(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0023647
(43) 공개일자 2023년02월17일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12Q 1/682 (2018.01) *C12Q 1/6841* (2018.01)
C12Q 1/6876 (2018.01)
(52) CPC특허분류
C12Q 1/682 (2018.05)
C12Q 1/6841 (2018.05)
(21) 출원번호 10-2022-7043398
(22) 출원일자(국제) 2021년06월18일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2022년12월09일
(86) 국제출원번호 PCT/EP2021/066668
(87) 국제공개번호 WO 2021/255263
국제공개일자 2021년12월23일
(30) 우선권주장
PCT/EP2020/067010 2020년06월18일
유럽특허청(EPO)(EP)
(뒷면에 계속)

(71) 출원인
리졸브 바이오사이언시즈 게엠베하
독일 몬하임 암 라인 40789 알프레드-노벨-슈트라세. 10
(72) 발명자
게이펠, 안드레아스
독일 40822 메트만 바이마르 스트라세 47
라이네케, 프랑크
독일 45134 에센 하이데항 9
코프하게, 크리스티안
독일 40764 랑엔펠트 제프 헤르베르거 스트라세 6세
(74) 대리인
특허법인에이아이피

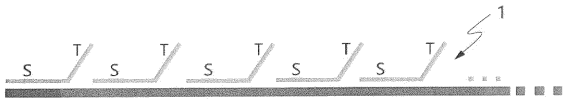
전체 청구항 수 : 총 132 항

(54) 발명의 명칭 **샘플에서 상이한 분석물 및 분석물의 상이한 하위군/변형을 검출하기 위한 멀티플렉스 방법**

(57) 요 약

본 명세서에 제공된 기술은 샘플에서 상이한 분석물 및 분석물의 상이한 하위군/변형을 검출하기 위한 멀티플렉스 방법 및 키트뿐만 아니라 물질 및/또는 약물을 스크리닝, 식별 및/또는 테스트하기 위한 시험관내 방법과 질환의 진단을 위한 시험관내 방법 및 광 멀티플렉싱 시스템에 관한 것이다.

대 표 도 - 도1



표적 핵산 서열

(52) CPC특허분류
C12Q 1/6876 (2018.05)
C12Q 2537/143 (2013.01)
C12Q 2563/107 (2013.01)
C12Q 2565/1015 (2013.01)

(30) 우선권주장
63/127,910 2020년12월18일 미국(US)
63/129,942 2020년12월23일 미국(US)

명 세 서

청구범위

청구항 1

샘플에서 상이한 분석물 및 분석물의 상이한 하위군/변형을 검출하기 위한 멀티플렉스 방법으로서,

(A) 적어도 이십(20)개 상이한 분석물을 인코딩하기 위해 분석물-특이적 프로브의 적어도 20개 상이한 세트와 샘플을 접촉시키는 단계로서, 각 분석물-특이적 프로브의 세트는 상이한 분석물과 상호작용하며, 여기서 분석물이 핵산인 경우 분석물-특이적 프로브의 각 세트는 동일한 분석물의 상이한 하위-구조와 특이적으로 상호작용하는 적어도 다섯(5)개 분석물-특이적 프로브를 포함하며, 각각의 분석물-특이적 프로브는

(aa) 인코딩되는 상이한 분석물 중 하나와 특이적으로 상호작용하는 결합 요소(S), 및

(bb) 인코딩되는 분석물에 고유한 뉴클레오티드 서열(고유 식별자 서열)을 포함하는 식별자 요소(T)를 포함하며,

여기서 분석물-특이적 프로브의 특정 세트의 분석물-특이적 프로브는 식별자 요소(T)의 뉴클레오티드 서열에서 다른 세트의 분석물-특이적 프로브의 분석물-특이적 프로브와 상이하고,

여기서 분석물-특이적 프로브의 각 세트에서 분석물-특이적 프로브는 동일한 분석물에 결합하고 상기 분석물에 고유한 식별자 요소(T)의 동일한 뉴클레오티드 서열을 포함하는, 단계; 및

샘플을 적어도 하나의 분석물 및 그의 변형에 대한 분석물-특이적 프로브의 적어도 2개의 상이한 세트와 접촉시키는 단계로서,

여기서 분석물-특이적 프로브는 동일한 분석물과 상호작용하지만 동일한 분석물의 다른 하위-구조와 특이적으로 상호작용하는 이들 상이한 세트로 구성되고,

여기서 분석물-특이적 프로브의 제1 세트의 분석물-특이적 프로브는 분석물의 모든 변형에 포함되는 하위-구조와 상호작용하고,

여기서 분석물-특이적 프로브의 제2 세트의 분석물-특이적 프로브(하위군-특이적 프로브)는 분석물의 특이적 변형에만 포함되는 하위-구조와 상호작용하고,

여기서 분석물-특이적 프로브의 제1 세트의 분석물-특이적 프로브는 인코딩되는 분석물에 고유한 뉴클레오티드 서열(고유 식별자 서열)을 포함하는 동일한 식별자 요소(T)를 포함하고,

여기서 분석물-특이적 프로브의 제2 세트의 분석물-특이적 프로브는 인코딩되는 분석물에 고유한 뉴클레오티드 서열(고유 식별자 서열)을 포함하는 동일한 식별자 요소(T)를 포함하고,

여기서 분석물-특이적 프로브의 제1 세트의 분석물-특이적 프로브의 식별자 요소(T) 및 분석물-특이적 프로브의 제2 세트의 분석물-특이적 프로브의 식별자 요소(T)는 상이한 디코딩 올리고뉴클레오티드 및/또는 비-신호 디코딩 올리고뉴클레오티드를 결합하기 위해 상이한, 단계

(B) 샘플을 분석물당 디코딩 올리고뉴클레오티드 적어도 하나의 세트와 접촉시키는 단계로서, 여기서 개별 분석물에 대한 디코딩 올리고뉴클레오티드의 각 세트에서 각각의 디코딩 올리고뉴클레오티드는

(aa) 상응하는 분석물-특이적 프로브 세트의 식별자 요소(T)의 적어도 고유 식별자 서열의 섹션에 본질적으로 상보적인 뉴클레오티드 서열을 포함하는 식별자 연결자 요소(t), 및

(bb) 신호 올리고뉴클레오티드의 특이적 혼성화를 허용하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 번역자 요소(c)를 포함하며;

여기서 개별 분석물에 대한 세트의 디코딩 올리고뉴클레오티드는 제1 연결 요소(t)에서 상이한 분석물에 대한 또 다른 세트의 디코딩 올리고뉴클레오티드와 상이한, 단계; 및

(C) 샘플을 적어도 신호 올리고뉴클레오티드 세트와 접촉시키는 단계로서, 각 신호 올리고뉴클레오티드는

(aa) 디코딩 올리고뉴클레오티드에 포함된 번역자 요소(c)의 적어도 뉴클레오티드 서열 섹션에 본질적으로 상보적인 뉴클레오티드 서열을 포함하는 번역자 연결자 요소(C), 및

(bb) 신호 요소를 포함하는, 단계

(D) 신호 요소에 의해 야기된 신호를 검출하는 단계;

(E) 샘플로부터 디코딩 올리고뉴클레오티드 및 신호 올리고뉴클레오티드를 선택적으로 제거하고, 이에 의해 인코딩되는 분석물에 대한 분석물-특이적 프로브의 특이적 결합을 본질적으로 유지하는 단계;

(F) 분석물당 코드워드로 인코딩 체계를 생성하기 위해 단계 B) 내지 E)를 포함하는 적어도 세(3)개 추가 주기를 수행하는 단계,

(G) 하위군-특이적 프로브를 식별하기 위해 단계 B) 내지 E)를 포함하는 적어도 하나(1)의 추가 주기를 수행하는 단계로서, 여기서 특히 주기는 단계 (D)에서 중단할 수 있는, 단계를 포함하는, 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 분석물-특이적 프로브 세트는 분석물의 동일한 변형의 상이한 하위-구조와 특이적으로 상호작용하는 적어도 다섯(5)개의 하위군-특이적 프로브를 포함하는, 방법.

청구항 3

제1항 내지 제2항 중 어느 한 항에 있어서, 분석물이 핵산인 경우, 분석물-특이적 프로브의 각 세트는 각각의 분석물-특이적 프로브인, 동일한 분석물의 상이한 하위-구조와 특이적으로 상호작용하는 적어도 열(10)개 분석물-특이적 프로브, 특히 적어도 열다섯(15)개 분석물-특이적 프로브, 특히 적어도 이십(20)개 분석물-특이적 프로브를 포함하는, 방법.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 하나의 분석물의 하위군을, 식별자 요소(T)의 뉴클레오티드 서열에서 분석물-특이적 프로브의 또 다른 세트의 분석물-특이적 프로브와 상이한 적어도 다섯(5)개의 하위군-특이적 프로브의 세트와 접촉시키는 것인, 방법.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 샘플을 제30항에 따른 하위군-특이적 프로브 세트와 접촉시키고, 여기서 방법은 하위군-특이적 프로브와 상호작용하는 변형을 식별하기 위한 단계 B) 내지 E)를 포함하는 부가적인 추가 주기를 포함하며, 여기서 특히 주기는 단계 (D)에서 중단할 수 있는, 방법.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 모든 단계는 자동화되고, 특히 단계 B) 내지 G)는 특히 로봇 시스템을 사용하여 자동화되는, 방법.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 모든 단계는 유체 시스템에서 수행되는, 방법.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 각 분석물은 특정 코드워드와 연관되고, 상기 코드워드는 다수의 위치를 포함하고, 각 위치는 복수의 코드워드를 갖는 복수의 구별가능한 인코딩 체계를 초래하는 하나의 주기에 상응하는, 방법.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 인코딩 체계는 미리결정되어, 인코딩되는 분석물에 할당되는, 방법.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 수행된 주기에서 개별 분석물에 대해 획득된 코드워드는 검출된 신호 및 추가로 검출되지 않은 신호에 상응하는 적어도 하나의 요소를 포함하는, 방법.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 하나의 주기 내에서 적어도 하나의 분석물에 대해 신호가 검출되지 않는, 방법.

청구항 12

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 하나의 개별 분석물에 대해 코드워드의 위치가 제로(0)인, 방법.

청구항 13

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 코드워드 제로(0)는 개별 분석물에 대한 상응하는 분석물-특이적 프로브의 식별자 요소(T)의 적어도 고유 식별자 서열의 섹션에 본질적으로 상보적인 뉴클레오티드 서열을 포함하는 식별자 연결자 요소(t)를 갖는 무 디코딩 올리고뉴클레오티드를 사용함에 의해 생성되는, 방법.

청구항 14

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 하나의 개별 분석물에 대해 코드워드의 위치가 이 주기에서 제로(0)이면 개별 분석물에 대한 상응하는 분석물-특이적 프로브의 식별자 요소(T)의 적어도 고유 식별자 서열의 섹션에 본질적으로 상보적인 뉴클레오티드 서열을 포함하는 식별자 연결자 요소(t)를 갖는 무 상응하는 디코딩 올리고뉴클레오티드가 사용되는, 방법.

청구항 15

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 샘플은 신호 올리고뉴클레오티드의 적어도 2개의 상이한 세트와 접촉되고, 여기서 각 세트에서 신호 올리고뉴클레오티드는 상이한 신호 요소를 포함하고 상이한 연결자 요소(C)를 포함하는, 방법.

청구항 16

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, 샘플은 분석물당 디코딩 올리고뉴클레오티드의 적어도 2개의 상이한 세트와 접촉되고,

여기서 이들 상이한 세트에 포함된 디코딩 올리고뉴클레오티드는 상응하는 분석물-특이적 프로브 세트의 식별자 요소(T)의 적어도 고유 식별자 서열의 섹션에 본질적으로 상보적인 뉴클레오티드 서열을 포함하는 동일한 식별자 연결자 요소(t)를 포함하고,

여기서 분석물당 상이한 세트의 디코딩 올리고뉴클레오티드는 신호 올리고뉴클레오티드의 특이적 혼성화를 허용하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 번역자 요소(c)에서 상이한, 방법.

청구항 17

제1항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 샘플은 분석물당 적어도 2개의 상이한 디코딩 올리고뉴클레오티드의 세트와 접촉되고,

여기서 이들 상이한 세트에 포함된 디코딩 올리고뉴클레오티드는 상응하는 분석물-특이적 프로브 세트의 식별자 요소(T)의 적어도 고유 식별자 서열의 섹션에 본질적으로 상보적인 뉴클레오티드 서열을 포함하는 동일한 식별자 연결자 요소(t)를 포함하고,

여기서 분석물당 상이한 세트의 디코딩 올리고뉴클레오티드는 신호 올리고뉴클레오티드의 특이적 혼성화를 허용하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 번역자 요소(c)에서 상이하고;

여기서 분석물당 단지 한 세트의 디코딩 올리고뉴클레오티드가 주기당 사용되고/되거나 여기서 상이한 세트의 디코딩 올리고뉴클레오티드가 동일한 주기에서 상응하는 신호 올리고뉴클레오티드의 세트와 조합하여 상이한 주기에서 사용되는, 방법.

청구항 18

제1항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 상이한 번역자 요소(c)를 포함하는 분석물당 디코딩 올리고뉴클레오티드의 상이한 세트의 수는 상이한 연결자 요소(C)를 포함하는 신호 올리고뉴클레오티드의 상이한 세트의 수에 상응하는, 방법.

청구항 19

제1항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 상이한 분석물에 대한 디코딩 올리고뉴클레오티드의 모든 세트는 동일한 유형(들)의 번역자 요소(들)(c)를 포함하는, 방법.

청구항 20

제1항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 샘플은 분석물-특이적 프로브의 특정 식별자 요소(T)에 결합하기 위해 적어도 비-신호 디코딩 올리고뉴클레오티드의 세트와 접촉되고, 여기서 비-신호 디코딩 올리고뉴클레오티드의 동일한 세트에서 디코딩 올리고뉴클레오티드는 동일한 상이한 식별자 요소(T)와 상호작용하며,

여기서 각각의 비-신호 디코딩 올리고뉴클레오티드는 적어도 고유 식별자 서열의 섹션에 본질적으로 상보적인 뉴클레오티드 서열을 포함하는 식별자 연결자 요소(t)를 포함하고, 신호 올리고뉴클레오티드의 특이적 혼성화를 허용하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 번역자 요소(c)를 포함하지 않는, 방법.

청구항 21

제1항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 샘플은 분석물-특이적 프로브의 적어도 2개의 상이한 식별자 요소(T)에 결합하기 위한 적어도 두(2)개의 상이한 비-신호 디코딩 올리고뉴클레오티드의 세트와 접촉되며, 각각의 비-신호 디코딩 올리고뉴클레오티드의 세트는 상이한 식별자 요소(T)와 상호작용하고,

여기서 각각의 비-신호 디코딩 올리고뉴클레오티드는 적어도 고유 식별자 서열의 섹션에 본질적으로 상보적인 뉴클레오티드 서열을 포함하는 식별자 연결자 요소(t)를 포함하고, 신호 올리고뉴클레오티드의 특이적 혼성화를 허용하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 번역자 요소(c)를 포함하지 않는, 방법.

청구항 22

제20항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 상이한 비-신호 디코딩 올리고뉴클레오티드의 세트는 상이한 비-신호 디코딩 올리고뉴클레오티드의 세트의 사전-혼합물에 포함되거나 별도로 존재할 수 있는, 방법.

청구항 23

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 샘플은 비-신호 올리고뉴클레오티드의 세트와 접촉되고, 각각의 비-신호 올리고뉴클레오티드는 하기를 포함하는, 방법:

(aa) 번역자 요소(c)의 적어도 뉴클레오티드 서열의 섹션에 본질적으로 상보적인 뉴클레오티드 서열을 포함하는 번역자 연결자 요소(C), 및

(bb) 소광제(Q), 신호 요소 및 소광제(Q), 또는 신호 요소를 포함하지 않음.

청구항 24

제1항 내지 제23항 중 어느 한 항에 있어서, 샘플은 적어도 두 세트의 비-신호 올리고뉴클레오티드와 접촉되고, 각각의 비-신호 올리고뉴클레오티드는 하기를 포함하는, 방법:

(aa) 번역자 요소(c)의 적어도 뉴클레오티드 서열의 섹션에 본질적으로 상보적인 뉴클레오티드 서열을 포함하는 번역자 연결자 요소(C), 및

(bb) 소광제(Q), 신호 요소 및 소광제(Q), 또는 신호 요소를 포함하지 않음.

청구항 25

제23항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서, 상이한 세트의 비-신호 올리고뉴클레오티드는 상이한 세트의 비-신호 올리고뉴클레오티드의 사전-혼합물에 포함되거나 별도로 존재할 수 있는, 방법.

청구항 26

제1항 내지 제25항 중 어느 한 항에 있어서, 디코딩 올리고뉴클레오티드의 특정 세트에서 디코딩 올리고뉴클레오티드는 특정 분석물에 고유한 동일한 식별자 요소(T)와 상호작용하는, 방법.

청구항 27

제1항 내지 제26항 중 어느 한 항에 있어서, 상이한 디코딩 올리고뉴클레오티드의 세트는 상이한 디코딩 올리고뉴클레오티드의 세트의 사전-혼합물에 포함되거나 별도로 존재할 수 있는, 방법.

청구항 28

제1항 내지 제27항 중 어느 한 항에 있어서, 상이한 분석물-특이적 프로브의 세트는 상이한 분석물-특이적 프로브의 세트의 사전-혼합물에 포함되거나 별도로 존재할 수 있는, 방법.

청구항 29

제1항 내지 제28항 중 어느 한 항에 있어서, 상이한 신호 올리고뉴클레오티드의 세트는 상이한 신호 올리고뉴클레오티드의 세트의 사전-혼합물에 포함되거나 별도로 존재할 수 있는, 방법.

청구항 30

제1항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 샘플은 바람직하게는 생물학적 조직을 포함하고, 더욱 바람직하게는 생물학적 세포 및/또는 추출물 및/또는 세포의 일부를 포함하는 생물학적 샘플인, 방법.

청구항 31

제30항에 있어서, 세포는 원핵 세포 또는 진핵 세포, 특히 포유동물 세포, 특히 인간 세포인, 방법.

청구항 32

제30항에 있어서, 생물학적 조직, 생물학적 세포, 추출물 및/또는 세포의 일부는 고정되는, 방법.

청구항 33

제1항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, 분석물은 세포-함유 샘플과 같은 투과성 샘플에 고정되는, 방법.

청구항 34

제1항 내지 제33항 중 어느 한 항에 있어서, 결합 요소(S)는 인코딩되는 분석물에 대한 특이적 결합, 바람직하게는 인코딩되는 분석물에 대한 특이적 혼성화를 허용하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산을 포함하는, 방법.

청구항 35

제1항 내지 제34항 중 어느 한 항에 있어서, 단계 A) 후 및 단계 B) 전에 비-결합된 분석물-특이적 프로브는 특히 세정에 의해 제거되는, 방법.

청구항 36

제1항 내지 제35항 중 어느 한 항에 있어서, 단계 B) 후 및 단계 C) 전에 비-결합된 디코딩 올리고뉴클레오티드는 특히 세정에 의해 제거되는, 방법.

청구항 37

제1항 내지 제36항 중 어느 한 항에 있어서, 단계 C) 후 및 단계 D) 전에 비-결합된 신호 올리고뉴클레오티드는 특히 세정에 의해 제거되는, 방법.

청구항 38

제1항 내지 제37항 중 어느 한 항에 있어서, 분석물 특이적 프로브는 샘플과 함께 인큐베이션되어, 인코딩되는

분석물에 대한 분석물 특이적 프로브의 특이적 결합을 허용하는, 방법.

청구항 39

제1항 내지 제38항 중 어느 한 항에 있어서, 디코딩 올리고뉴클레오티드는 샘플과 함께 인큐베이션되어, 각각의 분석물-특이적 프로브의 식별자 요소(T)에 대한 디코딩 올리고뉴클레오티드의 특이적 혼성화를 허용하는, 방법.

청구항 40

제1항 내지 제39항 중 어느 한 항에 있어서, 신호 올리고뉴클레오티드는 샘플과 함께 인큐베이션되어, 각각의 디코딩 올리고뉴클레오티드의 번역자 요소(T)에 대해 신호 올리고뉴클레오티드의 특이적 혼성화를 허용하는, 방법.

청구항 41

제1항 내지 제40항 중 어느 한 항에 있어서, 인코딩되는 분석물은 핵산, 바람직하게는 DNA, PNA 또는 RNA, 특히 mRNA인, 방법.

청구항 42

제1항 내지 제41항 중 어느 한 항에 있어서, 인코딩되는 분석물은 펩티드, 폴리펩티드 또는 단백질인, 방법.

청구항 43

제1항 내지 제42항 중 어느 한 항에 있어서, 결합 요소(S)는 인코딩되는 분석물에 대한 특이적 결합을 허용하는 아미노산 서열을 포함하는, 방법.

청구항 44

제1항 내지 제43항 중 어느 한 항에 있어서, 결합 요소(S)는 친화성 물질로부터의 친화성 모이어티인 모이어티 또는 전체적으로는 항체, 항체 단편, 안티칼린 단백질, 수용체 리간드, 효소 기질, 렉틴, 사이토카인, 림포카인, 인터류킨, 혈관신생 또는 독성 인자, 알레르겐, 펩티드성 알레르겐, 재조합 알레르겐, 알레르겐-특이형 항체, 자가면역-유발 구조, 조직-거부-유도 구조, 면역글로불린 불변 영역 및 이의 조합으로 구성된 군으로부터 선택된 친화성 물질을 포함하는, 방법.

청구항 45

제1항 내지 제44항 중 어느 한 항에 있어서, 결합 요소(S)는 Fab, scFv; 단일 도메인, 또는 이의 단편, 비스 scFv, F(ab)2, F(ab)3, 미니바디, 디아바디, 트리아바디, 테트라바디 및 탄답으로 구성된 군으로부터 선택되는 항체 또는 항체 단편인, 방법.

청구항 46

제1항 내지 제45항 중 어느 한 항에 있어서, 신호 요소에 의해 야기된 신호, 따라서 특히 각각의 분석물에 결합된 상응하는 분석물 프로브와 상호작용하는 디코딩 올리고뉴클레오티드에 대한 신호 올리고뉴클레오티드의 결합은

(a) 샘플의 적어도 일부를 이미지화하는 것; 및/또는

(b) 광학 이미징 기술을 사용하는 것; 및/또는

(c) 형광 이미징 기술을 사용하는 것; 및/또는

(d) 다중-색상 형광 이미징 기술; 및/또는

(e) 초고해상도 형광 이미징 기술에 의해 결정되는, 방법.

청구항 47

제1항 내지 제46항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 하나의 디코딩 올리고뉴클레오티드의 세트에서 디코딩 올리고뉴클레오티드는 다음을 포함하는 다중-디코더인, 방법:

(aa) 상응하는 분석물-특이적 프로브 세트의 식별자 요소(T)의 적어도 고유 식별자 서열의 섹션에 본질적으로 상보적인 뉴클레오티드 서열을 포함하는 식별자 연결자 요소(t), 및

(bb) 적어도 2개의 번역자 요소(c)로서, 여기서 번역자 요소는 상이한 신호 올리고뉴클레오티드의 특이적 혼성화를 허용하는 상이한 뉴클레오티드 서열을 포함하는, 번역자 요소(c).

청구항 48

제47항에 있어서, 상이한 신호 올리고뉴클레오티드는 상이한 신호 요소를 포함하고 상이한 연결자 요소(C)를 포함하는, 방법.

청구항 49

(A) 적어도 20개 상이한 분석물을 인코딩하기 위한 분석물-특이적 프로브의 적어도 이십(20)개 상이한 세트로서, 각 분석물-특이적 프로브의 세트는 상이한 분석물과 상호작용하며, 여기서 분석물이 핵산인 경우 각 분석물-특이적 프로브의 세트는 동일한 분석물의 상이한 하위-구조와 특이적으로 상호작용하는 적어도 다섯(5)개 분석물-특이적 프로브를 포함하며, 각각의 분석물-특이적 프로브는

(aa) 인코딩되는 상이한 분석물 중 하나와 특이적으로 상호작용하는 결합 요소(S), 및

(bb) 인코딩되는 분석물에 고유한 뉴클레오티드 서열(고유 식별자 서열)을 포함하는 식별자 요소(T)를 포함하고,

여기서 분석물-특이적 프로브의 특정 세트의 분석물-특이적 프로브는 식별자 요소(T)의 뉴클레오티드 서열에서 다른 세트의 분석물-특이적 프로브의 분석물-특이적 프로브와 상이하고,

여기서 분석물-특이적 프로브의 각 세트에서 분석물-특이적 프로브는 동일한 분석물에 결합하고 상기 분석물에 고유한 식별자 요소(T)의 동일한 뉴클레오티드 서열을 포함하는, 세트; 및

(B) 분석물당 적어도 하나의 디코딩 올리고뉴클레오티드 세트로서, 여기서 개별 분석물에 대한 각각의 디코딩 올리고뉴클레오티드 세트에서 각각의 디코딩 올리고뉴클레오티드는

(aa) 상응하는 분석물-특이적 프로브 세트의 식별자 요소(T)의 적어도 고유 식별자 서열의 섹션에 본질적으로 상보적인 뉴클레오티드 서열을 포함하는 식별자 연결자 요소(t), 및

(bb) 신호 올리고뉴클레오티드의 특이적 혼성화를 허용하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 번역자 요소(c)를 포함하고;

여기서 개별 분석물에 대한 세트의 디코딩 올리고뉴클레오티드는 식별자 연결 요소(t)에서 상이한 분석물에 대한 또 다른 세트의 디코딩 올리고뉴클레오티드와 상이한, 세트; 및

(C) 신호 올리고뉴클레오티드의 세트로서, 각 신호 올리고뉴클레오티드는

(aa) 디코딩 올리고뉴클레오티드에 포함된 번역자 요소(c)의 적어도 뉴클레오티드 서열의 섹션에 본질적으로 상보적인 뉴클레오티드 서열을 포함하는 번역자 연결자 요소(C), 및

(bb) 신호 요소를 포함하는, 세트

를 포함하는, 멀티플렉스 분석물 인코딩을 위한 키트.

청구항 50

제49항에 있어서, 키트는 분석물에 대한 분석물-특이적 프로브의 적어도 2개의 상이한 세트를 포함하고,

여기서 분석물-특이적 프로브는 동일한 분석물과 상호작용하지만, 동일한 분석물의 다른 하위-구조와 특이적으로 상호작용하는 이들 상이한 세트로 구성되고,

여기서 분석물-특이적 프로브의 제1 세트의 분석물-특이적 프로브는 분석물의 모든 변형에 포함되는 하위-구조와 상호작용하고,

여기서 분석물-특이적 프로브의 제2 세트의 분석물-특이적 프로브(하위군-특이적 프로브)는 분석물의 특이적 변형에만 포함되는 하위-구조와 상호작용하고,

여기서 분석물-특이적 프로브의 제1 세트의 분석물-특이적 프로브는 인코딩되는 분석물에 고유한 뉴클레오티드 서열(고유 식별자 서열)을 포함하는 동일한 식별자 요소(T)를 포함하고,

여기서 분석물-특이적 프로브의 제2 세트의 분석물-특이적 프로브는 인코딩되는 분석물에 고유한 뉴클레오티드 서열(고유 식별자 서열)을 포함하는 동일한 식별자 요소(T)를 포함하고,

여기서 분석물-특이적 프로브의 제1 세트의 분석물-특이적 프로브의 식별자 요소(T) 및 분석물-특이적 프로브의 제2 세트의 분석물-특이적 프로브의 식별자 요소(T)는 상이한, 키트.

청구항 51

제49항 내지 제50항 중 어느 한 항에 있어서, 키트는 식별자 요소(T)의 뉴클레오티드 서열에서 분석물-특이적 프로브의 또 다른 세트의 분석물-특이적 프로브와 상이한 적어도 다섯(5)개의 하위군-특이적 프로브의 세트를 포함하는, 키트.

청구항 52

제49항 내지 제51항 중 어느 한 항에 있어서, 키트는 제47항에 정의된 바와 같은 분석물-특이적 프로브 및/또는 하위군-특이적 프로브의 세트를 포함하지 않는, 키트.

청구항 53

제49항 내지 제52항 중 어느 한 항에 있어서, 분석물이 핵산인 경우, 분석물-특이적 프로브의 각 세트는 동일한 분석물의 상이한 하위-구조와 특이적으로 상호작용하는 적어도 열(10)개 분석물-특이적 프로브, 특히 적어도 열다섯(15)개 분석물-특이적 프로브, 특히 적어도 이십(20)개 분석물-특이적 프로브를 포함하는, 키트.

청구항 54

제49항 내지 제53항 중 어느 한 항에 있어서, 분석물이 펩티드, 폴리펩티드 또는 단백질인 경우, 분석물-특이적 프로브의 각 세트는 동일한 분석물의 상이한 하위-구조와 특이적으로 상호작용하는 적어도 두(2)개 분석물-특이적 프로브, 특히 적어도 세(3)개 분석물-특이적 프로브, 특히 적어도 네(4)개 분석물-특이적 프로브를 포함하는, 키트.

청구항 55

제49항 내지 제54항 중 어느 한 항에 있어서, 키트는 적어도 2개의 상이한 신호 올리고뉴클레오티드의 세트를 포함하고, 여기서 각 세트에서 신호 올리고뉴클레오티드는 상이한 신호 요소를 포함하고 상이한 연결자 요소(C)를 포함하는, 키트.

청구항 56

제49항 내지 제55항 중 어느 한 항에 있어서, 키트는 분석물당 적어도 2개의 상이한 디코딩 올리고뉴클레오티드의 세트를 포함하고,

여기서 이들 상이한 세트에 포함된 디코딩 올리고뉴클레오티드는 상응하는 분석물-특이적 프로브 세트의 식별자 요소(T)의 적어도 고유 식별자 서열의 섹션에 본질적으로 상보적인 뉴클레오티드 서열을 포함하는 동일한 식별자 연결자 요소(t)를 포함하고,

여기서 분석물당 상이한 세트의 디코딩 올리고뉴클레오티드는 신호 올리고뉴클레오티드의 특이적 혼성화를 허용하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 번역자 요소(c)에서 상이한, 키트.

청구항 57

제49항 내지 제56항 중 어느 한 항에 있어서, 키트는 분석물당 적어도 2개의 상이한 디코딩 올리고뉴클레오티드의 세트를 포함하고,

여기서 이들 상이한 세트에 포함된 디코딩 올리고뉴클레오티드는 상응하는 분석물-특이적 프로브 세트의 식별자 요소(T)의 적어도 고유 식별자 서열의 섹션에 본질적으로 상보적인 뉴클레오티드 서열을 포함하는 동일한 식별자 연결자 요소(t)를 포함하고,

여기서 적어도 하나의 분석물에 대한 상이한 세트의 디코딩 올리고뉴클레오티드는 신호 올리고뉴클레오티드의 특이적 혼성화를 허용하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 번역자 요소(c)에서 상이한, 키트.

청구항 58

제49항 내지 제57항 중 어느 한 항에 있어서, 상이한 번역자 요소(c)를 포함하는 분석물당 디코딩 올리고뉴클레오티드의 상이한 세트의 수는 상이한 연결자 요소(C)를 포함하는 신호 올리고뉴클레오티드의 상이한 세트의 수에 상응하는, 키트.

청구항 59

제49항 내지 제58항 중 어느 한 항에 있어서, 디코딩 올리고뉴클레오티드의 특정 세트에서 디코딩 올리고뉴클레오티드는 특정 분석물에 고유한 동일한 식별자 요소(T)와 상호작용하는, 키트.

청구항 60

제49항 내지 제59항 중 어느 한 항에 있어서, 상이한 분석물에 대한 디코딩 올리고뉴클레오티드의 모든 세트는 동일한 유형(들)의 번역자 요소(들)(c)를 포함하는, 키트.

청구항 61

제49항 내지 제60항 중 어느 한 항에 있어서, 키트는

(D) 분석물-특이적 프로브의 특정 식별자 요소(T)에 결합하기 위한 적어도 한 세트의 비-신호 디코딩 올리고뉴클레오티드로서, 여기서 동일한 세트의 비-신호 디코딩 올리고뉴클레오티드에서 디코딩 올리고뉴클레오티드는 동일한 상이한 식별자 요소(T)와 상호작용하는 비-신호 디코딩 올리고뉴클레오티드를 포함하며,

여기서 각각의 비-신호 디코딩 올리고뉴클레오티드는 적어도 고유 식별자 서열의 섹션에 본질적으로 상보적인 뉴클레오티드 서열을 포함하는 식별자 연결자 요소(t)를 포함하고, 신호 올리고뉴클레오티드의 특이적 혼성화를 허용하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 번역자 요소(c)를 포함하지 않는, 키트.

청구항 62

제49항 내지 제61항 중 어느 한 항에 있어서, 키트는

(D) 분석물-특이적 프로브의 적어도 2개의 상이한 식별자 요소(T)에 결합하기 위한 적어도 두(2)개 상이한 비-신호 디코딩 올리고뉴클레오티드의 세트로서, 각각의 비-신호 디코딩 올리고뉴클레오티드의 세트는 상이한 식별자 요소(T)와 상호작용하는, 비-신호 디코딩 올리고뉴클레오티드의 세트를 포함하며,

여기서 각각의 비-신호 디코딩 올리고뉴클레오티드는 적어도 고유 식별자 서열의 섹션에 본질적으로 상보적인 뉴클레오티드 서열을 포함하는 식별자 연결자 요소(t)를 포함하고, 신호 올리고뉴클레오티드의 특이적 혼성화를 허용하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 번역자 요소(c)를 포함하지 않는, 키트.

청구항 63

제49항 내지 제62항 중 어느 한 항에 있어서, 상이한 비-신호 디코딩 올리고뉴클레오티드의 세트는 상이한 비-신호 디코딩 올리고뉴클레오티드의 세트의 사전-혼합물에 포함되거나 별도로 존재할 수 있는, 키트.

청구항 64

제49항 내지 제63항 중 어느 한 항에 있어서, 키트는 다음을 포함하는, 키트:

(E) 비-신호 올리고뉴클레오티드의 세트로서, 각각의 비-신호 올리고뉴클레오티드는 다음을 포함함:

(aa) 번역자 요소(c)의 적어도 뉴클레오티드 서열의 섹션에 본질적으로 상보적인 뉴클레오티드 서열을 포함하는 번역자 연결자 요소(C), 및

(bb) 소광제(Q), 신호 요소 및 소광제(Q), 또는 신호 요소를 포함하지 않음.

청구항 65

제49항 내지 제64항 중 어느 한 항에 있어서, 키트는 다음을 포함하는, 키트:

(E) 비-신호 올리고뉴클레오티드의 적어도 두 세트로서, 각각의 비-신호 올리고뉴클레오티드는 다음을 포함함:

(aa) 번역자 요소(c)의 적어도 뉴클레오티드 서열의 섹션에 본질적으로 상보적인 뉴클레오티드 서열을 포함하는 번역자 연결자 요소(C), 및

(bb) 소광제(Q), 신호 요소 및 소광제(Q), 또는 신호 요소를 포함하지 않음.

청구항 66

제49항 내지 제65항 중 어느 한 항에 있어서, 비-신호 올리고뉴클레오티드의 상이한 세트는 비-신호 올리고뉴클레오티드의 상이한 세트의 사전-혼합물에 포함되거나 별도로 존재할 수 있는, 키트.

청구항 67

제49항 내지 제66항 중 어느 한 항에 있어서, 디코딩 올리고뉴클레오티드의 특정 세트에서 디코딩 올리고뉴클레오티드는 특정 분석물에 고유한 동일한 식별자 요소(T)와 상호작용하는, 키트.

청구항 68

제49항 내지 제67항 중 어느 한 항에 있어서, 디코딩 올리고뉴클레오티드의 상이한 세트는 디코딩 올리고뉴클레오티드의 상이한 세트의 사전-혼합물에 포함되거나 별도로 존재할 수 있는, 키트.

청구항 69

제49항 내지 제68항 중 어느 한 항에 있어서, 분석물-특이적 프로브의 상이한 세트는 분석물-특이적 프로브의 상이한 세트의 사전-혼합물에 포함되거나 별도로 존재할 수 있는, 키트.

청구항 70

제49항 내지 제69항 중 어느 한 항에 있어서, 신호 올리고뉴클레오티드의 상이한 세트는 신호 올리고뉴클레오티드의 상이한 세트의 사전-혼합물에 포함되거나 별도로 존재할 수 있는, 키트.

청구항 71

제49항 내지 제70항 중 어느 한 항에 있어서, 인코딩되는 분석물은 핵산, 바람직하게는 DNA, PNA 또는 RNA, 특히 mRNA인, 키트.

청구항 72

제49항 내지 제71항 중 어느 한 항에 있어서, 인코딩되는 분석물은 펩티드, 폴리펩티드 또는 단백질인, 키트.

청구항 73

제49항 내지 제72항 중 어느 한 항에 있어서, 결합 요소(S)는 인코딩되는 분석물에 대해 특이적 결합을 허용하는 아미노산 서열을 포함하는, 키트.

청구항 74

제49항 내지 제73항 중 어느 한 항에 있어서, 결합 요소(S)는 친화성 물질로부터의 친화성 모이어티인 모이어티 또는 전체적으로는 항체, 항체 단편, 안티칼린 단백질, 수용체 리간드, 효소 기질, 렉틴, 사이토카인, 림포카인, 인터류킨, 혈관신생 또는 독성 인자, 알레르겐, 펩티드성 알레르겐, 재조합 알레르겐, 알레르겐-특이형 항체, 자가면역-유발 구조, 조직-거부-유도 구조, 면역글로불린 불변 영역 및 이의 조합으로 구성된 군으로부터 선택된 친화성 물질을 포함하는, 키트.

청구항 75

제49항 내지 제74항 중 어느 한 항에 있어서, 결합 요소(S)는 Fab, scFv; 단일 도메인, 또는 이의 단편, 비스 scFv, F(ab)2, F(ab)3, 미니바디, 디아바디, 트리아바디, 테트라바디 및 탄답으로 구성된 군으로부터 선택되는 항체 또는 항체 단편인, 키트.

청구항 76

제49항 내지 제75항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 하나의 디코딩 올리고뉴클레오티드의 세트에서 디코딩 올리고뉴클레오티드는 다음을 포함하는 다중-디코더인, 키트

- (aa) 상응하는 분석물-특이적 프로브 세트의 식별자 요소(T)의 적어도 고유 식별자 서열의 섹션에 본질적으로 상보적인 뉴클레오티드 서열을 포함하는 식별자 연결자 요소(t), 및

- (bb) 적어도 2개의 번역자 요소(c)로서, 여기서 번역자 요소는 상이한 신호 올리고뉴클레오티드의 특이적 혼성화를 허용하는 상이한 뉴클레오티드 서열을 포함하는, 번역자 요소(c).

청구항 77

제76항에 있어서, 상이한 신호 올리고뉴클레오티드는 상이한 신호 요소를 포함하고 상이한 연결자 요소(C)를 포함하는, 키트.

청구항 78

상이한 분석물을 상기 분석물의 순차적인 신호-인코딩에 의해 샘플에서 검출하기 위한 멀티플렉스 방법으로서, 상기 방법은

(A) 적어도 20개 상이한 분석물을 인코딩하기 위해 분석물-특이적 프로브의 적어도 이십(20)개 상이한 세트와 샘플을 접촉시키는 단계로서, 각 분석물-특이적 프로브의 세트는 상이한 분석물과 상호작용하며, 여기서 분석물이 핵산인 경우 분석물-특이적 프로브의 각 세트는 동일한 분석물의 상이한 하위-구조와 특이적으로 상호작용하는 적어도 다섯(5)개 분석물-특이적 프로브를 포함하며, 각각의 분석물-특이적 프로브는

(aa) 인코딩되는 상이한 분석물 중 하나와 특이적으로 상호작용하는 결합 요소(S), 및

(bb) 인코딩되는 분석물에 고유한 뉴클레오티드 서열(고유 식별자 서열)을 포함하는 식별자 요소(T)를 포함하며,

여기서 분석물-특이적 프로브의 특정 세트의 분석물-특이적 프로브는 식별자 요소(T)의 뉴클레오티드 서열에서 다른 세트의 분석물-특이적 프로브의 분석물-특이적 프로브와 상이하고,

여기서 분석물-특이적 프로브의 각 세트에서 분석물-특이적 프로브는 동일한 분석물에 결합하고 상기 분석물에 고유한 식별자 요소(T)의 동일한 뉴클레오티드 서열을 포함하는, 단계; 및

(B) 샘플을 분석물당 적어도 하나의 디코딩 올리고뉴클레오티드의 세트와 접촉시키는 단계로서, 여기서 개별 분석물에 대한 각 디코딩 올리고뉴클레오티드의 세트에서 각각의 디코딩 올리고뉴클레오티드는

(aa) 상응하는 분석물-특이적 프로브 세트의 식별자 요소(T)의 적어도 고유 식별자 서열의 섹션에 본질적으로 상보적인 뉴클레오티드 서열을 포함하는 식별자 연결자 요소(t), 및

(bb) 신호 올리고뉴클레오티드의 특이적 혼성화를 허용하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 번역자 요소(c)를 포함하며;

여기서 개별 분석물에 대한 세트의 디코딩 올리고뉴클레오티드는 제1 연결 요소(t)에서 상이한 분석물에 대한 또 다른 세트의 디코딩 올리고뉴클레오티드와 상이한, 단계; 및

(C) 샘플을 적어도 신호 올리고뉴클레오티드의 세트와 접촉시키는 단계로서, 각 신호 올리고뉴클레오티드는

(aa) 디코딩 올리고뉴클레오티드에 포함된 번역자 요소(c)의 적어도 뉴클레오티드 서열의 섹션에 본질적으로 상보적인 뉴클레오티드 서열을 포함하는 번역자 연결자 요소(C), 및

(bb) 신호 요소를 포함하는, 단계

(D) 신호 요소에 의해 야기된 신호를 검출하는 단계;

(E) 샘플로부터 디코딩 올리고뉴클레오티드 및 신호 올리고뉴클레오티드를 선택적으로 제거하고, 이에 의해 인코딩되는 분석물에 대한 분석물-특이적 프로브의 특이적 결합을 본질적으로 유지하는 단계;

(F) 분석물당 코드워드로 인코딩 체계를 생성하기 위해 단계 B) 내지 E)를 포함하는 적어도 세(3)개 추가 주기

를 수행하는 단계로서, 특히 마지막 주기는 단계 (D)에서 중단할 수 있는, 단계를 포함하는, 방법.

청구항 79

제78항에 있어서, 분석물이 핵산인 경우, 분석물-특이적 프로브의 각 세트는 각각의 분석물-특이적 프로브인, 동일한 분석물의 상이한 하위-구조와 특이적으로 상호작용하는 적어도 열(10)개 분석물-특이적 프로브, 특히 적어도 열다섯(15)개 분석물-특이적 프로브, 특히 적어도 이십(20)개 분석물-특이적 프로브를 포함하는, 방법.

청구항 80

제78항 내지 제79항 중 어느 한 항에 있어서, 샘플은 분석물에 대한 분석물-특이적 프로브의 적어도 2개의 상이한 세트와 접촉되고,

여기서 분석물-특이적 프로브는 동일한 분석물과 상호작용하지만, 동일한 분석물의 다른 하위-구조와 특이적으로 상호작용하는 이들 상이한 세트로 구성되고,

여기서 분석물-특이적 프로브의 제1 세트의 분석물-특이적 프로브는 분석물의 모든 변형에 포함되는 하위-구조와 상호작용하고,

여기서 분석물-특이적 프로브의 제2 세트의 분석물-특이적 프로브(하위군-특이적 프로브)는 분석물의 특이적 변형에만 포함되는 하위-구조와 상호작용하고,

여기서 분석물-특이적 프로브의 제1 세트의 분석물-특이적 프로브는 인코딩되는 분석물에 고유한 뉴클레오티드 서열(고유 식별자 서열)을 포함하는 동일한 식별자 요소(T)를 포함하고,

여기서 분석물-특이적 프로브의 제2 세트의 분석물-특이적 프로브는 인코딩되는 분석물에 고유한 뉴클레오티드 서열(고유 식별자 서열)을 포함하는 동일한 식별자 요소(T)를 포함하고,

여기서 분석물-특이적 프로브의 제1 세트의 분석물-특이적 프로브의 식별자 요소(T) 및 분석물-특이적 프로브의 제2 세트의 분석물-특이적 프로브의 식별자 요소(T)는 상이한, 방법.

청구항 81

제78항 내지 제80항 중 어느 한 항에 있어서, 식별자 요소(T)의 뉴클레오티드 서열에서 분석물-특이적 프로브의 또 다른 세트의 분석물-특이적 프로브와 다른 적어도 다섯(5)개의 하위군-특이적 프로브의 세트와 적어도 하나의 분석물의 하위군을 접촉시키는, 방법.

청구항 82

제78항 내지 제81항 중 어느 한 항에 있어서, 샘플은 제30항에 따른 하위군-특이적 프로브 세트와 접촉되고, 여기서 방법은 단계 B) 내지 E)를 포함하는 부가적인 추가 주기를 포함하여 하위군-특이적 프로브와 상호작용하는 변형을 식별하고, 특히 주기는 단계 (D)에서 중단될 수 있는, 방법.

청구항 83

제78항 내지 제82항 중 어느 한 항에 있어서, 모든 단계는 자동화되고, 특히 단계 B) 내지 F)는 특히 로봇 시스템을 사용하여 자동화되는, 방법.

청구항 84

제78항 내지 제83항 중 어느 한 항에 있어서, 모든 단계는 유체 시스템에서 수행되는, 방법.

청구항 85

제78항 내지 제84항 중 어느 한 항에 있어서, 각 분석물은 특정 코드워드와 연관되고, 여기서 상기 코드워드는 다수의 위치를 포함하고, 각 위치는 복수의 코드워드를 갖는 복수의 구별가능한 인코딩 체계를 초래하는 하나의 주기에 상응하는, 방법.

청구항 86

제78항 내지 제85항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 인코딩 체계는 미리결정되어, 인코딩되는 분석물에

할당되는, 방법.

청구항 87

제78항 내지 제86항 중 어느 한 항에 있어서, 수행된 주기에서 개별 분석물에 대해 획득된 코드워드는 검출된 신호 및 추가로 검출되지 않은 신호에 상응하는 적어도 하나의 요소를 포함하는, 방법.

청구항 88

제78항 내지 제87항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 하나의 주기 내에서 적어도 하나의 분석물에 대해 신호가 검출되지 않는, 방법.

청구항 89

제78항 내지 제88항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 하나의 개별 분석물에 대해 코드워드의 위치가 제로(0)인, 방법.

청구항 90

제78항 내지 제89항 중 어느 한 항에 있어서, 코드워드 제로(0)는 개별 분석물에 대한 상응하는 분석물-특이적 프로브의 식별자 요소(T)의 적어도 고유 식별자 서열의 섹션에 본질적으로 상보적인 뉴클레오티드 서열을 포함하는 식별자 연결자 요소(t)를 갖는 무 디코딩 올리고뉴클레오티드를 사용함에 의해 생성되는, 방법.

청구항 91

제78항 내지 제90항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 하나의 개별 분석물에 대해 코드워드의 위치가 이 주기에서 제로(0)이면 개별 분석물에 대한 상응하는 분석물-특이적 프로브의 식별자 요소(T)의 적어도 고유 식별자 서열의 섹션에 본질적으로 상보적인 뉴클레오티드 서열을 포함하는 식별자 연결자 요소(t)를 갖는 무 상응하는 디코딩 올리고뉴클레오티드가 사용되는, 방법.

청구항 92

제78항 내지 제91항 중 어느 한 항에 있어서, 샘플은 신호 올리고뉴클레오티드의 적어도 2개의 상이한 세트와 접촉되고, 여기서 각 세트에서 신호 올리고뉴클레오티드는 상이한 신호 요소를 포함하고 상이한 연결자 요소(C)를 포함하는, 방법.

청구항 93

제78항 내지 제92항 중 어느 한 항에 있어서, 샘플은 분석물당 디코딩 올리고뉴클레오티드의 적어도 2개의 상이한 세트와 접촉되고,

여기서 이들 상이한 세트에 포함된 디코딩 올리고뉴클레오티드는 상응하는 분석물-특이적 프로브 세트의 식별자 요소(T)의 적어도 고유 식별자 서열의 섹션에 본질적으로 상보적인 뉴클레오티드 서열을 포함하는 동일한 식별자 연결자 요소(t)를 포함하고,

여기서 분석물당 상이한 세트의 디코딩 올리고뉴클레오티드는 신호 올리고뉴클레오티드의 특이적 혼성화를 허용하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 번역자 요소(c)에서 상이한, 방법.

청구항 94

제78항 내지 제93항 중 어느 한 항에 있어서, 샘플은 분석물당 적어도 2개의 상이한 디코딩 올리고뉴클레오티드의 세트와 접촉되고,

여기서 이들 상이한 세트에 포함된 디코딩 올리고뉴클레오티드는 상응하는 분석물-특이적 프로브 세트의 식별자 요소(T)의 적어도 고유 식별자 서열의 섹션에 본질적으로 상보적인 뉴클레오티드 서열을 포함하는 동일한 식별자 연결자 요소(t)를 포함하고,

여기서 분석물당 상이한 세트의 디코딩 올리고뉴클레오티드는 신호 올리고뉴클레오티드의 특이적 혼성화를 허용하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 번역자 요소(c)에서 상이하고;

여기서 분석물당 단지 한 세트의 디코딩 올리고뉴클레오티드가 주기당 사용되고, 및/또는 여기서 상이한 세트의

디코딩 올리고뉴클레오티드가 동일한 주기에서 상응하는 신호 올리고뉴클레오티드의 세트와 조합하여 상이한 주기에서 사용되는, 방법.

청구항 95

제78항 내지 제94항 중 어느 한 항에 있어서, 상이한 번역자 요소(c)를 포함하는 분석물당 디코딩 올리고뉴클레오티드의 상이한 세트의 수는 상이한 연결자 요소(C)를 포함하는 신호 올리고뉴클레오티드의 상이한 세트의 수에 상응하는, 방법.

청구항 96

제78항 내지 제95항 중 어느 한 항에 있어서, 상이한 분석물에 대한 디코딩 올리고뉴클레오티드의 모든 세트는 동일한 유형(들)의 번역자 요소(들)(c)를 포함하는, 방법.

청구항 97

제78항 내지 제96항 중 어느 한 항에 있어서, 샘플은 분석물-특이적 프로브의 특정 식별자 요소(T)에 결합하기 위해 적어도 비-신호 디코딩 올리고뉴클레오티드의 세트와 접촉되고, 여기서 비-신호 디코딩 올리고뉴클레오티드의 동일한 세트에서 디코딩 올리고뉴클레오티드는 동일한 상이한 식별자 요소(T)와 상호작용하며,

여기서 각각의 비-신호 디코딩 올리고뉴클레오티드는 적어도 고유 식별자 서열의 섹션에 본질적으로 상보적인 뉴클레오티드 서열을 포함하는 식별자 연결자 요소(t)를 포함하고, 신호 올리고뉴클레오티드의 특이적 혼성화를 허용하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 번역자 요소(c)를 포함하지 않는, 방법.

청구항 98

제78항 내지 제97항 중 어느 한 항에 있어서, 샘플은 분석물-특이적 프로브의 적어도 2개의 상이한 식별자 요소(T)에 결합하기 위한 적어도 두(2)개의 상이한 비-신호 디코딩 올리고뉴클레오티드의 세트와 접촉되며, 각각의 비-신호 디코딩 올리고뉴클레오티드의 세트는 상이한 식별자 요소(T)와 상호작용하고,

여기서 각각의 비-신호 디코딩 올리고뉴클레오티드는 적어도 고유 식별자 서열의 섹션에 본질적으로 상보적인 뉴클레오티드 서열을 포함하는 식별자 연결자 요소(t)를 포함하고, 신호 올리고뉴클레오티드의 특이적 혼성화를 허용하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 번역자 요소(c)를 포함하지 않는, 방법.

청구항 99

제78항 내지 제98항 중 어느 한 항에 있어서, 상이한 비-신호 디코딩 올리고뉴클레오티드의 세트는 상이한 비-신호 디코딩 올리고뉴클레오티드의 세트의 사전-혼합물에 포함되거나 별도로 존재할 수 있는, 방법.

청구항 100

제78항 내지 제99항 중 어느 한 항에 있어서, 샘플은 비-신호 올리고뉴클레오티드의 세트와 접촉되고, 각각의 비-신호 올리고뉴클레오티드는 하기를 포함하는, 방법:

(aa) 번역자 요소(c)의 적어도 뉴클레오티드 서열의 섹션에 본질적으로 상보적인 뉴클레오티드 서열을 포함하는 번역자 연결자 요소(C), 및

(bb) 소광제(Q), 신호 요소 및 소광제(Q), 또는 신호 요소를 포함하지 않음.

청구항 101

제78항 내지 제100항 중 어느 한 항에 있어서, 샘플은 적어도 두 세트의 비-신호 올리고뉴클레오티드와 접촉되고, 각각의 비-신호 올리고뉴클레오티드는 하기를 포함하는, 방법:

(aa) 번역자 요소(c)의 적어도 뉴클레오티드 서열의 섹션에 본질적으로 상보적인 뉴클레오티드 서열을 포함하는 번역자 연결자 요소(C), 및

(bb) 소광제(Q), 신호 요소 및 소광제(Q), 또는 신호 요소를 포함하지 않음.

청구항 102

제100항 내지 제101항 중 어느 한 항에 있어서, 상이한 세트의 비-신호 올리고뉴클레오티드는 상이한 세트의 비-신호 올리고뉴클레오티드의 사전-혼합물에 포함되거나 별도로 존재할 수 있는, 방법.

청구항 103

제78항 내지 제102항 중 어느 한 항에 있어서, 디코딩 올리고뉴클레오티드의 특정 세트에서 디코딩 올리고뉴클레오티드는 특정 분석물에 고유한 동일한 식별자 요소(T)와 상호작용하는, 방법.

청구항 104

제78항 내지 제103항 중 어느 한 항에 있어서, 상이한 디코딩 올리고뉴클레오티드의 세트는 상이한 디코딩 올리고뉴클레오티드의 세트의 사전-혼합물에 포함되거나 별도로 존재할 수 있는, 방법.

청구항 105

제78항 내지 제104항 중 어느 한 항에 있어서, 상이한 분석물-특이적 프로브의 세트는 상이한 분석물-특이적 프로브의 세트의 사전-혼합물에 포함되거나 별도로 존재할 수 있는, 방법.

청구항 106

제78항 내지 제105항 중 어느 한 항에 있어서, 상이한 신호 올리고뉴클레오티드의 세트는 상이한 신호 올리고뉴클레오티드의 세트의 사전-혼합물에 포함되거나 별도로 존재할 수 있는, 방법.

청구항 107

제78항 내지 제106항 중 어느 한 항에 있어서, 샘플은 바람직하게는 생물학적 조직을 포함하고, 더욱 바람직하게는 생물학적 세포 및/또는 추출물 및/또는 세포의 일부를 포함하는 생물학적 샘플인, 방법.

청구항 108

제107항에 있어서, 세포는 원핵 세포 또는 진핵 세포, 특히 포유동물 세포, 특히 인간 세포인, 방법.

청구항 109

제107항에 있어서, 생물학적 조직, 생물학적 세포, 추출물 및/또는 세포의 일부는 고정되는, 방법.

청구항 110

제78항 내지 제109항 중 어느 한 항에 있어서, 분석물은 세포-함유 샘플과 같은 투과성 샘플에 고정되는, 방법.

청구항 111

제78항 내지 제110항 중 어느 한 항에 있어서, 결합 요소(S)는 인코딩되는 분석물에 대한 특이적 결합, 바람직하게는 인코딩되는 분석물에 대한 특이적 혼성화를 허용하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산을 포함하는, 방법.

청구항 112

제78항 내지 제111항 중 어느 한 항에 있어서, 단계 A) 후 및 단계 B) 전에 비-결합된 분석물-특이적 프로브는 특히 세정에 의해 제거되는, 방법.

청구항 113

제78항 내지 제112항 중 어느 한 항에 있어서, 단계 B) 후 및 단계 C) 전에 비-결합된 디코딩 올리고뉴클레오티드는 특히 세정에 의해 제거되는, 방법.

청구항 114

제78항 내지 제113항 중 어느 한 항에 있어서, 단계 C) 후 및 단계 D) 전에 비-결합된 신호 올리고뉴클레오티드는 특히 세정에 의해 제거되는, 방법.

청구항 115

제78항 내지 제114항 중 어느 한 항에 있어서, 분석물 특이적 프로브는 샘플과 함께 인큐베이션되어, 인코딩되는 분석물에 대한 분석물-특이적 프로브의 특이적 결합을 허용하는, 방법.

청구항 116

제78항 내지 제115항 중 어느 한 항에 있어서, 디코딩 올리고뉴클레오티드는 샘플과 함께 인큐베이션되어, 각각의 분석물-특이적 프로브의 식별자 요소(T)에 대한 디코딩 올리고뉴클레오티드의 특이적 혼성화를 허용하는, 방법.

청구항 117

제78항 내지 제116항 중 어느 한 항에 있어서, 신호 올리고뉴클레오티드는 샘플과 함께 인큐베이션되어, 각각의 디코딩 올리고뉴클레오티드의 번역자 요소(T)에 대해 신호 올리고뉴클레오티드의 특이적 혼성화를 허용하는, 방법.

청구항 118

제78항 내지 제117항 중 어느 한 항에 있어서, 인코딩되는 분석물은 핵산, 바람직하게는 DNA, PNA 또는 RNA, 특히 mRNA인, 방법.

청구항 119

제78항 내지 제118항 중 어느 한 항에 있어서, 인코딩되는 분석물은 펩티드, 폴리펩티드 또는 단백질인, 방법.

청구항 120

제78항 내지 제119항 중 어느 한 항에 있어서, 결합 요소(S)는 인코딩되는 분석물에 대한 특이적 결합을 허용하는 아미노산 서열을 포함하는, 방법.

청구항 121

제78항 내지 제120항 중 어느 한 항에 있어서, 결합 요소(S)는 친화성 물질로부터의 친화성 모이어티인 모이어티 또는 전체적으로는 항체, 항체 단편, 안티칼린 단백질, 수용체 리간드, 효소 기질, 렉틴, 사이토카인, 림포카인, 인터류킨, 혈관신생 또는 독성 인자, 알레르겐, 펩티드성 알레르겐, 재조합 알레르겐, 알레르겐-특이형 항체, 자가면역-유발 구조, 조직-거부-유도 구조, 면역글로불린 불변 영역 및 이의 조합으로 구성된 군으로부터 선택된 친화성 물질을 포함하는, 방법.

청구항 122

제78항 내지 제121항 중 어느 한 항에 있어서, 결합 요소(S)는 Fab, scFv; 단일 도메인, 또는 이의 단편, 비스 scFv, F(ab)2, F(ab)3, 미니바디, 디아바디, 트리아바디, 테트라바디 및 탄답으로 구성된 군으로부터 선택되는 항체 또는 항체 단편인, 방법.

청구항 123

제78항 내지 제122항 중 어느 한 항에 있어서, 신호 요소에 의해 야기된 신호, 따라서 특히 각각의 분석물에 결합된 상응하는 분석물 프로브와 상호작용하는 디코딩 올리고뉴클레오티드에 대한 신호 올리고뉴클레오티드의 결합은

(f) 샘플의 적어도 일부를 이미지화하는 것; 및/또는

(g) 광학 이미징 기술을 사용하는 것; 및/또는

(h) 형광 이미징 기술을 사용하는 것; 및/또는

(i) 다중-색상 형광 이미징 기술; 및/또는

(j) 초고해상도 형광 이미징 기술에 의해 결정되는, 방법.

청구항 124

제78항 내지 제123항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 하나의 디코딩 올리고뉴클레오티드 세트에서 디코딩 올리고뉴클레오티드는

(aa) 상응하는 분석물-특이적 프로브 세트의 식별자 요소(T)의 적어도 고유 식별자 서열의 섹션에 본질적으로 상보적인 뉴클레오티드 서열을 포함하는 식별자 연결자 요소(t), 및

(bb) 적어도 2개의 번역자 요소(c)로서, 여기서 번역자 요소는 상이한 신호 올리고뉴클레오티드의 특이적 혼성화를 허용하는 상이한 뉴클레오티드 서열을 포함하는, 번역자 요소(c)를 포함하는 다중-디코더인, 방법.

청구항 125

제124항에 있어서, 상이한 신호 올리고뉴클레오티드는 상이한 신호 요소를 포함하고 상이한 연결자 요소(C)를 포함하는, 방법.

청구항 126

제1항 내지 제48항 및/또는 제78항 내지 제125항 중 어느 한 항에 따른 멀티플렉스 방법의 사용을 포함하는 암, 신경 질환, 심혈관 질환, 염증성 질환, 자가면역 질환, 바이러스 또는 세균 감염으로 인한 질환, 피부 질환, 골격근 질환, 치과 질환 및 산전 질환을 포함하는 군으로부터 선택된 질환의 진단을 위한 *시험관내* 방법.

청구항 127

생물학적 스트레스, 바람직하게는 감염성 및/또는 기생충 기원에 의해 유발되는 질환, 또는 바람직하게는 영양결핍 및/또는 불리한 환경에 의해 유발된 비생물적 스트레스에 의해 유발된 질환을 포함하는 군으로부터 선택된 식물에서 질환의 진단을 위한 *시험관내* 방법으로서, 상기 방법은 제1항 내지 제48항 및/또는 제78항 내지 제125항 중 어느 한 항에 따른 멀티플렉스 방법의 사용을 포함하는, 방법.

청구항 128

제1항 내지 제48항 및/또는 제78항 내지 제125항 중 어느 한 항에 따른 방법에 적합한 광 멀티플렉싱 시스템으로서, 적어도

- 제49항 내지 제77항 중 어느 한 항에 따른 키트 또는 키트의 일부를 수용하기 위한 하나의 반응 용기;
- 현미경, 특히 형광 현미경을 포함하는 검출 단위
- 카메라
- 액체 취급 장치를 포함하는, 광 멀티플렉싱 시스템.

청구항 129

제128항에 있어서, 시스템은 가열 및 냉각 장치를 더 포함하는, 광 멀티플렉싱 시스템.

청구항 130

제128항 내지 제129항 중 어느 한 항에 있어서, 시스템은 로봇 시스템을 더 포함하는, 광 멀티플렉싱 시스템.

청구항 131

다음을 포함하는 물질 및/또는 약물을 스크리닝, 식별 및/또는 테스트하기 위한 *시험관내* 방법:

(a) 샘플을 포함하는 테스트 샘플을 물질 및/또는 약물과 접촉시키는 단계

(b) 샘플에서 상이한 분석물을 제1항 내지 제48항 및/또는 제78항 내지 제125항 중 어느 한 항에 따른 방법으로 상기 분석물의 순차적인 신호-인코딩에 의해 검출하는 단계.

청구항 132

제131항에 있어서, 샘플은 바람직하게는 생물학적 조직을 포함하고, 추가로 바람직하게는 생물학적 세포를 포함하는 생물학적 샘플이고, 특히 여기서 세포는 원핵 세포 또는 진핵 세포, 특히 포유동물 세포, 특히 인간 세포

인, *시험관내* 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 명세서에 제공된 기술은 상이한 분석물 및 분석물의 상이한 하위군/변형을 상기 분석물의 순차적인 신호-인코딩에 의해 병렬로 샘플에서 검출하기 위한 멀티플렉스 방법 및 키트뿐만 아니라 물질 및/또는 약물을 스크리닝, 식별 및/또는 테스트하기 위한 *시험관내* 방법 및 질환의 진단을 위한 *시험관내* 방법과 광 멀티플렉싱 시스템에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 생물학적 및 비-생물학적 샘플에서 소량의 분석물의 분석 및 검출은 임상 및 분석 환경에서 일상적인 관행이 되었다. 이 목적을 위해 수많은 분석 방법이 확립되었다. 그들 중 일부는 특정 두 번째 분석물에 할당된 코드와 다른 특정 첫 번째 분석물에 특정 판독가능한 코드를 할당하는 인코딩 기술을 사용한다.

[0003] 이 분야의 선행 기술 중 하나는 샘플에서 mRNA 분자를 검출하기 위해 본질적으로 개발된 소위 '단일 분자 형광 제자리 혼성화'(smFISH)이다. Lubeck et al. (2014), Single-cell in situ RNA profiling by sequential hybridization, Nat. Methods 11(4), p. 360-361에서, 관심있는 mRNA는 특정한 직접적으로 표지된 프로브 세트를 통해 검출된다. 일 라운드의 혼성화 및 검출 후, mRNA 특이적 프로브의 세트는 mRNA로부터 용출되고 다른(또는 동일한) 형광 라벨을 갖는 동일한 프로브의 세트는 다음 라운드의 혼성화 및 이미징에서 사용되어 여러 라운드에 걸친 유전자 특이적 색상-코드 체계를 생성한다. 기술은 전사체당 여러 가지 다르게 태그된 프로브 세트가 필요하고 모든 검출 라운드 후에 이들 프로브 세트를 변성시켜할 필요가 있다.

[0004] 이 기술의 추가 개발은 직접적으로 표지된 프로브 세트를 사용하지 않는다. 대신, 프로브 세트의 올리고뉴클레오티드는 신호 증폭을 가능하게 하는 기술인 혼성화 연쇄 반응(HCR)의 개시자 역할을 하는 핵산 서열을 제공한다; see Shah et al. (2016) 참조, 단일 세포의 제자리 전사 프로파일링은 마우스 해마에서 세포의 공간 조직을 밝힌다, Neuron 92(2), p. 342-357.

[0005] '멀티플렉스된 에러 로버스트 형광 제자리 혼성화'(merFISH)라고 하는 또 다른 기술은 Chen et al. (2015), RNA imaging에 의해 기술되어 있다. 단일 세포에서 공간적으로 해결되고 고도로 멀티플렉스된 RNA 프로파일링, Science 348(6233):aaa6090. 거기에서 관심 있는 mRNA는 형광으로 표지된 올리고뉴클레오티드의 차후의 특이적 혼성화를 위한 추가 서열 요소를 제공하는 특정 프로브 세트를 통해 검출된다. 각 프로브 세트는 총 16개 서열 요소 중 4개의 상이한 서열 요소를 제공한다. 관심있는 mRNA에 대한 특정 프로브 세트의 혼성화 후, 소위 판독 혼성화가 수행된다. 각각의 판독 혼성화에서, 서열 요소 중 하나에 상보적인 16개 형광으로 표지된 올리고뉴클레오티드 중 하나가 혼성화된다. 모든 판독 올리고뉴클레오티드는 동일한 형광 색상을 사용한다. 이미징 후, 형광 신호는 조명을 통해 파괴되고 변성 단계 없이 다음 라운드의 판독 혼성화가 발생한다. 결과적으로, 각 mRNA 종에 대해 이진 코드가 생성된다. 16 라운드에서 4개 신호의 고유한 신호 시그니처는 특정 프로브 세트를 관심있는 mRNA에 결합하기 위한 단일 혼성화 라운드만을 사용하여 생성된 다음 단일 형광 색상에 의해 표지된 판독 올리고뉴클레오티드의 16 라운드의 혼성화가 이어진다.

[0006] 이 기술의 추가 개발은 2가지 상이한 형광 색상을 사용하여 처리량을 향상시키고, 판독-올리고뉴클레오티드와 형광 표지 및 대체 혼성화 완충액 사이의 이황화 절단을 통해 신호를 제거한다; Moffitt et al. (2016), High-throughput single-cell gene-expression profiling with multiplexed error-robust fluorescence in situ hybridization, Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. 113(39), p. 11046-11051 참조.

[0007] '인트론 seqFISH'로 불리는 기술은 Shah et al. (2018), Dynamics and spatial genomics of the nascent transcriptome by intron seqFISH, Cell 117(2), p. 363-376에 기술되어 있다. 거기에서 관심있는 mRNA는 형광으로 표지된 올리고뉴클레오티드의 차후의 특이적 혼성화를 위한 추가 서열 요소를 제공하는 특정 프로브 세트를 통해 검출된다. 각 프로브 세트는 색상-코딩 라운드당 12개 가능한 서열 요소(사용된 12개 '유사색상'을 나타냄) 중 하나를 제공한다. 각 색상-코딩 라운드는 4개 일련의 혼성화로 구성된다. 이들 일련의 혼성화 각각에서, 각각 상이한 형광단으로 표지된 3개 판독 프로브가 mRNA-특이적 프로브 세트의 상응하는 요소에 혼성화된다. 이미징 후, 판독 프로브는 55% 포름아미드 완충액으로 스트립핑되고 다음 혼성화가 이어진다. 각각

4개 일련의 혼성화로 5 색상-코딩 라운드 후에 색상-코드가 완료된다.

[0008] EP 0 611 828은 분석물에 특이적으로 결합하는 프로브에 신호 생성 요소를 동원하기 위한 가교 요소의 사용을 개시한다. 보다 구체적인 진술은 가교 핵산 분자를 동원하는 특정 프로브를 통한 핵산의 검출을 기술한다. 이 가교 핵산은 결국 신호-생성 핵산을 동원한다. 이 문헌은 또한 분지형 DNA 같은 신호 증폭을 위한 신호 생성 요소에 대한 하나 초과의 결합 부위를 갖는 가교 요소의 사용을 기술한다.

[0009] Player et al. (2001), Single-copy gene detection using branched DNA (bDNA) in situ hybridization, J. Histochem. Cytochem. 49(5), p. 603-611은 추가 서열 요소를 제공하는 특정 프로브 세트를 통해 관심있는 핵산을 검출하는 방법을 기술한다. 두 번째 단계에서, 전치증폭기 올리고뉴클레오티드가 이 서열 요소에 혼성화된다. 이 전치증폭기 올리고뉴클레오티드는 후속 단계에서 혼성화되는 증폭기 올리고뉴클레오티드에 대한 다중 결합 부위를 포함한다. 이들 증폭기 올리고뉴클레오티드는 표지된 올리고뉴클레오티드에 대한 다중 서열 요소를 제공한다. 이 방식으로 분기된 올리고뉴클레오티드 트리가 구축되어 신호의 증폭을 야기한다.

[0010] 이와 같이 언급된 이 방법의 추가 개발은 mRNA-특이적 프로브의 또 다른 설계를 사용하는, Wang et al. (2012), RNAscope: a novel in situ RNA analysis platform for formalin-fixed, paraffin-embedded tissues, J. Mol. Diagn. 14(1), p.22-29에 의해 기술되어 있다. 여기서 mRNA-특이적 올리고뉴클레오티드 중 2개는 전치증폭기 올리고뉴클레오티드를 동원할 수 있는 서열을 제공하기 위해 매우 근접하게 혼성화해야 한다. 이 방식으로 위양성 신호의 수를 감소시킴에 의해 방법의 특이성이 증가된다.

[0011] Choi et al. (2010), Programmable in situ amplification for multiplexed imaging of mRNA expression, Nat. Biotechnol. 28(11), p. 1208-1212는 'HCR-혼성화 연쇄 반응'으로 알려진 방법을 개시한다. 관심있는 mRNA는 추가 서열 요소를 제공하는 특정 프로브 세트를 통해 검출된다. 추가 서열 요소는 혼성화 연쇄 반응을 시작하기 위한 개시자 서열이다. 기본적으로 혼성화 연쇄 반응은 첫 번째 헤어핀이 개시자 서열을 통해 열린 후 중합체 안으로 자가-조립되는 준안정 올리고뉴클레오티드 헤어핀을 기반으로 한다.

[0012] 이 기술의 추가 개발은 RNAscope 기술과 유사하게 HCR에 대한 개시자 서열을 형성하기 위해 매우 근접하여 혼성화해야 하는 소위 분할 개시자 프로브를 사용하며, 이는 위양성 신호의 수를 감소시킨다; Choi et al. (2018), Third-generation in situ hybridization chain reaction: multiplexed, quantitative, sensitive, versatile, robust. Development 145(12) 참조.

[0013] Mateo et al. (2019), Visualizing DNA folding and RNA in embryos at single-cell resolution, Nature Vol, 568, p. 49ff.는 '염색질 구조의 광학 재구성(ORCA)'이라 불리는 방법을 개시한다. 이 방법은 염색체 라인을 보이게 하기 위한 것이다.

[0014] EP 2 992 115 B1은 순차적 단일 분자 혼성화의 방법을 개시하고 순차적 바코드를 통해 세포, 조직, 기관 또는 유기체에서 핵산을 검출 및/또는 정량화하는 기술을 제공한다.

[0015] 그러나, 당업계에 공지된 방법은 다수의 단점을 갖는다. 특히, 그것은 유연성이 없고, 비싸고, 복잡하고, 시간이 많이 걸리고 매우 종종 부정확한 결과를 제공한다. 특히, 기존 방법의 인코딩 능력이 낮고 현대 분자 생물학 및 의학의 요구사항을 충족하지 못한다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0016] 이 배경에 대해서, 이에 의해 종래 기술 방법의 단점을 감소시키거나 심지어 피할 수 있는 방법을 제공하는 것이 본 개시내용의 근간을 이루는 목적이다.

과제의 해결 수단

[0017] **개시내용의 요약**

[0018] 본 개시내용은 병렬로 샘플에서 상이한 분석물 및 분석물의 상이한 하위군/변형을 상기 분석물 및 변형의 순차적인 신호-인코딩에 의해 검출하기 위한 신규한 멀티플렉스 방법에 관한 것이다.

[0019] 특히, 본 개시내용은 다음을 포함하는 샘플에서 상이한 분석물 및 분석물의 상이한 하위군/변형을 검출하기 위한 멀티플렉스 방법에 관한 것이다:

[0020] (A) 적어도 20개 상이한 분석물을 인코딩하기 위해 분석물-특이적 프로브의 적어도 이십(20)개 상이한 세트와 샘플을 접촉시키는 단계로서, 각 분석물-특이적 프로브의 세트는 상이한 분석물과 상호작용하며, 여기서 분석물이 핵산인 경우 분석물-특이적 프로브의 각 세트는 동일한 분석물의 상이한 하위-구조와 특이적으로 상호작용하는 적어도 다섯(5)개 분석물-특이적 프로브를 포함하며, 각각의 분석물-특이적 프로브는

[0021] (aa) 인코딩되는 상이한 분석물 중 하나와 특이적으로 상호작용하는 결합 요소(S), 및

[0022] (bb) 인코딩되는 분석물에 고유한 뉴클레오티드 서열(고유 식별자 서열)을 포함하는 식별자 요소(T)를 포함하며,

[0023] 여기서 분석물-특이적 프로브의 특정 세트의 분석물-특이적 프로브는 식별자 요소(T)의 뉴클레오티드 서열에서 다른 세트의 분석물-특이적 프로브의 분석물-특이적 프로브와 상이하고,

[0024] 여기서 분석물-특이적 프로브의 각 세트에서 분석물-특이적 프로브는 동일한 분석물에 결합하고 상기 분석물에 고유한 식별자 요소(T)의 동일한 뉴클레오티드 서열을 포함하는, 단계; 및

[0025] 샘플을 적어도 하나의 분석물 및 그의 변형에 대한 분석물-특이적 프로브의 적어도 2개의 상이한 세트와 접촉시키는 단계로서,

[0026] 여기서 분석물-특이적 프로브는 동일한 분석물과 상호작용하지만, 동일한 분석물의 다른 하위-구조와 특이적으로 상호작용하는 이들 상이한 세트로 구성되고,

[0027] 여기서 분석물-특이적 프로브의 제1 세트의 분석물-특이적 프로브는 분석물의 모든 변형에 포함되는 하위-구조와 상호작용하고,

[0028] 여기서 분석물-특이적 프로브의 제2 세트의 분석물-특이적 프로브(하위군-특이적 프로브)는 분석물의 특이적 변형에만 포함되는 하위-구조와 상호작용하고,

[0029] 여기서 분석물-특이적 프로브의 제1 세트의 분석물-특이적 프로브는 인코딩되는 분석물에 고유한 뉴클레오티드 서열(고유 식별자 서열)을 포함하는 동일한 식별자 요소(T)를 포함하고,

[0030] 여기서 분석물-특이적 프로브의 제2 세트의 분석물-특이적 프로브는 인코딩되는 분석물에 고유한 뉴클레오티드 서열(고유 식별자 서열)을 포함하는 동일한 식별자 요소(T)를 포함하고,

[0031] 여기서 분석물-특이적 프로브의 제1 세트의 분석물-특이적 프로브의 식별자 요소(T) 및 분석물-특이적 프로브의 제2 세트의 분석물-특이적 프로브의 식별자 요소(T)는 상이한 디코딩 올리고뉴클레오티드 및/또는 비-신호 디코딩 올리고뉴클레오티드를 결합하기 위해 상이한, 단계

[0032] (B) 샘플을 분석물당 적어도 하나의 디코딩 올리고뉴클레오티드의 세트와 접촉시키는 단계로서, 여기서 개별 분석물에 대한 각 디코딩 올리고뉴클레오티드의 세트에서 각각의 디코딩 올리고뉴클레오티드는

[0033] (aa) 상응하는 분석물-특이적 프로브 세트의 식별자 요소(T)의 적어도 고유 식별자 서열의 섹션에 본질적으로 상보적인 뉴클레오티드 서열을 포함하는 식별자 연결자 요소(t), 및

[0034] (bb) 신호 올리고뉴클레오티드의 특이적 혼성화를 허용하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 번역자 요소(c)를 포함하며;

[0035] 여기서 개별 분석물에 대한 세트의 디코딩 올리고뉴클레오티드는 제1 연결 요소(t)에서 상이한 분석물에 대한 또 다른 세트의 디코딩 올리고뉴클레오티드와 상이한, 단계; 및

[0036] (C) 샘플을 적어도 신호 올리고뉴클레오티드의 세트와 접촉시키는 단계로서, 각 신호 올리고뉴클레오티드는

[0037] (aa) 디코딩 올리고뉴클레오티드에 포함된 번역자 요소(c)의 적어도 뉴클레오티드 서열의 섹션에 본질적으로 상보적인 뉴클레오티드 서열을 포함하는 번역자 연결자 요소(C), 및

[0038] (bb) 신호 요소를 포함하는, 단계

[0039] (D) 신호 요소에 의해 야기된 신호를 검출하는 단계;

[0040] (E) 샘플로부터 디코딩 올리고뉴클레오티드 및 신호 올리고뉴클레오티드를 선택적으로 제거하고, 이에 의해 인코딩되는 분석물에 대한 분석물-특이적 프로브의 특이적 결합을 본질적으로 유지하는 단계;

[0041] (F) 분석물당 코드워드로 인코딩 체계를 생성하기 위해 단계 B) 내지 E)를 포함하는 적어도 세(3)개 추가 주기

를 수행하는 단계,

[0042] (G) 하위군-특이적 프로브를 식별하기 위해 단계 B) 내지 E)를 포함하는 적어도 하나(1)의 추가 주기를 수행하는 단계로서, 여기서 특히 주기는 단계 (D)에서 중단할 수 있는, 단계.

[0043] 더욱이, 본 개시내용은 인코딩 체계의 효율성을 증가시키기 위한 개선된 디코딩-올리고뉴클레오티드의 사용에 관한 것이다. 소위 "다중-디코더"는 단지 하나 초과의 신호 올리고뉴클레오티드의 동원을 허용하고 따라서 신호의 밝기를 감소시키지 않고 둘 이상의 상이한 신호-올리고뉴클레오티드의 조합을 이용함에 의해 새로운 신호 유형을 생성할 수 있다.

[0044] 추가의 양태에서, 특히 상기 분석물의 순차적인 신호-인코딩에 의해 샘플 내의 상이한 분석물을 검출하기 위한 멀티플렉스 방법에 대한 개시내용의 실시형태는 하기 단계를 포함한다:

[0045] (A) 적어도 20개 상이한 분석물을 인코딩하기 위해 분석물-특이적 프로브의 적어도 이십(20)개 상이한 세트와 샘플을 접촉시키는 단계로서, 각 분석물-특이적 프로브의 세트는 상이한 분석물과 상호작용하며, 여기서 분석물이 핵산인 경우 분석물-특이적 프로브의 각 세트는 동일한 분석물의 상이한 하위-구조와 특이적으로 상호작용하는 적어도 다섯(5)개 분석물-특이적 프로브를 포함하며, 각각의 분석물-특이적 프로브는

[0046] (aa) 인코딩되는 상이한 분석물 중 하나와 특이적으로 상호작용하는 결합 요소(S), 및

[0047] (bb) 인코딩되는 분석물에 고유한 뉴클레오티드 서열(고유 식별자 서열)을 포함하는 식별자 요소(T)를 포함하며,

[0048] 여기서 분석물-특이적 프로브의 특정 세트의 분석물-특이적 프로브는 식별자 요소(T)의 뉴클레오티드 서열에서 다른 세트의 분석물-특이적 프로브의 분석물-특이적 프로브와 상이하고,

[0049] 여기서 분석물-특이적 프로브의 각 세트에서 분석물-특이적 프로브는 동일한 분석물에 결합하고 상기 분석물에 고유한 식별자 요소(T)의 동일한 뉴클레오티드 서열을 포함하는, 단계; 및

[0050] (B) 샘플을 분석물당 적어도 하나의 디코딩 올리고뉴클레오티드의 세트와 접촉시키는 단계로서, 여기서 개별 분석물에 대한 각 디코딩 올리고뉴클레오티드의 세트에서 각각의 디코딩 올리고뉴클레오티드는

[0051] (aa) 상응하는 분석물-특이적 프로브 세트의 식별자 요소(T)의 적어도 고유 식별자 서열의 섹션에 본질적으로 상보적인 뉴클레오티드 서열을 포함하는 식별자 연결자 요소(t), 및

[0052] (bb) 신호 올리고뉴클레오티드의 특이적 혼성화를 허용하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 번역자 요소(c)를 포함하며;

[0053] 여기서 개별 분석물에 대한 세트의 디코딩 올리고뉴클레오티드는 제1 연결 요소(t)에서 상이한 분석물에 대한 또 다른 세트의 디코딩 올리고뉴클레오티드와 상이한, 단계; 및

[0054] (C) 샘플을 적어도 신호 올리고뉴클레오티드의 세트와 접촉시키는 단계로서, 각 신호 올리고뉴클레오티드는

[0055] (aa) 디코딩 올리고뉴클레오티드에 포함된 번역자 요소(c)의 적어도 뉴클레오티드 서열의 섹션에 본질적으로 상보적인 뉴클레오티드 서열을 포함하는 번역자 연결자 요소(C), 및

[0056] (bb) 신호 요소를 포함하는, 단계.

[0057] (D) 신호 요소에 의해 야기된 신호를 검출하는 단계;

[0058] (E) 샘플로부터 디코딩 올리고뉴클레오티드 및 신호 올리고뉴클레오티드를 선택적으로 제거하고, 이에 의해 인코딩되는 분석물에 대한 분석물-특이적 프로브의 특이적 결합을 본질적으로 유지하는 단계;

[0059] (F) 분석물당 코드워드로 인코딩 체계를 생성하기 위해 단계 B) 내지 E)를 포함하는 적어도 세(3)개 추가 주기를 수행하는 단계로서, 특히 마지막 주기는 단계(D)에서 중단할 수 있는, 단계.

[0060] 추가의 양태에서, 본 개시내용의 실시형태는 하기를 포함하는, 멀티플렉스 분석물 인코딩을 위한 키트에 관한 것이다

[0061] (A) 적어도 20개 상이한 분석물을 인코딩하기 위한 분석물-특이적 프로브의 적어도 20개 상이한 세트로, 각 분석물-특이적 프로브의 세트는 상이한 분석물과 상호작용하며, 여기서 분석물이 핵산인 경우 각 분석물-특이적 프로브의 세트는 동일한 분석물의 상이한 하위-구조와 특이적으로 상호작용하는 적어도 다섯(5)개 분석물-특이

적 프로브를 포함하며, 각각의 분석물-특이적 프로브는

[0062] (aa) 인코딩되는 상이한 분석물 중 하나와 특이적으로 상호작용하는 결합 요소(S), 및

[0063] (bb) 인코딩되는 분석물에 고유한 뉴클레오티드 서열(고유 식별자 서열)을 포함하는 식별자 요소(T)를 포함하고,

[0064] 여기서 분석물-특이적 프로브의 특정 세트의 분석물-특이적 프로브는 식별자 요소(T)의 뉴클레오티드 서열에서 다른 세트의 분석물-특이적 프로브의 분석물-특이적 프로브와 상이하고,

[0065] 여기서 분석물-특이적 프로브의 각 세트에서 분석물-특이적 프로브는 동일한 분석물에 결합하고 상기 분석물에 고유한 식별자 요소(T)의 동일한 뉴클레오티드 서열을 포함하는, 세트; 및

[0066] (B) 분석물당 적어도 하나의 디코딩 올리고뉴클레오티드 세트로서, 여기서 개별 분석물에 대한 각각의 디코딩 올리고뉴클레오티드 세트에서 각각의 디코딩 올리고뉴클레오티드는

[0067] (aa) 상응하는 분석물-특이적 프로브 세트의 식별자 요소(T)의 적어도 고유 식별자 서열의 섹션에 본질적으로 상보적인 뉴클레오티드 서열을 포함하는 식별자 연결자 요소(t), 및

[0068] (bb) 신호 올리고뉴클레오티드의 특이적 혼성화를 허용하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 번역자 요소(c)를 포함하고;

[0069] 여기서 개별 분석물에 대한 세트의 디코딩 올리고뉴클레오티드는 식별자 연결 요소(t)에서 상이한 분석물에 대한 또 다른 세트의 디코딩 올리고뉴클레오티드와 상이한, 세트; 및

[0070] (C) 신호 올리고뉴클레오티드의 세트로서, 각 신호 올리고뉴클레오티드는

[0071] (aa) 디코딩 올리고뉴클레오티드에 포함된 번역자 요소(c)의 적어도 뉴클레오티드 서열의 섹션에 본질적으로 상보적인 뉴클레오티드 서열을 포함하는 번역자 연결자 요소(C), 및

[0072] (bb) 신호 요소를 포함하는, 세트.

[0073] 추가의 양태에서, 본 개시내용의 실시형태는 본 개시내용에 따른 멀티플렉스 방법의 사용을 포함하는, 암, 신경 질환, 심혈관 질환, 염증성 질환, 자가면역 질환, 바이러스 또는 세균 감염으로 인한 질환, 피부 질환, 골격근 질환, 치과 질환 및 산전 질환을 포함하는 군으로부터 선택된 질환의 진단을 위한 *시험관내* 방법에 관한 것이다.

[0074] 추가의 양태에서, 본 개시내용의 실시형태는 생물학적 스트레스, 바람직하게는 감염성 및/또는 기생충 기원에 의해 유발된 질환, 또는 바람직하게는 영양 결핍 및/또는 불리한 환경에 의해 유발된 비생물학적 스트레스에 의해 유발된 질환을 포함하는 군으로부터 선택된 식물에서 질환의 진단을 위한 *시험관내* 방법을 제공하며, 상기 방법은 본 개시내용에 따른 멀티플렉스 방법의 사용을 포함한다.

[0075] 추가 양태에서, 본 개시내용의 일부 실시형태는 적어도 하기를 포함하는, 본 개시내용에 따른 방법에 적합한 광 멀티플렉싱 시스템에 관한 것이다:

[0076] - 본 개시내용에 따른 키트 또는 키트의 일부를 함유하기 위한 적어도 하나의 반응 용기;

[0077] - 현미경, 특히 형광 현미경을 포함하는 검출 단위

[0078] - 카메라

[0079] - 액체 취급 장치.

[0080] 추가 양태에서, 본 개시내용의 일부 실시형태는 하기를 포함하는 멀티플렉스 분석물 인코딩을 위한 키트에 관한 것이다

[0081] (A) 적어도 이십(20)개 상이한 분석물을 인코딩하기 위해 분석물-특이적 프로브의 적어도 20개 상이한 세트로서, 각 분석물-특이적 프로브의 세트는 상이한 분석물과 상호작용하며, 여기서 분석물이 핵산인 경우 분석물-특이적 프로브의 각 세트는 동일한 분석물의 상이한 하위-구조와 특이적으로 상호작용하는 적어도 다섯(5)개 분석물-특이적 프로브를 포함하며, 각각의 분석물-특이적 프로브는

[0082] (aa) 인코딩되는 상이한 분석물 중 하나와 특이적으로 상호작용하는 결합 요소(S), 및

[0083] (bb) 인코딩되는 분석물에 고유한 뉴클레오티드 서열(고유 식별자 서열)을 포함하는 식별자 요소(T)를

포함하며,

[0084] 여기서 분석물-특이적 프로브의 특정 세트의 분석물-특이적 프로브는 식별자 요소(T)의 뉴클레오티드 서열에서 분석물-특이적 프로브의 다른 세트의 분석물-특이적 프로브와 상이하고,

[0085] 여기서 분석물-특이적 프로브의 각 세트에서 분석물-특이적 프로브는 동일한 분석물에 결합하고 상기 분석물에 고유한 식별자 요소(T)의 동일한 뉴클레오티드 서열을 포함하는, 세트; 및

[0086] (B) 분석물당 적어도 하나의 디코딩 올리고뉴클레오티드의 세트로서, 여기서 개별 분석물에 대한 각각의 디코딩 올리고뉴클레오티드의 세트에서 각각의 디코딩 올리고뉴클레오티드는

[0087] (aa) 상응하는 분석물-특이적 프로브 세트의 식별자 요소(T)의 적어도 고유 식별자 서열의 섹션에 본질적으로 상보적인 뉴클레오티드 서열을 포함하는 식별자 연결자 요소(t), 및

[0088] (bb) 신호 올리고뉴클레오티드의 특이적 혼성화를 허용하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 번역자 요소(c)를 포함하고;

[0089] 여기서 개별 분석물에 대한 세트의 디코딩 올리고뉴클레오티드는 식별자 연결자 요소(t)에서 상이한 분석물에 대한 또 다른 세트의 디코딩 올리고뉴클레오티드와 상이한, 세트; 및

[0090] (C) 신호 올리고뉴클레오티드의 세트로서, 각 신호 올리고뉴클레오티드는

[0091] (aa) 디코딩 올리고뉴클레오티드에 포함된 번역자 요소(c)의 적어도 뉴클레오티드 서열의 섹션에 본질적으로 상보적인 뉴클레오티드 서열을 포함하는 번역자 연결자 요소(C), 및

[0092] (bb) 신호 요소를 포함하는, 세트,

[0093] 여기서 키트는 분석물에 대한 적어도 2개의 상이한 분석물-특이적 프로브의 세트를 포함하고,

[0094] 여기서 분석물-특이적 프로브는 동일한 분석물과 상호작용하지만, 동일한 분석물의 다른 하위-구조와 특이적으로 상호작용하는 이들 상이한 세트로 구성되고,

[0095] 여기서 분석물-특이적 프로브의 제1 세트의 분석물-특이적 프로브는 분석물의 모든 변형에 포함되는 하위-구조와 상호작용하고,

[0096] 여기서 분석물-특이적 프로브의 제2 세트의 분석물-특이적 프로브(하위군-특이적 프로브)는 분석물의 특이적 변형에만 포함되는 하위-구조와 상호작용하고,

[0097] 여기서 분석물-특이적 프로브의 제1 세트의 분석물-특이적 프로브는 인코딩되는 분석물에 고유한 뉴클레오티드 서열(고유 식별자 서열)을 포함하는 동일한 식별자 요소(T)를 포함하고,

[0098] 여기서 분석물-특이적 프로브의 제2 세트의 분석물-특이적 프로브는 인코딩되는 분석물에 고유한 뉴클레오티드 서열(고유 식별자 서열)을 포함하는 동일한 식별자 요소(T)를 포함하고,

[0099] 여기서 분석물-특이적 프로브의 제1 세트의 분석물-특이적 프로브의 식별자 요소(T) 및 분석물-특이적 프로브의 제2 세트의 분석물-특이적 프로브의 식별자 요소(T)는 상이함.

[0100] 더욱이, 일부 실시형태는 다음을 포함하는 멀티플렉스 분석물 인코딩을 위한 키트에 관한 것이다

[0101] (A) 선택적으로 적어도 이십(20)개 상이한 분석물을 인코딩하기 위한 적어도 20개 상이한 분석물-특이적 프로브의 세트로서, 각각의 분석물-특이적 프로브의 세트는 상이한 분석물과 상호작용하며, 여기서 분석물이 핵산인 경우 각 세트의 분석물-특이적 프로브는 동일한 분석물의 다른 하위-구조와 특이적으로 상호작용하는 적어도 다섯(5)개 분석물-특이적 프로브를 포함하며, 각 분석물-특이적 프로브는

[0102] (aa) 인코딩되는 상이한 분석물 중 하나와 특이적으로 상호작용하는 결합 요소(S), 및

[0103] (bb) 인코딩되는 분석물에 고유한 뉴클레오티드 서열(고유 식별자 서열)을 포함하는 식별자 요소(T)를 포함하며,

[0104] 여기서 분석물-특이적 프로브의 특정 세트의 분석물-특이적 프로브는 식별자 요소(T)의 뉴클레오티드 서열에서 분석물-특이적 프로브의 다른 세트의 분석물-특이적 프로브와 상이하고,

[0105] 여기서 분석물-특이적 프로브의 각 세트에서 분석물-특이적 프로브는 동일한 분석물에 결합하고 상기 분석물에

고유한 식별자 요소(T)의 동일한 뉴클레오티드 서열을 포함하는, 세트; 및

[0106] (B) 분석물당 적어도 하나의 디코딩 올리고뉴클레오티드의 세트로서, 여기서 개별 분석물에 대한 각각의 디코딩 올리고뉴클레오티드의 세트에서 각 디코딩 올리고뉴클레오티드는

[0107] (aa) 상응하는 분석물-특이적 프로브 세트의 식별자 요소(T)의 적어도 고유 식별자 서열의 섹션에 본질적으로 상보적인 뉴클레오티드 서열을 포함하는 식별자 연결자 요소(t), 및

[0108] (bb) 신호 올리고뉴클레오티드의 특이적 혼성화를 허용하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 번역자 요소(c)를 포함하며;

[0109] 여기서 개별 분석물에 대한 세트의 디코딩 올리고뉴클레오티드는 식별자 연결 요소(t)에서 상이한 분석물에 대한 또 다른 세트의 디코딩 올리고뉴클레오티드와 상이한, 세트; 및

[0110] (C) 신호 올리고뉴클레오티드의 세트로서, 각 신호 올리고뉴클레오티드는

[0111] (aa) 디코딩 올리고뉴클레오티드에 포함된 번역자 요소(c)의 적어도 뉴클레오티드 서열의 섹션에 본질적으로 상보적인 뉴클레오티드 서열을 포함하는 번역자 연결자 요소(C), 및

[0112] (bb) 신호 요소를 포함하는, 세트.

[0113] 추가 양태에서, 일부 실시형태는 다음을 포함하는 물질 및/또는 약물을 스크리닝, 식별 및/또는 테스트하기 위한 *시험관내* 방법을 제공한다:

[0114] (a) 샘플을 포함하는 테스트 샘플을 물질 및/또는 약물과 접촉시키는 단계

[0115] (b) 샘플에서 상이한 분석물을 본 개시내용에 따른 방법으로 상기 분석물의 순차적인 신호-인코딩에 의해 검출하는 단계.

[0116] 추가 양태에서, 개시내용의 실시형태는 샘플에서 표적의 하위군을 표적화함에 의해 상이한 분석물(제1 양태에서 기술됨)을 검출하기 위한 멀티플렉스 방법을 확장한다. 기술된 대로 수행되는 경우 한 세트의 프로브의 순차적 신호-인코딩 및 프로브의 적어도 하나의 추가 세트가 표적 하위군을 구별하기 위해 추가된다.

[0117] 주요 분석물의 디코딩(다중 라운드)은 기술된 대로 수행된다(양태 1의 A 내지 I). 상기 분석물의 하위군을 식별하기 위해 추가 신호가 생성되고 주 분석물의 인코딩과 조합하여 분석된다. 방법은 다음을 포함한다:

[0118] **(A1)** 샘플을 적어도 20개의 상이한 분석물의 인코딩을 위한 적어도 이십(20)개 상이한 분석물-특이적 프로브의 세트와 접촉시키는 단계로서, 각 분석물-특이적 프로브의 세트는 상이한 분석물과 상호작용하며, 여기서 분석물이 핵산인 경우 각 분석물-특이적 프로브의 세트는 동일한 분석물의 상이한 하위-구조와 특이적으로 상호작용하는 적어도 다섯(5)개 분석물-특이적 프로브를 포함하며, 각각의 분석물-특이적 프로브는

[0119] (aa) 인코딩되는 상이한 분석물 중 하나와 특이적으로 상호작용하는 결합 요소(S), 및

[0120] (bb) 인코딩되는 분석물에 고유한 뉴클레오티드 서열(고유 식별자 서열)을 포함하는 식별자 요소(T)를 포함하며,

[0121] 여기서 분석물-특이적 프로브의 특정 세트의 분석물-특이적 프로브는 식별자 요소(T)의 뉴클레오티드 서열에서 분석물-특이적 프로브의 다른 세트의 분석물-특이적 프로브와 상이하고,

[0122] 여기서 분석물-특이적 프로브의 각 세트에서 분석물-특이적 프로브는 동일한 분석물에 결합하고 상기 분석물에 고유한 식별자 요소(T)의 동일한 뉴클레오티드 서열을 포함하는, 단계; 및

[0123] **(A2)** 적어도 하나의 분석물의 하위군을 식별자 요소(T)의 뉴클레오티드 서열에서 분석물-특이적 프로브의 또 다른 세트의 분석물-특이적 프로브와 상이한 적어도 다섯(5)개 하위군-특이적 프로브의 세트와 접촉시키는 단계,

[0124] **(B)** 샘플을 분석물당 적어도 하나의 디코딩 올리고뉴클레오티드의 세트와 접촉시키는 단계로서, 여기서 개별 분석물에 대한 각 디코딩 올리고뉴클레오티드의 세트에서 각각의 디코딩 올리고뉴클레오티드는

[0125] (aa) 상응하는 분석물-특이적 프로브 세트의 식별자 요소(T)의 적어도 고유 식별자 서열의 섹션에 본질적으로 상보적인 뉴클레오티드 서열을 포함하는 식별자 연결자 요소(t), 및

[0126] (bb) 신호 올리고뉴클레오티드의 특이적 혼성화를 허용하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 번역자 요소(c)를 포함하며;

[0127] 여기서 개별 분석물에 대한 세트의 디코딩 올리고뉴클레오티드는 제1 연결 요소(t)에서 상이한 분석물에 대한 또 다른 세트의 디코딩 올리고뉴클레오티드와 상이한, 단계; 및

[0128] (C) 샘플을 적어도 신호 올리고뉴클레오티드의 세트와 접촉시키는 단계로서, 각 신호 올리고뉴클레오티드는

[0129] (aa) 디코딩 올리고뉴클레오티드에 포함된 번역자 요소(c)의 적어도 뉴클레오티드 서열의 섹션에 본질적으로 상보적인 뉴클레오티드 서열을 포함하는 번역자 연결자 요소(C), 및

[0130] (bb) 신호 요소를 포함하는, 단계.

[0131] (G) 신호 요소에 의해 야기된 신호를 검출하는 단계;

[0132] (H) 샘플로부터 디코딩 올리고뉴클레오티드 및 신호 올리고뉴클레오티드를 선택적으로 제거하고, 이에 의해 인코딩되는 분석물에 대한 분석물-특이적 프로브의 특이적 결합을 본질적으로 유지하는 단계;

[0133] (I) 분석물당 코드워드로 인코딩 체계를 생성하기 위해 단계 B) 내지 E)를 포함하는 적어도 세(3)개의 추가 주기를 수행하는 단계.

[0134] (J) 단계 A2)에서 접촉된 하위군-특이적 프로브를 식별하기 위해 단계 B) 내지 E)를 포함하는 적어도 하나(1)의 추가 주기를 수행하는 단계로서, 여기서 특히 마지막 주기는 단계 (D)에서 중단할 수 있는, 단계.

[0135] 본 개시내용에 따르면, 고유한 태그(식별자)가 표적(예를 들어, 하나의 단일 유전자의 mRNA)당 또는 표적 그룹에 대해 사용된다. 그룹은 특정 동일성, 프로세스, 생물학적 기능 또는 질환(예를 들어: 세포 유형, 염증, 신호처리, 암)을 나타내도록 형성될 수 있다.

[0136] 놀랍게도, 본 개시내용에 따른 방법 및 키트는 복잡성의 감소를 초래한다. 상이한 결합 서열을 가진 많은 상이한 프로브는 동일한(표적당 하나) 고유한 태그를 공유한다. 이들 태그는 (표적당 하나에 대한) 서열 복잡성을 줄이고 또한 미리결정된 일정한 속성(예를 들어 열역학적 안정성)을 갖는다.

[0137] 본 개시내용에 따른 방법 및 키트의 이점은 다음과 같다:

[0138] a) 태그의 동일성을 결정하는, 예를 들어 더 많거나 적은 신호 및/또는 라운드, 다양한 수의 형광단, 태그당 총 신호의 수 → 더 낮은 수의 표적(예를 들어 20)을 사용하는 프로세스의 완전한 유연성은, 두 경우 모두에서 정확히 동일한 고유한 태그가 사용되는 경우에도, 많은 수의 표적(예를 들어 100, 이들은 동일한 신뢰 수준을 위해 8 라운드를 필요로 함)보다 적은 라운드(예를 들어 4)에서 높은 신뢰도로 식별될 수 있다.

[0139] b) 모든 고유한 태그는 혼성화의 많은 연속 라운드에서 사용(재순환)되고 모든 일차 프로브는 식별의 모든 라운드에서 기여(그 동일성에 대한 정보를 제공)한다.

[0140] c) 모든 태그가 동일한 미리정의된 속성(예를 들어 선택적 변성을 허용하는 열역학적 안정성)을 공유하기 때문이다.

[0141] d)

[0142] 일부 유리한 실시형태에서, 고유한 태그는 다음과 같이 설계된다:

[0143] - 프로세스(프로브, 디코더, 판독)의 모든 올리고뉴클레오티드 간에 교차-혼성화가 없으므로, 모든 태그 서열을 함께 사용할 수 있음(호환가능)

[0144] - 상이한 고유한 태그의 연결자 요소(가교) 간에 교차-혼성화 없음

[0145] - 고유한 태그의 혼성화의 안정성은 좁은 범위에 있어야 한다: 가능한 한 안정적이지만(빠른 혼성화, 즉 짧은 주기 시간) (일차 프로브를 제거함이 없이 차등 변성을 위해) 일차 프로브보다 유의하게 상이함(이 경우 덜 안정적임)

[0146] 따라서, 본 설명은 특히 특이적 혼성화를 통해 병렬로 상이한 분석물의 특이적 정량적 및/또는 공간적 검출을 위한 일련의 표지된 및 비표지된 핵산 서열의 사용에 관한 것이다. 기술은 다양한 검출 신호를 사용할 수 있는 것보다 더 다양한 분석물의 식별을 허용한다. 식별은 특정 혼성화, 신호의 검출 및 혼성화된 핵산 서열의 선택적 용리의 여러 주기에 의해 달성된 분석물의 순차적인 신호-코딩을 통해 실현된다. 다른 최첨단 방법과 대비하여, 검출가능한 신호를 제공하는 올리고뉴클레오티드는 샘플-특이적 핵산 서열과 직접적으로 상호작용하지 않지만 소위 "디코딩-올리고뉴클레오티드"에 의해 매개된다. 이 메커니즘은 분석물-특이적 올리고뉴클레오티드와 신호 올리고뉴클레오티드 사이의 의존성을 분리한다. 디코딩-올리고뉴클레오티드의 사용은 훨씬 더 높은 유연성을

허용하는 동시에 필요한 상이한 신호 올리고뉴클레오티드의 수를 극적으로 감소시켜 차례로 특정 수의 검출 라운드로 달성되는 코딩 용량을 증가시킨다. 디코딩-올리고뉴클레오티드의 활용은 예를 들어 다른 방법보다 더 유연하고, 더 저렴하고, 더 간단하고, 더 빠르고, 및/또는 더 정확한 순차적인 신호-코딩 기술로 이어진다.

[0147] 하위군-특이적 프로브를 포함하는 본 개시내용에 따른 키트 및 방법의 사용에 대한 예는 다음과 같다:

[0148] 1.) 암 연구에서 융합-전사체 검출

[0149] 키메라 단백질을 생성하는 유전자 융합 이벤트는 전반적인 종양의 대략적으로 20%를 차지하는 몇 가지 암 유형의 원인이 된다(Mitelman 2007). RNA 융합의 검출은 다양한 종양의 분자 특성화 및 진단을 용이하게 했다(Neckles 2020에서 검토). 분해를 위해 발암성 융합 전사체를 표적화하는 최근 승인 분자는 이들이 유망한 치료 표적임을 시사한다. 그러나, 발암성 융합 전사체의 종양-간 및 종양-내 다양성은 이상적으로는 세포 수준 또는 심지어 세포이하 분해능으로 더 자세히 이해할 필요가 있다.

[0150] · Mitelman, F., Johansson, B., & Mertens, F. (2007): The impact of translocations and gene fusions on cancer causation. Nature Reviews. Cancer, 7(4), 233-245.

[0151] · Neckles, C, Sundara Rajan, S, Caplen, NJ. (2020): Fusion transcripts: Unexploited vulnerabilities in cancer? WIREs RNA; 11:e1562. https://doi.org/10.1002/wrna.1562

[0152] 2.) RNA 하위군(대체 스플라이싱)

[0153] RNA 스플라이싱은 유전자 발현의 기본 과정이고 대체 스플라이싱은 전사체 복잡성, 세포-유형 분화 및 유기체 발달에 중요한 역할을 수행한다. 비정상적인 스플라이싱은 암 및 신경변성을 포함한 수많은 질병을 유발할 수 있기 때문에 스플라이싱 생성물의 검출이 중요하다. 개별 세포 사이의 스플라이싱 가변성은 주로 유전자 발현 이질성을 담당한다. 단일 세포 수준에서 RNA 스플라이싱 변이체를 조사하면 조절 회로를 해독하고 세포 유형과 하위유형을 분류하고 이해하는데 도움이 될 것이다(Walks 2011). 단일-분자 FISH(smFISH)는 이전에 RNA 스플라이싱 변이체를 검출하기 위해 적용되었다. Vargas(2011)는 비스플라이싱된 pre-mRNA를 검출할 수 있었고, 스플라이싱된 인트론, 및 스플라이싱된 mRNA는 단일 세포에서 동시적으로 검출되지만, 이것은 어떠한 멀티플렉싱도 허용하지 않는다.

[0154] · T. Maniatis, B. Tasic. (2002): Alternative pre-mRNA splicing and proteome expansion in metazoans. Nature, 418, pp. 236-243

[0155] · Z. Waks, A.M. Klein, P.A. Silver. (2011): Cell-to-cell variability of alternative RNA splicing. Mol. Syst. Biol., 7, p. 506

[0156] · D.Y. Vargas, K. Shah, M. Batish, M. Levandoski, S. Sinha, S.A. Marras, P. Schedl, S. Tyagi. (2011): Single-molecule imaging of transcriptionally coupled and uncoupled splicing. Cell, 147, pp. 1054-1065

[0157] 3.) 바이러스 전사체 길이

[0158] 많은 바이러스 게놈은 다양한 길이의 mRNA 종으로 이어질 수 있는 다중 프로모터를 담지하고, 그 중 일부는 일부 공통적인 부분을 갖는다. 정확한 길이와 조성을 검출하는 것은 바이러스 감염의 현재 단계를 이해하는 데 중요하다. 예를 들어, HBV 게놈은 다중 게놈 및 서브-게놈 바이러스 mRNA 전사체의 합성을 위한 주형으로 역할을 한다: 4개의 바이러스 프로모터인, Core, Pre S1, Pre S2 및 X와 2개의 인핸서인, 인핸서 I 및 인핸서 II는 HBV의 전사를 조절한다(Zheng 2004). 이들 하위-게놈 mRNA 전사체 각각의 정량화는 감염 및 복제 상태의 단계를 이해하는데 중요하다.

[0159] · Zheng, Y., Li, J. & Ou, J. (2004): Regulation of Hepatitis B Virus Core Promoter by Transcription Factors HNF1 and HNF4 and the Viral X Protein Regulation of Hepatitis B Virus Core Promoter by Transcription Factors HNF1 and HNF4 and the Viral X Protein. 78, 6908-6914

[0160] 개시내용을 상세히 설명하기 전에, 본 개시내용이 기술된 방법의 단계의 특정 구성요소 부분으로 제한되지 않음을 이해해야 한다. 또한 본 명세서에서 사용된 용어는 특정 실시형태를 기술하기 위한 목적일 뿐 제한하려는 의도가 아님을 이해해야 한다. 명세서 및 첨부된 청구범위에 사용된 바와 같이, 단수 형태 "a", "an" 및 "the"는 문맥상 명백하게 달리 지시하지 않는 한 단수 및/또는 복수 대상을 포함한다는 점에 유의해야 한다. 더욱이 숫자 값으로 구분되는 매개변수 범위가 제공되는 경우 범위는 이들 제한 값을 포함하는 것으로 간주된다는 점을 이해해야 한다.

도면의 간단한 설명

[0161] 도 1: 분석물이 핵산이고 프로브 세트가 분석물에 특이적으로 결합하는 올리고뉴클레오티드를 포함하는 실시형태. 프로브는 디코딩 올리고뉴클레오티드의 혼성화를 허용하는 고유 식별자 서열을 포함한다.

도 2: 분석물이 단백질이고 프로브 세트가 분석물에 특이적으로 결합하는 단백질(여기서는: 항체)을 포함하는 실시형태. 프로브는 디코딩 올리고뉴클레오티드의 혼성화를 허용하는 고유 식별자 서열을 포함한다.

도 3: 본 개시내용에 따른 방법의 흐름도.

도 4: 디코딩 및 신호 올리고뉴클레오티드의 적용을 위한 대체 옵션.

도 5: 2개의 상이한 신호 유형 및 3개의 검출 라운드에 의한 3개의 상이한 핵산 서열의 신호 인코딩에 대한 실시예; 이 실시예에서 인코딩 체계는 오류 검출을 포함한다.

도 6: 검출 주기의 수에 대한 생성된 코드워드의 수(로그 스케일).

도 7: 단일 단계 효율성에 기반한 5-라운드 인코딩 체계의 계산된 총 효율성.

도 8: 상이한 실험 간의 상대적 전사체 풍부도의 비교.

도 9: 상이한 실험 간의 상대적 전사체 풍부도의 상관관계.

도 10: 신호의 세포간 분포의 비교.

도 11: 신호의 세포내 분포의 비교.

도 12: 상이한 세포 주기 의존적 전사체의 분포 패턴.

도 13: 2개 표지(A 및 B) 및 무 표지(-)로 8개 라운드 코드를 사용한 다중 표적의 검출. 표적 1, 2, 3, 4, 5, 20 및 n이 표시된다. 코딩 체계의 라운드 1, 2, 3 및 8이 표시된다.

도 14: 다중 표적의 검출은 검출가능한 마커를 사용하는 인코딩 체계에 의해 수행될 수 있다. 엔딩 체계는 "0"을 마커로 포함할 수도 있다. 그것은 특정한 위치에서 전사체가 검출되지 않는다는 것을 의미한다. 결과적으로 인코딩 체계는 단지 2개의 유전자 특이적 프로브만 사용하는 다음 작제물에 의해 나타낼 수 있다:

1) 검출가능한 표지 F 있음: 이미징 동안 검출가능

2) 검출가능한 표지 F 및 소광제 Q 있음: 이미징 동안 검출가능하지 않음

3) 소광제 Q 있음: 이미징 동안 검출가능하지 않음

4) 표지 F 없음: 이미징 동안 검출가능하지 않음

5) 시그널링 올리고뉴클레오티드 없음: 이미징 동안 검출가능하지 않음

6) 시그널링 올리고뉴클레오티드를 동원할 수 없는 디코더 올리고뉴클레오티드 있음

7) 디코더 올리고뉴클레오티드 없음: 이미징 동안 검출가능하지 않음

도 15: 추가의 하위군-특이적 프로브 세트를 사용한 상이한 표적(라운드 0)의 하위군의 검출. 절차는 공통(공유) 부분에서 분석물-특이적 프로브 세트를 접촉하는 것과, 부가하여 하위군-특이적 프로브 세트를 하위군-결정(독점적) 부분으로 접촉하는 것(라운드 1; 설명, A2 참조)을 포함한다. 또한 기술된 디코딩 체계를 사용하여, 공유 부분에 결합된 프로브 세트를 사용한 분석물의 검출(라운드 1 내지 4). 라운드 5: 적어도 하나의 전용 라운드에서 하위군-특이적 프로브 세트만이 검출된다. 표적의 배타적 부분의 존재는 그 다음 이전 라운드의 결과와 조합되어 그룹 1 내의 하위군 1' 및 그룹 2 내의 하위군 2'를 구별할 수 있다.

도 16: 다중-디코더의 가능한 구조. 숫자는 실시예를 나타낸다. (A)는 고유 식별자 서열이고, (a)는 디코딩 올리고뉴클레오티드 또는 다중-디코더의 상응하는 서열이고, (c1) 내지 (c3)은 상이한 신호 올리고뉴클레오티드에 특이적으로 결합하는 상이한 서열 요소이다. 실시예 2 내지 5는 상이한 버전의 다중 디코더를 나타낸다. 상이한 서열 요소의 순서뿐만 아니라 신호 올리고뉴클레오티드 결합 요소의 수는 고정되지 않는다. 실시예 1은 단 하나의 신호 올리고뉴클레오티드 결합 요소(c1)가 있기 때문에 정상적인 디코딩 올리고뉴클레오티드를 보여준다.

도 17: 다중-디코더 및 3개의 상이한 신호 유형과 3개의 검출 라운드를 생성하는 2개의 상이한 신호 올리고뉴클

레오티드를 사용함에 의해 3개의 상이한 핵산 서열의 신호 인코딩에 대한 실시예. 이 실시예에서 인코딩 체계는 오류 검출 및 교정을 포함한다.

도 18: 검출 주기의 수에 대한 생성된 코드워드의 수(로그 스케일). merFISH에 대한 코드워드의 수는 탐지 주기의 수에 따라 기하급수적으로 증가하지 않지만 각 라운드가 추가될 때마다 덜 효과적이다. 대조적으로, 다중-디코더를 사용하지 않는 본 개시내용의 방법인 intronSeqFISH에 대한 코드워드의 수, 다중-디코더를 갖는 방법은 기하급수적으로 증가한다. 다중-디코더를 사용하는 방법에 대한 곡선의 기울기는 이전 발명의 것보다 훨씬 더 높아서 20 라운드의 검출 후 사용가능한 코드워드를 20,000,000배 보다 더 많게 한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0162] 샘플에서 상이한 분석물 및 분석물의 상이한 하위군/변형을 검출하기 위한 신규한 멀티플렉스 방법 및 키트가 본 명세서에 개시되어 있다.

[0163] 본 개시내용은 특이적 혼성화를 통해 병렬로 상이한 분석물의 특이적 정량적 및/또는 공간적 검출을 위한 표지된 및 비표지된 핵산 서열의 세트의 사용을 기술한다. 기술은 다양한 검출 신호를 사용할 수 있는 것보다 더 다양한 분석물의 식별을 허용한다. 식별은 특정 혼성화, 신호의 검출 및 혼성화된 핵산 서열의 선택적 용리의 여러 주기에 의해 달성된 분석물의 순차적인 신호-코딩을 통해 실현된다.

[0164] 다른 최첨단 방법과 대비하여, 검출가능한 신호를 제공하는 올리고뉴클레오티드는 샘플-특이적 핵산 서열과 직접적으로 상호작용하지 않지만 소위 "디코딩-올리고뉴클레오티드"에 의해 매개된다. 이 메커니즘은 분석물-특이적 올리고뉴클레오티드와 신호 올리고뉴클레오티드 사이의 의존성을 분리한다. 디코딩-올리고뉴클레오티드의 사용은 훨씬 더 높은 유연성을 허용하는 동시에 필요한 상이한 신호 올리고뉴클레오티드의 수를 극적으로 감소시켜 차례로 특정 수의 검출 라운드로 달성되는 코딩 용량을 증가시킨다.

[0165] 디코딩-올리고뉴클레오티드의 활용은 예를 들어 다른 방법보다 더 유연하고, 더 저렴하고, 더 간단하고, 더 빠르고, 및/또는 더 정확한 순차적인 신호-코딩 기술로 이어진다.

[0166] **A. 정의**

[0167] 본 개시내용에 따르면 "분석물"은 샘플에 존재하거나 부재하는 것으로 구체적으로 검출되고, 존재하는 경우 이를 인코딩하는 대상체이다. 이는 단백질, 폴리펩티드, 단백질 또는 관심있는 핵산 분자(예를 들어 RNA, PNA 또는 DNA)를 포함하는 임의의 종류의 개체일 수 있다. 분석물은 분석물-특이적 프로브와의 특이적 결합을 위한 적어도 하나의 부위를 제공한다. 때때로 본 명세서에서 용어 "분석물"은 "표적"으로 대체된다. 개시내용에 따른 "분석물"은 대상체의 복합체, 예를 들어, 적어도 2개의 개별 핵산, 단백질 또는 펩티드 분자를 포함한다. 개시내용의 실시형태에서 "분석물"은 염색체를 제외한다. 개시내용의 또 다른 실시형태에서 "분석물"은 DNA를 제외한다. 본 개시내용에 따른 용어 "분석물"은 동일한 분석물의 상이한 변형/실시형태의 그룹 예를 들어 분석물의 스플라이스 변이체, 상이한 인트론 및/또는 엑손을 포함하는 변이체, UTR을 포함하는 서열 및/또는 상이한 길이를 갖는 서열을 포함할 수 있다. 특히, 적어도 50%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95%의 서열 동일성을 갖는 염기성 서열 및 변이체.

[0168] 일부 실시형태에서, 분석물은 "코딩 서열", "인코딩 서열", "구조적 뉴클레오티드 서열" 또는 "구조적 핵산 분자"일 수 있으며 이는 적절한 조절 순서의 제어 하에 배치될 때 보통 mRNA를 통해 폴리펩티드로 번역되는 뉴클레오티드 서열을 지칭한다. 코딩 서열의 경계는 5'-말단에서 번역 시작 코돈과 3'-말단에서 번역 정지 코돈에 의해 결정된다. 코딩 서열은 게놈 DNA, cDNA, EST 및 재조합 뉴클레오티드 서열을 포함할 수 있지만 이에 제한되지 않는다.

[0169] 본 명세서에 언급된 "샘플"은 인코딩되는 분석물을 포함하는 것으로 의심되는 액체 또는 고체 형태의 조성물이다. 특히, 샘플은 바람직하게는 생물학적 조직을 포함하고, 더욱 바람직하게는 생물학적 세포 및/또는 추출물 및/또는 세포의 일부를 포함하는 생물학적 샘플이다. 예를 들어, 세포는 원핵 세포 또는 진핵 세포, 특히 포유동물 세포, 특히 인간 세포이다. 일부 실시형태에서, 생물학적 조직, 생물학적 세포, 추출물 및/또는 세포의 일부는 고정된다. 특히, 분석물은 세포-함유 샘플과 같은 투과성 샘플에 고정된다.

[0170] 본 개시내용에서 사용된 바와 같이, "세포", "세포주" 및 "세포 배양물"은 상호교환적으로 사용될 수 있고 이러한 모든 명칭은 자손을 포함한다. 따라서, "형질전환체" 또는 "형질전환된 세포"라는 단어는 전달 횟수에 관계없이 일차 대상체 세포 및 그로부터 유래된 배양물을 포함한다. 또한 고의적이거나 부주의한 돌연변이로 인해 모든 자손이 DNA 내용물에서 정확히 동일하지 않을 수 있다는 것도 이해된다. 원래 형질전환된 세포에서 스크리

닝된 것과 동일한 기능성을 가진 돌연변이체 자손이 포함된다.

[0171] "인코딩 체계"는 검출되는 분석물과 연관된 코드워드의 세트를 기술할 수 있다. 각 코드워드는 분석물 중 하나를 지칭하고 다른 모든 코드워드와 구별될 수 있다. 여기서 코드워드는 방법의 검출 주기에 의해 제공되는 일련의 기호이다. 코드워드 내의 기호는 검출가능한 신호 또는 신호의 부재이다. 코드워드는 방법에서 사용되는 모든 다른 신호로 구성될 필요가 없다. 코드워드에서 기호의 수는 검출 주기의 수에 의해 한정된다.

[0172] 본 명세서에서 사용되는 "올리고뉴클레오티드"는 DNA, PNA, LNA 또는 RNA와 같은 짧은 핵산 분자를 지칭한다. 올리고뉴클레오티드의 길이는 연속적인 서열 요소의 수에 따라 4-200 뉴클레오티드(nt), 바람직하게는 6-80nt, 더 바람직하게는 8-60nt, 보다 바람직하게는 10-50nt, 보다 바람직하게는 12 내지 35 범위 내이다. 핵산 분자는 완전히 또는 부분적으로 단일-가닥일 수 있다. 올리고뉴클레오티드는 선형일 수 있거나 헤어핀 또는 루프 구조를 포함할 수 있다. 올리고뉴클레오티드는 비오틴, 라벨링 모이어티, 차단 모이어티 또는 다른 변형과 같은 변형을 포함할 수 있다.

[0173] "분석물-특이적 프로브"는 적어도 2개의 요소, 즉 분석물 중 하나와 특이적으로 상호작용하는 소위 결합 요소(S) 및 '고유 식별자 서열'을 포함하는 소위 식별자 요소(T)로 구성된다. 결합 요소(S)는 혼성화 서열 또는 압타머와 같은 핵산, 또는 항체와 같은 펩티드 구조일 수 있다.

[0174] 특히, 일부 실시형태에서 결합 요소(S)는 친화성 물질로부터의 친화성 모이어티인 모이어티 또는 그 전체적으로 항체, 항체 단편, 수용체 리간드, 효소 기질, 렉틴, 사이토카인, 림포카인, 인터류킨, 혈관신생 또는 독성 인자, 알레르겐, 펩티드성 알레르겐, 재조합 알레르겐, 알레르겐-특이형 항체, 자가면역-유발 구조, 조직-거부-유도 구조, 면역글로불린 불변 영역 및 이의 유도체, 돌연변이체 또는 이의 조합으로 구성된 군으로부터 선택된 친화성 물질을 포함한다. 추가의 유리한 실시형태에서, 항체 단편은 Fab, scFv; 단일 도메인 또는 이의 단편, 비스 scFv, Fab2, Fab3, 미니바디, 맥시바디, 디아바디, 트리아바디, 테트라바디 또는 탄닙, 특히 단일 사슬 가변 단편(scFv)이다.

[0175] 분석물-특이적 프로브에 포함된 "고유 식별자 서열"은 다른 고유 식별자와 비교하여 그 서열이 고유하다. 이 문맥에서 "고유"는 그것이 사이클린 A, 사이클린 D, 사이클린 E 등과 같은 하나의 분석물만 구체적으로 식별하거나, 또는 대안적으로 분석물의 그룹이 유전자 패밀리를 포함하는지 않는지 여부에 무관하게 그것이 분석물의 그룹만을 구체적으로 식별한다는 것을 의미한다. 따라서, 이 고유 식별자에 의해 인코딩되는 분석물 또는 분석물의 그룹은 식별자 요소(T)의 고유 식별자 서열에 기반하여 인코딩되는 다른 모든 분석물 또는 분석물의 그룹과 구별될 수 있다. 또는, 환언하면 특정 분석물 또는 분석물의 그룹에 대해 단지 하나의 '고유 식별자 서열'이 있지만 하나 초과, 즉 두 개도 없다. 고유 식별자 서열의 고유성으로 인해 식별자 요소(T)는 정확하게 한 가지 유형의 디코딩 올리고뉴클레오티드에 혼성화한다. 고유 식별자 서열의 길이는 병렬로 인코딩된 분석물의 수와 필요한 상호작용의 안정성에 따라 8-60nt, 바람직하게는 12-40nt, 더 바람직하게는 14-20nt 범위 내이다. 고유 식별자는 직접적으로 또는 링커, 공유 결합 또는 고친화성 결합 모드, 예를 들어 항체-항원 상호작용, 스트렙타비딘-비오틴 상호작용 등에 의해 부착된 분석물-특이적 프로브의 서열 요소일 수 있다. 용어 "분석물-특이적 프로브"는 각 프로브가 동일한 분석물이지만 가능하기로는 이의 상이한 부분, 예를 들어 인코딩되는 핵산 분자에 포함된 뉴클레오티드 서열의 상이한(예를 들어 이웃하는) 또는 중첩하는 섹션에 결합하는 방식에서 그의 결합 요소(S)가 다를 수 있는 복수의 프로브를 포함하는 것으로 이해된다. 그러나, 복수의 프로브 각각은 동일한 식별자 요소(T)를 포함한다.

[0176] "디코딩 올리고뉴클레오티드"는 적어도 2개의 서열 요소로 구성된다. 고유 식별자 서열에 특이적으로 결합할 수 있는 하나의 서열 요소는 "식별자 연결자 요소"(t) 또는 "제1 연결자 요소"(t)로 지칭되고, 신호 올리고뉴클레오티드에 특이적으로 결합하는 제2 서열 요소는 "번역자 요소"(c)로 지칭된다. 서열 요소의 길이는 병렬로 인코딩되는 분석물의 수, 필요한 상호작용의 안정성 및 사용된 상이한 신호 올리고뉴클레오티드의 수에 의존하여 8-60nt, 바람직하게는 12-40nt, 더 바람직하게는 14-20nt 범위 내이다. 두 서열 요소의 길이는 같을 수 있거나 같지 않을 수 있다.

[0177] 일부 유리한 실시형태에서, 본 개시내용의 키트 및/또는 방법에서 디코딩 올리고뉴클레오티드는 "다중-디코더"일 수 있다. "다중-디코더"는 적어도 3개의 서열 요소로 구성된 디코딩 올리고뉴클레오티드이다. 하나의 서열 요소(식별자 연결자 요소(t))는 고유 식별자 서열(식별자 요소(T))에 특이적으로 결합할 수 있고 적어도 2개의 다른 서열 요소(번역자 요소(c))는 상이한 신호 올리고뉴클레오티드를 특이적으로 결합한다(이들 각각의 서열 요소는 다중-디코더의 다른 요소에 의해 동원된 다른 모든 신호 올리고뉴클레오티드와 상이한 신호 올리고뉴클레오티드를 특이적으로 결합한다). 서열 요소의 길이는 병렬로 검출된 분석물의 수, 필요한 안정성 및 사용된

상이한 신호 올리고뉴클레오티드의 수에 의존하여 8-60nt, 바람직하게는 12-40nt, 보다 바람직하게는 14-20nt 범위 내에 있다. 서열 요소의 길이는 같을 수 있거나 같지 않을 수 있다.

[0178] 따라서, 일부 유리한 실시형태에서, 디코딩 올리고뉴클레오티드는 다음을 포함하는 다중-디코더이다.

[0179] - 상응하는 분석물-특이적 프로브 세트의 식별자 요소(T)의 적어도 고유 식별자 서열의 섹션에 본질적으로 상보적인 뉴클레오티드 서열을 포함하는 식별자 연결자 요소(t), 및

[0180] - 상이한 신호 올리고뉴클레오티드의 특이적 혼성화를 허용하는 뉴클레오티드 서열을 각각 포함하는 적어도 2개의 번역자 요소(c).

[0181] 따라서, 제1 번역자 요소는 제2 번역자 요소와 다른 신호 올리고뉴클레오티드를 결합한다. 특히, 신호 올리고뉴클레오티드는 신호 올리고뉴클레오티드에 포함된 신호 요소, 예를 들어 형광단의 종류가 다르다.

[0182] 본 명세서에 사용된 "신호 올리고뉴클레오티드" 또는 "리포터"는 적어도 2개의 요소, 소위 적어도 디코딩 올리고뉴클레오티드의 번역자 요소(c)의 적어도 뉴클레오티드 서열의 섹션에 특이적으로 혼성화가능한 뉴클레오티드 서열을 갖는 "번역자 연결자 요소"(C) 또는 "제2 연결자 요소"(C), 및 검출가능한 신호를 제공하는 "신호 요소"를 포함한다. 이 요소는 검출가능한 신호를 활성적으로 생성하거나 조작, 예를 들어 형광 여기를 통해 그러한 신호를 제공할 수 있다. 전형적인 신호 요소는, 예를 들어 검출가능한 반응을 촉매하는 효소, 형광단, 방사성 요소 또는 염료이다.

[0183] "세트"는 복수의 모이어티 또는 대상체, 예를 들어 상기 복수의 개별 구성원이 서로 동일하거나 상이한지 여부에 관계없이 분석물-특이적 프로브 또는 디코딩 올리고뉴클레오티드를 지칭한다. 분석물-특이적 프로브 세트에서, 분석물-특이적 프로브는 식별자 요소(T)에서 동일하지만 동일한 분석물과 특이적으로 상호작용하지만 인코딩되는 동일한 분석물의 다른 하위-구조와 특이적으로 상호작용하기 위해 상이한 결합 요소(S)를 포함할 수 있다.

[0184] "선택적 변성"은 최고 효율성으로 결합된 디코딩 올리고뉴클레오티드 및 신호 올리고뉴클레오티드를 제거하면서 동시에 표적 특이적 프로브가 최고 효율성으로 혼성화된 상태를 유지해야 하는 과정일 수 있다. 이들 2개의 조합된 이벤트의 총 효율성은 2개의 검출 주기에 대해 적어도 0.22, 3개의 검출 주기에 대해 0.37, 4개의 검출 주기에 대해 0.47, 5개의 검출 주기에 대해 0.55, 6개의 검출 주기에 대해 0.61, 7개의 검출 주기에 대해 0.65, 8개의 검출 주기에 대해 0.69, 9개의 검출 주기에 대해 0.72, 및 10개의 검출 주기에 대해 0.74, 11개의 검출 주기에 대해 0.76, 및 12개의 검출 주기에 대해 0.78일 수 있다.

[0185] 개시내용의 실시형태에서 단일 세트는 복수의 올리고뉴클레오티드를 지칭한다.

[0186] "분석물 특이적 프로브 세트"는 복수의 모이어티 또는 대상체, 예를 들어 서로 상이하고 분석물의 독립적인 영역에 결합하는 분석물-특이적 프로브를 지칭한다. 단일 분석물 특이적 프로브 세트는 적어도 동일한 고유 식별자에 의해 추가로 특성화된다.

[0187] "하위군 특이적 프로브 세트"는 "분석물 특이적 프로브 세트"와 동일한 특성을 포함할 수 있지만, 인코딩 및 디코딩 정보의 관점에서 상이할 수 있다. "하위군 특이적 프로브 세트"는 "분석물 특이적 프로브 세트"에 의해 이미 인코딩된 코드에 정보(대부분 존재/부재)를 부가하는 데만 사용된다.

[0188] 분석물의 "하위군" 또는 "변형"이라고도 불리는 것은 분석물의 실시형태를 지칭하며, 여기서 변형은 동일한 분석물의 모든 실시형태(또는 변형)에 포함된 공통 또는 "공유" 요소(예를 들어 동일한 핵산 서열) 및 서로 간에 및/또는 염기성 분석물로부터 분석물(표적)-하위군/변형을 구별하는 적어도 추가 요소를 포함한다.

[0189] 일부 실시형태에서, 적어도 다섯(5)개의 세트를 갖는 적어도 하나의 분석물의 하위군/변형은 식별자 요소(T)의 뉴클레오티드 서열에서 분석물-특이적 프로브의 또 다른 세트의 분석물-특이적 프로브와 상이한 하위군-특이적 프로브와 접촉된다.

[0190] "디코딩 올리고뉴클레오티드 세트"는 코드워드의 길이와 무관하게 인코딩을 실현하는데 필요한 특정 고유 식별자에 대해 특정한 복수의 디코딩 올리고뉴클레오티드를 지칭한다. "디코딩 올리고뉴클레오티드 세트"에 포함된 각각 및 모든 디코딩 올리고뉴클레오티드는 분석물-특이적 프로브의 동일한 고유 식별자 요소(T)에 결합한다.

[0191] 특정 실시형태에서, 디코딩 올리고뉴클레오티드의 결합 또는 혼성화의 이 패턴은 "코드워드"로 전환될 수 있다. 예를 들어, 코드워드는 분석물에 대해 "101" 및 "110"이 될 수도 있으며, 여기서 1의 값은 결합을 나타내고 0의 값은 무 결합을 나타낸다. 코드워드는 또한 다른 실시형태에서 더 긴 길이를 가질 수 있다(도 13 참조). 코드워

드는 분석물-특이적 프로브의 특정한 고유 식별자 서열과 직접적으로 관련될 수 있다. 따라서, 상이한 분석물-특이적 프로브는 특정 코드워드와 일치할 수 있으며, 이는 그 다음 디코딩 올리고뉴클레오티드의 결합 패턴에 기반하여 분석물-특이적 프로브의 상이한 분석물을 식별하는데 사용될 수 있다. 그러나, 무 결합이 분명한 경우, 이 실시예에서 코드워드는 "000"이 된다.

[0192] 각 코드워드에서 값은 일부 실시형태에서 다른 방식으로 할당될 수도 있다. 예를 들어 0의 값은 결합을 나타내는 반면 1의 값은 무 결합을 나타낼 수 있다. 유사하게, 1의 값은 2차 핵산 프로브와 한 유형의 시그널링 실체와의 결합을 나타낼 수 있는 반면, 0의 값은 2차 핵산 프로브와 다른 유형의 구별가능한 시그널링 실체와의 결합을 나타낼 수 있다. 이들 시그널링 실체는 예를 들어 상이한 형광의 색상을 통해 구별될 수 있다. 일부 경우에는 코드워드에서 값이 0과 1로 제한될 필요가 없다. 값은 3원(예를 들어 0, 1, 2) 또는 4원(예를 들어 0, 1, 2, 및 3 시스템)과 같은 더 큰 알파벳에서 가져올 수도 있다. 예를 들어, 각각의 상이한 값은 (일부 경우에) 신호의 부재로 표현될 수 있는 하나의 값을 포함하여, 상이한 구별가능한 시그널링 실체에 의해 표현될 수 있다.

[0193] 각 분석물에 대한 코드워드는 순차적으로 할당되거나 무작위로 할당될 수 있다. 예를 들어, 제1 분석물은 101에 할당될 수 있는 반면, 제2 핵산 표적은 110에 할당될 수 있다. 부가하여, 일부 실시형태에서, 코드워드는 오류-검출 시스템 또는 오류-교정 시스템, 예컨대 해밍 시스템, 골레이 코드 또는 확장된 해밍 시스템(또는 SECDED 시스템, 즉 단일 오류 교정, 이중 오류 검출)을 사용하여 할당될 수 있다. 일반적으로 언급하면, 이러한 시스템은 오류가 발생한 위치를 식별하는데 사용할 수 있고, 일부 경우에 이러한 시스템은 오류를 교정하고 올바른 코드워드가 무엇인지 결정하는 데에도 사용될 수 있다. 예를 들어, 001과 같은 코드워드는 유효하지 않은 것으로 검출될 수 있고, 예를 들어 001이 이전에 다른 표적 서열에 할당되지 않은 경우 이러한 시스템을 사용하여 101로 교정될 수 있다. 다양한 상이한 오류 교정 코드가 사용될 수 있고, 그 중 다수는 이전에 컴퓨터 산업에서 사용하기 위해 개발되었다; 그러나, 이러한 오류-교정 시스템은 전형적으로 생물학적 시스템 내에서 사용되지 않았다. 이러한 오류-교정 코드의 추가 예는 아래에서 더 자세히 논의된다.

[0194] "본질적으로 상보적인"은 2개의 뉴클레오티드 서열을 지칭할 때 엄격한 조건 하에서 두 서열 모두가 서로 특이적으로 혼성화하여 수소 결합을 통해 서로 연결된 센스 및 안티센스 가닥을 갖는 하이브리드 핵산 분자(왓슨-및-크릭 염기쌍)를 형성할 수 있음을 의미한다. "본질적으로 상보적인"은 전체 가닥을 따라 완전한 염기쌍 형성, 즉 완벽한 상보적인 서열뿐만 아니라, 그러나 엄격한 조건 하에서 여전히 서로 혼성화할 수 있는 불완전한 상보적인 서열도 포함한다. 전문가들 사이에서는 "본질적으로 상보적인" 서열이 완전히 또는 완전하게 상보적인 서열에 대해 적어도 88% 서열 동일성을 갖는다는 것이 잘 받아들여지고 있다.

[0195] "백분율 서열 동일성" 또는 "백분율 동일성"은 차례로 기술되거나 청구된 서열("참조 서열")과 비교되는 서열("비교 서열")의 정렬 후에 서열이 청구되거나 기술된 서열과 비교된다는 것을 의미한다. 백분율 동일성은 그 다음 다음 공식에 따라 결정된다: 백분율 동일성 = 100[1-(C/R)]

[0196] 여기서 C는 참조 서열과 비교 서열 간의 정렬의 길이에 걸쳐서 참조 서열과 비교 서열 간의 차이의 수이고, 여기서

[0197] (i) 비교 서열에서 상응하는 정렬된 염기 또는 아미노산이 없는 참조 서열에서 각 염기 또는 아미노산 및

[0198] (ii) 참조 서열에서 각 갭 및

[0199] (iii) 비교 서열에서 정렬된 염기 또는 아미노산과 다른 참조 서열에서 각 정렬된 염기 또는 아미노산은 차이를 구성하고 (iiii) 정렬은 정렬된 서열의 위치 1에서 시작해야 하고;

[0200] R은 비교 서열과의 정렬 길이에 걸친 참조 서열에서 염기 또는 아미노산의 수이며 참조 서열에서 생성된 임의의 갭도 염기 또는 아미노산으로 계산된다.

[0201] 상기에서 계산된 백분율 동일성이 특정된 최소 백분율 동일성보다 크거나 동등한 비교 서열과 참조 서열 사이에 정렬이 존재하는 경우, 본 명세서에서 상기 계산된 백분율 동일성이 특정된 백분율 동일성보다 작은 정렬이 존재할 수 있더라도 비교 서열은 참조 서열에 대해 특정된 최소 백분율 동일성을 갖는다.

[0202] 본 명세서에서 이해되는 바와 같은 "인큐베이션" 단계에서 프로브 또는 올리고뉴클레오티드와 같은 각각의 모이어티 또는 대상체는 특이적 결합 또는 혼성화 반응을 허용하는 당업자에게 잘 알려진 조건, 예를 들어 pH, 온도, 염 조건 등 하에서 서로 접촉하게 된다. 따라서 이러한 단계는 바람직하게는 당업계에 잘 알려진 완충 시스템과 같은 액체 환경에서 수행될 수 있다.

[0203] 개시내용에 따른 "제거" 단계는 특정 조건, 예를 들어 당업계에 공지된 pH, 온도, 염 조건 등에 의해 프로브 또

는 올리고뉴클레오티드와 같은 제거되는 모이어티 또는 대상체를 세정하는 것을 포함할 수 있다.

[0204] 본 개시내용에 따른 방법의 실시형태에서 복수의 분석물이 병렬로 인코딩될 수 있다는 것이 이해된다. 이것은 단계 (1)에서 상이한 세트의 분석물-특이적 프로브의 사용을 요한다. 특정 세트의 분석물-특이적 프로브는 다른 세트의 분석물-특이적 프로브와 다르다. 이것은 세트 1의 분석물-특이적 프로브가 분석물 1에 결합하고, 세트 2의 분석물-특이적 프로브가 분석물 2에 결합하고, 세트 3의 분석물-특이적 프로브가 분석물 3에 결합하는 등을 의미한다. 이 실시형태에서는 또한 상이한 세트의 디코딩 올리고뉴클레오티드의 사용이 본 개시내용에 따른 방법에서 요구된다.

[0205] 특정 세트의 디코딩 올리고뉴클레오티드는 다른 세트의 디코딩 올리고뉴클레오티드와 다르다. 이는 세트 1의 디코딩 올리고뉴클레오티드가 분석물-특이적 프로브의 상기 세트 1의 분석물-특이적 프로브에 결합하고, 세트 2의 디코딩 올리고뉴클레오티드가 분석물-특이적 프로브의 상기 세트 2의 분석물-특이적 프로브에 결합하고, 세트 3의 디코딩 올리고뉴클레오티드는 분석물-특이적 프로브의 상기 세트 3의 분석물-특이적 프로브에 결합하는 등을 의미한다.

[0206] 복수의 분석물이 병렬로 인코딩되어지는 이 실시형태에서, 분석물-특이적 프로브의 상이한 세트는 상이한 분석물-특이적 프로브의 세트의 예비혼합물로서 제공될 수 있고/있거나 상이한 세트의 디코딩 올리고뉴클레오티드는 상이한 디코딩 올리고뉴클레오티드의 세트의 예비혼합물로서 제공될 수 있다. 각 혼합물은 단일 바이알에 함유될 수 있다. 대안적으로, 상이한 세트의 분석물-특이적 프로브 및/또는 상이한 세트의 디코딩 올리고뉴클레오티드는 개별적으로 단계에 제공될 수 있다.

[0207] "키트"는 개시내용의 용도 및/또는 방법을 수행하는데 유용한 개별 요소의 조합이며, 여기서 요소는 방법에서 함께 사용하기 위해 최적화된다. 키트는 또한 개시내용에 따른 방법을 수행하는데 유용할 수 있는 추가 시약, 화학물질, 완충액, 반응 바이알 등을 함유할 수 있다. 이러한 키트는 개시내용에 따른 방법을 수행하는데 필요한 모든 필수 요소를 통합하여 오류의 위험을 최소화한다. 따라서, 그러한 키트는 또한 준숙련 실험실 직원이 본 개시내용에 따른 방법을 수행할 수 있게 한다.

[0208] 용어 "소광제" 또는 "소광제 염료" 또는 "소광제 분자"는 뉴클레오사이드 구아노신(G) 또는 2'-데옥시구아노신(dG)과 같은 형광 리포터 염료 또는 공여자 염료의 형광을 감소시킬 수 있는 염료 또는 동등한 분자를 지칭한다. 소광제 염료는 형광 염료 또는 비-형광 염료일 수 있다. 소광제가 형광 염료인 경우, 그 형광 파장은 전형적으로 리포터 염료의 형광 파장과 실질적으로 다르고 일반적으로 소광제 형광은 검정 동안 모니터링되지 않는다. 본 개시내용의 일부 실시형태는 소광제 및/또는 신호 요소와 조합된 소광제를 포함하는 신호 올리고뉴클레오티드를 개시하고(도 14 참조), 따라서 신호 올리고뉴클레오티드는 이미징 동안 검출가능하지 않다.

[0209] 본 개시내용의 실시형태에서 샘플은 바람직하게는 생물학적 조직을 포함하고, 더욱 바람직하게는 생물학적 세포를 포함하는 생물학적 샘플이다. 생물학적 샘플은 장기, 오가노이드, 세포 배양물, 줄기 세포, 세포 현탁액, 일차 세포, 바이러스, 박테리아 또는 곰팡이에 의해 감염된 샘플, 진핵 또는 원핵 샘플, 도말, 질환 샘플, 조직 절편에서 유래될 수 있다.

[0210] 방법은 생물학적 샘플, 즉 예컨대 상기 분석물로서 핵산 또는 단백질을 함유하는 샘플에서 분석물 또는 단일 분석물 분자를 인코딩, 식별, 검출, 계수 또는 정량화하는데 특히 적격이다. 생물학적 샘플은 그 자연 환경에 있는 그대로의 형태(예를 들어 액체, 반-액체, 고체 등)이거나 처리된, 예를 들어 방법이 수행되기 전에 재-액화될 수 있는 장치의 표면 상의 건조된 막으로 형태일 수 있다는 것이 이해된다.

[0211] 단계 (2) 이전에 개시내용의 또 다른 실시형태에서 생물학적 조직 및/또는 생물학적 세포가 고정된다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 세포 및/또는 조직은, 예를 들어 세포 내의 핵산과 같은 분석물의 위치를 보존하기 위해 프로브를 도입하기 이전에 고정된다. 세포를 고정하는 기술은 당업자에게 공지되어 있다. 비제한적인 예로서, 세포는 포름알데히드, 파라포름알데히드, 글루타르알데히드, 에탄올, 메탄올, 아세톤, 아세트산 등과 같은 화학물질을 사용하여 고정될 수 있다. 일 실시형태에서, 세포는 Hepes-글루탐산 완충액-매개된 유기 용매(HOPE)를 사용하여 고정될 수 있다.

[0212] 이 수단은 인코딩되는 분석물, 예를 들어 핵산 또는 단백질이 고정되어 빠져나갈 수 없다는 이점을 갖는다. 그렇게 함에 의해, 분석물은 개시내용에 따른 방법에 의해 더 나은 검출 또는 인코딩을 위해 준비된다.

[0213] 분석물-특이적 프로브의 세트 내에서 또 다른 실시형태에서 개별 분석물-특이적 프로브는 인코딩되는 분석물 중 하나의 상이한 하위-구조와 특이적으로 상호작용하는 결합 요소(S1, S2, S3, S4, S5)를 포함한다.

[0214] 이 수단에 의해 방법 또는 주기의 말단에서 얻은 신호 강도가 각각 증가되기 때문에 방법은 훨씬 더 강력하고 신뢰할 수 있게 된다. 동일한 분석물에 결합하는 동안 세트의 개별 프로브는 분석물에서 또는 분석물 상의 그 결합 위치 또는 결합 부위가 다르다는 것이 이해된다. 따라서 제1, 제2, 제3, 제4, 제5 등의 분석물-특이적 프로브의 결합 요소 S1, S2, S3, S4, S5 등은 그러나 중첩되거나 중첩되지 않을 수 있는 상이한 위치에 결합하거나 상이한 위치로 결합한다.

[0215] 유리한 실시형태에서, 본 개시내용은 다음을 포함하는 멀티플렉스 분석물 인코딩을 위한 키트에 관한 것이다:

[0216] (A) 적어도 이십(20)개의 상이한 분석물의 인코딩을 위한 적어도 20개 상이한 분석물-특이적 프로브의 세트로서, 각 분석물-특이적 프로브의 세트는 상이한 분석물과 상호작용하며, 여기서 분석물이 핵산인 경우 각 분석물-특이적 프로브의 세트는 적어도 다섯(5)개 분석물-특이적 프로브, 및 - 선택적으로 - 동일한 분석물의 상이한 하위-구조와 특이적으로 상호작용하는 분석물의 공유 및 배타적 부분으로 표적(분석물/변형)을 구별하기 위한 적어도 하위군 특이적 프로브를 포함하며, 각각의 분석물-특이적 프로브는

[0217] (aa) 인코딩되는 상이한 분석물 중 하나와 특이적으로 상호작용하는 결합 요소(S), 및

[0218] (bb) 인코딩되는 분석물에 고유한 뉴클레오티드 서열(고유 식별자 서열)을 포함하는 식별자 요소(T)를 포함하며,

[0219] 여기서 분석물-특이적 프로브의 특정 세트의 분석물-특이적 프로브는 식별자 요소(T)의 뉴클레오티드 서열에서 분석물-특이적 프로브의 다른 세트의 분석물-특이적 프로브와 상이하고,

[0220] 여기서 분석물-특이적 프로브의 각 세트에서 분석물-특이적 프로브는 동일한 분석물에 결합하고 상기 분석물에 고유한 식별자 요소(T)의 동일한 뉴클레오티드 서열을 포함하는, 세트; 및

[0221] (B) 분석물당 적어도 하나의 디코딩 올리고뉴클레오티드의 세트로서, 여기서 개별 분석물에 대한 각각의 디코딩 올리고뉴클레오티드의 세트에서 각각의 디코딩 올리고뉴클레오티드는

[0222] (aa) 상응하는 분석물-특이적 프로브 세트의 식별자 요소(T)의 적어도 고유 식별자 서열의 섹션에 본질적으로 상보적인 뉴클레오티드 서열을 포함하는 식별자 연결자 요소(t), 및

[0223] (bb) 신호 올리고뉴클레오티드의 특이적 혼성화를 허용하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 번역자 요소(c)를 포함하며;

[0224] 여기서 개별 분석물에 대한 세트의 디코딩 올리고뉴클레오티드는 식별자 연결 요소(t)에서 상이한 분석물에 대한 또 다른 세트의 디코딩 올리고뉴클레오티드와 상이한, 세트; 및

[0225] (C) 신호 올리고뉴클레오티드의 세트로서, 각 신호 올리고뉴클레오티드는

[0226] (aa) 디코딩 올리고뉴클레오티드에 포함된 번역자 요소(c)의 적어도 뉴클레오티드 서열의 섹션에 본질적으로 상보적인 뉴클레오티드 서열을 포함하는 번역자 연결자 요소(C), 및

[0227] (bb) 신호 요소를 포함하는, 세트.

[0228] 멀티플렉스 방법 또는 검정은 다중 분석물의 동시적인 측정을 가능하게 한다 본 개시내용에 따르면 샘플에서 핵산 표적 서열과 같은 복수의 미리결정된(알려진) 분석물의 존재 또는 부재를 결정하는 데 사용될 수 있다. 분석물은 그의 서열이 그 표적에 결합하는 프로브를 설계하는 것으로 알려져 있다는 점에서 "미리결정"될 수 있다.

[0229] 본 개시내용에 따른 일부 유리한 실시형태에서, 적어도 20개, 특히 적어도 25개, 특히 적어도 30개 상이한 분석물이 샘플에서 병열로 검출 및/또는 정량화된다. 예를 들어, 예를 들어 동시적으로 또는 순차적으로 샘플에 적용되는 적어도 5개, 적어도 10개, 적어도 20개, 적어도 50개, 적어도 75개, 적어도 100개, 적어도 300개, 적어도 1,000개, 적어도 3,000개, 적어도 10,000개 또는 적어도 30,000개의 구별가능한 분석물-특이적 프로브가 존재할 수 있다.

[0230] 멀티플렉싱을 위한 일부 유리한 실시형태에서 적어도 이십(20)개 이상의 상이한 분석물, 특히 50개 초과, 100개 초과 또는 200개 초과를 인코딩하기 위한 이십개 이상의 상이한 분석물-특이적 프로브의 세트가 필요하다. 본 개시내용의 멀티플렉싱 방법에서, 특히 적어도 20개 상이한 분석물의 그룹(예를 들어 mRNA 분자), 즉 태그가 표적화된다.

[0231] 유리한 실시형태에서, 키트는 분석물당 적어도 2개의 상이한 분석물-특이적 프로브의 세트를 포함하고,

[0232] 여기서 분석물-특이적 프로브는 동일한 분석물과 상호작용하지만, 동일한 분석물의 다른 하위-구조와 특이적으로 상호작용하는 이들 상이한 세트로 구성되고,

[0233] 여기서 분석물-특이적 프로브의 제1 세트의 분석물-특이적 프로브는 분석물의 모든 변형에 포함되는 하위-구조와 상호작용하고,

[0234] 여기서 분석물-특이적 프로브의 제2 세트의 분석물-특이적 프로브는 분석물의 특이적 변형에만 포함되는 하위-구조와 상호작용하고(하위군 특이적 프로브 세트),

[0235] 여기서 분석물-특이적 프로브의 제1 세트의 분석물-특이적 프로브는 인코딩되는 분석물에 고유한 뉴클레오티드 서열(고유 식별자 서열)을 포함하는 동일한 식별자 요소(T)를 포함하고,

[0236] 여기서 분석물-특이적 프로브의 제2 세트의 분석물-특이적 프로브는 인코딩되는 분석물에 고유한 뉴클레오티드 서열(고유 식별자 서열)을 포함하는 동일한 식별자 요소(T)를 포함하고,

[0237] 여기서 분석물-특이적 프로브의 제1 세트의 분석물-특이적 프로브의 식별자 요소(T) 및 분석물-특이적 프로브의 제2 세트의 분석물-특이적 프로브의 식별자 요소(T)는 상이한 디코딩 올리고뉴클레오티드 및/또는 비-신호 디코딩 올리고뉴클레오티드를 결합하기 위해 상이하다.

[0238] 일부 유리한 실시형태에서, 분석물의 식별을 위한 정보를 수집하기 위한 적어도 4개 라운드가 수행되며, 여기서 다중 판독은 식별의 정확도를 증가시키고 위양성을 방지한다. 고유한 태그는 혼성화를 포함한 다양한 기술에 의해, 예를 들어 직접 또는 간접적으로 또는 시퀀싱(합성, 결찰)에 의한 표지된 프로브로 식별될 수 있다. 특히, 태그의 동일성은 하나의 단일 신호(이진 코드), 둘 이상의 신호로 인코딩되는 수 있으며, 여기서 신호는 형광 라벨(예를 들어 올리고뉴클레오티드에 부착됨)일 수 있다.

[0239] 본 개시내용에 따른 일부 유리한 실시형태에서, 키트는 항목 A) 하에 정의된 바와 같은 분석물-특이적 프로브의 세트를 포함하지 않는다.

[0240] 바람직하게는, 본 개시내용에 따른 키트 또는 방법에서 분석물이 핵산인 경우, 분석물-특이적 프로브의 각 세트는 동일한 분석물의 상이한 하위-구조와 특이적으로 상호작용하는 적어도 다섯(5)개의 분석물-특이적 프로브, 특히 적어도 열(10)개의 분석물-특이적 프로브, 특히 적어도 열다섯(15)개 분석물-특이적 프로브, 특히 적어도 이십(20)개 분석물-특이적 프로브를 포함한다. 핵산 분석물은 특정 DNA 분자, 예를 들어 게놈 DNA, 핵 DNA, 미토콘드리아 DNA, 바이러스 DNA, 박테리아 DNA, 세포외 또는 세포내 DNA 등 및 특정 mRNA 분자, 예를 들어 hnRNA, miRNA, 바이러스 RNA, 세균 RNA, 세포외 또는 세포내 RNA 등을 포함한다.

[0241] 바람직하게는, 본 개시내용에 따른 키트 또는 방법에서 분석물이 펩티드, 폴리펩티드 또는 단백질인 경우, 분석물-특이적 프로브의 각 세트는 동일한 분석물의 상이한 하위-구조와 특이적으로 상호작용하는 적어도 두(2)개 분석물-특이적 프로브, 특히 적어도 세(3)개 분석물-특이적 프로브, 특히 적어도 네(4)개 분석물-특이적 프로브를 포함한다.

[0242] 본 개시내용에 따른 일부 유리한 실시형태에서 키트는 신호 올리고뉴클레오티드의 적어도 2개의 상이한 세트를 포함하며, 여기서 각 세트에서 신호 올리고뉴클레오티드는 상이한 신호 요소를 포함하고 상이한 연결자 요소(C)를 포함한다.

[0243] 특히, 키트는 분석물당 적어도 2개의 상이한 디코딩 올리고뉴클레오티드의 세트를 포함할 수 있으며, 여기서 이들 상이한 세트에 포함된 디코딩 올리고뉴클레오티드는 상응하는 분석물-특이적 프로브 세트의 식별자 요소(T)의 적어도 고유 식별자 서열의 섹션에 본질적으로 상보적인 뉴클레오티드 서열을 포함하는 동일한 식별자 연결자 요소(t)를 포함하고, 여기서 분석물당 상이한 세트의 디코딩 올리고뉴클레오티드는 신호 올리고뉴클레오티드의 특이적 혼성화를 허용하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 번역자 요소(c)에서 상이하다.

[0244] 일부 실시형태에서 키트는 분석물당 적어도 2개의 상이한 디코딩 올리고뉴클레오티드의 세트를 포함하고, 여기서 이들 상이한 세트에 포함된 디코딩 올리고뉴클레오티드는 상응하는 분석물-특이적 프로브 세트의 식별자 요소(T)의 적어도 하나의 고유 식별자 서열의 섹션에 본질적으로 상보적인 뉴클레오티드 서열을 포함하는 동일한 식별자 연결자 요소(t)를 포함하고, 여기서 적어도 하나의 분석물에 대한 상이한 세트의 디코딩 올리고뉴클레오티드는 신호 올리고뉴클레오티드의 특이적 혼성화를 허용하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 번역자 요소(c)에서 상이하다.

[0245] 일부 유리한 실시형태에서, 상이한 번역자 요소(c)를 포함하는 분석물당 디코딩 올리고뉴클레오티드의 상이한

세트의 수는 상이한 연결자 요소(C)를 포함하는 신호 올리고뉴클레오티드의 상이한 세트의 수에 상응한다. 그러나, 디코딩 올리고뉴클레오티드의 특정 세트에서 디코딩 올리고뉴클레오티드는 특정 분석물에 고유한 동등한 식별자 요소(T)와 상호작용할 수 있다. 특히, 상이한 분석물에 대한 모든 디코딩 올리고뉴클레오티드의 세트는 동일한 유형(들)의 번역자 요소(들)(c)를 포함할 수 있다.

[0246] 또 다른 양태에서, 본 개시내용은 일반적으로 샘플을 복수의 분석물-특이적 프로브에 노출시키는 작용; 각각의 분석물-특이적 프로브에 대해, 샘플 내의 분석물-특이적 프로브의 결합을 결정하는 작용; 분석물-특이적 프로브, 디코딩 올리고뉴클레오티드 및 신호 올리고뉴클레오티드의 결합을 기반으로 코드워드를 생성하는 작용; 및 코드워드 중 적어도 일부에 대해, 코드워드를 유효한 코드워드에 매칭하는 작용을 포함하는 방법에 대한 것이다. 특정 실시형태에서, 분석물-특이적 프로브, 디코딩 올리고뉴클레오티드 및 신호 올리고뉴클레오티드의 이 결합 또는 혼성화 패턴은 "코드워드"로 전환될 수 있다. 예를 들어, 예로써 코드워드는 제1 분석물 및 제2 분석물 각각에 대해 "101" 및 "110"일 수 있으며, 여기서 1의 값은 결합을 나타내고 0의 값은 디코딩 올리고뉴클레오티드의 무 결합 및/또는 신호 요소 없음 및/또는 소광된 신호 올리고뉴클레오티드의 결합을 나타낸다. 따라서 검출 라운드/주기에서 분석물은 이미징 동안 검출가능하지 않다.

[0247] 개별 분석물에 대한 코드워드에서 이러한 제로(0)을 생성하기 위해 키트는 다음을 포함할 수 있다:

[0248] (D) 분석물-특이적 프로브의 특정 식별자 요소(T)에 결합하기 위한 적어도 한 세트의 비-신호 디코딩 올리고뉴클레오티드, 여기서 동일한 세트의 비-신호 디코딩 올리고뉴클레오티드에서 디코딩 올리고뉴클레오티드는 동일한 상이한 식별자 요소(T)와 상호작용함,

[0249] 여기서 각각의 비-신호 디코딩 올리고뉴클레오티드는 적어도 고유 식별자 서열의 섹션에 본질적으로 상보적인 뉴클레오티드 서열을 포함하는 식별자 연결자 요소(t)를 포함하고, 신호 올리고뉴클레오티드의 특이적 혼성화를 허용하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 번역자 요소(c)를 포함하지 않는다.

[0250] 개별 분석물에 대한 코드워드에서 이러한 제로(0)을 생성하기 위해 키트는 다음을 포함할 수 있다:

[0251] (D) 분석물-특이적 프로브의 특정 식별자 요소(T)에 결합하기 위한 적어도 한 세트의 비-신호 디코딩 올리고뉴클레오티드, 여기서 동일한 세트의 비-신호 디코딩 올리고뉴클레오티드에서 디코딩 올리고뉴클레오티드는 동일한 상이한 식별자 요소(T)와 상호작용함,

[0252] 여기서 각각의 비-신호 디코딩 올리고뉴클레오티드는 적어도 고유 식별자 서열의 섹션에 본질적으로 상보적인 뉴클레오티드 서열을 포함하는 식별자 연결자 요소(t)를 포함하고, 신호 올리고뉴클레오티드의 특이적 혼성화를 허용하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 짧은(c) 불안정한 결합 서열에 기인한 및/또는 번역자 요소에 기인한 신호 올리고뉴클레오티드와 상호작용/결합하지 않는 번역자 요소를 포함한다.

[0253] 일부 유리한 실시형태에서, 키트는 다음을 포함한다:

[0254] (D) 분석물-특이적 프로브의 적어도 2개의 상이한 식별자 요소(T)에 결합하기 위한 적어도 두(2)개의 상이한 비-신호 디코딩 올리고뉴클레오티드의 세트, 각각의 비-신호 디코딩 올리고뉴클레오티드의 세트는 상이한 식별자 요소(T)와 상호작용함,

[0255] 여기서 각각의 비-신호 디코딩 올리고뉴클레오티드는 적어도 고유 식별자 서열의 섹션에 본질적으로 상보적인 뉴클레오티드 서열을 포함하는 식별자 연결자 요소(t)를 포함하고, 신호 올리고뉴클레오티드의 특이적 혼성화를 허용하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 번역자 요소(c)를 포함하지 않는다.

[0256] 일부 유리한 실시형태에서, 상이한 비-신호 디코딩 올리고뉴클레오티드의 세트는 상이한 비-신호 디코딩 올리고뉴클레오티드의 세트의 사전-혼합물에 포함되거나 별도로 존재할 수 있다.

[0257] 더욱이, 일부 유리한 실시형태에서 키트는 다음을 포함할 수 있다:

[0258] (E) 비-신호 올리고뉴클레오티드의 세트로서, 각각의 비-신호 올리고뉴클레오티드는 다음을 포함함:

[0259] (aa) 번역자 요소(c)의 적어도 뉴클레오티드 서열의 섹션에 본질적으로 상보적인 뉴클레오티드 서열을 포함하는 번역자 연결자 요소(C), 및

[0260] (bb) 소광제(Q), 신호 요소 및 소광제(Q), 또는 신호 요소를 포함하지 않는다.

[0261] 일부 유리한 실시형태에서, 키트는 다음을 포함한다:

[0262] (E) 적어도 두 세트의 비-신호 올리고뉴클레오티드로서, 각각의 비-신호 올리고뉴클레오티드는 다음을 포함함:

[0263] (aa) 번역자 요소(c)의 적어도 뉴클레오티드 서열의 섹션에 본질적으로 상보적인 뉴클레오티드 서열을 포함하는 번역자 연결자 요소(C), 및

[0264] (bb) 소광제(Q), 신호 요소 및 소광제(Q), 또는 신호 요소를 포함하지 않는다.

[0265] 일부 유리한 실시형태에서, 상이한 세트의 비-신호 올리고뉴클레오티드는 상이한 세트의 비-신호 올리고뉴클레오티드의 사전-혼합물에 포함되거나 별도로 존재할 수 있다.

[0266] 더욱이, 일부 실시형태에서 디코딩 올리고뉴클레오티드의 특정 세트에서 디코딩 올리고뉴클레오티드는 특정 분석물에 고유한 동등한 식별자 요소(T)와 상호작용한다.

[0267] 일부 유리한 실시형태에서, 상이한 디코딩 올리고뉴클레오티드의 세트는 상이한 디코딩 올리고뉴클레오티드 세트의 사전-혼합물에 포함되거나 별도로 존재할 수 있다. 일부 유리한 실시형태에서, 상이한 분석물-특이적 프로브의 세트는 상이한 분석물-특이적 프로브의 세트의 사전-혼합물에 포함되거나 별도로 존재할 수 있다. 일부 유리한 실시형태에서, 상이한 신호 올리고뉴클레오티드의 세트는 상이한 신호 올리고뉴클레오티드의 세트의 사전-혼합물에 포함되거나 별도로 존재할 수 있다.

[0268] 일부 유리한 실시형태에서, 프로브 세트의 고유 식별자 서열에 특이적으로 혼성화하는 디코딩 올리고뉴클레오티드 및/또는 다중-디코더의 혼합물이 제공된다. 일부 실시형태에서, 디코딩 올리고뉴클레오티드는 적어도 2개의 서열 요소로, 상응하는 프로브 세트의 고유 식별자 서열에 상보적인 제1 요소 및 신호 올리고뉴클레오티드의 특정 혼성화를 위한 서열을 제공하는 제2 서열 요소(번역자 요소)로 구성되며, 번역자 요소는 디코딩 올리고뉴클레오티드에 동원되는 신호 유형을 한정한다. 일부 실시형태에서, 상응하는 프로브 세트의 고유 식별자 서열에 상보적인 제1 요소 및 적어도 2개의 상이한 신호 올리고뉴클레오티드의 특정 혼성화를 위한 서열을 제공하는 적어도 추가 서열 요소(번역자 요소)인, 적어도 3개의 서열 요소를 포함하는 다중-디코더가 사용된다. 번역자 요소는 다중-디코더에 동원되는 신호의 유형을 한정한다. 다중-디코더의 다른 가능한 구조는 도 17에서 볼 수 있다. 다중-디코더는 번역자 요소당 전체 신호 올리고뉴클레오티드를 동원하기 때문에 각 채널에서 신호의 밝기는 디코딩 올리고뉴클레오티드를 갖는 신호의 밝기보다 더 낮지 않다.

[0269] 다중-디코더의 사용은 인코딩 체계의 효율성이 더욱 증가시킨다. 도 17은 2개의 서열 요소를 갖는 디코딩 올리고뉴클레오티드를 갖는 실시예에 사용된 동일한 조건에 기반한 다중-디코더를 사용하는 가능한 인코딩 체계을 도시한다. 다중-디코더 기반 인코딩 체계는 도 5의 실시예에서 사용된 동일한 수의 라운드와 동일한 수의 상이한 신호 올리고뉴클레오티드로 더 높은 해밍 거리를 생성할 수 있음을 분명히 알 수 있다.

[0270] 상기에서 언급된 바와 같이, 인코딩되는 분석물은 핵산, 바람직하게는 DNA, PNA 또는 RNA, 특히 mRNA, 펩티드, 폴리펩티드, 단백질 및/또는 이의 혼합물일 수 있다.

[0271] 일부 유리한 실시형태에서, 결합 요소(S)는 분석물에 대한 특이적 결합이 인코딩되도록 허용하는 아미노산 서열을 포함한다. 결합 요소(S)는 친화성 물질로부터의 친화성 모이어티인 모이어티 또는 전체적으로는 항체, 항체 단편, 안티칼린 단백질, 수용체 리간드, 효소 기질, 렉틴, 사이토카인, 림포카인, 인터류킨, 혈관신생 또는 독성 인자, 알레르겐, 펩티드성 알레르겐, 재조합 알레르겐, 알레르겐-특이형 항체, 자가면역-유발 구조, 조직-거부-유도 구조, 면역글로불린 불변 영역 및 이의 조합으로 구성된 군으로부터 선택된 친화성 물질을 포함할 수 있다.

[0272] 일부 유리한 실시형태에서, 결합 요소(S)는 Fab, scFv; 단일 도메인 또는 이의 단편, 비스 scFv, F(ab)2, F(ab)3, 미니바디, 디아바디, 트리아바디, 테트라바디 및 탄답으로 구성된 군으로부터 선택되는 항체 또는 항체 단편이거나 이를 포함할 수 있다.

[0273] 본 개시내용은 특히 다음 단계를 포함하는, 상기 분석물의 순차적인 신호-인코딩에 의해 샘플에서 상이한 분석물을 검출하기 위한 멀티플렉스 방법에 관한 것이다:

[0274] (A) 적어도 이십(20)개 상이한 분석물을 인코딩하기 위해 분석물-특이적 프로브의 적어도 20개 상이한 세트와 샘플을 접촉시키는 단계로서, 각 분석물-특이적 프로브의 세트는 상이한 분석물과 상호작용하며, 여기서 분석물이 핵산인 경우 분석물-특이적 프로브의 각 세트는 동일한 분석물의 상이한 하위-구조와 특이적으로 상호작용하는 적어도 다섯(5)개 분석물-특이적 프로브를 포함하며, 각각의 분석물-특이적 프로브는

[0275] (aa) 인코딩되는 상이한 분석물 중 하나와 특이적으로 상호작용하는 결합 요소(S), 및

[0276] (bb) 인코딩되는 분석물에 고유한 뉴클레오티드 서열(고유 식별자 서열)을 포함하는 식별자 요소(T)를 포함하며,

[0277] 여기서 분석물-특이적 프로브의 특정 세트의 분석물-특이적 프로브는 식별자 요소(T)의 뉴클레오티드 서열에서 다른 세트의 분석물-특이적 프로브의 분석물-특이적 프로브와 상이하고,

[0278] 여기서 분석물-특이적 프로브의 각 세트에서 분석물-특이적 프로브는 동일한 분석물에 결합하고 상기 분석물에 고유한 식별자 요소(T)의 동일한 뉴클레오티드 서열을 포함하는, 단계; 및

[0279] (B) 샘플을 분석물당 적어도 하나의 디코딩 올리고뉴클레오티드의 세트와 접촉시키는 단계로서, 여기서 개별 분석물에 대한 각 디코딩 올리고뉴클레오티드의 세트에서 각각의 디코딩 올리고뉴클레오티드는

[0280] (aa) 상응하는 분석물-특이적 프로브 세트의 식별자 요소(T)의 적어도 고유 식별자 서열의 섹션에 본질적으로 상보적인 뉴클레오티드 서열을 포함하는 식별자 연결자 요소(t), 및

[0281] (bb) 신호 올리고뉴클레오티드의 특이적 혼성화를 허용하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 번역자 요소(c)를 포함하며;

[0282] 여기서 개별 분석물에 대한 세트의 디코딩 올리고뉴클레오티드는 제1 연결 요소(t)에서 상이한 분석물에 대한 또 다른 세트의 디코딩 올리고뉴클레오티드와 상이한, 단계; 및

[0283] (C) 샘플을 적어도 신호 올리고뉴클레오티드의 세트와 접촉시키는 단계로서, 각 신호 올리고뉴클레오티드는

[0284] (aa) 디코딩 올리고뉴클레오티드에 포함된 번역자 요소(c)의 적어도 뉴클레오티드 서열의 섹션에 본질적으로 상보적인 뉴클레오티드 서열을 포함하는 번역자 연결자 요소(C), 및

[0285] (bb) 신호 요소를 포함하는, 단계.

[0286] (D) 신호 요소에 의해 야기된 신호를 검출하는 단계;

[0287] (E) 샘플로부터 디코딩 올리고뉴클레오티드 및 신호 올리고뉴클레오티드를 선택적으로 제거하고, 이에 의해 인코딩되는 분석물에 대한 분석물-특이적 프로브의 특이적 결합을 본질적으로 유지하는 단계;

[0288] (F) 분석물당 코드워드로 인코딩 체계를 생성하기 위해 단계 B) 내지 E)를 포함하는 적어도 세(3)개 추가 주기를 수행하는 단계로서, 특히 마지막 주기는 단계(D)에서 중단할 수 있는, 단계.

[0289] 상기에서 언급된 바와 같이, 본 개시내용에 따른 방법은 샘플로부터 디코딩 올리고뉴클레오티드 및 신호 올리고뉴클레오티드를 선택적으로 제거하고 이에 의해 본질적으로 인코딩되는 분석물에 대한 분석물-특이적 프로브의 특이적 결합을 유지하는 것을 포함한다. 특히 모든 단계는 순차적으로 수행된다. 그러나 일부 단계, 특히 접촉 단계 A) 내지 C), 특히 B) 및 C)는 동시적으로 수행될 수 있다.

[0290] 이 측정에 의해 동일한 분석물-특이적 프로브에 추가 디코딩 올리고뉴클레오티드를 결합하는 또 다른 라운드/주기에 대한 요구사항이 설정되고, 따라서 최종적으로 하나 초과의 신호를 포함하는 코드 또는 인코딩 체계를 생성한다. 이 단계는 당업자에게 잘 알려진 조건 및 요인, 예를 들어 pH, 온도, 염 조건, 올리고뉴클레오티드 농도, 중합체 등을 적용함에 의해 실현된다.

[0291] 본 개시내용의 다른 실시형태에서, 방법은 인코딩 체계을 생성하기 위해 단계 (B)-(E)를 적어도 3회 반복하는 것을 포함할 수 있다. 이로써 사용자가 수행하는 4개의 주기/라운드의 경우 4개 신호의 코드를 측정하며, 여기서 'n'은 라운드의 수를 나타내는 정수이다. 개시내용에 따른 방법의 인코딩 용량은 분석물의 성질 및 조작자의 요구에 따라 증가된다. 개시내용의 실시형태에서 상기 인코딩 체계는 미리결정되고 인코딩되는 분석물에 할당된다.

[0292] 그러나, 이 조치는 이용된 디코딩 및 신호 올리고뉴클레오티드의 적절한 순차적 순서를 제공하여 정밀한 실험 설정을 가능하게 하고, 따라서 각각의 인코딩 체계에 대한 특정 분석물의 올바른 할당을 허용한다. 반복되는 단계 (B)-(D2)에서 사용되는 디코딩 올리고뉴클레오티드는 이전 단계 (B)-(E)에서 사용되는 디코딩 올리고뉴클레오티드의 번역자 요소(c1)와 동일한 번역자 요소(c2)를 포함할 수 있다. 본 개시내용의 또 다른 실시형태에서 디코딩 올리고뉴클레오티드는 이전 단계 (B)-(E)에서 사용된 디코딩 올리고뉴클레오티드의 번역자 요소(c1)와 상이한 번역자 요소(c2)를 포함하는 반복된 단계 (B)-(E)에서 사용된다. 디코딩 요소는 라운드마다, 즉 번역자 요소 c2를 포함하는 제2 라운드 (B)-(E)에서, 번역자 요소 c3을 포함하는 제3 라운드 (B)-(E)에서, 번역자 요소 c4를 포함하는 제4 라운드 (B)-(E) 등에서 변경되거나 변경되지 않을 수 있음을 이해해야 하며, 여기서 'n'은

라운드 수를 나타내는 정수이다.

[0293] 반복된 단계 (B)-(E)에서 사용되는 신호 올리고뉴클레오티드는 이전 단계 (B)-(E)에서 사용된 디코딩 올리고뉴클레오티드의 신호 요소와 동일한 신호 요소를 포함할 수 있다. 개시내용의 추가 실시형태에서 신호 올리고뉴클레오티드는 이전 단계 (B)-(E)에서 사용된 디코딩 올리고뉴클레오티드의 신호 요소와 상이한 신호 요소를 포함하는 반복된 단계 (B)-(E)에서 사용된다. 일부 실시형태에서, 개별 분석물에 대한 무-신호 올리고뉴클레오티드 및/또는 무-신호 디코딩 올리고뉴클레오티드가 사용되어, 이 주기/위치에 대한 코드워드에서 값 0을 초래한다. 일부 실시형태에서 반복된 주기에서 개별 분석물에 대한 디코딩 올리고뉴클레오티드가 샘플과 접촉하지 않아 이 주기/위치에 대한 코드워드에서 값 0을 또한 초래한다.

[0294] 이 조치에 의해 각 라운드에서 동일하거나 다른 신호가 제공되어 수많은 다른 신호로 구성된 신호 서열을 특징으로 하는 인코딩 체계를 초래한다. 이 조치는 인코딩 체계의 다른 모든 코드워드와 상이한 고유한 코드 또는 코드워드의 생성을 허용한다. 개시내용의 또 다른 실시형태에서, 분석물-특이적 프로브의 결합 요소(S)는 인코딩되는 분석물에 대한 특이적 결합, 바람직하게는 인코딩되는 분석물에 대한 특이적 혼성화를 허용하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산을 포함한다.

[0295] 개시내용의 또 다른 실시형태에서, 동일한 유형의 분석물(변형)의 하위군은 배타적 원소의 존재 또는 부재를 검출하기 위해 단계 G)를 수행하여 검출될 수 있다.

[0296] 유리한 실시형태에서, 샘플은 분석물당 적어도 2개의 상이한 분석물-특이적 프로브의 세트와 접촉되며,

[0297] 여기서 분석물-특이적 프로브는 동일한 분석물과 상호작용하지만, 동일한 분석물의 다른 하위-구조와 특이적으로 상호작용하는 이들 상이한 세트로 구성되고,

[0298] 여기서 분석물-특이적 프로브의 제1 세트의 분석물-특이적 프로브는 분석물의 모든 변형에 포함되는 하위-구조와 상호작용하고,

[0299] 여기서 분석물-특이적 프로브의 제2 세트의 분석물-특이적 프로브(하위군-특이적 프로브 세트)는 분석물의 특이적 변형에만 포함되는 하위-구조와 상호작용하고,

[0300] 여기서 분석물-특이적 프로브의 제1 세트의 분석물-특이적 프로브는 인코딩되는 분석물에 고유한 뉴클레오티드 서열(고유 식별자 서열)을 포함하는 동일한 식별자 요소(T)를 포함하고,

[0301] 여기서 분석물-특이적 프로브의 제2 세트의 분석물-특이적 프로브는 인코딩되는 분석물에 고유한 뉴클레오티드 서열(고유 식별자 서열)을 포함하는 동일한 식별자 요소(T)를 포함하고,

[0302] 여기서 분석물-특이적 프로브의 제1 세트의 분석물-특이적 프로브의 식별자 요소(T) 및 분석물-특이적 프로브의 제2 세트의 분석물-특이적 프로브의 식별자 요소(T)는 상이한 디코딩 올리고뉴클레오티드 및/또는 비-신호 디코딩 올리고뉴클레오티드를 결합하기 위해 상이하다.

[0303] 일부 유리한 실시형태에서, 모든 단계는 자동화되며, 특히 단계 B) 내지 F)는 특히 본 개시내용에 따른 로봇 시스템 및/또는 광 멀티플렉싱 시스템을 사용함에 의해 자동화된다. 일부 예에서 단계는 유체 시스템에서 수행될 수 있다.

[0304] 상기에서 언급된 바와 같이, 본 개시내용에 따른 방법으로 분석물당 코드워드를 갖는 인코딩 체계가 생성된다. 따라서, 각각의 분석물은 특정 코드워드와 연관될 수 있으며, 여기서 상기 코드워드는 다수의 위치를 포함하고, 각각의 위치는 하나의 주기에 상응하여 복수의 코드워드를 갖는 복수의 구별가능한 인코딩 체계를 초래한다. 특히, 상기 인코딩 체계는 미리결정되어, 인코딩되는 분석물에 할당될 수 있다.

[0305] 일부 유리한 실시형태에서, 수행된 주기에서 개별 분석물에 대해 얻어진 코드워드는 검출된 신호 및 부가적으로 0,1 또는 0,1,2 등과 같이 무 검출된 신호에 상응하는 적어도 하나의 요소를 포함한다(또한 도 13 및 도 14 참조). 특히, 도 14, 번호 2 내지 4에 따른 비-신호 프로브 또는 도 14 번호 5에 도시된 비-신호 디코딩 올리고뉴클레오티드를 사용하는 경우, 또는 한 주기에서 디코딩 올리고뉴클레오티드가 샘플에서 상응하는 분석물과 상호작용하는 분석물-특이적 프로브에 포함된 상응하는 식별자 서열과 접촉하지 않는 경우, 적어도 하나의 주기 내에서 적어도 하나의 분석물에 대한 신호가 검출되지 않는다. 이 주기에서 위치는 값 제로(0)를 갖는다.

[0306] 일부 유리한 실시형태에서, 적어도 하나의 개별 분석물에 대해 코드워드의 위치는 제로(0)이다. 특히, 코드워드 제로(0)는 개별 분석물에 대한 상응하는 분석물-특이적 프로브의 식별자 요소(T)의 적어도 고유 식별자 서열의 섹션에 본질적으로 상보적인 뉴클레오티드 서열을 포함하는 식별자 연결자 요소(t)를 갖는 무 디코딩 올리고뉴

클레오티드를 사용함에 의해 생성된다. 상기에서 언급된 바와 같이, 일부 실시형태에서, 적어도 하나의 개별 분석물에 대해 코드워드의 위치가 이 주기에서 제로(0)인 경우 개별 분석물에 대한 상응하는 분석물-특이적 프로브의 식별자 요소(T)의 적어도 고유 식별자 서열의 섹션에 본질적으로 상보적인 뉴클레오티드 서열을 포함하는 식별자 연결자 요소(t)를 갖는 무 상응하는 디코딩 올리고뉴클레오티드가 사용된다.

[0307] 더욱이, 일부 유리한 실시형태에서 샘플은 적어도 2개의 상이한 신호 올리고뉴클레오티드의 세트와 접촉되며, 여기서 각 세트에서 신호 올리고뉴클레오티드는 상이한 신호 요소를 포함하고 상이한 연결자 요소(C)를 포함한다.

[0308] 보다 특정한 실시형태에서, 샘플은 분석물당 적어도 2개의 상이한 디코딩 올리고뉴클레오티드의 세트와 접촉되며,

[0309] 여기서 이들 상이한 세트에 포함된 디코딩 올리고뉴클레오티드는 상응하는 분석물-특이적 프로브의 식별자 요소(T)의 적어도 고유 식별자 서열의 섹션에 본질적으로 상보적인 뉴클레오티드 서열을 포함하는 동일한 식별자 연결자 요소(t)를 포함하고,

[0310] 여기서 분석물당 상이한 세트의 디코딩 올리고뉴클레오티드는 신호 올리고뉴클레오티드의 특이적 혼성화를 허용하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 번역자 요소(c)에서 상이하다.

[0311] 보다 특정한 실시형태에서, 샘플은 분석물당 적어도 2개의 상이한 디코딩 올리고뉴클레오티드 세트와 접촉되며,

[0312] 여기서 이들 상이한 세트에 포함된 디코딩 올리고뉴클레오티드는 상응하는 분석물-특이적 프로브의 식별자 요소(T)의 적어도 고유 식별자 서열의 섹션에 본질적으로 상보적인 뉴클레오티드 서열을 포함하는 동일한 식별자 연결자 요소(t)를 포함하고,

[0313] 여기서 분석물당 상이한 세트의 디코딩 올리고뉴클레오티드는 신호 올리고뉴클레오티드의 특이적 혼성화를 허용하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 번역자 요소(c)에서 상이하고;

[0314] 여기서 분석물당 단지 한 세트의 디코딩 올리고뉴클레오티드가 주기당 사용되고/되거나 상이한 세트의 디코딩 올리고뉴클레오티드가 동일한 주기에서 상응하는 신호 올리고뉴클레오티드의 세트와 조합하여 상이한 주기에서 사용되고, 특히

[0315] 여기서 디코딩 올리고뉴클레오티드 및/또는 비-신호 디코딩 올리고뉴클레오티드의 세트는 분석물의 하위군의 선택적 검출을 위해 예약된다.

[0316] 일부 유리한 실시형태에서, 상이한 번역자 요소(c)를 포함하는 분석물당 디코딩 올리고뉴클레오티드의 상이한 세트의 수는 상이한 연결자 요소(C)를 포함하는 신호 올리고뉴클레오티드의 상이한 세트의 수에 상응한다. 상이한 분석물에 대한 모든 디코딩 올리고뉴클레오티드의 세트는 동일한 유형(들)의 번역자 요소(들)(c)를 포함할 수 있다.

[0317] 본 개시내용에 따른 방법의 일부 유리한 실시형태에서, 샘플은 분석물-특이적 프로브의 특정 식별자 요소(T)에 결합하기 위해 적어도 한 세트의 비-신호 디코딩 올리고뉴클레오티드와 접촉되며, 여기서 동일한 세트의 비-신호 디코딩 올리고뉴클레오티드에서 디코딩 올리고뉴클레오티드는 동일한 상이한 식별자 요소(T)와 상호작용하며, 여기서 각각의 비-신호 디코딩 올리고뉴클레오티드는 적어도 고유한 식별자 서열의 섹션에 본질적으로 상보적인 뉴클레오티드 서열을 포함하는 식별자 연결자 요소(t)를 포함하고, 신호 올리고뉴클레오티드의 특이적 혼성화를 허용하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 번역자 요소(c)를 포함하지 않는다.

[0318] 상기에서 언급된 바와 같이, 샘플은 분석물-특이적 프로브의 적어도 2개의 상이한 식별자 요소(T)에 결합하기 위해 적어도 두(2)개의 상이한 비-신호 디코딩 올리고뉴클레오티드의 세트와 접촉될 수 있으며, 각각의 비-신호 디코딩 올리고뉴클레오티드의 세트는 상이한 식별자 요소(T)와 상호작용하고, 여기서 각각의 비-신호 디코딩 올리고뉴클레오티드는 적어도 고유 식별자 서열의 섹션에 본질적으로 상보적인 뉴클레오티드 서열을 포함하는 식별자 연결자 요소(t)를 포함하고, 신호 올리고뉴클레오티드의 특이적 혼성화를 허용하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 번역자 요소(c)를 포함하지 않는다.

[0319] 본 개시내용에 따른 방법의 일부 유리한 실시형태에서, 상이한 비-신호 디코딩 올리고뉴클레오티드의 세트는 상이한 비-신호 디코딩 올리고뉴클레오티드의 세트의 사전-혼합물에 포함되거나 별도로 존재할 수 있다.

[0320] 더욱이, 본 개시내용에 따른 방법의 일부 유리한 실시형태에서, 샘플은 비-신호 올리고뉴클레오티드의 세트와 접촉되며, 각각의 비-신호 올리고뉴클레오티드는 하기를 포함한다:

[0321] (aa) 번역자 요소(c)의 적어도 뉴클레오티드 서열의 섹션에 본질적으로 상보적인 뉴클레오티드 서열을 포함하는 번역자 연결자 요소(C), 및

[0322] (bb) 소광제(Q), 신호 요소 및 소광제(Q), 또는 신호 요소를 포함하지 않는다.

[0323] 추가 실시형태에서, 샘플은

[0324] 적어도 두 세트의 비-신호 올리고뉴클레오티드와 접촉될 수 있으며, 각각의 비-신호 올리고뉴클레오티드는 다음을 포함한다:

[0325] (aa) 번역자 요소(c)의 적어도 뉴클레오티드 서열의 섹션에 본질적으로 상보적인 뉴클레오티드 서열을 포함하는 번역자 연결자 요소(C), 및

[0326] (bb) 소광제(Q), 신호 요소 및 소광제(Q), 또는 신호 요소를 포함하지 않는다.

[0327] 상기에서 언급된 바와 같이, 상이한 세트의 비-신호 올리고뉴클레오티드는 상이한 세트의 비-신호 올리고뉴클레오티드의 사전-혼합물에 포함되거나 별도로 존재할 수 있다.

[0328] 추가 실시형태에서, 디코딩 올리고뉴클레오티드의 특정 세트에서 디코딩 올리고뉴클레오티드는 특정 분석물에 고유한 동일한 식별자 요소(T)와 상호작용한다.

[0329] 상기에서 언급된 바와 같이, 상이한 세트의 디코딩 올리고뉴클레오티드는 상이한 세트의 디코딩 올리고뉴클레오티드의 사전-혼합물에 포함되거나 별도로 존재할 수 있을 뿐만 아니라 분석물-특이적 프로브의 상이한 세트는 상이한 세트의 분석물-특이적 프로브의 사전-혼합물에 포함되거나 별도로 존재할 수 있을 뿐만 아니라 상이한 세트의 신호 올리고뉴클레오티드는 신호 올리고뉴클레오티드의 상이한 세트의 사전-혼합물에 포함되거나 별도로 존재할 수 있다.

[0330] 본 개시내용에 따른 방법의 일부 유리한 실시형태에서, 결합 요소(S)는 인코딩되는 분석물에 대한 특이적 결합, 바람직하게는 인코딩되는 분석물에 대한 특이적 혼성화를 허용하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산을 포함한다.

[0331] 본 개시내용에 따른 방법의 일부 유리한 실시형태에서, 단계 A) 후 및 단계 B) 전에 비-결합 분석물-특이적 프로브는 특히 세정에 의해 제거될 수 있고, 추가로 단계 B) 후 및 단계 C) 전에 비-결합 디코딩 올리고뉴클레오티드는 특히 추가 세정에 의해 제거될 수 있고, 단계 C) 후 및 단계 D) 전에 비-결합 신호 올리고뉴클레오티드는 특히 세정에 의해 제거될 수 있다.

[0332] 본 개시내용에 따른 방법의 일부 유리한 실시형태에서, 분석물 특이적 프로브는 샘플과 함께 인큐베이션될 수 있고, 이에 의해 분석물 특이적 프로브가 인코딩되는 분석물에 특이적 결합을 허용하고, 추가로 디코딩 올리고뉴클레오티드는 샘플과 함께 인큐베이션될 수 있고, 이에 의해 각각의 분석물-특이적 프로브의 식별자 요소(T)에 디코딩 올리고뉴클레오티드의 특이적 혼성화를 허용하고, 추가로 신호 올리고뉴클레오티드는 샘플과 함께 인큐베이션될 수 있고, 이에 의해 각각의 디코딩 올리고뉴클레오티드의 번역자 요소(T)에 신호 올리고뉴클레오티드의 특이적 혼성화를 허용한다.

[0333] 상기에서 언급된 바와 같이, 인코딩되는 분석물은 핵산, 바람직하게는 DNA, PNA, RNA, 특히 mRNA, 펩티드, 폴리펩티드, 단백질 또는 이의 조합일 수 있다. 따라서, 결합 요소(S)는 인코딩되는 분석물에 대해 특이적 결합을 허용하는 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 결합 요소(S)의 예는 친화성 물질로부터의 친화성 모이어티인 모이어티 또는 전체적으로는 항체, 항체 단편, 안티칼린 단백질, 수용체 리간드, 효소 기질, 렉틴, 사이토카인, 림포카인, 인터류킨, 혈관신생 또는 독성 인자, 알레르겐, 펩티드성 알레르겐, 재조합 알레르겐, 알레르겐-특이형 항체, 자가면역-유발 구조, 조직-거부-유도 구조, 면역글로불린 불변 영역 및 이의 조합으로 구성된 군으로부터 선택된 친화성 물질이다. 특히, 결합 요소(S)는 Fab, scFv; 단일 도메인 또는 이의 단편, 비스 scFv, Fab 2, Fab 3, 미니바디, 디아바디, 트리아바디, 테트라바디 및 탄답으로 구성된 군으로부터 선택되는 항체 또는 항체 단편이다.

[0334] 이 조치에 의해 방법은 인코딩된 분석물이 신호 요소를 시각화하도록 적응된 임의의 수단에 의해 검출될 수 있는 정도까지 추가로 개발된다. 검출가능한 물리적 특징의 예는 예를 들어, 광, 화학 반응, 분자 질량, 방사능 등을 포함한다.

[0335] 일부 유리한 실시형태에서, 신호 요소에 의해 야기된 신호, 따라서 특히 각각의 분석물에 결합된 상응하는 분석물 프로브와 상호작용하는 디코딩 올리고뉴클레오티드에 대한 신호 올리고뉴클레오티드의 결합은 다음에 의해

결정된다:

[0336] (a) 샘플의 적어도 일부를 이미지화하는 것; 및/또는

[0337] (b) 광학 이미징 기술을 사용하는 것; 및/또는

[0338] (c) 형광 이미징 기술을 사용하는 것; 및/또는

[0339] (d) 다중-색상 형광 이미징 기술; 및/또는

[0340] (e) 초고해상도 형광 이미징 기술.

[0341] 본 개시내용에 따른 키트 및 방법은 암, 신경 질환, 심혈관 질환, 염증성 질환, 자가면역 질환, 바이러스 또는 세균 감염으로 인한 질환, 피부질환, 골격근질환, 치과질환 및 태아기 질환을 포함하는 군으로부터 선택된 질환의 진단을 위한 *시험관내* 방법에 이상적으로 사용될 수 있다.

[0342] 더욱이, 본 개시내용에 따른 키트 및 방법은 생물학적 스트레스, 바람직하게는 감염성 및/또는 기생충 기원에 의해 유발된 질환, 또는 비생물적 스트레스, 바람직하게는 영양 결핍 및/또는 불리한 환경에 의해 유발된 질환을 포함하는 군으로부터 선택된 식물에서 질환을 진단하기 위한 *시험관내* 방법에도 이상적으로 사용될 수 있다.

[0343] 더욱이, 본 개시내용에 따른 키트 및 방법은 다음을 포함하는 물질 및/또는 약물을 스크리닝, 식별 및/또는 테스트하기 위한 시험관내 방법에 또한 이상적으로 사용될 수 있다:

[0344] (a) 샘플을 포함하는 테스트 샘플을 물질 및/또는 약물과 접촉시키는 것

[0345] (b) 본 개시내용에 따른 방법으로 상기 분석물의 순차적인 신호-인코딩에 의해 샘플에서 상이한 분석물을 검출하는 것.

[0346] 적어도 다음을 포함하는, 본 개시내용에 따른 방법에 적합한 광 멀티플렉싱 시스템:

[0347] - 본 개시내용에 따른 키트 또는 키트의 일부를 함유하기 위한 반응 용기;

[0348] - 현미경, 특히 형광 현미경을 포함하는 검출 단위;

[0349] - 카메라;

[0350] - 액체 취급 장치.

[0351] 일부 실시형태에서, 광 멀티플렉싱 시스템은 가열 및 냉각 장치 및/또는 로봇 시스템을 추가로 포함할 수 있다.

[0352] 본 개시내용과 관련하여 사용하기 위해 적응될 수 있는 적합한 구성 기술 또는 물질의 일부 예는, 예를 들어 공동-양도된 미국 특허 번호 6,734,401의 발명의 명칭 "ENHANCED SAMPLE PROCESSING DEVICES SYSTEMS AND METHODS" (Bedingham et al.) 및 미국 특허 출원 공개 번호 US 2002/0064885의 발명의 명칭 "SAMPLE PROCESSING DEVICES"에 기술될 수 있다. 다른 사용가능한 장치 구성은, 예를 들어 2000년 6월 28일 출원된 미국 가특허 출원 일련 번호 60/214,508의 발명의 명칭 "THERMAL PROCESSING DEVICES AND METHODS"; 2000년 6월 28일 출원된 미국 가특허 출원 일련 번호 60/214,642의 발명의 명칭 "SAMPLE PROCESSING DEVICES, SYSTEMS AND METHODS"; 2000년 10월 2일 출원된 미국 가특허 출원 일련 번호 60/237,072의 발명의 명칭 "SAMPLE PROCESSING DEVICES, SYSTEMS AND METHODS"; 2001년 1월 6일 출원된 미국 가특허 출원 일련 번호 60/260,063의 발명의 명칭 "SAMPLE PROCESSING DEVICES, SYSTEMS AND METHODS"; 2001년 4월 18일 출원된 미국 가특허 출원 일련 번호 60/284,637의 발명의 명칭 "ENHANCED SAMPLE PROCESSING DEVICES, SYSTEMS AND METHODS"; 및 미국 특허 출원 공개 번호 US 2002/0048533의 발명의 명칭 "SAMPLE PROCESSING DEVICES AND CARRIERS"에서 찾을 수 있다. 다른 잠재적인 장치 구성은, 예를 들어, 미국 특허 번호 6,627,159의 발명의 명칭 "CENTRIFUGAL FILLING OF SAMPLE PROCESSING DEVICES" (Bedingham et al.)에서 찾을 수 있다.

[0353] 본 개시내용에 따른 광 멀티플렉싱 시스템은 각각의 샘플 및 분석물 특이적 프로브의 세트 같은 하나 이상의 프로브의 세트, 디코딩 올리고뉴클레오티드/비-신호 올리고뉴클레오티드의 세트 및/또는 신호 올리고뉴클레오티드/비-신호-올리고뉴클레오티드의 세트를 보유하기 위해 각각 복수의 프로세스 챔버(예를 들어, 반응 용기)를 포함할 수 있다. 예를 들어, 프로세스 챔버는 회전가능한 디스크 또는 96-웰 플레이트와 같은 이동가능한 웰-플레이트에 포함될 수 있으며; 상기 디스크를 회전시키거나 웰 플레이트를 이동시키는 모터로, 여기서 특히 모터는 로봇 시스템의 일부일 수 있다.

[0354] 본 개시내용에 따른 광 멀티플렉싱 시스템은 적어도 하나 또는 복수의 광 모듈을 추가로 포함할 수 있으며, 특

히 여기서 시스템은 광 모듈을 수용하도록 구성된 적어도 하나 또는 복수의 위치를 갖는 하우징을 포함하고, 복수의 광학 모듈(들)의 각각은 하우징의 위치에서 제거가능하다.

[0355] 일부 유리한 실시형태에서, 본 개시내용에 따른 광 멀티플렉싱 시스템은 검출기, 특히 다중 광 모듈로부터 검출기로 형광 광을 전달하기 위해 복수의 광 모듈에 연결된 광섬유 번들을 포함할 수 있다.

[0356] 특히, 광 모듈(들)은 광 채널을 포함하며, 각각의 광 모듈은 염료의 상이한 것을 여기시키기 위해 선택된 광원 및 방출된 형광 광을 포착하기 위한 렌즈를 가지며, 상기 광 모듈(들)은 상이한 파장에서 형광 염료를 조사하도록 광학적으로 구성된다.

[0357] 추가 실시형태에서, 시스템은 적어도 하나의 유동 채널을 갖는 미세유체 카트리지(본 명세서에서 미세유체 장치로도 지칭됨)를 포함할 수 있다. 광 멀티플렉싱 시스템은 형광 이미징 시스템을 포함한다. 시스템의 추가 기능은 온도 측정 및/또는 제어 시스템일 수 있다. 일부 실시형태에서, 시스템은 가변 공압을, 예를 들어 미세유체 카트리지에 적용하기 위한 압력 측정 및 제어 시스템을 포함한다. 광 멀티플렉싱 시스템은 웰-플레이트와 같은 다중 시약을 보유하기 위한 저장 장치를 포함할 수 있다. 더욱이, 광 멀티플렉싱 시스템은, 특히 예를 들어 미세 유체 카트리지 및/또는 반응 용기(들)에, 예를 들어 시약 혼합물을 흡인, 혼합 및 분배하기 위한 적어도 하나의 로봇 피펫터를 포함하는 액체 취급 시스템을 포함할 수 있다. 더욱이, 시스템은 데이터 저장, 처리 및 출력을 위한 수단; 및 특히 다양한 장치와 기능을 조정하는 시스템 컨트롤러를 포함할 수 있다.

[0358] 일부 실시형태에서, 본 개시내용에 따른 방법은 mRNA, 예를 들어, 특정 단백질에 대해 코딩하는 그러한 mRNA와 같은 핵산 분석물을 인코딩한다.

[0359] 일부 유리한 실시형태에서, 본 명세서에 기술된 방법은 병렬로 많은 상이한 분석물의 특이적 검출을 위해 사용된다. 이 기술은 이용할 수 있는 다른 신호보다 더 많은 수의 분석물을 구별할 수 있다. 과정은 특정 결합, 신호 검출 및 선택적 변성(다음 라운드가 필요한 경우)의 적어도 4회 연속 라운드를 포함하여 최종적으로 신호 코드를 생성한다. 분석물 특이적 결합과 검출가능한 신호를 제공하는 올리고뉴클레오티드 사이의 의존성을 분리하기 위해 소위 "디코딩"-올리고뉴클레오티드가 도입된다. 디코딩 올리고뉴클레오티드는 신호 올리고뉴클레오티드로 설정된 분석물-특이적 프로브의 정보를 전사한다.

[0360] 특정 실시형태에서, 방법은 1. 하나 이상의 분석물 특이적 프로브 세트를 제공하는 단계로, 분석물 특이적 프로브의 세트는 분석물과 특이적으로 상호작용하는 결합 모이어티가 각각 다른 하나 이상의 상이한 프로브로 구성되며, 단일 프로브 세트의 모든 프로브는 단일 프로브 세트에 고유하고 디코딩 올리고뉴클레오티드의 특이적 혼성화를 허용하는 서열 요소(고유 식별자)에 묶여 있는 단계, 2. 분석물의 그 표적 결합 부위에 프로브 세트를 특이적 결합시키는 단계, 3. 비-결합된 프로브를 제거하는 단계(예를 들어 세정 단계에 의함), 4. 프로브 세트의 고유 식별자 서열에 특이적으로 혼성화하는 디코딩 올리고뉴클레오티드의 혼합물을 제공하는 단계로, 디코딩 올리고뉴클레오티드는 상응하는 프로브 세트의 고유 식별자 서열에 상보적인 제1 요소 및 신호 올리고뉴클레오티드의 특정 혼성화를 위한 서열을 제공하는 제2 서열 요소(번역자 요소)인, 적어도 2개의 서열 요소로 구성되고, 번역자 요소는 디코딩 올리고뉴클레오티드에 동원되는 신호의 유형을 한정하는 단계, 5. 결합된 프로브 세트에 의해 제공된 고유 식별자 서열에 대한 디코딩 올리고뉴클레오티드의 특이적 혼성화, 6. 비-결합된 디코딩 올리고뉴클레오티드를 제거하는 단계(예를 들어 세정 단계에 의함), 7. 검출될 수 있는 신호 및 이전 혼성화 단계에서 사용된 디코딩 올리고뉴클레오티드 중 하나의 번역자 요소에 특이적으로 혼성화하는 핵산 서열을 포함하는, 신호 올리고뉴클레오티드의 혼합물을 제공하는 단계, 8. 신호 올리고뉴클레오티드의 특이적 혼성화, 9. 비-결합된 신호 올리고뉴클레오티드를 제거하는 단계, 10. 신호의 검출, 11. 분석물에 대한 특정 프로브 세트의 결합이 거의 또는 완전히 영향을 받지 않는 동안 디코딩 올리고뉴클레오티드 및 신호 올리고뉴클레오티드의 선택적 방출, 12. 분석물에 대한 특정 프로브 세트의 결합이 거의 또는 완전히 영향을 받지 않는 동안 방출된 디코딩 올리고뉴클레오티드 및 신호 올리고뉴클레오티드를 제거하는 단계(예를 들어 세정 단계에 의함), 각각의 다른 관심있는 분석물에 대한 인코딩 체계를 생성하기 위해 충분한 수의 신호가 검출될 때까지 단계 4 내지 12를 적어도 3회 반복하는 단계를 포함할 수 있다.

[0361] 전에-언급된 특징과 다음에서 언급되는 특징은 각각의 경우에 표시된 조합으로 사용될 수 있을 뿐만 아니라, 개시내용의 범주를 벗어나지 않고 다른 조합으로 또는 고립된 방식으로 사용될 수 있음을 이해해야 한다.

[0362] 개시내용은 이제 개시내용의 추가적인 특징, 특성 및 이점을 초래하는 실시형태에 의해 추가로 설명된다. 실시형태는 순수한 예시적 특성을 가지고 개시내용의 범주 또는 범위를 제한하지 않는다. 특정 실시형태에서 언급된 특징은 특정 실시형태에서 뿐만 아니라 개시내용의 임의의 실시형태의 맥락에서 고립된 방식으로 적용가능한 개

시내용의 일반적인 특징이다.

[0363] 본 명세서에 개시된 방법은 병렬로 많은 상이한 분석물의 특이적 검출을 위해 사용된다. 이 기술은 이용할 수 있는 다른 신호보다 더 많은 수의 분석물을 구별할 수 있다. 과정은 바람직하게는 특정 결합, 신호 검출 및 선택적 변성(다음 라운드가 필요한 경우)의 적어도 2회 연속 라운드를 포함하여 최종적으로 신호 코드를 생성한다. 분석물 특이적 결합과 검출가능한 신호를 제공하는 올리고뉴클레오티드 사이의 의존성을 분리하기 위해 소위 "디코딩" 올리고뉴클레오티드가 도입된다. 디코딩 올리고뉴클레오티드는 신호 올리고뉴클레오티드로 설정된 분석물-특이적 프로브의 정보를 전사한다.

[0364] **방법 및 실시예**

[0365] 출원 변형에서 분석물 또는 표적은 핵산, 예를 들어 DNA 또는 RNA이고, 프로브 세트는 검출되는 핵산 서열의 전체 서열 또는 하위서열에 부분적으로 또는 완전히 상보적인 올리고뉴클레오티드를 포함한다(도 1). 검출되는 표적 핵산 서열에 특이적으로 혼성화하는 결합 요소(S) 및 상기 분석물-특이적 프로브의 세트에 고유한 뉴클레오티드 서열(고유 식별자 서열)을 포함하는 식별자 요소(T)를 포함하는 분석물-특이적 프로브(1)를 포함하는 핵산 서열 특이적 올리고뉴클레오티드 프로브 세트.

[0366] 본 개시내용의 유리한 실시형태에서, 분석물/표적은 핵산, 예를 들어, RNA, 및 단일 핵산 서열 표적의 독특한 영역에 부분적으로 또는 완전히 상보적인 올리고뉴클레오티드를 포함하는 2개의 프로브 세트이다(도 15). 분석물-특이적 프로브 각각의 두 세트(1 및 1', 2 및 2')를 포함하는 핵산 서열 특이적 올리고뉴클레오티드 프로브 세트로, 양자는 검출하고자 하는 표적 핵산 서열에 특이적으로 혼성화하는 결합 요소(S)를 포함하고, 각각은 상기 분석물-특이적 프로브의 세트에 고유한 뉴클레오티드 서열(고유 식별자 서열)을 포함하는 상이한 식별자 요소(T)를 갖는다. 두 세트는 분석물의 디코딩(1, 2)과 분석물의 하위군(1' 및 2')을 구별하는 배타적 요소의 존재/부재의 검출에 사용된다.

[0367] 추가 출원 변형에서, 분석물 또는 표적은 단백질이고 프로브 세트는 하나 이상의 단백질, 예를 들어, 항체를 포함한다(도 2). 검출되는 표적 단백질과 특이적으로 상호작용하는 항체의 (초-)가변성 영역과 같은 결합 요소(T)와 식별자 요소(T)를 포함하는 분석물-특이적 프로브(1)를 포함하는 단백질 특이적 프로브 세트.

[0368] 추가 출원 변형에서, 적어도 하나의 분석물은 핵산이고 적어도 제2 분석물은 단백질이고 적어도 제1 프로브 세트는 핵산 서열에 결합하고 적어도 제2 프로브 세트는 단백질 분석물에 특이적으로 결합한다. 다른 조합도 가능하다.

[0369] 본 개시내용의 일반적인 방법의 실시형태는 다음과 같을 수 있다:

[0370] 단계 1: 적어도 20개 분석물- 또는 표적-특이적 프로브 세트를 적용하는 단계. 표적 핵산 서열은 표적 핵산에 상보적인 서열을 가진 올리고뉴클레오티드로 구성된 프로브 세트와 함께 인큐베이션된다. 이 실시예에서, 각각 표적 핵산 서열의 개별 하위서열(S1 내지 S5)에 상보적인 서열 요소를 포함하는 5개 다른 프로브의 프로브 세트가 도시된다. 이 실시예에서는 영역이 중첩되지 않는다. 동일한 핵산 서열을 표적화하는 각각의 올리고뉴클레오티드는 각각 식별자 요소 또는 고유 식별자 서열(T)을 포함한다.

[0371] 단계 2: 프로브 세트의 혼성화. 프로브 세트는 특이적 혼성화를 허용하는 조건 하에서 표적 핵산 서열에 혼성화된다. 인큐베이션 후, 프로브는 그의 상응하는 표적 서열에 혼성화되고 다음 단계를 위한 식별자 요소(T)를 제공한다.

[0372] 단계 3: 비-결합된 프로브를 제거하는 단계. 혼성화 후 결합되지 않은 올리고뉴클레오티드는 예를 들어 세정 단계에 의해 제거된다.

[0373] 단계 4: 디코딩 올리고뉴클레오티드를 적용하는 단계. 적어도 2개의 서열 요소 (t) 및 (c)로 구성된 디코딩 올리고뉴클레오티드가 적용된다. 서열 요소(t)는 고유 식별자 서열(T)에 대해 상보적인 반면, 서열 요소(c)는 신호 올리고뉴클레오티드(번역자 요소)의 후속 혼성화를 위한 영역을 제공한다.

[0374] 단계 5: 디코딩 올리고뉴클레오티드의 혼성화. 디코딩 올리고뉴클레오티드는 그 상보적인 제1 서열 요소(t)를 통해 프로브(T)의 고유 식별자 서열과 혼성화된다. 인큐베이션 후, 디코딩 올리고뉴클레오티드는 후속 혼성화 단계를 위한 번역자 서열 요소(c)를 제공한다.

[0375] 단계 6: 과잉의 디코딩 올리고뉴클레오티드를 제거하는 단계. 혼성화 후, 결합되지 않은 디코딩 올리고뉴클레오티드는 예를 들어 세정 단계에 의해 제거된다.

[0376] 단계 7: 신호 올리고뉴클레오티드를 적용하는 단계. 신호 올리고뉴클레오티드가 적용된다. 신호 올리고뉴클레오티드는 번역자 서열 요소(c)에 본질적으로 상보적인 적어도 하나의 제2 연결자 요소(C) 및 검출가능한 신호(F)를 제공하는 적어도 하나의 신호 요소를 포함한다.

[0377] 단계 8: 신호 올리고뉴클레오티드의 혼성화. 신호 올리고뉴클레오티드는 상보적 서열 연결자 요소(C)를 통해 디코딩 올리고뉴클레오티드의 번역자 요소(c)에 혼성화된다. 인큐베이션 후, 신호 올리고뉴클레오티드는 그 상응하는 디코딩 올리고뉴클레오티드에 혼성화되고 검출될 수 있는 신호(F)를 제공한다.

[0378] 단계 9: 과잉의 신호 올리고뉴클레오티드를 제거하는 단계. 혼성화 후 결합되지 않은 신호 올리고뉴클레오티드는 예를 들어 세정 단계에 의해 제거된다.

[0379] 단계 10: 신호 검출. 신호 올리고뉴클레오티드에 의해 제공된 신호가 검출된다.

[0380] 다음 단계(11단계 및 12단계)는 마지막 검출 라운드에 대해서는 필요하지 않다.

[0381] 단계 11: 선택적 변성. 고유 식별자 서열(T)과 디코딩 올리고뉴클레오티드의 제1 서열 요소(t) 간의 혼성화가 해결된다. 예를 들어: 온도 상승, 변성제 등과 같이 숙련된 사람에게 잘 알려진 다양한 메커니즘을 통해 불안정화를 달성할 수 있다. 표적- 또는 분석물-특이적 프로브는 이 단계에 의해 영향을 받지 않는다.

[0382] 단계 12: 변성된 디코딩 올리고뉴클레오티드를 제거하는 단계. 변성된 디코딩 올리고뉴클레오티드 및 신호 올리고뉴클레오티드는 (예를 들어 세정 단계에 의해) 제거되어 다음 라운드의 혼성화 및 검출(단계 4 내지 10)에서 재사용할 수 있는 유리 고유 식별자 서열을 가진 특이적 프로브 세트를 남긴다. 이 검출 주기(단계 4 내지 12)는 계획된 인코딩 체계가 완료될 때까지 적어도 4회 반복된다.

[0383] 일부 유리한 실시형태에서, 단계 13에서 단계 4 내지 10의 추가 주기가 하위군/변동 특이적 신호를 판독하기 위해 수행된다.

[0384] 다중-디코더를 사용하는 본 개시내용의 일반적인 방법의 다른 실시형태는 다음과 같을 수 있다(도 16):

[0385] 단계 1: 표적 핵산: 이 실시예에서 3가지 다른 표적 핵산 (A), (B) 및 (C)는 단지 2가지 상이한 유형의 신호 올리고뉴클레오티드를 사용함에 의해 검출 및 구별되어야 한다. 실험을 시작하기 전에, 특정 인코딩 체계가 설정된다. 이 실시예에서, 3가지 상이한 핵산 서열은 3가지 상이한 신호 유형 (1), (2) 및 (1/2) 및 오류 검출을 허용하기 위해 3의 결과적인 해밍 거리를 갖는 3 라운드의 검출에 의해 인코딩된다. 계획된 코드워드는 다음과 같다:

[0386] 서열 A: (1) - (1) - (2)

[0387] 서열 B: (2) - (2) - (1/2)

[0388] 서열 C: (1/2) - (1/2) - (1)

[0389] 단계 2: 프로브 세트의 혼성화: 각 표적 핵산에 대해 자체 프로브 세트가 적용되어 상응하는 관심있는 핵산 서열에 특이적으로 혼성화된다. 각 프로브 세트는 고유 식별자 서열 (T1), (T2) 또는 (T3)을 제공한다. 이 방식으로 각각의 상이한 표적 핵산이 고유하게 표지된다. 이 실시예에서 서열(A)는 (T1), 서열(B)는 (T2), 서열(C)는 (T3)으로 표지된다. 도 16에서 예시는 도 3의 단계 1 내지 3을 요약한다.

[0390] 단계 3: 디코딩 올리고뉴클레오티드 및 다중-디코더의 혼성화: 존재하는 각각의 고유 식별자에 대해, 특정 디코딩 올리고뉴클레오티드 또는 다중-디코더는 그의 제1 서열 요소에 의해 상응하는 고유 식별자 서열에 특이적으로 혼성화 적용된다(여기서 (t1) 대 (T1), (t2) 대 (T2) 및 (t3) 대 (T3)). 각각의 디코딩 올리고뉴클레오티드 또는 다중-디코더는 신호 올리고뉴클레오티드의 혼성화 후에 생성될 신호를 한정하는 번역자 또는 2개의 번역자 요소를 제공한다. 여기서 핵산 서열 (A)는 (c1)로 표지되고, (B)는 (c2)로 표지되고, (C)는 번역자 요소 (c1) 및 (c2) 둘 모두로 표지되어 신호(1/2)를 초래한다. 도 16에서 예시는 도 3의 단계 4 내지 6을 요약한다.

[0391] 단계 4: 신호 올리고뉴클레오티드의 혼성화: 각 유형의 번역자 요소에 대해, 다른 신호 올리고뉴클레오티드의 신호와 구별할 수 있는 특정 신호를 갖는 신호 올리고뉴클레오티드가 적용된다. 이 신호 올리고뉴클레오티드는 상응하는 번역자 요소에 특이적으로 혼성화할 수 있다. 도 16에서 예시는 도 3의 단계 7 내지 9를 요약한다.

[0392] 단계 5: 인코딩 체계에 대한 신호 검출: 상이한 신호가 검출된다. 이 실시예에서 핵산 (A), (B) 및 (C)는 제1 검출 라운드 후에 이미 구별될 수 있다는 점을 주지한다. 이는 다중-디코더로 인해 구현될 수 있는 추가 신호 유형(1/2)에 의해 설명된 도 5의 단계 5와 대조적이다. 핵산 서열은 이미 구별될 수 있지만 추가 라운드는 3의

계획된 해밍 거리에 기여한다. 도 16에서 예시는 도 3의 단계 10에 해당한다.

[0393] 단계 6: 선택적 변성: 검출되어 지는 모든 핵산 서열의 디코딩 (및 신호) 올리고뉴클레오티드 및/또는 다중-디코더는 선택적으로 변성되고 도 3의 단계 11 및 12에 기술된 바와 같이 제거된다. 그 후 다른 프로브 세트의 고유 식별자 서열은 다음 라운드의 혼성화 및 검출에 사용될 수 있다.

[0394] 단계 7: 제2 검출 라운드: 혼성화 및 검출의 다음 라운드는 단계 3 내지 5에 기술된 바와 같이 수행된다. 이 새로운 라운드에서는 상이한 디코딩 올리고뉴클레오티드와 다중-디코더의 혼합이 변경된다는 점을 주지한다. 예를 들어, 제1 라운드에서 사용된 핵산 서열 (A)의 디코딩 올리고뉴클레오티드는 서열 요소 (t1) 및 (c1)로 구성되는 반면 라운드 2의 새로운 다중 디코더는 서열 요소 (t1), (c1) 및 (c2)로 구성된다. 이제 2의 해밍 거리가 이미 2 라운드 후에 주어졌는데, 이는 3 라운드 후 도 3에서 실시예의 최종 결과이다는 점을 주지한다.

[0395] 단계 8: 제3 검출 라운드: 다시, 디코딩 올리고뉴클레오티드 및/또는 다중-디코더의 새로운 조합을 사용하여 새로운 신호 조합을 유도한다. 신호 검출 후, 3개의 상이한 핵산 서열에 대한 결과 코드워드는 고유하고 따라서 구별가능할 뿐만 아니라 다른 코드워드에 대해 3의 해밍 거리를 포함한다. 해밍 거리로 인해 신호의 검출 (신호 교환)에서 오류는 유효한 코드워드가 되지 않으므로 검출할 수 있으며 도 3의 인코딩 체계과 달리 해밍 거리 3으로 인해 또한 교정된다. 이 방식으로 3개의 다른 핵산이 2개의 다른 신호로 3개의 검출 라운드에서 구별될 수 있어, 오류 검출 및 교정을 허용한다.

[0396] 모든 검출 라운드에서 특정 고유 식별자에 의해 제공된 신호 유형은 특정 디코딩 올리고뉴클레오티드의 사용에 의해 제어된다는 점을 주지한다. 그 결과, 검출 주기에 적용된 디코딩 올리고뉴클레오티드의 서열은 프로브 세트의 결합 특이성을 고유한 신호 서열로 전사한다.

[0397] 디코딩 올리고뉴클레오티드 혼성화의 단계(단계 4 내지 6) 및 신호 올리고뉴클레오티드 혼성화의 단계(단계 7 내지 9)는 도 4에 도시된 바와 같이 2가지 대안적인 방식으로 조합될 수도 있다.

[0398] 옵션 1: 동시적인 혼성화. 도 3의 단계 4 내지 9 대신에, 디코딩 올리고뉴클레오티드 및 신호 올리고뉴클레오티드의 특이적 혼성화를 또한 동시적으로 수행하여 초과 디코딩- 및 신호 올리고뉴클레오티드를 제거한 후, 도 3의 단계 9에 나타낸 바와 같은 동일한 결과를 초래할 수 있다.

[0399] 옵션 2: 사전 인큐베이션. 도 3의 옵션 1에 추가적으로, 디코딩- 및 신호 올리고뉴클레오티드는 이미 결합된 특정 프로브 세트와 함께 표적 핵산에 적용되기 전에 별도의 반응에서 사전 인큐베이션될 수 있다.

[0400] 1. 2개의 상이한 신호 유형 및 3개의 검출 라운드에 의한 3개의 상이한 핵산 서열의 신호 인코딩에 대한 실시예

[0401] 도 3은 디코딩 올리고뉴클레오티드에 의해 매개된 특정한 신호의 생성 및 검출에 대한 일반적인 개념을 도시한다. 그것은 이 절차에 의해 달성될 수 있는 인코딩의 일반적인 개념을 보여주지는 않는다. 인코딩 체계의 생성을 위해 도 3에 도시된 과정의 사용을 예시하기 위해, 도 5는 3가지 다른 핵산 서열로 다중 라운드 인코딩 실험에 대한 일반적인 실시예를 도시한다. 이 실시예에서 인코딩 체계는 오류 검출을 포함한다.

[0402] 단계 1: 표적 핵산. 이 실시예에서 3가지 다른 표적 핵산 (A), (B) 및 (C)는 2가지 다른 유형의 신호만을 사용함에 의해 검출 및 구별되어야 한다. 실험을 시작하기 전에 특정 인코딩 체계가 설정된다. 이 실시예에서, 3개의 상이한 핵산 서열은 2개의 상이한 신호 (1) 및 (2)와 오류 검출을 허용하기 위해 2의 결과적 해밍 거리를 갖는 3 검출 라운드에 의해 인코딩된다. 계획된 코드워드는 다음과 같다:

[0403] 서열 A: (1) - (2) - (2);

[0404] 서열 B: (1) - (1) - (1);

[0405] 서열 C: (2) - (1) - (2).

[0406] 단계 2: 프로브 세트의 혼성화. 각각의 표적 핵산에 대해 자체 프로브 세트가 적용되어 상응하는 관심있는 핵산 서열에 특이적으로 혼성화된다. 각각의 프로브 세트는 고유 식별자 서열 (T1), (T2) 또는 (T3)을 제공한다. 이 방식으로 각각의 다른 표적 핵산은 고유하게 표지된다. 이 실시예에서 서열 (T)는 (T1), 서열 (B)는 (T2), 서열 (C)는 (T3)으로 표지된다. 예시는 도 3의 단계 1 내지 3을 요약한다.

[0407] 단계 3: 디코딩 올리고뉴클레오티드의 혼성화. 존재하는 각각의 고유 식별자에 대해, 특정 디코딩 올리고뉴클레오티드가 그의 제1 서열 요소에 의해 상응하는 고유 식별자 서열에 특이적으로 혼성화 적용된다(여기서 (t1) 대 (T1), (t2) 대 (T2) 및 (t3) 대 (T3)). 각각의 디코딩 올리고뉴클레오티드는 신호 올리고뉴클레오티드의 혼성화

후에 생성될 신호를 한정하는 번역자 요소를 제공한다. 여기서 핵산 서열 (A) 및 (B)는 번역자 요소 (c1)로 표지되고 서열 (C)은 (c2)로 표지된다. 예시는 도 3의 단계 4 내지 6을 요약한다.

[0408] 단계 4: 신호 올리고뉴클레오티드의 혼성화. 번역자 요소의 각 유형에 대해, 다른 신호 올리고뉴클레오티드의 신호와 구별할 수 있는 특정 신호(2)를 갖는 신호 올리고뉴클레오티드가 적용된다. 이 신호 올리고뉴클레오티드는 상응하는 번역자 요소에 특이적으로 혼성화할 수 있다. 예시는 도 3의 단계 7 내지 9를 요약한다.

[0409] 단계 5: 인코딩 체계에 대한 신호 검출. 다양한 신호가 검출된다. 이 실시예에서 핵산 서열 (C)는 그것이 제공하는 독특한 신호(2)에 의해 다른 서열과 구별될 수 있는 반면, 서열 (A) 및 (B)는 동일한 종류의 신호(1)를 제공하고 제1 검출 주기 후에 구별될 수 없다. 이는 검출되는 상이한 핵산 서열의 수가 이용가능한 상이한 신호의 수를 초과한다는 사실에 기인한다. 예시는 도 3의 단계 10에 해당한다.

[0410] 단계 6: 선택적 변성. 검출되는 모든 핵산 서열의 디코딩 (및 신호) 올리고뉴클레오티드는 도 3의 단계 11 및 12에 기술된 대로 선택적으로 변성되고 제거된다. 그 후 다른 프로브 세트의 고유 식별자 서열은 혼성화 및 검출의 다음 라운드에 사용될 수 있다.

[0411] 단계 7: 제2 검출 라운드. 혼성화 및 검출의 다음 라운드는 단계 3 내지 5에 기술된 대로 수행된다. 이 새로운 라운드에서는 상이한 디코딩 올리고뉴클레오티드의 혼합이 변경된다는 점을 주지한다. 예를 들어, 제1 라운드에서 사용된 핵산 서열 (A)의 디코딩 올리고뉴클레오티드는 서열 요소 (t1) 및 (c1)로 구성되는 반면, 새로운 디코딩 올리고뉴클레오티드는 서열 요소 (t1) 및 (c2)로 구성된다. 이제 제1 및 제2 라운드 신호의 고유한 조합으로 인해 세 서열 모두 명확하게 구분될 수 있다는 점을 주지한다.

[0412] 단계 8: 제3 검출 라운드. 다시, 디코딩 올리고뉴클레오티드의 새로운 조합이 사용되어 새로운 신호 조합을 유도한다. 신호 검출 후, 3개의 상이한 핵산 서열에 대한 결과 코드워드는 고유하고 따라서 구별가능할 뿐만 아니라 다른 코드워드에 대해 2의 해밍 거리를 포함한다. 해밍 거리로 인해 신호의 검출(신호 교환)에서 오류는 유효한 코드워드를 초래하지 않으므로 검출될 수 있다. 이 방식으로 3개의 다른 핵산이 2개의 다른 신호로 3 검출 라운드에서 구별될 수 있어 오류 검출을 허용한다.

[0413] 2. 선행 기술에 비한 이점

[0414] *코딩 전략*

[0415] 최신 방법과 비교하여, 개시내용에 따른 방법의 한 가지 특별한 이점은 표적 특이적 프로브와 신호 올리고뉴클레오티드 사이의 의존성을 깨는 디코딩 올리고뉴클레오티드의 사용이다.

[0416] 표적 특이적 프로브와 신호 생성을 분리하지 않으면 2개의 상이한 분자 태그를 사용하는 경우 특정 표적에 대해서만 2개의 상이한 신호가 생성될 수 있다. 이들 각각의 분자 태그는 한 번만 사용될 수 있다. 동일한 분자 태그의 다중 판독은 표적에 대한 정보를 증가시키지 않는다. 인코딩 체계를 생성하기 위해 각 라운드 후 표적 특이적 프로브 세트의 변경이 필요하거나(SeqFISH) 다중 분자 태그가 동일한 프로브 세트 상에 존재해야 한다(예로 merFISH, intronSeqFISH).

[0417] 개시내용에 따른 방법에 따라, 동일한 고유 식별자(분자 태그)를 재사용하는 상이한 디코딩 올리고뉴클레오티드 및 소수의 상이한, 대부분 비용-집약적인 신호 올리고뉴클레오티드를 사용함에 의해 상이한 신호가 달성된다. 이는 다른 방법과 대비하여 몇 가지 이점을 초래한다.

[0418] (1) 인코딩 체계는 종래 기술의 다른 모든 방법의 경우에서와 같이 표적 특이적 프로브 세트에 의해 한정되지 않는다. 여기서 인코딩 체계는 디코딩 올리고뉴클레오티드에 의해 전사된다. 이는 라운드 수와 코드워드에 대한 신호 선택의 자유와 관련하여 훨씬 더 높은 유연성을 초래한다. 선행 기술(예를 들어 merFISH 또는 intronSeqFISH)의 방법을 살펴보면, 모든 표적 서열에 대한 인코딩 체계(검출가능한 신호의 수, 유형 및 서열)는 특이적 프로브 세트 상의 상이한 태그 서열의 존재에 의해 미리한정된다(merFISH의 경우 프로브 세트당 16개 다른 태그 중 4개 및 인트론 FISH의 경우 60개 다른 태그 중 5개). 프로브 세트당 충분한 수의 상이한 태그를 생성하기 위해, 방법은 하나의 표적 특이적 올리고뉴클레오티드 상에 존재하는 여러 태그를 갖는 다소 복잡한 올리고뉴클레오티드 디자인을 사용한다. 특정 표적 핵산에 대한 인코딩 체계를 변경하려면 특이적 프로브 세트를 교체해야 한다. 개시내용에 따른 방법은 새로운 정보를 생성하기 위해 모든 검출 라운드에서 재사용될 수 있기 때문에 분석물당 단일 고유 태그 서열(고유 식별자)의 사용을 기술한다. 인코딩 체계는 검출 라운드에 사용되는 디코딩 올리고뉴클레오티드의 순서에 의해 한정된다. 따라서, 인코딩 체계는 특정 프로브(또는 고유한 태그 서열)에 의해 미리한정되지 않지만 실험 중에도 다양한 요구에 맞게 조정될 수 있다. 이는 검출 라운드에 사

용된 디코딩 올리고뉴클레오티드를 단순히 변경하거나 추가 검출 라운드를 추가함에 의해 달성된다.

[0419] (2) 상이한 신호 올리고뉴클레오티드의 수는 종래 기술의 방법을 사용하는 상이한 태그 서열의 수와 일치해야 한다(merFISH의 경우 16개, intronSeqFISH의 경우 60개). 개시내용에 따른 방법을 사용하여, 상이한 신호 올리고뉴클레오티드의 수는 사용된 상이한 신호의 수와 일치한다. 이로 인해, 신호 올리고뉴클레오티드의 수는 여기에 기술된 방법에 대해 일정하게 유지되고 다른 신호의 수를 절대 초과하지 않지만 선행 기술의 방법에서 인코딩 체계의 복잡성에 따라 증가한다(더 많은 검출 라운드는 더 많은 다른 신호 올리고뉴클레오티드를 필요로함). 결과적으로 여기에 기술된 방법은 훨씬 더 낮은 복잡성(신호 올리고뉴클레오티드와 환경 또는 서로 간의 의도하지 않은 상호작용)을 초래하고 주요 비용 요소가 신호 올리고뉴클레오티드이기 때문에 검정의 비용을 극적으로 감소시킨다.

[0420] (3) 종래 기술의 방법에서, 표적 특이적 프로브 세트에 의해 생성된 상이한 신호의 수는 프로브 세트가 제공할 수 있는 상이한 태그 서열의 수에 의해 제한된다. 각각의 추가 태그 서열은 표적 특이적 프로브의 총 크기를 증가시키기 때문에, 단일 프로브가 제공할 수 있는 상이한 태그의 수에는 제한이 있다. 이 제한은 몇 가지 문제(의도하지 않은 분자간 및 분자내 상호작용, 비용, 확산 속도, 안정성, 합성 동안 오류 등)의 크기 의존적 증가에 의해 제공된다. 부가적으로, 특정 분석물에 적용될 수 있는 표적 특이적 프로브의 총 수에는 제한이 있다. 핵산의 경우, 이 제한은 표적 서열의 길이와 적합한 결합 부위의 비율에 의해 주어진다. 이들 요소는 프로브 세트가 제공할 수 있는 다양한 신호의 수에 심각한 제한을 초래한다(merFISH의 경우 4개 신호, intronSeqFISH의 경우 5개 신호). 이 제한은 특정 수의 검출 라운드로 생성될 수 있는 상이한 코드워드의 수에 실질적으로 영향을 미친다. 개시내용의 접근방식에서는 단 하나의 태그만 필요하며 모든 검출 라운드에서 자유롭게 재사용될 수 있다. 이는 낮은 올리고뉴클레오티드 복잡성/길이와 동시에 가능한 최대 인코딩 효율성(색상의 수$^{\text{라운드의 수}}$)으로 이어진다. 다른 방법과 비교하여 본 발명자들의 방법의 코딩 용량의 큰 차이가 도 1 및 5에 도시되어 있다. 이로 인해 개시내용의 접근방식에서는 동일한 양의 정보를 생성하는 데 훨씬 더 적은 수의 검출 라운드가 필요하다. 적은 수의 검출 라운드는 낮은 비용, 낮은 실험 시간, 낮은 복잡성, 높은 안정성 및 성공률, 수집되고 분석되는 데이터의 낮은 양, 및 결과의 높은 정확도와 관련된다.

[0421] *코딩 용량*

[0422] 아래 표 1에서 비교된 3가지 방법 모두는 상이한 검출 라운드 간에 변성되지 않는 특정한 프로브 세트를 사용한다. intronSeqFISH의 경우 하나의 코딩 라운드의 유사 색상을 생성하는데 4개의 검출 라운드가 필요하므로 데이터는 라운드 4, 8, 12, 16 및 20에 대해서만 제공된다. merFISH 방법은 일정한 수의 4개 신호를 사용하므로 데이터는 가능한한 가장 적은 수의 라운드로 시작한다. 8회 검출 라운드 후 본 발명자들의 방법은 20 라운드의 merFISH(일 별표로 표시됨)로 도달한 최대 코딩 용량을 초과하고 12 라운드의 검출 후 인트론 FISH의 최대 코딩 용량을 초과했다(2개 별표로 표시됨). 개시내용에 따른 방법에 대해 3개의 상이한 신호의 사용이 가정된다(intronSeqFISH에서와 같음).

[0423]

라운드의 수:	코딩 용량		
	본 개시내용의 방법	인트론 FISH	merFISH
1	3	-	-
2	9	-	-
3	27	-	-
4	81	12	1
5	243	-	5
6	729	-	15
7	2187	-	35
8*	6561	144	70
9	19683	-	126
10	59049	-	210
11	177147	-	330
12**	531441	1728	495
13	1594323	-	715
14	4782969	-	1001
15	14348907	-	1365
16	43046721	20736	1820
17	129140163	-	2380
18	387420489	-	3060
19	1162261467	-	3876
20	3486784401	248832	4845

[0424] 표 1: 코딩 용량의 비교

[0425] 도 6에 도시된 바와 같이 merFISH에 대한 코드워드의 수는 검출 주기의 수에 따라 기하급수적으로 증가하지 않지만 추가된 라운드마다 덜 효과적이다. 대조적으로, 개시내용에 따른 방법에서 intronSeqFISH에 대한 코드워드의 수는 기하급수적으로 증가한다. 제안된 방법에 대한 곡선의 기울기는 인트론 FISH보다 훨씬 높아 20 라운드의 검출 후 10,000배 초과로 더 많은 사용가능한 코드워드를 야기한다.

[0426] 이 코딩 용량의 최대 효율은 또한 seqFISH의 경우에 도달되는데, 여기서 특이적 프로브는 모든 검출 라운드 후에 변성되고 새로운 프로브 세트는 각 검출 라운드의 표적 서열에 특이적으로 혼성화된다는 점을 주지한다. 그러나, 이 방법은 그 인코딩 체계(다른 모든 방법)에 대해 단지 하나의 특정한 혼성화를 사용하는 기술에 대해 주요한 단점이 있다:

[0427] (1) 특이적 프로브의 효율적인 변성을 위해서는 오히려 분석물의 손실 또는 손상에 대한 훨씬 높은 가능성을 초래하는 가공하지 않은 조건이 사용되어야 한다(높은 온도, 높은 농도의 변성제, 긴 인큐베이션 시간).

[0428] (2) 각 검출 라운드에 대해 모든 표적 핵산 서열에 대해 자체 프로브 세트가 사용되어야 한다. 따라서, 실험에 필요한 특이적 프로브의 수는 인코딩 체계에 필요한 상이한 신호의 수에 따라 조정된다. 이것은 검정의 복잡성과 비용을 극적으로 증가시킨다.

[0429] (3) 모든 표적 핵산 분자의 혼성화 효율은 일부 확률적 영향을 받기 때문에 상이한 검출 라운드 사이의 신호 강도의 변동은 단지 하나의 특정한 혼성화 이벤트만을 사용하는 방법보다 훨씬 높아 완전한 코드의 비율을 감소시킨다.

[0430] (4) 특정한 혼성화에 필요한 시간은 신호 올리고뉴클레오티드 또는 디코딩 올리고뉴클레오티드의 혼성화에 대한 것보다 훨씬 길어(intronSeqFISH, merFISH 및 seqFISH 간행물의 방법 부분에서 볼 수 있음), 실험을 완료하는데

필요한 시간이 극적으로 증가한다.

[0431] 이들 이유로 인해 다른 모든 방법은 단일 특정한 혼성화 이벤트를 사용하고 낮은 코드 복잡성의 주요한 단점 및 따라서 더 많은 검출 라운드와 더 높은 올리고뉴클레오티드 설계 복잡성의 필요성을 수용한다.

[0432] 개시내용에 따른 방법은 seqFISH의 이점(주로 인코딩 체계에 관한 완전한 자유)을 그러한 방법의 주요 문제점을 제거하면서 단 하나의 특정한 혼성화 이벤트를 사용하는 방법의 모든 이점과 결합한다.

[0433] 20 라운드 후에 생성된 높은 수의 코드워드는 또한 상이한 코드워드 사이에 더 높은 해밍 거리(차이)를 도입하는데 사용될 수 있어, 1, 2 또는 그 이상의 오류의 오류 검출과 더욱이 오류 교정을 허용할 수 있다는 점을 주지한다. 따라서, 아주 훨씬 높은 코딩 용량도 여전히 실질적으로 관련이 있다.

[0434] 특정 부분(예를 들어 mRNA 스플라이스 변형)을 공유하는 분석물/표적의 그룹 내의 하위군/변형의 검출을 위해, 2개의 별도 코드 단어가 사용될 수 있다. 그러나, 신호는 매우 동일한 물리적 위치에서 생성되므로 혼합된 판독이 이 순수한 접근방식에 대한 결과일 것이다. 이미 설정된 코드에 정보를 부가하기 위해 추가 라운드를 사용하는 것은 이 문제를 회피한다.

[0435] 상기에서 언급된 바와 같이 다중-디코더의 사용은 인코딩 체계의 코딩 용량을 더욱 증가시킨다. 상이한 신호 올리고뉴클레오티드 및 상응하는 번역자 요소와 정확히 동일한 수의 상이한 신호 유형을 갖는 것에 제한되는 대신에, 다중-디코더의 사용은 다음에 사용될 수 있는 신호 유형을 증가시킨다: (N x (N+1))/2 (N은 사용된 상이한 신호 올리고뉴클레오티드의 수임). 3개의 다른 신호 올리고뉴클레오티드가 있는 표 1에 사용된 코드의 경우 이는 다음 7개의 다른 신호 유형이 사용될 수 있음을 의미한다: (S1),(S2),(S3),(S1/S2),(S1/S3),(S2/S3),(S1/S2/S3). 코딩 효율에 대한 영향은 표 1b 및 도 18에서 볼 수 있다.

[0436]

라운드의 수:	코딩 용량			
	본 개시내용의 방법	다중-디코더를 갖는 본 개시내용의 방법	인트론 FISH	merFISH
1	3	7	-	-
2	9	49	-	-
3	27	343	-	-
4	81	2401	12	1
5*	243	16807	-	5
6	729	117649	-	15
7**	2187	823543	-	35
8	6561	5764801	144	70
9	19683	40353607	-	126
10	59049	282475249	-	210
11	177147	1977326743	-	330
12***	531441	1,3841 x 10^10	1728	495
13	1594323	9,6889 x 10^10	-	715
14	4782969	6,7822 x 10^11	-	1001
15	14348907	4,7476 x 10^12	-	1365
16	43046721	3,3233 x 10^13	20736	1820
17	129140163	2,3263 x 10^14	-	2380
18	387420489	1,6284 x 10^15	-	3060
19	1162261467	1,1399 x 10^16	-	3876
20	3486784401	7,9792 x 10^16	248832	4845

[0437] 표 1b는 4가지 방법의 코딩 용량을 나타낸다.

[0438] 표 1b에서 비교된 4가지 방법 모두는 상이한 검출 라운드 간에 변성되지 않는 특이적 프로브 세트를 사용한다. intronSeqFISH의 경우 하나의 코딩 라운드의 유사 색상을 생성하는데 4개의 검출 라운드가 필요하므로 데이터는 라운드 4, 8, 12, 16 및 20에 대해서만 제공된다. merFISH-방법은 일정한 수의 4개 신호를 사용하므로 데이터는 가능한한 가장 적은 수의 라운드로 시작한다. 4회 검출 라운드 후 본 명세서에 기술된 다중-디코더를 사용한 방법은 20 라운드의 merFISH(일 별표로 표시됨)로 도달한 최대 코딩 용량을 초과하고, 7 라운드의 검출 후 인트론 FISH의 최대 코딩 용량이 초과되고(2개의 별표로 표시됨) 12 라운드의 검출 후에 본 개시내용의 방법의 최대 코딩 용량이 초과된다(3개의 별표로 표시됨). 3개의 다른 신호 올리고뉴클레오티드의 사용이 가정된다

(intronSeqFISH에서와 같음).

[0439] 3. 선택적 변성, 올리고뉴클레오티드 조립 및 고유 식별자의 재사용은 놀랍게 효율적이다.

[0440] 개시내용에 따른 방법의 핵심 요소는 디코딩 올리고뉴클레오티드 결합, 신호 올리고뉴클레오티드 결합, 신호 검출 및 선택적 변성의 연속적인 과정이다. 인코딩 체계를 생성하기 위해서, 이 과정은 여러 번 반복되어야 한다(코드워드의 길이에 따라 다름). 동일한 고유 식별자가 모든 검출 주기에서 재사용되므로 제1 검출 주기부터 마지막 검출 주기까지의 모든 이벤트는 서로 의존적이다. 부가적으로, 선택적 변성은 2가지 다른 이벤트에 의존한다: 디코딩 올리고뉴클레오티드는 고유 식별자에서 가장 높은 효율로 용해되어야 하는 반면, 특이적 프로브는 가장 높은 효율로 혼성화 상태를 유지해야 한다.

[0441] 이로 인해 전체 인코딩 과정의 효율성 E는 다음 방정식으로 기술될 수 있다:

[0442] $$E = B_{sp} \times (B_{de} \times B_{si} \times E_{de} \times S_{sp})^{n}$$

[0443] E = 총 효율성

[0444] B_{sp} = 특이적 프로브의 결합

[0445] B_{de} = 디코딩 올리고뉴클레오티드의 결합

[0446] B_{si} = 신호 올리고뉴클레오티드의 결합

[0447] E_{de} = 디코딩 올리고뉴클레오티드의 제거

[0448] S_{sp} = 제거 과정 동안 특이적 프로브의 안정성

[0449] n = 검출 주기의 수

[0450] 이 방정식을 기반으로 각 단일 단계의 효율성은 방법의 주어진 총 효율성에 대해 추정될 수 있다. 계산은 본 명세서에서 각 공정이 동일한 효율성을 갖는다는 가정을 기반으로 한다. 총 효율성은 존재하는 총 신호 중 성공적으로 디코딩 가능한 신호의 부분을 기술한다.

[0451] 방법의 총 효율성은 방정식에 의해 기술된 상이한 요소의 각 단일 단계의 효율성에 따라 달라진다. 균일하게 분포된 효율성의 가정 하에서 총 효율성은 도 7에 도시된 바와 같이 단일 단계 효율성에 대해 플롯팅될 수 있다. 볼 수 있듯이 5개의 검출 주기를 갖는 인코딩 체계에 대한 실질적으로 관련된 총 효율성은 분명히 90% 이상인 단일 단계 효율성으로만 달성될 수 있다. 예를 들어 총 효율성 50%를 달성하려면 각 단일 단계 내 평균 효율성 97.8%가 필요하다. 이들 계산은 신호 검출 및 분석 효율성이 100%라는 가정을 기반으로 한다. 다양한 서열의 올리고뉴클레오티드의 넓은 DNA 용융 곡선으로 인해, 본 발명자들은 실험 이전에 선택적인 변성이 디코딩 올리고뉴클레오티드의 변성에 대해 덜 효율적인 작업일 것이고 서열 특이적 결합 프로브가 충분히 안정하지 않다고 가정했다. 이 가정과는 대조적으로, 본 발명자들은 선택적 변성 동안 모든 단계의 놀라운 효율성과 서열 특이적 프로브의 높은 안정성을 발견했다.

[0452] 실험적으로, 본 발명자들은 5회 검출 주기를 기준으로 약 30% 내지 65%의 총 디코딩 효율을 달성하였다. 상기에 제공된 공식에 의해 각 단일 단계(Bsp, Bde, Bsi, Ede, Ssp)의 효율성의 계산은 약 94.4% 내지 98%의 평균 효율성을 밝혔다. 이들 높은 효율성은 매우 놀랍고 이 분야에서 잘-훈련된 사람이 쉽게 예상할 수 없다.

[0453] 4. 실험 데이터

[0454] 배경

[0455] 실험은 단일 분자 분해능과 병렬로 10 내지 50개의 상이한 mRNA 종의 특정한 검출을 보여준다. 그것은 5회 검출 주기, 3개의 다른 형광 신호 및 신호 갭이 없는 인코딩 체계와 2의 해밍 거리(오류 검출)를 기반으로 한다. 실험은 개시내용에 따른 방법의 가능 및 기능성을 증명한다.

[0456] 올리고뉴클레오티드 및 그의 서열

[0457] 실험에 사용된 모든 올리고뉴클레오티드 서열(표적 특이적 프로브, 디코딩 올리고뉴클레오티드, 신호 올리고뉴클레오티드)은 부록의 서열 목록에 나열되어 있다. 신호 올리고뉴클레오티드 R:ST05*O_Atto594는 biomers.net

GmbH에서 주문했다. 다른 모든 올리고뉴클레오티드는 Integrated DNA Technologies에서 주문했다. 올리고뉴클레오티드를 물에 용해시켰다. 스톡 용액(100μM)은 -20℃에서 보관했다.

[0458] 실험 개요

[0459] 50개의 상이한 표적 특이적 프로브 세트를 5개의 그룹으로 나눈다. 검출되는 전사체의 명칭과 표적 특이적 프로브 세트의 명칭은 동일하다(www.ensemble.org의 전사체 변이체 명칭). 용어 "신규"는 수정된 프로브 설계를 나타낸다. 프로브 세트의 모든 올리고뉴클레오티드 서열은 서열 목록에서 찾을 수 있다. 표에는 프로브 세트의 고유 식별자 명칭뿐만 아니라 다양한 검출 주기에서 사용된 디코딩 올리고뉴클레오티드의 명칭이 나열되어 있다. 결과 코드는 5회 검출 주기 동안 생성된 형광 신호의 서열을 보여준다(G(reen)=Alexa Fluor 488, O(range)= Atto 594, Y(ellow)= Alexa Fluor 546).

[0460]

		검출 주기에서 디코딩 올리고뉴클레오티드:					
표적 전사체	고유 식별자	1	2	3	4	5	결과적인 코드
그룹 1							
DDX5-201	ST21	ST21-ST07	ST21-ST05	ST21-ST07	ST21-ST05	ST21-ST06	GOGOY
RAD17-208	ST02	ST02-ST06	ST02-ST07	ST02-ST06	ST02-ST06	ST02-ST07	YGYYG
SPOCK1-202	ST03	ST03-ST06	ST03-ST06	ST03-ST07	ST03-ST05	ST03-ST05	YYGOO
FBXO32-203	ST04	ST04-ST07	ST04-ST06	ST04-ST06	ST04-ST06	ST04-ST05	GYYYO
THRAP3-203	ST14	ST14-ST07	ST14-ST05	ST14-ST05	ST14-ST07	ST14-ST05	GOOGO
GART-203	ST11	ST11-ST06	ST11-ST07	ST11-ST06	ST11-ST05	ST11-ST05	YGYOO
KAT2A-201	ST13	ST13-ST06	ST13-ST06	ST13-ST07	ST13-ST06	ST13-ST07	YYGYG
HPRT1-201	ST12	ST12-ST06	ST12-ST07	ST12-ST07	ST12-ST06	ST12-ST06	YGGYY
CCNA2-201	ST22	ST22-ST05	ST22-ST07	ST22-ST06	ST22-ST06	ST22-ST05	OGYYO
NKRF-201	ST23	ST23-ST05	ST23-ST06	ST23-ST07	ST23-ST06	ST23-ST05	OYGYO
그룹 2							
CCNE1-201-new	NT01	NT01-ST07	NT01-ST07	NT01-ST06	NT01-ST06	NT01-ST06	GGYYY
COG5-201	NT03	NT03-ST06	NT03-ST06	NT03-ST05	NT03-ST05	NT03-ST06	YYOOY
FBN1-201	NT04	NT04-ST05	NT04-ST07	NT04-ST06	NT04-ST07	NT04-ST07	OGYGG
DYNC1H1-201	NT05	NT05-ST07	NT05-ST06	NT05-ST07	NT05-ST06	NT05-ST06	GYGYY
CKAP5-202	NT06	NT06-ST05	NT06-ST06	NT06-ST07	NT06-ST05	NT06-ST06	OYGOY
KRAS-202	NT07	NT07-ST06	NT07-ST05	NT07-ST06	NT07-ST06	NT07-ST05	YOYYO
EGFR-207	NT08	NT08-ST07	NT08-ST06	NT08-ST05	NT08-ST05	NT08-ST05	GYOOO
TP53-205	NT09	NT09-ST06	NT09-ST05	NT09-ST06	NT09-ST07	NT09-ST07	YOYGG
NF1-204	XT01	XT01-ST06	XT01-ST06	XT01-ST07	XT01-ST07	XT01-ST06	YYGGY
NF2-204	XT02	XT02-ST07	XT02-ST06	XT02-ST05	XT02-ST06	XT02-ST07	GYOYG
그룹 3							
ACO2-201	XT03	XT03-ST06	XT03-ST06	XT03-ST06	XT03-ST07	XT03-ST05	YYYGO

AKT1-211	XT04	XT04-ST07	XT04-ST06	XT04-ST07	XT04-ST07	XT04-ST05	GYGGO
LYPLAL1-202	XT05	XT05-ST07	XT05-ST05	XT05-ST06	XT05-ST05	XT05-ST05	GOYOO
PKD2-201	XT06	XT06-ST06	XT06-ST07	XT06-ST05	XT06-ST05	XT06-ST07	YGOOG
ENG-204	XT09	XT09-ST05	XT09-ST05	XT09-ST06	XT09-ST06	XT09-ST06	OOYYY
FANCE-201	XT10	XT10-ST05	XT10-ST07	XT10-ST06	XT10-ST05	XT10-ST06	OGYOY
MET-201	XT12	XT12-ST05	XT12-ST06	XT12-ST05	XT12-ST06	XT12-ST06	OYOYY
NOTCH2-201	XT13	XT13-ST05	XT13-ST05	XT13-ST06	XT13-ST07	XT13-ST05	OOYGO
SPOP-206	XT14	XT14-ST05	XT14-ST07	XT14-ST05	XT14-ST07	XT14-ST06	OGOGY
ABL1-202	XT16	XT16-ST05	XT16-ST06	XT16-ST06	XT16-ST05	XT16-ST05	OYYOO
그룹 4							
ATP11C-202	XT17	XT17-ST07	XT17-ST06	XT17-ST06	XT17-ST05	XT17-ST06	GYYOY
BCR-202	XT18	XT18-ST05	XT18-ST06	XT18-ST06	XT18-ST07	XT18-ST06	OYYGY
CAV1-205	XT19	XT19-ST07	XT19-ST05	XT19-ST06	XT19-ST07	XT19-ST06	GOYGY
CDK2-201	XT20	XT20-ST05	XT20-ST05	XT20-ST07	XT20-ST07	XT20-ST06	OOGGY
DCAF1-202	XT201	XT201-ST06	XT201-ST06	XT201-ST05	XT201-ST07	XT201-ST07	YYOGG
FHOD1-201	XT202	XT202-ST05	XT202-ST07	XT202-ST07	XT202-ST05	XT202-ST07	OGGOG
GMDS-202	XT203	XT203-ST07	XT203-ST05	XT203-ST07	XT203-ST06	XT203-ST05	GOGYO
IFNAR1-201	XT204	XT204-ST06	XT204-ST07	XT204-ST05	XT204-ST07	XT204-ST05	YGOGO
NSMF-203	XT206	XT206-ST07	XT206-ST06	XT206-ST07	XT206-ST05	XT206-ST07	GYGOG
POLA2-201	XT208	XT208-ST06	XT208-ST06	XT208-ST06	XT208-ST05	XT208-ST07	YYYOG
그룹 5							
BRCA1-210new	NT10	NT10-ST07	NT10-ST05	NT10-ST06	NT10-ST06	NT10-ST07	GOYYG
JAK1-201new	XT11	XT11-ST05	XT11-ST05	XT11-ST07	XT11-ST06	XT11-ST07	OOGYG
STRAP-202	XT207	XT207-ST07	XT207-ST07	XT207-ST06	XT207-ST05	XT207-ST07	GGYOG
SERPINB5-201	XT209	XT209-ST07	XT209-ST05	XT209-ST05	XT209-ST05	XT209-ST07	GOOOG
SETX-201	XT210	XT210-ST06	XT210-ST07	XT210-ST06	XT210-ST07	XT210-ST06	YGYGY
WDFY1-201	XT212	XT212-ST05	XT212-ST07	XT212-ST05	XT212-ST06	XT212-ST07	OGOYG
TACC1-201	XT213	XT213-ST05	XT213-ST07	XT213-ST07	XT213-ST07	XT213-ST05	OGGGO
KIF2A-203	XT214	XT214-ST07	XT214-ST07	XT214-ST06	XT214-ST07	XT214-ST05	GGYGO
CDT1-201	XT215	XT215-ST07	XT215-ST07	XT215-ST07	XT215-ST05	XT215-ST05	GGGOO
CENPE-202	XT216	XT216-ST07	XT216-ST06	XT216-ST05	XT216-ST07	XT216-ST06	GYOGY

[0461]

[0462] 표 2: 실험 개요

[0463] 실험의 변형

[0464] 실험의 일부 변형이 수행되었다. 실험 1 내지 4는 주로 병렬로 검출된 전사체의 수가 다르다. 표적 특이적 프로브 세트로 나열된 그룹은 표 6을 참조한다. 실험 5 내지 8은 디코딩된 신호와 비교하기 위한 단일 라운드, 단일 표적 대조군이다.

실험	사용된 표적 특이적 프로브 세트	검출 주기의 Nr.	Trolox 로 이미징
1. 50 전사체_T+	표 6 의 그룹 1 내지 5	5	+
2. 50 전사체_T-	표 6 의 그룹 1 내지 5	5	-
3. 30 전사체_T+	표 6 의 그룹 2 내지 4	5	+
4. 10 전사체_T+	표 6 의 그룹 1	5	+
5. DDX5	DDX5-ST21	1	-
6. RAD17	RAD17-ST02	1	-
7. SPOCK1	SPOCK1-ST03	1	-
8. THRAP3	THRAP3-ST14	1	-

[0465]

[0466] 표 3: 실험의 변형

[0467] 실험 세부사항

[0468] *A. 세포의 시딩 및 배양*

[0469] HeLa 세포는 HeLa 세포 배양 배지에서 거의 100% 컨플루언시로 성장했다. HeLa 세포 배양 배지는 10% FCS(Biochrom, Cat.: S0415), 1% 페니실린-스트렙토마이신(Sigma-Adrich, Cat.: P0781) 및 1% MEM 비-필수 아미노산 용액(Thermo Fisher, Cat.: 11140035)을 갖는 DMEM(Thermo Fisher, Cat.: 31885)을 포함한다. 세포 배양 배지의 흡인 후, 세포는 PBS (1,424g/l $Na_2HPO_4*2H_2O$, 0,276g/l, $NaH_2PO_4*2H_2O$, 물 내 8,19g/l NaCl, pH 7, 4)로 세정 단계 후 37℃에서 5분 동안 트립신 EDTA 용액(Sigma-Aldrich, Cat.: T3924)과 함께 인큐베이션에 의해 트립신화되었다. 그런 다음 세포는 µ-Slide 8 Well ibidiTreat(Ibidi, Cat.: 80826)의 웰 상에 시딩되었다. 웰당 세포의 수는 세포의 부착 후 약 50% 컨플루언시에 도달하도록 조정되었다. 세포를 웰당 200µl HeLa 세포 배양 배지로 밤새 인큐베이션하였다.

[0470] *B. 세포의 고정*

[0471] 세포 배양 배지의 흡인 및 웰당 200µl의 37℃ 따뜻한 PBS로 2회 세정 단계 후, 세포는 200µl의 미리냉각된 메탄올(-20℃, Roth, Cat.: 0082.1)로 -20℃에서 10분 동안 고정되었다.

[0472] *C. 수단 블랙으로 대조염색*

[0473] 메탄올을 흡인하고 70% 에탄올에 희석된 0.2% 수단 블랙-용액 150µl를 각 웰에 첨가하였다. 웰을 실온의 암실에서 5분 동안 인큐베이션하였다. 인큐베이션 후 세포를 웰당 400µl 70% 에탄올로 3회 세정하여 과량의 수단 블랙-용액을 제거했다.

[0474] *D. 분석물/표적-특이적 프로브의 혼성화*

[0475] 혼성화 전에 세포를 200µl sm-세정-완충액으로 평형화했다. sm-세정-완충액은 30mM Na_3 시트레이트, 300mM NaCl, pH7, 10% 포름아미드(Roth, Cat.: P040.1) 및 5mM 리보뉴클레오시드 바나딜 복합체(NEB, Cat.: S1402S)를 포함한다. 각각의 표적-특이적 프로브 세트에 대해 100µM 올리고뉴클레오티드 스톡 용액 1µl를 혼합물에 첨가했다. 올리고뉴클레오티드 스톡 용액은 상응하는 표적 특이적 프로브 세트의 모든 표적 특이적 올리고뉴클레오티드의 등몰량을 포함한다. 혼합물의 총 부피를 물로 100µl로 조정하고 100µl의 2x 농축 혼성화 완충액 용액과 혼합하였다. 2x 농축 혼성화 완충액은 120mM Na_3 시트레이트, 1200mM NaCl, pH7, 20% 포름아미드 및 20mM 리보뉴클레오시드 바나딜 복합체를 포함한다. 생성된 200µl 혼성화 혼합물을 상응하는 웰에 첨가하고 37℃에서 2시간 동안 인큐베이션하였다. 그 후 세포를 37℃에서 표적 프로브 세정 완충액으로 10분 동안 웰당 200µl로 3회 세정했다. 표적 프로브 세정 완충액은 30mM Na_3 시트레이트, 300mM NaCl, pH7, 20% 포름아미드 및 5mM 리보뉴클레오시드 바나딜 복합체를 포함한다.

[0476] *E. 디코딩 올리고뉴클레오티드의 혼성화*

[0477] 혼성화 전에 세포를 200µl sm-세정-완충액로 평형화했다. 각각의 디코딩 올리고뉴클레오티드에 대해 1.5µl의 5µM 스톡 용액을 혼합물에 첨가했다. 혼합물의 총 부피를 물로 75µl로 조정하고 75µl의 2x 농축 혼성화 완충액 용액과 혼합하였다. 생성된 150µl 디코딩 올리고뉴클레오티드 혼성화 혼합물을 상응하는 웰에 첨가하고 실온에서 45분 동안 인큐베이션하였다. 그 후 세포를 실온에서 sm-세정-완충액으로 2분 동안 웰당 200µl로 3회 세정하였다.

[0478] *F. 신호 올리고뉴클레오티드의 혼성화*

[0479] 혼성화 전에 세포를 200µl sm-세정-완충액으로 평형화했다. 신호 올리고뉴클레오티드 혼성화 혼합물은 실험 1 내지 4의 모든 라운드에서 동일했고 1x 농축 혼성화 완충액 용액에 0.3µM의 각 신호 올리고뉴클레오티드(표 A3 참조)를 포함했다. 각 라운드에서 이 용액 150µl를 웰당 첨가하고 실온에서 45분 동안 인큐베이션하였다. 절차는 각 신호 올리고뉴클레오티드의 최종 농도가 0.15µM인 것을 제외하고는 실험 5 내지 8에서 동일했다. 그 후 세포를 실온에서 sm-세정-완충액으로 2분 동안 웰당 200µl로 3회 세정하였다.

[0480] *G. 형광 및 백색광 이미징*

[0481] 세포를 실온에서 웰당 200µl의 이미징 완충액으로 1회 세정하였다. Trolox가 없는 실험(표 7 마지막 컬럼

참조)에서 이미징 완충액은 30mM Na_3 시트레이트, 300mM NaCl, pH7 및 5mM 리보뉴클레오시드 바나딜 복합체를 포함한다. Trolox가 있는 실험에서 이미징 완충액은 10% VectaCell Trolox Antifade Reagent(Vector laboratories, Cat.: CB-1000)를 추가로 함유하여 10mM의 최종 Trolox 농도를 초래한다.

[0482] 1.4의 개구수를 갖는 63x 액침 오일 대물렌즈(Zeiss, apochromat), pco.edge 4.2 CMOS 카메라(PCO AG) 및 LED-광원(Zeiss, colibri 7)을 갖는 Zeiss Axiovert 200M 현미경을 영역의 이미징을 위해 사용했다. 필터 세트와 LED-파장은 사용된 형광단의 상이한 최적화에 맞게 조정되었다. 이미지당 조명 시간은 Alexa Fluor 546 및 Atto 594의 경우 1000ms, Alexa Fluor 488의 경우 400ms이다.

[0483] 각 실험에서 이미징을 위해 3개의 영역이 무작위로 선택되었다. 각 영역에 대해 350nm의 z-단계 크기로 32개 이미지의 z-스택이 검출되었다. 부가적으로, 하나의 백색광 이미지가 영역에서 취해졌다. 하나 초과의 검출 주기를 갖는 실험에서, 제1 검출 라운드의 영역이 다시 발견되었고 모든 후속 라운드에서 이미지화되었다.

[0484] *H. 선택적 변성*

[0485] 선택적 변성을 위해 모든 웰은 200㎕의 sm-세정-완충액과 함께 42℃에서 6분 동안 인큐베이션되었다. 이 절차는 여섯 번 반복되었다.

[0486] 단계 (E) 내지 (H)는 실험 1 내지 4에서 5회 반복되었다. 단계 (H)는 5차 검출 주기에 대해 생략되었다.

[0487] *I. 분석*

[0488] 맞춤형 ImageJ-플러그인을 기반으로 원시 데이터의 반-자동화된 분석을 수행하여 특정 형광 신호를 배경과 구별했다. 3개의 형광 채널 모두의 결과적인 3D-포인트 클라우드는 맞춤형 VBA 스크립트와 함께 인 실리코 조합되었다. 5회 검출 주기의 결과적인 조합된 3D-포인트 클라우드는 VBA 스크립트를 기반으로 서로 정렬되었다. 결과적인 정렬은 검출된 각 고유 신호에 대한 코드워드를 나타냈다. 성공적으로 디코딩된 신호는 맞춤형 VBA-스크립트 및 ImageJ-플러그인을 기반으로한 실험의 정량적 및 공간적 분석에 사용되었다.

[0489] 결과

[0490] *1. 디코딩된 신호의 절대 수*

[0491] 모든 전사체에 대해 성공적으로 디코딩된 신호의 절대 수는 다음 표 4에 각 실험의 각 영역에 대해 나열되어 있다. 요약하면, 올바른 코드의 합은 상응하는 실험에서 검출가능한 전사체에 할당된 디코딩된 신호의 총 수를 나타내는 반면 잘못된 코드의 합은 상응하는 실험에서 검출가능하지 않은 디코딩된 신호의 총 수이다. 총 신호 수는 성공적으로 디코딩된 신호뿐만 아니라 비성공적으로 디코딩된 신호를 포함한다.

[0492]

	실험 1: 영역:			실험 2: 영역:			실험 3: 영역:			실험 4: 영역:		
전사체 명칭:	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
그룹 1												
DDX5-201	1214	1136	927	1144	1509	1176	2964	2034	2141	8	2	2
RAD17-208	40	126	50	26	55	62	22	30	33	7	9	10
SPOCK1-202	581	655	301	483	875	149	1349	621	539	2	10	8
FBXO32-203	153	175	68	113	106	78	301	160	269	5	13	9
THRAP3-203	1079	2180	1035	810	1179	1047	2318	1609	1609	6	8	16
GART-203	422	397	346	350	333	202	766	658	569	5	3	2
KAT2A-201	141	310	166	174	307	186	382	315	340	5	1	3
HPRT1-201	63	79	34	44	116	71	85	88	112	1	0	6
CCNA2-201	91	248	205	95	134	138	241	151	238	10	20	9
NKRF-201	162	318	153	101	99	135	313	254	209	7	5	12
그룹 2												
CCNE1-201-new	75	180	38	57	110	97	0	0	1	122	104	120
COG5-201	57	21	38	26	45	23	0	0	1	56	86	60
FBN1-201	202	1338	499	456	513	571	0	1	3	450	778	895
DYNC1H1-201	554	892	398	664	1026	666	4	3	7	823	1148	1248
CKAP5-202	43	23	77	51	98	74	1	2	1	94	190	212
KRAS-202	331	417	355	302	333	230	0	0	1	279	637	371
EGFR-207	527	252	372	293	519	322	0	1	0	411	719	818
TP53-205	116	324	194	138	198	169	0	1	4	182	280	181
NF1-204	381	676	320	347	522	416	3	2	0	507	642	659
NF2-204	434	638	361	336	468	401	0	0	2	508	523	636

[0493]

그룹 3												
ACO2-201	456	759	444	333	367	345	0	0	0	556	681	681
AKT1-211	351	710	301	230	437	297	0	0	3	558	614	690
LYPLAL1-202	65	62	51	33	58	51	7	6	8	28	34	42
PKD2-201	72	194	124	95	129	69	1	0	0	122	164	169
ENG-204	472	890	458	446	494	558	0	2	0	1145	799	1119
FANCE-201	24	82	61	56	67	56	0	0	2	119	131	153
MET-201	268	744	333	426	275	462	0	0	0	790	662	782
NOTCH2-201	344	823	404	172	256	208	4	0	3	402	779	772
SPOP-206	43	377	139	68	117	100	0	0	0	215	289	300
ABL1-202	224	72	218	107	122	153	4	1	1	302	393	480
그룹 4												
ATP11C-202	170	116	121	86	165	128	2	1	1	130	206	234
BCR-202	180	401	185	177	149	169	1	0	0	321	372	485
CAV1-205	728	777	644	328	653	567	2	0	5	613	997	852
CDK2-201	306	937	367	297	385	358	4	1	3	568	742	888
DCAF1-202	119	292	187	59	67	65	0	1	0	108	171	131
FHOD1-201	60	233	143	132	185	157	1	0	1	194	294	300
GMDS-202	67	124	49	56	80	63	7	2	3	59	73	114
IFNAR1-201	81	221	135	99	104	55	1	0	1	159	266	238
NSMF-203	448	583	386	293	453	331	8	4	11	525	608	616
POLA2-201	74	111	62	45	72	67	2	4	2	41	75	57
그룹 5												
BRCA1-210new	230	704	248	324	439	374	2	1	0	2	3	3
JAK1-201new	157	554	223	185	259	263	0	1	0	5	4	2
STRAP-202	42	75	31	18	52	40	3	1	0	6	4	4
SERPINB5-201	324	598	343	286	344	364	6	13	9	0	1	2
SETX-201	212	540	254	291	439	336	2	2	2	12	9	5

[0494]

WDFY1-201	43	516	218	176	206	147	0	0	0	4	2	8
TACC1-201	69	373	131	80	156	118	1	0	0	21	29	32
KIF2A-203	442	879	445	298	519	430	5	1	2	6	11	9
CDT1-201	31	27	33	19	61	28	15	8	9	0	8	1
CENPE-202	192	246	215	94	262	225	0	1	0	8	9	9
요약												
바른 코드의 합:	12960	23405	12890	11319	15917	12797	8741	5920	6059	10387	13457	14303
틀린 코드의 합:	0	0	0	0	0	0	86	60	86	120	151	152
신호의 총 수:	42959	72157	32185	32037	58793	35470	13549	9182	10109	26701	32966	35451
성공적으로 디코딩된 %:	30,2	32,4	40,0	35,3	27,1	36,1	64,5	64,5	59,9	38,9	40,8	40,3

[0495] 표 4: 디코딩된 신호의 절대 수

[0496] 표 4는 올바르게 디코딩된 신호의 수에 비해 매우 적은 수의 잘못 디코딩된 신호를 나타낸다. 특정 전사체의 디코딩된 신호에 대한 절대값은 한 실험의 상이한 영역 간에 매우 유사하다. 성공적으로 디코딩될 수 있는 총 신호 수의 분율은 27.1%에서 64.5% 사이이다. 이 분율은 각 영역/실험에 존재하는 전사체 수 및/또는 총 신호 수에 따라 달라진다.

[0497] *결론*

[0498] 개시내용에 따른 방법은 부정확하게 할당된 코드워드의 적은 양을 생성하므로 특정한 것으로 간주될 수 있다. 성공적으로 디코딩 가능한 신호의 분율은 영역당 매우 많은 수의 신호와 병렬로 검출된 매우 많은 수의 전사체에서도 매우 높다. 할당가능한 신호의 높은 분율과 높은 특이성은 방법을 실질적으로 유용하게 한다.

[0499] *상이한 실험 간의 상대적 전사체 풍부도의 비교*

[0500] 둘 모두의 비교(A 및 B)에 대해 도 8에 도시된 바와 같이 실험 간에 검출된 전사체의 중첩이 분석에 사용된다. 각 막대는 실험의 세 영역 모두의 평균 풍부도를 나타낸다. 이들 영역 간의 표준 편차도 표시된다.

[0501] *상이한 실험 간의 상대적 전사체 풍부도의 상관관계*

[0502] 도 9에서 볼 수 있듯이 실험 1로부터 전사체의 평균 상대적 풍부도는 실험 3, 4 및 2의 중첩하는 전사체의 풍부도와 상관관계가 있다. 상관관계 계수뿐만 아니라 선형 회귀에 대한 공식은 각 상관관계에 대해 표시된다.

[0503] 도 8은 낮은 표준 편차를 보여주며, 이는 한 실험의 상이한 영역 간에 상대적 풍부도의 낮은 변동을 나타낸다. 상이한 실험으로부터 전사체 사이의 상대적 풍부도의 차이도 매우 낮다. 이는 실험 1, 2 및 3에서 검출된 그룹 1(도 8a)로부터 전사체의 비교에 대한 경우이다. 그것은 또한 실험 1, 2, 및 4 사이에 중첩하는 그룹 2, 3 및 4로부터 전사체의 비교에 대한 경우이다. 이들 풍부도의 매우 높은 상관관계는 도 9에서도 볼 수 있다. 실험 1로부터 전사체의 풍부도는 다른 다중 라운드 실험의 풍부도와 매우 잘 연관된다. 상관관계 계수는 0.88에서 0.91 사이인 반면 선형 회귀의 기울기는 0.97에서 1.05 사이이다.

[0504] *결론*

[0505] 전사체의 상대적 풍부도는 한 실험의 상이한 영역 간에는 물론 상이한 실험 간에도 매우 잘 연관된다. 이것은 도 3과 4의 비교에서 명확하게 볼 수 있다. 실험 간의 주요 차이점은 상이한 표적의 수와 따라서 검출된 총 신호의 수이다. 따라서, 검출된 전사체의 수뿐만 아니라 신호의 수 및 밀도는 전사체의 수를 정확하게 정량화하는 방법의 능력을 방해하지 않는다. 매우 우수한 상관관계는 신호 수가 매우 많은 경우에도 방법의 특이성 및 안정성을 추가로 지원한다.

[0506] *신호의 세포간 분포의 비교*

[0507] 도 10에는 이미지 스택의 최대 투영이 도시된다. A: 실험 7의 영역 1(단일 라운드, SPOCK1을 검출하는 단일 전사체 실험), B: 실험 1로부터 선택된 모든 신호의 2D-투영, SPOCK1에 할당된 영역 1, C: 실험 8의 영역 1(단일 라운드, THRAP3을 검출하는 단일 전사체 실험), D: 실험 1로부터 선택된 모든 신호의 2D-투영, THRAP3에 할당된 영역 1.

[0508] *신호의 세포내 분포의 비교*

[0509] 도 11에는 이미지 스택의 최대 투영이 도시된다. 상응하는 영역의 확대된 하위 영역이 도시된다. A: 실험 8의 영역 1(단일 라운드, THRAP3을 검출하는 단일 전사체 실험), B: 실험 1로부터 선택된 신호의 2D-투영, THRAP3에 할당된 영역 1, C: 실험 5의 영역 1(단일 라운드, DDX5를 검출하는 단일 전사체 실험), D: 실험 1로부터 선택된 모든 신호의 2D-투영, DDX5에 할당된 영역 1.

[0510] 도 10은 상이한 전사체 간의 세포간 분포의 큰 차이를 나타낸다. SPOCK1은 일부 세포에서는 매우 풍부한 것으로 보이지만 다른 세포에서는 거의 존재하지 않는 것으로 보인다(도 10a). THRAP3은 영역의 모든 세포에 걸쳐 보다 균일한 분포를 나타낸다(도 10c). 이들 공간 분포 패턴은 실험 1로부터 상응하는 전사체에 할당된 포인트 클라우드에서도 명확하게 관찰될 수 있다(도 10b 및 d).

[0511] 도 11은 상이한 전사체 간의 세포내 분포의 큰 차이를 나타낸다. THRAP3은 주로 세포의 주변부(세포질)에서 관찰될 수 있으며(도 11a), 반면 DDX5는 세포의 중심(핵)에서 더 높은 풍부도를 나타낸다(도 11c). 이들 세포내 분포는 THRAP3 및 DDX5에 할당된 실험 1의 포인트 클라우드에서도 관찰될 수 있다(도 11b 및 d).

[0512] *결론*

[0513] 정량화의 신뢰성 다음으로, 다중 라운드 실험의 포인트 클라우드는 전사체의 동일한 세포내 및 세포간 분포 패턴을 나타낸다. 이는 할당된 포인트 클라우드를 단 하나의 특징적인 mRNA-종만을 검출하는 단일 라운드 실험으로부터의 신호와 직접 비교에 의해 명확하게 입증된다.

[0514] *다른 세포 주기 의존성 전사체의 분포 패턴*

[0515] 도 12의 모든 이미지는 실험 1의 영역 1을 나타낸다. 각 이미지에서 특정 전사체에 할당된 포인트 클라우드가 도시된다, a: CCNA2, b: CENPE, c: CCNE1, d: 모든 전사체. 도 12는 3가지 다른 세포 주기 의존성 단백질의 전사체를 나타낸다. CENPE(도 12b)는 Centromere 단백질 E로도 알려져 있으며 G2 단계 동안 축적된다. 그것은 스핀들 신장과 염색체 이동을 담당하는 것으로 제안되었다. 그것은 간기에는 존재하지 않는다. CCNA2(도 12a)는 사이클린 A2로도 알려져 있다. 그것은 G2에서 M-기로 전환하는 동안 CDK1과 상호작용하여 세포 주기 진행을 조절한다. 흥미롭게도 양 mRNA-종의 명백한 공동지역화가 있다. 이들은 주로 영역 1의 3개의 중심 세포에 존재한다. CCNE1(도 12c)은 사이클린 E1로도 알려져 있다. 이 사이클린은 CDK2와 상호작용하고 G1에서 S-기로의 전환을 담당한다. 도 12는 이 유전자의 전사체가 3개의 중심 세포에 존재하지 않고 다른 세포에 상당히 균등하게 분포되어 있음을 명확하게 나타낸다. 따라서 다른 두 전사체에 대해 항-지역화를 나타낸다. 상응하는 포인트 클라우드에 대한 데이터는 포인트 수가 매우 많고 포인트 밀도가 매우 높은 포인트 클라우드로부터 유래된다(도 12d는 임프레션을 제공한다).

[0516] *결론*

[0517] 도 12에 도시된 세포 주기 의존성 단백질의 3가지 디코딩된 포인트 클라우드는 그의 상응하는 기능에 의해 설명될 수 있는 분포 패턴을 나타낸다. 이들 데이터는 본 개시내용의 방법이 세포당 낮은 수의 신호(도 12c) 및 매우 높은 신호 밀도(도 12d)로도 생물학적 관련 데이터를 신뢰할 수 있게 생성함을 강력하게 시사한다.

[0518] 서열 목록

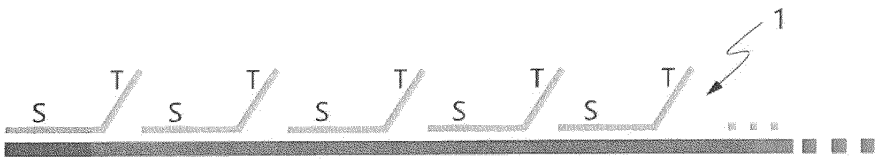
[0519] 첨부된 서열 목록에서 서열번호 1-1247은 예시적인 표적-특이적 올리고뉴클레오티드의 뉴클레오티드 서열을 지칭한다. 나열된 올리고뉴클레오티드는 표적 특이적 결합 부위(5'-말단) 스페이서/링커 서열(gtaac 또는 tagac) 및 단일 프로브 세트의 모든 올리고뉴클레오티드에 대해 동일한 고유 식별자 서열로 구성된다.

[0520] 첨부된 서열 목록에서 서열번호 1248-1397은 예시적인 디코딩 올리고뉴클레오티드의 뉴클레오티드 서열을 지칭한다.

[0521] 첨부된 서열 목록에서 서열번호 1398-1400은 예시적인 신호 올리고뉴클레오티드의 뉴클레오티드 서열을 지칭한다. 각각의 신호 올리고뉴클레오티드에 대해 상응하는 형광단이 두 번 존재한다. 하나의 형광단은 5'-말단에 공유적으로 연결되어 있고 하나의 형광단은 3'-말단에 공유적으로 연결되어 있다. 서열번호 1398은 그의 5' 말단에 "5Alex488N", 및 그의 3' 말단에 "3AlexF488N"을 포함한다. 서열번호 1399는 그의 5' 말단에 "5Alex546", 및 그의 3' 말단에 3Alex546N을 포함한다. 서열번호 1400은 5' 말단 및 3' 말단에 "Atto594"를 포함한다.

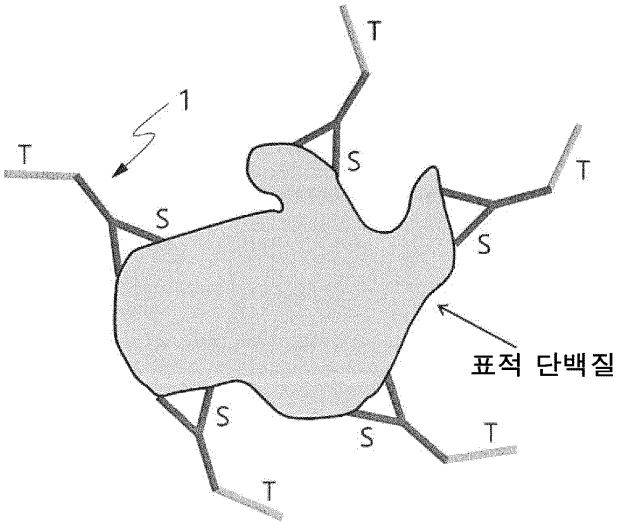
도면

도면1



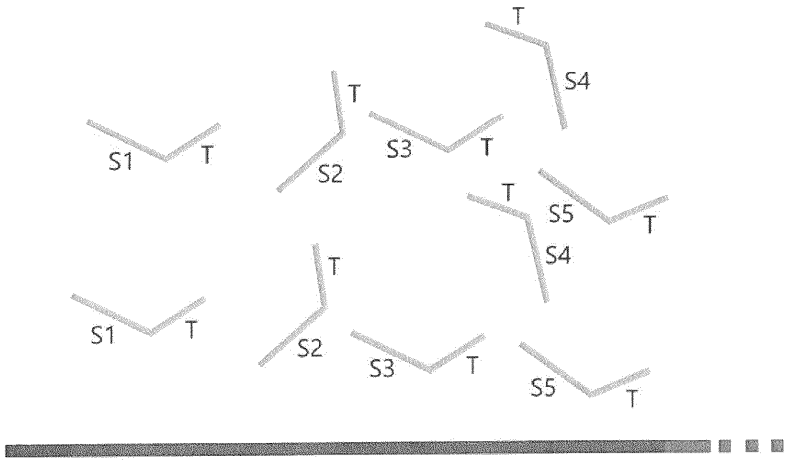
표적 핵산 서열

도면2



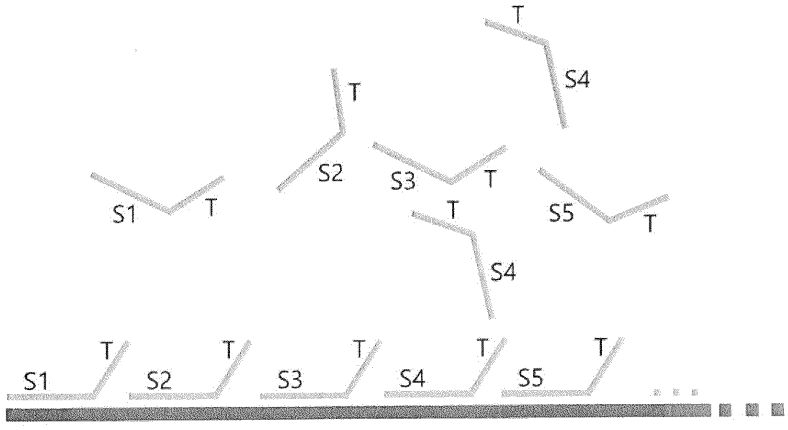
도면3a

1



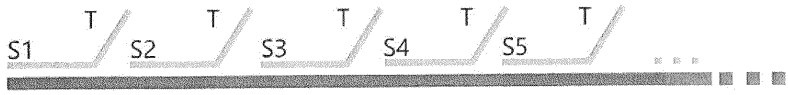
핵산 서열

2



핵산 서열

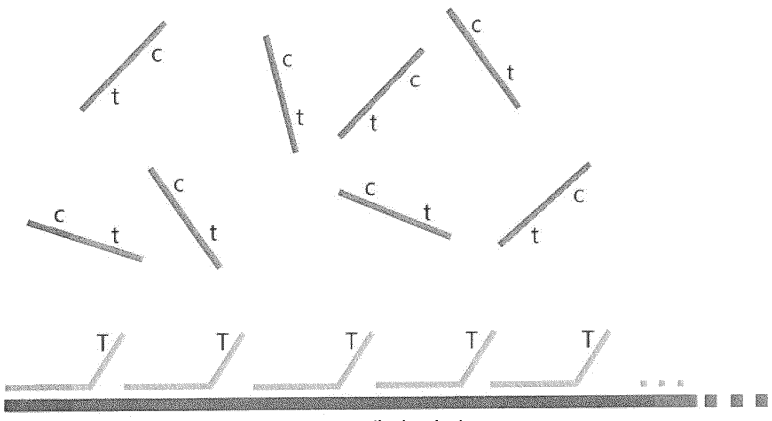
3



핵산 서열

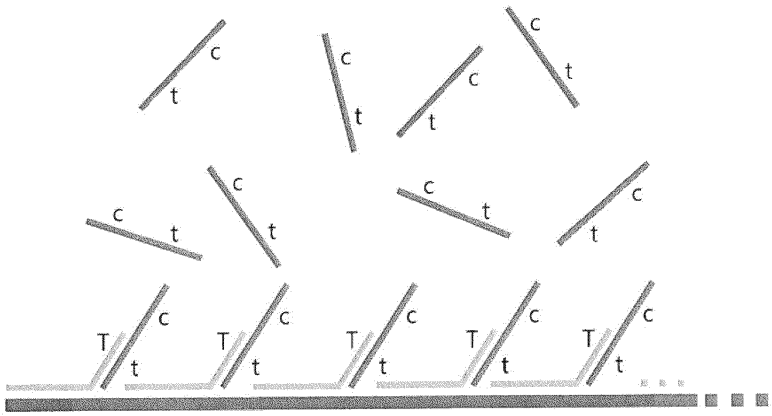
도면3b

4



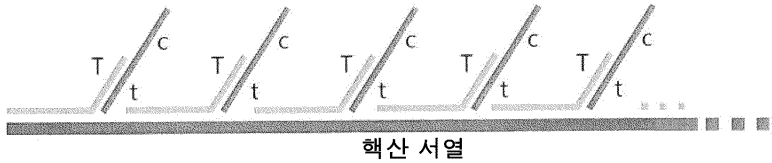
핵산 서열

5



핵산 서열

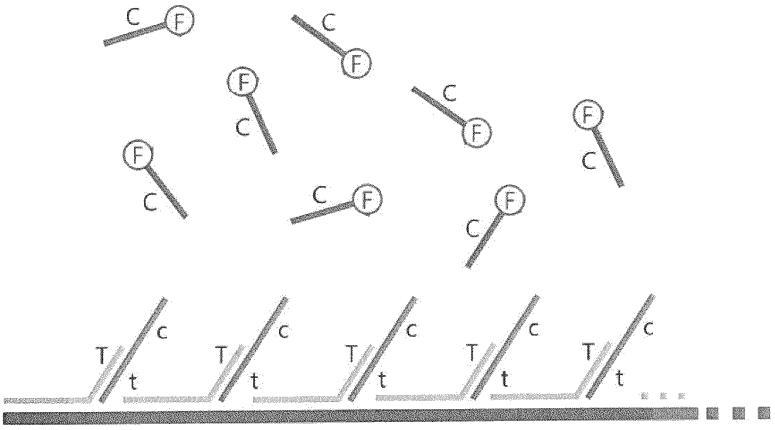
6



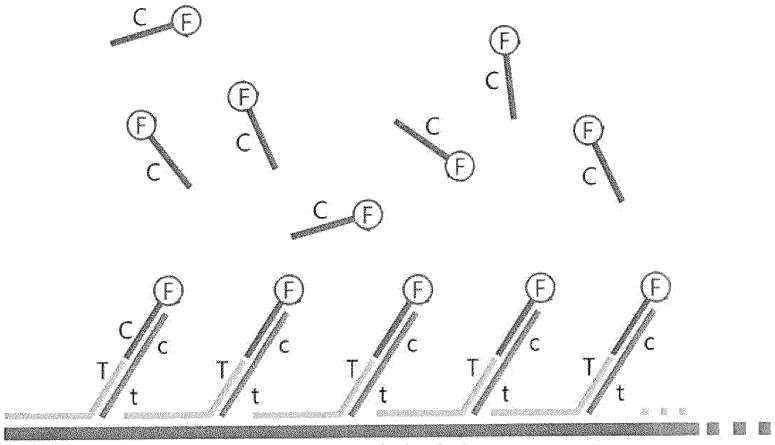
핵산 서열

도면3c

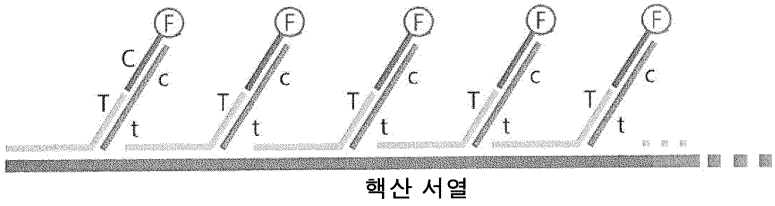
7



8

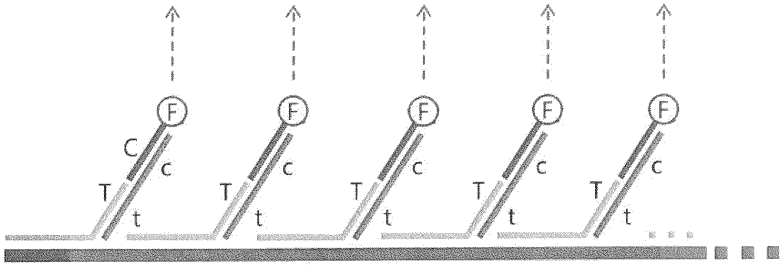


9



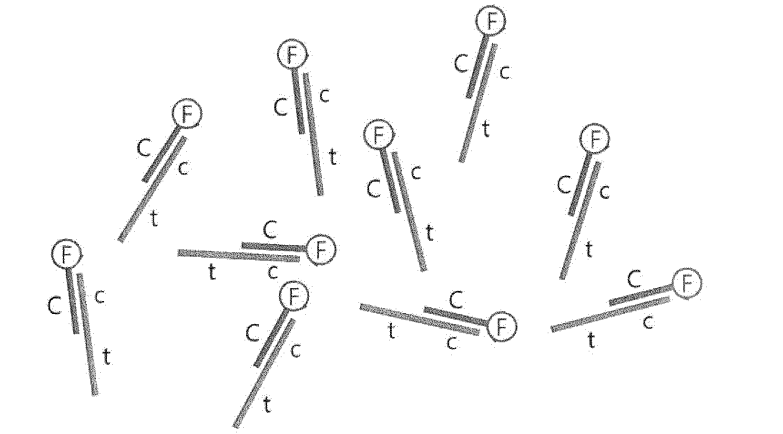
도면3d

10



핵산 서열

11



핵산 서열

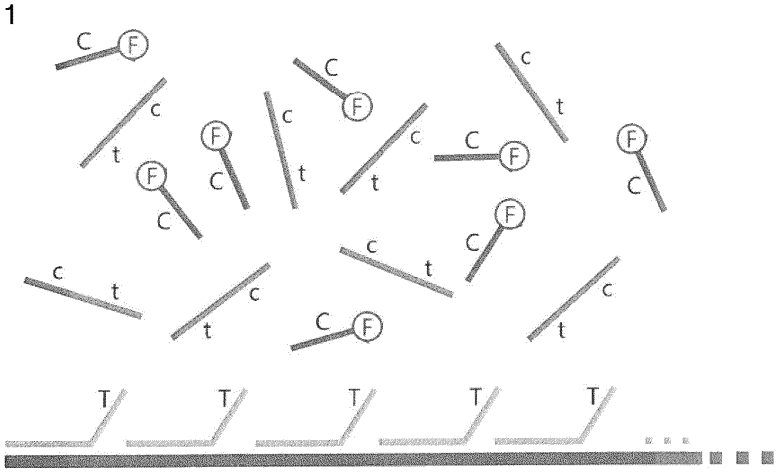
12



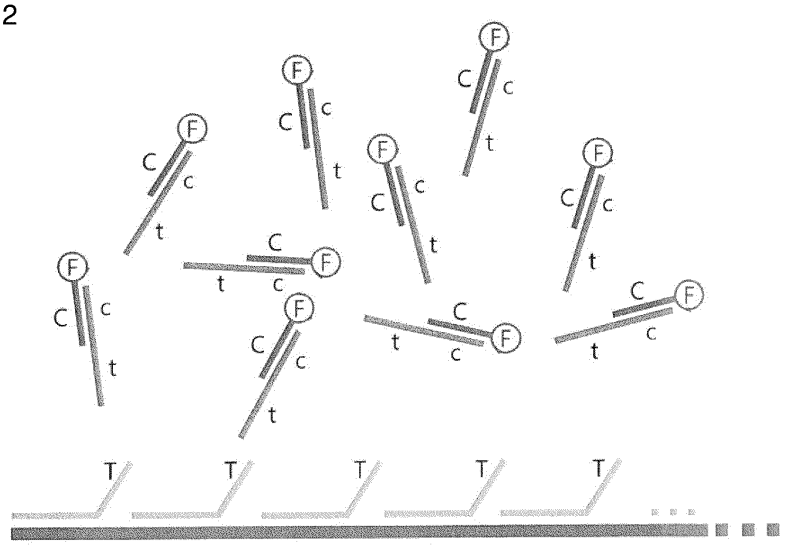
핵산 서열

도면4

선택 1

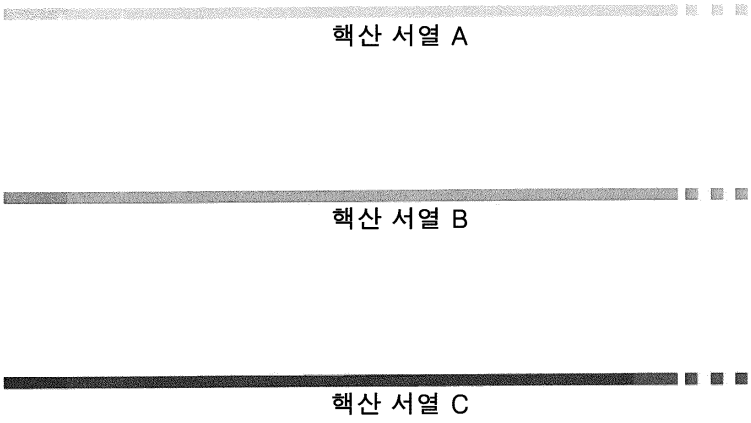


선택 2

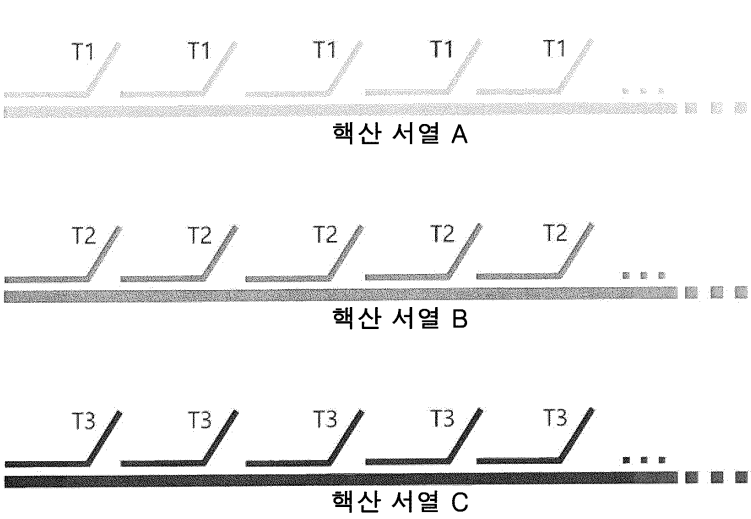


도면5a

1

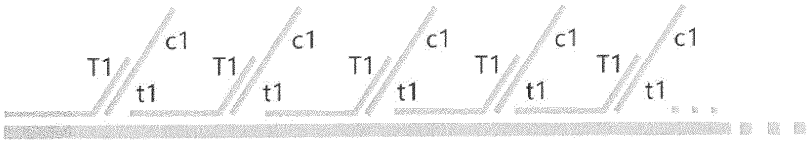

핵산 서열 A
핵산 서열 B
핵산 서열 C

2

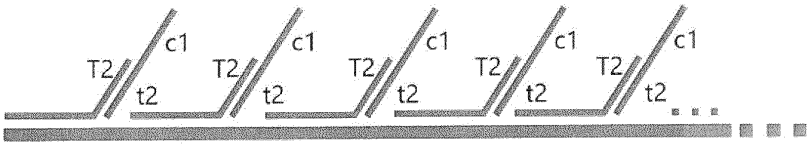

T1
T1
T1
T1
T1
핵산 서열 A
T2
T2
T2
T2
T2
핵산 서열 B
T3
T3
T3
T3
T3
핵산 서열 C

도면5b

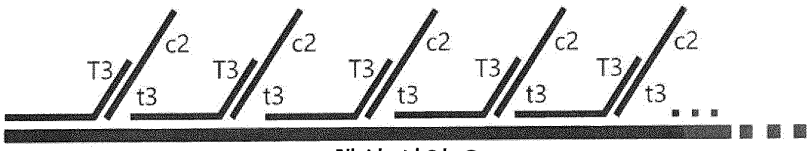
3



핵산 서열 A



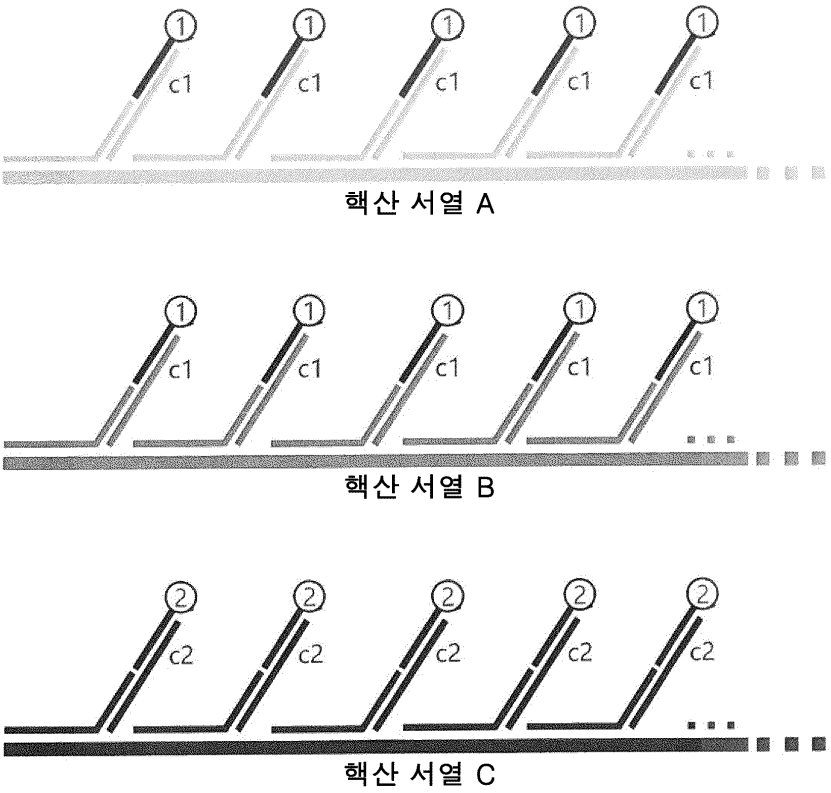
핵산 서열 B



핵산 서열 C

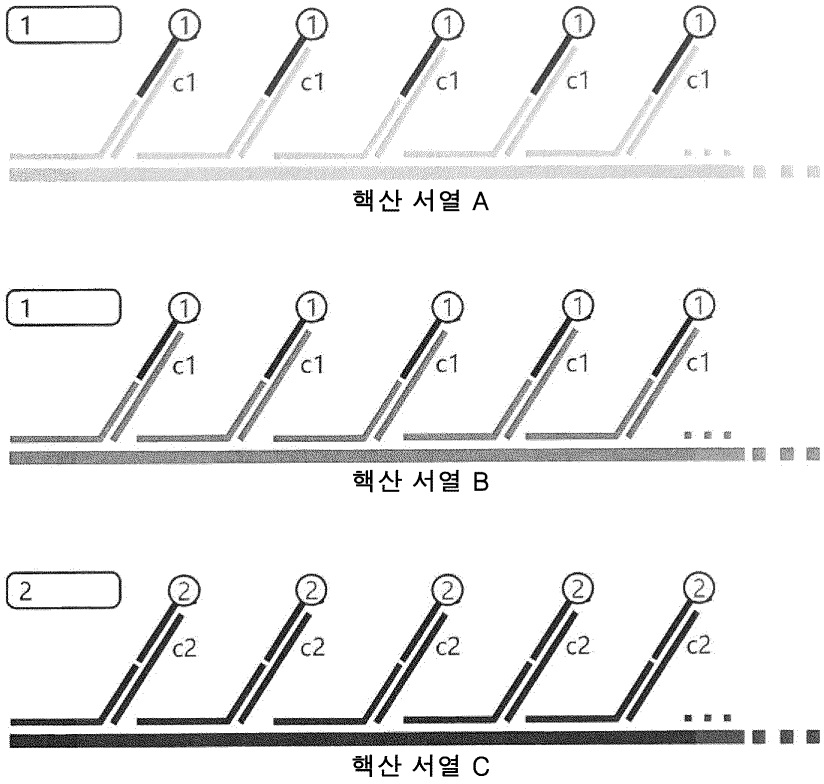
도면5c

4



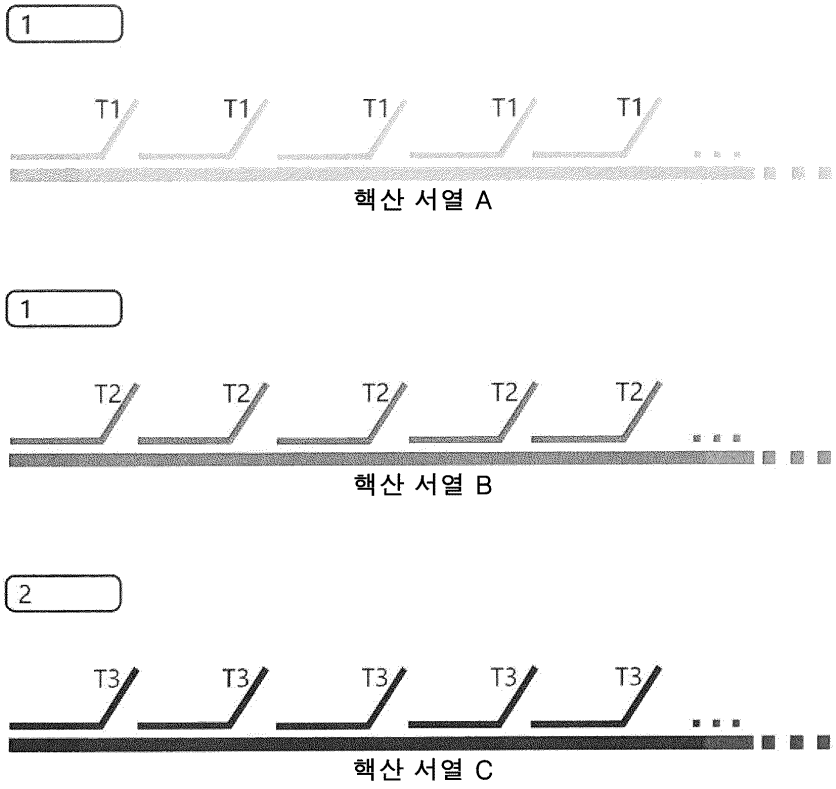
도면5d

5



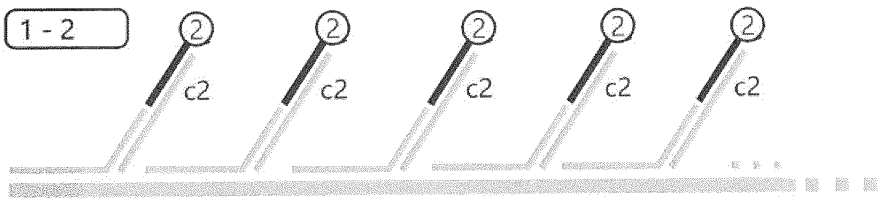
도면5e

6

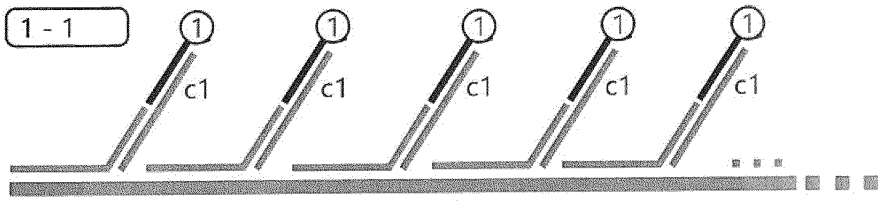


도면5f

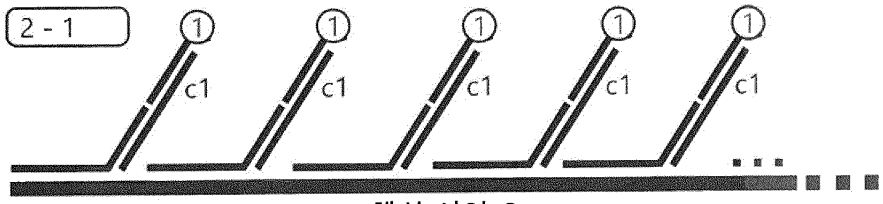
7



핵산 서열 A



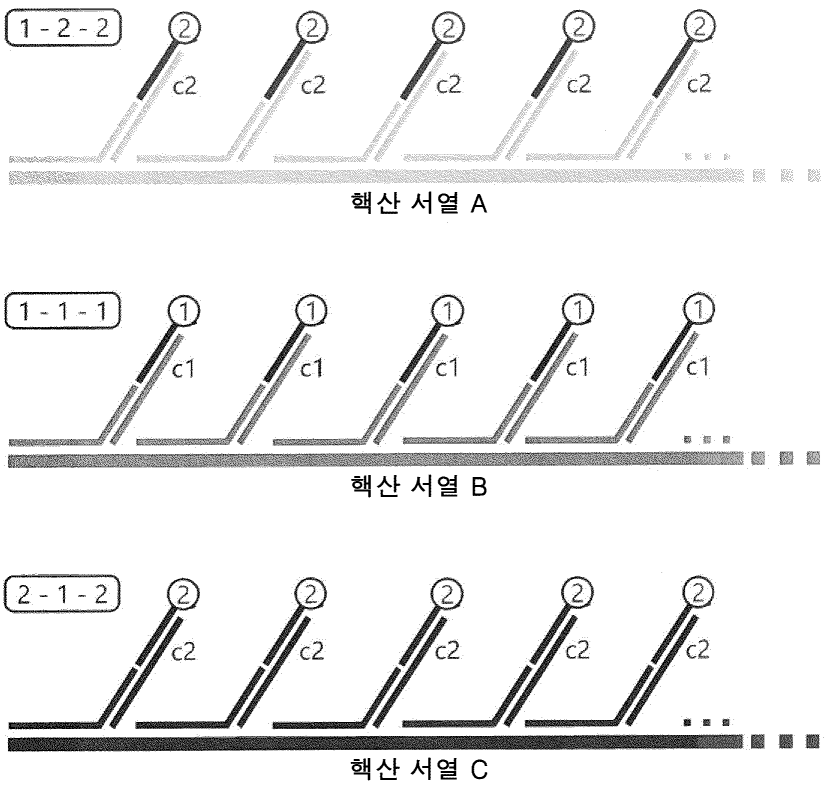
핵산 서열 B



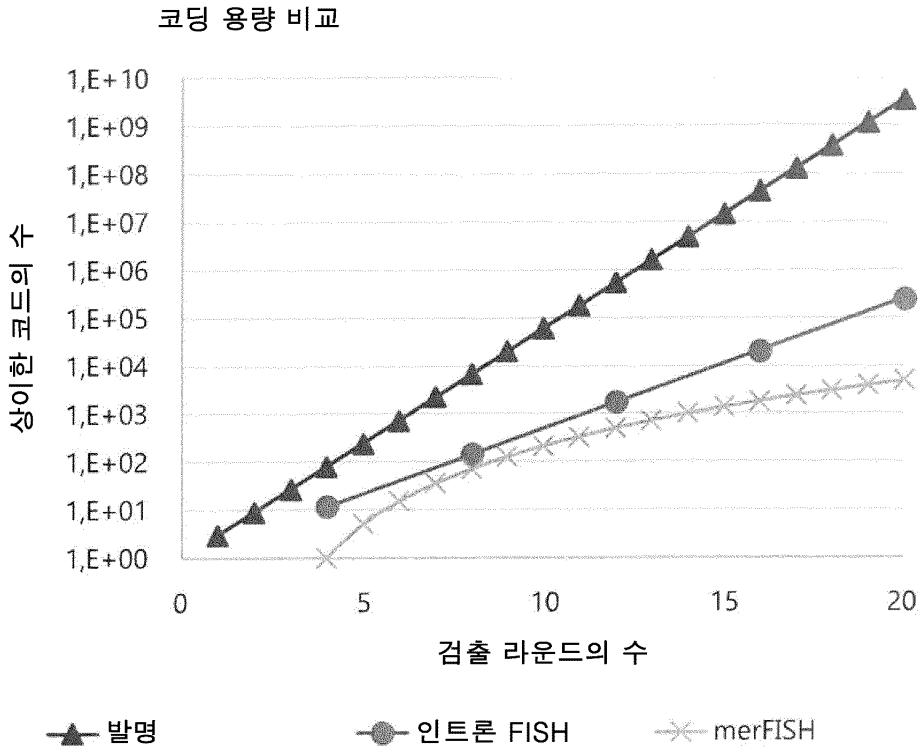
핵산 서열 C

도면5g

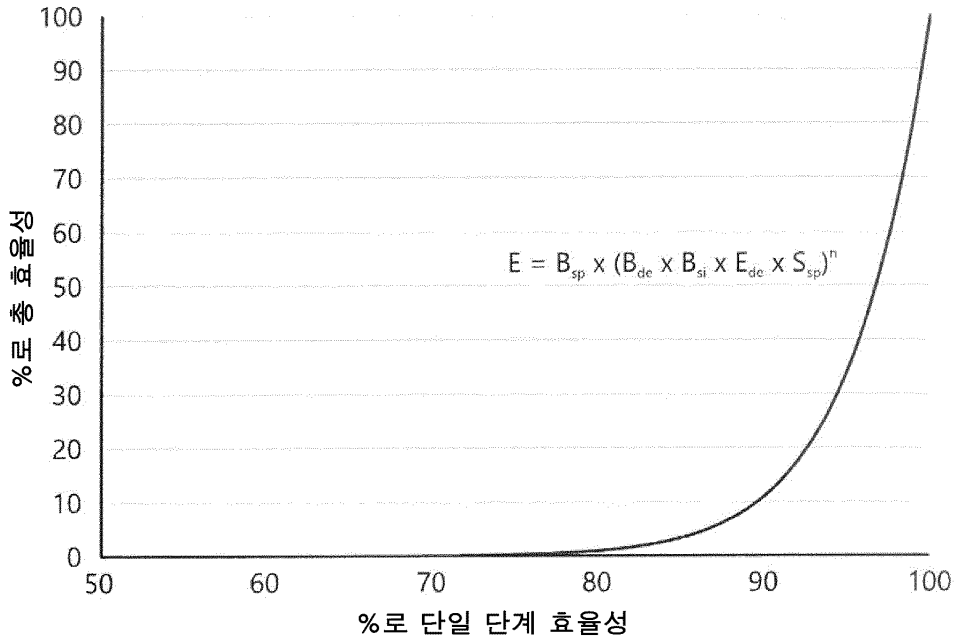
8


1 - 2 - 2
c2
핵산 서열 A
1 - 1 - 1
c1
핵산 서열 B
2 - 1 - 2
c2
핵산 서열 C

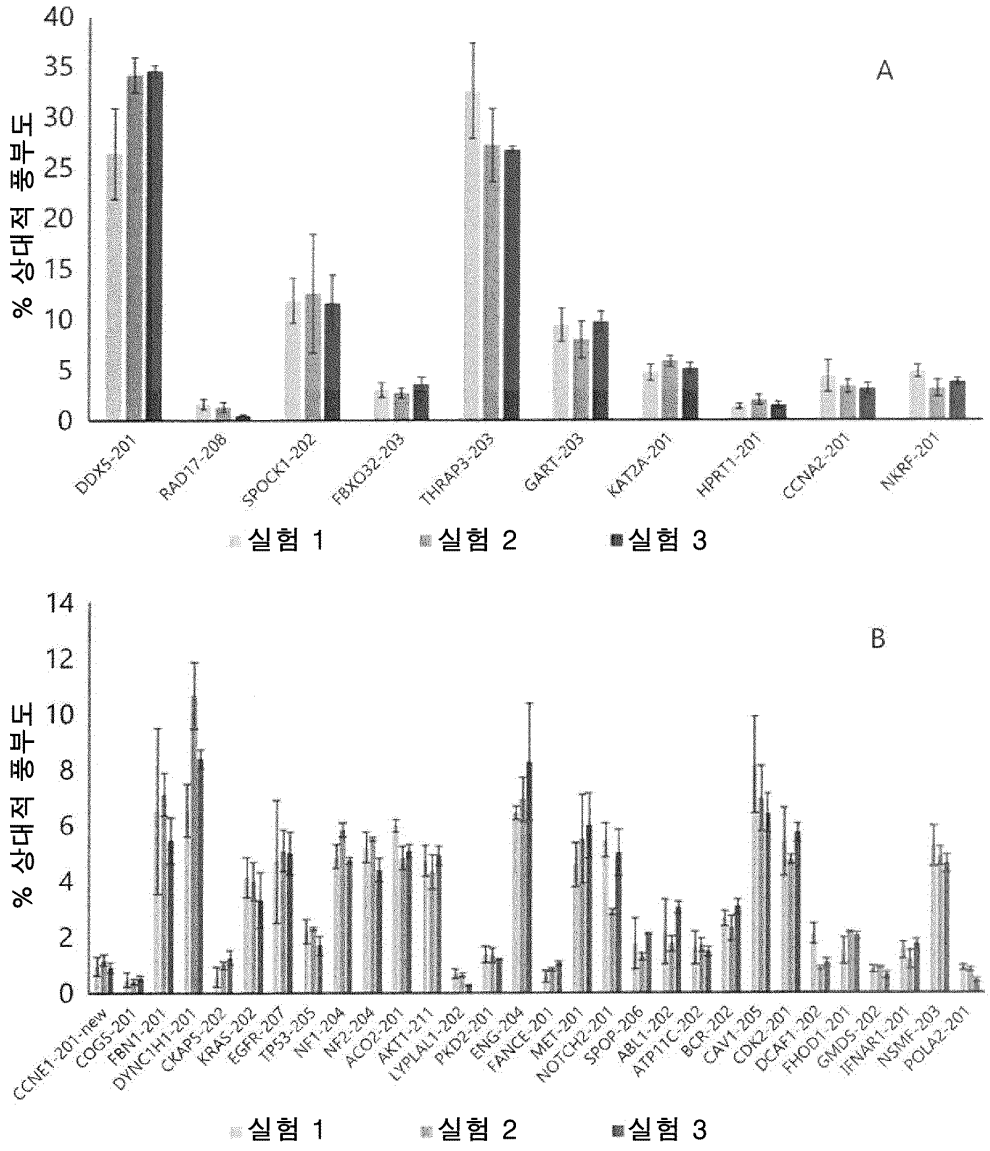
도면6


코딩 용량 비교
상이한 코드의 수
1,E+10
1,E+09
1,E+08
1,E+07
1,E+06
1,E+05
1,E+04
1,E+03
1,E+02
1,E+01
1,E+00
0
5
10
15
20
검출 라운드의 수
발명
인트론 FISH
merFISH

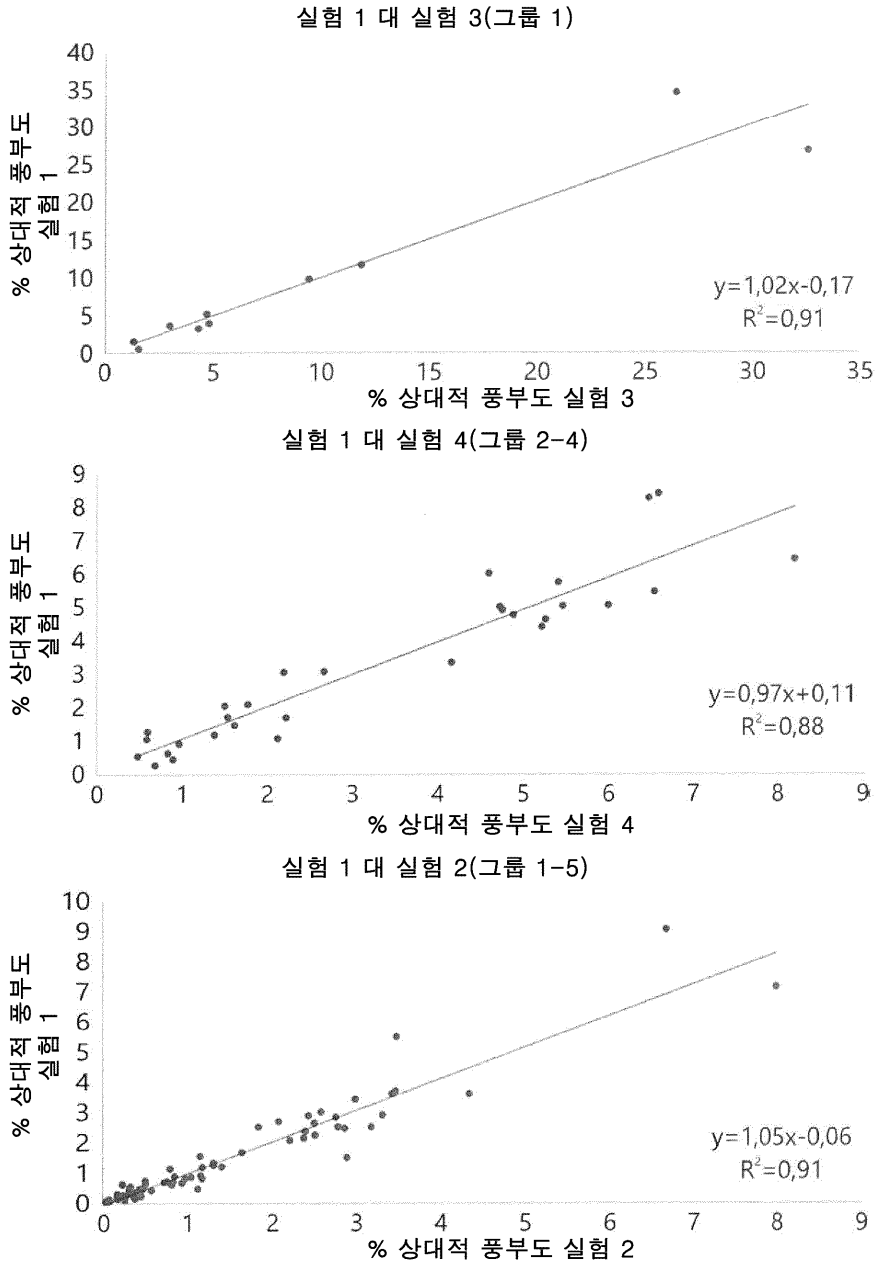
도면7


100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
%로 총 효율성
$E = B_{sp} \times (B_{de} \times B_{si} \times E_{de} \times S_{sp})^n$
50
60
70
80
90
100
%로 단일 단계 효율성

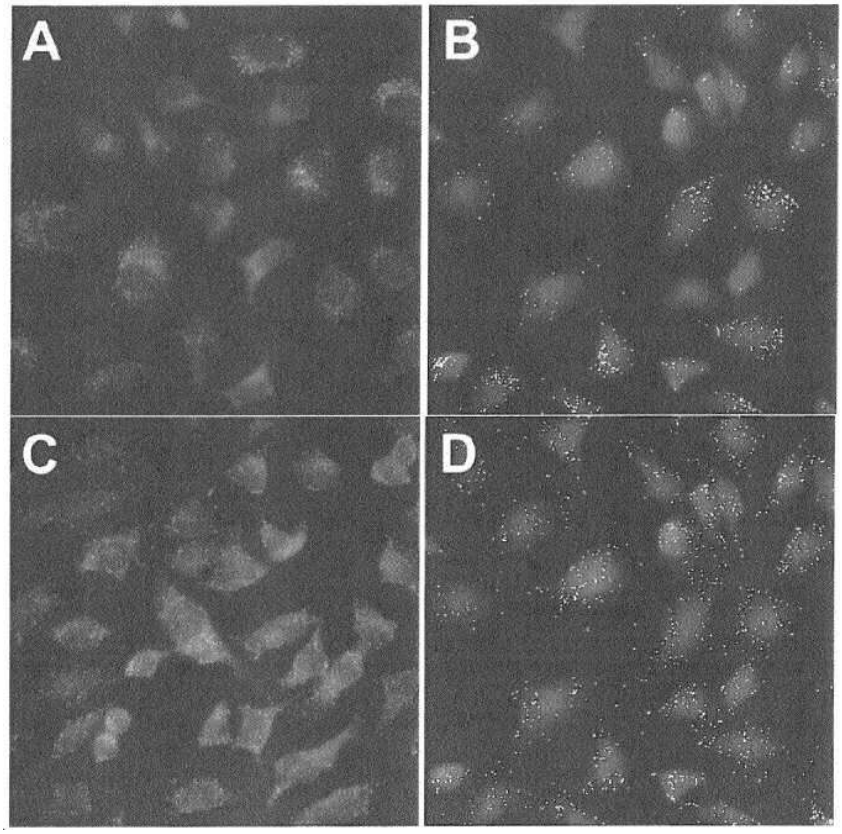
도면8


A
% 상대적 풍부도
40
35
30
25
20
15
10
5
0
DDX5-201
RAD17-208
SPOCK1-202
FBXO32-203
THRAP3-203
GART-203
KAT2A-201
HPRT1-201
CCNA2-201
NKRF-201
실험 1
실험 2
실험 3
B
% 상대적 풍부도
14
12
10
8
6
4
2
0
CCNE1-201-new
COG5-201
FBN1-201
DYNC1H1-201
CKAP5-202
KRAS-202
EGFR-207
TP53-205
NF1-204
NF2-204
ACO2-201
AKT1-211
LYPLAL1-202
PKD2-201
ENG-204
FANCE-201
MET-201
NOTCH2-201
SPOP-206
ABL1-202
ATP11C-202
BCR-202
CAV1-205
CDK2-201
DCAF1-202
FHOD1-201
GMDS-202
IFNAR1-201
NSMF-203
POLA2-201
실험 1
실험 2
실험 3

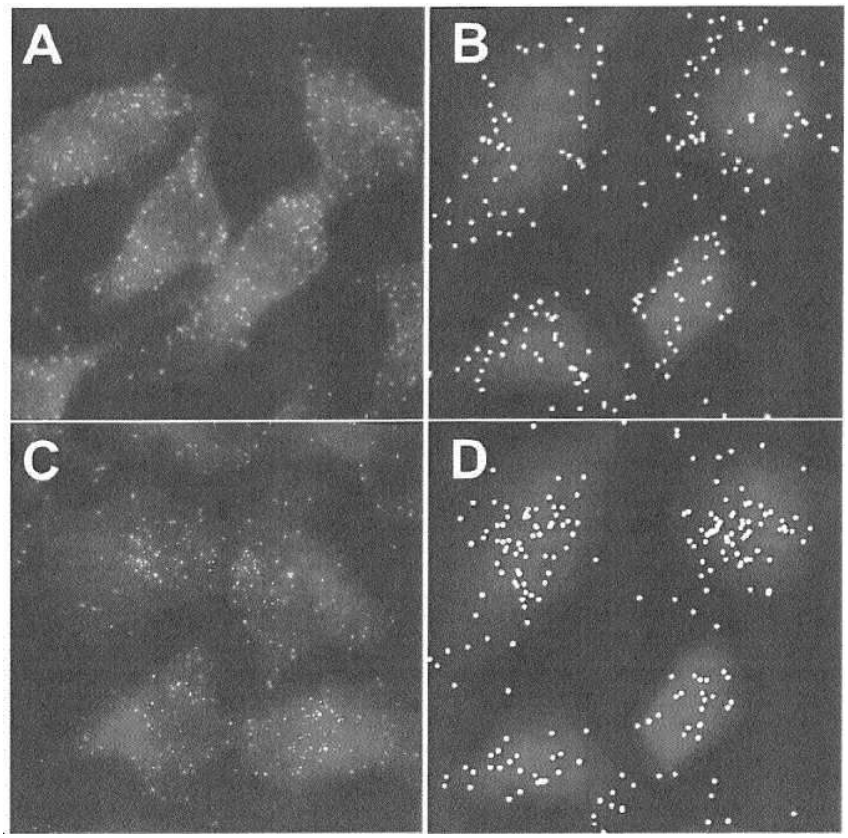
도면9


실험 1 대 실험 3(그룹 1)
% 상대적 풍부도 실험 1
% 상대적 풍부도 실험 3
y=1,02x-0,17
R²=0,91
실험 1 대 실험 4(그룹 2-4)
% 상대적 풍부도 실험 1
% 상대적 풍부도 실험 4
y=0,97x+0,11
R²=0,88
실험 1 대 실험 2(그룹 1-5)
% 상대적 풍부도 실험 1
% 상대적 풍부도 실험 2
y=1,05x-0,06
R²=0,91

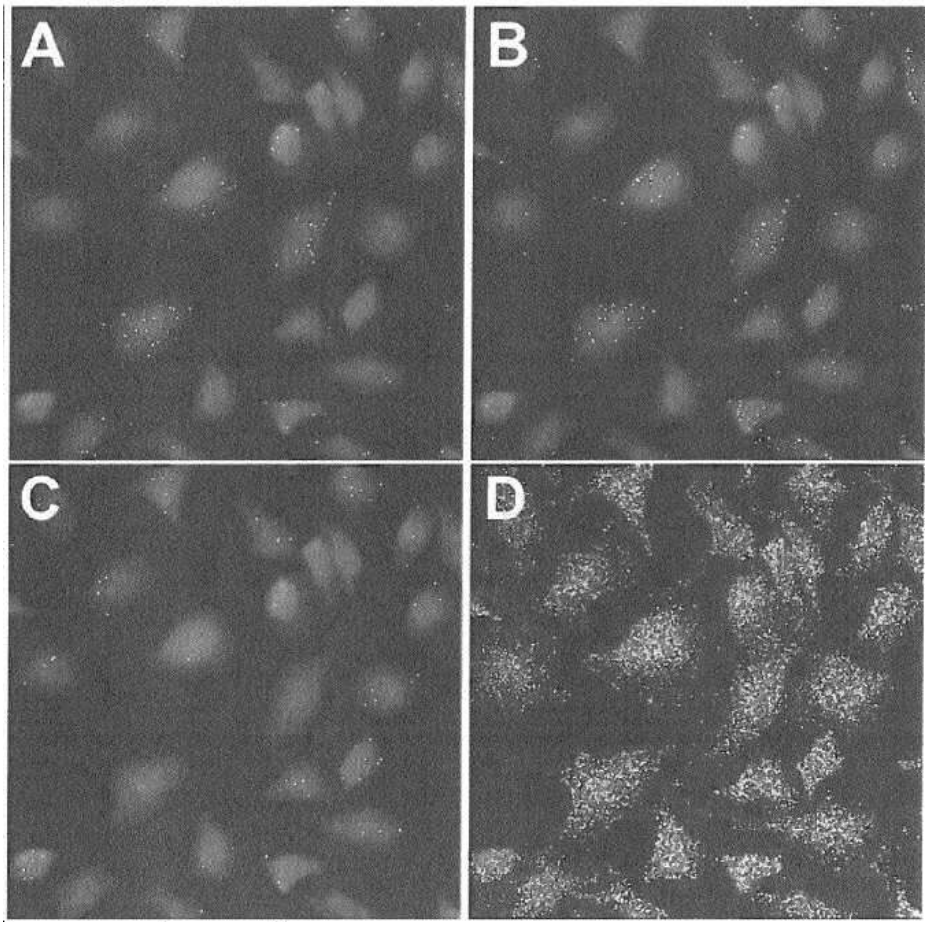
도면10



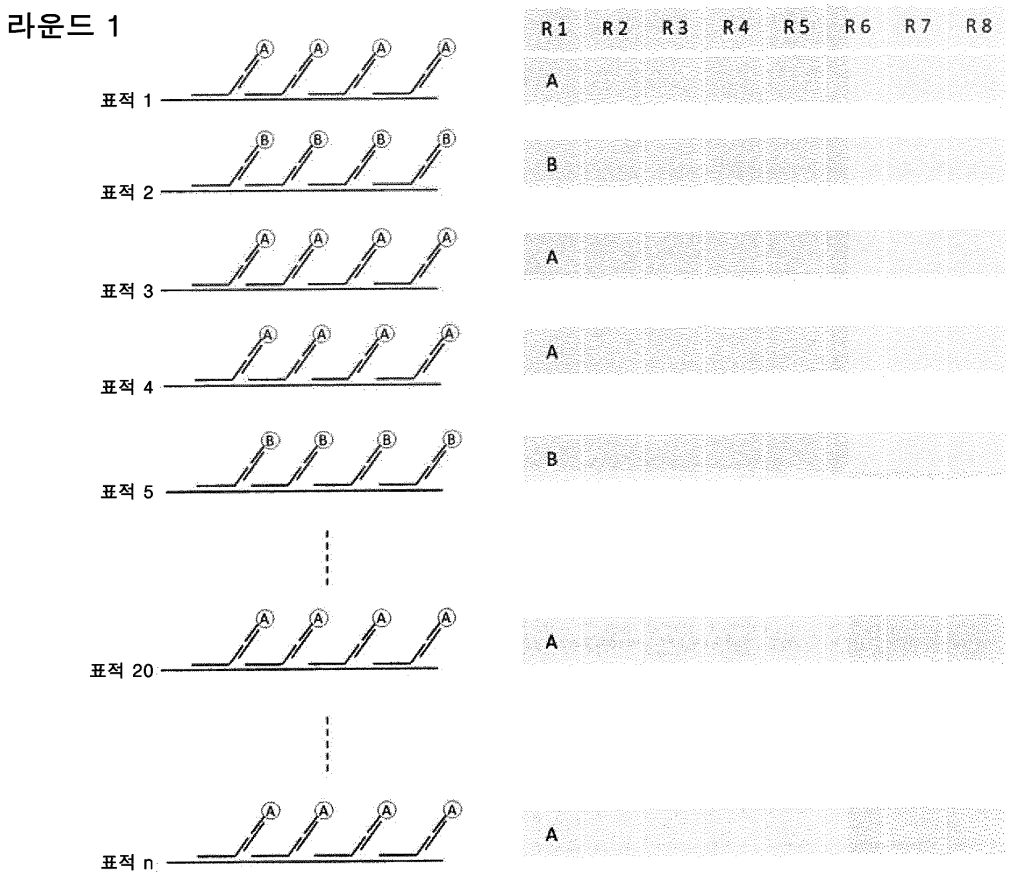
도면11



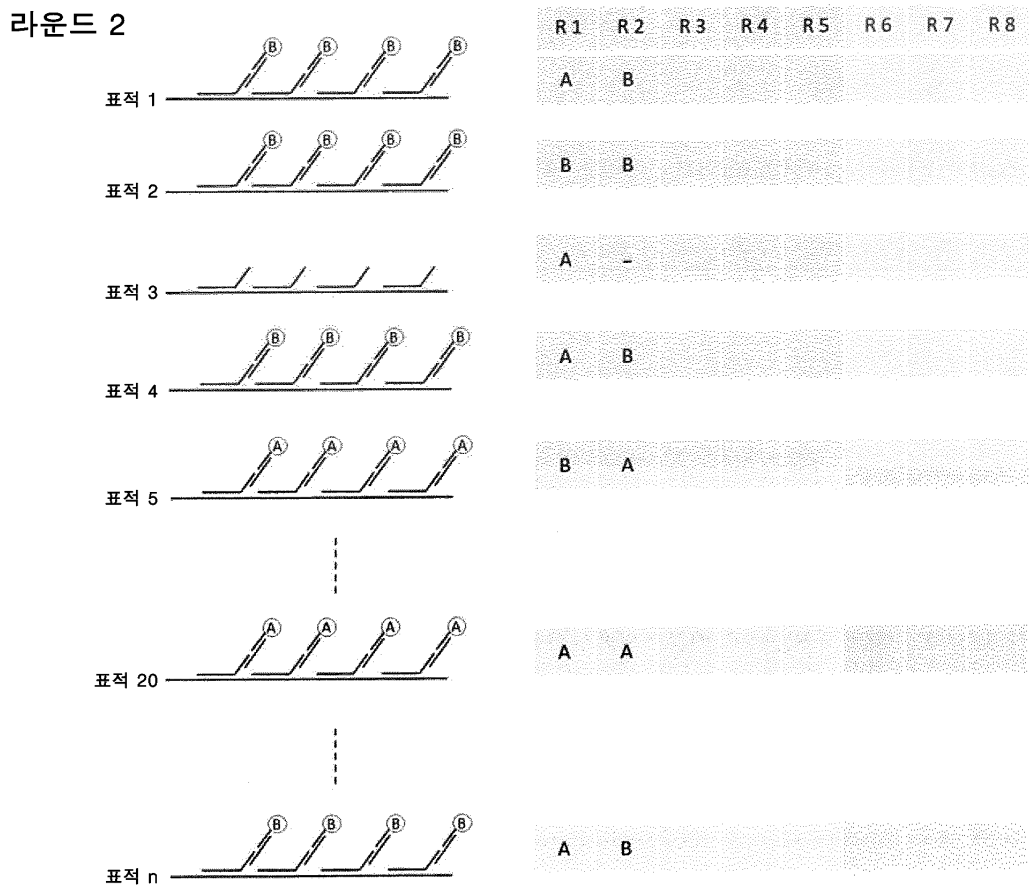
도면12



도면13a

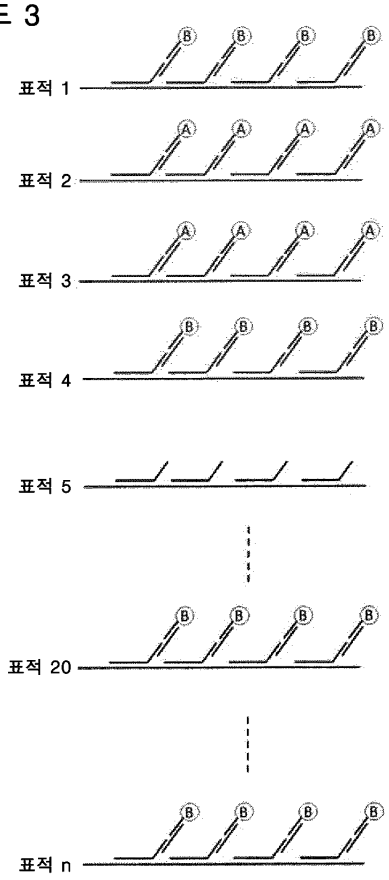


도면13b


라운드 2
R1 R2 R3 R4 R5 R6 R7 R8
표적 1
A B
표적 2
B B
표적 3
A –
표적 4
A B
표적 5
B A
표적 20
A A
표적 n
A B

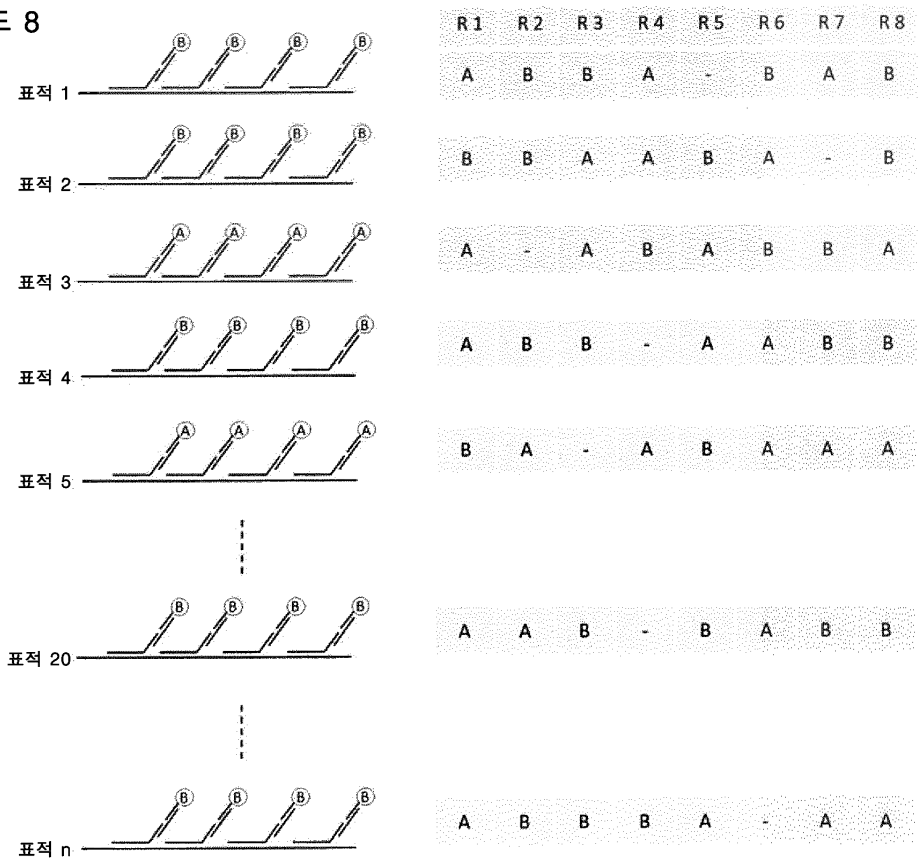
도면13c

라운드 3

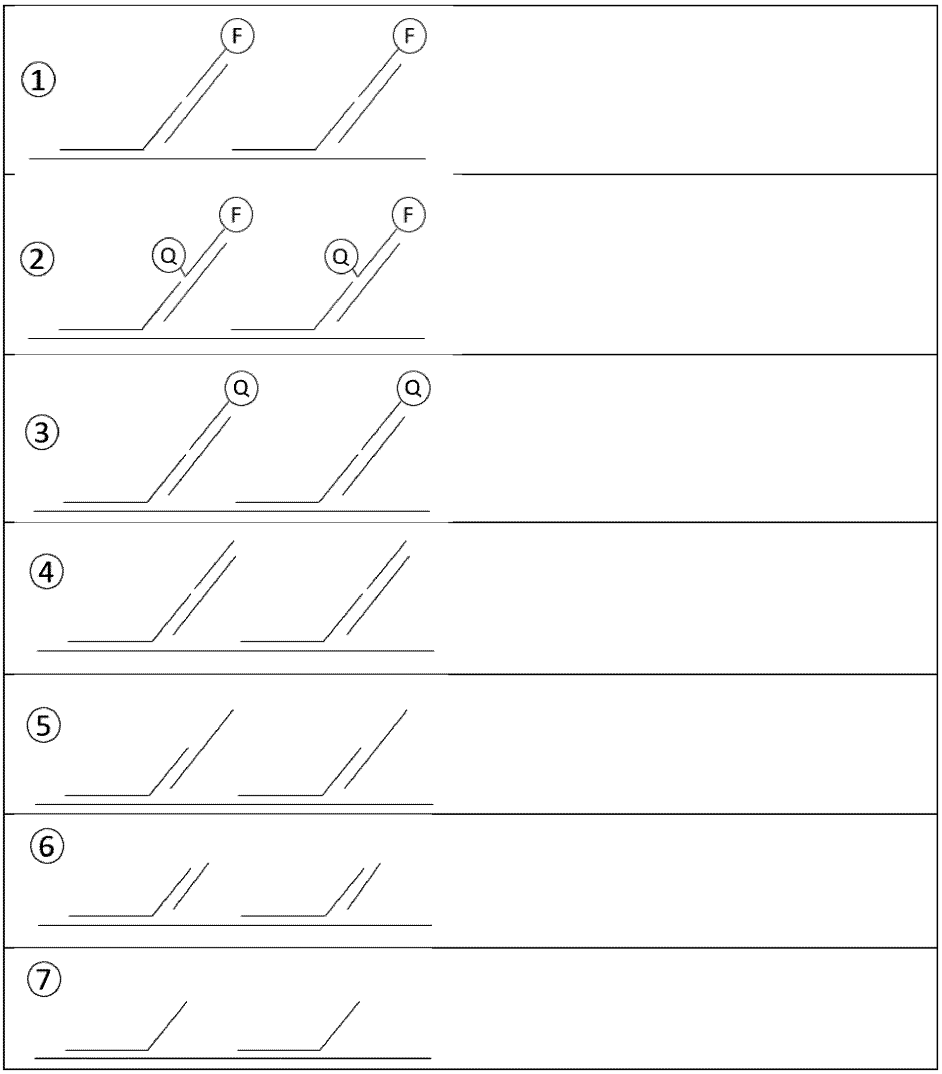


R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8
A	B	B					
B	B	A					
A	-	A					
A	B	B					
B	A	-					
A	A	B					
A	B	B					

도면13d


라운드 8
R1 R2 R3 R4 R5 R6 R7 R8
표적 1
A B B A - B A B
표적 2
B B A A B A - B
표적 3
A - A B A B B A
표적 4
A B B - A A B B
표적 5
B A - A B A A A
표적 20
A A B - B A B B
표적 n
A B B B A - A A

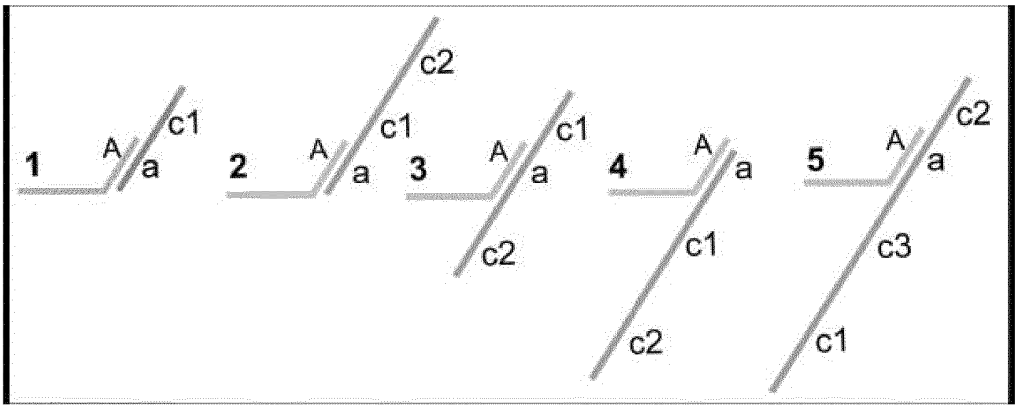
도면14



도면15

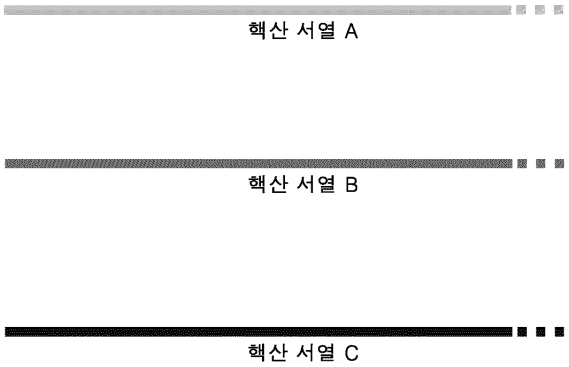

라운드 0
표적 1
표적 1'
공유된 부분
배타적 부분
표적 2
표적 2'
공유된 부분 1
공유된 부분 2
배타적 부분
R1 R2 R3 R4 R5
라운드 1
표적 1
표적 1'
표적 2
표적 2'
A
B
[...]
라운드 4
표적 1
표적 1'
표적 2
표적 2'
A B - A
B - B A
라운드 5
표적 1
표적 1'
표적 2
표적 2'
A B - A -
A B - A B
B - B A -
B - B A B

도면16

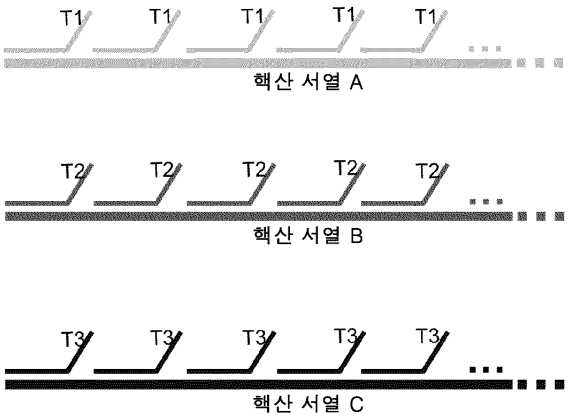


도면17a

단계 1:

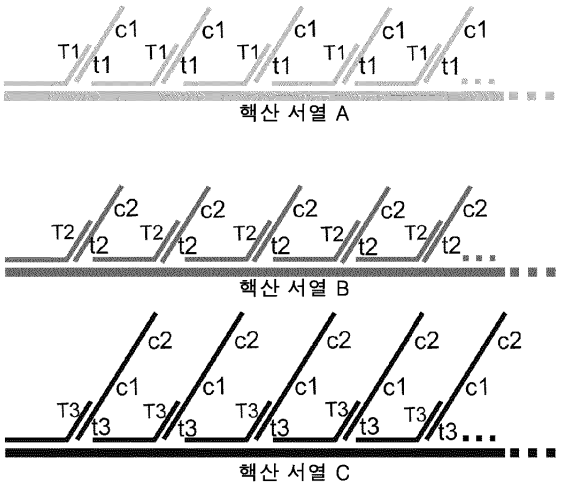


단계 2:

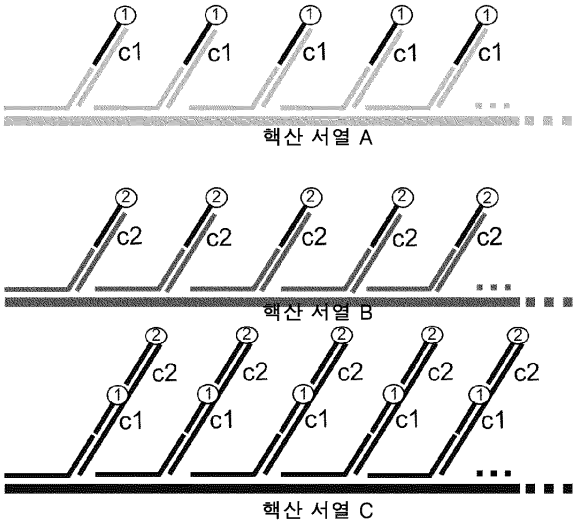


도면17b

단계 3:

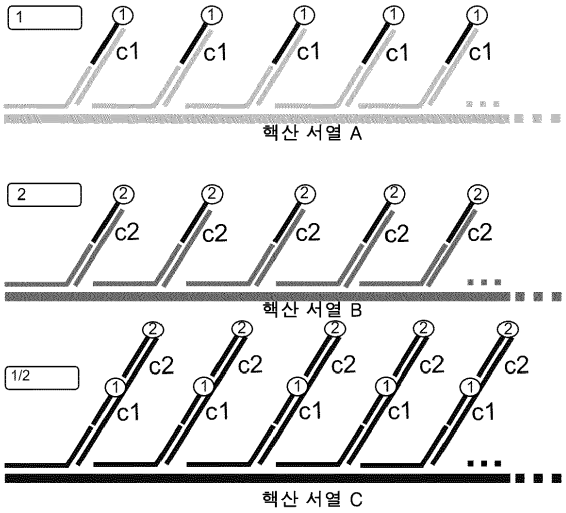


단계 4:

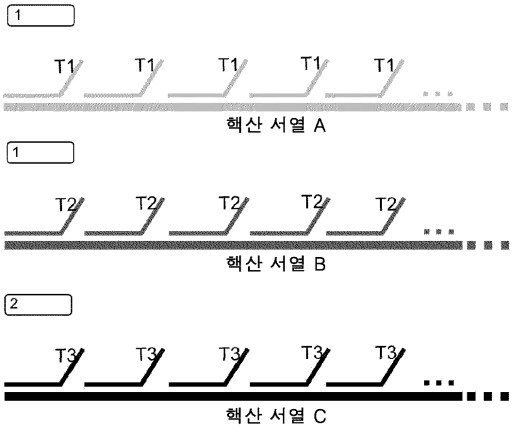


도면17c

단계 5:

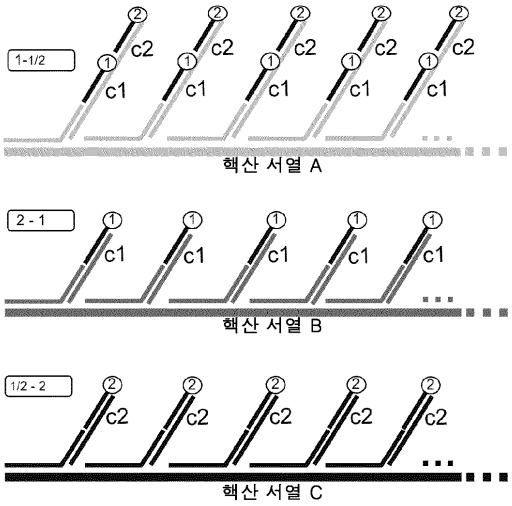


단계 6:

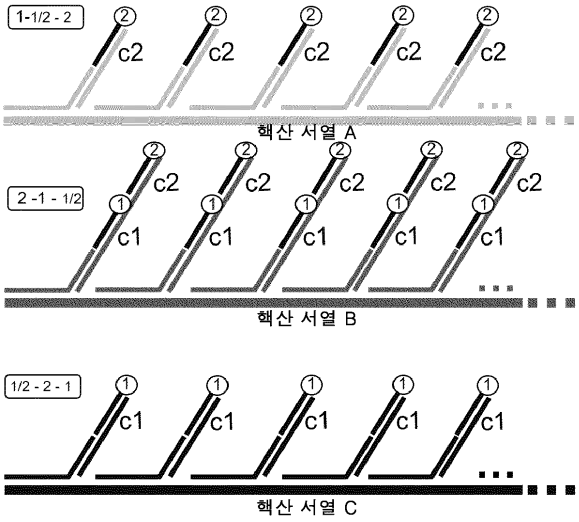


도면17d

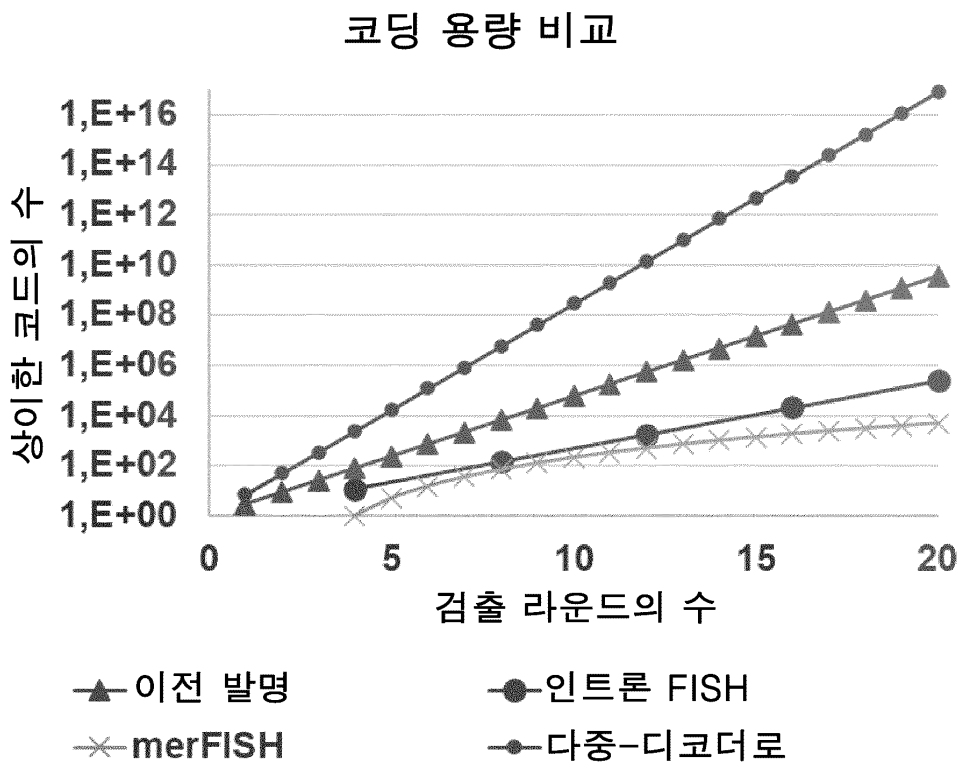
단계 7:



단계 8:



도면18



서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> Resolve BioSciences GmbH

<120> MULTIPLEX METHOD FOR DETECTING DIFFERENT ANALYTES IN A SAMPLE

<130> RES-PA01-USprov

<160> 1400

<170> BiSSAP 1.3.6

<210> 1

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1

actactagag accggtagaa atgagtaacg attaccgact tatcc 45

<210> 2

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 2

tggcggggaa cgaagtatat agtaacgatt accgacttat cc 42

<210> 3

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 3

tggcgtcaat ggttgcggtg taacgattac cgacttatcc 40

<210> 4

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 4

tcggtcactc gaataacccg gtaacgatta ccgacttatc c 41

<210> 5

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 5

ctccaaatcg aggtgcacca gtaacgatta ccgacttatc c 41

<210> 6

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 6

ggccagttcc cgagttggtg taacgattac cgacttatcc 40

<210> 7

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 7

agacttcaag cgacatgctc tgtaacgatt accgacttat cc 42

<210> 8

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 8

ggagcaccac cgtagataca agtaacgatt accgacttat cc 42

<210> 9

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 9

ctctccaaat cacgtatttg tgggtaacga ttaccgactt atcc 44

<210> 10

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 10

agagtttgcc tatcaggtct tattgtaacg attaccgact tatcc 45

<210> 11

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 11

ggccaagtcg cactccacag taacgattac cgacttatcc 40

<210> 12

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 12

tccttttcta cgtcatgaca cagtaacgat taccgactta tcc 43

<210> 13

<211> 46

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 13

ttccattaga cgaataagtt tttcagtaac gattaccgac ttatcc 46

<210> 14

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 14

tttctggtaa gctcatcaca tctgtaacga ttaccgactt atcc 44

<210> 15

<211> 46

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 15

gagttagggt agtcataatt gatgagtaac gattaccgac ttatcc 46

<210> 16

<211> 47

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 16

ttcttccaat tcgatgaata taatccgtaa cgattaccga cttatcc 47

<210> 17

<211> 48

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 17

tgttattagg tgtaaagaaa gtgtatggta acgattaccg acttatcc 48

<210> 18

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 18

gagataaggt cgctcacttg cgtaacgatt accgacttat cc 42

<210> 19

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 19

acctctgtct tcgaccaact ggtaacgatt accgacttat cc 42

<210> 20

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 20

acccctggaa cgacctgaac gtaacgatta ccgacttatc c 41

<210> 21

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 21

agtatctgtc ccgacggtca gtaacgatta ccgacttatc c 41

<210> 22

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 22

acccctttg cccgcagagg taacgattac cgacttatcc 40

<210> 23

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 23

tttaagcagg ctagagtaac ctcgtaacga ttaccgactt atcc 44

<210> 24

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 24

gcattggata accaatcata ggtggtaacg attaccgact tatcc 45

<210> 25

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 25

tcccctagtc cgagttgctc gtaaccctaa ttatgggaat c 41

<210> 26

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 26

ccaatttgca cttggatgtg tagtaaccct aattatggga atc 43

<210> 27

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 27

ttttgccagt agaacaagca tggtaaccct aattatggga atc 43

<210> 28

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 28

ggaggcaagg ttccgcaacg taaccctaat tatgggaatc 40

<210> 29

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 29

agaattccac gtaaatcaca tgcgtaaccc taattatggg aatc 44

<210> 30

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 30

tatgcatgta cagggaagta tccgtaaccc taattatggg aatc 44

<210> 31

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 31

gtgtgcatgc cttagaaaaa gcgtaaccct aattatggga atc 43

<210> 32

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 32

agcttttgtg cccttatcat gagtaaccct aattatggga atc 43

<210> 33

<211> 46

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 33

cttcattagt atcttgtcac ttggggtaac cctaattatg ggaatc 46

<210> 34

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 34

agatgatgac cctaccaaat ttgggtaacc ctaattatgg gaatc 45

<210> 35

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 35

aggcaagaga tagatatgtg ggcgtaaccc taattatggg aatc 44

<210> 36

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 36

cagctgccac tataatcatg tttgtaaccc taattatggg aatc 44

<210> 37

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 37

ggaacatgct aatttaaggt gagtgtaacc ctaattatgg gaatc 45

<210> 38

<211> 46

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 38

aggactttgc tatatcaagt agttcgtaac cctaattatg ggaatc 46

<210> 39

<211> 46

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 39

aaaggagata gtaacaatgg ttttcgtaac cctaattatg ggaatc 46

<210> 40

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 40

aaatcagtgg ttcaccctgt tcgtaaccct aattatggga atc 43

<210> 41

<211> 48

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 41

cttgtcataa gataattagg caaattagta accctaatta tgggaatc 48

<210> 42

<211> 47

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 42

tcattaagtt aatgctaagg atctttgtaa ccctaattat gggaatc 47

<210> 43

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 43

tgtcactggt acaagtggac ttgtaaccct aattatggga atc 43

<210> 44

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 44

ttggtcacta tacaagtgac ttctgtaacc ctaattatgg gaatc 45

<210> 45

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 45

aggaaaatgg gcgtaaagga gggtaaccct aattatggga atc 43

<210> 46

<211> 46

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 46

ttcatctaca atagggacaa caaacgtaac cctaattatg ggaatc 46

<210> 47

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 47

gataagtcta cgtggaaaag catgtaaccc taattatggg aatc 44

<210> 48

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 48

caggactaca gttaagcatt tactgtaacc ctaattatgg gaatc 45

<210> 49

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 49

gtctaggaaa ttgccgtggt tggtaaccct aattatggga atc 43

<210> 50

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 50

aatcatcgtc tcgaaagcgg tgtaacccta ttatgggaa tc 42

<210> 51

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 51

cttgaccaaa ttcgaaggtc cagtaaccct aattatggga atc 43

<210> 52

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 52

gatgactctg ttcgcatcct cggtaaccct aattatggga atc 43

<210> 53

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 53

gatgctagtg tcaaacctgc cgtaacccta attatgggaa tc 42

<210> 54

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 54

tgatacaggg ctcgtactta tccgtaaccc taattatggg aatc 44

<210> 55

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 55

aggagtcaca cgagttgaaa aggtaaccct aattatggga atc 43

<210> 56

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 56

ctcattacac cgaggtatga agggtaaccc taattatggg aatc 44

<210> 57

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 57

ctctgtcacg gctcgggtgg taaccctaat tatgggaatc 40

<210> 58

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 58

ctaccatatg tacccgacct cagtaaccct aattatggga atc 43

<210> 59

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 59

aaccttaggt cgggtataga gaggtaaccc taattatggg aatc 44

<210> 60

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 60

gaagcactta gacactgtaa ggcgtaaccc taattatggg aatc 44

<210> 61

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 61

aataatcacc ggcagtaacg ggtaacccta attatgggaa tc 42

<210> 62

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 62

aggaagaaac ctatggcaga cagtaaccct aattatggga atc 43

<210> 63

<211> 46

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 63

catgtgttat tacgatgttc tttgtgtaac cctaattatg ggaatc 46

<210> 64

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 64

actactgttt ggtacttgta tctggtaacc ctaattatgg gaatc 45

<210> 65

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 65

aaatcagtgg cggacagtag cgtaacccta attatgggaa tc 42

<210> 66

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 66

caggcaatgc cgactggatt gtaaccctaa ttatgggaat c 41

<210> 67

<211> 48

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 67

tcttatctaa gaccaactat aggtatggta accctaatta tgggaatc 48

<210> 68

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 68

gggaactgtc tattgagcac tcgtaaccct aattatggga atc 43

<210> 69

<211> 47

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 69

attacaatct ttagtactca tggaaagtaa ccctaattat gggaatc 47

<210> 70

<211> 46

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 70

aaggtattct catgcctaga atattgtaac cctaattatg ggaatc 46

<210> 71

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 71

tggacagaca cgttgtcatt tggtaaccct aattatggga atc 43

<210> 72

<211> 48

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 72

ctctcattac aatgctatac atttaacgta accctaatta tgggaatc 48

<210> 73

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 73

tgcagctcgc aacggaacaa gtaacggatt ttacaacttt a 41

<210> 74

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 74

gagtccatcc ggacattgac ctgtaacgga ttttacaact tta 43

<210> 75

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 75

cttgaacggc ctcgacgagg gtaacggatt ttacaacttt a 41

<210> 76

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 76

cctcctcggt tatattggcc ccgtaacgga ttttacaact tta 43

<210> 77

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 77

accgagactt cgaaaatgaa cgagtaacgg attttacaac ttta 44

<210> 78

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 78

cctctggctc gaaactgaaa gggtaacgga ttttacaact tta 43

<210> 79

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 79

tgctatggac tagatctcgg caagtaacgg attttacaac ttta 44

<210> 80

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 80

gccttgaccg gtcagaagac ggtaacggat tttacaactt ta 42

<210> 81

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 81

taccacagag atcgcagctg cgtaacggat tttacaactt ta 42

<210> 82

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 82

accagcccga acctcgcccg taacggattt tacaacttta 40

<210> 83

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 83

actgtatgct tgccggtaat tctgtaacgg attttacaac ttta 44

<210> 84

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 84

gaacatgaac cggccccgac gtaacggatt ttacaacttt a 41

<210> 85

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 85

caggaatccc gtcaagggtg ggtaacggat tttacaactt ta 42

<210> 86

<211> 47

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 86

tctcgattta cctcgtttaa gatctcgtaa cggattttac aacttta 47

<210> 87

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 87

agaaccatgg tcgaactgac ctgtaacgga ttttacaact tta 43

<210> 88

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 88

tctgaggggc tacgctgaga gtaacggatt ttacaacttt a 41

<210> 89

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 89

aagcctctgt tacgcccacg gtaacggatt ttacaacttt a 41

<210> 90

<211> 46

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 90

aatgattcaa ctcgtactgg atcccgtaac ggattttaca acttta 46

<210> 91

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 91

cctcggaaat cccgattctg atagtaacgg attttacaac ttta 44

<210> 92

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 92

ggcccctact cggttgtggg gtaacggatt ttacaacttt a 41

<210> 93

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 93

ggaaaatgga acgaaactcc tgttgtaacg gattttacaa cttta 45

<210> 94

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 94

ctgggtcgtg cgaggtcctg taacggattt tacaacttta 40

<210> 95

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 95

cacggggcta ggacggggtg taacggattt tacaacttta 40

<210> 96

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 96

ccgatggcgt actcgtcggg taacccttat tcggtacta 39

<210> 97

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 97

gatcagatca gaatccgagg tggtaaccct tattcggtac ta 42

<210> 98

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 98

ggttgtactc gcgacagttg gtaaccctta ttcggtacta 40

<210> 99

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 99

gacctgctca ttcgaggtga gtaaccctta ttcggtacta 40

<210> 100

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 100

tcacgtagta gcggcttcgg taacccttat tcggtacta 39

<210> 101

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 101

ccaaagatgg gcctacttgt cagtaaccct tattcggtac ta 42

<210> 102

<211> 39

<212> DNA

<213>

Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 102

gacagagctg cacgcttggg taacccttat tcggtacta 39

<210> 103

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 103

ctgggcctgt ttgcgctcag taacccttat tcggtacta 39

<210> 104

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 104

tccttaggca tgcgcggcgt aacccttatt cggtacta 38

<210> 105

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 105

cagcggcagt actcgctgtg taacccttat tcggtacta 39

<210> 106

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 106

atgccaccga tgacccgcgt aacccttatt cggtacta 38

<210> 107

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 107

atcagcgtcg ctccctcggt aacccttatt cggtacta 38

<210> 108

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 108

ctttgagagc tcgaacatcg tgtaaccctt attcggtact a 41

<210> 109

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 109

ttccagtagt taaggcagag cagtaaccct tattcggtac ta 42

<210> 110

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 110

gagctgcagg atcgggtccg taacccttat tcggtacta 39

<210> 111

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 111

acatgagtgg tttcgtagcg ggtaaccctt attcggtact a 41

<210> 112

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 112

tgccgatgac atggaactcg gtaaccctta ttcggtacta 40

<210> 113

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 113

tggtgtaatt gaccttgtag gtagtaaccc ttattcggta cta 43

<210> 114

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 114

cattggccga aagcaggctg taacccttat tcggtacta 39

<210> 115

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 115

gagacctctg ccgaaactgg gtaacccttа ttcggtacta 40

<210> 116

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 116

agtcttgtgc ttcgggtcaa agtaaccctt attcggtact a 41

<210> 117

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 117

cctcttctcg cctggcatag ggtaaccctt attcggtact a 41

<210> 118

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 118

gtaacggtga aaatggaccg ggtaaccctt attcggtact a 41

<210> 119

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 119

tccctctaag ggattaatgc cagtaaccct tattcggtac ta 42

<210> 120

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 120

agttcaagta tcccgcgact agtaacaatt agagtgaaat acc 43

<210> 121

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 121

gaacgcaggc tgtttactgt tgtaacaatt agagtgaaat acc 43

<210> 122

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 122

ggtccaggta aactaatggc tggtaacaat tagagtgaaa tacc 44

<210> 123

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 123

ctctgttgag tttacctcgc aagtaacaat tagagtgaaa tacc 44

<210> 124

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 124

tacttcaact aaccagtcca cggtaacaat tagagtgaaa tacc 44

<210> 125

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 125

ccatgagaca aggcttaaga ctgtaacaat tagagtgaaa tacc 44

<210> 126

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 126

cggccaaaga atagtcgtag cgtaacaatt agagtgaaat acc 43

<210> 127

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 127

ccatttccct aaggtatgtg tgagtaacaa ttagagtgaa atacc 45

<210> 128

<211> 46

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 128

ctctcatact gttagtgatg tctggtaaca attagagtga aatacc 46

<210> 129

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 129

cagctttgtc ccgtgactgt gtaacaatta gagtgaaata cc 42

<210> 130

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 130

tgctgcaatg ctagcagcgg taacaattag agtgaaatac c 41

<210> 131

<211> 46

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 131

aagacaggaa cctatcaatg tagtgtaaca attagagtga aatacc 46

<210> 132

<211> 46

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 132

tagattagat tatgcccaag tcaggtaaca attagagtga aatacc 46

<210> 133

<211> 46

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 133

catgtaaccc actttaggtt tacagtaaca attagagtga aatacc 46

<210> 134

<211> 47

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 134

ccagtctttc gtattaatga ttcaggtaac aattagagtg aaatacc 47

<210> 135

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 135

tgcaacccgt ctcgtcttcg gtaacaatta gagtgaaata cc 42

<210> 136

<211> 47

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 136

gtgtaggtat catctgtaat gtacagtaac aattagagtg aaatacc 47

<210> 137

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 137

tcccggactt cagtaccgcg taacaattag agtgaaatac c 41

<210> 138

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 138

cgaggaggtt gcgaaaggcg taacaattag agtgaaatac c 41

<210> 139

<211> 49

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 139

tatacatata ctcaacactt atagagggta acaattagag tgaaatacc 49

<210> 140

<211> 49

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 140

gtaatagata ccataatttg tacttgggta acaattagag tgaaatacc 49

<210> 141

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 141

tgctgctgcg ctagacccgt aacaattaga gtgaaatacc 40

<210> 142

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 142

gcgtggcgag ccaaagacgt aacaattaga gtgaaatacc 40

<210> 143

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 143

tccgcggttg ttggacgggt aacaattaga gtgaaatacc 40

<210> 144

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 144

ctgtcacata cgcaaactgg tgtaacatcg ttatagctag a 41

<210> 145

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 145

tcgccatata ccggtcaaag agtaacatcg ttatagctag a 41

<210> 146

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 146

tggatggtgc aataatccga gggtaacatc gttatagcta ga 42

<210> 147

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 147

agtgctgatc ccttaagtat gtcgtaacat cgttatagct aga 43

<210> 148

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 148

acctccatta accaatccag aaggtaacat cgttatagct aga 43

<210> 149

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 149

tggtgtactt gacccactta tttgtaacat cgttatagct aga 43

<210> 150

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 150

cagaagagaa cgtggagcag ggtaacatcg ttatagctag a 41

<210> 151

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 151

tccctgtgaa gtttatagac ttcagtaaca tcgttatagc taga 44

<210> 152

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 152

tgtaaaagca aacgcacgcc gtaacatcgt tatagctaga 40

<210> 153

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 153

attcagatga cgagaaatga tacagtaaca tcgttatagc taga 44

<210> 154

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 154

tggtcacgcc atttccggcg taacatcgtt atagctaga 39

<210> 155

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 155

agcaagtata ccataaggaa attcagtaac atcgttatag ctaga 45

<210> 156

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 156

ctcgccgtcc tgtcgatttt gtaacatcgt tatagctaga 40

<210> 157

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 157

agcgagccga gaactccggt aacatcgtta tagctaga 38

<210> 158

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 158

tattttgttc agacaacatg gctgtaacat cgttatagct aga 43

<210> 159

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 159

ccacttggta caacggagcc gtaacatcgt tatagctaga 40

<210> 160

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 160

cagaacacct gcgaggagag gtaacatcgt tatagctaga 40

<210> 161

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 161

ttcatcagcg acgcccctgg taacatcgtt atagctaga 39

<210> 162

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 162

cctgcaaaaa aacggtcacg tgtaacatcg ttatagctag a 41

<210> 163

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 163

tgtgggagtc ccttaggtca agtaacatcg ttatagctag a 41

<210> 164

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 164

gcatcgggag cacgcactgt aacatcgtta tagctaga 38

<210> 165

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 165

ggctctgcac aacgcttgcg taacatcgtt atagctaga 39

<210> 166

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 166

agccaggaca caatagtcag ggtaacatcg ttatagctag a 41

<210> 167

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 167

agccaggaca caatagtcag ggtaacatcg ttatagctag a 41

<210> 168

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 168

ttgcacatcc tacggtcttc tgtaacttac tacggagtta ac 42

<210> 169

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 169

gtagctcatt cgcaaatctt gggtaactta ctacggagtt aac 43

<210> 170

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 170

cctttaagcg cgtcgtgtcc gtaacttact acggagttaa c 41

<210> 171

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 171

cctcgacgca tgatgccggt aacttactac ggagttaac 39

<210> 172

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 172

gccccatggc tcgtgtaggg taacttacta cggagttaac 40

<210> 173

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 173

ccaattgtgt tccggcaagt tgtaacttac tacggagtta ac 42

<210> 174

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 174

gataggattt ggtcggaaac ctgtaactta ctacggagtt aac 43

<210> 175

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 175

tagttgccaa cggtgttgta gtaacttact acggagttaa c 41

<210> 176

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 176

cttggcctat gcggaagtaa cgtaacttac tacggagtta ac 42

<210> 177

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 177

ctcgcagcga taggaaccat gtaacttact acggagttaa c 41

<210> 178

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 178

tttgcattcg tccatatcaa ctggtaactt actacggagt taac 44

<210> 179

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 179

tcaatatcaa cgggtaaacc gggtaactta ctacggagtt aac 43

<210> 180

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 180

ttgttactga cgtgggaaat attggtaact tactacggag ttaac 45

<210> 181

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 181

tctccgctga tacccgggtg taacttacta cggagttaac 40

<210> 182

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 182

ggccagtcac cgaaatttca tgtaacttac tacggagtta ac 42

<210> 183

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 183

agttcgtagc ctatctcaca ctgtaactta ctacggagtt aac 43

<210> 184

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 184

cacattcccg tacgtttgct ggtaacttac tacggagtta ac 42

<210> 185

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 185

agtgagtccc tatgtatcct ttctgtaact tactacggag ttaac 45

<210> 186

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 186

aagcattata acgtgatcca caggtaactt actacggagt taac 44

<210> 187

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 187

tgcgccctga agcgcacgta acttactacg gagttaac 38

<210> 188

<211> 47

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 188

taaaaaatag cacgattaca gtatacgtaa cttactacgg agttaac 47

<210> 189

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 189

catatcgacg gattgagcct aacgtaactt actacggagt taac 44

<210> 190

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 190

cggtttctcg cgagagaaat agtaacttac tacggagtta ac 42

<210> 191

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 191

cttcccatct cgtgtaacat gagtaactta ctacggagtt aac 43

<210> 192

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 192

gcatttcaca tcggactgta ccgtaacttc gaaacggaaa c 41

<210> 193

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 193

tggaattctc ggcggaccag taacttcgaa acggaaac 38

<210> 194

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 194

gaagtggaaa tacgaccttt gcgtaacttc gaaacggaaa c 41

<210> 195

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 195

gctggtccct tgcgtaacat gtaacttcga aacggaaac 39

<210> 196

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 196

ttttcatcta ttcgagatgc tcccgtaact tcgaaacgga aac 43

<210> 197

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 197

tattcatccc gtggggtagt agtaacttcg aaacggaaac 40

<210> 198

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 198

taaaaatagg cccggatttg tctgtaactt cgaaacggaa ac 42

<210> 199

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 199

tccaaccttg acgacaagat agggtaactt cgaaacggaa ac 42

<210> 200

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 200

aggcaacagt cgaaccattc tgtaacttcg aaacggaaac 40

<210> 201

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 201

gcttcatttg cgactgctct tgtaacttcg aaacggaaac 40

<210> 202

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 202

catcaggacg cttgtattgg tggtaacttc gaaacggaaa c 41

<210> 203

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 203

atcttcaatc cgagaatcca gcgtaacttc gaaacggaaa c 41

<210> 204

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 204

ctgtagtgtg gtagtaagga agagtaactt cgaaacggaa ac 42

<210> 205

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 205

gaacacctta cttacaacac ctggtaactt cgaaacggaa ac 42

<210> 206

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 206

gtacattgta caccgttaca atgggtaact tcgaaacgga aac 43

<210> 207

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 207

tttcaagtcg tctatgttag ctggtaactt cgaaacggaa ac 42

<210> 208

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 208

caaagcaact atatgaagct tcattgtaac ttcgaaacgg aaac 44

<210> 209

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 209

catacttcta tcgagagctc agggtaactt cgaaacggaa ac 42

<210> 210

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 210

acgaagaaat cgagtaggtc tagggtaact tcgaaacgga aac 43

<210> 211

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 211

gaatcattga gtcgaccctt cagtaacttc gaaacggaaa c 41

<210> 212

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 212

tgatgtgctt aagtagtgca gcgtaacttc gaaacggaaa c 41

<210> 213

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 213

tccacggcat gatacataca acgtaacttc gaaacggaaa c 41

<210> 214

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 214

tctcagagca tcccgaatcc agtaacttcg aaacggaaac 40

<210> 215

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 215

gtggaacgaa gagtaggtag tttgtaactt cgaaacggaa ac 42

<210> 216

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 216

gatcaatact ggacggagtc aggtaacctc gtcggatca 39

<210> 217

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 217

gagcttgtta ctcgtgcctt ggtaacctcg tcggatca 38

<210> 218

<211> 37

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 218

cttcttacac ttgcggacgc gtaacctcgt cggatca 37

<210> 219

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 219

caatacctat tccgttacac acttgtaacc tcgtcggatc a 41

<210> 220

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 220

gctccttcag tccggtttta ttgtaacctc gtcggatca 39

<210> 221

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 221

gacgcacgag ccgtgatctg taacctcgtc ggatca 36

<210> 222

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 222

gactgctaag gcataggaat tttcgtaacc tcgtcggatc a 41

<210> 223

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 223

caccacataa ttacggggac acgtaacctc gtcggatca 39

<210> 224

<211> 34

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 224

cggcaaggcc cttcgcagta acctcgtcgg atca 34

<210> 225

<211> 37

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 225

tccatctggt acgtggtggg gtaacctcgt cggatca 37

<210> 226

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 226

gtcctgccgc gtatgatttc tgtaacctcg tcggatca 38

<210> 227

<211> 37

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 227

tgttcaggct gacgactgca gtaacctcgt cggatca 37

<210> 228

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 228

gcatggaggt ccgtcctgtg taacctcgtc ggatca 36

<210> 229

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 229

ttgagggagc gtaatcccaa ggtaacctcg tcggatca 38

<210> 230

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 230

ccggcgtctg cgtacttccg taacctcgtc ggatca 36

<210> 231

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 231

cgactatctg cgtctatcat ccgtaacctc gtcggatca 39

<210> 232

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 232

gagaattcga tgatcaactc acggtaacct cgtcggatca 40

<210> 233

<211> 35

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 233

tggcctgtcg tccggtctgt aacctcgtcg gatca 35

<210> 234

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 234

cagggattcc gtcatatggc tgtaacctcg tcggatca 38

<210> 235

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 235

agacatcgat ggtacatatg ggtgtaacct cgtcggatca 40

<210> 236

<211> 37

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 236

tctgagctgt atcgctgcaa gtaacctcgt cggatca 37

<210> 237

<211> 37

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 237

tcttaggccc attcgttgga gtaacctcgt cggatca 37

<210> 238

<211> 37

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 238

ttatacaccg tgccgaacgc gtaacctcgt cggatca 37

<210> 239

<211> 37

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 239

atgcctttg cgatctgcac gtaacctcgt cggatca 37

<210> 240

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 240

ggcagaattc cgaagttcag cgtaacataa tcgtagtttc gg 42

<210> 241

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 241

gtttccttca cgacaggtgt ggtaacataa tcgtagtttc gg 42

<210> 242

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 242

ctggtagaaa tgcgactaaa gacgtaacat aatcgtagtt tcgg 44

<210> 243

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 243

tgaccagcat cgtttcatct aatgtaacat aatcgtagtt tcgg 44

<210> 244

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 244

ttcgaagttc aaccgagtga cgtaacataa tcgtagtttc gg 42

<210> 245

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 245

ccaccaatcc aatgcggaat tgtaacataa tcgtagtttc gg 42

<210> 246

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 246

agactcggtg ccattcgtat tgtaacataa tcgtagtttc gg 42

<210> 247

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 247

ataactgcta actgcgcaac cgtaacataa tcgtagtttc gg 42

<210> 248

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 248

gtagtgaggc cgcttataac cagtaacata atcgtagttt cgg 43

<210> 249

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 249

ggtgatgatt cgatggagtg aagtaacata atcgtagttt cgg 43

<210> 250

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 250

ctgctgcttt acgtttggtg cgtaacataa tcgtagtttc gg 42

<210> 251

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 251

tcatcaacca cgtctttgga tagtaacata atcgtagttt cgg 43

<210> 252

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 252

aggcagatct taaagtgttg gttgtaacat aatcgtagtt tcgg 44

<210> 253

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 253

tgagggctta tacgaaagca aggtaacata atcgtagttt cgg 43

<210> 254

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 254

gctcagtact gactttggta tgtgtaacat aatcgtagtt tcgg 44

<210> 255

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 255

cagtcaatca ttagatccac atctgtaaca taatcgtagt ttcgg 45

<210> 256

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 256

ggaagctgct cgtcgaagcg taacataatc gtagtttcgg 40

<210> 257

<211> 47

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 257

gagaagatac ttatagcttc ttgtctgtaa cataatcgta gtttcgg 47

<210> 258

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 258

tcaatgctat ctaactgatg aagagtaaca taatcgtagt ttcgg 45

<210> 259

<211> 46

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 259

atcttcccaa ttgatgtaag tacttgtaac ataatcgtag tttcgg 46

<210> 260

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 260

catcacagtc cgagacgccg taacataatc gtagtttcgg 40

<210> 261

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 261

cattccaccg gcctgtgcgg taacataatc gtagtttcgg 40

<210> 262

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 262

ggacagcact actctagagt aaggtaacat aatcgtagtt tcgg 44

<210> 263

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 263

tgccaagtaa cttagcacac ccgtaacata atcgtagttt cgg 43

<210> 264

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 264

gtgccacctt tcaccgtgag taaccggtag aattacgg 38

<210> 265

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 265

ccgcaggtac gacttgcctg taaccggtag aattacgg 38

<210> 266

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 266

tgggcttcaa tcagatggtc agtaaccggt agaattacgg 40

<210> 267

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 267

agaacaccag ggtacgcata gtgtaaccgg tagaattacg g 41

<210> 268

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 268

tctccgagag tgtcagcggg taaccggtag aattacgg 38

<210> 269

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 269

gtcttcccgg ccggtcttgg taaccggtag aattacgg 38

<210> 270

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 270

catgttgcag attgtcgcca gtaaccggta gaattacgg 39

<210> 271

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 271

ggttcagtcg tttgcgaaca gtaaccggta gaattacgg 39

<210> 272

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 272

agctaccaat tagacccact cggtaaccgg tagaattacg g 41

<210> 273

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 273

cgtagttctc gtctccgatc agtaaccggt agaattacgg 40

<210> 274

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 274

ggagctgaac ttgacgccag gtaaccggta gaattacgg 39

<210> 275

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 275

taatggatgt actcgttggg cgtaaccggt agaattacgg 40

<210> 276

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 276

tctgtgcata gccgtcccgg taaccggtag aattacgg 38

<210> 277

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 277

tggctggacg gatcggatcg taaccggtag aattacgg 38

<210> 278

<211> 37

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 278

ggtttgcgtc gttgcggcgt aaccggtaga attacgg 37

<210> 279

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 279

tctctgggga cgtgacaaag gtaaccggta gaattacgg 39

<210> 280

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 280

gaattcatca gctagattgg caagtaaccg gtagaattac gg 42

<210> 281

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 281

tcactccgtg ggctaagcgg taaccggtag aattacgg 38

<210> 282

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 282

tgtaagggaa cacggaagtg ggtaaccggt agaattacgg 40

<210> 283

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 283

ctcaatggtg gcgcggatcg taaccggtag aattacgg 38

<210> 284

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 284

aaccactcaa tctgcgtctc ggtaaccggt agaattacgg 40

<210> 285

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 285

gctgtagggc gccattttgt gtaaccggta gaattacgg 39

<210> 286

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 286

tgagtgacgg cattgcgcag taaccggtag aattacgg 38

<210> 287

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 287

caaagtggct catcgccacc gtaaccggta gaattacgg 39

<210> 288

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 288

tctatatgct aaatgtattg ccatggtaac gcttctcata acact 45

<210> 289

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 289

ctatgaaact tcgtggtcac tccgtaacgc ttctcataac act 43

<210> 290

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 290

aactaactca tctgcagtac catgtaacgc ttctcataac act 43

<210> 291

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 291

aaaacctgct tgatccacat tctgtaacgc ttctcataac act 43

<210> 292

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 292

acattaacaa atcactcttg attcagtaac gcttctcata acact 45

<210> 293

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 293

ttttgcttag ctcatggtaa acagtaacgc ttctcataac act 43

<210> 294

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 294

gaggagctgt tggataaata attttgtaac gcttctcata acact 45

<210> 295

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 295

aagcaggcag gtattgtatg attgtaacgc ttctcataac act 43

<210> 296

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 296

gcaacttata tatcagtggt gaatggtaac gcttctcata acact 45

<210> 297

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 297

agattatgta tgcatgagaa ccaacgtaac gcttctcata acact 45

<210> 298

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 298

gatcatgact ctccttatgg ttaatgtaac gcttctcata acact 45

<210> 299

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 299

tgtgaaaccg gtttataaac ctagtaacgc ttctcataac act 43

<210> 300

<211> 46

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 300

aataagatta gctactgtct acagtggtaa cgcttctcat aacact 46

<210> 301

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 301

taaacaaata gtgatacatc cacacgtaac gcttctcata acact 45

<210> 302

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 302

ttcagtcatc taacaatgta ttcctgtaac gcttctcata acact 45

<210> 303

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 303

agctgtggga aagtctttaa ctcgtaacgc ttctcataac act 43

<210> 304

<211> 46

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 304

atagatgaac tattgatgta cacaacgtaa cgcttctcat aacact 46

<210> 305

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 305

tacagatgaa attgagacct aaaacgtaac gcttctcata acact 45

<210> 306

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 306

agcaatttgg gttaacagaa atagagtaac gcttctcata acact 45

<210> 307

<211> 46

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 307

aatccaatgg gataagtact attagtgtaa cgcttctcat aacact 46

<210> 308

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 308

aatgttattc cgtggaaaat tacatgtaac gcttctcata acact 45

<210> 309

<211> 47

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 309

ttacagaatt gtgtctgaaa aattatggta acgcttctca taacact 47

<210> 310

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 310

atcagagagg cgctatgcct gtaacgcttc tcataacact 40

<210> 311

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 311

cggcgacacg atacagcggt aacgcttctc ataacact 38

<210> 312

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 312

cacttcaaat gcgcaacaag cgtaacgtcg ctgaaaaatc 40

<210> 313

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 313

gtaagcactg cgcaagacaa gtaacgtcgc tgaaaaatc 39

<210> 314

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 314

gtgatgagct cgacaggata ttgtaacgtc gctgaaaaat c 41

<210> 315

<211> 37

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 315

atggcgtcgt cggcacacgt aacgtcgctg aaaaatc 37

<210> 316

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 316

tttacaacag cgtggcaagt ggtaacgtcg ctgaaaaatc 40

<210> 317

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 317

aggcatgaag tgagacaatg cgtaacgtcg ctgaaaaatc 40

<210> 318

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 318

cctggctagt ggtatatgtc acgtaacgtc gctgaaaaat c 41

<210> 319

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 319

gctgatgatg ttcaagcgca gtaacgtcgc tgaaaaatc 39

<210> 320

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 320

ctgccagtta gttaggcaag ttgtaacgtc gctgaaaaat c 41

<210> 321

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 321

gcagctccgg gctacaagtg taacgtcgct gaaaaatc 38

<210> 322

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 322

tggcagctgt ctaactggag cgtaacgtcg ctgaaaaatc 40

<210> 323

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 323

acgcgtgtgc gagtagatgg taacgtcgct gaaaaatc 38

<210> 324

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 324

agctccacga aggatgccag taacgtcgct gaaaaatc 38

<210> 325

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 325

tgaggacggc atcgagatcc gtaacgtcgc tgaaaaatc 39

<210> 326

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 326

gtcttgagac ccggtcttgg gtaacgtcgc tgaaaaatc 39

<210> 327

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 327

agtggtctgg atcggtgcgg taacgtcgct gaaaaatc 38

<210> 328

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 328

tccattctgg gtcgagtgga gtaacgtcgc tgaaaaatc 39

<210> 329

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 329

ggaccccaag gtgttccaag gtaacgtcgc tgaaaaatc 39

<210> 330

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 330

agcagcttgg ctactccccg taacgtcgct gaaaaatc 38

<210> 331

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 331

tttgggtatg ggtactgtgt agagtaacgt cgctgaaaaa tc 42

<210> 332

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 332

gccgcaggga tagatccagg gtaacgtcgc tgaaaaatc 39

<210> 333

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 333

tgaagacagt cctatggact tccgtaacgt cgctgaaaaa tc 42

<210> 334

<211> 37

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 334

aagctgaagc gcgggtcagt aacgtcgctg aaaaatc 37

<210> 335

<211> 37

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 335

ccacgcagcc cttcgagagt aacgtcgctg aaaaatc 37

<210> 336

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 336

tagtaggtgt cgacaactag agcgtaactc ttcaagatta atacc 45

<210> 337

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 337

gatggtcctg atcgagaaac cagtaactct tcaagattaa tacc 44

<210> 338

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 338

aagaggactt cgctgaattg acgtaactct tcaagattaa tacc 44

<210> 339

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 339

gaacctccga ctgtatgtca gcgtaactct tcaagattaa tacc 44

<210> 340

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 340

tctgaattag agcgatgttg acagtaactc ttcaagatta atacc 45

<210> 341

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 341

gcattcctcc gatcgcacag taactcttca agattaatac c 41

<210> 342

<211> 46

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 342

ctctatattt agctcgctgt tcaagtaact cttcaagatt aatacc 46

<210> 343

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 343

tattcatcac ggcgcgcttg taactcttca agattaatac c 41

<210> 344

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 344

cattggggac cgtgcataaa agtaactctt caagattaat acc 43

<210> 345

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 345

caaggggtgc actatttggg agtaactctt caagattaat acc 43

<210> 346

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 346

ggaccgtatt tcggcgaaat agtaactctt caagattaat acc 43

<210> 347

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 347

atactgcact tgtcggcatg agtaactctt caagattaat acc 43

<210> 348

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 348

atggcagatc gatccattgg tgtaactctt caagattaat acc 43

<210> 349

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 349

tccctttgga ccgtcaagaa ggtaactctt caagattaat acc 43

<210> 350

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 350

aggcttgctg acatacgcag gtaactcttc aagattaata cc 42

<210> 351

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 351

cttgctttgt gcgaacaccc gtaactcttc aagattaata cc 42

<210> 352

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 352

ctgatatcga atgcaatgga tgagtaactc ttcaagatta atacc 45

<210> 353

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 353

taggactggt ccgtcaaaaa cgtaactctt caagattaat acc 43

<210> 354

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 354

tgaccattct cgggacacta acgtaactct tcaagattaa tacc 44

<210> 355

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 355

atgattgggt ccgtaaaaat gcgtaactct tcaagattaa tacc 44

<210> 356

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 356

gtttcatgta tggtaggacc accgtaactc ttcaagatta atacc 45

<210> 357

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 357

ctcttgcatc gtagcgaact agtaactctt caagattaat acc 43

<210> 358

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 358

atgatgattc cctcggtcag agtaactctt caagattaat acc 43

<210> 359

<211> 46

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 359

agtagagaag atcgctgata tccggtaact cttcaagatt aatacc 46

<210> 360

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 360

aacccttgac atcgccagtt tgtaacgtac cgtttgtata tg 42

<210> 361

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 361

gaaggttaaa cgagatttcc aaaggtaacg taccgtttgt atatg 45

<210> 362

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 362

gccactcgac atttctgccg gtaacgtacc gtttgtatat g 41

<210> 363

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 363

tcatactgtc cgcaacatcc ggtaacgtac cgtttgtata tg 42

<210> 364

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 364

gccactcgac atttctgccg gtaacgtacc gtttgtatat g 41

<210> 365

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 365

tcatactgtc cgcaacatcc ggtaacgtac cgtttgtata tg 42

<210> 366

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 366

tgaattttgc ccgaacttca ctgtaacgta ccgtttgtat atg 43

<210> 367

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 367

acacactcgg agcgcgcgta acgtaccgtt tgtatatg 38

<210> 368

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 368

caaacctata tgcccgttga ctgtaacgta ccgtttgtat atg 43

<210> 369

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 369

caggaacctt taccatgttc atggtaacgt accgtttgta tatg 44

<210> 370

<211> 46

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 370

gaaaatctct acggatgaat ttcttgtaac gtaccgtttg tatatg 46

<210> 371

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 371

gctgctaaga tagccttgtg aggtaacgta ccgtttgtat atg 43

<210> 372

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 372

tggcactaaa aaccggagaa cgtaacgtac cgtttgtata tg 42

<210> 373

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 373

tgcgggaccg ccgatacagt aacgtaccgt ttgtatatg 39

<210> 374

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 374

ggaaattaaa cggagtctta caacgtaacg taccgtttgt atatg 45

<210> 375

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 375

agccagagag cggtatgccg taacgtaccg tttgtatatg 40

<210> 376

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 376

ccaccaagtg gggatgtgac gtaacgtacc gtttgtatat g 41

<210> 377

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 377

cacacatgac ctttaagcgc tgtaacgtac cgtttgtata tg 42

<210> 378

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 378

tccacagatt gcgctgtcta gtaacgtacc gtttgtatat g 41

<210> 379

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 379

ctccacggac aggttactgc gtaacgtacc gtttgtatat g 41

<210> 380

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 380

gcgtcatggc gtcagcacgt aacgtaccgt ttgtatatg 39

<210> 381

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 381

tcctggccgg caacacacgt aacgtaccgt ttgtatatg 39

<210> 382

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 382

agccattttg tcgaggtttg ggtaacgtac cgtttgtata tg 42

<210> 383

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 383

catccgaagc atgatagttg atggtaacgt accgtttgta tatg 44

<210> 384

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 384

tagtgtgttg cgtatcaagt atctagacga tgcgaattaa cac 43

<210> 385

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 385

ttattgtgaa ctctagacat gagagtagac gatgcgaatt aacac 45

<210> 386

<211> 46

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 386

acagtgaata ctaagactgt aaaaactaga cgatgcgaat taacac 46

<210> 387

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 387

acacaaggca cgtagaaaca gtagacgatg cgaattaaca c 41

<210> 388

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 388

caatggacag cggttgtgaa atagacgatg cgaattaaca c 41

<210> 389

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 389

caccatcacc tatcgacaga gttagacgat gcgaattaac ac 42

<210> 390

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 390

cattgcatta cgttccacat ggtagacgat gcgaattaac ac 42

<210> 391

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 391

acacagagtg tccgataccc atagacgatg cgaattaaca c 41

<210> 392

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 392

ggtgattaca ttgagtgcta ggatagacga tgcgaattaa cac 43

<210> 393

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 393

tccacataag cgttcaaggt atagacgatg cgaattaaca c 41

<210> 394

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 394

cagaataatc gctattccta gctgtagacg atgcgaatta acac 44

<210> 395

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 395

ttacactcat acgtcgccgg tagacgatgc gaattaacac 40

<210> 396

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 396

tggccataaa ggctacttac aattagacga tgcgaattaa cac 43

<210> 397

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 397

tttcaagtta ttcgatctgc taacctagac gatgcgaatt aacac 45

<210> 398

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 398

agttagtcaa ggactttact aaggttagac gatgcgaatt aacac 45

<210> 399

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 399

ttacctcaaa tacgggctac catagacgat gcgaattaac ac 42

<210> 400

<211> 47

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 400

gagttatatt actctaacta aagccagtag acgatgcgaa ttaacac 47

<210> 401

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 401

ttgtcaacac gcataaaatc tgctagacga tgcgaattaa cac 43

<210> 402

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 402

tcatatacaa tcggggatct gagtagacga tgcgaattaa cac 43

<210> 403

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 403

cccacaaaaa tacccgtaag ttatagacga tgcgaattaa cac 43

<210> 404

<211> 47

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 404

cactaaatta ttacgaattt tgcaaagtag acgatgcgaa ttaacac 47

<210> 405

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 405

tcaaataaaa accgtcaaaa gtttatagac gatgcgaatt aacac 45

<210> 406

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 406

agtgcaatgg tatcacgtac tgtagacgat gcgaattaac ac 42

<210> 407

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 407

atgtgtcttg caattggatt ccctagacga tgcgaattaa cac 43

<210> 408

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 408

ggtgtgcgcg tcgtacacta gacccgttat aagtgttg 38

<210> 409

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 409

gtgtttaggg tcgcggttga tagacccgtt ataagtgttg 40

<210> 410

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 410

gagaatggcg aagtaaatgc cctagacccg ttataagtgt tg 42

<210> 411

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 411

gtagatggaa tagacacggc tgtagacccg ttataagtgt tg 42

<210> 412

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 412

gctcttaatg catggtacaa ctgtagaccc gttataagtg ttg 43

<210> 413

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 413

aaaccagtat ttcgtcacag tgatagaccc gttataagtg ttg 43

<210> 414

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 414

gatgggaacg gtgtagagat gttagacccg ttataagtgt tg 42

<210> 415

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 415

ttccaaatgc cgtcaaaact gttagacccg ttataagtgt tg 42

<210> 416

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 416

tgggtcacag acggtgtggt agacccgtta taagtgttg 39

<210> 417

<211> 46

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 417

aatcaggtat acttctatcc ttgaaataga cccgttataa gtgttg 46

<210> 418

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 418

tgctgtatta gcaacttgga acttagaccc gttataagtg ttg 43

<210> 419

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 419

gccaataaag cgatggttga tctagacccg ttataagtgt tg 42

<210> 420

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 420

gtaaggatca ctggatccta ctgtagaccc gttataagtg ttg 43

<210> 421

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 421

gacctcattc agttgatgag aggtagaccc gttataagtg ttg 43

<210> 422

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 422

gcataacaga cggttgcaag ttagacccgt tataagtgtt g 41

<210> 423

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 423

acctaaagcg agttgctgag ttagacccgt tataagtgtt g 41

<210> 424

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 424

gagtcagaaa cacgcatgga atagacccgt tataagtgtt g 41

<210> 425

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 425

agcaactctg ataggctcac actagacccg ttataagtgt tg 42

<210> 426

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 426

ccatacccac tacggataaa gatgtagacc cgttataagt gttg 44

<210> 427

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 427

gctttctgta cgactcaggt tttagacccg ttataagtgt tg 42

<210> 428

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 428

caatgttgag ccactaaacc actagacccg ttataagtgt tg 42

<210> 429

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 429

atgcttggat taggtccaaa gctagacccg ttataagtgt tg 42

<210> 430

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 430

cccggtgatg gattagtttg gtagacccgt tataagtgtt g 41

<210> 431

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 431

ccatggccat accctggaat ttagacccgt tataagtgtt g 41

<210> 432

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 432

attatactgt ccagcgtagg tggtagacaa ccgtcgttaa g 41

<210> 433

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 433

tcctggtaag gataggtacc atgtagacaa ccgtcgttaa g 41

<210> 434

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 434

cactgaaata ggacggaatc tgctagacaa ccgtcgttaa g 41

<210> 435

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 435

aaagtttatt ggcgcttgcc gtagacaacc gtcgttaag 39

<210> 436

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 436

gcaatgccat tagcgatacg atagacaacc gtcgttaag 39

<210> 437

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 437

tgattgaaca ccacgcgaca tagacaaccg tcgttaag 38

<210> 438

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 438

agtcttcgaa gcactattgc catagacaac cgtcgttaag 40

<210> 439

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 439

tcaatggttg atcggcctct ctagacaacc gtcgttaag 39

<210> 440

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 440

tggcatgatg tctaatagga gtctagacaa ccgtcgttaa g 41

<210> 441

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 441

ctgcggttta gccttgacgt tagacaaccg tcgttaag 38

<210> 442

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 442

cccagaggac gccatcattt tagacaaccg tcgttaag 38

<210> 443

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 443

tttcttgaaa gacgacagca gttagacaac cgtcgttaag 40

<210> 444

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 444

attaaatgtt cggaaggatg acctagacaa ccgtcgttaa g 41

<210> 445

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 445

tcttttgtca gcacggttgc tagacaaccg tcgttaag 38

<210> 446

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 446

ctggatcagc tcgaccagga tagacaaccg tcgttaag 38

<210> 447

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 447

accatggtcc gacttctgcc tagacaaccg tcgttaag 38

<210> 448

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 448

ctggatattc ggttatctgg gctagacaac cgtcgttaag 40

<210> 449

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 449

atccccttta cgatactctt cagtagacaa ccgtcgttaa g 41

<210> 450

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 450

tccagagcgg gaacagtatg tagacaaccg tcgttaag 38

<210> 451

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 451

gttgcctgca taagatgggc tagacaaccg tcgttaag 38

<210> 452

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 452

ccttttgtgc cgatgacccg tagacaaccg tcgttaag 38

<210> 453

<211> 37

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 453

gcttccgtgg actgggacgt agacaaccgt cgttaag 37

<210> 454

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 454

ccatagaagg acgaggtatt tcctagacaa ccgtcgttaa g 41

<210> 455

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 455

agaatgagtc gctgctcgat atagacaacc gtcgttaag 39

<210> 456

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 456

gcttcgacaa acgcaaagcg tagactcaat gatgataaag a 41

<210> 457

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 457

gctagttcac agaaagacca ttttagactc aatgatgata aaga 44

<210> 458

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 458

cagctcatcg aaagcgaccc tagactcaat gatgataaag a 41

<210> 459

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 459

cggctgctac aaacctcggt agactcaatg atgataaaga 40

<210> 460

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 460

aacaatttga aggccccaca atagactcaa tgatgataaa ga 42

<210> 461

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 461

gcgtctgcac cggagactta gactcaatga tgataaaga 39

<210> 462

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 462

gcgctgctca ggcattggta gactcaatga tgataaaga 39

<210> 463

<211> 47

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 463

ttgttgtgta acaacataat ttcaagtaga ctcaatgatg ataaaga 47

<210> 464

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 464

ctccacgtcg gcgtgcatag actcaatgat gataaaga 38

<210> 465

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 465

ctgcggggat tgtagccggt agactcaatg atgataaaga 40

<210> 466

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 466

atcttagcta ctgaccggct atagactcaa tgatgataaa ga 42

<210> 467

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 467

aagagattat acgcctcacg gatagactca atgatgataa aga 43

<210> 468

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 468

tttcgagtaa cgaaattagc tcctagactc aatgatgata aaga 44

<210> 469

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 469

gacccgcaga ttggcacgta gactcaatga tgataaaga 39

<210> 470

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 470

atggccccaa tctcgtttgg tagactcaat gatgataaag a 41

<210> 471

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 471

ccagtagcta taacgaagtc ctctagactc aatgatgata aaga 44

<210> 472

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 472

acaaattccc ggacactatg gatagactca atgatgataa aga 43

<210> 473

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 473

ttcacagagt tgataaggcc actagactca atgatgataa aga 43

<210> 474

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 474

aactttgccg gtctctttac attagactca atgatgataa aga 43

<210> 475

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 475

ttccaatgtg caagaatgat ttcttagact caatgatgat aaaga 45

<210> 476

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 476

ctccttctgg ggtatttcct gctagactca atgatgataa aga 43

<210> 477

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 477

ccacttcagt tggccggtat agactcaatg atgataaaga 40

<210> 478

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 478

tccgtcaacg tccgcagtta gactcaatga tgataaaga 39

<210> 479

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 479

agtgagatcg ccatagtgca atagactcaa tgatgataaa ga 42

<210> 480

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 480

gaaggtgacc ctataaggag tcatagacta caacaaaaga tcg 43

<210> 481

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 481

aacaccgctt gcatagttgt gtagactaca acaaaagatc g 41

<210> 482

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 482

tacagacgcg gaatcattct ctagactaca acaaaagatc g 41

<210> 483

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 483

tggaggaaat gagcatgacc ttagactaca acaaaagatc g 41

<210> 484

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 484

atggtgtaca ctcgaggctg atagactaca acaaaagatc g 41

<210> 485

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 485

ccttgtggta gacgttcagc ttagactaca acaaaagatc g 41

<210> 486

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 486

ggatcaggtt taatggtcac tatgtagact acaacaaaag atcg 44

<210> 487

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 487

cacacggtca acgctgtaca tagactacaa caaaagatcg 40

<210> 488

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 488

caggtgtttg cggaagttcc tagactacaa caaaagatcg 40

<210> 489

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 489

gtgctcatgg tcgtagagga tagactacaa caaaagatcg 40

<210> 490

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 490

aagtcaaagt acgtctcgat cattagacta caacaaaaga tcg 43

<210> 491

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 491

tcgtagcagc cgttggagat agactacaac aaaagatcg 39

<210> 492

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 492

tcgtggccag agtaggcatt agactacaac aaaagatcg 39

<210> 493

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 493

ggtactctcc aaacgctcgg tagactacaa caaaagatcg 40

<210> 494

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 494

aggtacgaat agggatgtcg tctagactac aacaaaagat cg 42

<210> 495

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 495

agggtatcgt acatcgttcc aatagactac aacaaaagat cg 42

<210> 496

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 496

caggtgatct gcgccgttgt agactacaac aaaagatcg 39

<210> 497

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 497

ccacaggcga tacaaccggt agactacaac aaaagatcg 39

<210> 498

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 498

cagcagcttc gagtgctggt agactacaac aaaagatcg 39

<210> 499

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 499

ccctcacagg acgtcgtcat agactacaac aaaagatcg 39

<210> 500

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 500

gcacgaagcc ttcggtgtct agactacaac aaaagatcg 39

<210> 501

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 501

tgggaagtgt cggctttcat gtagactaca acaaaagatc g 41

<210> 502

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 502

tgggaagtgt cggctttcat gtagactaca acaaaagatc g 41

<210> 503

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 503

tgctcgcact ttggccgcta gactacaaca aaagatcg 38

<210> 504

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 504

gtcttttggc acggtttctg ttagactgta ttcaacgtcc 40

<210> 505

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 505

tacttcttca acgcgaagag ctagactgta ttcaacgtcc 40

<210> 506

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 506

tttgaggttg tatccgctgc ttagactgta ttcaacgtcc 40

<210> 507

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 507

caagttgact aaatctcgta ctttctagac tgtattcaac gtcc 44

<210> 508

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 508

gccttattaa cggtatcttc agaatagact gtattcaacg tcc 43

<210> 509

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 509

tgttctggat ttcgcaggtc ctagactgta ttcaacgtcc 40

<210> 510

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 510

gctttatcag gttatgttgc atgtagactg tattcaacgt cc 42

<210> 511

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 511

gattctggct tatagggtat tcactagact gtattcaacg tcc 43

<210> 512

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 512

ttttcctccc gcaattccta gatagactgt attcaacgtc c 41

<210> 513

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 513

tgtttccgtc aaatcgtgtg gtagactgta ttcaacgtcc 40

<210> 514

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 514

ggttccctct agatcttgcc tttagactgt attcaacgtc c 41

<210> 515

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 515

gcatgtacca cctatcatct aatgtagact gtattcaacg tcc 43

<210> 516

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 516

gttgccaaca cgagctgact tagactgtat tcaacgtcc 39

<210> 517

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 517

actgactact agttcaagcg catagactgt attcaacgtc c 41

<210> 518

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 518

tctcttgctc gctttggacc tagactgtat tcaacgtcc 39

<210> 519

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 519

cactgctaga acaactatca atttgtagac tgtattcaac gtcc 44

<210> 520

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 520

ttacatggct taagttgggg agtagactgt attcaacgtc c 41

<210> 521

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 521

gtgaggggac gctcttgtat ttagactgta ttcaacgtcc 40

<210> 522

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 522

aacggtgcta tgcctagtag atagactgta ttcaacgtcc 40

<210> 523

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 523

tttgccttcc ctagagtgct atagactgta ttcaacgtcc 40

<210> 524

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 524

atgtcccaat ggatacttaa agcctagact gtattcaacg tcc 43

<210> 525

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 525

cttccagtaa cgagatactt tccttagact gtattcaacg tcc 43

<210> 526

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 526

caaccatgaa ttagtccctt gggtagactg tattcaacgt cc 42

<210> 527

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 527

cagcattatt agacacttta actgttagac tgtattcaac gtcc 44

<210> 528

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 528

tgcacatatg attgacgctc agtagactct tatattgagt ggt 43

<210> 529

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 529

ttcaccgcct gcaacaagat agactcttat attgagtggt 40

<210> 530

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 530

ttcacttaca ggtaacacca agttagactc ttatattgag tggt 44

<210> 531

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 531

aagcaataga tcgtccataa gttatagact cttatattga gtggt 45

<210> 532

<211> 48

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 532

tacaagaacc ctaattgtaa taatagatag actcttatat tgagtggt 48

<210> 533

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 533

gaataggacc aaagtgtccc ttgtagactc ttatattgag tggt 44

<210> 534

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 534

tccatcagga ctaaatctca cactagactc ttatattgag tggt 44

<210> 535

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 535

aaaggccata cgtttttcct acctagactc ttatattgag tggt 44

<210> 536

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 536

gcagtgtaca atgaacgaga aattagactc ttatattgag tggt 44

<210> 537

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 537

ggcattctgc tttaagatca gaatagactc ttatattgag tggt 44

<210> 538

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 538

ggccagccac gattcacagt agactcttat attgagtggt 40

<210> 539

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 539

gaagccagcg accggactta gactcttata ttgagtggt 39

<210> 540

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 540

ctgagggtcg tcgttgtctt tagactctta tattgagtgg t 41

<210> 541

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 541

ctgaaccact ggcatagagt tctagactct tatattgagt ggt 43

<210> 542

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 542

aaatcaacca cgggtcgcgt agactcttat attgagtggt 40

<210> 543

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 543

agcaacagtc gacgagggat agactcttat attgagtggt 40

<210> 544

<211> 48

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 544

atatattcca tactactaac agacatatag actcttatat tgagtggt 48

<210> 545

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 545

tccacaccgg catcggctag actcttatat tgagtggt 38

<210> 546

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 546

agaagggcaa tccggtggct agactcttat attgagtggt 40

<210> 547

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 547

tcagggagtc tgcgaccagt agactcttat attgagtggt 40

<210> 548

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 548

gctttgccag ctcaccactt agactcttat attgagtggt 40

<210> 549

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 549

aaatacccat aaggcgtgat gctagactct tatattgagt ggt 43

<210> 550

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 550

attactatcc tgcgtgaaat ccatagactc ttatattgag tggt 44

<210> 551

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 551

cccaaagtcg aacagttttg tctagactct tatattgagt ggt 43

<210> 552

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 552

tcctcaaatg tccgaggatg atagacctat tctatgcttc g 41

<210> 553

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 553

gtgaacacaa cgtaagaaca ggtagaccta ttctatgctt cg 42

<210> 554

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 554

actcctctgg ttacgcttca tttagaccta ttctatgctt cg 42

<210> 555

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 555

acctaacata accgtgctgc ctagacctat tctatgcttc g 41

<210> 556

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 556

ttcagttgac cgtctggaca ctagacctat tctatgcttc g 41

<210> 557

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 557

ctctgacaca cgtaacaata acatagacct attctatgct tcg 43

<210> 558

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 558

agtaatgtga ggtacaactg cattagacct attctatgct tcg 43

<210> 559

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 559

gcttctttcc cgcccaaaat atagacctat tctatgcttc g 41

<210> 560

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 560

aaagaaaagc ggtctactag attatagacc tattctatgc ttcg 44

<210> 561

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 561

tgacgtgcgg cgaaatttat gtagacctat tctatgcttc g 41

<210> 562

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 562

gcttattgca gcgatggatg atagacctat tctatgcttc g 41

<210> 563

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 563

tgtcagtaga cgatagagga ggtagaccta ttctatgctt cg 42

<210> 564

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 564

ttggttccga ctacccaaca gtagacctat tctatgcttc g 41

<210> 565

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 565

ctcttaagta cgcaataatt ctctctagac ctattctatg cttcg 45

<210> 566

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 566

gttccgtata tgtcggatct ctctagacct attctatgct tcg 43

<210> 567

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 567

aaattcaccg gacggagtgt ttagacctat tctatgcttc g 41

<210> 568

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 568

tttgtgaaac cgtagtggct cttagaccta ttctatgctt cg 42

<210> 569

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 569

acctctttaa cgaaggtgtc agtagaccta ttctatgctt cg 42

<210> 570

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 570

ggactccggt tctaacttgg ttagacctat tctatgcttc g 41

<210> 571

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 571

atctctatat gacgtgctgt tggtagacct attctatgct tcg 43

<210> 572

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 572

gttggaatta ttcggagact gagtagacct attctatgct tcg 43

<210> 573

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 573

gcacatttga cgacggcttc tagacctatt ctatgcttcg 40

<210> 574

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 574

actccgtgta aacgcagtgg tagacctatt ctatgcttcg 40

<210> 575

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 575

acacataact cgttaacacg ttctagacct attctatgct tcg 43

<210> 576

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 576

cagatctgtt gagctaacag ggtagacatg ttataccatg cg 42

<210> 577

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 577

ttctagacta tgcaaccctc taggtagaca tgttatacca tgcg 44

<210> 578

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 578

cacccatgtg agtaatacac tgctagacat gttataccat gcg 43

<210> 579

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 579

agtcccatat tgccgttcat gctagacatg ttataccatg cg 42

<210> 580

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 580

atttcctcat aacggtcatg gctagacatg ttataccatg cg 42

<210> 581

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 581

ttactgccta gctagcaggt tatagacatg ttataccatg cg 42

<210> 582

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 582

acgtgccctt ggtactatga ctagacatgt tataccatgc g 41

<210> 583

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 583

cttgccaaac cctagcttgg atagacatgt tataccatgc g 41

<210> 584

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 584

attatcactt aacgaaggtc ctttgtagac atgttatacc atgcg 45

<210> 585

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 585

atatacagcc taagcaccaa ttatgtagac atgttatacc atgcg 45

<210> 586

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 586

ggcaacaaaa cgtcatggca tagacatgtt ataccatgcg 40

<210> 587

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 587

gtctgaggac taaccctaaa gggtagacat gttataccat gcg 43

<210> 588

<211> 46

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 588

cttaaaatag atcgaaactc tgtctctaga catgttatac catgcg 46

<210> 589

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 589

tgatctgtac aagctacgat tttatagaca tgttatacca tgcg 44

<210> 590

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 590

aaatcagtta taccaagggg agatagacat gttataccat gcg 43

<210> 591

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 591

taggaaaaca tacgtatact gaatatagac atgttatacc atgcg 45

<210> 592

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 592

agttggcctc acgttgcatt tagacatgtt ataccatgcg 40

<210> 593

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 593

tttggtctcg gcttgcgaat tagacatgtt ataccatgcg 40

<210> 594

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 594

cagtagtcaa cgcagcactc atagacatgt tataccatgc g 41

<210> 595

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 595

caacaggatc acctaatatt cccatagaca tgttatacca tgcg 44

<210> 596

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 596

tttggacaga tatctcctcg aaatagacat gttataccat gcg 43

<210> 597

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 597

aaaggctatc tacactttgg caatagacat gttataccat gcg 43

<210> 598

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 598

tgcctggatc ctatcccgac tagacatgtt ataccatgcg 40

<210> 599

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 599

tgtggtcacc tacacgctgc tagacatgtt ataccatgcg 40

<210> 600

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 600

ggtgagctgg taatctgacc ttagacaatc tatttaccct acg 43

<210> 601

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 601

gttgcaggca tgacgcaagt agacaatcta tttaccctac g 41

<210> 602

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 602

aaaacgccta cgcatcatgt ctagacaatc tatttaccct acg 43

<210> 603

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 603

tggtcctgcg cggatgtcta gacaatctat ttaccctacg 40

<210> 604

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 604

ggtgagcttc tccgtggcgt agacaatcta tttaccctac g 41

<210> 605

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 605

agcgcagggc caattgactt agacaatcta tttaccctac g 41

<210> 606

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 606

ccgggtacac ggttttgatc ttagacaatc tatttaccct acg 43

<210> 607

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 607

ccggctcgat gtcgggtata gacaatctat ttaccctacg 40

<210> 608

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 608

ggcgccttct cgccacatta gacaatctat ttaccctacg 40

<210> 609

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 609

cacgttgaag cgcgggtgta gacaatctat ttaccctacg 40

<210> 610

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 610

gcccacagaa accggtttaa tgtagacaat ctatttaccc tacg 44

<210> 611

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 611

tcagaatgag cgcaatccag gtagacaatc tatttaccct acg 43

<210> 612

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 612

ttcggacaca aagacgctcc tagacaatct atttacccta cg 42

<210> 613

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 613

agcttgacgt aggtgtcggt tagacaatct atttacccta cg 42

<210> 614

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 614

ggttcccgcc aaatttcccg tagacaatct atttacccta cg 42

<210> 615

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 615

cagggctcat gatagtacaa cagtagacaa tctatttacc ctacg 45

<210> 616

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 616

ggactttagc gcggtctcct agacaatcta tttaccctac g 41

<210> 617

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 617

gcagccgttc taagcgctgt agacaatcta tttaccctac g 41

<210> 618

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 618

gctggtaaag gcgcttccct agacaatcta tttaccctac g 41

<210> 619

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 619

gaagaagtcg gtgacgcggt agacaatcta tttaccctac g 41

<210> 620

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 620

ggctggaaac ctcgtccact agacaatcta tttaccctac g 41

<210> 621

<211> 48

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 621

tttattagag tttaggaggt cagaaataga caatctattt accctacg 48

<210> 622

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 622

tgggaggtcc catattcaga ggtagacaat ctatttaccc tacg 44

<210> 623

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 623

tccagggatg tcctacttgt cctagacaat ctatttaccc tacg 44

<210> 624

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 624

ccaggtttcc ggcacagtgg gtaactgaat tgtcacttta 40

<210> 625

<211> 46

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 625

tgttatactt tgtcgctctt agtagagtaa ctgaattgtc acttta 46

<210> 626

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 626

agcttttaac caggtttcga cttcgtaact gaattgtcac ttta 44

<210> 627

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 627

gtatgagaat cccgataaaa ctggtgtaac tgaattgtca cttta 45

<210> 628

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 628

aagaggacat cgaccaatcc tcagtaactg aattgtcact tta 43

<210> 629

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 629

ggtttgtgca agggtcgaaa acgtaactga attgtcactt ta 42

<210> 630

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 630

acacctctcg tagctataga tgtggtaact gaattgtcac ttta 44

<210> 631

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 631

atgagagggc aaccgaggtg agtaactgaa ttgtcacttt a 41

<210> 632

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 632

ccgctgtcag ggtctatcat tccgtaactg aattgtcact tta 43

<210> 633

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 633

gcaatgagca tatcctcggg cgtaactgaa ttgtcacttt a 41

<210> 634

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 634

ggcttgagtg ggttcaccca ggtaactgaa ttgtcacttt a 41

<210> 635

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 635

gcaaggtatg gcaatagctg agtgtaactg aattgtcact tta 43

<210> 636

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 636

cagtaatagt agagacgcca ctacagtaac tgaattgtca cttta 45

<210> 637

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 637

cttccaaagt gtcgcttcag agggtaactg aattgtcact tta 43

<210> 638

<211> 46

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 638

aggcaatttt cccgatactt tttattgtaa ctgaattgtc acttta 46

<210> 639

<211> 46

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 639

tgttagcttc tatagtcact attcgagtaa ctgaattgtc acttta 46

<210> 640

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 640

tcaacaagta atgtatcccg ttcatgtaac tgaattgtca cttta 45

<210> 641

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 641

tttccttggc cgtaagttgt tttcgtaact gaattgtcac ttta 44

<210> 642

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 642

gggtcaaccc agtctgttac ctgtaactga attgtcactt ta 42

<210> 643

<211> 46

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 643

tctgagactg atagggaaac atatgggtaa ctgaattgtc acttta 46

<210> 644

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 644

tctttgccac caatagcttg gagtaactga attgtcactt ta 42

<210> 645

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 645

ctcattggaa tggttagtag agcaagtaac tgaattgtca cttta 45

<210> 646

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 646

ctgagtaaag agcgtgtatt ccaggtaact gaattgtcac ttta 44

<210> 647

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 647

tggaggcata aagctggtag gcgtaactga attgtcactt ta 42

<210> 648

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 648

ggatctcaag cgttgcaggc gtaacgatag atttatacga cg 42

<210> 649

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 649

gcaccgcgag cggactagta acgatagatt tatacgacg 39

<210> 650

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 650

tgctgaggtc gctcacgaag taacgataga tttatacgac g 41

<210> 651

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 651

ccggaccacg tagttaaatc ttgtaacgat agatttatac gacg 44

<210> 652

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 652

aagttctttt gggcgatgcc agtaacgata gatttatacg acg 43

<210> 653

<211> 48

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 653

gttcccttat tagtctaatg ttttgcgtaa cgatagattt atacgacg 48

<210> 654

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 654

ttggaccagt gtacataagg atggtaacga tagatttata cgacg 45

<210> 655

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 655

tggcagtgca cggatggtcg taacgataga tttatacgac g 41

<210> 656

<211> 47

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 656

ataccaattc tagtgagaag ttcacgtaac gatagattta tacgacg 47

<210> 657

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 657

tctctgtagg gtaaggctct gtgtaacgat agatttatac gacg 44

<210> 658

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 658

tttagaggta gaccattgtg tgggtaacga tagatttata cgacg 45

<210> 659

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 659

agagagggca ctctacgctt gtaacgatag atttatacga cg 42

<210> 660

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 660

caaaaagccc tagctcagat gggtaacgat agatttatac gacg 44

<210> 661

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 661

cctctcctcc ctatttggct ggtaacgata gatttatacg acg 43

<210> 662

<211> 46

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 662

ttttacaacg aactcattag gtccgtaacg atagatttat acgacg 46

<210> 663

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 663

ggagtagatc ccccatctat tccgtaacga tagatttata cgacg 45

<210> 664

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 664

gtctcttgcc tcgtttctct ccgtaacgat agatttatac gacg 44

<210> 665

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 665

aattctggcg tagcacaaac agtaacgata gatttatacg acg 43

<210> 666

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 666

ggccatgaac ccctaaatct aaagtaacga tagatttata cgacg 45

<210> 667

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 667

gcccactggt accatcttgg gtaacgatag atttatacga cg 42

<210> 668

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 668

taccacgtgg cactaacaca gtaacgatag atttatacga cg 42

<210> 669

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 669

ttctagcttt tagaccagca gttgtaacga tagatttata cgacg 45

<210> 670

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 670

cccaagtgct agtagaacct gcgtaacgat agatttatac gacg 44

<210> 671

<211> 47

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 671

aaacacatct atactcaaag acagagtaac gatagattta tacgacg 47

<210> 672

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 672

cacagacttg ccgactcttt ggtaacgata gatttatacg acg 43

<210> 673

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 673

cacatgttaa tgttcccgac cagtaacgat agatttatac gacg 44

<210> 674

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 674

attaatcgtt tgcggatctg ccgtaacgat agatttatac gacg 44

<210> 675

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 675

tgggtaacat cggacaagtt tggtaacgat agatttatac gacg 44

<210> 676

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 676

tctgaagttt cgagccaatg ttgtaacgat agatttatac gacg 44

<210> 677

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 677

ccattttcac cgctgaaata gagtaacgat agatttatac gacg 44

<210> 678

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 678

ctggatcaca tgcgttgtca ggtaacgata gatttatacg acg 43

<210> 679

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 679

atatttgcct cgtaagatcc cctgtaacga tagatttata cgacg 45

<210> 680

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 680

ctgaagcggt gttgtatcat agcgtaacga tagatttata cgacg 45

<210> 681

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 681

tagaataatg gttcgtgacc ttcgtaacga tagatttata cgacg 45

<210> 682

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 682

acctgaaggc gacgaggagg taacgataga tttatacgac g 41

<210> 683

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 683

gcctggagtc tatcgtacaa tcgtaacgat agatttatac gacg 44

<210> 684

<211> 47

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 684

acatttaatt agaccgtaac ccttcgtaac gatagattta tacgacg 47

<210> 685

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 685

gctctggcca tacttaacag atagtaacga tagatttata cgacg 45

<210> 686

<211> 46

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 686

cagcattgag tgataatgca atctgtaacg atagatttat acgacg 46

<210> 687

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 687

atacacaccc gctaccttac tggtaacgat agatttatac gacg 44

<210> 688

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 688

acaaagacga gaactatggc aagtaacgat agatttatac gacg 44

<210> 689

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 689

aggcagacgc tctaagtcta aagtaacgat agatttatac gacg 44

<210> 690

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 690

tctcttactc atcgtgaaag gcgtaacgat agatttatac gacg 44

<210> 691

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 691

gcctcaagtt cgcattcagc gtaacgatag atttatacga cg 42

<210> 692

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 692

gaaatggaaa cgttaacagc cagtaacgat agatttatac gacg 44

<210> 693

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 693

cacctgcttc ggaatctcag tgtaacgata gatttatacg acg 43

<210> 694

<211> 46

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 694

gacttgtgct tcgttaatta aacagtaacg atagatttat acgacg 46

<210> 695

<211> 46

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 695

gctgtaatat acgcccactt tagcgtaacg atagatttat acgacg 46

<210> 696

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 696

ttccattgtg cggttgggat tgtaacttat aaaggataga catc 44

<210> 697

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 697

ctccagtaat cgcttatggt ccgtaactta taaaggatag acatc 45

<210> 698

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 698

cctcttctcc gtcaagaagt tcgtaactta taaaggatag acatc 45

<210> 699

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 699

tgattgagat ggcggtattt gagtaactta taaaggatag acatc 45

<210> 700

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 700

gccaattata agtactcggg ctgtaactta taaaggatag acatc 45

<210> 701

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 701

ccaggccagc gtatgttccg taacttataa aggatagaca tc 42

<210> 702

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 702

ctggggcaac caacacttgt gtaacttata aaggatagac atc 43

<210> 703

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 703

ggctggacaa taggctccca gtaacttata aaggatagac atc 43

<210> 704

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 704

aaagctatgg cacgaaagcc ggtaacttat aaaggataga catc 44

<210> 705

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 705

gcagtccatc taaggtggac tgtaacttat aaaggataga catc 44

<210> 706

<211> 46

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 706

tgtatatgga gtaccctctt gctgtaactt ataaaggata gacatc 46

<210> 707

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 707

ctggatcacc aaaacggcaa tgtaacttat aaaggataga catc 44

<210> 708

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 708

ccaggataac ctttacttgc cagtaactta taaaggatag acatc 45

<210> 709

<211> 46

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 709

atttccagct gcgatatcta ctcgtaactt ataaaggata gacatc 46

<210> 710

<211> 47

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 710

tttatagcag ctagtccttt cttggtaact tataaaggat agacatc 47

<210> 711

<211> 46

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 711

tgatatgaga ttttcccgga tgggtaactt ataaaggata gacatc 46

<210> 712

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 712

tgacaacagt tagggcggtg gtaacttata aaggatagac atc 43

<210> 713

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 713

ttggttcccg agtactgtct agtaacttat aaaggataga catc 44

<210> 714

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 714

gtttagttcc aacgccatct gtgtaactta taaaggatag acatc 45

<210> 715

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 715

aagagttgcg acagtatcac ccgtaactta taaaggatag acatc 45

<210> 716

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 716

gctgctggat atccctcaga agtaacttat aaaggataga catc 44

<210> 717

<211> 46

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 717

tgcaagacag actatgtcta tgggtaactt ataaaggata gacatc 46

<210> 718

<211> 46

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 718

cttcaaggac taggtcaatt gcagtaactt ataaaggata gacatc 46

<210> 719

<211> 47

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 719

gatatgctgc actaactagt cttggtaact tataaaggat agacatc 47

<210> 720

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 720

atctcgagca agacgttcag tgtaacggtt atcgtggaaa 40

<210> 721

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 721

ctgtccataa ttagtccatg aggagtaacg gttatcgtgg aaa 43

<210> 722

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 722

atctttggat tatactgcct gaccgtaacg gttatcgtgg aaa 43

<210> 723

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 723

cagcaagctt gcgaccttga gtaacggtta tcgtggaaa 39

<210> 724

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 724

agttaaagtt gagagatcat ctccagtaac ggttatcgtg gaaa 44

<210> 725

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 725

aggaatggat ctatcactat ttctagtaac ggttatcgtg gaaa 44

<210> 726

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 726

cagcataatg attaggtatg caaaagtaac ggttatcgtg gaaa 44

<210> 727

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 727

ttcagtctga taaaatctac agtcagtaac ggttatcgtg gaaa 44

<210> 728

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 728

tccaacactt cgtggggtcc gtaacggtta tcgtggaaa 39

<210> 729

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 729

agggctacaa tgtgatggcc gtaacggtta tcgtggaaa 39

<210> 730

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 730

tcaaggtcat aacctggttc atcgtaacgg ttatcgtgga aa 42

<210> 731

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 731

cctacaacaa acttgtctgg aatgtaacgg ttatcgtgga aa 42

<210> 732

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 732

aaacaacaat ccgcccaaag ggtaacggtt atcgtggaaa 40

<210> 733

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 733

aaagctctac taagcagatg gcgtaacggt tatcgtggaa a 41

<210> 734

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 734

actgctgaca aagattcact gggtaacggt tatcgtggaa a 41

<210> 735

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 735

ctgatagtct ataggctcat agtgcgtaac ggttatcgtg gaaa 44

<210> 736

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 736

atcactaatc acgacgccag ggtaacggtt atcgtggaaa 40

<210> 737

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 737

tggcgatgtc aataggactc cgtaacggtt atcgtggaaa 40

<210> 738

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 738

gaactctcat cttaggcttt gtagtaacgg ttatcgtgga aa 42

<210> 739

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 739

tcaacattac tgaaacacta ctaaagtaac ggttatcgtg gaaa 44

<210> 740

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 740

ggtcgccata acggagccgg taacggttat cgtggaaa 38

<210> 741

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 741

ttcttacaga tatgagttca atgtttgtaa cggttatcgt ggaaa 45

<210> 742

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 742

aggacagaac aaaacttctt agatggtaac ggttatcgtg gaaa 44

<210> 743

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 743

tcgcagccgc ctgaagcgta acggttatcg tggaaa 36

<210> 744

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 744

ggaatttgga accggcttgc gtaacggtac tttatctagc t 41

<210> 745

<211> 46

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 745

agagtcttga gtataatctt ggtaggtaac ggtactttat ctagct 46

<210> 746

<211> 46

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 746

attcaggaag catacactaa ttcttgtaac ggtactttat ctagct 46

<210> 747

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 747

tccagaaata agcgaaaata gcagtaacgg tactttatct agct 44

<210> 748

<211> 47

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 748

atcttttgaa ctactagcta caaaatgtaa cggtacttta tctagct 47

<210> 749

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 749

taacaagctc gtaatggccc agtaacggta ctttatctag ct 42

<210> 750

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 750

catccaaacc gtgtgaaagc tgtaacggta ctttatctag ct 42

<210> 751

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 751

acaacgccat gtgcgatttg gtaacggtac tttatctagc t 41

<210> 752

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 752

ctacctacca ctaggtacct atcagtaacg gtactttatc tagct 45

<210> 753

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 753

aggacattta cgtgtacagc acgtaacggt actttatcta gct 43

<210> 754

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 754

cgcctgaata caacgagtta acgtaacggt actttatcta gct 43

<210> 755

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 755

cttccagatt gtcgccgtta attgtaacgg tactttatct agct 44

<210> 756

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 756

cagatttacc taaaccacca ccagtaacgg tactttatct agct 44

<210> 757

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 757

tttgagctga tctagtaggt cttcgtaacg gtactttatc tagct 45

<210> 758

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 758

tctgtagctc gatccctgga gtaacggtac tttatctagc t 41

<210> 759

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 759

caactgtcat tcggttaaac tgagtaacgg tactttatct agct 44

<210> 760

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 760

tttgcttccg ttcatcatta gtcgtaacgg tactttatct agct 44

<210> 761

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 761

acttccaata gtctggaaat cacagtaacg gtactttatc tagct 45

<210> 762

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 762

tcatctgctg gattaagcta atacgtaacg gtactttatc tagct 45

<210> 763

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 763

agataggctc ccgtatgccc gtaacggtac tttatctagc t 41

<210> 764

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 764

gcttctcggc taccacagac gtaacggtac tttatctagc t 41

<210> 765

<211> 46

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 765

agacttactc ttaagaccat acttcgtaac ggtactttat ctagct 46

<210> 766

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 766

gttgagaggt ggcgtttttg agtaacggta ctttatctag ct 42

<210> 767

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 767

tcaatacgtt tctgcaagag tttgtaacgg tactttatct agct 44

<210> 768

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 768

ttatggcctc tatagcatct cccgtaactc catctagacc g 41

<210> 769

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 769

cagtccgggc aactatctta ttgtaactcc atctagaccg 40

<210> 770

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 770

ttcaagatac gaataatcct ccgagtaact ccatctagac cg 42

<210> 771

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 771

gtaggcgctt agcttgattt tcgtaactcc atctagaccg 40

<210> 772

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 772

cttcaagtcg ggctcttgca gtaactccat ctagaccg 38

<210> 773

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 773

agaatgaggc acgcaaagct gtaactccat ctagaccg 38

<210> 774

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 774

ctcagcatcc gataggactt tcgtaactcc atctagaccg 40

<210> 775

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 775

aagtcactat aacacccgtc ctgtaactcc atctagaccg 40

<210> 776

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 776

ttggcatggt agatcgtcca ggtaactcca tctagaccg 39

<210> 777

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 777

caccttccaa cgactcaatc cgtaactcca tctagaccg 39

<210> 778

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 778

acaacctgta agtgtagttc tctggtaact ccatctagac cg 42

<210> 779

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 779

aaatcagata ctcgtctaca gaatggtaac tccatctaga ccg 43

<210> 780

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 780

agcagcaagt cgcattttcc gtaactccat ctagaccg 38

<210> 781

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 781

actggcatgg cggataaaaa ggtaactcca tctagaccg 39

<210> 782

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 782

cgggtgctct cgtgaacaaa gtaactccat ctagaccg 38

<210> 783

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 783

gatcgaagag tcgagataag gatgtaactc catctagacc g 41

<210> 784

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 784

ttgttgaaga cgcttccata agtgtaactc catctagacc g 41

<210> 785

<211> 37

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 785

gtggtgacgc agaatcccgg taactccatc tagaccg 37

<210> 786

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 786

cattataaag acgtaataat ttagggtgta actccatcta gaccg 45

<210> 787

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 787

gctcccactc ctagacatgt tgtaactcca tctagaccg 39

<210> 788

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 788

tttgttacac ggttaaacag ccgtaactcc atctagaccg 40

<210> 789

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 789

gaggtaaata aacgtcgata ggaagtaact ccatctagac cg 42

<210> 790

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 790

ttaatgtgga gtgcaagttg gggtaactcc atctagaccg 40

<210> 791

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 791

ccttgtatct tagcttggga tgtgtaactc catctagacc g 41

<210> 792

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 792

tcaatgatca gcggatacct attgtaactc agtagatata gcg 43

<210> 793

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 793

cgtgtgatct tacgatcctt atagtaactc agtagatata gcg 43

<210> 794

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 794

tcatcctcta cgagtctatc ttggtaactc agtagatata gcg 43

<210> 795

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 795

tcaaagtaac ccgcgtaggc gtaactcagt agatatagcg 40

<210> 796

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 796

ataggacgca tactgtcgca agtaactcag tagatatagc g 41

<210> 797

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 797

ttatgtccgt cgaccttgca tgtaactcag tagatatagc g 41

<210> 798

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 798

ttccaaggaa cggacttcta gggtaactca gtagatatag cg 42

<210> 799

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 799

ataggtacga acgctctcga tcgtaactca gtagatatag cg 42

<210> 800

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 800

tcttggatga tcgcatgaaa ccgtaactca gtagatatag cg 42

<210> 801

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 801

acaacccaat taacgtgaag ccgtaactca gtagatatag cg 42

<210> 802

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 802

atgcggtata acgcacgttc cgtaactcag tagatatagc g 41

<210> 803

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 803

ctcaagtcac gacgcagttc tgtaactcag tagatatagc g 41

<210> 804

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 804

gcaagtcacg aacgtgactc gtaactcagt agatatagcg 40

<210> 805

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 805

ttggcgttat actgcgccac gtaactcagt agatatagcg 40

<210> 806

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 806

agtggtgcgt atcgtaagcg gtaactcagt agatatagcg 40

<210> 807

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 807

atccaggcga cgaaacgaga gtaactcagt agatatagcg 40

<210> 808

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 808

ttggatgaat cggcaggctg gtaactcagt agatatagcg 40

<210> 809

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 809

tcagtcaatt cgtaatgtac accgtaactc agtagatata gcg 43

<210> 810

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 810

catcgaagac gatccactgg cgtaactcag tagatatagc g 41

<210> 811

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 811

cacggatcaa gcggcacttg taactcagta gatatagcg 39

<210> 812

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 812

tccaccgtat cgcaagctgg taactcagta gatatagcg 39

<210> 813

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 813

atgcaaagtt tcgtagggcg agtaactcag tagatatagc g 41

<210> 814

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 814

gcgttggcac gacgacatgt aactcagtag atatagcg 38

<210> 815

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 815

ttgcagacgg acgcccaagt aactcagtag atatagcg 38

<210> 816

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 816

agctgtatcg tcaaggcact cgtaaccttt tgaaacgcta 40

<210> 817

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 817

ctcgctccca gtccgaaatg gtaacctttt gaaacgcta 39

<210> 818

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 818

acttgtacta gtatgcctta agaaagtaac cttttgaaac gcta 44

<210> 819

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 819

gtgaccatga ctaatagcag tgggtaacct tttgaaacgc ta 42

<210> 820

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 820

gctgtgtcga gaatatccaa gagtaacctt ttgaaacgct a 41

<210> 821

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 821

cctactgtcg ctaatggatt gggtaacctt ttgaaacgct a 41

<210> 822

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 822

acactagcac tacctaagga ccgtaacctt ttgaaacgct a 41

<210> 823

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 823

gtctgtgaac tagttcaggc acgtaacctt ttgaaacgct a 41

<210> 824

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 824

ctaggtcagc gcaaccaaat ggtaaccttt tgaaacgcta 40

<210> 825

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 825

cctaataagc tataactggc ccagtaacct tttgaaacgc ta 42

<210> 826

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 826

ctaaattcct atgcagtgtg actcgtaacc ttttgaaacg cta 43

<210> 827

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 827

atcttgttga gctatccaaa ctggtaacct tttgaaacgc ta 42

<210> 828

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 828

aaatacgcat cgtgttatct ctggtaacct tttgaaacgc ta 42

<210> 829

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 829

tgttaagaga actagccaaa cctgtaacct tttgaaacgc ta 42

<210> 830

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 830

cataaagtag cttgatcgaa gagtgtaacc ttttgaaacg cta 43

<210> 831

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 831

taagcaaaca cgcctttaca tagtaacctt ttgaaacgct a 41

<210> 832

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 832

aaggccttag taagatatta cagacgtaac cttttgaaac gcta 44

<210> 833

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 833

acaatatacg tctgctatat tcttccgtaa ccttttgaaa cgcta 45

<210> 834

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 834

tccactggat agggttctgt ctgtaacctt ttgaaacgct a 41

<210> 835

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 835

aagttatact atgaaagagc agtctgtaac cttttgaaac gcta 44

<210> 836

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 836

acatgttaat gcctaagtct atgtagtaac cttttgaaac gcta 44

<210> 837

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 837

gcctagaatg cctacttggg agtaaccttt tgaaacgcta 40

<210> 838

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 838

tcagtggaat cgtagcaaaa cagtaacctt ttgaaacgct a 41

<210> 839

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 839

acaataatta ggagtagtac agttcagtaa ccttttgaaa cgcta 45

<210> 840

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 840

ttccactcgg ataagatgct gagtaactca gacatgtaga tt 42

<210> 841

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 841

aatactccac acgcaaattt ccgtaactca gacatgtaga tt 42

<210> 842

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 842

ggccagacca tcgctatctg gtaactcaga catgtagatt 40

<210> 843

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 843

caccacacta tgtcgaaaag tggtaactca gacatgtaga tt 42

<210> 844

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 844

ccctttcttg cggagattct ctgtaactca gacatgtaga tt 42

<210> 845

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 845

acaaacacgc acctcaaagc gtaactcaga catgtagatt 40

<210> 846

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 846

cccagtagat taccactgga gtgtaactca gacatgtaga tt 42

<210> 847

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 847

gcagtgctcg cttagtgctg taactcagac atgtagatt 39

<210> 848

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 848

ggctcgacgc taggatctga gtaactcaga catgtagatt 40

<210> 849

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 849

aggatgggcc tccggttcag taactcagac atgtagatt 39

<210> 850

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 850

ggaacatctc gaagcgctca gtaactcaga catgtagatt 40

<210> 851

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 851

agacggaaac cgtagctgcc gtaactcaga catgtagatt 40

<210> 852

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 852

tgttcaatat cgtccgggga cgtaactcag acatgtagat t 41

<210> 853

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 853

cattgcttgg gacggcaagg gtaactcaga catgtagatt 40

<210> 854

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 854

agtggagaat gtcagtctga gtgtaactca gacatgtaga tt 42

<210> 855

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 855

agttttttat ggcgggaggt agagtaactc agacatgtag att 43

<210> 856

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 856

tagaaactac caacccaccg agtaactcag acatgtagat t 41

<210> 857

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 857

ttccctggtt agtacggtga aggtaactca gacatgtaga tt 42

<210> 858

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 858

taagctggta tgtcctactc ccgtaactca gacatgtaga tt 42

<210> 859

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 859

ctgacgcaca cctattgcaa ggtaactcag acatgtagat t 41

<210> 860

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 860

tcaccgtcgt ggaaagcacg taactcagac atgtagatt 39

<210> 861

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 861

gtaaactaac ccttaactgc aagagtaact cagacatgta gatt 44

<210> 862

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 862

tttaggtact aaggttcacc aagagtaact cagacatgta gatt 44

<210> 863

<211> 46

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 863

tcatcatata caagagatga aatcctgtaa ctcagacatg tagatt 46

<210> 864

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 864

ccatggtgac gatcctcacg gtaactaaca taaattcgat g 41

<210> 865

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 865

gtgaacgtct tgggttgctt cgtaactaac ataaattcga tg 42

<210> 866

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 866

ggcctggacg gcgtaagagt aactaacata aattcgatg 39

<210> 867

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 867

gaagctcatg cgggaagcgg taactaacat aaattcgatg 40

<210> 868

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 868

tgtcactgta cgagatgttt cggtaactaa cataaattcg atg 43

<210> 869

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 869

ttgaagcttg gtatgtcagg aggtaactaa cataaattcg atg 43

<210> 870

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 870

ggttcccgat acatagctgg agtaactaac ataaattcga tg 42

<210> 871

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 871

atctttgaag tcgaaagaca ggcgtaacta acataaattc gatg 44

<210> 872

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 872

gcttattaac acgaagcttt gaggtaacta acataaattc gatg 44

<210> 873

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 873

tttcattcca cgggaaggag agtaactaac ataaattcga tg 42

<210> 874

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 874

tcagtgcttc gttggccatt gtaactaaca taaattcgat g 41

<210> 875

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 875

ctctgcgtac caagcagtaa ttgtaactaa cataaattcg atg 43

<210> 876

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 876

tttcaaggcc tcgatttctg tcgtaactaa cataaattcg atg 43

<210> 877

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 877

tagttcacac cgtacatctc cagtaactaa cataaattcg atg 43

<210> 878

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 878

cccacatttc cggagtcatc tgtaactaac ataaattcga tg 42

<210> 879

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 879

ggtcctgagc tatcttcaga tattgtaact aacataaatt cgatg 45

<210> 880

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 880

tcctccgtgc gaatcgctgt aactaacata aattcgatg 39

<210> 881

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 881

gccctttta ttccggattg cagtaactaa cataaattcg atg 43

<210> 882

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 882

gctgtctcct cagaccgcag taactaacat aaattcgatg 40

<210> 883

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 883

cacccctgtc ggagttctca gtaactaaca taaattcgat g 41

<210> 884

<211> 46

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 884

cagatttatt acccttttg gaagcgtaac taacataaat tcgatg 46

<210> 885

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 885

tcatgggcgg gtacgtgggt aactaacata aattcgatg 39

<210> 886

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 886

caaaaatccc cgcttgtgaa cgtaactaac ataaattcga tg 42

<210> 887

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 887

ctggggtcgt agtcaccata cgtaactaac ataaattcga tg 42

<210> 888

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 888

cacacgatac cggcaaagaa ggtaacgtga cgattaccc 39

<210> 889

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 889

ggtgtcagtc tccgacgtga gtaacgtgac gattaccc 38

<210> 890

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 890

gtgatggtga tcatctgggc cgtaacgtga cgattaccc 39

<210> 891

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 891

ttggcctcgg gaccaagcgt aacgtgacga ttaccc 36

<210> 892

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 892

ctgtcatctt ggtcaggtgg tgtaacgtga cgattaccc 39

<210> 893

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 893

atcaccttgc cgaaagtgcc gtaacgtgac gattaccc 38

<210> 894

<211> 37

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 894

actgcacggc cgtagtcatg taacgtgacg attaccc 37

<210> 895

<211> 37

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 895

aggtactcag gtgtgccgcg taacgtgacg attaccc 37

<210> 896

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 896

gaaggtgcgt tcgatgacag gtaacgtgac gattaccc 38

<210> 897

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 897

ctcctcagga gtctccacat ggtaacgtga cgattaccc 39

<210> 898

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 898

gtctggaaag agtacttcag gggtaacgtg acgattaccc 40

<210> 899

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 899

caggacgcgg ttctcggtgt aacgtgacga ttaccc 36

<210> 900

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 900

atctcagcgc catagaagcg gtaacgtgac gattaccc 38

<210> 901

<211> 37

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 901

tcgttcatgg tcacgcggtg taacgtgacg attaccc 37

<210> 902

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 902

cagcccgaag tctgtgatct tgtaacgtga cgattaccc 39

<210> 903

<211> 37

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 903

tcatggtggc accgtccttg taacgtgacg attaccc 37

<210> 904

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 904

ggtagtccag ggctgacaca gtaacgtgac gattaccc 38

<210> 905

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 905

ccatcattct tgaggaggaa gtagtaacgt gacgattacc c 41

<210> 906

<211> 37

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 906

acaaagcaga ggcggtcgtg taacgtgacg attaccc 37

<210> 907

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 907

cggtcctcgg agaacacacg gtaacgtgac gattaccc 38

<210> 908

<211> 37

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 908

gagcctcacg ttggtccacg taacgtgacg attaccc 37

<210> 909

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 909

ctccttgtag ccaatgaagg tggtaacgtg acgattaccc 40

<210> 910

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 910

ttcacaatag ccacgtcgct gtaacgtgac gattaccc 38

<210> 911

<211> 37

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 911

ccctcgtttg tgcagccaag taacgtgacg attaccc 37

<210> 912

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 912

agctatgtcc gctatcttca tcggtaactc tcttctattg cag 43

<210> 913

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 913

ttggcacatc gagacatggt tgtaactctc ttctattgca g 41

<210> 914

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 914

ccatcttggt cgtactttgt gagtaactct cttctattgc ag 42

<210> 915

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 915

ccaactgagc atacgctagg agtaactctc ttctattgca g 41

<210> 916

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 916

tcacgtacta gccgttccat cgtaactctc ttctattgca g 41

<210> 917

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 917

tttctccaag tcgtctctca tctgtaactc tcttctattg cag 43

<210> 918

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 918

tcgtaagaaa cgccactaga aagtaactct cttctattgc ag 42

<210> 919

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 919

cactggcgtg cctaaaccag taactctctt ctattgcag 39

<210> 920

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 920

acatatcata cgtggacatt agaacgtaac tctcttctat tgcag 45

<210> 921

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 921

gccgatggaa tgctccatcc gtaactctct tctattgcag 40

<210> 922

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 922

gattagcaat cggtcacaaa gacgtaactc tcttctattg cag 43

<210> 923

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 923

ggtgtagtag tacacattgg agcgtaactc tcttctattg cag 43

<210> 924

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 924

gatgaaactt cggttgtcag ctgtaactct cttctattgc ag 42

<210> 925

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 925

ttcttgaggc tagcaacttg tggtaactct cttctattgc ag 42

<210> 926

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 926

gtcccaaaac tcgattagct tccgtaactc tcttctattg cag 43

<210> 927

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 927

tattcgtgga acccctaaca gcgtaactct cttctattgc ag 42

<210> 928

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 928

caaagttgat atcgcccaaa atggtaactc tcttctattg cag 43

<210> 929

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 929

tagatccaag cggttccatt tcgtaactct cttctattgc ag 42

<210> 930

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 930

tgaccagttc ccgtaaaaca ctgtaactct cttctattgc ag 42

<210> 931

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 931

tggcacatgg tcgatacaca tgtaactctc ttctattgca g 41

<210> 932

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 932

tgacagcaca acgatcacaa cgtaactctc ttctattgca g 41

<210> 933

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 933

aagctcatga actatgccag aggtaactct cttctattgc ag 42

<210> 934

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 934

cgtcatacct gaccgagtac tgtaactctc ttctattgca g 41

<210> 935

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 935

tcttgattgt cgagaaagac ttggtaactc tcttctattg cag 43

<210> 936

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 936

tactgagccc tatcggaaag tgtaactgat cttcatatta cg 42

<210> 937

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 937

ccaaatccct tcgcagcaat tgtaactgat cttcatatta cg 42

<210> 938

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 938

gccatgatca atcgcatcac tgtaactgat cttcatatta cg 42

<210> 939

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 939

atcatccaga ttcgaaccgt ccgtaactga tcttcatatt acg 43

<210> 940

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 940

ggactacatt cgtgaagaag ctgtaactga tcttcatatt acg 43

<210> 941

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 941

ggagaggatc cgtccaagaa agtaactgat cttcatatta cg 42

<210> 942

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 942

gtcccagcat tagaacctgt ggtaactgat cttcatatta cg 42

<210> 943

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 943

actctcagcc agacctttag cgtaactgat cttcatatta cg 42

<210> 944

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 944

catagtgtca tgtgcatgta gtcgtaactg atcttcatat tacg 44

<210> 945

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 945

ccctgaccag catattatct acagtaactg atcttcatat tacg 44

<210> 946

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 946

cagcgcctgt tacaagctct gtaactgatc ttcatattac g 41

<210> 947

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 947

cgccagtctt aactgccatg gtaactgatc ttcatattac g 41

<210> 948

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 948

tcttcccaac accgtaatct ttgtaactga tcttcatatt acg 43

<210> 949

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 949

gtgacttatg ttcgggtctc tcgtaactga tcttcatatt acg 43

<210> 950

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 950

tgttaggttc tagggccata gcgtaactga tcttcatatt acg 43

<210> 951

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 951

ctggatagct ttgggcaact cgtaactgat cttcatatta cg 42

<210> 952

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 952

tgcagacagg gtatgtatat ttgggtaact gatcttcata ttacg 45

<210> 953

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 953

aagaaaatat agctgagctc cctgtaactg atcttcatat tacg 44

<210> 954

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 954

gagaccggag aaacccggcg taactgatct tcatattacg 40

<210> 955

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 955

ccgcaggaga ccgaggtctg taactgatct tcatattacg 40

<210> 956

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 956

aggctagggc tcaagacaag ggtaactgat cttcatatta cg 42

<210> 957

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 957

gcgtccggtg tcgccatgta actgatcttc atattacg 38

<210> 958

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 958

actctgggtc ggcttgatcc gtaactgatc ttcatattac g 41

<210> 959

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 959

catgggagga tcgagcctgg gtaactgatc ttcatattac g 41

<210> 960

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 960

ggcactggaa acgattgact tgtaacggca atacatcgt 39

<210> 961

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 961

tcaggcattc gttcacctgt gtaacggcaa tacatcgt 38

<210> 962

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 962

actgtagcga ttaatgccat ccgtaacggc aatacatcgt 40

<210> 963

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 963

atagcctcca ttgcggttgg gtaacggcaa tacatcgt 38

<210> 964

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 964

cattcgggtg atcgatacac ttgtaacggc aatacatcgt 40

<210> 965

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 965

gcacactcat cgagttgctc cgtaacggca atacatcgt 39

<210> 966

<211> 37

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 966

tcccgcttaa tgcgcaggtg taacggcaat acatcgt 37

<210> 967

<211> 37

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 967

ggtcccctgt atggcgtgag taacggcaat acatcgt 37

<210> 968

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 968

aacacactgg cggttgtcaa gtaacggcaa tacatcgt 38

<210> 969

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 969

cacacatcga cgaaggtttc agtaacggca atacatcgt 39

<210> 970

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 970

ggctcttgca cgagttaact tgtaacggca atacatcgt 39

<210> 971

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 971

atgtcaatgg tacaccgctg agtaacggca atacatcgt 39

<210> 972

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 972

gccatgctta cgctttcgtt gtaacggcaa tacatcgt 38

<210> 973

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 973

ggtataccag taacacggac cagtaacggc aatacatcgt 40

<210> 974

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 974

gactctctca cgcataaacc tggtaacggc aatacatcgt 40

<210> 975

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 975

aggagatgcg taggtcaatt cagtaacggc aatacatcgt 40

<210> 976

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 976

ccaacaggac gctagtgtag agtaacggca atacatcgt 39

<210> 977

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 977

cagtaccaat taggttagct tctggtaacg gcaatacatc gt 42

<210> 978

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 978

tccatggccg tcgatcaatg gtaacggcaa tacatcgt 38

<210> 979

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 979

tagtcaggaa tatgcggtca ttgtaacggc aatacatcgt 40

<210> 980

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 980

tatagcaact acttcgcatt tccgtaacgg caatacatcg t 41

<210> 981

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 981

cgatggtgtc ctacggatgt cgtaacggca atacatcgt 39

<210> 982

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 982

gtaaccatag taccacttat tagtgggtaa cggcaataca tcgt 44

<210> 983

<211> 37

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 983

cagcatcagc ccgtgagtag taacggcaat acatcgt 37

<210> 984

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 984

tcagatgcta ctggccgctt agacaagtta agatcggaa 39

<210> 985

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 985

cttgatcaag gcgctgaaca atagacaagt taagatcgga a 41

<210> 986

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 986

tcccttcgta tctcagcgag atagacaagt taagatcgga a 41

<210> 987

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 987

agactgttga ctggcgtgat gtagacaagt taagatcgga a 41

<210> 988

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 988

ccaacatgct cgcatgagtt ctagacaagt taagatcgga a 41

<210> 989

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 989

ttccttcacc gaactgagga gtagacaagt taagatcgga a 41

<210> 990

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 990

agttccaacg agcggcttca tagacaagtt aagatcggaa 40

<210> 991

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 991

ccatggctga cgagatctga tagacaagtt aagatcggaa 40

<210> 992

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 992

tagcctaaga cccggagctt tagacaagtt aagatcggaa 40

<210> 993

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 993

gcagatactc agcggcattg tagacaagtt aagatcggaa 40

<210> 994

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 994

catagctcac gcagaacgtg tagacaagtt aagatcggaa 40

<210> 995

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400

> 995

gtcggccacc gttgaatgat agacaagtta agatcggaa 39

<210> 996

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 996

agaacggtca gcgagcgtat agacaagtta agatcggaa 39

<210> 997

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 997

gttatgctta gagtgttatc tccatagaca agttaagatc ggaa 44

<210> 998

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 998

tggtgatgtc cgtgcgttcc tagacaagtt aagatcggaa 40

<210> 999

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 999

ggtccagagg atcgctctct tagacaagtt aagatcggaa 40

<210> 1000

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1000

cgtggactgc aagtcccgat agacaagtta agatcggaa 39

<210> 1001

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1001

acaggtcaat tcccgggtaa gtagacaagt taagatcgga a 41

<210> 1002

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1002

ctgcaccagg ttagggtgtt ttagacaagt taagatcgga a 41

<210> 1003

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1003

ggaaatggca tatacgtggg atttagacaa gttaagatcg gaa 43

<210> 1004

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1004

cttttgtctt tgcgcccagg tagacaagtt aagatcggaa 40

<210> 1005

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1005

tcctgccggt tgcactccta gacaagttaa gatcggaa 38

<210> 1006

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1006

atcatacagt gcaacgaaaa ggttagacaa gttaagatcg gaa 43

<210> 1007

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1007

tcccacttgt cgtagttggg tagacaagtt aagatcggaa 40

<210> 1008

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1008

aggtggtgtt ccgaacgagc tagacagccc aattaaacg 39

<210> 1009

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1009

agatccgtga gcggaatgta tagacagccc aattaaacg 39

<210> 1010

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1010

ctcactcgct ttagtggact cctagacagc ccaattaaac g 41

<210> 1011

<211> 37

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1011

gccaaagacc gtggcgagta gacagcccaa ttaaacg 37

<210> 1012

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1012

agagttcttg gtcgttggat cctagacagc ccaattaaac g 41

<210> 1013

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1013

ctcctttgca accgggtctg tagacagccc aattaaacg 39

<210> 1014

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1014

cttgttattg acgtcgaagg cttagacagc ccaattaaac g 41

<210> 1015

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1015

caggaacgtg taactcttgc ctagacagcc caattaaacg 40

<210> 1016

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1016

ggagtttcac acacgagttg gtagacagcc caattaaacg 40

<210> 1017

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1017

aggttcccgc tctacggatg tagacagccc aattaaacg 39

<210> 1018

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1018

accgtcatgg actgccgtct agacagccca attaaacg 38

<210> 1019

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1019

tgggaccttt agacttcggt gtagacagcc caattaaacg 40

<210> 1020

<211> 37

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1020

gtccctgtag acgcgcgtta gacagcccaa ttaaacg 37

<210> 1021

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1021

ccagagaggg cgcatcttgt agacagccca attaaacg 38

<210> 1022

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1022

tccactctgc acgctcatag ttagacagcc caattaaacg 40

<210> 1023

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1023

gtgaaactcg acgttcacgt atagacagcc caattaaacg 40

<210> 1024

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1024

acacctcttt gtcgttgacc ttagacagcc caattaaacg 40

<210> 1025

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1025

actgttgcga gttctgcgag tagacagccc aattaaacg 39

<210> 1026

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1026

tggcaactcc gtagttgtcc tagacagccc aattaaacg 39

<210> 1027

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1027

tcctcggacg ctaagctcat agacagccca attaaacg 38

<210> 1028

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1028

ttacccggag aaccctcgct agacagccca attaaacg 38

<210> 1029

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1029

tcccggaaca tgcggtaggt agacagccca attaaacg 38

<210> 1030

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1030

tgctcgatgt cgcccactgt agacagccca attaaacg 38

<210> 1031

<211> 37

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1031

tgccggtgcc gcttatggta gacagcccaa ttaaacg 37

<210> 1032

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1032

ccaaagtctg ctagcttgat ggtagacggt ataatactta tttcc 45

<210> 1033

<211> 48

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1033

tattaggatg gttaagctcc ttaagtagac ggtataatac ttatttcc 48

<210> 1034

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1034

catgggtgta agtacgaaca ggtagacggt ataatactta tttcc 45

<210> 1035

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1035

ggcagaaagc taggccctgg tagacggtat aatacttatt tcc 43

<210> 1036

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1036

gtacacaact ccgtacgtgc tagacggtat aatacttatt tcc 43

<210> 1037

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1037

atggaacgca gtatacctct cgtagacggt ataatactta tttcc 45

<210> 1038

<211> 46

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1038

cttggcttgt aatcaggcat agatagacgg tataatactt atttcc 46

<210> 1039

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1039

ctccatgaag cgccagcgta gacggtataa tacttatttc c 41

<210> 1040

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1040

ccgcttgtta gggtcgtagt tagacggtat aatacttatt tcc 43

<210> 1041

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1041

ctcggtggag gacccgatgt agacggtata atacttattt cc 42

<210> 1042

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1042

ttactaaaat cttgccgggc ctagacggta taatacttat ttcc 44

<210> 1043

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1043

gcagcatttg cgataacaag ctagacggta taatacttat ttcc 44

<210> 1044

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1044

agaaggctat cagagtcgaa gatagacggt ataatactta tttcc 45

<210> 1045

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1045

ttcaggagct cggtaccaca tagacggtat aatacttatt tcc 43

<210> 1046

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1046

ccccagagtc cgaaagatcc gtagacggta taatacttat ttcc 44

<210> 1047

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1047

acagggccca gtaccgtggt agacggtata atacttattt cc 42

<210> 1048

<211> 46

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1048

tcagcaataa ctaagagaag gggtagacgg tataatactt atttcc 46

<210> 1049

<211> 46

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1049

gtacggcaaa tctaacgtgt aggtagacgg tataatactt atttcc 46

<210> 1050

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1050

tgaaacaatg ttgccgcctc ctagacggta taatacttat ttcc 44

<210> 1051

<211> 47

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1051

taataattat ggggcattca gagatagacg gtataatact tatttcc 47

<210> 1052

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1052

tctcacctgc ctcataaggc tagacggtat aatacttatt tcc 43

<210> 1053

<211> 47

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1053

atggtgaagc aatagattgg aatgtagacg gtataatact tatttcc 47

<210> 1054

<211> 49

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1054

cactaactag ggtataaact gattggtaga cggtataata cttatttcc 49

<210> 1055

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1055

agaagggaca aacaagggga ctagacggta taatacttat ttcc 44

<210> 1056

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1056

agtccgatac tcaagcgcaa atagacaata aattctaacg agc 43

<210> 1057

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1057

cttgttgcgc tcacggtatg tagacaataa attctaacga gc 42

<210> 1058

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1058

ccagagttgt agacgagcag ctagacaata aattctaacg agc 43

<210> 1059

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1059

ttagcatggc aacacggcgt agacaataaa ttctaacgag c 41

<210> 1060

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1060

atgatgcgca cttcacgggt agacaataaa ttctaacgag c 41

<210> 1061

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1061

cccaccgcta ggagggtagc tagacaataa attctaacga gc 42

<210> 1062

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1062

gcagtgtggt taggccgatg tagacaataa attctaacga gc 42

<210> 1063

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1063

gacacggcgg tgcactatct agacaataaa ttctaacgag c 41

<210> 1064

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1064

gcccaaagcg gcttgcagta gacaataaat tctaacgagc 40

<210> 1065

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1065

atacacacac ggctaatact gctagacaat aaattctaac gagc 44

<210> 1066

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1066

gtgaccgtgt acaccaacaa ctagacaata aattctaacg agc 43

<210> 1067

<211> 46

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1067

ctcttcatac tagcatgact gtcatagaca ataaattcta acgagc 46

<210> 1068

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1068

agaaggcttt cgtcgttccc tagacaataa attctaacga gc 42

<210> 1069

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1069

tttgctccgt gcgttcaagg tagacaataa attctaacga gc 42

<210> 1070

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1070

tccagtgcat ccgtcacatc tagacaataa attctaacga gc 42

<210> 1071

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1071

gatgaacagc ggtgcgttgt agacaataaa ttctaacgag c 41

<210> 1072

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1072

cactgatacc ggctctccgt tagacaataa attctaacga gc 42

<210> 1073

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1073

gaacgcttgc gttccctagc tagacaataa attctaacga gc 42

<210> 1074

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1074

cagatagatt tccgggatac agctagacaa taaattctaa cgagc 45

<210> 1075

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1075

tctgctgcgg cgattgtgta gacaataaat tctaacgagc 40

<210> 1076

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1076

ctcggtgatc atgcgtccct agacaataaa ttctaacgag c 41

<210> 1077

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1077

tccaatttca gggcgttctc gtagacaata aattctaacg agc 43

<210> 1078

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1078

tgcgcaggtc gacgtcagta gacaataaat tctaacgagc 40

<210> 1079

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1079

gtccaggtag tatccggagg gtagacaata aattctaacg agc 43

<210> 1080

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1080

attcccgaca gactcatcgc tagacgataa attgcgaacg 40

<210> 1081

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1081

cagttacatg ttcgcgcacg tagacgataa attgcgaacg 40

<210> 1082

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1082

acgagcacta gggtcgtcgt agacgataaa ttgcgaacg 39

<210> 1083

<211> 46

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1083

ttttgataat cgaatgaaaa agtcactaga cgataaattg cgaacg 46

<210> 1084

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1084

ctgaatactg ctagacgaga agctagacga taaattgcga acg 43

<210> 1085

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1085

ctccttggaa cgaactaatc ctgtagacga taaattgcga acg 43

<210> 1086

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1086

ttcaggcggt taattggtac cctagacgat aaattgcgaa cg 42

<210> 1087

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1087

gttaggaatg gcgaacagac agtagacgat aaattgcgaa cg 42

<210> 1088

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1088

gatggtctta aagcgtgaag cctagacgat aaattgcgaa cg 42

<210> 1089

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1089

ctgtgcctag ccctaactta tatagacgat aaattgcgaa cg 42

<210> 1090

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1090

agagaccacc cataacaaga gttagacgat aaattgcgaa cg 42

<210> 1091

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1091

ttggagcacc gatatagata tggtagacga taaattgcga acg 43

<210> 1092

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1092

tcaaagacgc aaacgtccaa atagacgata aattgcgaac g 41

<210> 1093

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1093

gagagctgat taggtgctca ggtagacgat aaattgcgaa cg 42

<210> 1094

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1094

tgcttgtacg cggagaaggt tagacgataa attgcgaacg 40

<210> 1095

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1095

ctgcagacac gtgtatgtgc tagacgataa attgcgaacg 40

<210> 1096

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1096

catccaatgc aagtccggtg tagacgataa attgcgaacg 40

<210> 1097

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1097

accaagtgat aacgtgttca gatagacgat aaattgcgaa cg 42

<210> 1098

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1098

aatctgagct ttgcgaaatg gttagacgat aaattgcgaa cg 42

<210> 1099

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1099

caaagcccac ataacactat cttttagacg ataaattgcg aacg 44

<210> 1100

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1100

tgtactggac tatagacacc aatttagacg ataaattgcg aacg 44

<210> 1101

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1101

atcaatatac cacgttagta gtcactagac gataaattgc gaacg 45

<210> 1102

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1102

tgtattttaa cgccaagcag gctagacgat aaattgcgaa cg 42

<210> 1103

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1103

cactgaaaac acggttatgt cctagacgat aaattgcgaa cg 42

<210> 1104

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1104

cgagacagat cggagtagct gtagacgacc gaatttacgg 40

<210> 1105

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1105

tctctcaatg acgggacaaa gatagacgac cgaatttacg g 41

<210> 1106

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1106

cagatgtggt gtatggtcca catagacgac cgaatttacg g 41

<210> 1107

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1107

ttctcctcgg ttacttcgtg atagacgacc gaatttacgg 40

<210> 1108

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1108

tgtgctaagc cgaaggaggt tagacgaccg aatttacgg 39

<210> 1109

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1109

gtaaacatag aacgactcat agtcatagac gaccgaattt acgg 44

<210> 1110

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1110

ttccacttca attagctctt gaattagacg accgaattta cgg 43

<210> 1111

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1111

ctggggtaga gatagctcgc ttagacgacc gaatttacgg 40

<210> 1112

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1112

gctataagct cgcctaccat tctagacgac cgaatttacg g 41

<210> 1113

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1113

ttcttggggc gggtagagtg tagacgaccg aatttacgg 39

<210> 1114

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1114

aagacctcag accgtcagaa gtagacgacc gaatttacgg 40

<210> 1115

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1115

tcagatcctg acgacctgca tagacgaccg aatttacgg 39

<210> 1116

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1116

gcagaaatct cgagaggacg ctagacgacc gaatttacgg 40

<210> 1117

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1117

ctcgcagtct aggccgaaga tagacgaccg aatttacgg 39

<210> 1118

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1118

ccggtctccc tcgagaatca tagacgaccg aatttacgg 39

<210> 1119

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1119

tcctggtgag aacgtcctgc tagacgaccg aatttacgg 39

<210> 1120

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1120

tgcccttgg taaggcgcct agacgaccga atttacgg 38

<210> 1121

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1121

cacagacaca gccgaggact agacgaccga atttacgg 38

<210> 1122

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1122

tcccaaaagc taccgctgag tagacgaccg aatttacgg 39

<210> 1123

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1123

taaggtagag tcgggcgaag tagacgaccg aatttacgg 39

<210> 1124

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1124

gagtggccgg aaaaacccgt agacgaccga atttacgg 38

<210> 1125

<211> 37

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1125

atgcggacat ggtcgcccta gacgaccgaa tttacgg 37

<210> 1126

<211> 37

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1126

ggctcccaaa cgccctgata gacgaccgaa tttacgg 37

<210> 1127

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1127

tccatttcac cgtcagaaag gtagacgacc gaatttacgg 40

<210> 1128

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1128

ttgcctagac agcaccgtaa tgtagacacg aatattccaa ttc 43

<210> 1129

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1129

ttcccagagc gtggttccat agacacgaat attccaattc 40

<210> 1130

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1130

taaggacatc gcttttccgg ttagacacga atattccaat tc 42

<210> 1131

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1131

ttctccacgt cgcggacact agacacgaat attccaattc 40

<210> 1132

<211> 46

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1132

gttctcatga tagaggttcc ttaagtagac acgaatattc caattc 46

<210> 1133

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1133

ggccacgtcg gtgcagatag acacgaatat tccaattc 38

<210> 1134

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1134

gttgtggacg atcaacgggg tagacacgaa tattccaatt c 41

<210> 1135

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1135

tgtcccctttc ggggtcatac ctagacacga atattccaat tc 42

<210> 1136

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1136

aatagaacct catccggtag tggtagacac gaatattcca attc 44

<210> 1137

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1137

cagtgcagcg tatgtggtat ttagacacga atattccaat tc 42

<210> 1138

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1138

aaagcttgtc cgattggatg gtagacacga atattccaat tc 42

<210> 1139

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1139

aacccttgta gatcggtggt atagacacga atattccaat tc 42

<210> 1140

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1140

agtagagaac gtttccaccg ttagacacga atattccaat tc 42

<210> 1141

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1141

actgctcatt gtcgttggtt ctagacacga atattccaat tc 42

<210> 1142

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1142

aacgtattgc cgagaaccca tagacacgaa tattccaatt c 41

<210> 1143

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1143

acaaagtgca tatagagtgg cctagacacg aatattccaa ttc 43

<210> 1144

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1144

agccatccct agacactcgt ttagacacga atattccaat tc 42

<210> 1145

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1145

gcgatttgga gcataccaga gtagacacga atattccaat tc 42

<210> 1146

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1146

aggatccgat cgaaactcag ctagacacga atattccaat tc 42

<210> 1147

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1147

ctggaatata tcgcttgtag ctgtagacac gaatattcca attc 44

<210> 1148

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1148

cttcaggtca tgcgtggaca tagacacgaa tattccaatt c 41

<210> 1149

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1149

agagaagcgc acttccgtgt tagacacgaa tattccaatt c 41

<210> 1150

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1150

tgatgttatc cgtgcgcagg tagacacgaa tattccaatt c 41

<210> 1151

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1151

aaagaccgta atcgttcaca ttgtagacac gaatattcca attc 44

<210> 1152

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1152

agagatttgt ctacgtagag ccgtagactc agaaatctca cg 42

<210> 1153

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1153

tcctttgcat acggtctctt cgtagactca gaaatctcac g 41

<210> 1154

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1154

aagtttgttt acatccgatg ttactagact cagaaatctc acg 43

<210> 1155

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1155

ttcccataca gaacgtggcc tagactcaga aatctcacg 39

<210> 1156

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1156

aacagatcaa cggcaaaagc ctagactcag aaatctcacg 40

<210> 1157

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1157

catccttggg tagtaggatg aactagactc agaaatctca cg 42

<210> 1158

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1158

gaatttgcta gttgcagggc atagactcag aaatctcacg 40

<210> 1159

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1159

tgatcttaca attgatactg tcaatgtaga ctcagaaatc tcacg 45

<210> 1160

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1160

tggatgtgga ggcgaccgtt agactcagaa atctcacg 38

<210> 1161

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1161

acttctggac ctatagtagc ctgtagactc agaaatctca cg 42

<210> 1162

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1162

caacacggat agcttatcca acctagactc agaaatctca cg 42

<210> 1163

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1163

tgtcaaggta acgtgagcac ttagactcag aaatctcacg 40

<210> 1164

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1164

tttacagaaa tcggcatcca catagactca gaaatctcac g 41

<210> 1165

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1165

cagctactag aggtctataa ttccttagac tcagaaatct cacg 44

<210> 1166

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1166

ctggcacctc tatggaatcc ctagactcag aaatctcacg 40

<210> 1167

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1167

attctgatat cggctattgt gagatagact cagaaatctc acg 43

<210> 1168

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1168

gccaccagtc tagtgccaac tagactcaga aatctcacg 39

<210> 1169

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1169

caactacccc ggacaatttg atagactcag aaatctcacg 40

<210> 1170

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1170

aggacttaac atgggctatg cctagactca gaaatctcac g 41

<210> 1171

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1171

ctctgcgaac gaagtgtttt tgtagactca gaaatctcac g 41

<210> 1172

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1172

tgcagcatat taaggtgttg attttagact cagaaatctc acg 43

<210> 1173

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1173

aagtaactaa acccatagac tgaaatagac tcagaaatct cacg 44

<210> 1174

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1174

ctgccagggc ttaacataag gtagactcag aaatctcacg 40

<210> 1175

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1175

ataacatttg atagggccac tcctagactc agaaatctca cg 42

<210> 1176

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1176

ctgaagataa tcgcagacac cctagacgtc tcccgtattt t 41

<210> 1177

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1177

tgactgaaca cgtgttctgt tctagacgtc tcccgtattt t 41

<210> 1178

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1178

tttcagccat acccggatgg tagacgtctc ccgtatttt 39

<210> 1179

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1179
tgagaagagt aaccgctgaa tatagacgtc tcccgtattt t 41
<210> 1180
<211> 38
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Target Specific Oligonucleotide
<400> 1180
acactgcaat tccgccgtct agacgtctcc cgtatttt 38
<210> 1181
<211> 38
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Target Specific Oligonucleotide
<400> 1181
ttgtcgtggc cggtactgat agacgtctcc cgtatttt 38
<210> 1182
<211> 39

<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Target Specific Oligonucleotide
<400> 1182
ggcaggcgac actaccttca tagacgtctc ccgtatttt 39
<210> 1183
<211> 40
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1183

ctgggccagt attgaccact gtagacgtct cccgtatttt 40

<210> 1184

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1184

tctcagatca gtgcggagaa atagacgtct cccgtatttt 40

<210> 1185

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1185

gcccacaaat atccgtctgc tagacgtctc ccgtatttt 39

<210> 1186

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1186

ccatgttcgc gcggcgatag acgtctcccg tatttt 36

<210> 1187

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1187

atgaaaggtc gctagagaag tcctagacgt ctcccgtatt tt 42

<210> 1188

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1188

aatcacaaac ccggacttgg atagacgtct cccgtatttt 40

<210> 1189

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1189

actagcctgt cacgtttgtc ttagacgtct cccgtatttt 40

<210> 1190

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1190

atctttacaa tgcggtcggt cctagacgtc tcccgtattt t 41

<210> 1191

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1191

tgtcctggta tgatcccaac actagacgtc tcccgtattt t 41

<210> 1192

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1192

ctgatcattt cgcatcacag tgtagacgtc tcccgtattt t 41

<210> 1193

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1193

ctttccttac gtgtgtcaca catagacgtc tcccgtattt t 41

<210> 1194

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1194

tagtttgatc gcctccttaa acctagacgt ctcccgtatt tt 42

<210> 1195

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1195

aaatccctag gatagcacct ttgtagacgt ctcccgtatt tt 42

<210> 1196

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1196

cttacactta cgatgagcag atgtagacgt ctcccgtatt tt 42

<210> 1197

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1197

catttgctac ctagcatatg agagtagacg tctcccgtat ttt 43

<210> 1198

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1198

acagatgtca aacggtcaca tttagacgtc tcccgtattt t 41

<210> 1199

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1199

ttctaagata cgtcactcca attctagacg tctcccgtat ttt 43

<210> 1200

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1200

acagtccgtc gattctttac aatagactct ataaatcagc gt 42

<210> 1201

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1201

tctccacgta aatcccgatc ttagactcta taaatcagcg t 41

<210> 1202

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1202

cacgtgctga accaaccact tagactctat aaatcagcgt 40

<210> 1203

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1203

tcttgccgaa gttggccgtt agactctata aatcagcgt 39

<210> 1204

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1204

agcagcagtt ggatctacag ttagactcta taaatcagcg t 41

<210> 1205

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1205

gtctagcagt aaacctgtaa acctagactc tataaatcag cgt 43

<210> 1206

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1206

gtgcattatt ggacgaacat catagactct ataaatcagc gt 42

<210> 1207

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1207

gctgttgtta atggtctata atccatagac tctataaatc agcgt 45

<210> 1208

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1208

cacacatatc ctatgttcat caatatagac tctataaatc agcgt 45

<210> 1209

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1209

ttgagtggtc gttttcttac acatagactc tataaatcag cgt 43

<210> 1210

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1210

cataatcaaa acgaaatgtt tggtttagac tctataaatc agcgt 45

<210> 1211

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1211

tttgtagcat caacgtcctg gtagactcta taaatcagcg t 41

<210> 1212

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1212

caacacattt gacctcccgt ttagactcta taaatcagcg t 41

<210> 1213

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1213

ctaaccaccg aatagattcc tggtagactc tataaatcag cgt 43

<210> 1214

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1214

gcagatgttt gaccggatgt ttagactcta taaatcagcg t 41

<210> 1215

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1215

tgcttgatgt attcggccat cgtagactct ataaatcagc gt 42

<210> 1216

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1216

tgagtttact tgcacggaaa ggtagactct ataaatcagc gt 42

<210> 1217

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1217

cactttatcc cgcagttcag tttagactct ataaatcagc gt 42

<210> 1218

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1218

gcaaagcatg tagccattcc ctagactcta taaatcagcg t 41

<210> 1219

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1219

aaagacatct cgagctgcta atgtagactc tataaatcag cgt 43

<210> 1220

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1220

gtcaccaccc atagtatgag ttttagactc tataaatcag cgt 43

<210> 1221

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1221

tttctaccta aggctctgat gcatagactc tataaatcag cgt 43

<210> 1222

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1222

tagagctgca cggaaagatt ttagactcta taaatcagcg t 41

<210> 1223

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1223

gtgtagcata tgaatcgaca tcatagactc tataaatcag cgt 43

<210> 1224

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1224

tagccttgta tggcagaatc gtagacctaa attactgtga atg 43

<210> 1225

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1225

tgaattgccc tgggtataac tcctagacct aaattactgt gaatg 45

<210> 1226

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1226

ttcctgttgc aacgtgaggg tagacctaaa ttactgtgaa tg 42

<210> 1227

<211> 46

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1227

atgaaagaca cgatcaaaat tgaatagacc taaattactg tgaatg 46

<210> 1228

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1228

gtcagcacga agtgagttca atagacctaa attactgtga atg 43

<210> 1229

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1229

cagtttgcag cgtagaatct cttagaccta aattactgtg aatg 44

<210> 1230

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1230

gtgcagataa tacgtgtctt tgctagacct aaattactgt gaatg 45

<210> 1231

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1231

tccaatgagt atgacaagtc cattagacct aaattactgt gaatg 45

<210> 1232

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1232

tgtaagaaag ctcggtcttc aaatagacct aaattactgt gaatg 45

<210> 1233

<211> 46

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1233

ccatgtaaga tacacgtaag agaatagacc taaattactg tgaatg 46

<210> 1234

<211> 46

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1234

gactcaagag catttcgtaa ttgttagacc taaattactg tgaatg 46

<210> 1235

<211> 46

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1235

atgtcattag tcacctcaag ttcttagacc taaattactg tgaatg 46

<210> 1236

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1236

ccgcactcgc acgcagatag acctaaatta ctgtgaatg 39

<210> 1237

<211> 47

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1237

tgttaacagt atcgtgaata tcacttagac ctaaattact gtgaatg 47

<210> 1238

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1238

actttgccat ctataaggga ggttagacct aaattactgt gaatg 45

<210> 1239

<211> 48

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1239

cttgctatct cgataattta tgaaactaga cctaaattac tgtgaatg 48

<210> 1240

<211> 48

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1240

ttaatgtatc aagagtgtta ctgaaataga cctaaattac tgtgaatg 48

<210> 1241

<211> 46

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1241

tcaaatggga taccttaaca gatctagacc taaattactg tgaatg 46

<210> 1242

<211> 50

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1242

ataaataagc ttcgatttat attacagcta gacctaaatt actgtgaatg 50

<210> 1243

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1243

cttgtgtggt aggattaacc tggtagacct aaattactgt gaatg 45

<210> 1244

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1244

gttggtcaac tcgagcatct ttagacctaa attactgtga atg 43

<210> 1245

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1245

tttggtttgt aggcctgtag cttagaccta aattactgtg aatg 44

<210> 1246

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1246

cattaggcag taactcttgt tcctagacct aaattactgt gaatg 45

<210> 1247

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Target Specific Oligonucleotide

<400> 1247

cttctcagat acgcttcttc ttatagacct aaattactgt gaatg 45

<210> 1248

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1248

ggctaattta ttaccttcta gctataacga t 31

<210> 1249

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1249

accttaagaa tggaattcta gctataacga t 31

<210> 1250

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1250

acttaacttg agtggtctag ctataacgat 30

<210> 1251

<211> 29

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1251

ggctaattta ttacctcggt ctagatgga 29

<210> 1252

<211> 29

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1252

accttaagaa tggaatcggt ctagatgga 29

<210> 1253

<211> 28

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1253

acttaacttg agtggcggtc tagatgga 28

<210> 1254

<211> 32

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1254

ggctaattta ttacctgtta actccgtagt aa 32

<210> 1255

<211> 32

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1255

accttaagaa tggaatgtta actccgtagt aa 32

<210> 1256

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1256

acttaacttg agtgggttaa ctccgtagta a 31

<210> 1257

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1257

ggctaattta ttacctcgct atatctactg a 31

<210> 1258

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1258

accttaagaa tggaatcgct atatctactg a 31

<210> 1259

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1259

acttaacttg agtggcgcta tatctactga 30

<210> 1260

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1260

ggctaattta ttacctgttt ccgtttcgaa 30

<210> 1261

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1261

accttaagaa tggaatgttt ccgtttcgaa 30

<210> 1262

<211> 29

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1262

acttaacttg agtgggtttc cgtttcgaa 29

<210> 1263

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1263

ggctaattta ttaccttagc gtttcaaaag 30

<210> 1264

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1264

accttaagaa tggaattagc gtttcaaaag 30

<210> 1265

<211> 29

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1265

acttaacttg agtggtagcg tttcaaaag 29

<210> 1266

<211> 28

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1266

ggctaattta ttaccttgat ccgacgag 28

<210> 1267

<211> 28

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1267

accttaagaa tggaattgat ccgacgag 28

<210> 1268

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1268

acttaacttg agtggtgatc cgacgag 27

<210> 1269

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1269

ggctaattta ttacctaatc tacatgtctg a 31

<210> 1270

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1270

accttaagaa tggaataatc tacatgtctg a 31

<210> 1271

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1271

acttaacttg agtggaatct acatgtctga 30

<210> 1272

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1272

ggctaattta ttacctggac gttgaataca 30

<210> 1273

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1273

accttaagaa tggaatggac gttgaataca 30

<210> 1274

<211> 29

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1274

acttaacttg agtggggacg ttgaataca 29

<210> 1275

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1275

ggctaattta ttaccttaaa gtgacaattc a 31

<210> 1276

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1276

accttaagaa tggaattaaa gtgacaattc a 31

<210> 1277

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1277

acttaacttg agtggtaaag tgacaattca 30

<210> 1278

<211> 32

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1278

ggctaattta ttacctgatt cccataatta gg 32

<210> 1279

<211> 32

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1279

accttaagaa tggaatgatt cccataatta gg 32

<210> 1280

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1280

acttaacttg agtgggattc ccataattag g 31

<210> 1281

<211> 33

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1281

ggctaattta ttacctcgtc gtataaatct atc 33

<210> 1282

<211> 33

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1282

accttaagaa tggaatcgtc gtataaatct atc 33

<210> 1283

<211> 32

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1283

acttaacttg agtggcgtcg tataaatcta tc 32

<210> 1284

<211> 34

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1284

ggctaattta ttacctgatg tctatccttt ataa 34

<210> 1285

<211> 34

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1285

accttaagaa tggaatgatg tctatccttt ataa 34

<210> 1286

<211> 33

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1286

acttaacttg agtgggatgt ctatccttta taa 33

<210> 1287

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1287

ggctaattta ttacctttтc cacgataacc 30

<210> 1288

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1288

accttaagaa tggaattttc cacgataacc 30

<210> 1289

<211> 29

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1289

acttaacttg agtggtttcc acgataacc 29

<210> 1290

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1290

ggctaattta ttaccttagt accgaataag g 31

<210> 1291

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1291

accttaagaa tggaattagt accgaataag g 31

<210> 1292

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1292

acttaacttg agtggtagta ccgaataagg 30

<210> 1293

<211> 32

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1293

ggctaattta ttaccttaaa gttgtaaaat cc 32

<210> 1294

<211> 32

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1294

accttaagaa tggaattaaa gttgtaaaat cc 32

<210> 1295

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1295

acttaacttg agtggtaaag ttgtaaaatc c 31

<210> 1296

<211> 32

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1296

ggctaattta ttacctggat aagtcggtaa tc 32

<210> 1297

<211> 32

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1297

accttaagaa tggaatggat aagtcggtaa tc 32

<210> 1298

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1298

acttaacttg agtggggata agtcggtaat c 31

<210> 1299

<211> 33

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1299

ggctaattta ttacctggta tttcactcta att 33

<210> 1300

<211> 33

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1300

accttaagaa tggaatggta tttcactcta att 33

<210> 1301

<211> 32

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1301

acttaacttg agtggggtat ttcactctaa tt 32

<210> 1302

<211> 32

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1302

ggctaattta ttacctagct agataaagta cc 32

<210> 1303

<211> 32

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1303

accttaagaa tggaatagct agataaagta cc 32

<210> 1304

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1304

acttaacttg agtggagcta gataaagtac c 31

<210> 1305

<211> 32

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1305

ggctaattta ttacctccga aactacgatt at 32

<210> 1306

<211> 32

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1306

accttaagaa tggaatccga aactacgatt at 32

<210> 1307

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1307

acttaacttg agtggccgaa actacgatta t 31

<210> 1308

<211> 32

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1308

ggctaattta ttacctcatc gaatttatgt ta 32

<210> 1309

<211> 32

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1309

accttaagaa tggaatcatc gaatttatgt ta 32

<210> 1310

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1310

acttaacttg agtggcatcg aatttatgtt a 31

<210> 1311

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1311

ggctaattta ttacctccgt aattctaccg 30

<210> 1312

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1312

accttaagaa tggaatccgt aattctaccg 30

<210> 1313

<211> 29

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1313

acttaacttg agtggccgta attctaccg 29

<210> 1314

<211> 29

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1314

ggctaattta ttacctgggt aatcgtcac 29

<210> 1315

<211> 29

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1315

accttaagaa tggaatgggt aatcgtcac 29

<210> 1316

<211> 28

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1316

acttaacttg agtgggggta atcgtcac 28

<210> 1317

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1317

ggctaattta ttacctagtg ttatgagaag c 31

<210> 1318

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1318

accttaagaa tggaatagtg ttatgagaag c 31

<210> 1319

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1319

acttaacttg agtggagtgt tatgagaagc 30

<210> 1320

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1320

ggctaattta ttacctctgc aatagaagag a 31

<210> 1321

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1321

accttaagaa tggaatctgc aatagaagag a 31

<210> 1322

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1322

acttaacttg agtggctgca atagaagaga 30

<210> 1323

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1323

ggctaattta ttacctgatt tttcagcgac 30

<210> 1324

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1324

accttaagaa tggaatgatt tttcagcgac 30

<210> 1325

<211> 29

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1325

acttaacttg agtgggattt ttcagcgac 29

<210> 1326

<211> 32

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1326

ggctaattta ttacctcgta atatgaagat ca 32

<210> 1327

<211> 32

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1327

accttaagaa tggaatcgta atatgaagat ca 32

<210> 1328

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1328

acttaacttg agtggcgtaa tatgaagatc a 31

<210> 1329

<211> 32

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1329

ggctaattta ttacctgaat tggaatattc gt 32

<210> 1330

<211> 32

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1330

accttaagaa tggaatgaat tggaatattc gt 32

<210> 1331

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1331

acttaacttg agtgggaatt ggaatattcg t 31

<210> 1332

<211> 33

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1332

ggctaattta ttacctggta ttaatcttga aga 33

<210> 1333

<211> 33

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1333

accttaagaa tggaatggta ttaatcttga aga 33

<210> 1334

<211> 32

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1334

acttaacttg agtggggtat taatcttgaa ga 32

<210> 1335

<211> 29

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1335

ggctaattta ttacctacga tgtattgcc 29

<210> 1336

<211> 29

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1336

accttaagaa tggaatacga tgtattgcc 29

<210> 1337

<211> 28

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1337

acttaacttg agtggacgat gtattgcc 28

<210> 1338

<211> 32

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1338

ggctaattta ttacctcata tacaaacggt ac 32

<210> 1339

<211> 32

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1339

accttaagaa tggaatcata tacaaacggt ac 32

<210> 1340

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1340

acttaacttg agtggcatat acaaacggta c 31

<210> 1341

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1341

ggctaattta ttacctttcc gatcttaact t 31

<210> 1342

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1342

accttaagaa tggaatttcc gatcttaact t 31

<210> 1343

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1343

acttaacttg agtggttccg atcttaactt 30

<210> 1344

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1344

ggctaattta ttacctgtgt taattcgcat c 31

<210> 1345

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1345

accttaagaa tggaatgtgt taattcgcat c 31

<210> 1346

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1346

acttaacttg agtgggtgtt aattcgcatc 30

<210> 1347

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1347

ggctaattta ttacctcgtt taattgggct 30

<210> 1348

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1348

accttaagaa tggaatcgtt taattgggct 30

<210> 1349

<211> 29

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1349

acttaacttg agtggcgttt aattgggct 29

<210> 1350

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1350

ggctaattta ttacctcaac acttataacg g 31

<210> 1351

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1351

accttaagaa tggaatcaac acttataacg g 31

<210> 1352

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1352

acttaacttg agtggcaaca cttataacgg 30

<210> 1353

<211> 34

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1353

ggctaattta ttacctggaa ataagtatta tacc 34

<210> 1354

<211> 34

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1354

accttaagaa tggaatggaa ataagtatta tacc 34

<210> 1355

<211> 33

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1355

acttaacttg agtggggaaa taagtattat acc 33

<210> 1356

<211> 29

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1356

ggctaattta ttacctctta acgacggtt 29

<210> 1357

<211> 29

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1357

accttaagaa tggaatctta acgacggtt 29

<210> 1358

<211> 28

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1358

acttaacttg agtggcttaa cgacggtt 28

<210> 1359

<211> 33

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1359

ggctaattta ttacctgctc gttagaattt att 33

<210> 1360

<211> 33

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1360

accttaagaa tggaatgctc gttagaattt att 33

<210> 1361

<211> 32

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1361

acttaacttg agtgggctcg ttagaattta tt 32

<210> 1362

<211> 32

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1362

ggctaattta ttaccttctt tatcatcatt ga 32

<210> 1363

<211> 32

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1363

accttaagaa tggaattctt tatcatcatt ga 32

<210> 1364

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1364

acttaacttg agtggtcttt atcatcattg a 31

<210> 1365

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1365

ggctaattta ttacctcgtt cgcaatttat c 31

<210> 1366

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1366

accttaagaa tggaatcgtt cgcaatttat c 31

<210> 1367

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1367

acttaacttg agtggcgttc gcaatttatc 30

<210> 1368

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1368

ggctaattta ttacctcgat cttttgttgt a 31

<210> 1369

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1369

accttaagaa tggaatcgat cttttgttgt a 31

<210> 1370

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1370

acttaacttg agtggcgatc ttttgttgta 30

<210> 1371

<211> 32

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1371

ggctaattta ttacctacca ctcaatataa ga 32

<210> 1372

<211> 32

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1372

accttaagaa tggaatacca ctcaatataa ga 32

<210> 1373

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1373

acttaacttg agtggaccac tcaatataag a 31

<210> 1374

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1374

ggctaattta ttacctccgt aaattcggtc 30

<210> 1375

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1375

accttaagaa tggaatccgt aaattcggtc 30

<210> 1376

<211> 29

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1376

acttaacttg agtggccgta aattcggtc 29

<210> 1377

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1377

ggctaattta ttacctcgtg agatttctga 30

<210> 1378

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1378

accttaagaa tggaatcgtg agatttctga 30

<210> 1379

<211> 29

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1379

acttaacttg agtggcgtga gatttctga 29

<210> 1380

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1380

ggctaattta ttacctcgaa gcatagaata g 31

<210> 1381

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1381

accttaagaa tggaatcgaa gcatagaata g 31

<210> 1382

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1382

acttaacttg agtggcgaag catagaatag 30

<210> 1383

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1383

ggctaattta ttacctaaaa tacgggagac 30

<210> 1384

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1384

accttaagaa tggaataaaa tacgggagac 30

<210> 1385

<211> 29

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1385

acttaacttg agtggaaaat acgggagac 29

<210> 1386

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1386

ggctaattta ttacctcgca tggtataaca t 31

<210> 1387

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1387

accttaagaa tggaatcgca tggtataaca t 31

<210> 1388

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1388

acttaacttg agtggcgcat ggtataacat 30

<210> 1389

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1389

ggctaattta ttacctacgc tgatttatag a 31

<210> 1390

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1390

accttaagaa tggaatacgc tgatttatag a 31

<210> 1391

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1391

acttaacttg agtggacgct gatttataga 30

<210> 1392

<211> 33

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1392

ggctaattta ttacctcgta gggtaaatag att 33

<210> 1393

<211> 33

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1393

accttaagaa tggaatcgta gggtaaatag att 33

<210> 1394

<211> 32

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1394

acttaacttg agtggcgtag ggtaaataga tt 32

<210> 1395

<211> 33

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1395

ggctaattta ttacctcatt cacagtaatt tag 33

<210> 1396

<211> 33

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1396

accttaagaa tggaatcatt cacagtaatt tag 33

<210> 1397

<211> 32

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Decoding Oligonucleotide

<400> 1397

acttaacttg agtggcattc acagtaattt ag 32

<210> 1398

<211> 15

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Signal Oligonucleotide

<400> 1398

ccactcaagt taagt 15

<210> 1399

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Signal Oligonucleotide

<400> 1399

attccattct taaggt 16

<210> 1400

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Signal Oligonucleotide

<400> 1400

aggtaataaa ttagcc 16