



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 115702249 A

(43) 申请公布日 2023. 02. 14

(21) 申请号 202180041893.2

弗兰克·赖内克

(22) 申请日 2021.06.18

克里斯蒂安·科尔夫哈格

(30) 优先权数据

(74) 专利代理机构 成都超凡明远知识产权代理
有限公司 51258

PCT/EP2020/067010 2020.06.18 EP

专利代理师 刘明

63/127,910 2020.12.18 US

63/129,942 2020.12.23 US

(51) Int.Cl.

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

C12Q 1/6813 (2006.01)

2022.12.09

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/EP2021/066668 2021.06.18

(87) PCT国际申请的公布数据

W02021/255263 EN 2021.12.23

(71) 申请人 解析生物科学有限公司

地址 德国蒙海姆阿姆赖因

权利要求书14页 说明书48页

(72) 发明人 安德里亚斯·盖佩尔

序列表288页 附图31页

(54) 发明名称

用于检测样品中的不同分析物以及分析物
的不同亚组/变异体的多重方法

(57) 摘要

本文提供的技术涉及用于检测样品中的不
同分析物以及分析物的不同亚组/变异体的多重
方法和试剂盒,以及用于筛选、识别和/或测试物
质和/或药物的体外方法和用于诊断疾病的体外
方法,以及光学复用系统。

1. 一种用于检测样品中的不同分析物以及分析物的不同亚组/变异体的多重方法, 包括:

(A) 使所述样品与用于编码至少20种不同分析物的至少二十(20)个不同的分析物特异性探针组接触, 每个分析物特异性探针组与不同的分析物相互作用, 其中, 如果所述分析物是核酸, 则每个分析物特异性探针组包括与相同分析物的不同亚结构特异性相互作用的至少五(5)种分析物特异性探针, 每种分析物特异性探针包括

(aa) 结合元件(S), 与待编码的不同分析物之一特异性相互作用, 以及

(bb) 标识符元件(T), 包括对于待编码的分析物唯一的核苷酸序列(唯一标识符序列),

其中, 特定分析物特异性探针组的分析物特异性探针与另一分析物特异性探针组的分析物特异性探针在所述标识符元件(T)的核苷酸序列方面不同,

其中, 每个分析物特异性探针组中的分析物特异性探针与相同的分析物结合并且包括对于所述分析物唯一的标识符元件(T)的相同核苷酸序列; 以及

使所述样品与用于至少一种分析物及其变异体的至少两个不同的分析物特异性探针组接触,

其中, 这些不同组中包括的分析物特异性探针与相同分析物相互作用, 但与相同分析物的不同亚结构特异性相互作用,

其中, 第一分析物特异性探针组的分析物特异性探针与分析物的所有变异体中包括的亚结构相互作用,

其中, 第二分析物特异性探针组的分析物特异性探针(亚组特异性探针)与仅在所述分析物的特定变异体中包括的亚结构相互作用,

其中, 所述第一分析物特异性探针组的分析物特异性探针包括相同的标识符元件(T), 所述标识符元件包括对于所述待编码的分析物唯一的核苷酸序列(唯一标识符序列), 并且

其中, 所述第二分析物特异性探针组的分析物特异性探针包括相同的标识符元件(T), 所述标识符元件包括对于待编码的分析物唯一的核苷酸序列(唯一标识符序列),

其中, 所述第一分析物特异性探针组的分析物特异性探针的标识符元件(T)与所述第二分析物特异性探针组的分析物特异性探针的标识符元件(T)不同, 以结合不同的解码寡核苷酸和/或非信号解码寡核苷酸.

(B) 使所述样品与每种分析物的至少一个解码寡核苷酸组接触, 其中, 在用于个体分析物的每个解码寡核苷酸组中, 每个解码寡核苷酸包括:

(aa) 标识符连接物元件(t), 包括与相应分析物特异性探针组的标识符元件(T)的唯一标识符序列的至少一部分基本上互补的核苷酸序列, 以及

(bb) 翻译物元件(c), 包括允许信号寡核苷酸特异性杂交的核苷酸序列;

其中, 用于个体分析物的一组解码寡核苷酸与用于不同分析物的另一组解码寡核苷酸在第一连接元件(t)方面不同; 以及

(C) 使所述样品与至少一个信号寡核苷酸组接触, 每个信号寡核苷酸包括:

(aa) 翻译物连接物元件(C), 包括与解码寡核苷酸中包括的翻译物元件(c)的核苷酸序列的至少一部分基本上互补的核苷酸序列, 以及

(bb) 信号元件.

(D) 检测由所述信号元件引起的信号;

(E) 从所述样品中选择性地除去所述解码寡核苷酸和信号寡核苷酸,从而基本上保持所述分析物特异性探针与所述待编码的分析物的特异性结合;

(F) 执行包括步骤B)至E)的至少三(3)个另外的循环,以生成具有每种分析物的码字的编码方案,

(G) 执行包括步骤B)至E)的至少一(1)个另外的循环,以鉴定亚组特异性探针,其中,尤其所述循环可以在步骤(D)处停止。

2. 根据权利要求1所述的方法,其中,所述分析物特异性探针组包括与分析物的相同变异体的不同亚结构特异性相互作用的至少五(5)种亚组特异性探针。

3. 根据权利要求1至2中任一项所述的方法,其中,如果所述分析物是核酸,则每个分析物特异性探针组包括至少十(10)种分析物特异性探针,尤其至少十五(15)种分析物特异性探针,尤其至少二十(20)种分析物特异性探针,所述分析物特异性探针以每种分析物特异性探针与相同分析物的不同亚结构特异性相互作用。

4. 根据权利要求1至3中任一项所述的方法,其中,使至少一种分析物的亚组与至少五(5)个亚组特异性探针的组接触,所述亚组特异性探针与另一分析物特异性探针组的分析物特异性探针在所述标识符元件(T)的核苷酸序列方面不同。

5. 根据权利要求1至4中任一项所述的方法,其中,使所述样品与根据权利要求30所述的亚组特异性探针组接触,其中,所述方法包括含有步骤B)至E)的额外另外的循环,以鉴定与所述亚组特异性探针相互作用的变异体,其中,尤其所述循环可以在步骤(D)处停止。

6. 根据权利要求1至5中任一项所述的方法,其中,所有步骤都是自动化的,尤其其中,步骤B)至G)是自动化的,尤其通过使用机器人系统。

7. 根据权利要求1至6中任一项所述的方法,其中,所有步骤都在流体系统中进行。

8. 根据权利要求1至7中任一项所述的方法,其中,每种分析物与特定码字相关联,其中,所述码字包括多个位置,并且其中,每个位置对应于一个循环,从而产生具有多个码字的多个可区分的编码方案。

9. 根据权利要求1至8中任一项所述的方法,其中,所述编码方案是预定的并且分配给待编码的分析物。

10. 根据权利要求1至9中任一项所述的方法,其中,在执行的循环中对于所述个体分析物获得的所述码字包括检测到的信号以及对应于未检测到的信号的额外的至少一个元件。

11. 根据权利要求1至10中任一项所述的方法,其中,在至少一个循环内对于至少一种分析物没有检测到信号。

12. 根据权利要求1至11中任一项所述的方法,其中,至少对于一种个体分析物,所述码字的位置为零(0)。

13. 根据权利要求1至12中任一项所述的方法,其中,所述码字零(0)是通过不使用具有标识符连接物元件(t)的解码寡核苷酸生成的,所述标识符连接物元件包括与个体分析物的相应分析物特异性探针的所述标识符元件(T)的唯一标识符序列的至少一部分基本上互补的核苷酸序列。

14. 根据权利要求1至13中任一项所述的方法,其中,如果在此循环中至少对于一种个体分析物,所述码字的位置为零(0),则不使用具有标识符连接物元件(t)的相应解码寡核苷酸,所述标识符连接物元件包括与个体分析物的相应分析物特异性探针的所述标识符元

件(T)的唯一标识符序列的至少一部分基本上互补的核苷酸序列。

15. 根据权利要求1至14中任一项所述的方法,其中,使所述样品与至少两个不同的信号寡核苷酸组接触,其中,每组中的所述信号寡核苷酸包括不同的信号元件并且包括不同的连接物元件(C)。

16. 根据权利要求1至15中任一项所述的方法,其中,使所述样品与每种分析物的至少两个不同的解码寡核苷酸组接触,

其中,这些不同组中包括的所述解码寡核苷酸包括相同的标识符连接物元件(t),所述标识符连接物元件包括与相应分析物特异性探针组的所述标识符元件(T)的唯一标识符序列的至少一部分基本上互补的核苷酸序列,以及

其中,每种分析物的不同组的所述解码寡核苷酸在所述翻译物元件(c)方面不同,所述翻译物元件包括允许信号寡核苷酸特异性杂交的核苷酸序列。

17. 根据权利要求1至16中任一项所述的方法,其中,使所述样品与每种分析物的至少两个不同的解码寡核苷酸组接触,

其中,这些不同组中包括的所述解码寡核苷酸包括相同的标识符连接物元件(t),所述标识符连接物元件包括与相应分析物特异性探针组的所述标识符元件(T)的唯一标识符序列的至少一部分基本上互补的核苷酸序列,以及

其中,每种分析物的不同组的所述解码寡核苷酸在翻译物元件(c)方面不同,所述翻译物元件包括允许信号寡核苷酸特异性杂交的核苷酸序列;

其中,每个循环仅使用每种分析物的一个解码寡核苷酸组,和/或其中,在不同循环中使用不同的解码寡核苷酸组,同一循环中使用相应信号寡核苷酸组。

18. 根据权利要求1至17中任一项所述的方法,其中,包括不同翻译物元件(c)的每种分析物的不同的解码寡核苷酸组的数量对应于包括不同连接物元件(C)的不同的信号寡核苷酸组的数量。

19. 根据权利要求1至18中任一项所述的方法,其中,用于不同分析物的所有解码寡核苷酸组包括一种或多种相同类型的一个或多个翻译物元件(c)。

20. 根据权利要求1至19中任一项所述的方法,其中,使所述样品与以下接触:

用于与分析物特异性探针的特定标识符元件(T)结合的至少一个非信号解码寡核苷酸组,其中,在相同非信号解码寡核苷酸组中的解码寡核苷酸与相同的不同标识符元件(T)相互作用,

其中,每个非信号解码寡核苷酸包括标识符连接物元件(t),

所述标识符连接物元件包括与唯一标识符序列的至少一部分基本上互补的核苷酸序列,并且每个非信号解码寡核苷酸不包括含有允许信号寡核苷酸特异性杂交的核苷酸序列的翻译物元件(c)。

21. 根据权利要求1至20中任一项所述的方法,其中,使所述样品与以下接触:

用于与分析物特异性探针的至少两个不同的标识符元件(T)结合的至少两(2)个不同的非信号解码寡核苷酸组,每个非信号解码寡核苷酸组与不同的标识符元件(T)相互作用,

其中,每个非信号解码寡核苷酸包括标识符连接物元件(t),所述标识符连接物元件包括与唯一标识符序列的至少一部分基本上互补的核苷酸序列,并且每个非信号解码寡核苷酸不包括含有允许信号寡核苷酸特异性杂交的核苷酸序列的翻译物元件(c)。

22. 根据权利要求20至21中任一项所述的方法,其中,所述不同的非信号解码寡核苷酸组可以包括在不同的非信号解码寡核苷酸组的预混合物中或分开存在。

23. 根据权利要求1至22中任一项所述的方法,其中,使所述样品与以下接触:

非信号寡核苷酸组,每个非信号寡核苷酸包括:

(aa) 翻译物连接物元件(C),包括与所述翻译物元件(c)的核苷酸序列的至少一部分基本上互补的核苷酸序列,以及

(bb) 猝灭剂(Q),信号元件和猝灭剂(Q),或不包括信号元件。

24. 根据权利要求1至23中任一项所述的方法,其中,使所述样品与以下接触:

至少两个非信号寡核苷酸组,每个非信号寡核苷酸包括:

(aa) 翻译物连接物元件(C),包括与所述翻译物元件(c)的核苷酸序列的至少一部分基本上互补的核苷酸序列,以及

(bb) 猝灭剂(Q),信号元件和猝灭剂(Q),或不包括信号元件。

25. 根据权利要求23至24中任一项所述的方法,其中,不同的非信号寡核苷酸组可以包括在不同的非信号寡核苷酸组的预混合物中或分开存在。

26. 根据权利要求1至25中任一项所述的方法,其中,特定解码寡核苷酸组中的解码寡核苷酸与对于特定分析物唯一的相同标识符元件(T)相互作用。

27. 根据权利要求1至26中任一项所述的方法,其中,不同的解码寡核苷酸组可以包括在不同的解码寡核苷酸组的预混合物中或分开存在。

28. 根据权利要求1至27中任一项所述的方法,其中,所述不同的分析物特异性探针组可以包括在不同的分析物特异性探针组的预混合物中或分开存在。

29. 根据权利要求1至28中任一项所述的方法,其中,所述不同的信号寡核苷酸组可以包括在不同的信号寡核苷酸组的预混合物中或分开存在。

30. 根据权利要求1至29中任一项所述的方法,其中,所述样品是生物样品,优选包括生物组织,进一步优选包括生物细胞和/或提取物和/或细胞的部分。

31. 根据权利要求30所述的方法,其中,所述细胞是原核细胞或真核细胞,尤其是哺乳动物细胞,尤其是人细胞。

32. 根据权利要求30所述的方法,其中,所述生物组织、生物细胞、提取物和/或细胞的部分是固定的。

33. 根据权利要求1至32中任一项所述的方法,其中,将所述分析物固定在透化样品,诸如包含细胞的样品中。

34. 根据权利要求1至33中任一项所述的方法,其中,所述结合元件(S)包括含有以下核苷酸序列的核酸,所述核苷酸序列允许与所述待编码的分析物特异性结合、优选与所述待编码的分析物特异性杂交。

35. 根据权利要求1至34中任一项所述的方法,其中,在步骤A)之后并且在步骤B)之前,除去未结合的分析物特异性探针,尤其通过洗涤。

36. 根据权利要求1至35中任一项所述的方法,其中,在步骤B)之后并且在步骤C)之前,除去未结合和解码寡核苷酸,尤其通过洗涤。

37. 根据权利要求1至36中任一项所述的方法,其中,在步骤C)之后并且在步骤D)之前,除去未结合的信号寡核苷酸,尤其通过洗涤。

38. 根据权利要求1至37中任一项所述的方法, 其中, 将所述分析物特异性探针与所述样品温育, 从而允许所述分析物特异性探针与所述待编码的分析物特异性结合。

39. 根据权利要求1至38中任一项所述的方法, 其中, 将所述解码寡核苷酸与所述样品温育, 从而允许所述解码寡核苷酸与各自分析物特异性探针的标识符元件 (T) 特异性杂交。

40. 根据权利要求1至39中任一项所述的方法, 其中, 将所述信号寡核苷酸与所述样品温育, 从而允许所述信号寡核苷酸与各自解码寡核苷酸的翻译物元件 (T) 特异性杂交。

41. 根据权利要求1至40中任一项所述的方法, 其中, 所述待编码的分析物是核酸, 优选DNA、PNA或RNA, 尤其是mRNA。

42. 根据权利要求1至41中任一项所述的方法, 其中, 所述待编码的分析物是肽、多肽或蛋白质。

43. 根据权利要求1至42中任一项所述的方法, 其中, 所述结合元件 (S) 包括允许与所述待编码的分析物特异性结合的氨基酸序列。

44. 根据权利要求1至43中任一项所述的方法, 其中, 所述结合元件 (S) 包括以下部分, 所述部分是来自亲和物质的亲和部分或是亲和物质整体, 所述亲和物质选自以下项组成的组: 抗体、抗体片段、anticalin蛋白质、受体配体、酶底物、凝集素、细胞因子、淋巴因子、白介素、血管生成或毒力因子、变应原、肽变应原、重组变应原、变应原独特型抗体、自身免疫引发结构、组织排斥诱导结构、免疫球蛋白恒定区及其组合。

45. 根据权利要求1至44中任一项所述的方法, 其中, 所述结合元件 (S) 是选自以下项组成的组的抗体或抗体片段: Fab、scFv; 单结构域或其片段、双scFv、Fab 2、Fab 3、微型抗体、双抗体、三抗体、四抗体和tandab。

46. 根据权利要求1至45中任一项所述的方法, 其中, 由所述信号元件引起的信号, 因此尤其是由所述信号寡核苷酸与同结合到各自分析物的相应分析物探针相互作用的所述解码寡核苷酸的结合引起的信号通过以下来确定:

- (a) 对所述样品的至少一部分进行成像; 和/或
- (b) 使用光学成像技术; 和/或
- (c) 使用荧光成像技术; 和/或
- (d) 多色荧光成像技术; 和/或
- (e) 超分辨率荧光成像技术。

47. 根据权利要求1至46中任一项所述的方法, 其中, 至少一个解码寡核苷酸组中的所述解码寡核苷酸是包括以下项的多解码物:

(aa) 标识符连接物元件 (t), 包括与相应分析物特异性探针组的标识符元件 (T) 的唯一标识符序列的至少一部分基本上互补的核苷酸序列, 以及

(bb) 至少两个翻译物元件 (c), 其中, 所述翻译物元件包括允许不同的信号寡核苷酸特异性杂交的不同的核苷酸序列。

48. 根据权利要求47所述的方法, 其中, 所述不同的信号寡核苷酸包括不同的信号元件并且包括不同的连接物元件 (C)。

49. 一种用于多重分析物编码的试剂盒, 包括

(A) 用于编码至少20种不同分析物的至少二十 (20) 个不同的分析物特异性探针组, 每个分析物特异性探针组与不同的分析物相互作用, 其中, 如果所述分析物是核酸, 则每个分

析物特异性探针组包括与相同分析物的不同亚结构特异性相互作用的至少五 (5) 种分析物特异性探针, 每种分析物特异性探针包括

(aa) 结合元件 (S), 与待编码的不同分析物之一特异性相互作用, 以及

(bb) 标识符元件 (T), 包括对于待编码的分析物唯一的核苷酸序列 (唯一标识符序列),

其中, 特定分析物特异性探针组的分析物特异性探针与另一分析物特异性探针组的分析物特异性探针在所述标识符元件 (T) 的核苷酸序列方面不同,

其中, 每个分析物特异性探针组中的分析物特异性探针与相同的分析物结合并且包括对于所述分析物唯一的标识符元件 (T) 的相同核苷酸序列; 以及

(B) 每种分析物的至少一个解码寡核苷酸组, 其中, 在用于个体分析物的每个解码寡核苷酸组中, 每个解码寡核苷酸包括:

(aa) 标识符连接物元件 (t), 包括与相应分析物特异性探针组的标识符元件 (T) 的唯一标识符序列的至少一部分基本上互补的核苷酸序列, 以及

(bb) 翻译物元件 (c), 包括允许信号寡核苷酸特异性杂交的核苷酸序列;

其中, 用于个体分析物的一组解码寡核苷酸与用于不同分析物的另一组解码寡核苷酸在所述标识符连接元件 (t) 方面不同; 以及

(C) 信号寡核苷酸组, 每个信号寡核苷酸包括:

(aa) 翻译物连接物元件 (C), 包括与解码寡核苷酸中包括的翻译物元件 (c) 的核苷酸序列的至少一部分基本上互补的核苷酸序列, 以及

(bb) 信号元件。

50. 根据权利要求49所述的试剂盒, 其中, 所述试剂盒包括用于分析物的至少两个不同的分析物特异性探针组,

其中, 这些不同组中包括的分析物特异性探针与相同分析物相互作用, 但与相同分析物的不同亚结构特异性相互作用,

其中, 第一分析物特异性探针组的分析物特异性探针与分析物的所有变异体中包括的亚结构相互作用,

其中, 第二分析物特异性探针组的分析物特异性探针 (亚组特异性探针) 与仅在所述分析物的特定变异体中包括的亚结构相互作用,

其中, 所述第一分析物特异性探针组的分析物特异性探针包括相同的标识符元件 (T), 所述标识符元件包括对于所述待编码的分析物唯一的核苷酸序列 (唯一标识符序列), 并且

其中, 所述第二分析物特异性探针组的分析物特异性探针包括相同的标识符元件 (T), 所述标识符元件包括对于待编码的分析物唯一的核苷酸序列 (唯一标识符序列),

其中, 所述第一分析物特异性探针组的分析物特异性探针的标识符元件 (T) 与所述第二分析物特异性探针组的分析物特异性探针的标识符元件 (T) 不同。

51. 根据权利要求49至50中任一项所述的试剂盒, 其中, 所述试剂盒包括至少五 (5) 个亚组特异性探针组, 所述亚组特异性探针与另一分析物特异性探针组的分析物特异性探针在所述标识符元件 (T) 的核苷酸序列方面不同。

52. 根据权利要求49至51中任一项所述的试剂盒, 其中, 所述试剂盒不包括根据权利要求47中所限定的分析物特异性探针和/或亚组特异性探针的组。

53. 根据权利要求49至52中任一项所述的试剂盒, 其中, 如果所述分析物是核酸, 则每

个分析物特异性探针组包括至少十 (10) 种分析物特异性探针, 尤其至少十五 (15) 种分析物特异性探针, 尤其至少二十 (20) 种分析物特异性探针, 所述分析物特异性探针与相同分析物的不同亚结构特异性相互作用。

54. 根据权利要求49至53中任一项所述的试剂盒, 其中, 如果所述分析物是肽、多肽或蛋白质, 则每个分析物特异性探针组包括至少两 (2) 种分析物特异性探针, 尤其至少三 (3) 种分析物特异性探针, 尤其至少四 (4) 种分析物特异性探针, 所述分析物特异性探针与相同分析物的不同亚结构特异性相互作用。

55. 根据权利要求49至54中任一项所述的试剂盒, 其中, 所述试剂盒包括至少两个不同的信号寡核苷酸组, 其中, 每组中的所述信号寡核苷酸包括不同的信号元件并且包括不同的连接物元件 (C)。

56. 根据权利要求49至55中任一项所述的试剂盒, 其中, 所述试剂盒包括每种分析物的至少两个不同的解码寡核苷酸组,

其中, 这些不同组中包括的所述解码寡核苷酸包括相同的标识符连接物元件 (t), 所述标识符连接物元件包括与相应分析物特异性探针组的所述标识符元件 (T) 的唯一标识符序列的至少一部分基本上互补的核苷酸序列, 以及

其中, 每种分析物的不同组的所述解码寡核苷酸在所述翻译物元件 (c) 方面不同, 所述翻译物元件包括允许信号寡核苷酸特异性杂交的核苷酸序列。

57. 根据权利要求49至56中任一项所述的试剂盒, 其中, 所述试剂盒包括每种分析物的至少两个不同的解码寡核苷酸组,

其中, 这些不同组中包括的所述解码寡核苷酸包括相同的标识符连接物元件 (t), 所述标识符连接物元件包括与相应分析物特异性探针组的所述标识符元件 (T) 的唯一标识符序列的至少一部分基本上互补的核苷酸序列, 以及

其中, 用于至少一种分析物的不同组的所述解码寡核苷酸在所述翻译物元件 (c) 方面不同, 所述翻译物元件包括允许信号寡核苷酸特异性杂交的核苷酸序列。

58. 根据权利要求49至57中任一项所述的试剂盒, 其中, 包括不同翻译物元件 (c) 的每种分析物的不同的解码寡核苷酸组的数量对应于包括不同连接物元件 (C) 的不同的信号寡核苷酸组的数量。

59. 根据权利要求49至58中任一项所述的试剂盒, 其中, 特定解码寡核苷酸组中的所述解码寡核苷酸与对于特定分析物唯一的相同标识符元件 (T) 相互作用。

60. 根据权利要求49至59中任一项所述的试剂盒, 其中, 用于不同分析物的所有解码寡核苷酸组包括一种或多种相同类型的一个或多个翻译物元件 (c)。

61. 根据权利要求49至60中任一项所述的试剂盒, 其中, 所述试剂盒包括:

(D) 用于与分析物特异性探针的特定标识符元件 (T) 结合的至少一个非信号解码寡核苷酸组, 其中, 在相同非信号解码寡核苷酸组中的解码寡核苷酸与相同的不同标识符元件 (T) 相互作用,

其中, 每个非信号解码寡核苷酸包括标识符连接物元件 (t), 所述标识符连接物元件包括与唯一标识符序列的至少一部分基本上互补的核苷酸序列, 并且每个非信号解码寡核苷酸不包括含有允许信号寡核苷酸特异性杂交的核苷酸序列的翻译物元件 (c)。

62. 根据权利要求49至61中任一项所述的试剂盒, 其中, 所述试剂盒包括:

(D) 用于与分析物特异性探针的至少两个不同的标识符元件(T)结合的至少两(2)个不同的非信号解码寡核苷酸组,每个非信号解码寡核苷酸组与不同的标识符元件(T)相互作用,

其中,每个非信号解码寡核苷酸包括标识符连接物元件(t),所述标识符连接物元件包括与唯一标识符序列的至少一部分基本上互补的核苷酸序列,并且每个非信号解码寡核苷酸不包括含有允许信号寡核苷酸特异性杂交的核苷酸序列的翻译物元件(c)。

63. 根据权利要求49至62中任一项所述的试剂盒,其中,不同的非信号解码寡核苷酸组可以包括在不同的非信号解码寡核苷酸组的预混合物中或分开存在。

64. 根据权利要求49至63中任一项所述的试剂盒,其中,所述试剂盒包括:

(E) 非信号寡核苷酸组,每个非信号寡核苷酸包括:

(aa) 翻译物连接物元件(C),包括与所述翻译物元件(c)的核苷酸序列的至少一部分基本上互补的核苷酸序列,以及

(bb) 猝灭剂(Q),信号元件和猝灭剂(Q),或不包括信号元件。

65. 根据权利要求49至64中任一项所述的试剂盒,其中,所述试剂盒包括:

(E) 至少两个非信号寡核苷酸组,每个非信号寡核苷酸包括:

(aa) 翻译物连接物元件(C),包括与所述翻译物元件(c)的核苷酸序列的至少一部分基本上互补的核苷酸序列,以及

(bb) 猝灭剂(Q),信号元件和猝灭剂(Q),或不包括信号元件。

66. 根据权利要求49至65中任一项所述的试剂盒,其中,不同的非信号寡核苷酸组可以包括在不同的非信号寡核苷酸组的预混合物中或分开存在。

67. 根据权利要求49至66中任一项所述的试剂盒,其中,特定解码寡核苷酸组中的所述解码寡核苷酸与对于特定分析物唯一的相同标识符元件(T)相互作用。

68. 根据权利要求49至67中任一项所述的试剂盒,其中,不同的解码寡核苷酸组可以包括在不同的解码寡核苷酸组的预混合物中或分开存在。

69. 根据权利要求49至68中任一项所述的试剂盒,其中,不同的分析物特异性探针组可以包括在不同的分析物特异性探针组的预混合物中或分开存在。

70. 根据权利要求49至69中任一项所述的试剂盒,其中,不同的信号寡核苷酸组可以包括在不同的信号寡核苷酸组的预混合物中或分开存在。

71. 根据权利要求49至70中任一项所述的试剂盒,其中,所述待编码的分析物是核酸,优选DNA、PNA或RNA,尤其是mRNA。

72. 根据权利要求49至71中任一项所述的试剂盒,其中,所述待编码的分析物是肽、多肽或蛋白质。

73. 根据权利要求49至72中任一项所述的试剂盒,其中,所述结合元件(S)包括允许与所述待编码的分析物特异性结合的氨基酸序列。

74. 根据权利要求49至73中任一项所述的试剂盒,其中,所述结合元件(S)包括以下部分,所述部分是来自亲和物质的亲和部分或是亲和物质整体,所述亲和物质选自以下项组成的组:抗体、抗体片段、anticalin蛋白质、受体配体、酶底物、凝集素、细胞因子、淋巴因子、白介素、血管生成或毒力因子、变应原、肽变应原、重组变应原、变应原独特型抗体、自身免疫引发结构、组织排斥诱导结构、免疫球蛋白恒定区及其组合。

75. 根据权利要求49至74中任一项所述的试剂盒,其中,所述结合元件(S)是选自以下项组成的组的抗体或抗体片段:Fab、scFv;单结构域或其片段、双scFv、F(ab)2、F(ab)3、微型抗体、双抗体、三抗体、四抗体和tandab。

76. 根据权利要求49至75中任一项所述的试剂盒,其中,至少一个解码寡核苷酸组中的所述解码寡核苷酸是包括以下项的多解码物:

- (aa) 标识符连接物元件(t),包括与相应分析物特异性探针组的所述标识符元件(T)的唯一标识符序列的至少一部分基本上互补的核苷酸序列,以及
- (bb) 至少两个翻译物元件(c),其中,所述翻译物元件包括允许不同的信号寡核苷酸特异性杂交的不同的核苷酸序列。

77. 根据权利要求76所述的试剂盒,其中,所述不同的信号寡核苷酸包括不同的信号元件并且包括不同的连接物元件(C)。

78. 一种用于检测样品中的不同分析物的多重方法,所述方法通过对所述分析物进行顺序信号编码来进行,所述方法包括:

(A) 使所述样品与用于编码至少20种不同分析物的至少二十(20)个不同的分析物特异性探针组接触,每个分析物特异性探针组与不同的分析物相互作用,其中,如果所述分析物是核酸,则每个分析物特异性探针组包括与相同分析物的不同亚结构特异性相互作用的至少五(5)种分析物特异性探针,每种分析物特异性探针包括

(aa) 结合元件(S),与待编码的不同分析物之一特异性相互作用,以及

(bb) 标识符元件(T),包括对于待编码的分析物唯一的核苷酸序列(唯一标识符序列),

其中,特定分析物特异性探针组的分析物特异性探针与另一分析物特异性探针组的分析物特异性探针在所述标识符元件(T)的核苷酸序列方面不同,

其中,每个分析物特异性探针组中的分析物特异性探针与相同的分析物结合并且包括对于所述分析物唯一的标识符元件(T)的相同核苷酸序列;以及

(B) 使所述样品与每种分析物的至少一个解码寡核苷酸组接触,其中,在用于个体分析物的每个解码寡核苷酸组中,每个解码寡核苷酸包括:

(aa) 标识符连接物元件(t),包括与相应分析物特异性探针组的标识符元件(T)的唯一标识符序列的至少一部分基本上互补的核苷酸序列,以及

(bb) 翻译物元件(c),包括允许信号寡核苷酸特异性杂交的核苷酸序列;

其中,用于个体分析物的一组解码寡核苷酸与用于不同分析物的另一组解码寡核苷酸在第一连接元件(t)方面不同;以及

(C) 使所述样品与至少一个信号寡核苷酸组接触,每个信号寡核苷酸包括:

(aa) 翻译物连接物元件(C),包括与解码寡核苷酸中包括的翻译物元件(c)的核苷酸序列的至少一部分基本上互补的核苷酸序列,以及

(bb) 信号元件。

(D) 检测由所述信号元件引起的信号;

(E) 从所述样品中选择性地除去所述解码寡核苷酸和信号寡核苷酸,从而基本上保持所述分析物特异性探针与所述待编码的分析物的特异性结合;

(F) 执行包括步骤B)到E)的至少三(3)个另外的循环,以生成具有每种分析物的码字的编码方案,其中,尤其最后一个循环可以在步骤(D)处停止。

79. 根据权利要求78所述的方法, 其中, 如果所述分析物是核酸, 则每个分析物特异性探针组包括至少十 (10) 种分析物特异性探针, 尤其至少十五 (15) 种分析物特异性探针, 尤其至少二十 (20) 种分析物特异性探针, 所述分析物特异性探针以每种分析物特异性探针与相同分析物的不同亚结构特异性相互作用。

80. 根据权利要求78至79中任一项所述的方法, 其中, 使所述样品与用于分析物的至少两个不同的分析物特异性探针组接触,

其中, 这些不同组中包括的分析物特异性探针与相同分析物相互作用, 但与相同分析物的不同亚结构特异性相互作用,

其中, 第一分析物特异性探针组的分析物特异性探针与分析物的所有变异体中包括的亚结构相互作用,

其中, 第二分析物特异性探针组的分析物特异性探针 (亚组特异性探针组) 与仅在所述分析物的特定变异体中包括的亚结构相互作用,

其中, 所述第一分析物特异性探针组的分析物特异性探针包括相同的标识符元件 (T), 所述标识符元件包括对于所述待编码的分析物唯一的核苷酸序列 (唯一标识符序列), 并且

其中, 所述第二分析物特异性探针组的分析物特异性探针包括相同的标识符元件 (T), 所述标识符元件包括对于所述待编码的分析物唯一的核苷酸序列 (唯一标识符序列),

其中, 所述第一分析物特异性探针组的分析物特异性探针的标识符元件 (T) 与所述第二分析物特异性探针组的分析物特异性探针的标识符元件 (T) 不同。

81. 根据权利要求78至80中任一项所述的方法, 其中, 使至少一种分析物的亚组与至少五 (5) 个亚组特异性探针的组接触, 所述亚组特异性探针与另一分析物特异性探针组的分析物特异性探针在所述标识符元件 (T) 的核苷酸序列方面不同。

82. 根据权利要求78至81中任一项所述的方法, 其中, 使所述样品与根据权利要求30所述的亚组特异性探针组接触, 其中, 所述方法包括含有步骤B) 至E) 的额外另外的循环, 以鉴定与所述亚组特异性探针相互作用的变异体, 其中, 尤其所述循环可以在步骤 (D) 处停止。

83. 根据权利要求78至82中任一项所述的方法, 其中, 所有步骤都是自动化的, 尤其其中, 步骤B) 至F) 是自动化的, 尤其通过使用机器人系统。

84. 根据权利要求78至83中任一项所述的方法, 其中, 所有步骤都在流体系统中进行。

85. 根据权利要求78至84中任一项所述的方法, 其中, 每种分析物与特定码字相关联, 其中, 所述码字包括多个位置, 并且其中, 每个位置对应于一个循环, 从而产生具有多个码字的多个可区分的编码方案。

86. 根据权利要求78至85中任一项所述的方法, 其中, 所述编码方案是预定的并且分配给待编码的分析物。

87. 根据权利要求78至86中任一项所述的方法, 其中, 在执行的循环中对于所述个体分析物获得的所述码字包括检测到的信号以及对应于未检测到的信号的额外的至少一个元件。

88. 根据权利要求78至87中任一项所述的方法, 其中, 在至少一个循环内对于至少一种分析物没有检测到信号。

89. 根据权利要求78至88中任一项所述的方法, 其中, 至少对于一种个体分析物, 所述码字的位置为零 (0)。

90. 根据权利要求78至89中任一项所述的方法, 其中, 所述码字零 (0) 是通过不使用具有标识符连接物元件 (t) 的解码寡核苷酸生成的, 所述标识符连接物元件包括与个体分析物的相应分析物特异性探针的所述标识符元件 (T) 的唯一标识符序列的至少一部分基本上互补的核苷酸序列。

91. 根据权利要求78至90中任一项所述的方法, 其中, 如果在此循环中至少对于一种个体分析物, 所述码字的位置为零 (0), 则不使用具有标识符连接物元件 (t) 的相应解码寡核苷酸, 所述标识符连接物元件包括与个体分析物的相应分析物特异性探针的所述标识符元件 (T) 的唯一标识符序列的至少一部分基本上互补的核苷酸序列。

92. 根据权利要求78至91中任一项所述的方法, 其中, 使所述样品与至少两个不同的信号寡核苷酸组接触, 其中, 每组中的所述信号寡核苷酸包括不同的信号元件并且包括不同的连接物元件 (C)。

93. 根据权利要求78至92中任一项所述的方法, 其中, 使所述样品与每种分析物的至少两个不同的解码寡核苷酸组接触,

其中, 这些不同组中包括的所述解码寡核苷酸包括相同的标识符连接物元件 (t), 所述标识符连接物元件包括与相应分析物特异性探针组的所述标识符元件 (T) 的唯一标识符序列的至少一部分基本上互补的核苷酸序列, 以及

其中, 每种分析物的不同组的所述解码寡核苷酸在所述翻译物元件 (c) 方面不同, 所述翻译物元件包括允许信号寡核苷酸特异性杂交的核苷酸序列。

94. 根据权利要求78至93中任一项所述的方法, 其中, 使所述样品与每种分析物的至少两个不同的解码寡核苷酸组接触,

其中, 这些不同组中包括的所述解码寡核苷酸包括相同的标识符连接物元件 (t), 所述标识符连接物元件包括与相应分析物特异性探针组的所述标识符元件 (T) 的唯一标识符序列的至少一部分基本上互补的核苷酸序列, 以及

其中, 每种分析物的不同组的所述解码寡核苷酸在翻译物元件 (c) 方面不同, 所述翻译物元件包括允许信号寡核苷酸特异性杂交的核苷酸序列;

其中, 每个循环仅使用每种分析物的一个解码寡核苷酸组, 和/或其中, 在不同循环中使用不同的解码寡核苷酸组, 同一循环中使用相应信号寡核苷酸组。

95. 根据权利要求78至94中任一项所述的方法, 其中, 包括不同翻译物元件 (c) 的每种分析物的不同的解码寡核苷酸组的数量对应于包括不同连接物元件 (C) 的不同的信号寡核苷酸组的数量。

96. 根据权利要求78至95中任一项所述的方法, 其中, 用于不同分析物的所有解码寡核苷酸组包括一种或多种相同类型的一个或多个翻译物元件 (c)。

97. 根据权利要求78至96中任一项所述的方法, 其中, 使所述样品与以下接触:

用于与分析物特异性探针的特定标识符元件 (T) 结合的至少一个非信号解码寡核苷酸组, 其中, 在相同非信号解码寡核苷酸组中的解码寡核苷酸与相同的不同标识符元件 (T) 相互作用,

其中, 每个非信号解码寡核苷酸包括标识符连接物元件 (t), 所述标识符连接物元件包括与唯一标识符序列的至少一部分基本上互补的核苷酸序列, 并且每个非信号解码寡核苷酸不包括含有允许信号寡核苷酸特异性杂交的核苷酸序列的翻译物元件 (c)。

98. 根据权利要求78至97中任一项所述的方法, 其中, 使所述样品与以下接触:

用于与分析物特异性探针的至少两个不同的标识符元件 (T) 结合的至少两 (2) 个不同的非信号解码寡核苷酸组, 每个非信号解码寡核苷酸组与不同的标识符元件 (T) 相互作用,

其中, 每个非信号解码寡核苷酸包括标识符连接物元件 (t), 所述标识符连接物元件包括与唯一标识符序列的至少一部分基本上互补的核苷酸序列, 并且每个非信号解码寡核苷酸不包括含有允许信号寡核苷酸特异性杂交的核苷酸序列的翻译物元件 (c)。

99. 根据权利要求78至98中任一项所述的方法, 其中, 所述不同的非信号解码寡核苷酸组可以包括在不同的非信号解码寡核苷酸组的预混合物中或分开存在。

100. 根据权利要求78至99中任一项所述的方法, 其中, 使所述样品与以下接触:

非信号寡核苷酸组, 每个非信号寡核苷酸包括:

(aa) 翻译物连接物元件 (C), 包括与所述翻译物元件 (c) 的核苷酸序列的至少一部分基本上互补的核苷酸序列, 以及

(bb) 猝灭剂 (Q), 信号元件和猝灭剂 (Q), 或不包括信号元件。

101. 根据权利要求78至100中任一项所述的方法, 其中, 使所述样品与以下接触:

至少两个非信号寡核苷酸组, 每个非信号寡核苷酸包括:

(aa) 翻译物连接物元件 (C), 包括与所述翻译物元件 (c) 的核苷酸序列的至少一部分基本上互补的核苷酸序列, 以及

(bb) 猝灭剂 (Q), 信号元件和猝灭剂 (Q), 或不包括信号元件。

102. 根据权利要求100至101中任一项所述的方法, 其中, 不同的非信号寡核苷酸组可以包括在不同的非信号寡核苷酸组的预混合物中或分开存在。

103. 根据权利要求78至102中任一项所述的方法, 其中, 特定解码寡核苷酸组中的解码寡核苷酸与对于特定分析物唯一的相同标识符元件 (T) 相互作用。

104. 根据权利要求78至103中任一项所述的方法, 其中, 不同的解码寡核苷酸组可以包括在不同的解码寡核苷酸组的预混合物中或分开存在。

105. 根据权利要求78至104中任一项所述的方法, 其中, 所述不同的分析物特异性探针组可以包括在不同的分析物特异性探针组的预混合物中或分开存在。

106. 根据权利要求78至105中任一项所述的方法, 其中, 所述不同的信号寡核苷酸组可以包括在不同的信号寡核苷酸组的预混合物中或分开存在。

107. 根据权利要求78至106中任一项所述的方法, 其中, 所述样品是生物样品, 优选包括生物组织, 进一步优选包括生物细胞和/或提取物和/或细胞的部分。

108. 根据权利要求107所述的方法, 其中, 所述细胞是原核细胞或真核细胞, 尤其是哺乳动物细胞, 尤其是人细胞。

109. 根据权利要求107所述的方法, 其中, 所述生物组织、生物细胞、提取物和/或细胞的部分是固定的。

110. 根据权利要求78至109中任一项所述的方法, 其中, 将所述分析物固定在透化样品, 诸如包含细胞的样品中。

111. 根据权利要求78至110中任一项所述的方法, 其中, 所述结合元件 (S) 包括含有以下核苷酸序列的核酸, 所述核苷酸序列允许与所述待编码的分析物特异性结合、优选与所述待编码的分析物特异性杂交。

112. 根据权利要求78至111中任一项所述的方法, 其中, 在步骤A) 之后并且在步骤B) 之前, 除去未结合的分析物特异性探针, 尤其通过洗涤。

113. 根据权利要求78至112中任一项所述的方法, 其中, 在步骤B) 之后并且在步骤C) 之前, 除去未结合的解码寡核苷酸, 尤其通过洗涤。

114. 根据权利要求78至113中任一项所述的方法, 其中, 在步骤C) 之后并且在步骤D) 之前, 除去未结合的信号寡核苷酸, 尤其通过洗涤。

115. 根据权利要求78至114中任一项所述的方法, 其中, 将所述分析物特异性探针与所述样品温育, 从而允许所述分析物特异性探针与所述待编码的分析物特异性结合。

116. 根据权利要求78至115中任一项所述的方法, 其中, 将所述解码寡核苷酸与所述样品温育, 从而允许所述解码寡核苷酸与各自分析物特异性探针的标识符元件(T) 特异性杂交。

117. 根据权利要求78至116中任一项所述的方法, 其中, 将所述信号寡核苷酸与所述样品温育, 从而允许所述信号寡核苷酸与各自解码寡核苷酸的翻译物元件(T) 特异性杂交。

118. 根据权利要求78至117中任一项所述的方法, 其中, 所述待编码的分析物是核酸, 优选DNA、PNA或RNA, 尤其是mRNA。

119. 根据权利要求78至118中任一项所述的方法, 其中, 所述待编码的分析物是肽、多肽或蛋白质。

120. 根据权利要求78至119中任一项所述的方法, 其中, 所述结合元件(S) 包括允许与所述待编码的分析物特异性结合的氨基酸序列。

121. 根据权利要求78至120中任一项所述的方法, 其中, 所述结合元件(S) 包括以下部分, 所述部分是来自亲和物质的亲和部分或是亲和物质整体, 所述亲和物质选自由以下项组成的组: 抗体、抗体片段、anticalin蛋白质、受体配体、酶底物、凝集素、细胞因子、淋巴因子、白介素、血管生成或毒力因子、变应原、肽变应原、重组变应原、变应原独特型抗体、自身免疫引发结构、组织排斥诱导结构、免疫球蛋白恒定区及其组合。

122. 根据权利要求78至121中任一项所述的方法, 其中, 所述结合元件(S) 是选自由以下项组成的组的抗体或抗体片段: Fab、scFv; 单结构域或其片段、双scFv、Fab 2、Fab 3、微型抗体、双抗体、三抗体、四抗体和tandab。

123. 根据权利要求78至122中任一项所述的方法, 其中, 由所述信号元件引起的信号, 因此尤其是由所述信号寡核苷酸与同结合到各自分析物的相应分析物探针相互作用的所述解码寡核苷酸的结合引起的信号通过以下来确定:

(f) 对所述样品的至少一部分进行成像; 和/或

(g) 使用光学成像技术; 和/或

(h) 使用荧光成像技术; 和/或

(i) 多色荧光成像技术; 和/或

(j) 超分辨率荧光成像技术。

124. 根据权利要求78至123中任一项所述的方法, 其中, 至少一个解码寡核苷酸组中的所述解码寡核苷酸是包括以下项的多解码物:

- (aa) 标识符连接物元件(t), 包括与相应分析物特异性探针组的所述标识符元件(T) 的唯一标识符序列的至少一部分基本上互补的核苷酸序列, 以及

- (bb) 至少两个翻译物元件 (c), 其中, 所述翻译物元件包括允许不同的信号寡核苷酸特异性杂交的不同的核苷酸序列。

125. 根据权利要求124所述的方法, 其中, 所述不同的信号寡核苷酸包括不同的信号元件并且包括不同的连接物元件 (C)。

126. 一种用于诊断疾病的体外方法, 所述疾病选自包括以下项的组: 癌症、神经元疾病、心血管疾病、炎症性疾病、自身免疫疾病、由于病毒或细菌感染引起的疾病、皮肤疾病、骨骼肌疾病、牙齿疾病和产前疾病, 所述方法包括使用根据权利要求1至48和/或权利要求78至125中任一项所述的多重方法。

127. 一种用于诊断植物疾病的体外方法, 所述植物疾病选自包括以下项的组: 由生物胁迫引起的疾病, 优选由感染和/或寄生虫来源引起的疾病, 或由非生物胁迫引起的疾病, 优选由营养缺乏和/或不利环境引起的疾病, 所述方法包括使用根据权利要求1至48和/或权利要求78至125中任一项所述的多重方法。

128. 一种适用于根据权利要求1至48和/或权利要求78至125中任一项所述的方法的光学复用系统, 至少包括:

- 一个反应容器, 所述反应容器用于容纳根据权利要求49至77中任一项所述的试剂盒或试剂盒的一部分;

- 检测单元, 所述检测单元包括显微镜、尤其是荧光显微镜

- 摄像头

- 液体处理装置。

129. 根据权利要求128所述的光学复用系统, 其中, 所述系统进一步包括加热和冷却装置。

130. 根据权利要求128至129中任一项所述的光学复用系统, 其中, 所述系统进一步包括机器人系统。

131. 一种用于筛选、鉴定和/或测试物质和/或药物的体外方法, 包括:

(a) 使包括样品的测试样品与物质和/或药物接触

(b) 通过使用根据权利要求1至48和/或权利要求78至125中任一项的方法对所述分析物进行顺序信号编码来检测样品中的不同分析物。

132. 根据权利要求131所述的体外方法, 其中, 所述样品是生物样品, 优选包括生物组织, 进一步优选包括生物细胞, 尤其其中, 所述细胞是原核细胞或真核细胞, 尤其是哺乳动物细胞, 尤其是人细胞。

用于检测样品中的不同分析物以及分析物的不同亚组/变异体的多重方法

技术领域

[0001] 本文提供的技术涉及用于平行检测样品中的不同分析物以及分析物的不同亚组/变异体的多重方法和试剂盒,其通过对所述分析物进行顺序信号编码来进行,以及用于筛选、识别和/或测试物质和/或药物的体外方法和用于诊断疾病的体外方法,以及光学复用系统。

背景技术

[0002] 生物和非生物样品中的少量分析物的分析和检测已成为临床和分析环境中的常规实践。为此目的已经建立了许多分析方法。其中一些使用编码技术,其将特定的可读代码分配给特定的第一分析物,该代码不同于分配给特定的第二分析物的代码。

[0003] 该领域的现有技术之一是所谓的‘单分子荧光原位杂交’(smFISH),其主要开发用于检测样品中的mRNA分子。在Lubeck et al.(2014),Single-cell in situ RNA profiling by sequential hybridization,Nat.Methods11(4),p.360-361中,经由特异性的直接标记的探针组检测目的mRNA。在一轮杂交和检测后,将mRNA特异性探针组从mRNA上洗脱下来,并且将具有其他(或相同)荧光标记的同一探针组用于下一轮杂交和成像,以在几轮中生成基因特异性颜色代码方案。该技术需要每个转录物几个不同标记的探针组,并且需要在每轮检测后使这些探针组变性。

[0004] 该技术的进一步发展不使用直接标记的探针组。取而代之,探针组的寡核苷酸提供用作杂交链式反应(HCR)(能够实现信号放大的技术)的引发剂的核酸序列;参见Shah et al.(2016),In situ transcription profiling of single cells reveals spatial organization of cells in the mouse hippocampus,Neuron 92(2),p.342-357。

[0005] Chen et al.(2015),RNA imaging.Spatially resolved,highly multiplexed RNA profiling in single cells,Science 348(6233):aaa6090中描述了称为‘多重抗误差荧光原位杂交’(multiplexed error robust fluorescence in situ hybridization,merFISH)的另一种技术。其中,经由特异性探针组来检测目的mRNA,该特异性探针组为荧光标记的寡核苷酸的后续特异性杂交提供额外的序列元件。每个探针组提供总共16种序列元件中的四种不同的序列元件。在特异性探针组与目的mRNA杂交后,进行所谓的读出杂交。在每次读出杂交中,与序列元件之一互补的16种荧光标记的寡核苷酸中的一种杂交。所有读出寡核苷酸都使用相同的荧光颜色。成像后,经由照明破坏荧光信号,并且在无需变性步骤下进行下一轮读出杂交。结果,为每个mRNA种类生成二进制代码。16轮中4种信号的独特信号特征仅使用用于将特异性探针组与目的mRNA结合的单轮杂交来产生,随后对由单一荧光颜色标记的读出寡核苷酸进行16轮杂交。

[0006] 该技术的进一步发展通过以下来提高通量:使用两种不同的荧光颜色、经由读出寡核苷酸和荧光标记之间的二硫键切割消除信号以及替代杂交缓冲液;参见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。

[0007] 以下中描述了称为‘intron seqFISH’的技术:Shah et al.(2018),Dynamics and spatial genomics of the nascent transcriptome by intron seqFISH,Cell 117(2), p.363-376。其中,经由特异性探针组检测目的mRNA,该探针组为荧光标记的寡核苷酸的后续特异性杂交提供额外的序列元件。每个探针组在每轮颜色编码中提供12种可能的序列元件(代表使用的12种‘伪颜色’)中的一种。每轮颜色编码由四个系列杂交组成。在这些系列杂交的每一个中,三个读出探针(每个都用不同的荧光团标记)与mRNA特异性探针组的相应元件杂交。成像后,通过55%甲酰胺缓冲液剥离读出探针,并且随后进行下一次杂交。在5轮颜色编码(每轮具有4个系列杂交)之后,完成颜色编码。

[0008] EP 0 611 828公开了使用桥接元件将信号生成元件募集到特异性结合分析物的探针。更具体的陈述描述了经由募集桥接核酸分子的特异性探针来检测核酸。这种桥接核酸最终会募集信号生成核酸。该文件还描述了使用具有用于信号生成元件的多于一个结合位点用于信号放大的桥接元件,如分支DNA。

[0009] Player et al.(2001),Single-copy gene detection using branched DNA (bDNA) in situ hybridization,J.Histochem.Cytochem.49(5),p.603-611描述了一种方法,其中经由提供额外序列元件的特异性探针组来检测目的核酸。在第二步骤中,预放大物(preamplifier)寡核苷酸与该序列元件杂交。该预放大物寡核苷酸包括用于在后续步骤中杂交的放大物(amplifier)寡核苷酸的多个结合位点。这些放大物寡核苷酸为标记的寡核苷酸提供多个序列元件。这样就建立了导致信号放大的分支的寡核苷酸树。

[0010] 以下中描述了对这种提及的方法的进一步发展:Wang et al.(2012),RNAscope:a novel in situ RNA analysis platform for formalin-fixed,paraffin-embedded tissues,J.Mol.Diagn.14(1),p.22-29,其使用mRNA特异性探针的另一种设计。其中,两个mRNA特异性寡核苷酸必须非常接近地杂交,以提供可以募集预放大物寡核苷酸的序列。这样,通过降低假阳性信号的数量提高了方法的特异性。

[0011] Choi et al.(2010),Programmable in situ amplification for multiplexed imaging of mRNA expression,Nat.Biotechnol.28(11),p.1208-1212公开了称为‘HCR-杂交链式反应’的方法。经由提供额外序列元件的特异性探针组来检测目的mRNA。额外的序列元件是启动杂交链式反应的起始序列。基本上,杂交链式反应基于亚稳态寡核苷酸发夹,在经由过起始序列打开第一个发夹后,该亚稳态寡核苷酸发夹自组装成聚合物。

[0012] 该技术的进一步发展使用所谓的分裂起始探针,该探针必须非常接近地杂交以形成用于HCR的起始序列,类似于RNAscope技术,这降低了假阳性信号的数量;参见Choi et al.(2018),Third-generation in situ hybridization chain reaction:multiplexed,quantitative,sensitive,versatile,robust.Development 145(12)。

[0013] Mateo et al.(2019),Visualizing DNA folding and RNA in embryos at single-cell resolution,Nature Vol,568,p.49ff,公开了称为‘染色质结构的光学重建(ORCA)’的方法。该方法旨在使染色体线可见。

[0014] EP 2 992 115 B1描述了顺序单分子杂交的方法,并提供了通过顺序条形码化检测和/或量化细胞、组织、器官或生物中的核酸的技术。

[0015] 然而,本领域已知的方法具有许多缺点。尤其,它们不灵活、昂贵、复杂、耗时并且经常提供不准确的结果。尤其,现有方法的编码能力较低,并且不符合现代分子生物学和医学的要求。

[0016] 在此背景下,本公开的目的是提供方法,通过该方法可以降低或甚至避免现有技术方法的缺点。

发明内容

[0017] 本公开涉及用于平行检测样品中的不同分析物以及分析物的不同亚组/变异体的新多重方法,其通过所述分析物和/或变异体的顺序信号编码来进行。

[0018] 尤其,本公开涉及用于检测样品中的不同分析物以及分析物的不同亚组/变异体的多重方法,其包括:

[0019] (A) 使所述样品与用于编码至少20种不同分析物的至少二十(20)个不同的分析物特异性探针组接触,每个分析物特异性探针组与不同的分析物相互作用,其中,如果所述分析物是核酸,则每个分析物特异性探针组包括与相同分析物的不同亚结构特异性相互作用的至少五(5)种分析物特异性探针,每种分析物特异性探针包括

[0020] (aa) 结合元件(S),与待编码的不同分析物之一特异性相互作用,以及

[0021] (bb) 标识符元件(T),包括对于待编码的分析物唯一的核苷酸序列(唯一标识符序列),

[0022] 其中,特定分析物特异性探针组的分析物特异性探针与另一分析物特异性探针组的分析物特异性探针在所述标识符元件(T)的核苷酸序列方面不同,

[0023] 其中,每个分析物特异性探针组中的分析物特异性探针与相同的分析物结合并且包括对于所述分析物唯一的标识符元件(T)的相同核苷酸序列;以及

[0024] 使所述样品与用于至少一种分析物及其变异体的至少两个不同的分析物特异性探针组接触,

[0025] 其中,这些不同组中包括的分析物特异性探针与相同分析物相互作用,但与相同分析物的不同亚结构特异性相互作用,

[0026] 其中,第一分析物特异性探针组的分析物特异性探针与分析物的所有变异体中包括的亚结构相互作用,

[0027] 其中,第二分析物特异性探针组的分析物特异性探针(亚组特异性探针)与仅在所述分析物的特定变异体中包括的亚结构相互作用,

[0028] 其中,所述第一分析物特异性探针组的分析物特异性探针包括相同的标识符元件(T),所述标识符元件包括对于所述待编码的分析物唯一的核苷酸序列(唯一标识符序列),并且

[0029] 其中,所述第二分析物特异性探针组的分析物特异性探针包括相同的标识符元件(T),所述标识符元件包括对于所述待编码的分析物唯一的核苷酸序列(唯一标识符序列),

[0030] 其中,所述第一分析物特异性探针组的分析物特异性探针的标识符元件(T)与所述第二分析物特异性探针组的分析物特异性探针的标识符元件(T)不同,以结合不同的解码寡核苷酸和/或非信号解码寡核苷酸。

[0031] (B) 使所述样品与每种分析物的至少一个解码寡核苷酸组接触,其中,在用于个体

分析物的每个解码寡核苷酸组中,每个解码寡核苷酸包括:

[0032] (aa) 标识符连接物(connector)元件(t),包括与相应分析物特异性探针组的标识符元件(T)的唯一标识符序列的至少一部分基本上互补的核苷酸序列,以及

[0033] (bb) 翻译物(translator)元件(c),包括允许信号寡核苷酸特异性杂交的核苷酸序列;

[0034] 其中,用于个体分析物的一组解码寡核苷酸与用于不同分析物的另一组解码寡核苷酸在第一连接元件(t)方面不同;以及

[0035] (C) 使所述样品与至少一个信号寡核苷酸组接触,每个信号寡核苷酸包括:

[0036] (aa) 翻译物连接物元件(C),包括与解码寡核苷酸中包括的翻译物元件(c)的核苷酸序列的至少一部分基本上互补的核苷酸序列,以及

[0037] (bb) 信号元件。

[0038] (D) 检测由所述信号元件引起的信号;

[0039] (E) 从样品中选择性地除去解码寡核苷酸和信号寡核苷酸,从而基本上保持分析物特异性探针与待编码的分析物的特异性结合;

[0040] (F) 执行包括步骤B)至E)的至少三(3)个另外的循环,以生成具有每种分析物的码字的编码方案,

[0041] (G) 执行包括步骤B)至E)的至少一(1)个另外的循环,以鉴定亚组特异性探针,其中,尤其所述循环可以在步骤(D)处停止。

[0042] 此外,本公开涉及使用改善的解码寡核苷酸来提高编码方案的效率。所谓的“多解码物”允许募集不止仅一种信号寡核苷酸,并且因此可以通过利用两种或更多种不同信号寡核苷酸的组合来生成新的信号类型,而不会降低信号的亮度。

[0043] 在另外的方面,本公开的实施方式尤其涉及一种用于检测样品中的不同分析物的多重方法,所述方法通过对所述分析物进行顺序信号编码来进行,所述方法包括:

[0044] (A) 使所述样品与用于编码至少20种不同分析物的至少二十(20)个不同的分析物特异性探针组接触,每个分析物特异性探针组与不同的分析物相互作用,其中,如果所述分析物是核酸,则每个分析物特异性探针组包括与相同分析物的不同亚结构特异性相互作用的至少五(5)种分析物特异性探针,每种分析物特异性探针包括

[0045] (aa) 结合元件(S),与待编码的不同分析物之一特异性相互作用,以及

[0046] (bb) 标识符元件(T),包括对于待编码的分析物唯一的核苷酸序列(唯一标识符序列),

[0047] 其中,特定分析物特异性探针组的分析物特异性探针与另一分析物特异性探针组的分析物特异性探针在所述标识符元件(T)的核苷酸序列方面不同,

[0048] 其中,每个分析物特异性探针组中的分析物特异性探针与相同的分析物结合并且包括对于所述分析物唯一的标识符元件(T)的相同核苷酸序列;以及

[0049] (B) 使所述样品与每种分析物的至少一个解码寡核苷酸组接触,其中,在用于个体分析物的每个解码寡核苷酸组中,每个解码寡核苷酸包括:

[0050] (aa) 标识符连接物元件(t),包括与相应分析物特异性探针组的标识符元件(T)的唯一标识符序列的至少一部分基本上互补的核苷酸序列,以及

[0051] (bb) 翻译物(translator)元件(c),包括允许信号寡核苷酸特异性杂交的核苷酸

序列;

[0052] 其中,用于个体分析物的一组解码寡核苷酸与用于不同分析物的另一组解码寡核苷酸在第一连接元件(t)方面不同;以及

[0053] (C)使所述样品与至少一个信号寡核苷酸组接触,每个信号寡核苷酸包括:

[0054] (aa)翻译物连接物元件(C),包括与解码寡核苷酸中包括的翻译物元件(c)的核苷酸序列的至少一部分基本上互补的核苷酸序列,以及

[0055] (bb)信号元件。

[0056] (D)检测由所述信号元件引起的信号;

[0057] (E)从所述样品中选择性地除去所述解码寡核苷酸和信号寡核苷酸,从而基本上保持所述分析物特异性探针与所述待编码的分析物的特异性结合;

[0058] (F)执行包括步骤B)至E)的至少三(3)个另外的循环,以生成具有每种分析物的码字的编码方案,其中,尤其最后一个循环可以在步骤(D)处停止。

[0059] 在另一方面,本公开的实施方式涉及用于多重分析物编码的试剂盒,所述试剂盒包括:

[0060] (A)用于编码至少20种不同分析物的至少二十(20)个不同的分析物特异性探针组,每个分析物特异性探针组与不同的分析物相互作用,其中,如果所述分析物是核酸,则每个分析物特异性探针组包括与相同分析物的不同亚结构特异性相互作用的至少五(5)种分析物特异性探针,每种分析物特异性探针包括

[0061] (aa)结合元件(S),与待编码的不同分析物之一特异性相互作用,以及

[0062] (bb)标识符元件(T),包括对于待编码的分析物唯一的核苷酸序列(唯一标识符序列),

[0063] 其中,特定分析物特异性探针组的分析物特异性探针与另一分析物特异性探针组的分析物特异性探针在所述标识符元件(T)的核苷酸序列方面不同,

[0064] 其中,每个分析物特异性探针组中的分析物特异性探针与相同的分析物结合并且包括对于所述分析物唯一的标识符元件(T)的相同核苷酸序列;以及

[0065] (B)每种分析物的至少一个解码寡核苷酸组,其中,在用于个体分析物的每个解码寡核苷酸组中,每个解码寡核苷酸包括:

[0066] (aa)标识符连接物元件(t),包括与相应分析物特异性探针组的标识符元件(T)的唯一标识符序列的至少一部分基本上互补的核苷酸序列,以及

[0067] (bb)翻译物元件(c),包括允许信号寡核苷酸特异性杂交的核苷酸序列;

[0068] 其中,用于个体分析物的一组解码寡核苷酸与用于不同分析物的另一组解码寡核苷酸在所述标识符连接元件(t)方面不同;以及

[0069] (C)信号寡核苷酸组,每个信号寡核苷酸包括:

[0070] (aa)翻译物连接物元件(C),包括与解码寡核苷酸中包括的翻译物元件(c)的核苷酸序列的至少一部分基本上互补的核苷酸序列,以及

[0071] (bb)信号元件。

[0072] 在另一方面,本公开的实施方式涉及用于诊断疾病的体外方法,所述疾病选自包括以下项的组:癌症、神经元疾病、心血管疾病、炎症性疾病、自身免疫性疾病、由于病毒或细菌感染引起的疾病、皮肤疾病、骨骼肌疾病、牙齿疾病和产前疾病,所述方法包括使用根据本

公开的多重方法。

[0073] 在另一方面,本公开的实施方式提供用于诊断植物疾病的体外方法,所述植物疾病选自包括以下项的组:由生物胁迫引起的疾病,优选由感染和/或寄生虫来源引起的疾病,或由非生物胁迫引起的疾病,优选由营养缺乏和/或不利环境引起的疾病,所述方法包括使用根据本公开的多重方法。

[0074] 在另外的方面,本公开的一些实施方式涉及适用于根据本公开的方法的光学复用系统,至少包括:

[0075] -至少一个反应容器,所述反应容器用于容纳根据本公开的试剂盒或试剂盒的一部分;

[0076] -检测单元,所述检测单元包括显微镜、尤其是荧光显微镜

[0077] -摄像头

[0078] -液体处理装置。

[0079] 在另外的方面,本公开的一些实施方式涉及用于多重分析物编码的试剂盒,所述试剂盒包括:

[0080] (A) 用于编码至少20种不同分析物的至少二十(20)个不同的分析物特异性探针组,每个分析物特异性探针组与不同的分析物相互作用,其中,如果所述分析物是核酸,则每个分析物特异性探针组包括与相同分析物的不同亚结构特异性相互作用的至少五(5)种分析物特异性探针,每种分析物特异性探针包括

[0081] (aa) 结合元件(S),与待编码的不同分析物之一特异性相互作用,以及

[0082] (bb) 标识符元件(T),包括对于待编码的分析物唯一的核苷酸序列(唯一标识符序列),

[0083] 其中,特定分析物特异性探针组的分析物特异性探针与另一分析物特异性探针组的分析物特异性探针在所述标识符元件(T)的核苷酸序列方面不同,

[0084] 其中,每个分析物特异性探针组中的分析物特异性探针与相同的分析物结合并且包括对于所述分析物唯一的标识符元件(T)的相同核苷酸序列;以及

[0085] (B) 每种分析物的至少一个解码寡核苷酸组,其中,在用于个体分析物的每个解码寡核苷酸组中,每个解码寡核苷酸包括:

[0086] (aa) 标识符连接物元件(t),包括与相应分析物特异性探针组的标识符元件(T)的唯一标识符序列的至少一部分基本上互补的核苷酸序列,以及

[0087] (bb) 翻译物元件(c),包括允许信号寡核苷酸特异性杂交的核苷酸序列;

[0088] 其中,用于个体分析物的一组解码寡核苷酸与用于不同分析物的另一组解码寡核苷酸在所述标识符连接元件(t)方面不同;以及

[0089] (C) 信号寡核苷酸组,每个信号寡核苷酸包括:

[0090] (aa) 翻译物连接物元件(C),包括与解码寡核苷酸中包括的翻译物元件(c)的核苷酸序列的至少一部分基本上互补的核苷酸序列,以及

[0091] (bb) 信号元件,

[0092] 其中,所述试剂盒包括用于分析物的至少两个不同的分析物特异性探针组,

[0093] 其中,这些不同组中包括的分析物特异性探针与相同分析物相互作用,但与相同分析物的不同亚结构特异性相互作用,

[0094] 其中,第一分析物特异性探针组的分析物特异性探针与分析物的所有变异体中包括的亚结构相互作用,

[0095] 其中,第二分析物特异性探针组的分析物特异性探针(亚组特异性探针)与仅在所述分析物的特定变异体中包括的亚结构相互作用,

[0096] 其中,所述第一分析物特异性探针组的分析物特异性探针包括相同的标识符元件(T),所述标识符元件包括对于所述待编码的分析物唯一的核苷酸序列(唯一标识符序列),并且

[0097] 其中,所述第二分析物特异性探针组的分析物特异性探针包括相同的标识符元件(T),所述标识符元件包括对于所述待编码的分析物唯一的核苷酸序列(唯一标识符序列),

[0098] 其中,所述第一分析物特异性探针组的分析物特异性探针的标识符元件(T)与所述第二分析物特异性探针组的分析物特异性探针的标识符元件(T)不同。

[0099] 此外,一些实施方式涉及用于多重分析物编码的试剂盒,包括

[0100] (A) 任选地用于编码至少20种不同分析物的至少二十(20)个不同的分析物特异性探针组,每个分析物特异性探针组与不同的分析物相互作用,其中,如果所述分析物是核酸,则每个分析物特异性探针组包括与相同分析物的不同亚结构特异性相互作用的至少五(5)种分析物特异性探针,每种分析物特异性探针包括

[0101] (aa) 结合元件(S),与待编码的不同分析物之一特异性相互作用,以及

[0102] (bb) 标识符元件(T),包括对于待编码的分析物唯一的核苷酸序列(唯一标识符序列),

[0103] 其中,特定分析物特异性探针组的分析物特异性探针与另一分析物特异性探针组的分析物特异性探针在所述标识符元件(T)的核苷酸序列方面不同,

[0104] 其中,每个分析物特异性探针组中的分析物特异性探针与相同的分析物结合并且包括对所述分析物唯一的标识符元件(T)的相同核苷酸序列;以及

[0105] (B) 每种分析物的至少一个解码寡核苷酸组,其中,在用于个体分析物的每个解码寡核苷酸组中,每个解码寡核苷酸包括:

[0106] (aa) 标识符连接物元件(t),包括与相应分析物特异性探针组的标识符元件(T)的唯一标识符序列的至少一部分基本上互补的核苷酸序列,以及

[0107] (bb) 翻译物元件(c),包括允许信号寡核苷酸特异性杂交的核苷酸序列;

[0108] 其中,用于个体分析物的一组解码寡核苷酸与用于不同分析物的另一组解码寡核苷酸在所述标识符连接元件(t)方面不同;以及

[0109] (C) 信号寡核苷酸组,每个信号寡核苷酸包括:

[0110] (aa) 翻译物连接物元件(C),包括与解码寡核苷酸中包括的翻译物元件(c)的核苷酸序列的至少一部分基本上互补的核苷酸序列,以及

[0111] (bb) 信号元件。

[0112] 在另外的方面,一些实施方式提供了用于筛选、鉴定和/或测试物质和/或药物的体外方法,包括:

[0113] (a) 使包括样品的测试样品与物质和/或药物接触

[0114] (b) 通过使用根据本公开的方法对所述分析物进行顺序信号编码来检测样品中的不同分析物。

[0115] 在另外的方面,本公开的实施方式通过靶向样品中的靶标的亚组来扩展了用于检测不同分析物的多重方法(在第一方面中描述)。一个探针组的顺序信号编码如果如所述进行,并且添加至少一个额外的探针组以区分靶标亚组。

[0116] 主要分析物的解码(多轮)如所述进行(第一方面的A至I)。为了识别所述分析物的亚组,生成额外的信号并结合主要分析物的编码进行分析。所述方法包括:

[0117] (A)使所述样品与用于编码至少20种不同分析物的至少二十(20)个不同的分析物特异性探针组接触,每个分析物特异性探针组与不同的分析物相互作用,其中,如果所述分析物是核酸,则每个分析物特异性探针组包括与相同分析物的不同亚结构特异性相互作用的至少五(5)种分析物特异性探针,每种分析物特异性探针包括

[0118] (aa)结合元件(S),与待编码的不同分析物之一特异性相互作用,以及

[0119] (bb)标识符元件(T),包括对于待编码的分析物唯一的核苷酸序列(唯一标识符序列),

[0120] 其中,特定分析物特异性探针组的分析物特异性探针与另一分析物特异性探针组的分析物特异性探针在所述标识符元件(T)的核苷酸序列方面不同,

[0121] 其中,每个分析物特异性探针组中的分析物特异性探针与相同的分析物结合并且包括对于所述分析物唯一的标识符元件(T)的相同核苷酸序列;以及,

[0122] (A2)使至少一种分析物的亚组与至少五(5)个亚组特异性探针的组接触,所述亚组特异性探针与另一分析物特异性探针组的分析物特异性探针在所述标识符元件(T)的核苷酸序列方面不同,

[0123] (B)使所述样品与每种分析物的至少一个解码寡核苷酸组接触,其中,在用于个体分析物的每个解码寡核苷酸组中,每个解码寡核苷酸包括:

[0124] (aa)标识符连接物元件(t),包括与相应分析物特异性探针组的标识符元件(T)的唯一标识符序列的至少一部分基本上互补的核苷酸序列,以及

[0125] (bb)翻译物(translator)元件(c),包括允许信号寡核苷酸特异性杂交的核苷酸序列;

[0126] 其中,用于个体分析物的一组解码寡核苷酸与用于不同分析物的另一组解码寡核苷酸在第一连接元件(t)方面不同;以及

[0127] (C)使所述样品与至少一个信号寡核苷酸组接触,每个信号寡核苷酸包括:

[0128] (aa)翻译物连接物元件(C),包括与解码寡核苷酸中包括的翻译物元件(c)的核苷酸序列的至少一部分基本上互补的核苷酸序列,以及

[0129] (bb)信号元件。

[0130] (G)检测由所述信号元件引起的信号;

[0131] (H)从所述样品中选择性地除去所述解码寡核苷酸和信号寡核苷酸,从而基本上保持所述分析物特异性探针与所述待编码的分析物的特异性结合;

[0132] (I)执行包括步骤B)至E)的至少三(3)个另外的循环,以生成具有每种分析物的码字的编码方案,

[0133] (J)执行包括步骤B)至E)的至少一(1)个另外的循环,以鉴定步骤A2)中接触的亚组特异性探针,其中,尤其所述最后一个循环可以在步骤(D)处停止。

[0134] 根据本公开,每个靶标(例如一个单一基因的mRNA)或靶标组使用唯一标签(标识

符)。可以形成组以指示某种身份、过程、生物功能或疾病(例如:细胞类型、炎症、信号处理、癌症)。

[0135] 出人意料地,根据本公开的方法和试剂盒导致复杂性降低。具有不同结合序列的许多不同探针共享相同的(每个靶标一个)唯一标签。这些标签降低了序列复杂性(至每个靶标一个),并且还具有预定的恒定特性(例如热力学稳定性)。

[0136] 根据本公开的方法和试剂盒的优点是:

[0137] a) 确定标签身份的过程具有完全的灵活性,例如使用更多或更少的信号和/或轮次、不同数量的荧光团、每个标签的总信号数量→与大量靶标(例如100,这些需要8轮才能获得相同水平的置信度)相比,可以在更少轮次(例如4轮)中以高置信度识别更少的靶标数量(例如20),即使在两种情况下都使用完全相同的唯一标签。

[0138] b) 在许多连续杂交轮次中使用(再循环)所有唯一标签,并且所有初级探针在每一轮鉴定中贡献(提供关于其身份的信息)。

[0139] c) 所有标签共享相同的预定义属性(例如,允许选择性变性的热力学稳定性)。

[0140] d)

[0141] 在一些有利实施方式中,唯一标签设计如下:

[0142] -在过程中的所有寡核苷酸(探针、解码物(decoder)、读出(readout))之间没有交叉杂交,因此所有标签序列都可以一起使用(兼容)

[0143] -不同唯一标签的连接物元件(桥)之间没有交叉杂交

[0144] -唯一标签的杂交稳定性应在窄范围内:尽可能稳定(快速杂交,即短循环时间),但与初级探针(用于差异变性,不除去初级探针)相比显著不同(在这种情况下不太稳定)

[0145] 因此,本说明书尤其涉及使用标记的和未标记的核酸序列组用于经由特异性杂交平行地对不同分析物进行特异性定量和/或空间检测。与可用的不同检测信号相比,该技术允许区分更多不同的分析物。区分是经由分析物的顺序信号编码来实现的,这些信号编码是通过几个循环的特异性杂交、信号检测和杂交核酸序列的选择性洗脱来实现的。与其他最先进的方法相比,提供可检测信号的寡核苷酸不直接与样品特异性核酸序列相互作用,而是由所谓的“解码寡核苷酸”介导。这种机制解耦了分析物特异性寡核苷酸和信号寡核苷酸之间的依赖性。解码寡核苷酸的使用允许更高的灵活性,同时显著减少所需的不同信号寡核苷酸的数量,这反过来又增加了通过一定数量的检测轮次实现的编码能力。解码寡核苷酸的使用导致了顺序信号编码技术,例如比其他方法更灵活、更便宜、更简单、更快速和/或更准确。

[0146] 根据本公开的包括亚组特异性探针的试剂盒和方法的使用的实例是:

[0147] 1.) 癌症研究中的融合转录物检测

[0148] 生成嵌合蛋白质的基因融合事件是多种癌症类型的致病因素,占全部肿瘤的大约20%(Mitelman 2007)。RNA融合的检测促进了各种肿瘤的分子表征和诊断(Neckles 2020综述)。最近批准的靶向致癌融合转录物以降解的分子表明这些是有前途的治疗靶标。然而,需要更详细地了解致癌融合转录物的肿瘤间和肿瘤内多样性,理想地在细胞水平上,或者甚至是亚细胞分辨率。

[0149] • Mitelman, F., Johansson, B., & Mertens, F. (2007): The impact of translocations and gene fusions on cancer causation. Nature Reviews. Cancer, 7

(4), 233-245.

[0150] • 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>

[0151] 2.) RNA亚组(可变剪接)

[0152] RNA剪接是基因表达的基本过程,并且可变剪接在转录组复杂性、细胞类型分化和生物发育中起着重要作用。剪接产物的检测很重要,因为异常剪接会导致多种疾病,包括癌症和神经变性。个体细胞之间的剪接变异性是基因表达异质性的主要原因。在单个细胞水平上研究RNA剪接变体将有助于破译调节回路,以及分类和理解细胞类型和亚型(Walks 2011)。之前应用单分子FISH(smFISH)来检测RNA剪接变体。Vargas (2011)能够检测未剪接的前体mRNA、剪接的内含子,并且在单个细胞中同时检测剪接的mRNA,但这不允许任何多重化。

[0153] • T. Maniatis, B. Tasic. (2002): Alternative pre-mRNA splicing and proteome expansion in metazoans. *Nature*, 418, pp. 236-243

[0154] • Z. Waks, A. M. Klein, P. A. Silver. (2011): Cell-to-cell variability of alternative RNA splicing. *Mol. Syst. Biol.*, 7, p. 506

[0155] • 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

[0156] 3.) 病毒转录物长度

[0157] 许多病毒基因组包含多个启动子,其可导致各种长度的mRNA种类,其中一些具有一些共同部分。检测确切的长度和组成对于了解病毒感染的当前阶段至关重要。例如,HBV基因组充当了合成多个基因组和亚基因组病毒mRNA转录物的模板:四个病毒启动子(Core、Pre S1、Pre S2和X)以及两个增强子(增强子I和增强子II)控制HBV的转录(Zheng 2004)。这些亚基因组mRNA转录物中每一个的量化是了解感染阶段和复制状态的关键。

[0158] • 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

[0159] 在详细描述本公开之前,应当理解,本公开不限于所描述的方法的步骤的特定组成部分。还应当理解,本文使用的术语仅用于描述特定实施方式的目的,并且不旨是限制性的。必须注意,除非上下文另有明确规定,否则如在说明书和所附权利要求中使用的,单数形式“一个(a)”“一种(an)”和“该/所述(the)”包括单数和/或复数引用。此外应当理解,在给出由数值界定的参数范围的情况下,该范围被认为包括这些限制值。

附图说明

[0160] 图1:其中分析物是核酸并且探针组包括与分析物特异性结合的寡核苷酸的实施方式。探针包括允许解码寡核苷酸杂交的唯一标识符序列。

[0161] 图2:其中分析物是蛋白质并且探针组包含与分析物特异性结合的蛋白质(这里:

抗体)的实施方式。探针包括允许解码寡核苷酸杂交的唯一标识符序列。

[0162] 图3:根据本公开的方法的流程图。

[0163] 图4:解码和信号寡核苷酸应用的替代选择。

[0164] 图5:通过两种不同信号类型和三轮检测对三种不同核酸序列进行信号编码的实例;在此实例中,编码方案包括错误检测。

[0165] 图6:生成的码字的数量(对数刻度)对比于检测循环的数量。

[0166] 图7:基于单步效率计算的5轮编码方案的总效率。

[0167] 图8:不同实验之间相对转录物丰度的比较。

[0168] 图9:不同实验之间相对转录物丰度的相关性。

[0169] 图10:细胞间信号分布的比较。

[0170] 图11:细胞内信号分布的比较。

[0171] 图12:不同细胞周期依赖性转录物的分布模式。

[0172] 图13:使用具有2个标签(A和B)和没有标签(-)的8轮代码检测多个靶标。表示靶标1、2、3、4、5、20和n。表示编码方案的第1、2、3和8轮。

[0173] 图14:可以通过使用可检测标志物的编码方案执行多个靶标的检测。结束方案还可以包括“0”作为标志物。这意指在特定位置未检测到转录物。因此,编码方案可以由仅使用两种基因特异性探针的以下构建体表示:

[0174] 1) 具有可检测标记F:成像期间可检测

[0175] 2) 具有可检测标记F和淬灭剂Q:成像期间不可检测

[0176] 3) 具有淬灭剂Q:成像期间不可检测

[0177] 4) 没有标记F:成像期间不可检测

[0178] 5) 没有信号寡核苷酸:成像期间不可检测

[0179] 6) 具有不能募集信号寡核苷酸的解码物寡核苷酸

[0180] 7) 没有解码物寡核苷酸:成像期间不可检测

[0181] 图15:使用额外的亚组特异性探针组来检测不同靶标的亚组(第0轮)。该程序包括接触共同(共享)部分中的分析物特异性探针组,另外,还使亚组特异性探针组与亚组决定(独占)部分接触(参见第1轮;描述,A2)。使用与共享部分(第1至4轮)结合的探针组来检测分析物,使用还描述的解码方案。第5轮:在至少一个专用轮次中,仅检测到亚组特异性探针组。然后将靶标的独占部分的存在与前几轮的结果相结合,从而可以区分第1组中的亚组2'和第2组中的亚组2'。

[0182] 图16:多解码物的可能结构。数字描述了实例。(A)是唯一标识符序列,(a)是解码寡核苷酸或多解码物的相应序列,以及(c1)至(c3)是不同的序列元件,它们与不同的信号寡核苷酸特异性结合。实例2至5示出了多解码物的不同版本。不同序列元件的顺序以及信号寡核苷酸结合元件的数量是不固定的。实例1示出了正常的解码寡核苷酸,因为只有一个信号寡核苷酸结合元件(c1)。

[0183] 图17:通过使用多解码物和产生三种不同信号类型的两种不同的信号寡核苷酸和三轮检测对三种不同的核酸序列进行信号编码的实例。在该实例中,编码方案包括错误检测和纠正。

[0184] 图18:生成的码字的数量(对数刻度)对比于检测循环的数量。merFISH的码字数量

不会随着检测循环的数量呈指数增长,但随着每个增加的轮次而变得不那么有效。相比之下,对于intronSeqFISH、不使用多解码物的本公开的方法、具有多解码物的方法,码字数量呈指数增长。使用多解码物的方法的曲线斜率远高于在先发明的曲线斜率,导致在20轮检测后可用的码字超过20 000 000倍。

具体实施方式

[0185] 本文公开了用于检测样品中不同分析物以及分析物的不同亚组/变异体的新型多重方法和试剂盒。

[0186] 本公开描述了使用标记的和未标记的核酸序列组用于经由特异性杂交来平行地对不同分析物进行特异性定量和/或空间检测。与可用的不同检测信号相比,该技术允许区分更多不同的分析物。可以经由分析物的顺序信号编码来实现区分,这些信号编码是通过几个循环的特异性杂交、信号检测和杂交核酸序列的选择性洗脱来实现的。

[0187] 与其他最先进的方法相比,提供可检测信号的寡核苷酸不直接与样品特异性核酸序列相互作用,而是由所谓的“解码寡核苷酸”介导。这种机制解耦了分析物特异性寡核苷酸和信号寡核苷酸之间的依赖性。解码寡核苷酸的使用允许更高的灵活性,同时显著减少所需的信号寡核苷酸的数量,这反过来又增加了通过一定数量的检测轮次实现的编码能力。

[0188] 解码寡核苷酸的使用导致了顺序信号编码技术,它比其他方法更灵活、更便宜、更简单、更快速和/或更准确。

[0189] A. 定义

[0190] 根据本公开,“分析物”是被特异性检测为存在或不存在于样品中并且在其存在的情况下对其进行编码的对象。其可以为任何种类的实体,包括目的蛋白质、多肽、蛋白质或核酸分子(例如RNA、PNA或DNA)。分析物提供用于与分析物特异性探针特异性结合的至少一个位点。有时在本文中术语“分析物”由“靶标”代替。根据本公开的“分析物”包括对象(例如至少两个个体核酸、蛋白质或肽分子)的复合物。在本公开的实施方式中,“分析物”不包括染色体。在本公开的另一实施方式中,“分析物”不包括DNA。根据本公开的术语“分析物”可以包括以下项的组:相同分析物的不同变异体/实施方式,例如分析物的剪接变体、包括不同内含子和/或外显子的变异体、包括UTR的序列和/或具有不同长度的序列。尤其,基本序列和变异体具有至少50%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%或至少95%的序列同一性。

[0191] 在一些实施方式中,分析物可以是“编码序列(coding sequence)”、“编码序列(encoding sequence)”、“结构核苷酸序列”或“结构核酸分子”,其是指当处于适当调控序列的控制下时通常经由mRNA被翻译成多肽的核苷酸序列。编码序列的边界由5'-末端的翻译起始密码子和3'-末端的翻译终止密码子决定。编码序列可以包括但不限于基因组DNA、cDNA、EST和重组核苷酸序列。

[0192] 如本文所指的“样品”是怀疑包括待编码的分析物的呈液体或固体形式的组合物。尤其,样品是生物样品,优选包括生物组织,进一步优选包括生物细胞和/或提取物和/或细胞的部分。例如,细胞是原核细胞或真核细胞,尤其是哺乳动物细胞,尤其是人细胞。在一些实施方式中,生物组织、生物细胞、提取物和/或细胞的部分是固定的。尤其,分析物固定在

透化样品,诸如包含细胞的样品中。

[0193] 如在本公开中使用的,“细胞”、“细胞系”和“细胞培养物”可以互换使用,并且所有这些名称都包括后代。因此,词语“转化体”或“转化细胞”包括原代对象细胞和由其衍生的培养物,而不考虑转移次数。还可以理解,由于有意或无意的突变,所有后代的DNA含量可能并不完全相同。包括与在最初转化的细胞中筛选的具有相同功能的突变后代。

[0194] “编码方案”可以描述与待检测的分析物相关联的码字组。每个码字涉及分析物之一,并且可以与所有其他码字区分开来。码字在此是由方法的检测循环提供的符号序列。码字内的符号是可检测的信号或不存在信号。码字不需要包括在方法中使用的所有不同信号。码字中符号的数量由检测循环的数量定义。

[0195] 如本文所用,“寡核苷酸”是指短核酸分子,诸如DNA、PNA、LNA或RNA。取决于连续序列元件的数量,寡核苷酸的长度在4-200个核苷酸(nt)、优选6-80nt、更优选8-60nt、更优选10-50nt、更优选12至35nt的范围内。核酸分子可以是完全或部分单链的。寡核苷酸可以是线性的或可以包括发夹或环结构。寡核苷酸可以包括修饰,诸如生物素、标记部分、封闭部分或其他修饰。

[0196] “分析物特异性探针”由至少两个元件组成,即与分析物之一特异性相互作用的所谓结合元件(S),以及包括‘唯一标识符序列’的所谓标识符元件(T)。结合元件(S)可以是核酸诸如杂交序列或适配体,或肽结构诸如抗体。

[0197] 尤其,在一些实施方式中,结合元件(S)包括以下部分,该部分是来自亲和物质的亲和部分或是亲和物质整体,该亲和物质选自以下项组成的组:抗体、抗体片段、受体配体、酶底物、凝集素、细胞因子、淋巴因子、白介素、血管生成或毒力因子、变应原、肽变应原、重组变应原、变应原独特型抗体、自身免疫引发结构、组织排斥诱导结构、免疫球蛋白恒定区及其衍生物、突变体或其组合。在另外有利的实施方式中,抗体片段是Fab、scFv;单个结构域或其片段、双scFv、Fab2、Fab3、微型抗体、巨型抗体、双抗体、三抗体、四抗体或tandab,尤其是单链可变区片段(scFv)。

[0198] 与其他唯一标识符相比,分析物特异性探针所包括的“唯一标识符序列”在其序列中是唯一的。在本上下文中,“唯一”意指它仅特异性识别一种分析物,诸如周期蛋白A、周期蛋白D、周期蛋白E等,或替代地,它仅特异性识别分析物组,而不依赖于分析物组是否包括基因家族。因此,待由该唯一标识符编码的分析物或分析物组可以基于标识符元件(T)的唯一标识符序列与待编码的所有其他分析物或分析物组区分开来。或者,换句话说,对于特定分析物或分析物组只有一个“唯一标识符序列”,但不超过一个,即甚至不是两个。由于唯一标识符序列的唯一性,标识符元件(T)与恰好一种类型的解码寡核苷酸杂交。唯一标识符序列的长度在8-60nt、优选12-40nt、更优选14-20nt的范围内,这取决于平行编码的分析物的数量和所需的相互作用的稳定性。唯一标识符可以是分析物特异性探针的序列元件,直接或通过接头、共价键或高亲和力结合模式来附接,例如抗体-抗原相互作用、链霉亲和素-生物素相互作用等。应当理解,术语“分析物特异性探针”包括多个探针,其可能以以下方式在其结合元件(S)方面不同:每个探针结合相同的分析物但可能结合其不同的部分,譬如待编码的核酸分子所包括的核苷酸序列的不同(例如相邻)或重叠部分。然而,多个探针中的每一个都包括相同的标识符元件(T)。

[0199] “解码寡核苷酸”由至少两个序列元件组成。可以特异性结合唯一标识符序列的一

个序列元件,称为“标识符连接物元件”(t)或“第一连接物元件”(t),以及特异性结合信号寡核苷酸的第二个序列元件,称为“翻译物元件”(c)。序列元件的长度在8-60nt、优选12-40nt、更优选14-20nt的范围内,这取决于待平行编码的分析物的数量、所需相互作用的稳定性以及使用的不同信号寡核苷酸的数量。两个序列元件的长度可以相同或可以不同。

[0200] 在一些有利的实施方式中,本公开的试剂盒和/或方法中的解码寡核苷酸可以是“多解码物”。“多解码物”是由至少三个序列元件组成的解码寡核苷酸。一个序列元件(标识符连接物元件(t))可以特异性结合唯一标识符序列(标识符元件(T)),以及至少两个其他序列元件(翻译物元件(c))特异性结合不同的信号寡核苷酸(这些序列元件中的每一个特异性结合信号寡核苷酸,该信号寡核苷酸不同于由多解码物的其他元件募集的所有其他信号寡核苷酸)。序列元件的长度在8-60nt、优选12-40nt、更优选14-20nt的范围内,这取决于平行检测的分析物的数量、所需的稳定性和使用的不同信号寡核苷酸的数量。序列元件的长度可以相同或可以不同。

[0201] 因此,在一些有利的实施方式中,解码寡核苷酸是包括以下项的多解码物:

[0202] -标识符连接物元件(t),包括与相应分析物特异性探针组的标识符元件(T)的唯一标识符序列的至少一部分基本上互补的核苷酸序列,以及

[0203] -至少两个翻译物元件(c),其各自包括允许不同信号寡核苷酸特异性杂交的核苷酸序列。

[0204] 因此,第一翻译物元件与第二翻译物元件结合不同的信号寡核苷酸。尤其,信号寡核苷酸的不同之处在于信号寡核苷酸中包括的信号元件,例如荧光团的种类。

[0205] 如本文所用的“信号寡核苷酸”包括至少两个元件,即所谓的“翻译连接物元件”(C)或“第二连接物元件”(C),其具有可与解码寡核苷酸的翻译物元件(c)的核苷酸序列的至少一部分特异性杂交的核苷酸序列,以及提供可检测信号的“信号元件”。该元件可以主动生成可检测信号或经由操纵(例如荧光激发)提供这样的信号。典型的信号元件是例如催化可检测反应的酶、荧光团、放射性元素或染料。

[0206] “组”是指多个部分或对象,例如分析物特异性探针或解码寡核苷酸,无论所述多个的个体成员是否彼此相同或不同。在分析物特异性探针组中,分析物特异性探针在标识符元件(T)中是相同的,但可以包括不同的结合元件(S),用于与相同分析物特异性相互作用但用于与待编码的相同分析物的不同亚结构特异性相互作用。

[0207] “选择性变性”可以是以下项的过程:以最高效率去除结合的解码寡核苷酸和信号寡核苷酸,同时靶标特异性探针必须以最高效率保持杂交。这两个组合事件的总效率可以至少为:两个检测循环为0.22、三个检测循环为0.37、四个检测循环为0.47、五个检测循环为0.55、六个检测循环为0.61、七个检测循环为0.65、八个检测循环为0.69,九个检测循环为0.72和十个检测循环为0.74、11个检测循环为0.76、以及12个检测循环为0.78。

[0208] 在本公开的实施方式中,单组是指多个寡核苷酸

[0209] “分析物特异性探针组”是指多个部分或对象(例如分析物特异性探针),其彼此不同并与分析物的独立区域结合。单个分析物特异性探针组至少由相同的唯一标识符另外表征。

[0210] “亚组特异性探针组”可以包括与“分析物特异性探针组”相同的特性,但在编码和解码信息方面不同。“亚组特异性探针组”仅用于向已经由“分析物特异性探针组”编码的代

码添加信息(主要是存在/不存在)。

[0211] 分析物的“亚组”或也称为“变异体”是指分析物的实施方式,其中变异体包括相同分析物的所有实施方式(或变异体)中包括的共同或“共享”元件(例如,相同的核酸序列)以及将分析物(靶标)亚组/变异体彼此和/或与基本分析物区分开来的至少一个额外元件。

[0212] 在一些实施方式中,具有一组至少五(5)个的至少一种分析物的亚组/变异体与亚组特异性探针接触,该亚组特异性探针与另一分析物特异性探针组的分析物特异性探针在方面不同标识符元件(T)的核苷酸序列。

[0213] “解码寡核苷酸组”是指对独立于码字长度实现编码所需的某个特定唯一标识符特异的多个解码寡核苷酸。“解码寡核苷酸组”中包括的每个解码寡核苷酸和所有解码寡核苷酸结合分析物特异性探针的相同唯一标识符元件(T)。

[0214] 在某些实施方式中,解码寡核苷酸的这种结合或杂交模式可以转化为“码字”。例如,对于分析物,码字也可以是“101”和“110”,其中值1表示结合,以及值0表示没有结合。在其他实施方式中,码字也可以具有更长的长度(参见图13)。码字可以与分析物特异性探针的特异性唯一标识符序列直接相关。因此,不同的分析物特异性探针可以匹配某些码字,然后可以基于解码寡核苷酸的结合模式来用于识别分析物特异性探针的不同分析物。然而,如果没有明显的结合,那么在本实例中码字将是“000”。

[0215] 在一些实施方式中,每个码字中的值也可以以不同的方式分配。例如,值0可以表示结合,而值1表示没有结合。类似地,值1可以表示二级核酸探针与一种类型的信号实体的结合,而值0可以表示二级核酸探针与另一种类型的可区分的信号实体的结合。例如,可以经由荧光的不同颜色来区分这些信号实体。在一些情况下,码字中的值不必局限于0和1。这些值也可以从较大的字母中提取,诸如三元(例如,0、1和2)或四元(例如,0、1、2、和3)系统。例如,每个不同的值可以由不同的可区分信号实体来表示,包括(在某些情况下)可以由信号的缺失来表示的一个值。

[0216] 用于每种分析物的码字可以按顺序分配,也可以随机分配。例如,第一分析物可以分配至101,而第二核酸靶标可以分配至110。另外,在一些实施方式中,可以使用错误检测系统或错误纠正系统,诸如汉明系统(Hamming system)、戈莱码(Golay code)或扩展汉明系统(或SECDED系统,即单错误纠正、双错误检测)来分配码字。一般而言,这样的系统可用于识别发生错误的位置,并且在一些情况下,这样的系统还可用于纠正错误并确定正确的码字应该是什么。例如,码字诸如001可以被检测为无效并且使用这样的系统将其纠正为101,例如,如果001之前没有被分配给不同的靶序列。可以使用多种不同的错误纠正代码,其中许多以前已开发用于计算机行业;然而,这样的错误纠正系统通常没有在生物系统中使用。这样的错误纠正代码的额外实例在下文更详细讨论。

[0217] “基本上互补”意指,当提及两个核苷酸序列时,两个序列可以在严格条件下彼此特异性杂交,从而形成具有经由氢键(沃森-克里克(Watson-and-Crick)碱基对)相互连接的正义链和反义链的杂交核酸分子。“基本上互补”不仅包括沿整个链的完美碱基配对,即完美互补序列,还包括不完美互补序列,然而,其在严格条件下仍具有相互杂交的能力。在专家中,公知的是“基本上互补”序列与完全或完美互补序列具有至少88%的序列同一性。

[0218] “百分比序列同一性”或“百分比同一性”继而意指,在将待比较的序列(“比较序列”)与描述的或要求保护的序列(“参考序列”)比对之后,将序列与要求保护的或描述的序

列进行比较。然后根据下式确定百分比同一性：百分比同一性=100[1- (C/R)]

[0219] 其中，C是在参考序列和比较序列之间的比对长度上参考序列和比较序列之间的差异数，其中

[0220] (i) 在比较序列中没有对应的比对碱基或氨基酸的参考序列中的每个碱基或氨基酸，以及

[0221] (ii) 参考序列中的每个缺空位 (gap) 以及

[0222] (iii) 与比较序列中的比对碱基或氨基酸不同的参考序列中的每个比对碱基或氨基酸构成差异，以及 (iiii) 比对必须从比对序列的位置1开始；

[0223] 并且R是在与比较序列比对的整个长度上参考序列中碱基或氨基酸的数量，参考序列中产生的任何空位也被计为碱基或氨基酸。

[0224] 如果存在于比较序列和参考序列之间的比对如上计算的百分比同一性约等于或大于指定的最小百分比同一性，则比较序列与参考序列具有指定的最小百分比同一性，即使比对可能存在其中上面计算的同一性百分比小于指定的同一性百分比的地方。

[0225] 在如本文所理解的“温育”步骤中，在技术人员熟知的允许特异性结合或杂交反应的条件，例如pH、温度、盐条件等下，使各自部分或对象诸如探针或寡核苷酸彼此接触。因此，这些步骤可以优选在液体环境诸如本领域公知的缓冲系统中实施。

[0226] 根据本公开的“除去”步骤可以包括通过如本领域已知的某些条件，例如pH、温度、盐条件等，将待除去的部分或对象诸如探针或寡核苷酸洗去。

[0227] 应当理解，在根据本公开的方法的实施方式中，可以平行编码多种分析物。这需要在步骤(1)中使用不同的分析物特异性探针组。特定组的分析物特异性探针不同于另一组的分析物特异性探针。这意指组1的分析物特异性探针与分析物1结合，组2的分析物特异性探针与分析物2结合，组3的分析物特异性探针与分析物3结合，等等。在该实施方式中，在根据本公开的方法中还需要使用不同的解码寡核苷酸组。

[0228] 特定组的解码寡核苷酸不同于另一组的解码寡核苷酸。这意指，组1的解码寡核苷酸与上述分析物特异性探针组1的分析物特异性探针结合，组2的解码寡核苷酸与上述分析物特异性探针组2的分析物特异性探针结合，组3的解码寡核苷酸与上述分析物特异性探针组3的分析物特异性探针结合，等等。

[0229] 在其中多种分析物待平行编码的该实施方式中，不同的分析物特异性探针组可以作为不同的分析物特异性探针组的预混合物提供和/或不同的解码寡核苷酸组可以作为不同的解码寡核苷酸组的预混合提供。每种混合物可以包含在单个小瓶中。替代地，不同的分析物特异性探针组和/或不同的解码寡核苷酸组可在步骤中单独提供。

[0230] “试剂盒”是可用于实施本公开的用途和/或方法的个体元件的组合，其中这些元件优化在方法中一起使用。试剂盒还可以包含额外的试剂、化学品、缓冲液、反应小瓶等，它们可用于实施根据本公开的方法。这样的试剂盒统一了根据本公开的方法工作所需的所有基本要素，因此使错误风险最小化。因此，这样的试剂盒还允许半熟练的实验室工作人员执行根据本公开的方法。

[0231] 术语“猝灭剂”或“猝灭剂染料”或“猝灭剂分子”是指够降低荧光报告染料或供体染料的荧光的染料或等效分子，诸如核苷鸟苷(G)或2'-脱氧鸟苷(dG)。猝灭剂染料可以是荧光染料或非荧光染料。当猝灭剂是荧光染料时，其荧光波长通常与报告染料的波长显著

不同,并且在测定期间通常不监测猝灭剂荧光。本公开的一些实施方式公开了包括猝灭剂和/或猝灭剂与信号元件的组的信号寡核苷酸(参见图14),并且因此在成像期间信号寡核苷酸不可检测。

[0232] 在本公开的实施方式中,样品是生物样品,优选包括生物组织,进一步优选包括生物细胞。生物样品可以来源于器官、类器官、细胞培养物、干细胞、细胞悬液、原代细胞、被病毒、细菌或真菌感染的样品、真核或原核样品、涂片、疾病样品、组织切片。

[0233] 该方法特别适用于编码、鉴定、检测、计数或量化生物样品中的分析物或单个分析物分子,即诸如包含核酸或蛋白质作为所述分析物的样品。应当理解,生物样品可以是其在其自然环境中的形式(即,液体、半液体、固体等),或者是经过加工的,例如,作为装置表面上的干燥薄膜,其可以在实施该方法之前重新液化。

[0234] 在本公开的另一实施方式中,在步骤(2)之前,将生物组织和/或生物细胞固定。例如,在一些实施方式中,在引入探针之前将细胞和/或组织固定,例如以保持分析物如核酸在细胞内的位置。用于固定细胞的技术是本领域普通技术人员已知的。作为非限制性实例,可以使用化学品诸如甲醛、多聚甲醛、戊二醛、乙醇、甲醇、丙酮、乙酸等来固定细胞。在一种实施方式中,可以使用Hepes-谷氨酸缓冲液介导的有机溶剂(HOPE)来固定细胞。

[0235] 这种措施具有的优点是待编码的分析物例如核酸或蛋白质是固定的并且不能逃逸。在这样做时,分析物然后准备好通过根据本公开的方法进行更好的检测或编码。

[0236] 在分析物特异性探针组内的又另外的实施方式中,个体分析物特异性探针包括与待编码的分析物之一的不同亚结构特异性相互作用的结合元件(S1、S2、S3、S4、S5)。

[0237] 通过这种措施,该方法变得更加稳健和可靠,因为分别在方法或循环结束时获得的信号强度增加了。应当理解,一组中的个体探针在与相同分析物结合时在它们在分析物处或分析物上的结合位置或结合位点不同。第一、第二、第三、第四、第五等分析物特异性探针的结合元件S1、S2、S3、S4、S5等因此结合到或结合在不同的位置上,然而,该位置可以重叠或可以不重叠。

[0238] 在有利的实施方式中,本公开涉及用于多重分析物编码的试剂盒,其包括:

[0239] (A) 用于编码至少20种不同分析物的至少二十(20)个不同的分析物特异性探针组,每个分析物特异性探针组与不同的分析物相互作用,其中,如果分析物是核酸,则每个分析物特异性探针组包括与相同分析物的不同亚结构特异性相互作用的至少五(5)种分析物特异性探针,以及任选地,还有至少一个亚组特异性探针组以区分具有分析物的共享和独占部分的靶标(分析物/变体),每种分析物特异性探针包括

[0240] (aa) 结合元件(S),与待编码的不同分析物之一特异性相互作用,以及

[0241] (bb) 标识符元件(T),包括对于待编码的分析物唯一的核苷酸序列(唯一标识符序列),

[0242] 其中,特定分析物特异性探针组的分析物特异性探针与另一分析物特异性探针组的分析物特异性探针在标识符元件(T)的核苷酸序列方面不同,

[0243] 其中,每个分析物特异性探针组中的分析物特异性探针与相同的分析物结合并且包括对于所述分析物唯一的标识符元件(T)的相同核苷酸序列;以及

[0244] (B) 每种分析物的至少一个解码寡核苷酸组,其中,在用于个体分析物的每个解码寡核苷酸组中,每个解码寡核苷酸包括:

[0245] (aa) 标识符连接物元件 (t), 包括与相应分析物特异性探针组的标识符元件 (T) 的唯一标识符序列的至少一部分基本上互补的核苷酸序列, 以及

[0246] (bb) 翻译物元件 (c), 包括允许信号寡核苷酸特异性杂交的核苷酸序列;

[0247] 其中, 用于个体分析物的一组解码寡核苷酸与用于不同分析物的另一组解码寡核苷酸在所述标识符连接元件 (t) 方面不同; 以及

[0248] (C) 信号寡核苷酸组, 每个信号寡核苷酸包括:

[0249] (aa) 翻译物连接物元件 (C), 包括与解码寡核苷酸中包括的翻译物元件 (c) 的核苷酸序列的至少一部分基本上互补的核苷酸序列, 以及

[0250] (bb) 信号元件。

[0251] 根据本公开, 多重方法或测定允许同时测量多种分析物, 其可以用于确定样品中多种预定 (已知) 分析物 (如核酸靶标序列) 的存在或不存在。分析物可以是“预定”的, 因为它的序列是已知的以设计成与该靶标结合的探针。

[0252] 在根据本公开的一些有利的实施方式中, 平行地检测和/或量化样品中的至少20种、尤其至少25种、尤其至少30种不同的分析物。例如, 可以有至少5个、至少10个、至少20个、至少50个、至少75个、至少100个、至少300个、至少1,000个、至少3,000个、至少10,000个或至少30,000个施用于样品 (例如同时或依次) 的可区分的分析物特异性探针。

[0253] 在用于多重化的一些有利实施方式中, 需要二十 (20) 个或更多个不同的分析物特异性探针组用于编码至少20种或更多种不同的分析物, 尤其多于50种、多于100种或多于200种。本公开的多重方法中, 尤其靶向至少20个不同的分析物 (例如mRNA分子) (即标签) 组。

[0254] 在有利的实施方式中, 该试剂盒包括每种分析物至少两个不同的分析物特异性探针组,

[0255] 其中, 这些不同组中包括的分析物特异性探针与相同分析物相互作用, 但与相同分析物的不同亚结构特异性相互作用,

[0256] 其中, 第一分析物特异性探针组的分析物特异性探针与分析物的所有变异体中包括的亚结构相互作用,

[0257] 其中, 第二分析物特异性探针组的分析物特异性探针 (亚组特异性探针组) 与仅在该分析物的特定变异体中包括的亚结构相互作用,

[0258] 其中, 第一分析物特异性探针组的分析物特异性探针包括相同的标识符元件 (T), 该标识符元件包括对于待编码的分析物唯一的核苷酸序列 (唯一标识符序列), 并且

[0259] 其中, 第二分析物特异性探针组的分析物特异性探针包括相同的标识符元件 (T), 该标识符元件包括对于待编码的分析物唯一的核苷酸序列 (唯一标识符序列),

[0260] 其中, 第一分析物特异性探针组的分析物特异性探针的标识符元件 (T) 与第二分析物特异性探针组的分析物特异性探针的标识符元件 (T) 不同, 以结合不同的解码寡核苷酸和/或非信号解码寡核苷酸。

[0261] 在一些有利的实施方式中, 实施至少4轮来收集用于识别分析物的信息, 其中, 多次读出提高了识别的准确性并避免了假阳性。唯一标签可以通过各种技术来识别, 包括例如利用标记的探针直接或间接杂交, 或通过测序 (通过合成、连接)。尤其, 标签的身份可以用一个单一信号 (二进制代码)、两个或更多个信号编码, 其中, 信号可以是荧光标记 (例如

与寡核苷酸附接的)。

[0262] 在根据本公开的一些有利实施方式中,试剂盒不包括如A)项下定义的分析物特异性探针组。

[0263] 优选地,如果根据本公开的试剂盒或方法中的分析物是核酸,则每个分析物特异性探针组包括至少五(5)种分析物特异性探针,尤其至少十(10)种分析物特异性探针,尤其至少十五(15)种分析物特异性探针,尤其至少二十(20)种分析物特异性探针,其与相同分析物的不同亚结构特异性相互作用。核酸分析物包括特定的DNA分子,例如基因组DNA、核DNA、线粒体DNA、病毒DNA、细菌DNA、细胞外或细胞内DNA等,以及特定的mRNA分子,例如hnRNA、miRNA、病毒RNA、细菌RNA、细胞外或细胞内RNA等。

[0264] 优选地,如果根据本公开的试剂盒或方法中的分析物是肽、多肽或蛋白质,则每个分析物特异性探针组包括至少两(2)种分析物特异性探针,尤其至少三(3)种分析物特异性探针,尤其至少四(4)种分析物特异性探针,其与相同分析物的不同亚结构特异性相互作用。

[0265] 在根据本公开的一些有利实施方式中,试剂盒包括至少两个不同的信号寡核苷酸组,其中,每组中的信号寡核苷酸包括不同的信号元件并且包括不同的连接物元件(C)。

[0266] 尤其,试剂盒可以包括每种分析物的至少两个不同的解码寡核苷酸组,其中,包括在这些不同组中的解码寡核苷酸包括相同的标识符连接物元件(t),该标识符连接物元件包括与相应分析物特异性探针组的标识符元件(T)的唯一标识符序列的至少一部分基本上互补的核苷酸序列,并且其中,每种分析物的不同组的解码寡核苷酸在翻译物元件(c)方面不同,该翻译物元件(c)包括允许信号寡核苷酸特异性杂交的核苷酸序列。

[0267] 在一些实施方式中,试剂盒可以包括每种分析物的至少两个不同的解码寡核苷酸组,其中,包括在这些不同组中的解码寡核苷酸包含相同的标识符连接物元件(t),该标识符连接物元件(t)包括与相应分析物特异性探针组的标识符元件(T)的唯一标识符序列的至少一部分基本上互补的核苷酸序列,并且其中,用于至少一种分析物的不同组的解码寡核苷酸在翻译物元件(c)方面不同,该翻译物元件(c)包括允许信号寡核苷酸特异性杂交的核苷酸序列。

[0268] 在一些有利的实施方式中,包括不同翻译物元件(c)的每种分析物的不同的解码寡核苷酸组的数量对应于包括不同连接物元件(C)的不同的信号寡核苷酸组的数量。然而,特定解码寡核苷酸组中的解码寡核苷酸与对于特定分析物唯一的相同标识符元件(T)相互作用。尤其,用于不同分析物的所有解码寡核苷酸组可以包括一种或多种相同类型的一个或多个翻译物元件(c)。

[0269] 在另一方面,本公开总体上涉及包括以下动作的方法:将样品暴露于多种分析物特异性探针;对于每种分析物特异性探针,确定样品内分析物特异性探针的结合;基于分析物特异性探针、解码寡核苷酸和信号寡核苷酸的结合产生码字;并且对于至少一些码字,将码字与有效码字匹配。在某些实施方式中,分析物特异性探针、解码寡核苷酸和信号寡核苷酸的这种结合或杂交模式可以转化为“码字”。例如,譬如,对于第一分析物和第二分析物,码字可以分别为“101”和“110”,其中值1表示以下项的结合,以及值0表示以下项没有结合:解码寡核苷酸的结合和/或信号寡核苷酸的结合,没有和/或淬灭信号元件。因此,检测轮次/循环中的分析物在成像期间是不可检测的。

[0270] 为了在个体分析物的码字中产生这样的零 (0), 试剂盒可以包括:

[0271] (D) 用于与分析物特异性探针的特定标识符元件 (T) 结合的至少一个非信号解码寡核苷酸组, 其中, 在相同非信号解码寡核苷酸组中的解码寡核苷酸与相同的不同标识符元件 (T) 相互作用,

[0272] 其中, 每个非信号解码寡核苷酸包括标识符连接物元件 (t), 该标识符连接物元件 (t) 包括与唯一标识符序列的至少一部分基本上互补的核苷酸序列, 并且每个非信号解码寡核苷酸不包括含有允许信号寡核苷酸特异性杂交的核苷酸序列的翻译物元件 (c)。

[0273] 为了在个体分析物的码字中产生这样的零 (0), 试剂盒可以包括:

[0274] (D) 用于与分析物特异性探针的特定标识符元件 (T) 结合的至少一个非信号解码寡核苷酸组, 其中, 在相同非信号解码寡核苷酸组中的解码寡核苷酸与相同的不同标识符元件 (T) 相互作用,

[0275] 其中, 每个非信号解码寡核苷酸包括标识符连接物元件 (t), 该标识符连接物元件包括与唯一标识符序列的至少一部分基本上互补的核苷酸序列, 并且包括由于不稳定的结合序列和/或由于翻译物元件太短而不与信号寡核苷酸相互作用/结合的翻译物元件 (c), 该翻译物元件 (c) 包括允许信号寡核苷酸特异性杂交的核苷酸序列。

[0276] 在一些有利的实施方式中, 试剂盒包括:

[0277] (D) 用于与分析物特异性探针的至少两个不同的标识符元件 (T) 结合的至少两个 (2) 个不同的非信号解码寡核苷酸组, 每个非信号解码寡核苷酸组与不同的标识符元件 (T) 相互作用,

[0278] 其中, 每个非信号解码寡核苷酸包括标识符连接物元件 (t), 该标识符连接物元件 (t) 包括与唯一标识符序列的至少一部分基本上互补的核苷酸序列, 并且每个非信号解码寡核苷酸不包括含有允许信号寡核苷酸特异性杂交的核苷酸序列的翻译物元件 (c)。

[0279] 在一些有利的实施方式中, 不同的非信号解码寡核苷酸组可以包括在不同的非信号解码寡核苷酸组的预混合物中或分开存在。

[0280] 此外, 在一些有利的实施方式中, 试剂盒可以包括:

[0281] (E) 非信号寡核苷酸组, 每个非信号寡核苷酸包括:

[0282] (aa) 翻译物连接物元件 (C), 包括与该翻译物元件 (c) 的核苷酸序列的至少一部分基本上互补的核苷酸序列, 以及

[0283] (bb) 猝灭剂 (Q), 信号元件和猝灭剂 (Q), 或不包括信号元件。

[0284] 在一些有利的实施方式中, 试剂盒包括:

[0285] (E) 至少两个非信号寡核苷酸组, 每个非信号寡核苷酸包括:

[0286] (aa) 翻译物连接物元件 (C), 包括与该翻译物元件 (c) 的核苷酸序列的至少一部分基本上互补的核苷酸序列, 以及

[0287] (bb) 猝灭剂 (Q), 信号元件和猝灭剂 (Q), 或不包括信号元件。

[0288] 在一些有利的实施方式中, 不同的非信号寡核苷酸组可以包括在不同的非信号寡核苷酸组的预混合物中或分开存在。

[0289] 此外, 在一些实施方式中, 特定解码寡核苷酸组中的解码寡核苷酸与对于特定分析物唯一的相同标识符元件 (T) 相互作用。

[0290] 在一些有利的实施方式中, 不同的解码寡核苷酸组可以包括在不同的解码寡核苷

酸组的预混合物中或分开存在。在一些有利的实施方式中,不同的分析物特异性探针组可以包括在不同的分析物特异性探针组的预混合物中或分开存在。在一些有利的实施方式中,不同的信号寡核苷酸组可以包括在不同的信号寡核苷酸组的预混合物中或分开存在。

[0291] 在一些有利的实施方式中,提供了与探针组的唯一标识符序列特异性杂交的解码寡核苷酸和/或多解码物的混合物。在一些实施方式中,解码寡核苷酸包括至少两个序列元件,与相应探针组的唯一标识符序列互补的第一元件以及提供用于信号寡核苷酸的信号类型。在一些实施方式中,使用包括至少三个序列元件的多解码物,与相应探针组的唯一标识符序列互补的第一元件,以及提供用于至少两种不同信号寡核苷酸的信号类型。在图17中可以看到多解码物的不同可能结构。由于多解码物确实为每个翻译物元件募集了完整的信号寡核苷酸,每个通道中的信号亮度不低于解码寡核苷酸的信号亮度。

[0292] 多解码物的使用进一步提高了编码方案的效率。图17示出了使用多解码物的可能编码方案,其基于用于实例的相同条件,利用具有两个序列元件的解码寡核苷酸。可以清楚地看到,利用与图5的实例中使用的相同数量的轮次和相同数量的不同信号寡核苷酸,基于多解码物的编码方案可以产生更高的汉明距离。

[0293] 如上所述,待编码的分析物可以是核酸,优选DNA、PNA或RNA,尤其是mRNA、肽、多肽、蛋白质和/或其混合物。

[0294] 在一些有利的实施方式中,结合元件(S)包括允许与待编码的分析物特异性结合的氨基酸序列。结合元件(S)可以包括以下部分,该部分是来自亲和物质的亲和部分或是亲和物质整体,该亲和物质选自以下项组成的组:抗体、抗体片段、anticalin蛋白质、受体配体、酶底物、凝集素、细胞因子、淋巴因子、白介素、血管生成或毒力因子、变应原、肽变应原、重组变应原、变应原独特型抗体、自身免疫引发结构、组织排斥诱导结构、免疫球蛋白恒定区及其组合。

[0295] 在一些有利的实施方式中,结合元件(S)可以包括选自以下项组成的组的抗体或抗体片段或者是选自以下项组成的组的抗体或抗体片段:Fab、scFv;单结构域或其片段、双scFv、F(ab)2、F(ab)3、微型抗体、双抗体、三抗体、四抗体和tandab。

[0296] 本公开尤其涉及一种用于检测样品中的不同分析物的多重方法,该方法通过对所述分析物进行顺序信号编码来进行,该方法包括以下步骤:

[0297] (A) 使样品与用于编码至少20种不同分析物的至少二十(20)个不同的分析物特异性探针组接触,每个分析物特异性探针组与不同的分析物相互作用,其中,如果分析物是核酸,则每个分析物特异性探针组包括与相同分析物的不同亚结构特异性相互作用的至少五(5)种分析物特异性探针,每种分析物特异性探针包括

[0298] (aa) 结合元件(S),与待编码的不同分析物之一特异性相互作用,以及

[0299] (bb) 标识符元件(T),包括对于待编码的分析物唯一的核苷酸序列(唯一标识符序列),

[0300] 其中,特定分析物特异性探针组的分析物特异性探针与另一分析物特异性探针组的分析物特异性探针在标识符元件(T)的核苷酸序列方面不同,

[0301] 其中,每个分析物特异性探针组中的分析物特异性探针与相同的分析物结合并且

包括对于所述分析物唯一的标识符元件(T)的相同核苷酸序列;以及

[0302] (B)使样品与每种分析物的至少一个解码寡核苷酸组接触,其中,在用于个体分析物的每个解码寡核苷酸组中,每个解码寡核苷酸包括:

[0303] (aa)标识符连接物元件(t),包括与相应分析物特异性探针组的标识符元件(T)的唯一标识符序列的至少一部分基本上互补的核苷酸序列,以及

[0304] (bb)翻译物元件(c),包括允许信号寡核苷酸特异性杂交的核苷酸序列;

[0305] 其中,用于个体分析物的一组解码寡核苷酸与用于不同分析物的另一组解码寡核苷酸在第一连接元件(t)方面不同;以及

[0306] (C)使所述样品与至少一个信号寡核苷酸组接触,每个信号寡核苷酸包括:

[0307] (aa)翻译物连接物元件(C),包括与解码寡核苷酸中包括的翻译物元件(c)的核苷酸序列的至少一部分基本上互补的核苷酸序列,以及

[0308] (bb)信号元件。

[0309] (D)检测由信号元件引起的信号;

[0310] (E)从样品中选择性地除去解码寡核苷酸和信号寡核苷酸,从而基本上保持分析物特异性探针与待编码的分析物的特异性结合;

[0311] (F)执行包括步骤B)至E)的至少三(3)个另外的循环,以生成具有每种分析物的码字的编码方案,其中尤其最后一个循环可以在步骤(D)处停止。

[0312] 如上所述,根据本公开的方法包括从样品中选择性地除去解码寡核苷酸和信号寡核苷酸,从而基本上保持分析物特异性探针与待编码的分析物的特异性结合。尤其所有步骤都按顺序进行。然而,一些步骤可以同时进行,尤其是接触步骤A)至C),尤其是B)和C)。

[0313] 通过这种措施,建立了将另外的解码寡核苷酸与相同的分析物特异性探针结合的另一轮/循环的要求,从而最终产生包括多于一个信号的代码或编码方案。该步骤通过应用技术人员熟知的条件和因素来实现,例如pH、温度、盐条件、寡核苷酸浓度、聚合物等。

[0314] 在本公开的另一个实施方式中,该方法可以包括重复步骤(B)-(E)至少三次以生成编码方案。使用这种措施,在由用户实施的四个循环/轮次的情况下,四个信号的代码,其中'n'为表示轮数的整数。取决于分析物的性质和操作者的需要,根据本公开的方法的编码能力因此增加。在本公开的实施方式中,所述编码方案是预定的并且分配给待编码的分析物。

[0315] 然而,该措施能够通过提供所采用的解码和信号寡核苷酸的适当顺序实现精确的实验设置,因此,允许将特定分析物正确分配到相应的编码方案。在重复的步骤(B)-(D2)中使用的解码寡核苷酸可以包括与先前步骤(B)-(E)中使用的解码寡核苷酸的翻译物元件(c1)相同的翻译物元件(c2)。在本公开的另一实施方式中,在重复的步骤(B)-(E)中使用解码寡核苷酸包括与先前步骤(B)-(E)中使用的解码寡核苷酸的翻译物元件(c1)不同的翻译物元件(c2)。应当理解,解码元件可以或可以不逐轮(即在包括翻译物元件c2的第二轮(B)-(E)中,在包括翻译物元件c3的第三轮(B)-(E)中,在包括翻译物元件c4的第四轮(B)-(E)中等)改变等,其中'n'为表示轮数的整数。

[0316] 重复步骤(B)-(E)中使用的信号寡核苷酸可包括与先前步骤(B)-(E)中使用的解码寡核苷酸的信号元件相同的信号元件。在本公开的另外实施方式中,在重复的步骤(B)-(E)中使用信号寡核苷酸包括与先前步骤(B)-(E)中使用的解码寡核苷酸的信号元件不同的

信号元件。在一些实施方式中,使用用于个体分析物的非信号寡核苷酸和/或非信号解码寡核苷酸,导致该循环/位置的码字中的值0。在一些实施方式中,在重复循环中,个体分析物的解码寡核苷酸不与样品接触,这也产生了该循环/位置的码字中的值0。

[0317] 通过这种措施,每一轮都提供相同或不同的信号,从而产生以由许多不同信号组成的信号序列为特征的编码方案。该措施允许产生与编码方案的所有其他码字不同的唯一代码或码字。在本公开的另一实施方式中,分析物特异性探针的结合元件(S)包括含有以下核苷酸序列的核酸,该核苷酸序列允许与待编码的分析物特异性结合、优选与待编码的分析物特异性杂交。

[0318] 在本公开的另一实施方式中,可以通过执行步骤G)来检测相同类型的分析物(变异体)的亚组以检测独占元件的存在或不存在。

[0319] 在有利的实施方式中,样品与每种分析物至少两个不同的分析物特异性探针组接触,

[0320] 其中,这些不同组中包括的分析物特异性探针与相同分析物相互作用,但与相同分析物的不同亚结构特异性相互作用,

[0321] 其中,第一分析物特异性探针组的分析物特异性探针与分析物的所有变异体中包括的亚结构相互作用,

[0322] 其中,第二分析物特异性探针组的分析物特异性探针(亚组特异性探针组)与仅在分析物的特定变异体中包括的亚结构相互作用,

[0323] 其中,第一分析物特异性探针组的分析物特异性探针包括相同的标识符元件(T),该标识符元件包括对于待编码的分析物唯一的核苷酸序列(唯一标识符序列),并且

[0324] 其中,第二分析物特异性探针组的分析物特异性探针包括相同的标识符元件(T),该标识符元件包括对于待编码的分析物唯一的核苷酸序列(唯一标识符序列),

[0325] 其中,第一分析物特异性探针组的分析物特异性探针的标识符元件(T)与第二分析物特异性探针组的分析物特异性探针的标识符元件(T)不同,以结合不同的解码寡核苷酸和/或非信号解码寡核苷酸。

[0326] 在一些有利的实施方式中,所有步骤都是自动化的,尤其其中,步骤B)至F)是自动化的,尤其是通过使用根据本公开的机器人系统和/或光学复用系统。在一些实例中,步骤可以在流体系统中执行。

[0327] 如上所述,利用根据本公开的方法,生成具有每种分析物的码字的编码方案。因此,每种分析物可以与特定码字相关联,其中,所述码字包括多个位置,并且其中,每个位置对应于一个循环,从而产生具有多个码字的多个可区分的编码方案。尤其,所述编码方案可以是预定的并分配给待编码的分析物。

[0328] 在一些有利的实施方式中,在所执行的循环中对于个体分析物获得的码字包括检测到的信号以及对应于未检测到的信号的额外至少一个元件,如0、1或0、1、2等(也参见图13和图14)。尤其,如果使用根据图14的2至4号的非信号探针或如图14的5号所示出的非信号解码寡核苷酸,或者如果在一个循环中没有解码寡核苷酸与包括在与样品中的相应分析物相互作用的分析物特异性探针中的相应标识符序列接触,则在至少一个循环内没有检测到至少一种分析物的信号。在此循环中,位置具有的值为零(0)。

[0329] 在一些有利的实施方式中,至少对于一种个体分析物,码字的位置为零(0)。尤其,

码字零 (0) 是通过不使用具有标识符连接物元件 (t) 的解码寡核苷酸生成的, 该标识符连接物元件包括与个体分析物的相应分析物特异性探针的标识符元件 (T) 的唯一标识符序列的至少一部分基本上互补的核苷酸序列。如上所述, 在一些实施方式中, 如果在该循环中至少对于一种个体分析物, 码字的位置为零 (0), 则不使用具有标识符连接物元件 (t) 的相应解码寡核苷酸, 该标识符连接物元件包括与个体分析物的相应分析物特异性探针的标识符元件 (T) 的唯一标识符序列的至少一部分基本上互补的核苷酸序列。

[0330] 此外, 在一些有利的实施方式中, 使样品与至少两个不同的信号寡核苷酸组接触, 其中, 每组中的信号寡核苷酸包括不同的信号元件并且包括不同的连接物元件 (C)。

[0331] 在更特定的实施方式中, 使样品与每种分析物至少两个不同的解码寡核苷酸组接触,

[0332] 其中, 这些不同组中包括的解码寡核苷酸包括相同的标识符连接物元件 (t), 该标识符连接物元件包括与相应分析物特异性探针组的标识符元件 (T) 的唯一标识符序列的至少一部分基本上互补的核苷酸序列, 以及

[0333] 其中, 每种分析物的不同组的解码寡核苷酸在翻译物元件 (c) 方面不同, 该翻译物元件包括允许信号寡核苷酸特异性杂交的核苷酸序列。

[0334] 在更特定的实施方式中, 使样品与每种分析物至少两个不同的解码寡核苷酸组接触,

[0335] 其中, 这些不同组中包括的解码寡核苷酸包括相同的标识符连接物元件 (t), 该标识符连接物元件包括与相应分析物特异性探针组的标识符元件 (T) 的唯一标识符序列的至少一部分基本上互补的核苷酸序列, 以及

[0336] 其中, 每种分析物的不同组的解码寡核苷酸在翻译物元件 (c) 方面不同, 该翻译物元件包括允许信号寡核苷酸特异性杂交的核苷酸序列;

[0337] 其中, 每个循环仅使用每种分析物的一个解码寡核苷酸组, 和/或其中, 在不同循环中使用不同的解码寡核苷酸组, 同一循环中使用相应信号寡核苷酸组, 尤其

[0338] 其中, 保留解码寡核苷酸和/或非信号解码寡核苷酸的组用于分析物亚组的可选检测。

[0339] 在一些有利的实施方式中, 包括不同翻译物元件 (c) 的每种分析物的不同的解码寡核苷酸组的数量对应于包括不同连接物元件 (C) 的不同的信号寡核苷酸组的数量。用于不同分析物的所有解码寡核苷酸组可以包括一种或多种相同类型的一个或多个翻译物元件 (c)。

[0340] 在根据本公开的方法的一些有利的实施方式中, 样品与用于结合分析物特异性探针的特定标识符元件 (T) 的至少一个非信号解码寡核苷酸组接触, 其中, 在相同非信号解码寡核苷酸组中的解码寡核苷酸与相同的不同标识符元件 (T) 相互作用, 其中, 每个非信号解码寡核苷酸包括标识符连接物元件 (t), 该标识符连接物元件包括与唯一标识符序列的至少一部分基本上互补的核苷酸序列, 并且每个非信号解码寡核苷酸不包括含有允许信号寡核苷酸特异性杂交的核苷酸序列的翻译物元件 (c)。

[0341] 如上所述, 样品可以与用于结合分析物特异性探针的至少两个不同的标识符元件 (T) 的至少两 (2) 个不同的非信号解码寡核苷酸组接触, 每个非信号解码寡核苷酸组与不同标识符元件 (T) 相互作用, 其中, 每个非信号解码寡核苷酸包括标识符连接物元件 (t), 该标

识符连接物元件包括与唯一标识符序列的至少一部分基本上互补的核苷酸序列,并且每个非信号解码寡核苷酸不包括含有允许信号寡核苷酸特异性杂交的核苷酸序列的翻译物元件(c)。

[0342] 在根据本公开的方法的一些有利的实施方式中,不同的非信号解码寡核苷酸组可以包括在不同的非信号解码寡核苷酸组的预混合物中或分开存在。

[0343] 此外,在根据本公开的方法的一些有利实施方式中,样品与非信号寡核苷酸组接触,每个非信号寡核苷酸包括:

[0344] (aa) 翻译物连接物元件(C),其包括与翻译物元件(c)的核苷酸序列的至少一部分基本上互补的核苷酸序列,以及

[0345] (bb) 猝灭剂(Q),信号元件和猝灭剂(Q),或不包括信号元件。

[0346] 在另外的实施方式中,样品可以接触:

[0347] 至少两个非信号寡核苷酸组,每个非信号寡核苷酸包括:

[0348] (aa) 翻译物连接物元件(C),包括与该翻译物元件(c)的核苷酸序列的至少一部分基本上互补的核苷酸序列,以及

[0349] (bb) 猝灭剂(Q),信号元件和猝灭剂(Q),或不包括信号元件。

[0350] 如上所述,不同的非信号寡核苷酸组可以包括在不同的非信号寡核苷酸组的预混合物中或分开存在。

[0351] 在另外的实施方式中,特定解码寡核苷酸组中的解码寡核苷酸与对于特定分析物唯一的相同标识符元件(T)相互作用。

[0352] 如上所述,不同的解码寡核苷酸组可以包括在不同的解码寡核苷酸组的预混合物中或分开存在,以及不同的分析物特异性探针组可以包括在不同的分析物特异性探针组的预混合物中或分开存在,以及不同的信号寡核苷酸组可以包括在不同的信号寡核苷酸组的预混合物中或分开存在。

[0353] 在根据本公开的方法的一些有利实施方式中,结合元件(S)包括含有以下核苷酸序列的核酸,该核苷酸序列允许与待编码的分析物特异性结合、优选与待编码的分析物特异性杂交。

[0354] 在根据本公开的方法的一些有利的实施方式中,在步骤A)之后并且步骤B)之前,可以除去未结合的分析物特异性探针,尤其是通过洗涤,另外在步骤B)之后并且步骤C)之前,可以除去未结合的解码寡核苷酸,尤其通过洗涤,另外在步骤C)之后并且步骤D)之前,可以除去未结合的信号寡核苷酸,尤其通过洗涤。

[0355] 在根据本公开的方法的一些有利实施方式中,分析物特异性探针可以与样品一起温育,从而允许分析物特异性探针与待编码的分析物特异性结合,此外,解码寡核苷酸可以与样品一起温育,从而允许解码寡核苷酸与各自分析物特异性探针的标识符元件(T)特异性杂交,此外,信号寡核苷酸可以与样品一起温育,从而允许信号寡核苷酸与各自解码寡核苷酸的翻译物元件(T)特异性杂交。

[0356] 如上所述,待编码的分析物可以是核酸,优选DNA、PNA或RNA,尤其mRNA、肽、多肽、蛋白质或其组合。因此,结合元件(S)可以包括允许与待编码的分析物特异性结合的氨基酸序列。结合元件(S)的实例是以下部分,该部分是来自亲和物质的亲和部分或是亲和物质整体,亲和物质选自以下项组成的组:抗体、抗体片段、anticalin蛋白质、受体配体、酶底

物、凝集素、细胞因子、淋巴因子、白介素、血管生成或毒力因子、变应原、肽变应原、重组变应原、变应原独特型抗体、自身免疫引发结构、组织排斥诱导结构、免疫球蛋白恒定区及其组合。尤其，结合元件(S)是选自由以下项组成的组的抗体或抗体片段：Fab、scFv；单结构域或其片段、双scFv、Fab 2、Fab 3、微型抗体、双抗体、三抗体、四抗体和tandab。

[0357] 通过这种措施，该方法另外发展到这样的程度，即编码的分析物可以通过适于使信号元件可视化的任何手段来检测。可检测的物理特征的实例包括例如光、化学反应、分子质量、放射性等。

[0358] 在一些有利的实施方式中，由信号元件引起的信号，因此尤其是由信号寡核苷酸与同结合到各自分析物的相应分析物探针相互作用的所述解码寡核苷酸的结合引起的信号通过以下来确定：

[0359] (a) 对所述样品的至少一部分进行成像；和/或

[0360] (b) 使用光学成像技术；和/或

[0361] (c) 使用荧光成像技术；和/或

[0362] (d) 多色荧光成像技术；和/或

[0363] (e) 超分辨率荧光成像技术。

[0364] 根据本公开的试剂盒和方法可以理想地用于诊断疾病的体外方法，该疾病选自包括以下项的组：癌症、神经元疾病、心血管疾病、炎症性疾病、自身免疫疾病、由于病毒或细菌感染引起的疾病、皮肤疾病、骨骼肌疾病、牙齿疾病和产前疾病。

[0365] 此外，根据本公开的试剂盒和方法还可以理想地用于诊断植物疾病的体外方法，该植物疾病选自包括以下项的组：由生物胁迫引起的疾病，优选由感染和/或寄生虫来源引起的疾病，或由非生物胁迫引起的疾病，优选由营养缺乏和/或不利环境引起的疾病。

[0366] 此外，根据本公开的试剂盒和方法还可以理想地用于筛选、鉴定和/或测试物质和/或药物的体外方法，该方法包括：

[0367] (a) 使包括样品的测试样品与物质和/或药物接触

[0368] (b) 通过使用根据本公开的方法对所述分析物进行顺序信号编码来检测样品中的不同分析物。

[0369] 一种适用于根据本公开的方法的光学复用系统，其至少包括：

[0370] -反应容器，该反应容器用于容纳根据本公开的试剂盒或试剂盒的一部分；

[0371] -检测单元，该检测单元包括显微镜、尤其是荧光显微镜

[0372] -摄像头；

[0373] -液体处理装置。

[0374] 在一些实施方式中，光学复用系统可以进一步包括加热和冷却装置和/或机器人系统。

[0375] 可以适用于结合本公开使用的合适构造技术或材料的一些实例可以在以下项中描述：例如共同转让的美国专利号6,734,401标题为“(改进的样品处理装置、系统和方法) ENHANCED SAMPLE PROCESSING DEVICES SYSTEMS AND METHODS”(Bedingham et al.)和美国专利申请公开号US 2002/0064885标题为“样品处理装置(SAMPLE PROCESSING DEVICES)”。其他可用装置构造可以在以下项中找到，例如美国临时专利申请序列号60/214,508，于2000年6月28日提交并且标题为“热处理装置和方法(THERMAL PROCESSING

DEVICES AND METHODS”；美国临时专利申请序列号60/214,642,于2000年6月28日提交并且标题为“样品处理装置、系统和方法 (SAMPLE PROCESSING DEVICES, SYSTEMS AND METHODS)”；美国临时专利申请序列号60/237,072,于2000年10月2日提交并且标题为“样品处理装置、系统和方法 (SAMPLE PROCESSING DEVICES, SYSTEMS AND METHODS)”；美国临时专利申请序列号60/260,063,于2001年1月6日提交并且标题为“样品处理装置、系统和方法 (SAMPLE PROCESSING DEVICES, SYSTEMS AND METHODS)”；美国临时专利申请序列号60/284,637,于2001年4月18日提交并且标题为“改进的样品处理装置、系统和方法 (ENHANCED SAMPLE PROCESSING DEVICES, SYSTEMS AND METHODS)”；以及美国专利申请公开号US 2002/0048533,标题为“样品处理装置和载体 (SAMPLE PROCESSING DEVICES AND CARRIERS)”。其他可能的装置构造可以在例如美国专利号6,627,159标题为“样品加工装置的离心填充 (CENTRIFUGAL FILLING OF SAMPLE PROCESSING DEVICES)” (Bedingham et al.) 中找到。

[0376] 根据本公开的光学复用系统可以包括多个处理室 (例如反应容器), 每个用于容纳相应的样品以及一个或多个探针组, 如分析物特异性探针组、解码寡核苷酸/非信号寡核苷酸组和/或信号寡核苷酸/非信号寡核苷酸组。例如, 处理室可以包括在可旋转的盘中或包括在可移动孔板如96孔板中; 用于旋转所述盘或移动孔板的发动机, 其中尤其发动机可以是机器人系统的一部分。

[0377] 根据本公开的光学复用系统可以进一步包括至少一个或多个光学模块, 尤其其中, 该系统包括具有适于接收光学模块的至少一个或多个位置的罩体 (housing), 其中, 多个光学模块中的每一个都可以从罩体的位置移除。

[0378] 在一些有利的实施方式中, 根据本公开的光学复用系统可以包括检测器, 以及尤其与多个光学模块联接以将荧光从多个光学模块传送到检测器的光导纤维束。

[0379] 尤其, 一个或多个光学模块包括光学通道, 每个光学模块具有被选择用于激发不同染料中的一种的光源以及捕获发射的荧光的透镜, 所述一个或多个光学模块被光学配置为在不同波长下查询荧光染料。

[0380] 在另外的实施方式中, 该系统可以包括具有至少一个流通通道的微流体盒体 (cartridge) (本文也称为微流体装置)。光学复用系统包括荧光成像系统。该系统的其他特征可以是温度测量和/或控制系统。在一些实施方式中, 系统包括用于施加可变气动压力例如至微流体盒体的压力测量和控制系统。光学复用系统可以包括用于容纳多种试剂的存储装置, 诸如孔板。此外, 光学复用系统可以包括液体处理系统, 尤其包括例如至少一个机器人移液器, 用于吸取、混合和分配试剂混合物, 例如到微流体盒体和/或到一个或多个反应容器中。此外, 系统可以包括用于数据存储、处理和输出的装置; 以及尤其是系统控制器以协调各种装置和功能。

[0381] 在一些实施方式中, 根据本公开的方法编码核酸分析物, 诸如mRNA, 例如编码特定蛋白质的mRNA。

[0382] 在一些有利的实施方式中, 本文所述的方法用于平行地特异性检测许多不同的分析物。该技术允许区分比可用的不同信号更多数量的分析物。该过程包括至少连续四轮的特异性结合、信号检测和选择性变性 (如果需要下一轮), 最终产生信号代码。为了解耦分析物特异性结合与提供可检测信号的寡核苷酸之间的依赖性, 引入了所谓的“解码”寡核苷酸

酸。解码寡核苷酸将分析物特异性探针组的信息转录为信号寡核苷酸。

[0383] 在特定的实施方式中,该方法可以包括以下步骤:1.提供一个或多个分析物特异性探针组,该分析物特异性探针组由一个或多个不同的探针组成,每个探针在与分析物特异性相互作用的结合部分方面不同,单个探针组的所有探针都与序列元件(唯一标识符)相连,该序列元件对于单个探针组是唯一的并允许解码寡核苷酸的特异性杂交,2.探针组与分析物的靶结合位点的特异性结合,3.去除未结合的探针(例如通过洗涤步骤),4.提供与探针组的唯一标识符序列特异性杂交的解码寡核苷酸的混合物,解码寡核苷酸包括至少两个序列元件,与相应探针组的唯一标识符序列互补的第一元件和提供用于信号寡核苷酸的特异性杂交的序列的第二序列元件(翻译物元件),翻译物元件定义了募集到解码寡核苷酸的信号的类型,5.解码寡核苷酸与通过结合的探针组提供的唯一标识符序列的特异性杂交,6.去除非结合的解码寡核苷酸(例如通过洗涤步骤),7.提供信号寡核苷酸的混合物,该信号寡核苷酸包括可被检测的信号以及与前一杂交步骤中使用的解码寡核苷酸之一的翻译物元件特异性杂交的核酸序列,8.信号寡核苷酸的特异性杂交,9.去除未结合的信号寡核苷酸,10.信号的检测,11.选择性释放解码寡核苷酸和信号寡核苷酸,同时特异性探针组与分析物的结合几乎或完全不受影响,12.去除释放的解码寡核苷酸和信号寡核苷酸(例如通过洗涤步骤),同时特异性探针组与分析物的结合几乎或完全不受影响,重复步骤4至12至少三次,直到检测到足够数量的信号为每种不同的目的分析物生成编码方案。

[0384] 应当理解,前述特征和以下将要提及的特征不仅可以用于各自情况中指示的组合,还可以用于其他组合或单独使用,而不脱离本公开的范围。

[0385] 现在通过导致本公开的额外特征、特性和优点的实施方式另外解释本公开。实施方式具有纯粹的说明性性质并且不限制本公开的范围或界限。特定实施方式中所提及的特征是本公开的一般特征,它们不仅适用于该特定实施方式,而且独立地适用于本公开的任何实施方式的上下文中。

[0386] 本文公开的方法用于平行地特异性检测许多不同的分析物。该技术允许区分比可用的不同信号更多数量的分析物。该过程优选包括至少连续两轮的特异性结合、信号检测和选择性变性(如果需要下一轮),最终产生信号代码。为了解耦分析物特异性结合与提供可检测信号的寡核苷酸之间的依赖性,引入了所谓的“解码”寡核苷酸。解码寡核苷酸将分析物特异性探针组的信息转录为信号寡核苷酸。

[0387] 方法和实施例

[0388] 在应用变体中,分析物或靶标是核酸,例如DNA或RNA,并且探针组包括与待检测的核酸序列的整个序列或子序列部分或完全互补的寡核苷酸(图1)。核酸序列特异性寡核苷酸探针组包括分析物特异性探针(1),该分析物特异性探针包括与待检测的靶核酸序列特异性杂交的结合元件(S),以及含有对于所述分析物特异性探针组来说唯一的核苷酸序列(唯一标识符序列)的标识符元件(T)。

[0389] 在本公开的有利实施方式中,分析物/靶标是核酸,例如RNA,以及包括与单个核酸序列靶标的不同区域部分或完全互补的寡核苷酸的两个探针组(图15)。核酸序列特异性寡核苷酸探针组包括两个分析物特异性探针组,每组(1和1'、2和2')均包括与待检测的靶核酸序列特异性杂交的结合元件(S),以及每组具有包括对所述分析物特异性探针组唯一的核苷酸序列(唯一标识符序列)的不同标识符元件(T)。这两组用于分析物的解码(1、2)以及

检测区分分析物亚组(1'和2')的独占元件的存在/不存在。

[0390] 在另外的应用变体中,分析物或靶标是蛋白质并且探针组包括一种或多种蛋白质,例如抗体(图2)。蛋白质特异性探针组包括分析物特异性探针(1),该分析物特异性探针包括与待检测的靶蛋白特异性相互作用的结合元件(T)诸如抗体的(高)可变区,以及标识符元件(T)。

[0391] 在另外的应用变体中,至少一种分析物是核酸并且至少第二分析物是蛋白质,并且至少第一探针组与核酸序列结合并且至少第二探针组与蛋白质分析物特异性结合。其他组合也是可能的。

[0392] 本公开的一般方法的实施方式可以是:

[0393] 步骤1:应用至少20个分析物或靶标特异性探针组。将靶核酸序列与由具有与靶核酸互补的序列的寡核苷酸组成的探针组一起温育。在该实施例中,示出了5个不同探针的探针组,每个探针包括与靶核酸序列的单个子序列互补的序列元件(S1至S5)。在此实施例中,区域不重叠。靶向相同核酸序列的寡核苷酸的每一个分别包括标识符元件或唯一标识符序列(T)。

[0394] 步骤2:探针组的杂交。在允许特异性杂交的条件下使探针组与靶核酸序列杂交。温育后,探针与其相应的靶序列杂交,并提供用于下一步骤的标识符元件(T)。

[0395] 步骤3:去除未结合探针。杂交后,去除未结合的寡核苷酸,例如通过洗涤步骤。

[0396] 步骤4:应用解码寡核苷酸。应用由至少两个序列元件(t)和(c)组成的解码寡核苷酸。虽然序列元件(t)与唯一标识符序列(T)互补,但序列元件(c)提供了用于随后的信号寡核苷酸杂交的区域(翻译物元件)。

[0397] 步骤5:解码寡核苷酸的杂交。解码寡核苷酸经由其互补的第一序列元件(t)与探针(T)的唯一标识符序列(T)杂交。温育后,解码寡核苷酸提供了用于随后的杂交步骤的翻译物序列元件(c)。

[0398] 步骤6:去除多余的解码寡核苷酸。杂交后,去除未结合的解码寡核苷酸,例如通过洗涤步骤。

[0399] 步骤7:应用信号寡核苷酸。信号寡核苷酸被应用。信号寡核苷酸包括与翻译物序列元件(c)基本上互补的至少一个第二连接物元件(C)以及提供可检测信号(F)的至少一个信号元件。

[0400] 步骤8:信号寡核苷酸的杂交。信号寡核苷酸经由互补序列连接物元件(C)与解码寡核苷酸的翻译物元件(c)杂交。温育后,信号寡核苷酸与其相应的解码寡核苷酸杂交并提供可检测的信号(F)。

[0401] 步骤9:去除多余的信号寡核苷酸。杂交后,去除未结合的信号寡核苷酸,例如通过洗涤步骤。

[0402] 步骤10:信号检测。检测由信号寡核苷酸提供的信号。

[0403] 最后一轮检测不需要以下步骤(步骤11和12)。

[0404] 步骤11:选择性变性。使唯一标识符序列(T)和解码寡核苷酸的第一序列元件(t)之间的杂交溶解。去稳定可以经由技术人员熟知的不同机制来实现,例如:升高的温度、变性剂等。靶标特异性探针或分析物特异性探针不受此步骤的影响。

[0405] 步骤12:去除变性的解码寡核苷酸。去除变性的解码寡核苷酸和信号寡核苷酸(例

如通过洗涤步骤),留下具有游离唯一标识符序列的特异性探针组,可在下一轮杂交和检测(步骤4至10)中重复使用。该检测循环(步骤4到12)重复至少四次,直到计划的编码方案完成。

[0406] 在一些有利的实施方式中,在步骤13中,执行步骤4至10的额外的循环以读取子组/变异体特异性信号。

[0407] 使用多解码物的本公开的一般方法的另一实施方式可以是(图16):

[0408] 步骤1:靶核酸:在本实施例中,必须通过仅使用两种不同类型的信号寡核苷酸来检测和区分三种不同的靶核酸(A)、(B)和(C)。在开始实验之前,设置了一定的编码方案。在本实施例中,三种不同的核酸序列由具有三种不同信号类型(1)、(2)和(1/2)的三轮检测编码,并且产生的汉明距离为3以允许错误检测。计划的码字为:

[0409] 序列A: (1) - (1) - (2)

[0410] 序列B: (2) - (2) - (1/2)

[0411] 序列C: (1/2) - (1/2) - (1)

[0412] 步骤2:探针组的杂交:对于每种靶核酸,应用自己的探针组,其与相应的目的核酸序列特异性杂交。每个探针组提供唯一标识符序列(T1)、(T2)或(T3)。这样,每种不同的靶核酸都被唯一标记。在本实施例中,序列(A)用(T1)标记,序列(B)用(T2)标记,并且序列(C)用(T3)标记。图16中的图示总结了图3的步骤1至3。

[0413] 步骤3:解码寡核苷酸和多解码物的杂交:对于存在的每个唯一标识符,应用通过其第一序列元件与相应的唯一标识符序列特异性杂交(此处为(t1)与(T1),(t2)与(T2)和(t3)与(T3))的某个解码寡核苷酸或多解码物。解码寡核苷酸或多解码物中的每一个提供定义了信号寡核苷酸杂交后将产生的信号的一个翻译物或两个翻译物元件。这里核酸序列(A)用(c1)标记,(B)用(c2)标记,并且(C)用翻译物元件(c1)和(c2)标记产生信号(1/2)。图16中的图示总结了图3的步骤4至6。

[0414] 步骤4:信号寡核苷酸的杂交:对于每种类型的翻译物元件,应用具有可与其他信号寡核苷酸的信号区分开的特定信号的信号寡核苷酸。信号寡核苷酸可以与相应的翻译物元件特异性杂交。图16中的图示总结了图3的步骤7至9

[0415] 步骤5:用于编码方案的信号检测:检测不同的信号。应注意,在本实施例中,核酸(A)、(B)和(C)在第一轮检测后已经可以区分。这与图5的步骤5形成对比,图5的步骤5可以通过多解码物实现的额外信号类型(1/2)解释。尽管已经可以区分核酸序列,但额外的轮次有助于计划的汉明距离为3。图16中的图示对应于图3的步骤10。

[0416] 步骤6:选择性变性:如图3的步骤11和12中所述对待检测的所有核酸序列的解码(和信号)寡核苷酸和/或多解码物选择性地变性和去除。之后,不同探针组的唯一标识符序列可以用于下一轮杂交和检测。

[0417] 步骤7:第二轮检测:下一轮杂交和检测如步骤3至5中所述进行。应注意,在新一轮中,不同解码寡核苷酸和多解码物的混合发生了变化。例如,第一轮中使用的核酸序列(A)的解码寡核苷酸包括序列元件(t1)和(c1),而第2轮新的多解码物包括序列元件(t1)、(c1)和(c2)。应注意,现在2轮后已经给出了2的汉明距离,这是3轮后图3中的实施例的最终结果。

[0418] 步骤8:第三轮检测:再次使用解码寡核苷酸和/或多解码物的新组合,从而产生新

的信号组合。在信号检测之后,三个不同核酸序列的所得码字不仅是唯一的并且因此是可区分的,而且包括与其他码字的汉明距离为3。由于该汉明距离,信号检测(信号交换)中的错误不会产生有效码字,并且因此可以被检测到,并且由于汉明距离3也被纠正,与图3的编码方案相反。这样,可以在三轮检测中用两种不同的信号区分三种不同的核酸,从而允许错误检测和纠正。

[0419] 应注意,在每一轮检测中,特定唯一标识符提供的信号类型由特定解码寡核苷酸的使用控制。结果,在检测循环中应用的解码寡核苷酸的序列将探针组的结合特异性转录成独特的信号序列。

[0420] 解码寡核苷酸杂交(步骤4至6)和信号寡核苷酸杂交(步骤7至9)的步骤也可以以两种替代方式组合,如图4中示出。

[0421] 选择:1:同时杂交。替代图3的步骤4至9,解码寡核苷酸和信号寡核苷酸的特异性杂交也可以同时进行,在去除多余的解码寡核苷酸和信号寡核苷酸后,导致与图3的步骤9所示相同的结果。

[0422] 选择:2:预温育。除了图3的选择1之外,解码寡核苷酸和信号寡核苷酸可以在单独的反应中预温育,然后应用于具有已经结合的特异性探针组的靶核酸。

[0423] 1.通过两种不同信号类型和三轮检测对三种不同核酸序列进行信号编码的实施例

[0424] 图3示出了通过解码寡核苷酸介导的特异性信号的生成和检测的一般概念。它没有示出可以通过此程序实现的编码的一般概念。为了说明图3中示出过程用于生成编码方案的用途,图5示出了使用三种不同核酸序列进行多轮编码实验的一般实施例。在该实施例中,编码方案包括错误检测。

[0425] 步骤1:靶核酸。在本实施例中,必须通过仅使用两种不同类型的信号来检测和区分三种不同的靶核酸(A)、(B)和(C)。在开始实验之前,设置了一定的编码方案。在本实施例中,三种不同的核酸序列由具有两种不同信号(1)和(2)的三轮检测编码,并且产生的汉明距离为2以允许错误检测。计划的码字为:

[0426] 序列A: (1) - (2) - (2);

[0427] 序列B: (1) - (1) - (1);

[0428] 序列C: (2) - (1) - (2)。

[0429] 步骤2:探针组的杂交。对于每种靶核酸,应用自己的探针组,其与相应的目的核酸序列特异性杂交。每个探针组提供唯一标识符序列(T1)、(T2)或(T3)。这样,每种不同的靶核酸都被唯一标记。在本实施例中,序列(T)用(T1)标记,序列(B)用(T2)标记,并且序列(C)用(T3)标记。图示总结了图3的步骤1至3。

[0430] 步骤3:解码寡核苷酸的杂交。对于存在的每个唯一标识符,应用通过其第一序列元件与相应的唯一标识符序列特异性杂交(此处为(t1)与(T1),(t2)与(T2)和(t3)与(T3))的某个解码寡核苷酸。解码寡核苷酸的每一个都提供了定义信号寡核苷酸杂交后将生成的信号的翻译物元件。这里核酸序列(A)和(B)用翻译物元件(c1)标记,并且序列(C)用(c2)标记。图示总结了图3的步骤4至6。

[0431] 步骤4:信号寡核苷酸的杂交。对于每种类型的翻译物元件,应用具有可与其他信号寡核苷酸的信号区分开的特定信号(2)的信号寡核苷酸。信号寡核苷酸可以与相应的翻

译物元件特异性杂交。图示总结了图3的步骤7至9。

[0432] 步骤5:用于编码方案的信号检测。检测不同的信号。请注意,在本实施例中,核酸序列(C)可以通过它提供的独特信号(2)与其他序列区分开来,而序列(A)和(B)提供相同类型的信号(1),并且不能在第一个检测循环后区分。这是因为待检测的不同核酸序列的数量超过了可用的不同信号的数量这一事实。图示对应于图3的步骤10。

[0433] 步骤6:选择性变性。如图3的步骤11和12中对待检测的所有核酸序列的解码(和信号)寡核苷酸选择性地变性和去除。之后,不同探针组的唯一标识符序列可以用于下一轮杂交和检测。

[0434] 步骤7:第二轮检测。下一轮杂交和检测如步骤3至5中所述进行。应注意,在此新一轮中,不同解码寡核苷酸的混合发生了变化。例如,第一轮中使用的核酸序列(A)的解码寡核苷酸包括序列元件(t1)和(c1),而新解码寡核苷酸包括序列元件(c1)和(c2)。请注意,由于第一轮和第二轮信号的独特组合,现在可以清楚地区分所有三种序列。

[0435] 步骤8:第三轮检测。再次使用解码寡核苷酸的新组合,从而产生新的信号组合。在信号检测之后,三个不同核酸序列的所得码字不仅是唯一的并且因此是可区分的,而且包括与其他码字的汉明距离为2。由于汉明距离,信号检测(信号交换)中的错误不会产生有效码字,并且因此可以被检测到。通过这种方式,可以在三个检测轮中用两种不同的信号区分三种不同的核酸,从而允许错误检测。

[0436] 2. 优于现有技术的优势

[0437] 编码策略

[0438] 与最先进的方法相比,根据本公开的方法的一个特别优势是解码寡核苷酸的使用打破了靶标特异性探针和信号寡核苷酸之间的依赖性。

[0439] 在不解耦靶标特异性探针和信号生成的情况下,如果使用两个不同的分子标签,则只能针对某靶标生成两种不同的信号。这些分子标签中的每一个都只能使用一次。同一分子标签的多次读出不会增加关于靶标的信息。为了产生编码方案,需要在每一轮之后更改靶标特异性探针组(SeqFISH),或者同一探针组上必须存在多种分子标签(如merFISH、intronSeqFISH)。

[0440] 遵照根据本公开的方法,通过使用不同的解码寡核苷酸重复使用相同的唯一标识符(分子标签)以及少量的不同的、主要是成本密集的信号寡核苷酸来实现不同的信号。与其他方法相比,这带来了几个优势。

[0441] (1) 编码方案不是由靶标特异性探针组定义的,这是现有技术的所有其他方法的情况。这里编码方案由解码寡核苷酸转录。这导致关于轮数的更高灵活性和码字中信号选择的自由度。查看现有技术的方法(例如merFISH或intronSeqFISH),所有靶序列的编码方案(可检测信号的数量、类型和序列)由特异性探针组上不同标签序列的存在来预定义的(在merFISH的情况下,每个探针组16个不同标签中的4个,在intron FISH的情况下,60个不同标签中的5个)。为了每个探针组产生足够数量的不同标签,这些方法使用相当复杂的寡核苷酸设计,在一个靶标特异性寡核苷酸上存在多个标签。为了改变特定靶核酸的编码方案,必须更换特异性探针组。根据本公开的方法描述了每种分析物使用单个唯一标签序列(唯一标识符),因为它可以在每一轮检测中重复使用以产生新信息。编码方案由检测轮次中使用的解码寡核苷酸的顺序定义。因此,编码方案不是由特异性探针(或唯一标签序列)

预先定义的,而是可以根据不同的需要进行调整,即使在实验期间也是如此。这是通过简单地改变检测轮次中使用的解码寡核苷酸或添加额外的检测轮次来实现的。

[0442] (2) 利用现有技术的方法不同信号寡核苷酸的数量必须与不同标签序列的数量相匹配(在merFISH的情况下为16个,以及在intronSeqFISH的情况下为60个)。使用根据本公开的方法,不同信号寡核苷酸的数量与所使用的不同信号的数量相匹配。因此,对于此处描述的方法,信号寡核苷酸的数量保持不变,并且从不超过不同信号的数量,但会随着现有技术方法中编码方案的复杂性而增加(需要更多的检测轮次,需要更多不同的信号寡核苷酸)。结果,此处描述的方法导致大大降低的复杂性(信号寡核苷酸与环境或彼此之间的意外相互作用),并显著降低了测定成本,因为主要成本因素是信号寡核苷酸。

[0443] 在现有技术的方法中,靶标特异性探针组生成的不同信号的数量受限于该探针组可以提供的不同标签序列的数量。由于每个额外的标签序列都会增加靶标特异性探针的总尺寸,因此单个探针可以提供的不同标签的数量是有限的。这种限制是由几个问题(意外的分子间和分子内相互作用、成本、扩散速率、稳定性、合成期间的错误等)的尺寸依赖性增加导致的。此外,可以应用于特定分析物的靶标特异性探针的总数是有限的。在核酸的情况下,这种限制是由靶序列的长度和合适的结合位点的比例导致的。这些因素导致探针组可以提供的不同信号的数量受到严重限制(在merFISH的情况下为4个信号,在intronSeqFISH的情况下为5个信号)。这种限制极大地影响了通过一定数量的检测轮可以产生的不同码字的数量。在本公开的方法中,只需要一个标签,并且可以在每一轮检测中自由地重复使用。这导致低寡核苷酸复杂性/长度,同时导致可能的最大编码效率(颜色数^{轮数})。我们的方法与其他方法相比在编码能力上的巨大差异如图1和图5中示出。因此,在本公开的方法中,产生相同量的信息所需的检测轮数要少得多。更少的检测轮数与以下项有关:更低的成本、更低的实验时间、更低的复杂性、更高的稳定性和成功率、待收集和分析的数据的更少量以及更高的结果准确性。

[0444] 编码能力

[0445] 下表1中比较的所有三种方法都使用在不同检测轮之间不变性的特异性探针组。对于intronSeqFISH,需要4轮检测来产生一轮编码的伪色,因此仅给出第4、8、12、16和20轮的数据。merFISH方法使用恒定的4个信号数量,因此数据从尽可能最少的轮数开始。在8轮检测后,我们的方法超过了20轮merFISH达到的最大编码能力(用一个星号表示),并且在12轮检测后,超过了intron FISH的最大编码能力(用两个星号表示)。对于根据本公开的方法,假定使用3个不同的信号(与intronSeqFISH一样)。

[0446]

轮数	编码能力		
	本公开方法	intron FISH	merFISH
1	3	-	-
2	9	-	-
3	27	-	-
4	81	12	1
5	243	-	5

[0447]

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

[0448] 表1:编码能力比较

[0449] 如图6中示出,merFISH的码字数不会随着检测循环的数量呈指数增长,但随着每轮增加而变得不那么有效。相比之下,根据本公开的方法中intronSeqFISH的码字数呈指数增长。所提出方法的曲线斜率远高于intron FISH的曲线斜率,导致在20轮检测后可用的码字增加超过10,000倍。

[0450] 应注意,在seqFISH的情况下也达到了编码能力的这种最大效率,其中特异性探针在每一轮检测后变性,并且新的探针组与每一轮检测的靶序列特异性杂交。然而,与编码方案仅使用一种特异性杂交的技术(所有其他方法)相比,这种方法具有很大的缺点:

[0451] (1) 为了使特异性探针有效变性,必须使用相当粗糙的条件(高温、高变性剂浓度、长温育时间),导致分析物丢失或损坏的可能性更高。

[0452] (2) 对于每一轮检测,必须对每个靶核酸序列使用自己的探针组。因此,实验所需的特异性探针的数量与编码方案所需的不同信号的数量成比例。这显著增加了测定的复杂性和成本。

[0453] (3) 由于每个靶核酸分子的杂交效率都受到一定概率的影响,不同检测轮之间信号强度的波动远高于仅使用一个特异性杂交事件的方法,降低了完整代码的比例。

[0454] (4) 特异性杂交所需的时间比信号寡核苷酸或解码寡核苷酸的杂交要长得多(在intronSeqFISH、merFISH和seqFISH出版物的方法部分可以看出),这大大增加了完成实验所需的时间。

[0455] 由于这些原因,所有其他方法都使用单一的特异性杂交事件并接受较低代码复杂性的主要缺点,并且因此需要更多的检测轮次和更高的寡核苷酸设计复杂性。

[0456] 根据本公开的方法结合了seqFISH的优点(主要是关于编码方案的完全自由)与仅使用一个特异性杂交事件的方法的所有优点,同时消除了此类方法的主要问题。

[0457] 应注意,20轮后产生的大量码字也可用于在不同码字之间引入更高的汉明距离(差异),从而允许对1、2或甚至更多错误进行错误检测,并且甚至进行错误纠正。因此,即使

是非常高的编码能力仍然具有实际意义。

[0458] 对于共享某些部分 (例如mRNA剪接变体) 的分析物/靶的组中的亚组/变异体的检测,可能会使用两个单独的码字。然而,信号将在完全相同的物理位置处生成,因此混合读出将是初始方法的结果。使用额外的轮次将信息添加至已经建立的代码中可以避免这个问题。

[0459] 如上所述,多解码物的使用进一步增加了编码方案的编码能力。多解码物的使用不再局限于具有与不同信号寡核苷酸和相应翻译物元件完全相同数量的不同信号类型,而是增加了可用于以下的信号类型: $(N \times (N+1)) / 2$ (N 为使用的不同信号寡核苷酸的数量)。对于表1中使用的具有3种不同信号寡核苷酸的代码,这意指可以使用以下7种不同的信号类型: (S1)、(S2)、(S3)、(S1/S2)、(S1/S3)、(S2/S3)、(S1/S2/S3)。对编码效率的影响可以在表1b和图18中看到。

轮数	编码能力			
	本公开方法	具有多解码物的本公开方法	intron 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	$1,3841 \times 10^{10}$	1728	495
13	1594323	$9,6889 \times 10^{10}$	-	715
14	4782969	$6,7822 \times 10^{11}$	-	1001
15	14348907	$4,7476 \times 10^{12}$	-	1365
16	43046721	$3,3233 \times 10^{13}$	20736	1820
17	129140163	$2,3263 \times 10^{14}$	-	2380
18	387420489	$1,6284 \times 10^{15}$	-	3060
19	1162261467	$1,1399 \times 10^{16}$	-	3876
20	3486784401	$7,9792 \times 10^{16}$	248832	4845

[0462] 表1b示出了四种方法的编码能力。

[0463] 表1b中比较的所有四种方法都使用在不同检测轮之间不变性的特异性探针组。对于intronSeqFISH,需要4轮检测来产生一轮编码的伪色,因此仅给出第4、8、12、16和20轮的数据。merFISH方法使用恒定的4个信号数量,因此数据从尽可能最少的轮数开始。在4轮检

测后,此处描述的用多解码物的方法超过了用20轮merFISH达到的最大编码能力(用一个星号表示),在7轮检测后,超过了intron FISH的最大编码能力(用两个星号表示),并且在12轮检测后,超过了本公开的方法的最大编码能力(用三个星号表示)。假定使用3种不同的信号寡核苷酸(与intronSeqFISH一样)。

[0464] 3. 选择性变性、寡核苷酸组装和唯一标识符的重复使用是效率惊人的根据本公开的方法的关键因素是解码寡核苷酸结合、信号寡核苷酸结合、信号检测和选择性变性的连续过程。为了生成编码方案,这个过程必须重复几次(取决于码字的长度)。由于在每个检测循环中重复使用相同的唯一标识符,因此从第一个检测循环到最后一个检测循环的所有事件都相互依赖。此外,选择性变性取决于两个不同的事件:虽然解码寡核苷酸必须以最高效率从唯一标识符中溶解,但特异性探针必须以最高效率保持杂交。

[0465] 因此,整个编码过程的效率E可以用以下等式描述:

$$[0466] \quad E = B_{sp} \times (B_{de} \times B_{si} \times E_{de} \times S_{sp})^n$$

[0467] E=总效率

[0468] B_{sp} = 特异性探针的结合

[0469] B_{de} = 解码寡核苷酸的结合

[0470] B_{si} = 信号寡核苷酸的结合

[0471] E_{de} = 解码寡核苷酸的去除

[0472] S_{sp} = 去除过程期间特异性探针的稳定性

[0473] n=检测循环数量

[0474] 基于此等式,可以针对给定的方法总效率估算每个单步的效率。计算在此基于每个过程具有相同的效率的假设。总效率描述了存在的总信号中的成功解码信号部分。

[0475] 该方法的总效率取决于由等式描述的不同因素的每个单步的效率。在平均分布效率的假设下,可以绘制总效率相对于单步效率的图,如图7中示出。可以看出,具有5个检测循环的编码方案的实际相关总效率只能在单步效率明显高于90%的情况下实现。例如,要达到50%的总效率,需要每个单步内的平均效率为97.8%。这些计算甚至基于100%信号检测和分析效率的假设。由于各种序列的寡核苷酸的宽DNA解链曲线,本发明人在实验前假设选择性变性对于解码寡核苷酸的变性效率较低,并且序列特异性结合探针不够稳定。与此假设相反,我们发现在选择性变性期间,所有步骤都具有惊人的有效性和序列特异性探针的高度稳定性。

[0476] 通过实验,发明人基于5个检测循环实现了约30%至65%的总解码效率。通过上式计算每个单步(B_{sp} 、 B_{de} 、 B_{si} 、 E_{de} 、 S_{sp})的效率表明平均效率为约94.4%至98%。这些高效率是非常令人惊讶的,并且是该领域技术人员无法轻易预料到的。

[0477] 4. 实验数据

[0478] 背景

[0479] 该实验示出了10至50种不同的mRNA种类的平行特异性检测,具有单分子分辨率。其基于5个检测循环、3种不同的荧光信号以及无信号间隙且汉明距离为2(错误检测)的编码方案。实验证明了根据本公开的方法的实现性和功能性。

[0480] 寡核苷酸及其序列

[0481] 实验中使用的所有寡核苷酸序列(靶标特异性探针、解码寡核苷酸、信号寡核苷酸)

酸)都列在附录的序列表中。信号寡核苷酸R:ST05*0_Atto594购自biomers.net GmbH。所有其他寡核苷酸均购自Integrated DNA Technologies。将寡核苷酸溶解在水中。储备溶液(100 μ M)储存在-20 $^{\circ}$ C。

[0482] 实验概述

[0483] 将50个不同的靶标特异性探针组分为5组。待检测转录物的名称与靶标特异性探针组的名称相同(www.ensembl.org的转录物变体名称)。术语“新”表示经修改的探针设计。探针组的所有寡核苷酸序列都可以在序列表中找到。该表列出了探针组的唯一标识符名称以及在不同检测循环中使用的解码寡核苷酸的名称。生成的代码示出了在5个检测循环期间生成的荧光信号序列(G(绿色)=Alexa Fluor 488,O(橙色)=Atto 594,Y(黄色)=Alexa Fluor 546)。

[0484]

		检测循环中的解码寡核苷酸:					
靶 转 录 物	唯一标 识符	1	2	3	4	5	所得代 码
第 1 组							
DDX5-2 01	ST21	ST21-ST 07	ST21-ST 05	ST21-ST 07	ST21-ST 05	ST21-ST 06	GOGO Y
RAD17- 208	ST02	ST02-ST 06	ST02-ST 07	ST02-ST 06	ST02-ST 06	ST02-ST 07	YGY Y G
SPOCK 1-202	ST03	ST03-ST 06	ST03-ST 06	ST03-ST 07	ST03-ST 05	ST03-ST 05	YYGO O
FBXO32 -203	ST04	ST04-ST 07	ST04-ST 06	ST04-ST 06	ST04-ST 06	ST04-ST 05	GYYY O
THRAP 3-203	ST14	ST14-ST 07	ST14-ST 05	ST14-ST 05	ST14-ST 07	ST14-ST 05	GOOG O
GART-2 03	ST11	ST11-ST 06	ST11-ST 07	ST11-ST 06	ST11-ST 05	ST11-ST 05	YGYO O
KAT2A- 201	ST13	ST13-ST 06	ST13-ST 06	ST13-ST 07	ST13-ST 06	ST13-ST 07	YYGY G
HPRT1- 201	ST12	ST12-ST 06	ST12-ST 07	ST12-ST 07	ST12-ST 06	ST12-ST 06	YGGY Y

[0485]

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
第 2 组							
CCNE1-201-新	NT01	NT01-ST07	NT01-ST07	NT01-ST06	NT01-ST06	NT01-ST06	GGYY Y
COG5-201	NT03	NT03-ST06	NT03-ST06	NT03-ST05	NT03-ST05	NT03-ST06	YYOO Y
FBN1-201	NT04	NT04-ST05	NT04-ST07	NT04-ST06	NT04-ST07	NT04-ST07	OGYG G
DYNC1H1-201	NT05	NT05-ST07	NT05-ST06	NT05-ST07	NT05-ST06	NT05-ST06	GYGY Y
CKAP5-202	NT06	NT06-ST05	NT06-ST06	NT06-ST07	NT06-ST05	NT06-ST06	OYGO Y
KRAS-202	NT07	NT07-ST06	NT07-ST05	NT07-ST06	NT07-ST06	NT07-ST05	YOYY O
EGFR-207	NT08	NT08-ST07	NT08-ST06	NT08-ST05	NT08-ST05	NT08-ST05	GYOO O
TP53-205	NT09	NT09-ST06	NT09-ST05	NT09-ST06	NT09-ST07	NT09-ST07	YOYG G
NF1-204	XT01	XT01-ST06	XT01-ST06	XT01-ST07	XT01-ST07	XT01-ST06	YYGG Y
NF2-204	XT02	XT02-ST07	XT02-ST06	XT02-ST05	XT02-ST06	XT02-ST07	GYOY G
第 3 组							
ACO2-201	XT03	XT03-ST06	XT03-ST06	XT03-ST06	XT03-ST07	XT03-ST05	YYYG O
AKT1-211	XT04	XT04-ST07	XT04-ST06	XT04-ST07	XT04-ST07	XT04-ST05	GYGG O
LYPLAL1-202	XT05	XT05-ST07	XT05-ST05	XT05-ST06	XT05-ST05	XT05-ST05	GOYO O
PKD2-201	XT06	XT06-ST06	XT06-ST07	XT06-ST05	XT06-ST05	XT06-ST07	YGOO G
ENG-204	XT09	XT09-ST05	XT09-ST05	XT09-ST06	XT09-ST06	XT09-ST06	OOYY Y
FANCE-201	XT10	XT10-ST05	XT10-ST07	XT10-ST06	XT10-ST05	XT10-ST06	OGYO Y
MET-201	XT12	XT12-ST05	XT12-ST06	XT12-ST05	XT12-ST06	XT12-ST06	OYOY Y

[0486]

NOTCH 2-201	XT13	XT13-ST 05	XT13-ST 05	XT13-ST 06	XT13-ST 07	XT13-ST 05	OOYG O
SPOP-2 06	XT14	XT14-ST 05	XT14-ST 07	XT14-ST 05	XT14-ST 07	XT14-ST 06	OGOG Y
ABL1-2 02	XT16	XT16-ST 05	XT16-ST 06	XT16-ST 06	XT16-ST 05	XT16-ST 05	OYYO O
第 4 组							
ATP11C -202	XT17	XT17-ST 07	XT17-ST 06	XT17-ST 06	XT17-ST 05	XT17-ST 06	GYYO Y
BCR-20 2	XT18	XT18-ST 05	XT18-ST 06	XT18-ST 06	XT18-ST 07	XT18-ST 06	OYYG Y
CAV1-2 05	XT19	XT19-ST 07	XT19-ST 05	XT19-ST 06	XT19-ST 07	XT19-ST 06	GOYG Y
CDK2-2 01	XT20	XT20-ST 05	XT20-ST 05	XT20-ST 07	XT20-ST 07	XT20-ST 06	OOGG Y
DCAF1- 202	XT201	XT201-S T06	XT201-S T06	XT201-S T05	XT201-S T07	XT201-S T07	YYOG G
FHOD1- 201	XT202	XT202-S T05	XT202-S T07	XT202-S T07	XT202-S T05	XT202-S T07	OGGO G
GMDS- 202	XT203	XT203-S T07	XT203-S T05	XT203-S T07	XT203-S T06	XT203-S T05	GOGY O
IFNAR1 -201	XT204	XT204-S T06	XT204-S T07	XT204-S T05	XT204-S T07	XT204-S T05	YGOG O
NSMF-2 03	XT206	XT206-S T07	XT206-S T06	XT206-S T07	XT206-S T05	XT206-S T07	GYGO G
POLA2- 201	XT208	XT208-S T06	XT208-S T06	XT208-S T06	XT208-S T05	XT208-S T07	YYYO G
第 5 组							
BRCA1- 210 新	NT10	NT10-ST 07	NT10-ST 05	NT10-ST 06	NT10-ST 06	NT10-ST 07	GOYY G
JAK1-20 1 新	XT11	XT11-ST 05	XT11-ST 05	XT11-ST 07	XT11-ST 06	XT11-ST 07	OOGY G
STRAP- 202	XT207	XT207-S T07	XT207-S T07	XT207-S T06	XT207-S T05	XT207-S T07	GGYO G
SERPIN B5-201	XT209	XT209-S T07	XT209-S T05	XT209-S T05	XT209-S T05	XT209-S T07	GOOO G
SETX-2 01	XT210	XT210-S T06	XT210-S T07	XT210-S T06	XT210-S T07	XT210-S T06	YGYG Y
WDFY1 -201	XT212	XT212-S T05	XT212-S T07	XT212-S T05	XT212-S T06	XT212-S T07	OGOY G

[0487]

TACC1-201	XT213	XT213-S T05	XT213-S T07	XT213-S T07	XT213-S T07	XT213-S T05	OGGG O
KIF2A-203	XT214	XT214-S T07	XT214-S T07	XT214-S T06	XT214-S T07	XT214-S T05	GGYG O
CDT1-201	XT215	XT215-S T07	XT215-S T07	XT215-S T07	XT215-S T05	XT215-S T05	GGGO O
CENPE-202	XT216	XT216-S T07	XT216-S T06	XT216-S T05	XT216-S T07	XT216-S T06	GYOG Y

[0488] 表2:实验概述

[0489] 实验的变化

[0490] 已经进行了实验的一些变化。实验1至4主要在于平行检测的转录物数量方面不同。列为靶标特异性探针组的组参见表6。实验5至8是单轮、单靶标对照,用于与解码信号进行比较。

[0491]

实验	使用的靶标特异性探针组	检测循环数	用 trolox 成像
1.50 个转录物_T+	表 6 的组 1 至 5	5	+
2.50 个转录物_T-	表 6 的组 1 至 5	5	-
3.30 个转录物_T+	表 6 的组 2 至 4	5	+
4.10 个转录物_T+	表 6 的第 1 组	5	+
5.DDX5	DDX5-ST21	1	-
6.RAD17	RAD17-ST02	1	-
7.SPOCK1	SPOCK1-ST03	1	-
8.THRAP3	THRAP3-ST14	1	-

[0492] 表3:实验的变化

[0493] 实验细节

[0494] A.细胞的接种和培养

[0495] 使HeLa细胞在HeLa细胞培养基中生长至接近100%汇合。HeLa细胞培养基包括DMEM(Thermo Fisher,目录号:31885)和10%FCS(Biochrom,目录号:S0415)、1%青霉素-链霉素(Sigma-Aldrich,目录号:P0781)和1%MEM非必需氨基酸溶液(Thermo Fisher,目录号:11140035)。吸出细胞培养基后,在用PBS(1.424g/l $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 、0.276g/l $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 、8.19g/l NaCl在水中,pH 7.4)进行洗涤步骤后,细胞在37℃下与胰蛋白酶EDTA溶液(Sigma-Aldrich,目录号:T3924)温育5min进行胰酶消化。然后将细胞接种到μ-Slide 8Well ibidiTreat(Ibidi,目录号:80826)的孔中。调整每孔的细胞数以在细胞粘附后达到约50%汇合。细胞与每孔200μl HeLa细胞培养基温育过夜。

[0496] B.细胞的固定

[0497] 在吸出细胞培养基并用每孔200μl 37℃温热PBS进行两次洗涤步骤后,将细胞用200μl预冷甲醇(-20℃,Roth,目录号:0082.1)在-20℃下固定10min。

[0498] C.用苏丹黑复染

[0499] 吸出甲醇并向每个孔中添加150μl的在70%乙醇中稀释的0.2%苏丹黑溶液。孔在室温下在黑暗中温育5min。温育后,将细胞用每孔400μl 70%乙醇洗涤三次,以去除过量的

苏丹黑溶液。

[0500] D. 分析物/靶标特异性探针的杂交

[0501] 杂交之前,将细胞用200 μ l sm-洗涤缓冲液平衡。sm-洗涤缓冲液包括30mM柠檬酸Na₃、300mM NaCl, pH7、10%甲酰胺(Roth, 目录:P040.1)和5mM氧钒核糖核苷(Ribonucleoside Vanadyl)复合物(NEB, 目录号:S1402S)。对于每个靶标特异性探针组,将1 μ l的100 μ M寡核苷酸储备溶液添加至混合物中。寡核苷酸储备溶液包括等摩尔量的相应靶标特异性探针组的所有靶标特异性寡核苷酸。用水将混合物的总体积调节至100 μ l,并与100 μ l的2x浓缩杂交缓冲液混合。2x浓缩杂交缓冲液包括120mM柠檬酸Na₃、1200mM NaCl, pH7、20%甲酰胺和20mM氧钒核糖核苷复合物。将所得200 μ l杂交混合物添加至相应的孔中,并在37℃下温育2h。然后将细胞在37℃下用靶标探针洗涤缓冲液以每孔200 μ l洗涤三次,10min。靶标探针洗涤缓冲液包括30mM柠檬酸Na₃、300mM NaCl, pH7、20%甲酰胺和5mM氧钒核糖核苷复合物。

[0502] E. 解码寡核苷酸的杂交

[0503] 杂交之前,将细胞用200 μ l sm-洗涤缓冲液平衡。对于每个解码寡核苷酸,将1.5 μ l的5 μ M储备溶液添加至混合物中。用水将混合物的总体积调节至75 μ l,并与75 μ l的2x浓缩杂交缓冲液混合。将所得150 μ l解码寡核苷酸杂交混合物添加到相应的孔中,并在室温下温育45min。然后将细胞在室温下用sm-洗涤缓冲液以每孔200 μ l洗涤三次,2min。

[0504] F. 信号寡核苷酸的杂交

[0505] 杂交之前,将细胞用200 μ l sm-洗涤缓冲液平衡。信号寡核苷酸杂交混合物对于所有实验轮1至4都是相同的,并且包括在1x浓缩杂交缓冲液中的0.3 μ M的每种信号寡核苷酸(参见表A3)。在每一轮中,每孔添加150 μ l该溶液,并在室温下温育45min。除了每种信号寡核苷酸的最终浓度为0.15 μ M之外,实验5至8的程序相同。然后,将细胞在室温下用sm-w洗涤缓冲液以每孔200 μ l洗涤3次,2min。

[0506] G. 荧光和白光成像

[0507] 将细胞在室温下用每孔200 μ l成像缓冲液洗涤一次。在没有Trolox的实验(见表7,最后一列)中,成像缓冲液包括30mM柠檬酸Na₃、300mM NaCl, pH7和5mM氧钒核糖核苷复合物。在具有Trolox的实验中,成像缓冲液还包含10%VectaCell Trolox Antifade试剂(Vector laboratories, 目录号:CB-1000),得到的最终Trolox浓度为10mM。

[0508] 具有数值孔径为1.4的63x浸油物镜(Zeiss, 复消色差物镜)、pco.edge 4.2CMOS摄像头(PCO AG)和LED光源(Zeiss,colibri 7)的Zeiss Axiovert 200M显微镜用于区域成像。滤光片组和LED波长根据所用荧光团的不同最优值进行调整。每张图像的照明时间对于Alexa Fluor 546和Atto 594为1000ms,对于Alexa Fluor 488为400ms。

[0509] 在每个实验中,随机选择三个区域进行成像。对于每个区域,检测到32张图像的z堆栈(z-stack),z步长为350nm。此外,从这些区域拍摄了一张白光图像。在具有超过一个检测循环的实验中,第一轮检测的区域会在随后的每一轮中被发现并成像。

[0510] H. 选择性变性

[0511] 对于选择性变性,每个孔在42℃下用200 μ l的sm-洗涤缓冲液温育6min。该程序重复六次。

[0512] 在实验1至4中,步骤(E)至(H)重复5次。在第5个检测循环中省略步骤(H)。

[0513] I. 分析

[0514] 基于自定义ImageJ插件,对原始数据进行了半自动分析,以区分背景中的特定荧光信号。所有三个荧光通道的所得3D点云在计算机中与自定义VBA脚本组合。5个检测循环的所得组合3D点云在VBA脚本的基础上相互比对。所得比对揭示了检测到的唯一独特信号的码字。成功解码的信号用于基于自定义VBA脚本和ImageJ插件的实验的定量和空间分析。

[0515] 结果

[0516] 1. 解码信号的绝对数量

[0517] 下表4中列出了每个实验的每个区域的所有转录物的成功解码信号的绝对数量。总之,正确代码的总和描述了分配给相应实验中可检测的转录物的解码信号的总数,而错误代码的总和是相应实验中未检测到的解码信号的总数。信号总数包括成功解码和未成功解码的信号。

[0518]

	实验 1: 区域:			实验 2: 区域:			实验 3: 区域:			实验 4: 区域:		
转 录 物 名 称:	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
第 1 组												
DDX 5-20 1	121 4	113 6	927	114 4	150 9	117 6	296 4	203 4	214 1	8	2	2
RAD 17-2 08	40	126	50	26	55	62	22	30	33	7	9	10
SPO CK1 -202	581	655	301	483	875	149	134 9	621	539	2	10	8

[0519]

FBX O32- 203	153	175	68	113	106	78	301	160	269	5	13	9
THR AP3- 203	107 9	218 0	103 5	810	117 9	104 7	231 8	160 9	160 9	6	8	16
GAR T-20 3	422	397	346	350	333	202	766	658	569	5	3	2
KAT 2A-2 01	141	310	166	174	307	186	382	315	340	5	1	3
HPR T1-2 01	63	79	34	44	116	71	85	88	112	1	0	6
CCN A2-2 01	91	248	205	95	134	138	241	151	238	10	20	9
NKR F-20 1	162	318	153	101	99	135	313	254	209	7	5	12
第 2 组												
CCN E1-2 01- 新	75	180	38	57	110	97	0	0	1	122	104	120
COG 5-20 1	57	21	38	26	45	23	0	0	1	56	86	60
FBN 1-20 1	202	133 8	499	456	513	571	0	1	3	450	778	895
DYN C1H 1-20 1	554	892	398	664	102 6	666	4	3	7	823	114 8	124 8
CKA P5-2 02	43	23	77	51	98	74	1	2	1	94	190	212
KRA S-20 2	331	417	355	302	333	230	0	0	1	279	637	371

[0520]

EGF R-20 7	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
第 3 组												
ACO 2-20 1	456	759	444	333	367	345	0	0	0	556	681	681
AKT 1-211	351	710	301	230	437	297	0	0	3	558	614	690
LYP LAL 1-20 2	65	62	51	33	58	51	7	6	8	28	34	42
PKD 2-20 1	72	194	124	95	129	69	1	0	0	122	164	169
ENG -204	472	890	458	446	494	558	0	2	0	114 5	799	111 9
FAN CE-2 01	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
NOT CH2 -201	344	823	404	172	256	208	4	0	3	402	779	772
SPO P-20 6	43	377	139	68	117	100	0	0	0	215	289	300
ABL 1-20 2	224	72	218	107	122	153	4	1	1	302	393	480
第 4 组												
ATP 11C- 202	170	116	121	86	165	128	2	1	1	130	206	234

[0521]

BCR -202	180	401	185	177	149	169	1	0	0	321	372	485
CAV 1-20 5	728	777	644	328	653	567	2	0	5	613	997	852
CDK 2-20 1	306	937	367	297	385	358	4	1	3	568	742	888
DCA F1-2 02	119	292	187	59	67	65	0	1	0	108	171	131
FHO D1-2 01	60	233	143	132	185	157	1	0	1	194	294	300
GM DS-2 02	67	124	49	56	80	63	7	2	3	59	73	114
IFN AR1- 201	81	221	135	99	104	55	1	0	1	159	266	238
NSM F-20 3	448	583	386	293	453	331	8	4	11	525	608	616
POL A2-2 01	74	111	62	45	72	67	2	4	2	41	75	57
第 5 组												
BRC A1-2 10 新	230	704	248	324	439	374	2	1	0	2	3	3
JAK 1-20 1 新	157	554	223	185	259	263	0	1	0	5	4	2
STR AP-2 02	42	75	31	18	52	40	3	1	0	6	4	4
SER PIN B5-2 01	324	598	343	286	344	364	6	13	9	0	1	2

[0522]

SET X-20 1	212	540	254	291	439	336	2	2	2	12	9	5
WD FY1- 201	43	516	218	176	206	147	0	0	0	4	2	8
TAC C1-2 01	69	373	131	80	156	118	1	0	0	21	29	32
KIF2 A-20 3	442	879	445	298	519	430	5	1	2	6	11	9
CDT 1-20 1	31	27	33	19	61	28	15	8	9	0	8	1
CEN PE-2 02	192	246	215	94	262	225	0	1	0	8	9	9
总结												
正 确 代 码 的 总 和	129 60	234 05	128 90	113 19	159 17	127 97	874 1	592 0	605 9	103 87	134 57	143 03
错 误 代 码 的 总 和	0	0	0	0	0	0	86	60	86	120	151	152
信 号 的 总 数:	429 59	721 57	321 85	320 37	587 93	354 70	135 49	918 2	101 09	267 01	329 66	354 51
% 成 功 解 码	30. 2	32. 4	40. 0	35. 3	27. 1	36. 1	64. 5	64. 5	59. 9	38. 9	40. 8	40. 3

[0523] 表4:解码信号的绝对数量

[0524] 表4示出与正确解码信号的数量相比,错误解码信号的数量非常少。某个转录物的解码信号的绝对值在一个实验的不同区域之间非常相似。可以成功解码的信号总数的比例在27.1%至64.5%之间。该比例取决于相应区域/实验中存在的转录物的数量和/或信号的总数。

[0525] 结论

[0526] 根据本公开的方法产生少量错误分配的码字,并且因此可以被认为是特异性的。成功解码信号的比例非常高,即使每个区域的信号数量非常高并且平行检测的转录物的数量非常高。可分配信号的高比例和高特异性使该方法具有实用性。

[0527] 不同实验之间相对转录物丰度的比较

[0528] 如图8中示出,对于两个比较(A和B),将实验之间检测到的转录物的重叠用于分析。每个条代表实验的所有三个区的平均丰度。还指出了这些区域之间的标准偏差。

[0529] 不同实验之间相对转录物丰度的相关性

[0530] 如从图9中可以看出,实验1的转录物的平均相对丰度与实验3、4和2的重叠转录物的丰度相关。相关系数以及用于线性回归的公式针对每个相关性进行了指示。

[0531] 图8示出了低标准偏差,表明一个实验的不同区域之间相对丰度的低变化。来自不同实验的转录物之间的相对丰度差异也非常低。对于来自在实验1、2和3中检测到的第1组的转录物的比较(图8A),也是这种情况。对于来自在实验1、2和4之间重叠的第2、3和4组的转录物,也是这种情况。这些丰度的非常高的相关性也可以在图9中看到。来自实验1的转录物的丰度与其他多轮实验的丰度非常相关。相关因子介于0.88和0.91之间,而线性回归的斜率介于0.97和1.05之间。

[0532] 结论

[0533] 转录物的相对丰度在一个实验的不同区域之间而且还在不同实验之间非常相关。这可以通过图3和图4的比较清楚地看出。实验之间的主要差异在于不同靶标的数量和因此检测到的信号的总数。因此,检测到的转录物数量以及信号的数量和密度不会干扰该方法准确量化转录物数量的能力。非常好的相关性进一步支持该方法的特异性和稳定性,即使信号数量非常多。

[0534] 细胞间信号分布的比较

[0535] 在图10中,示出了图像堆栈的最大投影。A:实验7的区域1(单轮、单转录物实验检测SPOCK1),B:来自实验1区域1的所有选定信号的2D投影,分配给SPOCK1,C:实验8的区域1(单轮、单转录物实验检测THRAP3),D:来自实验1区域1的所有选定信号的2D投影,分配给THRAP3。

[0536] 细胞内信号分布的比较

[0537] 在图11中,示出了图像堆栈的最大投影。示出了相应区域的放大子区域。A:实验8的区域1(单轮、单转录物实验检测THRAP3),B:来自实验1区域1的选定信号的2D投影,分配给THRAP3,C:实验5的区域1(单轮、单转录物实验检测DDX5),D:来自实验1区域1的所有选定信号的2D投影,分配给DDX5。

[0538] 图10示出了不同转录物之间细胞间分布的巨大差异。SPOCK1似乎在某些细胞中非常丰富,但在其他细胞中几乎不存在(图10A)。THRAP3在区域的所有细胞中示出更均匀的分布(图10C)。这些空间分布模式也可以通过分配给来自实验1的相应转录物的点云来清楚地观察到(图10B和D)。

[0539] 图11示出了不同转录物之间细胞间分布的巨大差异。THRAP3可以主要在细胞的外周(细胞质)中观察到(图11A),而DDX5在细胞的中央(细胞核)中示出更高的丰度(图11C)。这些细胞内分布也可以通过分配给THRAP3和DDX5的实验1的点云来观察(图11B和D)。

[0540] 结论

[0541] 除了量化的可靠性之外,多轮实验的点云也示出转录物的相同细胞内和细胞间分布模式。通过将分配的点云与仅检测一种特征mRNA种类的单轮实验信号进行直接比较来清楚地证明了这一点。

[0542] 不同细胞周期依赖性转录物的分布模式

[0543] 图12的所有图像都示出了实验1的区域1。在每个图像中,示出了分配给某个转录物的点云,A:CCNA2,B:CENPE,C:CCNE1,D:所有转录物。图12示出了三种不同的细胞周期依赖性蛋白质的转录物。CENPE(图12B)也称为着丝粒蛋白质E,并且在G2期的期间积累。它被提出负责纺锤体伸长和染色体运动。它在分裂间期的期间不存在。CCNA2(图12A)也称为周期蛋白A2。它通过在从G2期到M期的过渡期间与CDK1相互作用来调节细胞周期进程。有趣的是,两种mRNA种类都存在明显的共定位。它们主要存在于区域1的三种中央细胞中。CCNE1(图12C)也称为周期蛋白E1。这种周期蛋白与CDK2相互作用并负责从G1期到S期的过渡。图12清楚地示出,该基因的转录物不存在于三种中央细胞中,而是相当均匀地分布在其他细胞中。因此,它示出了相对于其他两个转录物的反定位。对应点云的数据来源于具有非常多数量的点并且点密度非常高的点云(图12D给出印象)。

[0544] 结论

[0545] 图12中示出的细胞周期依赖蛋白的三个解码点云示出了可以通过其相应功能解释的分布模式。这些数据强烈表明,本公开的方法可靠地产生生物学相关数据,即使每个细胞的信号数量很少(图12C)并且信号密度非常高(图12D)。

[0546] 序列表

[0547] 在随附的序列表中,SEQ ID No.1-1247是指示例性靶标特异性寡核苷酸的核苷酸序列。列出的寡核苷酸由靶标特异性结合位点(5'-端)、间隔物/接头序列(gtaac或tagac)和唯一标识符序列组成,这对于一个探针组的所有寡核苷酸都是相同的。

[0548] 在随附的序列表中,SEQ ID No.1248-1397是指示例性解码寡核苷酸的核苷酸序列。

[0549] 在随附的序列表中,SEQ ID No.1398-1400是指示例性信号寡核苷酸的核苷酸序列。对于每个信号寡核苷酸,相应的荧光团出现两次。一个荧光团与5'-端共价连接,并且一个荧光团与3'-端共价连接。SEQ ID No.1398在其5'末端包括“5Alex488N”,并且在其3'末端包括“3AlexF488N”。SEQ ID No.1399在其5'末端包括“5Alex546”,并且在其3'末端包括“3Alex546N”。SEQ ID No.1400在其5'末端以及在其3'末端包括“Atto594”。

序列表

<110> 解析生物科学有限公司 (RESOLVE BIOSCIENCES GMBH)

<120> 用于检测样品中的不同分析物以及分析物的不同亚组/变异体的多重方法

<130> PPI22172085GB

<160> 1400

<170> BiSSAP 1.3.6

<210> 1

<211> 45

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 1

actactagag accggtagaa atgagtaacg attaccgact tatcc 45

<210> 2

<211> 42

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 2

tggcggggaa cgaagtatat agtaacgatt accgacttat cc 42

<210> 3

<211> 40

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 3

tggcgtcaat ggttgcggtg taacgattac cgacttatcc 40

<210> 4

<211> 41

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 4

tcggtcactc gaataaccgc gtaacgatta ccgacttatc c 41

<210> 5
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 5
ctccaaatcg aggtgcacca gtaacgatta ccgacttatc c 41
<210> 6
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 6
ggccagttcc cgagttggtg taacgattac cgacttatcc 40
<210> 7
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 7
agacttcaag cgacatgctc tgtaacgatt accgacttat cc 42
<210> 8
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 8
ggagcaccac cgtagataca agtaacgatt accgacttat cc 42
<210> 9
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 9

ctctccaaat cacgtatttg tgggtaacga ttaccgactt atcc 44

<210> 10

<211> 45

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 10

agagtttgcc tatcaggctt tattgtaacg attaccgact tatcc 45

<210> 11

<211> 40

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 11

ggccaagtcg cactccacag taacgattac cgacttatcc 40

<210> 12

<211> 43

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 12

tccttttcta cgatcatgaca cagtaacgat taccgactta tcc 43

<210> 13

<211> 46

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 13

ttccattaga cgaataagtt tttcagtaac gattaccgac ttatcc 46

<210> 14

<211> 44

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 14
tttctggtaa gctcatcaca tctgtaacga ttaccgactt atcc 44
<210> 15
<211> 46
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 15
gagttagggt agtcataatt gatgagtaac gattaccgac ttatcc 46
<210> 16
<211> 47
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 16
ttcttccaat tcgatgaata taatccgtaa cgattaccga cttatcc 47
<210> 17
<211> 48
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 17
tggtattagg tgtaaagaaa gtgtatggta acgattaccg acttatcc 48
<210> 18
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 18
gagataaggt cgctcacttg cgtaacgatt accgacttat cc 42
<210> 19
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 19
acctctgtct tcgaccaact ggtaacgatt accgacttat cc 42
<210> 20
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 20
acccttgga cgcacctgaac gtaacgatta ccgacttatc c 41
<210> 21
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 21
agtatctgtc ccgacggtca gtaacgatta ccgacttatc c 41
<210> 22
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 22
acccttttg cccgcagagg taacgattac cgacttatcc 40
<210> 23
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 23
tttaagcagg ctagagtaac ctcgtaacga ttaccgactt atcc 44
<210> 24
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 24
gcattggata accaatcata ggtggtaacg attaccgact tatcc 45
<210> 25
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 25
tcccctagtc cgagttgctc gtaaccctaa ttatgggaat c 41
<210> 26
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 26
ccaatttgca ctggatgtg tagtaaccct aattatggga atc 43
<210> 27
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 27
ttttgccagt agaacaagca tggttaaccct aattatggga atc 43
<210> 28
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 28
ggaggcaagg ttccgcaacg taaccctaatt tatgggaatc 40
<210> 29
<211> 44
<212> DNA

<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 29
agaattccac gtaaatacaca tgcgtaaccc taattatggg aatc 44
<210> 30
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 30
tatgcatgta cagggaagta tccgtaaccc taattatggg aatc 44
<210> 31
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 31
gtgtgcatgc cttagaaaaa gcgtaaccct aattatggga atc 43
<210> 32
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 32
agcttttgtg cccttatcat gagtaaccct aattatggga atc 43
<210> 33
<211> 46
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 33
cttcattagt atcttgtcac ttggggtaac cctaattatg ggaatc 46
<210> 34
<211> 45

<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 34
agatgatgac cctaccaaatt ttgggtaacc ctaattatgg gaac 45
<210> 35
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 35
aggcaagaga tagatatgtg ggcgtaaccc taattatggg aac 44
<210> 36
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 36
cagctgccac tataatcatg ttgtgaaccc taattatggg aac 44
<210> 37
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 37
ggaacatgct aatttaaggt gaggtaacc ctaattatgg gaac 45
<210> 38
<211> 46
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 38
aggactttgc tataatcaagt agttcgtaac ctaattatg ggaac 46
<210> 39

<211> 46
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 39
aaaggagata gtaacaatgg ttttcgtaac cctaattatg ggaatc 46
<210> 40
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 40
aaatcagtggt ttcaccctgt tcgtaaccct aattatggga atc 43
<210> 41
<211> 48
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 41
cttgtcataa gataattagg caaattagta accctaatta tgggaatc 48
<210> 42
<211> 47
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 42
tcattaagtt aatgctaagg atctttgtaa ccctaattat gggaatc 47
<210> 43
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 43
tgtcactggt acaagtggac ttgtaaccct aattatggga atc 43

<210> 44
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 44
ttggtcacta tacaagtgac ttctgtaacc ctaattatgg gaatc 45
<210> 45
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 45
aggaaaatgg gcgtaaagga gggtaaccct aattatggga atc 43
<210> 46
<211> 46
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 46
ttcatctaca atagggacaa caaacgtaac cctaattatg ggaatc 46
<210> 47
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 47
gataagtcta cgtggaaaag catgtaaccc taattatggg aatc 44
<210> 48
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 48

caggactaca gttaagcatt tactgtaacc ctaattatgg gaac 45

<210> 49

<211> 43

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 49

gtctaggaaa ttgccgtggt tggtaaccct aattatggga atc 43

<210> 50

<211> 42

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 50

aatcatcgtc tcgaaagcgg tgtaacccta attatgggaa tc 42

<210> 51

<211> 43

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 51

cttgaccaaaa ttcgaagggtc cagtaaccct aattatggga atc 43

<210> 52

<211> 43

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 52

gatgactctg ttcgcatcct cggtaaccct aattatggga atc 43

<210> 53

<211> 42

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 53
gatgctagtgc tcaaacctgc cgtaacccta attatgggaa tc 42
<210> 54
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 54
tgatacaggg ctcgtactta tccgtaaccc taattatggg aatc 44
<210> 55
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 55
aggagtcaca cgagttgaaa aggtaaccct aattatggga atc 43
<210> 56
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 56
ctcattacac cgaggatatga aggtaaccc taattatggg aatc 44
<210> 57
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 57
ctctgtcacg gctcgggtgg taaccctaatt tatgggaatc 40
<210> 58
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 58
ctaccatattg tacccgacct cagtaaccct aattatggga atc 43
<210> 59
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 59
aaccttaggt cgggtataga gaggtaaccc taattatggg aatc 44
<210> 60
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 60
gaagcactta gacactgtaa ggcgtaaccc taattatggg aatc 44
<210> 61
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 61
aataatcacc ggcagtaacg ggtaacccta attatgggaa tc 42
<210> 62
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 62
aggaagaaac ctatggcaga cagtaaccct aattatggga atc 43
<210> 63
<211> 46
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 63

catgtgttat tacgatgttc tttgtgtaac cctaattatg ggaatc 46

<210> 64

<211> 45

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 64

actactgttt ggtacttgta tctggtaacc ctaattatgg gaatc 45

<210> 65

<211> 42

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 65

aatcagtg cggacagtag cgtaacccta attatgggaa tc 42

<210> 66

<211> 41

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 66

caggcaatgc cgactggatt gtaaccctaa ttatgggaat c 41

<210> 67

<211> 48

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 67

tcttatctaa gaccaactat aggtatggta accctaatta tgggaatc 48

<210> 68

<211> 43

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 68

gggaactgtc tattgagcac tcgtaaccct aattatggga atc 43

<210> 69

<211> 47

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 69

attacaatct ttagtactca tggaaagtaa ccctaattat gggaatc 47

<210> 70

<211> 46

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 70

aaggtattct catgcctaga atattgtaac cctaattatg ggaatc 46

<210> 71

<211> 43

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 71

tggacagaca cggtgtcatt tggtaaccct aattatggga atc 43

<210> 72

<211> 48

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 72

ctctcattac aatgctatac atttaacgta accctaatta tgggaatc 48

<210> 73

<211> 41

<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 73
tgcagctcgc aacggaacaa gtaacggatt ttacaacttt a 41
<210> 74
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 74
gagtccatcc ggacattgac ctgtaacgga ttttacaact tta 43
<210> 75
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 75
cttgaacggc ctcgacgagg gtaacggatt ttacaacttt a 41
<210> 76
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 76
cctcctcggg tatattggcc ccgtaacgga ttttacaact tta 43
<210> 77
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 77
accgagactt cgaaaatgaa cgagtaacgg attttacaac tta 44
<210> 78

<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 78
cctctggctc gaaactgaaa gggtaacgga ttttacaact tta 43
<210> 79
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 79
tgctatggac tagatctcgg caagtaacgg attttacaac tta 44
<210> 80
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 80
gccttgaccg gtcagaagac ggtaacggat tttacaactt ta 42
<210> 81
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 81
taccacagag atcgagctg cgtaacggat tttacaactt ta 42
<210> 82
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 82
accagcccga acctcgcccg taacggattt tacaacttta 40

<210> 83

<211> 44

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 83

actgtatgct tgccggtaat tctgtaacgg attttacaac ttta 44

<210> 84

<211> 41

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 84

gaacatgaac cggccccgac gtaacggatt ttacaacttt a 41

<210> 85

<211> 42

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 85

caggaatccc gtcaagggtg ggtaacggat ttacaactt ta 42

<210> 86

<211> 47

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 86

tctcgatttta cctcgtttaa gatctcgtaa cggattttac aacttta 47

<210> 87

<211> 43

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 87

agaaccatgg tcgaactgac ctgtaacgga ttttacaact tta 43

<210> 88

<211> 41

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 88

tctgaggggc tacgctgaga gtaacggatt ttacaacttt a 41

<210> 89

<211> 41

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 89

aagcctctgt tacgcccacg gtaacggatt ttacaacttt a 41

<210> 90

<211> 46

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 90

aatgattcaa ctcgtactgg atcccgtaac ggattttaca acttta 46

<210> 91

<211> 44

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 91

cctcggaaat cccgattctg atagtaacgg attttacaac tttta 44

<210> 92

<211> 41

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 92
ggccccctact cggttgtggg gtaacggatt ttacaacttt a 41
<210> 93
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 93
ggaaaatgga acgaaactcc tgttgtaacg gattttacaa cttta 45
<210> 94
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 94
ctgggtcgtg cgaggtcctg taacggattt tacaacttta 40
<210> 95
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 95
cacggggcta ggacggggtg taacggattt tacaacttta 40
<210> 96
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 96
ccgatggcgt actcgtcggg taaccettat tcggtacta 39
<210> 97
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 97
gatcagatca gaatccgagg tggtaaccct tattcggtac ta 42
<210> 98
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 98
ggttgactc gcgacagttg gtaaccctta ttcggtacta 40
<210> 99
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 99
gacctgctca ttcgaggatga gtaaccctta ttcggtacta 40
<210> 100
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 100
tcacgtagta gcggttcgg taacccttat tcggtacta 39
<210> 101
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 101
ccaaagatgg gcctacttgt cagtaaccct tattcggtac ta 42
<210> 102
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 102
gacagagctg cacgcttggg taacccttat tcggtacta 39
<210> 103
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 103
ctgggcctgt ttgcgctcag taacccttat tcggtacta 39
<210> 104
<211> 38
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 104
tccttaggca tgcgcggcgt aacccttatt cggtacta 38
<210> 105
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 105
cagcggcagt actcgctgtg taacccttat tcggtacta 39
<210> 106
<211> 38
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 106
atgccaccga tgaccgcgt aacccttatt cggtacta 38
<210> 107
<211> 38
<212> DNA

<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 107
atcagcgtcg ctccctcggg aacccttatt cgggtacta 38
<210> 108
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 108
ctttgagagc tcgaacatcg tgtaaccctt attcgggtact a 41
<210> 109
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 109
ttccagtagt taaggcagag cagtaaccct tattcgggtac ta 42
<210> 110
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 110
gagctgcagg atcgggtccg taacccttat tcgggtacta 39
<210> 111
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 111
acatgagtgg tttcgtagcg ggtaaccctt attcgggtact a 41
<210> 112
<211> 40

<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 112
tgccgatgac atggaactcg gtaaccctta ttcggtacta 40
<210> 113
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 113
tgggtgaatt gaccttgtag gtagtaaccc ttattcggt a cta 43
<210> 114
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 114
cattggccga aagcaggctg taacccttat tcggtacta 39
<210> 115
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 115
gagacctctg ccgaaactgg gtaaccctta ttcggtacta 40
<210> 116
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 116
agtcttgtgc ttcgggtcaa agtaaccctt attcggtact a 41
<210> 117

<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 117
cctcttctcgc cctggcatag ggtaaccctt attcgggtact a 41
<210> 118
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 118
gtaacgggtga aaatggaccg ggtaaccctt attcgggtact a 41
<210> 119
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 119
tccctctaag ggattaatgc cagtaaccct tattcgggtac ta 42
<210> 120
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 120
agttcaagta tcccgcgact agtaacaatt agagtgaaat acc 43
<210> 121
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 121
gaacgcaggc tgtttactgt tgtaacaatt agagtgaaat acc 43

<210> 122
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 122
ggtccaggta aactaatggc tggtaacaat tagagtgaaa tacc 44
<210> 123
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 123
ctctgttgag ttacctcgc aagtaacaat tagagtgaaa tacc 44
<210> 124
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 124
tacttcaact aaccagtcca cggtacaat tagagtgaaa tacc 44
<210> 125
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 125
ccatgagaca aggcttaaga ctgtaacaat tagagtgaaa tacc 44
<210> 126
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 126

cggccaaaga atagtcgtag cgtaacaatt agagtgaat acc 43

<210> 127

<211> 45

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 127

ccatttccct aaggtatgtg tgagtaacaa ttagagtga atacc 45

<210> 128

<211> 46

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 128

ctctcatact gttagtgatg tctggtaaca attagagtga aatacc 46

<210> 129

<211> 42

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 129

cagctttgtc ccgtgactgt gtaacaatta gagtgaata cc 42

<210> 130

<211> 41

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 130

tgctgcaatg ctagcagcgg taacaattag agtgaaatac c 41

<210> 131

<211> 46

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 131

aagacaggaa cctatcaatg tagtgtaaca attagagtga aatacc 46

<210> 132

<211> 46

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 132

tagattagat tatgccaag tcaggtaaca attagagtga aatacc 46

<210> 133

<211> 46

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 133

catgtaaccc actttaggtt tacagtaaca attagagtga aatacc 46

<210> 134

<211> 47

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 134

ccagtctttc gtattaatga ttcaggtaac aattagagtg aaatacc 47

<210> 135

<211> 42

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 135

tgcaaccgt ctcgtcttcg gtaacaatta gaggaaata cc 42

<210> 136

<211> 47

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 136
gtgtaggtat catctgtaat gtacagtaac aattagagtg aaatacc 47
<210> 137
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 137
tccccggactt cagtaccgcg taacaattag agtgaaatac c 41
<210> 138
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 138
cgaggagggtt gcgaaaggcg taacaattag agtgaaatac c 41
<210> 139
<211> 49
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 139
tatacatata ctcaacactt atagagggtg acaattagag tgaaatacc 49
<210> 140
<211> 49
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 140
gtaatagata ccataatttg tacttgggtg acaattagag tgaaatacc 49
<210> 141
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 141
tgctgctgcg ctagacccgt aacaattaga gtgaaatacc 40
<210> 142
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 142
gcgtggcgag ccaaagacgt aacaattaga gtgaaatacc 40
<210> 143
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 143
tccgcggttg ttggacgggt aacaattaga gtgaaatacc 40
<210> 144
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 144
ctgtcacata cgcaaactgg tgtaacatcg ttatagctag a 41
<210> 145
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 145
tgccatata ccggtcaaag agtaacatcg ttatagctag a 41
<210> 146
<211> 42
<212> DNA

<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 146
tggatggtgc aataatccga gggtaacatc gttatagcta ga 42
<210> 147
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 147
agtgctgatc ccttaagtat gtcgtaacat cgttatagct aga 43
<210> 148
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 148
acctccatta accaatccag aaggtaacat cgttatagct aga 43
<210> 149
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 149
tggtgtactt gaccactta tttgtaacat cgttatagct aga 43
<210> 150
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 150
cagaagagaa cgtggagcag ggtaacatcg ttatagctag a 41
<210> 151
<211> 44

<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 151
tccctgtgaa gtttatagac ttcagtaaca tcggttatagc taga 44
<210> 152
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 152
tgtaaaagca aacgcacgcc gtaacatcgt tatagctaga 40
<210> 153
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 153
attcagatga cgagaaatga tacagtaaca tcggttatagc taga 44
<210> 154
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 154
tggtcacgcc atttccggcg taacatcggt atagctaga 39
<210> 155
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 155
agcaagtata ccataaggaa attcagtaac atcggttatag ctaga 45
<210> 156

<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 156
ctcgccgtcc tgtcgatttt gtaacatcgt tatagctaga 40
<210> 157
<211> 38
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 157
agcgagccga gaactccggt aacatcgta tagctaga 38
<210> 158
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 158
tattttgttc agacaacatg gctgtaacat cgttatagct aga 43
<210> 159
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 159
ccacttggtta caacggagcc gtaacatcgt tatagctaga 40
<210> 160
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 160
cagaacacct gcgaggagag gtaacatcgt tatagctaga 40

<210> 161
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 161
ttcatcagcg acgcccctgg taacatcggt atagctaga 39
<210> 162
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 162
cctgcaaaaa aacggtcacg tgtaacatcg ttatagctag a 41
<210> 163
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 163
tgtgggagtc ccttaggtca agtaacatcg ttatagctag a 41
<210> 164
<211> 38
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 164
gcatcgggag cacgcactgt aacatcgta tagctaga 38
<210> 165
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 165

ggctctgcac aacgcttgcg taacatcggt atagctaga 39

<210> 166

<211> 41

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 166

agccaggaca caatagtcag ggtaacatcg ttatagctag a 41

<210> 167

<211> 41

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 167

agccaggaca caatagtcag ggtaacatcg ttatagctag a 41

<210> 168

<211> 42

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 168

ttgcacatcc tacggtcttc tgtaacttac tacggagtta ac 42

<210> 169

<211> 43

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 169

gtagctcatt cgcaaattctt gggtaactta ctacggagtta aac 43

<210> 170

<211> 41

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 170
cctttaagcg cgtcgtgtcc gtaacttact acggagttaa c 41
<210> 171
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 171
cctcgacgca tgatgccggt aacttactac ggagttaac 39
<210> 172
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 172
gccccatggc tcgtgtaggg taacttacta cggagttaac 40
<210> 173
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 173
ccaattgtgt tccggcaagt tgtaacttac tacggagtta ac 42
<210> 174
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 174
gataggattt ggtcggaaac ctgtaactta ctacggagtt aac 43
<210> 175
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 175
tagttgccaa cgggtgttgta gtaacttact acggagttaa c 41
<210> 176
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 176
cttggcctat gcggaagtaa cgtaacttac tacggagtta ac 42
<210> 177
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 177
ctcgcagcga taggaaccat gtaacttact acggagttaa c 41
<210> 178
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 178
tttgcattcg tccatatcaa ctggtaactt actacggagt taac 44
<210> 179
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 179
tcaatatcaa cgggtaaacc gggtaactta ctacggagtt aac 43
<210> 180
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 180
ttgttactga cgtgggaaat attggtaact tactacggag ttaac 45
<210> 181
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 181
tctccgctga tacccgggtg taacttacta cggagttaac 40
<210> 182
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 182
ggccagtcac cgaaatttca tgtaacttac tacggagtta ac 42
<210> 183
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 183
agttcgtagc ctatctcaca ctgtaactta ctacggagtt aac 43
<210> 184
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 184
cacattccccg tacgtttgct ggtaacttac tacggagtta ac 42
<210> 185
<211> 45
<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 185

agtgagtccc tatgtatcct ttctgtaact tactacggag ttaac 45

<210> 186

<211> 44

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 186

aagcattata acgtgatcca caggtaactt actacggagt taac 44

<210> 187

<211> 38

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 187

tgcgccctga agcgcacgta acttactacg gagttaac 38

<210> 188

<211> 47

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 188

taaaaaatag cacgattaca gtatacgtaa cttactacgg agttaac 47

<210> 189

<211> 44

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 189

catatcgacg gattgagcct aacgtaactt actacggagt taac 44

<210> 190

<211> 42

<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 190
cggtttctcg cgagagaaat agtaacttac tacggagtta ac 42
<210> 191
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 191
cttcccatct cgtgtaacat gagtaactta ctacggagtt aac 43
<210> 192
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 192
gcatttcaca tcggactgta ccgtaacttc gaaacggaaa c 41
<210> 193
<211> 38
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 193
tggaattctc ggcggaccag taacttcgaa acggaaac 38
<210> 194
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 194
gaagtggaaa tacgaccttt gcgtaacttc gaaacggaaa c 41
<210> 195

<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 195
gctgggtccct tgcgtaacat gtaacttcga aacggaaac 39
<210> 196
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 196
ttttcatcta ttcgagatgc tcccgtact tcgaaacgga aac 43
<210> 197
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 197
tattcatccc gtgggtagt agtaacttcg aaacggaaac 40
<210> 198
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 198
taaaaatagg cccgatttg tctgtaactt cgaaacggaa ac 42
<210> 199
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 199
tccaaccttg acgacaagat agggtactt cgaaacggaa ac 42

<210> 200
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 200
aggcaacagt cgaaccattc tgtaacttcg aaacggaaac 40
<210> 201
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 201
gcttcatttg cgactgctct tgtaacttcg aaacggaaac 40
<210> 202
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 202
catcaggacg cttgtattgg tggtaacttc gaaacggaaa c 41
<210> 203
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 203
atcttcaatc cgagaatcca gcgtaacttc gaaacggaaa c 41
<210> 204
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 204

ctgtagtgtg gtagtaagga agagtaactt cgaaacggaa ac 42

<210> 205

<211> 42

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 205

gaacacctta cttacaacac ctggtaactt cgaaacggaa ac 42

<210> 206

<211> 43

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 206

gtacattgta caccgttaca atgggtaact tcgaaacgga aac 43

<210> 207

<211> 42

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 207

tttcaagtcg tctatgtag ctggtaactt cgaaacggaa ac 42

<210> 208

<211> 44

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 208

caaagcaact atatgaagct tcattgtaac ttcgaaacgg aaac 44

<210> 209

<211> 42

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 209
catacttcta tcgagagctc agggtaactt cgaaacggaa ac 42
<210> 210
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 210
acgaagaaat cgagtaggtc tagggtaact tcgaaacgga aac 43
<210> 211
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 211
gaatcattga gtcgaccctt cagtaacttc gaaacggaaa c 41
<210> 212
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 212
tgatgtgctt aagtagtgca gcgtaacttc gaaacggaaa c 41
<210> 213
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 213
tccacggcat gatacatata acgtaacttc gaaacggaaa c 41
<210> 214
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 214
tctcagagca tcccgaatcc agtaacttcg aaacggaaac 40
<210> 215
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 215
gtggaacgaa gagtaggtag ttgttaactt cgaaacggaa ac 42
<210> 216
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 216
gatcaatact ggacggagtc aggtaacctc gtcggatca 39
<210> 217
<211> 38
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 217
gagcttggtta ctcgtgcctt ggtaacctcg tcggatca 38
<210> 218
<211> 37
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 218
cttcttacac ttgcggacgc gtaacctcgt cggatca 37
<210> 219
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 219
caatacctat tccgttacac acttgtaacc tcgtcggatc a 41
<210> 220
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 220
gctccttcag tccggtttta ttgtaacctc gtcggatca 39
<210> 221
<211> 36
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 221
gacgcacgag ccgtgatctg taacctcgtc ggatca 36
<210> 222
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 222
gactgctaag gcataggaat tttcgtaacc tcgtcggatc a 41
<210> 223
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 223
caccacataa ttacggggac acgtaacctc gtcggatca 39
<210> 224
<211> 34
<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 224

cggcaaggcc cttcgcagta acctcgtcgg atca 34

<210> 225

<211> 37

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 225

tccatctggt acgtggtggg gtaacctcgt cggatca 37

<210> 226

<211> 38

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 226

gtcctgccgc gatatgatttc tgtaacctcg tcggatca 38

<210> 227

<211> 37

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 227

tggttcaggct gacgactgca gtaacctcgt cggatca 37

<210> 228

<211> 36

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 228

gcatggagggt ccgtcctgtg taacctcgtc ggatca 36

<210> 229

<211> 38

<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 229
ttgagggagc gtaatcccaa ggtaacctcg tcggatca 38
<210> 230
<211> 36
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 230
ccggcgtctg cgtacttccg taacctcgtc ggatca 36
<210> 231
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 231
cgactatctg cgtctatcat ccgtaacctc gtcggatca 39
<210> 232
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 232
gagaattcga tgatcaactc acggtaacct cgtcggatca 40
<210> 233
<211> 35
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 233
tggcctgtcg tccggtctgt aacctcgtcg gatca 35
<210> 234

<211> 38
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 234
cagggattcc gtcatatggc tgtaacctcg tcggatca 38
<210> 235
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 235
agacatcgat ggtacatatg ggtgtaacct cgtcggatca 40
<210> 236
<211> 37
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 236
tctgagctgt atcgctgcaa gtaacctcgt cggatca 37
<210> 237
<211> 37
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 237
tcttaggccc attcgttgga gtaacctcgt cggatca 37
<210> 238
<211> 37
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 238
ttatacacgc tgccgaacgc gtaacctcgt cggatca 37

<210> 239
<211> 37
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 239
atgccctttg cgatctgcac gtaacctcgt cggatca 37
<210> 240
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 240
ggcagaattc cgaagttcag cgtaacataa tcgtagtttc gg 42
<210> 241
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 241
gtttccttca cgacaggtgt ggtaacataa tcgtagtttc gg 42
<210> 242
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 242
ctggtagaaa tgcgactaaa gacgtaacat aatcgtagtt tcgg 44
<210> 243
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 243

tgaccagcat cgtttcatct aatgtaacat aatcgtagtt tcgg 44
<210> 244
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 244
ttcgaagttc aaccgagtga cgtaacataa tcgtagtttc gg 42
<210> 245
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 245
ccaccaatcc aatgcggaat tgtaacataa tcgtagtttc gg 42
<210> 246
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 246
agactcgggtg ccattcgtat tgtaacataa tcgtagtttc gg 42
<210> 247
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 247
ataactgcta actgcgcaac cgtaacataa tcgtagtttc gg 42
<210> 248
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 248
gtagtgaggc cgcttataac cagtaacata atcgtagttt cgg 43
<210> 249
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 249
ggtgatgatt cgatggagtg aagtaacata atcgtagttt cgg 43
<210> 250
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 250
ctgctgcttt acgtttggtg cgtaacataa tcgtagtttc gg 42
<210> 251
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 251
tcatcaacca cgtctttgga tagtaacata atcgtagttt cgg 43
<210> 252
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 252
aggcagatct taaagtgttg gttgtaacat aatcgtagtt tcgg 44
<210> 253
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 253

tgagggctta tacgaaagca aggtaacata atcgtagttt cgg 43

<210> 254

<211> 44

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 254

gctcagtact gactttggta tgtgtaacat aatcgtagtt tcgg 44

<210> 255

<211> 45

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 255

cagtcaatca ttagatccac atctgtaaca taatcgtagt ttcgg 45

<210> 256

<211> 40

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 256

ggaagctgct cgtcgaagcg taacataatc gtagtttcgg 40

<210> 257

<211> 47

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 257

gagaagatac ttatagcttc ttgtctgtaa cataatcgta gtttcgg 47

<210> 258

<211> 45

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 258
tcaatgctat ctaactgatg aagagtaaca taatcgtagt ttcgg 45
<210> 259
<211> 46
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 259
atcttcccaa ttgatgtaag tacttgtaac ataatcgtag tttcgg 46
<210> 260
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 260
catcacagtc cgagacgccg taacataatc gtagtttcgg 40
<210> 261
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 261
cattccaccg gcctgtgcgg taacataatc gtagtttcgg 40
<210> 262
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 262
ggacagcact actctagagt aaggtaacat aatcgtagtt tcgg 44
<210> 263
<211> 43
<212> DNA

<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 263
tgccaagtaa cttagcacac ccgtaacata atcgtagttt cgg 43
<210> 264
<211> 38
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 264
gtgccacctt tcaccgtgag taaccggtag aattacgg 38
<210> 265
<211> 38
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 265
ccgcaggtac gacttgcctg taaccggtag aattacgg 38
<210> 266
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 266
tgggcttcaa tcagatggtc agtaaccggt agaattacgg 40
<210> 267
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 267
agaacaccag ggtacgcata gtgtaaccgg tagaattacg g 41
<210> 268
<211> 38

<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 268
tctccgagag tgtcagcggg taaccggtag aattacgg 38
<210> 269
<211> 38
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 269
gtcttcccgg ccggtcttgg taaccggtag aattacgg 38
<210> 270
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 270
catgttgcag attgtcgcca gtaaccggtg gaattacgg 39
<210> 271
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 271
ggttcagtcg tttgcgaaca gtaaccggtg gaattacgg 39
<210> 272
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 272
agctaccaat tagaccact cggtaccgg tagaattacg g 41
<210> 273

<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 273
cgtagttctc gtctccgac agtaaccggt agaattacgg 40
<210> 274
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 274
ggagctgaac ttgacgccag gtaaccggt gaattacgg 39
<210> 275
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 275
taatggatgt actcgttggg cgtaaccggt agaattacgg 40
<210> 276
<211> 38
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 276
tctgtgcata gccgtcccgg taaccggtag aattacgg 38
<210> 277
<211> 38
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 277
tggtctggacg gatcggatcg taaccggtag aattacgg 38

<210> 278
<211> 37
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 278
ggtttgcgtc gttgcggcgt aaccggtaga attacgg 37
<210> 279
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 279
tctctgggga cgtgacaaaag gtaaccggtga gaattacgg 39
<210> 280
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 280
gaattcatca gctagattgg caagtaaccg gtagaattac gg 42
<210> 281
<211> 38
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 281
tcactccgtg ggctaagcgg taaccggtag aattacgg 38
<210> 282
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 282

tgtaagggaa cacggaagtg ggtaaccggt agaattacgg 40
<210> 283
<211> 38
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 283
ctcaatgggtg gcgcggatcg taaccggtag aattacgg 38
<210> 284
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 284
aaccactcaa tctgcgtctc ggtaaccggt agaattacgg 40
<210> 285
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 285
gctgtagggc gccattttgt gtaaccggta gaattacgg 39
<210> 286
<211> 38
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 286
tgagtgcagg cattgcgcag taaccggtag aattacgg 38
<210> 287
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 287
caaagtggct catcgccacc gtaaccggtga gaattacgg 39
<210> 288
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 288
tctatatgct aaatgtattg ccatggtaac gcttctcata acact 45
<210> 289
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 289
ctatgaaact tcgtgggtcac tccgtaacgc ttctcataac act 43
<210> 290
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 290
aactaactca tctgcagtac catgtaacgc ttctcataac act 43
<210> 291
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 291
aaaacctgct tgatccacat tctgtaacgc ttctcataac act 43
<210> 292
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 292
acattaacaa atcactcttg attcagtaac gcttctcata acact 45
<210> 293
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 293
ttttgcttag ctcatggtaa acagtaacgc ttctcataac act 43
<210> 294
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 294
gaggagctgt tggataaata attttgtaac gcttctcata acact 45
<210> 295
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 295
aagcaggcag gtattgtatg attgtaacgc ttctcataac act 43
<210> 296
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 296
gcaacttata tatcagtggg gaatggtaac gcttctcata acact 45
<210> 297
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 297

agattatgta tgcattgagaa ccaacgtaac gcttctcata acact 45

<210> 298

<211> 45

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 298

gatcatgact ctccttatgg ttaatgtaac gcttctcata acact 45

<210> 299

<211> 43

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 299

tgtgaaaccg gtttataaac ctagtaacgc ttctcataac act 43

<210> 300

<211> 46

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 300

aataagatta gctactgtct acagtggtaa cgcttctcat aacact 46

<210> 301

<211> 45

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 301

taaacaaata gtgatacatc cacacgtaac gcttctcata acact 45

<210> 302

<211> 45

<212> DNA

<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 302
ttcagtcatc taacaatgta ttcctgtaac gcttctcata acact 45
<210> 303
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 303
agctgtggga aagtctttaa ctcgtaacgc ttctcataac act 43
<210> 304
<211> 46
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 304
atagatgaac tattgatgta cacaacgtaa cgcttctcat aacact 46
<210> 305
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 305
tacagatgaa attgagacct aaaacgtaac gcttctcata acact 45
<210> 306
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 306
agcaatttgg gttaacagaa atagagtaac gcttctcata acact 45
<210> 307
<211> 46

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 307

aatccaatgg gataagtact attagtgtaa cgcttctcat aacact 46

<210> 308

<211> 45

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 308

aatgttattc cgtggaaaat tacatgtaac gcttctcata acact 45

<210> 309

<211> 47

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 309

ttacagaatt gtgtctgaaa aattatggta acgcttctca taacact 47

<210> 310

<211> 40

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 310

atcagagagg cgctatgcct gtaacgcttc tcataacact 40

<210> 311

<211> 38

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 311

cggcgacacg atacagcggc aacgcttctc ataacact 38

<210> 312

<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 312
cacttcaaat gcgcaacaag cgtaacgtcg ctgaaaaatc 40
<210> 313
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 313
gtaagcactg cgcaagacaa gtaacgtcgc tgaaaaatc 39
<210> 314
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 314
gtgatgagct cgacaggata ttgtaacgtc gctgaaaaat c 41
<210> 315
<211> 37
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 315
atggcgctcgt cggcacacgt aacgtcgtg aaaaatc 37
<210> 316
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 316
tttacaacag cgtggcaagt ggtaacgtcg ctgaaaaatc 40

<210> 317
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 317
aggcatgaag tgagacaatg cgtaacgtcg ctgaaaaatc 40
<210> 318
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 318
cctggctagt ggtatatgtc acgtaacgtc gctgaaaaat c 41
<210> 319
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 319
gctgatgatg ttcaagcgca gtaacgtcgc tgaaaaatc 39
<210> 320
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 320
ctgccagtta gttaggcaag ttgtaacgtc gctgaaaaat c 41
<210> 321
<211> 38
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 321

gcagctccgg gctacaagtg taacgtcgct gaaaaatc 38
<210> 322
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 322
tggcagctgt ctaactggag cgtaacgtcg ctgaaaaatc 40
<210> 323
<211> 38
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 323
acgcgtgtgc gagtagatgg taacgtcgct gaaaaatc 38
<210> 324
<211> 38
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 324
agctccacga aggatgccag taacgtcgct gaaaaatc 38
<210> 325
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 325
tgaggacggc atcgagatcc gtaacgtcg tgaaaaatc 39
<210> 326
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 326
gtcttgagac ccggtcttgg gtaacgtcgc tgaaaaatc 39
<210> 327
<211> 38
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 327
agtggctctgg atcgggtcgg taacgtcgc gaaaaatc 38
<210> 328
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 328
tcattcttg gtcgagtga gtaacgtcgc tgaaaaatc 39
<210> 329
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 329
ggacccaag gtgtccaag gtaacgtcgc tgaaaaatc 39
<210> 330
<211> 38
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 330
agcagcttgg ctactccccg taacgtcgc gaaaaatc 38
<210> 331
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 331
tttgggtatg ggtactgtgt agagtaacgt cgctgaaaaa tc 42
<210> 332
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 332
gccgcaggga tagatccagg gtaacgtcgc tgaaaaatc 39
<210> 333
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 333
tgaagacagt cctatggact tccgtaacgt cgctgaaaaa tc 42
<210> 334
<211> 37
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 334
aagctgaagc gcgggtcagt aacgtcgctg aaaaatc 37
<210> 335
<211> 37
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 335
ccacgcagcc cttcgagagt aacgtcgctg aaaaatc 37
<210> 336
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 336
tagtaggtgt cgacaactag agcgtaactc ttcaagatta atacc 45
<210> 337
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 337
gatggtcctg atcgagaaac cagtaactct tcaagattaa tacc 44
<210> 338
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 338
aagaggactt cgctgaattg acgtaactct tcaagattaa tacc 44
<210> 339
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 339
gaacctccga ctgtatgtca gcgtaactct tcaagattaa tacc 44
<210> 340
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 340
tctgaattag agcgatgttg acagtaactc ttcaagatta atacc 45
<210> 341
<211> 41
<212> DNA

<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 341
gcattcctcc gatcgcacag taactcttca agattaatac c 41
<210> 342
<211> 46
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 342
ctctatatatt agctcgctgt tcaagtaact cttcaagatt aatacc 46
<210> 343
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 343
tattcatcac ggcgcgcttg taactcttca agattaatac c 41
<210> 344
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 344
cattggggac cgtgcataaa agtaactctt caagattaat acc 43
<210> 345
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 345
caaggggtgc actatttggg agtaactctt caagattaat acc 43
<210> 346
<211> 43

<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 346
ggaccgtatt tcggcgaaat agtaactctt caagattaat acc 43
<210> 347
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 347
atactgcact tgtcggcatg agtaactctt caagattaat acc 43
<210> 348
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 348
atggcagatc gatccattgg tgtaactctt caagattaat acc 43
<210> 349
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 349
tccctttgga ccgtcaagaa ggtaactctt caagattaat acc 43
<210> 350
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 350
aggcttgctg acatacgag gtaactcttc aagattaata cc 42
<210> 351

<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 351
cttgctttgt gcgaacaccc gtaactcttc aagattaata cc 42
<210> 352
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 352
ctgatatcga atgcaatgga tgagtaactc ttcaagatta atacc 45
<210> 353
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 353
taggactgggt ccgtcaaaaa cgtaactctt caagattaat acc 43
<210> 354
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 354
tgaccattct cgggacacta acgtaactct tcaagattaa tacc 44
<210> 355
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 355
atgattgggt ccgtaaaaaat gcgtaactct tcaagattaa tacc 44

<210> 356
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 356
gtttcatgta tggtaggacc accgtaactc ttcaagatta atacc 45
<210> 357
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 357
ctcttgcata gtagcgaact agtaactctt caagattaat acc 43
<210> 358
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 358
atgatgattc cctcggtcag agtaactctt caagattaat acc 43
<210> 359
<211> 46
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 359
agtagagaag atcgctgata tccggttaact cttcaagatt aatacc 46
<210> 360
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 360

aacccttgac atcgccagtt tgtaacgtac cgtttgtata tg 42

<210> 361

<211> 45

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 361

gaagggttaaa cgagatttcc aaaggtaacg taccgtttgt atatg 45

<210> 362

<211> 41

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 362

gccactcgac atttctgccg gtaacgtacc gtttgtatat g 41

<210> 363

<211> 42

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 363

tcatactgtc cgcaacatcc ggtaacgtac cgtttgtata tg 42

<210> 364

<211> 41

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 364

gccactcgac atttctgccg gtaacgtacc gtttgtatat g 41

<210> 365

<211> 42

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 365
tcatactgtc cgcaacatcc ggtaacgtac cgtttgtata tg 42
<210> 366
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 366
tgaattttgc ccgaacttca ctgtaacgta ccgtttgtat atg 43
<210> 367
<211> 38
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 367
acacactcgg agcgcgcgta acgtaccgtt tgtatatg 38
<210> 368
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 368
caaacctata tgcccgttga ctgtaacgta ccgtttgtat atg 43
<210> 369
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 369
caggaacctt taccatgttc atggtaacgt accgtttgta tatg 44
<210> 370
<211> 46
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 370
gaaaatctct acggatgaat ttcttgtaac gtaccgtttg tatatg 46
<210> 371
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 371
gctgctaaga tagccttggtg aggtaacgta ccgtttgtat atg 43
<210> 372
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 372
tggcactaaa aaccggagaa cgtaacgtac cgtttgtata tg 42
<210> 373
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 373
tgcgggaccg ccgatacagt aacgtaccgt ttgtatatg 39
<210> 374
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 374
ggaaattaaa cggagtctta caacgtaacg taccgtttgt atatg 45
<210> 375
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 375
agccagagag cggtatgccg taacgtaccg tttgtatatg 40
<210> 376
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 376
ccaccaagtg gggatgtgac gtaacgtacc gtttgtatat g 41
<210> 377
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 377
cacacatgac ctttaagcgc tgtaacgtac cgtttgtata tg 42
<210> 378
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 378
tccacagatt gcgctgtcta gtaacgtacc gtttgtatat g 41
<210> 379
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 379
ctccacggac aggttactgc gtaacgtacc gtttgtatat g 41
<210> 380
<211> 39
<212> DNA

<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 380
gcgtcatggc gtcagcacgt aacgtaccgt ttgtatatg 39
<210> 381
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 381
tcctggccgg caacacacgt aacgtaccgt ttgtatatg 39
<210> 382
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 382
agccattttg tcgaggtttg ggtaacgtac cgtttgtata tg 42
<210> 383
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 383
catccgaagc atgatatgtg atggtaacgt accgtttgta tatg 44
<210> 384
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 384
tagtgtgttg cgtatcaagt atctagacga tgcgaattaa cac 43
<210> 385
<211> 45

<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 385
ttattgtgaa ctctagacat gagagtagac gatgcgaatt aacac 45
<210> 386
<211> 46
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 386
acagtgaata ctaagactgt aaaaactaga cgatgcgaat taacac 46
<210> 387
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 387
acacaaggca cgtagaaaca gtagacgatg cgaattaaca c 41
<210> 388
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 388
caatggacag cggttgtgaa atagacgatg cgaattaaca c 41
<210> 389
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 389
caccatcacc tatcgacaga gtagacgat gcgaattaac ac 42
<210> 390

<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 390
cattgcatta cgttccacat gtagacgat gcgaattaac ac 42
<210> 391
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 391
acacagagtg tccgataccc atagacgatg cgaattaaca c 41
<210> 392
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 392
ggtgattaca ttgagtgcta ggatagacga tgcgaattaa cac 43
<210> 393
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 393
tccacataag cgttcaaggt atagacgatg cgaattaaca c 41
<210> 394
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 394
cagaataatc gctattccta gctgtagacg atgcgaatta acac 44

<210> 395
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 395
ttacactcat acgtcgccgg tagacgatgc gaattaacac 40
<210> 396
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 396
tgccataaa ggctacttac aattagacga tgcgaattaa cac 43
<210> 397
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 397
tttcaagtta ttcgatctgc taacctagac gatgcgaatt aacac 45
<210> 398
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 398
agttagtcaa ggactttact aaggtagac gatgcgaatt aacac 45
<210> 399
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 399

ttacctcaaa tacgggctac catagacgat gcgaattaac ac 42

<210> 400

<211> 47

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 400

gagttatatt actctaacta aagccagtag acgatgcgaa ttaacac 47

<210> 401

<211> 43

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 401

ttgtcaacac gcataaaatc tgctagacga tgcgaattaa cac 43

<210> 402

<211> 43

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 402

tcatatacaa tcggggatct gagtagacga tgcgaattaa cac 43

<210> 403

<211> 43

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 403

cccacaaaaa tacccgtaag ttatagacga tgcgaattaa cac 43

<210> 404

<211> 47

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 404

cactaaatta ttacgaattt tgcaaagtag acgatgcgaa ttaacac 47

<210> 405

<211> 45

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 405

tcaaataaaa accgtcaaaa gtttatagac gatgcgaatt aacac 45

<210> 406

<211> 42

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 406

agtgcattgg tatcacgtac tntagacgat gcgaattaac ac 42

<210> 407

<211> 43

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 407

atgtgtcttg caattggatt ccctagacga tgcaattaa cac 43

<210> 408

<211> 38

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 408

ggtgtgcg cg tcgtacacta gacccgttat aagtgttg 38

<210> 409

<211> 40

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 409
gtgttttaggg tcgcggttga tagacccggtt ataagtgttg 40
<210> 410
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 410
gagaatggcg aagtaaattgc cctagacccg ttataagtgt tg 42
<210> 411
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 411
gtagatggaa tagacacggc tgtagacccg ttataagtgt tg 42
<210> 412
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 412
gctcttaatg catggtacaa ctgtagaccc gttataagtg ttg 43
<210> 413
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 413
aaaccagtat ttcgtcacag tgatagaccc gttataagtg ttg 43
<210> 414
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 414
gatgggaacg gtgtagagat gttagaccg ttataagtgt tg 42
<210> 415
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 415
ttccaaatgc cgtcaaaaact gttagaccg ttataagtgt tg 42
<210> 416
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 416
tgggtcacag acggtgtggt agaccgta taagtgtg 39
<210> 417
<211> 46
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 417
aatcaggtat acttctatcc ttgaaataga cccgttataa gtgttg 46
<210> 418
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 418
tgctgtatta gcaacttgga acttagacc gttataagtg ttg 43
<210> 419
<211> 42
<212> DNA

<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 419
gccataaag cgatggttga tctagaccg ttataagtgt tg 42
<210> 420
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 420
gtaaggatca ctggatccta ctgtagacc gttataagtg ttg 43
<210> 421
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 421
gacctcattc agttgatgag aggtagacc gttataagtg ttg 43
<210> 422
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 422
gcataacaga cggttgcaag ttagaccgt tataagtgtt g 41
<210> 423
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 423
acctaaagcg agttgctgag ttagaccgt tataagtgtt g 41
<210> 424
<211> 41

<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 424
gagtcagaaa cacgcatgga atagacccgt tataagtgtt g 41
<210> 425
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 425
agcaactctg ataggctcac actagaccg ttataagtgt tg 42
<210> 426
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 426
ccataccac tacggataaa gatgtagacc cgttataagt gttg 44
<210> 427
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 427
gctttctgta cgactcaggt ttagaccg ttataagtgt tg 42
<210> 428
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 428
caatgttgag ccactaaacc actagaccg ttataagtgt tg 42
<210> 429

<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 429
atgcttggat taggtccaaa gctagaccg ttataagtgt tg 42
<210> 430
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 430
cccggtagtg gattagtttg gtagaccgt tataagtgtt g 41
<210> 431
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 431
ccatggccat accctggaat ttagaccgt tataagtgtt g 41
<210> 432
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 432
attatactgt ccagcgtagg tggtagacaa ccgtcgtaa g 41
<210> 433
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 433
tcctggtaag gataggtacc atgtagacaa ccgtcgtaa g 41

<210> 434
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 434
cactgaaata ggacggaatc tgctagacaa ccgtcgtaa g 41
<210> 435
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 435
aaagtttatt ggcgcttgcc gtagacaacc gtcgttaag 39
<210> 436
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 436
gcaatgccat tagcgatacg atagacaacc gtcgttaag 39
<210> 437
<211> 38
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 437
tgattgaaca ccacgcgaca tagacaaccg tcgttaag 38
<210> 438
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 438

agtccttcgaa gcactattgc catagacaac cgtcgttaag 40
<210> 439
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 439
tcaatggttg atcggcctct ctagacaacc gtcgttaag 39
<210> 440
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 440
tggcatgatg tctaatagga gtctagacaa ccgtcgttaa g 41
<210> 441
<211> 38
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 441
ctgcggttta gccttgacgt tagacaaccg tcgttaag 38
<210> 442
<211> 38
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 442
cccagaggac gccatcattt tagacaaccg tcgttaag 38
<210> 443
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 443
tttcttgaaa gacgacagca gttagacaac cgtcgttaag 40
<210> 444
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 444
attaaatgtt cggaaggatg acctagacaa ccgtcgttaa g 41
<210> 445
<211> 38
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 445
tcttttgtca gcacggttgc tagacaaccg tcgttaag 38
<210> 446
<211> 38
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 446
ctggatcagc tcgaccagga tagacaaccg tcgttaag 38
<210> 447
<211> 38
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 447
accatgtgcc gacttctgcc tagacaaccg tcgttaag 38
<210> 448
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 448
ctggatattc ggttatctgg gctagacaac cgtcgttaag 40
<210> 449
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 449
atcccccttta cgatactctt cagtagacaa ccgtcgttaa g 41
<210> 450
<211> 38
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 450
tccagagcgg gaacagtatg tagacaaccg tcgttaag 38
<210> 451
<211> 38
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 451
gttgccctgca taagatgggc tagacaaccg tcgttaag 38
<210> 452
<211> 38
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 452
ccttttgtgc cgatgaccgg tagacaaccg tcgttaag 38
<210> 453
<211> 37
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 453
gcttccgtgg actgggacgt agacaaccgt cgtaaag 37
<210> 454
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 454
ccatagaagg acgaggtatt tcctagacaa ccgtcgtaa g 41
<210> 455
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 455
agaatgagtc gctgctcgat atagacaacc gtcgtaaag 39
<210> 456
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 456
gcttcgacaa acgcaaagcg tagactcaat gatgataaag a 41
<210> 457
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 457
gctagttcac agaaagacca ttttagactc aatgatgata aaga 44
<210> 458
<211> 41
<212> DNA

<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 458
cagctcatcg aaagcgaccc tagactcaat gatgataaag a 41
<210> 459
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 459
cggctgctac aaacctcggg agactcaatg atgataaaga 40
<210> 460
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 460
aacaatttga aggccccaca atagactcaa tgatgataaa ga 42
<210> 461
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 461
gcgtctgcac cggagactta gactcaatga tgataaaga 39
<210> 462
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 462
gcgctgctca ggcatggta gactcaatga tgataaaga 39
<210> 463
<211> 47

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 463

ttgttgtgta acaacataat ttcaagtaga ctcaatgatg ataaaga 47

<210> 464

<211> 38

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 464

ctccacgtcg gcgtgcatag actcaatgat gataaaga 38

<210> 465

<211> 40

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 465

ctgcggggat tgtagccggt agactcaatg atgataaaga 40

<210> 466

<211> 42

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 466

atcttagcta ctgaccggct atagactcaa tgatgataaa ga 42

<210> 467

<211> 43

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 467

aagagattat acgcctcacg gatagactca atgatgataa aga 43

<210> 468

<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 468
tttcgagtaa cgaaattagc tcctagactc aatgatgata aaga 44
<210> 469
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 469
gacccgcaga ttggcacgta gactcaatga tgataaaga 39
<210> 470
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 470
atggccccaa tctcgtttgg tagactcaat gatgataaag a 41
<210> 471
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 471
ccagtagcta taacgaagtc ctctagactc aatgatgata aaga 44
<210> 472
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 472
acaaattccc ggacactatg gatagactca atgatgataa aga 43

<210> 473
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 473
ttcacagagt tgataaggcc actagactca atgatgataa aga 43
<210> 474
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 474
aactttgccg gtctctttac attagactca atgatgataa aga 43
<210> 475
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 475
ttccaatgtg caagaatgat ttcttagact caatgatgat aaaga 45
<210> 476
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 476
ctccttctgg ggtatttcct gctagactca atgatgataa aga 43
<210> 477
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 477

ccacttcagt tggccggtat agactcaatg atgataaaga 40
<210> 478
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 478
tccgtcaacg tccgcagtta gactcaatga tgataaaga 39
<210> 479
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 479
agtgagatcg ccatagtgca atagactcaa tgatgataaa ga 42
<210> 480
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 480
gaaggtgacc ctataaggag tcatagacta caacaaaaga tcg 43
<210> 481
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 481
aacaccgctt gcatagttgt gtagactaca acaaaagatc g 41
<210> 482
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 482
tacagacgcg gaatcattct ctagactaca acaaaagatc g 41
<210> 483
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 483
tggaggaaat gagcatgacc ttagactaca acaaaagatc g 41
<210> 484
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 484
atggtgtaca ctcgaggctg atagactaca acaaaagatc g 41
<210> 485
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 485
ccttgtggta gacgttcagc ttagactaca acaaaagatc g 41
<210> 486
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 486
ggatcaggtt taatggtcac tatgtagact acaacaaaag atcg 44
<210> 487
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 487
cacacggtca acgctgtaca tagactacaa caaaagatcg 40
<210> 488
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 488
caggtgtttg cggaagttcc tagactacaa caaaagatcg 40
<210> 489
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 489
gtgctcatgg tcgtagagga tagactacaa caaaagatcg 40
<210> 490
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 490
aagtcaaagt acgtctcgat cattagacta caacaaaaga tcg 43
<210> 491
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 491
tcgtagcagc cgttgagat agactacaac aaaagatcg 39
<210> 492
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 492
tcgtggccag agtaggcatt agactacaac aaaagatcg 39
<210> 493
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 493
ggtactctcc aaacgctcgg tagactacaa caaaagatcg 40
<210> 494
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 494
aggtacgaat agggatgtcg tctagactac aacaaaagat cg 42
<210> 495
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 495
agggtatcgt acatcgttcc aatagactac aacaaaagat cg 42
<210> 496
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 496
caggtgatct gcgccgttgt agactacaac aaaagatcg 39
<210> 497
<211> 39
<212> DNA

<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 497
ccacaggcga tacaaccggt agactacaac aaaagatcg 39
<210> 498
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 498
cagcagcttc gaggctggt agactacaac aaaagatcg 39
<210> 499
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 499
ccctcacagg acgtcgtcat agactacaac aaaagatcg 39
<210> 500
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 500
gcacgaagcc ttcggtgtct agactacaac aaaagatcg 39
<210> 501
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 501
tggaagtgt cggctttcat gtagactaca aaaaagatc g 41
<210> 502
<211> 41

<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 502
tgggaagtgt cggctttcat gtagactaca acaaaagatc g 41
<210> 503
<211> 38
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 503
tgctcgcaact ttggccgcta gactacaaca aaagatcg 38
<210> 504
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 504
gtcttttggc acggtttctg ttagactgta ttcaacgtcc 40
<210> 505
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 505
tactttcttca acgcgaagag ctagactgta ttcaacgtcc 40
<210> 506
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 506
tttgagggttg tatccgctgc ttagactgta ttcaacgtcc 40
<210> 507

<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 507
caagttgact aaatctcgta ctttctagac tgtattcaac gtcc 44
<210> 508
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 508
gccttattaa cggatcttc agaatagact gtattcaacg tcc 43
<210> 509
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 509
tgttctggat ttcgcaggct ctagactgta ttcaacgtcc 40
<210> 510
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 510
gctttatcag gttatgttgc atgtagactg tattcaacgt cc 42
<210> 511
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 511
gattctggct tatagggtat tcactagact gtattcaacg tcc 43

<210> 512
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 512
ttttcctccc gcaattccta gatagactgt attcaacgtc c 41
<210> 513
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 513
tgtttccgtc aaatcgtgtg gtagactgta ttcaacgtcc 40
<210> 514
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 514
ggttccctct agatcttgcc tttagactgt attcaacgtc c 41
<210> 515
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 515
gcatgtacca cctatcatct aatgtagact gtattcaacg tcc 43
<210> 516
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 516

gttgccaaca cgagctgact tagactgtat tcaacgtcc 39

<210> 517

<211> 41

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 517

actgactact agttcaagcg catagactgt attcaacgtc c 41

<210> 518

<211> 39

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 518

tctcttgctc gctttggacc tagactgtat tcaacgtcc 39

<210> 519

<211> 44

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 519

cactgctaga acaactatca atttgtagac tgtattcaac gtcc 44

<210> 520

<211> 41

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 520

ttacatggct taagttgggg agtagactgt attcaacgtc c 41

<210> 521

<211> 40

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 521
gtgaggggac gctcttgtat ttagactgta ttcaacgtcc 40
<210> 522
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 522
aacggtgcta tgcctagtag atagactgta ttcaacgtcc 40
<210> 523
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 523
tttgccttcc ctagagtgt atagactgta ttcaacgtcc 40
<210> 524
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 524
atgtcccaat ggatacttaa agcctagact gtattcaacg tcc 43
<210> 525
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 525
cttccagtaa cgagatactt tccttagact gtattcaacg tcc 43
<210> 526
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 526
caaccatgaa ttagtccctt gggtagactg tattcaacgt cc 42
<210> 527
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 527
cagcattatt agacacttta actgttagac tgtattcaac gtcc 44
<210> 528
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 528
tgcacatatg attgacgctc agtagactct tatattgagt ggt 43
<210> 529
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 529
ttcacgcctt gcaacaagat agactcttat attgagtgg 40
<210> 530
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 530
ttcacttaca ggtaacacca agttagactc ttatattgag tggt 44
<210> 531
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 531

aagcaataga tcgtccataa gttatagact cttatattga gtggt 45

<210> 532

<211> 48

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 532

tacaagaacc ctaattgtaa taatagatag actcttatat tgagtgggt 48

<210> 533

<211> 44

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 533

gaataggacc aaagtgtccc ttgtagactc ttatattgag tggt 44

<210> 534

<211> 44

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 534

tccatcagga ctaaattctca cactagactc ttatattgag tggt 44

<210> 535

<211> 44

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 535

aaaggccata cgtttttcct acctagactc ttatattgag tggt 44

<210> 536

<211> 44

<212> DNA

<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 536
gcagtgtaca atgaacgaga aattagactc ttatattgag tggt 44
<210> 537
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 537
ggcattctgc tttaagatca gaatagactc ttatattgag tggt 44
<210> 538
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 538
ggccagccac gattcacagt agactcttat attgagtgg 40
<210> 539
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 539
gaagccagcg accggactta gactcttata ttgagtgg 39
<210> 540
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 540
ctgagggctcg tcgttgtctt tagactctta tattgagtgg t 41
<210> 541
<211> 43

<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 541
ctgaaccact ggcatagagt tctagactct tatattgagt ggt 43
<210> 542
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 542
aatcaacca cgggtcgcgt agactcttat attgagtgg 40
<210> 543
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 543
agcaacagtc gacgagggat agactcttat attgagtgg 40
<210> 544
<211> 48
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 544
atatattcca tactactaac agacatatag actcttatat tgagtgg 48
<210> 545
<211> 38
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 545
tccacaccgg catcggttag actcttatat tgagtgg 38
<210> 546

<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 546
agaagggcaa tccggtggct agactcttat attgagtgg 40
<210> 547
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 547
tcaggagtc tgcgaccagt agactcttat attgagtgg 40
<210> 548
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 548
gctttgccag ctcaccactt agactcttat attgagtgg 40
<210> 549
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 549
aaatacccat aaggcgtgat gctagactct tatattgagt ggt 43
<210> 550
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 550
attactatcc tgcgtgaaat ccatagactc ttatattgag tgg 44

<210> 551
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 551
cccaaagtcg aacagttttg tctagactct tatattgagt ggt 43
<210> 552
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 552
tcctcaaatg tccgaggatg atagacctat tctatgcttc g 41
<210> 553
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 553
gtgaacacaa cgtaagaaca ggtagacctt ttctatgctt cg 42
<210> 554
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 554
actcctctgg ttacgcttca tttagacctt ttctatgctt cg 42
<210> 555
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 555

acctaacata accgtgctgc ctagacctat tctatgcttc g 41

<210> 556

<211> 41

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 556

ttcagttgac cgtctggaca ctagacctat tctatgcttc g 41

<210> 557

<211> 43

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 557

ctctgacaca cgtaacaata acatagacct attctatgct tcg 43

<210> 558

<211> 43

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 558

agtaatgtga ggtacaactg cattagacct attctatgct tcg 43

<210> 559

<211> 41

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 559

gcttcttttcc cgcccaaaat atagacctat tctatgcttc g 41

<210> 560

<211> 44

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 560
aaagaaaagc ggtctactag attatagacc tattctatgc ttcg 44
<210> 561
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 561
tgacgtgcgg cgaaatttat gtagacctat tctatgcttc g 41
<210> 562
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 562
gcttattgca gcgatggatg atagacctat tctatgcttc g 41
<210> 563
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 563
tgtcagtaga cgatagagga gtagacctat ttctatgctt cg 42
<210> 564
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 564
ttggttccga ctacccaaca gtagacctat tctatgcttc g 41
<210> 565
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 565
ctcttaagta cgcaataatt ctctctagac ctattctatg cttcg 45
<210> 566
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 566
gttccgtata tgtcggatct ctctagacct attctatgct tcg 43
<210> 567
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 567
aaattcaccg gacggagtgt ttagacctat tctatgcttc g 41
<210> 568
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 568
tttgtgaaac cgtagtggct cttagacctt ttctatgctt cg 42
<210> 569
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 569
acctctttaa cgaaggtgtc agtagacctt ttctatgctt cg 42
<210> 570
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 570
ggactccggt tctaacttgg ttagacctat tctatgcttc g 41
<210> 571
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 571
atctctatat gacgtgctgt tggtagacct attctatgct tcg 43
<210> 572
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 572
gttgaatta ttcggagact gagtagacct attctatgct tcg 43
<210> 573
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 573
gcacatttga cgacggcttc tagacctatt ctatgcttcg 40
<210> 574
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 574
actccgtgta aacgcagtgg tagacctatt ctatgcttcg 40
<210> 575
<211> 43
<212> DNA

<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 575
acacataact cgtaaacacg ttctagacct attctatgct tcg 43
<210> 576
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 576
cagatctgtt gagctaacag ggtagacatg ttataccatg cg 42
<210> 577
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 577
ttctagacta tgcaaccctc taggtagaca tggtatacca tgcg 44
<210> 578
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 578
cacccatgtg agtaatacac tgctagacat gttataccat gcg 43
<210> 579
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 579
agtcccatat tgccgttcat gctagacatg ttataccatg cg 42
<210> 580
<211> 42

<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 580
atttcctcat aacgggtcatg gctagacatg ttataccatg cg 42
<210> 581
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 581
ttactgccta gctagcaggt tatagacatg ttataccatg cg 42
<210> 582
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 582
acgtgccctt ggtactatga ctagacatgt tataccatgc g 41
<210> 583
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 583
cttgccaaac cctagcttgg atagacatgt tataccatgc g 41
<210> 584
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 584
attatcactt aacgaaggtc cttttagac atgttatacc atgcg 45
<210> 585

<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 585
atatacagcc taagcaccaa ttatgtagac atgttatacc atgcg 45
<210> 586
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 586
ggcaacaaaa cgtcatggca tagacatggt ataccatgcg 40
<210> 587
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 587
gtctgaggac taaccctaaa gggtagacat gttataccat gcg 43
<210> 588
<211> 46
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 588
cttaaaatag atcgaaactc tgtctctaga catgttatac catgcg 46
<210> 589
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 589
tgatctgtac aagctacgat tttatagaca tggtatacca tgcg 44

<210> 590
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 590
aaatcagtta taccaagggg agatagacat gttataccat gcg 43
<210> 591
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 591
taggaaaaca tacgtatact gaatatagac atgttatacc atgcg 45
<210> 592
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 592
agttggcctc acgttgcatt tagacatggt ataccatgcg 40
<210> 593
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 593
tttggctctcg gcttgcgaat tagacatggt ataccatgcg 40
<210> 594
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 594

cagtagtcaa cgcagcactc atagacatgt tataccatgc g 41

<210> 595

<211> 44

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 595

caacaggatc acctaattatt cccatagaca tggtatacca tgcg 44

<210> 596

<211> 43

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 596

tttggacaga tatctcctcg aaatagacat gttataccat gcg 43

<210> 597

<211> 43

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 597

aaaggctatc tacactttgg caatagacat gttataccat gcg 43

<210> 598

<211> 40

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 598

tgccctggatc ctatcccgac tagacatggt ataccatgcg 40

<210> 599

<211> 40

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 599
tgtggtcacc tacacgctgc tagacatggt ataccatgcg 40
<210> 600
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 600
ggtgagctgg taatctgacc ttagacaatc tattttaccct acg 43
<210> 601
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 601
gttgcaggca tgacgcaagt agacaatcta tttaccctac g 41
<210> 602
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 602
aaaacgccta cgcacatgt ctagacaatc tattttaccct acg 43
<210> 603
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 603
tggctcctgcg cggatgtcta gacaatctat ttaccctacg 40
<210> 604
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 604
ggtgagcttc tccgtggcgt agacaatcta tttaccctac g 41
<210> 605
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 605
agcgcagggc caattgactt agacaatcta tttaccctac g 41
<210> 606
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 606
ccgggtacac ggttttgatc ttagacaatc tatttaccct acg 43
<210> 607
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 607
ccggctcgat gtcgggtata gacaatctat ttaccctacg 40
<210> 608
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 608
ggcgcccttct cgccacatta gacaatctat ttaccctacg 40
<210> 609
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 609
cacgttgaag cgcggtgta gacaatctat ttaccctacg 40
<210> 610
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 610
gcccacagaa accggtttaa ttagacaat ctatttacc tacg 44
<210> 611
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 611
tcagaatgag cgcaatccag gtagacaatc tatttaccct acg 43
<210> 612
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 612
ttcggacaca aagacgctcc tagacaatct atttacccta cg 42
<210> 613
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 613
agcttgacgt aggtgtcgg tagacaatct atttacccta cg 42
<210> 614
<211> 42
<212> DNA

<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 614
ggttccccgcc aaatttcccg tagacaatct atttacccta cg 42
<210> 615
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 615
cagggtcat gatagtacaa cagtagacaa tctatttacc ctacg 45
<210> 616
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 616
ggacttttagc gcggtctcct agacaatcta tttaccctac g 41
<210> 617
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 617
gcagccgttc taagcgctgt agacaatcta tttaccctac g 41
<210> 618
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 618
gctggtaaag gcgcttcct agacaatcta tttaccctac g 41
<210> 619
<211> 41

<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 619
gaagaagtcg gtagcgcggt agacaatcta ttaccctac g 41
<210> 620
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 620
ggctggaaac ctggtccact agacaatcta ttaccctac g 41
<210> 621
<211> 48
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 621
tttattagag tttaggaggt cagaaataga caatctattt accctacg 48
<210> 622
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 622
tgagggtcc catattcaga gtagacaat ctatttacc tacg 44
<210> 623
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 623
tcagggatg tcctacttgt ctagacaat ctatttacc tacg 44
<210> 624

<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 624
ccagggtttcc ggcacagtgg gtaactgaat tgtcacttta 40
<210> 625
<211> 46
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 625
tgttatactt tgtcgctctt agtagagtaa ctgaattgtc acttta 46
<210> 626
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 626
agctttttaac caggtttcga cttcgtaact gaattgtcac tttta 44
<210> 627
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 627
gtatgagaat cccgataaaa ctggtgtaac tgaattgtca cttta 45
<210> 628
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 628
aagaggacat cgaccaatcc tcagtaactg aattgtcact tta 43

<210> 629
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 629
ggtttgtgca agggtcgaaa acgtaactga attgtcactt ta 42
<210> 630
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 630
acacctctcg tagctataga tgtggtaact gaattgtcac tttta 44
<210> 631
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 631
atgagagggc aaccgaggtg agtaactgaa ttgtcacttt a 41
<210> 632
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 632
ccgctgtcag ggtctatcat tccgtaactg aattgtcact tta 43
<210> 633
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 633

gcaatgagca tatcctcggg cgtaactgaa ttgtcacttt a 41

<210> 634

<211> 41

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 634

ggcttgagtg gggtcaccca ggtaactgaa ttgtcacttt a 41

<210> 635

<211> 43

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 635

gcaaggatg gcaatagctg agtgtaactg aattgtcact tta 43

<210> 636

<211> 45

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 636

cagtaatagt agagacgcca ctacagtaac tgaattgtca ctta 45

<210> 637

<211> 43

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 637

cttccaaagt gtcgcttcag agggtaactg aattgtcact tta 43

<210> 638

<211> 46

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 638
aggcaatttt cccgatactt tttattgtaa ctgaattgtc acttta 46
<210> 639
<211> 46
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 639
tgtagcttc tatagtcact attcgagtaa ctgaattgtc acttta 46
<210> 640
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 640
tcaacaagta atgtatcccg ttcatgtaac tgaattgtca cttta 45
<210> 641
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 641
tttccttggc cgtaagttgt tttcgtaact gaattgtcac ttta 44
<210> 642
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 642
gggtcaacc agtctgttac ctgtaactga attgtcactt ta 42
<210> 643
<211> 46
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 643
tctgagactg atagggaaac atatgggtaa ctgaattgtc acttta 46
<210> 644
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 644
tctttgccac caatagcttg gagtaactga attgtcactt ta 42
<210> 645
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 645
ctcattggaa tggtagtag agcaagtaac tgaattgtca ctta 45
<210> 646
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 646
ctgagtaaag agcgtgtatt ccaggtaact gaattgtcac tta 44
<210> 647
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 647
tggaggcata aagctggtag gcgtaactga attgtcactt ta 42
<210> 648
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 648
ggatctcaag cggtgcaggc gtaacgatag atttatacga cg 42
<210> 649
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 649
gcaccgcgag cggactagta acgatagatt tatacgacg 39
<210> 650
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 650
tgctgaggtc gctcacgaag taacgataga tttatacgac g 41
<210> 651
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 651
ccggaccacg tagttaaatc ttgtaacgat agatttatac gacg 44
<210> 652
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 652
aagttctttt gggcgatgcc agtaacgata gatttatacg acg 43
<210> 653
<211> 48
<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 653

gttcccttat tagtctaattg ttttgcgtaa cgatagattt atacgacg 48

<210> 654

<211> 45

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 654

ttggaccagt gtacataagg atggtaacga tagatttata cgacg 45

<210> 655

<211> 41

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 655

tggcagtgca cggatgggtcg taacgataga tttatacgac g 41

<210> 656

<211> 47

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 656

ataccaattc tagtgagaag ttcacgtaac gatagattta tacgacg 47

<210> 657

<211> 44

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 657

tctctgtagg gtaaggctct gtgtaacgat agatttatac gacg 44

<210> 658

<211> 45

<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 658
tttagaggta gaccattgtg tgggtaacga tagatttata cgacg 45
<210> 659
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 659
agagagggca ctctacgctt gtaacgatag atttatacga cg 42
<210> 660
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 660
caaaaagccc tagctcagat gggtaacgat agatttatac gacg 44
<210> 661
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 661
cctctcctcc ctatttggct ggtaacgata gatttatac acg 43
<210> 662
<211> 46
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 662
ttttacaacg aactcattag gtccgtaacg atagatttat acgacg 46
<210> 663

<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 663
ggagtagatc ccccatctat tccgtaacga tagatttata cgacg 45
<210> 664
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 664
gtctcttgcc tcgtttctct ccgtaacgat agatttatac gacg 44
<210> 665
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 665
aattctggcg tagcacaaac agtaacgata gatttatacg acg 43
<210> 666
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 666
ggccatgaac ccctaaatct aaagtaacga tagatttata cgacg 45
<210> 667
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 667
gcccactggg accatcttgg gtaacgatag atttatacga cg 42

<210> 668

<211> 42

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 668

taccacgtgg cactaacaca gtaacgatag atttatacga cg 42

<210> 669

<211> 45

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 669

ttctagcttt tagaccagca gttgtaacga tagatttata cgacg 45

<210> 670

<211> 44

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 670

cccaagtgcct agtagaacct gcgtaacgat agatttatac gacg 44

<210> 671

<211> 47

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 671

aaacacatct atactcaaag acagagtaac gatagattta tacgacg 47

<210> 672

<211> 43

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 672

cacagacttg ccgactcttt ggtaacgata gatttatacg acg 43
<210> 673
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 673
cacatgttaa tgttcccgac cagtaacgat agatttatac gacg 44
<210> 674
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 674
attaatcggtt tgcggatctg ccgtaacgat agatttatac gacg 44
<210> 675
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 675
tgggtaacat cggacaagtt tggtaacgat agatttatac gacg 44
<210> 676
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 676
tctgaagttt cgagccaatg ttgtaacgat agatttatac gacg 44
<210> 677
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 677
ccattttcac cgctgaaata gagtaacgat agatttatac gacg 44
<210> 678
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 678
ctggatcaca tgcgttgtca ggtaacgata gatttatacg acg 43
<210> 679
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 679
atatttgcct cgtaagatcc cctgtaacga tagatttata cgacg 45
<210> 680
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 680
ctgaagcggg gttgtatcat agcgtaacga tagatttata cgacg 45
<210> 681
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 681
tagaataatg gttcgtgacc ttcgtaacga tagatttata cgacg 45
<210> 682
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 682
acctgaaggc gacgaggagg taacgataga tttatacgac g 41
<210> 683
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 683
gcctggagtc tatcgtacaa tcgtaacgat agatttatac gacg 44
<210> 684
<211> 47
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 684
acatttaatt agaccgtaac ccttcgtaac gatagattta tacgacg 47
<210> 685
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 685
gctctggcca tacttaacag atagtaacga tagatttata cgacg 45
<210> 686
<211> 46
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 686
cagcattgag tgataatgca atctgtaacg atagatttat acgacg 46
<210> 687
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 687
atacacacccc gctaccttac tggtaacgat agatttatac gacg 44
<210> 688
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 688
acaaagacga gaactatggc aagtaacgat agatttatac gacg 44
<210> 689
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 689
aggcagacgc tctaagtcta aagtaacgat agatttatac gacg 44
<210> 690
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 690
tctcttactc atcgtgaaag gcgtaacgat agatttatac gacg 44
<210> 691
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 691
gcctcaagtt cgcattcagc gtaacgatag atttatacga cg 42
<210> 692
<211> 44
<212> DNA

<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 692
gaaatggaaa cgtaaacagc cagtaacgat agatttatac gacg 44
<210> 693
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 693
cacctgcttc ggaatctcag tgtaacgata gatttatacg acg 43
<210> 694
<211> 46
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 694
gacttggtgct tcgttaatta aacagtaacg atagatttat acgacg 46
<210> 695
<211> 46
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 695
gctgtaatat acgcccactt tagcgtaacg atagatttat acgacg 46
<210> 696
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 696
ttccattgtg cggttgggat tgtaacttat aaaggataga catc 44
<210> 697
<211> 45

<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 697
ctccagtaat cgcttatggg ccgtaactta taaaggatag acatc 45
<210> 698
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 698
cctcttctcc gtcaagaagt tcgtaactta taaaggatag acatc 45
<210> 699
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 699
tgattgagat ggcgggtatgt gagtaactta taaaggatag acatc 45
<210> 700
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 700
gcccaattata agtactcggg ctgtaactta taaaggatag acatc 45
<210> 701
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 701
ccaggccagc gtatgttccg taacttataa aggatagaca tc 42
<210> 702

<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 702
ctggggcaac caacacttgt gtaacttata aaggatagac atc 43
<210> 703
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 703
ggctggacaa taggctccca gtaacttata aaggatagac atc 43
<210> 704
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 704
aaagctatgg cacgaaagcc ggtaacttat aaaggataga catc 44
<210> 705
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 705
gcagtccatc taaggtggac tgtaacttat aaaggataga catc 44
<210> 706
<211> 46
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 706
tgtatatgga gtaccctctt gctgtaactt ataaaggata gacatc 46

<210> 707

<211> 44

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 707

ctggatcacc aaaacggcaa tgtaacttat aaaggataga catc 44

<210> 708

<211> 45

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 708

ccaggataac ctttacttgc cagtaactta taaaggatag acatc 45

<210> 709

<211> 46

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 709

atttccagct gcgatatcta ctcgtaactt ataaaggata gacatc 46

<210> 710

<211> 47

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 710

ttttagcag ctagtccttt cttgtaact tataaaggat agacatc 47

<210> 711

<211> 46

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 711

tgatatgaga ttttcccgga tgggtaactt ataaaggata gacatc 46
<210> 712
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 712
tgacaacagt tagggcgggtg gtaacttata aaggatagac atc 43
<210> 713
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 713
ttggttccccg agtactgtct agtaacttat aaaggataga catc 44
<210> 714
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 714
gttttagttcc aacgccatct gtgtaactta taaaggatag acatc 45
<210> 715
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 715
aagagttgcg acagtatcac ccgtaactta taaaggatag acatc 45
<210> 716
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 716

gctgctggat atccctcaga agtaacttat aaaggataga catc 44

<210> 717

<211> 46

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 717

tgcaagacag actatgtcta tgggtaactt ataaaggata gacatc 46

<210> 718

<211> 46

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 718

cttcaaggac taggtcaatt gcagtaactt ataaaggata gacatc 46

<210> 719

<211> 47

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 719

gatatgctgc actaactagt cttggtaact tataaaggat agacatc 47

<210> 720

<211> 40

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 720

atctcgagca agacgttcag tgtaacggtt atcgtggaaa 40

<210> 721

<211> 43

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 721
ctgtccataa ttagtccatg aggagtaacg gttatcgtgg aaa 43
<210> 722
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 722
atcttttgat tatactgcct gaccgtaacg gttatcgtgg aaa 43
<210> 723
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 723
cagcaagctt gcgacctga gtaacggta tcgtggaaa 39
<210> 724
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 724
agttaaagtt gagagatcat ctccagtaac ggttatcgtg gaaa 44
<210> 725
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 725
aggaatggat ctatcactat ttctagtaac ggttatcgtg gaaa 44
<210> 726
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 726
cagcataatg attaggtatg caaaagtaac ggttatcgtg gaaa 44
<210> 727
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 727
ttcagtctga taaaatctac agtcagtaac ggttatcgtg gaaa 44
<210> 728
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 728
tccaacactt cgtgggggtcc gtaacggta tcgtggaaa 39
<210> 729
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 729
agggctacaa tgtgatggcc gtaacggta tcgtggaaa 39
<210> 730
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 730
tcaaggtcat aacctggttc atcgtaacgg ttatcgtgga aa 42
<210> 731
<211> 42
<212> DNA

<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 731
cctacaacaa acttgtctgg aatgtaacgg ttatcgtgga aa 42
<210> 732
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 732
aaacaacaat ccgccc aaag ggtaacggtt atcgtggaaa 40
<210> 733
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 733
aaagctctac taagcagatg gcgtaacggt tatcgtggaa a 41
<210> 734
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 734
actgctgaca aagattcact gggtaacggt tatcgtggaa a 41
<210> 735
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 735
ctgatagtct ataggctcat agtgcgtaac gggtatcgtg gaaa 44
<210> 736
<211> 40

<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 736
atcactaatc acgacgccag ggtaacggtt atcgtggaaa 40
<210> 737
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 737
tggcgatgtc aataggactc cgtaacggtt atcgtggaaa 40
<210> 738
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 738
gaactctcat cttaggcttt gtagtaacgg ttatcgtgga aa 42
<210> 739
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 739
tcaacattac tgaaacacta ctaaagtaac ggttatcgtg gaaa 44
<210> 740
<211> 38
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 740
ggtcgccata acggagccgg taacggttat cgtggaaa 38
<210> 741

<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 741
ttcttacaga tatgagttca atgtttgtaa cggttatcgt ggaaa 45
<210> 742
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 742
aggacagaac aaaacttctt agatggtaac ggttatcgtg gaaa 44
<210> 743
<211> 36
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 743
tcgcagccgc ctgaagcgta acggttatcg tggaaa 36
<210> 744
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 744
ggaatttggg accggcttgc gtaacggtac tttatctagc t 41
<210> 745
<211> 46
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 745
agagtcttga gtataatctt ggtaggtaac ggtactttat ctagct 46

<210> 746

<211> 46

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 746

attcaggaag catacactaa ttcttgtaac ggtactttat ctagct 46

<210> 747

<211> 44

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 747

tccagaaata agcgaaaata gcagtaacgg tactttatct agct 44

<210> 748

<211> 47

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 748

atcttttgaa ctactagcta caaaatgtaa cggtacttta tctagct 47

<210> 749

<211> 42

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 749

taacaagctc gtaatggccc agtaacgta ctttatctag ct 42

<210> 750

<211> 42

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 750

catccaaacc gtgtgaaagc tgtaacggtac ctttatctag ct 42

<210> 751

<211> 41

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 751

acaacgccat gtgcgatttg gtaacggtac tttatctagc t 41

<210> 752

<211> 45

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 752

ctacctacca ctaggtacct atcagtaacg gtactttatc tagct 45

<210> 753

<211> 43

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 753

aggacatttta cgtgtacagc acgtaacggt actttatcta gct 43

<210> 754

<211> 43

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 754

cgcctgaata caacgagtta acgtaacggt actttatcta gct 43

<210> 755

<211> 44

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 755
cttccagatt gtcgccgtta attgtaacgg tactttatct agct 44
<210> 756
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 756
cagatttacc taaaccacca ccagtaacgg tactttatct agct 44
<210> 757
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 757
tttgagctga tctagtaggt cttcgtaacg gtactttatc tagct 45
<210> 758
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 758
tctgtagctc gatccctgga gtaacggtac tttatctagc t 41
<210> 759
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 759
caactgtcat tcggttaaac tgagtaacgg tactttatct agct 44
<210> 760
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 760
tttgcttccg ttcatcatta gtcgtaacgg tactttatct agct 44
<210> 761
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 761
acttccaata gtctggaaat cacagtaacg gtactttatc tagct 45
<210> 762
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 762
tcacttgctg gattaagcta atacgtaacg gtactttatc tagct 45
<210> 763
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 763
agataggctc ccgtatgccc gtaacggtac tttatctagc t 41
<210> 764
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 764
gcttctcggc taccacagac gtaacggtac tttatctagc t 41
<210> 765
<211> 46
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 765
agacttactc ttaagaccat acttcgtaac ggtactttat ctagct 46
<210> 766
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 766
gttgagaggt ggcgtttttg agtaacggta ctttatctag ct 42
<210> 767
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 767
tcaatacgtt tctgcaagag tttgtaacgg tactttatct agct 44
<210> 768
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 768
ttatggcctc tatagcatct cccgtaactc catctagacc g 41
<210> 769
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 769
cagtcgggc aactatctta ttgtaactcc atctagaccg 40
<210> 770
<211> 42
<212> DNA

<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 770
ttcaagatac gaataatcct ccgagtaact ccatttagac cg 42
<210> 771
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 771
gtaggcgctt agcttgattt tcgtaactcc atctagaccg 40
<210> 772
<211> 38
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 772
cttcaagtcg ggctcttgca gtaactccat ctagaccg 38
<210> 773
<211> 38
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 773
agaatgaggc acgcaaagct gtaactccat ctagaccg 38
<210> 774
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 774
ctcagcatcc gataggactt tcgtaactcc atctagaccg 40
<210> 775
<211> 40

<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 775
aagtcactat aacacccgctc ctgtaactcc atctagaccg 40
<210> 776
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 776
ttggcatggt agatcgtcca ggtaactcca tctagaccg 39
<210> 777
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 777
caccttccaa cgactcaatc cgtaactcca tctagaccg 39
<210> 778
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 778
acaacctgta agtgtagttc tctggtaact ccattctagac cg 42
<210> 779
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 779
aaatcagata ctcgtctaca gaatggtaac tccattctaga ccg 43
<210> 780

<211> 38
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 780
agcagcaagt cgcattttcc gtaactccat ctagaccg 38
<210> 781
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 781
actggcatgg cggataaaaa ggtaactcca tctagaccg 39
<210> 782
<211> 38
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 782
cgggtgctct cgtgaacaaa gtaactccat ctagaccg 38
<210> 783
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 783
gatcgaagag tcgagataag gatgtaactc catctagacc g 41
<210> 784
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 784
ttgttgaaga cgcttccata agtgaactc catctagacc g 41

<210> 785
<211> 37
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 785
gtggtgacgc agaatcccgg taactccatc tagaccg 37
<210> 786
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 786
cattataaag acgtaataat ttaggggtgta actccatcta gaccg 45
<210> 787
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 787
gctcccactc ctagacatgt tgtaactcca tctagaccg 39
<210> 788
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 788
tttgttacac ggttaaacag ccgtaactcc atctagaccg 40
<210> 789
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 789

gaggtaaata aacgtcgata ggaagtaact ccatctagac cg 42

<210> 790

<211> 40

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 790

ttaatgtgga gtgcaagttg gggtaactcc atctagaccg 40

<210> 791

<211> 41

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 791

ccttgatct tagcttgga tgtgtaactc catctagacc g 41

<210> 792

<211> 43

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 792

tcaatgatca gcggatacct attgtaactc agtagatata gcg 43

<210> 793

<211> 43

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 793

cgtgtgatct tacgatcctt atagtaactc agtagatata gcg 43

<210> 794

<211> 43

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 794
tcatcctcta cgagtctatc ttggtaactc agtagatata gcg 43
<210> 795
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 795
tcaaagtaac ccgcgtaggc gtaactcagt agatatagcg 40
<210> 796
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 796
ataggacgca tactgtcgca agtaactcag tagatatagc g 41
<210> 797
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 797
ttatgtccgt cgaccttgca tgtaactcag tagatatagc g 41
<210> 798
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 798
ttccaaggaa cggacttcta gggtaactca gtagatatag cg 42
<210> 799
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 799
ataggtacga acgctctcga tcgtaactca gtagatatag cg 42
<210> 800
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 800
tcttggatga tcgcatgaaa ccgtaactca gtagatatag cg 42
<210> 801
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 801
acaacccaat taacgtgaag ccgtaactca gtagatatag cg 42
<210> 802
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 802
atgcggtata acgcacgttc cgtaactcag tagatatagc g 41
<210> 803
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 803
ctcaagtcac gacgcagttc tgtaactcag tagatatagc g 41
<210> 804
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 804
gcaagtcacg aacgtgactc gtaactcagt agatatagcg 40
<210> 805
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 805
ttggcggttat actgcgccac gtaactcagt agatatagcg 40
<210> 806
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 806
agtgggtgcgt atcgtaagcg gtaactcagt agatatagcg 40
<210> 807
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 807
atccaggcga cgaaacgaga gtaactcagt agatatagcg 40
<210> 808
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 808
ttggatgaat cggcaggctg gtaactcagt agatatagcg 40
<210> 809
<211> 43
<212> DNA

<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 809
tcagtcaatt cgtaatgtac accgtaactc agtagatata gcg 43
<210> 810
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 810
catcgaagac gatccactgg cgtaactcag tagatatagc g 41
<210> 811
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 811
cacggatcaa gcggcacttg taactcagta gatatagcg 39
<210> 812
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 812
tccaccgtat cgcaagctgg taactcagta gatatagcg 39
<210> 813
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 813
atgcaaagtt tcgtagggcg agtaactcag tagatatagc g 41
<210> 814
<211> 38

<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 814
gcgttggcac gacgacatgt aactcagtag atatagcg 38
<210> 815
<211> 38
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 815
ttgcagacgg acgccaagt aactcagtag atatagcg 38
<210> 816
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 816
agctgtatcg tcaaggcact cgtaaccttt tgaaacgcta 40
<210> 817
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 817
ctcgctccca gtccgaaatg gtaacctttt gaaacgcta 39
<210> 818
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 818
acttgtaacta gtatgcctta agaaagtaac cttttgaaac gcta 44
<210> 819

<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 819
gtgaccatga ctaatagcag tgggtaacct tttgaaacgc ta 42
<210> 820
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 820
gctgtgtcga gaatatccaa gagtaacctt ttgaaacgct a 41
<210> 821
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 821
cctactgtcg ctaatggatt gggtaacctt ttgaaacgct a 41
<210> 822
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 822
acactagcac tacctaagga ccgtaacctt ttgaaacgct a 41
<210> 823
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 823
gtctgtgaac tagttcaggc acgtaacctt ttgaaacgct a 41

<210> 824
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 824
ctaggtcagc gcaaccaa at ggtaaccttt tgaaacgcta 40
<210> 825
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 825
cctaataagc tataactggc ccagtaacct tttgaaacgc ta 42
<210> 826
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 826
ctaaattcct atgcagtgtg actcgtaacc tttgaaacgc cta 43
<210> 827
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 827
atcttggtga gctatccaaa ctggtaacct tttgaaacgc ta 42
<210> 828
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 828

aaatacgcat cgtgttatct ctggtaacct tttgaaacgc ta 42

<210> 829

<211> 42

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 829

tgttaagaga actagccaaa cctgtaacct tttgaaacgc ta 42

<210> 830

<211> 43

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 830

cataaagtag cttgatcgaa gagtgtaac ttttgaaacg cta 43

<210> 831

<211> 41

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 831

taagcaaaca cgcctttaca tagtaacctt ttgaaacgct a 41

<210> 832

<211> 44

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 832

aaggccttag taagatatta cagacgtaac cttttgaaac gcta 44

<210> 833

<211> 45

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 833
acaatatacg tctgctatat tcttccgtaa ctttttgaaa cgcta 45
<210> 834
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 834
tccactggat agggttctgt ctgtaacctt ttgaaacgct a 41
<210> 835
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 835
aagttatact atgaaagagc agtctgtaac cttttgaaac gcta 44
<210> 836
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 836
acatgttaat gcctaagtct atgtagtaac cttttgaaac gcta 44
<210> 837
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 837
gcctagaatg cctacttggg agtaaccttt tgaaacgcta 40
<210> 838
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 838
tcagtggaaat cgtagcaaaa cagtaacctt ttgaaacgct a 41
<210> 839
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 839
acaataatta ggagtagtac agttcagtaa ctttttgaaa cgcta 45
<210> 840
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 840
ttccactcgg ataagatgct gagtaactca gacatgtaga tt 42
<210> 841
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 841
aataactccac acgcaaattt ccgtaactca gacatgtaga tt 42
<210> 842
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 842
ggccagacca tcgctatctg gtaactcaga catgtagatt 40
<210> 843
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 843
caccacacta tgtcgaaaag tggtaactca gacatgtaga tt 42
<210> 844
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 844
ccctttcttg cggagattct ctgtaactca gacatgtaga tt 42
<210> 845
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 845
acaaacacgc acctcaaagc gtaactcaga catgtagatt 40
<210> 846
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 846
cccagtagat taccactgga gtgtaactca gacatgtaga tt 42
<210> 847
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 847
gcagtgctcg cttagtgtg taactcagac atgtagatt 39
<210> 848
<211> 40
<212> DNA

<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 848
ggctcgacgc taggatctga gtaactcaga catgtagatt 40
<210> 849
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 849
aggatgggcc tccggttcag taactcagac atgtagatt 39
<210> 850
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 850
ggaacatctc gaagcgctca gtaactcaga catgtagatt 40
<210> 851
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 851
agacggaaac cgtagctgcc gtaactcaga catgtagatt 40
<210> 852
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 852
tgttcaatat cgtccgggga cgtaactcag acatgtagat t 41
<210> 853
<211> 40

<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 853
cattgcttgg gacggcaagg gtaactcaga catgtagatt 40
<210> 854
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 854
agtggagaat gtcagtctga gtgtaactca gacatgtaga tt 42
<210> 855
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 855
agtttttttat ggcgggaggt agagtaactc agacatgtag att 43
<210> 856
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 856
tagaaactac caacccaccg agtaactcag acatgtagat t 41
<210> 857
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 857
ttccctgggtt agtacggtga aggtaactca gacatgtaga tt 42
<210> 858

<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 858
taagctggta tgtcctactc ccgtaactca gacatgtaga tt 42
<210> 859
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 859
ctgacgcaca cctattgcaa ggtaactcag acatgtagat t 41
<210> 860
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 860
tcaccgtcgt ggaaagcacg taactcagac atgtagatt 39
<210> 861
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 861
gtaaactaac ccttaactgc aagagtaact cagacatgta gatt 44
<210> 862
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 862
tttaggtact aagggtcacc aagagtaact cagacatgta gatt 44

<210> 863
<211> 46
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 863
tcatcatata caagagatga aatcctgtaa ctcagacatg tagatt 46
<210> 864
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 864
ccatggtgac gatcctcacg gtaactaaca taaattcgat g 41
<210> 865
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 865
gtgaacgtct tgggttgctt cgtaactaac ataaattcga tg 42
<210> 866
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 866
ggcctggacg gcgtaagagt aactaacata aattcgatg 39
<210> 867
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 867

gaagctcatg cgggaagcgg taactaacat aaattcgatg 40

<210> 868

<211> 43

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 868

tgtcactgta cgagatgttt cggtaactaa cataaattcg atg 43

<210> 869

<211> 43

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 869

ttgaagcttg gtatgtcagg aggtaactaa cataaattcg atg 43

<210> 870

<211> 42

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 870

ggttcccgat acatagctgg agtaactaac ataaattcga tg 42

<210> 871

<211> 44

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 871

atctttgaag tcgaaagaca ggcgtaacta acataaattc gatg 44

<210> 872

<211> 44

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 872
gcttattaac acgaagcttt gaggtacta acataaattc gatg 44
<210> 873
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 873
tttcattcca cgggaaggag agtaactaac ataaattcga tg 42
<210> 874
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 874
tcagtgcctc gttggccatt gtaactaaca taaattcgat g 41
<210> 875
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 875
ctctgcgtac caagcagtaa ttgtaactaa cataaattcg atg 43
<210> 876
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 876
tttcaaggcc tcgatttctg tcgtaactaa cataaattcg atg 43
<210> 877
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 877
tagttcacac cgtacatctc cagtaactaa cataaattcg atg 43
<210> 878
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 878
cccacatttc cggagtcac tgtaactaac ataaattcga tg 42
<210> 879
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 879
ggtcctgagc tatcttcaga tattgtaact aacataaatt cgatg 45
<210> 880
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 880
tcctccgtgc gaatcgctgt aactaacata aattcgatg 39
<210> 881
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 881
gcccttttta ttccgattg cagtaactaa cataaattcg atg 43
<210> 882
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 882
gctgtctcct cagaccgcag taactaacat aaattcgatg 40
<210> 883
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 883
cacccctgtc ggagttctca gtaactaaca taaattcgat g 41
<210> 884
<211> 46
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 884
cagatttatt accctttttg gaagcgtaac taacataaat tcgatg 46
<210> 885
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 885
tcatgggcgg gtacgtgggt aactaacata aattcgatg 39
<210> 886
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 886
caaaaatccc cgcttgtaa cgtaactaac ataaattcga tg 42
<210> 887
<211> 42
<212> DNA

<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 887
ctggggtcgt agtcaccata cgtaactaac ataaattcga tg 42
<210> 888
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 888
cacacgatac cggcaaagaa ggtaacgtga cgattaccc 39
<210> 889
<211> 38
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 889
ggtgtcagtc tccgacgtga gtaacgtgac gattaccc 38
<210> 890
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 890
gtgatgggtga tcatctgggc cgtaacgtga cgattaccc 39
<210> 891
<211> 36
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 891
ttggcctcgg gaccaagcgt aacgtgacga ttaccc 36
<210> 892
<211> 39

<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 892
ctgtcatctt ggtcaggtgg tgtaacgtga cgattaccc 39
<210> 893
<211> 38
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 893
atcaccttgc cgaaagtgcc gtaacgtgac gattaccc 38
<210> 894
<211> 37
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 894
actgcacggc cgtagtcatg taacgtgacg attaccc 37
<210> 895
<211> 37
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 895
aggtactcag gtgtgccgcg taacgtgacg attaccc 37
<210> 896
<211> 38
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 896
gaaggtgcgt tcgatgacag gtaacgtgac gattaccc 38
<210> 897

<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 897
ctcctcagga gtctccacat ggtaacgtga cgattaccc 39
<210> 898
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 898
gtctggaaag agtacttcag gggtaacgtg acgattaccc 40
<210> 899
<211> 36
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 899
caggacgcgg ttctcggtgt aacgtgacga ttaccc 36
<210> 900
<211> 38
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 900
atctcagcgc catagaagcg gtaacgtgac gattaccc 38
<210> 901
<211> 37
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 901
tcgttcatgg tcacgcggtg taacgtgacg attaccc 37

<210> 902
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 902
cagcccgaag tctgtgatct tgtaacgtga cgattaccc 39
<210> 903
<211> 37
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 903
tcatggtggc accgtccttg taacgtgacg attaccc 37
<210> 904
<211> 38
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 904
ggtagtccag ggctgacaca gtaacgtgac gattaccc 38
<210> 905
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 905
ccatcattct tgaggaggaa gtagtaacgt gacgattacc c 41
<210> 906
<211> 37
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 906

acaaagcaga ggcggtcgtg taacgtgacg attaccc 37
<210> 907
<211> 38
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 907
cggtcctcgg agaacacacg gtaacgtgac gattaccc 38
<210> 908
<211> 37
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 908
gagcctcacg ttggtccacg taacgtgacg attaccc 37
<210> 909
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 909
ctccttgtag ccaatgaagg tggtaacgtg acgattaccc 40
<210> 910
<211> 38
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 910
ttcacaaatag ccacgtcgct gtaacgtgac gattaccc 38
<210> 911
<211> 37
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 911
ccctcgtttg tgcagccaag taacgtgacg attaccc 37
<210> 912
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 912
agctatgtcc gctatcttca tcggtaactc tcttctattg cag 43
<210> 913
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 913
ttggcacatc gagacatggt tgtaactctc ttctattgca g 41
<210> 914
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 914
ccatcttggt cgtactttgt gagtaactct cttctattgc ag 42
<210> 915
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 915
ccaactgagc atacgctagg agtaactctc ttctattgca g 41
<210> 916
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 916
tcacgtacta gccgttccat cgtaactctc ttctattgca g 41
<210> 917
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 917
tttctccaag tcgtctctca tctgtaactc tcttctattg cag 43
<210> 918
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 918
tcgtaagaaa cgccactaga aagtaactct cttctattgc ag 42
<210> 919
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 919
cactggcgtg cctaaaccag taactctctt ctattgcag 39
<210> 920
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 920
acatatcata cgtggacatt agaacgtaac tctcttctat tgcag 45
<210> 921
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 921
gccgatggaa tgctccatcc gtaactctct tctattgcag 40
<210> 922
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 922
gattagcaat cggtcacaaa gacgtaactc tcttctattg cag 43
<210> 923
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 923
ggtgtagtag tacacattgg agcgtaactc tcttctattg cag 43
<210> 924
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 924
gatgaaactt cggttgtcag ctgtaactct cttctattgc ag 42
<210> 925
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 925
ttcttgaggc tagcaacttg tggtaactct cttctattgc ag 42
<210> 926
<211> 43
<212> DNA

<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 926
gtcccaaaac tcgattagct tccgtaactc tcttctattg cag 43
<210> 927
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 927
tattcgtgga acccctaaca gcgtaactct cttctattgc ag 42
<210> 928
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 928
caaagttgat atcgcccaaa atgtaactc tcttctattg cag 43
<210> 929
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 929
tagatccaag cggttccatt tcgtaactct cttctattgc ag 42
<210> 930
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 930
tgaccagttc ccgtaaaaca ctgtaactct cttctattgc ag 42
<210> 931
<211> 41

<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 931
tggcacatgg tcgatacaca tgtaactctc ttctattgca g 41
<210> 932
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 932
tgacagcaca acgatcacao cgtaactctc ttctattgca g 41
<210> 933
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 933
aagctcatga actatgccag aggtaactct cttctattgc ag 42
<210> 934
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 934
cgtcatacct gaccgagtac tgtaactctc ttctattgca g 41
<210> 935
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 935
tcttgattgt cgagaaagac ttggtaactc tcttctattg cag 43
<210> 936

<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 936
tactgagccc tatcggaag tgtaactgat cttcatatta cg 42
<210> 937
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 937
ccaaatccct tcgcagcaat tgtaactgat cttcatatta cg 42
<210> 938
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 938
gccatgatca atcgcatcac tgtaactgat cttcatatta cg 42
<210> 939
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 939
atcatccaga ttcgaaccgt ccgtaactga tcttcatatt acg 43
<210> 940
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 940
ggactacatt cgtgaagaag ctgtaactga tcttcatatt acg 43

<210> 941
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 941
ggagaggatc cgtccaagaa agtaactgat cttcatatta cg 42
<210> 942
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 942
gtcccagcat tagaacctgt ggtaactgat cttcatatta cg 42
<210> 943
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 943
actctcagcc agaccttttag cgtaactgat cttcatatta cg 42
<210> 944
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 944
catagtgtca tgtgcatgta gtcgtaactg atcttcatat tacg 44
<210> 945
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 945

ccctgaccag catattatct acagtaactg atcttcatat tacg 44

<210> 946

<211> 41

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 946

cagcgccctgt tacaagctct gtaactgac ttcattattac g 41

<210> 947

<211> 41

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 947

cgccagtctt aactgccatg gtaactgac ttcattattac g 41

<210> 948

<211> 43

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 948

tcttcccaac accgtaatct ttgtaactga tcttcatatt acg 43

<210> 949

<211> 43

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 949

gtgacttatg ttcgggtctc tcgtaactga tcttcatatt acg 43

<210> 950

<211> 43

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 950
tgttaggttc tagggccata gcgtaactga tcttcatatt acg 43
<210> 951
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 951
ctggatagct ttgggcaact cgtaactgat cttcatatta cg 42
<210> 952
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 952
tgcagacagg gtatgtatat ttgggtaact gatcttcata ttacg 45
<210> 953
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 953
aagaaaatat agctgagctc cctgtaactg atcttcatat tacg 44
<210> 954
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 954
gagaccggag aaacccggcg taactgatct tcatattacg 40
<210> 955
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 955
ccgcaggaga ccgaggtctg taactgatct tcatattacg 40
<210> 956
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 956
aggctagggc tcaagacaag ggtaactgat cttcatatta cg 42
<210> 957
<211> 38
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 957
gcgtccggtg tcgccatgta actgatcttc atattacg 38
<210> 958
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 958
actctgggtc ggcttgatcc gtaactgatc ttcattattac g 41
<210> 959
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 959
catgggagga tcgagcctgg gtaactgatc ttcattattac g 41
<210> 960
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 960
ggcactggaa acgattgact tgtaacggca atacatcgt 39
<210> 961
<211> 38
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 961
tcaggcattc gttcacctgt gtaacggcaa tacatcgt 38
<210> 962
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 962
actgtagcga ttaatgccat ccgtaacggc aatacatcgt 40
<210> 963
<211> 38
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 963
atagcctcca ttgcggttgg gtaacggcaa tacatcgt 38
<210> 964
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 964
cattcggtg atcgatacac ttgtaacggc aatacatcgt 40
<210> 965
<211> 39
<212> DNA

<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 965
gcacactcat cgagttgctc cgtaacggca atacatcgt 39
<210> 966
<211> 37
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 966
tcccgccttaa tgcgcaggtg taacggcaat acatcgt 37
<210> 967
<211> 37
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 967
ggtcccctgt atggcgtgag taacggcaat acatcgt 37
<210> 968
<211> 38
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 968
aacacactgg cggttgtaa gtaacggcaa tacatcgt 38
<210> 969
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 969
cacacatcga cgaaggtttc agtaacggca atacatcgt 39
<210> 970
<211> 39

<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 970
ggctcttgca cgagttaact tgtaacggca atacatcgt 39
<210> 971
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 971
atgtcaatgg tacaccgctg agtaacggca atacatcgt 39
<210> 972
<211> 38
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 972
gccatgctta cgctttcgtt gtaacggcaa tacatcgt 38
<210> 973
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 973
ggtataaccag taacacggac cagtaacggc aatacatcgt 40
<210> 974
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 974
gactctctca cgcataaacc tggtaacggc aatacatcgt 40
<210> 975

<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 975
aggagatgcg taggtcaatt cagtaacggc aatacatcgt 40
<210> 976
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 976
ccaacaggac gctagtgtag agtaacggca atacatcgt 39
<210> 977
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 977
cagtaccaat taggttagct tctggtaacg gcaatacatc gt 42
<210> 978
<211> 38
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 978
tccatggccg tcgatcaatg gtaacggcaa tacatcgt 38
<210> 979
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 979
tagtcaggaa tatgcggtca ttgtaacggc aatacatcgt 40

<210> 980
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 980
tatagcaact acttcgcatt tccgtaacgg caatacatcg t 41
<210> 981
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 981
cgatggtgtc ctacggatgt cgtaacggca atacatcgt 39
<210> 982
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 982
gtaaccatag taccacttat tagtgggtaa cggcaataca tcgt 44
<210> 983
<211> 37
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 983
cagcatcagc ccgtgagtag taacggcaat acatcgt 37
<210> 984
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 984

tcagatgcta ctggccgctt agacaagta agatcgga 39
<210> 985
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 985
cttgatcaag gcgctgaaca atagacaagt taagatcgga a 41
<210> 986
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 986
tcccttcgta tctcagcgag atagacaagt taagatcgga a 41
<210> 987
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 987
agactgttga ctggcgtgat gtagacaagt taagatcgga a 41
<210> 988
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 988
ccaacatgct cgcatgagtt ctagacaagt taagatcgga a 41
<210> 989
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 989
ttccttcacc gaactgagga gtagacaagt taagatcgga a 41
<210> 990
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 990
agttccaacg agcggcttca tagacaagtt aagatcggaa 40
<210> 991
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 991
ccatggctga cgagatctga tagacaagtt aagatcggaa 40
<210> 992
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 992
tagcctaaga cccggagctt tagacaagtt aagatcggaa 40
<210> 993
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 993
gcagatactc agcggcattg tagacaagtt aagatcggaa 40
<210> 994
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 994
catagctcac gcagaacgtg tagacaagtt aagatcggaa 40
<210> 995
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 995
gtcggccacc gttgaatgat agacaagtta agatcggaa 39
<210> 996
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 996
agaacggtca gcgagcgtat agacaagtta agatcggaa 39
<210> 997
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 997
gttatgctta gagtgttatc tccatagaca agttaagatc ggaa 44
<210> 998
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 998
tggatgatgtc cgtgcgttcc tagacaagtt aagatcggaa 40
<210> 999
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 999
ggtccagagg atcgctctct tagacaagtt aagatcggaa 40
<210> 1000
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1000
cgtggactgc aagtcccgat agacaagtta agatcggaa 39
<210> 1001
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1001
acaggtcaat tcccgggtaa gtagacaagt taagatcgga a 41
<210> 1002
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1002
ctgcaccagg ttaggggtgtt ttagacaagt taagatcgga a 41
<210> 1003
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1003
ggaaatggca tatacgtggg atttagacaa gttaagatcg gaa 43
<210> 1004
<211> 40
<212> DNA

<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1004
cttttgtctt tgcgcccagg tagacaagtt aagatcggaa 40
<210> 1005
<211> 38
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1005
tcctgccggt tgcactccta gacaagttaa gatcggaa 38
<210> 1006
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1006
atcatacagt gcaacgaaaa ggtagacaa gtaagatcg gaa 43
<210> 1007
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1007
tcccacttgt cgtagttggg tagacaagtt aagatcggaa 40
<210> 1008
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1008
aggtggtgtt ccgaacgagc tagacagccc aattaaacg 39
<210> 1009
<211> 39

<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1009
agatccgtga gcggaatgta tagacagccc aattaaacg 39
<210> 1010
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1010
ctcactcgct ttagtggact cctagacagc ccaattaaac g 41
<210> 1011
<211> 37
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1011
gccaaagacc gtggcgagta gacagcccaa ttaaacg 37
<210> 1012
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1012
agagttcttg gtcgttgat cctagacagc ccaattaaac g 41
<210> 1013
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1013
ctcctttgca accgggtctg tagacagccc aattaaacg 39
<210> 1014

<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1014
cttggtattg acgtcgaagg cttagacagc ccaattaaac g 41
<210> 1015
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1015
caggaacgtg taactcttgc ctagacagcc caattaaacg 40
<210> 1016
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1016
ggagttttcac acacgagttg gtagacagcc caattaaacg 40
<210> 1017
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1017
aggttccccgc tctacggatg tagacagccc aattaaacg 39
<210> 1018
<211> 38
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1018
accgtcatgg actgccgtct agacagccca attaaacg 38

<210> 1019
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1019
tgggaccttt agacttcggt gtagacagcc caattaaacg 40
<210> 1020
<211> 37
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1020
gtccctgtag acgcgcgtta gacagcccaa ttaaacg 37
<210> 1021
<211> 38
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1021
ccagagaggg cgcattctgt agacagccca attaaacg 38
<210> 1022
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1022
tccactctgc acgctcatag ttagacagcc caattaaacg 40
<210> 1023
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1023

gtgaaactcg acgttcacgt atagacagcc caattaaacg 40

<210> 1024

<211> 40

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 1024

acacctcttt gtcgttgacc ttagacagcc caattaaacg 40

<210> 1025

<211> 39

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 1025

actgttgcca gttctgcgag tagacagccc aattaaacg 39

<210> 1026

<211> 39

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 1026

tggcaactcc gtagttgtcc tagacagccc aattaaacg 39

<210> 1027

<211> 38

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 1027

tcctcggacg ctaagctcat agacagccca attaaacg 38

<210> 1028

<211> 38

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 1028
ttacccggag aaccctcgct agacagccca attaaacg 38
<210> 1029
<211> 38
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1029
tcccggaaaca tgcggtaggt agacagccca attaaacg 38
<210> 1030
<211> 38
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1030
tgctcgatgt cgcccactgt agacagccca attaaacg 38
<210> 1031
<211> 37
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1031
tgccggtgcc gcttatggta gacagcccaa ttaaacg 37
<210> 1032
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1032
ccaaagtctg ctagcttgat ggtagacggt ataatactta tttcc 45
<210> 1033
<211> 48
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 1033

tattaggatg gttaagctcc ttaagtagac ggtataatac ttatttcc 48

<210> 1034

<211> 45

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 1034

catgggtgta agtacgaaca ggtagacggt ataatactta tttcc 45

<210> 1035

<211> 43

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 1035

ggcagaaagc taggccctgg tagacggtat aatacttatt tcc 43

<210> 1036

<211> 43

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 1036

gtacacaact ccgtacgtgc tagacggtat aatacttatt tcc 43

<210> 1037

<211> 45

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 1037

atggaacgca gtatacctct cgtagacggt ataatactta tttcc 45

<210> 1038

<211> 46

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1038
cttggcttgt aatcaggcat agatagacgg tataatactt atttcc 46
<210> 1039
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1039
ctccatgaag cgccagcgta gacggtataa tacttatttc c 41
<210> 1040
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1040
ccgcttggtta gggtcgtagt tagacggtat aatacttatt tcc 43
<210> 1041
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1041
ctcgggtggag gacccgatgt agacggtata atacttattt cc 42
<210> 1042
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1042
ttactaaaat cttgccgggc ctagacggtata taatacttat ttcc 44
<210> 1043
<211> 44
<212> DNA

<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1043
gcagcatttg cgataacaag ctagacggta taatacttat ttcc 44
<210> 1044
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1044
agaaggctat cagagtcgaa gatagacgggt ataatactta tttcc 45
<210> 1045
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1045
ttcaggagct cggtaccaca tagacgggtat aatacttatt tcc 43
<210> 1046
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1046
ccccagagtc cgaaagatcc gtagacggta taatacttat ttcc 44
<210> 1047
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1047
acagggccca gtaccgtggt agacggtata atacttattt cc 42
<210> 1048
<211> 46

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 1048

tcagcaataa ctaagagaag gggtagacgg tataatactt atttcc 46

<210> 1049

<211> 46

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 1049

gtacggcaaa tctaactgt aggtagacgg tataatactt atttcc 46

<210> 1050

<211> 44

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 1050

tgaacaatg ttgccgcctc ctagacggt taatacttat ttcc 44

<210> 1051

<211> 47

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 1051

taataattat ggggcattca gagatagacg gtataatact tatttcc 47

<210> 1052

<211> 43

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 1052

tctcacctgc ctcataaggc tagacggtat aatacttatt tcc 43

<210> 1053

<211> 47
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1053
atggtgaagc aatagattgg aatgtagacg gtataatact tattttcc 47
<210> 1054
<211> 49
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1054
cactaactag ggtataaact gattggtaga cgtataata cttattttcc 49
<210> 1055
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1055
agaagggaca aacaagggga ctagacggtg taatacttat ttcc 44
<210> 1056
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1056
agtccgatac tcaagcgcaa atagacaata aattctaacg agc 43
<210> 1057
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1057
cttgttgccg tcacggtatg tagacaataa attctaacga gc 42

<210> 1058
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1058
ccagagttgt agacgagcag ctagacaata aattctaacg agc 43
<210> 1059
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1059
ttagcatggc aacacggcgt agacaataaa ttctaacgag c 41
<210> 1060
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1060
atgatgcgca cttcacgggt agacaataaa ttctaacgag c 41
<210> 1061
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1061
cccaccgcta ggagggtagc tagacaataa attctaacga gc 42
<210> 1062
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1062

gcagtgtggt taggccgatg tagacaataa attctaacga gc 42

<210> 1063

<211> 41

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 1063

gacacggcgg tgcactatct agacaataaa ttctaacgag c 41

<210> 1064

<211> 40

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 1064

gccccaaagcg gcttgcagta gacaataaat tctaacgagc 40

<210> 1065

<211> 44

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 1065

atacacacac ggctaatact gctagacaat aaattctaac gagc 44

<210> 1066

<211> 43

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 1066

gtgaccgtgt acaccaacaa ctagacaata aattctaacg agc 43

<210> 1067

<211> 46

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 1067
ctcttcatac tagcatgact gtcatagaca ataaattcta acgagc 46
<210> 1068
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1068
agaaggcttt cgtcgttccc tagacaataa attctaacga gc 42
<210> 1069
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1069
tttgctccgt gcgttcaagg tagacaataa attctaacga gc 42
<210> 1070
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1070
tccagtgcac cgcgtcacatc tagacaataa attctaacga gc 42
<210> 1071
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1071
gatgaacagc ggtgcgttgt agacaataaa ttctaacgag c 41
<210> 1072
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1072
cactgatacc ggctctccgt tagacaataa attctaacga gc 42
<210> 1073
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1073
gaacgcttgc gttccctagc tagacaataa attctaacga gc 42
<210> 1074
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1074
cagatagatt tccgggatac agctagacaa taaattctaa cgagc 45
<210> 1075
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1075
tctgctgcgg cgattgtgta gacaataaat tctaacgagc 40
<210> 1076
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1076
ctcggatgac atgcgtccct agacaataaa ttctaacgag c 41
<210> 1077
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1077
tccaattttca gggcgttctc gtagacaata aattctaacg agc 43
<210> 1078
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1078
tgcgaggtc gacgtcagta gacaataaat tctaacgagc 40
<210> 1079
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1079
gtccaggtag tatccggagg gtagacaata aattctaacg agc 43
<210> 1080
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1080
attccccgaca gactcatcgc tagacgataa attgcgaacg 40
<210> 1081
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1081
cagttacatg ttgcgcacg tagacgataa attgcgaacg 40
<210> 1082
<211> 39
<212> DNA

<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1082
acgagcacta gggtcgtcgt agacgataaa ttgcgaacg 39
<210> 1083
<211> 46
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1083
ttttgataat cgaatgaaaa agtcactaga cgataaattg cgaacg 46
<210> 1084
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1084
ctgaatactg ctagacgaga agctagacga taaattgcga acg 43
<210> 1085
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1085
ctccttgga cgaactaatc ctgtagacga taaattgcga acg 43
<210> 1086
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1086
ttcaggcggc taattggtac cctagacgat aaattgcgaa cg 42
<210> 1087
<211> 42

<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1087
gttaggaatg gcgaacagac agtagacgat aaattgcgaa cg 42
<210> 1088
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1088
gatggtctta aagcgtgaag cctagacgat aaattgcgaa cg 42
<210> 1089
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1089
ctgtgcctag ccctaactta tatagacgat aaattgcgaa cg 42
<210> 1090
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1090
agagaccacc cataacaaga gttagacgat aaattgcgaa cg 42
<210> 1091
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1091
ttggagcacc gatatagata tggtagacga taaattgcga acg 43
<210> 1092

<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1092
tcaaagacgc aaacgtccaa atagacgata aattgcgaac g 41
<210> 1093
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1093
gagagctgat taggtgctca ggtagacgat aaattgcgaa cg 42
<210> 1094
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1094
tgcttgtagc cggagaaggt tagacgataa attgcgaacg 40
<210> 1095
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1095
ctgcagacac gtgtatgtgc tagacgataa attgcgaacg 40
<210> 1096
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1096
catccaatgc aagtccggtg tagacgataa attgcgaacg 40

<210> 1097
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1097
accaagtgat aacgtgttca gatagacgat aaattgcgaa cg 42
<210> 1098
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1098
aatctgagct ttgcgaaatg gttagacgat aaattgcgaa cg 42
<210> 1099
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1099
caaagccac ataacactat cttttagacg ataaattgcg aacg 44
<210> 1100
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1100
tgtactggac tatagacacc aatttagacg ataaattgcg aacg 44
<210> 1101
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1101

atcaatatac cacgfttagta gtcactagac gataaattgc gaacg 45
<210> 1102
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1102
tgtatttttaa cgccaagcag gctagacgat aaattgcgaa cg 42
<210> 1103
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1103
cactgaaaac acggttatgt cctagacgat aaattgcgaa cg 42
<210> 1104
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1104
cgagacagat cggagtagct gtagacgacc gaatttacgg 40
<210> 1105
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1105
tctctcaatg acgggacaaa gatagacgac cgaatttacg g 41
<210> 1106
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 1106
cagatgtggt gtatggtcca catagacgac cgaatttacg g 41
<210> 1107
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1107
ttctcctcgg ttacttcgtg atagacgacc gaatttacgg 40
<210> 1108
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1108
tgtgctaagc cgaaggaggt tagacgaccg aatttacgg 39
<210> 1109
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1109
gtaaacatag aacgactcat agtcatagac gaccgaattt acgg 44
<210> 1110
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1110
ttccacttca attagctctt gaattagacg accgaattta cgg 43
<210> 1111
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1111
ctggggtaga gatagctcgc ttagacgacc gaatttacgg 40
<210> 1112
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1112
gctataagct cgcctaccat tctagacgac cgaatttacg g 41
<210> 1113
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1113
ttcttggggc gggtagagt tagacgaccg aatttacgg 39
<210> 1114
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1114
aagacctcag accgtcagaa gtagacgacc gaatttacgg 40
<210> 1115
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1115
tcagatcctg acgacctgca tagacgaccg aatttacgg 39
<210> 1116
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1116
gcagaaatct cgagaggacg ctagacgacc gaatttacgg 40
<210> 1117
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1117
ctcgcagtct aggccgaaga tagacgaccg aatttacgg 39
<210> 1118
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1118
ccggtctccc tcgagaatca tagacgaccg aatttacgg 39
<210> 1119
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1119
tcctggtgag aacgtcctgc tagacgaccg aatttacgg 39
<210> 1120
<211> 38
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1120
tgccctttgg taaggcgcct agacgaccga atttacgg 38
<210> 1121
<211> 38
<212> DNA

<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1121
cacagacaca gccgaggact agacgaccga atttacgg 38
<210> 1122
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1122
tcccaaaagc taccgctgag tagacgaccg aatttacgg 39
<210> 1123
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1123
taaggtagag tcgggcgaag tagacgaccg aatttacgg 39
<210> 1124
<211> 38
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1124
gagtggccgg aaaaacccgt agacgaccga atttacgg 38
<210> 1125
<211> 37
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1125
atgcggacat ggtcgcccta gacgaccgaa ttacgg 37
<210> 1126
<211> 37

<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1126
ggctcccaaa cgccctgata gacgaccgaa tttacgg 37
<210> 1127
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1127
tccatttcac cgtcagaaag gtagacgacc gaatttacgg 40
<210> 1128
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1128
ttgcctagac agcaccgtaa ttagacacg aatattccaa ttc 43
<210> 1129
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1129
ttcccagagc gtggttccat agacacgaat attccaattc 40
<210> 1130
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1130
taaggacatc gcttttccgg ttagacacga atattccaat tc 42
<210> 1131

<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1131
ttctccacgt cgcggacact agacacgaat attccaattc 40
<210> 1132
<211> 46
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1132
gttctcatga tagaggttcc ttaagtagac acgaatattc caattc 46
<210> 1133
<211> 38
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1133
ggccacgtcg gtgcagatag acacgaatat tccaattc 38
<210> 1134
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1134
gttgtggacg atcaacgggg tagacacgaa tattccaatt c 41
<210> 1135
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1135
tgtccccttc ggggtcatat ctagacacga atattccaat tc 42

<210> 1136
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1136
aatagaacct catccggtag tggtagacac gaatattcca attc 44
<210> 1137
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1137
cagtgcagcg tatgtggtat ttagacacga atattccaat tc 42
<210> 1138
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1138
aaagcttgct cgattggatg gtagacacga atattccaat tc 42
<210> 1139
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1139
aacccttgta gatcggtggt atagacacga atattccaat tc 42
<210> 1140
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1140

agtagagaac gtttccaccg ttagacacga atattccaat tc 42
<210> 1141
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1141
actgctcatt gtcgttggtt ctagacacga atattccaat tc 42
<210> 1142
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1142
aacgtattgc cgagaaccca tagacacgaa tattccaatt c 41
<210> 1143
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1143
acaaagtgc tatagagtgg cctagacacg aatattccaa ttc 43
<210> 1144
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1144
agccatccct agacactcgt ttagacacga atattccaat tc 42
<210> 1145
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 1145
gcgatttgga gcataccaga gtagacacga atattccaat tc 42
<210> 1146
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1146
aggatccgat cgaaactcag ctagacacga atattccaat tc 42
<210> 1147
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1147
ctggaatata tcgcttgtag ctgtagacac gaatattcca attc 44
<210> 1148
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1148
cttcagggtca tgcgtggaca tagacacgaa tattccaatt c 41
<210> 1149
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1149
agagaagcgc acttccgtgt tagacacgaa tattccaatt c 41
<210> 1150
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1150
tgatgttatc cgtgcgagg tagacacgaa tattccaatt c 41
<210> 1151
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1151
aaagaccgta atcggtcaca ttgtagacac gaatattcca attc 44
<210> 1152
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1152
agagatttgt ctacgtagag ccgtagactc agaaatctca cg 42
<210> 1153
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1153
tcctttgcat acggtctctt cgtagactca gaaatctcac g 41
<210> 1154
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1154
aagtttgttt acatccgatg ttactagact cagaaatctc acg 43
<210> 1155
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1155
ttcccataca gaacgtggcc tagactcaga aatctcacg 39
<210> 1156
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1156
aacagatcaa cggcaaaaagc ctagactcag aaatctcacg 40
<210> 1157
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1157
catccttggg tagtaggatg aactagactc agaaatctca cg 42
<210> 1158
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1158
gaatttgcta gttgcagggc atagactcag aaatctcacg 40
<210> 1159
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1159
tgatcttaca attgatactg tcaatgtaga ctcagaaatc tcacg 45
<210> 1160
<211> 38
<212> DNA

<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1160
tggatgtgga ggcgaccgtt agactcagaa atctcacg 38
<210> 1161
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1161
acttctggac ctatagtagc ctgtagactc agaaatctca cg 42
<210> 1162
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1162
caacacggat agcttatcca acctagactc agaaatctca cg 42
<210> 1163
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1163
tgtcaaggta acgtgagcac ttagactcag aaatctcacg 40
<210> 1164
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1164
tttacagaaa tcggcatcca catagactca gaaatctcac g 41
<210> 1165
<211> 44

<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1165
cagctactag aggtctataa ttccttagac tcagaaatct cacg 44
<210> 1166
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1166
ctggcacctc tatggaatcc ctagactcag aaatctcacg 40
<210> 1167
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1167
attctgatat cggctattgt gagatagact cagaaatctc acg 43
<210> 1168
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1168
gccaccagtc tagtgccaac tagactcaga aaatctcacg 39
<210> 1169
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1169
caactacccc ggacaatttg atagactcag aaatctcacg 40
<210> 1170

<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1170
aggacttaac atgggctatg cctagactca gaaatctcac g 41
<210> 1171
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1171
ctctgcgaac gaagtgtttt tgtagactca gaaatctcac g 41
<210> 1172
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1172
tgcagcatat taagggtgtg attttagact cagaaatctc acg 43
<210> 1173
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1173
aagtaactaa acccatagac tgaaatagac tcagaaatct cacg 44
<210> 1174
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1174
ctgccagggc ttaacataag gtagactcag aaatctcacg 40

<210> 1175
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1175
ataacatttg ataggccac tcctagactc agaaatctca cg 42
<210> 1176
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1176
ctgaagataa tcgcagacac cctagacgtc tcccgtattt t 41
<210> 1177
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1177
tgactgaaca cgtgttctgt tctagacgtc tcccgtattt t 41
<210> 1178
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1178
tttcagccat acccgatgg tagacgtctc ccgtatttt 39
<210> 1179
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1179

tgagaagagt aaccgctgaa tatagacgtc tcccgtattt t 41

<210> 1180

<211> 38

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 1180

acactgcaat tccgccgtct agacgtctcc cgtatttt 38

<210> 1181

<211> 38

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 1181

ttgtcgtggc cggctactgat agacgtctcc cgtatttt 38

<210> 1182

<211> 39

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 1182

ggcaggcgac actaccttca tagacgtctc ccgtatttt 39

<210> 1183

<211> 40

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 1183

ctgggccagt attgaccact gtagacgtct cccgtatttt 40

<210> 1184

<211> 40

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 1184
tctcagatca gtgcggagaa atagacgtct cccgtatttt 40
<210> 1185
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1185
gcccacaaat atccgtctgc tagacgtctc ccgtatttt 39
<210> 1186
<211> 36
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1186
ccatgttcgc gcggcgatag acgtctcccg tatttt 36
<210> 1187
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1187
atgaaaggtc gctagagaag tcctagacgt ctcccgtatt tt 42
<210> 1188
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1188
aatcacaaac ccggacttgg atagacgtct cccgtatttt 40
<210> 1189
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1189
actagcctgt cacgtttgtc ttagacgtct cccgtatattt 40
<210> 1190
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1190
atctttacaa tgcggtcggt cctagacgtc tcccgtatatt t 41
<210> 1191
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1191
tgtcctggta tgatcccaac actagacgtc tcccgtatatt t 41
<210> 1192
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1192
ctgatcattt cgcacacag tgtagacgtc tcccgtatatt t 41
<210> 1193
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1193
ctttccttac gtgtgtcaca catagacgtc tcccgtatatt t 41
<210> 1194
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1194
tagtttgatc gcctccttaa acctagacgt ctcccgtatt tt 42
<210> 1195
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1195
aaatccctag gatagcacct ttgtagacgt ctcccgtatt tt 42
<210> 1196
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1196
cttacactta cgatgagcag atgtagacgt ctcccgtatt tt 42
<210> 1197
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1197
catttgctac ctagcatatg agagtagacg tctcccgtat ttt 43
<210> 1198
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1198
acagatgtca aacggtcaca tttagacgtc tcccgtat ttt t 41
<210> 1199
<211> 43
<212> DNA

<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1199
ttctaagata cgtcactcca attctagacg tctcccgtat ttt 43
<210> 1200
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1200
acagtccgtc gattctttac aatagactct ataaatcagc gt 42
<210> 1201
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1201
tctccacgta aatccccgatc ttagactcta taaatcagcg t 41
<210> 1202
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1202
cacgtgctga accaaccact tagactctat aaatcagcgt 40
<210> 1203
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1203
tcttgccgaa gttggccgtt agactctata aatcagcgt 39
<210> 1204
<211> 41

<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1204
agcagcagtt ggatctacag ttagactcta taaatcagcg t 41
<210> 1205
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1205
gtctagcagt aaacctgtaa acctagactc tataaatcag cgt 43
<210> 1206
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1206
gtgcattatt ggacgaacat catagactct ataaatcagc gt 42
<210> 1207
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1207
gctgttggtta atggtctata atccatagac tctataaatc agcgt 45
<210> 1208
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1208
cacacatatc ctatgttcat caatatagac tctataaatc agcgt 45
<210> 1209

<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1209
ttgagtggtc gttttcttac acatagactc tataaatcag cgt 43
<210> 1210
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1210
cataatcaaa acgaaatggt tggtttagac tctataaatc agcgt 45
<210> 1211
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1211
tttgtagcat caacgtcctg gtagactcta taaatcagcg t 41
<210> 1212
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1212
caacacatatt gacctcccg ttagactcta taaatcagcg t 41
<210> 1213
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1213
ctaaccaccg aatagattcc tggtagactc tataaatcag cgt 43

<210> 1214
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1214
gcagatgttt gaccggatgt ttagactcta taaatcagcg t 41
<210> 1215
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1215
tgcttgatgt attcggccat cgtagactct ataaatcagc gt 42
<210> 1216
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1216
tgagtttact tgcacggaaa ggtagactct ataaatcagc gt 42
<210> 1217
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1217
cactttatcc cgcagttcag tttagactct ataaatcagc gt 42
<210> 1218
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1218

gcaaagcatg tagccattcc ctagactcta taaatcagcg t 41

<210> 1219

<211> 43

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 1219

aaagacatct cgagctgcta atgtagactc tataaatcag cgt 43

<210> 1220

<211> 43

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 1220

gtcaccaccc atagtatgag ttttagactc tataaatcag cgt 43

<210> 1221

<211> 43

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 1221

tttctaccta aggctctgat gcatagactc tataaatcag cgt 43

<210> 1222

<211> 41

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 1222

tagagctgca cggaaagatt ttagactcta taaatcagcg t 41

<210> 1223

<211> 43

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 1223
gtgtagcata tgaatcgaca tcatagactc tataaatcag cgt 43
<210> 1224
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1224
tagccttgta tggcagaatc gtagacctaa attactgtga atg 43
<210> 1225
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1225
tgaattgccc tgggtataac tcctagacct aaattactgt gaatg 45
<210> 1226
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1226
ttcctgttgc aacgtgaggg tagacctaaa ttactgtgaa tg 42
<210> 1227
<211> 46
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1227
atgaaagaca cgatcaaaat tgaatagacc taaattactg tgaatg 46
<210> 1228
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1228
gtcagcacga agtgagttca atagacctaa attactgtga atg 43
<210> 1229
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1229
cagtttgcag cgtagaatct cttagacct aattactgtg aatg 44
<210> 1230
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1230
gtgcagataa tacgtgtcct tgctagacct aaattactgt gaatg 45
<210> 1231
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1231
tccaatgagt atgacaagtc cattagacct aaattactgt gaatg 45
<210> 1232
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1232
tgtaagaaag ctcggtcttc aaatagacct aaattactgt gaatg 45
<210> 1233
<211> 46
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 1233

ccatgtaaga tacacgtaag agaatagacc taaattactg tgaatg 46

<210> 1234

<211> 46

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 1234

gactcaagag catttcgtaa ttgttagacc taaattactg tgaatg 46

<210> 1235

<211> 46

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 1235

atgtcattag tcacctcaag ttcttagacc taaattactg tgaatg 46

<210> 1236

<211> 39

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 1236

ccgcactcgc acgcagatag acctaaatta ctgtgaatg 39

<210> 1237

<211> 47

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 靶标特异性寡核苷酸

<400> 1237

tgttaacagt atcgtgaata tcacttagac ctaaattact gtgaatg 47

<210> 1238

<211> 45

<212> DNA

<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1238
actttgccat ctataaggga ggtagacct aaattactgt gaatg 45
<210> 1239
<211> 48
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1239
cttgctatct cgataattta tgaaactaga cctaaattac tgtgaatg 48
<210> 1240
<211> 48
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1240
ttaatgtatc aagagtgtta ctgaaataga cctaaattac tgtgaatg 48
<210> 1241
<211> 46
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1241
tcaaattggga taccttaaca gatctagacc taaattactg tgaatg 46
<210> 1242
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1242
ataaataagc ttcgatttat attacagcta gacctaaatt actgtgaatg 50
<210> 1243
<211> 45

<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1243
cttgtgtggt aggattaacc tggtagacct aaattactgt gaatg 45
<210> 1244
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1244
gttgggtcaac tcgagcatct ttagacctaa attactgtga atg 43
<210> 1245
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1245
tttggtttgt aggcctgtag cttagacctaa aattactgtg aatg 44
<210> 1246
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1246
cattaggcag taactcttgt tcctagacct aaattactgt gaatg 45
<210> 1247
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 靶标特异性寡核苷酸
<400> 1247
cttctcagat acgcttcttc ttatagacct aaattactgt gaatg 45
<210> 1248

<211> 31
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1248
ggctaatttta ttaccttcta gctataacga t 31
<210> 1249
<211> 31
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1249
accttaagaa tggaattcta gctataacga t 31
<210> 1250
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1250
acttaacttg agtggcttag ctataacgat 30
<210> 1251
<211> 29
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1251
ggctaatttta ttacctcggc ctagatgga 29
<210> 1252
<211> 29
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1252
accttaagaa tggaatcggc ctagatgga 29

<210> 1253
<211> 28
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1253
acttaacttg agtggcggtc tagatgga 28
<210> 1254
<211> 32
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1254
ggctaattta ttacctgtta actccgtagt aa 32
<210> 1255
<211> 32
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1255
acctaagaa tggaatgtta actccgtagt aa 32
<210> 1256
<211> 31
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1256
acttaacttg agtgggttaa ctccgtagta a 31
<210> 1257
<211> 31
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1257

ggctaatttta ttacctcgct atatctactg a 31

<210> 1258

<211> 31

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 解码寡核苷酸

<400> 1258

accttaagaa tggaatcgct atatctactg a 31

<210> 1259

<211> 30

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 解码寡核苷酸

<400> 1259

acttaacttg agtggcgcta tatctactga 30

<210> 1260

<211> 30

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 解码寡核苷酸

<400> 1260

ggctaatttta ttacctgttt ccgtttcgaa 30

<210> 1261

<211> 30

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 解码寡核苷酸

<400> 1261

accttaagaa tggaatgttt ccgtttcgaa 30

<210> 1262

<211> 29

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 解码寡核苷酸

<400> 1262
acttaacttg agtgggtttc cgtttcgaa 29
<210> 1263
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1263
ggctaattta ttaccttagc gtttcaaaag 30
<210> 1264
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1264
acctaagaa tggaattagc gtttcaaaag 30
<210> 1265
<211> 29
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1265
acttaacttg agtggtagcg tttcaaaag 29
<210> 1266
<211> 28
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1266
ggctaattta ttaccttgat ccgacgag 28
<210> 1267
<211> 28
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>

<223> 解码寡核苷酸
<400> 1267
accttaagaa tggaattgat ccgacgag 28
<210> 1268
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1268
acttaacttg agtggatgatc cgacgag 27
<210> 1269
<211> 31
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1269
ggctaattta ttacctaatac tacatgtctg a 31
<210> 1270
<211> 31
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1270
accttaagaa tggaataatac tacatgtctg a 31
<210> 1271
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1271
acttaacttg agtggatctt acatgtctga 30
<210> 1272
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1272
ggctaattta ttacctggac gttgaataca 30
<210> 1273
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1273
accttaagaa tggaatggac gttgaataca 30
<210> 1274
<211> 29
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1274
acttaacttg agtggggacg ttgaataca 29
<210> 1275
<211> 31
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1275
ggctaattta ttaccttaaa gtgacaattc a 31
<210> 1276
<211> 31
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1276
accttaagaa tggaattaaa gtgacaattc a 31
<210> 1277
<211> 30
<212> DNA

<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1277
acttaacttg agtggtaaag tgacaattca 30
<210> 1278
<211> 32
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1278
ggctaattta ttacctgatt cccataatta gg 32
<210> 1279
<211> 32
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1279
accttaagaa tggaatgatt cccataatta gg 32
<210> 1280
<211> 31
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1280
acttaacttg agtgggattc ccataattag g 31
<210> 1281
<211> 33
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1281
ggctaattta ttacctcgtc gtataaatct atc 33
<210> 1282
<211> 33

<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1282
accttaagaa tggaatcgtc gtataaatct atc 33
<210> 1283
<211> 32
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1283
acttaacttg agtggcgtcg tataaatcta tc 32
<210> 1284
<211> 34
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1284
ggctaattta ttacctgatg tctatccttt ataa 34
<210> 1285
<211> 34
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1285
accttaagaa tggaatgatg tctatccttt ataa 34
<210> 1286
<211> 33
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1286
acttaacttg agtgggatgt ctatccttta taa 33
<210> 1287

<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1287
ggctaatttta ttaccttttc cacgataacc 30
<210> 1288
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1288
accttaagaa tggaattttc cacgataacc 30
<210> 1289
<211> 29
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1289
acttaacttg agtggtttcc acgataacc 29
<210> 1290
<211> 31
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1290
ggctaatttta ttaccttagt accgaataag g 31
<210> 1291
<211> 31
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1291
accttaagaa tggaattagt accgaataag g 31

<210> 1292
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1292
acttaacttg agtggtagta ccgaataagg 30
<210> 1293
<211> 32
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1293
ggctaattta ttaccttaa gttgtaaaat cc 32
<210> 1294
<211> 32
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1294
accttaagaa tggaattaaa gttgtaaaat cc 32
<210> 1295
<211> 31
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1295
acttaacttg agtggtaaag ttgtaaaatc c 31
<210> 1296
<211> 32
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1296

ggctaattta ttacctggat aagtcggtaa tc 32

<210> 1297

<211> 32

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 解码寡核苷酸

<400> 1297

accttaagaa tggaatggat aagtcggtaa tc 32

<210> 1298

<211> 31

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 解码寡核苷酸

<400> 1298

acttaacttg agtggggata agtcggtaat c 31

<210> 1299

<211> 33

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 解码寡核苷酸

<400> 1299

ggctaattta ttacctggta tttcactcta att 33

<210> 1300

<211> 33

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 解码寡核苷酸

<400> 1300

accttaagaa tggaatggta tttcactcta att 33

<210> 1301

<211> 32

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 解码寡核苷酸

<400> 1301
acttaacttg agtggggtat ttcactctaa tt 32
<210> 1302
<211> 32
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1302
ggctaattta ttacctagct agataaagta cc 32
<210> 1303
<211> 32
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1303
acctaagaa tggaatagct agataaagta cc 32
<210> 1304
<211> 31
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1304
acttaacttg agtggagcta gataaagta c 31
<210> 1305
<211> 32
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1305
ggctaattta ttacctccga aactacgatt at 32
<210> 1306
<211> 32
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>

<223> 解码寡核苷酸
<400> 1306
accttaagaa tggaatccga aactacgatt at 32
<210> 1307
<211> 31
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1307
acttaacttg agtggccgaa actacgatta t 31
<210> 1308
<211> 32
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1308
ggctaattta ttacctcatc gaatttatgt ta 32
<210> 1309
<211> 32
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1309
accttaagaa tggaatcatc gaatttatgt ta 32
<210> 1310
<211> 31
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1310
acttaacttg agtggcatcg aatttatggt a 31
<210> 1311
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1311
ggctaatttta ttacctccgt aattctaccg 30
<210> 1312
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1312
accttaagaa tggaatccgt aattctaccg 30
<210> 1313
<211> 29
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1313
acttaacttg agtggccgta attctaccg 29
<210> 1314
<211> 29
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1314
ggctaatttta ttacctgggt aatcgtcac 29
<210> 1315
<211> 29
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1315
accttaagaa tggaatgggt aatcgtcac 29
<210> 1316
<211> 28
<212> DNA

<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1316
acttaacttg agtgggggta atcgtcac 28
<210> 1317
<211> 31
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1317
ggctaattta ttacctagtg ttatgagaag c 31
<210> 1318
<211> 31
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1318
accttaagaa tggaatagtg ttatgagaag c 31
<210> 1319
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1319
acttaacttg agtggagtgt tatgagaagc 30
<210> 1320
<211> 31
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1320
ggctaattta ttacctctgc aatagaagag a 31
<210> 1321
<211> 31

<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1321
accttaagaa tggaatctgc aatagaagag a 31
<210> 1322
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1322
acttaacttg agtggctgca atagaagaga 30
<210> 1323
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1323
ggctaattta ttacctgatt tttcagcgac 30
<210> 1324
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1324
accttaagaa tggaatgatt tttcagcgac 30
<210> 1325
<211> 29
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1325
acttaacttg agtgggattt ttcagcgac 29
<210> 1326

<211> 32
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1326
ggctaatttta ttacctcgta atatgaagat ca 32
<210> 1327
<211> 32
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1327
accttaagaa tggaatcgta atatgaagat ca 32
<210> 1328
<211> 31
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1328
acttaacttg agtggcgtaa tatgaagatc a 31
<210> 1329
<211> 32
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1329
ggctaatttta ttacctgaat tggaatattc gt 32
<210> 1330
<211> 32
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1330
accttaagaa tggaatgaat tggaatattc gt 32

<210> 1331
<211> 31
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1331
acttaacttg agtgggaatt ggaatattcg t 31
<210> 1332
<211> 33
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1332
ggctaattta ttacctggta ttaatcttga aga 33
<210> 1333
<211> 33
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1333
accttaagaa tggaatggta ttaatcttga aga 33
<210> 1334
<211> 32
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1334
acttaacttg agtggggatat taatcttgaa ga 32
<210> 1335
<211> 29
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1335

ggctaattta ttacctacga tgtattgcc 29
<210> 1336
<211> 29
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1336
accttaagaa tggaatacga tgtattgcc 29
<210> 1337
<211> 28
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1337
acttaacttg agtggacgat gtattgcc 28
<210> 1338
<211> 32
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1338
ggctaattta ttacctcata tacaaacggt ac 32
<210> 1339
<211> 32
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1339
accttaagaa tggaatcata tacaaacggt ac 32
<210> 1340
<211> 31
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸

<400> 1340
acttaacttg agtggcatat acaaacggta c 31
<210> 1341
<211> 31
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1341
ggctaattta ttacctttcc gatcttaact t 31
<210> 1342
<211> 31
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1342
accttaagaa tggaatttcc gatcttaact t 31
<210> 1343
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1343
acttaacttg agtggttccg atcttaactt 30
<210> 1344
<211> 31
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1344
ggctaattta ttacctgtgt taattcgcat c 31
<210> 1345
<211> 31
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>

<223> 解码寡核苷酸
<400> 1345
accttaagaa tggaatgtgt taattcgcat c 31
<210> 1346
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1346
acttaacttg agtgggtggt aattcgcatc 30
<210> 1347
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1347
ggctaattta ttacctcgtt taattgggct 30
<210> 1348
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1348
accttaagaa tggaatcggt taattgggct 30
<210> 1349
<211> 29
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1349
acttaacttg agtggcggtt aattgggct 29
<210> 1350
<211> 31
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1350
ggctaatttta ttacctcaac acttataacg g 31
<210> 1351
<211> 31
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1351
accttaagaa tggaatcaac acttataacg g 31
<210> 1352
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1352
acttaacttg agtggcaaca cttataacgg 30
<210> 1353
<211> 34
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1353
ggctaatttta ttacctggaa ataagtatta tacc 34
<210> 1354
<211> 34
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1354
accttaagaa tggaatggaa ataagtatta tacc 34
<210> 1355
<211> 33
<212> DNA

<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1355
acttaacttg agtggggaaa taagtattat acc 33
<210> 1356
<211> 29
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1356
ggctaattta ttacctctta acgacggtt 29
<210> 1357
<211> 29
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1357
accttaagaa tggaatctta acgacggtt 29
<210> 1358
<211> 28
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1358
acttaacttg agtggcttaa cgacggtt 28
<210> 1359
<211> 33
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1359
ggctaattta ttacctgctc gtagaattt att 33
<210> 1360
<211> 33

<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1360
accttaagaa tggaatgctc gttagaattt att 33
<210> 1361
<211> 32
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1361
acttaacttg agtgggctcg ttagaattta tt 32
<210> 1362
<211> 32
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1362
ggctaattta ttaccttctt tatcatcatt ga 32
<210> 1363
<211> 32
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1363
accttaagaa tggaattctt tatcatcatt ga 32
<210> 1364
<211> 31
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1364
acttaacttg agtgggtcttt atcatcattg a 31
<210> 1365

<211> 31
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1365
ggctaatttta ttacctcggt cgcaatttat c 31
<210> 1366
<211> 31
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1366
accttaagaa tggaatcggt cgcaatttat c 31
<210> 1367
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1367
acttaacttg agtggcggtt gcaatttatc 30
<210> 1368
<211> 31
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1368
ggctaatttta ttacctcgat cttttgttgt a 31
<210> 1369
<211> 31
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1369
accttaagaa tggaatcgat cttttgttgt a 31

<210> 1370
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1370
acttaacttg agtggcgatc ttttgttgta 30
<210> 1371
<211> 32
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1371
ggctaattta ttacctacca ctcaatataa ga 32
<210> 1372
<211> 32
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1372
accttaagaa tggaatacca ctcaatataa ga 32
<210> 1373
<211> 31
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1373
acttaacttg agtggaccac tcaatataag a 31
<210> 1374
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1374

ggctaatttta ttacctccgt aaattcggtc 30

<210> 1375

<211> 30

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 解码寡核苷酸

<400> 1375

accttaagaa tggaatccgt aaattcggtc 30

<210> 1376

<211> 29

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 解码寡核苷酸

<400> 1376

acttaacttg agtggccgta aattcggtc 29

<210> 1377

<211> 30

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 解码寡核苷酸

<400> 1377

ggctaatttta ttacctcgtg agatttctga 30

<210> 1378

<211> 30

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 解码寡核苷酸

<400> 1378

accttaagaa tggaatcgtg agatttctga 30

<210> 1379

<211> 29

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 解码寡核苷酸

<400> 1379
acttaacttg agtggcgtga gatttctga 29
<210> 1380
<211> 31
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1380
ggctaattta ttacctcgaa gcatagaata g 31
<210> 1381
<211> 31
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1381
accttaagaa tggaatcgaa gcatagaata g 31
<210> 1382
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1382
acttaacttg agtggcgaag catagaatag 30
<210> 1383
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1383
ggctaattta ttacctaaaa tacgggagac 30
<210> 1384
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>

<223> 解码寡核苷酸
<400> 1384
accttaagaa tggaataaaa tacgggagac 30
<210> 1385
<211> 29
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1385
acttaacttg agtggaaaat acgggagac 29
<210> 1386
<211> 31
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1386
ggctaattta ttacctcgca tggtataaca t 31
<210> 1387
<211> 31
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1387
accttaagaa tggaatcgca tggtataaca t 31
<210> 1388
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1388
acttaacttg agtggcgcat ggtataacat 30
<210> 1389
<211> 31
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1389
ggctaattta ttacctacgc tgatttatag a 31
<210> 1390
<211> 31
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1390
accttaagaa tggaatacgc tgatttatag a 31
<210> 1391
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1391
acttaacttg agtggacgct gatttataga 30
<210> 1392
<211> 33
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1392
ggctaattta ttacctcgta gggtaaataag att 33
<210> 1393
<211> 33
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1393
accttaagaa tggaatcgta gggtaaataag att 33
<210> 1394
<211> 32
<212> DNA

<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1394
acttaacttg agtggcgtag ggtaaata tag tt 32
<210> 1395
<211> 33
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1395
ggctaattta ttacctcatt cacagtaatt tag 33
<210> 1396
<211> 33
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1396
acctaagaa tggaatcatt cacagtaatt tag 33
<210> 1397
<211> 32
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 解码寡核苷酸
<400> 1397
acttaacttg agtggcattc acagtaattt ag 32
<210> 1398
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 信号寡核苷酸
<400> 1398
ccactcaagt taagt 15
<210> 1399
<211> 16

<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 信号寡核苷酸
<400> 1399
attccattct taaggt 16
<210> 1400
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 信号寡核苷酸
<400> 1400
aggtaataaa ttagcc 16

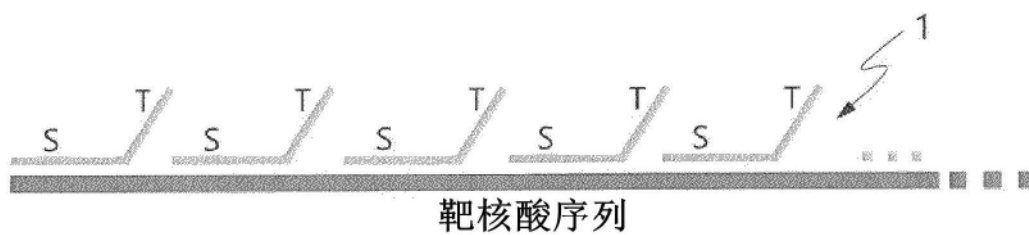


图1

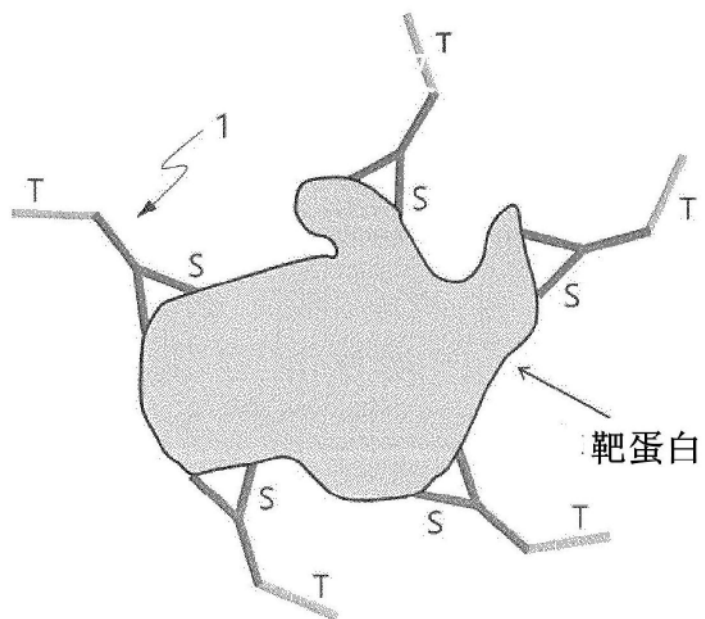


图2

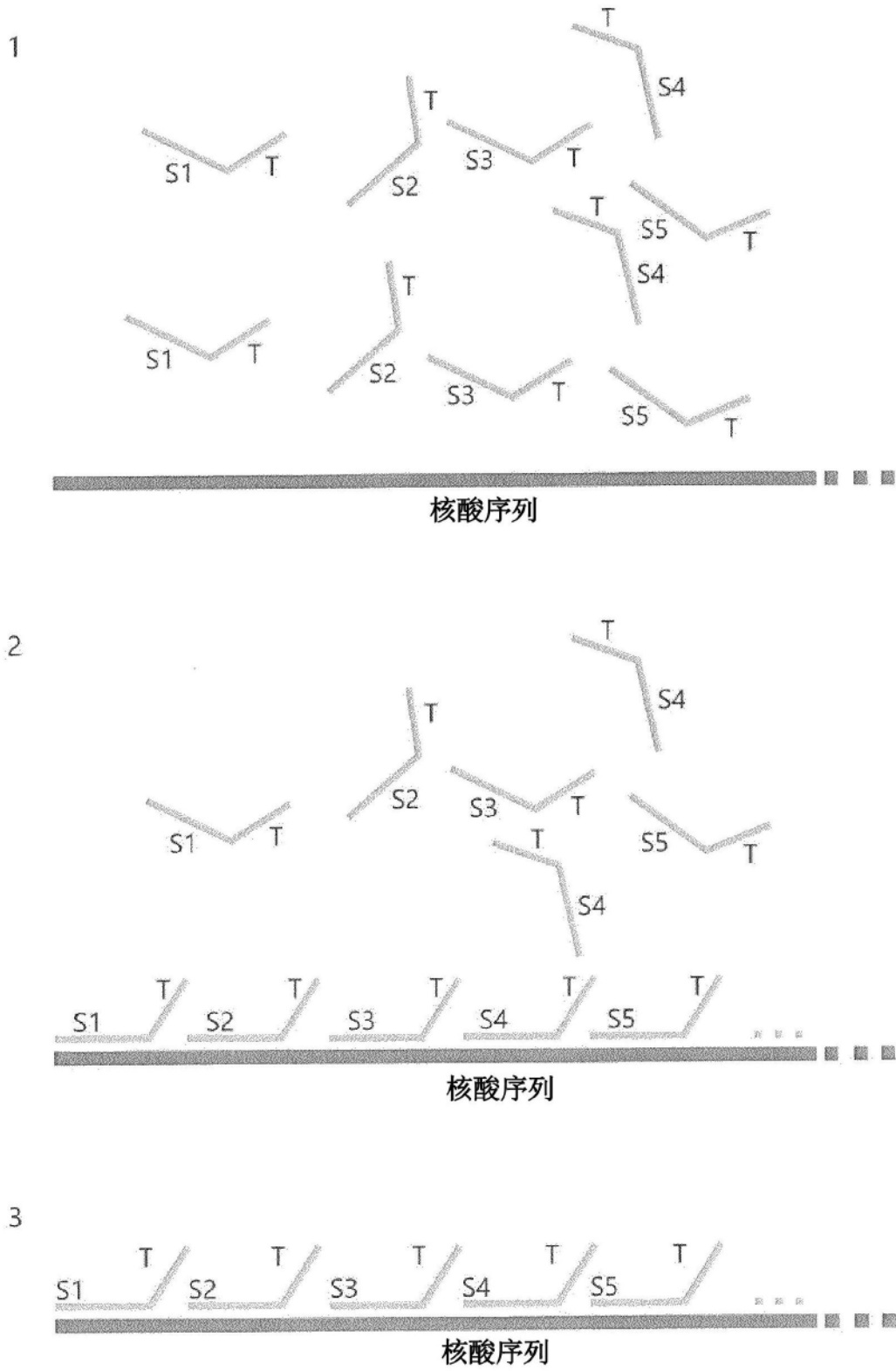


图3

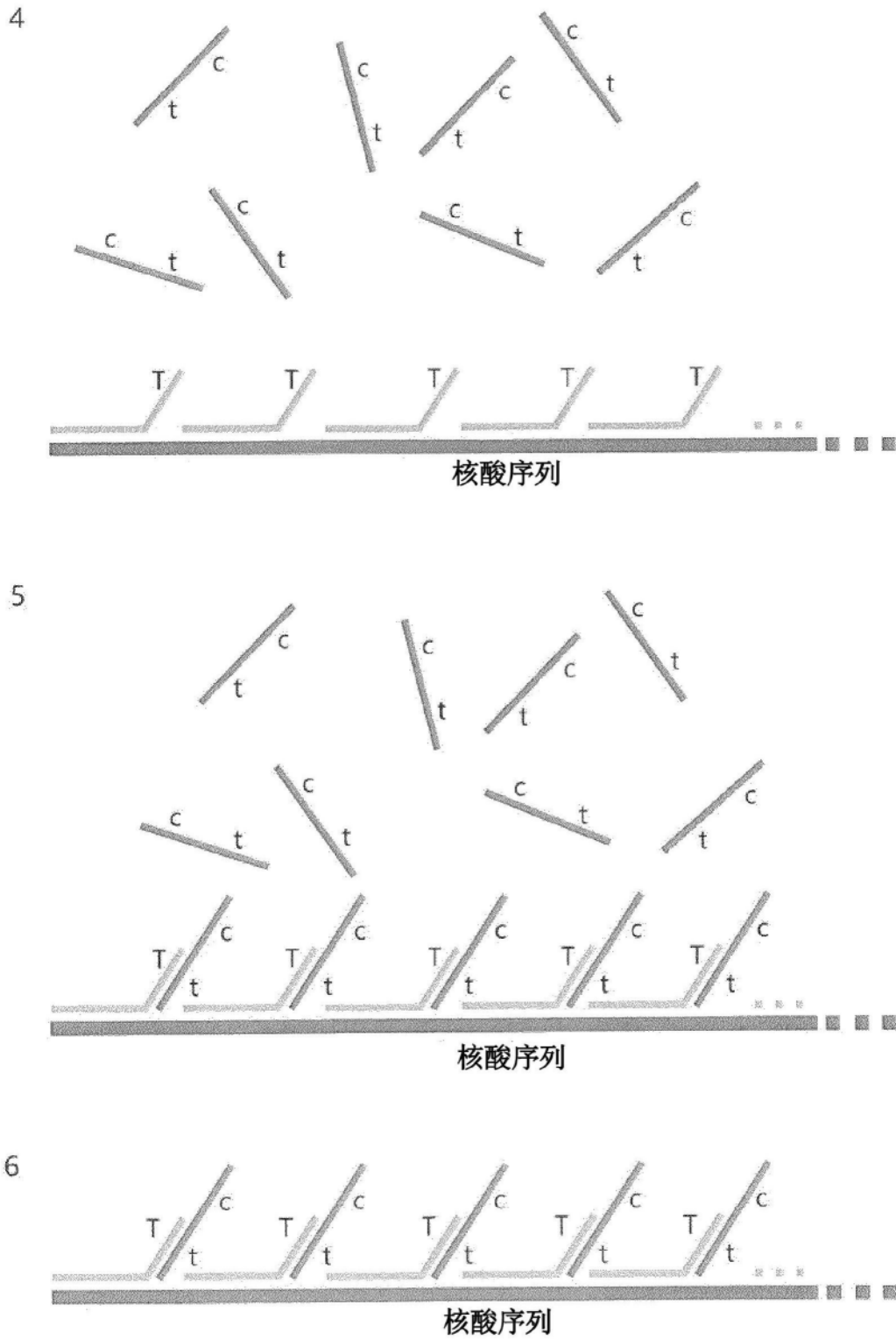


图3续

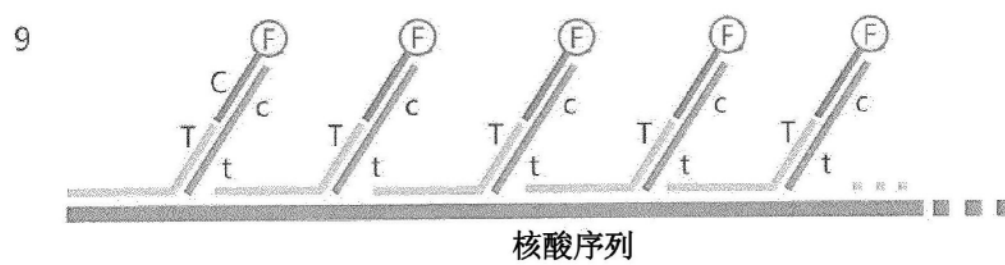
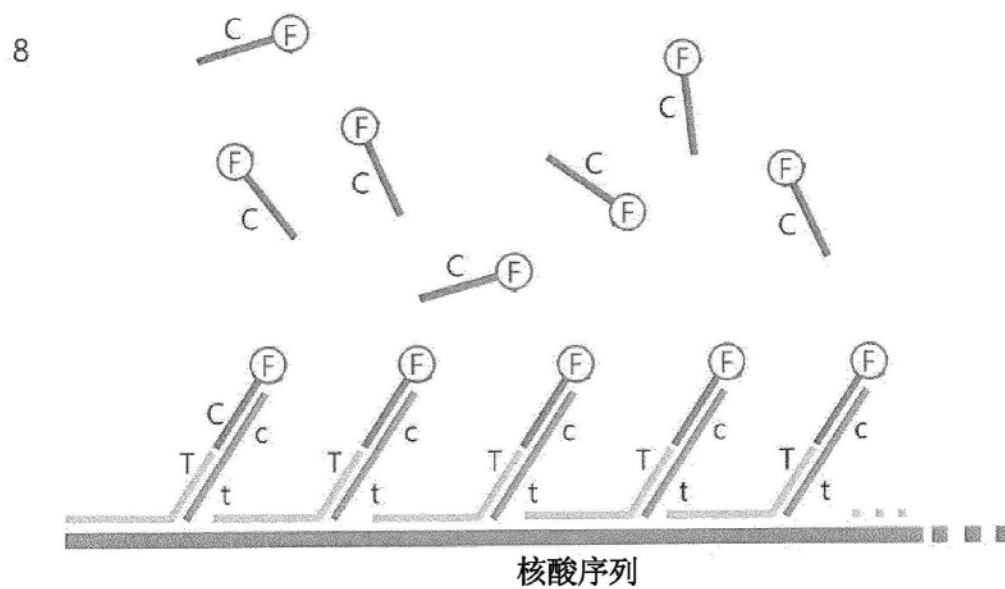
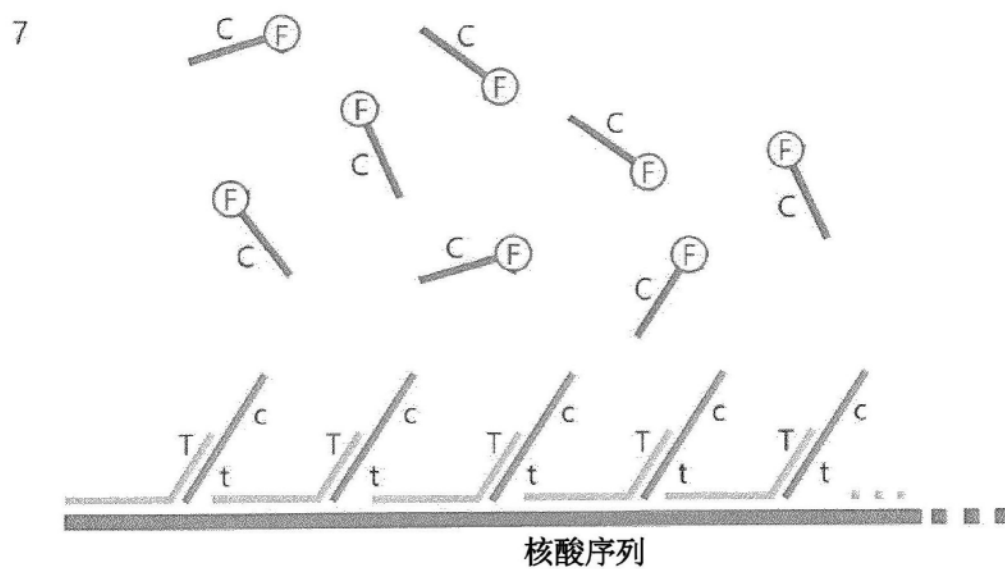
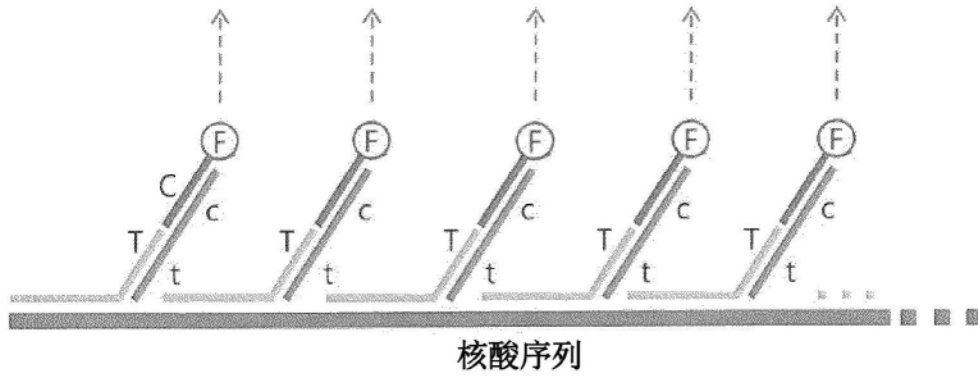
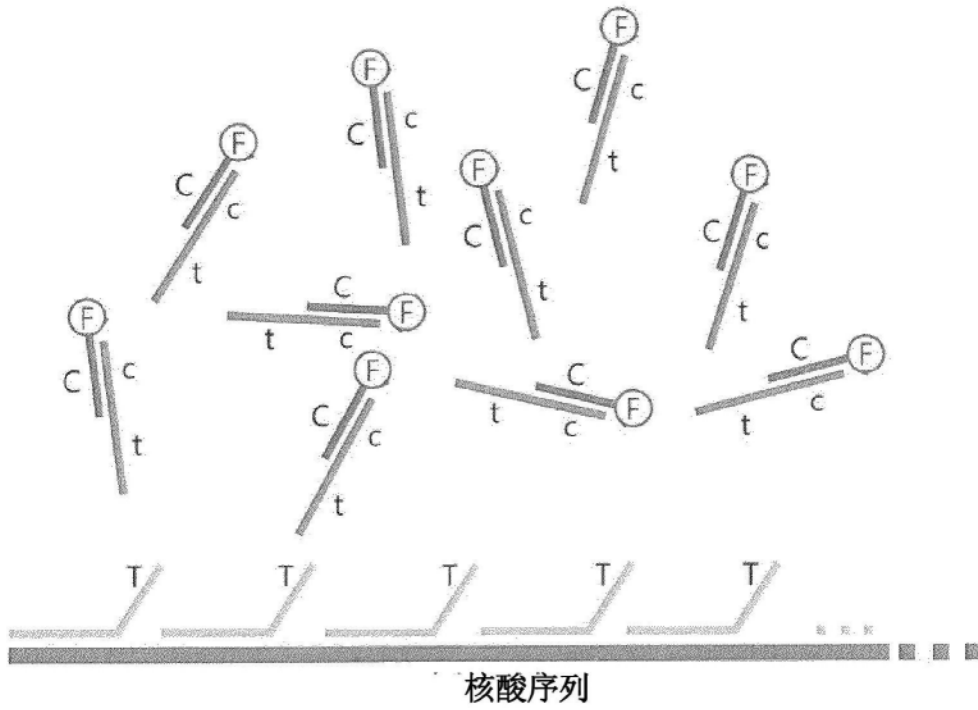


图3续

10



11



12

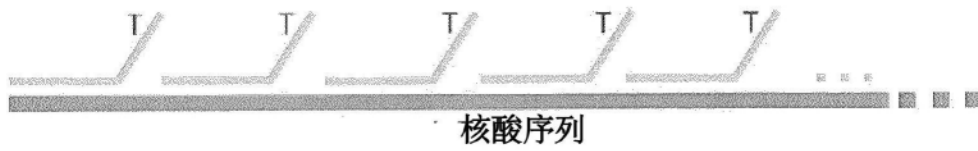
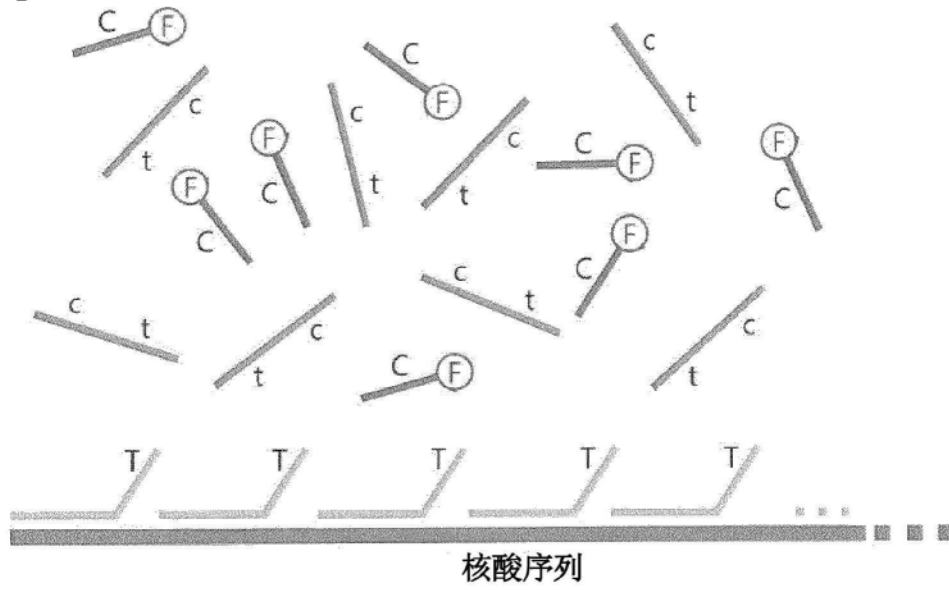


图3续

选择 1



选择 2

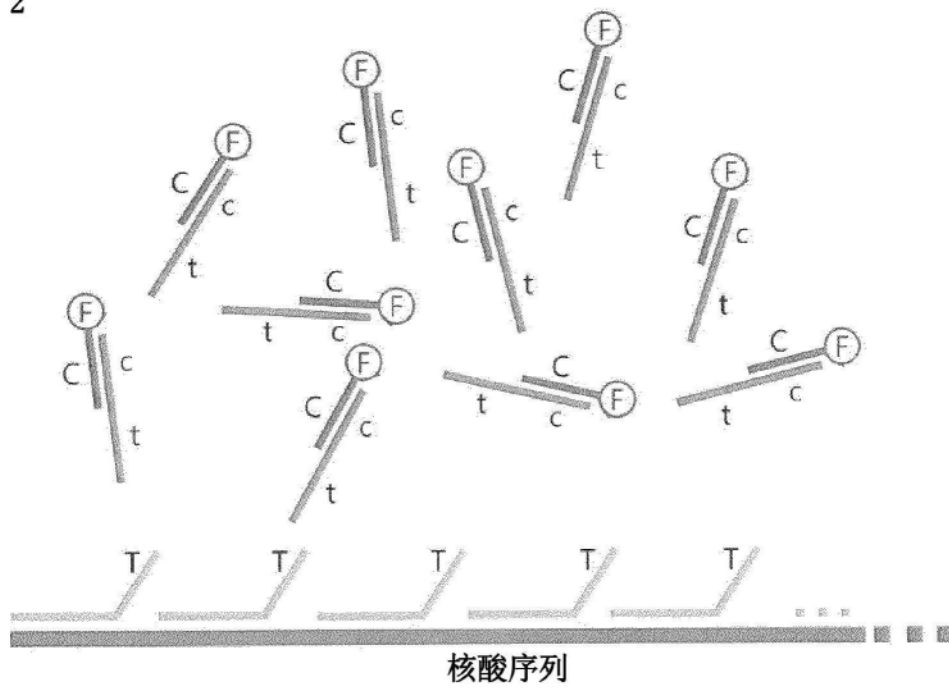


图4

1



核酸序列A



核酸序列B

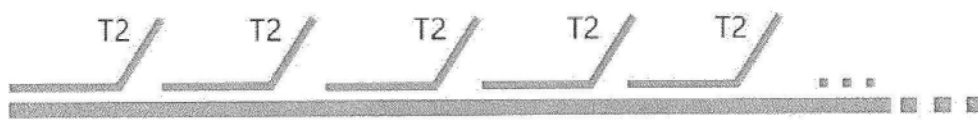


核酸序列C

2



核酸序列A



核酸序列B



核酸序列C

图5

3

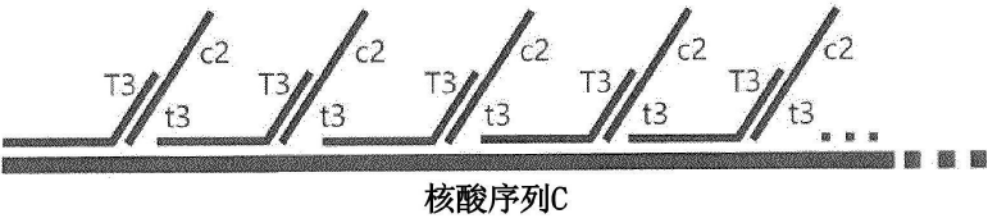
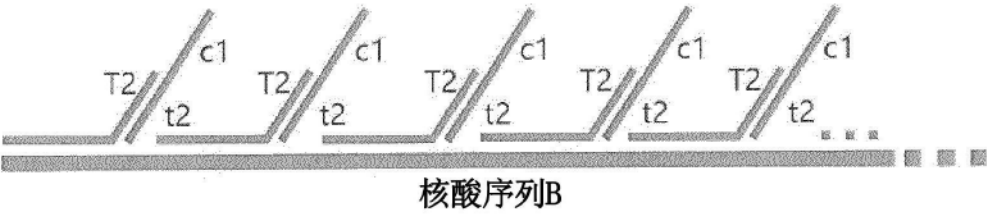
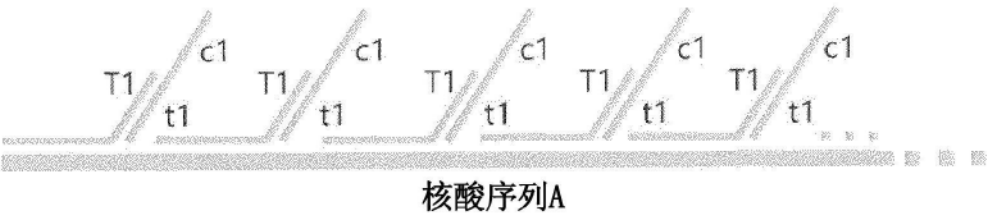


图5续

4

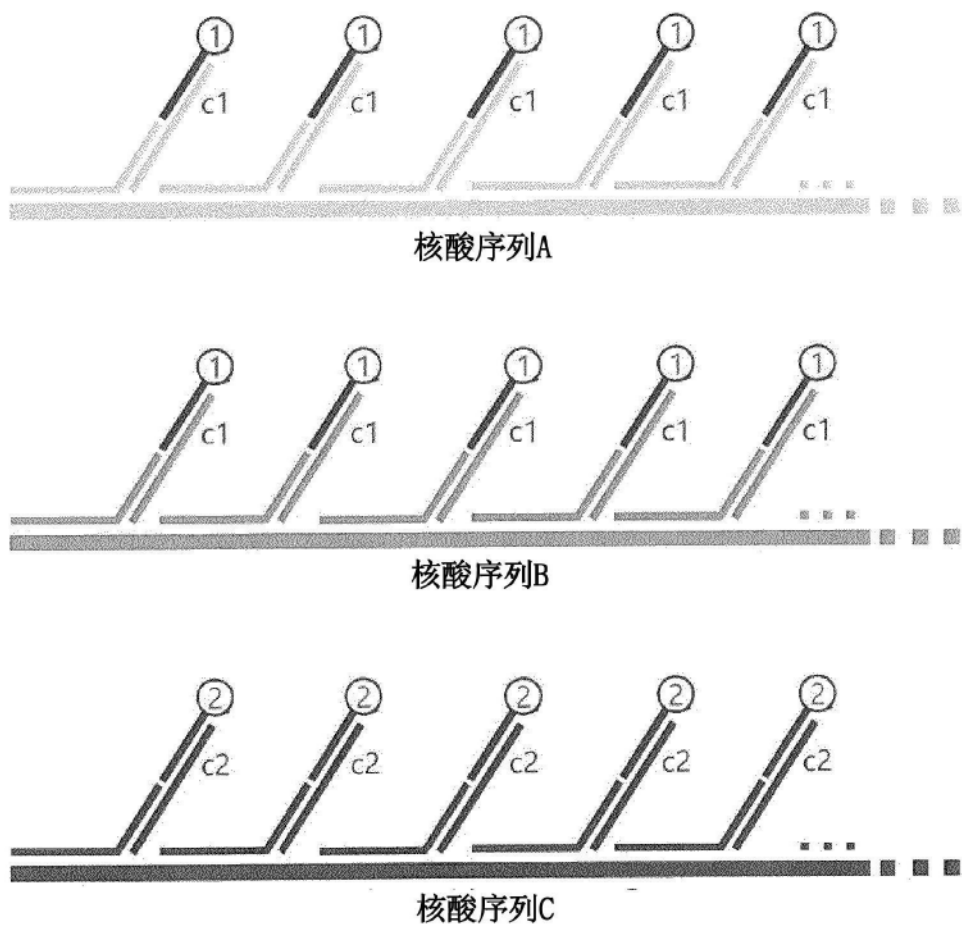


图5续

5

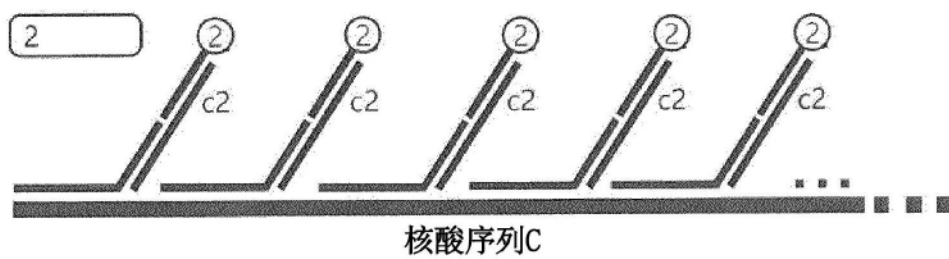
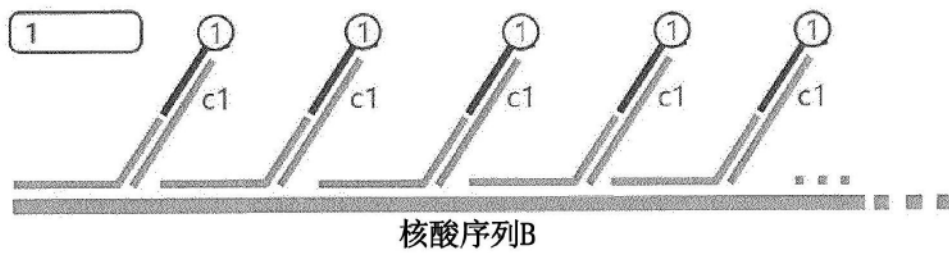
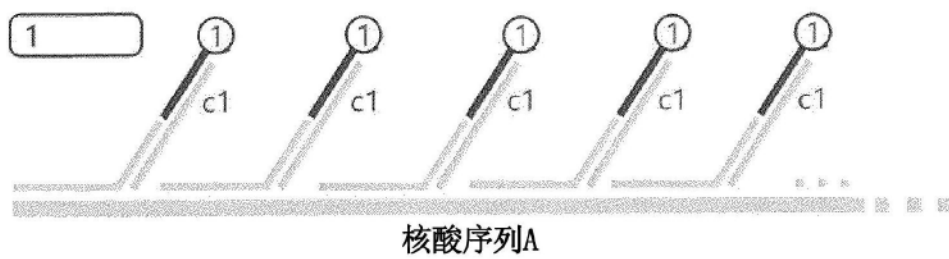


图5续

6

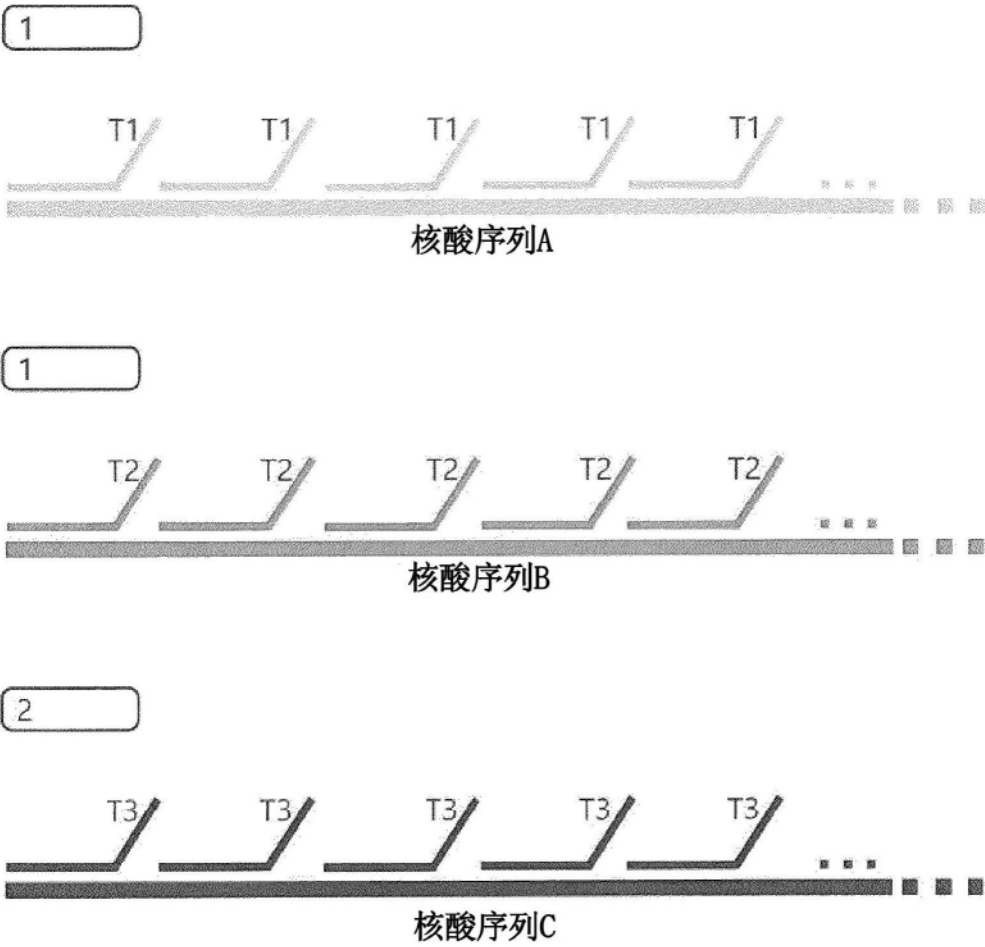


图5续

7

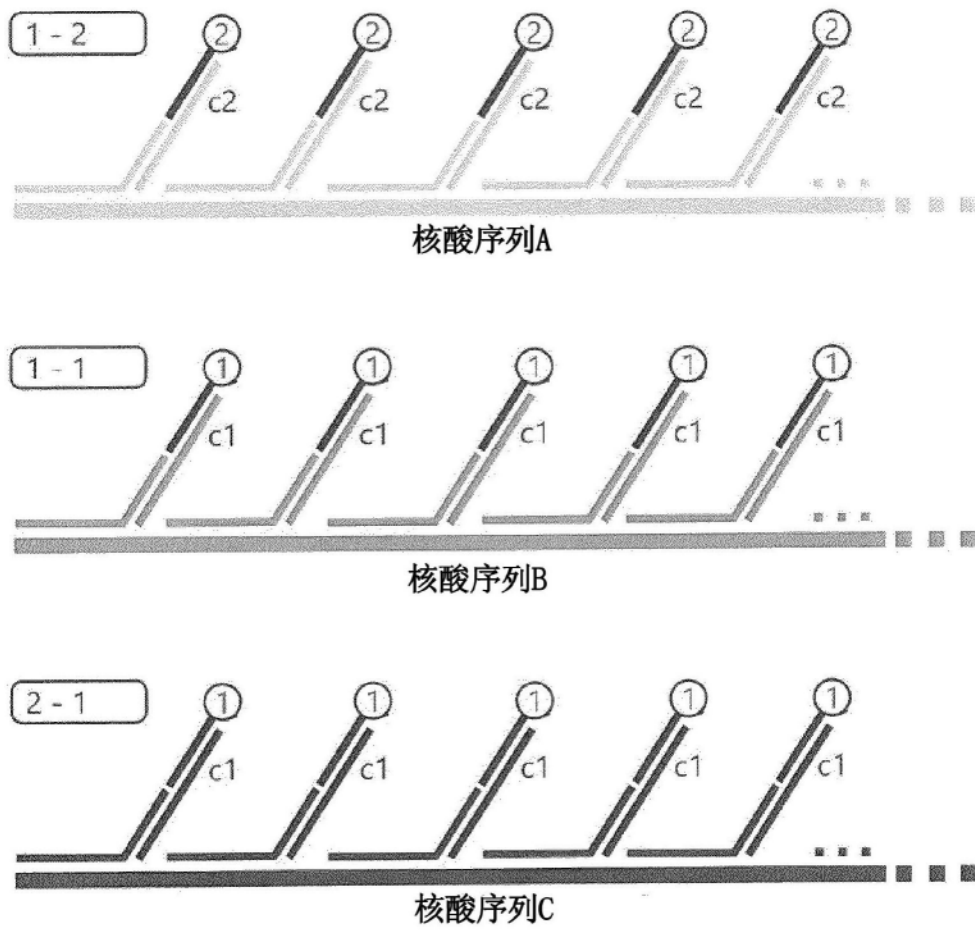


图5续

8

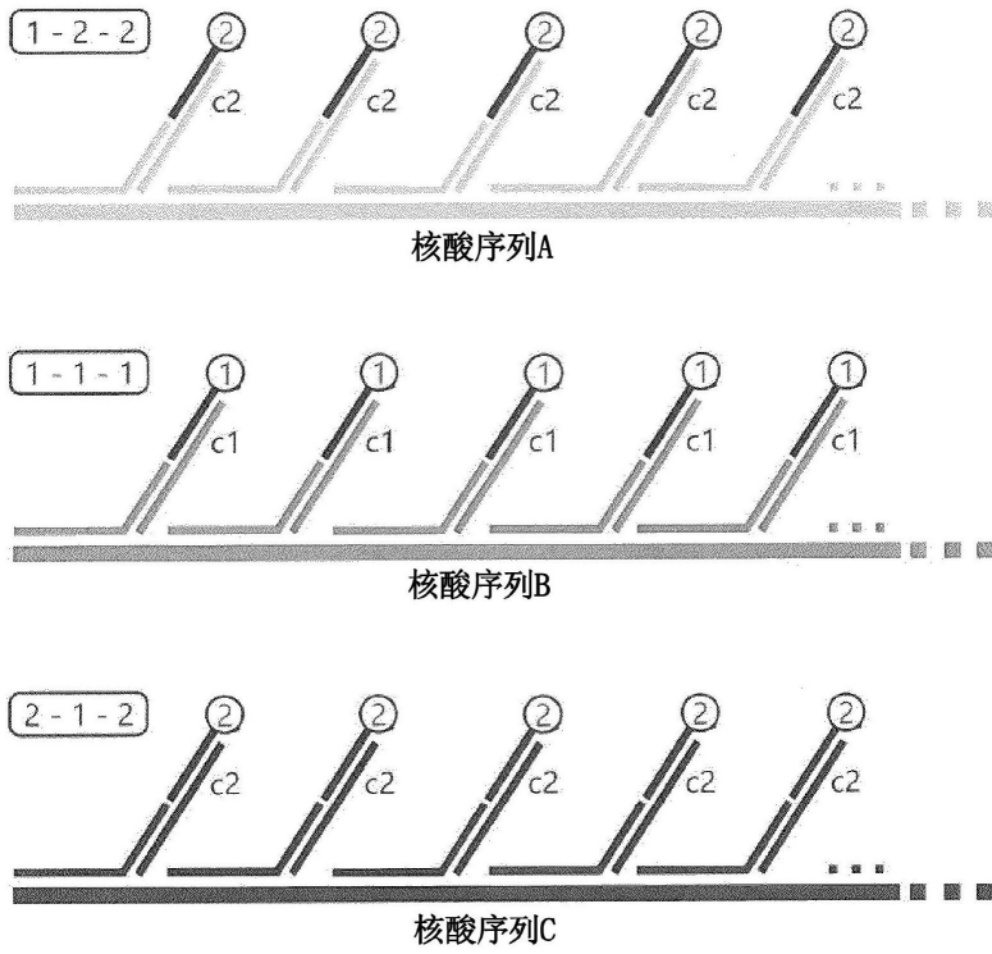


图5续

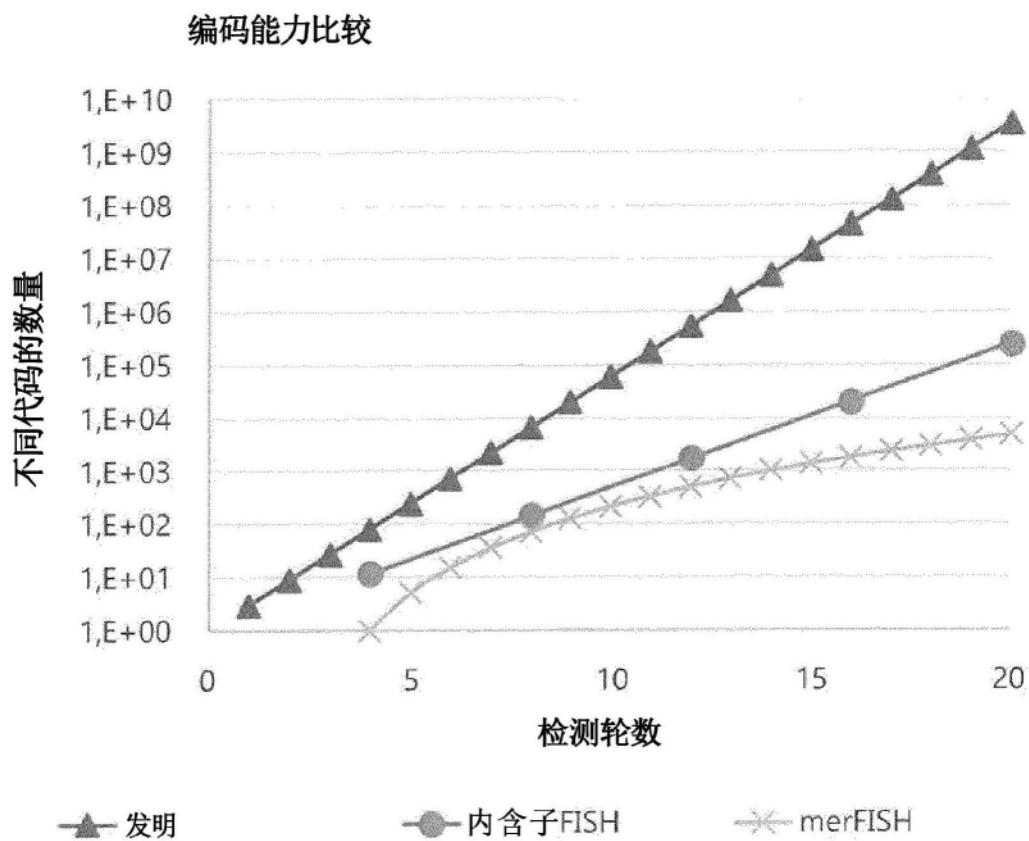


图6

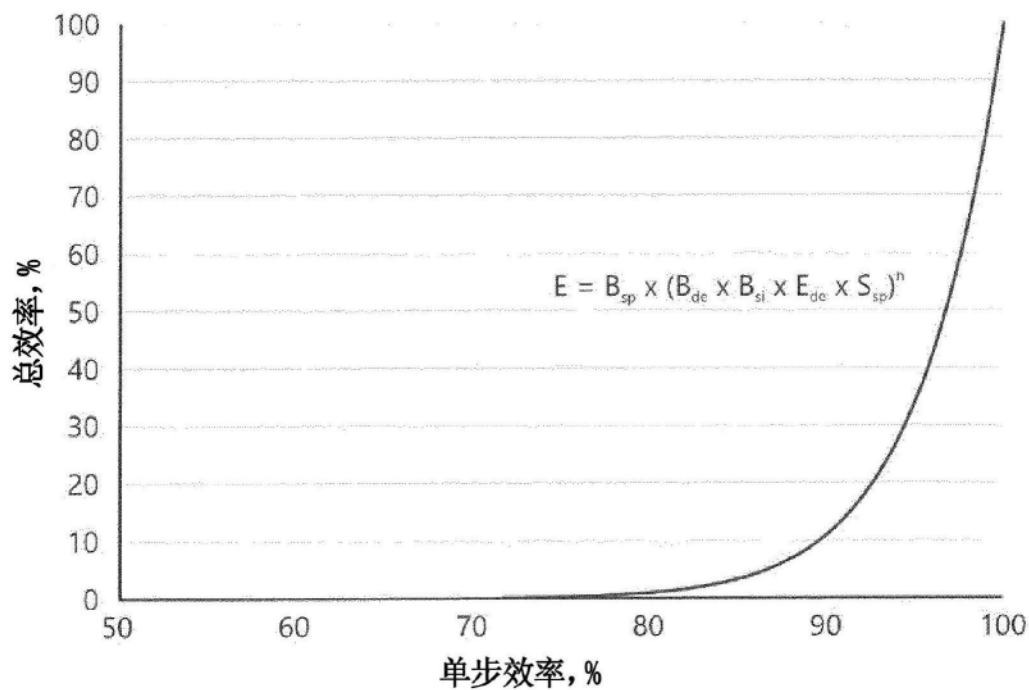


图7

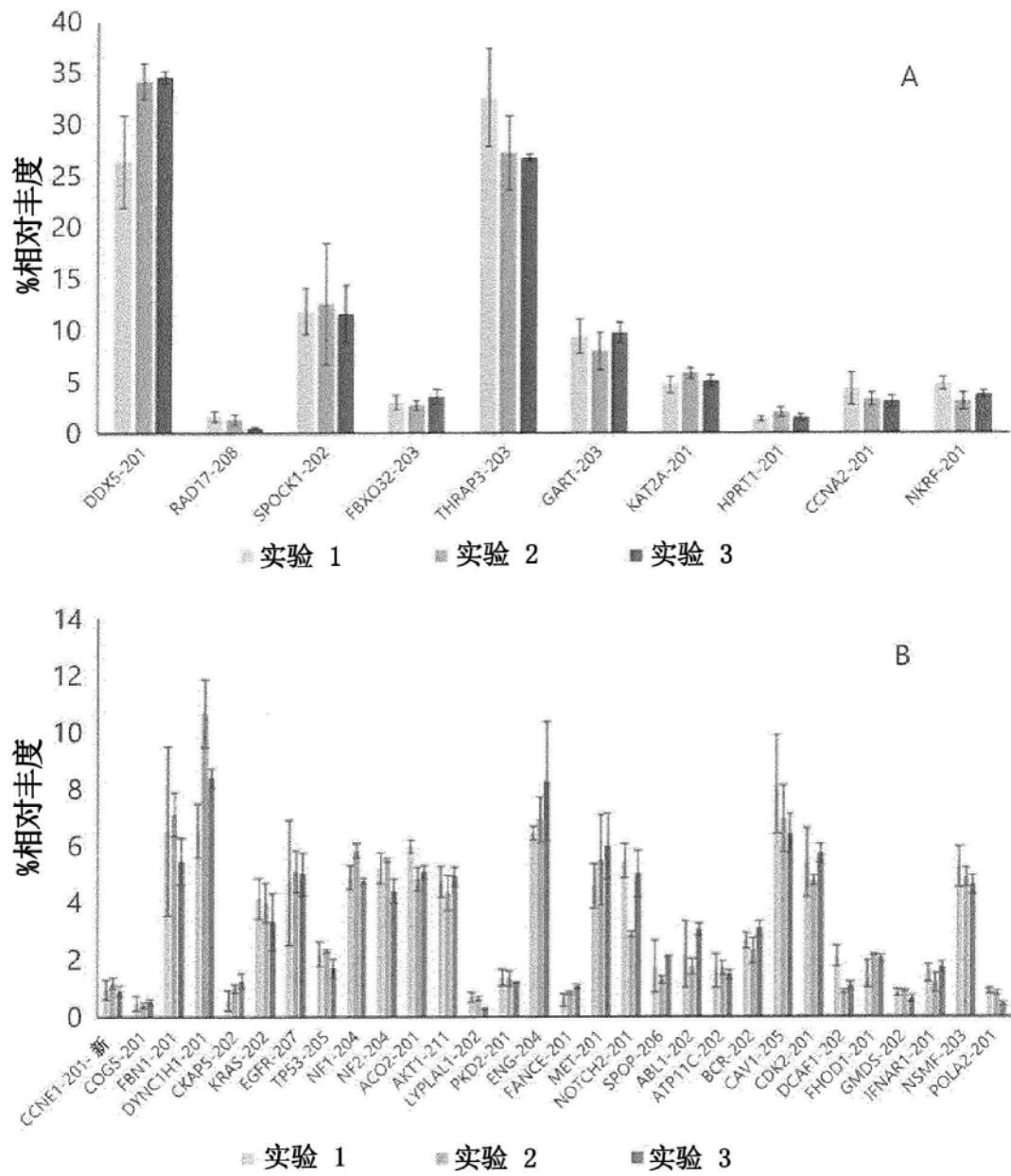


图8

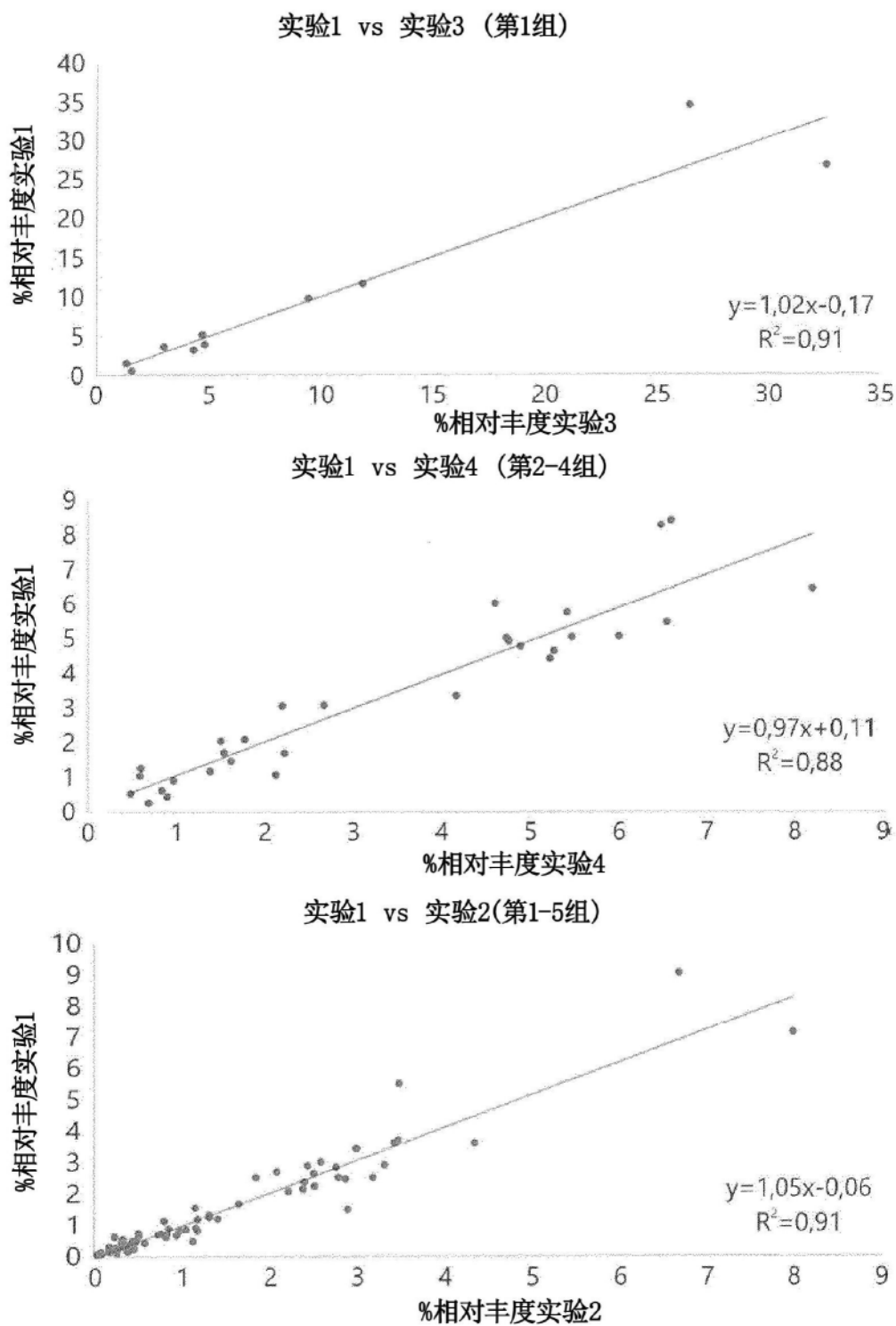


图9

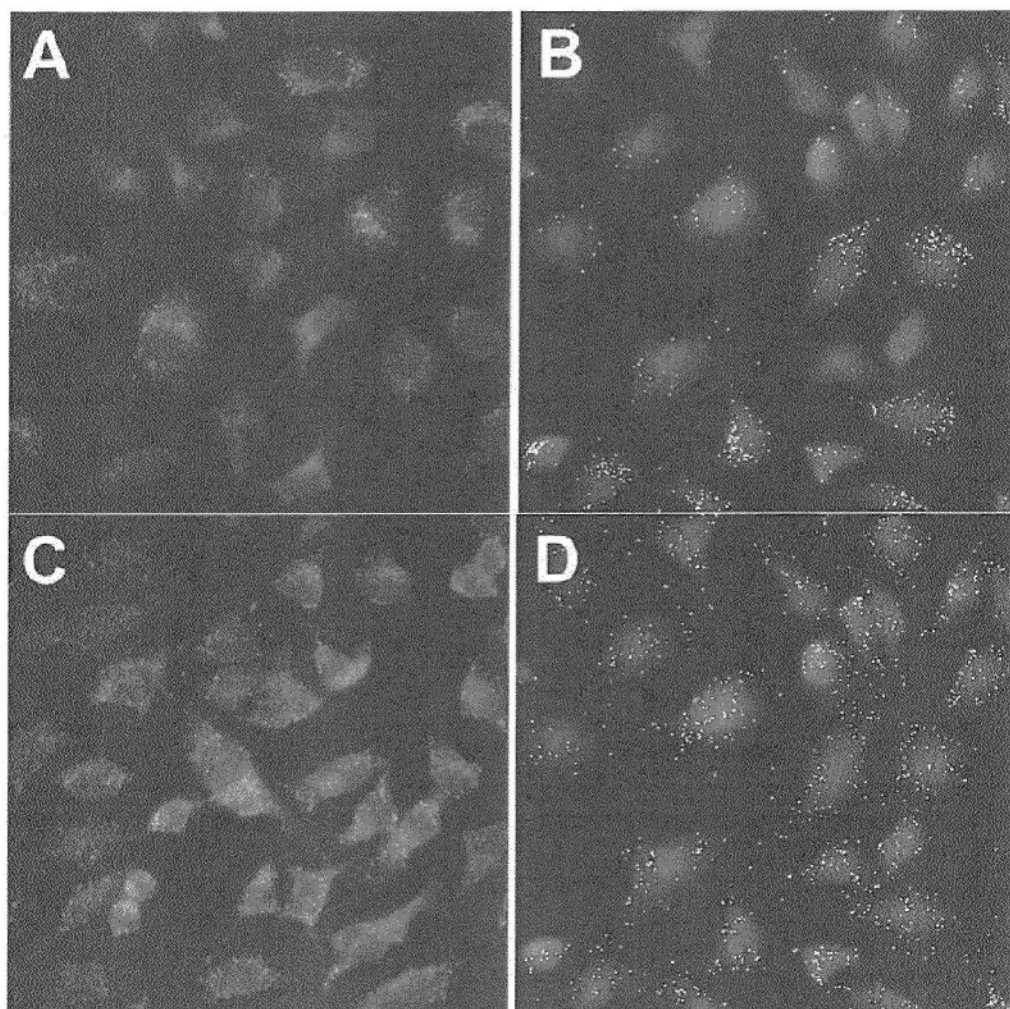


图10

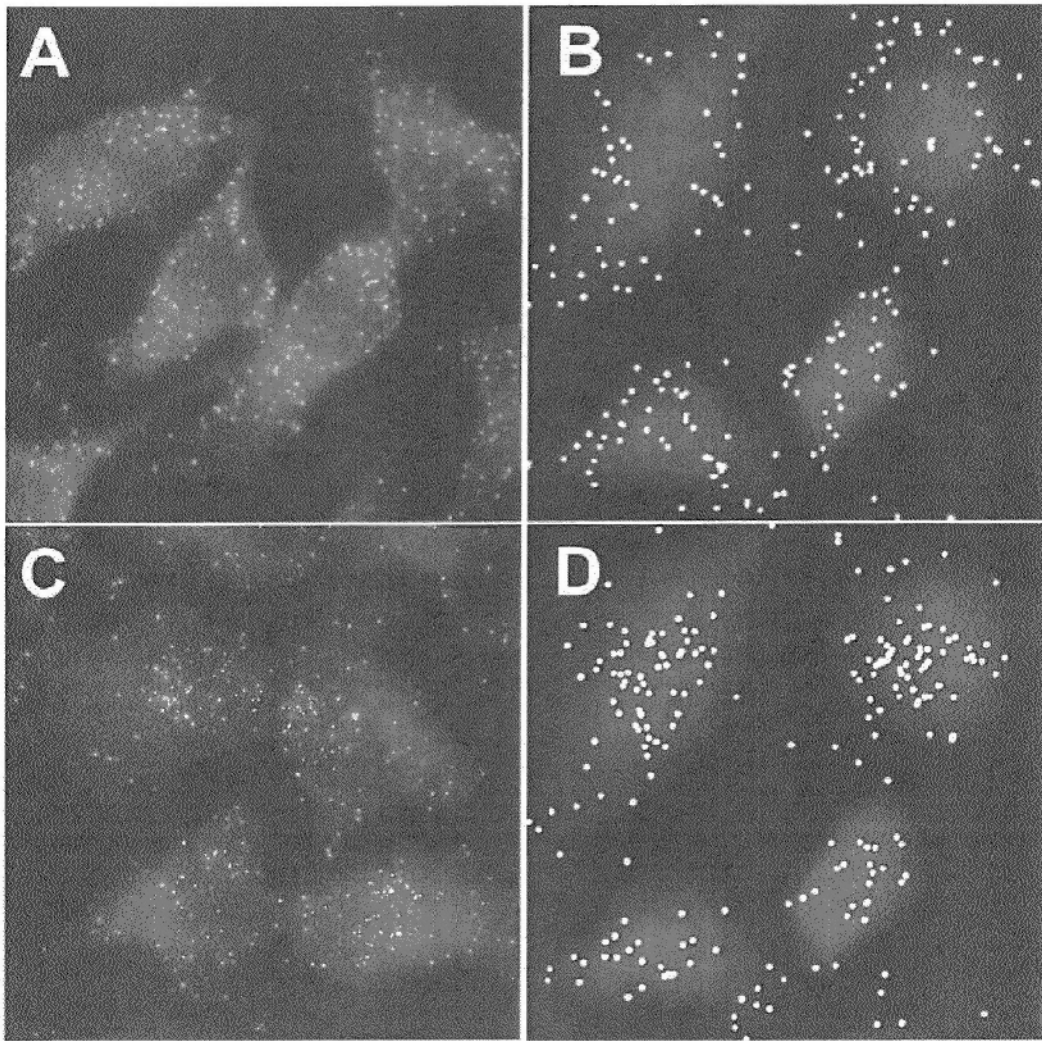


图11

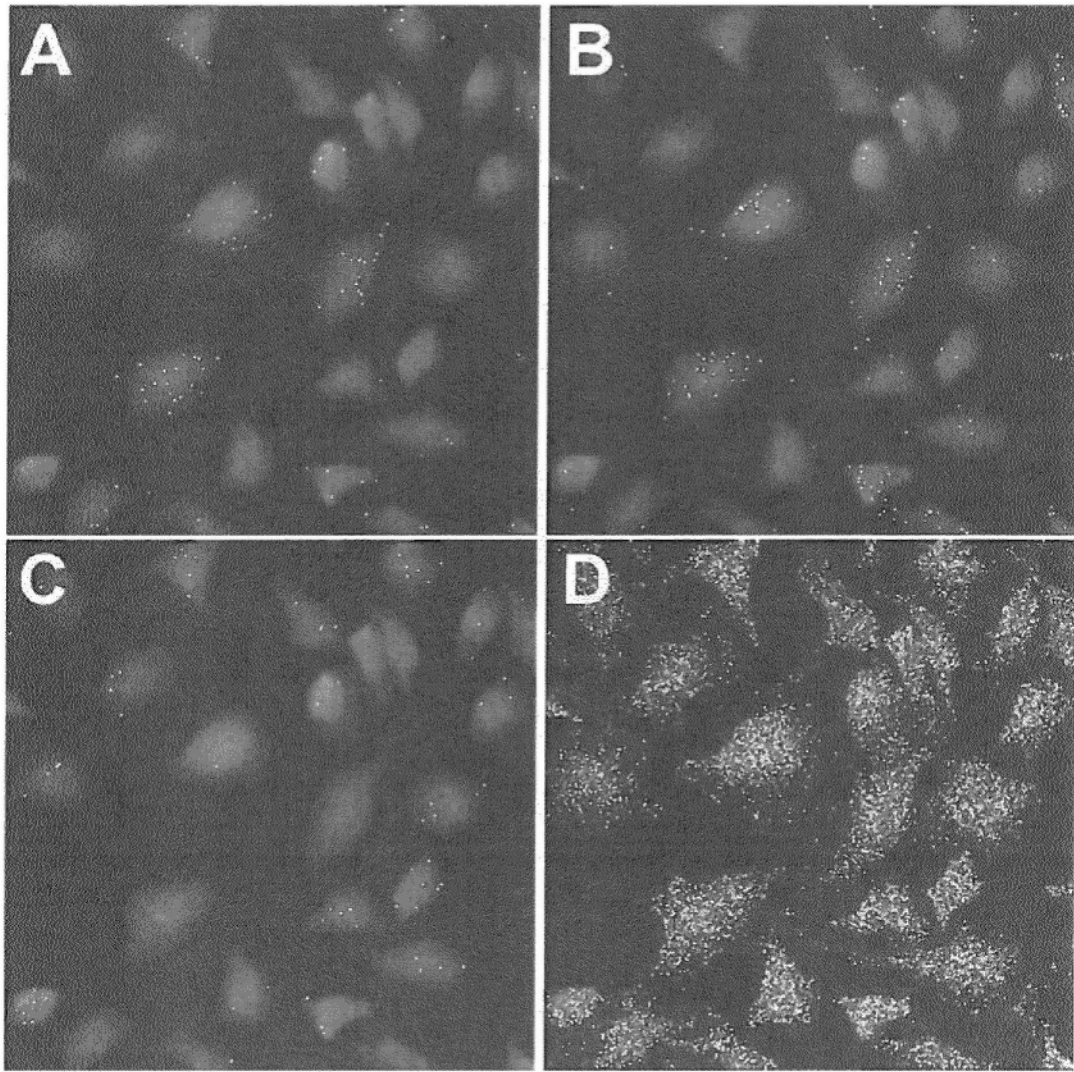


图12

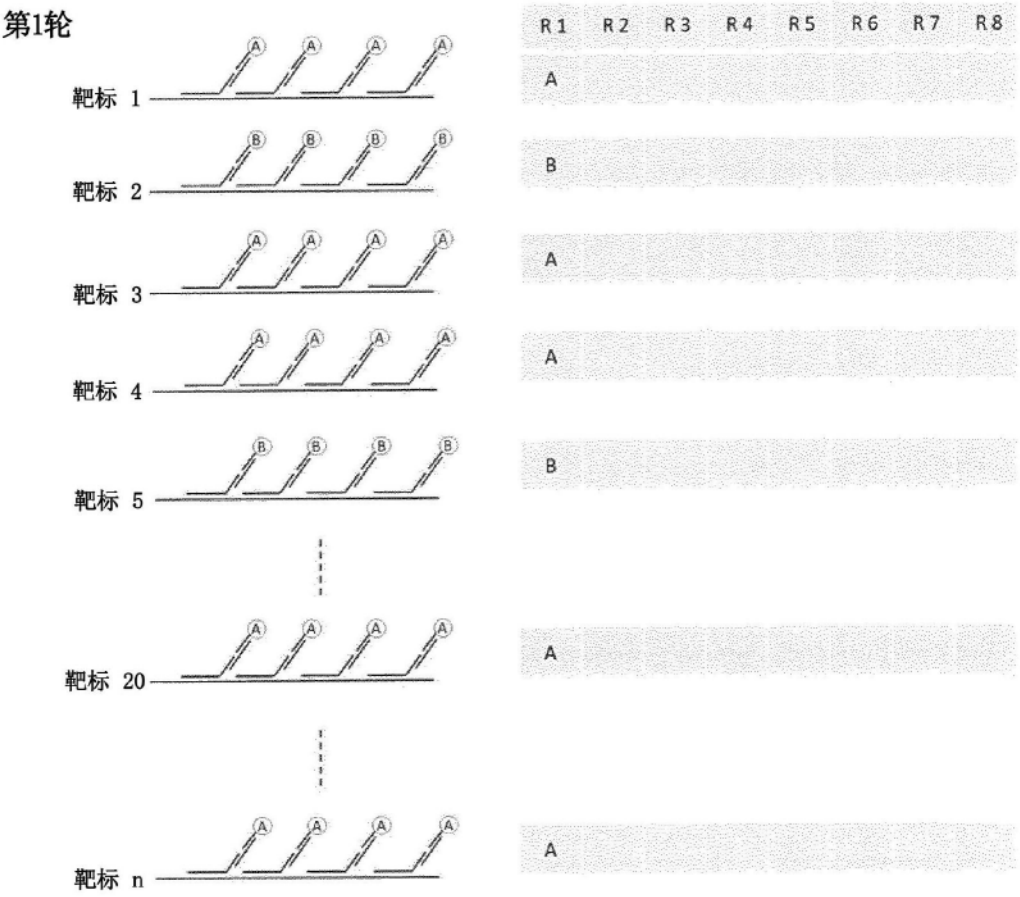


图13

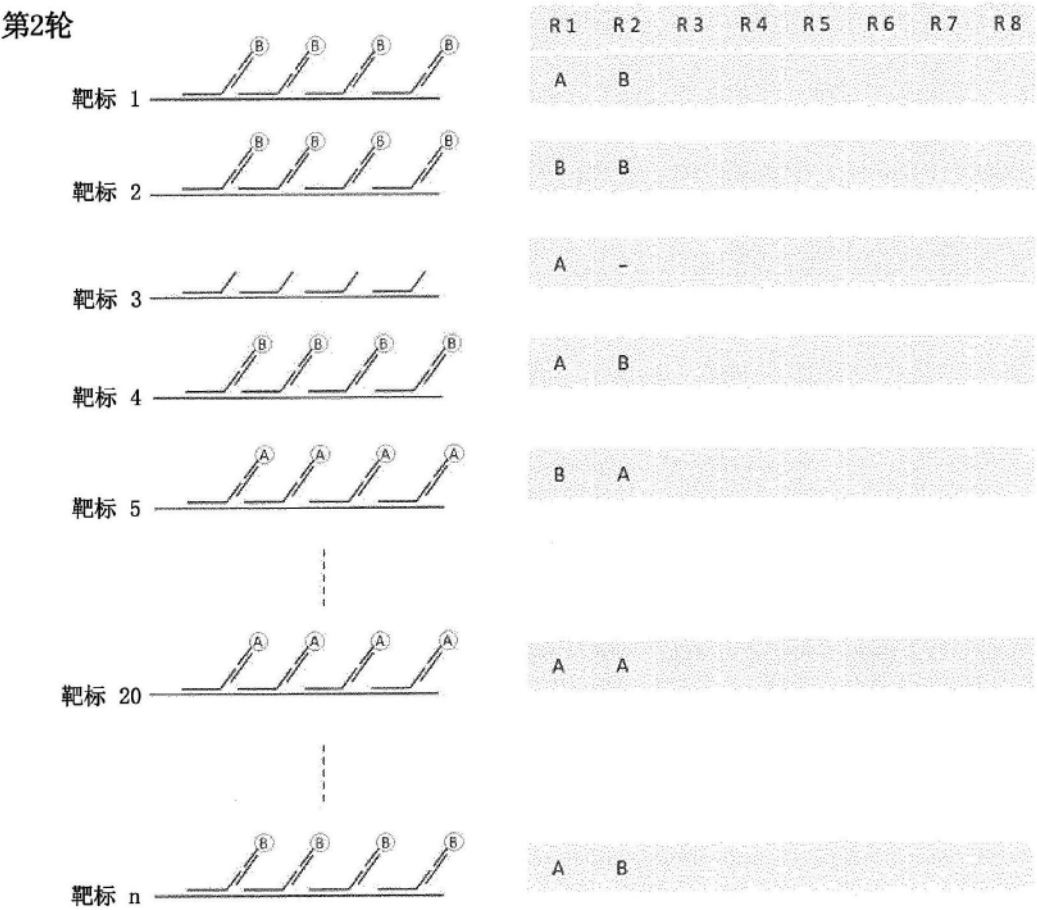


图13续

第3轮

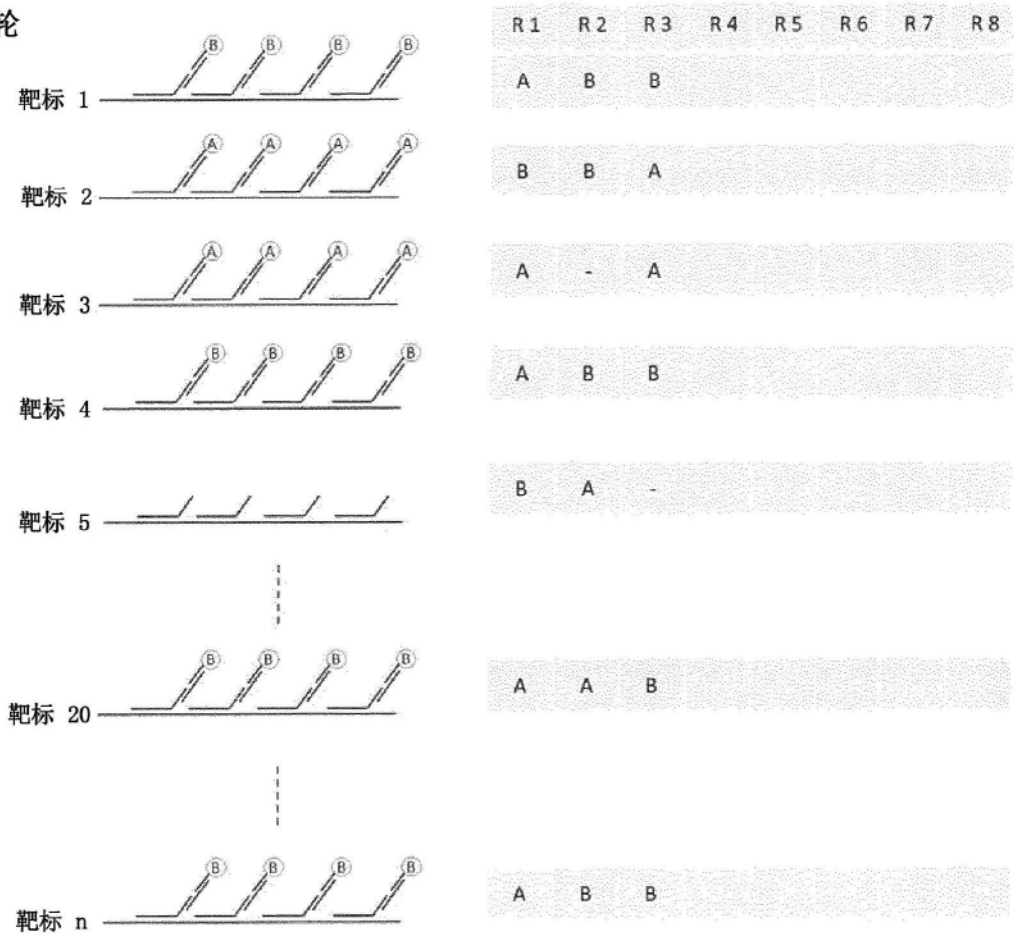


图13续

第8轮

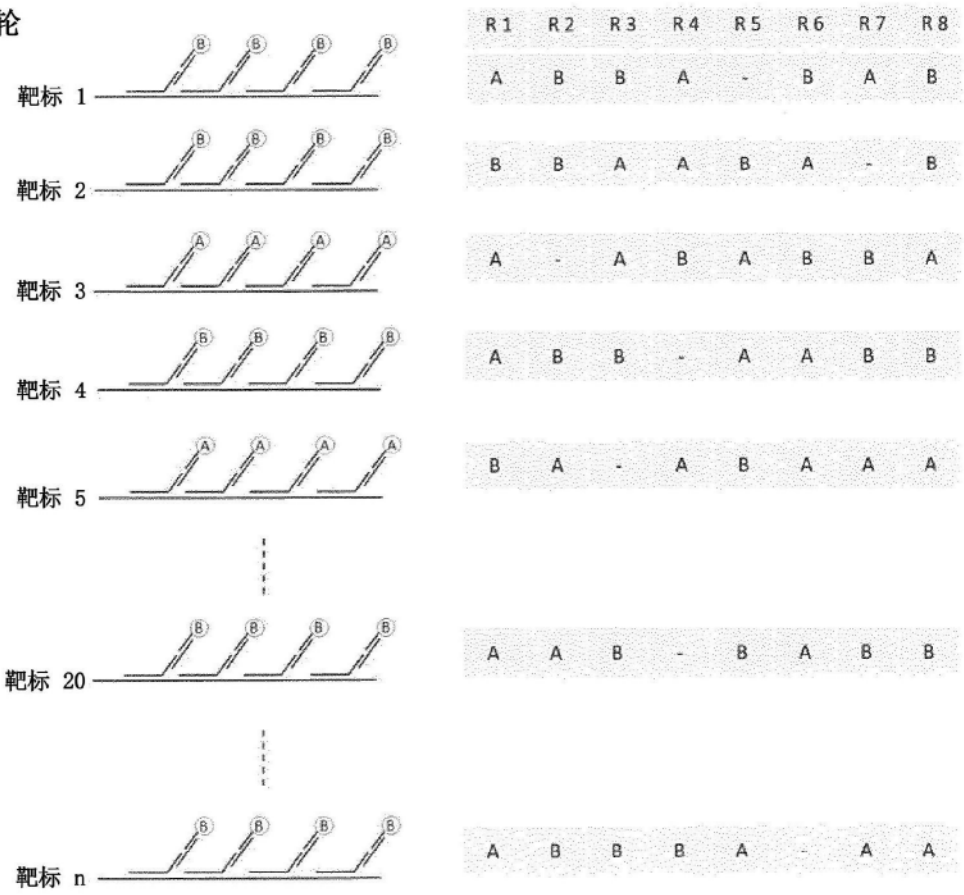


图13续

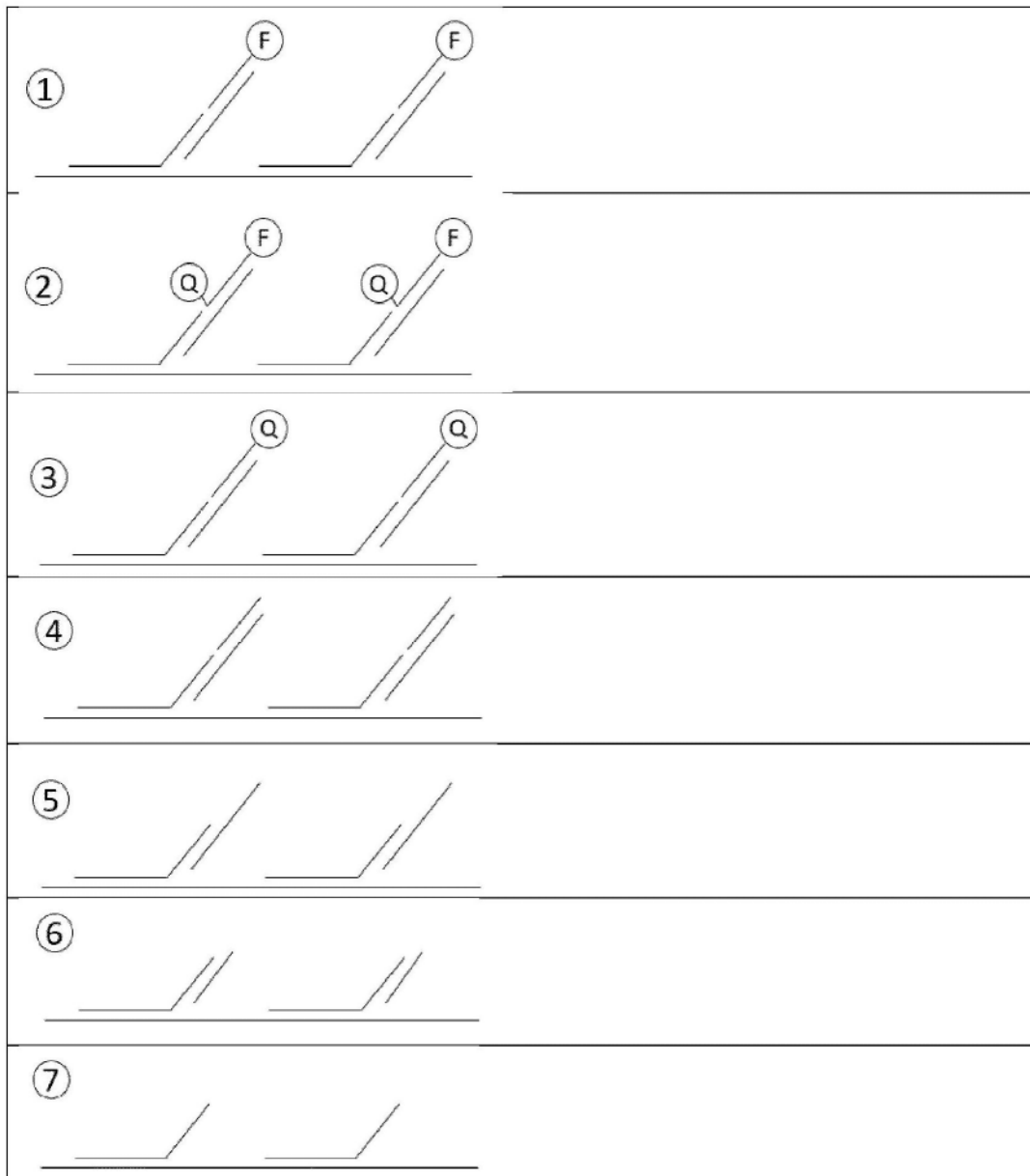
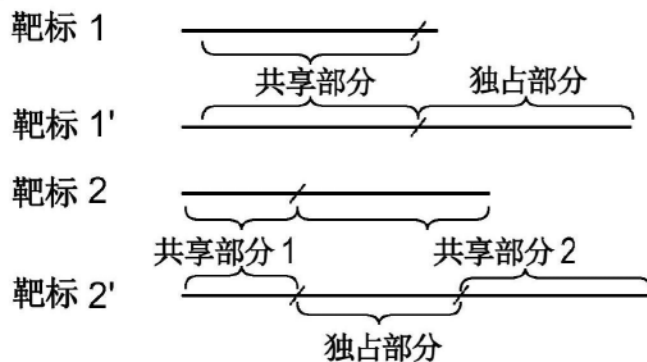


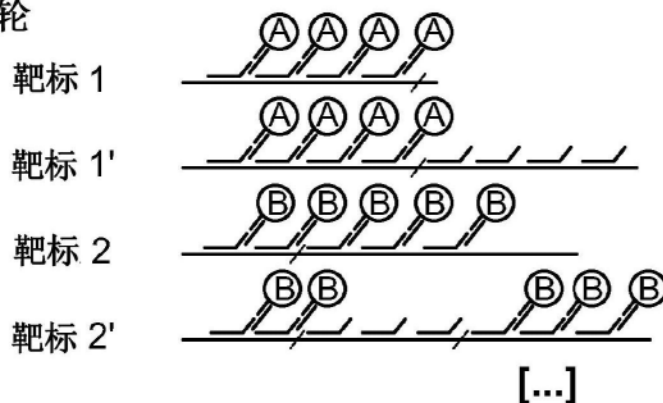
图14

第0轮



R1	R2	R3	R4	R5

第1轮



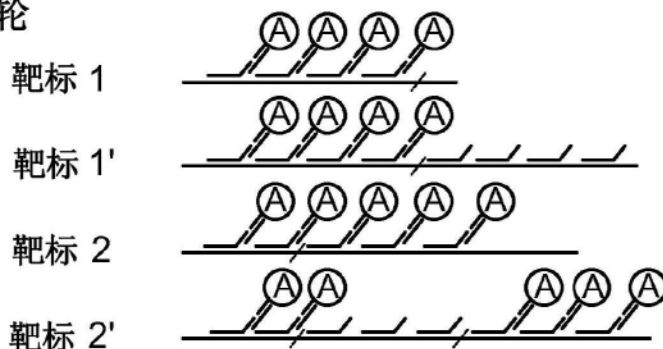
R1	R2	R3	R4	R5
A				

A				

B				

B				

第4轮



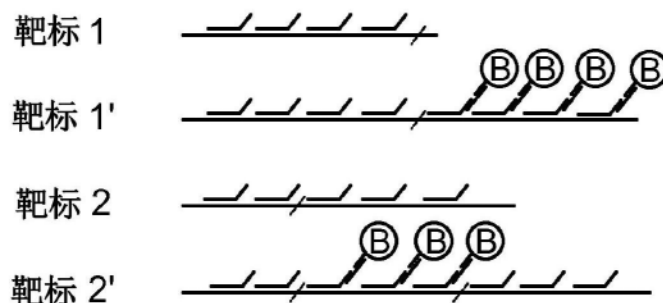
R1	R2	R3	R4	R5
A	B	-	A	

A	B	-	A	

B	-	B	A	

B	-	B	A	

第5轮



R1	R2	R3	R4	R5
A	B	-	A	-

A	B	-	A	B

B	-	B	A	-

B	-	B	A	B

图15

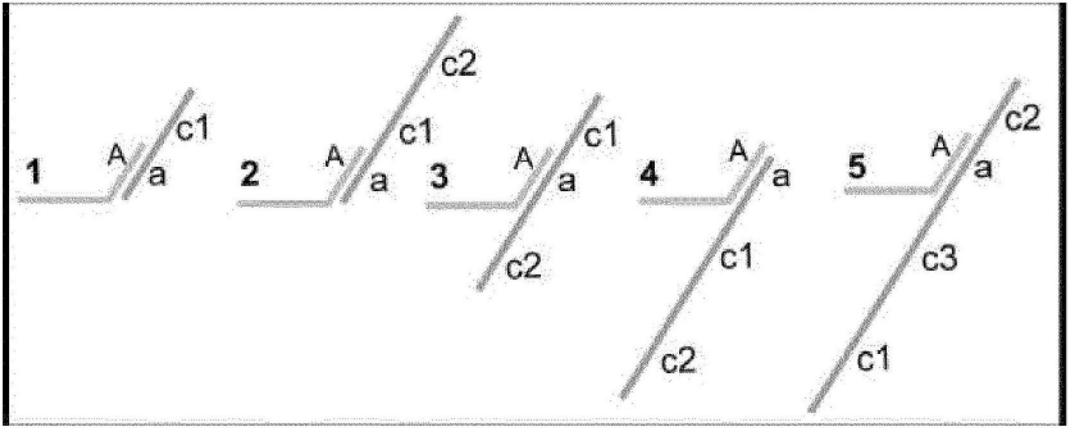


图16

步骤1:



步骤2:

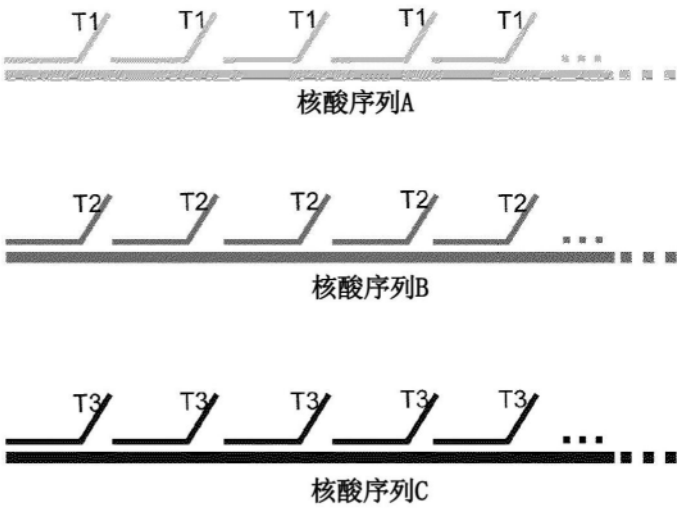
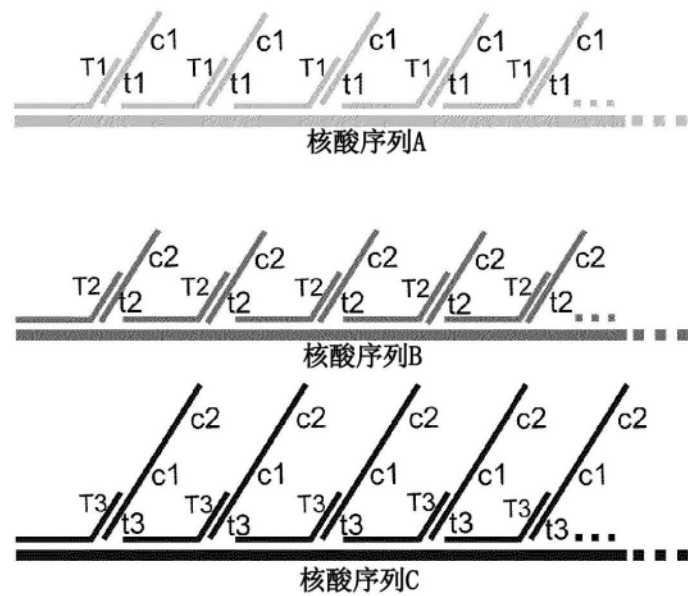


图17

步骤3:



步骤4:

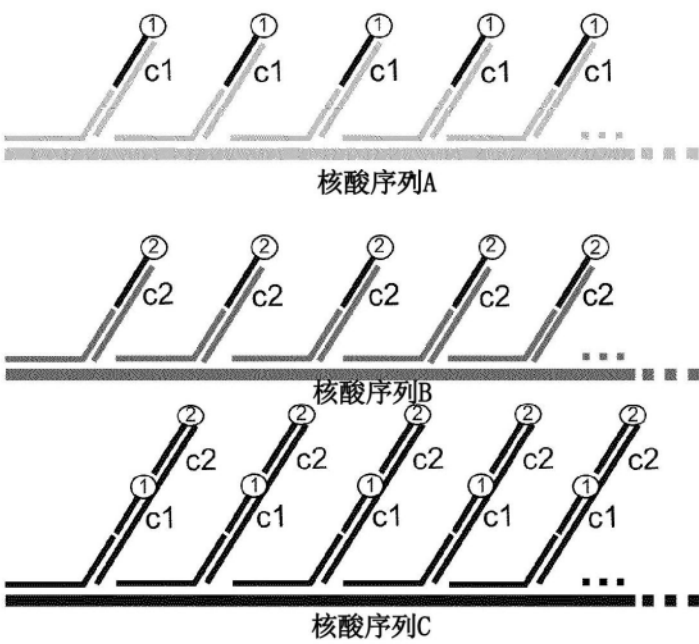
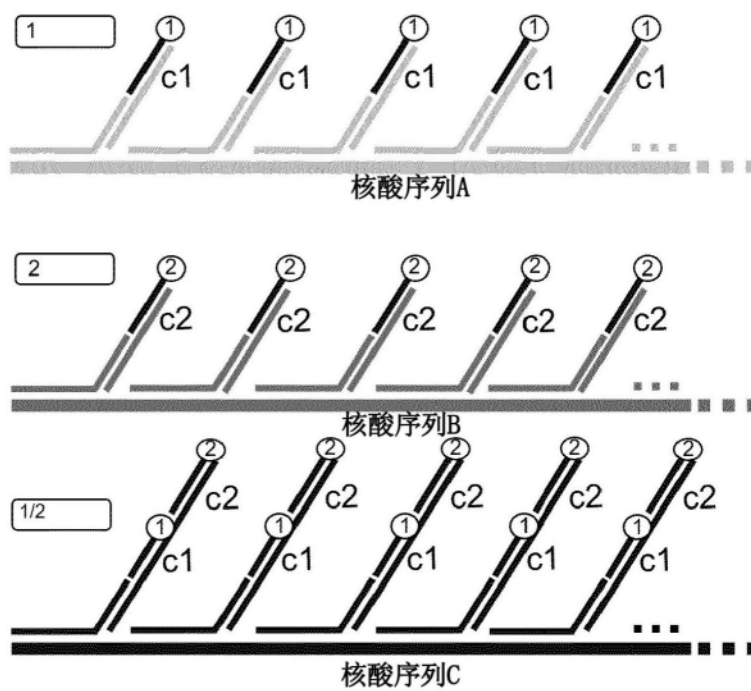


图17 (续)

步骤5:



步骤6:

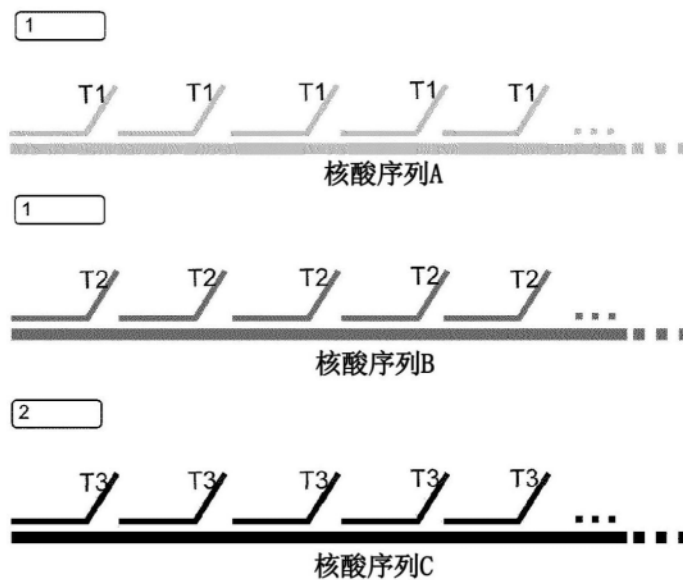
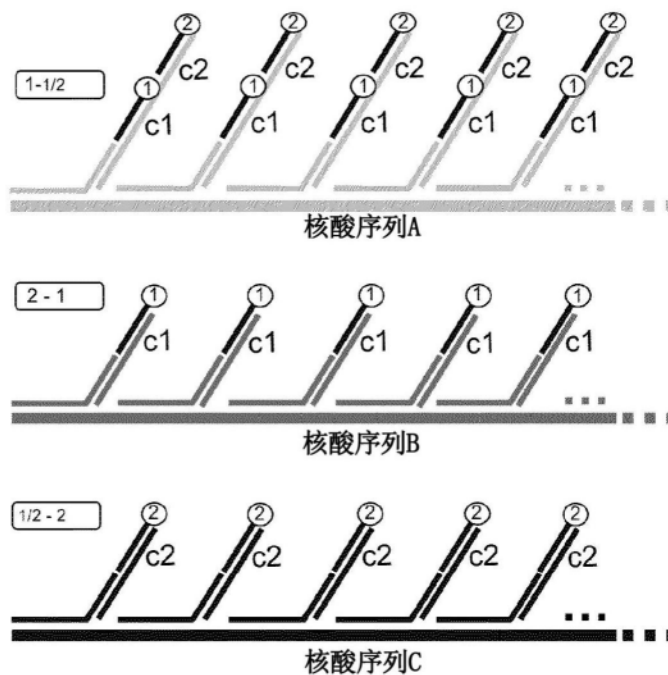


图17 (续)

步骤7:



步骤8:

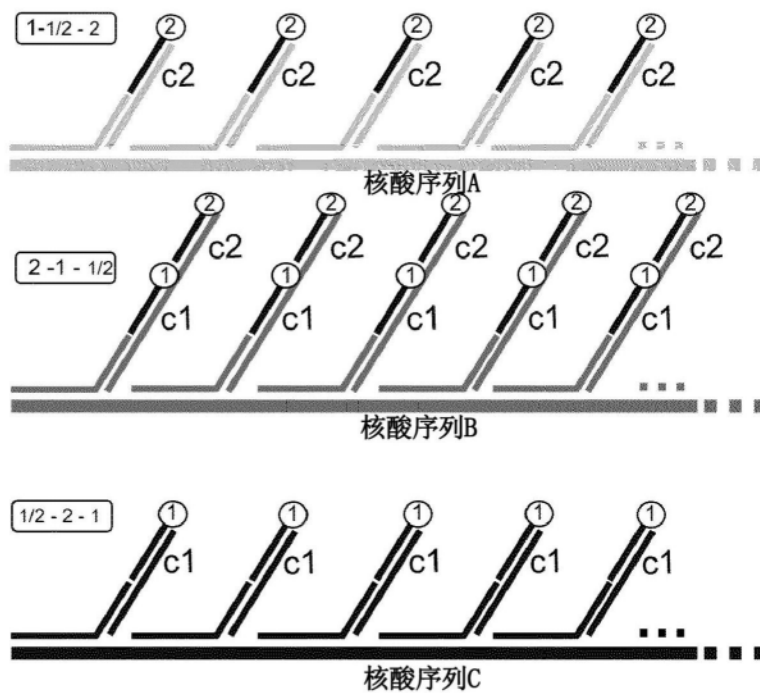


图17 (续)

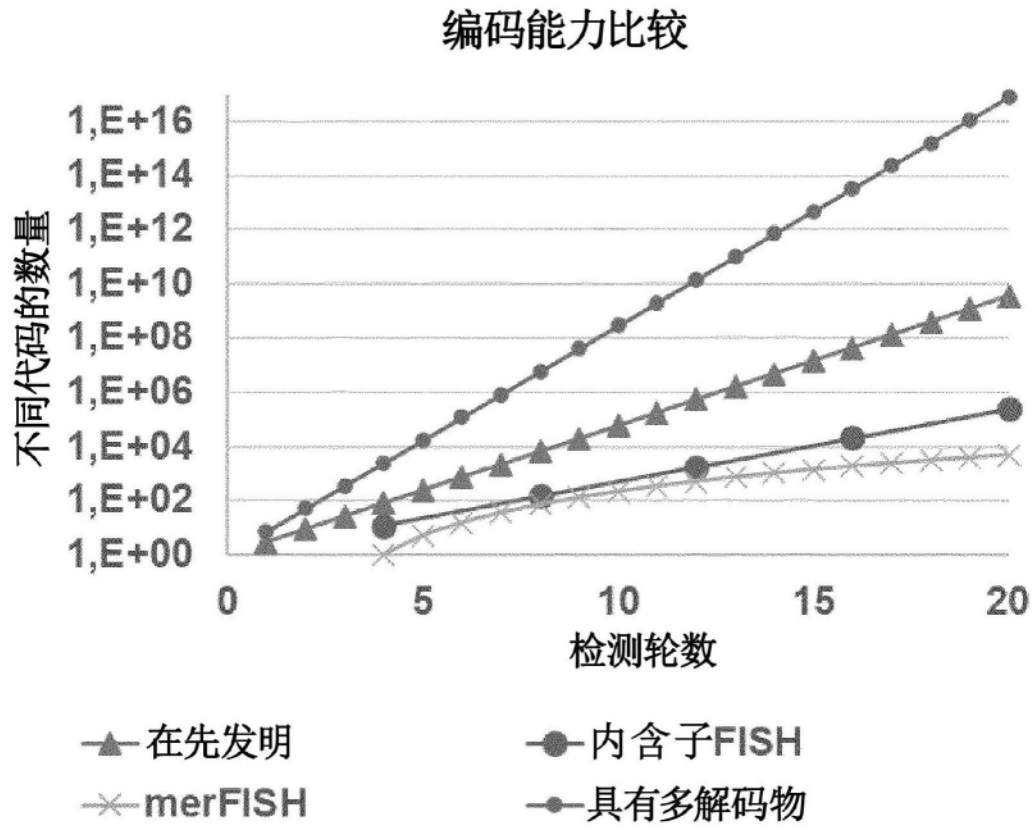


图18