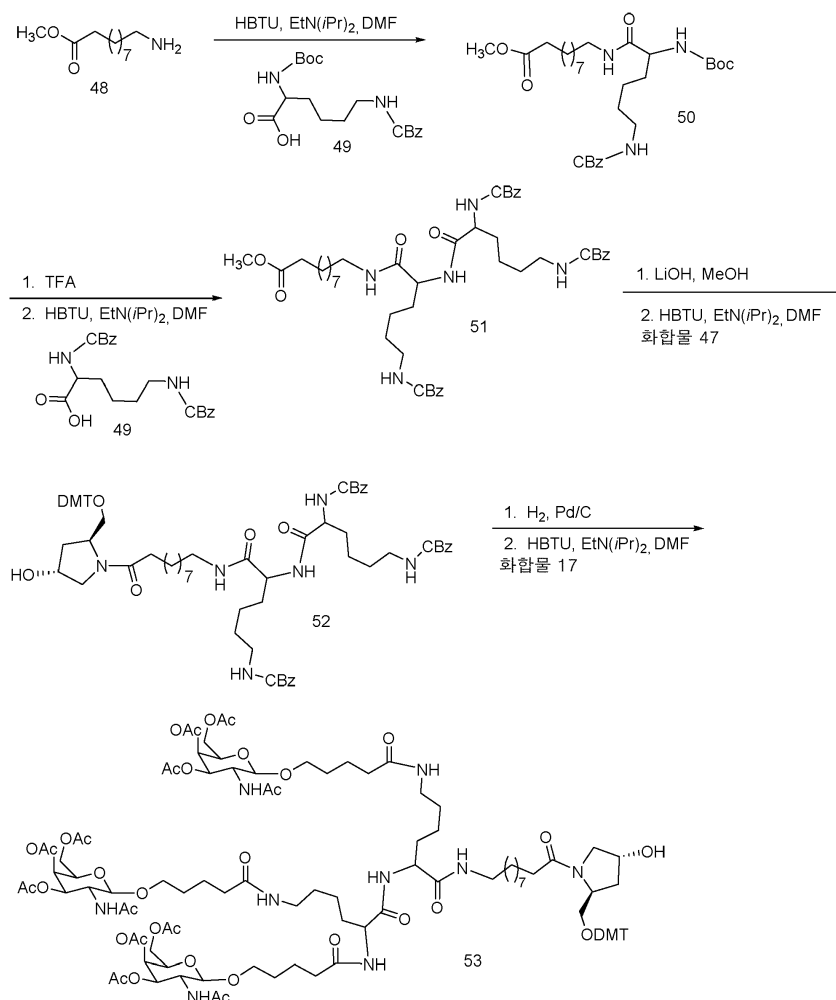
[0985] 실시예 15: 화합물 47의 제조



[0986]

[0987] 화합물 46는 시판되고 있다.

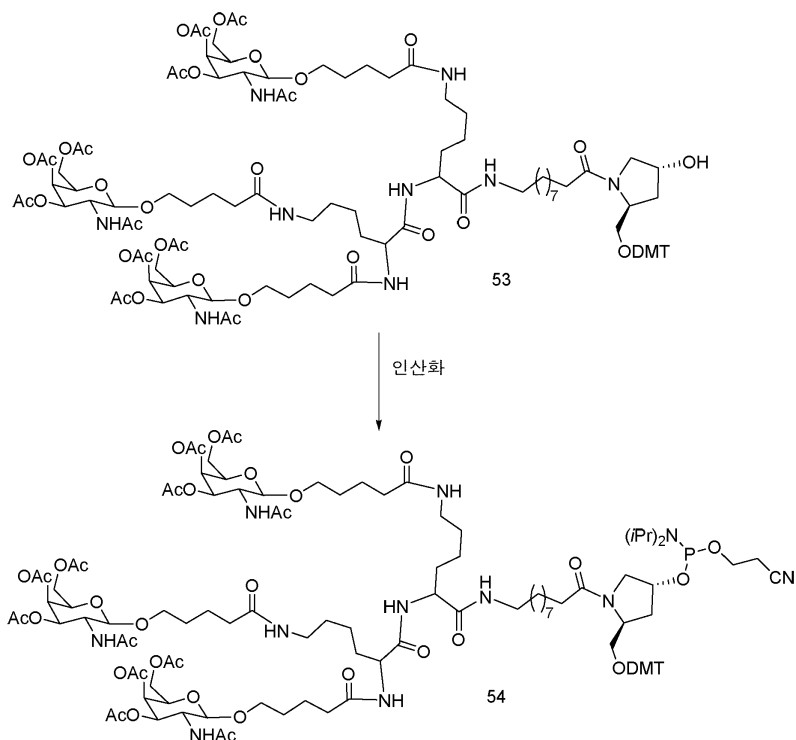
[0988] 실시예 16: 화합물 53의 제조



[0989]

[0990] 화합물 48 및 49는 시판되고 있다. 화합물 17 및 47은 실시예 4 및 15에서 실증된 절차에 따라 제조된다.

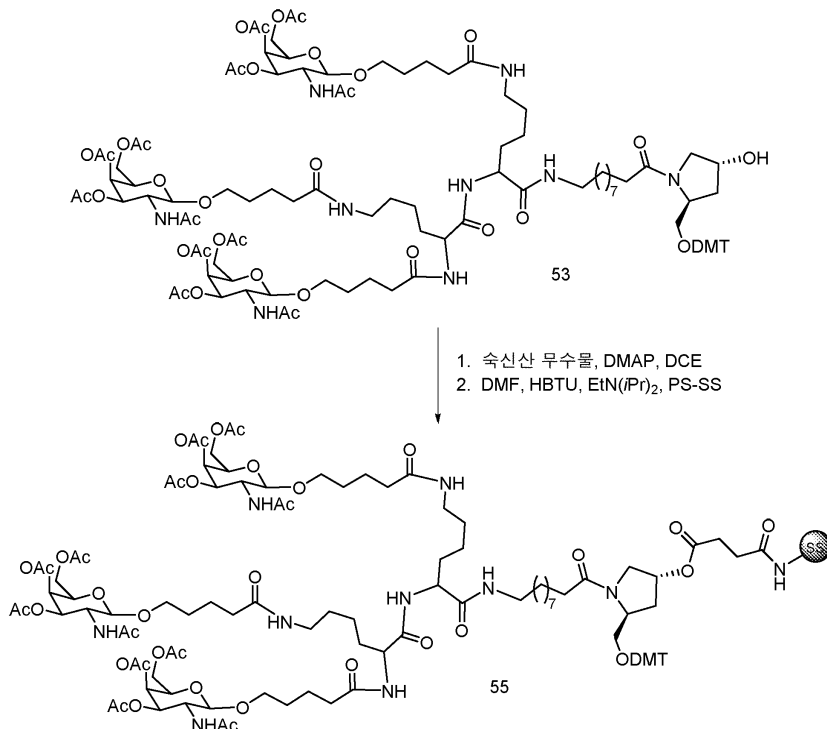
[0991] 실시예 17: 화합물 54의 제조



[0992]

[0993] 화합물 53은 실시예 16에서 실증된 절차에 따라 제조된다.

[0994] 실시예 18: 화합물 55의 제조



[0995]

[0996] 화합물 53은 실시예 16에서 실증된 절차에 따라 제조된다.

[0997] 실시예 19: 3' 고체상 기술을 통해 위치에서 GalNAc₃-1을 포함하는 콘주게이트된 ASO의 일반적인 제조 방법 (ISIS 647535, 647536 및 651900의 제조)

[0998] 달리 언급되지 않으면, 올리고머 화합물의 합성을 위해 사용된 모든 시약 및 용액은 상업적 공급원으로부터 구

매된다. 표준 포스포라미다이트 빌딩 블록 및 고체 지지체는, 예를 들면 T, A, G, 및 ¹³C 잔기를 포함하는 뉴클레오시드 잔기의 혼입을 위해 사용된다. 무수 아세트오니트릴 중의 포스포라미다이트의 0.1 M 용액을 β-D-2'-테옥시리보뉴클레오시드 및 2'-MOE에 사용하였다.

[0999] ASO 합성은 ABI 394 합성기 (1-2 μmol 규모) 상에서, 또는 칼럼에 충전된 **GalNAc₃-1** 로딩된 VIMAD 고품형 지지체 (110 μmol/g, Guzaev 등, 2003) 상에서 포스포라미다이트 커플링 방법에 의해 GE Healthcare Bioscience ÄKTA 올리고파일릿 합성기 (40-200 μmol 규모) 상에서 수행되었다. 커플링 단계의 경우, 포스포라미다이트를 고체 지지체의 로딩에 대해 4배 과량으로 전달하였고, 포스포라미다이트 응축을 10분 동안 수행하였다. 모든 다른 단계는 제조자에 의해 공급된 표준 프로토콜을 따랐다. 톨루엔 중 6% 디클로로아세트산의 용액은 디메톡시트리틸 (DMT) 그룹을 뉴클레오타이드의 5'-하이드록실 그룹로부터 제거하기 위해 사용되었다. 무수 CH₃CN 중 4,5-디시아노이미다졸 (0.7 M)은 커플링 단계 동안에 활성화제로 사용되었다. 포스포로티오에이트 연결을 3분의 접촉 시간 동안에 1:1 피리딘/CH₃CN 중의 크산탄 하이드라이드의 0.1 M 용액을 이용한 황화에 의해 도입하였다. 6% 물을 함유하는 CH₃CN 중의 20% tert-부틸하이드로퍼옥사이드의 용액을 산화제로 사용하여 12분의 접촉 시간으로 포스포디에스테르 뉴클레오시드간 연결을 제공하였다.

[1000] 원하는 서열이 조립된 후, 시아노에틸 포스페이트 보호 그룹은 45 분의 접촉 시간과 함께 트리에틸아민 및 아세트오니트릴의 1:1 (v/v) 혼합물을 사용하여 탈보호되었다. 상기 고체-지지체 결합된 ASO를 암모니아수 (28-30 중량 %)에 현탁시키고 55 에서 6시간 동안 가열하였다.

[1001] 그리고 나서, 미결합된 ASO를 여과하고 암모니아를 가열로 제거하였다. 잔류물을 강한 음이온 교환 칼럼 상에서 고압 액체 크로마토그래피에 의해 정제하였다(GE Healthcare Bioscience, Source 30Q, 30 μm, 2.54 x 8 cm, A = 30% 수성 CH₃CN 중의 100 mM 암모늄 아세테이트, B = A 중의 1.5 M NaBr, 60분에 0-40%의 B, 유량 14 mL min⁻¹, λ = 260 nm). 잔류물을 역상 칼럼 상의 HPLC에 의해 탈염하여, 고체 지지체 상의 초기 로딩을 기준으로 15-30%의 단리된 수율로 원하는 ASO를 얻었다. ASO를 Agilent 1100 MSD 시스템을 갖는 이온-쌍-HPLC 커플링된 MS 분석에 의해 규명하였다.

[1002] 콘주게이트를 포함하지 않는 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 당해기술에서 잘 알려진 표준 올리고뉴클레오타이드 합성 절차를 사용하여 합성되었다.

[1003] 이들 방법을 사용하여, ApoC III을 표적으로 하는 3 개의 별개의 안티센스 화합물이 제조되었다. 아래의 표 17에서 요약된 바와 같이, 각각의 ApoC III을 표적으로 하는 3 개의 안티센스 화합물은 동일한 핵염기 서열을 가졌고; ISIS 304801는 모든 포스포로티오에이트 연결을 갖는 5'-10'-5 MOE 캡머이고; ISIS 647535는 ISIS 304801와 동일하고, 단, 3' 말단에서 콘주게이트된 **GalNAc₃-1**을 가졌고; 그리고 ISIS 647536은 ISIS 647535와 동일하고, 단, 상기 화합물의 특정 뉴클레오시드간 연결은 포스포디에스테르 연결이다. 표 17에서 추가로 요약된 바와 같이, SRB-1을 표적으로 하는 2 개의 별개의 안티센스 화합물이 합성되었다. ISIS 440762는 모든 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결을 갖는 2'-10'-2 cEt 캡머였고; ISIS 651900는 ISIS 440762와 동일하고, 단, 3'-말단에서 **GalNAc₃-1**을 포함했다.

[1004] 표 17

[1005] ApoC III 및 SRB-1을 표적으로 하는 변형된 ASO

ASO	서열 (5' 내지 3')	표적	산출된 질량	관찰된 질량	서열 번호
ISIS 304801	A _{es} G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} G _{ds} ^m C _{ds} T _{es} T _{es} A _{es} T _e	ApoC III	7165.4	7164.4	2248
ISIS 647535	A _{es} G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} G _{ds} ^m C _{ds} T _{es} T _{es} A _{es} T _{es} A _{do} ^m GalNAc₃-1_a	ApoC III	9239.5	9237.8	2249

[1006]

ISIS 647536	A _{es} G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} G _{ds} ^m C _{ds} T _{es} T _{es} A _{es} T _{es} A _{do} ^m GalNAc₃-1_a	ApoC III	9142.9	9140.8	2249
ISIS 440762	T _{ks} ^m C _{ks} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ks} ^m C _k	SRB-1	4647.0	4646.4	2250
ISIS 651900	T _{ks} ^m C _{ks} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ks} ^m C _{ks} A _{do} ^m GalNAc₃-1_a	SRB-1	6721.1	6719.4	2251

[1007]

[1008] 하첨자: 하첨자: "e"는 2'-MOE 변형된 뉴클레오시드를 나타내고; "d"는 β-D-2'-테옥시리보뉴클레오시드를 나타내고; "k"는 6' -(S)-CH₃ 이환식 뉴클레오시드 (예를 들면 cEt)를 나타내고; "s"는 포스포로티오에이트 뉴클레

오시드간 연결 (PS)을 나타내고; "o"는 포스포디에스테르 뉴클레오시드간 연결 (PO)을 나타내고; 그리고 "o'"는 -O-P(=O)(OH)-를 나타낸다. 상첨자 "m"은 5-메틸시토신을 나타낸다. "GalNAc₃-1"는 실시예 9에서 이전에 보여진 구조를 갖는 콘주게이트 그룹을 나타낸다. GalNAc₃-1은 ASO를 "GalNAc₃-1_a"인 것으로 지정된 콘주게이트의 나머지에 연결하는 절단가능 아테노신을 포함하는 것에 주목한다. 이러한 명명법은 콘주게이트의 일부인 아테노신을 포함하는 완전한 핵염기 서열을 보여주기 위해 상기 표에서 사용된다. 따라서, 상기 표에서, 서열은 "GalNAc₃-1"와 함께 생략된 "A_{do}"로 종료되는 바와 같이 또한 열거될 수 있었다. 절단가능 뉴클레오시드 또는 절단가능 모이어티가 없는 콘주게이트 그룹의 부분을 나타내기 위해 하첨자 "a"를 사용하는 이러한 관례는 이들 실시예를 통해 사용된다. 절단가능 모이어티가 없는 콘주게이트 그룹의 이러한 부분은 "클러스터" 또는 "콘주게이트 클러스터" 또는 "GalNAc₃ 클러스터"로서 본원에서 칭해진다. 특정 예에서 그것의 클러스터 및 그것의 절단가능 모이어티를 별도로 제공하여 콘주게이트 그룹을 기재하는 것이 편리하다.

[1009] 실시예 20: huApoC III 형질전환 마우스에서 인간 ApoC III의 용량-의존적 안티센스 억제

[1010] 인간 ApoC III를 각각 표적으로 하고 상기에서 기재된 ISIS 304801 및 ISIS 647535는, 별도로 시험되었고 인간 ApoC III 형질전환 마우스에서 인간 ApoC III을 억제하기 위한 그것의 능력에 대한 용량-의존적 연구에서 평가되었다.

[1011] 치료

[1012] 인간 ApoCIII 형질전환 마우스는 12-시간 명/암 사이클에서 유지되었고 임의로 Teklad 실험실 초우에 공급되었다. 동물은 실험의 개시 전 연구 시설에서 적어도 7일 동안 순응되었다. ASO는 PBS에서 제조되었고 0.2 마이크로 필터를 통해 여과하여 멸균되었다. ASO는 주사를 위해 0.9% PBS에서 용해되었다.

[1013] 인간 ApoC III 형질전환 마우스에게 복강내로 2 주 동안 1주 1회 ISIS 304801 또는 647535가 0.08, 0.25, 0.75, 2.25 또는 6.75 $\mu\text{mol/kg}$ 또는 PBS (대조군으로서)가 주입되었다. 각 처리 그룹은 4 마리의 동물로 구성되었다. 마지막 용량의 투여 48 시간 후, 혈액을 각 마우스로부터 뽑고 그리고 마우스는 희생되었고 조직은 수집되었다.

[1014] ApoC III mRNA 분석

[1015] 마우스의 간 중 ApoC III mRNA 수준은 표준 프로토콜에 따라 실시간 PCR 및 RIBOGREEN® RNA 정량화 시약을 사용하여 측정되었다 (Molecular Probes, Inc. Eugene, OR). ApoC III mRNA 수준은 PBS-처리된 대조군에 대한 정상화 전에 (리보그린을 사용하여) 총 RNA에 대해 결정되었다. 아래의 결과는 PBS-처리된 대조군에 대해 정규화된, 각 처리 그룹에 대한 ApoC III mRNA 수준의 평균 퍼센트로서 제공되고, "PBS %"로서 나타낸다. 각 ASO의 반 최대 효과적인 투여량 (ED₅₀)은 아래의 표 18에서 또한 제공된다.

[1016] 실증된 바와 같이, 안티센스 화합물 둘 모두는 PBS 대조군에 대한 ApoC III RNA를 감소시켰다. 게다가, GalNAc₃-1 (ISIS 647535)에 콘주게이트된 안티센스 화합물은 GalNAc₃-1 콘주게이트 (ISIS 304801)가 없는 안티센스 화합물보다 실질적으로 더 강했다.

[1017] 표 18

[1018] 인간 ApoC III 형질전환 마우스에서 ApoC III mRNA 수준에 대한 ASO 처리의 효과

ASO	투여 ($\mu\text{mol/kg}$)	% PBS	ED ₅₀ ($\mu\text{mol/kg}$)	3' 콘주게이트	뉴클레오사이드간 연결/길이	서열 번호
PBS	0	100	--	-	--	
ISIS 304801	0.08	95	0.77	없음	PS/20	2248
	0.75	42				
	2.25	32				
	6.75	19				
ISIS 647535	0.08	50	0.074	GalNAc ₃ -1	PS/20	2249
	0.75	15				
	2.25	17				
	6.75	8				

[1019]

[1020] ApoC III 단백질 분석 (비탁 검정)

[1021] 혈장 ApoC III 단백질 분석은 하기에 의해 보고된 절차를 사용하여 결정되었다: Graham 등, Circulation Research, 2013년 3월 29일 인쇄 전에 온라인에서 공개.

[1022] 마우스로부터 단리된 대략 100 μ l의 혈장은 Olympus 임상 분석기 및 시판되는 비탁 ApoC III 검정을 사용하여 희석없이 분석되었다 (Kamiya, Cat# KAI-006, Kamiya Biomedical, Seattle, WA). 검정 프로토콜은 판매인에 의해 기재된 바와 같이 수행되었다.

[1023] 아래의 표 19에서 보여진 바와 같이, 안티센스 화합물 둘 모두는 PBS 대조군에 대한 ApoC III 단백질을 감소시켰다. 게다가, **GalNAc₃-1** (ISIS 647535)에 콘주게이트된 안티센스 화합물은 **GalNAc₃-1** 콘주게이트 (ISIS 304801)가 없는 안티센스 화합물보다 실질적으로 더 강했다.

[1024] 표 19

[1025] 인간 ApoC III 형질전환 마우스에서 ApoC III 혈장 단백질 수준에 대한 ASO 처리의 효과

ASO	투여 (μ mol/kg)	% PBS	ED ₅₀ (μ mol/kg)	3' 콘주게이트	뉴클레오사이드간 연결/길이	서열 번호
PBS	0	100	--	--	--	
ISIS 304801	0.08	86	0.73	없음	PS/20	2248
	0.75	51				
	2.25	23				
	6.75	13				
ISIS 647535	0.08	72	0.19	GalNAc₃-1	PS/20	2249
	0.75	14				
	2.25	12				
	6.75	11				

[1026]

[1027] 혈장 트리글리세라이드 및 콜레스테롤은 블라이 및 다이어 (Bligh, E.G. and Dyer, W.J. Can. J. Biochem. Physiol. 37: 911-917, 1959)(Bligh, E and Dyer, W, Can J Biochem Physiol, 37, 911-917, 1959)(Bligh, E and Dyer, W, Can J Biochem Physiol, 37, 911-917, 1959)의 방법에 의해 추출되었고, Beckmann Coulter 임상 분석기 및 시판되는 시약을 사용하여 측정되었다.

[1028] 트리글리세라이드 수준은 PBS 주입된 마우스에 대해 측정되었고 "PBS %"로서 나타낸다. 결과는 표 20에서 제공된다. 실증된 바와 같이, 안티센스 화합물 둘 모두는 트리글리세라이드 수준을 감소시켰다. 게다가, **GalNAc₃-1** (ISIS 647535)에 콘주게이트된 안티센스 화합물은 **GalNAc₃-1** 콘주게이트 (ISIS 304801)가 없는 안티센스 화합물보다 실질적으로 더 강했다.

[1029] 표 20

[1030] 형질전환 마우스에서 트리글리세라이드 수준에 대한 ASO 처리의 효과

ASO	투여 (μ mol/kg)	% PBS	ED ₅₀ (μ mol/kg)	3' 콘주게이트	뉴클레오사이드간 연결/길이	서열 번호
PBS	0	100	--	--	--	
ISIS 304801	0.08	87	0.63	없음	PS/20	2248
	0.75	46				
	2.25	21				
	6.75	12				
ISIS 647535	0.08	65	0.13	GalNAc₃-1	PS/20	2249
	0.75	9				
	2.25	8				
	6.75	9				

[1031]

[1032] 혈장 샘플은 HPLC에 의해 분석되어 총 콜레스테롤 및 콜레스테롤 (HDL 및 LDL)의 상이한 분획의 양을 결정했다.

결과는 표 21 및 22에서 제공된다. 실증된 바와 같이, 안티센스 화합물 둘 모두는 총 콜레스테롤 수준을 낮게 했고; 둘 모두는 LDL을 낮게 했고; 그리고 둘 모두는 HDL을 상승시켰다. 게다가, **GalNAc₃-1** (ISIS 647535)에 콘주게이트된 안티센스 화합물은 **GalNAc₃-1** 콘주게이트 (ISIS 304801)가 없는 안티센스 화합물보다 실질적으로 더 강했다. HDL의 증가 및 LDL 수준의 감소는 ApoC III의 안티센스 억제제의 심혈관성 유익한 효과이다.

표 21

형질전환 마우스에서 총 콜레스테롤 수준에 대한 ASO 처리의 효과

ASO	투여 (μmol/kg)	총 콜레스테롤 (mg/dL)	3' 콘주게이트	뉴클레오사이드간 연결/길이	서열 번호
PBS	0	257	--	--	
ISIS 304801	0.08	226	없음	PS/20	2248
	0.75	164			
	2.25	110			
	6.75	82			
ISIS 647535	0.08	230	GalNAc₃-1	PS/20	2249
	0.75	82			
	2.25	86			
	6.75	99			

표 22

형질전환 마우스에서 HDL 및 LDL 콜레스테롤 수준에 대한 ASO 처리 효과

ASO	투여 (μmol/kg)	HDL (mg/dL)	LDL (mg/dL)	3' 콘주게이트	뉴클레오사이드간 연결/길이	서열 번호
PBS	0	17	28	--	--	
ISIS 304801	0.08	17	23	없음	PS/20	2248
	0.75	27	12			
	2.25	50	4			
	6.75	45	2			
ISIS 647535	0.08	21	21	GalNAc₃-1	PS/20	2249
	0.75	44	2			
	2.25	50	2			
	6.75	58	2			

약동학 분석 (PK)

ASO의 PK가 또한 평가되었다. 간 및 신장 샘플은 다져졌고 표준 프로토콜을 사용하여 추출되었다. 샘플은 IP-HPLC-MS를 이용하여 MSD1 상에서 분석되었다. 전장 ISIS 304801 및 647535의 조직 수준 (μg/g)은 측정되었고 결과는 표 23에서 제공된다. 실증된 바와 같이, 총 전장 안티센스 화합물의 간 농도는 2 개의 안티센스 화합물에 대해 유사했다. 따라서, **GalNAc₃-1** 콘주게이트된 안티센스 화합물이 (상기의 RNA 및 단백질 데이터에 의해 실질되는 바와 같이) 간에서 활성이 더 많을 지라도, 간에서 실질적으로 더 높은 농도로 존재하지 않는다. 사실상, 계산된 EC₅₀ (표 23에서 제공)은, 콘주게이트된 화합물의 효능의 관찰된 증가가 증가된 축적에 전적으로 기인할 수 없다는 것을 확인해 준다. 이러한 결과는, 콘주게이트가 안티센스 화합물의 세포로의 생산적인 흡수를 가능하게 개선하여 간 축적 단독 이외의 기전에 의해 효능을 개선했다는 것을 암시한다.

상기 결과는 또한, 신장 중 **GalNAc₃-1** 콘주게이트된 안티센스 화합물의 농도가 GalNAc 콘주게이트가 없는 안티센스 화합물의 농도보다 더 낮다는 것을 보여준다. 이것은 몇 개의 유익한 치료적 연루성을 갖는다. 신장에서의 활성이 추구되지 않는 치료적 징후에 대해, 신장への 노출은 상응하는 이점 없이 신장 독성을 위태롭게 한다. 게다가, 신장의 고농도는 전형적으로 화합물의 소변으로 손실을 야기하고, 이로써 더 빠른 청소능을 얻는다. 따라서, 비-신장 표적에 대해, 신장 축적은 원치 않는다. 이들 데이터는, **GalNAc₃-1** 콘주게이션이 신장 축적을 감소시킨다는 것을 암시한다.

[1042] 표 23

[1043] 형질전환 마우스에서 ASO 처리의 PK 분석

ASO	투여 (μmol/kg)	간 (μg/g)	신장 (μg/g)	간 EC ₅₀ (μg/g)	3' 콘주게이트	뉴클레오사이드간 연결/길이	서열 번호
ISIS 304801	0.1	5.2	2.1	53	없음	PS/20	2248
	0.8	62.8	119.6				
	2.3	142.3	191.5				
	6.8	202.3	337.7				
ISIS 647535	0.1	3.8	0.7	3.8	GalNAc ₃ -1	PS/20	2249
	0.8	72.7	34.3				
	2.3	106.8	111.4				
	6.8	237.2	179.3				

[1044]

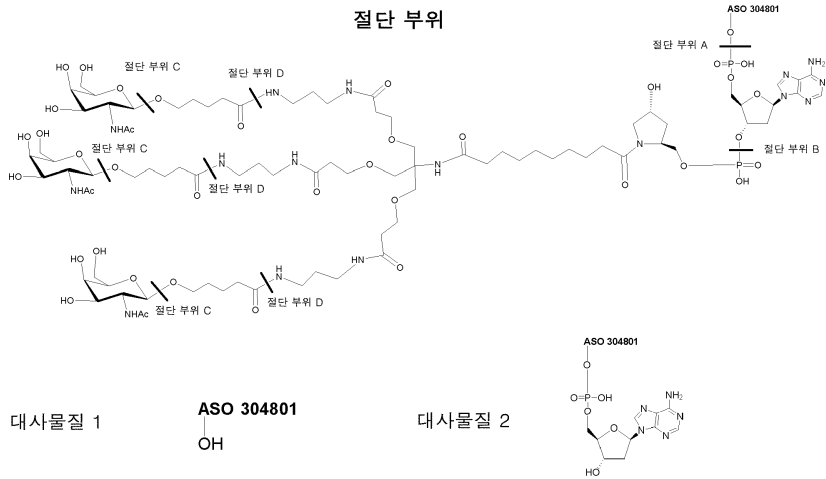
[1045] ISIS 647535의 대사물이 또한 확인되었고, 그것의 질량은 고분해능 질량 분광분석법 분석에 의해 확인되었다. 관찰된 대사물의 절단 부위 및 구조는 아래에서 보여진다. 전장 ASO의 상대 %는 표준 절차를 사용하여 계산되었고 결과는 표 23a에서 제공된다. ISIS 647535의 주요 대상물은 아래에서 보여진 절단 부위 A에서의 절단을 야기하는 전체 콘주게이트 (즉 ISIS 304801)가 없는 전장 ASO였다. 게다가, 다른 절단 부위로부터 수득된 추가 대상물이 또한 관찰되었다. 이들 결과는, 다른 절단가능 결합 예컨대 에스테르, 펩티드, 디설파이드, 포스포르아미데이트 또는 아실-하이드라존을 GalNAc₃-1 당과 ASO (이것은 세포 내의 효소에 의해 절단될 수 있거나, 사이트 종의 환원 환경에서 전달될 수 있거나 엔도솜 및 리소솜 내의 산성 pH에 대해 불안정함) 사이에 도입하는 것이 또한 유용할 수 있다는 것을 암시한다.

[1046] 표 23a

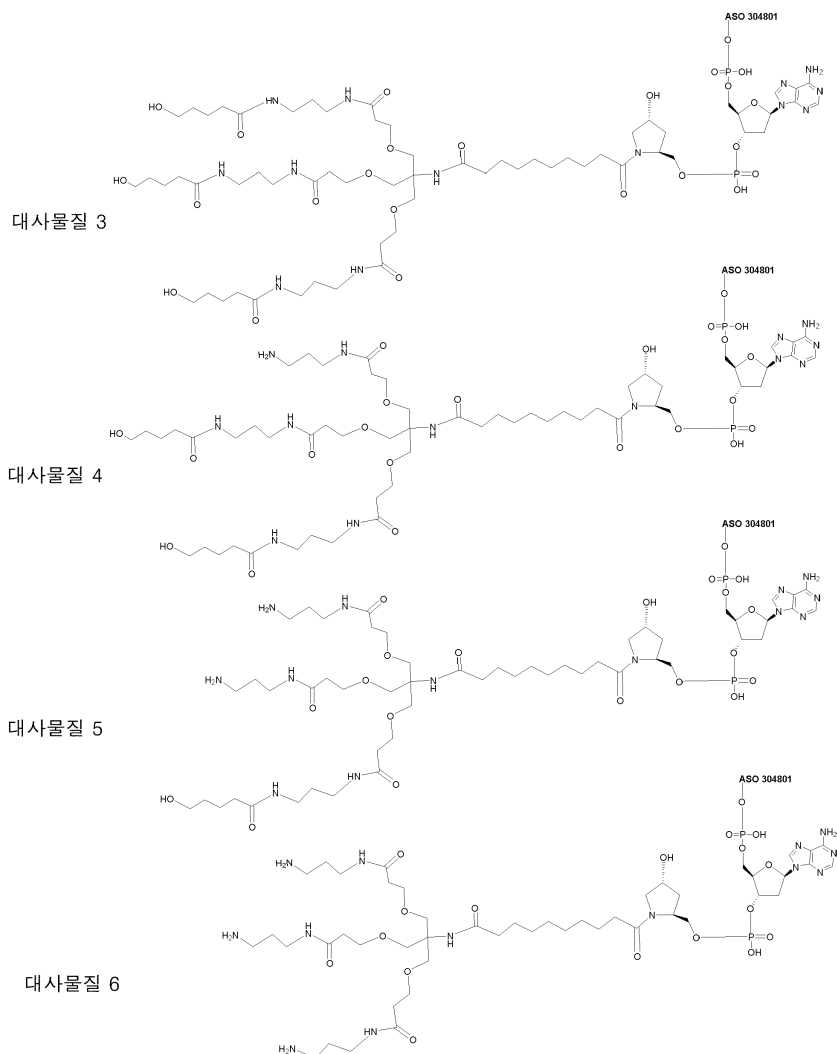
[1047] ISIS 647535의 관찰된 전장 대사물

대사 물질	ASO	절단 부위	상대 %
1	ISIS 304801	A	36.1
2	ISIS 304801 + dA	B	10.5
3	ISIS 647535 마이너스(minus) [3 GalNAc]	C	16.1
4	ISIS 647535 마이너스(minus) [3 GalNAc + 1 5-하이드록시-펜탄산 연결기]	D	17.6
5	ISIS 647535 마이너스(minus) [2 GalNAc + 2 5-하이드록시-펜탄산 연결기]	D	9.9
6	ISIS 647535 마이너스(minus) [3 GalNAc + 3 5-하이드록시-펜탄산 연결기]	D	9.8

[1048]



[1049]



[1050]

[1051]

[1052]

[1053]

[1054]

[1055]

[1056]

[1057]

실시예 21: 단일 투여 연구에서 인간 ApoC III 형질전환 마우스에서 인간 ApoC III의 안티센스 억제

인간 ApoC III를 표적으로 하고 표17에서 기재된 ISIS 304801, 647535 및 647536 각각은, 인간 ApoC III 형질 전환 마우스 인간 ApoC III을 억제하기 위해 그것의 능력에 대한 단일 투여 연구에서 추가로 평가되었다.

치료

인간 ApoCIII 형질전환 마우스는 12-시간 명/암 사이클에서 유지되었고 임의로 Teklad 실험실 초우에 공급되었다. 동물은 실험의 개시 전 연구 시설에서 적어도 7일 동안 순응되었다. ASO는 PBS에서 제조되었고 0.2 마이크론 필터를 통해 여과하여 멸균되었다. ASO는 주사를 위해 0.9% PBS에서 용해되었다.

인간 ApoC III 형질전환 마우스에게 복강내로 1 회 아래에서 보여진 투여량으로 ISIS 304801, 647535 또는 647536 (상기에서 기재됨) 또는 PBS 처리된 대조군이 주입되었다. 처리 그룹은 3마리의 동물로 구성되었고 대조군 그룹은 4 마리의 동물로 구성되었다. 처리 전에 뿐만 아니라 마지막 용량 후에, 혈액을 각 마우스로부터 채혈하고 혈장 샘플을 분석하였다. 마우스는 마지막 투여 72 시간 후에 희생되었다.

샘플을 수집하고 분석하여 HDL 및 LDL 분획을 포함하는 간; 혈장 트리글리세라이드; 및 콜레스테롤에서 ApoC III mRNA 및 단백질 수준을 측정하고, 상기에서 기재된 바와 같이 평가하였다 (실시예 20). 이들 분석으로부터의 데이터는 아래의 표 24-28에서 제공된다. 혈청 중 간 트랜스아미나제 수준, 알라닌 트랜스아미나제 (ALT) 및 아스파르테이트 트랜스아미나제 (AST)는, 표준 프로토콜을 사용하여 염수 주입된 마우스에 대해 측정하였다. ALT 및 AST 수준은, 안티센스 화합물이 모든 투여된 용량으로 용인되었다는 것을 보여주었다.

이들 결과는 **GalNAc₃-1** 콘주게이트 (ISIS 304801)가 없는 안티센스 화합물과 비교하여 3' 말단 (ISIS 647535 및 647536)에서 **GalNAc₃-1** 콘주게이트를 포함하는 안티센스 화합물에 대한 효능의 개선을 보여준다. 게다가,

GalNAc₃-1 콘주게이트 및 일부 포스포디에스테르 연결을 포함하는 ISIS 647536은 동일한 콘주게이트를 포함하는 ISIS 647535만큼 강력했고, ASO 내의 모든 뉴클레오시드간 연결은 포스포로티오에이트이다.

표 24

인간 ApoC III 형질전환 마우스에서 ApoC III mRNA 수준에 대한 ASO 처리의 효과

ASO	투여 (mg/kg)	% PBS	ED ₅₀ (mg/kg)	3' 콘주게이트	뉴클레오사이드간 연결/길이	서열 번호
PBS	0	99	--	-	--	
ISIS 304801	1	104	13.2	없음	PS/20	2248
	3	92				
	10	71				
	30	40				

ISIS 647535	0.3	98	1.9	GalNAc₃-1	PS/20	2249
	1	70				
	3	33				
	10	20				
ISIS 647536	0.3	103	1.7	GalNAc₃-1	PS/PO/20	2249
	1	60				
	3	31				
	10	21				

표 25

인간 ApoC III 형질전환 마우스에서 ApoC III 혈장 단백질 수준에 대한 ASO 처리의 효과

ASO	투여 (mg/kg)	% PBS	ED ₅₀ (mg/kg)	3' 콘주게이트	뉴클레오사이드간 연결/길이	서열 번호
PBS	0	99	--	--	--	
ISIS 304801	1	104	23.2	없음	PS/20	2248
	3	92				
	10	71				
	30	40				
ISIS 647535	0.3	98	2.1	GalNAc₃-1	PS/20	2249
	1	70				
	3	33				
	10	20				
ISIS 647536	0.3	103	1.8	GalNAc₃-1	PS/PO/20	2249
	1	60				
	3	31				
	10	21				

표 26

[1066] 형질전환 마우스에서 트리글리세라이드 수준에 대한 ASO 처리의 효과

ASO	투여 (mg/kg)	% PBS	ED ₅₀ (mg/kg)	3' 콘주게이트	뉴클레오사이드간 연결/길이	서열 번호
PBS	0	98	--	--	--	
ISIS 304801	1	80	29.1	없음	PS/20	2248
	3	92				
	10	70				
	30	47				
ISIS 647535	0.3	100	2.2	GalNAc ₃ -1	PS/20	2249
	1	70				
	3	34				
	10	23				

[1067]

ISIS 647536	0.3	95	1.9	GalNAc ₃ -1	PS/PO/20	2249
	1	66				
	3	31				
	10	23				

[1068]

[1069] 표 27

[1070] 형질전환 마우스에서 총 콜레스테롤 수준에 대한 ASO 처리의 효과

ASO	투여 (mg/kg)	% PBS	3' 콘주게이트	뉴클레오사이드간 연결/길이	서열 번호
PBS	0	96	--	--	
ISIS 304801	1	104	없음	PS/20	2248
	3	96			
	10	86			
	30	72			
ISIS 647535	0.3	93	GalNAc ₃ -1	PS/20	2249
	1	85			
	3	61			
	10	53			
ISIS 647536	0.3	115	GalNAc ₃ -1	PS/PO/20	2249
	1	79			
	3	51			
	10	54			

[1071]

[1072] 표 28

[1073] 형질전환 마우스에서 HDL 및 LDL 콜레스테롤 수준에 대한 ASO 처리 효과

ASO	투여 (mg/kg)	HDL % PBS	LDL % PBS	3' 콘주게이트	뉴클레오사이드간 연결/길이	서열 번호
PBS	0	131	90	--	--	
ISIS 304801	1	130	72	없음	PS/20	2248
	3	186	79			
	10	226	63			
	30	240	46			
ISIS 647535	0.3	98	86	GalNAc ₃ -1	PS/20	2249
	1	214	67			
	3	212	39			
	10	218	35			
ISIS 647536	0.3	143	89	GalNAc ₃ -1	PS/PO/20	2249
	1	187	56			
	3	213	33			
	10	221	34			

[1074]

[1075] 이들 결과는, GalNAc₃-1 콘주게이트가 안티센스 화합물의 효능을 개선한다는 것을 확인한다. 결과는 또한, GalNAc₃-1 콘주게이트된 안티센스 화합물의 동등한 효능을 보여주고, 여기서 안티센스 올리고뉴클레오티드는 혼합된 연결 (6개의 포스포디에스테르 연결을 갖는 ISIS 647536) 및 동일한 안티센스 화합물의 완전한 포스포로티오에이트 버전 (ISIS 647535)을 갖는다.

[1076]

포스포로티오에이트 연결은 안티센스 화합물에 대한 몇 개의 특성을 제공한다. 예를 들면, 뉴클레아제 소화에서 저장하고 단백질에 결합하고, 이것은 신장/소변에서보다 간에서 화합물의 축적을 야기한다. 이들은, 특히 간에서 조짐을 치료할 때 바람직한 특성이다. 그러나, 포스포로티오에이트 연결은 또한 염증성 반응과 연관되었다. 따라서, 화합물 중 포스포로티오에이트 연결의 수를 감소시키는 것은 염증의 위험, 뿐만 아니라 간에서 저농도의 화합물을 감소시키고, 신장 및 소변에서 농도를 증가시키고, 뉴클레아제의 존재에서의 안정성을 증가시키고, 더 낮은 전체 효능을 낮추는 것으로 기대된다. 본 결과는, 특정 포스포로티오에이트 연결이 포스포디에스테르 연결로 대체되었던 GalNAc₃-1 콘주게이트된 안티센스 화합물이 완전한 포스포로티오에이트 연결을 갖는 대응물로서 간에서 표적에 대항하여 강력하다는 것을 보여준다. 그와 같은 화합물은 전염증이 덜한 것으로 기재된다 (PS의 감소를 보여주는 실험은 감소된 염증성 효과를 야기한다는 것을 기재하는 실시예 24 참고).

[1077]

실시예 22: 생체내에서 SRB-1을 표적으로 하는 GalNAc₃-1 콘주게이트된 변형된 ASO의 효과

[1078]

SRB-1을 표적으로 하고 표 17에서 기재된 ISIS 440762 및 651900 각각을 대상으로 Balb/c 마우스에서 SRB-1을 억제하는 그 능력을 용량-의존적 연구에서 평가하였다.

[1079]

치료

[1080]

6주령 수컷 Balb/c 마우스 (Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME)에게 ISIS 440762, 651900 또는 PBS 처리된 대조군을 하기예 제시된 투여량으로 피하로 1회 주입하였다. 각 처리 그룹은 4 마리의 동물로 구성되었다. 마우스는 최종 투여 후 48 시간에 희생되었고 표준 프로토콜에 따라 실시간 PCR 및 RIBOGREEN® RNA 정량화 시약을 사용하여 간 내에서의 SRB-1 mRNA 수준을 측정했다 (Molecular Probes, Inc. Eugene, OR). SRB-1 mRNA 수준을 PBS-처리된 대조군에 대해 정규화하기 전에 총 RNA에 대해 결정하였다(리보그린을 이용하여). 아래의 결과는 PBS-처리된 대조군에 정규화된, 각 처리 그룹에 대한 SRB-1 mRNA 수준의 평균 퍼센트로서 제시되어 있고, "PBS %"로서 표시되어 있다.

[1081]

표 29에서 입증된 바와 같이, 두 안티센스 화합물들은 SRB-1 mRNA 수준을 낮추었다.게다가, GalNAc₃-1 (ISIS 651900)에 콘주게이트된 안티센스 화합물은 GalNAc₃-1 콘주게이트 (ISIS 440762)가 없는 안티센스 화합물보다 실질적으로 더 강했다. 이들 결과는, GalNAc₃-1 콘주게이트의 효능 이점이 상이한 표적에 대해 상보적이고 상이한 화학적으로 변형된 뉴클레오시드를 갖는 안티센스 올리고뉴클레오티드를 사용하여 관찰된다는 것을 입증하고, 이러한 예에서 변형된 뉴클레오시드는 제한된 에틸 당 모이어티 (이환식 당 모이어티)를 포함한다.

표 29

Balb/c 마우스에서 SRB-1 mRNA 수준에 대한 ASO 처리의 효과

ASO	투여 (mg/kg)	간 % PBS	ED ₅₀ (mg/kg)	3' 콘주게이트		뉴클레오사이드간 연결/길이	서열 번호
PBS	0	100		-		--	
ISIS 440762	0.7	85	2.2	없음		PS/14	2250
	2	55					
	7	12					
	20	3					
ISIS 651900	0.07	98	0.3	GalNAc ₃ -1		PS/14	2251
	0.2	63					
	0.7	20					
	2	6					
	7	5					

실시예 23: 인간 말초 혈액 단핵 세포 (hPBMC) 검정 프로토콜

hPBMC 검정은 BD Vautainer CPT 튜브 방법을 사용하여 수행하였다. US HealthWorks clinic (Faraday & El Camino Real, Carlsbad)에서 고지에 의한 동의로 자원된 공여체로부터 전혈 샘플을 얻어 4-15 BD 진공채혈기 CPT 8 ml 튜브 (VWR Cat.# BD362753)에 모았다. BD362753). 각 공여체에 대한 CPT 튜브에서의 대략적인 개시되는 총 전혈액량을 PBMC 검정 데이터 시트를 사용하여 기록하였다.

튜브를 8-10회 뒤집어 원심분리 바로 전에 혈액 샘플을 재혼합하였다. CPT 튜브를브레이크 없이(2700 RPM Beckman Allegra 6R)1500-1800 RCF에서 30분간 수평 (swing-out) 로터에서 실온(18-25 °C)에서 원심분리하였다. 세포를 버퍼 코트 계면 (피콜 및 폴리머 겔 층 사이)로부터 회수하고; 멸균한 50 ml 원뿔형 튜브로 옮기고 5 CPT 튜브/50 ml 원뿔형 튜브/공여체까지 모았다. 그리고 나서, 세포를 PBS (Ca⁺⁺, Mg⁺⁺없음; GIBCO)로 2회 세정하였다. 튜브를 50 ml까지 가득 채우고몇 번 뒤집어 혼합하였다. 그리고 나서, 샘플을 330 x g에서 15분 동안 실온에서 원심분리하고(Beckman Allegra 6R에서 1215 RPM), 펠렛을 건드리지 않고 가능한 한 많은 상청액을 흡인하였다. 튜브를 와류시켜 세포 펠렛을 제거하고 RPMI+10% FBS+펜/스트랩 (~1 ml / 10 ml 시작하는 전혈량)에서 세포를 재현탁시켰다. 60 µl 샘플을 600 µl VersaLyse 시약 (Beckman Coulter Cat# A09777)을 갖는 샘플 바이알 (Beckman Coulter) 내로 피펫팅하고 10-15초 동안 부드럽게 볼텍싱하였다. 샘플을 10분 동안 실온에서 10분 동안 배양하고 다시 혼합한 후 계수하였다. 세포 현탁액을 PBMC 세포형 (1:11의 희석 인자가 다른 파라미터를 이용하여 보관되었음)을 이용하여 Vice11 XR 세포 생존력 분석기 (Beckman Coulter) 상에서 계수하였다. 생존 세포/ml 및 생존력을 기록하였다. 세포 현탁액을 1 x 10⁷ 생존 PBMC/ RPMI+ 10% FBS+펜/ 스트랩 중에서의 ml로 희석하였다.

세포를 50 µl/웰의 96-웰 조직 배양판 (Falcon Microtest)에 5 x 10⁵로 플레이팅하였다. RPMI+10% FBS+펜/스트랩에 희석된 50 µl/웰의 2x 농도 올리고/대조군을 실험 템플레이트 (100 µL/웰 총)에 따라 부가하였다. 플레이트를 진탕기에 놓고 대략 1분간 혼합하였다. 37 °C에서 24시간 동안 배양한 후; 5% CO₂, 플레이트를 400 x g에서 10분 동안 원심분리한 다음 MSD 사이토카인 검정 (즉 인간 IL-6, IL-10, IL-8 및 MCP-1)을 위해 상청액을 제거하였다.

실시예 24: GalNAc₃-1 콘주게이트된 ASO를 위한 hPBMC 검정에서의 전염증 효과의 평가

표 30에 열거된 안티센스 올리고뉴클레오티드 (ASO)에 대해 실시예 23에서 기재된 프로토콜을 사용하여 hPBMC 검정에서의 전염증(proinflammatory) 효과를 평가하였다. ISIS 353512는 검정에서의 IL-6 방출에 대한 고반응군인 것으로 알려진 내부 표준이다. hPBMC를 신선한, 지원된 공여체로부터 단리하고 0, 0.0128, 0.064, 0.32, 1.6, 8, 40 및 200 µM 농도의 ASO로 처리하였다. 24시간 처리 후, 사이토카인 수준을 측정하였다.

IL-6의 수준을 일차 판독으로서 사용하였다. EC₅₀ 및 E_{max}를 표준 절차를 이용하여 계산하였다. 결과는 두 공여체로부터 E_{max}/EC₅₀의 평균 비로서 표현되고 "E_{max}/EC₅₀"로 나타내어진다. 더 낮은 비율은 전염증 반응에서 상대적 감소를 가리키고 더 높은 비율은 전염증 반응에서 상대적 증가를 가리킨다.

시험 화합물과 관련하여, 가장 낮은 전염증 화합물은 PS/PO 연결된 ASO (ISIS 616468)였다. GalNAc₃-1 콘주게이트된 ASO인 ISIS 647535는 그의 비-콘주게이트된 대응물 ISIS 304801보다 약간 덜 전염증이었다. 이들 결과는,

일부 PO 연결의 혼입이 전염증 반응을 감소시키며 **GalNAc₃-1** 콘주게이트의 부가가 화합물을 더 전염증성으로 만들며 전염증 반응을 감소시킬 수 있음을 가리킨다. 따라서, 당업자라면 혼합된 PS/PO 연결 및 **GalNAc₃-1** 콘주게이트 모두를 포함하는 안티센스 화합물이 **GalNAc₃-1** 콘주게이트를 갖거나 갖지 않는 완벽한 PS 연결된 안티센스 화합물과 비교하여 더 낮은 전염증 반응을 생성할 것임을 예상할 것이다. 이들 결과는, **GalNAc₃-1** 콘주게이트된 안티센스 화합물, 특히 감소된 PS 함량을 갖는 화합물이 덜 전염증이라는 것을 보여준다.

함께, 이들 결과는, **GalNAc₃-1** 콘주게이트된 화합물, 특히 감소된 PS 함량을 갖는 화합물이 **GalNAc₃-1** 콘주게이트가 없는 대응되는 완전한 PS 안티센스 화합물보다 더 높은 용량으로 투여될 수 있음을 제시한다. 이들 화합물의 경우 반감기가 실질적으로 상이할 것으로 예상되지 않으므로, 그러한 더 높은 투여는 덜 빈번한 투여를 야기할 것이다. 사실상 그러한 투여는 훨씬 덜 빈번할 수 있는데, **GalNAc₃-1** 콘주게이트된 화합물이 더 강하고(실시예 20-22 참고), 화합물의 농도가 효능에 기초하여 원하는 수준 이하로 떨어지면 재-투여가 필요하기 때문이다.

표 30

변형된 ASO

ASO	서열 (5' 내지 3')	표적	서열 번호
ISIS 104838	G _{es} ^m C _{es} T _{es} G _{es} A _{es} T _{ds} T _{ds} A _{ds} G _{ds} A _{ds} G _{ds} A _{ds} G _{ds} A _{ds} G _{ds} G _{es} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} ^m C _e	TNFα	2252
ISIS 353512	T _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} G _{ds} G _{ds} A _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} ^m C _{ds} T _{es} G _{es} G _e	CRP	2253
ISIS 304801	A _{es} G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} G _{ds} ^m C _{ds} T _{es} T _{es} T _{es} A _{es} T _e	ApoC III	2248
ISIS 647535	A _{es} G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} G _{ds} ^m C _{ds} T _{es} T _{es} T _{es} A _{es} T _{eo} A _{do} ^{-GalNAc₃-1_a}	ApoC III	2249
ISIS 616468	A _{es} G _{eo} ^m C _{eo} T _{eo} T _{eo} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} G _{ds} ^m C _{ds} T _{eo} T _{eo} T _{es} A _{es} T _e	ApoC III	2248

하첨자: 하첨자: "e"는 2'-MOE 변형된 뉴클레오시드를 나타내고; "d"는 β-D-2'-데옥시리보뉴클레오시드를 나타내고; "k"는 6'-(S)-CH₃ 이환식 뉴클레오시드 (예를 들면 cEt)를 나타내고; "s"는 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결 (PS)을 나타내고; "o"는 포스포디에스테르 뉴클레오시드간 연결 (PO)을 나타내고; 그리고 "o'"는 -O-P(=O)(OH)-를 나타낸다. 상첨자 "m"은 5-메틸시토신을 나타낸다. "**A_{do}^{-GalNAc₃-1_a}**"는, 명시된 바와 같이, 안티센스 올리고뉴클레오타이드의 3'-말단에 부착된 실시예 9에 나타난 구조 **GalNAc₃-1**를 갖는 콘주게이트를 가리킨다.

표 31

hPBMC 검정에서 ApoC III를 표적으로 하는 ASO의 전염증 효과

ASO	EC ₅₀ (μM)	E _{max} (μM)	E _{max} /EC ₅₀	3' 콘주게이트	뉴클레오사이드간 연결/길이	서열 번호
ISIS 353512 (고 반응군)	0.01	265.9	26,590	없음	PS/20	2253
ISIS 304801	0.07	106.55	1,522	없음	PS/20	2248
ISIS 647535	0.12	138	1,150	GalNAc₃-1	PS/20	2249
ISIS 616468	0.32	71.52	224	없음	PS/PO/20	2248

실시예 25: 시험관 내에서 인간 ApoC III를 표적으로 하는 **GalNAc₃-1** 콘주게이트된 변형된 ASO의 효과

상기 기재된 ISIS 304801 및 647535를 시험관 내에서 시험하였다. 웰당 25,000 세포의 밀도로 형질전환 마우스 유래의 일차 간세포 세포를 0.03, 0.08, 0.24, 0.74, 2.22, 6.67 및 20 μM 농도의 변형된 올리고뉴클레오타이드

로 처리하였다. 대략 16시간의 처리 기간 후, RNA를 상기 세포로부터 분리하고 mRNA 수준을 정량적 실시간 PCR에 의해 측정하고 hApoC III mRNA 수준을, 리보그린에 의해 측정된 바와 같이, 총 RNA 함량에 따라 조정하였다.

[1103] IC₅₀을 표준 방법을 사용하여 계산하였고 그 결과가 표 32에서 제시되어 있다. 예시된 바와 같이, 대조군 ISIS 304801과 비교하여 ISIS 647535로 처리된 세포에서 비교할만한 효능이 관찰되었다.

[1104] 표 32

[1105] 일차 간세포에서 인간 ApoC III를 표적으로 하는 변형된 ASO

ASO	IC ₅₀ (μM)	3' 콘주게이트	뉴클레오사이드간 연결/길이	서열 번호
ISIS 304801	0.44	없음	PS/20	2248
ISIS 647535	0.31	GalNAc₃-1	PS/20	2249

[1106]

[1107] 이 실험에서, 생체내에서 관찰된 GalNAc₃-1 콘주게이션의 큰 효능 이점은 시험관 내에서 관찰되지 않았다. 시험관 내에서 일차 간세포에서의 차후의 자유 흡수 실험은 GalNAc 콘주게이트가 없는 올리고뉴클레오타이드(실시예 60, 82, 및 92 참고)와 비교하여 다양한 GalNAc 콘주게이트를 포함하는 올리고뉴클레오타이드의 증가된 효능을 나타내지 않았다.

[1108] 실시예 26: ApoC III ASO 활성화에 대한 PO/PS 연결의 효과

[1109] 인간 ApoC III 형질전환 마우스에게 25 mg/kg의 ISIS 304801, 또는 ISIS 616468 (모두 상기에 기재됨)를 1회 복강내로 주입하거나 PBS 처리된 대조군은 2주간 주당 1회 주입하였다. 처리 그룹은 3마리의 동물로 구성되었고 대조군 그룹은 4 마리의 동물로 구성되었다. 처리 전에 뿐만 아니라 마지막 용량 후에, 혈액을 각 마우스로부터 채혈하고 혈장 샘플을 분석하였다. 마우스를 마지막 투여 72시간 후에 희생시켰다.

[1110] 샘플을 수집하고 상기에서 기재된 바와 같이(실시예 20)간에서의 ApoC III 단백질 수준을 분석하였다. 이들 분석으로부터의 데이터가 하기 표 33에 나타나 있다.

[1111] 이들 결과는 전체 PS (ISIS 304801) 대비 웅에서 PO/PS (ISIS 616468)를 갖는 안티센스 화합물의 효능 감소를 보여준다.

[1112] 표 33

[1113] 인간 ApoC III 형질전환 마우스에서 ApoC III 단백질 수준에 대한 ASO 처리의 효과

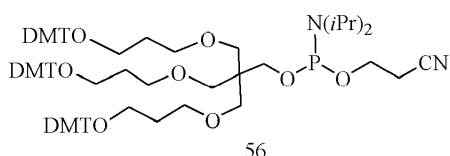
ASO	투여 (mg/kg)	% PBS	3' 콘주게이트	뉴클레오사이드간 연결/길이	서열 번호
PBS	0	99	-	--	

[1114]

ISIS 304801	25 mg/kg/wk 2주 동안	24	없음	전체 PS	2248
ISIS 616468	25 mg/kg/wk 2주 동안	40	없음	14 PS/6 PO	2248

[1115]

[1116] 실시예 27: 화합물 56

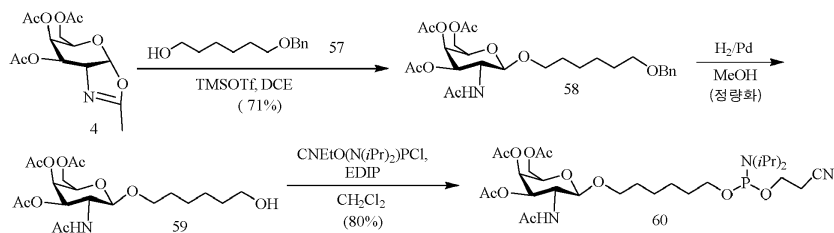


[1117]

[1118] 화합물 56은 Glen Research사부터 상업적으로 이용가능하거나 문헌[Shchepinov 등, Nucleic Acids Research,

1997, 25(22), 4447-4454]에 의해 보고된 공개된 과정에 따라 제조할 수 있다.

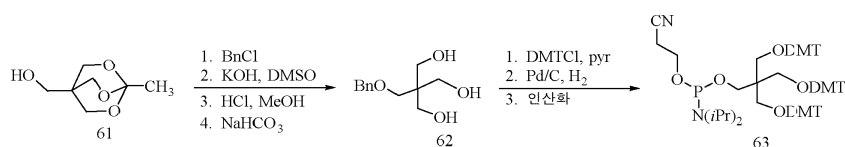
실시예 28: 화합물 60의 제조



화합물 4는 실시예 2에서 실증된 절차에 따라 제조되었다. 화합물 57은 시판되고 있다. 화합물 60을 구조적 분석에 의해 확인하였다.

화합물 57은 대표적인 것으로 여겨지며, 소정의 조성물을 갖는 포스포르아미다이트를 제조하는데 사용될 수 있는 본 명세서에서 제공된 것들을 포함하나 이제 제한되지 않는 다른 단일보호된(monoprotected) 치환된 또는 비치환된 알킬 디올로서 제한되는 것으로 의도되지 않는다.

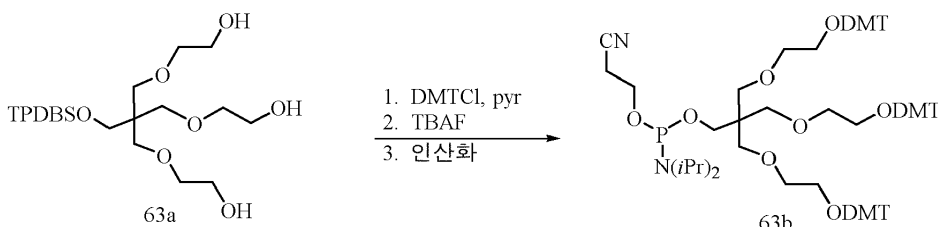
실시예 29: 화합물 63의 제조



화합물 61 및 62를 하기에 의해 보고된 것과 유사한 과정을 이용하여 제조한다: Tober *et al.*, *Eur. J. Org. Chem.*, 2013, 3, 566-577; 및 Jiang *et al.*, *Tetrahedron*, 2007, 63(19), 3982-3988.

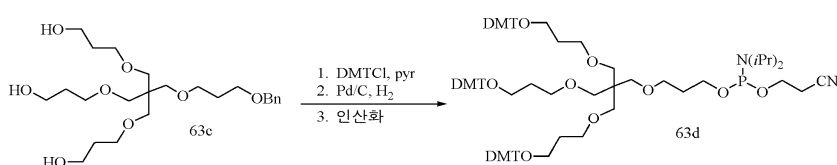
대안적으로, 화합물 63을 Kim *et al.*, *Synlett*, 2003, 12, 1838-1840; 및 Kim *et al.*, 공개된 PCT 국제 출원, WO 2004063208에 의해 과학 및 특허 문헌에 보고된 것과 유사한 과정을 이용하여 제조한다.

실시예 30: 화합물 63b의 제조



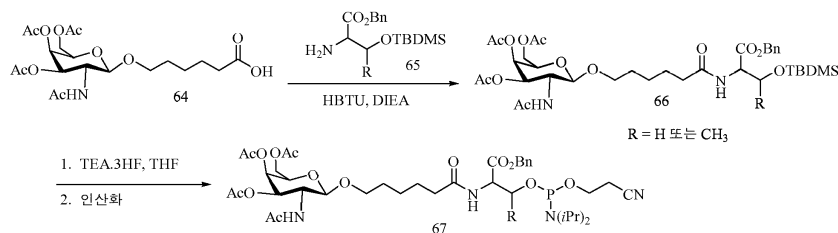
화합물 63a를 하기에 의해 보고된 것들과 유사한 과정을 이용하여 제조한다: Hanessian *et al.*, *Canadian Journal of Chemistry*, 1996, 74(9), 1731-1737.

실시예 31: 화합물 63b의 제조



화합물 63c를 Chen *et al.*, *Chinese Chemical Letters*, 1998, 9(5), 451-453에 의해 보고된 것들과 유사한 과정을 이용하여 제조한다.

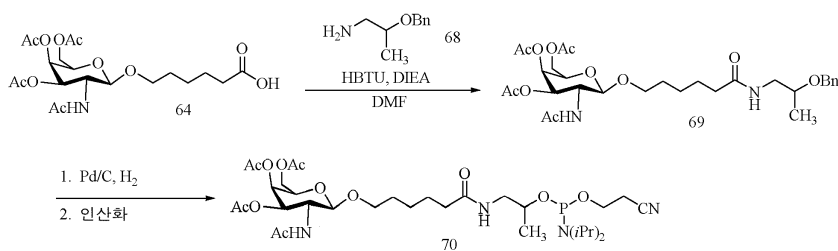
[1133] 실시예 32: 화합물 67의 제조



[1134]

[1135] 화합물 64은 실시예 2에서 실증된 절차에 따라 제조되었다. 화합물 65는 Or 등, 공개된 PCT 국제 출원, WO 2009003009에 의해 보고된 것들과 유사한 과정을 이용하여 제조된다. 화합물 65에 대해 사용된 보호 그룹은 대표적인 것을 의미하며, 사용될 수 있는 본원 명세서에 제시된 것을 포함하나 이에 제한되지 않는 다른 보호 그룹으로서 제한되지 않는 것으로 의도된다.

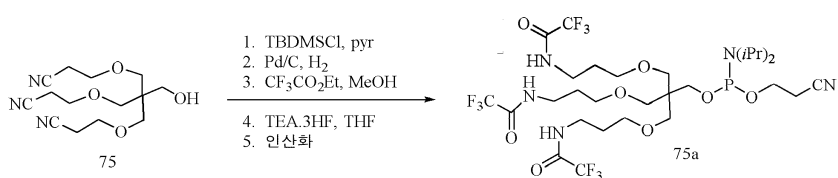
[1136] 실시예 33: 화합물 70의 제조



[1137]

[1138] 화합물 64은 실시예 2에서 실증된 절차에 따라 제조되었다. 화합물 68는 시판되고 있다. 화합물 68에 대해 사용된 보호 그룹은 대표적인 것을 의미하며, 사용될 수 있는 본원 명세서에서 제공된 것들 것 포함하나 이에 제한되지 않는 다른 보호 그룹으로서 제한되는 것으로 의도되지 않는다.

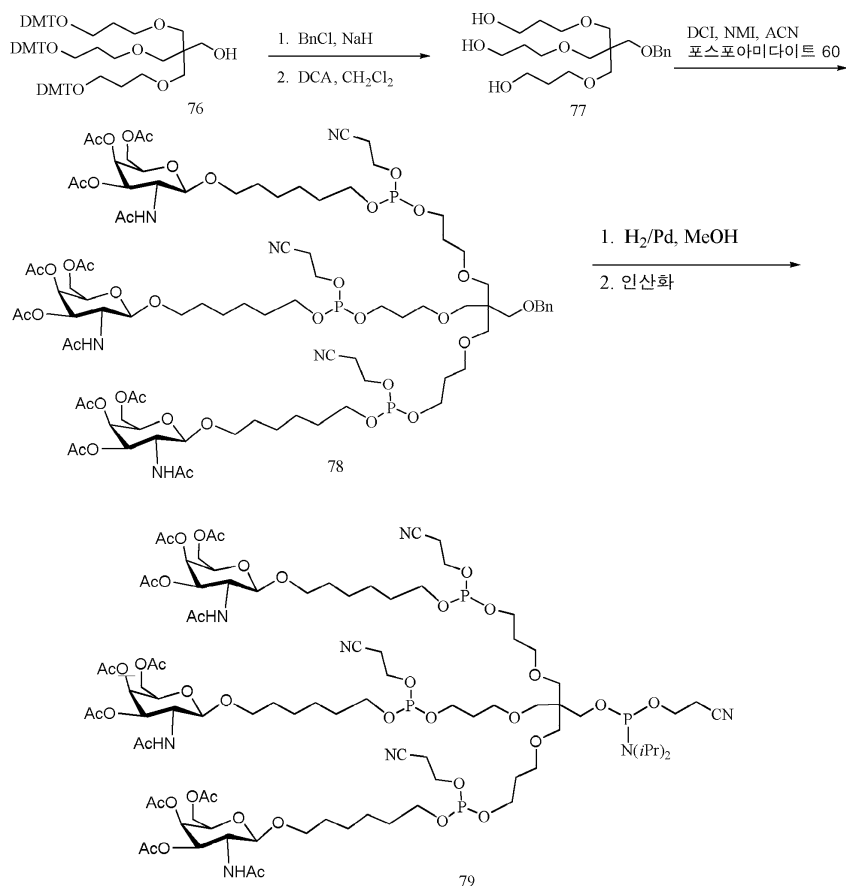
[1139] 실시예 34: 화합물 75a의 제조



[1140]

[1141] 화합물 75를 Shchepinov *et al.*, *Nucleic Acids Research*, 1997, 25(22), 4447-4454에 의해 공개된 과정을 이용하여 제조한다.

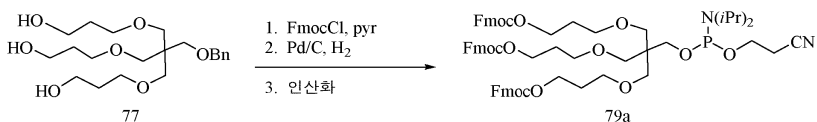
[1142] 실시예 35: 화합물 79의 제조



[1143]

[1144] 화합물 76을 Shchepinov *et al.*, *Nucleic Acids Research*, 1997, 25(22), 4447-4454에 의해 공개된 과정을 이용하여 제조하였다.

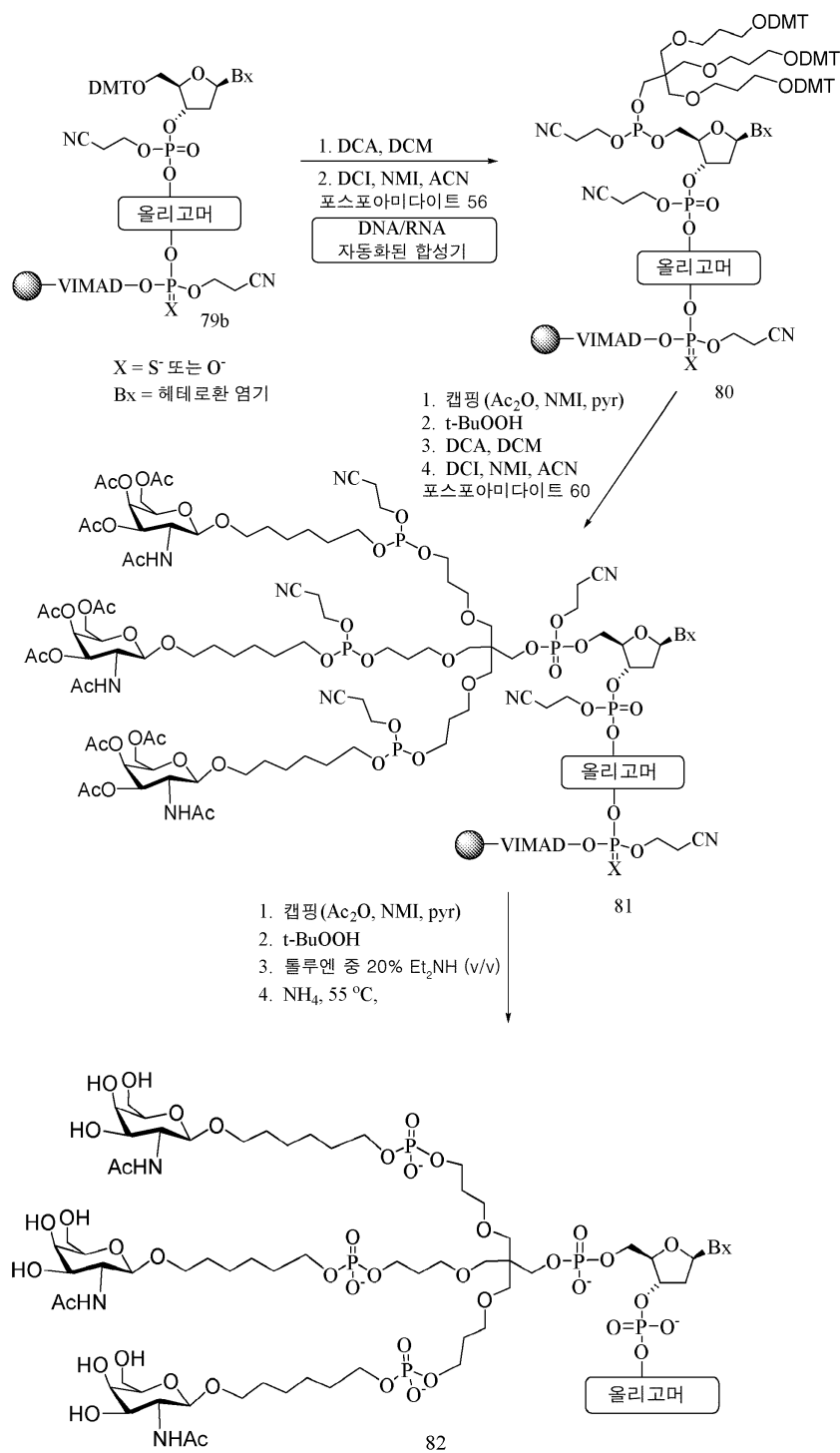
[1145] 실시예 36: 화합물 79a의 제조



[1146]

[1147] 화합물 77은 실시예 35에서 실증된 절차에 따라 제조된다.

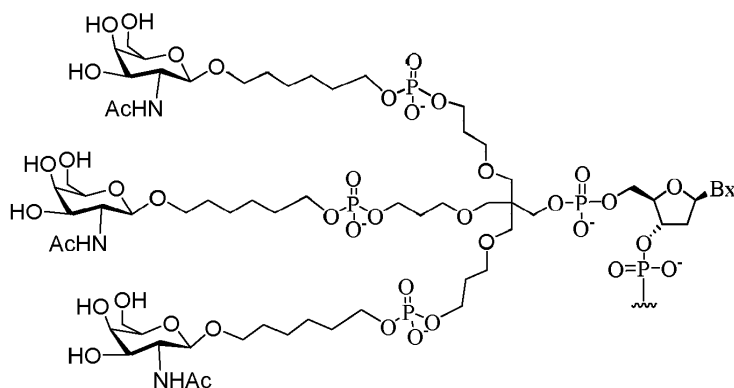
[1148] 실시예 37: 고체 지지체를 통해 5' 말단에 포스포디에스테르 연결된 Ga1NAc₃-2 콘주게이트를 포함하는 콘주게이트된 올리고머 화합물 82의 일반적인 제조 방법 (방법 I)



[1149]

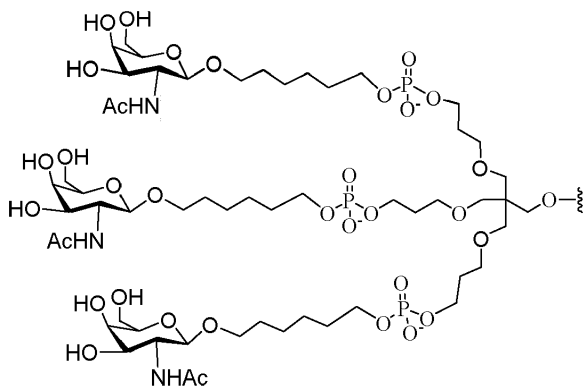
[1150]

[1151] 여기서 $\text{GalNAc}_3\text{-2}$ 은 하기 화학식을 갖는다:



[1152]

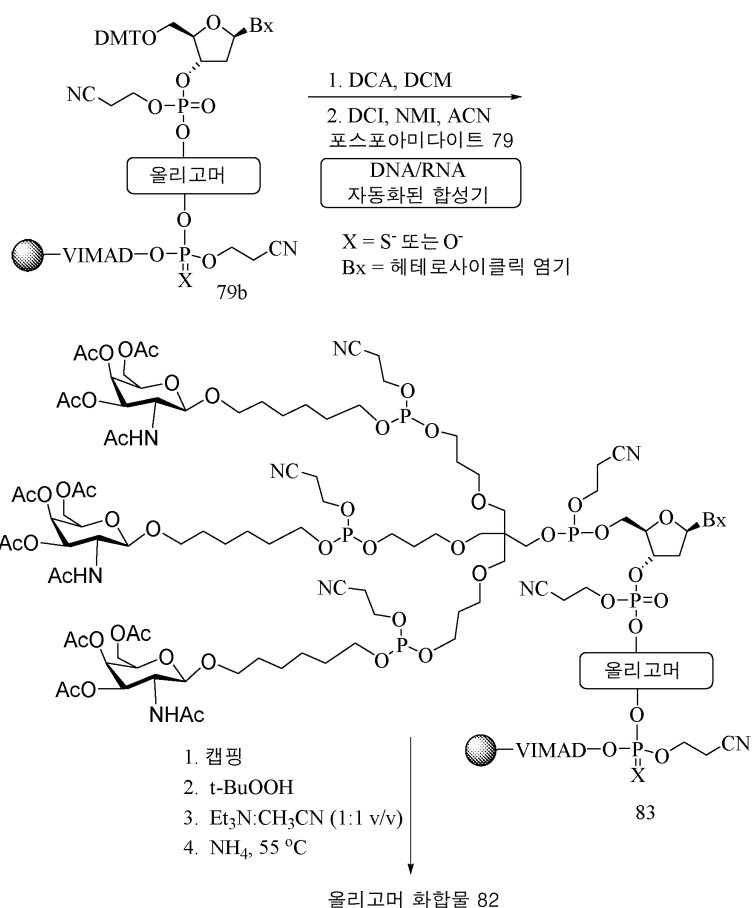
[1153] 콘주게이트 그룹 $\text{GalNAc}_3\text{-2}$ 의 GalNAc_3 클러스터 부분 ($\text{GalNAc}_3\text{-2}_a$)은 임의의 절단가능 모이어티와 조합되어 다양한 콘주게이트 그룹을 제공할 수 있다. 여기서 $\text{GalNAc}_3\text{-2}_a$ 은 하기 화학식을 갖는다:



[1154]

[1155] VIMAD-결합된 올리고머 화합물 79b를 하기에 대한 표준 과정을 이용하여 제조하였다: 자동화된 DNA/RNA 합성 (참고: Dupouy *et al.*, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2006, 45, 3623-3627). 포스포르아미다이트 화합물 56 및 60을 각각 실시예 27 및 28에 예시된 과정에 따라 제조하였다. 실증된 포스포르아미다이트는 대표적인 것으로 여겨지며, 5' 말단에 포스포디에스테르 연결된 콘주게이트 그룹을 갖는 올리고머 화합물을 제조하는데 사용될 수 있는 본 명세서에서 제공된 것들을 포함하나 이에 제한되지 않는 다른 포스포르아미다이트 빌딩 블록으로 한정되는 것으로 의도되지 않는다. 고체 지지체에 부가된 포스포르아미다이트의 순서 및 양은 임의의 소정의 순서 및 조성을 갖는 본원에서 기재된 올리고머 화합물을 제조하기 위해 조정될 수 있다.

[1156] 실시예 38: 5' 말단에 포스포디에스테르 연결된 $\text{GalNAc}_3\text{-2}$ 콘주게이트를 포함하는 올리고머 화합물 82의 대안적인 제조 방법 (방법 II)



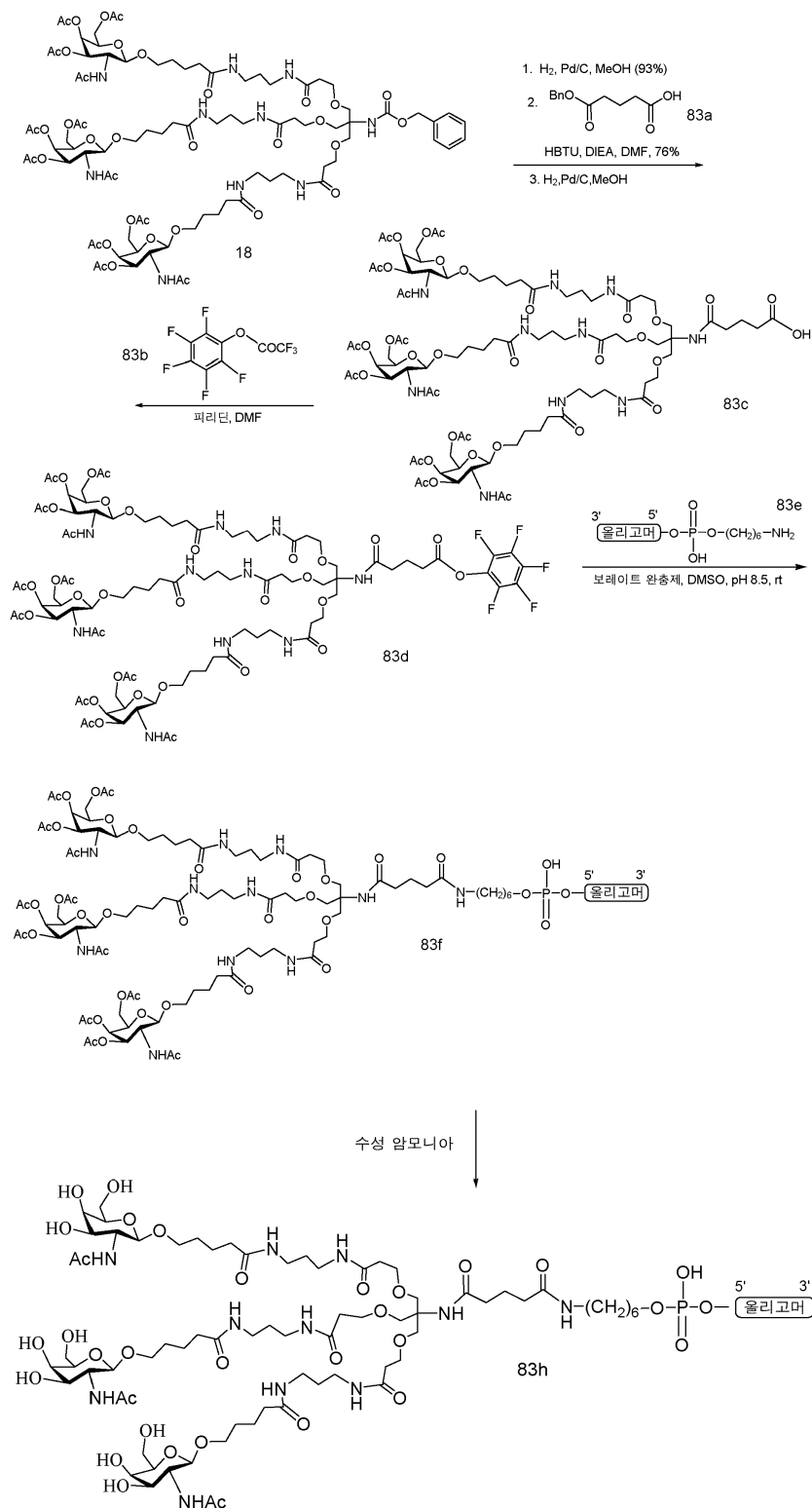
[1157]

[1158]

VIMAD-결합된 올리고머 화합물 79b를 하기에 대한 표준 과정을 이용하여 제조하였다: 자동화된 DNA/RNA 합성 (참고: Dupouy *et al.*, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2006, 45, 3623-3627). Ga1NAc₃-2 클러스터 포스포르아미다이트인 화합물 79를 실시예 35에 예시된 과정에 따라 제조하였다. 이 대안적인 방법은 합성의 최종 단계에서 포스포디에스테르 연결된 Ga1NAc₃-2 콘주게이트의 올리고머 화합물 79의 1-단계 설치를 허용한다. 예시된 포스포르아미다이트는 대표적인 것으로 여겨지며, 5' 말단에 포스포디에스테르 콘주게이트를 갖는 올리고머 화합물을 제조하는데 사용될 수 있는 본 명세서에서 제공된 것들을 포함하나 이에 제한되지 않는 다른 포스포르아미다이트 빌딩 블록으로서 한정되는 것으로 의도되지 않는다. 고체 지지체에 부가된 포스포르아미다이트의 순서 및 양은 임의의 소정의 순서 및 조성을 갖는 본원에서 기재된 올리고머 화합물을 제조하기 위해 조정될 수 있다.

[1159]

실시예 39: 고체 지지체를 통한 5' 말단에 (5' 말단 부착을 위해 변형된 Ga1NAc₃-1) Ga1NAc₃-3 콘주게이트를 포함하는 올리고머 화합물 83h의 일반적인 제조 방법



[1160]

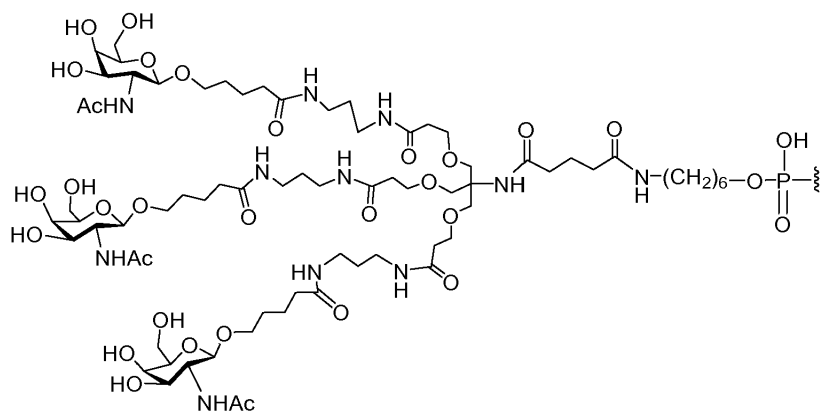
[1161]

[1162]

화합물 18은 실시예 4에서 실증된 절차에 따라 제조되었다. 화합물 83a 및 83b는 상업적으로 이용가능하다. 포스포디에스테르 연결된 핵실아민을 포함하는 올리고머 화합물 83e를 표준 올리고뉴클레오타이드 합성 과정을 이용하여 제조하였다. 암모니아수를 이용한 상기 보호된 올리고머 화합물의 처리는 5'-GalNAc₃-3 콘주게이트된 올리고머 화합물 (83h)을 제공하였다.

[1163]

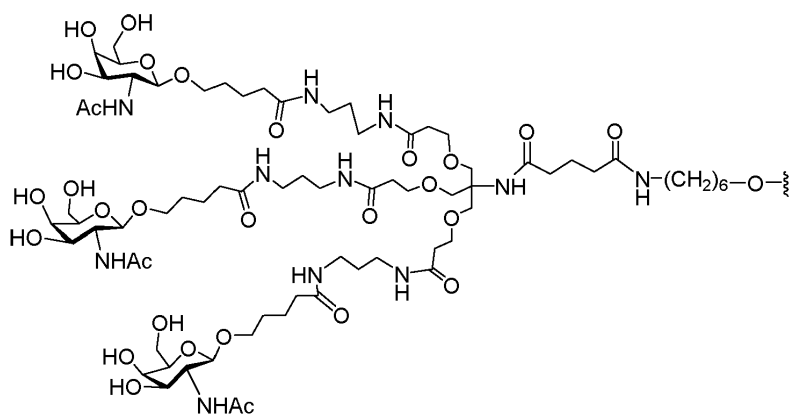
여기서 GalNAc₃-3은 하기 화학식을 갖는다:



[1164]

[1165]

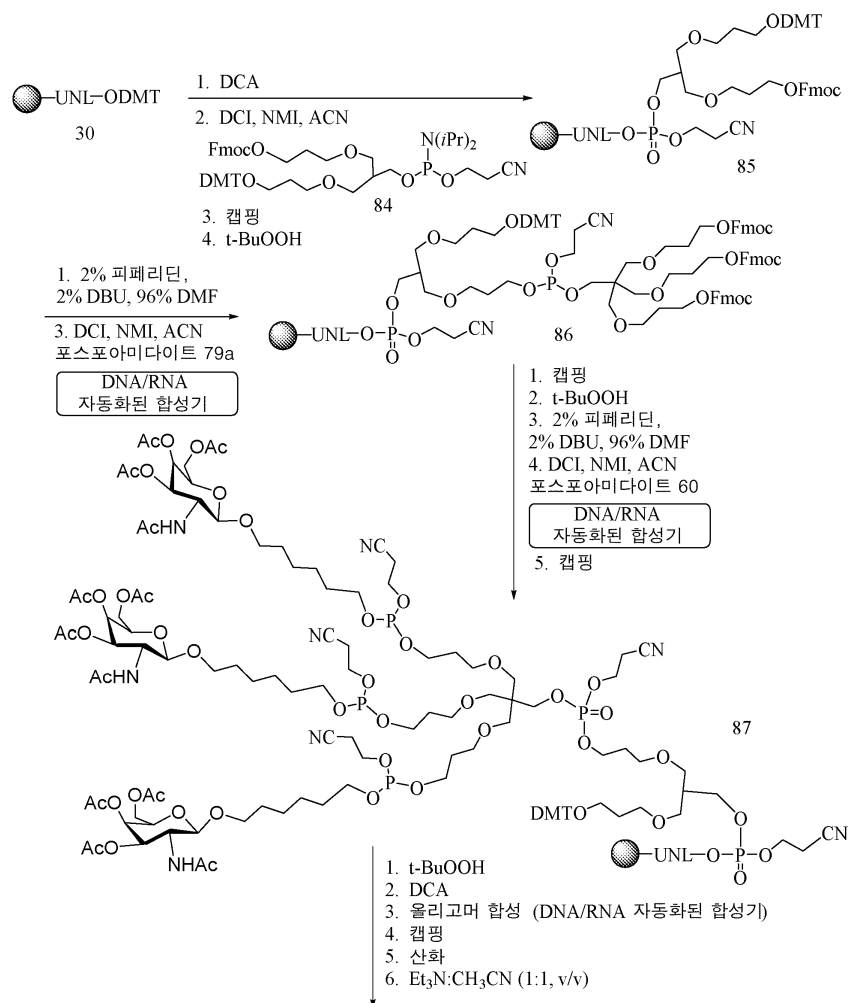
콘주게이트 그룹 GaInAC_3 -3의 GaInAC_3 클러스터 부분 (GaInAC_3 -3_a)은 임의의 절단가능 모이티와 조합되어 다양한 콘주게이트 그룹을 제공할 수 있다. 여기서 GaInAC_3 -3_a는 하기 화학식을 갖는다:



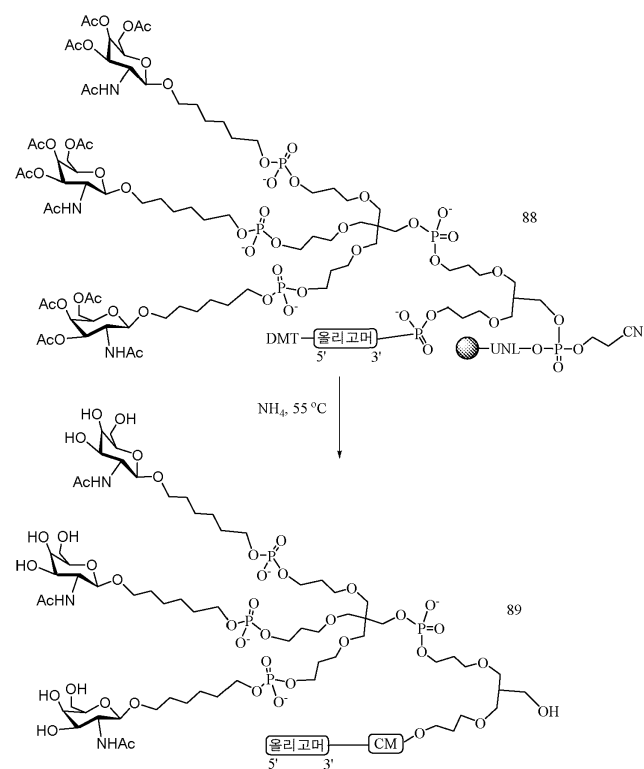
[1166]

[1167]

실시예 40: 고체 지지체를 통해 3' 말단에 포스포디에스테르 연결된 Ga1NAC₃-4 콘주게이트를 포함하는 올리고머 화합물 89의 일반적인 제조 방법

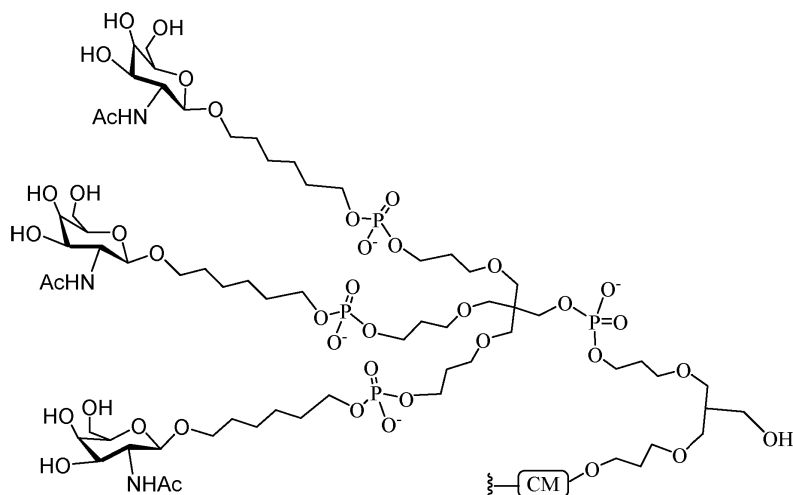


[1168]



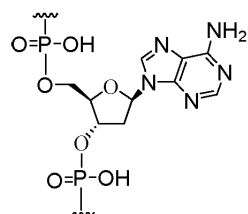
[1169]

[1170] 여기서 GalNAc₃-4은 하기 화학식을 갖는다:



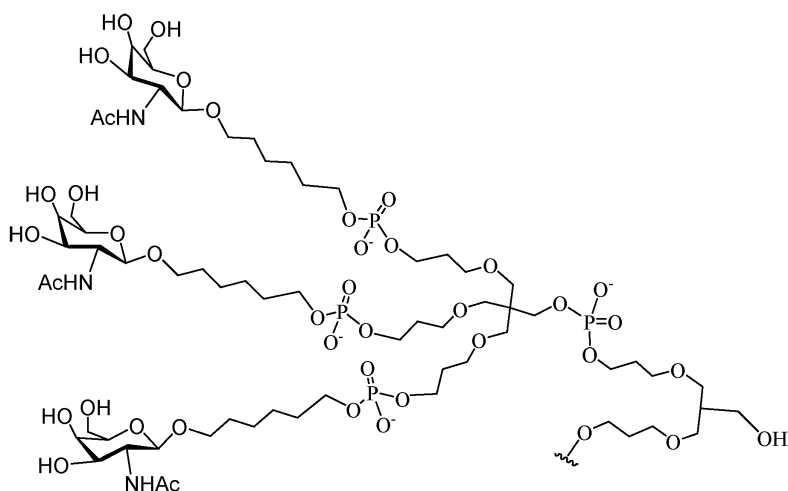
[1171]

[1172] 여기서 CM은 절단가능 모이어티이다. 특정 구현예에서, 절단가능 모이어티는 아래와 같다:



[1173]

[1174] 콘주게이트 그룹 GalNAc₃-4의 GalNAc₃ 클러스터 부분 (GalNAc₃-4_a)은 임의의 절단가능 모이어티와 조합되어 다양한 콘주게이트 그룹을 제공할 수 있다. 여기서 GalNAc₃-4_a은 하기 화학식을 갖는다:



[1175]

[1176] 보호된 Unylinker 관능화된 고체 지지체 화합물 30은 상업적으로 이용가능하다. 화합물 84는 문헌에 의해 보고된 것과 유사한 과정을 이용하여 제조된다: (hchepinov *et al.*, *Nucleic Acids Research*, 1997, 25(22), 4447-4454; Shchepinov *et al.*, *Nucleic Acids Research*, 1999, 27, 3035-3041; 및 Horner *et al.*, *Nucleic Acids Research*, 1997, 25, 4842-4849 참조).

[1177] 포스포르아미다이트 빌딩 블록, 화합물 60 및 79a를 실시예 28 및 36에 예시된 과정에 따라 제조한다. 예시된 포스포르아미다이트는 대표적인 것으로 여겨지며, 소정의 순서 및 조성으로 3' 말단에 포스포디에스테르 연결된 콘주게이트를 갖는 올리고머 화합물을 제조하는데 사용될 수 있는 다른 포스포르아미다이트 빌딩 블록로서 제한되는 것으로 의도되지 않는다. 고체 지지체에 부가된 포스포르아미다이트의 순서 및 양은 임의의 소정의 순서 및 조성을 갖는 본원에서 기재된 올리고머 화합물을 제조하기 위해 조정될 수 있다.

[1178] 실시예 41: 고체상 기술을 통해 5' 위치에 포스포디에스테르 연결된 Ga1NAc₃-2 (실시예 37 참고, Bx는 아데닌임) 콘주게이트를 포함하는 ASO의 일반적인 제조 방법(ISIS 661134의 제조)

[1179] 달리 언급되지 않으면, 올리고머 화합물의 합성을 위해 사용된 모든 시약 및 용액은 상업적 공급원으로부터 구매된다. 표준 포스포르아미다이트 빌딩 블록 및 고체 지지체는, 예를 들면 T, A, G, 및 ¹⁸C 잔기를 포함하는 뉴클레오타이드 잔기의 혼입을 위해 사용된다. 사용된 포스포르아미다이트 화합물 56 및 60을 5' 말단에 포스포디에스테르 연결된 Ga1NAc₃-2 콘주게이트를 합성하기 위해 사용하였다. 무수 아세토니트릴 중의 포스포르아미다이트의 0.1 M 용액을 β-D-2'-데옥시리보뉴클레오타이드 및 2'-MOE에 사용하였다.

[1180] ASO 합성을 칼럼 내에 패키징된 VIMAD 고체 지지체 (110 μmol/g, Guzaev et al., 2003) 상의 포스포르아미다이트 커플링 방법에 의해 ABI 394 합성기 (1-2 μmol 크기) 또는 GE Healthcare Bioscience ÄKTA 올리고파일럿 합성기 (40-200 μmol 크기) 상에서 수행하였다. 커플링 단계의 경우, 포스포르아미다이트를 고체 지지체의 초기 기로딩에 대해 4배 과량으로 전달하였고, 포스포르아미다이트 커플링을 10분 동안 수행하였다. 모든 다른 단계는 제조자에 의해 공급된 표준 프로토콜을 따랐다. 톨루엔 중의 6% 디클로로아세트산 용액을 뉴클레오타이드의 5'-하이드록실 군으로부터 디메톡시트리틸 (DMT) 그룹을 제거하는데 사용하였다. 무수 CH₃CN 중 4,5-디시아노이미다졸 (0.7 M)은 커플링 단계 동안에 활성화제로서 사용되었다. 포스포로티오에이트 연결을 3분의 접촉 시간 동안에 1:1 피리딘/CH₃CN 중의 크산탄 하이드라이드의 0.1 M 용액을 이용한 황화에 의해 도입하였다. 6% 물을 함유하는 CH₃CN 중의 20% tert-부틸하이드로퍼옥사이드의 용액을 산화제로서 사용하여 12분의 접촉 시간으로 포스포디에스테르 뉴클레오타이드간 연결을 제공하였다.

[1181] 원하는 서열이 조립된 후, 시아노에틸 포스페이트 보호 그룹을 45분의 접촉 시간으로 톨루엔 (v/v) 중의 20% 디에틸아민을 이용하여 탈보호시켰다. 상기 고체-지지체 결합된 ASO를 암모니아수 (28-30 중량 %)에 현탁시키고 55 에서 6시간 동안 가열하였다.

[1182] 그리고 나서, 미결합된 ASO를 여과하고 암모니아를 가열로 제거하였다. 잔류물을 강한 음이온 교환 칼럼 상에서 고압 액체 크로마토그래피에 의해 정제하였다(GE Healthcare Bioscience, Source 30Q, 30 μm, 2.54 x 8 cm, A = 30% 수성 CH₃CN 중의 100 mM 암모늄 아세테이트, B = A 중의 1.5 M NaBr, 60분에 0-40%의 B, 유량 14 mL min⁻¹, λ = 260 nm). 잔류물을 역상 칼럼 상의 HPLC에 의해 탈염하여, 고체 지지체 상의 초기 로딩을 기준으로 15-30%의 단리된 수율로 원하는 ASO를 얻었다. ASO를 Agilent 1100 MSD 시스템을 갖는 이온-쌍-HPLC 커플링된 MS 분석에 의해 규명하였다.

[1183] 표 34

[1184] SRB-1를 표적화하는 5' 위치에 포스포디에스테르 연결된 Ga1NAc₃-2 콘주게이트를 포함하는 ASO

ISIS 번호	서열 (5' 내지 3')	산출된 질량	관찰된 질량	서열 번호
661134	Ga1NAc₃-2_a - o - A₀ T _{ks} ^m C _{ks} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ks} ^m C _k	6482.2	6481.6	2254

[1185]

[1186] 하첨자: 하첨자: "e"는 2'-MOE 변형된 뉴클레오타이드를 나타내고; "d"는 β-D-2'-데옥시리보뉴클레오타이드를 나타내고; "k"는 6' -(S)-CH₃ 이환식 뉴클레오타이드 (예를 들면 cEt)를 나타내고; "s"는 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 (PS)을 나타내고; "o"는 포스포디에스테르 뉴클레오타이드간 연결 (PO)을 나타내고; 그리고 "o'"는 -O-P(=O)(OH)-를 나타낸다.상첨자 "m"은 5-메틸시토신을 나타낸다. "Ga1NAc₃-2_a"의 구조가 실시예 37에 나타나 있다.

[1187] 실시예 42: 고체상 기술을 통해 5' 위치에 Ga1NAc₃-3 콘주게이트를 포함하는 ASO의 일반적인 제조 방법(ISIS 661166의 제조)

[1188] ISIS 661166을 위한 합성을 실시예 39 및 41에 예시된 것과 유사한 과정을 이용하여 수행하였다.

[1189] ISIS 661166은 5-10-5 MOE 캡머이며, 상기 5' 위치는 Ga1NAc₃-3 콘주게이트를 포함한다. ASO를 Agilent 1100 MSD 시스템을 갖는 이온-쌍-HPLC 커플링된 MS 분석에 의해 규명하였다.

[1190] 표 34a

[1191] **Malat-1을 표적화하는 핵심아미노 포스포디에스테르 연결을 통한 5' 위치에서의 GalNAc₃-3 콘주게이트를 포함하는 ASO**

ISIS 번호	서열 (5' 내지 3')	콘주게이트	산출된 질량	관찰된 질량	서열 번호
661166	5'-GalNAc ₃ -3 _{a-o} ^m C _{es} G _{es} G _{es} T _{es} G _{es} ^m C _{ds} A _{ds} A _{ds} G _{ds} G _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ds} A _{ds} G _{ds} G _{es} A _{es} A _{es} T _{es} T _e	5'-GalNAc ₃ -3	8992.16	8990.51	2255

[1192]

[1193] 하첨자: "e"는 2'-MOE 변형된 뉴클레오타이드를 나타내고; "d"는 β-D-2'-데옥시리보뉴클레오타이드를 나타내고; "s"는 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 (PS)을 나타내고; "o"는 포스포디에스테르 뉴클레오타이드간 연결 (PO)을 나타내고; 그리고 "o'"는 -O-P(=O)(OH)-를 나타낸다. 상첨자 "m"은 5-메틸시토신을 나타낸다. "5' - GalNAc₃-3a"의 구조가 실시예 39에 나타나 있다.

[1194] **실시예 43: 생체내에서 SRB-1을 표적화하는 5' 말단에서의 포스포디에스테르 연결된 GalNAc₃-2 (실시예 37 및 41 참고, Bx는 아데닌임)의 용량-의존적 연구**

[1195] 5' 말단에 포스포디에스테르 연결된 GalNAc₃-2 콘주게이트를 포함하는 ISIS 661134 (실시예 41 참고)를 마우스에서 SRB-1의 안티센스 억제제를 위해 용량-의존적 연구에서 시험하였다. 비콘주게이트된 ISIS 440762 및 651900 (3' 말단에 GalNAc₃-1 콘주게이트, 실시예 9 참고)를 비교를 위해 연구에 포함시켰고, 이들은 앞서 표 17에 기재되어 있다.

[1196] 치료

[1197] 6 주령 수컷 Balb/c 마우스 (Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME)에게 ISIS 440762, 651900, 661134 또는 PBS 처리된 대조군으로 하기 제시된 투여량으로 피하로 1회 주입하였다. 각 처리 그룹은 4 마리의 동물로 구성되었다. 마우스는 최종 투여로부터 72 시간 후에 희생되었고 표준 프로토콜에 따라 실시간 PCR 및 RIBOGREEN® RNA 정량화 시약을 사용하여 간 SRB-1 mRNA 수준을 측정했다 (Molecular Probes, Inc. Eugene, OR). SRB-1 mRNA 수준을 PBS-처리된 대조군에 대해 정규화하기 전에 총 RNA에 대해 결정하였다(리보그린을 이용하여). 아래의 결과는 PBS-처리된 대조군에 정규화된, 각 처리 그룹에 대한 SRB-1 mRNA 수준의 평균 퍼센트로서 제시되어 있고, "PBS %"로서 표시되어 있다. ED₅₀은 전에 기재된 것과 유사한 방법을 사용하여 측정되었고 아래에서 제공된다.

[1198] 표 35에 예시된 바와 같이, 안티센스 올리고뉴클레오타이드 처리는 SRB-1 mRNA 수준을 용량-의존적 방식으로 낮추었다. 사실상, 5' 말단에 포스포디에스테르 연결된 GalNAc₃-2 콘주게이트를 포함하는 안티센스 올리고뉴클레오타이드 (ISIS 661134) 또는 3' 말단에 연결된 GalNAc₃-1 콘주게이트를 포함하는 안티센스 올리고뉴클레오타이드 (ISIS 651900)는 비콘주게이트된 안티센스 올리고뉴클레오타이드 (ISIS 440762)와 비교하여 실질적인 효능 개선을 나타내었다. 게다가, 5' 말단에 포스포디에스테르 연결된 GalNAc₃-2 콘주게이트를 포함하는 ISIS 661134는 3' 말단에 GalNAc₃-1 콘주게이트를 포함하는 ISIS 651900과 비교하여 효능이 동등하였다.

[1199] 표 35

[1200] SRB-1을 표적으로 하는 GalNAc₃-1 또는 GalNAc₃-2를 함유하는 ASO

ISIS 번호	투여량 (mg/kg)	SRB-1 mRNA 수준 (% PBS)	ED ₅₀ (mg/kg)	콘주게이트	서열 번호
PBS	0	100	--	--	
440762	0.2	116	2.58	콘주게이트 없음	2250
	0.7	91			
	2	69			
	7	22			
	20	5			
651900	0.07	95	0.26	3' GalNAc ₃ -1	2251
	0.2	77			
	0.7	28			
	2	11			
	7	8			
661134	0.07	107	0.25	5' GalNAc ₃ -2	2254
	0.2	86			
	0.7	28			
	2	10			
	7	6			

[1201]

[1202] 3' GalNAc₃-1 및 5' GalNAc₃-2에 대한 구조는 실시예 9 및 37에 앞서 기술되었다.

[1203] 약동학 분석 (PK)

[1204] 고용량 그룹 (7 mg/kg)으로부터의 ASO의 PK를 조사하고 실시예 20에 예시된 것과 동일한 방식으로 평가하였다. 간 샘플을 갖고 표준 프로토콜을 사용하여 추출하였다. 661134 (5' GalNAc₃-2) 및 ISIS 651900 (3' GalNAc₃-1)의 전장 대사물을 확인하고 이들의 질량을 고분해능 질량 분광분석법 분석에 의해 확인하였다. 상기 결과는 5' 말단에 포스포디에스테르 연결된 GalNAc₃-2 콘주게이트를 포함하는 ASO (ISIS 661134)에 대해 검출된 주요 대사물이 ISIS 440762였음을 보여주었다 (데이터 도시되지 않음). 검출가능한 수준에서 추가의 대사물이 관찰되지 않았다. 그의 대응물과 달리, 표 23a에서 이전에 보고된 것과 유사한 추가의 대사물이 3' 말단에 GalNAc₃-1 콘주게이트를 갖는 ASO에 대해 관찰되었다 (ISIS 651900). 이들 결과는, 포스포디에스테르 연결된 GalNAc₃-1 또는 GalNAc₃-2 콘주게이트를 갖는 것이 그것의 효능을 없애지 않고 ASO의 PK 프로파일을 개선할 수 있음을 제시한다.

[1205] 실시예 44: SRB-1을 표적화하는 3' 말단에 GalNAc₃-1 콘주게이트를 포함하는 ASO (실시예 9 참고)의 안티센스 억제에 대한 PO/PS 연결의 효과

[1206] 각각 SRB-1을 표적화하는 3' 말단에 GalNAc₃-1 콘주게이트를 포함하는 ISIS 655861 및 655862를 대상으로 단일 투여 연구에서 마우스에서 SRB-1을 억제하는 이들의 능력을 시험하였다. 모 비콘주게이트된 화합물인 ISIS 353382를 비교를 위해 연구에 포함시켰다.

[1207] ASO는 5'-10-5 MOE 캡머이며, 상기 캡 영역은 10개의 2'-데옥시리보뉴클레오시드를 포함하고 각 윙 영역은 5개의 2'-MOE 변형된 뉴클레오시드를 포함한다. ASO를 실시예 19에서 앞서 예시된 것과 유사한 방법을 이용하여 제조하였고 이는 하기 표 36에 기술되어 있다.

[1208] 표 36

[1209] SRB-1를 표적화하는 3' 말단에 GalNAc₃-1 콘주게이트를 포함하는 변형된 ASO

ISIS 번호	서열 (5' 내지 3')	화학성질	서열 번호
353382 (모체)	G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} T _{es} T _e	콘주게이트 없음	2256
655861	G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{eo} A _{do} ^m -GalNAc ₃ -1 _a	GalNAc ₃ -1 콘주게이트를 갖는 전체 PS	2257
655862	G _{es} ^m C _{eo} T _{eo} T _{eo} ^m C _{eo} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{eo} ^m C _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{eo} A _{do} ^m -GalNAc ₃ -1 _a	GalNAc ₃ -1 콘주게이트를 갖는 혼합 PS/PO	2257

[1210]

[1211] 하첨자: "e"는 2'-MOE 변형된 뉴클레오시드를 나타내고; "d"는 β-D-2'-데옥시리보뉴클레오시드를 나타내고; "s"는 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결 (PS)을 나타내고; "o"는 포스포디에스테르 뉴클레오시드간 연결 (PO)을 나타내고; 그리고 "o'"는 -O-P(=O)(OH)-를 나타낸다. 상첨자 "m"은 5-메틸시토신을 나타낸다. "GalNAc₃-1a"의 구조가 실시예 9에 나타나 있다.

[1212] 치료

[1213] 6 주령 수컷 Balb/c 마우스 (Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME)에게 ISIS 353382, 655861, 655862 또는 PBS 처리된 대조군으로 하기 제시된 투여량으로 피하로 1회 주입하였다. 각 처리 그룹은 4 마리의 동물로 구성되었다. 처리 전에 뿐만 아니라 마지막 용량 후에, 혈액을 각 마우스로부터 채혈하고 혈장 샘플을 분석하였다. 마우스는 최종 투여로부터 72 시간 후에 희생되었고 표준 프로토콜에 따라 실시간 PCR 및 RIBOGREEN® RNA 정량화 시약을 사용하여 간 SRB-1 mRNA 수준을 측정했다 (Molecular Probes, Inc. Eugene, OR). SRB-1 mRNA 수준을 PBS-처리된 대조군에 대해 정규화하기 전에 총 RNA에 대해 결정하였다(리보그린을 이용하여). 아래의 결과는 PBS-처리된 대조군에 정규화된, 각 처리 그룹에 대한 SRB-1 mRNA 수준의 평균 퍼센트로서 제시되어 있고, "PBS %"로서 표시되어 있다. ED₅₀은 전에 기재된 것과 유사한 방법을 사용하여 측정되었고 아래에서 보고된다.

[1214] 표 37에서 예시된 바와 같이, 안티센스 올리고뉴클레오타이드 처리는 PBS 처리된 대조군과 비교하여 용량-의존 방식으로 SRB-1 mRNA 수준을 낮추었다. 사실상, 3' 말단에 GalNAc₃-1 콘주게이트를 포함하는 안티센스 올리고뉴클레오타이드 (ISIS 655861 및 655862)는 비콘주게이트된 안티센스 올리고뉴클레오타이드 (ISIS 353382)와 비교하여 실질적인 효능 개선을 나타내었다. 게다가, 혼합된 PS/PO 연결을 갖는 ISIS 655862는 전체 PS (ISIS 655861)와 비교하여 효능 개선을 나타내었다.

[1215] 표 37

[1216] SRB-1를 표적화하는 3' 말단에 GalNAc₃-1 콘주게이트를 포함하는 ASO의 안티센스 억제에 대한 PO/PS 연결의 효과

ISIS 번호	투여량 (mg/kg)	SRB-1 mRNA 수준 (% PBS)	ED ₅₀ (mg/kg)	화학성질	서열 번호
PBS	0	100	--	--	
353382 (모체)	3	76.65	10.4	콘주게이트 없는 전체 PS	2256
	10	52.40			
	30	24.95			
655861	0.5	81.22	2.2	GalNAc ₃ -1 콘주게이트를 갖는 전체 PS	2257
	1.5	63.51			
	5	24.61			
	15	14.80			
655862	0.5	69.57	1.3	GalNAc ₃ -1 콘주게이트를 갖는 혼합 PS/PO	2257
	1.5	45.78			
	5	19.70			
	15	12.90			

[1217]

[1218] 혈청 중 간 트랜스아미나제 수준, 알라닌 트랜스아미나제 (ALT) 및 아스파르테이트 트랜스아미나제 (AST)는, 표준 프로토콜을 사용하여 염수 주입된 마우스에 대해 측정되었다. 장기 중량을 또한 평가하였다. 상기 결과는 PBS 대조군과 비교하여 ASO 처리된 마우스에서 트랜스아미나제 수준 (표 38) 또는 장기 중량 (데이터 도시되지 않음)의 상승이 관찰되지 않았음을 입증하였다 (데이터 도시되지 않음). 게다가, 혼합된 PS/PO 연결을 갖는 ASO

(ISIS 655862)는 전체 PS (ISIS 655861)와 비교하여 유사한 트랜스아미나제 수준을 나타내었다.

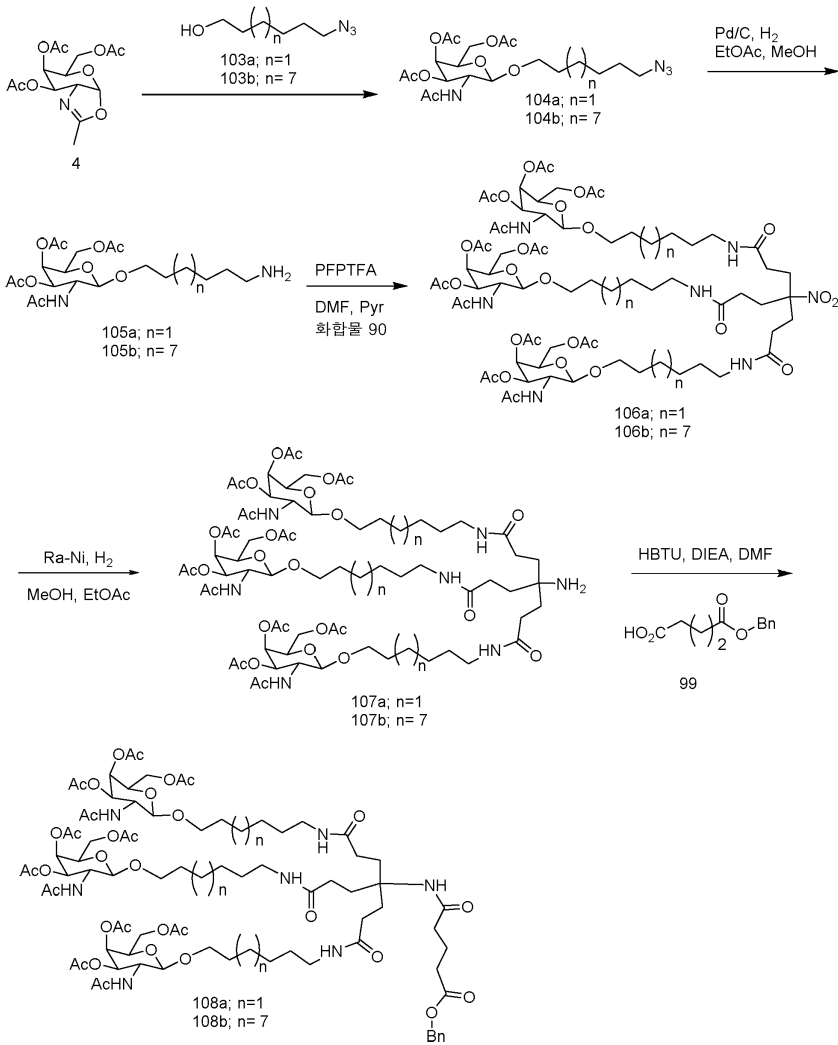
표 38

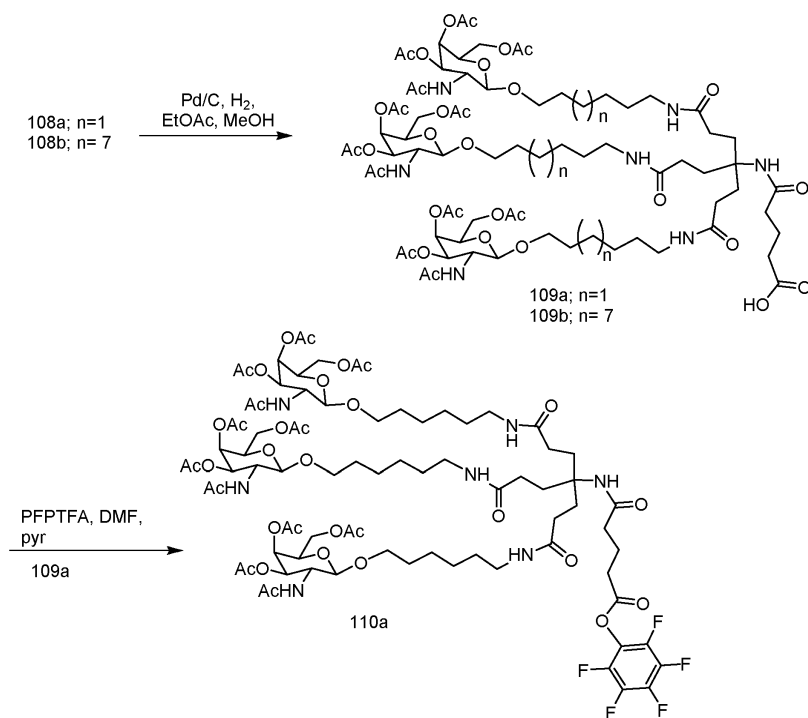
SRB-1를 표적화하는 3' 말단에 GaINAc₃-1 콘주게이트를 포함하는 ASO의 트랜스아미나제 수준에 대한 PO/PS 연결의 효과

ISIS 번호	투여량 (mg/kg)	ALT (U/L)	AST (U/L)	화학성질	서열 번호
PBS	0	28.5	65	--	
353382 (모체)	3	50.25	89	콘주게이트 없는 전체 PS	2256
	10	27.5	79.3		
	30	27.3	97		

655861	0.5	28	55.7	GaINAc ₃ -1 갖는 전체 PS	2257
	1.5	30	78		
	5	29	63.5		
	15	28.8	67.8		
655862	0.5	50	75.5	GaINAc ₃ -1 갖는 혼합 PS/PO	2257
	1.5	21.7	58.5		
	5	29.3	69		
	15	22	61		

실시예 45: PFP 에스테르, 화합물 110a의 제조





[1225]

[1226]

화합물 4 (9.5g, 28.8 mmol)를 개별적으로 화합물 103a 또는 103b (38 mmol), 및 디클로로메탄 (200 mL) 중 TMSOTf (0.5 eq.) 및 분자체로 처리하고, 16시간 동안 실온에서 교반하였다. 이 때, 유기 층을 셀라이트를 통해 여과한 다음 중탄산나트륨, 물 및 염수로 세정하였다. 그 다음 유기층을 분리하고 황산나트륨 상에서 건조하고, 여과하고 감압 하에서 환원시켰다. 얻어진 오일을 실리카겔 크로마토그래피 (2%-->10% 메탄올/디클로로메탄)로 정제하여 >80% 수율로 화합물 104a 및 104b를 얻었다. LCMS 및 양성자 NMR은 상기 구조와 일치하였다.

[1227]

화합물 104a 및 104b를 화합물 100a-d (실시예 47)와 동일한 조건으로 처리하여>90% 수율로 화합물 105a 및 105b를 얻었다. LCMS 및 양성자 NMR은 상기 구조와 일치하였다.

[1228]

화합물 105a 및 105b를 화합물 901a-d와 동일한 조건 하에서 화합물 90으로 개별적으로 처리하여, 화합물 106a (80%) 및 106b (20%)를 얻었다. LCMS 및 양성자 NMR은 상기 구조와 일치하였다.

[1229]

화합물 106a 및 106b를 화합물 96a-d (실시예 47)와 동일한 조건 하에서 처리하여 107a (60%) 및 107b (20%)를 얻었다. LCMS 및 양성자 NMR은 상기 구조와 일치하였다.

[1230]

화합물 107a 및 107b를 화합물 97a-d (실시예 47)와 동일한 조건 하에서 처리하여, 화합물 108a 및 108b를 40-60% 수율로 얻었다. LCMS 및 양성자 NMR은 상기 구조와 일치하였다.

[1231]

화합물 108a (60%) 및 108b (40%)을 화합물 100a-d (실시예 47)와 동일한 조건으로 처리하여, 화합물 109a 및 109b를 >80% 수율로 얻었다. LCMS 및 양성자 NMR은 상기 구조와 일치하였다.

[1232]

화합물 109a를 화합물 101a-d (실시예 47)와 동일한 조건 하에서 처리하여, 화합물 110a를 30-60% 수율로 얻었다. LCMS 및 양성자 NMR은 상기 구조와 일치하였다. 대안적으로, 화합물 110b는 화합물 109b로 시작하는 개시되는 유사한 방식으로 제조될 수 있다.

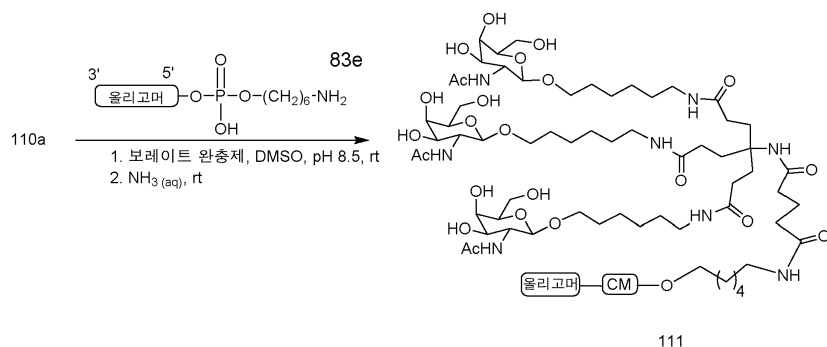
[1233]

실시예 46: PFP 에스테르 (올리고뉴클레오타이드 111)과의 콘주게이션을 위한 일반적인 절차; ISIS 666881 (GalNAc₃-10)의 제조

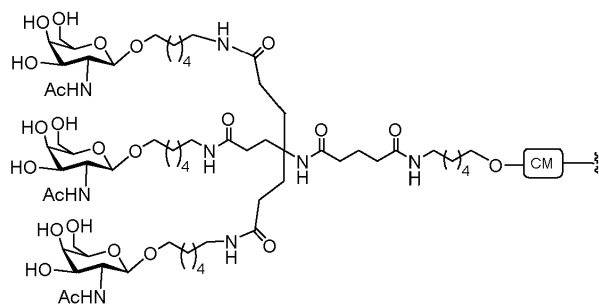
[1234]

5'-핵심아미노 변형된 올리고뉴클레오타이드를 합성하고 표준 고체상 올리고뉴클레오타이드 과정을 이용하여 정제하였다. 5'-핵심아미노 변형된 올리고뉴클레오타이드를 0.1 M 나트륨 테트라보레이트, pH 8.5 (200 μ L)에 용해시키고 DMSO (50 μ L)에 용해된 3 당량의 선택된 PFP 에스테르화된 GalNAc₃ 클러스터를 추가하였다. 만약 PFP 에스테르가 ASO 용액 부가시 침전되면, 모든 PFP 에스테르가 용액 내에 있을 때까지 DMSO를 추가하였다. 반응은 실온에서 약 16시간 혼합 후 완료하였다. 수득한 용액을 12 mL의 물로 희석한 다음 스핀 필터에서 3000 Da의 질량 컷오프로 3000 rpm으로 스펀다운하였다. 이 과정을 2회 반복하여 소분자 불순물을 제거하였다. 그 다음 용액을 동결건조하고 농축된 암모니아수에서 재용해하고 실온에서 2.5시간 동안 혼합한 다음 진공에서 농축하여 대부분

의 암모니아를 제거하였다. 콘주게이트된 올리고뉴클레오타이드를 정제하고 RP-HPLC로 탈염하고 동결건조하여 GalNAc₃ 콘주게이트된 올리고뉴클레오타이드를 제공하였다.



올리고뉴클레오타이드 111은 GalNAc₃-10과 콘주게이트된다. 콘주게이트 그룹 GalNAc₃-10의 GalNAc₃ 클러스터 부분 (GalNAc₃-10_a)은 임의의 절단가능 모이어티와 조합되어 다양한 콘주게이트 그룹을 제공할 수 있다. 특정 구현예에서, 절단가능 모이어티는 하기 GalNAc₃-10을 이용하여 합성된 올리고뉴클레오타이드 (ISIS 666881)에서 나타난 바와 같은 -P(=O)(OH)-A_d-P(=O)(OH)-이다. GalNAc₃-10 (GalNAc₃-10_a-CM-)의 구조는 하기와 같다:



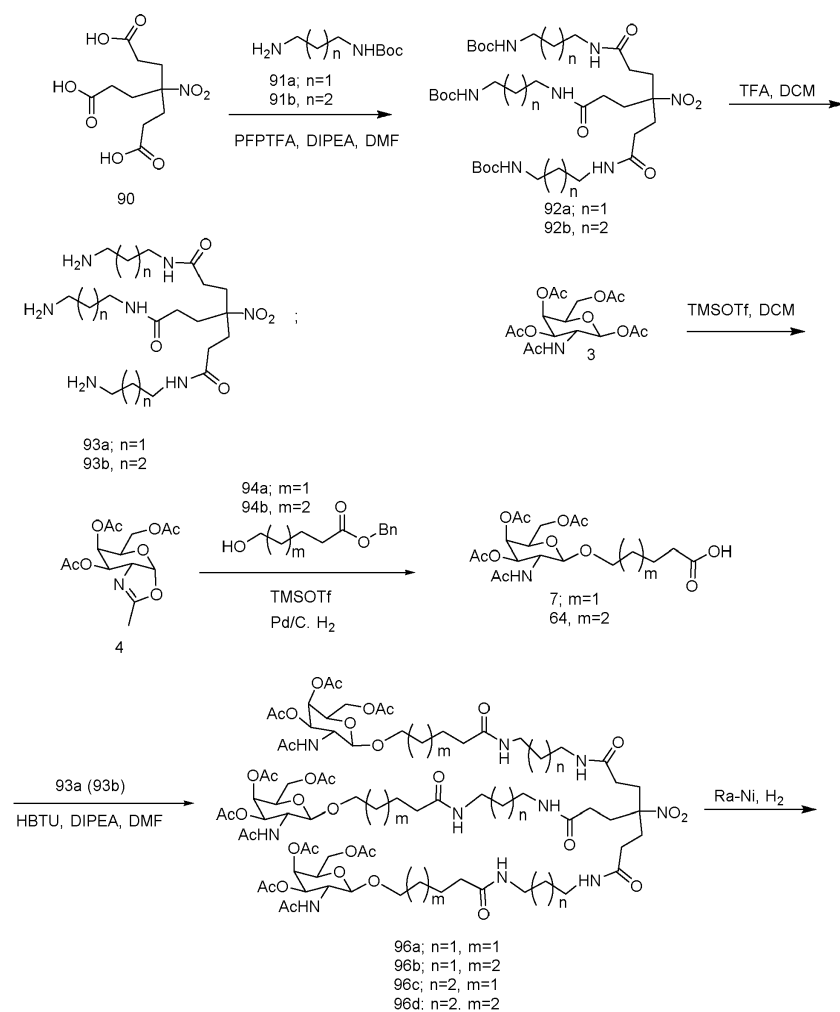
일반적인 절차에 따라 ISIS 666881을 제조하였다. 5'-핵실아미노 변형된 올리고뉴클레오타이드 ISIS 660254을 합성하고 표준 고체상 올리고뉴클레오타이드 과정을 이용하여 정제하였다. ISIS 660254 (40 mg, 5.2 μmol)을 0.1 M 나트륨 테트라보레이트, pH 8.5 (200 μL)에 용해시키고 DMSO (50 μL)에 용해된 3 당량의 PFP 에스테르 (화합물 110a)를 추가하였다. PFP 에스테르는 PFP 에스테르를 완전히 용해시키기 위해 추가의 DMSO (600 μL)를 필요로 하는 ASO 용액에 부가시 침전되었다. 상기 반응을 실온에서 16시간 혼합한 후 완료하였다. 상기 용액을 물로 12 mL 총 용적으로 희석하고 스핀 필터에서 3000 Da의 질량 컷오프로 3000 rpm으로 스핀다운하였다. 이 과정을 2회 반복하여 소분자 불순물을 제거하였다. 용액을 동결건조하고 실온에서 2.5시간 동안 혼합하면서 농축된 암모니아수에 재용해한 다음 진공에서 농축하여 대부분의 암모니아를 제거하였다. 콘주게이트된 올리고뉴클레오타이드를 정제하고 RP-HPLC로 탈염하고 동결건조하여 중량으로 90% 수율로 ISIS 666881을 얻었다 (42 mg, 4.7 μmol).

GalNAc₃-10 콘주게이트된 올리고뉴클레오타이드

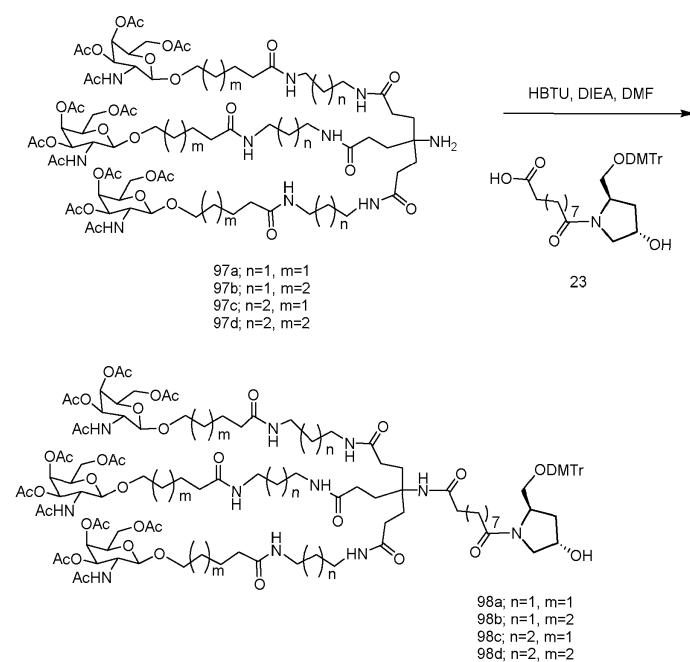
ASO	서열 (5' 내지 3')	5' 그룹	서열 번호
ISIS 660254	NH ₂ (CH ₂) ₆ -oA _d G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} T _{es} T _e	핵실아민	2258
ISIS 666881	GalNAc₃-10_a -oA _d G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} T _{es} T _e	GalNAc₃-10	2258

대문자는 각 뉴클레오타이드에 대한 핵염기를 나타내고 ^mC는 5-메틸 시토신을 나타낸다. 하첨자: "e"는 2'-MOE 변형된 뉴클레오타이드를 나타내고; "d"는 β-D-2'-데옥시리보뉴클레오타이드를 나타내고; "s"는 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 (PS)을 나타내고; "o"는 포스포디에스테르 뉴클레오타이드간 연결 (PO)을 나타내고; 그리고 "o'"는 -O-P(=O)(OH)-를 나타낸다. 콘주게이트 그룹은 굵은 글자체이다.

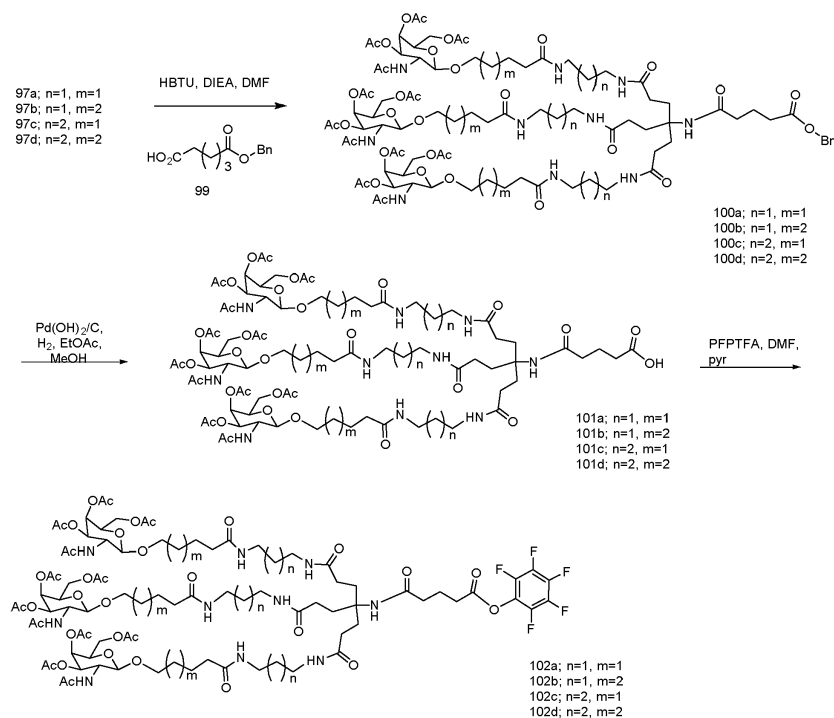
[1242] 실시예 47: GalNAc₃-8를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 102의 제조



[1243]



[1244]



[1245]

[1246]

3가산 90 (4 g, 14.43 mmol)을 DMF (120 mL) 및 *N,N*-디이소프로필에틸아민 (12.35 mL, 72 mmol)에 용해시켰다. 펜타플루오로페닐 트리플루오로아세트이트 (8.9 mL, 52 mmol)를 아르콘 하에 적가하고, 반응을 실온에서 30분 동안 교반하였다. Boc-디아민 91a 또는 91b (68.87 mmol)를 *N,N*-디이소프로필에틸아민 (12.35 mL, 72 mmol)과 함께 부가하고, 반응을 실온에서 16시간 동안 교반하였다. 이때, DMF를 >75% 감압 하에서 환원시킨 다음 상기 혼합물을 디클로로메탄에 용해시켰다. 유기층을 중탄산나트륨, 물 및 염수로 세정하였다. 그 다음 유기층을 분리하고 황산나트륨 상에서 건조하고, 여과하고 오일 감압 하에서 환원시켰다. 얻어진 오일을 실리카겔 크로마토그래피 (2%-->10% 메탄올/디클로로메탄)로 정제하여 화합물 92a 및 92b를 대략적인 80% 수율로 생성하였다. LCMS 및 양성자 NMR은 상기 구조와 일치하였다.

[1247]

화합물 92a 또는 92b (6.7 mmol)를 20 mL의 디클로로메탄 및 20 mL의 트리플루오로아세트산으로 실온에서 16시간 동안 처리하였다. 얻어진 용액을 증발시킨 다음 메탄올에 용해시키고 DOWEX-OH 수지로 30분 동안 처리하였다. 얻어진 용액을 여과하고 오일 감압 하에서 환원하여 화합물 93a 및 93b를 85-90% 수율로 얻었다.

[1248]

화합물 7 또는 64 (9.6 mmol)를 DMF (20 mL) 중의 HBTU (3.7g, 9.6 mmol) 및 *N,N*-디이소프로필에틸아민 (5 mL)로 15분 동안 처리하였다. 여기에 화합물 93a 또는 93b (3 mmol) 중 하나를 첨가하고, 실온에서 16시간 동안 교반하였다. 이때, DMF를 >75% 감압 하에서 환원시킨 다음 상기 혼합물을 디클로로메탄에 용해시켰다. 유기층을 중탄산나트륨, 물 및 염수로 세정하였다. 그 다음 유기층을 분리하고 황산나트륨 상에서 건조하고, 여과하고 오일 감압 하에서 환원시켰다. 얻어진 오일을 실리카겔 크로마토그래피 (5%-->20% 메탄올/디클로로메탄)에 의해 정제하여 화합물 96a-d를 20-40% 수율로 얻었다. LCMS 및 양성자 NMR은 상기 구조와 일치하였다.

[1249]

화합물 96a-d (0.75 mmol)를 개별적으로, 에탄올 (75 mL)에서 3시간 동안 라니 니켈에 대해 수소첨가하였다. 이때, 촉매를 셀라이트를 통해 여과에 의해 제거하고, 에탄올을 감압 하에서 제거하여 화합물 97a-d를 80-90% 수율로 얻었다. LCMS 및 양성자 NMR은 상기 구조와 일치하였다.

[1250]

화합물 23 (0.32g, 0.53 mmol)을 DMF (30mL) 중에서 HBTU (0.2g, 0.53 mmol) 및 *N,N*-디이소프로필에틸아민 (0.19 mL, 1.14 mmol)으로 15분 동안 처리하였다. 여기에 화합물 97a-d (0.38 mmol)를 개별적으로 첨가하고, 실온에서 16시간 동안 교반하였다. 이때, DMF를 >75% 감압 하에서 환원시킨 다음 상기 혼합물을 디클로로메탄에 용해시켰다. 유기층을 중탄산나트륨, 물 및 염수로 세정하였다. 그 다음 유기층을 분리하고 황산나트륨 상에서 건조하고, 여과하고 오일 감압 하에서 환원시켰다. 얻어진 오일을 실리카겔 크로마토그래피 (2%-->20% 메탄올/디클로로메탄)에 의해 정제하여 화합물 98a-d를 30-40% 수율로 얻었다. LCMS 및 양성자 NMR은 상기 구조와 일치하였다.

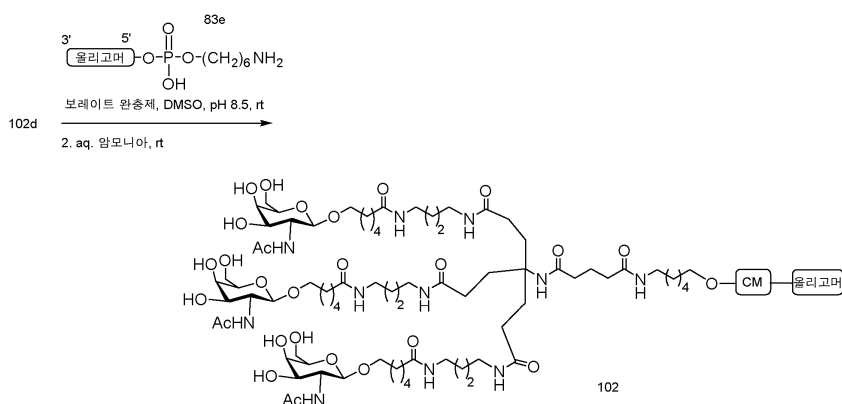
[1251]

화합물 99 (0.17g, 0.76 mmol)을 DMF (50mL) 중에서 HBTU (0.29 g, 0.76 mmol) 및 *N,N*-디이소프로필에틸아민 (0.35 mL, 2.0 mmol)으로 15분 동안 처리하였다. 여기에 화합물 97a-d (0.51 mmol)를 개별적으로 첨가하고, 실

온에서 16시간 동안 교반하였다. 이때, DMF를 >75% 감압 하에서 환원시킨 다음 상기 혼합물을 디클로로메탄에 용해시켰다. 유기층을 중탄산나트륨, 물 및 염수로 세정하였다. 그 다음 유기층을 분리하고 황산나트륨 상에서 건조하고, 여과하고 오일 감압 하에서 환원시켰다. 얻어진 오일을 실리카겔 크로마토그래피 (5%-->20% 메탄올/디클로로메탄)에 의해 정제하여 화합물 100a-d를 40-60% 수율로 얻었다. LCMS 및 양성자 NMR은 상기 구조와 일치하였다.

[1252] 화합물 100a-d (0.16 mmol)를 개별적으로, 메탄올/에틸 아세테이트 (1:1, 50 mL) 중에서 3시간 동안 10% Pd(OH)2/C에 대해 수소첨가하였다. 이때, 촉매를 셀라이트를 통한 여과에 의해 제거하고, 유기물을 감압 하에서 제거하여 화합물 101a-d를 80-90% 수율로 얻었다. LCMS 및 양성자 NMR은 상기 구조와 일치하였다.

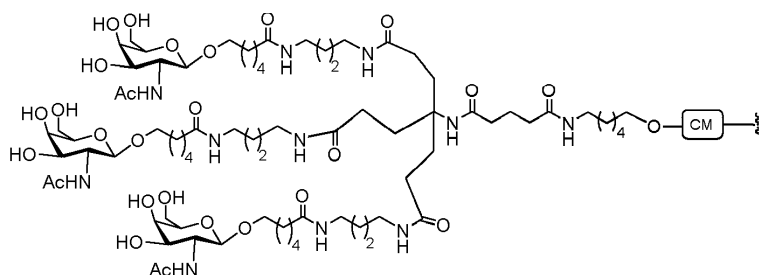
[1253] 화합물 101a-d (0.15 mmol)를 개별적으로 DMF (15 mL) 및 피리딘 (0.016 mL, 0.2 mmol)에 용해시켰다. 펜타플루오로페닐 트리플루오로아세테이트 (0.034 mL, 0.2 mmol)를 아르곤 하에서 적가하고, 반응을 실온에서 30분 동안 교반하였다. 이때, DMF를 >75% 감압 하에서 환원시킨 다음 상기 혼합물을 디클로로메탄에 용해시켰다. 유기층을 중탄산나트륨, 물 및 염수로 세정하였다. 그 다음 유기층을 분리하고 황산나트륨 상에서 건조하고, 여과하고 오일 감압 하에서 환원시켰다. 얻어진 오일을 실리카겔 크로마토그래피 (2%-->5% 메탄올/디클로로메탄)에 의해 정제하여 화합물 102a-d를 약 80% 수율로 얻었다. LCMS 및 양성자 NMR은 상기 구조와 일치하였다.



[1254]

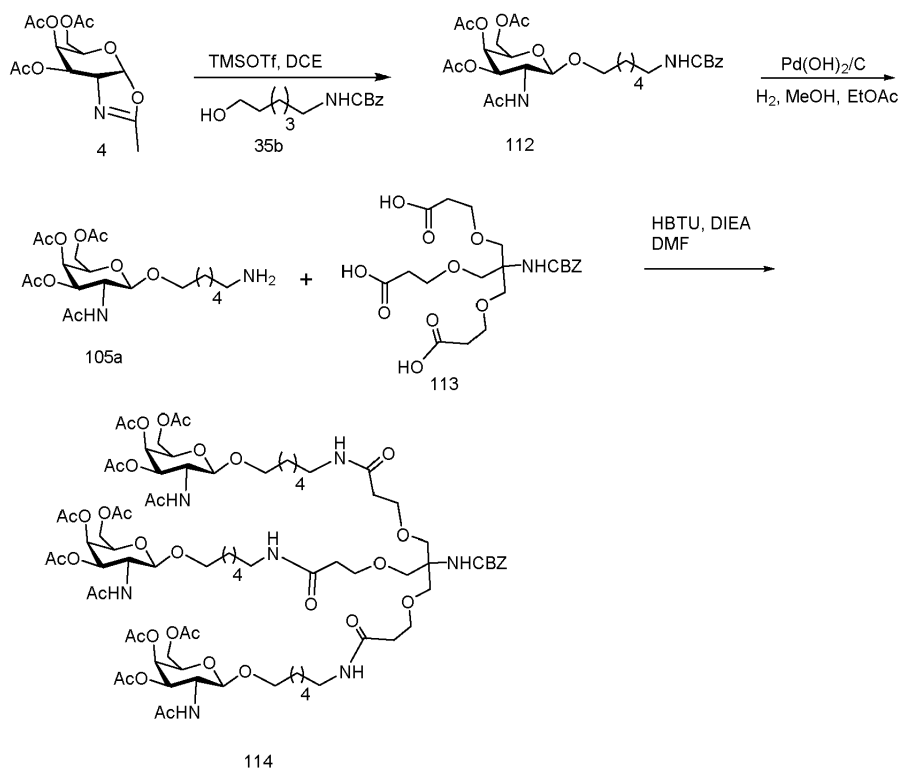
[1255] GalNAc₃-8 콘주게이트 그룹을 포함하는 올리고머 화합물 102를 실시예 46에 예시된 일반적인 과정을 이용하여 제조하였다. 콘주게이트 그룹 GalNAc₃-8의 GalNAc₃ 클러스터 부분 (GalNAc₃-8_a)은 임의의 절단가능 모이어티와 조합되어 다양한 콘주게이트 그룹을 제공할 수 있다. 바람직한 구현예에서, 절단가능 모이어티는 -P(=O)(OH)-A_d-P(=O)(OH)-이다.

[1256] GalNAc₃-8 (GalNAc₃-8_a-CM-) 의 구조는 하기와 같다:

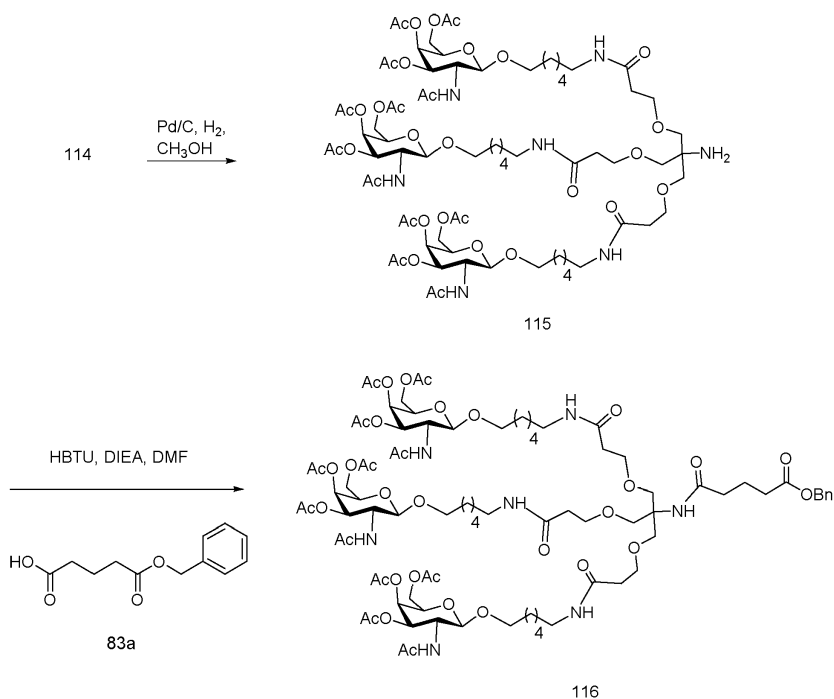


[1257]

[1258] 실시예 48: GalNAc₃-7를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 119의 제조



[1259]



[1260]

[1261] 화합물 112를 하기 문헌에 기재된 과정에 따라 합성하였다: (*J. Med. Chem.* 2004, 47, 5798-5808).

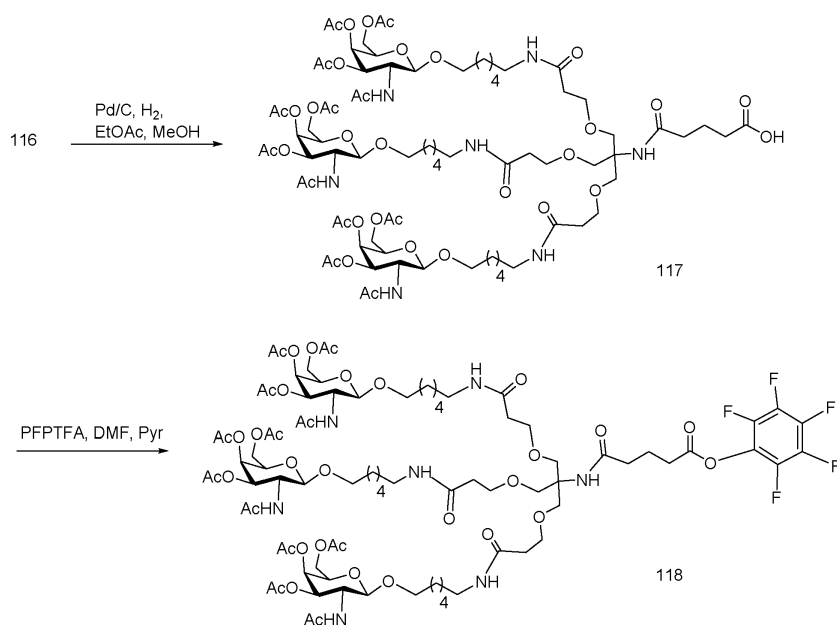
[1262] 화합물 112 (5 g, 8.6 mmol)를 1:1 메탄올/에틸 아세테이트 (22 mL/22 mL)에 용해시켰다. 탄소상 수산화팔라듐 (0.5 g)을 추가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 수소 하에서 12시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 셀라이트의 패드를 통해 여과하고 1:1 메탄올/에틸 아세테이트로 패드로 세정하였다. 여과물과 세정물을 조합하고 농축 건조하여 화합물 105a (정량적)를 얻었다. 상기 구조를 LCMS에 의해 확인하였다.

[1263] 화합물 113 (1.25 g, 2.7 mmol), HBTU (3.2 g, 8.4 mmol) 및 DIEA (2.8 mL, 16.2 mmol)를 무수 DMF (17 mL)에 용해시키고상기 반응 혼합물을 실온에서 5분 동안 교반하였다. 여기에 무수 DMF (20 mL) 중의 화합물 105a

(3.77 g, 8.4 mmol)의 용액을 부가하였다. 상기 반응을 실온에서 6시간 동안 교반하였다. 용매를 감압 하에서 제거하여 오일을 얻었다. 잔류물을 CH_2Cl_2 (100 mL)에 용해시키고 수성 포화된 NaHCO_3 용액 (100 mL) 및 염수 (100 mL)로 세정하였다. 유기상을 분리하고, 건조시키고 (Na_2SO_4), 여과하고 증발시켰다. 잔류물을 실리카겔 칼럼 크로마토그래피로 정제하고 디클로로메탄 중의 10 내지 20 % MeOH로 용출시켜 화합물 114 (1.45 g, 30%)를 얻었다. 구조를 LCMS 및 ^1H NMR 분석에 의해 확인하였다.

[1264] 화합물 114 (1.43 g, 0.8 mmol)를 1:1 메탄올/에틸 아세테이트 (4 mL/4 mL)에 용해시켰다. 탄소상 팔라듐 (습식 0.14 g)을 부가하였다. 반응 혼합물을 수소로 씻어내고 실온에서 수소 하에서 12시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 셀라이트의 패드를 통해 여과하였다. 셀라이트 패드를 메탄올/에틸 아세테이트 (1:1)로 세정하였다. 여과물과 세정물을 함께 조합하고 감압 하에서 증발시켜 화합물 115 (정량적)를 얻었다. 구조를 LCMS 및 ^1H NMR 분석에 의해 확인하였다.

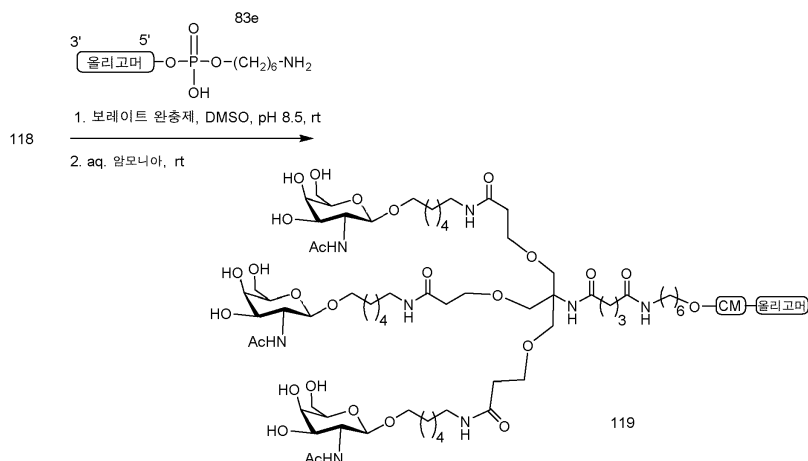
[1265] 화합물 83a (0.17 g, 0.75 mmol), HBTU (0.31 g, 0.83 mmol) 및 DIEA (0.26 mL, 1.5 mmol)를 무수 DMF (5 mL)에 용해시키고 상기 반응 혼합물을 실온에서 5분 동안 교반하였다. 여기에 무수 DMF 중의 화합물 115 (1.22 g, 0.75 mmol)의 용액을 부가하고 반응을 실온에서 6시간 동안 교반하였다. 용매를 감압 하에서 제거하고 잔류물을 CH_2Cl_2 에 용해시켰다. 유기층을 수성 포화된 NaHCO_3 용액 및 염수로 세정하고 무수 Na_2SO_4 상에서 건조시키고 여과하였다. 유기층을 농축 건조하고 수득된 잔류물을 실리카겔 칼럼 크로마토그래피로 정제하고 디클로로메탄 중의 3 내지 15 % MeOH로 용출시켜 화합물 116 (0.84 g, 61%)을 얻었다. 구조를 LC MS 및 ^1H NMR 분석에 의해 확인하였다.



[1266]

[1267] 화합물 116 (0.74 g, 0.4 mmol)를 1:1 메탄올/에틸 아세테이트 (5 mL/5 mL)에 용해시켰다. 탄소상 팔라듐 (습식 0.074 g)을 부가하였다. 반응 혼합물을 수소로 씻어내고 실온에서 수소 하에서 12시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 셀라이트의 패드를 통해 여과하였다. 셀라이트 패드를 메탄올/에틸 아세테이트 (1:1)로 세정하였다. 여과물과 세정물을 함께 조합하고 감압 하에서 증발시켜 화합물 117 (0.73 g, 98%)을 얻었다. 구조를 LCMS 및 ^1H NMR 분석에 의해 확인하였다.

[1268] 화합물 117 (0.63 g, 0.36 mmol)을 무수 DMF (3 mL)에 용해시켰다. 이 용액에 *N,N*-디이소프로필에틸아민 (70 μL , 0.4 mmol) 및 펜타플루오로페닐 트리플루오로아세테이트 (72 μL , 0.42 mmol)를 부가하였다. 상기 반응 혼합물을 실온에서 12시간 동안 교반하고 수성 포화된 NaHCO_3 용액에 부었다. 상기 혼합물을 디클로로메탄으로 추출하고, 염수로 세정하고 무수 Na_2SO_4 상에서 건조시켰다. 상기 디클로로메탄 용액을 농축 건조하고 실리카겔 칼럼 크로마토그래피로 정제하고 디클로로메탄 중 5 내지 10 % MeOH로 용출하여 화합물 118 (0.51 g, 79%)을 얻었다. 구조를 LCMS 및 ^1H 및 ^{19}F NMR에 의해 확인하였다.



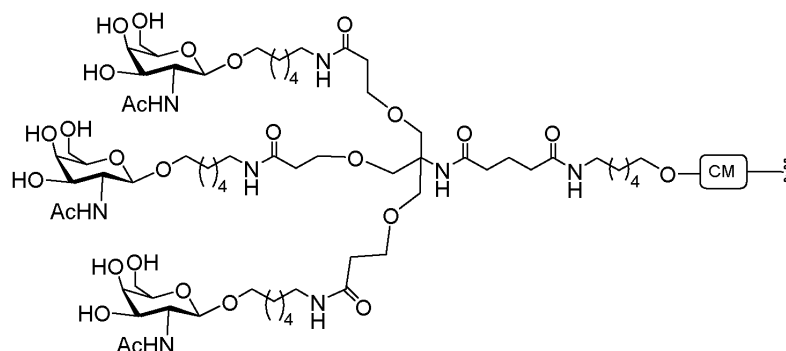
[1269]

[1270]

GalNAc₃-7 콘주게이트 그룹을 포함하는 올리고머 화합물 119를 실시예 46에 예시된 일반적인 과정을 이용하여 제조하였다. 콘주게이트 그룹 GalNAc₃-7의 GalNAc₃ 클러스터 부분 (GalNAc₃-7_a)은 임의의 절단가능 모이어티와 조합되어 다양한 콘주게이트 그룹을 제공할 수 있다. 특정 구현예에서, 절단가능 모이어티는 -P(=O)(OH)-A_d-P(=O)(OH)-이다.

[1271]

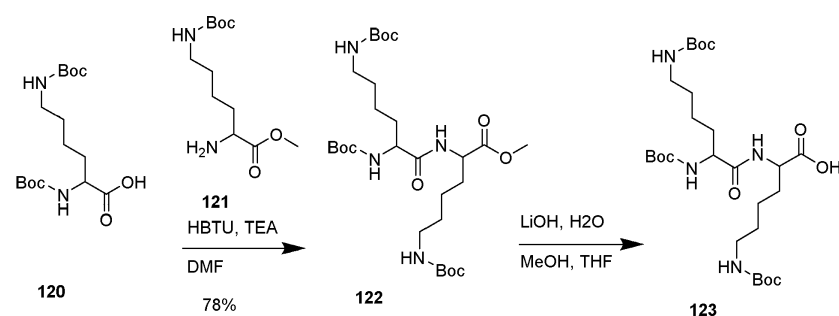
GalNAc₃-7 (GalNAc₃-7_a-CM-) 의 구조는 하기와 같다:



[1272]

[1273]

실시예 49: GalNAc₃-5를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 132의 제조



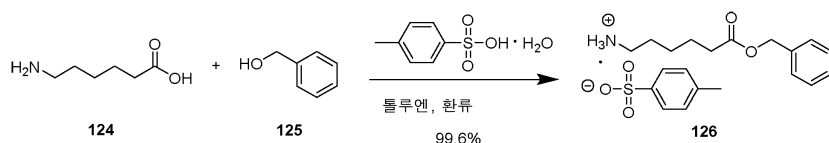
[1274]

[1275]

화합물 120 (14.01 g, 40 mmol) 및 HBTU (14.06 g, 37 mmol)를 무수 DMF (80 mL)에 용해시켰다. 트리에틸아민 (11.2 mL, 80.35 mmol)을 부가하고 5분 동안 교반하였다. 상기 반응 혼합물을 빙욕에서 냉각하고 무수 DMF (20 mL) 중의 화합물 121 (10 g, mmol)의 용액을 부가하였다. 추가의 트리에틸아민 (4.5 mL, 32.28 mmol)을 부가하고 반응 혼합물을 18시간 동안 아르곤 대기 하에서 교반하였다. 반응을 TLC (에틸 아세테이트:헥산; 1:1; R_f = 0.47)에 의해 관찰하였다. 용매를 감압 하에서 제거하였다. 잔류물을 EtOAc (300 mL)에서 취하고 1M NaHSO₄ (3 x 150 mL), 수성 포화된 NaHCO₃ 용액 (3 x 150 mL) 및 염수 (2 x 100 mL)로 세정하였다. 유기층을 Na₂SO₄로 건조시켰다. 건조제를 여과로 제거하고 유기층을 회전식 증발로 농축하였다. 조 혼합물을 실리카겔 칼럼 크로마토그래피로 정제하고 헥산 중 35 50% EtOAc를 사용하여 용출하여 화합물 122 (15.50 g, 78.13%)를 얻었다. 구조를 LCMS 및 ¹H NMR 분석에 의해 확인하였다. 질량 m/z 589.3 [M + H]⁺.

[1276]

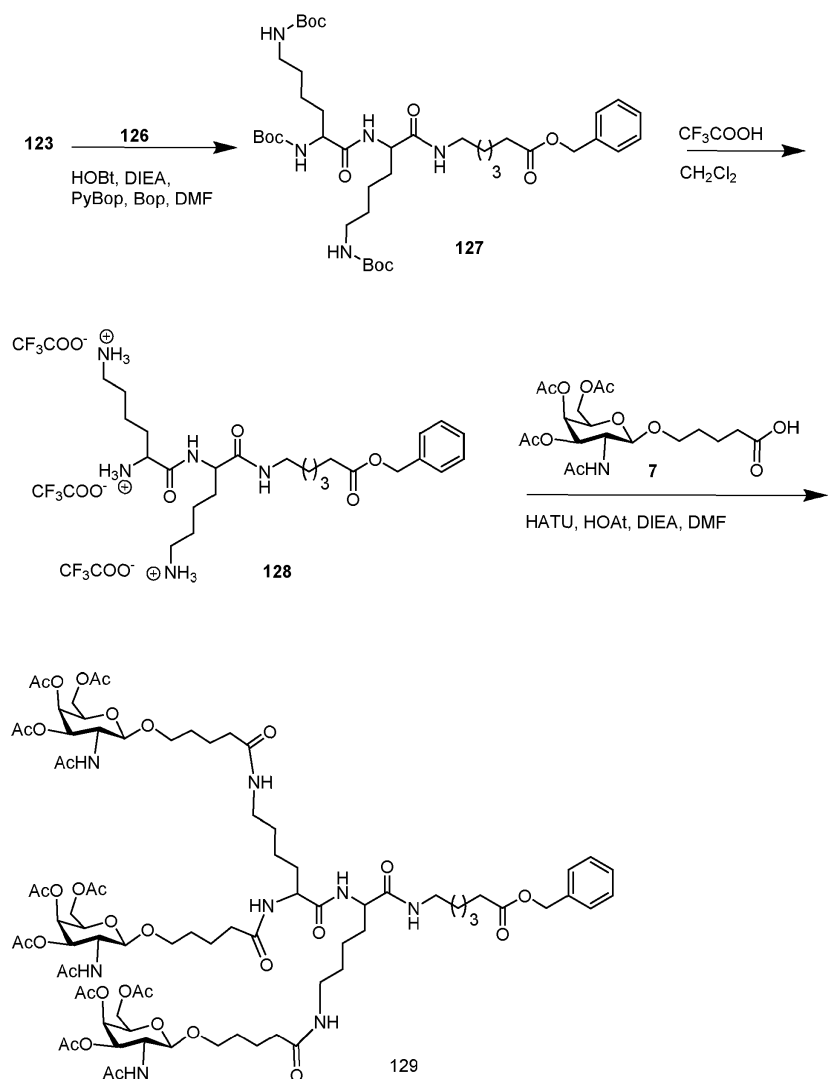
물 (20 mL) 및 THF (10 mL) 중의 LiOH (92.15 mmol)의 용액을 메탄올 (15 mL)에 용해된 화합물 122 (7.75 g, 13.16 mmol)의 냉각된 용액에 첨가하였다. 상기 반응 혼합물을 실온에서 45분 동안 교반하고 TLC (EtOAc:헥산; 1:1)로 관찰하였다. 상기 반응 혼합물을 감압 하에서 절반 용적으로 농축하였다. 남아있는 용액을 빙욕에서 냉각하고 농축된 HCl를 부가하여 중화하였다. 상기 반응 혼합물을 희석하고, EtOAc (120 mL)로 추출하고 염수 (100 mL)로 세정하였다. 에멀전 형성하고 밤새 정치하여 제거하였다. 유기층을 분리하고, (Na₂SO₄)로 건조시키고, 여과하고 증발시켜 화합물 123 (8.42 g)을 얻었다. 잔류 염은 과다 질량의 원인인 것 같다. LCMS는 구조와 일치한다. 생성물을 임의의 추가 정제없이 사용하였다. M.W.cal:574.36; M.W.f.d:575.3 [M + H]⁺.



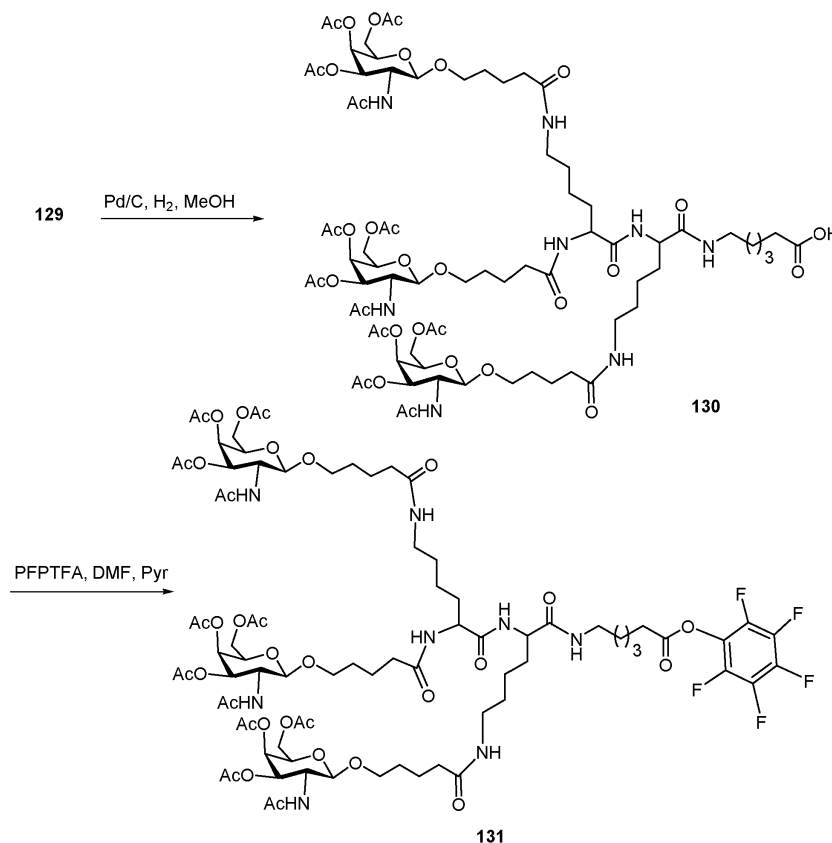
[1277]

[1278]

화합물 126를 하기 문헌에 기재된 과정에 따라 합성하였다: (*J. Am. Chem. Soc.* 2011, 133, 958-963).



[1279]



[1280]

[1281]

화합물 123(7.419 g, 12.91 mmol), HOBT (3.49 g, 25.82 mmol) 및 화합물 126 (6.33 g, 16.14 mmol)을 DMF (40 mL)에 용해시키고 수득한 반응 혼합물을 빙욕에서 냉각하였다. 여기에 *N,N*-디이소프로필에틸아민 (4.42 mL, 25.82 mmol), PyBop (8.7 g, 16.7 mmol) 그 다음 Bop 커플링 시약 (1.17 g, 2.66 mmol)을 아르곤 대기 하에서 부가하였다. 얼음 수조를 제거하고 용액을 실온으로 가온하였다. 반응을 TLC (DCM:MeOH:AA; 89:10:1)에 의해 결정된 바와 같이 1시간 후에 완료시켰다. 상기 반응 혼합물을 감압 하에서 농축하였다. 잔류물을 EtOAc (200 mL)에 용해시키고 1 M NaHSO₄ (3x100 mL), 수성 포화된 NaHCO₃ (3x100 mL) 및 염수 (2x100 mL)로 세정하였다. 유기상을 분리하고, 건조시키고 (Na₂SO₄), 여과하고 농축시켰다. 잔류물을 50% 헥산/EtOAc 내지 100% EtOAc의 구배로 실리카겔 칼럼 크로마토그래피에 의해 정제하여 백색 포말로서 화합물 127 (9.4 g)을 얻었다. LCMS 및 ¹H NMR은 구조와 일치하였다. 질량 m/z 778.4 [M + H]⁺.

[1282]

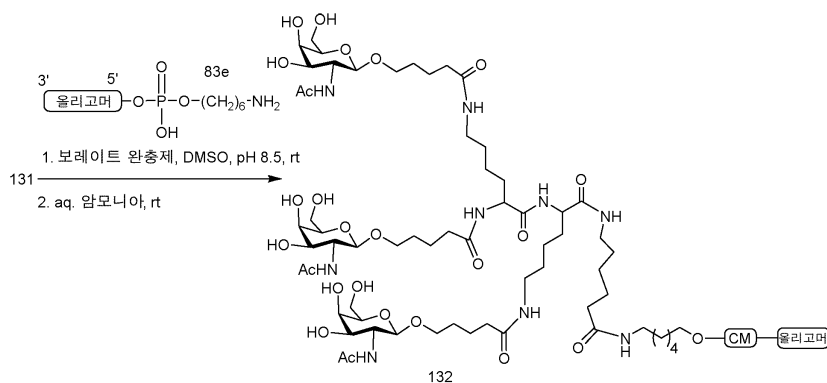
트리플루오로아세트산 (12 mL)을 디클로로메탄 (12 mL) 중의 화합물 127 (1.57 g, 2.02 mmol)의 용액에 첨가하고 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 상기 반응 혼합물을 감압 하에서 톨루엔 (30 mL)으로 공-증발시켜 건조하였다. 수득된 잔류물을 아세토니트릴 (30 mL) 및 톨루엔 (40 mL)으로 2회 공-증발시켜 화합물 128 (1.67 g)을 트리플루오로아세트산 염으로서 얻었고 다음 단계 동안에 추가 정제없이 사용하였다. LCMS 및 ¹H NMR은 구조와 일치하였다. 질량 m/z 478.2 [M + H]⁺.

[1283]

화합물 7 (0.43 g, 0.963 mmol), HATU (0.35 g, 0.91 mmol), 및 HOAt (0.035 g, 0.26 mmol)을 함께 조합하고 둥근바닥 플라스크에서 감압 하에서 P₂O₅로 4시간 동안 건조시킨 다음 무수 DMF (1 mL)에 용해시키고 5분 동안 교반하였다. 여기에 무수 DMF (0.2 mL) 및 *N,N*-디이소프로필에틸아민 (0.2 mL) 중의 화합물 128 (0.20 g, 0.26 mmol)의 용액을 부가하였다. 상기 반응 혼합물을 실온에서 아르곤 대기 하에서 교반하였다. 반응을 LCMS 및 TLC (7% MeOH/DCM)에 의해 결정된 바와 같이 30분 후에 완료시켰다. 상기 반응 혼합물을 감압 하에서 농축하였다. 잔류물을 DCM (30 mL)에 용해시키고 1 M NaHSO₄ (3x20 mL), 수성 포화된 NaHCO₃ (3 x 20 mL) 및 염수 (3x20 mL)로 세정하였다. 유기상을 분리하고, 건조시키고 (Na₂SO₄), 여과하고 농축시켰다. 잔류물을 디클로로메탄 중의 5-15% MeOH를 이용한 실리카겔 칼럼 크로마토그래피에 의해 정제하여 화합물 129 (96.6 mg)를 얻었다. LC MS 및 ¹H NMR은 구조와 일치한다. 질량 m/z 883.4 [M + 2H]⁺.

[1284] 화합물 129 (0.09 g, 0.051 mmol)를 20 mL 설파이드 바이알 내에서 메탄올 (5 mL)에 용해시켰다. 여기에 소량의 10% Pd/C (0.015 mg)를 부가하고 반응 용기를 H₂ 가스로 씻어 내었다. 상기 반응 혼합물을 실온에서 H₂ 대기 하에서 18시간 동안 교반하였다. 상기 반응 혼합물을 셀라이트의 패드를 통해 여과하고 셀라이트 패드를 메탄올로 세정하였다. 여과물 및 세정물을 모으고 감압 하에서 농축하여 화합물 130 (0.08 g)을 얻었다. LCMS 및 ¹H NMR 은 구조와 일치하였다. 생성물을 추가 정제없이 사용하였다. 질량 *m/z* 838.3 [M + 2H]⁺.

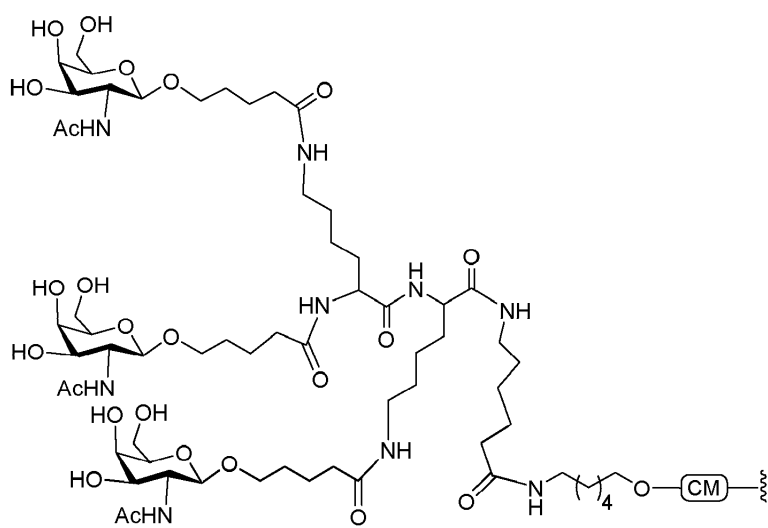
[1285] 10 mL 표시된 둥근바닥 플라스크에 화합물 130 (75.8 mg, 0.046 mmol), 0.37 M 피리딘/DMF (200 μL) 및 교반 바를 부가하였다. 이 용액에 0.7 M 펜타플루오로페닐 트리플루오로아세테이트/DMF (100 μL)를 교반하면서 적가 하였다. 반응을 LC MS에 의해 결정된 바와 같이 1시간 후에 완료하였다. 용매를 감압 하에서 제거하고 잔류물을 CHCl₃ (~ 10 mL)에 용해시켰다. 유기층을 NaHSO₄ (1 M, 10 mL), 수성 포화된 NaHCO₃ (10 mL) 및 염수 (10 mL)에 대해 각각 3회 분할하였다. 유기상을 분리하고 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고 농축하여 화합물 131 (77.7 mg)을 얻었다. LCMS는 구조와 일치한다. 추가 정제없이 사용하였다. 질량 *m/z* 921.3 [M + 2H]⁺.



[1286]

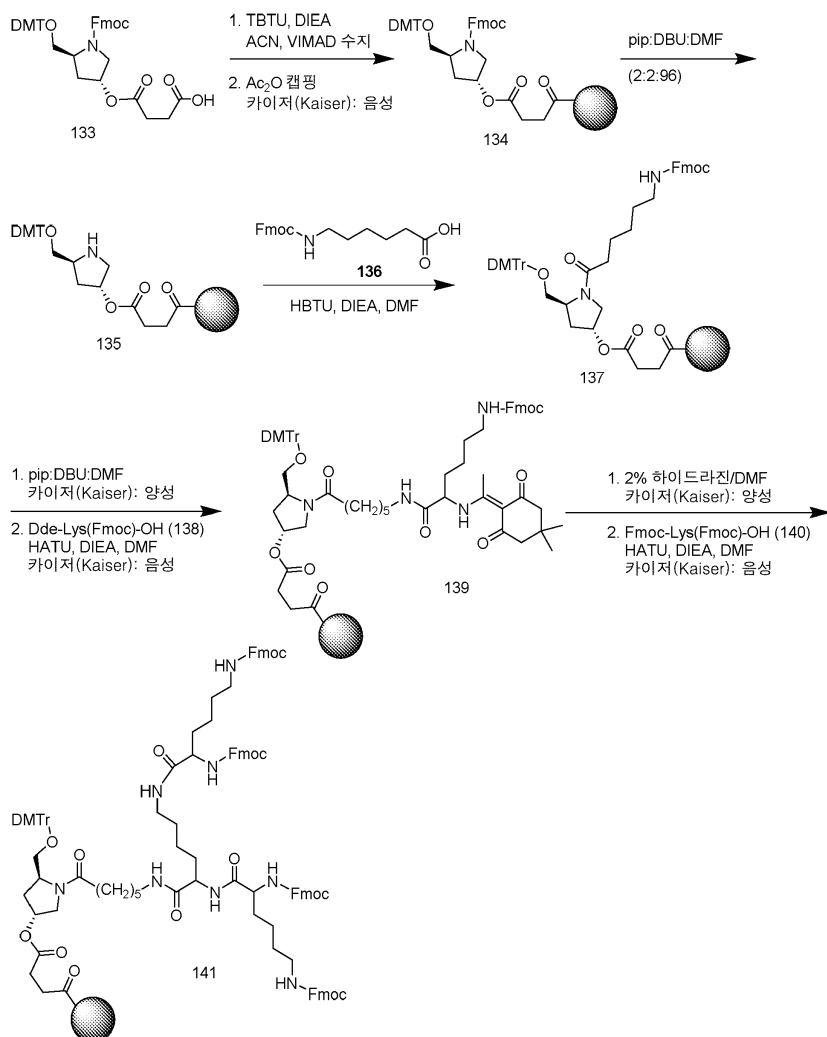
[1287] GalNAc₃-5 콘주게이트 그룹을 포함하는 올리고머 화합물 132를 실시예 46에 예시된 일반적인 과정을 이용하여 제조하였다. 콘주게이트 그룹 GalNAc₃-5의 GalNAc₃ 클러스터 부분 (GalNAc₃-5_a)은 임의의 절단가능 모이어티와 조합되어 다양한 콘주게이트 그룹을 제공할 수 있다. 특정 구현예에서, 절단가능 모이어티는 -P(=O)(OH)-A_d-P(=O)(OH)-이다.

[1288] GalNAc₃-5 (GalNAc₃-5_a-CM-) 의 구조는 하기와 같다:

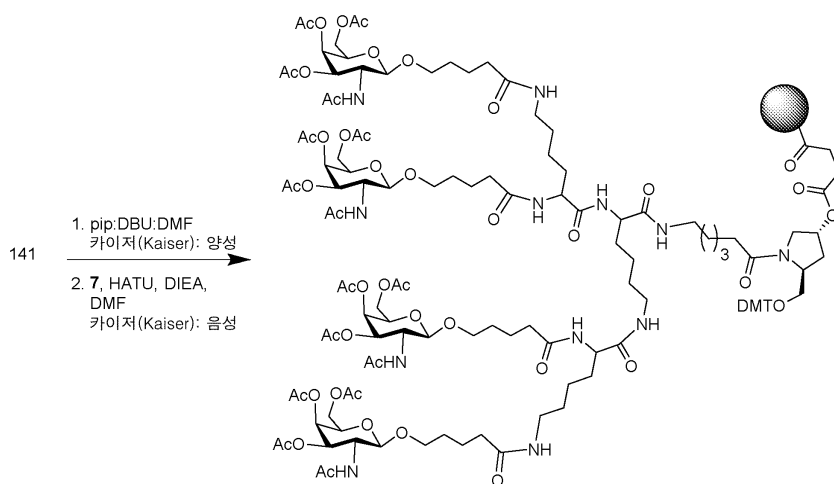


[1289]

[1290] 실시예 50: GalNAc₄-11를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 144의 제조



[1291]



[1292]

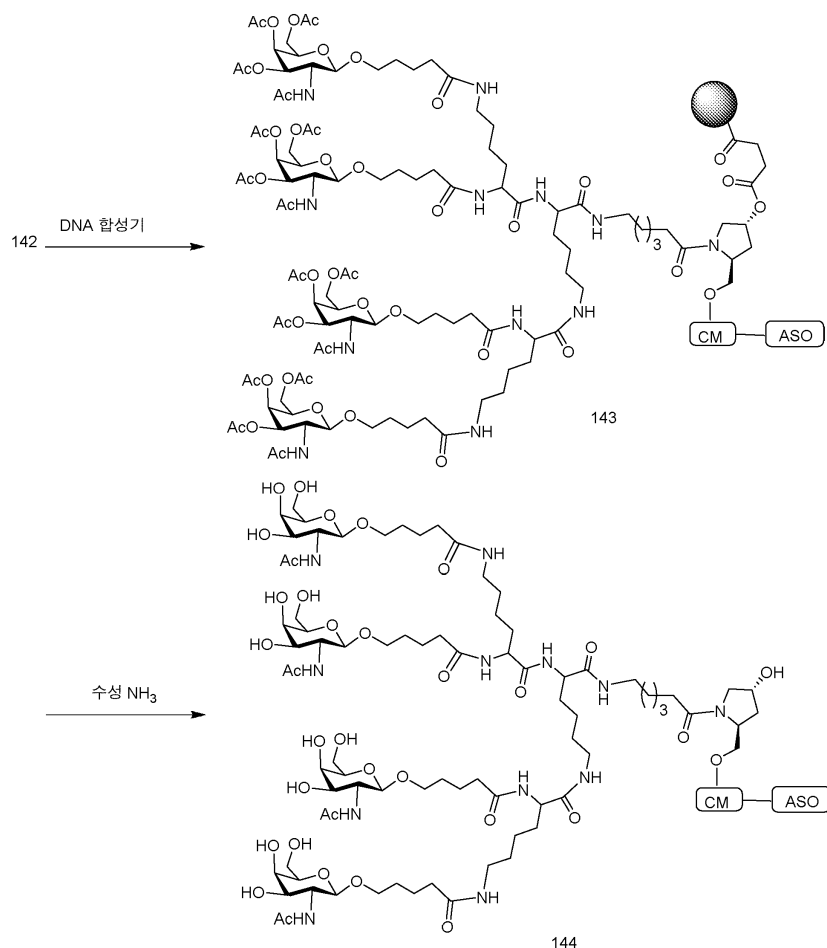
[1293]

화합물 134의 합성. 메리필드 플라스크에 아세토니트릴, 디메틸포름아미드, 디클로로메탄 및 아세토니트릴로 세정된 아미노메틸 VIMAD 수지 (2.5 g, 450 μmol/g)를 부가하였다. 상기 수지를 아세토니트릴 (4 mL)에서 팽창시켰다. 화합물 133을 20 (1.0 mmol, 0.747 g), TBTU (1.0 mmol, 0.321 g), 아세토니트릴 (5 mL) 및 DIEA (3.0 mmol, 0.5 mL)를 첨가하여 100 mL 둥근바닥 플라스크에서 전-활성화시켰다. 이 용액을 5분 동안 교반한 다음, 흔들면서 메리필드 플라스크에 첨가하였다. 상기 현탁액을 3시간 동안 교반하였다. 상기 반응 혼합물을 빼내고 수지를 아세토니트릴, DMF 및 DCM으로 세정하였다. 새로운 수지 로딩을 DCM 중에서 500 nm (소멸 계수 = 7600

0)에서 DMT 양이온의 흡광도를 측정하여 정량화하였고 238 $\mu\text{mol/g}$ 인 것으로 결정되었다. 상기 수지를 아세트산 무수물 용액에서 10분간 3회 현탁시켜 캠퍼하였다.

[1294] 고체 지지체 결합된 화합물 141을 반복적인 Fmoc-기반 고체상 펩티드 합성 방법을 사용하여 합성하였다. 소량의 고체 지지체를 빼내고, 암모니아수 (28-30 wt%)에서 6시간 동안 현탁시켰다. 절단된 화합물을 LC-MS에 의해 분석하였고 상기 관찰된 질량은 구조와 일치하였다. 질량 m/z 1063.8 $[M + 2H]^+$.

[1295] 고체 지지체 결합된 화합물 142를 고체상 펩티드 합성 방법을 사용하여 합성하였다.



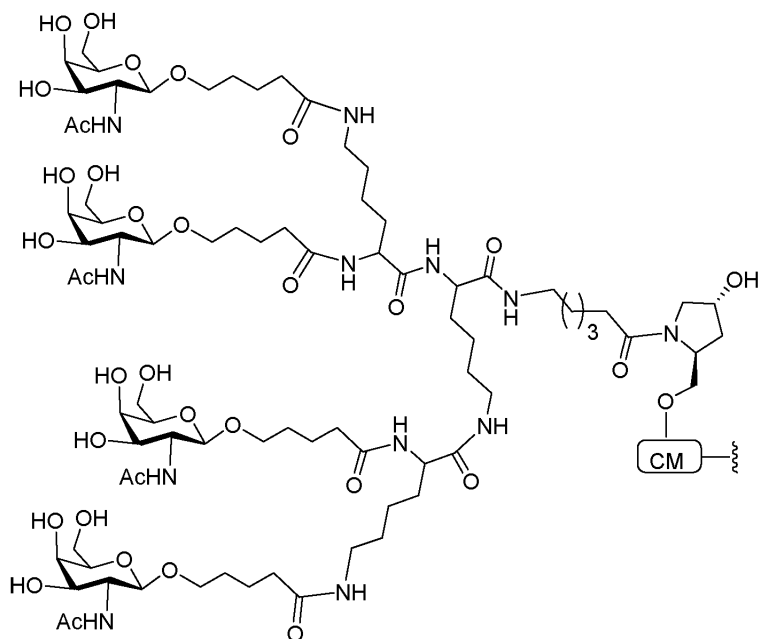
[1296]

[1297] 고체 지지체 결합된 화합물 143을 DNA 합성기 상에서 표준 고체상 합성을 사용하여 합성하였다.

[1298] 고체 지지체 결합된 화합물 143을 암모니아수 (28-30 wt%)에 현탁시키고 55 °C 에서 16시간 동안 가열하였다. 상기 용액을 냉각하고 고체 지지체를 여과하였다. 상기 여과물을 농축하고 잔류물을 물에서 용해시키고 강한 음이온 교환 칼럼 상에서 HPLC로 정제하였다. 전장 화합물 144를 함유하는 분획들을 모으고 탈염하였다. 수득한 GalNAc₄-11 콘주게이트된 올리고머 화합물을 LC-MS로 분석하였고, 상기 관찰된 질량은 구조와 일치하였다.

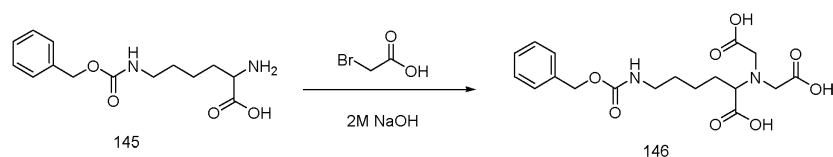
[1299] 콘주게이트 그룹 GalNAc₄-11의 GalNAc₄ 클러스터 부분 (GalNAc₄-11_a)은 임의의 절단가능 모이어티와 조합되어 다양한 콘주게이트 그룹을 제공할 수 있다. 특정 구현예에서, 절단가능 모이어티는 -P(=O)(OH)-A_d-P(=O)(OH)-이다.

[1300] GalNAc₄-11 (GalNAc₄-11_a-CM) 의 구조는 하기와 같다:



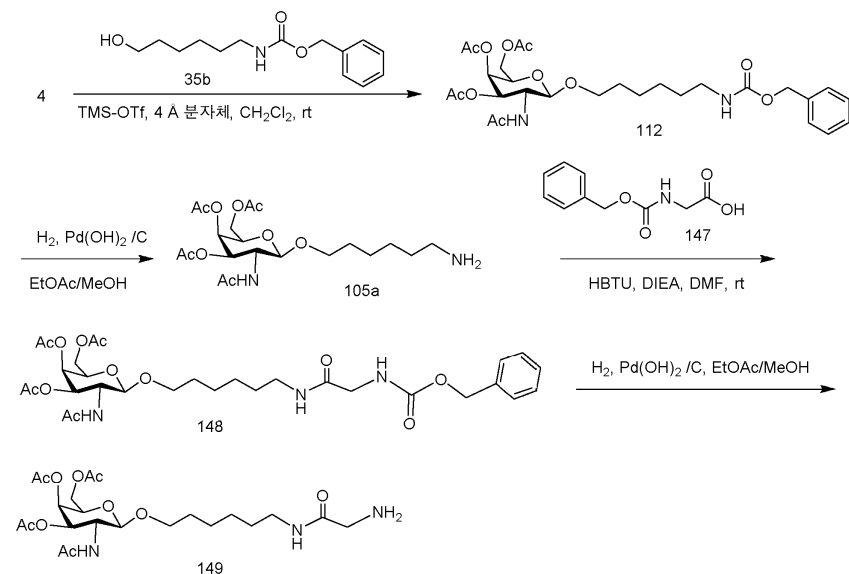
[1301]

[1302] 실시예 51: GalNAc₃-6를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 155의 제조



[1303]

[1304] 화합물 146을 문헌에 기재된 바와 같이 합성하였다: (*Analytical Biochemistry* 1995, 229, 54-60).



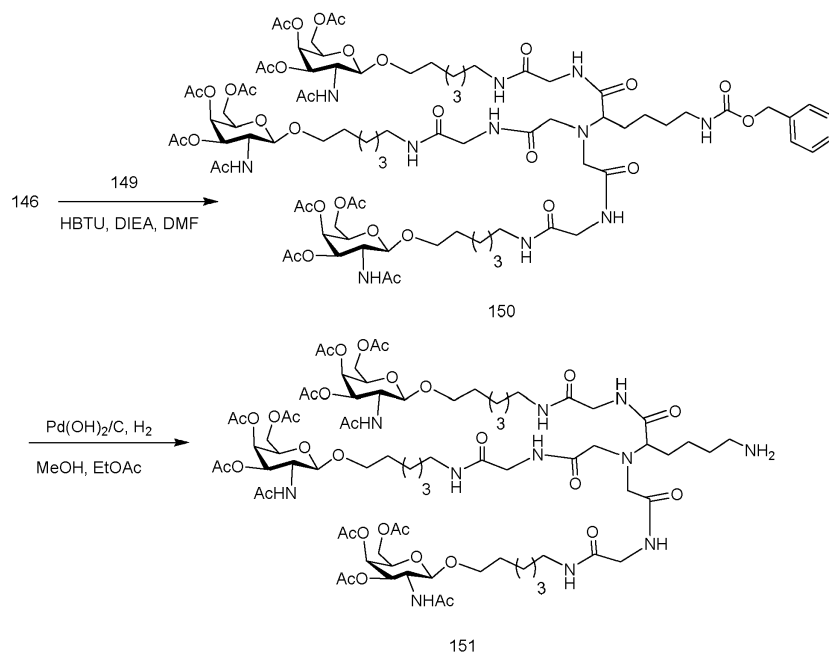
[1305]

[1306] 화합물 4 (15 g, 45.55 mmol) 및 화합물 35b (14.3 그램, 57 mmol)를 CH₂Cl₂ (200 ml)에 용해시켰다. 활성화된 분자체 (4 Å, 2 g, 분말화됨)를 첨가하고, 반응을 30분 동안 질소 대기 하에서 교반하였다. TMS-OTf를 첨가하고(4.1 ml, 22.77 mmol), 반응을 밤새 실온에서 교반하였다. 완료되자마자, 상기 반응을 포화된 수성 NaHCO₃의 용액 (500 ml) 및 부어진 얼음 (~ 150 g) 내로 부어 켄칭하였다. 유기층을 분리하고, 염수로 세정하고, MgSO₄로 건조하고, 여과하고, 감압 하에서 농축하여 오렌지색 오일을 얻었다. 조 물질을 실리카겔 칼럼 크로마토그래피로 정제하고 CH₂Cl₂ 중의 2-10% MeOH로 용출시켜 화합물 112 (16.53 g, 63%)를 얻었다. LCMS 및 ¹HNMR은 예상된 화합물과 일치하였다.

[1307] 화합물 112 (4.27 g, 7.35 mmol)를 1:1 MeOH/EtOAc (40 ml)에 용해시켰다. 상기 용액에 아르곤 스트림을 15분간 기포발생시켜 상기 반응 혼합물을 퍼징하였다. 펄만 촉매 (탄소상 수산화팔라듐, 400 mg)를 부가하고, 수소 가스로 30분 동안 용액에 거품을 일으켰다. 완료시 (CH_2Cl_2 중의 TLC 10% MeOH, 및 LCMS), 촉매를 셀라이트의 패드를 통해 여과로 제거하였다. 상기 여과물을 회전식 증발로 농축하고, 진공 하에서 잠시 건조하여 화합물 105a (3.28 g)를 얻었다. LCMS 및 ^1H NMR은 원하는 생성물과 일치하였다.

[1308] 화합물 147 (2.31 g, 11 mmol)을 무수 DMF (100 mL)에 용해시켰다. *N,N*-디이소프로필에틸아민 (DIEA, 3.9 mL, 22 mmol)을 부가한 다음 HBTU (4 g, 10.5 mmol)를 부가하였다. 반응 혼합물을 ~ 15 분 동안 질소 하에서 교반하였다. 여기에, 건조 DMF 중의 화합물 105a (3.3 g, 7.4 mmol)의 용액을 부가하고 질소 대기 하에서 2시간 동안 교반하였다. 반응을 EtOAc로 희석하고 포화된 수성 NaHCO_3 및 염수로 세정하였다. 유기상을 분리하고, 건조시키고 (MgSO_4), 여과하고, 농축하여 오렌지색 시럽을 얻었다. 조 물질을 CH_2Cl_2 중의 칼럼 크로마토그래피 2-5 % MeOH에 의해 정제하여 화합물 148(3.44 g, 73 %)을 얻었다. LCMS 및 ^1H NMR은 예상된 화합물과 일치하였다.

[1309] 화합물 148 (3.3 g, 5.2 mmol)를 1:1 MeOH/EtOAc (75 ml)에 용해시켰다. 상기 용액에 아르곤 스트림을 15분간 기포발생시켜 상기 반응 혼합물을 퍼징하였다. 펄만 촉매 (탄소상 수산화팔라듐)를 부가하였다 (350 mg). 수소 가스로 30분 동안 용액에 거품을 일으켰다. 완료시 (DCM 중의 TLC 10% MeOH, 및 LCMS), 촉매를 셀라이트의 패드를 통해 여과로 제거하였다. 상기 여과물을 회전식 증발로 농축하고, 고진공 하에서 간단히 건조하여 화합물 149 (2.6 g)를 얻었다. LCMS는 원하는 생성물과 일치하였다. 잔류물을 건조 DMF (10 ml)에 용해시키고 이것을 다음 단계에서 즉시 사용하였다.

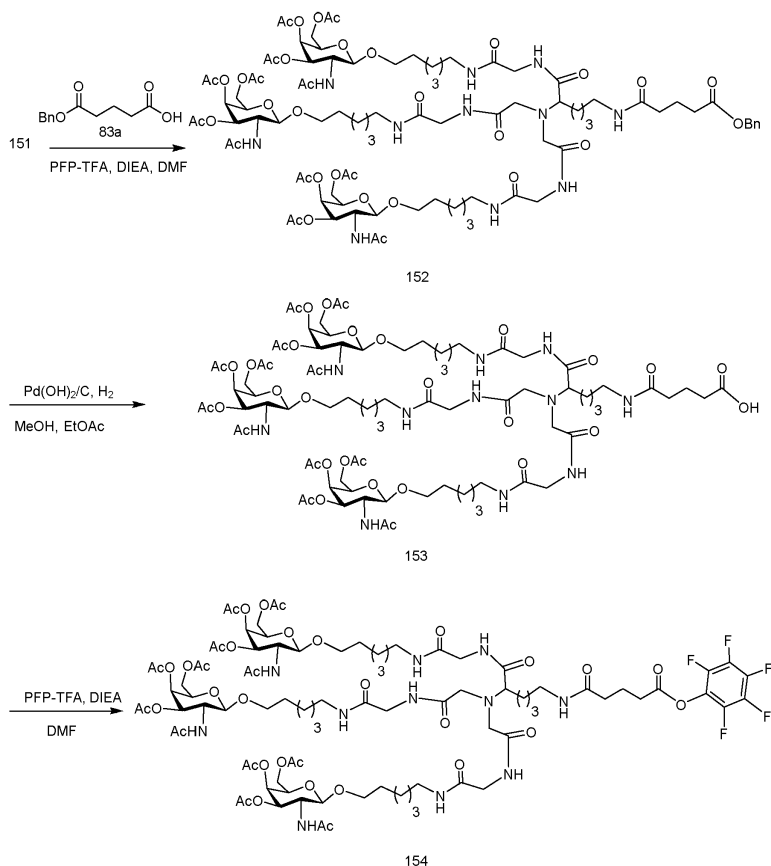


[1310]

[1311] 화합물 146 (0.68 g, 1.73 mmol)을 건조 DMF (20 ml)에 용해시켰다. 여기에, DIEA (450 μL , 2.6 mmol, 1.5 eq.) 및 HBTU (1.96 g, 0.5.2 mmol)를 부가하였다. 상기 반응 혼합물을 15분 동안 실온에서 질소 하에서 교반하였다. 무수 DMF (10 mL) 중의 화합물 149 (2.6 g)의 용액을 부가하였다. 반응의 pH를 DIEA (필요한 경우)를 첨가하여 pH = 9-10으로 조정하였다. 반응을 실온에서 질소 하에서 2시간 동안 교반하였다. 완료시, 반응을 EtOAc (100 mL)로 희석하고, 수성 포화된 수성 NaHCO_3 및 염수로 세정하였다. 유기상을 분리하고, 건조시키고 (MgSO_4), 여과하고 농축시켰다. 조 물질을 실리카겔 칼럼 크로마토그래피로 정제하고 CH_2Cl_2 중의 2-10% MeOH로 용출시켜 화합물 150 (0.62 g, 20 %)를 얻었다. LCMS 및 ^1H NMR은 예상된 화합물과 일치하였다.

[1312] 화합물 150 (0.62 g)을 1:1 MeOH/ EtOAc (5 L)에 용해시켰다. 상기 용액에 아르곤 스트림을 15분간 기포발생시켜 상기 반응 혼합물을 퍼징하였다. 펄만 촉매 (탄소상 수산화팔라듐)를 부가하였다 (60 mg). 수소 가스로 30분 동안 용액에 거품을 일으켰다. 완료시 (DCM 중 TLC 10% MeOH, 및 LCMS), 촉매를 여과 (주사기-팁 테플론 필터, 0.45 μm)에 의해 제거하였다. 여과물을 회전식 증발로 농축하고, 고진공 하에서 간단히 건조하여 화합물 151 (0.57 g)을 얻었다. LCMS는 원하는 생성물과 일치하였다. 생성물을 4 mL 건조 DMF에서 용해시키고 다음 단계에

서 즉시 사용하였다.



[1313]

[1314]

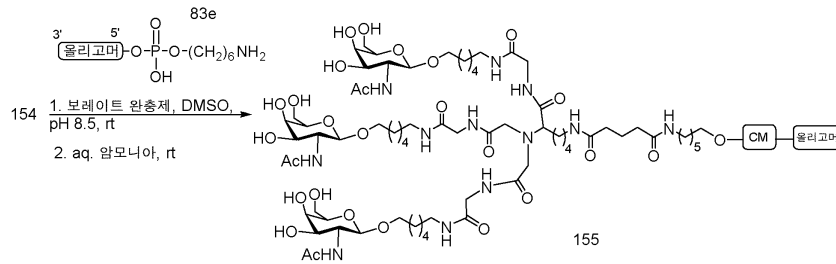
화합물 83a (0.11 g, 0.33 mmol)을 무수 DMF (5 mL)에서 용해시키고 *N,N*-디이소프로필에틸아민 (75 μ L, 1 mmol) 및 PFP-TFA (90 μ L, 0.76 mmol)를 부가하였다. 상기 반응 혼합물은 점착시 자홍색으로 변하였고, 그 다음 30분 동안 점차 오렌지색으로 변하였다. 반응의 진행을 TLC 및 LCMS로 관찰하였다. 완료시 (PFP 에스테르의 형성), DMF 중의 화합물 151(0.57 g, 0.33 mmol)의 용액을 부가하였다. 반응의 pH를 *N,N*-디이소프로필에틸아민 (필요한 경우)을 첨가하여 pH = 9-10으로 조정하였다. 반응 혼합물을 질소 하에서 ~ 30분 동안 교반하였다. 완료시, 대다수의 용매를 감압 하에서 제거하였다. 잔류물을 CH₂Cl₂로 희석하고 수성 포화된 NaHCO₃ 및 염수로 세정하였다. 유기상을 분리하고, MgSO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축하여 오렌지색 시럽을 얻었다. 잔류물을 실리카겔 칼럼 크로마토그래피 (CH₂Cl₂ 중 2-10 % MeOH)에 의해 정제하여 화합물 152(0.35 g, 55 %)를 얻었다. LCMS 및 ¹H NMR은 예상된 화합물과 일치하였다.

[1315]

화합물 152 (0.35 g, 0.182 mmol)를 1:1 MeOH/EtOAc (10 mL)에 용해시켰다. 상기 용액에 아르곤 스트림을 15분 간 기포발생시켜 상기 반응 혼합물을 퍼징하였다. 펄만 촉매 (탄소상 수산화팔라듐)를 부가하였다 (35 mg). 용액에 수소 가스를 30분간 기포발생시켰다. 완료시 (DCM 중 TLC 10% MeOH, 및 LCMS), 촉매를 여과 (주사기-팁 테플론 필터, 0.45 μ m)에 의해 제거하였다. 상기 여과물을 회전식 증발로 농축하고, 고진공 하에서 잠시 건조하여 화합물 153 (0.33 g, 정량적)을 얻었다. LCMS는 원하는 생성물과 일치하였다.

[1316]

화합물 153 (0.33 g, 0.18 mmol)을 교반하면서 질소 하에서 무수 DMF (5 mL)에 용해시켰다. 여기에 *N,N*-디이소프로필에틸아민 (65 μ L, 0.37 mmol) 및 PFP-TFA (35 μ L, 0.28 mmol)를 부가하였다. 반응 혼합물을 질소 하에서 ~ 30분 동안 교반하였다. 반응 혼합물은 점착시 자홍색으로 변하였고, 점차 오렌지색으로 변하였다. 더 많은 *N,N*-디이소프로필에틸아민을 첨가하여 상기 반응 혼합물의 pH를 pH = 9-10으로 유지시켰다. 반응의 진행을 TLC 및 LCMS로 관찰하였다. 완료시, 대다수의 용매를 감압 하에서 제거하였다. 잔류물을 CH₂Cl₂ (50 mL)로 희석하고 수성 포화된 NaHCO₃ 및 염수로 세정하였다. 유기층을 MgSO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축하여 오렌지색 시럽을 얻었다. 조 물질을 칼럼 크로마토그래피로 정제하고 CH₂Cl₂ 중의 2-10% MeOH로 용출시켜 화합물 154 (0.29 g, 79 %)를 얻었다. LCMS 및 ¹H NMR은 예상된 화합물과 일치하였다.



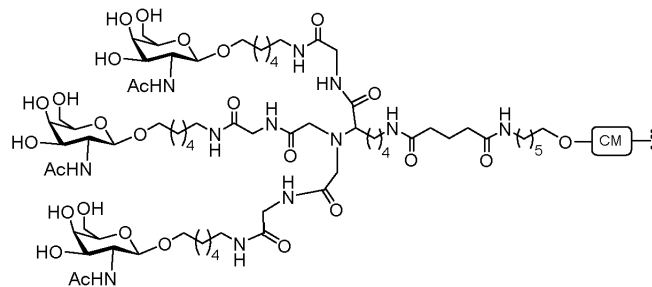
[1317]

[1318]

GalNAc₃-6 콘주게이트 그룹을 포함하는 올리고머 화합물 155를 실시예 46에 예시된 일반적인 과정을 이용하여 제조하였다. 콘주게이트 그룹 GalNAc₃-6의 GalNAc₃ 클러스터 부분 (GalNAc₃-6_a)은 임의의 절단가능 모이어티와 조합되어 다양한 콘주게이트 그룹을 제공할 수 있다. 특정 구현예에서, 절단가능 모이어티는 -P(=O)(OH)-A_d-P(=O)(OH)-이다.

[1319]

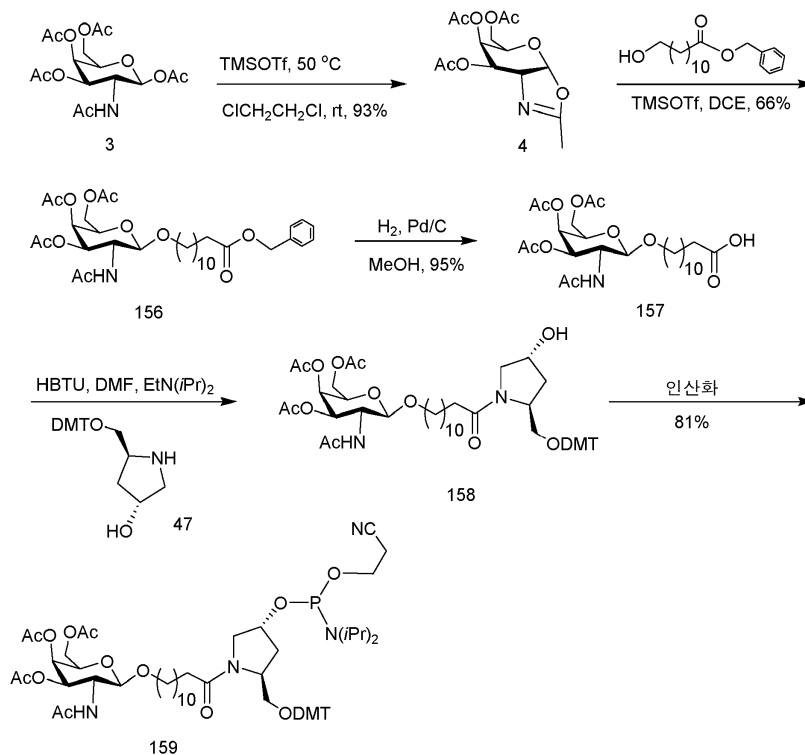
GalNAc₃-6 (GalNAc₃-6_a-CM-) 의 구조는 하기와 같다:



[1320]

[1321]

실시예 52: GalNAc₃-9를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 160의 제조



[1322]

[1323]

화합물 156를 하기 문헌에 기재된 과정에 따라 합성하였다: (*J. Med. Chem.* 2004, 47, 5798-5808).

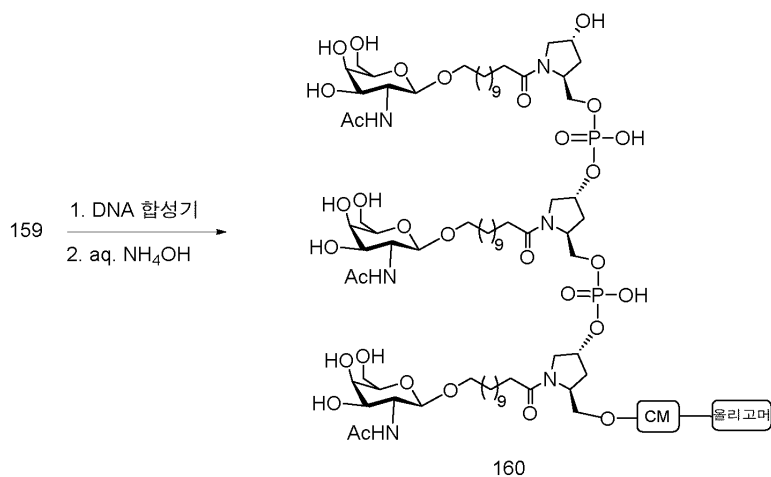
[1324]

화합물 156(18.60 g, 29.28 mmol)을 메탄올 (200 mL)에 용해시켰다. 탄소상 팔라듐 (6.15 g, 10 wt%, 로딩 (건조 기준), 매트릭스 탄소 분말, 습성)을 부가하였다. 상기 반응 혼합물을 실온에서 수소 하에서 18시간 동안 교반하였다. 상기 반응 혼합물을 셀라이트의 패드를 통해 여과하고 셀라이트 패드를 메탄올로 철저히 세정하였다. 조합된 여과물을 세정하고 농축 건조하였다. 잔류물을 실리카겔 칼럼 크로마토그래피로 정제하고 디클로로메탄

중의 5-10 % 메탄올로 용출시켜 화합물 157 (14.26 g, 89%)을 얻었다. 질량 m/z 544.1 $[M-H]^-$.

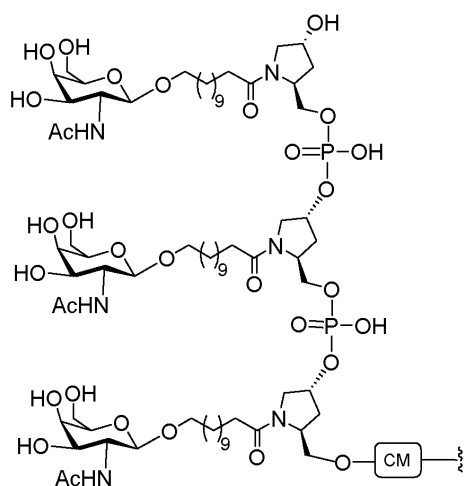
[1325] 화합물 157 (5 g, 9.17 mmol)을 무수 DMF (30 mL)에 용해시켰다. HBTU (3.65 g, 9.61 mmol) 및 *N,N*-디이소프로필에틸아민 (13.73 mL, 78.81 mmol)을 부가하고 상기 반응 혼합물을 실온에서 5분 동안 교반하였다. 여기에, 화합물 47 (2.96 g, 7.04 mmol)의 용액을 부가하였다. 반응을 실온에서 8시간 동안 교반하였다. 상기 반응 혼합물을 포화된 NaHCO_3 수용액에 부었다. 상기 혼합물을 에틸 아세테이트로 추출하고 유기층을 염수로 세정하고 건조시키고 (Na_2SO_4 상에서), 여과하고 증발시켰다. 수득된 잔류물을 실리카겔 칼럼 크로마토그래피로 정제하고 hexan 중의 50% 에틸 아세테이트로 용출시켜 화합물 158 (8.25g, 73.3%)을 얻었다. 구조를 MS 및 ^1H NMR 분석에 의해 확인하였다.

[1326] 화합물 158 (7.2 g, 7.61 mmol)을 감압 하에서 P_2O_5 로 건조시켰다. 상기 건조된 화합물을 무수 DMF (50 mL)에 용해시켰다. 여기에, 1H-테트라졸 (0.43 g, 6.09 mmol) 및 *N*-메틸이미다졸 (0.3 mL, 3.81 mmol) 및 2-시아노에틸-*N,N,N',N'*-테트라이소프로필 포스포로디아미다이트 (3.65 mL, 11.50 mmol)를 부가하였다. 상기 반응 혼합물을 아르곤 대기 하에서 4시간 동안 교반하였다. 상기 반응 혼합물을 에틸 아세테이트 (200 mL)로 희석하였다. 상기 반응 혼합물을 포화된 NaHCO_3 및 염수로 세정하였다. 유기상을 분리하고, 건조시키고 (Na_2SO_4), 여과하고 증발시켰다. 잔류물을 실리카겔 칼럼 크로마토그래피로 정제하고 hexan 중의 50-90 % 에틸 아세테이트로 용출시켜 화합물 159 (7.82 g, 80.5%)를 얻었다. 구조를 LCMS 및 ^{31}P NMR 분석에 의해 확인하였다.

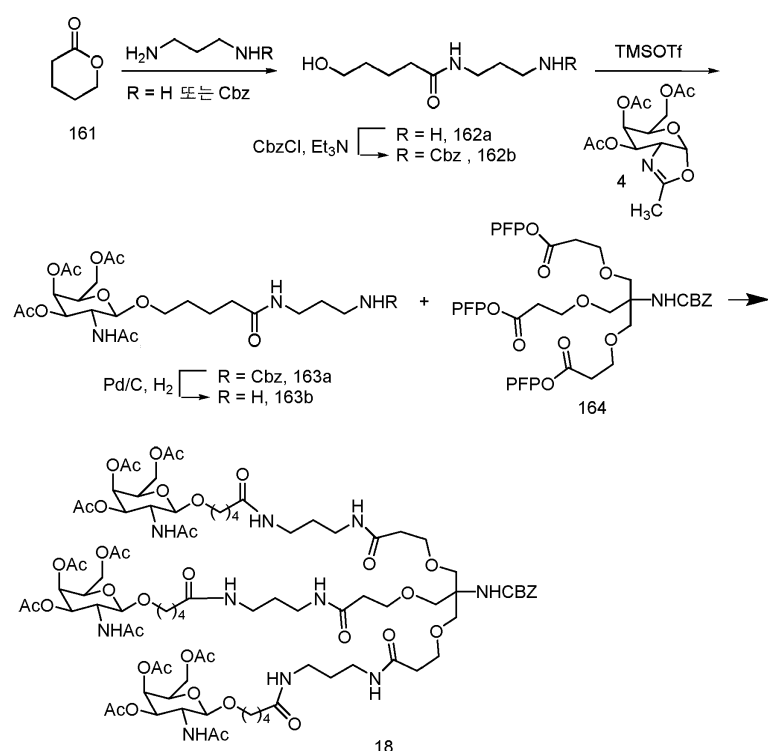


[1327]

[1328] GalNAc_3 -9 콘주게이트 그룹을 포함하는 올리고머 화합물 160을 표준 올리고뉴클레오타이드 합성 과정을 이용하여 제조하였다. 화합물 159의 3 유닛을 고체 지지체에 커플링시킨다음 뉴클레오타이드 포스포르아미다이트에 커플링시켰다. 암모니아수를 이용한 상기 보호된 올리고머 화합물의 처리는 화합물 160을 생성하였다. 콘주게이트 그룹 GalNAc_3 -9의 GalNAc_3 클러스터 부분 (GalNAc_3 -9_a)은 임의의 절단가능 모이어티와 조합되어 다양한 콘주게이트 그룹을 제공할 수 있다. 특정 구현예에서, 절단가능 모이어티는 $-\text{P}(=\text{O})(\text{OH})-\text{A}_d-\text{P}(=\text{O})(\text{OH})-$ 이다. GalNAc_3 -9 (GalNAc_3 -9_a-CM)의 구조는 하기와 같다:

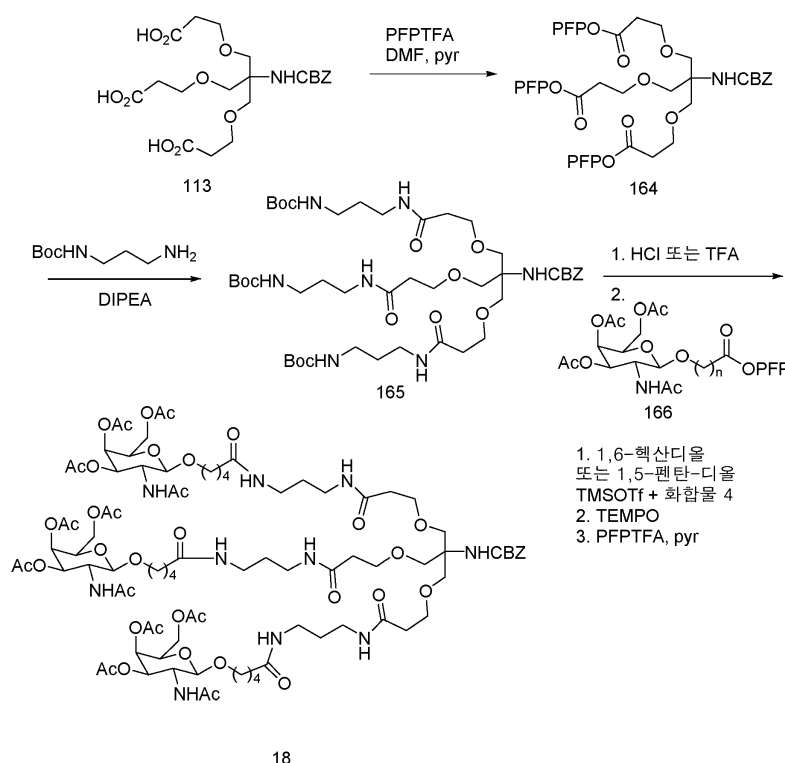


실시예 53: 화합물 18 (GalNAc₃-1a 및 GalNAc₃-3a)의 제조를 위한 대안적인 절차



락톤 161을 디아미노 프로판 (3-5 eq) 또는 모노-Boc 보호된 디아미노 프로판 (1 eq)과 반응시켜 알코올 162a 또는 162b를 제공하였다. 비보호된 프로판디아민이 상기 반응에 사용되는 경우, 과잉 디아민을 고진공 하에서 증발에 의해 제거하였고, 162a 내의 유리 아미노 그룹을 CbzCl을 이용하여 보호하여 칼럼 크로마토그래피에 의해 정제 후백색 고체물로서 162b를 제공하였다. 알코올 162b를 TMSOTf의 존재하에 화합물 4와 추가 반응시켜 163a를 제공하였고, 이는 촉매적 수소첨가를 이용한 Cbz 그룹의 제거에 의해 163b로 전환되었다. 펜타플루오로 페닐 (PFP) 에스테르 164를 3가산 113 (참고 실시예 48)을 DMF (0.1 내지 0.5 M) 중의 PFPTFA (3.5 eq) 및 피리딘 (3.5 eq)과 반응시켜 제조하였다. 상기 트리에스테르 164를 아민 163b (3-4 eq) 및 DIPEA (3-4 eq)와 직접 반응시켜 화합물 18을 제공하였다. 상기 방법은 중간체의 정제를 상당히 용이하게 하며 실시예 4에 기재된 과정을 이용하여 형성된 부산물의 형성을 최소화한다.

[1333] 실시예 54: 화합물 18 (GalNAc₃-1a 및 GalNAc₃-3a)의 제조를 위한 대안적인 절차



[1334]

[1335] triPFPP 에스테르 164를 상기 실시예 53에 개괄된 절차를 이용하여 산 113으로부터 제조하였고 모노-Boc 보호된 디아민과 반응시켜 165를 본질적으로 정량적 수율로 제공하였다. 상기 Boc 그룹을 염산 또는 트리플루오로아세트산으로 제거하여 트리아민을 제공하였고, 이를 적당한 염기, 예컨대 DIPEA의 존재하에 PFP 활성화된 산 166과 반응시켜 화합물 18을 제공하였다.

[1336] PFP 보호된 Gal-NAc 산 166을 DMF 중 PFPTFA (1-1.2 eq) 및 피리딘 (1-1.2 eq)으로 처리하여 상응하는 산으로부터 제조하였다. 전구체 산을 결국, 아세토니트릴 및 물 중의 TEMPO (0.2 eq) 및 BAIB를 이용한 산화에 의해 상응하는 알코올로부터 제조하였다. 전구체 알코올을 실시예 47에 앞서 기재된 조건을 이용하여 1,6-헥산디올 (또는 1,5-펜탄디올 또는 다른 n 값에 대한 다른 디올) (2-4 eq) 및 TMSOTf와의 반응에 의해 당 중간체 4로부터 제조하였다.

[1337] 실시예 55: 생체내에서 SRB-1을 표적으로 하는 3' 또는 5'-콘주게이트 그룹 (GalNAc₃-1, 3, 8 및 9의 비교)을 포함하는 올리고뉴클레오타이드의 용량-의존적 연구

[1338] 아래에서 열거된 올리고뉴클레오타이드는 마우스에서 SRB-1의 안티센스 억제에 대한 용량-의존적 연구에서 시험되었다. 비콘주게이트된 ISIS 353382는 표준으로서 포함된다. 각각의 다양한 GalNAc₃ 콘주게이트 그룹은 포스포디에스테르 연결된 2'-데옥시아데노신 뉴클레오타이드 (절단가능 모이어티)에 의해 각 올리고뉴클레오타이드의 3' 또는 5' 말단에서 부착되었다.

[1339] 표 39

[1340] SRB-1을 표적으로 하는 변형된 ASO

ASO	서열 (5' 내지 3')	모티프	콘주게이트	서열 번호
ISIS 353382 (모체)	$G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es}^m C_{es} A_{ds} G_{ds} T_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}$ $^m C_{ds} T_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} T_e$	5/10/5	없음	2256
ISIS 655861	$G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es}^m C_{es} A_{ds} G_{ds} T_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}$ $^m C_{ds} T_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} T_{eo} A_{do} - GalNAc_3 - 1_a$	5/10/5	GalNAc₃-1	2257
ISIS 664078	$G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es}^m C_{es} A_{ds} G_{ds} T_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}$ $^m C_{ds} T_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} T_{eo} A_{do} - GalNAc_3 - 9_a$	5/10/5	GalNAc₃-9	2257
ISIS 661161	GalNAc₃-3_a-o_a A_{do} $G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es}^m C_{es} A_{ds} G_{ds} T_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}$ $^m C_{ds} T_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} T_e$	5/10/5	GalNAc₃-3	2258
ISIS 665001	GalNAc₃-8_a-o_a A_{do} $G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es}^m C_{es} A_{ds} G_{ds} T_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}$ $^m C_{ds} T_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} T_e$	5/10/5	GalNAc₃-8	2258

[1341]

[1342] 대문자는 각 뉴클레오타이드에 대한 핵염기를 나타내고 ^mC는 5-메틸 시토신을 나타낸다. 하첨자: "e"는 2'-MOE 변형된 뉴클레오타이드를 나타내고; "d"는 β-D-2'-데옥시리보뉴클레오타이드를 나타내고; "s"는 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 (PS)을 나타내고; "o"는 포스포다에스테르 뉴클레오타이드간 연결 (PO)을 나타내고; 그리고 "o'"는 -O-P(=O)(OH)-를 나타낸다. 콘주게이트 그룹은 굵은 글자체이다.

[1343]

"GalNAc₃-1_a"의 구조가 실시예 9에 나타나 있다. "GalNAc₃-9"의 구조가 실시예 52에 나타나 있다. "GalNAc₃-3"의 구조가 실시예 39에 나타나 있다. "GalNAc₃-8"의 구조가 실시예 47에 나타나 있다.

[1344]

치료

[1345]

6 주령 수컷 Balb/c 마우스 (Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME)에게 ISIS 353382, 655861, 664078, 661161, 665001 또는 염수가 아래에서 보여진 투여량으로 피하로 1 회 주입되었다. 각 처리 그룹은 4 마리의 동물로 구성되었다. 마우스는 최종 투여로부터 72 시간 후에 희생되었고 표준 프로토콜에 따라 실시간 PCR 및 RIBOGREEN® RNA 정량화 시약을 사용하여 간 SRB-1 mRNA 수준을 측정했다 (Molecular Probes, Inc. Eugene, OR). 아래의 결과는 염수 대조군에 대해 정규화된 각 처리 그룹에 대한 SRB-1 mRNA 수준의 평균 퍼센트로서 나타낸다.

[1346]

표 40에서 실증된 바와 같이, 안티센스 올리고뉴클레오타이드에 의한 처리 용량-의존 방식에서 SRB-1 mRNA 수준을 감소시켰다. 사실상, 3' 말단에서 포스포다에스테르 연결된 GalNAc₃-1 및 GalNAc₃-9 콘주게이트 (ISIS 655861 및 ISIS 664078) 및 5' 말단에서 연결된 GalNAc₃-3 및 GalNAc₃-8 콘주게이트 (ISIS 661161 및 ISIS 665001)을 포함하는 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 비콘주게이트된 안티센스 올리고뉴클레오타이드 (ISIS 353382)와 비교하여 효능의 실질적인 개선을 보여주었다. 더욱이, 3' 말단에서 GalNAc₃-9 콘주게이트를 포함하는 ISIS 664078은 3' 말단에서 GalNAc₃-1 콘주게이트를 포함하는 ISIS 655861와 비교하여 본질적으로 동등하게 강력했다. GalNAc₃-3 또는 GalNAc₃-9, 각각을 포함하는 5' 콘주게이트된 안티센스 올리고뉴클레오타이드, ISIS 661161 및 ISIS 665001은, 3' 콘주게이트된 안티센스 올리고뉴클레오타이드 (ISIS 655861 및 ISIS 664078)와 비교하여 증가된 효능을 가졌다.

[1347]

표 40

[1348] SRB-1을 표적으로 하는 GalNAc₃-1, 3, 8 또는 9를 함유하는 ASO

ISIS 번호	투여량 (mg/kg)	SRB-1 mRNA (% 염수)	콘주게이트
염수	n/a	100	
353382	3	88	없음
	10	68	
	30	36	
655861	0.5	98	GalNAc ₃ -1 (3')
	1.5	76	
	5	31	
	15	20	
664078	0.5	88	GalNAc ₃ -9 (3')
	1.5	85	
	5	46	
	15	20	
661161	0.5	92	GalNAc ₃ -3 (5')
	1.5	59	
	5	19	
	15	11	
665001	0.5	100	GalNAc ₃ -8 (5')
	1.5	73	
	5	29	
	15	13	

[1349]

[1350] 혈청 중 간 트랜스아미나제 수준, 알라닌 트랜스아미나제 (ALT) 및 아스파르테이트 트랜스아미나제 (AST)는, 표준 프로토콜을 사용하여 염수 주입된 마우스에 대해 측정되었다. 총 빌리루빈 및 BUN가 또한 평가되었다. 체중의 변화를 염수 군으로부터 유의미한 변화 없이 평가했다. ALT, AST, 총 빌리루빈 및 BUN 값은 아래의 표에서 보여진다.

[1351] 표 41

ISIS 번호	투여량 mg/kg	ALT	AST	총 빌리루빈	BUN	콘주게이트
염수		24	59	0.1	37.52	
353382	3	21	66	0.2	34.65	없음
	10	22	54	0.2	34.2	
	30	22	49	0.2	33.72	
655861	0.5	25	62	0.2	30.65	GalNAc ₃ -1 (3')
	1.5	23	48	0.2	30.97	
	5	28	49	0.1	32.92	
	15	40	97	0.1	31.62	
664078	0.5	40	74	0.1	35.3	GalNAc ₃ -9 (3')
	1.5	47	104	0.1	32.75	
	5	20	43	0.1	30.62	
	15	38	92	0.1	26.2	
661161	0.5	101	162	0.1	34.17	GalNAc ₃ -3 (5')
	1.5 g	42	100	0.1	33.37	
	5 g	23	99	0.1	34.97	
	15	53	83	0.1	34.8	
665001	0.5	28	54	0.1	31.32	GalNAc ₃ -8 (5')
	1.5	42	75	0.1	32.32	
	5	24	42	0.1	31.85	
	15	32	67	0.1	31.	

[1352]

[1353] 실시예 56: 생체내에서 SRB-1을 표적으로 하는 3' 또는 5'-콘주게이트 그룹 (GalNAc₃-1, 2, 3, 5, 6, 7 및 10의 비교)을 포함하는 올리고뉴클레오타드의 용량-의존적 연구

[1354] 아래에서 열거된 올리고뉴클레오타드는 마우스에서 SRB-1의 안티센스 억제에 대한 용량-의존적 연구에서 시험되었다. 비콘주게이트된 ISIS 353382는 표준으로서 포함된다. 각각의 다양한 GalNAc₃ 콘주게이트 그룹은 포스포디에스테르 연결된 2'-데옥시아데노신 뉴클레오타이드 (절단가능 모이어티)에 의해 각 올리고뉴클레오타드의 5' 말

단에서 부착되었고, 단 3' 말단에서 부착된 GalNAc₃ 콘주게이트 그룹을 갖는 ISIS 655861는 제외된다.

표 42

SRB-1을 표적으로 하는 변형된 ASO

ASO	서열 (5' 내지 3')	모티프	콘주게이트	서열 번호
ISIS 353382 (모체)	G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} T _{es} T _e	5/10/5	콘주게이트 없음	2256
ISIS 655861	G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} T _{es} T _e ^m A _{do} -GalNAc ₃ -1 _a	5/10/5	GalNAc ₃ -1	2257
ISIS 664507	GalNAc ₃ -2 _a -o'-A _{do} G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} T _{es} T _e	5/10/5	GalNAc ₃ -2	2258
ISIS 661161	GalNAc ₃ -3 _a -o'-A _{do} G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} T _{es} T _e	5/10/5	GalNAc ₃ -3	2258

ISIS 666224	GalNAc ₃ -5 _a -o'-A _{do} G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} T _{es} T _e	5/10/5	GalNAc ₃ -5	2258
ISIS 666961	GalNAc ₃ -6 _a -o'-A _{do} G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} T _{es} T _e	5/10/5	GalNAc ₃ -6	2258
ISIS 666981	GalNAc ₃ -7 _a -o'-A _{do} G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} T _{es} T _e	5/10/5	GalNAc ₃ -7	2258
ISIS 666881	GalNAc ₃ -10 _a -o'-A _{do} G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} T _{es} T _e	5/10/5	GalNAc ₃ -10	2258

대문자는 각 뉴클레오타이드에 대한 핵염기를 나타내고 ^mC는 5-메틸 시토신을 나타낸다. 하첨자: "e"는 2'-MOE 변형된 뉴클레오타이드를 나타내고; "d"는 β-D-2'-데옥시리보뉴클레오타이드를 나타내고; "s"는 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 (PS)을 나타내고; "o"는 포스포다에스테르 뉴클레오타이드간 연결 (PO)을 나타내고; 그리고 "o'"는 -O-P(=O)(OH)-를 나타낸다. 콘주게이트 그룹은 굵은 글자체이다.

"GalNAc₃-1_a"의 구조가 실시예 9에 나타나 있다. "GalNAc₃-2_a"의 구조가 실시예 37에 나타나 있다. "GalNAc₃-3_a"의 구조가 실시예 39에 나타나 있다. "GalNAc₃-5_a"의 구조가 실시예 49에 나타나 있다. "GalNAc₃-6_a"의 구조가 실시예 51에 나타나 있다. "GalNAc₃-7_a"의 구조가 실시예 48에 나타나 있다. "GalNAc₃-10_a"의 구조가 실시예 46에 나타나 있다.

치료

6 주령 수컷 Balb/c 마우스 (Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME)에게 ISIS 353382, 655861, 664507, 661161, 666224, 666961, 666981, 666881 또는 염수가 아래에서 보여진 투여량으로 피하로 1 회 주입되었다. 각 처리 그룹은 4 마리의 동물로 구성되었다. 마우스는 최종 투여로부터 72 시간 후에 희생되었고 표준 프로토콜에 따라 실시간 PCR 및 RIBOGREEN® RNA 정량화 시약을 사용하여 간 SRB-1 mRNA 수준을 측정했다 (Molecular Probes, Inc. Eugene, OR). 아래의 결과는 염수 대조군에 대해 정규화된 각 처리 그룹에 대한 SRB-1 mRNA 수준의 평균 퍼센트로서 나타낸다.

표 43에 예시된 바와 같이, 안티센스 올리고뉴클레오타이드 처리는 SRB-1 mRNA 수준을 용량-의존적 방식으로 낮추었다. 사실상, 콘주게이트된 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 비콘주게이트된 안티센스 올리고뉴클레오타이드 (ISIS 353382) 와 비교하여 효능의 실질적인 개선을 보여주었다. 5' 콘주게이트된 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 3' 콘주게이트된 안티센스 올리고뉴클레오타이드와 비교하여 효능의 약간의 증가를 보여주었다.

표 43

ISIS 번호	투여량 (mg/kg)	SRB-1 mRNA (% 염수)	콘주게이트
염수	n/a	100.0	
353382	3	96.0	없음
	10	73.1	
	30	36.1	

655861	0.5	99.4	GalNac₃-1 (3')
	1.5	81.2	
	5	33.9	
	15	15.2	
664507	0.5	102.0	GalNac₃-2 (5')
	1.5	73.2	
	5	31.3	
	15	10.8	
661161	0.5	90.7	GalNac₃-3 (5')
	1.5	67.6	
	5	24.3	
	15	11.5	
666224	0.5	96.1	GalNac₃-5 (5')
	1.5	61.6	
	5	25.6	
	15	11.7	
666961	0.5	85.5	GalNac₃-6 (5')
	1.5	56.3	
	5	34.2	
	15	13.1	
666981	0.5	84.7	GalNac₃-7 (5')
	1.5	59.9	
	5	24.9	
	15	8.5	
666881	0.5	100.0	GalNac₃-10 (5')
	1.5	65.8	
	5	26.0	
	15	13.0	

[1366]

[1367] 혈청 중 간 트랜스아미나제 수준, 알라닌 트랜스아미나제 (ALT) 및 아스파르테이트 트랜스아미나제 (AST)는, 표준 프로토콜을 사용하여 염수 주입된 마우스에 대해 측정되었다. 총 빌리루빈 및 BUN가 또한 평가되었다. 체중의 변화를 염수 군으로부터 유의미한 변화 없이 평가했다. ALT, AST, 총 빌리루빈 및 BUN 값은 아래의 표 44에서 보여진다.

[1368]

표 44

ISIS 번호	투여량 mg/kg	ALT	AST	총 빌리루빈	BUN	콘주게이트
염수		26	57	0.2	27	
353382	3	25	92	0.2	27	없음
	10	23	40	0.2	25	
	30	29	54	0.1	28	
655861	0.5	25	71	0.2	34	GalNac₃-1 (3')
	1.5	28	60	0.2	26	
	5	26	63	0.2	28	
	15	25	61	0.2	28	
664507	0.5	25	62	0.2	25	GalNac₃-2 (5')
	1.5	24	49	0.2	26	
	5	21	50	0.2	26	

[1369]

	15	59	84	0.1	22	
661161	0.5	20	42	0.2	29	GalNAc ₃ -3 (5')
	1.5 g	37	74	0.2	25	
	5 g	28	61	0.2	29	
	15	21	41	0.2	25	
666224	0.5	34	48	0.2	21	GalNAc ₃ -5 (5')
	1.5	23	46	0.2	26	
	5	24	47	0.2	23	
	15	32	49	0.1	26	
666961	0.5	17	63	0.2	26	GalNAc ₃ -6 (5')
	1.5	23	68	0.2	26	
	5	25	66	0.2	26	
	15	29	107	0.2	28	
666981	0.5	24	48	0.2	26	GalNAc ₃ -7 (5')
	1.5	30	55	0.2	24	
	5	46	74	0.1	24	
	15	29	58	0.1	26	
666881	0.5	20	65	0.2	27	GalNAc ₃ -10 (5')
	1.5	23	59	0.2	24	
	5	45	70	0.2	26	
	15	21	57	0.2	24	

[1370]

[1371]

실시예 57: 생체내에서 ApoC III을 표적으로 하는 3'-콘주게이트 그룹을 포함하는 올리고뉴클레오타이드의 작용 연구의 지속 시간

[1372]

마우스에게 아래에서 명시된 용량이 1 회 주입되었고 42 일의 과정 동안 ApoC-III 및 혈장 트리글리세라이드 (혈장 TG) 수준에 대해 모니터링되었다. 연구는 각 그룹에서 인간 APOC-III을 발현시키는 3 개의 형질전환 마우스를 사용하여 수행되었다.

[1373]

표 45

[1374]

ApoC III를 표적으로 하는 변형된 ASO

ASO	서열 (5' 내지 3')	연결	서열 번호
ISIS 304801	A _{es} G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} G _{ds} ^m C _{ds} T _{es} T _{es} T _{es} A _{es} T _e	PS	2248
ISIS 647535	A _{es} G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} G _{ds} ^m C _{ds} T _{es} T _{es} T _{es} A _{es} T _{eo} A _{do} '-GalNAc ₃ -1 _a	PS	2249
ISIS 647536	A _{es} G _{eo} ^m C _{eo} T _{eo} T _{eo} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} G _{ds} ^m C _{ds} T _{eo} T _{eo} T _{es} A _{es} T _{eo} A _{do} '-GalNAc ₃ -1 _a	PO/PS	2249

[1375]

[1376]

대문자는 각 뉴클레오타이드에 대한 핵염기를 나타내고 ^mC는 5-메틸 시토신을 나타낸다. 하첨자: "e"는 2'-MOE 변형된 뉴클레오타이드를 나타내고; "d"는 β-D-2'-데옥시리보뉴클레오타이드를 나타내고; "s"는 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 (PS)을 나타내고; "o"는 포스포디에스테르 뉴클레오타이드간 연결 (PO)을 나타내고; 그리고 "o'"는 -O-P(=O)(OH)-를 나타낸다. 콘주게이트 그룹은 굵은 글자체이다.

[1377]

"GalNAc₃-1_a"의 구조가 실시예 9에 나타나 있다.

[1378]

표 46

[1379]

ApoC III mRNA (1 일째 염수 %) 및 혈장 TG 수준 (1 일째 염수 %)

ASO	투여	표적	제3일	제7일	제14일	제35일	제42일
염수	0 mg/kg	ApoC-III	98	100	100	95	116
ISIS 304801	30 mg/kg	ApoC-III	28	30	41	65	74
ISIS 647535	10 mg/kg	ApoC-III	16	19	25	74	94
ISIS 647536	10 mg/kg	ApoC-III	18	16	17	35	51
염수	0 mg/kg	혈장 TG	121	130	123	105	109
ISIS 304801	30 mg/kg	혈장 TG	34	37	50	69	69
ISIS 647535	10 mg/kg	혈장 TG	18	14	24	18	71
ISIS 647536	10 mg/kg	혈장 TG	21	19	15	32	35

[1380]

[1381]

상기 표에서 보여질 수 있는 바와 같이, 작용의 지속시간은 비콘주게이트된 올리고뉴클레오타이드와 비교하여 3'-콘주게이트 그룹의 부가와 함께 증가되었다. 콘주게이트된 완벽한 PS 올리고뉴클레오타이드 647535와 비교하여 콘주게이트된 혼합된 PO/PS 올리고뉴클레오타이드 647536에 대한 작용의 지속시간이 추가로 증가되었다.

[1382] 실시예 58: 생체내에서 SRB-1을 표적으로 하는 3'-콘주게이트 그룹 (GalNAc₃-1 및 GalNAc₄-11의 비교)을 포함하는 올리고뉴클레오타이드의 용량-의존적 연구

[1383] 아래에서 열거된 올리고뉴클레오타이드는 마우스에서 SRB-1의 안티센스 억제에 대한 용량-의존적 연구에서 시험되었다. 비콘주게이트된 ISIS 440762은 비콘주게이트된 표준으로서 포함되었다. 각각의 콘주게이트 그룹은 포스포디에스테르 연결된 2'-테옥시아데노신 뉴클레오타이드 절단가능 모이어티에 의해 각 올리고뉴클레오타이드의 3' 말단에서 부착되었다.

[1384] "GalNAc₃-1_a"의 구조가 실시예 9에 나타나 있다. "GalNAc₃-11_a"의 구조가 실시예 50에 나타나 있다.

[1385] 치료

[1386] 6 주령 수컷 Balb/c 마우스 (Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME)에게 ISIS 440762, 651900, 663748 또는 염수가 아래에서 보여진 투여량으로 피하로 1 회 주입되었다. 각 처리 그룹은 4 마리의 동물로 구성되었다. 마우스는 최종 투여로부터 72 시간 후에 희생되었고 표준 프로토콜에 따라 실시간 PCR 및 RIBOGREEN® RNA 정량화 시약을 사용하여 간 SRB-1 mRNA 수준을 측정했다 (Molecular Probes, Inc. Eugene, OR). 아래의 결과는 염수 대조군에 대해 정규화된 각 처리 그룹에 대한 SRB-1 mRNA 수준의 평균 퍼센트로서 나타낸다.

[1387] 표 47에서 실증된 바와 같이, 안티센스 올리고뉴클레오타이드에 의한 처리는 용량-의존 방식에서 SRB-1 mRNA 수준을 감소시켰다. 3' 말단(ISIS 651900 및 ISIS 663748)에서 포스포디에스테르 연결된 GalNAc₃-1 및 GalNAc₄-11 콘주게이트를 포함하는 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 비콘주게이트된 안티센스 올리고뉴클레오타이드 (ISIS 440762)와 비교하여 효능의 실질적인 개선을 보여주었다. 2 개의 콘주게이트된 올리고뉴클레오타이드, GalNAc₃-1 및 GalNAc₄-11는, 동등하게 강력했다.

[1388] 표 47

[1389] SRB-1을 표적으로 하는 변형된 ASO

ASO	서열 (5' 내지 3')	투여 mg/kg	% 염수 대조군	서열 번호
염수			100	
ISIS 440762	T _{ks} ^m C _{ks} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ks} ^m C _k	0.6	73.45	2250
		2	59.66	
		6	23.50	
		0.2	62.75	
ISIS 651900	T _{ks} ^m C _{ks} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ks} ^m C _{ko} A _{do} -GalNAc ₃ -1 _a	0.6	29.14	2251
		2	8.61	
		6	5.62	
		0.2	63.99	
ISIS 663748	T _{ks} ^m C _{ks} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ks} ^m C _{ko} A _{do} -GalNAc ₄ -11 _a	0.6	33.53	2251
		2	7.58	
		6	5.52	
		0.2	63.99	

[1390]

[1391] 대문자는 각 뉴클레오타이드에 대한 핵염기를 나타내고 ^mC는 5-메틸 시토신을 나타낸다. 하첨자: "e"는 2'-MOE 변형된 뉴클레오타이드를 나타내고; "k"는 6' -(S)-CH₃ 이환식 뉴클레오타이드를 나타내고; "d"는 β-D-2'-테옥시리보 뉴클레오타이드를 나타내고; "s"는 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 (PS)을 나타내고; "o"는 포스포디에스테르 뉴클레오타이드간 연결 (PO)을 나타내고; 그리고 "o'"는 -O-P(=O)(OH)-를 나타낸다. 콘주게이트 그룹은 굵은 글자체이다.

[1392] 혈청 중 간 트랜스아미나제 수준, 알라닌 트랜스아미나제 (ALT) 및 아스파르테이트 트랜스아미나제 (AST)는, 표준 프로토콜을 사용하여 염수 주입된 마우스에 대해 측정되었다. 총 빌리루빈 및 BUN가 또한 평가되었다. 체중의 변화를 염수 군으로부터 유의미한 변화 없이 평가했다. ALT, AST, 총 빌리루빈 및 BUN 값은 아래의 표 48에서 보여진다.

표 48

ISIS 번호	투여량 mg/kg	ALT	AST	총 빌리루빈	BUN	콘주게이트
염수		30	76	0.2	40	
440762	0.60	32	70	0.1	35	없음
	2	26	57	0.1	35	
	6	31	48	0.1	39	
651900	0.2	32	115	0.2	39	GalNac ₃ -1 (3')
	0.6	33	61	0.1	35	
	2	30	50	0.1	37	
	6	34	52	0.1	36	
663748	0.2	28	56	0.2	36	GalNac ₄ -11 (3')
	0.6	34	60	0.1	35	
	2	44	62	0.1	36	
	6	38	71	0.1	33	

실시예 59: 생체내 FXI을 표적으로 하는 GalNac₃-1 콘주게이트된 ASO의 효과

아래에서 열거된 올리고뉴클레오타이드는 마우스에서 FXI의 안티센스 억제에 대한 다중 용량 연구에서 시험되었다. ISIS 404071은 비콘주게이트된 표준으로서 포함되었다. 각각의 콘주게이트 그룹은 포스포디에스테르 연결된 2'-데옥시아데노신 뉴클레오시드 절단가능 모이어티에 의해 각 올리고뉴클레오타이드의 3' 말단에서 부착되었다.

표 49

FXI를 표적으로 하는 변형된 ASO

ASO	서열 (5' 내지 3')	연결	서열 번호
ISIS 404071	T _{es} G _{es} G _{es} T _{es} A _{es} A _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{es} G _{es} A _{es} G _{es} G _e	PS	2259
ISIS 656172	T _{es} G _{es} G _{es} T _{es} A _{es} A _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{es} G _{es} A _{es} G _{es} G _{eo} A _{do} '-GalNac ₃ -1 _a	PS	2260
ISIS 656173	T _{es} G _{eo} G _{eo} T _{eo} A _{eo} A _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{eo} G _{eo} A _{es} G _{es} G _{eo} A _{do} '-GalNac ₃ -1 _a	PO/PS	2260

대문자는 각 뉴클레오시드에 대한 핵염기를 나타내고 ^mC는 5-메틸 시토신을 나타낸다. 하첨자: "e"는 2'-MOE 변형된 뉴클레오시드를 나타내고; "d"는 β-D-2'-데옥시리보뉴클레오시드를 나타내고; "s"는 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결 (PS)을 나타내고; "o"는 포스포디에스테르 뉴클레오시드간 연결 (PO)을 나타내고; 그리고 "o'"는 -O-P(=O)(OH)-를 나타낸다. 콘주게이트 그룹은 굵은 글자체이다.

"GalNac₃-1_a"의 구조가 실시예 9에 나타나 있다.

치료

6 주령 수컷 Balb/c 마우스 (Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME)에게 피하로 매주 2회 3 주 동안 아래에서 보여진 투여량으로 ISIS 404071, 656172, 656173 또는 PBS 처리된 대조군이 주입되었다. 각 처리 그룹은 4 마리의 동물로 구성되었다. 마우스는 최종 투여로부터 72 시간 후에 희생되었고 표준 프로토콜에 따라 실시간 PCR 및 RIBOGREEN® RNA 정량화 시약을 사용하여 간 FXI mRNA 수준을 측정했다 (Molecular Probes, Inc. Eugene, OR). 혈장 FXI 단백질 수준은 ELISA를 사용하여 또한 측정되었다. FXI mRNA 수준은 PBS-처리된 대조군에 대한 정상화 전에 (RIBOGREEN®를 사용하여) 총 RNA에 대해 결정되었다. 아래의 결과는 각 처리 그룹에 대한 FXI mRNA 수준의 평균 퍼센트로서 제공된다. 데이터는 PBS-처리된 대조군에 대해 정규화되었고 "% PBS"로 나타낸다. ED₅₀은 전에 기재된 것과 유사한 방법을 사용하여 측정되었고 아래에서 제공된다.

표 50

[1405] 인자 XI mRNA (염수 %)

ASO	투여 mg/kg	% 대조군	콘주게이트	연결
염수		100	없음	
ISIS 404071	3	92	없음	PS
	10	40		
	30	15		
ISIS 656172	0.7	74	GalNAc ₃ -1	PS
	2	33		
	6	9		
ISIS 656173	0.7	49	GalNAc ₃ -1	PO/PS
	2	22		
	6	1		

[1406]

[1407] 표 50에서 실증된 바와 같이, 안티센스 올리고뉴클레오타드에 의한 처리는 용량-의존 방식에서 FXI mRNA 수준을 감소시켰다. 3'-GalNAc₃-1 콘주게이트 그룹을 포함하는 올리고뉴클레오타드는 비콘주게이트된 안티센스 올리고뉴클레오타드 (ISIS 404071) 와 비교하여 효능의 실질적인 개선을 보여주었다. 2 개의 콘주게이트된 올리고뉴클레오타드 사이에 효능의 개선이 추가로, PS 연결의 일부를 PO (ISIS 656173)로 치환하여 제공되었다.

[1408] 표 50a에서 실증된 바와 같이, 안티센스 올리고뉴클레오타드에 의한 처리는 용량-의존 방식에서 FXI 단백질 수준을 감소시켰다. 3'-GalNAc₃-1 콘주게이트 그룹을 포함하는 올리고뉴클레오타드는 비콘주게이트된 안티센스 올리고뉴클레오타드 (ISIS 404071) 와 비교하여 효능의 실질적인 개선을 보여주었다. 2 개의 콘주게이트된 올리고뉴클레오타드 사이에 효능의 개선이 추가로, PS 연결의 일부를 PO (ISIS 656173)로 치환하여 제공되었다.

[1409] 표 50a

[1410] 인자 XI 단백질 (염수 %)

ASO	투여 mg/kg	단백질 (% 대조군)	콘주게이트	연결
염수		100	없음	
ISIS 404071	3	127	없음	PS
	10	32		
	30	3		
ISIS 656172	0.7	70	GalNAc ₃ -1	PS
	2	23		
	6	1		
ISIS 656173	0.7	45	GalNAc ₃ -1	PO/PS
	2	6		
	6	0		

[1411]

[1412] 혈청 중 간 트랜스아미나제 수준, 알라닌 트랜스아미나제 (ALT) 및 아스파르테이트 트랜스아미나제 (AST)는, 표준 프로토콜을 사용하여 염수 주입된 마우스에 대해 측정되었다. 총 빌리루빈, 총 알부민, CRE 및 BUN가 또한 평가되었다. 체중의 변화를 염수 군으로부터 유의미한 변화 없이 평가했다. ALT, AST, 총 빌리루빈 및 BUN 값은 아래의 표에서 보여진다.

[1413] 표 51

ISIS 번호	투여량 mg/kg	ALT	AST	총 알부민	총 빌리루빈	CRE	BUN	콘주게이트
염수		71.8	84.0	3.1	0.2	0.2	22.9	
404071	3	152.8	176.0	3.1	0.3	0.2	23.0	없음
	10	73.3	121.5	3.0	0.2	0.2	21.4	
	30	82.5	92.3	3.0	0.2	0.2	23.0	
656172	0.7	62.5	111.5	3.1	0.2	0.2	23.8	GalNAc ₃ -1 (3')
	2	33.0	51.8	2.9	0.2	0.2	22.0	
	6	65.0	71.5	3.2	0.2	0.2	23.9	
656173	0.7	54.8	90.5	3.0	0.2	0.2	24.9	GalNAc ₃ -1 (3')
	2	85.8	71.5	3.2	0.2	0.2	21.0	
	6	114.0	101.8	3.3	0.2	0.2	22.7	

[1414]

[1415] 실시예 60: 시험관내 SRB-1을 표적으로 하는 콘주게이트된 ASO의 효과

[1416] 아래에서 열거된 올리고뉴클레오타이드는 일차 마우스 간세포에서 SRB-1의 안티센스 억제에 대한 다중 용량 연구에서 시험되었다. ISIS 353382은 비콘주게이트된 표준으로서 포함되었다. 각각의 콘주게이트 그룹은 포스포디에스테르 연결된 2'-데옥시아데노신 뉴클레오타이드 절단가능 모이어티에 의해 각 올리고뉴클레오타이드의 3' 또는 5' 말단에서 부착되었다.

[1417] 표 52

[1418] SRB-1을 표적으로 하는 변형된 ASO

ASO	서열 (5' 내지 3')	모티프	콘주게이트	서열 번호
ISIS 353382	G _{cs} ^m C _{ds} T _{es} T _{es} ^m C _{cs} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} ^m C _{cs} ^m C _{cs} T _{es} T _e	5/10/5	없음	2256
ISIS 655861	G _{cs} ^m C _{ds} T _{es} T _{es} ^m C _{cs} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} ^m C _{cs} ^m C _{cs} T _{es} T _{eo} A _{do} ^m -GalNAc ₃ -I _a	5/10/5	GalNAc ₃ -1	2257
ISIS 655862	G _{cs} ^m C _{eo} T _{eo} T _{eo} ^m C _{eo} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{eo} ^m C _{eo} ^m C _{cs} T _{es} T _{eo} A _{do} ^m -GalNAc ₃ -I _a	5/10/5	GalNAc ₃ -1	2257
ISIS 661161	GalNAc ₃ -3 _{a-o} -A _{do} G _{cs} ^m C _{cs} T _{es} T _{es} ^m C _{cs} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} ^m C _{cs} ^m C _{cs} T _{es} T _e	5/10/5	GalNAc ₃ -3	2258
ISIS 665001	GalNAc ₃ -8 _{a-o} -A _{do} G _{cs} ^m C _{cs} T _{es} T _{es} ^m C _{cs} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} ^m C _{cs} ^m C _{cs} T _{es} T _e	5/10/5	GalNAc ₃ -8	2258
ISIS 664078	G _{cs} ^m C _{ds} T _{es} T _{es} ^m C _{cs} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} ^m C _{cs} ^m C _{cs} T _{es} T _{eo} A _{do} ^m -GalNAc ₃ -9 _a	5/10/5	GalNAc ₃ -9	2257
ISIS 666961	GalNAc ₃ -6 _{a-o} -A _{do} G _{cs} ^m C _{cs} T _{es} T _{es} ^m C _{cs} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} ^m C _{cs} ^m C _{cs} T _{es} T _e	5/10/5	GalNAc ₃ -6	2258
ISIS 664507	GalNAc ₃ -2 _{a-o} -A _{do} G _{cs} ^m C _{cs} T _{es} T _{es} ^m C _{cs} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} ^m C _{cs} ^m C _{cs} T _{es} T _e	5/10/5	GalNAc ₃ -2	2258

[1419]

ISIS 666881	GalNAc ₃ -10 _{a-o} -A _{do} G _{cs} ^m C _{cs} T _{es} T _{es} ^m C _{cs} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} ^m C _{cs} ^m C _{cs} T _{es} T _e	5/10/5	GalNAc ₃ -10	2258
ISIS 666224	GalNAc ₃ -5 _{a-o} -A _{do} G _{cs} ^m C _{cs} T _{es} T _{es} ^m C _{cs} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} ^m C _{cs} ^m C _{cs} T _{es} T _e	5/10/5	GalNAc ₃ -5	2258
ISIS 666981	GalNAc ₃ -7 _{a-o} -A _{do} G _{cs} ^m C _{cs} T _{es} T _{es} ^m C _{cs} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} ^m C _{cs} ^m C _{cs} T _{es} T _e	5/10/5	GalNAc ₃ -7	2258

[1420]

[1421] 대문자는 각 뉴클레오타이드에 대한 핵염기를 나타내고 ^mC는 5-메틸 시토신을 나타낸다. 하첨자: "e"는 2'-MOE 변형된 뉴클레오타이드를 나타내고; "d"는 β-D-2'-데옥시리보뉴클레오타이드를 나타내고; "s"는 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 (PS)을 나타내고; "o"는 포스포디에스테르 뉴클레오타이드간 연결 (PO)을 나타내고; 그리고 "o'"는 -O-P(=O)(OH)-를 나타낸다. 콘주게이트 그룹은 굵은 글자체이다.

[1422] "GalNAc₃-1_a"의 구조가 실시예 9에 나타나 있다. "GalNAc₃-3_a"의 구조가 실시예 39에 나타나 있다. "GalNAc₃-8_a"의 구조가 실시예 47에 나타나 있다. "GalNAc₃-9_a"의 구조가 실시예 52에 나타나 있다. "GalNAc₃-6_a"의 구조가 실시예 51에 나타나 있다. "GalNAc₃-2_a"의 구조가 실시예 37에 나타나 있다. "GalNAc₃-10_a"의 구조가 실시예 46에 나타나 있다. "GalNAc₃-5_a"의 구조가 실시예 49에 나타나 있다. "GalNAc₃-7_a"의 구조가 실시예 48에 나타나 있다.

[1423] 치료

[1424] 상기 열거된 올리고뉴클레오타이드는 25,000 세포/웰의 밀도에서 플레이팅된 일차 마우스 간세포 세포에서 시험관내에서 시험되었고, 0.03, 0.08, 0.24, 0.74, 2.22, 6.67 또는 20 nM 변형된 올리고뉴클레오타이드로 처리되었다. 대략 16 시간의 치료 기간 후, RNA는 세포로부터 단리되었고 mRNA 수준은 정량적 실시간 PCR에 의해 측정되었고 SRB-1 mRNA 수준은 RIBOGREEN®에 의해 측정된 바와 같이 총 RNA 함량에 따라 조정되었다.

[1425] IC₅₀을 표준 방법을 사용하여 계산하였고 그 결과가 표 53에서 제시되어 있다. 이 결과는, 시약 또는 전기천공 기술이 올리고뉴클레오타이드의 세포로의 유입을 인공적으로 촉진하기 위해 사용되지 않은 유리 흡수 조건 하에서, GalNAc 콘주게이트를 포함하는 올리고뉴클레오타이드는 GalNAc 콘주게이트를 포함하지 않는 모 올리고뉴클레오타이드 (ISIS 353382)보다 간세포에서 유의미하게 더 강했다는 것을 보여준다.

[1426] 표 53

ASO	IC ₅₀ (nM)	뉴클레오사이드간 연결	콘주게이트	서열 번호
ISIS 353382	190 ^a	PS	없음	2256
ISIS 655861	11 ^a	PS	GalNAc ₃ -1	2257
ISIS 655862	3	PO/PS	GalNAc ₃ -1	2257
ISIS 661161	15 ^a	PS	GalNAc ₃ -3	2258

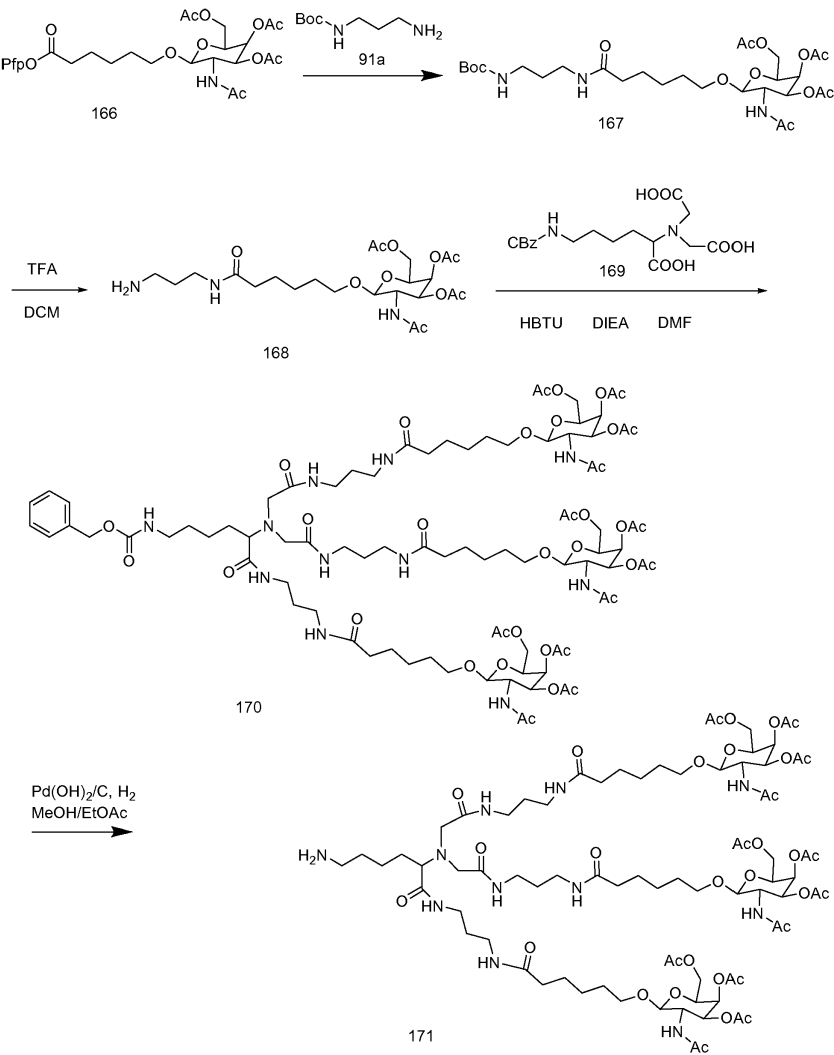
[1427]

ISIS 665001	20	PS	GalNAc ₃ -8	2258
ISIS 664078	55	PS	GalNAc ₃ -9	2257
ISIS 666961	22 ^a	PS	GalNAc ₃ -6	2258
ISIS 664507	30	PS	GalNAc ₃ -2	2258
ISIS 666881	30	PS	GalNAc ₃ -10	2258
ISIS 666224	30 ^a	PS	GalNAc ₃ -5	2258
ISIS 666981	40	PS	GalNAc ₃ -7	2258

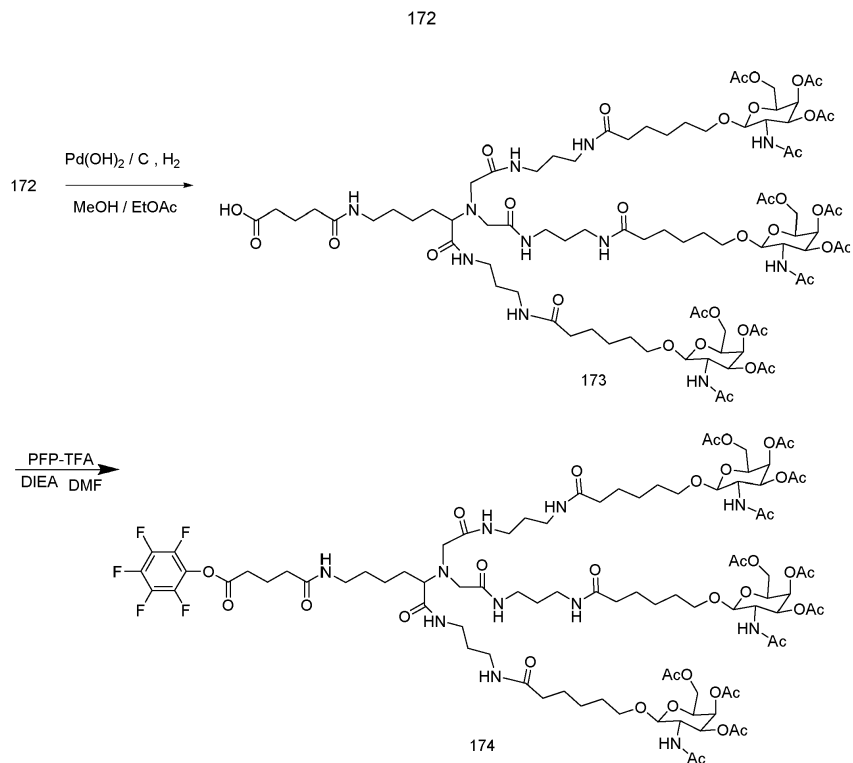
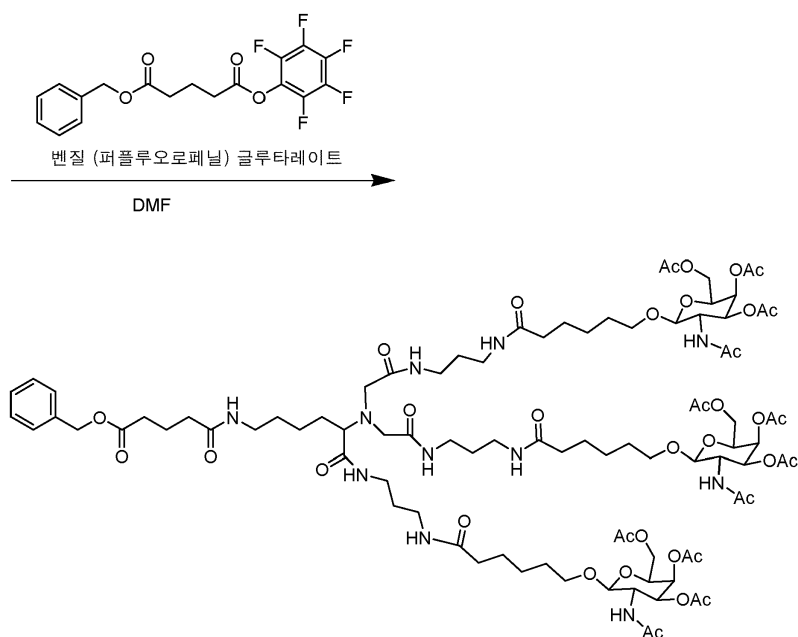
^a다중 구동의 평균.

[1428]

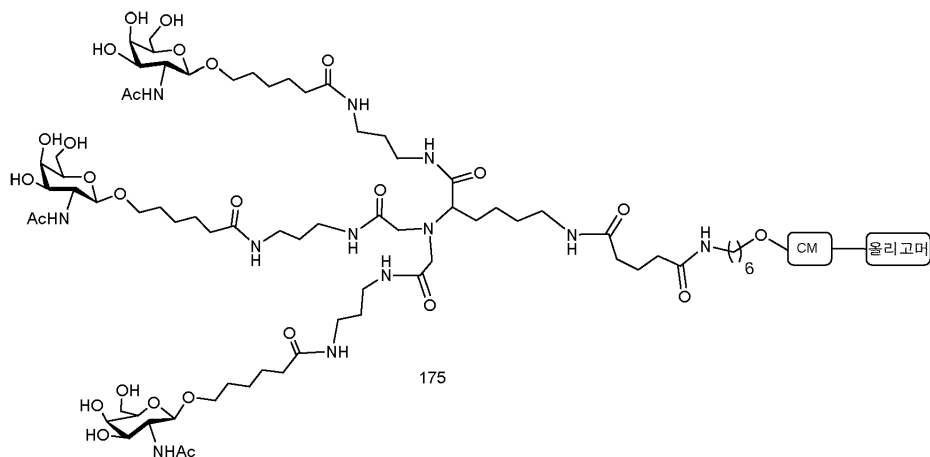
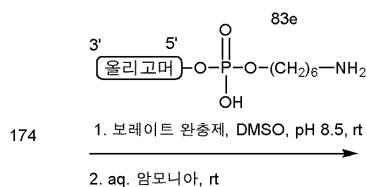
[1429] 실시예 61: GalNAc₃-12를 포함하는 올리고머 화합물 175의 제조



[1430]



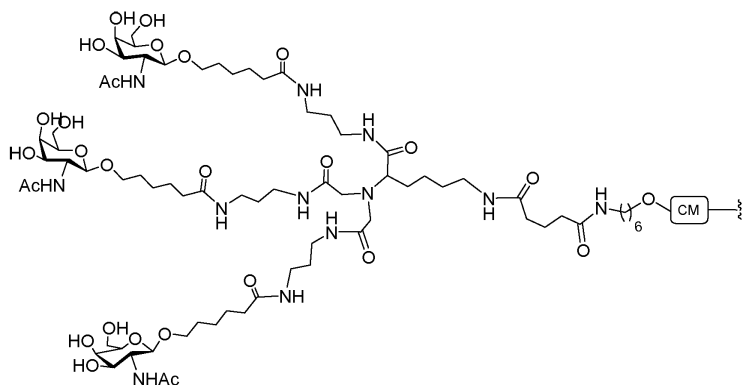
[1432]



[1433]

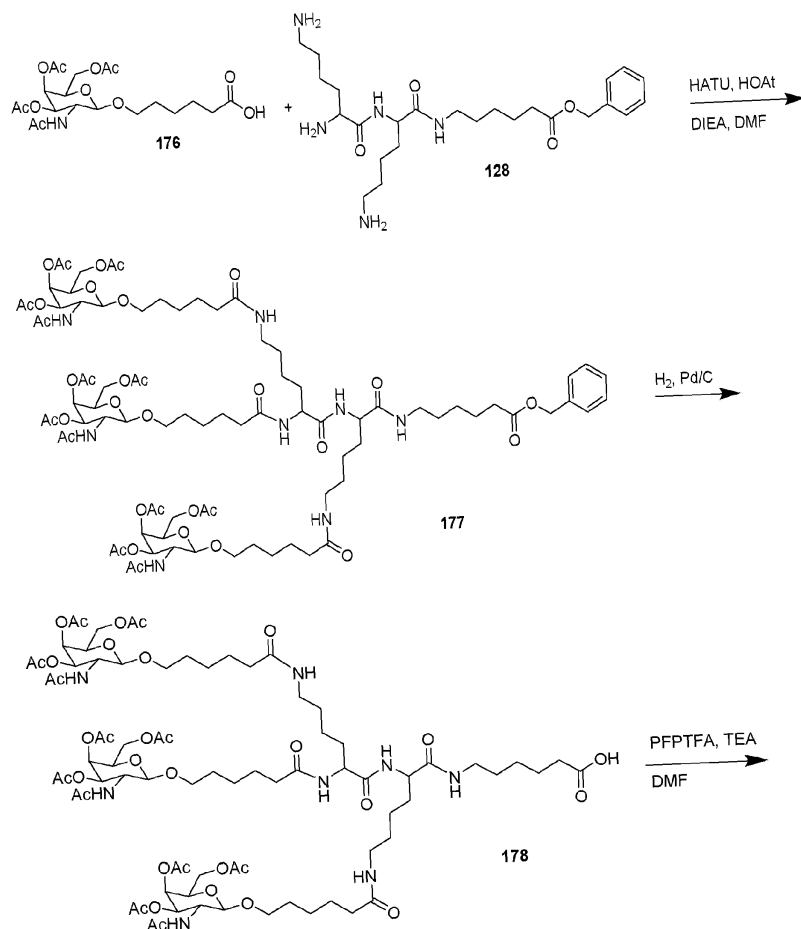
[1434]

화합물 169는 시판되고 있다. 화합물 172를, 벤질 (피플루오로페닐) 글루타레이트를 화합물 171에 추가하여 제조했다. 벤질 (피플루오로페닐) 글루타레이트를, DMF 중 PFP-TFA 및 DIEA를 5-(벤질옥시)-5-옥소펜탄산에 추가하여 제조했다. GalNAc₃-12 콘주게이트 그룹을 포함하는 올리고머 화합물 175를 실시예 46에 예시된 일반적인 과정을 이용하여 화합물 174로부터 제조하였다. 콘주게이트 그룹 GalNAc₃-12의 GalNAc₃ 클러스터 부분 (GalNAc₃-12_a)은 임의의 절단가능 모이어티와 조합되어 다양한 콘주게이트 그룹을 제공할 수 있다. 특정 구현예에서, 절단가능 모이어티는 -P(=O)(OH)-A_d-P(=O)(OH)-이다. GalNAc₃-12 (GalNAc₃-12_a-CM-)의 구조는 하기와 같다:

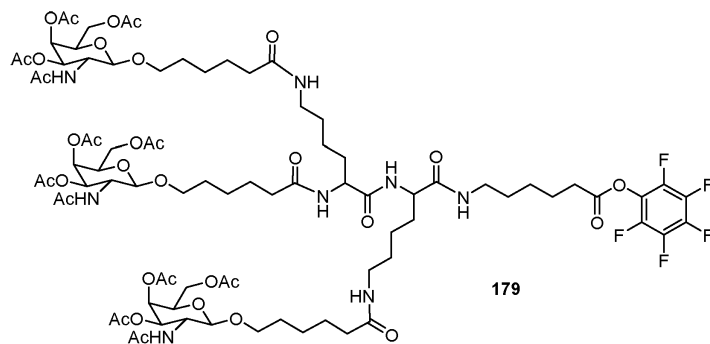


[1435]

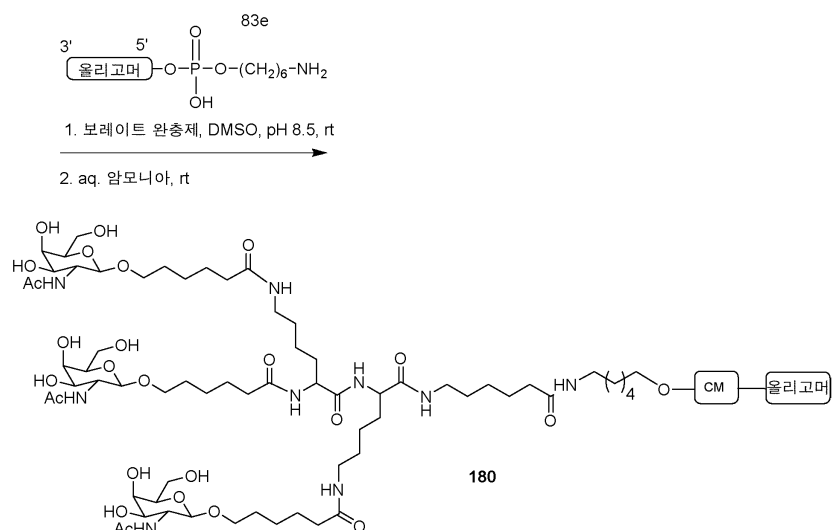
[1436] 실시예 62: GalNAc₃-13를 포함하는 올리고머 화합물 180의 제조



[1437]



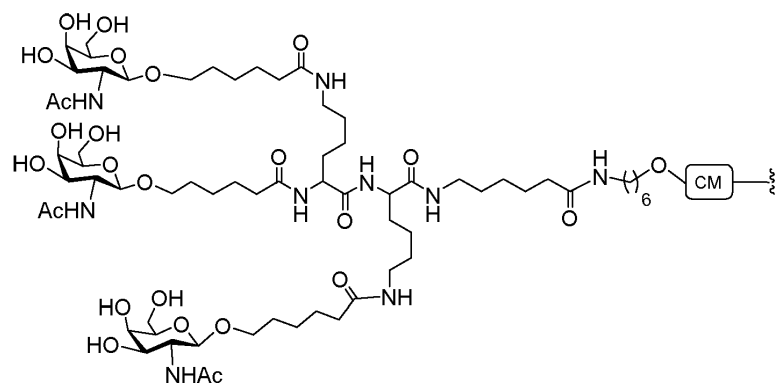
[1438]



[1439]

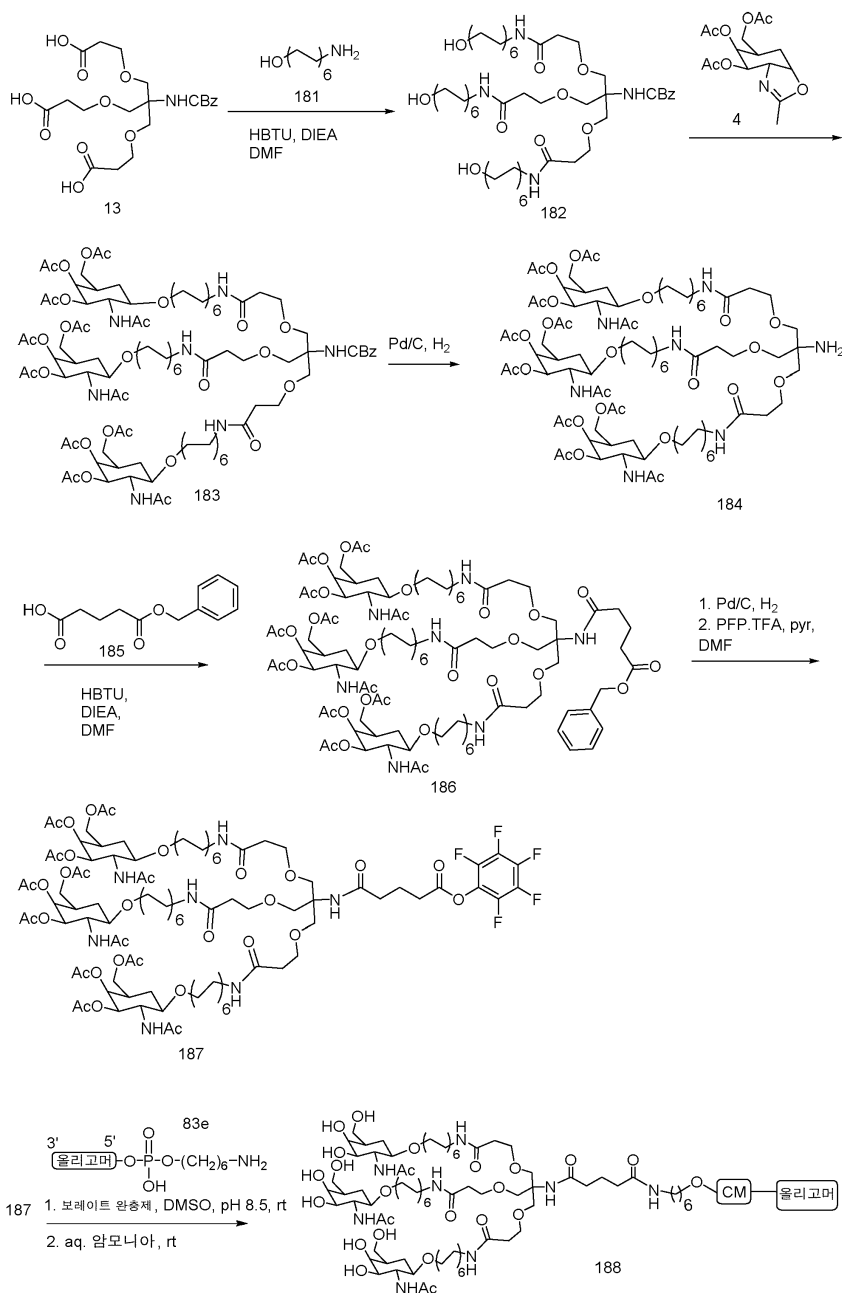
[1440]

화합물 176은 실시예 2에서 보여진 일반적인 절차를 사용하여 제조되었다. $\text{GaInAc}_3\text{-13}$ 콘주게이트 그룹을 포함하는 올리고머 화합물 180를 실시예 49에 예시된 일반적인 과정을 이용하여 화합물 177로부터 제조하였다. 콘주게이트 그룹 $\text{GaInAc}_3\text{-13}$ 의 GaInAc_3 클러스터 부분 ($\text{GaInAc}_3\text{-13}_a$)은 임의의 절단가능 모이어티와 조합되어 다양한 콘주게이트 그룹을 제공할 수 있다. 특정 구현예에서, 절단가능 모이어티는 $-\text{P}(=\text{O})(\text{OH})-\text{A}_d-\text{P}(=\text{O})(\text{OH})-$ 이다. $\text{GaInAc}_3\text{-13}$ ($\text{GaInAc}_3\text{-13}_a\text{-CM-}$)의 구조는 하기와 같다:



[1441]

[1442] 실시예 63: GalNAc₃-14를 포함하는 올리고머 화합물 188의 제조

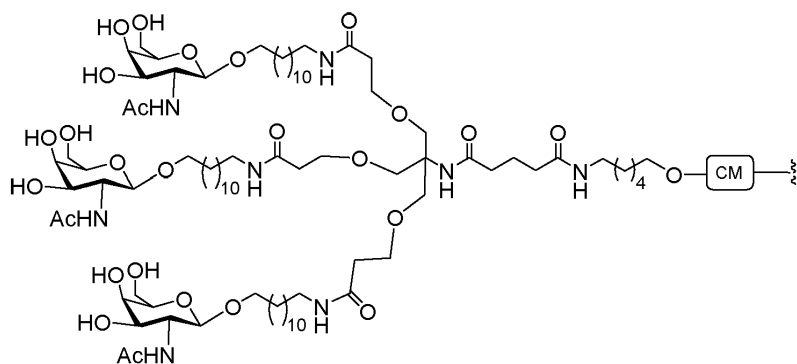


[1443]

[1444]

[1445]

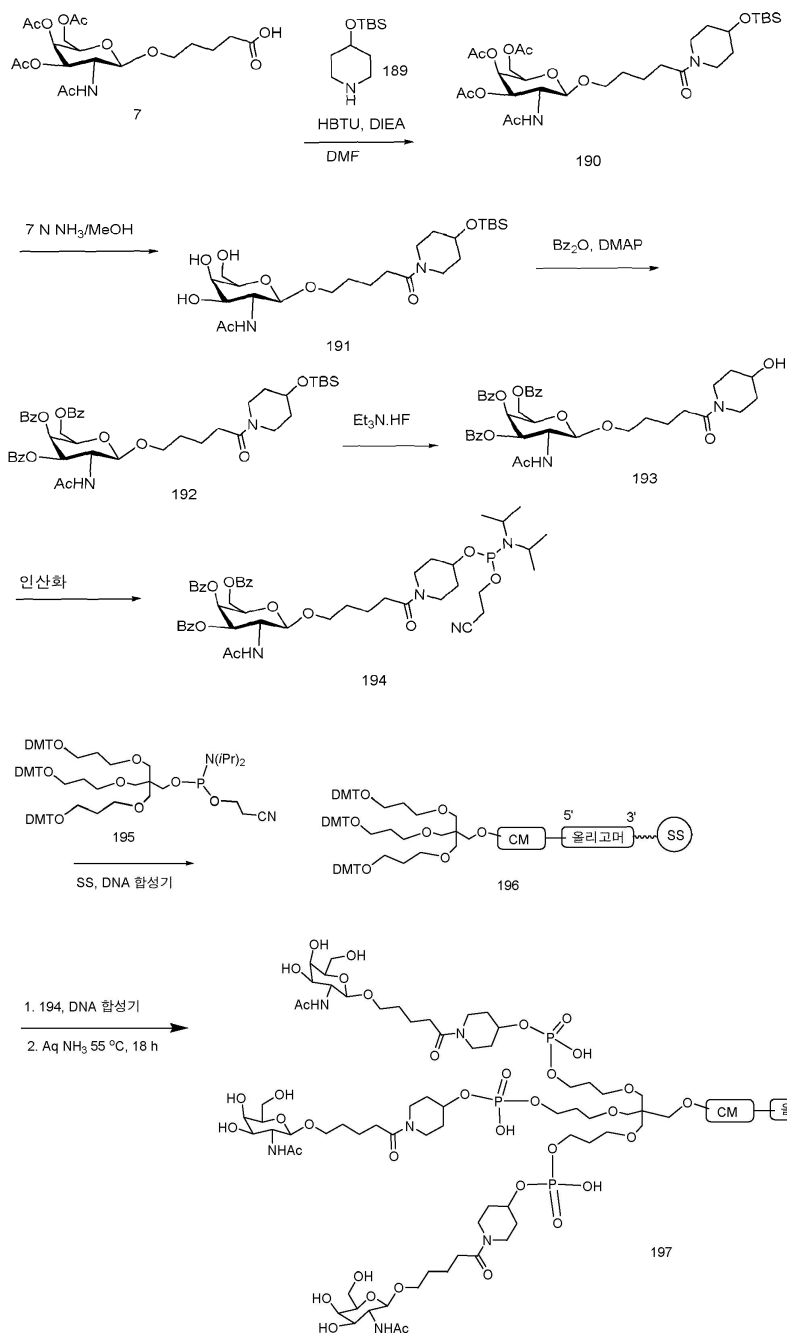
화합물 181 및 185는 시판되고 있다. GalNAc₃-14 콘주게이트 그룹을 포함하는 올리고머 화합물 188를 실시예 46에 예시된 일반적인 과정을 이용하여 화합물 187로부터 제조하였다. 콘주게이트 그룹 GalNAc₃-14의 GalNAc₃ 클러스터 부분 (GalNAc₃-14_a)은 임의의 절단가능 모이어티와 조합되어 다양한 콘주게이트 그룹을 제공할 수 있다. 특정 구현예에서, 절단가능 모이어티는 -P(=O)(OH)-A_d-P(=O)(OH)-이다. GalNAc₃-14 (GalNAc₃-14_a-CM-)의 구조는 하기와 같다:



[1446]

[1447]

실시예 64: GalNAc₃-15를 포함하는 올리고머 화합물 197의 제조



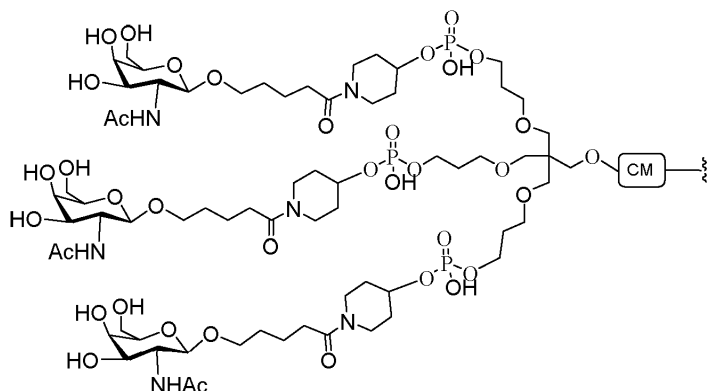
[1448]

[1449]

[1450]

화합물 189는 시판되고 있다. 화합물 195은 실시예 31에서 보여진 일반적인 절차를 사용하여 제조되었다. GalNAc₃-15 콘주게이트 그룹을 포함하는 올리고머 화합물 197은, 표준 올리고뉴클레오타이드 합성 절차를 사용하

여 화합물 194 및 195로부터 제조되었다. 콘주게이트 그룹 GalNAc₃-15의 GalNAc₃ 클러스터 부분 (GalNAc₃-15_a)은 임의의 절단가능 모이어티와 조합되어 다양한 콘주게이트 그룹을 제공할 수 있다. 특정 구현예에서, 절단가능 모이어티는 -P(=O)(OH)-A_d-P(=O)(OH)-이다. GalNAc₃-15 (GalNAc₃-15_a-CM-)의 구조는 하기와 같다:



[1451]

[1452] 실시예 65: 생체내에서 SRB-1을 표적으로 하는 5'-콘주게이트 그룹 (GalNAc₃-3, 12, 13, 14, 및 15의 비교)을 포함하는 올리고뉴클레오타이드의 용량-의존적 연구

[1453] 아래에서 열거된 올리고뉴클레오타이드는 마우스에서 SRB-1의 안티센스 억제에 대한 용량-의존적 연구에서 시험되었다. 비콘주게이트된 ISIS 353382는 표준으로서 포함된다. 각각의 GalNAc₃ 콘주게이트 그룹은 포스포디에스테르 연결된 2'-데옥시아데노신 뉴클레오타이드 절단가능 모이어티에 의해 각 올리고뉴클레오타이드의 5' 말단에서 부착되었다.

[1454] 표 54

[1455] SRB-1을 표적으로 하는 변형된 ASO

ISIS 번호	서열 (5' 내지 3')	콘주게이트	서열 번호
353382	G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} ^m C _{es} C _{es} T _{es} T _e	없음	2256
661161	GalNAc ₃ -3 _a -o ^m A _{do} G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} ^m C _{es} C _{es} T _{es} T _e	GalNAc ₃ -3	2258
671144	GalNAc ₃ -12 _a -o ^m A _{do} G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} ^m C _{es} C _{es} T _{es} T _e	GalNAc ₃ -12	2258
670061	GalNAc ₃ -13 _a -o ^m A _{do} G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} ^m C _{es} C _{es} T _{es} T _e	GalNAc ₃ -13	2258
671261	GalNAc ₃ -14 _a -o ^m A _{do} G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} ^m C _{es} C _{es} T _{es} T _e	GalNAc ₃ -14	2258
671262	GalNAc ₃ -15 _a -o ^m A _{do} G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} ^m C _{es} C _{es} T _{es} T _e	GalNAc ₃ -15	2258

[1456]

[1457] 대문자는 각 뉴클레오타이드에 대한 핵염기를 나타내고 ^mC는 5-메틸 시토신을 나타낸다. 하첨자: "e"는 2'-MOE 변형된 뉴클레오타이드를 나타내고; "d"는 β-D-2'-데옥시리보뉴클레오타이드를 나타내고; "s"는 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 (PS)을 나타내고; "o"는 포스포디에스테르 뉴클레오타이드간 연결 (PO)을 나타내고; 그리고 "o'"는 -O-P(=O)(OH)-를 나타낸다. 콘주게이트 그룹은 굵은 글자체이다.

[1458] "GalNAc₃-3_a"의 구조가 실시예 39에 나타나 있다. "GalNAc₃-12a"의 구조가 실시예 61에 나타나 있다. "GalNAc₃-13a"의 구조가 실시예 62에 나타나 있다. "GalNAc₃-14a"의 구조가 실시예 63에 나타나 있다. "GalNAc₃-15a"의 구조가 실시예 64에 나타나 있다.

[1459] 치료

[1460] 6 내지 8 주령 C57b16 마우스 (Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME)에게 아래에서 보여진 투여량으로 ISIS 353382, 661161, 671144, 670061, 671261, 671262, 또는 염수가 1 회 또는 2 회 피하로 주입되었다. 2 회 투여된 마우스는 제 1 용량 3일 후에 제 2 용량을 수용했다. 각 처리 그룹은 4 마리의 동물로 구성되었다. 마우스는 최종 투여로부터 72 시간 후에 희생되었고 표준 프로토콜에 따라 실시간 PCR 및 RIBOGREEN® RNA 정량화 시약을

사용하여 간 SRB-1 mRNA 수준을 측정했다 (Molecular Probes, Inc. Eugene, OR). 아래의 결과는 염수 대조군에 대해 정규화된 각 처리 그룹에 대한 SRB-1 mRNA 수준의 평균 퍼센트로서 나타낸다.

[1461] 표 55에서 실증된 바와 같이, 안티센스 올리고뉴클레오티드에 의한 처리는 용량-의존 방식에서 SRB-1 mRNA 수준을 감소시켰다. 표준 녹다운의 유의미한 차이는 단회 용량을 수용한 동물과 2 회 용량을 수용한 동물 사이에 관찰되지 않았다 (참고 ISIS 353382 투여량 30 및 2 x 15 mg/kg; 및 ISIS 661161 투여량 5 및 2 x 2.5 mg/kg). 포스포디에스테르 연결된 GalNAc₃-3, 12, 13, 14, 및 15 콘주게이트를 포함하는 안티센스 올리고뉴클레오티드는 비콘주게이트된 안티센스 올리고뉴클레오티드 (ISIS 335382) 와 비교하여 효능의 실질적인 개선을 보여주었다.

[1462] 표 55

[1463] SRB-1 mRNA (% 염수)

ISIS 번호	투여량 (mg/kg)	SRB-1 mRNA (% 염수)	ED ₅₀ (mg/kg)	콘주게이트
염수	n/a	100.0	n/a	n/a
353382	3	85.0	22.4	없음
	10	69.2		
	30	34.2		
	2 x 15	36.0		
661161	0.5	87.4	2.2	GalNAc ₃ -3
	1.5	59.0		
	5	25.6		
	2 x 2.5	27.5		
	15	17.4		
671144	0.5	101.2	3.4	GalNAc ₃ -12
	1.5	76.1		
	5	32.0		
	15	17.6		
670061	0.5	94.8	2.1	GalNAc ₃ -13
	1.5	57.8		
	5	20.7		

[1464]

	15	13.3		
671261	0.5	110.7	4.1	GalNAc ₃ -14
	1.5	81.9		
	5	39.8		
	15	14.1		
671262	0.5	109.4	9.8	GalNAc ₃ -15
	1.5	99.5		
	5	69.2		
	15	36.1		

[1465]

[1466] 혈청 중 간 트랜스아미나제 수준, 알라닌 트랜스아미나제 (ALT) 및 아스파르테이트 트랜스아미나제 (AST)는, 표준 프로토콜을 사용하여 염수 주입된 마우스에 대해 측정되었다. 총 빌리루빈 및 BUN가 또한 평가되었다. 체중의 변화는 염수 군으로부터 유의미한 차이 없이 평가되었다 (데이터 도시되지 않음). ALT, AST, 총 빌리루빈 및 BUN 값은 아래의 표 56에서 보여진다.

[1467] 표 56

ISIS 번호	투여량 (mg/kg)	ALT (U/L)	AST (U/L)	총 빌리루빈 (mg/dL)	BUN (mg/dL)	콘주게이트
염수	n/a	28	60	0.1	39	n/a
353382	3	30	77	0.2	36	없음
	10	25	78	0.2	36	
	30	28	62	0.2	35	
	2 x 15	22	59	0.2	33	
661161	0.5	39	72	0.2	34	GalNAc ₃ -3
	1.5	26	50	0.2	33	
	5	41	80	0.2	32	
	2 x 2.5	24	72	0.2	28	
	15	32	69	0.2	36	
671144	0.5	25	39	0.2	34	GalNAc ₃ -12
	1.5	26	55	0.2	28	
	5	48	82	0.2	34	
	15	23	46	0.2	32	
670061	0.5	27	53	0.2	33	GalNAc ₃ -13
	1.5	24	45	0.2	35	
	5	23	58	0.1	34	
	15	24	72	0.1	31	
671261	0.5	69	99	0.1	33	GalNAc ₃ -14
	1.5	34	62	0.1	33	
	5	43	73	0.1	32	
	15	32	53	0.2	30	
671262	0.5	24	51	0.2	29	GalNAc ₃ -15
	1.5	32	62	0.1	31	
	5	30	76	0.2	32	
	15	31	64	0.1	32	

[1468]

[1469] 실시예 66: 5' -GalNAc₃ 클러스터를 포함하는 SRB-1을 표적으로 하는 올리고뉴클레오티드에 의한 생체내 안티센스 억제에 대한 다양한 절단가능 모이어티의 효과

[1470] 아래에서 열거된 올리고뉴클레오티드는 마우스에서 SRB-1의 안티센스 억제에 대한 용량-의존적 연구에서 시험되었다. 각각의 GalNAc₃ 콘주게이트 그룹은 포스포디에스테르 연결된 뉴클레오타이드 (절단가능 모이어티(CM))에 의해 각 올리고뉴클레오티드의 5' 말단에서 부착되었다.

[1471] 표 57

[1472] SRB-1을 표적으로 하는 변형된 ASO

ISIS 번호	서열 (5' 내지 3')	GalNAc ₃ 클러스터	CM	서열 번호
661161	GalNAc₃-3_a-o ·A ₄₀ G _{es} ^m C _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} ^m C _{es} ^m C _{es} T _{es} T _e	GalNAc ₃ -3a	A _d	2258
670699	GalNAc₃-3_a-o ·T _{d0} G _{es} ^m C _{eo} T _{eo} T _{eo} ^m C _{eo} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} ^m C _{eo} ^m C _{es} T _{es} T _e	GalNAc ₃ -3a	T _d	2261
670700	GalNAc₃-3_a-o ·A _{eo} G _{es} ^m C _{eo} T _{eo} T _{eo} ^m C _{eo} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} ^m C _{eo} ^m C _{es} T _{es} T _e	GalNAc ₃ -3a	A _e	2258
670701	GalNAc₃-3_a-o ·T _{eo} G _{es} ^m C _{eo} T _{eo} T _{eo} ^m C _{eo} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} ^m C _{eo} ^m C _{es} T _{es} T _e	GalNAc ₃ -3a	T _e	2261
671165	GalNAc₃-13_a-o ·A ₄₀ G _{es} ^m C _{eo} T _{eo} T _{eo} ^m C _{eo} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} ^m C _{eo} ^m C _{es} T _{es} T _e	GalNAc ₃ -13a	A _d	2258

[1473]

[1474] 대문자는 각 뉴클레오타이드에 대한 핵염기를 나타내고 ^mC는 5-메틸 시토신을 나타낸다. 하첨자: "e"는 2'-MOE 변형된 뉴클레오타이드를 나타내고; "d"는 β-D-2'-데옥시리보뉴클레오타이드를 나타내고; "s"는 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 (PS)을 나타내고; "o"는 포스포디에스테르 뉴클레오타이드간 연결 (PO)을 나타내고; 그리고 "o'"는 -O-P(=O)(OH)-를 나타낸다. 콘주게이트 그룹은 굵은 글자체이다.

[1475] GalNAc₃-3a"의 구조가 실시예 39에 나타나 있다. "GalNAc₃-13a"의 구조가 실시예 62에 나타나 있다.

[1476] 치료

[1477] 6 내지 8 주령 C57b16 마우스 (Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME)에게 ISIS 661161, 670699, 670700, 670701, 671165, 또는 염수가 아래에서 보여진 투여량으로 피하로 1 회 주입되었다. 각 처리 그룹은 4 마리의 동물로 구성되었다. 마우스는 최종 투여로부터 72 시간 후에 희생되었고 표준 프로토콜에 따라 실시간 PCR 및 RIBOGREEN® RNA 정량화 시약을 사용하여 간 SRB-1 mRNA 수준을 측정했다 (Molecular Probes, Inc. Eugene, OR). 아래의 결과는 염수 대조군에 대해 정규화된 각 처리 그룹에 대한 SRB-1 mRNA 수준의 평균 퍼센트로서 나타낸다.

[1478] 표 58에서 실증된 바와 같이, 안티센스 올리고뉴클레오타드에 의한 처리는 용량-의존 방식에서 SRB-1 mRNA 수준을 감소시켰다. 다양한 절단가능 모이어티 모두를 포함하는 안티센스 올리고뉴클레오타드는 유사한 효능을 보여주었다.

[1479] 표 58

[1480] SRB-1 mRNA (% 염수)

ISIS 번호	투여량 (mg/kg)	SRB-1 mRNA (% 염수)	GalNAc ₃ 클러스터	CM
염수	n/a	100.0	n/a	n/a
661161	0.5	87.8	GalNAc ₃ -3a	A _d
	1.5	61.3		
	5	33.8		
	15	14.0		
670699	0.5	89.4	GalNAc ₃ -3a	T _d
	1.5	59.4		
	5	31.3		
	15	17.1		
670700	0.5	79.0	GalNAc ₃ -3a	A _e
	1.5	63.3		
	5	32.8		
	15	17.9		
670701	0.5	79.1	GalNAc ₃ -3a	T _e
	1.5	59.2		
	5	35.8		
	15	17.7		
671165	0.5	76.4	GalNAc ₃ -13a	A _d
	1.5	43.2		
	5	22.6		
	15	10.0		

[1481]

[1482] 혈청 중 간 트랜스아미나제 수준, 알라닌 트랜스아미나제 (ALT) 및 아스파르테이트 트랜스아미나제 (AST)는, 표준 프로토콜을 사용하여 염수 주입된 마우스에 대해 측정되었다. 총 빌리루빈 및 BUN가 또한 평가되었다. 체중의 변화는 염수 군으로부터 유의미한 차이 없이 평가되었다 (데이터 도시되지 않음). ALT, AST, 총 빌리루빈 및 BUN 값은 아래의 표 56에서 보여진다.

[1483] 표 59

ISIS 번호	투여량 (mg/kg)	ALT (U/L)	AST (U/L)	총 빌리루빈 (mg/dL)	BUN (mg/dL)	GalNAc ₃ 클러스터	CM
염수	n/a	24	64	0.2	31	n/a	n/a
661161	0.5	25	64	0.2	31	GalNAc ₃ -3a	A _d
	1.5	24	50	0.2	32		
	5	26	55	0.2	28		
	15	27	52	0.2	31		
670699	0.5	42	83	0.2	31	GalNAc ₃ -3a	T _d
	1.5	33	58	0.2	32		
	5	26	70	0.2	29		

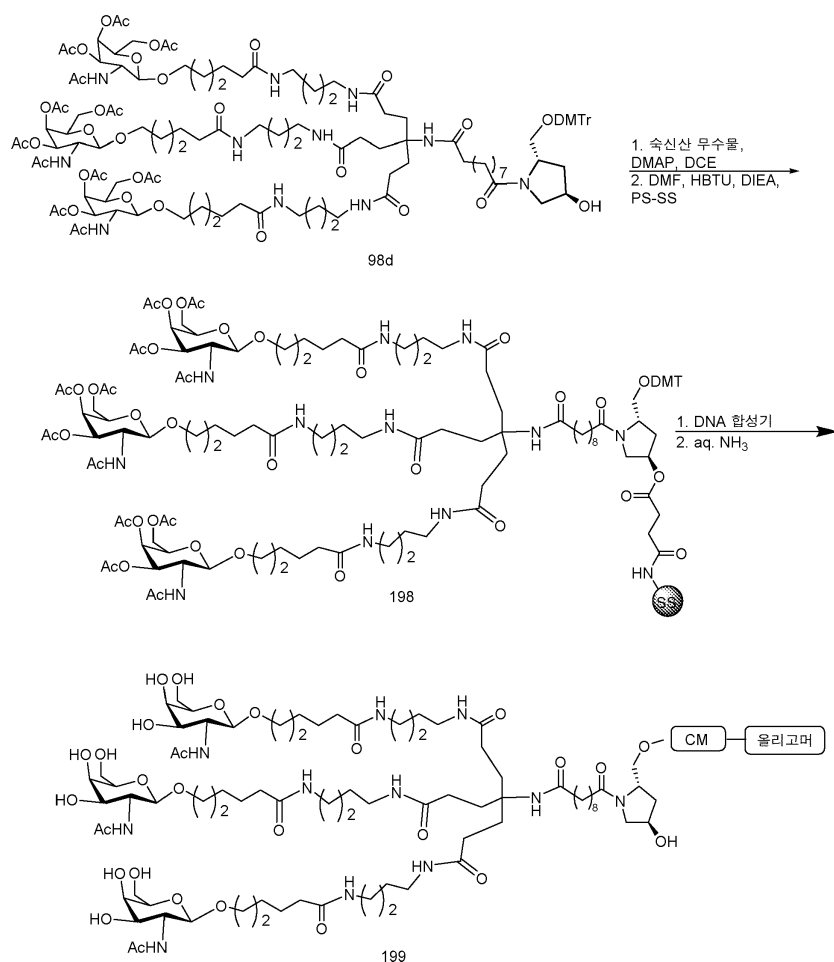
[1484]

	15	25	67	0.2	29		
	0.5	40	74	0.2	27		
	1.5	23	62	0.2	27		
670700	5	24	49	0.2	29	GalNAc ₃ -3a	A _e
	15	25	87	0.1	25		
	0.5	30	77	0.2	27		
	1.5	22	55	0.2	30		
670701	5	81	101	0.2	25	GalNAc ₃ -3a	T _e
	15	31	82	0.2	24		
	0.5	44	84	0.2	26		
	1.5	47	71	0.1	24		
671165	5	33	91	0.2	26	GalNAc ₃ -13a	A _d
	15	33	56	0.2	29		

[1485]

[1486]

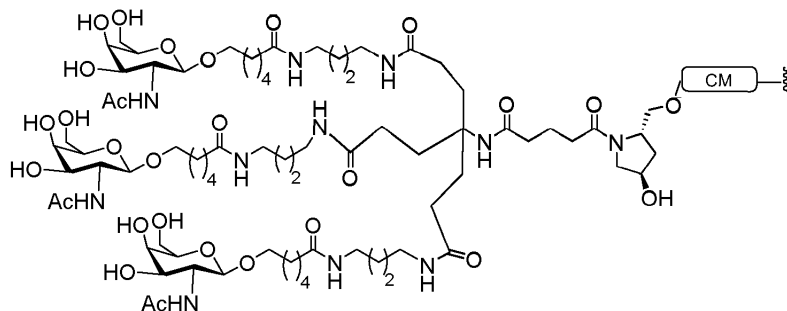
실시예 67: GalNAc₃-16를 포함하는 올리고머 화합물 199의 제조



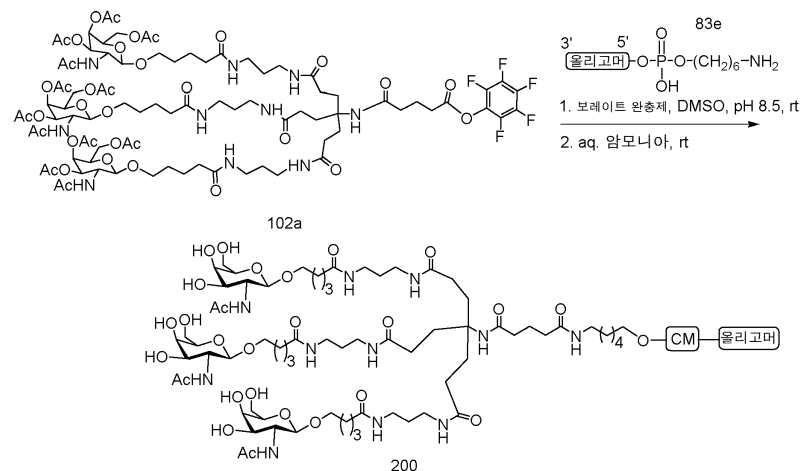
[1487]

[1488]

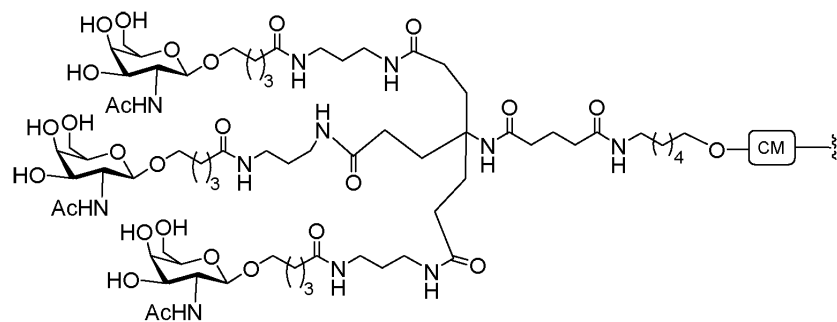
GalNAc₃-16 콘주게이트 그룹을 포함하는 올리고머 화합물 199를 실시예 7 및 9에 예시된 일반적인 과정을 이용하여 제조하였다. 콘주게이트 그룹 GalNAc₃-16의 GalNAc₃ 클러스터 부분 (GalNAc₃-16_a)은 임의의 절단가능 모이어티와 조합되어 다양한 콘주게이트 그룹을 제공할 수 있다. 특정 구현예에서, 절단가능 모이어티는 -P(=O)(OH)-A_d-P(=O)(OH)-이다. GalNAc₃-16 (GalNAc₃-16_a-CM-)의 구조는 이하에서 보여진다:



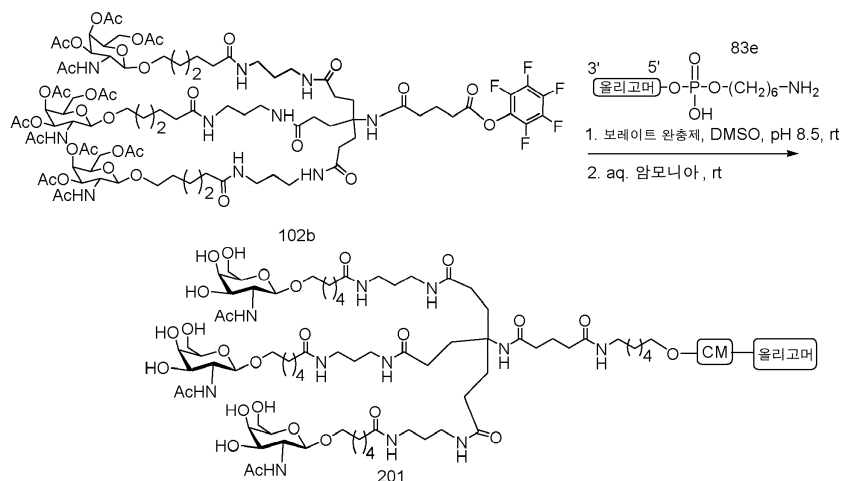
실시예 68: GalNAc₃-17를 포함하는 올리고머 화합물 200의 제조



GalNAc₃-17 콘주게이트 그룹을 포함하는 올리고머 화합물 200를 실시예 46에 예시된 일반적인 과정을 이용하여 제조하였다. 콘주게이트 그룹 GalNAc₃-17의 GalNAc₃ 클러스터 부분 (GalNAc₃-17_a)은 임의의 절단가능 모이어티와 조합되어 다양한 콘주게이트 그룹을 제공할 수 있다. 특정 구현예에서, 절단가능 모이어티는 -P(=O)(OH)-A_d-P(=O)(OH)-이다. GalNAc₃-17 (GalNAc₃-17_a-CM-)의 구조는 하기와 같다:

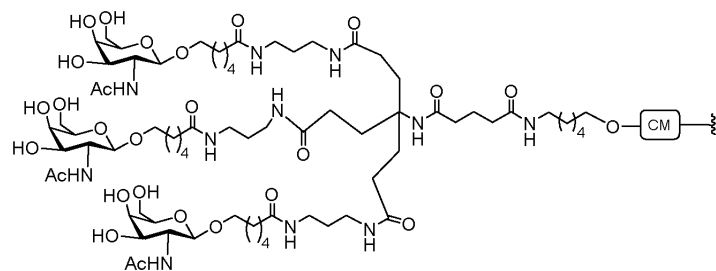


[1494] 실시예 69: GalNAc₃-18를 포함하는 올리고머 화합물 201의 제조



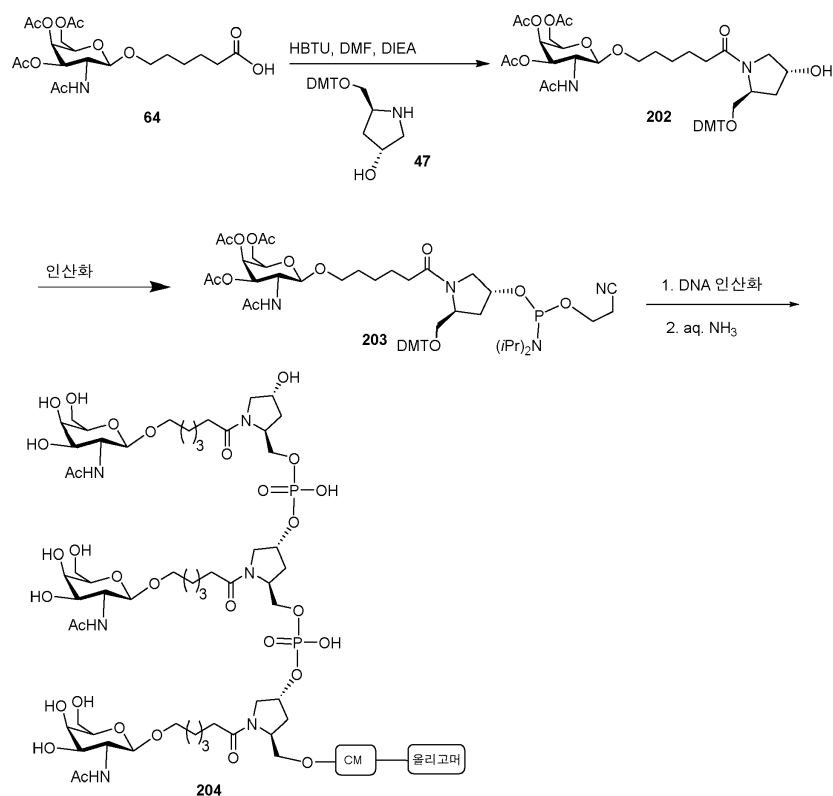
[1495]

[1496] GalNAc₃-18 콘주게이트 그룹을 포함하는 올리고머 화합물 201를 실시예 46에 예시된 일반적인 과정을 이용하여 제조하였다. 콘주게이트 그룹 GalNAc₃-18의 GalNAc₃ 클러스터 부분 (GalNAc₃-18_a)은 임의의 절단가능 모이어티와 조합되어 다양한 콘주게이트 그룹을 제공할 수 있다. 특정 구현예에서, 절단가능 모이어티는 -P(=O)(OH)-A_d-P(=O)(OH)-이다. GalNAc₃-18 (GalNAc₃-18_a-CM-)의 구조는 하기와 같다:



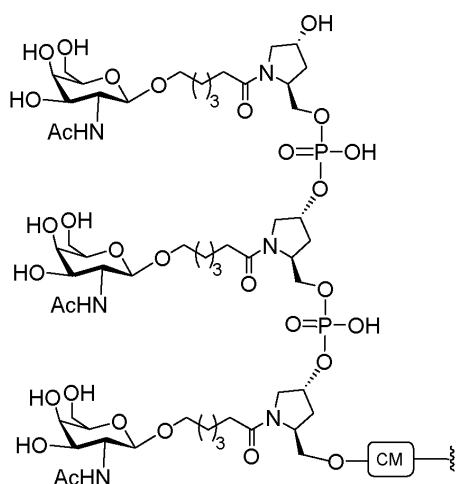
[1497]

[1498] 실시예 70: GalNAc₃-19를 포함하는 올리고머 화합물 204의 제조



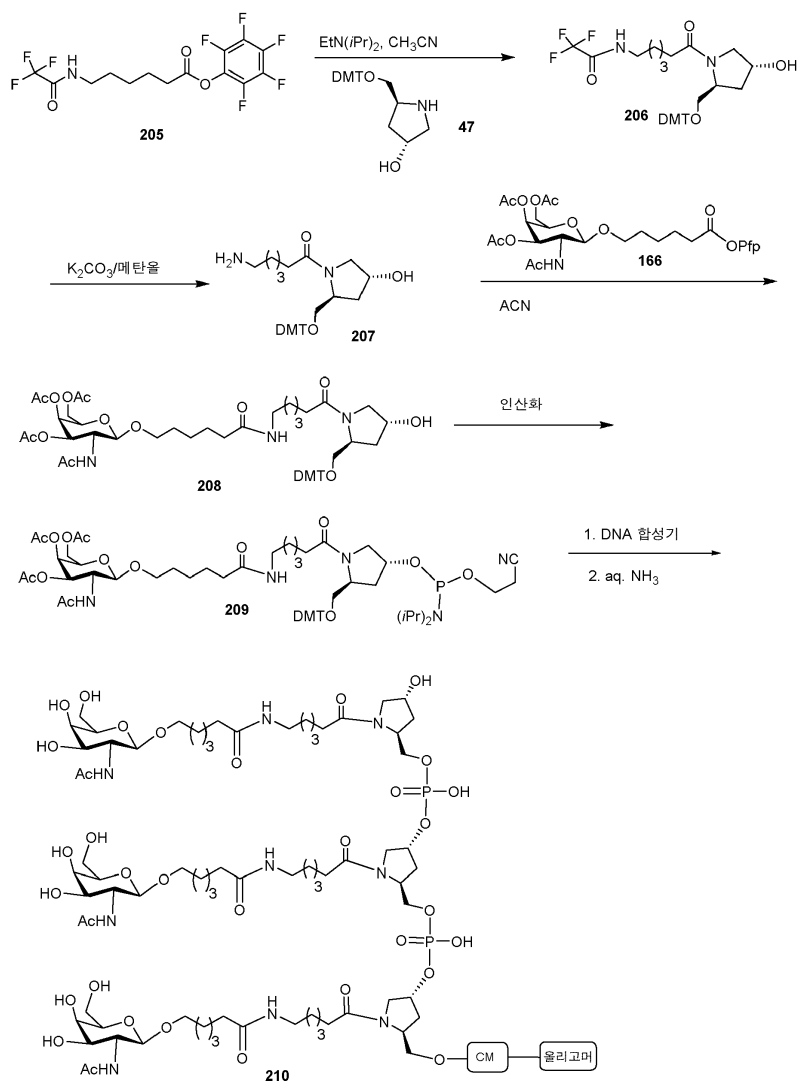
[1499]

[1500] GalNAc₃-19 콘주게이트 그룹을 포함하는 올리고머 화합물 204를 실시예 52에 예시된 일반적인 과정을 이용하여 화합물 64로부터 제조하였다. 콘주게이트 그룹 GalNAc₃-19의 GalNAc₃ 클러스터 부분 (GalNAc₃-19_a)은 임의의 절단가능 모이어티와 조합되어 다양한 콘주게이트 그룹을 제공할 수 있다. 특정 구현예에서, 절단가능 모이어티는 -P(=O)(OH)-A_d-P(=O)(OH)-이다. GalNAc₃-19 (GalNAc₃-19_a-CM-)의 구조는 하기와 같다:



[1501]

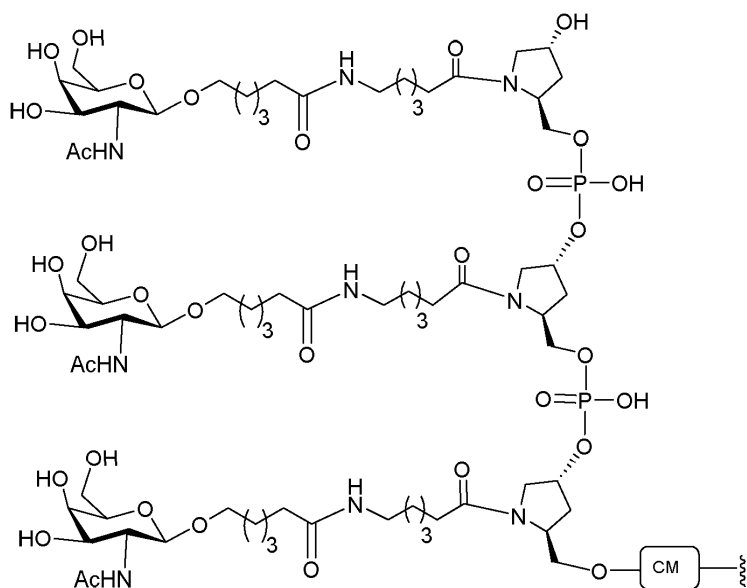
[1502] 실시예 71: GalNAc₃-20를 포함하는 올리고머 화합물 210의 제조



[1503]

[1504]

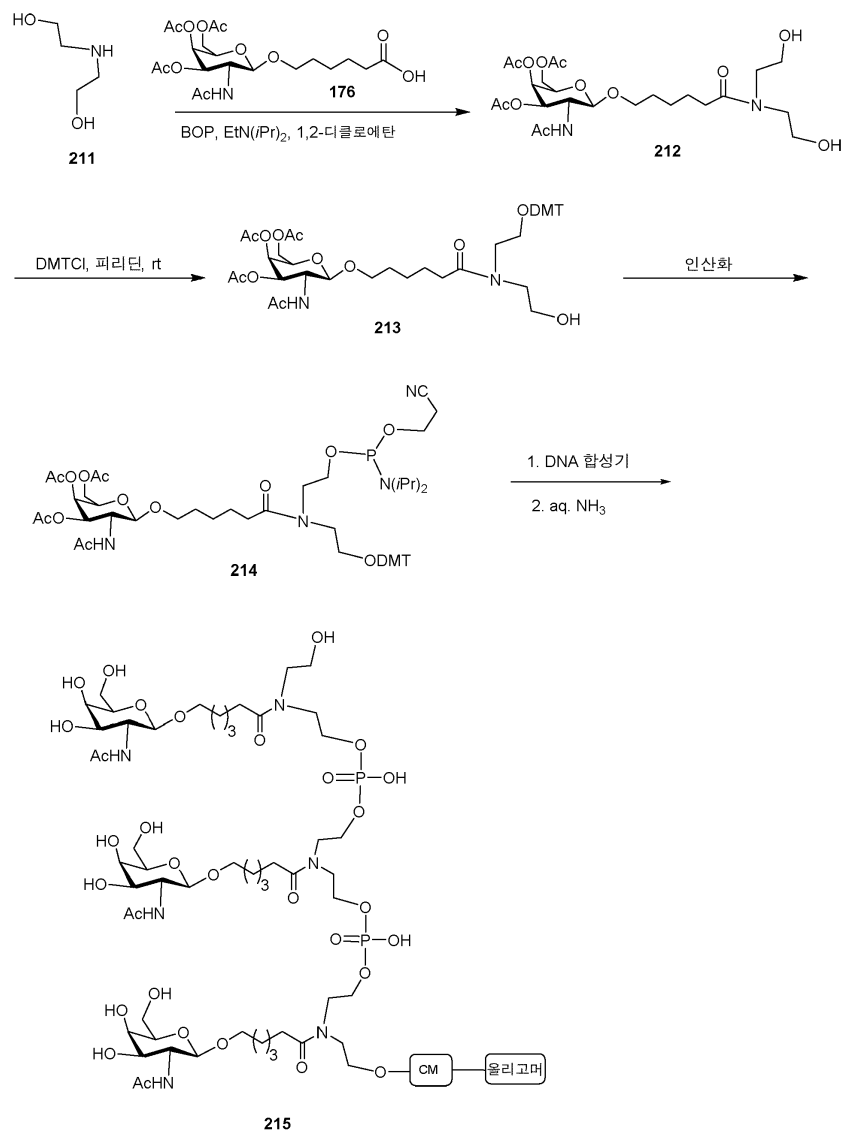
화합물 205을, 트리플릭산 무수물을 6-아미노헥산산에 부가하여 제조된 아세토니트릴에서 PFP-TFA 및 DIEA을 6-(2,2,2-트리플루오로아세트아미도)헥산산에 부가하여 제조했다. 반응 혼합물을 80 °C로 가열하고, 그 다음 실온으로 온도를 낮추었다. GalNAc₃-20 콘주게이트 그룹을 포함하는 올리고머 화합물 210를 실시예 52에 예시된 일반적인 과정을 이용하여 화합물 208로부터 제조하였다. 콘주게이트 그룹 GalNAc₃-20의 GalNAc₃ 클러스터 부분 (GalNAc₃-20_a)은 임의의 절단가능 모이어티와 조합되어 다양한 콘주게이트 그룹을 제공할 수 있다. 특정 구현예에서, 절단가능 모이어티는 $-\text{P}(=\text{O})(\text{OH})-\text{A}_d-\text{P}(=\text{O})(\text{OH})-$ 이다. GalNAc₃-20 (GalNAc₃-20_a-CM-)의 구조는 하기와 같다:



[1505]

[1506]

실시예 72: GaINAc₃-21를 포함하는 올리고머 화합물 215의 제조

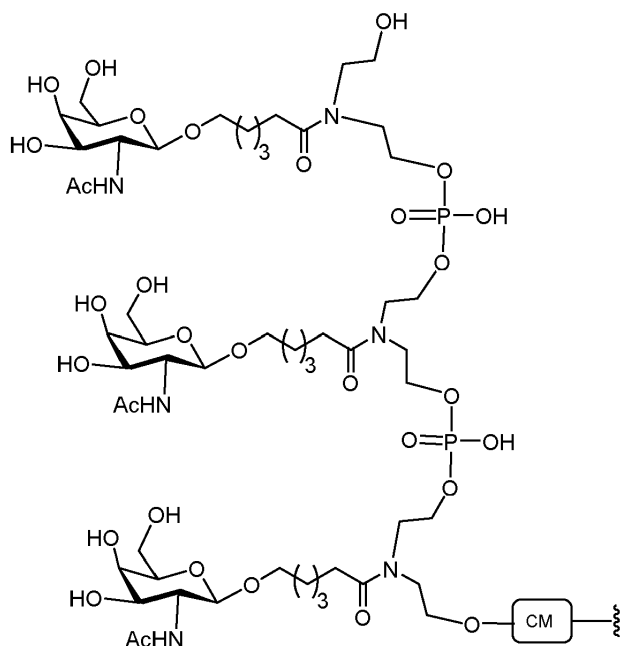


[1507]

[1508]

화합물 211는 시판되고 있다. GaInAc_3 -21 콘주게이트 그룹을 포함하는 올리고머 화합물 215를 실시예 52에 예시

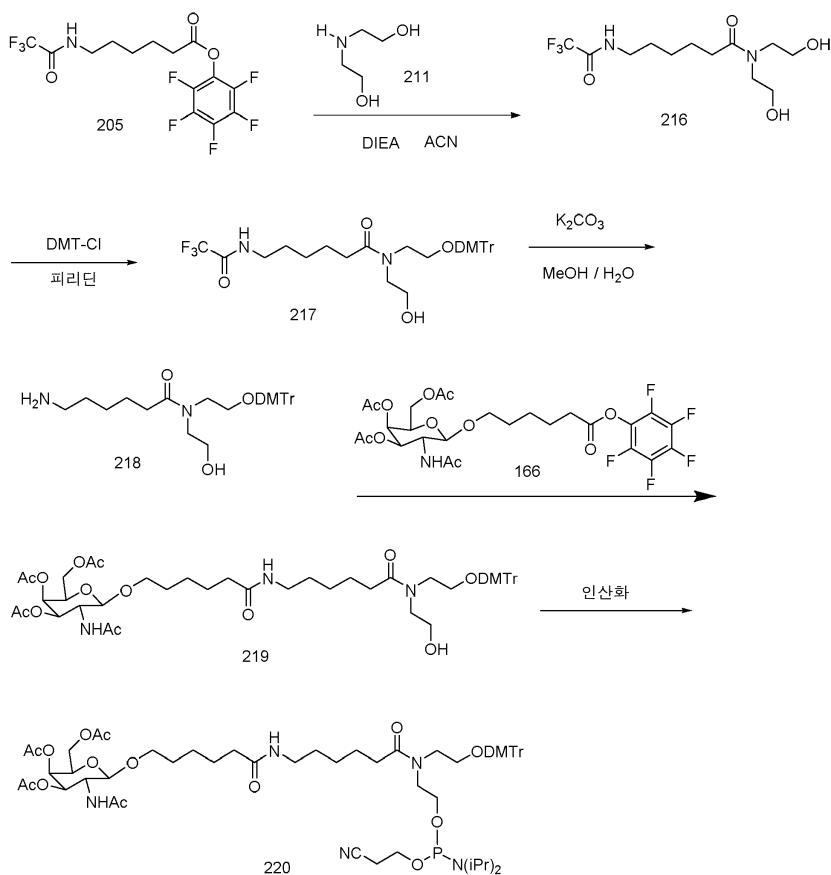
된 일반적인 과정을 이용하여 화합물 213로부터 제조하였다. 콘주게이트 그룹 GalNAc_3 -21의 GalNAc_3 클러스터 부분 (GalNAc_3 -21_a)은 임의의 절단가능 모이어티와 조합되어 다양한 콘주게이트 그룹을 제공할 수 있다. 특정 구현 예에서, 절단가능 모이어티는 $-\text{P}(=\text{O})(\text{OH})-\text{A}_d-\text{P}(=\text{O})(\text{OH})-$ 이다. GalNAc_3 -21 (GalNAc_3 -21_a-CM-)의 구조는 하기와 같다:



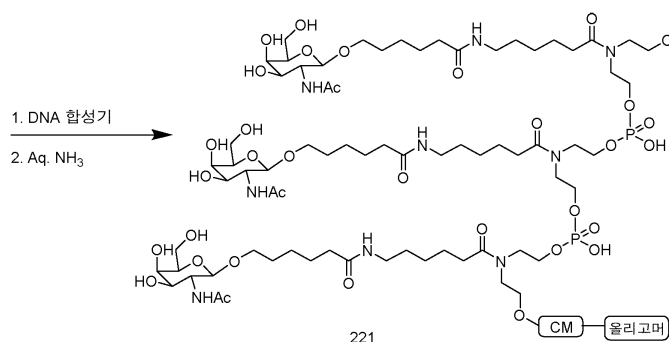
[1509]

[1510]

실시예 73: GalNAc_3 -22를 포함하는 올리고머 화합물 221의 제조



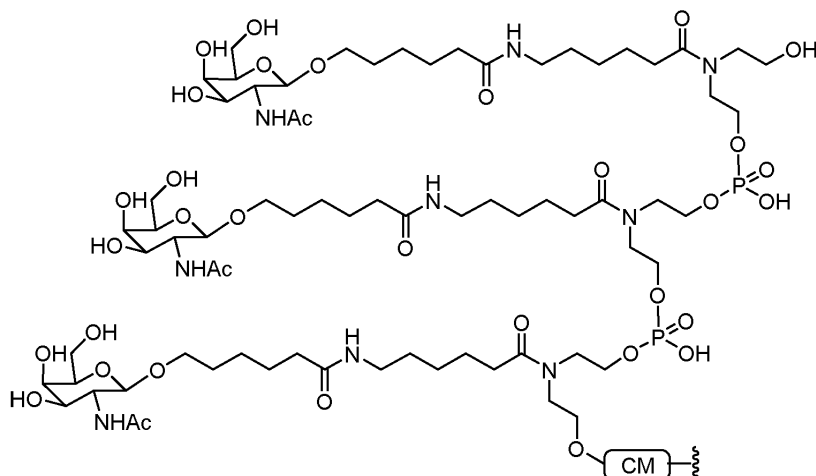
[1511]



[1512]

[1513]

화합물 220은 디이소프로필암모늄 테트라졸라이드를 사용하여 화합물 219로부터 제조되었다. GaInAc_3 -21 콘주게이트 그룹을 포함하는 올리고머 화합물 221를 실시예 52에 예시된 일반적인 과정을 이용하여 화합물 220로부터 제조하였다. 콘주게이트 그룹 GaInAc_3 -22의 GaInAc_3 클러스터 부분 (GaInAc_3 -22_a)은 임의의 절단가능 모이어티와 조합되어 다양한 콘주게이트 그룹을 제공할 수 있다. 특정 구현예에서, 절단가능 모이어티는 $-\text{P}(=\text{O})(\text{OH})-\text{A}_n-$ $\text{P}(=\text{O})(\text{OH})-$ 이다. GaInAc_3 -22 (GaInAc_3 -22_a-CM-)의 구조는 하기와 같다:



[1514]

[1515]

실시에 74: 5' -GalNAc₃ 콘주게이트를 포함하는 SRB-1을 표적으로 하는 올리고뉴클레오타이드에 의한 *생체내* 안티센스 억제에 대한 다양한 절단가능 모이어티의 효과

[1516]

아래에서 열거된 올리고뉴클레오타이드는 마우스에서 SRB-1의 안티센스 억제에 대한 용량-의존적 연구에서 시험되었다. 각각의 GalNAc₃ 콘주게이트 그룹은 각 올리고뉴클레오타이드의 5' 말단에서 부착되었다.

[1517]

卣 60

[1518]

SRB-1을 표적으로 하는 변형된 ASO

ISIS 번호	서열 (5' 내지 3')	GalNAc ₃ 클러스터	CM	서열 번호
353382	$G_{cs}^m C_{cs} T_{cs} T_{cs}^m C_{cs} A_{ds} G_{ds} T_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}^m C_{ds} T_{ds} T_{cs}$ $C_{cs}^m C_{cs} T_{cs} T_e$	n/a	n/a	2256
661161	GalNAc₃-3_{a'o}-A_{do} $G_{cs}^m C_{cs} T_{cs} T_{cs}^m C_{cs} A_{ds} G_{ds} T_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds}$ $G_{ds} A_{ds}^m C_{ds} T_{ds} T_{cs}^m C_{cs} C_{cs} T_e$	GalNAc ₃ -3a	A _d	2258
666904	GalNAc₃-3_{a'o}-G_{cs} $C_{cs}^m T_{cs} T_{cs} T_{cs}^m C_{cs} A_{ds} G_{ds} T_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds}$ $G_{ds} A_{ds}^m C_{ds} T_{cs} T_{cs}^m C_{cs} C_{cs} T_e$	GalNAc ₃ -3a	PO	2256
675441	GalNAc₃-17_{a'o}-A_{do} $G_{cs}^m C_{cs} T_{cs} T_{cs}^m C_{cs} A_{ds} G_{ds} T_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds}$ $G_{ds} A_{ds}^m C_{ds} T_{cs} T_{cs}^m C_{cs} C_{cs} T_e$	GalNAc ₃ -17a	A _d	2258
675442	GalNAc₃-18_{a'o}-A_{do} $G_{cs}^m C_{cs} T_{cs} T_{cs}^m C_{cs} A_{ds} G_{ds} T_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds}$ $G_{ds} A_{ds}^m C_{ds} T_{cs} T_{cs}^m C_{cs} C_{cs} T_e$	GalNAc ₃ -18a	A _d	2258

[1519]

[1520]

모든 표에서, 대문자는 각 뉴클레오타이드에 대한 핵염기를 나타내고 ^mC는 5-메틸 시토신을 나타낸다. 하첨자:

"e"는 2'-MOE 변형된 뉴클레오시드를 나타내고; "d"는 β -D-2'-데옥시리보뉴클레오시드를 나타내고; "s"는 포스포티오에이트 뉴클레오시드간 연결 (PS)을 나타내고; "o"는 포스포디에스테르 뉴클레오시드간 연결 (PO)을 나타내고; 그리고 "o'"는 $-O-P(=O)(OH)-$ 를 나타낸다. 콘주게이트 그룹은 굵은 글자체이다.

"GalNAc₃-3a"의 구조가 실시예 39에 나타나 있다. GalNAc₃-17a의 구조는 실시예 68에서 이전에 보여졌고, GalNAc₃-18a의 구조는 실시예 69에서 보여졌다.

치료

6 내지 8 주령 C57BL/6 마우스 (Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME)에게 표 60에서 열거된 올리고뉴클레오티드 또는 염수가 아래에서 보여진 투여량으로 피하로 1 회 주입되었다. 각 처리 그룹은 4 마리의 동물로 구성되었다. 마우스는 최종 투여로부터 72 시간 후에 희생되었고 표준 프로토콜에 따라 실시간 PCR 및 RIBOGREEN® RNA 정량화 시약을 사용하여 SRB-1 mRNA 수준을 측정했다 (Molecular Probes, Inc. Eugene, OR). 아래의 결과는 염수 대조군에 대해 정규화된 각 처리 그룹에 대한 SRB-1 mRNA 수준의 평균 퍼센트로서 나타낸다.

표 61에서 실증된 바와 같이, 안티센스 올리고뉴클레오티드에 의한 처리는 용량-의존 방식에서 SRB-1 mRNA 수준을 감소시켰다. GalNAc 콘주게이트를 포함하는 안티센스 올리고뉴클레오티드 유사한 효능을 보여주었고 GalNAc 콘주게이트가 없는 모 올리고뉴클레오티드보다 유의미하게 더 강했다.

표 61

SRB-1 mRNA (% 염수)

ISIS 번호	투여량 (mg/kg)	SRB-1 mRNA (% 염수)	GalNAc ₃ 클러스터	CM
염수	n/a	100.0	n/a	n/a
353382	3	79.38	n/a	n/a
	10	68.67		
	30	40.70		
661161	0.5	79.18	GalNAc ₃ -3a	A _d
	1.5	75.96		
	5	30.53		
	15	12.52		
666904	0.5	91.30	GalNAc ₃ -3a	PO
	1.5	57.88		
	5	21.22		
	15	16.49		
675441	0.5	76.71	GalNAc ₃ -17a	A _d
	1.5	63.63		
	5	29.57		
	15	13.49		
675442	0.5	95.03	GalNAc ₃ -18a	A _d
	1.5	60.06		
	5	31.04		
	15	19.40		

혈청 중 간 트랜스아미나제 수준, 알라닌 트랜스아미나제 (ALT) 및 아스파르테이트 트랜스아미나제 (AST)는, 표준 프로토콜을 사용하여 염수 주입된 마우스에 대해 측정되었다. 총 빌리루빈 및 BUN가 또한 평가되었다. 체중의 변화를 염수 군으로부터 유의미한 변화 없이 평가했다 (데이터 도시되지 않음). ALT, AST, 총 빌리루빈 및 BUN 값은 아래의 표 62에서 보여진다.

[1529] 표 62

ISIS 번호	투여량 (mg/kg)	ALT (U/L)	AST (U/L)	총 빌리루빈 (mg/dL)	BUN (mg/dL)	GalNAc ₃ 클러스터	CM
염수	n/a	26	59	0.16	42	n/a	n/a
353382	3	23	58	0.18	39	n/a	n/a
	10	28	58	0.16	43		
	30	20	48	0.12	34		
	0.5	30	47	0.13	35		
661161	1.5	23	53	0.14	37	GalNAc ₃ -3a	A _d
	5	26	48	0.15	39		
	15	32	57	0.15	42		
	0.5	24	73	0.13	36		
666904	1.5	21	48	0.12	32	GalNAc ₃ -3a	PO
	5	19	49	0.14	33		
	15	20	52	0.15	26		
	0.5	42	148	0.21	36		
675441	1.5	60	95	0.16	34	GalNAc ₃ -17a	A _d
	5	27	75	0.14	37		

[1530]

	15	24	61	0.14	36		
675442	0.5	26	65	0.15	37	GalNAc ₃ -18a	A _d
	1.5	25	64	0.15	43		
	5	27	69	0.15	37		
	15	30	84	0.14	37		

[1531]

[1532] 실시예 75: 5'-콘주게이트 그룹을 포함하는 올리고뉴클레오타이드의 약력학적 분석

[1533] 상기 표 54, 57 및 60 중 ASO의 PK를, 실시예 65, 66, 및 74에서 기재된 처리 절차에 따라 수득된 간 샘플을 사용하여 평가했다. 간 샘플을 다지고 표준 프로토콜을 사용하여 추출하고 내부 표준과 함께 IP-HPLC-MS로 분석했다. 모든 대사물의 조합된 조직 수준 ($\mu\text{g/g}$)은 적절한 UV 피크를 통합하여 측정되었고, (이 경우에 Isis 번호 353382인 "모") 콘주게이트를 누락한 전장 ASO의 조직 수준을 적절한 추출된 이온 크로마토그램 (EIC)를 사용하여 측정했다.

[1534] 표 63

[1535] 간 중 PK 분석

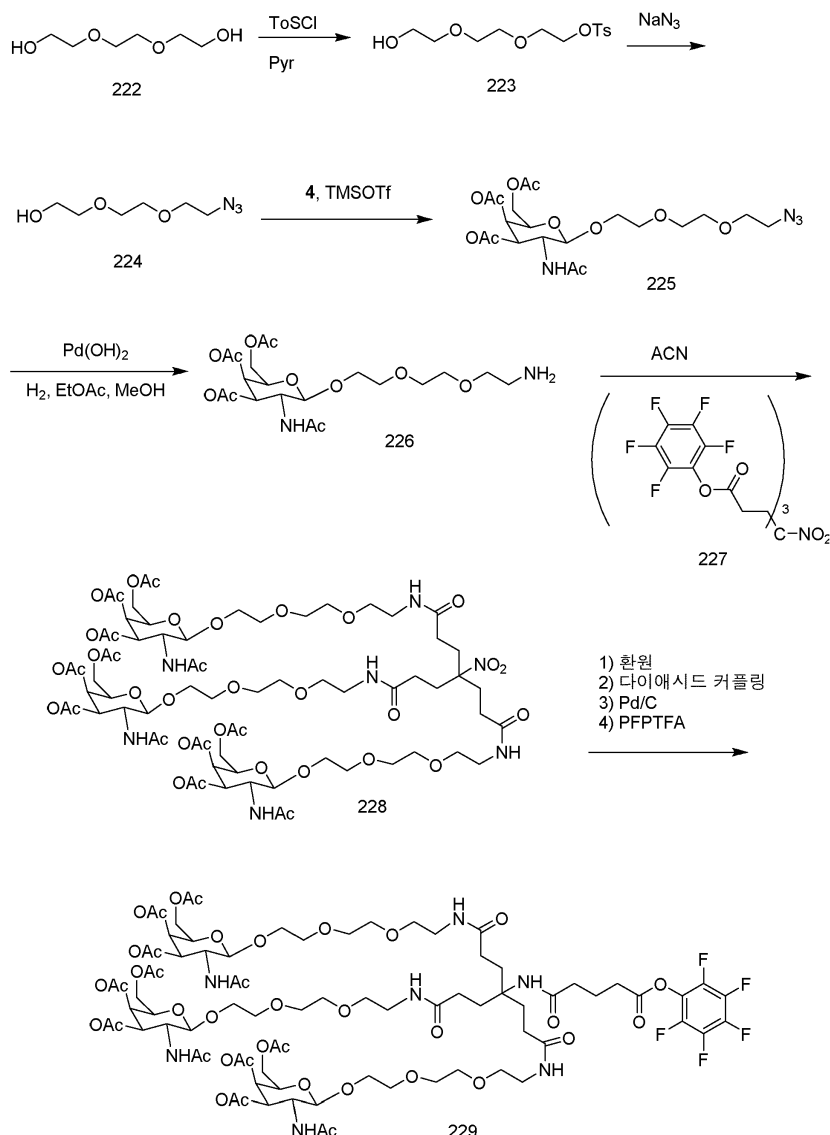
ISIS 번호	투여량 (mg/kg)	UV에 의한 총 조직 수준 ($\mu\text{g/g}$)	EIC에 의한 모체 ASO 조직 수준 ($\mu\text{g/g}$)	GalNAc ₃ 클러스터	CM
353382	3	8.9	8.6	n/a	n/a
	10	22.4	21.0		
	30	54.2	44.2		
661161	5	32.4	20.7	GalNAc ₃ -3a	A _d
	15	63.2	44.1		
671144	5	20.5	19.2	GalNAc ₃ -12a	A _d
	15	48.6	41.5		
670061	5	31.6	28.0	GalNAc ₃ -13a	A _d
	15	67.6	55.5		
671261	5	19.8	16.8	GalNAc ₃ -14a	A _d
	15	64.7	49.1		
671262	5	18.5	7.4	GalNAc ₃ -15a	A _d
	15	52.3	24.2		
670699	5	16.4	10.4	GalNAc ₃ -3a	T _d
	15	31.5	22.5		
670700	5	19.3	10.9	GalNAc ₃ -3a	A _e
	15	38.1	20.0		
670701	5	21.8	8.8	GalNAc ₃ -3a	T _e
	15	35.2	16.1		
671165	5	27.1	26.5	GalNAc ₃ -13a	A _d
	15	48.3	44.3		
666904	5	30.8	24.0	GalNAc ₃ -3a	PO
	15	52.6	37.6		
675441	5	25.4	19.0	GalNAc ₃ -17a	A _d
	15	54.2	42.1		
675442	5	22.2	20.7	GalNAc ₃ -18a	A _d
	15	39.6	29.0		

[1536]

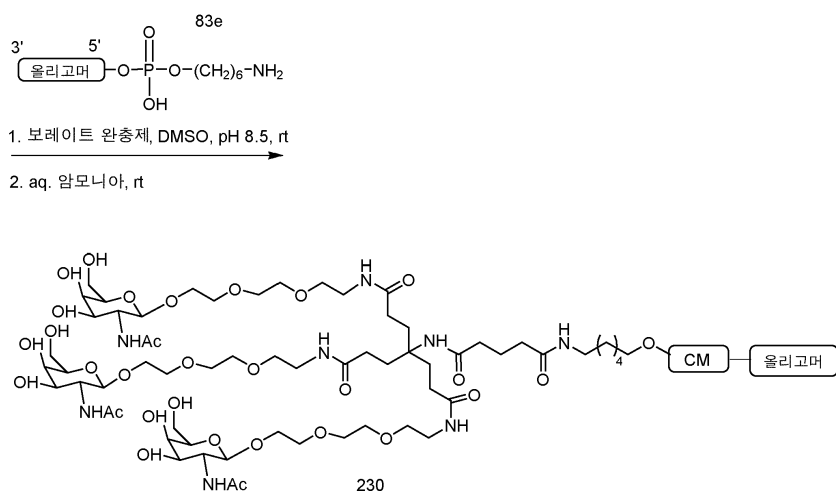
[1537]

상기 표 63의 결과는, 특히 GalNAc₃ 콘주게이트 그룹의 유무에 따라 올리고뉴클레오타이드 사이의 투여의 차이를 고려할 때, 올리고뉴클레오타이드 투여 72 시간 후에 GalNAc₃ 콘주게이트 그룹 (ISIS 353382)를 포함하지 않는 모 올리고뉴클레오타이드보다 GalNAc₃ 콘주게이트 그룹을 포함하는 올리고뉴클레오타이드의 간 조직 수준이 더 크다는 것을 보여준다. 더욱이, 72 시간까지, GalNAc₃ 콘주게이트 그룹을 포함하는 각 올리고뉴클레오타이드의 40-98%는 대사작용되어 모 화합물을 얻었고, 이것은, GalNAc₃ 콘주게이트 그룹이 올리고뉴클레오타이드로부터 절단되었다는 것을 나타낸다.

[1538] 실시예 76: GalNAc₃-23를 포함하는 올리고머 화합물 230의 제조



[1539]



[1540]

[1541] 화합물 222는 시판되고 있다. 44.48 ml (0.33 mol)의 화합물 222를 피리딘 (500mL) 중 토실 클로라이드 (25.39 g, 0.13 mol)로 16 시간 동안 처리했다. 그 다음 반응을 중발시켜 오일을 얻고, EtOAc에서 용해시키고 물, 포화 NaHCO₃, 염수로 세정하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시켰다. 에틸 아세테이트를 농축 건조하고 칼럼 크로마토그래피로

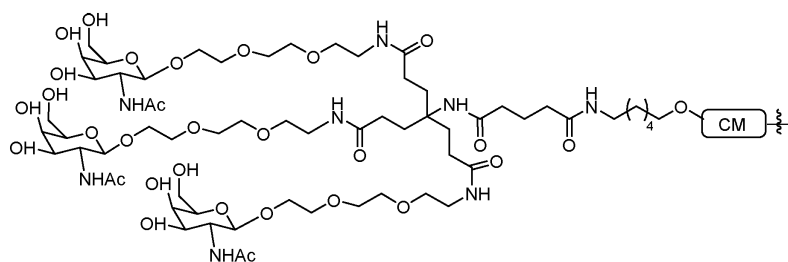
정제하고, EtOAc/헥산 (1:1) 그 다음 CH_2Cl_2 중 10% 메탄올로 용출하여 화합물 223을 무색 오일로서 얻었다. LCMS 및 NMR은 구조와 일치했다. 10 g (32.86 mmol)의 1-토실트리에틸렌 글리콜 (화합물 223)을 DMSO (100mL) 중 아지드화나트륨 (10.68 g, 164.28 mmol)로 실온에서 17 시간 동안 처리했다. 그 다음 반응 혼합물을 물에 붓고, EtOAc로 추출했다. 유기 층을 물로 3 회 세정하고 Na_2SO_4 상에서 건조시켰다. 유기 층을 농축 건조하여 5.3g의 화합물 224 (92%)을 얻었다. LCMS 및 NMR은 구조와 일치했다. 1-아지도트리에틸렌 글리콜 (화합물 224, 5.53 g, 23.69 mmol) 및 화합물 4 (6 g, 18.22 mmol)을 4A 분자체 (5g), 및 디클로로메탄 (100mL) 중 TMSOTf (1.65 ml, 9.11 mmol)로 불활성 대기 하에서 처리했다. 14 시간 후, 반응을 여과하여 체를 제거하고, 유기 층을 포화 NaHCO_3 , 염수로 세정하고, Na_2SO_4 상에서 건조시켰다. 유기 층을 농축 건조하고 칼럼 크로마토그래피로 정제하고, 디클로로메탄 중 2 내지 4% 메탄올의 구배로 용출하여 화합물 225를 얻었다. LCMS 및 NMR은 구조와 일치했다. 화합물 225 (11.9 g, 23.59 mmol)을 펄만 촉매 상에서 EtOAc/메탄올 (4:1, 250mL)에서 수소첨가했다. 8 시간 후, 촉매를 여과로 제거하고 용매를 제거하고 건조시켜 화합물 226을 얻었다. LCMS 및 NMR은 구조와 일치했다.

[1542]

화합물 227를 산출하기 위해, DMF (100mL) 중 니트로메탄트리스프로피온산 (4.17 g, 15.04 mmol) 및 휘니그 염기 (10.3 ml, 60.17 mmol)의 용액을 펜타플루오로트리플루오로 아세테이트 (9.05 ml, 52.65 mmol)로 적가 처리했다. 30 분 후, 반응을 빙수에 붓고 EtOAc로 추출했다. 유기 층을 물, 염수로 세정하고 Na_2SO_4 상에서 건조시켰다. 유기 층을 농축 건조하고 그 다음 헵탄으로부터 재결정화하여 화합물 227을 백색 고형물로서 얻었다. LCMS 및 NMR은 구조와 일치했다. 화합물 227(1.5 g, 1.93 mmol) 및 화합물 226 (3.7 g, 7.74 mmol)을 실온에서 아세토니트릴 (15 mL)에서 2 시간 동안 교반했다. 그 다음 반응을 증발 건조하고 디클로로메탄 중 2 내지 10% 메탄올의 구배로 용출하는 칼럼 크로마토그래피로 정제하여 화합물 228을 얻었다. LCMS 및 NMR은 구조와 일치했다. 화합물 228 (1.7 g, 1.02 mmol)을 에탄올 (100mL) 중 라니 니켈 (약 2g 습성)로 수소의 대기에서 처리했다. 12 시간 후, 촉매를 여과로 제거하고 유기 층을 증발시켜 고형물을 얻었고, 이것을 직접적으로 다음 단계에서 사용했다. LCMS 및 NMR은 구조와 일치했다. 이러한 고형물 (0.87 g, 0.53 mmol)을 DMF (5mL) 중 벤질글루타르산 (0.18 g, 0.8 mmol), HBTU (0.3 g, 0.8 mmol) 및 DIEA (273.7 μL , 1.6 mmol)로 처리했다. 16 시간 후, DMF를 감압 하에서 65에서 제거하여 오일을 얻었고, 오일을 디클로로메탄에서 용해시켰다. 유기 층을 포화 NaHCO_3 , 염수로 세정하고, Na_2SO_4 상에서 건조시켰다. 유기 층의 증발 후, 화합물을 칼럼 크로마토그래피로 정제하고 디클로로메탄 중 2 내지 20% 메탄올의 구배로 용출하여 커플링된 생성물을 얻었다. LCMS 및 NMR은 구조와 일치했다. 벤질 에스테르를 수소 대기 하에서 1 시간 동안 펄만 촉매로 탈보호했다. 그 다음 촉매를 여과로 제거하고 용매를 제거하고 건조시켜 산을 얻었다. LCMS 및 NMR은 구조와 일치했다. 산 (486 mg, 0.27 mmol)을 건조 DMF (3 mL)에서 용해시켰다. 피리딘 (53.61 μL , 0.66 mmol)을 부가하고 반응을 아르곤으로 퍼지했다. 펜타플루오로 트리플루오로 아세테이트 (46.39 μL , 0.4 mmol)을 반응 혼합물에 서서히 부가했다. 반응의 색상은 담황색에서 암적색으로 변했고, 열은 연기가 생겼고, 이것을 아르곤의 스트림으로 없앴다. 반응을 실온에서 1 시간 동안 교반되도록 했다 (반응의 완료는 LCMS으로 확인되었다). 용매를 감압 (회전증발기) 하에서 70 °C에서 제거했다. 잔류물을 DCM으로 희석하고 1N NaHSO_4 , 염수로 세정하고, 포화된 중탄산나트륨 및 염수로 다시 세정했다. 유기 물을 Na_2SO_4 상에서 건조하고, 여과하고, 농축 건조하여 225 mg의 화합물 229를 잘 부서지는 황색 폼으로서 얻었다. LCMS 및 NMR은 구조와 일치했다.

[1543]

GalNAc_3 -23 콘주게이트 그룹을 포함하는 올리고머 화합물 230은, 실시예 46에서 실증된 일반적인 절차를 사용하여 화합물 229로부터 제조되었다. GalNAc_3 -23 콘주게이트 그룹의 GalNAc_3 클러스터 부분 (GalNAc_3 -23_a)은 임의의 절단가능 모이어티와 조합되어 다양한 콘주게이트 그룹을 제공할 수 있다. GalNAc_3 -23 (GalNAc_3 -23_a-CM)의 구조는 하기와 같다:



[1544]

[1545] 실시예 77: GalNAc₃ 콘주게이트를 포함하는 SRB-1을 표적으로 하는 올리고뉴클레오타이드에 의한 생체내 안티센스 억제

[1546] 아래에서 열거된 올리고뉴클레오타이드는 마우스에서 SRB-1의 안티센스 억제에 대한 용량-의존적 연구에서 시험되었다.

[1547] 표 64

[1548] SRB-1을 표적으로 하는 변형된 ASO

ISIS 번호	서열 (5' 내지 3')	GalNAc ₃ 클러스터	CM	서열 번호
661161	GalNAc₃-3_{a-o}-A_{do} G ^m _{cs} T ^m _{cs} T ^m _{cs} C ^m _{cs} A ^m _{cs} G ^m _{cs} T ^m _{cs} C ^m _{cs} A ^m _{cs} T ^m _{cs} G ^m _{ds} A ^m _{ds} C ^m _{ds} T ^m _{ds} T ^m _{ds} C ^m _{ds} C ^m _{ds} T ^m _{ds} T ^m _{ds}	GalNAc ₃ -3a	A _d	2258
666904	GalNAc₃-3_{a-o}-G^m C ^m _{cs} T ^m _{cs} T ^m _{cs} C ^m _{cs} A ^m _{cs} G ^m _{cs} T ^m _{cs} C ^m _{cs} A ^m _{cs} T ^m _{cs} G ^m _{ds} A ^m _{ds} C ^m _{ds} T ^m _{ds} T ^m _{ds} C ^m _{ds} C ^m _{ds} T ^m _{ds} T ^m _{ds}	GalNAc ₃ -3a	PO	2256
673502	GalNAc₃-10_{a-o}-A_{do} G ^m _{cs} T ^m _{cs} T ^m _{cs} T ^m _{cs} C ^m _{cs} A ^m _{cs} G ^m _{cs} T ^m _{cs} C ^m _{cs} A ^m _{cs} T ^m _{cs} G ^m _{ds} A ^m _{ds} C ^m _{ds} T ^m _{ds} T ^m _{ds} T ^m _{ds} C ^m _{ds} C ^m _{ds} T ^m _{ds} T ^m _{ds}	GalNAc ₃ -10a	A _d	2258
677844	GalNAc₃-9_{a-o}-A_{do} G ^m _{cs} T ^m _{cs} T ^m _{cs} T ^m _{cs} C ^m _{cs} A ^m _{cs} G ^m _{cs} T ^m _{cs} C ^m _{cs} A ^m _{cs} T ^m _{cs} G ^m _{ds} A ^m _{ds} C ^m _{ds} T ^m _{ds} T ^m _{ds} T ^m _{ds} C ^m _{ds} C ^m _{ds} T ^m _{ds} T ^m _{ds}	GalNAc ₃ -9a	A _d	2258
677843	GalNAc₃-23_{a-o}-A_{do} G ^m _{cs} T ^m _{cs} T ^m _{cs} T ^m _{cs} C ^m _{cs} A ^m _{cs} G ^m _{cs} T ^m _{cs} C ^m _{cs} A ^m _{cs} T ^m _{cs} G ^m _{ds} A ^m _{ds} C ^m _{ds} T ^m _{ds} T ^m _{ds} T ^m _{ds} C ^m _{ds} C ^m _{ds} T ^m _{ds} T ^m _{ds}	GalNAc ₃ -23a	A _d	2258
655861	G ^m _{cs} C ^m _{cs} T ^m _{cs} T ^m _{cs} C ^m _{cs} A ^m _{cs} G ^m _{cs} T ^m _{cs} C ^m _{cs} A ^m _{cs} T ^m _{cs} G ^m _{cs} A ^m _{cs} C ^m _{cs} T ^m _{cs} T ^m _{cs} C ^m _{cs} C ^m _{cs} T ^m _{cs} T ^m _{cs} A ^m _{cs} - GalNAc₃-1_a	GalNAc ₃ -1a	A _d	2257
677841	G ^m _{cs} C ^m _{cs} T ^m _{cs} T ^m _{cs} C ^m _{cs} A ^m _{cs} G ^m _{cs} T ^m _{cs} C ^m _{cs} A ^m _{cs} T ^m _{cs} G ^m _{cs} A ^m _{cs} C ^m _{cs} T ^m _{cs} T ^m _{cs} C ^m _{cs} C ^m _{cs} T ^m _{cs} T ^m _{cs} A ^m _{cs} - GalNAc₃-19_a	GalNAc ₃ -19a	A _d	2257
677842	G ^m _{cs} C ^m _{cs} T ^m _{cs} T ^m _{cs} C ^m _{cs} A ^m _{cs} G ^m _{cs} T ^m _{cs} C ^m _{cs} A ^m _{cs} T ^m _{cs} G ^m _{cs} A ^m _{cs} C ^m _{cs} T ^m _{cs} T ^m _{cs} C ^m _{cs} C ^m _{cs} T ^m _{cs} T ^m _{cs} A ^m _{cs} - GalNAc₃-20_a	GalNAc ₃ -20a	A _d	2257

[1549]

[1550] GalNAc₃-1_a의 구조는 실시예 9에서 이전에 보여졌고, GalNAc₃-3_a의 구조는 실시예 39에서 보여졌고, GalNAc₃-9_a의 구조는 실시예 52에서 보여졌고, GalNAc₃-10_a의 구조는 실시예 46에서 보여졌고, GalNAc₃-19_a의 구조는 실시예 70에서 보여졌고, GalNAc₃-20_a의 구조는 실시예 71에서 보여졌고, 그리고 GalNAc₃-23_a의 구조는 실시예 76에서 보여졌다.

[1551] 치료

[1552] 6 내지 8 주령 C57BL/6 마우스 (Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME) 각각에게 아래에서 보여진 투여량으로 표 64에서 열거된 올리고뉴클레오타이드 또는 염수가 피하로 1 회 주입되었다. 각 처리 그룹은 4 마리의 동물로 구성되었다. 마우스는 최종 투여로부터 72 시간 후에 희생되었고 표준 프로토콜에 따라 실시간 PCR 및 RIBOGREEN® RNA 정량화 시약을 사용하여 SRB-1 mRNA 수준을 측정했다 (Molecular Probes, Inc. Eugene, OR). 아래의 결과는 염수 대조군에 대해 정규화된 각 처리 그룹에 대한 SRB-1 mRNA 수준의 평균 퍼센트로서 나타낸다.

[1553] 표 65에서 실증된 바와 같이, 안티센스 올리고뉴클레오타이드에 의한 처리는 용량-의존 방식에서 SRB-1 mRNA 수준을 감소시켰다.

[1554] 표 65

[1555] SRB-1 mRNA (% 염수)

ISIS 번호	투여량 (mg/kg)	SRB-1 mRNA (% 염수)	GalNAc ₃ 클러스터	CM
염수	n/a	100.0	n/a	n/a
661161	0.5	89.18	GalNAc ₃ -3a	A _d
	1.5	77.02		
	5	29.10		
	15	12.64		
666904	0.5	93.11	GalNAc ₃ -3a	PO
	1.5	55.85		
	5	21.29		
	15	13.43		
673502	0.5	77.75	GalNAc ₃ -10a	A _d
	1.5	41.05		
	5	19.27		
	15	14.41		
677844	0.5	87.65	GalNAc ₃ -9a	A _d
	1.5	93.04		
	5	40.77		
	15	16.95		
677843	0.5	102.28	GalNAc ₃ -23a	A _d
	1.5	70.51		
	5	30.68		
	15	13.26		
655861	0.5	79.72	GalNAc ₃ -1a	A _d
	1.5	55.48		
	5	26.99		
	15	17.58		
677841	0.5	67.43	GalNAc ₃ -19a	A _d
	1.5	45.13		
	5	27.02		
	15	12.41		
677842	0.5	64.13	GalNAc ₃ -20a	A _d
	1.5	53.56		
	5	20.47		
	15	10.23		

[1556]

[1557]

혈청 중 간 트랜스아미나제 수준, 알라닌 트랜스아미나제 (ALT) 및 아스파르테이트 트랜스아미나제 (AST)는, 표준 프로토콜을 사용하여 또한 측정되었다. 총 빌리루빈 및 BUN가 또한 평가되었다. 체중의 변화가 평가되었고, 염수 군으로부터 유의미한 변화는 없었다 (데이터 도시되지 않음). ALT, AST, 총 빌리루빈 및 BUN 값은 아래의 표 66에서 보여진다.

[1558] 표 66

ISIS 번호	투여량 (mg/kg)	ALT (U/L)	AST (U/L)	총 빌리루빈 (mg/dL)	BUN (mg/dL)	GalNAc ₃ 클러스터	CM
염수	n/a	21	45	0.13	34	n/a	n/a
661161	0.5	28	51	0.14	39	GalNAc ₃ -3a	A _d
	1.5	23	42	0.13	39		
	5	22	59	0.13	37		
	15	21	56	0.15	35		
666904	0.5	24	56	0.14	37	GalNAc ₃ -3a	PO
	1.5	26	68	0.15	35		
	5	23	77	0.14	34		
	15	24	60	0.13	35		
673502	0.5	24	59	0.16	34	GalNAc ₃ -10a	A _d
	1.5	20	46	0.17	32		
	5	24	45	0.12	31		
	15	24	47	0.13	34		
677844	0.5	25	61	0.14	37	GalNAc ₃ -9a	A _d
	1.5	23	64	0.17	33		
	5	25	58	0.13	35		
	15	22	65	0.14	34		
677843	0.5	53	53	0.13	35	GalNAc ₃ -23a	A _d
	1.5	25	54	0.13	34		
	5	21	60	0.15	34		
	15	22	43	0.12	38		
655861	0.5	21	48	0.15	33	GalNAc ₃ -1a	A _d
	1.5	28	54	0.12	35		
	5	22	60	0.13	36		
	15	21	55	0.17	30		
677841	0.5	32	54	0.13	34	GalNAc ₃ -19a	A _d
	1.5	24	56	0.14	34		
	5	23	92	0.18	31		
	15	24	58	0.15	31		
677842	0.5	23	61	0.15	35	GalNAc ₃ -20a	A _d
	1.5	24	57	0.14	34		
	5	41	62	0.15	35		
	15	24	37	0.14	32		

[1559]

[1560] 실시예 78: GalNAc₃ 콘주게이트를 포함하는 안지오텐시노겐을 표적으로 하는 올리고뉴클레오타이드에 의한 생체내 안티센스 억제

[1561] 아래에서 열거된 올리고뉴클레오타이드는 정상혈압 스프레그 다우리 래트에서 안지오텐시노겐 (AGT)의 안티센스 억제에 대한 용량-의존적 연구에서 시험되었다.

[1562] 표 67

[1563] AGT을 표적으로 하는 변형된 ASO

ISIS 번호	서열 (5' 내지 3')	GalNAc ₃ 클러스터	CM	서열 번호
552668	^m C _{es} A _{es} ^m C _{es} T _{es} G _{es} A _{ds} T _{ds} T _{ds} T _{ds} T _{ds} G _{ds} ^m C _{ds} ^m C _{ds} ^m C _{ds} A _{es} G _{es} G _{es} A _{es} T _e	n/a	n/a	2262
669509	^m C _{es} A _{es} ^m C _{es} T _{es} G _{es} A _{ds} T _{ds} T _{ds} T _{ds} T _{ds} G _{ds} ^m C _{ds} ^m C _{ds} ^m C _{ds} A _{es} G _{es} G _{es} A _{es} T _{es} A _{ds} -GalNAc ₃ -1 _a	GalNAc ₃ -1 _a	A _d	2263

[1564]

[1565] "GalNAc₃-1_a"의 구조가 실시예 9에 나타나 있다.

[1566] 치료

[1567] 6 주령, 수컷 스프레그 다우리 래트 각각에게 피하로 주당 1회 아래에서 보여진 투여량으로, 총 3 회 용량 동안, 표 67에서 열거된 올리고뉴클레오타이드 또는 PBS가 주입되었다. 각 처리 그룹은 4 마리의 동물로 구성되었다. 래트는 최종 용량 후 72 시간에 희생되었다. AGT 간 mRNA 수준은 표준 프로토콜에 따라 실시간 PCR 및 RIBOGREEN® RNA 정량화 시약을 사용하여 측정되었다 (Molecular Probes, Inc. Eugene, OR). AGT 혈장 단백질

수준은 총 안지오텐시노겐 ELISA (카탈로그 # JP27412, IBL International, Toronto, ON)을 1:20,000 희석된 혈장과 함께 사용하여 측정되었다. 아래의 결과는 간에서 AGT mRNA 수준 또는 PBS 대조군에 대해 정규화된 각 처리 그룹의 혈장에서 AGT 단백질 수준의 평균 퍼센트로서 나타낸다.

표 68에서 실증된 바와 같이, 안티센스 올리고뉴클레오타이드에 의한 처리는 용량-의존 방식에서 AGT 간 mRNA 및 혈장 단백질 수준을 낮게 했고, GalNAc 콘주게이트를 포함하는 올리고뉴클레오타이드는 GalNAc 콘주게이트가 없는 모 올리고뉴클레오타이드 보다 유의미하게 더 강했다.

표 68

AGT 간 mRNA 및 혈장 단백질 수준

ISIS 번호	투여량 (mg/kg)	AGT 간 mRNA (% PBS)	AGT 혈장 단백질 (% PBS)	GalNAc ₃ 클러스터	CM
PBS	n/a	100	100	n/a	n/a
552668	3	95	122	n/a	n/a
	10	85	97		
	30	46	79		
	90	8	11		
	0.3	95	70		
669509	1	95	129	GalNAc ₃ -1a	A _d
	3	62	97		
	10	9	23		
	0.3	95	70		

혈장 및 체중 중 간 트랜스아미나제 수준, 알라닌 트랜스아미나제 (ALT) 및 아스파르테이트 트랜스아미나제 (AST)는, 또한 표준 프로토콜을 사용하여 희생 시에 측정되었다. 결과는 아래의 표 69에서 보여준다.

표 69

간 트랜스아미나제 수준 및 래트 체중

ISIS 번호	투여량 (mg/kg)	ALT (U/L)	AST (U/L)	체중 (기준선의 %)	GalNAc ₃ 클러스터	CM
PBS	n/a	51	81	186	n/a	n/a
552668	3	54	93	183	n/a	n/a
	10	51	93	194		
	30	59	99	182		
	90	56	78	170		
	0.3	53	90	190		
669509	1	51	93	192	GalNAc ₃ -1a	A _d
	3	48	85	189		
	10	56	95	189		
	0.3	53	90	190		

실시예 79: GalNAc₃ 콘주게이트를 포함하는 APOC-III을 표적으로 하는 올리고뉴클레오타이드의 생체내 작용의 지속시간

아래의 표 70에서 열거된 올리고뉴클레오타이드는 마우스에서 작용의 지속시간에 대한 단회 용량 연구에서 시험되었다.

표 70

APOC-III을 표적으로 하는 변형된 ASO

ISIS 번호	서열 (5' 내지 3')	GalNAc ₃ 클러스터	CM	서열 번호
304801	A _{cs} G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds^mC_{dsA_{ds}G_{ds}^mC_{ds}T_{es}T_{es} T_{es}A_{cs}T_e}}	n/a	n/a	2248
647535	A _{cs} G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds^mC_{dsA_{ds}G_{ds}^mC_{ds}T_{es}T_{es} T_{es}A_{cs}T_eA_{do}-GalNAc₃-1a}}	GalNAc ₃ -1a	A _d	2249
663083	GalNAc ₃ -3a-A _{do} A _{cs} G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} G _{ds} ^m C _{ds} T _{es} T _{es} A _{cs} T _e	GalNAc ₃ -3a	A _d	2264
674449	GalNAc ₃ -7a-A _{do} A _{cs} G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} G _{ds} ^m C _{ds} T _{es} T _{es} A _{cs} T _e	GalNAc ₃ -7a	A _d	2264
674450	GalNAc ₃ -10a-A _{do} A _{cs} G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} G _{ds} ^m C _{ds} T _{es} T _{es} A _{cs} T _e	GalNAc ₃ -10a	A _d	2264
674451	GalNAc ₃ -13a-A _{do} A _{cs} G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} G _{ds} ^m C _{ds} T _{es} T _{es} A _{cs} T _e	GalNAc ₃ -13a	A _d	2264

GalNAc₃-1a의 구조는 실시예 9에서 이전에 보여졌고, GalNAc₃-3a의 구조는 실시예 39에서 보여졌고, GalNAc₃-7a의

구조는 실시예 48에서 보여졌고, GalNAc₃-10_a의 구조는 실시예 46에서 보여졌고, 그리고 GalNAc₃-13_a의 구조는 실시예 62에서 보여졌다.

[1582] 치료

[1583] 인간 APOC-III을 발현시키는 6 내지 8 주령 형질전환 마우스 각각에게 표 70에서 열거된 올리고뉴클레오티드 또는 PBS가 피하로 1 회 주입되었다. 각 처리 그룹은 3 마리의 동물로 구성되었다. 투여 전에 채혈하여 기준선을 결정하고 투여 후 72 시간, 1 주, 2 주, 3 주, 4 주, 5 주, 및 6 주에서 결정했다. 혈장 트리글리세라이드 및 APOC-III 단백질 수준은 실시예 20에서 기재된 바와 같이 측정되었다. 아래의 결과는 기준선 수준에 대해 정규화된 각 처리 그룹의 혈장 트리글리세라이드 및 APOC-III 수준의 평균 퍼센트로서 나타내고, 이것은, GalNAc 콘주게이트 그룹을 포함하는 올리고뉴클레오티드가, 모의 투여량이 GalNAc 콘주게이트 그룹을 포함하는 올리고뉴클레오티드의 투여량의 3 배일지라도, 콘주게이트 그룹 (ISIS 304801)없는 모 올리고뉴클레오티드보다 더 긴 작용의 지속시간을 나타낸다는 것을 보여준다.

[1584] 표 71

[1585] 형질전환 마우스 중 혈장 트리글리세라이드 및 APOC-III 단백질 수준

ISIS 번호	투여량 (mg/kg)	시점 (투여-후 일수)	트리글리세라이드 (% 기준선)	APOC-III 단백질 (% 기준선)	GalNAc ₃ 클러스터	CM
PBS	n/a	3	97	102	n/a	n/a
		7	101	98		
		14	108	98		
		21	107	107		
		28	94	91		
		35	88	90		
		42	91	105		
304801	30	3	40	34	n/a	n/a
		7	41	37		
		14	50	57		
		21	50	50		
		28	57	73		
		35	68	70		
		42	75	93		
647535	10	3	36	37	GalNAc ₃ -1a	A _d
		7	39	47		
		14	40	45		
		21	41	41		
		28	42	62		
		35	69	69		
		42	85	102		
663083	10	3	24	18	GalNAc ₃ -3a	A _d
		7	28	23		
		14	25	27		
		21	28	28		
		28	37	44		
		35	55	57		
		42	60	78		
674449	10	3	29	26	GalNAc ₃ -7a	A _d
		7	32	31		

[1586]

		14	38	41		
		21	44	44		
		28	53	63		
		35	69	77		
		42	78	99		
674450	10	3	33	30	GalNAc ₃ -10a	A _d
		7	35	34		
		14	31	34		
		21	44	44		
		28	56	61		
		35	68	70		
		42	83	95		
674451	10	3	35	33	GalNAc ₃ -13a	A _d
		7	24	32		
		14	40	34		
		21	48	48		
		28	54	67		
		35	65	75		
		42	74	97		

[1587]

[1588] 실시예 80: GalNAc₃ 콘주게이트를 포함하는 알파-1 항트립신(A1AT)을 표적으로 하는 올리고뉴클레오티드에 의한

생체내 안티센스 억제

[1589] 아래의 표 72에서 열거된 올리고뉴클레오타드는 마우스에서 A1AT 의용량-의존적 억제에 대한 연구에서 시험되었다.

[1590] 표 72

[1591] A1AT을 표적으로 하는 변형된 ASO

ISIS 번호	서열 (5' 내지 3')	GalNAc ₃ 클러스터	CM	서열 번호
476366	A _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} ^m A _{es} A _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} G _{ds} A _{ds} A _{ds} G _{ds} A _{es} A _{es} G _{es} G _{es} A _e	n/a	n/a	2265
656326	A _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} ^m A _{es} A _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} G _{ds} A _{ds} A _{ds} G _{ds} A _{es} A _{es} G _{es} G _{es} A _{eo} A _{do} -GalNAc ₃ -1a	GalNAc ₃ -1a	A _d	2266
678381	GalNAc ₃ -3a-o'-A _{do} A _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} ^m A _{es} A _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} G _{ds} A _{ds} A _{ds} G _{ds} G _{ds} A _{es} A _{es} G _{es} G _{es} A _e	GalNAc ₃ -3a	A _d	2267
678382	GalNAc ₃ -7a-o'-A _{do} A _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} ^m A _{es} A _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} G _{ds} A _{ds} A _{ds} G _{ds} G _{ds} A _{es} A _{es} G _{es} G _{es} A _e	GalNAc ₃ -7a	A _d	2267
678383	GalNAc ₃ -10a-o'-A _{do} A _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} ^m A _{es} A _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} G _{ds} A _{ds} A _{ds} G _{ds} G _{ds} A _{es} A _{es} G _{es} G _{es} A _e	GalNAc ₃ -10a	A _d	2267
678384	GalNAc ₃ -13a-o'-A _{do} A _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} ^m A _{es} A _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} G _{ds} A _{ds} A _{ds} G _{ds} G _{ds} A _{es} A _{es} G _{es} G _{es} A _e	GalNAc ₃ -13a	A _d	2267

[1592]

[1593] GalNAc₃-1a의 구조는 실시예 9에서 이전에 보여졌고, GalNAc₃-3a의 구조는 실시예 39에서 보여졌고, GalNAc₃-7a의 구조는 실시예 48에서 보여졌고, GalNAc₃-10a의 구조는 실시예 46에서 보여졌고, 그리고 GalNAc₃-13a의 구조는 실시예 62에서 보여졌다.

[1594] 치료

[1595] 6 주령, 수컷 C57BL/6 마우스 (Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME) 각각에게 피하로 주당 1회 아래에서 보여진 투여량으로, 총 3 회 용량 동안, 표 72에서 열거된 올리고뉴클레오타드 또는 PBS가 주입되었다. 각 처리 그룹은 4 마리의 동물로 구성되었다. 마우스는 최종 투여 72 시간 후에 희생되었다. A1AT 간 mRNA 수준은 표준 프로토콜에 따라 실시간 PCR 및 RIBOGREEN® RNA 정량화 시약을 사용하여 측정되었다 (Molecular Probes, Inc. Eugene, OR). A1AT 혈장 단백질 수준은 마우스 알파 1-항트립신 ELISA를 사용하여 결정되었다 (카탈로그 # 41-A1AMS-E01, Alpcos, Salem, NH). 아래의 결과는 PBS 대조군에 대해 정규화된 각 처리 그룹에 대한 A1AT 간 mRNA 및 혈장 단백질 수준의 평균 퍼센트로부터 나타난다.

[1596] 표 73에서 실증된 바와 같이, 안티센스 올리고뉴클레오타드에 의한 처리는 용량-의존 방식에서 A1AT 간 mRNA 및 A1AT 혈장 단백질 수준을 감소시켰다. GalNAc 콘주게이트를 포함하는 올리고뉴클레오타드는 모 (ISIS 476366)보다 유의미하게 더 강했다.

[1597] 표 73

[1598] A1AT 간 mRNA 및 혈장 단백질 수준

ISIS 번호	투여량 (mg/kg)	A1AT 간 mRNA (% PBS)	A1AT 혈장 단백질 (% PBS)	GalNAc ₃ 클러스터	CM
PBS	n/a	100	100	n/a	n/a
476366	5	86	78	n/a	n/a
	15	73	61		
	45	30	38		
656326	0.6	99	90	GalNAc ₃ -1a	A _d
	2	61	70		
	6	15	30		
	18	6	10		
678381	0.6	105	90	GalNAc ₃ -3a	A _d
	2	53	60		
	6	16	20		
	18	7	13		
678382	0.6	90	79	GalNAc ₃ -7a	A _d
	2	49	57		
	6	21	27		
	18	8	11		
678383	0.6	94	84	GalNAc ₃ -10a	A _d
	2	44	53		
	6	13	24		
	18	6	10		
678384	0.6	106	91	GalNAc ₃ -13a	A _d
	2	65	59		
	6	26	31		
	18	11	15		

[1599]

[1600] 혈장 중 간 트랜스아미나제 및 BUN 수준은 표준 프로토콜을 사용하여 희생 시에 측정되었다. 체중 및 장기 중량이 또한 측정되었다. 결과는 아래의 표 74에서 보여준다. 체중은 기준선에 대한 %로서 보여진다. 장기 중량은 PBS 대조군 그룹에 대한 체중의 %로서 보여진다.

[1601]

표 74

ISIS 번호	투여량 (mg/kg)	ALT (U/L)	AST (U/L)	BUN (mg/dL)	체중 (% 기준선)	간 중량 (Rel % BW)	신장 중량 (Rel % BW)	비장 중량 (Rel % BW)
PBS	n/a	25	51	37	119	100	100	100
476366	5	34	68	35	116	91	98	106
	15	37	74	30	122	92	101	128
	45	30	47	31	118	99	108	123
656326	0.6	29	57	40	123	100	103	119
	2	36	75	39	114	98	111	106
	6	32	67	39	125	99	97	122
	18	46	77	36	116	102	109	101
678381	0.6	26	57	32	117	93	109	110
	2	26	52	33	121	96	106	125
	6	40	78	32	124	92	106	126
	18	31	54	28	118	94	103	120
678382	0.6	26	42	35	114	100	103	103
	2	25	50	31	117	91	104	117
	6	30	79	29	117	89	102	107
	18	65	112	31	120	89	104	113
678383	0.6	30	67	38	121	91	100	123
	2	33	53	33	118	98	102	121
	6	32	63	32	117	97	105	105
	18	36	68	31	118	99	103	108
678384	0.6	36	63	31	118	98	103	98
	2	32	61	32	119	93	102	114
	6	34	69	34	122	100	100	96
	18	28	54	30	117	98	101	104

[1602]

[1603] 실시예 81: GalNAc₃ 클러스터를 포함하는 A1AT을 표적으로 하는 올리고뉴클레오타이드의 생체내 작용의 지속시간

[1604] 표 72에서 열거된 올리고뉴클레오타이드는 마우스에서 작용의 지속시간에 대한 단회 용량 연구에서 시험되었다.

[1605] 치료

[1606] 6 주령, 수컷 C57BL/6 마우스 각각에게 표 72에서 열거된 올리고뉴클레오타이드 또는 PBS를 피하로 1 회 주입했다. 각 처리 그룹은 4 마리의 동물로 구성되었다. 혈액을 투여 전날에 취하여 기준선을 결정했고 투여 후 5, 12, 19, 및 25 일에서 결정했다. 혈장 A1AT 단백질 수준은 ELISA을 통해 측정되었다 (참고 실시예 80). 아래의 결과는 기준선 수준에 대해 정규화된 각 처리 그룹에 대한 혈장 A1AT 단백질 수준의 평균 퍼센트로서 나타난다. 이 결과는, GalNAc 콘주게이트를 포함하는 올리고뉴클레오타이드가 더 강했고 GalNAc 콘주게이트 (ISIS

476366) 없는 모보다 더 긴 작용의 지속시간을 가졌다는 것을 보여준다. 더욱이, 5'-GalNAc 콘주게이트 (ISIS 678381, 678382, 678383, 및 678384)을 포함하는 올리고뉴클레오티드는 3'-GalNAc 콘주게이트 (ISIS 656326)을 포함하는 올리고뉴클레오티드보다 더욱 더 긴 작용의 지속시간과 함께 일반적으로 더욱 더 강했다.

표 75

마우스 중 혈장 A1AT 단백질 수준

ISIS 번호	투여량 (mg/kg)	시점 (투여-후 일수)	A1AT (% 기준선)	GalNAc ₃ 클러스터	CM
PBS	n/a	5	93	n/a	n/a
		12	93		
		19	90		
		25	97		
476366	100	5	38	n/a	n/a
		12	46		
		19	62		
		25	77		
656326	18	5	33	GalNAc ₃ -1a	A _d
		12	36		
		19	51		
		25	72		
678381	18	5	21	GalNAc ₃ -3a	A _d
		12	21		
		19	35		
		25	48		
678382	18	5	21	GalNAc ₃ -7a	A _d
		12	21		
		19	39		
		25	60		
678383	18	5	24	GalNAc ₃ -10a	A _d
		12	21		
		19	45		
		25	73		
678384	18	5	29	GalNAc ₃ -13a	A _d
		12	34		
		19	57		
		25	76		

실시예 82: GalNAc₃ 콘주게이트를 포함하는 SRB-1을 표적으로 하는 올리고뉴클레오티드에 의한 시험관내 안티센스 억제

일차 마우스 간 간세포는 96 웰 플레이트에서 15,000 세포/웰에서 처리 2시간 전에 씨딩되었다. 표 76에서 열거된 올리고뉴클레오티드는 2, 10, 50, 또는 250 nM에서 Williams E 배지에서 부가되었고 세포는 밤새 37 °C에서 5% CO₂에서 인큐베이션되었다. 세포는 올리고뉴클레오티드 부가 다음 16 시간 동안 용해되었고, 총 RNA는 RNease 3000 BioRobot (Qiagen)를 사용하여 정제되었다. SRB-1 mRNA 수준은 표준 프로토콜에 따라 실시간 PCR 및 RIBOGREEN® RNA 정량화 시약을 사용하여 측정되었다 (Molecular Probes, Inc. Eugene, OR). IC₅₀ 값은 Prism 4 소프트웨어 (GraphPad)를 사용하여 측정되었다. 이 결과는, 다양한 상이한 GalNAc 콘주게이트 그룹 및 다양한 상이한 절단가능 모이어티를 포함하는 올리고뉴클레오티드가 GalNAc 콘주게이트 그룹 (ISIS 353382 및 666841)이 없는 모 올리고뉴클레오티드보다 시험관내 유리 흡수 실험에서 유의미하게 더 강하다는 것을 보여준다.

표 76

[1613] 시험관내 SRB-1 발현의 억제

ISIS 번호	서열 (5' 내지 3')	연결	GalNAc 클러스터	CM	IC ₅₀ (nM)	서열 번호
353382	$G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es}^m C_{es} A_{ds} G_{ds} T_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}$ $C_{ds} T_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} T_e$	PS	n/a	n/a	250	2256
655861	$G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es}^m C_{es} A_{ds} G_{ds} T_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}$ $C_{ds} T_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} T_{eo} A_{do} \text{-GalNAc}_3 \text{-} 1_a$	PS	GalNAc ₃ -1 _a	A _d	40	2257
661161	GalNAc₃-3_a-o'-A_{do} $G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es}^m C_{es} A_{ds} G_{ds} T_{ds}$ $C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}^m C_{ds} T_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} T_e$	PS	GalNAc ₃ -3 _a	A _d	40	2258
661162	GalNAc₃-3_a-o'-A_{do} $G_{es}^m C_{eo} T_{eo} T_{eo}^m C_{eo} A_{ds} G_{ds} T_{ds}$ $C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}^m C_{ds} T_{ds} T_{eo}^m C_{eo}^m C_{es} T_{es} T_e$	PO/PS	GalNAc ₃ -3 _a	A _d	8	2258
664078	$G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es}^m C_{es} A_{ds} G_{ds} T_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}$ $C_{ds} T_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} T_{eo} A_{do} \text{-GalNAc}_3 \text{-} 9_a$	PS	GalNAc ₃ -9 _a	A _d	20	2257
665001	GalNAc₃-8_a-o'-A_{do} $G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es}^m C_{es} A_{ds} G_{ds} T_{ds}$ $C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}^m C_{ds} T_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} T_e$	PS	GalNAc ₃ -8 _a	A _d	70	2258
666224	GalNAc₃-5_a-o'-A_{do} $G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es}^m C_{es} A_{ds} G_{ds} T_{ds}$ $C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}^m C_{ds} T_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} T_e$	PS	GalNAc ₃ -5 _a	A _d	80	2258
666841	$G_{es}^m C_{eo} T_{eo} T_{eo}^m C_{es} A_{ds} G_{ds} T_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}$ $C_{ds} T_{ds} T_{eo}^m C_{eo}^m C_{es} T_{es} T_e$	PO/PS	n/a	n/a	>250	2256
666881	GalNAc₃-10_a-o'-A_{do} $G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es}^m C_{es} A_{ds} G_{ds} T_{ds}$ $C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}^m C_{ds} T_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} T_e$	PS	GalNAc ₃ -10 _a	A _d	30	2258
666904	GalNAc₃-3_a-o'-G_{es} $C_{es} T_{es} T_{es}^m C_{es} A_{ds} G_{ds} T_{ds}^m C_{ds}$ $A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}^m C_{ds} T_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} T_e$	PS	GalNAc ₃ -3 _a	PO	9	2256
666924	GalNAc₃-3_a-o'-T_{do} $G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es}^m C_{es} A_{ds} G_{ds} T_{ds}$ $C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}^m C_{ds} T_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} T_e$	PS	GalNAc ₃ -3 _a	T _d	15	2261
666961	GalNAc₃-6_a-o'-A_{do} $G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es}^m C_{es} A_{ds} G_{ds} T_{ds}$ $C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}^m C_{ds} T_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} T_e$	PS	GalNAc ₃ -6 _a	A _d	150	2258
666981	GalNAc₃-7_a-o'-A_{do} $G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es}^m C_{es} A_{ds} G_{ds} T_{ds}$ $C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}^m C_{ds} T_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} T_e$	PS	GalNAc ₃ -7 _a	A _d	20	2258
670061	GalNAc₃-13_a-o'-A_{do} $G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es}^m C_{es} A_{ds} G_{ds} T_{ds}$ $C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}^m C_{ds} T_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} T_e$	PS	GalNAc ₃ -13 _a	A _d	30	2258
670699	GalNAc₃-3_a-o'-T_{do} $G_{es}^m C_{eo} T_{eo} T_{eo}^m C_{eo} A_{ds} G_{ds} T_{ds}$ $C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}^m C_{ds} T_{ds} T_{eo}^m C_{eo}^m C_{es} T_{es} T_e$	PO/PS	GalNAc ₃ -3 _a	T _d	15	2261
670700	GalNAc₃-3_a-o'-A_{eo} $G_{es}^m C_{eo} T_{eo} T_{eo}^m C_{eo} A_{ds} G_{ds} T_{ds}$ $C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}^m C_{ds} T_{ds} T_{eo}^m C_{eo}^m C_{es} T_{es} T_e$	PO/PS	GalNAc ₃ -3 _a	A _e	30	2258

[1614]

670701	GalNAc₃-3_a-o'-T_{eo} $G_{es}^m C_{eo} T_{eo} T_{eo}^m C_{eo} A_{ds} G_{ds} T_{ds}$ $C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}^m C_{ds} T_{ds} T_{eo}^m C_{eo}^m C_{es} T_{es} T_e$	PO/PS	GalNAc ₃ -3 _a	T _e	25	2261
671144	GalNAc₃-12_a-o'-A_{do} $G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es}^m C_{es} A_{ds} G_{ds} T_{ds}$ $C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}^m C_{ds} T_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} T_e$	PS	GalNAc ₃ -12 _a	A _d	40	2258
671165	GalNAc₃-13_a-o'-A_{do} $G_{es}^m C_{eo} T_{eo} T_{eo}^m C_{eo} A_{ds} G_{ds} T_{ds}$ $C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}^m C_{ds} T_{ds} T_{eo}^m C_{eo}^m C_{es} T_{es} T_e$	PO/PS	GalNAc ₃ -13 _a	A _d	8	2258
671261	GalNAc₃-14_a-o'-A_{do} $G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es}^m C_{es} A_{ds} G_{ds} T_{ds}$ $C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}^m C_{ds} T_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} T_e$	PS	GalNAc ₃ -14 _a	A _d	>250	2258
671262	GalNAc₃-15_a-o'-A_{do} $G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es}^m C_{es} A_{ds} G_{ds} T_{ds}$ $C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}^m C_{ds} T_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} T_e$	PS	GalNAc ₃ -15 _a	A _d	>250	2258
673501	GalNAc₃-7_a-o'-A_{do} $G_{es}^m C_{eo} T_{eo} T_{eo}^m C_{eo} A_{ds} G_{ds} T_{ds}$ $C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}^m C_{ds} T_{ds} T_{eo}^m C_{eo}^m C_{es} T_{es} T_e$	PO/PS	GalNAc ₃ -7 _a	A _d	30	2258
673502	GalNAc₃-10_a-o'-A_{do} $G_{es}^m C_{eo} T_{eo} T_{eo}^m C_{eo} A_{ds} G_{ds} T_{ds}$ $C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}^m C_{ds} T_{ds} T_{eo}^m C_{eo}^m C_{es} T_{es} T_e$	PO/PS	GalNAc ₃ -10 _a	A _d	8	2258
675441	GalNAc₃-17_a-o'-A_{do} $G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es}^m C_{es} A_{ds} G_{ds} T_{ds}$ $C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}^m C_{ds} T_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} T_e$	PS	GalNAc ₃ -17 _a	A _d	30	2258
675442	GalNAc₃-18_a-o'-A_{do} $G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es}^m C_{es} A_{ds} G_{ds} T_{ds}$ $C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}^m C_{ds} T_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} T_e$	PS	GalNAc ₃ -18 _a	A _d	20	2258
677841	$G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es}^m C_{es} A_{ds} G_{ds} T_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}$ $C_{ds} T_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} T_{eo} A_{do} \text{-GalNAc}_3 \text{-} 19_a$	PS	GalNAc ₃ -19 _a	A _d	40	2257
677842	$G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es}^m C_{es} A_{ds} G_{ds} T_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}$ $C_{ds} T_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} T_{eo} A_{do} \text{-GalNAc}_3 \text{-} 20_a$	PS	GalNAc ₃ -20 _a	A _d	30	2257
677843	GalNAc₃-23_a-o'-A_{do} $G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es}^m C_{es} A_{ds} G_{ds} T_{ds}$ $C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}^m C_{ds} T_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} T_e$	PS	GalNAc ₃ -23 _a	A _d	40	2258

[1615]

[1616]

GalNAc₃-1_a의 구조는 실시예 9에서 이전에 보여졌고, GalNAc₃-3_a의 구조는 실시예 39에서 보여졌고, GalNAc₃-5_a의 구조는 실시예 49에서 보여졌고, GalNAc₃-6_a의 구조는 실시예 51에서 보여졌고, GalNAc₃-7_a의 구조는 실시예 48에서 보여졌고, GalNAc₃-8_a의 구조는 실시예 47에서 보여졌고, GalNAc₃-9_a의 구조는 실시예 52에서 보여졌고, GalNAc₃-10_a의 구조는 실시예 46에서 보여졌고, GalNAc₃-12_a의 구조는 실시예 61에서 보여졌고, GalNAc₃-13_a의 구조는 실시예 62에서 보여졌고, GalNAc₃-14_a의 구조는 실시예 63에서 보여졌고, GalNAc₃-15_a의 구조는 실시예 64

에서 보여졌고, GalNAc₃-17_a의 구조는 실시예 68에서 보여졌고, GalNAc₃-18_a의 구조는 실시예 69에서 보여졌고, GalNAc₃-19_a의 구조는 실시예 70에서 보여졌고, GalNAc₃-20_a의 구조는 실시예 71에서 보여졌고, 그리고 GalNAc₃-23_a의 구조는 실시예 76에서 보여졌다.

실시예 83: GalNAc₃ 클러스터를 포함하는 인자 XI를 표적으로 하는 올리고뉴클레오타드에 의한 생체내 안티센스 억제

아래의 표 77에서 열거된 올리고뉴클레오타드는 마우스에서 인자 XI의 용량-의존적 억제에 대한 연구에서 시험되었다.

표 77

인자 XI를 표적으로 하는 변형된 올리고뉴클레오타드

ISIS 번호	서열 (5' 내지 3')	GalNAc 클러스터	CM	서열 번호
404071	T _{es} G _{es} G _{es} T _{es} A _{es} A _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{es} G _{es} A _{es} G _{es} G _e	n/a	n/a	2259
656173	T _{es} G _{eo} G _{eo} T _{eo} A _{eo} A _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{eo} G _{eo} A _{es} G _{es} G _{eo} A _{do} ^m GalNAc₃-1_a	GalNAc ₃ -1 _a	A _d	2260
663086	GalNAc₃-3_a ^m A _{do} ^m T _{es} G _{eo} G _{eo} T _{eo} A _{eo} A _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{eo} G _{eo} A _{es} G _{es} G _e	GalNAc ₃ -3 _a	A _d	2268
678347	GalNAc₃-7_a ^m A _{do} ^m T _{es} G _{eo} G _{eo} T _{eo} A _{eo} A _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{es} G _{eo} A _{es} G _{es} G _e	GalNAc ₃ -7 _a	A _d	2268
678348	GalNAc₃-10_a ^m A _{do} ^m T _{es} G _{eo} G _{eo} T _{eo} A _{eo} A _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{eo} G _{eo} A _{es} G _{es} G _e	GalNAc ₃ -10 _a	A _d	2268
678349	GalNAc₃-13_a ^m A _{do} ^m T _{es} G _{eo} G _{eo} T _{eo} A _{eo} A _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{eo} G _{eo} A _{es} G _{es} G _e	GalNAc ₃ -13 _a	A _d	2268

GalNAc₃-1_a의 구조는 실시예 9에서 이전에 보여졌고, GalNAc₃-3_a의 구조는 실시예 39에서 보여졌고, GalNAc₃-7_a의 구조는 실시예 48에서 보여졌고, GalNAc₃-10_a의 구조는 실시예 46에서 보여졌고, 그리고 GalNAc₃-13_a의 구조는 실시예 62에서 보여졌다.

치료

6 내지 8 주령 마우스 각각에게 피하로 주당 1회 아래에서 보여진 투여량으로, 총 3 회 용량 동안, 아래에서 열거된 올리고뉴클레오타드는 또는 PBS가 주입되었다. 각 처리 그룹은 4 마리의 동물로 구성되었다. 마우스를 최종 투여로부터 72시간 후 희생시켰다. 인자 XI 간 mRNA 수준은 실시간 PCR을 사용하여 측정되었고 표준 프로토콜에 따라 시클로필린에 대해 정규화되었다. 간 트랜스아미나제, BUN, 및 빌리루빈이 또한 측정되었다. 아래의 결과는 PBS 대조군에 대해 정규화된 각 처리 그룹에 대한 평균 퍼센트로서 나타낸다.

표 78에서 실증된 바와 같이, 안티센스 올리고뉴클레오타드에 의한 처리는 용량-의존 방식에서 인자 XI 간 mRNA를 감소시켰다. 이 결과는, GalNAc 콘주게이트를 포함하는 올리고뉴클레오타드는 GalNAc 콘주게이트 (ISIS 404071)가 없는 모보다 더 강했다는 것을 보여준다. 더욱이, 5'-GalNAc 콘주게이트 (ISIS 663086, 678347, 678348, 및 678349)을 포함하는 올리고뉴클레오타드는 3'-GalNAc 콘주게이트 (ISIS 656173)을 포함하는 올리고뉴클레오타드보다 더욱 더 강했다.

표 78

인자 XI 간 mRNA, 간 트랜스아미나제, BUN, 및 빌리루빈 수준

ISIS 번호	투여량 (mg/kg)	인자 XI mRNA (% PBS)	ALT (U/L)	AST (U/L)	BUN (mg/dL)	빌리루빈 (mg/dL)	GalNAc ₃ 클러스터	서열 번호
PBS	n/a	100	63	70	21	0.18	n/a	n/a
404071	3	65	41	58	21	0.15	n/a	2259
	10	33	49	53	23	0.15		
	30	17	43	57	22	0.14		

656173	0.7	43	90	89	21	0.16	GalNAc ₃ -1a	2260
	2	9	36	58	26	0.17		
	6	3	50	63	25	0.15		
663086	0.7	33	91	169	25	0.16	GalNAc ₃ -3a	2268
	2	7	38	55	21	0.16		
	6	1	34	40	23	0.14		
678347	0.7	35	28	49	20	0.14	GalNAc ₃ -7a	2268
	2	10	180	149	21	0.18		
	6	1	44	76	19	0.15		
678348	0.7	39	43	54	21	0.16	GalNAc ₃ -10a	2268
	2	5	38	55	22	0.17		
	6	2	25	38	20	0.14		
678349	0.7	34	39	46	20	0.16	GalNAc ₃ -13a	2268
	2	8	43	63	21	0.14		
	6	2	28	41	20	0.14		

[1629]

[1630]

실시예 84: GalNAc₃ 콘주게이트를 포함하는 인자 XI를 표적으로 하는 올리고뉴클레오타이드의 생체내 작용의 지속 시간

[1631]

표 77에서 열거된 올리고뉴클레오타이드는 마우스에서 작용의 지속시간에 대한 단위 용량 연구에서 시험되었다.

[1632]

치료

[1633]

6 내지 8 주령 마우스 각각에게 표 77에서 열거된 올리고뉴클레오타이드 또는 PBS를 피하로 1 회 주입했다. 각 처리 그룹은 4 마리의 동물로 구성되었다. 혈액을 투여 전날에 꼬리 출혈에 의해 취해서 기준선을 결정하고 투여 후 3, 10, 및 17 일에서 측정했다. 혈장 인자 XI 단백질 수준은 인자 XI 포획 및 바이오티닐화된 검출 항체 (R & D SYSTEMS, Minneapolis, MN (카탈로그 # AF2460 및 # BAF2460, 각각)) 및 OptEIA 시약 세트 B (카탈로그 # 550534, BD Biosciences, San Jose, CA)를 사용하여 ELISA에 의해 측정되었다. 아래의 결과는 기준선 수준에 대해 정규화된 각 처리 그룹에 대한 혈장 인자 XI 단백질 수준의 평균 퍼센트로서 나타낸다. 이 결과는, GalNAc 콘주게이트를 포함하는 올리고뉴클레오타이드가 GalNAc 콘주게이트 (ISIS 404071) 없는 모보다 더 긴 작용의 지속 시간과 함께 더 강했다는 것을 보여준다. 더욱이, 5'-GalNAc 콘주게이트 (ISIS 663086, 678347, 678348, 및 678349)을 포함하는 올리고뉴클레오타이드는 3'-GalNAc 콘주게이트 (ISIS 656173)을 포함하는 올리고뉴클레오타이드보다 더욱 더 긴 작용의 지속시간과 함께 더 더욱 더 강했다.

[1634]

표 79

[1635]

마우스 중 혈장 인자 XI 단백질 수준

ISIS 번호	투여량 (mg/kg)	시점 (투여-후 일수)	인자 XI (% 기준선)	GalNAc ₃ 클러스터	CM	서열 번호
PBS	n/a	3	123	n/a	n/a	n/a
		10	56			
		17	100			

[1636]

404071	30	3	11	n/a	n/a	2259
		10	47			
		17	52			
656173	6	3	1	GalNAc ₃ -1a	A _d	2260
		10	3			
		17	21			
663086	6	3	1	GalNAc ₃ -3a	A _d	2268
		10	2			
		17	9			
678347	6	3	1	GalNAc ₃ -7a	A _d	2268
		10	1			
		17	8			
678348	6	3	1	GalNAc ₃ -10a	A _d	2268
		10	1			
		17	6			
678349	6	3	1	GalNAc ₃ -13a	A _d	2268
		10	1			
		17	5			

[1637]

[1638]

실시예 85: GalNAc₃ 콘주게이트를 포함하는 SRB-1을 표적으로 하는 올리고뉴클레오타이드에 의한 생체내 안티센스 억제

[1639]

표 76에서 열거된 올리고뉴클레오타이드는 마우스에서 SRB-1의 안티센스 억제에 대한 용량-의존적 연구에서 시험되었다.

[1640] 치료

[1641] 6 내지 8 주령 C57BL/6 마우스 각각에게 피하로 주당 1회 아래에서 보여진 투여량으로, 총 3 회 용량 동안, 표 76에서 열거된 올리고뉴클레오티드 또는 염수가 주입되었다. 각 처리 그룹은 4 마리의 동물로 구성되었다. 마우스는 최종 투여 후 48 시간에 희생되었고 표준 프로토콜에 따라 실시간 PCR 및 RIBOGREEN® RNA 정량화 시약을 사용하여 SRB-1 mRNA 수준을 측정했다 (Molecular Probes, Inc. Eugene, OR). 아래의 결과는 염수 대조군으로 정규화된 각 처리 그룹에 대한 간 SRB-1 mRNA 수준의 평균 퍼센트로서 나타낸다.

[1642] 표 80 및 81에서 실증된 바와 같이, 안티센스 올리고뉴클레오티드에 의한 처리는 용량-의존 방식에서 SRB-1 mRNA 수준을 감소시켰다.

[1643] 표 80

[1644] 간 중 SRB-1 mRNA

ISIS 번호	투여량 (mg/kg)	SRB-1 mRNA (% 염수)	GalNAc ₃ 클러스터	CM
염수	n/a	100	n/a	n/a
655861	0.1	94	GalNAc ₃ -1a	A _d
	0.3	119		
	1	68		
	3	32		
661161	0.1	120	GalNAc ₃ -3a	A _d
	0.3	107		

[1645]

666881	1	68	GalNAc ₃ -10a	A _d
	3	26		
	0.1	107		
	0.3	107		
	1	69		
666981	3	27	GalNAc ₃ -7a	A _d
	0.1	120		
	0.3	103		
	1	54		
	3	21		
670061	0.1	118	GalNAc ₃ -13a	A _d
	0.3	89		
	1	52		
	3	18		
	0.1	119	GalNAc ₃ -20a	A _d
677842	0.3	96		
	1	65		
	3	23		

[1646]

[1647] 표 81

[1648] 간 중 SRB-1 mRNA

ISIS 번호	투여량 (mg/kg)	SRB-1 mRNA (% 염수)	GalNAc ₃ 클러스터	CM
661161	0.1	107	GalNAc ₃ -3a	A _d
	0.3	95		
	1	53		
	3	18		
677841	0.1	110	GalNAc ₃ -19a	A _d
	0.3	88		
	1	52		
	3	25		

[1649]

[1650] 간 트랜스아미나제 수준, 총 빌리루빈, BUN, 및 체중은 표준 프로토콜을 사용하여 또한 측정되었다. 각 처리 그룹의 평균 값은 아래의 표 82에서 보여진다.

[1651] 표 82

ISIS 번호	투여량 (mg/kg)	ALT (U/L)	AST (U/L)	빌리루빈 (mg/dL)	BUN (mg/dL)	체중 (% 기준선)	GalNAc ₃ 클러스터	CM
염수	n/a	19	39	0.17	26	118	n/a	n/a
655861	0.1	25	47	0.17	27	114	GalNAc ₃ -1a	A _d
	0.3	29	56	0.15	27	118		
	1	20	32	0.14	24	112		
	3	27	54	0.14	24	115		
661161	0.1	35	83	0.13	24	113	GalNAc ₃ -3a	A _d
	0.3	42	61	0.15	23	117		
	1	34	60	0.18	22	116		
	3	29	52	0.13	25	117		
666881	0.1	30	51	0.15	23	118	GalNAc ₃ -10a	A _d
	0.3	49	82	0.16	25	119		

[1652]

666981	1	23	45	0.14	24	117	GalNAc ₃ -7a	A _d
	3	20	38	0.15	21	112		
	0.1	21	41	0.14	22	113		
	0.3	29	49	0.16	24	112		
	1	19	34	0.15	22	111		
670061	3	77	78	0.18	25	115	GalNAc ₃ -13a	A _d
	0.1	20	63	0.18	24	111		
	0.3	20	57	0.15	21	115		
	1	20	35	0.14	20	115		
	3	27	42	0.12	20	116		
677842	0.1	20	38	0.17	24	114	GalNAc ₃ -20a	A _d
	0.3	31	46	0.17	21	117		
	1	22	34	0.15	21	119		
	3	41	57	0.14	23	118		

[1653]

[1654] 실시예 86: GalNAc₃ 클러스터를 포함하는 TTR를 표적으로 하는 올리고뉴클레오티드에 의한 생체내 안티센스 억제

[1655] 아래의 표 83에서 열거된 올리고뉴클레오티드는 인간 TTR 유전자를 발현시키는 형질전환 마우스에서 인간 트랜스티레틴 (TTR)의 안티센스 억제에 대한 용량-의존적 연구에서 시험되었다.

[1656] 치료

[1657] 8 주령 TTR 형질전환 마우스 각각에게 피하로 주당 1회 3 주 동안, 총 3 회 용량 동안, 아래의 표에서 열거된 올리고뉴클레오티드 및 투여량 또는 PBS가 주입되었다. 각 처리 그룹은 4 마리의 동물로 구성되었다. 마우스는 최종 투여 72 시간 후에 희생되었다. 꼬리 출혈은 실험을 통해 다양한 시점에서 수행되었고, 혈장 TTR 단백질, ALT, 및 AST 수준은 측정되고 표 85-87에서 보고되었다. 상기 동물이 희생된 후, 혈장 ALT, AST, 및 인간 TTR 수준은 체중, 장기 중량, 및 간 인간 TTR mRNA 수준에서와 같이 측정되었다. TTR 단백질 수준은 임상 분석기 (AU480, Beckman Coulter, CA)를 사용하여 측정되었다. 간 인간 TTR mRNA 수준을 측정하기 위하여 표준 프로토콜에 따라 실시간 PCR 및 RIBOGREEN® RNA 정량화 시약을 사용하였다 (Molecular Probes, Inc. Eugene, OR). 표 84-87에서 제공된 결과는 각 처리 그룹의 평균 값이다. mRNA 수준은 PBS 그룹의 평균에 대한 평균 값이다. 혈장 단백질 수준은 기준선에서 PBS 그룹의 평균 값에 대한 평균 값이다. 체중은 각 개별적인 처리 그룹에 대한 희생까지 기준선으로부터의 평균 퍼센트 체중 변화이다. 보여진 장기 중량은 동물의 체중으로 정규화되고, 그 다음 각 처리 그룹의 평균 정규화된 장기 중량은 PBS 그룹의 평균 정규화된 장기 중량에 대해 나타낸다.

[1658] 표 84 내지 87에서, "BL"는 제 1 용량 직전에 취한 기준선, 측정을 나타낸다. 표 84 및 85에서 실증된 바와 같이, 안티센스 올리고뉴클레오티드에 의한 처리는 용량-의존 방식에서 TTR 발현 수준을 감소시켰다. GalNAc 콘주게이트를 포함하는 올리고뉴클레오티드는 GalNAc 콘주게이트 (ISIS 420915)가 없는 모보다 더 강했다. 더욱이, GalNAc 콘주게이트 및 혼합된 PS/PO 뉴클레오시드간 연결을 포함하는 올리고뉴클레오티드는 GalNAc 콘주게이트 및 완벽한 PS 연결을 포함하는 올리고뉴클레오티드.

[1659] 표 83

[1660] 인간 TTR을 표적으로 하는 올리고뉴클레오타이드

Isis 번호	서열 5' 내지 3'	연결	GalNAc 클러스터	CM	서열 번호
420915	$T_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es} G_{ds} T_{ds} T_{ds} A_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds} A_{ds}$ $A_{es} T_{es}^m C_{es}^m C_{es}^m C_e$	PS	n/a	n/a	2269
660261	$T_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es} G_{ds} T_{ds} T_{ds} A_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds} A_{ds}$ $A_{es} T_{es}^m C_{es}^m C_{es}^m C_{eo} A_{do}^m$ -GalNAc ₃ -1 _a	PS	GalNAc ₃ -1a	A _d	2270
682883	GalNAc ₃ -3 _a -o'- $T_{es}^m C_{eo} T_{eo} T_{eo} G_{eo} G_{ds} T_{ds} T_{ds} A_{ds}^m C_{ds} A_{ds}$ $T_{ds} G_{ds} A_{ds} A_{ds} A_{eo} T_{eo}^m C_{es}^m C_{es}^m C_e$	PS/PO	GalNAc ₃ -3a	PO	2269
682884	GalNAc ₃ -7 _a -o'- $T_{es}^m C_{eo} T_{eo} T_{eo} G_{eo} G_{ds} T_{ds} T_{ds} A_{ds}^m C_{ds} A_{ds}$ $T_{ds} G_{ds} A_{ds} A_{ds} A_{eo} T_{eo}^m C_{es}^m C_{es}^m C_e$	PS/PO	GalNAc ₃ -7a	PO	2269
682885	GalNAc ₃ -10 _a -o'- $T_{es}^m C_{eo} T_{eo} T_{eo} G_{eo} G_{ds} T_{ds} T_{ds} A_{ds}^m C_{ds}$ $A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds} A_{ds} A_{eo} T_{eo}^m C_{es}^m C_{es}^m C_e$	PS/PO	GalNAc ₃ -10a	PO	2269
682886	GalNAc ₃ -13 _a -o'- $T_{es}^m C_{eo} T_{eo} T_{eo} G_{eo} G_{ds} T_{ds} T_{ds} A_{ds}^m C_{ds}$ $A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds} A_{ds} A_{eo} T_{eo}^m C_{es}^m C_{es}^m C_e$	PS/PO	GalNAc ₃ -13a	PO	2269
684057	$T_{es}^m C_{eo} T_{eo} T_{eo} G_{eo} G_{ds} T_{ds} T_{ds} A_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds} A_{ds}$ $A_{eo} T_{eo}^m C_{es}^m C_{es}^m C_{eo} A_{do}^m$ -GalNAc ₃ -19 _a	PS/PO	GalNAc ₃ -19a	A _d	2270

[1661]

[1662] 표 85에 대한 범례는 실시예 74에서 발견될 수 있다. "GalNAc₃-1"의 구조가 실시예 9에 나타나 있다. "GalNAc₃-3_a"의 구조가 실시예 39에 나타나 있다. "GalNAc₃-7_a"의 구조가 실시예 48에 나타나 있다. "GalNAc₃-10_a"의 구조가 실시예 46에 나타나 있다. "GalNAc₃-13_a"의 구조가 실시예 62에 나타나 있다. "GalNAc₃-19_a"의 구조가 실시예 70에 나타나 있다.

[1663] 표 84

[1664] 생체내 인간 TTR의 안티센스 억제

Isis 번호	투여량 (mg/kg)	TTR mRNA (% PBS)	혈장 TTR 단백질 (% PBS)	GalNAc 클러스터	CM	서열 번호
PBS	n/a	100	100	n/a	n/a	
420915	6	99	95	n/a	n/a	2269
	20	48	65			
	60	18	28			
660261	0.6	113	87	GalNAc ₃ -1a	A _d	2270
	2	40	56			
	6	20	27			
	20	9	11			

[1665]

[1666] 표 85

[1667] 생체내 인간 TTR의 안티센스 억제

Isis 번호	투여량 (mg/kg)	TTR mRNA (% PBS)	혈장 TTR 단백질 (BL에서의 PBS%)				GalNAc 클러스터	CM	서열 번호
			BL	제3일	제10일	제17일 (회생 후)			
PBS	n/a	100	100	96	90	114	n/a	n/a	
420915	6	74	106	86	76	83	n/a	n/a	2269
	20	43	102	66	61	58			
	60	24	92	43	29	32			
682883	0.6	60	88	73	63	68	GalNAc ₃ -3a	PO	2269
	2	18	75	38	23	23			
	6	10	80	35	11	9			
	0.6	56	88	78	63	67			
682884	2	19	76	44	25	23	GalNAc ₃ -7a	PO	2269
	6	15	82	35	21	24			
	0.6	60	92	77	68	76			
682885	2	22	93	58	32	32	GalNAc ₃ -10a	PO	2269
	6	17	85	37	25	20			
	0.6	57	91	70	64	69			
682886	2	21	89	50	31	30	GalNAc ₃ -13a	PO	2269
	6	18	102	41	24	27			
	0.6	53	80	69	56	62			
	2	21	92	55	34	30			
684057	6	11	82	50	18	13	GalNAc ₃ -19a	A _d	2270

[1668]

[1669] 표 86

[1670] 트랜스아미나제 수준, 체중 변화, 및 장기 중량

Isis 번호	투여량 (mg/kg)	ALT (U/L)				AST (U/L)				몸체 (% BL)	간 (% PBS)	비장 (% PBS)	신장 (% PBS)	서열 번호
		BL	제 3일	제 10일	제 17일	BL	제 3일	제 10일	제 17일					
PBS	n/a	33	34	33	24	58	62	67	52	105	100	100	100	n/a
420915	6	34	33	27	21	64	59	73	47	115	99	89	91	2269
	20	34	30	28	19	64	54	56	42	111	97	83	89	
	60	34	35	31	24	61	58	71	58	113	102	98	95	
660261	0.6	33	38	28	26	70	71	63	59	111	96	99	92	2270
	2	29	32	31	34	61	60	68	61	118	100	92	90	
	6	29	29	28	34	58	59	70	90	114	99	97	95	
	20	33	32	28	33	64	54	68	95	101	106	106	92	

[1671]

[1672] 표 87

[1673] 트랜스아미나제 수준, 체중 변화, 및 장기 중량

Isis 번호	투여량 (mg/kg)	ALT (U/L)				AST (U/L)				몸체 (% BL)	간 (% PBS)	비장 (% PBS)	신장 (% PBS)	서열 번호
		BL	제 3일	제 10일	제 17일	BL	제 3일	제 10일	제 17일					
PBS	n/a	32	34	37	41	62	78	76	77	104	100	100	100	n/a
420915	6	32	30	34	34	61	71	72	66	102	103	102	105	2269
	20	41	34	37	33	80	76	63	54	106	107	135	101	

[1674]

682883	60	36	30	32	34	58	81	57	60	106	105	104	99	2269
	0.6	32	35	38	40	53	81	74	76	104	101	112	95	
	2	38	39	42	43	71	84	70	77	107	98	116	99	
	6	35	35	41	38	62	79	103	65	105	103	143	97	
682884	0.6	33	32	35	34	70	74	75	67	101	100	130	99	2269
	2	31	32	38	38	63	77	66	55	104	103	122	100	
	6	38	32	36	34	65	85	80	62	99	105	129	95	
	0.6	39	26	37	35	63	63	77	59	100	109	109	112	
682885	2	30	26	38	40	54	56	71	72	102	98	111	102	2269
	6	27	27	34	35	46	52	56	64	102	98	113	96	
	0.6	30	40	34	36	58	87	54	61	104	99	120	101	
	2	27	26	34	36	51	55	55	69	103	91	105	92	
682886	6	40	28	34	37	107	54	61	69	109	100	102	99	2269
	0.6	35	26	33	39	56	51	51	69	104	99	110	102	
	2	33	32	31	40	54	57	56	87	103	100	112	97	
	6	39	33	35	40	67	52	55	92	98	104	121	108	

[1675]

[1676] 실시예 87: GalNAc₃ 클러스터를 포함하는 TTR을 표적으로 하는 올리고뉴클레오타이드의 단회 용량에 의한 생체내 작용의 지속시간

[1677] ISIS 번호 420915 및 660261 (참고 표 83)은 마우스에서 작용의 지속시간에 대한 단회 용량 연구에서 시험되었다. ISIS 번호 420915, 682883, 및 682885 (참고 표 83)은 또한 마우스에서 작용의 지속시간에 대한 단회 용량 연구에서 시험되었다.

[1678] 치료

[1679] 인간 TTR을 발현시키는 8 주령, 수컷 형질전환 마우스 각각에게 100 mg/kg ISIS 번호 420915 또는 13.5 mg/kg ISIS 번호 660261가 피하로 1 회 주입되었다. 각 처리 그룹은 4 마리의 동물로 구성되었다. 꼬리 출혈은 투여 전에 수행되어 기준선을 결정했고 투여 3, 7, 10, 17, 24, 및 39 일 후에 측정했다. 혈장 TTR 단백질 수준은 실시예 86에서 기재된 바와 같이 측정되었다. 아래의 결과는 기준선 수준에 대해 정규화된 각 처리 그룹에 대한 혈장 TTR 수준의 평균 퍼센트로서 나타낸다.

[1680] 표 88

[1681] 혈장 TTR 단백질 수준

ISIS 번호	투여량 (mg/kg)	시점 (투여-후 일수)	TTR (% 기준선)	GalNAc ₃ 클러스터	CM	서열 번호
420915	100	3	30	n/a	n/a	2269
		7	23			
		10	35			
		17	53			
		24	75			
		39	100			
660261	13.5	3	27	GalNAc ₃ -1a	A _d	2270
		7	21			

[1682]

		10	22			
		17	36			
		24	48			
		39	69			

[1683]

[1684] 치료

[1685] 인간 TTR을 발현시키는 암컷 형질전환 마우스 각각에게 100 mg/kg ISIS 번호 420915, 10.0 mg/kg ISIS 번호 682883, 또는 10.0 mg/kg 682885가 피하로 한번 주입되었다. 각 처리 그룹은 4 마리의 동물로 구성되었다. 꼬리 출혈은 투여 전에 수행되어 기준선을 결정했고 투여 3, 7, 10, 17, 24, 및 39 일 후에 측정했다. 혈장 TTR 단백질 수준은 실시예 86에서 기재된 바와 같이 측정되었다. 아래의 결과는 기준선 수준에 대해 정규화된 각 처리 그룹에 대한 혈장 TTR 수준의 평균 퍼센트로서 나타낸다.

[1686] 표 89

[1687] 혈장 TTR 단백질 수준

ISIS 번호	투여량 (mg/kg)	시점 (투여-후 일수)	TTR (% 기준선)	GalNAc ₃ 클러스터	CM	서열 번호
420915	100	3	48	n/a	n/a	2269
		7	48			
		10	48			
		17	66			
		31	80			
682883	10.0	3	45	GalNAc ₃ -3a	PO	2269
		7	37			
		10	38			
		17	42			
		31	65			
682885	10.0	3	40	GalNAc ₃ -10a	PO	2269
		7	33			
		10	34			
		17	40			
		31	64			

[1688]

[1689] 표 88 및 89의 결과는, GalNAc 콘주게이트를 포함하는 올리고뉴클레오타이드가 콘주게이트가 없는 모 올리고뉴클레오타이드 (ISIS 420915)보다 더 긴 지속시간과 함께 더 강하다는 것을 보여준다.

[1690] 실시예 88: GalNAc₃ 콘주게이트를 포함하는 SMN을 표적으로 하는 올리고뉴클레오타이드에 의한 생체내 스플라이싱 조절

[1691] 표 90에서 열거된 올리고뉴클레오타이드는 마우스에서 운동 뉴런 (SMN)의 인간 생존의 스플라이싱 조절에 대해 시험되었다.

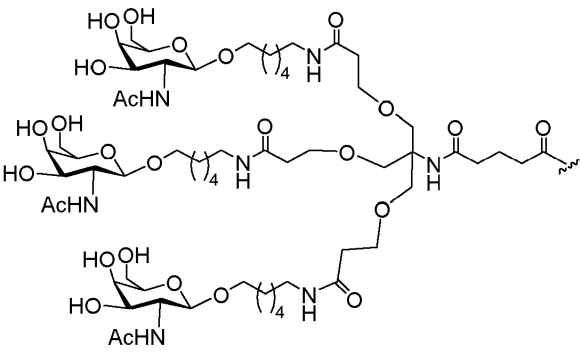
[1692] 표 90

[1693] SMN를 표적으로 하는 변형된 ASO

ISIS 번호	서열 (5' 내지 3')	GalNAc ₃ 클러스터	CM	서열 번호
387954	A _{cs} T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{es} T _{es} A _{es} T _{es} G _{es} ^m C _{es} T _{es} G _{es} G _e	n/a	n/a	2271
699819	GalNAc ₃ -7 _a -o'-A _{cs} T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{es} T _{es} A _{es} T _{es} G _{es} ^m C _{es} T _{es} G _{es} G _e	GalNAc ₃ -7a	PO	2271
699821	GalNAc ₃ -7 _a -o'-A _{cs} T _{eo} T _{eo} ^m C _{eo} A _{eo} ^m C _{eo} T _{eo} T _{eo} ^m C _{eo} A _{eo} T _{eo} A _{eo} A _{eo} T _{eo} G _{eo} ^m C _{eo} T _{es} G _{es} G _e	GalNAc ₃ -7a	PO	2271
700000	A _{cs} T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{es} T _{es} A _{es} T _{es} G _{es} ^m C _{es} T _{es} G _{es} G _{eo} A _{eo} -GalNAc ₃ -1 _a	GalNAc ₃ -1a	A _d	2272
703421	X-ATT ^m CA ^m CTTT ^m CATAATG ^m CTGG	n/a	n/a	2271
703422	GalNAc ₃ -7 _b -X-ATT ^m CA ^m CTTT ^m CATAATG ^m CTGG	GalNAc ₃ -7b	n/a	2271

[1694]

[1695] "GalNAc₃-7_a"의 구조가 실시예 48에 나타나 있다. "X"는 유전자 도구(Gene Tools) (Philomath, OR)에 의해 산출된 5' 일차 아민을 나타내고, GalNAc₃-7_b는 이하에서 보여진 바와 같은 링커의 -NH-C6-O 부분이 없는 GalNAc₃-7_a의 구조를 나타낸다:



[1696]

[1697] ISIS 번호 703421 및 703422는 모폴리노 올리고뉴클레오티드이고, 여기서 2 개의 올리고뉴클레오티드의 각 뉴클레오티드는 모폴리노 뉴클레오티드이다.

[1698] 치료

[1699] 인간 SMN를 발현시키는 6 주령 형질전환 마우스는 표 91에서 열거된 올리고뉴클레오티드 또는 염수가 피하로 한번 주입되었다. 각 처리 그룹은 2 마리 수컷 및 2 마리 암컷으로 구성되었다. 마우스는 투여 3 일 후에 희생되어 표준 프로토콜에 따라 실시간 PCR을 사용하여 엑손 7 유무에 따른 간 인간 SMN mRNA 수준을 측정했다. 총 RNA는 리보그린 시약을 사용하여 측정되었다. SMN mRNA 수준은 총 mRNA로 정규화되었고, 염수 처리 그룹의 평균으로 추가로 정규화되었다. 엑손 7 포함 SMN mRNA 대 엑손 7 누락 SMN mRNA의 수득한 평균 비는 표 91에서 보여진다. 이 결과는, 스플라이싱을 조절하고 GalNAc 콘주게이트를 포함하는 완전히 변형된 올리고뉴클레오티드가 GalNAc 콘주게이트가 없는 모 올리고뉴클레오티드보다 간에서 스플라이싱을 변경할 때 유의미하게 더 강하다는 것을 보여준다. 더욱이, 이러한 추세는 2'-MOE 및 모폴리노 변형된 올리고뉴클레오티드를 포함하는 다중 변형 화합물을 위해 유지된다.

[1700] 표 91

[1701] 생체내에서 인간 SMN을 표적으로 하는 올리고뉴클레오티드의 효과

ISIS 번호	투여 (mg/kg)	+엑손 7 / -엑손 7	GalNAc ₃ 클러스터	CM	서열 번호
염수	n/a	1.00	n/a	n/a	n/a
387954	32	1.65	n/a	n/a	2271
387954	288	5.00	n/a	n/a	2271
699819	32	7.84	GalNAc ₃ -7a	PO	2271
699821	32	7.22	GalNAc ₃ -7a	PO	2271
700000	32	6.91	GalNAc ₃ -1a	A _d	2272
703421	32	1.27	n/a	n/a	2271
703422	32	4.12	GalNAc ₃ -7b	n/a	2271

[1702]

[1703] 실시예 89: GalNAc₃ 콘주게이트를 포함하는 아포지질단백질 A (아포(a))을 표적으로 하는 올리고뉴클레오티드에 의한 생체내 안티센스 억제

[1704] 아래의 표 92에서 열거된 올리고뉴클레오티드는 형질전환 마우스에서 아포(a)의 용량-의존적 억제에 대한 연구에서 시험되었다.

[1705] 표 92

[1706] 아포(a)를 표적으로 하는 변형된 ASO

[1707] "GalNAc₃-7_a"의 구조가 실시예 48에 나타나 있다.

ISIS 번호	서열 (5' 내지 3')	GalNAc ₃ 클러스터	CM	서열 번호
494372	T _{es} G _{es} ^m C _{es} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} G _{ds} T _{ds} G _{ds} T _{ds} G _{ds^mC_{ds} T_{ds}T_{es}G_{es}T_{es}^mC_e}	n/a	n/a	2281
681257	GalNAc ₃ -7 _a -o'-T _{es} G _{eo} ^m C _{eo} ^m C _{eo} ^m C _{eo} G _{ds} T _{ds} T _{ds} G _{ds} T _{ds} G _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{eo} G _{eo} T _{es} ^m C _e	GalNAc ₃ -7a	PO	2281

[1708]

[1709] 치료

[1710] 8 주령, 암컷 C57BL/6 마우스 (Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME) 각각에게 피하로 주당 1회 아래에서 보여

진 투여량으로, 총 6 번 용량 동안에, 표 92에서 열거된 올리고뉴클레오타이드 또는 PBS가 주입되었다. 각 처리 그룹은 3 내지 4 마리의 동물로 구성되었다. 꼬리 출혈은 제 1 용량 전날에 및 각 용량 다음 매주 수행되어 혈장 아포(a) 단백질 수준을 측정했다. 마우스는 최종 투여 2 일 후에 희생되었다. 아포(a) 간 mRNA 수준은 표준 프로토콜에 따라 실시간 PCR 및 RIBOGREEN® RNA 정량화 시약을 사용하여 측정되었다 (Molecular Probes, Inc. Eugene, OR). 아포(a) 혈장 단백질 수준은 ELISA를 사용하여 측정되었고, 간 트랜스아미나제 수준이 측정되었다. 표 93의 mRNA 및 혈장 단백질 결과는 PBS 처리된 그룹에 대한 처리 그룹 평균 퍼센트로서 나타낸다. 혈장 단백질 수준은 PBS 그룹의 기준선 (BL) 값으로 추가로 정규화되었다. 평균 절대적인 트랜스아미나제 수준 및 체중 (기준선 평균에 대한 %)은 표 94에서 보고된다.

[1711] 표 93에서 실증된 바와 같이, 올리고뉴클레오타이드에 의한 처리는 용량-의존 방식에서 아포(a) 간 mRNA 및 혈장 단백질 수준을 감소시켰다. 더욱이, GalNAc 콘주게이트를 포함하는 올리고뉴클레오타이드는 GalNAc 콘주게이트가 없는 모 올리고뉴클레오타이드보다 더 긴 작용의 지속시간과 함께 유의미하게 더 강했다. 표 94에서 실증된 바와 같이, 트랜스아미나제 수준 및 체중은 올리고뉴클레오타이드에 의해 영향을 받지 않았고, 이것은, 올리고뉴클레오타이드가 잘 용인되었다는 것을 나타낸다.

[1712] 표 93

[1713] 아포(a) 간 mRNA 및 혈장 단백질 수준

ISIS 번호	투여량 (mg/kg)	아포(a) mRNA (% PBS)	아포(a) 혈장 단백질 (% PBS)						
			BL	제1주	제2주	제3주	제4주	제5주	제6주
PBS	n/a	100	100	120	119	113	88	121	97
494372	3	80	84	89	91	98	87	87	79
	10	30	87	72	76	71	57	59	46
	30	5	92	54	28	10	7	9	7
681257	0.3	75	79	76	89	98	71	94	78
	1	19	79	88	66	60	54	32	24
	3	2	82	52	17	7	4	6	5
	10	2	79	17	6	3	2	4	5

[1714]

[1715] 표 94

ISIS 번호	투여량 (mg/kg)	ALT (U/L)	AST (U/L)	체중 (% 기준선)
PBS	n/a	37	54	103
494372	3	28	68	106
	10	22	55	102
	30	19	48	103
	0.3	30	80	104
681257	1	26	47	105
	3	29	62	102
	10	21	52	107

[1716]

[1717] 실시예 90: GalNAc₃ 클러스터를 포함하는 TTR를 표적으로 하는 올리고뉴클레오타이드에 의한 생체내 안티센스 억제

[1718] 아래의 표 95에서 열거된 올리고뉴클레오타이드는 인간 TTR 유전자를 발현시키는 형질전환 마우스에서 인간 트랜스티레틴 (TTR)의 안티센스 억제에 대한 용량-의존적 연구에서 시험되었다.

[1719] 치료

[1720] TTR 형질전환 마우스 각각에게 피하로 주당 1회 3 주 동안, 총 3 회 용량 동안, 표 96에서 열거된 올리고뉴클레오타이드 및 투여량 또는 PBS가 주입되었다. 각 처리 그룹은 4 마리의 동물로 구성되었다. 제 1 용량 전에, 꼬리 출혈이 수행되어 기준선 (BL)에서 혈장 TTR 단백질 수준을 측정했다. 마우스는 최종 투여 72 시간 후에 희생되었다. TTR 단백질 수준은 임상 분석기 (AU480, Beckman Coulter, CA)를 사용하여 측정되었다. 간 인간 TTR mRNA 수준을 측정하기 위하여 표준 프로토콜에 따라 실시간 PCR 및 RIBOGREEN® RNA 정량화 시약을 사용하였다 (Molecular Probes, Inc. Eugene, OR). 표 96에서 제공된 결과는 각 처리 그룹의 평균 값이다. mRNA 수준은 PBS 그룹의 평균에 대한 평균 값이다. 혈장 단백질 수준은 기준선에서 PBS 그룹의 평균 값에 대한 평균 값이다. "BL"는 제 1 용량 직전에 취한 기준선, 측정을 나타낸다. 표 96에서 실증된 바와 같이, 안티센스 올리고뉴클레오타이드에 의한 처리는 용량-의존 방식에서 TTR 발현 수준을 감소시켰다. GalNAc 콘주게이트를 포함하는 올리고뉴클레오타이드는 GalNAc 콘주게이트 (ISIS 420915)가 없는 모보다 더 강했고, 포스포디에스테르 또는 테옥시아테노신 절단가능 모이어티를 포함하는 올리고뉴클레오타이드는 콘주게이트가 없는 모체와 비교하여 효능의 유의미한 개선을 보여주었다 (참고 ISIS 번호 682883 및 666943 vs 420915 및 실시예 86 및 87 참고).

[1721] 표 95

[1722] 인간 TTR을 표적으로 하는 올리고뉴클레오티드

ISIS 번호	서열 5' 내지 3'	연결	GalNAc 클러스터	CM	서열 번호
420915	$T_{es}^{m}C_{es}T_{es}T_{es}G_{ds}T_{ds}T_{ds}A_{ds}^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}A_{ds}$ $A_{es}T_{es}^{m}C_{es}^{m}C_{es}^{m}C_{es}$	PS	n/a	n/a	2269
682883	GalNAc₃-3_{a-o'} $T_{es}^{m}C_{eo}T_{eo}T_{eo}G_{eo}G_{ds}T_{ds}T_{ds}A_{ds}^{m}C_{ds}A_{ds}$ $T_{ds}G_{ds}A_{ds}A_{ds}A_{eo}T_{eo}^{m}C_{es}^{m}C_{es}^{m}C_{es}$	PS/PO	GalNAc ₃ -3a	PO	2269
666943	GalNAc₃-3_{a-o'} $A_{d0}T_{es}^{m}C_{eo}T_{eo}T_{eo}G_{eo}G_{ds}T_{ds}T_{ds}A_{ds}$ $^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}A_{eo}T_{eo}^{m}C_{es}^{m}C_{es}^{m}C_{es}$	PS/PO	GalNAc ₃ -3a	A _d	2273
682887	GalNAc₃-7_{a-o'} $A_{d0}T_{es}^{m}C_{eo}T_{eo}T_{eo}G_{eo}G_{ds}T_{ds}T_{ds}A_{ds}$ $^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}A_{eo}T_{eo}^{m}C_{es}^{m}C_{es}^{m}C_{es}$	PS/PO	GalNAc ₃ -7a	A _d	2273
682888	GalNAc₃-10_{a-o'} $A_{d0}T_{es}^{m}C_{eo}T_{eo}T_{eo}G_{eo}G_{ds}T_{ds}T_{ds}A_{ds}$ $^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}A_{eo}T_{eo}^{m}C_{es}^{m}C_{es}^{m}C_{es}$	PS/PO	GalNAc ₃ -10a	A _d	2273
682889	GalNAc₃-13_{a-o'} $A_{d0}T_{es}^{m}C_{eo}T_{eo}T_{eo}G_{eo}G_{ds}T_{ds}T_{ds}A_{ds}$ $^{m}C_{ds}A_{ds}T_{ds}G_{ds}A_{ds}A_{eo}T_{eo}^{m}C_{es}^{m}C_{es}^{m}C_{es}$	PS/PO	GalNAc ₃ -13a	A _d	2273

[1723]

[1724] 표 95에 대한 범례는 실시예 74에서 발견될 수 있다. “GalNAc₃-3_a”의 구조가 실시예 39에 나타나 있다. “GalNAc₃-7_a”의 구조가 실시예 48에 나타나 있다. “GalNAc₃-10_a”의 구조가 실시예 46에 나타나 있다. “GalNAc₃-13_a”의 구조가 실시예 62에 나타나 있다.

[1725] 표 96

[1726] 생체내 인간 TTR의 안티센스 억제

Isis 번호	투여량 (mg/kg)	TTR mRNA (% PBS)	TTR 단백질 (% BL)	GalNAc 클러스터	CM
PBS	n/a	100	124	n/a	n/a
420915	6	69	114	n/a	n/a
	20	71	86		
	60	21	36		

[1727]

682883	0.6	61	73	GalNAc ₃ -3a	PO
	2	23	36		
	6	18	23		
666943	0.6	74	93	GalNAc ₃ -3a	A _d
	2	33	57		
	6	17	22		
682887	0.6	60	97	GalNAc ₃ -7a	A _d
	2	36	49		
	6	12	19		
682888	0.6	65	92	GalNAc ₃ -10a	A _d
	2	32	46		
	6	17	22		
682889	0.6	72	74	GalNAc ₃ -13a	A _d
	2	38	45		
	6	16	18		

[1728]

[1729] 실시예 91: 비-인간 영장류에서 GalNAc3 콘주게이트를 포함하는 인자 VII를 표적으로 하는 올리고뉴클레오티드에 의한 생체내의 안티센스 억제

[1730] 아래의 표 97에서 열거된 올리고뉴클레오티드는 원숭이에서 인자 VII의 안티센스 억제에 대해 비-말단, 용량 단계적 확대 연구에서 시험되었다.

[1731] 치료

[1732] 비-나이프 원숭이 각각에게 0, 15, 및 29일에 상승하는 용량의 표 97에서 열거된 올리고뉴클레오티드 또는 PBS가 피하로 주입되었다. 각 처리 그룹은 4 마리의 수컷 및 1 마리의 암컷으로 구성되었다. 제 1 용량 전에 및 그 후 다양한 시점에서, 채혈이 수행되어 혈장 인자 VII 단백질 수준을 측정했다. 인자 VII 단백질 수준은 ELISA에 의해 측정되었다. 표 98에서 제공된 결과는 기준선 (BL)에서 PBS 그룹의 평균 값에 대한 각 처리 그룹의 평균 값이고, 상기 측정은 제 1 용량 직전에 취해졌다. 표 98에서 실증된 바와 같이, 안티센스 올리고뉴클레오티드에 의한 처리는 용량-의존 방식으로 인자 VII 발현 수준을 낮게 했고, GalNAc 콘주게이트를 포함하는 올리고뉴클레오티드는 GalNAc 콘주게이트가 없는 올리고뉴클레오티드와 비교하여 원숭이에서 유의미하게 더 강했다.

[1733] 표 97

[1734] 인자 VII을 표적으로 하는 올리고뉴클레오티드

Isis 번호	서열 5' 내지 3'	연결	GalNAc 클러스터	CM	서열 번호
407935	A _{cs} T _{cs} G _{cs} ^m C _{cs} A _{cs} T _{ds} G _{ds} G _{ds} T _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{cs} ^m C _{cs} T _{cs} G _{cs} A _c	PS	n/a	n/a	2274
686892	GalNAc₃-10_{a-o} A _{cs} T _{cs} G _{cs} ^m C _{cs} A _{cs} T _{ds} G _{ds} G _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{cs} ^m C _{cs} T _{cs} G _{cs} A _c	PS	GalNAc ₃ -10a	PO	2274

[1735]

[1736] 표 97에 대한 범례는 실시예 74에서 발견될 수 있다. “GalNAc₃-10_a”의 구조가 실시예 46에 나타나 있다.

[1737] 표 98

[1738] 인자 VII 혈장 단백질 수준

ISIS 번호	일	투여 (mg/kg)	인자 VII (% BL)
407935	0	n/a	100
	15	10	87
	22	n/a	92
	29	30	77
	36	n/a	46
	43	n/a	43
686892	0	3	100
	15	10	56
	22	n/a	29
	29	30	19
	36	n/a	15
	43	n/a	11

[1739]

[1740] 실시예 92: GalNAc₃ 콘주게이트를 포함하는 Apo-CIII을 표적으로 하는 안티센스 올리고뉴클레오티드에 의한 일차 간세포에서의 안티센스 억제

[1741] 일차 마우스 간세포는 15,000 세포/웰에서 96-웰 플레이트에서 씨딩되었고, 마우스 ApoC-III을 표적으로 하는, 표 99에서 열거된 올리고뉴클레오티드는, 0.46, 1.37, 4.12, 또는 12.35, 37.04, 111.11, 또는 333.33 nM 또는 1.00 μM에서 부가되었다. 24 시간 동안 올리고뉴클레오티드와 함께 인큐베이션한 후, 세포는 용해되었고 총 RNA는 RNeasy (Qiagen)를 사용하여 정제되었다. ApoC-III mRNA 수준은 표준 프로토콜에 따라 실시간 PCR 및 RIBOGREEN® RNA 정량화 시약 (Molecular Probes, Inc.)을 사용하여 측정되었다. IC₅₀ 값은 Prism 4 소프트웨어 (GraphPad)를 사용하여 측정되었다. 이 결과는, 절단가능 모이어티가 포스포디에스테르 또는 포스포디에스테르-연결된 데옥시아데노신인 지와는 무관하게, GalNAc 콘주게이트를 포함하는 올리고뉴클레오티드는 콘주게이트가 없는 모 올리고뉴클레오티드보다 유의미하게 더 강했다는 것을 보여준다.

[1742] 표 99

[1743] 마우스 일차 간세포 중 마우스 APOC-III 발현의 억제

ISIS 번호	서열 (5' 내지 3')	CM	IC ₅₀ (nM)	서열 번호
440670	^m C _{cs} A _{cs} G _{cs} ^m C _{cs} T _{cs} T _{ds} T _{ds} A _{ds} T _{ds} A _{ds} G _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{cs} A _{cs} G _{cs} ^m C _{cs} A _c	n/a	13.20	2275
661180	^m C _{cs} A _{cs} G _{cs} ^m C _{cs} T _{cs} T _{ds} T _{ds} A _{ds} T _{ds} A _{ds} G _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{cs} A _{cs} G _{cs} ^m C _{cs} A _{cs} GalNAc₃-1_a	A _d	1.40	2276
680771	GalNAc₃-3_{a-o} ^m C _{cs} A _{cs} G _{cs} ^m C _{cs} T _{cs} T _{ds} T _{ds} A _{ds} T _{ds} T _{ds} A _{ds} G _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{cs} A _{cs} G _{cs} ^m C _{cs} A _c	PO	0.70	2275
680772	GalNAc₃-7_{a-o} ^m C _{cs} A _{cs} G _{cs} ^m C _{cs} T _{cs} T _{ds} T _{ds} A _{ds} T _{ds} T _{ds} A _{ds} G _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{cs} A _{cs} G _{cs} ^m C _{cs} A _c	PO	1.70	2275
680773	GalNAc₃-10_{a-o} ^m C _{cs} A _{cs} G _{cs} ^m C _{cs} T _{cs} T _{ds} T _{ds} A _{ds} T _{ds} T _{ds} A _{ds} G _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{cs} A _{cs} G _{cs} ^m C _{cs} A _c	PO	2.00	2275

[1744]

680774	GalNAc₃-13_{a-o} ^m C _{cs} A _{cs} G _{cs} ^m C _{cs} T _{cs} T _{ds} T _{ds} A _{ds} T _{ds} T _{ds} A _{ds} G _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{cs} A _{cs} G _{cs} ^m C _{cs} A _c	PO	1.50	2275
681272	GalNAc₃-3_{a-o} ^m C _{cs} A _{cs} G _{cs} ^m C _{cs} T _{cs} T _{ds} T _{ds} A _{ds} T _{ds} T _{ds} A _{ds} G _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{cs} A _{cs} G _{cs} ^m C _{cs} A _c	PO	< 0.46	2275
681273	GalNAc₃-3_{a-o} ^m C _{cs} A _{cs} G _{cs} ^m C _{cs} T _{cs} T _{ds} T _{ds} A _{ds} T _{ds} T _{ds} A _{ds} G _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{cs} A _{cs} G _{cs} ^m C _{cs} A _c	A _d	1.10	2277
683733	^m C _{cs} A _{cs} G _{cs} ^m C _{cs} T _{cs} T _{ds} T _{ds} A _{ds} T _{ds} T _{ds} A _{ds} G _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{cs} A _{cs} G _{cs} ^m C _{cs} A _{cs} GalNAc₃-19_a	A _d	2.50	2276

[1745]

[1746] GalNAc₃-1_a의 구조는 실시예 9에서 이전에 보여졌고, GalNAc₃-3_a의 구조는 실시예 39에서 보여졌고, GalNAc₃-7_a의 구조는 실시예 48에서 보여졌고, GalNAc₃-10_a의 구조는 실시예 46에서 보여졌고, GalNAc₃-13_a의 구조는 실시예

62에서 보여졌고, 그리고 GalNAc₃-19_a의 구조는 실시예 70에서 보여졌다.

실시예 93: 혼합된 윙 및 5' -GalNAc₃ 콘주게이트를 포함하는 SRB-1을 표적으로 하는 올리고뉴클레오타이드에 의한 생체내의 안티센스 억제

표 100에서 열거된 올리고뉴클레오타이드는 마우스에서 SRB-1의 안티센스 억제에 대한 용량-의존적 연구에서 시험되었다.

표 100

SRB-1을 표적으로 하는 변형된 ASO

ISIS 번호	서열 (5' 내지 3')	GalNAc ₃ 클러스터	CM	서열 번호
449093	T _{ds} T _{ks} ^m C _{ks} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ks} ^m C _{ks} ^m C _k	n/a	n/a	2278
699806	GalNAc₃-3_a-o ·T _{ds} T _{ks} ^m C _{ks} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ks} ^m C _{ks} ^m C _k	GalNAc ₃ -3a	PO	2278
699807	GalNAc₃-7_a-o ·T _{ds} T _{ks} ^m C _{ks} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ks} ^m C _{ks} ^m C _k	GalNAc ₃ -7a	PO	2278
699809	GalNAc₃-7_a-o ·T _{ds} T _{ks} ^m C _{ks} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} ^m C _{es} ^m C _e	GalNAc ₃ -7a	PO	2278
699811	GalNAc₃-7_a-o ·T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ks} ^m C _{ks} ^m C _k	GalNAc ₃ -7a	PO	2278
699813	GalNAc₃-7_a-o ·T _{ds} T _{ds} ^m C _{ks} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ks} ^m C _{ds} ^m C _k	GalNAc ₃ -7a	PO	2278
699815	GalNAc₃-7_a-o ·T _{es} T _{ks} ^m C _{ks} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ks} ^m C _{ks} ^m C _e	GalNAc ₃ -7a	PO	2278

GalNAc₃-3_a의 구조는 실시예 39에서 이전에 보여졌고, GalNAc₃-7_a의 구조는 실시예 48에서 보여졌다. 하첨자: "e"는 2'-MOE 변형된 뉴클레오시드를 나타내고; "d"는 β-D-2'-데옥시리보뉴클레오시드를 나타내고; "k"는 6' - (S)-CH₃ 이환식 뉴클레오시드 (cEt)를 나타내고; "s"는 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결 (PS)을 나타내고; "o"는 포스포디에스테르 뉴클레오시드간 연결 (PO)를 나타낸다. 상첨자 "m"은 5-메틸시토신을 나타낸다.

치료

6 내지 8 주령 C57BL/6 마우스 (Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME)에게 표 100에서 열거된 올리고뉴클레오타이드 또는 염수가 아래에서 보여진 투여량으로 피하로 1 회 주입되었다. 각 처리 그룹은 4 마리의 동물로 구성되었다. 마우스는 최종 투여 72 시간 후에 희생되었다. 간 SRB-1 mRNA 수준은 실시간 PCR를 사용하여 측정되었다. SRB-1 mRNA 수준은 표준 프로토콜에 따라 시클로필린 mRNA 수준에 대해 정규화되었다. 결과는 염수 대조군 그룹에 대한 각 처리 그룹을 위해 SRB-1 mRNA 수준의 평균 퍼센트로서 제공된다. 표 101에서 실증된 바와 같이, 안티센스 올리고뉴클레오타이드에 의한 처리는 용량-의존 방식으로 SRB-1 mRNA 수준을 낮게 했고, GalNAc 콘주게이트를 포함하고 완전한 cEt 또는 혼합된 당 변형이었던 윙을 갖는 갭머 올리고뉴클레오타이드는 콘주게이트가 없고 완전한 cEt 변형된 윙을 포함하는 모 올리고뉴클레오타이드보다 유의미하게 더 강했다.

체중, 간 트랜스아미나제, 총 빌리루빈, 및 BUN가 또한 측정되었고, 각 처리 그룹에 대한 평균 값은 표 101에서 보여진다. 체중은 올리고뉴클레오타이드 용량 직전에 측정된 기준선 체중 (% BL)에 대한 평균 퍼센트 체중로서 보여진다.

표 101

[1757] SRB-1 mRNA, ALT, AST, BUN, 및 총 빌리루빈 수준 및 체중

ISIS 번호	투여량 (mg/kg)	SRB-1 mRNA (% PBS)	ALT (U/L)	AST (U/L)	빌리루빈 (Bil)	BUN	체중 (% BL)
PBS	n/a	100	31	84	0.15	28	102
449093	1	111	18	48	0.17	31	104
	3	94	20	43	0.15	26	103
	10	36	19	50	0.12	29	104
699806	0.1	114	23	58	0.13	26	107
	0.3	59	21	45	0.12	27	108
	1	25	30	61	0.12	30	104
699807	0.1	121	19	41	0.14	25	100
	0.3	73	23	56	0.13	26	105
	1	24	22	69	0.14	25	102
699809	0.1	125	23	57	0.14	26	104
	0.3	70	20	49	0.10	25	105
	1	33	34	62	0.17	25	107
699811	0.1	123	48	77	0.14	24	106
	0.3	94	20	45	0.13	25	101
	1	66	57	104	0.14	24	107
699813	0.1	95	20	58	0.13	28	104
	0.3	98	22	61	0.17	28	105
	1	49	19	47	0.11	27	106
699815	0.1	93	30	79	0.17	25	105
	0.3	64	30	61	0.12	26	105
	1	24	18	41	0.14	25	106

[1758]

[1759] 실시예 94: 2' -당 변형 및 5' -GalNAc₃ 콘주게이트를 포함하는 SRB-1을 표적으로 하는 올리고뉴클레오티드에 의한 생체내의 안티센스 억제

[1760] 표 102에서 열거된 올리고뉴클레오티드는 마우스에서 SRB-1의 안티센스 억제에 대한 용량-의존적 연구에서 시험되었다.

[1761] 표 102

[1762] SRB-1을 표적으로 하는 변형된 ASO

ISIS 번호	서열 (5' 내지 3')	GalNAc ₃ 클러스터	CM	서열 번호
353382	G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} T _{es} T _e	n/a	n/a	2256
700989	G _{ms} C _{ms} U _{ms} U _{ms} C _{ms} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} U _{ms} C _{ms} C _{ms} U _{ms} U _m	n/a	n/a	2279
666904	GalNAc₃-3a -G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} T _{es} T _e	GalNAc ₃ -3a	PO	2256
700991	GalNAc₃-7a -G _{ms} C _{ms} U _{ms} U _{ms} C _{ms} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} U _{ms} C _{ms} C _{ms} U _{ms} U _m	GalNAc ₃ -7a	PO	2279

[1763]

[1764] 하첨자 "m"은 2'-O-메틸 변형된 뉴클레오티드를 나타낸다. 완전한 표 범례에 대한 실시예 74 참고. GalNAc₃-3a의 구조는 실시예 39에서 이전에 보여졌고, GalNAc₃-7a의 구조는 실시예 48에서 보여졌다.

[1765] 치료

[1766] 이러한 연구는 실시예 93에서 기재된 프로토콜을 사용하여 완료되었다. 결과는 아래의 표 103에서 보여지고 GalNAc 콘주게이트를 포함하는 2'-MOE 및 2'-OMe 변형된 올리고뉴클레오티드 둘 모두가 콘주게이트가 없는 각 모 올리고뉴클레오티드보다 유의미하게 더 강했다는 것을 보여준다. 체중, 간 트랜스아미나제, 총 빌리루빈, 및 BUN 측정의 결과는, 모든 화합물이 용인되었다는 것을 명시했다.

[1767] 표 103

[1768] SRB-1 mRNA

ISIS 번호	투여량 (mg/kg)	SRB-1 mRNA (% PBS)
PBS	n/a	100
353382	5	116
	15	58
	45	27
700989	5	120
	15	92
	45	46
666904	1	98
	3	45
	10	17
700991	1	118
	3	63
	10	14

[1769]

[1770] 실시예 95: 이환식 뉴클레오시드 및 5' -GalNAc₃ 콘주게이트를 포함하는 SRB-1을 표적으로 하는 올리고뉴클레오티드에 의한 *생체내*의 안티센스 억제

[1771] 표 104에서 열거된 올리고뉴클레오티드는 마우스에서 SRB-1의 안티센스 억제에 대한 용량-의존적 연구에서 시험되었다.

[1772] 표 104

[1773] SRB-1을 표적으로 하는 변형된 ASO

ISIS 번호	서열 (5' 내지 3')	GalNAc ₃ 클러스터	CM	서열 번호
440762	T _{ks} ^m C _{ks} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ks} ^m C _k	n/a	n/a	2250
666905	GalNAc₃-3_a -o'-T _{ks} ^m C _{ks} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ks} ^m C _k	GalNAc ₃ -3 _a	PO	2250
699782	GalNAc₃-7_a -o'-T _{ks} ^m C _{ks} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ks} ^m C _k	GalNAc ₃ -7 _a	PO	2250
699783	GalNAc₃-3_a -o'-T _{ks} ^m C _{ks} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ks} ^m C _k	GalNAc ₃ -3 _a	PO	2250
653621	T _{ks} ^m C _{ks} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ks} ^m C _k	GalNAc ₃ -1 _a	A _d	2251
439879	T _{ks} ^m C _{ks} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ks} ^m C _k	n/a	n/a	2250
699789	GalNAc₃-3_a -o'-T _{ks} ^m C _{ks} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ks} ^m C _k	GalNAc ₃ -3 _a	PO	2250

[1774]

[1775] 하첨자 "g"는 플루오로-HNA 뉴클레오시드를 나타내고, 하첨자 "l"는 2' -O-CH₂-4' 가교를 포함하는 잠겨진 뉴클레오시드를 나타낸다. 다른 약어에 대한 실시예 74 표 범례 참고. GalNAc₃-1_a의 구조는 실시예 9에서 이전에 보여졌고, GalNAc₃-3_a의 구조는 실시예 39에서 이전에 보여졌고, GalNAc₃-7_a의 구조는 실시예 48에서 이전에 보여졌다.

[1776] 치료

[1777] 이러한 연구는 실시예 93에서 기재된 프로토콜을 사용하여 완료되었다. 결과는 아래의 표 105에서 보여지고 GalNAc 콘주게이트 및 다양한 이환식 뉴클레오시드 변형을 포함하는 올리고뉴클레오티드가 콘주게이트가 없고 이환식 뉴클레오시드 변형을 포함하는 모 올리고뉴클레오티드보다 유의미하게 더 강했다는 것을 보여준다. 더욱이, GalNAc 콘주게이트 및 플루오로-HNA 변형을 포함하는 올리고뉴클레오티드는 콘주게이트가 없고 플루오로-HNA 변형을 포함하는 모 올리고뉴클레오티드보다 유의미하게 더 강했다. 체중, 간 트랜스아미나제, 총 빌리루빈, 및 BUN 측정의 결과는, 모든 화합물이 용인되었다는 것을 명시했다.

[1778] 표 105

[1779] SRB-1 mRNA, ALT, AST, BUN, 및 총 빌리루빈 수준 및 체중

ISIS 번호	투여량 (mg/kg)	SRB-1 mRNA (% PBS)
PBS	n/a	100
440762	1	104
	3	65
	10	35
666905	0.1	105
	0.3	56
	1	18
699782	0.1	93
	0.3	63
	1	15
699783	0.1	105

[1780]

	0.3	53
	1	12
	0.1	109
653621	0.3	82
	1	27
	0.1	96
439879	3	77
	10	37
	0.1	82
699789	0.3	69
	1	26

[1781]

[1782] 실시예 96: GalNAc₃ 콘주게이트 그룹을 포함하는 안티센스 올리고뉴클레오타이드의 혈장 단백질 결합

[1783] ApoC-III을 표적으로 하는 표 70에서 열거된 올리고뉴클레오타이드 및 아포(a)을 표적으로 하는 표 106에서의 올리고뉴클레오타이드는 한의 검정에서 시험되어 혈장 단백질 결합을 평가했다.

[1784] 표 106

[1785] 아포(a)을 표적으로 하는 변형된 올리고뉴클레오타이드

ISIS 번호	서열 (5' 내지 3')	GalNAc ₃ 클러스터	CM	서열 번호
494372	T _{es} G _{es} ^m C _{es} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} G _{ds} T _{ds} T _{ds} G _{ds} T _{ds} G _{ds^mC_{ds}T_{ds}T_{es}G_{es}T_{es}^mC_e}	n/a	n/a	2281
693401	T _{es} G _{eo} ^m C _{eo} T _{eo} ^m C _{eo} ^m C _{eo} G _{ds} T _{ds} T _{ds} G _{ds} T _{ds} G _{ds^mC_{ds}T_{ds}T_{eo}G_{eo}T_{es}^mC_e}	n/a	n/a	2281
681251	GalNAc ₃ -7a-T _{es} G _{es} ^m C _{es} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} G _{ds} T _{ds} T _{ds} G _{ds} T _{ds} G _{ds^mC_{ds}T_{ds}T_{es}G_{es}T_{es}^mC_e}	GalNAc ₃ -7a	PO	2281
681257	GalNAc ₃ -7a-T _{es} G _{eo} ^m C _{eo} T _{eo} ^m C _{eo} ^m C _{eo} G _{ds} T _{ds} T _{ds} G _{ds} T _{ds} G _{ds^mC_{ds}T_{ds}T_{eo}G_{eo}T_{es}^mC_e}	GalNAc ₃ -7a	PO	2281

[1786]

[1787] 표 범례에 대한 실시예 74 참조. "GalNAc₃-7a"의 구조가 실시예 48에 나타나 있다.

[1788] Ultrafree-MC 한외여과 장치 (30,000 NMWL, 저-결합 재생된 셀룰로오스 막, 밀리포어, Bedford, MA)을 300 μL의 0.5% Tween 80으로 사전-컨디셔닝하고 10 분 동안 2000 g에서 원심분리하고, 그 다음 H₂O 중 대조군 올리고뉴클레오타이드의 300 μL의 300 μg/mL 용액으로 사전-컨디셔닝하고 16 분 동안 2000 g에서 원심분리했다. 본 연구에서 사용될 표 70 및 106으로부터의 각 시험 올리고뉴클레오타이드의 필터에 대한 비-특이적 결합을 평가하기 위해, H₂O 중 올리고뉴클레오타이드의 300 μL의 250 ng/mL 용액을 pH 7.4에서 사전-컨디셔닝된 필터 내에 두었고 16 분 동안 2000 g에서 원심분리했다. 비여과된 및 여과된 샘플을 ELISA 검정으로 분석하여 올리고뉴클레오타이드 농도를 측정했다. 3개의 복제물을 사용하여 각 샘플에 대한 평균 농도를 얻었다. 미여과된 샘플에 대한 여과된 샘플의 평균 농도를 사용하여 혈장의 부재에서 필터를 통해 회수된 올리고뉴클레오타이드의 퍼센트를 결정한다 (% 회수율).

[1789] 정상, 무약물 인간 지원자, 시노몰구스 원숭이, 및 CD-1 마우스로부터의 K3-EDTA에서 수집된 냉동된 전체의 혈장 샘플을, Bioreclamation LLC (Westbury, NY)로부터 구매했다. 시험 올리고뉴클레오타이드를 1.2 mL 분취량의 혈장에 2 개의 농도 (5 및 150 μg/mL)에서 부가했다. 분취량 (300 μL)의 각 스파이킹된 혈장 샘플을 사전-컨

디서닝된 필터 장치에 내에 두고 37° 에서 30 분 동안 인큐베이션하고, 즉시 그 다음 2000 g에서 16 분 동안 원심분리했다. 분취량의 여과된 및 미여과된 스파이킹된 혈장 샘플을 ELISA로 분석하여 각 샘플 중 올리고뉴클레오타이드 농도를 측정했다. 농도 당 3 개의 복제물을 사용된 각 샘플 중 결합된 및 미결합된 올리고뉴클레오타이드의 평균 백분율을 측정했다. 미여과된 샘플의 농도에 대한 여과된 샘플의 평균 농도는 사용되어 혈장 단백질에 결합되지 않는 혈장(미결합된 %) 중 올리고뉴클레오타이드의 퍼센트를 측정한다. 최종 미결합된 올리고뉴클레오타이드 값은 각 올리고뉴클레오타이드에 대해 % 미결합된 %를 % 회수율로 나누어서 비-특이적 결합을 위해 수정된다. 최종 % 결합된 올리고뉴클레오타이드 값은 100에서 최종 % 미결합된 값을 빼서 결정된다. 결과는 각 종의 혈장에서 시험된 2 개의 올리고뉴클레오타이드의 농도 시험 (5 및 150 μg/mL)에 대해 표 107에서 보여진다. 이 결과는, GalNAc 콘주게이트 그룹이 혈장 단백질 결합에 대한 유의미한 영향을 갖지 않는다는 것을 보여준다. 더욱이, 완벽한 PS 뉴클레오시드간 연결 및 혼합된 PO/PS 연결 둘 모두를 갖는 올리고뉴클레오타이드는 혈장 단백질에 결합하고, 완벽한 PS 연결을 갖는 것은 혼합된 PO/PS 연결을 갖는 것보다 임의의 정도 더 큰 정도로 혈장 단백질에 결합한다.

표 107

혈장 단백질에 결합된 변형된 올리고뉴클레오타이드의 퍼센트

ISIS 번호	인간 혈장		원숭이 혈장		마우스 혈장	
	5 μg/mL	150 μg/mL	5 μg/mL	150 μg/mL	5 μg/mL	150 μg/mL
304801	99.2	98.0	99.8	99.5	98.1	97.2
663083	97.8	90.9	99.3	99.3	96.5	93.0
674450	96.2	97.0	98.6	94.4	94.6	89.3
494372	94.1	89.3	98.9	97.5	97.2	93.6
693401	93.6	89.9	96.7	92.0	94.6	90.2
681251	95.4	93.9	99.1	98.2	97.8	96.1
681257	93.4	90.5	97.6	93.7	95.6	92.7

실시예 97: GalNAc₃ 콘주게이트 그룹을 포함하는 TTR을 표적으로 하는 변형된 올리고뉴클레오타이드

GalNAc 콘주게이트를 포함하는 표 108에서 보여진 올리고뉴클레오타이드는 설계되어 TTR을 표적으로 했다.

표 108

TTR을 표적으로 하는 변형된 올리고뉴클레오타이드

ISIS 번호	서열 (5' 내지 3')	GalNAc ₃ 클러스터	CM	서열 번호
666941	GalNAc₃-3_{a-o}-A_{do} T _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} G _{es} G _{ds} T _{ds} T _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} A _{es} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} ^m C _e	GalNAc ₃ -3	A _d	2273
666942	T _{es} ^m C _{eo} T _{eo} T _{eo} G _{es} G _{ds} T _{ds} T _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} A _{ds} A _{eo} T _{eo} ^m C _{es} ^m C _{es} ^m C _{eo} A_{do}-GalNAc₃-3_a	GalNAc ₃ -1	A _d	2270
682876	GalNAc₃-3_{a-o} T _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} G _{es} G _{ds} T _{ds} T _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} A _{es} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} ^m C _e	GalNAc ₃ -3	PO	2269

682877	GalNAc₃-7_{a-o} T _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} G _{es} G _{ds} T _{ds} T _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} A _{es} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} ^m C _e	GalNAc ₃ -7	PO	2269
682878	GalNAc₃-10_{a-o} T _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} G _{es} G _{ds} T _{ds} T _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} A _{es} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} ^m C _e	GalNAc ₃ -10	PO	2269
682879	GalNAc₃-13_{a-o} T _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} G _{es} G _{ds} T _{ds} T _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} A _{es} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} ^m C _e	GalNAc ₃ -13	PO	2269
682880	GalNAc₃-7_{a-o}-A_{do} T _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} G _{es} G _{ds} T _{ds} T _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} A _{es} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} ^m C _e	GalNAc ₃ -7	A _d	2273
682881	GalNAc₃-10_{a-o}-A_{do} T _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} G _{es} G _{ds} T _{ds} T _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} A _{es} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} ^m C _e	GalNAc ₃ -10	A _d	2273
682882	GalNAc₃-13_{a-o}-A_{do} T _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} G _{es} G _{ds} T _{ds} T _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} A _{es} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} ^m C _e	GalNAc ₃ -13	A _d	2273
684056	T _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} G _{es} G _{ds} T _{ds} T _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} A _{ds} A _{es} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} ^m C _{eo} A_{do}-GalNAc₃-19_a	GalNAc ₃ -19	A _d	2270

표 108에 대한 범례는 실시예 74에서 발견될 수 있다. "GalNAc₃-1"의 구조가 실시예 9에 나타나 있다. "GalNAc₃-3_a"의 구조가 실시예 39에 나타나 있다. "GalNAc₃-7_a"의 구조가 실시예 48에 나타나 있다. "GalNAc₃-10_a"의 구조가 실시예 46에 나타나 있다. "GalNAc₃-13_a"의 구조가 실시예 62에 나타나 있다. "GalNAc₃-19_a"의 구조가 실시예 70에 나타나 있다.

실시예 98: hPMBc 검정에서 GalNAc 콘주게이트를 포함하는 올리고뉴클레오타이드의 전-염증 효과의 평가

[1801] 표 109에서 열거된 올리고뉴클레오타이드는 실시예 23 및 24에서 기재된 바와 같이 hPMBC 검정에서 전-염증 효과에 대해 시험되었다. (올리고뉴클레오타이드의 기술에 대하여, 표 30, 83, 95, 및 108 참고). ISIS 353512는 양성 대조군으로서 사용된 고반응군이고, 다른 올리고뉴클레오타이드는 표 83, 95, 및 108에서 기재되어 있다. 표 109에서 보여진 이러한 결과는 하나의 지원자 공여체로부터의 혈액을 사용하여 획득되었다. 이 결과는, 혼합된 PO/PS 뉴클레오시드간 연결을 갖는 올리고뉴클레오타이드가 완벽한 PS 연결을 갖는 동일한 올리고뉴클레오타이드와 비교하여 유의미하게 더 낮은 전-염증 반응을 생산했다는 것을 보여준다. 더욱이, GalNAc 콘주게이트 그룹은 이러한 검정에서 유의미한 효과를 가지지 않았다.

[1802] 표 109

ISIS 번호	E _{max} /EC ₅₀	GalNAc ₃ 클러스터	연결	CM
353512	3630	n/a	PS	n/a
420915	802	n/a	PS	n/a
682881	1311	GalNAc ₃ -10	PS	A _d
682888	0.26	GalNAc ₃ -10	PO/PS	A _d
684057	1.03	GalNAc ₃ -19	PO/PS	A _d

[1803]

[1804] 실시예 99: 아시알로당단백질 수용체에 대한 GalNAc 콘주게이트를 포함하는 올리고뉴클레오타이드의 결합 친화성

[1805] 아시알로당단백질 수용체에 대한 표 110에서 열거된 올리고뉴클레오타이드의 결합 친화성 (올리고뉴클레오타이드의 설명에 대한 표 76 참고)은 경쟁적 수용체 결합 검정에서 시험되었다. 경쟁자 리간드, α1-산 당단백질 (AGP)는, 50 mM 나트륨 아세테이트 완충액 (pH 5)에서 1 U 뉴라미니다제-아가로스화 함께 16 시간 동안 37에서 인큐베이션되었고, > 90% 탈시알릴화(desialylation)는 시알산 검정 또는 크기 배제 크로마토그래피 (SEC)에 의해 확인되었다. 요오드 모노클로라이드는 사용되어 Atsma 등에 의한 절차에 따라 AGP를 요오드화했다 (참고: J Lipid Res. 1991 Jan; 32(1):173-81.) 이러한 방법에서, 탈시알릴화된 α1-산 당단백질 (de-AGP)을 0.25 M NaOH 중 10 mM 염화요오드, Na¹²⁵I, 및 1 M 글리신에 부가했다. 10 분 동안 실온에서 인큐베이션한 후, ¹²⁵I-표지된 de-AGP를, 3 KDMWCO 스핀 칼럼을 사용하여 혼합물을 2회 농축하여 유리 ¹²⁵I로부터 분리했다. 단백질을, Agilent SEC-3 칼럼 (7.8x300mm) 및 β-RAM 계수기가 구비된 HPLC 시스템 상에서 표지 효율 및 순도에 대해 시험했다. ¹²⁵I-표지된 de-AGP 및 ASO를 함유하는 다양한 GalNAc-클러스터를 이용하는 경쟁 실험을 하기와 같이 수행했다. 인간 HepG2 세포 (10⁶ 세포/ml)을 2 mL의 적절한 성장 배지에서 6-웰 플레이트 상에서 플레이팅했다. 10% 우태 혈청 (FBS), 2 mM L-글루타민 및 10mM HEPES로 보강된 MEM 배지를 사용했다. 세포를 16-20 시간 동안 37에서 5% 및 10% CO₂ 각각과 함께 인큐베이션했다. 세포를 실험 전에 FBS가 없는 배지로 세정했다. 세포를, 적절한 성장 배지를 2% FBS, 10⁻⁸ M ¹²⁵I-표지된 de-AGP와 함께 함유하는 1ml 경쟁 혼합물 및 10⁻¹¹ 내지 10⁻⁵ 범위의 농도에서 ASO를 함유하는 GalNAc-클러스터로 30 분 동안 37 °C에서 인큐베이션했다. 비-특이적 결합을 10⁻² M GalNAc 당의 존재에서 결정했다. 세포를 FBS가 없는 배지로 2회 세정하여 미결합된 ¹²⁵I-표지된 de-AGP 및 경쟁자 GalNAc ASO를 제거했다. 세포를, 1% β-머캅토에탄올을 함유하는 Qiagen's RLT 완충액을 사용하여 용해시켰다. 용해물을 쪼은 10 분 동결/용해 사이클 후 둥근바닥 검정 튜브로 이동시키고 γ-계수기 상에서 검정했다. 비-특이적 결합을 공제한 후 ¹²⁵I 단백질 카운트를 최저 GalNAc-ASO 농도 카운트의 값으로 나누었다. 억제 곡선 비선형회귀 알고리즘을 사용하는 단일 부위 경쟁적 결합 방정식에 따라 적합화되어 결합 친화성 (K_D' s)을 계산했다.

[1806] 표 110의 결과는 5 개의 상이한 날에 수행된 실험으로부터 획득되었다. 상첨자 "a"로 나타난 올리고뉴클레오타이드에 대한 결과는 2 개의 상이한 날에 실험 구동의 평균이다. 이 결과는, 5'-말단 상에 GalNAc 콘주게이트 그룹을 포함하는 올리고뉴클레오타이드는 3'-말단 상에 GalNAc 콘주게이트 그룹을 포함하는 올리고뉴클레오타이드보다 1.5 내지 16-배 더 큰 친화성을 갖는 인간 HepG2 세포 상에서 아시알로당단백질 수용체를 결합했다는 것을 보여준다.

[1807] 표 110

[1808] 아시알로당단백질 수용체 결합 검정 결과

ISIS 번호	GalNAc 콘주게이트	GalNAc 콘주게이트가 부착된 올리고뉴클레오타이드 단위	K _D (nM)
661161 ^a	GalNAc ₃ -3	5'	3.7
666881 ^a	GalNAc ₃ -10	5'	7.6
666981	GalNAc ₃ -7	5'	6.0
670061	GalNAc ₃ -13	5'	7.4
655861 ^a	GalNAc ₃ -1	3'	11.6
677841 ^a	GalNAc ₃ -19	3'	60.8

[1809]

[1810] 실시예 100: 생체내에서 아포(a)를 표적으로 하는 GalNAc 콘주게이트 그룹을 포함하는 올리고뉴클레오타이드에 의한 생체내의 안티센스 억제

[1811] 아래의 표 111a에서 열거된 올리고뉴클레오타이드는 마우스에서 작용의 지속시간에 대한 단회 용량 연구에서 시험되었다.

[1812] 표 111a

[1813] 아포(a)를 표적으로 하는 변형된 ASO

ISIS 번호	서열 (5' 내지 3')	GalNAc ₃ 클러스터	CM	서열 번호
681251	GalNAc ₃ -7 _a -o'-T _{es} G _{es} ^m C _{es} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{ds} G _{ds} T _{ds} T _{ds} G _{ds} G _{ds} T _{ds} G _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} G _{es} T _{es} ^m C _e	GalNAc ₃ -7a	PO	2281
681257	GalNAc ₃ -7 _a -o'-T _{es} G _{es} ^m C _{eo} ^m C _{eo} ^m C _{ds} G _{ds} T _{ds} T _{ds} G _{ds} G _{ds} T _{ds} G _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{eo} G _{eo} ^m C _{es} T _{es} ^m C _e	GalNAc ₃ -7a	PO	2281

[1814]

[1815] "GalNAc₃-7_a"의 구조가 실시예 48에 나타나 있다.

[1816] 치료

[1817] 인간 아포(a)을 발현시키는 암컷 형질전환 마우스 각각에게, 피하로 주당 1회, 총 6 번 용량 동안에, 표 111b에서 열거된 올리고뉴클레오타이드 및 투여량 또는 PBS이 주입되었다. 각 처리 그룹은 3 마리의 동물로 구성되었다. 혈액을, 투여 전날에 뽑아서 아포(a) 단백질의 기준선 수준을 혈장에서 그리고 제 1 용량 다음 72 시간, 1 주, 및 2 주에서 측정했다. 추가의 채혈은 제 1 용량 다음 3 주, 4 주, 5 주, 및 6 주에서 일어날 것이다. 혈장 아포(a) 단백질 수준은 ELISA를 사용하여 측정되었다. 표 111b의 결과는 기준선 수준 (% BL)에 대해 정규화된, 각 처리 그룹에 대한 혈장 아포(a) 단백질 수준의 평균 퍼센트로서 제공되고, 이 결과는, GalNAc 콘주게이트 그룹을 포함하는 올리고뉴클레오타이드가 아포(a) 발현에서 강력한 감소를 나타내었다는 것을 보여준다. 이러한 강력한 효과는 완벽한 PS 뉴클레오타이드간 연결을 포함하는 올리고뉴클레오타이드 및 혼합된 PO 및 PS 연결을 포함하는 올리고뉴클레오타이드에 대해 관찰되었다.

[1818] 표 111b

[1819] 아포(a) 혈장 단백질 수준

ISIS 번호	투여량 (mg/kg)	제 72시간에서의 아포(a) (% BL)	제 1주에서의 아포(a) (% BL)	제 3주에서의 아포(a) (% BL)
PBS	n/a	116	104	107
681251	0.3	97	108	93
	1.0	85	77	57
	3.0	54	49	11
	10.0	23	15	4
	0.3	114	138	104
681257	1.0	91	98	54
	3.0	69	40	6
	10.0	30	21	4

[1820]

[1821] 실시예 101: 안정한 모이어티를 통해 연결된 GalNAc 클러스터를 포함하는 올리고뉴클레오타이드에 의한 안티센스 억제

[1822] 표 112에서 열거된 올리고뉴클레오타이드는 마우스 APOC-III 발현의 억제에 대해 생체내에서 시험되었다. C57B1/6 마우스 각각에게 표 112에서 열거된 올리고뉴클레오타이드 또는 PBS를 피하로 1 회 주입했다. 각 처리 그룹은 4 마리의 동물로 구성되었다. ISIS 440670로 처리된 각각의 마우스는 2, 6, 20, 또는 60 mg/kg의 용량을 수용했다. ISIS 680772 또는 696847로 처리된 각각의 마우스는 0.6, 2, 6, 또는 20 mg/kg을 수용했다. ISIS

696847의 GalNAc 콘주게이트 그룹은 쉽게 절단가능 포스포디에스테르 함유 연결 대신에 안정한 모이어티, 포스포티오에이트 연결을 통해 연결된다. 동물은 용량 후 72 시간에 희생되었다. 간 APOC-III mRNA 수준은 실시간 PCR를 사용하여 측정되었다. APOC-III mRNA 수준은 표준 프로토콜에 따라 시클로필린 mRNA 수준에 대해 정규화되었다. 결과는 염수 대조군 그룹에 대한 각 처리 그룹을 위해 APOC-III mRNA 수준의 평균 퍼센트로서 표 112에서 제공된다. 이 결과는, GalNAc 콘주게이트 그룹을 포함하는 올리고뉴클레오타이드가 콘주게이트 그룹이 없는 올리고뉴클레오타이드보다 유의미하게 더 강했다는 것을 보여준다. 더욱이, 절단가능 모이어티 (ISIS 680772)를 통해 올리고뉴클레오타이드에 연결된 GalNAc 콘주게이트 그룹을 포함하는 올리고뉴클레오타이드는 안정한 모이어티 (ISIS 696847)를 통해 올리고뉴클레오타이드에 연결된 GalNAc 콘주게이트 그룹을 포함하는 올리고뉴클레오타이드보다 더욱 더 강했다.

표 112

마우스 APOC-III를 표적으로 하는 변형된 올리고뉴클레오타이드

ISIS 번호	서열 (5' 내지 3')	CM	투여량 (mg/kg)	APOC-III mRNA (% PBS)	서열 번호
440670	${}^mC_{es}A_{es}G_{es}{}^mC_{es}T_{ds}T_{ds}A_{ds}T_{ds}T_{ds}A_{ds}$ $G_{ds}G_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^mC_{es}A_{es}G_{es}{}^mC_{es}A_{es}$	n/a	2	92	2275
			6	86	
			20	59	
			60	37	
			0.6	79	
680772	GalNAc₃-7_a-o' ${}^mC_{es}A_{es}G_{es}{}^mC_{es}T_{ds}T_{ds}A_{ds}T_{ds}$ $T_{ds}A_{ds}G_{ds}G_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^mC_{es}A_{es}G_{es}{}^mC_{es}A_{es}$	PO	2	58	2275
			6	31	

696847	GalNAc₃-7_a-s' ${}^mC_{es}A_{es}G_{es}{}^mC_{es}T_{ds}T_{ds}A_{ds}T_{ds}$ $T_{ds}A_{ds}G_{ds}G_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^mC_{es}A_{es}G_{es}{}^mC_{es}A_{es}$	n/a (PS)	20	13	2275
			0.6	83	
			2	73	
			6	40	
			20	28	

"GalNAc₃-7_a"의 구조가 실시예 48에 나타나 있다.

실시예 102: GalNAc 콘주게이트를 포함하는 안티센스 올리고뉴클레오타이드의 간에서의 분포

GalNAc 콘주게이트를 포함하지 않는 ISIS 353382 (참고 표 36) 및 GalNAc 콘주게이트를 포함하는 ISIS 655861 (참고 표 36)의 간 분포는 평가되었다. 수컷 Balb/c 마우스에게 표 113에서 열거된 투여량으로 ISIS 353382 또는 655861을 피하로 1회 주입했다. 각각의 처리 그룹은 2 마리의 동물로 구성된 ISIS 655861에 대한 18 mg/kg 그룹을 제외하고 3 마리의 동물로 구성되었다. 동물을 투여 48 시간 후에 희생시켜 올리고뉴클레오타이드의 간 분포를 측정했다. 세포 당 안티센스 올리고뉴클레오타이드 분자의 수를 측정하기 위해, 루테늄 (II) 트리스-바이피리딘 태그 (MSD TAG, 중간 규모발견)을 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 검출하기 위해 사용된 올리고뉴클레오타이드 프로브에 콘주게이트된다. 표 113에 존재하는 결과는 세포 당 올리고뉴클레오타이드 분자의 수백만 단위로 각 처리 그룹에 대한 올리고뉴클레오타이드의 평균 농도이다. 이 결과는, 동등 투여량에서, GalNAc 콘주게이트를 포함하는 올리고뉴클레오타이드가 GalNAc 콘주게이트를 포함하지 않는 올리고뉴클레오타이드보다 전체 간 및 간세포에서 더 높은 농도로 존재한다는 것을 보여준다. 더욱이, GalNAc 콘주게이트를 포함하는 올리고뉴클레오타이드는 GalNAc 콘주게이트를 포함하지 않는 올리고뉴클레오타이드 보다 더 낮은 비-실질 간 세포 중 농도로 존재했다. 그리고 간세포 및 비-실질 간 세포 중 ISIS 655861의 농도는 세포에 대해 유사했지만, 간은 용적으로 대략 80% 간 세포이다. 따라서, 간에 존재했던 대다수의 ISIS 655861 올리고뉴클레오타이드는 간세포에서 발견되었고, 반면에 간에 존재했던 대다수의 ISIS 353382 올리고뉴클레오타이드는 비-실질 간 세포에서 발견되었다.

[1830] 표 113

ISIS 번호	투여량 (mg/kg)	전체 간내 농도 (세포 당 분자*10 ⁶)	간세포내 농도 (세포 당 분자*10 ⁶)	비-실질 간세포내 농도 (세포 당 분자*10 ⁶)
353382	3	9.7	1.2	37.2
	10	17.3	4.5	34.0
	20	23.6	6.6	65.6
	30	29.1	11.7	80.0
	60	73.4	14.8	98.0
	90	89.6	18.5	119.9
655861	0.5	2.6	2.9	3.2
	1	6.2	7.0	8.8
	3	19.1	25.1	28.5
	6	44.1	48.7	55.0
	18	76.6	82.3	77.1

[1831]

[1832] 실시예 103: GalNAc₃ 콘주게이트를 포함하는 APOC-III을 표적으로 하는 올리고뉴클레오티드의 생체내 작용의 지속시간

[1833] 아래의 표 114에서 열거된 올리고뉴클레오티드는 마우스에서 작용의 지속시간에 대한 단회 용량 연구에서 시험되었다.

[1834] 표 114

[1835] APOC-III을 표적으로 하는 변형된 ASO

ISIS 번호	서열 (5' 내지 3')	GalNAc ₃ 클러스터	CM	서열 번호
304801	A _{cs} G _{es} ^m C _{es} T _{es} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} G _{ds} ^m C _{ds} T _{es} T _{es} T _{es} A _{es} T _e	n/a	n/a	2248
663084	GalNAc₃-3_a-o'-A_{do} A _{cs} G _{es} ^m C _{eo} T _{eo} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} G _{ds} ^m C _{ds} T _{eo} T _{eo} T _{es} A _{es} T _e	GalNAc ₃ -3 _a	A _d	2264
679241	A _{cs} G _{eo} ^m C _{eo} T _{eo} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} G _{ds} ^m C _{ds} T _{eo} T _{eo} T _{es} A _{es} T _{eo} A_{do}-GalNAc₃-19_a	GalNAc ₃ -19 _a	A _d	2249

[1836]

[1837] GalNAc₃-3_a의 구조는 실시예 39에서 이전에 보여졌고, GalNAc₃-19_a는 실시예 70에서 보여졌다.

[1838] 치료

[1839]인간 APOC-III을 발현시키는 암컷 형질전환 마우스 각각에게 표 114에서 열거된 올리고뉴클레오티드 또는 PBS를 피하로 1 회 주입했다. 각 처리 그룹은 3 마리의 동물로 구성되었다. 투여 전에 채혈하여 투여 다음에 기준선 및 3, 7, 14, 21, 28, 35, 및 42 일에서 측정했다. 혈장 트리글리세라이드 및 APOC-III 단백질 수준은 실시예 20에서 기재된 바와 같이 측정되었다. 표 115에서의 결과는 기준선 수준에 대해 정규화된, 각 처리 그룹에 대한 혈장 트리글리세라이드 및 APOC-III 수준의 평균 퍼센트로서 제공된다. 실시예 79의 표 71의 결과와 아래의 표 115의 결과와의 비교는, 포스포디에스테르와 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결의 혼합물을 포함하는 올리고뉴클레오티드가 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결만을 포함하는 동등한 올리고뉴클레오티드보다 작용의 증가된 지속시간을 나타냈다는 것을 보여준다.

[1840] 표 115

[1841]형질전환 마우스 중 혈장 트리글리세라이드 및 APOC-III 단백질 수준

ISIS 번호	투여량 (mg/kg)	시점 (투여-후 일수)	트리글리세라이드 (% 기준선)	APOC-III 단백질 (% 기준선)	GalNAc ₃ 클러스터	CM
PBS	n/a	3	96	101	n/a	n/a
		7	88	98		
		14	91	103		
		21	69	92		
		28	83	81		
		35	65	86		
		42	72	88		

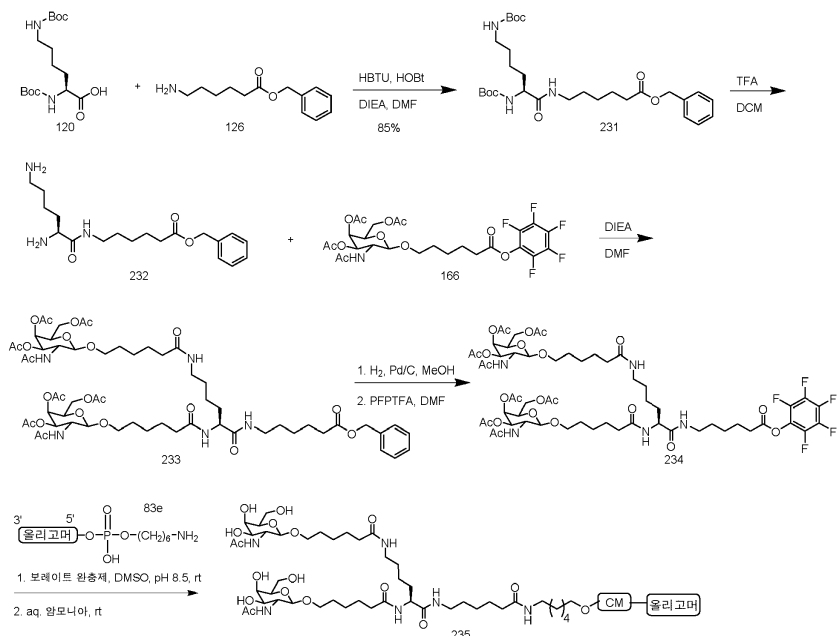
[1842]

304801	30	3	42	46	n/a	n/a
		7	42	51		
		14	59	69		
		21	67	81		
		28	79	76		
		35	72	95		
		42	82	92		
663084	10	3	35	28	GalNAc ₃ -3a	A _d
		7	23	24		
		14	23	26		
		21	23	29		
		28	30	22		
		35	32	36		
		42	37	47		
679241	10	3	38	30	GalNAc ₃ -19a	A _d
		7	31	28		
		14	30	22		
		21	36	34		
		28	48	34		
		35	50	45		
		42	72	64		

[1843]

[1844]

실시예 104: 5' -GalNAc₂ 콘주게이트를 포함하는 올리고뉴클레오타이드의 합성

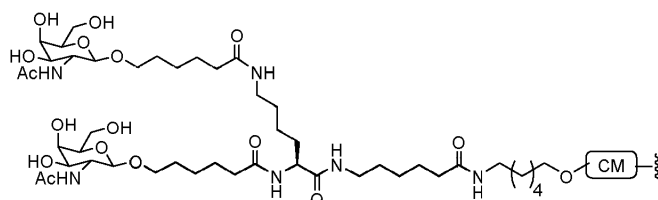


[1845]

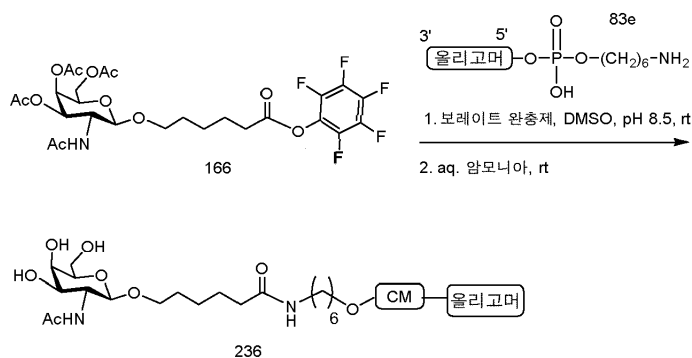
[1846]

화합물 120은 시판되고 있고, 화합물 126의 합성은 실시예 49에서 기재되어 있다. 화합물 120 (1 g, 2.89 mmol), HBTU (0.39 g, 2.89 mmol) 및 HOBt (1.64 g, 4.33 mmol)를 DMF (10 mL)에 용해시켰다. 그리고 *N,N*-디이소프로필에틸아민 (1.75 mL, 10.1 mmol)을 부가하였다. 약 5 분 후, 아미노헥산산 벤질 에스테르 (1.36 g, 3.46 mmol)을 반응에 부가했다. 3 시간 후, 반응 혼합물을 100 mL의 1 M NaHSO₄에 붓고 2 x 50 mL 에틸 아세테이트로 추출했다. 유기 층들을 조합하고 3 x 40 mL 포화 NaHCO₃ 및 2 x 염수로 세정하고, Na₂SO₄로 건조시키고, 여과하고 농축했다. 생성물을 실리카겔 칼럼 크로마토그래피 (DCM:EA:Hex, 1:1:1)로 정제하여 화합물 231을 얻었다. LCMS 및 NMR은 구조와 일치했다. 화합물 231 (1.34 g, 2.438 mmol)을 디클로로메탄 (10 mL)에서 용해시키고 트리플루오르아세트산 (10 mL)을 부가했다. 실온에서 2 시간 동안 교반한 후, 반응 혼합물을 감압 하에서 농축하고 톨루엔 (3 x 10 mL)로 공-증발시켰다. 잔류물을 감압 하에서 건조하여 화합물 232를 트리플루오르아세트레이트 염으로서 얻었다. 화합물 166의 합성은 실시예 54에서 기재되어 있다. 화합물 166 (3.39 g, 5.40 mmol)을 DMF (3 mL)에서 용해시켰다. 화합물 232 (1.3 g, 2.25 mmol)의 용액을 DMF (3 mL)에서 용해시키고 *N,N*-디이소프로필에틸아민 (1.55 mL)을 부가했다. 반응을 실온에서 30 분 동안 교반하고, 그 다음 물 (80 mL)에 붓고 수성 층을 EtOAc (2x100 mL)로 추출했다. 유기 상을 분리하고 포화 수성 NaHCO₃ (3 x 80 mL), 1 M NaHSO₄ (3 x 80 mL) 및 염수 (2 x 80 mL)로 세정하고, 그 다음 건조시키고 (Na₂SO₄), 여과하고, 농축했다. 잔류물을 실리카겔 칼럼 크로마토그래피로 정제하여 화합물 233을 얻었다. LCMS 및 NMR은 구조와 일치했다. 화합물 233 (0.59 g, 0.48 mmol)을 메탄올 (2.2 mL) 및 에틸 아세테이트 (2.2 mL)에서 용해시켰다. 탄소상 팔라듐 (10 wt% Pd/C, 습

성, 0.07 g)을 부가하고, 반응 혼합물을 수소 대기 하에서 3 시간 동안 교반했다. 반응 혼합물을 셀라이트의 패드를 통해 여과하고 농축하여 카복실산을 얻었다. 카복실산 (1.32 g, 1.15 mmol, 클러스터 유리 산)을 DMF (3.2 mL)에서 용해시켰다. 이것에 *N,N*-디이소프로필에틸아민 (0.3 mL, 1.73 mmol) 및 PFPTFA (0.30 mL, 1.73 mmol)을 부가했다. 실온에서 30 분 교반 후 반응 혼합물을 물 (40 mL)에 붓고 EtOAc (2 x 50 mL)로 추출했다. 표준 워크업은 상기에서 기재된 바와 같이 완료되어 화합물 234를 산출했다. LCMS 및 NMR은 구조와 일치했다. 올리고뉴클레오타이드 235는 실시예 46에서 기재된 일반적인 절차를 사용하여 제조되었다. 콘주게이트 그룹 GalNAc₂-24의 GalNAc₂ 클러스터 부분 (GalNAc₂-24_a)은 올리고뉴클레오타이드 상에 존재하는 임의의 절단가능 모이어티와 조합되어 다양한 콘주게이트 그룹을 제공할 수 있다. GalNAc₂-24 (GalNAc₂-24_a-CM)의 구조는 하기와 같다:

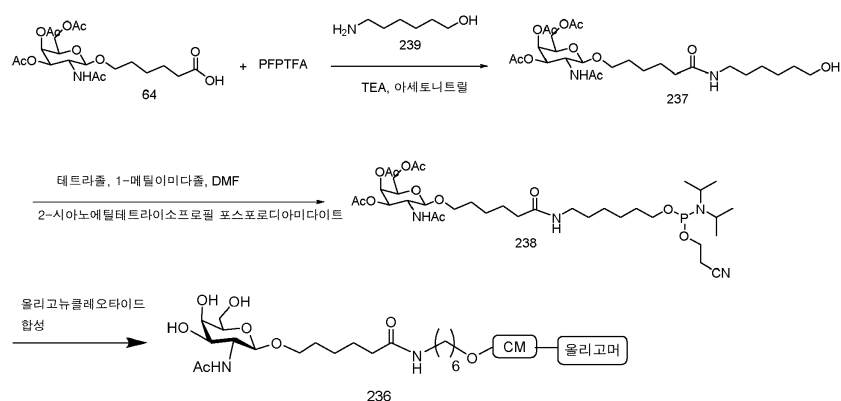


실시예 105: GalNAc₁-25 콘주게이트를 포함하는 올리고뉴클레오타이드의 합성

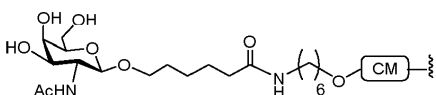


화합물 166의 합성은 실시예 54에서 기재되어 있다. 올리고뉴클레오타이드 236는 실시예 46에서 기재된 일반적인 절차를 사용하여 제조되었다.

대안적으로, 올리고뉴클레오타이드 236는 아래에서 보여진 도식을 사용하여 합성되었고, 및 화합물 238은 사용하여 실시예 10에서 기재된 절차를 사용하여 올리고뉴클레오타이드 236를 형성했다.



콘주게이트 그룹 GalNAc₁-25의 GalNAc₁ 클러스터 부분 (GalNAc₁-25_a)은 올리고뉴클레오타이드 상에 존재하는 임의의 절단가능 모이어티와 조합되어 다양한 콘주게이트 그룹을 제공할 수 있다. GalNAc₁-25 (GalNAc₁-25_a-CM)의 구조는 하기와 같다:



[1855] 실시예 106: 5' -GalNAc₂ 또는 5' -GalNAc₃ 콘주게이트를 포함하는 SRB-1을 표적으로 하는 올리고뉴클레오타이드에 의한 생체내 안티센스 억제

[1856] 표 116 및 117에서 열거된 올리고뉴클레오타이드는 마우스에서 SRB-1의 안티센스 억제에 대한 용량-의존적 연구에서 시험되었다.

[1857] 치료

[1858] 6 주령, 수컷 C57BL/6 마우스 (Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME)에게 2, 7, 또는 20 mg/kg의 ISIS 번호 440762; 또는 0.2, 0.6, 2, 6, 또는 20 mg/kg의 ISIS 번호 686221, 686222, 또는 708561; 또는 염수가 피하로 1회 주입되었다. 각 처리 그룹은 4 마리의 동물로 구성되었다. 마우스는 최종 투여 72 시간 후에 희생되었다. 간 SRB-1 mRNA 수준은 실시간 PCR를 사용하여 측정되었다. SRB-1 mRNA 수준은 표준 프로토콜에 따라 시클로필린 mRNA 수준에 대해 정규화되었다. 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 용량-의존 방식으로 SRB-1 mRNA 수준을 낮게 했고, ED₅₀ 결과는 표 116 및 117에서 제공된다. 이전의 연구는, 3가 GalNAc-콘주게이트된 올리고뉴클레오타이드가 결국 1가 GalNAc 콘주게이트된 올리고뉴클레오타이드로부터 유의미하게 더 강했던 2가 GalNAc-콘주게이트된 올리고뉴클레오타이드보다 유의미하게 더 강했다는 것을 보여주었지만, (참고, 예를 들면, Khorev et al., *Bioorg. & Med. Chem.*, Vol. 16, 5216-5231 (2008)), 1가, 2가, 및 3가 GalNAc 클러스터를 포함하는 안티센스 올리고뉴클레오타이드에 의한 처리는 표 116 및 117에서 보여진 바와 같은 유사한 효능으로 SRB-1 mRNA 수준을 감소시켰다.

[1859] 표 116

[1860] SRB-1을 표적으로 하는 변형된 올리고뉴클레오타이드

ISIS 번호	서열 (5' 내지 3')	GalNAc 클러스터	ED ₅₀ (mg/kg)	서열 번호
440762	T _{ks} ^m C _{ks} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ks} ^m C _k	n/a	4.7	2250
686221	GalNAc ₂ -24 _a -o'-A _{do} T _{ks} ^m C _{ks} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ks} ^m C _k	GalNAc ₂ -24 _a	0.39	2254
686222	GalNAc ₃ -13 _a -o'-A _{do} T _{ks} ^m C _{ks} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ks} ^m C _k	GalNAc ₃ -13 _a	0.41	2254

[1861]

[1862] 표 범례에 대한 실시예 93 참조. GalNAc₃-13a의 구조는 실시예 62에서 이전에 보여졌고, GalNAc₂-24a의 구조는 실시예 104에서 보여졌다.

[1863] 표 117

[1864] SRB-1을 표적으로 하는 변형된 올리고뉴클레오타이드

ISIS 번호	서열 (5' 내지 3')	GalNAc 클러스터	ED ₅₀ (mg/kg)	서열 번호
440762	T _{ks} ^m C _{ks} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ks} ^m C _k	n/a	5	2250
708561	GalNAc ₁ -25 _a -o'-T _{ks} ^m C _{ks} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ks} ^m C _k	GalNAc ₁ -25 _a	0.4	2250

[1865]

[1866] 표 범례에 대한 실시예 93 참조. GalNAc₁-25a의 구조가 실시예 105에 나타나 있다.

[1867] 간 중 표 116 및 117에서의 올리고뉴클레오타이드의 농도는 실시예 75에서 기재된 절차를 사용하여 또한 평가되었다. 아래의 표 117a 및 117b에서 보여진 결과는 μg 올리고뉴클레오타이드 / 간 조직의 그램의 단위로 UV에 의해 측정된 바와 같이, 각 처리 그룹에 대한 평균 총 안티센스 올리고뉴클레오타이드 조직 수준이다. 이 결과는, GalNAc 콘주게이트 그룹을 포함하는 올리고뉴클레오타이드가 GalNAc 콘주게이트 그룹이 없는 올리고뉴클레오타이드의 동일한 용량보다 유의미하게 더 높은 수준에서 간에서 축적된다는 것을 보여준다. 더욱이, 그의 각 콘주게이트 그룹 모두 중 1, 2 또는 3 개의 GalNAc 리간드를 포함하는 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 유사한 수준으로 간에서 축적된다. 이러한 결과는 상기에서 인용된 Khorev 등 문헌 참조의 관점에서 놀랍고 상기 표 116 및 117에서 보여진 활성 데이터와 일치한다.

[1868] 표 117a

[1869] GalNAc₂ 또는 GalNAc₃ 콘주게이트 그룹을 포함하는 올리고뉴클레오타이드의 간 농도

ISIS 번호	투여량 (mg/kg)	[안티센스 올리고뉴클레오타이드] (μg/g)	GalNAc 클러스터	CM
440762	2	2.1	n/a	n/a
	7	13.1		
	20	31.1		
686221	0.2	0.9	GalNAc ₂ -24 _a	A _d
	0.6	2.7		
	2	12.0		

[1870]

686222	6	26.5	GalNAc ₃ -13 _a	A _d
	0.2	0.5		
	0.6	1.6		
	2	11.6		
	6	19.8		

[1871]

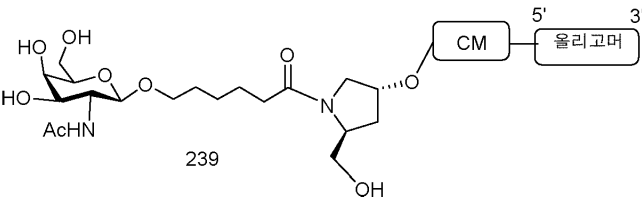
[1872] 표 117b

[1873] GalNAc₁ 콘주게이트 그룹을 포함하는 올리고뉴클레오타이드의 간 농도

ISIS 번호	투여량 (mg/kg)	[안티센스 올리고뉴클레오타이드] (μg/g)	GalNAc 클러스터	CM
440762	2	2.3	n/a	n/a
	7	8.9		
	20	23.7		
708561	0.2	0.4	GalNAc ₁ -25 _a	PO
	0.6	1.1		
	2	5.9		
	6	23.7		
	20	53.9		

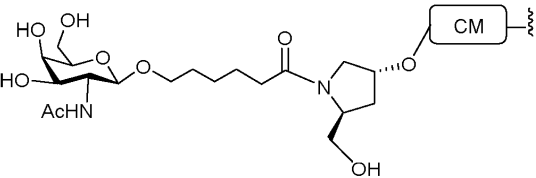
[1874]

[1875] 실시예 107: GalNAc₁-26 또는 GalNAc₁-27 콘주게이트를 포함하는 올리고뉴클레오타이드의 합성



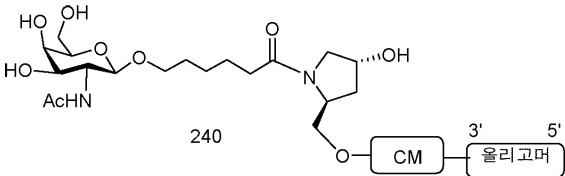
[1876]

[1877] 올리고뉴클레오타이드 239는 DMF 중 HBTU 및 DIEA를 사용하여 화합물 47 (참고 실시예 15)의 산 64 (참고 실시예 32)에의 커플링을 통해 합성된다. 수득한 아마이드 함유 화합물은 포스포리틸화되고, 그 다음 실시예 10에서 기재된 절차를 사용하여 올리고뉴클레오타이드의 5'-말단에 부가된다. 콘주게이트 그룹 GalNAc₁-26의 GalNAc₁ 클러스터 부분 (GalNAc₁-26_a)은 올리고뉴클레오타이드 상에 존재하는 임의의 절단가능 모이어티와 조합되어 다양한 콘주게이트 그룹을 제공할 수 있다. GalNAc₁-26 (GalNAc₁-26_a-CM)의 구조는 하기와 같다:



[1878]

[1879] GalNAc₁ 콘주게이트 그룹을 올리고뉴클레오타이드의 3'-말단에 부가하기 위해, 화합물 47 및 64의 반응으로부터 형성된 아마이드는 실시예 7에서 기재된 절차를 사용하여 고형 지지체에 부가된다. 그 다음 올리고뉴클레오타이드 합성은 실시예 9에서 기재된 절차를 사용하여 완료되어 올리고뉴클레오타이드 240을 형성한다.



[1880]

[1881] 콘주게이트 그룹 GalNAc₁-27의 GalNAc₁ 클러스터 부분 (GalNAc₁-27_a)은 올리고뉴클레오타이드 상에 존재하는 임의의 절단가능 모이어티와 조합되어 다양한 콘주게이트 그룹을 제공할 수 있다. GalNAc₁-27 (GalNAc₁-27_a-CM)의 구조는 하기와 같다:

[1882]

[1883] 실시예 108: 생체내에서 아포(a)를 표적으로 하는 GalNAc 콘주게이트 그룹을 포함하는 올리고뉴클레오타이드에 의한 생체내의 안티센스 억제

[1884] 아래의 표 118에서 열거된 올리고뉴클레오타이드는 마우스에서 단위 용량 연구에서 시험되었다.

[1885] 표 118

[1886] 아포(a)를 표적으로 하는 변형된 ASO

[1887]

[1888]

[1889] “GalNAc₃-7_a”의 구조가 실시예 48에 나타나 있다.

[1890] 치료

[1891] 인간 아포(a)를 발현시키는 수컷 형질전환 마우스 각각에게, 올리고뉴클레오타이드가 그리고 표 119에서 열거된 투여량으로 또는 PBS가 피하로 1 회 주입되었다. 각 처리 그룹은 4 마리의 동물로 구성되었다. 혈액은 혈장 중 아포(a) 단백질의 기준선 수준을 측정하기 위해 투여 전 날 및 제 1 용량 다음 1 주에 뽑았다. 추가의 채혈은 대략 8 주 동안 매주 일어날 것이다. 혈장 아포(a) 단백질 수준은 ELISA를 사용하여 측정되었다. 표 119의 결과는 기준선 수준 (% BL)으로 정규화된, 각 처리 그룹에 대한 혈장 아포(a) 단백질 수준의 평균 퍼센트로서 제공된다. 이 결과는, 안티센스 올리고뉴클레오타이드가 아포(a) 단백질 발현을 감소시킨다는 것을 보여준다. 더욱이, GalNAc 콘주게이트 그룹을 포함하는 올리고뉴클레오타이드는 콘주게이트 그룹을 포함하지 않는 올리고뉴클레오타이드보다 아포(a) 발현에서 더욱 더 강한 감소를 나타내었다.

[1892] 표 119

[1893] 아포(a) 혈장 단백질 수준

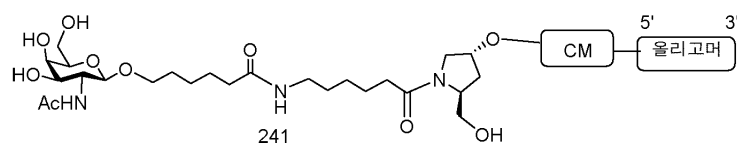
ISIS 번호	투여량 (mg/kg)	제1주에서의 아포(a) (% BL)
PBS	n/a	143
494372	50	58
681251	10	15
681255	10	14
681256	10	17
681257	10	24
681258	10	22
681260	10	26

[1894]

[1895] 실시예 109: GalNAc₁-28 또는 GalNAc₁-29 콘주게이트를 포함하는 올리고뉴클레오타이드의 합성

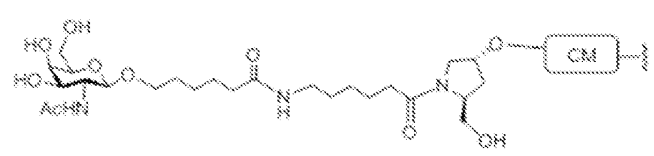
[1896]

[1897]



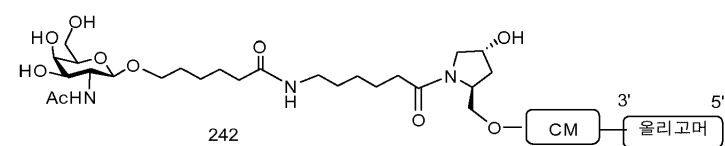
[1898]

[1899]

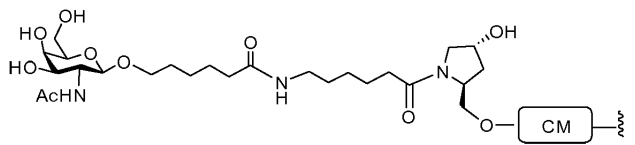


[1900]

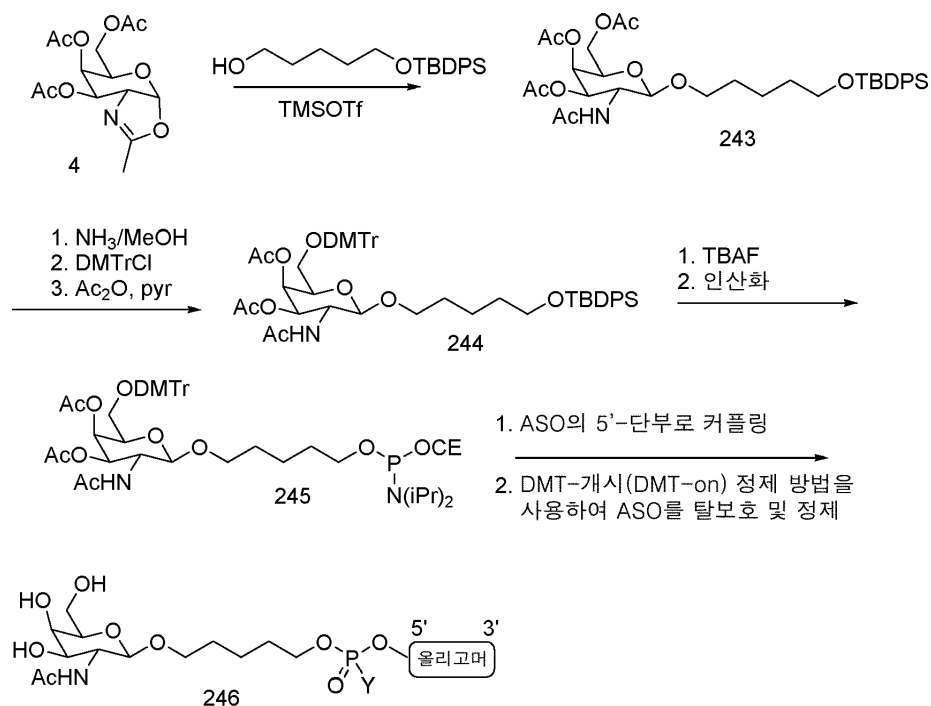
[1901]



[1902]

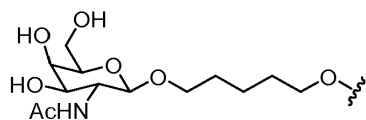


[1903] 실시예 110: GalNAc₁-30 콘주게이트를 포함하는 올리고뉴클레오타이드의 합성



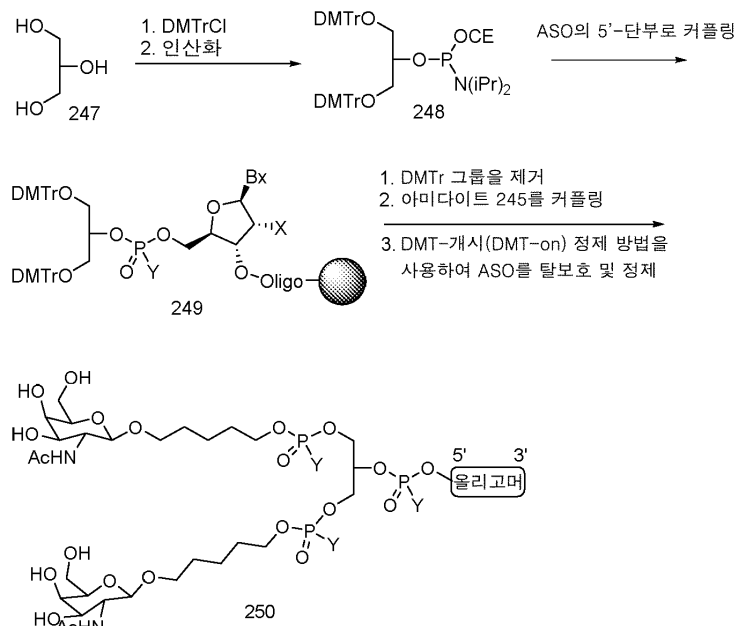
[1904]

[1905] GalNAc₁-30 콘주게이트 그룹을 포함하는 올리고뉴클레오타이드 246(여기서 Y는 O, S, 치환된 또는 비치환된 C₁-C₁₀ 알킬, 아미노, 치환된 아미노, 아지도, 알케닐 또는 알킬닐로부터 선택됨)는, 상기에 보여진 바와 같이 합성된다. 콘주게이트 그룹 GalNAc₁-30의 GalNAc₁ 클러스터 부분 (GalNAc₁-30_a)은 올리고뉴클레오타이드 상에 존재하는 임의의 절단가능 모이어티와 조합되어 다양한 콘주게이트 그룹을 제공할 수 있다. 특정 구현예에서, Y는 절단가능 모이어티의 일부이다. 특정 구현예에서, Y는 안정한 모이어티의 일부이고 절단가능 모이어티는 올리고뉴클레오타이드 상에 존재한다. "GalNAc₁-30_a"의 구조가 하기에 나타나 있다:



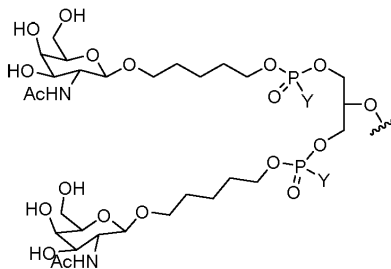
[1906]

[1907] 실시예 111: GalNAc₂-31 또는 GalNAc₂-32 콘주게이트를 포함하는 올리고뉴클레오타이드의 합성



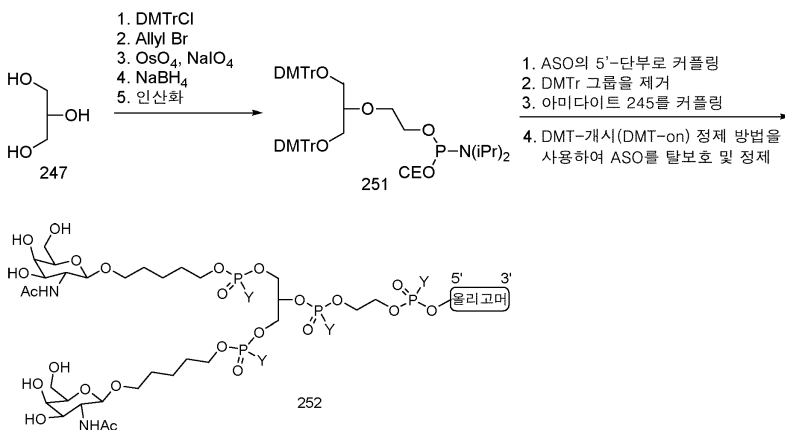
[1908]

[1909] GalNAc₂-31 콘주게이트 그룹을 포함하는 올리고뉴클레오타이드 250(여기서 Y는 O, S, 치환된 또는 비치환된 C₁-C₁₀ 알킬, 아미노, 치환된 아미노, 아지도, 알케닐 또는 알킬닐로부터 선택됨)는, 상기에 보여진 바와 같이 합성된다. 콘주게이트 그룹 GalNAc₂-31의 GalNAc₂ 클러스터 부분 (GalNAc₂-31_a)은 올리고뉴클레오타이드 상에 존재하는 임의의 절단가능 모이어티와 조합되어 다양한 콘주게이트 그룹을 제공할 수 있다. 특정 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드의 5'-말단에 직접적으로 인접한 Y-함유 그룹은 절단가능 모이어티의 일부이다. 특정 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드의 5'-말단에 직접적으로 인접한 Y-함유 그룹은 안정한 모이어티의 일부이고 절단가능 모이어티는 올리고뉴클레오타이드 상에 존재한다. "GalNAc₂-31_a"의 구조가 하기에 나타나 있다:



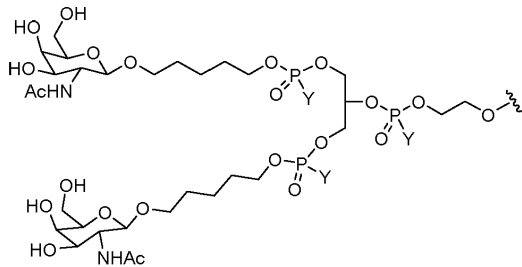
[1910]

[1911] GalNAc₂-32 콘주게이트를 포함하는 올리고뉴클레오타이드의 합성은 아래에서 보여진다.



[1912]

[1913] GalNAc₂-32 콘주게이트 그룹을 포함하는 올리고뉴클레오타이드 252(여기서 Y는 O, S, 치환된 또는 비치환된 C₁-C₁₀ 알킬, 아미노, 치환된 아미노, 아지도, 알케닐 또는 알킬닐로부터 선택됨)는, 상기에 보여진 바와 같이 합성된다. 콘주게이트 그룹 GalNAc₂-32의 GalNAc₂ 클러스터 부분 (GalNAc₂-32_a)은 올리고뉴클레오타이드 상에 존재하는 임의의 절단가능 모이어티와 조합되어 다양한 콘주게이트 그룹을 제공할 수 있다. 특정 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드의 5'-말단에 직접적으로 인접한 Y-함유 그룹은 절단가능 모이어티의 일부이다. 특정 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드의 5'-말단에 직접적으로 인접한 Y-함유 그룹은 안정한 모이어티의 일부이고 절단가능 모이어티는 올리고뉴클레오타이드 상에 존재한다. "GalNAc₂-32_a"의 구조가 하기에 나타나 있다.



[1914]

[1915] 실시예 112: GalNAc₁ 콘주게이트를 포함하는 올리고뉴클레오타이드의 합성

[1916] SRB-1를 표적으로 하는 표 120 중 올리고뉴클레오타이드는 1 개의 GalNAc 리간드를 함유하는 콘주게이트 그룹을 포함하는 올리고뉴클레오타이드의 효능을 추가 시험하기 위해 GalNAc₁ 콘주게이트 그룹으로 합성되었다.

[1917] 표 120

ISIS 번호	서열 (5' 내지 3')	GalNAc 클러스터	CM	서열 번호
711461	GalNAc ₁ -25 _a -Ado G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} T _{es} T _e	GalNAc ₁ -25 _a	A _d	2258
711462	GalNAc ₁ -25 _a -G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} T _{es} T _e	GalNAc ₁ -25 _a	PO	2256
711463	GalNAc ₁ -25 _a -G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} T _{es} T _e	GalNAc ₁ -25 _a	PO	2256
711465	GalNAc ₁ -26 _a -Ado G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} T _{es} T _e	GalNAc ₁ -26 _a	A _d	2258
711466	GalNAc ₁ -26 _a -G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} T _{es} T _e	GalNAc ₁ -26 _a	PO	2256
711467	GalNAc ₁ -26 _a -G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} T _{es} T _e	GalNAc ₁ -26 _a	PO	2256
711468	GalNAc ₁ -28 _a -Ado G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} T _{es} T _e	GalNAc ₁ -28 _a	A _d	2258
711469	GalNAc ₁ -28 _a -G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} T _{es} T _e	GalNAc ₁ -28 _a	PO	2256
711470	GalNAc ₁ -28 _a -G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} T _{es} T _e	GalNAc ₁ -28 _a	PO	2256
713844	G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} GalNAc ₁ -27 _a	GalNAc ₁ -27 _a	PO	2256
713845	G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} GalNAc ₁ -27 _a	GalNAc ₁ -27 _a	PO	2256
713846	G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} Ado GalNAc ₁ -27 _a	GalNAc ₁ -27 _a	A _d	2257
713847	G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} Ado GalNAc ₁ -29 _a	GalNAc ₁ -29 _a	PO	2256

713848	G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} Ado GalNAc ₁ -29 _a	GalNAc ₁ -29 _a	PO	2256
713849	G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} Ado GalNAc ₁ -29 _a	GalNAc ₁ -29 _a	A _d	2257
713850	G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} Ado GalNAc ₁ -29 _a	GalNAc ₁ -29 _a	A _d	2257

[1919]

[1920] 실시예 113: GalNAc 클러스터를 포함하는 칼리크레인 B, 혈장 (플레처(Fletcher) 인자) 1을 표적화하는 안티센스 올리고뉴클레오타이드

[1921] 표 121에서의 올리고뉴클레오타이드를 인간 칼리크레인 B, 혈장 (플레처(Fletcher) 인자) 1 또는 프리칼리크레인

(PKK)를 표적화하도록 설계하였다.

표 121

서열 (5' 내지 3')	서열 번호
GalNAc₃-3-T_{es}G_{es}^mC_{es}A_{es}A_{es}G_{ds}T_{ds}^mC_{ds}T_{ds}^mC_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{ds}G_{ds}^mC_{ds}A_{es}A_{es}A_{es}^mC_{es}A_e	570
GalNAc₃-3-T_{es}G_{eo}^mC_{eo}A_{eo}A_{eo}G_{ds}T_{ds}^mC_{ds}T_{ds}^mC_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{ds}G_{ds}^mC_{ds}A_{eo}A_{eo}A_{es}^mC_{es}A_e	570
GalNAc₃-7-T_{es}G_{es}^mC_{es}A_{es}A_{es}G_{ds}T_{ds}^mC_{ds}T_{ds}^mC_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{ds}G_{ds}^mC_{ds}A_{es}A_{es}A_{es}^mC_{es}A_e	570
GalNAc₃-7-T_{es}G_{eo}^mC_{eo}A_{eo}A_{eo}G_{ds}T_{ds}^mC_{ds}T_{ds}^mC_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{ds}G_{ds}^mC_{ds}A_{eo}A_{eo}A_{es}^mC_{es}A_e	570
GalNAc₃-10-T_{es}G_{es}^mC_{es}A_{es}A_{es}G_{ds}T_{ds}^mC_{ds}T_{ds}^mC_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{ds}G_{ds}^mC_{ds}A_{es}A_{es}A_{es}^mC_{es}A_e	570
GalNAc₃-10-T_{es}G_{eo}^mC_{eo}A_{eo}A_{eo}G_{ds}T_{ds}^mC_{ds}T_{ds}^mC_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{ds}G_{ds}^mC_{ds}A_{eo}A_{eo}A_{es}^mC_{es}A_e	570
GalNAc₃-13-T_{es}G_{es}^mC_{es}A_{es}A_{es}G_{ds}T_{ds}^mC_{ds}T_{ds}^mC_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{ds}G_{ds}^mC_{ds}A_{es}A_{es}A_{es}^mC_{es}A_e	570
GalNAc₃-13-T_{es}G_{eo}^mC_{eo}A_{eo}A_{eo}G_{ds}T_{ds}^mC_{ds}T_{ds}^mC_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{ds}G_{ds}^mC_{ds}A_{eo}A_{eo}A_{es}^mC_{es}A_e	570
T_{es}G_{es}^mC_{es}A_{es}A_{es}G_{ds}T_{ds}^mC_{ds}T_{ds}^mC_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{ds}G_{ds}^mC_{ds}A_{es}A_{es}A_{es}^mC_{es}A_e-GalNAc₃-19	570
T_{es}G_{eo}^mC_{eo}A_{eo}A_{eo}G_{ds}T_{ds}^mC_{ds}T_{ds}^mC_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{ds}G_{ds}^mC_{ds}A_{eo}A_{eo}A_{es}^mC_{es}A_e-GalNAc₃-19	570
GalNAc₃-7_{a-o}-T_{es}G_{es}^mC_{eo}A_{eo}A_{es}G_{ds}T_{ds}^mC_{ds}T_{ds}^mC_{ds}T_{ds}T_{ds}G_{ds}G_{ds}^mC_{ds}A_{eo}A_{eo}A_{es}^mC_{es}A_e	570

실시예 114: 2'-MOE 당 변형을 갖는 안티센스 올리고뉴클레오타이드의 HepaRGTM 세포에서의 인간 PKK 안티센스 억제

안티센스 올리고뉴클레오타이드는 PKK 핵산을 표적화하도록 설계되었으며, 시험관내에서 PKK mRNA에 대한 그들의 효과에 대해서 시험하였다. HepaRGTM 세포 (인간 간 전구 세포주로부터 유래된, 최종 분화된 단 세포이고, 1차 인간 간 세포의 많은 특성을 보유함 (Lubberstedt M. et al., J. Pharmacol. Toxicol. Methods 2011 63: 59-68), 이 스크리닝에 사용되었다.

하기 표에서 키메라 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 5-10-5 MOE 갭머 (gapmer)로서 설계되었다. 상기 갭머는 20개의 뉴클레오타이드 길이이며, 여기서 중심 갭 분절은 10개의 2'-데옥시뉴클레오타이드로 구성되어 있고 각각 5개의 뉴클레오타이드를 포함하는 5' 방향 및 3' 방향 상에 윙 분절의 측면에 있다. 5' 윙 분절 내의 각각의 뉴클레오타이드 및 3' 윙 분절 내의 각각의 뉴클레오타이드는 2'-O-메톡시에틸 변형을 갖는다. 각각의 갭머 전체적인 뉴클레오타이드간 연결은 포스포로티오에이트 연결이다. 각각의 갭머 전체에 걸쳐 모든 시토신 잔기는 5-메틸시토신이다. "개시 부위"는, 갭머가 인간 유전자 서열내에서 표적화된 5'-대부분의 뉴클레오타이드를 나타낸다. "정지 부위"는 인간 유전자 서열 내에서 갭머가 표적으로 하는 3'-모스트 뉴클레오타이드를 나타낸다. 하기 표에 열거된 각각의 갭머는 본원에 개시된 서열 번호: 1과 같이 지정된 인간 PKK mRNA (유전자은행 수탁 번호 NM_000892.3) 또는 서열 번호: 10과 같이 본원에서 지정된 인간 PKK 게놈 서열 (111693001 내지 111730000로부터 절단된 유전자은행 수탁 번호 NT_016354.19)로 표적화된다. 'n/a'는 안티센스 올리고뉴클레오타이드가 특정 유전자 서열을 표적화하지 않는다는 것을 나타낸다.

웰당 20,000 세포의 밀도로 배양된 HepaRGTM 세포를 전기천공을 사용하여 3,000 nM 안티센스 올리고뉴클레오타이드로 형질감염시켰다. 대략 24 시간의 처리 기간 후에, RNA를 세포로부터 분리시키고, PKK mRNA 수준을 정량적 실시간 PCR에 의해서 측정하였다. 인간 프라이머 프로브 세트 RTS3454 (정방향 서열 CCAAAAAGGTGCACCAAGTAACA, 서열 번호: 20으로 본원에서 지정됨; 역방향 서열 CCTCCGGGACTGTACTTTAATAGG, 서열 번호: 21로 본원에서 지정됨; 프로브 서열 CACGCAACATTTCACAAGGCAGAGTACC, 서열 번호: 22로 본원에서 지정됨)를 사용하여 mRNA 수준을 측정하였다. PKK mRNA 수준은 리보그린(RIBOGREEN)®에 의해서 측정되는 바와 같은 총 RNA 함량에 따라 조정되었다. 상기 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 유사한 배양 조건을 갖는 일련의 평행 실험에서 효력을 시험하였다. 각 실험에 대한 결과는 하기 나타난 별개의 표에서 제시된다. 결과는 비처리 대조군 세포에 대비한 PKK의 억제 퍼센트로서 표현된다.

[1928] 표 122

ISIS 번호	서열 번호: 1 개시 부위	서열 번호: 1 정지 부위	서열	억제 %	서열 번호: 10 개시 부위	서열 번호: 10 정지 부위	서열 번호
530929	1	20	AACGGTCTTCAAGCTGTTCT	59	3393	3412	30
530930	6	25	AAATGAACGGTCTTCAAGCT	17	3398	3417	31
530931	11	30	CTTAAAAATGAACGGTCTTC	29	3403	3422	32
530932	16	35	TGTCACCTAAAAATGAACGG	52	3408	3427	33
530933	31	50	TGGAGGTGAGTCTCTTGTC	76	3423	3442	34
530934	36	55	CTTCTTGGAGGTGAGTCTCT	54	3428	3447	35
530935	68	87	GCTTGAATAAAATCATTCTG	0	n/a	n/a	36
530936	73	92	TGCTTGCTTGAATAAAATCA	27	4072	4091	37
530937	78	97	TAAGTTGCTTGCTTGAATAA	0	4077	4096	38
530938	88	107	GGAAATGAAATAAGTTGCTT	11	4087	4106	39
530939	93	112	AACAAGGAAATGAAATAAGT	0	4092	4111	40
530940	98	117	TAGCAAAACAAGGAAATGAAA	7	4097	4116	41
530941	103	122	AACTGTAGCAAAACAAGGAAA	22	4102	4121	42
530942	108	127	CAGGAAACTGTAGCAAAACAA	22	4107	4126	43
530943	113	132	ATCCACAGGAACTGTAGCA	56	n/a	n/a	44
530944	118	137	CAGACATCCACAGGAACTG	0	n/a	n/a	45
530945	157	176	ATCCCCACCTCTGAAGAAGG	0	8029	8048	46
530946	160	179	TACATCCCCACCTCTGAAGA	0	8032	8051	47
530947	165	184	GAAGCTACATCCCCACCTCT	27	8037	8056	48
530948	170	189	ACATGGAAGCTACATCCCCA	35	8042	8061	49
530949	175	194	GGTGTACATGGAAGCTACAT	31	8047	8066	50
530950	221	240	ACCTTGGGTGGAATGTGCAC	47	8093	8112	51

[1929]

530951	226	245	CAAACACCTTGGGTGGAATG	49	8098	8117	52
530952	234	253	CTGAATAGCAAACACCTTGG	38	8106	8125	53
530953	239	258	GAAAACTGAATAGCAAACAC	7	8111	8130	54
530954	244	263	TGGAAGAAAACTGAATAGCA	47	8116	8135	55
530955	278	297	CAAACCTTTTCTCCATGTCA	55	n/a	n/a	56
530956	300	319	ACACTATCTTTCAAGAAGCA	57	9834	9853	57
530957	386	405	GGCAAGCACTTATTGATGA	56	n/a	n/a	58
530958	432	451	TTAAAATTGACTCCTCTCAT	60	12688	12707	59
530959	456	475	TCAACACTGCTAACCTTAGA	60	12712	12731	60
530960	461	480	ATTCTTCAACACTGCTAACC	58	12717	12736	61
530961	466	485	TGGCATTCTTCAACACTGC	88	12722	12741	62
530962	472	491	CCTTTTTTGGCATTCTTCAA	64	12728	12747	63
530963	479	498	TGGTGCACCTTTTTTGGCAT	78	12735	12754	64
530964	628	647	CTTCAGTGAGAATCCAGATT	44	14199	14218	65
530965	637	656	GGCACAGGGCTTCAGTGAGA	73	14208	14227	66
530966	649	668	AATTTCTGAAAGGGCACAGG	58	14220	14239	67
530967	654	673	CAACCAATTTCTGAAAGGGC	69	n/a	n/a	68
530968	680	699	CAAGATGCTGGAAGATGTTT	18	26128	26147	69
530969	846	865	GTGCCACTTTCAGATGTTTT	0	27110	27129	70
530970	851	870	TTGGTGTGCCACTTTCAGAT	74	27115	27134	71
530971	856	875	GGAACCTTGGTGTGCCACTTT	85	27120	27139	72
530972	861	880	GTAGAGGAACTTGGTGTGCC	42	27125	27144	73
530973	866	885	GAGGAGTAGAGGAACTTGGT	52	27130	27149	74
530974	871	890	TTCTTGAGGAGTAGAGGAAC	18	27135	27154	75
530975	876	895	GTGTTTTCTTGAGGAGTAGA	41	27140	27159	76
530976	881	900	ATATGGTGTCTTCTTGAGGA	26	27145	27164	77
530977	886	905	TCCAGATATGGTGTCTTCTT	55	27150	27169	78
530978	891	910	CTATATCCAGATATGGTGTT	0	27155	27174	79
530979	901	920	GGTTAAAAGGCTATATCCAG	35	27165	27184	80
530980	906	925	TTGCAGGTTAAAAGGCTATA	29	27170	27189	81
530981	911	930	TTCTTTTGCAGGTTAAAAGG	0	27175	27194	82
530982	916	935	TAAAGTTCTTTTGCAGGTTA	0	27180	27199	83
530983	931	950	ATGGCAGGGTTCAGGTAAG	9	n/a	n/a	84
530984	936	955	TTAGAATGGCAGGGTTCAGG	25	n/a	n/a	85
530985	941	960	AAATTTTAGAATGGCAGGGT	32	27363	27382	86
530986	946	965	CGGGTAAATTTTAGAATGGC	62	27368	27387	87
530987	951	970	ACTCCCGGGTAAATTTTAGA	0	27373	27392	88
530988	961	980	TCCAAAGTCAACTCCCGGGT	76	27383	27402	89
530989	966	985	TCTCTCCAAAGTCAACTCC	28	27388	27407	90
530990	971	990	ATTCTTCTCCTCCAAAGTCA	32	27393	27412	91
530991	976	995	ATTCAATTCTTCTCCTCCAA	43	27398	27417	92
530992	981	1000	GTCACATTCAATTCTTCTCC	70	27403	27422	93
530993	1005	1024	CAAACATTCACCTCTTTAAC	30	27427	27446	94

[1930]

530994	1010	1029	CTTGGCAAACATTCACCTCT	50	27432	27451	95
530995	1015	1034	AGTCTCTTGGCAAACATTCA	49	27437	27456	96
530996	1038	1057	TGACAGCGAATCATCTTTGT	51	27460	27479	97
530997	1043	1062	AAAACCTGACAGCGAATCATC	39	27465	27484	98
530998	1048	1067	AGTGAAAACTGACAGCGAA	0	27470	27489	99
530999	1071	1090	CAGTCTTCTGGGAGTAAAGA	31	27493	27512	100
531000	1098	1117	AAGAAACACTTACACTTCTC	1	n/a	n/a	101
531001	1108	1127	AGATAATCTTAAGAAACACT	44	27629	27648	102
531002	1155	1174	GAGCTCCCTTGTGTCCATA	85	27676	27695	103
531003	1160	1179	AACCAGAGCTCCCTTGTGTC	49	27681	27700	104
531004	1165	1184	AGAGTAACCAGAGCTCCCTT	76	27686	27705	105
531005	1170	1189	CTCAAAGAGTAACCAGAGCT	76	27691	27710	106
531006	1216	1235	GCTTGTTTTGTGTGCAGA	49	27892	27911	107

[1931]

[1932]

표 123

ISIS 번호	서열 번호: 1 개시 부위	서열 번호: 1 정지 부위	서열	역제 %	서열 번호: 10 개시 부위	서열 번호: 10 정지 부위	서열 번호
482586	1608	1627	ACCCAACAGTTGGTATAAAT	0	31914	31933	108
486847	1563	1582	AGGCATATTGGITTTTGGA	78	31869	31888	109
531007	46	65	AACACAATTGCTTCTTGAG	51	3438	3457	110
531008	675	694	TGCTGGAAGATGTTTCATGTG	51	26123	26142	111
531009	1239	1258	TTTGTTCCTCCAACAATGCG	65	27915	27934	112
531010	1244	1263	AAGAGTTGTTCCTCCAACA	52	27920	27939	113
531011	1249	1268	CCAAGAAGAGTTTGTTCCTC	0	27925	27944	114
531012	1254	1273	TCTCCCAAGAAGAGTTTGT	48	27930	27949	115
531013	1264	1283	CCAGGGCACTCTCCCAAG	56	27940	27959	116
531014	1287	1306	AGCTTCACCTGCAGGCTCAC	0	27963	27982	117
531015	1324	1343	TATGAGTGACCCTCCACACA	52	28000	28019	118
531016	1329	1348	TGTCCTATGAGTGACCCTCC	39	28005	28024	119
531017	1334	1353	ACTGGTGTCTATGAGTGAC	31	28010	28029	120
531018	1339	1358	GACCCACTGGTGTCTATGA	54	28015	28034	121
531019	1344	1363	GTGAGGACCCACTGGTGTCC	28	28020	28039	122
531020	1369	1388	AAGCCCATCAAAGCAGTGCG	0	n/a	n/a	123
531021	1420	1439	GTCTGACAGATTAAAATGC	50	30498	30517	124
531022	1425	1444	GTAATGTCTGACAGATTTAA	74	30503	30522	125
531023	1430	1449	CTTTTGTAAATGTCTGACAGA	71	30508	30527	126
531024	1452	1471	TTTATTTGTGAGAAAGGTGT	69	30530	30549	127
531025	1457	1476	TCTCTTTATTTGTGAGAAA	34	30535	30554	128
531026	1501	1520	ATCATGATTCCCTTCTGAGA	73	30579	30598	129
531027	1530	1549	AAAGGAGCCTGGAGTTTAT	0	30608	30627	130

[1933]

531028	1535	1554	AATTCAAAGGAGCCTGGAGT	56	30613	30632	131
531029	1540	1559	AGTGTAAATTCAAAGGAGCCT	59	30618	30637	132
531030	1545	1564	AATTCAGTGTAAATTCAAAGG	24	n/a	n/a	133
531031	1550	1569	TTTGGAATTCAGTGTAAATTC	59	n/a	n/a	134
531032	1555	1574	TGGTTTTTGGAAATTCAGTGT	67	n/a	n/a	135
531033	1557	1576	ATTGGTTTTTGGAAATTCAGT	53	n/a	n/a	136
531034	1560	1579	CATATTGGTTTTTGGAAATTC	36	31866	31885	137
531035	1565	1584	GTAGGCATATTGGTTTTTGG	46	31871	31890	138
531036	1581	1600	GTGTCACCTTTGGAAGGTAG	71	31887	31906	139
531037	1604	1623	AACAGTTGGTATAAATTGTG	35	31910	31929	140
531038	1605	1624	CAACAGTTGGTATAAATTGT	22	31911	31930	141
531039	1609	1628	TACCAACAGTTGGTATAAA	36	31915	31934	142
531040	1632	1651	TCCTTCGAGAAGCCCCATCC	27	31938	31957	143
531041	1677	1696	AAAGGAATATTTACCTTTTG	68	33121	33140	144
531042	1682	1701	TTACCAAAGGAATATTTACC	11	33126	33145	145
531043	1687	1706	ATTTGTTACCAAAGGAATAT	27	33131	33150	146
531044	1697	1716	GGCATTCTTCATTGTTACC	68	33141	33160	147
531045	1702	1721	TTTCTGGCATTCTTCATTG	37	33146	33165	148
531046	1709	1728	GATATCTTTTCTGGCATTCT	54	33153	33172	149
531047	1714	1733	ATCTTGATATCTTTTCTGGC	68	33158	33177	150
531048	1719	1738	TTATAATCTTGATATCTTTT	42	33163	33182	151
531049	1724	1743	TTATTTTATAATCTTGATAT	2	33168	33187	152
531050	1729	1748	TTGGGTTATTTTATAATCTT	18	33173	33192	153
531051	1734	1753	ATCCGTTGGGTTATTTTATA	51	33178	33197	154
531052	1739	1758	AGACCATCCGTTGGGTTATT	60	33183	33202	155
531053	1744	1763	AGCACAGACCATCCGTTGGG	49	33188	33207	156
531054	1754	1773	CTTTATAGCCAGCACAGACC	48	33198	33217	157
531055	1759	1778	CCCTTCTTTATAGCCAGCAC	68	33203	33222	158
531056	1764	1783	TTTCCCCCTTCTTTATAGCC	45	33208	33227	159
531057	1769	1788	CATCTTTTCCCCCTTCTTTA	48	33213	33232	160
531058	1779	1798	CCCTTACAAGCATCTTTTCC	60	n/a	n/a	161
531059	1820	1839	ACATTCCATTGTGTTTGCAA	55	33919	33938	162
531060	1841	1860	TGGTGATGCCACCAAACGC	35	33940	33959	163
531061	1872	1891	TGCTCCCTGCGGGCACAGCC	52	33971	33990	164
531062	1877	1896	CAGGTTGCTCCCTGCGGGCA	39	33976	33995	165
531063	1882	1901	GACACCAGGTTGCTCCCTGC	51	33981	34000	166
531064	1887	1906	GTGTAGACACCAGGTTGCTC	56	33986	34005	167
531065	1892	1911	CTTTGGTGTAGACACCAGGT	57	33991	34010	168
531066	1897	1916	AGCGACTTTGGTGTAGACAC	67	33996	34015	169
531067	1902	1921	TACTCAGCGACTTTGGTGTA	31	34001	34020	170
531068	1907	1926	CCATGTACTCAGCGACTTTG	59	34006	34025	171
531069	1912	1931	CCAGTCCATGTACTCAGCGA	56	34011	34030	172
531070	1930	1949	CTGTGTTTTCTCTAAAATCC	68	34029	34048	173

[1934]

531071	1935	1954	CTGCTCTGTGTTTTCTCTAA	73	34034	34053	174
531072	2026	2045	GCTCAGAATTTGACTTGAAC	64	34125	34144	175
531073	2031	2050	CCCAGGCTCAGAATTTGACT	51	34130	34149	176
531074	2049	2068	CTTTGCAGATGAGGACCCCC	67	34148	34167	177
531075	2054	2073	CCATGCTTTGCAGATGAGGA	64	34153	34172	178
531076	2059	2078	ACTCTCCATGCTTTGCAGAT	68	34158	34177	179
531077	2064	2083	ATGCCACTCTCCATGCTTTG	51	34163	34182	180
531078	2111	2130	AGCAGCTCTGAGTGCAGTGT	77	34210	34229	181
531079	2116	2135	TCCTCAGCAGCTCTGAGTGC	58	34215	34234	182
531080	2121	2140	CATTGTCCTCAGCAGCTCTG	55	34220	34239	183
531081	n/a	n/a	TGGTTTTTGGAAATTCGAAA	14	31861	31880	184
531082	n/a	n/a	ATATTGGTTTTTGGAAATCT	31	31865	31884	185

[1935]

[1936] 표 124

ISIS 번호	서열 번호: 1 개시 부위	서열 번호: 1 정지 부위	서열	억제 %	서열 번호: 10 개시 부위	서열 번호: 10 정지 부위	서열 번호
531083	n/a	n/a	TGTA CTAGTTTCCTATAACT	60	14738	14757	186
					14809	14828	
					14880	14899	
					14939	14958	
					15071	15090	
					15214	15233	
					15286	15305	
					15345	15364	
					15477	15496	
					15549	15568	
					15607	15626	
					15679	15698	
					15809	15828	
					15881	15900	
					15939	15958	
531084	n/a	n/a	ATAGGGACACAACCAAGGAA	25	16296	16315	187
531085	n/a	n/a	AGGCACAGAGCCAGCACCCA	9	16495	16514	188
531086	n/a	n/a	CCTGCCTCCTGGCAGCCTTC	48	16696	16715	189
531087	n/a	n/a	CCAGGTGTGGACAGCAGCTG	52	16821	16840	190
531088	n/a	n/a	GGTTTGTGTTGTAAAATTAG	27	17159	17178	191
531089	n/a	n/a	AAAACACCATTAATCCATT	45	17306	17325	192
531090	n/a	n/a	ACAGAAACCATGATGTTGCT	59	17644	17663	193
531091	n/a	n/a	TCAGCCCAATGTCCTAACCT	35	17793	17812	194
531092	n/a	n/a	CCTTCACTGACTCTCTTTTC	24	17922	17941	195

[1937]

531093	n/a	n/a	TTCTCCTGGCTCAGAAGCTC	60	18053 23315	18072 23334	196
531094	n/a	n/a	GAATGTCAGGCCTCTGGGCC	48	18181	18200	197
531095	n/a	n/a	CTAACAACCCACAATATCA	20	18390	18409	198
531096	n/a	n/a	CCCAATTCTTAGTCCTTAA	45	18523	18542	199
531097	n/a	n/a	ACCAAGCTCAGCCTCCAAC	41	18648	18667	200
531098	n/a	n/a	TTATTAGTCAAATCACCCAA	19	18773	18792	201
531099	n/a	n/a	TGGATGGGTAGAGGCCTTTC	64	18898	18917	202
531100	n/a	n/a	CCCCCTCCCTTCCCTACACA	0	19023	19042	203
531101	n/a	n/a	ATGTAAGTTACAAGCCACTA	37	19153	19172	204
531102	n/a	n/a	TGCCTCTTTAATAAAAACTC	42	19484	19503	205
531103	n/a	n/a	ACTCATTGCCTTAACTCAGG	40	19636	19655	206
531104	n/a	n/a	ACTTGACCTTACTGTTTAG	20	19886	19905	207
531105	n/a	n/a	CTCCTCCCCAGGCTGCTCCT	16	22092	22111	208
531106	n/a	n/a	AAGATCTAGATAATTCTTGT	31	22332	22351	209
531107	n/a	n/a	TCAACTCACACCTGACCTAA	30	22457	22476	210
531108	n/a	n/a	TGAACCCAAAACCTCTGGCAC	50	22771	22790	211
531109	n/a	n/a	AGCCCAAGGAACATCTCACC	52	22959	22978	212
531110	n/a	n/a	GCCTGTTTGGTGGTCTCTTC	86	23110	23129	213
531111	n/a	n/a	CTTCTCCTGGCTCAGAAGCT	68	18054 23316	18073 23335	214
531112	n/a	n/a	ATGTATGATTCTAAGAACTT	14	23479	23498	215
531113	n/a	n/a	AACAGACACATTATTTATAT	0	23604	23623	216
531114	n/a	n/a	AGAGTCAAGTCCACAGACAT	40	24246	24265	217
531115	n/a	n/a	TCCTAAATAGGAACAAAGTA	0	24372	24391	218
531116	n/a	n/a	TTGTTAAGGTTGTAGAGAGA	23	24688	24707	219
531117	n/a	n/a	ACCCAATTATTTTAAATGGC	62	24876	24895	220
531118	n/a	n/a	GCCTAAATGTAAGAGCTAAA	26	25157	25176	221
531119	n/a	n/a	TAAACTCTTACATTTATAGA	0	25293	25312	222
531120	n/a	n/a	AAATAAAAGCACTCAGACTG	0	25418	25437	223
531121	n/a	n/a	TTGGTCTACAGATTCAATGC	72	25550	25569	224
531122	n/a	n/a	TAACAAAAATGCCTTGTGCC	33	25710	25729	225
531123	n/a	n/a	TCCCAGCTCCAGTCACCACC	74	25866	25885	226
531124	n/a	n/a	GTAATAACATCCTAAGTGA	2	25992	26011	227
531125	n/a	n/a	ACTCGCCTTTGTGACTCGAT	23	26264	26283	228
531126	n/a	n/a	TTTTGAATCTTCATTCAAAG	0	26551	26570	229
531127	n/a	n/a	CAGAGCCTTGATCAGAATAA	12	26676	26695	230
531128	n/a	n/a	AAGTTCCACCTTCTAACTGG	18	26831	26850	231
531129	n/a	n/a	AGCAGCTCACACCCAAAAAG	0	27005	27024	232
531130	n/a	n/a	TTCTGTGTCAATTATAAACA	0	27344	27363	233
531131	n/a	n/a	TAGAAAGAGTAAGCCTTCAC	0	27587	27606	234
531132	n/a	n/a	AGTGAGGTTACTCACCAGAG	0	27732	27751	235
531133	n/a	n/a	TTTTGTTGTGCAGACTGAAA	19	27886	27905	236

[1938]

531134	n/a	n/a	TTACCCATCAAAGCAGTGGG	6	28045	28064	237
531135	n/a	n/a	AATGTTGTGAATACCATCCC	16	28174	28193	238
531136	n/a	n/a	TAACATTTCTATGGGCCTGA	6	28670	28689	239
531137	n/a	n/a	TGTCTACTATTTGACCAATA	19	28795	28814	240
531138	n/a	n/a	TTTAAATGTGTCACTTAATC	0	28987	29006	241
531139	n/a	n/a	TCACTAAACAAAAATACTT	0	29156	29175	242
531140	n/a	n/a	TCTTCCAGGCCAACACCTT	22	29321	29340	243
531141	n/a	n/a	TGCAAGGCATGTGTGCACAA	47	29532	29551	244
531142	n/a	n/a	TGTTTAAAAATCTCTATAC	8	30008	30027	245
531143	n/a	n/a	CATGGAAAAATTAAGCTCAT	0	30133	30152	246
531144	n/a	n/a	TGAAGATTCTATTTAACAAA	0	30266	30285	247
531145	n/a	n/a	GCCTAGGAGAGAAAAATAAA	0	30445	30464	248
531146	n/a	n/a	CCAGTGTAATTCAAAGGAGC	40	30620	30639	249
531147	n/a	n/a	CCATTATTTCCATCACCTGC	18	30871	30890	250
531148	n/a	n/a	TACCCAAATTATACCTGGAA	8	31015	31034	251
531149	n/a	n/a	AGAGGTAAAGCAACTTGCCC	45	31429	31448	252
531150	n/a	n/a	TCCTTAATAGTCATAGCAGG	48	31558	31577	253
531151	n/a	n/a	TCACCACCATTTTTCACATG	44	31683	31702	254
531152	n/a	n/a	GTTATGGATATAGACTTTAA	0	31808	31827	255
531153	n/a	n/a	CTAGAAGCAATATTTAAAGC	0	31974	31993	256
531154	n/a	n/a	ATGAAGTAAGATGCTTAAAA	16	32162	32181	257
531155	n/a	n/a	CTTCTTGTCTCAGATTACCA	79	32464	32483	258
531156	n/a	n/a	TCTGAAAAGCCCTCCGAGCT	0	32589	32608	259
531157	n/a	n/a	AAGTGAATCAGAGCAGTGTA	46	32961	32980	260
531158	n/a	n/a	ACCTTACAAGCATCTTTTCC	41	33223	33242	261
531159	n/a	n/a	ATTTTGTTAAAAGTTGCTTAT	0	33368	33387	262
531160	n/a	n/a	TGATATCATCATCCAATGA	13	33510	33529	263

[1939]

[1940]

표 125

ISIS 번호	서열 번호: 1 개시 부위	서열 번호: 1 정지 부위	서열	억제 %	서열 번호: 10 개시 부위	서열 번호: 10 정지 부위	서열 번호
531083	n/a	n/a	TGTA TAGTTTCCTATAACT	68	14738	14757	264
					14809	14828	
					14880	14899	
					14939	14958	
					15071	15090	
					15214	15233	
					15286	15305	
					15345	15364	
					15477	15496	

[1941]

					15549	15568	
					15607	15626	
					15679	15698	
					15809	15828	
					15881	15900	
					15939	15958	
531161	n/a	n/a	CAGACACCTTCTTCACAAGG	40	898	917	264
531162	n/a	n/a	AATTTCCCAGATGTATTAGT	43	1054	1073	265
531163	n/a	n/a	TCAGCAGAAATCATGTAGGC	60	1181	1200	266
531164	n/a	n/a	TTAAATATAAAGAGATCCTC	38	1609	1628	267
531165	n/a	n/a	GTAATAAAAGGAATGATAAA	0	1825	1844	268
531166	n/a	n/a	AGACAGTAAACAAAATCAGG	12	2046	2065	269
531167	n/a	n/a	CAAGAAACCACCAAAGGAAG	37	2176	2195	270
531168	n/a	n/a	ACCCCAACAGACAGCCCACC	55	2314	2333	271
531169	n/a	n/a	TGGGCTCACCCAGTGGACC	54	2580	2599	272
531170	n/a	n/a	GCCTGGCCCCCAAGACTCTA	54	2743	2762	273
531171	n/a	n/a	AGGCTGCCACAGGCCAGAC	40	2873	2892	274
531172	n/a	n/a	TTCAAGCCTGGGCAGCACAG	71	3004	3023	275
531173	n/a	n/a	AAAATAACTTCACTAGAGCT	22	3131	3150	276
531174	n/a	n/a	TGTTAAGTATATTAACCTATT	10	3256	3275	277
531175	n/a	n/a	TACTCAGGAAATTAGAATAT	25	3550	3569	278
531176	n/a	n/a	TTATGAAACCTCTTGATTG	0	3753	3772	279
531177	n/a	n/a	TTCTTGTAATGTCTGAATT	61	3971	3990	280
531178	n/a	n/a	ACCACAGGAAACTGTAGCAA	72	4111	4130	281
531179	n/a	n/a	GATTGGACCCAGACACTATA	57	4506	4525	282
531180	n/a	n/a	CCTCTTAAGTCACCATAGAC	45	4785	4804	283
531181	n/a	n/a	GGTTGAGGGACAGACACAGG	36	4940	4959	284
531182	n/a	n/a	ATAATCATGATTATTTTGC	34	5099	5118	285
531183	n/a	n/a	CATAAGAATGTGCACACAAA	39	5382	5401	286
531184	n/a	n/a	ACTCTTATTAGCTGGTAGAA	74	5538	5557	287
531185	n/a	n/a	GGACCAAAACTGAGAGGCAG	63	5663	5682	288
531186	n/a	n/a	CCATTACTCTCAAGCTCCAC	75	5890	5909	289
531187	n/a	n/a	ATCTATTGGTTCAGGAGCCA	72	6015	6034	290
531188	n/a	n/a	GTTAAAACAACCTAGAAGCCA	67	6146	6165	291
531189	n/a	n/a	AGGTGTTCTTGCTTATCCTC	63	6484	6503	292
531190	n/a	n/a	GCAGTCACTCTCTTCCAGC	59	6659	6678	293
531191	n/a	n/a	AAGTGTATTGCCTAGATTTC	37	6784	6803	294
531192	n/a	n/a	GAGTGCCATCTTCTCTGCAC	61	6968	6987	295
531193	n/a	n/a	TTATTCCCAGCTCTAAAATA	23	7274	7293	296
531194	n/a	n/a	CTCACAATTCTGTAAGGGAA	64	7596	7615	297
531195	n/a	n/a	ATAAAATATATTAAGGCAAC	61	7846	7865	298
531196	n/a	n/a	TTGAGTCAGACATCCTGTGA	38	7996	8015	299
531197	n/a	n/a	TACCTTTTCTCCATGTCATT	42	8148	8167	300

[1942]

531198	n/a	n/a	GGGATTTTGCTGAAGCTGGT	73	8273	8292	301
531199	n/a	n/a	CTTTGAATAGAAAATGACTA	1	8415	8434	302
531200	n/a	n/a	CAAAATCACAAAGTTCTAGAT	51	8617	8636	303
531201	n/a	n/a	TTTCCAATACTTTTACAAAT	52	8760	8779	304
531202	n/a	n/a	ATTAATAAGCATCTCTCTGA	31	9109	9128	305
531203	n/a	n/a	TGACTATCCAAATTTCTAGTT	67	9253	9272	306
531204	n/a	n/a	CTTGTAAGTCTGCACTTAATG	60	9418	9437	307
531205	n/a	n/a	ACATTTTTTAAGTACAGGAA	0	9602	9621	308
531206	n/a	n/a	GAAATGTCTAGCATTTTCTA	28	9755	9774	309
531207	n/a	n/a	CCACTTATTGATGACCACA	64	9915	9934	310
531208	n/a	n/a	TCCAGAATACTGCCCCATCT	23	10050	10069	311
531209	n/a	n/a	TGGATTCATTTTCTGCAAAT	81	10175	10194	312
531210	n/a	n/a	AGACATTGTCAAATGTCCCC	60	10322	10341	313
531211	n/a	n/a	TTGATGTCAGCACTGTTGAC	77	10480	10499	314
531212	n/a	n/a	ACATCAGTAGCTTCAGATGT	56	10618	10637	315
531213	n/a	n/a	CAAAATTAATTGTGCATAAT	13	10820	10839	316
531214	n/a	n/a	TTTTTCTTTAAATTTTGCTA	37	11120	11139	317
531215	n/a	n/a	TAGAGATTTTATGTACTTGG	63	11245	11264	318
531216	n/a	n/a	AAACACAGGAATTTGCAGAC	33	11408	11427	319
531217	n/a	n/a	GTGGAATAAACCATATCTA	47	11579	11598	320
531218	n/a	n/a	GATAATTCTTTTCACAGACA	72	12028	12047	321
531219	n/a	n/a	CTTCTCTATCTCCCAGTGTT	61	12227	12246	322
531220	n/a	n/a	CAATACAGGTAAATTTACAG	56	12374	12393	323
531221	n/a	n/a	AAGGGATTTAAAATTTTAT	0	12507	12526	324
531222	n/a	n/a	GGCAAGCTGTACAAGAAAAA	19	12642	12661	325
531223	n/a	n/a	TGTACTCACCGGTACTCTGC	58	12805	12824	326
531224	n/a	n/a	AAGAGAATGCTCAGAAATGG	25	13435	13454	327
531225	n/a	n/a	ACACTTGTACCCCATACATC	45	13560	13579	328
531226	n/a	n/a	GACAGTAGAGACTGGGAAGG	12	13708	13727	329
531227	n/a	n/a	TACCAATTTCTGAAAGGGCA	72	14224	14243	330
531228	n/a	n/a	CAGAGTAAACTCCCCATCTC	33	14387	14406	331
531229	n/a	n/a	CTTCAAAGCCAGCAGTGTA	69	14514	14533	332
531230	n/a	n/a	CTTACTGGGCTAAAATCAAG	46	14639	14658	333
531231	n/a	n/a	TATCACTGTACTAGTTTCCT	94	14744	14763	334
					14815	14834	
					14886	14905	
					14945	14964	
					15005	15024	
					15077	15096	
					15220	15239	
					15292	15311	
					15351	15370	
					15411	15430	

[1943]

					15483	15502	
					15555	15574	
					15613	15632	
					15685	15704	
					15815	15834	
					15887	15906	
					15945	15964	
531232	n/a	n/a	CTGTACTAGTTTCCTATAAC	85	14739	14758	335
					14810	14829	
					14881	14900	
					14940	14959	
					15000	15019	
					15072	15091	
					15215	15234	
					15287	15306	
					15346	15365	
					15406	15425	
					15478	15497	
					15550	15569	
					15608	15627	
					15680	15699	
					15810	15829	
531233	n/a	n/a	ACTGTACTAGTTTCCTATAA	86	15882	15901	336
					15940	15959	
					14740	14759	
					14811	14830	
					14882	14901	
					14941	14960	
					15001	15020	
					15073	15092	
					15216	15235	
					15288	15307	
					15347	15366	
					15407	15426	
					15479	15498	
					15551	15570	
					15609	15628	
531234	n/a	n/a	CACTGTACTAGTTTCCTATA	86	15681	15700	337
					15811	15830	
					15883	15902	
					15941	15960	
					14741	14760	
					14812	14831	

[1944]

					14883	14902	
					14942	14961	
					15002	15021	
					15074	15093	
					15217	15236	
					15289	15308	
					15348	15367	
					15408	15427	
					15480	15499	
					15552	15571	
					15610	15629	
					15682	15701	
					15812	15831	
					15884	15903	
					15942	15961	
531235	n/a	n/a	TCACTGTACTAGTTTCCTAT	86	14742	14761	338
					14813	14832	
					14884	14903	
					14943	14962	
					15003	15022	
					15075	15094	
					15218	15237	
					15290	15309	
					15349	15368	
					15409	15428	
					15481	15500	
					15553	15572	
					15611	15630	
					15683	15702	
					15813	15832	
531236	n/a	n/a	ATCACTGTACTAGTTTCCTA	87	14743	14762	339
					14814	14833	
					14885	14904	
					14944	14963	
					15004	15023	
					15076	15095	
					15219	15238	
					15291	15310	
					15350	15369	
					15410	15429	
					15482	15501	

					15554	15573	
					15612	15631	
					15684	15703	
					15814	15833	
					15886	15905	
					15944	15963	
531237	n/a	n/a	GTGGAATGTCATGGCAATTT	56	16399	16418	340

실시예 115: 2'-MOE 당 변형을 갖는 안티센스 올리고뉴클레오타이드로의 HepaRG™ 세포에서의 인간 PKK 안티센스 억제

추가적인 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 PKK 핵산을 표적화하도록 설계되었으며, *시험관내*에서 PKK mRNA에 대한 그들의 효과에 대해서 시험하였다.

하기 표에서 새롭게 설계된 키메라 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 5-10-5 MOE 갭머, 4-9-4 MOE 갭머, 4-10-4 MOE 갭머, 4-10-3 MOE 갭머, 3-10-4 MOE 갭머, 또는 3-10-3 MOE 갭머로서 설계되었다. 5-10-5 MOE 갭머는, 길이가 20개 뉴클레오타이드이고, 여기서 중심 갭 분절은 10개의 2' 테옥시뉴클레오타이드를 포함하며 각각 5개의 뉴클레오타이드를 포함하는 5' 방향 및 3' 방향에서 윙 분절에 의해 플랭킹되어 있다. 4-9-4 MOE 갭머는 길이가 17개의 뉴클레오타이드이고, 여기서 중앙 갭 분절은 9개의 2'-테옥시뉴클레오타이드를 포함하고, 각각 4개의 뉴클레오타이드를 포함하는 5' 방향 및 3' 방향 상에서의 윙 분절에 의하여 플랭킹된다. 4-10-4 MOE 갭머는 길이가 18개의 뉴클레오타이드이고, 여기서 중앙 갭 분절은 10개의 2'-테옥시뉴클레오타이드를 포함하고, 각각 4개의 뉴클레오타이드

를 포함하는 5' 방향 및 3' 방향 상에서의 링 분절에 의하여 플랭킹된다. 4-10-3 MOE 캡머는 길이가 17개의 뉴클레오타이드이고, 여기서 중앙 캡 분절은 10개의 2'-데옥시뉴클레오타이드를 포함하고, 각각 4개 및 3개의 뉴클레오타이드를 포함하는 5' 방향 및 3' 방향 상에서의 링 분절에 의하여 플랭킹된다. 3-10-4 MOE 캡머는, 길이가 17개의 뉴클레오타이드이고, 여기서 중심 캡 분절은 10개의 2' 데옥시뉴클레오타이드를 포함하고 각각 3개 및 4개의 뉴클레오타이드를 포함하는 5' 방향 및 3' 방향에서 링 분절에 의해 플랭킹되어 있다. 3-10-3 MOE 캡머는 길이가 16개의 뉴클레오타이드이고, 여기서 중앙 캡 분절은 10개의 2'-데옥시뉴클레오타이드를 포함하고, 각각 3개의 뉴클레오타이드를 포함하는 5' 방향 및 3' 방향 상에서의 링 분절에 의하여 플랭킹된다. 5' 링 분절 내의 각각의 뉴클레오타이드 및 3' 링 분절 내의 각각의 뉴클레오타이드는 2'-O-메톡시에틸 변형을 갖는다. 각각의 캡머 전체적인 뉴클레오타이드간 연결은 포스포로티오에이트 연결이다. 각각의 캡머 전체에 걸쳐 모든 시토신 잔기는 5-메틸시토신이다. "개시 부위"는, 캡머가 인간 유전자 서열내에서 표적화된 5'-대부분의 뉴클레오타이드를 나타낸다. "정지 부위"는 인간 유전자 서열 내에서 캡머가 표적으로 하는 3'-모스트 뉴클레오타이드를 나타낸다. 하기 표에 열거된 각각의 캡머는 본원에 개시된 서열 번호: 1 또는 서열 번호: 10에 표적화된다. 'n/a'는 안티센스 올리고뉴클레오타이드가 특정 유전자 서열을 표적화하지 않는다는 것을 나타낸다.

[1950] 웰당 20,000 세포의 밀도로 배양된 HepaRG™ 세포를 전기천공을 사용하여 5,000 nM 안티센스 올리고뉴클레오타이드로 형질감염시켰다. 대략 24 시간의 처리 기간 후에, RNA를 세포로부터 분리시키고, PKK mRNA 수준을 정량적 실시간 PCR에 의해서 측정하였다. 인간 프라이머 프로브 세트 RTS3454를 사용하여 mRNA 수준을 측정하였다. PKK mRNA 수준은 리보그린(RIBOGREEN)[®]에 의해서 측정되는 바와 같은 총 RNA 함량에 따라 조정되었다. 상기 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 유사한 배양 조건을 갖는 일련의 평행 실험에서 효력을 시험하였다. 각 실험에 대한 결과는 하기 나타난 별개의 표에서 제시된다. 결과는 비처리 대조군 세포에 대비한 PKK의 억제 퍼센트로서 표현된다.

[1951] 표 126

ISIS 번호	서열 번호: 1 개시 부위	서열 번호: 1 정지 부위	서열	모티프	억제 %	서열 번호: 10 개시 부위	서열 번호: 10 정지 부위	서열 번호
531231	n/a	n/a	TATCACTGTACTAGTTTCCT	5-10-5	98	14744	14763	334
						14815	14834	
						14886	14905	
						14945	14964	
						15005	15024	
						15077	15096	
						15220	15239	
						15292	15311	
						15351	15370	
						15411	15430	
						15483	15502	
						15555	15574	
						15613	15632	
						15685	15704	
						15815	15834	
						15887	15906	
						15945	15964	
546131	4	23	ATGAACGGTCTTCAAGCTGT	5-10-5	75	3396	3415	341
547269	5	24	AATGAACGGTCTTCAAGCTG	5-10-5	56	3397	3416	342
547270	7	26	AAAATGAACGGTCTTCAAGC	5-10-5	68	3399	3418	343
547271	10	29	TTAAAAATGAACGGTCTTCA	5-10-5	60	3402	3421	344
547272	13	32	CACTTAAAAATGAACGGTCT	5-10-5	82	3405	3424	345
547273	25	44	TGAGTCTCTTGTCACCTAAA	5-10-5	93	3417	3436	346
547274	29	48	GAGGTGAGTCTCTTGTCAC	5-10-5	70	3421	3440	347
546136	30	49	GGAGGTGAGTCTCTTGTCAC	5-10-5	86	3422	3441	348
547275	32	51	TTGGAGGTGAGTCTCTTGTC	5-10-5	87	3424	3443	349
546137	40	59	ATTGCTTCTTGAGGTGAGT	5-10-5	76	3432	3451	350
547276	42	61	CAATTGCTTCTTGAGGTGA	5-10-5	93	3434	3453	351

[1952]

547277	44	63	CACAATTGCTTCTTGAGGT	5-10-5	75	3436	3455	352
547278	45	64	ACACAATTGCTTCTTGAGG	5-10-5	70	3437	3456	353
546138	47	66	AAACACAATTGCTTCTTGA	5-10-5	69	3439	3458	354
547279	48	67	AAAACACAATTGCTTCTTGG	5-10-5	69	3440	3459	355
547280	49	68	GAAAACACAATTGCTTCTTG	5-10-5	47	3441	3460	356
547281	70	89	TTGCTTGAATAAAATCATTC	5-10-5	41	4069	4088	357
546140	72	91	GCTTGCTTGAATAAAATCAT	5-10-5	60	4071	4090	358
547282	74	93	TTGCTTGTGCTGAATAAAATC	5-10-5	53	4073	4092	359
547283	76	95	AGTTGCTTGTGCTGAATAAAA	5-10-5	67	4075	4094	360
546141	82	101	GAAATAAGTTGCTTGCTTGA	5-10-5	56	4081	4100	361
547284	86	105	AAATGAAATAAGTTGCTTGC	5-10-5	26	4085	4104	362
547285	102	121	ACTGTAGCAAAACAAGGAAAT	5-10-5	51	4101	4120	363
546143	106	125	GGAAACTGTAGCAAAACAAGG	5-10-5	46	4105	4124	364
546144	110	129	CACAGGAAACTGTAGCAAAAC	5-10-5	75	4109	4128	365
547286	117	136	AGACATCCACAGGAAACTGT	5-10-5	68	n/a	n/a	366
547287	120	139	GTCAGACATCCACAGGAAAC	5-10-5	69	n/a	n/a	367
546146	123	142	TGAGTCAGACATCCACAGGA	5-10-5	72	n/a	n/a	368
547288	131	150	CATAGAGTTGAGTCAGACAT	5-10-5	80	8003	8022	369
546147	132	151	TCATAGAGTTGAGTCAGACA	5-10-5	76	8004	8023	370
547289	133	152	TTCATAGAGTTGAGTCAGAC	5-10-5	74	8005	8024	371
546148	137	156	CGTTTTCATAGAGTTGAGTC	5-10-5	68	8009	8028	372
546149	155	174	CCCCACCTCTGAAGAAGGCG	5-10-5	83	8027	8046	373
546150	158	177	CATCCCCACCTCTGAAGAAG	5-10-5	58	8030	8049	374
547290	163	182	AGCTACATCCCCACCTCTGA	5-10-5	76	8035	8054	375
546151	166	185	GGAAGCTACATCCCCACCTC	5-10-5	76	8038	8057	376
547291	168	187	ATGGAAGCTACATCCCCACC	5-10-5	74	8040	8059	377
547292	171	190	TACATGGAAGCTACATCCCC	5-10-5	60	8043	8062	378
546152	172	191	GTACATGGAAGCTACATCCC	5-10-5	73	8044	8063	379
546153	176	195	GGGTGTACATGGAAGCTACA	5-10-5	76	8048	8067	380
546154	195	214	TGGCAGTATTGGGCATTGG	5-10-5	85	8067	8086	381
547293	199	218	CATCTGGCAGTATTGGGCAT	5-10-5	92	8071	8090	382
547294	201	220	CTCATCTGGCAGTATTGGGC	5-10-5	85	8073	8092	383
546155	202	221	CCTCATCTGGCAGTATTGGG	5-10-5	47	8074	8093	384
547295	203	222	ACCTCATCTGGCAGTATTGG	5-10-5	88	8075	8094	385
547296	206	225	TGCACCTCATCTGGCAGTAT	5-10-5	72	8078	8097	386
546156	211	230	GAATGTGCACCTCATCTGGC	5-10-5	81	8083	8102	387
547297	213	232	TGGAATGTGCACCTCATCTG	5-10-5	84	8085	8104	388
546157	216	235	GGGTGGAATGTGCACCTCAT	5-10-5	85	8088	8107	389
547298	218	237	TTGGGTGGAATGTGCACCTC	5-10-5	90	8090	8109	390
546158	219	238	CTTGGGTGGAATGTGCACCT	5-10-5	95	8091	8110	391
546159	229	248	TAGCAAAACACCTTGGGTGGA	5-10-5	76	8101	8120	392
546160	235	254	ACTGAATAGCAAAACACCTTG	5-10-5	78	8107	8126	393
547299	237	256	AAACTGAATAGCAAAACACCT	5-10-5	76	8109	8128	394

[1953]

546163	250	269	ACTTGCTGGAAGAAAACCTGA	5-10-5	42	8122	8141	395
547300	252	271	GAACTTGCTGGAAGAAAACCT	5-10-5	37	8124	8143	396
546164	257	276	TGATTGAACCTTGCTGGAAGA	5-10-5	33	8129	8148	397
546165	260	279	CATTGATTGAACCTTGCTGGA	5-10-5	71	8132	8151	398
547301	261	280	TCATTGATTGAACCTTGCTGG	5-10-5	80	8133	8152	399
546166	263	282	TGTCATTGATTGAACCTTGCT	5-10-5	70	8135	8154	400
547302	266	285	CCATGTCATTGATTGAACCT	5-10-5	58	8138	8157	401
546167	268	287	CTCCATGTCATTGATTGAAC	5-10-5	73	8140	8159	402
547303	270	289	TTCTCCATGTCATTGATTGA	5-10-5	72	8142	8161	403
547304	273	292	CTTTTCTCCATGTCATTGAT	5-10-5	71	8145	8164	404
547305	280	299	ACCAAACCTTTTCTCCATGT	5-10-5	47	n/a	n/a	405
546170	283	302	GCAACCAACCTTTTCTCCA	5-10-5	54	n/a	n/a	406
547306	284	303	AGCAACCAACCTTTTCTCC	5-10-5	62	n/a	n/a	407
547307	286	305	GAAGCAACCAACCTTTTCT	5-10-5	58	n/a	n/a	408
547308	290	309	TCAAGAAGCAACCAACCTT	5-10-5	66	n/a	n/a	409
547309	293	312	CTTTCAAGAAGCAACCAAC	5-10-5	71	9827	9846	410
547310	295	314	ATCTTTCAAGAAGCAACCAA	5-10-5	81	9829	9848	411
546171	297	316	CTATCTTTCAAGAAGCAACC	5-10-5	81	9831	9850	412
547311	299	318	CACTATCTTTCAAGAAGCAA	5-10-5	71	9833	9852	413
546172	301	320	AACACTATCTTTCAAGAAGC	5-10-5	81	9835	9854	414
547312	325	344	ATGTACTTTTGGCAGGGTTC	5-10-5	46	9859	9878	415
546173	327	346	CGATGTACTTTTGGCAGGGT	5-10-5	84	9861	9880	416
547313	330	349	GTTCGATGTACTTTTGGCAG	5-10-5	73	9864	9883	417

[1954]

[1955] 표 127

ISIS 번호	서열 번호: 1 개시 부위	서열 번호: 1 정지 부위	서열	모티프	억제 %	서열 번호: 10 개시 부위	서열 번호: 10 정지 부위	서열 번호
531231	n/a	n/a	TATCACTGTACTAGTTTCCT	5-10-5	86	14744	14763	334
						14815	14834	
						14886	14905	
						14945	14964	
						15005	15024	
						15077	15096	
						15220	15239	
						15292	15311	
						15351	15370	
						15411	15430	
						15483	15502	
						15555	15574	
						15613	15632	

[1956]

						15685	15704	
						15815	15834	
						15887	15906	
						15945	15964	
546174	333	352	CCTGTTTCGATGTACTTTTGG	5-10-5	74	9867	9886	418
547314	336	355	GCACCTGTTTCGATGTACTTT	5-10-5	73	9870	9889	419
546175	338	357	CTGCACCTGTTTCGATGTACT	5-10-5	78	9872	9891	420
547315	340	359	AACTGCACCTGTTTCGATGTA	5-10-5	50	9874	9893	421
547316	342	361	GAAACTGCACCTGTTTCGATG	5-10-5	75	9876	9895	422
547317	344	363	CAGAAACTGCACCTGTTTCGA	5-10-5	75	9878	9897	423
547318	345	364	CCAGAAACTGCACCTGTTTCG	5-10-5	74	9879	9898	424
546177	348	367	TGTCCAGAAACTGCACCTGT	5-10-5	75	9882	9901	425
547319	351	370	GAATGTCCAGAAACTGCACC	5-10-5	62	9885	9904	426
547320	353	372	AGGAATGTCCAGAAACTGCA	5-10-5	73	9887	9906	427
547321	356	375	TCAAGGAATGTCCAGAAACT	5-10-5	53	9890	9909	428
547322	358	377	CTTCAAGGAATGTCCAGAAA	5-10-5	65	9892	9911	429
547323	361	380	TTGCTTCAAGGAATGTCCAG	5-10-5	56	9895	9914	430
547324	363	382	CATTGCTTCAAGGAATGTCC	5-10-5	76	9897	9916	431
547325	368	387	GACCACATTGCTTCAAGGAA	5-10-5	67	9902	9921	432
546181	369	388	TGACCACATTGCTTCAAGGA	5-10-5	75	9903	9922	433
547326	370	389	ATGACCACATTGCTTCAAGG	5-10-5	48	9904	9923	434
547327	373	392	TTGATGACCACATTGCTTCA	5-10-5	45	9907	9926	435
547328	375	394	ATTTGATGACCACATTGCTT	5-10-5	40	9909	9928	436
547329	377	396	TTATTTGATGACCACATTGC	5-10-5	24	9911	9930	437
547330	378	397	CTTATTTGATGACCACATTG	5-10-5	60	9912	9931	438
546183	380	399	CACTTATTTGATGACCACAT	5-10-5	69	9914	9933	439
547331	382	401	AGCACTTATTTGATGACCAC	5-10-5	47	n/a	n/a	440
546184	384	403	CAAGCACTTATTTGATGACC	5-10-5	65	n/a	n/a	441
547332	390	409	CGATGGCAAGCACTTATTTG	5-10-5	44	n/a	n/a	442
547333	395	414	TGTCTCGATGGCAAGCACTT	5-10-5	76	n/a	n/a	443
546186	396	415	ATGTCTCGATGGCAAGCACT	5-10-5	84	n/a	n/a	444
547334	397	416	AATGTCTCGATGGCAAGCAC	5-10-5	74	n/a	n/a	445
547335	402	421	TTATAAATGTCTCGATGGCA	5-10-5	93	12658	12677	446
547336	403	422	TTTATAAATGTCTCGATGGC	5-10-5	81	12659	12678	447
546188	407	426	CTCCTTTATAAATGTCTCGA	5-10-5	95	12663	12682	448
547337	409	428	AACTCCTTTATAAATGTCTC	5-10-5	84	12665	12684	449
547338	411	430	TCAACTCCTTTATAAATGTC	5-10-5	71	12667	12686	450
547339	413	432	TATCAACTCCTTTATAAATG	5-10-5	42	12669	12688	451
546190	419	438	CTCTCATATCAACTCCTTTA	5-10-5	92	12675	12694	452
547340	422	441	CTCCTCTCATATCAACTCCT	5-10-5	93	12678	12697	453
547341	424	443	GACTCCTCTCATATCAACTC	5-10-5	87	12680	12699	454
546192	428	447	AATTGACTCCTCTCATATCA	5-10-5	51	12684	12703	455
547342	433	452	ATTAAAAATTGACTCCTCTCA	5-10-5	66	12689	12708	456

[1957]

546193	434	453	CATTAAAAATTGACTCCTCTC	5-10-5	57	12690	12709	457
547343	436	455	CACATTAAAAATTGACTCCTC	5-10-5	78	12692	12711	458
547344	438	457	GACACATTAAAAATTGACTCC	5-10-5	80	12694	12713	459
547345	439	458	AGACACATTAAAAATTGACTC	5-10-5	80	12695	12714	460
547346	444	463	ACCTTAGACACATTAAAAATT	5-10-5	57	12700	12719	461
546195	448	467	GCTAACCTTAGACACATTAA	5-10-5	83	12704	12723	462
547347	451	470	ACTGCTAACCTTAGACACAT	5-10-5	82	12707	12726	463
546196	452	471	CACCTGCTAACCTTAGACACA	5-10-5	83	12708	12727	464
547348	453	472	ACACTGCTAACCTTAGACAC	5-10-5	83	12709	12728	465
547349	458	477	CTTCAACACTGCTAACCTTA	5-10-5	88	12714	12733	466
546198	459	478	TCTTCAACACTGCTAACCTT	5-10-5	85	12715	12734	467
547350	464	483	GGCATTCTTCAACACTGCTA	5-10-5	96	12720	12739	468
546199	465	484	TGGCATTCTTCAACACTGCT	5-10-5	97	12721	12740	469
547351	467	486	TTTGGCATTCTTCAACACTG	5-10-5	92	12723	12742	470
546200	500	519	AAAACCTGGCAGCGAATGTTA	5-10-5	91	12756	12775	471
547352	541	560	CCGGTACTCTGCCTTGTGAA	5-10-5	94	12797	12816	472
547354	547	566	ATTGTTCCGGTACTCTGCCT	5-10-5	89	n/a	n/a	473
546203	548	567	AATGTTCCGGTACTCTGCC	5-10-5	76	n/a	n/a	474
547355	549	568	CAATTGTTCCGGTACTCTGC	5-10-5	77	n/a	n/a	475
546204	555	574	AATAGGCAATTGTTCCGGTA	5-10-5	91	n/a	n/a	476
547356	556	575	TAATAGGCAATTGTTCCGGT	5-10-5	83	n/a	n/a	477
547357	559	578	CTTTAATAGGCAATTGTTCC	5-10-5	78	14130	14149	478
546205	562	581	GTACTTTAATAGGCAATTGT	5-10-5	83	14133	14152	479
547359	569	588	CGGGACTGTACTTTAATAGG	5-10-5	81	14140	14159	480
546208	605	624	CGTTACTCAGCACCTTTATA	5-10-5	92	14176	14195	481
546209	629	648	GCTTCAGTGAGAATCCAGAT	5-10-5	73	14200	14219	482
546210	651	670	CCAATTTCTGAAAGGGCACA	5-10-5	79	14222	14241	483
547360	653	672	AACCAATTTCTGAAAGGGCA	5-10-5	88	n/a	n/a	484
547361	655	674	GCAACCAATTTCTGAAAGGG	5-10-5	46	n/a	n/a	485
546211	656	675	GGCAACCAATTTCTGAAAGG	5-10-5	42	n/a	n/a	486
546212	678	697	AGATGCTGGAAGATGTTTCAT	5-10-5	48	26126	26145	487
547362	701	720	CAACATCCACATCTGAGAAC	5-10-5	47	26149	26168	488
547363	703	722	GGCAACATCCACATCTGAGA	5-10-5	84	26151	26170	489
546213	707	726	CCCTGGCAACATCCACATCT	5-10-5	82	26155	26174	490

[1958]

[1959]

표 128

ISIS 번호	서열 번호: 1 개시 부위	서열 번호: 1 정지 부위	서열	모티프	억제 %	서열 번호: 10 개시 부위	서열 번호: 10 정지 부위	서열 번호
531231	n/a	n/a	TATCACTGTACTAGTTTCCT	5-10-5	88	14744 14815	14763 14834	334

[1960]

						14886	14905	
						14945	14964	
						15005	15024	
						15077	15096	
						15220	15239	
						15292	15311	
						15351	15370	
						15411	15430	
						15483	15502	
						15555	15574	
						15613	15632	
						15685	15704	
						15815	15834	
						15887	15906	
						15945	15964	
547364	710	729	GAACCCTGGCAACATCCACA	5-10-5	92	26158	26177	491
546214	712	731	GAGAACCCTGGCAACATCCA	5-10-5	88	26160	26179	492
547365	713	732	TGAGAACCCTGGCAACATCC	5-10-5	81	26161	26180	493
547366	717	736	GGAGTGAGAACCCTGGCAAC	5-10-5	86	26165	26184	494
546216	719	738	CTGGAGTGAGAACCCTGGCA	5-10-5	93	26167	26186	495
547367	721	740	ATCTGGAGTGAGAACCCTGG	5-10-5	76	26169	26188	496
547368	723	742	GCATCTGGAGTGAGAACCCT	5-10-5	89	26171	26190	497
547369	725	744	AAGCATCTGGAGTGAGAACC	5-10-5	76	26173	26192	498
547370	728	747	CAAAAGCATCTGGAGTGAGA	5-10-5	73	26176	26195	499
546217	730	749	CACAAAAGCATCTGGAGTGA	5-10-5	83	26178	26197	500
546218	740	759	TGGTCCGACACACAAAAGCA	5-10-5	71	26188	26207	501
547371	741	760	ATGGTCCGACACACAAAAGC	5-10-5	66	26189	26208	502
547372	742	761	GATGGTCCGACACACAAAAG	5-10-5	32	26190	26209	503
547373	745	764	GCAGATGGTCCGACACACAA	5-10-5	90	26193	26212	504
546220	750	769	TAGGTGCAGATGGTCCGACA	5-10-5	71	26198	26217	505
547374	752	771	GATAGGTGCAGATGGTCCGA	5-10-5	81	26200	26219	506
547375	754	773	GTGATAGGTGCAGATGGTCC	5-10-5	72	26202	26221	507
546222	756	775	GGGTGATAGGTGCAGATGGT	5-10-5	12	26204	26223	508
547376	778	797	GAATGTAAAGAAGAGGCAGT	5-10-5	43	26226	26245	509
546224	780	799	TAGAATGTAAAGAAGAGGCA	5-10-5	65	26228	26247	510
547377	788	807	CATTTGTATAGAATGTAAAG	5-10-5	6	26236	26255	511
547378	790	809	TACATTTGTATAGAATGTAA	5-10-5	0	26238	26257	512
546226	793	812	CCATACATTTGTATAGAATG	5-10-5	37	26241	26260	513
547379	802	821	CTCGATTTTCCATACATTTG	5-10-5	37	26250	26269	514
547380	805	824	TGACTCGATTTTCCATACAT	5-10-5	42	26253	26272	515
546228	806	825	GTGACTCGATTTTCCATACA	5-10-5	60	26254	26273	516
547381	807	826	TGTGACTCGATTTTCCATAC	5-10-5	49	26255	26274	517
547382	810	829	CTTTGTGACTCGATTTTCCA	5-10-5	62	26258	26277	518

[1961]

547383	812	831	TTCTTTGTGACTCGATTTTC	5-10-5	37	n/a	n/a	519
546229	816	835	ACATTTCTTTGTGACTCGAT	5-10-5	19	n/a	n/a	520
547384	818	837	AAACATTTCTTTGTGACTCG	5-10-5	50	n/a	n/a	521
547385	847	866	TGTGCCACTTTCAGATGTTT	5-10-5	80	27111	27130	522
546230	848	867	GTGTGCCACTTTCAGATGTT	5-10-5	70	27112	27131	523
546231	852	871	CTTGGTGTGCCACTTTCAGA	5-10-5	79	27116	27135	524
547386	853	872	ACTTGGTGTGCCACTTTCAG	5-10-5	78	27117	27136	525
546232	857	876	AGGAACTTGGTGTGCCACTT	5-10-5	86	27121	27140	526
547387	878	897	TGGTGTTTTCTTGAGGAGTA	5-10-5	73	27142	27161	527
546233	879	898	ATGGTGTTTTCTTGAGGAGT	5-10-5	69	27143	27162	528
547388	880	899	TATGGTGTTTTCTTGAGGAG	5-10-5	55	27144	27163	529
547389	884	903	CAGATATGGTGTTTTCTTGA	5-10-5	61	27148	27167	530
546234	885	904	CCAGATATGGTGTTTTCTTG	5-10-5	69	27149	27168	531
547390	887	906	ATCCAGATATGGTGTTTTCT	5-10-5	63	27151	27170	532
547391	889	908	ATATCCAGATATGGTGTTTT	5-10-5	32	27153	27172	533
546235	893	912	GGCTATATCCAGATATGGTG	5-10-5	77	27157	27176	534
547392	895	914	AAGGCTATATCCAGATATGG	5-10-5	81	27159	27178	535
546236	900	919	GTTAAAAGGCTATATCCAGA	5-10-5	50	27164	27183	536
546237	903	922	CAGGTAAAAGGCTATATCC	5-10-5	64	27167	27186	537
547393	905	924	TGCAGGTTAAAAGGCTATAT	5-10-5	73	27169	27188	538
547394	907	926	TTTGCAGGTTAAAAGGCTAT	5-10-5	29	27171	27190	539
546238	909	928	CTTTTGCAGGTTAAAAGGCT	5-10-5	63	27173	27192	540
546239	912	931	GTTCTTTTGCAGGTTAAAAG	5-10-5	47	27176	27195	541
547395	914	933	AAGTTCTTTTGCAGGTTAAA	5-10-5	15	27178	27197	542
546240	917	936	GTAAGATTCTTTTGCAGGTT	5-10-5	23	27181	27200	543
546241	920	939	CAGGTAAAGTTCTTTTGCAG	5-10-5	69	27184	27203	544
547396	921	940	TCAGGTAAAGTTCTTTTGCA	5-10-5	49	n/a	n/a	545
547397	923	942	GTTCAGGTAAAGTTCTTTTG	5-10-5	27	n/a	n/a	546
546242	925	944	GGGTTCAGGTAAAGTTCTTT	5-10-5	8	n/a	n/a	547
547398	927	946	CAGGGTTCAGGTAAAGTTCT	5-10-5	16	n/a	n/a	548
547399	928	947	GCAGGGTTCAGGTAAAGTTC	5-10-5	10	n/a	n/a	549
547400	930	949	TGGCAGGGTTCAGGTAAAGT	5-10-5	0	n/a	n/a	550
547401	933	952	GAATGGCAGGGTTCAGGTAA	5-10-5	22	n/a	n/a	551
546243	934	953	AGAATGGCAGGGTTCAGGTA	5-10-5	16	n/a	n/a	552
547402	937	956	TTTAGAATGGCAGGGTTCAG	5-10-5	59	n/a	n/a	553
547403	939	958	ATTTTAGAATGGCAGGGTTC	5-10-5	10	27361	27380	554
546244	942	961	TAAATTTTAGAATGGCAGGG	5-10-5	27	27364	27383	555
547404	956	975	AGTCAACTCCCGGTAATTT	5-10-5	64	27378	27397	556
547405	959	978	CAAAGTCAACTCCCGGTAAT	5-10-5	47	27381	27400	557
546247	960	979	CCAAAGTCAACTCCCGGTA	5-10-5	90	27382	27401	558
546248	963	982	CCTCCAAAGTCAACTCCCGG	5-10-5	86	27385	27404	559
547406	965	984	CTCCTCCAAAGTCAACTCCC	5-10-5	81	27387	27406	560
546249	968	987	CTTCTCCTCCAAAGTCAACT	5-10-5	68	27390	27409	561

547407	975	994	TTCAATTCTTCTCCTCCAAA	5-10-5	59	27397	27416	562
546250	977	996	CATTCAATTCTTCTCCTCCA	5-10-5	65	27399	27418	563
547408	980	999	TCACATTCAATTCTTCTCCT	5-10-5	84	27402	27421	564
547409	982	1001	AGTCACATTCAATTCTTCTC	5-10-5	67	27404	27423	565
546251	1007	1026	GGCAAACATTCACTCCTTTA	5-10-5	92	27429	27448	566

[1964] 표 129

ISIS 번호	서열 번호: 1 개시 부위	서열 번호: 1 정지 부위	서열	모티프	억제 %	서열 번호: 10 개시 부위	서열 번호: 10 정지 부위	서열 번호
531231	n/a	n/a	TATCACTGTACTAGTTTCCT	5-10-5	95	14744	14763	344
						14815	14834	
						14886	14905	
						14945	14964	
						15005	15024	
						15077	15096	
						15220	15239	
						15292	15311	
						15351	15370	
						15411	15430	
						15483	15502	
						15555	15574	
						15613	15632	
						15685	15704	
						15815	15834	
						15887	15906	
						15945	15964	
546252	1011	1030	TCTTGGCAAACATTCCTCC	5-10-5	73	27433	27452	567
546253	1014	1033	GTCTCTTGGCAAACATTCAC	5-10-5	98	27436	27455	568
547410	1017	1036	CAAGTCTCTTGGCAAACATT	5-10-5	88	27439	27458	569
546254	1019	1038	TGCAAGTCTCTTGGCAAACA	5-10-5	95	27441	27460	570
546255	1024	1043	CTTTGTGCAAGTCTCTTGGC	5-10-5	92	27446	27465	571
547411	1027	1046	CATCTTTGTGCAAGTCTCTT	5-10-5	79	27449	27468	572
546256	1028	1047	TCATCTTTGTGCAAGTCTCT	5-10-5	83	27450	27469	573
547412	1029	1048	ATCATCTTTGTGCAAGTCTC	5-10-5	73	27451	27470	574
546258	1036	1055	ACAGCGAATCATCTTTGTGC	5-10-5	74	27458	27477	575
546259	1040	1059	ACTGACAGCGAATCATCTTT	5-10-5	86	27462	27481	576
546260	1045	1064	GAAAAAAGTACAGCGAATCA	5-10-5	84	27467	27486	577
547413	1047	1066	GTGAAAAAAGTACAGCGAAT	5-10-5	94	27469	27488	578
546263	1061	1080	GGAGTAAAGAATAAGTGAAA	5-10-5	0	27483	27502	579
547414	1063	1082	TGGGAGTAAAGAATAAGTGA	5-10-5	76	27485	27504	580

[1965]

547415	1065	1084	TCTGGGAGTAAAGAATAAGT	5-10-5	71	27487	27506	581
546265	1069	1088	GTCTTCTGGGAGTAAAGAAT	5-10-5	65	27491	27510	582
546266	1072	1091	ACAGTCTTCTGGGAGTAAAG	5-10-5	63	27494	27513	583
547416	1075	1094	CTTACAGTCTTCTGGGAGTA	5-10-5	79	27497	27516	584
546267	1076	1095	CCTTACAGTCTTCTGGGAGT	5-10-5	72	27498	27517	585
547417	1077	1096	TCCTTACAGTCTTCTGGGAG	5-10-5	68	27499	27518	586
546268	1079	1098	CTTCTTACAGTCTTCTGGG	5-10-5	93	27501	27520	587
547418	1092	1111	CACCTACACTTCTCTCCTT	5-10-5	0	n/a	n/a	588
546270	1093	1112	ACACTTACACTTCTCTCCT	5-10-5	32	n/a	n/a	589
546271	1097	1116	AGAAACACTTACACTTCTCT	5-10-5	60	n/a	n/a	590
547419	1101	1120	CTTAAGAAACACTTACACTT	5-10-5	51	n/a	n/a	591
547420	1112	1131	CCATAGATAATCTTAAGAAA	5-10-5	8	27633	27652	592
547421	1115	1134	CATCCATAGATAATCTTAAG	5-10-5	69	27636	27655	593
547422	1117	1136	ACCATCCATAGATAATCTTA	5-10-5	70	27638	27657	594
546275	1119	1138	GAACCATCCATAGATAATCT	5-10-5	87	27640	27659	595
546276	1123	1142	TGGAGAACCATCCATAGATA	5-10-5	74	27644	27663	596
546277	1146	1165	TGTGTCCCATACGCAATCCT	5-10-5	90	27667	27686	597
547423	1150	1169	CCCTTGTGTCCCATACGCAA	5-10-5	95	27671	27690	598
546279	1153	1172	GCTCCCTTGTGTCCCATACG	5-10-5	82	27674	27693	599
547424	1156	1175	AGAGCTCCCTTGTGTCCCAT	5-10-5	90	27677	27696	600
546280	1158	1177	CCAGAGCTCCCTTGTGTCCC	5-10-5	86	27679	27698	601
547425	1161	1180	TAACCAGAGCTCCCTTGTGT	5-10-5	85	27682	27701	602
546281	1162	1181	GTAACCAGAGCTCCCTTGTG	5-10-5	85	27683	27702	603
547426	1164	1183	GAGTAACCAGAGCTCCCTTG	5-10-5	92	27685	27704	604
547427	1166	1185	AAGAGTAACCAGAGCTCCCT	5-10-5	79	27687	27706	605
547428	1169	1188	TCAAAGAGTAACCAGAGCTC	5-10-5	78	27690	27709	606
546283	1171	1190	TCTCAAAGAGTAACCAGAGC	5-10-5	88	27692	27711	607
547429	1173	1192	AATCTCAAAGAGTAACCAGA	5-10-5	81	27694	27713	608
547430	1174	1193	CAATCTCAAAGAGTAACCAG	5-10-5	70	27695	27714	609
546284	1176	1195	CACAATCTCAAAGAGTAACC	5-10-5	89	27697	27716	610
546285	1180	1199	GTTACACAATCTCAAAGAGT	5-10-5	76	27701	27720	611
547431	1184	1203	CAGTGTTACACAATCTCAAA	5-10-5	67	27705	27724	612
547432	1186	1205	CCCAGTGTTACACAATCTCA	5-10-5	90	27707	27726	613
547433	1189	1208	GTCCCCAGTGTTACACAATC	5-10-5	63	27710	27729	614
546287	1192	1211	GTTGTCCCCAGTGTTACACA	5-10-5	82	27713	27732	615
546288	1240	1259	GTTTGTTCCTCCAACAATGC	5-10-5	78	27916	27935	616
547434	1243	1262	AGAGTTTGTTCCTCCAACAA	5-10-5	54	27919	27938	617
547435	1248	1267	CAAGAAGAGTTTGTTCCTCC	5-10-5	85	27924	27943	618
546290	1251	1270	CCCCAAGAAGAGTTTGTTC	5-10-5	86	27927	27946	619
547436	1253	1272	CTCCCCAAGAAGAGTTTGT	5-10-5	0	27929	27948	620
547437	1255	1274	CTCTCCCCAAGAAGAGTTTG	5-10-5	50	27931	27950	621
547438	1261	1280	GGGCCACTCTCCCCAAGAAG	5-10-5	82	27937	27956	622
546291	1263	1282	CAGGGCCACTCTCCCCAAGA	5-10-5	81	27939	27958	623

547439	1298	1317	TCTGAGCTGTCAGCTTCACC	5-10-5	85	27974	27993	624
546293	1301	1320	GCCTCTGAGCTGTCAGCTTC	5-10-5	64	27977	27996	625
547440	1327	1346	TCCTATGAGTGACCCTCCAC	5-10-5	67	28003	28022	626
546294	1328	1347	GTCCTATGAGTGACCCTCCA	5-10-5	72	28004	28023	627
547441	1331	1350	GGTGTCTCTATGAGTGACCCT	5-10-5	62	28007	28026	628
547442	1332	1351	TGGTGTCTCTATGAGTGACCC	5-10-5	42	28008	28027	629
547443	1336	1355	CCACTGGTGTCTCTATGAGTG	5-10-5	70	28012	28031	630
546295	1337	1356	CCCACTGGTGTCTCTATGAGT	5-10-5	67	28013	28032	631
546296	1370	1389	GAAGCCCATCAAAGCAGTGG	5-10-5	27	n/a	n/a	632
546297	1397	1416	TATAGATGCGCCAAACATCC	5-10-5	82	30475	30494	633
547444	1398	1417	CTATAGATGCGCCAAACATC	5-10-5	71	30476	30495	634
547445	1402	1421	GCCACTATAGATGCGCCAAA	5-10-5	97	30480	30499	635
546299	1404	1423	ATGCCACTATAGATGCGCCA	5-10-5	84	30482	30501	636
546300	1424	1443	TAATGTCTGACAGATTTAAA	5-10-5	58	30502	30521	637
546301	1427	1446	TTGTAATGTCTGACAGATT	5-10-5	93	30505	30524	638
546302	1444	1463	TGAGAAAGGTGTATCTTTTG	5-10-5	87	30522	30541	639
547446	1447	1466	TTGTGAGAAAGGTGTATCTT	5-10-5	84	30525	30544	640
546303	1448	1467	TTTGTGAGAAAGGTGTATCT	5-10-5	77	30526	30545	641
547447	1449	1468	ATTTGTGAGAAAGGTGTATC	5-10-5	80	30527	30546	642

[1968] 표 130

ISIS 번호	서열 번호: 1 개시 부위	서열 번호: 1 정지 부위	서열	모티프	억제 %	서열 번호: 10 개시 부위	서열 번호: 10 정지 부위	서열 번호
531231	n/a	n/a	TATCACTGTACTAGTTTCCT	5-10-5	96	14744	14763	334
						14815	14834	
						14886	14905	
						14945	14964	
						15005	15024	
						15077	15096	
						15220	15239	
						15292	15311	
						15351	15370	
						15411	15430	
						15483	15502	
						15555	15574	
						15613	15632	
						15685	15704	
						15815	15834	
						15887	15906	
						15945	15964	

[1969]

547448	1451	1470	TTATTTGTGAGAAAGGTGTA	5-10-5	75	30529	30548	643
547449	1453	1472	TTTTATTTGTGAGAAAGGTG	5-10-5	71	30531	30550	644
546304	1454	1473	CTTTTATTTGTGAGAAAGGT	5-10-5	94	30532	30551	645
547450	1456	1475	CTCTTTTATTTGTGAGAAAG	5-10-5	71	30534	30553	646
547451	1471	1490	TTGGTGAATAATAATCTCTT	5-10-5	75	30549	30568	647
546306	1472	1491	TTTGGTGAATAATAATCTCT	5-10-5	65	30550	30569	648
547452	1474	1493	GTTTTGGTGAATAATAATCT	5-10-5	47	30552	30571	649
546307	1478	1497	TATAGTTTTGGTGAATAATA	5-10-5	12	30556	30575	650
546308	1482	1501	ACTTTATAGTTTTGGTGAAT	5-10-5	57	30560	30579	651
546309	1492	1511	CCCTTCTGAGACTTTATAGT	5-10-5	88	30570	30589	652
546310	1496	1515	GATCCCTTCTGAGACTTTA	5-10-5	78	30574	30593	653
546311	1499	1518	CATGATTCCCTTCTGAGACT	5-10-5	79	30577	30596	654
547453	1500	1519	TCATGATTCCCTTCTGAGAC	5-10-5	81	30578	30597	655
547454	1502	1521	TATCATGATTCCCTTCTGAG	5-10-5	92	30580	30599	656
547455	1503	1522	ATATCATGATTCCCTTCTGA	5-10-5	88	30581	30600	657
547456	1506	1525	GCGATATCATGATTCCCTTC	5-10-5	89	30584	30603	658
546313	1507	1526	GGCGATATCATGATTCCCTT	5-10-5	60	30585	30604	659
547457	1509	1528	AAGCGATATCATGATTCCC	5-10-5	89	30587	30606	660
547458	1513	1532	TATCAAGGCGATATCATGAT	5-10-5	84	30591	30610	661
547459	1519	1538	GAGTTTTATCAAGGCGATAT	5-10-5	28	30597	30616	662
547460	1522	1541	CTGGAGTTTTATCAAGGCGA	5-10-5	72	30600	30619	663
546316	1524	1543	GCCTGGAGTTTTATCAAGGC	5-10-5	51	30602	30621	664
546317	1528	1547	AGGAGCCTGGAGTTTTATCA	5-10-5	12	30606	30625	665
546318	1534	1553	ATTCAAAGGAGCCTGGAGTT	5-10-5	47	30612	30631	666
547461	1537	1556	GTAATTCAAAGGAGCCTGGA	5-10-5	49	30615	30634	667
547462	1539	1558	GTGTAATTCAAAGGAGCCTG	5-10-5	59	30617	30636	668
546319	1541	1560	CAGTGTAATTCAAAGGAGCC	5-10-5	50	30619	30638	669
547463	1564	1583	TAGGCATATTGGTTTTTGGA	5-10-5	74	31870	31889	670
546320	1566	1585	GGTAGGCATATTGGTTTTTG	5-10-5	72	31872	31891	671
546321	1569	1588	GAAGGTAGGCATATTGGTTT	5-10-5	53	31875	31894	672
546322	1584	1603	CTTGTGTACCTTTGGAAGG	5-10-5	74	31890	31909	673
547464	1585	1604	GCTTGTGTACCTTTGGAAG	5-10-5	95	31891	31910	674
546323	1587	1606	GTGCTTGTGTACCTTTGGA	5-10-5	94	31893	31912	675
547465	1592	1611	AAATTGTGCTTGTGTACCT	5-10-5	88	31898	31917	676
547466	1596	1615	GTATAAATTGTGCTTGTGTC	5-10-5	82	31902	31921	677
546324	1597	1616	GGTATAAATTGTGCTTGTGT	5-10-5	73	31903	31922	678
547467	1598	1617	TGGTATAAATTGTGCTTGTG	5-10-5	80	31904	31923	679
547468	1600	1619	GTTGGTATAAATTGTGCTTG	5-10-5	61	31906	31925	680
546325	1602	1621	CAGTTGGTATAAATTGTGCT	5-10-5	74	31908	31927	681
546326	1607	1626	CCCAACAGTTGGTATAAATT	5-10-5	62	31913	31932	682
547469	1610	1629	TTACCCAACAGTTGGTATAA	5-10-5	67	31916	31935	683
546327	1612	1631	GGTTACCCAACAGTTGGTAT	5-10-5	95	31918	31937	684
546328	1624	1643	GAAGCCCCATCCGGTTACCC	5-10-5	84	31930	31949	685

[1970]

547470	1628	1647	TCGAGAAGCCCCATCCGTT	5-10-5	70	31934	31953	686
546329	1631	1650	CCTTCGAGAAGCCCCATCCG	5-10-5	18	31937	31956	687
546330	1636	1655	TTTCTCCTTCGAGAAGCCCC	5-10-5	55	31942	31961	688
547471	1638	1657	CCTTCTCCTTCGAGAAGCC	5-10-5	58	31944	31963	689
547472	1641	1660	TCACCTTTCTCCTTCGAGAA	5-10-5	44	n/a	n/a	690
546331	1642	1661	TTCACCTTTCTCCTTCGAGA	5-10-5	59	n/a	n/a	691
547473	1649	1668	TTTGGATTTCACCTTTCTCC	5-10-5	5	n/a	n/a	692
547474	1659	1678	TGTAGAATATTTTGGATTTC	5-10-5	51	33103	33122	693
547475	1686	1705	TTTGTTACCAAAGGAATATT	5-10-5	44	33130	33149	694
547476	1688	1707	CATTTGTTACCAAAGGAATA	5-10-5	75	33132	33151	695
546336	1689	1708	TCATTTGTTACCAAAGGAAT	5-10-5	66	33133	33152	696
547477	1692	1711	TCTTCATTGTACCAAAGG	5-10-5	74	33136	33155	697
547478	1695	1714	CATTCTTCATTGTACCAA	5-10-5	85	33139	33158	698
546339	1712	1731	CTTGATATCTTTCTGGCAT	5-10-5	65	33156	33175	699
546340	1716	1735	TAATCTTGATATCTTTCTG	5-10-5	30	33160	33179	700
547479	1718	1737	TATAATCTTGATATCTTTTC	5-10-5	48	33162	33181	701
547480	1756	1775	TTCTTTATAGCCAGCACAGA	5-10-5	60	33200	33219	702
547481	1758	1777	CCTTCTTTATAGCCAGCACA	5-10-5	71	33202	33221	703
547482	1760	1779	CCCCTTCTTTATAGCCAGCA	5-10-5	90	33204	33223	704
546343	1761	1780	CCCCCTTCTTTATAGCCAGC	5-10-5	97	33205	33224	705
547483	1762	1781	TCCCCCTTCTTTATAGCCAG	5-10-5	71	33206	33225	706
546345	1773	1792	CAAGCATCTTTCCCCCTTC	5-10-5	86	33217	33236	707
546346	1796	1815	AGGGACCACCTGAATCTCCC	5-10-5	83	33895	33914	708
547484	1799	1818	CTAAGGGACCACCTGAATCT	5-10-5	69	33898	33917	709
546347	1800	1819	ACTAAGGGACCACCTGAATC	5-10-5	28	33899	33918	710
547485	1803	1822	CAAACCTAAGGGACCACCTGA	5-10-5	49	33902	33921	711
546348	1804	1823	GCAAACCTAAGGGACCACCTG	5-10-5	79	33903	33922	712
547486	1805	1824	TGCAAACTAAGGGACCACCT	5-10-5	89	33904	33923	713
546349	1810	1829	GTGTTTGCAAACTAAGGGAC	5-10-5	48	33909	33928	714
547487	1811	1830	TGTGTTTGCAAACTAAGGGA	5-10-5	72	33910	33929	715
546350	1868	1887	CCCTGCGGGCACAGCCTTCA	5-10-5	88	33967	33986	716
546351	1873	1892	TTGCTCCCTGCGGGCACAGC	5-10-5	82	33972	33991	717
546352	1880	1899	CACCAGGTTGCTCCCTGCGG	5-10-5	75	33979	33998	718
547488	1881	1900	ACACCAGGTTGCTCCCTGCG	5-10-5	71	33980	33999	719

[1971]

[1972] 표 131

ISIS 번호	서열 번호: 1 개시 부위	서열 번호: 1 정지 부위	서열	모티프	억제 %	서열 번호: 10 개시 부위	서열 번호: 10 정지 부위	서열 번호
531231	n/a	n/a	TATCACTGTACTAGTTTCCT	5-10-5	72	14744 14815	14763 14834	334

[1973]

						14886	14905	
						14945	14964	
						15005	15024	
						15077	15096	
						15220	15239	
						15292	15311	
						15351	15370	
						15411	15430	
						15483	15502	
						15555	15574	
						15613	15632	
						15685	15704	
						15815	15834	
						15887	15906	
						15945	15964	
547448	1451	1470	TTATTTGTGAGAAAGGTGTA	5-10-5	83	30529	30548	643
547449	1453	1472	TTTTATTTGTGAGAAAGGTG	5-10-5	73	30531	30550	644
546304	1454	1473	CTTTATTTGTGAGAAAGGT	5-10-5	86	30532	30551	645
547450	1456	1475	CTCTTTATTTGTGAGAAAG	5-10-5	67	30534	30553	646
547451	1471	1490	TTGGTGAATAATAATCTCTT	5-10-5	64	30549	30568	647
546306	1472	1491	TTTGGTGAATAATAATCTCT	5-10-5	71	30550	30569	648
547452	1474	1493	GTTTTGGTGAATAATAATCT	5-10-5	62	30552	30571	649
546307	1478	1497	TATAGTTTTGGTGAATAATA	5-10-5	0	30556	30575	650
546308	1482	1501	ACTTTATAGTTTTGGTGAAT	5-10-5	43	30560	30579	651
546309	1492	1511	CCCTTCTGAGACTTTATAGT	5-10-5	81	30570	30589	652
546310	1496	1515	GATTCCCTTCTGAGACTTTA	5-10-5	67	30574	30593	653
546311	1499	1518	CATGATTCCCTTCTGAGACT	5-10-5	76	30577	30596	654
547453	1500	1519	TCATGATTCCCTTCTGAGAC	5-10-5	81	30578	30597	655
547454	1502	1521	TATCATGATTCCCTTCTGAG	5-10-5	78	30580	30599	656
547455	1503	1522	ATATCATGATTCCCTTCTGA	5-10-5	66	30581	30600	657
547456	1506	1525	GCGATATCATGATTCCCTTC	5-10-5	96	30584	30603	658
546313	1507	1526	GGCGATATCATGATTCCCTT	5-10-5	75	30585	30604	659
547457	1509	1528	AAGGCGATATCATGATCCC	5-10-5	92	30587	30606	660
547458	1513	1532	TATCAAGGCGATATCATGAT	5-10-5	64	30591	30610	661
547459	1519	1538	GAGTTTTATCAAGGCGATAT	5-10-5	51	30597	30616	662
547460	1522	1541	CTGGAGTTTTATCAAGGCGA	5-10-5	75	30600	30619	663
546316	1524	1543	GCCTGGAGTTTTATCAAGGC	5-10-5	60	30602	30621	664
546317	1528	1547	AGGAGCCTGGAGTTTTATCA	5-10-5	31	30606	30625	665
546318	1534	1553	ATTCAAAGGAGCCTGGAGTT	5-10-5	46	30612	30631	666
547461	1537	1556	GTAATTCAAAGGAGCCTGGA	5-10-5	55	30615	30634	667
547462	1539	1558	GTGTAATTCAAAGGAGCCTG	5-10-5	54	30617	30636	668
546319	1541	1560	CAGTGTAATTCAAAGGAGCC	5-10-5	61	30619	30638	669
547463	1564	1583	TAGGCATATTGGTTTTTGA	5-10-5	84	31870	31889	670

[1974]

546320	1566	1585	GGTAGGCATATTGGTTTTTG	5-10-5	69	31872	31891	671
546321	1569	1588	GAAGGTAGGCATATTGGTTT	5-10-5	56	31875	31894	672
546322	1584	1603	CTTGTTGTCACCTTTGGAAGG	5-10-5	68	31890	31909	673
547464	1585	1604	GCTTGTGTCACCTTTGGAAG	5-10-5	84	31891	31910	674
546323	1587	1606	GTGCTTGTGTCACCTTTGGA	5-10-5	80	31893	31912	675
547465	1592	1611	AAATTGTGCTTGTGTCACCT	5-10-5	85	31898	31917	676
547466	1596	1615	GTATAAATTGTGCTTGTGTC	5-10-5	43	31902	31921	677
546324	1597	1616	GGTATAAATTGTGCTTGTGT	5-10-5	82	31903	31922	678
547467	1598	1617	TGGTATAAATTGTGCTTGTG	5-10-5	65	31904	31923	679
547468	1600	1619	GTTGGTATAAATTGTGCTTG	5-10-5	46	31906	31925	680
546325	1602	1621	CAGTTGGTATAAATTGTGCT	5-10-5	79	31908	31927	681
546326	1607	1626	CCAACAGTTGGTATAAATT	5-10-5	64	31913	31932	682
547469	1610	1629	TTACCCAACAGTTGGTATAA	5-10-5	50	31916	31935	683
546327	1612	1631	GGTTACCCAACAGTTGGTAT	5-10-5	84	31918	31937	684
546328	1624	1643	GAAGCCCCATCCGGTTACCC	5-10-5	81	31930	31949	685
547470	1628	1647	TCGAGAAGCCCCATCCGGTT	5-10-5	68	31934	31953	686
546329	1631	1650	CCTTCGAGAAGCCCCATCCG	5-10-5	8	31937	31956	687
546330	1636	1655	TTTCTCCTTCGAGAAGCCCC	5-10-5	67	31942	31961	688
547471	1638	1657	CCTTCTCCTTCGAGAAGCC	5-10-5	43	31944	31963	689
547472	1641	1660	TCACCTTTCTCCTTCGAGAA	5-10-5	42	n/a	n/a	690
546331	1642	1661	TTCACCTTTCTCCTTCGAGA	5-10-5	44	n/a	n/a	691
547473	1649	1668	TTTGGAATTCACCTTTCTCC	5-10-5	26	n/a	n/a	692
547474	1659	1678	TGTAGAATATTTTGATTTC	5-10-5	34	33103	33122	693
547475	1686	1705	TTTGTTACCAAAGGAATATT	5-10-5	42	33130	33149	694
547476	1688	1707	CATTTGTTACCAAAGGAATA	5-10-5	71	33132	33151	695
546336	1689	1708	TCATTTGTTACCAAAGGAAT	5-10-5	73	33133	33152	696
547477	1692	1711	TCTTCATTTGTTACCAAAGG	5-10-5	68	33136	33155	697
547478	1695	1714	CATTCTTCATTTGTTACCAA	5-10-5	55	33139	33158	698
546339	1712	1731	CTTGATATCTTTCTGGCAT	5-10-5	64	33156	33175	699
546340	1716	1735	TAATCTTGATATCTTTCTG	5-10-5	56	33160	33179	700
547479	1718	1737	TATAATCTTGATATCTTTTC	5-10-5	9	33162	33181	701
547480	1756	1775	TTCTTTATAGCCAGCACAGA	5-10-5	49	33200	33219	702
547481	1758	1777	CCTTCTTTATAGCCAGCACA	5-10-5	77	33202	33221	703
547482	1760	1779	CCCCTTCTTTATAGCCAGCA	5-10-5	65	33204	33223	704
546343	1761	1780	CCCCCTTCTTTATAGCCAGC	5-10-5	91	33205	33224	705
547483	1762	1781	TCCCCCTTCTTTATAGCCAG	5-10-5	77	33206	33225	706
546345	1773	1792	CAAGCATCTTTCCCCCTTC	5-10-5	80	33217	33236	707
546346	1796	1815	AGGGACCACCTGAATCTCCC	5-10-5	70	33895	33914	708
547484	1799	1818	CTAAGGGACCACCTGAATCT	5-10-5	64	33898	33917	709
546347	1800	1819	ACTAAGGGACCACCTGAATC	5-10-5	22	33899	33918	710
547485	1803	1822	CAAACCTAAGGGACCACCTGA	5-10-5	66	33902	33921	711
546348	1804	1823	GCAAACTAAGGGACCACCTG	5-10-5	76	33903	33922	712
547486	1805	1824	TGCAAACTAAGGGACCACCT	5-10-5	78	33904	33923	713

[1975]

546349	1810	1829	GTGTTTGCAAACTAAGGGAC	5-10-5	35	33909	33928	714
547487	1811	1830	TGTGTTTGCAAACTAAGGGA	5-10-5	61	33910	33929	715
546350	1868	1887	CCCTGCGGGCACAGCCTTCA	5-10-5	74	33967	33986	716
546351	1873	1892	TTGCTCCCTGCGGGCACAGC	5-10-5	60	33972	33991	717
546352	1880	1899	CACCAGGTTGCTCCCTGCGG	5-10-5	74	33979	33998	718
547488	1881	1900	ACACCAGGTTGCTCCCTGCG	5-10-5	72	33980	33999	719

[1976]

[1977] 표 132

ISIS 번호	서열 번호: 1 개시 부위	서열 번호: 1 정지 부위	서열	모티프	억제 %	서열 번호: 10 개시 부위	서열 번호: 10 정지 부위	서열 번호
531231	n/a	n/a	TATCACTGTACTAGTTTCCT	5-10-5	90	14744	14763	334
						14815	14834	
						14886	14905	
						14945	14964	
						15005	15024	
						15077	15096	
						15220	15239	
						15292	15311	
						15351	15370	
						15411	15430	
						15483	15502	
						15555	15574	
						15613	15632	
						15685	15704	
						15815	15834	
547489	1883	1902	AGACACCAGGTTGCTCCCTG	5-10-5	34	33982	34001	720
547490	1885	1904	GTAGACACCAGGTTGCTCCC	5-10-5	55	33984	34003	721
546353	1900	1919	CTCAGCGACTTTGGTGTAGA	5-10-5	55	33999	34018	722
546354	1903	1922	GTA CT CAGCGACTTTGGTGT	5-10-5	47	34002	34021	723
547491	1906	1925	CATGTA CT CAGCGACTTTGG	5-10-5	47	34005	34024	724
547492	1911	1930	CAGTCCATGTA CT CAGCGAC	5-10-5	62	34010	34029	725
546356	1913	1932	TCCAGTCCATGTA CT CAGCG	5-10-5	60	34012	34031	726
546357	1947	1966	GCTTTTCCATCA CT GCTCTG	5-10-5	79	34046	34065	727
546358	1951	1970	CTGAGCTTTTCCATCA CT GC	5-10-5	83	34050	34069	728
547493	1952	1971	TCTGAGCTTTTCCATCA CT G	5-10-5	72	34051	34070	729
546359	1955	1974	GCATCTGAGCTTTTCCATCA	5-10-5	79	34054	34073	730
546360	1958	1977	ACTGCATCTGAGCTTTTCCA	5-10-5	13	34057	34076	731
547494	1963	1982	TGGTGACTGCATCTGAGCTT	5-10-5	70	34062	34081	732

[1978]

547495	1965	1984	GCTGGTGACTGCATCTGAGC	5-10-5	61	34064	34083	733
547496	1967	1986	ATGCTGGTGACTGCATCTGA	5-10-5	80	34066	34085	734
546362	1969	1988	TCATGCTGGTGACTGCATCT	5-10-5	71	34068	34087	735
546363	1973	1992	CTTCTCATGCTGGTGACTGC	5-10-5	81	34072	34091	736
547497	1977	1996	ACTGCTTCTCATGCTGGTGA	5-10-5	68	34076	34095	737
546364	1979	1998	GGACTGCTTCTCATGCTGGT	5-10-5	61	34078	34097	738
547498	1981	2000	CTGGACTGCTTCTCATGCTG	5-10-5	44	34080	34099	739
547499	1983	2002	CTCTGGACTGCTTCTCATGC	5-10-5	65	34082	34101	740
546365	1986	2005	AGACTCTGGACTGCTTCTCA	5-10-5	64	34085	34104	741
547500	1989	2008	CCTAGACTCTGGACTGCTTC	5-10-5	65	34088	34107	742
546366	1991	2010	TGCCTAGACTCTGGACTGCT	5-10-5	79	34090	34109	743
547501	1993	2012	ATTGCCTAGACTCTGGACTG	5-10-5	55	34092	34111	744
546367	1997	2016	AAAAATTGCCTAGACTCTGG	5-10-5	61	34096	34115	745
546368	2003	2022	GGTTGTAAAAATTGCCTAGA	5-10-5	44	34102	34121	746
547502	2006	2025	TCAGGTTGTAAAAATTGCCT	5-10-5	64	34105	34124	747
546369	2007	2026	CTCAGGTTGTAAAAATTGCC	5-10-5	51	34106	34125	748
547503	2008	2027	ACTCAGGTTGTAAAAATTGC	5-10-5	66	34107	34126	749
547504	2010	2029	GAAGTCAGGTTGTAAAAATT	5-10-5	37	34109	34128	750
546370	2014	2033	ACTTGAAGTCAGGTTGTAAA	5-10-5	34	34113	34132	751
547505	2015	2034	GACTTGAAGTCAGGTTGTAA	5-10-5	69	34114	34133	752
546372	2021	2040	GAATTTGACTTGAAGTCAGG	5-10-5	49	34120	34139	753
546373	2025	2044	CTCAGAATTTGACTTGAAGTC	5-10-5	59	34124	34143	754
547506	2028	2047	AGGCTCAGAATTTGACTTGA	5-10-5	78	34127	34146	755
547507	2029	2048	CAGGCTCAGAATTTGACTTG	5-10-5	56	34128	34147	756
546374	2030	2049	CCAGGCTCAGAATTTGACTT	5-10-5	50	34129	34148	757
547508	2032	2051	CCCCAGGCTCAGAATTTGAC	5-10-5	69	34131	34150	758
547509	2034	2053	CCCCCAGGCTCAGAATTTG	5-10-5	58	34133	34152	759
546375	2036	2055	GACCCCCAGGCTCAGAATT	5-10-5	48	34135	34154	760
547510	2041	2060	ATGAGGACCCCCCAGGCTCA	5-10-5	40	34140	34159	761
547511	2042	2061	GATGAGGACCCCCCAGGCTC	5-10-5	53	34141	34160	762
547512	2045	2064	GCAGATGAGGACCCCCCAGG	5-10-5	74	34144	34163	763
547513	2046	2065	TGCAGATGAGGACCCCCCAG	5-10-5	72	34145	34164	764
546378	2048	2067	TTTGAGATGAGGACCCCCC	5-10-5	79	34147	34166	765
546379	2056	2075	CTCCATGCTTTGCAGATGAG	5-10-5	69	34155	34174	766
546380	2062	2081	GCCACTCTCCATGCTTTGCA	5-10-5	81	34161	34180	767
547514	2066	2085	AGATGCCACTCTCCATGCTT	5-10-5	85	34165	34184	768
546381	2068	2087	GAAGATGCCACTCTCCATGC	5-10-5	73	34167	34186	769
547515	2069	2088	AGAAGATGCCACTCTCCATG	5-10-5	58	34168	34187	770
546382	2072	2091	CAAAGAAGATGCCACTCTCC	5-10-5	58	34171	34190	771
547516	2076	2095	GATGCAAAGAAGATGCCACT	5-10-5	48	34175	34194	772
546383	2077	2096	GGATGCAAAGAAGATGCCAC	5-10-5	57	34176	34195	773
547517	2079	2098	TAGGATGCAAAGAAGATGCC	5-10-5	57	34178	34197	774
547518	2083	2102	TCCTTAGGATGCAAAGAAGA	5-10-5	51	34182	34201	775

[1979]

546384	2085	2104	CGTCTTAGGATGCAAAGAA	5-10-5	81	34184	34203	776
546385	2120	2139	ATTGTCCTCAGCAGCTCTGA	5-10-5	67	34219	34238	777
547519	2126	2145	CCAGACATTGTCCTCAGCAG	5-10-5	76	34225	34244	778
546386	2128	2147	AGCCAGACATTGTCCTCAGC	5-10-5	78	34227	34246	779
547520	2130	2149	TCAGCCAGACATTGTCCTCA	5-10-5	76	34229	34248	780
547521	2132	2151	CTTCAGCCAGACATTGTCCT	5-10-5	58	34231	34250	781
546387	2138	2157	AGCGGGCTTCAGCCAGACAT	5-10-5	77	34237	34256	782
547522	2141	2160	GAAAGCGGGCTTCAGCCAGA	5-10-5	73	34240	34259	783
546388	2143	2162	CTGAAAGCGGGCTTCAGCCA	5-10-5	71	34242	34261	784
546389	2147	2166	CGTGCTGAAAGCGGGCTTCA	5-10-5	71	34246	34265	785
546390	2165	2184	GTCAGCCCCTGGTTACGGCG	5-10-5	70	34264	34283	786
547523	2167	2186	TTGTGAGCCCCTGGTTACGG	5-10-5	69	34266	34285	787
547524	2169	2188	CATTGTCAGCCCCTGGTTAC	5-10-5	58	34268	34287	788
546391	2170	2189	GCATTGTCAGCCCCTGGTTA	5-10-5	54	34269	34288	789
547525	2174	2193	CCTGCAATTGTCAGCCCCTG	5-10-5	78	34273	34292	790
546392	2176	2195	GACCTCGCATTGTCAGCCCC	5-10-5	72	34275	34294	791
547526	2178	2197	GCGACCTCGCATTGTCAGCC	5-10-5	59	34277	34296	792
547527	2185	2204	CTCAGTTGCGACCTCGCATT	5-10-5	58	34284	34303	793
546393	2186	2205	TCTCAGTTGCGACCTCGCAT	5-10-5	77	34285	34304	794
546394	2196	2215	GTCATGGAGATCTCAGTTGC	5-10-5	71	34295	34314	795
547528	2200	2219	CACAGTCATGGAGATCTCAG	5-10-5	78	34299	34318	796

[1980]

[1981] 표 133

ISIS 번호	서열 번호: 1 개시 부위	서열 번호: 1 종지 부위	서열	모티프	억제 %	서열 번호: 10 개시 부위	서열 번호: 10 종지 부위	서열 번호
531231	n/a	n/a	TATCACTGTACTAGTTTCCT	5-10-5	90	14744	14763	334
						14815	14834	
						14886	14905	
						14945	14964	
						15005	15024	
						15077	15096	
						15220	15239	
						15292	15311	
						15351	15370	
						15411	15430	
						15483	15502	
						15555	15574	
						15613	15632	
						15685	15704	
						15815	15834	

[1982]

						15887	15906	
						15945	15964	
546403	n/a	n/a	CCATGAACATCCTATCCGTG	5-10-5	83	3282	3301	797
546406	n/a	n/a	TGCTCTGTCAACATATTCCA	5-10-5	80	3299	3318	798
546409	n/a	n/a	GGGTTTCTGCCAACAGTTTC	5-10-5	77	3326	3345	799
546410	n/a	n/a	GACTTTGGGTTTCTGCCAAC	5-10-5	83	3332	3351	800
546411	n/a	n/a	ATATTGACTTTGGGTTTCTG	5-10-5	56	3337	3356	801
546412	n/a	n/a	GGCTTCAATATTGACTTTGG	5-10-5	84	3344	3363	802
546416	n/a	n/a	CTGCAGGCAATATTTTGCTT	5-10-5	62	3364	3383	803
546418	n/a	n/a	ATGTGGCACTGCAGGCAATA	5-10-5	72	3372	3391	804
546419	n/a	n/a	TTCTAATGTGGCACTGCAGG	5-10-5	65	3377	3396	805
546421	n/a	n/a	TCAAGCTGTCTAATGTGGC	5-10-5	71	3385	3404	806
546422	n/a	n/a	ACGGTCTTCAAGCTGTTCTA	5-10-5	72	3392	3411	807
546425	n/a	n/a	GGTCAATCTGACTAGTGAAT	5-10-5	69	2284	2303	808
546426	n/a	n/a	TCTCTGGTCAATCTGACTAG	5-10-5	49	2289	2308	809
546429	n/a	n/a	GCCCCACCAACAATCTCTGGT	5-10-5	84	2301	2320	810
546432	n/a	n/a	GACCCCAACAGACAGCCAC	5-10-5	62	2315	2334	811
546444	n/a	n/a	CCAGAATCATGCCTTGTGGG	5-10-5	61	4765	4784	812
546447	n/a	n/a	GTCACCATAGACCCAGAATC	5-10-5	68	4777	4796	813
546450	n/a	n/a	GTGGCCCTCTTAAGTCACCA	5-10-5	73	4790	4809	814
546453	n/a	n/a	CTCATTGTTGTGTGCCCTC	5-10-5	82	4801	4820	815
546459	n/a	n/a	GTAGCCATACATCTGAGGAA	5-10-5	46	4830	4849	816
546461	n/a	n/a	ATGTTTATTGTAGCCATACA	5-10-5	53	4839	4858	817
546492	n/a	n/a	CTCGCCTTTGTGACTCGATT	5-10-5	61	26263	26282	818
546493	n/a	n/a	CATACTCGCCTTTGTGACTC	5-10-5	35	26267	26286	819
546494	n/a	n/a	GCATACTCGCCTTTGTGACT	5-10-5	67	26268	26287	820
546495	n/a	n/a	TGCATACTCGCCTTTGTGAC	5-10-5	65	26269	26288	821
546395	2209	2228	TTCAACAACACAGTCATGG	5-10-5	72	34308	34327	822
546397	2233	2252	TTTTTTGATCTTTTACCATT	5-10-5	55	n/a	n/a	823
546496	n/a	n/a	ATGCATACTCGCCTTTGTGA	5-10-5	54	26270	26289	824
						26301	26320	
546497	n/a	n/a	CATGCATACTCGCCTTTGTG	5-10-5	56	26271	26290	825
						26302	26321	
546498	n/a	n/a	CCATGCATACTCGCCTTTGT	5-10-5	65	26272	26291	826
						26303	26322	
547529	2203	2222	ACACACAGTCATGGAGATCT	5-10-5	49	34302	34321	827
547530	2206	2225	ACAACACACAGTCATGGAGA	5-10-5	63	34305	34324	828
547531	2213	2232	TTATTTCAACAACACAGTC	5-10-5	69	34312	34331	829
546499	n/a	n/a	TCCATGCATACTCGCCTTTG	5-10-5	20	26273	26292	830
546500	n/a	n/a	TTCCATGCATACTCGCCTTT	5-10-5	46	26274	26293	831
546501	n/a	n/a	TTTCCATGCATACTCGCCTT	5-10-5	53	26275	26294	832
546502	n/a	n/a	GATTTTCCATGCATACTCGC	5-10-5	37	26278	26297	833
546503	n/a	n/a	GTGATGCGATTTTCCATGCA	5-10-5	53	26285	26304	834

[1983]

546508	n/a	n/a	GCAGCAAGTGCTCCCCATGC	5-10-5	43	26317	26336	835
546511	n/a	n/a	GTGATGAAAGTACAGCAGCA	5-10-5	50	26331	26350	836
546683	n/a	n/a	TCCTATCCGTGTTTCAGCTGT	5-10-5	69	3273	3292	837
546684	n/a	n/a	TACTCTCTACATACTCAGGA	5-10-5	71	3561	3580	838
546687	n/a	n/a	TGAGACCTCCAGACTACTGT	5-10-5	76	3847	3866	839
546690	n/a	n/a	CTCTGCTGGTTTTAGACCAC	5-10-5	44	4027	4046	840
546695	n/a	n/a	GGGACAATCTCCACCCCGA	5-10-5	36	4225	4244	841
546698	n/a	n/a	TGCAGAGTGCATCTGCGAA	5-10-5	59	4387	4406	842
546700	n/a	n/a	TGGTTCCTAGCGGTCCAGA	5-10-5	78	4561	4580	843
546705	n/a	n/a	CCCCTGTAGTTGGCTGTGGT	5-10-5	66	5046	5065	844
546707	n/a	n/a	GCAAGTCAAAGAGTGTCCAC	5-10-5	73	5283	5302	845
546710	n/a	n/a	GAAGCCTGTTAGAGTTGGCC	5-10-5	73	5576	5595	846
546719	n/a	n/a	CCCCCATGTCCATGGACTTT	5-10-5	55	6329	6348	847
547532	n/a	n/a	CTGCCAACAGTTTCAACTTT	5-10-5	65	3320	3339	848
547533	n/a	n/a	TTTTGCTTGGCTTCAATATT	5-10-5	23	3352	3371	849
547534	n/a	n/a	ATCTGACTAGTGAATGGCTT	5-10-5	72	2279	2298	850
547535	n/a	n/a	AGACAGCCCACCAACATCT	5-10-5	28	2306	2325	851
547536	n/a	n/a	TGCATAGACCCCAACAGACA	5-10-5	48	2321	2340	852
547537	n/a	n/a	CCTGTGCATAGACCCCAACA	5-10-5	65	2325	2344	853
547538	n/a	n/a	CCAGCAGAAATCCTGTGCAT	5-10-5	77	2336	2355	854
547539	n/a	n/a	AGAACTCCAGCAGAAATCCT	5-10-5	43	2342	2361	855
547540	n/a	n/a	TTGTGTGGCCCTCTTAAGTC	5-10-5	44	4794	4813	856
547541	n/a	n/a	TATAGATGTTTATTGTAGCC	5-10-5	36	4844	4863	857
547542	n/a	n/a	ATACTCGCCTTTGTGACTCG	5-10-5	35	26266	26285	858
547543	n/a	n/a	TTTTCCATGCATACTCGCCT	5-10-5	54	26276	26295	859
547544	n/a	n/a	TCGCCTTTGTGATGCGATTT	5-10-5	15	26293	26312	860
547545	n/a	n/a	ATACTCGCCTTTGTGATGCG	5-10-5	43	26297	26316	861
547546	n/a	n/a	CATACTCGCCTTTGTGATGC	5-10-5	11	26298	26317	862
547547	n/a	n/a	GCATACTCGCCTTTGTGATG	5-10-5	42	26299	26318	863
547548	n/a	n/a	TGCATACTCGCCTTTGTGAT	5-10-5	61	26300	26319	864
547549	n/a	n/a	CCCATGCATACTCGCCTTTG	5-10-5	36	26304	26323	865
547550	n/a	n/a	CCCCATGCATACTCGCCTTT	5-10-5	53	26305	26324	866
547551	n/a	n/a	TCCCCATGCATACTCGCCTT	5-10-5	38	26306	26325	867
547552	n/a	n/a	CTCCCCATGCATACTCGCCT	5-10-5	53	26307	26326	868
547553	n/a	n/a	TGCTCCCCATGCATACTCGC	5-10-5	64	26309	26328	869
547554	n/a	n/a	GCTCTGATTGGGTCACCACA	5-10-5	50	5743	5762	870
547555	n/a	n/a	TGTCTCCTTCCACTTGCTCC	5-10-5	58	5923	5942	871
547556	n/a	n/a	GCCATTTTATCCCTGAGATT	5-10-5	55	6130	6149	872
547557	n/a	n/a	CTGTGCTGTATTTGGAGCC	5-10-5	59	6413	6432	873

[1984]

[1985] 표 134

ISIS 번호	서열 번호: 1 개시 부위	서열 번호: 1 정지 부위	서열	모티프	억제 %	서열 번호: 10 개시 부위	서열 번호: 10 정지 부위	서열 번호
531231	n/a	n/a	TATCACTGTACTAGTTTCCT	5-10-5	85	14744	14763	334
						14815	14834	
						14886	14905	
						14945	14964	
						15005	15024	
						15077	15096	
						15220	15239	
						15292	15311	
						15351	15370	
						15411	15430	
						15483	15502	
						15555	15574	
						15613	15632	
						15685	15704	
						15815	15834	
						15887	15906	
						15945	15964	
546732	n/a	n/a	GGATTTGGCCCTGAGCCCCA	5-10-5	14	6933	6952	874
546735	n/a	n/a	CAACCTGTCCATTCCCTGGG	5-10-5	46	7082	7101	875
546739	n/a	n/a	ATTCGGTGTCTTTACTGGCT	5-10-5	89	7228	7247	876
546746	n/a	n/a	TCCTGTTGCCTGACATGCTA	5-10-5	65	7694	7713	877
546747	n/a	n/a	CTCCCACTGACTGACTACTC	5-10-5	64	7904	7923	878
546749	n/a	n/a	GCTGGTCCTTGAACCCCGTG	5-10-5	53	8259	8278	879
546753	n/a	n/a	CTGGCTCACTATAGGCCCCA	5-10-5	91	8655	8674	880
546756	n/a	n/a	ATAAGCATCTCTCTGACCTA	5-10-5	47	9105	9124	881
546763	n/a	n/a	GCTTCCCCAATACTTGCTGG	5-10-5	84	9695	9714	882
546765	n/a	n/a	GTGTCCAGAATACTGCCCCA	5-10-5	82	10053	10072	883
546770	n/a	n/a	GTGGACGACTGCCCTGTGCC	5-10-5	74	10435	10454	884
546773	n/a	n/a	TCTCTAGCATCCTAGTCCTC	5-10-5	67	10586	10605	885
546780	n/a	n/a	ATACTGGCTAAGTCAGGCC	5-10-5	83	10982	11001	886
546784	n/a	n/a	GGCAGGGAGGTGGATTATTC	5-10-5	58	11440	11459	887
546789	n/a	n/a	GCTTCTCTATCTCCAGTGT	5-10-5	79	12228	12247	888
546791	n/a	n/a	GATGCATGCAGCAATACAGG	5-10-5	52	12385	12404	889
546795	n/a	n/a	GTCTCGATGGCAAGCTGTAC	5-10-5	72	12650	12669	890
546796	n/a	n/a	GTA CTACCGGTACTCTGCC	5-10-5	82	12804	12823	891
546799	n/a	n/a	ATGAAGGGCGAGGCGCAGTG	5-10-5	5	13258	13277	892
546803	n/a	n/a	CCCCATACATCTATGCAAAT	5-10-5	40	13551	13570	893

[1986]

546804	n/a	n/a	ACATGACTCCAGTGATGGAT	5-10-5	57	13632	13651	894
546808	n/a	n/a	AAAATGACACCAAAATTCGC	5-10-5	0	13841	13860	895
546811	n/a	n/a	TGGACATCCTTCCCCTCGCA	5-10-5	49	13967	13986	896
546817	n/a	n/a	GCTCTGAGCCTTCCGCCTCT	5-10-5	77	14472	14491	897
546822	n/a	n/a	ACTAGTTTCCTATAACTGCT	5-10-5	32	14735	14754	898
546823	n/a	n/a	TACTAGTTTCCTATAACTGC	5-10-5	44	14736	14755	899
546824	n/a	n/a	GTACTAGTTTCCTATAACTG	5-10-5	79	14737	14756	900
546825	n/a	n/a	GTATCACTGTACTAGTTTCC	5-10-5	96	14745	14764	901
						14816	14835	
						14887	14906	
						14946	14965	
						15006	15025	
						15078	15097	
						15221	15240	
						15293	15312	
						15352	15371	
						15412	15431	
						15484	15503	
						15556	15575	
						15614	15633	
						15686	15705	
						15816	15835	
						15888	15907	
						15946	15965	
546826	n/a	n/a	AGTATCACTGTACTAGTTTC	5-10-5	90	14746	14765	902
						14817	14836	
						14888	14907	
						14947	14966	
						15007	15026	
						15079	15098	
						15222	15241	
						15294	15313	
						15353	15372	
						15413	15432	
						15485	15504	
						15557	15576	
						15615	15634	
						15687	15706	
						15817	15836	
						15889	15908	
						15947	15966	
546827	n/a	n/a	CAGTATCACTGTACTAGTTT	5-10-5	98	14747	14766	903
						14818	14837	

[1987]

						14889	14908	
						14948	14967	
						15008	15027	
						15080	15099	
						15152	15171	
						15223	15242	
						15295	15314	
						15354	15373	
						15414	15433	
						15486	15505	
						15558	15577	
						15616	15635	
						15688	15707	
						15818	15837	
						15890	15909	
						15948	15967	
546828	n/a	n/a	ACAGTATCACTGTACTAGTT	5-10-5	95	14748	14767	904
						14819	14838	
						14890	14909	
						14949	14968	
						15009	15028	
						15081	15100	
						15153	15172	
						15224	15243	
						15296	15315	
						15355	15374	
						15415	15434	
						15487	15506	
						15559	15578	
						15617	15636	
						15689	15708	
						15819	15838	
546829	n/a	n/a	AACAGTATCACTGTACTAGT	5-10-5	94	14749	14768	905
						14820	14839	
						14891	14910	
						14950	14969	
						15010	15029	
						15082	15101	
						15154	15173	
						15225	15244	
						15297	15316	

[1988]

						15356	15375	
						15416	15435	
						15488	15507	
						15560	15579	
						15618	15637	
						15690	15709	
						15820	15839	
						15892	15911	
						15950	15969	
546830	n/a	n/a	TAACAGTATCACTGTACTAG	5-10-5	78	14750	14769	906
						14821	14840	
						14892	14911	
						14951	14970	
						15011	15030	
						15083	15102	
						15155	15174	
						15226	15245	
						15298	15317	
						15357	15376	
						15417	15436	
						15489	15508	
						15561	15580	
						15619	15638	
						15691	15710	
						15821	15840	
546831	n/a	n/a	TCTAACAGTATCACTGTACT	5-10-5	79	15893	15912	907
						15951	15970	
						14752	14771	
						14823	14842	
						14894	14913	
						15013	15032	
						15085	15104	
						15228	15247	
						15300	15319	
						15419	15438	
546832	n/a	n/a	CTCTAACAGTATCACTGTAC	5-10-5	88	15491	15510	908
						15621	15640	
						15823	15842	
						15953	15972	
						14753	14772	
						14824	14843	
						14895	14914	
						15014	15033	

[1989]

						15086	15105	
						15229	15248	
						15301	15320	
						15420	15439	
						15492	15511	
						15622	15641	
						15824	15843	
						15954	15973	
546833	n/a	n/a	ACTCTAACAGTATCACTGTA	5-10-5	90	14754	14773	909
						14825	14844	
						14896	14915	
						15015	15034	
						15087	15106	
						15230	15249	
						15302	15321	
						15421	15440	
						15493	15512	
						15623	15642	
546834	n/a	n/a	AACTCTAACAGTATCACTGT	5-10-5	86	15825	15844	910
						15955	15974	
						14755	14774	
						14826	14845	
						14897	14916	
						15016	15035	
						15088	15107	
						15231	15250	
						15303	15322	
						15422	15441	
546835	n/a	n/a	TAACTCTAACAGTATCACTG	5-10-5	86	15494	15513	911
						15624	15643	
						15826	15845	
						15956	15975	
						14756	14775	
						14827	14846	
						14898	14917	
						15017	15036	
						15089	15108	
						15232	15251	
						15304	15323	
						15423	15442	
						15495	15514	
						15625	15644	
						15827	15846	

[1990]

						15957	15976	
546836	n/a	n/a	ATAACTCTAACAGTATCACT	5-10-5	30	14757	14776	912
						14828	14847	
						14899	14918	
						15018	15037	
						15090	15109	
						15233	15252	
						15305	15324	
						15424	15443	
						15496	15515	
						15626	15645	
						15828	15847	
						15958	15977	
546837	n/a	n/a	TATAACTCTAACAGTATCAC	5-10-5	0	14758	14777	913
						14829	14848	
						14900	14919	
						15019	15038	
						15091	15110	
						15234	15253	
						15306	15325	
						15425	15444	
						15497	15516	
						15627	15646	
						15829	15848	
						15959	15978	
546838	n/a	n/a	CTATAACTCTAACAGTATCA	5-10-5	43	14759	14778	914
						14830	14849	
						14901	14920	
						15020	15039	
						15092	15111	
						15235	15254	
						15307	15326	
						15426	15445	
						15498	15517	
						15628	15647	
						15830	15849	
						15960	15979	
546839	n/a	n/a	CCTATAACTCTAACAGTATC	5-10-5	47	14760	14779	915
						14831	14850	
						14902	14921	
						15021	15040	
						15093	15112	
						15236	15255	

[1991]

						15308	15327	
						15427	15446	
						15499	15518	
						15629	15648	
						15831	15850	
						15961	15980	
546840	n/a	n/a	CTGTCCTATAACTCTAACAG	5-10-5	53	14764	14783	916
						14835	14854	
546841	n/a	n/a	CACTGTCCTATAACTCTAAC	5-10-5	38	14766	14785	917
						14837	14856	
546842	n/a	n/a	TCACTGTCCTATAACTCTAA	5-10-5	54	14767	14786	918
						14838	14857	
546843	n/a	n/a	TATCACTGTCCTATAACTCT	5-10-5	52	14769	14788	919
						14840	14859	
546844	n/a	n/a	GTCCTATATCACTGTCCTAT	5-10-5	75	14775	14794	920
						14846	14865	
						15180	15199	
						15716	15735	
546845	n/a	n/a	TGTCCTATATCACTGTCCTA	5-10-5	75	14776	14795	921
						14847	14866	
						15181	15200	
						15717	15736	
546846	n/a	n/a	CTGTCCTATATCACTGTCCT	5-10-5	95	14777	14796	922
						14848	14867	
						15182	15201	
						15718	15737	
546847	n/a	n/a	ACTGTCCTATATCACTGTCC	5-10-5	88	14778	14797	923
						14849	14868	
						15183	15202	
						15719	15738	
546848	n/a	n/a	TCACTGTCCTATATCACTGT	5-10-5	86	14780	14799	924
						14851	14870	
						14976	14995	
						15185	15204	
						15257	15276	
						15382	15401	
						15520	15539	
						15650	15669	
						15721	15740	
						15852	15871	
						15982	16001	
547558	n/a	n/a	CCCCCAGTTCCTCATGCAAGG	5-10-5	52	6640	6659	925
547559	n/a	n/a	GAGCACAGATCTCTCAAGT	5-10-5	69	6822	6841	926

[1992]

547560	n/a	n/a	GACGGTCACCCAGCCCTGAC	5-10-5	42	7459	7478	927
547561	n/a	n/a	AAGGGAAATTAGAGGCAGGC	5-10-5	57	7583	7602	928
547562	n/a	n/a	CTTCTTTGAGACAATCCCTT	5-10-5	59	8463	8482	929
547563	n/a	n/a	GTGGGATCAGAGAATGACTA	5-10-5	48	9267	9286	930
547564	n/a	n/a	CCCTCTGTCTTAGATGTCCA	5-10-5	94	9390	9409	931
547565	n/a	n/a	CTTATCAGTCCCAGTCATGT	5-10-5	63	10698	10717	932
547566	n/a	n/a	AAGAGTTGGGATGCGACTCT	5-10-5	76	11335	11354	933
547567	n/a	n/a	TCCACTCCTAAGAAGTATGG	5-10-5	60	11546	11565	934
547568	n/a	n/a	GCACCCTTTTCATTGAGATT	5-10-5	70	12070	12089	935
547569	n/a	n/a	ACTACCATTGTTGGTTGGTAG	5-10-5	9	12571	12590	936
547570	n/a	n/a	AAGCCCTGTTTGGTTTTAG	5-10-5	18	12900	12919	937
547571	n/a	n/a	AAATGACACCAAAATTGAGT	5-10-5	14	13744	13763	938
547572	n/a	n/a	AAATGACACCAAAATTCGCT	5-10-5	40	13840	13859	939
547573	n/a	n/a	TAAGCAAGGCTATGTGTGG	5-10-5	2	13880	13899	940
547574	n/a	n/a	ACACGCACAGGTCCAGGGC	5-10-5	51	14314	14333	941
547575	n/a	n/a	GGGAAACTCTTCTCGCCC	5-10-5	89	14583	14602	942
547576	n/a	n/a	CTAGTTTCCTATAACTGCTG	5-10-5	29	14734	14753	943
547577	n/a	n/a	CTAACAGTATCACTGTACTA	5-10-5	79	14751	14770	944
						14822	14841	
						14893	14912	
						15012	15031	
						15084	15103	
						15227	15246	
						15299	15318	
						15418	15437	
						15490	15509	
						15620	15639	
547578	n/a	n/a	GTCCTATAACTCTAACAGTA	5-10-5	30	14762	14781	945
						14833	14852	
547579	n/a	n/a	TGTCCTATAACTCTAACAGT	5-10-5	0	14763	14782	946
						14834	14853	
547580	n/a	n/a	ATCACTGTCCTATAACTCTA	5-10-5	61	14768	14787	947
						14839	14858	
547581	n/a	n/a	ATATCACTGTCCTATAACTC	5-10-5	60	14770	14789	948
						14841	14860	
547582	n/a	n/a	TATATCACTGTCCTATAACT	5-10-5	22	14771	14790	949
						14842	14861	
						15176	15195	
						15712	15731	
547583	n/a	n/a	CACTGTCCTATATCACTGTC	5-10-5	80	16160	16179	950
						14779	14798	

[1993]

						14850	14869	
						15184	15203	
						15720	15739	

[1994]

[1995] 표 135

ISIS 번호	서열 번호: 1 개시 부위	서열 번호: 1 정지 부위	서열	모티프	억제 %	서열 번호: 10 개시 부위	서열 번호: 10 정지 부위	서열 번호
531231	n/a	n/a	TATCACTGTACTAGTTTCCT	5-10-5	85	14744	14763	334
						14815	14834	
						14886	14905	
						14945	14964	
						15005	15024	
						15077	15096	
						15220	15239	
						15292	15311	
						15351	15370	
						15411	15430	
						15483	15502	
						15555	15574	
						15613	15632	
						15685	15704	
						15815	15834	
546849	n/a	n/a	ATCACTGTCCTATATCACTG	5-10-5	93	15887	15906	951
						15945	15964	
						14781	14800	
						14852	14871	
						14977	14996	
						15186	15205	
						15258	15277	
						15383	15402	
						15521	15540	
						15651	15670	
546850	n/a	n/a	TATCACTGTCCTATATCACT	5-10-5	80	15722	15741	952
						15853	15872	
						15983	16002	
						14782	14801	
						14853	14872	
						14978	14997	
						15116	15135	
						15187	15206	

[1996]

						15259	15278	
						15384	15403	
						15522	15541	
						15652	15671	
						15723	15742	
						15854	15873	
						15984	16003	
546851	n/a	n/a	AGTATCACTGTCCTATATCA	5-10-5	81	14784	14803	953
						14980	14999	
						15118	15137	
						15386	15405	
						15524	15543	
						15986	16005	
546852	n/a	n/a	CAGTATCACTGTCCTATATC	5-10-5	94	14785	14804	954
						14981	15000	
						15119	15138	
						15387	15406	
						15525	15544	
						15987	16006	
546853	n/a	n/a	ACAGTATCACTGTCCTATAT	5-10-5	86	14786	14805	955
						14982	15001	
						15120	15139	
						15388	15407	
						15526	15545	
						15988	16007	
546854	n/a	n/a	TAACAGTATCACTGTCCTAT	5-10-5	90	14788	14807	956
						14984	15003	
						15050	15069	
						15122	15141	
						15390	15409	
						15456	15475	
						15528	15547	
						15990	16009	
546855	n/a	n/a	ATAACAGTATCACTGTCCTA	5-10-5	87	14789	14808	957
						14985	15004	
						15051	15070	
						15123	15142	
						15391	15410	
						15457	15476	
						15529	15548	
						15991	16010	
546856	n/a	n/a	AACTATAACAGTATCACTGT	5-10-5	54	14793	14812	958
						15055	15074	

[1997]

						15127	15146	
						15160	15179	
						15461	15480	
						15533	15552	
						15566	15585	
						15696	15715	
						15898	15917	
						15995	16014	
546857	n/a	n/a	TATAACTATAACAGTATCAC	5-10-5	7	14796	14815	959
						15058	15077	
						15130	15149	
						15163	15182	
						15464	15483	
						15536	15555	
						15569	15588	
						15699	15718	
546858	n/a	n/a	CTATAACTATAACAGTATCA	5-10-5	21	15770	15789	960
						15998	16017	
						14797	14816	
						15059	15078	
						15131	15150	
						15164	15183	
						15465	15484	
						15537	15556	
546859	n/a	n/a	TTTCCTATAACTATAACAGT	5-10-5	7	15570	15589	961
						15700	15719	
						15771	15790	
						15999	16018	
546860	n/a	n/a	CTAGTTTCCTATAACTATAA	5-10-5	36	14801	14820	962
						15063	15082	
						15469	15488	
						15541	15560	
						14805	14824	
						14876	14895	
						14935	14954	
						15067	15086	
						15210	15229	
						15282	15301	
						15341	15360	
						15473	15492	
						15545	15564	
						15603	15622	
						15675	15694	

[1998]

						15746	15765	
						15805	15824	
						15877	15896	
						15935	15954	
546861	n/a	n/a	TAACAATATCACTGTCCTAT	5-10-5	68	14859	14878	963
						15193	15212	
						15265	15284	
						15586	15605	
						15658	15677	
						15729	15748	
						15860	15879	
						16086	16105	
						16183	16202	
						16234	16253	
546862	n/a	n/a	AACTATAACAATATCACTGT	5-10-5	0	14864	14883	964
						14923	14942	
						15198	15217	
						15270	15289	
						15329	15348	
						15591	15610	
						15663	15682	
						15734	15753	
						15793	15812	
						15865	15884	
						15923	15942	
						16066	16085	
						16091	16110	
						16144	16163	
						16239	16258	
546863	n/a	n/a	TAACTATAACAATATCACTG	5-10-5	21	14865	14884	965
						14924	14943	
						15199	15218	
						15271	15290	
						15330	15349	
						15592	15611	
						15664	15683	
						15735	15754	
						15794	15813	
						15866	15885	
						15924	15943	
						16067	16086	
						16092	16111	
						16145	16164	

[1999]

						16240	16259	
546864	n/a	n/a	ATAACTATAACAATATCACT	5-10-5	0	14866	14885	966
						14925	14944	
						15200	15219	
						15272	15291	
						15331	15350	
						15593	15612	
						15665	15684	
						15736	15755	
						15795	15814	
						15867	15886	
						15925	15944	
						16068	16087	
						16093	16112	
						16146	16165	
						16241	16260	
546865	n/a	n/a	TATAACTATAACAATATCAC	5-10-5	0	14867	14886	967
						14926	14945	
						15201	15220	
						15273	15292	
						15332	15351	
						15594	15613	
						15666	15685	
						15737	15756	
						15796	15815	
						15868	15887	
						15926	15945	
						16069	16088	
						16094	16113	
						16147	16166	
						16242	16261	
546866	n/a	n/a	GTTTCCTATAACTATAACAA	5-10-5	35	14873	14892	968
						14932	14951	
						15207	15226	
						15279	15298	
						15338	15357	
						15600	15619	
						15672	15691	
						15743	15762	
						15802	15821	
						15874	15893	
546867	n/a	n/a	ACCTATAACTCTAACAGTAT	5-10-5	40	14903	14922	969

[2000]

						15022	15041	
						15094	15113	
						15237	15256	
						15309	15328	
						15428	15447	
						15500	15519	
						15630	15649	
						15832	15851	
						15962	15981	
546868	n/a	n/a	TACCTATAACTCTAACAGTA	5-10-5	51	14904	14923	970
						15023	15042	
						15095	15114	
						15238	15257	
						15310	15329	
						15429	15448	
						15501	15520	
						15631	15650	
						15833	15852	
						15963	15982	
546869	n/a	n/a	TGTACCTATAACTCTAACAG	5-10-5	53	14906	14925	971
						15025	15044	
						15240	15259	
						15312	15331	
						15431	15450	
						15503	15522	
						15633	15652	
						15835	15854	
						15965	15984	
546870	n/a	n/a	CTGTACCTATAACTCTAACA	5-10-5	87	14907	14926	972
						15026	15045	
						15241	15260	
						15313	15332	
						15432	15451	
						15504	15523	
						15634	15653	
						15836	15855	
						15966	15985	
546871	n/a	n/a	ACTGTACCTATAACTCTAAC	5-10-5	73	14908	14927	973
						15027	15046	
						15242	15261	
						15314	15333	
						15433	15452	
						15505	15524	

[2001]

						15635	15654	
						15837	15856	
						15967	15986	
546872	n/a	n/a	CACTGTACCTATAACTCTAA	5-10-5	87	14909	14928	974
						15028	15047	
						15243	15262	
						15315	15334	
						15434	15453	
						15506	15525	
						15636	15655	
						15838	15857	
546873	n/a	n/a	CAATATCACTGTACCTATAA	5-10-5	34	15968	15987	975
						14915	14934	
						15321	15340	
						15785	15804	
546874	n/a	n/a	ATAACAATATCACTGTACCT	5-10-5	68	14919	14938	976
						15325	15344	
						15789	15808	
						16062	16081	
546875	n/a	n/a	ACTATAACAATATCACTGTA	5-10-5	33	16140	16159	977
						14922	14941	
						15328	15347	
						15792	15811	
546876	n/a	n/a	GTCCTATATCACTGTACCTG	5-10-5	87	16065	16084	978
						16143	16162	
546877	n/a	n/a	CACTGTCCTATATCACTGTA	5-10-5	88	14971	14990	979
						14975	14994	
						15256	15275	
						15381	15400	
						15519	15538	
						15649	15668	
546878	n/a	n/a	CCTATAACAGTATCACTGTC	5-10-5	81	15851	15870	980
						15981	16000	
546879	n/a	n/a	TTTCCTATAACAGTATCACT	5-10-5	42	14988	15007	981
						15394	15413	
546880	n/a	n/a	GTTTCCTATAACAGTATCAC	5-10-5	41	14991	15010	982
						15397	15416	
546881	n/a	n/a	AGTTTCCTATAACAGTATCA	5-10-5	49	14992	15011	983
						15398	15417	
546882	n/a	n/a	TAGTTTCCTATAACAGTATC	5-10-5	24	14993	15012	984
						15399	15418	
						14994	15013	
						15400	15419	

[2002]

546883	n/a	n/a	CTAGTTTCCTATAACAGTAT	5-10-5	19	14995	15014	985
						15401	15420	
546884	n/a	n/a	ACTAGTTTCCTATAACAGTA	5-10-5	6	14996	15015	986
						15402	15421	
547584	n/a	n/a	GTATCACTGTCCTATATCAC	5-10-5	85	14783	14802	987
						14979	14998	
						15117	15136	
						15385	15404	
						15523	15542	
547585	n/a	n/a	AACAGTATCACTGTCCTATA	5-10-5	85	15985	16004	988
						14787	14806	
						14983	15002	
						15121	15140	
						15389	15408	
547586	n/a	n/a	TATAACAGTATCACTGTCCT	5-10-5	82	15527	15546	989
						15989	16008	
						14790	14809	
						14986	15005	
						15052	15071	
						15124	15143	
						15392	15411	
547587	n/a	n/a	CTATAACAGTATCACTGTCC	5-10-5	96	15458	15477	990
						15530	15549	
						15992	16011	
						14791	14810	
						14987	15006	
						15053	15072	
						15125	15144	
547588	n/a	n/a	ACTATAACAGTATCACTGTC	5-10-5	83	15393	15412	991
						15459	15478	
						15531	15550	
						15993	16012	
						14792	14811	
547589	n/a	n/a	TAACTATAACAGTATCACTG	5-10-5	36	15054	15073	992
						15126	15145	
						15460	15479	
						15532	15551	
						15994	16013	
						14794	14813	
						15056	15075	
						15128	15147	
						15161	15180	
						15462	15481	

[2003]

						15534	15553	
						15567	15586	
						15697	15716	
						15996	16015	
547590	n/a	n/a	ATAACTATAACAGTATCACT	5-10-5	0	14795	14814	993
						15057	15076	
						15129	15148	
						15162	15181	
						15463	15482	
						15535	15554	
						15568	15587	
						15698	15717	
						15997	16016	
547591	n/a	n/a	CCTATAACTATAACAGTATC	5-10-5	23	14798	14817	994
						15060	15079	
						15165	15184	
						15466	15485	
						15538	15557	
						15571	15590	
						15701	15720	
						15772	15791	
						16000	16019	
547592	n/a	n/a	TCCTATAACTATAACAGTAT	5-10-5	27	14799	14818	995
						15061	15080	
						15166	15185	
						15467	15486	
						15539	15558	
						15572	15591	
						15702	15721	
						16001	16020	
547593	n/a	n/a	TTCCTATAACTATAACAGTA	5-10-5	29	14800	14819	996
						15062	15081	
						15468	15487	
						15540	15559	
547594	n/a	n/a	GTTTCCTATAACTATAACAG	5-10-5	19	14802	14821	997
						15064	15083	
						15470	15489	
						15542	15561	
547595	n/a	n/a	ACTAGTTTCCTATAACTATA	5-10-5	21	14806	14825	998
						14877	14896	
						14936	14955	
						15068	15087	
						15211	15230	

[2004]

						15283	15302	
						15342	15361	
						15474	15493	
						15546	15565	
						15604	15623	
						15676	15695	
						15747	15766	
						15806	15825	
						15878	15897	
						15936	15955	
						14807	14826	
						14878	14897	
						14937	14956	
						15069	15088	
						15212	15231	
						15284	15303	
						15343	15362	
547596	n/a	n/a	TACTAGTTTCCTATAACTAT	5-10-5	14	15475	15494	999
						15547	15566	
						15605	15624	
						15677	15696	
						15748	15767	
						15807	15826	
						15879	15898	
						15937	15956	
547597	n/a	n/a	CAATATCACTGTCCTATATC	5-10-5	29	14856	14875	1000
						15190	15209	
						15262	15281	
						15655	15674	
						15726	15745	
						15857	15876	
547598	n/a	n/a	ACTATAACAATATCACTGTC	5-10-5	59	14863	14882	1001
						15197	15216	
						15269	15288	
						15590	15609	
						15662	15681	
						15733	15752	
						15864	15883	
						15922	15941	
						16090	16109	
						16238	16257	
547599	n/a	n/a	TTCCTATAACTATAACAATA	5-10-5	4	14871	14890	1002
						14930	14949	

[2005]

						15205	15224	
						15277	15296	
						15336	15355	
						15598	15617	
						15670	15689	
						15741	15760	
						15800	15819	
						15872	15891	
						15930	15949	
547600	n/a	n/a	TTTCCTATAACTATAACAAT	5-10-5	26	14872	14891	1003
						14931	14950	
						15206	15225	
						15278	15297	
						15337	15356	
						15599	15618	
						15671	15690	
						15742	15761	
						15801	15820	
						15873	15892	
						15931	15950	
547601	n/a	n/a	GTACCTATAACTCTAACAGT	5-10-5	75	14905	14924	1004
						15024	15043	
						15239	15258	
						15311	15330	
						15430	15449	
						15502	15521	
						15632	15651	
						15834	15853	
						15964	15983	
547602	n/a	n/a	TCACTGTACCTATAACTCTA	5-10-5	93	14910	14929	1005
						15029	15048	
						15244	15263	
						15316	15335	
						15435	15454	
						15507	15526	
						15637	15656	
						15839	15858	
						15969	15988	
547603	n/a	n/a	TATCACTGTACCTATAACTC	5-10-5	41	14912	14931	1006
						15246	15265	
						15318	15337	
						15509	15528	
						15639	15658	

[2006]

						15841	15860	
						15971	15990	
547604	n/a	n/a	ATATCACTGTACCTATAACT	5-10-5	0	14913	14932	1007
						15247	15266	
						15319	15338	
						15510	15529	
						15640	15659	
						15783	15802	
						15842	15861	
547605	n/a	n/a	ACAATATCACTGTACCTATA	5-10-5	43	15972	15991	1008
						14916	14935	
						15322	15341	
						15786	15805	
547606	n/a	n/a	AACAATATCACTGTACCTAT	5-10-5	43	16137	16156	1009
						14917	14936	
						15323	15342	
						15787	15806	
547607	n/a	n/a	TAACAATATCACTGTACCTA	5-10-5	49	16138	16157	1010
						14918	14937	
						15324	15343	
						15788	15807	
547608	n/a	n/a	TATAACAATATCACTGTACC	5-10-5	35	16139	16158	1011
						14920	14939	
						15326	15345	
						15790	15809	
547609	n/a	n/a	CTATAACAATATCACTGTAC	5-10-5	23	16063	16082	1012
						16141	16160	
						14921	14940	
						15327	15346	
547610	n/a	n/a	TGTAACAGTATCACTGTACT	5-10-5	45	15791	15810	1013
547611	n/a	n/a	CTGTAACAGTATCACTGTAC	5-10-5	71	16064	16083	1014
547612	n/a	n/a	CCTGTAACAGTATCACTGTA	5-10-5	68	16142	16161	1015
547613	n/a	n/a	CTATATCACTGTACCTGTAA	5-10-5	39	14953	14972	1016
547614	n/a	n/a	CCTATATCACTGTACCTGTA	5-10-5	81	14954	14973	1017
547615	n/a	n/a	TCCTATATCACTGTACCTGT	5-10-5	84	14955	14974	1018
547616	n/a	n/a	TGTCCTATATCACTGTACCT	5-10-5	86	14968	14987	1019
						14969	14988	
						14970	14989	
						14972	14991	
						15253	15272	
						15378	15397	
						15516	15535	
						15646	15665	

[2007]

						15848	15867	
						15978	15997	
547617	n/a	n/a	CTGTCCTATATCACTGTACC	5-10-5	91	14973	14992	1020
						15254	15273	
						15379	15398	
						15517	15536	
						15647	15666	
						15849	15868	
547618	n/a	n/a	ACTGTCCTATATCACTGTAC	5-10-5	87	15979	15998	1021
						14974	14993	
						15255	15274	
						15380	15399	
						15518	15537	
						15648	15667	
547619	n/a	n/a	TCCTATAACAGTATCACTGT	5-10-5	70	15850	15869	1022
						15980	15999	
547620	n/a	n/a	TTCCTATAACAGTATCACTG	5-10-5	65	14989	15008	1023
						15395	15414	
547621	n/a	n/a	TACTAGTTTCCTATAACAGT	5-10-5	12	14990	15009	1024
						15396	15415	
547622	n/a	n/a	GTCACCTGTACCTATAACTCT	5-10-5	88	14997	15016	1025
						15403	15422	
547623	n/a	n/a	TGTCACCTGTACCTATAACTC	5-10-5	81	15030	15049	1026
						15436	15455	
547624	n/a	n/a	ATGTCACCTGTACCTATAACT	5-10-5	64	15031	15050	1027
						15437	15456	
						15032	15051	
						15438	15457	

[2008]

[2009]

표 136

ISIS 번호	서열 번호: 1 개시 부위	서열 번호: 1 정지 부위	서열	억제 %	모티프	서열 번호: 10 개시 부위	서열 번호: 10 정지 부위	서열 번호
531231	n/a	n/a	TATCACTGTACTAGTTTCCT	93	5-10-5	14744	14763	334
						14815	14834	
						14886	14905	
						14945	14964	
						15005	15024	
						15077	15096	
						15220	15239	
						15292	15311	

[2010]

						15351	15370	
						15411	15430	
						15483	15502	
						15555	15574	
						15613	15632	
						15685	15704	
						15815	15834	
						15887	15906	
						15945	15964	
546885	n/a	n/a	TATGTCACCTGTACCTATAAC	46	5-10-5	15033	15052	1028
						15439	15458	
546886	n/a	n/a	CTATGTCACCTGTACCTATAA	80	5-10-5	15034	15053	1029
						15440	15459	
546887	n/a	n/a	CCTATGTCACCTGTACCTATA	82	5-10-5	15035	15054	1030
						15441	15460	
546888	n/a	n/a	TCCTATGTCACCTGTACCTAT	78	5-10-5	15036	15055	1031
						15442	15461	
546889	n/a	n/a	GTCCTATGTCACCTGTACCTA	93	5-10-5	15037	15056	1032
						15443	15462	
546890	n/a	n/a	TGTCCTATGTCACCTGTACCT	78	5-10-5	15038	15057	1033
						15444	15463	
546891	n/a	n/a	CTGTCCTATGTCACCTGTACC	81	5-10-5	15039	15058	1034
						15445	15464	
546892	n/a	n/a	ACTGTCCTATGTCACCTGTAC	82	5-10-5	15040	15059	1035
						15446	15465	
546893	n/a	n/a	CACTGTCCTATGTCACCTGTA	70	5-10-5	15041	15060	1036
						15447	15466	
546894	n/a	n/a	TCACTGTCCTATGTCACCTGT	91	5-10-5	15042	15061	1037
						15448	15467	
546895	n/a	n/a	TATCACTGTCCTATGTCACCT	77	5-10-5	15044	15063	1038
						15450	15469	
546896	n/a	n/a	GTATCACTGTCCTATGTCAC	75	5-10-5	15045	15064	1039
						15451	15470	
546897	n/a	n/a	AGTATCACTGTCCTATGTCA	90	5-10-5	15046	15065	1040
						15452	15471	
546898	n/a	n/a	AACAGTATCACTGTCCTATG	91	5-10-5	15049	15068	1041
						15455	15474	
546899	n/a	n/a	CTACCTATAACTCTAACAGT	27	5-10-5	15096	15115	1042
						15170	15189	
546901	n/a	n/a	ACTGTCCTATAACTATAACA	56	5-10-5	15576	15595	1043
						15706	15725	
						16005	16024	
						16076	16095	

[2011]

						16101	16120	
						16154	16173	
546902	n/a	n/a	CACTGTCCTATAACTATAAC	71	5-10-5	15171	15190	1044
						15577	15596	
						15707	15726	
						16006	16025	
						16077	16096	
						16102	16121	
546903	n/a	n/a	CCTATATCACTGTACCTATA	91	5-10-5	16155	16174	1045
						15250	15269	
						15375	15394	
						15513	15532	
						15643	15662	
						15845	15864	
546904	n/a	n/a	TCCTATATCACTGTACCTAT	80	5-10-5	15975	15994	1046
						15251	15270	
						15376	15395	
						15514	15533	
						15644	15663	
						15846	15865	
546905	n/a	n/a	TACCTATAACAGTATCACTG	65	5-10-5	15976	15995	1047
546907	n/a	n/a	ATAACTATAACAGTATCACC	37	5-10-5	15363	15382	1048
546908	n/a	n/a	TCACTGTACCTATAACTATA	77	5-10-5	15769	15788	1049
						15780	15799	
546909	n/a	n/a	AACAATATCACTGTACCTTT	44	5-10-5	16252	16271	1050
546910	n/a	n/a	TAACAATATCACTGTACCTT	82	5-10-5	16060	16079	1051
546911	n/a	n/a	GTCCTATAACTATAACAATA	52	5-10-5	16061	16080	1052
						16073	16092	
						16098	16117	
547625	n/a	n/a	CAGTATCACTGTCCTATGTC	79	5-10-5	16151	16170	1053
						15047	15066	
547626	n/a	n/a	ACAGTATCACTGTCCTATGT	91	5-10-5	15453	15472	1054
						15048	15067	
547627	n/a	n/a	TCTACCTATAACTCTAACAG	71	5-10-5	15454	15473	1055
547628	n/a	n/a	CTCTACCTATAACTCTAACA	34	5-10-5	15097	15116	1056
547629	n/a	n/a	ACTCTACCTATAACTCTAAC	0	5-10-5	15098	15117	1057
547630	n/a	n/a	ACTGTCCTATATCACTCTAC	76	5-10-5	15099	15118	1058
547631	n/a	n/a	CACTGTCCTATATCACTCTA	85	5-10-5	15112	15131	1059
547632	n/a	n/a	TCACTGTCCTATATCACTCT	87	5-10-5	15113	15132	1060
547633	n/a	n/a	ATCACTGTCCTATATCACTC	87	5-10-5	15114	15133	1061
547634	n/a	n/a	ATCACTGTACTAGTTTTCTA	72	5-10-5	15115	15134	1062
547635	n/a	n/a	TATCACTGTACTAGTTTTCT	53	5-10-5	15148	15167	1063

[2012]

547636	n/a	n/a	GTATCACTGTACTAGTTTTC	86	5-10-5	15150	15169	1064
547637	n/a	n/a	AGTATCACTGTACTAGTTT	88	5-10-5	15151	15170	1065
547638	n/a	n/a	ATAACAGTATCACTGTACTA	87	5-10-5	15156	15175	1066
						15358	15377	
						15562	15581	
						15692	15711	
						15894	15913	
547639	n/a	n/a	GTCCTATAACTATAACAGTA	72	5-10-5	15167	15186	1067
						15573	15592	
						15703	15722	
						16002	16021	
547640	n/a	n/a	TGTCTATAACTATAACAGT	13	5-10-5	15168	15187	1068
						15574	15593	
						15704	15723	
						16003	16022	
547641	n/a	n/a	CTGTCCTATAACTATAACAG	43	5-10-5	15169	15188	1069
						15575	15594	
						15705	15724	
						16004	16023	
547642	n/a	n/a	TCACTGTCCTATAACTATAA	72	5-10-5	15172	15191	1070
						15578	15597	
						15708	15727	
						16007	16026	
						16078	16097	
						16103	16122	
547643	n/a	n/a	ATCACTGTCCTATAACTATA	72	5-10-5	16156	16175	1071
						15173	15192	
						15579	15598	
						15709	15728	
						16008	16027	
						16079	16098	
						16104	16123	
						16157	16176	
547644	n/a	n/a	TATCACTGTCCTATAACTAT	51	5-10-5	16176	16195	1072
						15174	15193	
						15580	15599	
						15710	15729	
						16009	16028	
						16080	16099	
						16158	16177	
						16177	16196	
547645	n/a	n/a	ATATCACTGTCCTATAACTA	60	5-10-5	16228	16247	1073
						15175	15194	

[2013]

						15581	15600	
						15711	15730	
						16010	16029	
						16081	16100	
						16159	16178	
						16178	16197	
						16229	16248	
547646	n/a	n/a	CTATATCACTGTACCTATAA	23	5-10-5	15249	15268	1074
						15374	15393	
						15512	15531	
						15642	15661	
						15844	15863	
						15974	15993	
547647	n/a	n/a	GTCCTATATCACTGTACCTA	92	5-10-5	15252	15271	1075
						15377	15396	
						15515	15534	
						15645	15664	
						15847	15866	
						15977	15996	
547648	n/a	n/a	CCTATAACAGTATCACTGTA	83	5-10-5	15361	15380	1076
547649	n/a	n/a	ACCTATAACAGTATCACTGT	73	5-10-5	15362	15381	1077
547650	n/a	n/a	GTACCTATAACAGTATCACT	32	5-10-5	15364	15383	1078
547651	n/a	n/a	TGTACCTATAACAGTATCAC	48	5-10-5	15365	15384	1079
547652	n/a	n/a	TCACTGTACCTATAACAGTA	59	5-10-5	15369	15388	1080
547653	n/a	n/a	ATCACTGTACCTATAACAGT	57	5-10-5	15370	15389	1081
547654	n/a	n/a	TATCACTGTACCTATAACAG	53	5-10-5	15371	15390	1082
547655	n/a	n/a	AATATCACTGTCCTATAACT	37	5-10-5	15582	15601	1083
						16011	16030	
						16082	16101	
						16179	16198	
						16230	16249	
547656	n/a	n/a	CAATATCACTGTCCTATAAC	42	5-10-5	15583	15602	1084
						16083	16102	
						16180	16199	
						16231	16250	
547657	n/a	n/a	ACAATATCACTGTCCTATAA	43	5-10-5	15584	15603	1085
						16084	16103	
						16181	16200	
						16232	16251	
547658	n/a	n/a	CGTACTAGTTTCCTATAACT	68	5-10-5	15750	15769	1086
547659	n/a	n/a	ACTATAACAGTATCACCGTA	80	5-10-5	15766	15785	1087
547660	n/a	n/a	AACTATAACAGTATCACCGT	68	5-10-5	15767	15786	1088
547661	n/a	n/a	TAATATAACAGTATCACCG	80	5-10-5	15768	15787	1089

[2014]

547662	n/a	n/a	ACCTATAACTATAACAGTAT	0	5-10-5	15773	15792	1090
547663	n/a	n/a	TACCTATAACTATAACAGTA	10	5-10-5	15774	15793	1091
547664	n/a	n/a	GTACCTATAACTATAACAGT	2	5-10-5	15775	15794	1092
547665	n/a	n/a	TGTACCTATAACTATAACAG	10	5-10-5	15776	15795	1093
547666	n/a	n/a	ATCACTGTACCTATAACTAT	71	5-10-5	15781	15800	1094
						16253	16272	
547667	n/a	n/a	TATCACTGTACCTATAACTA	55	5-10-5	15782	15801	1095
547668	n/a	n/a	CAACTATAACAGTATCACTG	44	5-10-5	15899	15918	1096
547669	n/a	n/a	ACAACCTATAACAGTATCACT	0	5-10-5	15900	15919	1097
547670	n/a	n/a	TACAACCTATAACAGTATCAC	0	5-10-5	15901	15920	1098
547671	n/a	n/a	CTACAACCTATAACAGTATCA	0	5-10-5	15902	15921	1099
547672	n/a	n/a	CAATATCACTGTCCTACAAC	36	5-10-5	15915	15934	1100
547673	n/a	n/a	GAATATCACTGTCCTATAAC	21	5-10-5	16012	16031	1101
547674	n/a	n/a	ACAATATCACTGTACCTTTA	53	5-10-5	16059	16078	1102
547675	n/a	n/a	TGTCCTATAACTATAACAAT	10	5-10-5	16074	16093	1103
						16099	16118	
						16152	16171	
547676	n/a	n/a	CTGTCCTATAACTATAACAA	41	5-10-5	16075	16094	1104
						16100	16119	
						16153	16172	

[2015]

[2016] 표 137

ISIS 번호	서열 번호: 1 개시 부위	서열 번호: 1 정지 부위	서열	모티프	억제 %	서열 번호: 10 개시 부위	서열 번호: 10 정지 부위	서열 번호
531231	n/a	n/a	TATCACTGTACTAGTTTCCT	5-10-5	93	14744	14763	334
						14815	14834	
						14886	14905	
						14945	14964	
						15005	15024	
						15077	15096	
						15220	15239	
						15292	15311	
						15351	15370	
						15411	15430	
						15483	15502	
						15555	15574	
						15613	15632	
						15685	15704	
						15815	15834	
						15887	15906	

[2017]

						15945	15964	
546529	n/a	n/a	GCACCTGGCAGAACAGTACC	5-10-5	65	26419	26438	1105
546578	n/a	n/a	GACAGTGGGCCAGAGCCTTG	5-10-5	73	26686	26705	1106
546912	n/a	n/a	ACATCACTGTCCTATAACTA	5-10-5	26	16106	16125	1107
546913	n/a	n/a	GTACCTATATCACTGTAACT	5-10-5	38	16126	16145	1108
546914	n/a	n/a	ATATCACTGTACCTATATCA	5-10-5	52	16134	16153	1109
546915	n/a	n/a	TCACTGTCCTATAACTATAT	5-10-5	39	16175	16194	1110
546916	n/a	n/a	CGTCACTGTACCTATAACTG	5-10-5	92	16203	16222	1111
546917	n/a	n/a	ATCACTGTCCTATAACTATT	5-10-5	63	16227	16246	1112
546918	n/a	n/a	AACATCACTGTACCTATAAC	5-10-5	14	16256	16275	1113
546926	n/a	n/a	GCCATCCAGGGTGCTCTCCC	5-10-5	81	16839	16858	1114
546931	n/a	n/a	GCCCCCGGAGCACCTTCACT	5-10-5	58	17205	17224	1115
546935	n/a	n/a	CGTGGTTAGCCTGACATCTC	5-10-5	86	17412	17431	1116
546939	n/a	n/a	GCCATTGCGTTAGCCTCCGA	5-10-5	89	17664	17683	1117
546942	n/a	n/a	TACACTGAACCCCTTAGGC	5-10-5	56	18570	18589	1118
546943	n/a	n/a	CAGTTTGCCCTTTCCATCTC	5-10-5	54	18819	18838	1119
546944	n/a	n/a	GCCACTAACCCACCTCTTAA	5-10-5	42	19140	19159	1120
546946	n/a	n/a	ACTCCCATCTACTCCCCAT	5-10-5	41	19291	19310	1121
546954	n/a	n/a	CTGCTGATTGTGTCTGGCTC	5-10-5	71	20235	20254	1122
546955	n/a	n/a	ACAAGGCTTCGAGGACAGCC	5-10-5	49	20339	20358	1123
546964	n/a	n/a	GCGATTTCCTGCCTCTGCTG	5-10-5	53	21550	21569	1124
546967	n/a	n/a	CACCGCGCAATGCCTGCCT	5-10-5	93	22657	22676	1125
546969	n/a	n/a	ATCCAACCTCTCTCCCTATC	5-10-5	53	22901	22920	1126
546970	n/a	n/a	GCCCAAGCCTACATGCATAC	5-10-5	61	23426	23445	1127
546975	n/a	n/a	GGCCTGGATACAGCCTTTCT	5-10-5	70	23825	23844	1128
546977	n/a	n/a	GTCCCGAAGAGTCAAGTCCA	5-10-5	76	24253	24272	1129
546979	n/a	n/a	ACTGTTGTCCATAGCAGCAT	5-10-5	71	24504	24523	1130
546980	n/a	n/a	AGCCTCAATTGTTGCTGGT	5-10-5	79	24664	24683	1131
546983	n/a	n/a	GATGACCTGCAGATGCACAG	5-10-5	74	24978	24997	1132
546986	n/a	n/a	CAGGATAGAACTGATGGTCC	5-10-5	91	25318	25337	1133
546990	n/a	n/a	AGAACAGGAGACAATCCACT	5-10-5	49	25680	25699	1134
546994	n/a	n/a	GTTCATGTGGCAACCTGTGA	5-10-5	58	26112	26131	1135
547677	n/a	n/a	CATCACTGTCCTATAACTAT	5-10-5	62	16105	16124	1136
547678	n/a	n/a	TACCTATATCACTGTAACTA	5-10-5	21	16125	16144	1137
547679	n/a	n/a	TGTACCTATATCACTGTAAC	5-10-5	28	16127	16146	1138
547680	n/a	n/a	TATCACTGTACCTATATCAC	5-10-5	41	16133	16152	1139
547681	n/a	n/a	AATATCACTGTACCTATATC	5-10-5	6	16135	16154	1140
547682	n/a	n/a	CAATATCACTGTACCTATAT	5-10-5	20	16136	16155	1141
547683	n/a	n/a	ACTATATCACTGTCCTATAA	5-10-5	33	16162	16181	1142
547684	n/a	n/a	TAACATATCACTGTCCTAT	5-10-5	43	16164	16183	1143
547685	n/a	n/a	ATAACTATATCACTGTCCTA	5-10-5	35	16165	16184	1144
547686	n/a	n/a	CTGTCCTATAACTATATCAC	5-10-5	36	16172	16191	1145
547687	n/a	n/a	ACTGTCCTATAACTATATCA	5-10-5	41	16173	16192	1146

[2018]

547688	n/a	n/a	CACTGTCCTATAACTATATC	5-10-5	47	16174	16193	1147
547689	n/a	n/a	GTAACAATATCACTGTCCTA	5-10-5	73	16184	16203	1148
547690	n/a	n/a	CTGTAACAATATCACTGTCC	5-10-5	76	16186	16205	1149
547691	n/a	n/a	ACTGTAACAATATCACTGTC	5-10-5	36	16187	16206	1150
547692	n/a	n/a	CACTGTACCTATAACTGTAA	5-10-5	47	16200	16219	1151
547693	n/a	n/a	TCACTGTACCTATAACTGTA	5-10-5	61	16201	16220	1152
547694	n/a	n/a	GTCACGTACCTATAACTGT	5-10-5	92	16202	16221	1153
547695	n/a	n/a	ACTGTCCTATAACTATTACA	5-10-5	31	16224	16243	1154
547696	n/a	n/a	CACTGTCCTATAACTATTAC	5-10-5	26	16225	16244	1155
547697	n/a	n/a	TCACTGTCCTATAACTATTA	5-10-5	63	16226	16245	1156
547698	n/a	n/a	ACCTATAACTATAACAATAT	5-10-5	0	16245	16264	1157
547699	n/a	n/a	TACCTATAACTATAACAATA	5-10-5	10	16246	16265	1158
547700	n/a	n/a	GTACCTATAACTATAACAAT	5-10-5	0	16247	16266	1159
547701	n/a	n/a	CATCACTGTACCTATAACTA	5-10-5	49	16254	16273	1160
547702	n/a	n/a	ACATCACTGTACCTATAACT	5-10-5	44	16255	16274	1161
547703	n/a	n/a	CAACATCACTGTACCTATAA	5-10-5	25	16257	16276	1162
547704	n/a	n/a	ACATCTTGTCATTAACATCC	5-10-5	61	16435	16454	1163
547705	n/a	n/a	GCACCCAATACAGGGCCAGG	5-10-5	69	16512	16531	1164
547706	n/a	n/a	TGCCTCCTGGCAGCCTTCAA	5-10-5	73	16694	16713	1165
547707	n/a	n/a	TGAAAAGCCACGCCCTTAGC	5-10-5	32	16975	16994	1166
547708	n/a	n/a	GCCAGGAGACAGCCCTACTC	5-10-5	67	17055	17074	1167
547709	n/a	n/a	AGCCCAATGTCCTAACCTGT	5-10-5	76	17791	17810	1168
547710	n/a	n/a	TGCGGTTATATGGGCTGAAG	5-10-5	85	19540	19559	1169
547711	n/a	n/a	CCTTTAGCCACTCCTCTTGC	5-10-5	45	20061	20080	1170
547712	n/a	n/a	CCCCATGGTACCAAAGCCAT	5-10-5	79	20528	20547	1171
547713	n/a	n/a	CTCAATGCCACCCTTTCCCC	5-10-5	37	20880	20899	1172
547714	n/a	n/a	CTGTCTAACTGGCCTGGCTG	5-10-5	19	21326	21345	1173
547715	n/a	n/a	GGTCAGAAGGCCTCTTATTC	5-10-5	21	21750	21769	1174
547716	n/a	n/a	CCATCTGTCCCCTCAATCCC	5-10-5	9	22197	22216	1175
547717	n/a	n/a	ACTCTGGCACTGGTCATGGA	5-10-5	54	22761	22780	1176
547718	n/a	n/a	ATAAAGTGCGATTAAGCCCC	5-10-5	86	23515	23534	1177
547719	n/a	n/a	TACCAAGCTTGTAGAAGGGA	5-10-5	69	23633	23652	1178
547720	n/a	n/a	GAAAGACGGCCAATGGGAAA	5-10-5	8	24177	24196	1179
547721	n/a	n/a	CTCTATCAAAATCCTGCTGC	5-10-5	68	25527	25546	1180
547722	n/a	n/a	CTCCAGTCACCACCATTGCC	5-10-5	80	25860	25879	1181

표 138

ISIS 번호	서열 번호: 1 개시 부위	서열 번호: 1 정지 부위	서열	모티프	억제 %	서열 번호: 10 개시 부위	서열 번호: 10 정지 부위	서열 번호
531231	n/a	n/a	TATCACTGTACTAGTTTCCT	5-10-5	91	14744	14763	334

						14815	14834	
						14886	14905	
						14945	14964	
						15005	15024	
						15077	15096	
						15220	15239	
						15292	15311	
						15351	15370	
						15411	15430	
						15483	15502	
						15555	15574	
						15613	15632	
						15685	15704	
						15815	15834	
						15887	15906	
						15945	15964	
546599	n/a	n/a	AAGAGTAAGCCTTCACAGGG	5-10-5	82	27583	27602	1182
546606	n/a	n/a	CTCACCAGAGTTGTCCCCAG	5-10-5	0	27722	27741	1183
546999	n/a	n/a	GCAGCTCACACCCAAAAAGC	5-10-5	29	27004	27023	1184
547000	n/a	n/a	TCTGTTACCTTGAGGATTGT	5-10-5	63	27276	27295	1185
547006	n/a	n/a	CGCCATCTGCCCTGTACAGA	5-10-5	39	28248	28267	1186
547008	n/a	n/a	TTGGTGGTGGGATTGGTGGT	5-10-5	81	28333	28352	1187
						28388	28407	
						28443	28462	
						28608	28627	
						28620	28639	
547009	n/a	n/a	AATTGGTGGTGGGATTGGTG	5-10-5	73	28335	28354	1188
547010	n/a	n/a	GAATTGGTGGTGGGATTGGT	5-10-5	39	28336	28355	1189
547011	n/a	n/a	GGCAGGATTGGTGGTGGAAT	5-10-5	22	28352	28371	1190
547013	n/a	n/a	TGAGATTGGTGGTGGGTGGC	5-10-5	0	28369	28388	1191
547015	n/a	n/a	GGTGGTGGGATTGGTGCTGA	5-10-5	55	28429	28448	1192
547016	n/a	n/a	GTAGGTGGTGGGATTGGTGG	5-10-5	62	28456	28475	1193
						28535	28554	
547017	n/a	n/a	GGTAGGTGGTGGGATTGGTG	5-10-5	61	28457	28476	1194
						28536	28555	
547018	n/a	n/a	GGTGGCGGGATTGGTGGTGG	5-10-5	58	28477	28496	1195
						28556	28575	
547019	n/a	n/a	GATCGGTGGTGGGATTGGTC	5-10-5	83	28500	28519	1196
						28579	28598	
547020	n/a	n/a	GGATCGGTGGTGGGATTGGT	5-10-5	47	28501	28520	1197
						28580	28599	
547021	n/a	n/a	TTGGTGGCGGGATCGGTGGT	5-10-5	57	28510	28529	1198
						28589	28608	

[2022]

547022	n/a	n/a	ATTGGTGGCGGGATCGGTGG	5-10-5	69	28511	28530	1199
547023	n/a	n/a	GATTGGTGGCGGGATCGGTG	5-10-5	91	28512	28531	1200
547024	n/a	n/a	GGATTGGTGGCGGGATCGGT	5-10-5	56	28513	28532	1201
547025	n/a	n/a	TGGTGGTGGGATTGGTGGT	5-10-5	72	28607	28626	1202
547029	n/a	n/a	TCTTCTAGGGCCACACCTCT	5-10-5	50	28891	28910	1203
547035	n/a	n/a	TGGTCCCAAAATTGGAGTGCA	5-10-5	40	29383	29402	1204
547039	n/a	n/a	TCTCTATACAGCTGGGCACA	5-10-5	0	29997	30016	1205
547049	n/a	n/a	CACCTCCAGCAACCCTCAC	5-10-5	20	30765	30784	1206
547055	n/a	n/a	GCTCCTGGCAGCAATGACCC	5-10-5	70	31104	31123	1207
547059	n/a	n/a	GGGTATCTTCACTGTTCCAG	5-10-5	12	31540	31559	1208
547063	n/a	n/a	CGTCATGCTTACCTTTCTCC	5-10-5	23	31955	31974	1209
547069	n/a	n/a	GCCCTCCGAGCTTTGGCAAC	5-10-5	35	32581	32600	1210
547071	n/a	n/a	GCAGCCCCCAGAAATCCCA	5-10-5	27	32708	32727	1211
547076	n/a	n/a	TCTCAAGCAGCCTATTGTGT	5-10-5	14	33263	33282	1212
547080	n/a	n/a	GTGCAAGACCTTGCTTGCCA	5-10-5	54	33657	33676	1213
547081	n/a	n/a	CTGTAGTCCACTACACAGCA	5-10-5	83	33801	33820	1214
547082	n/a	n/a	TCTCCCTGAGTCACAGTGGA	5-10-5	64	33881	33900	1215
547085	n/a	n/a	CCAGGTGCAGCACGGAGAGG	5-10-5	44	34479	34498	1216
547723	n/a	n/a	TAGAATGGCAGGGTTCTGTG	5-10-5	53	27357	27376	1217
547724	n/a	n/a	GATGCATCCAACACTTACCC	5-10-5	16	28059	28078	1218
547725	n/a	n/a	ATTGGTGGTGGGATTGGTGG	5-10-5	26	28334	28353	1219
						28389	28408	
						28444	28463	
						28523	28542	
						28609	28628	
						28621	28640	
547726	n/a	n/a	GCAGGATTGGTGGTGAATT	5-10-5	0	28351	28370	1220
547727	n/a	n/a	TGGCAGGATTGGTGGTGGAA	5-10-5	0	28353	28372	1221
547728	n/a	n/a	GAGATTGGTGGTGGGTGGCA	5-10-5	88	28368	28387	1222
547729	n/a	n/a	GTGAGATTGGTGGTGGGTGG	5-10-5	45	28370	28389	1223
547730	n/a	n/a	GATTGGTGGTGGGATTGGTG	5-10-5	60	28390	28409	1224
						28433	28452	
						28445	28464	
						28524	28543	
						28610	28629	
						28622	28641	
547731	n/a	n/a	GGATTGGTGGTGGGATTGGT	5-10-5	49	28391	28410	1225
						28434	28453	
						28446	28465	
						28525	28544	
						28611	28630	
						28623	28642	
547732	n/a	n/a	AGGATTGGTGGTGGGATTGG	5-10-5	0	28392	28411	1226

[2023]

547733	n/a	n/a	TAGGATTGGTGGTGGGATTG	5-10-5	0	28393	28412	1227
547734	n/a	n/a	GTAGGATTGGTGGTGGGATT	5-10-5	14	28394	28413	1228
547735	n/a	n/a	GGTAGGATTGGTGGTGGGAT	5-10-5	39	28395	28414	1229
547736	n/a	n/a	TGGTAGGATTGGTGGTGGGA	5-10-5	54	28396	28415	1230
547737	n/a	n/a	TGGTGGTGGGATTGGTGCTG	5-10-5	59	28430	28449	1231
547738	n/a	n/a	TTGGTGGTGGGATTGGTGCT	5-10-5	41	28431	28450	1232
547739	n/a	n/a	ATTGGTGGTGGGATTGGTGC	5-10-5	12	28432	28451	1233
547740	n/a	n/a	AGGTGGTGGGATTGGTGGTG	5-10-5	30	28454	28473	1234
						28533	28552	
547741	n/a	n/a	TAGGTGGTGGGATTGGTGGT	5-10-5	47	28455	28474	1235
						28534	28553	
547742	n/a	n/a	ATCGGTGGTGGGATTGGTCG	5-10-5	57	28499	28518	1236
						28578	28597	
547743	n/a	n/a	GGTGGTGGGATTGGTGGCGG	5-10-5	61	28520	28539	1237
547744	n/a	n/a	TGGTGGTGGGATTGGTGGCG	5-10-5	65	28521	28540	1238
547745	n/a	n/a	TTGGTGGTGGGATTGGTGGC	5-10-5	55	28522	28541	1239
547746	n/a	n/a	GTTGGTGGCGGGATCGGTGG	5-10-5	0	28590	28609	1240
547748	n/a	n/a	GGTGGTGGCGGGATCGGTG	5-10-5	78	28591	28610	1241
547750	n/a	n/a	TGGTTGGTGGCGGGATCGGT	5-10-5	41	28592	28611	1242
547752	n/a	n/a	GTGGTTGGTGGCGGGATCGG	5-10-5	41	28593	28612	1243
547754	n/a	n/a	GGGATTGGTGGTTGGTGGCG	5-10-5	47	28600	28619	1244
547756	n/a	n/a	GGGTCTTGCTCCACCCACAT	5-10-5	49	29244	29263	1245
547758	n/a	n/a	CCAAGTAGTGCAAGGCATGT	5-10-5	24	29540	29559	1246
547760	n/a	n/a	ATCATGCTTACTGCAAGTGA	5-10-5	19	30219	30238	1247
547762	n/a	n/a	TGAAACTGGGCAGTCCTTCC	5-10-5	0	30417	30436	1248
547764	n/a	n/a	CCACCTTCTTACATATGCTA	5-10-5	24	30644	30663	1249
547766	n/a	n/a	GCCTCTCAGACGGCACAGAC	5-10-5	0	30902	30921	1250
547768	n/a	n/a	TTGCCCTCACACATTCGAAT	5-10-5	0	30977	30996	1251
547770	n/a	n/a	TGCTTTCTGCCCAACCTCTA	5-10-5	48	31727	31746	1252
547772	n/a	n/a	CTGTGCTCCCGGCCATTAGC	5-10-5	0	32312	32331	1253
547774	n/a	n/a	GAGACAGTTTGGCAAGCTAC	5-10-5	46	32389	32408	1254
547776	n/a	n/a	GGAGAGAGACGGCACCCCTGT	5-10-5	48	32828	32847	1255
547778	n/a	n/a	TCACCTGTGAGTAACCAATA	5-10-5	53	33085	33104	1256
547780	n/a	n/a	CCCCTCTTAAATAGCACATG	5-10-5	67	33441	33460	1257
547782	n/a	n/a	CCAAGTATCTCATGTGCCTG	5-10-5	67	33580	33599	1258

[2024]

[2025]

표 139

ISIS 번호	서열 번호: 1 개시 부위	서열 번호: 1 정지 부위	서열	모티프	억제 %	서열 번호: 10 개시 부위	서열 번호: 10 정지 부위	서열 번호
531231	n/a	n/a	TATCACTGTACTAGTTTCCT	5-10-5	90	14744	14763	334

[2026]

						14815	14834	
						14886	14905	
						14945	14964	
						15005	15024	
						15077	15096	
						15220	15239	
						15292	15311	
						15351	15370	
						15411	15430	
						15483	15502	
						15555	15574	
						15613	15632	
						15685	15704	
						15815	15834	
						15887	15906	
						15945	15964	
548706	n/a	n/a	CTAGTTTCCTATAACT	3-10-3	0	14738	14753	1259
						14809	14824	
						14880	14895	
						14939	14954	
						15071	15086	
						15214	15229	
						15286	15301	
						15345	15360	
						15477	15492	
						15549	15564	
						15607	15622	
						15679	15694	
						15750	15765	
						15809	15824	
						15881	15896	
						15939	15954	
548707	n/a	n/a	ACTAGTTTCCTATAAC	3-10-3	10	14739	14754	1260
						14810	14825	
						14881	14896	
						14940	14955	
						15000	15015	
						15072	15087	
						15215	15230	
						15287	15302	
						15346	15361	
						15406	15421	
						15478	15493	

[2027]

						15550	15565	
						15608	15623	
						15680	15695	
						15751	15766	
						15810	15825	
						15882	15897	
						15940	15955	
548708	n/a	n/a	TACTAGTTTCCTATAA	3-10-3	0	14740	14755	1261
						14811	14826	
						14882	14897	
						14941	14956	
						15001	15016	
						15073	15088	
						15216	15231	
						15288	15303	
						15347	15362	
						15407	15422	
						15479	15494	
						15551	15566	
						15609	15624	
						15681	15696	
						15752	15767	
						15811	15826	
548709	n/a	n/a	GTACTAGTTTCCTATA	3-10-3	0	15883	15898	1262
						15941	15956	
						14741	14756	
						14812	14827	
						14883	14898	
						14942	14957	
						15002	15017	
						15074	15089	
						15217	15232	
						15289	15304	
						15348	15363	
						15408	15423	
						15480	15495	
						15552	15567	
						15610	15625	
						15682	15697	
						15753	15768	
						15812	15827	
						15884	15899	
						15942	15957	

[2028]

548710	n/a	n/a	TGTACTAGTTCCTAT	3-10-3	0	14742	14757	1263
						14813	14828	
						14884	14899	
						14943	14958	
						15003	15018	
						15075	15090	
						15218	15233	
						15290	15305	
						15349	15364	
						15409	15424	
						15481	15496	
						15553	15568	
						15611	15626	
						15683	15698	
						15813	15828	
						15885	15900	
						15943	15958	
548711	n/a	n/a	CTGTACTAGTTCCTA	3-10-3	21	14743	14758	1264
						14814	14829	
						14885	14900	
						14944	14959	
						15004	15019	
						15076	15091	
						15219	15234	
						15291	15306	
						15350	15365	
						15410	15425	
						15482	15497	
						15554	15569	
						15612	15627	
						15684	15699	
						15814	15829	
						15886	15901	
						15944	15959	
548712	n/a	n/a	ACTGTACTAGTTCCT	3-10-3	9	14744	14759	1265
						14815	14830	
						14886	14901	
						14945	14960	
						15005	15020	
						15077	15092	
						15220	15235	
						15292	15307	
						15351	15366	

[2029]

						15411	15426	
						15483	15498	
						15555	15570	
						15613	15628	
						15685	15700	
						15815	15830	
						15887	15902	
						15945	15960	
548713	n/a	n/a	CACTGTACTAGTTTCC	3-10-3	33	14745	14760	1266
						14816	14831	
						14887	14902	
						14946	14961	
						15006	15021	
						15078	15093	
						15221	15236	
						15293	15308	
						15352	15367	
						15412	15427	
						15484	15499	
						15556	15571	
						15614	15629	
						15686	15701	
						15816	15831	
						15888	15903	
						15946	15961	
548714	n/a	n/a	TCACTGTACTAGTTTC	3-10-3	15	14746	14761	1267
						14817	14832	
						14888	14903	
						14947	14962	
						15007	15022	
						15079	15094	
						15222	15237	
						15294	15309	
						15353	15368	
						15413	15428	
						15485	15500	
						15557	15572	
						15615	15630	
						15687	15702	
						15817	15832	
						15889	15904	
						15947	15962	
548715	n/a	n/a	ATCACTGTACTAGTTT	3-10-3	0	14747	14762	1268

[2030]

						14818	14833	
						14889	14904	
						14948	14963	
						15008	15023	
						15080	15095	
						15152	15167	
						15223	15238	
						15295	15310	
						15354	15369	
						15414	15429	
						15486	15501	
						15558	15573	
						15616	15631	
						15688	15703	
						15818	15833	
						15890	15905	
						15948	15963	
						14748	14763	
						14819	14834	
						14890	14905	
						14949	14964	
						15009	15024	
						15081	15096	
						15153	15168	
						15224	15239	
						15296	15311	
						15355	15370	
						15415	15430	
						15487	15502	
						15559	15574	
						15617	15632	
						15689	15704	
						15819	15834	
						15891	15906	
						15949	15964	
548716	n/a	n/a	TATCACTGTACTAGTT	3-10-3	10	14738	14754	1269
						14809	14825	
						14880	14896	
						14939	14955	
						15071	15087	
						15214	15230	
						15286	15302	
						15345	15361	
548717	n/a	n/a	ACTAGTTTCCTATAACT	3-10-4	0	14738	14754	1270
						14809	14825	
						14880	14896	
						14939	14955	
						15071	15087	
						15214	15230	
						15286	15302	
						15345	15361	

[2031]

						15477	15493	
						15549	15565	
						15607	15623	
						15679	15695	
						15750	15766	
						15809	15825	
						15881	15897	
						15939	15955	
548718	n/a	n/a	TACTAGTTCCTATAAC	3-10-4	0	14739	14755	1271
						14810	14826	
						14881	14897	
						14940	14956	
						15000	15016	
						15072	15088	
						15215	15231	
						15287	15303	
						15346	15362	
						15406	15422	
						15478	15494	
						15550	15566	
						15608	15624	
						15680	15696	
						15751	15767	
						15810	15826	
548719	n/a	n/a	GTACTAGTTCCTATAA	3-10-4	0	15882	15898	1272
						15940	15956	
						14740	14756	
						14811	14827	
						14882	14898	
						14941	14957	
						15001	15017	
						15073	15089	
						15216	15232	
						15288	15304	
						15347	15363	
						15407	15423	
						15479	15495	
						15551	15567	
						15609	15625	
						15681	15697	
						15752	15768	
						15811	15827	
						15883	15899	

[2032]

						15941	15957	
548720	n/a	n/a	TGTACTAGTTTCCTATA	3-10-4	0	14741	14757	1273
						14812	14828	
						14883	14899	
						14942	14958	
						15002	15018	
						15074	15090	
						15217	15233	
						15289	15305	
						15348	15364	
						15408	15424	
						15480	15496	
						15552	15568	
						15610	15626	
						15682	15698	
						15812	15828	
						15884	15900	
						15942	15958	
548721	n/a	n/a	CTGTACTAGTTTCCTAT	3-10-4	27	14742	14758	1274
						14813	14829	
						14884	14900	
						14943	14959	
						15003	15019	
						15075	15091	
						15218	15234	
						15290	15306	
						15349	15365	
						15409	15425	
						15481	15497	
						15553	15569	
						15611	15627	
						15683	15699	
						15813	15829	
						15885	15901	
						15943	15959	
548722	n/a	n/a	ACTGTACTAGTTTCCTA	3-10-4	26	14743	14759	1275
						14814	14830	
						14885	14901	
						14944	14960	
						15004	15020	
						15076	15092	
						15219	15235	
						15291	15307	

[2033]

						15350	15366	
						15410	15426	
						15482	15498	
						15554	15570	
						15612	15628	
						15684	15700	
						15814	15830	
						15886	15902	
						15944	15960	
548723	n/a	n/a	CACTGTACTAGTTTCCT	3-10-4	62	14744	14760	1276
						14815	14831	
						14886	14902	
						14945	14961	
						15005	15021	
						15077	15093	
						15220	15236	
						15292	15308	
						15351	15367	
						15411	15427	
						15483	15499	
						15555	15571	
						15613	15629	
						15685	15701	
						15815	15831	
						15887	15903	
						15945	15961	
548724	n/a	n/a	TCACTGTACTAGTTTCC	3-10-4	61	14745	14761	1277
						14816	14832	
						14887	14903	
						14946	14962	
						15006	15022	
						15078	15094	
						15221	15237	
						15293	15309	
						15352	15368	
						15412	15428	
						15484	15500	
						15556	15572	
						15614	15630	
						15686	15702	
						15816	15832	
						15888	15904	
						15946	15962	

[2034]

548725	n/a	n/a	ATCACTGTACTAGTTTC	3-10-4	32	14746	14762	1278
						14817	14833	
						14888	14904	
						14947	14963	
						15007	15023	
						15079	15095	
						15222	15238	
						15294	15310	
						15353	15369	
						15413	15429	
						15485	15501	
						15557	15573	
						15615	15631	
						15687	15703	
						15817	15833	
						15889	15905	
						15947	15963	
548726	n/a	n/a	TATCACTGTACTAGTTT	3-10-4	21	14747	14763	1279
						14818	14834	
						14889	14905	
						14948	14964	
						15008	15024	
						15080	15096	
						15152	15168	
						15223	15239	
						15295	15311	
						15354	15370	
						15414	15430	
						15486	15502	
						15558	15574	
						15616	15632	
						15688	15704	
						15818	15834	
						15890	15906	
						15948	15964	
548727	n/a	n/a	ACTAGTTTCCTATAACT	4-10-3	0	14738	14754	1270
						14809	14825	
						14880	14896	
						14939	14955	
						15071	15087	
						15214	15230	
						15286	15302	
						15345	15361	

[2035]

						15477	15493	
						15549	15565	
						15607	15623	
						15679	15695	
						15750	15766	
						15809	15825	
						15881	15897	
						15939	15955	
548728	n/a	n/a	TACTAGTTTCCTATAAC	4-10-3	0	14739	14755	1271
						14810	14826	
						14881	14897	
						14940	14956	
						15000	15016	
						15072	15088	
						15215	15231	
						15287	15303	
						15346	15362	
						15406	15422	
						15478	15494	
						15550	15566	
						15608	15624	
						15680	15696	
						15751	15767	
						15810	15826	
						15882	15898	
						15940	15956	
548729	n/a	n/a	GTACTAGTTTCCTATAA	4-10-3	13	14740	14756	1272
						14811	14827	
						14882	14898	
						14941	14957	
						15001	15017	
						15073	15089	
						15216	15232	
						15288	15304	
						15347	15363	
						15407	15423	
						15479	15495	
						15551	15567	
						15609	15625	
						15681	15697	
						15752	15768	
						15811	15827	
						15883	15899	

[2036]

						15941	15957	
548730	n/a	n/a	TGTACTAGTTTCCTATA	4-10-3	0	14741	14757	1273
						14812	14828	
						14883	14899	
						14942	14958	
						15002	15018	
						15074	15090	
						15217	15233	
						15289	15305	
						15348	15364	
						15408	15424	
						15480	15496	
						15552	15568	
						15610	15626	
						15682	15698	
						15812	15828	
						15884	15900	
						15942	15958	
548731	n/a	n/a	CTGTACTAGTTTCCTAT	4-10-3	49	14742	14758	1274
						14813	14829	
						14884	14900	
						14943	14959	
						15003	15019	
						15075	15091	
						15218	15234	
						15290	15306	
						15349	15365	
						15409	15425	
						15481	15497	
						15553	15569	
						15611	15627	
						15683	15699	
						15813	15829	
						15885	15901	
						15943	15959	
548732	n/a	n/a	ACTGTACTAGTTTCCTA	4-10-3	36	14743	14759	1275
						14814	14830	
						14885	14901	
						14944	14960	
						15004	15020	
						15076	15092	
						15219	15235	
						15291	15307	

[2037]

						15350	15366	
						15410	15426	
						15482	15498	
						15554	15570	
						15612	15628	
						15684	15700	
						15814	15830	
						15886	15902	
						15944	15960	
548733	n/a	n/a	CACTGTACTAGTTCCT	4-10-3	84	14744	14760	1276
						14815	14831	
						14886	14902	
						14945	14961	
						15005	15021	
						15077	15093	
						15220	15236	
						15292	15308	
						15351	15367	
						15411	15427	
						15483	15499	
						15555	15571	
						15613	15629	
						15685	15701	
						15815	15831	
						15887	15903	
548734	n/a	n/a	TCACTGTACTAGTTTCC	4-10-3	51	15945	15961	1277
						14745	14761	
						14816	14832	
						14887	14903	
						14946	14962	
						15006	15022	
						15078	15094	
						15221	15237	
						15293	15309	
						15352	15368	
						15412	15428	
						15484	15500	
						15556	15572	
						15614	15630	
						15686	15702	
						15816	15832	
						15888	15904	
						15946	15962	

[2038]

548735	n/a	n/a	ATCACTGTACTAGTTTC	4-10-3	48	14746	14762	1278
						14817	14833	
						14888	14904	
						14947	14963	
						15007	15023	
						15079	15095	
						15222	15238	
						15294	15310	
						15353	15369	
						15413	15429	
						15485	15501	
						15557	15573	
						15615	15631	
						15687	15703	
						15817	15833	
						15889	15905	
						15947	15963	
548736	n/a	n/a	TATCACTGTACTAGTTT	4-10-3	21	14747	14763	1279
						14818	14834	
						14889	14905	
						14948	14964	
						15008	15024	
						15080	15096	
						15152	15168	
						15223	15239	
						15295	15311	
						15354	15370	
						15414	15430	
						15486	15502	
						15558	15574	
						15616	15632	
						15688	15704	
						15818	15834	
						15890	15906	
						15948	15964	
548737	n/a	n/a	ACTAGTTTCCTATAACT	4-9-4	11	14738	14754	1270
						14809	14825	
						14880	14896	
						14939	14955	
						15071	15087	
						15214	15230	
						15286	15302	
						15345	15361	

[2039]

						15477	15493	
						15549	15565	
						15607	15623	
						15679	15695	
						15750	15766	
						15809	15825	
						15881	15897	
						15939	15955	
548738	n/a	n/a	TACTAGTTTCCTATAAC	4-9-4	0	14739	14755	1271
						14810	14826	
						14881	14897	
						14940	14956	
						15000	15016	
						15072	15088	
						15215	15231	
						15287	15303	
						15346	15362	
						15406	15422	
						15478	15494	
						15550	15566	
						15608	15624	
						15680	15696	
						15751	15767	
						15810	15826	
						15882	15898	
						15940	15956	
548739	n/a	n/a	GTACTAGTTTCCTATAA	4-9-4	0	14740	14756	1272
						14811	14827	
						14882	14898	
						14941	14957	
						15001	15017	
						15073	15089	
						15216	15232	
						15288	15304	
						15347	15363	
						15407	15423	
						15479	15495	
						15551	15567	
						15609	15625	
						15681	15697	
						15752	15768	
						15811	15827	
						15883	15899	

[2040]

						15941	15957	
						14741	14757	
						14812	14828	
						14883	14899	
						14942	14958	
						15002	15018	
						15074	15090	
						15217	15233	
						15289	15305	
548740	n/a	n/a	TGTACTAGTTTCCTATA	4-9-4	0	15348	15364	1273
						15408	15424	
						15480	15496	
						15552	15568	
						15610	15626	
						15682	15698	
						15812	15828	
						15884	15900	
						15942	15958	
						14742	14758	
						14813	14829	
						14884	14900	
						14943	14959	
						15003	15019	
						15075	15091	
						15218	15234	
						15290	15306	
548741	n/a	n/a	CTGTACTAGTTTCCTAT	4-9-4	69	15349	15365	1274
						15409	15425	
						15481	15497	
						15553	15569	
						15611	15627	
						15683	15699	
						15813	15829	
						15885	15901	
						15943	15959	
						14743	14759	
						14814	14830	
						14885	14901	
						14944	14960	
548742	n/a	n/a	ACTGTACTAGTTTCCTA	4-9-4	50	15004	15020	1275
						15076	15092	
						15219	15235	
						15291	15307	

[2041]

						15350	15366	
						15410	15426	
						15482	15498	
						15554	15570	
						15612	15628	
						15684	15700	
						15814	15830	
						15886	15902	
						15944	15960	
548743	n/a	n/a	CACTGTACTAGTTTCCT	4-9-4	80	14744	14760	1276
						14815	14831	
						14886	14902	
						14945	14961	
						15005	15021	
						15077	15093	
						15220	15236	
						15292	15308	
						15351	15367	
						15411	15427	
						15483	15499	
						15555	15571	
						15613	15629	
						15685	15701	
						15815	15831	
						15887	15903	
						15945	15961	
548744	n/a	n/a	TCACTGTACTAGTTTCC	4-9-4	83	14745	14761	1277
						14816	14832	
						14887	14903	
						14946	14962	
						15006	15022	
						15078	15094	
						15221	15237	
						15293	15309	
						15352	15368	
						15412	15428	
						15484	15500	
						15556	15572	
						15614	15630	
						15686	15702	
						15816	15832	
						15888	15904	
						15946	15962	

[2042]

548745	n/a	n/a	ATCACTGTACTAGTTTC	4-9-4	71	14746	14762	1278
						14817	14833	
						14888	14904	
						14947	14963	
						15007	15023	
						15079	15095	
						15222	15238	
						15294	15310	
						15353	15369	
						15413	15429	
						15485	15501	
						15557	15573	
						15615	15631	
						15687	15703	
						15817	15833	
						15889	15905	
						15947	15963	
548746	n/a	n/a	TATCACTGTACTAGTTT	4-9-4	40	14747	14763	1279
						14818	14834	
						14889	14905	
						14948	14964	
						15008	15024	
						15080	15096	
						15152	15168	
						15223	15239	
						15295	15311	
						15354	15370	
						15414	15430	
						15486	15502	
						15558	15574	
						15616	15632	
						15688	15704	
						15818	15834	
						15890	15906	
						15948	15964	
548747	n/a	n/a	TACTAGTTTCCTATAACT	4-10-4	2	14738	14755	1280
						14809	14826	
						14880	14897	
						14939	14956	
						15071	15088	
						15214	15231	
						15286	15303	
						15345	15362	

[2043]

						15477	15494	
						15549	15566	
						15607	15624	
						15679	15696	
						15750	15767	
						15809	15826	
						15881	15898	
						15939	15956	
548748	n/a	n/a	GTACTAGTTTCCTATAAC	4-10-4	0	14739	14756	1281
						14810	14827	
						14881	14898	
						14940	14957	
						15000	15017	
						15072	15089	
						15215	15232	
						15287	15304	
						15346	15363	
						15406	15423	
						15478	15495	
						15550	15567	
						15608	15625	
						15680	15697	
						15751	15768	
						15810	15827	
						15882	15899	
						15940	15957	
548749	n/a	n/a	TGTACTAGTTTCCTATAA	4-10-4	0	14740	14757	1282
						14811	14828	
						14882	14899	
						14941	14958	
						15001	15018	
						15073	15090	
						15216	15233	
						15288	15305	
						15347	15364	
						15407	15424	
						15479	15496	
						15551	15568	
						15609	15626	
						15681	15698	
						15811	15828	
						15883	15900	
						15941	15958	

[2044]

548750	n/a	n/a	CTGTACTAGTTTCCTATA	4-10-4	62	14741	14758	1283
						14812	14829	
						14883	14900	
						14942	14959	
						15002	15019	
						15074	15091	
						15217	15234	
						15289	15306	
						15348	15365	
						15408	15425	
						15480	15497	
						15552	15569	
						15610	15627	
						15682	15699	
						15812	15829	
						15884	15901	
						15942	15959	
548751	n/a	n/a	ACTGTACTAGTTTCCTAT	4-10-4	53	14742	14759	1284
						14813	14830	
						14884	14901	
						14943	14960	
						15003	15020	
						15075	15092	
						15218	15235	
						15290	15307	
						15349	15366	
						15409	15426	
						15481	15498	
						15553	15570	
						15611	15628	
						15683	15700	
						15813	15830	
						15885	15902	
						15943	15960	
548752	n/a	n/a	CACTGTACTAGTTTCCTA	4-10-4	89	14743	14760	1285
						14814	14831	
						14885	14902	
						14944	14961	
						15004	15021	
						15076	15093	
						15219	15236	
						15291	15308	
						15350	15367	

[2045]

						15410	15427	
						15482	15499	
						15554	15571	
						15612	15629	
						15684	15701	
						15814	15831	
						15886	15903	
						15944	15961	
548753	n/a	n/a	TCACTGTACTAGTTTCCT	4-10-4	82	14744	14761	1286
						14815	14832	
						14886	14903	
						14945	14962	
						15005	15022	
						15077	15094	
						15220	15237	
						15292	15309	
						15351	15368	
						15411	15428	
						15483	15500	
						15555	15572	
						15613	15630	
						15685	15702	
						15815	15832	
						15887	15904	
						15945	15962	
548754	n/a	n/a	ATCACTGTACTAGTTTCC	4-10-4	77	14745	14762	1287
						14816	14833	
						14887	14904	
						14946	14963	
						15006	15023	
						15078	15095	
						15221	15238	
						15293	15310	
						15352	15369	
						15412	15429	
						15484	15501	
						15556	15573	
						15614	15631	
						15686	15703	
						15816	15833	
						15888	15905	
						15946	15963	
548755	n/a	n/a	TATCACTGTACTAGTTTC	4-10-4	20	14746	14763	1288

[2046]

						14817	14834	
						14888	14905	
						14947	14964	
						15007	15024	
						15079	15096	
						15222	15239	
						15294	15311	
						15353	15370	
						15413	15430	
						15485	15502	
						15557	15574	
						15615	15632	
						15687	15704	
						15817	15834	
						15889	15906	
						15947	15964	
548756	n/a	n/a	GTATCACTGTACTAGTT	4-9-4	81	14748	14764	1289
						14819	14835	
						14890	14906	
						14949	14965	
						15009	15025	
						15081	15097	
						15153	15169	
						15224	15240	
						15296	15312	
						15355	15371	
						15415	15431	
						15487	15503	
						15559	15575	
						15617	15633	
						15689	15705	
						15819	15835	
						15891	15907	
						15949	15965	
548757	n/a	n/a	AGTATCACTGTACTAGT	4-9-4	87	14749	14765	1290
						14820	14836	
						14891	14907	
						14950	14966	
						15010	15026	
						15082	15098	
						15154	15170	
						15225	15241	
						15297	15313	

[2047]

						15356	15372	
						15416	15432	
						15488	15504	
						15560	15576	
						15618	15634	
						15690	15706	
						15820	15836	
						15892	15908	
						15950	15966	
548758	n/a	n/a	CAGTATCACTGTACTAG	4-9-4	97	14750	14766	1291
						14821	14837	
						14892	14908	
						14951	14967	
						15011	15027	
						15083	15099	
						15155	15171	
						15226	15242	
						15298	15314	
						15357	15373	
						15417	15433	
						15489	15505	
						15561	15577	
						15619	15635	
						15691	15707	
						15821	15837	
548759	n/a	n/a	AACAGTATCACTGTACT	4-9-4	68	15893	15909	1292
						15951	15967	
						14752	14768	
						14823	14839	
						14894	14910	
						14953	14969	
						15013	15029	
						15085	15101	
						15157	15173	
						15228	15244	
						15300	15316	
						15359	15375	
						15419	15435	
						15491	15507	
						15563	15579	
						15621	15637	
						15693	15709	
						15823	15839	

[2048]

						15895	15911	
						15953	15969	
548760	n/a	n/a	TAACAGTATCACTGTAC	4-9-4	53	14753	14769	1293
						14824	14840	
						14895	14911	
						14954	14970	
						15014	15030	
						15086	15102	
						15158	15174	
						15229	15245	
						15301	15317	
						15360	15376	
						15420	15436	
						15492	15508	
						15564	15580	
						15622	15638	
						15694	15710	
						15824	15840	
						15896	15912	
						15954	15970	
548761	n/a	n/a	CTAACAGTATCACTGTA	4-9-4	49	14754	14770	1294
						14825	14841	
						14896	14912	
						15015	15031	
						15087	15103	
						15230	15246	
						15302	15318	
						15421	15437	
						15493	15509	
						15623	15639	
						15825	15841	
						15955	15971	
548762	n/a	n/a	TCTAACAGTATCACTGT	4-9-4	16	14755	14771	1295
						14826	14842	
						14897	14913	
						15016	15032	
						15088	15104	
						15231	15247	
						15303	15319	
						15422	15438	
						15494	15510	
						15624	15640	
						15826	15842	

[2049]

						15956	15972	
548763	n/a	n/a	CTCTAACAGTATCACTG	4-9-4	44	14756	14772	1296
						14827	14843	
						14898	14914	
						15017	15033	
						15089	15105	
						15232	15248	
						15304	15320	
						15423	15439	
						15495	15511	
						15625	15641	
						15827	15843	
						15957	15973	
548764	n/a	n/a	TATCACTGTCCTATAAC	4-9-4	31	14772	14788	1297
						14843	14859	
						15177	15193	
						15583	15599	
						15713	15729	
						16012	16028	
						16083	16099	
						16161	16177	
						16180	16196	
						16231	16247	
548765	n/a	n/a	ATATCACTGTCCTATAA	4-9-4	0	14773	14789	1298
						14844	14860	
						15178	15194	
						15584	15600	
						15714	15730	
						16013	16029	
						16084	16100	
						16162	16178	
						16181	16197	
						16232	16248	
548766	n/a	n/a	TATATCACTGTCCTATA	4-9-4	36	14774	14790	1299
						14845	14861	
						15179	15195	
						15715	15731	
						16163	16179	
548767	n/a	n/a	TATCACTGTCCTATATC	4-9-4	59	14785	14801	1300
						14856	14872	
						14981	14997	
						15119	15135	
						15190	15206	

[2050]

						15262	15278	
						15387	15403	
						15525	15541	
						15655	15671	
						15726	15742	
						15857	15873	
						15987	16003	
548768	n/a	n/a	GTATCACTGTCCTATAT	4-9-4	56	14786	14802	1301
						14982	14998	
						15120	15136	
						15388	15404	
						15526	15542	
						15988	16004	
548769	n/a	n/a	AGTATCACTGTCCTATA	4-9-4	64	14787	14803	1302
						14983	14999	
						15121	15137	
						15389	15405	
						15527	15543	
						15989	16005	
548770	n/a	n/a	TAACAGTATCACTGTCC	4-9-4	92	14791	14807	1303
						14987	15003	
						15053	15069	
						15125	15141	
						15393	15409	
						15459	15475	
						15531	15547	
548771	n/a	n/a	ATAACAGTATCACTGTC	4-9-4	62	14792	14808	1304
						14988	15004	
						15054	15070	
						15126	15142	
						15394	15410	
						15460	15476	
						15532	15548	
548772	n/a	n/a	TATAACAGTATCACTGT	4-9-4	0	15994	16010	1305
						14793	14809	
						14989	15005	
						15055	15071	
						15127	15143	
						15160	15176	
						15362	15378	
						15395	15411	
						15461	15477	

[2051]

						15533	15549	
						15566	15582	
						15696	15712	
						15898	15914	
						15995	16011	
548773	n/a	n/a	CTATAACAGTATCACTG	4-9-4	0	14794	14810	1306
						14990	15006	
						15056	15072	
						15128	15144	
						15161	15177	
						15363	15379	
						15396	15412	
						15462	15478	
						15534	15550	
						15567	15583	
						15697	15713	
						15899	15915	
548774	n/a	n/a	CCTATAACTATAACAGT	4-9-4	0	15996	16012	1307
						14801	14817	
						15063	15079	
						15168	15184	
						15469	15485	
						15541	15557	
						15574	15590	
						15704	15720	
548775	n/a	n/a	TCCTATAACTATAACAG	4-9-4	0	15775	15791	1308
						16003	16019	
						14802	14818	
						15064	15080	
						15169	15185	
						15470	15486	
						15542	15558	
548776	n/a	n/a	CCTATAACTATAACAAT	4-9-4	0	15575	15591	1309
						15705	15721	
						16004	16020	
						14872	14888	
						14931	14947	
						15206	15222	
						15278	15294	
						15337	15353	
						15599	15615	
						15671	15687	
						15742	15758	

[2052]

						15801	15817	
						15873	15889	
						15931	15947	
						16074	16090	
						16099	16115	
						16152	16168	
						16247	16263	
548777	n/a	n/a	GTAACAGTATCACTGTA	4-9-4	41	14955	14971	1310
548778	n/a	n/a	ATAACAGTATCACTGTA	4-9-4	20	15159	15175	1311
						15361	15377	
						15565	15581	
						15695	15711	
548779	n/a	n/a	GTCCTATAACTATAACA	4-9-4	0	15897	15913	1312
						15170	15186	
						15576	15592	
						15706	15722	
						16005	16021	
						16076	16092	
548780	n/a	n/a	TGTCTATAACTATAAC	4-9-4	22	16101	16117	1313
						16154	16170	
						15171	15187	
						15577	15593	
						15707	15723	
						16006	16022	
548781	n/a	n/a	ACCTATAACTATAACAG	4-9-4	0	16077	16093	1315
548782	n/a	n/a	TACCTATAACTATAACA	4-9-4	0	16102	16118	
548783	n/a	n/a	ACCTATAACTATAACAA	4-9-4	0	16155	16171	
						15776	15792	1314
						15777	15793	1315
						16249	16265	
						16248	16264	1316

[2053]

[2054]

실시예 116: MOE, 테옥시 및 cEt 당 변형을 갖는 안티센스 올리고뉴클레오타이드의 HepaRG™ 세포에서의 인간 PKK 안티센스 억제

[2055]

추가적인 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 PKK 핵산을 표적화하도록 설계되었으며, 시험관내에서 PKK mRNA에 대한 그들의 효과에 대해서 시험하였다.

[2056]

하기 표에서 키메라 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 테옥시, MOE 및 cEt 갭머 (gapmer)로서 설계되었다. 갭머는 길이가 16개의 뉴클레오타이드이며, 여기서 상기 뉴클레오타이드는 MOE 당 변형, cEt 당 변형, 또는 테옥시 변형을 갖는다. '화학' 칼럼은 각 올리고뉴클레오타이드의 당 변형을 개시한다. 'k'는 cEt 당 변형을 나타내고; 수는 테옥시뉴클레오타이드의 수를 나타내고; 달리는, 'd'는 테옥시뉴클레오타이드를 나타내고, 'e'는 2'-O-메톡시에틸 변형을 나타낸다. 각각의 갭머 전체적인 뉴클레오타이드간 연결은 포스포로티오에이트 연결이다. 각각의 올리고뉴클레오타이드 전체에서 모든 시토신 잔기는 5-메틸시토신이다. "개시 부위"는, 갭머가 인간 유전자 서열내에서 표적화된 5'-대부분의 뉴클레오타이드를 나타낸다. "정지 부위"는 인간 유전자 서열 내에서 갭머가 표적으로 하는 3'-모스트 뉴클레오타이드를 나타낸다. 하기 표에 열거된 각각의 갭머는 본원에 개시된 서열 번호: 1과 같이 지정된 인간 PKK mRNA 또는 서열 번호: 10과 같이 지정된 인간 PKK 게놈 서열에 표적화된다. 'n/a'는 안티센스 올리고뉴클레오타이드가 특정 유전자 서열을 표적화하지 않는다는 것을 나타낸다.

[2057]

웰당 20,000 세포의 밀도로 배양된 HepaRG™ 세포를 전기천공을 사용하여 1,000 nM 안티센스 올리고뉴클레오타이드로 형질감염시켰다. 대략 24 시간의 처리 기간 후에, RNA를 세포로부터 분리시키고, PKK mRNA 수준을 정량적 실시간 PCR에 의해서 측정하였다. 인간 프라이머 프로브 세트 RTS3454를 사용하여 mRNA 수준을 측정하였다. 상기 검정에 ISIS 531231 또한 포함되었다. PKK mRNA 수준은 리보그린(RIBOGREEN)®에 의해서 측정되는 바와 같은 총 RNA 함량에 따라 조정되었다. 상기 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 유사한 배양 조건을 갖는 일련의 평행 실험에서 효력을 시험하였다. 각 실험에 대한 결과는 하기 나타난 별개의 표에서 제시된다. 결과는 비처리 대조군 세포에 대비한 PKK의 억제 퍼센트로서 표현된다.

[2058] 표 140

ISIS 번호	서열 번호: 1 개시 부위	서열 번호: 1 종지 부위	서열	화합성질	억제 %	서열 번호: 10 개시 부위	서열 번호: 10 종지 부위	서열 번호
547747	n/a	n/a	TCACTGTACTAGTTTC	eekd ₁₀ kke	95	14746	14761	1267
						14817	14832	
						14888	14903	
						14947	14962	
						15007	15022	
						15079	15094	
						15222	15237	
						15294	15309	
						15353	15368	
						15413	15428	
						15485	15500	
						15557	15572	
						15615	15630	
						15687	15702	
						15817	15832	
						15889	15904	
						15947	15962	
548074	1642	1657	CCTTTCTCCTTCGAGA	eekd ₁₀ kke	0	31948	31963	1317

[2059]

548075	1643	1658	ACCTTTCTCCTTCGAG	eekd ₁₀ kke	0	31949	31964	1318
548076	1644	1659	CACCTTTCTCCTTCGA	eekd ₁₀ kke	26	n/a	n/a	1319
548077	1691	1706	ATTTGTTACCAAAGGA	eekd ₁₀ kke	51	33135	33150	1320
548078	1696	1711	TCTTCATTTGTTACCA	eekd ₁₀ kke	36	33140	33155	1321
548079	1762	1777	CCTTCTTTATAGCCAG	eekd ₁₀ kke	39	33206	33221	1322
548080	1763	1778	CCCTTCTTTATAGCCA	eekd ₁₀ kke	0	33207	33222	1323
548081	1764	1779	CCCCTTCTTTATAGCC	eekd ₁₀ kke	64	33208	33223	1324
548082	1776	1791	AACTCATCTTTTCCCC	eekd ₁₀ kke	42	33220	33235	1325
548083	1800	1815	AGGGACCACCTGAATC	eekd ₁₀ kke	0	33899	33914	1326
548084	1801	1816	AAGGGACCACCTGAAT	eekd ₁₀ kke	0	33900	33915	1327
548085	1802	1817	TAAGGGACCACCTGAA	eekd ₁₀ kke	8	33901	33916	1328
548086	1803	1818	CTAAGGGACCACCTGA	eekd ₁₀ kke	36	33902	33917	1329
548087	1804	1819	ACTAAGGGACCACCTG	eekd ₁₀ kke	24	33903	33918	1330
548088	1805	1820	AACTAAGGGACCACCT	eekd ₁₀ kke	27	33904	33919	1331
548089	1806	1821	AACTAAGGGACCACC	eekd ₁₀ kke	34	33905	33920	1332
548090	1807	1822	CAAATAAGGGACCAC	eekd ₁₀ kke	46	33906	33921	1333
548091	1809	1824	TGCAAACTAAGGGACC	eekd ₁₀ kke	62	33908	33923	1334
548092	1810	1825	TTGCAAACTAAGGGAC	eekd ₁₀ kke	30	33909	33924	1335
548093	1811	1826	TTTGCAAACTAAGGGA	eekd ₁₀ kke	0	33910	33925	1336
548094	1812	1827	GTTTGCAAACTAAGGG	eekd ₁₀ kke	74	33911	33926	1337
548095	1813	1828	TGTTTGCAAACTAAGG	eekd ₁₀ kke	35	33912	33927	1338
548096	1814	1829	GTGTTTGCAAACTAAG	eekd ₁₀ kke	23	33913	33928	1339
548097	1876	1891	TGCTCCTGCGGGCAC	eekd ₁₀ kke	2	33975	33990	1340
548098	1887	1902	AGACACCAGTTGCTC	eekd ₁₀ kke	0	33986	34001	1341
548099	1904	1919	CTCAGCGACTTTGGTG	eekd ₁₀ kke	55	34003	34018	1342
548100	1905	1920	ACTCAGCGACTTTGGT	eekd ₁₀ kke	25	34004	34019	1343
548101	1906	1921	TACTCAGCGACTTTGG	eekd ₁₀ kke	47	34005	34020	1344
548102	1907	1922	GTAATCAGCGACTTTG	eekd ₁₀ kke	58	34006	34021	1345
548103	1908	1923	TGTAATCAGCGACTTT	eekd ₁₀ kke	66	34007	34022	1346
548104	1909	1924	ATGTAATCAGCGACTT	eekd ₁₀ kke	59	34008	34023	1347
548105	1910	1925	CATGTAATCAGCGACT	eekd ₁₀ kke	49	34009	34024	1348
548106	1911	1926	CCATGTAATCAGCGAC	eekd ₁₀ kke	79	34010	34025	1349
548107	1912	1927	TCCATGTAATCAGCGA	eekd ₁₀ kke	76	34011	34026	1350
548108	1953	1968	GAGCTTTTCCATCACT	eekd ₁₀ kke	61	34052	34067	1351
548109	1959	1974	GCATCTGAGCTTTTCC	eekd ₁₀ kke	77	34058	34073	1352
548110	1960	1975	TGCATCTGAGCTTTTC	eekd ₁₀ kke	62	34059	34074	1353
548111	1963	1978	GACTGCATCTGAGCTT	eekd ₁₀ kke	53	34062	34077	1354
548112	1965	1980	GTGACTGCATCTGAGC	eekd ₁₀ kke	23	34064	34079	1355
548113	1966	1981	GGTGACTGCATCTGAG	eekd ₁₀ kke	56	34065	34080	1356
548114	1967	1982	TGGTGACTGCATCTGA	eekd ₁₀ kke	70	34066	34081	1357
548115	1972	1987	CATGCTGGTGACTGCA	eekd ₁₀ kke	76	34071	34086	1358
548116	1973	1988	TCATGCTGGTGACTGC	eekd ₁₀ kke	3	34072	34087	1359
548117	1974	1989	CTCATGCTGGTGACTG	eekd ₁₀ kke	73	34073	34088	1360

[2060]

548118	1975	1990	TCTCATGCTGGTGACT	eekd ₁₀ kke	47	34074	34089	1361
548119	1984	1999	TGGACTGCTTCTCATG	eekd ₁₀ kke	25	34083	34098	1362
548121	1986	2001	TCTGGACTGCTTCTCA	eekd ₁₀ kke	64	34085	34100	1363
548122	1987	2002	CTCTGGACTGCTTCTC	eekd ₁₀ kke	55	34086	34101	1364
548123	1990	2005	AGACTCTGGACTGCTT	eekd ₁₀ kke	49	34089	34104	1365
548124	1991	2006	TAGACTCTGGACTGCT	eekd ₁₀ kke	51	34090	34105	1366
548125	1992	2007	CTAGACTCTGGACTGC	eekd ₁₀ kke	89	34091	34106	1367
548126	1995	2010	TGCCTAGACTCTGGAC	eekd ₁₀ kke	19	34094	34109	1368
548127	1996	2011	TTGCCTAGACTCTGGA	eekd ₁₀ kke	60	34095	34110	1369
548128	1997	2012	ATTGCCTAGACTCTGG	eekd ₁₀ kke	55	34096	34111	1370
548129	2022	2037	TTTGACTTGAACCTAG	eekd ₁₀ kke	35	34121	34136	1371
548130	2023	2038	ATTTGACTTGAACCTA	eekd ₁₀ kke	27	34122	34137	1372
548131	2024	2039	AATTTGACTTGAACCTC	eekd ₁₀ kke	45	34123	34138	1373
548132	2025	2040	GAATTTGACTTGAACCT	eekd ₁₀ kke	0	34124	34139	1374
548133	2026	2041	AGAATTTGACTTGAAC	eekd ₁₀ kke	23	34125	34140	1375
548134	2027	2042	CAGAATTTGACTTGAA	eekd ₁₀ kke	17	34126	34141	1376
548135	2028	2043	TCAGAATTTGACTTGA	eekd ₁₀ kke	46	34127	34142	1377
548136	2031	2046	GGCTCAGAATTTGACT	eekd ₁₀ kke	39	34130	34145	1378
548137	2032	2047	AGGCTCAGAATTTGAC	eekd ₁₀ kke	62	34131	34146	1379
548138	2036	2051	CCCCAGGCTCAGAATT	eekd ₁₀ kke	52	34135	34150	1380
548139	2047	2062	AGATGAGGACCCCCCA	eekd ₁₀ kke	56	34146	34161	1381
548140	2048	2063	CAGATGAGGACCCCCC	eekd ₁₀ kke	74	34147	34162	1382
548141	2049	2064	GCAGATGAGGACCCCC	eekd ₁₀ kke	66	34148	34163	1383
548142	2063	2078	ACTCTCCATGCTTTGC	eekd ₁₀ kke	44	34162	34177	1384
548143	2064	2079	CACTCTCCATGCTTTG	eekd ₁₀ kke	39	34163	34178	1385
548144	2068	2083	ATGCCACTCTCCATGC	eekd ₁₀ kke	52	34167	34182	1386
548145	2079	2094	ATGCAAAGAAGATGCC	eekd ₁₀ kke	63	34178	34193	1387
548146	2088	2103	GTCCTTAGGATGCAAA	eekd ₁₀ kke	68	34187	34202	1388
548147	2089	2104	CGTCCTTAGGATGCAA	eekd ₁₀ kke	81	34188	34203	1389
548148	2114	2129	GCAGCTCTGAGTGCAC	eekd ₁₀ kke	66	34213	34228	1390
548149	2127	2142	GACATTGTCCTCAGCA	eekd ₁₀ kke	39	34226	34241	1391
548150	2129	2144	CAGACATTGTCCTCAG	eekd ₁₀ kke	60	34228	34243	1392

[2061]

[2062]

표 141

ISIS 번호	서열 번호: 1 개시 부위	서열 번호: 1 종지 부위	서열	화합성질	억제 %	서열 번호: 10 개시 부위	서열 번호: 10 종지 부위	서열 번호
547747	n/a	n/a	TCACTGTACTAGTTTC	eekd ₁₀ kke	84	14746	14761	1267
						14817	14832	
						14888	14903	
						14947	14962	

[2063]

						15007	15022	
						15079	15094	
						15222	15237	
						15294	15309	
						15353	15368	
						15413	15428	
						15485	15500	
						15557	15572	
						15615	15630	
						15687	15702	
						15817	15832	
						15889	15904	
						15947	15962	
547843	384	399	CACTTATTTGATGACC	eekd ₁₀ kke	83	9918	9933	1393
547844	385	400	GCACTTATTTGATGAC	eekd ₁₀ kke	13	n/a	n/a	1394
547845	394	409	CGATGGCAAGCACTTA	eekd ₁₀ kke	0	n/a	n/a	1395
547846	395	410	TCGATGGCAAGCACTT	eekd ₁₀ kke	0	n/a	n/a	1396
547847	396	411	CTCGATGGCAAGCACT	eekd ₁₀ kke	46	n/a	n/a	1397
547848	400	415	ATGTCTCGATGGCAAG	eekd ₁₀ kke	93	12656	12671	1398
547849	401	416	AATGTCTCGATGGCAA	eekd ₁₀ kke	79	12657	12672	1399
547850	402	417	AAATGTCTCGATGGCA	eekd ₁₀ kke	51	12658	12673	1400
547851	403	418	TAAATGTCTCGATGGC	eekd ₁₀ kke	93	12659	12674	1401
547852	404	419	ATAAATGTCTCGATGG	eekd ₁₀ kke	67	12660	12675	1402
547853	405	420	TATAAATGTCTCGATG	eekd ₁₀ kke	0	12661	12676	1403
547854	416	431	ATCAACTCCTTTATAA	eekd ₁₀ kke	10	12672	12687	1404
547855	417	432	TATCAACTCCTTTATA	eekd ₁₀ kke	59	12673	12688	1405
547856	419	434	CATATCAACTCCTTTA	eekd ₁₀ kke	93	12675	12690	1406
547858	423	438	CTCTCATATCAACTCC	eekd ₁₀ kke	82	12679	12694	1407
547859	424	439	CCTCTCATATCAACTC	eekd ₁₀ kke	77	12680	12695	1408
547860	425	440	TCCTCTCATATCAACT	eekd ₁₀ kke	71	12681	12696	1409
547861	427	442	ACTCCTCTCATATCAA	eekd ₁₀ kke	0	12683	12698	1410
547862	428	443	GACTCCTCTCATATCA	eekd ₁₀ kke	22	12684	12699	1411
547863	429	444	TGACTCCTCTCATATC	eekd ₁₀ kke	73	12685	12700	1412
547864	430	445	TTGACTCCTCTCATAT	eekd ₁₀ kke	53	12686	12701	1413
547865	434	449	AAAATTGACTCCTCTC	eekd ₁₀ kke	3	12690	12705	1414
547866	436	451	TTAAAATTGACTCCTC	eekd ₁₀ kke	46	12692	12707	1415
547867	447	462	CCTTAGACACATTAAA	eekd ₁₀ kke	34	12703	12718	1416
547868	448	463	ACCTTAGACACATTAA	eekd ₁₀ kke	47	12704	12719	1417
547869	449	464	AACCTTAGACACATTA	eekd ₁₀ kke	45	12705	12720	1418
547870	451	466	CTAACCTTAGACACAT	eekd ₁₀ kke	89	12707	12722	1419

[2064]

547871	452	467	GCTAACCTTAGACACA	eekd ₁₀ kke	96	12708	12723	1420
547872	453	468	TGCTAACCTTAGACAC	eekd ₁₀ kke	85	12709	12724	1421
547873	454	469	CTGCTAACCTTAGACA	eekd ₁₀ kke	77	12710	12725	1422
547874	455	470	ACTGCTAACCTTAGAC	eekd ₁₀ kke	70	12711	12726	1423
547875	456	471	CACTGCTAACCTTAGA	eekd ₁₀ kke	73	12712	12727	1424
547876	457	472	ACACTGCTAACCTTAG	eekd ₁₀ kke	78	12713	12728	1425
547877	458	473	AACACTGCTAACCTTA	eekd ₁₀ kke	81	12714	12729	1426
547879	460	475	TCAACACTGCTAACCT	eekd ₁₀ kke	69	12716	12731	1427
547880	461	476	TTCAACACTGCTAACCC	eekd ₁₀ kke	69	12717	12732	1428
547881	465	480	ATTCTTCAACACTGCT	eekd ₁₀ kke	0	12721	12736	1429
547882	500	515	CTGGCAGCGAATGTTA	eekd ₁₀ kke	91	12756	12771	1430
547883	501	516	ACTGGCAGCGAATGTT	eekd ₁₀ kke	99	12757	12772	1431
547884	518	533	CGTGGCATATGAAAAA	eekd ₁₀ kke	87	12774	12789	1432
547885	539	554	CTCTGCCCTTGTAAT	eekd ₁₀ kke	45	12795	12810	1433
547886	544	559	CGGTACTCTGCCTTGT	eekd ₁₀ kke	97	12800	12815	1434
547889	547	562	TTCCGGTACTCTGCCT	eekd ₁₀ kke	91	n/a	n/a	1435
547890	550	565	TTGTTCCGGTACTCTG	eekd ₁₀ kke	97	n/a	n/a	1436
547891	551	566	ATTGTTCCGGTACTCT	eekd ₁₀ kke	84	n/a	n/a	1437
547892	553	568	CAATTGTTCCGGTACT	eekd ₁₀ kke	29	n/a	n/a	1438
547893	554	569	GCAATTGTTCCGGTAC	eekd ₁₀ kke	81	n/a	n/a	1439
547894	555	570	GGCAATTGTTCCGGTA	eekd ₁₀ kke	92	n/a	n/a	1440
547898	563	578	CTTTAATAGGCAATTG	eekd ₁₀ kke	0	14134	14149	1441
547899	566	581	GTACTTTAATAGGCAA	eekd ₁₀ kke	49	14137	14152	1442
547900	567	582	TGTACTTTAATAGGCA	eekd ₁₀ kke	93	14138	14153	1443
547901	568	583	CTGTACTTTAATAGGC	eekd ₁₀ kke	77	14139	14154	1444
547902	569	584	ACTGTACTTTAATAGG	eekd ₁₀ kke	20	14140	14155	1445
547903	604	619	CTCAGCACCTTTATAG	eekd ₁₀ kke	62	14175	14190	1446
547904	605	620	ACTCAGCACCTTTATA	eekd ₁₀ kke	56	14176	14191	1447
547905	606	621	TACTCAGCACCTTTAT	eekd ₁₀ kke	20	14177	14192	1448
547906	607	622	TTACTCAGCACCTTTA	eekd ₁₀ kke	59	14178	14193	1449
547907	652	667	ATTCTGAAAGGGCAC	eekd ₁₀ kke	27	14223	14238	1450
547908	654	669	CAATTCTGAAAGGGC	eekd ₁₀ kke	94	14225	14240	1451
547909	655	670	CCAATTTCTGAAAGGG	eekd ₁₀ kke	82	14226	14241	1452
547910	656	671	ACCAATTTCTGAAAGG	eekd ₁₀ kke	26	14227	14242	1453
547911	661	676	TGGCAACCAATTTCTG	eekd ₁₀ kke	0	n/a	n/a	1454
547912	701	716	ATCCACATCTGAGAAC	eekd ₁₀ kke	23	26149	26164	1455
547913	706	721	GCAACATCCACATCTG	eekd ₁₀ kke	71	26154	26169	1456
547914	707	722	GGCAACATCCACATCT	eekd ₁₀ kke	74	26155	26170	1457
547915	708	723	TGGCAACATCCACATC	eekd ₁₀ kke	0	26156	26171	1458

547916	710	725	CCTGGCAACATCCACA	eekd ₁₀ kke	70	26158	26173	1459
547917	712	727	ACCCTGGCAACATCCA	eekd ₁₀ kke	33	26160	26175	1460
547918	713	728	AACCTGGCAACATCC	eekd ₁₀ kke	1	26161	26176	1461
547919	714	729	GAACCCTGGCAACATC	eekd ₁₀ kke	41	26162	26177	1462

[2065]

[2066]

[2067] 표 142

ISIS 번호	서열 번호: 1 개시 부위	서열 번호: 1 정지 부위	서열	화학성질	억제 %	서열 번호: 10 개시 부위	서열 번호: 10 정지 부위	서열 번호
531231	n/a	n/a	TATCACTGTACTAGTTTCCT	ceceeed ₁₀ cecece	62	14744	14763	334
						14815	14834	
						14886	14905	
						14945	14964	
						15005	15024	
						15077	15096	
						15220	15239	
						15292	15311	
						15351	15370	
						15411	15430	
						15483	15502	
						15555	15574	
						15613	15632	
						15685	15704	
						15815	15834	
						15887	15906	
						15945	15964	
547747	n/a	n/a	TCACTGTACTAGTTTC	eekd ₁₀ kke	88	14746	14761	1267
						14817	14832	
						14888	14903	
						14947	14962	
						15007	15022	
						15079	15094	
						15222	15237	
						15294	15309	
						15353	15368	
						15413	15428	
						15485	15500	
						15557	15572	
						15615	15630	
						15687	15702	

[2068]

						15817	15832	
						15889	15904	
						15947	15962	
547751	7	22	TGAACGGTCTTCAAGC	eekd ₁₀ kke	0	3399	3414	1463
547753	8	23	ATGAACGGTCTTCAAG	eekd ₁₀ kke	3	3400	3415	1464
547755	13	28	TAAAAATGAACGGTCT	eekd ₁₀ kke	0	3405	3420	1465
547757	28	43	GAGTCTCTTGTCACCT	eekd ₁₀ kke	69	3420	3435	1466
547759	29	44	TGAGTCTCTTGTCACCT	eekd ₁₀ kke	73	3421	3436	1467
547763	31	46	GGTGAGTCTCTTGTC	eekd ₁₀ kke	66	3423	3438	1468
547765	32	47	AGGTGAGTCTCTTGTC	eekd ₁₀ kke	20	3424	3439	1469
547767	35	50	TGGAGGTGAGTCTCTT	eekd ₁₀ kke	74	3427	3442	1470
547769	36	51	TTGGAGGTGAGTCTCT	eekd ₁₀ kke	81	3428	3443	1471
547771	37	52	CTTGAGGTGAGTCTC	eekd ₁₀ kke	60	3429	3444	1472
547773	38	53	TCTTGAGGTGAGTCT	eekd ₁₀ kke	47	3430	3445	1473
547777	43	58	TTGCTTCTTGAGGTG	eekd ₁₀ kke	69	3435	3450	1474
547779	44	59	ATTGCTTCTTGAGGT	eekd ₁₀ kke	41	3436	3451	1475
547781	46	61	CAATTGCTTCTTGAG	eekd ₁₀ kke	49	3438	3453	1476
547783	48	63	CACAATTGCTTCTTG	eekd ₁₀ kke	48	3440	3455	1477
547784	72	87	GCTTGAATAAAATCAT	eekd ₁₀ kke	46	4071	4086	1478
547785	79	94	GTTGCTTGCTTGAATA	eekd ₁₀ kke	48	4078	4093	1479
547786	80	95	AGTTGCTTGCTTGAAT	eekd ₁₀ kke	44	4079	4094	1480
547787	81	96	AAGTTGCTTGCTTGAA	eekd ₁₀ kke	22	4080	4095	1481
547788	82	97	TAAGTTGCTTGCTTGA	eekd ₁₀ kke	49	4081	4096	1482
547789	86	101	GAAATAAGTTGCTTGC	eekd ₁₀ kke	20	4085	4100	1483
547790	87	102	TGAAATAAGTTGCTTG	eekd ₁₀ kke	23	4086	4101	1484
547791	106	121	ACTGTAGCAACAAGG	eekd ₁₀ kke	49	4105	4120	1485
547792	116	131	TCCACAGGAAACTGTA	eekd ₁₀ kke	31	n/a	n/a	1486
547793	117	132	ATCCACAGGAAACTGT	eekd ₁₀ kke	16	n/a	n/a	1487
547794	136	151	TCATAGAGTTGAGTCA	eekd ₁₀ kke	49	8008	8023	1488
547795	155	170	ACCTCTGAAGAAGGCG	eekd ₁₀ kke	66	8027	8042	1489
547796	161	176	ATCCCCACCTCTGAAG	eekd ₁₀ kke	35	8033	8048	1490
547797	167	182	AGCTACATCCCCACCT	eekd ₁₀ kke	33	8039	8054	1491
547799	169	184	GAAGCTACATCCCCAC	eekd ₁₀ kke	41	8041	8056	1492
547800	174	189	ACATGGAAGCTACATC	eekd ₁₀ kke	20	8046	8061	1493
547801	175	190	TACATGGAAGCTACAT	eekd ₁₀ kke	11	8047	8062	1494
547802	176	191	GTACATGGAAGCTACA	eekd ₁₀ kke	41	8048	8063	1495
547803	177	192	TGTACATGGAAGCTAC	eekd ₁₀ kke	0	8049	8064	1496
547804	178	193	GTGTACATGGAAGCTA	eekd ₁₀ kke	22	8050	8065	1497
547805	180	195	GGGTGTACATGGAAGC	eekd ₁₀ kke	54	8052	8067	1498
547807	197	212	GCAGTATTGGGCATTT	eekd ₁₀ kke	75	8069	8084	1499
547808	203	218	CATCTGGCAGTATTGG	eekd ₁₀ kke	56	8075	8090	1500
547809	204	219	TCATCTGGCAGTATTG	eekd ₁₀ kke	33	8076	8091	1501
547810	206	221	CCTCATCTGGCAGTAT	eekd ₁₀ kke	60	8078	8093	1502

[2069]

547811	207	222	ACCTCATCTGGCAGTA	eekd ₁₀ kke	49	8079	8094	1503
547812	211	226	GTGCACCTCATCTGGC	eekd ₁₀ kke	51	8083	8098	1504
547813	219	234	GGTGGAATGTGCACCT	eekd ₁₀ kke	34	8091	8106	1505
547814	220	235	GGGTGGAATGTGCACC	eekd ₁₀ kke	60	8092	8107	1506
547815	255	270	AACTTGCTGGAAGAAA	eekd ₁₀ kke	3	8127	8142	1507
547816	256	271	GAACCTTGCTGGAAGAA	eekd ₁₀ kke	45	8128	8143	1508
547817	257	272	TGAACCTTGCTGGAAGA	eekd ₁₀ kke	18	8129	8144	1509
547818	260	275	GATTGAACCTTGCTGGA	eekd ₁₀ kke	4	8132	8147	1510
547819	264	279	CATTGATTGAACTTGC	eekd ₁₀ kke	11	8136	8151	1511
547820	265	280	TCATTGATTGAACTTG	eekd ₁₀ kke	0	8137	8152	1512
547821	282	297	CAAACCTTTTCTCCAT	eekd ₁₀ kke	44	n/a	n/a	1513
547822	287	302	GCAACCAAACCTTTTC	eekd ₁₀ kke	71	n/a	n/a	1514
547823	288	303	AGCAACCAAACCTTTT	eekd ₁₀ kke	51	n/a	n/a	1515
547824	331	346	CGATGTACTTTTGGCA	eekd ₁₀ kke	82	9865	9880	1516
547825	332	347	TCGATGTACTTTTGGC	eekd ₁₀ kke	59	9866	9881	1517
547826	333	348	TTCGATGTACTTTTGG	eekd ₁₀ kke	31	9867	9882	1518
547827	334	349	GTTTCGATGTACTTTTG	eekd ₁₀ kke	47	9868	9883	1519
547828	337	352	CCTGTTTCGATGTACTT	eekd ₁₀ kke	63	9871	9886	1520
547829	338	353	ACCTGTTTCGATGTACT	eekd ₁₀ kke	59	9872	9887	1521
547830	340	355	GCACCTGTTTCGATGTA	eekd ₁₀ kke	74	9874	9889	1522
547831	342	357	CTGCACCTGTTTCGATG	eekd ₁₀ kke	49	9876	9891	1523
547832	343	358	ACTGCACCTGTTTCGAT	eekd ₁₀ kke	59	9877	9892	1524
547833	344	359	AACTGCACCTGTTTCGA	eekd ₁₀ kke	40	9878	9893	1525
547834	345	360	AAACTGCACCTGTTTCG	eekd ₁₀ kke	63	9879	9894	1526
547835	349	364	CCAGAAACTGCACCTG	eekd ₁₀ kke	81	9883	9898	1527
547836	350	365	TCCAGAAACTGCACCT	eekd ₁₀ kke	50	9884	9899	1528
547837	352	367	TGTCCAGAAACTGCAC	eekd ₁₀ kke	51	9886	9901	1529
547838	362	377	CTTCAAGGAATGTCCA	eekd ₁₀ kke	45	9896	9911	1530
547839	363	378	GCTTCAAGGAATGTCC	eekd ₁₀ kke	35	9897	9912	1531
547840	365	380	TTGCTTCAAGGAATGT	eekd ₁₀ kke	36	9899	9914	1532
547841	369	384	CACATTGCTTCAAGGA	eekd ₁₀ kke	42	9903	9918	1533
547842	375	390	GATGACCACATTGCTT	eekd ₁₀ kke	10	9909	9924	1534

표 143

ISIS 번호	서열 번호: 1 개시 부위	서열 번호: 1 정지 부위	서열	화합성질	억제 %	서열 번호: 10 개시 부위	서열 번호: 10 정지 부위	서열 번호
531231	n/a	n/a	TATCACTGTACTAGTTTCCT	eeeeed ₁₀ eeeee	75	14744	14763	334
						14815	14834	
						14886	14905	
						14945	14964	

						15005	15024	
						15077	15096	
						15220	15239	
						15292	15311	
						15351	15370	
						15411	15430	
						15483	15502	
						15555	15574	
						15613	15632	
						15685	15704	
						15815	15834	
						15887	15906	
						15945	15964	
547747	n/a	n/a	TCACTGTACTAGTTTC	eekd ₁₀ kke	91	14746	14761	1267
						14817	14832	
						14888	14903	
						14947	14962	
						15007	15022	
						15079	15094	
						15222	15237	
						15294	15309	
						15353	15368	
						15413	15428	
						15485	15500	
						15557	15572	
						15615	15630	
						15687	15702	
						15817	15832	
						15889	15904	
						15947	15962	
547843	384	399	CACTTATTTGATGACC	eekd ₁₀ kke	83	9918	9933	1393
547844	385	400	GCACTTATTTGATGAC	eekd ₁₀ kke	76	n/a	n/a	1394
547845	394	409	CGATGGCAAGCACTTA	eekd ₁₀ kke	64	n/a	n/a	1395
547846	395	410	TCGATGGCAAGCACTT	eekd ₁₀ kke	42	n/a	n/a	1396
547847	396	411	CTCGATGGCAAGCACT	eekd ₁₀ kke	72	n/a	n/a	1397
547848	400	415	ATGTCTCGATGGCAAG	eekd ₁₀ kke	79	12656	12671	1398
547849	401	416	AATGTCTCGATGGCAA	eekd ₁₀ kke	90	12657	12672	1399
547850	402	417	AAATGTCTCGATGGCA	eekd ₁₀ kke	80	12658	12673	1400
547851	403	418	TAAATGTCTCGATGGC	eekd ₁₀ kke	84	12659	12674	1401
547852	404	419	ATAAATGTCTCGATGG	eekd ₁₀ kke	66	12660	12675	1402
547853	405	420	TATAAATGTCTCGATG	eekd ₁₀ kke	30	12661	12676	1403
547854	416	431	ATCAACTCCTTTATAA	eekd ₁₀ kke	9	12672	12687	1404

[2073]

547855	417	432	TATCAACTCCTTTATA	eekd ₁₀ kke	38	12673	12688	1405
547856	419	434	CATATCAACTCCTTTA	eekd ₁₀ kke	51	12675	12690	1406
547857	421	436	CTCATATCAACTCCTT	eekd ₁₀ kke	84	12677	12692	1535
547858	423	438	CTCTCATATCAACTCC	eekd ₁₀ kke	76	12679	12694	1407
547859	424	439	CCTCTCATATCAACTC	eekd ₁₀ kke	88	12680	12695	1408
547860	425	440	TCCTCTCATATCAACT	eekd ₁₀ kke	70	12681	12696	1409
547861	427	442	ACTCTCTCATATCAA	eekd ₁₀ kke	57	12683	12698	1410
547862	428	443	GACTCCTCTCATATCA	eekd ₁₀ kke	88	12684	12699	1411
547863	429	444	TGACTCCTCTCATATC	eekd ₁₀ kke	77	12685	12700	1412
547864	430	445	TTGACTCCTCTCATAT	eekd ₁₀ kke	73	12686	12701	1413
547865	434	449	AAAATTGACTCCTCTC	eekd ₁₀ kke	61	12690	12705	1414
547866	436	451	TTAAAAATTGACTCCTC	eekd ₁₀ kke	40	12692	12707	1415
547867	447	462	CCTTAGACACATTAAA	eekd ₁₀ kke	53	12703	12718	1416
547868	448	463	ACCTTAGACACATTAA	eekd ₁₀ kke	71	12704	12719	1417
547869	449	464	AACCTTAGACACATTA	eekd ₁₀ kke	77	12705	12720	1418
547870	451	466	CTAACCTTAGACACAT	eekd ₁₀ kke	83	12707	12722	1419
547871	452	467	GCTAACCTTAGACACA	eekd ₁₀ kke	77	12708	12723	1420
547872	453	468	TGCTAACCTTAGACAC	eekd ₁₀ kke	73	12709	12724	1421
547873	454	469	CTGCTAACCTTAGACA	eekd ₁₀ kke	82	12710	12725	1422
547874	455	470	ACTGCTAACCTTAGAC	eekd ₁₀ kke	60	12711	12726	1423
547875	456	471	CACTGCTAACCTTAGA	eekd ₁₀ kke	57	12712	12727	1424
547876	457	472	ACACTGCTAACCTTAG	eekd ₁₀ kke	59	12713	12728	1425
547877	458	473	AACACTGCTAACCTTA	eekd ₁₀ kke	93	12714	12729	1426
547878	459	474	CAACACTGCTAACCTT	eekd ₁₀ kke	62	12715	12730	1536
547879	460	475	TCAACACTGCTAACCT	eekd ₁₀ kke	65	12716	12731	1427
547880	461	476	TTC AACACTGCTAACCC	eekd ₁₀ kke	59	12717	12732	1428
547881	465	480	ATTCTTCAACACTGCT	eekd ₁₀ kke	50	12721	12736	1429
547882	500	515	CTGGCAGCGAATGTTA	eekd ₁₀ kke	96	12756	12771	1430
547883	501	516	ACTGGCAGCGAATGTT	eekd ₁₀ kke	0	12757	12772	1431
547884	518	533	CGTGGCATATGAAAAA	eekd ₁₀ kke	49	12774	12789	1432
547885	539	554	CTCTGCCTTGTGAAAT	eekd ₁₀ kke	57	12795	12810	1433
547886	544	559	CGGTACTCTGCCTTGT	eekd ₁₀ kke	89	12800	12815	1434
547887	545	560	CCGGTACTCTGCCTTG	eekd ₁₀ kke	99	12801	12816	1537
547888	546	561	TCCGGTACTCTGCCTT	eekd ₁₀ kke	99	n/a	n/a	1538
547889	547	562	TTCCGGTACTCTGCCT	eekd ₁₀ kke	97	n/a	n/a	1435
547890	550	565	TTGTTCCGGTACTCTG	eekd ₁₀ kke	90	n/a	n/a	1436
547891	551	566	ATTGTTCCGGTACTCT	eekd ₁₀ kke	88	n/a	n/a	1437
547892	553	568	CAATTGTTCCGGTACT	eekd ₁₀ kke	28	n/a	n/a	1438
547893	554	569	GCAATTGTTCCGGTAC	eekd ₁₀ kke	80	n/a	n/a	1439

[2074]

547894	555	570	GGCAATTGTTCCGGTA	eekd ₁₀ kke	91	n/a	n/a	1440
547895	556	571	AGGCAATTGTTCCGGT	eekd ₁₀ kke	94	n/a	n/a	1539
547896	557	572	TAGGCAATTGTTCCGG	eekd ₁₀ kke	95	n/a	n/a	1540
547897	558	573	ATAGGCAATTGTTCCG	eekd ₁₀ kke	82	n/a	n/a	1541
547898	563	578	CTTTAATAGGCAATTG	eekd ₁₀ kke	28	14134	14149	1441
547899	566	581	GTACTTTAATAGGCAA	eekd ₁₀ kke	68	14137	14152	1442
547900	567	582	TGTACTTTAATAGGCA	eekd ₁₀ kke	68	14138	14153	1443
547901	568	583	CTGTACTTTAATAGGC	eekd ₁₀ kke	85	14139	14154	1444
547902	569	584	ACTGTACTTTAATAGG	eekd ₁₀ kke	33	14140	14155	1445
547903	604	619	CTCAGCACCTTTATAG	eekd ₁₀ kke	6	14175	14190	1446
547904	605	620	ACTCAGCACCTTTATA	eekd ₁₀ kke	41	14176	14191	1447
547905	606	621	TACTCAGCACCTTTAT	eekd ₁₀ kke	59	14177	14192	1448
547906	607	622	TTACTCAGCACCTTTA	eekd ₁₀ kke	70	14178	14193	1449
547907	652	667	ATTTCTGAAAGGGCAC	eekd ₁₀ kke	27	14223	14238	1450
547908	654	669	CAATTTCTGAAAGGGC	eekd ₁₀ kke	71	14225	14240	1451
547909	655	670	CCAATTTCTGAAAGGG	eekd ₁₀ kke	51	14226	14241	1452
547910	656	671	ACCAATTTCTGAAAGG	eekd ₁₀ kke	34	14227	14242	1453
547911	661	676	TGGCAACCAATTTCTG	eekd ₁₀ kke	15	n/a	n/a	1454
547912	701	716	ATCCACATCTGAGAAC	eekd ₁₀ kke	53	26149	26164	1455
547913	706	721	GCAACATCCACATCTG	eekd ₁₀ kke	61	26154	26169	1456
547914	707	722	GGCAACATCCACATCT	eekd ₁₀ kke	63	26155	26170	1457
547915	708	723	TGGCAACATCCACATC	eekd ₁₀ kke	62	26156	26171	1458
547916	710	725	CCTGGCAACATCCACA	eekd ₁₀ kke	56	26158	26173	1459
547917	712	727	ACCTGGCAACATCCA	eekd ₁₀ kke	54	26160	26175	1460
547918	713	728	AACCCTGGCAACATCC	eekd ₁₀ kke	65	26161	26176	1461
547919	714	729	GAACCCTGGCAACATC	eekd ₁₀ kke	73	26162	26177	1462

[2075]

[2076] 표 144

ISIS 번호	서열 번호: 1 개시 부위	서열 번호: 1 정지 부위	서열	화학성질	억제 %	서열 번호: 10 개시 부위	서열 번호: 10 정지 부위	서열 번호
531231	n/a	n/a	TATCACTGTACTAGTTTCCT	eeeeed ₁₀ eeee	16	14744	14763	334
						14815	14834	
						14886	14905	
						14945	14964	
						15005	15024	
						15077	15096	
						15220	15239	
						15292	15311	

[2077]

						15351	15370	
						15411	15430	
						15483	15502	
						15555	15574	
						15613	15632	
						15685	15704	
						15815	15834	
						15887	15906	
						15945	15964	
547747	n/a	n/a	TCACTGTACTAGTTTC	eekd ₁₀ kke	83	14746	14761	1267
						14817	14832	
						14888	14903	
						14947	14962	
						15007	15022	
						15079	15094	
						15222	15237	
						15294	15309	
						15353	15368	
						15413	15428	
						15485	15500	
						15557	15572	
						15615	15630	
						15687	15702	
						15817	15832	
						15889	15904	
						15947	15962	
547920	716	731	GAGAACCCTGGCAACA	eekd ₁₀ kke	52	26164	26179	1542
547921	717	732	TGAGAACCCTGGCAAC	eekd ₁₀ kke	43	26165	26180	1543
547922	722	737	TGGAGTGAGAACCCTG	eekd ₁₀ kke	79	26170	26185	1544
547923	725	740	ATCTGGAGTGAGAACC	eekd ₁₀ kke	68	26173	26188	1545
547924	742	757	GTCCGACACACAAAAG	eekd ₁₀ kke	53	26190	26205	1546
547925	743	758	GGTCCGACACACAAAA	eekd ₁₀ kke	16	26191	26206	1547
547927	745	760	ATGGTCCGACACACAA	eekd ₁₀ kke	79	26193	26208	1548
547928	746	761	GATGGTCCGACACACA	eekd ₁₀ kke	70	26194	26209	1549
547929	747	762	AGATGGTCCGACACAC	eekd ₁₀ kke	65	26195	26210	1550
547930	757	772	TGATAGGTGCAGATGG	eekd ₁₀ kke	48	26205	26220	1551
547931	758	773	GTGATAGGTGCAGATG	eekd ₁₀ kke	58	26206	26221	1552
547932	804	819	CGATTTTCCATACATT	eekd ₁₀ kke	33	26252	26267	1553
547933	805	820	TCGATTTTCCATACAT	eekd ₁₀ kke	44	26253	26268	1554
547934	806	821	CTCGATTTTCCATACA	eekd ₁₀ kke	38	26254	26269	1555
547935	807	822	ACTCGATTTTCCATAC	eekd ₁₀ kke	27	26255	26270	1556

[2078]

547936	808	823	GACTCGATTTTCCATA	eekd ₁₀ kke	44	26256	26271	1557
547937	811	826	TGTGACTCGATTTTCC	eekd ₁₀ kke	56	26259	26274	1558
547938	812	827	TTGTGACTCGATTTTC	eekd ₁₀ kke	56	26260	26275	1559
547939	813	828	TTTGTGACTCGATTTT	eekd ₁₀ kke	70	26261	26276	1560
547940	817	832	TTTCTTTGTGACTCGA	eekd ₁₀ kke	71	n/a	n/a	1561
547941	852	867	GTGTGCCACTTTCAGA	eekd ₁₀ kke	66	27116	27131	1562
547942	853	868	GGTGTGCCACTTTCAG	eekd ₁₀ kke	85	27117	27132	1563
547943	854	869	TGGTGTGCCACTTTCA	eekd ₁₀ kke	83	27118	27133	1564
547944	857	872	ACTTGGTGTGCCACTT	eekd ₁₀ kke	54	27121	27136	1565
547945	858	873	AACTTGGTGTGCCACT	eekd ₁₀ kke	62	27122	27137	1566
547946	859	874	GAACTTGGTGTGCCAC	eekd ₁₀ kke	81	27123	27138	1567
547947	860	875	GGAACCTGGTGTGCCA	eekd ₁₀ kke	80	27124	27139	1568
547948	861	876	AGGAACCTGGTGTGCC	eekd ₁₀ kke	77	27125	27140	1569
547949	880	895	GTGTTTTCTTGAGGAG	eekd ₁₀ kke	6	27144	27159	1570
547950	881	896	GGTGTTCCTTGAGGA	eekd ₁₀ kke	49	27145	27160	1571
547951	887	902	AGATATGGTGTTTTCT	eekd ₁₀ kke	25	27151	27166	1572
547952	888	903	CAGATATGGTGTTTTC	eekd ₁₀ kke	46	27152	27167	1573
547953	895	910	CTATATCCAGATATGG	eekd ₁₀ kke	16	27159	27174	1574
547954	902	917	TAAAAGGCTATATCCA	eekd ₁₀ kke	36	27166	27181	1575
547956	904	919	GTTAAAAGGCTATATC	eekd ₁₀ kke	13	27168	27183	1576
547957	905	920	GGTAAAAGGCTATAT	eekd ₁₀ kke	6	27169	27184	1577
547958	907	922	CAGGTTAAAAGGCTAT	eekd ₁₀ kke	57	27171	27186	1578
547959	908	923	GCAGGTTAAAAGGCTA	eekd ₁₀ kke	60	27172	27187	1579
547960	909	924	TGCAGGTTAAAAGGCT	eekd ₁₀ kke	40	27173	27188	1580
547961	910	925	TTGCAGGTTAAAAGGC	eekd ₁₀ kke	5	27174	27189	1581
547962	911	926	TTTGCAGGTTAAAAGG	eekd ₁₀ kke	16	27175	27190	1582
547963	927	942	GTTCAGGTAAAGTTCT	eekd ₁₀ kke	22	n/a	n/a	1583
547964	928	943	GGTTCAGGTAAAGTTC	eekd ₁₀ kke	0	n/a	n/a	1584
547965	929	944	GGGTTCAAGTAAAGTT	eekd ₁₀ kke	29	n/a	n/a	1585
547966	930	945	AGGGTTCAGTAAAGT	eekd ₁₀ kke	13	n/a	n/a	1586
547967	933	948	GGCAGGGTTCAGGTAA	eekd ₁₀ kke	25	n/a	n/a	1587
547968	940	955	TTAGAATGGCAGGGTT	eekd ₁₀ kke	37	27362	27377	1588
547969	953	968	TCCCGGGTAAATTTTA	eekd ₁₀ kke	0	27375	27390	1589
547970	954	969	CTCCCGGGTAAATTTT	eekd ₁₀ kke	42	27376	27391	1590
547972	958	973	TCAACTCCCGGGTAAA	eekd ₁₀ kke	49	27380	27395	1591
547973	961	976	AAGTCAACTCCCGGGT	eekd ₁₀ kke	62	27383	27398	1592
547974	962	977	AAAGTCAACTCCCGGG	eekd ₁₀ kke	52	27384	27399	1593
547975	963	978	CAAAGTCAACTCCCGG	eekd ₁₀ kke	44	27385	27400	1594
547976	964	979	CCAAAGTCAACTCCCG	eekd ₁₀ kke	49	27386	27401	1595

547977	967	982	CCTCCAAAGTCAACTC	eekd ₁₀ kke	57	27389	27404	1596
547978	1014	1029	CTTGCAACATTAC	eekd ₁₀ kke	71	27436	27451	1597
547979	1018	1033	GTCTCTTGCAACAT	eekd ₁₀ kke	77	27440	27455	1598
547980	1020	1035	AAGTCTCTTGCAAAAC	eekd ₁₀ kke	54	27442	27457	1599
547981	1029	1044	TCTTTGTCAAGTCTC	eekd ₁₀ kke	76	27451	27466	1600
547982	1034	1049	AATCATCTTTGTGCAA	eekd ₁₀ kke	54	27456	27471	1601
547983	1035	1050	GAATCATCTTTGTGCA	eekd ₁₀ kke	56	27457	27472	1602
547984	1036	1051	CGAATCATCTTTGTGC	eekd ₁₀ kke	55	27458	27473	1603
547985	1037	1052	GCGAATCATCTTTGTG	eekd ₁₀ kke	63	27459	27474	1604
547986	1039	1054	CAGCGAATCATCTTTG	eekd ₁₀ kke	63	27461	27476	1605
547987	1040	1055	ACAGCGAATCATCTTT	eekd ₁₀ kke	64	27462	27477	1606
547988	1042	1057	TGACAGCGAATCATCT	eekd ₁₀ kke	56	27464	27479	1607
547989	1043	1058	CTGACAGCGAATCATC	eekd ₁₀ kke	66	27465	27480	1608
547990	1044	1059	ACTGACAGCGAATCAT	eekd ₁₀ kke	58	27466	27481	1609
547991	1077	1092	TACAGTCTTCTGGGAG	eekd ₁₀ kke	0	27499	27514	1610
547992	1080	1095	CCTTACAGTCTTCTGG	eekd ₁₀ kke	17	27502	27517	1611
547993	1113	1128	TAGATAATCTTAAGAA	eekd ₁₀ kke	26	27634	27649	1612
547994	1120	1135	CCATCCATAGATAATC	eekd ₁₀ kke	53	27641	27656	1613
547995	1149	1164	GTGTCCCATACGCAAT	eekd ₁₀ kke	64	27670	27685	1614
547996	1150	1165	TGTGTCCCATACGCAA	eekd ₁₀ kke	65	27671	27686	1615

[2081] 표 145

ISIS 번호	서열 번호: 1 개시 부위	서열 번호: 1 정지 부위	서열	화합성질	억제 %	서열 번호: 10 개시 부위	서열 번호: 10 정지 부위	서열 번호
531231	n/a	n/a	TATCACTGTACTAGTTTCCT	eeeeed ₁₀ eeeeee	0	14744	14763	334
						14815	14834	
						14886	14905	
						14945	14964	
						15005	15024	
						15077	15096	
						15220	15239	
						15292	15311	
						15351	15370	
						15411	15430	
						15483	15502	
						15555	15574	
						15613	15632	
						15685	15704	

[2082]

						15815	15834	
						15887	15906	
						15945	15964	
547747	n/a	n/a	TCACTGTACTAGTTTC	eekd ₁₀ kke	80	14746	14761	1267
						14817	14832	
						14888	14903	
						14947	14962	
						15007	15022	
						15079	15094	
						15222	15237	
						15294	15309	
						15353	15368	
						15413	15428	
						15485	15500	
						15557	15572	
						15615	15630	
						15687	15702	
						15817	15832	
						15889	15904	
						15947	15962	
547997	1151	1166	TTGTGTCCCATACGCA	eekd ₁₀ kke	89	27672	27687	1616
547998	1152	1167	CTTGTGTCCCATACGC	eekd ₁₀ kke	82	27673	27688	1617
547999	1153	1168	CCTTGTGTCCCATACG	eekd ₁₀ kke	50	27674	27689	1618
548000	1154	1169	CCTTTGTGTCCCATAC	eekd ₁₀ kke	54	27675	27690	1619
548001	1163	1178	ACCAGAGCTCCCTTGT	eekd ₁₀ kke	64	27684	27699	1620
548002	1164	1179	AACCAGAGCTCCCTTG	eekd ₁₀ kke	56	27685	27700	1621
548003	1165	1180	TAACCAGAGCTCCCTT	eekd ₁₀ kke	66	27686	27701	1622
548004	1167	1182	AGTAACCAGAGCTCCC	eekd ₁₀ kke	80	27688	27703	1623
548005	1169	1184	AGAGTAACCAGAGCTC	eekd ₁₀ kke	77	27690	27705	1624
548006	1172	1187	CAAAGAGTAACCAGAG	eekd ₁₀ kke	54	27693	27708	1625
548007	1174	1189	CTCAAAGAGTAACCAG	eekd ₁₀ kke	70	27695	27710	1626
548008	1175	1190	TCTCAAAGAGTAACCA	eekd ₁₀ kke	71	27696	27711	1627
548009	1184	1199	GTTACACAATCTCAAA	eekd ₁₀ kke	47	27705	27720	1628
548010	1187	1202	AGTGTTACACAATCTC	eekd ₁₀ kke	80	27708	27723	1629
548011	1189	1204	CCAGTGTTACACAATC	eekd ₁₀ kke	14	27710	27725	1630
548012	1192	1207	TCCCCAGTGTTACACA	eekd ₁₀ kke	3	27713	27728	1631
548013	1193	1208	GTCCCCAGTGTTACAC	eekd ₁₀ kke	37	27714	27729	1632
548014	1194	1209	TGTCCCCAGTGTTACA	eekd ₁₀ kke	31	27715	27730	1633
548015	1195	1210	TTGTCCCCAGTGTTAC	eekd ₁₀ kke	50	27716	27731	1634
548016	1248	1263	AAGAGTTTGTTCTCC	eekd ₁₀ kke	55	27924	27939	1635
548017	1252	1267	CAAGAAGAGTTTGTTTC	eekd ₁₀ kke	3	27928	27943	1636

[2083]

548018	1253	1268	CCAAGAAGAGTTTGT	eekd ₁₀ kke	22	27929	27944	1637
548019	1255	1270	CCCCAAGAAGAGTTTG	eekd ₁₀ kke	24	27931	27946	1638
548020	1256	1271	TCCCCAAGAAGAGTTT	eekd ₁₀ kke	76	27932	27947	1639
548021	1261	1276	CACTCTCCCCAAGAAG	eekd ₁₀ kke	0	27937	27952	1640
548022	1262	1277	CCACTCTCCCCAAGAA	eekd ₁₀ kke	69	27938	27953	1641
548023	1290	1305	GCTTCACCTGCAGGCT	eekd ₁₀ kke	58	27966	27981	1642
548024	1297	1312	GCTGTCAGCTTCACCT	eekd ₁₀ kke	79	27973	27988	1643
548025	1300	1315	TGAGCTGTCAGCTTCA	eekd ₁₀ kke	66	27976	27991	1644
548026	1332	1347	GTCCTATGAGTGACCC	eekd ₁₀ kke	52	28008	28023	1645
548027	1334	1349	GTGTCTTATGAGTGAC	eekd ₁₀ kke	18	28010	28025	1646
548028	1335	1350	GGTGTCTTATGAGTGA	eekd ₁₀ kke	38	28011	28026	1647
548029	1336	1351	TGGTGTCTTATGAGTG	eekd ₁₀ kke	12	28012	28027	1648
548030	1337	1352	CTGGTGTCTTATGAGT	eekd ₁₀ kke	52	28013	28028	1649
548031	1397	1412	GATGCGCCAAACATCC	eekd ₁₀ kke	73	30475	30490	1650
548032	1398	1413	AGATGCGCCAAACATC	eekd ₁₀ kke	51	30476	30491	1651
548034	1400	1415	ATAGATGCGCCAAACA	eekd ₁₀ kke	31	30478	30493	1652
548035	1404	1419	CACTATAGATGCGCCA	eekd ₁₀ kke	44	30482	30497	1653
548036	1405	1420	CCACTATAGATGCGCC	eekd ₁₀ kke	74	30483	30498	1654
548037	1427	1442	AATGTCTGACAGATT	eekd ₁₀ kke	70	30505	30520	1655
548038	1428	1443	TAATGTCTGACAGATT	eekd ₁₀ kke	67	30506	30521	1656
548039	1445	1460	GAAAGGTGTATCTTTT	eekd ₁₀ kke	29	30523	30538	1657
548040	1449	1464	GTGAGAAAGGTGTATC	eekd ₁₀ kke	62	30527	30542	1658
548041	1450	1465	TGTGAGAAAGGTGTAT	eekd ₁₀ kke	64	30528	30543	1659
548042	1452	1467	TTTGTGAGAAAGGTGT	eekd ₁₀ kke	63	30530	30545	1660
548043	1453	1468	ATTTGTGAGAAAGGTG	eekd ₁₀ kke	76	30531	30546	1661
548044	1474	1489	TGGTGAATAATAATCT	eekd ₁₀ kke	12	30552	30567	1662
548045	1483	1498	TTATAGTTTTGGTGAA	eekd ₁₀ kke	0	30561	30576	1663
548046	1506	1521	TATCATGATTCCCTTC	eekd ₁₀ kke	84	30584	30599	1664
548047	1508	1523	GATATCATGATTCCCT	eekd ₁₀ kke	83	30586	30601	1665
548048	1509	1524	CGATATCATGATTCCC	eekd ₁₀ kke	84	30587	30602	1666
548049	1510	1525	GCGATATCATGATTCC	eekd ₁₀ kke	62	30588	30603	1667
548050	1512	1527	AGGCGATATCATGATT	eekd ₁₀ kke	37	30590	30605	1668
548051	1513	1528	AAGGCGATATCATGAT	eekd ₁₀ kke	61	30591	30606	1669
548052	1535	1550	CAAAGGAGCCTGGAGT	eekd ₁₀ kke	43	30613	30628	1670
548053	1538	1553	ATTCAAAGGAGCCTGG	eekd ₁₀ kke	36	30616	30631	1671
548054	1539	1554	AATTCAAAGGAGCCTG	eekd ₁₀ kke	45	30617	30632	1672
548055	1541	1556	GTAATTCAAAGGAGCC	eekd ₁₀ kke	78	30619	30634	1673
548056	1543	1558	GTGTAATTCAAAGGAG	eekd ₁₀ kke	40	30621	30636	1674
548057	1564	1579	CATAATTGGTTTTTGGA	eekd ₁₀ kke	49	31870	31885	1675

548058	1565	1580	GCATATTGGTTTTTGG	eekd ₁₀ kke	71	31871	31886	1676
548059	1568	1583	TAGGCATATTGGTTTT	eekd ₁₀ kke	50	31874	31889	1677
548060	1588	1603	CTTGTGTACACCTTTG	eekd ₁₀ kke	76	31894	31909	1678
548061	1589	1604	GCTTGTGTACACCTTTG	eekd ₁₀ kke	86	31895	31910	1679
548062	1598	1613	ATAAATTGTGCTTGTG	eekd ₁₀ kke	19	31904	31919	1680
548063	1600	1615	GTATAAATTGTGCTTG	eekd ₁₀ kke	35	31906	31921	1681
548064	1602	1617	TGGTATAAATTGTGCT	eekd ₁₀ kke	54	31908	31923	1682
548065	1603	1618	TTGGTATAAATTGTGC	eekd ₁₀ kke	22	31909	31924	1683
548067	1606	1621	CAGTTGGTATAAATTG	eekd ₁₀ kke	18	31912	31927	1684
548068	1609	1624	CAACAGTTGGTATAAA	eekd ₁₀ kke	0	31915	31930	1685
548069	1610	1625	CCAACAGTTGGTATAA	eekd ₁₀ kke	57	31916	31931	1686
548070	1611	1626	CCCAACAGTTGGTATA	eekd ₁₀ kke	85	31917	31932	1687
548071	1629	1644	AGAAGCCCCATCCGGT	eekd ₁₀ kke	55	31935	31950	1688
548072	1640	1655	TTTCTCCTTCGAGAAG	eekd ₁₀ kke	33	31946	31961	1689
548073	1641	1656	CTTCTCCTTCGAGAA	eekd ₁₀ kke	24	31947	31962	1690

[2086] 표 146

ISIS 번호	서열 번호: 1 개시 부위	서열 번호: 1 정지 부위	서열	화합성질	억제 %	서열 번호: 10 개시 부위	서열 번호: 10 정지 부위	서열 번호
531231	n/a	n/a	TATCACTGTACTAGTTTCCT	eeeeed ₁₀ eeee	19	14744	14763	334
						14815	14834	
						14886	14905	
						14945	14964	
						15005	15024	
						15077	15096	
						15220	15239	
						15292	15311	
						15351	15370	
						15411	15430	
						15483	15502	
						15555	15574	
						15613	15632	
						15685	15704	
547747	n/a	n/a	TCACTGTACTAGTTTC	eekd ₁₀ kke	66	14746	14761	1267
						14817	14832	

[2087]

						14888	14903	
						14947	14962	
						15007	15022	
						15079	15094	
						15222	15237	
						15294	15309	
						15353	15368	
						15413	15428	
						15485	15500	
						15557	15572	
						15615	15630	
						15687	15702	
						15817	15832	
						15889	15904	
						15947	15962	
548151	2139	2154	GGGCTTCAGCCAGACA	eekd ₁₀ kke	35	34238	34253	1691
548152	2140	2155	CGGGCTTCAGCCAGAC	eekd ₁₀ kke	32	34239	34254	1692
548153	2149	2164	TGCTGAAAGCGGGCTT	eekd ₁₀ kke	44	34248	34263	1693
548154	2150	2165	GTGCTGAAAGCGGGCT	eekd ₁₀ kke	7	34249	34264	1694
548155	2151	2166	CGTGCTGAAAGCGGGC	eekd ₁₀ kke	76	34250	34265	1695
548156	2168	2183	TCAGCCCCTGGTTACG	eekd ₁₀ kke	0	34267	34282	1696
548157	2172	2187	ATTGTGAGCCCCTGGT	eekd ₁₀ kke	7	34271	34286	1697
548158	2174	2189	GCATTGTGAGCCCCTG	eekd ₁₀ kke	18	34273	34288	1698
548159	2175	2190	CGCATTGTGAGCCCCT	eekd ₁₀ kke	59	34274	34289	1699
548160	2176	2191	TCGCATTGTGAGCCCC	eekd ₁₀ kke	60	34275	34290	1700
548161	2177	2192	CTCGCATTGTGAGCCC	eekd ₁₀ kke	59	34276	34291	1701
548162	2178	2193	CCTCGCATTGTGAGCC	eekd ₁₀ kke	25	34277	34292	1702
548163	2179	2194	ACCTGCGATTGTGAGC	eekd ₁₀ kke	46	34278	34293	1703
548164	2180	2195	GACCTCGCATTGTGAG	eekd ₁₀ kke	40	34279	34294	1704
548165	2181	2196	CGACCTCGCATTGTCA	eekd ₁₀ kke	53	34280	34295	1705
548166	2182	2197	GCGACCTCGCATTGTC	eekd ₁₀ kke	0	34281	34296	1706
548167	2183	2198	TGCGACCTCGCATTGT	eekd ₁₀ kke	36	34282	34297	1707
548168	2184	2199	TTGCGACCTCGCATTG	eekd ₁₀ kke	61	34283	34298	1708
548169	2185	2200	GTTGCGACCTCGCATT	eekd ₁₀ kke	7	34284	34299	1709
548170	2186	2201	AGTTGCGACCTCGCAT	eekd ₁₀ kke	68	34285	34300	1710
548171	2187	2202	CAGTTGCGACCTCGCA	eekd ₁₀ kke	47	34286	34301	1711
548172	2188	2203	TCAGTTGCGACCTCGC	eekd ₁₀ kke	0	34287	34302	1712
548173	2189	2204	CTCAGTTGCGACCTCG	eekd ₁₀ kke	51	34288	34303	1713
548174	2190	2205	TCTCAGTTGCGACCTC	eekd ₁₀ kke	68	34289	34304	1714
548175	2191	2206	ATCTCAGTTGCGACCT	eekd ₁₀ kke	0	34290	34305	1715

[2088]

548176	2192	2207	GATCTCAGTTGCGACC	eekd ₁₀ kke	38	34291	34306	1716
548177	2193	2208	AGATCTCAGTTGCGAC	eekd ₁₀ kke	45	34292	34307	1717
548178	2194	2209	GAGATCTCAGTTGCGA	eekd ₁₀ kke	54	34293	34308	1718
548179	2195	2210	GGAGATCTCAGTTGCG	eekd ₁₀ kke	52	34294	34309	1719
548180	2199	2214	TCATGGAGATCTCAGT	eekd ₁₀ kke	79	34298	34313	1720
548181	2200	2215	GTCTGGAGATCTCAG	eekd ₁₀ kke	55	34299	34314	1721
548182	2201	2216	AGTCATGGAGATCTCA	eekd ₁₀ kke	55	34300	34315	1722
548183	2202	2217	CAGTCATGGAGATCTC	eekd ₁₀ kke	43	34301	34316	1723
548184	2203	2218	ACAGTCATGGAGATCT	eekd ₁₀ kke	73	34302	34317	1724
548185	2208	2223	AACACACAGTCATGGA	eekd ₁₀ kke	23	34307	34322	1725
548186	2209	2224	CAACACACAGTCATGG	eekd ₁₀ kke	0	34308	34323	1726
548187	n/a	n/a	CATCCTATCCGTGTTT	eekd ₁₀ kke	33	3279	3294	1727
548189	n/a	n/a	CATGAACATCCTATCC	eekd ₁₀ kke	24	3285	3300	1728
548190	n/a	n/a	TATTCATGAACATCC	eekd ₁₀ kke	43	3290	3305	1729
548191	n/a	n/a	GTCAACATATTCATG	eekd ₁₀ kke	0	3297	3312	1730
548192	n/a	n/a	CCTGTCAACATATTCC	eekd ₁₀ kke	65	3300	3315	1731
548193	n/a	n/a	TGTCTGTCAACATAT	eekd ₁₀ kke	58	3303	3318	1732
548194	n/a	n/a	GCCAACAGTTTCAACT	eekd ₁₀ kke	61	3322	3337	1733
548195	n/a	n/a	TTCTGCCAACAGTTTC	eekd ₁₀ kke	84	3326	3341	1734
548196	n/a	n/a	CAATATTGACTTTGGG	eekd ₁₀ kke	6	3343	3358	1735
548197	n/a	n/a	TGCTTGGCTTCAATAT	eekd ₁₀ kke	68	3353	3368	1736
548198	n/a	n/a	ACTGCAGGCAATATTT	eekd ₁₀ kke	49	3369	3384	1737
548199	n/a	n/a	GCACTGCAGGCAATAT	eekd ₁₀ kke	24	3371	3386	1738
548200	n/a	n/a	CTAATGTGGCACTGCA	eekd ₁₀ kke	19	3379	3394	1739
548201	n/a	n/a	TGTTCTAATGTGGCAC	eekd ₁₀ kke	67	3383	3398	1740
548202	n/a	n/a	GCTGTTCTAATGTGGC	eekd ₁₀ kke	9	3385	3400	1741
548203	n/a	n/a	TGACTAGTGAATGGCT	eekd ₁₀ kke	73	2280	2295	1742
548204	n/a	n/a	TCTGACTAGTGAATGG	eekd ₁₀ kke	25	2282	2297	1743
548205	n/a	n/a	TCAATCTGACTAGTGA	eekd ₁₀ kke	14	2286	2301	1744
548206	n/a	n/a	GGTCAATCTGACTAGT	eekd ₁₀ kke	45	2288	2303	1745
548207	n/a	n/a	CTGGTCAATCTGACTA	eekd ₁₀ kke	60	2290	2305	1746
548208	n/a	n/a	CTCTGGTCAATCTGAC	eekd ₁₀ kke	19	2292	2307	1747
548209	n/a	n/a	CAATCTCTGGTCAATC	eekd ₁₀ kke	57	2296	2311	1748
548210	n/a	n/a	CAACAATCTCTGGTCA	eekd ₁₀ kke	55	2299	2314	1749
548211	n/a	n/a	ACCAACAATCTCTGGT	eekd ₁₀ kke	51	2301	2316	1750
548212	n/a	n/a	AGCCCAACAACAATCT	eekd ₁₀ kke	44	2306	2321	1751
548213	n/a	n/a	GACAGCCCAACAACAA	eekd ₁₀ kke	70	2309	2324	1752
548214	n/a	n/a	CAGACAGCCCAACAAC	eekd ₁₀ kke	55	2311	2326	1753
548215	n/a	n/a	GCATAGACCCCAACAG	eekd ₁₀ kke	61	2324	2339	1754

548216	n/a	n/a	GTGCATAGACCCCAAC	eekd ₁₀ kke	45	2326	2341	1755
548217	n/a	n/a	CTGTGCATAGACCCCA	eekd ₁₀ kke	69	2328	2343	1756
548218	n/a	n/a	TCCTGTGCATAGACCC	eekd ₁₀ kke	59	2330	2345	1757
548219	n/a	n/a	GAAATCCTGTGCATAG	eekd ₁₀ kke	8	2334	2349	1758
548220	n/a	n/a	GCAGAAATCCTGTGCA	eekd ₁₀ kke	69	2337	2352	1759
548221	n/a	n/a	ACTCCAGCAGAAATCC	eekd ₁₀ kke	49	2343	2358	1760
548222	n/a	n/a	AATCATGCCTTGTGGG	eekd ₁₀ kke	32	4765	4780	1761
548223	n/a	n/a	TAGACCCAGAATCATG	eekd ₁₀ kke	50	4774	4789	1762
548224	n/a	n/a	CCATAGACCCAGAATC	eekd ₁₀ kke	20	4777	4792	1763
548225	n/a	n/a	AGTCACCATAGACCCA	eekd ₁₀ kke	48	4782	4797	1764
548226	n/a	n/a	TAAGTCACCATAGACC	eekd ₁₀ kke	39	4784	4799	1765
548227	n/a	n/a	GTGGCCCTCTTAAGTC	eekd ₁₀ kke	0	4794	4809	1766

[2091] 표 147

ISIS 번호	서열 번호: 1 개시 부위	서열 번호: 1 정지 부위	서열	화학적질	억제 %	서열 번호: 10 개시 부위	서열 번호: 10 정지 부위	서열 번호
531231	n/a	n/a	TATCACTGTACTAGTTTCCT	eeeeed ₁₀ eeee	42	14744	14763	334
						14815	14834	
						14886	14905	
						14945	14964	
						15005	15024	
						15077	15096	
						15220	15239	
						15292	15311	
						15351	15370	
						15411	15430	
						15483	15502	
						15555	15574	
						15613	15632	
						15685	15704	
547747	n/a	n/a	TCACTGTACTAGTTTC	eekd ₁₀ kke	80	15815	15834	1267
						15887	15906	
						15945	15964	
						14746	14761	
						14817	14832	
						14888	14903	
						14947	14962	
						15007	15022	

[2092]

						15079	15094	
						15222	15237	
						15294	15309	
						15353	15368	
						15413	15428	
						15485	15500	
						15557	15572	
						15615	15630	
						15687	15702	
						15817	15832	
						15889	15904	
						15947	15962	
548228	n/a	n/a	GTTGTGTGGCCCTCTT	eekd ₁₀ kke	37	4799	4814	1767
548229	n/a	n/a	CATTGTTGTGTGGCCC	eekd ₁₀ kke	31	4803	4818	1768
548230	n/a	n/a	TACTCATTGTTGTGTG	eekd ₁₀ kke	10	4807	4822	1769
548231	n/a	n/a	AATACTCATTGTTGTG	eekd ₁₀ kke	11	4809	4824	1770
548232	n/a	n/a	GCCATACATCTGAGGA	eekd ₁₀ kke	3	4831	4846	1771
548233	n/a	n/a	ATTGTAGCCATACATC	eekd ₁₀ kke	38	4837	4852	1772
548234	n/a	n/a	TTATTGTAGCCATACA	eekd ₁₀ kke	17	4839	4854	1773
548235	n/a	n/a	TCTAGATGACCTGAAG	eekd ₁₀ kke	0	18147	18162	1774
548236	n/a	n/a	TACATCTAGATGACCT	eekd ₁₀ kke	37	18151	18166	1775
548237	n/a	n/a	GTATACATCTAGATGA	eekd ₁₀ kke	22	18154	18169	1776
548238	n/a	n/a	ACTCGCCTTTGTGACT	eekd ₁₀ kke	31	26268	26283	1777
548239	n/a	n/a	TACTCGCCTTTGTGAC	eekd ₁₀ kke	18	26269	26284	1778
548240	n/a	n/a	ATACTCGCCTTTGTGA	eekd ₁₀ kke	3	26270	26285	1779
						26301	26316	
548241	n/a	n/a	CATACTCGCCTTTGTG	eekd ₁₀ kke	1	26271	26286	1780
						26302	26317	
548242	n/a	n/a	GCATACTCGCCTTTGT	eekd ₁₀ kke	25	26272	26287	1781
						26303	26318	
548243	n/a	n/a	ATGCATACTCGCCTTT	eekd ₁₀ kke	0	26274	26289	1782
						26305	26320	
548244	n/a	n/a	CATGCATACTCGCCTT	eekd ₁₀ kke	51	26275	26290	1783
						26306	26321	
548245	n/a	n/a	CCATGCATACTCGCCT	eekd ₁₀ kke	31	26276	26291	1784
						26307	26322	
548246	n/a	n/a	TTCCATGCATACTCGC	eekd ₁₀ kke	46	26278	26293	1785
548247	n/a	n/a	CGATTTTCCATGCATA	eekd ₁₀ kke	56	26283	26298	1786
548248	n/a	n/a	TGCGATTTTCCATGCA	eekd ₁₀ kke	13	26285	26300	1787
548249	n/a	n/a	TGTGATGCGATTTTCC	eekd ₁₀ kke	22	26290	26305	1788

[2093]

548250	n/a	n/a	CTTTGTGATGCGATTT	eekd ₁₀ kke	0	26293	26308	1789
548251	n/a	n/a	GCCTTTGTGATGCGAT	eekd ₁₀ kke	13	26295	26310	1790
548252	n/a	n/a	ACTCGCCTTTGTGATG	eekd ₁₀ kke	33	26299	26314	1791
548253	n/a	n/a	TACTCGCCTTTGTGAT	eekd ₁₀ kke	8	26300	26315	1792
548254	n/a	n/a	CCCATGCATACTCGCC	eekd ₁₀ kke	39	26308	26323	1793
548255	n/a	n/a	CCCCATGCATACTCGC	eekd ₁₀ kke	38	26309	26324	1794
548256	n/a	n/a	GCTCCCCATGCATACT	eekd ₁₀ kke	25	26312	26327	1795
548257	n/a	n/a	AGTGCTCCCCATGCAT	eekd ₁₀ kke	2	26315	26330	1796
548258	n/a	n/a	CAAGTGCTCCCCATGC	eekd ₁₀ kke	0	26317	26332	1797
548259	n/a	n/a	GTGATGAAAGTACAGC	eekd ₁₀ kke	45	26335	26350	1798
548260	n/a	n/a	AGGAGTTTGTGCAGAAC	eekd ₁₀ kke	28	3210	3225	1799
548261	n/a	n/a	TTCAGGGAGTGATGTC	eekd ₁₀ kke	36	3241	3256	1800
548262	n/a	n/a	CCTATCCGTGTTTCAGC	eekd ₁₀ kke	73	3276	3291	1801
548263	n/a	n/a	CTCTACATACTCAGGA	eekd ₁₀ kke	62	3561	3576	1802
548264	n/a	n/a	CAGTCCAAAAATCCCT	eekd ₁₀ kke	60	3701	3716	1803
548265	n/a	n/a	CCTCTTGATTGGGCA	eekd ₁₀ kke	85	3749	3764	1804
548266	n/a	n/a	TTGGCCAACTCTGTGG	eekd ₁₀ kke	44	3816	3831	1805
548267	n/a	n/a	GACCTCCAGACTACTG	eekd ₁₀ kke	34	3848	3863	1806
548268	n/a	n/a	TGTGTCTAGGGAGTTG	eekd ₁₀ kke	52	3898	3913	1807
548269	n/a	n/a	AGCACACAATTACTGG	eekd ₁₀ kke	62	3946	3961	1808
548270	n/a	n/a	CTGCTGGTTTTAGACC	eekd ₁₀ kke	28	4029	4044	1809
548271	n/a	n/a	TTCACTTACCACAGGA	eekd ₁₀ kke	56	4122	4137	1810
548272	n/a	n/a	GGTGCCAGTTGCTTGG	eekd ₁₀ kke	54	4178	4193	1811
548273	n/a	n/a	AATCTCCACCCCCGAA	eekd ₁₀ kke	5	4224	4239	1812
548274	n/a	n/a	TACCTGACAAGTGGTC	eekd ₁₀ kke	0	4287	4302	1813
548275	n/a	n/a	GTCCCAAGACATTCCT	eekd ₁₀ kke	40	4350	4365	1814
548276	n/a	n/a	CAGAGTGTCATCTGCG	eekd ₁₀ kke	49	4389	4404	1815
548277	n/a	n/a	GGATTGGACCCAGACA	eekd ₁₀ kke	57	4511	4526	1816
548278	n/a	n/a	GGTCCCCTAGCGGTCC	eekd ₁₀ kke	74	4564	4579	1817
548279	n/a	n/a	CACCTAGAACTATCCA	eekd ₁₀ kke	39	4632	4647	1818
548280	n/a	n/a	CTCCCTCTGTAATGAT	eekd ₁₀ kke	43	4736	4751	1819
548281	n/a	n/a	GGTTGAGGGACAGACA	eekd ₁₀ kke	0	4944	4959	1820
548282	n/a	n/a	GTGGGTTTGACATGG	eekd ₁₀ kke	73	4992	5007	1821
548283	n/a	n/a	GGCTTATGTCCTTCT	eekd ₁₀ kke	56	5017	5032	1822
548284	n/a	n/a	CCCCCTGTAGTTGGCT	eekd ₁₀ kke	35	5051	5066	1823
548285	n/a	n/a	GCTTACTTACATCCCT	eekd ₁₀ kke	52	5132	5147	1824
548286	n/a	n/a	GGGACTACATGCAATA	eekd ₁₀ kke	47	5166	5181	1825
548287	n/a	n/a	GTCAAAGAGTGCCAC	eekd ₁₀ kke	38	5283	5298	1826
548288	n/a	n/a	GAATAGCAAGCTCCAA	eekd ₁₀ kke	64	5348	5363	1827

548289	n/a	n/a	CATGATACCACACCAC	eekd ₁₀ kke	28	5484	5499	1828
548290	n/a	n/a	GAGCACTCTTATTAGC	eekd ₁₀ kke	31	5546	5561	1829
548291	n/a	n/a	CCTGTTAGAGTTGGCC	eekd ₁₀ kke	35	5576	5591	1830
548292	n/a	n/a	AGGACACTGTTTCCAG	eekd ₁₀ kke	38	5627	5642	1831
548293	n/a	n/a	GTCACCAGAACCACAT	eekd ₁₀ kke	44	5683	5698	1832
548294	n/a	n/a	GTGTGCACCTTCTGGT	eekd ₁₀ kke	33	5716	5731	1833
548295	n/a	n/a	CTCTGATTGGGTCACC	eekd ₁₀ kke	26	5746	5761	1834
548296	n/a	n/a	ACCAACAACCTAGGCC	eekd ₁₀ kke	34	5858	5873	1835
548297	n/a	n/a	ACTCTCAAGCTCCACG	eekd ₁₀ kke	32	5889	5904	1836
548298	n/a	n/a	GGACAATATGTCTCCT	eekd ₁₀ kke	0	5935	5950	1837
548299	n/a	n/a	CATTGTGCTCAACTGA	eekd ₁₀ kke	35	5961	5976	1838
548300	n/a	n/a	GCCCATGGTGAATCTG	eekd ₁₀ kke	53	5995	6010	1839
548301	n/a	n/a	CCTAGTACAAAGTGGC	eekd ₁₀ kke	65	6050	6065	1840
548302	n/a	n/a	GCCATTTTATCCCTGA	eekd ₁₀ kke	71	6134	6149	1841
548303	n/a	n/a	GGGCCCCCATGTCCAT	eekd ₁₀ kke	0	6336	6351	1842

[2096] 표 148

ISIS 번호	서열 번호: 1 개시 부위	서열 번호: 1 정지 부위	서열	화학적질	억제 %	서열 번호: 10 개시 부위	서열 번호: 10 정지 부위	서열 번호
531231	n/a	n/a	TATCACTGTACTAGTTTCCT	eeeeed ₁₀ eeee	72	14744	14763	334
						14815	14834	
						14886	14905	
						14945	14964	
						15005	15024	
						15077	15096	
						15220	15239	
						15292	15311	
						15351	15370	
						15411	15430	
						15483	15502	
						15555	15574	
						15613	15632	
						15685	15704	
547747	n/a	n/a	TCACTGTACTAGTTTC	eekd ₁₀ kke	67	14746	14761	1267
						14817	14832	

[2097]

						14888	14903	
						14947	14962	
						15007	15022	
						15079	15094	
						15222	15237	
						15294	15309	
						15353	15368	
						15413	15428	
						15485	15500	
						15557	15572	
						15615	15630	
						15687	15702	
						15817	15832	
						15889	15904	
						15947	15962	
548305	n/a	n/a	GTTCTTGCTTATCCTC	eekd ₁₀ kke	55	6484	6499	1843
548306	n/a	n/a	ATGTGACAGTCAGGGA	eekd ₁₀ kke	8	6559	6574	1844
548307	n/a	n/a	TTCTGCAACTGAGCCT	eekd ₁₀ kke	6	6587	6602	1845
548308	n/a	n/a	AATGGCAGGTCCTGGC	eekd ₁₀ kke	9	6616	6631	1846
548309	n/a	n/a	AGACAGTTGGTGGTTT	eekd ₁₀ kke	41	6700	6715	1847
548310	n/a	n/a	GAGGAGTTGGTTTAGT	eekd ₁₀ kke	0	6750	6765	1848
548311	n/a	n/a	TGACCACCTCTCGGGT	eekd ₁₀ kke	10	6860	6875	1849
548312	n/a	n/a	ATTTGGCCCTGAGCCC	eekd ₁₀ kke	0	6935	6950	1850
548313	n/a	n/a	GCCTTTGAGGGAGTGG	eekd ₁₀ kke	35	7024	7039	1851
548314	n/a	n/a	ACAACCTGTCCATTCC	eekd ₁₀ kke	43	7087	7102	1852
548315	n/a	n/a	GTTGTCAACTGGGACC	eekd ₁₀ kke	14	7125	7140	1853
548316	n/a	n/a	CTGTTCAAGTAGCACA	eekd ₁₀ kke	64	7150	7165	1854
548317	n/a	n/a	CCGGGAAAGACTGTCT	eekd ₁₀ kke	42	7190	7205	1855
548318	n/a	n/a	ACTGCACCCACATAI	eekd ₁₀ kke	18	7257	7272	1856
548319	n/a	n/a	CCTCATCTCAGTATGA	eekd ₁₀ kke	26	7398	7413	1857
548320	n/a	n/a	GCACACAGACTTGCCC	eekd ₁₀ kke	0	7508	7523	1858
548321	n/a	n/a	CTGCATCTGGACTATG	eekd ₁₀ kke	38	7559	7574	1859
548322	n/a	n/a	AGGGAATTAGAGGCA	eekd ₁₀ kke	38	7586	7601	1860
548323	n/a	n/a	CTGTTGCCTGACATGC	eekd ₁₀ kke	43	7696	7711	1861
548324	n/a	n/a	ACATAAATCCCCACA	eekd ₁₀ kke	29	7741	7756	1862
548325	n/a	n/a	CCCACTGACTGACTAC	eekd ₁₀ kke	27	7906	7921	1863
548326	n/a	n/a	TCCTGTGACAGAACCA	eekd ₁₀ kke	27	7988	8003	1864
548327	n/a	n/a	CTACACCTTTCTGCAC	eekd ₁₀ kke	6	8221	8236	1865
548328	n/a	n/a	GGTCCTTGAACCCCGT	eekd ₁₀ kke	68	8260	8275	1866
548329	n/a	n/a	AGCAGATCTGGGTTGT	eekd ₁₀ kke	59	8328	8343	1867

[2098]

548330	n/a	n/a	GACTAGCTTCTACTAC	eekd ₁₀ kke	34	8404	8419	1868
548331	n/a	n/a	ACAATCCCTTAGCCCA	eekd ₁₀ kke	73	8457	8472	1869
548332	n/a	n/a	GATGAAATGTGCACCT	eekd ₁₀ kke	46	8491	8506	1870
548333	n/a	n/a	GACTGTGCTATCCGCT	eekd ₁₀ kke	58	8550	8565	1871
548334	n/a	n/a	GCTCACTATAGGCCCC	eekd ₁₀ kke	69	8656	8671	1872
548335	n/a	n/a	TAGCATCATGCCACAG	eekd ₁₀ kke	51	8684	8699	1873
548336	n/a	n/a	GCACATTAGGAGGTAG	eekd ₁₀ kke	1	9039	9054	1874
548337	n/a	n/a	TACCGCTGGGTGCGGT	eekd ₁₀ kke	10	9075	9090	1875
548338	n/a	n/a	ATGAAACTGTGGCTCG	eekd ₁₀ kke	80	9131	9146	1876
548339	n/a	n/a	ACATGTGGGATCAGAG	eekd ₁₀ kke	37	9275	9290	1877
548340	n/a	n/a	GATGATCCTCACATAC	eekd ₁₀ kke	35	9316	9331	1878
548341	n/a	n/a	TAGAACCTTCCTCCAC	eekd ₁₀ kke	30	9341	9356	1879
548342	n/a	n/a	GGAAGACTTCCCTCTG	eekd ₁₀ kke	0	9403	9418	1880
548343	n/a	n/a	TAGTGATAAGAGCTGG	eekd ₁₀ kke	78	9472	9487	1881
548344	n/a	n/a	GGCAACTATGTTCTCA	eekd ₁₀ kke	76	9536	9551	1882
548345	n/a	n/a	CTAACTCCATCACTGC	eekd ₁₀ kke	55	9637	9652	1883
548346	n/a	n/a	TCCCAATACTTGCTG	eekd ₁₀ kke	35	9696	9711	1884
548347	n/a	n/a	GCTGTTCTAAGCGAGA	eekd ₁₀ kke	31	9976	9991	1885
548348	n/a	n/a	TGAGTGATGCCCTTCCA	eekd ₁₀ kke	82	10024	10039	1886
548349	n/a	n/a	TCCAGAATACTGCCCC	eekd ₁₀ kke	61	10054	10069	1887
548350	n/a	n/a	GCGCTAACCTCATAAA	eekd ₁₀ kke	29	10148	10163	1888
548351	n/a	n/a	CTGGAAACGAGACACA	eekd ₁₀ kke	33	10201	10216	1889
548352	n/a	n/a	GAGAGAGATGTTCCCT	eekd ₁₀ kke	47	10240	10255	1890
548353	n/a	n/a	CTGCTGGTTGAGAATC	eekd ₁₀ kke	48	10287	10302	1891
548354	n/a	n/a	ATGTCCCCAGTGGAAG	eekd ₁₀ kke	41	10314	10329	1892
548355	n/a	n/a	GCATCCTCCCTAGTTG	eekd ₁₀ kke	47	10362	10377	1893
548356	n/a	n/a	TGTTGGTCAGCATTC	eekd ₁₀ kke	63	10411	10426	1894
548357	n/a	n/a	GACGACTGCCCTGTGC	eekd ₁₀ kke	69	10436	10451	1895
548358	n/a	n/a	ATTTGGGCTAGTGGT	eekd ₁₀ kke	0	10515	10530	1896
548359	n/a	n/a	CCTAGTCTCAAGTTT	eekd ₁₀ kke	0	10580	10595	1897
548360	n/a	n/a	CAAGACATCAGTAGCT	eekd ₁₀ kke	45	10626	10641	1898
548361	n/a	n/a	CTTATCAGTCCCAGTC	eekd ₁₀ kke	52	10702	10717	1899
548362	n/a	n/a	GACAACCCATCAGTTG	eekd ₁₀ kke	33	10742	10757	1900
548363	n/a	n/a	CAGCAGGCTCAAAGTG	eekd ₁₀ kke	37	10915	10930	1901
548364	n/a	n/a	TGGCTAAGTCAGGCCC	eekd ₁₀ kke	30	10982	10997	1902
548365	n/a	n/a	TGTACTCCACCTCACG	eekd ₁₀ kke	55	11017	11032	1903
548366	n/a	n/a	AGCAAAGCTAAGTGAGT	eekd ₁₀ kke	5	11199	11214	1904
548367	n/a	n/a	GTTCTTGAGTGTAGAG	eekd ₁₀ kke	52	11260	11275	1905
548368	n/a	n/a	GTGTTTCATACGGAAGC	eekd ₁₀ kke	59	11299	11314	1906

548369	n/a	n/a	GTTGGGATGCGACTCT	eekd ₁₀ kke	50	11335	11350	1907
548370	n/a	n/a	ACGAAGTCTCTTTCCT	eekd ₁₀ kke	53	11385	11400	1908
548371	n/a	n/a	CGATGAGTTGGGCAGG	eekd ₁₀ kke	57	11454	11469	1909
548372	n/a	n/a	GATACCTTTCCACTCC	eekd ₁₀ kke	61	11558	11573	1910
548373	n/a	n/a	TCCCCAAGATTATGTG	eekd ₁₀ kke	16	11596	11611	1911
548374	n/a	n/a	GCACCTTTTTCATTGA	eekd ₁₀ kke	41	12074	12089	1912
548375	n/a	n/a	TCGACTTCTCCTGTCT	eekd ₁₀ kke	27	12199	12214	1913
548376	n/a	n/a	GCCTTTGACCTTTCGC	eekd ₁₀ kke	65	12261	12276	1914
548377	n/a	n/a	GTGTGCTGAGGTTTGC	eekd ₁₀ kke	80	12297	12312	1915
548378	n/a	n/a	GCAAGATGCATGCAGC	eekd ₁₀ kke	49	12393	12408	1916
548379	n/a	n/a	ATCGAACTCTGCTTGA	eekd ₁₀ kke	44	12477	12492	1917
548380	n/a	n/a	GCCCAGTTTTGGCAAC	eekd ₁₀ kke	7	12540	12555	1918
548381	n/a	n/a	CCCACTACCATTTGGG	eekd ₁₀ kke	0	12578	12593	1919

[2099]

[2100]

[2101] 표 149

ISIS 번호	서열 번호: 1 개시 부위	서열 번호: 1 정지 부위	서열	화학성질	억제 %	서열 번호: 10 개시 부위	서열 번호: 10 정지 부위	서열 번호
531231	n/a	n/a	TATCACTGTACTAGTTTCCT	eeeeed ₁₀ eeee	46	14744	14763	334
						14815	14834	
						14886	14905	
						14945	14964	
						15005	15024	
						15077	15096	
						15220	15239	
						15292	15311	
						15351	15370	
						15411	15430	
						15483	15502	
						15555	15574	
						15613	15632	
						15685	15704	
						15815	15834	
547747	n/a	n/a	TCACTGTACTAGTTTC	eekd ₁₀ kke	64	15887	15906	1267
						15945	15964	
						14746	14761	
						14817	14832	
						14888	14903	
						14947	14962	

[2102]

						15007	15022	
						15079	15094	
						15222	15237	
						15294	15309	
						15353	15368	
						15413	15428	
						15485	15500	
						15557	15572	
						15615	15630	
						15687	15702	
						15817	15832	
						15889	15904	
						15947	15962	
548459	n/a	n/a	CAACTATAACAGTATC	eekd ₁₀ kke	26	15903	15918	1920
548460	n/a	n/a	CTATACCACGGTAACT	eekd ₁₀ kke	0	16036	16051	1921
548461	n/a	n/a	CCTATATCACTGTAACT	eekd ₁₀ kke	0	16127	16142	1922
548462	n/a	n/a	ACCTATATCACTGTAA	eekd ₁₀ kke	0	16128	16143	1923
548463	n/a	n/a	TCACTGTACCTATATC	eekd ₁₀ kke	0	16135	16150	1924
548464	n/a	n/a	GTCCCTATAACTATATC	eekd ₁₀ kke	0	16174	16189	1925
548465	n/a	n/a	CTGTACCTATAACTGT	eekd ₁₀ kke	0	16202	16217	1926
548466	n/a	n/a	CGTCACTGTACCTATA	eekd ₁₀ kke	71	16207	16222	1927
548467	n/a	n/a	CATCACTGTACCTATA	eekd ₁₀ kke	20	16258	16273	1928
548468	n/a	n/a	CAACATCACTGTACCT	eekd ₁₀ kke	6	16261	16276	1929
548469	n/a	n/a	TTCCCTACCCCTGGTA	eekd ₁₀ kke	0	16331	16346	1930
548470	n/a	n/a	GGTGGAATGTCATGGC	eekd ₁₀ kke	56	16404	16419	1931
548471	n/a	n/a	GCGGAAAACCTGGCCGT	eekd ₁₀ kke	17	16474	16489	1932
548472	n/a	n/a	CCCAATACAGGGCCAG	eekd ₁₀ kke	0	16513	16528	1933
548473	n/a	n/a	CCAACCTTCCCAATCT	eekd ₁₀ kke	0	16554	16569	1934
548474	n/a	n/a	GAAGGTGTGCTGTCGC	eekd ₁₀ kke	33	16602	16617	1935
548475	n/a	n/a	ATCGAGTCCTGCCTCC	eekd ₁₀ kke	17	16707	16722	1936
548476	n/a	n/a	GCAAATCCTTCCAGCA	eekd ₁₀ kke	27	16755	16770	1937
548477	n/a	n/a	GCACGAGCTTGCCTGT	eekd ₁₀ kke	26	16787	16802	1938
548478	n/a	n/a	GAGCCATCCAGGGTGC	eekd ₁₀ kke	53	16845	16860	1939
548479	n/a	n/a	AGGCCATTGATCCGA	eekd ₁₀ kke	68	16913	16928	1940
548480	n/a	n/a	GCCACGCCCTTAGCAG	eekd ₁₀ kke	20	16973	16988	1941
548481	n/a	n/a	GTTCCCTGAGGAACGG	eekd ₁₀ kke	2	17010	17025	1942
548482	n/a	n/a	GGCAGTTAGGCCAGGA	eekd ₁₀ kke	53	17068	17083	1943
548483	n/a	n/a	CTACAGATCATCCCTA	eekd ₁₀ kke	5	17102	17117	1944
548484	n/a	n/a	CCCCGGAGCACCTTCA	eekd ₁₀ kke	41	17207	17222	1945
548485	n/a	n/a	GTGACCCAAGGGTCGA	eekd ₁₀ kke	17	17252	17267	1946

[2103]

548486	n/a	n/a	CGTGGTTAGCCTGACA	eekd ₁₀ kke	68	17416	17431	1947
548487	n/a	n/a	TCCATGTCAGAGTTGC	eekd ₁₀ kke	71	17461	17476	1948
548488	n/a	n/a	CCTCCTTTTGGCTTGA	eekd ₁₀ kke	63	17530	17545	1949
548489	n/a	n/a	TTCCCCAGAGGTGATA	eekd ₁₀ kke	16	17582	17597	1950
548490	n/a	n/a	TCTGGTTAGCCTCCGA	eekd ₁₀ kke	58	17664	17679	1951
548491	n/a	n/a	TGGCCAAGCAACCAGT	eekd ₁₀ kke	57	17715	17730	1952
548492	n/a	n/a	GCCCAATGTCTAACC	eekd ₁₀ kke	51	17794	17809	1953
548493	n/a	n/a	CCACCGCTGCCCGCCA	eekd ₁₀ kke	37	18013	18028	1954
548494	n/a	n/a	TGTGACCCCCACCGC	eekd ₁₀ kke	39	18022	18037	1955
548495	n/a	n/a	TTGTGACCCCCACCG	eekd ₁₀ kke	55	18023	18038	1956
548496	n/a	n/a	ACTGAACCCCTTAGG	eekd ₁₀ kke	0	18571	18586	1957
548497	n/a	n/a	CCTTCATACCCCTCAC	eekd ₁₀ kke	26	18725	18740	1958
548498	n/a	n/a	CCGATAACAGACCGGC	eekd ₁₀ kke	71	18795	18810	1959
548499	n/a	n/a	ATACCCGGAGTCAGGA	eekd ₁₀ kke	56	18955	18970	1960
548500	n/a	n/a	ATTGCTCAGGCCCCCT	eekd ₁₀ kke	29	19037	19052	1961
548501	n/a	n/a	CAAGCCACTAACCAC	eekd ₁₀ kke	33	19147	19162	1962
548502	n/a	n/a	AATTCTTGGACCAAGG	eekd ₁₀ kke	25	19234	19249	1963
548503	n/a	n/a	CCATCTACTCCCCAT	eekd ₁₀ kke	9	19291	19306	1964
548504	n/a	n/a	GCAGCGAGCATTCCAA	eekd ₁₀ kke	28	19352	19367	1965
548505	n/a	n/a	GGACAATGCCTATGCT	eekd ₁₀ kke	21	19386	19401	1966
548506	n/a	n/a	GAAGCCATTCACTGCA	eekd ₁₀ kke	32	19436	19451	1967
548507	n/a	n/a	AAACTCCTCTAAGGC	eekd ₁₀ kke	53	19474	19489	1968
548508	n/a	n/a	GCACCACATGCGGTT	eekd ₁₀ kke	43	19553	19568	1969
548509	n/a	n/a	TGCAGGGCTGCGCAGT	eekd ₁₀ kke	41	19960	19975	1970
548510	n/a	n/a	TTAGCCACTCCTCTTG	eekd ₁₀ kke	30	20062	20077	1971
548511	n/a	n/a	AGCTAGCTGACCCCAA	eekd ₁₀ kke	16	20092	20107	1972
548512	n/a	n/a	TCCGCCTTTGGATACT	eekd ₁₀ kke	49	20155	20170	1973
548513	n/a	n/a	CCTGCTGATTGTGTCT	eekd ₁₀ kke	16	20240	20255	1974
548514	n/a	n/a	TCGAGGACAGCCCCA	eekd ₁₀ kke	40	20335	20350	1975
548515	n/a	n/a	ACCGTCAGCCTCAGC	eekd ₁₀ kke	59	20381	20396	1976
548516	n/a	n/a	CTTGCCTATTACCCCC	eekd ₁₀ kke	49	20544	20559	1977
548517	n/a	n/a	CGGACAAGCCTTACAG	eekd ₁₀ kke	43	20596	20611	1978
548518	n/a	n/a	CACACTTACCCCGCTC	eekd ₁₀ kke	12	20741	20756	1979
548519	n/a	n/a	CCTCCCCCTTGTGTGTC	eekd ₁₀ kke	31	20843	20858	1980
548520	n/a	n/a	CCGCTTCCCTGACTGT	eekd ₁₀ kke	43	20919	20934	1981
548521	n/a	n/a	CAGCTCCCTTACTAGG	eekd ₁₀ kke	61	20958	20973	1982
548522	n/a	n/a	AGGTATTGACCGCCAG	eekd ₁₀ kke	55	21062	21077	1983
548523	n/a	n/a	GGTAAATCCATCCCCT	eekd ₁₀ kke	44	21157	21172	1984
548524	n/a	n/a	GCCCATACCTTAGA	eekd ₁₀ kke	45	21220	21235	1985

548525	n/a	n/a	GTCTAACTGGCCTGGC	eekd ₁₀ kke	2	21328	21343	1986
548526	n/a	n/a	CTAAGCTGTGTCTCAT	eekd ₁₀ kke	26	21373	21388	1987
548527	n/a	n/a	TGTTTCAAGTGCCAGA	eekd ₁₀ kke	50	21434	21449	1988
548528	n/a	n/a	TGCAGTGGTCAAGCAT	eekd ₁₀ kke	32	21478	21493	1989
548529	n/a	n/a	GCGATTCTTGCCTCT	eekd ₁₀ kke	56	21554	21569	1990
548530	n/a	n/a	ATAATAGAGGCAGCCA	eekd ₁₀ kke	50	21592	21607	1991
548531	n/a	n/a	GTCAGAAGGCCTCTTA	eekd ₁₀ kke	21	21753	21768	1992
548532	n/a	n/a	TATTTATCCGACCTCT	eekd ₁₀ kke	34	21881	21896	1993
548533	n/a	n/a	GAGGTGGTTGGAGCTA	eekd ₁₀ kke	9	21926	21941	1994
548534	n/a	n/a	CAGATCCCAATTCTTC	eekd ₁₀ kke	22	22063	22078	1995
548535	n/a	n/a	GAGTCTTCCAATCCT	eekd ₁₀ kke	13	22142	22157	1996

[2106] 표 150

ISIS 번호	서열 번호: 1 개시 부위	서열 번호: 1 정지 부위	서열	화합성질	억제 %	서열 번호: 10 개시 부위	서열 번호: 10 정지 부위	서열 번호
531231	n/a	n/a	TATCACTGTACTAGTTTCCT	eeeeed ₁₀ eeee	46	14744	14763	334
						14815	14834	
						14886	14905	
						14945	14964	
						15005	15024	
						15077	15096	
						15220	15239	
						15292	15311	
						15351	15370	
						15411	15430	
						15483	15502	
						15555	15574	
						15613	15632	
						15685	15704	
547747	n/a	n/a	TCACTGTACTAGTTTC	eekd ₁₀ kke	64	14746	14761	1267
						14817	14832	
						14888	14903	
						14947	14962	
						15007	15022	
						15079	15094	

[2107]

						15222	15237	
						15294	15309	
						15353	15368	
						15413	15428	
						15485	15500	
						15557	15572	
						15615	15630	
						15687	15702	
						15817	15832	
						15889	15904	
						15947	15962	
548536	n/a	n/a	TCTCAATCCCAACCCC	eekd ₁₀ kke	0	22168	22183	1997
548537	n/a	n/a	CCTCAATCCCAACCCA	eekd ₁₀ kke	0	22191	22206	1998
548538	n/a	n/a	TAGTGGCAAGAACCAC	eekd ₁₀ kke	0	22627	22642	1999
548539	n/a	n/a	CGCGCGAATGCCTGCC	eekd ₁₀ kke	41	22658	22673	2000
548540	n/a	n/a	GACACCTGCTTGATTA	eekd ₁₀ kke	7	22704	22719	2001
548541	n/a	n/a	GGCACTGGTCATGGAC	eekd ₁₀ kke	39	22760	22775	2002
548542	n/a	n/a	GCGCCATCCTTCAATC	eekd ₁₀ kke	7	22857	22872	2003
548543	n/a	n/a	GATCCACCCATGACCT	eekd ₁₀ kke	32	22997	23012	2004
548544	n/a	n/a	GCTGTGACTCAGATCA	eekd ₁₀ kke	62	23070	23085	2005
548545	n/a	n/a	CTCTTCGCATGGACAC	eekd ₁₀ kke	46	23100	23115	2006
548546	n/a	n/a	GCCCAAGCCTACATGC	eekd ₁₀ kke	35	23430	23445	2007
548547	n/a	n/a	GTGCGATTAAGCCCA	eekd ₁₀ kke	86	23514	23529	2008
548548	n/a	n/a	GCTTGTAGAAGGGATT	eekd ₁₀ kke	54	23631	23646	2009
548549	n/a	n/a	TGTGCAATCAGGTGGA	eekd ₁₀ kke	56	23765	23780	2010
548550	n/a	n/a	CCGGCCTGGATACAGC	eekd ₁₀ kke	0	23831	23846	2011
548551	n/a	n/a	CGGCCAATGGGAAAGG	eekd ₁₀ kke	25	24175	24190	2012
548552	n/a	n/a	TGGAGGAGTAGGGAAT	eekd ₁₀ kke	10	24200	24215	2013
548553	n/a	n/a	CCCGAAGAGTCAAGTC	eekd ₁₀ kke	46	24255	24270	2014
548554	n/a	n/a	GTGCTGCATTGCATGA	eekd ₁₀ kke	42	24290	24305	2015
548555	n/a	n/a	ACACGCCAGGTGAAAA	eekd ₁₀ kke	2	24322	24337	2016
548556	n/a	n/a	ATGCATGCCTACCCAA	eekd ₁₀ kke	43	24526	24541	2017
548557	n/a	n/a	GTTACTCTGTGATCCA	eekd ₁₀ kke	81	24581	24596	2018
548558	n/a	n/a	AACATTGTGTAGCTGC	eekd ₁₀ kke	75	24640	24655	2019
548559	n/a	n/a	GAGACTGAAGCCCTCA	eekd ₁₀ kke	44	24676	24691	2020
548560	n/a	n/a	CACTGCCTAGAAAGGC	eekd ₁₀ kke	16	24734	24749	2021
548561	n/a	n/a	TGTAGTATCCAGAGTA	eekd ₁₀ kke	46	24930	24945	2022
548562	n/a	n/a	AGATGACCTGCAGATG	eekd ₁₀ kke	50	24983	24998	2023
548563	n/a	n/a	AAACCATGAATTAGGT	eekd ₁₀ kke	20	25100	25115	2024
548564	n/a	n/a	TTGCTACTTTACACCA	eekd ₁₀ kke	69	25208	25223	2025

[2108]

548565	n/a	n/a	GGCATTAGGATAGGCA	eed ₁₀ kke	63	25350	25365	2026
548566	n/a	n/a	CACTCAGACTGTCTGA	eed ₁₀ kke	0	25413	25428	2027
548567	n/a	n/a	AGATCCGGAATAACCA	eed ₁₀ kke	67	25459	25474	2028
548568	n/a	n/a	ATTGACAACCATCCTA	eed ₁₀ kke	27	25496	25511	2029
548569	n/a	n/a	ACTCATTGGTCTACAG	eed ₁₀ kke	41	25559	25574	2030
548570	n/a	n/a	ATGCCTTGTGCCTATT	eed ₁₀ kke	74	25706	25721	2031
548571	n/a	n/a	ACTCTGAGGCCTTAGG	eed ₁₀ kke	59	25794	25809	2032
548572	n/a	n/a	GCATTACTCAGCATGT	eed ₁₀ kke	63	25836	25851	2033
548573	n/a	n/a	CCAGTCACCACCATTG	eed ₁₀ kke	65	25862	25877	2034
548574	n/a	n/a	GGTCTAACTCTAAGGG	eed ₁₀ kke	0	25920	25935	2035
548575	n/a	n/a	TGTCCTTTAAAGTATC	eed ₁₀ kke	18	25971	25986	2036
548576	n/a	n/a	TCATGTGGCAACCTGT	eed ₁₀ kke	41	26114	26129	2037
548577	n/a	n/a	AATCTGCACCTGGCAG	eed ₁₀ kke	42	26428	26443	2038
548578	n/a	n/a	CATGGCTATTGCTTCC	eed ₁₀ kke	73	26513	26528	2039
548579	n/a	n/a	GGGCTATATTGCCAGC	eed ₁₀ kke	46	26614	26629	2040
548580	n/a	n/a	CCAGAGCCTTGATCAG	eed ₁₀ kke	36	26681	26696	2041
548581	n/a	n/a	GGTGGGTTATCTGAGA	eed ₁₀ kke	13	26710	26725	2042
548582	n/a	n/a	TAGCTCCATGCTGTGT	eed ₁₀ kke	59	26735	26750	2043
548583	n/a	n/a	GGGAATTTATGCTGCC	eed ₁₀ kke	79	26782	26797	2044
548584	n/a	n/a	TGATGAAGTTCCACCT	eed ₁₀ kke	47	26840	26855	2045
548585	n/a	n/a	TAGGCACAGACAACCT	eed ₁₀ kke	33	26869	26884	2046
548586	n/a	n/a	TCCAACCTACAGGACTC	eed ₁₀ kke	39	26943	26958	2047
548587	n/a	n/a	TTCTGGGAACTCTCT	eed ₁₀ kke	45	26969	26984	2048
548588	n/a	n/a	AGCTCACACCCAAAAA	eed ₁₀ kke	10	27006	27021	2049
548589	n/a	n/a	TCTGTTACCTTGAGGA	eed ₁₀ kke	40	27280	27295	2050
548590	n/a	n/a	TGGTCATGTCAACTGT	eed ₁₀ kke	35	27550	27565	2051
548591	n/a	n/a	GTAAGCCTTCACAGGG	eed ₁₀ kke	3	27583	27598	2052
548592	n/a	n/a	CTCACCAGAGTTGTCC	eed ₁₀ kke	7	27726	27741	2053
548593	n/a	n/a	CATCCTGACAGGTCC	eed ₁₀ kke	61	27759	27774	2054
548594	n/a	n/a	CCCTTCTAACCAAGGA	eed ₁₀ kke	30	27825	27840	2055
548595	n/a	n/a	GGATGAGATGCATCCA	eed ₁₀ kke	8	28069	28084	2056
548596	n/a	n/a	ATGGCGGTGAAGCAGC	eed ₁₀ kke	20	28127	28142	2057
548597	n/a	n/a	TGAATACCATCCCCGC	eed ₁₀ kke	50	28171	28186	2058
548598	n/a	n/a	GCGCCATCTGCCCTGT	eed ₁₀ kke	50	28253	28268	2059
548599	n/a	n/a	TGGGTTGGAGGAGTGG	eed ₁₀ kke	19	28311	28326	2060
548600	n/a	n/a	TGGTGGTGGGATTGGT	eed ₁₀ kke	53	28336	28351	2061
						28391	28406	
						28434	28449	
						28446	28461	
						28525	28540	

						28611	28626	
						28623	28638	
548601	n/a	n/a	TTGGTGGTGGGATTGG	eed ₁₀ kke	18	28337	28352	2062
						28392	28407	
						28435	28450	
						28447	28462	
						28526	28541	
						28612	28627	
						28624	28639	
548602	n/a	n/a	GGTGGTGGAATTGGTG	eed ₁₀ kke	20	28347	28362	2063
548603	n/a	n/a	GAGATTGGTGGTGGGT	eed ₁₀ kke	35	28372	28387	2064
548604	n/a	n/a	GTGGTGGGATTGGTGC	eed ₁₀ kke	22	28432	28447	2065
548605	n/a	n/a	TGGCGGGATTGGTGGT	eed ₁₀ kke	12	28479	28494	2066
						28558	28573	
548606	n/a	n/a	CGGTGGTGGGATTGGT	eed ₁₀ kke	41	28501	28516	2067
						28580	28595	
548607	n/a	n/a	TCGGTGGTGGGATTGG	eed ₁₀ kke	34	28502	28517	2068
						28581	28596	
548608	n/a	n/a	ATCGGTGGTGGGATTG	eed ₁₀ kke	25	28503	28518	2069
						28582	28597	
548609	n/a	n/a	GATCGGTGGTGGGATT	eed ₁₀ kke	30	28504	28519	2070
						28583	28598	
548610	n/a	n/a	GGATCGGTGGTGGGAT	eed ₁₀ kke	2	28505	28520	2071
						28584	28599	
548611	n/a	n/a	GCGGGATCGGTGGTGG	eed ₁₀ kke	7	28508	28523	2072
						28587	28602	
548612	n/a	n/a	GGCGGGATCGGTGGTG	eed ₁₀ kke	20	28509	28524	2073
						28588	28603	

[2109]

[2110]

[2111] 표 151

ISIS 번호	서열 번호: 1 개시 부위	서열 번호: 1 정지 부위	서열	화합성질	억제 %	서열 번호: 10 개시 부위	서열 번호: 10 정지 부위	서열 번호
531231	n/a	n/a	TATCACTGTACTAGTTTCCT	eeeeed ₁₀ eeee	46	14744 14815 14886 14945 15005 15077 15220	14763 14834 14905 14964 15024 15096 15239	334

[2112]

						15292 15351 15411 15483 15555 15613 15685 15815 15887 15945	15311 15370 15430 15502 15574 15632 15704 15834 15906 15964	
547747	n/a	n/a	TCACTGTACTAGTTTC	eekd ₁₀ kke	64	14746 14817 14888 14947 15007 15079 15222 15294 15353 15413 15485 15557 15615 15687 15817 15889 15947	14761 14832 14903 14962 15022 15094 15237 15309 15368 15428 15500 15572 15630 15702 15832 15904 15962	1267
548382	n/a	n/a	GAGCAAATACAGTCCA	eekd ₁₀ kke	19	12620	12635	2074
548383	n/a	n/a	GTCTCGATGGCAAGCT	eekd ₁₀ kke	49	12654	12669	2075
548384	n/a	n/a	CTCACCGTACTCTGC	eekd ₁₀ kke	49	12805	12820	2076
548385	n/a	n/a	TCCTGGAGGCACCAAT	eekd ₁₀ kke	0	12847	12862	2077
548386	n/a	n/a	AGCCCTGTTTGGTTTT	eekd ₁₀ kke	0	12903	12918	2078
548387	n/a	n/a	TGAAGGGCGAGGCGCA	eekd ₁₀ kke	22	13261	13276	2079
548388	n/a	n/a	AAGAGGATGTCAGGCT	eekd ₁₀ kke	4	13357	13372	2080
548389	n/a	n/a	TTGAGGAAAGACCTGC	eekd ₁₀ kke	11	13399	13414	2081
548390	n/a	n/a	GCTGAGTGTGACTTAA	eekd ₁₀ kke	43	13455	13470	2082
548391	n/a	n/a	GTACATGACTCCAGTG	eekd ₁₀ kke	34	13638	13653	2083
548392	n/a	n/a	GTAGAGCATGGAGCGA	eekd ₁₀ kke	31	13730	13745	2084
548393	n/a	n/a	CGCTTCAGGAAAGCGA	eekd ₁₀ kke	26	13828	13843	2085
548394	n/a	n/a	GGCAGGAGACTCCGTG	eekd ₁₀ kke	25	13919	13934	2086
548395	n/a	n/a	ATCCTTCCCCTCGCAA	eekd ₁₀ kke	0	13966	13981	2087
548396	n/a	n/a	TAATGAGTGGGTTAGG	eekd ₁₀ kke	0	14007	14022	2088
548397	n/a	n/a	GGAGCAGTGCAGGTAA	eekd ₁₀ kke	1	14065	14080	2089

[2113]

548398	n/a	n/a	ATAGGCAATTGTTCTT	eekd ₁₀ kke	55	14129	14144	2090
548399	n/a	n/a	AGTCCTACAATTACCA	eekd ₁₀ kke	11	14239	14254	2091
548400	n/a	n/a	GGGCTCCTATTCCACC	eekd ₁₀ kke	13	14277	14292	2092
548401	n/a	n/a	GCCAGCTATGGGAACA	eekd ₁₀ kke	71	14333	14348	2093
548402	n/a	n/a	CCCCATCTCGAAGCCC	eekd ₁₀ kke	45	14380	14395	2094
548403	n/a	n/a	GAGTACATTGGGCCCA	eekd ₁₀ kke	25	14418	14433	2095
548404	n/a	n/a	GAGCCTTCCGCCTCTC	eekd ₁₀ kke	37	14471	14486	2096
548405	n/a	n/a	CGGACCTTCATCTTCA	eekd ₁₀ kke	35	14529	14544	2097
548406	n/a	n/a	TCTAGAGCCGCCTGC	eekd ₁₀ kke	0	14558	14573	2098
548407	n/a	n/a	CCTATAACTGCTGCTC	eekd ₁₀ kke	24	14731	14746	2099
548408	n/a	n/a	TATCACTGTACTAGTT	eekd ₁₀ kke	47	14748	14763	1269
						14819	14834	
						14890	14905	
						14949	14964	
						15009	15024	
						15081	15096	
						15153	15168	
						15224	15239	
						15296	15311	
						15355	15370	
						15415	15430	
						15487	15502	
						15559	15574	
						15617	15632	
						15689	15704	
548409	n/a	n/a	GTATCACTGTACTAGT	eekd ₁₀ kke	81	15819	15834	2100
						15891	15906	
						15949	15964	
						14749	14764	
						14820	14835	
						14891	14906	
						14950	14965	
						15010	15025	
						15082	15097	
						15154	15169	
						15225	15240	
						15297	15312	
						15356	15371	
						15416	15431	
						15488	15503	
						15560	15575	
						15618	15633	
						15690	15705	

[2114]

						15820	15835	
						15892	15907	
						15950	15965	
548410	n/a	n/a	AGTATCACTGTACTAG	eekd ₁₀ kke	85	14750	14765	2101
						14821	14836	
						14892	14907	
						14951	14966	
						15011	15026	
						15083	15098	
						15155	15170	
						15226	15241	
						15298	15313	
						15357	15372	
						15417	15432	
						15489	15504	
						15561	15576	
						15619	15634	
						15691	15706	
						15821	15836	
						15893	15908	
						15951	15966	
548411	n/a	n/a	CAGTATCACTGTACTA	eekd ₁₀ kke	72	14751	14766	2102
						14822	14837	
						14893	14908	
						14952	14967	
						15012	15027	
						15084	15099	
						15156	15171	
						15227	15242	
						15299	15314	
						15358	15373	
						15418	15433	
						15490	15505	
						15562	15577	
						15620	15635	
						15692	15707	
						15822	15837	
						15894	15909	
						15952	15967	
548412	n/a	n/a	TAACAGTATCACTGTA	eekd ₁₀ kke	17	14754	14769	2103
						14825	14840	
						14896	14911	
						14955	14970	

[2115]

						15015	15030	
						15087	15102	
						15159	15174	
						15230	15245	
						15302	15317	
						15361	15376	
						15421	15436	
						15493	15508	
						15565	15580	
						15623	15638	
						15695	15710	
						15825	15840	
						15897	15912	
						15955	15970	
548413	n/a	n/a	CTAACAGTATCACTGT	eekd ₁₀ kke	55	14755	14770	2104
						14826	14841	
						14897	14912	
						15016	15031	
						15088	15103	
						15231	15246	
						15303	15318	
						15422	15437	
						15494	15509	
						15624	15639	
						15826	15841	
						15956	15971	
548414	n/a	n/a	TCTAACAGTATCACTG	eekd ₁₀ kke	20	14756	14771	2105
						14827	14842	
						14898	14913	
						15017	15032	
						15089	15104	
						15232	15247	
						15304	15319	
						15423	15438	
						15495	15510	
						15625	15640	
						15827	15842	
						15957	15972	
548415	n/a	n/a	ATAACTCTAACAGTAT	eekd ₁₀ kke	0	14761	14776	2106
						14832	14847	
						14903	14918	
						15022	15037	
						15094	15109	

[2116]

						15237	15252	
						15309	15324	
						15428	15443	
						15500	15515	
						15630	15645	
						15832	15847	
						15962	15977	
548416	n/a	n/a	CTATAACTCTAACAGT	eekd ₁₀ kke	9	14763	14778	2107
						14834	14849	
						14905	14920	
						15024	15039	
						15096	15111	
						15239	15254	
						15311	15326	
						15430	15445	
						15502	15517	
						15632	15647	
548417	n/a	n/a	ACTGTCCTATAACTCT	eekd ₁₀ kke	24	15834	15849	2108
						15964	15979	
						14769	14784	
548418	n/a	n/a	TATATCACTGTCCTAT	eekd ₁₀ kke	39	14840	14855	2109
						14775	14790	
						14846	14861	
						15180	15195	
						15716	15731	
548419	n/a	n/a	CCTATATCACTGTCCT	eekd ₁₀ kke	52	16164	16179	2110
						14777	14792	
						14848	14863	
						15182	15197	
548420	n/a	n/a	TCCTATATCACTGTCC	eekd ₁₀ kke	58	15718	15733	2111
						14778	14793	
						14849	14864	
						15183	15198	
548421	n/a	n/a	CACTGTCCTATATCAC	eekd ₁₀ kke	56	15719	15734	2112
						14783	14798	
						14854	14869	
						14979	14994	
						15117	15132	
						15188	15203	
						15260	15275	
						15385	15400	
						15523	15538	
						15653	15668	

[2117]

						15724	15739	
						15855	15870	
						15985	16000	
548422	n/a	n/a	GTATCACTGTCCTATA	eekd ₁₀ kke	69	14787	14802	2113
						14983	14998	
						15121	15136	
						15389	15404	
						15527	15542	
						15989	16004	
548423	n/a	n/a	AGTATCACTGTCCTAT	eekd ₁₀ kke	72	14788	14803	2114
						14984	14999	
						15050	15065	
						15122	15137	
						15390	15405	
						15456	15471	
548424	n/a	n/a	CAGTATCACTGTCCTA	eekd ₁₀ kke	90	15528	15543	2115
						15990	16005	
						14789	14804	
						14985	15000	
						15051	15066	
						15123	15138	
548425	n/a	n/a	AACAGTATCACTGTCC	eekd ₁₀ kke	90	15391	15406	2116
						15457	15472	
						15529	15544	
						15991	16006	
						14791	14806	
						14987	15002	
548426	n/a	n/a	TATAACAGTATCACTG	eekd ₁₀ kke	14	15053	15068	2117
						15125	15140	
						15393	15408	
						15459	15474	
						15531	15546	
						15993	16008	
						14794	14809	
						14990	15005	
						15056	15071	
						15128	15143	
						15161	15176	
						15363	15378	
						15396	15411	
						15462	15477	
						15534	15549	
						15567	15582	

[2118]

						15697	15712	
						15899	15914	
						15996	16011	
548427	n/a	n/a	CTATAACAGTATCACT	eekd ₁₀ kke	24	14795	14810	2118
						14991	15006	
						15057	15072	
						15129	15144	
						15162	15177	
						15364	15379	
						15397	15412	
						15463	15478	
						15535	15550	
						15568	15583	
						15698	15713	
						15900	15915	
						15997	16012	
548428	n/a	n/a	TAACTATAACAGTATC	eekd ₁₀ kke	0	14798	14813	2119
						15060	15075	
						15132	15147	
						15165	15180	
						15466	15481	
						15538	15553	
						15571	15586	
						15701	15716	
						15772	15787	
548429	n/a	n/a	TATAACTATAACAGTA	eekd ₁₀ kke	0	16000	16015	2120
						14800	14815	
						15062	15077	
						15134	15149	
						15167	15182	
						15468	15483	
						15540	15555	
						15573	15588	
						15703	15718	
548430	n/a	n/a	CCTATAACTATAACAG	eekd ₁₀ kke	21	15774	15789	2121
						16002	16017	
						14802	14817	
						15064	15079	
						15169	15184	
						15470	15485	
						15542	15557	
						15575	15590	
						15705	15720	

[2119]

						15776	15791	
						16004	16019	
548431	n/a	n/a	TACCTATAACTCTAAC	eekd ₁₀ kke	9	14908	14923	2122
						15027	15042	
						15099	15114	
						15242	15257	
						15314	15329	
						15433	15448	
						15505	15520	
						15635	15650	
						15837	15852	
						15967	15982	
548432	n/a	n/a	ACTGTACCTATAACTC	eekd ₁₀ kke	43	14912	14927	2123
						15031	15046	
						15246	15261	
						15318	15333	
						15437	15452	
						15509	15524	
						15639	15654	
						15841	15856	
548433	n/a	n/a	TATCACTGTACCTATA	eekd ₁₀ kke	33	15971	15986	2124
						14916	14931	
						15250	15265	
						15322	15337	
						15375	15390	
						15513	15528	
						15643	15658	
						15786	15801	
						15845	15860	
548434	n/a	n/a	ACAATATCACTGTACC	eekd ₁₀ kke	63	15975	15990	2125
						16137	16152	
						14920	14935	
						15326	15341	
						15790	15805	
548435	n/a	n/a	AACAATATCACTGTAC	eekd ₁₀ kke	19	16063	16078	2126
						16141	16156	
						14921	14936	
						15327	15342	
						15791	15806	
548436	n/a	n/a	ATATCACTGTACCTGT	eekd ₁₀ kke	8	16064	16079	2127
548437	n/a	n/a	TATATCACTGTACCTG	eekd ₁₀ kke	74	16142	16157	2128

[2120]

548438	n/a	n/a	CTATATCACTGTACCT	eekd ₁₀ kke	38	14972	14987	2129
						15253	15268	
						15378	15393	
						15516	15531	
						15646	15661	
						15848	15863	
548439	n/a	n/a	CCTATATCACTGTACC	eekd ₁₀ kke	46	14973	14988	2130
						15254	15269	
						15379	15394	
						15517	15532	
						15647	15662	
						15849	15864	
548440	n/a	n/a	CCTATAACAGTATCAC	eekd ₁₀ kke	32	14992	15007	2131
						15365	15380	
						15398	15413	
548441	n/a	n/a	TCCTATAACAGTATCA	eekd ₁₀ kke	42	14993	15008	2132
						15399	15414	
548442	n/a	n/a	TTCCTATAACAGTATC	eekd ₁₀ kke	17	14994	15009	2133
						15400	15415	
548443	n/a	n/a	GTTTCCTATAACAGTA	eekd ₁₀ kke	12	14996	15011	2134
						15402	15417	
548444	n/a	n/a	CTATGTCACCTGTACCT	eekd ₁₀ kke	43	15038	15053	2135
						15444	15459	
548445	n/a	n/a	CCTATGTCACCTGTACC	eekd ₁₀ kke	62	15039	15054	2136
						15445	15460	
548446	n/a	n/a	TCCTATGTCACCTGTAC	eekd ₁₀ kke	16	15040	15055	2137
						15446	15461	
548447	n/a	n/a	CACTGTCCTATGTCAC	eekd ₁₀ kke	59	15045	15060	2138
						15451	15466	
548448	n/a	n/a	TCACTGTCCTATGTCA	eekd ₁₀ kke	61	15046	15061	2139
						15452	15467	
548449	n/a	n/a	ATCACTGTCCTATGTC	eekd ₁₀ kke	62	15047	15062	2140
						15453	15468	
548450	n/a	n/a	CTACCTATAACTCTAA	eekd ₁₀ kke	0	15100	15115	2141
548451	n/a	n/a	GTCCTATAACTATAAC	eekd ₁₀ kke	0	15171	15186	2142
						15577	15592	
						15707	15722	
						16006	16021	
						16077	16092	
						16102	16117	
548452	n/a	n/a	TATATCACTGTACCTA	eekd ₁₀ kke	65	15252	15267	2143
						15377	15392	
						15515	15530	
						15645	15660	
						15847	15862	
						15977	15992	
548453	n/a	n/a	TACCTATAACAGTATC	eekd ₁₀ kke	12	15367	15382	2144
548454	n/a	n/a	ACTGTACCTATAACAG	eekd ₁₀ kke	17	15371	15386	2145
548455	n/a	n/a	CACCGTACTAGTTTCC	eekd ₁₀ kke	64	15757	15772	2146
548456	n/a	n/a	TATAACAGTATCACCG	eekd ₁₀ kke	52	15768	15783	2147
548457	n/a	n/a	CTATAACAGTATCACC	eekd ₁₀ kke	13	15769	15784	2148
548458	n/a	n/a	ACCTATAACTATAACA	eekd ₁₀ kke	0	15777	15792	2149
						16249	16264	

548452	n/a	n/a	TATATCACTGTACCTA	eekd ₁₀ kke	65	15252	15267	2143
						15377	15392	
						15515	15530	
						15645	15660	
						15847	15862	
						15977	15992	
548453	n/a	n/a	TACCTATAACAGTATC	eekd ₁₀ kke	12	15367	15382	2144
548454	n/a	n/a	ACTGTACCTATAACAG	eekd ₁₀ kke	17	15371	15386	2145
548455	n/a	n/a	CACCGTACTAGTTTCC	eekd ₁₀ kke	64	15757	15772	2146
548456	n/a	n/a	TATAACAGTATCACCG	eekd ₁₀ kke	52	15768	15783	2147
548457	n/a	n/a	CTATAACAGTATCACC	eekd ₁₀ kke	13	15769	15784	2148
548458	n/a	n/a	ACCTATAACTATAACA	eekd ₁₀ kke	0	15777	15792	2149
						16249	16264	

[2123] 표 152

ISIS 번호	서열 번호: 1 개시 부위	서열 번호: 1 정지 부위	서열	화합성질	억제 %	서열 번호: 10 개시 부위	서열 번호: 10 정지 부위	서열 번호
531231	n/a	n/a	TATCACTGTACTAGTTTCCT	eeeced ₁₀ eeeee	48	14744	14763	334
						14815	14834	
						14886	14905	
						14945	14964	
						15005	15024	
						15077	15096	
						15220	15239	
						15292	15311	
						15351	15370	
						15411	15430	
						15483	15502	
						15555	15574	
						15613	15632	
						15685	15704	
547747	n/a	n/a	TCACTGTACTAGTTTC	eekd ₁₀ kke	88	15815	15834	1267
						15887	15906	
						15945	15964	
						14746	14761	
						14817	14832	
						14888	14903	
						14947	14962	
						15007	15022	
						15079	15094	

[2124]

						15222	15237	
						15294	15309	
						15353	15368	
						15413	15428	
						15485	15500	
						15557	15572	
						15615	15630	
						15687	15702	
						15817	15832	
						15889	15904	
548613	n/a	n/a	TGGCGGGATCGGTGGT	eekd ₁₀ kke	39	15947	15962	2150
						28510	28525	
						28589	28604	
548614	n/a	n/a	TGGTGGCGGGATCGGT	eekd ₁₀ kke	0	28513	28528	2151
						28592	28607	
548615	n/a	n/a	TTGGTGGCGGGATCGG	eekd ₁₀ kke	10	28514	28529	2152
						28593	28608	
548616	n/a	n/a	ATTGGTGGCGGGATCG	eekd ₁₀ kke	35	28515	28530	2153
548617	n/a	n/a	GATTGGTGGCGGGATC	eekd ₁₀ kke	44	28516	28531	2154
548618	n/a	n/a	GTTGGTGGCGGGATCG	eekd ₁₀ kke	18	28594	28609	2155
548619	n/a	n/a	GTTTGGTGGCGGGATC	eekd ₁₀ kke	19	28595	28610	2156
548620	n/a	n/a	TGGTTGGTGGCGGGAT	eekd ₁₀ kke	24	28596	28611	2157
548621	n/a	n/a	GAACACATCAGGGATT	eekd ₁₀ kke	33	28638	28653	2158
548622	n/a	n/a	TTTCTATGGCCTGAC	eekd ₁₀ kke	0	28669	28684	2159
548623	n/a	n/a	GCTGTCACTTAAGCCA	eekd ₁₀ kke	16	28862	28877	2160
548624	n/a	n/a	TCTAGGCCACACCTC	eekd ₁₀ kke	24	28892	28907	2161
548625	n/a	n/a	GTTCTACACACAGTAC	eekd ₁₀ kke	0	29014	29029	2162
548626	n/a	n/a	GCAGTATGTTCAATCC	eekd ₁₀ kke	36	29202	29217	2163
548627	n/a	n/a	CCCACATGTACCACCG	eekd ₁₀ kke	22	29235	29250	2164
548628	n/a	n/a	GTATGGCAGAGCCCT	eekd ₁₀ kke	9	29285	29300	2165
548629	n/a	n/a	CCCATCTTGGGACTTT	eekd ₁₀ kke	44	29341	29356	2166
548630	n/a	n/a	TGGTCCCAAATTGGAG	eekd ₁₀ kke	33	29387	29402	2167
548631	n/a	n/a	CTACAATACTGAGCC	eekd ₁₀ kke	55	29421	29436	2168
548632	n/a	n/a	GGAGATATCAGGTGCA	eekd ₁₀ kke	45	29499	29514	2169
548633	n/a	n/a	CAAGGCATGTGTGCAC	eekd ₁₀ kke	41	29534	29549	2170
548634	n/a	n/a	GCCTTATTCTGTGCAA	eekd ₁₀ kke	0	29583	29598	2171
548635	n/a	n/a	AGGTGTGGCGCGGCC	eekd ₁₀ kke	18	29853	29868	2172
548636	n/a	n/a	CTCTATACAGCTGGGC	eekd ₁₀ kke	5	30000	30015	2173
548637	n/a	n/a	GCTGATCTTCTAATGC	eekd ₁₀ kke	38	30063	30078	2174
548638	n/a	n/a	CCTCATTGTCCACTA	eekd ₁₀ kke	26	30103	30118	2175
548639	n/a	n/a	TGGGAAGAACTAGCA	eekd ₁₀ kke	10	30159	30174	2176
548640	n/a	n/a	GAATGTTGCTGTCCCA	eekd ₁₀ kke	32	30194	30209	2177
548641	n/a	n/a	GCATCATGCTTACTGC	eekd ₁₀ kke	23	30225	30240	2178

[2125]

548642	n/a	n/a	GCGGCAGTAGTGAATC	eekd ₁₀ kke	23	30288	30303	2179
548643	n/a	n/a	CCTACCTAATTCCTCC	eekd ₁₀ kke	0	30329	30344	2180
548644	n/a	n/a	AACTGGGCAGTCCTTC	eekd ₁₀ kke	14	30418	30433	2181
548645	n/a	n/a	CCAGCGCAATTCTGCT	eekd ₁₀ kke	8	30666	30681	2182
548646	n/a	n/a	CGTTTCCCTCAACTCC	eekd ₁₀ kke	24	30750	30765	2183
548647	n/a	n/a	CACGGCAAGTCGCGGG	eekd ₁₀ kke	39	30790	30805	2184
548648	n/a	n/a	CAGTTGTATCCCTCCC	eekd ₁₀ kke	32	30852	30867	2185
548649	n/a	n/a	GCCTCTCAGACGGCAC	eekd ₁₀ kke	0	30906	30921	2186
548650	n/a	n/a	CTGATCCCCTTGCCC	eekd ₁₀ kke	21	30991	31006	2187
548651	n/a	n/a	AGTCTCTTCTACCC	eekd ₁₀ kke	61	31030	31045	2188
548652	n/a	n/a	CCACGATGCTCTGGCC	eekd ₁₀ kke	65	31068	31083	2189
548653	n/a	n/a	TCGGCTCCTGGCAGCA	eekd ₁₀ kke	46	31111	31126	2190
548654	n/a	n/a	ACCATTCTGACCATG	eekd ₁₀ kke	34	31151	31166	2191
548655	n/a	n/a	CCGAGGTCACATAAT	eekd ₁₀ kke	56	31416	31431	2192
548656	n/a	n/a	TTACAACAGACCCAGG	eekd ₁₀ kke	35	31497	31512	2193
548657	n/a	n/a	AGCAGGGTATCTTCAC	eekd ₁₀ kke	26	31548	31563	2194
548658	n/a	n/a	GAAGTTCCTGTGCTT	eekd ₁₀ kke	11	31593	31608	2195
548659	n/a	n/a	CCAACCTCTAAGGCTA	eekd ₁₀ kke	17	31721	31736	2196
548660	n/a	n/a	ATGCTTACCTTTCTCC	eekd ₁₀ kke	0	31955	31970	2197
548661	n/a	n/a	ACGACCCACTCCATGT	eekd ₁₀ kke	18	32016	32031	2198
548662	n/a	n/a	TGCTTAAAAGTCTCCC	eekd ₁₀ kke	5	32155	32170	2199
548663	n/a	n/a	GCCCTAGAAGGGCCCA	eekd ₁₀ kke	20	32219	32234	2200
548664	n/a	n/a	GCGGGTGGTCTTGAC	eekd ₁₀ kke	38	32245	32260	2201
548665	n/a	n/a	GCTCCCGGCCATTAGC	eekd ₁₀ kke	8	32312	32327	2202
548666	n/a	n/a	TCTCCATAGTGAGACG	eekd ₁₀ kke	1	32342	32357	2203
548667	n/a	n/a	TGGCAAGCTACCTTCT	eekd ₁₀ kke	51	32384	32399	2204
548668	n/a	n/a	GGGAGCTTTTCATGGCT	eekd ₁₀ kke	68	32506	32521	2205
548669	n/a	n/a	AATGCAGGCCAGCATC	eekd ₁₀ kke	42	32541	32556	2206
548670	n/a	n/a	GAAAAGCCCTCCGAGC	eekd ₁₀ kke	15	32590	32605	2207
548671	n/a	n/a	CAACAATCCAAAGCCT	eekd ₁₀ kke	3	32674	32689	2208
548672	n/a	n/a	CCCCCAGAAATCCCA	eekd ₁₀ kke	40	32708	32723	2209
548673	n/a	n/a	GACCTTGCTTCCATGT	eekd ₁₀ kke	40	32753	32768	2210
548674	n/a	n/a	GAGAGACGGCACCTTG	eekd ₁₀ kke	4	32829	32844	2211
548675	n/a	n/a	GGGAAGGTAGTGTTAC	eekd ₁₀ kke	8	32898	32913	2212
548676	n/a	n/a	GTGAATCAGAGCAGTG	eekd ₁₀ kke	63	32963	32978	2213
548677	n/a	n/a	TCACCTGTGAGTAACC	eekd ₁₀ kke	40	33089	33104	2214
548678	n/a	n/a	GAGTTACCTTACAAGC	eekd ₁₀ kke	22	33232	33247	2215
548679	n/a	n/a	TCTCAGCAGCCTATT	eekd ₁₀ kke	0	33267	33282	2216
548680	n/a	n/a	GCCCCCTCTTAAATAGC	eekd ₁₀ kke	9	33446	33461	2217
548681	n/a	n/a	GATATCATCATCCCAA	eekd ₁₀ kke	22	33513	33528	2218
548682	n/a	n/a	GTATCCCCCTTTCTAT	eekd ₁₀ kke	0	33556	33571	2219
548683	n/a	n/a	AGTATCTCATGTGCCT	eekd ₁₀ kke	46	33581	33596	2220
548684	n/a	n/a	CAAGACCTTGCTTGCC	eekd ₁₀ kke	24	33658	33673	2221

548685	n/a	n/a	TAGTCCACTACACAGC	eekd ₁₀ kke	24	33802	33817	2222
548686	n/a	n/a	ACGACAATGGGATTCA	eekd ₁₀ kke	0	33844	33859	2223
548687	n/a	n/a	GAATCTCCCTGAGTCA	eekd ₁₀ kke	20	33888	33903	2224
548688	n/a	n/a	TAGAGGGATCCCAGGA	eekd ₁₀ kke	0	34416	34431	2225
548689	n/a	n/a	CCAGGTGCAGCACGGA	eekd ₁₀ kke	12	34483	34498	2226

실시예 117: HepaRG™ 세포에서 인간 PKK의 용량-의존적 안티센스 억제

PKK mRNA의 뚜렷한 *시험관내* 억제를 나타내는 상기 기술된 연구로부터의 갭머는 HepaRG™ 세포에서의 다양한 용량에서 선택 및 시험되었다. 세포를 웰당 20,000 세포의 밀도로 플레이팅하고, 전기천공을 사용하여 0.12 μ M, 0.37 μ M, 1.11 μ M, 3.33 μ M, 및 10.00 μ M 농도의 안티센스 올리고뉴클레오티드로 형질감염시켰다. 대략 16 시간의 처리 기간 후에, RNA를 세포로부터 분리시키고, PKK mRNA 수준을 정량적 실시간 PCR에 의해서 측정하였다. 인간 PKK 프라이머 프로브 세트 RTS3454를 사용하여 mRNA 수준을 측정하였다. PKK mRNA 수준은 리보그린 (RIBOGREEN)[®]에 의해서 측정되는 바와 같은 총 RNA 함량에 따라 조정되었다. 상기 안티센스 올리고뉴클레오티드를 유사한 배양 조건을 갖는 일련의 평행 실험에서 효력을 시험하였다. 각 실험에 대한 결과는 하기 나타난 별개의 표에서 제시된다. 결과는 비처리 대조군 세포에 대비한 PKK의 억제 퍼센트로서 표현된다.

각각의 올리고뉴클레오티드의 절반 최대 억제 농도 (IC₅₀)를 하기 표에 또한 제시하였다. PKK mRNA 수준은 안티센스 올리고뉴클레오티드 처리된 세포에서 용량-의존적 방식으로 뚜렷하게 감소되었다.

[2131] 표 153

ISIS 번호	0.12 μM	0.37 μM	1.11 μM	3.33 μM	10.00 μM	IC ₅₀ (μM)
486847	0	34	48	71	87	1.1
530933	15	13	42	67	66	1.7
530959	12	27	53	80	94	0.9
530965	8	5	63	83	91	0.8
530967	30	36	48	82	91	0.7
530970	1	0	66	76	84	1.0
530971	12	40	52	66	70	1.3
530988	0	25	54	86	78	0.9
530992	0	50	63	83	80	0.7
531002	6	28	58	82	86	0.9
531004	0	14	25	71	84	2.1
531005	14	28	61	73	77	0.9
531022	0	0	32	62	77	2.2
531078	10	27	54	69	92	1.1
531231	23	30	76	89	94	0.6

[2132]

[2133] 표 154

ISIS 번호	0.12 μM	0.37 μM	1.11 μM	3.33 μM	10.00 μM	IC ₅₀ (μM)
531026	23	26	49	75	85	1.0
531055	3	28	64	76	81	0.9
531069	19	39	48	76	83	0.9
531071	23	37	56	83	83	0.7
531110	14	29	49	76	85	1.1
531121	0	13	47	69	79	1.5
531123	14	43	51	71	64	0.9
531172	0	16	37	60	60	2.1
531198	0	35	62	76	60	0.8
531231	18	0	36	76	84	2.0
531232	15	26	40	62	76	1.7
531233	17	27	50	77	84	1.0
531234	24	21	47	72	82	1.4
531235	27	55	62	84	95	0.4
531236	4	28	59	85	93	0.8

[2134]

[2135] 실시예 118: HepaRG™ 세포에서 인간 PKK의 용량-의존적 안티센스 억제

[2136] PKK mRNA의 뚜렷한 시험관내 억제를 나타내는 상기 기술된 연구로부터의 캡머는 HepaRG™ 세포에서의 다양한 용량에서 선택 및 시험되었다. 세포를 웰당 20,000 세포의 밀도로 플레이팅하고, 전기천공을 사용하여 0.19 μM, 0.56 μM, 1.67 μM, 및 5.00 μM 농도의 안티센스 올리고뉴클레오타이드로 형질감염시켰다. 대략 16 시간의 처리 기간 후에, RNA를 세포로부터 분리시키고, PKK mRNA 수준을 정량적 실시간 PCR에 의해서 측정하였다. 인간 PKK 프라이머 프로브 세트 RTS3454를 사용하여 mRNA 수준을 측정하였다. PKK mRNA 수준은 리보그린(RIBOGREEN)[®]에 의해서 측정되는 바와 같은 총 RNA 함량에 따라 조정되었다. 상기 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 유사한 배양 조건을 갖는 일련의 평행 실험에서 효력을 시험하였다. 각 실험에 대한 결과는 하기 나타난 별개의 표에서 제시된다. 결과는 비처리 대조군 세포에 대비한 PKK의 억제 퍼센트로서 표현된다. n/a' 는 특정 용량에 대한 안티센스 올리고뉴클레오타이드에 대한 측정이 없다는 것을 나타낸다.

[2137] 각각의 올리고뉴클레오타이드의 절반 최대 억제 농도 (IC₅₀)를 하기 표에 또한 제시하였다. PKK mRNA 수준은 안티센스 올리고뉴클레오타이드 처리된 세포에서 용량-의존적 방식으로 뚜렷하게 감소되었다.

[2138] 표 155

ISIS 번호	0.19 μ M	0.56 μ M	1.67 μ M	5.00 μ M	IC ₅₀ (μ M)
531231	32	30	73	89	0.5
546158	5	45	79	83	0.7
546188	36	55	81	83	0.4
546253	1	13	46	81	1.7
546254	51	66	80	91	0.2
546343	28	64	87	87	0.4
546825	46	73	86	88	0.2
546827	32	70	84	90	0.3
546828	39	58	87	93	0.3
546829	3	30	73	88	1.0
546846	36	45	71	82	0.5
547413	0	0	41	83	2.2
547423	37	50	92	90	0.4
547445	41	75	82	88	0.2
547456	12	67	66	80	1.0
547464	21	52	67	97	0.6
547564	51	48	82	90	0.2
547587	20	62	84	86	0.5
548758	41	47	82	94	0.4

[2139]

[2140] 표 156

ISIS 번호	0.19 μ M	0.56 μ M	1.67 μ M	5.00 μ M	IC ₅₀ (μ M)
531231	25	34	84	92	0.7
546190	33	65	86	n/a	0.4
546208	16	45	79	91	0.7
546216	62	69	88	88	0.1
546255	32	35	78	87	0.5
546268	56	50	82	93	0.1
546301	25	50	53	87	0.8
546849	23	35	83	91	0.7
546852	19	40	78	85	0.8
546889	23	54	78	91	0.6
546916	43	71	79	89	0.2
546967	20	39	76	71	0.7
547273	44	69	87	87	0.2
547276	35	44	71	77	0.6
547335	8	52	85	92	0.7

[2141]

547340	46	79	88	n/a	0.2
547602	18	53	92	87	0.5
547647	1	70	72	n/a	0.8
547694	0	29	67	90	1.2

[2142]

[2143] 표 157

ISIS 번호	0.19 μM	0.56 μM	1.67 μM	5.00 μM	IC ₅₀ (μM)
531231	58	64	77	98	0.1
546247	0	29	71	88	1.1
546251	31	60	99	89	0.5
546753	28	47	83	96	0.5
546826	17	40	87	97	0.7
546833	8	33	74	94	0.9
546854	23	39	83	94	0.6
546894	15	47	50	93	0.9
546897	40	56	71	95	0.4
546903	15	37	74	98	0.8
546986	31	49	77	89	0.5
547293	53	57	80	86	0.2
547298	32	61	74	90	0.4
547364	38	47	54	89	0.6
547373	20	7	49	86	1.1
547426	19	50	84	93	0.6
547454	19	40	58	92	0.9
547617	52	66	77	93	0.2
548770	26	54	77	91	0.5

[2144]

[2145] 표 158

ISIS 번호	0.19 μM	0.56 μM	1.67 μM	5.00 μM	IC ₅₀ (μM)
531231	34	47	72	n/a	0.5
546214	0	0	68	85	1.3
546304	0	6	51	71	2.1
546739	35	55	57	79	0.6
546832	19	38	70	95	0.8
546847	39	57	75	89	0.4
546855	18	7	30	82	2.2
546877	0	19	75	80	1.3
546939	1	66	86	90	0.6
547349	0	8	66	76	1.6

[2146]

547360	8	27	76	76	0.8
547368	0	0	31	80	2.5
547483	0	9	49	71	2.1
547575	0	34	82	93	1.1
547618	0	0	73	98	1.3
547622	0	47	79	90	0.9
547637	10	21	36	82	1.8
547731	0	0	17	56	5.0
548752	0	0	51	90	1.9

[2147]

[2148] 표 159

ISIS 번호	0.19 μM	0.56 μM	1.67 μM	5.00 μM	IC ₅₀ (μM)
531231	21	45	67	96	0.7
546195	34	51	79	92	0.5
546198	7	3	45	92	1.3
546287	0	15	39	89	1.7
546358	0	19	71	80	1.3
546403	0	20	37	41	>5.0
546410	13	43	52	75	1.2
546412	0	1	61	62	2.3
546429	6	10	44	69	2.3
546834	1	0	30	83	2.3
547006	0	0	54	77	1.5
547294	28	59	87	86	0.4
547337	23	41	55	79	1.0
547514	18	8	51	80	1.9
547584	26	34	76	86	0.7
547585	42	57	70	95	0.4
547615	20	26	41	84	1.4
547636	0	24	79	94	1.1
548744	14	35	63	83	1.0

[2149]

[2150] 표 160

ISIS 번호	0.19 μM	0.56 μM	1.67 μM	5.00 μM	IC ₅₀ (μM)
531231	21	39	90	97	0.6
546232	49	50	94	97	0.2
546248	25	66	87	93	0.4
546835	9	35	68	93	0.9
546848	0	18	91	97	1.0

[2151]

546853	47	64	84	n/a	0.2
546870	35	42	80	95	0.5
546872	32	33	82	94	0.4
546876	0	50	85	95	0.8
547275	34	66	82	95	0.3
547341	36	58	91	95	0.3
547366	0	45	68	91	1.2
547453	25	40	54	92	0.8
547457	41	65	80	85	0.3
547616	26	50	72	89	0.6
547632	44	47	81	97	0.6
547633	12	46	78	n/a	0.7
547718	36	12	69	74	1.6
548757	18	49	82	93	0.6

[2152]

[2153] 표 161

ISIS 번호	0.19 μM	0.56 μM	1.67 μM	5.00 μM	IC ₅₀ (μM)
531231	6	38	74	95	0.8
546291	22	32	34	72	2.0
546310	0	36	56	80	1.3
546896	0	45	82	97	0.8
546980	0	18	29	80	2.2
547009	0	9	21	63	3.6
547019	0	6	54	86	1.6
547277	2	32	34	62	2.8
547288	0	0	0	38	>5.0
547374	0	15	24	44	>5.0
547493	0	26	64	77	1.3
547520	0	25	66	64	1.1
547712	0	5	21	62	3.8
547722	0	15	32	73	2.4
547728	0	2	16	61	4.4
547780	0	10	36	55	3.9
548743	25	57	73	88	0.5
548753	0	23	49	84	1.5
548756	0	4	16	86	>5.0

[2154]

[2155] 표 162

ISIS 번호	0.19 μM	0.56 μM	1.67 μM	5.00 μM	IC ₅₀ (μM)
531231	25	55	89	97	0.5
546188	27	69	88	97	0.4
546216	23	78	95	98	<0.2
546254	40	63	84	95	0.3
546268	0	71	92	92	0.5
546343	37	32	83	95	0.4
546825	38	82	n/a	99	0.2
546827	23	74	98	96	0.4
546828	0	64	89	97	0.2
546846	26	49	85	n/a	0.5
546967	22	45	74	92	0.7
547273	0	60	82	83	0.6
547340	34	84	96	n/a	0.3
547423	78	92	n/a	n/a	<0.2
547445	80	87	98	91	<0.2
547564	46	66	90	97	0.2
547587	38	64	91	97	0.3
547602	1	9	52	93	1.4
548758	0	72	79	n/a	0.6

[2156]

[2157] 표 163

ISIS 번호	0.19 μM	0.56 μM	1.67 μM	5.00 μM	IC ₅₀ (μM)
531231	7	39	56	97	1.0
546190	21	34	76	98	0.7
546208	5	33	70	97	0.9
546251	19	45	91	97	0.6
546255	5	39	82	96	0.8
546739	4	62	84	86	0.6
546753	17	31	70	91	0.9
546849	13	45	84	98	0.7
546889	25	9	73	92	1.4
546897	16	17	69	97	0.8
546916	0	27	73	97	1.0
546986	7	28	69	86	1.1
547276	6	3	53	68	2.2
547293	0	45	65	70	1.3
547298	0	12	67	87	1.7
547335	0	13	73	95	1.3

[2158]

547426	18	35	80	95	0.7
547617	17	37	79	98	0.7
548770	9	0	61	92	1.7

[2159]

[2160] 표 164

ISIS 번호	0.19 μM	0.56 μM	1.67 μM	5.00 μM	IC ₅₀ (μM)
531231	6	56	68	97	0.8
546195	0	27	91	94	0.9
546232	0	74	95	96	0.2
546248	0	59	73	89	0.8
546832	36	49	85	97	0.4
546847	14	44	83	95	0.7
546853	4	49	74	92	0.8
546870	36	34	61	91	1.0
546872	42	13	59	99	1.4
546896	35	60	83	n/a	0.4
546939	16	71	96	95	0.4
547275	56	16	80	86	1.2
547294	4	70	84	91	0.6
547341	45	44	81	95	0.6
547457	33	42	70	83	0.6
547584	0	21	64	92	1.3
547585	0	46	89	93	0.8
547632	0	0	63	91	1.6
548743	22	47	74	96	0.6

[2161]

[2162] 실시예 119: HepaRG™ 세포에서 인간 PKK의 용량-의존적 안티센스 억제

[2163] PKK mRNA의 뚜렷한 시험관내 억제를 나타내는 상기 기술된 연구로부터의 갭머는 HepaRG™ 세포에서의 다양한 용량에서 선택 및 시험되었다. 세포를 웰당 20,000 세포의 밀도로 플레이팅하고, 전기천공을 사용하여 0.11 μM, 0.33 μM, 1.00 μM, 및 3.00 μM 농도의 안티센스 올리고뉴클레오타이드로 형질감염시켰다. 대략 16 시간의 처리 기간 후에, RNA를 세포로부터 분리시키고, PKK mRNA 수준을 정량적 실시간 PCR에 의해서 측정하였다. 인간 PKK

프라이머 프로브 세트 RTS3454를 사용하여 mRNA 수준을 측정하였다. PKK mRNA 수준은 리보그린(RIBOGREEN)[®]에 의해서 측정되는 바와 같은 총 RNA 함량에 따라 조정되었다. 상기 안티센스 올리고뉴클레오티드를 유사한 배양 조건을 갖는 일련의 평행 실험에서 효력을 시험하였다. 각 실험에 대한 결과는 하기 나타난 별개의 표에서 제시된다. 결과는 비처리 대조군 세포에 대비한 PKK의 억제 퍼센트로서 표현된다. n/a' 는 특정 용량에 대한 안티센스 올리고뉴클레오티드에 대한 측정이 없다는 것을 나타낸다.

[2164] 각각의 올리고뉴클레오티드의 절반 최대 억제 농도 (IC₅₀)를 하기 표에 또한 제시하였다. PKK mRNA 수준은 안티센스 올리고뉴클레오티드 처리된 세포에서 용량-의존적 방식으로 뚜렷하게 감소되었다.

[2165] 표 165

ISIS 번호	0.11 μM	0.33 μM	1.00 μM	3.00 μM	IC ₅₀ (μM)
547747	24	29	81	89	0.4
547769	12	17	80	96	0.6
547824	45	73	78	n/a	0.1
547835	44	27	53	79	0.9
547843	0	52	80	91	0.4
547857	36	66	77	93	0.2
547870	0	44	80	97	0.6
547943	33	70	87	90	0.2
547946	0	47	74	n/a	0.5
547947	24	58	81	93	0.3
547998	55	73	91	91	0.1
548004	24	47	80	92	0.3
548010	0	11	49	64	1.4
548047	50	62	76	95	0.1
548147	59	94	80	n/a	0.0
548338	41	58	79	95	0.2
548348	19	46	67	91	0.4
548409	21	60	90	93	0.3
548557	5	47	82	95	0.4

[2166]

[2167] 표 166

ISIS 번호	0.11 μM	0.33 μM	1.00 μM	3.00 μM	IC ₅₀ (μM)
547747	8	61	90	92	0.3
547807	26	71	61	94	0.4
547922	67	75	81	92	0.0
547927	56	64	92	88	0.1
547948	60	80	88	97	0.0
547979	56	58	94	97	0.1
548005	53	49	71	95	0.4
548024	28	57	84	82	0.3
548043	14	60	90	92	0.3
548055	43	57	50	88	0.3
548106	53	54	82	94	0.1
548109	50	92	79	85	0.1

[2168]

548155	49	50	70	81	0.3
548180	11	59	71	88	0.4
548278	3	59	78	93	0.4
548343	61	67	88	92	0.0
548558	53	61	78	95	0.1
548570	20	40	70	94	0.4
548583	43	46	93	88	0.2

[2169]

[2170]

표 167

ISIS 번호	0.11 μM	0.33 μM	1.00 μM	3.00 μM	IC ₅₀ (μM)
547747	3	44	72	90	0.5
547849	36	52	67	n/a	0.3
547851	16	46	83	n/a	0.4
547859	29	56	83	78	0.3
547862	26	71	69	n/a	0.3
547877	29	66	83	n/a	0.2
547942	25	51	91	n/a	0.3
547997	39	68	n/a	82	0.2
548046	7	35	64	77	0.7
548048	49	66	86	92	0.1
548061	26	61	59	n/a	0.4
548070	26	35	48	63	1.1
548125	33	50	81	73	0.3
548195	5	23	61	76	0.8
548265	47	69	78	67	0.1
548410	31	58	85	82	0.2
548424	17	67	86	72	0.3
548425	41	57	68	80	0.2
548547	30	41	76	90	0.4

[2171]

[2172]

표 168

ISIS 번호	0.11 μM	0.33 μM	1.00 μM	3.00 μM	IC ₅₀ (μM)
547747	16	59	85	96	0.3
547808	19	22	48	71	1.1
547861	7	40	75	84	0.5
548069	6	0	27	66	1.9
548128	14	29	49	66	1.1
548170	0	8	26	65	2.0
548174	20	18	29	62	2.0

[2173]

548197	33	37	51	75	0.8
548201	0	7	70	85	0.8
548217	22	24	54	71	0.9
548220	0	0	0	6	>3
548247	16	50	62	82	0.5
548422	0	32	71	93	0.7
548479	2	52	82	97	0.4
548486	20	48	77	92	0.4
548521	21	0	3	1	>3
548655	0	0	8	33	>3
548667	0	37	73	86	0.7
548668	10	30	61	84	0.7

[2174]

[2175]

실시예 120: 형질전환 마우스에서 인간 PKK를 표적으로 하는 안티센스 올리고뉴클레오타이드의 효능

[2176]

인간 KLB1 유전자 서열의 37,390개 염기쌍 단편을 함유하는 형질전환 마우스 (염색체 4: 위치 187148672-187179625, 수탁 번호: NC_000004.11)를 상기 기술된 연구로부터 선택된 ISIS 안티센스 올리고뉴클레오타이드로 처리하였고, 이는 이러한 모델의 효능에 대해 평가되었다.

[2177]

치료

[2178]

형질전환 마우스의 그룹 각각에게 ISIS 546232, ISIS 546251, ISIS 546254, ISIS 546343, ISIS 546828, ISIS 547455, ISIS 547457, ISIS 547927, 및 ISIS 548048를 3 주일 동안, 주당 2 회 피하로 2.5 mg/kg/주, 5.0 mg/kg/주, 10 mg/kg/주, 또는 20 mg/kg/주로 주사하였다. 형질전환 마우스 중 하나의 그룹에 PBS를 피하로 3주간 일주일에 2회 투여하였다. 마우스를 마지막 용량 후 48시간에 마취시키고, 추가 분석을 위해 장기 및 혈장을 수확하였다.

[2179]

RNA 분석

[2180]

표적 감소에 대한 ISIS 올리고뉴클레오타이드의 영향을 평가하기 위해서, RNA를 인간 PKK의 실시간 PCR 분석을 위하여 간 조직으로부터 추출하였다. 결과는 PBS 대조군과 비교한 PKK mRNA의 억제 퍼센트로서 제시된다. 표 169에 나타난 바와 같이, ISIS 안티센스 올리고뉴클레오타이드로의 처리는 PBS 대조군과 비교하여 PKK mRNA의 뚜렷한 감소를 초래하였다.

[2181]

표 169

[2182]

PBS 대조군과 비교한 형질전환 마우스 간에서의 PKK mRNA 억제 퍼센트

ISIS 번호	투여량	억제%
547927	20	71
	10	93
	5	52

[2183]

	2.5	35
547455	20	62
	10	45
	5	69
	2.5	0
546232	20	84
	10	30
	5	53
	2.5	57
546254	20	83
	10	84
	5	55
	2.5	31
546343	20	86
	10	66
	5	n/a
	2.5	46
548048	20	80
	10	72
	5	77
	2.5	7
546828	20	83
	10	32
	5	62
	2.5	77
546251	20	79
	10	66
	5	51
	2.5	13
547457	20	62
	10	45
	5	69
	2.5	0

[2184]

[2185]

단백질 분석

[2186]

혈장 PKK 단백질 수준을 모든 그룹에서 평가하였다. 결과는 PBS 대조군과 비교한 PKK 단백질의 억제 퍼센트로서 제시된다. 표 170에 나타난 바와 같이, ISIS 안티센스 올리고뉴클레오타이드로의 처리는 PBS 대조군과 비교하여 PKK 단백질 수준의 뚜렷한 감소를 초래하였다.

[2187]

표 170

[2188]

PBS 대조군과 비교한 형질전환 마우스에서의 PKK 단백질 수준 감소율

ISIS 번호	투여량	억제%
547927	20	80
	10	n/a

[2189]

	5	21
	2.5	25
547455	20	78
	10	32
	5	0
	2.5	0
546232	20	79
	10	33
	5	6
	2.5	0
546254	20	76
	10	51
	5	36
	2.5	0
546343	20	79
	10	38
	5	n/a
	2.5	0
548048	20	98
	10	89
	5	70
	2.5	23
546828	20	93
	10	36
	5	25
	2.5	0
546251	20	69
	10	52
	5	30
	2.5	22
547457	20	60
	10	31
	5	4
	2.5	0

[2190]

[2191]

실시예 121: 시노몰구스 원숭이에서 인간 PKK를 표적으로 하는 ISIS 안티센스 올리고뉴클레오타이드의 효과

[2192]

시노몰구스 원숭이를 상기 기재된 연구로부터 선택된 ISIS 안티센스 올리고뉴클레오타이드로 처리하였다. 안티센스 올리고뉴클레오타이드 활성 및 내성을 평가하였다. 시험된 인간 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 붉은털 원숭이 게놈 서열 (서열 번호: 18로서 지정되고, 뉴클레오타이드 2358000 내지 2391000로부터 절단된 유전자은행 수탁번호 NW_001118167.1)로 교차-반응시킨다. 서열 번호: 18에 대한 각 올리고뉴클레오타이드의 표적 개시 부위는 결과는 표 171에서 제공된다. '미스매치'는 올리고뉴클레오타이드가 붉은털 원숭이 서열에 미스매치된 만큼의 뉴클레오타이드의 수를 나타낸다. 인간 올리고뉴클레오타이드와 붉은털원숭이 서열 사이의 상보성이 크면 클수록, 아마도 인간 올리고뉴클레오타이드가 붉은털원숭이 서열과 더 교차-반응할 수 있다. 'n/a'는 안티센스 올리고뉴클레오타이드가 붉은털 원숭이 유전자 서열과 3개 초과 미스매치를 갖는다는 것을 나타낸다.

[2193]

표 171

[2194]

서열 번호: 18에 상보적인 안티센스 올리고뉴클레오타이드

ISIS 번호	표적 개시 부위	미스매치	서열	화합성질	서열 번호
547927	22059	1	ATGGTCCGACACACAA	데옥시, MOE 및 cEt	1548
546232	n/a	n/a	AGGAACTTGGTGTGCCACTT	5-10-5 MOE	526
547455	27391	0	ATATCATGATTCCCTTCTGA	5-10-5 MOE	657
546254	23858	1	TGCAAGTCTCTTGGCAAACA	5-10-5 MOE	570
546343	30532	0	CCCCCTTCTTTATAGCCAGC	5-10-5 MOE	705
548048	27397	0	CGATATCATGATTCCC	데옥시, MOE 및 cEt	1666
546828	13632	1	ACAGTATCACTGTACTAGTT	5-10-5 MOE	904
546251	23846	0	GGCAAACATTCACTCCTTTA	5-10-5 MOE	566
547457	27397	0	AAGGCGATATCATGATTCCC	5-10-5 MOE	660

[2195]

[2196]

치료

[2197]

연구 전에, 원숭이를 30일 기간 동안 격리 상태로 유지시켰으며, 이 기간 중에 동물들은 일반적인 건강에 대해서 매일 관찰하였다. 원숭이들은 2-4세였고 체중은 2 내지 4 kg 사이였다. 4 마리의 무작위로 배정된 수컷 시노몰구스 원숭이의 10개 그룹에게 각각 ISIS 올리고뉴클레오타이드 또는 PBS를 피하 주사하였다. 40 mg/kg의 용량으로 PBS 용액 또는 ISIS 올리고뉴클레오타이드를, 연구 첫주에 (1, 3, 5, 및 7일째에) 4개 용량으로 구성된 부하 레지멘(loding regimen)으로 최초 투여하였고, 이후 14일째 (2주째 내지 13주째)부터 시작하여 1주일 1회 투여로 구성된 유지 레지멘(maintenance regimen)을 투여하였다. 피하 투여를 등에 시계 방향으로 4개 부위; 용량당 1부위씩 수행하였다. 주사 부위를 문신으로 기술하였으며, 이때 케타민을 사용하여 진정시켰고, 최소 3cm로 간격을 두었다.

[2198]

연구 기간 중에, 원숭이는 병 또는 고통의 징후에 대해서 최소 1일 1회 관찰하였다. 처리, 손상 또는 병에 기인하여 일시적이거나 미약한 통증 또는 고통 이상을 경험하는 임의의 동물은 연구 지도자 및 수의사에게 즉시 보고하였다. 건강하지 못하거나 가능한 빈사 상태에 있는 특정 동물은 추가 관찰 및 가능한 안락사를 확인하였다. 예를 들어, ISIS 547445로 처리된 두마리의 원숭이를 둔화된 행동, 측면 위치, 자극 반응 부족, 및 감소된 호흡으로 인하여 마취시켰다. 본 실시예에 기재된 프로토콜은 동물실험윤리위원회(IACUC)에 의해 승인되었다.

[2199]

표적 감소

[2200]

RNA 분석

[2201]

최종 투여 후 87 또는 88, 48 시간째 되는 날에, RNA를 프라이머 프로브 세트 RTS3455를 사용한 PKK의 실시간 PCR 분석을 위하여 간 조직으로부터 추출하였다 (정방향 서열 CCTGTGTGGAGGGTCACTCA, 서열 번호: 23으로 본원에서 지정됨; 역방향 서열 CCACTATAGATGCGCCAAACATC, 서열 번호: 24로 본원에서 지정됨; 프로브 서열 CCCACTGCTTTGATGGGCTTCCC, 서열 번호: 25로 본원에서 지정됨). 결과는 하우스키핑 유전자, 시크로필린(Cyclophilin)에 대해 정규화하였다. 결과는 PBS 대조군과 비교한 PKK mRNA의 억제 퍼센트로서 제시된다. 표 172에 나타낸 바와 같이, ISIS 안티센스 올리고뉴클레오타이드로 처리는 PBS 대조군과 비교하여 PKK mRNA의 뚜렷한 감소를 초래하였다.

[2202]

표 172

[2203]

PBS 대조군과 비교한 시노몰구스 원숭이 간에서의 PKK mRNA 억제 퍼센트

ISIS 번호	억제%
546232	88
546251	90
546254	88
546343	74
546828	45
547455	90
547457	89
547927	54
548048	95

[2204]

단백질 분석

[2205]

약 0.9 mL의 혈액을 모든 수득가능한 동물로부터 각각 예비-투여, 17일째, 31일째, 45일째, 59일째, 및 73일째에 수집하였고, 3.2% 나트륨 시트레이트를 함유하는 튜브에 위치시켰다. 튜브를 원심분리 (실온에서 10 분 동안 3000 rpm)하여 혈장을 수득하였다. PKK 단백질 수준은 ELISA에 의해 혈장에서 측정되었다. 결과는 PBS 대조군 수준과 비교한 억제 퍼센트로 표현되어 표 173에 제시된다. 결과는 ISIS 올리고뉴클레오타이드가 PKK 단백질 수준을 상당히 감소시켰음을 나타낸다.

[2207]

표 173

[2208] 대조군 수준과 비교한 시노물구스 원숭이 혈장 내에서의 PKK 단백질 수준 감소율 (%)

	제17일	제31일	제45일	제59일	제73일
ISIS 546232	53	58	72	75	70
ISIS 546251	71	75	75	81	77
ISIS 546254	38	51	63	74	73
ISIS 546343	56	74	69	70	70
ISIS 546828	0	8	23	39	39

[2209]

ISIS 547455	26	33	43	58	58
ISIS 547457	68	75	79	76	80
ISIS 547927	8	0	15	10	18
ISIS 548048	90	93	95	95	95

[2210]

[2211] 내성 연구

[2212] 간 기능

[2213] 간 기능에 대한 ISIS 올리고뉴클레오타이드의 영향을 평가하기 위해서, 원숭이를 하룻밤 단식시켰다. 약 1.5 mL의 혈액 샘플을 모든 연구 군으로부터 수집하였다. 혈액을 혈청 분리를 위해 항응고제없이 튜브 속에 수집하였다. 튜브를 최소 90분간 실온에서 두었고, 이후 10분 동안 3,000rpm에서 원심분리하였다. 다양한 간 기능 마커의 수준은 Toshiba 120FR NEO 화학 분석기 (Toshiba Co., Japan)를 사용하여 측정하였다. 결과는 표 174에 제시되며, 안티센스 올리고뉴클레오타이드가 안티센스 올리고뉴클레오타이드에 대해 예상된 범위를 벗어나는 범위에서 간 기능에 대한 효과가 없다는 것을 나타낸다.

[2214] 표 174

[2215] 시노물구스 원숭이 혈장에서의 간 기능 마커

	알부민 (g/dL)	AST (IU/L)	ALT (IU/L)
PBS	4.2	48	60
ISIS 546232	4.1	63	140
ISIS 546251	3.7	51	58
ISIS 546254	3.8	68	54
ISIS 546343	4.3	49	76
ISIS 546828	3.7	75	67
ISIS 547455	3.8	56	61
ISIS 547457	4.0	54	52
ISIS 547927	4.2	59	61
ISIS 548048	4.2	44	47

[2216]

[2217] 혈액학

[2218] 혈액학적 파라미터에 대한 시노물구스 원숭이 내의 ISIS 올리고뉴클레오타이드의 영향을 평가하기 위해서, 혈액의 약 1.2 mL의 혈액 샘플을 예비-투여량 및 87일째 또는 88일째에 K₂-EDTA를 함유하는 튜브 내에 수득가능한 연구 동물 각각으로부터 수집하였다. 샘플은 ADVIA2120i 혈액학 분석기 (SIEMENS, USA)를 사용하여 적혈구 (RBC) 수, 백혈구 (WBC) 수, 혈소판 수, 헤모글로빈 함량 및 헤마토크리트(hematocrit) (%)에 대해 분석하였다. 데이터는 표 175에 제시된다.

[2219] 이러한 데이터는 나머지 올리고뉴클레오타이드들에 의한 처리가 이러한 투여에서 안티센스 올리고뉴클레오타이드에 대해 예상된 범위를 벗어나는 혈액학적 파라미터 상의 임의의 변화를 야기하지 않았다는 것을 나타낸다.

[2220] 표 175

[2221] 시노물구스 원숭이에서의 혈액학적 파라미터

	RBC ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	혈소판 ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	WBC ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	헤모글로빈 (g/dL)	HCT (%)
PBS	5.4	458	13	13.1	43
ISIS 546232	5.4	391	11	12.9	42
ISIS 546251	5.7	419	8	12.9	43
ISIS 546254	5.3	436	11	12.4	41
ISIS 546343	5.5	373	14	12.6	42
ISIS 546828	6.0	408	11	12.9	43
ISIS 547455	4.5	448	13	10.2	34
ISIS 547457	6.4	367	10	13.8	45
ISIS 547927	5.2	461	45	12.5	41
ISIS 548048	5.9	393	11	13.4	44

[2222]

[2223] 신장 기능

[2224] 신장 기능에 대한 ISIS 올리고뉴클레오티드의 영향을 평가하기 위해서, 원숭이를 하룻밤 단식시켰다. 약 1.5 mL의 혈액 샘플을 모든 연구 군으로부터 수집하였다. 혈액을 혈청 분리를 위해 항응고제없이 튜브 속에 수집하였다. 튜브를 최소 90분간 실온에서 두었고, 이후 10분 동안 3,000rpm에서 원심분리하였다. BUN 및 크레아티닌 마커의 수준은 Toshiba 120FR NEO 화학 분석기 (Toshiba Co., Japan)를 사용하여 측정하였다. 결과는 mg/dL로 표현하여 표 176에 제시된다. 혈장 화학은, 대부분의 ISIS 올리고뉴클레오티드가 안티센스 올리고뉴클레오티드에 대한 예측된 범위를 벗어나는 신장 기능에 임의의 영향도 미치지 않았음을 나타낸다. 특히, ISIS 546254로의 처리는 원숭이의 신장 기능 관점에서 높은 내성을 가졌다.

[2225] 신장 기능을 또한 요분석에 의해 평가하였다. 모든 동물로부터의 신선한 소변을 습식 얼음 상에서 깨끗한 케이지 팬(clean cage)을 사용하여 수집하였다. 신선한 소변 수집 하루 전에 밤새 먹이를 제거하였으나, 물은 공급하였다. 총 단백질 및 크레아티닌의 수준은 Toshiba 120FR NEO 화학 분석기 (Toshiba Co., Japan)를 사용하여 측정하였고, 단백질 대 크레아티닌 비율을 산출하였다. 결과는 표 177에 제시된다.

[2226] 표 176

[2227] 시노물구스 원숭이에서 혈장 BUN 및 크레아티닌 수준 (mg/dL)

	BUN	크레아티닌
PBS	22.8	0.9
ISIS 546232	22.7	1.0
ISIS 546251	25.4	1.1
ISIS 546254	25.7	0.9
ISIS 546343	26.2	1.0
ISIS 546828	24.7	0.9
ISIS 547455	29.4	0.9
ISIS 547457	24.3	1.0
ISIS 547927	22.3	1.0
ISIS 548048	21.9	0.9

[2228]

[2229] 표 177

[2230] 시노물구스 원숭이에서의 소변 단백질/크레아티닌 비율

	비율
ISIS 546232	0.03
ISIS 546251	0.12
ISIS 546254	0.04
ISIS 546343	0.01
ISIS 546828	0.03
ISIS 547455	0.70
ISIS 547457	0.03
ISIS 547927	0.04
ISIS 548048	0.03
PBS	0.06

[2231]

[2232] C-반응성 단백질 수준 분석

[2233] 시노물구스 원숭이에서 ISIS 올리고뉴클레오타이드들의 임의의 염증성 효과를 평가하기 위해서, 원숭이를 하룻밤 단식시켰다. 약 1.5 mL의 혈액 샘플을 모든 연구 군으로부터 수집하였다. 혈액을 혈청 분리를 위해 항응고제없이 튜브 속에 수집하였다. 튜브를 최소 90분간 실온에서 두었고, 이후 10분 동안 3,000rpm에서 원심분리하였다. 간에서 합성되고 염증 마커로서 역할을 하는 C-반응성 단백질 (CRP)을 Toshiba 120FR NEO 화학 분석기 (Toshiba Co., Japan)를 사용하여 측정하였다. 보체 C3를 또한 유사하게 측정하였고, 데이터는 기준선 값의 백분율로 제시된다. 결과는 표 178에 제시되며, ISIS 올리고뉴클레오타이드로의 치료가 원숭이에서 특정 염증도 야기하지 않았다는 것을 나타낸다.

[2234] 표 178

[2235] 시노물구스 원숭이 혈장에서의 C-반응성 단백질 및 C3 수준

	CRP (mg/dL)	C3 (기준선의 %)
PBS	0.2	73
ISIS 546232	0.5	50
ISIS 546251	0.7	62
ISIS 546254	0.8	61
ISIS 546343	0.2	60
ISIS 546828	0.6	56
ISIS 547455	1.9	64
ISIS 547457	0.3	53
ISIS 547927	0.2	73
ISIS 548048	0.2	69

[2236]

[2237] 실시예 122: 마우스 일차 간세포 중 류틴 PKK mRNA의 안티센스 억제

[2238] 류틴 PKK 핵산을 표적화하는 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 설계하였으며, 시험관내에서 PKK mRNA에 대한 그들의 효과에 대해서 시험하였다. 웰당 10,000 세포의 밀도로 배양된 마우스 1차 간세포를 시토펙틴(Cytofectin) 시약을 사용하여 안티센스 올리고뉴클레오타이드의 12.5 nM, 25.0 nM, 50.0 nM, 100.0 nM, 및 200.0 nM로 형질감염시켰다. 대략 24 시간의 처리 기간 후에, RNA를 세포로부터 분리시키고, 마우스 PKK mRNA 수준을 류틴 프라이머 프로브 세트 RTS3313 (정방향 서열 TGCCTGCTGTTTCAGCTTCTC, 서열 번호: 2228로 본원에서 지정됨; 역방향 서열 TGGCAAAGTCCCTGTAATGCT, 서열 번호: 2229로 본원에서 지정됨; 프로브 서열 CGTGACTCCACCAAGAGACAAATAAACG, 서열 번호: 2230으로 본원에서 지정됨)을 사용한 정량적 실시간 PCR에 의해서 측정하였다. PKK mRNA 수준은 리보그린(RIBOGREEN)에 의해서 측정되는 바와 같은 총 RNA 함량에 따라 조정되었다.

[2239] 키메라 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 5-10-5 MOE 갭머 (gapmer)로서 설계되었다. 갭머들은 길이가 20개의 뉴클레오타이드이고, 여기에서 중앙 갭 분절은 10 개의 2'-데옥시뉴클레오시드로 이루어지며, 각각 5 개의 뉴클레오시드를 포함하는, 양 측면 (5' 및 3' 방향으로) 상의 윙 분절에 의하여 플랭킹된다. 5' 윙 분절 내의 각각의 뉴

클레오시드 및 3' 윙 분절 내의 각각의 뉴클레오시드는 2'-O-메톡시에틸 변형을 갖는다. 각각의 캡머 전체적인 뉴클레오시드간 연결은 포스포로티오에이트 연결이다. 각각의 캡머 전체에 걸쳐 모든 시토신 잔기는 5-메틸시토신이다. 결과는 PKK mRNA 수준이 용량-의존적 방식으로 뚜렷하게 감소되었다는 것을 나타낸다.

[2240] 일 특정 예시에서, ISIS 482584 (GGCATATTGTTTGGGAAT; 서열 번호: 2244)가 용량 의존적 방식으로 PKK mRNA를 감소시켜 84 nM의 절반 최대 억제 농도 (IC₅₀)를 산출하였다 (표 179 참고). ISIS 482584 (서열 번호: 11에 표적화되며 (유전자은행 수탁 번호 NM_008455.2), 1586의 표적 개시 부위 및 1605의 표적 정지 부위를 갖는다. "표적 개시 부위"는 캡머가 표적으로 하는 5'-모스트 뉴클레오티드를 나타낸다. "표적 정지 부위"는 캡머가 표적으로 하는 3'-모스트 뉴클레오티드를 나타낸다.

[2241] **표 179**

[2242] ISIS 482584에 의한 마우스 PKK mRNA 수준의 용량-의존적 억제

투여량	억제%
12.5 nM	0
25.0 nM	47
50.0 nM	27
100.0 nM	60
200.0 nM	82

[2243]

[2244] **실시예 123: BALB/c 마우스에서의 PKK mRNA의 안티센스 억제**

[2245] ISIS 482584를 생체내 무린 PKK mRNA 상의 효과에 대해 시험하였다.

[2246] **치료**

[2247] 6개 그룹의 수컷 BALB/c 마우스를 각각 ISIS 482584 2.5 mg/kg, 5.0 mg/kg, 10.0 mg/kg, 20.0 mg/kg, 40.0 mg/kg, 또는 80.0 mg/kg로 처리하고 3주간 일주일에 2회 피하 투여하였다 (주간 용량 5.0 mg/kg, 10.0 mg/kg, 20.0 mg/kg, 40.0 mg/kg, 80.0 mg/kg, 또는 160.0 mg/kg). BALB/c 마우스의 대조군을 PBS로 처리하였고, 이를 피하로 3주간 일주일에 2회 투여하였다. 안티센스 올리고뉴클레오티드 또는 PBS의 최종 투여 후 2일째에, 모든 그룹의 마우스에 10 mg/kg 자일라진과 혼합된 150mg/kg의 케타민으로 복강내 주사로 투여하여 마취시켰다. 간을 RNA 분석을 위하여 수집하였다.

[2248] **RNA 분석**

[2249] RNA를 인간 PKK의 실시간 PCR 분석을 위하여 간 조직으로부터 추출하였다. PKK mRNA 수준을 무린 프라이머 프로브 세트 (정방향 서열 ACAAGTGCATTTACAGACCAGAGTAC, 서열 번호: 2231로 본원에서 지정됨; 역방향 서열 GGTGTCCGCTGACTTTATGCT, 서열 번호: 2232로 본원에서 지정됨; 프로브 서열 AAGCACAGTGCAAGCGGAACACCC, 서열 번호: 2233으로 본원에서 지정됨)를 사용하여 측정하였다. 결과는 PBS 대조군과 비교한 PKK의 억제 퍼센트로서 제시된다. 표 180에 나타난 바와 같이, ISIS 482584로의 처리는 PBS 대조군과 비교하여 PKK mRNA의 뚜렷한 용량-의존적 감소를 초래하였다.

[2250] **표 180**

[2251] BALB/c 마우스 간에서의 PKK mRNA의 용량-의존적 감소

투여량 (mg/kg/주)	억제%
5	3
10	42
20	68
40	85
80	91
160	94

[2252]

[2253] **단백질 분석**

[2254] 혈장을 항응고제로서 나트륨 시트레이트를 함유하는 튜브 내에서 수집하였다. 샘플을 4-12% 구배 SDS-폴리아크

릴아미드 겔 (Invitrogen) 상에서 수행하고, 이후 뮤린 PKK 항체 (R&D Systems)로 면역블롯팅하였다. 블롯 (Blot)을 2차 형광단(fluorophore)-표지된 항체 (LI-COR)로 인큐베이션하였고, 오디세이 이미지화기(Odyssey Imager) (LI-COR)에서 이미지화하였다. 결과는 PBS 대조군과 비교한 PKK의 억제 퍼센트로서 제시된다. 표 181에 나타난 바와 같이, ISIS 482584로의 처리는 PBS 대조군과 비교하여 PKK 혈장 단백질의 뚜렷한 용량-의존적 감소를 초래하였다.

[2255] 표 181

[2256] BALB/c 마우스 혈장에서의 PKK 단백질의 용량-의존적 감소

투여량 (mg/kg/주)	억제%
5	5
10	24
20	47
40	76
80	81
160	n.d.

[2257]

[2258] n.d. 데이터 없음

[2259] 실시예 124: 혈관부종 마우스 모델에서의 뮤린 PKK 안티센스 억제의 생체내 효과

[2260] 유전성 혈관부종 (HAE)은 피하 조직에서의 국지적 종창 및 혈관투과성 증가에 의하여 특징화된다 (Morgan, B.P. N. Engl. J. Med. 363: 581-83, 2010). 363: 581-83, 2010). 이는 C1 억제제, 보체계의 단백질 결핍에 의하여 야기된다. 2개의 마우스 모델이 본 연구에 사용되었으며, 이는 C1-INH 결핍의 확립된 마우스 모델, 캅토프릴-유도된 부종 모델을 포함하며, 이의 양자 모두는 혈관 투과성, 즉 HAE 특징을 야기한다. 혈관 투과성의 역전은 고농도 중량 키니노젠 (HMWK)의 증가된 혈장 수준을 수반한다.

[2261] 제1 모델에서, 혈관부종은 알려진 항고혈압성 제제인 캅토프릴로의 처리에 의하여 유도되고, 이는 마우스에서 혈관 투과성을 증가시키고, 유전성 혈관부종의 병리학을 복제한다.

[2262] 제2 모델에서, 혈관부종은 ISIS 461756, 뮤린 C1 억제제 mRNA를 표적화하는 안티센스 올리고뉴클레오티드로의 처리로 유도되고, 이는 마우스에서 혈관 투과성을 증가시키고, 유전성 혈관부종의 병리학을 복제한다. ISIS 461756 (서열 번호: 2245; AAAGTGGTTGATACCTGGG)는 NM_009776.3의 뉴클레오타이드 1730-1749를 표적화하는 5'-10-5 MOE 갭머이다 (서열 번호: 2243).

[2263] HOE-140 및 ISIS 482584, PKK 안티센스 올리고뉴클레오티드 억제제의 효과를 혈관 투과성의 캅토프릴 및 ISIS 461756-유도된 마우스 모델에서 평가하였다. 뮤린 그룹 일부는 HOE-140, 브라디키닌 B2 수용체의 선택적 길항제로 처리하였고, 이는 혈관확장 및 혈관 투과성을 차단한다 (Cruden and Newby, Expert Opin. Pharmacol. 9: 2383-90, 2008). 다른 마우스를 ISIS 482584로 처리하였고, 이는 PKK mRNA 발현을 억제한다. HOE-140로의 처리 효과를 ISIS 482584로의 처리 효과와 비교하였다.

[2264] 치료

[2265] 이러한 검정에 대한 다양한 처리 그룹은 표 182에 제시된다.

[2266] 4마리의 C57BL/6J-Tyrc-2J 마우스로 구성된 그룹 1을 PBS로 4주간 일주일에 2회 피하 투여하여 처리하였다. 혈관 투과성의 기초 수준을 측정하기 위한 대조군 그룹의 역할을 하는 그룹 1에는 다른 처리는 투여하지 않았다.

[2267] 8마리의 C57BL/6J-Tyrc-2J 마우스로 구성된 그룹 2을 PBS로 4주간 일주일에 2회 피하 투여하여 처리하였다. 처리 종료 시에, 마우스에 캅토프릴 20 µg을 복강내 투여하였다. 그룹 2는 캅토프릴-유도된 혈관 투과성에 대해 PBS 대조군으로서 역할을 하였다.

[2268] 8마리의 C57BL/6J-Tyrc-2J 마우스로 구성된 그룹 3을 PBS로 4주간 일주일에 2회 피하 투여하여 처리하였다. 14 일째에, 마우스를 C1 억제제, ISIS 461756를 표적화하는 50 mg/kg의 안티센스 올리고뉴클레오티드로 2주간 일주일에 2회 피하 투여하여 처리하였다. 처리 종료 시에, 마우스에 캅토프릴 20 µg을 복강내 투여하였다. 그룹 3은 캅토프릴 및 ISIS 461756-유도된 혈관 투과성에 대해 PBS 대조군으로서 역할을 하였다.

[2269] 8마리의 C57BL/6J-Tyrc-2J 마우스로 구성된 그룹 4을 PBS로 4주간 일주일에 2회 피하 투여하여 처리하였다. 14

일제에, 마우스를 C1 억제제, ISIS 461756를 표적화하는 50 mg/kg의 안티센스 올리고뉴클레오타이드로 2주간 일주일에 2회 피하 투여하여 처리하였다. 처리 종료 시에, 마우스에 캅토프릴 20 μ g을 복강내 투여하였다. 이후, 마우스에 HOE-140 30 μ g을 복강내 투여하였다. 그룹 4는 HOE-140로의 혈관 투과성 억제에 대해 양성 대조군으로서 역할을 하였다.

[2270] 8마리의 C57BL/6J-Tyrc-2J 마우스로 구성된 그룹 5를 40 mg/kg의 대조군 올리고뉴클레오타이드 ISIS 141923, 알려지지 않은 뮤린 표적을 갖는 5-10-5 MOE 캡머, (CCTTCCTGAAGGTTCTCC; 서열 번호: 2246)로 피하로 4주간 일주일에 2회 투여하였다. 14일째에, 마우스를 C1 억제제, ISIS 461756를 표적화하는 50 mg/kg의 안티센스 올리고뉴클레오타이드로 2주간 일주일에 2회 피하 투여하여 처리하였다. 처리 종료 시에, 마우스에 캅토프릴 20 μ g을 복강내 투여하였다. 그룹 5는 캅토프릴 및 ISIS 461756-유도된 혈관 투과성에 대해 대조군으로서 역할을 하였다.

[2271] 8마리의 C57BL/6J-Tyrc-2J 마우스로 구성된 그룹 6을 40 mg/kg의 ISIS 482584로 4주간 일주일에 2회 피하 투여하여 처리하였다. 처리 종료 시에, 마우스에 캅토프릴 20 μ g을 복강내 투여하였다. 그룹 6은 캅토프릴-유도된 혈관 투과성에 대한 PKK ASO 효과를 관찰하기 위한 실험적 처리 그룹으로서 작용하였다.

[2272] 8마리의 C57BL/6J-Tyrc-2J 마우스로 구성된 그룹 7을 40 mg/kg의 ISIS 482584로 4주간 일주일에 2회 피하 투여하여 처리하였다. 14일째에, 마우스를 C1 억제제, ISIS 461756를 표적화하는 50 mg/kg의 안티센스 올리고뉴클레오타이드로 2주간 일주일에 2회 피하 투여하여 처리하였다. 처리 종료 시에, 마우스에 캅토프릴 20 μ g을 복강내 투여하였다. 그룹 7는 캅토프릴 및 ISIS 461756-유도된 혈관 투과성에 대한 PKK ASO 효과를 관찰하기 위한 실험적 처리 그룹으로서 작용하였다.

[2273] 모든 그룹에 이후 30 mg/kg의 에반스 블루(Evans Blue) 용액을 꼬리 정맥으로 주사하였다. 마우스를 에반스 블루 용액 투여 이후 30분째에 희생시키고, 결장, 족부, 귀, 및 장을 수확하였다. 혈액 샘플을 심장 천자(cardiac puncture)를 통하여 채취하였다.

[2274] 표 182

[2275] 처리 그룹

그룹 번호	처리	캅토프릴	ISIS 461756	HOE-140
1. (N=4)	PBS	음성	음성	음성
2. (N=8)	PBS	양성	음성	음성
3. (N=8)	PBS	양성	양성	음성
4. (N=8)	PBS	양성	양성	양성
5. (N=8)	ISIS 141923	양성	양성	음성
6. (N=8)	ISIS 482584	양성	음성	음성
7. (N=8)	ISIS 482584	양성	양성	음성

[2276]

[2277] 혈관 투과성의 정량화

[2278] 족부, 결장, 귀, 및 장으로부터 수확된 조직은 포름아미드 용액에 분리하여 밤새 두어 에반스 블루 염료로 침출하였다. 귀 및 족부 조직을 함유하는 포름아미드를 55°C까지 가열하고 밤새 두었다. 염료-주입된 포름아미드 용액의 색 강도를 이후 OD_{600nm}에서 측정하였고, 이는 표 183에 제시된다. 혈관부종의 임의의 발현을 보여주는 마우스는 더욱 많은 염료를 흡수하고, 그러므로 높은 OD 값을 나타낸다.

[2279] 표 183에 제시된 바와 같이, ISIS 482584로의 처리는 각각의 PBS 대조군 (그룹 2 및 3)과 비교하여 캅토프릴로 처리된 마우스 (그룹 6) 및 캅토프릴 및 ISIS 461756로 처리된 마우스 (그룹 7)에서의 혈관 투과성을 예방한다. 그룹 6 및 7의 마우스에서의 혈관 투과성의 측정은 또한, 대조군 올리고뉴클레오타이드, ISIS 141923로 처리된 마우스 (그룹 5)와 비교하여, 대부분의 조직에서 감소되었으며, 여기서 혈관 투과성은 캅토프릴 및 ISIS 461756로 유도되었다. 두개의 처리 그룹 (그룹 6 및 7)의 결장 및 족부 조직에서의 혈관 투과성 측정은 PBS 단독으로 처리된 마우스 (그룹 1)에서 측정된 바와 같은 기초 수준과 비교가능하였다. ISIS 482584로 처리된 마우스에서의 혈관 투과성 감소는 본 검정에서 양성 대조군으로 작용한 브라디키닌 2 수용체 길항제, HOE140로 처리된 마우스에서 보여지는 그것과 비교가능하였다.

[2280] 따라서, PKK mRNA의 안티센스 억제제는 HAE의 증상인 혈관 투과성의 치료 및 예방에 이로울 수 있다.

[2281] 표 183

[2282] 혈관 투과성을 측정하는 에반스 블루 염료의 OD_{600nm}

그룹 번호	처리	캡토프릴	ISIS 461756	HOE- 140	결장	창자	족부	귀
1	PBS	음성	음성	음성	0.26	0.16	0.11	0.02
2	PBS	양성	음성	음성	0.49	0.29	0.12	0.07
3	PBS	양성	양성	음성	0.49	0.34	0.11	0.12
4	PBS	양성	양성	양성	0.14	0.18	0.07	0.09
5	ISIS 141923	양성	양성	음성	0.44	0.29	0.14	0.08
6	ISIS 482584	양성	음성	음성	0.27	0.30	0.07	0.14
7	ISIS 482584	양성	양성	음성	0.21	0.34	0.07	0.06

[2283]

[2284] 고농도 키니노젠 (HMWK)의 정량화

[2285] 혈액 샘플로부터의 HMWK 웨스턴 블랏 정량화는 도 1에 제시된다.

[2286] 도 1에 보여지는 바와 같이, 그룹 1 및 2로부터의 샘플은, 그룹 6 및 7과 비교하여 낮은 수준의 HMWK를 가지며, 이는 혈관 투과성이 그룹 6 및 7에서 역전된다는 것을 나타낸다. 도 1에 보여지는 바와 같이, 그룹 1 및 2로부터의 샘플은, 그룹 6 및 7과 비교하여 증가된 HMWK 절단 생성물을 갖는다. 따라서, HMWK의 부족은 HMWK에서 절단 생성물로의 PKK 절단에 의하여 야기된다 (브라디키닌 및 HKa 포함).

[2287] 실시예 125: 마우스에서의 기초 투과성 및 캡토프릴-유도된 투과성 상에서의 뮤린 PKK의 안티센스 억제의 생체 내 효과

[2288] 기초 투과성은 천연, 비처리 마우스의 조직 내에서 발생하는 혈관 투과성의 수준이다. 혈관 투과성의 예방에서의, 기초의 또는 캡토프릴-유도된, ISIS 482584의 효과를 평가하였다.

[2289] 치료

[2290] 이러한 검정에 대한 다양한 처리 그룹은 표 184에 제시된다.

[2291] 8마리의 마우스로 구성된 그룹 1을 PBS로 4주간 일주일에 2회 피하 투여하여 처리하였다. 혈관 투과성의 기초 수준을 측정하기 위한 대조군 그룹의 역할을 하는 그룹 1에는 다른 처리는 투여하지 않았다.

[2292] 8마리의 마우스로 구성된 그룹 2을 PBS로 4주간 일주일에 2회 피하 투여하여 처리하였다. 처리 종료 시에, 마우스에 캡토프릴 20 µg을 복강내 투여하였다. 그룹 2는 캡토프릴-유도된 혈관 투과성에 대해 PBS 대조군으로서 역할을 하였다.

[2293] 8마리의 마우스로 구성된 그룹 3을 PBS로 4주간 일주일에 2회 피하 투여하여 처리하였다. 처리 기간 종료 시에, 마우스에 HOE-140 30 µg을 복강내 투여하였다. 그룹 3은 기초 혈관 투과성의 억제에 대한 양성 대조군으로서 역할을 하였다.

[2294] 8마리의 마우스로 구성된 그룹 4을 PBS로 4주간 일주일에 2회 피하 투여하여 처리하였다. 처리 종료 시에, 마우스에 캡토프릴 20 µg을 복강내 투여하였다. 마우스에 HOE-140 30 µg을 복강내 투여하였다. 그룹 4는 캡토프릴-유도된 혈관 투과성의 억제에 대해 양성 대조군으로서 역할을 하였다.

[2295] 8마리의 마우스로 구성된 그룹 5를 40 mg/kg의 ISIS 482584로 4주간 일주일에 2회 피하 투여하여 처리하였다. 그룹 5는 기초 혈관 투과성에 대한 ISIS 482584의 효과를 관찰하기 위한 실험적 처리 그룹으로서 작용하였다.

[2296] 8마리의 마우스로 구성된 그룹 6를 40 mg/kg의 ISIS 482584로 4주간 일주일에 2회 피하 투여하여 처리하였다. 처리 종료 시에, 마우스에 캡토프릴 20 µg을 복강내 투여하였다. 그룹 6은 캡토프릴-유도된 혈관 투과성에 대한 ISIS 482584의 효과를 관찰하기 위한 실험적 처리 그룹으로서 작용하였다.

[2297] 모든 그룹에 이후 30 mg/kg의 에반스 블루(Evans Blue) 용액을 주사하였다. 마우스를 에반스 블루 용액 투여 이후 30분제에 희생시키고, 결장, 족부, 귀, 및 장을 수확하였다.

[2298] 표 184

[2299] 처리 그룹

그룹 번호	처리	캡토프릴	HOE-140
1. (N=8)	PBS	음성	음성
2. (N=8)	PBS	양성	음성
3. (N=8)	PBS	음성	양성
4. (N=8)	PBS	양성	양성
5. (N=8)	ISIS 482584	음성	음성
6. (N=8)	ISIS 482584	양성	음성

[2300]

[2301] 혈관 투과성의 정량화

[2302] 족부, 결장, 귀, 및 장으로부터 수확된 조직은 포름아미드 용액에 분리하여 밤새 두어 에반스 블루 염료로 침출하였다. 귀 및 족부 조직을 함유하는 포름아미드를 55⁰C까지 가열하고 밤새 두었다. 염료-주입된 포름아미드 용액의 색 강도를 이후 OD_{600nm}에서 측정하였고, 이는 표 185에 제시된다. 혈관부종의 임의의 발현을 보여주는 마우스는 더욱 많은 염료를 흡수하고, 그러므로 높은 OD 값을 나타낸다.

[2303] 표 185에 제시된 바와 같이, ISIS 482584로 처리된 마우스는 PBS 대조군과 비교하여 감소된 기초 혈관 투과성을 나타냈다 (그룹 5 대 그룹 1). ISIS 482584로의 처리에 의한 기초 혈관 투과성 감소는 HOE-140로의 처리에 의하여 야기된 것 (양성 대조군으로서 역할을 한 그룹 3)과 비교가능하였다. ISIS 482584로 처리된 마우스는 PBS 대조군과 비교하여 대부분 조직에서 감소된 캡토프릴-유도된 혈관 투과성을 나타냈다 (그룹 6 대 그룹 2). ISIS 482584로의 처리에 의한 캡토프릴-유도된 혈관 투과성 감소는 HOE-140로의 처리에 의하여 야기된 것 (양성 대조군으로서 역할을 한 그룹 4)과 비교가능하였다.

[2304] 표 185

[2305] 혈관 투과성을 측정하는 에반스 블루 염료의 OD_{600nm}

그룹 번호	처리	캡토프릴	HOE-140	결장	족부	창자	귀
1	PBS	음성	음성	0.27	0.08	0.23	0.06
2	PBS	양성	음성	0.61	0.08	0.24	0.01
3	PBS	음성	양성	0.18	0.06	0.21	0.03
4	PBS	양성	양성	0.29	0.03	0.14	0.00
5	ISIS 482584	음성	음성	0.19	0.07	0.22	0.04
6	ISIS 482584	양성	음성	0.37	0.05	0.22	0.00

[2306]

[2307] 실시예 126: 캡토프릴-유도된 혈관 투과성에 대한 류린 PKK의 안티센스 억제제의 용량-의존적 효과

[2308] 캡토프릴-유도된 혈관 투과성에 대한 ISIS 482584의 다양한 용량의 효과를 평가하였다.

[2309] 치료

[2310] 이러한 검정에 대한 다양한 처리 그룹은 표 186에 제시된다.

[2311] 4마리의 마우스로 구성된 그룹 1을 PBS로 3주간 일주일에 2회 피하 투여하여 처리하였다. 혈관 투과성의 기초 수준을 측정하기 위한 대조군 그룹의 역할을 하는 그룹 1에는 다른 처리는 투여하지 않았다.

[2312] 8마리의 마우스로 구성된 그룹 2을 PBS로 3주간 일주일에 2회 피하 투여하여 처리하였다. 처리 종료 시에, 마우스에 캡토프릴 20 µg을 복강내 투여하였다. 그룹 2는 캡토프릴-유도된 혈관 투과성에 대한 대조군으로서 역할을 하였다.

[2313] 4마리의 마우스로 구성된 그룹 3을 PBS로 3주간 일주일에 2회 피하 투여하여 처리하였다. 처리 종료 시에, 마우스에 캡토프릴 20 µg을 복강내 투여하였다. 또한, 마우스에 이카티벤트(HOE-140) 30 µg을 복강내 투여하였다.

그룹 4는 캅토프릴-유도된 혈관 투과성의 억제에 대해 양성 대조군으로서 역할을 하였다.

그룹 4, 5, 6, 7, 8, 및 9는 8마리의 마우스로 구성되었고, 2.5 mg/kg, 5 mg/kg, 10 mg/kg, 20 mg/kg, 40 mg/kg, 또는 80 mg/kg로 (주당 5 mg/kg, 10 mg/kg, 20 mg/kg, 40 mg/kg, 80 mg/kg, 또는 160 mg/kg에 상응하여) 처리하였고, 각각 ISIS 482584로 3주간 일주일에 2회 피하 투여하여 처리하였다. 처리 기간 종료 시에, 모든 그룹의 마우스에 캅토프릴 20 µg을 복강내 투여하였다. 그룹 4-9는 캅토프릴-유도된 혈관 투과성에 대한 ISIS 482584의 효과를 관찰하기 위한 실험적 처리 그룹으로서 작용하였다.

모든 그룹에 이후 30 mg/kg의 에반스 블루(Evans Blue) 용액을 꼬리 정맥으로 주사하였다. 마우스를 에반스 블루 용액 투여 이후 30분째에 희생시키고, 결장, 족부, 귀, 및 장을 수확하였다. 혈액 샘플을 심장 천자(cardiac puncture)를 통하여 채취하였다.

표 186

처리 그룹

그룹 번호	처리	투여량 (mg/kg/주)	캅토프릴	HOE-140
1. (N=4)	PBS	-	음성	음성
2. (N=8)	PBS	-	양성	음성
3. (N=4)	PBS	-	양성	양성

4. (N=8)	ISIS 482584	160	양성	음성
5. (N=8)	ISIS 482584	80	양성	음성
6. (N=8)	ISIS 482584	40	양성	음성
7. (N=8)	ISIS 482584	20	양성	음성
8. (N=8)	ISIS 482584	10	양성	음성
9. (N=8)	ISIS 482584	5	양성	음성

혈관 투과성의 정량화

수확된 조직은 포름아미드 용액에 분리하여 밤새 두어 에반스 블루 염료로 침출하였다. 귀 및 족부 조직을 함유하는 포름아미드를 55℃까지 가열하고 밤새 두었다. 염료-주입된 포름아미드 용액의 색 강도를 이후 OD_{600nm}에서 측정하였고, 이는 표 187에 제시된다. 혈관부종의 임의의 발현을 보여주는 마우스는 더욱 많은 염료를 흡수하고, 그러므로 높은 OD 값을 나타낸다.

표 187에 제시된 바와 같이, 더 높은 농도의 ISIS 482584로 처리된 마우스(그룹 4, 5, 및 6)는 PBS 대조군 (그룹 2)과 비교하여 감소된 수준의 캅토프릴-유도된 혈관 투과성을 나타냈다 (그룹 2). 이러한 처리 그룹 (그룹 4 및 5)의 마우스 내 혈관 투과성 감소는 HOE-140로 처리된 마우스 (그룹 3) 내 뿐만 아니라 기초 혈관 투과성의 기초 수준과 (그룹 1에서 나타난 바와 같이) 비교가능하였다.

표 187

[2324] 혈관 투과성을 측정하는 에반스 블루 염료의 OD_{600nm}

그룹 번호	처리	투여량 (mg/kg)	캡토프릴	HOE- 140	결장	죽부	창자	귀
1	PBS	-	음성	음성	0.16	0.07	0.13	0.01
2	PBS	-	양성	음성	0.39	0.12	0.18	0.07
3	PBS	-	양성	양성	0.15	0.03	0.10	0.04
4	ISIS 482584	160	양성	음성	0.26	0.10	0.15	0.05
5	ISIS 482584	80	양성	음성	0.21	0.04	0.17	0.03
6	ISIS 482584	40	양성	음성	0.36	0.10	0.20	0.05
7	ISIS 482584	20	양성	음성	0.40	0.11	0.20	0.07
8	ISIS 482584	10	양성	음성	0.41	0.10	0.19	0.05
9	ISIS 482584	5	양성	음성	0.41	0.10	0.17	0.05

[2325]

[2326] 혈관 유출의 정량화

[2327] 심장 천자를 통해 건인된 혈액을 얼음처럼 차가운 에탄올의 용적에 3배로 즉시 혼합하였다. 용액을 20분 동안 15,000g, 4⁰C에서 원심분리시켜서 세포 파편 및 침전된 혈장 단백질을 제거하였다. 에탄올 추출물을 추가로 10 kDa MWC0 필터를 통하여 한외여과기로 정제하였다. 에탄올 추출된 혈장 용액의 색 강도를 이후 OD_{620nm}에서 측정하였다. 표 188에서 제공된 결과는 그룹 1 PBS 대조군의 OD 값의 증가율 또는 감소율로서 제시된다. 혈관부종의 발현을 보여주는 마우스로부터의 조직은 혈장으로부터 더욱 많은 염료를 흡수할 것이고, 그러므로 높은 OD 값을 나타낼 것이며, 반면 처리 그룹은 감소된 혈관 유출로 인하여 더 높은 OD 값을 보여줄 것으로 기대된다. ISIS 482584를 160 mg/kg/주 및 80 mg/kg/주로 처리한 마우스 (그룹 4 및 5)는 캡토프릴로 처리한 PBS 음성 대조군 (그룹 2)와 비교하여 더 적은 혈관 유출을 나타냈다. 그룹 4 및 5로부터의 결과는 HOE-140로 처리한 양성 대조군 (그룹 3)과 비교가능하였다.

[2328] 표 188

[2329] 혈관 유출을 측정하기 위한 PBS 기초 대조군과 비교한 에반스 블루 염료의 OD_{620nm}의 백분율

그룹 번호	처리	투여량 (mg/kg)	캡토프릴	HOE- 140	혈장
2	PBS	-	양성	음성	-43
3	PBS	-	양성	양성	5
4	ISIS 482584	160	양성	음성	91
5	ISIS 482584	80	양성	음성	40
6	ISIS 482584	40	양성	음성	-31
7	ISIS 482584	20	양성	음성	-26
8	ISIS 482584	10	양성	음성	-20
9	ISIS 482584	5	양성	음성	-23

[2330]

[2331] 실시예 127: 마우스 내 기초 투과성에 대한 류틴 PKK의 안티센스 억제제의 용량-의존적 효과

[2332] 기초 혈관 투과성에 대한 ISIS 482584의 다양한 용량의 효과를 평가하였다.

[2333] 치료

[2334] 이러한 검정에 대한 다양한 처리 그룹은 표 189에 제시된다.

[2335] 8마리의 마우스로 구성된 그룹 1을 PBS로 3주간 일주일에 2회 피하 투여하여 처리하였다. 혈관 투과성의 기초 수준을 측정하기 위한 대조군 그룹의 역할을 하는 그룹 1에는 다른 처리는 투여하지 않았다.

[2336] 4마리의 마우스로 구성된 그룹 2을 PBS로 3주간 일주일에 2회 피하 투여하여 처리하였다. 처리 기간 종료 시에, 마우스에 HOE-140 30 µg을 복강내 투여하였다. 그룹 2은 기초 혈관 투과성의 억제에 대한 양성 대조군으로서 역할을 하였다.

[2337] 그룹 3, 4, 5, 6, 7, 및 8는 8마리의 마우스로 구성되었고, 2.5 mg/kg, 5 mg/kg, 10 mg/kg, 20 mg/kg, 40 mg/kg, 또는 80 mg/kg로 (주당 5 mg/kg, 10 mg/kg, 20 mg/kg, 40 mg/kg, 80 mg/kg, 또는 160 mg/kg에 상응하여) 처리하였고, 각각 ISIS 482584로 3주간 일주일에 2회 피하 투여하여 처리하였다. 그룹 4-9는 기저 혈관 투과성에 대한 ISIS 482584의 효과를 관찰하기 위한 실험적 처리 그룹으로서 작용하였다.

[2338] 모든 그룹에 이후 30 mg/kg의 에반스 블루(Evans Blue) 용액을 꼬리 정맥으로 주사하였다. 마우스를 에반스 블루 용액 투여 이후 30분째에 희생시키고, 결장, 족부, 귀, 및 장을 수확하였고 투과성 결함에 대하여 관찰하였다. 혈액 샘플을 심장 천자(cardiac puncture)를 통하여 채취하였다.

[2339] 표 189

[2340] 처치 그룹

그룹 번호	처리	투여량 (mg/kg/주)	HOE-140
1. (N=8)	PBS	-	음성
2. (N=4)	PBS	-	양성
3. (N=8)	ISIS 482584	160	음성
4. (N=8)	ISIS 482584	80	음성
5. (N=8)	ISIS 482584	40	음성
6. (N=8)	ISIS 482584	20	음성
7. (N=8)	ISIS 482584	10	음성
8. (N=8)	ISIS 482584	5	음성

[2341]

[2342] 혈관 투과성의 정량화

[2343] 족부, 결장, 귀, 및 장으로부터 수확된 조직은 포름아미드 용액에 분리하여 밤새 두어 에반스 블루 염료로 침출하였다. 귀 및 족부 조직을 함유하는 포름아미드를 55°C까지 가열하고 밤새 두었다. 염료-주입된 포름아미드 용액의 색 강도를 이후 OD_{600nm}에서 측정하였고, 이는 표 190에 제시된다. 더 높은 OD 값은 투과성의 더 높은 수준과 연관된다.

[2344] 표 190에 제시된 바와 같이, 모든 용량에서의 ISIS 482584로 처리된 마우스의 대부분의 조직 (그룹 3-8)은 PBS 대조군과 비교하여 감소된 기초 혈관 투과성을 나타냈다 (그룹 1). ISIS 올리고뉴클레오티드-처리된 그룹의 기초 혈관 투과성 감소는 HOE-140로 처리된 양성 대조군 내 나타난 동등한 것과 비교가능하였다 (그룹 2).

[2345] 표 190

[2346] 혈관 투과성을 측정하는 에반스 블루 염료의 OD_{600nm}

그룹 번호	처리	투여량 (mg/kg/주)	HOE-140	결장	족부	귀
1	PBS	-	음성	0.27	0.17	0.013
2	PBS	-	양성	0.24	0.09	0.047
3	ISIS 482584	160	음성	0.25	0.11	0.019
4	ISIS 482584	80	음성	0.24	0.09	0.014
5	ISIS 482584	40	음성	0.27	0.11	0.011
6	ISIS 482584	20	음성	0.26	0.11	0.009
7	ISIS 482584	10	음성	0.31	0.10	0.015
8	ISIS 482584	5	음성	0.32	0.11	0.009

[2347]

[2348] 혈관 유출의 정량화

[2349] 심장 천자를 통해 건인된 혈액을 얼음처럼 차가운 에탄올의 용적에 3배로 즉시 혼합하였다. 용액을 20분 동안

15,000g, 4°C에서 원심분리시켜서 세포 파편 및 침전된 혈장 단백질을 제거하였다. 에탄올 추출물을 추가로 10 kDa MWCO 필터를 통하여 한외여과기로 정제하였다. 에탄올 추출된 혈장 용액의 색 강도를 이후 OD_{620nm}에서 측정하였다. 표 191에서 제공된 결과는 그룹 1 PBS 대조군의 OD 값의 증가율 또는 감소율로서 제시된다. 처리 그룹은 감소된 혈관 유출로 인하여 더 높은 OD 값을 보여줄 것으로 기대된다. ISIS 올리고뉴클레오티드-처리된 그룹 내의 모든 마우스는 PBS 음성 대조군과 비교하여 뚜렷하게 감소된 혈관 유출을 나타냈다.

표 191

혈관 유출을 측정하기 위한 PBS 기초 대조군과 비교한 에반스 블루 염료의 OD_{620nm}의 백분율

그룹 번호	처리	투여량 (mg/kg/주)	HOE-140	혈장
2. (N=8)	ISIS 482584	160	음성	95
3. (N=8)	ISIS 482584	80	음성	93
4. (N=8)	ISIS 482584	40	음성	83
5. (N=8)	ISIS 482584	20	음성	56
6. (N=8)	ISIS 482584	10	음성	36

고농도 키니노젠 (HMWK)의 정량화

혈액 샘플로부터의 HMWK 웨스턴 블랏 정량화는 도 2 및 표 192 및 193에 제시된다.

표 192에 나타난 바와 같이, 482584로 처리된 그룹은 용량-의존 방식에서 PBS 대조군과 비교하여 더 높은 수준의 HMWK를 갖는다. PKK 안티센스 올리고뉴클레오티드로의 처리는 HMWK의 안정화를 초래한다. 따라서, 혈관 투과성은 용량-의존 방식에서 ISIS 482584-처리된 그룹 내에서 감소한다. 표 193에 나타난 바와 같이, ISIS 482584로 처리된 그룹은 용량-의존 방식에서 감소하는, PBS 대조군과 비교하여 더 적은 HMWK 절단 생성물을 갖는다. 따라서, 감소된 HMWK는 HMWK에서 절단 생성물로의 PKK 절단에 의하여 야기된다 (브라디키닌 및 HKa 포함). 데이터는 덴시토미터(densitometer)에 의해 측정된 강도 단위로 제시된다.

표 192

덴시토미터에 의한 HMWK의 정량화

그룹 번호	처리	투여량 (mg/kg/주)	강도 단위
1	PBS	-	89
3	ISIS 482584	160	21358
4	ISIS 482584	80	7279
5	ISIS 482584	40	873
6	ISIS 482584	20	608
7	ISIS 482584	10	507

표 193

덴시토미터에 의한 HMWK 절단의 정량화

그룹 번호	처리	투여량 (mg/kg/주)	강도 단위
1	PBS	-	401738
3	ISIS 482584	160	19936
4	ISIS 482584	80	204482
5	ISIS 482584	40	388135
6	ISIS 482584	20	403360
7	ISIS 482584	10	414774

[2362] 실시예 128: 마우스내 캅토프릴-유도된 혈관 투과성에 대한 PKK 및 인자 12를 표적화하는 안티센스 올리고뉴클레오타이드의 조합 요법

[2363] 마우스에 인자 12를 표적화하는 5-10-5 MOE 갭머, ISIS 410944 (GCATGGGACAGAGATGGTGC; 서열 번호: 2247), 및 캅토프릴-유도된 혈관 투과성 모델 내의 ISIS 482584를 다양한 용량으로 처리하였다.

[2364] 치료

[2365] 이러한 검정에 대한 다양한 처리 그룹은 표 194에 제시된다.

[2366] 4마리의 마우스로 구성된 그룹 1을 PBS로 3주간 일주일에 2회 피하 투여하여 처리하였다. 혈관 투과성의 기초 수준을 측정하기 위한 대조군 그룹의 역할을 하는 그룹 1에는 다른 처리는 투여하지 않았다.

[2367] 8마리의 마우스로 구성된 그룹 2을 PBS로 3주간 일주일에 2회 피하 투여하여 처리하였다. 처리 종료 시에, 마우스에 캅토프릴 20 µg을 복강내 투여하였다. 그룹 2는 캅토프릴-유도된 혈관 투과성에 대한 대조군으로서 역할을 하였다.

[2368] 4마리의 마우스로 구성된 그룹 3을 PBS로 3주간 일주일에 2회 피하 투여하여 처리하였다. 처리 종료 시에, 마우스에 캅토프릴 20 µg을 복강내 투여하였다. 마우스에 HOE-140 30 µg을 복강내 투여하였다. 그룹 3는 캅토프릴-유도된 혈관 투과성의 억제에 대해 양성 대조군으로서 역할을 하였다.

[2369] 그룹 4, 5, 6, 7, 및 8은 8마리의 마우스로 구성되었고, 2.5 mg/kg, 5 mg/kg, 10 mg/kg, 20 mg/kg, 또는 40 mg/kg으로 (주당 5 mg/kg, 10 mg/kg, 20 mg/kg, 40 mg/kg, 또는 80 mg/kg에 상응하여)처리하였고, 각각 ISIS 482584 및 ISIS 410944으로 3주간 일주일에 2회 피하 투여하여 처리하였다. 처리 종료 시에, 모든 그룹의 마우스에 캅토프릴 20 µg을 복강내 투여하였다. 그룹 4-8은 캅토프릴-유도된 혈관 투과성에 대한 ISIS 410944 및 ISIS 482584의 효과를 관찰하기 위한 실험적 처리 그룹으로서 작용하였다.

[2370] 모든 그룹에 이후 30 mg/kg의 에반스 블루(Evans Blue) 용액을 꼬리 정맥으로 주사하였다. 마우스를 에반스 블루 용액 투여 이후 30분째에 희생시키고, 결장, 족부, 귀, 및 장을 수확하였다.

[2371] 표 194

[2372] 처리 그룹

그룹 번호	처리	각 ASO의 투여량 (mg/kg/주)	캅토프릴	HOE-140
1. (N=4)	PBS	-	음성	음성
2. (N=8)	PBS	-	양성	음성
3. (N=4)	PBS	-	양성	양성
4. (N=8)	ISIS 482584+ISIS 410944	80	양성	음성
5. (N=8)	ISIS 482584+ISIS 410944	40	양성	음성

[2373]

6. (N=8)	ISIS 482584+ISIS 410944	20	양성	음성
7. (N=8)	ISIS 482584+ISIS 410944	10	양성	음성
8. (N=8)	ISIS 482584+ISIS 410944	5	양성	음성

[2374]

[2375] 혈관 투과성의 정량화

[2376] 족부, 결장, 귀, 및 장으로부터 수확된 조직은 포름아미드 용액에 분리하여 밤새 두어 에반스 블루 염료로 침출하였다. 귀 및 족부 조직을 함유하는 포름아미드를 55°C까지 가열하고 밤새 두었다. 염료-주입된 포름아미드 용

액의 색 강도를 이후 OD_{600nm}에서 측정하였고, 이는 표 195에 제시된다. 더 높은 OD 값은 투과성의 더 높은 수준과 연관된다.

표 195에 제시된 바와 같이, 모든 용량에서의 ISIS 482584 및 ISIS 410944의 조합으로 처리된 마우스의 대부분의 조직 (그룹 3-8)은 PBS 대조군과 비교하여 감소된 혈관 투과성을 나타냈다 (그룹 1). ISIS 올리고뉴클레오티드-처리된 그룹의 혈관 투과성 감소는 기초 PBS 대조군 (그룹 1), 뿐만 아니라 HOE-140로 처리된 양성 대조군 내 나타난 동등한 것과 비교가능하였다 (그룹 2). PKK 및 인자 12 안티센스 올리고뉴클레오티드의 조합은 투과성의 상승작용적 감소를 초래한다. 예상한 바와 같이, 혈관 유출의 상응하는 상승작용적 감소 또한 관찰되었다.

표 195

혈관 투과성을 측정하는 에반스 블루 염료의 OD_{600nm}

그룹 번호	처리	각 ASO의 투여량 (mg/kg/주)	캡토프릴	HOE-140	결장	족부	창자	귀
1	PBS	-	음성	음성	0.24	0.11	0.13	0.01
2	PBS	-	양성	음성	0.38	0.15	0.11	0.05
3	PBS	-	양성	양성	0.23	0.06	0.15	0.04
4	ISIS 482584+ISIS 410944	80	양성	음성	0.19	0.07	0.11	0.04
5	ISIS 482584+ISIS 410944	40	양성	음성	0.19	0.07	0.12	0.03
6	ISIS 482584+ISIS 410944	20	양성	음성	0.22	0.08	0.12	0.04
7	ISIS 482584+ISIS 410944	10	양성	음성	0.38	0.13	0.13	0.05
8	ISIS 482584+ISIS 410944	5	양성	음성	0.53	0.12	0.13	0.03

실시예 129: 마우스내 기초 투과성에 대한 PKK 및 인자 12를 표적화하는 안티센스 올리고뉴클레오티드의 조합요법

기초 혈관 투과성 모델에서 마우스에 ISIS 410944, 인자 12 및 ISIS 482584를 표적화하는 안티센스 올리고뉴클레오티드를 다양한 용량으로 처리하였다.

치료

이러한 검정에 대한 다양한 처리 그룹은 표 196에 제시된다.

8마리의 마우스로 구성된 그룹 1을 PBS로 3주간 일주일에 2회 피하 투여하여 처리하였다. 혈관 투과성의 기초 수준을 측정하기 위한 대조군 그룹의 역할을 하는 그룹 1에는 다른 처리는 투여하지 않았다.

4마리의 마우스로 구성된 그룹 2을 PBS로 3주간 일주일에 2회 피하 투여하여 처리하였다. 처리 기간 종료 시에, 마우스에 HOE-140 30 µg을 복강내 투여하였다. 그룹 2은 기초 혈관 투과성의 억제에 대한 양성 대조군으로서 역할을 하였다.

그룹 3, 4, 5, 6, 및 7은 8마리의 마우스로 구성되었고, 2.5 mg/kg, 5 mg/kg, 10 mg/kg, 20 mg/kg, 또는 40 mg/kg으로 (주당 5 mg/kg, 10 mg/kg, 20 mg/kg, 40 mg/kg, 또는 80 mg/kg에 상응하여) 처리하였고, 각각 ISIS 482584 및 ISIS 410944으로 3주간 일주일에 2회 피하 투여하여 처리하였다. 그룹 3-7은 캡토프릴-유도된 혈관 투과성에 대한 ISIS 410944 및 ISIS 482584의 효과를 관찰하기 위한 실험적 처리 그룹으로서 작용하였다.

모든 그룹에 이후 30 mg/kg의 에반스 블루(Evans Blue) 용액을 꼬리 정맥으로 주사하였다. 마우스를 에반스 블루 용액 투여 이후 30분째에 희생시키고, 결장, 족부, 귀, 및 장을 수확하였다.

[2390] 표 196

[2391] 처치 그룹

그룹 번호	처리	투여량 (mg/kg/주)	HOE-140
1. (N=8)	PBS	-	음성
2. (N=4)	PBS	-	양성
3. (N=8)	ISIS 482584+ISIS 410944	80	음성
4. (N=8)	ISIS 482584+ISIS 410944	40	음성

[2392]

5. (N=8)	ISIS 482584+ISIS 410944	20	음성
6. (N=8)	ISIS 482584+ISIS 410944	10	음성
7. (N=8)	ISIS 482584+ISIS 410944	5	음성

[2393]

[2394] 혈관 투과성의 정량화

[2395] 족부, 결장, 장, 및 귀로부터 수확된 조직은 포름아미드 용액에 분리하여 밤새 두어 에반스 블루 염료로 침출하였다. 귀 및 족부 조직을 함유하는 포름아미드를 55⁰C까지 가열하고 밤새 두었다. 염료-주입된 포름아미드 용액의 색 강도를 이후 OD_{600nm}에서 측정하였고, 이는 표 197에 제시된다. 더 높은 OD 값은 투과성의 더 높은 수준과 연관된다.

[2396] 표 197에 제시된 바와 같이, 모든 용량에서의 ISIS 482584 및 ISIS 410944의 조합으로 처리된 마우스의 대부분의 조직 (그룹 2-7)은 PBS 대조군과 비교하여 감소된 혈관 투과성을 나타냈다 (그룹 1). ISIS 올리고뉴클레오티드-처리된 그룹의 혈관 투과성 감소는 HOE-140로 처리된 양성 대조군 내 나타난 동등한 것과 비교가능하였다 (그룹 2). PKK 및 인자 12 안티센스 올리고뉴클레오티드의 조합은 투과성의 상승작용적 감소를 초래한다. 예상한 바와 같이, 혈관 유출의 상응하는 상승작용적 감소 또한 관찰되었다.

[2397] 표 197

[2398] 혈관 투과성을 측정하는 에반스 블루 염료의 OD_{600nm}

그룹 번호	처리	투여량 (mg/kg/주)	HOE-140	결장	족부	창자	귀
1	PBS	-	음성	0.19	0.08	0.10	0.004
2	PBS	-	양성	0.14	0.04	0.08	0.008
3	ISIS 482584+ISIS 410944	80	음성	0.14	0.04	0.09	0.01
4	ISIS 482584+ISIS 410944	40	음성	0.15	0.05	0.10	0.006
5	ISIS 482584+ISIS 410944	20	음성	0.15	0.04	0.10	0.007
6	ISIS 482584+ISIS 410944	10	음성	0.15	0.06	0.10	0.004
7	ISIS 482584+ISIS 410944	5	음성	0.14	0.05	0.13	0.002

[2399]

[2400] 실시예 130: ISIS 482584에 의한 인자 12 단백질 활성의 억제

[2401] 인자 12 단백질 활성에 대한 PKK mRNA의 안티센스 억제 효과를 평가하였다.

[2402] 치료

[2403] 이러한 검정에 대한 다양한 처리 그룹은 표 198에 제시된다.

[2404] 8마리의 마우스로 구성된 그룹 1을 PBS로 3주간 일주일에 2회 피하 투여하여 처리하였다. 인자 12 활성을 측정하기 위한 대조군 그룹의 역할을 하는 그룹 1에는 다른 처리는 투여하지 않았다.

[2405] 그룹 2, 3, 4, 5, 및 6은 8마리의 마우스로 구성되었고, 2.5 mg/kg, 5 mg/kg, 10 mg/kg, 20 mg/kg, 또는 40 mg/kg으로 (주당 5 mg/kg, 10 mg/kg, 20 mg/kg, 40 mg/kg, 또는 80 mg/kg에 상응하여) 처리하였고, ISIS 482584를 3주간 일주일에 2회 피하 투여하여 처리하였다. 그룹 2-6은 인자 12 활성에 대한 ISIS 482584의 효과를 측정하기 위한 실험적 처리 그룹으로서 작용하였다.

[2406] 처리 기간 종료 시에, 혈장 내 인자 12에 대한 스펙트로자임(Spectrozyme)® 인자 12a 기반 아미도리티틱(amidolytic) 검정을 위하여 마우스로부터 혈장을 수집하였다.

[2407] 표 198

[2408] 처리 그룹

그룹 번호	처리	투여량 (mg/kg/주)
1. (N=8)	PBS	-
2. (N=8)	ISIS 482584	80
3. (N=8)	ISIS 482584	40
4. (N=8)	ISIS 482584	20
5. (N=8)	ISIS 482584	10
6. (N=8)	ISIS 482584	5

[2409]

혈장 내 인자 12 활성에 대한 검정

[2410]

[2411] 혈장 (5 μ L)을 96 웰 폴리프로펜렌 마이크로플레이트 내에 1 μ g/ml 텍스트란 황산 (500kDa)을 갖는 85 μ L의 PBS에 부가하였고, 용액을 실온에서 5분간 인큐베이션하였다. 스펙트로자임(Spectrozyme)® FXIIa (10 μ L의 2 mM 용액) 및 0.2 mM KALLISTOP™ 용액을 부가하였고, 흡광 역학은 405nm에서 측정되었다. 인자 12 활성은 흡광 누적의 선형 단계에서 측정되었다. 결과는 PBS 대조군 샘플내 측정된 인자 12 활성의 백분율로 표 199에 제시된다. 표 199에 관찰된 바와 같이, ISIS 482584에 의한 PKK의 억제는 그의 기질에 의하여 인자 12의 감소된 활성을 초래하며, 이는 PKK가 적절한 인자 12 활성을 위하여 요구된다는 것을 나타낸다.

[2412] 표 199

[2413] PBS 대조군과 비교한 인자 12 활성 백분율

투여량 (mg/kg/주)	F12 활성화 %
80	14
40	24
20	47
10	63
5	82

[2414]

[2415] 실시예 131: C1-INH 안티센스 올리고뉴클레오티드-유도된 혈관 투과성에 대한 뮤린 PKK 안티센스 억제의 생체내 효과

[2416] 혈관 투과성은 ISIS 461756, 뮤린 C1 억제제 mRNA를 표적화하는 안티센스 올리고뉴클레오티드로의 처리로 유도되고, 이는 마우스에서 혈관 투과성을 증가시키고, 유전성 혈관부종의 병리학을 복제한다. 본 모델에서의 ISIS 482584의 다양한 용량의 효과를 평가하였다.

[2417] 치료

[2418] 8마리의 마우스로 구성된 하나의 그룹에 40 mg/kg의 ISIS 482584로 3주간 일주일에 2회 피하 투여하여 처리하였다 (주간 용량: 80 mg/kg). 8마리의 마우스로 구성된 제2 그룹에 40 mg/kg의 대조군 올리고뉴클레오타이드, ISIS 141923로 3주간 일주일에 2회 피하 투여하여 처리하였다 (주간 용량: 80 mg/kg). 8마리의 마우스로 구성된 제3 그룹에 PBS를 처리하였고, 이를 피하로 3주간 일주일에 2회 투여하였다. 14일째에, 모든 그룹에 12.5 mg/kg의 ISIS 461756로 3주간 일주일에 2회 피하 투여하여 처리하였다 (주간 용량: 25 mg/kg). 마우스의 대조군에 PBS를 처리하였고, 이를 피하로 3주간 일주일에 2회 투여하였으나, ISIS 461756는 투여하지 않았다.

[2419] 처리 기간 종료 시에, 모든 그룹에 이후 30 mg/kg의 에반스 블루(Evans Blue) 용액을 꼬리 정맥으로 주사하였다. 마우스를 에반스 블루 용액 투여 이후 30분째에 희생시키고, 결장, 족부, 귀, 및 장을 수확하였다. 간을 또한 RNA 분석을 위하여 수집하였다.

[2420] RNA 분석

[2421] RNA를 C1-INH 및 PKK mRNA의 실시간 RT-PCR 분석을 위하여 간으로부터 단리하였다. C1-INH에 대한 프라이머 프로브 세트는 RTS3218 (정방향 서열 GAGTCCCCAGAGCCTACAGT, 서열 번호: 2234로 본원에서 지정됨; 역방향 서열 TGTCATTGTATTGTGATGGCTACA, 서열 번호: 2235로 본원에서 지정됨; 프로브 서열 CTGCCCTCTACCTGGCCAACAACCA, 서열 번호: 2236으로 본원에서 지정됨)이다. PKK에 대한 프라이머 프로브 세트는 RTS3287 (정방향 서열 ACAAGTGCATTTTACAGACCAGAGTAC, 서열 번호: 2237로 본원에서 지정됨; 역방향 서열 GGTGTCCGCTGACTTTATGCT, 서열 번호: 2238로 본원에서 지정됨; 프로브 서열 AAGCACAGTGAAGCGGAACACCC, 서열 번호: 2239로 본원에서 지정됨)이다. 결과는 ISIS 461756로 처리되지 않은 PBS 대조군과 비교한 억제 퍼센트로 표현되어 표 200에 제시된다. 데이터는 ISIS 461756가 C1-INH mRNA 발현을 뚜렷하게 감소시키고, ISIS 482584로의 처리가 PKK 발현을 뚜렷하게 감소시켰음을 나타내었다.

[2422] 표 200

[2423] 비처리된 PBS 대조군과 비교하여 ISIS 461756로 처리된 마우스 내 mRNA 발현의 억제 퍼센트

처리	C1-INH mRNA	PKK mRNA
PBS	76	0
ISIS 141923	79	0
ISIS 482584	77	78

[2424]

[2425] 혈관 투과성의 정량화

[2426] 족부, 결장, 및 장으로부터 수확된 조직은 포름아미드 용액에 분리하여 밤새 두어 에반스 블루 염료로 침출하였다. 족부 조직을 함유하는 포름아미드를 55°C까지 가열하고 밤새 두었다. 염료-주입된 포름아미드 용액의 색 강도를 이후 OD_{600nm}에서 측정하였다. 데이터는 ISIS 461756로 처리되지 않은 PBS 대조군과 비교한, 증가율 또는 감소율로서 표 201에 제시된다. 데이터는 ISIS 482584로의 처리가 ISIS 461756에 의하여 유도된 혈관 투과성을 예방한다는 것을 나타낸다.

[2427] 표 201

[2428] 비처리된 PBS 대조군과 비교한 ISIS 461756로 처리한 마우스 내 혈관 투과성의 % 변화

처리	결장	족부	창자
PBS	13	70	27
ISIS 141923	2	80	14
ISIS 482584	-23	2	-25

[2429]

[2430] 실시예 132: FeCl₃-유도된 하대정맥 혈전증 모델에서의 뮤린 PKK 안티센스 역제의 생체내 효과

[2431] PKK의 뚜렷한 시험관내 및 생체내 억제를 나타내었던 ISIS 482584를 FeCl₃-유도된 장간막 혈전증 마우스 모델에서 평가하였다.

[2432]

치료

[2433]

3개 그룹의 8마리 수컷 BALB/c 마우스를 각각 ISIS 482584 10 mg/kg, 20 mg/kg, 또는 40 mg/kg로 처리하고 3주간 일주일에 2회 피하 투여하였다 (주간 용량 20 mg/kg, 40 mg/kg, 또는 80 mg/kg). 12마리의 BALB/c 마우스의 2개 대조군을 각각 PBS로 처리하였고, 이를 피하로 3주간 일주일에 2회 투여하였다. 안티센스 올리고뉴클레오타이드 또는 PBS의 최종 투여 후 2일째에, 모든 그룹의 마우스에 10 mg/kg 자일라진과 혼합된 150mg/kg의 케타민으로 복강내 주사로 투여하여 마취시켰다. 제1 대조군 그룹을 제외하고, 마취된 마우스의 모든 그룹에서 혈전 형성은 FeCl_3 로 유도되었다.

[2434]

FeCl_3 처리를 경험하는 마우스에서, 혈전 형성은 대정맥 상에 직접적으로 10 % FeCl_3 용액으로 예비-포화된 여과지 (2 x 4 mm)를 인가함으로써 유도된다. 노출 후 3분째에, 여과지를 제거하였다. 여과지 인가 후 30분째에, 고정 길이의 혈전을 함유하는 혈관을 혈소판 분석을 위하여 해부하였다. 간을 RNA 분석을 위하여 수집하였다.

[2435]

혈소판 구성성분의 정량화

[2436]

혈소판 인자-4 (PF-4)의 실시간 PCR 정량화를 혈전 형성의 척도로서 대정맥내 혈소판을 정량화하는데 사용하였다. PF-4 mRNA 수준을 뮤린 프라이머 프로브 세트 mPF4_LTS_00086 (정방향 서열 AGACCCATTTCCTCAAGGTAGAACT, 서열 번호: 2240으로 본원에서 지정됨; 역방향 서열 CGCAGCGACGCTCATG, 서열 번호: 2241로 본원에서 지정됨; 프로브 서열 TCTTGGGTCCAGTGGCACCTCTT, 서열 번호: 2242로 본원에서 지정됨)을 사용하여 측정하였다. 결과는 2개의 PBS-처리된 대조군과 비교한 ISIS 올리고뉴클레오타이드-처리된 마우스내 PF-4 백분율로서 제시된다. 표 202에서 나타난 바와 같이, ISIS 482584로의 처리는 PBS 대조군과 비교하여 PF-4의 뚜렷한 감소를 초래하였다. 따라서, 본 발명에서 제공된 화합물에 의한 PKK 감소는 혈전 형성을 억제하는데 유용하다.

[2437]

표 202

[2438]

FeCl_3 유도된 정맥 혈전증 모델에서의 PF-4의 실시간 PCR 정량화에 의한 혈전 형성 분석

	투여량 (mg/kg/주)	PF-4
PBS- FeCl_3	-	0
PBS+ FeCl_3	-	100
ISIS 482584	20	62
	40	34
	80	25

[2439]

실시예 133: 꼬리 채혈 검정에서의 뮤린 PKK 안티센스 억제제의 생체내 효과

[2440]

꼬리-채혈을, ISIS 482584로의 처리가 마우스내 초과 출혈(bleeding) 또는 출혈(hemorrhage)을 야기하는지 관찰하기 위하여 측정하였다.

[2441]

치료

[2442]

10마리 수컷 BALB/c 마우스를 각각 ISIS 482584 10 mg/kg, 20 mg/kg, 또는 40 mg/kg로 처리하고 3주간 일주일에 2회 피하 투여하였다 (주간 용량 20 mg/kg, 40 mg/kg, 또는 80 mg/kg). 8마리 BALB/c 마우스의 대조군을 PBS로 처리하였고, 이를 피하로 3주간 일주일에 2회 투여하였다.

[2443]

꼬리-채혈 검정

[2444]

ISIS 올리고뉴클레오타이드 또는 PBS로의 최종 처리 후 2일째에, 마우스를 꼬리 채혈 챔버에 두었다. 마우스를 이소플루레인(isoflurane)으로 챔버내에서 마취시켰다. 이후, 꼬리의 작은 부분 (대략 끝에서 4mm)을 멸균 가위로 잘랐다. 잘려진 꼬리를 즉시 37°C로 데워진 약 10 mL의 0.9 % NaCl 완충액 용액으로 채워진 15 mL 펠콘(Falcon) 튜브에 두었다. 혈액을 40분 과정에 걸쳐 수집하였다. 염수가 채워진 튜브를 채혈 전, 후 모두 칭량하였다. 결과는 표 203에 제공된다.

[2445]

ISIS 482584에 의한 처리는 채혈에 대해 뚜렷한 영향을 미치지 않았다. 이러한 데이터는 본원에서 제공된 화합물의 출혈 가능성이 낮다는 것을 나타낸다. 실시예 19에서 제공된 결과와 함께, 이러한 데이터는 본원에 개시된 화합물로의 PKK 억제가 연관된 채혈 위험 없이 항-혈전성 활성을 제공하는데 유용하다는 것을 나타낸다.

[2446]

표 203

[2447]

[2448] ISIS 482584로의 처리 후 꼬리 채혈 검정

	투여량 (mg/kg/주)	채혈량 (mL)
PBS	-	0.03
ISIS 482584	20	0.03
	40	0.14
	80	0.07

[2449]

[2450] 실시예 134: FeCl_3 -유도된 장간막 혈전증 모델에서의 류린 PKK 안티센스 억제제의 생체내 효과

[2451] ISIS 482584를 FeCl_3 -유도된 장간막 혈전증 마우스 모델에서 평가하였다.

[2452] 치료

[2453] 6-8마리의 스위스-웹스터(Swiss-Webster) 마우스 그룹에 40 mg/kg의 ISIS 482584로 3주간 일주일에 2회 피하 투여하여 처리하였다 (주간 용량: 80 mg/kg). 6마리의 스위스-웹스터(Swiss-Webster) 마우스의 대조군을 PBS로 처리하였고, 이를 피하로 3주간 일주일에 2회 투여하였다. 안티센스 올리고뉴클레오타이드 또는 PBS의 최종 투여 후 2일째에, 모든 그룹의 마우스에 25 mg/kg 자일라진과 혼합된 75 mg/kg의 케타민으로 피하 주사로 투여하여 마취시켰다.

[2454] 로다민(Rhodamine) 6G 염료를 혈소판 염색을 위하여 5 mg/kg 용량으로 피하 주사하였다. Alexa-647-표지된 항-피브리노겐 항체를 피브린 염색을 위하여 꼬리 정맥을 통하여 1 mg/kg의 용량으로 주사하였다. 복부를 중앙선 절개를 이용해서 개방하였다. 내장 장간막을 유리 커버슬립(cover slip)에 도포하고, 장간막 소동맥 (70-120 μm)을 현미경 관찰 하에 위치시켰다. 혈전 형성은 표적 혈관 상에 직접적으로 6 % FeCl_3 용액으로 예비-포화된 면사(cotton thread) (2 x 0.3 mm)를 인가함으로써 유도된다. 노출 후 3분째에, 상기 면사를 제거하고 염료 양자의 색 각도를 형광 현미경(올림푸스 FluoView 1000 공초점 레이저 스캐닝 현미경)으로 70분간 적절한 필터와 함께 관찰하였다.

[2455] 대조군 및 처리 그룹 내의 혈소판 응집에 대한 결과는 표 204에 제시되며, 이는 비표준화 단위(arbitrary unit; a.u.)로 표현된다. 혈소판 응집은 PBS로 처리된 마우스와 비교하여 80 mg/kg/주의 용량으로 ISIS 482584 처리한 마우스에서 감소하였다. 대조군 및 처리 그룹 내의 피브린 형성에 대한 결과는 표 205에 제시되며, 이는 비표준화 단위(arbitrary unit; a.u.)로 표현된다. 피브린 형성은 PBS로 처리된 마우스와 비교하여 80 mg/kg/주의 용량으로 ISIS 482584 처리한 마우스에서 감소하였다. 따라서, 이러한 결과는 ISIS 482584가 혈전 형성을 억제한다는 것을 나타낸다.

[2456] 표 204

[2457] FeCl_3 유도된 장간막 혈전 모델에서의 형광 강도 (a.u.)의 실시간 측정에 의한 혈소판 응집 분석

시간 (초)	PBS	80 mg/kg/주
752	54	74
1018	315	11
1284	485	7
1550	654	0
1815	1079	0
2081	1164	0
2347	1452	0
2613	1440	38
2879	1689	148
3144	1716	129
3410	1845	169
3676	1865	131
3944	2055	87

[2458]

[2459] 표 205

[2460] FeCl_3 유도된 장간막 혈전 모델에서의 형광 강도 (a.u.)의 실시간 측정에 의한 피브린 형성 분석

시간 (초)	PBS	80 mg/kg/주
752	9	54
1018	86	7
1284	203	1
1550	319	10
1815	521	16
2081	598	15
2347	831	61
2613	959	88
2879	1157	141
3144	1236	150
3410	1374	173
3676	1629	160
3944	1822	128

[2461]

[2462] **실시예 135: 협착증-유도된 하대정맥 혈전증 모델에서의 류린 PKK 안티센스 억제제의 생체내 효과**

[2463] ISIS 482584를 협착증-유도된 하대정맥 (IVC) 혈전증 마우스 모델에서 평가하였다. 감소된 혈류 및 내피성 손상은 이러한 모델의 특징이며, 이는 또한 세인트 토마스(St. Tomas) 모델로도 알려져 있다.

[2464] 치료

[2465] 4개 그룹의 6-8마리 수컷 BALB/c 마우스를 각각 ISIS 482584 5 mg/kg, 10 mg/kg, 20 mg/kg, 또는 40 mg/kg로 처리하고 3주간 일주일에 2회 피하 투여하였다 (주간 용량 10 mg/kg, 20 mg/kg, 40 mg/kg, 또는 80 mg/kg). 8마리 BALB/c 마우스의 대조군을 PBS로 처리하였고, 이를 피하로 3주간 일주일에 2회 투여하였다. 안티센스 올리고뉴클레오타이드 또는 PBS의 최종 투여 후 2일째에, 모든 그룹의 마우스에 2.5%의 흡입성 이소플루레인으로 투여하여 마취시켰다. 마우스의 IVC를 좌측 신장 정맥 아래에서 복부 중선 절개로 노출하고, 비절개 박리(blunt dissection)로 복대동맥으로부터 분리하였다. 6-0 실크 타이 (Ethicon, UK)를 좌측 신장 정맥 바로 아래에 혈관 뒤에 두었고, 금속 4-0 봉합재 (Ethicon, UK)를 IVC에 걸쳐 세로로 위치시켜 실크 타이가 상부에 묶여 있도록 하였다. 금속 봉합재를 이후 제거하였다. 2개의 신경혈관 수술용 클립 (Braun Medical Inc, PA)을, 그것들을 제거한 후 각 20초째에 결찰 하에 두개의 별개의 위치에 두었다. 복강 내용물을 이후 교체하고, 복부를 닫았다. 24시간 후, IVC를 노출시키고 혈전 형성에 대해 확인하였다. 모든 형성된 혈전을 수집하고 24시간동안 10% 포르말린에서 고정시켰다.

[2466] 혈전을 칭량하였고, 결과는 표 206에 밀리그램으로 제시된다. 결과에 의하여 나타난 바와 같이, 용량 증가된 ISIS 482584로의 처리는 상응 하는 혈전 중량의 감소를 초래하였다. 상기 결과는 PKK의 안티센스 억제가 혈전 형성을 억제하는데 유용하다는 것을 나타낸다.

[2467] **표 206**

[2468] 협착증-유도된 IVC 혈전증 모델에서의 혈전 중량

	투여량 (mg/kg/주)	중량 (mg)
PBS	-	10
ISIS 482584	10	8
	20	6
	40	5
	80	3

[2469]

[2470] **실시예 136: GalNAc₃ 콘주게이트 그룹을 포함하는 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 갖는 류린 PKK의 억제**

[2471] 하기 표에 나타난 ISIS 482584 및 ISIS 722059를 류린 PKK 생체내에서의 그들의 효과에 대해 시험하였다.

[2472] **표 207**

[2473] GalNAc₃ 콘주게이트 그룹 및 이의 모체를 포함하는 ISIS 722059, ISIS 482584

Isis 번호	서열 (5' 내지 3')	화학적질	서열 번호
482584	G _{es} G _{es} ^m C _{es} A _{es} T _{es} A _{ds} T _{ds} T _{ds} G _{ds} G _{ds} T _{ds} T _{ds} T _{ds} T _{ds} T _{ds} G _{es} G _{es} A _{es} A _{es} T _e	콘주게이트 그룹 및 전장 PS 없음	2244
722059	GalNAc ₃ -7 _{a-o} -G _{es} G _{es} ^m C _{eo} A _{eo} T _{es} A _{ds} T _{ds} T _{ds} G _{ds} G _{ds} T _{ds} T _{ds} T _{ds} T _{ds} T _{ds} G _{eo} G _{eo} A _{es} A _{es} T _e	5'-GalNAc ₃ -7 및 혼합 PS/PO	2244

[2474]

[2475] 하첨자: "e"는 2'-MOE 변형된 뉴클레오시드를 나타내고; "d"는 β-D-2'-데옥시리보뉴클레오시드를 나타내고; "s"는 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 연결 (PS)을 나타내고; "o"는 포스포디에스테르 뉴클레오시드간 연결 (PO)을 나타내고; 그리고 "o'"는 -O-P(=O)(OH)-를 나타낸다. 상첨자 "m"은 5-메틸시토신을 나타낸다. "GalNAc₃-7"의 구조가 실시예 48에 나타나 있다.

[2476] 치료

[2477] 4개 그룹의 4마리의 C57Bl/6J-Tyr^{c-2J} 마우스를 각각 ISIS 482584 5.0 mg/kg, 10.0 mg/kg, 20.0 mg/kg, 또는 40.0 mg/kg로 처리하고 3주간 일주일에 2회 피하 투여하였다 (주간 용량 10.0 mg/kg, 20.0 mg/kg, 40.0 mg/kg, 또는 80.0 mg/kg). 4개 그룹의 4마리 BALB/c 마우스를 각각 ISIS 722059 1.0 mg/kg, 2.0 mg/kg, 4.0 mg/kg, 또는 8.0 mg/kg로 처리하고 3주간 일주일에 2회 피하 투여하였다 (주간 용량 2.0 mg/kg, 4.0 mg/kg, 8.0 mg/kg, 또는 16.0 mg/kg). 4마리의 BALB/c 마우스의 대조군을 PBS로 처리하였고, 이를 피하로 3주간 일주일에 2회 투여하였다. 안티센스 올리고뉴클레오티드 또는 PBS의 최종 투여로부터 3일 후, 모든 그룹의 마우스를 유도를 위하여 공기 중 2.5%의 증기화된 이소플루레인, 이후 유지를 위하여 노즈콘에 의한 1-2% 이소플루레인으로 마취시켰다. 이후 경부 변위(cervical dislocation)하였다. 안락사 후, 간을 RNA 분석을 위하여 수집하였다.

[2478] RNA 분석

[2479] RNA를 인간 PKK의 실시간 PCR 분석을 위하여 간 조직으로부터 추출하였다. PKK mRNA 수준을 뮤린 프라이머 프로브 세트 (정방향 서열 ACAAGTGCATTTTACAGACCAGAGTAC, 서열 번호: 2231로 본원에서 지정됨; 역방향 서열 GGTGTCCGCTGACTTTATGCT, 서열 번호: 2232로 지정됨; 프로브 서열 AAGCACAGTGCAAGCGGAACACCC, 서열 번호: 2233로 지정됨)을 사용하여 측정하였다. 결과는 PBS 대조군과 비교한 PKK의 억제 퍼센트로서 제시된다. 표 208에서 나타난 나와 같이, GalNAc₃ 콘주게이트 그룹을 포함하는 Isis 722059는 모체 안티센스 올리고뉴클레오티드, Isis 482584보다 유의미한 정도로 더욱 강력하게 PKK mRNA를 감소시켰다. 이러한 결과는, GalNAc₃ 콘주게이트 그룹을 포함하는 안티센스 올리고뉴클레오티드가 모체 안티센스 올리고뉴클레오티드보다, 마우스 및 인간 둘 모두에서의 많은 표적 유전자에 대해 유의미하게 더욱 강력하다는 상기 실시예에서의 결과와 일치한다. 따라서, 이는, GalNAc₃ 콘주게이트 그룹을 포함하는 인간 PKK 안티센스 올리고뉴클레오티드가 콘주게이트 그룹을 포함하지 않는 그들의 모체 안티센스 올리고뉴클레오티드보다 유의미한 정도로 더욱 강력하게 인간 PKK mRNA를 그와 같이 감소시킬 것으로 예상된다.

[2480] 표 208

[2481] PBS 대조군과 비교한 간 내에서의 PKK mRNA 억제 퍼센트

ISIS 번호	투여량 (mg/kg/주)	억제%	ED ₅₀ (mg/kg/주)
482584	10	42.6	17.2
	20	53.3	
	40	71.4	
	80	90.8	
722059	2	50.1	2.09
	4	76.7	
	8	80.8	
	16	86.1	

[2482]

[2483] 실시예 137: GalNAc₃ 콘주게이트 그룹을 포함하는 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 갖는 인간 PKK의 억제

[2484] 하기 표에 나타난 ISIS 546254 및 ISIS 721744를 인간 PKK 시험관내에서의 그들의 효과에 대해 시험하였다.

[2485] 표 209

[2486] GalNAc₃ 콘주게이트 그룹 및 이의 모체를 포함하는 ISIS 721744, ISIS 546254

Isis 번호	서열 (5' 내지 3')	화합성질	서열 번호
546254	T _{cs} G _{cs} ^m C _{cs} A _{cs} A _{cs} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} G _{ds} G _{ds} ^m C _{ds} A _{cs} A _{cs} A _{cs} ^m C _{cs} A _e	콘주게이트 그룹 및 전장 PS 없음	570
721744	GalNAc ₃ -7 _{a-o'} T _{cs} G _{cs} ^m C _{eo} A _{eo} A _{cs} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} G _{ds} G _{ds} ^m C _{ds} A _{eo} A _{eo} A _{cs} ^m C _{cs} A _e	5'-GalNAc ₃ -7 _{a-o'} 및 혼합 PS/PO	570

[2487]

[2488] 하첨자: "e"는 2'-MOE 변형된 뉴클레오타이드를 나타내고; "d"는 β-D-2'-데옥시리보뉴클레오타이드를 나타내고; "s"는 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 연결 (PS)을 나타내고; "o"는 포스포디에스테르 뉴클레오타이드간 연결 (PO)을 나타낸다. 상첨자 "m"은 5-메틸시토신을 나타낸다. "GalNAc₃-7"의 구조는 실시예 48에 나타나 있고, "GalNAc₃-7_{a-o'}"는 절단가능한 모이어티가 -O-P(=O)(OH)-인 GalNAc₃-7 콘주게이트 그룹을 나타낸다.

[2489]

일차 인간 간세포 공배양물 (시험관내 간의 생리학적 미세환경을 모방하기 위하여 기질 세포를 포함 (HepatoPac kit HPHU-TX-96S, Hepregan, Medford, MA))을 제조사의 설명서에 따라 사용하였다. 하기 표에 열거된 농도의 Isis 올리고뉴클레오타이드 또는 PBS를 임의의 형질감염 시약의 부재 하에 각 웰에 부가하였다. 96시간 후, 세포를 용해시키고 RNA를 세포로부터 단리시켰다. PKK mRNA 수준을 프라이머 프로브 세트 RTS3454를 사용하여 정량화 실시간 PCR을 사용하여 측정하고, RIBOGREEN®로 측정 시, 총 RNA 함량으로 정규화하였다. 결과를 PBS 처리된 세포와 비교하여 하기 표에 PKK mRNA 수준의 억제 퍼센트로서 제시하였고, IC₅₀ 값을 4-파라미터 논리 모델을 이용하여 산출하였다 (JMP Software, Cary, NC). 이 결과는, 시약 또는 전기천공 기술이 올리고뉴클레오타이드의 세포로의 유입을 인공적으로 촉진하기 위해 사용되지 않은 유리 흡수 조건 하에서, GalNAc 콘주게이트를 포함하는 올리고뉴클레오타이드는 GalNAc 콘주게이트를 포함하지 않는 모 올리고뉴클레오타이드보다 유의미하게 더 강했다는 것을 보여준다.

[2490] 표 210

[2491] PBS 대조군과 비교한 PKK mRNA 억제 퍼센트

ISIS 번호	농도 (μM)	억제 (%)	IC ₅₀ (μM)
546254	0.1	30	2.12
	0.3	25	
	1.0	24	
	3.0	63	
	10.0	85	
721744	0.03	34	0.07
	0.1	52	
	0.3	81	
	1.0	92	
	3.0	98	

[2492]

서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> Isis Pharmaceuticals

<120> COMPOSITIONS AND METHODS FOR MODULATING PKK EXPRESSION

<130> BIOL0252WO

<150> 62/088,459

<151> 2014-12-05

<150> 62/058,629

<151> 2014-10-01

<150> 61/987,478

<151> 2014-05-01

<160> 2281

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 2252

<212> DNA

<213> homo sapiens

<400> 1

agaacagctt gaagaccgtt catttttaag tgacaagaga ctcacctcca agaagcaatt 60

gtgttttcag aatgatttta ttcaagcaag caacttatct catttccttg ttgctacag 120

tttctgtgg atgtctgact caactctatg aaaacgcctt cttcagaggt ggggatgtag 180

cttccatgta caccceaaat gcccaatact gccagatgag gtgcacattc cacccaaggt 240

gtttgtctatt cagttttctt ccagcaagtt caatcaatga catggagaaa aggtttggtt 300

gcttcttgaa agatagtgtt acaggaaccc tgccaaaagt acatcgaaca ggtgcagttt 360

ctggacattc ctigaagcaa tgtgtgtcatc aaataagtgc ttgccatcga gacatttata 420

aaggagtga tatgagagga gtcaatttta atgtgtctaa ggtagcagt gttgaagaat 480

gccccaaaag gtgcaccagt aacattcgct gccagttttt ttcatatgcc acgcaaacat 540

ttcacaaggc agagtaccgg aacaattgcc tattaaagta cagtcccga ggaacaccta 600

ccgctataaa ggtgctgagt aacgtggaat ctggattctc actgaagccc tgtgcccttt 660

cagaaattgg ttgccacatg aacatcttcc agcatcttgc gttctcagat gtggatgttg 720

ccagggttct cactccagat gcttttgtgt gtcggacat ctgcacctat caccccaact 780

gcctcttctt tacattctat acaaatgtat ggaaaatcga gtcacaaaga aatgtttgtc 840

ttcttaaaac atctgaaagt ggacaccaa gtctctctac tcctcaagaa aacaccatat 900

ctggatatag ctttttaacc tgcaaaagaa ctttacctga accctgccat tctaaaattt 960

acccgggagt tgactttgga ggagaagaat tgaatgtgac tttgtttaa ggagtgaatg 1020

tttgccaaga gacttgaca aagatgattc gctgtcagtt tttcacttat tctttactcc 1080

cagaagactg taaggaagag aagtgtaat gtttcttaag attatctatg gatggttctc 1140

caactaggat tgcgtatggg acacaaggga gctctggtta ctctttgaga ttgtgtaaca 1200

ctggggacaa ctctgtctgc acaacaaaaa caagcacacg cattgttgga ggaacaaact 1260

cttcttgggg agagtggccc tggcaggtga gcctgcaggt gaagctgaca gctcagaggc 1320

acctgtgtgg agggtcactc ataggacacc agtgggtcct cactgctgcc cactgctttg 1380

atgggcttcc cctgcaggat gtttggcgca tctatagtgg cattttaaatt ctgtcagaca 1440

ttacaaaaga tacaccttcc tcacaaataa aagagattat tattaccaa aactataaag 1500

tctcagaagg gaatcatgat atcgcttga taaaactcca ggctcctttg aattacactg 1560

aattccaaaa accaatatgc ctaccttcca aagggtgacac aagcacaatt tataccaact 1620

gttgggtaac cggatggggc ttctcgaagg agaaagggtga aatccaaat attctacaaa 1680

aggtaaatat tccttttgta acaaatgaag aatgccagaa aagatatcaa gattataaaa 1740

taaccaacg gatggtctgt gctggctata aagaaggggg aaaagatgct tgtaaggagag 1800

attcaggtgg tcccttagtt tgcaaacaca atggaatgtg gcgtttggtg ggcacacca 1860

gctgggggtga aggtctgtcc cgcaggggagc aacctggtgt ctacaccaa gtcgctgagt 1920

acatggactg gattttagag aaaacacaga gcagtgtggtg aaaagctcag atgcagtcac 1980

cagcatgaga agcagtcag agtctaggca atttttacaa cctgagttca agtcaaattc 2040

tgagcctggg gggctctcat ctgcaaagca tggagagtgg catcttcttt gcatcctaag 2100

gacgaaaaac acagtgcact cagagctgct gaggacaatg tctggctgaa gcccgttttc 2160

agcacgccgt aaccaggggc tgacaatgcg aggtcgcaac tgagatctcc atgactgtgt 2220

gttgtgaaat aaaatggtga aagatcaaaa aa 2252

<210> 2

<211> 578

<212> DNA

<213> homo sapiens

<400> 2

atgctctctc tcctctctgc tgccttgtga agaaggtacc tgcttcccct tcaccttcca 60

ccataattct gaacacggat aggatgttca tggaaatagt tgacaggaca aaaagttgaa 120

actgttggca gaaacccaaa gtcaatattg aagccaagca aaatattgcc tgcagtgcc 180

cattagaaca gcttgaagac cgttcatttt taagtgaca gagactcacc tccaagaagc 240

aattgtgttt tcagaatgat ttatttcaag caagcaactt atttcatttc cttgtttgct 300

acagtttctt gtggatgtct gactcaactc tatgaaaacg ccttcttcag aggtggggat 360

gtagcttcca tgtacacccc aaatgcccaa tactgccaga tgaggtgcac attccacca 420

aggtgtttgc tattcagttt tcttcagca agttcaatca atgacatgga gaaaaggttt 480

ggttgcttct tgaagatag tgttacagga accctgccaa aagtacatcg aacaggtgca 540

gtttctggac attccttgaa gcaatgtggt catcaaat 578

<210> 3

<211> 681

<212> DNA

<213> homo sapiens

<400> 3

ggaagccatt cactagtcag attgaccaga gattgttggg gggctgtctg ttggggctca 60

tgcacaggat ttctgctgga gttctaagga caaaaagttg aaactgttgg cagaaaccca 120

aagtcaatat tgaagccaag caaaatattg cctgcagtgc cacattagaa cagcttgaag 180

accgttcatt ttttaagtac aagagactca cctccaagaa gcaattgtgt tttcagaatg 240

attttattca agcaagcaac ttatttcatt tccttgtttg ctacagtttc ctgtggatgt 300

ctgactcaac tctatgaaaa cgccttcttc agaggtgggg atgtagcttc catgtacacc 360

ccaaatgccc aatactgcca gatgaggtgc acattccacc caaggtgttt gctattcagt 420

tttcttcag caagttcaat caatgacatg gagaaaaggt ttggttgctt cttgaaagat 480

agtgttacag gaacctgcc aaaagtacat cgaacaggtg cagtttctgg acattccttg 540

aagcaatgtg gtcacaaat aagtgttgc catcgagaca tttataaagg agttgatatg 600

agaggagtca attttaatgt gtctaagggt agcagtgttg aagaatgcca aaaaaggtgc 660

accagtaaca ttcgctgcc a 681

<210> 4

<211> 2175

<212> DNA

<213> homo sapiens

<400> 4

agaacagctt gaagaccgtt ctttttaag tgacaagaga ctcacctcca agaagcaatt 60

gtgttttcag tttcctgtga gggagttttc tctgtgtccc cacaaggcat gattctgggt 120

ctatggtgac ttaagagggc cacacaacaa tgagtattta attttcctca gatgtatggc 180

tacaataaac atctatagga tgtctgactc aactctatga aaacgccttc ttcagagggtg 240

gggatgtagc ttccatgtac accccaatg cccaatactg ccagatgagg tgcacattcc 300

acccaagggtg ttgctattc agttttcttc cagcaagttc aatcaatgac atggagaaaa 360

ggtttggttg cttcttgaaa gatagtgtta caggaaccct gccaaaagta catcgacag 420

gtgcagtttc tggacattcc ttgaagcaat gtggtcatca aataagtgtc tgccatcgag 480

acatttataa aggagttgat atgagaggag tcaattttaa tgtatctaag gttagcagtg 540

ttgaagaatg ccaaaaaagg tgcaccaatg acattcgtg ccagtttttt tcatatgcc a 600

cgcaaacatt tcacaaggca gagtaccgga acaattgcct attaaagtac agtcccggag 660

gaacacctac cgctataaag gtgctgagta acgtggaatc tggattctca ctgaagccct 720

gtgccctttc agaaattggt tgccaaatga acatcttcca gcatcttgcg ttctcagatg 780

tggatgttgc cagggttctc actccagatg cttttgtgtg tcggaccatc tgcacctatc 840

acccaactg cctcttcttt acattctata caaatgtatg gaaaaatcgag tcacaaagaa 900

atgtttgtct tcttaaaaca tctgaaagtg gcacaccaag ttctgtact cctcaagaaa 960

acaccatatc tggatatagc cttttaacct gcaaaagaac ttacctgaa ccttgccatt 1020

ctaaaattta cccgggagtt gactttggag gagaagaatt gaatgtgact ttgtttaag 1080

gagtgaatgt ttgccaagag acttgacaaa agatgattcg ctgtcagttt ttcacttatt 1140

ctttactccc agaagactgt aaggaagaga agtgaagtg tttcttaaga ttatctatgg 1200

atggttctcc aactaggatt gcgtatggga cacaaggag ctctggttac tctttgagat 1260

tgtgtaacac tggggacaac tctgtctgca caacaaaaac aagcacacgc attgttggag 1320

gaacaaactc ttcttgggga gagtggccct ggcaggtgag cctgcaggtg aagctgacag 1380

ctcagaggca cctgtgtgga gggtcactca taggacacca gtgggtcttc actgctgccc 1440

actgctttga tgggcttccc ctgcaggatg ttggcgcat ctatagtggc attttaaatc 1500

tgtcagacat tacaaaagat acacctttct cacaaataaa agagattatt attcaccaaa 1560
actataaagt ctcagaagg aatcatgata tcgccttgat aaaactccag gtcctttga 1620
attacactga attccaaaaa ccaatatgcc taccttccaa aggtgacaca agcacaattt 1680
ataccaactg ttgggtaacc ggatggggct tctcgaagga gaaagggaga ttcaggtggt 1740
cccttagttt gcaaacacaa cggaatgtgg cgtttggtgg gcatcaccag ctggggtgaa 1800

ggctgtgccc gcagggagca acctgggtgc tacaccaag tcgctgagta catggactgg 1860
attttagaga aaacacagag cagtgatgga aaagctcaga tgcagtcacc agcatgagaa 1920
gcagtccaga gtctaggcaa tttttacaac ctgagttcaa gtcaaattct gaggctgggg 1980
ggtcctcatc tgcaaagcat ggagagtggc atcttctttg catcctaagg acgaaagaca 2040
cagtgcactc agagctgctg aggacaatgt ctggctgaag cccgctttca gcacgccgta 2100
accaggggct gacaatgcga ggtcgcaact gagatctcca tgactgtgtg ttgtgaaata 2160
aaatggtgaa agatc 2175

<210> 5

<211> 569

<212> DNA

<213> homo sapiens

<400> 5

agtgccacat tagaacagct tgaagaccgt tcatttttaa gtgacaagag actcacctcc 60
aagaagcaat tgtgttttca gtttcctgtg gatgtctgac tcaactctat gaaaacgcct 120
tcttcagagg tggggatgta gcttccatgt acacccaaa tgccaatac tgccagatga 180
ggtgcacatt ccaccaagg tgtttctat tcagttttct tccagcaagt tcaatcaatg 240
acatggagaa aaggtttggg tgcttcttga aagatagtgt tacaggaacc ctgccaaaag 300
tacatcgaac aggtgcagtt tctggacatt ccttgaagca atgtgggtcat caaataagtg 360

cttgccatcg agacatttat aaaggagttg atatgagagg agtcaatttt aatgtgtcta 420
aggttagcag tgttgaagaa tgccaaaaaa ggtgcaccaa taacattcgc tgccagtttt 480
tttcatatgc cagcacaaca tttcacaagg cagagtaccg gaacaattgc ctattaaagt 540
acagtccggg aggaacacct accgtata 569

<210> 6

<211> 392

<212> DNA

<213> homo sapiens

<220><221> misc_feature

<222> (379)..(379)

<223> n is a, c, g, or t

<400> 6

ttgaagaccg ttcatTTTTa agtgacaaga gactcacctc caagaagcaa ttgtgttttc 60

agaatgattt tattcaagca agcaacttat ttcatttctt tgtttgttac agtttcctgt 120

ggatgtctga ctcaactcta tgaaaacgcc ttcttcagag gtggggatgt agcttccatg 180

tacaccccaa atgcccaata ctgccagatg aggtgcacat tccacccaag gtgtttgcta 240

ttcagttttc ttccagcaag ttcaatcaat gacatggagg gtttggttgc ttcttgaaag 300

atagtgttac aggaacctg cctcaataa gtgcttgcca tcgagacatt tatggagtgt 360

atatgagagg agtcaattnt atgtgtctgg tt 392

<210> 7

<211> 802

<212> DNA

<213> homo sapiens

<220><221> misc_feature

<222> (760)..(760)

<223> n is a, c, g, or t

<220><221> misc_feature

<222> (775)..(775)

<223> n is a, c, g, or t

<220><221> misc_feature

<222> (796)..(796)

<223> n is a, c, g, or t

<220><221> misc_feature

<222> (800)..(800)

<223> n is a, c, g, or t

<220><221> misc_feature

<222> (802)..(802)

<223> n is a, c, g, or t

<400> 7

gggtaatcct cttcagttac ttcaggteat ctatgttat acgtgcaggc ctgggccccag 60

aggcgacatt cctgtcttct tatattaata agaaaaagaa aacgaaatag tggttgccac 120

atgaacatct tccagcatct tgcgttctca gatgtggatg ttgccagggc tctcactcca 180
gatgcttttg tgtgtcggac catctgcacc tatcacccca actgcctctt ctttacattc 240
tatacaaatg tatggaaaat cgagtcacaa aggcgagtat gcatggaaaa tgcgcatcaca 300
aaggcgagta tgcattggga gcacttgctg ctgtactttc atcactttta tagtctgagt 360
tcttaaaagt ttcgttcatt tccctcaaaa cacttgaacc tgcagtttca gtaggtactg 420
ttctgccagg tgcagattag ttaagagatt agcagacttc tctgcctatc ttctcttact 480
ttaaacaata tgitaccatt gaatcaagga agcaatagcc atgagaaaaa agaaggatct 540

gacgcctttg aatgaagatt caaacatga tcttcatgtt ttgtattagc ttggagtaaa 600
atccacttgc tggcaatata gcccttaagc ttgttgctc ttctctttgt ttcagaaact 660
agagccctgt ttattctgat caaggctctg gccactgtc tttatctcag ataaccacc 720
ctcttctgca cacagcatgg agctaagaga aggtgtctan gtatgtatat catcngcagc 780
ataaatccca gaattngtcn tn 802

<210> 8

<211> 2058

<212> DNA

<213> homo sapiens

<400> 8

tcacctcaa gaagcaattg tgttttcaga atgattttat tcaagcaagc aacttatttc 60

atttccttgt ttgctacagt ttctgtgga tgtctgactc aactctatga aaagccttc 120
ttcagagggtg gggatgtagc ttccatgtac acccaaatg cccaatactg ccagatgagg 180
tgcacattcc acccaagggtg ttgtctattc agttttcttc cagcaagttc aatcaatgac 240
atggagaaaa ggtttggttg cttcttgaaa gatagtgtta caggaaccct gccaaaagta 300
catcgaacag gtgcagtttc tggacattcc ttgaagcaat gtggatcatca aataagtgtc 360
tgccatcgag acatttataa aggagttag atgagaggag tcaattttta tgtgtctaag 420
gttagcagtg ttgaagaatg ccaaaaaagg tgcaccaata acattcgctg ccagtttttt 480

tcatatgcca cgcaaacatt tcacaaggca ggtaccgga acaattgcct attaaagtac 540
agtccggag gaacacctac cgctataaag gtgctgagta acgtggaatc tggattctca 600
ctgaagccct gtgcccttc agaaattggt tgccacatga acatcttcca gcatcttgcg 660
ttctcagatg tggatgttgc cagggttctc actccagatg cttttgtgtg tcggaccatc 720
tgcacctatc acccaactg cctcttcttt acattctata caaatgtatg gaaaatcgag 780
tcacaaaggc gagtatgcat ggaaaatcgc atcacaaaga aatgtttgtc ttcttaaac 840

atctgaaagt ggcacaccaa gttctcttac tcctcaagaa aacaccatat ctggatatag 900

ccttttaacc tgcaaaagaa ctttacctga accctgccat tctaaaattt acccgaggagt 960

tgactttgga ggagaagaat tgaatgtgac ttttgttaaa ggagtgaatg tttgccaaga 1020

gacttgcaca aagatgattc gctgtcagtt tttcacttat tctttactcc cagaagactg 1080

taaggaagag aagtgtaatg gtttcttaag attatctatg gatggttctc caactaggat 1140

tcggtatggg acacaaggga gctctgggta ctctttgaga ttgtgtaaca ctggggacaa 1200

ctctgtctgc acaacaaaaa caagcacacg cattgttggg ggaacaaact cttcttgggg 1260

agagtggccc tggcaggtga gcctgcaggt gaagctgaca gctcagaggc acctgtgtgg 1320

agggtcactc ataggacacc agtgggtcct cactgctgcc cactgctttg atgggcttcc 1380

cctgcaggat gtttggcgca tctatagtgg cattttaaatt ctgtcagaca ttacaaaaga 1440

tacacctttc tcacaaataa aagagattat tattcaccaa aactataaag tctcagaagg 1500

gaatcatgat atcgccctga taaaactcca ggctcctttg aattacactg aattccaaaa 1560

accaatatgc ctaccttcca aaggtgacac aagcacaatt tataccaact gttgggtaac 1620

cggatggggc ttctcgaagg agaaagggtga aatccaaaat attctacaaa aggtaaatat 1680

tcctttggta acaaatgaag aatgccagaa aagatatcaa gattataaaa taaccaacg 1740

gatggtctgt gctggctata aagaaggggg aaaagatgct tgtaaggag attcagggtg 1800

tccttagtt tgcaaacaca atggaatgtg gcgtttgggtg ggcatcacca gctgggtga 1860

aggctgtgcc cgcaggagc aacctggtgt ctacaccaa gtcgtgagt acatggactg 1920

gattttagag aaaacacaga gcagtgtgg aaaagctcag atgcagtcac cagcatgaga 1980

agcagtcag agtctaggca atttttacaa cctgagttca agtcaaattc tgagcctggg 2040

gggtcctcat ctgcaaaag 2058

<210> 9

<211> 577

<212> DNA

<213> homo sapiens

<400> 9

gttaccattc taaaatttac ccgggagttg actttggagg agaagaattg aatgtgactt 60

ttgttaaagg agtgaatgtt tgccaagaga cttgcacaaa gatgattcgc tgtcagtttt 120

tcacttattc ttactccca gaagactgta aggaagagaa gtaaaggaaa ttttatTTTT 180

caaagacagt tgacatgacc atttcatatt ctctttcccc ctgtgaaggc ttactctttc 240

tactgttcat ttcatctagg tgtaagtgtt tcttaagatt atctatggat ggttctccaa 300

ctaggattgc gtatgggaca caaggagct ctggttactc tttgagattg tgtaacactg 360
gggacaactc tggtagagtaa cctcactttt tcgtggacct gtcagggatg tctgtcatgt 420

tgatagtttg cttagtctta aggaattatg tgtcttggtc tccttggtta gaagggactt 480
tgattcactt ctaattccaa ccattagcgt caacgctctc ttttcagtct gcacaacaaa 540
aacaagcaca cgcatgttg gaggaacaaa ctcttct 577

<210> 10
<211> 37000
<212> DNA
<213> homo sapiens
<400> 10

agagcctctg cctagatttc acaggatgtg tggaaacacc tggctgtcca ggcagaagcc 60
tgctgcaggg acccagccct catggagaac ctctattagg gcagtcgaga ggtgaactgt 120
ggggttggag cccacacaca gagacccac tggagcactg cccagtggag ctgtgaaaag 180

agttcccca tcttccagat gccagaatgg tagatccact gactggaaag ttgcaggcac 240
tcagtccgg cccatgaagg cagccgtagg ggctgtacc tgcaaagcca caggacaga 300
gctgccaag gccttaacag cccacacctt gcatcagcat gccctgggtg tgagacaggg 360
gtccaagga gattattttg gagctttaa attaatgac ttcctgcta ggttttgcatt 420
atgcttggga cctgtggccc ctttattttg gccaatctt cccatttgga atgggaacat 480
ttaccaatt cctgtacca cattgtgtt tggaaagta taacttgtt tttattttaa 540
aggctcattg agggaaggga ctgccttgt ctcaaatgag actttggact cggacttttg 600

ggttactgtg gaatgagta agactttggg ggactgttgg aaagacatca ttggttttga 660
aatctgaaaa ggacatgaga tttgggaaag gccaggggaa gaatgatag gtttggtctt 720
gtgtcctcat ccaaactctg tcttgaattg taatccccc atgggattac atgggagggg 780
cctggtgaga ggtgattgga tcatggaggt ggtttccct gtgtgtgat ctcatgatag 840
tgagggattt aaaagtgaca gtttccctg cacatacaca ctctctctct cgtatcacct 900
tgtgaagaag gtgtctgctt cccctctgcc ttccatctg attataagtt tctgaggcc 960
tccccagcca tgggtaactg tgagtcagtt aaacctctt tgtttataaa ttaccagtc 1020

tcaggtagta tctttacagc agtgtgaaac tggactaata catctgggaa attctttttg 1080
tctccttct tctgaagga cagctttgcc tgatattata tcttgggtt ccaggttttg 1140
tactttcaat actttgaata tatcatccca ctctctcttg gcctacatga tttctgctga 1200
gaaatccacc aataacttta tgaagcttcc ctgtatgtg aagaattgct tttctcttgc 1260

tcttttgaag attctctctt tgtcatgggt aggatttctt tttttttttt ttttttttag	1320
atggagtcta gctctgttgt ccaggctgga gtgcagtgtg cagtggcgca atctcggtc	1380
actgcaagct ccgtctcctg gggtcacacc attttctgt ctcagcctct ggagtagctg	1440
agactacagg tgcccaccac cagcctggc taaattttt tttttttttt agtagagatg	1500
gggttttact gtgttagcca ggatgggtct gatctcctga cctcatgac caccatctt	1560
ggcctccaa agtgcctgga ttacaggcat gagccactgc acctggccga ggatctcttt	1620
atatttaac tatttgagt tcttttggc ttcataaac tggatgtta tttcattat	1680
gtctccaaat ttgagagtt ttctattctt atttttttaa ataagttct gcaactttt	1740
ctttctctac ttctctgga actcttctaa tgcataataa ttttctaac agtgtcctat	1800
aagtctgtc agctttctgc aatttttatc attctttta ttactctgac tgggtaattt	1860
caaatgacct gtatctgagc atgctgattc ttctctctgc ttgatctagt ctgctgctga	1920
agctgtttgt gaatttttc aattcagtca tttgttctt tagctccaga atttctgtt	1980
cattctttt tatggttcct atctatctt ttgttgaact tctaattttg ctcatgtatt	2040
gttttctga tttgtttac tgtctatcta tattgttttg tagcttattg agctttctta	2100
aggcaattat ttttagctct tgtcatgcag taaagatctc cattcttta gggtcacctc	2160
ctgctgcttt atttcttcc ttgtgtgtt tctgtttcc ccgattatt gtgatcagt	2220
tggccttga ctgaagtagg cacctatttc agtctttaca tactagcttc agcagagaaa	2280
gccattcact agtcagattg accagagatt gtgtgtgggc tgtctgttgg ggtctatgca	2340
caggatttct gctggagtgc taaggtggga agggctggat tctgggttca ttactgtgg	2400
ttgtctgtat tctgtgaca aggactggct tgaagcatgg atccttgggg gctgacttgg	2460
cactgaaatg agccttaagc ctgcgtctgc aggggccagc ctaacatggg gatcacctgg	2520
cacctgagtt catggggata ggctgttcc tgagtttatt caggtgttcc tgggaacaag	2580
gtccactggg gtgagcccag catctgggtc cacatggccc agcatggagc caagatctct	2640
ggaggtgac ctggtgtgtg atctgcaggg gatggcctgg attctaggcc catgggtgcc	2700
aacttggagc ctgggggtgc tggggctaac gtggaggcta gatagagtct tgggggccag	2760
gctagagctg gacaggcct gaagtctagg tttgtgtgg ccatcttga gcctgaagcc	2820
ccaggggctg acctggtctg gggtagcat ggggtgagg ccacagaggc tgggtctggc	2880
tgtggcaggc ctgaatctg gtgctgggtt ttactggagt gggcttgggt cttgggatct	2940
gtgtgaagt taggttctat cttaactgtc cctctccat gcaagagggc atctctctcc	3000
atactgtgct gccaggtt gaaggtgaga tgacacggg aatgtgaaat tgtcttct	3060

atacacttct atgtgtcttt tcttatttct gtgctgcaac caggtggcat aacctctcac	3120
ctgattcctt agctctagtg aagttatttt cgtgcatgga tacttggtcg aattgatgtt	3180
tctgcaaggg atgagcgcta gaaactcctg tcttgacaaa ctectattcc tattcttget	3240
gacatcactc ccigaaatag ttaatatact taacagctga acacggatag gatgttcattg	3300
gaatatgttg acaggacaaa aagttgaaac tgttggcaga aacccaaagt caatattgaa	3360
gccaaacaaa atattgcctg cagtgccaca ttagaacagc ttgaagaccg ttcattttta	3420
agtgacaaga gactcacctc caagaagcaa ttgtgttttc aggtagcaaa tttttattat	3480
tctgattgtt tccaaataaa ctataatttt taagtataat tttttacttt atgagaaaat	3540
taatcattta tattctaatt tcctgagtat gtagagagta tagataatgt tcctttatgt	3600
agaaatattt aaatgtaaga tgattttaaa tcagaaagaa tatttgattg atttaaaatt	3660
tttaaatggg cttaaatatt ttacagaggtt ttttttactt agggattttt ggactgacat	3720
tattgccatt atttattaat ttgttttttg cccaaatcaa gaggtttcat aattgtttac	3780
tctctctcta ccaattccct ttccaacatt actagccaca gagttggcca atgaacaata	3840
aacacaacag tagtctggag gtctcaattt gtatcttggg aagcattata aattttccaa	3900
ctccctagac acaaatglac caaaaaaaaa cccttgtttt ctataccagt aattgtgtgc	3960
tttgtcttgc aattcagaca tttaacaaga aatctaaac accttaaatt aagatttatg	4020
ttaaatgttg tctaaaacca gcagagttaa gtattgtttt cttttttaga atgattttat	4080
tcaagcaagc aacttatttc atttcttgti ttgctacagt ttctgtggt aagtgaatta	4140
tctataaaac atggaattca ggctaagaca ggagtagcca agcaagtggc accacccctg	4200
gagaaagcta ttgaacatac agcttcgggg gtggagattg tccctgatga ttcaggacac	4260
gtgtctattt aatgttccac aacaaggacc actgttcagg tatattgctg tagacatatg	4320
ttgcagacca gaggaaggag ctcaagaagta ggaatgtctt gggacttgtg ttaacaaaaa	4380
cttctgttcg cagatgacac tctgcaaagc aaaacttgaa aaaaaaaaa attagtcctc	4440
tatttttatt atcaacagta aaaaattaaa ctttatctga aaattcaaaa gagtgcagg	4500
cattttatag tgctcgggtc caatccaagt atctgttagg aacaccatac atagttttac	4560
tctggaccgc tagggaacca tttcaaaaat gaaagtaact ggtttaaatt taacttagca	4620
aacctgcat ttggatagtt ctaggatgaat agctttcaac accagattta gatctcattt	4680
ctctattaat ttcatattt tttggagaat aaaaatgatt ctggacattt cattaatcat	4740
tacagaggga gttttctctg tgtccccaca aggcattgatt ctgggtctat ggtgacttaa	4800

gagggccaca caacaatgag tatttaattt tcttcagatg tatggctaca ataaacatct 4860
ataggttaagg tttaacttca taaagagacc ttttttttc caggaaaaaa gacttttatt 4920
ccccctaaat cacaactccc ctgtgtctgt cctcaaccc tgatttctct tctaaaccgt 4980
aatttacaac cccatgtgca aaccactga aaggtgagaa ggagcataag ccagagacac 5040
tggaaccac agccaactac agggggtttt tcattttttt gttttgtttt gttttttggc 5100
aaaataaatc atgattatgg ctaggaaaat cagggatgta agtaagcaaa aatttagaaa 5160
ctacatattg catgtagtcc ccaaattcag aaacagtcac cgttaaacad cttttattta 5220

gtctttcaga ttttttcta catataccta ttgcacatt tcacaaaaaa gagttattaa 5280
ctgtggacac tctttgactt gcattttcca cttatagcta tcttttggtg caaataagta 5340
atataatttg gagcttgcta ttcttctctt ttatgggtat ttttgtgtgc acattcttat 5400
gctcttattc agttatttct gtagaataca atttttgaaa taaaaatact agattcaaag 5460
gtgtgaatat ttttgaagg tttgtggtgt ggtatcatga aattaggttt cagaaagttt 5520
actccatagt tgactttttc taccagctaa taagagtgtc catttacctt acttaggcca 5580
actctaacag gcttctgttg ctttgcaccc tgacatatat atctttctgg aaacagtgtc 5640

ctaatttatt tctgcagagc tactgcctct cagttttggt ccatgtggtt ctggtgaccc 5700
tgattcttct gctgaaccag aaagtgcaca catctctctg gctgtggtga cccaatcaga 5760
gccaacgtct tgcaatgaag cttttcttta gacatctaga aataagactc ttatgttttt 5820
tttttccaat ttgacttgaa acttaagaca atacacaggc ctgagttggt ggtactattt 5880
tgctactacg tggagcttga gagtaatggt aacaccaaga ctggagcaag tggaaggaga 5940
catattgtcc actgatgcta tcagttgagc acaatgtgca gttacttttt aagccagatt 6000
caccatgggc tttttggctc ctgaaccaat agatttcatt tgttttcaag ccactttgta 6060

ctaggttttc catcatttgc aatcaaaacc agtatacaaa cactgggtat ttaatttttc 6120
atttttgcta atctcaggga taaaatggct tctagtgtt ttaacttggc tatatttgtg 6180
attcttccca ttttcatata cttactaatc acttctattt cttttgtaa ttatcttttc 6240
atatttgtaa tctaattctt taaaatttga gtactttaat tctcattatt gtttgtggaa 6300
ttgttaaaca agactgaata atctgcccc agtccatgga catggggggc catgtaaaag 6360
ctttgaaagc caccatcatt atgagataaa ttatataata gtactttaca taggtccaa 6420
aatacagcac agacacagct atcattgtca tggatcatcat tatcatcatg atcaccaact 6480

tatgaggata agcaagaaca cctactagaa gtttctttcc attcagcaac aaaattggtg 6540
tctttctagt cactcccttc cctgactgtc acatagcagt tcacagaggc tcagttgcag 6600
aatgagaagc tctgggccag gacctgcat tgtatgcac cttgcatggg aactgggggc 6660

tggaagagga gtgactgctt gataattatg agtcagtcac aaccaccaac tgtctgaaaa	6720
aaatagccct ttttctaact agtattgtca ctacaccaac tcttccatgt tttgtgcata	6780
catgaaatct aggcaatata cttgtattcc caaaagcttc cacttgaaga gatctgtgct	6840
ctttccaaat ataaacctta cccgagaggt ggcatcttg gccacacctc agagaggag	6900
agaggcagtc ttgttgggtt ggggtggcat aatggggctc agggccaaat cccaggggg	6960
taggatagtg cagagaagat ggcatctcc agtgcttaat aaaatgcacg tggcttaagc	7020
tgcctactcc ctcaaaggca ataaaaata ggtactatct aaattgaaga gtaactactg	7080
ccccaggga tggacaggtt gtcattggaa tagccatggt taatgggtccc agttgacaac	7140
tgaatgaat gtgctacctg aacaggaaaag cttattaacc agatttcaa gacagctttt	7200
cccgttaaat ccaattttac aaattaaagc cagtaaagac accgaattct ctaataatat	7260
gtgggtgca gtatatttta gagctgggaa taattccaaa cagcaaatag ttcaaaattt	7320
attttcaatt tagcatatgc atgcatttgc ttaactgtc ttaaaatga gtaaaaaata	7380
ctgtcagttt gtttcaatca tactgagatg aggaacaatg tttagcattg catgctagaa	7440
aaggacacag gattgggagt cagggtggg tgaccgtcac aggaatttca ctaactgtgt	7500
ggatcttggg caagtctgtg tgccctgaga ctgattatt taactttctt ttaaaaaaca	7560
tagtccagat gcagataaca aagcctgcct ctaatttccc ttacagaatt gtgagaagct	7620
ggtggagatg tttgttaca aagtgttttg aaaatagagc aaatattatt ctttttaagg	7680
catgatgttt tcatagcatg tcaggcaaca ggaaaaaact aagttaggat tttattttat	7740
tgtggggaat ttatgtgcaa attattgtgc aatttaatga aaataagcca atgttttata	7800
cagaagtacc cagaaaatta aataacacta tacattgttc aaatagttgc cttaatatat	7860
tttattttct cagcataatt agagtgtat tatacaggtc tttgagtagt cagtcagtgg	7920
gagaagttaa gacaacagat atctttttat taaaattatt atatgaatta tcgcaaatta	7980
atttttatgg ttctgtcaca ggatgtctga ctcaactcta tgaaaacgcc ttcttcagag	8040
gtgggatgt agcttccatg tacaccccaa atgcccaata ctgccagatg aggtgcacat	8100
tccaccaag gtgtttgcta ttcagttttc ttccagcaag ttcaatcaat gacatggaga	8160
aaaggtaaaa gttggtatct cattattgga gaagctgttt ttcaaaactg aatcagtttt	8220
gtgcagaaag gtgtagtata actgagagtt ctctctcaca cggggttcaa ggaccagctt	8280
cagcaaaatc cgtcaagtg gttcttaca atgcagattc ctaggccaca acccagatct	8340
gctgaaccaa agtttcttgt gaccaggaat ctgcatttta aacaatcact gtgtttcttt	8400
aaagtagtag aagctagta ttttctattc aaagcctcaa aatgcttgaa tatcattggg	8460
ctaagggtat gtctcaagaa agagtctaac aggtgcacat ttcatctgaa taaagaacaa	8520

gatttaactg tgtgacccat gatcacatta gcggatagca cagtccaaag aaaataacat	8580
aagacaagca ttttgcctgag aatgtaattg agaaagatct agaacttggtg attttgggac	8640
agggcagttc taaatggggc ctatagttag ccagtttggg cacctgtggc atgatgctat	8700
glatgggtgtg tgtgtgtatg tgtgcttggtg cttgtgtgaa tatgtattat taactggaaa	8760
tttgtaaaag tattggaaaa atagtactta cgattttgtg tgtgtgtgtg atggagtctc	8820
gctttgtagc ccaggtctga gtgcagtggc gtgatctcgg ctactgcaa cttccacctc	8880
ccaggttcaa gcgattctcc tgcctcagcc tccaagtag ctgggattac aggcacgcac	8940
caccacgtcc agctaatttt ttagttttta gtagagacgg ggtttcacca cattggccag	9000
gctggccttg aactccctgac ctctgatcc acctgcctct acctcctaata gtgctgggat	9060
tacaggcatg agccaccgca cccagcggta attacaattt ttattaggtc agagagatgc	9120
ttattaatca cgagccacag ttctacttta atgatttttc cttttgatta atatccagag	9180
taagcttttc ttgtttgttc ccatttccat gtccataact ctttactcat cttcactcta	9240
tgtgagttta ccaactagaa attggatagt cattctctga tcccacatgt taaacttgta	9300
gagaaaaact agattgtatg tgaggatcat catattaaaa gtggaggaag gttctagaat	9360
tcttataaat aatgaaatta acatgaaggt ggacatctaa gacagaggga agtcttccat	9420
taagtgcaga ctacaaggag ttaataagca agatgaacac gatatacaaa tccagctctt	9480
atcactaagt taacttttta agtaaatgaa agtatttgca aaaataatta ccaattgaga	9540
acatagtgtc ctgaaagttt aagaacacag gaaaaatcat taactcttta atatggttga	9600
tttctgtac ttaaaaaatg tgagtgtaaa gaaaacgcag tgatggagtt agatattatg	9660
gggtgttata aaattagctc taagagtgtt ctttccagca agtattgggg aagctatatt	9720
attttcctta ttcttggtt tatttgtag tgtgtagaaa atgctagaca ttctcctaat	9780
gtatgtttat tattctactt cctaagtaaa gctactttta aaataggttt ggttgcttct	9840
tgaaagatag tgttacagga acctgccaa aagtacatcg aacaggtgca gtttctggac	9900
attccttgaa gcaatgtggt catcaataa gtggttaagtt gtgaatttct tagctacatt	9960
tgagttaata ttggatctcg cttagaacag cttttgtca aagtttgtac tgctacagct	10020
ttttggaagg catcactcat aaagatagga gatggggcag tattctggac acaaaagagg	10080
gacccatatt catctggaca cttctattgt ctttataaat caacacatac ttaatgagcc	10140
tctattatct atgaggttag cgctcaagtg taagatttgc agaaaatgaa tccaaataat	10200
tgtgtctcgt ttccagataa gaatttttaa gaaaacacaa gggaacatct ctctcaagtt	10260

cacttgaggg taatitttac atcagtgatt ctcaaccagc agtgattttg tctcttcac	10320
tggggacatt tgacaatgtc tggagacatt ttgggtggct acaactaggg aggatgctat	10380
tagcatittac taagtagagg ccagaatgtt tgaatgctga ccaacattct acaaggcaca	10440
gggcagtcgt ccacagcaaa taatittctg gcccaaaacg tcaacagtgc tgacatcaag	10500
aaactctgtg atataccact agggcccaaat tgaagaactg agttctgcaa atcttgctaa	10560
gaataatact tctaaagga aacttgagga ctaggatgct agagaacttt gattctgaca	10620
tctgaagcta ctgatgtctt gggaacagc ttccaatgct atcctaataa atttaagaca	10680
aatgaactat ttctcaaaac tgactgggac tgataagaaa gtgaaaagtg ctgaaaagat	10740
tcaactgatg gggtgtcaga atcttaaaat aactgctgtt attctatgta tgactatata	10800
tcattactat ttatitttca ttatgcacaa ttaattttgt aggttcaaat ttcagatgtt	10860
tttaaatgtg tcatctttc ctccctcatt gatatcacct cttcaatacg tacacacttt	10920
gagcctgctg ttgcatittt aaccagttaa caaaggatgg caatgccttc attataaatg	10980
tgggcctgac ttagccagta taataggtgt agtctacgtg aggtggagta catttcctat	11040
tttaaaagat caatitttat gttaatccaa ttgggtataa attattcgag taagtgtat	11100
ttctgattgt tgtatctgt agcaaaattt aaagaaaaag taatttgtgc ctttctcaat	11160
attctgttta ttgttcattg attctaaaac tctactgtac tctactagct tgcttttaat	11220
gttttttaaa gtgaaaaatt gtcccaagt acataaaatc tctacactca agaacaattc	11280
tagtcaaaag catttagagc ttccgtatga acacttaaag agtttttatt tgtaagagtc	11340
gcatcccaac tcttagcctg ttcttttctc acatgcagaa aaataggaaa gagacttcgt	11400
ttccacagtc tgcaaatcc tgtgtttaag aaccacagtg aataatccac ctccctgccc	11460
aactcatcgt actgtcatat agttttctg acagtttgtg tatittctgt ctttcccacc	11520
cttaaattta gttttatgac ttcaaccata cttcttagga gtggaaaggt atctgtagta	11580
gattatgggt tattccacat aatcttgggg aataaaactt taaaaagta tacagtttat	11640
acttctgggt acattacttc cttaaccaa agtctaacca agaaatttga atctttaaaa	11700
aaaaaagagg cgggcgcggg tggctcacgc ctgtaatccc agcactttgg gaggccgaga	11760
cgggcggatc acgaggtcag gagatcgaga ccactctggc tgacacgggt aaacccctc	11820
tctactaaaa atacaaaaat tagccgggcg tgggtggcgc cgcctgtagt cccagctact	11880
cgggaggctg aggcaggaga atggcgtgaa cccgggaggc ggagcttgca gtgagtcgag	11940
atcgcgccac tgcgtccag cctgggcgac agagcgagac tccgtctcaa aaaaaaaaaa	12000
aaaaaaaaa gcctaatttt gcttactgt ctgtgaaaag aattatctgt atcttttgca	12060
tgtaagacaa atctcaatga aaagggtgct taaatagaag ttaacactat tttaagcaa	12120

gaatggaagt ggtttcatca tgcgtaaaca acaactctcc acattttgta atgattgac	12180
tggatgcaat ttgtcatcag acaggagaag tcgaaagcaa agaaataaca ctgggagata	12240
gagaagctct ttcatccaat gcgaaaggtc aaaggcacat cagtttcttt aataatgcaa	12300
acctcagcac acattatcag tgtctcatt attattgcct tgtttatttc ccactgctca	12360
ttgataatth caacgtgaaa ttacctgta ttgctgcatg catcttcag ttaagaagt	12420
gaagtaaccc aatttcaaag ctagtgttt agggaaaata ttggattgta ttacttcaa	12480
gcagagtctg ataatttatg tacataataa aaattttaaa tcccttagtt aatatagcag	12540
ttgcaaaac tgggctatta tcattctaaa ctaccaaccc aaatggtagt gggatatcaa	12600
tctacctcta gaaagaaat ggactgtatt tgccttatgt attttcttg tacagcttg	12660
catcgagaca ttataaagg agttgatatg agaggagtca atttaagt gtctaagggt	12720
agcagtgttg aagaatgcc aaaaagggtgc accagtaaca ttcgctgcc gttttttca	12780
tatgccacgc aaacatttca caaggcagag taccggtgag tacaattcaa ggtgtgtgtt	12840
ctttgtattg gtgcctccag gatttactg tattcttctt aacctcttt gtcccaaac	12900
taaaaaccaa acagggttt tattetaacc acttctca tttacttact ctattttatt	12960
tttttatctt ttattttatt attttttat tgagatggag tcgcgctctg tcgccaggc	13020
tagagtgcag tggcgtaac tcgactcact acaacctccg cttcccgggt tcaagcgatt	13080
ctctgcctc agcctcccga gtagctggga ttacaggcgt ccgccacat gcctggctaa	13140
ttttgtatt tttagtagag tcggggtttt actatgttg tcaggctgg ctcgaactcc	13200
tgatcttgt atccaccac ctacgctcc caaagcgtg ggattacagg catgagccac	13260
tgcgcctcgc cttcattht ttaattaaat aattcattha atttatttg tttcttact	13320
cttttccct ggcatgtaat tgtaccgat ctcaaagcc tgacatctc tcccctact	13380
tctccaaagc tgattcttg aggtctttcc tcaaataccg tccctccaa aagccattt	13440
ctgagcattc tcttttaagt cacactcagc tctgtttatt tcattcatag agctaatcac	13500
aatttgatat taacttgtga ttttttctt ttttttaaa tcttatttt atttgcata	13560
atgtatgggg tacaagtga atttgttac ttgatgtat ttacagtgg taaagtctg	13620
gcttttgga tatccatcac tggagtcag tacattgtac ccactaagct attttcaac	13680
gcccccccc tcccacctc tctgtcact tccagctc tactgtctat cgtccatgc	13740
tctactcaat ttgggtgca tttttctg aagcaaaatt ttggtgtcat ttttctgaa	13800
gtcattttct gaagtctgtg tcatttttcg ctttctgaa gcgaatttg gtgtcattt	13860
tcctgaagtt ccgtttgcc cacacatagg cttgtctat agaagaggg tttagtgtca	13920
cggagtctc tgcctcattc tcacctaac ttttcttta ccccttgcg aggggaagga	13980

tgccattag gtttaataatg cagaccccta acccactcat tatcagggtc attgtttttc	14040
cactgtgcat ttttaatacta actgttacct gcactgtccc ctgccctca aagtcagaa	14100
agcaaagtaa cctcttttct tcccattcag gaacaattgc ctattaaagt acagtcccgg	14160
aggaacacct accgctataa aggtgctgag taacgtggaa tctggattct cactgaagcc	14220
ctgtgccctt tcagaaattg gtaattgtag gactacttca ctttgtgatt gtggtaggtg	14280
gaataggagc cccagagac gtccctgtgc tgagccctgg gacctgtgcg tgtgttccca	14340
tagctggcaa aagcgtttct gtcaatggca tgcagttacg ggcttcgaga tggggagttt	14400
actctggatt ttctgaatgg gcccaatgta ctcacagggt tgagtgtca caaggctcat	14460
aagaaaaaga gagaggcgga aggctcagag ccagagagag aggtttgaag gtattacact	14520
gctggctttg aagatgaagg tccgtgagcc aaggaatgca ggccgcctct agaagttgaa	14580
aagggcgagg aaagagtttc cctgtggagc gtccctggagg aagaagccct gctgatgtct	14640
tgattttagc ccagtaagac ccaatctcta gaacagtaag ataattaatt tgtgtgttt	14700
ttaaccacta agtttgtgtt tatgccccta gagcagcagt tataggaaac tagtacagtg	14760
atactgttag agttatagga cagtgatata ggacagtgat actgttatag ttataggaaa	14820
ctagtacagt gatactgtta gagttatagg acagtgatat aggacagtga tattgttata	14880
gttataggaa actagtacag tgatactgtt agagttatag gtacagtgat attgttatag	14940
ttataggaaa ctagtacagt gatactgtta caggtacagt gatataggac agtgatactg	15000
ttataggaaa ctagtacagt gatactgtta gagttatagg tacagtgaca taggacagtg	15060
atactgttat agttatagga aactagtaca gtgatactgt tagagttata ggtagagtga	15120
tataggacag tgatactgtt atagttatag aaaactagta cagtgatact gttatagtta	15180
taggacagtg atataggaca gtgatattgt tatagttata ggaaactagt acagtgatac	15240
tgtttaggtt ataggtacag tgatatagga cagtgatatt gttatagtta taggaaacta	15300
glacagtgat actgttagag ttataggtag agtgatattg ttatagttat aggaaactag	15360
tacagtgata ctgttatagg tacagtgata taggacagtg atactgttat aggaaactag	15420
tacagtgata ctgttagagt tataggtaga gtgacatagg acagtgatac tgttatagtt	15480
ataggaaact agtacagtga tactgttaga gttataggta cagtgatata ggacagtgat	15540
actgttatag ttataggaaa ctagtacagt gatactgtta tagttatagg acagtgatat	15600
tgttatagtt ataggaaact agtacagtga tactgttaga gttataggta cagtgatata	15660
ggacagtgat attgttatag ttataggaaa ctagtacagt gatactgtta tagttatagg	15720

acagtgatat aggacagtga tattgttata gttataggaa actagtacgg tgatactgtt 15780
atagttatag gtacagtgat attgttatag ttataggaaa ctagtacagt gatactgtta 15840
gagttatagg tacagtgata taggacagtg atattgttat agttatagga aactagtaca 15900
gtgatactgt tatagttgta ggacagtgat attgttatag ttataggaaa ctagtacagt 15960
gatactgtta gagttatagg tacagtgata taggacagtg atactgttat agttatagga 16020
cagtgatatt cttatagtta ccgtgggtata gttatagtta aaggtagagt gatattgtta 16080
tagttatagg acagtgatat tggttatagt ataggacagt gatgtagtta cagtgatata 16140

ggtacagtga tattgttata gttataggac agtgatatag ttataggaca gtgatattgt 16200
tacagttata ggtacagtga cggttgaata gttataggac agtgatatag ttatagtta 16260
aggtacagtg atgtttagc aaaactgtaa ggtcattcct tgggtgtgtc cctatctagt 16320
gaaatgactc taccaggggt agggaaataa aactctgtcg ttccacacat aaaggttaatt 16380
tcaatggaat tatccagaaa attgccatga cattccacct catttagcat gtcaggatgt 16440
taatgacaag atgttactaa aagcaaatcc cttacggcca gttttccgca gtactgggtg 16500
ctggctctgt gcctggccct gtattgggtg ctgggctagg atttcctgt ggaagattgg 16560

gaaggttggg tacaaggtag ctattttcct gtctcctctt tgcgacagca caccttctcc 16620
atggtgtgtg ccaggttcac gtgtactggg gatttaattt taacgttcat attatTTTT 16680
tctgggagag tttttgaagg ctgccaggag gcaggactcg atgcaaacat gctccattct 16740
gtaccagacc ctgttgctgg aaggatttgc tgcacttacc cagggaacag gcaagctcgt 16800
gctgtggctc tgggctgtca cagctgctgt ccacacctgg gagagcacc tggatggctc 16860
atctgtgtac ttgctttctt gttaaattgc agtgagtca catgtgattt aatcgatca 16920
aatggccttt acagactgat aaaaatatgg ctgtttcagg tgggtgtttg agctgctaag 16980

ggcgtggctt ttactgagt acgtggtecc cgttcctcag ggaacacca gtagccacat 17040
gcctcctaaa cctagagtag ggctgtctcc tggcctaact gcccaaatga gattcataag 17100
ttagggatga tctgtagtta tctactacaga ttgtccttg gtttcacaa ggattttcct 17160
aatTTTtaca aaaaaacccc taaggctcct ggaaggaggg tagaagtga ggtgctccgg 17220
gggcaacaca gctgatgagc tgaaccagaa ctcgacctt gggtcacaca catttcacag 17280
tgctcactcc accttttgtt tttttaatgg atttaatgg gttttaaagc ctctgcctc 17340
tcaacacata tgaattcatt atatttacag atttccttct cttgtgggcc atcttctgc 17400

atagatcttg agagatgtca ggctaaccac gtttcctcag ttaatttaac aaaaccattt 17460
gcaactctga catggaaaaa tcctaccatg tgacttatta atttatcaat tgagatggta 17520
cacatatTTT caagccaaaa ggaggaaaac ataaattgga aaaaaaggt ttttttattt 17580

ttatcacctc tggggaagaa agtctgataa acgaagctgg ttgataaaat tgcaattagg	17640
ggaagcaaca tcatggtttc tggtcggagg ctaaccagat ggcatacttg aaatagagaa	17700
tgctctagaa atcaactggt tgcttggcca aaatatctat aaatagtgcc caacatatta	17760
gataggaaaa gcaaagtaaa aacaatttta acaggttagg acattgggct gaagtattgc	17820
atataatttaa tgtcatgtgc gtccgtgtga agagaccact aaacaggctt tgtgtgagca	17880
agaaagcttt ttaatcacct ggggtcaggc aggcctgagtc cgaaaagaga gtcagtgaag	17940
ggagatgggg tggggacgtt ttataggatt tgggtaggta gtggaaaatt acagtcaaag	18000
ggggttgttc tctggcgggc agcgttgggg ggtcacaagg tgctcagtgg gggagcttct	18060
gagccaggag aaggaatttc acaaggtaac gtcatcagtt aaggcaggaa ccggccattt	18120
tcacttcttt tgcttttctt cagttacttc aggtcatcta gatgtatacg tgcaggcctg	18180
ggcccagagg cctgacattc ctgtcttctt atattaataa gaaaaagaaa acgaaatagt	18240
ggtaaagtgt tggggtggcg aaagtttttg ggggtggtat ggagagataa tgggcgatgt	18300
ttctcagggc tgcttcgagc gggattaggg gcggcgtggg aacctacagt gggagagatg	18360
aagctgaagg aatatattat ggtaaggggt gatattgtgg ggttgttaga agcagcattt	18420
gtcatataga atgattggtg atggcctgga tatggttttg tgtgaaatga gaaactaaat	18480
ggaagacaca aggtctgaat aagagaagga gaaaaacagg tgttaaagga ctaagaattg	18540
ggaggaccca ggacatctaa ttagagagtg cctaaggggg ttcagtgtaa ttacttgctt	18600
ggttggtgag tttttgggct ctatccttga cagagtcctc ctttttaagt tggaggctga	18660
gcttggtgag gtgtgttttt aaaagaccat tagtctgttc tacctttcct gaagattgag	18720
gatggtgagg ggtatgaagg ttttactgaa taccaagagc ctgagaaact gcttgggtga	18780
tttgactaat aaaggccggt ctgttatcgg attgtataga gatggaaagg ccaaactgag	18840
gaattatgtc tgacagaagg gaagaaatga ccacggtggc cttctcagac cctgtgggaa	18900
aggcctctac ccatccagtg aaagtgtcta ccagaccaa gaggtatttt agtttctga	18960
ctccgggtat gtgagtaaag tcaatctgcc agtcctgggc gggggcaaat ccccgagctt	19020
gatgtgtagg gaagggaggg ggcctgagca atccctgagg aggagtggag tagcagatgg	19080
aacactgagc agttattttt tgaggataga tttttacgac ggaaaggaaa agtgaggttt	19140
taagaggtgg gttagtggct tgtaacttac atggaagagt ttatgaaatg atgacagaat	19200
agaatgggcc tggaggctg gaggagatat tttccttggg ccaagaatta tttgccttgt	19260
gtgggaagag attgataggt ggaagtttca atgggggagt agatgggagt gacagatgag	19320
gaagaaaaaa actggctgtg agggatagaa gttggaatgc tcgtgctttt tttagctacc	19380
ttatcagcat aggcattgtc ctgagcagtg ggatctgatg ccttttggtg gcccttgag	19440

tgaatggctt cagcttcctt tggaagtaaa gtggccttga gaggagtttt tattaagag	19500
gcattaagat ggagaacctt tgtgtagtga ggaaacctcc ttcagcccat ataaccgcat	19560
ggtggtgcag aatatggaag gcataatitag agtcagtata aatatigaca ctagtccct	19620
ttgcaagagt gagggcctga gttaaggcaa tgagttcagc ttgctgagag gtagtggagc	19680
ggggcagagc agtagcctca gtgatagatg tggaagatac tacagcatag cctgcctttg	19740
ctggtgagtg gtgattagc ctggtggaac tgccatcaat aaaccaagtg tgatcagggt	19800
aaggaacagg aaagaaggaa atatggggaa atggagtga tgtcaggtgg atcagagaga	19860
tacagtcagtg ggggtggggg ccagcctaaa acagtaaggt caagtgttt gaacagaaag	19920
gctacagggc gtggtcctgg ctcttgtga agaattttga ctgcgcagcc ctgcacttcg	19980
gctgtgtga atgaaaaggg ttgggatgag ttaggagag ctagtgtggg agcagtttct	20040
agggctgttt ttaaggaatg gcaagaggag tggctaaagg atttaggac tttgggtca	20100
gctagctttg cttttgtgag tttatataat ggtttagtca ggatggtaaa acttagtacc	20160
caaagcgga agtacttaac catacctagg aaaaaagga gttgtttgt agaaggggtt	20220
ggggtttggg agatgagcca gacacaatca gcaggagag cacatgtgtt ttcataaga	20280
attatgccga gataggtaat ggataggaa gaaatttggg cttgactgaa gtaatggggg	20340
ctgtcctcga agccttggg cagtacagcc caagtaagtt gctgaggctg acgggtgtca	20400
gggtcagtc aagtgaagc gaagagaggc tgggatgaag ggtgcaaagg aatagtaaag	20460
aaagcatgtt tgagatccag aacagaataa tgggttggg agggaggtat tgaggatagg	20520
agagtatatg gctttggtag catggggtga ataggcaaga caatttgggt aatgaggcac	20580
agatcctgaa ctaacctgta aggcttgtcc ggtttttgga caggtaaaat gggggaattg	20640
taaggagagt ttataggctt caaaaggcca cgctgtaaca ggtgagtgt aacaggtttt	20700
aatcctttta aagcatgctg tgggatggga tattggcatt gagcggggt agtgtgatta	20760
ggttttaatg ggatggtaag ggggtcacga taggttgcca aggaggagc agagggtcc	20820
tatacttgtg gattaagggt gggacacaca aggggaggat gtgaaggagg ctttgaactg	20880
gggaaagggt ggcattgagg tgttgctgtg gcctaagaac agtcaggga gcggataatt	20940
gagttaaaat gcctcgacct agtaaggag ctgggcaggt ggtgataact aaaaaggagt	21000
gcataaaaga atgtgtcca agttggcacc agagttgggg agttttaaga ggtttagaag	21060
cctggcggtc aatacctaca acagtatgg aggcaaggga aacaggccct tgaagaagac	21120
gtaatgtgga gtgggtagcc tctgtattaa ttaagaaggg gatggattta ccctccactg	21180

taagagttac ctaaagcatc tgtgatggc caggaggctt ctaagtgat cgggcagcgt	21240
cagtcttcag ccgctaagcc aagaagatct gggaagcagt cagtcagaga gccttgggcc	21300
agagtccag gggctctggg agtggcagcc aggccagtta gacagtccga tttctagtgg	21360
ggtcccacac agatgagaca cagcttagga ggaatcccag gctgcgggca ttccttggcc	21420
cattggccag atttctggca cttgaacaa gatcctgatg gaggaggtcc ttaggaatg	21480
cttgaccact gcagtttagg cattttgaag tttttgtgtg tgctggagat gtggctgggt	21540
tttgtctcac agcagaggca aggaatcgca actcagaaat acattgctac ttggctgcct	21600
ctattattgt acatcttgaa ggcgagggtta attaatcct cttgtggggt ttgagggtg	21660
gaatctaatt ttggagttt tttttgttt gtttttgggt ttttttttt taatgtcagg	21720
agctgactgg gtgataaaat gcatattgag aataagaggc cttctgacct tctgggtct	21780
agggctgtaa agcgtctcag ggttgctgcc aaacgggcca tgaactgggc tgggtttttc	21840
atatttgatg aaaaagagcc taaacgctaa ctgatttggg agaggtcgga taaataaaaa	21900
ggaacattaa tcttgactat gcctttagct ccaaccacct ctttaagagg aaattgttgg	21960
gcagggtggg gagggctagt cgtggaatga aactgtaagc tggaccgggt gtgaggagg	22020
gaggtgatag aaggattata ggggtggagga gcagaggctg aggaagaatt gggatctggc	22080
ttggcctggc aaggagcagc ctggggagga ggggagagggt cagatgggtc catagaaaag	22140
gaggattgga aagactcagc aacacttggg gttgggattg agaggacaga tgggttggga	22200
ttgaggggac agatgggagg gaaagaagga agatttggga caagttgcat tgggaacaga	22260
gactagggag ggaccaatgt gtaaaagaat gcctggacgt caggcacctc agaccgtttg	22320
cccatTTTTat gacaagaatt atctagatct ttaggatgg aaaaatcgaa agtgccgttt	22380
tctggctatt tggaaccatt gtcagtttg tattggggtt aagcagcatt gcagaagaaa	22440
ataaggcatt taggttttag gtcagggtg agttgaagag gttttaagtt cttgagaaca	22500
taggctaagg gagaagaagg aggaatggag ggtggaaagt tgcctatagt gaaggaggca	22560
agcccagaga aaagagagg tagagacatg gagagaagggt gtgggggggt gcttgcccc	22620
aggaaagtgg ttcttgccac taagggtgaa ggatcaaggc aggcattcgc gcggtgatca	22680
gatacctctg aaacgtgggt gaataatcaa gcagggtgcc ctgcagtgat taaacagcaa	22740
ggaaagacta tcttcccaag tccatgacca gtgccagagt tttgggttca tggataaaac	22800
gcgtctcctc tgctctacc agaaaatgaa aggaattgaa attaagagaa gggagagatt	22860
gaaggatggc gccaagattg aaaggaaaa gaggttgagg gatagggaga gaggttggat	22920
aagagagtaa aaagaggtg cttacccaat ttaaaatcgg tgagatgttc cttgggcttg	22980
ttggtctgag gaccagaggt catgggtgga tctttctcat ggagcaaaga gcagggggac	23040

aggggattga tttcccaagg gaggtcccct gatctgagtc acagcaccaa atatcacgtg	23100
tgtccatgcg aagagaccac caaacaggct ttgtgtgagc aagaaagctt tttaatcacc	23160
tgggtgcagg cgggctgagt ccaaaaagag agtcagtga gggagatagg ggtggggacg	23220
ttttatagga ttigggtagg tagtggaaaa ttacagtcaa aggggggttgt tctctggcgg	23280
gcaggggtgg ggggtcacia ggtgctcagt gggggagctt ctgagccagg agaaggaatt	23340
tcacaaggta acgtcatcag ttaaggcagg aaccggccat tttcatttct ttgtcattc	23400
ttcagttact tcaggccatc tggatgtatg catgtaggct tgggcccaaga ggcctgacat	23460
ttaacatgga taaatgtaaa gttcttagaa tcatacatc actttgaaa agatggggct	23520
taatcgcact ttataagact tgaaggatgt ttgagaatca ctatgaaact gctgaaaata	23580
ccaagaaaat ttaattctta tgtatataaa taatgtgtct gttttacatg aatcccttct	23640
acaagcttgg tatttaatat ggcatatatt gtttttcat agtagattta aaatttttga	23700
tatctaattt agataacata aaattaaccc ttgaaagtg tacaactccg tggtttttag	23760
tatatccacc tgattgcaca acgatcacca ctgtctagtt ccagaacatt tttatcacca	23820
caaaagaaag gctgtatcca ggccgggcac ggtgggtcac gcctgtaac ccagcacttt	23880
gggaggccga ggcgggcgga tcacggggtc aggagattga aaccatcctg ggtaacacgg	23940
tgaagcccta tctgtactaa agatacaaaa aaattagctg ggcatgatgg cagatgcctg	24000
tagtcccagc tactcaggag gctgaggcag gagaatggcc tgaaccagg aagcggagct	24060
tgcagtgagc caagattcgc ccactgcact ccagcctggg cgacagagca agactccatc	24120
tcacaaaaaa ataataaaaa taaaataaaa aaaaaaaga aagctgtct tttctcttc	24180
ccattggcgg tctttctcca ttccctactc ctccaatccc ctggcaacca ctaaatctac	24240
tttccatgtc tgtggacttg actcttcggg acattttaca taaatggaat catgcaatgc	24300
agcacatttt gcacttggt tttttcacct ggcggtgttt caaggctcat tcgtattcta	24360
gcataatatc atactttgtt cctatttagg actaaataag attctattgt atgaataaaa	24420
catattttgt ttatatactt agtttgatga acatttgagt tgtttctgga ttttttttt	24480
tttttttttg cctcttatga ataatgctgc tatggacaac agtttttggg taggcatgca	24540
ttttaaatc tcttatglat atacttagga ttaaaattgc tggatcacag agtaactcca	24600
tgtttaactt ttgatgaat tgccaaactg tttttgagag cagctacaca atgttacatt	24660
cttaccagca acaattgagg gcttcagtct cctacaacc ttaacaacac ttgttattgt	24720
ctttgtaatt attgccttc taggcagtgt gaagtgggtg ctcactgtgg ttttgatatg	24780
catttcccta atgactaaca atgttgtgta tcttttcgtg tgctcatttt caatttgaat	24840
acattctttg ggaaaatctc tgtttaaatc ttttgccat taaaaataat tgggttattt	24900

tcattgttga gttgtatgaa ctctttatat actctggata ctacactctt atgacatata	24960
ttatittcaa aaatittctg tgcactgca ggcatcttt tcactttact gatgggttc	25020
tttgaagcac caaagtttt aaacttgatg aaatccagtc tggttttatt ctgacacgtg	25080
ctttacctaa aacgcaaaa cctaattcat ggttttgaag attttgcct atgatttgtt	25140
cttagagggtt tatagtttta gctcttacat ttaggcattt gatgcattt aaattaaatt	25200
ttgtatatgg tgtaaagtag caatccaact taattcttgc atgtgggtat tcagttattc	25260
cattgtcttg aaacctttt caaatcaat tgcctataaa tgtaagagtt tatttttga	25320
ccatcagttc tatcctgttg acctatatat gcctatccta atgccagtta cacacagtct	25380
tgattacat aactttgcag taagttttga actcagacag tctgagtgtt tttatttgt	25440
cctttttcaa gattaatttg gttattccgg atcttttgca tttccatatg aatttttaga	25500
tggtttgcaa tttctgcaat agaaaagcag caggattttg atagagagtg cattgaatct	25560
gtagaccaat gatlataat ggaattatgt gttatcaaat ttagtaaaact acataaacga	25620
tatgtacaca actaaaacaa aactaagata taagatcata ttaatgtaat gataataaaa	25680
gtggattgtc tctgttcta attttaatag gcacaaggca tttttgttaa tcacttctta	25740
ttaaagaatt ttttataata ttcaggaaaa tacaacaaaa aaaccttac attcctaagg	25800
cctcagagtc agagtaatat aaaggaaatg taaacacatg ctgagtaatg caagcatttg	25860
gcaatgggtg tgactggagc tgggagcaca gcttttattt ctctgaaata ggaatttgcc	25920
ccttagagtt agaccaattt tgccttctc taaatggcaa acagtttgga gatacttta	25980
aggacatttt ttcacttagg atgttttagt ctatgaataa taaatagtca caatttcctt	26040
aactatgggt acaaaataca agcaaattta gcctcatgtc atttcctaag gaacatcttc	26100
tctctgtgag ttcacaggtt gccacatgaa catcttccag catcttgcgt tctcagatgt	26160
ggatgttgcc agggttctca ctccagatgc ttttgtgtgt cggaccatct gcacctatca	26220
ccccactgc ctcttcttta cattctatac aaatgtatgg aaaatcgagt caciaaggcg	26280
agtatgcatg gaaaatcgca tcacaaaggc gagtatgcat ggggagcact tgctgtgta	26340
ctttcatcac ttttatagtc tgagtcttta aaagtttcgt tcatttcctt caaaacactt	26400
gaacctgcag tttcagtagg tactgttctg ccaggtgcag attagttaag agattagcag	26460
acttctctgc ctatcttctc ttaactttaaa acaaatgtta ccattgaatc aaggaagcaa	26520
tagccatgag aaaaaagaag gatctgacgc ctttgaatga agattcaaaa catgatcttc	26580
atgttttgta ttagcttgga gtaaaatcca ctgtctggca atatagccct taagcttgtt	26640

gcctcttctc ttgtttcag aaactagagc cctgtttatt ctgatcaagg ctctggccca 26700
ctgtctttat ctacagataac ccacctctt ctgcacacag catggagcta agagaagggt 26760
gtctagttaa gtaatatcat cggcagcata aattcccaga atttgttctt tgattttttt 26820
gtttgttttt ccagttagaa ggtggaactt catcattgtc ctcttttcag gttgtctgtg 26880
cctattagtt ttctccagag ggagaggtgg ctfgatttac attaatctc tgcaatttat 26940
tagagtctg tagttggatt tactttgaag agagtttccc agaagaataa aatttctgc 27000
gttgcttttt ggggtgtgagc tgcttttgta ttgcctaatt gccittaatg caaatttctt 27060

ttttctctc ttgctttttt ttaaaaaaa tagaaatgtt tgtcttctta aaacatctga 27120
aagtggcaca ccaagttcct ctactcctca agaaaacacc atatctggat atagcctttt 27180
aacctgcaaa agaactttac ctggtaatgt gatttgataa taatattaca taaaatgtaa 27240
cctatttcat gacttttaac agcaacagtg atgaaacaat cctcaaggta acagaaactt 27300
gtgtaaatgt cgttcattgc ttttccatc tgatatcttt ttgtgtttat aattgacaca 27360
gaacctgcc attctaaaat ttaccggga gttgactttg gaggagaaga attgaatgtg 27420
acttttgta aaggagtga tgtttgccaa gagacttgca caaagatgat tcgctgtcag 27480

ttttcactt attctttact ccagaagac tgtaaggaag agaagtaaag gaaattttat 27540
ttttcaaaga cagttgacat gaccatttca tttctcttt cccctgtga aggettactc 27600
tttctactgt tcatttcatc taggtgtaag tgtttctta gattatctat ggatggttct 27660
ccaactagga ttgcgtatgg gacacaaggg agctctgggt actctttgag attgtgtaac 27720
actggggaca actctgggtga gtaacctcac ttttctgtgg acctgtcagg gatgtctgtc 27780
atgttgatag ttgcttagt cttaaggaat tatgtgtctt gttctccttg gttagaaggg 27840
actttgattc atttctaatt ccaaccatta gcgtcaacgc tctcttttca gtctgcacaa 27900

caaaaacaag cacacgcatt gttggaggaa caaactctt ttggggagag tggccctggc 27960
aggtgagcct gcaggtgaag ctgacagctc agaggcacct gtgtggaggg tcaactatag 28020
gacaccagtg ggtcctcact gctgcccact gctttgatgg gtaagtgttg gatgcatctc 28080
atccagagtc ttatcttggc ttttcatttt gaaggatcta tgatcagctg cttaccgcc 28140
atgtgacttt atgaatagag acgtgttaaa gcggggatgg tattcacaac atttaactta 28200
taggtgctaa gcaactgacca acctgacct tagaacagag tgtggtctct gtacagggca 28260
gatggcgctg agtgggtatt ctccacagaa agagaaacga agacagtacc ccaactctcc 28320

aaccaccac ccaccacaa tcccaccacc aattccacca ccaatctgc caccaccac 28380
caatctacc accaatccca ccaccaatcc taccaccac catcaatctc agcaccaatc 28440
ccaccacaa tcccaccacc aatccacca cctacccac caccaatccc gccaccacg 28500

accaatccca ccaccgatcc cgccaccaat cccaccacca atcccaccac ctaccccacc	28560
accaatcccg ccaccacga ccaatcccac caccgatccc gccaccaacc accaatccca	28620
ccaccaatcc caccaccaat cccatgatgtg ttcttcaaag acttatttgt caggcccata	28680
gaaatgttac ttcttgctct ttgattcata aatatactaa gtcataataa tttttaaaag	28740
tgagagtttc gtactctgta tatttcaatg tatataattt gatctatttc aatttattgg	28800
tcaaatagta gacatgttag gtaagtctta aaatactgag gctttggagt tagacagaac	28860
atggcctaag tgacagcttt gctgcttatt agagggtgtg ccctagaaga ttgttaaadc	28920
cctctgagct ttatttgatc taaaatatga atagtaatag tcccgaattt gtaacgttgt	28980
tggaagatt aagtgcaca tttaaaatgc ttagtactgt gtgtagaaca taaacacttc	29040
aaaaaatgta aactgtgatt tctatattca ataagaaatg tagaaatgga caaagcatat	29100
aaaaagcaaa agaataacta gaagacactt gatTTTTTctc aaaaataaac acaccaagta	29160
TTTTTgtttt agtgaatttc atgcttacat gctgtatact aggattgaac atactgccac	29220
caaaatatag cagtcggtgg tacatgtggg tggagcaaga cccctccacc ttgtcatcgt	29280
gtgaaggggc tctgccatac atgaccttgc atgtgacttt aagggtggtg gcctggaaga	29340
aaagtcccaa gatgggaaat agtaggtgtc ttttttacta aatgcactcc aatttgggac	29400
caaaaatttt cattcttgaa ggctcagtat tgtgagtta taagagataa tagacataaa	29460
agtgtaatga tticattgca aataaaaaaa ggcccccttg cacctgatat ctccatcatt	29520
tttctagaat ttgtgcaca catgccttgc actacttggg gatgataaag atttccagat	29580
ctttgcacag aataaggett tgcttttagat cagaattttg gatgtactta gtatacattc	29640
atcttttaaa taatctattt acattttcat actttccaaa atacagatat attttatttt	29700
atttatatat ttatttaatt tattttttga gatggagtct ctctctgttg cccagagtag	29760
agtgacgtgg cacaatcttg gttcactgca gcctctgcct cccgggttca agcgattctc	29820
ctgcctcagc ctctgagta gctgggatta caggcgcgcg ccacacctgg ctaatttttg	29880
tatttttagt agagacgagg ttcatcatg ttggtcaggc tggctctgaa ctctggcct	29940
caagggatcc acccacctcg gcctcccgaa gtgctgggat tacaggtgtg ggccactgtg	30000
cccagctgta tagagatatt ttaaacaaca ctaaagtcct cctactttga ctaattagaa	30060
gagcattaga agatcagcct gacttcttga cagtctgaa tttagtggag caatgaggtt	30120
cagctttggt gaatgagctt aatttttcca tgataaactg ctagtctctt cccactacag	30180
tgtctctcaa aaatgggaca gcaacattct tttgttttc acttgacgta agcatgatgc	30240
aattacataa atgtacactt ttcaatttgt taaatagaat cttcagagat tcactactgc	30300
cgctattggt gatgaaaaat taccagaagg aggaattagg taggagaaaa tgtgtcctat	30360

gtatttcctt cccagttctt tgaaagagag tgataggaaa aaggaacact attgaaggaa	30420
ggactgccca gtttcaaaca ggtattttatt tttctctcct aggccttcccc tgcaggatgt	30480
ttggcgcac c tatagtggca ttttaaatct gtcagacatt acaaaagata cacctttctc	30540
acaaataaaa gagattatta ttcacaaaa ctataaagtc tcagaaggga atcatgatat	30600
cgccttgata aaactccagg ctcttttgaa ttactactgg atgtagcata tgtaagaagg	30660
tggagagcag aattgcgctg gttgatattt tcatatcagt ttgaacaaga gggcagacct	30720
agagagactg tcgtcgtttt ctgactgggt gagttgaggg aaacgtgagg gttgctggga	30780
agtgaagacc ccgcgacttg ccgtgaaatc tcttctactt aaagagcaag acatgtgaat	30840
taattctttc agggagggat acaactgcat gcaggatgat gaaataatgg gcgtgggaaa	30900
tgtctgtgcc gtctgagagg cactgggctt gctttgacaa gagtagcaga actgtcattg	30960
ctttgggctt agggatatct gaattgtgtga gggcaagtgg gatcagatat ctacttcag	31020
glataatttg ggtaggaaa agactcatgc agaaagaagc cctggaaggc cagagcatcg	31080
tggtcagagg ttttgccttt ggagggtcat tgctgccagg agccgaatac ccactgtatc	31140
caataacatt catggtcagg aatggtggct cacacctgta atccaacac tttgggatgc	31200
ccagggtggga ggattgcttg aggccaggag tttgagacca gcctgggcaa cacagtgaga	31260
ccccgtctct acataaaatt agaaaaaac aattaactgg gtgtggtggt gtgcacctgt	31320
agtcaccagt agtcaagagg ctgagacaag aggatctctt gagcccagga gctcaaggct	31380
gtagtgagcc aagatcgtgc cactgcacac aaacaattat gtgacctcgg gcaagttgct	31440
ttacctcttt acacctctta atttccttat ctgtaaaatg aggatgataa tttcttcctg	31500
ggtctgttgt aataattaat acatcaaagc acttcatgtc tggaacagtg aagataccct	31560
gctatgacta ttaaggatag tatacatgga ataagacaca ggaacttcta aatgcttttg	31620
accatagatt taggttctga gttttaagaa ttttaactcag gaaattgtaa caccaaaaat	31680
gltcatgtgaa aaatggtggt gacaaatttt ctgtaatcat tagccttaga ggttgggcag	31740
aaagcaaaaa attattcttg atgctactct atagaaagag aagacagaaa aagagaaaga	31800
tgtattttta aagtctatat ccataacttt atttgaccaa actctaattt aaaaattatg	31860
tttcagaatt ccaaaaacca atatgcctac cttccaaagg tgacacaagc acaatttata	31920
ccaactgttg ggtaaccgga tggggcttct cgaaggagaa aggtgaagcat gacgctttaa	31980
atattgcttc tagagtaagt ctcacatgtt gaaatacatg gagtgggtcg ttttaatcgg	32040
tttctgtctg aaattatata taaactcttt atctttccta tctatttatt cccaaatatt	32100

tattcagtta ttcttaaaaa atgtatTTTT gctttggctt gaaaaaaaaat tttagggaga	32160
cttttaagca tcttacttca ttataaagat cagtttgcttg actttgcatg aagcagattg	32220
ggcccttcta gggtgacaa gccctgcaa gaccacccgc tctcagtgtagtagcggtt	32280
cccgtctccc aaaacatgt tctcccttga tgctaattggc cgggagcaca ggcaggtgtg	32340
tcgtctcact atggagaata atatttgtgt cattctttac agaagaaggt agcttgccaa	32400
actgtctcca tctttccga ttcagttctt tgttcaagta attcacattt ttagattttt	32460
tattggtaat ctgagacaag aagaaattta aagtaatctt cactaagcca tgaaagctcc	32520
caacattgtt ctccatgaga gatgctggcc tgcatttatt caaaaacaaa agaccctct	32580
gttgccaaag ctcgaggggc ttttcagaaa cgatatagtt gtaaattata attttgaata	32640
tataaagcaa aaaaatgaaa agtgagaact tccaggcttt ggattgttgt aggtgataaa	32700
tataaaatgg gatttctggg gggctgctac tgagatgagg ggatggcaga aaacatggaa	32760
gcaaggtctc tggtcagccc aggggtgctgg gcttgtccca acaccacgta ggcaataaga	32820
ggacagtaca gggtgccgtc tctctccctc ttctctctc tgtctctctc tctctgtgtg	32880
tgtgtgtgtg tgtgtgtgta acactacctt cccaattttt actgtctatt tgtattcaaa	32940
gataaggctc ttatgaaaaa tacactgctc tgattcactt taaaacttat ttccatattt	33000
attatttatt gtgggaataa taatattccc aatattatta ttattattt aagttattat	33060
tattaacttc cctctgaggt tatatattgg ttactcacag gtgaaatcca aaatattcta	33120
caaaaggtaa atattccttt ggtaacaaat gaagaatgcc agaaaagata tcaagattat	33180
aaaataaccc aacggatggt ctgtgctggc tataaagaag ggggaaaaga tgcttgaag	33240
gtaactcatg agattatgaa aaacacaata ggctgcttga gaaaattcat ttcaaaatat	33300
attttccaat agcataatc aatcatagtt tttaaaaaaa ttcagagaca aatgatctga	33360
taaattgata agcaactttt aacaaattga atatacataa tatatattta tattatttat	33420
gatatatgtc acaatctatg catgtgctat ttaagagggg caaatataca tgcaataatt	33480
gtgctagaat ataaaaacat tagacttcat cattgggatg atgatatcaa gatttctttg	33540
ttagatttat ttcagataga aaaggggata cgaaaaatgc aggcacatga gatacttga	33600
gaactttaag aaagagttag tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg tgtgtctggc	33660
aagcaaggtc ttgcacacac acagcacttt gggaggccaa tgcaggtgga tcaacttgagc	33720
ctaggaattt gagaccagtc tgggcaatgt gatgaaaccc atctctacaa aaaaatatga	33780
aagtatctgt gtgtgtgtgt tgctgtgtag tggactacag aactttagag gcagtcactt	33840
atttgaatcc cattgtcgta actttctact attttattt tccactgtga ctcagggaga	33900
ttcaggtggt cccttagttt gcaaacacaa tggaatgtgg cgtttggtgg gcatcaccag	33960

ctggggtgaa ggctgtgccc gcaggagca acctgggtgc tacaccaaag tcgctgagta	34020
catggactgg attttagaga aaacacagag cagtgatgga aaagctcaga tgcagtcacc	34080
agcatgagaa gcagtcaga gtctaggcaa tttttacaac ctgagttcaa gtcaaattct	34140
gagcctgggg ggicctcatc tgcaaagcat ggagagtggc atcttctttg catcctaagg	34200
acgaaaaaca cagtgcactc agagctgctg aggacaatgt ctggctgaag cccgctttca	34260
gcacgccgta accaggggct gacaatgcga ggtcgcaact gagatctcca tgactgtgtg	34320
ttgtgaaata aaatggtgaa agatcacgat tagcaagtgt tttcttctgg ttgtgaaaca	34380
gaactgaaag taagtgggtg aggttccagc acagttcctg ggatccctct aattgcactg	34440
cttctcttgg aactcagtat atctcaaaga tgtaatttcc tctccgtgct gcacctggct	34500
ggccactgaa acccactatt gcctgcttca cgtgtggcaa agagctagcg ggcttgggtt	34560
ttgttctgcc gagaggaagg gagaacaccc acttttataa gaaagagatg ggttacctga	34620
acccatgggc acctttgcct cttggcctcc taactttgct accagggcat ggctaggagg	34680
gtccaggctg cgctgtctga ggagctcgag gggtgcagc attgcacagc cttcatggca	34740
ggcaaggaat ctgctttgca aggggcatta gccctggagg ctacagtggat atgggctatt	34800
gcaatagtaa ttcaaggagc atttttaggc ctggcgtggg ggctcacgcc tgtaattcca	34860
acagtttagg agatcaaggc aggtggatca cttgagcata ggagttcgag actagcctgg	34920
ccaatgtgac gaaaccccat ctccacaaaa attagctggg catggtgggtg cgcacctgta	34980
atcccagctc cccagaagc tgaggcagga ggaccgcttg agcccgggga tgtcgtggct	35040
gcagtgagct gagatggcac cactgcatca ctgcattcca gcctgggcaa cagagtgaga	35100
ctgtctcaaa aaaaggaagc attgttaggt ataaattatt attattatta ttattagtag	35160
tagtagtagt agtagtagta ctgagacgga gtcttgcctc gttgccagg ctggagtgca	35220
gtggtgcaat cttggtcac tgcaatctct gcctccggg ttcacgcat tctctgcct	35280
cagcctccgg agtagctggg actacaggca cccgccactg tgcttggtta atttttgtta	35340
tttttagtag agacgggttt caccatgtta gccagaatgg tctcgatctg ctgacctgt	35400
gateccaccg cctcggcctc ccaaagtgt gggattacag gcttgagcca ccacaccag	35460
ccctgttagg tataaattat ttcataaaat tcagacttgt aaatttatgg tagcctttgg	35520
aatgggtgat agatgtccta tgccacacaa attctcaca tgccgaggt caccgtaact	35580
gataccagct cgcttgattc agttcagtta aactgaacaa catttacaca gaattggcga	35640
tttacaaaat cttatgtaag ttaagtagaa aaacagaaaa aagttttctg aaagagtttg	35700
ggtttttct tcaatgtca agacagaggt ccccaacctt tttggcacca gggaccagtt	35760
ttgtggaaga cagtttttcc atggaccagc atggtggtgg gggatgattc tggaatgatt	35820

caagtgcattg acatttatta tgcactttat ttctattatt actacattgt aatatataat 35880

gaaataatta tgcaactcac cataatgtag aatcagtgagg agctctgagc ttgttttcct 35940

gcaactagac agtcccatct gagggtagat ggagacagtg acagatcatc aggcattaga 36000

ttctcataag gagcctagat ccctcacatg tgcagttcat aacaggggtt gagctcctat 36060

gagagtctca tgcctgctcg gatctggcag gaggcagagc tcaggcggtt atgcttgctg 36120

gcctgccact cacctcctgc tgtgcggcct ggctgctaac aggccatgga ccaggctactg 36180

ttctggggcc cgggggttgg gaaccctgc tcagagacac accgggttgt agggaggagct 36240

aaaggtggag aggggtgaagg aaaatatgag gtctgggcta tccacaaacc agatagcagg 36300

aaactgaaga gttaaactt tacttcagaa ttgaatggct ttgttaaaat ctggctagat 36360

tccatgaaac gattttaaaa atgcactatt taaattttgc ctttgcattg gatgaagaca 36420

ttagtctttg ttcatgtgga tgttttttta tgttttaaag ggaaaaaatg gtttgcaatg 36480

aaacttttat ctgagctttt gagtattgat catgggggtg tggaacagga ctttggaatg 36540

cttgcagggt aaacctttgg cctctgttag tcagggaatg acctagtttg gcaaacaga 36600

ggagagtttt gaaatatgga actttcccga ggcatatatt gtcattttta agtgggtcaat 36660

caaagcccag taggactggg ctggtgtctt ggtgactcac tgtgtgctca tatacagggg 36720

taactgagga gcccttcaca caggctctagc ctctgtggac taaaaagtgt gacatgggct 36780

aggaaaaatg gaggctggga tgccttcact cccatgagga agcgtgacgg gaggaggcgt 36840

gggccactgg cagttctact tcacaaaggc tgcctggcag gtcaatcttg caagctggcc 36900

ttgccctcct gtggcggcag tgtacacgtg gcatgcaagc acatgcacaa gccacctggc 36960

tccaaggtca gccaaagggt ccaacatctg tctcagtcct 37000

<210> 11

<211> 2472

<212> DNA

<213> mus musculus

<400> 11

agaccgccct cggtagcata tttagagggc ttgaagacca tcttcattgt aagactcctt 60

ctctccaga accacaactg gaccatctt ccaggatgat ttatttcaac cgagtgggtt 120

atattgtttc ctgttttct accgtctcct gtgggtgtat gactcaactg tataaaaata 180

ccttcttcag aggtggggat ctactgcca tctacacccc agatgccag tactgtcaga 240

agatgtgcac ttttccccc aggtgcctgc tgttcagctt tctcgccgtg actccacca 300

aagagacaaa taaacgggtt ggttgcttca tgaaagagag cattacaggg actttgcca 360

gaatacacccg gacaggggcc atttctggtc attctttaaa gcagtgtggc catcaaataa 420
 gtgcttgcca ccgagacata tacaaggac ttgatatgag agggccaac ttaatatct 480

ctaagaccga caatattgaa gaatgccaga aactgtgcac aaataatatt cactgccaat 540
 ttttcacata tgctacaagt gcattttaca gaccagagta ccggaagaag tgcctgctga 600
 agcacagtgc aagcgaaca cccaccagca taaagtcagc ggacaacctg gtgtctggat 660
 tctcactgaa gtctgtgctg ctttcggaga taggttgccc catggatatt ttccagcact 720
 ctgcctttgc agacctgaat gtaagccagg tcatcacccc cgatgccttt gtgtgtcgca 780
 ccatctgcac cttccatccc aactgccttt tcttcacgtt ctacacgaat gaatgggaga 840
 cagaatcaca gagaaatgtt tgttttctta agacgtctaa aagtgaaga ccaagtcctc 900

ctattcctca agaaaacgt atatctggat atagtctcct caccctgcaga aaaactcgcc 960
 ctgaacctg ccattcaca atttactctg gagggtgactt tgaaggggaa gaactgaatg 1020
 tgaccttctg gcaaggagca gatgtctgcc aagagacttg tacaagaca atccgctgcc 1080
 agttttttat ttactcctta ctcccccaag actgcaagga ggaggggtgt aaatgttctt 1140
 taaggttate cacagatggc tccccacta ggatcaccta tggcatgcag gggagctccg 1200
 gttattctct gagattgtgt aaactgtgtg acagccctga ctgtacaaca aaaataaatg 1260
 cacgtattgt gggaggaaca aacgttctt taggggagtg gccatggcag gtcagcctgc 1320

aagtgaagct ggtatctcag acccatttgt gtggagggtc catcattggt cgccaatggg 1380
 tactgacagc tgccattgc tttgatggaa ttccctatcc agatgtgtgg cgtatatatg 1440
 gcggaattct tagtctgtcc gagattacga aagaaacgcc ttctcagaga ataaaggagc 1500
 ttattattca tcaggaatac aaagtctcag aaggcaatta tgatattgcc ttaataaagc 1560
 ttcagacgcc cctgaattat actgaattcc aaaaaccaat atgcctgcct tccaaagctg 1620
 acacaaatac aatttatacc aactgttggg tgactggatg gggtacacg aaggaacaag 1680
 gtgaaacgca aaatattcta caaaaggcta ctattccttt ggtaccaaat gaagaatgcc 1740

agaaaaata cagagattat gttataaaca agcagatgat ctgtgctggc tacaagaag 1800
 gcggaacaga cgcttgtaag ggagattccg gtggccctt agtctgtaaa cacagtggac 1860
 ggtggcagtt ggtgggtatc accagctggg gtgaaggctg cggccgcaag gaccaaccag 1920
 gagtctacac caaagtttct gagtacatgg actggatatt ggagaagaca cagagcagtg 1980
 atgtaagagc tciggagaca tcttcagcct gaggaggctg ggtaccaagg aggaagaacc 2040
 cagctggctt taccacctgc cctcaaggca aactagagct ccaggattct cggctgtaaa 2100

atgttgataa tgggtgtctac ctcacatccg tatcattgga ttgaaaattc aagtgtagat 2160

atagttgctg aagacagcgt tttgtctcaag tgtgttttct gccttgagtc acaggagctc 2220

caatgggagc attacaaaga tcaccaagct tgttaggaaa gagaatgac aaagggtttt 2280

attaggtaat gaaatgtcta gatgtgatgc aattgaaaaa aagaccccag attctagcac 2340

agtccttggg accatttcta tgtaactgtt gactctggac ctcagcagat ctcagagtta 2400

cctgtccact tctgacattt gtttattaga gcctgatgct attctttcaa gtggagcaaa 2460

aaaaaaaa aa 2472

<210> 12

<211> 260

<212> DNA

<213> mus musculus

<400> 12

gagtgtaaac actggagcca agcaaagacc gccctcgggtg ccatattcag aggggttgaa 60

gaacatcttc atgtgaagaa tccctctect ccagaagcac aacgtgacca tccttcagg 120

atgaatttat tcgaccgagt ggggtatttt gtctccttgt ttggtactgt ctctgtggg 180

tgtatgagtg gactgttaaa taatacctct gcagaggtgg ggatctagtt ggcactctaga 240

cccctgagga cgagtagtga 260

<210> 13

<211> 30000

<212> DNA

<213> mus musculus

<400> 13

atgagaagtt attttaaatt taatttttta aagttttatt attcaccct tgccacgctc 60

tccagtcgag tcagtttgac aagcagaagc ttggaagctg gccgtgagga aaagagtttc 120

atggaagctc cctcctggag tctggcactc tctttaatct ctttaacca tacattaatt 180

ttccactccc atgttagtct agtgtatgga tccacgtgcc ctctattaag cattacccta 240

ttataagtgc catttaagat tgaattctga catagctaaa gcctctccca gtgttccaag 300

atcccagttt acagcaaggt agtttaacct attcagtaac taattaagca ttacaataga 360

cagagccatt aactcagttg tctgcagaaa gagcctggga atctcactga gatagaaatc 420

tttactacag gctacattcc atgccaagag caagttgata tactatactg atatatgggg 480

aattcttcag acaagataag attttacaag acctaggaat ttaggggtcc atgacactac 540

attattcttg aggcctgtca agagttaaaa ccccttggtg ctattaacac taaagtgtga 600
aactcttgcc tggcattagc ctgacccatg gcagggtctg taatttctat tgtaaacatt 660
tatctagttc ctgcaaattc ctttcttgct tgtatctggt aaatttcagt gtacctgtgc 720
ttattgtgat ttgtagctcc tgataattcg ttgtaataa aaatagtcta atgttcgacc 780
agagattaca ttcagattca acacctctct tgtgtgcac tgtttgtcaa tttaatccta 840
agctttgccc acctactcta gagaccgtt ctacacagac acagggaccc agagggtctg 900

cagcaacctc ttgcatggtt atgtgtgcac acacagaaga agtatagggtg tgggtgtcaa 960
aggacacttt tagggggttg ccttactccc tccactgtgc aggttctggg gatagaactc 1020
cagtcattag gcttgacagt aaatgccttt gacccctga gatacctgc aagctccacc 1080
atgattttag gctttaaaaa catgcaaacc tattagtcac ttatctcttc aatagattct 1140
gggttagcca actgtgcagt tagagttaa tgtgcaaggc tgtttgaatc tcgggtccat 1200
agaaaatagc ctggcatcag ggtccattgc aattacattg atgattgagt ccctgggctc 1260
atgcttggat acccagttca atggggccag tatcttatga tcgaggactg gcttaaagtg 1320

cagatgttga aatgagccta gaaactgagc ctccagaggc aatgtccaaa ctcaagccca 1380
cgggcatgag ttgtttccca aatctacaat tacagtcttg gaaaagattc tacgggggta 1440
gtagaccggg tgactgggcc tgaggttaac atcctggagc ctgggtctgc agggctctgc 1500
cggatactgg aatttctgg gatgggcttg tttcagacc cgtgaaaagt aatgtttaca 1560
tcactcttct tcatgcattt ggaacacatc tccttgctgc gctgcttagg attggttaga 1620
gggtttcacg gttaatgtga aaagtctaac attctcaat gcatattcac taggtccaca 1680
ttttcaaccg gggttggggg gtgcaacctc tcatctggat tccttaacaa ctcggaaggc 1740

atTTTTTTTT gtgcacagag aattgttccc atggattctt ctgcaaaggg acccattttg 1800
gagcctccag ctctgtcatc gtgtttatat gacttcttga aattggtaac atattaagta 1860
gctgaacctg gactgggatg tccgtggact atattgacag gttaaacagt tgaaactgat 1920
gccagaaacc cagtgtaaac actggagcca agcaaagacc gccctcgtg ccatattcag 1980
agggttgaa gaccatcttc atgtgaagac tcctctcct ccagaaccac aacgtgacca 2040
tccttcagg tagctgcttt ctaccggtct tgtatttcc tgtgtcttgg gtttttttt 2100
ttcaataata ctatttctgc atgaacaaaa gctcactggt ataatgcact aatttcctga 2160

gttttttagaa aaactacaag gagggtttt tctttctata caaatatatt aatgtaaaat 2220
attttaaac caagaataag tttttgattc ttttcaaaga tgcctttct gtgaagggtg 2280
tgggtgatat tattgtcctt attcataata attttgcat aatctggaaa tttataaagt 2340
gtttttaatt atttgtatta actctttaca aaattattag aaataaatct tcaaaattaa 2400

caataaatac actaatacac actgatagta atctagaggt ctcaatttgg atcttgggaa	2460
gcatgataaa tattttaatt ttctatatac aaaatatccc acagccaaat ctctcttctc	2520
ctggtgatta tgtgctgtga ttgcaactt agacatttat caaaaagggtg aagtctacat	2580
gaagttaaat tgictattaa atacatggta aacatgatct caacctagta gttatatgta	2640
tatttttttc ttcaaagga tgattttatt caaccgagtg ggttattttg ttctcttggt	2700
tgctaccgtc tctgtggta agtattagtt taaggagtgc aaattaatag tgtgtgagag	2760
aggaatggtc ttgcaatcta taccactcct ggaggaagcc tttaactgta cagctttggg	2820
ggacaaggca gctgttgata ctccaaggca agaacttaga tacattaccc caaacacaga	2880
tgaacagggg gaggaactta gagacatcac tgcacctgtt agcagaaata tctgttttga	2940
gtttactctt taacagagcc tctcccacc cgcagagtt gtttgtcttt ataatatcag	3000
ccttctaaat aaaaactcta cctgaaaatt ggaaataata tcagatatgg cataatgatt	3060
tgagtctaata ccaggtatct gattagtata tagtattttt aatataagac atacagagcc	3120
atttctaaac tgaaggtacc tgctttgggt ttcaacaagta tagtatccct ttggcagctc	3180
ggaggagacag ctttcaacac tcgatgtcag tgccttttcc ctgtttatcc ctttgtcttt	3240
caggatatga gcatggatgg ccctgaacag ccctctcaa cagtcattat agaggagat	3300
ttccctgggt ataacatgac aggtgtattc tgagtcaaag ctgacttaga tatagccaca	3360
cgcaaggatt gttttcttct tctttttttt tttttttttt ttttttgggt tttttgggtt	3420
tttggttttt caagacagggt tttctctgtg tagccctggc tgccttgga ctcactctgt	3480
agaccaggct ggctctgaac tcagaaatcc acctgcctct acctcctgag tgctgggatt	3540
aaaggcgtgt gccaccacgc ctggcaagga ttgttttctt gactttcaag tatatggcaa	3600
agataggctt gtctttgtaa gtagaagtca tttctctagg taagctcttt ttcccatcc	3660
ctctctgctc cctacatctg gcccatcatc tgtaactgct ctctgtacc ataactactg	3720
ccatgttcaa accaactaaa cacgaatagi gataaccaga gatgctatgg gccatggcta	3780
taaaattcat aatcatgaca ggaaaatgag acatgggaat acatataata ctgaaaaca	3840
aatactttat ataactctaa agtacaaaat aatgatgcc aattttttct ttagtctttc	3900
atatttttcc gcatgaatct atctgttgta taaagtgtta ttcatgaata ataattttaa	3960
ttaaaaatta tgaacactaa tgaaaaataa tttaactta cctttgggtat ttatagctaa	4020
tgtaaatgca aatgaacatt tatgttattt gttcttcttc atggatattt tgtaagtatg	4080
gacattctct gcacatatcc aattatttct atagattaaa tttttggaaa taaagatttt	4140
agatagagga gtatgaatac ctttgaaggc tttatagcat gcattatggt attagcttct	4200

agacaggcat tctctgtttg gttttcccca caagcatgtg gaagtgaatt aacaatacaa 4260

tctcttagaa atgagatgtc aatattaaat acgttttatg ttaaaaaata aaatttacag 4320

gttcacaaca ctggttttaa cagctagggt aacaaagatt aaatttgaaa caatcaatat 4380

ttgtgcgctg gctttgatca caaatgaaag aaaatcaagc agtacagctt taatataaat 4440

gagtttaaga gttcagaaat ccatgtgccc agtgaatggc ttctggagta cttagacact 4500

gcccattgat ggcacccgca catagtgtgt ctgcattgct ttactgcatt gtacgtgct 4560

gccttcatct caggatgcac aatagcaagg caggaccagc agcccaagtc gccttgaaa 4620

caaaagtaaa tcggagcctt ttctaagtc tgagaacaag cctgttacag actagctctg 4680

gtcaggtcat tgiaccagct ctgtgtgcag ttctggctct ggtctgattg gctggagcat 4740

caacagcaga agcatcacct ccagcaacat atggaccacc actttagat ggttcctcag 4800

gaggaaatct ggatgccaat tcagcaaggt ggctctatgc caggctacaa agtaacagat 4860

gcctattgga gtcacigtgt ctaagtgggc aggcattggtg caggaggagc tgagagtctt 4920

acatcttcat caaaaggctg ctacagaaat actgagttcc aggcagatag gatgagggtc 4980

ttataggcca caccacagt gacacaccta ctctacaag cacacctact cccacagggc 5040

cacaccttct aatagtgtca ctccctgaga tgaacacata caaacatca cagtgcccat 5100

ttgctgcaaa gagaggcttc gttgatgtgg gacagtcact acagttatct aggggaagggtg 5160

gtcatctcac tgitagcagc ttcatatac ttacagttat ttacactcct ttggtaaatt 5220

atcttttcat atctgacatt gaatgtttaa aacatttttag catttatcta tttttgtatc 5280

tatgtctgca cacgcatgtg cacatataca catgtgctgt ggagcacgtg tggagatgaa 5340

ggggcatctt gtggagggtc agaggtcaat ttgaaaactg aagggcctca ttacaggttg 5400

tttaggttaa ataaactctg tacaataat gctgttggtt taatcattac caccaccttc 5460

gttatcattg ctgccgttat cattgcaact gaggaggata agcagtcacca cagttagaat 5520

gltgttagtc actcttttct attgcctgag tcacatgtta gtttaccac attcaattgc 5580

aggatagaaa ctccaggct atcagcggat cacagtttgt gtttgtgttt gtgtacgtct 5640

ctgtgcaatg ggatggcaag ggagcctctg cttgataatt atgagatgct aaccacataa 5700

aaaaacaagt ctctttatag ctatcctcac cactgggcct actattcagt gcattgtgca 5760

aatgggacac cttagggtat acacttggga acatatattc ctaggagaat ttaccaggga 5820

atatctgttc tticcaaata taaacctgac ttaagaggta ggcatggtga cacctctctg 5880

ataagaagaa aaacaatatt gctaggttgg ttcatccaaa cttgtctcag tggcaggatc 5940

cccatataga tagaacatag aaactcttac ctcttttagtg cttattaaaa gacatgttgt	6000
ctagacaacc attccttgaa aagtaaggac aatgtgggca atgttgccac tggagtattc	6060
cataattaat gaaaacctga ctggtgaaaa cagacaggct gcctaagggtg gaaagctaag	6120
tacaaagatt tgaacgggaat cttttcaggg agatcccagt tcttcaatgg atttaaagag	6180
ctgctctcta atgatatgtg ggggtgcagga taccacatg atggagtcag cagaagcgat	6240
gtatctcagt ttatittcaa gttagcttac tttatitttt tttttaattt gaaaggtatt	6300
agcctttttt tctgatttat tgaaaatatt cttttctcat gccatatatc ctgattatat	6360
attttccttc cctctactcc tccaagttcc tccccagctc ccactcttctc cccatccact	6420
ccctttctgc ctctcattag ataagaacaa ggtttctaag agacaacacc tatacagaac	6480
aacataaaat ataataagat gaagcaaaaa ccaccacagc aaagttggac aaggcaagtc	6540
aacagaagga gaagagcccc caagagaagg gacaagagtc agagacccat tcaggagtgc	6600
catgaaaatt ctgaggggaa ggctacaaaa tatacgtaga ggaccctgtg cagatctgtg	6660
taggcccttg tgcttcagtc tctgtttgct cacaggagcc ttacttagtt ggttcagagg	6720
accttgtttt ctgggtgtcc tctggccctt ctagctctga gactccttct gtctctcttt	6780
tcacagggat ggatctctca gctctgagag gaaggatttg atgaagacat accactcaga	6840
gctgtgtgtc ctaaggactc tgactctccc ctctccgttc tctctctct actctctcc	6900
ctctctctcc cctctctct tttctctctc ctctctcctc tctctccct cccctcccca	6960
ctctgtaaaa tgctgagtg tgggtttctg caaatacatt tttttatca agaaatgagc	7020
aacagaaaaa cagtacccaa tacttattat ttgtctaaa taaggctggc taaacatcaa	7080
catgcaacat tgcatgttag aaaaagggga cagacaggat tgagagtcag aaagagtaag	7140
tttatgtccc aggatatcta ttactgtgt gatattagcc acatttgaac tctgagactc	7200
agttattgac ttctttcatg aaaaaagggg gaaaagagag gtgcaactaa tggctctgac	7260
ctcaagttgc cctccaagtg ttgtcctaaa aagcattttg aaaaaaatgc tgtattttca	7320
tttctaaggt gagatgtttt cacagcatgt tagacagcag gcagaaaaaa attatactgt	7380
attttagtag ataatttatg taaaaattat tatataggta ataaaagagt caacttctat	7440
gcataaatgt tcataagatg actttaaata gcatgctgta ttgtttgaca gttgtcagac	7500
ccgtgaagtt gtaatgacta ttaggataaa taaaacagga atgtcaaac agatgcattt	7560
ctattaaaaat ggttacactt tcccccaaaa tcaactttta aatcacaggg tgtatgactc	7620
aactgtataa aaataccttc ttcagagggtg gggatctagc tgccatctac accccagatg	7680
cccagtagtg tcagaagatg tgcacttttc accccagggtg cctgtctgtc agctttctcg	7740
ccgtgactcc acccaaagag acaataaac ggtaagatgt gatggtttgt cattgccagg	7800

ttagatgtta cttaaactgc ttccagttat atgccaaaat agtgccatgt ttctcagagt	7860
gttcaaagac tctttgcatc agaagctcct aggctgggtc ttttcaatgc agacccaaag	7920
tactgaacct agagacagac tctaacagc cacaacactt gttcacagt ataggaggta	7980
gtgatgctac agccaaggcc tgaagacaga gcatgtgaca agaaagggtc ctccctcaca	8040
ctgcaatact tagccttttt tcactttcaa catgttattc tgtccccaca tgtacatctg	8100
ttatgtatat aaatgttatt agctgggtta tgcataatgag ggagaacctg agggtttttt	8160
ttctttctga gattatatgg ctcccttaa tattaaaaat actaagtcca tccattttcc	8220
tacaattttt gtgatttcat ttctcttcag cgcataatag cattgcatta catattttct	8280
gttttattca ttgtgtatt aattaattta ttataaatgc tgcaaataaa acaatcacag	8340
aaccaaatta accagactca gagactgtgc aactcagtga acttctatcc agttacagta	8400
attgtttgaa aaggaagcca gggaatgtca caatgcactt gatactttca ctatcaaatt	8460
tatattttaa tcatatatat tgctttctaa taaatgggtga caatttcacc tgcatagaga	8520
aatatattta attgctttac tagctacat atttatagg agcaaagttg agaaagtata	8580
agccaggaat tttgttgata ataaatttga gaccagtag gcaagtctca atagtgcctg	8640
cagtggacca gtttacactt ttagaatatg ctttttctct ctctctctct ctctccctct	8700
ctctctctcc ctctctctct ctccctctct ctctctctct ctctctctct ctctctctgt	8760
gtgtgtgtgt gtgtgtgtgt gtgtgtgtat gtgtgtgtgt tttattaggt ggtaattttg	8820
gcaagaacaa ttattaaaaa tataatttga aattttacct taattttctt tcatttgatc	8880
aagagccaaa tgtaaatfff tgcttttttt tccatacaca taactttcat ctccaactat	8940
tgtaatttaa gaattagaat tttaaaactc attctctgat ccctacatgc taatctgtac	9000
caaaaaaac ccaacaacac aaacaacaa acaaaaaaac ccagaccata tgtgagattt	9060
acatttttaa aaaaattgaa ccaggttcta agattcttat aaatagcaac gttacatag	9120
cgttgatatt gaagacagaa aaagcctccc attacatgga cactaccggg aatcaataca	9180
ccagatgaac atcacatgca gacctaacct atagctgagt cagttttttt aaaagtaaat	9240
taaaatcttt ataacaataa tcaccatttt agaaaatgtg gatgtttcag acaggagaat	9300
cgtaagttta aagtcagctt gtgtaagtta acaagatcct ttgtcaaagc aaactaagta	9360
aaagcttggg gtggcatggg gggaggaaaa ggctggatgat aattattagg atttgattag	9420
catatttgaa gccaggtctc tctcctcag taccacataa actaagaaca aaaccaatga	9480
tcttttgaa agaggagcca ggcacgttca gaatgagaaa agaactcatca acccttcagt	9540
gtggttggct ctccgcactt gcagcgtaaa cagtaagaaa aacaacgcta tagagagcat	9600
ggacttgtcg caagaacgtt ctcttcagca agtgacaagg ccatgttatt agtttctga	9660

ccctgggctt tatttattaa catgtacaaa atactgcac atttcttaat gtgtgtttgt	9720
tcaattccgc ttttaaaatg tgttttttta aaaaacaggt ttggttgctt catgaaagag	9780
agcattacag ggactttgcc aagaatacac cggacagggg ccatttctgg tcattcttta	9840
aagcagtgtg gccatcaaat aagtggtaag atgtggattt ttttcccaa ctaaatttga	9900
gttaataaca ctcaaatca gagtagcttt tgctgcaagt ttatactatg atggactttt	9960
agacgagacc accaagaaaag ataataagagc tgaggcagca tcatggctgt aagaaggggg	10020
tactttcacc ttgataatgt tcacatcttt atcagttata gtgctcagcc ttaacggggc	10080
tctattacct atggtattca cacacaatgt aagatttgtg ggaaatgaat atgcaccag	10140
ataataggcc ttccctgttt ccgcaacaga ctttttaggt aagactcggg gacatctcat	10200
cccaaagtgg attttgggtt aattgggtgt cacccccaga actgactttg ccctctccat	10260
gtcaaagaac agctgaaaa gtctggagac agtttagatt gttaaaattg gggaaaatgg	10320
tactttacgg taatgctcag agttggtgca gtcagactca gcagaaaaca ttctggccac	10380
cacggggcca ttgataaggg attaaagactg tggttctcag ccttcctaata gctgcagctc	10440
tttaatacag attctcttgt ggtggagggt accagctata cacttttcat cgccacctca	10500
taactgtaat ttgctactc taataaatca tagttgtaaa catttgtgtt ttccaatggt	10560
cttagcgac cctgtgaaa gggctttgca acccctccaa aatgggttgt gaccacggg	10620
ttgagcaatg ccggtttaag aaatcttatt ttggcactc ggtccagact gaaagactga	10680
gttctgtcca tcttgctaag cgtaatatit cttacaagga atgtgaacgc taggatgtta	10740
gagcgtttc tctgtgactg ctgttgcaac tgatgtctta gaacacacca tcttaattct	10800
cagaccatct taaaggctta ggataaagaa ggcatTTTTA taagatgaca gggactgtta	10860
gaaagtgaat gtgctaaaa agaagaggc ggtgagttcg attatattgc ttgtttttta	10920
cgctcttcat tccgtagggt caaatTTTca atgtttctcat ttgtctccag taataataac	10980
agccctctca ccacataaac attcagtgtc tgcagtttaa attttaggca atgaatgaag	11040
aatgacaatg gcttagctat aaatccatat atttatatgt acatatattt aacctgaagt	11100
gaactacac aagatcaatc cataaactaa cttgctgtat attgcttgat gaagtgtcta	11160
attactgtga ccaacgacaa cattttaaaa aatagaacta ttgtgacttc cccaaagctg	11220
cttagttgtc tttttctccc cctaactttg taactTTTTT ccaaatactt tcaagaaaga	11280
tcttcaagtt aaaaagggat ctcaaggagc cagtttttagt aaaaactatt gagaggtggg	11340
cttaaagtgt acagataatc attaagaaaa tattttattt gtttctacct tatccaacc	11400

ctcagctcat ttcttttctt atctgaagca aattttaaag aaccttattt ttacaattta	11460
cagtttctta cctgtaaac tgctgggagt ttaggacccc tacaccctaa cataatgctt	11520
tccttttttt ttattggata gtttctttat ttacatttca aatgttataa cctttcctgg	11580
ttccctcccc caccceaagt cccctatccc atccccctct ctctgcttct attaggtac	11640
tcccccccc acccaccac tcccgctcc ccaccaggc attctctac actggggcat	11700
caagccttca caggaccaa ggcccttctt cccattgatg cctgacaagg ccatcctctg	11760
ctatatattc ggctagagcc atgggtccct ccatgtgtac tctttggtg gtgatttagt	11820
ccctgggagc tctggggggt ctggttggtt gatattgtt ttcttctat ggggttgcaa	11880
accccttcag ctcttttcta ttagtttgta tatgcatagt gtctcctgtg ttaattaat	11940
ttcacaattt ttagaaactt atagtatgt acaatagaat attgtttgtg ctaacacaca	12000
cacacacaca cacacacaca cacacactgc ttgcttaact aagtatctaa ttaaaacaaa	12060
acgtaagagc ttaatttggc ttaatttctg ttaaaagaat caactatttt caatatataa	12120
gataaattcc agtaaaagga tgcttaaata gaattgaaga aacctttaaa aactggtgtg	12180
ctagcacatg gctatcatct cagtaccagg gaagcagagg caaagaacat ttaagtcca	12240
aagccagtct ggctgaaat tcgagattgc cacattcagc atggcttggg ggctggaaaa	12300
ctgagtaaga acattaaggg aagaaaggac agacacacag acccatgtgc aggaagctg	12360
gaatagtgtg agttatgaga ctgaaccctt aacccccaga atgcttgta catacacagg	12420
ggaagggtta aatagtctca gagggcggtc aggcaatctc tcctcttggt ctataatcat	12480
cttgagtag aaggtgaagt tgctggtcat tgtgcacact ggtcaattgc tcctaaacac	12540
tactgtgag acccagggat atctctgccc ttttcccatg ggtctgagcc actgatcctt	12600
cacatgtggt cctcagacta cagaccacag acttcactg ctctttcac atttactggg	12660
gtttcccatg gttaccacag gagttccaaa ccagccaggc tagaaaggac aaggaaggat	12720
gcagtggctg cggtggtggc cagtgggtgt ggtgggtgtg gtcatagaac ttaagagagg	12780
tttaaagcaa gaagggaaat gatttcactg tgcgtataaa taaattgaga cagtctgtta	12840
aaagatttga cacaggcatc agtgttgtga ctaatagtca caaatagcaa tcagacctga	12900
ataggcgaag gaagagaaac tgatgcagat catgattttg ttttgtttt ttttttgg	12960
tgtttgcat gttggtgtg gttgttggtt tgggttttt ttttgcgta tttgttttt	13020
gtttgtttt tgaccagaa gtcaaagggt cgccgtttgt caaatacttt gtgtctctgg	13080
cacacactat caggaccctt gttgtgttg ccttccttgc ttatcagtgc ctctgctagc	13140
ttccatgtgg aagtgcattg tttgtattg ttgcatactc gttgcagttt aagaggcaaa	13200
ataacctgtt ttaatgctg gggccaggta aacacaccg aggtgagcta atgtccagca	13260

gtgtttgata atttagacat gcaaaaaaca ttttaattcc tgtacttacc agggaagtca	13320
ccaaaatggg ataccaacct tcaaaaatga ctctgaggga agagcagttt atttgtgtct	13380
aaaaagaagt ttggtcgaac gtctctgtgt ttcctttcag cttgccaccg agacataac	13440
aaaggacttg atatgagagg gtccaacttt aatatctcta agaccgacaa tattgaagaa	13500
tgccagaaac tgtgcacaaa taattttcac tgccaatttt tcacatatgc tacaagtga	13560
ttttacagac cagagtaccg gtgagtgagg cacagatccg agaggacact ccagggatgt	13620
gttagcatga aaaaaaaaaat cttccctcca gtcaagggtgc aaggggcatg caatccccag	13680
ccctgccctt attttatcc ttatttacat agttaatttc aatgtaattt cctcctaaag	13740
gtagcaaaact ccctgtagtc aactgatagg ctgtgtatgg gcatagtgtc agacaatggt	13800
gtctgccact ccattcgagc aagggaagag catctgttga ttgatgttc ccaactgtgc	13860
ccctctgtgg ttatcaattc gataacgaat attatccgca cgtctttgtg cgccccaaca	13920
aaggaagcat aacaacatct tttgtgacat ccaggaagaa gtgcctgctg aagcacagt	13980
caagcggaaac acccaccagc ataaagtcag cggacaacct ggtgtctgga ttctcactga	14040
agtcctgtgc gctttcggag ataggttaact agatgacgat tattccactg tgattcgat	14100
gccctaaca agagtgccaa gaaatacca cgtgccattc ccagggacct ggggaatatg	14160
atgccttttt atagatgtga ttgcatggaa atacttggca atcggaatga tgttgggtta	14220
ccagaatatg ccctgcccc ggctcaaggg ttcttatatg ataaagagag aaacagaggg	14280
gtcagtgtca gactagaaag acttgaatgg tctatatgtc tgcctttaaa gatggaagaa	14340
gagtccaaaa gcaaagggtg gcagaaatta aaaagggcac agaacaggtc tccctgttaa	14400
ttatataaat atattatatt tatcttccaa aggactataa aggcagaaac cacaacatga	14460
taattttggg aagccaaatt cactcatatc ctatttgggt gtgggcaagg cttgattttg	14520
caatatacat ccagcaggtg cctcagtcgt ccaagcaagc aagcgtttca cacaaaatcg	14580
gaacttagca actagcctgt taaatctttg ccccgttacc ttgcaagaat agctgaggcc	14640
gtggcatatt ttgtaacact caggcaattt tttttttgc ccagctgtac caggaagtgg	14700
tccatcaatg gacagggtac attcaatgta agaacaactt cttcatggct tatatgagct	14760
taaaggaaca ttttgttttt acaagccgag cagagtaaac gtatcctcta attatattgt	14820
tcccaatcat cggaccttat gctgtgctgt agcgtggtag aaaatcacag gtcaatgtgc	14880
atgtgtggaa gatacagaga acaaacagag gccttggttt agagcaacct gcccttgtgg	14940
ggtaactgac ctagtccagt gagagcagga acaggtatta cccaattcac gtggaatgca	15000
acttcacgac tttgcactag gccatactgc caccttggga agcaagcgtc accaggattt	15060
ttgctgcggg caagcacac tccagccaga acagcacact gctgcaaggg tgttttaaac	15120

acaggtttaa agacaagggt tttttttgtt ttgtttttgt tttttttttt gtttttgttt	15180
tttttctgcc tcaagtgtcg tccacagtct caacaagtga ggtctgctag cattctgtct	15240
aaactccacc cccacagtta cctggcaaca gccaggtagg ctccttccctc tcttaccctc	15300
ttgggctctc cctactctc ccccccctcc tactcccttc cctcctctct ccacatgctc	15360
atggctagac tctactctc tactctcttc ttctctctgc ctttctctgc ctctactact	15420
ctcttaacte tccccccccc ccatgccctg aataaactct attctattct ataccttcta	15480
taccttcgtg tagctgggcc ccagggggaa aggctgcctt ggcatggacc tgcagagata	15540
tccccctccc ccacacttca ccataccccc atagaacata tcttaataac tctatatctt	15600
ttttataatc acaacattgg ttaaaggcct gttttcagag tttaggcatg gactttgaaa	15660
gcttttgaga taatcatagt tgccctgtta atggatcaat actatttaca attctaatta	15720
aaaggactcc tcttttctcg ttgtaggttt ggcatgtgcc ctgatctgta ttttcatctt	15780
aggaggcaga tgcatgtcc cataatcacc aggatccatt gcttctcccc accttccctt	15840
ctctcttttt cccctctat cctcctctct ttgtaccccg tctccttctc cctctccttc	15900
ccctccctct cctccccccc tctctcttc cctccccctt ccccttccc ctctctcttc	15960
ctccccctt cctctctcc gtccccctct cctccccctc cgtctctctt ttgtctttct	16020
ccctccttcc ttcttcttc ctctttctgt agacacatgc tctcaaggaa agggctggaa	16080
acactaggca aaacaggagt caggctctgat aaacttaagc cctgtgagca gaattttcca	16140
gggagcttct tgacaaaccg agtgatgatt gtgtctctggg aacgaggac agtggctttg	16200
gaggtgctcc aaccattctg acatgttgat ttccagcaca tccatggggc tgtttccag	16260
gtctctatgg atctgagaaa ggggcacaaa tataaggcag ttcaaccca cacagctctt	16320
gctgaaggtc agccatttgt ttctatctca ggattagtct caattgtgtg tccctttggt	16380
taatttctag ggattaaaaa aaaagtgact tgactcattt tactagtatt taacatagtt	16440
ataaaagaag acgaatgcag gctgggtgta acatttgcct ttaatcccag tgttcaggag	16500
gtaaaggctg agttcaaggc tagcccggtc tacagagtga gttccagaac aaccagggt	16560
acacagagaa agcctatatt gaaaacaaac aaacaaacaa acaacaaga tggattctgg	16620
gcatttgtat tctctcagcc tcgctaacat tctgtaacac ttttaattaa cagagtgacc	16680
catttaggtt tattgttgtt gtgatgaaac accataacca aagcaactca gggaggaaag	16740
gtttagtcca gtttatactt ctggataaca gtgaagaaag tccaggaggg tgggacctca	16800
aacagggcaa gaacacggag gcaggagctg atgcagaggg ggtggaagaa tgctgcttac	16860

tgccttgctc atcatggctt gctcagcctg ctttcttata gaaccagga ccaccagcct	16920
atggatggca ctacctacca tggactgggc ccaactctga tcactaatta agaaaatgcc	16980
ctataggtt gccttcagct ggatcctatg gaggcattga tgctccctct tctctgatga	17040
ctctagcttc tgicaagttg acataaaacc agccaggtca tatagctaac aacctaactg	17100
tggagtggaa aatgtctttg gaaagccaga tgctcatctt gcctgggtca ggttctgcat	17160
tttgtgtgga acaataggaa gctggagtat agccaactag ggcaaccatc ttgacggaat	17220
tcttagaagt aatggaaaat ttagaaacca gtaaaggaag atgttaagta tattcaactt	17280
gaacagaaga ctgccttggc gtttggcgaa gtctcctctg ttctgaaagg ctgtcattag	17340
ggactgggtc agtacacaat cccgtagggt tgttttagaa aggtaggact ttgtagaaag	17400
taattttttg aagtcctaa catcttcagc ggtccagaaa agaagttgac ttgtcacat	17460
ggtggtgaac tccttttcaa ctacaaatgt cccaggaaag ttgtaaagt acatgccagg	17520
gatgtcttgg agatacagtt gtaggttggc atggttacct gaacattctc ttccagtagc	17580
aaggctcttc atgatttttt ttttaattc aagtggtaga atcagcttcc aagactacac	17640
aagtgggatg tgagctctct tgatccaact gtcttgagtt tgactggcct atcgttattc	17700
ttaagtgtcc attttattag tatggaatca aattgattct tacatgctat cgaattgagc	17760
aactcatgta aatagcataa ataaaaatag atgaaaaata aatgatata aggggggatg	17820
aaaatgaagc ttttctgttc tcctcgaagg gcatgcttgt tagccctttg gaatttatgt	17880
taatgtcttt tcattaaaa gcttctcaca atactcagaa acaaagcatg aaacagcatg	17940
ttccaaggc ttagtcataa tacaaggga actcgagtca tctaattgtcc tattagaaat	18000
gacagtgtg cttattctac agcaccaggt tgctgtcttt cccagtagaa caacttttac	18060
ttttttagca aagaacaaac tacaattct gagataagtt aacaggcttt cctccttta	18120
ttgaaatgga ttctctctct ctctctctct ctctctctct ctctctctct ctctctctct	18180
ctctcacaca cacacacaca cacacacaca caatatatcc tgatcccgtt	18240
ttccactccc attactctc ccacaacacc tcccctccat ttctatcatt agaaaagaaa	18300
caggcttcta agtaataaaa caaggcaaaa atgaaacaag aaaacaaaac cgaacacatt	18360
gaacttgaac aaattgaaga aacaacgag agaaggcaca agattcagag agctacacac	18420
acgtccgcac actcaggaat cccattaaa aatagtcaag tggaagctat acccagggga	18480
cctcttgag accagtgcag cccagtgca tgctgcctca gtctctcaac gggcagtttt	18540
taacacaggg tgctgattcc cgccaatatc aattgtcata atcaccttag ttactatgtt	18600
gaaacaaaca caagcaact cgggcattgt gtcactgagg aatgttcacc gctgagttca	18660
caggttgccc catggatatt ttccagcact ctgcctttgc agacctgaat gtaagccagg	18720

tcataccccc cgatgccttt gtgtgtcgca ccatctgcac cttccatccc aactgccttt	18780
tcttcacgtt ctacacgaat gaatgggaga cagaatcaca gaggtgagtg tgagcggcgt	18840
gcgccccctt ctagcccttt ccgttccttg cgagggtctt gctcgttgcc ctaacagcgc	18900
tggagcctgt ggtttaaccg gatgcctttc agccagggtgc aggttacttc acagattaac	18960
aaattcttcc cttccataaa acaagcctac tatttagtca aaccacagcg gcagaggcag	19020
aaggagcag gaagcattct cactggcatt aaggtttggg attggcttgg gttacagctg	19080
ctcatgcaaa ctgtccttta atcttgtgag aaaccagagc cctgcttata cagatctagg	19140
gtctagtctg acctcttcac ctttacacag ctttcccttt atgtacgccg tggggcctgc	19200
agaaggatgt gtgtggacat aataccatgg gtagcataaa tccaaaccaa cagtcttttg	19260
atgccttctc ttttcccttt ttctaattag aaggtggact ttaatcctct gtccctcttt	19320
ctggatgtct gtacctacca ggtatTTTTT gccagaggga gaggtgactc tacttacatt	19380
taagccctgt gatatttttg gagtcttgca gtctgactga ctgaaaataa tttctcagaa	19440
gaataccatt tatggagttg cttagagagg aaggaaggaa ggaaggagg aaggaaggaa	19500
ggaaggagg aaggaaggaa ggaaggagg aaagaaggaa ggagagagag agagagagag	19560
agagagaaag agaaagagaa agaaagaaag aaagaaagaa agaaagaaag aaagaaagaa	19620
agaaagaaag aaaggaagga aggaaggtag gtctgtctag tgcttctaata gctgtcttct	19680
tcttcttctt catttatttt taatagaaat gtttgttttc ttaagacgtc taaaagtgga	19740
agaccaagtc cccctattcc tcaagaaaac gctatacttg gatatagtct cctcacctgc	19800
agaaaaactc gccctggtaa tgactcaatc ttagtggcac atggcatgtg tccgggtttg	19860
gttcttgggt gcttgataaa tactatgacc aaaagcaagt tgggagagaa aggagtttgt	19920
tttgttcaca tgtcccagtc atagctgatt cctgaggga gtcaggctag aaactcaagc	19980
agaagcagag gcagggactg ggcagagacc atggagaaat gttgcttctt agcttgcttc	20040
tgtgaatata tatatatata tatatatatt catgtacct gcccagaatt gacactgacc	20100
tggttagacg gacctcttc catccatcat taatccaaag aacatccac agacatgcct	20160
ataagttagt ctgaggaaga cgattctcag actgatggtc catcttttca ggtgactcta	20220
ttttgtatca agttgacaaa cactaacagc cacatgggtgc agcacatctt ggggtcctct	20280
aagagttaat gaaatggttc tcacgactct agaaactttg ccaatgtgac tcgtttcctg	20340
acttgtgata tatcctttga tatttgtgta tgggtgcagaa ccttgccatt ccaaaattta	20400
ctctggagtt gactttgaag gggaagaact gaatgtgacc ttcgtgcaag gagcagatgt	20460
ctgccaagag acttgtacaa agacaatccg ctgccagttt tttatttact ctttactccc	20520
ccaagactgc aaggaggagg ggtaaggaaa cctttctttg atgatcagca aggtaatgt	20580

tttctagttt tctccctgtg tgggggttta attttagact gttcatttat ttccagggtg	20640
aaatgttcct taaggttatc cacagatggc tccccaacta ggatcaccta tggcatgcag	20700
gggagctccg gttattctct gagattgtgt aaacttgtgg acagccctgg tgagtgaggt	20760
tcgtttgtta cggaactgca tggctggcct ggctgttgtg attaatgtct tggctttatg	20820
tgatgggatt gtttatatgg tttctgttat ggtttgtata tgggagtggc actatcagaa	20880
ggtgtgacct tgttgagta ggtgtgtcac tgtgggtgtg ggctttaaga cctcatcct	20940
agctgtctgg aagtcagtat tctgctagca gccttcagat taagggttag aattctcagc	21000
tcctcctgaa ccaagtctgc ctgcatgtg ccatgttccc accttgatga tagtggactg	21060
aacctctgaa acctgtaagc cagccccaat taaaacttgt ccttggcat ggtgtctgtt	21120
cacagccgtg aaacctaac taagacagtt tccttgata aagggaaga atgcttatct	21180
gtgtctaate ctgccacatc tcaacacttt tcagactgta caacaaaaat aaatgcacgt	21240
attgtgggag gaacaaacgc tcttttaggg gagtggccat ggcaggtcag cctgcaagtg	21300
aagctgggat ctgagacca tttgtgtgga ggttccatca ttggtcgcca atgggtactg	21360
acagctgccc attgctttga tgggtaagtt tcagggtcat cttattatac caatgtgtgt	21420
gtgtgtgtgt gtgtgtgtgt gtgtgtgtgt gtgtgtgtgt gtgtgcatgt agaggtaat	21480
ctcgggtatc tacttgtact gcttgttcat cttatttgtt gagatagggt aattcactga	21540
acctagtgtc aacctttttg actagacaga taggtatctg cctgtctctg tctcctggta	21600
catccttagc ctagttctg ggttggggat ctgaacttga atcctcaggt ttgagaacca	21660
agccctttgc ccactctgcc atctccttgg cctgagata tttgttttta ggacaagaaa	21720
agtttcaaag tccttgcta gaaaatatta taattttaaa ttcagcctgt atatccttta	21780
cgtggtaaat ttaaaattca aaggaaaggt aggtagattt ttaagcaaca aaataccttt	21840
aattcctgct ggggcttatt ttaatcagta cagctacatg aaggtcggga taatgagagc	21900
aactgttttt ggggttggtg gactgaacct gattctccca aaggttcttc aaaaggcaca	21960
gaagcactcc tgtgtcttta ctgaaataa acagaaagta atttttaagt acgtcttgag	22020
tgtttccagc cacagcgttt atacigtgaa ctgtaatcct ttaggaacac agtgcaacag	22080
aatatgagcg tcttccaaga ttttagcaac agtaaaagggt ccctgaaggg aactgataa	22140
aaatgaatcc acaataaaaa gtatgacaaa cccgagcat tctgagagcc ctctcctgtg	22200
ctgtgtctga ggattcctct gcagcctttg ttcctgacac acaacatcat gcttactgtg	22260
cactgtgcat atcgccaggc tgcgtagtac cagcagatgg taccctaacc ccaatcaatc	22320

agactgagga ttctttaatg gtgtgaaact gggtgtgtgt gtatgtgtgc cttaggattt 22380
 ctgctcttac aggaacataa cagtataatt ttaaacaatt taacaaaaa cattaagatg 22440
 tctcttgta cagtgtgtct ttggattgta cagtgttaaa ctctgatttt cagtgttgct 22500
 ccagctgggt agttgagttt cataaaaact cattgaatga acttgggctt ggatattaga 22560
 gtttcacaaa ctttctaacc cgtccttaat ctaagactat catttgggtc tccacattta 22620
 tgtgaagtgg tgcttctcag ctttatcagt tataaaagta aaaaattaag gaactcctaa 22680
 aaacattgag gtgtttcttc gtcttttagt atgaaatact tagacatgtt ttaattattt 22740

 atgtggaaat aaacaagccc attattctat taatatgagc gtttgctaata aagtggtaaa 22800
 aattctccat acatcaaaaa ttgtcttgca gtaaatttct ttataatata ttaccagtaa 22860
 atgtttaata tggtagctg cttcatatag tcacacacag agacataaaa ataaatctt 22920
 ttcaggcaaa agggagtctt aaatggaaga aagttttatt acaactaaa tcttcaaagt 22980
 ccaatcgcac tgctgtaagc aatgacaggt tgccttgcca gaaaagggtg actaggtcat 23040
 atggaatgtt gtctttcttt tctctccacc cttcaagaa aatgtgctaa gaaaaggag 23100
 cggaggaagg atgccaacgt tactttgttt cctctctaga attccctatc cagatgtgtg 23160

 gcgtatatat ggcggaattc ttagtctgtc cgagattacg aaagaaacgc cttcctcgag 23220
 aataaaggag cttattatc atcaggaata caaagtctca gaaggcaatt atgatattgc 23280
 cttataaag cttcagacgc ccctgaatta tactggtagt cagcatattt aagaggaacc 23340
 tgcacaactc aatggtagtg gtgtcaattt ccacttcagt ttgcatgaga agagagatct 23400
 gcagcaattg tctttgtgtc ctggttggtg aggctgaggg agagatgagg ccacctgggc 23460
 agtagaaatc ccgtgtcttc ccatacattc actgctatct gaggggcaaa aaagcttcat 23520
 tactttctca gagtggcatg caactgagtg tatggtattg gtctaggaaa gattttgaca 23580

 tctggggaca ttgggcatct tctgacaaga ttggcagaat gactatggct taggaatata 23640
 caaccatag aaagtgaacg ggactagatg ttagtgcca agaataccct ggttgacaat 23700
 ggggggacac ggagcatgga gctgctttgg aggcacatca ctccacagga atggaatgtc 23760
 tgccaacacc attacctgca agtgtctgtg aacagtcagt agacctaga cagcttggt 23820
 ttcctcttc cactctaat atctgtgca cgcgtgctga tctccgtgtt gcttccttgc 23880
 aatcattaag caacgtatc aaataaagcc ctgggagagt atggctattt ttgctctgtt 23940
 tctgaattct gctacagtgt atattaaaca agacataaga aagtagacat atgtttgcca 24000

 ataaattttg gttgaagagt cctcttccc catagaaatt tcgttcacaa atgccataca 24060
 gaatgtgaga attgtcttga attgtgggtc ttagaaattg ctacagaaagc tggagggtcg 24120
 ttctttttag ttttagtaat gggtttcatt atatttcata catatgcata gtatgatgta 24180

attgtattca catccttcac tctctcttgt cattttcaact cctgcagttc tccctgctcc	24240
tcccaagtag tcccagactg gtcattcttg ctttgttgct ttgtagaaaa agaataagag	24300
aaaaagatag atactaatit ttgaagttcc catctatggt ttcaattagt ccaaacttat	24360
tcatgaaatt ttctttcaga attccaaaaa ccaatatgcc tgccttccaa agctgacaca	24420
aatacaatit ataccaactg ttgggtgact ggatggggct acacgaagga acaaggtaca	24480
glatggcatg tgaatgttc ctgtcttaca tgctaaagta catagagtag atccactcaa	24540
caagccttac tcatgacctt tctgttcatt ccaaactatt ggtcctctga ttcccaagaa	24600
tgtgaatit ttacattaa acatcaatga gctaactcct taagaatatt actcataata	24660
gagattatit ttatgagict gcattaagaa ctgtggccct atgatactat caagtccact	24720
gaatcccatg tggctctcag tacttactgt gtcctctgtt gctaagttct cccttggtat	24780
caatagctaa ggtgccagca tctctcttga agaacagttc ttaatatit tttaaatgcc	24840
ttcttgtaaa aaatctgaca ttctctctaa ttatgccatt aaatccttat gtaaaataca	24900
tagattcata aagagagaaa agtagattgc agtacagtta ccaacatttg ttaatagaat	24960
tttcatagat gatgatcata ttgtattatt agtgtactca gttgcaaatt gttttaaaat	25020
ctaccataat gtigaagtag ttatgggcat aaacaacatt ttctttctg tcgtaactac	25080
aattcaaagt atctgtgacc cttacactac agtgtgcca acaatatcac attcctgcat	25140
tagttatctg aacttaaaac tgaagggcgt ctgcagcttt atttgaaagg ttgagaatat	25200
agaggcgagt ttttcgcttt cccttccgct gagtgtatgg atgcctcgat tgtgtggctc	25260
tgaactcaag acccctgtgt gctgagactt gagctatttc tctagaaata agaatgcttt	25320
ctttctagac tgagtgccag ataaccagca ttagacatat ttgagtgatt ttttttaaag	25380
gagatgattg gctgtgtctt ctttatatit cctgaaccag tcagtactgt attcaattag	25440
ttcccatit ccactacatt tacttggtca cctatatgtg gacacacaca tatatacatg	25500
catatacata catatacata tacaacata catacaacaa tctgagaaat atagacatgg	25560
gtagacatta agttatctgt aaatgtatca ttattgcag aacaaaatac tactctgctg	25620
tcagatgttt gggatgtatt ctcataaatt gtacattit ttataatttg aatttctaaa	25680
acaatgaaag gcaagaacat cttttaaagg tacaatgtg tgagacaaca ttttttgagg	25740
ggggcatcgg ttgatatagg aggatgcctg agatcataga aacaagtctg cagaggcttg	25800
ggtgctagcg agictgaaat atgtcactag aaggaaggca gcacggatca ctgctccttc	25860
atctccttct ccccttctc cttctccctc tcccgtctc tcttctcct ccacctcttg	25920
cttcccttct ccttcccttt ccctctgcc tatttatga acttctctc cttaaaggca	25980
cttcttgatt gcttcatagg tgaaacgcaa aatattctac aaaaggctac tattcctttg	26040

gtaccaaagtg aagaatgccg gaaaaaatac agagattatg ttataaaca gcagatgatc	26100
tgtgctggct acaaagaagg cggaacagac gcttgtaagg taatggggaa aaaatacaca	26160
atagtccat gaagacagtt cattcaaaaa cgaatctcca aagttatatt tcattagttt	26220
tggttctgaa gticcagagt taaacgattt gaaggctatt tgaaacgata gcctttaaca	26280
aattaaacac acatagtgcg tattatatgt tacttataat agttatgcta gaatatgtat	26340
tgctgtgaca ggtatgtcac agtgaggaca ggggcatgcc aaatttaagg acaattttta	26400
catgccatgg tcatgctaaa atacaagaaa agtagattta tttgaacttg gagtaaagat	26460
gctaagtctg ttgggtttat ctgagaatgg gagagggaaat aaattggcct tgtaaccatt	26520
cacttatttt tttttcatg gctaattggga tgcacagaaa ttgagaggct ccgtgggtgg	26580
gtgtaaagtg tgactgcca atattaaaga catctgtcta tgagcaagg gctccttatt	26640
tgcatcatca ccattacccc tctctacctt tgtatttctc tacctctgt gaccagggga	26700
gattccggtg gccccttagt ctgtaaacac agtggacggg ggcagttggg gggtatcacc	26760
agctggggtg aaggctgcgc ccgcaaggac caaccaggag tctacacca agtttctgag	26820
tacatggact ggatattgga gaagacacag agcagtgatg taagagctct ggagacatct	26880
tcagcctgag gaggtgggt accaaggagg aagaaccag ctggctttac cacctgccct	26940
caaggcaaac tagagctcca ggattctcgg ctgtaaaatg ttgataatgg tgtctacctc	27000
acatccgtat cattggattg aaaattcaag tglagatata gttgctgaag acagcgtttt	27060
gctcaagtgt gtttctgcc ttgagtcaca ggagctcca tgggagcatt acaaagatca	27120
ccaagcttgt taggaaagag aatgatcaaa gggttttatt aggtaatgaa atgtctagat	27180
gtgatgcaat tgaaaaaag accccagatt ctagcacagt ccttgggacc attctcatgt	27240
aactgttgac tctggacctc agcagatctc agagttacct gtccatttct gacatttgtt	27300
tattagagcc tgatgctatt ctttcaagtg gagcaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa	27360
aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaactgaga aagaggtaga aatctttgta acatttcatt	27420
tagaataaaa agagtctcta cttgaacctg atgggacatc taaaccacct ttctggccat	27480
tgctgcagag ttctgcatgg tcatgactgc atgaggtttc ctaccctgg agcagagcca	27540
tctgggcatg agggttgctt gtataaactt catgttctc cctcaggaaa taacctctct	27600
gcctaggtta ttgaggaata tctctctgc caggacagcc cttaagactg tgggaaagaa	27660
ctcttaaac ataagttcaa gaatatataa tttctcagct atgtaaaata taaggatata	27720
atatgaattg tataaggaga ttcgattcgt ggacctaaaa gaacaaaggc agctgcacta	27780

tgagccagct tgcagaaag atactactga aggagataaa gagataaaga gatttaggga	27840
gtggtgataa cagggaaga tcccagccag ctaagtttat tatttgtgct tacataggca	27900
ggcagagtcc tgagttcaag atcagcctgg gacagagcta gtttagaccc agggttggtg	27960
ggaatccac ccagctagct tgttgtctat gctaagaaag acaggcagat ctctgaattc	28020
atttgcatg ttttttttt ttaaaaaaag tacctgatgt cttttcttaa gaatcaagag	28080
gctagagtca tggaatgctg actcatgggt taaacaaaag ggaatctaga gtaagtgact	28140
gagttgatat gtaataaaa gactgggcct tagtctgcaa gagctgagct acctggatga	28200
gctgtctgga gatctctgta gacagaata ctagtctcta attttttag atttttttt	28260
tttctagtag ctactcagag agaactgctt agagaatgaa atgaacattg ctattttagt	28320
tgtgtgtgtt tgttttttt tttttctaga aaatccaaa atattttata gaagcttctc	28380
tgactctagt cagaaaacc atgagctagc cagagagctt ttggattttt ttttcctagc	28440
aagagaaagc tgctcaaga agagacagct gtctcaagca aaagagctgc cttagacaga	28500
aagctatctc tatcagactg catagccaag agctatctgc agaaagctgt ccagctgtct	28560
agactacaag gctgtcagct tgcaacccat catatgactt tgagtgttt ctttcaccgc	28620
tcccagacac cccttctgc aggaacctcc ctccaagcca aggctgggtcc tgggcacctt	28680
gccacatggt cttggctaca gatgtgtgca agacctgtaa ggctatatat tttctcttgt	28740
gtgcagctcc tgcaataggc ctatcacaca gtactcacac agggcaaggg atctgatgag	28800
aacctcctgg ggaacctcg gggttcagct gatgctgtat tctgcaatag taattcatgt	28860
aatgtcattg ggtgtaaagt gttgtataaa attcaagctt ccaattgagt tgaaagtgaa	28920
aagcaatctt ggaatggatg acattaatcc tcatgcaaga caaatttcca gcttccatt	28980
gattcataaa gtgggtcatc tgtgcttaac tccatttagt taacctgggt aatatttaga	29040
cagaattagc catttacgaa ctactgtgca agttaaacag acaaatagaa aagtgaatt	29100
tcctaaagaa gattaaactt ttccttgcat atataaaggc ttgttgagta gtgcagaggg	29160
ttaaatatgg aagatcctgt gggttatcta cagagttcac catgggaagt gtaagaggtg	29220
gaagcaaatg gctttgaaa aatcttccaa gcacacaact tcaactttta atttgtaca	29280
ccatttcac ttaatctgtg tggcagttgt ttatatatta aaaagaaaga agtggttctc	29340
aatgaaaac ttgtatctca aggtttcata ttaataacct taacaggtat ttacacaagg	29400
gtcacagta ctactgggt aaactttggg ctttggtttc tcaaggaatg gcctcatttg	29460
agcaaaacag agttttgaaa tgagggattt ccctatggcg taaagtacca tgatcacgtt	29520
gccagctgga gtccagctgg gctggaatgc tctgcttttc atttgtgtgt cctgcacaaa	29580
gtagcccgtc ttccactga agccttaaga ggctgagaaa atgagagggc cggataacat	29640

cacttttaca agacaaagtg gaggcaggag gccctagatc tttggcaggt ccatccaaga	29700
aaggagtggt cacctctgga atggaacaat gccggcactg ttcttcctgg gccgcacgtg	29760
gagagcacac agcacaccac taacacttct agagctcaac gggaagctca aagggtgtc	29820
tgatctctat ctatTTTTTT tctttagtct cttgcttatg gctaccagcc ctacaaactg	29880
tcaacaactc tgaaggatgc tcttgcatct ctgcctctct ctttcacag tacttcatgt	29940
gaataggaat gtggcaaata ggagagattt gggtttgctg ttattatttt tgttgctgtg	30000
<210> 14	
<211> 2513	
<212> DNA	
<213> Rattus norvegicus	
<400> 14	
tgaagactag cttcatgtga agactccttc tcctccagca gcacaaagca accatccttc	60
caggatgatt ttattcaaac aagtgggtta ttttgtttcc ttgttcgcta cagtttcctg	120
tgggtgtctg tcacaactgt atgcaaatat cttcttcaga ggtggggatc tggctgccat	180
ctacaccccg gatgcccgagc actgtcagaa gatgtgcacg tttcacccca ggtgcctgct	240
cttcagcttc cttgccgtga gtccaaccaa ggagacagat aaaaggtttg ggtgcttcat	300
gaaagagagc attacagga ctttgccaag aatacaccgg acaggggcca tttctggtea	360
ttctttaaaa cagtgtggcc atcaattaag tgcttgccac caagacatat acgaaggact	420
ggatatgaga ggttccaact ttaatatatc taagaccgac agtattgaag aatgccagaa	480
actgtgcaca aataatatc actgccaatt tttcacatat gctacaaaag catttcacag	540
accaggtac aggaagagtt gcctgctgaa gcgcagttca agtggaaacgc ccaccagtat	600
aaagccagtg gacaacctgg tgtctggatt ctactgaag tcctgtgctc tctcagagat	660
cggttgcccc atggatatTT tccagcactt tgcctttgca gacctgaatg taagccatgt	720
cgtaaccccc gatgccttgc tgtgtgcac cgtttgacc ttccatcca actgcctctt	780
cttcacattc tacacgaatg agtgggagac ggaatcacag aggaatgttt gttttcttaa	840
gacatctaaa agtggagac caagtcccc tattattcaa gaaaatgctg tatctggata	900
cagtctcttc acctgcagaa aagctgcgcc tgaacctgc catttcaaga ttactctgg	960
agttgccttc gaaggggaag aactgaacgc gaccttcgtg caggagcag atgcgtgcca	1020
agagacttgt acaaagacca tccgtgtca gttttttact tactcattgc ttcccaaga	1080
ctgcaaggca gaggggtgta aatgttctt aaggttatcc acggatggct ctccaactag	1140
gatcacctat gaggcacagg ggagctctgg ttattctctg agactgtgta aagttgtgga	1200

gagctctgac tgiacgacaa aaataaatgc acgtattgtg ggaggaacaa actcttcttt 1260
aggagagtgg ccatggcagg tcagcctgca agtaaagtgt gtttctcaga atcatatgtg 1320
tggagggtcc atcattggac gccaatggat actgacggct gccattgct ttgatgggat 1380
tccctatcca gacgtgtggc gtatatatgg cgggattctt aatctgtcag agattacaaa 1440
caaaacgcct ttctcaagta taaaggagct tattattcat cagaaataca aaatgtcaga 1500

aggcagttac gatattgcct taataaagct tcagacaccg ttgaattata ctgaattcca 1560
aaaaccaata tgctgcctt ccaaagctga cacaaataca atttatacca actgctgggt 1620
gactggatgg ggctacacaa aggaacgagg tgagacccaa aatattctac aaaaggcaac 1680
tattcccttg gtaccaaagc aagaatgcca gaaaaaatat agagattatg ttataaccaa 1740
gcagatgatc tigtctggct acaaagaagg tggaatagat gcttctaagg gagattccgg 1800
tggccctta gtttgcaaac atagtgaag gtggcagttg gtgggtatca ccagctgggg 1860
cgaaggctgt gcccgcaagg agcaaccagg agtctacacc aaagtgtctg agtacattga 1920

ctggatattg gagaagatac agagcagcaa ggaaagagct ctggagacat ctccagcatg 1980
aggagctgg gtactgatgg ggaagagccc agctggcacc agctttacca ctgcccctca 2040
agtcctacta gagctccaga gttctcttct gcaaaatgtc gatagtgggtg tctacctgc 2100
atccttacca taggattaaa agtccaaatg tagacacagt tgctaaagac agcgccatgc 2160
tcaagcgtgc ttctgcctt gagcaacagg aacgccaatg agaactatcc aaagattacc 2220
aagcctgttt ggaataaaaa tggtaaaagg atttttatta ggtagtgaaa ttaggtagtt 2280
gtccttgga ccatctcat gtaactgttg actctggacc tcagcagatc acagttacct 2340

tctgtccact tcigacattt gtgtactgga acctgatgct gttcttcac ttggagcaaa 2400
gaactgagaa acctggttct atccattggg aaaaagagat ctttgaaca tttcctttac 2460
aataaaaaga tgttctactt ggacttgaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaa 2513

<210> 15
<211> 30000
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus
<400> 15

attcctccag cccctgtatc acgtcaaact cgaaactcca gctccaggac tagctgcagg 60
cattgatgct tcigcgtgt ttccattctg tgatcatgtc ttctccatac ctacctctaa 120
gttttccatg aggtctcaaa gtaaaagctt taagaagaaa aaaaaagtgt tgtccagcag 180

gtttcagtaa gctttgctgg agaggaccag ataataaaat cttagtttgc ttgtttgttt 240

tgttgtgtgtt actgaagacc gttctataat cataggaagt aggcaggcat acatcgtgca	300
gcagtgaatg gacatgggtg tggtccatta aaacttcagc tagaaggaca aatccaagc	360
aagatttggt ctgtaaacag tggattatta actcagtact gggtggatct gaacatgaac	420
ttccagtgtg ataaaaaggt agaaaagcag aagtgtgaag aatcccagaga gctcagggga	480
gaccactgct tctgctcaca ttcttgcccc aagaggactc cccctggaga cctctggaca	540
caagaaccga ggagcagtct ggttcctgcc tgtaccaga actgacactg taacacatct	600
acacagtgga gtattactca gctattaaaa acaatgactt catgaaattt ataggcaaat	660
ggatggaagt agaaaatata gtgagtgagg tcaccaatc aaaaagacc cacacgtat	720
gccctcactg ataagtggat attagcccaa aagctcggat taccaagat acaatccaca	780
gaccacagga agctcaagaa gaaggaccac caaagatgca gatgcttcag tccttcttag	840
aagggggaca aaaaatttca taggagaaga taaggagaca aagtttgag cagagactca	900
atgaatggtc attcagagct gccccacctg gtgatccagc ccacatgcat acagccacca	960
aaccagaca gtatttctca tgccaagaaa tgcattgctga caggagcctg atatatgtgt	1020
ctccagagag actttgccag ctcatgacaa aaacagaaga gaatgtttgc agccaatcat	1080
tgaactgaaa ccagggtccc tggtggagga gttagtgaag agattgatgc aacccgtaa	1140
gaacaacaat accaaccaac cagagctccc agggactaaa ctaacttcca aagagtactc	1200
atgaacaggc caatgtctcc agctgtatgt atgtagcaca ggatggcctt tctgggcacc	1260
agaggaagaa gcccttggtc ctgccaaggc tggaccctcc ccagtgtag gggaatgtca	1320
agatggagag gtgggaagag gtaggttttt gggttgggaa aaggtgataa catttgaaat	1380
gtaaatttta aaaatccaat ttaaaaaagg tagaaaacca ataccttgct ttgattctcc	1440
tataggagct gtctaccca cccccacatt gaggtgtgcc tccaggaaat ttcaatagaa	1500
gtatacacac acacacacac acacacacac acacacacac acacacacac acttgtaaag	1560
gcaaataggt aagaatcaag ctgttagtcc ccaataaag agatatgacc attttcaaaa	1620
tgggagacct atgcctgaat tgtgtgtccc tagtataaag cacttctctt tcttcagcat	1680
aagcacttaa acgcatttcc catgtataat ttatttaaaa tgggttcttg atatgcttgt	1740
aatataatga tatcttggtg tacatgaaca ctgtaacatt atttcactc taaagtact	1800
taacacagtc accatctcag acaattatta tgtatgttac gaatactgc ataccagggt	1860
acagtgtgta cacctataat ccagcactct gaagatctag attcagtggg tctcaacctg	1920
gggagagggg tcacatatca gatatttaca attcataaaa gcagcaaaat tacaattatg	1980
acgtagcaac aaaatacctt tatggttggg gatcactata catgaggaac tatattaagt	2040
cgcagcttag aaagggtgag aactactgct ctataggatg caaagacagc tcagggtgct	2100

tcttgaagag aacccaagct cagttcccag caaccacatc aggtggctca caaggacctg	2160
tgtctccagc tccaggggag ctgattccct ctgtcggctc gcaacgtgca tgcatttgca	2220
gtgaaagaga cacatcatta gaaataaaat aaatggttaa aatttaacta atgttgctat	2280
tgctgggcat gggatcttgc agtctattag ttctaaaagc tgaaattttg taccctttca	2340
caaacaccac ccatgacacc aagtttcaga tcttgacact caccatccca ctgttttcta	2400
gggcttgcct ttttcaaatg ccacatgtaa gtatagctct tcaaatggcc atatgttttt	2460
atatctccac cagttttgca tcactgcaat ccaatacctt gagccctat gtcgaattta	2520
taatctgccc atcagttgac ttttaatttt ttaggggtgc ttataagtgc ctaatttttt	2580
tcttttgggt attttgtttt tcttttctga ttatttgtga tcttctggct ttgtgttgg	2640
gtttgcactt ttagataaga ggctatttta aatttaattt ttaaaaattt atttattcac	2700
ccattgcaag gctatgtgtg tgtgttctgt gcaggttctg gggattggac tcaggtcac	2760
aggcttgatg gcaaatgctt ttgacctact gagatgtctt gtaagctcca cgatgatttt	2820
agacttttaa agcttgcttc actgggcaaa cctagtagtc atgtatctca tcaatggatt	2880
ctgggttagc caactgtgta gttagagttg gatatgcaag gctaggtttg aatcttgggt	2940
ccacagaaaa gagcattgca tcagggtcca ccgtgattac attgatgact gaattcctag	3000
agcccatgct tgaatctca gatcagtggg gccacgatct tatgattgag gactgcctta	3060
acatgttgat attgaaatga acctgaaaac tgaacctcca gtggccatgt taacgaactc	3120
aagcccgtag gcatgggttt gttcttgaat ctacaatcgc tgtcctggaa atgagccctg	3180
gaaatgggac aatctggtag ctggcctgag gtatcatcct ggagcctggg tctgcagggt	3240
cagcctgata acigggattt cctggaatgg acttgtttac atctgtcttt attcataggg	3300
aacacatcgc cattctgtgc tgcccaggct tagtagcagg gttttatggt taaagtgaag	3360
gatcgaacac tcttcaatgc ctattcacta tgtccacagt ttcaccgggg gctgtaacct	3420
atcatctggc tttcttaaca cttggaaagg catggggaat tgttcccatg gattcttctg	3480
caaagggatg cgtgggtggag attccaattt tgtcatggtg ttacatgac tttctggaat	3540
cggtaacata ttaagtactt gaacctggac tggaaggtcc atggactgta ttgacaggtc	3600
aaacagaaga cactgatgcc agaagcccag tgtcaacact ggagccaagc agagaccaac	3660
ctcagtccca tattcggaga gcttgaagac tagcttcatg tgaagactcc ttctctccca	3720
gcagcacaaa gcaacctacc ttccaggtag ctactctcca ccattctcat tgtagcctat	3780
gtcttaggaa tttatttttt taaaaaagta taactatata tgcatgaaaa agtctattgg	3840
tgtaatgcac taatttcttg aggggtttaga aaatctacaa ggaattgttt tttttgtac	3900

agctatatta atgtaaaata ttttaaagcc aaggataagc ttttgattct tttcaaagat 3960

gctctttatg tgggggttgt gggatgatatt attgtactca ttcataataa ttttgcataa 4020

atctagaaat ttaataagtg ttttaattatt tgtatcaact ctctttacaa aattaataga 4080

aataattctt caaaattaac aataaataca ctaatacaca ctaattgtag tctagaggtc 4140

tcaatttgta tcttggggag catgataaat attttaattt tctatatcca aaatgtcccc 4200

tcctccaaat cctctttctc ctggatgatta tgtgttgtga tttgcaattt agacatttac 4260

caaaaagggt aagtgtagat taaattaaat tgtctattaa atacatggta aacatgatct 4320

caacctagta gtagctaaat ttattttttt ctttcaaagg atgattttat tcaaacaagt 4380

gggttatttt gtctccttgt tcgctacagt ttctgttgtt aagatttagc ctgggagttc 4440

aaattaagtt agtgtgtgaa actataccac tcctggagaa agcctttaaa agctttgggg 4500

aagaaggcag ctgctgatag tccaaggcaa gaacctctcc ttagatacat tactcctgac 4560

acagaacggg gtgggggggg aacttagaag ctcaatgct tctgctagca gaaatttctg 4620

tatcaagatt tctctctagc agagtcctcc caccctaaag atttgcttgt gtttattacc 4680

agcctcttaa ataaaaactc tacctgaaaa tcggaaagaa tatcagatat tgcataatga 4740

ttgagtcгаа tccaagcttc tgattagtat atgggtattt taatataagg catagagagc 4800

catttctgaa ctgaaaacac ctgctttgga tttaatgagt gtagtaacce tttggtagt 4860

tggatggaca gccttaacac tagatgtcag tgttctttct ctgtgaattc cattacggtt 4920

cagaatgtga gcatggccct ggacaccccc ttctcaatag tcattataga gtgagatttc 4980

cctgggcata tcatagtatt ccgatcaaag ctgactttgt ctagccacac ctcaagggt 5040

gatcttgact ctcaagtatt tggcaaagat gagcttatcc ttgtcaatag aagccatttc 5100

tctgggtaaa ctcatgtttt tcctctctg ctccctccat ctggcccatc aactgttaact 5160

gcttttctgt gccacaacta ctgccatgat caaaccaatt aaacacgagc agtggtagtc 5220

agagatgcta tgggccatgg ctataaaatt tacgatcatg acaggaacgt gagacatgga 5280

aatacattta atacttgaga acaagtactt tacatagtcc taaagtacaa aataatgatt 5340

gcttgctttt ctttagtctt tcttattttt ctgcatgaat ctgttgata aaagtgttat 5400

tcgtgaataa taattttaat gagaaattat gactattaat gacaaatcat ttttgactta 5460

cctttgctat ttatagctaa tgtaaacaca aacaagcact tttgtcatc gtctctcttc 5520

acgctattct gtatgcatgt gacattctat gcacacattc aattatttct actgattcaa 5580

attttagaaa taaaaatttt tagatacaaa catgtgaata cctttgaagg ttttatggca 5640

tgcattatgg tattagcttc cagaaaggca tcctctgttt ggttttccct acgagcatgt 5700
 gggagtgttc aaccatccca gttagagtga gccctaacag gcactctgtta cttttagtgc 5760
 tggcgtagga tcaccgttct aaaatagcat ccagatttct tcctgaggaa ccatctccaa 5820
 cggatggccc acatggtact ggagatgatt ctctgtctgc agtcagacca gaactgcaga 5880
 cagtgtcgtt gtgatgacct gaccagagct agtcttgtta caggcttttt ctcagactta 5940
 gaaaaaggct cagatttatt tttatttcca actcaacttg agctgtcgtt cctgccttac 6000
 tagtgtgcat ctigagatga aggcagcatc acacaataga gtaaatcaac gctgacacac 6060

 tgtgcatgga tgccattcct gagcagtgtc tagtgctcca taagccattg gctgtggaca 6120
 catgggtttc tgaactgtta aactcattta tattcaaact gctctgattg attttctttt 6180
 attttgaac aaagccagca cacaataatt gtttcaagtt taatctttgt taacctggct 6240
 gttaaccca gtgttctgag tctgagactc ttacattttg tttttttaac ataaaatgta 6300
 ttaaatattg acatatcatt tctaagagat tatattgtta attcagaaaa agaattgtgtt 6360
 atctacattc ttaaaatata ataaagattt agacaatgat ttccttttta gaaagttatc 6420
 taaattatca ctaatatgaa atatcagggtg gaatatcgtg tatttgtttt tctagtttag 6480

 aaagaattaa tctgtagctt gtatgtattg actttgtgaa tgatgatatg ttttaaatgt 6540
 ttttaattga cactaggatt ataccacccc ttctctccct ctagtttctc ctaggaacac 6600
 ttcttggagc ttctcccatg ttccctcacc tctgaagctg attgcctctc ttttcattta 6660
 gtattaatgc tacatatgta catatgtaca cagagatgta tgaatgcaac ttgttgagtc 6720
 ctttttgtt tgtgggtata tggtttgtgt gtgcttgtgc atattgaaca actagtaagt 6780
 gggctcagct ctggaaaagg ttaattctct ttctccaaaa ggctcattagc tgcctatagt 6840
 tctttgtcta aggtggggcc ccatgaaatt ccccttcca tgttactaca tccattgata 6900

 ttgccatcgt tctggctcct tctgggaggg actgtttcac agcaaacttc ctgatattct 6960
 ggctatcatt acctttctgt gttctcttcc atgatatccc tcgagccata ggtttgggat 7020
 atgagatgta gatatatcga ctggggctgg gagccccaca gtatgttgac ctccgcattg 7080
 tgtccagtgt tggatttttg tgatgggtgc tgccttagtt agggttttac tgctgtgaac 7140
 agacaccatg accaagataa gtcttataaa ggacagcatt taattggggc tggcttacac 7200
 attcagaggt tcagcccatc atcatcaagg caggaacatg gtagtgtcca aggcaggcgt 7260
 gtgtcaggca gagctgagag ttctgtcttc atctgaaagc tactagcaga atgctgagtt 7320

 ccaggcagtt aggatgaggg tcttaaagcc cacaccaca gtggcacatc tactccaaca 7380
 gggccacacc ttcaatcat gctaattcct gatttgagca aatacaaacc atcagtgtcc 7440
 atttgcctacc aagagaggct tctttgatga gagagagtag ctacctttat ctaggaaggg 7500

tggtcctgc acgttagca gcttttatac acatatagtt acttttatta attcggtaaa	7560
ttatcttttc atatctgatg ctgaatttta aaagtttttag catttattta tttttactct	7620
atatctgcac atgcgtatac atatatacac atgtgctgtg gagcacatgt ggagatgaga	7680
ggacaacatg tggaggctca gttttctctc tgccactcac ctagagtttt gagttaagat	7740
gcttcattta tctatggaat ttttctttt ctttctttt gattatgtac atttttaata	7800
tgactaaata actcagtcac ggtccatgga cctgcagttt attgaaagac atcattatag	7860
atcaattagg tcatcacagac tctgtgcaaa caaggctgtc attgttctaa tcattactgc	7920
tcaccatcgt tatcattgct gccatcatca actgaggagg ataatccatt ctccagttag	7980
aatgtttcga ctcatcatt ctcatgact gaggcacgtg ttagtttacc aacactcaac	8040
tgcaggatag aaacttctag gctgccactc gatgatggtt tgtgattttg tatgtgtctg	8100
tgcaatggga tagtgaggga gtctctgctc aataattatg agatgctaac acattaataa	8160
aaaaagcaag tctctttata gctactgtca gcactgggcc tgctactcag tgtgtgtgc	8220
aaatgggaca gcctgggttg tacacttggg aacatatatt cctaggagca attaccagg	8280
aaaatctcct ctttccaaat ataaatctga cttagaagg taggcatggc aacaccctc	8340
tgataagaag aaaaacagta ttgcaagggt gcctcatcca aattggactc agtggcagga	8400
tctccatata agtagaacat agaaactctt aactttccgg ttcttattga aaaacgtatt	8460
gtctagatag ctattcctta acaacaatg gcaacatgga caacactgcc actggagtat	8520
tgcataatta atgaaaactt gactgctgaa aatggacagg ctgcctgttg gaaagctaag	8580
taaaatgatt tgaactgaat cttttcaggg aaatccgaat tcttcaatgg atttaaagac	8640
agttctctaa tgatatatgg ggtgcaggat acccacataa tggagtgtg agtcagcaca	8700
agcagtgtat cttattttca agtttagctta ctttcatttt tgtaataatt tgaatattat	8760
ttagcctttc cccattatat tgaaaataga gtcttttctc atgcaatata ttctgattat	8820
gacttccctt cttcttcccc ttccagttcc accccacct cccatcttct cctggctcaa	8880
tccctttctg cctctcatta gataagaaca aaacttctaa gagatagcaa tcagacacaa	8940
caaaataaaa tataataaaa cagaaacat cacatgaaag ttgtacaagg caaccaaca	9000
gaaggaaaag agcctaagag aaggcacaag aatcgagac ccattcagga gtcccataaa	9060
aatactcagc tgaagctat aaaatatatg tagaggacce tgtgcagacc tgtctaggcc	9120
ctggttcttc agtctctgct catatgagcc tgacttagtg gaatcacagg actttgtttt	9180
cttgggtgcc tccatccct ctaggtctta gaggctttct cctcctctt tcacaggaat	9240
ccctcagctc tgaggggagg gatttgatgg agacacacca tcagagctat gtgtcctaag	9300
gactctgact ctctctctc ttccctctcc cccatctctc tctctctctc tctctctctc	9360

tctctctctc tctgtgtgtg tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg tgtgtgtaat gtctgaatgt	9420
gggtctctac aaatacaatt ttattaagaa atgagctagt aggaaatcag tactcaatat	9480
ttattatattt atttaagtaa ggctgggtaa acagcatcat gggacagcac ctgctgtgct	9540
ggaaaaaagg acagaaaagg attgtgagtc aggaaggatg agtttatgtc cgaggatatt	9600
tattcactgt gtgttactaa tgacatctga actctgagac tcagtatttg acttccttca	9660
tggaaaaaaa aaaggaaaaa acaaaaaaaa agaaatgcaa ataatagtcc tgacctcaag	9720
tcgcccttaa agcgctgagg aatctaggga gattgttgtc ctaaaagcgt ttgaaaaaa	9780
tgctgtattt ccatttttaa ggtgagatgt ttccccagcc tgtagacag caggcagaaa	9840
aaatatattt taacagatac tttatgtaaa attatatagg caataaaaat tttatgcat	9900
aaatttattc aattttatgc ataaatgtcc ataggatgac tttatttatt ttttttttt	9960
acgccccgcg ggggcccata ggatgacttt aaatagcgtg ctgtattgtt taaacagtgt	10020
tcatatgttt cattctacct gtgtggttgi atatatcttt gggtagtcac tgggataaat	10080
aaaaaggaaa aacaacatag atgtatttct actaaaatgg ttacactttc tccggaatca	10140
acttttatat cacagggtgt ctgtcacaac tgtatgcaa taccttcttc agagggtggg	10200
atctggctgc catctacacc ccggatgccc agcactgtca gaagatgtgc acgtttcacc	10260
ccagggtgct gctcttcagc ttecttgccg tgagtccaac caaggagaca gataaaagg	10320
aagatgtccg tgagtccaac caaggagaca gataaaagg aagatgtccg tgagtccaat	10380
caaggagaca gataaaagg aagatgtgct gttttatcac tgccgggtga gacgtttctc	10440
aaatagcttc ctgtcgtatg caaaattggt gtcatagttc tcagagtgtt cacagactga	10500
ttgcatcaga agctcctagg ctgggttttc tccaatgcaa actactagag tgctgaaccc	10560
agagacggag attctaaacg accacggcat ttgttcacac agcataggag ggagtgatgc	10620
ttcagccaag gcctgaagac agagcgtgta acaagaacgg gtccttctc acgctgtaat	10680
acttagcttt ctcttccact ttcaacacgc tatactgtcc ccacgtgtac acttgttatg	10740
tgtataaata tgttattagt caggttctgc atctgaggga gaacatgagt tttttccttt	10800
ctgagattat gtggcttcac ttaatatcac acattctaag tccatccatt ttcatacagt	10860
ttttgtgatt tgatttttct tcagactaa atagcattcc tttatatatt ttctgtttta	10920
ttcatgattt attatgcatt aattataatt tactacaaat gctacaaatg aaacaatcac	10980
acacccaaat taaccagatc cagagactgt acaattcagg gaccttctat ccagttacag	11040
tagtcatttg aaaaggaagc atggaacttc gcaaggattc tatactttat caaatatata	11100

tatatatata tatattttta tcatatatat atattgcttg ctgatagaag gtgaaaattt	11160
cacctgcata aagaaatata tttgttttac ttgttaccgt atttatgggg agcaaagttg	11220
aagatgtaca aaccaggaat tttgttgata atagatttga aatccagcag gcaagcctca	11280
atggtatatg tagtgagcct ctctctctct ctctctctct ctctctctct ctctctctct	11340
ctctctgtgt atgtgcatgc atgtgcatgt atgcatgtgc gtgtatcatt aagtggtaat	11400
tttggcaagg acaaatatta gaaatatagt tcggaatfff accttaattt tctttcattt	11460
gatcaatagt caaatgtaaa tttttgcctt ccattttcat acacattact tttatcttcg	11520
gtctatctga atttaagaat tagaaatttg aaactcattc tctgatctct acatgcttac	11580
ctgtacaaaa caaaataaaa caacaaaaac aaaacaaaaa cccagactgt atgtgtgatt	11640
cacttttttt aaaacttgaa ctaggtccta ggattcttat aaagagtaaa gttaacaccg	11700
agctgatatt gaagattgaa aaaacctccc ctatatgga aactaccaga tcaataaacc	11760
agatgaatat cacatacaga cccaacttag ctgattcaaa ttttttaaag taaattacaa	11820
tatttataaa aataatcacc attttagaaa acgtagaagt ttcagacagg agaatcattg	11880
gttttaaaat cagcttgtgt aagttaacaa gatcttttct caaaatagac taaataaaag	11940
ctggcagtgg aatgggaaga acgaggctgt tgagtgatta gcacttgatg aacatatctg	12000
aagcccaggc tttcctcctc agtcccatat aaacaaaaac caaaaccgat tatcttctgg	12060
aaagaggagc tatgaaataa tcctcaactc tgggatgtgg gtggccttct gcactcgaag	12120
catgaacact aagaaaacca acgattgtag atagtatgaa cttgtcttaa gaatgtcctt	12180
tccagcacat gtcgagaaat gtaattagtt tcctgacctt attttattta ttaacatata	12240
caaaatgctg tataatttct taatgtgtat ttgtcgtttt attccccctt taaaatgtga	12300
ttttttttta aaccaggttt ggggtgcttca tgaaagagag cattacaggg actttgcca	12360
gaatacacccg gacaggggcc atttctggtc attctttaaa acagtgtggc catcaattaa	12420
gtggtaagat gtggattttt tttccaacta aatttatgtt actagcactc aaactcagag	12480
tagtttttgc tgaaagtcta tactatgatg gactttttaga agagaacacc gagaaagata	12540
acagacggag cagcatcatg gacctaaagga ggggtctttc ttctgataa tgttcatgtc	12600
tttatcagtt gtaatgcacg gccttaaagg gcttcatta tctatagtac tcacacacaa	12660
tgtaagattt gtgggaaatg aatgtgtagt ccagataata ggtcttctgt tccatagcag	12720
acatttcaga taagattcag gacacatctc accccaaagt gaaccctgga gagtaagtca	12780
ttgtcaccac cagaactgat tgtgcccttt ccacatcaaa caacagttgg tattctctgg	12840
ggacaattta ggtggttaca actgggagag atgggtactct atggtaatgg ccaaggttgg	12900
tgcagtcaga cacaacaaca acaaaaaaag ttctgaaaag ttctggcccc cactagggtc	12960

attgagaagg gttaaagata gtggctctca actgtcctta cgctgcagct ctttctcttg	13020
ttgtggtaggc tccaacacat aaactattta catcaccatt tcataactat aattttgcta	13080
ctcttatgaa tcataattat aaatatattgt gttttccagt ggtcttaggc aactcctgtg	13140
aaagggtctt tcaatccccc caaaaggggt catgaccac aggttcagaa atgctggctt	13200
aagagatctt gttgtcact cagtcagac tgcaggactg agttctgtca atcttgctaa	13260
gcatactatt tcttgaagg ggtgtaaatg caaggatgtt agagagcttt ctctcaggcc	13320
accattgtaa ctgatgtcct aggaacaac atcctaattt ccacaccatc ttaaaggctt	13380
aatacaaaga gggcggttta ataaaacgat gggggctgtt agaaagtga agtgctaaca	13440
aagaatgagt tgggttgtat cgtttagctt tgttttaac gtcattcatt ccgtaggctc	13500
aaatttcaa tgttctcatt ttgcccacat aacaacaacc ctctcaccac atatacagtc	13560
agagtctgaa acttaagctt tagggagtta atgaagggtg acaatggctt agttataaat	13620
actgcttcac tgggtgaata tcttctctat ctataagat caaacccata taccaatata	13680
acttgctgca tattatttga tgaaatgttg tgtctaatta ttgtgaccaa caacaaaata	13740
taaaaaata gaaacattat gccttttcca aagctgttta gttgtcacat gccccctccc	13800
ccctagctta accttcttca ctgagtttgg ctctaaagtt tatttgcaac tttctccaa	13860
atacctttga gaaagatctt caagttaaaa aatgtttgca ggaaccaatt ttagtaaaaa	13920
ctattgagag gcaggttaa tatttacaga taatcattaa aaatatgttt tatttgaac	13980
tacttcatcc caatctcag ttcatttctt ttcttatctg aagcaaattt aaaagaaccc	14040
catTTTTatg atttacaatt ttctgccctg taaactgctg ggagcttagc acccctacac	14100
cctaacataa tgctttttca attagtttat atatacagtc tgtctcctgt gtttaaatta	14160
atttcacaat tcttagaacc ttatagttaa gtacaataga atattgtttg tgctaacaca	14220
cacacacaca cacacacaca cacacactgc ttgcttaact aagaatctaa ttatgttgct	14280
ttaaaaacaa aacctaaagag cttaatttgg ctgtatttct gttaaaagaa tcaactattt	14340
ttaacatgta agataaactt caatgaaggg atattttaaa taaactgaag aaacgtttta	14400
aaactggcgt gctagtgcac ggctataatc ccagcactag ggaagcaggg gcaaagaaca	14460
ttttaagttc aaagccagcc tgatctgaag tgggagatta ccacatccag catggcttgg	14520
gtcctggaaa actgagagga acatcaagag aataagaaag gacagacaca gagaccctg	14580
tccagagaag ctagaacagt gtgagctttg agcactgaac ctccaatccc cagagtgttt	14640
attagacaca gcacagtgga ggggttaact agtcacagag gggtgtctcc ctcttggtct	14700
ctctcttgg tctgtaatca tcttgagta gaaggtgacg tcacggtaca cactggtcaa	14760
tagttcctaa aactgttgc tgagaccacag ggaaggcttt gccgaagtcc catggggctg	14820

agccattggt ccttcacatg gctacggact tcaaactaca gatttcacct gtcctttca	14880
cagttactca gggcttccca tggttaccac aggagttcca agccagccag ttttgaaagg	14940
acaagaaagg gttcggtggc tgcggtggtg gtggtagtgg tgatggtggt taatagaatt	15000
taagaaagtt ttaaagcaag aaggaaaatg atttcattgt gcatataaat aaattgagat	15060
aatctgttaa agattcgaca cagatatacag tgttgtgact aacagtcaca aatcacaatc	15120
agacctgaat agatgaagga agagaaatag atgcagatcg tgattttgtt gatttgtctg	15180
tttttttgtt tcgttgttgt tgggttttgg tttggggttt ttgtttgttt gtttttgact	15240
cagaagtcaa aggctcgata tttgtcaatt actttgcgtc tctgtcacac actatcagga	15300
cggttgcttt ctigggttat caatacctct gatagccttc ttcigaaact gtattgttct	15360
gaattgttgc atacccttg cagtttaaga agcagaataa cctgtgttta atgcaaagg	15420
caggtaagc acacctgcgg tgagctaatt tctagcagca cttgataatt tagacacgtg	15480
ataaacattt taattcctgt acttaccagg gtggtcaca aaatgggata ctagccttca	15540
aaatgactcc gagggtgag cagtttatct gtgtccaata tacatatatt ataatacata	15600
tatatacata tatgtatgta tatatatatg gtgcaatgtc tctctgtgtt tcatttcagc	15660
ttgccaccaa gacatatagc aaggactgga tatgagaggg tccaacttta atatatctaa	15720
gaccgacagt attgaagaat gccagaaact gtgcacaaat aatattcact gccaattttt	15780
cacatatgct acaaaagcat ttcacagacc agagtacagg tgagtgagtc atggttccct	15840
gagaggacat tccagatgc atcagcatcc gcagtgaata agacaagtct gcttccctcc	15900
agtcaaagac aaggggtggg cagtcctgag ccccttcctt ccttaaatit cttagttaaa	15960
tacttaattt cagtgggaatt tcttcccaga gatagtgaac ttcgtttagt gactggtaag	16020
ctatgtatgg gcataatgtc agacaatgat gtccgccact ccatttcagc ccgcctgtcc	16080
cccttgcaga agggaaaagt gtctattgat cactaatggc ccaactgtgc ccctttgtgg	16140
taacaaatat tatctgcaca cctttgcaca cctcaaggaa ggaagcataa catcttttgt	16200
tgacactcag gaagagttgc ctgctgaagc gcagttcaag tggaacgccc accagtataa	16260
agccagtggg caacctggtg tctggattct cactgaagtc ctgtgctctc tcagagatcg	16320
gtaattagat gacgattatt cctctgtgtc tgtgatgtcc taaggaaggg ttcccagaaa	16380
catccacatg ctgttccccg ggaccagga atatgatgcc tttttataga tgtgattacg	16440
tggaaatagt ttgcaatcag agttatttgg gattaccaga atatgtgcct atccactctc	16500
aggggttctt agatgataaa gcgggtaaca gagaggtcag tgtcagaggt agatagactt	16560

gaaaggtgga acaagagtc gaaagccaaa ggggtaccag tggctctgtag acattgaaaa	16620
ggacatagaa cagaggaaca gaagcaagcc aacctttgac tggcacccag gaagacttgc	16680
tttggccttc cagcctctag gaaaggtgat aaatttctgt tgctgtaacc tctagtttta	16740
ctataatatg cctacaacaa catcattaga agaggaagct ccaccataaa gaaaaccaca	16800
agatcattct gtggtatccg tatccagaga aatatgcaca ttgtcgtgaa tcaaccaagc	16860
cctgtaactt cacacacaga ggtagcgcta aatgaattac cggacagtt gccttcaaat	16920
ttaggacacc aaggtgtcag tggtagatt tactgagacc agtcactta tagtaaatag	16980
taccaatact gaatgctggc cctacaccag gccctgtgtt aggtttccga attctgtggt	17040
atgacctctg tctgaaagac tgagaagtca gaagcaacat agctctttcc ctatttgtgt	17100
tttcttttct ctatgtgtcc ccaccaggct gtgccattca gatggcttaa atataattaac	17160
tatttaattt taatattccc cttttctagt ttttgaaac ttgtctatag gagatagggc	17220
tctttattca acagtgttcc cttttgtata ctgcgcttat cttagactgc accctgcagc	17280
tatagccaga tgccagagga ctgggaaaca ggcaatttaa aactcaggat gctgactgct	17340
gcaaatacca attgtcataa tcaccttagt ttctatgttg aaaagcaagc aaactccaca	17400
tcgtgtcact gagaaatgtt caccactgag ttcacaggtt gccccatgga tattttccag	17460
cactttgect ttgcagacct gaatgtaagc catgtcgtca ccccgatgc cttcgtgtgt	17520
cgcaccgttt gcaccttcca tcccaactgc ctcttcttca cattctacac gaatgagtgg	17580
gagacggaat cacagaggat agtgtcagca gcatatgctc ctttcttagc cttttccggt	17640
cctagcagag gcttgcaagg gtcttctgtg tttccctaac agcgtggag cctgtggttt	17700
aacaggatgc ttttcagacg ggtgcagggt acttcgcaga ttagcagatt catcctcaca	17760
ctttccttct tcataaaac aaacgcgcta ttactcaga ccacagtggc aggggcaaag	17820
ggagcaggca gcgttctcac tggcattaaag gttgaggatt ggcttgggta acagctgctc	17880
atgcaatcca tcctttaatc ttgtgagaaa tccgagccct gcttaccctg atctagggtc	17940
tagtctgacc tcttcatctt tacacaacac ttctttatg tataccctgg ggccggcaaa	18000
aggatgcgtg tggacgtaat accgcaggca gcataaatcc aaaccaacag tcctttgatg	18060
ccttctcttt ttctttttct aattagaagg tggactttta tcctctgtcc tcttctctgg	18120
ctgtctgtac ttactagggt tttttttttt tttttttttt ttttccgga gggagaggtg	18180
gtccattta catttaagcc ctgtgataat ttggagtctt gttgtctgac tgactgaaga	18240
gaattttctca gaatacaatt tacagagttg ctttaaaaag aaaggaagaa agaaagaagg	18300
taagtaggta ggtaggaagg aaggaaggaa agaaggaagg aaggaaggaa agaaggaagg	18360
aagggtgggt cttagttagg gtttctattc ctgcacaaaa catcatgacc aggaagcaag	18420

ttgaggagga aaggaattat tcagcttaca catccacatc gctgttcac accaaaggaa	18480
gtcaggactg gaactcacac agggcaggag gcaggagctg atgcagagc catggaggga	18540
tgttacttac tggcttgctt cccctggctt gttcagcttg ctctcttata gaaccaaga	18600
ccaccagccc agggacggca ccaccacaa tgggctgggt ccttccccct tgatcactgg	18660
ttgagaaaat gccttacagc tgggtctcat ggaggcattt cctcaaggga gtctcctttc	18720
tctgtgataa ctccagcttg tgtcaagctg acacacaaaa ccaatctgta caggaaggaa	18780
ggaaggaaag aaagaatatg tctagtgtt ctaatgtgt cttctttctc tttcttgttt	18840
atttttaata ggaatgttg ttttcttaag acatctaaaa gtggaagacc aagtccccct	18900
attattcaag aaaatgtgt atctggatac agtctcttca cctgcagaaa agctcgccct	18960
ggtaatgtca ctcaacctcg atggcgtgtg acttgtgtcc tggtttggtt cttggttgct	19020
gtaataaata ccatgaccaa aagcaagttg gggaggagag aggtgttttg ttcacatgtc	19080
cctgttatag ccgattcctg aggggaagtca ggctaggaac tcaagcagag gcaaagacag	19140
gaactgagca tagacctcag agaaatgtg cctttttgac ttgctcctgt gattgatcat	19200
atatgtgtat gtgtatgtat gtgtatgtgt gtgtttgtgt gtgtatgtgt atatgatgtg	19260
tagatgacgt atgtatatgt gtatgagttt gtgtgtgtgt ttgtgtatat gatgtgtaga	19320
tgacgtatgt atatgtgtat atgtgtacgt gtttgtgtgt gtatgtgtat atgatgtgta	19380
gatgtatgta tatgtgtatg tgtttgtatg tgtgtttgtg tgtgtatgtg tatatgtata	19440
ggtttagat gtataaglat acgatgtata tgatgtatgc atcatgtgca tatgatgtgt	19500
gtgtgtgtgt gtgtgtgtgt gtatcagtag cccatgacca cctgcccaga gtggatactg	19560
ccccccagtt ggctgacctt cttctttcca tcattaatcc aaagaacatc ccatagacat	19620
tcctttaagt tagcctgagg gaggcaattc ttcaagggat gttccatctt ttcaggtagc	19680
tcttttatgt caagttgaca aacactaggt gtaccacatc ttgggagcct ctaagagtta	19740
atgaaatggg tctcaagtc ctagaaacgt tgccaatatg ctttatgtcc tgacttgtca	19800
tatctccttt ggtgtttgta tgtgtgtcag aacctgcca tttcaagatt tactctggag	19860
ttgccttcga aggggaagaa ctgaacgcga ccttcgtgca gggagcagat gcgtgccaag	19920
agacttgtaac aaagaccatc cgctgtcagt tttttactta ctcatgtctt ccccaagact	19980
gcaaggcaga ggggtaaggg aacctttctt taacgataat cagcaaggta attttttct	20040
agttttctct ctctgtgggt ttaattttgt actgttcatt ttttccagg tgtaaatgtt	20100
ccttaaggtt atccacggat ggctctccaa ctaggatcac ctatgaggca caggggagct	20160
ctggttattc tctgagactg tgtaaaagttg tggagagctc tggtagtgta agctcacttg	20220
ttatggaact gcatggctgg cttgactgct gtgatgaatg tcttggctct atataatggg	20280

attgtttata tggtttctgt tatggtttgt atgtgcttgg cccagggtgt ggccctgttg	20340
gagtaacttg ttggagtggg tgtgtcactg tgggtatggg ctataagacc ctcagtctag	20400
ctgcctggaa gtcagtattc tgctagcagc cttcagatga aggcaccatg catgcctgga	20460
tgccgccatg ttcccatctt ggcgataatg gactgaacct ttaaacctct aaaccagctc	20520
caattaaatg ttgtctttat aagagttgcc ttggtcatgg tgtctgttcg cacagtaaaa	20580
accctaacta agacagtttc cttggataaa gggaggggaat gctgatctgt gtctaattct	20640
gccacacatc tcaacacttt tcagactgta cgacaaaaat aaatgcacgt attgtgggag	20700
gaacaaactc ttcttttaga gagtggccat ggcaggtcag cctgcaagta aagttggttt	20760
ctcagaatca taigtgtgga ggggccatca ttggacgcca atggatactg acggctgccc	20820
attgctttga tgggtaagtt ttcatccat cttattttac caatgtgtgt gtgtgtgtgt	20880
gtgtgtgtgt gtgtgtgtgt gtgtgtgtgt gtgtgagcat gcacgtgtat ggacccttac	20940
ctgcacatgt gtatataaag aggttagcct caggatatctt cgtgtactgc ttgcttttct	21000
tatttgttga gacagggttg ttactgagtc ctagtgtctaa cctttttgac tagactggct	21060
gcacagccag tccagagat ctgtctgcct ctgtctcccg gcacattctt agccctagtt	21120
cagtgttggg gcctgaact tgaatgttca tgtttgagaa gcaagccctt tgcccactta	21180
gccatctect tggccctgag gcatttgttt tgatgataat aaaagtttcc aagcctttgt	21240
ctagaaaata ttatgatttt aaatttagct tatatatctt ttacatggtc aatttaaaat	21300
tcaaaagata ttaggttaca ttttaagcaa caaataaacc ttaattccta ctggggctta	21360
ttttaatcgt tacagctgct tgatggctct gatgtaatga aagcaattgc ttttaggtct	21420
ggtaaacatga acttaattct cctaaagctt cttcaaaagg cacagaagca ttcccgtatt	21480
tttacttgta ataaatafaa agcaattgtt aagtttgttt tgagtatttt caaccacagc	21540
ttttatactg tgctctgtaa tcctatatgg acacagttca gctgaatatg agccctcaa	21600
agattttaga aacagtaaag ggatcctgaa ggaacactga ccaaaattca atcaaaataa	21660
aatgttatga caaacctgag gcattctgag aatcctctcc tgtgcatatt tcaggactcc	21720
actgggtttg taaacataca acatgcttac tgtgactgt gcatgccacc atgctgtgta	21780
gtaccaacag atggtaccct aaagacaatc agactgaaga ttatgtaatg ttgtgaacca	21840
tgggtgtctgt agtactgtgt ccttaggttt tctgtcttta caaaacataa gagttaatt	21900
tcaaagaaca aaagcattaa aatgtgtctt gtcacagtcg cctttgggtt gtacagtgtt	21960
aaactttgat tttcaacatt gtttcataaa aactcattga atgaacttgg gtttgggtat	22020

tagagtttcc aaagctttct aaatggctct taatctaaga ctatcatttg gtcctccata	22080
tgtatgtgaa gtggtgttct tagcattatc agttataaaa gtaaaatatt aagaaactct	22140
taaaagcatt gaggatgttc tttgtcttat agtatcaaat attcagacat attttaatta	22200
tgtatgtcga cataaataaa cacgttattc tattaagatg tgcatttgct gataagtgg	22260
aaaattatct gtgcacaaa aattgtcttg tagtaagttt ctttataata tatcatcagt	22320
aaatgtttaa tatgtgtgcc tgcctcatgt aatcacacac aaaaacaaaa aattatcttt	22380
tcaggcaaaa gggagtctca catggacaaa gttttattat aaactaaatc ttcgaagtcc	22440
aatactgctg ctgtaaaca caataggtgg ccttgccaga aaaagtaact aggtcatatg	22500
gaatgttttc gtctttctcc ctctctccct tcaaagaaat gtgctaagaa aaaggagcaa	22560
ggaaggatgc caacgttact ttgttctcct gcttctctcc taggattccc tatccagacg	22620
tgtggcgtat atatggcggg attcttaatc tgtcagagat tacaacaaaa acgcctttct	22680
caagtataaa ggagcttatt attcatcaga aatacaaaat gtcagaaggc agttacgata	22740
ttgccttaat aaagcttcag acaccgttga attatactgg tatgcagcgt atttaagggg	22800
aaactgtaca attcacttgt attggcggtta gcttccagtt caattigagc gagaagacag	22860
atctgcagca attgtctttg tgtcctgggt ggtggggctg agggagagat gaggctgcct	22920
gggaagtaaa aacccacga cctaccatgc atttgcctgct acttaagggg gcaaaagagc	22980
ttcattactt tctcagagtg caacggagtg tatggtattg aaacagttgg tataggaag	23040
atcttgacat ctggggacat tgggtatctt ttgacaagat tggcaggatg actcttgctt	23100
gggcttagga atatacaact atatgaacat gaatgggact agaggttagt gcctaagaag	23160
acactgggct gacagtggag gaacatgaag aatggaactg ccattggtgg cacatcactc	23220
cacagaacaa gaatgcctgc caataccatt agctgcaagt gtctgctaac agtcatgtgt	23280
ccttagacag ctgcctttc ttctttccac ctctaatac cactgtatgt gtgctgacta	23340
cttcattgct ttcttgcaat aattaagcaa gatattcaag taaaatacca ggacagcatg	23400
gctatgtttg ctctgcttct gaattctgtt acagtgtagg ttaccacaaag cataaggatg	23460
tttaccataa cattttggtt gaagagtccc tcttcccat ggaaatttca ttctgaaatg	23520
ccattcaaac tgtgagaatt tcttgaatc atgggcctta gaaatggctg gagggccatt	23580
ctttatactc tttagtttca gcaatggttt cattatatct catacatggg catggtatgt	23640
tttgattgca tgcacccctc tcacctctc ttgcccttcc cactcctgtt gttcgcctca	23700
ctctcccggt gtagtccac atggctcatt ctgctctgt tgctttgtag aaaaagaata	23760
aggcaaaaga tagatattaa tttttcagat cctatctat gggttttaatt agcctaaatc	23820
tattcatgaa attttcttc agaattccaa aaaccaatat gccctgcctc caaagctgac	23880

acaaatacaa tttataccaa ctgctgggtg actggatggg gctacacaaa ggaacgaggt	23940
aagcctggca tgtggaatgt tctctcttta tgtgctaagg tacatggagt agagccactc	24000
aacaacccgt agtcatgata cttctgtaga tccattcaac agcccttact catggccttt	24060
ctgttcattc caaaatgata ccaagaatat gacttttttg cattaaaaac tgatgagcta	24120
atccattaaa catattactc ataatagaga tcattttcat gactctgcat caagaactgt	24180
aacctatagg tgctcttaag tccactgaag ctcactgat cccagttct cacagcatcc	24240
ctgtttacta tgctctccct tgctatgaat agccaaagtg ccagcatctc ttttaaggaca	24300
gtgcatata tatatatata ttatagtata gtagtgccaa atatatatat ttgtagtata	24360
ataaatctaa ctttccctct aattatgctg ttaacttctt gtgtaaaata catagattca	24420
taaagacaag tagattgcag cacaattgcc attattttta gcagaatttc acacagggat	24480
aaacatacat ctgtattaat gtaatcctta gcaagttgtt tgaatatcta ccataatgtt	24540
taaataacta tgcacaagaa caatatcttc ctttctgttg taactacaat tcaaagaatc	24600
ctgactctt acacagcagt gctggtgaca atatcacact tccgtatttg ttatctgcat	24660
ttgaaacaga ggggtgggtt cagccttact tggaaggagg agactgtaga ggccagtttt	24720
tctccttccc ttctcggag tttatggata gatcagttgt atgcgtggct ctcaaatcaa	24780
gggatctgtg tgtaagact tgagacattt ctctagaaat aagcatgttt tccttttaga	24840
ctgagtgcga gatagcatgt ttgagtgatt tttttaaaaa aagagatgat tggctgtgtc	24900
ttctttatat ttctgaacc agttagtact gtattcaatt aatcctcatt ttcactatgt	24960
tgacttggct acaataactg ggacacacac atatacatgt gtgcacatgc acacacatac	25020
acacacatac atatacacac atacatacat acaaccaaga aatatagaaa tgggtgtaga	25080
acaaaatact tctctgctgt taaatgtttg ggattttatt tcataaattg tatatttgtg	25140
ttataatttg aatttataaa acaatgaaag gcaagagcat ccacgtatta aaggtacaaa	25200
tgttttaaac aacatatttt tctgaggaga gccttgggtg atacaggagg atggctgaga	25260
tcatagaaac caagtctgtg gtagcttggg tgatagggga gcttcagtca acacagatca	25320
ttgcttcttc atctccatct ccctccctg ctctccctcc acttcttget tectttctcc	25380
ctcctcttt cctccctact tattgtattt cctctcttta atgctacttc ctgattgctt	25440
cataggtgag acccaaaata ttctacaaaa ggcaactatt ccttgggtac caaatgaaga	25500
atgccagaaa aaatatagag attatgttat aaccaagcag atgatctgtg ctggctacaa	25560
agaaggtgga atagatgctt gtaaggtaac tctgggaaaa atacgtaata gttcactgga	25620
gactgctcat ccaaaagcaa atttcccaag ttacatttca ttagtttcag ttttgaagtt	25680
gcagagttaa gtgacatgga gacttttttt tttttaaaga tttattttta tttatgtgag	25740

tgtacactgt cactgttttc accagaagag ggcatcggat tccattacag atggttgtga	25800
gccaccatgt ggttgctggg aattgaactc agaacctctg gaagagcagt cagtgccttt	25860
agctgctgag ccatctctct agccccagac ctggagactt ttttaacagc ctttaacaaa	25920
ctaaacacac acaatgcaca tcatgtgttc cttataatag ttacgttaga atttgtattg	25980
actgtgacgg gtgtgtcaca gtcagtacag ggacatgcca tatttaagga caattttaca	26040
tacatggtea tgctaaaata caaggaaaca gatttatattg aactttgggt aaagatgcta	26100
aaattgttgg gtttatctga gaacgggaga gggaataaat tggccttgta accatccact	26160
tactttcttc atggctaata ggggtgcagag aaattgagaa gttgcatgtg tgatatgtaa	26220
aatatgatag caaaatgtta aagacatcia tctttgaaca aggggctcct aatttgaatc	26280
atcactgtta tagctctcta tcattttttt tctactcact gtgatccagg gagattccgg	26340
tggcccttta gtttgcaaac atagtggaag gtggcagttg gtgggtatca ccagctgggg	26400
cgaaggctgt gcccgcaagg agcaaccagg agtctacacc aaagttgctg agtacattga	26460
ctggatattg gagaagatac agagcagcaa ggaaagagct ctggagacat ctccagcatg	26520
aggaggctgg gtactgatgg ggaagagccc agctggcacc agctttacca cctgcctca	26580
agtcctacta gagctccaga gttctcttct gcaaaatgtc gatagtgggtg tctacctgc	26640
atccttacca taggattaaa agtccaaatg tagacacagt tgctaaagac agcgccatgc	26700
tcaagcgtgc ttcttgctt gagcaacagg aacgccaatg agaactatcc aaagattacc	26760
aagcctgttt ggaataaaaa tggtaaaagg atttttatta ggtagtgaaa ttaggtagtt	26820
gtccttgga ccatctcat gtaactgttg actctggacc tcagcagatc acagttacct	26880
tctgtccact tcigacattt gtgtactgga acctgatgct gttcttcac ttggagcaaa	26940
gaactgagaa acctggttct atccattggg aaaaagagat ctttgaaca tttcctttac	27000
aataaaaaga tgttctactt ggacttgatg ggacagagca cttttcata taaaccacct	27060
ttctggccat tgctgctgag tctgcatgg tcatgagtaa ggagctcgtg acagggtttc	27120
ccacccttg agcaaaacca gctagatgtt aggtttgttt gtataaattt caagttcctc	27180
ctttgggaag tattctctct gcctagatta ttgggggaat atcctctctg tcagggcagc	27240
ccttaagatt gtgggaacaa tgagaatata taatttctct acaatgcaaa atataaggat	27300
acagtctgaa ttatataagg agatccatgg acctaaagaga acagaggcag ctacactatg	27360
agccagcttg tcagaaagat actactgaag gagttaaaga gataaagaga tttggggaat	27420
agctatcaca gggcaagatc ccaccagct aagtttatta ttttgttta caaagacagc	27480

cagattcctg agttcaaggt catcctggga cagagctggt ttaggccag ggtaatgggg	27540
gtccactca gctagcttat tgtctatgct tttaatgca ggcagatttc tgaattcatt	27600
tgccatgtta aaaaaaatgt acctgatgtc ttttctaag atatacgggt ctagagtcatt	27660
ggaatgctga ttcatgggtt aatcaaaagg gaacctagag taaacgcctg tactgataga	27720
tacataaaag tctgggcttt ggtctacaaa tgttgagcta tgtggatgag ctgtgtagag	27780
ctaaagattg aacagtggtc tctaattatt ttttagatt attttttct agcagctacc	27840
cagagagaac ggcttagaga gtaaatattg ctattttaga ttttttttc tagaaaatcc	27900
aagaattttt atagcagctt ttctgacact ggtcagaaaa cccatgagct atccagaaag	27960
cttttagatt ttttttttc aagagagaac tgtctcaagt agagacagct ctctcaatca	28020
gagagagctg cctggagcag aaagctatct cgatcagact acagagccaa gagctattta	28080
caaagagctg tctaggagc cattttaagc aggctataag gctgtcagct tgcaccccat	28140
catttgactt tgagtgttt ctttaccac tctcaaacac ccttctctc aggaactcct	28200
ctccaagcca agactgggtc ttggcacatt gccacatggt cttggctacg tatgcatgta	28260
agacctgtag ggctatatit ttcttcttgt gtgcagctcc aacaataggc ttatcacaca	28320
glactcatac agggcacgga atctgatgag aatctcccc agggaaccct ttggagtctg	28380
gttgatactg tattctgcaa tagtaattca tggaatgtca ttggatgtaa agtgttgtat	28440
aaaattcagg cttagagtgt agttgaaagt aaaaagcaat cttggaagggt atgacagtaa	28500
tcctcatgta agacaaattt ccagcttccc agtgattcat aaatggacc atatgggctt	28560
aactccattt agttaagctg attaatattt agaattagcc atttacaac tattgtgcaa	28620
gttaaataga caaacagaaa agtgaaattt cctaaagaag attaaacctt tcaactgcaaa	28680
ggtttgttga gtagtcaga ggattaaata tggaaaagcc agtgggttat ccacagaatt	28740
tgccacggga agtggaggag gtggttatta tctgaggagc aaataaatgg cttttgtaaa	28800
atctgtctgg attcccatga aatcactccc ctttaaagca caccattca acttttaatt	28860
ttgtatacaa ttcatctta atctgttctg tgtggaagtt attttatatt taaaatgaaa	28920
gaagtgggtc tcaatgaaaa tcacgtatct caggatttca tactgataac ctaacaggt	28980
gttcacacaa ggtgtcagag tgctggctgg gtagaccttg ggctttggtt tctcaaggaa	29040
tggcctcatt tgatctaac agttttgaaa tgtttaattt ccctggggca taaagtaaca	29100
ttataacatt gccagtggga gtccagttag attggaaggc tctgtttatt tttgttgtg	29160
tgttccagca caaagtagcc tgtcttcac ttggggcctt atggggctag tgagaaagtg	29220
agaggttga ataacatcac gtgcacaagg cagagaggag gcaggaggcc ctagatcttt	29280
ggcaggtcca tcaaaaaag ggagtgttat ctctgggaaa gaacacggtt cttcctgggt	29340

cacacatgca gaacacactg catactgttc acatgtgtgg agttcaaccc aaagctcaga 29400
 gggctgtctc tcatcgttga cttttcttct tgtaattctt gcttatgcct gccagcccta 29460
 tagattgtca gtaactagga aggaggttct cctgactct gtctctctct ttcataata 29520
 ctacatgtga atgagcatgt ggcacatgtc tccctttaga tttaccttta ttatctttgt 29580

tgatgtgttg ttttaattgta tgtcacgtgg ttgctagtgc ctgacaccaa ctgatcaaag 29640
 cgtaacttct gagcaactgc cttctaccag agtaaaatag agtagtcctt catgtcaaga 29700
 tctcttcaaa gtcatacaca ggcacacaca catggacaca catgcaggaa agcatggaca 29760
 cacatacaca tacacatgca tacacacgtg ttgtagttac cattattttg agtgtttact 29820
 atacccctt tttgccttta actatttatt aggtatttct accctacttt agataattta 29880
 gttcccaaat aaaagacaca ggaatctttg gatttagaat aaactttaga gcactgggca 29940
 gatatcaacc ctctatgcta tcttgtctgt ttcctatca aattgctgga gataactatt 30000

<210> 16

<400> 16

000

<210> 17

<211> 2353

<212> DNA

<213> Macaca mulatta

<400> 17

ggaagccgtt cactagtcag attgaccaga gattatgggt gggctgtctg ttggggctca 60
 tgcacaggat ttctgttga gttctaagga caaaaagttg aaactgttgg cagaaacca 120
 aagtcaatat cgaagccaag gaaaacattg cctgcggtgc cacattagaa cagcttgaag 180
 accgttcatt ttttaagtac aagagactca cctccaagaa gcaattgtgt ttgcagaatg 240
 attttattca agcaagcaac ttatttcatt tccttgtttg ctacagtttc ctgtggatgt 300
 ctgactcaac tatatgaaaa cgcttcttc agaggtgggg atgtagcttc catgtacacc 360

ccgaacgcc agcactgcca gatgatgtgc acattccacc caagtggtt gctattcagt 420
 tttcttcag caagttccat caatgacatg gagaaaaggt ttggctgctt ctgaaagat 480
 agtgttacag gaaccttgcc aaaagtacgt cgagcagggt caatttctgg acattcctta 540
 aagcagtgtg gtcatcaaat aagtgcctgc caccgagaca tttataaagg aattgatatg 600
 agaggagtca attttaatgt atctaagggt agcagtgttg aagaatgcc aaaaaggtgc 660
 accaataaca ttcgctgcca atttttttca tatgccacac aaacatttca caatgcagag 720

taccggaaca cttagcctctt aaagcacagt cccggaggaa cgcctaccac tataaaggtg 780

ctgaataacg tggaatctgg attctcactg aagccctgtg ccccttcaga aattggttgt 840

cacatgaaca tcttccagca tcttgccttc tcggatgtgg atgttgccag agttctcgcc 900

ccagatgctt ttgtgtgtcg aaccatctgc acctatcatc ccagctgcct cttctttacg 960

ttctatacga atgcatggaa gatcgagtca caaaggcgag tatgcatggc tagcacttgc 1020

tgctgtactt tcatcaattt tattttagaa actttacctg aacctgcca ttctaaaatt 1080

tacccgggag ttgactttgg aggagaagaa ttgaatgtga ctttcgttaa aggagtgaat 1140

gtttgccaag agacttgtac aaagatgatt cgtgtcagt ttttactta ctctttactc 1200

ccagaagact gtaaggagga gaagtgtgaa tgtttcttaa gattatcttc ggatggttct 1260

ccaactagga ttacataagg gacacaaggg agctctggtt actctttgag attgtgtaac 1320

actggggaca gctctgtctg cacaacaaaa acaagctcac gcattgttgg aggaacaaac 1380

tcttcttggg gagagtggcc ctggcaagtg agcctgcagg tgaagctgat ggctcagagg 1440

cacctgtgtg gagggtcact cataggacac cagtgggtcc tctctgtgc ccactgcttt 1500

gatgggcttc ccttaccgga tgtttggcgc atttatagtg gcattttaaa tctgtcagac 1560

attacaaaag aaacaccttt ctacaaaata aaagagatca ttattacca aaactataga 1620

atctcagaag ggaatcatga tatgcctta ataaaactcc aggctccttt gaattacact 1680

gaattccaaa aaccaatatg cctaccttcc aaaggtgaca caaacacaat ttataccaac 1740

tgttgggtaa ctggatgggg cttctcgaag gaaaaagggtg aaatccaaga tattctacaa 1800

aaggtaaata ttcttttggg aacaaatgaa gaatgccaga aaagatatca agattataaa 1860

ataaccaaac ggatgggtctg tgctggctat aaagaagggg gaaaagatgc ttgtaaggga 1920

gattcagggg gtcccttagc ttgcaaacac aatggaatgt ggcgttttgt gggcatcacc 1980

agctggggcg aaggctgtgc ccgcagggag caacctggtg tctacaccaa agtcgtgag 2040

tacatggact ggattttaga gaaaacacag agcagtgatg gaaacgctcg gatgcaggcg 2100

ccagcatgag gagcagccca gagtcttggc gagttttaca acctgggttc aagtcaaatt 2160

ctgagcctgg gggtcctcat ctgcaaagca tggagagtgg catctacttt gcatcctgtc 2220

ataaggacaa aagacagtgc actcagagct gctgaggaca atgttttgct gaagccagct 2280

ttcagcattc agtaactggg agctgataat gtgaagtcgc aaccgagatc tccatgattg 2340

tgtgtcgtaa aat 2353

<210> 18

<211> 33001

<212> DNA

<213> Macaca mulatta

<220><221> misc_feature

<222> (17364)..(18312)

<223> n is a, c, g, or t

<220><221> misc_feature

<222> (23228)..(23609)

<223> n is a, c, g, or t

<400> 18

actgttggaa agacatcatt ggttttgaaa tctgaaaagg acgtgagatt tgggaaaggc	60
cagggaaga atgatatagt ttggctccat gtccccaccc aaacctcatc ttgaattgta	120
atccctgcat gttgaaggag gggcctggtg ggaggtgata ggatcattgg ggtggtttcc	180
cctgtgctgt gtctcatga tagtgaggga tttaaaagta gctgtttccc ctgcacatgc	240
acactctgtc tctcctatca ctttgtgaag aaggtgtctg cttccctct gccttccatc	300

atgattataa gtttctgag gcctccccag ccatgggtaa ccgtgggtca gttcaacctc	360
ttttgtttat aaattgccca gtctcaggta gtatctttac agcaatgtga aactgaacta	420
atacatctgg gaaattcttt ttctctctt cttttctgaa ggacagcttt gcctgatatt	480
atattcctgg ttgccagggt ttgtactttc agtactttga atatatcatc ccattctctc	540
agcctacatg atttctgctg agaaatccac tgataatctt atgaagcttc ctttgtatgt	600
gaagaattgc ttttctcttg cttctttgaa aattctctct ttgtcatggt gaggatctct	660
ttatatttaa tctattggag ttcttttggg cttcataaat ctggatgttt atttcattta	720

tgtctccaaa ttttgagagt tttctgttct tatttttaaa aataagtctc tgcaactttc	780
tctttctctg cttctctcgg aactcttgct atgcatattt gttttcttaa cagtgtcctg	840
taatttttgt cagctttctg caatctttat cattcctttt attactctga ctgggttaatt	900
tcaaatgacc tgtatctgag tgtgtctgac ctttctctg cttgatcaag tctgtctctg	960
aagatgtttg tgaatttttt caattcagtc attgtgttct tcagttcgag aatttctgtt	1020
tggttctttt tatggttcct atctatcttt ttgttgaact tctaattttg ctcatgtatt	1080
attttctga ttttgtttac tgtctatcta tattgttttg tagctcactg agctttctta	1140

agataattat ttttaactct ttgtcatgca gtatagatct ccatttcttt agagtcgcct	1200
cctgctgctt tattttcttc ctttgggtgg ttcttgtttc cctgattatt tgtgatcagt	1260
gtggccttgc attgaagtag gtacctatct cagtctttac ataactagctt cagtagagga	1320
agccgttcac tagtcagatt gaccagagat tatgggtggg ctgtctgttg gggtctatgc	1380

acaggatttc tgitggagtt ctaaggtagg cagggctgga ttctgggttc attcattgtg	1440
gttgtctgta ttctgtgcac aaggactggc ttgaagcatg gatccttgag ggctgacttg	1500
gcactgaaat gagccttaag cctgagtctg caggggccag cctaacatgg ggatcaccta	1560
gcacctgagt tcatggggac agacctgttc ctgagtttat tcaggctgtc ctgggaccag	1620
ggtccactgg ggtgagccca gcatctgggt ccacatggcc aagatctctg gaggtgacc	1680
tgggtctgga tctgcagggg atggcctgaa ttctaggccc atgggtacca acttgagacc	1740
ttgggctgct ggggctaattg tggaggctag agtcttgggg gccaggctag agctggggca	1800
ggtctgaagt ctaggtcttc tgtggccacc ttggagtcta gacccccagg ggctgacctg	1860
gtctggggtg agcatggggc tgaggccaca gaggccagtc tggcctgtgg caggcctgaa	1920
tcctggtgcc ggggtttact ggagtgggct tggtgcttgg ggtctgttgt gaagggtgggt	1980
gctatcttaa ctgtctctct tccacgcaag aggttatctc tctccatgct gtgctgcccc	2040
ggcttgaagg tggggtgaca ctggtaatgt gaaattgtcc ttcctatgca cttcaatgtg	2100
tcttttctta ctctgtgct gcaactgggt ggtacaacct ctcacctgat tcctgagctc	2160
tagtgaagtt attttcgtgc atggatactt attcaaattg atgtttctgc aagggatgag	2220
cactagaaac tcctgttctg acaaaactcct attccggttc ttgctgacat cactccctga	2280
aatagttaat atacttaaca gctgaacacg gataggatgt tcacggaata tgttgacagg	2340
acaaaaagtt gaaactgttg gcagaaaccc aaagtcaata tcgaagccaa ggaaaacatt	2400
gcctgcggtg ccacattaga acagcttgaa gaccgttcat ttttaagtga caagagactc	2460
acctccaaga agcaattgtg ttgacaggta gcaaatctct attattctga ttgtttccaa	2520
agaaactata atttttaag tatagttttt tactttatga gaaaattagt catttatatt	2580
ctaatttctt gagtatatag atagtagaga aggaactaat attcctttat gtagaaatat	2640
ttaaatgtaa gatgacttta aatcaaaaag aatacttgat tgatttaaaa tttttaattg	2700
ggctttaata ttttcagagg ttttctttac ttagggattt ttggactgac attattgcca	2760
ttatttatta attttctttt tgctcaaacc aagaggtttc ataactgttt aatctctctc	2820
tctaccaatt ccctttccaa cattactagc cacagagttt gccaatcaac aataaacaca	2880
acagtagtct ggaggtctca atttgtatct tgggaagcat tataaacttt ccaactccct	2940
agacacaaat gtagagaaaa aacccttgtt ttctataacc agaaactgtg tgctttgtct	3000
tgtaattcag acatttacaa gaaaatctgt atcaccttaa attaagattt atgttaaatg	3060
cagtctaaaa ccaacagagt tatgtattgt tttctttttt agaattgattt tattcaagca	3120
agcaacttat ttcatcttct tgtttgctac agtttctgtt ggtaagtga tttatctataa	3180

agcatgaaat tcaggctaag acaggagtag ccaagcaagt cgcaccacct ctggagaaag 3240

ctattgaaca tacagcttcg gggatggaga tagtcctga tgattcagga cacgtgtcta 3300

tttaatgttc cagaacaagt acgacttgtg agatatattg ctgtatacat acattgcaga 3360

ccagaggaag gagctcagaa gcgggaatgt cttgggactt gtgttaataa aaacttctgt 3420

tcacagatga cactctgcaa aacaaaactc aaaacaaaaa aattactcct ctatttttat 3480

caacattaaa aaattaaaca ttatctgaaa ttcaaaaaga gtgctgggca ttatatagt 3540

tctgggtcca atccaaglat ctgttaggtg catgatacat agttttactc tggacagcca 3600

gggaaccatt tcaaaaatga aagtacctgg tttaaattta acttagcaaa ccaggcattt 3660

ggatagtctt aggtgaataa ctttcaacac tagatttcga tctcatttct ctattaatat 3720

cattaatfff tggagaataa aaatgattct ggacatttca ttaatcgcta tagaggaggt 3780

tttctctgtg tccccacaag gcatgattct gactctatgg tgacttaaga gggccacata 3840

acaatgagta tttaactttc ctctcgatg gctacaataa acgtctacag ggaaggttta 3900

cattcataaa gagactactt ttccaggaaa aaaggctttg attcccccta aatcacaact 3960

ccctgtgtc tgccctcaa ccctgattgc ttttctaaac cgtaatttac caacctatgt 4020

gcaaaccac tgaaaactga aaaggagcat gagccaggga tactgtgaac cacggccacc 4080

tccaggtggt ttctcatttt ctgttttttt cttctggcaa aataaatcat gattatggct 4140

aggaaaatta aggatgtaaa taagcaaaaa actataaact acatattgca ttagtcccc 4200

aaattcagaa gcagtcgtt ttaaacatct ttgttttagt ctttcagata tttttctaca 4260

tatgcctatt tgcacatttt acaaaaaaga gttattaact atggatactc ttgacttgc 4320

attttccact tacagctacc ttttggtgca aataaatgac attttttgga gcttgctatt 4380

ctctttttat ggtatgtttg tgtgcacatt cttatgcact tagttatttc ttagaatac 4440

attttttgaa ataaaaatag tagattcaaa ggtatgaata ttttagaagg ttttatggtg 4500

tggcatcatg aaattatctt tcagaaaagt tactccctag ttgacttctt ctaccagcta 4560

ataagagtc ttatttacc cacttaggcc aacactaaca ggcttctgtt gctttgcac 4620

ccgacatgtt tatctttctg gaaacagtat cctaatttat ttctgcagag ctactgcctc 4680

tcagttttgg tccatgtggt tctggtgacc ctgactcttc tgctgaacca ggaagtgcac 4740

acatcctgct gactgcagtg acccaatcag agccaacac ttgcaatgaa gcgtttgttt 4800

agacgtctag aaataggact cttacttttt tttttccaat ttaacttgaa acataagaga 4860

atacagaggc ctgagctgct ggtcctatft tgctactatg tggagcttga gagtaatggt 4920

aacaccatga ctggagcaag cggaaggaga ctattgtcca ctgatgctat ccgttgagca	4980
caatgtgggg ttactccta agccagagtc accatgggct ttttggtcc tgaaccaata	5040
gatttcattt gtattcaagc cactttgtac taggttttcc atcatttgca atcaaaacca	5100
gtatacaaat aciggttatt taatttttca tttttactaa tctcatggaa aactggcttc	5160
tagttgtttt aacttgcttg tatttggat tcttccatt ttcgtgtact tactaatcac	5220
ttctatttct ttgtaaatt atcttttcat atttgtccac taattcttta aaattagagt	5280
acttttcttc tccttattgt ttatgtaatt gttaaacaag actgaataac ctgcccaaaa	5340
tcctgggaca tgggagccca tgtgaaagct ttgaaagcca ccatcattat gagataaact	5400
atataacagt acittacata tgctccaaaa tacagtacag acacggctat cattgtcatg	5460
atcatgatca tcattatcag catgatcacc aacttaggag gataagcaag aacacctact	5520
agaagtttct ttccattcag caacaaagt ggcggttttc tagtcactcc ctccctgac	5580
tgagtcacat ggcaggctcac agaggctcaa tggcagaatg ggaagctctg ggccagcacc	5640
agccattgtg tgcaccttg cgtgtgaacc taggtgctgg aagaggagt actgcttgat	5700
aattatgagt cagtcaaac caccaactgt ctgacaaaac agacctctt gtaacctgta	5760
ttgtcactaa accaatgcct ccatgctttg tgcatacatg aaatctaggc aatacacttg	5820
tattcccaa agcttcatt tgaagagatc tgtgtcttc ccaaatgtaa accttaccg	5880
agagggtgtc atctggcgc acctctgaga gggatagaag tcttgctgtg ttgggtgtc	5940
agactggggc tcagggccag aattcccagg gggtaggatt gtgcagagaa gatggcactc	6000
tccagtgtt aataaaatgc acgtggtcta agttgcccac tccctcaaag gcaataaaaa	6060
aataggtact atttaaattg aagagtaact actgccccag cgaatggaca ggttgtcatc	6120
ggaatagcca tggttaatgc ccagcgaat ggacaggttg tcatcggaat agccatggtt	6180
aatgccccag cgaatggaca ggttatcatc ggagtagcca tggttaatgg tcagttgact	6240
gactgaaatg aatatgctgg ctgaccagga aagctcatta agcagacttg gaagagagtc	6300
tttcaggta aatccacatt tacaattaa agcagtaatg acacctaatt ctctaataat	6360
aggtggggtg cagtgtatt tagagctggg aataattcca aacagcaaat agttcaaat	6420
ttattttcca ttagcatat gcatgcattt gcttaacta tcttaaaaat gagtaaaaaa	6480
tattgtcagt ttgcttgaat catactgaga tgcggaacaa tatttagcac tgcagtctag	6540
aaaaggacac aggtattgga gtcagggtg ggtgactgtc gcaggatttt cattaagtgt	6600
giggatcttg ggcaagtctg tatgcctga gattcagtta tttaactttc tttcaaaaaa	6660
cctaaccag atgcagataa caaacctgc ttctaacttc ccttacagaa ttgtgagaag	6720
ctggtggaga tgtttgtaac caaagtgtt tgaaaataga gcaaatatta ttccttttaa	6780

ggcatgatat tticatatga tgtcaggcaa cagggaaaaa ctaagttagg attttatttt 6840

attgtgggta atttatgtgc aaattttggt gcaatttaat gaaaaaagc caaagtttta 6900

atgcagaagt gccagaaaa ttaaataaca atctacattg ttcaaatggt tgccttaata 6960

tattttattt tctcagcata attagaatta tattatacag gtcttggagt agtcagtcag 7020

tgaggagaagt taagacaaca gatattcttt tgttaaaatt attatttgaa ttatctcaaa 7080

ttaactttta tggttctatc acaggatgtc tgactcaact atatgaaaac gccttcttca 7140

gaggtgggga tgiagcttcc atgtacaccc cgaacgcca gcactgccag atgatgtgca 7200

cattccaccc aaggtgtttg ctattcagtt ttcttccagc aagttccatc aatgacatgg 7260

agaaaaggta aaagttagata ttctattatt ggagaagcca tttttctaaa ctgaatcggg 7320

tttgtgcaaa gaggtgtagt ataactgaga gttctgtctc agacggggct caaggaccag 7380

cttcagcaaa atcccttcaa gtggttctta ccaatgcaga ttctctggca acaaccaga 7440

tttgctgaac caaagtttct tgggactaga aattgcattt taaacaatca ctgtgtttat 7500

ttaaagtagt agaagttagt cttttctat tcaaagcctc aaaatgcttg aacatcgttg 7560

ggctaagaga ttgtctccag aaagcatcta acaggcgaac attcatctg aataaagaaa 7620

cagacttaac tgtgtgaccc gtgatcacat tagtggctag cacagtccga aggaaataac 7680

gtaagacaag cttttgcgg agaataaat tgagaaacat ctagaacttg tgattttggg 7740

acagggcaga tctgaatgac gcctaaagt agccagtttg ggacactatg gcatgatgct 7800

atgtatggta tgtgtgtgt catgtgtgct tgtgcttggt tgaatatgta ttattaactg 7860

gagatttgta aaagtattgg aaaaatacta cttatgattt ttttttttt tgagatggag 7920

tcttgctttg taaccaggc tggagtgcag tggcacgac ttggctcact gcaacttccg 7980

cctccagggt tcaagcgatt ctctgcctt agcctcccaa gtactggga ttacaggcac 8040

gcaccactac atctggetaa tttttgtatt tttagtagag acgggggttc accatattgg 8100

ccaggctggc ctigaactcc tgaccttgtg atccacctgc ctctgcctcc taaagtgtg 8160

ggattacagg cgtgagccac cgcacccggc tgtaattaca atttttatta catcagagag 8220

atgcttatta atcacaagct acagtttcat cttaatgatt ttcattttga ataagaataa 8280

gcttttcttt gttcttccca ttccatatt cataactctt ttctcatctt ctccacgtga 8340

gttttgtaac tagaaattgg atagtcattc tctgatccta catgttaaac ttgtagagaa 8400

aaccagatt gtatgtgagg atcatcatct taaaagtgga ggtaggttct agaattctta 8460

taaataatga aattaacatg gaggtgaca ttgagacag aggggaagtct ttcattaagt 8520

gcagactaca aggagttaat aagcaagatg aacacacaat atacagatcc agctcttctc 8580

actaagttaa ttttttaagt aaatgaaagt atttgcaaaa ataattacca attaggaca 8640

tagttgcctg aaggtttaag aatacaggaa aagtcattaa ctcttcaatg tggttgactt	8700
cctgtactta aaaaatgtga gtgtaaagaa aacgcaatgc tgaagttaaa tattatgggg	8760
atgttataaa attacctcta agagtgttct ttccagcaag ttttggggaa gctatattat	8820
ttcccttatt cciggtttta tgttagtgta tagaaaatgc tagacatttc ctcaatgtat	8880
gtttgttgtt ctacttccta aataaagcta cttttaaaac aggtttggct gcttcttgaa	8940
agatagtgtt acaggaacct tgccaaaagt acgtcgagca ggtgcaattt ctggacattc	9000
cttaagcag tgtggtcac aaataagtgg taagctgcga atttcttagc tacatttgag	9060
ttaatatga atctacctta gaacagcttt tgctaaaagt ctgtactgct acagcctttg	9120
ggaaggaatc acicataaag atagaagatg gggcagtatt ctggacacaa aagagggacc	9180
catattcacc tggacacttc tgttgtcttt atcaatcgac acgtatttaa tgagcctcta	9240
ttatttatga ggtagcact caagtgtgaag atttgcagaa aatgaatcca aataatcgtg	9300
tctccttgtt tccagataag aatttttaag aaaacacgag ggaacatctc tctcaggttc	9360
acgtgagggg aatttttata tcagtgttcc tcaactggca gtgatttttg tctcttccat	9420
taggggacat ttgacaatgt ctggagacac ttttggttgc tatgactagg gagggcgtaa	9480
ttagcattta ctaagtagag gccagaatgc ctctctcatt tactaagaag aggccagaac	9540
gttcgaatgc tgcigcccaa cttcttaciaa ggcacagagc agtcctccac agcaaataat	9600
cttctggccc aaaaatgtcaa cagtgtgac atcaagaaac tctgatatac cattaggccc	9660
aaactgaaga actgggttct gcaaatcttg ctaagaataa tacttcttaa aggaaacttg	9720
aggactagga tgctagagaa ctttgatttt acatctgaag ctactgatgt ctgggaaat	9780
aatttccaac aciatcctaa taaatttaag acaaatgaac tatttctcaa acatgactgg	9840
gactgatcag aaagtgagaa gtgctgaaaa gattcaactg atgggttgtc ggaatcttaa	9900
aatagctgtg ctgtgattct atgtgtgact atacatcata actattttat ttgtattatg	9960
cacaattaat ttgtagggtt caaatctcag atgtttttta atttgcacc ctttctccc	10020
tcattgatat cacccttcg atacatacac actttgagcc tgctgtttgc atgttaacca	10080
gttatcaaag gatggcaaag cgttcgttat gaatatgggc ctgacttagc cagtgttaata	10140
agtgtagtct acctgaggtg gggtagattt cctgttttat aagaccaatg tgtatgttca	10200
tctaatttgg tataaagat tcaaggaagt gctgtttcca attgttgtat cttatagcaa	10260
aatttaaaga aaaagtaaca ttgtgccttc cccaatattc ctgttattgt taatgtattc	10320
taaaactcag tgttactcac ttagcttgct tttaatgttt ttttctaact tcatcatctt	10380

aaagtgaaaa attgttccca agtacataaa atctctactt tcaggaacaa ttctagtcca	10440
aagcatttag agctttcaca tgaacactta caaagttgtt atttgtgaga gtcccatccc	10500
aactcttagc ctactctttt ctcacacgca gaaaaattgg aaagagattt catttcgacc	10560
gtctgcaaat tctgtgtttt aagaaccact gtgaataatc cacctcccta cccaattccc	10620
aattcgacat gcagttttcc tgacagtttg tatgttttct gtctttccca cccttaaatt	10680
tagttttatg acttcaacca cacttcttag gagtggaaag ttacctgtaa tagattatgg	10740
tttattccac ataactttgg ggaataaaac tttaaaaaag tttatggttt agacttctgg	10800
tttacattac ttccttaacc aaaagtctaa ctaagaaatt tgaatattta aaaaaaaaaa	10860
gagcctaatt ttgtttcctt gtctgtgaaa agaattatct atatcttttg catgtaagac	10920
aaatctcagt gaaaagggtg cttaaataga agttaacact attttaagc aagaatggaa	10980
gtggcttcat catgcataaa caacaactct ccacattttg taacgattga tccagatgca	11040
attttagtgc agacaggaga agttgaaagc agagaaagaa cactgggaga tagagaagct	11100
ccttcattca atgcaaaagg tcaaaggcac atcagtttct ttaataatgc aaacctcagc	11160
acacatgac agtgtcctca ttattattgc ctgttttatt tccactgct cactgttaat	11220
ttcaacgtga aatttacctg tattgtctga tgcattctgc agtttaagaa gcgaagtaac	11280
ccaatttcca agctagtgtt ttcaggaaaa tactggattg tatttacttc gagcagagtt	11340
tgataattta tggacatcat aaaaatttta aatcccttaa ttaatatagc aattgccaaa	11400
actgggctgt tatccttcta aactaccggc ccaaatggta gtgggacct tctaaactac	11460
cagcccaaat ggtagtgggt atctaactta cctctagaaa gaaaatggac tgtgtttgct	11520
ctatttcctt tttctgttac agcttgccac cgagacattt ataaaggaat tgatatgaga	11580
ggagtcaatt ttaatgtatc taaggtttagc agtgttgaag aatgccaaaa aaggtgcacc	11640
aataacattc gctgccaat tttttcatat gccacacaaa catttcacaa tgcagagtac	11700
cggtagtac aattcatggt gtttgttctt tatatttagt ccccaggat ttcactgtat	11760
tcttcacaac ctcttttgtt cccaaactaa aaaccaaaca gggcttttac tcctaaccac	11820
tttcttatt tacttactct attttatatt tttatcttct ttttttttt ttttttgaga	11880
tggagtctcg cgtgttgccc aggctggagt gcagtggctc aatctcggct cactgcaacc	11940
tgtgttctt ggcttcaagc aatcttctt cctcagctc ccatgtagct aggactacag	12000
gcgccacca ccacacctag ctaattttta tgtttttact agagacgggg ttttaccatg	12060
ttgtcagge tggcttgga ctcctgatct cgtgatccac ccacctgggc ctcccaaagc	12120
gtcgggatta caggcatgag ccactgctcc cggcccttca ttttaagtt aaataattca	12180
tttaatttca ttgttttct tactcttttc ctctggcagg taattgtacc ccatttcaa	12240

agcctggcat cccttccac cacttctcca aaggctgatt ctttcaggtc tttcctcaga	12300
taccgtcccc tccaaagggc catttctgag cattctcttt taagccacat tcagctctgt	12360
ttatttcatt cgtagagcta atcacaaatt gattttaact tgtgaatttc tttccttatt	12420
tttaaacttc gtttttgtt gcatagatgt atggggtaca agtgaattt tgttaccttg	12480
gtgtattgta cagtggtaaa gtctgggctt ttggtatata catcactgga gtcacgtaca	12540
ttgtaccac taagcaattt gtcacacct gccctttcc cactctcta tcgccttccc	12600
agtctctact gtcgacct ccatgctct ctcaattgtg gtgtcatttt tcctgaagcg	12660
aaatttcggt gtcattgtt ctgaagtcatt tttctgacgt ctgtgtcatt ttttgctttc	12720
ctgaagtga ttttggtgtc atttttcctg aagttccatt tgccccacgc ataggcctta	12780
cttgtagaat gagggtttag tgtcatggtg tctcctgcct cattctcacc ccaactttcc	12840
cttgaccctt ttgcgaggag aaggatgtcc atttgattaa taatgcaaac ccctaaccac	12900
ctcattatca gcatcattgt tttttccact gtccgtttga atactaaatg ttacctggac	12960
tgctacctcc gccctaaagt gcaggaagca aagtcacctc ttttcttccc attcaggaac	13020
acttgctct taaagcacag tcccggagga acgcctacca ctataaaggt gctgaataac	13080
gtggaatctg gattctcact gaagccctgt gccctttcag aaattggtaa ttgtaggacc	13140
acttcacctt gtgattgtag taggcggaat aggaccccc agagatgtcc ctgtgcggag	13200
ccccgtacc tgtcgtgtg tttccatagc tggcaaaagc gtttctatca atgggattca	13260
gttaaggact ttgagatggg gagtttactc tggatttctc cgatgggccc aatgtactca	13320
caggattggg tgctcacaag gctaataaga aaaagggaga ggcagaaggg tcagaggcag	13380
agagagggtt gaagggtgta cactgctggc ttgaagatg aaggtccatg agccaaggaa	13440
tgcaagtggc ctctagaagt tgaaaagggc gaggaacag tttcctgtg gagcatcctg	13500
gaggaacaag cctgctgat gtcttgattt tagcccagta agacccaatc tctagaatgg	13560
taagataata aatttttgtt gtttttaacc actgagtttg tggttatgcc cctatagcag	13620
cagttatagg aaactagtag agtgatattg ttataggtac aatgatattg tagcaaaact	13680
gtaaggacct tcttggttg tgteccatc tagggaaatg actctaccgg ggggaggga	13740
ataacattct gtcgtgtcac acataaaggt aatttcaatg gaattgtcca gaaaattgcc	13800
atgacattcc acctcattta gcgtatcagg atgttaacga caagatgtta ctgaaaccaa	13860
atcccttact gccagttctc cgcagtagtg ggtgctggct ctgtgcctgg ccctgtattg	13920
ggtgctgggc taggatttcc ctgtggaaga ttgggaaggt tggttacaag gtgtctattt	13980
tcctgtctcc tctttgtgac agcacacctt ctccacggtg cgtgccaggt tcacgtgtac	14040
tgatgatgtg attttaacgt tcatattatt tttttccggg agagtttttg aaggctgcca	14100

ggaggcagga ctcgatgcaa gcatgctcca ttctgtaccc agcactgttg ctggaaggat	14160
ttgctgcaact taccagga acaggcaagc tcatgccgtg gttctgggct gtcacagctg	14220
ctgtccacac ctgggagagc accctggatg gtcacatctt gtacttgctt tcttgtaaa	14280
ttgcagttag ttcacatgtg atttaatctg atcaaatggc ctttacagac tggtaaaaat	14340
ctggctgttt caggcagtg tttgagctgc taaaggcatg gcttttact gactacgtgt	14400
tccccgttcc tcagggaaca cccagtagct acgtgcctcc tcaacctgga gtagggctgt	14460
ctcctggcct cactgcccag atgagattca taagttaggg atcatctgta gtcactacta	14520
caggtttgtc cttagtttca ccatggattt ttctaatttt acaaacaaaa cccctaaggc	14580
tcctagaagg agggcagaag tgaagggtgct tgggggtcat atagctgatg agctgaacga	14640
gaacttgacc ctgggtcac acagatttca cattgctcac tccccatttt gattttttaa	14700
tggatttaat ggtgttttaa agtctcctgc ctctcaactc atataaatc atcatattta	14760
cagatttctt tctcttgctg tccatcttcc tgcatagatc ttgacagatg tcagggtaat	14820
cacatcttcc cagttaat taaaaaacg tttgcaattc tgatatggga aatctaccat	14880
atgacttatt aatttatcaa ttgaggtgat aaacatat tccaagccaa aagtaggaga	14940
acataaactg gaaaaaaaaa tttttttatt tttttttt ttatttttat cacctctggg	15000
gaagaaaatc tgataaatga acctggttga tgaattgca attagtggga gcaacatcat	15060
ggtttctgtt ctgagaataa ccagatggta tacttgaaat agagaatgtc ctgaaatca	15120
actggttctt tggccaaaat atctataaat agtgcccgac atattagata ggaagcaa	15180
agtaaaagca attttaatag gttaggacat tgggtgaag tattgcatat attaatgtc	15240
acgtgcatct gtgtgaagag accaccaaac aggcctttgt tgagcaataa agctttttaa	15300
tcacctgggt gcaggaagc tgagtccaaa aagagagtca gggaagcgag atagggtgg	15360
ggccatttta caggatttgg gtagtaacg gaaaattaca gtcaaagggg ttgttctctg	15420
gtgggcaggg gtgggggtca caagtgctc agtgggagag cttctgagcc aggagaagga	15480
atttcacaag gtaatgtcat cagtttaaggc aggaaccgac tatttttact tctttgtca	15540
ttcttcagtt acttcagcc atctggatgt atgtgttcag gcttaggcc agaggcctga	15600
cattcctgtc ttctcatatt aataagaaaa ataaaatgaa ataggagtaa agtgttggg	15660
tggcaaaaat tttggaggtg gtatggagag ataacgggca atgtttctca gggctgcttc	15720
gagcaggatt aggggtggcg tgggaacctt gagtgggaga gattaagctg aagaaagatt	15780
ttgtgtgtaa ggttgatatt gtgggttgt tagtgggagc atttgcgta tagaatgatt	15840

ggtgatagcc tggatatggt tttgtatgaa ttgagaaact aaacagaaga cataaggtct 15900
 gaataagaga aggagaaaaa caggtattaa aggactaaga attgggagga cccaggacat 15960
 ctaattagag agtgcctgag ggggttcaac ataattagtt gcttggttgc tgagtttttg 16020
 ggctctatcc ttgacagagt cctccttctt aagttggagg ctgagcttgg tgaggigtgt 16080
 ttttaaaaga ccattagtcc tttctacctt tcctgaagat tgaggagagt aaggagtatg 16140
 aaggttttac tgactactaa gagcctgaga aactgcttgg gtgatttgac taataaaggc 16200
 cagtccatta tcagattgta tagaggtggg aagtccaaac caaggaatta tgtcttacag 16260

 aagggaagaa atgaccacgg tggccttctc agaccctgtg ggaaagcct ctacccatcc 16320
 agtgaaagtg tctgccaga ccaagaggta ttttagtttc ctgactcggg gcatgtgagt 16380
 aaagtcaatt taccagtcct ctgcaggac aaatcccaa gcttgatgtg tagggaaggg 16440
 agggggcctg aacaatcctt gaggagtagt agaatagcag atggaatact gagaagtgat 16500
 ttccttgggg atagatttcc acaatggaaa ggaaaagagg ggttttaaga ggcaggctag 16560
 tggcttgtaa cttacatgga agaggttacg aaatgatgac agaatagaat gggcctgtga 16620
 ggctggaagg agatatttcc ctgtgtccaa gaactatttg ccttgtgtgg gaagagattg 16680

 ataggtggaa gtttcaatgt gggagtagat gggagtgacc gattagaggg aggaaaaact 16740
 ggccgtgagg gacagaagtt ggaatgctag ctgcttttat aactacctta tcagcatggg 16800
 tgttgccctg agcaatggga tctgatgcct tttgatggcc cttgcagtga atgactccag 16860
 cttccttttg acgtaaagtg gccttgagaa gagtttttat taaagaggca ttaatgatgg 16920
 aggacccttg cagagtgagg aaacctcttt cagcccatat aacagcatag tgggtgcagga 16980
 tatggaaggc atatttagag tcagtgtaaa tattgatgca tagtaccttt gcaagagtga 17040
 ggacctgagt taaggcaatg agtttggctt gctgagaggt aagttaaggc aatgagtttg 17100

 gcttgctgag aggtagtgga ggggtgcaga gtggtagcct caatgataga tgtagaagat 17160
 attatagcat accctgcctt tgctggtggg tggagattag gcctggtgga actgccatca 17220
 ataaaccaag tgtgattagg gtaaggaata ggaaagacag aagtatgggg aaatggagtg 17280
 gatgtcaggt ggatcagaga gatacagtca tggggatggg ggccagccta aaacagtaag 17340
 gtcaagttgt ttctacagaa agcnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn 17400
 nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn 17460
 nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn 17520

 nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn 17580
 nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn 17640
 nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn 17700

nnnnnnnnnnnn	nnnnnnnnnnnn	nnnnnnnnnnnn	nnnnnnnnnnnn	nnnnnnnnnnnn	nnnnnnnnnnnn	17760
nnnnnnnnnnnn	nnnnnnnnnnnn	nnnnnnnnnnnn	nnnnnnnnnnnn	nnnnnnnnnnnn	nnnnnnnnnnnn	17820
nnnnnnnnnnnn	nnnnnnnnnnnn	nnnnnnnnnnnn	nnnnnnnnnnnn	nnnnnnnnnnnn	nnnnnnnnnnnn	17880
nnnnnnnnnnnn	nnnnnnnnnnnn	nnnnnnnnnnnn	nnnnnnnnnnnn	nnnnnnnnnnnn	nnnnnnnnnnnn	17940
nnnnnnnnnnnn	nnnnnnnnnnnn	nnnnnnnnnnnn	nnnnnnnnnnnn	nnnnnnnnnnnn	nnnnnnnnnnnn	18000
nnnnnnnnnnnn	nnnnnnnnnnnn	nnnnnnnnnnnn	nnnnnnnnnnnn	nnnnnnnnnnnn	nnnnnnnnnnnn	18060
nnnnnnnnnnnn	nnnnnnnnnnnn	nnnnnnnnnnnn	nnnnnnnnnnnn	nnnnnnnnnnnn	nnnnnnnnnnnn	18120
nnnnnnnnnnnn	nnnnnnnnnnnn	nnnnnnnnnnnn	nnnnnnnnnnnn	nnnnnnnnnnnn	nnnnnnnnnnnn	18180
nnnnnnnnnnnn	nnnnnnnnnnnn	nnnnnnnnnnnn	nnnnnnnnnnnn	nnnnnnnnnnnn	nnnnnnnnnnnn	18240
nnnnnnnnnnnn	nnnnnnnnnnnn	nnnnnnnnnnnn	nnnnnnnnnnnn	nnnnnnnnnnnn	nnnnnnnnnnnn	18300
nnnnnnnnnnnn	nnctggcgag	gagcagcctg	gggaggaggg	gagaggtcag	atgggtccat	18360
agaaaaggaa	gattggaaag	actcagcaac	gcttgggggt	gggattgagg	ggacaggcgg	18420
gagggaaaga	aggaagattt	gggatgagtt	gcattgggaa	caaagactag	ggagggactg	18480
atgtgtaaaa	gactgcctgg	acatcaggca	gctcagacca	tttgccatt	ttacaacaag	18540
aattatctag	atctttagg	atggaaaaat	caaaagtcc	gttttctggc	tatttgaac	18600
cattgtcaag	tttgtattgg	ggttaagcgg	cattgcagaa	gaaaataagg	cgttttggtt	18660
ttaggtcagg	tgtgagtga	agaggtttta	agttcttgag	aacataggct	gagggagaag	18720
aaggaggagt	ggagggtgga	aagttgccta	tagtgaatga	ggcaagccca	gagaaaagag	18780
agggtagaga	cacggagaga	agggtcagg	gtgcttgccc	cccaggaaag	tgggtgcttgc	18840
cactaagggt	gaaggatcaa	ggcaggcatc	cctaaggtga	tcagacacct	ctgaaacatg	18900
ggcgcataat	caagcagggt	tcctttagt	gattaaatgc	caagggaaga	ctgtcttccc	18960
gagtcctatga	ctggtgccag	agttttgggt	tcacagataa	aacgcgtctc	ctctgtctct	19020
accagaaaat	gaaatgaatt	gaaattaaga	gaaggagag	attgaaggat	ggcgccaaga	19080
ttaaaaggag	aaagaggttg	agggatagtg	agagagattg	gataagagag	taaaaagagg	19140
ccgtttaccc	aatttaaaat	tggtgagatg	ttccttgggc	tggttggtct	gaggaccaga	19200
ggtcataggt	ggatctttct	cacagagcaa	agagcaggag	gacaggggat	tgatctccca	19260
agggaggttc	cccaatccgt	gtcacggcac	caaagtcat	gtgcaccctg	gtgaagagac	19320
cactaaacag	gcitttgttg	agcaataaag	ctttttaatc	acctgggtgc	aggtgggctg	19380
agtcagaaaa	gagagtcagt	gaaggagat	agggtgggc	cgttttatag	gatttgggtg	19440
ggtaatagaa	aattatagtc	aaagggttg	ttctctgatg	ggcagggttg	gagctcacia	19500
ggtgctcagt	gggtgagctt	ctgagccagg	agaaggaatt	tcataaggtg	atgtcatcag	19560

ttaaggcagg aaccggccat tttcacttct tttgtcattc ttcacttact tcaggccatc	19620
tggatgtatg cgtgcaggct tgggcccaga gacctgacat ttaacatgaa taaatgtgaa	19680
gttcttagaa tcatacatac acattggaaa agatgggggtt taatagcact ttataaggag	19740
acttgaagaa tgittgagaa tccaccatga agctgctgaa aatatcaaga aaatttaatt	19800
cttatgtata taaataatgt gtctgtttta catgaattcc ctctatcaag tttggtattt	19860
taatatagca tatattatit tttcatagta gatttaaaat ttttgatgta taatttagat	19920
aacataaaat taaccctttg aaagtgtaca actcagtggg ttttagtata tccacctgat	19980
ttcacaagaa tcaccactat ctagtccag aacattttta ttaccactga agaaagactg	20040
tatccattgg cagtctttct ccattgccia ctctccaat cccctgacaa ccactaatct	20100
actttctatg tctgtggact tgactcttcg ggacatttta cataaatgca atcatgcaat	20160
gcagcacatt ttgcatctag cttttttcat ctggagtgtt ttcaaggctc attcatattc	20220
tagcatatat cggtaacttg ttcctattta ggactaaata gtattctatt atatgaataa	20280
accatatttt gttatatac ttagtttgat gaacatttga gttgtttctg gatttttttt	20340
tttttttttt ttttgcctct tatgaataat gctgcaatgg acagcagttt ttgtgtaggc	20400
atacatttta aattatctta tgtatatact taggattaaa attgttggat catacagtaa	20460
ctccatgttt aactttttga ggaagtgtca aactgttttt gagagcagct acacaatttt	20520
acattcttac cagcaacaac tgagtgttc aatctctcta caaccttaac aacacttgtt	20580
attgtctttt ttattattgc ctttctaggc agtgtgaagt ggtgtctcac tgtggttttg	20640
atatgtatit ccctaatgac taataatgtt gtgtatcttt tcatatgctt attatcaatt	20700
tgaataaatt ctttggggaa atctctgttt aaatccttta gccattaaaa ataattgggt	20760
tattttgttt tcatgttga gttgtatgaa ctctttatat actctggata ctacactctt	20820
gtaacatata ttattggcaa attttctgtg catctgcagg tcacttttc actttagtga	20880
tgggtgtctc tgaagcgcaa aagtttttaa acttgatgaa atacagtctg gctttattct	20940
tgcattgtct ttacctaaaa tgccaaaacc taattcatgg ttatgaagat ttttgtgtat	21000
gatttgttct tagaggttta tagttttagc tcttacattt aggcatttga tgcattttaa	21060
attaaatttt gtatatggtg taaagtagga atccaactta attcttgtat gtggatattc	21120
agttattcca ttgtcttgaa actcttttca aaatcaattt tctataaatg taagagttta	21180
tttttagacc atcagttcta tccattgac ctgtatgtct gtcctaatgc cagttacaca	21240
cagtcttgat taccataact tcgtagtaag ttttgaactc agacagtctg agtgctttta	21300

ttttgttctt ttccaagatt aatttgggtta ttccggatct tttgcatttc catatgaatt	21360
gtaggttggt tgtcaatttc tgcaaccaga aggagcagg attttgacag agagggcatt	21420
gaatctgtag accaatgagt atcaatagaa ttatgtgtta tcaaatttag taaactacgt	21480
aaacgatagg aacacagcta aaataaaact aagatataag atcgtattaa tgtaatgtta	21540
ataaaagtag attgtctccc attctaattt taatgggcac aaggcatttt tgtaatcac	21600
ttcttattaa ataatttttt ataatttca ggaaaataca acaacaaaa acccttcat	21660
tccaaaggcc tcagagtcag agtaatagaa ggaaaacgta aacacatgct gagtaatgca	21720
aacatttggc aacggtggtg actggagctg ggagcacagc ttttatttct ctgacatagg	21780
agtttgcccc ttagagtgg accagttttg ccttcctcta aatgacaaac agtttggagg	21840
tattttaag gacgttttgt cacttaggat gtttagtacc atgaataata taaatagtca	21900
taattcctta attacgatga caaaatacaa gcgaatttag catcgtgtgg tttcctaagg	21960
aacatctctc tctgagtcca caggttgtca catgaacatc ttccagcatc ttgccttctc	22020
ggatgtggat gttgccagag ttctcgcccc agatgctttt gtgtgtcgaa ccatctgcac	22080
ctatcatccc agctgcctct tctttacgtt ctatacgaat gcatggaaga tcgagtcaca	22140
aaggcgagta tgcattggcta gcacttgctg ctgtactttc atcaatttta ttttagagtc	22200
tgagttttta aaagtctcct tcatttcctt caaaacactt ggacctgcag tttaagtagg	22260
tacttttctg ccagggtgcag attagttaag agattagcag acttctctgc ctgtcttctc	22320
ttactttaaa acacatgtta ccagctgggt gcggtggctc ccacctgtaa tcccagcaca	22380
ttgggaggcc gaggcgggtg gatcacgagg tcaggagatg gagaccatcc tggttaacac	22440
ggtgaaaccc cgtctctact aaaaatacac aaaattagcc gggcgagggt gcggcgcctg	22500
tagtcccagc tctcgggag gctgaggcag gagaatggcg ggaacccggg gggcggagct	22560
tgcagggagc caagatggcg ccgctcactc cagcctgggt gactgagcga gactccgtct	22620
caaacaaaa aacaaaaaca aacaacaaa aaaaaacacg ttaccattga atccaggaag	22680
caatagccat gagaacaaag aaggatctga cgcctttgaa tgaagattca aaacacgatc	22740
ttcacgtttt gtattagctt ggagttaaag ccactccctg gcagaataac ccttaagctt	22800
gttgctctt ccctttgtt cagaaactag agctctgtt attctgatca aggtctctgc	22860
ccactctctt tatctcagat aaccacccct cttctacaca cagcatggag ctaagagaag	22920
ggtgcctagt tatggaatat catcagcagc ataaactccc agaatttctt ctttgatttt	22980
tttgtttgtt tgtttttcca gttagaaggi ggaacttcgt cactgtcctc tcttcaggtt	23040
gtctgtgcct attagttttc tccagaggga gatgtggttt gatttacatt taatctctgc	23100
aatttattag agtcctglag tcggatttac ttggaagaga gtttcccaa agaataaaat	23160

ttgccaactt cctttttggg tgtgagctgc ttttgtattt gcctaagcc tttaatgcaa	23220
acttcttnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn	23280
nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn	23340
nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn	23400
nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn	23460
nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn	23520
nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn	23580
nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnna gaactttacc tggtaatgtg attcaataat	23640
aatattacat aaaacgtaac atatttcattg acttaacagc aacagtgttg aaacaatcca	23700
caaggtaca gaaacttttg taaatgtcgt tcattgcttt tctcatttgg tatcttttca	23760
tgtttataat tgacacagaa ccttgccatt ctaaaattta cccgggagtt gactttggag	23820
gagaagaatt gaatgtgact ttcgttaaag gagtgaatgt ttgccaagag acttgtacaa	23880
agatgattcg ctgtcagttt ttcacttact ctttactccc agaagactgt aaggaggaga	23940
agtaagggac attttatttt tcatgatcat ttcatactct ttttcccta gtgaaggctt	24000
actctttcta ctgttcattt catctagggt taagtgtttc ttaagattat cttcggtatgg	24060
ttctccaact aggtattacat atgggacaca agggagctct gggtactctt tgagattgtg	24120
taacactggg gacagctctg gtgagtaacc tcacttttct atggaactgt aagggatgtc	24180
tgtcatgttg atagtgtgct tagtcttaag gaattatatg tcttgttctc cttgggttaga	24240
agggactttg attcacttct aatttcaacc attagcatca acactcttgt ttcagtctgc	24300
acaacaaaa caagctcacg cattgttggg ggaacaaact cttcttgggg agagtggccc	24360
tggcaagtga gcctgcaggt gaagctgatg gctcagaggc acctgtgtgg agggctactc	24420
ataggacacc agtgggtcct cactgctgcc cactgctttg atgggtaagt gttggatgca	24480
tctcatccag agtcttacct tgacttttca ttttgaaggg tctgtgatca gctgcttcac	24540
cgatcatgta ctttatgaat agagacgtgt taaagcaggg atggtattca caacatttaa	24600
ctagcagagt ccaagcactg accagtctga ccatcataac agagtgtggt ctctgtacag	24660
gactgatggc cctgggtggg tattctccca cagaaagaga aacaacaca atacaccact	24720
cctccaacc accaccgcc accaatccca ccaccatcc caccacaca cccaccacc	24780
atcctgacac caatccaac accaattcca ccaccaatcc caccaccacc caccaccaat	24840
ccctccacca atcccaccac caccaccac caatccatc accaatccca ccaccaatcc	24900
caccaccacc caccaccaat cccaccacca atcccagcac ccgtcccacc accaatccct	24960
ccaccaatcc caccaccaat cccaccacca cccaccacca cccaccacca agcccgccac	25020

caatcccagc acccatccca ccaccaatcc caccatcacc caccaccacc catcaccaat 25080

cccaccacca ataacaccac cagtcccaac gctaccacc accaatccca ccaccaatcc 25140

cagcaccat cccaccacca atcccaccac caatcccacc acccatccca ccaccaatcc 25200

caccaccaat cccaccacca ccaatcctac caccaccac caccaatccc accaccaatc 25260

ccaccaccaa tcccaccacc acccaccacc aatcccacca ccagtccac caccaccac 25320

caccaatccc accaccaatc ccaccaccac ccactaccaa tcccaccagc agtcctacca 25380

ccaatccctc caccaatccc accaccacc accaccaatc ccaccaccac ccaccactaa 25440

tcccaccacc aatcccacca gcaatccac cagcaataaa tcaaagactt atttctcagg 25500

cccatagaaa tgttacttct tgctttttga ttaataaata tactaataat aattttttaa 25560

agtgagagtt ttgtactccg tataattcaa catatgtaat ttgatctatt tcagttttat 25620

tgggtcaaata gtagacatgt taggtaagtc ttaaaacact gaggttttgg agttagacaa 25680

aacatggctt gagtgataac tttgtctgct attagagggtg tggccctagg agatttgtaa 25740

atctctctga gctttatfff atctaaaaga taaataataa tagtacctaa tttgtaagggt 25800

tattgggagg attaagtgc acatttaaaa tgcttagtac tataatgtcga acatgaacac 25860

tgctcaacaa atgtaaacta tgatttctat attcaataag aagtgtagaa atggacaaag 25920

catatgaaaa agcaaaagaa atactagaag acacttgatt tttctaaaaa ataaacacaa 25980

agtatttttg ttttagtgaa attcatgctt agatgctgtg tactaggatt gaacatacag 26040

ccgcaaaat atagcagttg gtggtacatg tgggtggagc aagaccctc cacctgtca 26100

ccgtgaaggg gctccgcat acatgccctt gcatgtggtt taaagggtgt tggcctggaa 26160

gaaaaggccc aagatgggaa acagtagggtg tcttttttac taaatgtact ccaatttgag 26220

accaggaatt ttcatcttg aaggtcagc attgtaagtt tataagagat aatagacata 26280

aaagtacgat gatttcatta aaaaaaggt cctttgcacg tgatatctcc gttatttttt 26340

ctagaatatt gtgcacacat gccttgacc acttggtgat gataaagatt tctagatctt 26400

tgacagaat aaggctttgc tttagatcat aattttggat gtacttagta tgtattcatc 26460

ttttaagaa tcaattttaa ttttcatact ttcataata tatacacaca cacatacaca 26520

aacacacga cacactttat tttaatatit tatttatita tttattgaga tggaatctca 26580

ctctgtcacc caggctggag tgcagtggca ggatctcggc tcactgcagc ctccgcctcc 26640

caggttcaag cgagtctcct gcctcatcct cccaaatttt tgtattttca gtagagacgg 26700

ggtttcacca tgttggtcag gctggcctta aactcctggc ctcaagtgat ccaccgcct 26760

cggcctcccg aagtgtctggg attacaggtg tgagccactg tgcccggccg tatagagata	26820
ttttaacaa cactgaagtc ctctactct gcctaattag aagagcattg aaagatcagt	26880
ctgacttctt gatagtcttg aatttaattg agcaatgagg tgcagctttg gtgaatgagc	26940
ttaatttttc catgataaat tgctagtctc ttcccactac agtgtctctc aaaaatggga	27000
cagcaacatt ctttgtgttt tcacttgcag taagtaagca tgatacaatt acataaatgt	27060
acacttctca gtttgttaaa tagaatcttc agagattcac gtctgccgt attggtgatg	27120
aaaaatgacc cgtaggagga attaggtagg agaaaatatg tcctatgtag tatttccttc	27180
ccagtctctt ttgaaagaga gtgataggaa aaaggaacaa tattgaagga aggccttccc	27240
agtttcaaat aggttttatt tttctctctt aggccttcct taccggatgt ttggcgcat	27300
tatagtggca ttttaaatct gtcagacatt acaaaagaaa cacctttctc acaataaaa	27360
gagatcatta ttacacaaaa ctatagaatc tcagaaggga atcatgatat cgccttaata	27420
aaactccagg ctcttttgaa ttacactggt atgtagcgta tgtaagaagg cggatagcag	27480
aattgtgctg gatgatattt tcatatcagt ttggacaaga gggcagatct agagagactg	27540
ttgttatctt ctgaccggtg gagggtgagg aaaggtaggg gttgcatggg aagtgaagat	27600
cccacgactt gccatgaaat ctcttctacg taaagagcaa gaaacgtgaa ttagttcttt	27660
cagggaggag cacagccgag cgcaggatg ggaaataatg gacggaggag atgtctgtgc	27720
cgtctgagag gcaccgggct tcttttgaca agagtagcag aactgtcatt gctttgggct	27780
tagggatatt agaattgttg aggaccagtg ggactagata catatttcca ggtataattt	27840
gggtaggaaa gagactgatg ccgaaagaag ccctggaaag gccagaacat cgtgatcaga	27900
ggtgttgctt ttggagggtc attgctgcca ggagctgaat acccactgta tccaataaca	27960
ttaatggcca ggcattggtg ctcacccctg taatccccac actttgggat gccagggtgg	28020
gaggattgct tgaggtcagg agtttgagat cagcctgggc aacacagtga gaccctgtct	28080
ctacataaaa ttacaaaaa aacaattaac tgggtgtggt ggtgtgcacc ttagtccaa	28140
gctagtcagg aggtgagac aagaggatca tgcagccca ggaggtcaag gctgtagtga	28200
gccaaagatag tgccactgca cacaattatg tgaccttggg caagtgtctt tacctctttg	28260
cacctcttaa tttctctac tgtaaaatga ggatgataat ttcttctgg gtttgttgta	28320
ataatcaata cattaaagca cttcatgtct ggaacagtga agacacctgc tatgactatt	28380
aaggatagca tacacggaat aagacgcagg aacttctaaa tgcctttgac cgtagattta	28440
ggttctgagt ttaagaatg taactcagga aattgtaaca caaaaaggt catgtgaaaa	28500
atggtggtga caaattttct tgaatcaata gccttagaag ttgggcagaa agcaaaaaag	28560
ttattcttgg tgctactcta tagaaagaga agacagaaaa agaaaaagat gtatttttaa	28620

agtcctatc cataacttta ttgacccaaa ctctaattta aaaattatgt ttcagaattc	28680
caaaaaccaa tatgcctacc ttccaaaggt gacacaaaca caatttatac caactgttgg	28740
gtaactggat ggggcttctc gaaggaaaaa ggtacagcat gatgctttta atattgcttc	28800
tagagtaagt cttacatgtt gagatgcatg gaggggctcg ttttaatcgg ctctctctg	28860
aaattatc gaaccccttt atctttctta cctatttatt cccaatatt tattcagtta	28920
ttcttaaaaa acgtattttt gctttggctt gaaaaaaaa ttttagggag aattttaagc	28980
atcttacttc attctaaaga tcgtttgctt gacttcgcat gaaagattgt ccccatctaa	29040
ggctgacgag cccgtgcaag accatctggt cctcagtgtt agcagcatc ccatctccca	29100
ataccatgtt ctcccttgat gctaattggc gggagcacag gcaggcgtgt cgcctctctc	29160
tgtggccagt tcttcatctt cttcttccag gcaccccttc tgcaatctga ggaagcctag	29220
gaaccacttc tctaacaatg cttttaaatg cttaaataaa atacacagga ttacaaaaga	29280
aaccaagtga agtgaagac agttctcaa atactttcaa aaagtactac aataatata	29340
atgcctcttt attaatectc tacatagcga gtatttctaa taccaaacct acttttgaaa	29400
tagtggtgag cataaatggc attttcaatt atctgccaca acagaaaagg gatatgaaaa	29460
tatctgtaat ctctgttgat ggcaaagtca taggtgccac tgatactgct gtgtttgttg	29520
tctgcattcg taatcgaagg gagggttagg ctctcatctg aggtttgtga aaacaaagac	29580
tttttttcta cacaaattta taagccatgt gaattcttctc tgaggacctt aggtttgcaa	29640
ttcctacttg tgggtatctg gagggttcca atcgtccttg aactttttaa aaaacagacc	29700
agtcctcctt tccaaaatta tgttctgat agacactatg gagaataata tctgtgtcat	29760
tttttacaga agaaggttagc ttgccaact ctctccatct tttccgattc agtccttagt	29820
tcaagtgatt cacattttta gattttttac tggtaatctg agacaagaag aaattaaaag	29880
taatcttcac taagcaacga aagctcccaa cactgtctc cccatgagag atgctcgctt	29940
gcatttactc agaacaacaa gacccaaga ccctctgtc gcgaaagctc ggagggtttt	30000
tcagaaacga tagggcttctc aattataatt tggaatata gaaacaaaa aatgaaaagt	30060
gagaacttcc aggttttga tttttgtaga tgataaatat aaaatgggat ttctggggga	30120
ctgttaccga gatgagggga tggaagaaga cacggaagca aggtctctgg tcagcccagg	30180
gtgctgggct tgtcccaaca ccacacaggt aataagagga cagtgcaggg ctccgtgtct	30240
ctctctctct ctctctctct gtgtgtgtgt gtgtgtgtta cactacctc ctaattttta	30300
ctatttgtat tcaaagatc ggcccttata aaaaagtaca ctgctctgat tcacttgaaa	30360
acttatttcc atatttacta tttatttgtt ttctctctc tgaagtata tattggttac	30420
ttcacagggtg aaatccaaga tattctacaa aaggtaaata ttcttttggg aacaaatgaa	30480

gaatgccaga aaagatatca agattataaa ataaccaac ggatggctctg tgctggctat	30540
aaagaagggg gaaaagatgc ttgtaaggta atgcatgaga ttatgaaaaa cacaataggc	30600
tgcttgagaa aattcacttc aaaatatatt ttccaatagc ataatttatt atagttttta	30660
aaaaaaattc agagacaaat gatctgataa atttataagc aacttttaac aaattgaata	30720
tatacaatac atattttatg tattcatgat gtatgtcaca atctatgcat gtgctaattt	30780
aagaggggaca aaaatacata caataattgc actaaaatat aaaaacatta gatttctttg	30840
tcattgggat gatgatatca agatttcttt gttagattta tttaagaatt gaagagggga	30900
tacaaaaaat gcaggcacat gagatacttg gagaacttta agaaagtttg tgtgtgtgtg	30960
tgtgtgtatg tgiatgtgtg tgttgccttg tagtggacta cagaatttta gaggtggta	31020
cttatttgag tccattgtc ataactttct accattttat tttccctg tgactcaggg	31080
agattcaggg ggtcccttag ctgcaaaca caatggaatg tggcgtttgg tgggcatcac	31140
cagctggggc gaaggctgtg cccgcaggga gcaacctggg gtctacacca aagtcgctga	31200
gtacatggac tggattttag agaaaacaca gagcagtgat ggaaacgctc ggatgcaggc	31260
gccagcatga ggagcagccc agagctttgg cgagttttac aacctgggtt caagtcaaat	31320
tctgagcctg ggggtcctca tctgcaaagc atggagagtg gcatctactt tgcacctgt	31380
cataaggaca aaagacagtg cactcagagc tgctgaggac aatgttttgc tgaagccagc	31440
tttcagcatt cagtaactgg gagctgataa tgtgaagtcg caaccgagat ctccatgatt	31500
gtgtgtcgta aaataaaatg gtaaaagatc acaattagca agtgttttct tctggttgtg	31560
aaacagaact gaaagtaagt ggttgagggt ctagcacagt gcctggactc cctctaattg	31620
cactacttct tciggaactc agtctatctc aaagatgtaa tttcctctcc ttgctgcacc	31680
tggttagcca ctgaaaccca cgattgtctg cttcacttgt ggcaaagagc tagcaggctt	31740
gggttctgtt ctgccgagtg gaaggagagaa cacctgcgtc acaccactc ttataagaaa	31800
gagatgggtt acctgaaccc atagggtata ttgcctctt ggctctctaa ctttgctact	31860
ggggcatgga taggagggtc caggctgcgt gtgtggagga actcgagggg ctgcagcatt	31920
gcacagcctt catggtaggc aaggaatctg ctttgcaagg ggcattagcc ctggaggctc	31980
agtggatatg ggctattgca atactaattc aaggagcatt tttaggatgg cacattggct	32040
catgcctgta attccaacaa ttggggagat cacggcaggt ggatctcttg agcctaggag	32100
ttcaagacca gcctgggcaa tgtgacaaaa ccccatctct acaaaaatta gctgggcgtg	32160
gtggtgcata cctgtaatcc cagctcccc agaagctgag gcaggaggat cacttgagtg	32220

tggtgcagt gagcagagat cgactactg cattccagcc tggacgacag agtgagactc	32280
tgtctcaaaa aaaaaaggaa gcattgttag gtataaatta ctattattta tttatttatt	32340
tttgaaagga gtctcgctct gtcacccagg ctgcagtga gtggcgccat ctgggtcac	32400
tgcaagctcc gcctcccagg ttcacagcat tctcctgcct cagcctcccg agtagctggg	32460
attataggtg cccgccacca cgcctggcta attttttgta tttttagtag aaacgggggt	32520
tcactgtgtt ggccaggatg gtctcgatct cctgactttg tgatccacct gccttggcct	32580
cccaaagtgc tgggattaca gacttgaacc accatgcccg gccctgttag gtataaacta	32640
tttcataaaa ttcagacttg taaatttatt atagccttta gaatggatga tagaaatcct	32700
tatgccacac aaattcctca tatgccaggg ctcaccataa ctgataccag ctcacttgat	32760
tcagctcagt ttaacattta cacagaattg gccatttaca aaatcttaca taagttaagt	32820
agaaaaatag aaaagtgagg ttttctgaaa gaggttgggt ttttccttca atgctcaaca	32880
acagaggctc ccaatcttcc tggcaccaga gaccagtttt gtgcaagaca cttttccat	32940
gaaccagcgt ggtggggggg ggatgattct ggaatgattc aagtgcata cattttattgt	33000
g	33001

<210> 19

<400> 19

000

<210> 20

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Primer

<400> 20

ccaaaaaagg tgcaccagta aca	23

<210> 21

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Primer

<400> 21

cctccgggac tgtactttaa tagg	24

<210> 22

<211> 29

<212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Probe
 <400> 22
 cacgcaaaca tttcacaagg cagagtacc 29

<210> 23
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Primer
 <400> 23
 cctgtgtgga gggtcactca 20

<210> 24
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Primer
 <400> 24
 ccactataga tgcgccaac atc 23

<210> 25
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Probe
 <400> 25
 cccactgctt tgatgggctt ccc 23

<210> 26
 <400> 26
 000
 <210> 27
 <400> 27
 000
 <210> 28

<400> 28
 000
 <210> 29
 <400> 29
 000
 <210> 30
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 30
 aacggtcttc aagctgttct 20
 <210> 31
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 31
 aaatgaacgg tcttcaagct 20
 <210>
 > 32
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 32
 cttaaaaatg aacggtcttc 20
 <210> 33
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 33
 tgtcacttaa aaatgaacgg 20
 <210> 34

<211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 34
 tggaggtgag tctcttgta 20

<210> 35
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 35
 cttcttgag gtgagtctt 20

<210> 36
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 36
 gcttgaataa aatcattctg 20

<210> 37
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 37
 tgcttgcttg aataaaatca 20

<210> 38
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 38

taagttgctt gcttgaataa	20
<210> 39	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 39	
ggaaatgaaa taagttgctt	20
<210> 40	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 40	
aacaaggaaa tgaataagt	20
<210> 41	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 41	
tagcaaaca gaaatgaaa	20
<210> 42	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 42	
aactgtagca aacaaggaaa	20
<210> 43	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	

<400> 43	
caggaaactg tagcaaaca	20
<210> 44	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 44	
atccacagga aactgtagca	20
<210> 45	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 45	
cagacatcca caggaaactg	20
<210> 46	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 46	
atccccacct ctgaagaagg	20
<210> 47	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 47	
tacatcccca cctctgaaga	20
<210> 48	
<211> 20	
<212> DNA	

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 48
 gaagctacat cccacacct 20
 <210> 49
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 49
 acatggaagc tacatcccca 20

 <210> 50
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 50
 ggtgtacatg gaagctacat 20
 <210> 51
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 51
 accttgggtg gaatgtgcac 20
 <210> 52
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 52
 caaacacctt ggggtggaatg 20

 <210> 53

<211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 53
 ctgaatagca aacaccttgg 20
 <210> 54
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 54
 gaaaactgaa tagcaaacac 20
 <210> 55
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 55
 tggaagaaaa ctgaatagca 20
 <210> 56
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 56
 caaacctttt ctccatgtca 20
 <210> 57
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 57
 acactatctt tcaagaagca 20

<210> 58
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 58
 ggcaagcact tatttgatga 20

<210> 59
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 59
 ttaaaattga ctctctcat 20

<210> 60
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 60
 tcaacactgc taaccttaga 20

<210> 61
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 61
 attcttcaac actgctaacc 20

<210> 62
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 62
 ttggcattct tcaacactgc 20

<210> 63
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 63
 ccttttttgg cattcttcaa 20

<210> 64
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 64
 tgggtgcacct tttttggcat 20

<210> 65
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 65
 cttcagttag aatccagatt 20

<210> 66
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 66
 ggcacagggc ttcagtgaga 20

<210> 67
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 67

aatttctgaa agggcacagg

20

<210> 68

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 68

caaccaattt ctgaaagggc

20

<210> 69

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 69

caagatgctg gaagatgttc

20

<210> 70

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 70

gtgccacttt cagatgtttt

20

<210> 71

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 71

ttggtgtgcc actttcagat

20

<210> 72

<211> 20

<212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 72
 ggaacttggt gtgccacttt 20
 <210> 73
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 73
 gtagaggaac ttggtgtgcc 20
 <210> 74
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 74
 gaggagtaga ggaacttggt 20
 <210> 75
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 75
 ttcttgagga gtagaggaac 20
 <210> 76
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 76
 gtgttttctt gaggagtaga 20

<210> 77
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 77
 atatggtgtt ttcttgagga 20
 <210> 78
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 78
 tccagatatg gtgttttctt 20
 <210> 79
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 79
 ctatatccag atatggtgtt 20
 <210> 80
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 80
 ggttaaaagg ctatatccag 20
 <210> 81
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 81

ttgcaggtta aaaggctata	20
<210> 82	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 82	
ttcttttgca ggtaaaagg	20
<210> 83	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 83	
taaagtcttt ttgcaggtta	20
<210> 84	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 84	
atggcagggt tcaggtaaag	20
<210> 85	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 85	
ttagaatggc aggtttcagg	20
<210> 86	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	

<220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 86
 aaattttaga atggcagggt 20
 <210> 87
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 87
 cgggtaaatt ttagaatggc 20
 <210> 88
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 88
 actcccgggt aaattttaga 20
 <210> 89
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 89
 tccaaagtca actcccgggt 20
 <210> 90
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 90
 tctcctccaa agtcaactcc 20
 <210> 91
 <211> 20
 <212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 91

attctttctcc tccaaagtca

20

<210> 92

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 92

attcaattct tctcctccaa

20

<210> 93

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 93

gtcacattca attctttctcc

20

<210> 94

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 94

caaacattca ctcctttaac

20

<210> 95

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 95

cttggcaaac attcactcct

20

<210> 96

<211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 96
 agtctcttgg caaacattca 20
 <210> 97
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 97
 tgacagcgaa tcattcttgt 20
 <210> 98
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 98
 aaaactgaca gcgaatcatc 20
 <210> 99
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 99
 agtgaaaaac tgacagcgaa 20
 <210> 100
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 100

cagtcttctg ggagtaaaga	20
<210> 101	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 101	
aagaaacact tacacttctc	20
<210> 102	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 102	
agataatctt aagaaacact	20
<210> 103	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 103	
gagtcacctt gtgtccata	20
<210> 104	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 104	
aaccagagct cccttgtgtc	20
<210> 105	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	

```

<220><223> Synthetic Oligonucleotide
<400> 105
agagtaacca gagctccctt                20
<210> 106
<211> 20
<212> DNA
<213>
> Artificial sequence
<220><223> Synthetic Oligonucleotide
<400> 106
ctcaaagagt aaccagagct                20
<210> 107
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic Oligonucleotide
<400> 107
gcttggttttt gttgtgcaga                20
<210> 108
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic Oligonucleotide
<400> 108
accaacagtg tggataaat                20
<210> 109
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic Oligonucleotide
<400> 109
aggcatattg gtttttgaa                20
<210> 110
<211> 20

```

<212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 110
 aacacaattg cttcttggag 20
 <210> 111
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 111

 tgctggaaga tgttcatgtg 20
 <210> 112
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 112
 tttgttctc caacaatgcg 20
 <210> 113
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 113
 aagagtttgt tcctccaaca 20
 <210> 114
 <211> 20
 <212> DNA
 <213>
 > Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 114
 ccaagaagag tttgttctc 20

<210> 115
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 115
 tctccccaag aagagtttgt 20
 <210> 116
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 116
 ccagggccac tctccccaag 20
 <210> 117
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 117
 agcttcacct gcaggctcac 20
 <210> 118
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 118
 tatgagtgc cctccacaca 20
 <210> 119
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 119

tgctctatga gtgaccctcc 20

<210> 120

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 120

actgggtgcc tatgagtac 20

<210> 121

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 121

gaccactgg tgctctatga 20

<210> 122

<211> 20

<212> DNA

<213>

> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 122

gtgaggaccc actgggtgcc 20

<210> 123

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 123

aagcccatca aagcagtggg 20

<210> 124

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 124
 gtctgacaga tttaaaatgc 20

<210> 125
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 125
 gtaatgtctg acagatttaa 20

<210> 126
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 126
 cttttgtaat gtctgacaga 20

<210> 127
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 127

tttatttgtg agaaaggtgt 20

<210> 128
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 128
 tctcttttat ttgtgagaaa 20

<210> 129

<211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 129
 atcatgattc cttctgaga 20
 <210> 130
 <211> 20
 <212> DNA
 <213>
 > Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 130
 aaaggagcct ggagttttat 20
 <210> 131
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 131
 aattcaaagg agcctggagt 20
 <210> 132
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 132
 agtgtaattc aaaggagcct 20
 <210> 133
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 133

aattcagtggt aattcaaagg	20
<210> 134	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 134	
tttgggaattc agtgaattc	20
<210> 135	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 135	
tggttttttggt aattcagtggt	20
<210> 136	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 136	
attggtttttt ggaattcaggt	20
<210> 137	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 137	
catattgggtt tttgggaattc	20
<210> 138	
<211> 20	
<212> DNA	
<213>	
> Artificial sequence	

<220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 138
 gtaggcataat tggtttttgg 20
 <210> 139
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 139
 gtgtcacctt tggaaggtag 20
 <210> 140
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 140
 aacagttggt ataaattgtg 20
 <210> 141
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 141
 caacagttgg tataaattgt 20
 <210> 142
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 142
 taccacaacag ttggtataaa 20
 <210> 143
 <211> 20
 <212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 143

tccttcgaga agcccatcc 20

<210> 144

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 144

aaaggaatat ttaccttttg 20

<210> 145

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 145

ttaccaaagg aatatttacc 20

<210> 146

<211> 20

<212> DNA

<213>

> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 146

atttggtacc aaaggaatat 20

<210> 147

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 147

ggcattcttc atttggtacc 20

<210> 148

<211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 148
 tttctggcat tcttcatttg 20

<210> 149
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 149
 gatatactttt ctggcattct 20

<210> 150
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 150
 atcttgatat cttttctggc 20

<210> 151
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 151
 ttataatctt gatatactttt 20

<210> 152
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 152

ttatattata atcttgatat	20
<210> 153	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 153	
ttgggttatt ttataatctt	20
<210> 154	
<211> 20	
<212> DNA	
<213>	
> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 154	
atccgttggg ttatattata	20
<210> 155	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 155	
agaccatccg ttgggttatt	20
<210> 156	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 156	
agcacagacc atccgttggg	20
<210> 157	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	

<220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 157
 ctttatagcc agcacagacc 20
 <210> 158
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 158
 cccttcttta tagccagcac 20
 <210> 159
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 159

 ttccccctt ctttatagcc 20
 <210> 160
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 160
 catcttttcc cccttcttta 20
 <210> 161
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 161
 cccttacaag catcttttcc 20
 <210> 162
 <211> 20
 <212> DNA

<213

> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 162

acattccatt gtgtttgcaa 20

<210> 163

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 163

tggatgatgcc caccaaagcg 20

<210> 164

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 164

tgctccctgc gggcacagcc 20

<210> 165

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 165

caggttgctc cctgcgggca 20

<210> 166

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 166

gacaccaggt tgctccctgc 20

<210> 167

<211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 167

gtgtagacac caggttgctc 20

<210> 168
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 168

ctttggtgta gacaccaggt 20

<210> 169
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 169

agcgactttg gtgtagacac 20

<210> 170
 <211> 20
 <212> DNA
 <213>
 > Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 170

tactcagcga ctttgggtgta 20

<210> 171
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 171

ccatgtactc agcgactttg	20
<210> 172	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 172	
ccagtccatg tactcagcga	20
<210> 173	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 173	
ctgtgttttc tctaaaatcc	20
<210> 174	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 174	
ctgctctgtg ttttctctaa	20
<210> 175	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 175	
gctcagaatt tgacttgaac	20
<210> 176	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	

<220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 176
 cccaggtca gaatttgact 20
 <210> 177
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 177
 ctttgcat gaggacccc 20
 <210> 178
 <211> 20
 <212> DNA
 <213>
 > Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 178
 ccatgcttg cagatgagga 20
 <210> 179
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 179
 actctcatg cttgcagat 20
 <210> 180
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 180
 atgccactct ccatgcttg 20
 <210> 181
 <211> 20

<212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 181
 agcagctctg agtgactgt 20
 <210> 182
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 182
 tcctcagcag ctctgagtgc 20
 <210> 183
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 183

 cattgtctc agcagctctg 20
 <210> 184
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 184
 tggtttttgg aattctgaaa 20
 <210> 185
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 185
 atattggttt ttggaattct 20
 <210> 186

<211> 20
 <212> DNA
 <213>
 > Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 186
 tgtactagtt tctataact 20
 <210> 187
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 187
 atagggacac aaccaaggaa 20
 <210> 188
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 188
 aggcacagag ccagcaccca 20
 <210> 189
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 189
 cctgcctcct ggcagccttc 20
 <210> 190
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 190

ccaggtgtgg acagcagctg 20

<210> 191

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 191

ggttttgttt gtaaaattag 20

<210> 192

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 192

aaaacaccat taaatccatt 20

<210> 193

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 193

acagaaacca tgatgttgct 20

<210> 194

<211> 20

<212> DNA

<213>

> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 194

tcagcccaat gtcctaacct 20

<210> 195

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 195
 ccttcactga ctctcttttc 20
 <210> 196
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 196
 ttctcctggc tcagaagctc 20
 <210> 197
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 197
 gaatgtcagg cctctgggcc 20
 <210> 198
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 198
 ctaacaaccc cacaatatca 20
 <210> 199
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 199
 cccaattctt agtcctttaa 20
 <210> 200
 <211> 20

<212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 200
 accaagctca gcctccaact 20
 <210> 201
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 201
 ttattagtca aatcacccaa 20
 <210> 202
 <211> 20
 <212> DNA
 <213>
 > Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 202
 tggatgggta gaggcctttc 20
 <210> 203
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 203
 cccctccct tcctacaca 20
 <210> 204
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 204
 atgtaagtta caagccacta 20

<210> 205
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 205
 tgcctcttta ataaaaactc 20
 <210> 206
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 206
 actcattgcc ttaactcagg 20
 <210> 207
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 207

 acttgacctt actgttttag 20
 <210> 208
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 208
 ctctcctcca ggctgctcct 20
 <210> 209
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 209

aagatctaga taattcttgt 20

<210> 210

<211> 20

<212> DNA

<213>

> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 210

tcaactcaca cctgacctaa 20

<210> 211

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 211

tgaaccctaaa actctggcac 20

<210> 212

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 212

agcccaagga acatctcacc 20

<210> 213

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 213

gcctgtttgg tggctctcttc 20

<210> 214

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 214

cttctcctgg ctcagaagct 20

<210> 215

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 215

atgtatgatt ctaagaactt 20

<210> 216

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 216

aacagacaca ttatttatat 20

<210> 217

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 217

agagtcaagt ccacagacat 20

<210> 218

<211> 20

<212> DNA

<213>

> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 218

tcctaaatag gaacaaagta 20

<210> 219

<211> 20

<212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 219
 ttgttaaggt ttagagaga 20
 <210> 220
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 220
 acccaattat ttttaatggc 20

 <210> 221
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 221
 gcctaaatgt aagagctaaa 20
 <210> 222
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 222
 taaactctta catttataga 20
 <210> 223
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 223

 aaataaaagc actcagactg 20

<210> 224
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 224
 ttggtctaca gattcaatgc 20
 <210> 225
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 225
 taacaaaaat gccttgtgcc 20
 <210> 226
 <211> 20
 <212> DNA
 <213>
 > Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 226
 tcccagctcc agtcaccacc 20
 <210> 227
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 227
 gtactaaaca tcctaagtga 20
 <210> 228
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 228

actcgccctt gtgactcgat	20
<210> 229	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 229	
ttttgaatct tcattcaaag	20
<210> 230	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 230	
cagagccttg atcagaataa	20
<210> 231	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 231	
aagttccacc ttctaactgg	20
<210> 232	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 232	
agcagctcac acccaaaaag	20
<210> 233	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	

<220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 233
 ttctgtgtca attataaaca 20
 <210> 234
 <211> 20
 <212> DNA
 <213>
 > Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 234
 tagaaagagt aagccttcac 20
 <210> 235
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 235
 agtgaggtta ctcaccagag 20
 <210> 236
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 236
 ttttgtgtg cagactgaaa 20
 <210> 237
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 237
 ttacccatca aagcagtggg 20
 <210> 238
 <211> 20

<212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 238
 aatgttgtga ataccatccc 20
 <210> 239
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 239

 taacatttct atgggcctga 20
 <210> 240
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 240
 tgtctactat ttgaccaata 20
 <210> 241
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 241
 tttaaagtgt tcacttaatc 20
 <210> 242
 <211> 20
 <212> DNA
 <213>
 > Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 242
 tcactaaaac aaaaatactt 20

<210> 243
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 243
 tcttcaggc caaccacctt 20
 <210> 244
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 244
 tgcaaggcat gtgtgcacaa 20
 <210> 245
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 245
 tgtttaaaat atctctatac 20
 <210> 246
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 246
 catggaaaaa ttaagctcat 20
 <210> 247
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 247

tgaagattct atttaacaaa

20

<210> 248

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 248

gcctaggaga gaaaaataaa

20

<210> 249

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 249

ccagtgtaat tcaaaggagc

20

<210> 250

<211> 20

<212> DNA

<213>

> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 250

ccattatttc catcacctgc

20

<210> 251

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 251

tacccaaatt atacctggaa

20

<210> 252

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 252
 agaggtaaag caacttgccc 20

<210> 253
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 253
 tccttaatag tcatagcagg 20

<210> 254
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 254
 tcaccacat tttcacatg 20

<210> 255
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 255

gttatggata tagactttaa 20

<210> 256
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 256
 ctagaagcaa tatttaaagc 20

<210> 257

<211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 257
 atgaagtaag atgcttaaaa 20
 <210> 258
 <211> 20
 <212> DNA
 <213>
 > Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 258
 cttcttgtct cagattacca 20
 <210> 259
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 259
 tctgaaaagc cctccgagct 20
 <210> 260
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 260
 aagtgaatca gagcagtga 20
 <210> 261
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 261

accttacaag catcttttcc	20
<210> 262	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 262	
atttggtaaa agttgcttat	20
<210> 263	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 263	
tgatatcatc atcccaatga	20
<210> 264	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 264	
cagacacctt cttcacaagg	20
<210> 265	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 265	
aatttccag atgtattagt	20
<210> 266	
<211> 20	
<212> DNA	
<213>	
> Artificial sequence	

<220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 266
 tcagcagaaa tcatgtaggc 20
 <210> 267
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 267
 ttaaataaa agagatcctc 20
 <210> 268
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 268
 gtaataaaag gaatgataaa 20
 <210> 269
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 269
 agacagtaaa caaatcagg 20
 <210> 270
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 270
 caagaaacca ccaaaggaag 20
 <210> 271
 <211> 20
 <212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 271

acccaacag acagcccacc 20

<210> 272

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 272

tgggctcacc ccagtggacc 20

<210> 273

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 273

gcctggcccc caagactcta 20

<210> 274

<211> 20

<212> DNA

<213>

> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 274

aggcctgcca caggccagac 20

<210> 275

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 275

ttcaagcctg ggcagcacag 20

<210> 276

<211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 276
 aaaataactt cactagagct 20

<210> 277
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 277
 tgttaagtat attactatt 20

<210> 278
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 278
 tactcaggaa attagaatat 20

<210> 279
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 279

ttatgaaacc tcttgatttg 20

<210> 280
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 280

ttcttgtaaa tgctgaatt	20
<210> 281	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 281	
accacaggaa actgtagcaa	20
<210> 282	
<211> 20	
<212> DNA	
<213>	
> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 282	
gattggaccc agacactata	20
<210> 283	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 283	
cctcttaagt caccatagac	20
<210> 284	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 284	
ggttgaggga cagacacagg	20
<210> 285	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	

<220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 285
 ataatcatga tttattttgc 20
 <210> 286
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 286
 cataagaatg tgcacacaaa 20
 <210> 287
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 287

 actcttatta gctggtagaa 20
 <210> 288
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 288
 ggacaaaac tgagaggcag 20
 <210> 289
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 289
 ccattactct caagctccac 20
 <210> 290
 <211> 20
 <212> DNA

<213
> Artificial sequence
<220><223> Synthetic Oligonucleotide
<400> 290
atctattggt tcaggagcca 20
<210> 291
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic Oligonucleotide
<400> 291
gttaaaacaa ctagaagcca 20
<210> 292
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic Oligonucleotide
<400> 292
aggtgttctt gcttatcctc 20
<210> 293
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic Oligonucleotide
<400> 293
gcagtcactc ctcttcacgc 20
<210> 294
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic Oligonucleotide
<400> 294
aagtgtattg cctagatttc 20
<210> 295

<211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 295

gagtgccatc ttctctgcac 20

<210> 296
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 296

ttattcccag ctctaaaata 20

<210> 297
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 297

ctcacaattc tgtaaggga 20

<210> 298
 <211> 20
 <212> DNA
 <213>
 > Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 298

ataaaatata ttaaggcaac 20

<210> 299
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 299

ttgagtcaga catcctgtga	20
<210> 300	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 300	
taccttttct ccatgtcatt	20
<210> 301	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 301	
gggattttgc tgaagctggt	20
<210> 302	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 302	
ctttgaatag aaaatgacta	20
<210> 303	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 303	
caaaatcaca agttctagat	20
<210> 304	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	

<220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 304
 tttccaatac ttttacaat 20
 <210> 305
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 305
 attaataagc atctctctga 20
 <210> 306
 <211> 20
 <212> DNA
 <213>
 > Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 306
 tgactatcca atttctagtt 20
 <210> 307
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 307
 cttgtagtct gcacttaatg 20
 <210> 308
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 308
 acatttttta agtacaggaa 20
 <210> 309
 <211> 20

<212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 309
 gaaatgtcta gcattttcta 20
 <210> 310
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 310
 ccacttattt gatgaccaca 20
 <210> 311
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 311
 tccagaatac tgcccatct 20
 <210> 312
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 312
 tggattcatt ttctgcaaat 20
 <210> 313
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 313
 agacattgtc aaatgtcccc 20
 <210> 314

<211> 20
 <212> DNA
 <213>
 > Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 314
 ttgatgtcag cactgttgac 20
 <210> 315
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 315
 acatcagtag cttcagatgt 20
 <210> 316
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 316
 caaaattaat tgtgcataat 20
 <210> 317
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 317
 tttttcttta aattttgcta 20
 <210> 318
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 318

tagagatttt atgtacttgg	20
<210> 319	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 319	
aaacacagga attgcagac	20
<210> 320	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 320	
gtggaataaa ccataatcta	20
<210> 321	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 321	
gataattctt ttcacagaca	20
<210> 322	
<211> 20	
<212> DNA	
<213>	
> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 322	
cttctctatc tcccagtgtt	20
<210> 323	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	

<220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 323
 caatacaggt aaatttcacg 20
 <210> 324
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 324
 aagggattta aaatTTTTat 20
 <210> 325
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 325
 ggcaagctgt acaagaaaaa 20
 <210> 326
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 326
 tgtactcacc ggtactctgc 20
 <210> 327
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 327
 aagagaatgc tcagaaatgg 20
 <210> 328
 <211> 20

<212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 328
 acacttgtag cccatacatc 20
 <210> 329
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 329
 gacagtagag actgggaagg 20
 <210> 330
 <211> 20
 <212> DNA
 <213>
 > Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 330
 taccaatttc tgaaaggga 20
 <210> 331
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 331
 cagagtaaac tccccatctc 20
 <210> 332
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 332
 cttcaaagcc agcagtgtaa 20

<210> 333
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 333
 cttactgggc taaaatcaag 20
 <210> 334
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 334
 tatcactgta ctagtttcct 20
 <210> 335
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 335

 ctgtactagt ttctataac 20
 <210> 336
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 336
 actgtactag tttctataa 20
 <210> 337
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 337

cactgtacta gtttcctata 20

<210> 338

<211> 20

<212> DNA

<213>

> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 338

tcactgtact agtttcctat 20

<210> 339

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 339

atcactgtac tagtttccta 20

<210> 340

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 340

gtggaatgtc atggcaattt 20

<210> 341

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 341

atgaacggtc ttcaagctgt 20

<210> 342

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 342

aatgaacggt cttcaagctg

20

<210> 343

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 343

aaaatgaacg gtcttcaagc

20

<210> 344

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 344

ttaaaaatga acggtcttca

20

<210> 345

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 345

cacttaaaaa tgaacggtct

20

<210> 346

<211> 20

<212> DNA

<213>

> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 346

tgagtctctt gtcacttaaa

20

<210> 347

<211> 20

<212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 347
 gaggtgagtc tctgtcact 20
 <210> 348
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 348
 ggaggtgagt ctctgtcac 20

 <210> 349
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 349
 ttggaggtga gtctctgtc 20
 <210> 350
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 350
 attgcttctt ggaggtgagt 20
 <210> 351
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 351

 caattgcttc ttggaggtga 20

<210> 352
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 352
 cacaattgct tcttgaggt 20
 <210> 353
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 353
 acacaattgc ttcttgagg 20
 <210> 354
 <211> 20
 <212> DNA
 <213>
 > Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 354
 aaacacaatt gcttcttgga 20
 <210> 355
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 355
 aaaacacaat tgcttcttg 20
 <210> 356
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 356

gaaaacacaa ttgcttcttg	20
<210> 357	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 357	
ttgcttgaat aaaatcattc	20
<210> 358	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 358	
gcttgcttga ataaaatcat	20
<210> 359	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 359	
ttgcttgctt gaataaaatc	20
<210> 360	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 360	
agttgcttgc ttgaataaaa	20
<210> 361	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	

```

<220><223> Synthetic Oligonucleotide
<400> 361
gaaataagtt gcttgcttga                20
<210> 362
<211> 20
<212> DNA
<213>
> Artificial sequence
<220><223> Synthetic Oligonucleotide
<400> 362
aaatgaaata agttgcttgc                20
<210> 363
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic Oligonucleotide
<400> 363
actgtagcaa acaaggaaat                20
<210> 364
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic Oligonucleotide
<400> 364
ggaaactgta gcaaacaagg                20
<210> 365
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic Oligonucleotide
<400> 365
cacaggaaac ttagcaaac                20
<210> 366
<211> 20

```


<212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 366
 agacatccac aggaaactgt 20
 <210> 367
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 367

 gtcagacatc cacaggaaac 20
 <210> 368
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 368
 tgagtcagac atccacagga 20
 <210> 369
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 369
 catagagttg agtcagacat 20
 <210> 370
 <211> 20
 <212> DNA
 <213>
 > Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 370
 tcatagagtt gagtcagaca 20

<210> 371
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 371
 ttcataagagt tgagtcagac 20
 <210> 372
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 372
 cgttttcata gaggtagtc 20
 <210> 373
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 373
 cccacactct gaagaaggcg 20
 <210> 374
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 374
 catccccacc tctgaagaag 20
 <210> 375
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 375

agctacatcc ccacctctga 20

<210> 376

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 376

ggaagctaca tccccacctc 20

<210> 377

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 377

atggaagcta catccccacc 20

<210> 378

<211> 20

<212> DNA

<213>

> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 378

tacatggaag ctacatcccc 20

<210> 379

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 379

gtacatggaa gctacatccc 20

<210> 380

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 380
 gggtgtacat ggaagctaca 20

<210> 381
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 381
 tggcagtatt gggcatttgg 20

<210> 382
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 382
 catctggcag tattgggcat 20

<210> 383
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 383

ctcatctggc agtattgggc 20

<210> 384
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 384
 cctcatctgg cagtattggg 20

<210> 385

<211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 385
 acctcatctg gcagtattgg 20
 <210> 386
 <211> 20
 <212> DNA
 <213>
 > Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 386
 tgcacctcat ctggcagtat 20
 <210> 387
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 387
 gaatgtgcac ctcatctggc 20
 <210> 388
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 388
 tgggaatgtgc acctcatctg 20
 <210> 389
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 389

gggtggaatg tgcacctcat	20
<210> 390	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 390	
ttgggtggaa tgtgcacctc	20
<210> 391	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 391	
cttgggtgga atgtgcacct	20
<210> 392	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 392	
tagcaaacac cttgggtgga	20
<210> 393	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 393	
actgaatagc aaacaccttg	20
<210> 394	
<211> 20	
<212> DNA	
<213>	
> Artificial sequence	

<220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 394
 aaactgaata gcaaacacct 20
 <210> 395
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 395
 acttgctgga agaaaactga 20
 <210> 396
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 396
 gaacttgctg gaagaaaact 20
 <210> 397
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 397
 tgattgaact tgctggaaga 20
 <210> 398
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 398
 cattgattga acttgctgga 20
 <210> 399
 <211> 20
 <212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 399

tcattgattg aacttgctgg 20

<210> 400

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 400

tgtcattgat tgaacttgct 20

<210> 401

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 401

ccatgtcatt gattgaactt 20

<210> 402

<211> 20

<212> DNA

<213>

> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 402

ctccatgtca ttgattgaac 20

<210> 403

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 403

ttctccatgt cattgattga 20

<210> 404

<211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 404
 cttttctcca tgtcattgat 20

<210> 405
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 405
 accaaacctt ttctccatgt 20

<210> 406
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 406
 gcaaccaaac cttttctcca 20

<210> 407
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 407

agcaacaaaa cttttctcc 20
 <210> 408
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 408

gaagcaacca aaccttttct	20
<210> 409	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 409	
tcaagaagca accaaacctt	20
<210> 410	
<211> 20	
<212> DNA	
<213>	
> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 410	
ctttcaagaa gcaaccaaac	20
<210> 411	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 411	
atctttcaag aagcaaccaa	20
<210> 412	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 412	
ctatctttca agaagcaacc	20
<210> 413	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	

<220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 413
 cactatcttt caagaagcaa 20
 <210> 414
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 414
 aacactatct ttcaagaagc 20
 <210> 415
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 415

 atgtactttt ggcagggttc 20
 <210> 416
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 416
 cgatgtactt ttggcagggt 20
 <210> 417
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 417
 gtgcgatgta cttttggcag 20
 <210> 418
 <211> 20
 <212> DNA

<213

> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 418

cctgttcgat gtacttttgg 20

<210> 419

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 419

gcacctgttc gatgtacttt 20

<210> 420

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 420

ctgcacctgt tcgatgtact 20

<210> 421

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 421

aactgcacct gttcgatgta 20

<210> 422

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 422

gaaactgcac ctgttcgatg 20

<210> 423

<211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 423

cagaaactgc acctgttcga 20

<210> 424
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 424

ccagaaactg cacctgttcg 20

<210> 425
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 425

tgtccagaaa ctgcacctgt 20

<210> 426
 <211> 20
 <212> DNA
 <213>

> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 426

gaatgtccag aaactgcacc 20

<210> 427
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 427

aggaatgtcc agaaactgca	20
<210> 428	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 428	
tcaaggaatg tccagaaact	20
<210> 429	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 429	
cttcaaggaa tgtccagaaa	20
<210> 430	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 430	
ttgcttcaag gaatgtccag	20
<210> 431	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 431	
cattgcttca aggaatgtcc	20
<210> 432	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	

<220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 432
 gaccacattg cttcaaggaa 20
 <210> 433
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 433
 tgaccacatt gcttcaagga 20
 <210> 434
 <211> 20
 <212> DNA
 <213>
 > Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 434
 atgaccacat tgettcaagg 20
 <210> 435
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 435
 ttgatgacca cattgcttca 20
 <210> 436
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 436
 atttgatgac cacattgctt 20
 <210> 437
 <211> 20

<212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 437
 ttatttgatg accacattgc 20
 <210> 438
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 438
 cttatttgat gaccacattg 20
 <210> 439
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 439

 cacttatttg atgaccacat 20
 <210> 440
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 440
 agcacttatt tgatgaccac 20
 <210> 441
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 441
 caagcactta tttgatgacc 20
 <210> 442

<211> 20
 <212> DNA
 <213>
 > Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 442
 cgatggcaag cacttatttg 20
 <210> 443
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 443
 tgtctcgatg gcaagcactt 20
 <210> 444
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 444
 atgtctcgat ggcaagcact 20
 <210> 445
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 445
 aatgtctcga tggcaagcac 20
 <210> 446
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 446

ttataaatgt ctcgatggca	20
<210> 447	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 447	
tttataaatg tctcgatggc	20
<210> 448	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 448	
ctcctttata aatgtctcga	20
<210> 449	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 449	
aactccttta taaatgtctc	20
<210> 450	
<211> 20	
<212> DNA	
<213>	
> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 450	
tcaactcctt tataaatgtc	20
<210> 451	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	

<220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 451
 tatcaactcc ttataaatg 20
 <210> 452
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 452
 ctctcatatc aactccttta 20
 <210> 453
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 453
 ctctctcat atcaactcct 20
 <210> 454
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 454
 gactcctctc atatcaactc 20
 <210> 455
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 455
 aattgactcc tctcatatca 20
 <210> 456
 <211> 20

<212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 456
 attaaaattg actcctctca 20
 <210> 457
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 457
 cattaaaatt gactcctctc 20
 <210> 458
 <211> 20
 <212> DNA
 <213>
 > Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 458
 cacattaaaa ttgactcctc 20
 <210> 459
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 459
 gacacattaa aattgactcc 20
 <210> 460
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 460
 agacacatta aaattgactc 20

<210> 461
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 461
 accttagaca cattaaaatt 20
 <210> 462
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 462
 gctaacctta gacacattaa 20
 <210> 463
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 463

 actgctaacc ttagacacat 20
 <210> 464
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 464
 cactgctaac cttagacaca 20
 <210> 465
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 465

acactgctaa ccttagacac 20

<210> 466

<211> 20

<212> DNA

<213>

> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 466

cttcaacact gctaacctta 20

<210> 467

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 467

tcttcaacac tgctaacctt 20

<210> 468

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 468

ggcattcttc aacactgcta 20

<210> 469

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 469

tggcattctt caacactgct 20

<210> 470

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 470

tttggcattc ttcaacactg 20

<210> 471

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 471

aaaactggca gcgaatgtta 20

<210> 472

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 472

ccggtactct gccttgtgaa 20

<210> 473

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 473

attgttccgg tactctgcct 20

<210> 474

<211> 20

<212> DNA

<213>

> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 474

aattgttccg gtactctgcc 20

<210> 475

<211> 20

<212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 475
 caattgttcc ggtactctgc 20
 <210> 476
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 476
 aataggcaat tgttccggt 20
 <210> 477
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 477
 taataggcaa ttgttccggt 20
 <210> 478
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 478
 ctttaatagg caattgttcc 20
 <210> 479
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 479
 gtactttaat aggcaattgt 20

<210> 480
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 480
 cgggactgta ctttaatagg 20
 <210> 481
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 481
 cgttactcag cacctttata 20
 <210> 482
 <211> 20
 <212> DNA
 <213>
 > Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 482
 gcttcagtga gaatccagat 20
 <210> 483
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 483
 ccaatttctg aaagggcaca 20
 <210> 484
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 484

aaccaatttc tgaaaggca	20
<210> 485	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 485	
gcaaccaatt tctgaaagg	20
<210> 486	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 486	
ggcaaccaat ttctgaaagg	20
<210> 487	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 487	
agatgctgga agatgttcat	20
<210> 488	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 488	
caacatccac atctgagaac	20
<210> 489	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	

<220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 489
 ggcaacatcc acatctgaga 20
 <210> 490
 <211> 20
 <212> DNA
 <213>
 > Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 490
 ccctggcaac atccacatct 20
 <210> 491
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 491
 gaaccctggc aacatccaca 20
 <210> 492
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 492
 gagaaccctg gcaacatcca 20
 <210> 493
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 493
 tgagaaccct ggcaacatcc 20
 <210> 494
 <211> 20

<212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 494
 ggagtgagaa ccctggcaac 20
 <210> 495
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 495

 ctggagtgag aaccctggca 20
 <210> 496
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 496
 atctggagtg agaaccctgg 20
 <210> 497
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 497
 gcatctggag tgagaaccct 20
 <210> 498
 <211> 20
 <212> DNA
 <213>
 > Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 498
 aagcatctgg agtgagaacc 20

<210> 499
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 499
 caaaagcatc tggagtgaga 20
 <210> 500
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 500
 cacaaaagca tctggagtga 20

 <210> 501
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 501
 tggtcgcaca cacaaaagca 20
 <210> 502
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 502
 atggtcgcac acacaaaagc 20
 <210> 503
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 503

gatggtccga cacacaaaag 20

<210> 504

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 504

gcagatggtc cgacacacaa 20

<210> 505

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 505

taggtgcaga tgggtccgaca 20

<210> 506

<211> 20

<212> DNA

<213>

> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 506

gataggtgca gatggtccga 20

<210> 507

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 507

gtgataggtg cagatggtcc 20

<210> 508

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 508
 gggatgatagg tgcagatggg 20

<210> 509
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 509
 gaatgtaaag aagaggcagt 20

<210> 510
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 510
 tagaatgtaa agaaggcca 20

<210> 511
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 511

catttgata gaatgtaaag 20

<210> 512
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 512
 tacatttgta tagaatgtaa 20

<210> 513

<211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 513
 ccatacattt gtatagaatg 20
 <210> 514
 <211> 20
 <212> DNA
 <213>
 > Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 514
 ctcgattttc catacatttg 20
 <210> 515
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 515
 tgactcgatt ttccatacat 20
 <210> 516
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 516
 gtgactcgat tttccataca 20
 <210> 517
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 517

tgtagactcga tttccatac	20
<210> 518	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 518	
ctttgtgact cgattttcca	20
<210> 519	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 519	
ttctttgtga ctcgattttc	20
<210> 520	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 520	
acattttctt gtgactcgat	20
<210> 521	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 521	
aaacatttct ttgtgactcg	20
<210> 522	
<211> 20	
<212> DNA	
<213>	
> Artificial sequence	

<220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 522
 tgtgccactt tcagatgttt 20
 <210> 523
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 523
 gtgtgccact ttcagatgtt 20
 <210> 524
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 524
 cttggtgtgc cactttcaga 20
 <210> 525
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 525
 acttggtgtg ccactttcag 20
 <210> 526
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 526
 aggaacttgg tgtgccactt 20
 <210> 527
 <211> 20
 <212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 527

tggtgttttc ttgaggagta 20

<210> 528

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 528

atggtgtttt cttgaggagt 20

<210> 529

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 529

tatggtgttt tcttgaggag 20

<210> 530

<211> 20

<212> DNA

<213>

> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 530

cagatatggt gttttcttga 20

<210> 531

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 531

ccagatatgg tgttttcttg 20

<210> 532

<211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 532
 atccagatat ggtgttttct 20

<210> 533
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 533
 atatccagat atggtgtttt 20

<210> 534
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 534
 ggctatatcc agatatggtg 20

<210> 535
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 535

aaggctatat ccagatatgg 20
 <210> 536
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 536

gttaaaaggc tatatccaga 20

<210> 537

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 537

caggttaaaa ggctatatcc 20

<210> 538

<211> 20

<212> DNA

<213>

> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 538

tgcaggttaa aaggctatat 20

<210> 539

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 539

tttgcaggtt aaaaggctat 20

<210> 540

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 540

cttttgcagg ttaaaaggct 20

<210> 541

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 541
 gttcttttgc aggttaaaag 20
 <210> 542
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 542
 aagttctttt gcaggttaaa 20
 <210> 543
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 543

 gtaaagttct tttgcaggtt 20
 <210> 544
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 544
 caggtaaagt tcttttgcag 20
 <210> 545
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 545
 tcaggtaaag ttcttttgca 20
 <210> 546
 <211> 20
 <212> DNA

<213

> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 546

gttcaggtaa agttcttttg

20

<210> 547

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 547

gggttcagggt aaagttcttt

20

<210> 548

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 548

cagggttcag gtaaagttct

20

<210> 549

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 549

gcagggttca ggtaaagttc

20

<210> 550

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 550

tggcagggtt caggtaaagt

20

<210> 551

<211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 551

gaatggcagg gttcaggtaa 20

<210> 552
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 552

agaatggcag ggttcaggta 20

<210> 553
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 553

ttagaatgg cagggttcag 20

<210> 554
 <211> 20
 <212> DNA

<213>
 > Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 554

attttagaat ggcagggttc 20

<210> 555
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 555

taaatttttag aatggcaggg	20
<210> 556	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 556	
agtcaactcc cgggtaaatt	20
<210> 557	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 557	
caaagtcaac tcccggttaa	20
<210> 558	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 558	
ccaaagtcaa ctcccggtta	20
<210> 559	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 559	
cctccaaagt caactcccgg	20
<210> 560	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	

<220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 560
 ctctctcaaaa gtcaactccc 20
 <210> 561
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 561
 cttctctctcc aaagtcaact 20
 <210> 562
 <211> 20
 <212> DNA
 <213>
 > Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 562
 ttcaattcttt ctctctcaaaa 20
 <210> 563
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 563
 cattcaattc ttctctctcca 20
 <210> 564
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 564
 tcacattcaa ttcttctcct 20
 <210> 565
 <211> 20

<212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 565
 agtcacattc aattcttctc 20
 <210> 566
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 566
 ggcaaacatt cactccttta 20
 <210> 567
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 567

 tcttggcaaa cattcactcc 20
 <210> 568
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 568
 gtctcttggc aaacattcac 20
 <210> 569
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 569
 caagtctctt ggcaaacatt 20
 <210> 570

<211> 20
 <212> DNA
 <213>
 > Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 570
 tgcaagtctc ttggcaaaca 20
 <210> 571
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 571
 ctttgtgcaa gtctcttggc 20
 <210> 572
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 572
 catctttgtg caagtctctt 20
 <210> 573
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 573
 tcacatcttgt gcaagtctct 20
 <210> 574
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 574

atcatctttg tgcaagtctc	20
<210> 575	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 575	
acagcgaatc atctttgtgc	20
<210> 576	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 576	
actgacagcg aatcatcttt	20
<210> 577	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 577	
gaaaaactga cagcgaatca	20
<210> 578	
<211> 20	
<212> DNA	
<213>	
> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 578	
gtgaaaaact gacagcgaat	20
<210> 579	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	

<220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 579
 ggagtaaaga ataagtgaag 20
 <210> 580
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 580
 tgggagtaaa gaataagtga 20
 <210> 581
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 581
 tctgggagta aagaataagt 20
 <210> 582
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 582
 gtcttctggg agtaaagaat 20
 <210> 583
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 583
 acagtcttct gggagtaaag 20
 <210> 584
 <211> 20

<212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 584
 cttacagtct tctgggagta 20
 <210> 585
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 585
 ccttacagtc ttctgggagt 20
 <210> 586
 <211> 20
 <212> DNA
 <213>
 > Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 586
 tccttacagt cttctgggag 20
 <210> 587
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 587
 cttccttaca gtcttctggg 20
 <210> 588
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 588
 cacttacact tctcttcctt 20

<210> 589
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 589
 acacttacac ttctcttcct 20
 <210> 590
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 590
 agaaacactt acacttctct 20
 <210> 591
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 591

 cttagaagaa acttacactt 20
 <210> 592
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 592
 ccatagataa tcttaagaaa 20
 <210> 593
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 593

catccataga taatcttaag	20
<210> 594	
<211> 20	
<212> DNA	
<213>	
> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 594	
accatccata gataatctta	20
<210> 595	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 595	
gaaccatcca tagataatct	20
<210> 596	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 596	
tggagaacca tccatagata	20
<210> 597	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 597	
tgtgtcccat acgcaatcct	20
<210> 598	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	

<220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 598
 cccttggtgtc ccatacgcaa 20
 <210> 599
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 599

 gctcccttgt gtcccatagc 20
 <210> 600
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 600
 agagctccct tgtgtcccat 20
 <210> 601
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 601
 ccagagctcc ctgtgtgcc 20
 <210> 602
 <211> 20
 <212> DNA
 <213>
 > Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 602
 taaccagagc tcccttggt 20
 <210> 603
 <211> 20

<212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 603
 gtaaccagag ctcccttg 20
 <210> 604
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 604
 gagtaaccag agtccttg 20
 <210> 605
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 605
 aagagtaacc agagctcct 20
 <210> 606
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 606
 tcaaagagta accagagtc 20
 <210> 607
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 607
 tctcaaagag taaccagagc 20

<210> 608
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 608
 aatctcaaag agtaaccaga 20
 <210> 609
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 609
 caatctcaaa gagtaaccag 20
 <210> 610
 <211> 20
 <212> DNA
 <213>
 > Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 610
 cacaatctca aagagtaacc 20
 <210> 611
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 611
 gttacacaat ctcaaagagt 20
 <210> 612
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 612

cagtgttaca caatctcaaa	20
<210> 613	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 613	
cccagtggtta cacaatctca	20
<210> 614	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 614	
gtccccagtg ttacacaatc	20
<210> 615	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 615	
gttgtcccca gtgttacaca	20
<210> 616	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 616	
gtttgttcct ccaacaatgc	20
<210> 617	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	

```

<220><223> Synthetic Oligonucleotide
<400> 617
agagtttggt cctccaacaa                20
<210> 618
<211> 20
<212> DNA
<213>
> Artificial sequence
<220><223> Synthetic Oligonucleotide
<400> 618
caagaagagt ttgttcctcc                20
<210> 619
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic Oligonucleotide
<400> 619
ccccaagaag agtttggtcc                20
<210> 620
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic Oligonucleotide
<400> 620
ctccccaaga agagtttggt                20
<210> 621
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic Oligonucleotide
<400> 621
ctctcccaa gaagagtttg                20
<210> 622
<211> 20

```

<212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 622
 gggccactct cccaagaag 20
 <210> 623
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 623

 cagggccact ctccccaaga 20
 <210> 624
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 624
 tctgagctgt cagcttcacc 20
 <210> 625
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 625
 gcctctgagc tgcagcttc 20
 <210> 626
 <211> 20
 <212> DNA
 <213>
 > Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 626
 tcctatgagt gaccctccac 20

<210> 627
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 627
 gtcctatgag tgaccctcca 20
 <210> 628
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 628
 ggtgtcctat gagtgaccct 20
 <210> 629
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 629
 tgggtgccta tgagtgaccc 20
 <210> 630
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 630
 ccactggtgt cctatgagtg 20
 <210> 631
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 631

cccactggtg tcctatgagt

20

<210> 632

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 632

gaagcccatc aaagcagtgg

20

<210> 633

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 633

tatagatgcg ccaaacatcc

20

<210> 634

<211> 20

<212> DNA

<213>

> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 634

ctatagatgc gccaaacatc

20

<210> 635

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 635

gccactatag atgcgcaaaa

20

<210> 636

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 636

atgccactat agatgcgcca

20

<210> 637

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 637

taatgtctga cagatttaaa

20

<210> 638

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 638

ttgtaatgtc tgacagattt

20

<210> 639

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 639

tgagaaaggt gtatcttttg

20

<210> 640

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 640

ttgtgagaaa ggtgtatctt

20

<210> 641

<211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 641
 tttgtgagaa aggtgtatct 20
 <210> 642
 <211> 20
 <212> DNA
 <213>
 > Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 642
 atttgtgaga aaggtgtatc 20
 <210> 643
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 643
 ttatttgtga gaaaggtgta 20
 <210> 644
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 644
 ttttatttgt gagaaagggtg 20
 <210> 645
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 645

ctttttatttg tgagaaaggt 20

<210> 646

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 646

ctctttttatt tgtgagaaag 20

<210> 647

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 647

ttggtgaata ataattcttt 20

<210> 648

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 648

tttgggtgaat aataattctt 20

<210> 649

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 649

gttttgggtga ataataattct 20

<210> 650

<211> 20

<212> DNA

<213>

> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 650
 tatagttttg gtgaataata 20
 <210> 651
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 651
 actttatagt ttggtgaat 20
 <210> 652
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 652
 cccttctgag actttatagt 20
 <210> 653
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 653
 gattcccttc tgagacttta 20
 <210> 654
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 654
 catgattccc ttctgagact 20
 <210> 655
 <211> 20
 <212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 655

tcatgattcc ctctgagac 20

<210> 656

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 656

tatcatgatt cccttctgag 20

<210> 657

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 657

atatcatgat tcccttctga 20

<210> 658

<211> 20

<212> DNA

<213>

> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 658

gcgatatcat gattcccttc 20

<210> 659

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 659

ggcgatatca tgattccctt 20

<210> 660

<211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 660
 aaggcgatat catgattccc 20

<210> 661
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 661
 tatcaaggcg atatcatgat 20

<210> 662
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 662
 gagttttatc aaggcgatat 20

<210> 663
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 663

ctggagtttt atcaaggcga 20
 <210> 664
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 664

gcctggagtt ttatcaaggc 20

<210> 665

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 665

aggagcctgg agttttatca 20

<210> 666

<211> 20

<212> DNA

<213>

> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 666

attcaaagga gcctggagtt 20

<210> 667

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 667

gtaattcaaa ggagcctgga 20

<210> 668

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 668

gtgtaattca aaggagcctg 20

<210> 669

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 669
 cagtgttaatt caaaggagcc 20
 <210> 670
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 670
 taggcatatt ggtttttgga 20
 <210> 671
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 671

 ggtaggcata ttggtttttg 20
 <210> 672
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 672
 gaaggtaggc atattggttt 20
 <210> 673
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 673
 cttgtgtcac ctttgaagg 20
 <210> 674
 <211> 20
 <212> DNA

<213
> Artificial sequence
<220><223> Synthetic Oligonucleotide
<400> 674
gcttgtgtca cctttggaag 20
<210> 675
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic Oligonucleotide
<400> 675
gtgcttgtgt cacctttgga 20
<210> 676
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic Oligonucleotide
<400> 676
aaattgtgct tgtgtcacct 20
<210> 677
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic Oligonucleotide
<400> 677
gtataaattg tgcttgtgtc 20
<210> 678
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic Oligonucleotide
<400> 678
ggtataaatt gtgcttgtgt 20
<210> 679

<211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 679

tggtataaat tgtgcttg 20

<210> 680
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 680

gttggtataa attgtgcttg 20

<210> 681
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 681

cagttggtat aaattgtgct 20

<210> 682
 <211> 20
 <212> DNA

<213>

> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 682

cccaacagtt ggtataaatt 20

<210> 683
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 683

ttaccaaca gttgtataa	20
<210> 684	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 684	
ggttaccaa cagttggtat	20
<210> 685	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 685	
gaagcccat ccggttaccc	20
<210> 686	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 686	
tcgagaagcc ccatccggtt	20
<210> 687	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 687	
ccttcgagaa gcccacccg	20
<210> 688	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	

<220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 688
 tttctccttc gagaagcccc 20
 <210> 689
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 689
 cctttctcct tcgagaagcc 20
 <210> 690
 <211> 20
 <212> DNA
 <213>
 > Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 690
 tcacctttct ccttcgagaa 20
 <210> 691
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 691
 ttcacctttc tccttcgaga 20
 <210> 692
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 692
 tttggatttc acctttctcc 20
 <210> 693
 <211> 20

<212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 693
 tgtagaatat tttggatttc 20
 <210> 694
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 694
 ttgtgtacca aaggaatatt 20
 <210> 695
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 695

 catttggttac caaaggaata 20
 <210> 696
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 696
 tcatttggtta ccaaaggaat 20
 <210> 697
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 697
 tcttcatttg ttaccaaagg 20
 <210> 698

<211> 20
 <212> DNA
 <213>
 > Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 698
 cattcttcat ttgttaccaa 20
 <210> 699
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 699
 cttgatatct tttctggcat 20
 <210> 700
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 700
 taatcttgat atcttttctg 20

 <210> 701
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 701
 tataatcttg atatcttttc 20
 <210> 702
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 702

ttcttttatag ccagcacaga	20
<210> 703	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 703	
ccttctttat agccagcaca	20
<210> 704	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 704	
cccccttttt atagccagca	20
<210> 705	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 705	
cccccttctt tatagccagc	20
<210> 706	
<211> 20	
<212> DNA	
<213>	
> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 706	
tcccccttct ttatagccag	20
<210> 707	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	

<220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 707
 caagcatctt ttcccccttc 20
 <210> 708
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 708
 agggaccacc tgaatctccc 20
 <210> 709
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 709
 ctaagggacc acctgaatct 20
 <210> 710
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 710
 actaagggac cacctgaatc 20
 <210> 711
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 711
 caaactaagg gaccacctga 20
 <210> 712
 <211> 20

<212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 712
 gcaaactaag ggaccacctg 20
 <210> 713
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 713
 tgcaaaactaa gggaccacct 20
 <210> 714
 <211> 20
 <212> DNA
 <213>
 > Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 714
 gtgtttgcaa actaaggac 20
 <210> 715
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 715
 tgtgtttgca aactaaggga 20
 <210> 716
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 716
 ccctgcgggc acagccttca 20

<210> 717
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 717
 ttgctccctg cgggcacagc 20
 <210> 718
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 718
 caccaggttg ctccctgcgg 20
 <210> 719
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 719

 acaccaggtt gctccctgcg 20
 <210> 720
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 720
 agacaccagg ttgctccctg 20
 <210> 721
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 721

gtagacacca ggttgctccc	20
<210> 722	
<211> 20	
<212> DNA	
<213>	
> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 722	
ctcagcgact ttggtgtaga	20
<210> 723	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 723	
gtactcagcg actttggtgt	20
<210> 724	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 724	
catgtactca gcgactttgg	20
<210> 725	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 725	
cagtccatgt actcagcgac	20
<210> 726	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	

<220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 726
 tccagtcctat gtactcagcg 20
 <210> 727
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 727

 gctttttccat cactgctctg 20
 <210> 728
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 728
 ctgagctttt ccatcactgc 20
 <210> 729
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 729
 tctgagcttt tccatcactg 20
 <210> 730
 <211> 20
 <212> DNA
 <213>
 > Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 730
 gcatctgagc ttttccatca 20
 <210> 731
 <211> 20

<212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 731
 actgcatctg agcttttcca 20
 <210> 732
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 732
 tgggtgactgc atctgagctt 20
 <210> 733
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 733
 gctggtgact gcatctgagc 20
 <210> 734
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 734
 atgctggtga ctgcatctga 20
 <210> 735
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 735
 tcattgctggt gactgcatct 20

<210> 736
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 736
 cttctcatgc tggtagactgc 20
 <210> 737
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 737
 actgcttctc atgctggtga 20
 <210> 738
 <211> 20
 <212> DNA
 <213>
 > Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 738
 ggactgcttc tcatgctggt 20
 <210> 739
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 739
 ctggactgct tctcatgctg 20
 <210> 740
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 740

ctctggactg cttctcatgc	20
<210> 741	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 741	
agactctgga ctgcttctca	20
<210> 742	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 742	
cctagactct ggactgcttc	20
<210> 743	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 743	
tgccctagact ctggactgct	20
<210> 744	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 744	
attgcctaga ctctggactg	20
<210> 745	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	


```

<220><223> Synthetic Oligonucleotide
<400> 745
aaaaattgcc tagactctgg 20
<210> 746
<211> 20
<212> DNA
<213>
> Artificial sequence
<220><223> Synthetic Oligonucleotide
<400> 746
ggttgtaaaa attgcctaga 20
<210> 747
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic Oligonucleotide
<400> 747
tcaggttgta aaaattgcct 20
<210> 748
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic Oligonucleotide
<400> 748
ctcaggttgt aaaaattgcc 20
<210> 749
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic Oligonucleotide
<400> 749
actcaggttg taaaaattgc 20
<210> 750
<211> 20

```

<212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 750
 gaactcaggt tgtaaaaatt 20
 <210> 751
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 751

 acttgaactc aggttgtaaa 20
 <210> 752
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 752
 gacttgaact caggttgtaa 20
 <210> 753
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 753
 gaatttgact tgaactcagg 20
 <210> 754
 <211> 20
 <212> DNA
 <213>
 > Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 754
 ctcagaattt gacttgaact 20

<210> 755
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 755
 aggctcagaa ttgacttga 20
 <210> 756
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 756
 caggctcaga attgacttg 20

 <210> 757
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 757
 ccaggctcag aatttgactt 20
 <210> 758
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 758
 ccccaggtc agaatttgac 20
 <210> 759
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 759

ccccccaggc tcagaatttg 20

<210> 760

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 760

gacccccag gtcagaatt 20

<210> 761

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 761

atgaggacc cccaggctca 20

<210> 762

<211> 20

<212> DNA

<213>

> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 762

gatgaggacc ccccaggctc 20

<210> 763

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 763

gcagatgagg accccccagg 20

<210> 764

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 764

tgcagatgag gacccccag 20

<210> 765
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 765

tttgcagatg aggaccccc 20

<210> 766
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 766

ctccatgctt tgcagatgag 20

<210> 767
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 767

gccactctcc atgctttgca 20

<210> 768
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 768

agatgccact ctccatgctt 20

<210> 769

<211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 769
 gaagatgcca ctctccatgc 20
 <210> 770
 <211> 20
 <212> DNA
 <213>
 > Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 770
 agaagatgcc actctccatg 20
 <210> 771
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 771
 caaagaagat gccactctcc 20
 <210> 772
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 772
 gatgcaaaga agatgccact 20
 <210> 773
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 773

ggatgcaaag aagatgccac	20
<210> 774	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 774	
taggatgcaa agaagatgcc	20
<210> 775	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 775	
tccttaggat gcaaagaaga	20
<210> 776	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 776	
cgtccttagg atgcaaagaa	20
<210> 777	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 777	
attgtcctca gcagctctga	20
<210> 778	
<211> 20	
<212> DNA	
<213>	
> Artificial sequence	

<220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 778
 ccagacattg tcctcagcag 20
 <210> 779
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 779
 agccagacat tgtcctcagc 20
 <210> 780
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 780
 tcagccagac attgtcctca 20

 <210> 781
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 781
 cttcagccag acattgtcct 20
 <210> 782
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 782
 agcgggcttc agccagacat 20
 <210> 783
 <211> 20
 <212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 783

gaaagcgggc ttcagccaga 20

<210> 784

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 784

ctgaaagcgg gcttcagcca 20

<210> 785

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 785

cgtgctgaaa gcgggcttca 20

<210> 786

<211> 20

<212> DNA

<213>

> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 786

gtcagcccct ggttacggcg 20

<210> 787

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 787

ttgtcagccc ctggttacgg 20

<210> 788

<211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 788
 cattgtcagc ccctggttac 20

<210> 789
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 789
 gcattgtcag cccctggtta 20

<210> 790
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 790
 cctcgcat tgcagccctg 20

<210> 791
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 791

gacctgcat tgcagcccc 20
 <210> 792
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 792

gcgacctcgc attgtcagcc 20

<210> 793

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 793

ctcagttgcg acctcgatt 20

<210> 794

<211> 20

<212> DNA

<213>

> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 794

tctcagttgc gacctcgcat 20

<210> 795

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 795

gtcatggaga tctcagttgc 20

<210> 796

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 796

cacagtcattg gagatctcag 20

<210> 797

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 797
 ccatgaacat cctatccgtg 20
 <210> 798
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 798
 tgtcctgtca acatattcca 20
 <210> 799
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 799

 gggttttctgc caacagtttc 20
 <210> 800
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 800
 gactttgggt ttctgccaac 20
 <210> 801
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 801
 atattgactt tgggtttctg 20
 <210> 802
 <211> 20
 <212> DNA

<213

> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 802

ggcttcaata ttgactttgg 20

<210> 803

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 803

ctgcaggcaa tatTTtgctt 20

<210> 804

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 804

atgtggcact gcaggcaata 20

<210> 805

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 805

ttctaattgtg gcactgcagg 20

<210> 806

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 806

tcaagctgtt ctaattgtggc 20

<210> 807

<211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 807

acggtcttca agctgttcta 20

<210> 808
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 808

ggtcaatctg actagtgaat 20

<210> 809
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 809

tctctggtea atctgactag 20

<210> 810
 <211> 20
 <212> DNA

<213>

> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 810

gcccaccaac aatctctggt 20

<210> 811
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 811

gacccaaca gacagccac	20
<210> 812	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 812	
ccagaatcat gccttgtggg	20
<210> 813	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 813	
gtcacatag acccagaatc	20
<210> 814	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 814	
gtggccctct taagtcacca	20
<210> 815	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 815	
ctcattgttg tgtggccctc	20
<210> 816	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	

<220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 816
 gtagccatac atctgaggaa 20
 <210> 817
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 817
 atgtttattg tagccataca 20
 <210> 818
 <211> 20
 <212> DNA
 <213>
 > Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 818
 ctgcctttg tgactcgatt 20
 <210> 819
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 819
 catactcgcc tttgtgactc 20
 <210> 820
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 820
 gcatactcgc ctttgtgact 20
 <210> 821
 <211> 20

<212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 821
 tgcataactcg cctttgtgac 20
 <210> 822
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 822
 ttcacaacac acagtcattg 20
 <210> 823
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 823

 ttttttgatc tttcaccatt 20
 <210> 824
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 824
 atgcataactc gcctttgtga 20
 <210> 825
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 825
 catgcataact cgcctttgtg 20
 <210> 826

<211> 20
 <212> DNA
 <213>
 > Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 826
 ccatgcatac tcgcctttgt 20
 <210> 827
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 827
 acacacagtc atggagatct 20
 <210> 828
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 828
 acaacacaca gtcattggaga 20
 <210> 829
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 829
 ttatttcaca acacacagtc 20
 <210> 830
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 830

tccatgcata ctgcctttg	20
<210> 831	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 831	
ttccatgcat actgccttt	20
<210> 832	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 832	
tttccatgca tactgcctt	20
<210> 833	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 833	
gattttccat gcatactgc	20
<210> 834	
<211> 20	
<212> DNA	
<213>	
> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 834	
gtgatgcat tttccatgca	20
<210> 835	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	

<220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 835
 gcagcaagtg ctccccatgc 20
 <210> 836
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 836
 gtgatgaaag tacagcagca 20
 <210> 837
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 837
 tcctatccgt gttcagctgt 20
 <210> 838
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 838
 tactctctac atactcagga 20
 <210> 839
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 839
 tgagacctcc agactactgt 20
 <210> 840
 <211> 20

<212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 840
 ctctgctggt tttagaccac 20
 <210> 841
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 841
 gggacaatct ccacccccga 20
 <210> 842
 <211> 20
 <212> DNA
 <213>
 > Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 842
 tgcagagtgt catctgcgaa 20
 <210> 843
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 843
 tggttcccta gcggtccaga 20
 <210> 844
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 844
 cccctgtagt tggctgtggt 20

<210> 845
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 845
 gcaagtcaaa gagtgtccac 20
 <210> 846
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 846
 gaagcctgtt agagttggcc 20
 <210> 847
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 847
 ccccatgtc catggacttt 20
 <210> 848
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 848
 ctgccaacag tttcaacttt 20
 <210> 849
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 849

ttttgcttgg ctccaatatt	20
<210> 850	
<211> 20	
<212> DNA	
<213>	
> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 850	
atctgactag tgaatggctt	20
<210> 851	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 851	
agacagccca ccaacaatct	20
<210> 852	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 852	
tgcatagacc ccaacagaca	20
<210> 853	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 853	
cctgtgcata gacccaaca	20
<210> 854	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	

<220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 854
 ccagcagaaa tcctgtgcat 20
 <210> 855
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 855

 agaactccag cagaaatcct 20
 <210> 856
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 856
 ttgtgtggcc ctcttaagtc 20
 <210> 857
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 857
 tatagatgtt tattgtagcc 20
 <210> 858
 <211> 20
 <212> DNA
 <213>
 > Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 858
 atactgcct ttgtgactcg 20
 <210> 859
 <211> 20

<212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 859
 ttttccatgc atactgcct 20
 <210> 860
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 860
 tcgcctttgt gatgcgattt 20

 <210> 861
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 861
 atactgcct ttgtgatgcg 20
 <210> 862
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 862
 cataactgcc tttgtgatgc 20
 <210> 863
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 863

 gcataactcgc ctttgtgatg 20

<210> 864
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 864
 tgcatactcg ccttttgat 20
 <210> 865
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 865
 cccatgcata ctgcctttg 20
 <210> 866
 <211> 20
 <212> DNA
 <213>
 > Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 866
 ccccatgcat actgccttt 20
 <210> 867
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 867
 tcccatgca tactgcctt 20
 <210> 868
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 868

ctcccatgc atactgcct	20
<210> 869	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 869	
tgctcccat gcatactgc	20
<210> 870	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 870	
gctctgattg ggtcaccaca	20
<210> 871	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 871	
tgtctccttc cacttgctcc	20
<210> 872	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 872	
gccattttat ccctgagatt	20
<210> 873	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	

```

<220><223> Synthetic Oligonucleotide
<400> 873
ctgtgctgta ttttgagacc                20
<210> 874
<211> 20
<212> DNA
<213>
> Artificial sequence
<220><223> Synthetic Oligonucleotide
<400> 874
ggatttggcc ctgagcccca                20
<210> 875
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic Oligonucleotide
<400> 875
caacctgtcc attccctggg                20
<210> 876
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic Oligonucleotide
<400> 876
attcgggtgtc ttactggct                20
<210> 877
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic Oligonucleotide
<400> 877
tcctgttgcc tgacatgcta                20
<210> 878
<211> 20

```

<212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 878
 ctccactga ctgactactc 20
 <210> 879
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 879

 gctggtcctt gaaccccggtg 20
 <210> 880
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 880
 ctggctcact ataggcccca 20
 <210> 881
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 881
 ataagcatct ctctgaccta 20
 <210> 882
 <211> 20
 <212> DNA
 <213>
 > Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 882
 gcttcccaaa tacttgctgg 20

<210> 883
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 883
 gtgtccagaa tactgcccga 20
 <210> 884
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 884
 gtggacgact gccctgtgcc 20
 <210> 885
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 885
 tctctagcat cctagtcctc 20
 <210> 886
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 886
 atactggcta agtcaggccc 20
 <210> 887
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 887

ggcagggagg tggattattc 20

<210> 888

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 888

gtttctctat ctcccagtg 20

<210> 889

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 889

gatgcatgca gcaatacagg 20

<210> 890

<211> 20

<212> DNA

<213>

> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 890

gtctcgatgg caagctgtac 20

<210> 891

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 891

gtactcaccg gtactctgcc 20

<210> 892

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 892
 atgaaggcg aggcgcagtg 20

<210> 893
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 893
 cccatacat ctatgcaaat 20

<210> 894
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 894
 acatgactcc agtgcaggat 20

<210> 895
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 895

aaaatgacac caaaattcgc 20

<210> 896
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 896
 tggacatcct tcccctcgca 20

<210> 897

<211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 897
 gctctgagcc ttccgcctct 20
 <210> 898
 <211> 20
 <212> DNA
 <213>
 > Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 898
 actagtttcc tataactgct 20
 <210> 899
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 899
 tactagtttc ctataactgc 20
 <210> 900
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 900
 gtactagttt cctataactg 20
 <210> 901
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 901

gtatcactgt actagtttcc	20
<210> 902	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 902	
agtatcactg tactagtttc	20
<210> 903	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 903	
cagtatcact gtactagttt	20
<210> 904	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 904	
acagtatcac tgtactagtt	20
<210> 905	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 905	
aacagtatca ctgtactagt	20
<210> 906	
<211> 20	
<212> DNA	
<213>	
> Artificial sequence	

<220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 906
 taacagtatc actgtactag 20
 <210> 907
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 907
 tctaacagta tcactgtact 20
 <210> 908
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 908
 ctctaacagt atcactgtac 20
 <210> 909
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 909
 actctaacag tatcactgta 20
 <210> 910
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 910
 aactctaaca gtatcactgt 20
 <210> 911
 <211> 20
 <212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 911

taactctaac agtatcactg 20

<210> 912

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 912

ataactctaa cagtatcact 20

<210> 913

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 913

tataactcta acagtatcac 20

<210> 914

<211> 20

<212> DNA

<213>

> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 914

ctataactct aacagtatca 20

<210> 915

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 915

cctataactc taacagtatc 20

<210> 916

<211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 916
 ctgtcctata actctaacag 20

<210> 917
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 917
 cactgtccta taactctaac 20

<210> 918
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 918
 tcactgtcct ataactctaa 20

<210> 919
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 919

tatcactgtc ctataactct 20
 <210> 920
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 920

gtcctatatac actgtcctat	20
<210> 921	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 921	
tgctctatat cactgtccta	20
<210> 922	
<211> 20	
<212> DNA	
<213>	
> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 922	
ctgtcctata tcactgtcct	20
<210> 923	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 923	
actgtcctat atcactgtcc	20
<210> 924	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 924	
tcactgtcct atatcactgt	20
<210> 925	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	

<220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 925
 cccccagttc ccatgcaagg 20
 <210> 926
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 926
 gagcacagat ctcttcaagt 20
 <210> 927
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 927

 gacggtcacc cagccctgac 20
 <210> 928
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 928
 aagggaatt agaggcaggc 20
 <210> 929
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 929
 ctttcttgag acaatccctt 20
 <210> 930
 <211> 20
 <212> DNA

<213
> Artificial sequence
<220><223> Synthetic Oligonucleotide
<400> 930
gtgggatcag agaagtgacta 20
<210> 931
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic Oligonucleotide
<400> 931
ccctctgtct tagatgtcca 20
<210> 932
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic Oligonucleotide
<400> 932
cttatcagtc ccagtcacgt 20
<210> 933
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic Oligonucleotide
<400> 933
aagagttggg atgcgactct 20
<210> 934
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic Oligonucleotide
<400> 934
tccactccta agaagtatgg 20
<210> 935

<211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 935

gcaccctttt cattgagatt 20

<210> 936
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 936

actaccattt gggttggttag 20

<210> 937
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 937

aagccctgtt tggtttttag 20

<210> 938
 <211> 20
 <212> DNA

<213>

> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 938

aaatgacacc aaaattgagt 20

<210> 939
 <211> 20
 <212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 939

aaatgacacc aaaattcgct	20
<210> 940	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 940	
taagcaaggc ctatgtgtgg	20
<210> 941	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 941	
acacgcacag gtcccagggc	20
<210> 942	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 942	
gggaaactct ttcctgccc	20
<210> 943	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 943	
ctagtttcct ataactgctg	20
<210> 944	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	

<220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 944
 ctaacagtat cactgtacta 20
 <210> 945
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 945
 gtcctataac tctaacagta 20
 <210> 946
 <211> 20
 <212> DNA
 <213>
 > Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 946
 tgtcctataa ctctaacagt 20
 <210> 947
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 947
 atcactgtcc tataactcta 20
 <210> 948
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 948
 atatcactgt cctataactc 20
 <210> 949
 <211> 20

<212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 949
 tatatcactg tcctataact 20
 <210> 950
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 950
 cactgtccta tatcactgtc 20
 <210> 951
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 951

 atcactgtcc tatatcactg 20
 <210> 952
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 952
 tatcactgtc ctatatcact 20
 <210> 953
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 953
 agtatcactg tcctatatca 20
 <210> 954

<211> 20
 <212> DNA
 <213>
 > Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 954
 cagtatcact gtcctatata 20
 <210> 955
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 955
 acagtatcac tgcctatat 20
 <210> 956
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 956
 taacagtata actgtctat 20

 <210> 957
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 957
 ataacagtat cactgtccta 20
 <210> 958
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 958

aactataaca gtatcactgt	20
<210> 959	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 959	
tataactata acagtatcac	20
<210> 960	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 960	
ctataactat aacagtatca	20
<210> 961	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 961	
tttcctataa ctataacagt	20
<210> 962	
<211> 20	
<212> DNA	
<213>	
> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 962	
ctagtttcct ataactataa	20
<210> 963	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 963

taacaatatc actgtcctat

20

<210> 964

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 964

aactataaca atatcactgt

20

<210> 965

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 965

taactataac aatatcactg

20

<210> 966

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 966

ataactataa caatatcact

20

<210> 967

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 967

tataactata acaatatcac

20

<210> 968

<211> 20

<212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 968
 gtttcctata actataacaa 20
 <210> 969
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 969
 acctataact ctaacagtat 20
 <210> 970
 <211> 20
 <212> DNA
 <213>
 > Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 970
 tacctataac tctaacagta 20
 <210> 971
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 971
 tgtacctata actctaacag 20
 <210> 972
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 972
 ctgtacctat aactctaaca 20

<210> 973
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 973
 actgtacct taactctaac 20
 <210> 974
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 974
 cactgtacct ataactctaa 20
 <210> 975
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 975

 caatatcact gtacctataa 20
 <210> 976
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 976
 ataacaatat cactgtacct 20
 <210> 977
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 977

actataacaa tatcactgta 20

<210> 978

<211> 20

<212> DNA

<213>

> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 978

gtcctatatc actgtacctg 20

<210> 979

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 979

cactgtccta tatcactgta 20

<210> 980

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 980

cctataacag tatcactgtc 20

<210> 981

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 981

tttcctataa cagtatcact 20

<210> 982

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 982
 gtttcctata acagtatcac 20
 <210> 983
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 983

 agtttcctat aacagtatca 20
 <210> 984
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 984
 tagtttccta taacagtatc 20
 <210> 985
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 985
 ctagtttcct ataacagtat 20
 <210> 986
 <211> 20
 <212> DNA
 <213>
 > Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 986
 actagtttcc tataacagta 20
 <210> 987
 <211> 20

<212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 987
 gtaactactgt cctatatcac 20
 <210> 988
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 988
 aacagtatca ctgtcctata 20
 <210> 989
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 989
 tataacagta tcactgtcct 20
 <210> 990
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 990
 ctataacagt atcactgtcc 20
 <210> 991
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 991
 actataacag tatcactgtc 20

<210> 992
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 992
 taactataac agtatcactg 20
 <210> 993
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 993
 ataactataa cagtatcact 20
 <210> 994
 <211> 20
 <212> DNA
 <213>
 > Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 994
 cctataacta taacagtatc 20
 <210> 995
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 995
 tcctataact ataacagtat 20
 <210> 996
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 996

ttcctataac tataacagta	20
<210> 997	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 997	
gtttcctata actataacag	20
<210> 998	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 998	
actagtttcc tataactata	20
<210> 999	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 999	
tactagtttc ctataactat	20
<210> 1000	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1000	
caatatcact gtctatatc	20
<210> 1001	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1001

actataacaa tatcactgtc 20

<210> 1002

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1002

ttcctataac tataacaata 20

<210> 1003

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1003

tttcctataa ctataacaat 20

<210> 1004

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1004

gtacctataa ctctaacagt 20

<210> 1005

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1005

tcactgtacc tataactcta 20

<210> 1006

<211> 20

<212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1006
 tatcactgta cctataactc 20
 <210> 1007
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1007

 atatcactgt acctataact 20
 <210> 1008
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1008
 acaatatcac tgtacctata 20
 <210> 1009
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1009
 aacaatatca ctgtacctat 20
 <210> 1010
 <211> 20
 <212> DNA

 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1010
 taacaatatc actgtacctat 20

<210> 1011
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1011
 tataacaata tcactgtacc 20
 <210> 1012
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1012
 ctataacaat atcactgtac 20
 <210> 1013
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1013
 tgtaacagta tcactgtact 20
 <210> 1014
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1014
 ctgtaacagt atcactgtac 20
 <210> 1015
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1015

cctgtaacag tatcactgta

20

<210> 1016

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1016

ctatatcact gtacctgtaa

20

<210> 1017

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1017

cctatatcac tgtacctgta

20

<210> 1018

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1018

tcctatatca ctgtacctgt

20

<210> 1019

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1019

tgctctatat cactgtacct

20

<210> 1020

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1020

ctgtcctata tcactgtacc 20

<210> 1021

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1021

actgtcctat atcactgtac 20

<210> 1022

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1022

tcctataaca gtatcactgt 20

<210> 1023

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1023

ttcctataac agtatcactg 20

<210> 1024

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1024

tactagtttc ctataacagt 20

<210> 1025

<211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1025
 gtcactgtac ctataactct 20
 <210> 1026
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1026
 tgtcactgta cctataactc 20
 <210> 1027
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1027
 atgtcactgt acctataact 20
 <210> 1028
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1028
 tatgtcactg tacctataac 20
 <210> 1029
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1029

ctatgtcact gtacctataa	20
<210> 1030	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1030	
cctatgtcac tgtacctata	20
<210> 1031	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1031	
tcctatgtca ctgtacctat	20
<210> 1032	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1032	
gtcctatgtc actgtacctata	20
<210> 1033	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1033	
tgctctatgt cactgtacct	20
<210> 1034	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	

<220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1034
 ctgtcctatg tcactgtacc 20
 <210> 1035
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1035
 actgtcctat gtcactgtac 20
 <210> 1036
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1036
 cactgtccta tgtcactgta 20
 <210> 1037
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1037
 tcactgtcct atgtcactgt 20
 <210> 1038
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1038
 tatcactgtc ctatgtcact 20
 <210> 1039
 <211> 20
 <212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1039

gtatcactgt cctatgtcac 20

<210> 1040

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1040

agtatcactg tcctatgtca 20

<210> 1041

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1041

aacagtatca ctgtcctatg 20

<210> 1042

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1042

ctacctataa ctctaacagt 20

<210> 1043

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1043

actgtcctat aactataaca 20

<210> 1044

<211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1044
 cactgtccta taactataac 20

<210> 1045
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1045
 cctatatcac tgtacctata 20

<210> 1046
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1046
 tcctatatca ctgtacctat 20

<210> 1047
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1047

tacctataac agtatcactg 20
 <210> 1048
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1048

ataactataa cagtatcacc	20
<210> 1049	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1049	
tcactgtacc tataactata	20
<210> 1050	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1050	
aacaatatca ctgtaccttt	20
<210> 1051	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1051	
taacaatatc actgtacctt	20
<210> 1052	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1052	
gtcctataac tataacaata	20
<210> 1053	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	

<220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1053
 cagtatcact gtcctatgtc 20
 <210> 1054
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1054
 acagtatcac tgcctatgt 20
 <210> 1055
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1055

 tctacctata actctaacag 20
 <210> 1056
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1056
 ctctacctat aactctaaca 20
 <210> 1057
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1057
 actctaccta taactctaac 20
 <210> 1058
 <211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1058

actgtcctat atcactctac 20

<210> 1059

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1059

cactgtccta tatcactcta 20

<210> 1060

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1060

tcactgtcct atatcactct 20

<210> 1061

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1061

atcactgtcc tatatcactc 20

<210> 1062

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1062

atcactgtac tagttttcta 20

<210> 1063
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1063

tatcactgta ctagttttct 20

<210> 1064
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1064

gtatcactgt actagttttc 20

<210> 1065
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1065

agtatcactg tactagtttt 20

<210> 1066
 <211> 20
 <212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1066

ataacagtat cactgtacta 20

<210> 1067
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1067	
gtcctataac tataacagta	20
<210> 1068	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1068	
tgtcctataa ctataacagt	20
<210> 1069	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1069	
ctgtcctata actataacag	20
<210> 1070	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1070	
tcactgtcct ataactataa	20
<210> 1071	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1071	
atcactgtcc tataactata	20
<210> 1072	
<211> 20	
<212> DNA	

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1072
 tatcactgtc ctataactat 20
 <210> 1073
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1073
 atatcactgt cctataacta 20
 <210> 1074
 <211> 20
 <212> DNA

 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1074
 ctatatcact gtacctataa 20
 <210> 1075
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1075
 gtccatatatc actgtaccta 20
 <210> 1076
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1076
 cctataacag tatcactgta 20

 <210> 1077

<211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1077
 acctataaca gtatcactgt 20
 <210> 1078
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1078
 gtacctataa cagtatcact 20
 <210> 1079
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1079

 tgtacctata acagtatcac 20
 <210> 1080
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1080
 tcactgtacc tataacagta 20
 <210> 1081
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1081
 atcactgtac ctataacagt 20

<210> 1082
 <211> 20
 <212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1082
 tatcactgta cctataacag 20

<210> 1083
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1083
 aatatcactg tcctataact 20

<210> 1084
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1084
 caatatcact gtctataac 20

<210> 1085
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1085
 acaatatcac tgcctataa 20

<210> 1086
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1086	
cgtactagtt tcctataact	20
<210> 1087	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1087	
actataacag tatcacgta	20
<210> 1088	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1088	
aactataaca gtatcacggt	20
<210> 1089	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1089	
taactataac agtatcacgg	20
<210> 1090	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1090	
acctataact ataacagtat	20
<210> 1091	
<211> 20	
<212> DNA	

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1091
 tacctataac tataacagta 20
 <210> 1092
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1092
 gtacctataa ctataacagt 20

 <210> 1093
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1093
 tgtacctata actataacag 20
 <210> 1094
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1094
 atcactgtac ctataactat 20
 <210> 1095
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1095

 tatcactgta cctataacta 20
 <210> 1096

<211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1096
 caactataac agtatcactg 20
 <210> 1097
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1097
 acaactataa cagtatcact 20
 <210> 1098
 <211> 20
 <212> DNA

 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1098
 tacaactata acagtatcac 20
 <210> 1099
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1099
 ctacaactat aacagtatca 20
 <210> 1100
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1100

caatatcact gtcctacaac	20
<210> 1101	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1101	
gaatatcact gtcctataac	20
<210> 1102	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1102	
acaatatcac tgtaccttta	20
<210> 1103	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1103	
tgctctataa ctataacaat	20
<210> 1104	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1104	
ctgtcctata actataacaa	20
<210> 1105	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1105

gcacctggca gaacagtacc

20

<210> 1106

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1106

gacagtgggc cagagccttg

20

<210> 1107

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1107

acatcactgt cctataacta

20

<210> 1108

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1108

gtacctatat cactgtaact

20

<210> 1109

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1109

atatcactgt acctatatca

20

<210> 1110

<211> 20

<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1110	
tcactgtcct ataactatat	20
<210> 1111	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1111	
cgtcactgta cctataactg	20
<210> 1112	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1112	
atcactgtcc tataactatt	20
<210> 1113	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1113	
aacatcactg tacctataac	20
<210> 1114	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1114	
gccatccagg gtgctctccc	20

<210> 1115
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1115
 gcccccgag caccttcact 20
 <210> 1116
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1116
 cgtggtagc ctgacatctc 20
 <210> 1117
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1117
 gccatctggt tagcctccga 20
 <210> 1118
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1118
 tacactgaac ccccttaggc 20
 <210> 1119
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1119

cagtttggcc ttccatctc 20

<210> 1120

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1120

gccactaacc cacctcttaa 20

<210> 1121

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1121

actcccatct actccccat 20

<210> 1122

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1122

ctgctgattg tgtctgctc 20

<210> 1123

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1123

acaaggcttc gaggacagcc 20

<210> 1124

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1124

gcgattcctt gcctctgctg 20

<210> 1125

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1125

caccgcgcga atgcctgcct 20

<210> 1126

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1126

atccaacctc tctccctatc 20

<210> 1127

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1127

gccaagcct acatgcatac 20

<210> 1128

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1128

ggcctggata cagcctttct 20

<210> 1129

<211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1129
 gtccgaaga gtcaagtcca 20
 <210> 1130
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1130
 actgttgtcc atagcagcat 20
 <210> 1131
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1131
 agccctcaat tgttgctggt 20
 <210> 1132
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1132
 gatgacctgc agatgcacag 20
 <210> 1133
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1133

caggatagaa ctgatgtcc	20
<210> 1134	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1134	
agaacaggag acaatccact	20
<210> 1135	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1135	
gttcatgtgg caacctgtga	20
<210> 1136	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1136	
catcactgtc ctataactat	20
<210> 1137	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1137	
tacctatatt actgtaacta	20
<210> 1138	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1138

tgtacctata tcactgtaac 20

<210> 1139

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1139

tatcactgta cctatatcac 20

<210> 1140

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1140

aatatcactg tacctatatic 20

<210> 1141

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1141

caatatcact gtacctatat 20

<210> 1142

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1142

actatatcac tgcctataa 20

<210> 1143

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1143

taactatatc actgtcctat 20

<210> 1144

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1144

ataactatat cactgtccta 20

<210> 1145

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1145

ctgtcctata actatatcac 20

<210> 1146

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1146

actgtcctat aactatatca 20

<210> 1147

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1147

cactgtccta taactatatc 20

<210> 1148

<211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1148
 gtaacaatat cactgtccta 20

<210> 1149
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1149
 ctgtaacaat atcactgtcc 20

<210> 1150
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1150
 actgtaacaa tatcactgtc 20

<210> 1151
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1151

cactgtacct ataactgtaa 20
 <210> 1152
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1152

tcactgtacc tataactgta	20
<210> 1153	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1153	
gtcactgtac ctataactgt	20
<210> 1154	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1154	
actgtcctat aactattaca	20
<210> 1155	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1155	
cactgtccta taactattac	20
<210> 1156	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1156	
tcactgtcct ataactatta	20
<210> 1157	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	

<220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1157
 acctataact ataacaatat 20
 <210> 1158
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1158
 tacctataac tataacaata 20
 <210> 1159
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1159

 gtacctataa ctataacaat 20
 <210> 1160
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1160
 catcactgta cctataacta 20
 <210> 1161
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1161
 acatcactgt acctataact 20
 <210> 1162
 <211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1162

caacatcact gtacctataa 20

<210> 1163

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1163

acatcttgtc attaacatcc 20

<210> 1164

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1164

gcaccaata cagggccagg 20

<210> 1165

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1165

tgctctctgg cagccttcaa 20

<210> 1166

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1166

tgaaaagcca cgcccttagc 20

<210> 1167

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1167

gccaggagac agccctactc

20

<210> 1168

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1168

agcccaatgt cctaacctgt

20

<210> 1169

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1169

tgcggttata tgggctgaag

20

<210> 1170

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1170

cctttagcca ctctcttgc

20

<210> 1171

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1171	
ccccatggta ccaaagccat	20
<210> 1172	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1172	
ctcaatgccca ccctttcccc	20
<210> 1173	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1173	
ctgtctaact ggcctggctg	20
<210> 1174	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1174	
ggtcagaagg cctcttattc	20
<210> 1175	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1175	
ccatctgtcc cctcaatccc	20
<210> 1176	
<211> 20	
<212> DNA	

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1176

actctggcac tggtcatgga 20

<210> 1177

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1177

ataaagtgcg attaagcccc 20

<210> 1178

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1178

taccaagctt gtagaaggga 20

<210> 1179

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1179

gaaagacggc caatgggaaa 20

<210> 1180

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1180

ctctatcaaa atcctgctgc 20

<210> 1181

<211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1181
 ctccagtcac caccattgcc 20
 <210> 1182
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1182
 aagagtaagc cttcacaggg 20
 <210> 1183
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1183

 ctcaccagag ttgtccccag 20
 <210> 1184
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1184
 gcagctcaca ccaaaaaagc 20
 <210> 1185
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1185
 tctgttacct tgaggattgt 20

<210> 1186
 <211> 20
 <212> DNA

 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1186
 cgccatctgc cctgtacaga 20
 <210> 1187
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1187
 ttggtggtgg gattggtggt 20
 <210> 1188
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1188
 aattggtggt gggattggtg 20

 <210> 1189
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1189
 gaattggtgg tgggattggt 20
 <210> 1190
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1190	
ggcaggattg gtggtggaat	20
<210> 1191	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1191	
tgagattggt ggtgggtggc	20
<210> 1192	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1192	
ggtggtggga ttggtgctga	20
<210> 1193	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1193	
gtaggtggtg ggattggtgg	20
<210> 1194	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1194	
ggtaggtggt gggattggtg	20
<210> 1195	
<211> 20	
<212> DNA	

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1195

ggtggcggga ttggtggtgg 20

<210> 1196

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1196

gatcggtggt gggattggtc 20

<210> 1197

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1197

ggatcggtgg tgggattggt 20

<210> 1198

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1198

ttggtggcgg gatcggtggt 20

<210> 1199

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1199

attggtggcg ggatcggtgg 20

<210> 1200

<211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1200
 gatttgtggc gggatcgggtg 20
 <210> 1201
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1201
 ggatttgtgg cgggatcgggt 20
 <210> 1202
 <211> 20
 <212> DNA

 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1202
 tgggtgtggg atttgtggtt 20
 <210> 1203
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1203
 tcttctaggg ccacacctct 20
 <210> 1204
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1204

tggtcccaaa ttggagtga	20
<210> 1205	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1205	
tctctataca gctgggcaca	20
<210> 1206	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1206	
cacttcccag caaccctcac	20
<210> 1207	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1207	
gctcctggca gcaatgaccc	20
<210> 1208	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1208	
gggtatcttc actgttccag	20
<210> 1209	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	

<220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1209
 cgtcatgctt acctttctcc 20
 <210> 1210
 <211> 20
 <212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1210
 gccctccgag ctttgcaac 20
 <210> 1211
 <211> 20
 <212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1211
 gcagccccc agaaatccca 20
 <210> 1212
 <211> 20
 <212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1212
 tctcaagcag cctattgtgt 20

<210> 1213
 <211> 20
 <212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1213
 gtgcaagacc ttgcttgcca 20
 <210> 1214
 <211> 20

<212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1214
 ctgtagtcca ctacacagca 20
 <210> 1215
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1215

 tctccctgag tcacagtgga 20
 <210> 1216
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1216
 ccaggtgcag cacggagagg 20
 <210> 1217
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1217
 tagaatggca gggttctgtg 20
 <210> 1218
 <211> 20
 <212> DNA

 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1218
 gatgcatcca acacttacct 20

<210> 1219
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1219
 attggtggtg ggattggtgg 20
 <210> 1220
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1220
 gcaggattgg tgggtgaatt 20

 <210> 1221
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1221
 tggcaggatt ggtggtggaa 20
 <210> 1222
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1222
 gagattggtg gtgggtggca 20
 <210> 1223
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1223

gtgagattgg tgggtgggtgg

20

<210> 1224

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1224

gattggtggt gggattggtg

20

<210> 1225

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1225

ggattggtgg tgggattggt

20

<210> 1226

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1226

aggattggtg gtgggattgg

20

<210> 1227

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1227

taggattggt ggtgggattg

20

<210> 1228

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1228
 gtaggattgg tgggtgggatt 20

<210> 1229
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1229
 ggtaggattg gtggtgggat 20

<210> 1230
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1230
 tggtaggatt ggtggtggga 20

<210> 1231
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1231

tgggtggtggg attggtgctg 20

<210> 1232
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1232
 ttggtggtgg gattggtgct 20

<210> 1233

<211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1233
 attggtggtg ggattggtgc 20
 <210> 1234
 <211> 20
 <212> DNA

 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1234
 aggtggtggg attggtggtg 20
 <210> 1235
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1235
 taggtggtgg gattggtggt 20
 <210> 1236
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1236
 atcgggtggtg ggattggtcg 20

 <210> 1237
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1237

ggtggtggga ttggtggcgg	20
<210> 1238	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1238	
tggtggtggg attggtggcg	20
<210> 1239	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1239	
ttggtggtgg gattggtggc	20
<210> 1240	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1240	
gttggtggcg ggatcgggtg	20
<210> 1241	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1241	
ggttggtggc gggatcgggtg	20
<210> 1242	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	

<220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1242
 tggttggtgg cgggatcgg 20
 <210> 1243
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1243
 gtggttggtg gcgggatcgg 20
 <210> 1244
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1244
 gggattggtg gttggtggcg 20
 <210> 1245
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1245
 gggctcttgct ccaccacat 20
 <210> 1246
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1246
 ccaagtagtg caaggcatgt 20
 <210> 1247
 <211> 20
 <212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1247

atcatgctta ctgcaagtga 20

<210> 1248

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1248

tgaaactggg cagtccttcc 20

<210> 1249

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1249

ccaccttctt acatatgcta 20

<210> 1250

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1250

gcctctcaga cggcacagac 20

<210> 1251

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1251

ttgccctcac acattcgaat 20

<210> 1252

<211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1252
 tgctttctgc ccaacctcta 20

<210> 1253
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1253
 ctgtgctccc ggccattagc 20

<210> 1254
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1254
 gagacagttt ggcaagctac 20

<210> 1255
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1255

ggagagagac ggcaccctgt 20
 <210> 1256
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1256

tcacctgtga gtaaccaata	20
<210> 1257	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1257	
cccctcttaa atagcacatg	20
<210> 1258	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1258	
ccaagtatct catgtgcctg	20
<210> 1259	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1259	
ctagtttcct ataact	16
<210> 1260	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1260	
actagtttcc tataac	16
<210> 1261	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1261

tactagtttc ctataa

16

<210> 1262

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1262

gtactagttt cctata

16

<210> 1263

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1263

tgtactagtt tcctat

16

<210> 1264

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1264

ctgtactagt ttctta

16

<210> 1265

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1265

actgtactag tttcct

16

<210> 1266

<211> 16

<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1266	
cactgtacta gtttcc	16
<210> 1267	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1267	
tcactgtact agtttc	16
<210> 1268	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1268	
atcactgtac tagttt	16
<210> 1269	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1269	
tatcactgta ctagtt	16
<210> 1270	
<211> 17	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1270	
actagtttcc tataact	17

<210> 1271

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1271

tactagtttc ctataac

17

<210> 1272

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1272

gtactagttt cctataa

17

<210> 1273

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1273

tgtactagtt tcctata

17

<210> 1274

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1274

ctgtactagt ttctat

17

<210> 1275

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1275	
actgtactag tttccta	17
<210> 1276	
<211> 17	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1276	
cactgtacta gtttcct	17
<210> 1277	
<211> 17	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1277	
tcactgtact agtttcc	17
<210> 1278	
<211> 17	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1278	
atcactgtac tagtttc	17
<210> 1279	
<211> 17	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1279	
tatcactgta ctagttt	17
<210> 1280	
<211> 18	
<212> DNA	

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1280
 tactagtttc ctataact 18
 <210> 1281
 <211> 18
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1281
 gtactagttt cctataac 18
 <210> 1282
 <211> 18
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1282
 tgtactagtt tcctataa 18
 <210> 1283
 <211> 18
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1283
 ctgtactagt ttcctata 18
 <210> 1284
 <211> 18
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1284
 actgtactag tttcctat 18
 <210> 1285

<211> 18
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1285
 cactgtacta gtttccta 18
 <210> 1286
 <211> 18
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1286
 tcactgtact agtttcct 18
 <210> 1287
 <211> 18
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1287

 atcactgtac tagtttcc 18
 <210> 1288
 <211> 18
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1288
 tatcactgta ctagtttc 18
 <210> 1289
 <211> 17
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1289
 gtatcactgt actagtt 17

<210> 1290
 <211> 17
 <212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1290
 agtatcactg tactagt 17
 <210> 1291
 <211> 17
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1291
 cagtatcact gtactag 17
 <210> 1292
 <211> 17
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1292
 aacagtatca ctgtact 17

<210> 1293
 <211> 17
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1293
 taacagtatc actgtac 17
 <210> 1294
 <211> 17
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1294	
ctaacagtat cactgta	17
<210> 1295	
<211> 17	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1295	
tctaacagta tcactgt	17
<210> 1296	
<211> 17	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1296	
ctctaacagt atcactg	17
<210> 1297	
<211> 17	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1297	
tatcactgtc ctataac	17
<210> 1298	
<211> 17	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1298	
atatcactgt cctataa	17
<210> 1299	
<211> 17	
<212> DNA	

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1299
 tatatcactg tcctata 17
 <210> 1300
 <211> 17
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1300
 tatcactgtc ctatata 17

 <210> 1301
 <211> 17
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1301
 gatatcactgt cctatat 17
 <210> 1302
 <211> 17
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1302
 agtatcactg tcctata 17
 <210> 1303
 <211> 17
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1303

 taacagtata actgtcc 17
 <210> 1304

<211> 17
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1304
 ataacagtat cactgtc 17
 <210> 1305
 <211> 17
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1305
 tataacagta tcactgt 17
 <210> 1306
 <211> 17
 <212> DNA

 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1306
 ctataacagt atcactg 17
 <210> 1307
 <211> 17
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1307
 cctataacta taacagt 17
 <210> 1308
 <211> 17
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1308

tcctataact ataacag	17
<210> 1309	
<211> 17	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1309	
cctataacta taacaat	17
<210> 1310	
<211> 17	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1310	
gtaacagtat cactgta	17
<210> 1311	
<211> 17	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1311	
ataacagtat cactgta	17
<210> 1312	
<211> 17	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1312	
gtcctataac tataaca	17
<210> 1313	
<211> 17	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1313

tgtcctataa ctataac

17

<210> 1314

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1314

acctataact ataacag

17

<210> 1315

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1315

tacctataac tataaca

17

<210> 1316

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1316

acctataact ataaca

17

<210> 1317

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1317

cctttctcct tcgaga

16

<210> 1318

<211> 16

<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1318	
acctttctcc ttcgag	16
<210> 1319	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1319	
cacctttctc cttcga	16
<210> 1320	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1320	
atttgttacc aaagga	16
<210> 1321	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1321	
tcttcatttg ttacca	16
<210> 1322	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1322	
ccttctttat agccag	16

<210> 1323
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1323
 cccttcttta tagcca 16
 <210> 1324
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1324
 ccccttcttt atagcc 16
 <210> 1325
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1325
 aagcatcttt tcccc 16
 <210> 1326
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1326
 agggaccacc tgaatc 16
 <210> 1327
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1327

aagggaccac ctgaat

16

<210> 1328

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1328

taagggacca cctgaa

16

<210> 1329

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1329

ctaagggacc acctga

16

<210> 1330

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1330

actaagggac cacctg

16

<210> 1331

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1331

aactaaggga ccacct

16

<210> 1332

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1332

aaactaaggg accacc 16

<210> 1333
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1333

caaactaagg gaccac 16

<210> 1334
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1334

tgcaactaa gggacc 16

<210> 1335
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1335

ttgcaacta agggac 16

<210> 1336
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1336

tttgcaact aaggga 16

<210> 1337

<211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1337
 gtttgcaaac taaggg 16
 <210> 1338
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1338
 tgtttgcaaa ctaagg 16
 <210> 1339
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1339
 gtgtttgcaa actaag 16
 <210> 1340
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1340
 tgctccctgc gggcac 16
 <210> 1341
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1341

agacaccagg ttgctc	16
<210> 1342	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1342	
ctcagcgact ttggtg	16
<210> 1343	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1343	
actcagcgac ttgtgt	16
<210> 1344	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1344	
tactcagcga ctttgg	16
<210> 1345	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1345	
gtactcagcg actttg	16
<210> 1346	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	

<220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1346
 tgtactcagc gacttt 16
 <210> 1347
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1347
 atgtactcag cgactt 16
 <210> 1348
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1348
 catgtactca gcgact 16
 <210> 1349
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1349
 ccatgtactc agcgac 16
 <210> 1350
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1350
 tccatgtact cagcga 16
 <210> 1351
 <211> 16
 <212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1351

gagcttttcc atcact 16

<210> 1352

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1352

gcatctgagc ttttcc 16

<210> 1353

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1353

tgcactgag cttttc 16

<210> 1354

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1354

gactgcatct gagctt 16

<210> 1355

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1355

gtgactgcat ctgagc 16

<210> 1356

<211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1356
 ggtgactgca tctgag 16

<210> 1357
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1357
 tgggtgactgc atctga 16

<210> 1358
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1358
 catgctggtg actgca 16

<210> 1359
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1359

tcatgctggt gactgc 16
 <210> 1360
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1360

ctcatgctgg tgactg	16
<210> 1361	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1361	
tctcatgctg gtgact	16
<210> 1362	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1362	
tggaactgctt ctcatg	16
<210> 1363	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1363	
tctggactgc ttctca	16
<210> 1364	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1364	
ctctggactg cttctc	16
<210> 1365	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	

<220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1365
 agactctgga ctgctt 16
 <210> 1366
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1366
 tagactctgg actgct 16
 <210> 1367
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1367

 ctagactctg gactgc 16
 <210> 1368
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1368
 tgcctagact ctggac 16
 <210> 1369
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1369
 ttgcctagac tctgga 16
 <210> 1370
 <211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1370

attgcctaga ctctgg 16

<210> 1371

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1371

tttgacttga actcag 16

<210> 1372

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1372

atttgacttg aactca 16

<210> 1373

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1373

aatttgactt gaactc 16

<210> 1374

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1374

gaatttgact tgaact 16

<210> 1375
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1375

agaatttgac ttgaac 16

<210> 1376
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1376

cagaatttga cttgaa 16

<210> 1377
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1377

tcagaatttg acttga 16

<210> 1378
 <211> 16
 <212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1378

ggctcagaat ttgact 16

<210> 1379
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1379	
aggctcagaa ttgac	16
<210> 1380	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1380	
ccccaggctc agaatt	16
<210> 1381	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1381	
agatgaggac ccccca	16
<210> 1382	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1382	
cagatgagga cccccc	16
<210> 1383	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1383	
gcagatgagg accccc	16
<210> 1384	
<211> 16	
<212> DNA	

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1384

actctccatg ctttgc 16

<210> 1385

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1385

cactctccat gctttg 16

<210> 1386

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1386

atgccactct ccatgc 16

<210> 1387

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1387

atgcaaagaa gatgcc 16

<210> 1388

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1388

gtccttagga tgcaaa 16

<210> 1389

<211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1389
 cgtccttagg atgcaa 16
 <210> 1390
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1390
 gcagctctga gtgcac 16
 <210> 1391
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1391

 gacattgtcc tcagca 16
 <210> 1392
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1392
 cagacattgt cctcag 16
 <210> 1393
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1393
 cacttatttg atgacc 16

<210> 1394

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1394

gcacttattt gatgac

16

<210> 1395

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1395

cgatggcaag cactta

16

<210> 1396

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1396

tcgatggcaa gcactt

16

<210> 1397

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1397

ctcgatggca agcact

16

<210> 1398

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1398	
atgtctcgat ggcaag	16
<210> 1399	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1399	
aatgtctcga tggcaa	16
<210> 1400	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1400	
aaatgtctcg atggca	16
<210> 1401	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1401	
taaatgtctc gatggc	16
<210> 1402	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1402	
ataaatgtct cgatgg	16
<210> 1403	
<211> 16	
<212> DNA	

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1403

tataaatgtc tcgatg

16

<210> 1404

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1404

atcaactcct ttataa

16

<210> 1405

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1405

tatcaactcc ttata

16

<210> 1406

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1406

catatcaact ccttta

16

<210> 1407

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1407

ctctcatatc aactcc

16

<210> 1408

<211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1408
 cctctcatat caactc 16
 <210> 1409
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1409
 tcctctcata tcaact 16
 <210> 1410
 <211> 16
 <212> DNA

 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1410
 actcctctca tatcaa 16
 <210> 1411
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1411
 gactcctctc atatca 16
 <210> 1412
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1412

tgactcctct catatc	16
<210> 1413	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1413	
ttgactcctc tcatat	16
<210> 1414	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1414	
aaaattgact cctctc	16
<210> 1415	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1415	
ttaaaattga ctctc	16
<210> 1416	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1416	
ccttagacac attaaa	16
<210> 1417	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	

<220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1417
 accttagaca catta 16
 <210> 1418
 <211> 16
 <212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1418
 aaccttagac acatta 16
 <210> 1419
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1419
 ctaaccttag acacat 16
 <210> 1420
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1420
 gctaacctta gacaca 16
 <210> 1421
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1421
 tgctaacctt agacac 16
 <210> 1422
 <211> 16

<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1422	
ctgctaacct tagaca	16
<210> 1423	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1423	
actgctaacc ttagac	16
<210> 1424	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1424	
cactgctaac cttaga	16
<210> 1425	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1425	
acactgctaa ccttag	16
<210> 1426	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1426	
aacactgcta acctta	16

<210> 1427
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1427
 tcaacactgc taacct 16
 <210> 1428
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1428
 ttcaacactg ctaacc 16
 <210> 1429
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1429
 attcttcaac actgct 16
 <210> 1430
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1430
 ctggcagcga atgtta 16
 <210> 1431
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1431	
actggcagcg aatgtt	16
<210> 1432	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1432	
cgtggcatat gaaaaa	16
<210> 1433	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1433	
ctctgccttg tgaaat	16
<210> 1434	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1434	
cggctactctg ccttgt	16
<210> 1435	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1435	
ttccggtact ctgcct	16
<210> 1436	
<211> 16	
<212> DNA	

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1436

ttgttccggt actctg

16

<210> 1437

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1437

attgttccgg tactct

16

<210> 1438

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1438

caattgttcc ggtact

16

<210> 1439

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1439

gcaattgttc cgtac

16

<210> 1440

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1440

ggcaattgtt ccggtg

16

<210> 1441

<211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1441
 ctttaatagg caattg 16
 <210> 1442
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1442
 gtactttaat aggcaa 16
 <210> 1443
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1443
 tgtactttaa taggca 16
 <210> 1444
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1444
 ctgtacttta ataggc 16
 <210> 1445
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1445

actgtacttt aatagg	16
<210> 1446	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1446	
ctcagcacct ttatag	16
<210> 1447	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1447	
actcagcacc ttтата	16
<210> 1448	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1448	
tactcagcac ctttat	16
<210> 1449	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1449	
ttactcagca ccttta	16
<210> 1450	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	

<220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1450
 attttctgaaa gggcac 16
 <210> 1451
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1451
 caatttctga aagggc 16
 <210> 1452
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1452
 ccaatttctg aaaggg 16
 <210> 1453
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1453
 accaatttct gaaagg 16
 <210> 1454
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1454
 tggcaaccaa tttctg 16
 <210> 1455
 <211> 16
 <212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1455

atccacatct gagaac 16

<210> 1456

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1456

gcaacatcca catctg 16

<210> 1457

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1457

ggcaacatcc acatct 16

<210> 1458

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1458

tggcaacatc cacatc 16

<210> 1459

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1459

cctggcaaca tccaca 16

<210> 1460

<211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1460
 accctggcaa catcca 16

<210> 1461
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1461
 aaccctggca acatcc 16

<210> 1462
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1462
 gaaccctggc aacatc 16

<210> 1463
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1463

tgaacgtct tcaagc 16
 <210> 1464
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1464

atgaacggtc ttcaag	16
<210> 1465	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1465	
taaaaatgaa cggctc	16
<210> 1466	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1466	
gagtctcttg tcactt	16
<210> 1467	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1467	
tgagtctctt gtcact	16
<210> 1468	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1468	
ggtgagtctc ttgtca	16
<210> 1469	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	

<220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1469
 aggtgagtct cttgtc 16
 <210> 1470
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1470
 tggaggtgag tctctt 16
 <210> 1471
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1471
 ttggaggtga gtctct 16
 <210> 1472
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1472
 cttggaggtg agtctc 16
 <210> 1473
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1473
 tcttgaggt gagtct 16
 <210> 1474
 <211> 16

<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1474	
ttgcttcttg gaggtg	16
<210> 1475	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1475	
attgcttctt ggaggt	16
<210> 1476	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1476	
caattgcttc ttggag	16
<210> 1477	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1477	
cacaattgct tcttgg	16
<210> 1478	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1478	
gcttgaataa aatcat	16

<210> 1479
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1479

gttgcttgct tgaata 16

<210> 1480
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1480

agttgcttgc ttgaat 16

<210> 1481
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1481

aagttgcttg ctgaa 16

<210> 1482
 <211> 16
 <212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1482

taagttgctt gcttga 16

<210> 1483
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1483	
gaaataagtt gcttgc	16
<210> 1484	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1484	
tgaaataagt tgcttg	16
<210> 1485	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1485	
actgtagcaa acaagg	16
<210> 1486	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1486	
tccacaggaa actgta	16
<210> 1487	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1487	
atccacagga aactgt	16
<210> 1488	
<211> 16	
<212> DNA	

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1488

tcatagagtt gagtca 16

<210> 1489

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1489

acctctgaag aaggcg 16

<210> 1490

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1490

atccccacct ctgaag 16

<210> 1491

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1491

agctacatcc ccacct 16

<210> 1492

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1492

gaagctacat cccac 16

<210> 1493

<211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1493
 acatggaagc tacatc 16
 <210> 1494
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1494
 tacatggaag ctacat 16
 <210> 1495
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1495

 gtacatggaa gctaca 16
 <210> 1496
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1496
 tgtacatgga agctac 16
 <210> 1497
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1497
 ggtacatgg aagcta 16

<210> 1498

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1498

gggtgtacat ggaagc

16

<210> 1499

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1499

gcagtattgg gcattt

16

<210> 1500

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1500

catctggcag tattgg

16

<210> 1501

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1501

tcatctggca gtattg

16

<210> 1502

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1502	
cctcatctgg cagtat	16
<210> 1503	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1503	
acctcatctg gcagta	16
<210> 1504	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1504	
gtgcacctca tctggc	16
<210> 1505	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1505	
ggtggaatgt gcacct	16
<210> 1506	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1506	
gggtggaatg tgcacc	16
<210> 1507	
<211> 16	
<212> DNA	

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1507

aacttgctgg aagaaa

16

<210> 1508

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1508

gaacttgctg gaagaa

16

<210> 1509

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1509

tgaacttgct ggaaga

16

<210> 1510

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1510

gattgaactt gctgga

16

<210> 1511

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1511

cattgattga acttgc

16

<210> 1512

<211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1512
 tcattgattg aacttg 16
 <210> 1513
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1513
 caaacctttt ctccat 16
 <210> 1514
 <211> 16
 <212> DNA

 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1514
 gcaaccaaac cttttc 16
 <210> 1515
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1515
 agcaacaaaa ctttt 16
 <210> 1516
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1516

cgatgtactt ttggca	16
<210> 1517	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1517	
tcgatgtact tttggc	16
<210> 1518	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1518	
ttcgatgtac ttttgg	16
<210> 1519	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1519	
gttcgatgta cttttg	16
<210> 1520	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1520	
cctgttcgat gtactt	16
<210> 1521	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	

<220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1521
 acctgttcga tgtact 16
 <210> 1522
 <211> 16
 <212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1522
 gcacctgttc gatgta 16
 <210> 1523
 <211> 16
 <212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1523
 ctgcacctgt tcgatg 16
 <210> 1524
 <211> 16
 <212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1524
 actgcacctg ttcgat 16

<210> 1525
 <211> 16
 <212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1525
 aactgcacct gttcga 16
 <210> 1526
 <211> 16

<212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1526
 aaactgcacc tgttcg 16
 <210> 1527
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1527

 ccagaaactg cacctg 16
 <210> 1528
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1528
 tccagaaact gcacct 16
 <210> 1529
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1529
 tgtccagaaa ctgcac 16
 <210> 1530
 <211> 16
 <212> DNA

 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1530
 cttcaaggaa tgtcca 16

<210> 1531
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1531
 gcttcaagga atgtcc 16
 <210> 1532
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1532
 ttgcttcaag gaatgt 16
 <210> 1533
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1533
 cacattgctt caagga 16
 <210> 1534
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1534
 gatgaccaca ttgctt 16
 <210> 1535
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1535	
ctcatatcaa ctcctt	16
<210> 1536	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1536	
caacactgct aacctt	16
<210> 1537	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1537	
ccggtactct gccttg	16
<210> 1538	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1538	
tccggtactc tgcctt	16
<210> 1539	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1539	
aggcaattgt tccggt	16
<210> 1540	
<211> 16	
<212> DNA	

<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1540	
taggcaattg ttccgg	16
<210> 1541	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1541	
ataggcaatt gttccg	16
<210> 1542	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1542	
gagaaccctg gcaaca	16
<210> 1543	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1543	
tgagaaccct ggcaac	16
<210> 1544	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1544	
tggagtgaga accctg	16
<210> 1545	

<211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1545
 atctggagtg agaacc 16
 <210> 1546
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1546
 gtccgacaca caaaag 16
 <210> 1547
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1547
 ggtccgacac acaaaa 16
 <210> 1548
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1548
 atggtccgac acacaa 16
 <210> 1549
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1549

gatggtccga cacaca	16
<210> 1550	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1550	
agatggtccg acacac	16
<210> 1551	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1551	
tgataggtgc agatgg	16
<210> 1552	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1552	
gtgataggtg cagatg	16
<210> 1553	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1553	
cgattttcca tacatt	16
<210> 1554	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	

<220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1554
 tcgattttcc atacat 16
 <210> 1555
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1555
 ctcgattttc cataca 16
 <210> 1556
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1556
 actcgatttt ccatac 16
 <210> 1557
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1557
 gactcgattt tccata 16
 <210> 1558
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1558
 tgtgactcga ttttcc 16
 <210> 1559
 <211> 16
 <212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1559

ttgtgactcg attttc 16

<210> 1560

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1560

tttgtgactc gatattt 16

<210> 1561

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1561

tttctttgtg actcga 16

<210> 1562

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1562

gtgtgccact ttcaga 16

<210> 1563

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1563

ggtgtgccac tttcag 16

<210> 1564

<211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1564
 tgggtgtgcca ctttca 16

<210> 1565
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1565
 acttgggtgtg ccactt 16

<210> 1566
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1566
 aacttgggtgt gccact 16

<210> 1567
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1567

gaacttgggtg tgccac 16
 <210> 1568
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1568

ggaacttggt gtgcca	16
<210> 1569	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1569	
aggaacttgg tgtgcc	16
<210> 1570	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1570	
gtgttttctt gaggag	16
<210> 1571	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1571	
ggtgttttct tgagga	16
<210> 1572	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1572	
agatatggtg ttttct	16
<210> 1573	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	

<220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1573
 cagatatggg gttttc 16
 <210> 1574
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1574
 ctatatccag atatgg 16
 <210> 1575
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1575

 taaaaggcta tatcca 16
 <210> 1576
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1576
 gttaaaaggc tatatc 16
 <210> 1577
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1577
 ggtaaaagg ctatat 16
 <210> 1578
 <211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1578

caggttaaaa ggctat 16

<210> 1579

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1579

gcaggttaaa aggcta 16

<210> 1580

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1580

tgcaggttaa aaggct 16

<210> 1581

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1581

ttgcaggtta aaaggc 16

<210> 1582

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1582

tttgcaggtt aaaagg 16

<210> 1583
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1583

gttcaggtaa agttct 16

<210> 1584
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1584

ggttcaggta aagttc 16

<210> 1585
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1585

gggttcaggt aaagtt 16

<210> 1586
 <211> 16
 <212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1586

agggttcagg taaagt 16

<210> 1587
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1587	
ggcagggttc aggtaa	16
<210> 1588	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1588	
ttagaatggc agggtt	16
<210> 1589	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1589	
tcccgggtaa atttta	16
<210> 1590	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1590	
ctcccgggta aatttt	16
<210> 1591	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1591	
tcaactcccg ggtaaa	16
<210> 1592	
<211> 16	
<212> DNA	

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1592

aagtcaactc ccgggt 16

<210> 1593

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1593

aaagtcaact cccggg 16

<210> 1594

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1594

caaagtcaac tccggg 16

<210> 1595

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1595

ccaaagtcaa ctcccg 16

<210> 1596

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1596

cctccaaagt caactc 16

<210> 1597

<211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1597
 cttggcaaac attcac 16
 <210> 1598
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1598
 gtctcttggc aaacat 16
 <210> 1599
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1599

 aagtctcttg gcaaac 16
 <210> 1600
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1600
 tctttgtgca agtctc 16
 <210> 1601
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1601
 aatcatcttt gtgcaa 16

<210> 1602
 <211> 16
 <212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1602
 gaatcatctt tgtgca 16

<210> 1603
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1603
 cgaatcatct ttgtgc 16

<210> 1604
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1604
 gcgaatcatc ttgtg 16

<210> 1605
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1605
 cagcgaatca tctttg 16

<210> 1606
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1606	
acagcgaatc atcttt	16
<210> 1607	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1607	
tgacagcgaa tcattt	16
<210> 1608	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1608	
ctgacagcga atcatc	16
<210> 1609	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1609	
actgacagcg aatcat	16
<210> 1610	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1610	
tacagtcttc tgggag	16
<210> 1611	
<211> 16	
<212> DNA	

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1611

ccttacagtc ttctgg

16

<210> 1612

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1612

tagataatct taagaa

16

<210> 1613

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1613

ccatccatag ataatc

16

<210> 1614

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1614

gtgtcccata cgcaat

16

<210> 1615

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1615

tgtgtcccat acgcaa

16

<210> 1616

<211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1616
 ttgtgtccca tacgca 16
 <210> 1617
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1617
 cttgtgtccc atacgc 16
 <210> 1618
 <211> 16
 <212> DNA

 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1618
 ccttgtgtcc catacg 16
 <210> 1619
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1619
 cccttgtgtc ccatac 16
 <210> 1620
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1620

accagagctc ccttgt	16
<210> 1621	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1621	
aaccagagct cccttg	16
<210> 1622	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1622	
taaccagagc tccctt	16
<210> 1623	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1623	
agtaaccaga gctccc	16
<210> 1624	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1624	
agagtaacca gagctc	16
<210> 1625	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	

<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1625	
caaagagtaa ccagag	16
<210> 1626	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1626	
ctcaaagagt aaccag	16
<210> 1627	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1627	
tctcaaagag taacca	16
<210> 1628	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1628	
gttacacaat ctcaa	16
<210> 1629	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1629	
agtgttacac aatctc	16
<210> 1630	
<211> 16	

<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1630	
ccagtgttac acaatc	16
<210> 1631	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1631	
tccccagtgt tacaca	16
<210> 1632	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1632	
gtccccagtg ttacac	16
<210> 1633	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1633	
tgtccccagt gttaca	16
<210> 1634	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1634	
ttgtccccag tgttac	16

<210> 1635
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1635
 aagagtttgt tcctcc 16
 <210> 1636
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1636
 caagaagagt ttgttc 16
 <210> 1637
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1637
 ccaagaagag ttgttt 16
 <210> 1638
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1638
 cccaagaag agtttg 16
 <210> 1639
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1639

tccccaagaa gagttt

16

<210> 1640

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1640

cactctcccc aagaag

16

<210> 1641

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1641

ccactctccc caagaa

16

<210> 1642

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1642

gcttcacctg caggct

16

<210> 1643

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1643

gctgtcagct tcacct

16

<210> 1644

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1644
 tgagctgtca gcttca

16

<210> 1645
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1645
 gtcctatgag tgaccc

16

<210> 1646
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1646
 gtgtcctatg agtgac

16

<210> 1647
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1647

ggtgtcctat gagtga

16

<210> 1648
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1648
 tgggtgccta tgagtg

16

<210> 1649

<211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1649
 ctgggtgcct atgagt 16
 <210> 1650
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1650
 gatgcgcaa acatcc 16
 <210> 1651
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1651
 agatgcgcca aacatc 16
 <210> 1652
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1652
 atagatgcgc caaaca 16
 <210> 1653
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1653

cactatagat gcgcca	16
<210> 1654	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1654	
ccactataga tgcgcc	16
<210> 1655	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1655	
aatgtctgac agattt	16
<210> 1656	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1656	
taatgtctga cagatt	16
<210> 1657	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1657	
gaaagtgta tctttt	16
<210> 1658	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1658

gtgagaaagg tgtatc

16

<210> 1659

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1659

tgtgagaaag gtgtat

16

<210> 1660

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1660

tttgtgagaa agtgtt

16

<210> 1661

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1661

atttgtgaga aaggtg

16

<210> 1662

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1662

tggtgaataa taatct

16

<210> 1663

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1663

ttatagtttt ggtgaa 16

<210> 1664

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1664

tatcatgatt cccttc 16

<210> 1665

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1665

gatatcatga ttcctt 16

<210> 1666

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1666

cgatatcatg attccc 16

<210> 1667

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1667

gcgatatcat gattcc 16

<210> 1668

<211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1668
 aggcgatatc atgatt 16

<210> 1669
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1669
 aaggcgatat catgat 16

<210> 1670
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1670
 caaaggagcc tggagt 16

<210> 1671
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1671

attcaaagga gcctgg 16
 <210> 1672
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1672

aattcaaagg agcctg	16
<210> 1673	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1673	
gtaattcaaa ggagcc	16
<210> 1674	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1674	
gtgtaattca aaggag	16
<210> 1675	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1675	
catattgggt tttgga	16
<210> 1676	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1676	
gcatattggt ttttgg	16
<210> 1677	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	

<220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1677
 taggcatatt ggtttt 16
 <210> 1678
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1678
 cttgtgtcac ctttgg 16
 <210> 1679
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1679

 gcttgtgtca cctttg 16
 <210> 1680
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1680
 ataaattgtg cttgtg 16
 <210> 1681
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1681
 gtataaattg tgcttg 16
 <210> 1682
 <211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1682

tggtataaat tgtgct 16

<210> 1683

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1683

ttggtataaa ttgtgc 16

<210> 1684

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1684

cagttggtat aaattg 16

<210> 1685

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1685

caacagttgg tataaa 16

<210> 1686

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1686

ccaacagttg gtataa 16

<210> 1687
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1687

cccaacagtt ggtata 16

<210> 1688
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1688

agaagcccca tccggt 16

<210> 1689
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1689

tttctccttc gagaag 16

<210> 1690
 <211> 16
 <212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1690

ctttctcctt cgagaa 16

<210> 1691
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1691	
gggcttcagc cagaca	16
<210> 1692	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1692	
cgggcttcag ccagac	16
<210> 1693	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1693	
tgctgaaagc gggctt	16
<210> 1694	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1694	
gtgctgaaag cgggct	16
<210> 1695	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1695	
cgtgctgaaa gcgggc	16
<210> 1696	
<211> 16	
<212> DNA	

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1696
 tcagcccctg gttacg 16
 <210> 1697
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1697
 attgtcagcc cctggt 16
 <210> 1698
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1698
 gcattgtcag ccctg 16
 <210> 1699
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1699
 cgcatgtgca gccct 16
 <210> 1700
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1700
 tcgcatgtgc agcccc 16
 <210> 1701

<211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1701
 ctgcattgt cagccc 16
 <210> 1702
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1702
 cctgcattg tcagcc 16
 <210> 1703
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1703

 acctgcatt gtcagc 16
 <210> 1704
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1704
 gacctgcat tgtcag 16
 <210> 1705
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1705
 cgacctgca ttgtca 16

<210> 1706
 <211> 16
 <212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1706
 gcgacctcgc attgtc 16
 <210> 1707
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1707
 tgcgacctcg cattgt 16
 <210> 1708
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1708
 ttgcgacctc gcattg 16

<210> 1709
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1709
 gttgcgacct cgcatt 16
 <210> 1710
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1710	
agttgcgacc tcgcat	16
<210> 1711	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1711	
cagttgcgac ctcgca	16
<210> 1712	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1712	
tcagttgcga cctcgc	16
<210> 1713	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1713	
ctcagttgcg acctcg	16
<210> 1714	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1714	
tctcagttgc gacctc	16
<210> 1715	
<211> 16	
<212> DNA	

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1715

atctcagttg cgacct

16

<210> 1716

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1716

gatctcagtt gcgacc

16

<210> 1717

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1717

agatctcagt tgcgac

16

<210> 1718

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1718

gagatctcag ttgcga

16

<210> 1719

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1719

ggagatctca gttgcg

16

<210> 1720

<211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1720
 tcatggagat ctcagt 16
 <210> 1721
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1721
 gtcattggaga tctcag 16
 <210> 1722
 <211> 16
 <212> DNA

 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1722
 agtcattggag atctca 16
 <210> 1723
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1723
 cagtcattgga gatctc 16
 <210> 1724
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1724

acagtcacatgg agatct	16
<210> 1725	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1725	
aacacacacatg catgga	16
<210> 1726	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1726	
caacacacag tcatgg	16
<210> 1727	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1727	
catcctatcc gtgttc	16
<210> 1728	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1728	
catgaacatc ctatcc	16
<210> 1729	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	

<220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1729
 tattccatga acatcc 16
 <210> 1730
 <211> 16
 <212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1730
 gtcaacatat tccatg 16
 <210> 1731
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1731
 cctgtcaaca tattcc 16
 <210> 1732
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1732
 tgcctgtca acatat 16
 <210> 1733
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1733
 gccaacagtt tcaact 16
 <210> 1734
 <211> 16

<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1734	
ttctgccaac agtttc	16
<210> 1735	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1735	
caatatatgac ttgagg	16
<210> 1736	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1736	
tgcttggttt caatat	16
<210> 1737	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1737	
actgcaggca atattt	16
<210> 1738	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1738	
gcactgcagg caatat	16

<210> 1739
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1739
 ctaatgtggc actgca 16
 <210> 1740
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1740
 tgttctaatag tggcac 16
 <210> 1741
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1741
 gctgttctaa tgggc 16
 <210> 1742
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1742
 tgactagtga atggct 16
 <210> 1743
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1743	
tctgactagt gaatgg	16
<210> 1744	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1744	
tcaatctgac tagtga	16
<210> 1745	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1745	
ggtcaatctg actagt	16
<210> 1746	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1746	
ctggtcaatc tgacta	16
<210> 1747	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1747	
ctctggtcaa tctgac	16
<210> 1748	
<211> 16	
<212> DNA	

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1748
 caatctctgg tcaatc 16

<210> 1749
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1749
 caacaatctc tggcca 16

<210> 1750
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1750
 accaacaatc tctggt 16

<210> 1751
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1751

agcccaccaa caatct 16

<210> 1752
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1752
 gacagccac caacaa 16

<210> 1753

<211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1753
 cagacagccc accaac 16
 <210> 1754
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1754
 gcatagaccc caacag 16
 <210> 1755
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1755
 gtgcatagac cccaac 16
 <210> 1756
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1756
 ctgtgcatag acccca 16
 <210> 1757
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1757

tcctgtgcat agaccc	16
<210> 1758	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1758	
gaaatcctgt gcatag	16
<210> 1759	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1759	
gcagaaatcc tgtgca	16
<210> 1760	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1760	
actccagcag aaatcc	16
<210> 1761	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1761	
aatcatgcct tgtggg	16
<210> 1762	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	

<220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1762
 tagacccaga atcatg 16
 <210> 1763
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1763
 ccatagaccc agaatc 16
 <210> 1764
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1764
 agtcaccata gaccca 16
 <210> 1765
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1765
 taagtcacca tagacc 16
 <210> 1766
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1766
 gtggccctct taagtc 16
 <210> 1767
 <211> 16
 <212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1767

gttgtgtggc cctctt 16

<210> 1768

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1768

cattgttgtg tggccc 16

<210> 1769

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1769

tactcattgt tgtgtg 16

<210> 1770

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1770

aatactcatt gttgtg 16

<210> 1771

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1771

gccatacatc tgagga 16

<210> 1772

<211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1772
 attgtagcca tacatc 16

<210> 1773
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1773
 ttattgtagc cataca 16

<210> 1774
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1774
 tctagatgac ctgaag 16

<210> 1775
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1775

tacatctaga tgacct 16
 <210> 1776
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1776

gtatacatct agatga	16
<210> 1777	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1777	
actcgcttt gtgact	16
<210> 1778	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1778	
tactcgctt tgtgac	16
<210> 1779	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1779	
atactgcct ttgtga	16
<210> 1780	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1780	
catactgcc tttgtg	16
<210> 1781	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	

<220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1781
 gcatactcgc ctttgt 16
 <210> 1782
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1782
 atgcatactc gccttt 16
 <210> 1783
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1783

 catgcatact cgcctt 16
 <210> 1784
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1784
 ccatgcatac tcgcct 16
 <210> 1785
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1785
 ttccatgcat actcgc 16
 <210> 1786
 <211> 16

<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1786	
cgattttcca tgcata	16
<210> 1787	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1787	
tgcgattttc catgca	16
<210> 1788	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1788	
tgtgatgcga ttttcc	16
<210> 1789	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1789	
cttttgtgatg cgattt	16
<210> 1790	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1790	
gcctttgtga tgcat	16

<210> 1791
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1791

actgccttt gtgatg 16

<210> 1792
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1792

tactgcctt tgtgat 16

<210> 1793
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1793

cccatgcata ctcgcc 16

<210> 1794
 <211> 16
 <212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1794

ccccatgcat actgcg 16

<210> 1795
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1795	
gctcccatg catact	16
<210> 1796	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1796	
agtgtctccc atgcat	16
<210> 1797	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1797	
caagtgtctcc ccatgc	16
<210> 1798	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1798	
gtgatgaaag tacagc	16
<210> 1799	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1799	
aggagtttgt cagaac	16
<210> 1800	
<211> 16	
<212> DNA	

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1800

ttcagggagt gatgtc 16

<210> 1801

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1801

cctatccgtg ttcagc 16

<210> 1802

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1802

ctctacatac tcagga 16

<210> 1803

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1803

cagtcaaaa atccct 16

<210> 1804

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1804

cctcttgatt tgggca 16

<210> 1805

<211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1805
 ttggccaact ctgtgg 16
 <210> 1806
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1806
 gacctcaga ctactg 16
 <210> 1807
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1807

 tgtgtctagg gagttg 16
 <210> 1808
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1808
 agcacacaat tactgg 16
 <210> 1809
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1809
 ctgctggttt tagacc 16

<210> 1810
 <211> 16
 <212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1810
 ttcacttacc acagga 16

<210> 1811
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1811
 ggtgccactt gcttgg 16

<210> 1812
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1812
 aatctccacc cccgaa 16

<210> 1813
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1813
 tacctgacaa gtggtc 16

<210> 1814
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1814	
gtcccaagac attcct	16
<210> 1815	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1815	
cagagtgtca tctgcg	16
<210> 1816	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1816	
ggattggacc cagaca	16
<210> 1817	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1817	
ggttcctag cgggcc	16
<210> 1818	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1818	
cacctagaac tatcca	16
<210> 1819	
<211> 16	
<212> DNA	

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1819
 ctccctctgt aatgat 16
 <210> 1820
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1820
 ggttgaggga cagaca 16

 <210> 1821
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1821
 gtgggtttgc acatgg 16
 <210> 1822
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1822
 ggcttatgct ccttct 16
 <210> 1823
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1823

 ccccctgtag ttggct 16
 <210> 1824

<211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1824
 gcttacttac atccct 16
 <210> 1825
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1825
 gggactacat gcaata 16
 <210> 1826
 <211> 16
 <212> DNA

 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1826
 gtcaaagagt gtccac 16
 <210> 1827
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1827
 gaatagcaag ctccaa 16
 <210> 1828
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1828

catgatacca caccac	16
<210> 1829	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1829	
gagcactctt attagc	16
<210> 1830	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1830	
cctgttagag ttggcc	16
<210> 1831	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1831	
aggacactgt ttccag	16
<210> 1832	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1832	
gtcaccagaa ccacat	16
<210> 1833	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	

<220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1833
 gtgtgcactt tctggt 16
 <210> 1834
 <211> 16
 <212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1834
 ctctgattgg gtcacc 16
 <210> 1835
 <211> 16
 <212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1835
 accaacaact caggcc 16
 <210> 1836
 <211> 16
 <212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1836
 actctcaagc tccacg 16

<210> 1837
 <211> 16
 <212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1837
 ggacaatatg tctcct 16
 <210> 1838
 <211> 16

<212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1838
 cattgtgctc aactga 16
 <210> 1839
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1839

 gcccatggtg aatctg 16
 <210> 1840
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1840
 cctagtacaa agtggc 16
 <210> 1841
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1841
 gccattttat ccctga 16
 <210> 1842
 <211> 16
 <212> DNA

 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1842
 gggcccccatt gtccat 16

<210> 1843
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1843
 gttcttgctt atcctc 16
 <210> 1844
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1844
 atgtgacagt caggga 16
 <210> 1845
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1845
 ttctgcaact ggcct 16
 <210> 1846
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1846
 aatggcaggt cctggc 16
 <210> 1847
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1847

agacagttgg tggttt

16

<210> 1848

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1848

gaggagttgg tttagt

16

<210> 1849

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1849

tgaccacctc tcgggt

16

<210> 1850

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1850

atttgccct gagccc

16

<210> 1851

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1851

gcctttgagg gagtgg

16

<210> 1852

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1852

acaacctgtc cattcc

16

<210> 1853

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1853

gttgtcaact gggacc

16

<210> 1854

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1854

ctgttcaggt agcaca

16

<210> 1855

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1855

ccgggaaaga ctgtct

16

<210> 1856

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1856

actgcacccc acatat

16

<210> 1857

<211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1857
 cctcatctca gtatga 16
 <210> 1858
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1858
 gcacacagac ttgccc 16
 <210> 1859
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1859
 ctgcatctgg actatg 16
 <210> 1860
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1860
 agggaaatta gaggca 16
 <210> 1861
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1861

ctgttgctg acatgc	16
<210> 1862	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1862	
acataaatc cccaca	16
<210> 1863	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1863	
cccactgact gactac	16
<210> 1864	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1864	
tcctgtgaca gaacca	16
<210> 1865	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1865	
ctacacctt ctgcac	16
<210> 1866	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1866

ggtccttgaa ccccg

16

<210> 1867

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1867

agcagatctg ggttgt

16

<210> 1868

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1868

gactagcttc tactac

16

<210> 1869

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1869

acaatccctt agccca

16

<210> 1870

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1870

gatgaaatgt gcacct

16

<210> 1871

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1871

gactgtgcta tccgct 16

<210> 1872

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1872

gctcactata ggcccc 16

<210> 1873

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1873

tagcatcatg ccacag 16

<210> 1874

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1874

gcacattagg aggtag 16

<210> 1875

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1875

taccgctggg tgcggt 16

<210> 1876

<211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1876
 atgaaactgt ggctcg 16

<210> 1877
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1877
 acatgtggga tcagag 16

<210> 1878
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1878
 gatgatcctc acatac 16

<210> 1879
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1879

tagaaccttc ctccac 16
 <210> 1880
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1880

ggaagacttc cctctg	16
<210> 1881	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1881	
tagtgataag agctgg	16
<210> 1882	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1882	
ggcaactatg ttctca	16
<210> 1883	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1883	
ctaactccat cactgc	16
<210> 1884	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1884	
tccccaatac ttgctg	16
<210> 1885	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	

<220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1885
 gctgttctaa gcgaga 16
 <210> 1886
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1886
 tgagtgatgc cttcca 16
 <210> 1887
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1887

 tccagaatac tgcccc 16
 <210> 1888
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1888
 gcgctaacct cataaa 16
 <210> 1889
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1889
 ctggaaacga gacaca 16
 <210> 1890
 <211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1890

gagagagatg ttccct 16

<210> 1891

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1891

ctgctggttg agaatc 16

<210> 1892

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1892

atgtccccag tggaag 16

<210> 1893

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1893

gcatcctccc tagttg 16

<210> 1894

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1894

tgttggtcag cattca 16

<210> 1895
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1895

gacgactgcc ctgtgc 16

<210> 1896
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1896

atttgggcct agtggt 16

<210> 1897
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1897

cctagtcctc aagttt 16

<210> 1898
 <211> 16
 <212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1898

caagacatca gtagct 16

<210> 1899
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1899	
cttatcagtc ccagtc	16
<210> 1900	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1900	
gacaacccat cagttg	16
<210> 1901	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1901	
cagcaggctc aaagtg	16
<210> 1902	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1902	
tggttaagtc aggccc	16
<210> 1903	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1903	
tggtactccac ctcacg	16
<210> 1904	
<211> 16	
<212> DNA	

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1904

agcaagctaa gtgagt 16

<210> 1905

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1905

gttcttgagt gtagag 16

<210> 1906

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1906

gtgttcatac ggaagc 16

<210> 1907

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1907

gttgggatgc gactct 16

<210> 1908

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1908

acgaagtctc tttcct 16

<210> 1909

<211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1909
 cgatgagttg ggcagg 16
 <210> 1910
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1910
 gatacctttc cactcc 16
 <210> 1911
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1911

 tccccaagat tatgtg 16
 <210> 1912
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1912
 gcaccctttt cattga 16
 <210> 1913
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1913
 tcgacttctc ctgtct 16

<210> 1914

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1914

gcctttgacc ttctgc

16

<210> 1915

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1915

gtgtgctgag gtttgc

16

<210> 1916

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1916

gcaagatgca tgcagc

16

<210> 1917

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1917

atcgaactct gcttga

16

<210> 1918

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1918	
gcccagtttt ggcaac	16
<210> 1919	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1919	
cccactacca ttggg	16
<210> 1920	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1920	
caactataac agtatc	16
<210> 1921	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1921	
ctataccacg gtaact	16
<210> 1922	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1922	
cctatatcac tgtaac	16
<210> 1923	
<211> 16	
<212> DNA	

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1923

acctatatca ctgtaa

16

<210> 1924

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1924

tcactgtacc tatatc

16

<210> 1925

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1925

gtcctataac tatatc

16

<210> 1926

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1926

ctgtacctat aactgt

16

<210> 1927

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1927

cgtcactgta cctata

16

<210> 1928

<211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1928
 catcactgta cctata 16
 <210> 1929
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1929
 caacatcact gtacct 16
 <210> 1930
 <211> 16
 <212> DNA

 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1930
 ttccctaccc ctggta 16
 <210> 1931
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1931
 ggtggaatgt catggc 16
 <210> 1932
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1932

gcggaaaact ggccgt	16
<210> 1933	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1933	
cccaatacag ggccag	16
<210> 1934	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1934	
ccaaccttcc caatct	16
<210> 1935	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1935	
gaaggtgtgc tgtcgc	16
<210> 1936	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1936	
atcgagtcct gcctcc	16
<210> 1937	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	

<220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1937
 gcaaatacctt ccagca 16
 <210> 1938
 <211> 16
 <212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1938
 gcacgagctt gcctgt 16
 <210> 1939
 <211> 16
 <212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1939
 gagccatcca ggggtgc 16
 <210> 1940
 <211> 16
 <212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1940
 aggccatttg atccga 16

<210> 1941
 <211> 16
 <212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1941
 gccacgccct tagcag 16
 <210> 1942
 <211> 16

<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1942	
gttcctgag gaacgg	16
<210> 1943	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1943	
ggcagttagg ccagga	16
<210> 1944	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1944	
ctacagatca tcccta	16
<210> 1945	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1945	
ccccggagca ccttca	16
<210> 1946	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1946	
gtgacccaag ggtcga	16

<210> 1947
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1947
 cgtggtagc ctgaca 16
 <210> 1948
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1948
 tccatgtcag agttgc 16

 <210> 1949
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1949
 cctccttttg gcttga 16
 <210> 1950
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1950
 ttccccagag gtgata 16
 <210> 1951
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1951	
tctggttagc ctccga	16
<210> 1952	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1952	
tgccaagca accagt	16
<210> 1953	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1953	
gcccaatgtc ctaacc	16
<210> 1954	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1954	
ccaccgctgc ccgcca	16
<210> 1955	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1955	
tgtgaccccc caccgc	16
<210> 1956	
<211> 16	
<212> DNA	

<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1956	
ttgtgacccc ccaccg	16
<210> 1957	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1957	
actgaacccc cttagg	16
<210> 1958	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1958	
ccttcatacc cctcac	16
<210> 1959	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1959	
ccgataacag accggc	16
<210> 1960	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1960	
ataccggag tcagga	16
<210> 1961	

<211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1961
 attgctcagg cccct 16
 <210> 1962
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1962
 caagccacta acccac 16
 <210> 1963
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1963
 aattcttgga ccaagg 16
 <210> 1964
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1964
 ccatctactc ccccat 16
 <210> 1965
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1965

gcagcgagca ttccaa	16
<210> 1966	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1966	
ggacaatgcc tatgct	16
<210> 1967	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1967	
gaagccattc actgca	16
<210> 1968	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1968	
aaactcctct caaggc	16
<210> 1969	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1969	
gcaccacat gcggtt	16
<210> 1970	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	

<220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1970
 tgcagggtg cgcagt 16
 <210> 1971
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1971
 ttagccactc ctcttg 16
 <210> 1972
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1972
 agctagctga ccccaa 16
 <210> 1973
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1973
 tccgcctttg gatagt 16
 <210> 1974
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1974
 cctgctgatt gtgtct 16
 <210> 1975
 <211> 16
 <212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1975

tcgaggacag ccccca 16

<210> 1976

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1976

acccgtcagc ctcagc 16

<210> 1977

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1977

cttgctatt caccac 16

<210> 1978

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1978

cggacaagcc ttacag 16

<210> 1979

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1979

cacacttacc ccgctc 16

<210> 1980

<211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1980
 cctcccccttg tgtgtc 16

<210> 1981
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1981
 ccgcttcctt gactgt 16

<210> 1982
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1982
 cagctccctt actagg 16

<210> 1983
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1983

aggtattgac cgccag 16
 <210> 1984
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1984

ggtaaattcca tcccct	16
<210> 1985	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1985	
gcccgatcac cttaga	16
<210> 1986	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1986	
gtctaactgg cctggc	16
<210> 1987	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1987	
ctaagctgtg tctcat	16
<210> 1988	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 1988	
tgtttcaagt gccaga	16
<210> 1989	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	

<220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1989
 tgcagtgggtc aagcat 16
 <210> 1990
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1990
 gcgattcctt gcctct 16
 <210> 1991
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1991

 ataatagagg cagcca 16
 <210> 1992
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1992
 gtcagaaggc ctctta 16
 <210> 1993
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1993
 tatttatecg acctct 16
 <210> 1994
 <211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1994

gaggtggttg gagcta 16

<210> 1995

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1995

cagatcccaa ttcttc 16

<210> 1996

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1996

gagtctttcc aatcct 16

<210> 1997

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1997

tctcaatccc aacccc 16

<210> 1998

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 1998

cctcaatccc aaccca 16

<210> 1999
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 1999

tagtggcaag aaccac 16

<210> 2000
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2000

cgcgcgaaatg cctgcc 16

<210> 2001
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2001

gacacgtgct tgatta 16

<210> 2002
 <211> 16
 <212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2002

ggcactggtc atggac 16

<210> 2003
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 2003	
gcgccatcct tcaatc	16
<210> 2004	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 2004	
gatccaccca tgacct	16
<210> 2005	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 2005	
gctgtgactc agatca	16
<210> 2006	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 2006	
ctcttcgcat ggacac	16
<210> 2007	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 2007	
gccaagcct acatgc	16
<210> 2008	
<211> 16	
<212> DNA	

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2008
 gtgcgattaa gcccga 16
 <210> 2009
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2009
 gctttagtaa gggatt 16
 <210> 2010
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2010
 tgtgcaatca ggtgga 16
 <210> 2011
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2011
 ccggcctgga tacagc 16
 <210> 2012
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2012
 cggccaatgg gaaagg 16
 <210> 2013

<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 2013	
tggaggagta gggaat	16
<210> 2014	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 2014	
cccgaagagt caagtc	16
<210> 2015	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 2015	
gtgctgcatt gcatga	16
<210> 2016	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 2016	
acacgccagg tgaaaa	16
<210> 2017	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 2017	
atgcatgcct acccaa	16

<210> 2018
 <211> 16
 <212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2018
 gttactctgt gatcca 16

<210> 2019
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2019
 aacattgtgt agctgc 16

<210> 2020
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2020
 gagactgaag ccctca 16

<210> 2021
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2021
 cactgcctag aaaggc 16

<210> 2022
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 2022	
tgtagtatcc agagta	16
<210> 2023	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 2023	
agatgacctg cagatg	16
<210> 2024	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 2024	
aaaccatgaa ttaggt	16
<210> 2025	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 2025	
ttgctacttt acacca	16
<210> 2026	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 2026	
ggcattagga taggca	16
<210> 2027	
<211> 16	
<212> DNA	

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 2027

cactcagact gtctga 16

<210> 2028

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 2028

agatccggaa taacca 16

<210> 2029

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 2029

attgacaacc atccta 16

<210> 2030

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 2030

actcattggt ctacag 16

<210> 2031

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 2031

atgccttgtg cctatt 16

<210> 2032

<211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2032
 actctgaggc cttagg 16
 <210> 2033
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2033
 gcattactca gcatgt 16
 <210> 2034
 <211> 16
 <212> DNA

 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2034
 ccagtcacca ccattg 16
 <210> 2035
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2035
 ggtctaactc taaggg 16
 <210> 2036
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2036

tgtcctttaa agtatc	16
<210> 2037	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 2037	
tcatgtggca acctgt	16
<210> 2038	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 2038	
aatctgcacc tggcag	16
<210> 2039	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 2039	
catggetatt gcttcc	16
<210> 2040	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 2040	
gggctatatt gccagc	16
<210> 2041	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 2041

ccagagcctt gatcag

16

<210> 2042

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 2042

ggtgggttat ctgaga

16

<210> 2043

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 2043

tagctccatg ctgtgt

16

<210> 2044

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 2044

gggaatttat gctgcc

16

<210> 2045

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 2045

tgatgaagtt ccacct

16

<210> 2046

<211> 16

<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 2046	
taggcacaga caacct	16
<210> 2047	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 2047	
tcgaactaca ggactc	16
<210> 2048	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 2048	
ttctgggaaa ctctct	16
<210> 2049	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 2049	
agctcacacc caaaaa	16
<210> 2050	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 2050	
tctgttacct tgagga	16

<210> 2051
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2051
 tggtcatgtc aactgt 16
 <210> 2052
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2052
 gtaagccttc acaggg 16
 <210> 2053
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2053
 ctcaccagag ttgtcc 16
 <210> 2054
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2054
 catccctgac aggtcc 16
 <210> 2055
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 2055	
cccttctaac caagga	16
<210> 2056	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 2056	
ggatgagatg catcca	16
<210> 2057	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 2057	
atggcggatga agcagc	16
<210> 2058	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 2058	
tgaataccat cccgcg	16
<210> 2059	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 2059	
gcgccatctg ccctgt	16
<210> 2060	
<211> 16	
<212> DNA	

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 2060

tgggttggag gagtgg

16

<210> 2061

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 2061

tggtggtggg attggt

16

<210> 2062

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 2062

ttggtggtgg gattgg

16

<210> 2063

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 2063

ggtggtggaa ttggtg

16

<210> 2064

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 2064

gagattggtg gtgggt

16

<210> 2065

<211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2065
 gtggtgggat tgggtgc 16
 <210> 2066
 <211> 16
 <212> DNA

 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2066
 tggcgggatt ggtggt 16
 <210> 2067
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2067
 cggtggtggg attggt 16
 <210> 2068
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2068
 tcggtggtgg gattgg 16

 <210> 2069
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2069

atcgggtggtg ggattg	16
<210> 2070	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 2070	
gacggtggtt gggatt	16
<210> 2071	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 2071	
ggatcgggtg tgggat	16
<210> 2072	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 2072	
gcgggatcgg tgggtg	16
<210> 2073	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 2073	
ggcgggatcg gtggtg	16
<210> 2074	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	

<220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2074
 gagcaaatac agtcca 16
 <210> 2075
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2075
 gtctcgatgg caagct 16
 <210> 2076
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2076
 ctcaccggtg ctctgc 16
 <210> 2077
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2077
 tcctggaggc accaat 16
 <210> 2078
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2078
 agccctgttt ggtttt 16
 <210> 2079
 <211> 16
 <212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2079

tgaagggcga ggcgca 16

<210> 2080

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 2080

aagaggatgt caggct 16

<210> 2081

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 2081

ttgaggaaag acctgc 16

<210> 2082

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 2082

gctgagtgtg acttaa 16

<210> 2083

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 2083

gtacatgact ccagtg 16

<210> 2084

<211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2084
 gtagagcatg gagcga 16

<210> 2085
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2085
 cgcttcagga aagcga 16

<210> 2086
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2086
 ggcaggagac tccgtg 16

<210> 2087
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2087

atccttcccc tcgcaa 16
 <210> 2088
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2088

taatgagtgg gttagg	16
<210> 2089	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 2089	
ggagcagtgc aggtaa	16
<210> 2090	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 2090	
ataggcaatt gttcct	16
<210> 2091	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 2091	
agtcctacaa ttacca	16
<210> 2092	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 2092	
gggtcctat tccacc	16
<210> 2093	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	

<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 2093	
gccagctatg ggaaca	16
<210> 2094	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 2094	
cccatctcg aagccc	16
<210> 2095	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 2095	
gagtacattg ggccca	16
<210> 2096	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 2096	
gagccttcg cctctc	16
<210> 2097	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 2097	
cggacettca tcttca	16
<210> 2098	
<211> 16	

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 2098

tctagaggcc gcctgc 16

<210> 2099

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 2099

cctataactg ctgctc 16

<210> 2100

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 2100

glatcactgt actagt 16

<210> 2101

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 2101

agtatcactg tactag 16

<210> 2102

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 2102

cagtatcact gtacta 16

<210> 2103
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2103

taacagtatc actgta 16

<210> 2104
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2104

ctaacagtat cactgt 16

<210> 2105
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2105

tctaacagta tcactg 16

<210> 2106
 <211> 16
 <212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2106

ataactctaa cagtat 16

<210> 2107
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 2107	
ctataactct aacagt	16
<210> 2108	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 2108	
actgtcctat aactct	16
<210> 2109	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 2109	
tatatcactg tcctat	16
<210> 2110	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 2110	
cctatatcac tgcct	16
<210> 2111	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 2111	
tcctatatca ctgtcc	16
<210> 2112	
<211> 16	
<212> DNA	

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2112
 cactgtccta tatcac 16
 <210> 2113
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2113
 gtatcactgt cctata 16
 <210> 2114
 <211> 16
 <212> DNA

 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2114
 agtatcactg tcctat 16
 <210> 2115
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2115
 cagtatcact gtccta 16
 <210> 2116
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2116
 aacagtatca ctgtcc 16

 <210> 2117

<211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2117
 tataacagta tcactg 16
 <210> 2118
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2118
 ctataacagt atcact 16
 <210> 2119
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2119

 taactataac agtatac 16
 <210> 2120
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2120
 tataactata acagta 16
 <210> 2121
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2121
 cctataacta taacag 16

<210> 2122
 <211> 16
 <212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2122
 tacctataac tctaac 16

<210> 2123
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2123
 actgtaccta taactc 16

<210> 2124
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2124
 tatcactgta cctata 16

<210> 2125
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2125
 acaatatcac tgtacc 16

<210> 2126
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 2126	
aacaatatca ctgtac	16
<210> 2127	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 2127	
atatcactgt acctgt	16
<210> 2128	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 2128	
tatatcactg tacctg	16
<210> 2129	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 2129	
ctatatcact gtacct	16
<210> 2130	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 2130	
cctatatcac tgtacc	16
<210> 2131	
<211> 16	
<212> DNA	

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 2131

cctataacag tatcac

16

<210> 2132

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 2132

tcctataaca gtatca

16

<210> 2133

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 2133

ttcctataac agtatc

16

<210> 2134

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 2134

gtttcctata acagta

16

<210> 2135

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 2135

ctatgtcact gtacct

16

<210> 2136

<211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2136
 cctatgtcac tgtacc 16
 <210> 2137
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2137
 tcctatgtca ctgtac 16
 <210> 2138
 <211> 16
 <212> DNA

 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2138
 cactgtccta tgtcac 16
 <210> 2139
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2139
 tcactgtcct atgtca 16
 <210> 2140
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2140

atcactgtcc tatgtc	16
<210> 2141	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 2141	
ctacctataa ctctaa	16
<210> 2142	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 2142	
gtcctataac tataac	16
<210> 2143	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 2143	
tatatcactg taccta	16
<210> 2144	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 2144	
tacctataac agtatc	16
<210> 2145	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	

<220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2145
 actgtaccta taacag 16
 <210> 2146
 <211> 16
 <212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2146
 caccgtacta gtttcc 16
 <210> 2147
 <211> 16
 <212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2147
 tataacagta tcaccg 16
 <210> 2148
 <211> 16
 <212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2148
 ctataacagt atcacc 16

<210> 2149
 <211> 16
 <212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2149
 acctataact ataaca 16
 <210> 2150
 <211> 16

<212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2150
 tggcgggatc ggtggt 16
 <210> 2151
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2151

 tgggtggcggg atcggg 16
 <210> 2152
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2152
 ttggtggcgg gatcgg 16
 <210> 2153
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2153
 attggtggcg ggatcg 16
 <210> 2154
 <211> 16
 <212> DNA

 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2154
 gattggtggc gggatc 16

<210> 2155
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2155
 gttggtggcg ggatcg 16
 <210> 2156
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2156
 ggttggtggc gggatc 16
 <210> 2157
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2157
 tggttggtgg cgggat 16
 <210> 2158
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2158
 gaacacatca gggatt 16
 <210> 2159
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 2159

tttctatggg cctgac

16

<210> 2160

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 2160

gctgtcactt aagcca

16

<210> 2161

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 2161

tctagggcca cacctc

16

<210> 2162

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 2162

gttctacaca cagtac

16

<210> 2163

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 2163

gcagtatgtt caatcc

16

<210> 2164

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2164

cccacatgta ccaccg 16

<210> 2165
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2165

gtatggcaga gccct 16

<210> 2166
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2166

cccatcttgg gacttt 16

<210> 2167
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2167

tggtcccaaa ttggag 16

<210> 2168
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2168

ctcacaatac tgagcc 16

<210> 2169

<211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2169
 ggagatatca ggtgca 16
 <210> 2170
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2170
 caaggcatgt gtgcac 16
 <210> 2171
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2171
 gccttattct gtgcaa 16
 <210> 2172
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2172
 aggtgtggcg cgcgcc 16
 <210> 2173
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2173

ctctatacag ctgggc	16
<210> 2174	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 2174	
gctgatcttc taatgc	16
<210> 2175	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 2175	
cctcattgct ccacta	16
<210> 2176	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 2176	
tggaagaaa ctagca	16
<210> 2177	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 2177	
gaatgttgct gtccca	16
<210> 2178	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	

<220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2178
 gcatcatgct tactgc 16
 <210> 2179
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2179
 gcggcagtag tgaatc 16
 <210> 2180
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2180
 cctacctaatt tcttcc 16
 <210> 2181
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2181
 aactgggcag tccttc 16
 <210> 2182
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2182
 ccagcgcaat tctgct 16
 <210> 2183
 <211> 16
 <212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2183

cgtttcctc aactcc 16

<210> 2184

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 2184

cacggcaagt cgcggg 16

<210> 2185

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 2185

cagttgtatc cctccc 16

<210> 2186

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 2186

gcctctcaga cggcac 16

<210> 2187

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 2187

ctgatccac ttgccc 16

<210> 2188

<211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2188
 agtctcttttc ctaccc 16

<210> 2189
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2189
 ccacgatgct ctggcc 16

<210> 2190
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2190
 tcggctcctg gcagca 16

<210> 2191
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2191

accattcctg accatg 16
 <210> 2192
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2192

cccgaggtca cataat	16
<210> 2193	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 2193	
ttacaacaga ccagg	16
<210> 2194	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 2194	
agcagggtat cttcac	16
<210> 2195	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 2195	
gaagttcttg tgtctt	16
<210> 2196	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 2196	
ccaacctcta aggcta	16
<210> 2197	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	

<220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2197
 atgcttacct ttctcc 16
 <210> 2198
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2198
 acgacccact ccatgt 16
 <210> 2199
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2199

 tgcttaaaag tctccc 16
 <210> 2200
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2200
 gccctagaag ggccca 16
 <210> 2201
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2201
 gcgggtggtc ttgcac 16
 <210> 2202
 <211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 2202

gctcccgcc attagc 16

<210> 2203

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 2203

tctccatagt gagacg 16

<210> 2204

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 2204

tggcaagcta cttct 16

<210> 2205

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 2205

gggagctttc atggct 16

<210> 2206

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 2206

aatgcaggcc agcatc 16

<210> 2207
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2207

gaaaagccct ccgagc 16

<210> 2208
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2208

caacaatcca aagcct 16

<210> 2209
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2209

ccccccagaa atcca 16

<210> 2210
 <211> 16
 <212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2210

gaccttgctt ccatgt 16

<210> 2211
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 2211	
gagagacggc accctg	16
<210> 2212	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 2212	
gggaaggtag tgttac	16
<210> 2213	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 2213	
gtgaatcaga gcagtg	16
<210> 2214	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 2214	
tcacctgtga gtaacc	16
<210> 2215	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 2215	
gagttacctt acaagc	16
<210> 2216	
<211> 16	
<212> DNA	

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 2216

tctcaagcag cctatt 16

<210> 2217

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 2217

gcccctctta aatagc 16

<210> 2218

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 2218

gatatcatca tcccaa 16

<210> 2219

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 2219

gtatccctt ttctat 16

<210> 2220

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 2220

agtatctcat gtgcct 16

<210> 2221

<211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2221
 caagaccttg cttgcc 16
 <210> 2222
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2222
 tagtcacta cacagc 16
 <210> 2223
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2223

 acgacaatgg gattca 16
 <210> 2224
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2224
 gaatctcctt gattca 16
 <210> 2225
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2225
 tagaggatc ccagga 16

<210> 2226
 <211> 16
 <212> DNA

 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2226
 ccaggtgcag cacgga 16
 <210> 2227
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2227
 gcgtttgctc ttcttcttgc gtttttt 27
 <210> 2228
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Primer
 <400> 2228
 tgcctgctgt tcagctttct c 21

 <210> 2229
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Primer
 <400> 2229
 tggcaaagtc cctgtaatgc t 21
 <210> 2230
 <211> 30
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Probe

<400> 2230	
cgtgactcca cccaagaga caataaacg	30
<210> 2231	
<211> 27	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Primer	
<400> 2231	
acaagtgcac ttacagacc agagtac	27
<210> 2232	
<211> 22	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Primer	
<400> 2232	
ggttgctccgc tgactttatg ct	22
<210> 2233	
<211> 24	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Probe	
<400> 2233	
aagcacagtgc caagcggaac accc	24
<210> 2234	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Primer	
<400> 2234	
gagtcacca gagcctacag t	21
<210> 2235	
<211> 26	
<212> DNA	

<213> Artificial sequence	
<220><223> Primer	
<400> 2235	
tgtcatttgt tattgtgatg gctaca	26
<210> 2236	
<211> 25	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Probe	
<400> 2236	
ctgccctcta cctggccaac aacca	25
<210> 2237	
<211> 27	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Primer	
<400> 2237	
acaagtgcac ttacagacc agagtac	27
<210> 2238	
<211> 22	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Primer	
<400> 2238	
ggttgccgc tgactttatg ct	22
<210> 2239	
<211> 24	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Probe	
<400> 2239	
aagcacagtg caagcggaac accc	24
<210> 2240	
<211> 25	

<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Primer	
<400> 2240	
agaccattt cctcaaggta gaact	25
<210> 2241	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Primer	
<400> 2241	
cgcagcgacg ctcacg	16
<210> 2242	
<211> 25	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Probe	
<400> 2242	
tctttgggtc cagtggcacc ctctt	25
<210> 2243	
<211> 1837	
<212> DNA	
<213> mus musculus	
<400> 2243	
actgattctc tgcgactgtc tgctcagtct gtcctgaagc tgcctagtga ccaagaactt	60
ggaccaggac gcagctgaca tcgctgccca gatggcctcc aggctgaccc cactgaccct	120
cctgtgtgtg ctgtgggtg gggatagagc cttctcagat cccgaagcta ccagccacag	180
caccaggat ccaactggagg ctcaagcgaa aagcagagag agcttcctg aaagagatga	240
ctcctggagt cccccagagc ctacagtact gcctctacc tggccaacaa ccagtgtagc	300
catcacaata acaaatgaca ccatgggtaa agtagccaac gattccttca gccagcacag	360
ccagccagct gctcagctac ccacagattc tccaggacag cccctctga attcttcag	420
ccagccctcc actgcctcag atttccac ccaggctact actgaaccct tctgcccgga	480

gccgcttgct cagtgtcttg attcagacag agactcctca gaggcaaagc tctcagaggc 540
 tttagacagat ttctctgtga agctctacca cgccttctca gctaccaaga tggctaagac 600
 caacatggcc ttttcccat tcagcattgc cagcctcctc acacaggttc ttcttggggc 660
 tggagacagc accaagagca acttgagagc catcctttcc taccccaagg attttgcttg 720
 tgtccaccaa gactaaagg gcttttcatc caaagggtgc acttctgtgt ctcagatttt 780
 ccacagccca gatctggcca taaggagacac ctatgtgaat gcctctcaga gcctgtatgg 840
 aagcagcccc agagtctctgg gccagacag tgcgtctaac ttagaactca tcaacacctg 900

ggtggctgag aacaccaacc ataagatccg caagctgctg gacagcctgc ctctgacac 960
 ctgcctcgtc ctctcaatg ctgtctactt gagtgccaag tggaagataa ctttgaacc 1020
 aaaaaagatg atggcgctt tcttctacaa aaactctatg attaaagtgc ccatgatgag 1080
 tagcgtaaag taccctgtgg cccaattcga tgaccatact ttgaaggcca aggtgggaca 1140
 gctgcagctc ttcacaaacc tgagctttgt gatcgtggta cccgtgttcc caaagcacca 1200
 acttaaagat gtagaaaagg ctctcaacc cactgtcttc aaggccatca tgaagaagct 1260
 ggagctgtcc aaattctgc ccacttacct gacgatgcct catataaaag taaagagcag 1320

ccaagacatg ctgtcagtc tggagaaact ggaattcttt gacttcactt acgatctcaa 1380
 cctgtgcggg ctgaccgagg acccagatct tcagggtgtc gccatgaaac acgagacagt 1440
 gctggaactg acagagtcag ggggtggaagc agctgcagcc tctgccatct ctttggccg 1500
 aagcttacc atctttgagg tgcagcgacc tttcctcttc ctgctctggg accagcaaca 1560
 caggttccca gtcttcattg gtcgtgtata tgaccccgagg ggttgagaca ggcttgggta 1620
 aacattgtca cccaagcttc agctcctccg gttatttctt tgccactgcc tgcccagacc 1680
 acttcaagcc ttaggaactg gcagacggaa ctgtttccat ccaccaaccc ccagggtatc 1740

aaccactttt ttgcagcttt tacggttcaa acctatcaaa ctctacaaat aaaacttgca 1800
 gacattttct tctctacta aaaaaaaaaa aaaaaaa 1837

<210> 2244

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 2244

ggcatattgg tttttggaat 20

<210> 2245

<211> 20

<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 2245	
aaagtgggtg ataccctggg	20
<210> 2246	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 2246	
ccttcctga aggttcctcc	20
<210> 2247	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 2247	
gcatgggaca gagatggtgc	20
<210> 2248	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 2248	
agcttcttgt ccagctttat	20
<210> 2249	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 2249	
agcttcttgt ccagctttat a	21

<210> 2250	
<211> 14	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 2250	
tcagtcatga cttc	14
<210> 2251	
<211> 15	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 2251	
tcagtcatga cttca	15
<210> 2252	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 2252	
gctgattaga gagaggtccc	20
<210> 2253	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 2253	
tcccatTTca ggagacctgg	20
<210> 2254	
<211> 15	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	

<400> 2254	
atcagtcatg acttc	15
<210> 2255	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 2255	
cgggtgcaagg cttaggaatt	20
<210> 2256	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 2256	
gcttcagtca tgacttcctt	20
<210> 2257	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 2257	
gcttcagtca tgacttcctt a	21
<210> 2258	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 2258	
agcttcagtc atgacttcct t	21
<210> 2259	
<211> 20	
<212> DNA	

<213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2259
 tggtaatcca ctttcagagg 20
 <210> 2260
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2260
 tggtaatcca ctttcagagg a 21
 <210> 2261
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2261
 tgcttcagtc atgacttcct t 21

 <210> 2262
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2262
 cactgatttt tgcccaggat 20
 <210> 2263
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2263
 cactgatttt tgcccaggat a 21
 <210> 2264
 <211> 21

<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 2264	
aagcttcttg tccagcttta t	21
<210> 2265	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 2265	
acccaattca gaaggaagga	20
<210> 2266	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 2266	
acccaattca gaaggaagga a	21
<210> 2267	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 2267	
aaccaattc agaaggaagg a	21
<210> 2268	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Synthetic Oligonucleotide	
<400> 2268	
atggtaatcc actttcagag g	21

<210> 2269
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2269
 tcttggttac atgaaatccc 20

<210> 2270
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2270
 tcttggttac atgaaatccc a 21

<210> 2271
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2271
 attcactttc ataatgctgg 20

<210> 2272
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide
 <400> 2272

attcactttc ataatgctgg a 21
 <210> 2273
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 2273
atcttggtta catgaaatcc c 21
<210> 2274
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic Oligonucleotide
<400> 2274
atgcatggtg atgcttctga 20
<210> 2275
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic Oligonucleotide
<400> 2275
cagctttatt agggacagca 20
<210> 2276
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic Oligonucleotide
<400> 2276
cagctttatt agggacagca a 21
<210> 2277
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic Oligonucleotide
<400> 2277
acagctttat tagggacagc a 21
<210> 2278
<211> 16
<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 2278

ttcagtcatg acttcc 16

<210> 2279

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(4)

<223> Bases at these positions are RNA

<220><221> misc_feature

<222> (15)..(18)

<223> Bases at these positions are RNA

<400> 2279

gcuucagtca tgactucc 18

<210> 2280

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 2280

tgctccgttg gtgcttggtc a 21

<210> 2281

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Oligonucleotide

<400> 2281

tgctccgttg gtgcttggtc 20